การควบคุมเชื้อ *Curvularia oryzae* สาเหตุโรคใบจุดของปาล์มน้ำมันโดยสารเคมีและชีววิธี

Chemical and Biological Control of *Curvularia oryzae* Leaf Spot of Oil Palm

จิตรา กิตติโมรากุล

Jittra Kittimorakul

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Science in Plant Pathology
Prince of Songkla University
2557

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การควบคุมเชื้อ *Curvularia oryzae* สาเหตุโรคใบจุดของปาล์มน้ำมัน โดยสารเคมีและชีววิธี

ผู้เขียน นางสาวจิตรา กิตติโมรากุล

สาขาวิชา โรคพืชวิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก คณะกรรมการสอบ

....ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. วสันณ์ เพชรรัตน์) (ดร. อนุรักษ์ สันป่าเป้า)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. วสันณ์ เพชรรัตน์)

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เสมอใจ ชื่นจิตต์) .....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เสมอใจ ชื่นจิตต์)

.....กรรมการ

(ดร. สายทอง แก้วฉาย)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร. ธีระพล ศรีชนะ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ……..

(รองศาสตราจารย์ ดร.วสันณ์ เพชรรัตน์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ลงชื่อ ……..

(นางสาวจิตรา กิตติโมรากุล)

นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....

(นางสาวจิตรา กิตติโมรากุล)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์ การควบคุมเชื้อ *Curvularia oryzae* สาเหตุโรคใบจุดของปาล์มน้ำมัน โดยสารเคมีและชีววิธี

ผู้เขียน นางสาวจิตรา กิตติโมรากุล

สาขาวิชา โรคพืชวิทยา

ปีการศึกษา 2556

บทคัดย่อ

จากการ เก็บตัวอย่าง บริเวณแปลงเพาะต้นกล้าปาล์มน้ำมันจาก 8 จังหวัดในภาคใต้ของประเทศไทย สามารถเก็บตัวอย่างโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อรา *Curvularia oryzae* ได้ทั้งหมด 163 ตัวอย่าง และแยกเชื้อได้ 149 ไอโซเลท เมื่อนำเชื้อรา *C. oryzae* มาศึกษาการสร้างโครงสร้างสืบพันธุ์แบบใช้เพศ พบว่าเชื้อรา *C. oryzae* ทุกคู่ผสมไม่มีการสร้างโครงสร้างสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Sach's agar จากนั้นคัดเลือกเชื้อรา *C. oryzae* จากแปลงปลูกที่แสดงอาการรุนแรงมากจำนวน 8 ไอโซเลท มาทดสอบการเกิดโรคบนใบปาล์มน้ำมันและต้นกล้าปาล์มน้ำมัน พบว่าเชื้อรา *C. oryzae* NK1 สามารถก่อให้เกิดโรคได้รุนแรงมากที่สุด นำเชื้อดังกล่าวไปทดสอบการควบคุมโดยการใช้สารเคมีและชีววิธี จากสารเคมี 9 ชนิดที่ใช้ในการทดสอบ พบว่าแมนโคเซบและโพรคลอราช ที่ความเข้มข้น 40 ppm สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อราได้ดีที่สุดภายในห้องปฏิบัติการ และทดสอบการควบคุมโดยชีววิธีโดยเชื้อรา *Trichoderma* spp. และเชื้อแบคทีเรีย ในกลุ่ม *Streptomyces* spp. โดยวิธี dual-culture พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* TM2/1 และเชื้อแบคทีเรีย *S. hygroscopicus* NR8-2 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *C. oryzae* NK1 ได้ 90.22 และ 81.88 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อนำไปตรวจสอบการเป็นปฏิปักษ์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดพบว่า เชื้อรา *T. harzianum* TM2/1 สามารถเจริญคลุมทับเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคได้และเชื้อแบคทีเรีย *S. hygroscopicus* NR8-2 สามารถทำให้ปลายเส้นใยของเชื้อสาเหตุโรคบิดเบี้ยว ผิดรูปร่าง และไม่สามารถเจริญได้ เมื่อนำจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด มาทดสอบการเป็นฏิปักษ์กันพบว่า เชื้อ แบคทีเรีย *S. hygroscopicus* NR8-2 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *T. harzianum* TM2/1 ได้ที่ 76.44 เปอเซ็นต์ จากนั้นนำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 2 ชนิด ไปทดสอบการเจริญบนอาหารวุ้นที่ผสมสารเคมีกำจัดเชื้อราแมนโคเซบและโพลคลอราช พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารเคมีแมนโคเซบความเข้มข้น 1200 ppm ไม่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *T. harzianum* TM2/1 แต่ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

S. hygroscopicus NR8-2 ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารเคมีโพรคลอราช 450 ppm ไม่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ แบคทีเรีย *S. hygroscopicus* NR8-2 แต่มีการสร้างสปอร์ได้น้อยเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม และสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *T. harzianum* TM2/1 ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำไปทดสอบการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีในเรือนทดลองพบว่า กรรมวิธีที่พ่นด้วยสารเคมีแมนโคเซบ มีระดับความรุนแรงของโรคใบจุดต่ำสุด รองลงมาคือการพ่นด้วยสารเคมีโพรคลอราช และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *S. hygroscopicus* NR8-2 มีระดับความรุนแรงของโรคใบจุดแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญจากกรรมวิธีควบคุม

Thesis Title	Chemical and Biologocal Control of *Curvularia oryzae* Leaf Spot of Oil Palm
Author	Miss Jittra Kittimorakul
Major Program	Plant Pathology
Academic Year	2013

Abstract

Collected samples of oil palm diseases at nursery stage were done in eight provinces of southern Thailand. One hundred and sixty three samples of leaf spot affecting by *Curvularia oryzae* were collected, and one hundred and fourty nine isolates were isolated. Study on teleomorphic stage of *C. oryzae* showed that all of *C. oryzae* did not present any teleomorphic stage on Sach's agar medium. Eight isolates of *C. oryzae* which showed severe symptom on nursery oil palm were selected and tested for their pathoginicity. This study found that *C. oryzae* isolate NK1 was the most virulent isolate, and it was subjected to test chemical and biological control. Among 9 fungicides tested, mancozeb and prochloraz at 40 ppm were highly effective to control *C. oryzae* NK1 *in vitro*. The efficiency of *Trichoderma* spp. and *Streptomyces* spp. bioagents to control *C. oryzae* NK1 was also tested by dual-culture method. *T. harzianum* TM2/1 inhibited *C. oryzae* mycelial growth with 90.22%, while *S. hygroscopicus* NR8-2 restricted with 81.88%. Electron microscope observation showed that *T. harzianum* TM2/1 covered the most part of *C. oryzae* NK1, while *S. hygroscopicus* NR8-2 made hypha tip of *C. oryzae* NK1 abnormal. The compatibility on dual-culture tests between *T. harzianum* TM2/1 and *S. hygroscopicus* NR8-2 showed that *S. hygroscopicus* NR8-2 inhibited *T. harzianum* TM2/1 mycelial growth with 76.44%. The growth of *T. harzianum* TM2/1 and *S. hygroscopicus* NR8-2 was cultured on CMA and GYMA containing mancozeb and prochloraz at concentration of 1200 ppm and 450 ppm, respectively. The results showed that *T. harzianum* TM2/1 grew and sporulated well on CMA + mancozeb 1200 ppm but did not grew on CMA + prochloraz 450 ppm. In contrast, on GYMA + prochloraz 450 ppm indicated that *S. hygroscopicus* NR8-2 can growth but

rarely produced spore compared with the control. However, *S. hygroscopicus* NR8-2 did not grew on GYMA + mancozeb 1200 ppm. In the green house condition, spraying with mancozeb demonstrated lowest level of leaf spot disease, followed by prochloraz and *S. hygroscopicus* NR8-2 which were significantly differed from the control.

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. วสันณ์ เพชรรัตน์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และผู้ช่วยศาสตราจารย์เสมอใจ ชื่นจิตต์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษา ชี้แนะแนวทาง และการแก้ไขจุดบกพร่องในการทำวิทยานิพนธ์ จวบจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ดร. อนุรักษ์ สันป่าเป้า ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และ ดร. สายทอง แก้วฉาย กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาชี้แนะแนวทางอันเป็นประโยชน์ต่อการแก้ไขวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ ดร.ชนินันท์ พรสุริยา ดร.นริศ ท้าวจันทร์ และคณาจารย์ภาควิชาการการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติทุกท่าน ที่ให้ความกรุณาถ่ายทอดความรู้ แนวคิด ประสบการณ์ อบรมสั่งสอน และชี้แนะแนวทางอันเป็นประโยชน์ต่อการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ โครงการมหาวิทยาลัย วิจัยแห่งชาติ (NRU) สถานวิจัยความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ในการให้ทุนสนับสนุนในการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

ขอขอบคุณ คุณปัทมาพร อินสุวรรณโณ คุณสิริพร ศรีเจริญ คุณสุภาพ จันทรัตน์ คุณจำลอง ชูกำเนิด และบุคลากรภาควิชาการจัดการศัตรูพืชทุกท่าน ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือทั้งด้านวัสดุ อุปกรณ์ในการทำวิทยานิพนธ์ และความช่วยเหลือทางด้านงานธุรการ

ผู้เขียนขอขอบพระคุณ พ่อ แม่ และทุกคนในครอบครัวกิตติโมรากุล ผู้เป็นแรงผลักดันและเป็นกำลังใจในการทำวิทยานิพนธ์ รวมถึง พี่ณัฐพัชร ศรีหะนัลต Miss Mutiara K. Pitaloka ตลอดจนพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ที่ให้ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจส่งผลให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

จิตรา กิตติโมรากุล

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(10)
รายการตาราง (	11)
รายการตารางภาคผนวก (	12)
รายการภาพ (	13)
1. บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
ตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	14
2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ	15
วัสดุและอุปกรณ์	15
วิธีการทดลอง	17
3. ผลการทดลอง	30
4. สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	53
เอกสารอ้างอิง	58
ภาคผนวก	62
ประวัติผู้เขียน	69

รายการตาราง

ตารางที่ หน้า

1. การเจือจางสารเคมีควบคุมเชื้อรา *Curvularia* sp. 21
2. ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK1 ที่อายุ 10 วัน บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารเคมีในความเข้มข้น 50 100 200 และ 500 ppm (cm.) 38
3. ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK1 ที่อายุ 10 วัน บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารเคมีในความเข้มข้น 5 10 20 และ 40 ppm (cm.) 39
4. ประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. ที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK1 สาเหตุโรคใบจุดของปาล์มน้ำมัน โดยวิธี dual-culture test ที่อายุ 14 วัน 43
5. ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptomyces* spp. ที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK1 สาเหตุโรคใบจุดของปาล์มน้ำมัน โดยวิธี dual-culture test ที่อายุ 14 วัน 45
6. ระดับความรุนแรงของโรคใบจุดต้นกล้าปาล์มน้ำมันในแต่ละกรรมวิธีการทดลองภายในเรือนทดลอง 50

รายการตารางภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ หน้า

1. รหัสและจำนวนไอโซเลทของเชื้อรา *Curvularia oryzae* ที่แยกได้จากตัวอย่างโรคใบจุดในต้นกล้าปาล์มน้ำมัน 65
2. ชนิดและรหัสไอโซเลทของเชื้อราย์ปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. และเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptomyces* spp. ที่ใช้ในการทดลอง 66
3. วิเคราะห์ความแปรปรวนการทดสอบสารเคมีในการยับยั้งเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK1 ที่ความเข้มข้น 50 100 200 และ 500 ppm 67
4. วิเคราะห์ความแปรปรวนการทดสอบสารเคมีในการยับยั้งเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK1 ที่ความเข้มข้น 5 10 20 และ 40 ppm 67
5. วิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกับเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในกลุ่ม *Streptomyces* spp. 68
6. วิเคราะห์ความแปรปรวนเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกับเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในกลุ่ม *Streptomyces* spp. 68
7. วิเคราะห์ความแปรปรวนระดับความรุนแรงของโรคใบจุดในต้นกล้าปาล์มน้ำมันภายในเรือนทดลอง 68

รายการภาพ

ภาพที่ หน้า

1. วงจรการเกิดโรคใบจุดในต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่เกิดจากเชื้อรา *Curvularia* spp. 7
2. อาการใบของต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่ถูกเข้าทำลายโดยเชื้อรา *Curvularia* spp. 31
3. อาการของโรคใบจุดบนใบปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ มอ.1
   หลังปลูกเชื้อ *Curvularia* spp. ไอโซเลทต่าง ๆ เป็นเวลา 14 วัน
   โดยวิธี detached leaf 32
4. อาการของโรคใบจุดบนต้นกล้าปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ มอ.1
   หลังปลูกเชื้อ *Curvularia* spp. ไอโซเลทต่าง ๆ เป็นเวลา 20 วัน 33
5. *Curvularia oryzae* 34
6. การเจริญของเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK1 บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสม
   สารเคมีในความเข้มข้น 50 100 200 และ 500 ppm ที่อายุ 10 วัน 37
7. การเจริญของเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK 1 บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสม
   สารเคมีในความเข้มข้น 5 10 20 และ 40 ppm ที่อายุ 10 วัน 38
8. อาการของโรคใบจุดบนใบปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ มอ.1 ในการทดสอบการใช้สารเคมี
   เพื่อควบคุมเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK1 สาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมันเบื้องต้น
   หลังการปลูกเชื้อ 14 วัน 40
9. การเจริญของเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK1 ร่วมกับ
   เชื้อรา *Trichoderma harzianum* TM2/1 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMA
   หลังการเลี้ยงเชื้อที่อายุ 7 วัน 42
10. การเจริญของเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK1 ร่วมกับ
    เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces hygroscopicus* NR8-2
    บนอาหารเลี้ยงเชื้อ GYMA หลังการเลี้ยงเชื้อที่อายุ 14 วัน 42
11. เชื้อรา *Trichoderma harzianum* TM2/1 เลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK1
    ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด 46
12. เชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces hygroscopicus* NR8-2 เลี้ยงร่วมกับ
    เชื้อรา *Curvularia oryzae* NK1 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด 46

รายการภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

13. การเจริญของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* TM2/1 ร่วมกับเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces hygroscopicus* NR8-2 ที่อายุ 5 วัน 45

14. การเจริญของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* TM2/1 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMA อาหารเลี้ยงเชื้อ CMA ผสมสารเคมีแมนโคเซบความเข้มข้น 1,200 ppm และอาหารเลี้ยงเชื้อ CMA ผสมสารเคมีโพรคลอราชความเข้มข้น 450 ppm ที่อายุ 7 วัน 48

15. การเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces hygroscopicus* NR8-2 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ GYMA อาหารเลี้ยงเชื้อ GYMA ผสมสารเคมีแมนโคเซบความเข้มข้น 1,200 ppm และอาหารเลี้ยงเชื้อ GYMA ผสมสารเคมีโพลคลอราชความเข้มข้น 450 ppm ที่อายุ 14 วัน 49

16. ต้นกล้าปาล์มน้ำมันหลังการทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และสารเคมีกำจัดเชื้อราในการควบคุมโรคใบจุดในเรือนทดลอง เป็นเวลา 6 เดือน 51

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ปาล์มน้ำมันเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ที่มีอายุยืนยาว ปาล์มน้ำมันอยู่ในวงศ์ Palmae หรือ Arecaceae และสกุล *Elaeis* ในปัจจุบัน พันธุ์ที่ใช้ปลูกเพื่อการค้า คือ *Elaeis guineensis* Jacq. (Rajanaidu *et al*.,1987) มีถิ่นกำเนิดในทวีปแอฟริกา และแพร่กระจายอยู่ในเขตภูมิอากาศร้อนชื้น ที่เส้นรุ้ง 10 องศาเหนือ-ใต้ (Dranfield and Uhl, 1986 อ้างโดย มารวย เมฆาวนกุล , 2541) ปาล์มน้ำมันเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทยโดยเฉพาะทางภาคใต้และบางส่วนในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคตะวันออก ในปี 2553 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันประมาณ 3.93 ล้านไร่ ให้ผลผลิตแล้ว 3.2 ล้านไร่ ให้ผลผลิตทะลายสด 8.6 ล้านตัน และผลิตเป็นน้ำมันปาล์มดิบ 1.46 ล้านตัน (พิพัฒน์ เชี่ยงหลิว และเกริกชัย ธนรักษ์, 2554) พื้นที่ที่เหมาะสมในการปลูกปาล์มน้ำมันในโลกนี้มีค่อนข้างจำกัด แต่ประเทศไทยอยู่ในภูมิภาคที่ได้เปรียบและสามารถปลูกปาล์มน้ำมันได้ดี และยังมีโอกาสขยายพื้นที่ปลูกได้ไม่ต่ำกว่า 5 ล้านไร่ ปาล์มน้ำมันเป็นพืชอนุรักษ์สภาพแวดล้อม (eco-friendly crop) เมื่อปลูกไปเป็นระยะเวลานานจะทำให้สภาพระบบนิเวศที่เสียหายไปกลับคืนได้ ผลผลิตของปาล์มน้ำมันสามารถใช้ได้ทั้งอุปโภคและบริโภค โดยน้ำมันปาล์มประกอบด้วย กรดไขมันหลายชนิด วิตามินอี และวิตามินเอ สามารถนำมาใช้ประโยชน์เป็นสารตั้งต้นในอุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง อุตสาหกรรม Oleochemical และพลังงานทดแทนที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภคเพราะไม่มีการตัดแต่งพันธุกรรม (GMOs) จึงสรุปได้ว่าปาล์มน้ำมันเป็นพืชที่มีศักยภาพสูงมากอีกพืชหนึ่งของประเทศไทย

ปัญหาที่สำคัญในการผลิตปาล์มน้ำมันของเกษตรกรไทย คือการได้รับพันธุ์ปาล์มที่ไม่ดีไปปลูก เนื่องจากประเทศไทยยังไม่สามารถผลิตปาล์มพันธุ์ดีได้ กอร์ปกับการขาดความรู้ในการดูแลรักษาและการจัดการที่ดีของเกษตรกรผู้ปลูกปาล์มน้ำมัน (ธีระ เอกสมทราเมษฐ์ และคณะ, 2545) อีกทั้งพบการเข้าทำลายของโรคต่างๆ ในทุกระยะการผลิต (ชาย โฆรวิส และ สุรกิจ ศรีสกุล , 2548) โรคปาล์มน้ำมันมักจะมีการแพร่ระบาดของเชื้อในพื้นที่ที่มีการแพร่ระบาดอย่างรุนแรงเท่านั้น ใน

ระยะต้นกล้ามีโรครากเน่า โรคใบจุดที่ส่งผลกระทบต่อการเจริญของต้นกล้า ซึ่งหากมีการระบาดที่รุนแรงมากอาจทำให้ต้นกล้าตายได้

โรคใบจุดในระยะต้นกล้าของปาล์มน้ำมันเกิดจากเชื้อรา *Curvularia* spp. ส่วนใหญ่พบระบาดมากกับแปลงเพาะกล้าปาล์มน้ำมันโดยเฉพาะในช่วงฤดูฝน ทำให้ต้นกล้าชะงักการเจริญ และในต้นที่เกิดโรครุนแรงมากอาจทำให้ต้นตายได้ การพ่นสารเคมีเพื่อควบคุมพบว่าต้องใช้สารเคมีในการฉีดพ่นถึง 3 ชนิด คือ ไทแรม แคปแทน และ แมนโคเซบ โดยพ่นทุกสัปดาห์ เพื่อควบคุมโรคไม่ให้มีการแพร่ระบาดอย่างรุนแรงมากขึ้น (พิพัฒน์ เชี่ยงหลิว และเกริกชัย ธนรักษ์, 2554) แต่เกษตรกรก็ยังประสบปัญหาการแพร่ระบาดของโรคใบจุดตลอดทั้งปี จากปัญหาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า การใช้สารเคมีอย่างต่อเนื่องนั้นทำให้เชื้อรา *Curvularia* spp. เกิดการต้านทานสารเคมี เนื่องจากเชื้อมีการพัฒนาตัวเองขึ้นเพื่อทนต่อสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนไป และทนต่อประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดเชื้อรา จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาหาสารเคมีชนิดใหม่ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคดังกล่าว และการควบคุมโดยชีววิธีก็เป็นอีกวิธีการหนึ่งที่น่าสนใจ ซึ่งในปัจจุบันได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย เนื่องจากปลอดภัยต่อสภาพแวดล้อม ไม่เกิดมลพิษตกค้าง ไม่ส่งผลกระทบต่อมนุษย์และสัตว์เลี้ยง จึงถือเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคอย่างมีประสิทธิภาพ และเนื่องจากขณะนี้มีผู้ที่ทำการศึกษาการควบคุมโรคใบจุดในปาล์มน้ำมันในระยะต้นกล้าค่อนข้างน้อย จึงมีความสนใจที่จะศึกษาหาประสิทธิภาพของสารเคมีที่สามารถนำมาใช้ควบคุมเพื่อลดการแพร่ระบาดได้ดีที่สุด และศึกษาการควบคุมโดยชีววิธีเพื่อให้ไม่ส่งผลกระทบต่อสภาพแวดล้อมและไม่มีสารเคมีตกค้าง

ตรวจเอกสาร

1. โรคใบจุดในระยะต้นกล้าปาล์มน้ำมัน

การระบาดของโรคในระยะต้นกล้าของปาล์มน้ำมันโดยส่วนใหญ่เกิดจากการจัดการและการดูแลไม่ดี เช่น การให้น้ำมากเกินไปและการวางถุงกล้าปาล์มชิดกันจนเกินไป หากมีการระบาดของโรคเกิดขึ้น นอกจากทำความเสียหายแก่ต้นกล้าเองแล้วยังทำความเสียหายถึงแผนการปลูกในแปลง ซึ่งรวมทั้งการเตรียมพื้นที่ปลูกแต่ไม่มีต้นกล้าที่จะลงปลูก โดยโรคที่เกิดบนใบต้นกล้าแม้ว่าความเสียหายไม่ถึงกับทำให้ต้นกล้าตายแต่ทำให้การเจริญของต้นกล้าช้าลง ต้นกล้าที่ได้ไม่แข็งแรงไม่เหมาะที่จะนำไปปลูกในแปลงเป็นผลเสียในระยะยาวถึงผลผลิต (ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช, 2548) โรคในกล้าปาล์มน้ำมันมีหลายโรคด้วยกัน ได้แก่

โรคใบจุด (leaf spot) เกิดจากเชื้อรา *Curvularia* spp. อาการในระยะแรกเป็นจุดสีเหลืองขนาดเล็ก เป็นแผลขอบนูน รูปร่างกลมรี ต่อมาแผลขยายเป็นสีน้ำตาล ขนาด 7-8 มิลลิเมตร และเมื่อแผลขยายใหญ่ขึ้นเห็นเป็นวงแหวนสีน้ำตาลซ้อนกันเป็นชั้น ๆ อยู่ด้านใน แผลเชื่อมซ้อนกันเป็นแผลขนาดใหญ่ได้ ใบแห้งกรอบเป็นสีน้ำตาล (พิพัฒน์ เซี่ยงหลิว และเกริกชัย ธนรักษ์, 2554; Turner, 1981)

โรคใบจุดเกิดจากเชื้อรา *Pestalotiopsis palmarum* อาการในระยะแรกเป็นจุดสีดำบริเวณที่เกิดแผลทำให้ใบยุบตัวลง รอยแผลที่เก่าเนื้อเยื่อเป็นสีขาวครีม ขอบแผลสีดำ และมีจุดสปอร์สีน้ำตาลบริเวณกลางแผล (Labarca *et al.,* 2006)

โรคใบจุดเกิดจากเชื้อรา *Cercospora elaeidis* อาการในระยะแรกเป็นจุดน้ำตาลขนาดเล็ก ระยะต่อมาเป็นจุดสีน้ำตาลขนาดใหญ่ขึ้นและมีวงสีเหลืองล้อมรอบ เมื่อมีการติดเชื้ออย่างรุนแรง จุดสีน้ำตาลจะกระจายอยู่ทั่วทั้งใบ (Kovachich, 1954)

โรคแอนแทรคโนส (anthracnose) เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อราได้หลายชนิด เช่น *Colletotrichum gloeosporiodes*, *Botryodiplodia palmarum*, *Melanconium* sp., และ *Glomerella cingulata* (Aderungboye, 1977) โดยทำให้เกิดจุดแผลขนาดเล็กในระยะแรก ต่อมาเมื่อมีการขยายพื้นที่การติดเชื้อทำให้มีเนื้อเยื่อตายและแผลเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลครีม แผลยุบตัวลงบนใบของกล้าปาล์มน้ำมัน และมีจุดสปอร์สีน้ำตาลขนาดเล็ก (fruiting body) กระจายเรียงเป็นวงบนแผลเนื้อเยื่อตาย ถ้าระบาดมากทำให้ต้นกล้าชะงักการเจริญเติบโต

โรคใบจุด เกิดจากเชื้อรา *Drechslera halodes* และ *Helminthosporium* sp. อาการของโรคระยะแรกทำให้ใบอ่อนของต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่ยังไม่คลี่เกิดแผลเป็นจุดกลมสีเหลืองเล็กๆ เท่าหัวเข็มหมุด ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีดำ หากระบาดมากใบจะเหลืองทั้งใบ และทำให้ต้นกล้าแห้งตายได้ (Jegathambigai *et al*., 2008)

โรคบลาส (blast) เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia lamellifera* และ *Pythium splendens* เชื้อสาเหตุโรคทำให้ใบของต้นกล้าปาล์มน้ำมันเปลี่ยนสีและเกิดอาการใบแห้งกรอบ ต่อมาทำให้ต้นกล้าแห้งตายทั้งต้น (ชาย โฆรวิส และสุรกิจ ศรีสกุล, 2548)

2. เชื้อรา *Curvularia* spp. สาเหตุโรคใบจุดในต้นกล้าปาล์มน้ำมัน

2.1 การจัดอันดับหมวดหมู่

เชื้อรา *Curvularia* spp. เป็นเชื้อราสาเหตุโรคในพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจหลายชนิดโดยการจัดอันดับหมวดหมู่ มีดังนี้ (Kirk *et al*., 2008)

อาณาจักร (Kingdom): Fungi

ไฟลัม (Phylum): Ascomycota

ชั้น (Class): Ascomycetes

อันดับ (Order): Pleosporales

วงศ์ (Family): Pleosporaceae

สกุล (Genus): *Curvularia*

เชื้อรา *Curvularia* spp. เป็นแซพโพรไฟท์และปรสิตกับพืชได้หลายชนิด โดยสามารถพบได้ทั่วไปในเขตร้อนและเขตอบอุ่น เชื้อรา *Curvularia* spp. มีเส้นใยสีน้ำตาล สีเทา หรือสีดำ โคนิดิโอฟอร์มีลักษณะตรง บางครั้งมีการแตกกิ่ง ผิวเรียบ โคนิเดียมีผนังกั้นอยู่ภายในโคนิเดีย (distoseptate) 3 หรือมากกว่านั้น โดยเซลล์ที่ 3 หรือเซลล์ตรงกลางโคนิเดียมักมีขนาดใหญ่กว่าเซลล์อื่นๆ (Sivanesan, 1987) สำหรับโรคใบจุดในต้นกล้าปาล์มน้ำมันของ ประเทศไทยมีรายงานการเข้าทำลายของเชื้อรา *Curvularia* sp. จำนวน 2 ชนิดด้วยกันคือ *C. oryzae* ในพื้นที่จังหวัดกระบี่ และ *C. eragrostidis* ในพื้นที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี (พิพัฒน์ เซี่ยงหลิว และเกริกชัย ธนรักษ์, 2554 ; Doungsa-ard *et al.,* 2011) และในประเทศมาเลเซียมีรายงานเชื้อสาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมันที่ทำให้เกิดความเสียหายส่งผลกระทบต่อการเจริญของต้นกล้าปาล์มน้ำมันว่าเกิดจากเชื้อรา *C. lunata*, *C. maculans*, *Bipolaris halodes* และ *B. rostratum* (Englert *et al*., 1999)

2.2 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของเชื้อรา *Curvularia* spp. (teleomorph or sexual stage)

เชื้อรา *Curvularia* spp. มีระยะการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศอยู่ในสกุลของเชื้อรา *Cochliobolus* spp. ซึ่งเชื้อราชนิดนี้สร้างโครงสร้างสืบพันธุ์แบบใช้เพศที่เรียกว่าเพอริทีเชียม โดยโครงสร้างดังกล่าวเป็นแอสโคมาตาชนิดหนึ่งบนเนื้อเยื่อพืช มีรูปร่างกลม และมีคอเป็นทรงกระบอกติดกับรูปร่างกลมนั้นทั้งแบบสั้นและแบบยาว เรียกว่า ostiolar neck หรือ ostiolar beak เพอริทีเชียม มีสีน้ำตาลดำจนถึงสีดำ เชื้อรา *Cochliobolus* spp. มีการเจริญในลักษณะ *Pleospora*-type of centrum คือ เป็นการเริ่มสร้างโครงสร้างสืบพันธุ์จากด้านล่างเป็นฐานแล้วเจริญขึ้นไปด้านบน (Sivanesan, 1987) ภายในแอสโคมาตาของเชื้อรา *Cochliobolus spp.* มีแอสคัส (ascus) และภายในแอสคัสมีแอสโคสปอร์ (ascospore) ใน 1 แอสคัสนั้นมีแอสโคสปอร์อยู่ภายใน ตั้งแต่ 2-8 สปอร์ โดยส่วนมากมี 8 สปอร์ แอสโคสปอร์มีลักษณะเป็นเส้นยาวคล้ายกับเส้นด้าย (filiform) ขดกันเป็นเกลียว (helix) อยู่ภายในแอสคัส มีสีใส (hyaline) แอสคัสมีลักษณะเป็นรูปทรงกระบอก คล้ายกระบอกตวงจนถึงรูปร่างคล้ายกระบอง หรือมีลักษณะร่วมกันของรูปร่างทรงกระบอกและกระบอง (Shoemaker, 1955 อ้างโดย Sivanesan, 1987) นอกจากเชื้อรา *Curvularia* spp. แล้ว เชื้อรา *Bipolaris* spp. ยังเป็นเชื้อราอีกสกุลหนึ่งที่สร้างระยะการสืบพันธุ์แบบใช้เพศที่อยู่ในสกุลของ เชื้อรา *Cochliobolus* spp. ในปัจจุบันพบว่ามีเชื้อรา *Bipolaris* และ *Curvularia* ประมาณ 92 ชนิด แต่มีระยะการสืบพันธุ์แบบใช้เพศจัดอยู่ในสกุล *Cochliobolus* spp. เพียง 32 ชนิด ส่วนอีก 60 ชนิดยังไม่พบระยะการสืบพันธุ์แบบใช้เพศ นอกจากนี้ยังพบว่ามีการจัดระยะการสืบพันธุ์แบบใช้เพศของเชื้อรา *Bipolaris* และ *Curvularia* ที่มีขนาดเล็กเป็น *Pseudocochliobolus* spp. ซึ่งมีลักษณะเหมือนกับเชื้อรา *Cochliobolus spp.* ทุกประการ แต่มีขนาดเล็กกว่า (Tsuda and Ueyama, 1982) สำหรับเชื้อรา *C. eragrostidis* มีชื่อในระยะการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศว่า *Cochliobolus eragrostidis* โดยเชื้อรา *C. eragrostidis* สามารถสร้างสโตรมาตาซึ่งเป็นโครงสร้างสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศในอาหาร Sach's agar ร่วมกับฟางข้าวนึ่งฆ่าเชื้อ โดยพบโคนิเดียหนาแน่นบนฟางข้าวนึ่งฆ่าเชื้อ และพบบางเบาบนผิวหน้าอาหาร แต่ยังไม่มีรายงานพบระยะการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของเชื้อรา *C. oryzae* (Sivanesan, 1987)

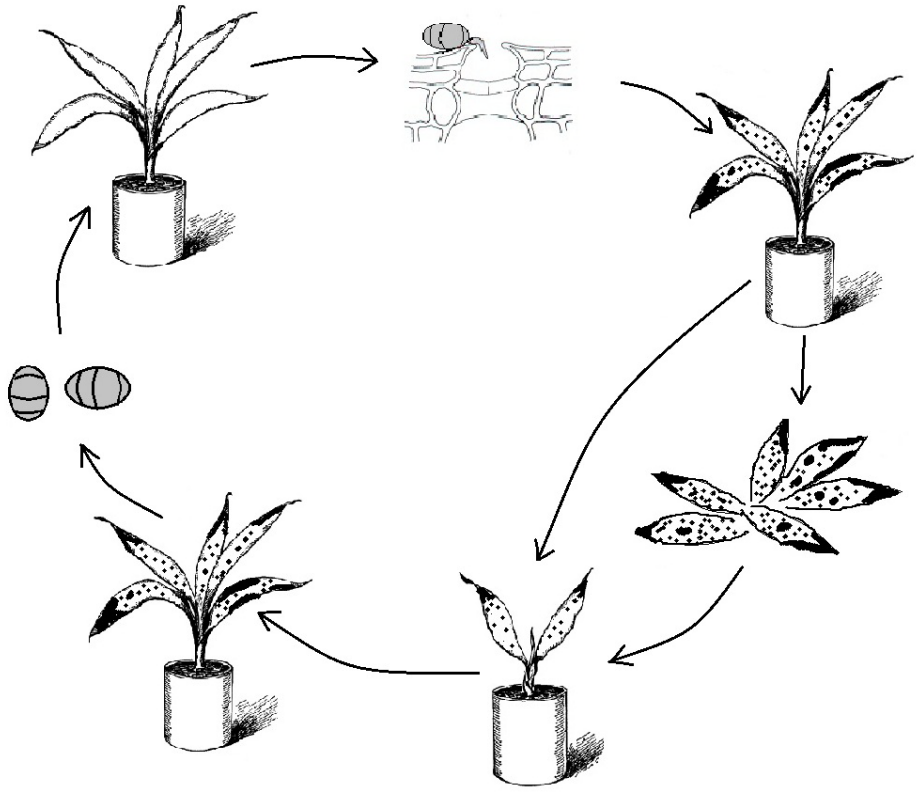
2.3 การแพร่กระจายของเชื้อรา *Curvularia* spp.

เชื้อรา *Curvularia* spp. สามารถเข้าทำลายพืชได้หลายชนิด เช่น ข้าว ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ข้าวสาลี อ้อย ตะไคร้ รวมถึงวัชพืชและพืชใบเลี้ยงคู่บางชนิด โดยพบการแพร่กระจายทั่วไปในพื้นที่ต่าง ๆ มากมาย เช่น ประเทศออสเตรเลีย บรูไน พม่า คิวบา ฟิจิ กานา กินี ฮ่องกง อินเดีย อินโดนีเซีย ญี่ปุ่น มาเลเซีย นิวซีแลนด์ ไนจีเรีย ปาปัวนิวกินี ศรีลังกา และสหรัฐอเมริกา เป็นต้น (Sivanesan, 1987) สำหรับการแพร่กระจายของเชื้อดังกล่าว สามารถแพร่กระจายได้ง่ายโดยลม เมื่อมีการสร้างสปอร์บนแผลของพืชอาศัย นอกจากนี้เชื้อรา *Curvularia* spp. ยังมีคุณสมบัติเป็นผู้ย่อยสลายอินทรีย์สาร (Saprophyte) จึงสามารถมีชีวิตรอดอยู่ในดินหรือเศษซากพืชที่เป็นโรคที่อยู่รอบๆ เมื่อเกษตรกรตัดใบที่เป็นโรคแต่ไม่มีการจัดการหรือการเผาทำลายอย่างถูกต้อง ทำให้เมื่อมีสภาพอากาศที่เหมาะสมในช่วงต้นฤดูฝนคือสภาพอากาศร้อนชื้น เชื้อราดังกล่าวจึงสามารถเจริญและสร้างสปอร์เพื่อเข้าทำลายพืชอาศัยหลักในแปลงปลูกได้ง่าย

เชื้อรา *C. eragrostidis* และ *C. oryzae* มักมีการแพร่ระบาดและสร้างความเสียหายเป็นอย่างมากในช่วงฤดูฝนเนื่องจากมีสภาพอากาศร้อนมากในช่วงเช้าและมีฝนตกหนักในช่วงบ่าย ทำให้สภาพอากาศเหมาะกับการแพร่ระบาดของเชื้อเป็นอย่างมาก โดยเมื่อมีต้นที่แสดงอาการเกิดขึ้นในแปลงปลูกแล้วมีกระจายของโรคอย่างรวดเร็ว เนื่องจากเกษตรกรวางถุงต้นกล้าในระยะชิดกันมากทำให้ใบที่แสดงอาการโรคมีโอกาสสัมผัสกับต้นปกติได้ง่ายและสปอร์ของเชื้อแพร่จากต้นหนึ่งไปยังอีกต้นหนึ่งได้ง่าย ในแปลงที่มีการระบาดของเชื้อเป็นอย่างมาก เชื้อสามารถแพร่กระจายไปสู่แปลงใกล้เคียงได้โดยลม ซึ่งในพื้นที่ภาคใต้ ในช่วงฤดูฝนมักมีลมพัดอยู่ตลอดทั้งวัน จึงง่ายต่อการระบาดไปยังพื้นที่ใกล้เคียง นอกจากนี้ เชื้อรา *C. eragrostidis* และ *C. oryzae* สามารถเข้าทำลายวัชพืชที่เจริญอยู่รอบ ๆ แปลงปลูกเพื่อเป็นพืชอาศัยรองได้ ทำให้เมื่อเกษตรกรกลับมาเพาะต้นกล้าปาล์มน้ำมันเพื่อจำหน่ายอีกครั้งในปีถัดไปจึงมีการระบาดซ้ำในแปลงปลูกขึ้นอีกได้

2.4 วงจรการเกิดโรคของเชื้อรา *Curvularia* spp. สาเหตุโรคใบจุดในต้นกล้าปาล์มน้ำมัน

สปอร์ของเชื้อรา *Curvularia* spp. สามารถแพร่กระจายได้ง่ายโดย ปลิวไปยึดติดบริเวณผิวพืชอาศัย จากนั้นสปอร์ค่อย ๆ งอก germ tube ซึ่ง germ tube นี้ เชื่อกันว่าจะมีการผลิตสารเคมี บางชนิดเพื่อใช้ในการก่อให้เกิดโรคกับพืชอาศัย เมื่อพืชอาศัยแสดงอาการติดเชื้ออย่างรุนแรงและรวดเร็ว เกษตรกรมักใช้วิธีการตัดแต่งชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคทิ้งเพื่อลดพื้นที่การติดเชื้อของพืชแต่ไม่มีการกำจัดอย่างถูกวิธีหรือยังกองทิ้งชิ้นส่วนที่เป็นโรคไว้ใกล้ ๆ แปลงปลูก ทำให้เชื้อสามารถอาศัยอยู่ได้ในชิ้นส่วนพืชที่ไม่มีการเผาทำลายหรือกำจัดอย่างไม่ถูกต้องและเข้าทำลายต้นกล้าปาล์มน้ำมันขนาดเล็กที่เพิ่งย้ายลงในถุงเพาะกล้าได้ หากมีการระบาดอย่างรุนแรงเชื้อสามารถแพร่กระจายจากต้นที่แสดงอาการเกิดโรคอย่างรุนแรงเข้าทำลายต้นกล้าปาล์มน้ำมันขนาดเล็กเพียงไม่กี่ต้นในระยะแรก เมื่อต้นกล้าขนาดเล็กเจริญขึ้นเป็นต้นกล้าขนาดใหญ่ มักมีการติดเชื้อโรคใบจุดอย่างรุนแรงและแพร่กระจายทั่วบริเวณแปลงเพาะปลูกได้ในเวลาอันรวดเร็ว (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1. วงจรการเกิดโรคใบจุดในต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่เกิดจากเชื้อรา *Curvularia* spp.

3. โรคของพืชเศรษฐกิจอื่น ๆที่เกิดจากเชื้อรา *Curvularia oryzae* และ *Curvularia eragrostidis*

เชื้อรา *C. oryzae* และ *C. eragrostidis* เป็นเชื้อราที่มีความสำคัญและสร้างความเสียหายให้กับพื้นที่เพาะปลูกของพืชเศรษฐกิจหลายชนิดทั้งพืชไร่และพืชสวน ในประเทศไทยมีการรายงานการเข้าทำลายต้นกล้าปาล์มน้ำมันโดยเชื้อราดังกล่าว นอกจากนี้ยังมีพืชอาศัยอีกหลายชนิดที่มีรายงานการเข้าทำลายของเชื้อราทั้ง 2 ชนิดและเป็นเชื้อราสาเหตุโรคในพืชอื่น ๆ ด้วย เช่น

โรคเมล็ดด่างในข้าว (dirty panicle disease) เกิดจากเชื้อราได้หลายชนิด แต่มีรายงานการเข้าทำลายของเชื้อรา *Curvularia* spp. จำนวน 2 ชนิดคือ *C. lunata* และ *C. oryzae* โดยส่วนใหญ่เกิกจากเชื้อรา *C. lunata* เข้าทำลายและทำให้เกิดโรคเมล็ดด่างเป็นหลัก ส่วน *C. oryzae* พบในข้าวบางสายพันธุ์ (Siddhardha *et al*., 2009) การเข้าทำลายของเชื้อรามักเกิดในช่วงดอกข้าวเริ่มโผล่จากกาบหุ้มรวงจนถึงเมล็ดข้าวเริ่มเป็นน้ำนม และปรากฏเด่นชัดในระยะใกล้เก็บเกี่ยว (นิรนาม, 2556) อาการที่พบเปลือกข้าวเป็นสีน้ำตาลดำถึงสีดำ ขนาดแผลไม่แน่นอน อาจเข้าทำลายบางส่วนหรือทั้งเมล็ด หากเข้าทำลายในระยะติดผล มักทำให้เมล็ดลีบ ในประเทศฟิลิปปินส์ มีรายงานการระบาดของเชื้อ *C. oryzae* ในเมล็ดข้าวมาตั้งแต่ในปี 1964 และมีแนวโน้มการแพร่ระบาดเพิ่มขึ้นอีกในอนาคต โดยเมื่อเมล็ดข้าวถูกเชื้อเข้าทำลายส่งผลให้ผลผลิตที่ได้มีคุณภาพต่ำลงและไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้เมื่อมีการติดเชื้ออย่างรุนแรง (Sevilla and Mamicpic, 1988)

โรคใบจุดของต้น yam (leaf spot of yam) ต้น yam เป็นพืชปลูกที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในประเทศบราซิล ปลูกมากทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และประสบปัญหาอย่างมากจากโรคใบจุดที่มีสาเหตุจากการเชื้อรา *C. eragrostidis* จากการสำรวจความเสียหายพบว่าทำให้น้ำหนักผลผลิตลดลงถึง 35-40 เปอร์เซ็นต์ (Michereff *et al*., 1994) ในประเทศไนจีเรียก็ประสบปัญหาเช่นเดียวกัน มีรายงานว่าโรคใบจุดของต้น yam มีลักษณะอาการในระยะแรกเป็นจุดกลมๆขนาดเล็กทั่วใบ ต่อมาแผลมีขนาดใหญ่และหากรุนแรง แผลอาจขยายตัวรวมกันเป็นแผลไหม้ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร ส่งผลให้เกิดแผลเนื้อเยื่อตายและส่งผลกระทบต่อการเจริญและการแตกหน่อ โดยอาการดังกล่าวสามารถเกิดได้ทั้งกับต้น yam ในแปลงปลูกและในโรงเรือนเพาะกล้า (Amusa *et al*., 2003)

โรคดอกจุดสนิมในกล้วยไม้สกุลหวาย กล้วยไม้เป็นพืชตัดดอกชนิดหนึ่งที่เกษตรกรนิยมปลูก เนื่องจากดอกกล้วยไม้ในประเทศไทยได้รับความนิยมเป็นอย่างมากใน

ต่างประเทศ เชื้อรา *C. eragrostidis* เป็นเชื้อสาเหตุโรคชนิดหนึ่งที่สร้างปัญหาให้กับเกษตรกร โดยเฉพาะดอกกล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium* sp.) เมื่อดอกกล้วยไม้ถูกเชื้อชนิดนี้เข้าทำลาย อาการเริ่มแรกเป็นจุดขนาดเล็กสีน้ำตาลเหลือง เมื่อจุดเหล่านี้ขยายโตขึ้นเป็นสีเหมือนสีสนิมบนกลีบดอกกล้วยไม้ แผลมีลักษณะค่อนข้างกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.1-0.3 เซนติเมตร ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และสภาพแวดล้อม หากมีการเข้าทำลายในฤดูร้อน อาการที่ปรากฏอาจเป็นจุดขนาดหัวเข็มหมุด (pin point) โรคนี้มักมีการระบาดในช่วงฤดูฝนโดยเฉพาะช่วงที่มีฝนติดต่อกันเป็นเวลานานหรือมีน้ำค้างลงจัด โรคจะแพร่ระบาดไปได้ง่ายและรวดเร็วภายในเรือนเพาะเลี้ยง (Streda *et al.,* 2013)

โรคปลายใบไหม้ของต้นพลับพลึง (leaf tip blight disease of spider lilly) ต้นพลับพลึงเป็นไม้ประดับที่ได้รับความนิยมในประเทศอินเดีย โรคปลายใบไหม้ของต้นพลับพลึงเกิดจากเชื้อ *C. eragrostidis* ลักษณะอาการของโรคในระยะแรก มักพบจุดสีเหลืองขนาดเล็กบนใบ แผลมีขนาดใหญ่ขึ้น มีวงสีเหลืองล้อมรอบ แผลเชื่อมกันเป็นแผลไหม้ขนาดใหญ่ เมื่อมีการติดเชื้ออย่างรุนแรงอาการของโรคสามารถกระจายครอบคลุมใบมากกว่าพื้นที่ครึ่งหนึ่งของใบในแนวยาว และแสดงอาการเนื้อเยื่อตายอย่างรุนแรง ทำให้ส่งผลกระทบต่อเกษตรกรผู้เพาะปลูกเป็นอย่างมาก (Prajapati and Joshi, 2012a)

3. การนำเชื้อรา *Curvularia oryzae* และ *Curvularia eragrostidis* ไปใช้ในการควบคุมวัชพืช

นอกจากเป็นเชื้อสาเหตุโรคใบจุดในพืชหลายชนิดแล้ว เชื้อรา *C. oryzae* และ *C. eragrostidis* ยังเป็นเชื้อสาเหตุโรคใบจุดในวัชพืชบางชนิด นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อรา *C. oryzae* และ *C. eragrostidis* บางสายพันธุ์สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ชีวภาพเพื่อนำไปใช้ในการควบคุมวัชพืชได้ ดังนั้นจึงมีการทดลองนำเชื้อรา *C. oryzae* และ *C. eragrostidis* ไปใช้ในการควบคุมวัชพืชบางชนิด เช่น

Czerwenka-Wenkstetten และคณะ (1997) ศึกษาการใช้เชื้อรา *Myrothecium roridum*, *C. eragrostidis* และ *C. lunata* ในการควบคุมหญ้าจิ๋ว ซึ่งวัชพืชดังกล่าวแพร่ระบาดอย่างรุนแรงในแปลงปลูกข้าวโพด ในประเทศไนจีเรียทำให้ผลผลิตของข้าวโพดลดลงถึง 90 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองพบว่า *M. roridum* สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดหญ้าจิ๋วได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วน *C. eragrostidis* และ *C. lunata* สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดหญ้าจิ๋วได้ 48 เปอร์เซ็นต์

Lilian และคณะ (2002) ศึกษาการใช้เชื้อรา *C. tuberculata* 93-020, 93-022 และ *C. oryzae* 93-061 ในการควบคุมวัชพืช 4 ชนิด คือ *Cyperus difformis* (กกขนาก), *Cy. iria* (กกทราย), *Cy. rotundus* (หญ้าแห้วหมู) และ *Fimbristylis miliacea* (หญ้าหนวดแมว) พบว่า *C. tuberculata* ทั้ง 2 ไอโซเลท สามารถควบคุม *Cy. difformis* และ *Cy. iria* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ควบคุม *F. miliacea* ได้น้อย แต่ไม่สามารถควบคุม *Cy. rotundus* ได้ ในขณะที่ *C.oryzae* 93-061 สามารถควบคุมวัชพืชทั้ง 3 ชนิดได้เป็นอย่างดี แต่ไม่สามารถควบคุม *C. rotundus* ได้เช่นกัน โดยเชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลท สามารถเข้าทำลายทำให้ปลายใบวัชพืชมีอาการแห้งตาย และชะงักการเจริญได้

Jiang และคณะ (2008) ศึกษาสารออกฤทธิ์ชีวภาพ α,β-dehydrocurvularin ที่ผลิตจากเชื้อ *C. eragrostidis* QZ-2000 ในการควบคุมหญ้าตีนนก พบว่าสารออกฤทธิ์ชีวภาพ α,β-dehydrocurvularin สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดหญ้าตีนนกได้ โดยที่ความเข้มข้น 43 μM และ 152 μM สามารถลดการงอกของเมล็ดหญ้าตีนนกได้ 20 เปอร์เซ็นต์ และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำไปทดสอบความสามารถในการลดการเจริญของรากอ่อนและปลอกหุ้มปลายยอดอ่อนพบว่าที่ความเข้มข้น 102 μM สามารถลดการเจริญของรากอ่อนได้ 50 เปอร์เซ็นต์ และที่ความเข้มข้น 780 μM สามารถลดการเจริญของปลอกหุ้มปลายยอดอ่อนได้ 50 เปอร์เซ็นต์ โดยรากอ่อนจะมีความอ่อนแอต่อสารออกฤทธิ์ ชีวภาพ α,β-dehydrocurvularin มากกว่าปลอกหุ้มปลายยอดอ่อน นอกจากนี้ยังพบว่าสารออกฤทธิ์ชีวภาพ α,β-dehydrocurvularin สามารถยับยั้งการแบ่งเซลล์ในระยะไมโทซิส โดยที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 344 μM ขึ้นไป มีผลต่อการแบ่งเซลล์อย่างสมบูรณ์

4. การควบคุมเชื้อรา *Curvularia* spp. โดยใช้สารเคมี

การควบคุมเชื้อรา *C. oryzae* และ *C. eragrostidis* โดยการใช้สารเคมีได้รับความนิยมเป็นอย่างมากจากเกษตรกร เนื่องจากการควบคุมโดยการใช้สารเคมีเป็นวิธีการที่ง่าย สะดวก และสามารถเห็นผลได้ในระยะเวลาสั้น ๆ แต่ในปัจจุบันผลกระทบจากการใช้สารเคมีเป็นระยะเวลานานของเกษตรกร ส่งผลให้เชื้อราสาเหตุโรคชนิดต่าง ๆ รวมถึงเชื้อรา *C. oryzae* และ *C. eragrostidis* เกิดการต้านทานสารเคมีขึ้น ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาถึงประสิทธิภาพของสารเคมีชนิดใหม่ๆ มาใช้ในการควบคุม โดยสารเคมีที่ปัจจุบันมีการทดสอบนำมาใช้ในการควบคุมเชื้อรา *C. oryzae* และ *C. eragrostidis* เช่น

Butt และคณะ (2011) ศึกษาการใช้สารเคมี 4 ชนิดคือ แอนทราโคล (antracol) ทอปซิน (topsin) แมนโคเซบ (mancozeb) และ ดีโรซอล (derosal) ในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium moniliforme*, *Alternaria* sp., *Bipolaris* sp. และ *Curvularia* sp. สาเหตุโรคในเมล็ดข้าว พบว่า สารเคมีทั้ง 4 ชนิด ไม่สามารถยังยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. moniliforme*, *Alternaria* sp. ได้ ในขณะที่ แอนทราโคล (antracol) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Helminthosporium* sp. และ *Curvularia* sp. ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ แต่สารเคมีอีก 3 ชนิด ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Helminthosporium* sp. ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ และสารเคมี ทอปซิน (topsin) กับ แมนโคเซบ (mancozeb) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Curvularia* sp. ได้ 50 เปอร์เซ็นต์

ในประเทศไทยมีรายงานแนะนำให้ใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราแคปแทน (captan), ไทแรม (thiram) และ แมนโคเซบ (mancozeb) พ่นเพื่อควบคุมโรคใบจุดในต้นกล้าปาล์มน้ำมัน เมื่อพบอาการแต่พบปัญหาการดื้อยาของเชื้อราชนิดนี้ เนื่องจาก ต้องใช้สารเคมีทั้ง 3 ชนิด ผสมรวมกันในอัตราส่วนที่เท่ากัน แล้วทำการฉีดพ่น จึงจะสามารถยับยั้งการระบาดของโรคในแปลงปลูกได้ แต่เมื่อหยุดฉีดพ่นด้วยสารเคมีก็จะพบการระบาดเกิดขึ้นซ้ำอีกในแปลงปลูก (พิพัฒน์ เซี่ยงหลิว และเกริกชัย ธนรักษ์, 2554)

5. การควบคุมเชื้อรา *Curvularia* spp. โดยชีววิธี

จากปัญหาการเกิดโรคใบจุดในต้นกล้าปาล์มน้ำมันและในพืชเศรษฐกิจชนิดอื่น ๆ ที่ถูกเข้าทำลายโดยเชื้อรา *C. oryzae* และ *C. eragrostidis* ทำให้ส่งผลกระทบต่ออุตสาหกรรมการผลิตปาล์มน้ำมันและส่งผลกระทบต่อพืชเศรษฐกิจชนิดต่างๆ ดังนั้นจึงได้มีการคิดค้นหาวิธีการใหม่เพื่อนำมาใช้ในการควบคุมโรคที่เกิดกับปาล์มน้ำมัน ซึ่งในปัจจุบันการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (biological control) ได้มีการศึกษาวิจัยกันอย่างแพร่หลายเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากสามารถแก้ปัญหาการต้านทานยาของเชื้อสาเหตุโรคชนิดต่างๆ อีกทั้งปลอดภัยต่อสภาพแวดล้อม เกษตรกรผู้ปลูก และผู้บริโภค มีงานวิจัยที่นำเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ มาใช้ในการควบคุมเชื้อรา *C. oryzae* และ *C. eragrostidis* ดังนี้

Michereff และคณะ (1994) ทดสอบการเป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์ของ *Bacillus* spp. ในการควบคุมเชื้อรา *C. eragrostidis* สาเหตุโรคใบจุดในมันเทศ พบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. จำนวน 17 ไอโซเลท สามารถควบคุมการเจริญของเส้นใยเชื้อสาเหตุโรคได้ โดยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. IF-82 สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ดีสุดที่ 99.20 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ IF-88 และ IF-109 สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ที่ 98.20 เปอร์เซ็นต์ และ 96.20 เปอร์เซ็นต์

ตามลำดับ จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. IF-82 และ IF-88 ไปทดสอบการควบคุมโรคใบจุดในเรือนกระจก พบว่า เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. IF-82 สามารถควบคุมการเกิดโรคได้ดีที่สุดที่ 96.30 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำไปศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่า เชื้อแบคทีเรียดังกล่าวคือ *Bacillus subtilis*

อารีรัตน์ เทียนขาว และคณะ (2548) ทดลองใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 14 ไอโซเลท เพื่อควบคุมเชื้อรา *C. eragrostidis* สาเหตุโรคดอกจุดสนิมในกล้วยไม้สกุลหวาย พบว่า ทั้ง 14 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อโรคได้ โดยไอโซเลทที่ให้ผลยับยั้งดีก็คือ *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-pin-01 (58.67 เปอร์เซ็นต์) 84-42 (59.00 เปอร์เซ็นต์) และ M23 (60.00 เปอร์เซ็นต์) และได้ทดสอบประสิทธิภาพของสารทุติยภูมิที่เชื้อรา *Trichoderma* spp. สร้างขึ้นโดยใช้เทคนิค dialysis membrane พบว่าเชื้อราปฏิปักษ์ทั้ง 14 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของ *C. eragrostidis* ได้

Ningthoujam และคณะ (2009) ทดสอบการเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ของ *Streptomyces vinaceusdrappus* ไอโซเลท LSCH-10C, NRP1-14, NRP1-18 และ NRP1-26 โดยวิธี Dual-culture เพื่อควบคุมเชื้อรา *C. oryzae* MTCC 2605 สาเหตุโรคข้าว ในประเทศอินเดีย พบว่า เชื้อแบคทีเรีย *S. vinaceusdrappus* LSCH-10C สามารถการควบคุมเชื้อรา *C. oryzae* MTCC 2605 โดยยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ ดีที่สุดที่ 65.00 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ *S. vinaceusdrappus* NRP1-26, NRP1-14 และ NRP1-18 ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ที่ 60.00 เปอร์เซ็นต์ 43.75 เปอร์เซ็นต์ และ 42.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Prajapati และ Joshi (2012b) ศึกษาการควบคุมเชื้อรา *C. eragrostidis* สาเหตุโรคปลายใบไหม้ของต้นพลับพลึง โดยใช้เชื้อรา *T. viride T. longibrachyatum* และ *T. harzianum* ด้วยวิธี Dual-culture พบว่า *T. viride* สามารถควบคุมเชื้อ *C. eragrostidis* ได้ดีที่สุดที่ 73.39 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ *T. longibrachyatum* และ *T. harzianum* ซึ่งสามารถควบคุมเชื้อ *C. eragrostidis* ได้ 71.76 เปอร์เซ็นต์ และ 67.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

6. การเข้ากันได้ของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. และ *Streptomyces* spp.

เชื้อรา *Trichoderma* spp. และเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* spp. เป็นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่นิยมนำมาใช้ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชหลายชนิด เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 2

ชนิด เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่มีวิธีการทำลายเชื้อสาเหตุโรคได้หลายรูปแบบ เช่น การเป็นปรสิตโดยตรง (parasite) การเจริญแข่งขัน (competition) และการสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiosis) ซึ่งจากกลไกดังกล่าว ทำให้เชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดได้รับความนิยมนำมาใช้ร่วมกันในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช แต่ก่อนนำมาใช้ร่วมกันควรมีการศึกษาเบื้องต้นถึงความสามารถในการเข้ากันได้ของเชื้อทั้ง 2 ชนิด เช่น

อรอุษา ลาวินิจ และวีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์ (2549) ทดสอบความสัมพันธ์ของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. จำนวน 35 ไอโซเลท กับเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* spp. *B. megaterium B. polymyxa* และ *B. subtilis* ในห้องปฏิบัติการเพื่อใช้ร่วมกันในการควบคุมเชื้อ *Sclerotium rolfsii* ในมะเขือเทศ พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 33 ไอโซเลท สามารถเจริญร่วมกันได้ดีกับแบคทีเรีย *Streptomyces* ไอโซเลท 87 และเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท T14, T17, T18, T19 และ T25 สามารถเจริญร่วมกันได้กับเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* ทั้ง 3 ชนิด การทดสอบในเรือนทดลองพบว่า *Trichoderma* ไอโซเลท T17 ร่วมกับ *Streptomyces* ไอโซเลท 22 *Trichoderma* ไอโซเลท T19 ร่วมกับ *Streptomyces* ไอโซเลท 87 และ *Trichoderma* ไอโซเลท T19 สามารถใช้ร่วมกับ *Bacillus* ทั้ง 3 ชนิดได้ดี

วัตถุประสงค์

1. เพื่อทราบชนิดของสายพันธุ์เชื้อ *Curvularia* sp. ที่เป็นสาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมันในประเทศไทย
2. เพื่อศึกษาหาชนิดของสารเคมีที่เหมาะสมในการควบคุมโรคใบจุดในปาล์มน้ำมัน
3. เพื่อคัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบจุดของปาล์มน้ำมันโดยชีววิธี

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุและอุปกรณ์

1. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดลอง ขวด vial บีกเกอร์ ขวดแก้วรูปชมพู่ กระบอกตวง haemacytometer แผ่นสไลด์ และ แผ่นปิดสไลด์
2. อุปกรณ์ในการแยกเชื้อ ได้แก่ เข็มเขี่ย loop มีดผ่าตัด ปากคีบ cork borer ตะเกียงแอลกอฮอล์ และอื่นๆ
3. microtube, pasture pipette, micro pipette, pipettes tip
4. microtiter plate
5. หม้อนึ่งความดันไอน้ำ
6. ตู้บ่มเชื้อ
7. ตู้เขี่ยเชื้อ
8. เครื่องชั่งไฟฟ้าละเอียด (analytical balance)
9. กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope, compound microscope และ scanning electron microscope
10. ตู้เย็น
11. ไมโครเวฟ
12. Rotary shaker
13. กล้องถ่ายรูป
14. วัสดุและอุปกรณ์พลาสติก ได้แก่ ถุงพลาสติกเก็บตัวอย่าง ตะกร้าใส่ตัวอย่าง ถุงพลาสติกขนาด 20×30 นิ้ว ป้ายพลาสติก
15. วัสดุและอุปกรณ์การเกษตร ได้แก่ ถุงเพาะกล้าขนาด 15×18 นิ้ว ดินผสม พลาสติกคลุมแปลง ปุ๋ยสูตร 15-15-15 กรรไกรตัดกิ่ง ใบเพสลาดของปาล์มน้ำมัน ต้นกล้าปาล์มน้ำมัน

อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

1. Corn meal agar (CMA)
2. Water agar (WA)
3. Glucose yeast malt extract agar (GYMA)

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. แอลกอฮอล์เข้มข้น 70% และ 95%
2. สารเคมีกำจัดเชื้อราแคปแทน แมนโคเซบ อาลีเอท คาร์เบนดาซิม ไดฟีโนโคนาโซล อีทาบ็อกแซม เททราโคนาโซล โพรคลอราซ คิวพลัสออกไซด์
3. สารจับใบ Tween 20

วิธีการทดลอง

1. ศึกษาเชื้อรา *Curvularia* sp. สาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมัน

1.1 การเก็บตัวอย่างและแยกเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมัน

1.1.1 การเก็บตัวอย่างใบปาล์มน้ำมันที่แสดงอาการใบจุด

เก็บตัวอย่างใบ ปาล์มน้ำมัน ที่แสดงอาการโรคใบจุด โดยวิธีการสุ่ม เก็บตัวอย่าง บริเวณแปลงปลูกต้นกล้าปาล์มใน 8 จังหวัดภาคใต้ คือ กระบี่ ชุมพร ตรัง นครศรีธรรมราช พังงา สงขลา สตูล และ สุราษฎร์ธานี จังหวัดละ 5 แปลงปลูก ๆ ละ 5 จุด

1.1.2 การแยกเชื้อราจากตัวอย่างใบ ปาล์มน้ำมันที่แสดงอาการใบจุดด้วยวิธีการแยกสปอร์เดี่ยว (single spore)

นำตัวอย่างใบ ปาล์มน้ำมันที่แสดงอาการของโรคใบจุด มาตัดเป็นชิ้น ยาว ขนาด 4 เซนติเมตร ใส่ในกล่องชื้น (moist chamber) ที่เตรียมจากการนำกระดาษทิชชูมาพับเป็นสี่เหลี่ยมผืนผ้าให้มีขนาดพอดีกับจานเลี้ยงเชื้อ วางลงในจานเลี้ยงเชื้อ จากนั้นหยดน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อใส่ลงในกระดาษทิชชูจนชุ่ม บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28 - 30 ºC) เป็นเวลา 2 - 3 วัน จากนั้นตรวจดูการสร้างโคนิเดีย (conidia) ของเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ (strereo microscope) ใช้เข็มเขี่ยขนาดเล็ก (micropin) ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ย้ายสปอร์จากตัวอย่างพืชลงบนอาหารวุ้น WA ลงจานละ 5 จุด ตรวจดูสปอร์ในแต่ละจุดด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ และเขี่ยสปอร์ที่มีมากกว่า 1 สปอร์ต่อจุดออกโดยให้เหลือเพียง 1 สปอร์ต่อจุด หลังจากนั้นบ่ม ไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28 - 30 ºC) เป็นเวลา 12-24 ชั่วโมง ตรวจดูการงอกของสปอร์และแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ โดยวิธี hypha tip isolation ในจานเลี้ยงเชื้อใหม่ที่มีอาหารวุ้น CMA บ่มไว้เป็นเวลา 10 วัน แล้วเก็บเชื้อบริสุทธิ์ใน PDA slant ไว้สำหรับการทดลองต่อไป

1.2 การทดสอบความสามารถในการเกิดโรคเบื้องต้นจากเชื้อ *Curvularia* sp.

1.2.1 การทดสอบความสามารถในการเกิดโรคเบื้องต้นบนใบปาล์มน้ำมัน

1.2.1.1 การเตรียมพืชเพื่อทดสอบการเกิดโรคเบื้องต้น

เตรียมใบปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ มอ. 1 ในระยะใบเพสลาดตัดให้มีความยาวขนาด 25 เซนติเมตร จำนวน 3 ใบต่อ 1 กล่อง ทดสอบ 6 ใบ ต่อเชื้อ 1 ไอโซเลท

1.2.1.2 การเตรียมเชื้อเพื่อทดสอบการเกิดโรคเบื้องต้น

คัดเลือกเชื้อรา *Curvularia* sp. ที่แยกได้จากแปลงปลูกที่มีการระบาดของโรคอย่างรุนแรงมาทดสอบ โดยเลี้ยงเชื้อรา *Curvularia* sp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMA เป็นเวลา 10 วัน เทน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อบนโคโลนีในจานเลี้ยงเชื้อปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใช้แผ่นสไลด์ขูดผิวหน้าโคโลนีเบาๆ เทสปอร์แขวนลอย (spore suspension) ลงในบีกเกอร์อบฆ่าเชื้อ นับปริมาณสปอร์ด้วย haemacytometer ปรับความเข้มข้นให้ได้ $1x10^6$ สปอร์/มิลลิลิตร

1.2.1.4 การปลูกเชื้อทดสอบความสามารถในการเกิดโรคเบื้องต้นบนใบปาล์มน้ำมัน

พ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Curvularia* sp. ที่ความเข้มข้น $1x10^6$ สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ลงบนใบปาล์มน้ำมันภายในกล่องที่เตรียมไว้ สำหรับกรรมวิธีควบคุมพ่นด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเพียงอย่างเดียวบ่มไว้ 14 วัน ประเมินระดับความรุนแรงของโรค แบ่งระดับการเกิดโรคเป็น 6 ระดับ โดยดัดแปลงวิธีการประเมินการเกิดโรคของ ปริศนา วงค์ล้อม (2548)

ระดับ 0 ไม่มีอาการใบจุด

ระดับ 1 พบจุดสีน้ำตาลขนาดเล็กเท่าปลายเข็มหมุด ไม่พบจุดเนื้อเยื่อตาย

ระดับ 2 จุดเนื้อเยื่อตายค่อนข้างกลมขนาด 1-2 มม. ขอบแผลสีน้ำตาลมีอาการ 1-25% ของพื้นที่ใบ

ระดับ 3 จุดเนื้อเยื่อตายขนาด 5 มม. มีอาการ 26-50% ของพื้นที่ใบ

ระดับ 4 จุดเนื้อเยื่อตายเชื่อมต่อกันขนาดใหญ่ 1-2 ซม. มีอาการ 51-75% ของพื้นที่ใบ

ระดับ 5 พื้นที่ใบมากกว่า 75% เป็นโรคในระยะสุดท้าย ทำให้ใบบางส่วนตาย

1.2.2 การทดสอบความสามารถในการเกิดโรคบนต้นกล้าปาล์มน้ำมัน

คัดเลือกเชื้อที่สามารถทำให้เกิดโรคที่รุนแรงที่สุดจากข้อ 1.2.1 มาทดลองบนต้นกล้าปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ มอ. 1 โดยใช้ต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่มีอายุประมาณ 4-6 เดือน มาปลูกเชื้อ *Curvularia* sp. ต้นละ 20 มิลลิลิตร ด้วยวิธีพ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อราที่ความเข้มข้น $1x10^6$ สปอร์/มิลลิลิตร ลงบนใบของต้นกล้าปาล์มน้ำมัน สำหรับกรรมวิธี

ควบคุมพ่นด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเพียงอย่างเดียว บ่มไว้ 20 วัน ทำการประเมินการเกิดโรคใบจุดของต้นกล้าปาล์มน้ำมันด้วยวิธี descriptive area (ปริศนา วงค์ล้อม , 2548) โดยแบ่งระดับการเกิดโรคเป็น 6 ระดับ

ระดับ 0 ไม่เกิดโรค

ระดับ 1 เกิดโรค 0-20% ของพื้นที่ใบ

ระดับ 2 เกิดโรค 20-40% ของพื้นที่ใบ

ระดับ 3 เกิดโรค 40-60% ของพื้นที่ใบ

ระดับ 4 เกิดโรค 60-80% ของพื้นที่ใบ ใบล่างบางส่วนมีรอยแผลขยายติดกันประมาณ 50% ของพื้นที่ใบ

ระดับ 5 เกิดโรค 80-100% ของพื้นที่ใบ ใบล่างบางส่วนมีรอยแผลขยายติดกันประมาณ 75% ของพื้นที่ใบ

1.3 การจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมัน

1.3.1 จำแนกโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

จำแนกชนิดของเชื้อราที่แยกได้จากตัวอย่างใบ ปาล์มน้ำมัน ที่แสดงอาการเป็นโรค โดยศึกษาเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ โดยใช้เข็มเขี่ยเขี่ยโคนิเดียและโคนิดิโอฟอร์ของเชื้อที่เจริญบนตัวอย่างพืชที่ได้ บ่มเชื้อไว้ในกล่องชื้น 3-5 วัน มาทำสไลด์กึ่งถาวรใน lactophenol บันทึกภาพ ศึกษาลักษณะรูปร่าง ขนาด สีของสปอร์ และลักษณะโครงสร้างที่เชื้อราสร้าง

1.3.2 การศึกษาการสร้างโครงสร้างสืบพันธุ์แบบใช้เพศของเชื้อรา *Curvularia* sp.

ย้ายเชื้อรา *Curvularia* sp. ที่ได้จากข้อ 1.1.2 ลงเลี้ยงบนอาหารวุ้น CMA เป็นเวลา 7 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะบริเวณขอบโคโลนีเป็นแผ่นกลม ย้ายเชื้อราแต่ละไอโซเลทลงเลี้ยงในอาหาร Sach's agar ที่วางชิ้นส่วนของฟางข้าวและใบปาล์มที่นึ่งฆ่าเชื้อไว้ตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ วิธีการคือ ย้ายเชื้อราแต่ละไอโซเลทของคู่ผสม ลงเลี้ยงในอาหารในจานเลี้ยงเชื้อเดียวกัน โดยวางชิ้นวุ้นให้ห่างกันประมาณ 4 เซนติเมตร การทดลองทำ 4 ซ้ำในทุกกรรมวิธี ทำการผสมพันธุ์แบบพบกันหมด แล้ววางเลี้ยงในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในที่มืดเป็นเวลา 3 สัปดาห์ จึงตรวจดูการสร้างโครงสร้างสืบพันธุ์แบบใช้เพศ หรือแอสโคมาตาและโครงสร้างต่างๆ ได้แก่ โปรตาทีเชียม และสโตรมาตา ตรวจผลทุกสัปดาห์จนครบ 8

สัปดาห์ บันทึกข้อมูลระยะที่ใช้ในการสร้างแอสโคมาตา และโครงสร้างอื่นๆ รวมทั้งจำนวนที่พบ (Sivanesan, 1987)

2. การทดสอบ การใช้สารเคมีในการควบคุมเชื้อรา *Curvularia* sp. สาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมันในห้องปฏิบัติการ

2.1 การทดสอบ การใช้ สารเคมีในการควบคุมเชื้อรา *Curvularia* sp. ในห้องปฏิบัติการ

2.1.1 การทดสอบหาค่า minimum inhibitory concentration (MIC) โดยวิธี broth microdilution test

ทำการทดสอบเพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Curvularia* sp. โดยดัดแปลงวิธีของ Kuzucu และคณะ (2004) นำสารเคมี 9 ชนิด ที่หน่วยงานราชการแนะนำให้ใช้และที่เกษตรกรนิยมใช้ควบคุมหรือป้องกันการเกิดโรค คือ คาร์เบนดาซิม คิวพลัสออกไซด์ แคปแทน ไดฟีโนโคนาโซล เททราโคนาโซล โพรคลอราซ แมนโคเซบ อาลีเอท และ อีทาบ็อกแซม มาทดสอบหาค่า MIC โดยทดสอบที่ความเข้มข้นของสารในช่วง 1024-2 µg/ml โดยนำสารเคมีแต่ละชนิดผสมกับน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเป็น stock ให้ได้ความเข้มข้นที่ 80 mg/ml นำมาเจือจางอีกครั้งให้ได้ความเข้มข้น 8 mg/ml จากนั้นดูดมา 25.6 µl ใส่ในหลุมแรกของ microtiter plate ที่มีน้ำอยู่ 74.4 µl โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ ต่อ 1 สาร จากนั้นทำการเจือจางแบบ serial 2-fold dilution โดยดูดมา 50 µl ใส่ในหลุมถัดไปที่มีน้ำหลุมละ 50 µl จนถึงหลุมที่ 10 ดูดทิ้งไป 50 µl แล้วเติมเชื้อรา *Curvularia* sp. ที่เตรียมไว้ตามข้อ 1.2.2 ที่ความเข้มข้น $1x10^6$ สปอร์/มิลลิลิตร หลุมละ 50 µl สำหรับกรรมวิธีควบคุมเติมเชื้อทดสอบเพียงอย่างเดียว 50 µl ในหลุมที่ 11 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเพียงอย่างเดียว 100 µl ในหลุมที่ 12 (ตารางที่ 1) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28 - 30 ºC) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจผลการงอกของสปอร์เชื้อราในหลุมสารเคมีที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound

ตารางที่ 1 การเจือจางสารเคมีควบคุมเชื้อรา *Curvularia* sp.

ดูดทิ้ง 50 µl

หลุมที่	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
สารเคมี 8 mg/ml (µl)	25.6	50	50	50	50	50	50	50	50	50	-	-
H_2O (µl)	74.4	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	100
Conc (µg/ml)	2048	1024	512	256	128	64	32	16	8	4	-	-
เชื้อ (µl)	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	-
Final conc (µg/ml)	1024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	0	0

2.1.2 การทดสอบการใช้ สารเคมี กำจัดเชื้อรา ในการยับยั้งการเจริญของ เชื้อรา *Curvularia* sp. สาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมันบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

นำสารเคมีทั้ง 9 ชนิด ผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ CMA ที่ความเข้มข้น 50, 100, 200 และ 500 ppm จากนั้นจึงใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะขอบโคโลนีของ เชื้อราสาเหตุโรค มาวางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารเคมี บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ บันทึกผลการเจริญ แล้วนำมาคำนวณค่าทางสถิติด้วยโปรแกรม Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) เวอร์ชั่น 16

2.2 การทดสอบการใช้สารเคมีในการควบคุมเชื้อรา *Curvularia* sp. บนใบปาล์มน้ำมันภายในห้องปฏิบัติการ

เตรียมใบปาล์มน้ำมันและเชื้อสาเหตุโรคตามข้อ 1.2.1 และ 1.2.2 มาทดสอบโดยวิธี detached leaf นำใบเพสลาดของปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ มอ. 1 จุ่มลงในสารเคมีในระดับความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ดีที่สุด ทิ้งไว้ให้แห้งในกล่องทดลอง จากนั้นจึงหยดสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Curvularia* sp. ที่ความเข้มข้น $1x10^6$ สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ลงบนใบปาล์มน้ำมัน สำหรับกรรมวิธีควบคุมพ่นด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเพียงอย่างเดียว จากนั้นเติมน้ำในกล่องเพื่อให้ความชื้น บ่มไว้ 14 วัน บันทึกผลการเกิดโรคที่เกิดขึ้นบนใบ

3. คัดเลือกหาจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อรา *Curvularia* sp. สาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมัน

เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Curvularia* sp. สาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมัน จัดอยู่ใน 2 กลุ่มคือ เชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptomyces* จำนวน 3 ไอโซเลท และเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 40 ไอโซเลท โดยเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptomyces* spp. จำนวน 3 ไอโซเลท และเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 20 ไอโซเลท ได้รับความอนุเคราะห์จากโครงการมหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ (NRU) ซึ่งแยกจากดินบริเวณสวนปาล์มด้วยวิธี dilution pour plate ส่วนเชื้อรา *Trichoderma* spp. อีกจำนวน 20 ไอโซเลท ได้รับความอนุเคราะห์จากโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ในพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืชเขื่อนรัชชประภา จ.สุราษฎร์ธานี ซึ่งแยกจากตัวอย่างดินและเศษซากใบพืชในพื้นที่ป่าภายในเขื่อนรัชชประภาด้วยวิธี dilution pour plate

3.1 การทดสอบความสามารถการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. และเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptomyces* spp. ต่อการควบคุมเชื้อรา *Curvularia* sp. สาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมัน

3.1.1 การเตรียมเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp.

ย้ายเชื้อรา *Trichoderma* spp. จากที่เก็บรักษาในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA slant มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มที่อุณหภูมิห้อง (28 - 30 ºC) เป็นเวลา 4 วัน ก่อนนำไปทำการทดลอง

3.1.2 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในกลุ่ม *Streptomyces* spp.

นำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในกลุ่ม *Streptomyces* จากที่เก็บรักษาในอาหารเลี้ยงเชื้อ GYM slant มาสตรีคบนอาหารเลี้ยงเชื้อ GYM ให้เต็มพื้นที่ผิวหน้าอาหาร บ่มที่อุณหภูมิห้อง (28 - 30 ºC) เป็นเวลา 7 วัน ก่อนนำไปทำการทดลอง

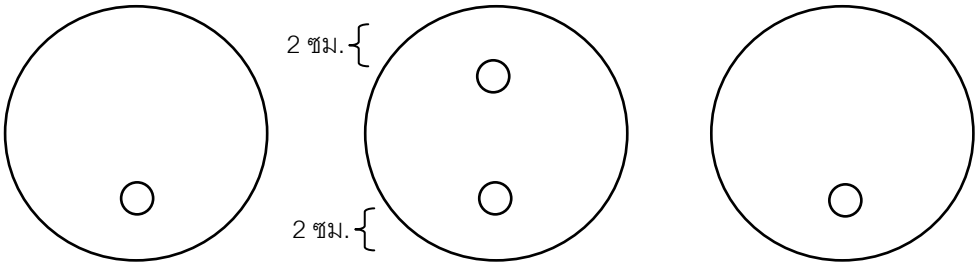
3.1.3 การเตรียมเชื้อราสาเหตุโรค

นำเชื้อรา *Curvularia* sp. สาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมัน จากที่เก็บรักษาในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA slant มาเลี้ยงบนจานเลี้ยงเชื้ออาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้อง (28 - 30 ºC) เป็นเวลา 7 วัน ก่อนนำไปทำการทดลอง

3.1.4 การทดสอบความสามารถของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Curvularia* sp.

นำเชื้อจุลินทรีย์มาทดสอบศักยภาพในการควบคุมเชื้อรา *Curvularia* sp. สาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมัน ด้วยวิธี dual culture บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยเลี้ยงเชื้อราปฏิปักษ์ในอาหาร PDA เป็นเวลา 4 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะปลายเส้นใยบริเวณขอบโคโลนี ของเชื้อรา ใช้เข็มเขี่ยลนไฟแล้วย้ายชิ้นวุ้นของเชื้อรา *Trichoderma* sp. ไปวางลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ให้ห่างจากขอบจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 เซนติเมตร จากนั้นจึงใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ตัดชิ้นวุ้นบริเวณขอบโคโลนี ของเชื้อราสาเหตุโรค ใช้เข็มเขี่ยลนไฟแล้วย้ายชิ้นวุ้นของเชื้อราสาเหตุโรค วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ในด้านตรงข้ามกัน ให้ห่างจากขอบจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 เซนติเมตร โดยในกรรมวิธีควบคุมวางเพียงเชื้อราปฏิปักษ์และเชื้อราสาเหตุโรคเพียงอย่างเดียวให้ห่างจากขอบจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 เซนติเมตรเช่นกัน ทำการทดลองจำนวน 4 ซ้ำ นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง (28 - 30 °C) สังเกตการเจริญของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และเชื้อสาเหตุโรค บันทึกผลการทดลอง วัดความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Curvularia* sp. โดยทำการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และเชื้อราสาเหตุโรค แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ (%Growth inhibition, GI) (Vincent, 1927) ดังนี้

$$GI = ((R1-R2) /R1 \times 100)$$



ชุดควบคุม *Curvularia* sp. ชุดทดสอบ *Trichoderma* sp.

R1 = รัศมีเฉลี่ยของโคโลนีเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อในกรรมวิธีควบคุม

R2 = รัศมีเฉลี่ยของโคโลนีเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อในกรรมวิธีทดสอบ

ประเมินความสามารถของเชื้อราที่แยกได้จากดินตัวอย่างและเศษซากใบในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดของปาล์มน้ำมัน ซึ่งแปลผลเป็น 4 ระดับดังนี้

> 75 เปอร์เซ็นต์ = ประสิทธิภาพสูงมาก

61- 75 เปอร์เซ็นต์ = ประสิทธิภาพสูง

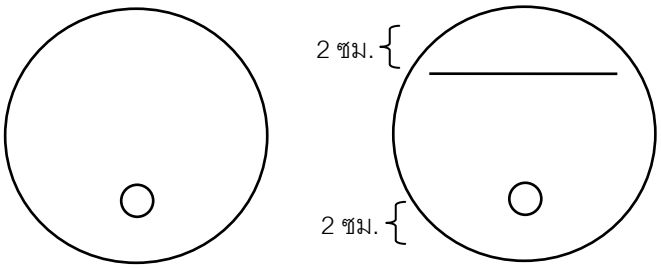
51- 60 เปอร์เซ็นต์ = ประสิทธิภาพปานกลาง

$\leq$ 50 เปอร์เซ็นต์ = ประสิทธิภาพต่ำ

นำไปทำการวิเคราะห์ข้อมูล analysis of variance โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Completely Randondomized Design (CRD) ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01

3.1.5 การทดสอบความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptomyces* spp. ในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Curvularia* sp.

นำเชื้อจุลินทรีย์มาทดสอบศักยภาพในการควบคุมเชื้อรา *Curvularia* sp. สาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมัน ด้วยวิธี dual culture บนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยนำเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptomyces* spp. มาสตรีคบนอาหารเลี้ยงเชื้อ GYM ให้ห่างจากขอบจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 เซนติเมตร บ่มไว้ 7 วัน หลังจากนั้นจึงใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะปลายเส้นใยบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคให้เป็นชิ้นวุ้นวงกลม ใช้เข็มเขี่ยลนไฟแล้วย้ายชิ้นวุ้นของเชื้อราสาเหตุโรค ไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ GYM ที่มีเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptomyces* spp. อยู่ในด้านตรงข้ามกัน ให้ห่างจากขอบจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 เซนติเมตร โดยในกรรมวิธีควบคุมวางเพียงเชื้อราสาเหตุโรคเพียงอย่างเดียวให้ห่างจากขอบจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 เซนติเมตรเช่นกัน ทำการทดลองจำนวน 4 ซ้ำ นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง (28 - 30 ^{o}C) สังเกตการเจริญของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และเชื้อสาเหตุโรค บันทึกผลการทดลองดูความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Curvularia* sp. โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเชื้อราสาเหตุโรค แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ และประเมินความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptomyces* spp. ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดของปาล์มน้ำมัน เช่นเดียวกับข้อ 3.2.1



ชุดควบคุม *Curvularia* sp. ชุดทดสอบ

3.2 การศึกษาการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด

3.2.1 การศึกษาความสามารถของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Curvularia* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด

ศึกษาความสามารถของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Curvularia* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope) โดยเลี้ยงเชื้อรา *Trichoderma* spp. ร่วมกับเชื้อรา *Curvularia* sp. บนอาหาร CMA เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร เจาะบริเวณที่เส้นใยเจริญมาทับซ้อนกันจำนวน 3 ชิ้น จากนั้นนำชิ้นวุ้นที่มีการเจริญซ้อนทับกันของเส้นใยเชื้อราทั้ง 2 ชนิด แช่ใน 2.5% glutaraldehyde ใน 0.1 M phosphate buffer ที่อุณภูมิห้องเป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วล้างด้วย 0.1 M phosphate buffer 3 ครั้ง จากนั้น dehydrate โดยแช่ตัวอย่างใน ethanol ที่ความเข้มข้น 50, 60, 70, 80, 90, และ 100 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นละ 2 ครั้ง ๆ ละ 15 นาที ทำให้แห้งด้วยเครื่อง critical point drier นำตัวอย่างแห้งที่ได้วางบน stub และเคลือบด้วยอนุภาคทองคำ ดูลักษณะการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์โดยใช้กล้อง SEM Quanta 400, FEL at 10 kV.

3.2.2 การศึกษาความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptomyces* spp. ในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Curvularia* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด

ศึกษาความสามารถของเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptomyces* spp. ในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Curvularia* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด โดยย้ายเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptomyces* spp. ลงในขวดอาหาร GYMB ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปเขย่าความเร็ว 120 รอบ/นาที เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาด

เส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร เจาะบริเวณปลายเส้นใยของเชื้อรา *Curvularia* sp. จำนวน 3 ชิ้น ใส่ลงไปในขวดอาหารที่เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptomyces* spp. ทิ้งไว้อีก 7 วัน จากนั้นนำชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้อรา *Curvularia* sp. แช่ใน 2.5% glutaraldehyde ใน 0.1 M phosphate buffer ที่อุณภูมิห้องเป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วล้างด้วย 0.1 M phosphate buffer 3 ครั้ง จากนั้น dehydrate โดยแช่ตัวอย่างใน ethanol ที่ความเข้มข้น 50, 60, 70, 80, 90, และ 100 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นละ 2 ครั้ง ๆ ละ 15 นาที ทำให้แห้งด้วยเครื่อง critical point drier นำตัวอย่างแห้งที่ได้วางบน stub และเคลือบด้วยอนุภาคทองคำ ดูลักษณะการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์โดยใช้กล้อง SEM Quanta 400, FEL at 10 kV.

3.3 การทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ต่อกันของเชื้อรา *Trichoderma* spp. และเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptomyces* spp.

ทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ต่อกันของเชื้อรา *Trichoderma* spp. และเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptomyces* spp. ที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.2.1 และ 3.2.2 ด้วยวิธี dual agar culture ชนิดละ 2 ไอโซเลท ที่ยับยั้งเชื้อ *Curvularia* sp. สาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมัน ได้ดีที่สุด โดยนำเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptomyces* spp. มาสตรีคบนอาหารเลี้ยงเชื้อ GYMA บ่มไว้ 7 วัน หลังจากนั้นจึงใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ตัดชิ้นวุ้นในจานอาหารเลี้ยงเชื้อรา *Trichoderma* spp. ให้เป็นชิ้นวุ้นวงกลม ใช้เข็มเขี่ยลนไฟแล้วย้ายชิ้นวุ้นเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ GYMA ที่มีเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptomyces* spp. อยู่ในด้านตรงข้าม ให้ห่างจากของจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 เซนติเมตร ทำการทดลองจำนวน 4 ซ้ำ สำหรับกรรมวิธีควบคุมเลี้ยงเชื้อรา *Trichoderma* spp. ให้ห่างจากขอบจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 เซนติเมตร เพียงอย่างเดียว นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง (28 - 30 °C) สังเกตการเจริญของจุลินทรีย์ป ฏิปักษ์ทั้ง 2 ชนิด บันทึกผลการทดลอง โดยดูความสามารถในการ เข้ากันได้ของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ และวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *Trichoderma* spp.

3.4 การทดสอบการเจริญของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารเคมีกำจัดเชื้อราในห้องปฏิบัติการ

ทดสอบการเจริญของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารเคมีกำจัดเชื้อรา คัดเลือกสารเคมีที่มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมการเจริญของเชื้อรา *Curvularia* sp. จำนวน 2 ชนิด จากข้อ 2.2 ผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ CMA และ GYMA ให้ได้ความเข้มข้นตามที่ฉลากแนะนำ จากนั้นจึงใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ตัดชิ้นวุ้นในจานอาหารเลี้ยงเชื้อรา *Trichoderma* spp. ใช้เข็มเขี่ยลนไฟแล้วย้ายชิ้นวุ้นเชื้อรา *Trichoderma* sp. ไปวางลงตรงกลางในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ CMA ที่ผสมสารเคมี ทำการทดลองจำนวน 4 ซ้ำ สำหรับกรรมวิธีควบคุม เลี้ยงเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ CMA เพียงอย่างเดียว นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน และเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptomyces* spp. นำมาสตรีคบนอาหารเลี้ยงเชื้อ GYMA ที่ผสมสารเคมี ทำการทดลองจำนวน 4 ซ้ำ สำหรับกรรมวิธีควบคุม สตรีคเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptomyces* spp. ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ GYMA เพียงอย่างเดียว นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน สังเกตการเจริญและการสร้างสปอร์ของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 2 ชนิด

4. การทดสอบการควบคุมโรคใบจุดของปาล์มน้ำมันในเรือนทดลอง

4.1 การเตรียมพืชเพื่อใช้ในการทดสอบ

ต้นกล้าปาล์มน้ำมันพันธุ์ ทรัพย์มอ. 1 อายุ 3 เดือน ปลูกในถุงเพาะกล้าขนาด 15×18 นิ้ว ใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 ปริมาณ 5 กรัม/ต้น ทุก 2 เดือน จนมีอายุครบ 8 เดือน จึงสามารถนำมาใช้ในการทดสอบ

4.2 การเตรียมเชื้อรา *Curvularia* sp. สาเหตุโรคพืช

ย้ายเชื้อรา *Curvularia* sp. ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ CMA เป็นเวลา 10 วัน เทน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อบนโคโลนีในจานเลี้ยงเชื้อปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใช้แผ่น สไลด์ขูดผิวหน้าโคโลนีเบาๆ เทสปอร์แขวนลอยลงในบิกเกอร์อบฆ่าเชื้อ นับปริมาณสปอร์ด้วย haemacytometer ปรับความเข้มข้นให้ได้ $1x10^6$ สปอร์/มิลลิลิตร โดยในการทดลองนี้ต้องเตรียมสปอร์แขวนลอยที่ปริมาตร 720 มิลลิลิตร

4.3 การเตรียมเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp.

ย้ายเชื้อรา *Trichoderma* spp. ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นเวลา 7 วัน เทน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อบนโคโลนีในจานเลี้ยงเชื้อปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใช้แผ่น สไลด์ขูดผิวหน้า

โคโลนีเบาๆ เทสปอร์แขวนลอยลงในบิกเกอร์อบฆ่าเชื้อ นับปริมาณสปอร์ด้วย haemacytometer ปรับความเข้มข้นให้ได้ $1x10^8$ สปอร์/มิลลิลิตร โดยในการทดลองนี้ต้องเตรียมสปอร์แขวนลอยที่ปริมาตร 200 มิลลิลิตร

4.4 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในกลุ่ม *Streptomyces* spp.

ย้ายเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptomyces* spp. ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ GYM เป็นเวลา 14 วัน เทน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อบนโคโลนีในจานเลี้ยงเชื้อปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใช้แผ่น สไลด์ขูดผิวหน้าโคโลนีเบาๆ เทสปอร์แขวนลอยลงในบิกเกอร์อบฆ่าเชื้อ นับปริมาณสปอร์ด้วย haemacytometer ปรับความเข้มข้นให้ได้ $1x10^8$ สปอร์/มิลลิลิตร โดยในการทดลองนี้ต้องเตรียมสปอร์แขวนลอยที่ปริมาตร 200 มิลลิลิตร

4.5 การเตรียมสารเคมีกำจัดเชื้อรา

คัดเลือกสารเคมีที่มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมการเจริญของเชื้อรา *Curvularia* sp. จำนวน 2 ชนิด จากข้อ 2.2 ผสมลงในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อให้ได้ความเข้มข้นตามที่ฉลากแนะนำ โดยในการทดลองนี้ต้องเตรียมสารเคมีกำจัดเชื้อราชนิดละ 150 มิลลิลิตร

4.6 การทดสอบการควบคุมโรคใบจุดของปาล์มน้ำมันในเรือนทดลอง

ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการควบคุมโรคใบจุดภายในห้องปฏิบัติการที่ดีเปรียบเทียบกับสารเคมีกำจัดเชื้อราที่ให้ผลการควบคุมได้ดีภายในห้องปฏิบัติการมาทดสอบ ภายในเรือนทดลอง วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) จำนวน 7 กรรมวิธี ๆ ละ 6 ซ้ำ ๆ ละ 1 ต้น ในแต่ละกรรมวิธีประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1: ชุดควบคุม ไม่มีการพ่นเชื้อรา *Curvularia* sp.

กรรมวิธีที่ 2: ชุดควบคุม พ่นเชื้อรา *Curvularia* sp. เพียงอย่างเดียว

กรรมวิธีที่ 3: พ่นเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ทิ้งไว้ 24 ชม.และพ่นเชื้อรา *Curvularia* sp.

กรรมวิธีที่ 4: พ่นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในกลุ่ม *Streptomyces* sp. ทิ้งไว้ 24 ชม. และพ่นเชื้อรา *Curvularia* sp.

กรรมวิธีที่ 5: ผสมและพ่นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 2 ชนิด ทิ้งไว้ 24 ชม. และพ่นเชื้อรา *Curvularia* sp.

กรรมวิธีที่ 6: พ่นสารเคมีชนิดที่ 1 ที่คัดเลือกได้จากข้อ 2.2 ในอัตราส่วนที่สามารถควบคุมโรคได้ดีที่สุด ทิ้งไว้ 24 ชม. และพ่นเชื้อ *Curvularia* sp.

กรรมวิธีที่ 7: พ่นสารเคมีชนิดที่ 2 ที่คัดเลือกได้จากข้อ 2.2 ในอัตราส่วนที่สามารถควบคุมโรคได้ดีที่สุด ทิ้งไว้ 24 ชม. และพ่นเชื้อรา *Curvularia* sp.

ดำเนินการพ่นสารทุกเดือน ๆ ละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 4 เดือน ประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคหลังการปลูกเชื้อในเดือนที่ 2 และเดือนที่ 4 ของการทดสอบ ประเมินระดับการเกิดโรคจากเกณฑ์การให้คะแนนในดัชนีความรุนแรงตามข้อ 1.2.4 จากนั้นนำคะแนนความรุนแรงของโรคมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยโปรแกรม Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) เวอร์ชั่น 16

บทที่ 3

ผลการทดลอง

1. ศึกษาเชื้อรา *Curvularia* sp. สาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมัน

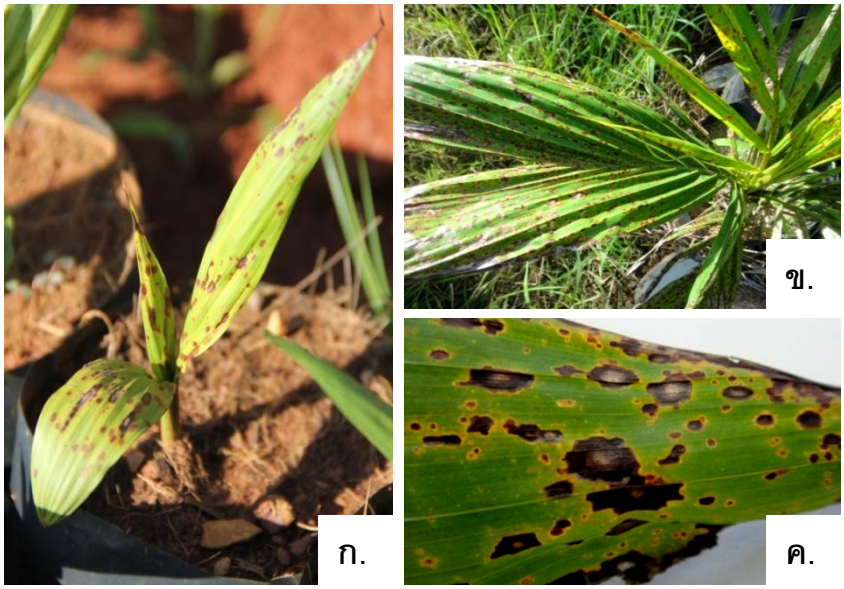
1.1 การเก็บตัวอย่างและแยกเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมัน

จากการเก็บตัวอย่างใบของต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่แสดงอาการใบจุดจำนวน 5 ครั้ง ในพื้นที่ 8 จังหวัด สามารถเก็บตัวอย่างโรคจำนวน 163 ตัวอย่าง โดยแบ่งเป็น

- กระบี่ 32 ตัวอย่าง
- พังงา 15 ตัวอย่าง
- ชุมพร 32 ตัวอย่าง
- สงขลา 13 ตัวอย่าง
- ตรัง 34 ตัวอย่าง
- สตูล 14 ตัวอย่าง
- นครศรีธรรมราช 5 ตัวอย่าง
- สุราษฎร์ธานี 18 ตัวอย่าง

จากการเก็บตัวอย่างพบว่า ลักษณะอาการที่ปรากฏบนใบของต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่เป็นโรคคือ ระยะแรกเกิดจุดเล็กๆ สีเหลือง กระจายอยู่ทั่วไปบนใบ เมื่อแผลเจริญเต็มที่มีรูปร่างกลมสีน้ำตาลดำ บุ๋มตรงกลาง ขอบแผลนูนมีลักษณะเป็นมัน มีวงสีเหลืองถึงเหลืองส้มล้อมรอบ แผลอาจขยายตัวขึ้นมีรูปร่างกลมรี ความยาวของแผลอาจถึง 7-8 มิลลิเมตร หากโรคระบาดรุนแรงแผลเชื่อมต่อกันทำให้ใบแห้งตายเป็นรอยแผลสีน้ำตาลจนถึงสีน้ำตาลดำ (ภาพที่ 2) เมื่อนำมาแยกเชื้อโดยวิธีด้วยวิธีการแยกสปอร์เดี่ยว (single spore) สามารถแยกเชื้อ *Curvularia* sp. ได้จำนวน 149 ไอโซเลท แบ่งเป็น

- กระบี่ 32 ไอโซเลท
- พังงา 13 ไอโซเลท
- ชุมพร 29 ไอโซเลท
- สงขลา 7 ไอโซเลท
- ตรัง 34 ไอโซเลท
- สตูล 19 ไอโซเลท
- นครศรีธรรมราช 1 ไอโซเลท
- สุราษฎร์ธานี 14 ไอโซเลท



ภาพที่ 2 อาการใบของต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่ถูกเข้าทำลายโดยเชื้อรา *Curvularia* spp. ก. อาการใบจุดบนต้นกล้าปาล์มน้ำมันอายุ 1 เดือน ข. อาการใบจุดบนต้นกล้าปาล์มน้ำมันอายุ 8 เดือน ค. อาการใบจุดบนใบปาล์มน้ำมันที่มีอาการติดเชื้ออย่างรุนแรง

1.2 การทดสอบความสามารถในการเกิดโรคเบื้องต้นจากเชื้อรา *Curvularia* sp.

1.2.1 การทดสอบความสามารถในการเกิดโรคเบื้องต้นบนใบปาล์มน้ำมัน

จากการทดสอบความสามารถในการเกิดโรคเบื้องต้น ของเชื้อที่แยกได้จากแปลงปลูกในพื้นที่จังหวัดกระบี่ ชุมพร นครศรีธรรมราช และสุราษฎร์ธานี ซึ่งมี การระบาดของโรคอย่างรุนแรงจำนวน 8 ไอโซเลท บนใบปาล์มน้ำมัน พันธุ์ทรัพย์ มอ. 1 โดยวิธี detached leaf พบว่าเชื้อรา *Curvularia* spp. ไอโซเลท NK1, KB1 และ SR13 สามารถทำให้เกิดโรครุนแรงที่สุด โดยมีระดับความรุนแรงของโรคเฉลี่ยในระดับ 2.5 รองลงมาคือ SR2, SR12, KB3, SR1 และ CP1 โดยมีระดับความรุนแรงของโรคเฉลี่ยในระดับ 2, 2, 1.8, 1.8 และ 1.6 ตามลำดับ โดยใบปาล์มน้ำมันมีลักษณะอาการ เกิดจุดเล็กๆ ลักษณะโปร่งใส กระจายอยู่ทั่วไปบนใบ แผลมีวงสีเหลืองล้อมรอบ (ภาพที่ 3) จึงนำเชื้อจำนวน 4 ไอโซเลทคือ NK1, KB1, SR12 และ SR13 ไปใช้ในการทดสอบการเกิดโรคบนต้นกล้าปาล์มน้ำมันต่อไป

ชุดควบคุม NK1 KB1 KB3 SR1 SR2 SR12 SR13 CP3

ภาพที่ 3 อาการของโรคใบจุดบนใบปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ มอ. 1 หลังปลูกเชื้อ *Curvularia* spp. ไอโซเลทต่าง ๆ เป็นเวลา 14 วัน โดยวิธี detached leaf

1.2.2 การทดสอบความสามารถในการเกิดโรคบนต้นกล้าปาล์มน้ำมัน

คัดเลือกเชื้อที่สามารถทำให้เกิดโรคที่รุนแรงจากการทดสอบความสามารถในการเกิดโรคเบื้องต้นบนใบปาล์มน้ำมันจำนวน 4 ไอโซเลท คือ เชื้อรา *Curvularia* spp. ไอโซเลท NK1, KB1, SR12 และ SR 13 ทดลองบนต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่มีอายุ 4-6 เดือน ไอโซเลทละ 3 ซ้ำ ทำการปลูกเชื้อ *Curvularia* spp. โดยวิธีการพ่นสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคลงบนต้นกล้าในระดับความเข้มข้นของสปอร์ $1x10^6$ สปอร์/มิลลิลิตร สำหรับกรรมวิธีควบคุมพ่นด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเพียงอย่างเดียว จากนั้นนำถุงพลาสติกคลุมต้นกล้าปาล์มทั้งกระถางไว้เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำถุงพลาสติกออก ทิ้งไว้ 20 วัน พบว่าเชื้อ *Curvularia* spp. ไอโซเลท NK1 สามารถทำให้เกิดโรครุนแรงที่สุดกับต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่ระดับ 3 (ภาพที่ 4ข) รองลงมาคือ *Curvularia* spp. ไอโซเลท KB1, SR12 และ SR13 สามารถทำให้เกิดโรครุนแรงกับต้นกล้าปาล์มน้ำมันเท่ากันที่ระดับ 2 (ภาพที่ 4ค ง และ จ)

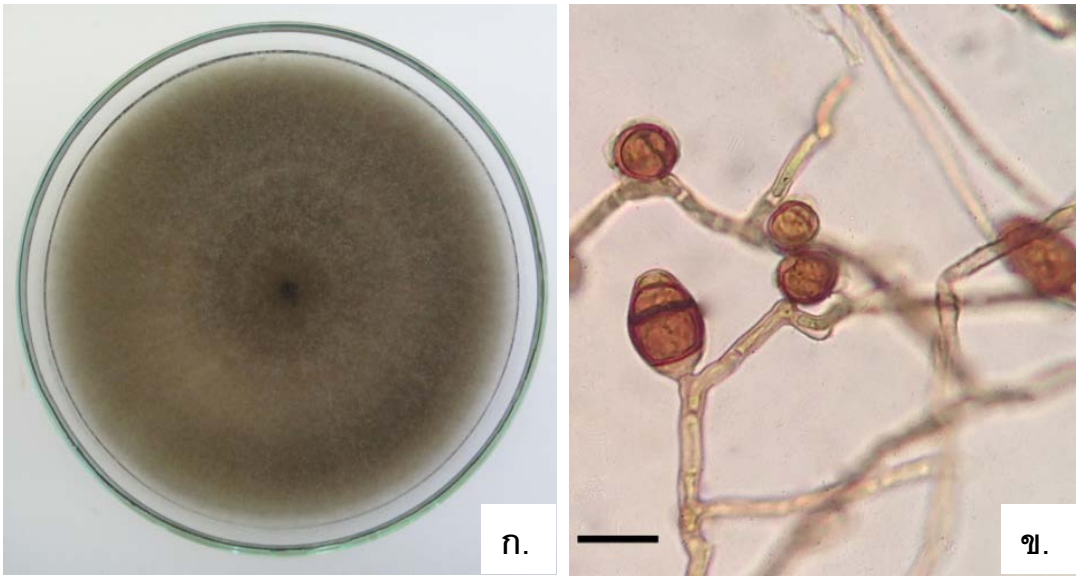
ภาพที่ 4 อาการของโรคใบจุดบนต้นกล้าปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ มอ. 1 หลังปลูกเชื้อ *Curvularia* spp. ไอโซเลทต่าง ๆ เป็นเวลา 20 วัน ก. กรรมวิธีควบคุม ข. ไอโซเลท NK1 ค. ไอโซเลท KB1 ง. ไอโซเลท SR12 และ จ. ไอโซเลท SR 13

1.3 การจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมัน

1.3.1 จำแนกโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

นำเชื้อรา *Curvularia* spp. ทั้ง 149 ไอโซเลท ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMA ซึ่งมีลักษณะโคโลนี ในระยะแรกเส้นใยมีสีน้ำตาลอ่อนและค่อยๆเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มเกือบดำ ที่อายุ 10 วัน (ภาพที่ 5ก) นำมาทำสไลด์กึ่งถาวรใน lactophenol พบว่า ก้านชูสปอร์เป็นก้านเดี่ยวหรือแตกกิ่ง มีลักษณะตรงหรือโค้งงอ สีน้ำตาลอ่อนถึงเข้ม สปอร์มี 3

ผนังกั้น แบ่งออกเป็น 4 เซลล์ รูปร่างวงรีคล้ายรูปไข่ โดย 2 เซลล์ตรงกลางมีสีน้ำตาลเข้ม ขนาดใหญ่กว่าเซลล์ด้านหัวและท้าย ส่วนเซลล์ส่วนหัวและท้ายมีสีอ่อนกว่า ผิวเรียบ สปอร์มีขนาดประมาณ 24-40×12-22 ไมโครเมตร สามารถจัดจำแนกได้ว่าเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมันคือ เชื้อรา *Curvularia oryzae* (ภาพที่ 5ข)



ภาพที่ 5 *Curvularia oryzae* ก. ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Curvularia oryzae* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMAที่อายุ 10 วัน ข. ลักษณะโคนิดิโอฟอร์และโคนิเดีย scale bar เท่ากับ 20 µm

1.3.2 การศึกษาการสร้างโครงสร้างสืบพันธุ์แบบใช้เพศของเชื้อรา *Curvularia* sp.

จากการศึกษาการสร้างโครงสร้างสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของเชื้อรา *C. oryzae* โดยทำการผสมพันธุ์แบบพบกันหมดในอาหาร Sach's agar ที่วางชิ้นส่วนของฟางข้าวและใบปาล์มที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว พบว่าหลังจากผ่านไป 8 สัปดาห์ เชื้อรา *C. oryzae* จำนวน 34 คู่ผสมที่ศึกษาการสร้างโครงสร้างสืบพันธุ์แบบใช้เพศไม่พบการสร้างโครงสร้างสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศแอสโคมาตา โปรตาทีเชียม และสโตรมาตา

2. การทดสอบการใช้สารเคมีในการควบคุมเชื้อรา *Curvularia oryzae* สาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมันในห้องปฏิบัติการ

2.1 การทดสอบ การใช้ สารเคมีในการควบคุมเชื้อรา *Curvularia oryzae* ในห้องปฏิบัติการ

2.1.1 การทดสอบหาค่า minimum inhibitory concentration (MIC) โดยวิธี broth microdilution test

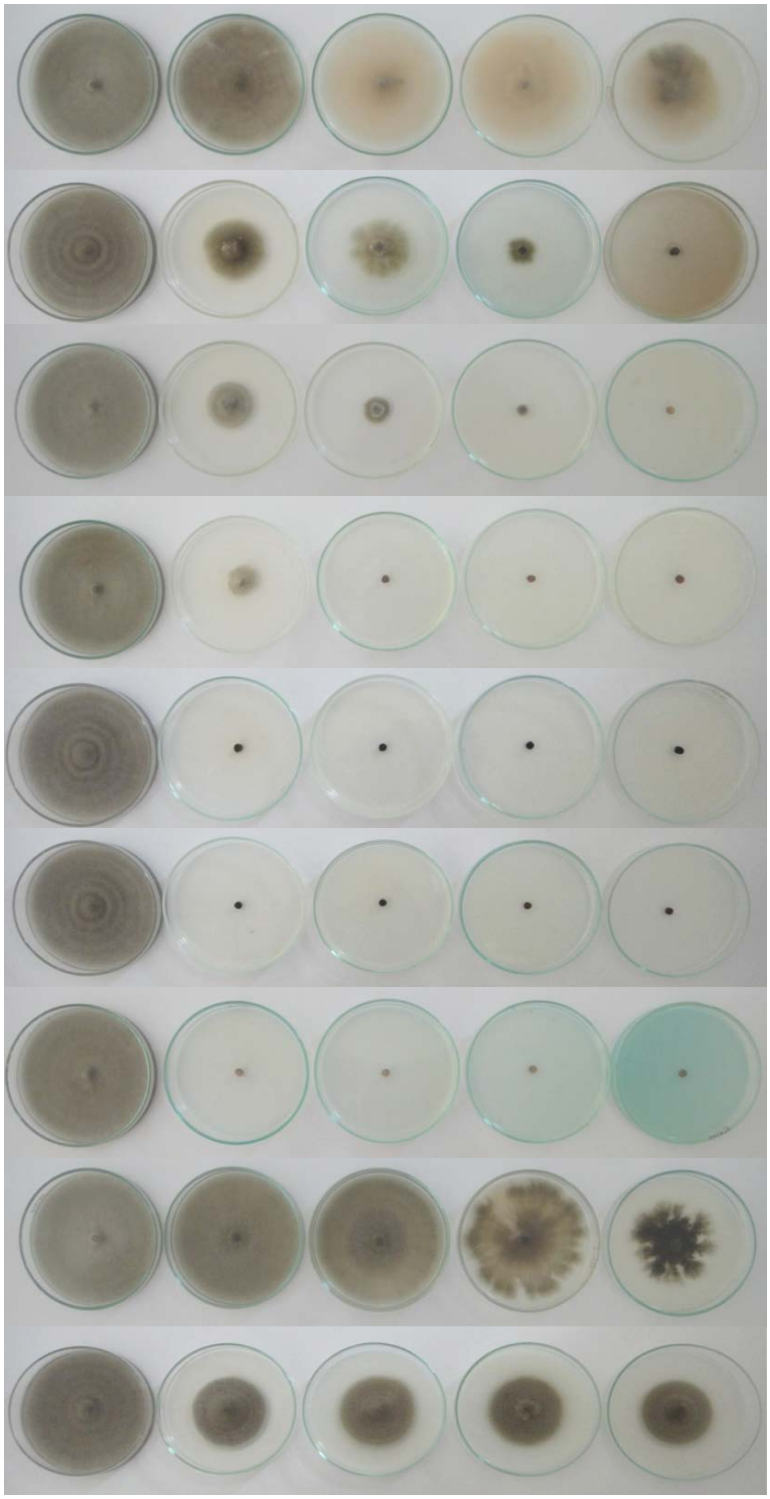
นำสารเคมี 9 ชนิดที่แนะนำให้ใช้ในการพ่นเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. oryzae* คือ คาร์เบนดาซิม คิวพลัสออกไซด์ แคปแทน ไดฟีโนโคนาโซล เททราโคนาโซล โพรคลอราช แมนโคเซบ อาลีเอท และ อีทาบ็อกแซม มาทดสอบหาค่า MIC โดยทดสอบที่ความเข้มข้นในช่วง 1024-2 µg/ml จากผลการทดลองพบว่า แมนโคเซบ ไดฟีโนโคนาโซล เททราโคนาโซล และโพรคลอราช สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 512 µg/ml รองลงมาคือ แคปแทนและคิวพลัสออกไซด์ ยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 1024 µg/ml และ คาร์เบนดาซิม อาลีเอทและอีทาบ็อกแซม ยับยั้งการงอกของสปอร์ที่ความเข้มข้นมากกว่า 1024 µg/ml

2.1.2 การทดสอบการใช้ สารเคมี กำจัดเชื้อรา ในการยับยั้งการเจริญของ เชื้อรา *Curvularia oryzae* สาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมันบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

นำสารเคมีทั้ง 9 ชนิด ผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ CMA ที่ความเข้มข้น 50, 100, 200, และ 500 ppm จากนั้นใช้ cork borer ตัดชิ้นวุ้นในจานอาหารเลี้ยงเชื้อรา สาเหตุโรค มาวางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารเคมี พบว่า สารเคมี แมนโคเซบ เททราโคนาโซล และ โพรคลอราช สามารถยั้งยังการเจริญของเชื้อราได้ดีที่สุดตั้งแต่ที่ความเข้มข้น 50 ppm รองลงมาคือ ไดฟีโนโคนาโซล 100 ppm แคปแทน 200 ppm และคิวพลัสออกไซด์ 500 ppm ตามลำดับ ส่วนคาร์เบนดาซิม อาลีเอทและอีทาบ็อกแซม ไม่สามารถยังยั้งการเจริญของเชื้อราได้ (ภาพที่ 6, ตารางที่ 2)

จากผลการทดลองสารเคมีแมนโคเซบ เททราโคนาโซล และโพรคลอราช สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ตั้งแต่ความเข้มข้น 50 ppm จึงได้ทำการทดลองซ้ำในความเข้มข้นของสารเคมีที่ต่ำกว่า 50 ppm ได้แก่ 5, 10, 20 และ 40 ppm เพื่อหาความเข้มข้นของสารเคมีที่ต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ จากผลการทดลองพบว่า สารเคมีโพรคลอราชสามารถยังยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุดที่ 10 ppm รองลงมา

คือ แมนโคเซบ 40 ppm และ เททราโคนาโซล 50 ppm ตามลำดับ (ภาพที่ 7, ตารางที่ 3) เนื่องจากที่ความเข้มข้น 40 ppm ยังมีการเจริญของเชื้อราอยู่เล็กน้อย ซึ่งจากผลการทดลองนี้จะนำสารเคมีแมนโคเซบที่ความเข้มข้น 40 ppm เททราโคนาโซล 50 ppm และโพรคลอราช 10, 20 และ 40 ppm ไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคบนใบปาล์มน้ำมันต่อไป

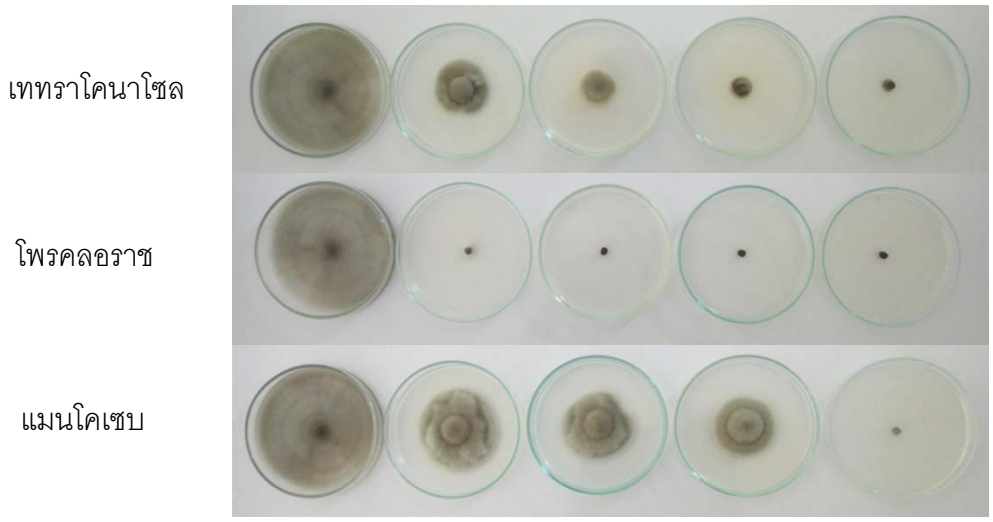


ภาพที่ 6 การเจริญของเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK 1 บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารเคมีในความเข้มข้น 50 100 200 และ 500 ppm ที่อายุ 10 วัน

ตารางที่ 2 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK 1 ที่อายุ 10 วัน บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารเคมีในความเข้มข้น 50 100 200 และ 500 ppm (cm)

สารเคมี	Control	50 ppm	100 ppm	200 ppm	500 ppm
คาร์เบนดาซิม	9.00n[1/]	8.92n	7.95k	8.20l	6.91j
คิวพลัสออกไซด์	9.00n	4.77f	4.72f	2.25c	1.05b
แคปแทน	9.00n	3.48e	2.18c	1.11b	0.50a
ไดฟีโนโคนาโซล	9.00n	2.71d	0.50a	0.50a	0.50a
เททราโคนาโซล	9.00n	0.50a	0.50a	0.50a	0.50a
โพรคลอราช	9.00n	0.50a	0.50a	0.50a	0.50a
แมนโคเซบ	9.00n	0.50a	0.50a	0.50a	0.50a
อาลีเอท	9.00n	9.00n	9.00n	8.52m	6.91i
อีทาร์บ็อกแซม	9.00n	5.67h	5.55h	5.03g	4.88fg

1/ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละแถว ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01ด้วยวิธี DMRT (Duncan's Multiple Range Test)



ภาพที่ 7 การเจริญของเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK 1 บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารเคมีในความเข้มข้น 5 10 20 และ 40 ppm ที่อายุ 10 วัน

ตารางที่ 3 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK 1 ที่อายุ 10 วัน บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารเคมีในความเข้มข้น 5 10 20 และ 40 ppm (cm)

สารเคมี	5 ppm	10 ppm	20 ppm	40 ppm
เททราโคนาโซล	4.37f[1/]	2.87e	1.80d	0.86b
โพลคลอราช	1.53c	0.50a	0.50a	0.50a
แมนโคเซบ	6.01h	5.38g	4.33f	0.50a

1/ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละแถว ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01 ด้วยวิธี DMRT (Duncan's Multiple Range Test)

2.2 การทดสอบการใช้สารเคมี ในการควบคุมเชื้อรา *Curvularia oryzae* บนใบปาล์มน้ำมันภายในห้องปฏิบัติการ

จากผลการทดสอบสารเคมีในการควบคุมเชื้อรา *C. oryzae* NK1 สาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมันโดยวิธี detached leaf พบว่าสารเคมีแมนโคเซบที่ความเข้มข้น 40 ppm และโพรคลอราช 40 ppm สามารถยับยั้งการเกิดโรคบนใบปาล์มน้ำมันได้ดีที่สุด รองลงมาคือ โพรคลอราช 20 ppm, เททราโคนาโซล 50 ppm และ โพรคลอราช 10 ppm ตามลำดับ (ภาพที่ 8) ซึ่งจากผลการทดลองนี้จะนำสารเคมีแมนโคเซบและโพรคลอราชไปใช้ในการทดสอบสารเคมีในการควบคุมเชื้อรา *C. oryzae* สาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมันบนต้นกล้าปาล์มน้ำมันภายในเรือนทดลองต่อไป

ชุดควบคุม **โพรคลอราซ** **แมนโคเซบ** **เททราโคนาโซล**

10 ppm 20 ppm 40 ppm 40 ppm 50 ppm

ภาพที่ 8 อาการของโรคใบจุดบนใบปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ มอ.1 ในทดสอบการใช้สารเคมีเพื่อควบคุมเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK1 สาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมันเบื้องต้น หลังการปลูกเชื้อ 14 วัน

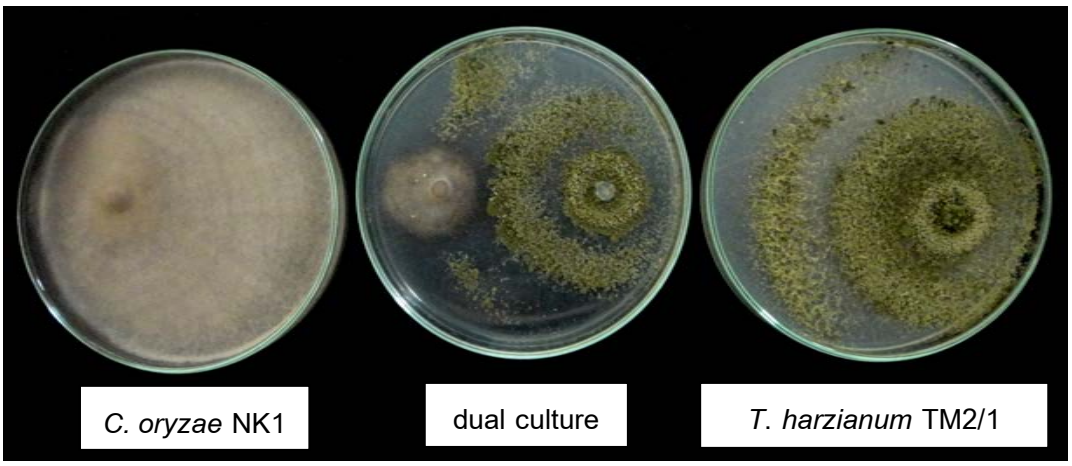
3. คัดเลือกหา จุลินทรีย์ป ฏิปักษ์ที่มีศักยภาพใน การควบคุมเชื้อรา *Curvularia oryzae* สาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมัน

3.1 การทดสอบความสามารถการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. และเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptomyces* spp. ต่อการควบคุมเชื้อรา *Curvularia oryzae* สาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมัน

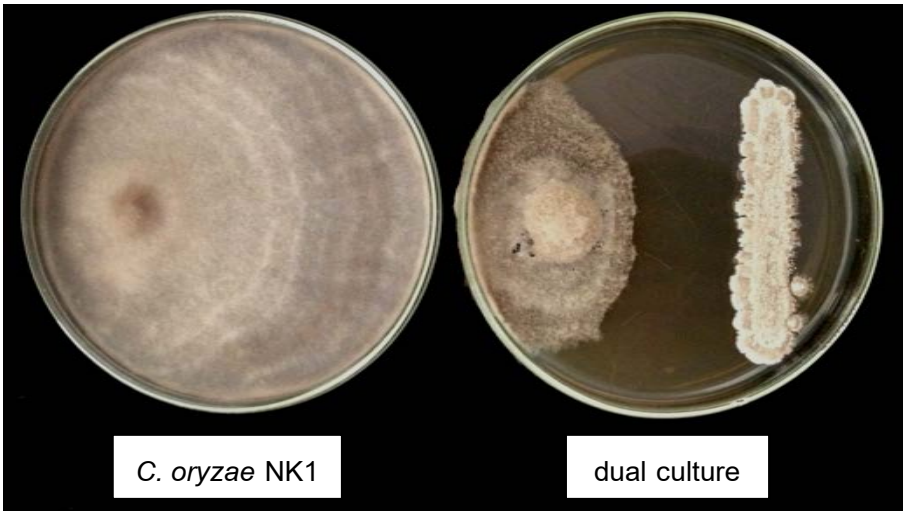
จากการทดสอบความสามารถในการเป็น เชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. จำนวน 40 ไอโซเลท โดยสามารถจัดจำแนกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้เป็น *T. harzianum* 19 ไอโซเลท *T. hamatum* 12 ไอโซเลท *T. koningii* 4 ไอโซเลท และ *Trichoderma* spp. 5 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. oryzae* NK1 โดยวิธีเลี้ยงร่วมบนอาหาร CMA เป็นเวลา 14 วัน พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 3 ไอโซเลท คือ 1. *T. harzianum* TM2/1, 2. *T. koningii* KBM2/1 และ 3. *T. hamatum*

ST2023 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยเชื้อรา *T. harzianum* TM2/1 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *C. oryzae* NK1 ได้ดีที่สุดที่ 90.22% (ภาพที่ 9) รองลงมาคือ *T. koningii* KBM2/1 และ *T. hamatum* ST2023 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *C. oryzae* NK1 ได้เท่ากันที่ 84.11% (ตารางที่ 4)

จากการทดสอบความสามารถในการเป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์ของเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptomyces* จำนวน 3 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. oryzae* NK1 โดยวิธีเลี้ยงร่วมบนอาหาร GYM เป็นเวลา 14 วัน พบว่า เชื้อแบคทีเรีย *S. hygroscopicus* NR8-2 สามารถยับยั้งการเจริญของ เส้นใยเชื้อ *C. oryzae* NK1 ได้ดีที่สุดที่ 81.88% (ภาพที่ 10) รองลงมาคือ *Kitasatospora nipponensis* KM6-2 และ *S. abikoensis* ChM3-1 สามารถยับยั้งการเจริญของ เส้นใยเชื้อ *C. oryzae* NK1 ได้ดีที่ 74.88% และ 69.77% ตามลำดับ (ตารางที่ 5)



ภาพที่ 9 การเจริญของเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK1 (จานซ้ายมือ) และการเจริญของเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK1 ร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma harzianum* TM2/1 (จานกลาง) และเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma harzianum* TM2/1 (จานขวามือ) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMA หลังการเลี้ยงเชื้อที่อายุ 7 วัน



ภาพที่ 10 การเจริญของเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK1 (จานซ้ายมือ) และการเจริญของเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK1 ร่วมกับ เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces hygroscopicus* NR8-2 (จานขวามือ) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ GYMA หลังการเลี้ยงเชื้อ ที่อายุ 14 วัน

ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. ที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK1 สาเหตุโรคใบจุดของปาล์มน้ำมัน โดยวิธี dual culture test ที่อายุ 14 วัน

เชื้อราปฏิปักษ์	เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (มม.)		GI (%)
	Control	Dual-culture	
T. hamatum LN 101	90.0	18.0	80.00
T. hamatum PKTL2/1	90.0	14.9	83.44
T. hamatum SN 6063	90.0	14.6	84.11
T. hamatum SN 6084	90.0	16.8	82.11
T. hamatum SN 6093	90.0	17.0	82.44
T. hamatum SN 70103	90.0	17.0	81.33
T. hamatum ST 2023	90.0	14.3	82.88
T. hamatum ST 3048	90.0	16.8	83.77
T. hamatum ST 4061	90.0	15.4	81.11
T. hamatum ST 6082	90.0	15.8	81.11
T. hamatum TGRD4/1	90.0	14.8	83.55
T. hamatum TST 3056	90.0	16.1	81.33
T. harzianum KBNK1/1	90.0	16.6	81.55
T. harzianum KHK3/2	90.0	17.8	80.22
T. harzianum LN 3037	90.0	19.5	78.33
T. harzianum NKPL1/1	90.0	17.3	80.77
T. harzianum PGM2/1	90.0	17.9	80.11
T. harzianum PGM4/1	90.0	19.2	78.66
T. harzianum PGTP2/1	90.0	17.5	80.55
T. harzianum SN 2025	90.0	16.8	81.33
T. harzianum SN 6037	90.0	16.1	82.11
T. harzianum SRKD2/1	90.0	15.3	83.00
T. harzianum ST 1007	90.0	14.5	83.88

ตารางที่ 4 (ต่อ) ประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK1 สาเหตุโรคใบจุดของปาล์มน้ำมัน โดยวิธี dual culture test ที่อายุ 14 วัน

เชื้อราปฏิปักษ์	เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (มม.)		GI (%)
	Control	Dual-culture	
T. harzianum ST 2021	90.0	16.3	81.88
T. harzianum ST 3031	90.0	16.5	81.66
T. harzianum ST 3033	90.0	16.1	82.11
T. harzianum TGSK1/1	90.0	17.0	81.11
T. harzianum TGSK2/1	90.0	16.7	81.44
T. harzianum TGSK4/1	90.0	15.6	82.66
T. harzianum TGWS1/1	90.0	17.3	80.77
T. harzianum TM2/1	90.0	8.80	90.22
T. koningii KBM1/1	90.0	18.1	79.88
T. koningii KBM2/1	90.0	14.3	84.11
T. koningii PGM3/1	90.0	19.2	78.66
T. koningii SN113	90.0	19.0	78.88
Trichoderma spp. CPM1/1	90.0	15.5	82.77
Trichoderma spp. CPPT2/1	90.0	16.5	81.66
Trichoderma spp. ST 7097	90.0	15.6	82.66
Trichoderma spp. SN 3042	90.0	24.4	72.88
Trichoderma spp. TGRD5/1	90.0	16.5	81.66

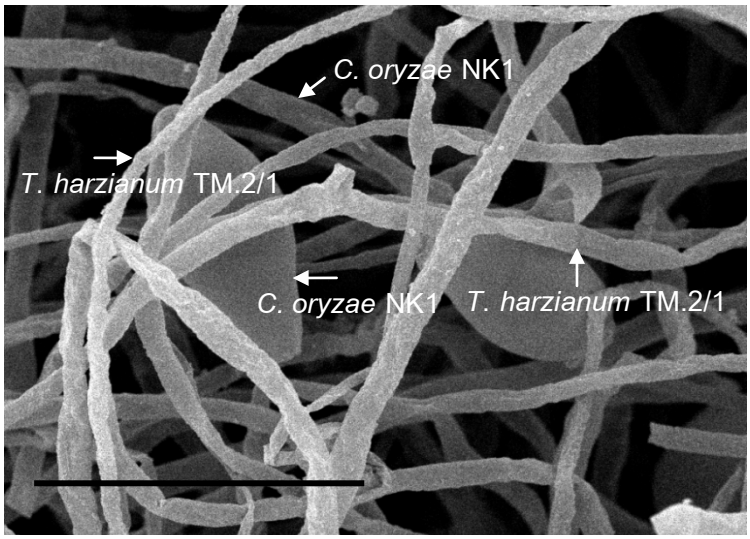
ตารางที่ 5 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptomyces* spp. ที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK1 สาเหตุโรคใบจุดของปาล์มน้ำมัน โดยวิธี dual culture test ที่อายุ 14 วัน

เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์	เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (ซม.)		GI (%)
	Control	Dual-culture	
Kitasatospora nipponensis KM6-4	9.00d[1/]	2.26b	74.88b
S. abikoensis ChM3-1	9.00d	2.72c	69.77c
S. hygroscopicus NR8-2	9.00d	1.63a	81.88a

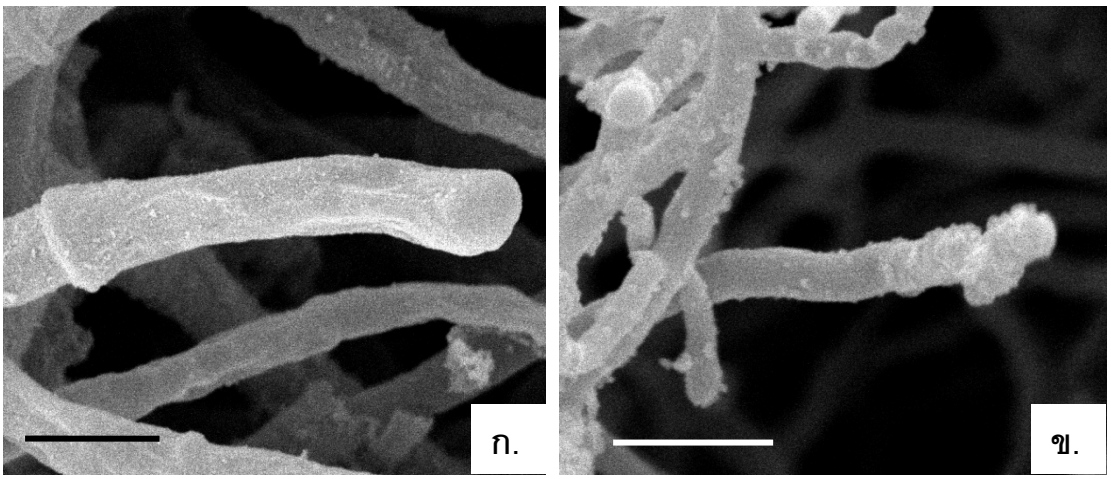
1/ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละแถว ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01 ด้วยวิธี DMRT (Duncan's Multiple Range Test)

3.2 การศึกษาการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด

เมื่อนำไปตรวจสอบกลไกการเป็นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ของเชื้อรา *T. harzianum* TM2/1 ต่อการยับยั้ง การเจริญของเส้นใยเชื้อ *C. oryzae* NK1 และเชื้อแบคทีเรีย *S. hygroscopicus* NR8-2 ต่อการยับยั้งการเจริญของ เส้นใยเชื้อ *C. oryzae* NK1 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด พบว่า เส้นใยของเชื้อรา *T. harzianum* TM2/1 สามารถเจริญคลุมทับเส้นใยและสปอร์เชื้อสาเหตุโรคเพื่อแก่งแย่งพื้นที่อาหาร (competition) ได้ (ภาพที่ 11) และเชื้อแบคทีเรีย *S. hygroscopicus* NR8-2 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยและสร้างความผิดปกติบริเวณปลายเส้นใย ทำให้เชื้อสาเหตุโรคมีลักษณะบิดเบี้ยว ผิดรูปร่างและไม่สามารถเจริญต่อไปได้ (ภาพที่ 12ข)



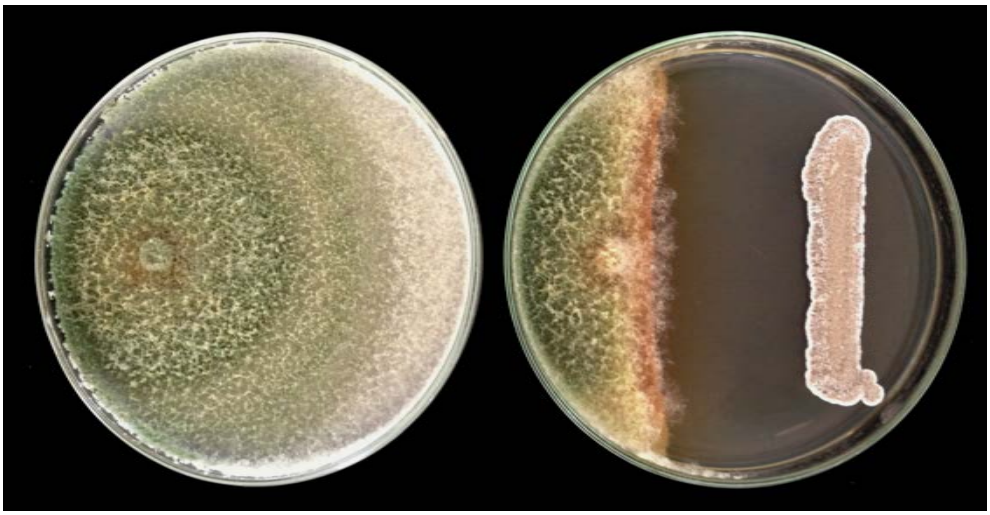
ภาพที่ 11 เชื้อรา *Trichoderma harzianum* TM2/1 เลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK1 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด scale bar เท่ากับ 20 µm



ภาพที่ 12 เชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces hygroscopicus* NR8-2 เลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK1ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด ก. ปลายเส้นใยของเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK1 ในกรรมวิธีควบคุม Scale bar เท่ากับ 5 µm ข. ปลายเส้นใยของเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK1 เลี้ยงร่วมกับเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces hygroscopicus* NR8-2 scale bar เท่ากับ 2 µm

3.3 การทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ต่อกันของเชื้อรา *Trichoderma* spp. และเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptomyces* spp.

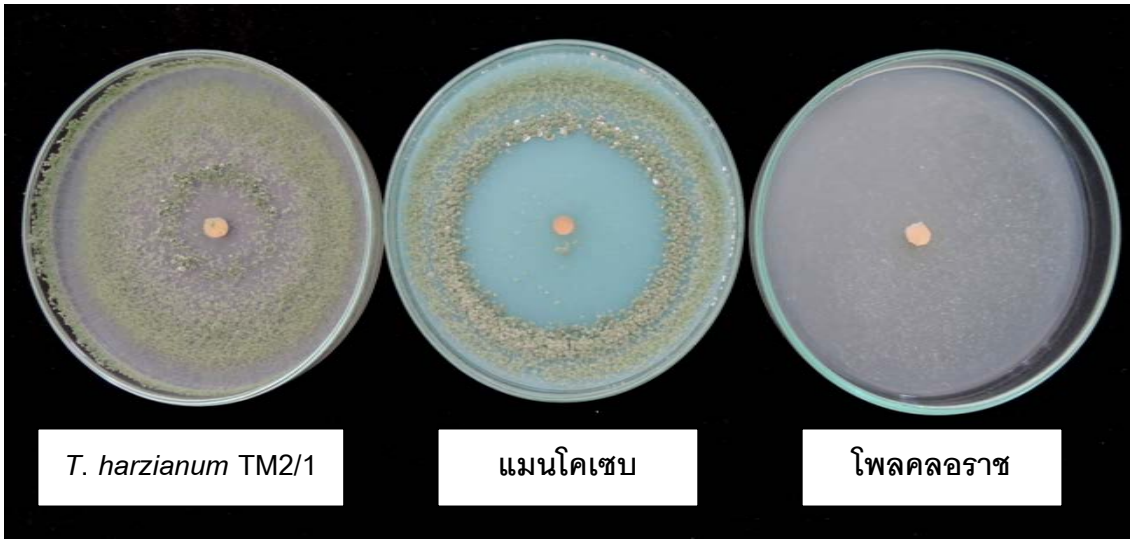
ผลการทดสอบการเข้ากันได้ของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *T. harzianum* TM2/1 และ *S. hygroscopicus* NR8-2 ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *C. oryzae* NK1 สาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมันได้ดีที่สุด ด้วยวิธี dual culture พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *S. hygroscopicus* NR8-2 เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *T. harzianum* TM2/1 โดยเชื้อแบคทีเรีย *S. hygroscopicus* NR8-2 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *T. harzianum* TM.2/1 ได้ที่ 76.44% โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของโคโลนีเชื้อรา *T. harzianum* TM2/1 บนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมที่ 2.12 เซนติเมตร (ภาพที่ 13) แต่เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 2 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อสาเหตุโรคภายในห้องปฏิบัติการได้มีประสิทธิภาพมากที่สุด จึงยังคงคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิดไปใช้ในการควบคุมโรคใบจุดในสภาพเรือนทดลองเพื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีต่อไป



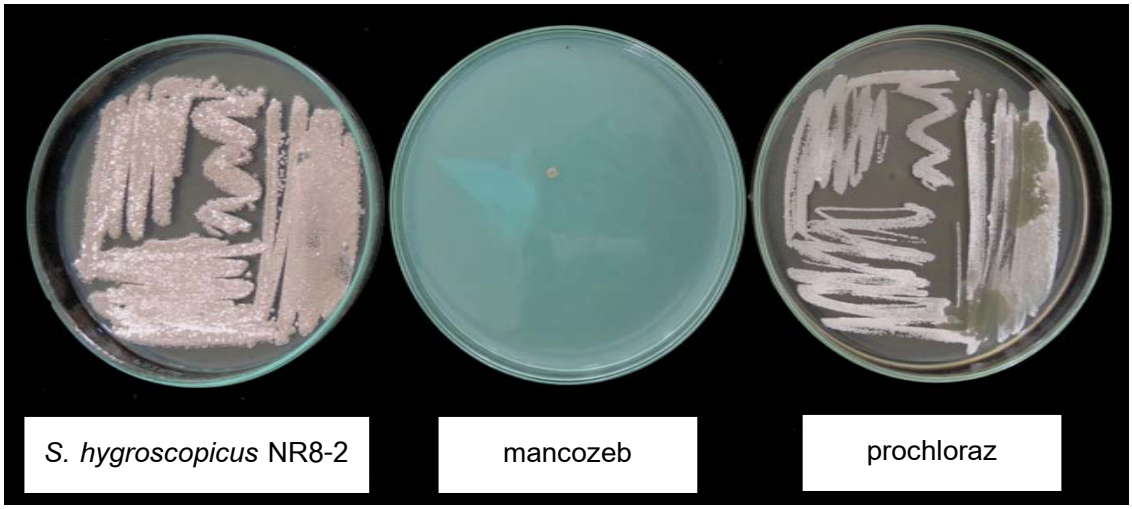
ภาพที่ 13 การเจริญของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* TM2/1 (จานซ้ายมือ) และการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* TM2/1 ร่วมกับ เชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces hygroscopicus* NR8-2 (จานขวามือ) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ GYMA ที่อายุ 5 วัน

3.4 การทดสอบการเจริญของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารเคมีกำจัดเชื้อราในห้องปฏิบัติการ

จากการทดสอบการเจริญของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ร่วมกับสารเคมีในห้องปฏิบัติการ พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ CMA ที่ผสมสารเคมีแมนโคเซบความเข้มข้น 1200 ppm ไม่ยับยั้งการเจริญและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *T. harzianum* TM2/1 แต่อาหารเลี้ยงเชื้อ CMA ที่ผสมสารเคมีโพรคลอราชความเข้มข้น 450 ppm สามารถยับยั้งเชื้อรา *T. harzianum* TM2/1 ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 14) ส่วนเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *S. hygroscopicus* NR8-2 พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ GYMA ที่ผสมสารเคมีแมนโคเซบความเข้มข้น 1200 ppm ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *S. hygroscopicus* NR8-2 ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ แต่บนอาหารเลี้ยงเชื้อ GYMA ที่ผสมสารเคมีโพรคลอราชความเข้มข้น 450 ppm เชื้อแบคทีเรีย *S. hygroscopicus* NR8-2 สามารถเจริญได้แต่มีการสร้างสปอร์ได้น้อยเมื่อเปรียบเทียบกรรมวิธีควบคุม (ภาพที่ 15)



ภาพที่ 14 การเจริญของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* TM2/1 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMA (จานซ้ายมือ) อาหารเลี้ยงเชื้อ CMA ผสมสารเคมีแมนโคเซบความเข้มข้น 1,200 ppm (จานกลาง) และอาหารเลี้ยงเชื้อ CMA ผสมสารเคมีโพรคลอราชความเข้มข้น 450 ppm (จานขวามือ) ที่อายุ 7 วัน



ภาพที่ 15 การเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces hygroscopicus* NR8-2 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ GYMA (จานซ้ายมือ) อาหารเลี้ยงเชื้อ GYMA ผสมสารเคมีแมนโคเซบความเข้มข้น 1,200 ppm (จานกลาง) และอาหารเลี้ยงเชื้อ GYMA ผสมสารเคมีโพลคลอราชความเข้มข้น 450 ppm (จานขวามือ) ที่อายุ 14 วัน

4. การทดสอบการควบคุมโรคใบจุดของปาล์มน้ำมันในเรือนทดลอง

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *T. harzianum* TM2/1 และ *S. hygroscopicus* NR8-2 เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีกำจัดเชื้อราแมนโคเซบและโพรคลอราช ต่อการยับยั้งการเกิด โรคใบจุดในปาล์มน้ำมัน พบว่าในกรรมวิธีที่พ่นด้วยสารเคมีแมนโคเซบที่ความเข้มข้น 1,200 ppm มีระดับความรุนแรงของโรคใบจุดต่ำสุดคือ 0.2 รองลงมาคือการพ่นด้วยสารเคมีโพรคลอราช 450 ppm และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *S. hygroscopicus* NR8-2 มีระดับความรุนแรงของโรคใบจุดเท่ากันที่ 0.6 ซึ่งให้ผลการทดลองที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นด้วยสารเคมีแมนโคเซบ 1,200 ppm ส่วนกรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* TM2/1 เพียงอย่างเดียวและกรรมวิธีที่พ่นด้วยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 2 ชนิด มีระดับความรุนแรงของโรคใบจุดเท่ากันที่ 1.2 สำหรับกรรมวิธีควบคุมมีระดับความรุนแรงของโรคใบจุด 2 เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS พบว่ากรรมวิธีการพ่นด้วยสารเคมีแมนโคเซบ สารเคมีโพรคลอราช และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *S. hygroscopicus* NR8-2 มีระดับความรุนแรงของโรคใบจุดต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ส่วนกรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* TM2/1 เพียงอย่างเดียวและกรรมวิธีที่พ่นด้วยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 2 ชนิด ไม่มีความแตกต่างที่สถิติกับกรรมวิธีควบคุม (ตารางที่ 6) จากการทดลองเห็นได้ว่ากรรมวิธีที่มีการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ *S. hygroscopicus* NR8-2 สามารถควบคุมการเกิดโรคใบจุดได้ใกล้เคียงกับการใช้สารเคมีกำจัด

เชื้อรา โดยในกรรมวิธีควบคุม ต้นกล้าปาล์มน้ำมันมีการแสดงอาการใบแห้ง เนื้อเยื่อตาย ซึ่งอาการดังกล่าวสามารถพบได้ในแปลงเกษตรกรที่มีการระบาดของโรคอย่างรุนแรง (ภาพที่ 16)

ตารางที่ 6 ระดับความรุนแรงของโรคใบจุดต้นกล้าปาล์มน้ำมันในแต่ละกรรมวิธีการทดลองภายในเรือนทดลอง

กรรมวิธี	ดัชนีความรุนแรงของโรค
S. hygroscopicus NR8-2	0.60 bc[1/]
T. harzianum TM2/1	1.20 cd
T. harzianum TM2/1 + *S. hygroscopicus* NR8-2	1.20 cd
สารเคมีโพรคลอราซ	0.60 bc
สารเคมีแมนโคเซบ	0.20 b
กรรมวิธีควบคุม (*C. oryzae* NK1)	2.00 d
กรรมวิธีควบคุม (น้ำกลั่น)	0.00 a

1/ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละแถว ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01 ด้วยวิธี DMRT (Duncan's Multiple Range Test)

ภาพที่ 16 ต้นกล้าปาล์มน้ำมันหลังการทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และสารเคมีกำจัดเชื้อราในการควบคุมโรคใบจุดในเรือนทดลอง เป็นเวลา 6 เดือน ก. เชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma harzianum* TM.2/1 ข. เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces hygroscopicus* NR8-2 และ ค. เชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma harzianum* TM2/1 ผสมกับ เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces hygroscopicus* NR8-2

ภาพที่ 16 (ต่อ) ต้นกล้าปาล์มน้ำมันหลังการทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และสารเคมีกำจัดเชื้อราในการควบคุมโรคใบจุดในเรือนทดลอง เป็นเวลา 6 เดือน ง. สารเคมีแมนโคเซบ จ. สารเคมีโพรคลอราซ ฉ. กรรมวิธีควบคุม (*Curvularia oryzae* NK1) และ ช. กรรมวิธีควบคุม (น้ำกลั่น)

บทที่ 4

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเก็บตัวอย่าง แยกเชื้อ ทดสอบการเป็นเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมัน และจำแนกชนิด

จากการเก็บตัวอย่าง โรคใบจุดของปาล์มน้ำมัน บริเวณแปลงเพาะต้นกล้าปาล์มน้ำมันจำนวน 5 ครั้ง จาก 8 จังหวัดทางภาคใต้ของประเทศไทย สามารถเก็บตัวอย่างโรคใบจุดในแปลงเพาะกล้าปาล์มน้ำมันจำนวน 163 ตัวอย่าง และนำมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้เชื้อจำนวน 149 ไอโซเลท คัดเลือกเชื้อรา *Curvularia* spp. จากแปลงปลูกที่แสดงอาการรุนแรงจำนวน 8 ไอโซเลท มาทดสอบการเกิดโรคบนใบปาล์มน้ำมัน พบว่าเชื้อรา *Curvularia* spp. ไอโซเลท NK1, KB1 และ SR13 สามารถทำให้เกิดโรครุนแรงที่สุด โดยมีระดับความรุนแรงของโรคเฉลี่ยในระดับ 2.5 รองลงมาคือ SR2, SR12, KB3, SR1 และ CP1 ตามลำดับ จากนั้นจึงคัดเลือกเชื้อรา *Curvularia* spp. ไอโซเลท NK1, KB1 และ SR13 ไปทดสอบความสามารถในการเกิดโรคเบื้องต้นบนต้นกล้าปาล์มน้ำมัน พบว่าเชื้อรา *Curvularia* sp. ไอโซเลท NK1 สามารถทำให้เกิดความรุนแรงบนต้นกล้าปาล์มน้ำมันมากที่สุด โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยที่ 48.33% เมื่อนำไปจัดจำแนกโดยอาศัยลักษณะทางสันฐานวิทยาพบว่าคือเชื้อ รา *C. oryzae* ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Doungsa-ard และคณะ (2011) ซึ่งพบว่ามีการระบาดของโรคใบจุดในต้นกล้าปาล์มน้ำมันและต้นที่โตเต็มที่แล้ว ในพื้นที่จังหวัดกระบี่ และสามารถจัดจำแนกได้ว่าเกิดจากเชื้อรา *C. oryzae* จากนั้นได้ทำการศึกษาการสร้างโครงสร้างสืบพันธุ์แบบใช้เพศของเชื้อรา *C. oryzae* โดยทำการผสมพันธุ์แบบพบกันหมดในอาหาร Sach's agar ที่วางชิ้นส่วนของฟางข้าวและใบปาล์มที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 34 คู่ผสม พบว่าเชื้อรา *C. oryzae* ทั้ง 34 คู่ผสมไม่พบโครงสร้างการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ เช่น แอสโคมาตา โปรตาทีเซียม และสโตรมาตา ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Sivanesan (1987) ว่าไม่พบการสร้างโครงสร้างสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศในเชื้อรา *C. oryzae*

2. การทดสอบการใช้สารเคมีในการควบคุมเชื้อรา *Curvularia oryzae* สาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมันในห้องปฏิบัติการ

จากผลการทดลองที่ 1 พบว่าเชื้อรา *C. oryzae* ไอโซเลท NK1 สามารถทำให้เกิดความรุนแรงทั้งบนใบปาล์มน้ำมันและต้นกล้าปาล์มน้ำมันได้รุนแรงที่สุด จึงนำเชื้อดังกล่าวไปทดสอบการควบคุมโดยการใช้สารเคมีภายในห้องปฏิบัติการ โดยนำสารเคมี 9 ชนิดคือ คาร์เบนดา

ซิม คิวพลัสออกไซด์ แคปแทน ไดฟีโนโคนาโซล เททราโคนาโซล โพรคลอราช แมนโคเซบ อาลีเอท และ อีทาบ็อกแซม มาทดสอบหาค่า Minimum inhibitory concentration (MIC) โดยวิธี broth microdilution test พบว่าสารเคมีแมนโคเซบ , ไดฟีโนโคนาโซล , เททราโคนาโซล และโพรคลอราช สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 512 µg/ml รองลงมาคือ แคปแทนและคิวพลัสออกไซด์ ยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ความเข้มข้นต่ำสุดที่ 1024 µg/ml และ คาร์เบนดาซิม, อาลีเอทและอีทาบ็อกแซม ยับยั้งการงอกของสปอร์ที่ความเข้มข้นมากกว่า 1024 µg/ml จากนั้นนำสารเคมีทั้ง 9 ชนิดไปทดสอบการยับยั้งการเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า สารเคมีโพรคลอราช สามารถยังยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุดที่ 10 ppm รองลงมาคือ แมนโคเซบ 40 ppm และ เททราโคนาโซล 50 ppm ตามลำดับ ดังนั้นจึงนำสารเคมีโพรคลอราชที่ความเข้มข้น 10 ppm, 20 ppm และ 40 ppm, แมนโคเซบ 40 ppm, และเททราโคนาโซล 50 ppm ไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดโรคบนใบปาล์มน้ำมัน พบว่าแมนโคเซบที่ความเข้มข้น 40 ppm และ โพรคลอราช 40 ppm สามารถยับยั้งการเกิดโรคบนใบปาล์มน้ำมันได้ดีที่สุด โดยจากผลการทดลองให้ผลสอดคล้องกับ Butt และคณะ (2011) ซึ่งได้ศึกษาสารเคมี 4 ชนิดคือ antracal, topsin, mancozeb และ derosal ในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium moniliforme*, *Alternaria* sp., *Helminthosporium* sp. และ *Curvularia* sp. สาเหตุโรคในเมล็ดข้าว และพบว่าสารเคมี mancozeb สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Curvularia* sp. ได้ 50%

สำหรับสารเคมีแมนโคเซบและโพรคลอราช เป็นสารเคมีที่ทางราชการแนะนำให้ใช้เพื่อป้องกันกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิด เช่น โรคแอนแทรคโนสในพริกและมะม่วง สาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. โรคใบจุดตากบในพริก สาเหตุจากเชื้อรา *Cercospora* sp. โรคไหม้ในข้าว สาเหตุจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae* โรคเมล็ดด่างในข้าว สาเหตุจากเชื้อรา *Curvularia* spp. โรคใบจุดในมะเขือเทศ สาเหตุจากเชื้อรา *Alternaria solani* โรคดอกจุดสนิมในกล้วยไม้สกุลหวายสาเหตุจากเชื้อรา *Curvularia eragrostidis* โรคราน้ำค้างในผักคะน้าและพืชตระกูลแตง สาเหตุจากเชื้อรา *Peronospora parasitica* และ *Pseudoperonospora cubensis* จากผลการทดลองดังกล่าวจึงได้เลือกใช้แมนโคเซบและโพรคลอราชในการศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีทั้ง 2 ชนิด ภายในเรือนทดลองต่อไป

3. คัดเลือกหา จุลินทรีย์ป ฏิปักษ์ที่มีศักยภาพใน การ ยับยั้งการเจริญของ เชื้อรา *Curvularia oryzae* สาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมัน

จากผลการคัดเลือกหาจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. oryzae* สาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมัน โดยนำเชื้อจุลินทรีย์ 2 ชนิด คือ เชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 40 ไอโซเลท โดยสามารถจัดจำแนกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ป็น *T. harzianum* 19 ไอโซเลท *T. hamatum* 12 ไอโซเลท *T. koningii* 4 ไอโซเลท และเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มของ *Streptomyces* 3 ไอโซเลท คือ *S. hygroscopicus* 1 ไอโซเลท *S. abikoensis* 1 ไอโซเลท และ *K. nipponensis* 1 ไอโซเลท เมื่อนำไปทดสอบด้วย วิธี dual culture พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* TM2/1 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *C. oryzae* NK1 ได้ดีที่สุดที่ 90.22% และเชื้อแบคทีเรีย *S. hygroscopicus* NR8-2 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีที่สุด 81.88% จากนั้นนำไปศึกษากลไกการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด พบว่าเส้นใยของเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* TM2/1 สามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วและคลุมทับเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคเพื่อแก่งแย่งพื้นที่อาหาร ส่วนเชื้อแบคทีเรีย *S. hygroscopicus* NR8-2 สามารถสร้างสารปฏิชีวนะบางชนิดมายับยั้งการเจริญของเส้นใย ส่งผลให้เกิดความผิดปกติบริเวณปลายเส้นใย ทำให้เชื้อสาเหตุโรคมีลักษณะบิดเบี้ยว ผิดรูปร่างและไม่สามารถเจริญต่อไปได้ เมื่อนำเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิดมาทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ต่อกัน พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *S. hygroscopicus* NR8-2 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *T. harzianum* TM2/1 ได้ที่ 76.44% นอกจากนี้ได้ทดสอบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารเคมีแมนโคเซบที่ความเข้มข้น 1,200 ppm. และสารเคมีโพรคลอราซที่ความเข้มข้น 450 ppm. พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* TM2/1 สามารถเจริญได้ดีและมีการสร้างสปอร์บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารเคมีแมนโคเซบ แต่ไม่สามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารเคมีโพรคลอราซ ส่วนเชื้อแบคทีเรีย *S. hygroscopicus* NR8-2 สามารถเจริญได้เล็กน้อยบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารเคมีโพรคลอราซและไม่มีการสร้างสปอร์ แต่ไม่สามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารเคมีแมนโคเซบ ซึ่งจากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า หากมีการแพร่ระบาดของโรคในแปลงเพาะกล้าอย่างรุนแรงสามารถแนะนำให้เกษตรกรใช้สารเคมีแมนโคเซบพ่นร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* หรือสารเคมีโพรคลอราซพ่นร่วมกับเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *S. hygroscopicus* เพื่อลดอัตราการใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวและลดการต้านทานยาของเชื้อราสาเหตุโรคอีกทางหนึ่ง

เชื้อรา *Trichoderma* spp. เป็นเชื้อที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายในการใช้ควบคุมสาเหตุโรคชนิดต่าง ๆ โดยชีววิธี ทั้งในพืชผัก พืชไร่ และไม้ผลชนิดต่าง ๆ (Howell, 2003)

กลไกที่สำคัญอย่างหนึ่งของเชื้อรา *Trichoderma* spp. คือสามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วเพื่อแก่งแย่งพื้นที่อาหาร โดยพบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. สามารถเจริญและอาศัยอยู่บริเวณรอบๆรากพืช เพื่อป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรครากและลำต้นเน่าในพืชชนิดต่าง ๆ นอกจากนี้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ยังสามารถเป็นเชื้อราเอนโดไฟท์ที่อาศัยอยู่ภายในเซลล์พืชทั้งใบและลำต้นเพื่อป้องกันการเข้าทำลายของโรคทางใบและลำต้น (Mukherjee *et al.,* 2012) เชื้อรา *Trichoderma* spp. มีกลไกอื่น ๆ เช่น การเป็นปรสิต (parasite) การเป็นตัวห้ำ (predator) และการสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiotic) เพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ได้ แต่ในอุตสาหกรรมการเพาะเห็ดพบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. เป็นเชื้อราที่สามารถปนเปื้อนได้ง่ายและสร้างความเสียหายให้กับก้อนเชื้อเห็ด โดยมีชื่อเรียกโดยทั่วไปว่า "โรคราเขียว" (Oh *et al.*, 2003) ซึ่งเชื้อรา *Trichoderma* spp. สามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วและยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อเห็ด ทำให้เชื้อเห็ดไม่สามารถเจริญเป็นดอกเห็ดและให้ผลผลิตแก่เกษตรกรได้ (Yu, 2001 ; Park *et al*., 2005)

เชื้อ แบคทีเรียในกลุ่มของ *Streptomyces* เป็นเชื้อจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่งที่ได้รับความนิยมนำไปควบคุมเชื้อสาเหตุโรคชนิดต่าง ๆ โดยชีววิธี เนื่องจากแบคทีเรียชนิดนี้เป็นเชื้อที่สามารถพบได้ง่ายในดินรอบ ๆ รากพืช และเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มนี้สามารถสร้างสารปฏิชีวนะซึ่งเป็นคุณสมบัติหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี ในประเทศอินเดียมีการศึกษาเชื้อรา *S. mutabilis* NRP-14 ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคของข้าว *Bipolaris oryzae*, *C. oryzae*, *Fusarium oxysporum* และ *Pyricularia oryzae* และเชื้อสาเหตุโรคผิวหนังในมนุษย์ *Candida albicans* พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *S. mutabilis* NRP-14 สามารถควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชและเชื้อสาเหตุโรคผิวหนังในมนุษย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Sanasam and Ningthoujam, 2010) นอกจากนี้ในอุตสาหกรรมการเพาะเห็ดนางรมในประเทศอินเดีย มีการศึกษาการใช้เชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* sp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคราเขียวในก้อนเชื้อเห็ดนางรม พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* sp. สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ได้ที่ 12.3 - 30.8 เปอร์เซ็นต์ (Shah and Nasreen, 2011)

4. การทดสอบการควบคุมโรคใบจุดของปาล์มน้ำมันในเรือนทดลอง

จากผลการทดสอบการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ภายในเรือนทดลองพบว่า กรรมวิธีที่พ่นด้วยสารเคมีกำจัดเชื้อราแมนโคเซบ มีระดับความรุนแรงของโรคต่ำที่สุด รองลงมาคือการใช้การพ่นด้วยสารเคมีโพรคลอราช 450 ppm เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *S. hygroscopicus* NR8-2

เพียงอย่างเดียว เชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* TM2/1 เพียงอย่างเดียว และกรรมวิธีที่พ่นด้วยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 2 ชนิด ตามลำดับ โดยในกรรมวิธีที่พ่นด้วยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 2 ชนิด สามารถควบคุมเชื้อสาเหตุโรคได้ไม่ดีเท่าที่ควรอาจเนื่องมาจาก เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *S. hygroscopicus* NR8-2 ไม่สามารถเข้ากันได้กับเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* TM2/1 จึงทำให้ผลการทดลองในกรรมวิธีนี้ไม่ได้ผลดีเท่าที่ควร เมื่อเปรียบเทียบกับการพ่นด้วยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงอย่างเดียว ดังนั้นจากผลการทดลองนี้จึงสามารถแนะนำเกษตรกรให้มีการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อรา *C. oryzae* สลับกับการใช้สารเคมี และในอนาคตอาจมีการพัฒนาหรือผลิตเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *S. hygroscopicus* ให้อยู่ในรูปของผลิตภัณฑ์ทางการค้า เพื่อสะดวกต่อการนำไปใช้ของเกษตรกร และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 2 ชนิด อีกทั้งสามารถลดระยะเวลาและวิธีการที่ยุ่งยากในการเตรียมหัวเชื้อเพื่อการนำไปใช้ได้อย่างสะดวกมากยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

ชาย โพธวิส และสุรกิจ ศรีสกุล. 2548. ประวัติความเป็นมาของปาล์มน้ำมัน. *ใน* เอกสารวิชาการปาล์มน้ำมัน. กรุงเทพฯ. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, หน้า 1-14.

ธีระ เอกสมทราเมษฐ์, ชัยรัตน์ นิลนนท์, ธีระพงศ์ จันทรนิยม, ประกิจ ทองคำ, นิทัศน์ สองศรี และยงยุทธ เชื้อมงคล. 2545. การปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มผลผลิตของปาล์มน้ำมัน. สงขลา. คณะทรัพยากรธรรมชาติ. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

นิรนาม. 2556. โรคข้าวที่สำคัญในประเทศไทยและการป้องกันกำจัด. สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก http://phon.khonkaen.doae.go.th/data/rice.pdf. (30 สิงหาคม 2556)

ปริศนา วงค์ล้อม. 2548. การใช้พืชสมุนไพร และ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ BO12-022 ควบคุมโรคราเขียว (*Trichoderma harzianum* Rifai.) ในเห็ดหูหนู และผลของกานพลู (*Eugenia aromatica* ktze.) ต่อการควบคุมโรคทางใบของถั่วฝักยาว (*Vigna sesquipedalis* Fruw.). วิทยานิพนธ์. วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

พิพัฒน์ เซี่ยงหลิว และเกริกชัย ธนรักษ์. 2554. การปลูกปาล์มน้ำมันตามหลักการปฏิบัติทางเกษตรที่ดี .สุราษฎร์ธานี. สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขต 7 กรมวิชาการเกษตร สุราษฎร์ธานี, 77 หน้า.

มารวย เมฆาวนกุล. 2541. การจัดหมวดหมู่พืชวงศ์ปาล์ม. *ใน* ปาล์ม. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ชุมชนการเกษตรแห่งประเทศไทย,หน้า 35-44.

ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช. 2548. โรคปาล์มน้ำมัน. *ใน* เอกสารวิชาการปาล์มน้ำมัน. กรุงเทพฯ. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, หน้า 74-86.

อรอุษา ลาวินิจ และ วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์. 2549. ความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ใช้ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชโดยชีววิธี. *ใน* รายงานการสัมมนาวิชาการเกษตร. 23 - 24 มกราคม 2549, คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, หน้า 109.

อารีรัตน์ เทียนขาว, วรรณวิไล อินทนู, จิระเดช แจ่มสว่าง และกนกวรรณ รมยานนท์. 2548. ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp.ในการยับยั้งเชื้อรา *Curvularia eragostidis* และลดการเกิดโรคดอกจุดสนิมของกล้วยไม้สกุลหวาย. *ใน*: รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 7 วันที่ 2-4 พฤศจิกายน 2548 โรงแรมโลตัสกาดสวนแก้ว, หน้า 34.

Aderungboye, F.O. 1977. Diseases of the oil palm .Tropical Pest Management 23 : 305-326.

Amusa, N.A., Adegbite, A.A., Muhammed, S. and Baiyewu, R.A. 2003. Yam disease and its management in Nigeria. African Journal of Biotechnology 2 :497-502.

Butt, A.R., Yaseen, S.I. and Javaid, A. 2011. Seed-borne mycoflora of stored rice grains and its chemical control.The Journal of Animal & Plant Sciences 21 : 193-196.

Czerwenka-Wenkstetten, I.M., Berner, D.K., Schilder, A. and Gretzmacher, R. 1997. First report and pathogenicity of *Myrothecium roridum*, *Curvularia eragrostidis*, and *C. lunata* on seeds of *Striga hermonthica* in Nigeria. The American Phytopathological Society 81: 832.

Doungsa-ard, C., Athipunyakom, P. and Shivas, R.G. 2011. Curvularia (*Curvularia oryzae*). Available from: http://www.padil.gov.au:80/thai-bio/Pest/Main [accessed on July 24, 2013]

Englert, J.M., Scheetz, J.G. and White, R.S. 1999. Improved conservation plant materials released by NRCS and cooperators through September 1999. USDA-NRCS, Plant Materials Program. 60 p.

Howell, C.R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* spicies in the biological control of plant disease : The history and evolution of current concepts. The American Phytopathological Society 87 : 4-10.

Jegathambigai, V., Karunaratne, M.D., Sviningen A. and Mikunthan, G. 2008. Potential of Trichoderma species on Helminthosporium leaf spot on cane palm, *Chrysalidocarpu slutescens*. Communication in Agricultural and Applied Biological Sciences 73 : 147-152.

Jiang, S. J., Qiang, S., Zhu, Y. Z. and Dong, Y. F. 2008. Isolation and phytotoxicity of a metabolite from *Curvularia eragrostidis* and characterisation of its mode of action. Annals of Applied Biology 152 : 103-111.

Kirk, P.M., Cannon, P.F., Minter, D.W. and Stalpers, J.A. 2008. Dictionary of the Fungi. 10th ed. The Netherlands : CAB International.

Kovachich, W.G. 1954. *Cercospora elaeidis* leaf spot of the oil palm. Transactions of the British Mycological Society 37 : 209-212.

Kuzucu, C., Rapino, B., McDermott, L. and Hadley, S. 2004. Comparison of the semi-solid agar antifungal susceptibility test with the NCCLS M38-P broth microdilution test for screening of filamentous fungi. Journal of Clinical Microbiology 42 : 1224-1227.

Labarca, M., Sanabria, N. and Arcia, A. 2006. *Pestalotiopsis palmarum* Cooke pathogenicity on nursery-oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) plants. Journal of University of Zulia (Venezuela) 23 : 414-421.

Lilian, Z.D.L., Alan, K.W. and Timothy, C.P. 2002. Seedling blight of Cyperaceae weeds caused by *Curvularia tuberculata* and *C. oryzae*. Biocontrol Science and Technology 12 : 165-172.

Michereff, S.J., Silverira, N.S.S., Reis, A. and Mariano, R.L.R. 1994. Epiphytic bacteria antagonistic to *Curvularia* leaf spot of yam. Microbial Ecology 28 :101-110.

Mukherjee, M., Mukherjee, P.K., Horwitz, B.A., Zachow C., Berg, G. and Zeilinger, S. 2012. Trichoderma-plant-pathogen interaction: Advances in genetics of biological control. Indian Journal Microbiology 52 : 522-529.

Ningthoujam, S.D., Sanasam, S., Tamreihao, K. and Nimaichand, S. 2009. Antagonistic activities of local actinomycetes isolates against rice fungal pathogens. African Journal of Microbiology Research 11 : 737-742.

Oh, S.J., Park, D.C., Lee, D.C. and Shin, P.G. 2003. Studies on the effect of vinyl mulching on *Pleurotus* cultivation : Control of mushroom disease on *P. ostreatus* (II). Microbiology 31: 50-53.

Park, M.S., Seo, G.S., Lee, K.H., Bae, K.S. and Yu, S.H. 2005. Morphological and cultural characterization of *Trichoderma* sp. associated with green mold of oyster mushroom in Korea. Plant Pathology Journal 21 : 221-228.

Prajapati, V.P. and Joshi, D.M. 2012 a. A new record of leaf tip blight disease of spider lilly caused by *Curvularia eragrostidis* from south Gujarat. Journal of Mycology and Plant Pathology 42 : 276-277.

Prajapati, V.P., Joshi, D.M., Gajre, N.K. and Kansara, S.S. 2012 b. Antagonism of some well-known bioagents against *Curvularia eragrostidis* (HENN.) J.A.MEY.-anincitant of spider lilly leaf tip blight. The Bioscan 7 : 701-703.

Rajanaidu, N., Ariffin, A.A., Wood, B.J. and Singh, S. 1987. Ripeness standard and harvesting criteria for oil palm bunches. Proceedings of International Oil Palm, Palm Oil Conference, 1987, Kuala-Lumpur, Malaysia. 224-230.

Sanasam, S. and Ningthoujam, D.S. 2010. Screening of local actinomycete isolates in Manipur for anticandidal activity. Asian Journal of Biotechnology 2 : 139-145.

Sevilla, E.P. and Mamicpic, N.G. 1988. Rice seed exchange in the Philippines. Rice Seed Health. International Rice Research Institute. Manila, Philippines. 33-48 pp.

Shah, S. and Nasreen, S. 2011. Evaluation of bioagents the infect of green mould (*Trichoderma* spp.) in *Pleurotus sajor-caju* cultivation. International Journal of Plant Pathology 23 : 127-134.

Siddhardha, B., Prabhakar, P., Suryanarayana, Murty, U. S. N. and Venkateswarlu, Y. 2009. Secondary metabolites of *Curvularia oryzae* MTCC 2605. Records of Natural Products 3 : 204-208.

Sivanesan, A. 1987. Graminicolous species of *Bipolaris, Curvularia*, *Drechslera*, *Exserohilum* and their teleomorphs. United Kingdom: 261 pp.

Streda, T., Krédl, Z., Pokorny, R. and Sangchote, S. 2013. Effect of wetting period on infection of orchid flowers by *Alternaria alternata* and *Curvularia eragrostidis*. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 41 : 1-8.

Tsuda, M. and Ueyama, A. 1982. *Pseudocochliobolus verruculosus* and variability of conidium morphology. Mycologia 74 : 562-568.

Turner, P.D. 1981.Oil palm Diseases and Disorders. London : Oxford University Press, 280 pp.

Vincent, J. M. 1927. Distortion of fungal hyphae in presence of certain inhibitors. Nature. 159 : 850.

Yu, S.H. 2001. Integrated control of oyster mushroom green mould. Ministry of Agriculture and Forestry, Korea, 157 pp.

ภาคผนวก ก

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

1. Corn meal agar (CMA)

Corn meal	17.00	กรัม
Agar	2.00	กรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

วิธีการ

1.นำน้ำกลั่นผสมกับอาหารสำเร็จรูป corn meal และผงวุ้นที่เตรียมไว้ เคี่ยวส่วนผสมและผงวุ้นให้ละลายเข้ากันดี

2. นำส่วนผสมที่ได้ไปนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที

3. ปล่อยให้อาหารเลี้ยงเชื้อพออุ่น แล้วเทอาหารลงในจานเลี้ยงเชื้อที่อบฆ่าเชื้อแล้ว

2. Potato Dextose Agar (PDA)

Potato	200	กรัม
Dextose	20	กรัม
Agar	15	กรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

วิธีการ

1. นำมันฝรั่งมาปอกเปลือกและล้างให้สะอาด หั่นเป็นรูปลูกเต๋าขนาด 1×1×1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ต้มให้สุก กรองแยกเอาน้ำต้มมันฝรั่งมาผสมกับส่วนผสมอื่นๆตามสูตร เคี่ยวให้วุ้นละลายเข้ากันดี

2. นำส่วนผสมที่ได้ไปนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที

3. ปล่อยให้อาหารเลี้ยงเชื้อพออุ่น แล้วเทอาหารลงในจานเลี้ยงเชื้อที่อบฆ่าเชื้อแล้ว

3. Glucose Yeast Malt extract Agar (GYMA)

Glucose	4	กรัม
Yeast	4	กรัม
Malt extract	10	กรัม
Agar	17	กรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

วิธีการ

1. นำส่วนผสมทั้งหมดผสมกับน้ำกลั่นและผงวุ้นที่เตรียมไว้ เคี่ยวส่วนผสมและผงวุ้นให้ละลายเข้ากันดี

2. นำส่วนผสมที่ได้ไปนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที

3. ปล่อยให้อาหารเลี้ยงเชื้อพออุ่น แล้วเทอาหารลงในจานเลี้ยงเชื้อที่อบฆ่าเชื้อแล้ว

4. Water Agar (WA) 1.5%

Agar	15	กรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

วิธีการ

1. นำส่วนผสมเคี่ยวให้วุ้นละลายเข้ากันดี

2. นำส่วนผสมที่ได้ไปนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที

3. ปล่อยให้อาหารเลี้ยงเชื้อพออุ่น แล้วเทอาหารลงในจานเลี้ยงเชื้อที่อบฆ่าเชื้อแล้ว

4. Sach's Agar

$CaNO_3$	1.00	กรัม
$MgSO_4$. $7H_2O$	0.25	กรัม
$FeCl_3$	0.01	กรัม
K_2HPO_4	0.25	กรัม
$CaCO_3$	4.00	กรัม
Agar	20.00	กรัม
Distilled water	1,000	มิลลิลิตร

วิธีการ

1. นำส่วนผสมต่างๆผสมให้เข้ากันในน้ำ เติมวุ้นและเคี่ยวให้วุ้นละลายเข้ากันดี

2. นำส่วนผสมที่ได้ไปนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15 นาที

3. ปล่อยให้อาหารเลี้ยงเชื้อพออุ่น แล้วเทอาหารลงในจานเลี้ยงเชื้อที่อบฆ่าเชื้อแล้ว

พืชนึ่งฆ่าเชื้อที่ใช้ร่วมกับอาหาร Sach's agar

ฟางข้าวและใบปาล์มน้ำมันนึ่งฆ่าเชื้อ

ตัดฟางข้าวและใบปาล์มน้ำมันให้มีขนาดยาวประมาณ 5 เซนติเมตร บรรจุใส่ขวดแก้วขนาด 200 มิลลิลิตร เติมน้ำ 10 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 30 นาที

ภาคผนวก ข

ตารางภาคผนวกที่ 1 รหัสและจำนวนไอโซเลทของเชื้อรา *Curvularia oryzae* ที่แยกได้จากตัวอย่างโรคใบจุดในต้นกล้าปาล์มน้ำมัน

รหัสไอโซเลท	จำนวนไอโซเลท	พันธุ์ปาล์มน้ำมันที่แยก	แหล่งที่มา
CP1	5	สุราษฎร์ 2	อ.ละแม จ.ชุมพร
CP2	5	สุราษฎร์ 2	อ.ทุ่งตะโก จ.ชุมพร
CP3	5	สุราษฎร์ 7	อ.สวี จ.ชุมพร
CP4	4	อูติ	อ.สวี จ.ชุมพร
CP5	5	เทเนอร่า	อ.สวี จ.ชุมพร
CP6	5	ลูกผสมเทเนอรา	อ.เมือง จ.ชุมพร
CP7	5	สุราษฎร์ 7	อ.เมือง จ.ชุมพร
KB1	8	อูติ	อ.ปลายพระยา จ.กระบี่
KB2	5	อูติ	อ.เมือง จ.กระบี่
KB3	9	ยังกัมบิ	อ.เหนือคลอง จ.กระบี่
KB4	5	ซีหราด	อ.เขาพนม จ.กระบี่
KB5	5	ซีหราด	อ.เขาพนม จ.กระบี่
NK1	1	ลูกผสมเทเนอรา	บริษัท เปา-รงค์ ออยล์ ปาล์ม จำกัด อ.ร่อนพิบูลย์ จ.นครศรีธรรมราช
PG1	13	ยูนิวานิช	อ.ทับปุด จ.พังงา
SK1	4	ทรัพย์ มอ.1	อ.คลองหอยโข่ง จ.สงขลา
SK2	3	ลูกผสมเทเนอรา	อ.เมือง จ.สงขลา
SR1	3	ลูกผสมเทเนอรา×อูติ	บางน้ำราดพันธุ์ไม้ อ.เวียงสระ จ.สุราษฎร์ธานี
SR2	4	สุราษฎร์ 7, สุราษฎร์ 2	บางสวรรค์พันธุ์ไม้ อ.บางสวรรค์ จ.สุราษฎร์ธานี
SR12	4	สุราษฎร์ 2	สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรที่ 7
SR 13	3	สุราษฎร์ 7	สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรที่ 7

รหัสไอโซเลท	จำนวนไอโซเลท	พันธุ์ปาล์มน้ำมันที่แยก	แหล่งที่มา
ST1	19	อูติ	บ้านแก้วพันธุ์ปาล์ม อ.ควนกาหลง จ.สตูล
TG1	3	ซีหราด	อ.สิเกา จ.ตรัง
TG2	4	เดลี่ ไนจีเรีย	อ.สิเกา จ.ตรัง
TG3	8	เดลี่ ไนจีเรีย	อ.สิเกา จ.ตรัง
TG4	8	ซีหราด	อ.เมือง จ.ตรัง
TG5	8	เดลี่ ไนจีเรีย	อ.เมือง จ.ตรัง
TG6	8	โกลเด้นโฮป มาเลเซีย	อ.เมือง จ.ตรัง

ตารางภาคผนวกที่ 2 ชนิดและรหัสไอโซเลทของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. และเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptomyces* spp. ที่ใช้ในการทดลอง

เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์	ไอโซเลท
Trichoderma hamatum	PKTL2/1, TGRD4/1,ST 6083, SN 70103, SN 6084, ST 3048, SN 6063, ST 2023, LN 101, ST 4061, TST 3056, SN 6093
Trichoderma harzianum	KHK3/2, NKPL1/1, PGM2/1, PGM4/1, PGTP1/1, SRKD2/1, TM2/1, TGSK1/1,TGSK2/1, TGSK4/1, KBNK1/1, TGWS1/1, LN 3037, ST 1007, SN 2025, ST 3033, ST 3031, ST 2021, SN 6087
Trichoderma koningii	KBM1/1, KBM2/1, PGM3/1, SN113
Trichoderma spp.	CPM1/1, CPPT2/1, TGRD5/1, ST 7097, SN 3042
Kitasatospora nipponensis	KM6-2
Streptomyces abikoensis	ChM3-1
Streptomyces hygroscopicus	NR8-2

ภาคผนวก ค

ตารางภาคผนวกที่ 3 วิเคราะห์ความแปรปรวนการทดสอบสารเคมีในการยับยั้งเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK1 ที่ความเข้มข้น 50 100 200 และ 500 ppm

Source	df	SS	MS	F
Treatment	12	350.270	29.189	4148.984**
Error	39	0.274	0.007	
Total	51	350.544		

CV 2.58%

** แตกต่างทางสถิติที่ $p < 0.01$

ตารางภาคผนวกที่ 4 วิเคราะห์ความแปรปรวนการทดสอบสารเคมีในการยับยั้งเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK1 ที่ความเข้มข้น 5 10 20 และ 40 ppm

Source	df	SS	MS	F
Treatment	36	1525.159	42.366	1377.792**
Error	111	3.413	0.031	
Total	147	1528.573		

CV 7.27%

** แตกต่างทางสถิติที่ $p < 0.01$

ตารางภาคผนวกที่ 5 วิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกับเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในกลุ่ม *Streptomyces* spp.

Source	df	SS	MS	F
Treatment	6	143.208	28.642	12498.182**
Error	18	0.041	0.002	
Total	23	143.250		

CV 1.70%

** แตกต่างทางสถิติที่ $p < 0.01$

ตารางภาคผนวกที่ 6 วิเคราะห์ความแปรปรวนเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา *Curvularia oryzae* NK1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกับเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในกลุ่ม *Streptomyces* spp.

Source	df	SS	MS	F
Treatment	6	14.171	2.362	5.167**
Error	28	12.800	0.457	
Total	34	26.971		

CV 9.55%

** แตกต่างทางสถิติที่ $p < 0.01$

ตารางภาคผนวกที่ 7 วิเคราะห์ความแปรปรวนระดับความรุนแรงของโรคใบจุดในต้นกล้าปาล์มน้ำมันภายในเรือนทดลอง

Source	df	SS	MS	F
Treatment	4	1007.421	251.855	736.254**
Error	15	5.131	0.342	
Total	19	1012.552		

CV 7.62%

** แตกต่างทางสถิติที่ $p < 0.0$

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวจิตรา กิตติโมรากุล

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5410620005

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)	สถาบันเทคโนโลยี พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง	2553

การตีพิมพ์และเผยแพร่ผลงาน

จิตรา กิตติโมรากุล และ วสันณ์ เพชรรัตน์. 2556. การควบคุมเชื้อ *Curvularia oryzae* สาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมัน โดยการใช้สารเคมีและชีววิธี . รายงานการประชุมวิชาการพืชศาสตร์ครั้งที่ 1 (พืชศาสตร์สู่ประชาคมอาเซียน). วันที่ 13-14 สิงหาคม 2556. คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. หน้า 39-47.

Kittimorakul, J., Pornsuriya, C., Sunpapao, A. and Petcharat, V. 2013. Survey and incidence of leaf blight and leaf spot disease of oil palm seedling in southern Thailand. Plant Pathology Journal 12 : 149-153.

Pornsuriya, C., Sunpapao, A., Srihanant N., Worapattamasri K., Kittimorakul, J., Phithakkit S. and Petcharat, V. 2013. A survey of diseases and disorders in oil palm of southen Thailand. Plant Pathology Journal 12 : 169-175.