รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การควบคุมโรครากขาวโดยชีววิธีและการคัดเลือกสายพันธุ์ยางต้านทานโรคเพื่อผลิตต้นตอพันธุ์

Biocontrol of Para Rubber White Root Rot and Screening of Disease Resistant Cultivars for Root Stock Production

คณะผู้วิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์เสมอใจ ชื่นจิตต์

รองศาสตราจารย์ ดร. วสันณ์ เพชรรัตน์

ดร.ปฏิมาพร ปลอดภัย

นางอารมณ์ โรจน์สุจิตร

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ประจำปีงบประมาณ 2553 -2555

สารบัญ

สารบัญ	หน้า
สารบัญ	(2)
รายการตาราง	(3)
รายการภาพประกอบ	(4)
กิตติกรรมประกาศ	(5)
บทคัดย่อ	(6)
Abstract	(8)
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	1
การตรวจเอกสาร	2
วิธีการวิจัย	7
ผลและวิจารณ์	12
สรุปผลการทดลอง	45
เอกสารอ้างอิง	47

รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
1. ดัชนีการเกิดโรครากขาวในยางสายพันธุ์ RRIM 600 และพันธุ์ดั้งเดิม หลังการทดสอบเป็นเวลา 3 เดือน	13
2. ดัชนีการเกิดโรคของโรครากขาวบนต้นยางพาราหลังการปลูกเชื้อ *Rigidoporus microporus* ด้วยกรรมวิธีต่าง ๆ 1 เป็นเวลา 5 เดือน	15
3. ดัชนีการเกิดโรคของโรครากขาวบนต้นยางพาราหลังการปลูกเชื้อ *Rigidoporus microporus* ด้วยกรรมวิธีต่างๆ เป็นเวลา 12 เดือน	16
4. สถานที่เก็บตัวอย่างดิน จำนวนตัวอย่างดินและจำนวนไอโซเลทของเชื้อที่แยกได้จากตัวอย่างดิน	20
5. เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Rigidoporus microporus* โดยเชื้อ *Streptomyces* spp.	24
6. เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rigidoporus microporus* โดยเชื้อแบคทีเรีย	27
7. เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rigidoporus microporus* โดยเชื้อรา	29
8. จำนวนประชากรของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่เจริญบนธัญพืชชนิดต่างๆหลังจากเลี้ยงไว้ 7 วัน	33
9. เปอร์เซ็นต์การเจริญของเชื้อ *Rigidoporus microporus* ในดินปลูกที่ผสมเชื้อปฏิปักษ์ในหลอดทดลอง หลังจากบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน	34
10. ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma asperellum* ในการควบคุมโรครากขาวของกล้ายางพาราพันธุ์ 600 และดั้งเดิม No.1 ในเรือนทดลอง หลังการปลูกเชื้อเป็นเวลา 4 เดือน	39
11. แหล่งเก็บเมล็ดยางพารา	40
12. ดัชนีการเกิดโรครากขาวในยางพาราพันธุ์ดั้งเดิมจาก 15 แหล่ง หลังการปลูกเชื้อ *Rigidoporus microporus* เป็นเวลา 4 เดือน	41

รายการภาพประกอบ

ภาพที่		หน้า
1.	วิธีการปลูกเชื้อโรครากขาว	9
2.	อาการของโรครากขาวในยางพาราพันธุ์ดั้งเดิม จากการปลูกเชื้อด้วยกรรมวิธีที่ใช้ก้อนเชื้อเห็ดทั้งก้อน ดินปลูกผสมมูลวัว	17
3.	อาการของโรครากขาวในยางพาราพันธุ์ RRIM 600 ดั้งเดิม จากการปลูกเชื้อด้วยกรรมวิธีที่ใช้ก้อนเชื้อเห็ดทั้งก้อน ดินปลูกผสมมูลวัว	18
4.	ประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rigidoporus microporus*	23
5.	ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียในการยับยั้งของเชื้อรา *Rigidoporus microporus*	26
6.	ประสิทธิภาพของเชื้อราในการยับยั้งของเชื้อรา *Rigidoporus microporus*	28
7.	การเจริญของเชื้อ *Rigidoporus microporus* ในดินปลูกที่ผสมเชื้อปฏิปักษ์ในหลอดทดลอง	35
8.	พุ่มใบและรากของต้นยางพาราพันธุ์ 600 หลังทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma asperellum* และ สารกำจัดเชื้อราคาร์บอกซินต่อการยับยั้งเชื้อรา *Rigidoporus microporus* สาเหตุโรครากขาวของยางพาราในเรือนกระจก หลังการปลูกเชื้อ เป็นเวลา 4 เดือน	37
9.	พุ่มใบและรากของต้นยางพาราพันธุ์ดั้งเดิม No1 หลังการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma asperellum* และ สารกำจัดเชื้อราคาร์บอกซินต่อการยับยั้งเชื้อรา *Rigidoporus microporus* สาเหตุโรครากขาวของยางพาราในเรือนกระจก หลังการปลูกเชื้อ เป็นเวลา 4 เดือน	38
10.	พุ่มใบและรากของต้นยางพาราสายพันธุ์ดั้งเดิมหลังการทดสอบประสิทธิภาพต่อการยับยั้งเชื้อรา *Rigidoporus microporus* สาเหตุโรครากขาวของยางพาราหลังการปลูกเชื้อ เป็นเวลา 4 เดือน	42

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง การควบคุมโรคราก ขาวโดยชีววิธีและการคัดเลือกสายพันธุ์ยางต้านทานโรคเพื่อผลิตต้นตอพันธุ์ ได้รับการสนับสนุนจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2553-2555 มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และได้รับความร่วมมืออย่างดียิ่งจากภาควิชาการจัดการศัตรูพืช และคณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ทำให้โครงการนี้ดำเนินมาด้วยดีตั้งแต่ต้นจนเสร็จสิ้นโครงการ คณะผู้ศึกษาขอขอบพระคุณผู้มีส่วนร่วมในการศึกษาดังกล่าวเป็นอย่างยิ่ง

คณะผู้วิจัย

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งโรครากขาวของยางพารา และเพื่อคัดเลือกยางพาราพันธุ์ดั้งเดิมที่สามารถต้านทานต่อโรครากขาวได้ โดยแยกเชื้อ *Rigidoporus microporus* สาเหตุโรครากขาวจากตัวอย่างดอกเห็ดและรากยางที่เป็นโรคได้เชื้อ *R. microporus* จำนวน 7 ไอโซเลท นำมาทดสอบความสามารถในการก่อโรคในยางพาราพันธุ์ RRIM 600 และพันธุ์ดั้งเดิม พบว่า *R. microporus* ไอโซเลทที่ 2 สามารถก่อโรคในยางพาราทั้งสองสายพันธุ์ได้รุนแรงที่สุด โดยมีดัชนีการเกิดโรคเท่ากับ 54.17 และ 45.84 นำเชื้อ *R. microporus* ไอโซเลทที่ 2 มาศึกษาวิธีการปลูกเชื้อที่ช่วยส่งเสริมให้เกิดโรครากขาวได้เร็วและรุนแรงขึ้น พบว่าการปลูกเชื้อโดยใช้ก้อนเชื้อเห็ดทั้งก้อน ปลูกในดินที่ผสมมูลวัวสามรถส่งเสริมให้เชื้อก่อโรคได้เร็วและรุนแรงที่สุดทั้งในยางพาราพันธุ์ RRIM 600 และพันธุ์ดั้งเดิม

แยกเชื้อจุลินทรีย์จากตัวอย่างดินในแปลงปลูกยางพาราจำนวน 64 ตัวอย่าง ด้วยวิธี dilution spread plate ได้เชื้อ Streptomyces spp. จำนวน 263 ไอโซเลท เชื้อรา 169 ไอโซเลท และแบคทีเรีย 62 ไอโซเลท นำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *R. microporus* โดยวิธี dual culture plate พบว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. S10 เชื้อ *Trichoderma* spp. T112 ,T132 และ T142 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 87.14, 88.57, 90.48 และ 92.38 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ จากนั้นนำจุลินทรีย์ทั้ง 4 ไอโซเลท (S10, T112, T132 และ T142)มาศึกษาการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บนธัญพืชชนิดต่างๆ เพื่อใช้ในการเพิ่มจำนวนประชากร พบว่า เชื้อ *Streptomyces* sp. S10 สามารถเจริญได้ดีในข้าวฟ่าง รำ และเชื้อรา *Trichoderma* sp. T112 สามารถเจริญได้ดีในรำ และเชื้อรา *Trichoderma* sp. T132 และ T142 สามารถเจริญได้ดีในข้าวฟ่าง และเมื่อทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ทั้ง 4 ชนิด ในการยับยั้ง *R. microporus* ในดินในหลอดทดลอง พบว่า เชื้อ *R. microporus* เจริญได้น้อยมาก ในดินที่ผสมเชื้อ T142 ที่เลี้ยงในข้างฟ่าง โดยมีเปอร์เซ็นต์การเจริญเท่ากับ 1.85 เปอร์เซ็นต์ นำ *Trichoderma* sp. T142 มาจำแนกชนิดทางชีวโมเลกุล โดยใช้ partial 18S rRNA sequence analysis พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. T142 ตรงกับ accession number KC898194.1 ซึ่งจำแนกชนิดได้เป็น *T. asperellum* T142

การทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรครากขาวของยางพาราสายพันธุ์ RRIM 600 และพันธุ์ดั้งเดิมในเรือนทดลอง โดยใช้ *T. asperellum*T142 พบว่าสามารถยับยั้งการเกิดโรครากขาวในกล้ายาพาราทั้งสองสายพันธุ์ได้ดีไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับการใช้สารกำจัดเชื้อราคาร์บอกซิน ส่วนการทดสอบความต้านทานต่อโรครากขาวของยางพาราสายพันธุ์ดั้งเดิมจาก 15 แหล่งนั้น พบว่ายางพันธุ์ดั้งเดิมจากทุกแหล่งมีดัชนีการเกิดโรคไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ABSTRACT

The ojectives of the research were to select the efficiency antagonistic against rubber white root rot pathogen and to select rubber tree clone resistant to rubber white root rot pathogen. Twenty-seven isolates of *Rigidoporus microporus* were collected from fruiting body and the infected roots stem bark. All isolates of *R. microporus* were inoculated on early introduced clone and clone RRIM600 of rubber trees to compare the virulence of each isolate. The results showed that *R. microporus* Isolate2 was able to produce the highest disease symptom on the tested plants both early introduced clone and clone RRIM600 by 54.17and 45.84, respectively. Exploring the easy technique to inoculate *R. microporus* Isolate2 for induced disease symptom in the short time and show the highest severity. The results revaluated that the treatment was used cubes mushroom combine with cow manure in soil could introduced disease symptom in the short time and show the highest severity on the both of rubber tree clones. A total of 263 isolates of *Streptomyces* spp., 169 isolates of fungal and 62 isolates of bacterial were isolated from soils collected from rubber growing areas among 64 samples by dilution spread plate method. And were characterized for their antagonistic potential against *R. microporus* on dual culture plates. The results showed that antagonistic isolates S110, T112, T113 and T142 could inhibited *R. microporus* mycelial growth that showed the most antagonistic activities with an inhibition of 87.14, 92.38, 90.48 and 88.57%, respectively. Among 4 promising isolates of antagonistic were tested the increasing microbial population on grains. The results showed that isolate S110, T112, T132 and T142 could grew well on sorghum, rice bran, maize and sorghum, respectively. The interaction of 4 isolates of antagonistic against *R. microporus* were investigated in soil contained in the test tubes. The results showed that isolate T142 was culture in sorghum showed the most inhibited which mycelium growth of *R. micropors* by 1.85%. Isolate T142 was identified using molecular analysis were used partial 18S rRNA sequence analysis. Isolate T142 was identified as *Trichoderma asperellum* (accession number KC 898149)

Trichoderma asperellum T142 was selected for further study to control rubber white root rot in greenhouses. The results showed that *Trichoderma asperellum* T142 was effective in controlling white root rot and not significantly different from chemical treatment. The early introduced clones were tested for resistance to white root rot disease. The results showed that disease incidence of the early introduced clones from all sources not significantly different.

บทนำ

ยางพารา (*Hevea brasiliensis* Muell.Arg.) เป็นพืชเศรษฐกิจสำคัญลำดับต้น ๆ ของประเทศไทย มีพื้นที่การผลิต 18.76 ล้านไร่ มีมูลค่าส่งออกในปี 2554 เป็นเงิน 678,942 ล้านบาท (สถาบันวิจัยยาง, 2555) ปัญหาในการผลิตยางพาราที่สำคัญประการหนึ่งคือโรค ซึ่งมีทั้งโรคที่เกิดกับใบ ลำต้น (หน้ากรีด) และราก โดยที่โรคที่เกิดกับรากก่อให้เกิดความเสียหายกับยางพารามากที่สุดในขณะนี้คือ โรครากขาว ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Rigidoporus microporus* (Sw.) Overeem (Syn. *Rigidoporus lignosus* (Klotzsch) Imazeki)

สืบเนื่องจากนายรัฐพล ประพรม นายกองค์การบริหารส่วนตำบล ตำบลโคกม่วง อำเภอคลองหอยโข่ง จังหวัดสงขลา ได้ส่งหนังสือขอความอนุเคราะห์วินิจฉัยโรคยางพาราที่แปลงเกษตรกร มายังคณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ซึ่งพบว่าแปลงของนายวิเชียร มีต้นยางอายุ 22 ปี ยืนต้นตาย 3 ต้น ในขณะที่บริเวณด้านข้างเป็นที่ว่าง บริเวณกว้างขวาง สอบถามได้ความว่า ต้นยางตายในอาการแบบเดียวกับที่พบจำนวน 275 ต้น (11 แถว ๆ ละ 25 ต้น) โดยเริ่มตายก่อนหน้านี้ 8 ปี ซึ่งจากการวินิจฉัยพบว่าต้นยางพาราเป็นโรครากขาว

จึงเห็นได้ว่าโรคนี้ก่อให้เกิดความเสียหายอย่างรุนแรง หากเกษตรกรละเลย ไม่หมั่นตรวจดูแปลง และทำการควบคุมโรค โดยการกำจัดต้นและรากที่เป็นโรคออกจากแปลงเพื่อลดปริมาณเชื้อ การใช้สารเคมีซึ่งกระทำได้ แต่ค่อนข้างยุ่งยาก เนื่องจากต้องขุดดินและทายาที่รากโดยตรง การใช้สารเคมีราดค่อนข้างสิ้นเปลือง ต้นทุนสูง ไม่คุ้มค่าใช้จ่าย การใช้วิธีควบคุมโดยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สำคัญมาก นอกจากนั้นยังพบว่าการระบาดของโรครากขาวของยางพารา อาจเกิดจากการที่เกษตรกร ใช้เมล็ดพันธุ์จากต้นยางพันธุ์ดีที่ร่วงหล่นในสวนมาเพาะ และใช้ทำต้นตอ ทำให้ยางยิ่งอ่อนแอต่อโรค โครงการจึงมีจุดมุ่งหมายที่จะรวบรวมสายพันธุ์ยางดั้งเดิมในแหล่งต่าง ๆ และนำมาทดสอบหาสายพันธุ์ต้านทานโรค เพื่อใช้เป็นแหล่งผลิตต้นตอพันธุ์ต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เพื่อให้ได้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากขาว และให้ได้ยางพาราพันธุ์ดั้งเดิมที่ต้านทานต่อโรครากขาวเพื่อใช้เป็นต้นตอ

การตรวจเอกสาร

1. โรครากขาวของยางพารา

โรครากขาวของยางพารา เกิดจากเชื้อรา *Rigidoporus microporuss* (Sw.) Overeem จัดเป็นโรครากที่สำคัญที่สุดเนื่องจากเชื้อเข้าทำลายยางพาราทั้งในระยะยางอ่อน (1-5 ปี) ในกรณีที่พื้นที่นั้นเคยมีการปนเปื้อนของเชื้อนี้มาก่อน หรือทำให้เกิดความเสียหายกับยางในระยะต้นโตอายุมากกว่า 15 ปีขึ้นไป (พงษ์เทพ ขจรไชยกูล, 2522) อาการที่ปรากฏคือ ใบมีขนาดเล็กลง สีเหลือง ทรงพุ่มมีขนาดเล็ก ต่อมายืนต้นตาย เมื่อขุดดูรากจะปรากฏเส้นใยสีขาวเจริญแนบกับราก จึงมีชื่อเรียกโรครากขาวตามสีของเชื้อสาเหตุ เมื่อพืชแสดงอาการโรคระยะหนึ่งก่อนหรือหลังพืชตาย จะพบดอกเห็ดสีส้มที่โคนต้น ดอกเห็ดมีลักษณะเป็นครึ่งวงกลม ไม่มีก้าน เจริญซ้อนกันเป็นชั้น ๆ ดอกอายุน้อยมีสีส้ม ขอบดอกขาว เมื่ออายุมากขึ้นดอกแข็งกระด้าง มีสีน้ำตาลแดง สร้างสปอร์จำนวนมาก แพร่กระจายต่อไป (เสมอใจ ชื่นจิตต์, 2555) จากการศึกษาของ Nicole และ Benhamou (1991) พบว่าต้นยางอายุน้อยสามารถชักนำให้เกิดการติดเชื้อได้ง่ายกว่าต้นยางอายุมาก ซึ่งกระบวนการหรือกลไกการเข้าทำลายของเชื้อ *R. microporus* สามารถสรุปได้ 3 ขั้นตอน คือ

(1) ไรโซมอฟของเชื้อราเจริญอยู่บนผิวรากภายนอก (ectotrophic growth habit)

(2) เมื่อไม่มีอาหารจากภายนอก เชื้อราจะเข้าทำลายเซลล์รากพืชโดยไรโซมอฟเปลี่ยนรูปร่างเป็นเส้นใยที่มีผนังเซลล์บางขึ้นเพื่อการเข้าสู่เนื้อเยื่อพืช (infectious hyphae)และมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพันธุกรรม(morphogenetic) เพื่อปลดปล่อย extracellular enzymes เข้าย่อยสลายเนื้อไม้ เส้นใยของเชื้อเข้าสู่รากทางรูเปิดธรรมชาติเช่น เลนติเซล (lenticels) ทางบาดแผล หรือโดยการสร้างเอนไซม์เพื่อย่อยเซลล์ผิวรากของพืช ซึ่ง Nandris และคณะ (1987) รายงานว่ากระบวนการนี้เกิดขึ้นในสภาพดินขาดออกซิเจน

(3) เส้นใยเจริญอยู่ภายในเซลล์พืชโดยการย่อยผนังเซลล์ของระบบท่อน้ำ ท่ออาหาร และแพร่กระจายสู่เซลล์อื่นโดยการแทงผ่านทางช่องว่างและท่อต่าง ๆ ของเซลล์ จึงสามารถพบเส้นใยเชื้อราได้ทั้งระหว่างเซลล์ ในเซลล์ และในผนังเซลล์ และพบว่าการที่เชื้อเจริญอยู่ภายในท่ออาหาร ทำให้น้ำยางตกตะกอนจับเป็นก้อนส่งผลให้ปริมาณน้ำยางในต้นยางลดลงด้วย

จากการตรวจสอบเนื้อไม้ที่เป็นโรค พบว่าโครงสร้างของเซลล์ถูกทำลาย ส่วนของ middle lamella และผนังเซลล์ถูกย่อยสลาย ทั้งนี้เกิดจากเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายโครงสร้างของพืชได้ ซึ่งสามารถตรวจพบได้ในเนื้อเยื่อที่ถูกทำลาย เช่น 1. glycosidases (β-glucosidase, α-galactosidase และ β- galactosidase) 2. polysaccharidases (CM-cellulase, pectinase และ xylanase) และ 3. phenol oxidases (laccase และ peroxidase) เนื้อเยื่อของพืชเป็นโรคที่เกิดจากเชื้อ *R. microporus* นั้นพบการทำงานของเอนไซม์แลคเคสในปริมาณมากเป็นเอนไซม์หลัก ในขณะที่เชื้อราทำลายเนื้อไม้อื่น เช่น *Phellinus noxius* จะสร้าง glycosidase และ polysaccharidases เป็นหลัก

การแพร่ระบาดของโรคที่สำคัญคือแพร่ทางราก เกษตรกรนิยมปลูกยางโดยมีระยะระหว่างต้น 2.5-3 เมตร และระยะระหว่างแถว 8 เมตร เมื่อต้นหนึ่งเป็นโรคจึงสามารถแพร่จากรากถึงรากได้โดยง่าย ทำให้เกิดโรคต่อเนื่องจากต้นหนึ่งไปยังอีกต้นหนึ่งเป็นแถว (Nandris *et al.*, 1987) รวมทั้งสปอร์ของเชื้อสามารถแพร่ไปตามลม และน้ำ เข้าทำลายพืชได้เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม โรคนี้จัดเป็นโรคที่สำคัญใน อินโดนีเซีย มาเลเซีย อินเดีย ศรีลังกา ไทย แอฟริกาตะวันออก และแอฟริกาตะวันตก (Guyot and Flori, 2002) โดยในศรีลังกาพบว่า เสียหายต่ำกว่า 10% (Litanage de, 1977อ้างถึงใน Guyot and Flori, 2002) ส่วนในไอวอรี โคสต์ พบการระบาดของโรคปีละ 2% (Tran Van, Unpublished data, Guyot and Flori, 2002) ในประเทศไทย พงษ์เทพ ขจรไชยกูล (2523) รายงานว่าจากการสำรวจโรคในสวนปลูกแทนสงเคราะห์ในจังหวัดปัตตานี ยะลา นราธิวาส และกระบี่ พบว่าต้นยางใหม่เป็นโรครากขาวร้อยละ 12-17 สำหรับมูลค่าความเสียหายนั้น Nandris และคณะ (1987) กล่าวว่า โดยทั่วไปต้นยางมีอายุเก็บเกี่ยว 25 ปี หากเชื้อเข้าทำลายจะก่อให้เกิดความเสียหายเป็นมูลค่าหลายแสนดอลลาร์ต่อเฮกแตร์

1.1 การป้องกันกำจัด

การควบคุมโรคนี้กระทำได้โดยต้องดูแลอย่างใกล้ชิด เมื่อพบต้นเป็นโรค (สังเกตจากทรงพุ่ม ใบเล็กเหลือง และขุดดูราก) ให้ตัด ขุดตอ และเผาทำลายตอยางเก่า เพื่อลดปริมาณเชื้อ ส่วนเชื้อที่อาจตกค้างที่รากที่หลงเหลืออยู่ในดิน ให้ใช้ไฟสุมเผาเช่นกัน หากพบการเข้าทำลายของโรคอย่างรุนแรง ให้ใช้สารเคมีควบคุมโรค เช่น โปรปิโคนาโซล (propiconazole) ไตรเดอร์มอร์ฟ (tridermorph) ไซโปรโคนาโซล (cyproconazole) เป็นต้น (อุไร จันทรประทิน, 2540) ซึ่งมีค่าใช้จ่ายค่อนข้างสูง

1.2 การควบคุมโรครากขาวโดยชีววิธี

สำหรับการควบคุมโดยชีววิธี อารมณ์ โรจน์สุจิตร (2541) รายงานว่า จากการทดสอบในห้องปฏิบัติการ พบว่า *Trichoderma* spp. สามารถยับยั้งการเจริญของ *R. microporus* ทั้งในจานทดลองและในดินที่บรรจุในหลอดทดลอง แต่เมื่อทดสอบในสภาพเรือนทดลองพบว่า ไม่สามารถควบคุมโรครากขาวของกล้ายางได้ ส่วน *Chaetomium* spp. ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *R. microporus* ได้ Jayasuriya และคณะ (2007) รายงานว่า *T. harzianum* (T310) ซึ่งแยกได้จากดินในแปลงปลูกยางพาราจากประเทศศรีลังกา สามารถยับยั้งการเจริญของ *R. microporus* ได้ในระดับห้องปฏิบัติการ และเมื่อนำมาทดสอบเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่างๆ พบว่า *T. harzianum* (T310) ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ T310 ซึ่งประกอบด้วยรำข้าวและมูลสัตว์มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ สามารถสร้าง phialospore ได้จำนวนมาก และสามารถควบคุมโรครากขาวของกล้ายางพาราได้ดี เมื่อนำมาทดสอบการยับบั้งโรครากขาวในสภาพเรือนทดลอง โดยปลูกเชื้อด้วยชิ้นส่วนของรากยางพาราที่แสดงอาการโรครากขาว 25% 50% และ 75% และปลูกเชื้อ *T. harzianum* ผลการทดลองพบว่า ในระยะแรกกล้ายางที่ปลูกเชื้อด้วยชิ้นส่วนที่แสดงอาการโรค 25% พืชแสดงอาการติดเชื้อ แต่เมื่อตรวจผลที่ 60 วัน พบว่ารากพืชมีลักษณะปกติ ไม่มีการติดเชื้อ ส่วนการปลูกเชื้อด้วยชิ้นส่วนรากที่แสดงอาการโรค 50% และ 75% พบว่า เมื่อตรวจผลที่ 90 วัน พืชแสดงอาการติดเชื้อ 40% และ44% ตามลำดับ Kaewchai (2010) ศึกษาเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. microporus* ได้เชื้อจำนวน 30 ไอโซเลท คือ *Acremonium fusidioides* 2 ไอโซเลท, *Aspergillus niger* 2 ไอโซเลท, *Chaetomium aureum* 2 ไอโซเลท, *Ch. bostrychodes* 7 ไอโซเลท, *Ch. cochliodes* 1 ไอโซเลท, *Ch. cupreum* 1 ไอโซเลท, *Ch. fusiforme* 5 ไอโซเลท, *Ch. indicum* 2 ไอโซเลท, *Penicillium canescens* 1 ไอโซเลท, *T. hamatum* 2 ไอโซเลท, *T. harzianum* 2 ไอโซเลท และ *T. viride* 3 ไอโซเลท โดยวิธีการเลี้ยงร่วมกันบนอาหาร PDA (dual culture) พบว่าจำนวนไอโซเลททั้งหมดของเชื้อ *A. niger, Ch. cochliodes, Ch. bostrychodes, Ch. cupreum ,T. hamatum, T. harzianum* และ *T. viride* ให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. microporus* มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ในจำนวนนี้ *Trichoderma* ให้เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตสูงสุด รองลงมาคือ *Aspergillus* และ *Chaetomium* โดยเชื้อ *T. viride* STN04, STN05 และ *T. hamatum* STN07 ให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตสูงที่สุดคือ 89.5 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำเชื้อราปฏิปักษ์จำนวน 10 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. microporus* ซึ่งได้แก่ *A. niger* SN71 และ SN72, *Ch. bostrychodes*, BN08, BN11 และ BS01, *Ch. cupreum* RY202, *T. hamatum*

STN07, *T. harzianum* STN01 และ STN02 และ *T. viride* STN04 ไปผลิตสารสกัดหยาบและทดสอบความสามารถในการควบคุมการเจริญของเชื้อ *R. microporus* พบว่า สารสกัดหยาบที่สกัดด้วย hexane จากเชื้อ *Ch. cupreum* RY202 ให้ผลดีที่สุด โดยสามารถควบคุมการเจริญของเส้นใยบนอาหาร PDA เท่ากับ 82.0 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ สารสกัดหยาบที่สกัดด้วย methanol จาก *T. hamatum* STN07 และสารสกัดที่สกัดด้วย ethyl acetate จากเชื้อ *Ch. cupreum* RY202 โดยสามารถควบคุมการเจริญของเส้นใยบนอาหาร PDA เท่ากับ 80.0 และ 78.0เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า ประสิทธิภาพของ *Ch. cupreum* RY202 ในรูปแบบผงและน้ำมันสามารถลดการเกิดโรครากขาวของยางพาราได้ 60 และ 80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ปวีณา สังข์แก้ว (2556) ศึกษาการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Streptomyces* sp. ในการควบคุมเชื้อรา *R. microporus* (Sw.) Overeem สาเหตุโรครากขาวของยางพารา โดยแยกเชื้อ *Streptomyces* spp. ได้จำนวน 258 ไอโซเลท จากตัวอย่างดินในสวนยางพาราในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย นำมา ทดสอบการเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อรา *R. microporus* ด้วยวิธี dual culture plate พบว่า *Streptomyces* sp. S106 และ S110 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 83.57 และ 74.29 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นำเชื้อ *Streptomyces* sp. S106 และ S110 มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. microporus* ในดินในหลอดทดลอง พบว่า *Streptomyces* sp. S106 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับ *Streptomyces* sp. S110 และชุดควบคุม และเมื่อนำเชื้อ *Streptomyces* sp. S106 มาผลิตเป็นสูตรสำเร็จชนิดแกรนูลและชนิดผงเพื่อใช้ควบคุมการเกิดโรครากขาวของกล้ายางพาราในเรือนทดลอง พบว่าทั้งสองรูปแบบสามารถควบคุมโรครากขาวได้ ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใช้สารเคมี

1.3 การใช้ยางพาราพันธุ์ต้านทานเพื่อป้องกันโรครากขาว

ต้นตอยาพาราในปัจจุบันส่วนใหญ่ได้จากเมล็ดของพันธุ์ RRIM 600 เนื่องจากพันธุ์ดั้งเดิมที่เคยใช้เป็นต้นตอเมื่อมีอายุมากจึงถูกโค่นและปลูกทดแทนด้วยยางพันธุ์แนะนำพันธุ์ RRIM 600 ซึ่งมีความอ่อนแอต่อโรครากขาว การระบาดของโรครากขาวจึงมีมากขึ้น ดังนั้นการคัดพันธุ์ยางต้านทานโรครากขาว จึงเป็นวิธีการหนึ่งในการป้องกันกำจัดโรคโดยการศึกษาหาพันธุ์ที่มีระบบรากแข็งแรง และต้านทานต่อโรครากขาว เพื่อใช้เป็นต้นตอในการปลูกยางในพื้นที่ที่เป็นโรคราก ประภา พัฒนกุล และคณะ (2538) ได้ศึกษายางพันธุ์ต้านทานโดยดำเนินการทดลองที่สถานีทดลองยางนราธิวาส ในปี 2536-2538 โดยการใช้ต้นกล้ายางพันธุ์แนะนำชั้น 1 จำนวน 5 พันธุ์ คือ RRIM 600, GT 1, PR 255, PR 261 และ KRS 156 (สงขลา 36) ปลูกรอบๆ โคนต้นกิ่งตายางที่เป็นโรครากขาว ผลการทดลอง พบว่าพันธุ์แนะนำ

ทั้ง 5 พันธุ์ อ่อนแอต่อโรครากขาว (ตายมากกว่า 50%) โดยพันธุ์ที่อ่อนแอน้อยที่สุดคือ PR 261 พันธุ์ที่อ่อนแอปานกลางคือ PR 255 และ GT 1 และพันธุ์ที่อ่อนแอมากที่สุดคือ KRS 156 และ RRIM 600 อย่างไรก็ตาม ในขณะที่ยังไม่มีพันธุ์ต้านทานต่อโรครากขาว พันธุ์ PR 261 สามารถใช้เป็นต้นตอได้ดีกว่าพันธุ์อื่นๆ แต่ต้องมีการกำจัดต้นตอเก่าซึ่งเป็นแหล่งโรคให้หมดก่อนการปลูกยาง ในพื้นที่ที่เป็นโรครากขาวอย่างรุนแรงควรหลีกเลี่ยงไปปลูกพืชอื่นที่ไม่เป็นพืชอาศัยของโรครากขาว สุณีรัตน์ และคณะ (2554) ได้เก็บรวบรวมเมล็ดยางพันธุ์พาราดั้งเดิมในเขตจังหวัดสงขลามาเพาะเป็นต้นกล้าและคัดเลือกต้นกล้าอายุ 3 เดือนที่มีความสมบูรณ์และสม่ำเสมอ จำนวน 16 โคลน เพื่อนำมาทดสอบความต้านทานต่อโรครากขาว พบว่าในระยะแรกไม่พบลักษณะผิดปกติของต้นยางพาราในส่วนที่อยู่เหนือดิน แต่หลังจากการปลูกเชื้อเป็นเวลา 60 วัน ต้นกล้ายางเริ่มแสดงอาการที่ส่วนยอด ไม่มีต้นตาย แต่หลังจากการปลูกเชื้อเป็นเวลา 90 วัน พบว่าต้นกล้ายางแต่ละโคลนแสดงอาการรุนแรงขึ้นเล็กน้อย เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ หลังจากการปลูกเชื้อ 150 วัน พบว่ากล้ายางในแต่ละโคลนมีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงเพิ่มขึ้นและมีความแตกต่างระหว่างพันธุ์ และหลังการปลูกเชื้อ 180 วัน พบว่าต้นกล้าถูกทำลายมากขึ้นเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับอาการที่ 150 วัน โดยต้นกล้ายางที่เก็บจากตำบลน้ำน้อย อำเภอหาดใหญ่ มีแนวโน้มทนต่อโรคมากกว่าพันธุ์อื่นๆ Wattanasilakorn และคณะ (2012) ศึกษาการใช้พันธุ์ยางพาราดั้งเดิมที่ต้านทานต่อโรครากขาว และใช้สายพันธุ์ GT1 จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี และ RRIM 600 จากจังหวัดสงขลา เป็นตัวเปรียบเทียบ พบว่า GT1 อ่อนแอต่อโรคมากกว่าพันธุ์ RRIM 600 ในขณะที่พันธุ์ดั้งเดิมที่นำมาจากอำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา คือ PSU1, และ PSU2 พันธุ์ยางพาราจากสะกระพังสุรินทร์ และบางรัก จังหวัดตรัง มีแนวโน้มในการต้านทานโรคที่ดีกว่า

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. เก็บตัวอย่างและแยกเชื้อสาเหตุ

เก็บตัวอย่างดอกเห็ดสดสีส้ม ขอบดอกมีสีขาว ลักษณะเป็นแผ่นครึ่งวงกลมและราก จากต้นที่แสดงอาการโรครากขาว บันทึกข้อมูล และแยกเชื้อสาเหตุด้วยวิธี tissue transplanting บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

2. การทดสอบการเกิดโรคและการจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุ

ทดสอบการเกิดโรค โดยนำเชื้อราที่แยกได้มาเลี้ยงในถุงเพาะเห็ด ที่มีส่วนผสมของขี้เลื่อย ยางพารา : รำ : น้ำตาลทราย : น้ำ อัตรา 100 : 3 : 2 : 50 (โดยน้ำหนัก) ถุงละ 400 กรัม บ่มเลี้ยงที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือนครึ่งถึง 2 เดือน (อารมณ์ โรจน์สุจิตร, 2541) จากนั้นปลูกเชื้อโดยใช้ก้อนเชื้อ 1 ก้อนต่อกระถาง วางก้อนเชื้อตรงกลางกระถาง และปลูกต้นกล้าพารา 3 ต้นต่อ 1 กระถาง วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) มีปัจจัยได้แก่

1. พันธุ์ยางพารา 2 พันธุ์ ได้แก่
   1.1 พันธุ์ดั้งเดิม อายุ 3 เดือน ที่ได้จากการเพาะเมล็ด
   1.2 พันธุ์ RRIM 600 อายุ 3 เดือน ที่ได้จากการเพาะเมล็ด
2. เชื้อรา *R. microporus* จำนวน 7 ไอโซเลท

ทำการทดลอง 16 กรรมวิธีๆละ 2 ซ้ำๆ ละ 3 ต้น เป็นเวลา 1 เดือน ประเมินระดับความรุนแรงของโรคโดยให้ระดับความรุนแรงของโรคดังนี้ (ดัดแปลงจาก Wattanasilakorn *et al*., 2012)

ระดับ 0 : ไม่แสดงอาการ

ระดับ 1 : แสดงอาการเหี่ยว

ระดับ 2 : แสดงอาการใบเหลือง

ระดับ 3 : แสดงอาการใบร่วง

ระดับ 4 : แสดงอาการต้นตาย

นำค่าจากการประเมินระดับความรุนแรงในการเกิดโรค มาคำนวณดัชนีการเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์ลดการเกิดโรคจากสูตร

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค} = \left(\frac{\text{ผลรวมการเป็นโรคแต่ละระดับ} \times 100}{\text{จำนวนต้นยาง x ระดับการเกิดโรคสูงสุด}} \right)$$

นำเชื้อที่ก่อโรครุนแรงที่สุดมาจำแนกชนิดโดยศึกษาลักษณะทาง macrosporic และ microsporic ของดอกเห็ดและเส้นใย

3. ศึกษาวิธีการปลูกเชื้อ

ศึกษาวิธีการปลูกเชื้อที่สะดวกและก่อให้เกิดโรครวดเร็ว เพื่อใช้ในการทดสอบความสามารถ ในการก่อโรค และการทดสอบความต้านทาน วางแผนการทดลองแบบ CRD มีปัจจัยได้แก่

1. พันธุ์ยางพารา 2 พันธุ์ ได้แก่

1.1 พันธุ์ดั้งเดิม อายุ 3 เดือน ที่ได้จากการเพาะเมล็ด

1.2 พันธุ์ RRIM 600 อายุ 3 เดือน ที่ได้จากการเพาะเมล็ด

2. วิธีการปลูกเชื้อ

2.1 ปลูกเชื้อด้วยวิธีการฝังชิ้นไม้ยางพาราที่ปลูกเชื้อโรค จำนวน 4 ชิ้นต่อต้น โดยวางชิ้นไม้ประกบรอบโคนต้นกล้ายางพารา

2.2 ปลูกเชื้อด้วยก้อนเชื้อ 1 ก้อนต่อกระถาง วางก้อนเชื้อตรงกลางกระถาง

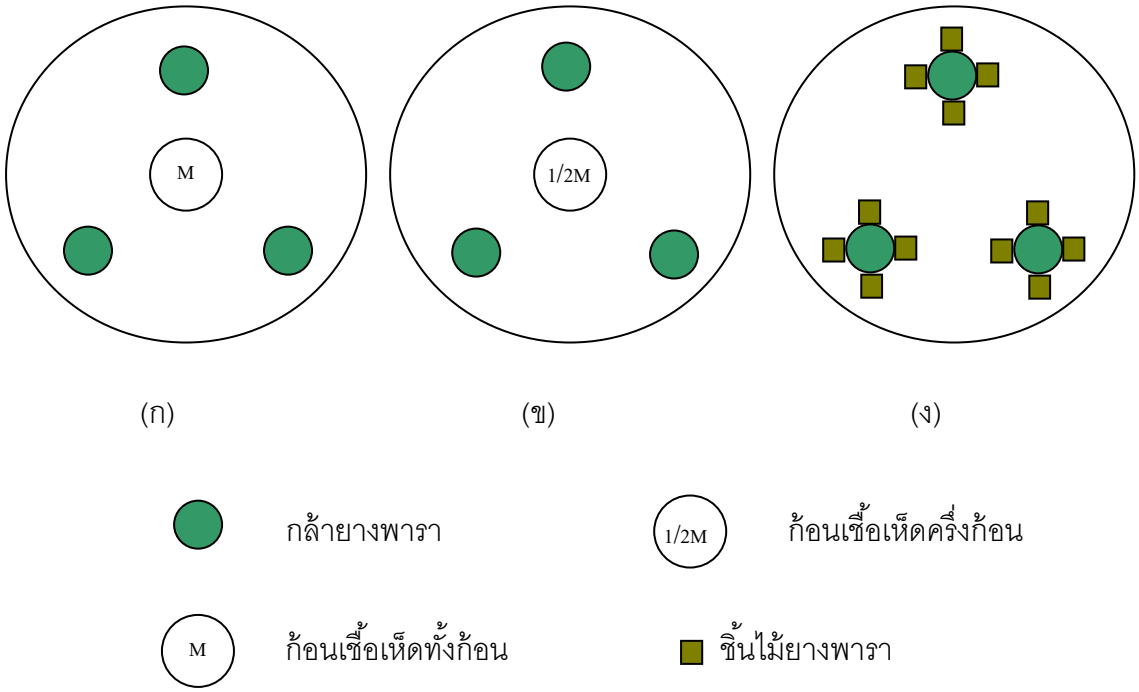
2.3 ปลูกเชื้อด้วยก้อนเชื้อครึ่งก้อนต่อกระถาง โดยตัดก้อนเชื้อเห็ดตามขวาง วางก้อนเชื้อตรงกลางกระถาง

3. วัสดุปลูก

3.1 ดิน+ทราย

3.2 ดิน+ทราย+มูลวัว

ทำการทดลอง 16 กรรมวิธีๆละ 4 ซ้ำๆ ละ 3 ต้น ปลูกยางพารา 3 ต้นต่อกระถาง (ภาพที่ 1) วางเลี้ยงโดยมีการพรางแสง 30 เปอร์เซ็นต์ ตรวจผลทุกสัปดาห์



ภาพที่ 1 วิธีการปลูกเชื้อโรครากขาว
(ก) ปลูกเชื้อโรครากขาวโดยใช้ก้อนเชื้อเห็ดทั้งก้อน
(ข) ปลูกเชื้อโรครากขาวโดยใช้ก้อนเชื้อเห็ดครึ่งก้อน
(ค) ปลูกเชื้อโรครากขาวโดยใช้ชิ้นไม้ยางพารา

4. การแยกและคัดเลือกเชื้อปฏิปักษ์จากดิน

เก็บตัวอย่างดินในแปลงปลูกยางพารา จากจังหวัดกระบี่ ชุมพร ตรัง นครศรีธรรมราช พัทลุง พังงา ภูเก็ต ระนอง และสุราษฎร์ธานี จำนวน 64 ตัวอย่าง เพื่อแยกเชื้อรา และแบคทีเรียปฏิปักษ์ และทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ต่อ *R. microporus*

4.1 การแยกเชื้อราปฏิปักษ์

แยกเชื้อราปฏิปักษ์ต่าง ๆ ซึ่งอาจมีทั้งเชื้อราที่สามารถเจริญได้เร็วและเจริญช้าจากดินด้วยวิธี (1) soil plate technique (2) alcohol 70%+soil plate technique (3) heat treatment technique และ (4) dilution plate technique ด้วยอาหาร GANA (Glucose Ammonium Nitrate Agar)

4.2 การแยก *Streptomyces* spp.ปฏิปักษ์

แยกเชื้อ *Streptomyces* spp. โดยวิธี dilution plate technique ด้วยอาหาร GYM (Glucose Yeast extract Malt extract)

4.3 การแยกแบคทีเรียปฏิปักษ์

แยกแบคทีเรียปฏิปักษ์ด้วยวิธี dilution plate technique ด้วยอาหาร NA (Nutrient Agar)

4.4 ทดสอบการเป็นปฏิปักษ์

นำเชื้อบริสุทธิ์จากข้อ 4.1-4.3 มาทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ด้วยวิธี dual culture หาร้อยละการยับยั้งตามวิธีของ Gamliel และคณะ (1989) และคัดเลือกเฉพาะเชื้อที่มีประสิทธิภาพสามารถยับยั้ง *R. microporus* ได้ตั้งแต่ 85 เปอร์เซ็นต์เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

4.5 ศึกษาความสามารถในการเจริญในธัญพืชต่าง ๆ

นำจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ชนิดต่างๆ ที่มีประสิทธิภาพสามารถยับยั้ง *R. microporus* ได้ 85 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป มาศึกษาความสามารถในการเจริญในธัญพืชชนิดต่าง ๆ เพื่อเพิ่มปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ โดยเลี้ยงในข้าวฟ่าง ข้าวโพด ข้าวโอ๊ต รำข้าว เปรียบเทียบร้อยละการเจริญ เลือกธัญพืชที่เหมาะสมสำหรับเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ชนิด นั้น ๆ

5. การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. microporus* ในดินปลูก

ทำการทดลองโดยดัดแปลงจากวิธีการของ Fox (1977)

5.1 การเตรียมเชื้อ *R. microporus*

เลี้ยงเชื้อ *R. microporus* บนอาหาร PDA ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ที่บรรจุในหลอดทดสอบขนาด 2.5X16 เซนติเมตร บ่มไว้เป็นเวลา 5 วัน

5.2 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

เลี้ยงจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ประเภทเชื้อรา และ *Streptomyces* spp. ในธัญพืชที่เหมาะสมเป็นเวลา 15 วัน จากนั้นนำมาผสมในดินนึ่งฆ่าเชื้อในอัตราส่วน จุลินทรีย์ในธัญพืช : ดิน = 1 : 100 (กรัม : กรัม) ในกรณีที่เป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์ให้เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปรับให้ได้ความเข้มข้น 10^9 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร นำมาผสมกับดินนึ่งฆ่าเชื้อในอัตราส่วน 1 : 10 (มิลลิลิตร : กรัม)

5.3 การทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

นำดินผสมเชื้อจากข้อ 5.2 ปรับความชื้นให้ได้ 25 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 25 กรัม บรรจุหลอดในข้อ 5.1 ทำการทดสอบเชื้อละ 3 ซ้ำ ส่วนชุดควบคุมใส่ดินที่ไม่ผสมเชื้อ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน บันทึกผล โดยวัดความสูงของเส้นใยที่เจริญ และหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Gamliel และคณะ (1989)

6. การควบคุมโรครากขาวในสภาพเรือนทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยคัดเลือกจุลินทรีย์จากข้อ 5.3 ทำการทดสอบในยางพันธุ์ดั้งเดิม No.1 และ RRIM 600 อายุ 3 เดือนโดยเลือกวิธีปลูกเชื้อที่เหมาะสมจากข้อ 3 และจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จากข้อ 5.3 ซึ่งอาจเป็นเชื้อเดี่ยว ๆ หรือเชื้อผสมที่มีศักยภาพในการควบคุมโรค ปลูกเชื้อโรคพร้อมกับปลูกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ชุดควบคุมปลูกเชื้อโรคเพียงอย่างเดียว กรรมวิธีละ 20 ซ้ำ บันทึกการเปลี่ยนแปลงของราก ใบ และจำนวนต้นตายทุก 10 วัน ประเมินความรุนแรงตามวิธีที่ดัดแปลงจาก (Wattanasilakorn และคณะ (2012) วิเคราะห์ผลทางสถิติ

7. ศึกษาความต้านทานต่อโรครากขาวของยางพาราพันธุ์ดั้งเดิมจาก 15 แหล่งในสภาพเรือนทดลอง

ทำการทดสอบเช่นเดียวกับข้อ 6 โดยใช้พันธุ์ดั้งเดิมจากแหล่งต่างๆจำนวน 15 แหล่ง

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. เก็บตัวอย่าง การแยกเชื้อสาเหตุ และการจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุโรค

เก็บตัวอย่างรากและดอกเห็ดที่แสดงอาการโรครากขาวจากต้นยางพารา ในจังหวัดสงขลา ตรัง นครศรีธรรมราช ชุมพร สุราษฎร์ธานี กระบี่ และระนอง โดยเก็บตัวอย่างดอกเห็ดสีส้ม ขอบดอกมีสีขาว ลักษณะแผ่เป็นครึ่งวงกลม และเก็บตัวอย่างรากที่แสดงอาการโรค แยกเชื้อสาเหตุด้วยวิธี tissue transplanting และเขี่ยเส้นใยของเชื้อราโดยตรงจากบริเวณราก ซึ่งจากการทดลองแยกเชื้อทั้งสองวิธี พบว่าการแยกเชื้อจากดอกเห็ดมักมีการปนเปื้อนของแบคทีเรียโดยเฉพาะดอกเห็ดที่มีอายุมาก อาจเนื่องมาจากดอกเห็ดที่เก็บจากธรรมชาติมักเปียกชื้นด้วยน้ำฝนที่ซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อ ส่วนการเขี่ยเส้นใยของเชื้อราโดยตรงจากบริเวณรากนั้นพบว่ามีการปนเปื้อนของแบคทีเรียค่อนข้างน้อย และเมื่อนำเชื้อที่ที่แยกได้มาวางเลี้ยงบนอาหาร PDA พบว่าสามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้จำนวน 7 ไอโซเลท นำมาจำแนกชนิดโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อที่เจริญบนอาหาร PDA และภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเส้นใยเชื้อรามีลักษณะค่อนข้างหยาบ สีขาว ไม่ฟู แตกแขนง มีผนังกั้น และไม่มี clamp connection ซึ่งเป็นลักษณะที่ตรงกับเชื้อ *R. microporus* สาเหตุโรครากขาวของยางพารา ตามรายงานของ Stalpers (1978), Nandris และคณะ (1987) Corner (1987) และ Nunez และ Ryvarden (2001).

2. การทดสอบการเกิดโรค

เมื่อนำเชื้อที่แยกได้จากข้อ 1 มาเลี้ยงในถุงเห็ดแล้วนำไปปลูกเชื้อในกระถางของต้นกล้ายางพาราทั้งสองสายพันธุ์ ซึ่งหลังการปลูกเชื้อเป็นเวลา 1 เดือน พบว่าทั้ง 7 ไอโซเลทสามารถทำให้เกิดโรครากขาวได้ โดยกล้ายางบางต้นเริ่มแสดงอาการเหี่ยว ใบเหลือง ใบร่วง บางต้นมีอาการยืนต้นตาย เมื่อตรวจสอบที่โคนต้นและรากพบว่ามีเส้นใยของเชื้อราเจริญอยู่ โดย *R. microporus* ไอโซเลทที่ 2 สามารถก่อโรคได้รุนแรงที่สุดทั้งในกล้ายางพารา RRIM 600 และพันธุ์ดั้งเดิม ซึ่งมีค่าดัชนีการเกิดโรคเท่ากับ 54.17 และ 45.84 ตามลำดับดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ดัชนีการเกิดโรครากขาวในยางสายพันธุ์ RRIM 600 และพันธุ์ดั้งเดิม หลังการทดสอบเป็นเวลา3 เดือน

กรรมวิธี	ดัชนีการเกิดโรค
1.ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 +เชื้อ Rm1	29.17±4.17cde[1/]
2.ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 +เชื้อ Rm2	54.17±4.17a
3.ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 +เชื้อ Rm3	41.64±0.03abc
4.ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 +เชื้อ Rm4	16.67±8.34e
5.ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 +เชื้อ Rm5	25.00±0.00de
6.ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 +เชื้อ Rm6	45.84±4.17ab
7.ยางพาราพันธุ์ RRIM 600 +เชื้อ Rm7	45.84±4.17ab
8.ยางพาราพันธุ์ดั้งเดิม+เชื้อ Rm1	16.67±0.00e
9.ยางพาราพันธุ์ดั้งเดิม+เชื้อ Rm2	45.84±4.17ab
10.ยางพาราพันธุ์ดั้งเดิม+เชื้อ Rm3	33.33±0.00bcd
11.ยางพาราพันธุ์ดั้งเดิม+เชื้อ Rm4	33.34±8.34bcd
12.ยางพาราพันธุ์ดั้งเดิม+เชื้อ Rm5	20.84±4.17de
13.ยางพาราพันธุ์ดั้งเดิม+เชื้อ Rm6	25.00±0.00de
14.ยางพาราพันธุ์ดั้งเดิม+เชื้อ Rm7	33.33±0.00bcd
15.ยางพาราพันธุ์ RRIM 600	00.00±00.00f
16.ยางพาราพันธุ์ดั้งเดิม	00.00±00.00f
F-test	**
C.V. (%)	18.89

หมายเหตุ Rm = เชื้อสาเหตุโรครากขาว (*R. microporus*)

[1/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี Duncan's Mutiple Range Test

3. ศึกษาวิธีการปลูกเชื้อที่สะดวก และก่อโรคได้เร็ว เพื่อทดสอบความต้านทาน

ศึกษาวิธีการปลูกเชื้อที่สะดวก และก่อโรคได้เร็ว เพื่อใช้ในการทดสอบความต้านทาน โดยใช้สายพันธุ์ยาง วัสดุปลูก และ inoculums ที่แตกต่างกัน ดังวิธีการในข้อ 3 ผลการศึกษาพบว่ากล้ายางทั้งสองสายพันธุ์แสดงอาการโรคค่อนช้า ต้นยางเริ่มแสดงอาการใบเหลืองและต้นเริ่มโทรมหลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 5 เดือน กรรมวิธีที่ปลูกเชื้อด้วยก้อนเชื้อเห็ดทั้งก้อน ต้นยางแสดงอาการโรคทั้ง 2 สายพันธุ์ โดยพันธุ์ดั้งเดิมมีจำนวน 41.66 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่พันธุ์ RRIM 600 มีต้นตาย 8.33 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีที่ผสมมูลวัวพบว่ากรรมวิธีที่ใช้ก้อนเชื้อเห็ดทั้งก้อนในพันธุ์ดั้งเดิมปรากฏการตายของต้นยางพาราสูงที่สุดคิดเป็น 75 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากกรรมวิธีอื่นๆ และจากการตรวจผลหลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 12 เดือน พบต้นยางพาราตายเพิ่มมากขึ้น ซึ่งเห็นได้ชัดเจนในพันธุ์ RRIM 600 ในกรรมวิธีที่ใช้ก้อนเชื้อเห็ดทั้งก้อน และกรรมวิธีที่ใช้ก้อนเชื้อเห็ดทั้งก้อนผสมมูลวัว พบต้นตาย คิดเป็น 50 เปอร์เซ็นต์ และ 60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 3) กล่าวโดยสรุป จากการทดสอบเบื้องต้น ต้นยางพันธุ์ดั้งเดิมแสดงอาการโรครุนแรงกว่าพันธุ์ RRIM 600 ในช่วง 5 เดือนแรกหลังจากปลูกเชื้อ และหลังการปลูกเชื้อ 12 เดือน พบว่าต้นยางพาราพันธุ์ RRIM 600 มีจำนวนต้นตายเพิ่มขึ้นอย่างมาก แต่ไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนต้นตายของพันธุ์ดั้งเดิม กรรมวิธีที่ทำให้ต้นยางพาราตายจำนวนมาก คือ กรรมวิธีที่ปลูกเชื้อเห็ดทั้งก้อนและกรรมวิธีปลูกเชื้อเห็ดทั้งก้อนผสมมูลวัว โดยก่อให้เกิดอาการโรครุนแรงในทั้ง 2 สายพันธุ์ (ตารางที่ 2 และ 3, ภาพที่ 2) ทั้งนี้เนื่องจากการใช้ก้อนเห็ดทั้งก้อนนั้นมีปริมาณเชื้อรากขาวอยู่มาก จึงทำให้สามารถก่อโรคได้รุนแรงกว่าการใช้ก้อนเชื้อเพียงครึ่งก้อน และการที่ผสมมูลวัวในวัสดุปลูกแล้วส่งเสริมให้เกิดโรครุนแรงขึ้นนั้น เนื่องมาจากธาตุอาหารต่างๆ ที่มีอยู่ในมูลวัว เช่น ไนโตรเจน และคาร์บอนที่ผสมอยู่ในมูลวัว จะมีส่วนช่วยส่งเสริมการเจริญของเชื้อราได้ ซึ่งจากการทดสอบย้อนหลังโดยเลี้ยงเชื้อ *R. microporus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมมูลวัว 1 เปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบกับการเลี้ยงเชื้อในอาหาร PDA อย่างเดียว พบว่าการเลี้ยงเชื้อรา *R. microporus* ในอาหาร PDA ที่ผสมมูลวัว ส่งผลเชื้อราเจริญได้รวดเร็วกว่าการเลี้ยงในอาหาร PDA อย่างเดียว

ตารางที่ 2 ดัชนีการเกิดโรคของโรครากขาวบนต้นยางพาราหลังการปลูกเชื้อ *Rigidoporus microporus* ด้วยกรรมวิธีต่างๆ เป็นเวลา 5 เดือน

กรรมวิธี	จำนวนต้นตาย	ดัชนีการเกิดโรค (%)[1/]
1. ชุดควบคุม RRIM 600	-	0.00a[2/]
2. ชุดควบคุม RRIM 600 + มูลวัว	-	0.00a
3. RRIM 600+M	1	8.33a
4. RRIM 600+M+มูลวัว	3	25.00ab
5. RRIM 600+1/2M	-	0.00a
6. RRIM 600+1/2M+มูลวัว	-	0.00a
7. RRIM 600+W	-	0.00a
8. RRIM 600+W+มูลวัว	-	0.00a
9. ชุดควบคุมพันธุ์ดั้งเดิม	-	0.00a
10.ชุดควบคุม พันธุ์ดั้งเดิม+มูลวัว	-	0.00a
11.พันธุ์ดั้งเดิม+M	5	41.66b
12. พันธุ์ดั้งเดิม+M+มูลวัว	9	75.00c
13. พันธุ์ดั้งเดิม+1/2M	5	41.66b
14. พันธุ์ดั้งเดิม+1/2M+มูลวัว	2	16.67ab
15. พันธุ์ดั้งเดิม+W	-	0.00a
16. พันธุ์ดั้งเดิม+W+มูลวัว	2	16.67ab

[1/] ดัชนีการเกิดโรค (Disease incident) = $\frac{\text{จำนวนต้นยางพาราที่แสดงอาการของโรค}}{\text{จำนวนต้นยางพาราทั้งหมดที่ทดสอบ}}$ x100

[2/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี Duncan's Mutiple Range Test

หมายเหตุ M หมายถึง ปลูกเชื้อด้วยก้อนเชื้อเห็ดทั้งก้อน

1/2M หมายถึง ปลูกเชื้อด้วยก้อนเชื้อเห็ดครึ่งก้อน

W หมายถึง ปลูกเชื้อด้วยชิ้นไม้

ตารางที่ 3 ดัชนีการเกิดโรคของโรครากขาวบนต้นยางพาราหลังการปลูกเชื้อ *Rigidoporus microporus* ด้วยกรรมวิธีต่างๆ เวลา 12 เดือน

กรรมวิธี	จำนวนต้นตาย	ดัชนีการเกิดโรค (%)[1/]
1. ชุดควบคุม RRIM 600	-	0.00a[2/]
2. ชุดควบคุม RRIM 600 + มูลวัว	-	0.00a
3. RRIM 600+M	6	50.00cde
4. RRIM 600+M+มูลวัว	8	66.66de
5. RRIM 600+1/2M	1	8.33ab
6. RRIM 600+1/2M+มูลวัว	-	0.00a
7. RRIM 600+W	-	0.00a
8. RRIM 600+W+มูลวัว	-	0.00a
9. ชุดควบคุมพันธุ์ดั้งเดิม	-	0.00a
10.ชุดควบคุม พันธุ์ดั้งเดิม+มูลวัว	-	0.00a
11.พันธุ์ดั้งเดิม+M	5	41.66cd
12. พันธุ์ดั้งเดิม+M+มูลวัว	9	75.00e
13. พันธุ์ดั้งเดิม+1/2M	5	41.66b
14. พันธุ์ดั้งเดิม+1/2M+มูลวัว	4	33.33bc
15. พันธุ์ดั้งเดิม+W	-	0.00a
16. พันธุ์ดั้งเดิม+W+มูลวัว	6	50.00ced

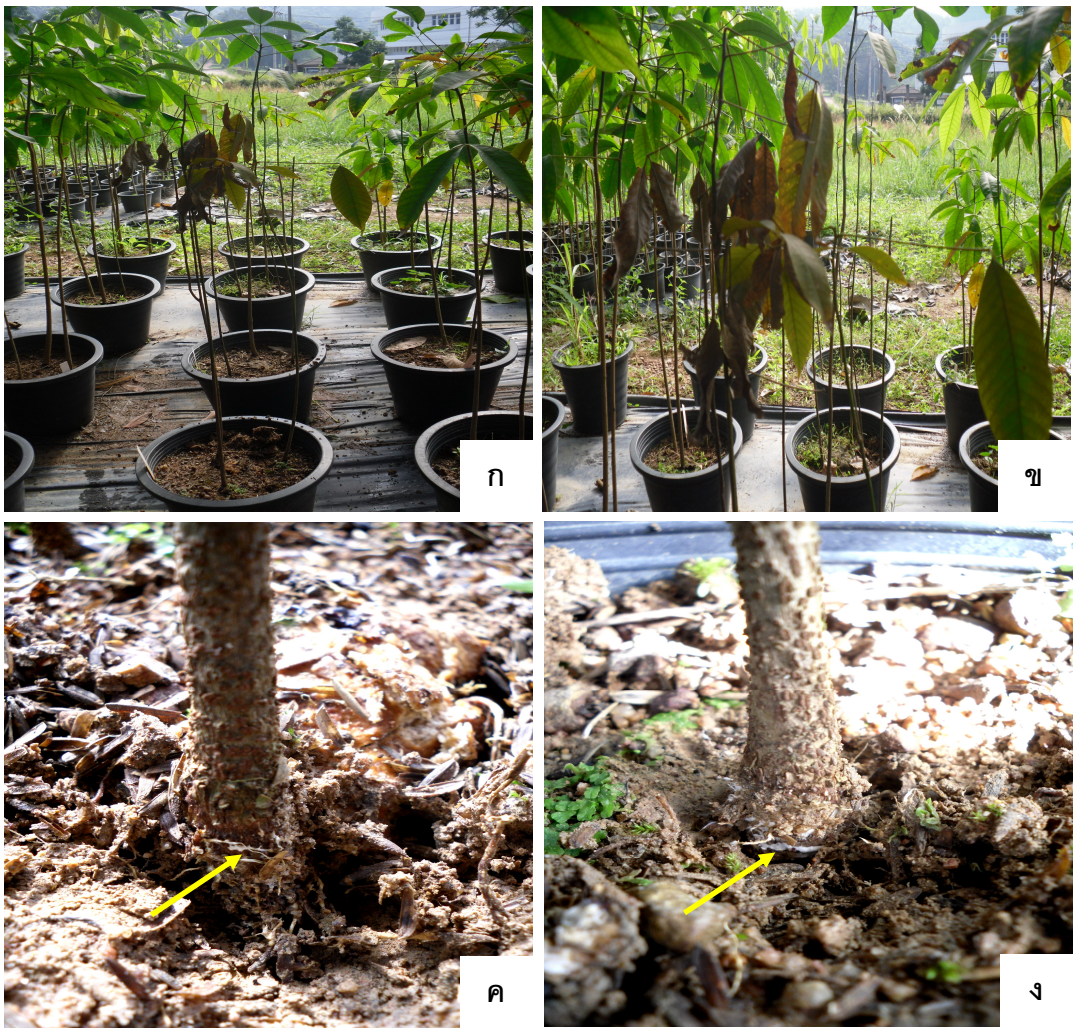
[1/] ดัชนีการเกิดโรค (Disease incident) = $\frac{\text{จำนวนต้นยางพาราที่แสดงอาการของโรค}}{\text{จำนวนต้นยางพาราทั้งหมดที่ทดสอบ}}$ x100

[2/] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี Duncan's Mutiple Range Test

หมายเหตุ M หมายถึง ปลูกเชื้อด้วยก้อนเชื้อเห็ดทั้งก้อน

1/2M หมายถึง ปลูกเชื้อด้วยก้อนเชื้อเห็ดครึ่งก้อน

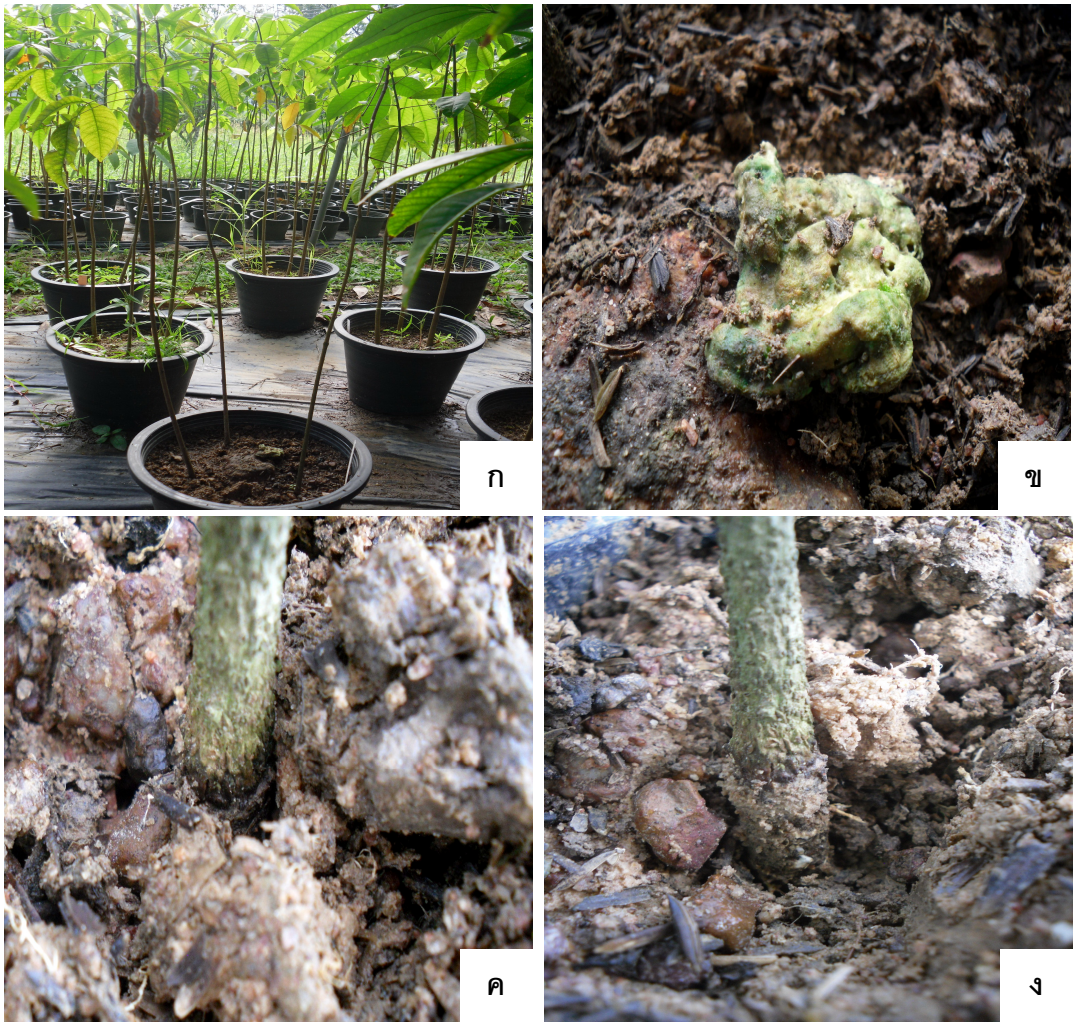
W หมายถึง ปลูกเชื้อด้วยชิ้นไม้



ภาพที่ 2 อาการของโรครากขาวในยางพาราพันธุ์ดั้งเดิม จากการปลูกเชื้อด้วยกรรมวิธีที่ใช้ก้อนเชื้อเห็ดทั้งก้อนในดินปลูกผสมมูลวัว

(ก)-(ข) ต้นยางพาราใบเหลือง ต้นโทรม ใบร่วง

(ค)-(ง) บริเวณโคนต้นยางพาราพบเส้นใยเชื้อรารากขาวและโคนต้นปริแตก



ภาพที่ 3 อาการของโรครากขาวในยางพาราพันธุ์ RRIM 600 ดั้งเดิม จากการปลูกเชื้อด้วยกรรมวิธีที่ใช้ก้อนเชื้อเห็ดทั้งก้อนในดินปลูกผสมมูลวัว

(ก) ต้นยางพาราใบเหลือง ต้นโทรม ใบร่วง

(ข) เส้นใยเชื้อรารากขาวฟอร์มดอกเห็ด

(ค)-(ง) บริเวณโคนต้นยางพาราพบเส้นใยเชื้อรารากขาวและโคนต้นปริแตก

4. การแยกและคัดเลือกเชื้อปฏิปักษ์จากดิน

4.1 การแยกเชื้อจุลินทรีย์จากตัวอย่างดิน

เก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกยางพาราในจังหวัดกระบี่ ชุมพร ตรัง นครศรีธรรมราช พัทลุง พังงา ภูเก็ต ระนอง และสุราษฎร์ธานี จำนวน 64 ตัวอย่าง นำมาแยกเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี spread plate แยกตัวอย่างเชื้อ *Streptomyces* spp. โดยใช้อาหาร GYM (Glucose Yeast extract Malt extract) ได้ตัวอย่างเชื้อ *Streptomyces* spp. จำนวน 263 ไอโซเลท แยกตัวอย่างเชื้อราโดยใช้อาหาร GANA (Glucose Ammonium Nitrate Agar) และ อาหาร PDA (Potato Dextrose Agar) ได้ตัวอย่างเชื้อรา 169 ไอโซเลท และแยกเชื้อแบคทีเรียด้วยอาหาร NA (Nitrate Agar) ได้แบคทีเรียจำนวน 62 ไอโซเลท (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 สถานที่เก็บตัวอย่างดิน จำนวนตัวอย่างดินและจำนวนไอโซเลทของเชื้อที่แยกได้จากตัวอย่างดิน

สถานที่เก็บตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่างดิน	จำนวนไอโซเลทเชื้อ		
		Streptomyces spp.	เชื้อรา	เชื้อแบคทีเรีย
จ.กระบี่				
อ.คลองท่อม	1	5	3	2
อ.เมือง	2	16	8	1
อ.อ่าวลึก	5	16	12	-
จ.ชุมพร				
อ.พะโต๊ะ	2	9	5	3
อ.เมือง	2	9	7	-
อ.ละแม	2	7	3	1
อ.หลังสวน	1	4	2	2
จ.ตรัง				
อ.นาโยง	1	4	2	4
อ.เมือง	1	5	5	2
อ.สิเกา	1	5	1	1
จ.นครศรีธรรมราช				
อ.จุฬาภรณ์	1	5	5	1
อ.ชะอวด	1	3	2	2
อ.เชียรใหญ่	2	6	4	-
อ.ทุ่งสง	3	14	4	-
อ.ทุ่งใหญ่	2	8	5	3
อ.นาบอน	1	5	3	2
อ.ปากพนัง	2	8	6	2
อ.พรหมคีรี	1	3	3	1
อ.ลานสกา	2	7	7	3

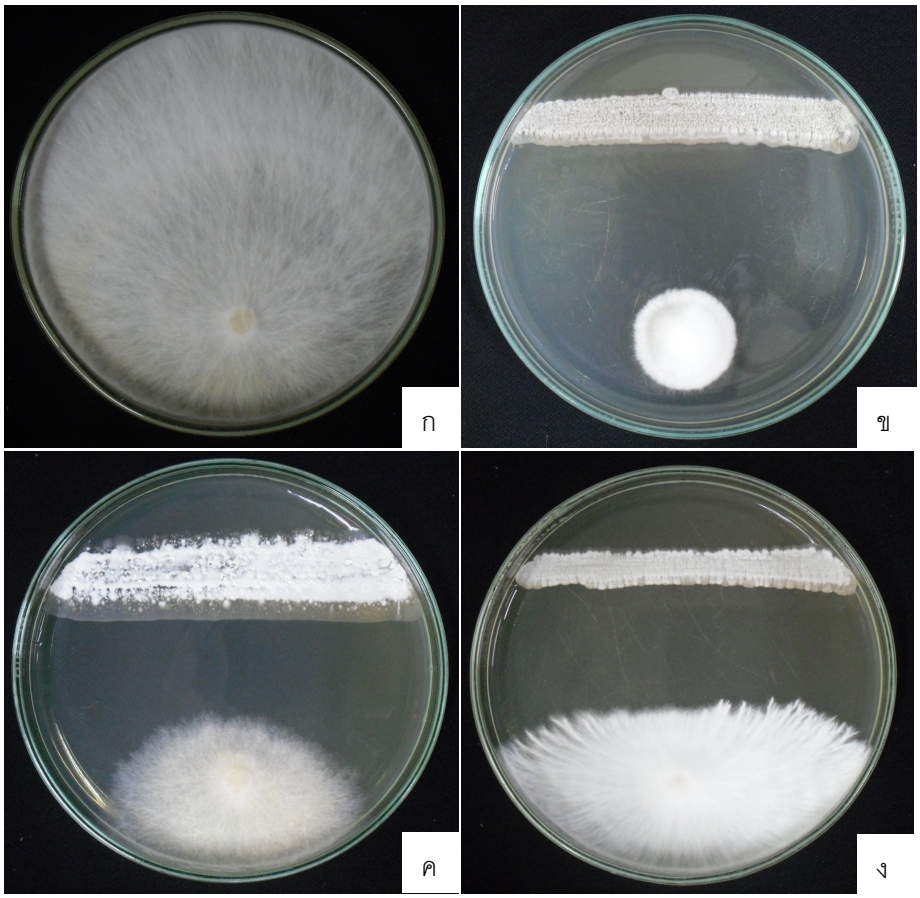
ตารางที่ 4 (ต่อ)

สถานที่เก็บตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง	จำนวนไอโซเลทเชื้อ		
		Streptomyces spp.	เชื้อรา	เชื้อแบคทีเรีย
จ.พัทลุง				
อ.บางแก้ว	1	5	3	-
อ.ป่าบอน	1	9	2	3
อ.เมือง	1	5	1	2
จ.พังงา				
อ.ตะกั่วทุ่ง	2	2	5	2
อ.ทับปุด	1	7	2	3
อ.เมือง	1	5	2	1
จ.ภูเก็ต				
อ.กะทู้	2	4	8	-
อ.ถลาง	2	7	3	3
อ.เมือง	2	3	7	3
จ.ระนอง				
อ.กระบุรี	4	16	17	2
อ.เมือง	2	7	3	-
จ.สุราษฎร์ธานี				
อ.กาญจนดิษฐ์	3	10	11	2
อ.ท่าชนะ	2	9	3	3
อ.บ้านนาเดิม	3	15	9	4
อ.พระแสง	1	5	1	2
อ.เมือง	1	3	3	1
อ.เวียงสระ	2	12	2	1
รวม	64	263	169	62

4.2 การคัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรครากขาว

4.2.1 การคัดเลือกเชื้อปฏิปักษ์ *Streptomyces* spp. ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรครากขาว

เมื่อนำเชื้อ *Streptomyces* spp. ที่แยกได้จากข้อ 4.1 มาทดสอบทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* ด้วยวิธี dual culture พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 0.00- 87.14 เปอร์เซ็นต์ และมีเพียง 43 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. microporus* ได้ โดยไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งได้ดีที่สุดคือ ไอโซเลทที่ 10 รองลงมาคือ ไอโซเลทที่ 71 และ ไอโซเลทที่ 25 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 87.14, 81.90 และ80.52 มีเปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 4 และ ตารางที่ 5) คัดเลือกเชื้อ *Streptomyces* spp. ไอโซเลทที่ 10 เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป



ภาพที่ 4 ประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rigidoporus microporus*

ก) กรรมวิธีควบคุม

ข) *Streptomyces* spp. ไอโซเลท 10

ค) *Streptomyces* spp. ไอโซเลท 71

ง) *Streptomyces* spp. ไอโซเลท 25

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Rigidoporus microporus* โดยเชื้อ *Streptomyces* spp.

ลำดับที่	ไอโซเลทเชื้อ	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ *R. microporus*
1	10	87.14
2	71	81.90
3	25	80.52
4	246	76.67
5	196	75.24
6	64	71.90
7	27	70.95
8	104	63.33
9	87	62.86
10	110	60.48
11	12	56.19
12	95	56.19
13	26	55.71
14	114	54.76
15	11	54.76
16	55	52.38
17	98	51.90
18	184	49.52
19	129	49.05
20	166	48.57
21	109	45.71
22	93	44.76
23	111	42.86

ตารางที่ 5 (ต่อ)

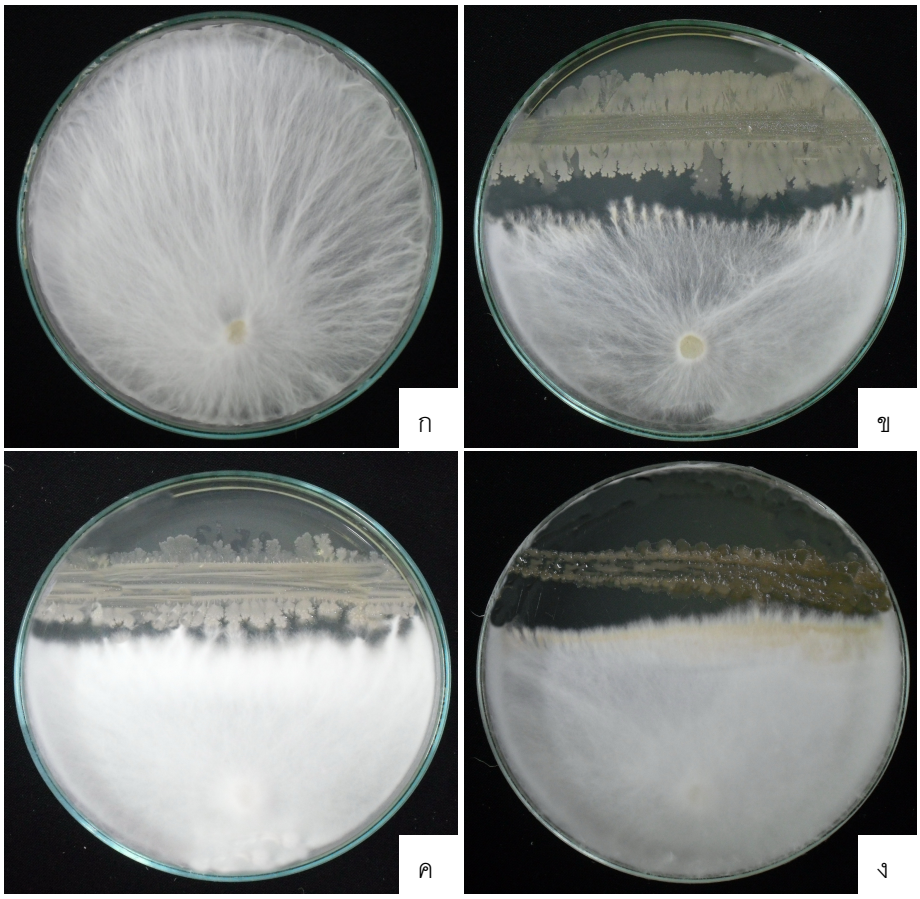
ลำดับที่	ไอโซเลทเชื้อ	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ *R. microporus* [1/]
24	24	41.43
25	145	40.95
26	152	40.00
27	150	38.10
28	4	37.14
29	9	28.57
30	139	28.57
31	192	28.57
32	231	28.57
33	251	28.57
34	206	28.57
35	146	28.57
36	124	28.57
37	247	28.57
38	31	28.57
39	46	28.57
40	61	28.57
41	48	28.57
42	62	28.57
43	69	28.57

[1/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* โดยเชื้อ *Streptomyces* spp.ที่แยกได้จากตัวอย่างดิน คำนวณจาก

$$\left[\frac{\text{รัศมีโคโลนีเชื้อ } R.\ microporus \text{ กรรมวิธีควบคุม} - \text{รัศมีโคโลนีเชื้อ } R.\ microporus \text{ กรรมวิธีทดสอบ}}{\text{รัศมีโคโลนีเชื้อ } R.\ microporus \text{ กรรมวิธีควบคุม}} \times 100\right]$$

4.2.2 การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราโรครากขาว *R. microporus*

เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากข้อ 4.1 มาทดสอบทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* ด้วยวิธี dual culture พบว่ามีแบคทีเรียเพียง 7 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* ได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 0.00-58.57 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 5 และ ตารางที่ 6) ซึ่งเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่ค่อนข้างต่ำ จึงไม่นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่คัดเลือกได้นี้ไปใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป



ภาพที่ 5 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียในการยับยั้งของเชื้อรา *Rigidoporus microporus*

ก) กรรมวิธีควบคุม

ข) เชื้อแบคทีเรีย ไอโซเลท 18

ค) เชื้อแบคทีเรีย ไอโซเลท 15

ง) เชื้อแบคทีเรีย ไอโซเลท 12

ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rigidoporus microporus* โดยเชื้อแบคทีเรีย

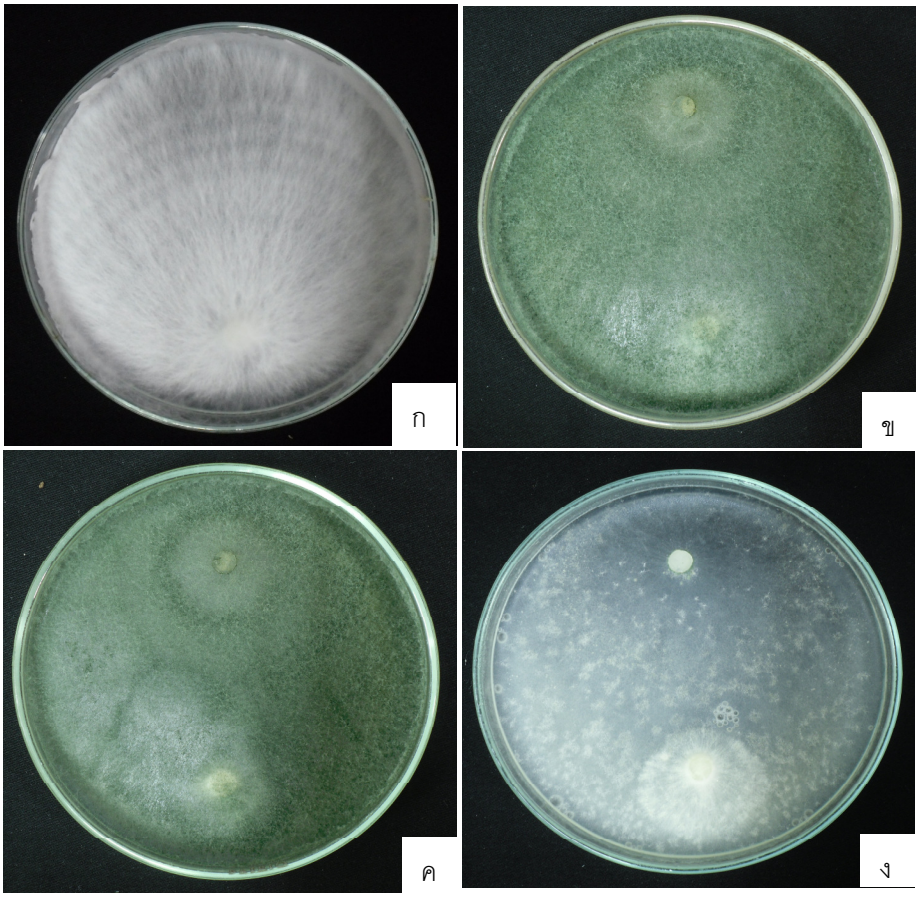
ลำดับที่	ไอโซเลทเชื้อ	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ *R. microporus* [1/]
1	18	58.57
2	15	47.14
3	12	44.29
4	13	32.86
5	8	18.57
6	31	17.14
7	32	10.00

[1/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* โดยเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากตัวอย่างดิน คำนวณจาก

$$\left[\frac{\text{รัศมีโคโลนีเชื้อ } R.\ microporus \text{ กรรมวิธีควบคุม - รัศมีโคโลนีเชื้อ } R.\ microporus \text{ กรรมวิธีทดสอบ}}{\text{รัศมีโคโลนีเชื้อ } R.\ microporus \text{ กรรมวิธีควบคุม}} \times 100 \right]$$

4.2.3 การคัดเลือกเชื้อราปฏิปักษ์ ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราโรครากขาว *R. microporus*

จากการนำเชื้อราที่คัดเลือกได้จำนวน 169 ไอโซเลท มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* ด้วยวิธี dual culture พบว่าเชื้อราไอโซเลท 142, 132 และ 112 สามารถยับยั้ง *R. microporus* ได้ดี โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 92.38, 90.48 และ 88.57 ตามลำดับ (ภาพที่ 6 และ ตารางที่ 7) คัดเลือกเชื้อราไอโซเลทเหล่านี้ใช้ในการทดลองต่อไป



ภาพที่ 6 ประสิทธิภาพของเชื้อราในการยับยั้งของเชื้อรา *Rigidoporus microporus*

ก) กรรมวิธีควบคุม

ข) เชื้อรา ไอโซเลท 142

ค) เชื้อรา ไอโซเลท 132

ง) เชื้อรา ไอโซเลท 112

ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rigidoporus microporus* โดยเชื้อรา

ลำดับที่	ไอโซเลทเชื้อ	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ *R. microporus*[1/2/]
1	142	92.38
2	132	90.48
3	112	88.57
4	162	87.62
5	124	87.14
6	113	87.14
7	114	86.67
8	161	85.71
9	163	85.71
10	166	85.24
11	125	85.24
12	167	84.76
13	168	84.76
14	126	84.76
15	91	84.29
16	93	84.29
17	111	83.33
18	160	81.90
19	169	81.43

ตารางที่ 7 (ต่อ)

ลำดับที่	ไอโซเลทเชื้อ	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ *R. microporus* [1/2/]
20	92	81.43
21	71	80.48
22	72	79.52
23	81	78.10
24	121	77.14
25	122	74.76
26	73	71.43
27	143	70.00
28	12	67.14
29	131	66.67
30	10	62.86
31	11	62.38
32	14	59.52
33	16	57.14
34	62	57.14
35	63	57.14
36	82	57.14
37	23	57.14
38	22	56.67
39	13	56.19
40	144	54.76
41	55	52.38

ตารางที่ 7 (ต่อ)

ลำดับที่	ไอโซเลทเชื้อ	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ *R. microporus* [1/2/]
42	21	51.90
43	61	50.00
44	42	50.00
45	32	50.00
46	54	38.10
47	101	16.67

[1/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* โดยเชื้อแบคที่เรียที่แยกได้จากตัวอย่างดิน คำนวณจาก

$$\left[\frac{\text{รัศมีโคโลนีเชื้อ } R.\ microporus \text{ กรรมวิธีควบคุม - รัศมีโคโลนีเชื้อ } R.\ microporus \text{ กรรมวิธีทดสอบ} \times 100}{\text{รัศมีโคโลนีเชื้อ } R.\ microporus \text{ กรรมวิธีควบคุม}} \right]$$

จากการคัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ชนิด เชื้อรา แบคทีเรีย และ *Streptomyces* spp. ที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรครากขาว พบว่าสามารถคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งเชื้อ *R. microporus* ได้ 4 ไอโซเลท โดยเป็นเชื้อ *Streptomyces* sp. 1 ไอโซเลท (S10) และเป็นเชื้อรา *Trichoderma* spp. 3 ไอโซเลท (T112, T132 และ T142) โดยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 2 ชนิด มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* แตกต่างกัน กล่าวคือเชื้อปฏิปักษ์ *Streptomyces* sp. S10 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. microporus* ในลักษณะของการเกิดบริเวณยับยั้งระหว่าง *Streptomyces* sp. S10 กับเชื้อราสาเหตุ แตกต่างจากชุดควบคุมอย่างชัดเจน โดยเชื้อได้ปลดปล่อยสารที่มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อรา และแพร่ซึมเข้าไปในอาหารเลี้ยง ทำให้เชื้อราไม่สามารถเจริญผ่านไปได้ (Pridham and Tresner, 1974) ส่วนเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. ทั้ง 3 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. microporus* ในลักษณะของการเจริญคลุมทับ ทำให้เชื้อรารากขาวไม่สามารถเจริญต่อไปได้ ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อรา *Trichoderma* spp. เป็นเชื้อราที่สามารถเจริญได้รวดเร็ว และมีความสามารถในการแก่งแย่งแข่งขันทางด้านพื้นที่ และสารอาหาร (Danielson and Davey, 1976) ทำให้สามารถตั้งรกรากครอบครองพื้นที่ ได้ดีกว่าเชื้อสาเหตุโรค

4.3 การทดสอบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บนธัญพืชชนิดต่าง ๆ

นำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่คัดเลือกได้จำนวน 4 ไอโซเลท (*Streptomyces* sp. S10, *Trichoderma* sp.T112, *Trichoderma* sp.T132 และ *Trichoderma* sp.T142) มาศึกษาการเจริญบนธัญพืชชนิดต่าง ๆ โดยเลี้ยงในข้าวฟ่าง ข้าวโพด ข้าวโอ๊ต และรำ เปรียบเทียบร้อยละการเจริญ และตรวจนับประชากรของเชื้อเพื่อคัดเลือกธัญพืชที่เหมาะสม สำหรับการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ชนิดนั้นๆ พบว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. S10 เจริญได้ดีที่สุดในข้าวฟ่าง โดยมีจำนวนประชากรของเชื้อเท่ากับ 2.82 x 10^8 cfu/g แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการเจริญบนธัญพืชชนิดอื่น ส่วนการเจริญของเชื้อปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. พบว่าไอโซเลท T112 เจริญได้ดีที่สุดในข้าวโอ๊ต T132 เจริญได้ดีที่สุดในข้าวโพด และT142 เจริญได้ดีที่สุดในข้าวฟ่าง โดยมีจำนวนประชากรของเชื้อเท่ากับ 7.17x10^8cfu/g, 12.83 x 10^8 cfu/g และ 14.20 x 10^8 cfu/g ตามลำดับ (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 จำนวนประชากรของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่เจริญบนธัญพืชชนิดต่างๆหลังจากเลี้ยงไว้ 7 วัน

ชนิดธัญพืช	จำนวนประชากรของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (x 10^8 ± SE)(cfu/g)			
	Streptomyces sp. S10	*Trichoderma* sp. T112	*Trichoderma* sp. T132	*Trichoderma* sp. T142
รำข้าว	2.18±0.72a[1/]	6.87±0.51a	0.73±0.21d	13.02±0.12a
ข้าวโพด	2.50±0.19a	1.58±0.09c	12.83±0.36a	13.68±0.61a
ข้าวโอ๊ต	2.22±0.22a	7.17±0.17a	2.98±0.16c	2.93±0.22b
ข้าวฟ่าง	2.82±0.36a	2.88±0.26b	5.87±0.16b	14.20±0.39a
C.V. (%)	30.97	11.28	7.31	6.05

[1/]ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี Duncan's Mutiple Range Test

5. การทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. microporus* ในดินปลูกในหลอดทดลอง

ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces* sp. S10, *Trichoderma* sp.T112, *Trichoderma* sp.T132 และ *Trichoderma* sp.T142 ที่เลี้ยงในธัญพืชที่เหมาะสมกับจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ชนิดนั้นๆ ได้แก่ ข้าวฟ่าง รำ ข้าวโพด และข้าวฟ่าง ในการยับยั้งเชื้อ *R. microporus* ในดินปลูกในหลอดทดลองขนาด 2.5X16 เซนติเมตร โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Fox (1977) หาเปอร์เซ็นต์การเจริญของเชื้อ *R. microporus* โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Gamliel และคณะ (1989) ผลการทดลองพบว่า เชื้อรา *R. microporus* เจริญได้น้อยมากเมื่อเลี้ยงในดินที่ผสมด้วยเชื้อปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. T142 และ *Streptomyces* sp. S10 โดยมีเปอร์เซ็นต์การเจริญเท่ากับ 1.85 และ 2.22 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ภาพที่ 10) แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ตารางที่ 9) จากผลการทดสอบดังกล่าวจึงคัดเลือกเชื้อปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp.T142 สำหรับใช้ในการทดสอบการควบคุมโรครากขาวในสภาพเรือนทดลอง พร้อมทั้งจำแนกชนิดของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp.T142

ตารางที่ 9 เปอร์เซ็นต์การเจริญของเชื้อ *Rigidoporus microporus* ในดินปลูกที่ผสมเชื้อปฏิปักษ์ในหลอดทดลอง หลังจากบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การเจริญของ *Rigidoporus microporus*
Streptomyces sp.S10 +ข้าวฟ่าง	2.22 ± 0.00 a[1/]
Trichoderma sp.T112 +รำ	11.48 ± 0.98 b
Trichoderma sp.T132 +ข้าวโพด	10.37 ± 0.74 b
Trichoderma sp.T142 + ข้าวฟ่าง	1.85 ± 0.37 a
ชุดควบคุม	100.00 ± 0.00 c
C.V. (%)	17.15

[1/]ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธี Duncan's Mutiple Range Test

ภาพที่ 7 การเจริญของเชื้อ *Rigidoporus microporus* ในดินปลูกที่ผสมเชื้อปฏิปักษ์ในหลอดทดลอง

6. จำแนกชนิดเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. T142

จำแนกชนิดของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. T142 ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. microporus* ในดินปลูกในหลอดทดลองดีที่สุดและจะใช้ในการทดสอบการควบคุมโรครากขาวในเรือนทดลอง มาจำแนกชนิดโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล โดยใช้ primer ITS4 และ ITS5 (White *et al.*, 1990) (ITS4R 5’ TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC 3’ และ ITS5F 5’ GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG 3’) ในการเพิ่มปริมาณ DNA และใช้ partial 18S rRNA sequence analysis ในการจำแนกชนิด พบว่า *Trichoderma* sp. ไอโซเลท T142 ตรงกับ accession number KC898194.1 ซึ่งจำแนกชนิดได้เป็น *T. asperellum* โดยมีความเหมือนกัน 86 เปอร์เซ็นต์

7. การควบคุมโรครากขาวในสภาพเรือนทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดสอบในยางพันธุ์ดั้งเดิม No.1 และ RRIM 600 อายุ 3 เดือน โดยเลือกวิธีปลูกเชื้อที่เหมาะสมจากข้อ 2 และจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จากข้อ 5 ปลูกเชื้อโรคพร้อมกับปลูกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ส่วนชุดควบคุมปลูกเชื้อโรคเพียงอย่างเดียว ทดสอบกรรมวิธีละ 20 ซ้ำ พบว่า สายพันธุ์ดั้งเดิม No.1 มีดัชนีการเกิดโรคน้อยกว่าสายพันธุ์ RRIM 600 และเมื่อเปรียบเทียบการใช้เชื้อราปฏิปักษ์ *T. asperellum* กับการใช้สารกำจัดเชื้อราคาร์บอกซินในการควบคุมโรค พบว่าให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ภาพที่ 8, 9 และตารางที่ 10)

ดังนั้นเชื้อราปฏิปักษ์ *T. asperellum* จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ดีสำหรับการควบคุมโรครากขาว เนื่องจากลดการเกิดโรคได้ไม่แตกต่างจากสารเคมีคาร์บอกซิน เจริญได้เร็ว ครอบครองพื้นที่และตั้งรกรากในดินปลูกได้ดี จึงควรมีการศึกษาการควบคุมในแปลงทดลองต่อไป พร้อมทั้งศึกษาการผลิตสูตรสำเร็จเพื่อใช้ในเชิงพานิชต่อไป

ภาพที่ 8 พุ่มใบและรากของต้นยางพาราพันธุ์ 600 หลังทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma asperellum* และ สารกำจัดเชื้อราคาร์บอกซินต่อการยับยั้งเชื้อรา *Rigidoporus microporus* สาเหตุโรครากขาวของยางพาราในเรือนกระจก หลังการปลูกเชื้อ เป็นเวลา 4 เดือน

ก 1 และ ก 2 กรรมวิธีที่ 1 *Trichoderma* sp. 142 +ต้นกล้ายาง+*R. microporus*

ข 1 และ ข 2 กรรมวิธีที่ 2 ดิน+สารกำจัดเชื้อราคาร์บอกซิน+ต้นกล้ายาง+*R. microporus*

ค 1 และ ค 2 กรรมวิธีที่ 3 ดิน+ ต้นกล้ายาง+*R. microporus*

ง 1 และ ง 2 กรรมวิธีที่ 4 ดิน+ต้นกล้ายาง

ภาพที่ 9 พุ่มใบและรากของต้นยางพาราพันธุ์ดั้งเดิม No1 หลังการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma asperellum* และ สารกำจัดเชื้อราคาร์บอกซินต่อการยับยั้งเชื้อรา *Rigidoporus microporus* สาเหตุโรครากขาวของยางพาราในเรือนกระจก หลังการปลูกเชื้อ เป็นเวลา 4 เดือน

ก 1 และ ก 2 กรรมวิธีที่ 1 *Trichoderma* sp. 142 +ต้นกล้ายาง+*R. microporus*

ข 1 และ ข 2 กรรมวิธีที่ 2 ดิน+สารกำจัดเชื้อราคาร์บอกซิน+ต้นกล้ายาง+*R. microporus*

ค 1 และ ค 2 กรรมวิธีที่ 3 ดิน+ ต้นกล้ายาง+*R. microporus*

ง 1 และ ง 2 กรรมวิธีที่ 4 ดิน+ต้นกล้ายาง

ตารางที่ 10 ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma asperellum* ในการควบคุมโรครากขาวของต้นกล้ายางพาราพันธุ์ 600 และดั้งเดิม No.1 ในเรือนทดลอง หลังการปลูกเชื้อ เป็นเวลา 4 เดือน

พันธุ์ยางพารา	กรรมวิธี	ดัชนีการเกิดโรค	เปอร์เซ็นต์ลดการเกิดโรค
RRIM 600	ดิน+เชื้อรา *T. asperellum* ต้นกล้ายาง+*R. microporus*	25.0000±12.23464bc	76.5810±10.59432a
RRIM 600	ดิน+สารกำจัดเชื้อราคาร์บอกซิน+ต้นกล้ายาง+เชื้อรา *R. microporus*	23.3330±12.4720bc	79.0480±10.81679a
RRIM 600	ดิน+ต้นกล้ายาง+เชื้อรา *R. microporus*	70.8340±6.94427a	0.00±0.00
RRIM 600	ดิน+ต้นกล้ายาง	0.00±0.00	0.00±0.00
ดั้งเดิม No.1	ดิน+เชื้อรา *T. asperellum* ต้นกล้ายาง+*R. microporus*	19.9778±4.91245cd	81.9156±10.23366a
ดั้งเดิม No.1	ดิน+สารกำจัดเชื้อราคาร์บอกซิน+ต้นกล้ายาง+เชื้อรา *R. microporus*	16.6667±3.79517cd	86.0691±5.63826a
ดั้งเดิม No.1	ดิน+ต้นกล้ายาง+เชื้อรา *R. microporus*	42.2231±5.69007a	0.00±0.00
ดั้งเดิม No.1	ดิน+ต้นกล้ายาง	0.00±0.00	0.00±0.00
	F-test	**	**
	C.V. (%)	28.40	26.22

8. ศึกษาความต้านทานต่อโรครากขาวของยางพาราสายพันธุ์ต่าง ๆ ในสภาพเรือนทดลอง

ทำการทดสอบเช่นเดียวกับข้อ 6 โดยใช้กล้ายางพาราพันธุ์ดั้งเดิมจาก 15 แหล่ง ซึ่งได้จากการรวบรวมและศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของโครงการย่อยที่ 1 เพื่อใช้เป็นต้นตอในการควบคุมโรครากขาวของยางพารา (ตารางที่ 11) โดยทดสอบในกระถาง ผลการทดสอบการเกิดโรคพบว่ากล้ายางพาราพันธุ์ดั้งเดิมจาก 15 แหล่ง มีดัชนีการเกิดโรคที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 12 และ ภาพที่ 12)

ตารางที่ 11 แหล่งเก็บเมล็ดยางพารา

แหล่งที่	สถานที่เก็บ
1	นายสายัณห์ คงชนะ 40 หมู่ 5 ต. โคกม่วง อ. คลองหอยโข่ง จ. สงขลา
2	สถานีวิจัยคลองหอยโข่ง คณะทรัพย์ มอ. ต. คลองหอยโข่ง อ. คลองหอยโข่ง จ. สงขลา
3	นายสาริ หมู่ 11 บ้านบาโรย ต. ปาดังเบซาร์ อ. สะเดา จ. สงขลา
4	นางส่ง 90/3 ม.7 บ้านทุ่งไม้ด้วน ต.ปาดังเบซาร์ จ. สงขลา
5	นายชุฟ บ้านทุ่งไม้ด้าน หมู่ 7 บ้านทุ่งไม้ด้วน ต.ปาดังเบซาร์ จ. สงขลา
6	นายประสิทธิ์ ทองเสนอ เลขที่ 47 ม. 5 ต.โคกม่วง อ. คลองหอยโข่ง
7	นายหมะ บ้านหัวเตา หมู่ 7 ต. คูหา อ. สะบ้าย้อย จ. สงขลา
8	นางสาวฮัสน๊ะ สะและโฮะ 27/2 ม.8 บ้านตะโล๊ะ ต. ปาดังเบซาร์ อ. สะเดา จ.สงขลา
9	นายโทร ม. 16 ต. นาทวี อ. นาทวี จ. สงขลา
10	นายมะรอนิง อามีน หมู่ 11 ต. ปาดังเบซาร์ อ. สะเดา จ. สงขลา (บ้านสี่แยก)
11	นายสุไสว บ้านบาโรย ม. 11 ต. ปาดังเบซาร์ อ. สะเดา จ. สงขลา
12	นายหนะ ม. 7 บ้านหัวเตา ต. คูหา อ. สะบ้าย้อย จ. สงขลา
13	นายโอวาส ทองรูจี ม. 7 โคกม่วง อ. คลองหอยโข่ง จ. สงขลา
14	คุณหญิงหลง อรรถกวีสุนทร (ข้างโลตัส มอ. เมล็ดสีโกโก้)
15	นางละออง สัมพันธ์ 92 หมู่ 1 ต. เขาวง อ.ตาขุน จ. สุราษฎ์ธานี

ตารางที่ 12 ดัชนีการเกิดโรครากขาวในยางพาราพันธุ์ดั้งเดิมจาก 15 แหล่ง หลังการปลูกเชื้อ *Rigidoporus microporus* เป็นเวลา 4 เดือน

แหล่งพันธุ์ยาง	ดัชนีการเกิดโรค
1	29.1660±3.10605a
2	28.3330±3.33356a
3	29.9990±3.09358a
4	29.9990±3.09358a
5	31.6660±3.68552a
6	27.4990±3.73761a
7	29.9990±3.09358a
8	27.5000±3.52469a
9	25.8330±3.15486a
10	23.3340±3.23927a
11	25.8330±3.39045a
12	28.3320±3.09316a
13	25.8330±4.20384a
14	30.8320±3.05594a
15	30.8330±3.29896a
F-test	ns
C.V. (%)	7.07

ภาพที่ 10 พุ่มใบและรากของต้นยางพาราสายพันธุ์ดั้งเดิมหลังการทดสอบประสิทธิภาพ ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Rigidoporus microporus* สาเหตุโรครากขาวของยางพารา หลังการปลูกเชื้อ เป็นเวลา 4 เดือน

1.1 และ 1.2 พันธุ์ยางจาก แหล่งที่ 1

2.1 และ 2.2 พันธุ์ยางจาก แหล่งที่ 2

3.1 และ 3.2 พันธุ์ยางจาก แหล่งที่ 3

4.1 และ 4.2 พันธุ์ยางจาก แหล่งที่ 4

5.1 และ 5.2 พันธุ์ยางจาก แหล่งที่ 5

6.1 และ 6.2 พันธุ์ยางจาก แหล่งที่ 6

ภาพที่ 10 พุ่มใบและรากของต้นยางพาราสายพันธุ์ดั้งเดิมหลังทดสอบประสิทธิภาพ ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Rigidoporus microporus* สาเหตุโรครากขาวของยางพารา หลังการปลูกเชื้อ เป็นเวลา 4 เดือน

7.1 และ 7.2 พันธุ์ยางจาก แหล่งที่ 7

8.1 และ 8.2 พันธุ์ยางจาก แหล่งที่ 8

9.1 และ 9.2 พันธุ์ยางจาก แหล่งที่ 9

10.1 และ10.2 พันธุ์ยางจาก แหล่งที่ 10

11.1 และ 11.2 พันธุ์ยางจาก แหล่งที่ 11

12.1 และ 12.2 พันธุ์ยางจาก แหล่งที่ 12

ภาพที่ 10 พุ่มใบและรากของต้นยางพาราสายพันธุ์ดั้งเดิมหลังทดสอบประสิทธิภาพ ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Rigidoporus microporus* สาเหตุโรครากขาวของยางพารา หลังการปลูกเชื้อ เป็นเวลา 4 เดือน

13.1 และ 13.2 พันธุ์ยางจาก แหล่งที่ แหล่งที่ 13

14.1 และ 14.2 พันธุ์ยางจาก แหล่งที่ แหล่งที่ 14

15.1 และ 15.2 พันธุ์ยางจาก แหล่งที่ แหล่งที่ 15

สรุปผลการทดลอง

นำตัวอย่างดอกเห็ดและรากยางที่เป็นโรครากขาวมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้เชื้อรา จำนวน 7 ไอโซเลท และเมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการก่อโรคในกล้ายางพาราพันธุ์ RRIM 600 และยางพาราพันธุ์ดั้งเดิม พบว่าเชื้อราขาวไอโซเลทที่ 2 สามารถก่อโรคได้รุนแรงที่สุด ซึ่งเมื่อนำมาจำแนกชนิดโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่าเป็นเชื้อ *R. microporus*

การศึกษาวิธีที่เหมาะสมในการปลูกเชื้อ *R. microporus* ในกล้ายางพาราพันธุ์ RRIM 600 และยางพาราพันธุ์ดั้งเดิม โดยใช้ปริมาณของเชื้อสาเหตุโรคและส่วนผสมของวัสดุปลูกที่แตกต่างกัน พบว่าการใช้เชื้อราจากก้อนเชื้อเห็ดทั้งก้อน และปลูกในดินที่ผสมมูลวัว สามารถช่วยให้เกิดโรครากขาวได้เร็วและรุนแรงในยางพาราทั้งสองสายพันธุ์

นำตัวอย่างดินจากสวนยางพาราในพื้นที่ภาคใต้จำนวน 64 ตัวอย่าง มาแยกเชื้อจุลินทรีย์ ได้เชื้อ *Streptomyces* spp. จำนวน 263 ไอโซเลท เชื้อรา 169 ไอโซเลท และเชื้อแบคทีเรีย 62 ไอโซเลท เมื่อสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R. microporus* พบว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. S10 และเชื้อรา *Trichoderma* spp. T112 ,T132 และ T142 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. microporus* ได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 87.14, 88.57, 90.48 และ 92.38 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนเชื้อแบคทีเรียมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งค่อนข้างต่ำ (อยู่ในช่วง 10.00-58.53 เปอร์เซ็นต์)

การศึกษาการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บนธัญพืชชนิดต่างๆ เพื่อใช้ในการเพิ่มจำนวนประชากร พบว่า เชื้อ *Streptomyces* sp. S10 สามารถเจริญได้ดีในข้าวฟ่าง รำข้าว และ เชื้อรา *Trichoderma* sp. T112 สามารถเจริญได้ดีในรำข้าว และเชื้อรา *Trichoderma* sp. T132 และ T142 สามารถเจริญได้ดีในข้าวฟ่าง

การศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่เจริญในธัญพืชในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *R. microporus* ในดินในหลอดทดลอง พบว่า *R. microporus* เจริญได้น้อยที่สุดในดินที่ผสมด้วยเชื้อ T142 ที่เจริญในข้าวฟ่าง และเมื่อนำ T142 มาจำแนกชนิดโดยใช้ partial 18S rRNA sequence analysis พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. T142 ตรงกับ

accession number KC898194.1 ซึ่งจำแนกชนิดได้เป็น *T. asperellum* T142 โดยมีความเหมือนกัน 86 เปอร์เซ็นต์

การทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *T. asperellum* ในการยับยั้งโรครากขาวของกล้ายางพาราสายพันธุ์ RRIM 600 และพันธุ์ดั้งเดิม ในสภาวะเรือนทดลอง พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *T. asperellum* T142 สามารถยับยั้งการเกิดโรครากขาวในกล้ายาพาราทั้งสองสายพันธุ์ได้ไม่แตกต่างทางสถิติ เมื่อเทียบกับการใช้สารกำจัดเชื้อราคาร์บอกซิน ดังนั้นเชื้อราปฏิปักษ์ *T. asperellum* จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ดีสำหรับการควบคุมโรครากขาว เนื่องจากลดการเกิดโรคได้ไม่แตกต่างจากสารเคมีคาร์บอกซิน เจริญได้เร็ว ครอบครองพื้นที่และตั้งรกรากในดินปลูกได้ดี จึงควรมีการศึกษาการควบคุมในแปลงทดลองต่อไป พร้อมทั้งศึกษาการผลิตสูตรสำเร็จเพื่อใช้ในเชิงพานิชต่อไป

การทดสอบความต้านทานต่อโรครากขาวของยางพาราสายพันธุ์ดั้งเดิมจาก 15 แหล่ง ในสภาพเรือนทดลอง พบว่ายางพันธุ์ดั้งเดิมจาก 15 แหล่ง มีดัชนีการเกิดโรคไม่แตกต่างทางสถิติ

เอกสารอ้างอิง

พงษ์เทพ ขจรไชยกูล. 2522.โรคและศัตรูยางพารา. สงขลา. ศูนย์วิจัยการยาง หาดใหญ่. 66 น.

พงษ์เทพ ขจรไชยกูล. 2523. โรคและศัตรูยางพาราในประเทศไทยปี 2522. ว. ยางพารา 10 :12-19

ปวีณา สังข์แก้ว. 2556. สูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Streptomyces griseus* subsp. *formicus* สำหรับการยับยั้งโรครากขาวของยางพารา. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา.

ประภา พัฒนกุล อุบล ลิมจิตติ นริสา จันทร์เรือง ประสาน ศุภผล และบัญญัติ สิทธิผล. 2538. การคัดพันธุ์ต้านทานโรครากขาว.รายงานผลการวิจัยยางพารา. สถาบันวิจัยยาง กรมวิชาการเกษตร.

สถาบันวิจัยยาง. 2555. ข้อมูลวิชาการยางพารา 2555. เอกสารวิชาการ. สถาบันวิจัยยาง กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

สุณีรัตน์ วัฒนาศิลากรณ์ สายัณห์ สดุดี เสมอใจ ชื่นจิตต์ และจรัสศรี นวลศรี. 2554. การทดสอบเบื้องต้นความทนทานโรครากขาวของต้นกล้ายางพาราพันธุ์ดั้งเดิม ว.วิทยาศาสตร์เกษตร 42 (3/1)(พิเศษ): 311-314.

เสมอใจ ชื่นจิตต์. 2555. โรครากขาวของยางพารา. เอกสารเผยแพร่. คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา.

อารมณ์ โรจน์สุจิตร. 2541. โรครากขาว (*Rigidoporus lignosus* (Klotzsch) Imazeki) ของยางพารา และแนวทางการควบคุมโดยชีววิธี. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 137 น.

อุไร จันทรประทิน. 2540. ประสิทธิภาพของสารเคมีต่อโรครากขาว. (Online) Available from: http://lib.doa.go.th/elib/cgibin/opacexe.exe?op=dsp&cat=sub&lang=0&db=Main&pat =&cat=sub&skin=u&lpp=16&catop=&scid=zzz&bid=4455). (5/5/2557)

Corner, E.J.H. 1987. Ad Polyporaceae IV. Beiheftezur Nora Hedwigia. J. Cramer, Berlin Stuttgart.

Danielson, R. M. and Davey, C. B. 1976. Carbon and nitrogen nutrition of *Trichoderma* sp. Soil Biol. Biochem. 5 : 505-515.

Fox. R.A. 1977. The impact of ecological, cultural and biological factors on the strategy and costs of controlling root diseases in tropical plantation crops as examplified by *Hevea brasiliensis*. Jl. Rubb. Res. Inst. Lanka 54 : 329-362.

Gamliel, A.J., Kantan, J. and Cohon, E. 1989. Toxicity of chloronitrobenzenes to *Fusaruim oxysporum* and *Rhizoctonia solani* as related to their structure. Phytopar. 71 : 101-106.

Guyot, A. and Flori, A. 2002. Comparative study for detecting *Rigidoporus lignosus* on rubber tree. Crop Protect. 21 :461-466.

Jamali, F., Sharifi-Tehrani, A., Okhovvat, M., Zakeri, Z. and Saberi-Riseh, R. 2004. Biological control of chickpea Fusarium wilt by antagonistic bacteria under greenhouse condition. Com. Agri. Appl Biol Sci 69 : 649-651.

Jayasuriya, K.E. and Thennakoon, B.I. 2007. Biological control of *Rigidoporus microporus*, the cause of white root rot in rubber. Cey. J. Sci. (Bio. Sci.) 36 : 9-16.

Kaewchai, S. 2010. Biological Control of White Root Disease of Rubber Trees. Thesis Ph.D. Dissertation. King Mongkut' s Instute of Technology Ladkrabang. Thailand.

Nandris, D., Nicole, M. R. and Geiger, J.P. 1987. Root rot diseases of rubber trees. Plant Dis. 71 : 298-306.

Nicole, M.R. and Benhamou, N. 1991. Cytochemical aspect of cellulose breakdown during the infection process of rubber tree roots by *Rigidoporus lignosus*. Cytol. Histol. 81 : 1410-1412.

Nunez, M. and Ryvarden, L. 2000. East Asian Polypores. Polyporaceae s. lato Synopsis fungorum 14. Fungiflora. Olso. 2.

Pridham, T.G. and Tresner, H.D. 1974. Family Streptomycetacae. *In*: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8th ed. Baltmore : Williams and Wilkins Co.Stalpers, J.A. 1978. Identification of wood-inhabiting Aphyllophorales in pure culture. Studies in Mycology 16: 1-248

Stalpers, J.A. 1978. Identification of wood-inhabiting Aphyllophorales in pure culture. Studies in Mycology 16: 1-248

Wattanasilakorn, S., Sdoodee, S., Nualsri, C. and Chuenchitt, S. (2012). Screening of rubber (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) rootstocks for the white root disease resistance. Journal of Agricultural Technology 8: 2385-2395

White, T. J., Bruns, T., Lee, S. & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In *PCR Protocols : A guide to Methods and Applications* (ed. M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky & T. J. White), pp. 315±322. Academic Press : San Diego, U.S.A.