รายงานการวิจัย

การพัฒนาแนวทางในการควบคุมโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Ganoderma* spp.

Control Management Development of Basal Stem Rot of Oil Palm Cause by *Ganoderma* spp.

คณะผู้วิจัย

ชัยสิทธิ์	ปรีชา	Chaisit	Preecha
เวที	วิสุทธิแพทย์	Wethi	Wisutthiphaet
พรศิลป์	สีเผือก	Pornsil	Seephueak

คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
งบประมาณแผ่นดินประจำปี พ.ศ. 2558-2559

รายงานการวิจัย

การพัฒนาแนวทางในการควบคุมโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมัน

ที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Ganoderma* spp.

Control Management Development of Basal Stem Rot of Oil Palm Cause by *Ganoderma* spp.

คณะผู้วิจัย

ชัยสิทธิ์	ปรีชา	Chaisit	Preecha
เวที	วิสุทธิแพทย์	Wethi	Wisutthiphaet
พรศิลป์	สีเผือก	Pornsil	Seephueak

คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
งบประมาณแผ่นดินประจำปี พ.ศ. 2558-2559

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัย การพัฒนาแนวทางในการควบคุมโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Ganoderma spp.* ได้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี คณะผู้วิจัยใคร่ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่สนับสนุนทุนการวิจัย งบประมาณแผ่นดิน ปีงบประมาณ 2558-2559 ขอขอบคุณ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตนครศรีธรรมราช และเกษตรกรเจ้าของสวนปาล์มทุกท่าน ที่ได้สนับสนุนสถานที่ในการศึกษาทดลอง ตลอดจนกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิที่ได้ให้คำแนะนำ คณะผู้วิจัยจะนำผลการศึกษาจากโครงการครั้งนี้ไปใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดในวงวิชาการต่อไป

ชัยสิทธิ์ ปรีชา

และคณะผู้วิจัย

การพัฒนาแนวทางในการควบคุมโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Ganoderma* sp.

ชัยสิทธิ์ ปรีชา เวที วิสุทธิแพทย์ พรศิลป์ สีเผือก

บทคัดย่อ

โรคลำต้นเน่าเกิดจากเชื้อ *Ganoderma boninense* เมื่อเป็นโรครุนแรงปาล์มน้ำมันจะยืนต้นตาย จากการสำรวจโรคลำต้นเน่าใน 3 จังหวัด คือ จังหวัดนครศรีธรรมราช สุราษฎร์ธานี และกระบี่ จำนวน 10 อำเภอ พบต้นที่เป็นโรคลำต้นเน่าปาล์มน้ำมันจำนวน 1 แปลง ในแปลงปาล์มน้ำมันเก่าพื้นที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี ทำการตรวจสอบเพื่อยืนยันการเกิดโรคโดยการแยกเชื้อรา *Ganoderma* sp. ได้จำนวน 3 ไอโซเลต คือ G001, G002 และ G003 เลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน เชื้อรามีลักษณะเส้นใยค่อนข้างหยาบ สีขาวฟู เปลี่ยนเป็นสีเหลืองซีดเมื่ออายุ 10 วัน เส้นใยไม่มี clamp connection การศึกษาการทำหัวเชื้อเห็ด *Ganoderma* sp.โดยใช้วัสดุเพาะ 4 สูตร พบว่าการใช้เมล็ดข้าวเปลือกค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี มีค่าเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 6.52 เซนติเมตร การ inoculum เชื้อ *Ganoderma* sp. พบว่า กรรมวิธีต้นกล้าปาล์มน้ำมันทำแผลที่รากใส่เชื้อสาเหตุ *Ganoderma* sp. แล้วคลุมด้วยหญ้าแห้ง มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงสุดหลังการปลูกเชื้อ 210 วัน พบใบเหลือง การเจริญหยุดชะงัก ใบยอดไม่คลี่ พบเส้นใยสีน้ำตาลเข้มปกคลุมรอบๆ โคนต้น เริ่มจากการสร้างเป็นกลุ่มโครงสร้างกลมสีขาว จากการคัดเลือกสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อ *Ganoderma* sp. พบว่า สาร prochloraz มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยมากที่สุด เท่ากับ 96.23 เปอร์เซ็นต์ ที่สามารถควบคุมได้ดีคือ สาร kresoxim-methyl, chlorothalonil, difenoconozole, tridermorph, propiconazole, มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย เท่ากับ 88.88 86.44 81.11 และ 70.56 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมัน การแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากตัวอย่างดินด้วยวิธี soil surface dilution plate และการแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากตัวอย่างดอกเห็ด โดยวิธี washing technique คัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์โดยวิธี Dual technique สามารถคัดเลือแบคทีเรียปฏิปักษ์มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ganoderma* sp. จำนวน 25 ไอโซเลท จากที่แยกได้ 70 ไอโซเลท โดยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B001 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Ganoderma* sp. สายพันธุ์ G001 ได้ดีที่สุด การคัดเลือกเชื้อราที่มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ganoderma* sp.ด้วยวิธี dual culture technique พบเชื้อราที่มีแนวโน้มว่าเป็นปฏิปักษ์ จำนวน 3 ไอโซเลต จาก 40 ไอโซเลต คือ T001 T003 และT002 สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งเชื้อ *Ganoderma* sp. ได้ไม่โดดเด่น สารสกัดหยาบที่ที่ความเข้มข้นสารสกัดหยาบ 25 และ 50 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร พบว่า สารสกัดหยาบจากใบกะละกอที่ความเข้มข้น 10 มิลลิลิตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเท่ากับ 41.26 และ 45.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Control Management Development of Basal Stem Rot of Oil Palm Cause by *Ganoderma* spp.

Chaisit Preechaj Wethi Wisutthiphaet and Pornsil Seephueak

Abstract

Basal stem rot of oil palm cause by *Ganoderma boninense* will be caused the plant stand dying at the severity stage. On the survey for 10 districts in Nakhon Si Thammarat, Surat Thani and Krabi, It was only one old orchard in Surat Thani that infected oil palm were found. The pathogen was isolated from basidiocarp, soil sample and infected plant to identify. Three isolates *Ganoderma* sp. was pure culture to study for morphological characters of hypha. The colony on PDA of this fungus was white colonies, with roughness and flossy surface mycelia at 7-day. It turned to pale yellow after 10-day. The hypha was no clam connection. The pathogen culture on mother spawn with 4 different substrates in Petridis, paddy rice was the best growing substrate with colony diameter 6.52 centimeters. When study inoculation techniques on oil palm seedling, wounding before inoculation with mycelium and mulcting with dry grass was the highest infected symptom appeared after 210-day. The symptom was yellow leaf, plant stop growing, with furl shoot, and gray mycelium covered around stem basal. The screening for fungicide to control this pathogen using poisoning technique, the result showed that prochloraz was the highest inhibition mycelial growth of 96.23 % . kresoxim-methyl, chlorothalonil, difenoconozole, tridermorph, and propiconazole were high effective control of 88.88, 86.44, 81.11 and 70.56 % respectively. Antagonistic bacteria were isolated from soil by soil surface dilution plate and from *Ganoderma* basidiocarp by washing technique. Dual technique was used to select antagonists. 25 of 70 isolates were expression to be antagonists. Isolate B001 was dominated over all isolates to control *Ganoderma* sp. G1. Antagonistic fungi were also isolated and screened by dual technique. 3 of 40 isolates, T001, T002 and T003 showed the high control efficacy against *Ganoderma* sp. G1. For the screening of plant extract to control this pathogen, the result showed that plant extract was not distinguish control against *Ganoderma* sp. G1. The crude plant extract from papaya leaf at 25 and 50 microliter /mililiter inhibited this fungal mycelium of 41.26 and 45.33 % respectively.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญรูปภาพ	ช
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย	2
1.4 ทฤษฎี สมมุติฐาน หรือกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	2
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	4
บทที่ 3 วิธีการวิจัย	14
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	23
บทที่ 5 สรุปผล	51
เอกสารอ้างอิง	54

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	จำนวนแปลงที่ออกไปสำรวจทั้งหมดแต่สามารถเก็บตัวอย่างเชื้อรา Ganoderma sp.ได้เพียง 1 แปลงเท่านั้น	22
2	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเห็ดGanodermasp. เจริญบนวัสดุเพาะเชื้อที่อายุ 7 และ 10 วันในห้องปฏิบัติการ	31
3	ลักษณะการเจริญของเส้นใยเห็ดGanodermasp. ในวัสดุเพาะเชื้อที่อายุ 7 และ 10 วัน	31
4	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของต้นกล้าปาล์มน้ำที่อายุ 8 เดือน หลังจาการปลูกเชื้อ Ganoderma sp. ระยะเวลา 7 เดือน	35
5	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของต้นกล้าปาล์มน้ำที่อายุ 12 เดือน หลังจาการปลูกเชื้อ Ganoderma sp. ระยะเวลา 7 เดือน	35
6	ประสิทธิภาพของสารยับยั้งเชื้อราในการควบคุมโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ Ganoderma sp. ในสภาพห้องปฏิบัติการ	37
7	การเพิ่มอัตราความเข้มข้นสารยับยั้งเชื้อราในการควบคุมโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ Ganoderma sp.ในสภาพห้องปฏิบัติการ	38
8	จำนวนแบคทีเรียที่มีแนวโน้มว่าจะเป็นปฏิปักษ์ที่แยกจากดินและดอกเห็ด	41
9	การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ Ganoderma sp.	42
10	การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ganoderma* sp. เมื่อปลูกเชื้อสายพันธุ์ G001,G002 และ G003 ก่อนแบคทีเรียปฏิปักษ์นาน 1 วัน บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วันในสภาพห้องปฏิบัติการ	43
11	การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ Ganoderma sp. เมื่อปลูกเชื้อสายพันธุ์ G001,G002 และ G003 พร้อมกับแบคทีเรียปฏิปักษ์ บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วันในสภาพห้องปฏิบัติการ	44
12	การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ Ganoderma sp. เมื่อปลูกเชื้อสายพันธุ์ G001,G002 และ G003 หลังแบคทีเรียปฏิปักษ์ นาน 2 วัน บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วันในสภาพห้องปฏิบัติการ	45

ตารางที่ **หน้า**

14	การคัดเลือกเชื้อราที่มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ Ganoderma sp.	47
15	การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากพืชความเข้มข้นสารสกัดหยาบ 25 และ 50 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ในการควบคุมโรคโคนเน่าของปาล์มน้ำมัน บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วัน ในสภาพห้องปฏิบัติการ	49

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ใบมีสีเหลืองซีดทางใบที่สร้างใหม่มีขนาดเล็กลงและมีจำนวนน้อยลงกว่าปกติ เมื่อแผลภายใน ลำต้นขยายตัวมากขึ้นทางใบแก่จะทิ้งตัวหักพับและห้อยขนานกับลำต้น(ก) ส่วนใหญ่พบเส้นใยสีขาวของเชื้อราบริเวณขอบแผลเชื้อราทำลายส่วนของลำต้นของปาล์มน้ำมันและลุกลามไปถึงส่วนของราก (ข) เชื้อราสาเหตุสามารถเข้าทำลายต้นปาล์มน้ำมันได้หลายจุดโดยรอบลำต้นสามารถแพร่กระจายโดยอาศัยเส้นใยจากการสัมผัสระหว่างรากต้นปกติกับรากพืชเป็นโรคเมื่อแผลภายในลำต้นขยายตัวมาชนกันทำให้ต้นหักพับได้ (ค)	24
2	เชื้อรา *Ganoderma* sp.ดอกเห็ดมีลักษณะคล้ายพัด สีน้ำตาลแดงขอบสีขาว (ก และ ข) ผิวด้านบนเรียบเป็นมัน ผิวด้านล่างมีสีขาวขุ่น มีรูเล็กๆ ซึ่งเป็นที่สร้างสปอร์ (ค และ ง) ภายในลำต้นถ้าผ่าดูเกิดแผลสีน้ำตาลเข้ม รากเปราะง่าย รากมีลักษณะกรอบ เนื้อเยื่อภายในแห้งเป็น ซึ่งเชื้อเห็ดนี้สร้างขึ้นที่บริเวณฐานของลำต้น หรือรากบริเวณใกล้ลำต้น ดอกเห็ดที่พบครั้งแรกมีสีขาวขนาดเล็กต่อมาจะขยายโตขึ้นมีสีน้ำตาลแดงมีสีขอบสีขาวผิวด้านบนเรียบเป็นมันคล้ายทาด้วยแลคเกอร์ผิวด้านล่างมีสีขาวขุ่นเต็มไปด้วยรูเล็กๆ ซึ่งเป็นที่สร้างสปอร์สีน้ำตาลเป็นผงเล็กๆ กระจายไปทั่วบริเวณปัจจุบันพบว่าโรคนี้เริ่มระบาดมากกับต้นปาล์มอายุ 10–15 ปี(จ และ ฉ)	25
3	เชื้อรา *Ganoderma* sp. ดอกเห็ดมีลักษณะคล้ายพัด สีน้ำตาลแดงขอบสีขาว ผิวด้านบนเรียบเป็นมัน ผิวด้านล่างมีสีขาวขุ่น มีรูเล็กๆ ซึ่งเป็นที่สร้างสปอร์ (ก, ข, ค และ ง) การเจริญเนื้อดอกเห็ดเจริญขยายออกเป็นวงโดยวงนอกสุดด้านล่างมีรูกลม ถึงรี กระจายทั่ว แต่ไม่พบในบริเวณขอบดอก (จ และ ฉ)	26
4	การแยกเชื้อรา *Ganoderma* sp. ด้วยวิธี tissue culture (ก) ลักษณะของเส้นใยเชื้อราค่อนข้างหยาบ สีขาวฟู เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน (ข) และเริ่มเปลี่ยนสีเป็นสีเหลืองซีดและเส้นใยหนาและเหนียวขึ้น เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 28-32 องศาเซลเซียส (ค และ ง) เมื่อนำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเส้นใยไม่มี clamp connection (จ และ ฉ)	28

ภาพที่		หน้า
5	การแยกเชื้อ *Ganoderma* sp. จากตัวอย่างดิน ด้วยวิธี soil surface dilution plate (ก และ ข) และการแยกเชื้อ *Ganoderma* sp. ด้วยวิธี sporedilution plate (ค และ ง) ลักษณะของเส้นใยเชื้อราค่อนข้างหยาบ สีขาวฟู เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน และเริ่มเปลี่ยนสีเป็นสีเหลืองซีด และเส้นใยหนาและเหนียวขึ้น เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 28-32 องศาเซลเซียส (จ และ ฉ)	29
6	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเห็ด*Ganoderma* sp. เจริญบนวัสดุเพาะเชื้อที่อายุ 7 (ก) และ 10 วัน (ข) การเตรียม inoculum ของเชื้อ*Ganoderma* sp. ในเมล็ดข้าวฟ่าง(ค) และการบ่มก้อนเชื้อเห็ด*Ganoderma* sp.ที่อุณหภูมิห้อง (ง)	32
7	สารprochloraz มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง เท่ากับ 96.23 เปอร์เซ็นต์ (ก) สาร kresaxin-methyl (ข), chlorothalonil(ค), difenoconozole (ง),tridermorph(จ), metalaxyl(ฉ), carbendazim(ช), streptomycin (ซ) และthianosan(ฌ)	39
8	สาร azoxystrobine(ญ), cyproconazole(ฐ), myclobutanil(ฑ), dimethomorph+ propiconazole (ฒ), copper-oxychloride(ณ), fosetyl – aluminium(ด) และ hexoconazale(ต)	40
9	การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ganoderma* sp. เมื่อปลูกเชื้อสายพันธุ์ G001ก่อนแบคทีเรียปฏิปักษ์นาน 1 วัน (ก, ข และ ค) เมื่อปลูกเชื้อสายพันธุ์ G001 พร้อมกับแบคทีเรียปฏิปักษ์ (ง, จ และ ฉ) และเมื่อปลูกเชื้อสายพันธุ์ G001 หลังแบคทีเรียปฏิปักษ์ นาน 2 วัน(ช, ซ และ ฌ) บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วัน ในสภาพห้องปฏิบัติการ	46
10	การคัดเลือกเชื้อราที่มีแนวโน้มว่าเป็นปฏิปักษ์ คือ T003 (ก และ ง), T002 (ข และ จ)และ T001 (ค และ ฉ)ชุดควบคุม T003 (ช), T002 (ซ), T001 (ฌ) และชุดควบคุมเชื้อ *Ganoderma* sp. (ญ และ ฎ) ลักษณะเส้นใยที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (ฏ)	48
11	การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบมะละกอที่ทดสอบความเข้มข้น ปริมาตร 10 มิลลิลิตร (ค)สารสกัดจากใบพวงชมพู (ข) ขมิ้น (ง) กระเทียม (ก) หัวไพล (จ) ยางจากผลมะละกอ (ฉ) และขิง (ช)	50

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ปาล์มน้ำมันที่ปลูกในประเทศไทย มีชื่อสามัญว่า african oil palm เนื่องจากมีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปแอฟริกาและมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Elaeis guineensis* Jacq. ปาล์มน้ำมัน (oil palm) ในโลกนี้มีอยู่ 2 สายพันธุ์ คือ *Elaeis guineensis* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ปาล์มน้ำมันที่นิยมปลูกในพื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันเพื่อการค้าทั่วโลก และ *Elaeis oleifera* เป็นพันธุ์ปาล์มที่ให้น้ำมัน เช่นกัน แต่ให้น้ำมันน้อยกว่าสายพันธุ์แรก ปาล์มน้ำมันจัดเป็นพืชเศรษฐกิจ เป็นพืชที่ให้ผลผลิตน้ำมันต่อหน่วยพื้นที่สูงกว่าพืชน้ำมันทุกชนิด (กรมวิชาการเกษตร, 2558)

โรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมัน (basal stem rot) เป็นโรคที่ทำความเสียหายอย่างรุนแรงแก่ผู้ปลูกปาล์มน้ำมันเป็นการค้าในแถบตะวันออกเฉียงใต้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศมาเลเซียและอินโดนีเซีย (Turner, 1981) พื้นที่ชายฝั่งทะเลมาเลเซียสูญเสียผลผลิตจากการเข้าทำลายร้อยละ 80 ของพื้นที่การผลิต ทั้งนี้ยังมีการระบาดในแถบประเทศแอฟริกา ปาปัวนิวกีนี และไทย ส่วนใหญ่เชื้อจะเข้าทำลายเมื่อปาล์มน้ำมันอายุ 12-24 เดือนหลังปลูก (Cooper และคณะ, 2011) มีสาเหตุจากเห็ดรา *Ganoderma* spp. ซึ่งเป็นเห็ดราสกุลเดียวกับเห็ดหลินจือ จัดอยู่ใน Class Basidiomycetes เห็ดรานี้สามารถก่อให้เกิดความเสียหายแก่พืชเศรษฐกิจไม้ยืนต้นหลายชนิดทั้งไม้ผล พืชสวนอุตสาหกรรม ไม้ประดับและไม้ป่า ในประเทศไทยมีรายงานการสำรวจ พบโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันบนต้นปาล์มน้ำมันอายุ 21-22 ปี ที่ อำเภอปลายพระยา จังหวัดกระบี่ (ศรีสุรางค์ และคณะ, 2536) ปาล์มน้ำมันที่เป็นโรคจะให้ผลผลิตลดลงหรือไม่ให้ผลผลิตเลย และเมื่อเป็นโรครุนแรงปาล์มน้ำมันก็จะยืนต้นตาย รา *Ganoderma* spp. สามารถเข้าทำลายปาล์มน้ำมันได้ทุกระยะการเจริญเติบโตของปาล์มน้ำมัน ตั้งแต่ระยะต้นกล้าจนถึงระยะให้ผลผลิต ลักษณะอาการของโรคจะเห็นเด่นชัดเมื่อปาล์มน้ำมันอายุมากกว่า 12 ปีขึ้นไป แต่ในที่ที่มีการปลูกแทนในที่เดิมด้วยปาล์มน้ำมันก็จะทำให้ปาล์มน้ำมันที่ปลูกแทนนั้นเป็นโรคและแสดงอาการของโรคได้เร็วขึ้น ซึ่งพบว่าต้นกล้าปาล์มน้ำมันอายุ 1-2 ปี หลังจากปลูกลงแปลงก็เริ่มแสดงอาการของโรค

โรคลำต้นเน่าที่เกิดจากรา *Ganoderma* spp. จึงเป็นโรคที่มีความสำคัญในอนาคตของการปลูกปาล์มน้ำมันในประเทศไทยเนื่องจากอายุของต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่ปลูกในขณะนี้ ส่วนใหญ่มีอายุที่เหมาะสมต่อการเกิดโรคและในบางพื้นที่เริ่มมีการปลูกแทนต้นเก่าที่มีอายุมาก ประกอบกับได้มีการศึกษาสำรวจพบโรคที่มีลักษณะคล้ายคลึงกับโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันบนพืชตระกูลปาล์มอื่นๆ ในประเทศไทย เช่น โรครากเน่าของมะพร้าวและหมากซึ่งพบว่ามีสาเหตุเกิดจากรา *Ganoderma* spp. เช่นเดียวกัน (ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช, 2540)

1.2 วัตถุประสงค์

1. สำรวจการระบาดของโรคโคนเน่าปาล์มน้ำมัน ที่เกิดจากเชื้อเห็ด *Ganoderma* spp. ในจังหวัดนครศรีธรรมราช

2. ศึกษาลักษณะทางชีววิทยาตลอดจนคัดเลือกเชื้อ *Ganoderma* spp. สายพันธุ์ที่มีความรุนแรงในการก่อเกิดโรคโคนเน่าปาล์มน้ำมัน

3. คัดเลือกสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อ *Ganoderma* spp.

4. คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อ *Ganoderma* spp.

5. การทดสอบสารสกัดจากพืชในการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อ *Ganoderma* spp.

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

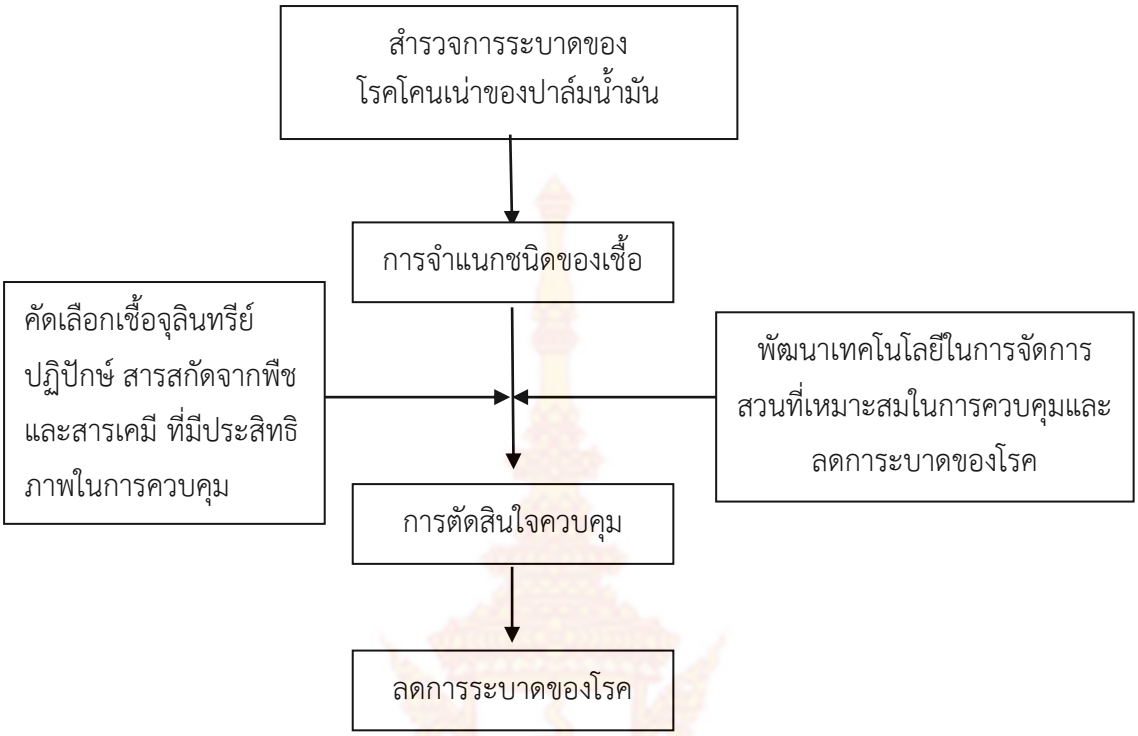
ศึกษาข้อมูลพื้นฐาน สภาพพื้นที่ สายพันธุ์ อายุที่พบการระบาด ลักษณะอาการของเชื้อสาเหตุ สำรวจความรุนแรงของโรค การคัดเลือกสารสกัดจากพืช การเลือกสารเคมี เชื้อปฏิปักษ์ ที่มีประสิทธิภาพนำไปสู่การพัฒนาเทคโนโลยีในการจัดการสวนที่เหมาะสม เพื่อนำไปใช้เป็นแนวทางในการควบคุมโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันในจังหวัดนครศรีธรรมราช

1.4 ทฤษฎี สมมติฐาน และกรอบแนวคิดของโครงการวิจัย

สภาพพื้นที่ทางภูมิศาสตร์ สายพันธุ์ และอายุ ที่ต่างกันน่าจะมีอิทธิพลต่อการระบาดของโรค

ประสิทธิภาพของการควบคุมโรคน่าจะขึ้นอยู่กับการจัดการสภาพแวดล้อม สารสกัดจากพืช การเลือกสารเคมี เชื้อปฏิปักษ์ ที่เหมาะสม

ศึกษาข้อมูลพื้นฐาน สภาพพื้นที่ สายพันธุ์ อายุที่พบการระบาด ลักษณะอาการของเชื้อสาเหตุ สำรวจความรุนแรงของโรค การคัดเลือกสารสกัดจากพืช การเลือกสารเคมี เชื้อปฏิปักษ์ ที่มีประสิทธิภาพนำไปสู่การพัฒนาเทคโนโลยีในการจัดการสวนที่เหมาะสม เพื่อนำไปใช้เป็นแนวทางในการควบคุมโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันในจังหวัดนครศรีธรรมราช ลดต้นทุนการผลิต ลดการใช้สารเคมีก่อให้เกิดอันตรายต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม


สำรวจการระบาดของ
โรคโคนเน่าของปาล์มน้ำมัน
การจำแนกชนิดของเชื้อ
คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ ปฏิปักษ์ สารสกัดจากพืช และสารเคมี ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุม
พัฒนาเทคโนโลยีในการจัดการสวนที่เหมาะสมในการควบคุมและลดการระบาดของโรค
การตัดสินใจควบคุม
ลดการระบาดของโรค

บทที่ 2
ตรวจเอกสาร

โรคปาล์มน้ำมัน

โรคในปาล์มน้ำมันจัดเป็นสาเหตุหนึ่งที่ส่งผลกระทบต่อการผลิตปาล์มน้ำมัน และทำความเสียหายมากในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรค โรคที่สำคัญในปาล์มน้ำมันตั้งแต่ระยะเมล็ดจนถึงระยะลงแปลงปลูกที่สำคัญ และทำความเสียหายอย่างมาก ได้แก่ โรคบราวน์เยิม (browngerm disease) โรคเมล็ดเกิดจากเชื้อ *Schizophyllum commune* หรือเห็ดแครง โรคแอนแทรคโนส (anthracnose) โรคใบไหม้ (seedling blight) โรคใบจุด (helminthosporium leaf spot) โรคบลาส (blast disease) โรคยอดเน่า (spear rot) โรคทางใบบิด (crown disease) โรคใบจุด สาหร่าย (agal spot, red rust) โรคลำต้นเน่า (basal stem rot) โรคลำต้นส่วนบนเน่า (upper stem rot) โรคผลร่วง (brunch failure) และโรคทะลายเน่า (marasmius brunch rot) เป็นต้น โรคที่เกิดในเมล็ดและต้นกล้านั้น จะส่งผลกระทบต่อผลผลิตและความทานทนต่อโรคอื่นๆ ของปาล์มน้ำมันในระยะยาว เมื่อนำต้นกล้าที่ไม่แข็งแรงไปปลูกในแปลงปลูก ส่วนโรคที่ทำความเสียหายในระยะลงแปลงปลูก เช่น โรคลำต้นเน่า มีแนวโน้มที่จะมีการระบาดของโรคนี้มากขึ้น ดังนั้น การทราบถึงอาการและสาเหตุการเกิดโรค ในระยะการเจริญเติบโตแต่ละช่วงอายุ จึงมีความจำเป็น เพื่อจะได้หลีกเลี่ยง ป้องกัน และลดความเสียหายที่จะเกิดขึ้นได้อย่างทันท่วงที และมีประสิทธิภาพมากที่สุด (กรมวิชาการเกษตร, 2558)

โรคลำต้นเน่า

โรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมัน (basal stem rot) เป็นโรคที่ทำความเสียหายอย่างรุนแรงแก่ผู้ปลูกปาล์มน้ำมันเป็นการค้า ปาล์มน้ำมันที่เป็นโรคจะให้ผลผลิตลดลงหรือไม่ให้ผลผลิตเลย และเมื่อเป็นโรครุนแรงปาล์มน้ำมันก็จะยืนต้นตาย

เชื้อสาเหตุ *Ganoderma boninense* ซึ่งสามารถจำแนกทางอนุกรมวิธาน (Taxonomic classification) ได้ดังนี้

Kingdom: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Class: Basidiomycetes

Order: Polyporales

Family: Ganodermataceae.

Genus: Ganoderma

Species: *boninense*

ลักษณะอาการ

เข้าทำลายปาล์มน้ำมันได้ทุกระยะการเจริญเติบโตของปาล์มน้ำมัน ตั้งแต่ต้นกล้าจนถึงระยะให้ผลผลิต พบมากกับต้นปาล์มน้ำมันที่มีอายุมากกว่า 30 ปี ปัจจุบันพบว่าโรคนี้เริ่มระบาดมากกับต้นปาล์มอายุ 10-15 ปี (วิสันต์, 2556) ต้นปาล์มน้ำมันจะเริ่มอาการเหี่ยวตั้งแต่ในส่วนล่างของใบ ค่อยๆ ระบาดจนถึงปลายใบ หลังจากนั้นประมาณ 1 เดือน ต้นปาล์มน้ำมันจะยืนต้นตายในที่สุด (วีระศักดิ์, 2553) ลักษณะอาการของโรค ทางใบล่างหักพับทิ้งตัวห้อยลงรอบๆ ลำต้น ทางยอดที่ยังไม่คลี่มีจำนวนมากกว่าปกติ ในขณะเดียวกันพบว่าภายในลำต้นปาล์มน้ำมันถูกทำลายไปถึง 50 % เมื่ออาการรุนแรงขึ้นทางล่างจะค่อยๆ แห้งตายลุกลามจนถึงยอด ต้นปาล์มน้ำมันจะตายหลังจากแสดงอาการ 2 - 3 ปี เชื้อสาเหตุสร้างดอกเห็ดลักษณะ คล้ายพัด มีสีน้ำตาลแดงขอบสีขาวผิวด้านบนเรียบเป็นมันคล้ายทาด้วยแลคเกอร์ ผิวด้านล่างมีสีขาวขุนเต็มไปด้วยรูเล็กๆ ซึ่งเป็นที่สร้างสปอร์สีน้ำตาลเป็นผลละเอียด ภายในลำต้นเกิดผลสีน้ำตาลขอบแผลไม่เรียบมีสีน้ำตาลเข้ม รากมีลักษณะเปราะหักง่ายเนื้อเยื่อภายในรากผุเปื่อยร่วนเป็นผง

พืชอาศัย มะพร้าว หมาก ละมุด พิกุล กระถินเทพา และสนประดิพัทธ์

การแพร่ระบาด

เชื้อระบาดได้ทั้งทางดินโดยรากของต้นที่เป็นโรคสัมผัสกับรากต้นปกติ (กรมวิชาการเกษตร ,2558; ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมัน, 2555) หรือโดยสปอร์ของเชื้อฟุ้งกระจายในอากาศ

การป้องกันกำจัด

1. ขุดหลุมรอบๆ ต้นปาล์มที่เป็นโรค เพื่อเป็นการป้องกันการแพร่ระบาดจากต้นที่เป็นโรคไปยังต้นปกติ โดยการสัมผัสกันของราก
2. เก็บดอกเห็ดที่เชื้อเห็ดสร้างออกทำลาย
3. ตรวจสอบต้นที่เป็นโรค โดยใช้ไม้เคาะลำต้นปาล์มน้ำมันเพื่อฟังเสียงในบริเวณที่ถูกทำลายถากส่วนที่เป็นโรคออก
4. หลังจากถากเอาส่วนที่เป็นโรคออกหมดแล้ว ทาส่วนที่ตัดด้วยสารเคมีเช่น coal tar หรือส่วนผสมของ coal tar กับสารป้องกันกำจัดโรคพืช ไทแรม
5. เมื่อมีการปลูกแทนควรกำจัดตอปาล์มเก่าให้เร็วที่สุด (กรมวิชาการเกษตร, 2558)

การควบคุม

การจัดการโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันโดยวิธีการเขตกรรมและการใช้สารเคมี ไม่สามารถยับยั้งหรือควบคุมการเกิดโรคได้โดยให้ผลไม่คงที่ ซึ่งอาจเนื่องมากจากเชื้อเห็ด *Ganoderma* มีระยะพัก

ตัวหลายระยะและสามารถแพร่กระจายได้หลายทางเช่น แพร่สามารถกระจายทางลมโดย basidiospores เชื้อสามารถแพร่กระจายเข้าทางรากในดินที่มีเชื้อเห็ดอยู่หรือเมื่อรากถูกตัดโดยอุปกรณ์ที่มีเชื้อเห็ดปนเปื้อนอยู่ เชื้อเห็ดสามารถกระจายตัวในดินโดยในแนวดิ่งสามารถกระจายลงลึกได้ถึง 2 เมตร จากรากที่เป็นโรคไปยังรากที่ปกติ เมื่อพิจารณาอย่างละเอียดพบว่า ในพื้นที่ที่แสดงอาการลำต้นเน่าน้อยหรือต่ำนั้น ขึ้นอยู่กับระยะหรือความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อเห็ด *Ganoderma* ซึ่งเชื้อเห็ดอาจถูกยับยั้งหรือถูกควบคุมโดยระบบทางชีววิทยา ดังนั้น การแก้ไขควบคุมเชื้อเห็ด *Ganoderma* จะมุ่งเน้นการควบคุมโรคโดยชีววิธี และมีหลายการทดลองที่ศึกษาพบว่า *Trichoderma* spp. สามารถยับยั้งและควบคุมการเจริญของเชื้อเห็ดได้ดี การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีไม่ใช่เรื่องง่าย โดยเฉพาะในการจัดการควบคุมโรคที่เข้าทำลายในระบบหรือลำต้นของพืช เชื้อราที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อเห็ด *Ganoderma* spp. ในธรรมชาติมีหลายชนิดด้วยกัน เช่น *Trichoderma* spp., *Actinomycetes* sp. และ *Bacillus* spp. ในประเทศอินโดนีเซียมีรายงานการศึกษาชนิดของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แสดงปฏิกิริยาปฏิปักษ์ต่อเชื้อเห็ด *Ganoderma* spp. พบว่า *T. koningii* isolate Marihat (MR14) ให้ผลดีที่สุด และมีการผลิตเป็น biofungicides เพื่อควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อเห็ด *Ganoderma* spp. ได้ เชื้อรา *Trichoderma* ชนิดอื่น เช่น *T. viride*, *T. harzianum* และ *Gliocladium virens* จะมีปฏิกิริยาเป็นเชื้อราที่ย่อยสลายอินทรีย์วัตถุมากกว่า ดังนั้นการใช้เชื้อราปฏิปักษ์ร่วมกับเชื้อราที่ช่วยในการย่อยสลายอินทรียวัตถุ จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดเชื้อเห็ด *Ganoderma*s spp. ให้ได้ผลดียิ่งขึ้น เชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. สามารถอยู่รอดในสภาวะที่ไม่เหมาะสมได้ในรูปของ chlamydospore ซึ่งมีความต้านทานต่อ pesticides และสารกำจัดวัชพืชชนิดต่างๆอย่างไรก็ตามเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. เป็นเชื้อราที่ต้องการน้ำในการงอกและเจริญเติบโต ดังนั้นการใช้เชื้อรา *Trichoderma* ควรใช้ในช่วงฤดูฝน ในแปลงที่มีการปลูกแทนเมื่อขุดต้นที่เป็นโรคออกแล้วควรใส่เชื้อรา *Trichoderma* ลงในหลุมเพื่อป้องกันโรคที่จะเกิดกับต้นปลูกใหม่ สำหรับต้นแม่พันธุ์หรือต้นที่ให้ผลผลิตสูงที่เป็นโรคควรใช้ biofungicide ฉีดอัดลงในดิน ต้นละ 3 จุด เพื่อควบคุมโรคเพื่อให้ได้ผลเต็มที่ (Likhitekara และ Tummkate, 2000)

ศรีสุรางค์ และคณะ (2539) รายงานว่า การทดสอบสารป้องกันกำจัดโรคพืช 33 ชนิด 4 อัตราความเข้มข้น คือ 50, 100, 500 และ 1,000 ppm. พบว่าสารป้องกันกำจัดโรคพืชในกลุ่มของ carboximides, triazoles และ morpholines ให้ผลดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยของเชื้อเห็ด

ธารทิพย (2553) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารไคโตซานต่อการเจริญของเส้นใยรา *Ganoderma* sp. สาเหตุโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันด้วยวิธี poisoned food พบว่า อาหาร PDA ผสมสารไคโตซานที่ความเข้มข้น 1,000, 5,000, 10,000, 50,000 และ 100,000 ppm. มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา 0.12, 1.41, 1.88, 21.15 และ 35.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

วสันณ์ และนพวรรณ (2551) ได้ทำการศึกษาเชื้อราได้ 2 ชนิด คือ *T. harzianum* และ *T. koningii.* ที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ganoderma boninense* โดยวิธี dual culture บนอาหาร PDA พบว่า มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง 51.00 - 56.88 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำการปลูกเชื้อบนต้นปาล์มระดับอายุ 1, 3, 6, 9 และ 12 เดือน นาน 4 เดือน พบว่า ต้นปาล์มไม่แสดงอาการผิดปกติ

วสันณ์ และคณะ (2554) รายงานว่า เมื่อนำเชื้อ *Trichoderma* spp. มาคลุกเมล็ดปาล์ม แล้วปลูกในดินซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อ หลังจากการปลูกนำสารแขวนลอยสปอร์ปริมาตร 200 มิลลิลิตร รดรอบโคนต้นปาล์มน้ำมัน ทุกๆ 2 เดือน พบว่า *Trichoderma* spp. สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ganoderma* spp. บริเวณโคนต้นปาล์มได้ และทำให้ขนาดดอกเห็ดที่สร้างใหม่มีขนาดเล็กลง มีการแตกยอดอ่อนใหม่หลังการใส่เชื้อ 4-6 เดือน

สมนึก (2558) กล่าวว่าจากการเฝ้าติดตามสถานการณ์ศัตรูพืชในจังหวัดกระบี่ พบว่าในพื้นที่ปลูกปาล์มที่มีอายุมากกว่า 20 ปี มีการเข้าทำลายของโรคลำต้นเน่าสาเหตุมาจากเชื้อรา *Ganoderma* spp. โดยจะเข้าทำลายจากรากเข้าสู่โคนต้นปาล์ม การป้องกันการระบาดของโรค ควรการเตรียมพื้นที่ปลูกปาล์มใหม่ให้เผาเศษซากพืชและทำแปลงให้สะอาดเพื่อป้องกันกำจัดเชื้อเห็ดที่ติดอยู่กับซากพืชและพื้นที่ควรจัดการให้มีการระบายน้ำให้ดี

สารสกัดจากพืช

สารสกัด (Extracts) หมายถึง สารที่สกัดออกมาจากพืชสมุนไพรธรรมชาติโดยใช้ตัวทำละลาย (solvent) หรือน้ำยาสกัด menstrual ที่เหมาะสมแล้วระเหยตัวทำละลายออกไปจนหมดหรือเกือบหมดเพื่อให้ได้สารสกัดที่มีความเข้มข้นตามที่กำหนดซึ่งมีลักษณะทางกายภาพต่างกันออกไปเป็น 3 ลักษณะคือ semi-liquids extract มีลักษณะข้นเหนียวคล้ายน้ำเชื่อม popular หรือ solid extract มีลักษณะเหนียวคล้ายพลาสติกและ powdered extract มีลักษณะเป็นผงแห้งตัวอย่างของสารสกัดเช่น Belladonna Leaf Fluidextract NF

พืชท้องถิ่นหลายชนิดนอกจากจะใช้เป็นอาหารยังมีประโยชน์ใช้เป็นยาด้วยเรียกผักที่มีคุณค่าทางยานี้ว่าพืชท้องถิ่นสมุนไพรพืชท้องถิ่นจึงมีคุณค่ามหาศาลอีกทั้งเป็นพืชหาง่าย ปลูกง่ายราคาถูกและทนทานต่อสภาพแวดล้อม

วิธีการสกัดพืชสมุนไพรสารสกัดที่พบในพืชสมุนไพรแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับวงศ์ของพืชเพราะพืชที่อยู่ในวงศ์เดียวกันอาจมีสารสำคัญชนิดเดียวกัน แต่มีปริมาณแตกต่างกันสารสำคัญของสมุนไพรที่จะนำไปใช้เป็นยาต้องมีปริมาณมากและไม่สามารถที่จะรับประทานสมุนไพรสดเป็นจำนวนมากเพื่อให้ได้สารสำคัญอย่างเพียงพอ ดังนั้นการสกัดจึงเป็นวิธีการอย่างหนึ่งที่ให้สารสำคัญจากพืชสมุนไพรซึ่งอาจทำได้หลายวิธีขึ้นกับชนิดหรือประเภทสารคุณสมบัติของสารความคงตัวของสารต่อความร้อนและชนิดของตัวทำละลายที่ใช้วิธีหลักที่ใช้ในการสกัดพืชสมุนไพร (ประเสริฐ ศรีไพโรจน์, 2528) ได้แก่

ก. การหมัก (Maceration) คือกระบวนการสกัดองค์ประกอบสำคัญจากพืชสมุนไพรโดยการแช่ผงสมุนไพรในน้ำยาสกัดจนกระทั่งน้ำยาสามารถแทรกซึมเข้าไปละลายองค์ประกอบภายในผงสมุนไพร

ออกมาได้วิธีการทำ maceration คือ การแช่ผงสมุนไพรในน้ำยาสกัดที่เหมาะสมเป็นเวลา 2-4 วัน หรือตามกำหนดในเภสัชตำรับหรือจนกระทั่งองค์ประกอบที่ต้องการออกมาหมดหลังจากนั้นจึงกรองแยกกากสมุนไพรออกจากน้ำยาสกัดและปรับปริมาตรสารสกัดตามต้องการ

ข. การแช่ (Percolation) คือกระบวนการสกัดองค์ประกอบสำคัญจากพืชสมุนไพรโดยปล่อยให้สารละลายไหลผ่านผงสมุนไพรอย่างช้าๆ พร้อมกับละลายองค์ประกอบจากผงสมุนไพรออกมาวิธีการ Percolation คือบรรจุผงสมุนไพรที่ทำให้ชื้นด้วยน้ำยาสกัดใน percolationซึ่งมีลักษณะเป็นคอลัมน์ทรงกระบอกปลายเปิดทั้งสองด้านโดยที่ปลายบนจะกว้างกว่าปลายล่างเพื่อสะดวกในการบรรจุผงสมุนไพรส่วนปลายล่างมักจะต่อกับท่อสายยางปิด-เปิดได้เพื่อที่ได้เป็นระยะเวลาพอสมควรจึงปล่อยให้น้ำยาสกัดไหลผ่านผงสมุนไพรในอัตราเร็วพอเหมาะพร้อมกับเติมน้ำยาสกัดใหม่ลงไปเรื่อย ๆ จนองค์ประกอบที่ต้องการในผงสมุนไพรละลายออกมาจนหมดโดยการตรวจสอบจากสารสกัดสุดท้าย

ค. การสกัดแบบต่อเนื่อง (Continuous extraction) คือกระบวนการสกัดองค์ประกอบจากสมุนไพรในทำนองเดียวกันกับการแช่ แตกต่างกันที่ขบวนการนี้จะต้องใช้ความร้อนเข้าช่วยและใช้เครื่องมือที่เป็นระบบปิดเรียกว่า soxhlet extractor โดยน้ำยาสกัดไหลผ่านผงสมุนไพรที่บรรจุอยู่ในเครื่องใช้ extraction แล้วมารวมกันในขวดแก้วที่ได้รับความร้อนจนสารละลายระเหยขึ้นไปและควบแน่นตกลงมาผ่านผงสมุนไพรซ้ำแล้วซ้ำอีกจนกระทั่งองค์ประกอบในสมุนไพรถูกสกัดออกมาจนหมด

ข้อมูลพืชสมุนไพรที่นำมาใช้ในการทดลอง

วิธีการควบคุมโรคราแป้งของเงาะ ในปัจจุบันเกษตรกรหันมาใช้พืชสมุนไพรที่มีอยู่ทั่วไปในครัวเรือนส่วนใหญ่เป็นพืชจำพวกสมุนไพรพื้นบ้านเพราะสมุนไพรสามารถหาได้ง่ายสามารถปลูกเองได้ซึ่งเป็นการช่วยลดต้นทุนในการผลิตการเพาะปลูกทั้งยังส่งผลต่อสุขภาพความปลอดภัยของเกษตรกรและผู้บริโภคอีกทั้งยังช่วยทดแทนการใช้สารเคมีที่มีราคาสูงพืชสมุนไพรที่สามารถนำมาใช้ในการควบคุมโรคราแป้งของเงาะเป็นที่รู้จักกันดีได้แก่ ใบพวงชมพู ใบมะละกอ ขมิ้นชัน ผักไผ่ กระเทียม ตะไคร้ ไพล ขิง ข่า และเปลือกมังคุดเป็นต้น

1. กระเทียม

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Allium sativum* Linn.

ชื่อวงศ์: Alliaceae

ชื่อสามัญ: Garlic

ชื่ออื่นๆ: กระเทียมขาวหอมขาว (อุดรธานี) กระเทียมจีน (กลาง) หัวเทียม (ใต้) ปะเช้วา (กะเหรี่ยง แม่ฮ่องสอน) หอมเทียม (เหนือ)

ส่วนที่ใช้: หัวใต้ดิน

สารที่พบ: อัลลิอิน (alliin) อัลลิเนส (allinase) อัลลิซิน (allicin)

คุณสมบัติ: รสเผ็ดร้อน ขับลมในลำไส้ แก้กลากเกลื้อน แก้ไอ ขับเสมหะ และช่วยย่อยอาหาร

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: ใบประกอบชนิดมีใบย่อยใบเดียว เรียงสลับ รูปไข่ รูปวงรี หรือรูปไข่แกมขอบขนาดกว้าง 3-5 เซนติเมตร ยาว 4-8 เซนติเมตร เนื้อใบมีจุดน้ำมันกระจาย ก้านใบมีครีบเล็ก ดอก เป็นดอกเดี่ยวหรือช่อออกที่ปลายกิ่งและที่ซอกใบ กลีบดอกสีขาว กลิ่นหอม ร่วงง่าย ลักษณะผลเป็นผลสด กลมเกลี้ยง ฉ่ำน้ำ

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา: การทดลองทางคลินิก พบว่า เมื่อให้น้ำมันหอมระเหยจากกระเทียม กับคนปกติและคนไข้โรคหัวใจที่มีระดับโคเลสเตอรอลสูง ในขนาดที่ได้ 0.25 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 10 เดือน พบว่าระดับโคเลสเตอรอลในเลือดลดลง และเมื่อใช้กระเทียมสดกับคนไข้ที่มีไขมันในเลือดสูง ในขนาด 25 กรัม วันละ 3 เวลา เป็นเวลา 25 วัน พบว่า 1ใน 3 ของคนไข้ที่มีระดับโคเลสเตอรอลสูง ลดลงอย่างเห็นได้ชัด ส่วนอีก 2 ใน 3 ลดลงปกติ สารที่มีฤทธิ์ในการลดโคเลสเตอรอล คือ อัลลิซิน

กระเทียมกับการลดความดันโลหิต พบว่าสารสกัดด้วยแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์จากหัวกระเทียมสามารถลดความดันในคนไข้ที่มีความดันโลหิตสูงได้

กระเทียมยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราน้ำคั้นกระเทียมและกระเทียมผงมีผลต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคหลายชนิด รวมทั้งเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคปอดบวม และเชื้อ Mycobacterium tuberculosis อันเป็นสาเหตุของวัณโรค สารที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อดังกล่าว คือ สารจำพวกซัลไฟด์ (sulfide) ได้แก่ อัลลิซินสคอร์ดินิน และ
สคอร์ดินีน เอ

ฤทธิ์ทางด้านเชื้อราโรคพืช: Noengpa และคณะ (2004) รายงานว่า กระเทียมมีสารอินทรีย์กำมะถันจำนวนมากเช่น อัลลิซินและ ไดอัลลินไดซัลไฟต์ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Fusarium* sp. ได้

2. ใบพวงชมพู

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Antigonon leptopus* Hook.

ชื่อวงศ์: Polygonaceae

ชื่อสามัญ: Coral vine

ชื่ออื่นๆ : พวงชมพู พวงนาก ชมพูพวง (กรุงเทพฯ) หงอนนาก (ปัตตานี)

ส่วนที่ใช้: ใบ

สารที่พบ: กรดฟีนอลิก (phenolics) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids)

คุณสมบัติ: เป็นยากล่อมประสาท ทำให้นอนหลับ

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: ต้นเป็นพรรณไม้เลื้อยที่มีลำเถาอ่อนแต่ตรงส่วนโคนแข็งแรงมาก ลำต้นทอดยอดได้ยาวและเร็วมากลำเถามีสีเขียวอ่อน

ใบ: ใบเดี่ยวมีใบดก ออกทแยงขึ้นไปตามลำต้น รูปร่างคล้ายใบโพธิ์ เนื้อใบบางเห็นเส้นใบได้ชัดเจนมีสีแดงเรื่อๆ

ดอก: ดอกออกเป็นช่อใหญ่ ประกอบด้วยดอกเล็กๆ อยู่หลายดอกคล้ายกับรูปหัวใจเล็กๆ มีสีขาว และสีชมพูแก่บ้าง อ่อนบ้าง แต่ตรงปลายช่อนั้นมักยืดตัวใบเป็นมือเกาะเกี่ยวสิ่งอื่นๆ เพื่อพยุงตัว นับเป็นไม้ดอกที่งดงามสีเย็นตาไม่ฉูดฉาดเกินไป ผลิดอกตลอดปี

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา: สารสกัดดอกพวงชมพูมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดเมื่อทดสอบด้วยวิธี Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) มีฤทธิ์ในการยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหาร และเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี

3. ใบมะละกอ

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Carica papaya* L.

ชื่อวงศ์: Caricaceae

ชื่อสามัญ: Papaya

ชื่ออื่นๆ: มะก๊วย เต็ดก๊วด เทดมะก้วยเทศ หมากซางพอ (เหนือ) บักหุ่ง (อีสาน แตงต้น (สตูล) ลอกอก้วย ลามะเต๊ะ (ใต้)

ส่วนที่ใช้ : ยางจากใบและผล ผลดิบ ผลสุก เมล็ดแก่ของมะละกอ

สารที่พบ: ปาปะอิน (papain) คาร์โปไซด์ (carposide) อัลคาลอยด์ (alkaloids) ไกลโคไซด์ (carposide) แคโรทีนอยด์ (carotenoid) เบนซิลไอโซไธโอไซยาเนท (benzyl Isothiocyanate)

คุณสมบัติ: ต้นมะละกอแก้มุตกิดขับระดูขาวดอกมะละกอขับประจำเดือนลดไข้รากขับปัสสาวะเมล็ดอ่อนแก้กลากเกลื้อนยางมะละกอ รักษาตาปลาหูด และฆ่าพยาธิหลายชนิด

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: เป็นไม้ยืนต้นเนื้ออ่อน ลำต้นตั้งตรงสูง 3 – 6 เมตร ไม่แตกกิ่งก้านสาขา ลำต้นกลวงไม่มีแก่น ผิวขรุขระเป็นร่องตามยาวต้นอวบน้ำ มียางขาว ใบเดี่ยวเรียงสลับรอบต้นบริเวณยอด ใบเป็นหยักเว้าลึกคล้ายฝ่ามือ ดอกมีหลายประเภท คือ ดอกตัวผู้ ดอกตัวเมีย และ ดอกสมบูรณ์เพศ โดยดอกตัวผู้จะมีสีเหลืองนวลหรือสีนวล กลิ่นหอม ดอกตัวเมียและดอกสมบูรณ์เพศ จะออกมาเป็นกระจุก หรือดอกเดี่ยวสีนวล ผล มีทั้งผลกลม ผลรี แตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ ผลอ่อนมีเปลือกสีเขียว เนื้อในเป็นสีขาว เมื่อผลแก่หรือสุกจะมีสีเหลืองส้ม เนื้อในอ่อนนุ่ม เมล็ดมีสีดำหรือสีน้ำตาลเข้ม

ฤทธิ์ทางด้านเชื้อราโรคพืช: นำใบมะละกอมาหั่นให้ได้น้ำหนัก 1 กิโลกรัม นำไปแช่ในน้ำสะอาด 1 ลิตร จากนั้นขยำชิ้นส่วนของใบมะละกอกับน้ำเพื่อคั้นเอาน้ำที่ได้จากใบมะละกอ กรองด้วยผ้าขาวบางแล้วเติมน้ำสะอาดลงไปผสมกับน้ำคั้นที่ได้จากใบมะละกอปรับปริมาตรให้ได้ 4 ลิตร เติมน้ำสบู่ปริมาตร 15 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันก่อนนำไปฉีดพ่นในแปลงพืช

4. ไพล

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Zingiber cassumunar* Roxb.

ชื่อวงศ์: Zingiberaceae

ชื่อสามัญ: Phai

ชื่ออื่น ๆ: ปูลอย ปูเลย (ภาคเหนือ) ปูขมิ้น มิ้นสะล่าง (ไทยใหญ่-แม่ฮ่องสอน) ว่านไฟ (ภาคกลาง) ว่านปอบ (ภาคอีสาน)

ส่วนที่ใช้: เหง้าใต้ดิน

สารที่พบ: เคอรคูมิน (curcumin)

คุณสมบัติ: ใช้เหง้าสดเป็นยาภายนอก โดยฝนทาแก้เคล็ดขัดยอก ฟกบวม เส้นตึง เมื่อยขบ เหน็บชา สมานแผล จากการวิจัยพบว่า ในเหง้ามีน้ำมันหอมระเหย ซึ่งมีคุณสมบัติลดอาการอักเสบ และบวม จึงมีการผลิตยาขี้ผึ้งผสมน้ำมันไพล เพื่อใช้เป็นยาทาแก้อาการเคล็ดขัดยอก น้ำมันไพลผสมแอลกอฮอล์ สามารถทากันยุงได้ ใช้เหง้ากินเป็นยาขับลม ขับประจำเดือน มีฤทธิ์ระบายอ่อน ๆ แก้บิด สมานลำไส้

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: เป็นไม้ล้มลุกสูง 0.7-1.5 เมตร มีเหง้าใต้ดิน เปลือกสีน้ำตาลแกมเหลือง เนื้อในสีเหลืองถึงเหลืองแกมเขียว แทงหน่อหรือลำต้นเทียมขึ้นเป็นกอ ซึ่งประกอบด้วยกาบหรือโคนใบหุ้มซ้อนกัน ใบเดี่ยว เรียงสลับ รูปขอบขนานแกมใบหอก กว้าง 3.5-5.5 เซนติเมตร ยาว 18-35 เซนติเมตร ดอกช่อ แทงจากเหง้าใต้ดิน กลีบดอกสีนวล ใบประดับสีม่วง ผลเป็นผลแห้งรูปกลม

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา: น้ำคั้นหัวไพลมีฤทธิ์เป็นยาชาเฉพาะที่ช่วยลดอาการปวด โดยน้ำคั้นของไพลความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถลดการนำไฟฟ้าในเส้นประสาท sciatic ของคางคกได้ 84.46 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ยา lidocaine ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถลดการนำไฟฟ้าได้93.09เปอร์เซ็นต์หรือมีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์มากกว่าน้ำคั้นของไพล 1,500 เท่า (Anantasan และ Asayakun, 2518)

ฤทธิ์ต้านเชื้อราโรคพืช: สารสกัดจากพืชวงศขิงทุกชนิดสามารถยับยั้งการงอกของสปอรเชื้อรา *Alternaria* sp. ได 100 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 2,500 พีพีเอ็ม (ศานิต สวัสดิกาญจน์ และสิริวรรณ สมิทธิอาภรณ์, 2554)

5. ขิง

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Zingiber officinale Roscoe.*

ชื่อวงศ์: Zingiberaceae

ชื่อสามัญ: Ginger

ชื่ออื่น ๆ: ขิงแกลง ขิงแดง (จันทรบุรี) ขิงเผือก (เชียงใหม่) สะเอ (แม่ฮ่องสอน) ขิงบ้า ขิงแครง ขิงป่า ขิงเขา ขิงดอกเดียว (ภาคกลาง)

ส่วนที่ใช้: เหง้าแก่สดต้นใบดอกและผล

สารที่พบ: เซสควิเทอร์ฟีน แอลกอฮอล์ (sesquiterpene alcohols) เซสควิเทอร์ฟีนไฮโดรคาร์บอน (sesquiterpene hydrocarbon) โมโนเทอร์ฟีนอยด์ (monoterpenoids)

คุณสมบัติ: เหง้าแก่สดขับลมแก้ไอขับเสมหะบำรุงธาตุแก้อาเจียนเจริญอาหารแก้ท้องขึ้น ท้องอืด ท้องเฟ้อสามารถต้านการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร มีฤทธิ์ในการขับน้ำดี เพื่อย่อยอาหาร แก้ปากคอเปื่อย แก้ท้องผูกลดความดันโลหิต

ต้น: ขับผายลม แก้จุกเสียดแน่นเฟ้อ แก้นิ่ว บำรุงไฟธาตุ แก้คอเปื่อย ช่วยย่อยอาหาร ฆ่าพยาธิ แก้โรคตา แก้บิด แก้ลมป่วง แก้ท้องร่วงและอาเจียน

ใบ: แก้โรคกำเดา ขับผายลม แก้นิ่วแก้เบาขัด แก้คอเปื่อย ช่วยย่อยอาหาร ฆ่าพยาธิ แก้โรคตาขับลมในลำไส้

ดอก: ทำให้ชุ่มชื่น แก้โรคตาแฉะ ฆ่าพยาธิ ช่วยย่อยอาหาร แก้คอเปื่อย บำรุงไฟธาตุ แก้นิ่ว แก้เบาขัด แก้บิด

ผล: แก้ไข้

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: เป็นพืชล้มลุก อายุหลายปี มีเหง้าใต้ดิน เปลือกนอกสีน้ำตาลแกมเหลือง เนื้อในสีขาวนวล ต้น ใบ และช่อดอกคล้ายไพลมาก ใบเรียวแคบ ปลายใบแหลม ช่อดอกเป็นตุ้มกลมคล้ายเกล็ดปลา มีดอกสีเหลืองแทรกตามเกล็ดนั้นๆ

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา: กระตุ้นการบีบตัวของหัวใจหนูยับยั้งการจับตัวของเกล็ดเลือด แก้ปวด ลดไข้ขับน้ำดี ทำให้กระเพาะอาหารและลำไส้บีบตัวเพิ่มขึ้น ยับยั้งเชื้อ H. pylori ต้านการอักเสบ ปกป้องไต ปกป้องตับ ต้านมะเร็ง ป้องกันการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ลดน้ำตาลในเลือด

6. ขมิ้นชัน

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Curcuma longa* L.

ชื่อวงศ์: Zingiberaceae

ชื่อสามัญ: Turmeric

ชื่ออื่นๆ: ขมิ้นแกง ขมิ้นหยวก ขมิ้นหัว (เชียงใหม่) หมิ้น (ภาคใต้)

ส่วนที่ใช้: เหง้าสด หรือแห้ง

สารที่พบ: เทอร์มีโรน (termerone) ซิงจิเบอรีน (zingiberene) ซาบินีน (sabinene) บอร์นีออล (borneol) ซินีออล (cineol) เทอร์มีรอล (termerol) เคอร์คูโมน (curcumone) ฟิลแลนดรีน (phellandrene)

คุณสมบัติ: รสฝาด กลิ่นหอม เหง้าของขมิ้นชันมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา ลดการอักเสบ และมีฤทธิ์ในการขับน้ำดี น้ำมันหอมระเหยในขมิ้นชัน มีสรรพคุณบรรเทาอาการปวดท้องแน่นท้อง ท้องอืดจุกเสียด แก้โรคผิวหนัง ขับลม ผื่นคัน และท้องร่วง

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: ขมิ้นเป็นพืชล้มลุกที่มีเหง้าอยู่ใต้ดิน เนื้อในของเหง้าเป็นสีเหลือง มีกลิ่นหอมเฉพาะตัวใบรูปเรียวยาว ดอกออกเป็นช่อ มีก้านช่อแทงออกมาจากเหง้าโดยตรง ดอกสีขาวอมเหลืองมีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ที่สำคัญ ดังนี้

ราก: รากเป็นรากฝอยใหญ่ และรากฝอยขนาดเล็กจำนวนมาก ซึ่งแตกออกจากลำต้นใต้ดินและเหง้าหรือแง่งของขมิ้น

ลำต้น: เป็นพรรณไม้ล้มลุก มีลำต้นประเภทเดียวกับไพล กระทือ กระชาย และขิง ลำต้นเป็นหัวอยู่ในดินมีสีเหลืองแกมน้ำตาล

ใบ: ออกซ้อนกันเป็นแผง ลักษณะของใบเรียวยาว ใบมีสีเขียวแก่

ดอก: ออกเป็นช่อโผล่พ้นขึ้นมาจากหัวใต้ดินช่อก้านดอกยาวและเป็นช่อคล้ายดอกกระเจียวส่วนปลายมีกลีบเลี้ยงมีสีเขียวขาวปนม่วงซ้อนกันอยู่แน่นกลีบดอกมีสีขาวนวลแกมม่วงมีลักษณะเป็นกลีบเรียงกันอยู่เป็นชั้นๆ ส่วนปลายกลีบอ้าออกกลีบเลี้ยงจะอุ้มน้ำไว้ได้

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา: มีฤทธิ์ขับลม ต้านการเกิดแผลในกระเพาะอาหารและลำไส้ กระตุ้นการหลั่งสารเมือกมาเคลือบ และยับยั้งการหลั่งน้ำย่อยต่างๆ สมานแผลในกระเพาะอาหาร ต้านการอักเสบของลำไส้ใหญ่ ต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านเชื้อบิดมีตัว ฆ่าพยาธิ ต้านเชื้อ H.pylori ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ขับน้ำดี แก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ ขับลม รักษาอาการอุจจาระร่วง ยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกร็ดเลือด คลายกล้ามเนื้อเรียบของลำไส้และมดลูก ป้องกันการเกิดมะเร็งและต้านมะเร็ง ปกป้องตับ ต้านออกซิเดชั่น มีฤทธิ์ต้านการเกิดโรคความจำเสื่อม ป้องกันการถูกทำลายของเซลล์สมองมีฤทธิ์ตานเชื้อ HIV สารเคอรคูมิน มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซมโปรตีเอสของ HIV-1และ HIV-2 นอกจากนี้ยัง พบวาเคอรคูมินสามารถยับยั้งเอนไซมอินทีเกรส (integrase) ของเชื้อ HIV-1 ได้ ดังนั้น จึงมีการนำเคอรคูมินไปทดลองขั้นคลินิกในผูปวยเอดสอยูในขณะนี้

ฤทธิ์ทางด้านเชื้อราโรคพืช: ประไพพิศ สุวิทย์ชยานนท์ (2552) รายงานว่า สารสกัดจากขมิ้นและกานพลูสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ก่อโรคเน่าคอดินในพืชตระกูลกะหล่ำที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 0.04-0.10 เปอร์เซ็นต์

การวิจัยครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจความรุนแรงของโรค ตลอดจนพัฒนาแนวทางในการควบคุมโรค และตัดสินใจในการควบคุมโรคได้อย่างเหมาะสมและมีประสิทธิภาพ เพื่อช่วยลดความเสียหายจากโรคลำต้นเน่าปาล์มน้ำมัน การคัดเลือกและทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ และสารสกัดจากพืช จะเป็นอีกแนวทางในการควบคุมโรค ที่มีประสิทธิภาพ ตลอดจนเป็นการลดการใช้สารเคมี ลดการสูญเสียเงินจากการนำเข้าสารเคมี และยังเป็นวิธีที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมอีกทั้งยังสามารถควบคุมการเจริญของเห็ด *Ganoderma* spp. เพื่อใช้ลดการระบาดของโรคต่อไป

บทที่ 3
วิธีการวิจัย

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานเพาะเชื้อ บีกเกอร์ กระบอกตวง และหลอดทดลอง
2. ปิเปต (pipette) ขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร
3. ไมโครปิเปต (micropipette) ขนาด 10 และ 20 ไมโครลิตร
4. เครื่องชั่งใช้ไฟฟ้าอย่างละเอียด (analytical balance)
5. ตู้อบฆ่าเชื้อ (hot air oven)
6. กล้องจุลทรรศน์ (compound microscope)
7. พีเอชมิเตอร์ *(pH meter)*
8. กล้องถ่ายรูป (camera)
9. ตู้เย็น (refrigerator)
10 กระถางปลูกต้นไม้ ขนาด 6 นิ้ว
11. น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ
12. Ethyl alcohol 70 และ 95%
13. กระบอกฉีดพ่น (foggy sprayer)
14. เครื่องมือ วัดความเป็นกรด-ด่าง และความชื้นในดิน (soil tester)
15. ถุงร้อนขนาด 6 x12 นิ้ว
16. คอขวดและฝาแบบประหยัด
17. สำลี หรือผ้าฝ้ายปั่น

วัสดุ

1. ดินบริเวณรากต้นปาล์มน้ำมันที่เป็นโรคลำต้นเน่าและดอกเห็ดที่บริเวณต้นปาล์มน้ำมัน
2. อาหารเลี้ยงเชื้อรา
   - Potato dextrose agar (PDA)
   - Water agar (WA)
3. สารยับยั้งเชื้อรา ได้แก่
   -Thianosan
   - Dimethomorph
   - Prochloraz
   - Azoxystrobine
   - Chlorothalonil
   - Difenoconozole + Propiconazole
   - Fluopyrum
   - Myclobutanil
   - Carbendazim

- Streptomycin
- Kresaxin-methyl
- Metalaxyl
- Tridermorph
- Cyproconazole
- Fosetyl – aluminium
- Copper – oxychloride
- Hexoconazale

4. สารสกัดจากพืช ได้แก่ กระเทียม ใบบัวชมพู ใบมะละกอ หัวไพล ยางมะละกอ ขมิ้น และ ขิง
5. ต้นพันธุ์ปาล์มน้ำมัน
6. รำข้าวละเอียด
7. ดินปลูก
8. ขี้เลื่อยไม้ยางพารา
9. เมล็ดข้าวฟ่าง
10. เมล็ดข้าวเปลือก

วิธีการดำเนินงาน

1. การสำรวจการระบาดของโรค เก็บรวบรวม และประเมินความรุนแรงของโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันในแปลงปลูกของเกษตรกร

การเก็บตัวอย่างทำการศึกษาการเกิดโรคลำต้นเน่าในแปลงปลูกของเกษตรกรจากสวนปาล์มน้ำมันในจังหวัดนครศรีธรรมราช สุราษฎร์ธานี และกระบี่ ศึกษาการเกิดโรค โดยสังเกตลักษณะอาการของโรค และการเกิดดอกเห็ด โดยแบ่งเขตสำรวจเป็น 3 พื้นที่ คือ ที่เชิงเขา ที่ราบ และที่ลุ่ม เก็บตัวอย่างเชื้อสาเหตุ

2. การแยกเชื้อสาเหตุ *Ganoderma* spp. ที่พบในสวนปาล์มน้ำมัน และการพิสูจน์เชื้อ

2.1 การแยกเชื้อสาเหตุ Ganoderma spp.

2.1.**1** เก็บตัวอย่างดอกเห็ดที่ทำให้เกิดโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันในสวนปาล์มบริเวณโคนต้นปาล์มน้ำมัน หรือที่ขึ้นที่โคนต้นปาล์มน้ำมันที่แสดงอาการเป็นโรคลำต้นเน่า จากแปลงเกษตรกรในจังหวัดนครศรีธรรมราช และสุราษฎร์ธานี บันทึกลักษณะดอกเห็ดและแหล่งที่เก็บอย่างละเอียด ทำการจำแนกชนิดโดยศึกษาลักษณะทาง macroscopic และ microscopic จึงทำการแยกเชื้อเห็ดให้บริสุทธิ์ในห้องปฏิบัติการการด้วยวิธี tissue culture บนอาหาร potato dextrose agar (PDA) โดยการแยกเชื้อเห็ดให้บริสุทธิ์ นำเห็ดที่เก็บมาทำความสะอาดผิวเห็ดภายนอก โดยเช็ดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 75 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นแยกเชื้อจากชิ้นส่วนต่างๆ ของดอกเห็ดโดยการฉีกหรือผ่าด้วยมีดที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วตัดชิ้นส่วนหรือเนื้อเยื่อออก ขนาด 2x3 เซนติเมตร นำไปฆ่าเชื้อในไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1-2 นาที ล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ 1-2 ครั้ง ครั้งละ 1-2 นาที จากนั้นนำเข้าตู้ปลอดเชื้อซับน้ำให้แห้งด้วย

กระดาษทิชชูที่ผ่านการฆ่าเชื้อ และนำชิ้นส่วนดอกเห็ดวางลงบนผิวหน้าอาหาร PDA บ่มเชื้อไว้ 3-5 วัน บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (26-32 องศาเซลเซียส) ดูลักษณะของเส้นใย จากนั้นตัดปลายเส้นใยของเชื้อรามาวางบนอาหาร PDA ในจานทดลองขยายจำนวนให้มากขึ้นเพื่อเตรียมไว้สำหรับทดสอบในขั้นตอนต่อไป

2.1.2 การแยกเชื้อจากตัวอย่างดินบริเวณรากต้นปาล์มน้ำมันที่เป็นโรค ด้วยวิธี soil surface dilution plate นำตัวอย่างดินจำนวน 50 กรัม ผสมลงในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ปริมาตร 250 มิลลิลิตร นำไปเขย่าบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 15-30 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้ 3-5 นาที เพื่อให้ดินตกตะกอน จากนั้นดูด suspension ปริมาตร 10 ไมโครลิตร หยดลงบนอาหาร PDA ที่ผสมสารปฏิชีวนะ streptomycin (100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) และสารยับยั้งเชื้อรา metalaxy (500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ทำการ spread plate บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3-5 วัน เมื่อเส้นใยเจริญ ตัดปลายเส้นใยมาวางบนอาหาร PDA ทำซ้ำ 2-3 ครั้ง เก็บเชื้อบริสุทธิ์ไว้ทดสอบขั้นตอนต่อไป

2.1.3 การแยกเชื้อเห็ด *Ganoderma* spp. ด้วยวิธี spore dilution plate โดยเก็บตัวอย่างดอกเห็ดที่อยู่บริเวณโคนต้นปาล์มน้ำมันที่แสดงอาการเป็นโรคลำต้นเน่า แช่ลงในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปเขย่าบนเครื่องเขย่าที่ 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 10-15 นาที จากนั้นดู suspension ปริมาตร 10 ไมโครลิตร หยดลงบนอาหาร PDA ที่ผสมสารปฏิชีวนะ streptomycin (100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) และสารยับยั้งเชื้อรา metalaxyl (500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) ทำการ spread plate บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 3-5 วัน เมื่อเส้นใยเจริญ ตัดปลายเส้นใยมาวางบนอาหาร PDA ทำซ้ำ 2-3 ครั้ง เก็บเชื้อที่บริสุทธิ์ไว้ทดสอบขั้นตอนต่อไปสี

2.2 การพิสูจน์เชื้อ *Ganoderma* spp.

ศึกษาลักษณะเส้นใยและการเจริญอาหาร PDA โดยเฉพาะเชื้อ *Ganoderma* spp. บริสุทธิ์ที่แยกได้ทั้งหมดบนอาหาร PDA โดยใช้ก้อนเชื้อราที่เจาะด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร บริเวณขอบโคโลนีของเชื้อที่เลี้ยงบนอาหาร PDA วางลงบนจุดกึ่งกลางของอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำการทดลองสายพันธุ์ละ 3 ซ้ำๆ ละ 3 จานเลี้ยงเชื้อจากนั้นบ่มเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการ

เตรียม slide culture โดยการตัดอาหารวุ้น PDa บริเวณขอบเขตของเชื้อราที่แยกบริสุทธิ์ให้เป็นสี่เหลี่ยมจัตุรัส ขนาด 5x5 มิลลิเมตร วางบน slide ที่ฆ่าเชื้อแล้วปิดด้วย cover slip วาง slide culture ในจานอาหารที่ให้ความชื้นโดยใช้สำลีที่ชุบน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว บ่มเลี้ยงไว้จนกว่าเส้นใยปริมาณมาก จากนั้นเอาชิ้นวุ้นออก และนำไปศึกษาเส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ บันทึกผลที่ได้อย่างละเอียด

3. การพิสูจน์โรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Ganoderma* spp.

3.1 การศึกษาวัสดุที่เหมาะสมสำหรับเตรียม inoculum ในห้องปฏิบัติการ

1) การเตรียมเชื้อเห็ด

เส้นใยเห็ด *Ganoderma* spp. นำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA ในจานเพาะเชื้อ และบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน จากนั้นใช้ cork borer เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร บริเวณรอบนอกสุดของโคโลนีเพื่อเป็นกล้าเชื้อเห็ด

2) การเพิ่มกล้าเชื้อเห็ด

นำวัสดุที่ใช้ในการทำหัวเชื้อเห็ด *Ganoderma* spp. แช่น้ำเป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วนำมากรองด้วยตะแกรงผึ่งให้สะเด็ดน้ำแล้วต้มในน้ำเป็นเวลา 30 นาที กรองด้วยตะแกรงแล้วผึ่งให้เย็น จากนั้นนำเมล็ดข้าวฟ่างบรรจุในขวดปริมาตร 250 มิลลิลิตร ปริมาณ 2 ใน 3 ของขวด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เมื่อวัสดุที่ใช้ในการทำหัวเชื้อเห็ด *Ganoderma* spp. เย็นลงเขี่ยกล้าเชื้อเห็ดจากข้อ 2 ลงไปจำนวน 2 ชิ้น แล้วบ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน จะได้กล้าเชื้อเห็ดที่เจริญตามที่ต้อง

3) การเตรียมวัสดุเพาะเห็ด

นำวัสดุที่ใช้ในการทำหัวเชื้อเห็ด *Ganoderma* spp. ปรับความชื้นให้ได้ 80 เปอร์เซ็นต์ ด้วยเครื่องวัดความชื้น แล้วนำวัสดุเพาะใส่จานเพาะเชื้อปริมาณ 20 กรัมต่อจาน จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที แล้วถ่ายกล้าเชื้อเห็ด จำนวน 1 เมล็ด วางไว้กลางจานเพาะเชื้อ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิเป็นเวลา 7 และ 10 วัน บันทึกผลการทดลองหาค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเชื้อเห็ด สี ของเส้นใยเห็ด การเจริญของเส้นใยเชื้อเห็ดเจริญเต็มผิวหน้าวัสดุเพาะ และสังเกตความหนาแน่นของเส้นใยเห็ด ประกอบด้วยสูตรดังนี้ (ดัดแปลงจาก วสันต์ และคณะ, 2554) โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Random Complete Block Design) มี 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 จานเพาะเชื้อ โดยมี 4 กรรมวิธี คือ

กรรมวิธีที่ 1 เมล็ดข้าวฟ่าง 100 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 2 เมล็ดข้าวเปลือก 100 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 3 ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับรำละเอียด 2 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 4 ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100 เปอร์เซ็นต์

<u>หมายเหตุ</u> กรรมวิธีที่ 1 และ 2 ควรนำเมล็ดข้าวฟ่าง และเมล็ดข้าวเปลือก แช่น้ำเป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วนำมากรองด้วยตะแกรงแล้วต้มนานเป็นเวลา 30 นาที กรองด้วยตะแกรงแล้ว ผึ่งให้เย็น จากนั้นนำเมล็ดข้าวฟ่าง และเมล็ดข้าวเปลือก บรรจุในจานเพาะเชื้อปริมาตร 50 กรัมต่อจาน

กรรมวิธีที่ 3 และ 4 นำขี้เลื่อยไม้ยางพาราผสมกับวัสดุเสริม ปรับความชื้นให้ได้ 80 เปอร์เซ็นต์ ด้วยเครื่องวัดความชื้น แล้วนำวัสดุเพาะบรรจุในจานเพาะเชื้อปริมาตร 50 กรัมต่อจาน

3.2 การศึกษาวัสดุที่เหมาะสมสำหรับเตรียม inoculum เพื่อใช้ปลูกเชื้อลงต้นกล้าปาล์มน้ำมัน

3.2.1 การทำหัวเชื้อเห็ด *Ganoderma* spp.

1) เลือกเมล็ดข้าวฟ่าง ให้เลือกเมล็ดที่มีขนาดใหญ่ ไม่มีร่องรอยการทำลายจากแมลงศัตรู เป็นเมล็ดพันธุ์ใหม่ เนื่องจากไม่มีสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงและเชื้อราปนเปื้อน ทำความสะอาดเมล็ดข้าวฟ่าง โดยนำเมล็ดมาล้างให้สะอาด ด้วยน้ำหลายครั้ง เพื่อเอาฝุ่นละออง และสิ่งปลอมปนออก คัดเมล็ดที่ลอยน้ำหรือไม่สมบูรณ์ทิ้งไป

2) ทำให้สุกโดยการต้ม 12-18 ชั่วโมง ให้พอสุกกำลังดี คือขนาดที่พอเห็นว่าเมล็ดเริ่มปริเล็กน้อย นำเมล็ดข้าวฟ่างที่ผ่านการต้มมาผึ่งบนตะแกรง ที่น้ำผ่านได้ง่าย อาจใช้พัดลมเป่า

และคอยเกลี่ยเมล็ด ก็จะทำให้เมล็ดแห้งเร็วยิ่งขึ้น กรอกใส่ขวดโซดาปริมาณ 2 ใน 3 ของขวด อุดจุกด้วยสำลีไม่ควรให้แน่นหรือหลวมจนเกินไป ปิดทับอีกครั้งด้วยกระดาษ รัดด้วยยางวงให้แน่น

3) นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน (autoclave) โดยใช้ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 30 นาที อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ปล่อยทิ้งไว้ให้เย็นจึงจะเขี่ยเชื้อ

4) การเขี่ยเชื้อลงหัวเชื้อเมล็ดข้าวฟ่าง ก่อนนำขวดเมล็ดข้าวฟ่างมาใช้ ให้เขย่าขวดเบาๆ อย่าให้เมล็ดข้าวฟ่างถูกจุกสำลี การเขย่าจะช่วยให้ความชื้นภายในขวดกระจายอย่างสม่ำเสมอ นำหัวเชื้อเห็ด *Ganoderma* spp. ที่บริสุทธิ์ จาก 3.1.1 โดยตัดอาหารวุ้นที่มีเส้นใยที่เพาะไว้ ขนาด 1x1 เซนติเมตร ลนไฟปากขวดเมล็ดข้าวฟ่าง ตะแคงขวดให้เมล็ดข้าวฟ่างไหลมาทางใกล้ปากขวด แต่อย่าให้หกออกมา วางชิ้นวุ้นให้ส่วนที่เป็นเส้นใยเห็ดสัมผัสกับเมล็ดข้าวฟ่าง วางไว้ตำแหน่งกลางขวด เมื่อตั้งขวดขึ้นเมล็ดข้าวฟ่างก็จะอยู่ตรงกลางพอดี ลนไฟเข็มเขี่ยและปากขวด อุดด้วยจุกสำลีและห่อด้วยกระดาษอีกครั้ง รัดให้แน่น

5) การบ่มหัวเชื้อในเมล็ดข้าวฟ่าง นำหัวเชื้อเมล็ดข้าวฟ่างที่เตรียมไว้ไปวางในอุณหภูมิห้อง มีแสงสว่างเล็กน้อย รอจนกระทั่งเส้นใยเจริญเต็มเมล็ดข้าวฟ่าง ซึ่งจะมีระยะเวลานาน 10 วัน

3.2.2 การทำก้อนเชื้อเห็ด *Ganoderma* spp.

1) นำขี้เลื่อยไม้ยางพารา ผสมด้วยปูนขาว ประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ รำละเอียดประมาณ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ดีเกลือประมาณ 0.3 เปอร์เซ็นต์ (สูตรอาหารดัดแปลงจากสูตรเห็ดหลินจือ) โดยน้ำหนักผสมให้เข้ากัน ใส่น้ำลงไปให้มีความชื้นประมาณ 65 เปอร์เซ็นต์ ไม่ให้แห้งหรือเปียกเกินไป ทดสอบโดยการใช้มือกำขี้เลื่อย หากคลายมือออกขี้เลื่อยจับกันเป็นก้อนหลวมๆ พอดี แสดงว่าใช้ได้ แต่ถ้าขี้เลื่อยกระจายร่อนออกก็เติมน้ำลงไปจนพอดี บรรจุใส่ถุงพลาสติกทนร้อนชนิดพับก้น

2) บรรจุใส่ถุงร้อนพับก้นประมาณ 500 กรัมต่อก้อน เว้นปากถุงไว้สำหรับสวมคอขวดพลาสติกเพื่อการเขี่ยเชื้อภายหลัง

3) ยกถุงกระทุ้งเบาๆ เพื่อให้ขี้เลื่อยแน่นหรืออาจใช้มือกดลงไปให้แน่น

4) รวบปากถุงและใช้คอขวดสวมลงไป ใช้มือดึงถุงให้ตึงแล้วรวบปากถุงลงมาด้านนอกใช้ฝาแบบประหยัดครอบปิด

5) นำก้อนเห็ดไปนึ่งด้วยหม้อนึ่งแบบลูกทุ่งใช้เวลา 3 ชั่วโมง ไฟแรงสม่ำเสมอ หลังจากนึ่งเรียบร้อยแล้วนำก้อนเชื้อออกมาวางเรียงกัน รอจนกระทั่งก้อนเชื้อเย็น จึงสามารถเขี่ยหัวเชื้อจากเมล็ดข้าวฟ่างต่อไปได้

3.2.3 การเตรียมเชื้อ และการปลูกเชื้อเห็ด *Ganoderma* spp. โดยการเตรียมต้นกล้าปาล์มน้ำมันที่มีอายุ 8 และ 12 เดือน ทำการเตรียมเชื้อเห็ด *Ganoderma* spp. ดำเนินตามขั้นตอนในข้อ 3.2.1 และ 3.2.2 การปลูกเชื้อ *Ganoderma* spp. นำวัสดุปลูกใส่ลงในถุงดำ 1 ใน 3 ส่วน แล้วทำการน้ำก้อนเชื้อเห็ด *Ganoderma* spp. ว่างลงรอบโคนต้นปาล์มน้ำมันให้รากสัมผัสกับก้อนเชื้อเห็ด จากนั้นเติมวัสดุปลูกให้เต็ม ทำการบันทึกการเปลี่ยนแปลงทุกสัปดาห์ จนครบสัปดาห์ที่ 28 (ประมาณ 7 เดือน) การวางแผนการทดลอง วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Random Complete Block Design) มี 6 กรรมวิธี ๆ ละ 5 ซ้ำ โดยทำการทดสอบดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ต้นกล้าปาล์มน้ำมันไม่ทำแผล

กรรมวิธีที่ 2 ต้นกล้าปาล์มน้ำมันทำแผลที่ราก

กรรมวิธีที่ 3 ต้นกล้าปาล์มน้ำมันไม่ทำแผล+เชื้อสาเหตุ *Ganoderma* spp.+ คลุมด้วยหญ้าแห้ง

กรรมวิธีที่ 4 ต้นกล้าปาล์มน้ำมันทำแผลที่ราก+เชื้อสาเหตุ *Ganoderma* spp.+ คลุมด้วยหญ้าแห้ง

กรรมวิธีที่ 5 ต้นกล้าปาล์มน้ำมันไม่ทำแผล+เชื้อสาเหตุ *Ganoderma* spp.

กรรมวิธีที่ 6 ต้นกล้าปาล์มน้ำมันทำแผลที่ราก+เชื้อสาเหตุ *Ganoderma* spp.

บันทึกลักษณะอาการของต้นกล้าปาล์มน้ำมันในทุกกรรมวิธี คำนวณเปอร์เซ็นต์คำนวณดัชนีความรุนแรงของโรค (Disease severity index; DSI) (Abdullah et al., 2003)

$$\text{Disease severity index (DSI)} = \frac{\text{ผลรวม (AXB)}}{\text{ผลรวม (BX ระดับอาการสูงสุด)}} \times 100$$

A คือ ระดับการเกิดโรค

B คือ จำนวนต้นพืชที่แสดงอาการโรค

ระดับการเกิดโรค

ระดับ 0 พืชปกติ ไม่พบการแสดงอาการหรือเส้นใยของรา *Ganoderma* spp.

ระดับ 1 พืชมีใบเหลืองเล็กน้อยพบเส้นใยของรา *Ganoderma* spp.

ระดับ 2 พืชมีใบเหลือง 1-3 ใบพบเส้นใยของรา *Ganoderma* spp.

ระดับ 3 พืชมีใบเหลืองมากกว่า 3 ใบ พบเส้นใยของรา *Ganoderma* spp. หรือดอกเห็ดบนพืช

ระดับ 4 ต้นปาล์มแห้งตายพบดอกเห็ดบนพืช

4. คัดเลือกสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อ *Ganoderma* spp.

4.1 คัดเลือกสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ganoderma* spp. ในระดับห้องปฏิบัติการ การทำสารเคมีในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยคัดเลือกสารเคมีทดสอบจำนวน 17 ชนิด ได้แก่ prochloraz, kresoxim-methyl, chlorothalonil, difenoconozole+propiconazole, tridermorph, metalaxyl, carbendazim, streptomycin, thianosan, azoxystrobine cyproconazole, myclobutani,l dimethomorph, copper oxychloride, fosetyl – aluminium และ hexoconazale

4.2 ทดสอบสารละลายเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราที่นำมาใช้ในการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *Ganoderma* spp. โดยทดสอบความเข้มข้นตามอัตราคำแนะนำที่ฉลากระบุ (ใช้ที่ค่ากลางของฉลาก) และความเข้มข้นลดลงและเพิ่มขึ้น นำสารเคมีทดสอบข้างต้นจากข้อ 4.1 ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Ganoderma* spp. ในสภาพห้องปฏิบัติการลงบนอาหารด้วยวิธี poisoning medium โดยการชั่งสารเคมีทดสอบผสมลงในขวดบรรจุอาหาร PDA ที่หลอมอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ผสมให้เข้ากัน และเทลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วทิ้งไว้ให้ผิวหน้าอาหารแห้ง จากนั้นวางชิ้นวุ้นของเชื้อสาเหตุโรคที่เจาะด้วย cork berer ขนาด 0.5 เซนติเมตร วางลงตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7-9 วัน และเปรียบกับชุดควบคุมที่ไม่ใช่สารเคมี (การเจริญของเชื้อราบนอาหาร PDA ปกติ)

5. การแยกเชื้อและคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ganoderma* spp.

5.1 การคัดเลือกเชื้อราปฏิปักษ์

5.1.1 การเก็บตัวอย่าง เก็บตัวอย่างดินบริเวณรากปาล์มน้ำมัน โดยใช้พลั่วตักดินลึกประมาณ 30-60 เซนติเมตร (ดัดแปลงมาจาก Sariah *et al*., 2005) เก็บใส่ถุงพลาสติก และบันทึกรายละเอียดแหล่งที่เก็บวันที่เก็บผู้เก็บจากนั้นจึงแยกเชื้อราปฏิปักษ์ในห้องปฏิบัติการต่อไป

5.1.2 การแยกเชื้อราปฏิปักษ์ให้บริสุทธิ์ การแยกเชื้อราจากตัวอย่างดินบริเวณรากต้นปาล์มน้ำมันที่เป็นโรค ด้วยวิธี soil surface dilution plate การนำตัวอย่างดินจำนวน 50 กรัมผสมลงในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 250 มิลลิลิตร นำไปเขย่าบน shaker นานประมาณ 30 นาที เพื่อให้เชื้อโรคออกมาอยู่ในน้ำ ปล่อยดินให้ตกตะกอน จากนั้นดูด suspension ปริมาณ 10 ไมโครลิตร หยดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารปฏิชีวนะ streptomycin (100 µg/ml) และสารยับยั้งเชื้อรา metalaxyl (500 µg/ml) ทำการ spread plate บ่มเชื้อประมาณ 5-7 วันบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (26-32 องศาเซลเซียส) เมื่อเส้นใยเจริญ ตัดปลายเส้นใยมาวางบนอาหาร PDA ทำซ้ำ 2-3 ครั้ง เก็บเชื้อที่บริสุทธิ์ เพื่อจำแนกชนิด และทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ganoderma* spp. ต่อไป

5.1.3 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ganoderma* spp. ในสภาพห้องปฏิบัติการ ทดสอบโดยวิธี dual culture ทำการทดสอบแบบ Completely Randomize Design (CRD) แต่ละสิ่งทดลองทำ 5 ซ้ำ โดยเลี้ยงเชื้อรา *Ganoderma* spp. และเชื้อราปฏิปักษ์ที่ทำการแยกเชื้อในข้อ 5.1.1 และข้อ 5.1.2 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะชิ้นวุ้นบริเวณโคโลนีของเชื้อทั้งสอง ย้ายชิ้นวุ้นของเชื้อราแต่ละชนิดจำนวน 1 ชิ้น วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยวางให้ห่างจากขอบจานเลี้ยงเชื้อ 2 เซนติเมตร นำจานอาการดังกล่าวบ่มที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้น 3 วัน จึโดยเริ่มวางเชื้อเพื่อทดสอบ ณ วันที่เชื้อมีอัตราการเจริญเท่ากัน ทำการทดสอบแบบ Completely Randomize Design (CRD) แต่ละสิ่งทดลองทำ 5 ซ้ำ โดยเลี้ยงเชื้อรา *Ganoderma* spp. และเชื้อราปฏิปักษ์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะวุ้นบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อทั้งสอง ย้ายชิ้นวุ้นของเชื้อราแต่ละชนิดจำนวน 1 ชิ้น วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เปรียบเทียบกับกรรมวิธีการควบคุมที่วางเฉพาะเชื้อรา *Ganoderma* spp. บันทึกผลการทดลองโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อรา *Ganoderma* spp. และคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อจากสูตรของแสงมณี และคณะ (2540) และนริศ (2545)

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยังการเจริญ} = \frac{(A-B)}{A} \times 100$$

โดยที่ A คือ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *Ganoderma* spp. ในจานอาหารเปรียบเทียบ (control)

B คือ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *Ganoderma* spp. ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม (dual-culture test)

จากการทดสอบ dual-culture นี้จะมีการตรวจและบันทึกกลไกการยับยั้งทั้งกลไก antibiosis (สังเกต clear zone), competition (ประเมินอัตราการเจริญของเชื้อราปฏิปักษ์และเชื้อราสาเหตุโรค) และ exploitation (ตรวจสอบบริเวณที่เส้นใยของเชื้อทั้งสองเจริญชนกัน interaction zone ภายใต้กล้องจุลทรรศน์)

5.1.4 การจำแนกชนิด (species) ของเชื้อราปฏิปักษ์ โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา เลี้ยงเชื้อราปฏิปักษ์บนอาหาร PDA เป็นเวลา 5-7 วัน บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (26-32 องศาเซลเซียส) นำเชื้อที่เลี้ยงไปดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound ตรวจลักษณะทางสัณฐานวิทยา สังเกตลักษณะการเจริญของเชื้อราบนอาหารที่เพาะเลี้ยง ตรวจลักษณะรูปร่าง ขนาด และโครงสร้างที่เชื้อราสร้างขึ้น เปรียบเทียบลักษณะต่างๆ ของเชื้อราปฏิปักษ์

5.2 การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

5.2.1 การแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ แยกจากตัวอย่างดินบริเวณรากต้นปาล์มน้ำมัน และตัวอย่างดอกเห็ดที่อยู่บริเวณโคนต้นปาล์มน้ำมันที่เกิดโรคลำต้นเน่า โดยวิธี soil surface dilution plate นำตัวอย่างดินจำนวน 50 กรัม ผสมลงในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 250 มิลลิลิตร เขย่านาน 15-30 นาที เพื่อให้เชื้อออกมาอยู่ในน้ำ ปล่อยดินให้ตกตะกอน จากนั้นใช้ micropipette ดูด suspension ปริมาณ 10 ไมโครลิตร หยดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA) แล้วทำการ spread plate บ่มเชื้อ 24-48 ชั่วโมงบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (26-32 องศาเซลเซียส) เลือกเก็บโคโลนีและลักษณะของเส้นใยที่เจริญขึ้นมาบนผิวอาหารที่มีความแตกต่างกัน มาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วยการทำ cross streak บนอาหาร NA ทำซ้ำ 2-3 ครั้ง เก็บเชื้อที่บริสุทธิ์ไว้ทดสอบขั้นตอนต่อไป

5.2.2 การคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุ*Ganoderma* spp. ในสภาพห้องปฏิบัติการ เตรียมเชื้อรา *Ganoderma* spp. ที่แยกได้ซึ่งผ่านการทดสอบการประเมินความเสียหายนำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน ส่วนเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้ทำการ cross streak บนอาหารแข็ง NA เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพการเป็นเชื้อแบคทีเรียปกิปักษ์กับเชื้อรา *Ganoderma* spp. โดยวิธี dual culture ทำการทดสอบแบบ Completely Randomize Design (CRD) แต่ละสิ่งทดลองทำ 5 ซ้ำ โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 เซนติเมตร เจาะบริเวณปลายเส้นใยของเชื้อรา *Ganoderma* spp.ที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นเวลา 7 วัน แล้วย้ายมาวางบนอาหาร PDA โดยวางให้ห่างจากขอบของจานเลี้ยงเชื้อ 2 เซนติเมตร นำจานอาหารดังกล่าวบ่มที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้น 3 วัน จึงใช้ loop ที่เผาไฟฆ่าเชื้อแล้วแตะแบคทีเรียที่เลี้ยงไว้อายุ 24 ชั่วโมง ขีดเป็นเส้นตรงด้านตรงข้ามกับชิ้นวุ้นของเชื้อรา *Ganoderma* spp. ในแนวเส้นผ่านศูนย์กลางห่างจากเชื้อรา 5 เซนติเมตร เปรียบเทียบกับกรรมวิธีการควบคุมที่วางเฉพาะเชื้อรา *Ganoderma* spp. เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญโดยใช้สูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยังการเจริญ} = \frac{(A-B)}{A} \times 100$$

โดยที่ A คือ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *Ganoderma* spp. ในจานอาหารเปรียบเทียบ (control)

B คือ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *Ganoderma* spp. ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม (dual-culture test)

6. การทดสอบสารสกัดจากพืชในการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อ *Ganoderma* spp.

การเตรียมสารสกัดหยาบ โดยนำพืชตัวอย่างที่จะนำมาสกัดหั่นอย่างละเอียด อัตรา 500 กรัม แล้วนำพืชสมุนไพรไปปั่นด้วยเครื่องปั่น ต่อน้ำ 500 มิลลิลิตร แช่น้ำทิ้งไว้ 1 คืน นำไปคั้นสารละลายที่ได้จากการปั่นพืชสมุนไพรโดยกรองด้วยผ้าขาวบาง กรองด้วยเครื่องกรองแบคทีเรีย (Filter) และเก็บสารสกัดหยาบในตู้เย็น และเตรียมเชื้อสาเหตุ *Ganoderma* spp. ตัดปลายเส้นใยเลี้ยงเชื้อบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิห้อง (26-32 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 5-7 วัน นำสารสกัดหยาบทดสอบสกัดหยาบจากพืชที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Ganoderma* spp. ในสภาพห้องปฏิบัติการบนอาหารด้วยวิธี poisoning medium โดยการเตรียมสารสกัดหยาบจากพืชข้างต้นที่ความเข้มข้นสารสกัดหยาบ 25 และ 50 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร (5 และ 10 มิลลิลิตร/200 มิลลิลิตร) มาผสมลงในขวดอาหาร PDA ที่หลอมอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ผสมให้เข้ากัน และเทลงจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ทิ้งให้ผิวหน้าอาหารแห้ง หลังจากนั้นนำเชื้อสาเหตุ *Ganoderma* spp. ที่เตรียมไว้วางตรงกลางจานเลี้ยงเชื้อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 9 วัน เปรียบเทียบกับกรรมวิธีการควบคุมที่วางเฉพาะเชื้อรา *Ganoderma* spp. เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญโดยใช้สูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยังการเจริญ} = \frac{(A-B)}{A} \times 100$$

โดยที่ A คือ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *Ganoderma* spp. ในจานอาหารเปรียบเทียบ (control)

B คือ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *Ganoderma* spp. ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม (dual-culture test)

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การสำรวจการระบาดของโรค เก็บรวบรวม และประเมินความรุนแรงของโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันในแปลงปลูกของเกษตรกร

การเกิดโรคลำต้นเน่าในแปลงปลูกของเกษตรกรจากสวนปาล์มน้ำมันจำนวน 10 อำเภอ รวม 75 แปลง ในพื้นที่จังหวัดนครศรีธรรมราช สุราษฎร์ธานี และกระบี่ พบว่าจากการสำรวจการเกิดโรคลำต้นเน่าในแปลงปลูกปาล์มน้ำมันในจังหวัดนครศรีธรรมราชจำนวน 25 แปลง ไม่พบการเกิดโรคลำต้นเน่าในปาล์มน้ำมันพื้นที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี จำนวน 25 แปลง พบการเกิดโรคลำต้นเน่าในปาล์มน้ำมันจำนวน 1 แปลง และไม่พบการเกิดโรคลำต้นเน่าปาล์มน้ำมัน จำนวน 24 แปลง และพื้นที่ในจังหวัดกระบี่ จำนวน 25 แปลง ไม่พบการเกิดโรคลำต้นเน่าปาล์มน้ำมัน และพบว่าในแต่ละพื้นที่แบ่งเป็นแปลงปลูกปาล์มน้ำมัน 2 แบบ คือ พื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันเก่า 60 แปลง คิดเป็นร้อยละ 60.67 และพื้นที่ปลูกปาล์มใหม่ 15 แปลง คิดเป็นร้อยละ 33.33 (ตารางที่ 1)

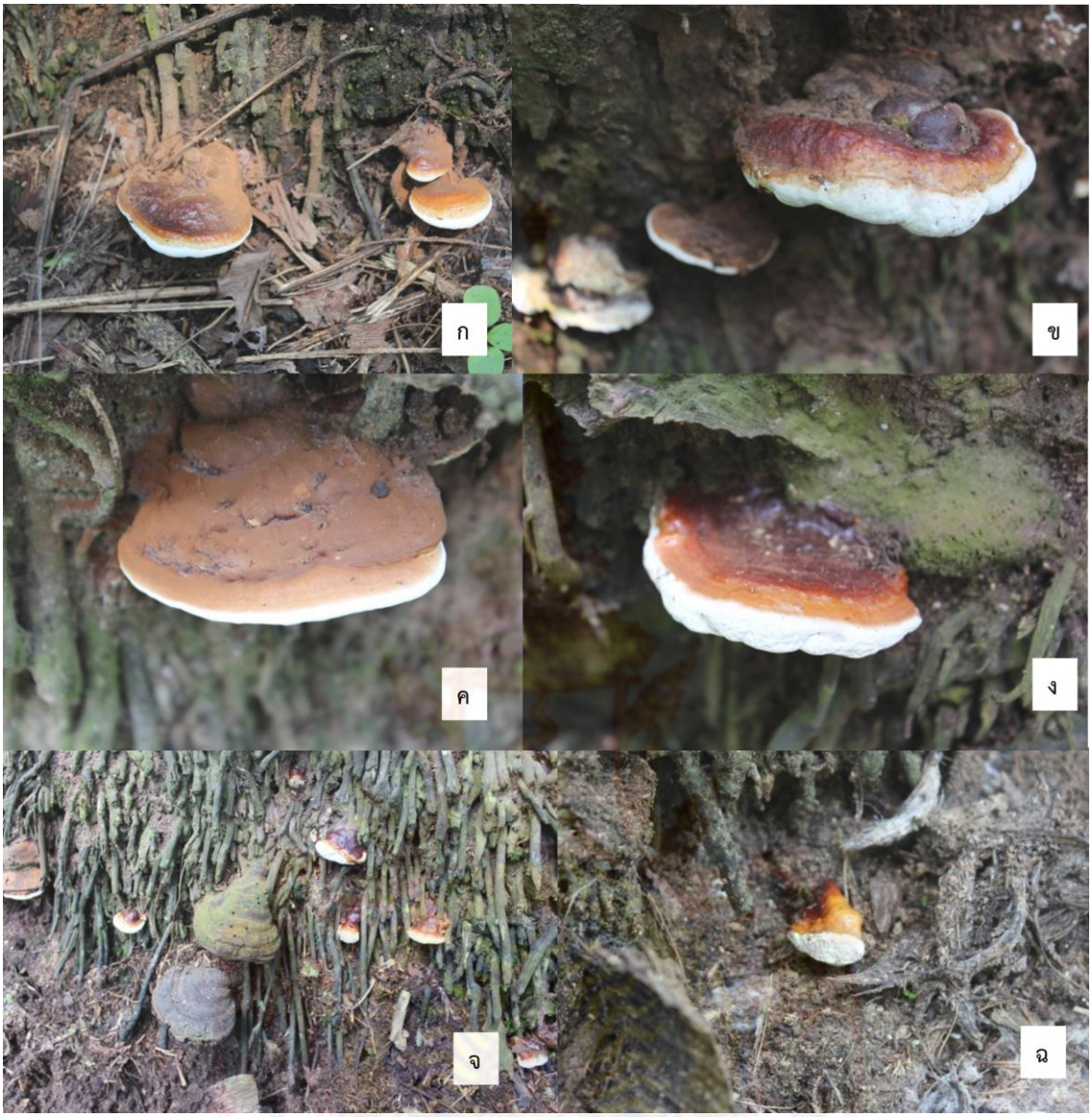
ตารางที่ 1 จำนวนแปลงที่ออกไปสำรวจทั้งหมดแต่สามารถเก็บตัวอย่างเชื้อรา *Ganoderma* sp.ได้เพียง 1 แปลงเท่านั้น

ลำดับที่	จังหวัด	พื้นที่เก่า (แปลง) (%)	พื้นที่ใหม่ (แปลง) (%)	รวม (แปลง)
1	นครศรีธรรมราช	20 (80.00)	5 (20.00)	25
2	สุราษฎร์ธานี	20 (80.00)	5 (20.00)	25
3	กระบี่	20 (80.00)	5 (20.00)	25
	รวม (แปลง) (%)	60 (66.67)	15 (33.33)	75 (100)

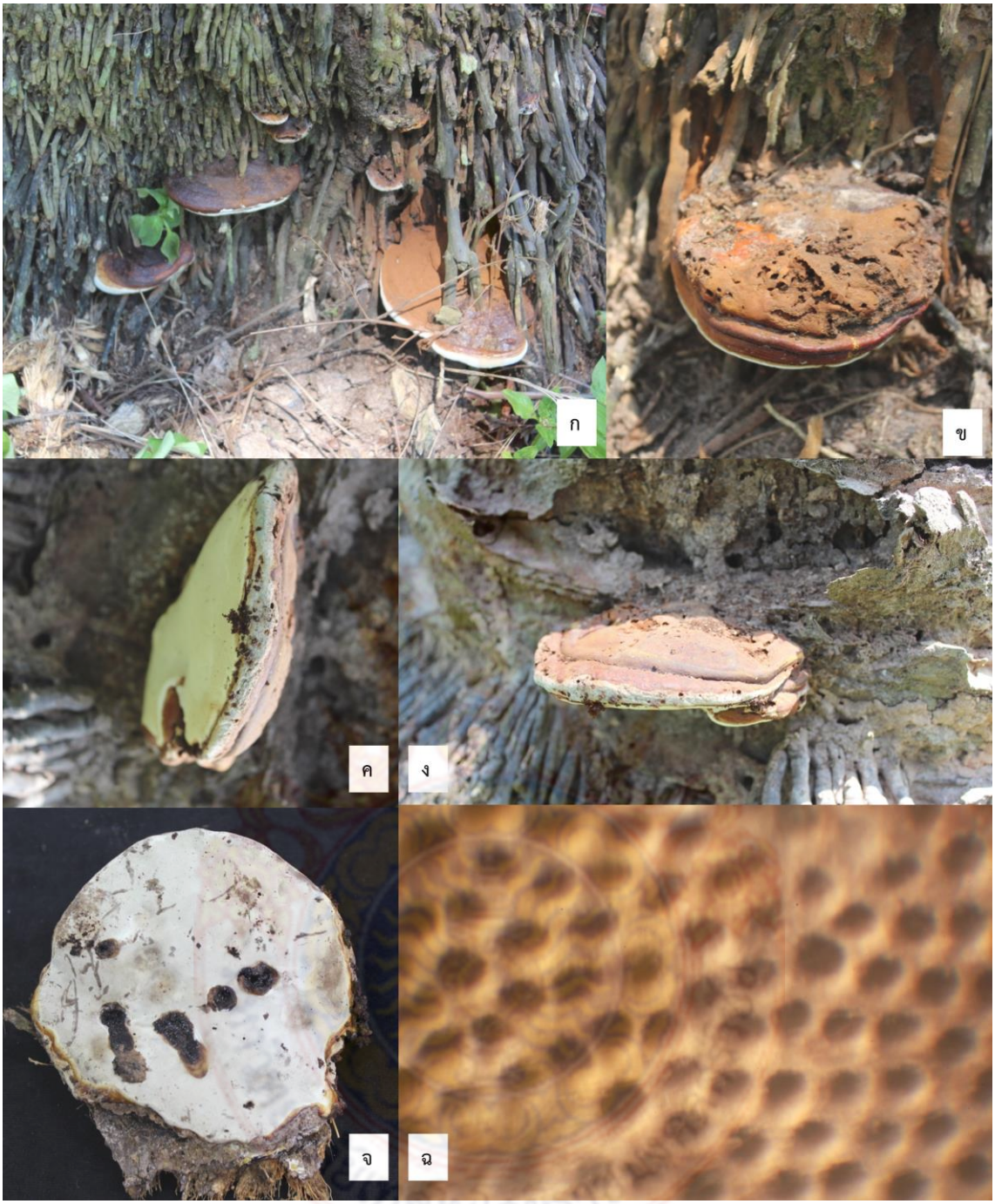
ลักษณะอาการลำต้นของปาล์มน้ำมันหักพับลงตรงจุดใดจุดหนึ่งของลำต้นและพบดอกเห็ดที่โคนต้นเชื้อสาเหตุเข้าทำลายต้นปาล์มน้ำมันทางซอกทางใบ และขยายตัวเข้าไปทำลายเนื้อเยื่อของลำต้น ทำให้เกิดการขัดขวางการขนส่งน้ำและอาหารที่จะส่งไปที่ใบทำให้ใบมีสีเหลืองซีดทางใบที่สร้างใหม่มีขนาดเล็กลงและมีจำนวนน้อยลงกว่าปกติ เมื่อแผลภายในลำต้นขยายตัวมากขึ้นทางใบแก่จะทิ้งตัวหักพับและห้อยขนานกับลำต้นซึ่งเป็นลักษณะอาการที่คล้ายกับอาการของโรคลำต้นเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Ganoderma* sp. เมื่อผ่าลำต้นพบเนื้อเยื่อภายในลำต้นถูกทำลายไปถึง 60-80 เปอร์เซ็นต์ลักษณะอาการในลำต้น แผลเน่าเริ่มจากบริเวณกาบทางแผลมีสีน้ำตาล ส่วนใหญ่พบเส้นใยสีขาวของเชื้อราบริเวณขอบแผลเชื้อราทำลายส่วนของลำต้นของปาล์มน้ำมันแต่ไม่ลุกลามไปถึงส่วนของรากเชื้อราสาเหตุสามารถเข้าทำลายต้นปาล์มน้ำมันได้หลายจุดเชื้อราจะเข้าทำลายที่รากเข้าสู่โคนต้น อาการภายนอกที่พบคือใบมีสีซีดจางกว่าปกติ ทางแก่ล่างจะหักพับทิ้งตัวห้อยลงรอบๆ ลำต้น เมื่ออาการปรากฏให้เห็นที่ใบ แสดงว่าเนื้อเยื่อบริเวณโคนต้นถูกเชื้อทำลายอย่างน้อย 50 เปอร์เซ็นต์จำนวนใบยอดที่ยังไม่คลี่จะมากผิดปกติ เกิดการตายของทางใบที่แก่ที่สุด ซึ่งจะเร็วหรือช้าขึ้นกับฤดูกาล ต้นจะตาย

ภายใน 6-12 เดือน โดยต้นจะหัก หรือล้มลง โรคนี้ทำ ให้เกิดการเน่าแห้งของเนื้อเยื่อที่ฐานของต้น เมื่อตัดต้นเป็นโรคตามขวางจะเห็นเนื้อเยื่อบริเวณที่เน่าเป็นสีน้ำตาลอ่อน มีแถบสีน้ำตาลเข้มรูปร่างไม่แน่นอนเกิดสลับกันอยู่ และที่ขอบแผลมีบริเวณสีเหลืองใสกั้นระหว่างส่วนที่เป็นโรคและส่วนที่ผิดปกติ (ภาพที่ 1) รากมีลักษณะกรอบ เนื้อเยื่อภายในแห้งเป็นผง ลักษณะที่สำคัญที่ใช้จำแนกโรคนี้ คือลักษณะของดอกเห็ด ซึ่งเชื้อเห็ดนี้สร้างขึ้นที่บริเวณฐานของลำต้น หรือรากบริเวณใกล้ลำต้น ดอกเห็ดที่พบครั้งแรกมีสีขาวขนาดเล็ก ต่อมาจะขยายโตขึ้นมีสีน้ำตาลแดงมีสีขอบสีขาว ผิวด้านบนเรียบเป็นมันคล้ายทาด้วยแลคเกอร์ผิวด้านล่างมีสีขาวขุ่นเต็มไปด้วยรูเล็กๆ ซึ่งเป็นที่สร้างสปอร์สีน้ำตาลเป็นผงเล็กๆ กระจายไปทั่วบริเวณปัจจุบันพบว่าโรคนี้เริ่มระบาดมากกับต้นปาล์มอายุ 10-15 ปี(ภาพที่ 2 และภาพที่ 3)

ภาพที่ 1 ใบมีสีเหลืองซีดทางใบที่สร้างใหม่มีขนาดเล็กลงและมีจำนวนน้อยลงกว่าปกติ เมื่อแผลภายในลำต้นขยายตัวมากขึ้นทางใบแก่จะทิ้งตัวหักพับและห้อยขนานกับลำต้น(ก) ส่วนใหญ่พบเส้นใยสีขาวของเชื้อราบริเวณขอบแผลเชื้อราทำลายส่วนของลำต้นของปาล์มน้ำมันและลุกลามไปถึงส่วนของราก (ข) เชื้อราสาเหตุสามารถเข้าทำลายต้นปาล์มน้ำมันได้หลายจุดโดยรอบลำต้นสามารถแพร่กระจายโดยอาศัยเส้นใยจากการสัมผัสระหว่างรากต้นปกติกับรากพืชเป็นโรคเมื่อแผลภายในลำต้นขยายตัวมาชนกันทำให้ต้นหักพับได้ (ค)



ภาพที่ 2 เชื้อรา *Ganoderma* sp.ดอกเห็ดมีลักษณะคล้ายพัด สีน้ำตาลแดงขอบสีขาว (ก และ ข) ผิวด้านบนเรียบเป็นมัน ผิวด้านล่างมีสีขาวขุ่น มีรูเล็กๆ ซึ่งเป็นที่สร้างสปอร์ (ค และ ง) ภายในลำต้นถ้าผ่าดูเกิดแผลสีน้ำตาลเข้ม รากเปราะง่ายรากมีลักษณะกรอบ เนื้อเยื่อภายในแห้งเป็นซึ่งเชื้อเห็ดนี้สร้างขึ้นที่บริเวณฐานของลำต้น หรือรากบริเวณใกล้ลำต้น ดอกเห็ดที่พบครั้งแรกมีสีขาวขนาดเล็ก ต่อมาจะขยายโตขึ้นมีสีน้ำตาลแดงมีสีขอบสีขาวผิวด้านบนเรียบเป็นมันคล้ายทาด้วยแลคเกอร์ผิวด้านล่างมีสีขาวขุ่นเต็มไปด้วยรูเล็กๆ ซึ่งเป็นที่สร้างสปอร์สีน้ำตาลเป็นผงเล็กๆ กระจายไปทั่วบริเวณปัจจุบันพบว่าโรคนี้เริ่มระบาดมากกับต้นปาล์มอายุ 10–15 ปี(จ และ ฉ)

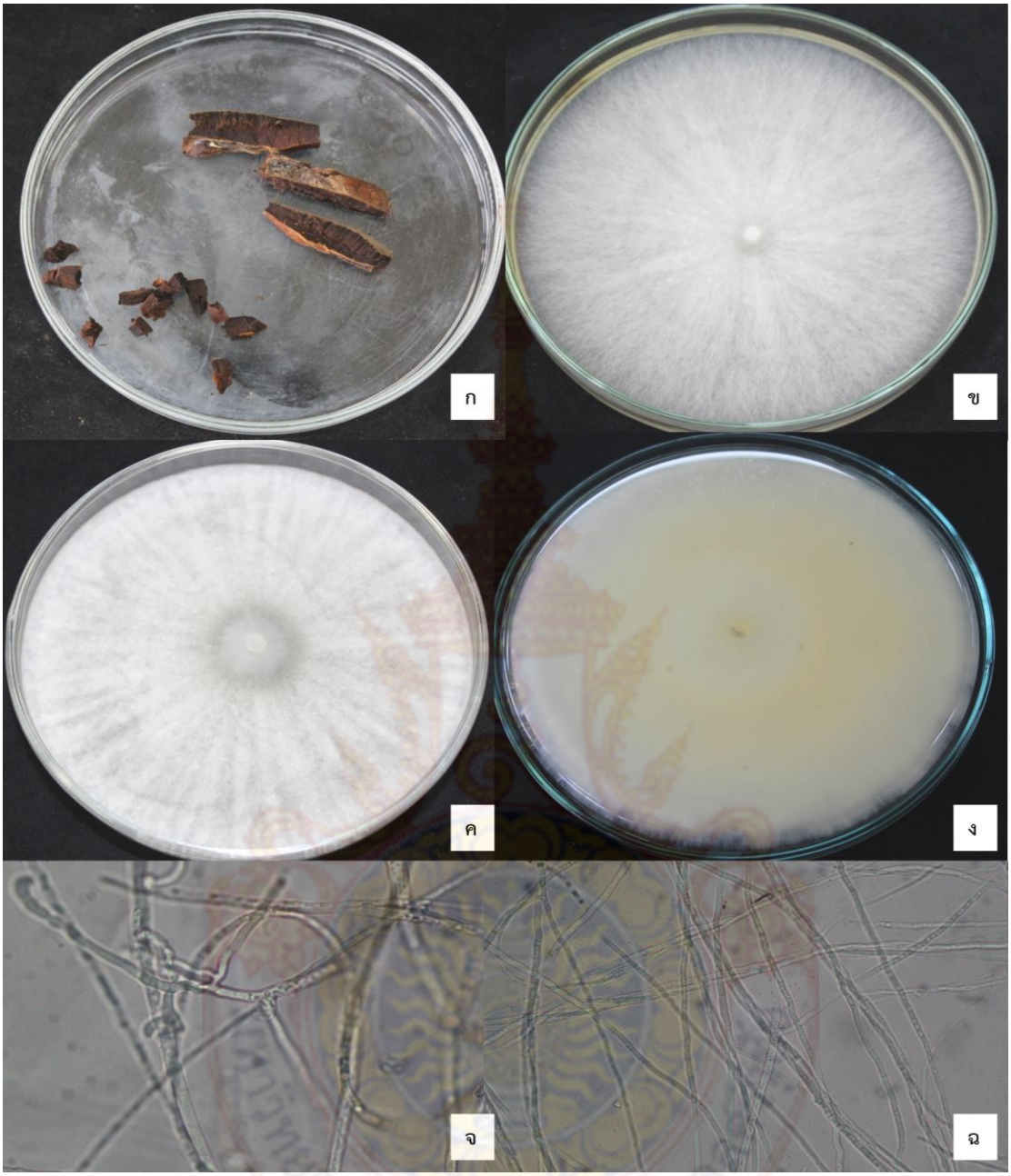


ภาพที่ 3 เชื้อรา *Ganoderma* sp. ดอกเห็ดมีลักษณะคล้ายพัด สีน้ำตาลแดงขอบสีขาว ผิวด้านบนเรียบเป็นมัน ผิวด้านล่างมีสีขาวขุ่น มีรูเล็กๆ ซึ่งเป็นที่สร้างสปอร์ (ก, ข, ค และ ง) การเจริญเนื้อดอกเห็ดเจริญขยายออกเป็นวงโดยวงนอกสุด ด้านล่างมีรูกลม ถึงรี กระจายทั่ว แต่ไม่พบในบริเวณขอบดอก (จ และ ฉ)

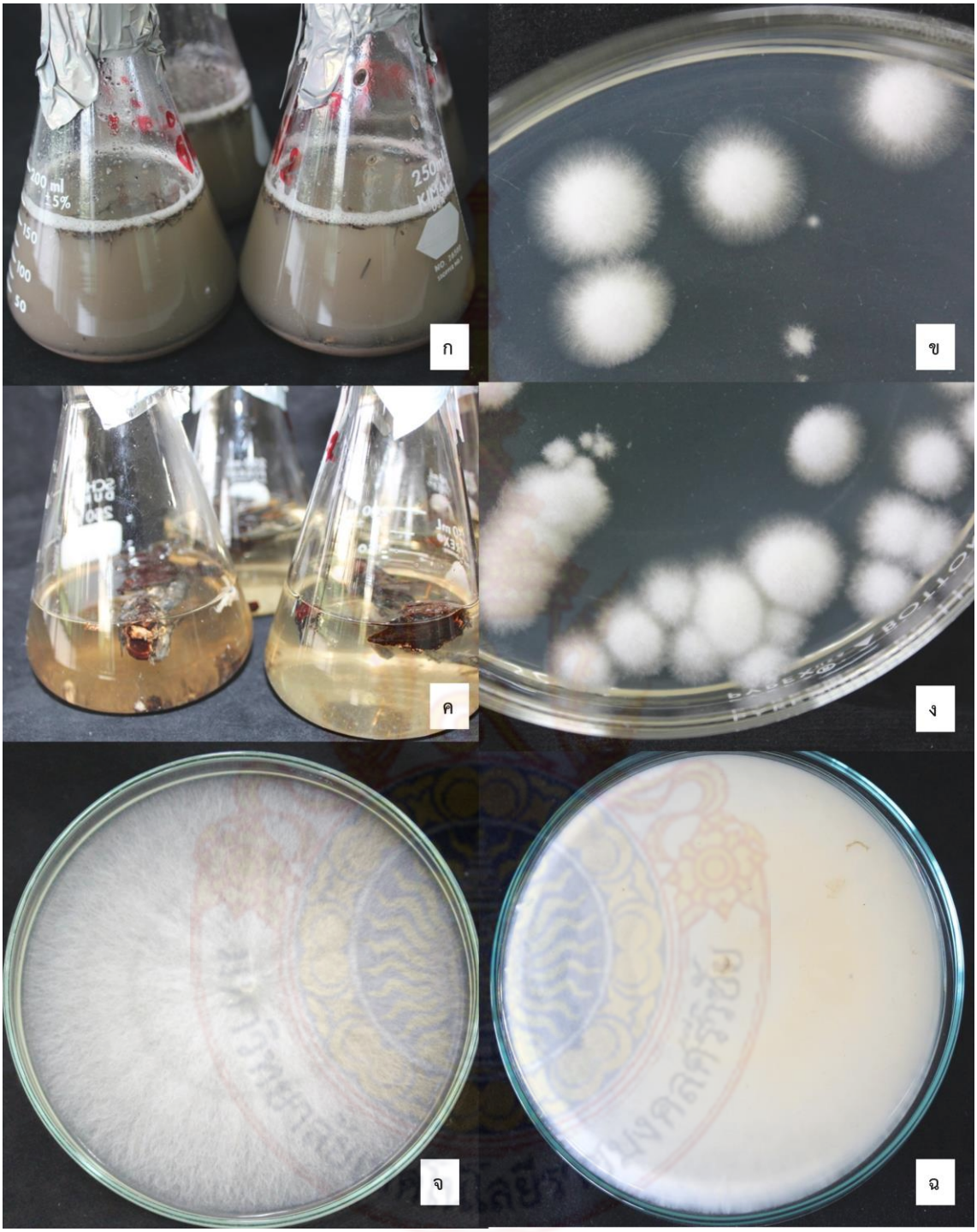
2. การแยกเชื้อสาเหตุ *Ganoderma* sp. ที่พบในสวนปาล์มน้ำมัน

จากการแยกเชื้อ *Ganoderma* sp. จากตัวอย่างดอกเห็ดด้วยวิธี tissue culture ตัวอย่างดินด้วยวิธี soil surface dilution plate และการแยกเชื้อรา*Ganoderma* sp. ด้วยวิธี spore dilution plateพบว่า ลักษณะของเส้นใยเชื้อราค่อนข้างหยาบ สีขาวฟู เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน และเริ่มเปลี่ยนสีเป็นสีเหลืองซีดและเส้นใยหนาและเหนียวขึ้น เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 28-32 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 4 และภาพที่ 5)

ดังนั้นจากการแยกเชื้อรา *Ganoderma* sp. บริสุทธิ์ จำนวน 3 ไอโซเลต คือ G001, G002 และ G003 ซึ่งมีลักษณะของเส้นใยเชื้อราค่อนข้างหยาบ สีขาวฟู เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน และเริ่มเปลี่ยนสีเป็นสีเหลืองซีดและเส้นใยหนาและเหนียวขึ้น เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 28-32 องศาเซลเซียส เมื่อนำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า เส้นใยไม่มี clamp connection (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 การแยกเชื้อรา *Ganoderma* sp. ด้วยวิธี tissue culture (ก) ลักษณะของเส้นใยเชื้อราค่อนข้างหยาบ สีขาวฟู เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน (ข) และเริ่มเปลี่ยนสีเป็นสีเหลืองซีดและเส้นใยหนาและเหนียวขึ้น เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 28-32 องศาเซลเซียส (ค และ ง) เมื่อนำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเส้นใยไม่มี clamp connection (จ และ ฉ)



ภาพที่ 5 การแยกเชื้อ *Ganoderma* sp. จากตัวอย่างดิน ด้วยวิธี soil surface dilution plate (ก และ ข) และการแยกเชื้อ *Ganoderma* sp. ด้วยวิธี sporedilution plate (ค และ ง) ลักษณะของเส้นใยเชื้อราค่อนข้างหยาบ สีขาวฟู เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน และเริ่มเปลี่ยนสีเป็นสีเหลืองซีดและเส้นใยหนาและเหนียวขึ้น เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 28-32 องศาเซลเซียส (จ และ ฉ)

3. การพิสูจน์โรค

3.1 การศึกษาวัสดุที่เหมาะสมสำหรับเตรียม inoculum ในห้องปฏิบัติการ

ศึกษาการทำหัวเชื้อเห็ด *Ganoderma*sp.โดยใช้วัสดุเพาะ 4 สูตร หลังจากใส่เชื้อเห็ดลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (petri dish) และบ่มเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง พบว่าการใช้เมล็ดข้าวเปลือก 100 เปอร์เซ็นต์ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเห็ด*Ganoderma*sp. เจริญบนวัสดุเพาะเชื้อที่อายุ 7 วัน มีค่าเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 6.52 เซนติเมตร รองลงมา คือ การใช้เมล็ดข้าวฟ่าง 100 เปอร์เซ็นต์, ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับรำละเอียด 2 เปอร์เซ็นต์ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ย เท่ากับ 5.73, 4.56 และ 1.90 เซนติเมตร ตามลำดับ เมื่อวัสดุเพาะเชื้อที่อายุ 10 วัน พบว่าการใช้เมล็ดข้าวเปลือก 100 เปอร์เซ็นต์ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีมากที่สุด เท่ากับ 8.22 เซนติเมตร รองลงมา คือ การใช้เมล็ดข้าวฟ่าง 100 เปอร์เซ็นต์, ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับรำละเอียด 2 เปอร์เซ็นต์ และขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100 เปอร์เซ็นต์ มีค่าเฉลี่ย เท่ากับ 7.46, 5.14 และ 2.95เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 2 และ ภาพที่ 6)ลักษณะการเจริญของเส้นใยวัสดุเพาะเชื้อที่อายุ 7 และ 10 วัน พบว่าการใช้เมล็ดข้าวฟ่าง 100 เปอร์เซ็นต์เป็นสีขาวฟู ลักษณะเส้นใยมีความหนาแน่นมาก รองลงมา คือ การใช้เมล็ดข้าวเปลือก 100 เปอร์เซ็นต์และขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับรำละเอียด 2 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะเส้นใยเป็นสีขาวฟู มีความหนาแน่นปานกลาง ส่วนขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะเส้นใยเป็นสีขาวไม่ฟู มีความหนาแน่นน้อย (ตารางที่ 3 และภาพที่ 6)

การเตรียม inoculum ของเชื้อ *Ganoderma* sp. จากการบ่มหัวเชื้อในเมล็ดข้าวฟ่าง ที่เตรียมไว้ในอุณหภูมิห้อง มีแสงสว่างเล็กน้อย เส้นใยเจริญเต็มเมล็ดข้าวฟ่าง ใช้ระยะเวลานาน 10 วัน เพื่อนำใช้ทดสอบในการทำก้อนเชื้อเห็ด *Ganoderma*sp. ซึ่งอยู่ในระหว่างการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (ภาพที่ 6) วสันณ์ และคณะ (2551) รายงานผลการทดลองการทำหัวเชื้อเห็ด *Ganoderma*sp. โดยใช้วัสดุเพาะ 5 สูตร หลังจากการใส่เชื้อเห็ดลงฟลาสค์ และบ่มเลี้ยง 28 องศาเซลเซียส และทำการเขย่าขวด พบว่ามีเพียงสูตรข้าวฟ่าง สูตรข้าวฟ่าง+ขี้เลื่อย+รำละเอียด+น้ำตาล (20: 100: 3: 2 (โดยน้ำหนัก)) เท่านั้นที่เชื้อเห็ดสามารถเจริญได้ ภายใน 15 วัน แต่มีความหนาของเส้นใยที่เจริญแตกต่างกัน

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเห็ด *Ganoderma* sp. เจริญบนวัสดุเพาะเชื้อที่อายุ 7 และ 10 วันในห้องปฏิบัติการ

สูตร	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (เซนติเมตร)	
	อายุ 7 วัน	อายุ 10 วัน
1. เมล็ดข้าวฟ่าง 100 เปอร์เซ็นต์	6.52[a1/]	7.46[a1/]
2. เมล็ดข้าวเปลือก 100 เปอร์เซ็นต์	5.73[a]	8.22[a]
3. ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับรำละเอียด 2 เปอร์เซ็นต์	4.56[b]	5.14[b]
4. ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100 เปอร์เซ็นต์	1.90[c]	2.95[c]
F-test	**	**
CV. (%)	16.92	20.23

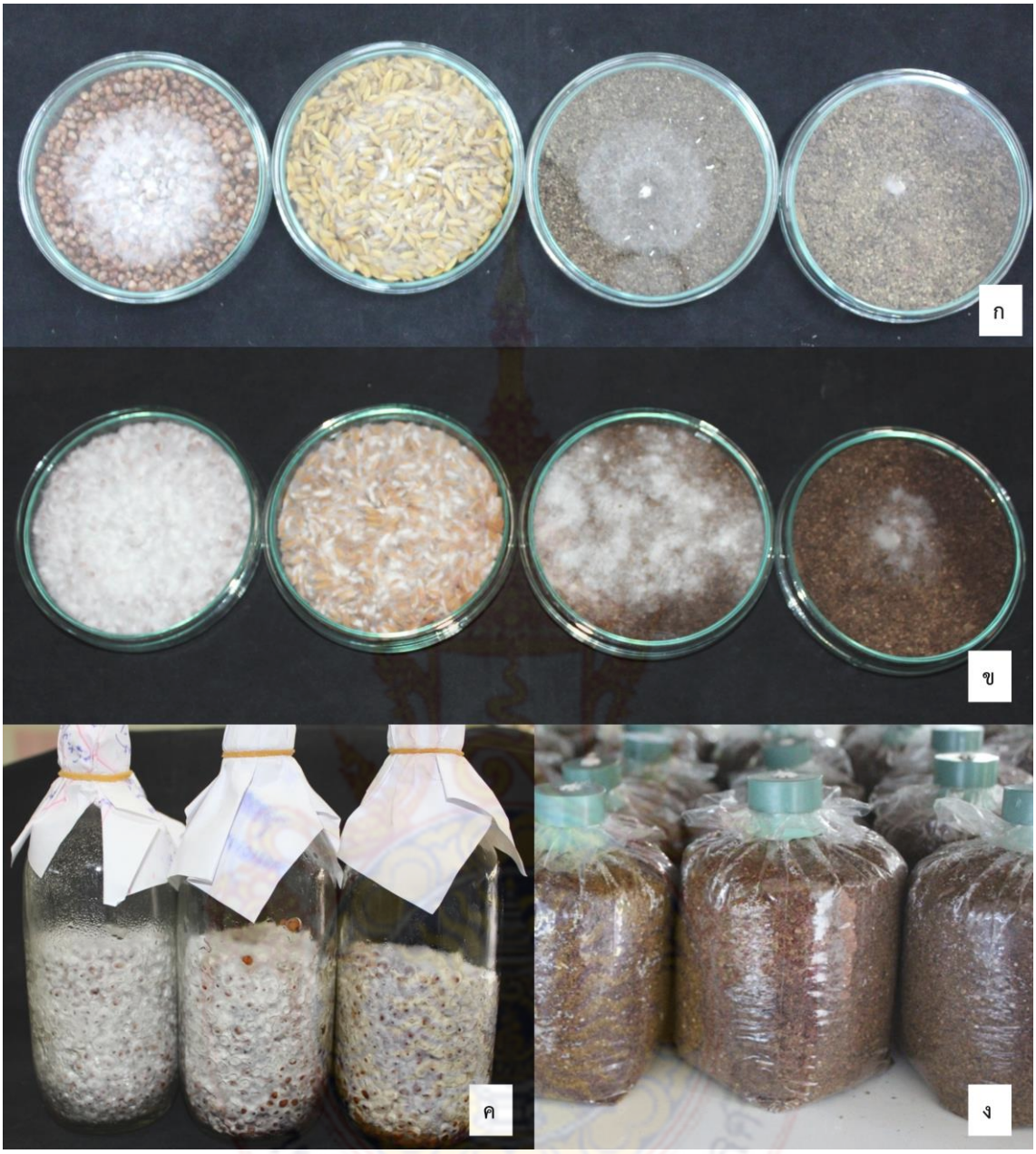
** = มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$)

[1/] = ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรร่วมกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT.

ตารางที่ 3 ลักษณะการเจริญของเส้นใยเห็ด *Ganoderma* sp. ในวัสดุเพาะเชื้อที่อายุ 7 และ 10 วัน

สูตร	ลักษณะการเจริญของเส้นใย	
	อายุ 7 วัน	อายุ 10 วัน
เมล็ดข้าวฟ่าง 100 เปอร์เซ็นต์	+++	+++
เมล็ดข้าวเปลือก 100 เปอร์เซ็นต์	++	++
ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับรำละเอียด 2 เปอร์เซ็นต์	++	++
ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100 เปอร์เซ็นต์	+	+

หมายเหตุ: +++ ความหนาแน่นของเส้นใยมาก
++ ความหนาแน่นของเส้นใยปานกลาง
+ ความหนาแน่นของเส้นใยน้อย



ภาพที่ 6 ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเห็ด *Ganoderma* sp. เจริญบนวัสดุเพาะเชื้อที่อายุ 7 (ก) และ 10 วัน (ข) การเตรียม inoculum ของเชื้อ*Ganoderma* sp.ในเมล็ดข้าวฟ่าง (ค) และการบ่มก้อนเชื้อเห็ด *Ganoderma* sp. ที่อุณหภูมิห้อง (ง)

3.3 การเกิดโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมัน

จากผลการทดลองทำให้เชื้อ *Ganoderma* sp. แยกบริสุทธิ์ให้สร้างดอกเห็ด โดยนำมาผลิตเป็นก้อนเชื้อเห็ดแบบเห็ดในถุงพลาสติก ถุงละ 500 กรัม บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง นาน 3 เดือน (เส้นใยของเชื้อรา *Ganoderma* sp. เจริญเต็มก้อนเชื้อ) และนำมาทดสอบเบื้องต้นโดยใช้ปาล์มน้ำมันอายุ 8 เดือน และอายุ 12 เดือน หลังการปลูกเชื้อ 7 เดือน โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Random Complete Block Design) มี 6 กรรมวิธี ๆ ละ 5 ซ้ำ ได้แก่ ต้นกล้าปาล์มน้ำมันไม่ทำแผล, ต้นกล้าปาล์มน้ำมันทำแผลที่ราก, ต้นกล้าปาล์มน้ำมันไม่ทำแผล+เชื้อสาเหตุ *Ganoderma* sp.+คลุมด้วยหญ้าแห้ง, ต้นกล้าปาล์มน้ำมันทำแผลที่ราก+เชื้อสาเหตุ *Ganoderma* sp.+คลุมด้วยหญ้าแห้ง, ต้นกล้าปาล์มน้ำมันไม่ทำแผล+เชื้อสาเหตุ *Ganoderma* sp. และต้นกล้าปาล์มน้ำมันทำแผลที่ราก+เชื้อสาเหตุ *Ganoderma* sp.ซึ่งผลการทดลองดังนี้

ปาล์มน้ำมันอายุ 8 เดือน พบว่า หลังการปลูกเชื้อ *Ganoderma* sp.ที่ระยะเวลา 4 เดือน ยังไม่ปรากฏอาการผิดปกติของต้นปาล์มน้ำมัน เมื่อหลังการปลูกเชื้อเดือนที่ 5 ผลปรากฏว่าการทดสอบการพิสูจน์โรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันที่เกิดจากเชื้อ *Ganoderma* sp.พบว่า กรรมวิธีที่ 4 ต้นกล้าปาล์มน้ำมันทำแผลที่ราก+เชื้อสาเหตุ *Ganoderma* sp.+คลุมด้วยหญ้าแห้ง มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงสุด เท่ากับ 20.1 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 3 ต้นกล้าปาล์มน้ำมันไม่ทำแผล+เชื้อสาเหตุ *Ganoderma* sp.+คลุมด้วยหญ้าแห้งกรรมวิธีที่ 6ต้นกล้าปาล์มน้ำมันทำแผลที่ราก+เชื้อสาเหตุ*Ganoderma* sp. และกรรมวิธีที่ 5 ต้นกล้าปาล์มน้ำมันไม่ทำแผล+เชื้อสาเหตุ*Ganoderma* sp. เท่ากับ 18.2, 12.8 และ 10.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ พบลักษณะอาการใบปาล์มน้ำมันมีลักษณะใบล่างไหม้จากปลายใบ เมื่อหลังการปลูกเชื้อเดือนที่ 6 พบว่า พบว่า กรรมวิธีที่ 4 ต้นกล้าปาล์มน้ำมันทำแผลที่ราก+เชื้อสาเหตุ *Ganoderma* sp.+คลุมด้วยหญ้าแห้ง มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงสุด เท่ากับ 41.7 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 3 ต้นกล้าปาล์มน้ำมันไม่ทำแผล+เชื้อสาเหตุ *Ganoderma* sp.+คลุมด้วยหญ้าแห้งกรรมวิธีที่ 6ต้นกล้าปาล์มน้ำมันทำแผลที่ราก+เชื้อสาเหตุ*Ganoderma* sp. และกรรมวิธีที่ 5 ต้นกล้าปาล์มน้ำมันไม่ทำแผล+เชื้อสาเหตุ*Ganoderma* sp.เท่ากับ 31.8, 17.0 และ 15.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อหลังการปลูกเชื้อเดือนที่ 7 พบว่า พบว่า กรรมวิธีที่ 4 ต้นกล้าปาล์มน้ำมันทำแผลที่ราก+เชื้อสาเหตุ *Ganoderma* sp.+คลุมด้วยหญ้าแห้ง มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงสุด เท่ากับ 52.8 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 3 ต้นกล้าปาล์มน้ำมันไม่ทำแผล+เชื้อสาเหตุ *Ganoderma* sp.+คลุมด้วยหญ้าแห้งกรรมวิธีที่ 6ต้นกล้าปาล์มน้ำมันทำแผลที่ราก+เชื้อสาเหตุ*Ganoderma*spp. และกรรมวิธีที่ 5 ต้นกล้าปาล์มน้ำมันไม่ทำแผล+เชื้อสาเหตุ*Ganoderma*sp.เท่ากับ 40.2, 46.1 และ 37.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ พบอาการใบเหลืองหรืออาการใบด่างเป็นปื้นปนทางใบล่างด้านใดด้านหนึ่งของลำต้น และพบเส้นใยสีขาวบริเวณลำต้น เมื่อเปรียบกับกรรมวิธีต้นกล้าปาล์มน้ำมันไม่ทำแผล+ไม่ปลูกเชื้อสาเหตุ*Ganoderma* sp. และต้นกล้าปาล์มน้ำมันทำแผลที่ราก+ไม่ปลูกเชื้อสาเหตุ*Ganoderma*sp.ไม่แสดงอาการโรค (ตารางที่ 4)

ปาล์มน้ำมันอายุ 12 เดือน พบว่า หลังการปลูกเชื้อ *Ganoderma* sp.ที่ระยะเวลา 4 เดือน ยังไม่ปรากฏอาการผิดปกติของต้นปาล์มน้ำมัน เมื่อหลังการปลูกเชื้อเดือนที่ 5 ผลปรากฏว่า การทดสอบการพิสูจน์โรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันที่เกิดจากเชื้อ *Ganoderma* sp.พบว่า กรรมวิธีที่ 4 ต้นกล้าปาล์มน้ำมันทำแผลที่ราก+เชื้อสาเหตุ *Ganoderma* sp.+คลุมด้วยหญ้าแห้ง มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงสุด เท่ากับ 15.3 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 6ต้นกล้าปาล์มน้ำมันทำแผลที่ราก+เชื้อ

สาเหตุ*Ganoderma*sp.กรรมวิธีที่ 5 ต้นกล้าปาล์มน้ำมันไม่ทำแผล+เชื้อสาเหตุ*Ganoderma*sp.และกรรมวิธีที่ 3 ต้นกล้าปาล์มน้ำมันไม่ทำแผล+เชื้อสาเหตุ *Ganoderma* sp.+คลุมด้วยหญ้าแห้งเท่ากับ 13.2, 11.5 และ 9.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ พบลักษณะอาการใบปาล์มน้ำมันมีลักษณะใบล่างไหม้จากปลายใบ เมื่อหลังการปลูกเชื้อเดือนที่ 6 พบว่า พบว่า กรรมวิธีที่ 4 ต้นกล้าปาล์มน้ำมันทำแผลที่ราก+เชื้อสาเหตุ *Ganoderma* sp.+คลุมด้วยหญ้าแห้ง มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงสุด เท่ากับ 26.6เปอร์เซ็นต์ รอลงมาคือ กรรมวิธีที่ 6ต้นกล้าปาล์มน้ำมันทำแผลที่ราก+เชื้อสาเหตุ*Ganoderma*sp.กรรมวิธีที่ 5 ต้นกล้าปาล์มน้ำมันไม่ทำแผล+เชื้อสาเหตุ*Ganoderma*sp.และกรรมวิธีที่ 3 ต้นกล้าปาล์มน้ำมันไม่ทำแผล+เชื้อสาเหตุ *Ganoderma* sp.+คลุมด้วยหญ้าแห้งเท่ากับ 19.8, 17.0 และ 13.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อหลังการปลูกเชื้อเดือนที่ 7 พบว่า กรรมวิธีที่ 4 ต้นกล้าปาล์มน้ำมันทำแผลที่ราก+เชื้อสาเหตุ *Ganoderma* sp.+คลุมด้วยหญ้าแห้ง มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงสุด เท่ากับ 46.8 เปอร์เซ็นต์ รอลงมาคือ กรรมวิธีที่ 6ต้นกล้าปาล์มน้ำมันทำแผลที่ราก+เชื้อสาเหตุ*Ganoderma*sp. กรรมวิธีที่ 5 ต้นกล้าปาล์มน้ำมันไม่ทำแผล+เชื้อสาเหตุ*Ganoderma*sp.และกรรมวิธีที่ 3 ต้นกล้าปาล์มน้ำมันไม่ทำแผล+เชื้อสาเหตุ *Ganoderma* sp.+คลุมด้วยหญ้าแห้งเท่ากับ 40.1, 32.3 และ 25.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่ออาการรุนแรงใบเหลืองทั้งต้นลำต้น การเจริญเติบโตหยุดชะงัก ใบยอดไม่คลี่ พบเส้นใยสีน้ำตาลเข้มปกคลุมรอบๆ โคนต้น เริ่มจากการสร้างเป็นกลุ่มโครงสร้างกลมสีขาว และเป็นดอกเห็ดอ่อนมีลักษณะเป็นสีขาวที่ขอบนอกดอกเห็ด ดอกขนาดเล็กเมื่อเปรียบกับกรรมวิธีต้นกล้าปาล์มน้ำมันไม่ทำแผล+ไม่ปลูกเชื้อสาเหตุ*Ganoderma*sp. และต้นกล้าปาล์มน้ำมันทำแผลที่ราก+ไม่ปลูกเชื้อสาเหตุ*Ganoderma*sp. ไม่แสดงอาการโรค (ตารางที่ 5)

วสันณ์ และคณะ (2551) รายงานผลการทดลองการพิสูจน์โรค โดยวิธีการปลูก (inoculum) เชื้อรา *Ganoderma*sp. โดยใช้ไม้ยางพารา พบว่าผลการทดลองจากการนำชิ้นไม้ยางพาราขนาดสัมผัสรากปาล์มน้ำมัน โดยทำการทดสอบปาล์มน้ำมันอายุ 1 3 6 9 และ 12 เดือน หลังการปลูกเชื้อ 6 เดือน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมพบว่า ปาล์มน้ำมันไม่แสดงอาการ วิธีการทดสอบการปลูกเชื้อโดยการทำก้อนเชื้อเมล็ดข้าวฟ่าง พบว่าการทดลองทำหัวเชื้อเห็ด *Ganoderma*sp.ในเมล็ดข้าวฟ่าง 300 กรัม เส้นใยเจริญได้เร็ว จึงนำมาผลิตเป็นก้อนเชื้อเห็ด และนำมาทดสอบเบื้องต้นโดยใช้ปาล์มน้ำมันอายุ 6 เดือน หลังการปลูกเชื้อ 2 เดือน พบว่า ใบปาล์มน้ำมันมีลักษณะใบล่างไหม้จากบริเวณปลายใบ และวิธีการทดสอบการปลูกเชื้อโดยการทำก้อนเชื้อเห็ด พบว่าการทดลองทำหัวเชื้อเห็ด *Ganoderma*sp. ในสูตร ข้าวฟ่าง+ขี้เลื่อย+รำละเอียด+น้ำตาล (20: 100: 3: 2 (โดยน้ำหนัก)) เส้นใยเจริญได้เร็วจึงนำผลผลิตเป็นก้อนเชื้อเห็ด และนำมาทดสอบเบื้องต้นโดยใช้ปาล์มน้ำมันอายุ 2 เดือน หลังการปลูกเชื้อ 5 เดือน พบว่า ใบปาล์มน้ำมันมีลักษณะใบล่างไหม้จากบริเวณปลายใบ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Norsillan et al. (2015) พบว่า หลังจากการปลูกเชื้อ 4 เดือน จะเริ่มแสดงอาการของโรคในปาล์มน้ำมันที่ยังเล็กอาการภายนอกที่พบส่วนมากจะแสดงอาการใบเหลือง หรืออาการใบด่างเป็นปื้นปนทางใบล่างด้านใดด้านหนึ่งของลำต้น ต่อมาใบย่อยแห้งตาย ใบยอดที่ยังไม่คลี่สั้นกว่าปกติและมีสีซีดปลายยอดแห้ง เมื่อหลังการปลูกเชื้อ 5 เดือน พบว่าใบเหลืองทั้งต้น การเจริญเติบโตหยุดชะงัก ใบยอดไม่คลี่ และหลังปลูกเชื้อ 8 เดือน ต้นปาล์มน้ำมันจะยืนต้นตายจากการแสดงอาการ 6-24 เดือน

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของต้นกล้าปาล์มน้ำที่อายุ 8 เดือน หลังจากการปลูกเชื้อ *Ganoderma* sp. ระยะเวลา 7 เดือน

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคหลังการปลูกเชื้อ *Ganoderma* sp. (เดือน)						
	1	2	3	4	5	6	7
T1	0	0	0	0	0	0	0
T2	0	0	0	0	0	0	0
T3	0	0	0	0	18.2	31.8	40.2
T4	0	0	0	0	20.1	41.7	52.8
T5	0	0	0	0	10.5	15.9	37.9
T6	0	0	0	0	12.8	17.0	46.1

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของต้นกล้าปาล์มน้ำที่อายุ 12 เดือน หลังจากการปลูกเชื้อ *Ganoderma* sp. ระยะเวลา 7 เดือน

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคหลังการปลูกเชื้อ *Ganoderma* sp. (เดือน)						
	1	2	3	4	5	6	7
T1	0	0	0	0	0	0	0
T2	0	0	0	0	0	0	0
T3	0	0	0	0	9.1	13.3	25.6
T4	0	0	0	0	15.3	26.6	46.8
T5	0	0	0	0	11.5	17.0	32.3
T6	0	0	0	0	13.2	19.8	40.1

4. การศึกษาสารเคมียับยั้งเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อ *Ganoderma* sp.ในสภาพห้องปฏิบัติการ

4.1 จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารยับยั้งเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อ *Ganoderma* sp.ในสภาพห้องปฏิบัติการพบว่า สาร prochloraz มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยมากที่สุด เท่ากับ 96.23 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ สาร kresaxin-methyl, chlorothalonil, difenoconozole+ propiconazole, tridermorph, metalaxyl, carbendazim, streptomycin, thianosan, azoxystrobine, cyproconazole, myclobutanil, dimethomorph, copper–oxychloride, fosetyl – aluminiumและ hexoconazale มีประสิทธิ-
ภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย เท่ากับ 88.89, 86.44, 81.11, 70.56, 63.15, 62.59, 60.93, 58.89, 56.89, 53.33, 50.89, 50.00, 50.00, 50.00 และ 50.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ(ตารางที่ 6 ; ภาพที่ 7 และ 8)

4.2 เมื่อศึกษาการเพิ่มอัตราความเข้มข้นสารยับยั้งเชื้อราในการควบคุมเชื้อ *Ganoderma* sp. ในสภาพห้องปฏิบัติการ อัตราความเข้มข้น 3 ระดับ คือ การเพิ่มอัตราความเข้มข้นสารยับยั้งเชื้อรา ปริมาตร 200, 400 และ 600 µl ในการควบคุมโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ*Ganoderma* sp. พบว่า สาร prochloraz มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยมากที่สุดเมื่อเพิ่มอัตราความเข้มข้นสารยับยั้งเชื้อราปริมาตร 200 µl เท่ากับ 86.89 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ สาร kresaxin-methyl,chlorothalonil, difenoconozole+propiconazoleและfluopyrumมีการยับยั้งการเจริญของเส้นใย เท่ากับ 85.22, 73.00, 64.11 และ 54.11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ(ตารางที่ 7)

การเพิ่มอัตราความเข้มข้นสารยับยั้งเชื้อราปริมาตร 400 µl ในการควบคุมโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ*Ganoderma* sp.ในสภาพห้องปฏิบัติการพบว่า สาร prochloraz มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยมากที่สุด เท่ากับ 89.11 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ สาร kresaxin-methyl, chlorothalonilและ difenoconozole+propiconazoleมีการยับยั้งการเจริญของเส้นใย เท่ากับ 87.44, 75.22 และ 66.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ(ตารางที่ 7)

การเพิ่มอัตราความเข้มข้นสารยับยั้งเชื้อราปริมาตร 600 µl ในการควบคุมโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Ganoderma* sp.ในสภาพห้องปฏิบัติการพบว่า สาร prochloraz มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยมากที่สุด เท่ากับ 94.67 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ สาร kresaxin-methyl, chlorothalonil, difenoconozole+propiconazoleและfluopyrumมีการยับยั้งการเจริญของเส้นใย เท่ากับ 93.00, 80.78, 71.89 และ 61.89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ(ตารางที่ 7)

ตารางที่ 6 ประสิทธิภาพของสารยับยั้งเชื้อราในการควบคุมโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Ganoderma* sp. ในสภาพห้องปฏิบัติการ

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง	ประสิทธิภาพ
Thianosan(800 µg/ml)	58.89^{gh}	ปานกลาง
Dimethomorph+ propiconazole(67.5 µg/ml)	50.00^{i}	ปานกลาง
Prochloraz (112.5 µg/ml)	96.22$^{a1/}$	สูง
Azoxystrobine (62.5 µg/ml)	56.89^{g}	ปานกลาง
Chlorothalonil (500 µg/ml)	86.44^{b}	สูง
Difenoconozole (62.5 µg/ml)	81.11^{c}	สูง
Myclobutanil (50 µg/ml)	50.89^{hi}	ปานกลาง
Carbendazim (150 µg/ml)	62.59^{e}	ปานกลาง
Streptomycin (500 µg/ml)	60.93^{eg}	ปานกลาง
Kresaxin-methyl (100 µg/ml)	88.89^{b}	สูง
Metalaxyl (150 µg/ml)	63.15^{e}	ปานกลาง
Tridermorph (562.5 µg/ml)	70.56^{d}	ปานกลาง
Cyproconazole (75 µg/ml)	53.33^{h}	น้อย
Fosetyl–aluminium (2000 µg/ml)	50.00^{i}	น้อย
Copper –oxychloride (1275 µg/ml)	50.00^{i}	น้อย
Hexoconazale (62.5 µg/ml)	50.00^{i}	น้อย
Control	-	-
F-test	**	
CV. (%)	2.79	

** = มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$)

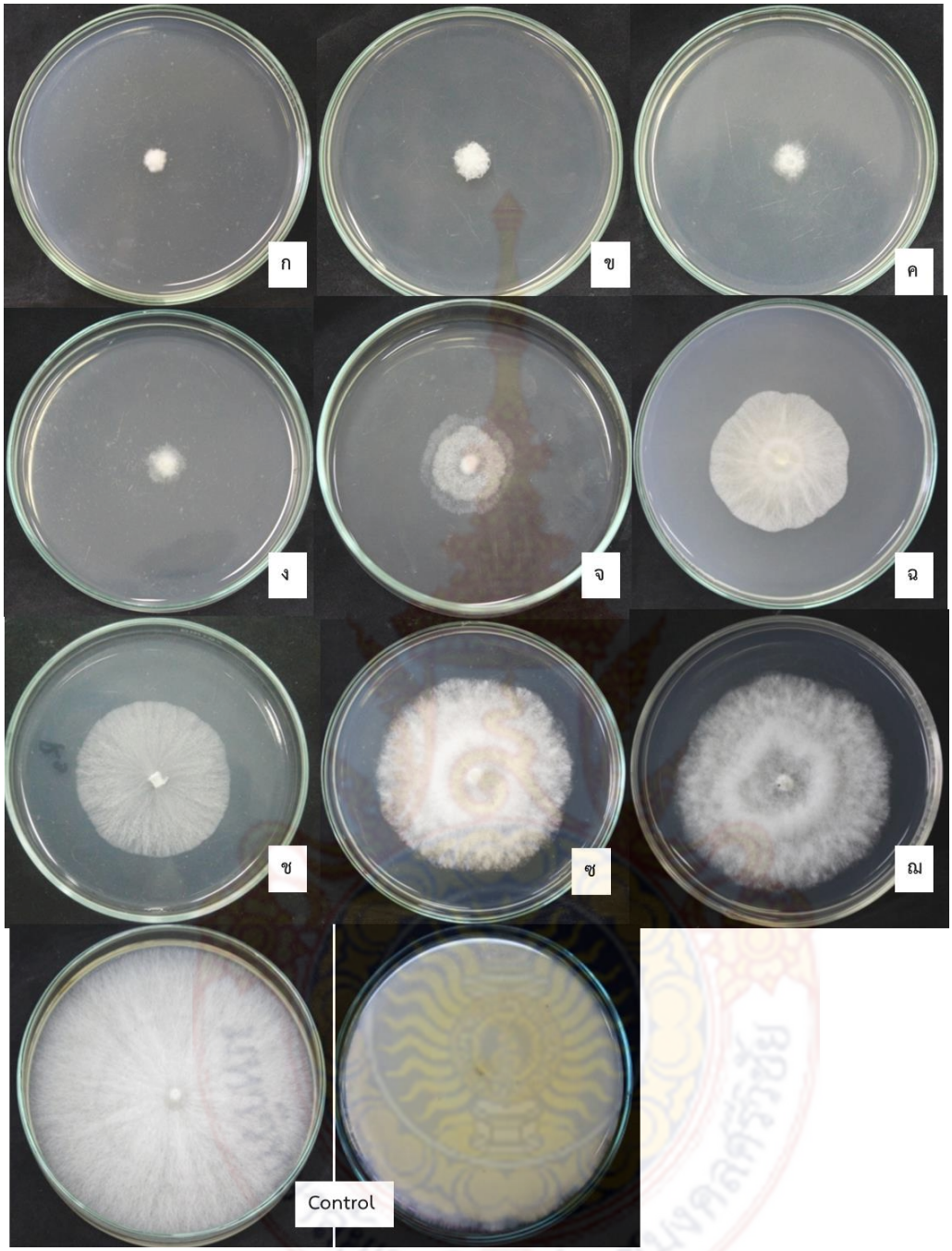
$^{1/}$ = ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรร่วมกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT.

ตารางที่ 7 การเพิ่มอัตราความเข้มข้นสารยับยั้งเชื้อราในการควบคุมโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Ganoderma* sp.ในสภาพห้องปฏิบัติการ

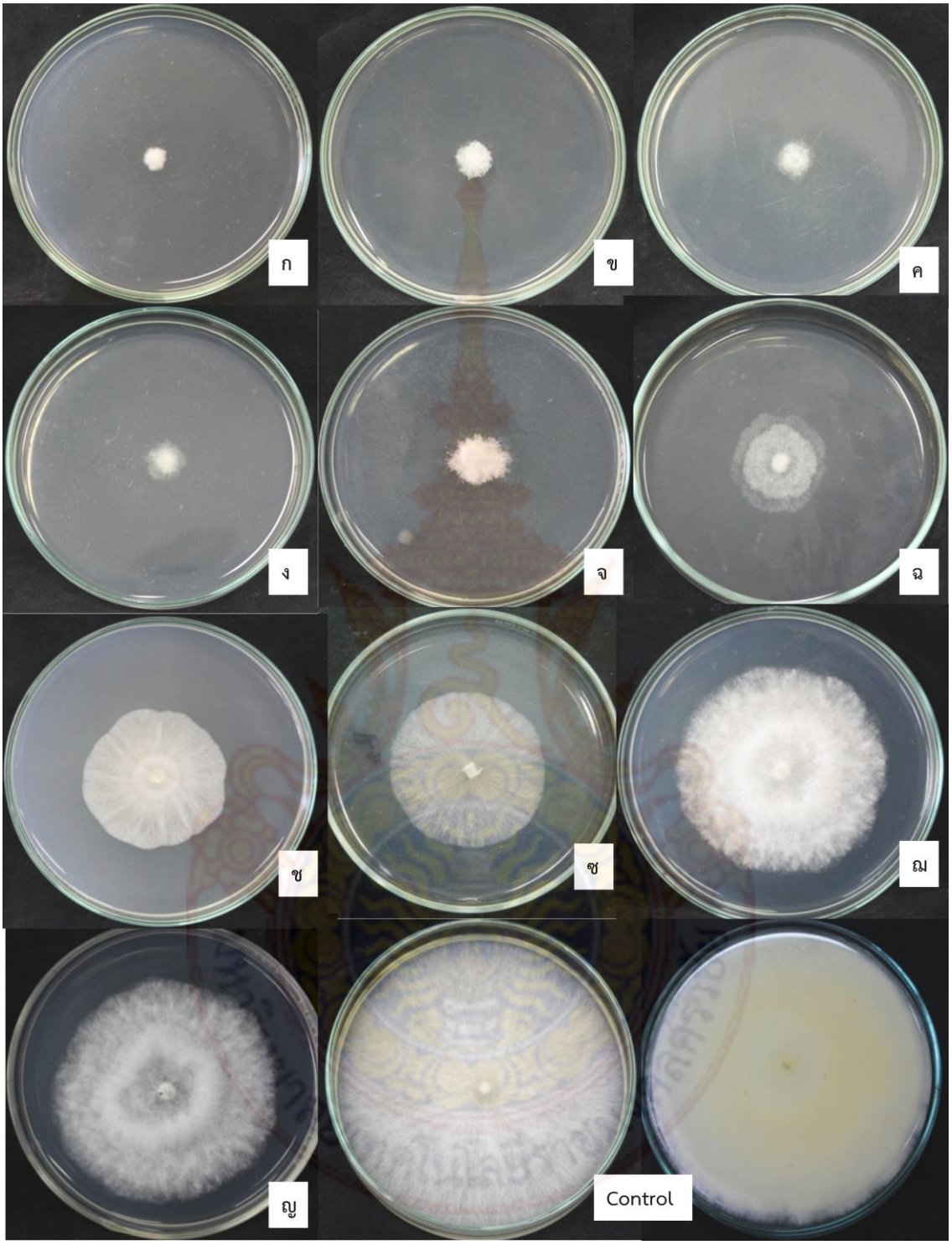
กรรมวิธี	อัตราความเข้มข้น 200มก./ลิตร	อัตราความเข้มข้น 400มก./ลิตร	อัตราความเข้มข้น 600มก./ลิตร
Prochloraz	86.89[a1/]	89.11[a1/]	94.67[a1/]
Kresaxin-methyl	85.22[a]	87.44[a]	93.00[a]
Chlorothalonil	73.00[b]	75.22[b]	80.78[b]
Difenoconozole+propiconazole	64.11[c]	66.33[c]	71.89[c]
Control	-	-	-
F-test	**	**	**
CV. (%)	1.28	1.24	1.16

** = มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$)

[1/] = ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรร่วมกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT.



ภาพที่ 7 สารprochloraz มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง เท่ากับ 96.23 เปอร์เซ็นต์ (ก) สาร kresaxin-methyl (ข), chlorothalonil(ค), difenoconozole (ง),tridermorph(จ), metalaxyl(ฉ), carbendazim(ช), streptomycin (ซ)และthianosan(ฌ)



ภาพที่ 8 สาร azoxystrobine(ฎ), cyproconazole(ฐ), myclobutanil(ฑ), dimethomorph+ propiconazole (ฒ), copper-oxychloride(ณ), fosetyl – aluminium(ด) และ hexoconazale(ต)

5. การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคโคนเน่าของปาล์มน้ำมันที่เกิดจากเชื้อ *Ganoderma* sp.ในสภาพห้องปฏิบัติการ

5.1 จากการแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากตัวอย่างดิน โดยวิธี soil surface dilution plate พบแบคทีเรียที่มีแนวโน้มว่าจะเป็นปฏิปักษ์ จำนวน 50ไอโซเลต (ตารางที่ 8)

5.2 จากการแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากตัวอย่างดอกเห็ด โดยวิธี sporedilution plate พบแบคทีเรียที่มีแนวโน้มว่าจะเป็นปฏิปักษ์ จำนวน 25 ไอโซเลต (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 จำนวนแบคทีเรียที่มีแนวโน้มว่าจะเป็นปฏิปักษ์ที่แยกจากดินและดอกเห็ด

ลำดับที่	จังหวัด	ดิน	ดอกเห็ด	รวม
1	นครศรีธรรมราช	50	-	50
2	สุราษฎร์ธานี	-	25	25
3	กระบี่	-	-	-
	รวม	50	25	75

จากการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ganoderma* sp. ด้วยวิธี dual culture technique พบแบคทีเรียที่มีแนวโน้มว่าเป็นปฏิปักษ์ จำนวน 25 ไอโซเลต จาก 75 ไอโซเลต คือ B001, B002, B003, B017, B005, B009, B006, B020, B012, B004, B008, B013, B021, BN, B007, B016, B015, B014, B022, B010, B018, B019, B011, T001 และ T002 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเท่ากับ 77.35, 75.13, 65.93, 43.20, 33.57, 30.64, 26.38, 20.96, 20.96, 20.63, 20.54, 19.80, 19.80, 17.50, 16.51, 15.87, 11.40, 10.66, 10.66, 8.81, 8.81, 0.76, 0.76, 0.00 และ 0.00เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 9; ภาพที่9)

ตารางที่ 9 การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ganoderma* sp.

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง	ประสิทธิภาพ
B001	77.35[a1/]	สูง
B002	75.13[a]	สูง
B003	65.93[ab]	สูง
B004	20.63[cde]	น้อย
BN	17.50[cde]	น้อย
T001	0.00[e]	น้อย
T002	0.00[e]	น้อย
B005	33.57[cd]	ปานกลาง
B006	26.38[cde]	น้อย
B007	16.51[cde]	น้อย
B008	20.54[cde]	น้อย
B009	30.64[cd]	ปานกลาง
B010	8.81[de]	น้อย
B011	0.76[e]	น้อย
B012	20.96[cde]	น้อย
B013	19.80[cde]	น้อย
B014	10.66[de]	น้อย
B015	11.40de	น้อย
B016	15.87[cde]	น้อย
B017	43.20[bc]	ปานกลาง
B018	8.81[de]	น้อย
B019	0.76[e]	น้อย
B020	20.96[cde]	น้อย
B021	19.80[cde]	น้อย
B022	10.66[de]	น้อย
F-test	**	
CV. (%)	47.37	

** = มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$)

[1/] = ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรร่วมกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT

5.3 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ganoderma* sp. พบว่า แบคทีเรียที่มีแนวโน้มว่ามีประสิทธิภาพเป็นปฏิปักษ์ จำนวน 3 ไอโซเลต จาก 25 ไอโซเลต คือ B001, B002 และ B003 โดยมีการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ganoderma* sp. จำนวน 3 ไอโซเลต คือ G001, G002 และ G003 ดังนี้

5.3.1 ปลูกเชื้อ*Ganoderma* sp. สายพันธุ์ G001 ก่อนแบคทีเรียปฏิปักษ์ นาน 1 วัน บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วันพบว่า แบคทีเรียปฏิปักษ์ สายพันธุ์ B001 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเท่ากับ 40.00 เปอร์เซ็นต์รองลงมา คือ แบคทีเรียปฏิปักษ์ สายพันธุ์ B002 และ B003 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเท่ากับ 36.29 และ 34.81เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 8)เมื่อปลูกเชื้อ*Ganoderma* sp. สายพันธุ์ G002 ก่อนแบคทีเรียปฏิปักษ์ นาน 1 วัน บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วันพบว่า แบคทีเรียปฏิปักษ์ สายพันธุ์ B001 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเท่ากับ35.56เปอร์เซ็นต์รองลงมา คือ แบคทีเรียปฏิปักษ์ สายพันธุ์ B002 และ B003 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเท่ากับ34.81และ 33.33เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 8)เมื่อปลูกเชื้อ*Ganoderma* sp. สายพันธุ์ G003 ก่อนแบคทีเรียปฏิปักษ์ นาน 1 วัน บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วันพบว่า แบคทีเรียปฏิปักษ์ สายพันธุ์ B001 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเท่ากับ 37.04 เปอร์เซ็นต์รองลงมา คือ แบคทีเรียปฏิปักษ์ สายพันธุ์ B002 และ B003 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเท่ากับ 35.56 และ 34.07 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ganoderma* sp. เมื่อปลูกเชื้อสายพันธุ์ G001,G002 และ G003 ก่อนแบคทีเรียปฏิปักษ์นาน 1 วัน บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วันในสภาพห้องปฏิบัติการ

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง		
	เชื้อสายพันธุ์ G001	เชื้อสายพันธุ์ G002	เชื้อสายพันธุ์ G003
แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B001	40.00	35.56	37.04
แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B002	36.29	34.81	35.56
แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B003	34.81	33.33	34.07
Control	-	-	-
F-test	ns	ns	ns
CV. (%)	10.77	5.68	1.16

ns= ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p \geq 0.05$)

5.3.2 ปลูกเชื้อ*Ganoderma* sp. สายพันธุ์ G001 พร้อมกับแบคทีเรียปฏิปักษ์ บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วันพบว่า แบคทีเรียปฏิปักษ์ สายพันธุ์ B001 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเท่ากับ 57.04เปอร์เซ็นต์รองลงมา คือ แบคทีเรียปฏิปักษ์ สายพันธุ์ B002 และ B003 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเท่ากับ54.82และ 52.59เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 9)เมื่อปลูกเชื้อ*Ganoderma* sp. สายพันธุ์ G002 พร้อมกับแบคทีเรียปฏิปักษ์ บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วันพบว่า แบคทีเรียปฏิปักษ์ สายพันธุ์ B001 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเท่ากับ59.26เปอร์เซ็นต์รองลงมา คือ แบคทีเรียปฏิปักษ์ สายพันธุ์ B002 และ B003 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเท่ากับ52.59และ 50.37เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 9)เมื่อปลูกเชื้อ*Ganoderma* sp. สายพันธุ์ G003 พร้อมกับแบคทีเรียปฏิปักษ์ บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วันพบว่า แบคทีเรียปฏิปักษ์ สายพันธุ์ B001 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเท่ากับ

51.11 เปอร์เซ็นต์รองลงมา คือ แบคทีเรียปฏิปักษ์ สายพันธุ์ B002 และ B003 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเท่ากับ 50.37 และ 48.15 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 11 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ganoderma* sp. เมื่อปลูกเชื้อสายพันธุ์ G001,G002 และ G003 พร้อมกับแบคทีเรียปฏิปักษ์ บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วันในสภาพห้องปฏิบัติการ

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง		
	เชื้อสายพันธุ์ G001	เชื้อสายพันธุ์ G002	เชื้อสายพันธุ์ G003
แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B001	57.04	59.26	51.11
แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B002	54.81	52.59	50.37
แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B003	52.59	50.37	48.15
Control	-	-	-
F-test	ns	ns	ns
CV. (%)	13.03	13.02	13.53

ns= ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p \geq 0.05$)

5.3.3 ปลูกเชื้อ*Ganoderma* sp. สายพันธุ์ G001 หลังแบคทีเรียปฏิปักษ์ นาน 2 วัน บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วันพบว่า แบคทีเรียปฏิปักษ์ สายพันธุ์ B001 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเท่ากับ88.15เปอร์เซ็นต์รองลงมา คือ แบคทีเรียปฏิปักษ์ สายพันธุ์ B002 และ B003 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเท่ากับ79.26 และ 72.59 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 10)เมื่อปลูกเชื้อ*Ganoderma* sp. สายพันธุ์ G002หลังแบคทีเรียปฏิปักษ์ นาน 2 วัน บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วันพบว่า แบคทีเรียปฏิปักษ์ สายพันธุ์ B001 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเท่ากับ87.41เปอร์เซ็นต์รองลงมา คือ แบคทีเรียปฏิปักษ์ สายพันธุ์ B002 และ B003 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเท่ากับ77.04และ 70.37เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 10)เมื่อปลูกเชื้อ*Ganoderma* sp. สายพันธุ์ G003หลังแบคทีเรียปฏิปักษ์ นาน 2 วัน บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วันพบว่า แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B001 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเท่ากับ85.19เปอร์เซ็นต์รองลงมา คือ แบคทีเรียปฏิปักษ์ สายพันธุ์ B002 และ B003 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเท่ากับ74.81และ 68.15เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 12)

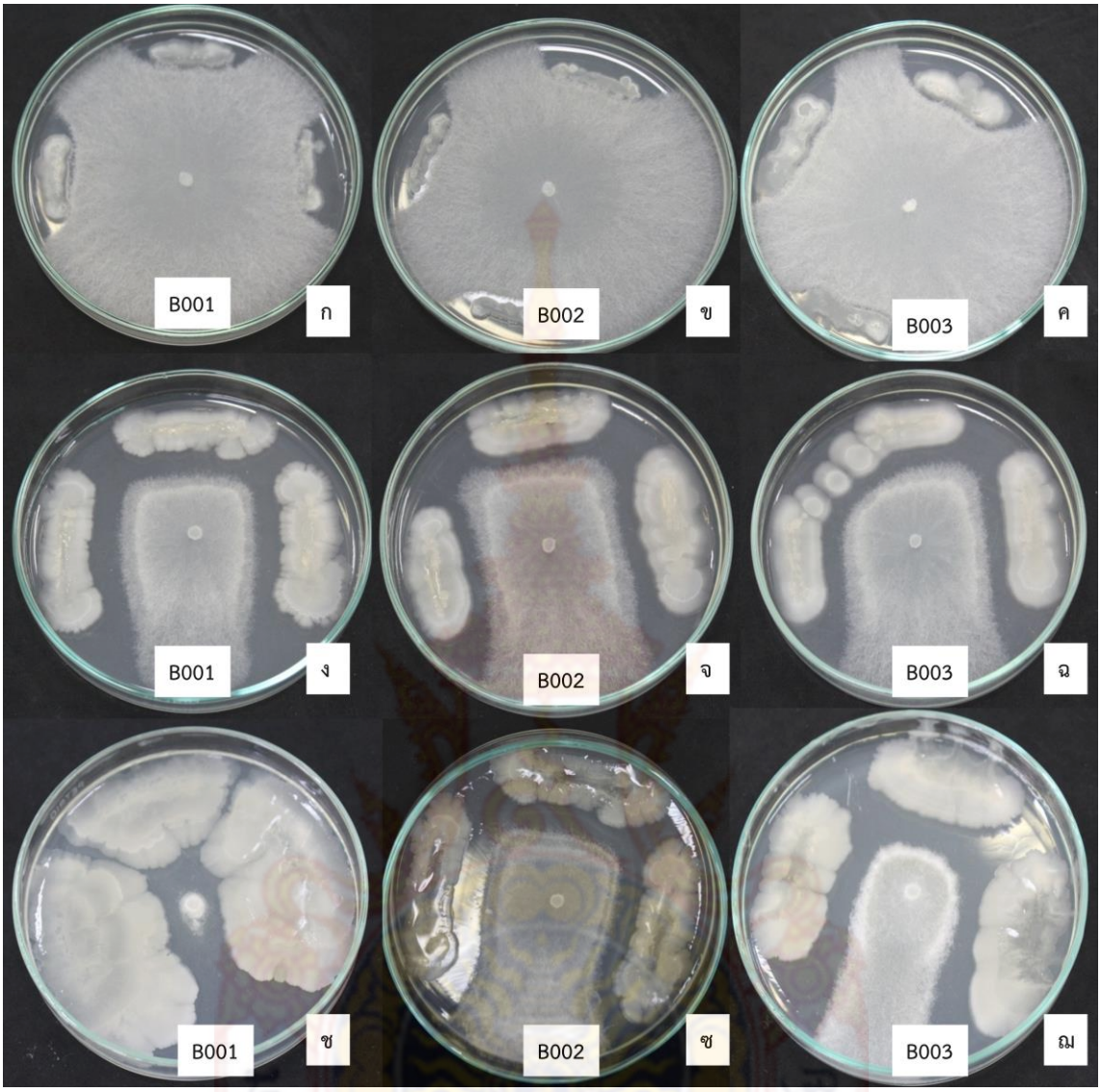
ตารางที่ 12 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ganoderma* sp. เมื่อปลูกเชื้อสายพันธุ์ G001,G002 และ G003 หลังแบคทีเรียปฏิปักษ์ นาน 2 วัน บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วันในสภาพห้องปฏิบัติการ

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง		
	เชื้อสายพันธุ์ G001	เชื้อสายพันธุ์ G002	เชื้อสายพันธุ์ G003
แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B001	88.15[a1/]	87.41[a1/]	85.19[a1/]
แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B002	79.26[ab]	77.04[b]	74.81[b]
แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B003	72.59[b]	70.37[b]	68.15[b]
Control	-	-	-
F-test	**	**	**
CV. (%)	4.54	4.34	4.47

** = มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$)

[1/] = ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรร่วมกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย



ภาพที่ 9 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ganoderma* sp. เมื่อปลูกเชื้อสายพันธุ์ G001ก่อนแบคทีเรียปฏิปักษ์นาน 1 วัน (ก, ข และ ค) เมื่อปลูกเชื้อสายพันธุ์ G001 พร้อมกับแบคทีเรียปฏิปักษ์ (ง, จ และ ฉ) และเมื่อปลูกเชื้อสายพันธุ์ G001 หลังแบคทีเรียปฏิปักษ์ นาน 2 วัน(ช, ซ และ ฌ) บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วันในสภาพห้องปฏิบัติการ

6. คัดเลือกเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคโคนเน่าของปาล์มน้ำมันในสภาพห้องปฏิบัติการ

6.1 จากการแยกเชื้อราปฏิปักษ์จากตัวอย่างดิน โดยวิธี soil surface dilution plate พบแบคทีเรียที่มีแนวโน้มว่าจะเป็นปฏิปักษ์ จำนวน 20 ไอโซเลต (ตารางที่ 13)

6.2 จากการแยกเชื้อราปฏิปักษ์จากตัวอย่างดอกเห็ด โดยวิธี sporedilution plate พบแบคทีเรียที่มีแนวโน้มว่าจะเป็นปฏิปักษ์ จำนวน 20 ไอโซเลต (ตารางที่ 13)

ตารางที่ 13 จำนวนเชื้อราที่มีแนวโน้มว่าจะเป็นปฏิปักษ์ที่แยกจากดินและดอกเห็ด

ลำดับที่	จังหวัด	ดิน	ดอกเห็ด	รวม
1	นครศรีธรรมราช	20	-	20
2	สุราษฎร์ธานี	-	20	20
3	กระบี่	-	-	-
	รวม	20	20	40

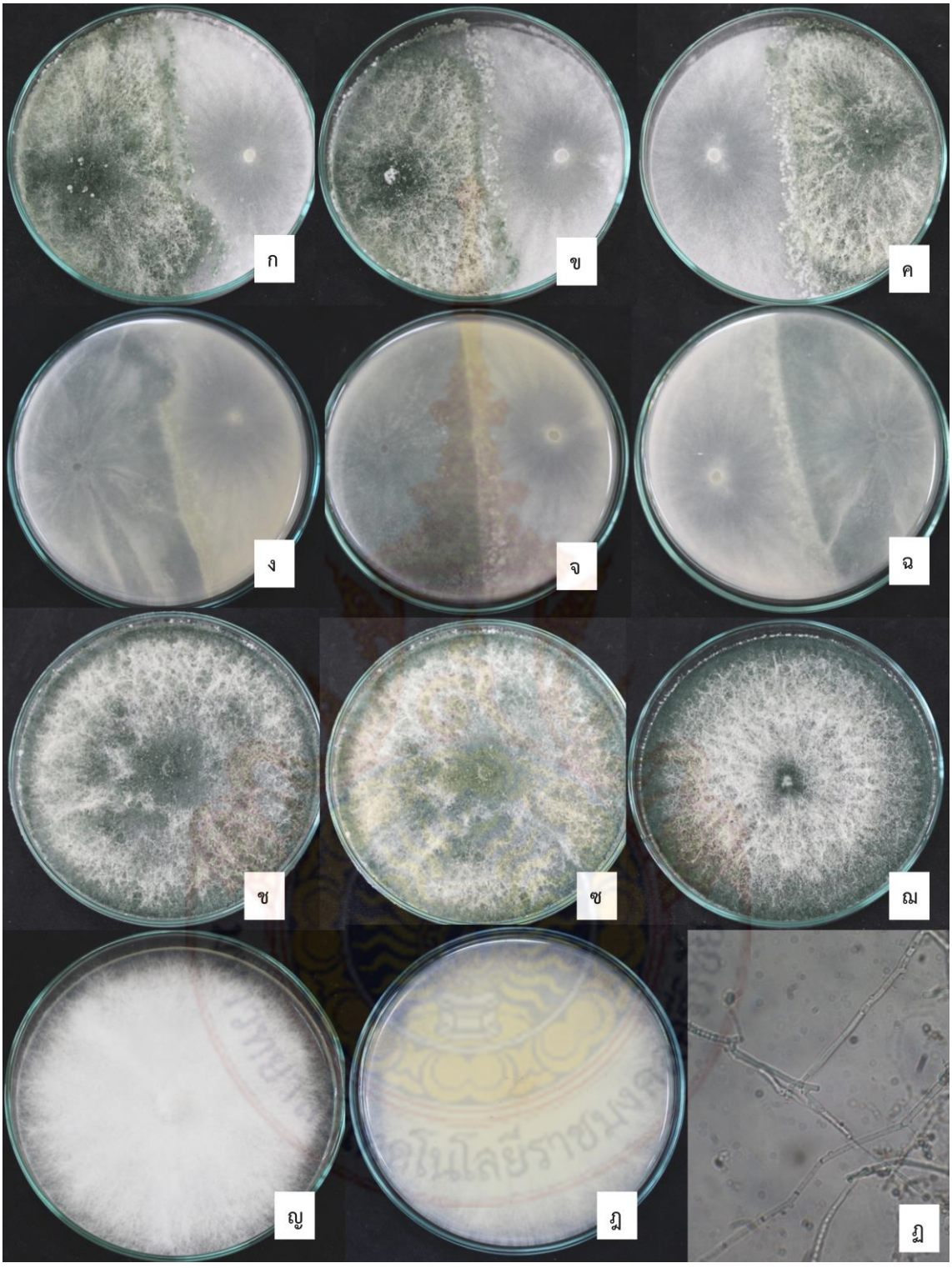
จากการคัดเลือกเชื้อราที่มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ganoderma* sp.ด้วยวิธี dual culture technique พบเชื้อราที่มีแนวโน้มว่าเป็นปฏิปักษ์ จำนวน 3 ไอโซเลต จาก 40 ไอโซเลต คือ T003, T002 และ T001 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเท่ากับ 51.67, 45.56 และ 36.11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 14; ภาพที่10)

ตารางที่ 14 การคัดเลือกเชื้อราที่มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ganoderma* sp.

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง	ประสิทธิภาพ
T001	36.11[b1/]	น้อย
T002	45.56[ab]	ปานกลาง
T003	51.67[a]	ปานกลาง
Control	-	-
F-test	**	
CV. (%)	16.84	

** = มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$)

[1/] = ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรร่วมกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT.



ภาพที่ 10 การคัดเลือกเชื้อราที่มีแนวโน้มว่าเป็นปฏิปักษ์ คือ T003 (ก และ ง), T002 (ข และ จ)และ T001 (ค และ ฉ)ชุดควบคุม T003 (ช), T002 (ซ), T001 (ฌ) และชุดควบคุมเชื้อ *Ganoderma* sp. (ญ และ ฎ) ลักษณะเส้นใยที่ส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (ฎ)

7. ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการควบคุมโรคโคนเน่าของปาล์มน้ำมันในสภาพห้องปฏิบัติการ

จากกการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากพืช ความเข้มข้นสารสกัดหยาบ 25 และ 50 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร (5 และ 10 มิลลิลิตร/200 มิลลิลิตร) ได้แก่ กระเทียม ใบพวงชมพู ใบมะละกอ หัวไพล ยางจากผลมะละกอ ขมิ้น และขิง อัตรา 500 กรัม ต่อน้ำ 500 มิลลิลิตร พบว่า สารสกัดหยาบจากใบมะละกอที่ความเข้มข้นสารสกัดหยาบ 25 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงที่สุด คือ 41.23 เปอร์เซ็นต์รองลงมาคือ สารสกัดจากใบพวงชมพู ขมิ้น กระเทียม หัวไพล ยางจากผลมะละกอ และขิง มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง เท่ากับ24.45 9.63 0.00 0.00 0.00และ 0.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 15 และภาพที่ 11)

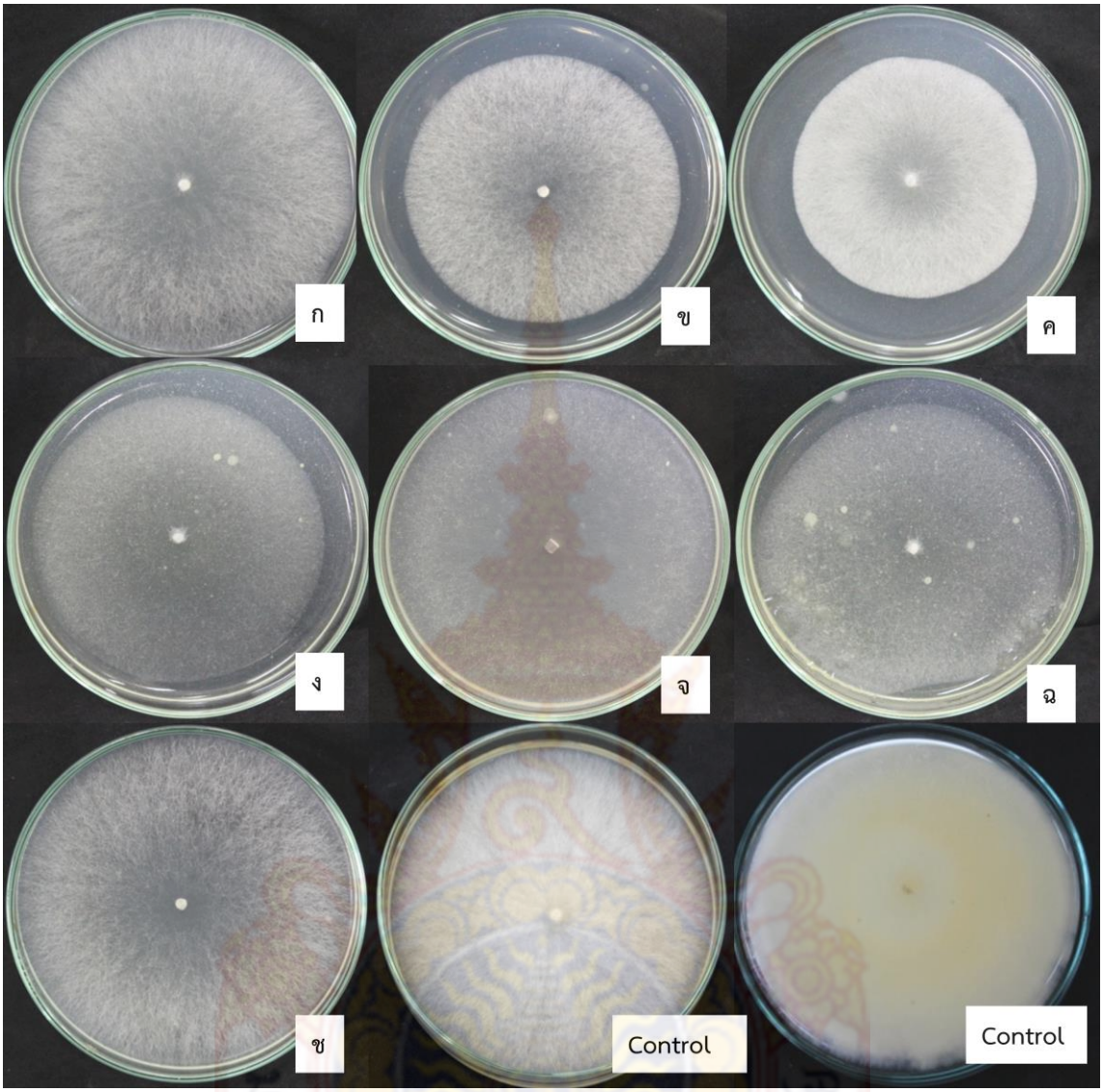
สารสกัดหยาบจากใบมะละกอที่ความเข้มข้นสารสกัดหยาบ 50 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงที่สุด คือ 45.33 เปอร์เซ็นต์รองลงมาคือ สารสกัดจากใบพวงชมพู ขมิ้น กระเทียม หัวไพล ยางจากผลมะละกอ และขิง มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง เท่ากับ26.67 10.74 0.00 0.00และ 0.00 0.00เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 15 และภาพที่ 11)

ตารางที่ 15 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากพืชความเข้มข้นสารสกัดหยาบ 25 และ 50 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร ในการควบคุมโรคโคนเน่าของปาล์มน้ำมัน บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วัน ในสภาพห้องปฏิบัติการ

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง	
	ปริมาตร 5ml	ปริมาตร 10ml
สารสกัดหยาบจากกระเทียม	0.00$^{d1/}$	0.00$^{d1/}$
สารสกัดหยาบจากใบพวงชมพู	24.44^{b}	26.67^{b}
สารสกัดหยาบจากใบมะละกอ	41.26^{a}	45.33^{a}
สารสกัดหยาบจากหัวไพล	0.00^{d}	0.00^{d}
สารสกัดจากยางของผลมะละกอ	0.00^{d}	0.00^{d}
สารสกัดหยาบจากขมิ้น	9.63^{c}	10.74^{c}
สารสกัดหยาบจากขิง	0.00^{d}	0.00^{d}
Control	-	-
F-test	**	**
CV. (%)	30.35	23.18

** = มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$)

$^{1/}$ = ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรร่วมกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT.



ภาพที่ 11การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากใบมะละกอที่ความเข้มข้นสารสกัดหยาบ 50 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร (5 และ 10 มิลลิลิตร/200 มิลลิลิตร) (ค)สารสกัดจากใบพวงชมพู (ข) ขมิ้น (ง) กระเทียม (ก) หัวไพล (จ) ยางจากผลมะละกอ (ฉ) และขิง (ช)

บทที่ 5
สรุปผล

โรคลำต้นเน่า (basal stem rot) ซึ่งเกิดจากเชื้อสาเหตุ *Ganodermaboninense*ทำให้ผลผลิตลดลงหรือไม่ให้ผลผลิตเลย และเมื่อเป็นโรครุนแรงปาล์มน้ำมันก็จะยืนต้นตาย การเตรียมพื้นที่ให้สะอาดเพื่อป้องกันกำจัดเชื้อเห็ดที่ติดอยู่กับซากพืช และพื้นที่ควรจัดการให้มีการระบายน้ำให้ดี หากพบต้นที่เป็นโรคให้กำจัดต้นที่เป็นโรคออกจากแปลง ขุดร่องหรือคูรอบบริเวณต้นปาล์มที่เป็นโรคเพื่อป้องกันการสัมผัสของราก

จากการออกไปสำรวจโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันที่เกิดจากเชื้อรา *Ganoderma* sp. ใน 3 จังหวัด คือ จังหวัดนครศรีธรรมราช สุราษฎร์ธานี และกระบี่ จำนวน 10 อำเภอ พบต้นที่เป็นโรคลำต้นเน่าปาล์มน้ำมันจำนวน 1 แปลง ในพื้นที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี โดยการตรวจสอบต้นปาล์มน้ำมันที่เป็นโรค เก็บตัวอย่างดินและดอกเห็ดมาแยกเชื้อ เพื่อยืนยันการเกิดโรค พบว่า มีแปลงปาล์มน้ำมันที่เกิดโรคในแปลงปลูกปาล์มน้ำมันเก่า 60 แปลง (66.67 เปอร์เซ็นต์) แปลงปาล์มน้ำมันใหม่ที่ไม่เคยปลูกปาล์มน้ำมันมาก่อน 15 แปลง (33.33 เปอร์เซ็นต์)

จากการแยกเชื้อรา *Ganoderma* sp. จำนวน 3 ไอโซเลต คือ G001, G002 และ G003 ที่สามารถแยกได้เชื้อบริสุทธิ์ จาก 10 ไอโซเลต ซึ่งมีลักษณะของเส้นใยเชื้อราค่อนข้างหยาบ สีขาวฟู เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน และเริ่มเปลี่ยนสีเป็นสีเหลืองซีดและเส้นใยหนาและเหนียวขึ้น เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 28-32 องศาเซลเซียสเมื่อนำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเส้นใยไม่มี clamp connection

จากการศึกษาการทำหัวเชื้อเห็ด *Ganoderma* sp.โดยใช้วัสดุเพาะ 4 สูตร หลังจากใส่เชื้อเห็ดลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (petri dish) และบ่มเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง พบว่าการใช้เมล็ดข้าวเปลือก 100 เปอร์เซ็นต์ ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเห็ด *Ganoderma* sp. เจริญบนวัสดุเพาะเชื้อที่อายุ 7 วัน มีค่าเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 6.52 เซนติเมตร เมื่อวัสดุเพาะเชื้อที่อายุ 10 วัน พบว่าการใช้เมล็ดข้าวเปลือก 100 เปอร์เซ็นต์ ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีมากที่สุด เท่ากับ 8.22 เซนติเมตร ลักษณะการเจริญของเส้นใยวัสดุเพาะเชื้อที่อายุ 7 และ 10 วัน พบว่าการใช้เมล็ดข้าวฟ่าง 100 เปอร์เซ็นต์ เป็นสีขาวฟู ลักษณะเส้นใยมีความหนาแน่นมาก

การเตรียม inoculum ของเชื้อ *Ganoderma* sp. จากการบ่มหัวเชื้อในเมล็ดข้าวฟ่าง โดยนำมาผลิตเป็นก้อนเชื้อเห็ดแบบเห็ดในถุงพลาสติก ถุงละ 500 กรัม บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง นาน 3 เดือน และนำมาทดสอบเบื้องต้นโดยใช้ปาล์มน้ำมันอายุ 8 เดือน และอายุ 12 เดือน หลังการปลูกเชื้อ 7 เดือน ผลปรากฏว่า การทดสอบการพิสูจน์โรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันที่อายุ 8 เดือน และ 12 เดือน พบว่ากรรมวิธีที่ 4 ต้นกล้าปาล์มน้ำมันทำแผลที่ราก+เชื้อสาเหตุ *Ganoderma* sp.+คลุมด้วยหญ้าแห้ง มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงสุดหลังปลูกเชื้อ 4 เดือน พบว่ายังไม่ปรากฏอาการผิดปกติของต้นปาล์มน้ำมัน เมื่อหลังการปลูกเชื้อเดือนที่ 5พบลักษณะอาการใบปาล์มน้ำมันมีลักษณะใบล่างไหม้จากปลายใบเมื่อหลังปลูกเชื้อ 6 เดือน และ 7 เดือน พบพบอาการใบเหลืองหรืออาการใบด่างเป็นปื้นปนทางใบล่างด้านใดด้านหนึ่งของลำต้น และพบเส้นใยสีขาวบริเวณลำต้น ส่วนในต้นปาล์มน้ำมันที่อายุ 12 เดือนในการพิสูจน์โรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันหลังการปลูกเชื้อ 6 เดือน และ 7 เดือน พบใบเหลืองทั้งต้นลำต้น

การเจริญเติบโตหยุดชะงัก ใบยอดไม่คลี่ พบเส้นใยสีน้ำตาลเข้มปกคลุมรอบๆ โคนต้น เริ่มจากการสร้างเป็นกลุ่มโครงสร้างกลมสีขาว และเป็นดอกเห็ดอ่อนมีลักษณะเป็นสีขาวที่ขอบนอกดอกเห็ด ดอกขนาดเล็ก

จากการคัดเลือกสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อ *Ganoderma* sp. พบว่า สาร prochlorazมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยมากที่สุด เท่ากับ 96.23 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ สาร kresoxim-methyl, chlorothalonil, difenoconozole, tridermorph, propiconazole, metalaxyl, carbendazim, streptomycin, thianosan, azoxystrobine, cyproconazole,myclobutanil, dimethomorph, copper – oxychloride,fosetyl – aluminium และ hexoconazaleมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย เท่ากับ 88.88 86.44 81.11 70.56 67.04 63.15 62.59 60.93 58.89 58.89 53.33 50.89 50.00 50.00 50.00 และ 50.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมัน พบว่า การแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากตัวอย่างดิน โดยวิธี soilsurfacedilutionplate พบแบคทีเรียปฏิปักษ์ จำนวน 50 ไอโซเลท และการแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากตัวอย่างดอกเห็ด โดยวิธี sporedilutionplate พบแบคทีเรียปฏิปักษ์ จำนวน 25 ไอโซเลท รวมทั้งหมด 75 ไอโซเลท ผลการทดลองพบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ganoderma*sp. จำนวน 25 ไอโซเลท และจากการคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ จากจำนวน 25 พบว่า แบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีแนวโน้มว่ามีประสิทธิภาพเป็นปฏิปักษ์ จำนวน 3 ไอโซเลท คือ B001B002 และ B003

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญของ เชื้อ *Ganoderma*sp.เมื่อปลูกเชื้อ G001 ก่อน 1 วัน และปลูกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ พบว่า แบคทีเรียปฏิปักษ์ สายพันธุ์ B001 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเท่ากับ 40.00 เปอร์เซ็นต์ เมื่อปลูกเชื้อสายพันธุ์ G001 พร้อมกับแบคทีเรียปฏิปักษ์ พบว่า แบคทีเรียปฏิปักษ์ สายพันธุ์ B001 มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง เท่ากับ 57.04 เปอร์เซ็นต์และเมื่อปลูกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ก่อน 2 วัน และปลูกเชื้อG001 พบว่า แบคทีเรียปฏิปักษ์ สายพันธุ์ B001 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเท่ากับ 88.15 เปอร์เซ็นต์ บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วัน ในสภาพห้องปฏิบัติการจากการทดสอบเชื้อปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ganoderma*sp. พบว่า ปลูกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ก่อน 2 วัน และปลูกเชื้อ *Ganoderma*sp. มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเชื้อ *Ganodema*sp. ได้ดีที่สุด รองลงมา คือ ปลูกเชื้อ *Ganoderma*sp. พร้อมกับแบคทีเรียปฏิปักษ์ และปลูกเชื้อ *Ganoderma*sp. ก่อน 1 วัน และปลูกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

จากการแยกเชื้อราปฏิปักษ์จากตัวอย่างดิน โดยวิธี soil surface dilution plate พบแบคทีเรียที่มีแนวโน้มว่าจะเป็นปฏิปักษ์ จำนวน 20 ไอโซเลต และจากตัวอย่างดอกเห็ด โดยวิธี sporedilution plate พบแบคทีเรียที่มีแนวโน้มว่าจะเป็นปฏิปักษ์ จำนวน 20 ไอโซเลต รวมทั้งหมด 40 ไอโซเลท

จากการคัดเลือกเชื้อราที่มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ganoderma* sp.ด้วยวิธี dual culture technique พบเชื้อราที่มีแนวโน้มว่าเป็นปฏิปักษ์ จำนวน 3 ไอโซเลต จาก 40 ไอโซเลต คือ T003, T002 และ T001 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเท่ากับ 51.67,45.56 และ 36.11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งเชื้อ *Ganoderma* sp. ที่ความเข้มข้นสารสกัดหยาบ 25 และ 50 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร (5 และ 10 มิลลิลิตร/200 มิลลิลิตร) พบว่าสารสกัดหยาบจากใบกะละกอที่ความเข้มข้นสารสกัดหยาบ 50 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้งมากที่สุด เท่ากับ 43.33 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นสารสกัดหยาบ 25 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2558. ปาล์มน้ำมัน. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://it.doa.go.th/vichakan/news.php?newsid=12 (10 ตุลาคม 2558).

ธารทิพย ภาสบุตร. 2553. การใช้สารไคโตซานในการป้องกันกำจัดโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมัน. กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://it.doa.go.th/refs/search. (20 ตุลาคม 2558).

ประเสริฐ ศรีไพโรจน์. 2528. เทคนิคทางการแพทย์. ภาควิชาเคมีคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. มหาสารคาม.

ประไพพิศ สุวิทยชยานนท. 2552. ผลของสารสกัดจากกานพลู ขมิ้น ชา และพริกในการควบคุมโรคของพืชตระกูลกะหล่ำ. วิทยานิพนธ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

วสันณ์ เพชรรัตน์ และนพวรรณ นิลสุวรรณ. 2551. การประเมินเชื้อรา *Chaetomium* spp.และ *Trichoderma* spp. เพื่อใช้ควบคุมเชื้อ *Ganoderma boninense* สาเหตุโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมัน. ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ภาคใต้ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.

วสันณ์ เพชรรัตน์, ไสว บัวแก้ว และเสมอใจ ชื่นจิตต์. 2554. การประเมินเชื้อรา *Trichoderma* spp. เพื่อใช้ควบคุมเชื้อ *Ganoderma* spp. สาเหตุโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมัน. ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ภาคใต้ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.

วิสันต์ สินธุนนท์. 2556. โรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมัน. บริษัท สินธุเศรษฐ์ จำกัด. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.sintusatepalmoil.com/index. (20 ตุลาคม 2558).

วีระศักดิ์ ฤทธิรณ. 2553. โรคปาล์มน้ำมัน. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.mueang.suratthani.doae.go.th/kmveerasak_10453.doc. (30 ตุลาคม 2558).

ศานิต สวัสดิกาญจน และ สิริวรรณ สมิทธิอาภรณ์. ผลของสารสกัดหยาบจากพืชวงศขิงบางชนิดตอการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Alternaria* sp. เชื้อสาเหตุโรคเมล็ดดางของขาว. คณะวิทยาศาสตรและเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา. ว.วิทยาศาสตร์เกษตร. ปีที่ 42 ฉบับที่ 1 (พิเศษ) มกราคม-เมษายน. 2554.

ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช, ศรีสุข พูนผลกุล, สุรพล ยินอัศวพรรณ และปรีชา สุรินทร์. 2536. ลำต้นเน่าโรคสำคัญของปาล์มน้ำมัน *ใน* เอกสารเผยแพร่วิชาการโรคพืชและจุลชีววิทยาประจำปี 2536. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 31 – 47.

ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช, แสงมณี ชิงดวง และศุภชัย ลีจรจำเนียร. 2539. การทดสอบอาหารเลี้ยงเชื้อคัดเลือกสารป้องกันกำจัดโรคพืชต่อเชื้อเห็ด *Ganoderma* spp. ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมัน. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://lib.doa.go.th/elib/cgi-bin/opacexe.exe. (20 ตุลาคม 2558).

ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช, แสงมณี ชิงดวง และศุภชัย ลีจีรจำเนียร. 2540. โรครากเน่าของมะพร้าวและหมาก. *ใน* วารสารโรคพืช ปีที่ 12 เล่มที่ 1 มกราคม - มิถุนายน 2540. หน้า 34 - 39.

ศูนย์วิจัยปาล์มน้ำมัน. 2555. โรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมัน. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.doa.go.th/palm/linkTechnical/basal%20stem%20rot.html. (30 ตุลาคม 2558).

สมนึก เหมมณี. 2558. พบโรคลำต้นเน่าปาล์มน้ำมัน เกษตรจังหวัดกระบี่ แจ้งเตือนเกษตรกรเฝ้าระวังพร้อมแนะ 3 วิธีป้องกัน. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.innnews.co.th. (8 มิถุนายน 2558)

Cooper, R M, J Flood, and R W Rees, 2011. *Ganoderma boninense* in Oil Palm Plantations: Current Thinking on Epidemiology, Resistance and Pathology. The Planter, Kuala Lumpur, 87 (1024): 515-526.

Noengpa, K., Prayoonrat, P., Chingduang S. Efficacy of some herbs to inhibit the growth of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Fusarium* sp. Chonburi : Faculty of Science, Burapha University, 2004.

Turner. P.D. 1981. Oil Palm Diseases and Disorders. Oxford, United Kingdom. Oxford University Press, 280 pp.