การสำรวจและจำแนกชนิดของเชื้อราที่แยกจากช่อดอกของมะม่วงน้ำดอกไม้และการประเมินศักยภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

Survey and Identification of Fungi Isolated from Inflorescences of Nam Dok Mai Mango and Evaluation of Effectiveness Biological Control Agents

ปาริตา จังพล[1] เสาวณี คงศรี[2] พรพรรณ อู่สุวรรณ[2] พงษ์นาถ นาถวรานันต์[2]
วรรณวิไล อินทนู[1] และจินตนา อันอาตม์งาม[1]

Parita Jangpon[1] Saowanee Kongsri[2] Pornparn Usuwan[2] Pongnart Nartvaranant[2] Wanwilai Intanoo[1] and Jintana Unartngam[1]

Abstract: Mango is a major fruit crop in Thailand, but the abnormality of the inflorescences of Nam Dok Mai mangoes has been observed during the stage of inflorescence expansion to the stage of full bloom. The petals are dry, brown to black in color, hard and remain intact and do not set fruit. Damage found in areas with severe outbreaks are at 60–90%. The aim of this study was to identify the fungal species found on the abnormal inflorescences and to test the potential of antagonistic microorganisms to inhibit those fungi. The disease survey was conducted in Samut Sakhon, Suphan Buri, Phichit, Nakhon Ratchasima, Prachuap Khiri Khan and Chachoengsao provinces, Thailand. The normal and abnormal inflorescences were collected and fungal species were identificatified using morphological characteristics. All fungal isolates including *Fusarium* spp., *Curvularia* spp., *Colletotrichum* spp. and *Chaetomella* spp. were recorded. Moreover, the biological control evaluated by dual culture between *Fusarium* species, including *F.longipes (F.equiseti)* No.DPKN0402.1, *F.moniliforme* No.DPCT0207, *F.oxysporum* No.DRBR0103, *F.proliferatum* No.DPKN0305, *F. semitectum (F.incarnatum)* No.NPKN0104 and *F. solani* No.DPCT0101.1 and microorganisms was performed. The result indicated that *Trichoderma asperellum* (CB–Pin–01) had the highest mycelial growth inhibition of 74.58% on the isolate DPKN0305 and the highest mycelial overgrowth rate of 0.96 cm per day on the isolate NPKN0104. *Bacillus* spp. (B2) was the most effective antagonistic bacteria against *Fusarium* spp. The result indicated that B2 had the highest mycelial growth inhibition of 57.53% on the isolate NPKN0104 with the width of clear zone of 4.26 cm.

Keywords: Mango Nam Dok Mai, Biocontrol, *Trichoderma asperellum*, *Fusarium* spp., *Bacillus* spp.

บทคัดย่อ: มะม่วงจัดเป็นไม้ผลสำคัญของประเทศไทยแต่พบอาการผิดปกติของช่อดอกมะม่วงสายพันธุ์น้ำดอกไม้ในระยะดอกเจริญจนถึงดอกบาน โดยกลีบดอกมีอาการแห้ง สีน้ำตาลจนถึงสีดำ ดอกแข็ง ไม่พัฒนาไปเป็นผล ในพื้นที่ที่พบอาการรุนแรงมีความเสียหายร้อยละ 60–90 การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อจำแนกชนิดเชื้อราที่พบบนช่อดอกที่มีลักษณะผิดปกติดังกล่าวและทดสอบศักยภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการยับยั้งเชื้อรา พื้นที่ที่ศึกษาในงานวิจัยนี้ ได้แก่ จังหวัดสมุทรสาคร สุพรรณบุรี พิจิตร นครราชสีมา ประจวบคีรีขันธ์ และฉะเชิงเทรา โดยเก็บตัวอย่างดอกที่พบอาการผิดปกติและดอกปกติมาแยกเชื้อและจำแนกด้วยลักษณะทางสัณฐาน ซึ่งสามารถจำแนก

[1] ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ นครปฐม 73140
Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture at Kamphang Sean, Kasetsart University Kamphang Sean Campus, NakhonPathom 73140, Thailand

[2] สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม 73000
Program of Agriculture and Crop Production Technology, Faculty of Science and Technology, Nakhon Prathom Rajabhat University, NakhonPathom 73000 Thailand

เชื้อราได้ดังนี้ *Fusarium* spp. *Curvularia* spp. *Chaetomella* spp. และ *Colletotrichum* spp. จากนั้นนำเชื้อราที่แยกได้มาทดสอบการควบคุมด้วยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ด้วยวิธี dual culture โดยเลือกเชื้อที่ใช้ทดสอบจากไอโซเลตตัวแทนของเชื้อรา *Fusarium* สปีชีส์ต่างๆ ได้แก่ *F.longipes (F.equiseti)* No.DPKN0402.1, *F.moniliforme* No.DPCT0207, *F. oxysporum* No.DRBR0103, *F.proliferatum* No.DPKN0305, *F. semitectum (F.incarnatum)* No.NPKN0104 และ *F. solani* No.DPCT0101.1 พบว่าเชื้อรา Trichoderma asperellum (CB–Pin–01) มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งไอโซเลต DPKN0305 ได้ดีที่สุดคือ 74.58% และมีอัตราการเจริญคลุมทับไอโซเลต NPKN0104 0.96 เซนติเมตรต่อวัน ในขณะที่เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. (B2) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* spp. ได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งไอโซเลต NPKN0104 ที่ 57.53% และมีความกว้างบริเวณส่วนใส 4.26 เซนติเมตร

คำสำคัญ: มะม่วงน้ำดอกไม้, การควบคุมโดยชีววิธี, *Trichoderma asperellum*, *Fusarium* spp., *Bacillus* spp.

คำนำ

มะม่วง (Mango; *Mangifera indica*) เป็นพืชเศรษฐกิจที่นิยมปลูกทั่วโลก โดยในทวีปเอเชียถือเป็นแหล่งผลิตมะม่วงรายใหญ่ที่สุดของโลกคิดเป็นร้อยละ 77 ของปริมาณการผลิตมะม่วงทั้งหมดทั่วโลก รองลงมาได้แก่ ทวีปอเมริกา และทวีปแอฟริกา (United Nations Conference on Trade and Development, 2012) ในปี พ.ศ.2560 ประเทศที่มีปริมาณการผลิตมะม่วงมากที่สุด ได้แก่ อินเดีย (18.46 ล้านตัน) รองลงมาคือจีน (4.87 ล้านตัน) ไทย (3.83 ล้านตัน) อินโดนีเซีย (2.24 ล้านตัน) และเม็กซิโก (1.58 ล้านตัน) (Sabine, 2017) มีการบริโภคมะม่วงในประเทศไทยมากกว่าร้อยละ 90 ในรูปผลสด โดยมีปริมาณการส่งออกในปีต่อมาที่ 4.38 ล้านตัน ซึ่งได้ส่งออกไปยังประเทศเกาหลีใต้ ญี่ปุ่น จีน สิงคโปร์ มาเลเซีย และเวียดนาม ประเทศเหล่านี้นิยมบริโภคทั้งในรูปผลสดและผลิตภัณฑ์แปรรูป และพื้นที่ปลูกมะม่วงในประเทศไทยมีผลผลิตต่อไร่เพิ่มขึ้นเนื่องจากสภาพภูมิอากาศที่เอื้ออำนวยต่อการออกดอกติดผลในปีนี้ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2561) สำหรับการส่งออกมะม่วงของประเทศไทยมีสายพันธุ์ที่ส่งออกบางสายพันธุ์เท่านั้น เช่น น้ำดอกไม้สีทอง น้ำดอกไม้เบอร์ 4 และมหาชนก (ธวัชชัย และรุ่งทิพย์, 2553) แหล่งปลูกมะม่วงที่สำคัญของประเทศไทย ได้แก่ พิษณุโลก เชียงใหม่ ประจวบคีรีขันธ์ สุพรรณบุรี และเพชรบูรณ์ ซึ่งพื้นที่ปลูกมะม่วงเหล่านี้มักพบลักษณะผิดปกติของช่อดอกของมะม่วงสายพันธุ์น้ำดอกไม้ ลักษณะผิดปกติพบในระยะดอกเจริญจนถึงดอกบาน พบว่ากลีบดอกมีอาการแห้ง เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลจนถึงสีดำ ดอกแข็ง ทั้งดอกสมบูรณ์เพศและไม่สมบูรณ์เพศ กลีบดอกไม่ร่วง ติดที่ก้านดอก ช่อดอกที่พบลักษณะนี้จะไม่พัฒนาไปเป็นผล ในประเทศไทยเรียกลักษณะนี้ว่า “ช่อดอกพลาสติก” สร้างความเสียหายต่อผลผลิตต่อต้นได้มากถึงร้อยละ 10–80 พบในพื้นที่ปลูกมะม่วงสายพันธุ์น้ำดอกไม้เพื่อส่งออกเป็นส่วนใหญ่ โดยแต่ละพื้นที่พบอาการมากน้อยแตกต่างกัน

ในต่างประเทศมีรายงานการพบความผิดปกติในการออกดอกและระยะการแตกใบอ่อน มีผลให้ลักษณะช่อดอกและช่อใบของมะม่วงมีลักษณะสัณฐานที่ผิดปกติไป โดยช่อดอกที่ผิดปกติ จะมีรูปร่างสั้นและหนา มีการแตกก้านของดอกจำนวนมาก มีจำนวนดอกมากกว่าช่อดอกปกติ และมีจำนวนดอกเพศผู้มากกว่าปกติ เป็นหมัน ดอกมีขนาดใหญ่มากกว่าปกติ และไม่สามารถติดผลได้ ขณะที่อาการผิดปกติในช่อใบพบว่าส่วนของปลายยอดที่เป็นเนื้อเยื่อเจริญจะกำเนิดใบและกิ่งยอดที่มีรูปร่างผิดปกติ มีปล้องสั้น ใบคดงอและมีขนาดเล็กกว่าปกติ ปลายยอดแตกเป็นพุ่ม ขณะที่ไม่พบอาการที่ผลมะม่วงในต่างประเทศที่รายงานเรียกลักษณะนี้ว่า “mango malformation” (Singh and Dhillon, 1990; Kumar *et al*., 1993; Ploetz, 2001; 2003)

มีการศึกษาเกี่ยวกับสาเหตุโรคช่อดอกพลาสติกในหลายประเทศทั่วโลกเช่น จีน อินเดีย

Agricultural Science and Management J. 3 (1) : 51-63 (2020)

ปากีสถาน อิสราเอล ออสเตรเลีย สเปน เม็กซิโก บราซิล อียิปต์ มาเลเซีย เมียนมา นิการากัว โอมาน เซเนกัล แอฟริกาใต้ ศรีลังกา ซูดาน อู–กานดา และสหรัฐอเมริกา (Varma 1983; Kumar *et al*., 1993; Freeman *et al*., 1999, 2014) พบว่าโรคช่อดอกพลาสติกมีสาเหตุจากการเข้าทำลายของเชื้อราโรคพืชกลุ่ม *Fusarium* โดยมีรายงานเชื้อสาเหตุได้แก่ *Fusarium mangiferae* (Britz *et al*., 2002) โดยพบเชื้อนี้ในหลายประเทศที่พบโรคช่อดอกพลาสติก เช่น อียิปต์ มาเลเซีย สหรัฐอเมริกา อิสราเอล แอฟริกาใต้ ศรีลังกา โอมาน สเปน จีน และอินเดีย อย่างไรก็ตามพบว่าเชื้อสาเหตุโรคช่อดอกพลาสติกจะแตกต่างกันในแต่ละประเทศหรือพื้นที่ที่พบการเกิดโรค โดยพบเชื้อสาเหตุโรคช่อดอกพลาสติกในกลุ่ม *Fusarium* อื่นๆ ได้แก่ *F. sterilihyphosum* พบในแอฟริกาใต้ และบราซิล *F. mexicanum* พบในเม็กซิโก *F. tupiense* พบในบราซิลและเซเนกัล และยังพบ *F. proliperatum* และ *F. pseudocircinatum* เป็นสาเหตุโรคช่อดอกพลาสติกอีกด้วย (Freeman *et al*., 2014) ในขณะที่ประเทศปากีสถานได้ประเมินความรุนแรงของโรคช่อดอกพลาสติกที่เกิดจากเชื้อรา *F. mangiferae* โดยพบว่ามีค่าดัชนีการเกิดโรคที่ 23–41% (Muhammad *et al*., 2018) สำหรับประเทศไทยยังไม่มีการรายงานถึงวิธีการป้องกันและกำจัดลักษณะความผิดปกตินี้ ซึ่งการควบคุมลักษณะความผิดปกติในระยะช่อดอกของเกษตรกรในประเทศไทย นิยมตัดกิ่งหรือตัดต้นทิ้งเมื่อพบการระบาดในแปลงที่มีความผิดปกติรุนแรง อย่างไรก็ตามยังไม่มีการใช้สารเคมีที่ควบคุมได้ และยังไม่มีข้อมูลในเชิงวิชาการในการทดสอบการยับยั้งการเกิดลักษณะความผิดปกติในระยะช่อดอก เนื่องจากในประเทศไทยยังไม่มีรายงานถึงเชื้อสาเหตุของอาการผิดปกตินี้ งานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาการควบคุมเชื้อสาเหตุที่ทำให้ดอกมะม่วงเกิดความผิดปกติ โดยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เช่น เชื้อรา *Trichoderma asperellum* และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. เชื้อรา *T. asperellum* เป็นเชื้อราปฏิปักษ์ชนิดหนึ่งที่นิยมนำมาใช้ในการควบคุมเชื้อราก่อโรคได้หลายชนิด โดยเชื้อราชนิดนี้สามารถยับยั้งการเจริญและเข้าทำลายเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อราสาเหตุโรคพืชในดิน เช่น เชื้อรา *Rhizoctonia solani* เชื้อรา *Sclerotium rolfsii* และเชื้อรา *Pythium* spp. สาเหตุโรคเมล็ดเน่าและเน่าระดับดิน เชื้อรา *Phytophthora* spp. สาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่า และเชื้อรา *Fusarium* spp. สาเหตุโรคเหี่ยวในพืชหลายชนิด (จิระเดช และวรรณวิไล, 2542) การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจพื้นที่ปลูกมะม่วงสายพันธุ์น้ำดอกไม้เพื่อการส่งออกที่พบความผิดปกติระยะช่อดอกในประเทศไทย และศึกษาการควบคุมเชื้อสาเหตุที่ทำให้ดอกมะม่วงเกิดความผิดปกติโดยการใช้เชื้อราปฏิปักษ์และแบคทีเรียปฏิปักษ์ในระดับห้องปฏิบัติการ

อุปกรณ์และวิธีการ

การสำรวจช่อดอกมะม่วงน้ำดอกไม้ที่มีอาการผิดปกติในพื้นที่ต่าง ๆ และการแยกเชื้อรา

สำรวจและเก็บตัวอย่างช่อดอกมะม่วงที่มีอาการผิดปกติในพื้นที่ปลูกมะม่วงสายพันธุ์น้ำดอกไม้เพื่อการส่งออก 6 จังหวัด ได้แก่ สุพรรณบุรี สมุทรสาคร พิจิตร นครราชสีมา ประจวบคีรีขันธ์ และฉะเชิงเทรา (Table 1) ในช่วงเดือนกันยายนจนถึงเดือนธันวาคม นำตัวอย่างมาแยกเชื้อราด้วยวิธี tissue transplanting เพื่อแยกเชื้อจากดอกที่พบอาการผิดปกติและดอกปกติ โดยนำมาฆ่าเชื้อราที่ผิวและวางบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) และนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องภายใต้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนส์ 12 ชั่วโมง สลับกับความมืด 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 3–7 วัน แล้วจึงนำมาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound และแยกเชื้อบริสุทธิ์โดยแยกปลายเส้นใยโดยเติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อลงบนผิวหน้าอาหารที่มีเชื้อราเจริญอยู่ จากนั้นใช้แท่งแก้วรูปตัวแอล (L) ขูดผิดหน้าอาหารดูดสปอร์แขวนลอย 100 ไมโครลิตร หยดลงบนอาหาร water agar (WA) เกลี่ยเชื้อให้ทั่วบริเวณหน้าอาหาร บ่มที่อุณหภูมิห้อง 6–8 ชั่วโมง นำมาตัดปลายเส้นใยใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo และนำไปเลี้ยงบนอาหาร PDA (Choi *et al*., 1999)

Table 1 Localities and number of isolates.

Code	Region	Province	District	Place
CCO01	Eastern	Chachoengsao	Plaeng Yao	Hua Samrong
CCO02	Eastern	Chachoengsao	Plaeng Yao	Hua Samrong
NMA01	Northeastern	Nakhon Ratchasima	Muak Lek	Nong Yang Suea
NMA02	Northeastern	Nakhon Ratchasima	Muak Lek	Nong Yang Suea
PCT01	Northern	Phichit	Sak Lek	Wang Thap Sai
PCT02	Northern	Phichit	Sak Lek	Wang Thap Sai
PKN01	Southern	Prachuap Khiri Khan	Mueang	Ao Noi
PKN02	Southern	Prachuap Khiri Khan	Mueang	Ao Noi
PKN03	Southern	Prachuap Khiri Khan	Sam Roi Yot	Sila Loi
PKN04	Southern	Prachuap Khiri Khan	Sam Roi Yot	Sila Loi
RBR01	Central	Samut Sakhon	Ban Phaeo	Khlong Tan
SPB01	Central	Suphan Buri	Mueang	Sanam Khli

การจำแนกลักษณะทางสัณฐานของเชื้อรา

จำแนกชนิดของเชื้อราโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐาน ได้แก่ ลักษณะโคโลนี ลักษณะโครงสร้างต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound ที่กำลังขยาย 200 และ 400 เท่า โดยการทำสไลด์กึ่งถาวร บันทึกลักษณะทางสัณฐานของสปอร์เชื้อราแต่ละชนิดเช่น conidia, macroconidia, microconidia, chlamydospore และลักษณะ microconidia ที่เจริญบนเส้นใย

การทดสอบการยับยั้งเชื้อราโดยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่นำมาทดสอบมีจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Trichoderma asperellum* (CB–Pin–01) และเชื้อแบคทีเรียได้แก่ *Bacillus* spp. สายพันธุ์ B1, B2 และ B3 จากห้องปฏิบัติการควบคุมโรคพืชโดยชีวภาพ ภาควิชาโรค–พืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ทดสอบด้วยวิธี dual culture โดยการเลี้ยงเชื้อราที่เป็นเชื้อปฏิปักษ์ คือ *T. asperellum* (CB–Pin–01) และเชื้อราที่แยกได้จากช่อมะม่วงในกลุ่มของ *Fusarium* เนื่องจากมีรายงานถึงสาเหตุการเกิดลักษณะผิดปกติของตาใบและดอกมะม่วงโดยเชื้อรา *Fusarium* หลายสายพันธุ์ในแต่ละประเทศ (Zhan *et al*., 2010) และการจำแนกเชื้อราจากการสำรวจพบเชื้อรา *Fusarium* หลายสายพันธุ์ ได้แก่ เชื้อรา *F. semitectum* (*F.incarnatum*) No. NPKN0104, *F. moniliforme* No.DPCT0207, *F. proliferatum* No.DPKN0305, *F. longipes* (*F. equiseti*) No.DPKN0402.1, *F. oxysporum* No.DRBR0103 และ *F. solani* No.DPCT0101.1 นำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA เมื่อเชื้อรา *T. asperellum* (CB–Pin–01) เจริญบนอาหาร PDA ที่ 2 วัน และเชื้อรากลุ่ม Fusarium เจริญบนอาหาร PDA ที่ 7 วัน หลังจากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะชิ้นวุ้นบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อรา Fusarium spp. มาวางบนอาหาร PDA ห่างจากขอบจาน 1.5 เซนติเมตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน จากนั้นนำชิ้นวุ้นของเชื้อรา *T. asperellum* (CB–Pin–01) มาวางอีกด้านหนึ่งของจานเลี้ยงเชื้อโดยห่างจากเชื้อรา Fusarium spp. ประมาณ 6 เซนติเมตร และบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง

สำหรับการทดสอบแบคทีเรียปฏิปักษ์โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* ทั้ง 3 สายพันธุ์ บนอาหาร nutrient glucose agar (NGA) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำมาจุดบนอาหาร PDA จำนวน 4 จุด ในแนวกากบาท

Agricultural Science and Management J. 3 (1) : 51-63 (2020)

จากนั้นเจาะชิ้นวุ้นของเชื้อรา *Fusarium* spp. ด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร มาวางตรงกลางของจานเลี้ยงเชื้อ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องและวัดรัศมีของเส้นใยเชื้อราที่เจริญออกมาจากจุดศูนย์กลาง และความกว้างของบริเวณส่วนใส (clear zone, inhibition zone) ระหว่างขอบโคโลนีของแบคทีเรียและเชื้อรา *Fusarium* spp.

บันทึกผลการทดลองโดยคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราและอัตราการคลุมทับเส้นใย เชื้อราจากสูตร

$$\left[\frac{\text{ค่าเฉลี่ยรัศมีเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคในกรรมวิธีควบคุม (ซม.) – ค่าเฉลี่ยรัศมีเส้นใยเชื้อรา } \textit{Fusarium} \text{ spp. ในวิธีทดสอบ (ซม.)}}{\text{ค่าเฉลี่ยรัศมีเส้นใยเชื้อรา } \textit{Fusarium} \text{ spp. ในวิธีควบคุม (ซม.)}}\right] \times 100$$

และคำนวณอัตราการคลุมทับเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคจากสูตร

$$\frac{\text{ระยะทางของเชื้อรา } \textit{T. asperellum} \text{ เจริญคลุมทับเชื้อรา } \textit{Fusarium spp.} \text{ ซึ่งเริ่มวัดจากจุดที่เชื้อ } \textit{T. asperellum} \text{ เจริญชนกับเชื้อรา } \textit{Fusarium} \text{ spp. แล้วเจริญคลุมทับเชื้อรา } \textit{Fusarium} \text{ spp. จนสุดขอบจานเลี้ยงเชื้อ (ซม.)}}{\text{ระยะเวลาที่เชื้อรา } \textit{T. asperellum} \text{ เจริญคลุมทับเชื้อรา } \textit{Fusarium spp.} \text{ นับตั้งแต่จุดที่เชื้อรา } \textit{Fusarium} \text{ spp. และเชื้อรา } \textit{T. asperellum} \text{ เจริญชนกันจนสุดขอบจานเลี้ยงเชื้อ (วัน)}}$$

(ปัณณวิชญ์ และวาริน, 2556)

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's new multiple range test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การสำรวจลักษณะผิดปกติในระยะช่อดอกของมะม่วงในพื้นที่ต่าง ๆ

จากการสำรวจและรวบรวมตัวอย่างของลักษณะผิดปกติในระยะช่อดอกของมะม่วงน้ำดอกไม้ใน 6 จังหวัด พบว่าสามารถเก็บตัวอย่างในแต่ละจังหวัดได้ดังนี้ สุพรรณบุรี 6 ตัวอย่าง สมุทรสาคร 5 ตัวอย่าง พิจิตร 24 ตัวอย่าง นครราชสีมา 17 ตัวอย่าง ประจวบคีรีขันธ์ 42 ตัวอย่าง และฉะเชิงเทรา 20 ตัวอย่าง ลักษณะผิดปกติที่พบคือระยะดอกเจริญจนถึงดอกบานพบกลีบดอกมีอาการแห้ง สีน้ำตาลจนถึงสีดำ ดอกแข็ง ทั้งดอกสมบูรณ์เพศและไม่สมบูรณ์เพศ กลีบดอกไม่ร่วง ติดที่ก้านดอก ก้านของดอกมีสีเขียวและน้ำตาล ช่อดอกที่พบลักษณะนี้จะไม่พัฒนาไปเป็นผล (Figure 1) ซึ่งลักษณะดังกล่าวนี้มีความใกล้เคียงกับรายงานของ Hifny *et al.*, (1978) และ Singh and Dhillon (1990) พบลักษณะความผิดปกติของดอก มีการเจริญของจำนวนดอกมากกว่าปกติ ดอกมีขนาดใหญ่ ก้านของดอกหนาขึ้นและมีสีเขียวสด ในแต่ละพื้นที่ที่สำรวจพบว่ามีลักษณะความ



Figure 1 General conditions of a mango farm (A), normal (B) and abnormal inflorescences and flowers of mango (C, D)



Figure 2 Symptoms on inflorescences and flowers of mango from the collected samples with code no. of: CCO01 (A), CCO02 (B), NMA01 (C), NMA02 (D), PCT01 (E), PCT02 (F), PKN01 (G), PKN02 (H), PKN03 (I), PKN04 (J), RBR01 (K) and SPB01 (L)

การจำแนกเชื้อที่พบในดอกที่มีลักษณะผิดปกติ

การแยกเชื้อจากดอกผิดปกติและดอกปกติ ได้เชื้อราทั้งหมด 81 ไอโซเลต แบ่งเป็นเชื้อราจากดอกปกติพบเชื้อราทั้งหมด 29 ไอโซเลต เมื่อจำแนกด้วยลักษณะทางสัณฐานพบเชื้อรา *Fusarium* spp. จำนวน 21 ไอโซเลต (72.41%) เชื้อรา *Curvularia* spp. จำนวน 4 ไอโซเลต (13.79%) เชื้อรา *Chaetomella* spp. จำนวน 2 ไอโซเลต (6.90%) และเชื้อรา *Colletotrichum* spp. จำนวน 2 ไอโซเลต (6.90%) และการแยกจากดอกผิดปกติพบเชื้อราทั้งหมด 52 ไอโซเลต เมื่อจำแนกด้วยลักษณะทางสัณฐานพบเชื้อรา *Fusarium* spp. จำนวน 40 ไอโซเลต (79.25%) เชื้อรา *Curvularia* spp. จำนวน 11 ไอโซเลต (18.87%) เชื้อรา *Chaetomella* sp. จำนวน 1 ไอโซเลต (1.89%) จากรายงานของ Trakunyingcharoen *et al*., (2013) และ Rungjindamai (2016) ที่แยกเชื้อราจากใบและผลมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ในประเทศไทยพบเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* แยกจากกิ่งมะม่วงพันธุ์อโศก บุญบันดาล และแก้วมรกตพบเชื้อรา *Lasiodiplodia* sp. และ L. pseudotheobromae การแยกเชื้อราจากใบและผลมะม่วงพบเชื้อรา *Colletotrichum* spp. และ *Lasiodiplodia* sp. และการแยกเชื้อราจากดอกมะม่วงสายพันธุ์น้ำดอกไม้ในงานวิจัยนี้พบเชื้อราหลายชนิด ได้แก่ *Fusarium* spp. *Curvularia* spp. *Chaetomella* spp. และ *Colletotrichum* spp. แสดงให้เห็นว่ามีความหลากหลายของเชื้อราที่ปนเปื้อนและเป็นสาเหตุของโรคในระยะดอกจนถึงระยะออกผลของมะม่วง เมื่อแบ่งกลุ่มตามภูมิภาคพบว่าการแยกเชื้อจากดอกผิดปกติในภาคกลางพบเชื้อรา *Fusarium* spp. ทั้งหมด 3 ไอโซเลต คิดเป็นร้อยละของทั่วประเทศคือ 5.66 ภาคตะวันออกพบทั้งหมด 11 ไอโซเลต ได้แก่เชื้อรา *Fusarium* spp. จำนวน 5 ไอโซเลต *Curvularia* spp. จำนวน 5 ไอโซเลต และ *Chaetomella* spp. จำนวน 1 ไอโซเลต คิดเป็นร้อยละของทั่วประเทศคือ 20.75 ภาคเหนือพบทั้งหมด 17 ไอโซเลต ได้แก่เชื้อรา *Fusarium* spp. จำนวน 14 ไอโซเลต และ *Curvularia* spp. จำนวน 3 ไอโซเลต คิดเป็นร้อยละของทั่วประเทศคือ 32.08 ภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบเชื้อรา *Fusarium* spp. ทั้งหมด 7 ไอโซเลต คิดเป็นร้อยละของทั่วประเทศคือ 13.21 และภาคใต้พบทั้งหมด 15 ไอโซเลต ได้แก่เชื้อรา *Fusarium* spp. จำนวน 13 ไอโซเลต และ *Curvularia* spp. จำนวน 2 ไอโซเลต คิดเป็นร้อยละของทั่วประเทศคือ 28.30 ในแต่ละพื้นที่พบชนิดของเชื้อราและจำนวนของเชื้อราที่แตกต่างกัน

จากตัวอย่างดอกผิดปกติแยกเชื้อราพบลักษณะรูปร่างของ conidia และสีโคโลนีของเชื้อราดังข้อมูลใน (Table 2) สำหรับเชื้อรา *Fusarium* spp. จำแนกได้ 6 ชนิด จำแนกลักษณะสัณฐานของเชื้อตามคำอธิบายลักษณะเชื้อรา *Fusarium* spp. โดย Leslie and Summerell (2006) และเบญจพล (2559) ได้แก่ *F. semitectum* (*F. incarnatum*) มี macroconidia

รูปร่างอ้วน โค้ง มน เรียว ฐานและปลายเซลล์พบ hooked และ tapering มี foot–shaped ชัดเจน พบ 3–5 septum microconidia พบ conidia รูปร่างคล้าย macroconidia 1–2 septum (mesocell) และพบรูปร่างกระสวย 2–3 เซลล์ *F. moniliforme* มี macroconidia รูปร่างเรียว โค้งเล็กน้อย ฐานเซลล์มี foot–shaped พบ 3–5 septum microconidia มี mesocell รูปร่างกระสวยและรูปร่างคล้ายไข่ *F. proliferatum* มี macroconidia รูปร่างอ้วน ค่อนข้างตรง มนและพบว่ามีผนังบาง สร้าง macroconidia น้อย ฐานเซลล์มี foot–shaped พบ 3–5 septum microconidia มีรูปร่างคล้ายไข่ รูปร่างกระสวย และรูปร่างคล้ายถั่ว มีลักษณะของ conidia ที่คล้ายกับเชื้อรา *F. oxysporum* ซึ่งอาจทำให้สับสนในการจำแนกได้ *F. longipes* (*F. equiseti*) มี macroconidia รูปร่างเรียว โค้งเล็กน้อย ฐานเซลล์มี foot shaped พบ 3–5 septum ลักษณะเด่นคือพบปลายเซลล์มีหางที่ยาวมาก แบบ tapering *F. oxysporum* มี macroconidia รูปร่างอ้วน โค้ง มน ฐานเซลล์มี foot–shaped พบ 3–5 septum microconidia มีรูปร่างคล้ายไข่ และรูปร่างเป็นกระสวย และ *F. solani* มี macroconidia รูปร่างอ้วน โค้ง ค่อนข้างตรง สั้น ปลายเซลล์และฐานเซลล์ค่อนข้างมน และพบฐานเซลล์มีรูปร่างแบบ distinctly notched มี 3–7 septum microconidia มี mesocell รูปร่างกลม รูปร่างกระสวย พบ 2–3 เซลล์ และใช้ลักษณะสีของโคโลนีและเส้นใยของเชื้อราบนอาหาร PDA ในการจำแนก (Figure 3 and 4) อย่างไรก็ตามมีรายงานของโรคที่มีลักษณะคล้ายคลึงกับการศึกษาครั้งนี้คือ โรคช่อดอกพลาสติกมีสาเหตุจากการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคพืชสกุล Fusarium (Britz *et al*., 2002) และยังพบว่าเชื้อสาเหตุโรคช่อดอกพลาสติกมีความแตกต่างกันในแต่ละประเทศหรือพื้นที่พบการเกิดโรค (Freeman *et al*., 2014) นอกจากนี้สาเหตุของการเกิดความผิดปกตินี้ยังมีการรายงานไว้หลายสาเหตุ เช่น เกิดได้จากความผิดปกติทางสรีรวิทยาของพืช การติดเชื้อไวรัส การแพร่กระจายของไรและเชื้อรา (Kumar *et al*., 1993) จากการสำรวจและแยกเชื้อราจากดอกที่ผิดปกติของมะม่วงในแหล่งปลูกภายในประเทศไทยยังจำเป็นต้องตรวจสอบการก่อให้เกิดโรคโดยการปลูกเชื้อทดสอบบนมะม่วงพันธุ์ทดสอบต่างๆ เพื่อยืนยันสาเหตุของความผิดปกตินี้ต่อไป

Table 2 Morphological characteristics of colony and conidia of fungi.

Fungi	Colony	Conidia/Macroconidia	Microconidia
F. semitectum (*F. incarnatum*)	white, orange, yellow, brown	Curved dorsal surface, hooked, tapering, foot–shaped, 3–5 septate	Mesocell, obovoid, 1–2 septate, find chlamydospore
F. moniliforme	white, pink, purple–violet	Slender macroconidia, foot–shaped, 3–5 septate	Obovoid, oval shape, 1–2 septate
F. proliferatum	white, purple–violet to dark purple	Dorsal side more curved, slender macroconidia, foot–shaped, 3–5 septate	Oval, obovoid, reniform shape
F. longipes (*F. equiseti*)	white to cream yellow	Slender macroconidia, foot–shaped, 3–5 septate	Mesocell, obovoid shape
F. oxysporum	white, pink to purple	Short to medium length, foot–shaped, 3–6 septate	Mesocell, oval, obovoid shape
F. solani	white, orange, yellow, brown	Dorsal side more curved, slender, blunt, tapering apical cell shapes, 3–7 septate	Mesocell, globose, obovoid, 1–2 septate, find chlamydospore
Curvularia spp. (Ellis, 1971)	gray, black, seaweed	Boat shape 4 cells, middle area is dark	-
Chaetomella spp. (Gilman, 2001)	white	Then create brown sclerotium, a kidney–shaped, no septum	-
Colletotrichum spp. (Hyde *et al*., 2009)	white	Conidia no septum, an oval–shaped	-

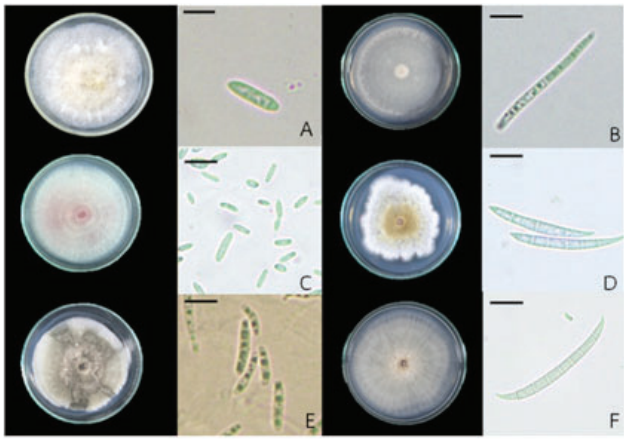


Figure 3 Morphological characteristics of colony and conidia of *Fusarium* spp.; *F. semitectum* (*F. incarnatum*) NPKN0104 (A), *F. moniliforme* DPCT0207 (B), *F. proliferatum* DPKN0305 (C), *F. longipes* (*F. equiseti*) DPKN0402.1 (D), *F. oxysporum* DRBR0103 (E), and *F. solani* DPCT0101.1 (F) (bar 10 µm)

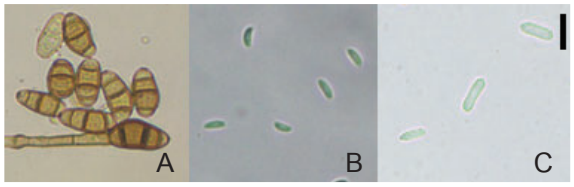


Figure 4 Morphological characteristics of conidia of *Curvularia* spp. (A), *Chaetomella* spp. (B), and *Colletotrichum* spp. (C) (bar 10 µm)

การทดสอบการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคโดยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้แยกเชื้อรา *Fusarium* spp. ได้หลากหลายชนิด และเชื้อรา *Fusarium* เป็นเชื้อราในดินเช่นเดียวกับเชื้อราปฏิปักษ์ จึงได้คัดเลือกเชื้อรา *Fusarium* มาทดสอบการควบคุมการเจริญด้วยเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma asperellum* และแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* spp. ด้วยเชื้อราปฏิปักษ์ *T. asperellum* (CB–Pin–01) พบว่ามีศักยภาพในการยับยั้งการเกิดของเชื้อรา *Fusarium* spp. โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราเฉลี่ยที่ 52–74% เชื้อราปฏิปักษ์ *T. asperellum* (CB–Pin–01) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา Fusarium ไอโซเลต DPKN0305 ได้สูงที่สุด 74.58% และมีการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* spp. รองลงมาได้แก่ ไอโซเลต DPKN0402.1 (66.95%), NPKN0104 (65.62%), DPCT0101.1 (64.81%), DPCT0207 (60.59%) และ DRBR0103 (52.50%) ตามลำดับ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามเมื่อวิเคราะห์จากการเจริญคลุมทับเส้นใยของเชื้อรา *Fusarium* spp. พบว่าเชื้อราปฏิปักษ์ *T. asperellum* (CB–Pin–01) สามารถเจริญคลุมทับเส้นใยของเชื้อรา *Fusarium* spp. ไอโซเลต NPKN0104 ดีที่สุดที่ 0.96 เซนติเมตรต่อวัน รองลงมาคือไอโซเลต DRBR0103 (0.79), DPCT0101.1 (0.58), DPCT0207 (0.58) และ DPKN0402.1 (0.47) ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 3 and Figure 5) แต่ไม่เจริญคลุมทับไอโซเลต DPKN0305 ซึ่งเกิดจากกลไกปล่อยสารพิษ (antibiosis) จากรายงานของธิติ และคณะ (2559) ในการทดสอบเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* สาเหตุโรคเหี่ยวของผักสลัด พบว่าเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. สร้างกลไกปล่อยสารพิษโดยพบความกว้างของบริเวณส่วนใสและเมื่อเวลาผ่านไปพบว่ามี *Trichoderma* sp. 9 ไอโซเลตจากกลุ่มที่สร้างกลไกปล่อยสารพิษเจริญคลุมทับเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรค ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเกิดกลไกการแข่งขัน (competition) ขึ้น จากการตรวจสอบบริเวณที่เส้นใยของเชื้อราปฏิปักษ์เจริญชนกับเชื้อราสาเหตุโรคภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบกลไกแบบปรสิต (parasitism)

โดยเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. เจริญเข้ายึดเกาะและดูดสารอาหารภายในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคได้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการใช้ *T. harzianum* ยับยั้งเชื้อรา *F. mangiferae* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุของโรคช่อดอกพลาสติกโดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 71% และสามารถยับยั้งเชื้อรา *F. moniliforme* var. *subglutinans* ได้ในระดับห้องปฏิบัติการ (Kumar *et al*., 2012; Muhammad *et al*., 2018)

Table 3 Efficacy of T. asperellum (CB–Pin–01) to inhibit and overgrow of Fusarium spp. mycelia using the

Isolate no.	Mycelial growth control (cm)	Mycelial growth inhibition (%)	Mycelial overgrowth rate (cm per day)
NPKN0104	6.10	65.62^{ab}	0.96^{a}
DPCT0207	5.90	60.59^{b}	0.58^{c}
DPKN0305	5.90	74.58^{a}	0.00^{e}
DPKN0402.1	5.90	66.95^{ab}	0.47^{d}
DRBR0103	5.50	52.50^{c}	0.79^{b}
DPCT0101.1	6.30	64.81^{b}	0.58^{c}
CV (%)	–	6.89	10.78

Note: Means in each column followed by the same letter were not significantly different according to Duncan's Multiple Range Test, DMRT ($p>0.05$).

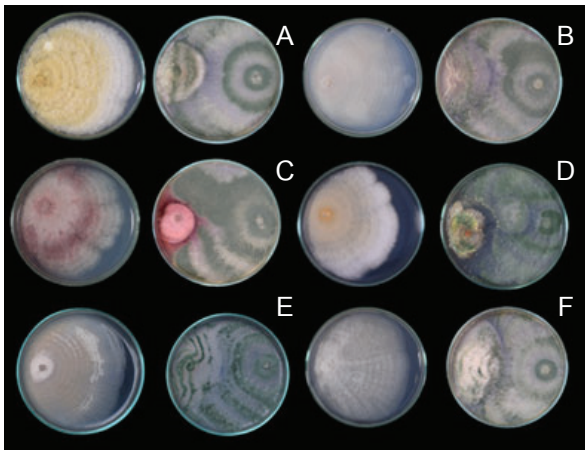


Figure 5 Dual culture of *T. asperellum* and *Fusarium* spp. isolated; NPKN0104 (A), DPCT0207 (B), DPKN0305 (C), DPKN0402.1 (D), DRBR0103 (E), and DPCT0101.1 (F)

การทดสอบแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. สายพันธุ์ B1, B2 และ B3 ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium* spp. พบว่า B2 สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อรา *Fusarium* spp. ได้ดีที่สุดโดยมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ 35–57% B3 มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ 8–38% และ B1 มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ 1–25% ตามลำดับ และ B2 มีระดับการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* spp. ไอโซเลต NPKN0104 (57.53%), DPKN0402.1 (54.17%), DPKN0305 (51.05%), DPCT0207 (38%), DPCT0101.1 (37.75%) และ DRBR0103 (35.6%) ตามลำดับ B3 มีระดับการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* spp. ไอโซเลต DPKN0402.1 (38.07%), DPKN0305 (31.56%), NPKN0104 (22.48%), DPCT0207 (13.67%), DPCT0101.1 (11.89%) และ

DRBR0103 (8.8%) ตามลำดับ และ B1 มีระดับการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* spp. ไอโซเลต DPKN0402.1 (25.66%), DPKN0305 (23.6%), NPKN0104 (21.56%), DPCT0207 (9.83%), DPCT0101.1 (6.01%) และ DRBR0103 (1.8%) ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญและเมื่อพิจารณาจากผลความกว้างของบริเวณส่วนใส พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย B2 มีความกว้างของส่วนใสเฉลี่ย 2.9–4.2 เซนติเมตร กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย B3 มีความกว้างของส่วนใสเฉลี่ย 1.3–2.7 เซนติเมตร และกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย B1 มีความกว้างของส่วนใสเฉลี่ย 0.8–2.3 เซนติเมตรตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (Table 4 and Figure 6) *Bacillus* spp. ทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถลดการเจริญของ *Fusarium* spp. ได้ทุกไอโซเลต จากรายงานของ Zheng et al. (2013) มีการทดสอบ *B. pumilus* และ *B. thuringiensis* ควบคุมเชื้อ *C.gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสในมะม่วงในระดับห้องปฏิบัติการพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคร้อยละ 80–94 จากรายงาน Yu et al. (2011) ทดสอบ *B. subtilis* สามารถควบคุมเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *capsici* สาเหตุโรคเหี่ยวในพริกไทยและช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช โดยเพิ่มผลผลิตเฉลี่ยต่อต้นร้อยละ 49.68

Table 4 Efficacy of Bacillus spp. B1, B2 and B3 to inhibit and overgrow of *Fusarium* spp. mycelia using the dual culture test.

Isolate no.	Treatments	Mycelial growth inhibition (%)	CV (%)	Inhibition zone (cm)	CV (%)
NPKN0104	B1[1]	21.56[b]	20.80	1.94[b]	26.69
	B2[2]	57.53[a]		4.26[a]	
	B3[1]	22.48[b]		2.00[b]	
DPCT0207	B1[1]	9.83[c]	15.18	1.55[b]	10.80
	B2[2]	38.00[a]		3.30[b]	
	B3[1]	13.67[b]		1.55[b]	
DPKN0305	B1[1]	23.60[b]	27.43	2.30[b]	28.81
	B2[2]	51.05[a]		4.09[a]	
	B3[1]	31.56[c]		2.78[b]	
DPKN0402.1	B1[1]	25.66[c]	24.44	1.86[c]	19.28
	B2[2]	54.17[a]		3.71[a]	
	B3[1]	38.07[b]		2.66[b]	
DRBR0103	B1[1]	1.80[c]	28.98	0.86[c]	16.29
	B2[2]	35.60[a]		2.98[a]	
	B3[1]	8.80[b]		1.30[b]	
DPCT0101.1	B1[1]	6.01[c]	17.76	1.56[c]	9.95
	B2[2]	37.75[a]		3.38[a]	
	B3[1]	11.89[b]		1.93[b]	

Note: [1] Dual culture test at room temperature for 5 days

[2] Dual culture tests at room temperature for 11 days

Means in each column followed by the same letter were not significantly different according to Duncan's Multiple Range Test, DMRT ($p>0.05$)

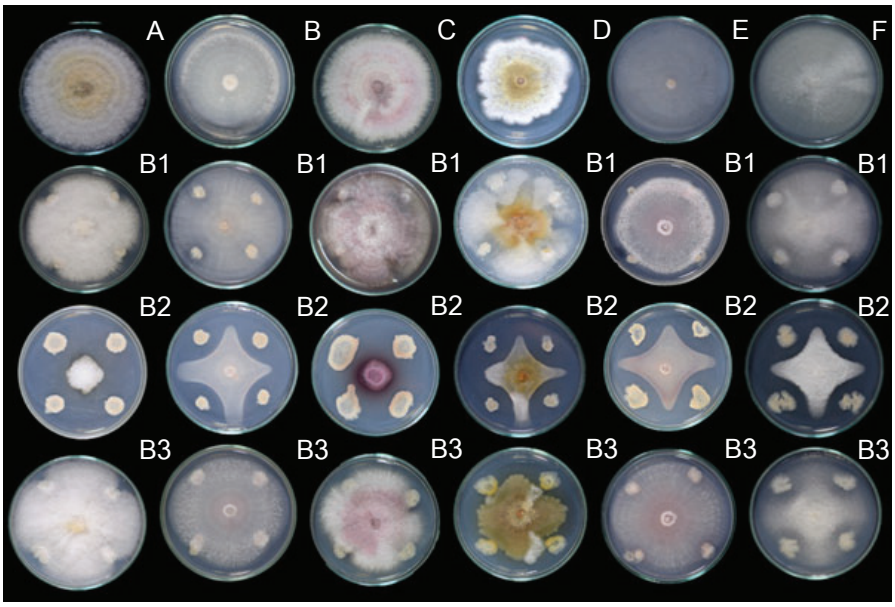


Figure 6 Dual culture of *Bacillus* spp. B1, B2 and B3 and *Fusarium* spp. Isolates; NPKN0104 (A), DPCT0207 (B), DPKN0305 (C), DPKN0402.1 (D), DRBR0103 (E), and DPCT0101.1 (F)

จากรายงานการทดสอบการยับยั้งเชื้อราโดยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์พบว่า *T. asperellum* มีศักยภาพในการยับยั้ง *Fusarium* spp. โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงที่สุด 74.58% และแบคทีเรีย *Bacillus* spp. (B2) มีการยับยั้งที่ดีที่สุดโดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา *Fusarium* spp. สูงที่สุด 57.53% ซึ่งเป็นอีกทางเลือกหนึ่งให้กับเกษตรกรเพื่อใช้ควบคุมเชื้อรา *Fusarium* spp. อย่างไรก็ตามการคัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในสภาพแปลงมีความสำคัญ เนื่องจากเชื้อราบางชนิดมีประสิทธิภาพดีเมื่อทดสอบในสภาพห้องปฏิบัติการแต่กลับมีประสิทธิภาพต่ำเมื่อนำไปใช้ในสภาพโรงเรือนหรือในสภาพแวดล้อมแปลงปลูก (Kaewchi *et al*., 2009) ดังนั้นจึงควรมีการนำจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไปทดสอบการควบคุมโรคทั้งในโรงเรือนและสภาพแปลงปลูกต่อไป

สรุป

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างดอกมะม่วงน้ำดอกไม้ที่มีลักษณะผิดปกติจากพื้นที่ปลูกมะม่วงที่สำคัญในประเทศไทย สามารถจำแนกด้วยลักษณะทางสัณฐานพบเชื้อรา *Fusarium* spp. จำนวน 40 ไอโซเลต เชื้อรา *Curvularia* spp. จำนวน 11 ไอโซเลต และเชื้อรา *Chaetomella* spp. จำนวน 1 ไอโซเลต และแยกเชื้อราจากตัวอย่างดอกปกติพบเชื้อรา *Fusarium* spp. จำนวน 21 ไอโซเลต เชื้อรา *Curvularia* spp. จำนวน 4 ไอโซเลต เชื้อรา *Chaetomella* spp. จำนวน 2 ไอโซเลต และเชื้อรา *Colletotrichum* spp. จำนวน 2 ไอโซเลต ในแต่ละพื้นที่แยกได้ชนิดของเชื้อราที่แตกต่างกัน สังเกตได้ว่าจำนวนชนิดและไอโซเลตของเชื้อรา *Fusarium* spp. มีมากและความหลากหลายกว่าเชื้อราอื่นๆ ซึ่งเป็นข้อมูลที่น่าสนใจว่าเชื้อรา *Fusarium* spp. สามารถเป็นสาเหตุของลักษณะความผิดปกติในระยะช่อ–ดอก อย่างไรก็ตามการพบเชื้อรา *Fusarium* spp. พบได้ทั้งในดอกปกติและดอกที่ผิดปกติ ดังนั้นควรมีการทดสอบการก่อโรคของเชื้อราสกุลนี้เพื่อยืนยันชนิดของเชื้อราสาเหตุโรค นอกจากนี้การทดสอบด้วยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์โดยใช้ *T. asperellum* (CB–Pin–01) มีศักยภาพในการควบคุมการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* spp. ได้โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเฉลี่ยที่ 52–74% และแบคทีเรีย *Bacillus* spp. (B2) สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อรา *Fusarium* spp. ได้ 35–57% อย่างไรก็ตามควรมีการพิสูจน์การเกิดโรคและการยับยั้งการเกิดลักษณะผิดปกติในระยะช่อดอกที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium* spp. ในสภาพโรงเรือนและพื้นที่แปลงปลูกมะม่วงต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผลการวิจัยนี้ได้รับทุนจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) และขอขอบคุณห้องปฏิบัติการควบคุมโรคพืชโดยชีวภาพ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่อนุเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

เอกสารอ้างอิง

จิระเดช แจ่มสว่าง และ วรรณวิไล อินทนู. 2542. *Trichoderma* เชื้อราที่ใช้ในการควบคุมโรคพืช. เอกสารวิชาการ.โครงการส่งเสริมการเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน, นครปฐม. 90 หน้า.

ธวัชชัย รัตน์ชเลศ และ รุ่งทิพย์ อุทุมพันธ์. 2553. การผลิตมะม่วงให้มีคุณภาพเพื่อการส่งออก. เอกสารการประชุม. งานประชุมในการพัฒนามะม่วงไทยให้ก้าวสู่ตลาดโลก. คณะเกษตร. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่. 1 – 9 หน้า.

ธิติ ทองคำงาม พรหมมาศ คูหากาญจน์ และ ถนิมนันต์ เจนอักษร. 2559. การประเมินความสามารถในการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ในสภาพห้องปฏิบัติการของ *Trichoderma* ไอโซเลท ต่อเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* สาเหตุโรคเหี่ยวของผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 31 (3): 57 – 67.

เบญจพล ศรีทองคำ. 2559. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและอณูวิทยาของเชื้อรา *Fusarim species* ที่แยกจากพืชเป็นโรค. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน, นครปฐม. 126 หน้า.

ปัณณวิชญ์ เย็นจิตต์ และ วาริน อินทนา. 2556. ประสิทธิภาพน้ำสกัดพืชที่หมักด้วยเชื้อรา *Trichoderma viride* และ *Rhizopus oligosporus* ในการควบคุมโรคไหม้ของข้าว. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 44 (3): 281 – 288.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2561. เอกสารสถิติการเกษตรเลขที่ 402 ข้อมูลเศรษฐศาสตร์เกษตร จำแนกตามผลิตภัณฑ์ 2561. เอกสารเผยแพร่. สมุทรปราการ. 54 – 55 หน้า.

Britz, H., E. T. Steenkamp, T. A. Coutinho, B. D. Wingfield, W. F. O. Marasas and M. J. Wingfield. 2002. Two new species of Fusarium section Liseola associated with mango malformation. Mycologia 94 (4): 722 – 730.

Choi, Y. W., K. D. Hyde and W. H. Ho. 1999. Single spore isolation of fungi. Fugal Diversity 3: 29 – 38.

Ellis, M. B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England. 608 p.

Freeman, S., M. Maimon and Y. Pinkas. 1999. Use of GUS transformants of *Fusarium subglutinans* for determining etiology of mango malformation disease. Phytopathology 89 (6): 456 – 461.

Freeman, S., D. Shtienberg, M. Maymon, A. G. Levin and R. C. Ploetz. 2014. New insights into mango malformation disease epidemiology lead to a new integrated management strategy for subtropical environment. Plant Disease 98: 1456 – 1465.

Gilman, J. C. 2001. A manual of soil fungi. The Iowa State University Press, Iowa.

Hifny, H. A. A., M. H. El–Barkouki and G. S. El–Banna. 1978. Morphological and physical aspects of the floral malformation in mangoes. Egyptian Journal of Horticulture 5: 43 – 52.

Hyde, K. D., L. Cai, E. H. C. McKenzie, Y. L. Yang and J. Z. Zhang. 2009. Colletotrichum: a catalogue of confusion. Fungal Diversity 39: 1 – 17.

Kaewchi, S., K. Soytong and K. D. Hyde. 2009. Mycofungicides and fungal biofertilizers. Fungal Diversity 38: 25 – 50.

Kumar, J., U. S. Singh and S. P. S. Beniwal. 1993. Mango malformation: One Hundred years of research. Annual Review of Phytopathology 31: 217 – 232.

Kumar, P., A. K. Misra., D. R. Modi and V. K. Gupta. 2012. Biocontrol potential of Trichoderma species against mango malformation pathogens. Archives of Phytopathology and Plant Protection 45 (10): 1237 – 1245.

Leslie, J. F. and B. A. Summerell. 2006. The Fusarium Laboratory Manual. Blackwell publishing professional, Iowa, USA.

Muhammad, T. M., A. H. N. Syed, A. B. Malik and T. Talal. 2018. Field case investigations of mango malformation disease in five districts of southern Punjab and it is biological mediated management under controlled conditions. Pakistan Journal of Phytopathology 31 (02): 191 – 197.

Ploetz, R. C. 2001. Malformation: A Unique and important disease of mango, *Mangifera indica* L. PP 233 – 247. *In* B. A. Summerell, J. F. Leslie, D. Backhouse, W. L. Bryden and L. W. Burgess (eds.). *Fusarium*: Paul E. Nelson Memorial Symposium. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota.

Ploetz, R. C. 2003. Diseases of mango. Diseases of Tropical Fruit Crop. CABI Publishing. Oxford, United Kingdom. 327 – 363 p.

Rungjindamai, N. 2016. Isolation and evaluation of biocontrol agents in controlling anthracnose disease of mango in Thailand. Journal of Plant Protection Research 56 (3): 306 – 311.

Sabine, A. 2017. Global Prospects for Major Tropical Fruits. Special Feature. (Online) http://www.fao.org/fileadmin/templates/est/COMM_MARKETS_MONITORING/Tropical_Fruits/Documents/ Tropical_Frui ts_Special_Feature.pdf. p. 69 – 81. (August 24, 2019)

Singh, Z and B. S. Dhillon. 1990. *In vivo* role of indole 3 acetic acid, gibberellic acid, zeatin, abscisic acid and ethylene in floral malformation of (*Mangifera indica* L.). Journal of Phytopathology 128 (3): 235 – 245.

Trakunyingcharoen, T., R. Cheewangkoon and C. To–anun. 2013. Phylogeny and pathogenicity of fungal species in the family botryosphaeriaceae associated with mango (Mangifera indica) in Thailand. International Journal of Agricultural Technology 9(6): 1535–1543.

United Nations Conference on Trade and Development. 2012. Trade and Development Report, 2012. (Online) https://unctad.org/en/Publications Library/tdr2012_en.pdf. (August 26, 2019)

Varma, A. 1983. Mango malformation. PP 173 – 188. In Singh KG (ed.). Exotic plant quarantine pests and procedures for introduction of plant materials. Asian Plant Quarantine Centre and Training Institute, Malaysia.

Yu, X., C. Ai, L. Xin and G. Zhou. 2011. The siderophore–producing bacterium, *Bacillus subtilis* CAS15, has a biocontrol effect on Fusarium wilt and promotes the growth of pepper. European Journal of Soil Biology 47 (2): 138 – 145.

Zhan, R–L., S–J. Yang, H–H. Ho, F. Liu, Y–L. Zhao, J–M. Chang and H. Yan–Biao. 2010. Mango Malformation Disease in South China Caused by *Fusarium proliferatum.* Phytopathology 158: 721 – 725.

Zheng, M., J. Shi, J. Shi, Q. Wang and Y. Li. 2013. Antimicrobial effects of volatiles produced by two antagonistic *Bacillus* strains on the anthracnose pathogen in postharvest mangos. Biological Control 65 (2): 200 – 206.