รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

1.ชุดโครงการวิจัย

2.โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาการผลิตส้มโอคุณภาพเพื่อการส่งออกในแหล่งปลูกจังหวัดเชียงราย

3.ชื่อการทดลอง ผลของราไตรโคเดอร์มาในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยราสาเหตุโรคจุดดำของส้มโอในห้องปฏิบัติการ

4.คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง นางสุธามาศ ณ น่าน ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย

ผู้ร่วมงาน นายปฏิพัทธ์ ใจปิน[1] นายสนอง จรินทร[1] และนางสาวบุญปิยะธิดา คล่องแคล่ว[2]

5.บทคัดย่อ

ทดสอบประสิทธิภาพของรา *Trichoderma spp.* ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *Phyllosticta citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอในห้องปฏิบัติการ ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ระหว่างเดือนตุลาคม 56 - กันยายน 57 ใช้วิธี soil dilution spread plate บนอาหาร Martin's medium เพื่อแยกรา *Trichoderma* จากดินในสวนส้มโอ อ.เวียงแก่น จ.เชียงราย และ อ.เชียงดาว จ.เชียงใหม่ สามารถแยกได้รา *Trichoderma* บริสุทธิ์จำนวน 44 isolates สำหรับรา *P. citricarpa* แยกด้วยวิธี tissue transplanting จากใบและผลส้มโอที่มีอาการโรคจุดดำ จากการศึกษาเบื้องต้นพบว่า เส้นใยของราสาเหตุโรคเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อมาตรฐาน PDA ค่อนข้างช้า ดังนั้นจึงทดสอบชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อดังกล่าว โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD 8 กรรมวิธี 5 ซ้ำ กรรมวิธีคืออาหารเลี้ยงเชื้อรา 8 ชนิด ได้แก่ PDA, PSA, PoDA, CA, MEA, OMA, V8 และ WA เปรียบเทียบอัตราการเจริญของเส้นใยบนอาหารหลังจากบ่มเชื้อ 14 วัน พบว่าเส้นใยของรา *P. citricarpa* เจริญได้ดีที่สุดบนอาหาร OMA เท่ากับ 98.2 % รองลงมาคือ อาหาร PoDA, และ PSA เจริญเท่ากับ 96.4, และ 88.9 % ตามลำดับ อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างทางสถิติของอัตราการเจริญเส้นใยของราบนอาหารทั้ง 3 ชนิด เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของรา *Trichoderma spp.* ต่อการยับยั้งการเจริญเส้นใยของรา *P. citricarpa* โดยวิธี Dual culture test คัดเลือกรา *Trichoderma spp.* จำนวน 17 ไอโซเลทที่แสดงประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเส้นใยราสาเหตุโรค เมื่อบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน ปรากฏว่ารา 7 ไอโซเลท ได้แก่ T4, T9, T10, T14, T21, T29 และ T35 มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งเท่ากับ 43.3, 50.0, 50.0, 46.7, 43.3, 43.3, และ 50.0% ตามลำดับ และหลังจากบ่มเชื้อครบ 5 วันพบว่ารา *Trichoderma spp.* ไอโซเลท 35 และไอโซเลท 10 มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยราสาเหตุโรคจุดดำได้มากกว่าไอโซเลทอื่น คือ 52.1 และ 51.0% ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับสารชีวภัณฑ์การค้า # 2

รหัสการทดลอง 01-73-57-01-00-00-02-57

[1]ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย [2]ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรเชียงราย

Abstract

The efficacies of *Trichoderma* spp. in controlling mycelium growth of *Phyllosticta citricarpa*, a causal agent of pomelo black spot disease were examined under laboratory condition at Chiangrai Horticulture research center on 2013-2014. Forty four isolates of *Trichoderma* spp. were derived from soil samples of pomelo orchard by soil dilution spread plate on Martin's medium. Pure culture of *P. citricarpa* was isolated from symptom on leaf or fruit of pomelo by using tissue transplanting method. Mycelia growth of *P. citricarpa* on various medium was tested by CRD with 5 replications and 8 treatments which are 8 kinds of agar medium. The result showed that suitable medium are OMA, PoDA, and PSA gave the highly percentage of mycelium growth with 98.2, 96.4 and 88.9% respectively after 14-day incubation on room temperature. In laboratory screening, 17 isolates of *Trichoderma* spp. effectively inhibited mycelium growth of *P. citricarpa* by dual culture method. After 3-day incubation, *Trichoderma* spp. isolates T4, T9, T10, T14, T21, T29, and T35 gave 43.3, 50.0, 50.0, 46.7, 43.3, 43.3, and 50.0% of mycelium growth inhibition, respectively. Two isolates of *Trichoderma* spp. are T35 and T10 had shown high percentage of mycelia growth inhibition after 5-day incubation on room temperature with 52.1 and 51.0%, respectively. In addition, statistically gave more effectiveness in inhibiting of mycelium growth than a commercial product # 2.

Keywords: *Trichoderma* , Black spot disease, Pomelo

6.คำนำ

โรคจุดดำ(Black spot) จัดเป็นโรคกักกันของสหภาพยุโรป เกิดจากเชื้อรา *Phyllosticta citricarpa* (*Guignardia citricarpa*) Keily. (Perfect stage) มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมากเนื่องจากมีรายงานพบระบาดทั่วไปในแหล่งปลูกพืชตระกูลส้มทั่วโลก เช่น ประเทศในแถบแอฟริกา อเมริกาใต้ เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ออสเตรเลีย และนิวซีแลนด์ แต่ยังไม่มีรายงานพบในสหภาพยุโรป (European Union, 2002) และสหรัฐอเมริกา (Kotze, 1981) จึงจัดเป็นศัตรูพืชกักกันของประเทศในสหภาพยุโรปและสหรัฐอเมริกา ในประเทศไทยพบโรคนี้

ระบาดทำความเสียหายแก่ส้มโอในแหล่งปลูก อ.เวียงแก่น ตั้งแต่ปี 2548 ทำให้ผู้ประกอบการไม่รับซื้อส้มโอที่เป็นโรคจุดดำจากเกษตรกร ผลส้มโอที่เป็นโรคจุดดำจะมีผิวเปลือกที่ไม่สวยงาม ตลาดในประเทศรับซื้อในราคาต่ำไม่คุ้มค่ากับการลงทุน ที่ผ่านมาเกษตรกรนิยมใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราชนิดดูดซึมควบคุมโรค ซึ่งเมื่อใช้เป็นเวลานานจะทำให้เชื้อราสาเหตุโรคเกิดความต้านทานต่อสารเคมี และยังมีข้อเสียหลายอย่างคืออาจเป็นอันตรายต่อเกษตรกรและผู้บริโภค รวมถึงอาจเป็นอันตรายต่อแมลงและจุลินทรีย์ที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติ นอกจากนี้สารเคมียังสามารถสะสมก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม จนถึงปัจจุบันก็ยังไม่สามารถลดการระบาดของโรคจุดดำลงได้ ลักษณะอาการของโรคจุดดำปรากฏเป็นจุดแผลขนาดเล็กสีส้มหรือสีแดงขอบแผลสีน้ำตาลเข้มถึงดำ ต่อมาแผลจะขยายขนาดใหญ่ขึ้นกลายเป็นแผลแห้งตายบริเวณกลางแผลมี pynidia เป็นจุดสีดำขนาดเล็กกระจายอยู่ทั่วไปอยู่ตรงกลางแผล โดยมีเนื้อเยื่อสีเขียวล้อมรอบแผล สภาพอากาศที่เหมาะสมต่อการแพร่ระบาดของโรค ได้แก่ อากาศร้อน แสงแดดจัด และมีความชื้นสูง เชื้อราสาเหตุโรคสามารถเข้าทำลายใบและผลส้มโอตั้งแต่ระยะติดผลจนอายุผล 4-5 เดือน (Chung et al, 2005) สำหรับการป้องกันกำจัดโรคจุดดำที่ได้ผลคือการใช้สารเคมี เช่น azoxystrobin, carbendazim หรือ mancozeb ร่วมกับวิธีการเขตกรรม เช่น ตัดแต่งกิ่งส้มโอให้ทรงพุ่มโปร่ง การรักษาความสะอาดสวนส้มโอโดยเก็บเศษซากใบและผลที่เป็นโรคเผาหรือฝังทำลายไม่ให้เป็นแหล่งที่อยู่ของเชื้อโรค จะช่วยลดการระบาดภายในสวนได้ (ศรีสุรางค์ และคณะ, 2552)

การควบคุมโรคพืชด้วยวิธีชีวภาพคือ การใช้สิ่งมีชีวิตหรือเชื้อจุลินทรีย์มายับยั้งหรือทำลายเชื้อโรคเพื่อไม่ให้สร้างความเสียหายต่อพืช เชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้เรียกว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ มีกลไกการยับยั้งหรือควบคุมเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคพืชโดยสามารถผลิตสารปฏิชีวนะที่สามารถทำลายเชื้อโรค (Antibiosis) สามารถเจริญเติบโตแข่งขันกับเชื้อโรคพืช ทำให้เชื้อโรคไม่สามารถเจริญเติบโตทำลายพืช (competition) นอกจากนั้นยังเข้าไปเจริญอาศัยในเชื้อโรคพืชดูดกินอาหารทำให้เชื้อโรคพืชอ่อนแอและตายในที่สุด (parasitism) รวมทั้งชักนำหรือกระตุ้นให้พืชสร้างความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อโรค (นิพนธ์, 2553) เชื้อราไตรโคเดอร์มาเป็นเชื้อราที่มีคุณสมบัติและศักยภาพสูงในการใช้ควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช ตรงตามหลักการและแนวคิดของการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชโดยชีววิธี ทั้งนี้เพราะเป็นเชื้อราที่ดำรงชีวิตอยู่ในดิน อาศัยเศษซากพืชซากสัตว์และแหล่งอินทรียวัตถุ เป็นแหล่งอาหาร พบได้โดยทั่วไปในดินทุกแห่ง เป็นศัตรู (ปฏิปักษ์) ต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิดโดยวิธีการเบียดเบียนหรือเป็นปรสิตและแข่งขันหรือแย่งใช้อาหารที่เชื้อโรคต้องการ นอกจากนี้ไตรโคเดอร์มายังสามารถผลิตปฏิชีวนสารและสารพิษ ตลอดจนน้ำย่อยจำพวกเอนไซม์ สำหรับช่วยละลายผนังเส้นใยของเชื้อโรคพืช คุณสมบัติพิเศษของเชื้อราไตรโคเดอร์มาคือ สามารถชักนำให้ต้นพืชมีความต้านทานต่อเชื้อโรคพืชทั้งเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช การใช้ราไตรโคเดอร์มาจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่ช่วยให้เกษตรกรลดการใช้สารเคมีลง (จิระเดช, 2538) การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาผลของราไตรโคเดอร์มาในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอในห้องปฏิบัติการ ให้ได้ราไตรโคเดอร์มาที่มีประสิทธิภาพดีไปใช้ทดสอบควบคุมโรคจุดดำในแหล่งผลิตส้มโอเพื่อการส่งออกที่ อ.เวียงแก่น ให้มีผลผลิตและคุณภาพสูงเป็นที่ยอมรับของตลาดภายในประเทศและตลาดส่งออกทั้งสหภาพยุโรปและตลาดอื่นต่อไป

7.วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

อุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการโรคพืชได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อ เข็มเขี่ยเชื้อ หม้อนึ่งความดันฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ หลอดทดลอง จานเลี้ยงเชื้อและเครื่องแก้ว กล้องจุลทรรศน์ กล้องถ่ายภาพดิจิตอล อุปกรณ์บันทึกข้อมูล

วิธีการ

1. สำรวจและเก็บตัวอย่างดินใต้ทรงพุ่มของต้นส้มโอ รวมทั้งเก็บใบหรือผลส้มโอที่เป็นโรคจุดดำจากสวนส้มโอใน อ.เมือง, อ.เวียงแก่น จ.เชียงราย และ อ. เชียงดาว จ.เชียงใหม่
2. แยกรา *Trichoderma spp*. จากตัวอย่างดินโดยใช้วิธี Soil Plate Dilution บนอาหารแข็งจำเพาะ Martin's medium และจำแนกรา *Phyllosticta citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอใช้วิธี Tissue Transplanting บนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) และแยกเชื้อให้บริสุทธิ์บนอาหาร PDA (hypha tip isolation)
3. เพิ่มปริมาณเชื้อรา *Trichoderma* sp. ที่คัดเลือกได้ให้รหัสเชื้อแต่ละไอโซเลทและเก็บรักษาไว้ในหลอดอาหารเอียง (PDA slant) เพื่อใช้ทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *P. citricarpa* ในห้องปฏิบัติการ
4. คัดเลือกชีวภัณฑ์ราไตรโคเดอร์มาที่ผลิตเป็นการค้าจำนวน 2 ชนิด เปรียบเทียบกับเชื้อจากการเก็บตัวอย่างดินจากแหล่งปลูกส้มโอในสภาพธรรมชาติ
5. เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อราจำนวน 8 ชนิด สำหรับใช้ทดสอบการเจริญของเส้นใยรา *P. citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอในห้องปฏิบัติการ เพื่อทดสอบชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. citricarpa* เปรียบเทียบอัตราการเจริญของเส้นใยราบนอาหารแข็งเลี้ยงเชื้อ 8 ชนิด วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 8 กรรมวิธี 5 ซ้ำ กรรมวิธีได้แก่ อาหาร 8 ชนิดที่ใช้ในการทดสอบ
6. ทดสอบผลของราไตรโคเดอร์มาในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *P. citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำใช้วิธี Dual Culture Test บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดที่ได้จากขั้นตอนที่ 5 เปรียบเทียบกับสารชีวภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาการค้า
7. บันทึกผลการทดลอง วิเคราะห์ข้อมูล สรุปและรายงานผลการทดลอง

-เวลาและสถานที่

ระยะเวลา ตุลาคม 2556 สิ้นสุด กันยายน 2557 (1ปี)
ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย อ.เมือง จ.เชียงราย

8.ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการเก็บตัวอย่างดินใต้ทรงพุ่มต้นส้มโอจากแหล่งปลูก จ.เชียงราย และเชียงใหม่ได้รวม 15 ตัวอย่าง นำไปแยกเชื้อรา *Trichoderma spp*. โดยใช้วิธี Soil dilution spread plate บนอาหารแข็ง Martin's medium จำแนกได้เชื้อรา *Trichoderma spp*. จากตัวอย่างดินทั้งหมดจำนวน 44 ไอโซเลท และคัดเลือกได้สารชีวภัณฑ์การค้าของราไตรโคเดอร์มาจำนวน 2 ชนิด สำหรับตัวอย่างโรคจุดดำของส้มโอที่เก็บจากสวนส้มโอในเขต อ. เวียงแก่น จ. เชียงรายและ อ. เชียงดาว จ.เชียงใหม่ สามารถแยกรา *Phyllosticta citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอ ด้วยวิธี Tissue Transplanting method ได้เชื้อราบริสุทธิ์จำนวน 3 ไอโซเลท คือ CR-L 01 (ใบส้มโอ จ. เชียงราย) CR-F 09 (ผลส้มโอ จ. เชียงราย) และ CM-F 05 (ผลส้มโอ จ. เชียงใหม่)

ผลทดสอบการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอ บนอาหารเลี้ยงเชื้อราจำนวน 8 ชนิด ได้แก่ Potato Dextrose Agar (PDA), Potato Sucrose Agar (PSA), Pomelo Dextrose Agar (PoDA), Carrot Agar (CA), Malt Extract Agar (MEA), Oat Meal Agar (OMA), Vegetable-8 Agar (V8) และ Water Agar (WA) โดยเปรียบเทียบอัตราการเจริญของเส้นใยเชื้อราบนอาหารทั้ง 8 ชนิด วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 8 กรรมวิธี 5 ซ้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง และวัดการเจริญของเส้นใยราทุกวัน ผลการทดลองในช่วง 2-10 วันหลังการบ่มเชื้อปรากฏว่าเส้นใยของเชื้อรา *P. citricarpa* เจริญได้ดีที่สุดบนอาหารสูตร PoDA รองลงมาได้แก่ อาหารสูตร OMA, PSA และ PDA ตามลำดับ แต่เมื่อระยะเวลาการบ่มเชื้อที่ 14 วัน พบว่าเส้นใยของรา *P. citricarpa* เจริญได้ดีที่สุดบนอาหารสูตร OMA มีอัตราการเจริญของเส้นใยเท่ากับ 98.2 % รองลงมาคือ อาหาร PoDA, และ PSA ซึ่งอัตราการเจริญเท่ากับ 96.4, และ 88.9 % ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบอัตราการเจริญของเส้นใยเชื้อบนอาหารทั้ง 3 สูตรพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่อาหารสูตรมาตรฐาน PDA ที่เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อราทั่วไป เชื้อรามีอัตราการเจริญ 82.2 % ซึ่งแตกต่างอย่างชัดเจนกับอาหารสูตร OMA และ PoDA ดังนั้นสรุปได้ว่าสามารถใช้อาหารสูตร OMA, PoDA หรือ PSA ในการทดสอบต่อไป เนื่องจากอัตราการเจริญของเชื้อรา *P. citricarpa* บนอาหารทั้ง 3 ชนิดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 1)

การทดสอบผลของราไตรโคเดอร์มาในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *P. citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำ ใช้วิธี Dual Culture Test บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PSA เลือกใช้อาหารชนิดนี้เนื่องจากระหว่างการทดสอบพบการปนเปื้อนของแบคทีเรียและราชนิดอื่นน้อยกว่าสูตร OMA และ PoDA นอกจากนั้นอาหาร PSA ไม่มีตะกอนขุ่นทำให้สามารถศึกษาการเจริญเติบโตของเส้นใยได้อย่างชัดเจน โดยใช้ราไตรโคเดอร์มาที่แยกได้ จำนวน 44 ไอโซเลท เปรียบเทียบกับสารชีวภัณฑ์การค้า 2 ชนิด บันทึกข้อมูล วัดขนาดรัศมีของเส้นใยรา *P. citricarpa* เพื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา จากสูตร (RC- RT) x 100 / RC

RC = ขนาดรัศมีของรา *P. citricarpa* ในจานเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีราไตรโคเดอร์มา (control)

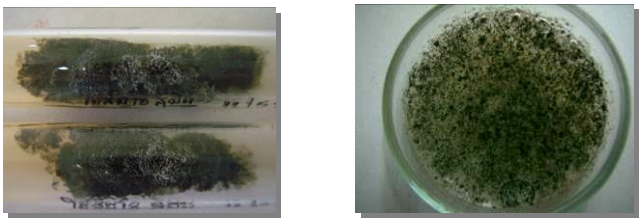
RT = ขนาดรัศมีของรา *P. citricarpa* ในจานเลี้ยงเชื้อที่มีราไตรโคเดอร์มา

ผลการทดสอบหลังจากบ่มเชื้อไว้ 1 วัน พบราไตรโคเดอร์มาจำนวน 17 ไอโซเลทที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้มากกว่า 20.0 % ได้แก่ ไอโซเลท 1, 2, 4, 5, 7, 9, 10, 12, 14, 15, 17, 21, 24, 29, 30, 35 และ 40 ขณะที่สารชีวภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิดยับยั้งได้ 10.5 และ 15.8 % ตามลำดับ

เมื่อบ่มเชื้อได้ 2 วัน ราไตรโคเดอร์มาที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยมากกว่า 35.0 % ลดลงเหลือ 7 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท T9, T10, T14, T21, T30, T35 และ T40 ส่วนสารชีวภัณฑ์ยับยั้งได้ 12.0-16.0 % ต่อมาในวันที่ 3 ของการทดสอบ พบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *P. citricarpa* เพิ่มขึ้นเป็น 40.0 % โดยมีราไตรโคเดอร์มา 5 ไอโซเลทคือ T2, T5, T7, T12 และ T30 นอกจากนั้นยังพบว่าราไตรโคเดอร์มา 7 ไอโซเลท ได้แก่ T4, T9, T10, T14, T21, T29, และ T35 สามารถยับยั้งการเจริญได้มากกว่าคือตั้งแต่ 43.3 – 50.0 %

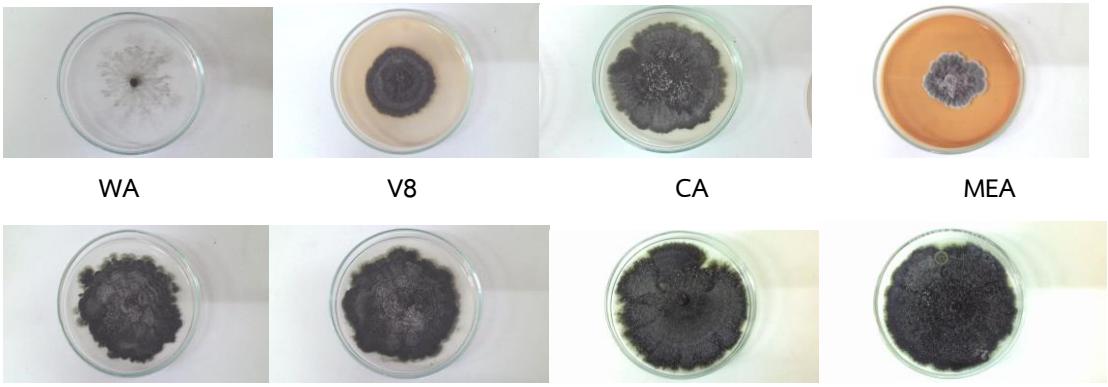
เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของราไตรโคเดอร์มาที่คัดเลือกจำนวน 17 ไอโซเลทในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *P. citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำ ในวันที่ 5 ซึ่งเป็นวันสุดท้ายของการทดสอบ พบว่าไอโซเลท T35 ยังคงมีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญได้สูงกว่าไอโซเลทอื่นๆ คือมีการยับยั้งได้ 52.1% รองลงมาได้แก่ ไอโซเลท T10 และ T9 ยับยั้งได้ 51.0 และ 50.0% ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างกันทางสถิติกับสารชีวภัณฑ์การค้า# 2 ที่ยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *P. citricarpa* ได้เท่ากับ 17.7% (ตารางที่ 2)

ดังนั้นจึงคัดเลือกราไตรโคเดอร์มาไอโซเลท T35 และ T10 ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *P. citricarpa* ได้ดีนำไปใช้ทดสอบการควบคุมโรคจุดดำร่วมกับวิธีเขตกรรมในแหล่งผลิตส้มโอเพื่อการส่งออกที่ อ.เวียงแก่น จ.เชียงราย เปรียบเทียบกับสารชีวภัณฑ์การค้า ในการทดลองปีงบประมาณ 2558



(ก) (ข)

ภาพที่ 1 ลักษณะของเชื้อรา *P. citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอ เก็บไว้ในหลอดอาหารเอียง PDA (ก) และรา *Trichoderma spp*. แยกจากดินสวนส้มโอ เจริญและสร้างสปอร์สีเขียวบนอาหาร PDA (ข)



ภาพที่ 2 เปรียบเทียบการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. citricarpa* อายุ 14 วันบนอาหารทดสอบเลี้ยงเชื้อรา 8 ชนิด

ภาพที่ 3 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของราไตรโคเดอร์มา ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. citricarpa* โดยวิธี Dual Culture test หลังจากบ่มเชื้อไว้ 3 วันที่อุณหภูมิห้อง

ตารางที่ 1 อัตราการเจริญของเส้นใยรา *P. citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอบนอาหารเลี้ยงเชื้อราทดสอบ จำนวน 8 ชนิดในห้องปฏิบัติการ ภายหลังจากบ่มเชื้อเป็นเวลา 2- 14 วัน

ชนิดของ	การเจริญของเส้นใยรา *P. citricarpa* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ (%) [1]				
อาหารทดสอบ	2 วัน	4 วัน	6 วัน	10 วัน	14 วัน
WA	11.6	26.0	34.9	50.0	57.8 c [2]
V 8	9.8	13.1	16.4	27.8	49.6 c
CA	14.4	24.8	38.1	65.6	85.5 b
PDA	15.1	26.4	40.0	69.4	82.2 b
PSA	16.9	28.9	40.7	68.2	**88.9 ab**
PoDA	20.0	40.0	57.4	91.4	**96.4 a**
OMA	18.7	36.4	54.4	82.2	**98.2 a**
MEA	15.5	22.6	27.8	37.2	58.7 c
CV (%)	-	-	-	-	9.5

[1] การเจริญของเส้นใยรา *P. citricarpa* ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ โดยคำนวณเปอร์เซ็นต์การเจริญจากสูตร ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเจริญ} = \frac{(9 - \text{ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อรา}) \times 100}{9}$$

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เปรียบเทียบโดยวิธี DMRT

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพของราไตรโคเดอร์มาในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *P. citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอ ด้วยวิธี Dual culture test ในห้องปฏิบัติการ หลังจากบ่มเชื้อเป็นเวลา 1- 5 วัน

ราไตรโคเดอร์มา	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *P. citricarpa* [1]		
ที่ใช้ทดสอบ	1 วัน	3 วัน	5 วัน
Tricho-1	21.0	36.7	37.5 a
Tricho-2	36.8	40.0	43.8 a
Tricho-4	26.3	43.3	46.9 a
Tricho-5	21.0	40.0	43.8 a
Tricho-7	21.0	40.0	42.7 a
Tricho-9	31.6	50.0	50.0 a
Tricho-10	42.1	50.0	51.0 a
Tricho-12	21.0	40.0	41.7 a
Tricho-14	26.3	46.7	49.0 a
Tricho-15	21.0	36.7	39.6 a
Tricho-17	21.0	33.3	36.5 ab
Tricho-21	26.3	43.3	41.7 a
Tricho-24	21.0	36.7	38.6 a
Tricho-29	26.3	43.3	45.8 a
Tricho-30	26.3	40.0	44.8 a
Tricho-35	31.6	50.0	**52.1** a
Tricho-40	21.0	36.7	41.6 a
สารชีวภัณฑ์ #1	10.5	26.7	31.3 ab
สารชีวภัณฑ์ #2	15.8	26.7	17.7 b
CV (%)	-	-	26.4

[1] คำนวณเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา จากสูตร

(RC- RT) x 100 / RC RC = ขนาดรัศมีของรา *P. citricarpa* ในจานเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีราไตรโคเดอร์มา

RT = ขนาดรัศมีของรา *P. citricarpa* ในจานเลี้ยงเชื้อที่มีราไตรโคเดอร์มา

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เปรียบเทียบโดยวิธี DMRT

9.สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

รา *Trichoderma* spp. จำนวน 2 ไอโซเลท คือ T35 และ T10 ให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *P. citricarpa* สาเหตุโรคจุดดำของส้มโอในห้องปฏิบัติการได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *P. citricarpa* มากกว่าราไตรโคเดอร์มาไอโซเลทอื่นและสารชีวภัณฑ์การค้า โดยจะนำไปใช้ทดสอบควบคุมโรคจุดดำของส้มโอในสภาพสวนเกษตรกร อ.เวียงแก่น จ.เชียงราย ซึ่งเป็นแหล่งผลิตส้มโอเพื่อการส่งออกในขั้นตอนต่อไป

สำหรับวิธีการนำราไตรโคเดอร์มาไปใช้ควบคุมโรคในสวนส้มโอ เพื่อลดปริมาณการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชลงหรือใช้ทดแทน จำเป็นจะต้องมีการทดสอบให้ได้วิธีการที่มีประสิทธิภาพและเหมาะสมตรงตามความต้องการของเกษตรกร หลักการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีให้มีประสิทธิภาพดีนั้นต้องผสมผสานร่วมกับวิธีอื่นๆ เช่น วิธีเขตกรรม การตัดแต่งกิ่ง จัดการด้านสุขอนามัยของพืชและสวน รวมทั้งการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชตามความจำเป็น

10.การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

กลุ่มเป้าหมายคือเกษตรกรผู้ผลิตส้มโอเพื่อการค้า นักวิชาการ นักศึกษาและผู้ที่สนใจทั่วไป

11.คำขอบคุณ (ถ้ามี)

12.เอกสารอ้างอิง

จิรเดช แจ่มสว่าง. 2538. การควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มา : ตอนที่ 2 หลักการและบทบาท. วารสารเคหการเกษตร.; ปีที่ 19(10); 159-165.

นิพนธ์ ทวีชัย. 2553. โรคพืชและการจัดการด้วยวิธีชีวภาพ. ในสารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน โดยพระราชประสงค์ในพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว. (เล่มที่ 35, หน้า 129-159). กรุงเทพฯ : โครงการสารานุกรมไทยสำหรับเยาวชนโดยพระราชประสงค์ในพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว.

ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช พรพิมล อธิปัญญาคม มนตรี ทศานนท์ สุธามาศ ณ น่าน บูรณี พั่ววงษ์แพทย์ นภสร ปุญญพิทักษ์ รัตตา สุทธยาคม และไมตรี พรหมมินทร์. 2552. การจัดการโรคจุดดำของส้มโอพันธุ์ทองดี เพื่อการส่งออก.รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม.กองทุนสนับสนุนงานวิจัยด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร. 42 หน้า.

Chung, K.P, Peres, N.A. and Timmer, L.W. 2005 Citrus Diseases Exotic to Florida:Black spot. Fact sheet pp-213. 5 p. Http://edis.ifas.ufl.edu.

European Union. 2000. Special requirement of import plants, plant products and other object originating in third countries. Office Journal of European Community. 169:44-45.

Kotze', J.M. 1981. Epidemiology and control of citrus black spot in South Africa. Plant Disease, 65: 945-950.