

การควบคุมเชื้อรา *Phytophthora parasitica* Dastur. สาเหตุโรคใบร่วงยางพารา
โดยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

Biological Control of *Phytophthora parasitica* Dastur. Caused Leaf Fall of
Para Rubber Poly Bag by Antagonistic Microorganisms

อรวรรณ ปิยะบุญ^{1/}

นกันต์ สุธาร์ตณพงศ์^{1/}

วทัณญ ตั้งศิริอำนวย^{1/}

ชลิต บุญพร้อมกุล^{1/}

ทิววัฒน์ วงศ์วิวัฒน์^{1/}

ปรียาพร คงจรรักษ์^{1/}

Orawan Piyaboon^{1/}

Napun Sutharattanapong^{1/}

Watanyu Thangsiri-Amnuay^{1/}

Chalit Bunpromtkuz^{1/}

Tirawat Vongviwat^{1/}

Preyaporn Kongjornrak^{1/}

ABSTRACT

Para rubber is an important economic plant of Thailand. However, para rubber farmers confront a problem of leaf fall due to *Phytophthora*. The efficiencies of antagonistic microorganisms namely *Trichoderma harzianum* CB-Pin-01, *T. harzianum* PM 51, *Bacillus subtilis*, and *B. amyloliquefaciens* were studied to control *Phytophthora parasitica* at the Department of Biology, Mahidol Witayanusorn school, Nakhon Pathom province during June 2007 - May 2009. *T. harzianum* CB-PIN-01 and *T. harzianum* PM 51, *B. subtilis*, and *B. amyloliquefaciens* were put on trial to inhibit the growth of *P. parasitica* by dual culture tests. Antagonistic microorganisms had inhibited the growth of *P. parasitica* and the two isolates, *T. harzianum* CB-Pin-01 and *T. harzianum* PM 51 had more efficiency than *B. spp.* In field setting, para rubber poly bag were grown in the soil by mixed with *P. parasitica* and then antagonistic microorganisms were sprayed on these para rubber poly bag every 3 days. The result was found by calculating percentage of disease control that the efficiencies of the two strains of *T. harzianum* were not significantly different and *T. harzianum* PM51 had significantly more efficient than *B. spp.*, but were equally efficient with metalaxyl.

Key words: para rubber poly bag, *Hevea brasiliensis*, leaf fall, *Phytophthora parasitica*, antagonistic microorganism

^{1/} สาขาวิชาชีววิทยา โรงเรียนมหิดลวิทยานุสรณ์ อ.พุทธมณฑล จ.นครปฐม 73170

^{1/} Department of Biology, Mahidol Wittayanusorn school, Putthamonthon district, Nakhon Pathom province 73170

บทคัดย่อ

ยางพาราเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย แต่ประสบปัญหาภัยโรคใบร่วงจากเชื้อรา *Phytophthora* จึงได้มีการศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ คือเชื้อรา *Trichoderma harzianum* CB-Pin-01 *T. harzianum* PM 51 และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* กับ *B. amyloliquefaciens* สำหรับควบคุม *Phytophthora parasitica* ด้วยวิธี dual cultures ที่ภาควิชาชีววิทยา โรงเรียนมหิดลวิทยานุสรณ์ จ.นครปฐม ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2550 - พฤษภาคม พ.ศ. 2552 พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* ได้ โดยเชื้อรา *T. harzianum* ทั้ง 2 สายพันธุ์ มีประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. parasitica* ได้ดีกว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. spp.* การฉีดพ่นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เปรียบเทียบกับสารเคมี metalaxyl บริเวณโคนต้นกล้าอย่างซ้ำๆ ทุกๆ 3 วัน พบว่าประสิทธิภาพการยับยั้งของเชื้อรา *T. harzianum* PM51 แตกต่างกับประสิทธิภาพการยับยั้งของเชื้อแบคทีเรีย *B. spp.* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. harzianum* ทั้ง 2 สายพันธุ์ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารเคมี metalaxyl

คำหลัก : ต้นกล้ายางพาราชำถุง โรคใบร่วง เชื้อรา *Phytophthora parasitica* เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

คำนำ

ยางพาราเป็นไม้เศรษฐกิจของประเทศไทยที่สร้างรายได้ให้กับประเทศไทยในปี พ.ศ. 2552 มีมูลค่า 10,282.4 ล้านบาท (นิรนาม, 2553) ในฤดูฝนเป็นช่วงเวลาเหมาะสมต่อการปลูกต้นยางพารา แต่ก็มีสภาพเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการแพร่พันธุ์ของศัตรูพืชที่สามารถสร้างความเสียหายต่อยางพาราเช่นกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคใบร่วงที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* ซึ่งแพร่ระบาดได้ดีในช่วงฤดูฝนที่มีฝนตกชุกและความชื้นสูง สามารถเกิดได้ทั้งในเขตพื้นที่การปลูกยางเดิม คือทางภาคใต้ ภาคใต้ฝั่งตะวันตก และภาคตะวันออก รวมไปถึงแหล่งปลูกยางพาราใหม่ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนืออีกด้วย (นิรนาม, 2553)

โรคใบร่วงสาเหตุหนึ่งจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* Dastur. ซึ่งมีโอกาสที่โรคจะแพร่ระบาดทำความเสียหายแก่ต้นยางพารา โดยมีระดับความรุนแรงของโรคน้อยแตกต่างกันไปตามแหล่งปลูกยาง และจะแตกต่างกันไปในแต่ละปี ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพของแปลงปลูก สภาพอากาศของท้องถิ่นนั้นๆ และพันธุ์ยางที่ใช้ปลูก โรคใบร่วงของต้นยางพาราส่วนใหญ่เท่าที่พบระบาดไม่รุนแรงมากจนทำให้ต้นยางพาราตาย แต่มีผลทำให้ผลผลิตลดลง และหากเกิดในระดับรุนแรงอาจส่งผลกระทบต่อเศรษฐกิจได้ ลักษณะเด่นของโรคใบร่วงในต้นยางพารา คือ มีรอยขีดดำอยู่ที่บริเวณก้านใบ และที่จุดกึ่งกลางของรอยขีดมีหยดน้ำยางเกาะติดอยู่ด้วย สำหรับต้นกล้าหรือต้นยางชำถุง

หากถูกเข้าทำลายจะเกิดอาการยอดเน่า แล้ว ลูกกลมไปทำลายก้านใบและแผ่นใบ ทำให้ต้นยาง ตายได้ ต้นยางที่เกิดโรคใบร่วงจะไม่ผลิใบยาง ออกมาใหม่ในปีนั้น ๆ แต่จะผลิใบใหม่ตามปกติ เมื่อถึงฤดูฝนของปีถัดไป ยกเว้นต้นยางที่เป็นโรค ใบร่วงจนหมดต้น ซึ่งจะผลิใบใหม่ขึ้นมาทดแทน ประมาณ 5% ของพุ่มใบปกติเท่านั้น (นิรนาม, 2550)

ในปัจจุบันมีการใช้สารเคมีเมทาแลกซิล (metalaxyl) เพื่อควบคุมเชื้อรา *P. parasitica* ในอัตราสารเคมี 40 ก./น้ำ 20 ล. ฉีดพ่นที่พุ่มใบ ทุก 7 วัน ซึ่งเป็นเพียงการแก้ปัญหาในระยะสั้น เท่านั้น แต่สารเคมีดังกล่าวยังก่อให้เกิดอันตราย โดยตกค้างในร่างกายของเกษตรกรผู้ใช้ เกิดผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม ปัจจุบันการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่างๆ เป็นทางเลือกในการ ควบคุมโรคพืช ได้แก่ เชื้อรา *Trichoderma harzianum* Rifai ซึ่งเป็นเชื้อราพบได้ง่ายในดิน และเจริญได้ดีในอาหารหลายชนิด โดยสามารถ ยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์ในดินที่ทำให้เกิดโรคใน พืช และยังช่วยเพิ่มปริมาณผลผลิต (Ram et al., 2000) และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* และ *B. amyloliquefaciens* เป็นแบคทีเรียแกรม บวก มีแฟลกเจลลา รูปร่างเป็นท่อน และสร้างสาร ปฏิชีวนะ (antibiosis) ซึ่งสามารถเข้าทำลายเชื้อ โรคทำให้เกิดการแตกตัวของเซลล์ (lysis) และ การแตกตัวของโครงสร้างภายในเซลล์ (endolysis) ได้ (Baker and Cook, 1982)

การศึกษามีวัตถุประสงค์เพื่อให้ทราบผล ของเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01

T. harzianum PM 51 เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* และ *B. amyloliquefaciens* ที่มีต่อการยับยั้ง เชื้อรา *P. parasitica* ซึ่งสามารถนำข้อมูลที่ได้ไป ใช้ประโยชน์ ในการพัฒนาน้ำยาพ่น หรือน้ำยา ฉีดโดยผสมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อใช้ในการ ป้องกันโรคใบร่วงในต้นยางพาราต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การจำแนกชนิดของ *Phytophthora*

1. ทำการแยกเชื้อรา *Phytophthora* จากต้นยางพาราสายพันธุ์ RRIM 600 ที่เป็นโรคใบ ร่วงไปเลี้ยงบน carrot agar เมื่อเชื้อราเจริญเต็ม จานหลังเพาะเชื้อได้ประมาณ 4-5 วัน

2. กดชิ้นวุ้นที่มีเชื้อรา *Phytophthora* ด้วย cork borer และวางในจานเพาะเชื้อที่มีน้ำ อยู่ วางทิ้งไว้ภายใต้แสงเป็นเวลา 48 ชม. เพื่อ ดูการสร้างสปอร์บนในจานเพาะเชื้อที่มีน้ำ หลังจาก นั้นศึกษาลักษณะรูปร่างของสปอร์แบบต่าง ๆ คือ

2.1 Sporangia

2.1.1 Papillate หรือ semi-papillate (Inconspicuously papillate) หรือ non-papillate

2.1.2 อัตราส่วนความกว้างและ ความยาวของ sporangia (length-breadth ratio, L/B)

2.1.3 การหลุดจากก้านของ sporangia (caducity) มีก้านติดมากับสปอร์ (pedicel หรือ stalk) มีขนาดความยาวต่างกัน

2.2 Chlamydospore เปรียบเทียบ

ปริมาณหรือจำนวน (Stamps *et al.*,1990)

การทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรีย *B. spp.* ในยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica*

1. การทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรีย *B. spp.* ในการยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD ในแต่ละเชื้อแบคทีเรีย ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวิธีการเลี้ยงเชื้อร่วมกัน (dual culture tests) ตามวิธีของศิรินทีพย์และคณะ (2549) ซึ่งมีการดัดแปลงขั้นตอนบางส่วน โดยนำ cork borer ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเจาะเพื่อนำชิ้นวุ้นเชื้อรา *P. parasitica* ที่บ่มไว้ 7 วัน วางในจานเพาะเชื้อตรงจุดศูนย์กลางบ่มเชื้อเป็นเวลา 48 ชม.

2. หลังจากนั้นวางเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* และ *B. amyloliquefaciens* ไว้ 4 จุดในแนวจัตุรัส ให้ห่างจากขอบจานเพาะเชื้อ 1.5 ซม. เป็นกรรมวิธีทดสอบ ส่วนกรรมวิธีควบคุมวางเชื้อรา *P. parasitica* อย่างเดียว จากนั้นบ่มเชื้อเป็นเวลา 7 วัน

3. วัดความยาวรัศมีเส้นใยของเชื้อรา *P. parasitica* แล้วนำมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (percent inhibition of radial growth, PIRG)

$$PIRG = \frac{(R1-R2)}{R1} \times 100\%$$

เมื่อ R1 = ความยาวรัศมีของเชื้อรา *P. parasitica* ในกรรมวิธีควบคุม

และ R2 = ความยาวรัศมีของเชื้อรา *P. parasitica* ในกรรมวิธีทดสอบ (อ้างโดย

บรรเจิดและจิระเดช (2529)) หลังจากนั้นวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

การทดสอบความสามารถของเชื้อรา *T. harzianum* ในการควบคุมและยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica*

1. การทดสอบความสามารถของเชื้อรา *T. harzianum* ในการยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD ในแต่ละเชื้อรา *T. harzianum* จำนวน 3 ซ้ำ ทำการเลี้ยงเชื้อร่วมกัน ตามวิธีของศิรินทีพย์และคณะ (2549) และนำ cork borer ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเจาะเพื่อนำชิ้นวุ้นเชื้อรา *P. parasitica* ที่บ่มเป็นเวลา 7 วัน วางในจานเพาะเชื้อตรงจุดศูนย์กลาง และบ่มเชื้อเป็นเวลา 3 วัน

2. วางเชื้อรา *T. harzianum* CB-PIN-01 และ *T. harzianum* PM 51 ไว้ 1 จุดในแนวเดียวกันกับ *P. parasitica* ให้ห่างจากขอบจานเพาะเชื้อ 1.5 ซม. เป็นกรรมวิธีทดสอบ และในกรรมวิธีควบคุมวางเชื้อรา *P. parasitica* อย่างเดียว จากนั้นบ่มเชื้อเป็นเวลา 7 วัน

3. วัดความยาวรัศมีเส้นใยของเชื้อรา *P. parasitica* แล้วคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดโรคเหมือนการทดสอบของ *B. spp.* ในการยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica*

การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ในการควบคุมเชื้อรา *P. parasitica* บนใบยางพารา

และต้นยางชำถุง

1. เชื้อรา *P. parasitica* ที่มีอายุ 7 วัน นำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA (potato dextrose agar)

2. ใช้ cork borer เจาะเส้นใยจำนวน 50 cork ใส่ลงในน้ำ 50 มล. แล้วปั่นกับข้าวโอ๊ต 5 ก. และทราย 95 ก. บ่มในที่ไม่มีแสง อุณหภูมิ 22 °ซ. และความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 40 เป็นเวลา 5 วัน

3. นำเชื้อรา *T. harzianum* อายุ 7 วัน เลี้ยงบนอาหาร PDA และฉีดน้ำกลั่นล้างสปอร์ ออกมานับสปอร์ด้วย hemacytometer แล้วเจือจาง ให้ได้ความเข้มข้น 10^8 สปอร์/มล.

4. นำเชื้อแบคทีเรีย *B. spp.* เลี้ยงในอาหารเหลว NB (nutrient broth) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร แล้วเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/มล.

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ในการยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* บนใบยางพารา

1. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ในการยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* บนใบยางพาราพันธุ์ RRIM 600 ซึ่งขยายพันธุ์ด้วยการติดตา (ต้นตออายุ 1 ปี และกิ่งตาอายุ 1 เดือน) โดยมีวางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 10 ซ้ำ 7 กรรมวิธี

2. นำใบยางพาราวางลงในจานเลี้ยงเชื้อ ใช้เข็มเย็บฆ่าเชื้อกรีดให้เกิดแผลตรงกลางทุกใบ การทดลองประกอบด้วยกรรมวิธีดังนี้ คือ ฉีดพ่นน้ำกลั่นในกรรมวิธีที่ 1 และ 2 ฉีดพ่นเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ในกรรมวิธีที่ 3 เชื้อรา *T. harzianum* PM 51 ในกรรมวิธีที่ 4 เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ในกรรมวิธีที่ 5 เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* ในกรรมวิธีที่ 6 และฉีดพ่น metalaxyl (เข้มข้น 1 ก./ล.) เป็นกรรมวิธีที่ 7

3. หลังจากฉีดพ่นในแต่ละกรรมวิธี 1 วัน ใช้ cork borer เจาะเส้นใยของเชื้อรา *P. parasitica* วางลงตรงแผลที่เตรียมไว้ในกรรมวิธีที่ 2 และกรรมวิธีที่ 3 - 7 ฉีดพ่นสารในปริมาณ 10 มล. แล้ววัดเส้นผ่านศูนย์กลางของแผลที่เกิดขึ้นทุกวันเป็นเวลา 5 วัน

4. นำไปหาค่าเฉลี่ยความครอบคลุมของใบ (%) เส้นผ่านศูนย์กลางของแผล แล้วคำนวณค่าความเป็นเปอร์เซ็นต์การครอบครองใบพืชโดยใช้

$$\text{สูตร } \frac{C1}{C2} \times 100$$

เมื่อ C1 คือจำนวนใบยางพาราที่มีเชื้อรา *P. parasitica*

ส่วน C2 คือจำนวนใบยางพาราที่ใช้ในการทดลองทั้งหมด และเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ 2 ซึ่งฉีดพ่นน้ำกลั่น (อ้างโดยวารินและคณะ (2007)) หลังจากนั้นวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี DMRT

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ในการควบคุมเชื้อรา *P. parasitica* ในต้นยางชำถุง

1. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ สำหรับการควบคุมเชื้อรา *P. parasitica* ในต้นยางชำถุง โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วย 8 ซ้ำ นำต้นยางชำถุงสายพันธุ์ RRIM 600 ที่ขยายพันธุ์ด้วยการติดตา (ต้นตออายุ 1 ปี และกิ่งตาอายุ 1 เดือน) จากสวนยางพาราของคุณเรียมศิริ ชิดเชื้อ อ.มะขาม จ.จันทบุรี และนำมาปรับสภาพแวดล้อมเป็นเวลา 1 สัปดาห์ การทดลองประกอบด้วย 7 กรรมวิธีเหมือนการทดลองที่แล้ว

2. หลังจากฉีดพ่นในแต่ละกรรมวิธี 1 วันผสมเชื้อรา *P. parasitica* ที่เตรียมไว้ในอาหาร oat meal sand ซึ่งป่นไว้ที่ 22 °ซ. เป็นเวลา 5 วันลงในดินปลูกด้วยอัตรา 100 ก./ต้น ในกรรมวิธีที่ 2 และกรรมวิธี 3 – 7 ฉีดพ่นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และสารเคมีตามกรรมวิธีที่กำหนดในปริมาณต้นละ 50 มล. ซ้ำทุก 3 วัน แล้วบันทึกผลการทดลองทุกวัน เป็นเวลา 20 วัน โดยสังเกตอาการของต้นยางชำถุง แล้วให้คะแนนความรุนแรงของโรคเป็น 4 ระดับตามวิธีการของ Cirulli และ Alexander

$$\text{ดัชนีความรุนแรง} = \frac{\text{ผลรวม (ระดับอาการ} \times \text{จำนวนต้น)}}{\text{ระดับอาการสูงสุด} \times \text{จำนวนต้นรวม}} \times 100$$

3. คำนวณค่าดัชนีความรุนแรงของโรคในแต่ละวัน และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดโรคในต้นยางชำถุง หลังจากนั้นวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี DMRT

(1966) โดยมีรายละเอียดของแต่ละระดับดังนี้

ระดับ 0 = ต้นปกติไม่เป็นโรค มีจำนวนใบที่ยังสมบูรณ์มากกว่า 80 % ของใบทั้งหมด ก้านใบยังเขียวสด ไม่มีรอยช้ำ รากสมบูรณ์และมีรากแขนงมาก

ระดับ 1 = ต้นแสดงอาการของโรค โดยใบมีจุดต่าง ๆ จำนวนใบที่ยังสมบูรณ์ 60-80 % ของใบทั้งหมด ก้านใบเริ่มช้ำ รากค่อนข้างสมบูรณ์

ระดับ 2 = ต้นแสดงอาการของโรค โดยใบมีจุดมาก และจุดที่เกิดเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ใบบางส่วนเปลี่ยนสีเป็นสีเหลือง จำนวนใบที่ยังสมบูรณ์ 40-60 % ของใบทั้งหมด ก้านใบช้ำ รากช้ำ และเมื่อดึงเบาๆ รากขาด มีการแตกรากแขนงน้อย

ระดับ 3 = ต้นตาย ใบส่วนมากเปลี่ยนสีเป็นสีเหลือง บางส่วนเริ่มร่วง จำนวนใบที่ยังสมบูรณ์น้อยกว่า 40% ของใบทั้งหมด รากช้ำ และมีรากแขนงเหลืออยู่น้อย

นำคะแนนแต่ละต้นที่ได้ประเมินไว้ในแต่ละชุดทดลองมาคำนวณหาดัชนีความรุนแรงของโรคในแต่ละชุดทดลอง ตามสูตรของ Mckinney, 1923 (อ้างโดยวีระศักดิ์, 2540)

ผลการทดลองและวิจารณ์

การศึกษาลักษณะทั่วไปของเชื้อจุลินทรีย์

ลักษณะเส้นใยของรา *T. harzianum* ทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่าเส้นใยจะมีสีขาว มีลักษณะฟู

และจะมีการสร้างสปอร์สีเขียว ส่วนเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* มีลักษณะรูปร่างโคโลนีเป็นรูปกลม (circular) ขอบของโคโลนีเรียบ มีสีเหลืองอ่อน ไม่มีรอยหยักหรือเว้า (entire) ส่วนเชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* มีรูปร่างโคโลนีเป็นรูปกลม มีสีเหลือง ขอบโคโลนีเป็นคลื่นเว้าเข้าไปมากคล้ายนิ้วมือ (lobate)

การจำแนกชนิดของ *Phytophthora*

นำเชื้อรา *Phytophthora* ที่แยกจากต้นยางพาราสายพันธุ์ RRIM 600 ที่เป็นโรคใบร่วงมาจำแนกชนิดของเชื้อรา พบว่าเป็นชนิดของเชื้อรา *P. parasitica* ที่มีลักษณะการเจริญของเส้นใยเป็นรูปใยแมงมุม ส่วนที่เป็นแถบเข้มมีการเจริญเติบโตของเส้นใยได้ดี และส่วนที่เป็นแถบจางซึ่งมีการเจริญเติบโตได้ช้าซึ่งมีปัจจัยคือแสง อีกประการก็คือการดูการสร้างสปอร์ของราเมื่อชนิดนี้โดยปกติแล้วเชื้อรา *Phytophthora* แต่ละสายพันธุ์จะสร้างในสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน พบว่าเชื้อรา *P. parasitica* มีการสร้างสปอร์ในน้ำ จึงมีการนำชิ้นวั่นไปตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ compound light microscope เพื่อดูลักษณะของสปอร์ พบว่าสปอร์ที่พบมีรูปร่างอ้วนกลม ไม่มีการหลุดของสปอร์จากเส้นใย มี papillate (Figures 1 and 2) และเมื่อคำนวณค่า length and breadth ratio พบว่ามีค่าเฉลี่ย 1.59 ไมโครเมตร ซึ่งใกล้เคียงค่า 1.6 ไมโครเมตรซึ่งเป็นค่า length-breadth ratio ของเชื้อรา *P. parasitica* ตามการจำแนกของ Stamps และคณะ, (1990)

การศึกษาของอมรรัตน์ (2548) พบว่าเชื้อรา *P. parasitica* เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถก่อโรคได้มากกว่า 200 ชนิด รวมถึงยางพารา ซึ่งทำให้เกิดโรคใบร่วงและฝักเน่าในยางพารา และเมื่อตรวจสอบเชื้อราที่แยกได้จากใบของยางพาราที่เป็นโรค แล้วนำไปจัดจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อรา *Phytophthora* sp. โดยใช้ลักษณะต่าง ๆ มาพิจารณาในการจัดจำแนกสายพันธุ์โดยวิธีของ Stamps และคณะ (1990) ซึ่งได้แก่ รูปร่างสปอร์ รูปแบบของโคโลนี และการหลุดจากก้านของสปอร์ พบว่าเชื้อราที่แยกได้จากส่วนใบ

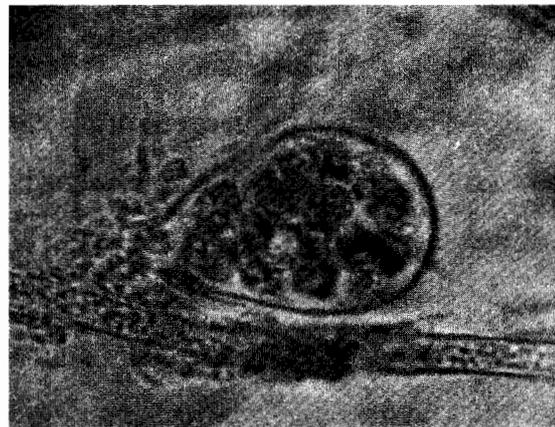


Figure 1. Sporangia of *P. parasitica* (400x)

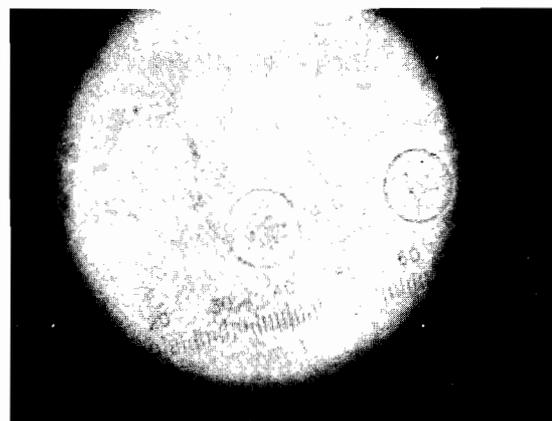


Figure 2. Chlamydospore of *P. parasitica* (100x)

ของต้นยางพาราที่เป็นโรคใบร่วงนั้น มีลักษณะ สอดคล้องกับเชื้อรา *P. parasitica* นอกจากนี้ ยังพบเชื้อรา *P. palmivora* Butler และ *P. botryose* Chee ที่สามารถทำให้เกิดโรคใบร่วง และฝักเน่าในต้นยางพาราได้อีกด้วย (อุไรและ คณะ. 2547)

ผลของเชื้อแบคทีเรีย *B. spp.* ในการควบคุม และยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica*

การทดสอบการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. parasitica* ทั้ง 9 วัน โดยเฉพาะการเจริญ ของเส้นใยเชื้อรา *P. parasitica* ในวันที่ 9 ซึ่งถูก ยับยั้งด้วยเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* และ *B. amyloliquefaciens* มีค่าเฉลี่ยความยาวรัศมี เส้นใย 2.47 ± 0.05 และ 2.1 ± 0.10 ซม. ตาม ลำดับ (Table 1) และนำผลของการเจริญเส้นใย ของเชื้อรา *P. parasitica* มาคำนวณเป็น

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* และ *B. amyloliquefaciens* ได้ 43.92 และ 51.51 % ตามลำดับ (Table 2) แสดงว่า เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* มี เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* มากกว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* อย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ (Table 2) เชื้อแบคทีเรีย *B. spp.* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. parasitica* ได้เนื่องจากเชื้อแบคทีเรีย *B. spp.* นั้นสามารถ เจริญได้ค่อนข้างเร็ว และมีกลไกการยับยั้งเชื้อ โรคด้วยสร้างสารปฏิชีวนะ เพื่อยับยั้งการเจริญ ของเชื้อโรคได้ (Kilian et al., 2004)

ผลของเชื้อรา *T. harzianum* ในการควบคุม และยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica*

การทดสอบการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. parasitic* ในวันที่ 9 ที่ถูกยับยั้งด้วยเชื้อรา *T.*

Table 1. Radial lengths of *P. parasitica* hypha on the 9th day treated with *B. amyloliquefaciens* and *B. subtilis*

Day	Average hypha radial length (cm) of <i>B. subtilis</i>	Average hypha radial length (cm) of <i>B. amyloliquefaciens</i>	Average hypha radial length (cm) of control
1	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
2	1.972±0.05	1.97±0.05	1.97±0.05
3	2.00±0.10	2.00±0.10	2.00±0.10
4	1.50±0.89	1.93±0.05	2.07±0.05
5	1.87±0.20	1.73±0.15	2.50±0.05
6	2.23±0.05	1.93±0.11	3.23±0.15
7	2.23±0.35	2.00±0.10	3.60±0.05
8	2.40±0.10	2.07±0.05	4.40±0.17
9	2.47±0.05	2.10±0.10	4.40±0.25

± = standard deviation

Table 2. Percent inhibition of radial growth (PIRG) of the 4 antagonistic microorganisms

Antagonistic microorganisms	PIRG (%)
<i>B. subtilis</i>	43.92 d
<i>B. amyloliquefaciens</i>	51.51 c
<i>T. harzianum</i> CB-PIN-01	100.00 a
<i>T. harzianum</i> PM51	90.6 b

Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

harzianum CB-PIN-01 และ *T. harzianum* PM 51 มีค่าเฉลี่ยความยาวรัศมีเส้นใย 0 และ 0.47 ± 0.41 ซม. ตามลำดับ (Table 3) และนำผลของการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *P. parasitica*

มาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของเชื้อรา *T. harzianum* CB-PIN-01 และ *T. harzianum* PM 51 พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* CB-PIN-01 และ *T. harzianum* PM 51 สามารถยับยั้ง 100 และ 90.60 % ตามลำดับ (Table 2) แสดงว่าเชื้อรา *T. harzianum* CB-PIN-01 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* ได้มากกว่าเชื้อรา *T. harzianum* PM 51 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การที่เชื้อรา *T. harzianum* สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* ได้ เนื่องจากมีการเจริญเติบโตบนอาหาร PDA ได้เร็ว และมีความสามารถในการสร้างสปอร์สูง เมื่อ *T. harzianum* และเจริญเข้าใกล้ราเมือก ราเมือกหยุดสร้างเส้นใย ในขณะที่เชื้อรา *T. harzianum* สร้างเส้นใยและสปอร์มากขึ้น และเจริญคลุมทับ

Table 3. Radial lengths of *P. parasitica* hypha on the 9th day treated with *T. harzianum* CB-PIN-01 and *T. harzianum* PM 51

Day	Hypharadial length of <i>T. harzianum</i> CB-PIN-01 (cm)	Hypharadial length of <i>T. harzianum</i> PM51 (cm)	Hypharadial length of control (cm)
1	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
2	0.23±0.05	0.23±0.05	0.23±0.05
3	1.90±0.1	1.90±0.10	1.90±0.10
4	2.27±0.05	1.90±0.10	2.27±0.20
5	2.63±0.15	2.27±0.05	2.67±0.10
6	2.07±0.11	2.70±0.10	3.27±0.25
7	1.33±0.30	3.23±0.05	4.27±0.52
8	0.00±0.00	3.23±0.05	4.50±0.10
9	0.00±0.00	0.47±0.41	5.03±0.10

± = standard deviation

เส้นใยของเชื้อรา *P. parasitica* ดังนั้นเชื้อรา *T. harzianum* มีประสิทธิภาพและบทบาทที่สำคัญในการลดปริมาณเชื้อรา *P. parasitica* ได้อย่างเด่นชัด และมีประสิทธิภาพคงที่กว่าการใช้สารเคมี metalaxyl เพราะเชื้อรา *T. harzianum* มีความสามารถในการที่จะอยู่ในดินได้ต่อเนืองยาวนาน ไม่สูญเสียสภาพไปหมดเหมือนกับสารเคมีเนื่องจากเชื้อรา *T. harzianum* เป็นเชื้อราที่มีคุณสมบัติและศักยภาพสูงในการใช้ควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช เพราะความสามารถในการเจริญอย่างรวดเร็วและสร้างสปอร์ได้ปริมาณมาก โดยอาศัยอาหารจากเศษอินทรีย์วัตถุ และยังมีการพันรัดแล้วแทงส่วนของเส้นใยเข้าไปในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ทำให้เส้นใยตาย (จิระเดช, 2547) จึงสามารถเจริญเติบโตได้ดีในดินปลูกพืช ซึ่งแตกต่างกับแบคทีเรีย *B. spp.* ที่มีการสร้างปฏิชีวนะสารบางชนิดได้ในช่วงที่มีการสร้าง endospore ซึ่งต้องอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม และในดินนั้นมีเชื้อจุลินทรีย์มากมายทำให้เกิดการแข่งขันสูง จึงยากที่จะสร้าง secondary metabolite (นงลักษณ์และปรีชา, 2541)

ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *P. parasitica* บนใบยางพารา

ขนาดแผลที่เกิดจากเชื้อรา *P. parasitica* ในวันที่ 5 ที่ถูกยับยั้งโดยเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 และ *T. harzianum* PM 51 เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* และ *B. amyloliquefaciens* มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของแผล 0.45 0.30

4.77 และ 4.86 ซม. ตามลำดับ (Table 4) ขณะที่แผลที่เกิดขึ้นจากเชื้อรา *P. parasitica* ในชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของแผล 7.80 ซม. และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดโรคของเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 และ PM 51 เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* และ *B. amyloliquefaciens* ที่ 94.23 96.15 38.64 และ 37.69% ตามลำดับ (Table 4) แสดงว่าประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 และ *T. harzianum* PM 51 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. parasitica* ได้ดีเทียบเท่ากับสารเคมี metalaxyl อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Table 4. Diameters of the wounds on the 5th day when treated with different antagonists and disease control on para rubber leaves in relative to metalaxyl

Antagonist	Wounds diameter (cm)	Disease control (%)
Control	7.80 c	-
<i>T. harzianum</i> CB-Pin-01	0.45 a	94.23 a
<i>T. harzianum</i> PM 51	0.30 a	96.15 a
<i>B. subtilis</i>	4.77 b	38.64 b
<i>B. amyloliquefaciens</i>	4.86 b	37.69 b
Metalaxyl	0.00 a	100.00 a

Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *P. parasitica* ในต้นยางชำถุง

ผลของดัชนีการเกิดโรคในวันที่ 20 ของชุดทดลองที่มีเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 และ *T. harzianum* PM 51 และเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* และ *B. amyloliquefaciens* เป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ มีมีค่าดัชนีความรุนแรงของโรคของเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 และ *T. harzianum* PM 51 เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* และ *B. amyloliquefaciens* ที่ 10.87 7.74 16.86 และ 14.76% ตามลำดับ (Table 5) และการยับยั้งการเกิดโรคที่ 81.45 86.79 71.22 และ 74.81% ตามลำดับ (Table 5) และพบว่าเชื้อรา *T. harzianum* ทั้ง 2 สายพันธุ์มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* ได้ดีเทียบเท่ากับสารเคมี metalaxyl (Table 5) ซึ่งผลสอดคล้องกับการวิจัยของชาลิตและคณะ (2540) ที่ว่าเชื้อรา *T. harzianum* มีประสิทธิภาพและบทบาทที่สำคัญในการลดปริมาณเชื้อรา *P. parasitica* ได้อย่างเด่นชัดและมีประสิทธิภาพเทียบเท่าสารเคมี เนื่องจากเชื้อรา *T. harzianum* สามารถดำรงชีวิตอยู่ในดินได้นาน ไม่สลายไปเหมือนกับสารเคมี และสารเคมี metalaxyl มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* ได้ดีกว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* และ *B. amyloliquefaciens* บนใบยางพาราโดยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* และ เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* มีประสิทธิภาพสูงเท่าสารเคมี metalaxyl ในต้นยางชำถุงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 5) เนื่องจากแบคทีเรียจะอาศัยการ

ดูดซึ่มกรดอะมิโนที่หลั่งมาจากราก (exudates) และมีการเจริญเติบโตร่วมกันกับพืช (Kilian, 2004) ส่งผลให้สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* ได้ดีในต้นยางชำถุงมากกว่าในใบยางพารา นอกจากนั้นเมื่อฉีดพ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ลงบนใบยางพาราอาจทำให้แบคทีเรียตายได้เนื่องจากขาดอาหาร จึงไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. parasitica* ได้ดีเท่าที่ควร จากการทดสอบในต้นยางชำถุงทั้งเชื้อราและแบคทีเรีย สามารถเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. parasitica* สอดคล้องกับงานวิจัยของรวีและคณะ (2534) ได้ทำการคัดเลือกจุลินทรีย์

Table 5. Violence of disease indices on para rubber poly bag and percentages of disease control in relative to metalaxyl

Antagonist	Violence of disease index (%)	Disease control (%)
Control	58.59 d	-
<i>T. harzianum</i> CB-Pin-01	10.87 bc	81.45 ab
<i>T. harzianum</i> PM 51	7.74 ab	86.79 a
<i>B. subtilis</i>	16.86 c	71.22 b
<i>B. amyloliquefaciens</i>	14.76 c	74.81 b
Metalaxyl	10.52 bc	80.04 ab

Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT.

ในดินเพื่อใช้ควบคุมโรครากเน่าจากเชื้อรา *Phytophthora* ของกิ่งตอนต้นส้มเขียวหวานโดยชีววิธี พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* และเชื้อรา *T. harzianum* มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมโรค

สรุปผลการทดลอง

เชื้อรา *Phytophthora* ที่แยกจากต้นยางพาราสายพันธุ์ RRIM 600 ที่เป็นโรคใบร่วงปรากฏว่าเป็นเชื้อรา *P. parasitica* และการศึกษาในห้องปฏิบัติการพบว่าเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 และ *T. harzianum* PM 51 เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* และ *B. amyloliquifaciens* สามารถในการยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการควบคุมเชื้อรา *P. parasitica* บนใบยางพารา พบว่าประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 และ *T. harzianum* PM 51 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* ได้ดีเทียบเท่ากับสารเคมี metalaxyl อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับการควบคุมเชื้อรา *P. parasitica* ในต้นยางชำถุง พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 และ *T. harzianum* PM 51 มีการยับยั้งเชื้อรา *P. parasitica* ได้ดีเทียบเท่ากับสารเคมี metalaxyl เช่นกัน

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณโครงการ “การพัฒนาอุตสาหกรรมยางพารา” ในโครงการยุววิจัยยางพารา สถาบันกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ซึ่งเอื้อเพื่อเงินทุนในการจัดทำโครงการ

นางอมรรัตน์ ภูไพบูลย์ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ที่ให้ความรู้เกี่ยวกับเชื้อรา *P. parasitica* และ รศ. ดร. จิระเดช แจ่มสว่าง ภาควิชาโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ได้ให้ความอนุเคราะห์เชื้อรา *T. harzianum* CB-PIN-01 และ *T. harzianum* PM 51 พร้อมทั้งภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ได้ให้ความอนุเคราะห์เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquifaciens* และโรงพยาบาลรามธิบดีได้ให้ความอนุเคราะห์เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* รวมทั้งศูนย์วิจัยยางมะเขือเทศ สถาบันวิจัยยาง กรมวิชาการเกษตรได้ให้ความอนุเคราะห์เชื้อรา *Phytophthora* ที่แยกจากต้นยางพาราที่เกิดโรคโรคใบร่วง

เอกสารอ้างอิง

- จิระเดช แจ่มสว่าง. 2547. *การควบคุมโรคผักโดยชีววิธี*. คณะเกษตรศาสตร์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน กรุงเทพฯ. 150 หน้า.
- ชวลิต ยงประยูร จิระเดช แจ่มสว่าง อำไพวรรณ ภราตรีนุวัฒน์ และสุนิรัตน์ สิมะเตือ. 2540. การประยุกต์ใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* เพื่อควบคุมโรครากเน่าของส้มเขียวหวาน ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ในสวนของเกษตรกร. หน้า 246-255. ใน: *การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 35*. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 3-5 กุมภาพันธ์ 2540 กรุงเทพฯ.

- บรรเจิด อินหว่าง และจิระเดช แจ่มสว่าง. 2529. การควบคุมโรครากเน่าของมะเขือเทศ (*Rhizoctonia solani* Kuenhn.) โดยจุลินทรีย์ดินเกษตรกรรม. หน้า 173-175. ใน: รายงานการประชุมทางวิชาการสาขาพืช ครั้งที่ 24. 27-29 มกราคม 2529 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.
- นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ. 2541. จุลชีววิทยาทั่วไป. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ. 330 หน้า.
- นิรนาม. 2550. ฐานความรู้ด้านพืชฐานความรู้ด้านพืช. กรมวิชาการเกษตร. http://www.doa.go.th/pl__data/RUBBER/1STAT/st01.html, 2/2/2550.
- นิรนาม. 2553 ก. เกษตรบูรพา. <http://www.dbdmart.com>, 2/4/2553.
- นิรนาม. 2553 ข. สถิติยางไทย. สมาคมยางพาราไทย. <http://www.thainr.com>, 27/4/2553.
- วาริน อินทนา มนตรี อิศรไกรศีล ศุภลักษณ์ เศรษฐสกุลชัย ประคอง เย็นจิตต์ และทักษิณ สุวรรณโน. 2007. ประสิทธิภาพของเชื้อราไตรโคเดอร์มา ฮาซิเอนัม สายพันธุ์กลายในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการลดปริมาณเชื้อราไฟทอปทอรา พาล์มมิโวราในสวนทุเรียน. วิทยาศาสตร์ กำแพงแสน 5 (3): 1-9.
- วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์. 2540. การจัดการโรคพืช. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 175 หน้า.
- รวี เสรรฐภักดี อำไพวรรณ ภราดรน์วัฒน์ จิระเดช แจ่มสว่าง และองอาจ เต็มเกียรติไพศาล. 2534. การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ดินเพื่อควบคุมโรครากเน่าพืชทอพอธอราของส้มเขียวหวานโดยชีววิธี. หน้า 319-330. ใน: การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 29. 4-7 กุมภาพันธ์ 2534 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.
- ศิรินทิพย์ แดงดีบ จิระเดช แจ่มสว่าง วรรณวิไล อินทนู และปราโมทย์ สฤณีนิรันดร์. 2549. การคัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคลำต้นไหม้ของหน่อไม้ฝรั่งที่เกิดจากเชื้อรา *Phomopsis asparagi* Bubak. วารสารเกษตรศาสตร์ (วิทย์.) 36(5): 1211-1214.
- อมรรัตน์ ภูไพบูลย์. 2548. *Phytophthora* spp. เอกสารประกอบการเรียนการสอนวิชาอนุกรมวิธานรา. ภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 30 หน้า.
- อุไร จันทรประทีน นริสา จันทรเรือง พเยาว์ ร่มรื่นสุขารมย์ และอารมณ โรจน์สุจิตร์. 2547. โรคและศัตรูยางพาราที่สำคัญในประเทศไทย. สถาบันวิจัยยาง กรมวิชาการเกษตร. 50 หน้า.
- Baker F. K., and R. J. Cook. 1982. *Biological Control of Plant Diseases*. Minnesota: the American Phytopathological Society. 430 p.
- Cirulii, M., and L. J. Alexander. 1966. A comparison of pathogenic isolates

of *Fusarium oxysporum* and different sources of resistance in tomato. *Phytopathology* 56: 1301-1304.

Kilian, M., U. Steiner, B. Krebs, H. Junge, G. Schmiedeknecht and R. Hain. 2004. FZB24 *B. subtilis* – mode of action of a microbial agent enhancing plant vitality. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* 100: 72-93.

Ram, D., M. Kusum, B. C. Lodha and J. Webstar. 2000. Evaluation of resident biocontrol rhizome rot. *Indian Phytopathology* 53: 450-454.

Stamps D.J., G.M. Waterhouse, F.J. Newhook, G.S. Hall. 1990. Revised tabular key to the species of *Phytophthora*. *Mycological Papers* 162: 1-28.