

การควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของพริกไทยที่เกิดจากเชื้อรา

Phytophthora palmivora Bult. โดยชีววิธีแบบผสมผสาน

INTEGRATED BIOLOGICAL CONTROL OF BLACK PEPPER ROOT  
AND BASAL STEM ROT CAUSED BY Phytophthora palmivora Bult.



พินิต สดสะอาด  
PINIT SODSA-ART



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2542

ISBN 974-622-361-5

ชพ...  
ชทะเบชน... 32885  
เดือน, ปี 14 ค.ย. 2542

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การควบคุม โรครากเน่าและโคนเน่าของพริกไทยที่เกิดจากเชื้อรา

Phytophthora palmivora Bult. โดยชีววิธีแบบผสมผสาน

INTEGRATED BIOLOGICAL CONTROL OF BLACK PEPPER ROOT  
AND BASAL STEM ROT CAUSED BY Phytophthora palmivora Bult.



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2542

ISBN 974-622-361-5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**INTEGRATED BIOLOGICAL CONTROL OF BLACK PEPPER ROOT  
AND BASAL STEM ROT CAUSED BY Phytophthora palmivora Bult.**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF  
MASTER OF SCIENCE IN PLANT PEST MANAGEMENT TECHNOLOGY  
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

**1999**

**ISBN 974-622-361-5**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**COPYRIGHT 1999.**

**SCHOOL OF GRADUATE STUDIES**

**KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของพริกไทยที่เกิดจากเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> Bult. โดยชีววิธีแบบผสมผสาน
นักศึกษา	นายพินิต สดสะอาด
รหัสประจำตัว	38065306
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช
พ.ศ.	2542
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	รศ. ดร. เกษม สร้อยทอง
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม	ผศ.ดร. ถนมนันต์ เจนอักษร ผศ. ดร. วิรัตน์ ภูวิวัฒน์

### บทคัดย่อ

จากการสำรวจการแพร่ระบาดของโรครากเน่าโคนเน่าพริกไทยในพื้นที่จังหวัด จันทบุรี จำนวน 138.76 ไร่ เกษตรกร 39 ราย พบว่ามีการปรากฏของโรค (disease prevalence) 64 เปอร์เซ็นต์ พริกไทยเกิดโรค (disease incidence) เฉลี่ย 16.71 เปอร์เซ็นต์ และระดับการเกิดโรค เฉลี่ย 2.09 กล่าวคือ มีอาการใบเหลืองและมีจุดแผลเล็กสีดำประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์ ของทรงพุ่ม จากการแยกเชื้อราสาเหตุทำให้เกิดโรคจากส่วนของรากเน่า โคนเน่า และดินบริเวณรอบราก พบเชื้อรา *Phytophthora palmivora* MF3 โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา และเทคนิคทางชีววิทยา ระดับ โมเลกุล (SDS-PAGE ;Polyacrylamide gel electrophoresis) เปรียบเทียบความแตกต่าง ระดับ isolate ปรากฏว่ามีความแตกต่างกันแบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่ม A ได้แก่ isolate P5 และ isolate P7 กลุ่ม B ได้แก่ isolate P1, isolate P2 และ isolate P10 กลุ่ม C ได้แก่ isolate P3 กลุ่ม D ได้แก่ isolate P6, isolate P8, isolate P11 และ isolate P12 กลุ่ม E ได้แก่ isolate P4, isolate P9

จากการนำทุก isolates ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค พบว่า isolate P1 มีความรุนแรงต่อการเกิดโรครากเน่าพริกไทยมากที่สุด และยังก่อให้เกิดโรครากเน่าพริกไทยชนิดอื่น ๆ ได้แก่ ทุเรียนพันธุ์หมอนทอง ทุเรียนพันธุ์กระดุม ทุเรียนพันธุ์ชะนี ทุเรียนพันธุ์ก้านยาว ลองกอง เงาะ และข่างพารา ยกเว้นไม่เกิดโรครากเน่า มะไฟ จากการนำ isolate P1 ทดสอบความต้องการอาหารเลี้ยงเชื้อ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต พบว่า isolate P1 เจริญได้ดีที่สุดในอาหาร carrot agar ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

จากการทดสอบการเลี้ยงเชื้อร่วมกับอาหาร PDA ระหว่างเชื้อรา *P. palmivora* MF3 กับ เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน *Chaetomium globosum* CG5, *Chaetomium cupreum* CC10, *Trichoderma harzianum* PC01 และ *Trichoderma hamatum* PC02 พบว่า *T. harzianum* PC01 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อรา *P. palmivora* MF 3 ได้ดีที่สุดในห้องปฏิบัติการมีค่าเฉลี่ยการยับยั้งการเจริญเติบโต 78.45 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ *T. hamatum* PC02, *C. cupreum* CC10 และ *C. globosum*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

CG5 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อราสาเหตุของโรคดังกล่าวได้ 77.37, 65.68 และ 63.84 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการศึกษากลไกการควบคุมโรคพบว่า *T. harzianum* PC01 *T. hamatum* PC02 สร้างเส้นใยพันรัดเส้นใยของเชื้อ *P. palmivora* MF3 ทำให้เส้นใยแตกหักเป็นท่อน ส่วน *C. globosum* CG5 ,*C. cupreum* CC10 สร้างสารปฏิชีวนะย่อยสลายเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* MF3

การทดสอบในเรือนทดลองโดยใช้ยาเชื้อชนิดเม็ดป้องกันกำจัดเชื้อรา (Mycofungicide) ได้แก่ *Trichoderma* (PC01+PC02), *Chaetomium* (CC5+CC10), การใช้ยาเชื้อชนิดเม็ดร่วมกันสองชนิด (*Trichoderma* + *Chaetomium*) และการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา Metalaxyl ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย พบว่า การใช้ *Chaetomium* ชนิดเม็ดในอัตรา 20 กรัมต่อตัน สามารถลดการเกิดโรคได้ 64.58 เปอร์เซ็นต์ การใช้ *Trichoderma* ในอัตรา 20 กรัมต่อตันลดการเกิดโรคได้ 58.33 และการใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* ในอัตราชนิดละ 10 กรัมต่อตันลดการเกิดโรค 56.25 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองเปรียบเทียบ (control) จากการใช้ยาเชื้อ *Chaetomium* มีปริมาณเชื้อก่อโรคในดินลดลงมากที่สุด 52.38 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่การใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* และยาเชื้อ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* ซึ่งปริมาณเชื้อก่อโรคในดินลดลงเท่ากับ 54.76 และ 48.80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา Metalaxyl ซึ่งมีปริมาณเชื้อก่อโรคในดินลดลง 22.61 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ไม่ใช้วิธีการใด(control) มีปริมาณเชื้อก่อโรคในดินเพิ่มมากขึ้น

การทดลองใช้ยาเชื้อชนิดเม็ดในแปลงเกษตรกร คือยาเชื้อ *Trichoderma* (PC01+ PC02) ยาเชื้อ *Chaetomium* (CC5+CG10) และยาเชื้อร่วมกันสองชนิด (*Trichoderma* + *Chaetomium*) ในการป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทย ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *P. palmivora* MF3 ในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคมามาก่อน โดยใช้ยาเชื้อดังกล่าวในอัตรา 20 กรัมต่อตัน ร่วมกับการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ กทม. ทุก 4 เดือน เป็นเวลา 12 เดือน พบว่า การใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* ร่วมกับยาเชื้อ *Chaetomium* สามารถป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำสุด เท่ากับ 8.60 เปอร์เซ็นต์ การใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* และยาเชื้อ *Chaetomium* มีเปอร์เซ็นต์ การเกิดโรคเท่ากับ 10.94 และ 22.66 ตามลำดับ ซึ่งสามารถควบคุมโรคได้ผลดีใกล้เคียงกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราประเภท Metalaxyl มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 21.88 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ใช้วิธีการใด (control) มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคตายสูงที่สุดเท่ากับ 71.63 เปอร์เซ็นต์ จากการศึกษาพบว่าปริมาณเชื้อก่อโรคในดิน (inoculum) ของเชื้อรา *P. palmivora* MF3 มีปริมาณลดลงในวิธีการที่ใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* ยาเชื้อ *Chaetomium* และการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราประเภท Metalaxyl อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับไม่ใช้วิธีการใด (control) ซึ่งมีปริมาณเชื้อก่อโรคในดินเพิ่มมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

นอกจากนี้ยังพบว่าในวิธีการที่ใช้ ยาเชื้อ *Chaetomium* ยาเชื้อ *Trichoderma* สารเคมี ป้องกันกำจัดเชื้อรา *Metaxyl* และยาเชื้อทั้งสองชนิดรวม เป็นเวลา 1 ปี มีผลให้พริกไทยมีอัตราการเจริญเติบโตของทรงพุ่มใกล้เคียงกัน เท่ากับ 208 เซนติเมตร 200, 177 และ 172 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งการเจริญเติบโตของพริกไทยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับ การทดลองเปรียบเทียบ (control) ซึ่งมีความสูงของทรงพุ่มเฉลี่ย เท่ากับ 81 เซนติเมตร



Thesis Title:	Integrated Biological Control of Black Pepper Root and Basal Stem Rot Caused by <i>Phytophthora palmivora</i> Bult.
Student	Pinit Sodsa-art
Student ID.	38065306
Degree	Master of Science
Programme	Plant Pest Management Technology
Year	1999
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Kasem Soyong
Thesis Co-advisor	Assist. Prof. Dr. Thanimnun Jaenaksorn Assist. Prof. Dr. Wirat Phuwiwat

### ABSTRACT

Root and basal stem rot of black pepper (*Piper nigrum* L.) in the epidemic area was surveyed in Chantaburi province at the total area of 138.76 rai which belongs to 39 growers in 1997-1998 . The disease prevalence was 64 per cent, disease incidence averaged 16.71 per cent and disease index was averaged 2.09. The infected plant showed yellowing leaves and small brown spot over 25 per cent of the canopy. The causal agent was isolated from root rot, basal stem rot and rhizosphere identified as *Phytophthora palmivora* MF3 according to morphological and molecular studies of SDS-PAGE (polyacrylamide gel electrophoresis). These isolates were distinguished into 5 groups according to protein bands which compared these molecular weight with standard marker as follows: Group A was isolate P5 and isolate P6, Group B was isolate P1, isolate P2 and isolate P10, Group C was isolate P3 Group D was isolate P6, isolate P8 and isolate P12 and Group E was isolate P4 and isolate P5.

All isolates had been proved for pathogenicity test according to Koch's Postulation. It was shown that *P. palmivora* MF3 isolate P1 gave the highest disease incidence of Black pepper. var. Malaysia. Moreover, Isolate P1 had also infected the other plant hosts such as Durian var. Montong, var. Kradoom, var.Chanee, var.Kanyao, Longan, Rambutan and Pararubber, except for Mafai. This virulent isolate required the optimum condition for growing on carrot agar and incubated at 30 °C.

Bi-culture antagonistic test showed that *Trichoderma harzianum* PC01 had the highest per cent inhibition of colony growth of *P. palmivora* P1 (78.45) and followed by *Trichoderma hamatum* PC02 (77.37) *Chaetomium cupreum* CC10 (65.08) and *Chaetomium globosum* CG5

(63.84), respectively. Control mechanism of *T. harzianum* and *T. hamatum* was shown under compound microscopy revealed that the hyphae of *Trichoderma* could interfere the hypha of *P. palmivora* P1 implies hyphal interference. On the other hand, *C. cupreum* and *C. globosum* could release the antagonistic substances to destroy the hypha of *P. palmivora* P1 implies antibiosis and lysis.

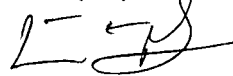
In pot experiment, results showed that applying *Chaetomium* in pellet form at the rate of 20 g./plant, could significantly reduce the disease of 64.58 per cent, followed by applying *Trichoderma* in pellet form at 20g./plant *Chaetomium* and *Trichoderma* at 10 g./plant in each mycofungicide which could reduce the disease of Black Pepper 58.33, and 56.25 per cent, respectively. Biological products of *Chaetomium* and *Trichoderma* treatments had significantly difference in reduction of disease as effective as Metalaxyl treatment which disease reduction was only 17 per cent. However, the inoculum of *P. palmivora* in the soil was also significantly reduced by biological products of *Chaetomium* and *Trichoderma* treatments as compared with Metalaxyl and non-treated check.

The applications of mycofungicides in pellet form of *Trichoderma* (PC01+PC02), *Chaetomium* (CG05+CC10) and mixture of these mycofungicides were conducted in the infested fieldsoil in Chantaburi province to prevent root and stem rot of black pepper(*Piper nigrum* L) caused by *P. palmivora* MF3 using these mycofungicide treatments at the application rate of 20 g./plant incorporation with lime and organic compost every 4 months for 1 year. Result showed that applications of the mixtures of *Trichoderma* and *Chaetomium* mycofungicides could significantly reduce disease incidence which averaged as 8.60 per cent followed by the application of *Trichoderma* and *Chaetomium* which the disease incidence were 10.94 and 22.66 per cent. respectively. *Chaetomium* treatment was not significantly difference in reduction disease incidence when compared to the Metalaxyl treatment which the disease incidence was averaged as 21.88 per cent . All treatments were significantly lower disease incidence than the non-treated one which shown the highest percentage of disease incidence averaged as 71 per cent. However, the inoculum of *P. palmivora* in rhizospere soil of black pepper had significantly lower in mycofungicides and Metalaxyl treatment than the non-treated one. Moreover, it was showed that the plant stands in treatments of *Chaetomium*,*Trichoderma*, Metalaxyl ,mixture *Trichoderma* and *Chaetomium* were 208, 200, 177 and 172 cm. respectively which significantly higher plant stands than the non-treated one (81 cm.)

# กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รศ. ดร. เกษม สร้อยทอง ประธานกรรมการอาจารย์ที่  
ปริกษาวิทยานิพนธ์ ผศ. ดร. ถนิมนันต์ เจนอักษร ผศ. ดร. วิรัตน์ ภูวิวัฒน์ กรรมการอาจารย์ที่  
ปริกษาวิทยานิพนธ์ร่วม และขอขอบคุณกรรมการบัณฑิตวิทยาลัย รศ. แสน ดิถวิฒนานนท์ และ  
รศ. ขวลา บุรณศิริ ที่ได้ให้ข้อคิดเห็น ชี้แนะแนวทาง ข้อเสนอแนะ และให้ความช่วยเหลือด้าน  
ต่างๆ ในการทำวิทยานิพนธ์ ตลอดจนการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์ ขอขอบพระคุณ  
ผศ.ดร.ชัยวัฒน์ โตอนันต์ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผศ.ดร. สุพร  
นุชคำรงค์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ดร.จินตนา บุญนาค ภาควิชา  
จุลศาสตร์อุตสาหกรรมเกษตร คณะจุลศาสตร์เกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร  
ลาดกระบัง ที่ได้คำแนะนำเกี่ยวกับการทำ electrophoresis ขอขอบพระคุณ ผศ. ดร. สุรพล  
เศรษฐกิจ ที่ได้คำแนะนำเกี่ยวกับโปรแกรม SPSS ในการวิเคราะห์ข้อมูล protein bands ขอขอบ  
พระคุณ คุณอุบล โพธิ์ขำ คุณแสงมณี ชิงดวง คุณธนิตย์ ปล่องบรรจง กองโรคพืชและจุลชีววิทยา  
กรมวิชาการเกษตร ที่ได้คำแนะนำเกี่ยวเชื้อรา *Phytophthora* spp. คุณบุญญา สุคาทิส สำนัก  
งานพลังงานปรมาณูเพื่อสันติ ที่ให้ความอนุเคราะห์กล้องถ่ายรูปรังงานจบการศึกษา ขอขอบพระคุณ  
พระใบฎีกาสุขสันต์ วัดพลมาณีย์ หลวงตาสาโรจน์ ยะลา วัดบรรณิเวศน์รวริหาร กองทุนราชกรีธา  
ศโมสร และคุณประทีป มีศิลป์ ที่ให้การสนับสนุนในด้านทุนการศึกษา ขอขอบคุณ  
อ. พรมมาศ อุทากาญจน์ ที่ได้คำแนะนำการทำกราฟ และคุณพิศมัย เรืองบุปผา เจ้าหน้าที่ห้อง  
ปฏิบัติการตี๊กเห็ดราวิทยา นื่องๆ นักศึกษาปริญญาตรีและปริญญาโท ที่ให้ความช่วยเหลือด้าน  
ต่างๆ ขอขอบพระคุณ คุณอาณัติ สิทธิพันธ์ ที่อนุเคราะห์สวนพริกไทยในการทำวิทยานิพนธ์ใน  
ครั้งนี้ และอุปกรณ์ต่างๆ ในระหว่างทำวิทยานิพนธ์ ขอขอบพระคุณบริษัทโตกรุป ที่ให้ความ  
อนุเคราะห์เชื้อ *Chaetomium* และบริษัทปุยอินทรีย์ กทม. ที่ให้ความอนุเคราะห์ *Trichoderma* และ  
ปุยอินทรีย์ กทม. ใช้ในการทดลองภาคสนาม และขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ พี่ น้อง ที่ได้กำลังใจ  
ในการทำวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

สุดท้ายขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัยที่ได้ให้ทุนสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ คุณค่าและ  
ประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอขอบแต่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

  
พินิต สดตะฮาด

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	IV
กิตติกรรมประกาศ.....	VI
สารบัญ.....	VII
สารบัญตาราง.....	IX
สารบัญตารางผนวก.....	XI
สารบัญภาพ.....	XV
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา.....	2
1.3 ขอบเขตและวิธีการศึกษา.....	3
1.4 วิธีดำเนินการทดลอง.....	3
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร.....	13
2.1 โรครากเน่า โคนเน่าของพริกไทย.....	13
2.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์.....	13
2.3 การควบคุมโรคโดยชีววิธีผสมผสาน.....	17
2.4 การใช้ <i>Trichoderma</i> ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีในประเทศไทย.....	18
2.5 การใช้ <i>Trichoderma</i> ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีในต่างประเทศ.....	21
2.6 การใช้ <i>Chaetomium</i> ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีในประเทศไทย.....	23
2.7 การใช้ <i>Chaetomium</i> ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีในต่างประเทศ.....	28
2.8 การใช้จุลินทรีย์อื่นๆ ในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี.....	30
บทที่ 3 ผลการทดลอง.....	33
3.1 ศึกษาลักษณะอาการและแหล่งระบาดของโรครากเน่าและโคนเน่าของพริกไทย ที่เกิดจากเชื้อรา <i>Phytophthora</i> spp. ในพื้นที่จังหวัดจันทบุรี.....	33
3.2 เชื้อที่เป็นสาเหตุโรครากเน่า และโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย.....	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา **vii** ต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
3.3 การทดสอบศักยภาพของจุลินทรีย์ต่อต้านในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรค รากเน่าโคนเน่าของพริกไทยในห้องปฏิบัติการ.....	69
3.4 การป้องกันกันกำจัด โรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยโดยชีววิธีแบบผสมผสาน.....	77
3.5 การศึกษาข้อมูลภูมิอากาศที่มีผลต่อการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี.....	91
3.6 การจัดโปรแกรมการควบคุมโรคของพริกไทยโดยชีววิธีแบบผสมผสาน.....	93
บทที่ 4 วิจัยผลการศึกษาทดลอง.....	96
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	100
เอกสารอ้างอิง.....	102
ภาคผนวก ก ผลการวิเคราะห์.....	111
ข ผลงานวิจัยตีพิมพ์.....	145
ค การเตรียมสารเคมี.....	148
ประวัติผู้เขียน.....	151

# สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 พื้นที่เพาะปลูกพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย ในเขตพื้นที่ภาคตะวันออก.....	14
3.1 การสำรวจโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย ในจังหวัดจันทบุรี.....	35
3.2 สรุปลักษณะที่สำรวจโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย.....	37
3.3 เชื้อ <i>Phytophthora palmivora</i> MF3 isolates P1-P12 ที่แยกได้จากแปลงปลูกพริกไทย ของเกษตรกรในเขตจังหวัดจันทบุรี.....	40
3.4 ลักษณะโคโลนีและโครงสร้างต่างๆ ของ <i>Phytophthora palmivora</i> MF3 isolates P1-P12 ที่อายุ 6 วัน 10 วัน.....	41
3.5 ขนาด sporangium ของ <i>Phytophthora palmivora</i> MF3 isolates P1-P12.....	56
3.6 ความสามารถในการเกิดโรคของเชื้อ <i>Phytophthora palmivora</i> MF3 isolates P1-P12 ที่อายุ 6 วัน.....	61
3.7 การทดสอบความสามารถทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย โดยการ ปลูกเชื้อ <i>Phytophthora palmivora</i> MF3 isolate P1 บนต้นกล้าพริกไทยที่ระยะเวลา 30 วัน...63	63
3.8 แสดงความสามารถทำให้เกิดโรคของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> MF3 isolate P1 กับพืชอาศัยอื่นๆ .....	65
3.9 การเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> MF3 isolate P1 บนอาหาร เลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ.....	67
3.10 การเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> MF3 isolate P1 บนอาหาร CA ที่อุณหภูมิต่างๆ.....	68
3.11 ศักยภาพของจุลินทรีย์ต่อต้านในการควบคุมเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> MF3 isolate P1 ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม PDA ที่อายุ 10 วัน.....	71
3.12 การเปลี่ยนแปลงระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่า ของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย ในสภาพเรือนทดลอง หลังการใช้จุลินทรีย์ต่อต้านชนิดเม็ด ป้องกันกำจัดเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> MF3 isolate P1.....	79
3.13 ประชากรส่วนขยายพันธุ์(propagules) ของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> MF3 ในสภาพเรือนทดลอง.....	80
3.14 ผลการใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรคพืชในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยใน แปลงทดลองเป็นเวลา 1 ปี.....	85

## สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่	หน้า
3.15 การเปลี่ยนแปลงประชากรของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> ในดินภายหลังการใช้ยาเชื้อป้องกัน กำจัด โรคพืชในการควบคุม โรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยในแปลงทดลองเป็นเวลา 1 ปี.....	85
3.16 การเจริญครอบครอง(colonization) ของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> ในดินปลูกพริกไทยจากการใช้เชื้อต่อ.....	86
3.17 การเจริญเติบโตของต้นพริกไทยพันธุ์มาเลเซียในแปลงทดลองใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> เป็นเวลา 1 ปี.....	86
3.18 ผลการวิเคราะห์ธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของต้นพริกไทยพันธุ์มาเลเซียจากดินแปลงปลูกก่อนและหลังการทดลอง.....	87
3.19 ตารางการจัดโปรแกรมควบคุม โรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยโดยชีววิธีแบบผสมผสาน.....	96

# สารบัญตารางผนวก

ตารางผนวกที่	หน้า
1 ความสามารถในการเกิดโรคของเชื้อ <i>Phytophthora palmivora</i> MF3 isolates P1-P12.....	112
2 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 1... ..	112
3 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลเน่า หลังจากการปลูกเชื้อ <i>Phytophthora palmivora</i> MF3 isolate P1 ที่อายุ 6 วัน.....	113
4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 3.....	113
5 ค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของโรคกับพืชอาศัยอื่นๆ.....	114
6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 5.....	114
7 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเชื้อ <i>Phytophthora palmivora</i> P1 บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ ที่อายุ 6 วัน.....	115
8 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 7.....	115
9 แสดงปริมาณ sporangium ต่อมิลลิลิตร บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ.....	116
10 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 9.....	116
11 แสดงปริมาณ zoospores $\times 10^6$ ต่อมิลลิลิตร บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ.....	117
12 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 11 .....	117
13 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเชื้อ <i>Phytophthora palmivora</i> MF3 isolate P1บนอาหาร CA ที่อุณหภูมิต่างๆ กัน.....	118
14 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 13.....	118
15 แสดงปริมาณ sporangiumต่อมิลลิลิตร บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ CA ที่อุณหภูมิต่างๆ กัน .....	119
16 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 15.....	119
17 แสดงปริมาณ zoosporesต่อมิลลิลิตร บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ CA ที่อุณหภูมิต่างๆ กัน.....	120
18 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 17.....	120
19 การเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม ที่อายุ 10 วัน .....	121
20 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 19.....	121
21 ศักยภาพของจุลินทรีย์ต่อต้านในการควบคุมเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> MF3 isolate P1 ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม PDA ที่อายุ 10 วัน.....	122
22 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 21.....	122

## สารบัญตารางผนวก (ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
23 การเปลี่ยนแปลงระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซียในสภาพเรือนทดลอง หลังจากการใช้จุลินทรีย์ต่อต้านชนิดเม็ดป้องกันกำจัดเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> MF3 isolate P1 ที่อายุ 2 เดือน.....	123
24 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 23.....	123
25 การเปลี่ยนแปลงระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซียในสภาพเรือนทดลอง หลังจากการใช้จุลินทรีย์ต่อต้านชนิดเม็ดป้องกันกำจัดเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> MF3 isolate P1 ที่อายุ 4 เดือน.....	124
26 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 25.....	124
27 การเปลี่ยนแปลงระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซียในสภาพเรือนทดลอง หลังจากการใช้จุลินทรีย์ต่อต้านชนิดเม็ดป้องกันกำจัดเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> MF3 isolate P1 ที่อายุ 6 เดือน .....	125
28 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 27.....	125
29 ประชากรส่วนขยายพันธุ์(propagules) ของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> MF6 isolate P1 ในสภาพเรือนทดลองที่อายุ 2 เดือน.....	126
30 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 29.....	126
31 ประชากรส่วนขยายพันธุ์(propagules) ของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> MF3 isolate P1 ในสภาพเรือนทดลองที่อายุ 4 เดือน.....	127
32 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 31.....	127
33 ประชากรส่วนขยายพันธุ์(propagules) ของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> MF3 isolate P1 ในสภาพเรือนทดลองที่อายุ 6 เดือน.....	128
34 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 33.....	128
35 การเจริญเติบโตของต้นพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย ในแปลงทดลองใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> เป็นเวลา 1 เดือน.....	129
36 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่35.....	129
37 การเจริญเติบโตของต้นพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย ในแปลงทดลองใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> เป็นเวลา 4 เดือน.....	130
38 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 37.....	130

## สารบัญตารางผนวก(ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
39 การเจริญเติบโตของต้นพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย ในแปลงทดลองใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> เป็นเวลา 1 ปี.....	131
40 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากรายการผนวกที่ 39.....	131
41 การเจริญเติบโตของต้นพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย ในแปลงทดลองใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> เป็นเวลา 1 ปี .....	132
42 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากรายการผนวกที่ 41.....	132
43 การเจริญครอบครอง(colonization) ของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> ในดินปลูกพริกไทยจากการใช้เหยื่อล่อ ที่ระยะเวลา 1 เดือน.....	133
44 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากรายการผนวกที่ 43.....	133
45 การเจริญครอบครอง(colonization) ของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> ในดินปลูกพริกไทยจากการใช้เหยื่อล่อ ที่ระยะเวลา 4 เดือน.....	134
46 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากรายการผนวกที่ 45.....	134
47 การเจริญครอบครอง(colonization) ของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> ในดินปลูกพริกไทยจากการใช้เหยื่อล่อ ที่ระยะเวลา 8 เดือน.....	135
48 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากรายการผนวกที่ 47.....	135
49 การเจริญครอบครอง(colonization) ของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> ในดินปลูกพริกไทยจากการใช้เหยื่อล่อที่ระยะเวลา 1 ปี.....	136
50 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากรายการผนวกที่ 49.....	136
51 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย หลังจากการใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรคพืชในสภาพแปลงทดลองที่อายุ 1 เดือน .....	137
52 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากรายการผนวกที่ 51.....	137
53 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย หลังจากการใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรคพืชในสภาพแปลงทดลองที่อายุ 4 เดือน .....	138
54 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากรายการผนวกที่ 53.....	138
55 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย หลังจากการใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรคพืชในสภาพแปลงทดลองที่อายุ 8 เดือน .....	139
56 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากรายการผนวกที่ 55.....	139

## สารบัญตารางผนวก(ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
57 เปรอ์เซ็นต์การเกิดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย หลังจากการใช้ยาเชื้อ ป้องกันกำจัดโรคพืชในสภาพแปลงทดลองที่อายุ 1ปี .....	140
58 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 57.....	140
59 การเปลี่ยนแปลงประชากรของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> ในดินภายหลังการใช้ยาเชื้อ ป้องกันกำจัดโรคพืชในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยในแปลงทดลอง ที่ระยะเวลา 1 เดือน.....	141
60 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 59.....	141
61 การเปลี่ยนแปลงประชากรของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> ในดินภายหลังการใช้ยาเชื้อ ป้องกันกำจัดโรคพืชในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยในแปลงทดลอง ที่ระยะเวลา 4 เดือน.....	142
62 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 61.....	142
63 การเปลี่ยนแปลงประชากรของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> ในดินภายหลังการใช้ยาเชื้อ ป้องกันกำจัดโรคพืชในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยในแปลงทดลอง ที่ระยะเวลา 8 เดือน.....	143
64 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 63.....	143
65 การเปลี่ยนแปลงประชากรของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> ในดินภายหลังการใช้ยาเชื้อ ป้องกันกำจัดโรคพืชในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยในแปลงทดลอง ที่ระยะเวลา 1ปี.....	144
66 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 65.....	144

# สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
3.1 ระดับคะแนนความรุนแรงของโรครากเน่าและโคนเน่า ของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย.....	38
3.2 ลักษณะอาการของโรครากเน่า-โคนเน่า ของพริกไทยในแปลงเกษตรกร.....	39
3.3 เชื้อ <i>Phytophthora palmivora</i> isolate P1 บนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน.....	43
3.4 เชื้อ <i>Phytophthora palmivora</i> isolate P2 บนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน.....	44
3.5 เชื้อ <i>Phytophthora palmivora</i> isolate P3 บนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน.....	45
3.6 เชื้อ <i>Phytophthora palmivora</i> isolate P4 บนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน.....	46
3.7 เชื้อ <i>Phytophthora palmivora</i> isolate P5 บนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน.....	47
3.8 เชื้อ <i>Phytophthora palmivora</i> isolate P6 บนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน.....	48
3.9 เชื้อ <i>Phytophthora palmivora</i> isolate P7 บนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน.....	49
3.10 เชื้อ <i>Phytophthora palmivora</i> isolate P8 บนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน.....	50
3.11 เชื้อ <i>Phytophthora palmivora</i> isolate P9 บนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน.....	51
3.12 เชื้อ <i>Phytophthora palmivora</i> isolate P10 บนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน.....	52
3.13 เชื้อ <i>Phytophthora palmivora</i> isolate P11 บนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน.....	53
3.14 เชื้อ <i>Phytophthora palmivora</i> isolate P12 บนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน.....	54
3.15 เปรียบเทียบแถบปริมาณ โปรตีนของ standard marker ระหว่างเชื้อ <i>Phytophthora palmivora</i> isolates P1-P8 .....	57
3.16 เปรียบเทียบแถบปริมาณ โปรตีนของ standard marker ระหว่างเชื้อ <i>Phytophthora palmivora</i> isolates P9-P12 กับเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน.....	58
3.17 dendrogram แสดงความสัมพันธ์ของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> isolates P1 -P12 และเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน.....	59
3.18 แสดงความสามารถในการทำให้เกิดโรคของ เชื้อ <i>Phytophthora palmivora</i> MF3 isolates P1.....	60
3.19 แสดงการทดสอบความสามารถในการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย ที่เกิดจากเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> MF3 isolate P1 ที่อายุ 30 วัน.....	63
3.20 แสดงการปลูกเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> isolates MF3 isolate P1 บนพืชอาศัยต่างๆ .....	66
3.21 แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> MF3 isolate P1 ที่อุณหภูมิต่างๆ กัน ที่อายุ 5 วัน.....	69

## สารบัญภาพ(ต่อ)

ภาพที่	หน้า
3.22 แสดงการควบคุมเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> MF3 isolate P1 บนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม PDA ที่อายุ 14 วัน.....	72
3.23 แสดงการควบคุมเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> MF3 isolate P1 บนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม PDA ที่อายุ 14 วัน.....	73
3.24 เส้นใยเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> (Ph)MF3 isolate P1 ถูกทำลายโดยเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน <i>Trichoderma harzianum</i> (Thz) และ <i>Trichoderma hamatum</i> (Thm).....	75
3.25 เส้นใยเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> (Ph)MF3 isolate P1 ถูกทำลายโดยเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน <i>Chaetomium globosum</i> (CG5) และ <i>Chaetomium cupreum</i> (CC10).....	76
3.26 การใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่า และสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา Metalaxyl ในการควบคุมโรคพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย ที่เกิดจากเชื้อรา <i>Phytophthora palmivora</i> MF3 ในเรือนทดลองที่อายุ 6 เดือน.....	81
3.27 การป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย โดยชีววิธีแบบผสมผสาน โดยใช้ยาเชื้อ <i>Trichoderma</i> ชนิดเม็ดในแปลงทดลอง ที่ระยะเวลา 4, 8 และ 12 เดือน .....	87
3.28 การป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย โดยชีววิธีแบบผสมผสาน โดยใช้ยาเชื้อ <i>Chaetomium</i> ชนิดเม็ด ในแปลงทดลองที่ระยะเวลา 4, 8 และ 12 เดือน.....	88
3.29 การป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย โดยชีววิธีแบบผสมผสาน โดยใช้ยาเชื้อ <i>Trichoderma</i> ร่วมกับ <i>Chaetomium</i> ชนิดเม็ดในแปลงทดลองที่ระยะเวลา 4 และ 12 เดือน .....	89
3.30 การป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย โดยชีววิธีแบบผสมผสาน โดยใช้สารเคมี Metalaxyl ในแปลงทดลองที่ระยะเวลา 4, 8 และ 12 เดือน.....	90
3.31 สภาพภูมิอากาศที่มีผลต่อการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี.....	92

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มา

พริกไทย Black pepper (*Piper nigrum* Linn.) เป็นพืชเครื่องเทศที่มีความสำคัญเป็นอันดับหนึ่งในกลุ่มพืชสมุนไพรและเครื่องเทศของประเทศไทย และเป็นพืชที่มีความสำคัญของประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ปลูกกันมากใน อินโดนีเซีย มาเลเซีย ไทย ศรีลังกา เป็นต้น พริกไทยเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคทั่วโลก มีราคาแพง จึงเป็นสินค้าเกษตรที่สำคัญของประเทศผู้ผลิต มีมูลค่าของการค้าประมาณร้อยละ 25-33 ของมูลค่าเครื่องเทศทั้งหมด (ไชยา, 2531) ในปี 2540 ประเทศไทยมีปริมาณการส่งออกพริกไทย จำนวน 509 ตัน คิดเป็นมูลค่า 58.3 ล้านบาท เป็นพริกไทยเม็ด 385 ตัน มูลค่า 51.6 ล้านบาท พริกไทยป่น 124 ตัน มูลค่า 6.7 ล้านบาทซึ่งเพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ. 2539 ทั้งปริมาณ และมูลค่าคิดเป็นร้อยละ 50.15 และ 22.10 ตามลำดับ (เศรษฐกิจการเกษตร, 2541)

ปัจจุบันเกษตรกรในประเทศไทยมีรายได้จากการปลูกพริกไทย ไร่ละไม่ต่ำกว่า 70,000 บาท ต่อปี จึงทำให้เกษตรกรขยายการปลูกเพิ่มขึ้น ทั้งทางภาคใต้ และ ภาคตะวันออก นอกจากนี้ภาคอื่นๆ ก็เริ่มปลูกกันบ้างแล้ว (เอียน, 2536) ซึ่งในปี 2536 มีพื้นที่ปลูกทั่วประเทศ 28,983 ไร่ ในภาคตะวันออกรวมพื้นที่เพาะปลูก 22,821 ไร่ จังหวัดจันทบุรี มีพื้นที่ปลูกคิดเป็นร้อยละ 75.45 ของพื้นที่รวมทั่วประเทศ รองลงมาคือ จังหวัดชุมพร ร้อยละ 5.92 ผลผลิตรวมทั้งประเทศ 20,250 ตัน จังหวัดจันทบุรีให้ผลผลิต มากที่สุด ร้อยละ 88.34 ของผลผลิตรวมทั้งประเทศ และผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่ 828 กิโลกรัม (ส่งเสริมการเกษตร, 2536) พันธุ์ที่ปลูกกันในประเทศไทย มีอยู่หลายพันธุ์เช่น พันธุ์ไอบนา บ้านแก้ว ปรางกีธรรมดา ปรางกีโบหยก และพันธุ์ของประเทศมาเลเซีย (อุคม, 2529)

พริกไทย เป็นพืชที่ชอบอากาศร้อนชื้น มีปริมาณฝนเฉลี่ยค่อนข้างสูง ประมาณ 1,200-1,500 มิลลิเมตรต่อปี อุณหภูมิที่สามารถปลูกพริกไทยได้อยู่ระหว่าง 10-40 องศาเซลเซียส (วัฒนา, 2531) จึงมักประสบปัญหาโรครากและโคนเน่า ทำให้ผลผลิตต่อไร่ลดลงอย่างมาก สำหรับประเทศไทยในขณะนี้เป็นที่ยอมรับกันว่า เชื้อรา *Phytophthora* spp. เป็นเชื้อราสาเหตุโรคที่ทำความเสียหายให้กับพืชเศรษฐกิจ เป็นอันดับหนึ่งของประเทศ เข้าทำลายตั้งแต่ระบบราก โคนต้น และส่วนบนของต้นในพืชหลายชนิดได้แก่ พริกไทย ทูเรียน มะนาว ส้มโอ กุหลาบ และอื่นๆ โดยทำความเสียหายครอบคลุมพื้นที่ไปทั่วทุกแห่งปลูกพืชในประเทศ จัดว่าทำความเสียหายไม่ต่ำกว่าร้อยละ 90 มีรายงานว่า พริกไทยเป็นโรครากเน่าและโคนเน่ามีสาเหตุจากเชื้อรา *P. palmivora* (Alconero *et al.*, 1972 ; Tsao and Tummakate, 1977; Erwin *et al.*, 1983) *P. palmivora* MF4 (Sastry and Hegde, 1992) และ *P. parasitica* (อุบลและ คณะ, 2528; แสงมณี และคณะ, 2531) ซึ่งลักษณะอาการของโรค พบว่าในระยะแรกใบจะเริ่มเหลืองและตายในที่สุด เมื่อเกิดการระบาด เชื้อราจะเข้าทำลายระบบภายในลำต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และรากพืชได้รวดเร็วมาก เกษตรกรส่วนใหญ่ได้นำสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราหลายชนิดมาใช้ในการป้องกันกำจัดเช่น Metalaxyl, Ridomil และ Aliette (ประเสริฐ และคณะ 2534) แต่ก็ไม่ประสบผลสำเร็จเท่าที่ควร สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราดังกล่าวนอกจากจะมีราคาแพง เพิ่มต้นทุนการผลิตแล้วเมื่อใช้ติดต่อกันเป็นเวลานานจะมีผลทำให้เกิดการดื้อยาของเชื้อโรครา (Deafl and DeMuth, 1993) และยังมีผลตกค้างที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ก่อปัญหาในด้านมลภาวะที่มีผลกระทบต่อสภาพแวดล้อมด้วย

ฉะนั้นแนวทางหนึ่งที่จะแก้ปัญหาในเรื่องดังกล่าว คือการควบคุมโรคโดยชีววิธีแบบผสมผสาน ซึ่งเป็นแนวทางการพยายามใช้จุลินทรีย์ต่อต้าน (microbial antagonists) ที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเชื้อสาเหตุทำให้เกิดโรคพืช โดยนำมาใช้ร่วมกับวิธีการทางเกษตรกรรมอื่นๆ เพื่อลดความเสียหายในการเกิดโรคราดังกล่าวให้ต่ำกว่าระดับความเสียหายทางเศรษฐกิจ

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

การศึกษากการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* Bult. โดยชีววิธีผสมผสาน มีวัตถุประสงค์ดังนี้

1. ศึกษาลักษณะอาการและแหล่งระบาดของ โรครากและ โคนเน่าของพริกไทยที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora* spp. ในพื้นที่จังหวัดจันทบุรี

2. ศึกษาลักษณะเชื้อสาเหตุโรครากเน่า และ โคนเน่าของพริกไทย

2.1 การแยกเชื้อบริสุทธิ์

2.2 อนุกรมวิธานและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ

2.3 ศึกษาความแตกต่างระหว่าง isolates โดยใช้เทคนิค SDS-PAGE

2.4 การศึกษาลักษณะทางสรีรวิทยา ของ เชื้อ *P. palmivora*

2.5 ความสามารถทำให้เกิด โรคของเชื้อ (Pathogenicity) การปลูกเชื้อลงบนพืชอื่นๆ ที่อาจจะเป็นพืชอาศัยของเชื้อ

3. การทดสอบศักยภาพของจุลินทรีย์ต่อต้าน (Antagonist microbial) ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคราก และ โคนเน่า ของพริกไทย ในห้องปฏิบัติการ

3.1 การทดสอบเลี้ยงเชื้อร่วมในอาหาร (Bi-culture antagonistic Test)

3.2 การศึกษาปฏิกิริยาของจุลินทรีย์ต่อต้าน และเชื้อรา *P. palmivora* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

4. ศึกษาวิธีการป้องกันกำจัดโรคโดยชีววิธีแบบผสมผสาน (Integrated biological control)

4.1 การทดสอบศักยภาพของจุลินทรีย์ต่อต้าน ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรครากเน่า โคนเน่าพริกไทยในสภาพเรือนทดลอง

## 4.2 การทดสอบศักยภาพของจุลินทรีย์ต่อต้าน ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคราก เน่าโคน เน่าพริกไทย ในแปลงทดลอง

5. การศึกษาข้อมูลภูมิอากาศที่มีผลต่อวงจรควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี.

6. การจัดโปรแกรมการควบคุมโรคของพริกไทยโดยชีววิธีแบบผสมผสาน

### 1.3 ขอบเขตและวิธีการศึกษา

โดยทำการทดลองเพื่อหาแนวทางในการใช้จุลินทรีย์ต่อต้าน (microbial antagonists) ในการป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทย ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Phytophthora* spp. ร่วมกับการป้องกันกำจัดเชื้อรา การศึกษาวิจัยครอบคลุมไปถึงการศึกษาลักษณะอาการและแหล่งระบาดของโรค การแยกเชื้อ การจัดจำแนกเชื้อราสาเหตุโรค โดยใช้เทคนิค SDS-PAGE การศึกษาความต้องการอาหารและอุณหภูมิของเชื้อสาเหตุโรค การทดสอบความสามารถของเชื้อในการทำให้เกิดโรคกับพืชอาศัยอื่นๆ ตลอดจนการทดลองใช้จุลินทรีย์ต่อต้าน ได้แก่ *Chaetomium cupreum* CC10 *Chaetomium globosum* CG5, *Trichoderma harzianum* PC01 และ *Trichoderma hamatum* PC02 ในลักษณะที่พัฒนาเป็นชีวผลิตภัณฑ์ (biological products) ไปทดสอบใช้ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยทั้งในสภาพเรือนทดลอง และในสภาพแปลงทดลอง ในพื้นที่ที่กำลังมีการระบาดของโรค

### 1.4 วิธีดำเนินการทดลอง

#### 1. การศึกษาลักษณะอาการ แหล่งระบาดของโรครากและโคนเน่าของพริกไทยที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora* spp. ในจังหวัดจันทบุรี

สำรวจและศึกษาโรครากเน่าและโคนเน่าของพริกไทย โดยสังเกตลักษณะอาการของโรคต่างๆ ไป เช่นอาการที่เกิดขึ้นเหนือระดับดิน บริเวณโคนต้นระดับดิน และบริเวณราก สังเกตส่วนต่างๆ เช่นโรคที่เกิดที่ลำต้น กิ่ง และผล ตามแหล่งที่มีการปลูกพริกไทย ในจังหวัด จันทบุรี ที่อำเภอ มะขาม อำเภอเมือง อำเภอนายายอาม อำเภอท่าใหม่ ทำการเก็บข้อมูลเกี่ยวกับ พันธุ์พริกไทย ระยะปลูก พื้นที่ปลูก อายุ ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของดิน และบันทึกการเป็น โรคดังนี้

1.1 Disease prevalence (% การปรากฏของโรค) = จำนวนพื้นที่ปลูกที่พบโรค/พื้นที่ ปลูกทั้งหมดที่สำรวจ x 100 ( Johnston and Booth, 1983)

1.2 Disease incidence (% การเกิดโรค) = จำนวนต้นตายเนื่องจากโรค/จำนวนต้นทั้งหมด x 100 ( Johnston and Booth, 1983)

1.3 Rating disease โดยการให้ระดับคะแนนซึ่งตัดแปลงจากวิธีการของ แสงมณี และคณะ (2538) ดังนี้ ระดับที่ 1 = ต้นสมบูรณ์ ใบเขียวเข้ม ระดับที่ 2 = มีอาการใบเหลือง 1-25 % ของทรงพุ่ม ระดับที่ 3 อวการใบเหลืองและเริ่มมีแผลสีดำ 26-50% ของทรงพุ่ม ระดับที่ 4 อวการใบเหลือง และแผลสีดำขยายกว้าง 51-75% ของทรงพุ่ม ระดับที่ 5 ใบเหลืองมีแผลสีดำขยายใหญ่ มากกว่า 75% ของทรงพุ่ม และใบเริ่มร่วงและต้นเน่าตายในที่สุด

## 2. การศึกษาเชื้อที่เป็นสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทย

### 2.1 การแยกเชื้อรา *Phytophthora* spp.

ก. การแยกเชื้อรา *Phytophthora* spp. จากดินบริเวณรอบรากพริกไทย ที่เป็นโรค จากแหล่งปลูกต่างๆ

เก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบๆ รากพริกไทยที่เป็นโรคลึกประมาณ 5-10 เซนติเมตร จำนวน 500 กรัม ใส่ถุงพลาสติก นำมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการโดยวิธีดังนี้ วิธีใช้เหยื่อล่อ (baiting) ดังนี้ นำดินแต่ละตัวอย่างจำนวน 20 กรัม มาใส่ในแก้วพลาสติกที่ฆ่าเชื้อแล้ว ในอัตราส่วน ดินต่อน้ำ กลั่นฆ่าเชื้อ 1:4 ส่วน (โดยปริมาตร) คนให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ให้นอนก้น จากนั้นตัดใบพริกไทย ให้มีขนาด 3x3 มิลลิเมตร โดยใช้ใบที่ไม่แก่ หรืออ่อน เกินไป เป็นเหยื่อล่อบ่มไว้เป็นเวลา 2-3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) ถ้าเริ่มแสดงอาการเน่า ให้นำชิ้นส่วนพืชที่มีเชื้อเจริญ ผ่านน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 2-3 ครั้ง ซับด้วยกระดาษกรองฆ่าเชื้อให้แห้ง นำไปวางบนอาหาร PDA ผสม BNPRAH ซึ่งประกอบด้วย Benomyl 10 ppm., Nastatin 50 ppm., Pentachloronitrobenzene 25 ppm., Rifampin 10 ppm., Ampicilin 500 ppm. และ Hymexazol 50 ppm. (Suzui *et al.*, 1979) เมื่อเชื้อราเจริญแล้วจึงแยกเป็นเชื้อบริสุทธิ์ต่อไป และแยกเชื้อโดยใช้วิธี soil-plate โดยนำดินฝังในที่ร่มบดให้ละเอียด ซังตัวอย่างดิน 0.0025 กรัม ใส่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้ออาหาร PDA ผสม BNPRAH เก็บไว้ในที่มืด 3 วัน แล้วแยกเป็นเชื้อบริสุทธิ์

ข. การแยกเชื้อโดยใช้ส่วนต่างๆ ที่เป็นโรค เช่น บริเวณราก ลำต้น ใบ ที่แสดงอาการของโรคมาทำการแยกเชื้อโดยวิธี tissue transplanting นำส่วนต่างๆ ที่เป็นโรคมาแยก โดยตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ล้างด้วย Clorox 10 % นาน 30 วินาที และล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 2-3 ครั้งซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองที่ฆ่าเชื้อแล้วนำส่วนของพืชมาวางบน PDA ผสม BNPRAH เมื่อเชื้อราเจริญเติบโตแยกเป็นเชื้อบริสุทธิ์

### 2.2 การจัดจำแนกเชื้อรา *Phytophthora* spp. ที่แยกได้

#### 2.2.1 อนุกรมวิธานของเชื้อรา และลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ

โดยการนำเชื้อราบริสุทธิ์ (Pure culture) เลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) สังเกตการเจริญเติบโต ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเกิด Fruiting structure

พร้อมทั้งบันทึกรายละเอียด (Description) ของเชื้อรา ถ่ายภาพต่างๆ ภายใต้อุปกรณ์จุลทรรศน์ เพื่อใช้  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประกอบการศึกษาทางด้านอนุกรมวิธานของรา นำไปจำแนกจนถึงระดับชื่อสกุล (Genus) และระดับชื่อชนิด (species) ตามหลักการจัดหมวดหมู่และการจำแนกรา *Phytophthora* spp. ของ Waterhouse. (1956), (1963), (1970), Newhook และคณะ (1978) และ Erwin และคณะ (1983) นำเชื้อบริสุทธิ์ (pure culture) เลี้ยงบนอาหาร PDA สังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อรา ลักษณะโคโลนี ลักษณะเส้นใย การเกิด Fruiting structures ต่างๆ นำมาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Compound microscope) โดยใช้เข็มเย็บ เย็บ thallus ของเชื้อราแล้ว mount ด้วย lactophenol หรือ cotton blue in lactophenol บนแผ่นสไลด์ ศึกษาลักษณะสำคัญต่างๆ และ fruiting structure พร้อมจดบันทึกรายละเอียดของเชื้อราแต่ละ isolate และถ่ายภาพลักษณะสำคัญต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

## 2.2.2 การจำแนกโดย ศึกษาความแตกต่างระหว่าง isolates โดยใช้เทคนิค

### SDS-PAGE

การเตรียมสารสกัด โปรตีน (protein extracts) เลี้ยงเชื้อรา *Phytophthora* spp. แต่ละ isolate แยกต่างหากจากกัน ในอาหารเหลว PDB ใน flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุอาหารเหลว PDB 150 มิลลิลิตร/flask ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะขึ้นรู้น 2 ชั้นใส่จำนวน 2 ชั้น flask นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่า (electrical shaker) เป็นเวลา 20 วัน นำมากรองเอาแต่เส้นใยด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ซับให้แห้ง เก็บไว้ใน freeze dry นำตัวอย่างเชื้อรามาคัดกับ extract buffer ในอัตราส่วน 1:1 กรัมต่อมิลลิลิตร แล้วนำไปเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ความเร็วรอบ 1,3000 รอบต่อนาที นำส่วนสารสกัดโปรตีนที่ลอยด้านบนไปใช้ หรือเก็บไว้ในตู้แช่แข็ง จนกว่าจะนำไปใช้ในครั้งต่อไป หลังจากนั้นใช้ pipette ดูด Running buffer 30 มิลลิลิตร ผสม น้ำกลั่น 270 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันใส่ในเครื่อง electrophoresis นำตัวอย่างที่บดไว้มาผสมกับ loading buffer และ SDS 0.02 มิลลิกรัม อัตราส่วน 1:0.5 มิลลิลิตร นำตัวอย่างไปต้มที่อุณหภูมิ 80-100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที หลังจากนั้นดูใส่ well ในเครื่อง electrophoresis ในช่องที่ 2 ถึงช่องสุดท้าย ช่องละ 10 ไมโครลิตร ส่วนในช่องที่ 1 ใช้ pipette ดูด standard marker 5 ไมโครลิตร ใส่ในช่องที่ 1 หลังจากนั้นเปิดเครื่องให้กระแสไฟฟ้าทำงานทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง แคะแผ่น gel ออกใส่ Fix solution แช่ให้ท่วม 2 ชั่วโมง เอาชิ้นแช่ใน coomassie Blue 4 ชั่วโมง เมื่อครบนำขึ้นมาแช่ใน Destaining solution ให้ท่วมแผ่น gel และเขย่าเบาๆ จนกว่า gel จะใส และนำไปถ่ายรูป หรือแช่ไว้ใน Acetic acid 7% หรือน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ เก็บไว้ในภาชนะปิดสนิท เพื่อป้องกันการปนเปื้อน และทำการเปรียบเทียบแถบโปรตีนที่ปรากฏบนแผ่น gel กับแถบโปรตีนมาตรฐาน เพื่อคำนวณหาค่า Rf (relative mobility) และหาน้ำหนักโมเลกุล ของเชื้อรา *P. palmivora* ดังนี้

$$Rf = \frac{\text{ระยะทางการเคลื่อนที่ของโปรตีนจากจุดเริ่มต้น}}{\text{ระยะทางการเคลื่อนที่ของ tracking dye จากจุดเริ่มต้น}}$$

นำค่า Rf มาประเมินจัดกลุ่มของแถบโปรตีนในแต่ละ isolate โดยวิเคราะห์ในโปรแกรม SPSS (Splitting) เพื่อประเมินความแตกต่างกันระหว่าง isolate

### 2.3. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค(Pathogenicity test) ของเชื้อรา

#### *Phytophthora palmivora*

##### 2.3.1 การทดสอบเกิดจากโรคนใบพริกไทย

ทำการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) มี 2 วิธีการ 5 ซ้ำๆ ละ 10 ใบ คือ ปลูกเชื้อ (inoculation) และ ไม่ปลูกเชื้อ (non-inoculation) จำนวน นำเชื้อราทุก isolates ที่แยกได้มาเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน ในอุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ตัดเชื้อราพร้อมชิ้นอาหารบริเวณขอบโคโลนีไปปลูกเชื้อลงบนใบพริกไทย ที่ทำแผลด้วยปลายเข็มหมุดทำการปลูกเชื้อ 50 ใบ ใบหนึ่งๆ ทำการปลูกเชื้อ 1 แผล มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ทำการปลูกเชื้อทั้งหมด 50 แผล สำหรับ Control ทำแผลเช่นเดียวกัน แต่ไม่มีการปลูกเชื้อ จากนั้นนำใบพริกไทยที่ทดลองใส่ถุงพลาสติก ที่ทำให้ชื้นด้วยกระดาษชุบน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ แล้วบ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 25-30 องศาเซลเซียส ตรวจสอบผลการทดลองหลังการปลูกเชื้อ โดยการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลเน่าที่อายุ 6 วัน จากนั้นจึงทำการคัดเลือก isolate ที่รุนแรงต่อการเกิดโรคเพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

##### 2.3.2 การทดสอบการเกิดโรคนต้นพริกไทย

ทำการพิสูจน์เชื้อสาเหตุตามวิธีการ koch's postulates โดยนำเชื้อ *P. palmivora* สายพันธุ์ที่รุนแรงต่อการเกิดโรคจากการทดลองในข้อ 2.3.1 เลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน ในอุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) ใส่ น้ำกลั่นฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 10 มิลลิลิตรต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มไว้ 3 วัน แล้วนำมา ทำ suspension ซึ่งมีประมาณ  $3 \times 10^7$  zoospore/ มิลลิลิตร จากนั้นใช้ suspension จำนวน 50 มิลลิลิตร ไปปลูกเชื้อกับต้นพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย ที่มีอายุ 3 เดือน โดยการทำแผลที่โคนต้นด้วยปลายเข็มหมุด และนำ suspension ดังกล่าวเทราดลงดิน โดยตรงบริเวณ โคนต้นพริกไทย จำนวน 20 ต้น และ ไม่ปลูกเชื้อ (control) จำนวน 20 ต้น และนำต้นพริกไทยเก็บไว้ในเรือนทดลอง ทำการตรวจสอบผลการทดลองหลังการปลูกเชื้อ โดยสังเกตอาการที่ผิดปกติ บนใบ ลำต้น และถอนต้นดูลักษณะอาการของโรค ที่เกิดกับรากและส่วนโคนต้น เปรียบเทียบกับต้น control ซึ่งไม่ได้ใส่เชื้อ สำหรับต้นที่แสดงอาการเป็น โรคจากการปลูกเชื้อให้นำมาทำการแยกเชื้ออีกครั้งหนึ่ง(reisolate)

##### 2.3.3. ความสามารถของเชื้อ *Phytophthora palmivora* ในการทำให้เกิดโรคร่วมกับพืชอาศัย

อื่นๆ

นำเชื้อรา *P. palmivora* isolate ที่มีความสามารถทำให้เกิดโรครุนแรงในข้อ 2.3.1 มาเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) ใช้ cork borer ตัดชิ้นวงให้มีเชื้อราบริเวณขอบโคโลนี ซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร นำไปปลูกเชื้อลงบนใบพืชต่างๆ คือพริกไทย พุริณพันธุ์ชะนี พุริณพันธุ์หอมทอง พุริณพันธุ์ก้านยาว พุริณพันธุ์กระดุม เาะไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลองกอง มะไฟ มังคุด และยางพารา ซึ่งพืชดังกล่าวได้ปลูกในบริเวณพื้นที่ที่ปลูกพริกไทย อันอาจเป็นพืชอาศัยของเชื้อราสาเหตุโรคพริกไทยได้โดยทำการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) 10 วิธีการ จำนวน 5 ซ้ำ โดยทำแผลบนใบด้วยปลายเข็มหมุดคนไฟมาเชื้อแล้ว ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร จำนวน 4 แผลต่อใบ และไม่ปลูกเชื้อ (control) นำเก็บใส่ถุงพลาสติก ที่ให้ความชื้นด้วยน้ำกลั่นมาเชื้อในกระดาษซับ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) และตรวจผลการทดลองภายใน 7 วัน โดยการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผล และเปรียบเทียบอาการรุนแรงของการเกิดโรค

## 2.4 การทดสอบความต้องการอาหาร อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา

### *Phytophthora palmivora*

#### 2.4.1 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* สายพันธุ์ที่รุนแรงต่อการเกิดโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ

นำเชื้อ *P. palmivora* P1 มาเลี้ยงทดสอบบนอาหารแข็ง (solid media) 7 ชนิด ได้แก่ water agar (WA), corn meal agar (CMA), potato dextrose agar (PDA), V-8 juice agar, czapek's agar, oat meal agar (OMA) และ carrot agar (CA) โดยเลี้ยงเชื้อ *P. palmivora* บนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อตัดบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อรา แล้วย้ายไปวางในกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร โดยทำการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) 7 วิธีการ จำนวน 5 ซ้ำ ดังกล่าว และนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) เปรียบเทียบการเจริญเติบโตบนอาหารแต่ละชนิด โดยศึกษาลักษณะวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (เซนติเมตร) และถ่ายภาพประกอบ นับปริมาณการสร้าง sporangium และ zoospore จากนั้นจึงทำการคัดเลือกอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อเพื่อนำไปทำการทดลองต่อไป

#### 2.4.2 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* บนอาหารที่เหมาะสมที่สุดที่ได้จาก 2.4.1

โดยทำการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) 4 วิธีการ จำนวน 5 ซ้ำ โดยมีวิธีการต่างๆ คือ อุณหภูมิ 10 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส โดยเลี้ยงเชื้อ *P. palmivora* บนอาหาร CA ที่ผ่านการทดสอบตามข้อ 2.4.1 ที่อายุ 10 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ที่ลนไฟมาเชื้อแล้ว คัดชั้นวุ้นที่มีเชื้อราบริเวณขอบโคโลนี วางบนกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ CA ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิต่างกัน สังเกตและเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อรา โดยศึกษาลักษณะของโคโลนีที่เจริญบนอาหารและวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนี จากผลการทดลองดังกล่าวนำไปใช้เพื่อเตรียมเชื้อในการทดลองอื่นๆ ต่อไป

### 3. การทดสอบศักยภาพของจุลินทรีย์ต่อต้าน (microbial antagonist) ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของพริกไทยในห้องปฏิบัติการ

#### 3.1 การทดสอบเลี้ยงเชื้อร่วมบนอาหาร(Bi-culture Test)

ทำการทดลองแบบ Completely Randomized Design(CRD) 4 วิธีการ จำนวน 5 ซ้ำ ได้แก่ *Trichoderma harzianum* (PC01), *Trichoderma hamatum* (PC02), *Chaetomium globosum*(CG5),*Chaetomium cupreum* (CC10) ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* โดยทำการเลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรค และเชื้อราจุลินทรีย์ต่อต้านบนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน แยกจากกันแล้วใช้ cork borer ที่ทนไฟฆ่าเชื้อแล้วเจาะเป็นชั้นวุ้นที่มีเชื้อราบริเวณขอบโคโลนี มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร แล้วย้ายชั้นวุ้นของเชื้อราจุลินทรีย์ต่อต้านแต่ละชนิดจำนวน 2 ชั้น วางบนจานอาหาร PDA ให้มีระยะห่างกันด้านบนและย้ายชั้นวุ้นของเชื้อราสาเหตุโรค 2 ชั้นวางด้านตรงข้ามด้านล่างให้มีระยะห่างเท่ากัน โดยแยกทดสอบจุลินทรีย์ต่อต้านแต่ละชนิดแยกต่างหากจากกัน ทำการเลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรค และเชื้อราจุลินทรีย์ต่อต้านแยกจากกันบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นตัวเปรียบเทียบ (Control) บ่มจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม (bi-culture plates) ที่อุณหภูมิห้อง(25-30 องศาเซลเซียส) แล้วสังเกตผลการทดลองโดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของ(เซนติเมตร) แล้วนำมาคำนวณ หาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต (percent inhibition of radial growth=PIRG) ตามวิธีการของ เกษม(2532ก) ดังนี้  $PIRG = \frac{R1-R2}{R1} \times 100$  โดย R1 = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคในจานอาหารเปรียบเทียบ (control) และ R2 = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคในจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม แล้วนำ PIRG มาปรับเป็นระดับการเกิดกิจกรรมต่อต้านของจุลินทรีย์( degree of antagonistic activity) ดังนี้ ระดับที่1 หมายถึง ระดับการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่อต้านต่ำ(น้อยกว่า 50 % PIRG) ระดับที่ 2 หมายถึง ระดับการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่อต้านปานกลาง(51-60% PIRG) ระดับ 3 หมายถึง ระดับการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่อต้านสูง(61-75% PIRG) ระดับ 4หมายถึง ระดับการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่อต้านสูง(มากกว่า 75% PIRG)

#### 3.2 การศึกษาปฏิกริยาของจุลินทรีย์ต่อต้านและเชื้อรา *Phytophthora palmivora*

##### ในกล่องจุลทรรศน์

โดยเทอาหารเลี้ยงเชื้อ CA ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อบางๆ ทิ้งไว้ให้เย็น ทำการตัดชิ้นวุ้นเป็นรูปสี่เหลี่ยมจตุรัสขนาด 1 x 1 เซนติเมตร จากนั้นใช้เข็มเขี่ยย้ายชิ้นวุ้นที่ตัดไปวางบนแผ่นสไลด์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ โดยจุ่มแอลกอฮอล์แล้วผ่านความร้อนจากตะเกียง 2-3 ครั้ง และย้ายจุลินทรีย์ต่อต้านแต่ละชนิด คือ *T. harzianum*, *T. hamatum*, *C. globosum* และ *C. cupreum* แต่ละชนิดวางบนบริเวณขอบชิ้นวุ้นแยกต่างหากจากกัน แล้วย้ายเชื้อราสาเหตุโรคคือ *P. palmivora* วางชิ้นวุ้นอีกด้านหนึ่งในตำแหน่งตรงข้ามกัน ปิดด้วยกระดาษปิดสไลด์นำสไลด์มาบ่มไว้ใน moist chamber บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 27-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำแผ่นสไลด์มาวางภายใต้กล้อง

จุลทรรศน์ (Compound microscope) สังเกตการทำปฏิกิริยาร่วมกันระหว่างเชื้อสาเหตุโรคกับ จุลินทรีย์ต่อต้านแต่ละชนิด

#### 4. การป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยโดยชีววิธีแบบผสมผสาน (Integrated biological control)

โดยทำการทดสอบการใช้เชื้อรา *Trichoderma* และเชื้อรา *Chaetomium* ที่ผลิตเป็นชีวผลิตภัณฑ์ (bioproducts) ในการใช้ควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยที่เกิดจากเชื้อรา *P. palmivora* ในเรือนทดลอง และในแปลงทดลองภาคสนามเปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา (fungicide) พวกร Metalaxyl (methyl N-(2- methoxyacetyl) -N-(N-(2,6- xylyl)-DL-alaninate 5.0% G.) สำหรับชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma* นั้นผลิตจากเชื้อรา *Trichoderma harzianum* PC01 และ *Trichoderma hamatum* PC02 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่คัดเลือก (screening) และพัฒนาโดยตรง ศาสตราจารย์ ดร. เกษม สร้อยทอง โดยเลี้ยงเพิ่มปริมาณของเชื้อราทั้ง 2 สายพันธุ์ ในร่าหยาบ อบฆ่า เชื้อแล้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที บ่มไว้ที่ อุณหภูมิห้อง 2 สัปดาห์ แล้วนำมาผสมกับปุ๋ยอินทรีย์กทม. ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้วที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที ทิ้งต่อกัน 30 วัน โดยผสมคลุกเคล้ากันในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร โดยใช้เชื้อ *Trichoderma* ที่เจริญในร่าหยาบ 1 ส่วน แล้วใส่ถุงพลาสติกบ่มไว้เป็นเวลา 2 สัปดาห์ จึงนำไปอัดเม็ดโดยนำไปเข้าเครื่องอัดเม็ด (pelletizer) ความชื้นประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นรูปทรงกระบอกมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 มิลลิเมตร และยาวประมาณ 180 มิลลิเมตร โดยมีปริมาตรสปอร์  $5 \times 10^6$  สปอร์ต่อยาเชื้อ 1 กรัม สำหรับ *Chaetomium* ชนิดเม็ดผลิตจากเชื้อรา *Chaetomium globosum* และ *Chaetomium cupreum* ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จาก รศ. เกษม สร้อยทอง ซึ่งผลิตเป็นเม็ด (pellet) เส้นผ่าศูนย์กลาง 1 มิลลิเมตร ซึ่งมี ปริมาตร สปอร์  $1.5 \times 10^6$  cfu/ยาเชื้อ 1 กรัม

##### 4.1 การทดสอบการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าพริกไทยโดยชีววิธีแบบผสมผสานในสภาพเรือนทดลอง

ทำการปักชำกิ่งต้นพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย ในดินผสม (ดินต่อปุ๋ยอินทรีย์ กทม. ในอัตราส่วน 10:1 โดยปริมาตร) ปรับ pH ของดินโดยใช้ปูนขาวให้ได้ 5.5 ในกระถางดินเผา มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12 นิ้ว จนกิ่งชำออกราก แล้วเลี้ยงไว้จนต้นกล้า มีอายุ 3 เดือน จึงเริ่มทำการทดลอง โดยปลูกเชื้อ *P. palmivora* โดยใช้ zoospore suspension  $3 \times 10^5$  ในปริมาณ 70 มิลลิลิตรต่อต้น ทำการปลูกเชื้อกับต้นพริกไทย โดยทำการทำแผลบริเวณโคนต้นโดยใช้เข็มหมุดคนไฟมาเชื้อเจาะเป็นแผลกว้าง 0.5 เซนติเมตร แล้วรด suspension ลงบริเวณแผลโคนต้น ทำการปลูกเชื้อทั้งหมด จำนวน 125 ต้น หลังจากปลูกเชื้อจึงปฏิบัติตามวิธีการต่างๆ ทำการทดลองแบบ Completely Randomized Design

เอกส (CRD) 5 วิธีการ จำนวน 5 ซ้ำๆ ละ 5 ต้น มีวิธีการดังนี้ วิธีการที่ 1 ใช้ *Trichoderma* ชนิดเม็ด

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณ 20 กรัม/ตัน วิธีการที่ 2 ใช้ *Chaetomium* ชนิดเม็ด ปริมาณ 20 กรัม/ตัน วิธีการที่ 3 ใช้ *Trichoderma* ชนิดเม็ดร่วมกับ *Chaetomium* ชนิดเม็ด ในปริมาณชนิดละ 10 กรัม/ตัน วิธีการที่ 4 ใช้ Metalaxyl 5% G จำนวน 20 กรัม/ตัน วิธีการที่ 5 เป็นการทดลองเปรียบเทียบซึ่งปลูกเชื้อราสาเหตุโรคอย่างเดียว (Control) โดยในทุกวิธีการจะใช้น้ำอินทรีย์ กทม. ในอัตรา 100 กรัมต่อตัน ทำการใส่ยาเชื้อ *Trichoderma* ชนิดเม็ด *Chaetomium* ชนิดเม็ด หรือ Metalaxyl 5% G ในแต่ละวิธีการตามที่ระบุไว้ทันทีหลังจากปลูกเชื้อสาเหตุโรคแล้วนำไปเลี้ยงในสภาพเรือนทดลองที่อุณหภูมิประมาณ 27-30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ และดูแลรดน้ำให้ชุ่มเสมอ บ่มไว้ประมาณ 3 วันจึงปลูกลงกล้าพริกไทย โดยทำการทดลองระหว่าง มกราคม 2540 - มิถุนายน 2541 แล้วบันทึกระดับอาการเกิดโรคโดยการให้ระดับคะแนนซึ่งตัดแปลงจากวิธีการของ แสงมณี และคณะ (2538) ดังนี้ ระดับที่ 1 = ต้นสมบูรณ์ ใบเขียวเข้ม ระดับที่ 2 = มีอาการใบเหลือง 1-25 % ของทรงพุ่ม ระดับที่ 3 = อาการใบเหลือง และเริ่มมีแผลสีน้ำตาล 26-50% ของทรงพุ่ม ระดับที่ 4 = อาการใบเหลือง และแผลสีน้ำตาลขยายกว้าง 51-75% ของทรงพุ่ม ระดับที่ 5 ใบเหลืองมีแผลสีน้ำตาลใหญ่ มากกว่า 75% ของทรงพุ่ม และใบเริ่มร่วงและต้นเน่าตายในที่สุด ทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณการเปลี่ยนแปลงประชากร (population dynamic) ของเชื้อก่อโรค (inoculum) ของเชื้อรา *P. palmivora* โดยการสุ่มเก็บตัวอย่างดินผิวดินให้แห้งบดเป็นผงแล้วชั่งน้ำหนักดินให้ได้ 0.0025 กรัม ใส่ในงานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาด 9 เซนติเมตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว หลังจากนั้นเทอาหารเลี้ยงเชื้อ CA ผสมกับ BNPRAH ที่กำลังหลอมเหลวประมาณ 20 มิลลิลิตรต่องานอาหารเลี้ยงเชื้อ หมุนงานอาหารเลี้ยงเชื้อให้ตัวอย่างดินกระจายทั่วงาน บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส) ตรวจสอบและนับปริมาณ colony-forming unit (cfu) ต่อน้ำหนักดิน 1 กรัม

#### 4.2 การทดสอบการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าพริกไทยโดยชีววิธีแบบผสมผสานในสภาพแปลงทดลอง

การทดสอบการใช้จุลินทรีย์ควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าพริกไทย ในสภาพแปลงทดลองทำการทดลองในแปลงปลูกพริกไทยพันธุ์มาเลเชีย ที่มีการเกิดโรคระบาดค่อนข้างรุนแรงซึ่งต้นพริกไทยเป็นโรคตายหมดทั้งแปลง ที่สวนคุณอาทิตย์ สิทธิพันธ์ บ้านเลขที่ 48/8 หมู่ที่ 7 ตำบลฉนวน อำเภอมะขาม จังหวัดจันทบุรี โดยทำการทดสอบกับพริกไทย ในพื้นที่ 1.6 ไร่ ระยะเวลาปลูก 2 x 2 เมตร จำนวน 640 ต้น โดยทำการทดลองแบบ Randomized Completely Block Design 5 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ (32 ต้น ต่อซ้ำ) ได้แก่ กรรมวิธีที่ 1 ใช้เชื้อรา *Trichoderma* (PC01+PC02) ชนิดเม็ด 20 กรัมต่อต้น หว่านกระจายรอบโคนต้นพริกไทยทุกระยะ 4 เดือน ร่วมกับวิธีการเขตกรรม กรรมวิธีที่ 2 ใช้เชื้อรา *Chaetomium* (CC+CG) ชนิดเม็ด 20 กรัมต่อต้น หว่านกระจายรอบโคนต้นพริกไทยทุกระยะ 4 เดือน ร่วมกับวิธีการเขตกรรม กรรมวิธีที่ 3 *Trichoderma* (PC01+PC02) ร่วมกับ *Chaetomium* (CC+CG) ชนิดละ 10 กรัมต่อต้น หว่านกระจายรอบโคนต้นพริกไทยทุกระยะ 4 เดือน ร่วมกับวิธี

เอกสารกรรมวิธีที่ 4 การใช้สารเคมี Metalaxyl ชนิดเม็ด 20 กรัมต่อต้นหว่านกระจายรอบโคนต้น

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พริกไทยทุกระยะ 4 เดือน ร่วมกับวิธีการเขต กรรมวิธีที่ 5 ไม่ใช้วิธีการใดๆ (Control) ร่วมกับวิธีการเขตกรรม ในการเตรียมหลุมปลูก ขุดหลุมขนาด 30 x 30 เซนติเมตร ใส่ปุ๋ยอินทรีย์ กทม. 3 กิโลกรัมต่อหลุม ใช้ปูนขาวเฉลี่ยประมาณ 0.5 กิโลกรัมต่อหลุม กลุกล้ำรคน้ำให้ชุ่ม วัดค่า pH ของดินโดยเฉลี่ย 5.50 บ่มไว้ 7 วัน ก่อนปลูกพริกไทย

สำหรับทุกวิธีการดังกล่าวใช้วิธีการเขตกรรมได้แก่ การกำจัดวัชพืชบริเวณโคนต้น ตัดแต่งกิ่งค้ำต้นล่างให้โปร่งและตัดกิ่งที่เป็นโรคเผาทำลาย ขุดร่องระบายน้ำเพื่อไม่ให้น้ำท่วมขัง ปรับสภาพความเป็นกรด-ด่าง(pH) ของดิน โดยใช้ปูนขาว 0.5 กิโลกรัมต่อต้น และใส่ปุ๋ยอินทรีย์ กทม. ในอัตรา 3 กิโลกรัมต่อต้น หลังจากนั้นจึงใส่เชื้อ *Trichoderma* ชนิดเม็ด *Chaetomium* ชนิดเม็ด *Trichoderma* ชนิดเม็ดร่วมกับ *Chaetomium* ชนิดเม็ด และ *Metalaxyl* แยกต่างหากจากกันในแต่ละวิธีการ ประเมินการเกิดโรคหรือระดับอาการของโรคโดยคัดแปลงจาก แสงมณี (2538) และตรวจหาปริมาณประชากรของเชื้อ *P. palmivora* (colony-forming unit (cfu) ต่อน้ำหนักดิน 1 กรัม) ทุก 4 เดือน เป็นเวลา 12 เดือน นอกจากนี้ทำการเก็บข้อมูลด้านความสูง ของทรงพุ่มพริกไทยเพื่อเปรียบเทียบในแต่ละวิธีการ

#### 5. การศึกษาข้อมูลภูมิอากาศที่มีผลต่อการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี

สำรวจและเก็บข้อมูลในแปลงทดลองทางด้าน ความเป็นกรด - ด่าง ของดิน อุณหภูมิดิน อุณหภูมิอากาศ ปริมาณน้ำฝน ทุกเดือนตลอดระยะเวลาทดลอง เพื่อทำการศึกษาเปรียบเทียบกับปริมาณการเกิดโรคทุก 4 เดือน และเปรียบเทียบกับ การเปลี่ยนแปลงประชากร *P. palmivora* ในดินตลอดระยะเวลาทดลอง

#### 6. การจัดโปรแกรมการควบคุมโดยชีววิธีแบบผสมผสาน

นำข้อมูลจากงานทดลองและสำรวจ มาจัดทำโปรแกรมในการจัดการโรค และการควบคุมโรคของพริกไทย ที่เกิดจากเชื้อรา *P. palmivora* โดยชีววิธีแบบผสมผสาน ได้แก่ ข้อมูลการฉีดยาฆ่าแมลง การปรับ pH ดิน การใช้วัสดุคลุมดิน การใช้ปุ๋ยอินทรีย์ กทม. การใช้ปุ๋ยวิทยาศาสตร์ การให้น้ำและการระบายน้ำ การใช้จุลินทรีย์ต่อต้าน(antagonists) และอื่นๆ เป็นต้น ตลอดระยะเวลาทดลองเป็นเวลา 12 เดือน

#### สถานที่ทำการศึกษาดทดลอง

1. ห้องปฏิบัติการราวิทยา ตึกเห็ดราวิทยา ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

2. สวนพริกไทยคุณอาณัติ สิทธิพันธ์ เลขที่ 48/8 หมู่ที่ 7 ตำบลฉนวน อำเภอมะขาม

เอกสารนี้จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการเรียนการสอนและการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ระยะเวลาในการศึกษาทดลอง

เริ่มทำการทดลองตั้งแต่เดือน มกราคม 2540 ถึงสิ้นสุดเดือน ธันวาคม 2540



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

### การตรวจเอกสาร

#### 2.1 โรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทย

พริกไทย (Black pepper) อยู่ในตระกูล Piperaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Piper nigrum* Linn. (อุคม, 2529) มีแหล่งกำเนิดอยู่บริเวณเทือกเขาทางภาคตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศอินเดีย และได้กระจายเข้าสู่ประเทศสาธารณรัฐสังคมนิยมแห่งสหภาพพม่า เมื่อประมาณ 100 ปี ก่อน พุทธกาล ต่อมาปี พ.ศ. 1800 มีรายงานว่า อินโดนีเซียได้ทำการค้าพริกไทยกับประเทศจีน และขยายการค้าพริกไทยสู่ประเทศต่างๆ ในทวีปยุโรป ทำให้มีการค้นหาแหล่งที่มาของเครื่องเทศชนิดนี้เกิดขึ้น จนกระทั่งปี ค.ศ. 1498 วาสโก ดากามา ชาวโปรตุเกส ได้เดินทางมาถึงประเทศอินเดีย และในที่สุดชาวโปรตุเกส สามารถควบคุมแหล่งผลิต และเดินทาง ทางเรือของการค้าเครื่องเทศไว้ได้เป็นเวลา กว่า 100 ปี ซึ่งไม่เฉพาะในประเทศอินเดียเท่านั้น ยังคุมไปถึงศรีลังกา เกาะชวา เกาะสุมาตรา และหมู่เกาะโมลุกกะส์ อีกด้วย ต่อมาในศตวรรษที่ 17 ชาวฮอลันดาได้เข้าครอบครองประเทศอินโดนีเซียแทน และในศตวรรษที่ 19 อังกฤษ ได้นำพริกไทยไปปลูกที่ประเทศสหพันธ์มาเลเซีย ภายหลังพริกไทยก็ได้แพร่ไปยังประเทศในเขตร้อนอื่นๆ (ไชยา, 2531)

#### 2.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ราก เป็นระบบรากฝอย ส่วนใหญ่กระจายอยู่ทั่วไปตามผิวดินและมีรากอีกส่วนหนึ่งที่หยั่งลึกประมาณ 0.6 เมตร

ลำต้น เป็นไม้เถาเลื้อย ไม่สามารถยืนอยู่ได้โดยลำพัง ต้องอาศัยสิ่งอื่นๆ เป็นที่เกาะยึด โดยใช้รากเล็กๆ ที่ออกตามข้อของลำต้นที่เรียกว่า รากดินตุ๊กแก หรือมือตุ๊กแก ต้นพริกไทยสามารถสูงขึ้นไปได้เรื่อยๆ อาจถึง 10 เมตร หรือน้อยกว่านี้ แต่ผู้ปลูกมักตัดให้สั้นเพื่อสะดวกในการปฏิบัติงาน

ใบ ใบมีลักษณะคล้ายใบพลู รูปไข่ ปลายใบแหลม ขนาดของใบแล้วแต่พันธุ์ โดยทั่วๆ ไป กว้างประมาณ 4-6 เซนติเมตร ยาว 9-15 เซนติเมตร ใบจะเกิดตามข้อของลำต้น และกิ่งแขนง โดยเกิดสลับกันซ้ายและขวา หรืออยู่ในด้านตรงข้ามกัน

ดอก เป็นช่อยาว 7-15 เซนติเมตร แต่ละช่อมีดอกประมาณ 50-150 ดอก ดอกมีลักษณะกลมๆ เล็กๆ ขนาดประมาณ 1 มิลลิเมตร ติดอยู่บนก้านช่อ ไม่มีกลีบเลี้ยงและกลีบดอก ดอกบานประมาณ 5-7 วัน เป็นดอกสมบูรณ์เพศ และผสมตัวเองได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อประโยชน์ในการศึกษาวิจัย ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ผล** ผลอ่อนจะมีสีเขียวอ่อน เมื่อแก่จะเป็นสีเขียวเข้ม และเปลี่ยนเป็นสีแดง หรือสีส้ม เมื่อผลสุกอมจะมีสีแดงจนเกือบดำ และจะร่วงหล่นง่ายผลพริกไทยประกอบด้วย 2 ส่วนใหญ่ๆ คือ เปลือกที่หุ้มอยู่ด้านนอกและส่วนของเมล็ด ส่วนที่เป็นเปลือกจะเหี่ยวแห้งเป็นสีดำหุ้มเมล็ดอยู่ ซึ่งทั้งหมดนี้เรียกว่า พริกไทยดำ และถ้าผ่านกรรมวิธีให้เปลือกหลุดออกก็จะเหลือแต่เมล็ดขาวๆ เรียกว่า พริกไทยขาว

**เมล็ด** เมล็ดเมื่อแก่จะมีสีเขียวเข้มและจาง และเป็นสีแดงสด หรือแดงเมื่อแก่จัด ระยะเวลาตั้งแต่เริ่มออกดอก จนกระทั่งเป็นเมล็ดแก่ สามารถเก็บเกี่ยวได้ประมาณ 6 เดือนปัจจุบันประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกพริกไทยในเขตภาคตะวันออก ดังตารางที่ 1 (วัฒนา, 2531:ไชยา, 2531)

ตารางที่ 2.1 พื้นที่เพาะปลูกพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย ในเขตภาคตะวันออก

จังหวัด	ให้ผล	ไม่ให้ผล	รวม	ผลผลิต/ไร่	ผลผลิตรวม(ตัน)
ตราด	207	6	283	887	245,710
อ. เมือง	202	6	208	1,057	212,100
อ. แหลมงอบ	5	0	5	550	2,750
<b>ชลบุรี</b>					
อ. บ่อทอง	70	0	70	145	10,150
<b>จันทบุรี</b>	12,427	1,290	13,717	839	10,434,967
อ. เมือง	452	0	452	800	361,600
อ. ชลุม	200	0	200	250	50,000
อ. มะขาม	223	0	223	892	198,916
อ. โป่งน้ำร้อน	80	0	80	152	12,160
อ. ท่าใหม่	10,635	1,285	11,920	885	9,092,925
กิ่ง อ. สอยดาว	77	5	82	875	67,375
กิ่ง อ. แก่งหางแมว	460	0	460	850	391,000

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

จังหวัด	ให้ผล	ไม่ให้ผล	รวม	ผลผลิต/ไร่	ผลผลิตรวม(ตัน)
กิ่ง อ. เขาคิชฌกูฏ	300	0	300	870	261,000
<b>ปราจีนบุรี</b>					
อ. ประจันตคาม	5	0	5	180	900
<b>นครนายก</b>					
อ. เมือง	120	35	155	400	48,000
<b>ระยอง</b>					
อ. เมือง	5	15	20	800	90,000
อ. บ้านค่าย	2	3	5	200	400
อ. แกลง	214	5	219	400	85,600
ที่มา: กรมส่งเสริมการเกษตร (2539)					

โรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Phytophthora* มีรายงานว่าเกิดจากเชื้อ *P. palmivora* (Holliday and Mowat, 1963; Turner, 1969) *P. colocasiae* (Thompson, 1929) ในประเทศมาเลเซีย และในประเทศบราซิล และเปโต ริโก (Alconero *et al.*, 1972) ใน Kamataka (Sastry and Hegde, 1991) ในอินโดนีเซีย *P. parasitica* var *piperina* (Dastur, 1935) ในอินเดีย *P. parasitica* var. *piperina* (Dastur, 1935) ) ในประเทศมาเลเซีย ซึ่งมีความสับสนในเรื่องเชื้อสาเหตุที่แท้จริงของโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทย Tsao and Tummakate (1977) รายงานว่าเชื้อราสาเหตุทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทย ทางภาคใต้ของประเทศไทย คือ *P. palmivora* โดยพบที่ อำเภอ ปะเหลียน จังหวัดตรัง ซึ่งเป็นโรครากกว่า 600 ต้น และได้คัดเลือกมาศึกษา 2 isolates คือ isolate 2 No. 13-5 แยกได้จากรากเน่า และ isolate 3 No. 13-A แยกได้จากรากเน่า และจากดินโดยใช้ใบเป็นเหยื่อล่อ นำมาศึกษาความสามารถของเชื้อในการทำให้เกิดโรคพบว่า isolate 13-5 มีความรุนแรงต่อการเกิดโรครากมากที่สุด และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยอาศัยหลักพิจารณา sporangia ดังนี้

1. ขนาด pedicels sporangium ส่วนใหญ่ยาวประมาณ 100 ไมครอน isolate 13-5 ยาว 69(12-127)ไมครอน isolate 13-A 75(27-162) ไมครอน 2.

2 Double-septate sporangia มี 1 septum เปรูร์เซ็นต์ Double-septate sporangia ผันแปร 28-79 เปรูร์เซ็นต์ ไปตามชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ และสภาพแวดล้อม ซึ่งภายในเป็นที่บรรจุ protoplasm

3 Fan-shaped or umbellate sporangia แบบ sympodial มี sporogenous hypha ยาวเล็กน้อย หรือไม่มียาว

การศึกษา sporangia ทั้ง 3 ลักษณะ นี้ สามารถศึกษาได้ด้วยการเลี้ยงเชื้อในอาหารชนิดต่างๆ เช่น Difco corn meal agar, Difco potato dextrose agar, Difco oat meal agar, carrot agar, และ V8 juice agar. บ่มไว้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส หรือเจาะเป็นชั้นเล็กๆ แช่ในน้ำ หรือ salt solution ภายใต้แสงไฟ(220 ft. หรือ 2400 Lux.) จากการศึกษา พบว่า ทั้ง 2 isolates มี sporangia รูปร่างแบบ ellipsoidal, obovoid, pyriform, หรือ fusiform มีขนาด 48 (34-69) x 22 (19-30) ไมครอน L:B 1.5 (1.1-1.9) และพบว่า sporangia สร้างน้อย หรือไม่สร้างเลยในที่มืด แต่จะสร้างได้มากมายในที่ที่มีแสง Chlamydo-spore สร้างน้อย หรือไม่สร้างเลย ในที่มีมืด หรือที่มีแสง ไม่พบ oospore เนื่องจากทั้ง 2 isolates เป็น heterothallic จะพบเมื่อมีการ mating กันเท่านั้น โดยใช้ A1 เป็น mating type Antheridium เป็นแบบ Amphigynous

นอกจากนี้ แสงมณี และคณะ (2531) ได้ศึกษาเชื้อราสาเหตุโรคพริกไทยที่อยู่เหนือดิน ในเขตจังหวัดจันทบุรี ระยะเวลาของ คราด ชุมพร สุราษฎร์ธานี กระบี่ และ ตรัง พบว่า โรคใบเน่าเกิดจากเชื้อรา *P. parasitica* โรคราสีชมพู เกิดจากเชื้อรา *Coritcium salmonicola* โรคราดำ เกิดจากเชื้อรา *Capnodium* sp. โรคผลเน่า เกิดจากเชื้อรา *Fusarium moniliforme* โรคแอนแทรกโนส เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* โรคสาหร่ายเกิดจากสาหร่าย *Cephaleuros virescens* เอียน (2536) รายงานว่าโรคโคนและรากเน่า ของพริกไทย ที่เกิดจากเชื้อรา *P. parasitica* มักเป็นกับต้นพริกไทย ที่มีอายุประมาณ 2 ปี ขึ้นไป โดยทำลายรากฝอย และลุกลามไปยังส่วนต่างๆ ของต้นพริกไทย เมื่อผ่าดูเนื้อเยื่อตามขวางจะพบท่อน้ำ ท่ออาหาร เป็นราสีดำ ท่อน้ำ ท่ออาหารถูกทำลาย ไม่สามารถลำเลียงได้ ใบพริกไทย จะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง แล้วร่วงหล่นในที่สุดก็จะตาย นอกจากนี้ยังทำลายต้น ใบ ผล ปล้อง ช่อดอก ถ้าความชื้นสูง แผลจะเน่าและ ถ้าเป็นกับต้นพริกไทยที่มีอายุน้อย จะตายภายใน 1-2 เดือน ถ้าพริกไทยอายุมากจะยืนต้นตาย ผลผลิตลดลง และจะตายในที่สุด ลักษณะเชื้อรา *Phytophthora* spp. สาเหตุโรคพืช

จัดอยู่ใน Kingdom Myceteae

Division Mastigomycotina

Class Oomycetes

Order Peronosporales

Family Pythiaceae

Genus *Phytophthora*

Anton de Bary รายงานการพบเชื้อ *Phytophthora infestans* เป็นครั้งแรกในปี 1876 โดย ซึ่งเป็นสาเหตุโรค Late blight of potato (Zentmyer, 1983) เป็นเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่มีความสำคัญ ประมาณ 43 species (Kaosiri, 1978) ที่ทำให้เกิดโรคพืชได้หลายชนิด ทั้งในตระกูลไม้ล้มลุกและ ไม้ยืนต้น พวกไม้ดอก ซึ่งระบาดเกือบทั่วโลก และมีประมาณ 138 ชนิด ที่ถูก *Phytophthora* เข้า ทำลาย เช่น *P. cinnamomi* แยกได้จาก อโวคาโด ที่เป็นโรครากเน่า *P. parasitica* แยกได้จากโรค โคนและรากเน่า ของพริกไทย พลู สตอร์เบอร์รี่ มะม่วงหิมพานต์ ละหุ่ง ปอแก้ว โรคผลเน่าของ มะเขือเทศ โรคยอดเน่าของสับปะรด และโรครากเน่าของกล้วยไม้ *P. colocasiae* แยกได้จาก โรคใบไหม้ของเผือก บอนเจียว และถั่ว *P. palmivora* แยกได้จากโรครากเน่าของทุเรียน โรคเน่า ค้ำของกล้วยไม้ โรครากเน่าของกล้วยกวาง และชัยพฤกษ์ *P. infestans* พบในใบมะเขือเทศ และ มันฝรั่งเป็นโรคใบไหม้ *P. botryosa* แยกได้จากใบร่วงของยางพารา (อุบล และคณะ , 2528) *P. capsici* แยกได้จากพริกไทยที่เป็น โรคแคระแกรน ในอินโดนีเซีย (Wahid and Zaubin, 1993)

### 2.3 การควบคุมโรคโดยชีววิธีแบบผสมผสาน

ในปัจจุบันจะเห็นได้ว่ารัฐบาลได้มีการณรงค์เรื่องปัญหาสภาพแวดล้อมที่มีผลกระทบต่อ มวลมนุษย์ และสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ภาครัฐบาลกำลังให้ความสนใจในการพยายามลดการใช้สารเคมี ป้องกันกำจัดโรคพืช จึงทำให้นักวิชาการต่างๆ ทั้งภาครัฐและเอกชนได้ให้ความสนใจ ในการใช้ จุลินทรีย์สายพันธุ์ต่างๆ ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคพืช หรือที่เรียกว่า การควบคุมโดยชีววิธีซึ่ง เกษม, (2532ก) ได้ให้ความหมายไว้ว่า การลดปริมาณของเชื้อก่อโรค(imoculum) หรือการลด กิจกรรมของการเกิดโรคของเชื้อโรคหรือปรสิตที่อยู่ในระยะที่มีการเจริญเติบโต หรือระยะพักตัว ด้วยการใช้อย่างมีชีวิตรูปหนึ่งหรือมากกว่า เข้ามาทำการป้องกันกำจัดเพื่อให้บรรลุผลสำเร็จโดยวิธี ธรรมชาติ หรือโดยการจัดการสิ่งแวดล้อม พืชอาศัย จุลินทรีย์ต่อต้าน หรือด้วยการนำจุลินทรีย์ต่อ ต้าน ชนิดหนึ่ง หรือมากกว่ามาใช้ในการควบคุม และใช้ร่วมกับวิธีการอื่นๆ แบบผสมผสานเช่น การ จัดการศัตรูพืช การปลูกพืชหมุนเวียน การชลประทาน การเขตกรรม การเก็บเกี่ยว การส่งตลาด เป็นต้น ทั้งนี้เพื่อให้ได้ผลผลิตดี และกำไรสูงสุดหรือที่เรียกว่า การจัดการศัตรูพืชแบบผสม ผสาน(integrated control)

สำหรับปัญหาทางด้านโรคพืชในปัจจุบันจะเห็นได้ว่ามีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา กันมากซึ่งมีผลตกค้างในดิน น้ำ อากาศ ผลผลิตทางเกษตร ในการควบคุมโรคพืช โดยเฉพาะ metalaxyl ซึ่งมีผลเสีย ทำให้สภาพแวดล้อมเสียความสมดุล มีพืชตกค้างในดิน และเชื่อมีการต้านทานยา (Joseph and Coffey, 1984; Vorob'eva Yu.V. et al, 1990) เกษม (2538) กล่าวว่าจุลินทรีย์ก็คือ สิ่งมีชีวิต ขนาดเล็ก มองไม่เห็นด้วยตาเปล่า ต้องใช้กล้องจุลทรรศน์ส่องดู จึงจะเห็นชัดเจน สำหรับจุลินทรีย์ ที่นำมาใช้ในการควบคุมโรคพืช มี 2 ลักษณะ คือ จุลินทรีย์ต่อต้าน ซึ่งมีอยู่ใน

แหล่งธรรมชาติ (resident antagonist) ซึ่งมีอยู่ในดิน ในบริเวณรอบรากพืช บนผิวพืชที่มีเชื้อสาเหตุโรคพืชอาศัยอยู่และ จุลินทรีย์ต่อต้านที่นำเข้ามาใช้ (introduced antagonist) เป็นจุลินทรีย์ที่นำมาจากแหล่งอื่น และนำเอามาใช้ ในแหล่งที่ต้องการควบคุมเชื้อสาเหตุโรค ซึ่งอาจจะมีข้อจำกัดทางนิเวศน์วิทยา ของจุลินทรีย์ต่อต้านแต่ละชนิด ฉะนั้นในการใช้จุลินทรีย์ควบคุมโรคพืชซึ่งจะต้องมีสมบัติดังนี้ สามารถเจริญ แ่่งอาหารได้ดีกว่าเชื้อโรคพืช และ มีความสามารถสร้างสารปฏิชีวนะของจุลินทรีย์ต่อต้านเชื้อโรคพืช เพื่อเข้าทำลาย ยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุทำให้เกิดโรคพืช เช่น *Trichoderma* ซึ่ง Domsch and Gams, (1980) จัดอยู่ใน Form-Order Moniliales Form-Family Moniliaceae Form-Genus *Trichoderma* sp. เป็นราที่อยู่ในกลุ่มขยายพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ สปอร์ของเชื้อราสร้างได้มากและเจริญเติบโตเร็ว การนำจุลินทรีย์ต่อต้าน (microbial antagonists) มาใช้ในการควบคุมเชื้อสาเหตุทำให้เกิดโรคพืชในปัจจุบัน มีหลายชนิดได้แก่ การใช้ *Trichoderma* spp. และ *Chaetomium* spp. เป็นต้น

## 2.4 การใช้ *Trichoderma* spp. ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีในประเทศไทย

จิระเดชและคณะ (2533) ใช้ *T. harzianum* 2 สายพันธุ์ *Trichoderma* Th 1. และ *Trichoderma* Th2 ในการควบคุมโรคกล้าแห้งของข้าวบาร์เลย์ที่เกิดจากเชื้อ *Sclerotium rolfii* โดยวิธีการคลุกเมล็ดและใส่ลงในดิน เปรียบเทียบกับการคลุกเมล็ดด้วย carboxin พบว่า วิธีการคลุกเมล็ดด้วยผงเชื้อ *T. harzianum* (เลี้ยงเชื้อ *T. harzianum* บนเมล็ดข้าวฟ่างที่ฆ่าเชื้อแล้วเป็นเวลา 7 วัน นำมาปั่นด้วย blender และผสมผง diatomite (240  $\mu\text{m}$ ) ในอัตรา 50% โดยน้ำหนักคลุกเมล็ดให้ทั่วแล้วผึ่งให้แห้งนำมาบดให้ละเอียดนำมาร่อนด้วยตะแกรงขนาด 35 mesh และ spore suspension ทำ spore suspension นำมาปั่นให้ละเอียดเติมน้ำให้ครบอัตราส่วน 1 กก.ต่อ 10 ลิตร) ของเชื้อ *T. harzianum* สามารถควบคุมโรคกล้าแห้งของข้าวบาร์เลย์ในระยะแตกกอได้เทียบเท่ากับการใช้สารเคมี carboxin คลุกเมล็ด ในระยะออกทรง พบว่าการใช้ spore suspension ของเชื้อ Th 1. และ Th 2. และผงเชื้อ Th 2. คลุกเมล็ดก่อนปลูก พบมีจำนวนต้นเป็นโรคเพียง 54.2 113.0 และ 59.4 ต้นต่อ 160 ตารางเมตร ในขณะที่ control มีจำนวนต้นเป็นโรค 287.1 ต้นต่อตารางเมตร ส่วนในด้านผลผลิต ก็ให้ผลเช่นเดียวกัน การใช้ Th1. ในรูป spore suspension ผงเชื้อ และ carboxin คลุกเมล็ด ผลผลิตของข้าวไม่มีความแตกต่างกัน แต่ว่าการใช้ Th 1. ในรูป spore suspension และรูปผงเชื้อแห้ง และ carboxin คลุกเมล็ดช่วยไม่ผลผลิตข้าวบาร์เลย์สูงกว่า control ร้อยละ 23.22 11.63 และ 4 ตามลำดับ และจิระเดช และคณะ (2535) ใช้ผงเชื้อราไตรโคเดอร์มา Th1 และ Th2 เพียงอย่างเดียว และใช้ร่วมกับสารเคมี carboxin ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์คลุกเมล็ดข้าวบาร์เลย์ ที่เป็นโรคโคนต้นแห้ง ที่ จ. ลำปาง จ. เชียงราย และ จ. กาฬสินธุ์ พบว่าเมื่อใช้ผงมวลชีวภาพร่วมกับ carboxin สามารถควบคุมโรคนี้ได้ดี และเพิ่มผลผลิตได้สูงกว่า control 56.4 - 57.5 กก./ไร่ (จ. เชียงราย) 19.6 - 39.2 กก./ไร่ (จ. ลำปาง) และ 2.2 - 14 กก./ไร่ (จ. กาฬสินธุ์) และสูงกว่าการใช้เชื้อ หรือสาร

เคมีเพียงอย่างเดียว ซึ่งสรุปได้ว่า ผลิตภัณฑ์ผงเชื้อรา *T. harzianum* (Th1) สามารถใช้ในการควบคุมโรคคั้นแห้งของข้าวบาร์เลย์ได้

มณฑาและคณะ (2534) ใช้ *Trichoderma* sp ป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าของทานตะวัน ที่เกิดจาก เชื้อ *Rhizoctonia solani* ในห้องปฏิบัติการและในกระถางปลูก จากการทดสอบในห้องปฏิบัติการ โดยเลี้ยงเชื้อร่วมกันบนอาหาร PDA พบว่า สปอร์ของ *Trichoderma* sp. สามารถเข้าไปอยู่ในเส้นใยของเชื้อ *R. solani* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ เชื้อ *R. solani* โดยทำให้เส้นใยเหี่ยวแฟบ และแตกหัก ได้ภายใน 6 วันส่วนในกระถางปลูก ใช้ *Trichoderma* sp. อัตราส่วน 40 กรัมต่อดินอบฆ่าเชื้อ 300 กรัม พบว่า การคลุกเคล้าเชื้อราทั้งสองชนิด พบอาการที่ปลายรากเป็นสีน้ำตาล หลังจากคลุกเชื้อ 7 วัน และพบอาการที่โคนต้นเป็นสีน้ำตาลดำ หลังจากคลุกเชื้อ 15 วัน ส่วนที่คลุกเชื้อราทั้ง 2 ชนิด พบแต่ที่ปลายรากเท่านั้น ส่วนในกรรมวิธีที่คลุกเชื้อ *Trichoderma* sp อย่างเดียว และที่ไม่คลุกเชื้อ ตรวจไม่พบอาการ โรคโคนเน่าแต่อย่างใด

สุธามาตและคณะ (2537) ใช้ *Trichoderma* spp. จำนวน 9 isolates ได้แก่ *T. longibrachiatum*, *T. harzianum* (CB-PIN-01) *T.* (T-16), *T.* (T-17), *T.* (CP-CI-51), *T.* (CP-CI-52) *T.* (CP-CI-53), *T.* (CP-CI-54) *T.* (CP-CI-57) ผสมกับผงไคอะคอมไมท์(diatomite), ไร่ข้าวละเหยียด, และปุ๋ยอินทรีย์(TDRO-mix) ในอัตราส่วน 1:8:5:16 โดยใช้ TDRO-Mix กับเชื้อ *P. parasitica* รวม 3 อัตรา คือ 1:9, 1:19, 1:29 ร่วมกับสารเคมี metalaxyl หรือ fosetyl Al เปรียบเทียบกับไม่ใส่สารเคมีใดๆ เป็นวิธีควบคุม พบว่า อัตราส่วน 1:9 สามารถลดจำนวนประชากร

*P. parasitica* ได้มากกว่าอัตราส่วนอื่นๆ และการใช้ส่วนผสม TDRO-mix สามารถลดประชากร *P. parasitica* ได้แตกต่างกัน ใน CB-PIN-01ที่ใช้ร่วมกับสารเคมี metalaxyl(1250ppm.) พบประชากร *P. parasitica* เพียง  $0.03 \times 10^3$  cfu/g-mix ส่วนในสภาพเรือนทดลองนั้นก็ให้ผลเช่นเดียวกัน ใน CB-PIN-01 ผสม metalaxyl จะมีจำนวนประชากรน้อยที่สุด  $1.6 \times 10^2$  cfu ต่อดิน 1 กรัม ส่วนที่ไม่ใช้วิธีใดๆ มีปริมาณประชากรเพิ่มขึ้น  $13.7 \times 10^2$  cfu ต่อดิน 1 กรัม

สุภาพรและคณะ (2537) ที่ใช้ *Trichoderma* 8 isolates *T.* (CHAN1-01-19), *T.* (CHAN-03-13), *T. harzianum* (M4), *T.* (CHAN1-01-17) และ *T.* (CHAN1-01-12)ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของกล้าทุเรียน ที่เกิดจากเชื้อรา *P. palmivora* โดยใช้เชื้อรา *Trichoderma* ผสมกับผงไคอะคอมไมท์, ไร่ข้าว และปุ๋ยอินทรีย์ อัตราส่วน 1:8:5:16 เปรียบเทียบการใช้ metalaxyl และ fosetyl Al ใส่ลงในดินปลูกกล้าทุเรียน 4-5 วัน ก่อนปลูกเชื้อ พบว่า *Trichoderma* ทุก isolates สามารถลดปริมาณเชื้อ *P. palmivora* ได้ไม่แตกต่างกัน ในเปอร์เซ็นต์ต้นรอดตาย สูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ คือ *T. harzianum* (M4) และ *T.* (CHAN-03-13) ในขณะที่กรรมวิธีที่มีเชื้อ *P. palmivora* อย่างเดียว จะมีต้นตาย 50 เปอร์เซ็นต์

จิระเดชและคณะ (2538) ศึกษาเชื้อจุลินทรีย์ *T. harzianum* 4 isolates คือ *T. harzianum* (CB-PIN-01), *T. harzianum* (M4), *T. harzianum* (16), และ *T. harzianum* (CP-CI-57) ในการควบคุมโรครากเน่าของกิ่งตอนส้มเขียวหวานที่เกิดจากเชื้อรา *P. parasitica* โดยใช้ส่วนผสมของผงเชื้อรา *Trichoderma* spp. และสารเสริม(รำข้าว, ปุ๋ยอินทรีย์, และทราย) ร่วมกับการใช้สารเคมี metalaxyl พบว่า *T. harzianum* (CB-PIN-01) ร่วมกับสารเคมี metalaxyl 2500 ppm. ค่าดัชนีของโรคต่ำสุด เท่ากับ 5.5 เปอร์เซ็นต์ ส่วน isolates อื่นๆ สามารถลดการเน่าของรากลงได้เช่นเดียวกัน ในขณะที่ control(มีเชื้อ) มีค่าดัชนีของโรคสูงสุดเท่ากับ 63.9 เปอร์เซ็นต์

สุณีรัตน์และคณะ (2540) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* (CB-PIN-01) ในการควบคุมโรครากเน่าของส้มเขียวหวานที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ในสวนเกษตรกร อำเภอหนองเสือ จังหวัดปทุมธานี โดยวิธีการหว่านส่วนผสมของผงเชื้อรา *Trichoderma* (CB-PIN-01) กับอาหารเสริม(รำข้าว) และสารเสริม(ปุ๋ยหมัก) อัตราส่วน 1:4:10 โดยหว่านรอบทรงพุ่มของส้มในอัตราส่วน 100 กรัมต่อตารางเมตร พบว่า ปริมาณเชื้อรา *T. harzianum* ที่ตรวจพบในดินมีปริมาณเพิ่มขึ้นจากปริมาณเดิมที่มีอยู่ธรรมชาติ 120-165 เท่า ของเชื้อรา *P. parasitica* เชื้อรา *P. parasitica* ในตัวอย่างดินที่ใช้ *T. harzianum* จะมีปริมาณต่ำกว่า และพบว่าดินส้มมีความสมบูรณ์เพิ่มขึ้น ในขณะที่ไม่ได้ใช้ *T. harzianum* จะมีความสมบูรณ์ลดลง 20% เช่นเดียวกับการใช้น้ำผสมผงเชื้อรา *T. harzianum* ฉี ดพ่น จะมีความสมบูรณ์เพิ่มมากขึ้น และจิระเดช และคณะ (2540) ศึกษาประสิทธิภาพส่วนผสมของผงเชื้อรา *T. harzianum* (CB-PIN-01) ในอัตราส่วนเดียวกัน โดยวิธีหว่านได้ทรงพุ่มของทุเรียนในอัตราส่วน 50 กรัม ต่อตารางเมตร ในสวนเกษตรกรที่ อ. เมือง จ. จันทบุรี อ. เขาสมิง จ. ตราด และสวนทุเรียนของศูนย์วิจัยพืชสวน จันทบุรี พบว่า ค่าเฉลี่ยปริมาณเชื้อรา *T. harzianum* ที่ตรวจพบในดินสวนทุเรียนซึ่งหว่านด้วยส่วนผสมของเชื้อราเพียงอย่างเดียว หรือร่วมกับการฉีดพ่นสารเคมี metalaxyl หรือสารบำรุงพืช มีปริมาณ *T. harzianum* เพิ่มขึ้นกว่าวิธีควบคุม และจากการตรวจนับปริมาณเชื้อรา *P. palmivora* ด้วยวิธีใช้ใบทุเรียนเป็นเหยื่อล่อ พบว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* มีปริมาณ *P. palmivora* ต่ำกว่าวิธีควบคุม และพบว่าดินที่ใช้ *T. harzianum* จะมีความสมบูรณ์เพิ่มขึ้น

แสงมณี (2540) ศึกษาผลของเชื้อรา *T. harzianum* 8 isolates ต่อการเจริญของเชื้อรา *P. parasitica* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทย *P. palmivora* สาเหตุโรคเน่าดำของวานิลลา โดยเลี้ยงเชื้อร่วมบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบว่า เชื้อรา *T. harzianum* no.P1 เจริญปกคลุมเชื้อรา *P. parasitica* ได้ดีที่สุดในเวลา 5 วัน สามารถยับยั้งการเจริญได้ 43.3 เปอร์เซ็นต์ และ *P. palmivora* ได้ 38.9 เปอร์เซ็นต์ และจากการศึกษากลไกในการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อรา *T. harzianum* ต่อเชื้อรา *Phytophthora* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า เชื้อรา *T. harzianum* สร้างเส้นใยพันรัดเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora* และเจาะเข้าไปแย่งอาหารที่อยู่ภายใน ทำให้เกิดช่องว่างภายในเส้นใยที่ถูก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอญูญาติให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำลาย และผนังเส้นใยถูกย่อยสลาย เป็นผลให้เส้นใยดังกล่าวไม่สามารถเจริญเติบโตไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ และยังพบว่า *T. harzianum* no. 1-4 และ *T. harzianum* no7 มีความสามารถสูงในการยับยั้งการสร้าง sporangium ของเชื้อรา *P. parasitica* และ *P. palmivora* ตั้งแต่วันแรกของการเข้าทำลายและ *T. harzianum* no.1 และ no. 7 ให้ผลดีในการยับยั้งการสร้าง chlamydo-spore ของเชื้อรา *P. parasitica* และ *P. palmivora*.

สนชัย (2540) ทดสอบศักยภาพ *T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 ในการควบคุมเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุที่ทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน โดยเลี้ยงเชื้อร่วมบนอาหาร PDA กับเชื้อรา *P. palmivora* ในห้องปฏิบัติการ พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* PC01 ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. palmivora* ได้ 76.77 เปอร์เซ็นต์ และ *T. hamatum* PC02 ยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 71.38 เปอร์เซ็นต์ และได้นำยาเชื้อป้องกันกำจัดเชื้อรา Mycofungicide ชนิดเม็ด ได้แก่ *Trichoderma* (PC01+PC02) ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนพันธุ์ชะนี อายุ 1 ปี ในสภาพเรือนทดลอง พบว่าการใช้ *Trichoderma* ชนิดเม็ดในอัตรา 10 กรัมต่อต้นสามารถลดการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนได้ 85 เปอร์เซ็นต์ และในสภาพไร่การใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดชนิดเม็ด *Trichoderma* ในอัตรา 80 กรัมต่อต้น สามารถลดการเกิดโรคได้ 68.78 เปอร์เซ็นต์ ในปีแรก และ 80.60 เปอร์เซ็นต์ ในปีที่ 2

สุมิตรรา (2540) ทดสอบการเลี้ยงเชื้อร่วมบนอาหาร PDA ระหว่างเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* IFFI กับเชื้อ *Trichoderma harzianum* PC01 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโคโคนี และการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสได้ 74.13 และ 97.31 เปอร์เซ็นต์ และ *Trichoderma hamatum* PC02 ยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโคโคนี และการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสได้ 63.24 และ 55.1 เปอร์เซ็นต์ และทดสอบการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ (bioproducts) ที่ผลิตจาก *Trichoderma* spp. ในแปลงทดลองเพื่อป้องกันโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงพันธุ์ โชคอนันต์ อายุ 5 ปี ในอัตรา 40 กรัม/ต้น หว่านรอบโคนต้นทุก 4 เดือน ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ กทม. 5 กิโลกรัมต่อต้น พบว่าสามารถลดการเกิดโรคแอนแทรคโนสและปริมาณเชื้อก่อโรคในดินได้ 55.53 และ 81.26 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

## 2.5 การใช้ *Trichoderma* spp. ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีในต่างประเทศ

Park and Kim (1989) ได้แยกเชื้อจุลินทรีย์จากดินที่มีแนวโน้มในการยับยั้ง *P. capsici* สาเหตุโรคยอดและรากเน่าของพริกไทย ในเรือนทดลอง จำนวน 3 ชนิด คือ *T. harzianum* T873, *Trichoderma* T77 และ *Enterobacter agglomerans* เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคจะลดลงเมื่อดินมีค่าแลกเปลี่ยนประจุไฟฟ้า (EC) เพิ่มขึ้นเป็น 3 และ 5 แต่รากจะเจริญช้าที่ EC 5 การใช้ *T. harzianum* T873 %เกิดโรคจะลดลงทุกระดับที่มีการทดสอบด้วย EC isolates ที่คัดเลือกไว้ซึ่งสามารถทนทานเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว และทำลาย *P. capsici* ได้ในช่วงกว้างในสภาพดินตามธรรมชาติได้ดี แม้ว่ากรณีใดทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปอร์เซ็นต์ การเกิดโรคในดินที่มี จุลินทรีย์ต่อต้านกับในดินที่ไม่มี จุลินทรีย์ต่อต้าน ในสัดส่วน 9 ปอร์เซ็นต์ กับ 52 ปอร์เซ็นต์ 18 ปอร์เซ็นต์ กับ 40 ปอร์เซ็นต์ และ 4 ปอร์เซ็นต์ กับ 23 ปอร์เซ็นต์ ที่ระดับ EC 1, 3 และ 5 (ms/cm) ตามลำดับ จากการคัดเลือกได้จุลินทรีย์ *T. harzianum* T873 และเมื่อนำไปทดสอบในการควบคุมโรคในสภาพเรือนทดลอง และแปลงปลูก พบว่า *T. harzianum* T873 การทดสอบในสภาพเรือนเพาะชำ ให้ผลตอบสนองที่มีประสิทธิภาพในการใช้เป็นจุลินทรีย์ต่อต้าน คิดว่าในสภาพแปลงปลูก

Smith et al. (1990) ศึกษาศักยภาพของ เชื้อรา *Trichoderma* spp. และ *Gliocladium* spp. ในการควบคุมเชื้อรา *P. cactorum* สาเหตุโรค root และ crown rots ของแอปเปิ้ล พบว่า เมื่อใช้ *Trichoderma* spp. และ *Gliocladium* spp. จะทำให้การทำลายที่รากลดลง และการเจริญเติบโตของพืชและน้ำหนักเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับที่มีเชื้อ *P. cactorum* (Lebert & Cohn) Schroeter. อย่างเดียว ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ซึ่งแสดงว่า ทั้ง *Trichoderma* spp. และ *Gliocladium* spp. มีศักยภาพในการควบคุม *P. cactorum* ได้

Roiger and Jeffers (1991) ใช้เชื้อรา *T. harzianum* ควบคุมเชื้อ *Phytophthora cactorum* สาเหตุโรคยอดและ รากเน่าของต้นกล้า แอปเปิ้ล ในสภาพเรือนทดลอง โดยใช้สปอร์แขวนลอย และใช้โคโคไนต์ผสมกับ พีท และ รำข้าวสาลีใส่ลงในดิน ใช้ *T. harzianum* 6 isolate ผสมใน peat-bran และ 5 isolate ทำสปอร์แขวนลอย พบว่าทุก isolate การอยู่รอดของต้นกล้าจะเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ ที่ไม่มีเชื้อ *T. harzianum* *T. virens* (TW.005) ที่ผสมใน peat-bran จะมีการอยู่รอดของต้นกล้ามากกว่าทุกการทดลอง ที่อายุ 30 วัน ในขณะที่ control อยู่รอดเพียง 19 วัน และ isolate *T. koningii* (TW.105) และ *T. koningii* (T189) ใน peat-bran และ สปอร์แขวนลอย ของ *T. harzianum* (Tw.138) จะมีประสิทธิภาพดีในทุกการทดลองซึ่งจัดได้ว่าเป็นตัวควบคุมโดยชีววิธี สำหรับต่อต้านเชื้อ *P. cactorum* ที่เป็นสาเหตุโรคยอดและรากเน่าของต้นกล้าแอปเปิ้ล และน่าที่จะมีศักยภาพเพียงพอที่จะนำมาใช้ในสภาพแปลงปลูกได้

Chambers and Scott (1995) ใช้ *Trichoderma* และ *Gliocladium virens*. เป็นจุลินทรีย์ต่อต้าน *P. cinnamomi* และ *P. citricola* ที่เป็นสาเหตุโรครากเน่าของต้นเกาลัด (Chestnuts) ในออสเตรเลียตอนใต้ โดยแยกเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านจากดิน 3 isolates คือ *T. hamatum*, *T. pseudokoningii* และ *G. virens*. ซึ่ง *Trichoderma* ทั้ง 2 isolates จะยับยั้ง *P. cinnamomi* โดยจะเป็น Mycoparasitism จะเข้าไปเจริญและพันรอบเส้นใยของ *Phytophthora* ทั้ง *Trichoderma* 2 isolates และ *G. virens* จะเจริญเข้าปกคลุม *P. cinnamomi* ในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่ง antibiotics ที่ผลิตโดย *T. hamatum* และ *G. virens* จะยับยั้งการเจริญของ *P. cinnamomi* และ *P. citricola* ซึ่ง เชื้อจุลินทรีย์ ทั้ง 3 isolate นี้สามารถยับยั้งเชื้อ *Phytophthora* ที่เป็นสาเหตุโรคของเกาลัดได้

## 2.6 การใช้ *Chaetomium* spp. ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีในประเทศไทย

Soytong (1991) ได้แยกเชื้อรา *Chaetomium* จากดินในประเทศไทยเป็นครั้งแรก และจัดจำแนกได้ 15 species คือ *C. ampullare* Chivess, *C. aureum* Chivers, *C. bostrychodes* Zopf, *C. cochliodes* Palliser, *C. cupreum* Ames, *C. deceptivum* Malloch & Benny, *C. globosum* Kunze, *C. hamadae* (Udagawa) v. Arx., *C. homopilatum* Omvik, *C. longicolleum* Krezm & Badura, *C. lucknowense* Rai & Tewari, *C. malaysiense* v. Arx., *C. megasporum* Sorgel, *C. seminudum* Ames, *C. vitellinum* Carter. ปี 2534 วสันต์ และ เกษม (2534) รวบรวมดินจากสวนยางพารา 8 จังหวัด ภาคใต้ของประเทศไทย และได้แยกเชื้อรา *Chaetomium* โดยใช้เหยื่อล่อพบเชื้อรา *Chaetomium* 6 species คือ *C. aureum*, *C. cupreum*, *C. fusiforme*, *C. globosum*, *C. gracile*, *C. lucknowense*

เกษม (2532ข) ได้ทดสอบคุณสมบัติของรา *C. cupreum* 8 strains ในการควบคุมโรคไหม้ข้าว ได้แก่ FCUP 23701, 23702, 23710, 23801, 23802, 24401, 24402 และ 32380 ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของรา *Pyricularia oryzae*, *Curvularia lunata*, *Drechslera oryzae*, *Fusarium moniliforme*, *Rhizoctonia oryzae* และ *R. solani* ได้ผลดี เมื่อทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ด้วยวิธี Dual agar culture พบว่า *C. cupreum* strain FCUP 2380 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงสุด 6.40 % ส่วนสายพันธุ์อื่นๆ ให้ผลรองลงมา และจากการทดสอบในเรือนทดลอง พบว่า เมื่อใช้สปอร์แขวนลอยของ *C. cupreum* FCUP 23802 ปริมาณ 400,000 สปอร์ต่อมิลลิลิตร คลุกเมล็ด และคลุกเมล็ดด้วยสารสกัดจากรา *C. cupreum* สามารถลดการเกิดโรคได้ และการเจริญของต้นกล้าข้าวเพิ่มขึ้น

เกษม (2532ค) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของรา *C. cupreum* ในการควบคุมโรคโคนเน่าของข้าวโพดหวานที่เกิดจากเชื้อรา *S. rolfisii* พบว่าการใช้สารสกัดจากรา *C. cupreum*, สปอร์ของรา *C. cupreum* ที่ตายแล้ว และสปอร์ของรา *C. cupreum* ที่มีชีวิตปริมาณ 100,000 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ฉีดพ่นทุก 15 วัน พบว่าข้าวโพดหวานมีระดับการเกิดโรคโคนเน่า ใกล้เคียงกันคือ 3.77, 3.61, และ 3.81 ส่วนสารเคมี PCNB มีระดับการเกิดโรค 3.11 ได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อนั้น มีระดับการเกิดโรคสูงสุด 4.05 ส่วนในด้านความสูงของข้าวโพด ที่อายุ 15, 30, 45 และ 60 วัน ในทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนผลผลิตของข้าวโพด จำนวนฝักต่อต้น น้ำหนักฝักสด ทั้งเปลือก น้ำหนักสคปลอกเปลือก และความยาวฝักสดปลอกเปลือก ในทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่วิธีฉีดพ่นสารสกัดจาก *C. cupreum* มีแนวโน้มน้ำหนักสคปลอกเปลือกสูงสุด 140.65 กรัม

เกษม (2532ง) ใช้ *C. cupreum* ควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดเชื้อ *Pseudomonas solanacearum* ในสภาพห้องปฏิบัติการและในสภาพไร่ พบว่า การเลี้ยงเชื้อร่วมกับบนอาหาร PDA โดยนำเชื้อเบคทีเรียมาทำ dilution plate ที่ความเข้มข้น  $10^1$ ,  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ , และ  $10^{-6}$ , *C.* เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยญาติให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*cupreum* จะสามารถยับยั้งแบคทีเรีย ได้ทุกระดับความเข้มข้นในที่มีความเข้มข้น  $10^{-3}$  และ  $10^{-5}$  จะมีค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งสูงสุดคือ 8.1 และ 8.2 มิลลิเมตร และความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งต่ำสุด 2.8 มิลลิเมตร ส่วนในสภาพไร้ออกซิเจนของ *C. cupreum* สารสกัดของ *C. cupreum*- และน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ(control)- ผิดพันทุก 20- วัน-จนถึงเก็บเกี่ยวพบว่า การใช้สปอร์แขวนลอยและสารสกัดจากรา *C. cupreum* สามารถลดการเกิดโรคได้โดยมีการเกิดโรคสูงสุด 14% และการใช้สปอร์แขวนลอยของ *C. cupreum* มีความสูงของต้นมากที่สุดเฉลี่ย 64.65 ซม. ในcontrol มีค่าเฉลี่ยความสูงเท่ากับ 46.55 ซม.

เกษม (2533) ได้ทดสอบคุณสมบัติของรา *C. cochliodes* และ *C. cuniculosum* ที่ใช้ในการควบคุมโรคไหม้ของข้าว ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อรา *P. oryzae* พบว่า การคลุกเมล็ดก่อนปลูกด้วยสปอร์ของรา *C. cochliodes*, สารสกัดจากรา *C. cochliodes* และ captan มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคไหม้ที่เกิดในระยะต้นกล้าของข้าวสายพันธุ์ IR442-2-58 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรคไหม้ได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของต้นกล้าในระดับต่ำ คือ 15, 22.5 และ 15 ตามลำดับ ในขณะที่ตัวเปรียบเทียบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของต้นกล้าสูงสุด 37.5 และเมื่อนำกล้าข้าวไปปลูก พบว่า กล้าข้าวที่คลุกเมล็ดด้วยสปอร์ของรา *C. cochliodes* สารสกัด และ captan มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของต้นกล้าต่ำ เท่ากับ 17.5, 20 และ 15 ตามลำดับ ส่วนตัวเปรียบเทียบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของต้นกล้าสูงถึง 42.5 และการเจริญเติบโตของข้าวจะดีกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับต้นข้าวที่ไม่ได้คลุกเมล็ดด้วย *C. cochliodes* ในขณะเดียวกันการใช้รา *C. cuniculorum* คลุกเมล็ดข้าวก่อนปลูกพบว่า ไม่มีประสิทธิภาพต่อการควบคุมโรคไหม้ได้ ซึ่งจะเห็นได้ว่า การใช้ *Chaetomium* spp. เป็นจุลินทรีย์ต่อต้าน เพื่อใช้ในการควบคุมเชื้อโรคพืชโดยชีววิธีนี้ขึ้นอยู่กับ species ของราที่เฉพาะเจาะจงในแต่ละสายพันธุ์

เกษม (2534ก) ทดสอบประสิทธิภาพของรา *C. cupreum* ในการควบคุมโรคโคนเน่าของมะเขือเทศที่สกัดจากเชื้อรา *S. rolfisii* ในสภาพไร้ออกซิเจนโดยใช้สปอร์ของ *C. cupreum* ที่มีชีวิตปริมาณ 500,000 สปอร์ต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากรา *C. cupreum* และสปอร์ของรา *C. cupreum* ที่ฆ่าให้ตายด้วยความร้อน เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา PCNB และน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อในห้องปฏิบัติการ พบว่า การใช้ *C. cupreum* สามารถยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคได้โดยยับยั้งการสร้างเม็ด sclerotia ได้ 81.15 เปอร์เซ็นต์ และในสภาพไร้ออกซิเจน พบว่าการใช้สารแขวนลอยของรา *C. cupreum* และสปอร์ของรา *C. cupreum* ที่ตายแล้วราครบบริเวณโคนต้นมะเขือเทศ มีเปอร์เซ็นต์โรคโคนเน่าของมะเขือเทศได้ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 12-14 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ตัวเปรียบเทียบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 44 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแสดงว่า *C. cupreum* สามารถควบคุมโรคโคนเน่าของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *S. rolfisii* ในสภาพไร้ออกซิเจนได้ แต่การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา PCNB มี

ประสิทธิภาพในการควบคุมดีกว่า แต่ก็มีแนวโน้มว่าการใช้ *C. cupreum* การเจริญเติบโตของต้นมะเขือเทศและการให้ผลผลิตใกล้เคียงกับการใช้สารเคมี

เกษม (2534ข) ทดสอบศักยภาพในการควบคุมโดยชีววิธี โดยใช้เชื้อรา *C. globosum* ต่อต้านเชื้อราสาเหตุที่ทำให้เกิดกาบใบจุดของข้าวโพดหวาน (*C. lunata*) โดยวิธีการทดสอบเลี้ยงเชื้อร่วมในอาหาร Dual culture พบว่าราที่จุลินทรีย์ต่อต้านสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคได้ 74 เปอร์เซ็นต์ และมีบริเวณยับยั้ง 0.4 ซม. และการใช้รา *C. globosum* ควบคุมเชื้อรา *C. lunata* ในสภาพเรือนทดลองพบว่า การใช้สปอร์แขวนลอย ของ *C. globosum* ในอัตรา 50,000 สปอร์ต่อมิลลิลิตร สามารถควบคุมโรคใบจุดของข้าวโพดได้ดี มีเปอร์เซ็นต์ การเกิดโรคต่ำ 26 - 27 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งได้ผลใกล้เคียงกับการใช้สารเคมีประเภท Benlate และมีแนวโน้มว่าในวิธีการที่ใช้ *C. globosum* มีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าในวิธีการเปรียบเทียบ

เกษม (2535ก) ทดสอบประสิทธิภาพของรา *C. gracile* ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวมะเขือเทศ *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ในห้องปฏิบัติการโดยใช้วิธี Bi-culture test พบว่า *C. gracile* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ได้ 52.00 เปอร์เซ็นต์ และแสดงบริเวณยับยั้งเฉลี่ย 3 มิลลิเมตร เมื่อนำไปทดสอบในเรือนทดลองพบว่าการใช้สปอร์แขวนลอย (spore suspension) ในอัตรา  $1 \times 10^6$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร ผิดพ่นมะเขือเทศ ซึ่งปลูกในดินที่อบฆ่าเชื้อทุกกระยะ 2 สัปดาห์ จนถึงการเก็บเกี่ยวสามารถลดการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคได้ 45 % และเมื่อใช้สารสกัดจาก *C. gracile* สามารถลดการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุได้ 35 % เมื่อเปรียบเทียบกับ control ซึ่งมีดัชนีการเข้าทำลายโรคพืชถึง 75% ส่วนในมะเขือเทศที่ปลูกในดินไม่อบฆ่าเชื้อนั้น การฉีดพ่นสปอร์แขวนลอย, สารสกัดจากรา *C. gracile* สามารถลดปริมาณการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคได้ 45-50 % เมื่อเปรียบเทียบกับ control มีดัชนีการเข้าทำลายของโรคได้ 80 % การใช้สปอร์แขวนลอย และสารสกัดจากรา *C. gracile* ทำให้มะเขือเทศมีความสูงของต้น น้ำหนักสด และผลผลิตดีกว่า control

เกษม (2535ข) ได้แยกได้จากในนาข้าว พบว่า *C. trilaterale*, *C. globosum* และ *C. cochliodes* Pall. เป็นจุลินทรีย์ต่อต้านเชื้อรา *P. oryzae* Cav. จากการทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกัน คุณสมบัติดังกล่าวเกิดขึ้นมาจากการเจริญแข่งขันซึ่งกันและกัน หรือจากการเกิดกิจกรรมของการสร้างสารปฏิชีวนะของจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีความสัมพันธ์กับเชื้อโรค การคลุกข้าวเมล็ดพันธุ์ IR442-2-58 กับสารแขวนลอย หรือสารสกัดจากรา *Chaetomium* spp. และปลูกในดินที่ผสมเชื้อก่อโรค *P. oryzae* มีผลต่อการควบคุมการติดเชื้อในระยะต้นกล้าได้ ซึ่งปกติแล้วเมล็ดข้าวที่ติดเชื้อโรสดังกล่าวจะทำให้เมล็ดตายและไม่งอก ซึ่งชี้ให้เห็นว่า *Chaetomium*. อาจสร้างสารปฏิชีวนะขึ้นมาควบคุมการเจริญของเชื้อโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากการคลุกเมล็ดด้วยจุลินทรีย์ต่อต้าน ยังมีผลต่อการเพิ่มการเจริญของต้นกล้า ทั้งในด้านความสูงของต้น การเจริญของระบบราก และน้ำหนักสดของต้น จะดีกว่าการทดลองเปรียบเทียบ และมีผลใกล้เคียงกับการคลุกเมล็ดข้าวด้วย

เอกสารนำหนักสดของต้น จะดีกว่าการทดลองเปรียบเทียบ และมีผลใกล้เคียงกับการคลุกเมล็ดข้าวด้วย  
ไม่ว่ากรณีใดทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แคปแทน (captan)

เกษม (2535ค) ได้ผลิตยาเชื้อจากรา *C. cupreum* เป็นรูปเม็ดทรงกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร โดยการทำสปอร์แขวนลอยของ *C. cupreum* ผสมคลุกเคล้ากับ sodium alginate 10 % แล้วนำไปหยดลงในสารละลาย Ca gluconate 0.1 M หรือ  $\text{CaCl}_2$  0.25 M ผึ่งให้แห้งในอากาศ และเก็บไว้ใน อุณหภูมิห้อง จากการตรวจสอบความมีชีวิต ที่ 4, 8, และ 12 สัปดาห์ พบว่า ยาเชื้อที่หยดลงใน Ca gluconate มีชีวิตอยู่รอดได้เฉลี่ย 74.10% และที่หยดลงใน  $\text{CaCl}_2$  มีชีวิตอยู่รอดเฉลี่ย 80.34 % และเมื่อเวลาการเก็บยาเชื้อเพิ่มขึ้นเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตอยู่รอดของจุลินทรีย์ต่อต้านลดลง

เกษม (2535ง) ได้ใช้ยาเชื้อที่ผลิตจาก *C. cupreum* ซึ่งผลิตเป็นเม็ดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ใช้ในอัตรา 1 กรัมต่อตารางเมตร แล้วนำไปทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศพันธุ์สีดา ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* ในสภาพไร่ พบว่าการใช้ยาเชื้อโรยรอบโคนต้นมะเขือเทศ ในแปลงปลูกซึ่งใช้ปุ๋ยหมัก ปรากฏว่ามะเขือเทศมีการเกิดโรคต่ำเพียง 7 % และแปลงที่ใช้ ยา เชื้อและไม่ได้ใส่ปุ๋ยหมัก มีการเกิดโรคถึง 20% และแปลงที่ใช้ยาเชื้อยังให้ผลผลิตสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

เกษม (2536ก) ทดสอบศักยภาพการย่อยสลายของเชื้อรา *Chaetomium* ที่มีคุณสมบัติในการย่อยสลายเซลลูโลส ในการผลิตปุ๋ยหมักโดยใช้วัสดุอินทรีย์จากพืชโดยนำเชื้อรา *C. cupreum* และ *C. globosum* นำไปเลี้ยงในอาหารผสมที่อบฆ่าเชื้อแล้วได้แก่ ฟางข้าว บดละเอียด รำข้าว ข้าวโพดป่น ขี้เถ้าแกลบ ตามอัตราส่วนต่างๆ รวม 8 ชนิด ซึ่งให้ชื่อว่า CC1, CC2, CC3, CC4 CG1, CG2, CG3 และ CG4 ไปทดสอบเร่งการย่อยสลายฟางข้าว หญ้าขน และจอกเหวน พบว่า CG2 และ CG3 สามารถสลายจอกเหวนได้ดีที่สุด มีการย่อยสลาย 81-100% ในระยะเวลา 20 วัน ในขณะที่ CC3 CG1 และ CG2 สามารถย่อยสลายหญ้าขนได้ 60% ในระยะเวลา 20 วัน สรุปได้ว่า หัวเชื้อเร่งปุ๋ยหมัก CG2 ซึ่งผลิตจากฟางข้าวบดละเอียดผสมกับรำข้าว(1:1v/v) สามารถเร่งการย่อยสลายฟางข้าว จอกเหวน และหญ้าขนได้ดี

เกษม (2536ข) ทดสอบคุณสมบัติของรา *C. globosum* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ต่อต้านเชื้อรา *C. lunata* บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม พบว่า *C. globosum* สามารถยับยั้งเชื้อรา *C. lunata* ได้ 60% เห็นบริเวณใส (clear zone) 4 มิลลิเมตร เมื่อนำไปทดสอบในเรือนทดลองในดินอบฆ่าเชื้อพบว่า การใช้สารแขวนลอยของ *C. globosum* คลุกเมล็ดข้าวก่อนปลูกการใช้สารสกัดชนิดพ่น และการใช้ Benlate. จิตทุกสัปดาห์ จนกระทั่งข้าวโพดอายุได้ 45 วัน พบการเกิดโรคมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับ control การใช้สปอร์แขวนลอยของจุลินทรีย์ต่อต้าน ลดโรคได้ 15.4 เปอร์เซ็นต์ ดินไม่อบฆ่าเชื้อ และ 36.5 เปอร์เซ็นต์ ในดินอบฆ่าเชื้อ ส่วนการใช้ Benlate ลดการเกิดโรคได้ 21.25 เปอร์เซ็นต์ และ 33 เปอร์เซ็นต์ ในดินไม่อบฆ่าเชื้อและฆ่าเชื้อตามลำดับ มีน้ำหนักสดต่อต้น น้ำหนักราก และความสูงของต้นดีกว่า control มีผลใกล้เคียงกับ Benlate และในการควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยเท่านั้น ไม่สามารถนำออกจำหน่ายหรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คุมโรคไหม้ของข้าวที่เกิดจากเชื้อ *P. oryzae* และ Kasem and Quimio, (1989) ใช้ *C. globosum* คลุกเมล็ด พบว่าในที่ทดสอบด้วย *C. globosum* จะทำให้การงอกเป็นยอดอ่อนเพิ่มขึ้น น้ำหนักสดสูงกว่า ความสูงเพิ่มขึ้น และเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำกว่าที่ไม่ได้ใช้ *C. globosum*

เกษม (2536ค) พบว่า *Chaetomium* เป็นจุลินทรีย์ต่อต้านเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ซึ่งปรากฏว่า conidia ของเชื้อราสาเหตุโรคสูญเสียความสามารถในการทำให้เกิดโรคเนื่องจากเซลล์แตก และโปรโตพลาส ไหลออกจากเซลล์ของเชื้อรา สามารถอธิบายได้ว่าเกิดจากขบวนการสร้างสารปฏิชีวนะ และได้พัฒนาจุลินทรีย์ต่อต้านเป็นยาเชื้อป้องกันกำจัดเชื้อราในดินชนิดเม็ด 2 รูปแบบ คือ ยาเชื้อชนิดเม็ดที่ผลิตโดยใช้ sodium alginate (biopellet 1) ยาเชื้อชนิดเม็ดที่ผลิตโดยใช้คลุกกับวัสดุอินทรีย์และอัดเป็นเม็ด (biopellet 2) เมื่อทดสอบความมีชีวิตอยู่รอดของยาเชื้อทั้งสองชนิดพบว่า สามารถมีชีวิตอยู่รอดได้เฉลี่ย 90 % ในเวลา 1 ปี และจากการทดสอบยาเชื้อชนิดเม็ดในสภาพไร่ โดยใส่ยาเชื้อชนิดเม็ดลงในอัตรา 1 g. / ตร.ม. หนึ่งสัปดาห์ ก่อนย้ายต้นกล้ามะเขือเทศพันธุ์สีดา และปลูกเชื้อราสาเหตุโรคที่ขปรากฏว่า สามารถลดอาการเหี่ยวของมะเขือเทศได้เท่าเทียมกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา (PCNB) และพบว่าการควบคุมโดยใช้สารเคมีและการควบคุมโดยชีววิธีนั้นมะเขือเทศให้ผลผลิตดีกว่าไม่ใช้วิธีใดๆ ในการควบคุม

เกษม และชลฎา (2536) ใช้ *C. cupreum* ในการควบคุมโรคเน่าระดับดินของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium ultimum* Trow. โดยเลี้ยงเชื้อร่วมบนอาหาร PDA พบว่า *C. cupreum* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. ultimum* ได้ 9.42 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำมาทดสอบในเรือนทดลองโดยใช้สารสกัดจาก *C. cupreum*, ใช้ยาเชื้อชนิดเม็ดที่ผลิตจาก *C. cupreum* เปรียบเทียบกับ วิธีการที่ใช้น้ำกลั่นอย่างเดียวเป็นตัวเปรียบเทียบ พบว่า การใช้สารสกัด และยาเชื้อชนิดเม็ดจาก *C. cupreum* การเกิดโรค 50.00 และ 52.70 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ ใช้น้ำกลั่นอย่างเดียวมีเปอร์เซ็นต์การตายถึง 90 เปอร์เซ็นต์ และยังมีแนวโน้มว่า *C. cupreum* มีผลต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้ามะเขือเทศทั้งในด้านความสูง น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง ของพืชดีกว่าการทดลองเปรียบเทียบ

สนชัย (2540) ใช้ *Chaetomium* ชนิดเม็ดควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนพันธุ์ชะนี ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *P. palmivora* ในสภาพเรือนทดลอง พบว่าการใช้ *Chaetomium* ในอัตรา 5 กรัมต่อต้นสามารถลดการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนที่ปลูกเชื้อรา *P. palmivora* ได้ถึง 85 เปอร์เซ็นต์ในขณะที่การใช้สารเคมี Metalaxyl ในอัตรา 20 กรัมต่อต้น ลดการเกิดโรคได้ 70 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทดลองในสภาพไร่ พบว่าการใช้ *Chaetomium* ในอัตรา 40 กรัมต่อต้น พบว่า ในปีแรก ลดการเกิดโรคได้ 76.27 เปอร์เซ็นต์ และ 81.04 เปอร์เซ็นต์ในปีที่สอง เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงทดลองที่ใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา Metalaxyl ในอัตรา 40 กรัม ต่อต้นพบว่า สามารถลดการเกิดโรคได้ 70.95 เปอร์เซ็นต์ ในปีแรก และ 70.52 เปอร์เซ็นต์ ในปีที่สอง เช่นเดียวกับ สมิตรา (2540) ทดสอบการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ (bioproducts) ที่ผลิตจาก *Chaetomium* spp. ในแปลงทดลอง

เกษตรกรรมเพื่อป้องกันโรคแอนแทรกโนสของมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ ในอัตรา 20 กรัมต่อต้น พบว่าสามารถลดการเกิดโรคได้ 55.93 เปอร์เซ็นต์ และลดปริมาณเชื้อก่อโรคในดินได้ 79.88 เปอร์เซ็นต์

## 2.7 การใช้ *Chaetomium* spp. ควบคุมโรคพืชในต่างประเทศ

*Chaetomium* เป็นเชื้อราที่มี Genus ที่ใหญ่ จัดอยู่ใน Family Chaetomiaceae order Xylariales (Alexopoulos and Mims, 1979; Quimio, 1984) หรือ order Chaetomiales (Ames, 1963; Seth, 1970) จัดเป็นพวก saprophytic และสามารถย่อยสลายเศษซากพืชได้ (Von Arx, 1984)

Soytong and Quimio (1989) ได้จัดจำแนก species ของ *Chaetomium* ในประเทศฟิลิปปินส์ จากดิน และมูลสัตว์ แยก *Chaetomium* ได้ดังนี้ *C. anguipilium* Ames, *C. aurangabadense* Tilak and Reddy, *C. bostrychodes* Zoph, *C. brasiliense* Batista and Pontual, *C. carinthiacum* Sorell, *C. cochliodes* Pall, *C. cuneatum* Sorell, *C. Cuniculorum* Fuckel, *C. cuperum* Ames, *C. elatum* Kunze, Schmidt, *C. erectum* Skolko and Groves, *C. funiculum* Cooke, *C. gracile* Udagawa, *C. globosum* Kumze, *C. longicollum*, Krzem and Badura, *C. lucknowense* Ralet Tewari, *C. mollicellum* Ames, *C. sulphureum* Sorell ex Seth.

Johnston and Booth (1983) รายงานว่ามีการใช้ *Chaetomium* spp. ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรค บาง species ของ *Chaetomium* เช่น *C. globosum* และ *C. cochliodes* สร้างสารปฏิชีวนะสามารถควบคุมเชื้อโรคทางดินและโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้ เช่น *Helminthosporium*, *Fusarium*, *Alternaria* และ *Rhizoctonia* (Tveit and Moore, 1954) และมีการใช้ *Chaetomium* spp. ควบคุมเมล็ดข้าวโอ๊ต สามารถควบคุมเชื้อ *Fusarium* spp. ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้ (Tveit and Moore, 1955)

Chang Mew and Kommedahl (1968) ใช้ *C. globosum* ควบคุมเมล็ดเมล็ดสามารถควบคุมโรคต้นกล้าไหม้ ที่มีสาเหตุจากเชื้อ *Fusarium roseum* f. sp. Cerealis 'Graminearum' ได้ทั้งในสภาพเรือนทดลองและในแปลงปลูก

Chang Mew and Kommedahl (1972) ใช้สปอร์ของ *C. globosum* ควบคุมเมล็ดข้าวโพดสามารถป้องกันเชื้อ *Penicillium* และ *Fusarium* spp. ได้โดยเฉพาะ *F. moniliforme* ในเรือนเก็บเมล็ดพันธุ์

Heye and Andrews (1983) รายงานว่า *C. globosum* เป็นจุลินทรีย์ต่อต้านเชื้อ *Venturia inaequalis* เชื้อสาเหตุโรคของแอปเปิ้ล และ *C. cupreum* ยังเป็นจุลินทรีย์ต่อต้านเชื้อ *Phomopsis sojajae* เชื้อสาเหตุโรคของถั่วเหลือง

Cullen (1984) ใช้สปอร์ *C. globosum* ควบคุมโรค scab ของแอปเปิ้ล ที่มีสาเหตุจากเชื้อ *V. inequalis* ได้มากกว่า 90% จากรายงานของ Gordon *et al.*(1987) ใช้ สปอร์ *Chaetomium globosum* คลุกเมล็ดผักกาดหวาน ป้องกันเชื้อ *Pythium ultimum* และ *Phoma betal* และ *Rhizoctonia solani* ในฝ้าย และยังมีการสร้างสาร Chaetomin เข้าทำลายเส้นใยของเชื้อ *P. ultimum* นอกจากนี้ Sohi *et al.*(1998) ใช้สปอร์แขวนลอย *C. globosum* คลุกเมล็ดฝ้ายเพื่อป้องกันโรคติดเชื้อทางเมล็ด เช่นเชื้อ *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium moniliforme* และ *Tichoethecium roseum* ได้ 80.7, 70.1, 83.8 และ 90.9 เปอร์เซ็นต์

Harrison and Stewart (1988) ทดสอบการเลี้ยงเชื้อร่วมบนอาหาร ระหว่าง *Chaetomium globosum* และ *Sclerotium cepivorum* สาเหตุโรค onion white rot พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุได้

Albertini *et al.*(1990) ใช้ *C. globosum* ควบคุมโรคของ Lily สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อ *Pyricularia oryzae*

Di-Pietro *et al.* (1992) พบสารสกัดที่ได้จากเชื้อรา *C. cupreum* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคเน่าระดับดินของผักกาดหัว ซึ่งเกิดจากเชื้อ *Pythium ultimum* ได้ สารสกัดดังกล่าวคือ 2-(buta-1, 3- dienyl) 3- hydroxy-4-(penta-1, 3 -dienyl)-tetrahydrofuran (BHT), epidithiadiketopiperazine และ chaetomin จากการศึกษาของ Ray and Stewart(1994) พบว่าการใช้ *C. globosum* สามารถ ควบคุมโรค onion white rot และลดการเกิดโรค ได้ 78 เปอร์เซ็นต์ และยังพบว่ามีการสร้างสารปฏิชีวนะในอาหารด้วย

Amemiya *et al.*(1994) พบว่าสารปฏิชีวนะที่ผลิตได้จาก *C. globosom* คือ Chaetoglobosin A ซึ่งสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ *Verticillium dahliae* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้ และยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ในสภาพการเลี้ยงเชื้อร่วมบนอาหาร

Kohl *et al.*(1995) รายงานว่า *C. globosum* มีศักยภาพในการเป็นจุลินทรีย์ต่อต้าน สามารถลดปริมาณเชื้อก่อโรค *Botrytis cinerea* ของ Lily ได้

## 2.8 การใช้จุลินทรีย์อื่นๆ ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี

องอาจและคณะ (2535) ได้ศึกษาเชื้อจุลินทรีย์เพื่อควบคุมโรครากเน่า ที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* ของกิ่งตอนส้มเขียวหวาน โดยใช้เชื้อผงจุลินทรีย์สายพันธุ์ต่างๆ ผสมกับ รำข้าว ปุ๋ยหมัก และกากอ้อย ในอัตรา 1:1:3 และคลุกเคล้าให้ทั่ว ใต่บริเวณรอบๆ โคนต้นส้ม หลังใส่เชื้อ 20-23 วัน ย้ายกิ่งตอนส้มเขียวหวาน ที่มีเชื้อ *P. parasitica* ลงปลูก พบว่าการใช้เชื้อ *Bacillus subtilis* เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอญญาติให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(B-03) มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่าของกิ่งคอนส้มเขียวหวานได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อรา *T. hazianum* (T-13) *Penicillium* sp. (P-15) และ *Pseudomonas* sp. (Ps-2) อย่างมีนัยสำคัญ

มณจันทร์และชัยวัฒน์ (2535) ได้ศึกษาการใช้ *B. subtilis* AP01 ในการป้องกันกำจัดเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุของโรครากเน่า-โคนเน่าของทุเรียนในสภาพห้องปฏิบัติการ และสภาพเรือนทดลองพบว่า การใช้ความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* AP ในผงลาร์มิน่า คือ  $1 \times 10^9$  cfu/g ในอัตรา 2.5 กรัมต่อน้ำกลั่น 250 ลบ.ซม. ในอาหาร PDA เพื่อทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora* พบว่า *B. Subtilis* AP01 สามารถยับยั้งโคโลนีของเชื้อรา *P. palmivora* ทำให้โคโลนีไม่สามารถเจริญออกมาได้ ส่วนในสภาพแปลงทดลองใช้ ลาร์มิน่า เปรียบเทียบกับสารเคมีคูดซิม metalaxyl 35 % SD และ fosetyl aluminum 80 % WP ทาที่แผลที่เกิดจากการปลูกรื้อแล้ว 7 และ 30 วัน คัดชั้นส่วนของเนื้อเยื่อทุเรียนที่เปลือกมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร RNV พบเชื้อ *P. palmivora* 2 จุด ใน 90 จุด ส่วนต้นที่ใช้ fosetyl aluminum 80% WP พบ 5 จุดใน 90 จุด ส่วนต้นที่ใช้สาร metalaxyl 35 % SD ไม่พบการเกิดของเชื้อรา *P. palmivora* เลย ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ลาร์มิน่ามีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดที่เกิดจากเชื้อรา *P. palmivora* ซึ่งได้ผลใกล้เคียงกับสารคูดซิมทั้งสองชนิด

อุรจทาและคณะ (2535) คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. solanacearum* จากบริเวณรากและจากดินที่ปลูกรมะเขือที่เป็นโรค และไม่เป็นโรค ได้ 154 isolates จากดินปลูกร้อย 20 isolates, และเชื้อ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ CH4 1 สายพันธุ์ สามารถคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อ *P. solanacearum* ได้ 6 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ NA1, NA25, NA37, PH9, SU1 และ CH4 จากการทดลองในสภาพเรือนทดลองพบว่า การปลูกรื้อโดยวิธีตัดรากด้านเดียว แล้วรดสารละลายเชื้อแอนทาโกนิสต์ทันที ทุกสายพันธุ์สามารถควบคุมโรคได้มากกว่า ในขณะที่มะเขือเทศ พันธุ์ 2390 จะตายหมดภายใน 15 วัน หลังการปลูกรื้อ ส่วนวิธีที่ปลูกรื้อโดยจุ่มรากของมะเขือเทศ อายุ 15 วัน ในสารละลายเชื้อแอนทาโกนิสต์ แล้วปลูกรื้อในดินที่มีเชื้อ *P. solanacearum* โดยที่ไม่มีการทำแผลที่ราก หลังจากย้ายปลูกรมะเขือเทศเป็นเวลา 45 วัน พบว่า เชื้อแอนทาโกนิสต์ สามารถลดการเกิดโรคได้ในมะเขือเทศทุกพันธุ์ และประชากรของเชื้อ *P. solanacearum* ลดลง

Holmes and Benson (1994) ได้ทำการศึกษาเชื้อรา *P. parasitica* var. *nicotianae* ในการควบคุมเชื้อรา *Phytophthora* ในพืช *Catharanthus roseus* พบว่า *P. parasitica* var. *nicotismae* ซึ่งเป็นเชื้อราสาเหตุโรคของยาสูบ แต่จะไม่ทำให้เกิดโรคในพืช *Catharanthus roseus* และ สามารถควบคุมโรคนำระดับดินของต้นกล้า *C. roseus* ที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *P. parasitica* ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Fang and Tsao (1995a) ได้ศึกษาการใช้เชื้อรา *Pythium nunn* Lifshitz, Stanghellini & Raker ในการควบคุมเชื้อรา *P. cinnamomi* Rands. (T. 139, B101); *P. citrophthora* (R.E.Sm.& E.H. Sm.) Leonian (1156) และ *P. parasitica* (T131, T593) ในห้องปฏิบัติการ พบว่าเส้นใย ของ *P. nunn* สามารถเข้าทำลายโดยพันรอบเส้นใย และเข้าทำลายในส่วนของเส้นใย chlamydospore sporangia, Antheridia และ Oogonia ของ *Phytophthora* และจากการนำพืช azlea มาทดสอบกับ เชื้อ *P. cinnamomi* หรือ *P. parasitica* ส่วนส้มเขียวหวาน นำมาทดสอบกับเชื้อ *P. parasitica* พบว่า สามารถยับยั้งโรครากเน่าได้ ทำให้พืชมีการเจริญเติบโตและระบบรากของต้นกล้าพืชมีความ สมบูรณ์เพิ่มขึ้นด้วย

Fang and Tsao (1995b) ได้ศึกษาการใช้เชื้อรา *Penicillium funiculosum* Thom. ในการควบคุมเชื้อรา *Phytophthora cinnamomi*, *P. parasitica* สาเหตุโรครากเน่าของ Azalea และ *P. citrophthora*, *P. parasitica* ส้มเขียวหวาน (Citrus) ใน Azalea พบว่า การใช้สปอร์แขวนลอย ของ *P. funiculosum* ปริมาณ  $4 \times 10^6 - 5 \times 10^7$  จุ่มรากก่อนปลูกพืช เมื่อใส่ *P. funiculosum* อย่างเดียว โดย ไม่ใส่ *Phytophthora* ทำให้ยอดมีการเจริญได้สูงที่สุดถึง 70 มิลลิเมตร ไม่แตกต่างกับ การใส่ *P. funiculosum* ร่วมกับ *P. parasitica* แต่การใส่ *P. funiculosum* ร่วมกับ *P. cinnamomi* ไม่มีผลต่อการ เจริญของยอดใหม่ ซึ่งแสดงว่า *P. funiculosum* สามารถช่วยส่งเสริมการเจริญของยอดใหม่ได้ แม้ จะใช้เพียงอย่างเดียว หรือใช้ควบคู่ *P. parasitica* ก็ให้ผลไม่แตกต่างกันเมื่อใช้ควบคู่กับ *P. funiculosum* จะไม่มีผลต่อการเจริญของยอดใหม่มากนัก แต่อัตราการเกิดโรครากเน่าลดลงมากกว่า การใส่เชื้อ *Phytophthora* เพียงอย่างเดียว เช่นเดียวกับในด้าน น้ำหนักรากก็ให้ผลในทำนองเดียวกัน และมีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างการใส่ *Phytophthora* อย่างเดียว กับการใช้ *Phytophthora* ควบคู่กับ *P. funiculosum* แสดงว่า *P. funiculosum* ช่วยยับยั้งการเจริญของ *Phytophthora* ได้ ส่วนในส้มเขียวหวาน การใช้ *P. funiculosum* มีผลทำให้ยอดใหม่มีการเจริญได้ มากกว่าการไม่ใช้ *P. funiculosum* โดยมีความยาว เฉลี่ยเท่ากับ 92.1 มิลลิเมตร และ 44.6 มิลลิเมตร ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% แต่ในด้านเพิ่มจำนวนรากอ่อน (white root tip) พบว่า การใช้ *P. funiculosum* ทำให้จำนวน รากอ่อนเพิ่มขึ้น โดยเฉลี่ยเท่ากับ 27.3 ราก ในขณะที่การไม่ใช้ *P. funiculosum* มีค่าเท่ากับ 20.3 ราก ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตาม หากพิจารณาในด้านการเจริญของยอดแล้ว การใช้ *P. funiculosum* มีส่วนส่งเสริมให้ส้มเขียวหวานมีการเจริญเพิ่มขึ้นได้ในระดับหนึ่ง

## บทที่ 3

### ผลการทดลอง

#### 3.1 ศึกษาลักษณะอาการและแหล่งระบาดของโรครากและโคนเน่าของพริกไทยที่เกิดจากเชื้อ *Phytophthora* spp. ในพื้นที่จังหวัดจันทบุรี

จากการสำรวจการแพร่ระบาดของโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซียในพื้นที่จังหวัดจันทบุรี ในแปลงเกษตรกร อ. เมือง 7 ราย อ. มะขาม 2 ราย อ. นายายอาม 12 ราย อ. ท่าใหม่ 18 ราย รวมทั้งสิ้น 39 ราย (ตารางที่ 3.1) พบว่าโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยเกิดจากเชื้อรา *P. palmivora* มีพื้นที่ปลูกพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย ทั้งหมด 138.76 ไร่ อายุเฉลี่ย 8.70 ปี พบว่ามีการปรากฏของโรคเฉลี่ย (disease prevalence) 64 เปอร์เซ็นต์ มีการเกิดโรคเฉลี่ย (disease incidence) 16.71 เปอร์เซ็นต์ และ ระดับการเกิดโรคเฉลี่ย เท่ากับ 2.09 (ตารางที่ 3.2) ซึ่งเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคนี้นี้มีความแตกต่างกัน ในเกษตรกรแต่ละราย (ตารางที่ 3.1) การเกิดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยมีอาการตั้งแต่ ใบมีจุดแผลสีน้ำตาล ใบเหี่ยวเหลือง ถ้าเป็นรุนแรงจะยืนต้นตาย (ภาพที่ 1)

จากการสำรวจโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทย อ. เมือง มีพื้นที่ปลูก 13 ไร่ จำนวน 4,980 ต้น อายุเฉลี่ย 8.71 ปีพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 13.85 เปอร์เซ็นต์ ระดับการเกิดโรคเฉลี่ย 1.91 ปรากฏอาการของโรค 71 เปอร์เซ็นต์ ดินมีสภาพเป็นกรด-ด่าง เฉลี่ย 5.60 อ. มะขาม มีพื้นที่ปลูก 1.57 ไร่ จำนวน 1,660 ต้น อายุเฉลี่ย 10.5 ปี พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 27.50 เปอร์เซ็นต์ ระดับการเกิดโรคเฉลี่ย 2.90 ปรากฏอาการของโรค 100 เปอร์เซ็นต์ ดินมีสภาพเป็นกรด-ด่าง เฉลี่ย 6.15 อ. ท่าใหม่ มีพื้นที่ปลูก 81 ไร่ จำนวน 32,274 ต้น มีอายุเฉลี่ย 8.27 ปี มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 16.27 เปอร์เซ็นต์ ระดับการเกิดโรคเฉลี่ย 1.32 ปรากฏอาการของโรค 50 เปอร์เซ็นต์ ดินมีสภาพเป็นกรด-ด่าง เฉลี่ย 5.27 อ. นายายอาม มีพื้นที่ปลูก 42.94 ไร่ จำนวน 17,180 ต้น อายุเฉลี่ย 7.33 ปีพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ย 9.25 เปอร์เซ็นต์ ระดับการเกิดโรคเฉลี่ย 2.24 ปรากฏอาการของโรค 75 เปอร์เซ็นต์ ดินมีสภาพเป็นกรด-ด่าง เฉลี่ย 5.27 (ตารางที่ 3.1) จากการสังเกตพบว่าพริกไทยเริ่มแสดงอาการใบเป็นจุดแผลสีน้ำตาล เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม ใบจะเน่าเป็นสีน้ำตาลทั้งใบอย่างรวดเร็ว ต้นและใบจะเหี่ยว เมื่อจุดต้นที่เป็นโรคถอนรากขึ้นมาดู จะพบว่ารากและลำต้นเน่า เป็นสีน้ำตาลดำ (ภาพที่ 2 ก) ซึ่งมีผลทำให้ข้อของพริกไทยหลุดร่วงง่าย หรืออาจเน่าแห้ง ติดอยู่กับค้างของพริกไทย บางครั้งพบว่าก้านใบ ช่อดอก ก็ถูกเชื้อเข้าทำลาย ทำให้ดอกร่วงหล่น ถ้าเป็นที่ผล ผลจะแห้งเป็นสีน้ำตาล ถ้าอาการไม่มากนักจะทำให้ผลไม่เจริญเต็มที่ การระบาดของโรครากเน่าและโคนเน่าของพริกไทย เกิดจากเชื้อเข้าทำลายที่รากฝอย และลุกลาม

ไปยังส่วนต่างๆ ของต้นพริกไทยที่อยู่ใต้ระดับผิวดิน และจะขยายลุกลามไปยังระดับผิวดินเมื่อค้ำ  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นรุนแรงจะทำลายท่อน้ำท่ออาหาร และพบว่าที่รากจะมีสีน้ำตาล ทำให้ระบบการลำเลียงน้ำและธาตุอาหาร ที่จะส่งผ่านไปยังส่วนต่างๆ ของพริกไทย หยุดชะงักทำให้พืชแสดงอาการเหี่ยวเฉา มีสีเหลือง แล้วใบร่วงหล่น สุดท้ายพริกไทยก็จะตาย หรือถ้ายังไม่ตาย ต้นก็จะโทรมมาก หรือที่เกษตรกรเรียกว่า ต้นโทรม (ภาพที่ 2 ข) จากการศึกษาที่ปรากฏให้เห็นว่าโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยในพื้นที่จังหวัดจันทบุรี กำลังประสบปัญหาการระบาดของโรคอย่างรุนแรง และกำลังเข้าสู่ระดับความเสียหายทางเศรษฐกิจ ซึ่งมีการเกิดโรคเฉลี่ยถึง 16.71 เปอร์เซ็นต์

### 3.2 เชื้อที่เป็นสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย

#### 3.2.1 การแยกเชื้อรา *Phytophthora* spp.

ก. การแยกเชื้อ *Phytophthora* spp. จากดินบริเวณรอบรากพริกไทย ที่เป็นโรคจากแหล่งปลูกต่างๆ

จากการแยกเชื้อราสาเหตุโรคที่ทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย สามารถแยกเชื้อราได้ทั้งหมด 12 isolates ได้แก่ แยกได้จากรากเน่า 3 isolates คือ P1, P2 และ P4 แยกได้จากโคนเน่า 3 isolates คือ P6, P7 และ P11 แยกได้จากดินปลูกพริกไทยโดยใช้ใบพริกไทยเป็นเหยื่อต่อ 3 isolates คือ P5, P8 และ P12 และแยกได้จากดินปลูกพริกไทยที่กำลังเป็นโรคโดยใช้วิธี soil plate ได้ 3 isolates คือ P3, P9 และ P10 (ตารางที่ 3.3) และจากการจัดจำแนกเชื้อราสาเหตุดังกล่าว พบว่าเป็นเชื้อรา *Phytophthora palmivora* ซึ่งมีลักษณะทั่วไปดังนี้ เส้นใยเชื้อราสีใส ไม่มีผนังกัน(non-septate hyphae) ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA เมื่อเจริญที่อุณหภูมิ 27-30 องศาเซลเซียส ปรากฏว่าเชื้อราเจริญเติบโตช้า และทุก isolates ไม่สร้าง oogonia ซึ่งมีลักษณะเป็น heterothallic species ในแต่ละ isolates มีความแตกต่างกันในขนาดความกว้างและความยาวของ sporangia ดังแสดงในตารางที่ 3.4

### ตารางที่ 3.1 การสำรวจโรครากเน่า และโคนเน่าของพริกไทยในพื้นที่ จังหวัดจันทบุรี

ชื่อนามสกุล	ที่อยู่	พื้นที่ปลูก(ไร่)	จำนวนต้น	อายุ(ปี)	pH ดิน	%การเกิดโรค 1/	ระดับการเกิดโรค 2/
<b>อ. เมือง</b>							
1.นายสมศักดิ์ กระจ่างศรี	65/1 หมู่ 2 ต. ท่าช้าง	4.00	1400	8	5.20	0	0.00
2. นายอ่วม โพธิ์มณี	64/4 หมู่ 2 ต. ท่าช้าง	1.00	400	10	5.20	60	3.41
3. นางจำเนียร นุชจรินทร์	65 หมู่ 2 ต. ท่าช้าง	3.50	1400	10	5.40	20	2.43
4. นางสุภา นิยมพาณิชย์	101/11 หมู่ 2 ต. ท่าช้าง	0.50	200	10	5.04	10	2.41
5. นายสุม นิยมฤทธิ์	13 หมู่ 7 ต. แสลง	1.75	700	8	6.06	5	2.24
6. นายสมคิด นิยมฤทธิ์	14/12 หมู่ 7 ต. แสลง	1.00	380	8	6.20	2	2.90
7. นางนงเอียง สหายสุข	59 หมู่ 7 ต. แสลง	1.25	500	7	6.20	0	0.00
<b>อ. มะขาม</b>							
8. นายฟุ้ง จิมกลีบ	หมู่ 6 ต. สมัน	2.40	960	8	6.10	25	3.80
9. นายสะอาด ปิราบไทริน	7/1 หมู่ 8 ต. ท่าหลวง	1.75	700	13	6.20	30	2.00
<b>อ. นายายอาม</b>							
10. นายเดียน อภิมาลวงค์	49 หมู่ 15 ต. ท่าหลวง	12.50	5000	10	5.50	65	4.82
11. นายสงวน ถนอมวงศ์	48/1 หมู่ 5 ต. ท่าหลวง	5.00	2000	10	5.50	10	2.85
12. นายกลาง บรรจง	28/3 หมู่ 2 ต. ท่าหลวง	5.25	2100	10	5.70	7	2.50
13. นายวิสุทธิ์ หวานแสนะ	14/1 หมู่ 6 ต. ช้างข้าม	1.50	600	5	4.30	5	3.21
14. นายเทโว บำบัดทุกข์	18/2 หมู่ 6 ต. ช้างข้าม	2.50	1000	7	5.20	2	2.44
15. นายจำ สร้อยระย้า	43/1 หมู่ 6 ต. ช้างข้าม	2.50	1000	5	4.60	4	3.10
16. นางสมศรี บรรจง	48 หมู่ 11 ต. ช้างข้าม	1.25	500	10	4.60	6	2.41
17. นายอุดม ประจักษ์การ	40/2 หมู่ 5 ต. ช้างข้าม	0.75	300	5	5.40	0	0.00
18. นายสุพัฒน์ เลิศรัญญ์	53 หมู่ 4 ต. ช้างข้าม	1.25	500	5	4.90	0	0.00
19. นายสมหมาย ชำนาญ	หมู่ 5 ต. ช้างข้าม	8.75	3500	6	6.03	2	2.31
20. นางหล่อน ประจักษ์การ	13 หมู่ 5 ต. ช้างข้าม	0.45	180	5	6.10	0	0.00
21. นายจรูญ วรรณมาลี	57 หมู่ 4 ต. ช้างข้าม	1.25	500	10	5.40	10	3.25
<b>อ. ท่าใหม่</b>							
22. นายสาธุ ภิบาลพักตร์	50 หมู่ 9 ต. เขาวัว	15.00	6000	7	5.60	1	2.15
23. นายบุญนา ประสพสุข	3/1 หมู่ 9 ต. เขาวัว	5.00	2,000	8	5.10	0	0.00
24. นายอินเดย์ ผกากุล	3 หมู่ 9 ต. เขาวัว	4.50	1800	4	5.60	0	0.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### ตารางที่ 3.1 (ต่อ)

ชื่อนามสกุล	ที่อยู่	พื้นที่ปลูก(ไร่)	จำนวนต้น	อายุ(ปี)	pH ดิน	%การเกิดโรค	ระดับการเกิดโรค
25. นายชลิต เพ็ญอารมย์	หมู่ 9 ต. เขาวัว	2.00	800	8	5.30	0	0.00
26. นายลพ	82 หมู่ 9 ต. เขาวัว	7.50	3000	10	5.00	0	0.00
27. นายนกเอี้ยง	หมู่ 9 ต. เขาวัว	3.360	1347	7	5.50	0	0.00
28. นายสมศักดิ์ บำเหน็จ	19/1 หมู่ 9 ต. เขาวัว	2.500	1000	10	4.70	0	0.00
29. นางนวลจันทร์ เทพรัตน์	52 หมู่ 9 ต. เขาวัว	7.500	3000	10	5.80	0	0.00
30. นางบุญศรี บุญสง	97/2 หมู่ 9 ต. เขาวัว	1.000	369	7	6.00	0	0.00
31. นายแพง ฐานธรรม	หมู่ 8 ต. สองพี่น้อง	2.250	900	4	4.50	45	3.80
32. นางชม้อย จริตเวียบ	28 หมู่ 8 ต. สองพี่น้อง	5.750	2300	6	4.70	60	2.80
33. นายจิ้ง วิเวโก	18 หมู่ 14 ต. สองพี่น้อง	4.250	1700	4	6.00	60	2.70
34. นายสนิท หงส์รัตน์	36 หมู่ 12 ต. สองพี่น้อง	5.000	1800	8	4.70	5	2.50
35. นายฐิธิ หัสรัง	43/2 หมู่ 5 ต. สองพี่น้อง	3.000	1200	10	5.20	50	2.39
36. นายบาง สุทธิแพทย์	3/1 หมู่ 3 ต. สองพี่น้อง	3.000	1200	8	5.30	60	4.71
37. นางกุสุมาโร	3 หมู่ 3 ต. เขabayศรี	1.500	600	10	4.20	10	2.49
38. นางมาลี คุปคณาภรณ์	9/1 หมู่ 3 ต. เขabayศรี	5.640	2258	10	6.20	3	2.34
39. นายชาญชัย เวทย์มณี	11 หมู่ 2 ต. เขabayศรี	2.500	1000	10	5.40	0	0.00

% disease prevalence = 74.10 % 3/

1/ จำนวนต้นที่เป็นโรคทั้งหมด/จำนวนต้นที่ปลูก x 100

2/ ระดับ 1 = ต้นสมบูรณ์ใบเขียวเข้ม

ระดับ 2 = มีอาการใบเหลือง 1 - 25 % ของทรงพุ่ม

ระดับ 3 = มีอาการใบเหลือง และเริ่มมีแผลสีดำ 26 - 50 % ของทรงพุ่ม

ระดับ 4 = มีอาการใบเหลือง และแผลสีดำขยายกว้าง 51 - 75 % ของทรงพุ่ม

ระดับ 5 = มีอาการใบเหลือง มีแผลสีดำขยายใหญ่ มากกว่า 75% ของทรงพุ่ม และใบเริ่มร่วงและต้นเน่าตายในที่สุด

3/ จำนวนพื้นที่ปลูกที่พบโรค/พื้นที่ปลูกทั้งหมดที่สำรวจ x 100

ตารางที่ 3.2 สรุปพื้นที่ที่สำรวจโรครากเน่าและโคนเน่าพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย

แหล่งปลูก	พ.ท.ปลูก (ไร่)	pH ดิน	จำนวนต้น	อายุเฉลี่ย (ปี)	การเกิดโรคเฉลี่ย3/ (%)	ระดับการเกิด2/ โรคเฉลี่ย	% diseases 1/ prevalance
อ. เมือง	13.00	5.60	4980	8.71	13.85	1.91	71
อ. มะขาม	1.57	6.15	1660	10.5	27.50	2.90	100
อ. ท่าใหม่	81.25	5.27	32274	8.27	16.27	1.32	50
อ. นายายอาม	42.94	5.27	17180	7.33	9.25	2.24	75
รวม	138.76	5.57	56094	8.70	16.71	2.09	74.10

% disease prevalence = 74.10

1/ จำนวนต้นที่เป็นโรคทั้งหมด/จำนวนต้นที่ปลูก x 100

2/ ระดับ 1 = ต้นสมบูรณ์ใบเขียวเข้ม

ระดับ 2 = มีอาการใบเหลือง 1 - 25 % ของทรงพุ่ม

ระดับ 3 = มีอาการใบเหลือง และเริ่มมีแผลสีดำ 26 - 50 % ของทรงพุ่ม

ระดับ 4 = มีอาการใบเหลือง และแผลสีดำขยายกว้าง 51 - 75 % ของทรงพุ่ม

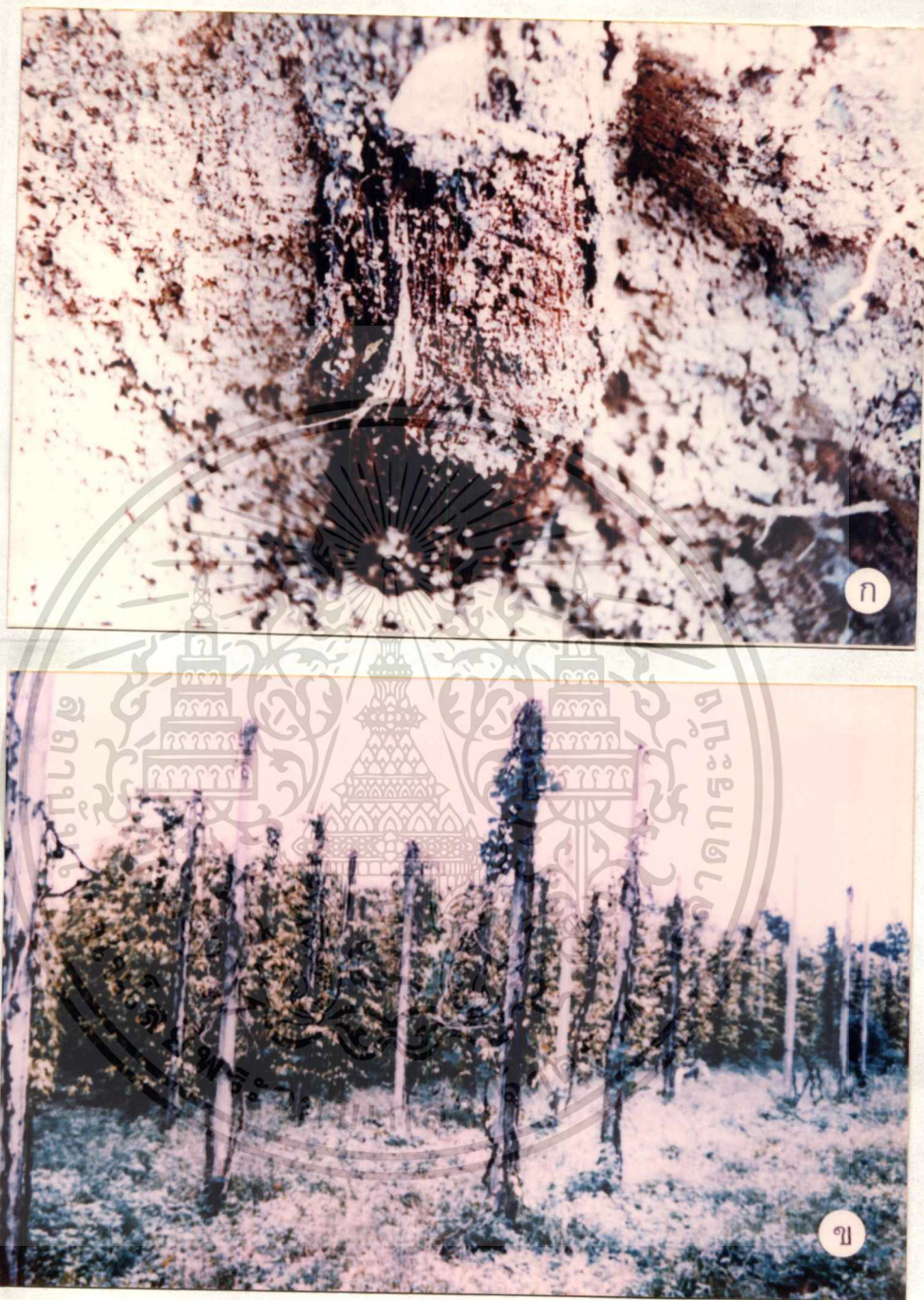
ระดับ 5 = มีอาการใบเหลือง มีแผลสีดำขยายใหญ่ มากกว่า 75% ของทรงพุ่ม และใบเริ่มร่วงและต้นเน่าตายในที่สุด

3/ จำนวนพื้นที่ปลูกที่พบโรค/พื้นที่ปลูกทั้งหมดที่สำรวจ x 100



ภาพที่ 3.1 การให้คะแนนตามลำดับความรุนแรงของโรครากเน่าโคนเน่า ของพริกไทย 1 = ต้นสมบูรณ์ใบเขียวเข้ม 2 = มีอาการใบเหลือง 1 - 25 เปอร์เซ็นต์ ของทรงพุ่ม 3 = อาการใบเหลือง และเริ่มมีจุดแผลสีดำ 26 - 50 เปอร์เซ็นต์ ของทรงพุ่ม 4 = อาการใบเหลือง และแผลสีดำขยายกว้าง 51 - 75 เปอร์เซ็นต์ ของทรงพุ่ม 5 = ใบเหลืองมีแผลสีดำขยายใหญ่มากกว่า 75 เปอร์เซ็นต์ ของทรงพุ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.2 ลักษณะอาการของโรครากเน่าโคนเน่า ของพริกไทยในแปลงเกษตรกร  
 ก. อาการรากและ โคนเน่า มีสีน้ำตาล-ดำ ข. อาการต้นโทรมของพริกไทย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.3 เชื้อ *Phytophthora palmivora* isolates ต่างๆ ที่แยกได้จากแปลงปลูกพริกไทย  
พันธุ์มาเลเซียของเกษตรกร ในเขตจังหวัดจันทบุรี

isolates	วันที่	อำเภอ	แยกได้จาก
P1	25 มกราคม 2540	อ. มะขาม	รากเน่า
P2	25 มกราคม 2540	อ. มะขาม	รากเน่า
P3	25 มกราคม 2540	อ. มะขาม	จากดิน
P4	22 กุมภาพันธ์ 2540	อ. นายายอาม	รากเน่า
P5	22 กุมภาพันธ์ 2540	อ. นายายอาม	baiting จากใบ
P6	22 กุมภาพันธ์ 2540	อ. นายายอาม	โคนเน่า
P7	22 มีนาคม 2540	อ. ท่าใหม่	โคนเน่า
P8	22 มีนาคม 2540	อ. ท่าใหม่	baiting จากใบ
P9	22 มีนาคม 2540	อ. ท่าใหม่	จากดิน
P10	22 มีนาคม 2540	อ. ท่าใหม่	จากดิน
P11	26 เมษายน 2540	อ. เมือง	โคนเน่า
P12	26 เมษายน 2540	อ. เมือง	baiting จากใบ

### 3.2.2 การจำแนกเชื้อรา *Phytophthora* spp. ที่แยกได้

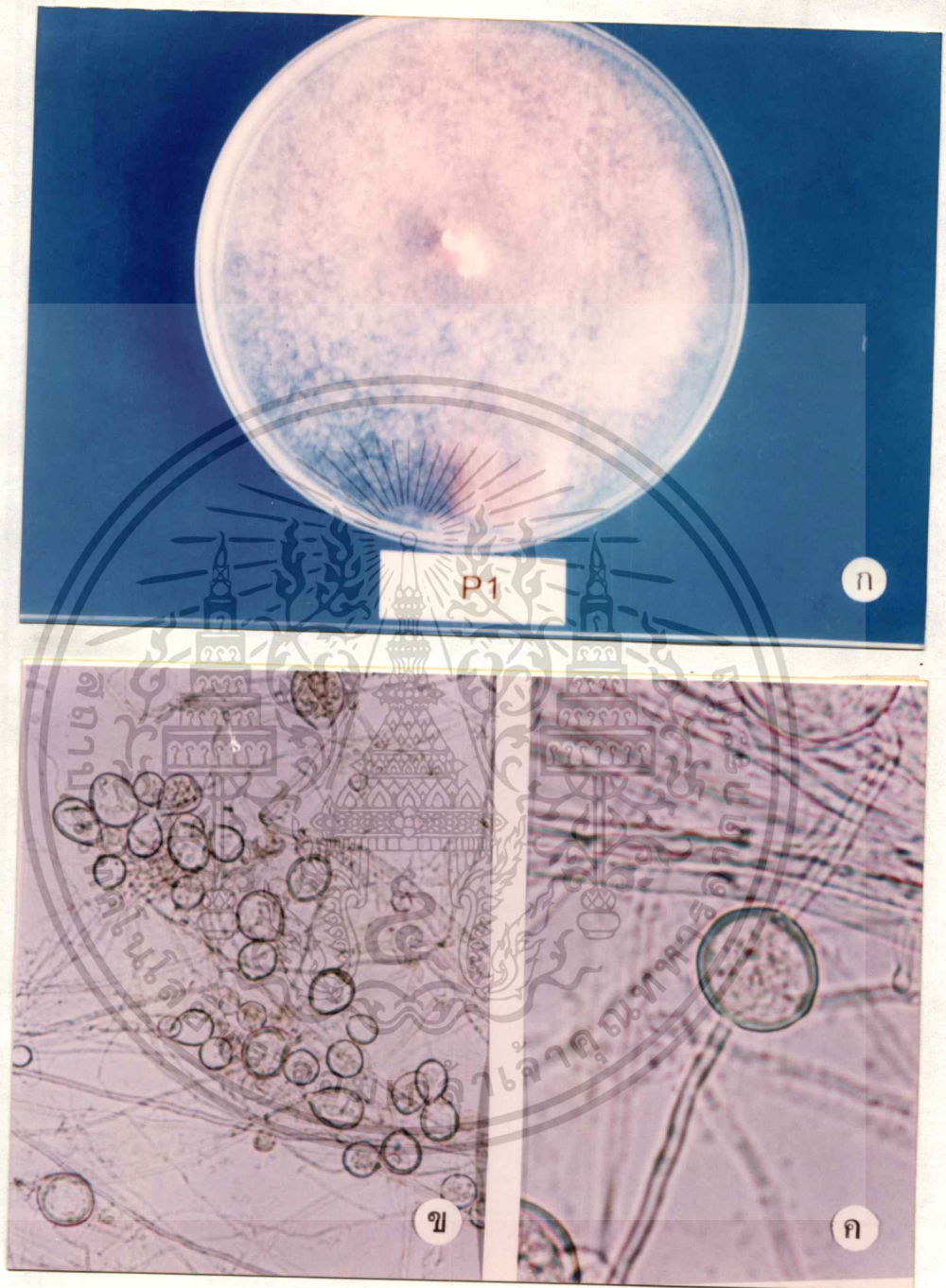
3.2.2.1 อนุกรมวิธานของเชื้อรา (Taxonomy) และศึกษาทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ  
จากการจัดจำแนกเชื้อราสาเหตุที่แยกได้ทั้ง 12 isolates โดยอาศัยลักษณะทาง  
สัณฐานวิทยา พบว่าเป็นเชื้อรา *Phytophthora palmivora* MF3 ซึ่งแต่ละ isolates มีลักษณะคล้าย  
คลึงกันและแตกต่างกันในขนาดของ sporangia ทุก isolates ที่แยกได้มีลักษณะเป็น Heterothallism  
เนื่องจากใน single culture ไม่สร้าง oospore รายละเอียด (description) แสดงใน ตารางที่ 3.4

ตารางที่ 3.4 ลักษณะเชื้อรา *Phytophthora palmivora* isolates P1 - P12

isolates	description
P1	โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน สีขาวละเอียดเจริญช้า เส้นใยสีใสไม่มีผนัง กัน ไม่สร้าง oospore ในอาหารเลี้ยงเชื้อ sporangia มีขนาดเฉลี่ย 52.50 x 29.25 ไมครอน มี papillae 1 อัน L:B = 1:1.7 chlamyospore เกิดที่ปลายเส้นใย และ ระหว่างเส้นใย มีขนาดเฉลี่ย 30.75 ไมครอน (ภาพที่ 3)
P2	โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน สีขาวละเอียดเจริญช้า เส้นใยสีใสไม่มีผนัง กัน ไม่สร้าง oospore ในอาหารเลี้ยงเชื้อ sporangia มีขนาดเฉลี่ย 50.50 x 28.25 ไมครอน มี papillae 1 อัน L:B = 1:1.7 chlamyospore เกิดที่ปลายเส้นใย และ ระหว่างเส้นใย มีขนาดเฉลี่ย 33.75 ไมครอน (ภาพที่ 4)
P3	โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน สีขาวละเอียดเจริญช้า เส้นใยสีใสไม่มีผนัง กัน ไม่สร้าง oospore ในอาหารเลี้ยงเชื้อ sporangia มีขนาดเฉลี่ย 50.50 x 31.75 ไมครอน มี papillae 1 อัน L:B = 1:1.5 chlamyospore เกิดที่ปลายเส้นใย และ ระหว่างเส้นใย มีขนาดเฉลี่ย 29.50 ไมครอน (ภาพที่ 5)
P4	โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน สีขาวละเอียดเจริญช้า เส้นใยสีใสไม่มีผนัง กัน ไม่สร้าง oospore ในอาหารเลี้ยงเชื้อ sporangia มีขนาดเฉลี่ย 53.25 x 34.50 ไมครอน มี papillae 1 อัน L:B = 1:1.5 chlamyospore เกิดที่ปลายเส้นใย และ ระหว่างเส้นใย มีขนาดเฉลี่ย 32.50 ไมครอน (ภาพที่ 6)
P5	โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน สีขาวละเอียดเจริญช้า เส้นใยสีใสไม่มีผนัง กัน ไม่สร้าง oospore ในอาหารเลี้ยงเชื้อ sporangia มีขนาดเฉลี่ย 51.50 x 32.50 ไมครอน มี papillae 1 อัน L:B = 1:1.5 chlamyospore เกิดที่ปลายเส้นใย และ ระหว่างเส้นใย มีขนาดเฉลี่ย 33.5 ไมครอน (ภาพที่ 7)
P6	โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน สีขาวละเอียดเจริญช้า เส้นใยสีใสไม่มีผนัง กัน ไม่สร้าง oospore ในอาหารเลี้ยงเชื้อ sporangia มีขนาดเฉลี่ย 47.25 x 31.25 ไมครอน มี papillae 1 อัน L:B = 1:1.5 chlamyospore เกิดที่ปลายเส้นใย และ ระหว่างเส้นใย มีขนาดเฉลี่ย 31.75 ไมครอน (ภาพที่ 8)
P7	โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน สีขาวละเอียดเจริญช้า เส้นใยสีใสไม่มีผนัง กัน ไม่สร้าง oospore ในอาหารเลี้ยงเชื้อ sporangia มีขนาดเฉลี่ย 47.25 x 30.25 ไมครอน มี papillae 1 อัน L:B = 1:1.5 chlamyospore เกิดที่ปลายเส้นใย และ ระหว่างเส้นใย มีขนาดเฉลี่ย 34.50 ไมครอน (ภาพที่ 9)

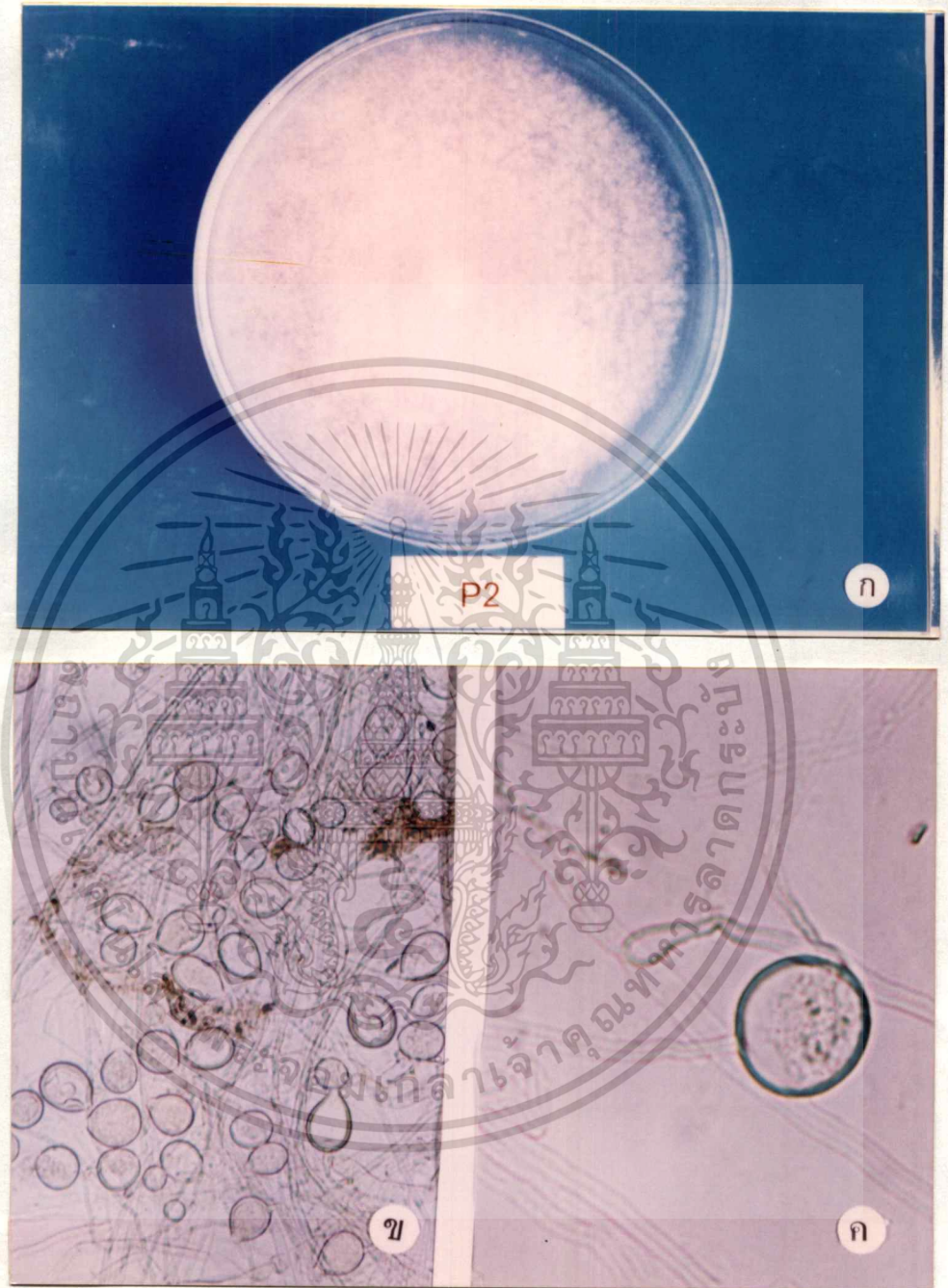
## ตารางที่ 3.4 (ต่อ)

isolates	description
P8	โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน สีขาวละเอียดเจริญช้า เส้นใยสีใสมิมีผนัง กัน ไม่สร้าง oospore ในอาหารเลี้ยงเชื้อ sporangia มีขนาดเฉลี่ย 49.50 x 32.75 ไมครอน มี papillae 1 อัน L:B = 1:1.5 chlamydospore เกิดที่ปลายเส้นใย และ ระหว่างเส้นใย มีขนาดเฉลี่ย 33.50 ไมครอน (ภาพที่ 10)
P9	โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน สีขาวละเอียดเจริญช้า เส้นใยสีใสมิมีผนัง กัน ไม่สร้าง oospore ในอาหารเลี้ยงเชื้อ sporangia มีขนาดเฉลี่ย 48.25 x 29.75 ไมครอน มี papillae 1 อัน L:B = 1:1.6 chlamydospore เกิดที่ปลายเส้นใย และ ระหว่างเส้นใย มีขนาดเฉลี่ย 29.75 ไมครอน (ภาพที่ 11)
P10	โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน สีขาวละเอียดเจริญช้า เส้นใยสีใสมิมีผนัง กัน ไม่สร้าง oospore ในอาหารเลี้ยงเชื้อ sporangia มีขนาดเฉลี่ย 49.0 x 32.25 ไมครอน มี papillae 1 อัน L:B = 1:1.5 chlamydospore เกิดที่ปลายเส้นใย และ ระหว่างเส้นใย มีขนาดเฉลี่ย 31.75 ไมครอน (ภาพที่ 12)
P11	โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน สีขาวละเอียดเจริญช้า เส้นใยสีใสมิมีผนัง กัน ไม่สร้าง oospore ในอาหารเลี้ยงเชื้อ sporangia มีขนาดเฉลี่ย 49.0 x 32.2 ไมครอน มี papillae 1 อัน L:B = 1:1.5 chlamydospore เกิดที่ปลายเส้นใย และ ระหว่างเส้นใย มีขนาดเฉลี่ย 31.1 ไมครอน (ภาพที่ 13)
P12	โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน สีขาวละเอียดเจริญช้า เส้นใยสีใสมิมีผนัง กัน ไม่สร้าง oospore ในอาหารเลี้ยงเชื้อ sporangia มีขนาดเฉลี่ย 51.50 x 32.50 ไมครอน มี papillae 1 อัน L:B = 1:1.5 chlamydospore เกิดที่ปลายเส้นใย และ ระหว่างเส้นใย มีขนาดเฉลี่ย 30.0 ไมครอน (ภาพที่ 14)



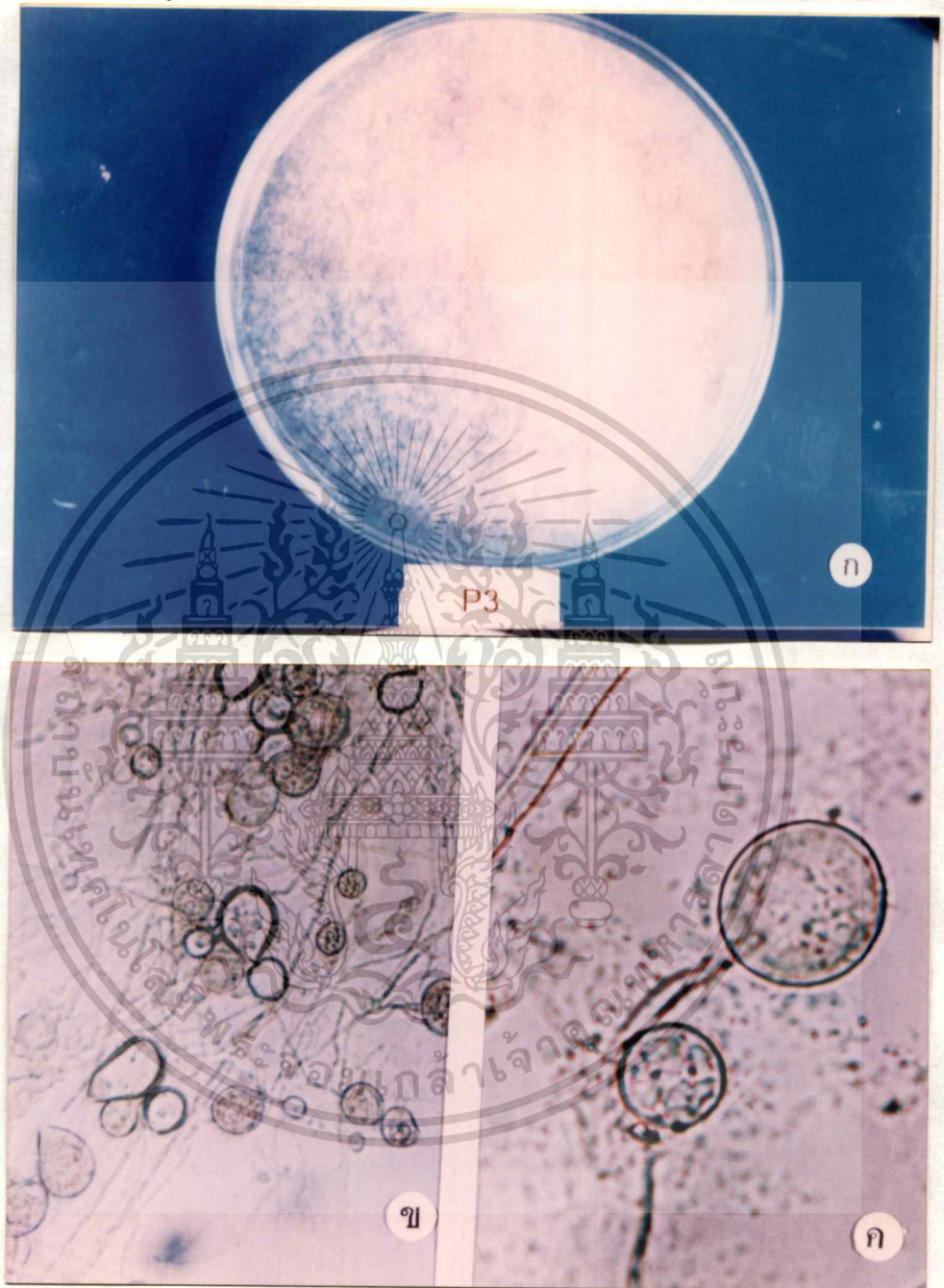
ภาพที่ 3.3 ลักษณะ โคลิโคนีเชื้อรา *Phytophthora palmivora* isolate P1 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 10 วัน ก. ลักษณะโคลิโคนี ข. Sporangia (กำลังขยาย 10x) ค. Chlamydospore (กำลังขยาย 40x)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



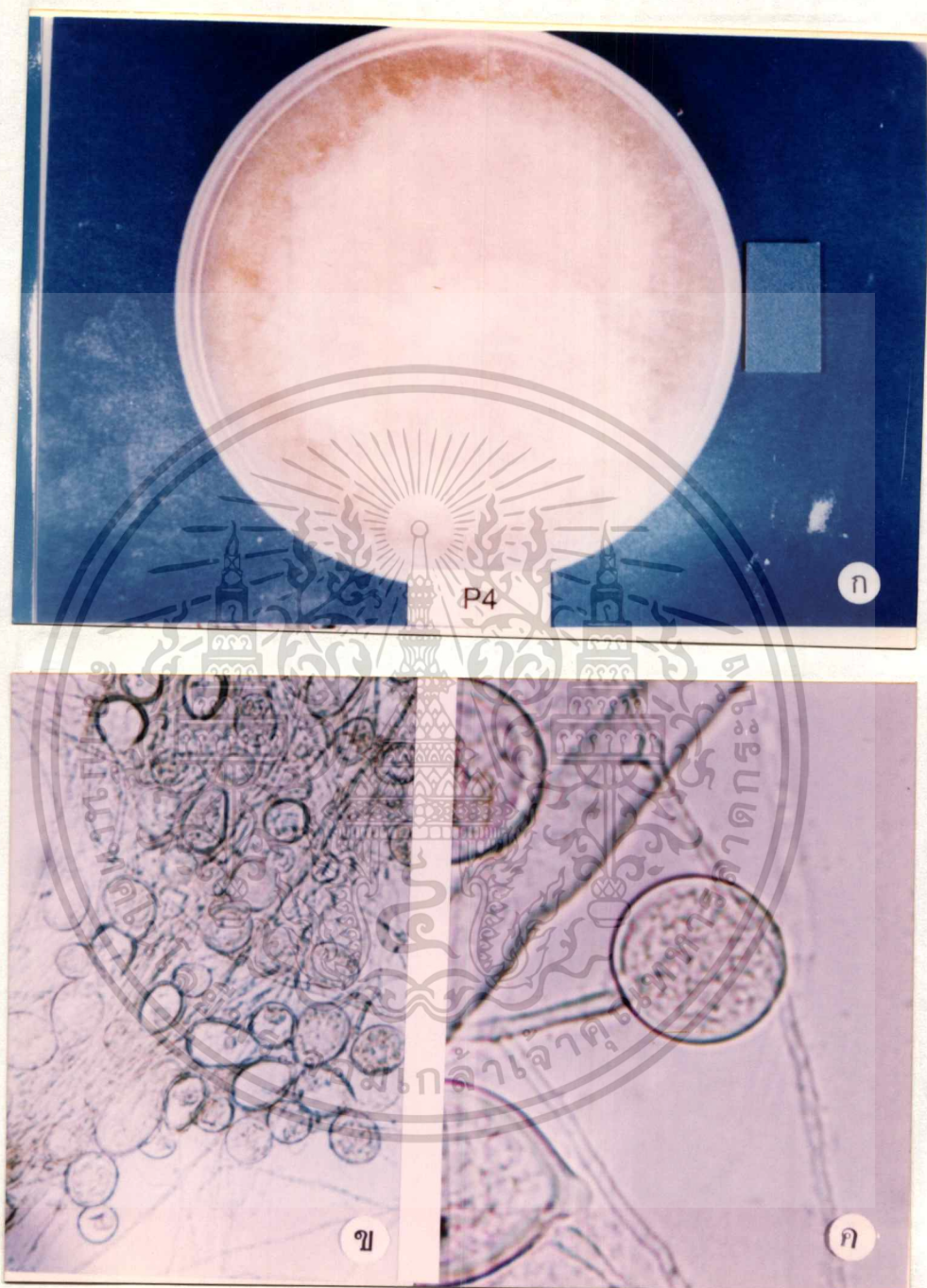
ภาพที่ 3.4 ลักษณะ โคลนีเชื้อรา *Phytophthora palmivora* isolate P2 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 10 วัน ก. ลักษณะ โคลนี ข. Sporangia (กำลังขยาย 10x) ค. Chlamydospore (กำลังขยาย 40x)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



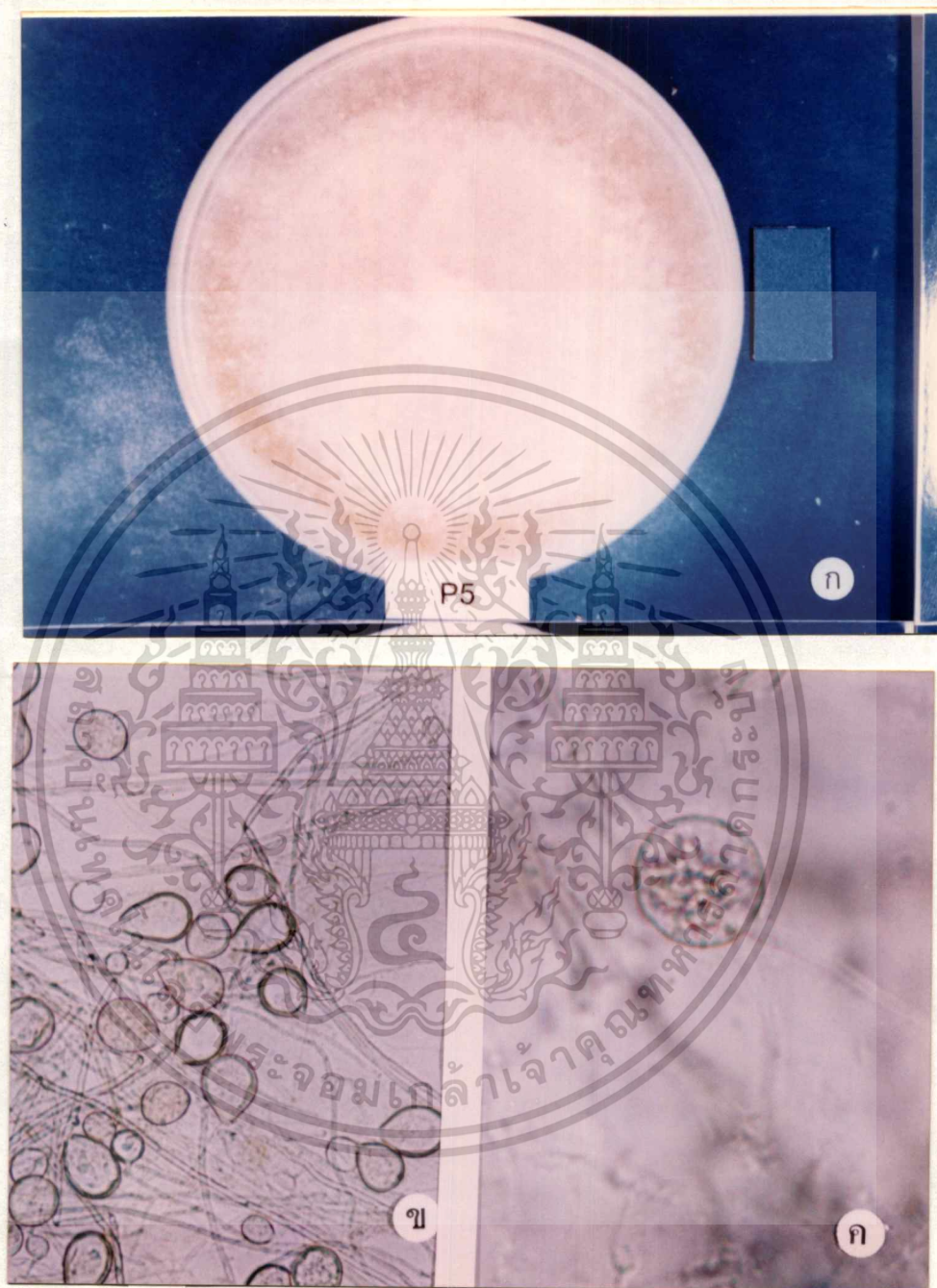
ภาพที่ 3.5 ลักษณะโคโลนีเชื้อรา *Phytophthora palmivora* isolate P3 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 10 วัน ก. ลักษณะโคโลนี ข. Sporangia (กำลังขยาย 10x) ค. Chlamydospore (กำลังขยาย 40x)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



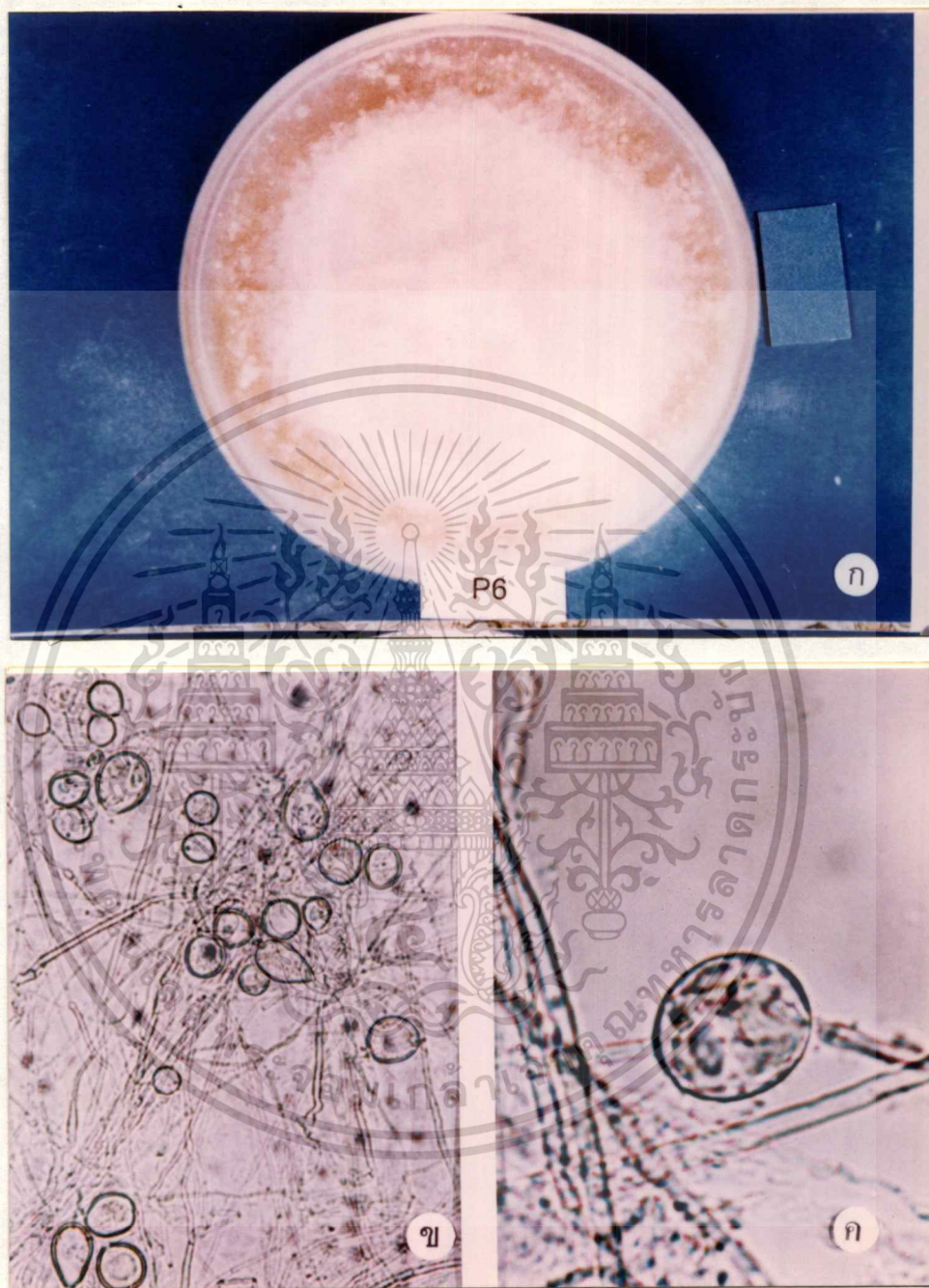
ภาพที่ 3.6 ลักษณะโคโลนีเชื้อรา *Phytophthora palmivora* isolate P4 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 10 วัน ก. ลักษณะโคโลนี ข. Sporangia (กำลังขยาย 10x) ค. Chlamydospore (กำลังขยาย 40x)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.7 ลักษณะโคโลนีเชื้อรา *Phytophthora palmivora* isolate P5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 10 วัน ก. ลักษณะโคโลนี ข. Sporangia (กำลังขยาย 10x) ค. Chlamydospore (กำลังขยาย 40x)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



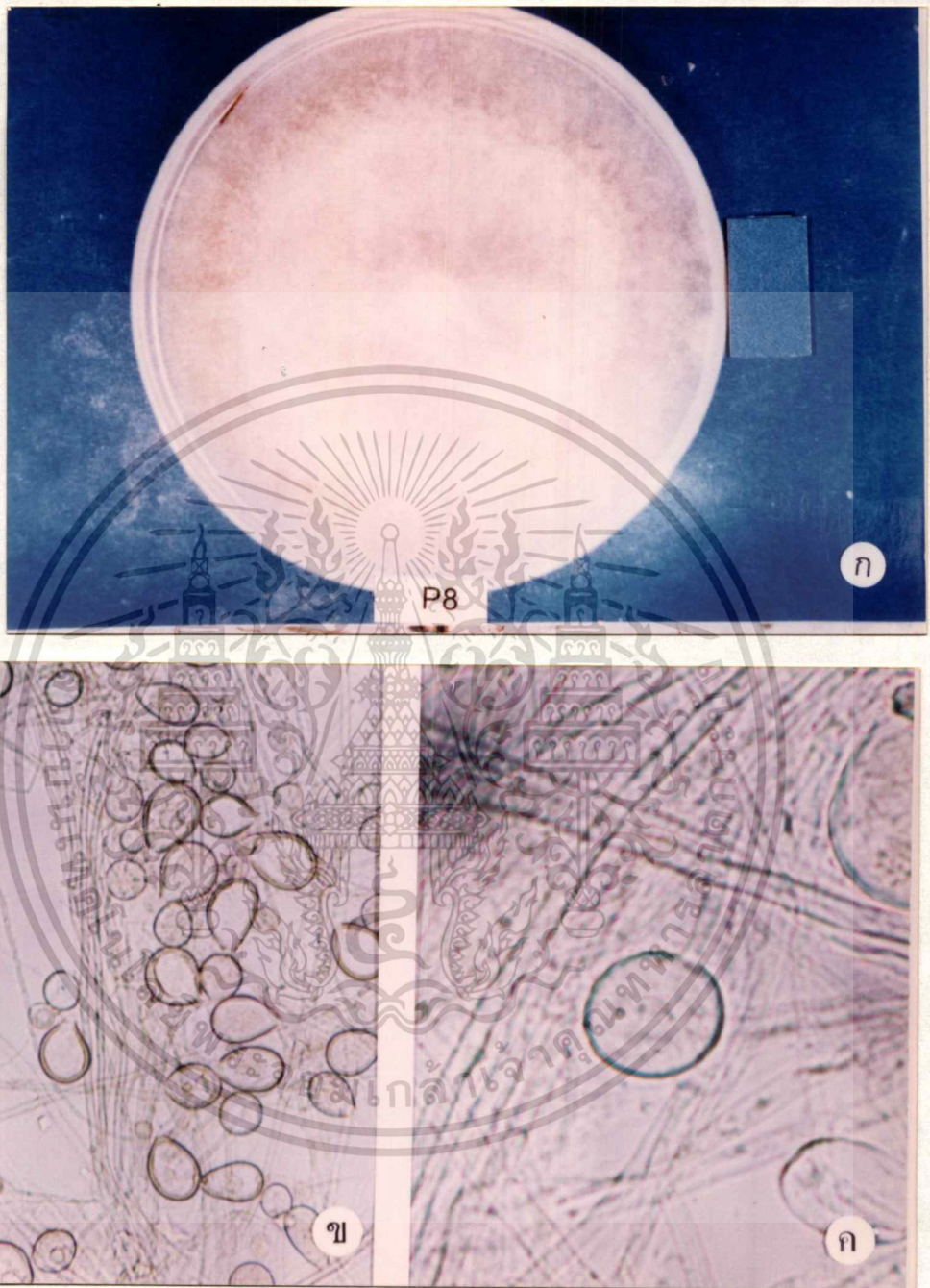
ภาพที่ 3.8 ลักษณะโคโคนีเชื้อรา *Phytophthora palmivora* isolate P6 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 10 วัน ก. ลักษณะโคโคนี ข. Sporangia (กำลังขยาย 10x) ค. Chlamydospore (กำลังขยาย 40x)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



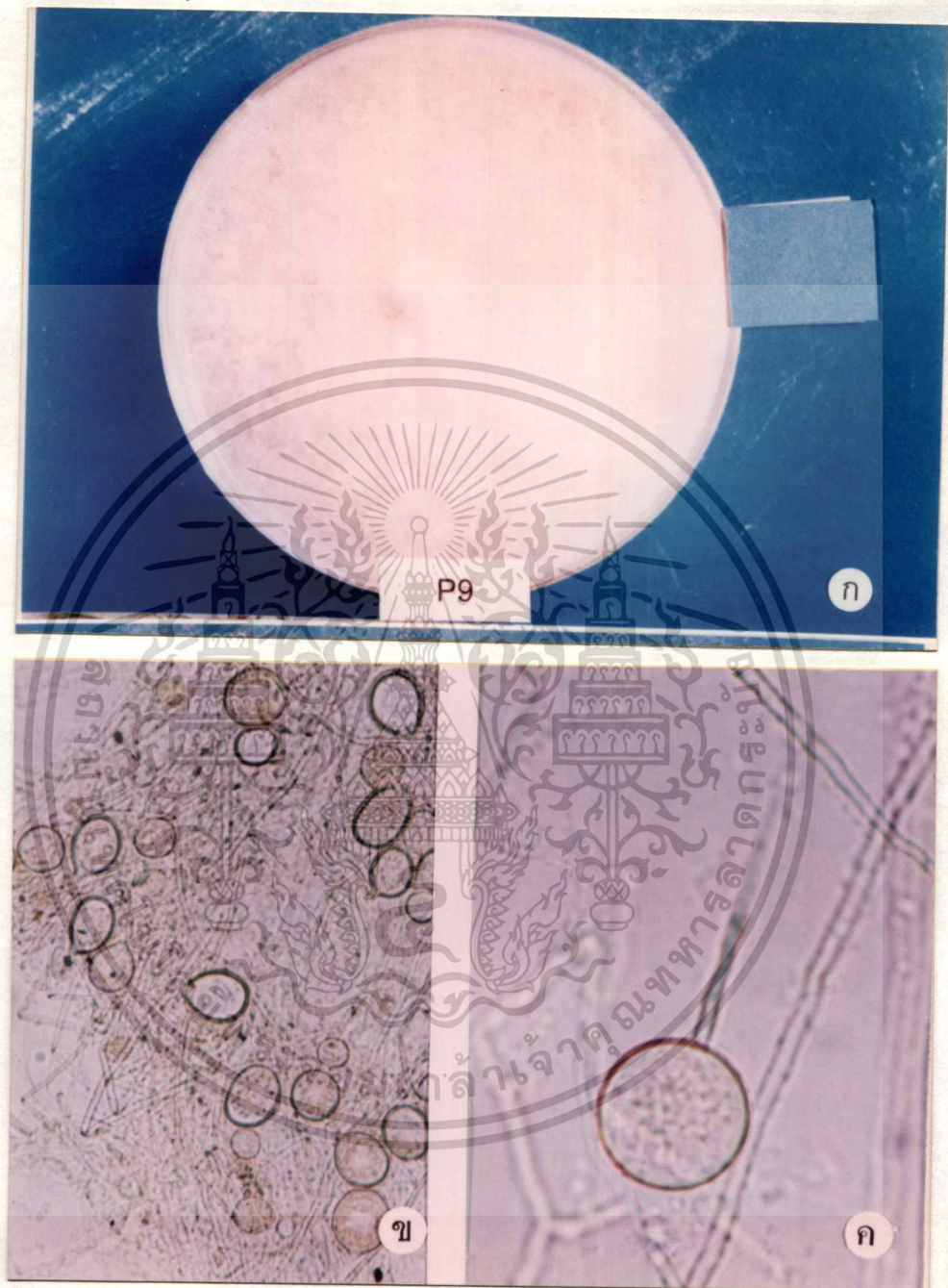
ภาพที่ 3.9 ลักษณะโคโลนีเชื้อรา *Phytophthora palmivora* isolate P7 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 10 วัน ก. ลักษณะโคโลนี ข. Sporangia (กำลังขยาย 10x) ค. Chlamydospore (กำลังขยาย 40x)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



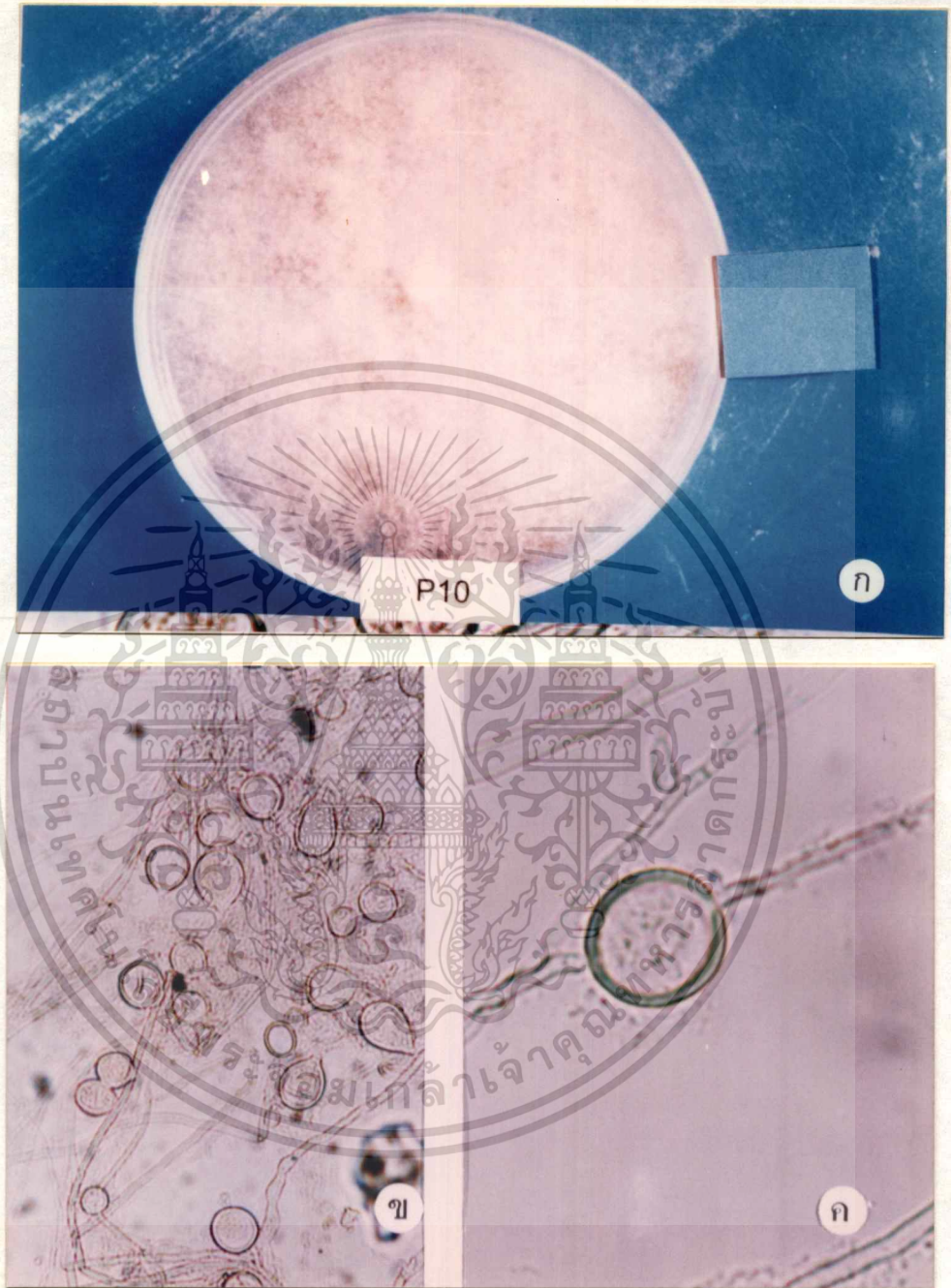
ภาพที่ 3.10 ลักษณะโคโลนีเชื้อรา *Phytophthora palmivora* isolate P8 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 10 วัน ก. ลักษณะโคโลนี ข. Sporangia (กำลังขยาย 10x) ค. Chlamydospore (กำลังขยาย 40x)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

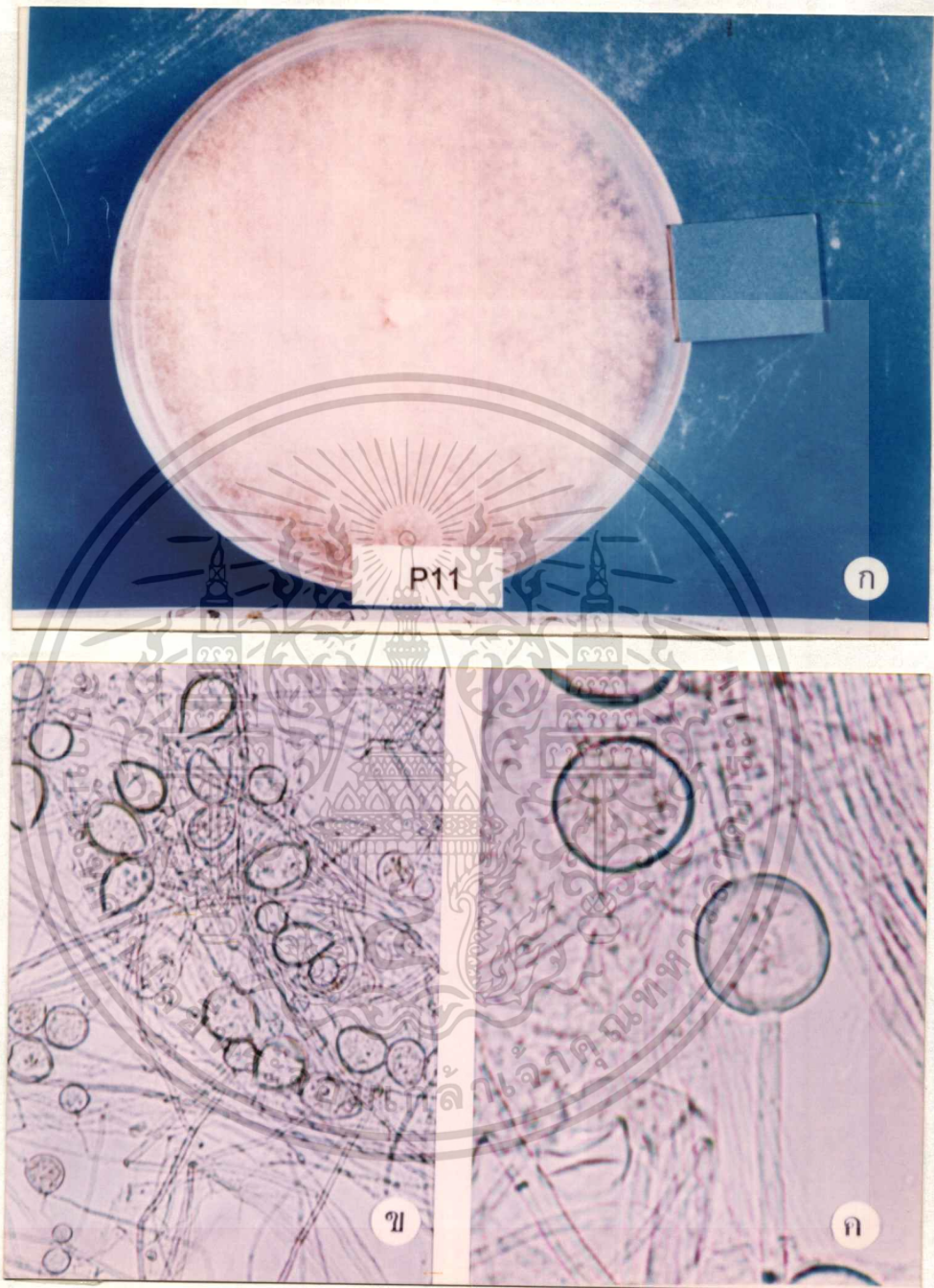


ภาพที่ 3.11 ลักษณะโคโลนีเชื้อรา *Phytophthora palmivora* isolate P9 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 10 วัน ก. ลักษณะโคโลนี ข. Sporangia (กำลังขยาย 10x) ค. Chlamydospore (กำลังขยาย 40x)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

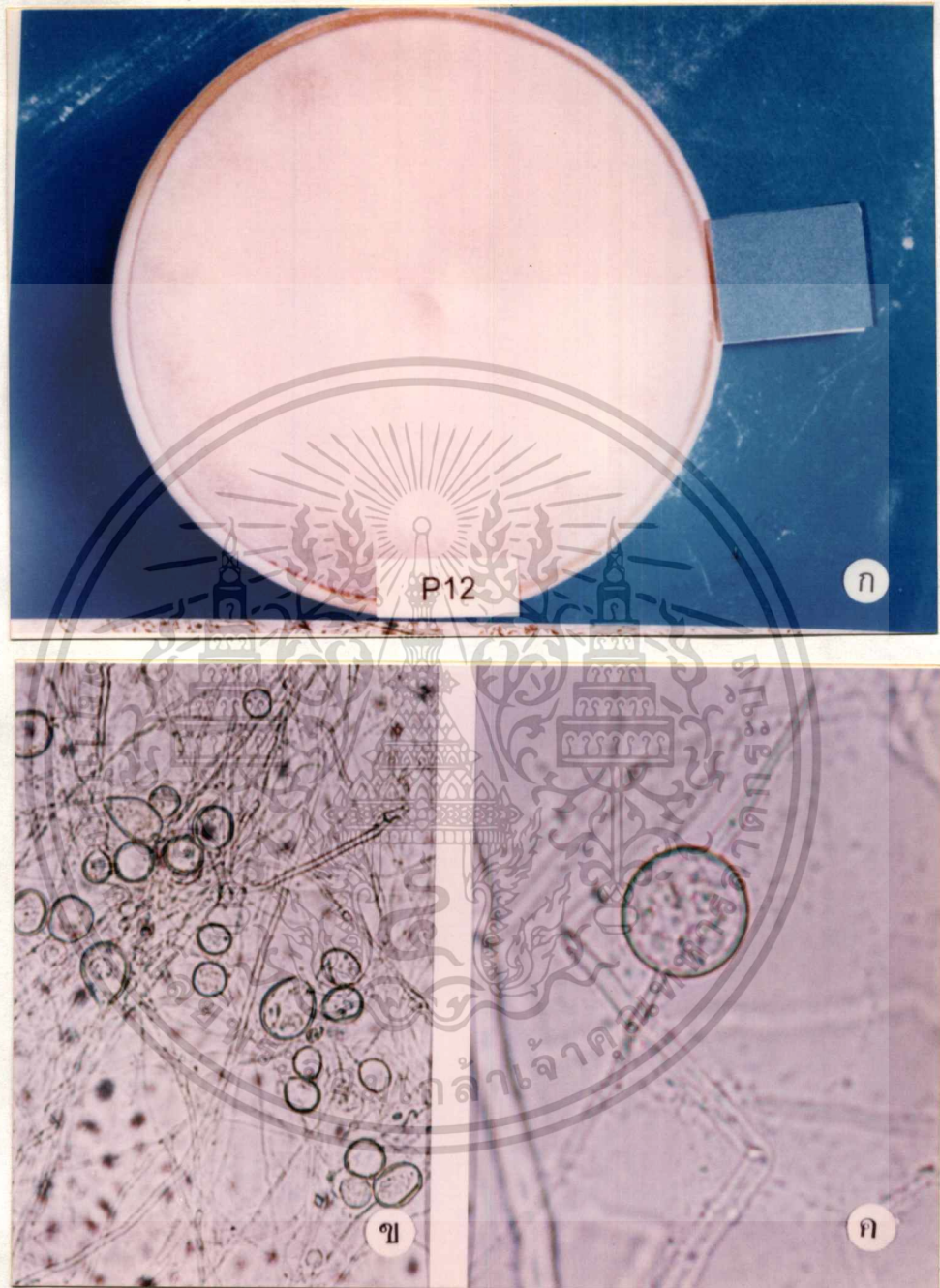


ภาพที่ 3.12 ลักษณะ โคลนีสื่อรา *Phytophthora palmivora* isolate P10 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 10 วัน ก. ลักษณะโคลนีสื่อ ข. Sporangia (กำลังขยาย 10x) ค. Chlamydospore (กำลังขยาย 40x)



ภาพที่ 3.13 ลักษณะโคโคโคนีเชื้อรา *Phytophthora palmivora* isolate P11 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 10 วัน ก. ลักษณะโคโคโคนี ข. Sporangia (กำลังขยาย 10x) ค. Chlamydospore (กำลังขยาย 40x)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.14 ลักษณะโคโลนีเชื้อรา *Phytophthora palmivora* isolate P12 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 10 วัน ก. ลักษณะโคโลนี ข. Sporangia (กำลังขยาย 10x) ค. Chlamydospore (กำลังขยาย 40x)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.2.2.2 ศึกษาความแตกต่างระหว่าง isolates โดยใช้เทคนิค SDS - PAGE

จากการใช้เทคนิค SDS PAGE (Polyacrylamide gel eletrophoresis) ในการจัดจำแนกความแตกต่างระหว่าง isolates ของเชื้อรา *P. palmivora* MF3 สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย จากการวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS (cluster analysis) พบว่า protein bands มีความแตกต่างกัน 5 Groups ได้แก่ Group A คือ isolates P5 และ P 7 มี protein bands ทั้งหมด 9 bands ดังนี้ band 1 (มีน้ำหนักโมเลกุล 97.4 kDa), band 2 (85 kDa), band 3 (80 kDa), band 4 (50 kDa), band 5 (48 kDa), band 6 (45 kDa), band 7 (35 kDa), band 8(29 kDa) และ band 9 (27 kDa) Group B คือ isolates P1, P2 และ P10 มี protein band ทั้งหมด 8 band ดังนี้ band 1 (97.4 kDa), band 2 (80 kDa), band 3 (50 kDa), band 4 (48 kDa), band 5 (45 kDa), band 6 (35 kDa), band 7 ( 25 kDa) และ band 8(16 kDa) Group C คือ isolates P3 มี protein bands ทั้งหมด 11 band ดังนี้ band 1 (97.4 kDa), band 2 (90 kDa), band 3 (85 kDa), band 4 (80 kDa), band 5 (50 kDa), band 6 (48 kDa), band 7 (39kDa), band 8(35 kDa) และ band 9 (25 kDa) band 10 (16 kDa) และ band 11 (14.4) Group D คือ isolate P6, P8 P11 และ P12 มี protein bands ทั้งหมด 3 band ดังนี้ band 1 (97.4 kDa), band 2 (90 kDa) และ band 3 (85 kDa) Group E คือ isolates P4 และ P9 มี protein bands brans ดังนี้ band 1 (97.4 kDa) (ในภาพที่ 15,16,17) และเมื่อนำไปศึกษาเปรียบเทียบกับการจัดจำแนกโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่า *P. palmivora* MF3 มีหลาย isolates ที่สามารถแยกความแตกต่างกันในขนาดของ sporangia มีความสัมพันธ์กับ protein band ในแต่ละ Group ดังนี้ Group A ได้แก่ isolates P5, P7 มี sporangia ขนาด 50.41 X 29.16 ไมครอน L:B เท่ากับ 1:1.7 Group B ได้แก่ isolates P1, P2, และ P3 มี sporangia ขนาด 49.37 X 31.37 ไมครอน L:B เท่ากับ 1:1.5 Group C ได้แก่ isolate P3 มี sporangia ขนาด 50.50 X 31.75 ไมครอน L:B เท่ากับ 1:1.5 Group D ได้แก่ isolates P6, P8, P11 และ P12 มี sporangia ขนาด 51.37 X 33.62 ไมครอน L:B เท่ากับ 1:1.5 Group E ได้แก่ isolates P4 และ P9 มี sporangia ขนาด 51.50 X 32.50 ไมครอน L:B เท่ากับ 1:1.5 ตามตารางที่ 3.5

ตารางที่ 3.5 ขนาด sporangium ของ *Phytophthora palmivora* MF3 isolates P1 - P12 ที่แยกได้

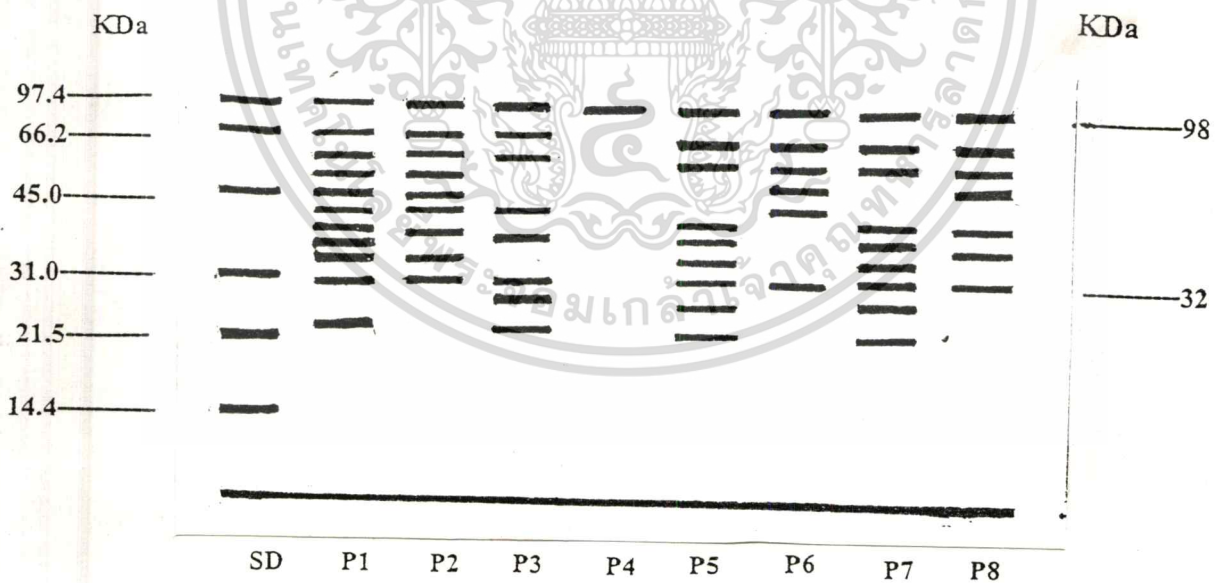
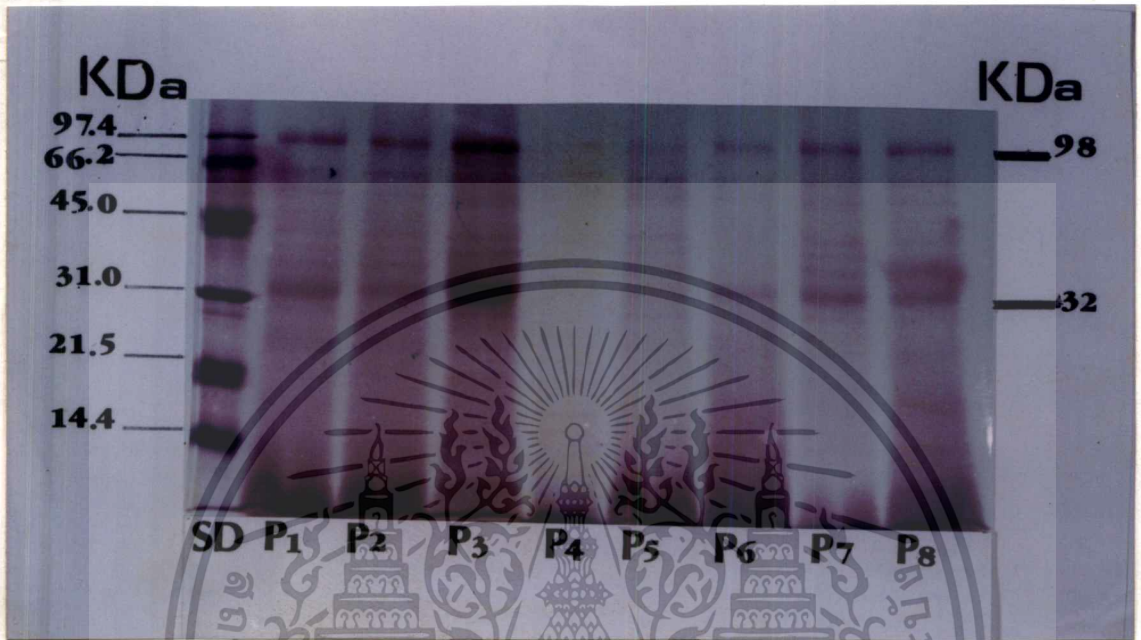
Group <sup>1/</sup>	Isolate	B x L <sup>2/</sup>	L : B <sup>3/</sup>
A	P5, P7	50.41 x 29.16	1:1.7
B	P1, P2, P10	49.37 x 31.37	1:1.5
C	P3	50.50 x 31.75	1:1.5
D	P6, P8, P11, P12	51.37 x 33.62	1:1.5
E	P4, P9	51.50 x 32.50	1:1.5

1/ แบ่งตาม protein bands จากเทคนิค SDS-PAGE

2/ B x L, B = ความกว้างเฉลี่ยของ sporangia x L = ความยาวเฉลี่ยของ sporangia

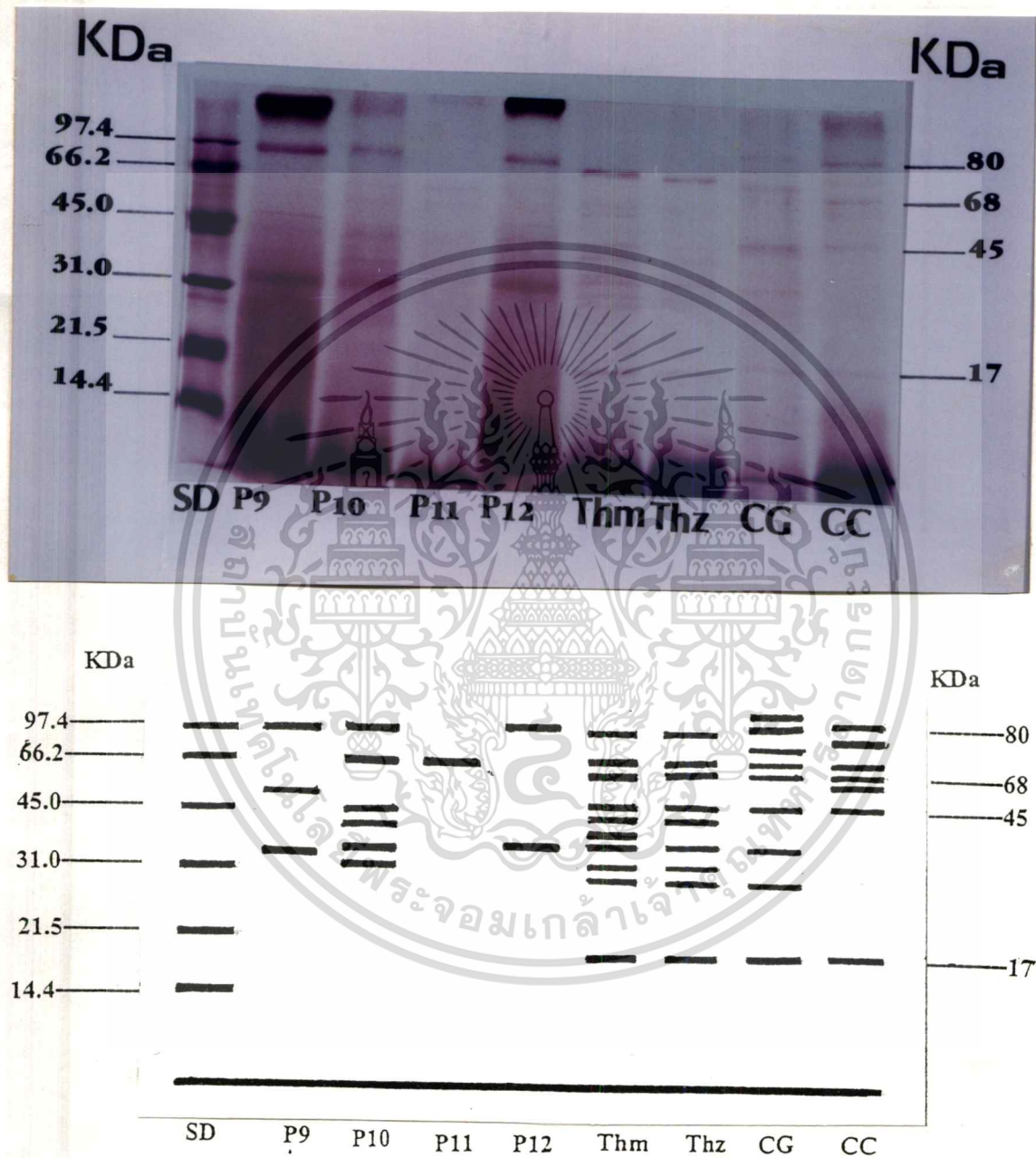
3/ L : B, L = ความยาวของ sporangia / ความกว้างของ sporangia

สำหรับการสกัด protein โดยใช้วิธี SDS-PAGE เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่าง species ของจุลินทรีย์ต่อต้าน ได้แก่ *T. harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02, *C. globosum* CG5 และ *C. cupreum* CC10 พบว่าจุลินทรีย์ต่อต้าน Group 1 ได้แก่ *T. harzianum* และ *T. hamatum* มี protein bands ทั้งหมด 8 bands ดังนี้ band 1 (มีน้ำหนักโมเลกุล 87 kDa), band 2 (60 kDa), band 3 (46 kDa), band 4 (40 kDa), band 5 (35 kDa), band 6 (33 kDa), band 7 (28 kDa) และ band 8 (16 kDa) และจุลินทรีย์ต่อต้าน Group 2 มี protein bands 2 bands ดังนี้ band 1 (48 kDa), band 2 (17 kDa) (ในภาพที่ 17)



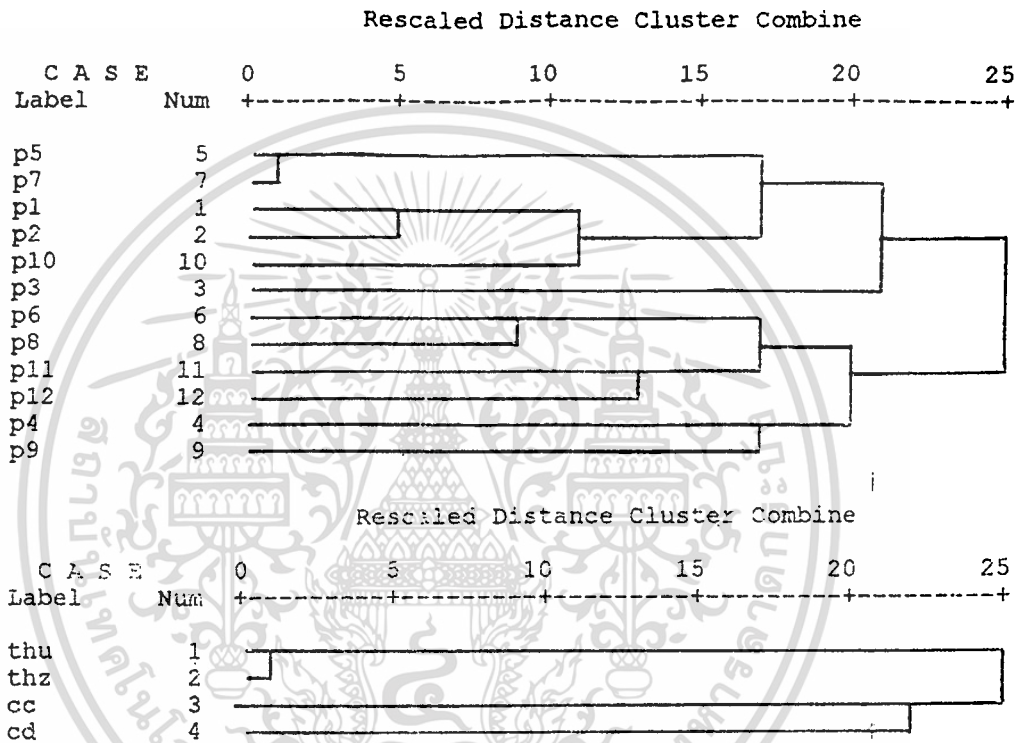
ภาพที่ 3.15 เปรียบเทียบ Standard marker(SD) กับ protein bandsของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* isolates P1,P2, P3, P4, P5, P6, P7 และ P8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.1 6 เปรียบเทียบ Standard marker(SD) กับ protein bands ของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* isolates P9, P10, P11, P12 และ จุลินทรีย์ต่อต้าน *Trichoderma hamatum* (Thm) *Trichoderma harzianum* (Thz) *Chaetomium globosum* (CG) *Chaetomium cupreum* (CC)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.17 dendrogram แสดงความสัมพันธ์ของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* isolates ต่างๆ และ *Trichoderma harmatum* (thu), *Trichoderma hamatum* (thz), *Chaetomium cupreum* (cc), *Chaetomium globosum* (cd)

### 3.2.3 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค(Pathogenicity Test) ของเชื้อรา

#### *Phytophthora palmivora* MF3

##### 3.2.3.1 การทดสอบการเกิดโรคบนพริกไทย

จากการปลูกเชื้อรา *P. palmivora* MF3 บนใบพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย และบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 6 วัน พบว่าเชื้อราทั้ง 12 isolates ที่แยกได้มีความรุนแรงในการเกิดโรคในระดับเดียวกันโดยไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีแนวโน้มว่า isolate P1 แสดงอาการโรคได้รวดเร็วกว่า isolates อื่นๆ จึงคัดเลือกไว้ใช้ในการทดลองต่อไป ลักษณะอาการเริ่มจากบริเวณที่ปลูกเชื้อจะเน่ามีแผลสีดำ เจริญลุกลามอย่างรวดเร็วใบเปลี่ยนเป็นสีดำในที่สุด (ตารางที่ 3.6 ภาพที่ 18) ส่วนในการทดลองเปรียบเทียบ (control) ปรากฏว่าไม่แสดงอาการเกิดโรคแต่อย่างใด จึงนำ isolate P1 ไปใช้ในการทดลองต่อไป



ภาพที่ 3.18 แสดงความสามารถในการทำให้เกิดโรคของ *Phytophthora palmivora* isolates P1

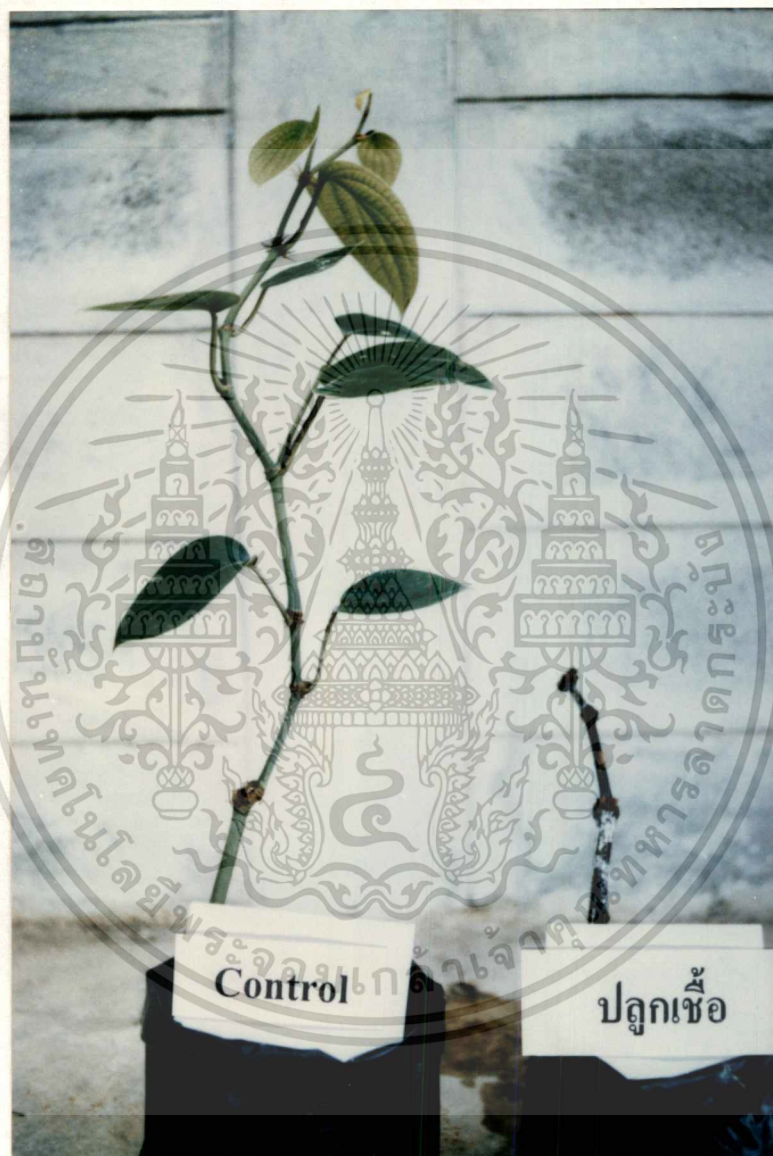
ตารางที่ 3.6 ความสามารถในการเกิดโรคของเชื้อ *Phytophthora palmivora* isolates P1-P12 ที่อายุ 6 วัน

isolates	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางแผลเน่าเฉลี่ย(ซม.)
P1	6.59 ns <sup>1/</sup>
P2	5.32
P3	5.40
P4	6.24
P5	6.28
P6	6.54
P7	5.30
P8	5.74
P9	6.28
P10	5.88
P11	6.22
P12	5.94

1/ ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ C.V. (%) = 15.8 ns = non significant

### 3.2.3.2 การทดสอบการเกิดโรคนต้นพริกไทย

จากการนำ *P. palmivora* MF3 isolate P1 ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่าของต้นกล้าพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย อายุ 3 เดือน โดยการปลูกเชื้อโดยใช้เข็มหมุดทำแผลบริเวณโคนต้นติดดินด้วย zoospore suspension เท่ากับ  $3 \times 10^7$  zoospore ต่อ มิลลิลิตร จำนวน 70 มิลลิลิตรต่อต้น ในสภาพเรือนเพาะชำ ปรากฏว่าต้นกล้าพริกไทยที่ปลูกเชื้อเกิดโรค 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3.7) โดยแสดงระดับการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 3.5 หมายถึง อาการใบเหลืองเริ่มมีแผลสีดำลุกลามไปมากกว่า 26-50% ของทรงพุ่ม แสดงอาการโรครุนแรง ต้นกล้าพริกไทยตายในที่สุด ในขณะที่การทดลองเปรียบเทียบ (control) ไม่แสดงอาการโรคแต่อย่างใด และเมื่อนำส่วนที่เป็นโรคไปแยกเชื้อสามารถพบเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยดังกล่าว (ภาพที่ 19)



ภาพที่ 3.19 แสดงการทดสอบความสามารถในการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าพริกไทยพันธุ์มาเลเชีย  
ที่เกิดจากการปลูกเชื้อรา *Phytophthora palmivora* MF3 Isolate P1 ที่อายุ 30 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.7 การทดสอบความสามารถทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย โดยการปลูกเชื้อ *Phytophthora palmivora* MF3 Isolate P1 บนต้นกล้าพริกไทย ในระยะเวลา 30 วัน

ต้นที่	ระดับการเกิดโรค	
	ปลูกเชื้อ	ไม่ปลูกเชื้อ
1	2	1
2	5	1
3	2	1
4	3	1
5	4	1
6	4	1
7	5	1
8	5	1
9	2	1
10	2	1
11	3	1
12	5	1
13	2	1
14	4	1
15	2	1
16	3	1
17	5	1
18	5	1
19	4	1
20	3	1
เฉลี่ย	3.5	1

1/ 1 = ต้นสมบูรณ์ใบเขียวเข้ม 2 = มีอาการใบเหลือง 1-25% ของทรงพุ่ม 3 = อาการใบเหลืองและเริ่มมีแผลสีน้ำตาล 26-50 % ของทรงพุ่ม 4 = อาการใบเหลืองและแผลสีน้ำตาลขยายวงกว้าง 51-75% ของทรงพุ่ม 5 = อาการใบเหลืองมีแผลสีน้ำตาลใหญ่มากกว่า 75% ของทรงพุ่มและใบเริ่มร่วงและต้นเน่าตายในที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.2.3.3 ความสามารถของเชื้อ *Phytophthora palmivora* MF3 isolate P1 ในการทำให้เกิดโรครากับพืชอาศัยอื่นๆ

จากการทดสอบเชื้อรา *P. palmivora* MF3 isolates P1 สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทย ที่มีความรุนแรงต่อการเกิดโรค นำชิ้นส่วนของเชื้อราดังกล่าว ปลูกเชื้อบนพืชอาศัยชนิดอื่นๆ รวม 10 ชนิด ที่อุณหภูมิห้อง(27-30 องศาเซลเซียส) อายุ 7 วัน พบว่า ใบทุเรียนพันธุ์หมอนทอง ใบทุเรียนพันธุ์ก้านยาว นำสีน้ำตาล มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางแผลเน่าเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 4.48 และ 4.41 เซนติเมตร มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเชิงทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองเปรียบเทียบ (control) รองลงมาได้แก่ ใบลองกอง ใบทุเรียนพันธุ์กระดุม ใบเงาะ ใบทุเรียนพันธุ์ชะนี ใบยางพารา ใบพริกไทย และใบมังคุด มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางแผลเน่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.11, 3.82, 3.42, 3.13, 2.87, 2.71, และ 1.73 เซนติเมตร และพืชแสดงการเกิดโรค 100 เปอร์เซ็นต์ เชื้อรา *P. palmivora* MF3 isolate P1 ไม่ทำให้เกิดโรครากับใบมะไฟ (ตารางที่ 3.8 ภาพที่ 20) พืชแสดงระดับความรุนแรงมากใบจะเป็นสีดำถึงน้ำตาล ได้แก่ ใบพริกไทย ใบทุเรียนพันธุ์ก้านยาว ใบทุเรียนพันธุ์ชะนี ใบทุเรียนพันธุ์กระดุม ใบทุเรียนพันธุ์หมอนทอง มีค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของโรครากมากที่สุด เท่ากับ 3.94, 3.90, 3.86, และ 3.80 ตามลำดับ รองลงมาได้แก่ ใบเงาะ ใบยางพารา ใบลองกอง และใบมังคุด มีระดับความรุนแรงเฉลี่ย เท่ากับ 3.26, 3.24, 3.06 และ 2.30 ตามลำดับ ส่วนใบมะไฟ พืชไม่แสดงระดับความรุนแรง (ภาพที่ 20)

จากการทดลองพบว่าเชื้อสาเหตุที่ทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย คือเชื้อรา *P. palmivora* MF3 isolate P1 ซึ่งนอกจากจะทำให้เกิดโรครากับพริกไทยแล้ว ยังสามารถเกิดโรครากับทุเรียน ลองกอง เงาะ มังคุด และยางพาราได้ จากการทดลองนี้จึงได้นำ isolate P1 ไปทำการทดลองอื่นๆ ต่อไป

ตารางที่ 3.8 แสดงความสามารถทำให้เกิดโรคของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* MF3 isolate P1 กับพืชอาศัยอื่นๆ

พืชอาศัย	ขนาดเส้น <sup>1/</sup> ผ่าศูนย์กลาง แผลเน่า(ซม.)	อาการของโรค	การเกิดโรค <sup>1/</sup> (%)	ค่าเฉลี่ย ระดับ <sup>2/</sup> ความรุนแรงของ โรค
ใบพริกไทย	2.71e	ใบเน่าสีน้ำตาล	100	3.94 a
ใบทุเรียนพันธุ์ชะนี	3.13cd	ใบเน่าสีน้ำตาล	100	3.90 a
ใบเงาะ	3.42c	ใบเน่าสีน้ำตาล	100	3.26 b
ใบทุเรียนพันธุ์กระดุม	3.82b	ใบเน่าสีน้ำตาล	100	3.86 a
ใบทุเรียนพันธุ์หมอนทอง	4.48a	ใบเน่าสีน้ำตาล	100	3.80 a
ใบทุเรียนพันธุ์ก้านยาว	4.41a	ใบเน่าสีน้ำตาล	100	3.94 a
ใบข่างพารา	2.87dc	ใบเน่าสีน้ำตาล	100	3.24 b
ใบลองกอง	4.11ab	ใบเน่าสีน้ำตาล	100	3.06 c
ใบมะไฟ	0.50g	ใบปกติ	0	1.04 c
ใบมังคุด	1.73f	ใบเน่าสีน้ำตาล	100	2.30 e

1/ = เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับจำนวนใบ ที่ติดเชื้อหารด้วยจำนวนใบ ทั้งหมดที่ทดลอง x 100

2/ = ระดับความรุนแรงของโรค 1 = ปกติไม่ทำให้พืชแสดงอาการของโรค 2 = พืชแสดงอาการของโรคน้อย 3 = พืชแสดงอาการ โรคปานกลาง 4 = พืชแสดงอาการ โรครุนแรงมาก

3/ = ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P= 0.05 โดยเปรียบเทียบ Treatment Mean แบบ Duncan's Multiple Range Test



ภาพที่ 3.20 แสดงการปลูกเชื้อรา *Phytophthora palmivora* MF3 isolate P1 บนพืชอาศัยต่างๆ

### 3.2.4 การทดสอบความต้องการอาหาร อุณหภูมิ ที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* MF3 isolates P1

#### 3.2.4.1 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* MF3 isolate P1 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ชนิดต่างๆ

จากการทดสอบการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. palmivora* MF3 isolate พบว่าเจริญเติบโตได้ดีที่สุดบนอาหาร carrot agar และ Oat meal agar ซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี เท่ากับ 8.98 และ 8.60 เซนติเมตรตามลำดับ ที่อายุ 6 วัน รองลงมาได้แก่ อาหาร V-8 juice agar , corn meal agar water agar และ czapek' agar มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา เฉลี่ยเท่ากับ 8.30, 8.00, 6.68, 6.10 และ 5.60 เซนติเมตร ตามลำดับ และมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 3.9) และพบว่ามีการสร้าง sporangia ได้ดีที่สุดในอาหาร carrot agar มี sporangia เท่ากับ  $530 \times 10^4$  ต่อมิลลิลิตร รองลงมาได้แก่อาหาร Oat meal agar, V-8 juice

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เท่ากับ  $390 \times 10^4$ ,  $380 \times 10^4$ ,  $295 \times 10^4$ ,  $150 \times 10^4$  และ  $50 \times 10^4$  sporangia ต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(ตารางที่ 3.9) เชื้อรา *P. palmivora* MF3 isolate P1 สร้าง zoospore ได้ดีที่สุดในอาหาร carrot agar เช่นเดียวกันกล่าวคือ มีปริมาณ zoospore เฉลี่ยเท่ากับ  $20.15 \times 10^6$  zoosporeต่อมิลลิลิตร รองลงมาได้แก่อาหาร oat meal agar, V-8 juice agar, potato dextose agar, corn meal agar, czapek' agar และ water agar ซึ่งมีปริมาณ zoospore เฉลี่ยเท่ากับ  $12.35 \times 10^6$ ,  $9.50 \times 10^6$ ,  $5.35 \times 10^6$ ,  $3.50 \times 10^6$ ,  $1.90 \times 10^6$  และ  $1.30 \times 10^6$  zoospore ต่อมิลลิลิตรตามลำดับซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3.9)

ตารางที่ 3.9 การเจริญเติบโต ของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* MF3 isolate P1 บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ ที่อายุ 6 วัน

อาหาร	ขนาดโคโลนี (ซม.)	sporangium ( $\times 10^4/\text{ml.}$ ) <sup>1/</sup>	zoospore( $\times 10^6/\text{ml.}$ ) <sup>1/</sup>
WA	6.10 e <sup>2/</sup>	50 e	1.30 e
CMA	8.00 c	150 d	3.50 de
PDA	6.68 d	295 c	5.35 d
V8	8.30 bc	380 b	9.50 c
CZ	5.60 e	90 de	1.90 e
OMA	8.60 ab	390 b	12.35 b
CA	8.98 a	530 a	20.15 a

1/ ใส่ น้ำกลั่นฆ่าเชื้อใน culture นำไปบ่มไว้ในที่มีแสง 3 วัน แล้วนำเข้าตู้เย็น อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จึงนำออกมาไว้ในอุณหภูมิห้อง 20 นาที

2/ ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น  $P= 0.05$  โดยเปรียบเทียบ Treatment Mean แบบ Duncan's Multiple Range Test

### 3.2.4.2 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* MF3 isolate P1 บนอาหาร CA ที่อุณหภูมิต่างกัน

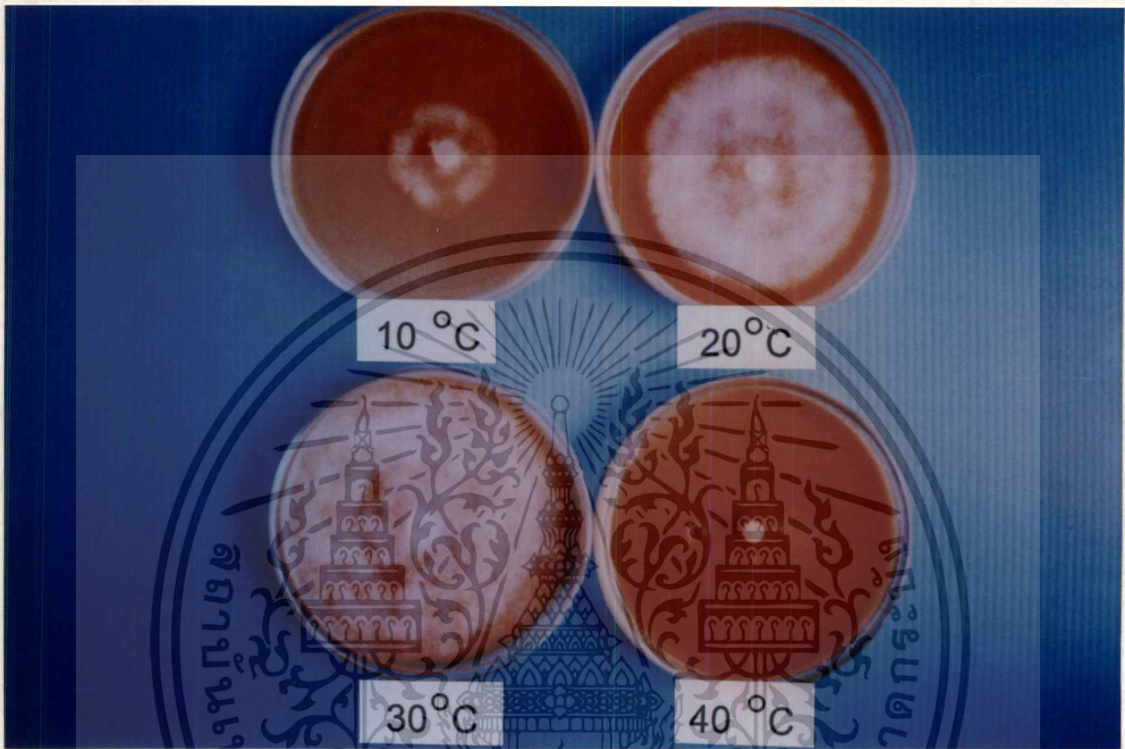
จากการทดสอบอุณหภูมิที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. palmivora* MF3 isolate P1 เชื้อสาเหตุทำให้เกิดโรครากเน่าและโคนเน่าของพริกไทยที่อายุ 6 วัน พบว่าเชื้อราสาเหตุโรคเจริญเติบโตดีที่สุดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส รองลงมาคือ อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ยเท่ากับ 8.9 และ 7.38 เซนติเมตร ตามลำดับ ในขณะที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีน้อยที่สุด เท่ากับ 3.20 เซนติเมตร ส่วนอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เชื้อราไม่สามารถเจริญเติบโตได้ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 3.10 ภาพที่ 21) และเมื่อตรวจนับ sporangia พบว่า ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มี sporangia มากที่สุดเท่ากับ  $87 \times 10^4$  sporangia ต่อ มิลลิลิตร รองลงมาได้แก่ อุณหภูมิ 20 และ 10 องศาเซลเซียส มี sporangia เฉลี่ยเท่ากับ  $35 \times 10^4$  และ  $8 \times 10^4$  sporangia ต่อ มิลลิลิตร และเชื้อรา *P. palmivora* MF3 isolate P1 ไม่สามารถสร้าง sporangia ได้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จากการตรวจนับ zoospore พบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีการสร้าง zoospore มากที่สุด รองลงมาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส มี zoospore เฉลี่ย ค่าเท่ากับ  $115 \times 10^6$  และ  $60 \times 10^6$  zoospore ต่อ มิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส มี zoospore น้อยที่สุด เท่ากับ  $12 \times 10^6$  zoospore ต่อ มิลลิลิตร ในขณะที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ไม่มีการสร้าง zoospore (ตารางที่ 3.10)

ตารางที่ 3.10 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* MF3 isolate P1 บนอาหาร CA ที่อุณหภูมิต่างๆ กัน ที่อายุ 6 วัน

อุณหภูมิ (°C) <sup>1</sup>	ขนาดโคโลนี(ซม.)	sporangium ( $\times 10^4$ )/ml.	zoospore ( $\times 10^6$ )/ml.
10	3.20 c <sup>V</sup>	8 c	12.0c
20	7.38 b	35 b	60.0b
30	8.90 a	87 a	115.50a
40	0.50 d	0 0 c	0.00c

1/ ใส่ น้ำกลั่นฆ่าเชื้อใน culture นำไปบ่มไว้ในที่มีแสง 3 วัน แล้วนำเข้าตู้เย็น อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จึงนำออกมาไว้ในอุณหภูมิห้อง (27-30 องศาเซลเซียส) 20 นาที

2/ ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น  $P= 0.05$  โดยเปรียบเทียบ Treatment Mean แบบ Duncan's Multiple Range Test



ภาพที่ 3.21 แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* MF3 isolate P1 ที่อุณหภูมิ  
ต่างๆ กัน ที่อายุ 5 วัน

### 3.3 การทดสอบศักยภาพของจุลินทรีย์ต่อต้าน (microbial antagonist) ใน การควบคุมเชื้อราสาเหตุโรครากโคนเน่าของพริกไทยในห้องปฏิบัติการ

#### 3.3.1 การทดสอบเลี้ยงเชื้อร่วมในอาหาร(Bi-culture Test)

จากการทดลองเลี้ยงเชื้อร่วม (Bi-culture test) บนอาหาร PDA ระหว่าง  
จุลินทรีย์ต่อต้าน คือ *Trichoderma harzianum* PC02, *Trichoderma hamatum* PC01, *Chaetomium*  
*cupreum* CC10, และ *Chaetomium globosum* CG5 กับเชื้อรา *P. palmivora* MF3 isolate P1 สาเหตุ  
โรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย ในห้องปฏิบัติการ พบว่า *T. harzianum* สามารถ  
ยับยั้งการเจริญเติบโตโคโลนีของเชื้อรา *P. palmivora* MF3 isolate P1 บนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ดีที่สุด  
78.45 เปอร์เซ็นต์ กล่าวคือมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของ *P. palmivora* MF3 isolate P1 มี  
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ดูแลเห็นประโยชน์ประการใด  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขนาดเล็กที่สุด เท่ากับ 1.92 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหาร PDA อย่างเดียว (Control) มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8.90 เซนติเมตร รองลงมาได้แก่ *T. hamatum* ซึ่งพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตโคโลนีของเชื้อสาเหตุโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ 77.37 เปอร์เซ็นต์ กล่าวคือมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของ *P. palmivora* MF3 isolate P1 มีขนาดเล็กที่สุดเท่ากับ 2.01 เซนติเมตร (ตารางที่ 3.11 ภาพที่ 22)

จากการทดลองพบว่า *C. cupreum* (CC10) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย สาเหตุจากเชื้อ *P. palmivora* MF3 isolate P1 บนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมได้ 65.68 เปอร์เซ็นต์ กล่าวคือมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม 3.05 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหาร PDA อย่างเดียว (Control) มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8.90 เซนติเมตร และ *C. globosum* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคดังกล่าวได้ 63.84 เปอร์เซ็นต์ กล่าวคือมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรค บนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม 3.22 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อราสาเหตุโรคบนอาหาร PDA อย่างเดียว (Control) มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8.90 เซนติเมตร (ตารางที่ 3.11 ภาพที่ 23) อย่างไรก็ตามเชื้อรา *T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 สามารถเจริญครอบคลุมโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคได้เร็วกว่า ในขณะที่เชื้อรา *C. cupreum* CC10 และ *C. globosum* CG5 เจริญครอบคลุมโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคได้ช้าก็ตาม แต่ระดับการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ต่อต้านอยู่ในระดับสูง สามารถยับยั้งหรือลดปริมาณของเชื้อสาเหตุโรคได้มากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป

ตารางที่ 3.11 ศักยภาพของจุลินทรีย์ต่อต้านในการควบคุมเชื้อรา *Phytophthora palmivora* MF3 isolate P1 ในงานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม PDA ที่อายุ 10 วัน

จุลินทรีย์ต่อต้าน	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเชื้อโรค(ซม.)	% การยับยั้งการเจริญเติบโต <sup>2/</sup>	ระดับการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์ <sup>3/</sup>
<i>T. hamatum</i>	2.01 c <sup>1/</sup>	77.37 a	4
<i>T. harzianum</i>	1.92 c	78.45 a	4
<i>C. globosum</i>	3.22 b	63.84 b	3
<i>C. cupreum</i>	3.05 b	65.68 b	3
<i>P.palmivora</i> (control)	8.90 a		

1/ ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05 โดยเปรียบเทียบ Treatment Mean แบบ Duncan' s Multiple Range Test

2/ = เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต(PIRG) =  $R1-R2 \times 100/R1 \times 100$

R1 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราในงานอาหารเปรียบเทียบ (control)

R2 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคในงานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม

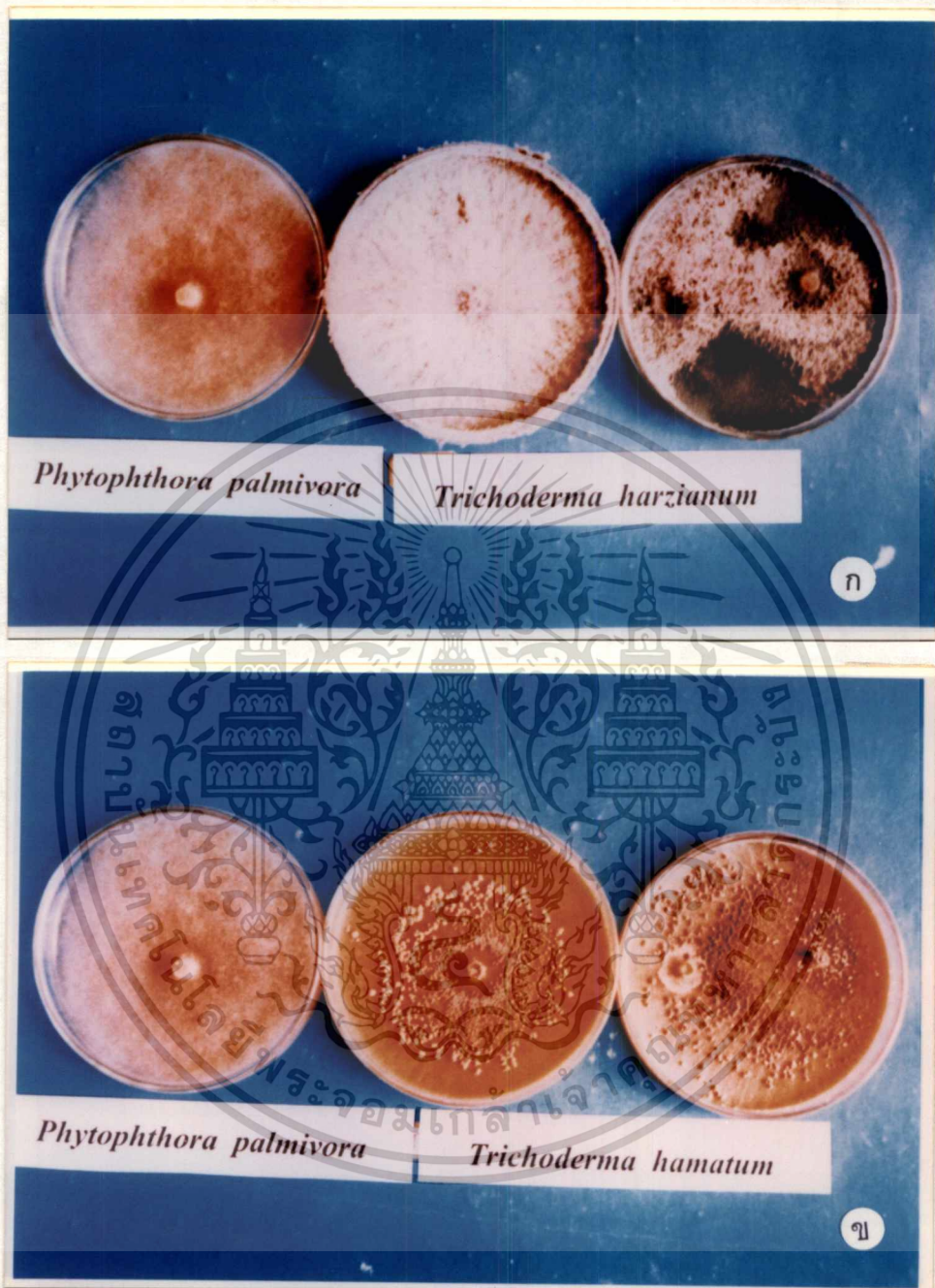
3/ = ระดับการเกิดกิจกรรมของจุลินทรีย์(Degree of antagonistic activity)

1 = low antagonist activity (<50% PIRG)

2 = moderate antagonist activity (50-60% PIRG)

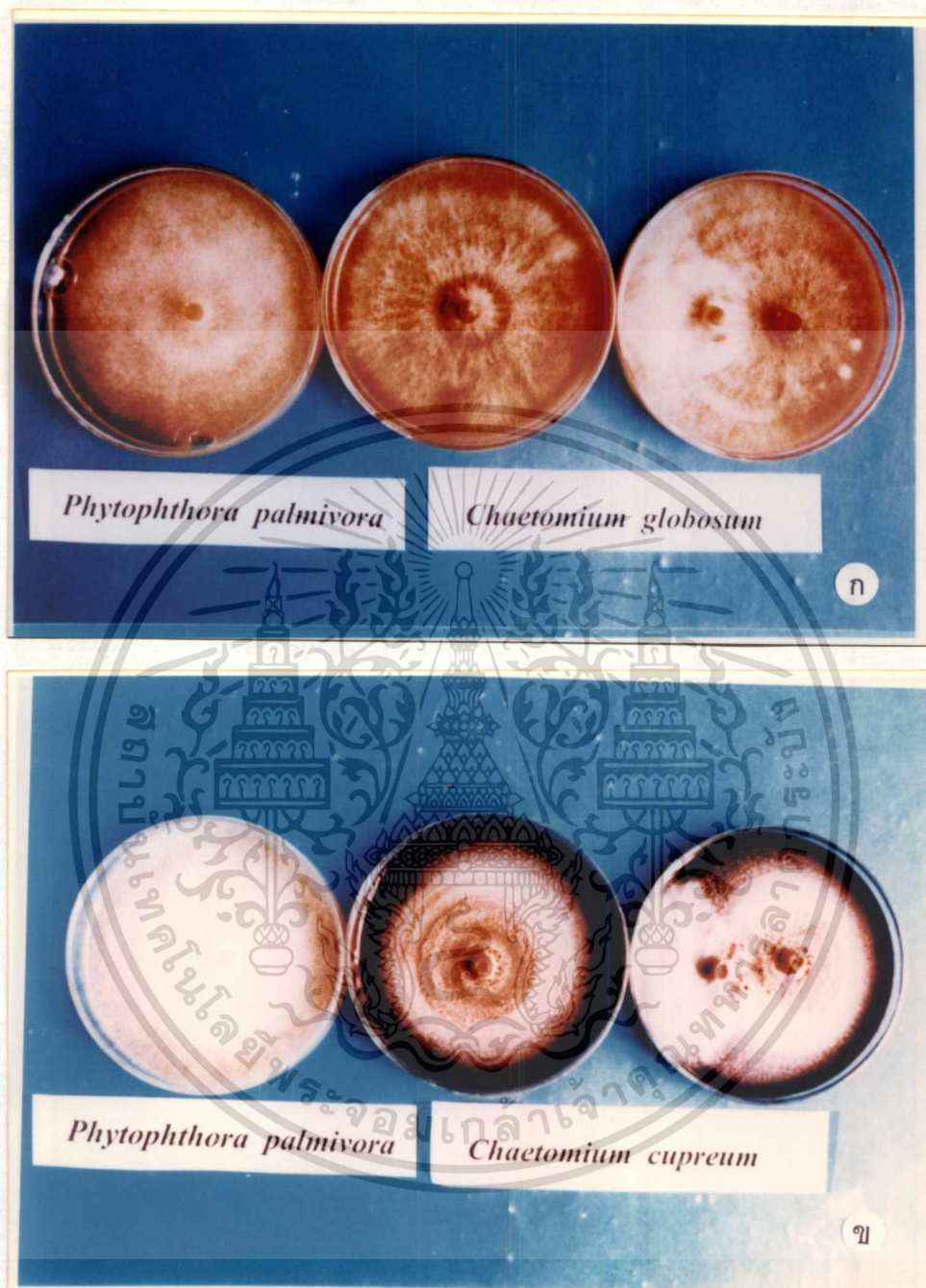
3 = high antagonist activity (61-75% PIRG)

4 = very high antagonist activity (75% PIRG)



ภาพที่ 3.22 แสดงการควบคุมเชื้อรา *Phytophthora palmivora* MF3 isolate P1 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 14 วัน ก. *Trichoderma harzianum* ข. *Trichoderma hamatum*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.23 แสดงการควบคุมเชื้อรา *Phytophthora palmivora* MF3 isolate P1 บนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม PDA ที่อายุ 14 วัน ก. *Chaetomium globosum* ข. *Chaetomium cupreum*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

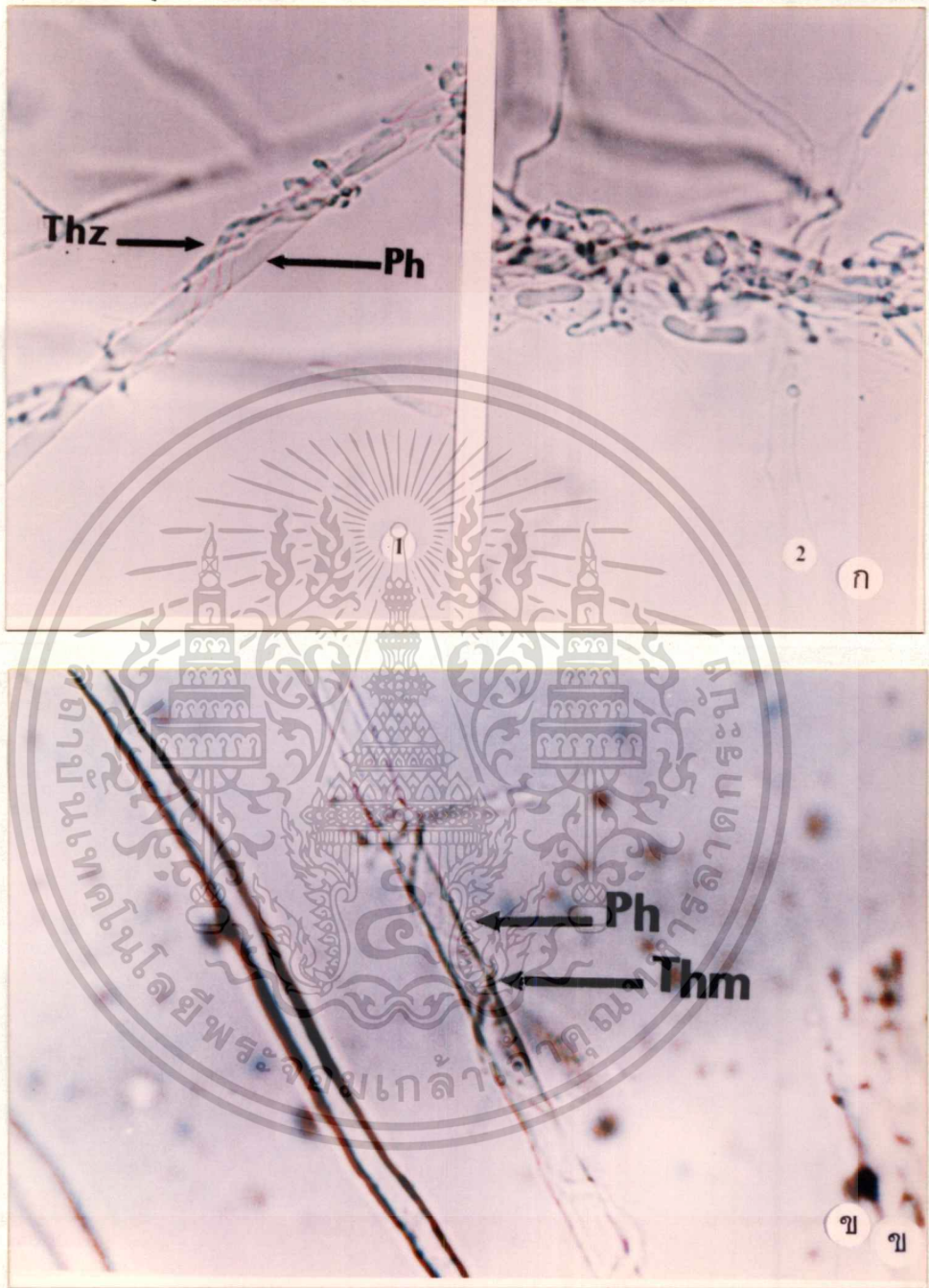
### 3.2 การศึกษาปฏิกิริยาของจุลินทรีย์ต่อต้าน และเชื้อรา *Phytophthora palmivora*

#### MF3 isolate P1 ในกึ่งห้องจุลทรรศน์

จากการศึกษาปฏิกิริยาระหว่างจุลินทรีย์ต่อต้านกับ เชื้อรา *Phytophthora palmivora* MF3 isolate P1 สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเส้นใยของเชื้อรา *T. harzianum* เข้าพันรัดเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคทำให้เส้นใยแตกหักเป็นท่อน เช่นเดียวกับ เชื้อรา *T. hamatum* (ภาพที่ 24) มีผลทำให้เชื้อราสาเหตุโรคเจริญเติบโตไม่ได้ และไม่สามารถสร้าง sporangium และ zoospore ได้ แสดงถึงเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคถูกรบกวนในการเจริญเติบโตที่เรียกว่า hyphal interference

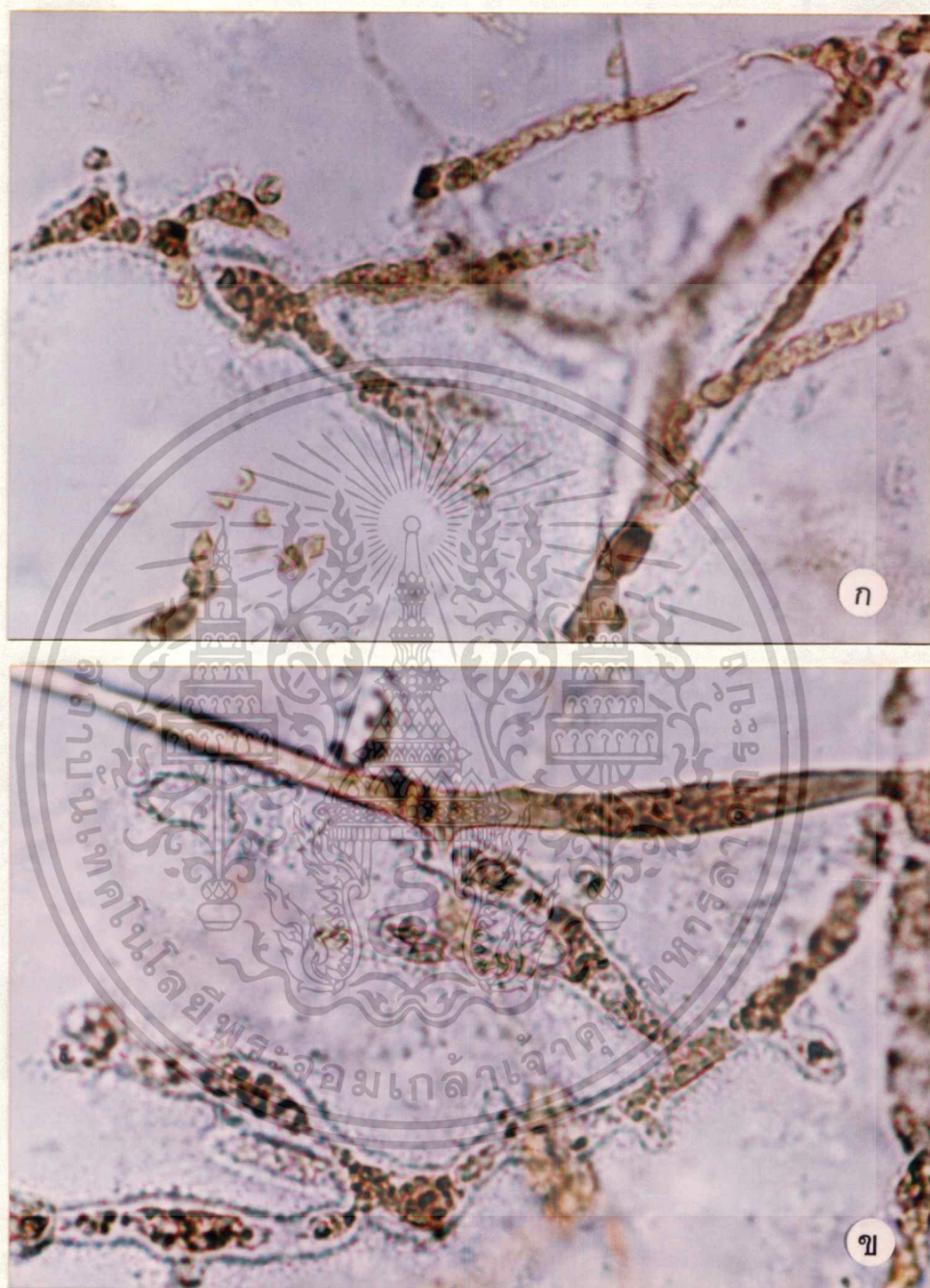
สำหรับ *C. globosum* พบว่า ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* เกิดการสลายตัวเริ่มจากภายในเส้นใยสลายตัว(lysis) ดังแสดงในภาพที่ 25 สำหรับ *C. cupreum* พบว่าเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคมีลักษณะการถูกทำลายคล้ายคลึงกัน ดังแสดงใน ภาพที่ 25 ซึ่งแสดงว่า *C. globosum* และ *C. cupreum* อาจจะสามารถปฏิชีวนะปลดปล่อยออกมาทำลายเซลล์หรือเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคได้





ภาพที่ 3.24 เส้นใยเชื้อรา *Phytophthora palmivora* MF3 isolate P1 ถูกทำลายโดยเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน ก. 1 = *Trichoderma harzianum*(Thz) พันธุ์เส้นใย 2 = เซลล์ของเชื้อราสาเหตุโรคแตกหัก ข. = *Trichoderma hamatum* (Thm) พันธุ์เส้นใย เชื้อราสาเหตุโรค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.25 เส้นใยเชื้อรา *Phytophthora palmivora* MF3 isolate P1 ถูกทำลายโดยเชื้อจุลินทรีย์  
 ต่อต้าน *Chaetomium globosum* (ก) *Chaetomium cupreum* (ข)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.4 การป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยโดยชีววิธีแบบผสมผสาน (Integrated biological control)

#### 3.4.1 การทดสอบศักยภาพของจุลินทรีย์ต่อต้าน (Antagonist) ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าพริกไทยในสภาพเรือนทดลอง (greenhouse)

จากการทดลองการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย ที่เกิดจากเชื้อรา *P. palmivora* MF3 isolate P1 ในสภาพเรือนทดลอง 5 วิธีการคือ การควบคุมโรคใช้ *Trichoderma* ชนิดเม็ด (*T. harzianum* และ *T. hamatum*) ในอัตรา 20 กรัม/ต้น การใช้ *Chaetomium* ชนิดเม็ด (*C. globosum* และ *C. cupreum*) ในอัตรา 20 กรัม/ต้น การใช้ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* ในอัตราชนิดละ 10 กรัมต่อต้น การใช้สารเคมีป้องกันกำจัด *Metalaxyl* 5% G 20 กรัม/ต้น และการทดลองเปรียบเทียบ (control) โดยการปลูกเชื้อรา *P. palmivora* MF 3 isolate P1 ลงบนโคนต้นพริกไทย อายุ 4 เดือน จำนวน 70 มิลลิลิตรต่อต้น ซึ่งมีปริมาณ zoospores suspension เท่ากับ  $9.8 \times 10^4$  ต่อ มิลลิลิตร พบว่าหลังจากการใส่ยาเชื้อชนิดเม็ด 2 เดือน การใส่ยาเชื้อ *Trichoderma* ชนิดเม็ด *Chaetomium* ชนิดเม็ด และการใส่ยาเชื้อร่วมกันสองชนิด ระดับการเกิดโรคไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ กล่าวคือ มีระดับการเกิดโรคเท่ากับ 1.10, 1.00 และ 1.16 ตามลำดับ การใช้สารเคมี *Metalaxyl* มีระดับการเกิดโรค 1.46 ในขณะที่การทดลองเปรียบเทียบมีระดับการเกิดโรคสูงสุดเท่ากับ 1.80 ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการที่ใส่ยาเชื้อควบคุมโรคหลังจากการใส่ยาเชื้อชนิดเม็ด 4 เดือนพบว่า การใส่ยาเชื้อ *Chaetomium* ชนิดเม็ด และการใช้ *Trichoderma* ชนิดเม็ด มีระดับการเกิดโรคต่ำสุดเท่ากับ 1.20 และ 1.28 รองลงมาคือ การใส่ยาเชื้อร่วมกันสองชนิด และการใช้สารเคมี *Metalaxyl* มีระดับการเกิดโรค เท่ากับ 1.44 และ 2.50 ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับ การทดลองเปรียบเทียบ มีระดับการเกิดโรคสูงสุดเท่ากับ 2.78 เมื่อระยะเวลาผ่านไป 6 เดือน พบว่า การใช้ *Chaetomium* ชนิดเม็ด การใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* ชนิดเม็ด การใช้ยาเชื้อชนิดเม็ดร่วมกันสองชนิด และการใช้สารเคมี *Metalaxyl* มีระดับการเกิดโรคเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ มีระดับการเกิดโรคเฉลี่ย 1.36, 1.60, 1.68 และ 3.1 ตามลำดับ ในขณะที่การทดลองเปรียบเทียบมีระดับการเกิดโรคเฉลี่ย เท่ากับ 3.8 ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบกับวิธีที่ใส่ยาเชื้อควบคุมโรค การใช้ยาเชื้อ *Chaetomium* ชนิดเม็ด สามารถลดการเกิดโรคได้ดีที่สุด 64.58 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ การใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* ชนิดเม็ด การใช้ยาเชื้อร่วมกันสองชนิด สามารถลดการเกิดโรค 58.33 และ 56.25 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และการใช้สารเคมี *Metalaxyl* ลดการเกิดโรคได้ 17.71 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3.12 ภาพที่ 26)

จากการตรวจวิเคราะห์ปริมาณ ประชากรของเชื้อก่อโรค *P. palmivora* ในดิน ในแต่ละวิธี

การหลังจากการใส่ยาเชื้อชนิดเม็ด 2 เดือน ในสภาพเรือนทดลองพบว่า การใช้ยาเชื้อ *Chaetomium*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิดเม็ด การใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* ชนิดเม็ด การใช้ยาเชื้อร่วมกันสองชนิด มีปริมาณ cfu ต่อดินหนึ่งกรัมไม่แตกต่างกันทางสถิติ เท่ากับ  $2.52 \times 10^3$ ,  $2.74 \times 10^3$  และ  $2.74 \times 10^3$  cfu ต่อดินหนึ่งกรัม แต่การใช้สารเคมี Metalaxyl มี cfu ต่อดินหนึ่งกรัมเท่ากับ  $3.48 \times 10^3$  ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับ การทดลองเปรียบเทียบมี cfu เท่ากับ  $3.60 \times 10^3$  ต่อดินหนึ่งกรัม เมื่อระยะเวลาผ่านไป 4 เดือน พบว่า การใช้ยาเชื้อ *Chaetomium* ชนิดเม็ด มีปริมาณเชื้อก่อโรคลดลงคือ  $1.50 \times 10^3$  cfu ต่อดินหนึ่งกรัม รองลงมาได้แก่การใช้ *Trichoderma* ชนิดเม็ด และ การใช้ยาเชื้อชนิดเม็ดสองชนิดร่วมกัน และ การใช้สารเคมี Metalaxyl มี cfu เท่ากับ  $1.50 \times 10^3$ ,  $1.74 \times 10^3$ ,  $1.80 \times 10^3$  และ  $2.76 \times 10^3$  cfu ต่อดินหนึ่งกรัมตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ หลังจากการใช้ยาเชื้อชนิดเม็ด 6 เดือนพบว่า การใช้ยาเชื้อ *Chaetomium* ชนิดเม็ด การใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* ชนิดเม็ด การใช้ยาเชื้อร่วมกันสองชนิด มีปริมาณเชื้อก่อโรค ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งเท่ากับ  $1.52 \times 10^3$ ,  $1.62 \times 10^3$  และ  $1.72 \times 10^3$  cfu ต่อดินหนึ่งกรัมตามลำดับ ในขณะที่ การใช้สารเคมี Metalaxyl มีปริมาณเชื้อก่อโรคเท่ากับ  $2.60 \times 10^3$  cfu ต่อดินหนึ่งกรัม เปรียบเทียบกับการทดลองเปรียบเทียบมีปริมาณเชื้อก่อโรค เท่ากับ  $3.36 \times 10^3$  cfu ต่อดินหนึ่งกรัม ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการใช้ยาเชื้อควบคุมโรคพืช จากการทดลองพบว่า การใช้ยาเชื้อ *Chaetomium* ชนิดเม็ด มีปริมาณเชื้อก่อโรคลดลงมากที่สุด 54.76 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่การใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* ชนิดเม็ดและ การใช้ยาเชื้อร่วมกันสองชนิด สามารถลดปริมาณเชื้อก่อโรคได้ 52.38 และ 48.80 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ การใช้สารเคมี Metalaxyl ลดปริมาณเชื้อก่อโรคได้เท่ากับ 22.61 เปอร์เซ็นต์(ตารางที่ 3.13)

จากการทดลองพบว่ายาเชื้อชนิดเม็ดที่ผลิตจากเชื้อรา *Chaetomium* spp. และ *Trichoderma* spp. สามารถลดปริมาณเชื้อก่อโรคของ *P. palmivora* MF3 isolate P1 ได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับ การทดลองเปรียบเทียบ ซึ่งมีปริมาณเชื้อก่อโรคเพิ่มขึ้น ในขณะที่เดียวกันเมื่อปริมาณเชื้อก่อโรคลดลง มีผลให้เกิดโรคลดลงตามลำดับ

ตารางที่ 3.12 การเปลี่ยนแปลงระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซียในสภาพเรือนทดลองหลังการใช้จุลินทรีย์ต่อต้านชนิดเมคปีป้องกันกำจัดเชื้อรา

*Phytophthora palmivora* MF3 isolate P1

กรรมวิธี	ระดับการเกิดโรค <sup>1/</sup>			% การลดลง <sup>2/</sup> ของโรค
	2 เดือน	4 เดือน	6 เดือน	
<i>Trichoderma</i> (T)	1.10 c <sup>3/</sup>	1.28d	1.60b	58.33
<i>Chaetomium</i> (C)	1.00 c	1.20d	1.36b	64.58
T x C	1.16 c	1.44c	1.68b	56.25
Metalaxyl	1.46 b	2.50b	3.16b	17.71
control	1.80 a	2.78a	3.84a	

1/ ระดับการเกิดโรค 1= ต้นสมบูรณ์ใบเขียวเข้ม 2= มีอาการใบเหลือง 1-25% ของทรงพุ่ม 3= มีอาการใบเหลืองและเริ่มมีแผลสีน้ำตาล 26-50% ของทรงพุ่ม 4 = มีอาการใบเหลืองและแผลสีน้ำตาล ขยายกว้าง 51-75 % ของทรงพุ่ม 5= อาการใบเหลือง มีแผลสีน้ำตาลขยายใหญ่มากกว่า 75% ของทรงพุ่ม

2/ การลดลงของโรค(%) = ระดับการเกิดโรคในการทดลองเปรียบเทียบลบ ระดับการเกิดโรคในแต่ละวิธีการหารด้วยระดับการเกิดโรคในการทดลองเปรียบเทียบ x 100

3/ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยตามหลังด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P= 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatments mean แบบ Duncan's Multiple Range Test

ตารางที่ 3.13 ประชากรส่วนขยายพันธุ์ (propagules) ของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* MF3 isolate P1 ในสภาพเรือนทดลอง

กรรมวิธี	ปริมาณเชื้อรา <i>P. palmivora</i> (cfu x 10 <sup>3</sup> soil/g.)			ปริมาณเชื้อก่อโรค ลดลง (%) <sup>2/</sup>
	2 เดือน	4 เดือน	6 เดือน	
<i>Trichoderma</i> (T)	2.74 b <sup>1/</sup>	1.74 c	1.60 c	52.38
<i>Chaetomium</i> (C)	2.52 b	1.50 d	1.52 c	54.76
TxC	2.74 b	1.80 c	1.72 c	48.80
Metalaxyl	3.48 a	2.76 b	2.60 b	22.61
control	3.60 a	3.32 a	3.36 a	

1/ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยตามหลังด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P= 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatments mean แบบ Duncan's Multiple Range Test

2/ ปริมาณเชื้อก่อโรคลดลง(%) = ส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อโรคในการทดลองเปรียบเทียบ ลบด้วย ส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อโรคในแต่ละวิธีการ หาดด้วยส่วนขยายพันธุ์เปรียบเทียบ x 100



ภาพที่ 3.26 การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดเม็ด และ สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา Metalaxyl ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย ที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* MF 3 isolate P1 ในสภาพเรือนทดลอง ที่อายุ 6 เดือน 1 = ยาเชื้อ *Trichoderma* ชนิดเม็ด 2 = ยาเชื้อ *Chaetomium* ชนิดเม็ด 3 = การทดลองเปรียบเทียบ (control) 4 = ยาเชื้อ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* ชนิดเม็ด 5 = สารเคมี Metalaxyl 6 = การทดลองเปรียบเทียบ (control)

### 3.4.2 การทดสอบศักยภาพของจุลินทรีย์ต่อต้าน (microbial antagonist) ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าพริกไทย ในแปลงทดลอง (field trial)

จากการทดสอบการใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* ชนิดเม็ด และ *Chaetomium* ชนิดเม็ด *Trichoderma* ชนิดเม็ดร่วมกับ *Chaetomium* ชนิดเม็ด การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา Metalaxyl 5% G เปรียบเทียบกับการทดลองเปรียบเทียบ(control) ในแปลงเกษตรกรที่สวนคุณอาณัติ สิทธิพันธ์ เลขที่ 48/8 หมู่ 7 ต. ฉมัน อ. มะขาม จ. จันทบุรี เพื่อป้องกันกำจัดการระบาดของเชื้อรา *P. palmivora* MF3 สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย ที่ระบาดทำความเสียหายให้ต้นพริกไทยตายหมดทั้งแปลง โดยทำการทดลองในพื้นที่ดังกล่าวซึ่งมีเชื้อก่อโรคในดินในปริมาณมาก และจากการทดลองตลอดระยะเวลา 12 เดือน พบว่าในวิธีการใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรคพืช *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* การใช้ยาเชื้อ *Chaetomium* การใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* และสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา Metalaxyl มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 8.60, 10.94, 21.88 และ 22.66 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับไม่ใช้วิธีการใด (control) ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 71.63 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลองเป็นเวลา 12 เดือน ในวิธีการที่ใช้ยาเชื้อ และสารเคมี มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคลดลงมากกว่า 60 - 80 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3.14) แม้ว่าการใช้สารเคมี มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไม่แตกต่างกันกับวิธีการที่ใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรคพืชก็ตาม แต่การใช้สารเคมีนานๆ จะมีผลเสียคือทำให้เชื้อโรคค้ำหนานค่อสารเคมี และสภาพดินเสีย

จากการใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรคพืชในดิน ที่มีต่อการลดปริมาณเชื้อก่อโรค (inoculum) ของเชื้อรา *P. palmivora* ในดินตลอดระยะเวลา 12 เดือน พบว่าวิธีการใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* มีปริมาณเชื้อก่อโรคเฉลี่ย  $1.9 \times 10^3$  cfu/ต่อดินหนึ่งกรัม ซึ่งปริมาณเชื้อก่อโรคลดลงถึง 40.36 เปอร์เซ็นต์ วิธีการใช้ยาเชื้อ *Chaetomium* มีปริมาณเชื้อก่อโรคเฉลี่ย  $2.02 \times 10^3$  cfu/ต่อดินหนึ่งกรัม ซึ่งปริมาณเชื้อก่อโรคลดลง 38.22 เปอร์เซ็นต์ ในวิธีการใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* มีปริมาณเชื้อก่อโรคเฉลี่ย 2.17 cfu/ต่อดินหนึ่งกรัม ซึ่งมีปริมาณเชื้อก่อโรคลดลง 33.36 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการที่ใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา metalaxyl มีปริมาณเชื้อก่อโรคเฉลี่ย 2.40 cfu/ต่อดินหนึ่งกรัม ซึ่งมีปริมาณเชื้อก่อโรคลดลง 26.60 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในวิธีการที่ไม่ใช้วิธีการใด (control) พบว่ามีปริมาณเชื้อก่อโรคในดินเพิ่มมากขึ้นซึ่งสอดคล้องกับการทดลองตรวจนับปริมาณเชื้อก่อโรค *P. palmivora* ในดินที่สามารถเจริญเข้าครอบครองเศษซากพืช(ใบพริกไทย)ได้ซึ่งการทดลองเปรียบเทียบ (ไม่ใช้วิธีการใด) เชื้อก่อโรคสามารถเข้าเจริญครอบครองชิ้นส่วนใบพริกไทย มากที่สุดเท่ากับ 79.75 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารเคมี Metalaxyl การใช้ยาเชื้อร่วมกันสองชนิด การใช้ยาเชื้อ *Chaetomium* และการใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* พบว่าเชื้อก่อโรค *P. palmivora* สามารถเจริญเข้าครอบครองชิ้นส่วนใบพริกไทยได้น้อยกว่าในระยะ 1 ปี เท่ากับ 46.75,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

42.0, 39.0 และ 23.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในการทดลองเปรียบเทียบ(ไม่ใช้วิธีการใด) เชื้อก่อโรค เจริญเข้าครอบครองขึ้นส่วนใบพริกไทยมากที่สุด เท่ากับ 92.0 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ การใช้สารเคมี Metalaxyl การใช้ยาเชื้อ *Chaetomium* การใช้ยาเชื้อร่วมกันสองชนิด และการใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* ชนิดเม็คนั้นเชื้อก่อโรคเจริญเข้าครอบครองขึ้นส่วนใบพริกไทย เท่ากับ 73.75, 60.87, 55.25 และ 51.18 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการใช้ยาเชื้อ และการใช้สารเคมี Metalaxyl มีปริมาณเชื้อก่อโรคเจริญเข้าครอบครองขึ้นส่วนใบพริกไทยลดลงมากกว่า 19-40 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3.16)

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของดินพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย โดยก่อนปลูกพริกไทย และ หลังจากปลูกพริกไทยได้เก็บตัวอย่างดินไปวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารต่างๆ พบว่าดินมีอินทรีย์ วัตถุ สภาพ pH ของดิน และปริมาณธาตุอาหารในดินเพิ่มมากขึ้น (ตารางที่ 3.18) ทั้งนี้เนื่องมาจากมีการใส่ปุ๋ยอินทรีย์ กทม. การปรับสภาพดิน และการใช้วิธีการทางเขตกรรม ทุกระยะ 4 เดือน มีผล ทำให้ดินมีความอุดมสมบูรณ์เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่า การใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัด และสารเคมี เป็นเวลา 1 ปี พริกไทยมีอัตราการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในวิธีการที่ใช้ ยาเชื้อ *Chaetomium*, ยาเชื้อ *Trichoderma* สารเคมี Metalaxyl ยาเชื้อ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* พริกไทยมีอัตราการเจริญเติบโตเท่ากับ 208, 200, 177 และ 172 เซนติเมตร ตามลำดับซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับไม่ใช้วิธีการใด(control) ซึ่งมีอัตราการเจริญเติบโตของต้นเฉลี่ย เท่ากับ 81 เซนติเมตร (ตารางที่ 3.17) แม้ว่าการใช้ยาเชื้อและสารเคมี Metalaxyl มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค ปริมาณเชื้อก่อโรค และอัตราการเจริญเติบโตของต้นพริกไทย ไม่แตกต่างกันแต่การใช้สารเคมีนานๆ จะมีผลเสียคือทำให้เชื้อโรคด้านทานต่อสารเคมี และสภาพดินเสีย ฉะนั้นการใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรคพืชจึงเป็นทางเลือกอีกแนวทางหนึ่งของเกษตรกร เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาดังกล่าว

ตารางที่ 3.14 ผลการใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรคพืชในการควบคุมโรครากเน่าของพริกไทยที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* ในแปลงทดลองเป็นเวลา 1 ปี

กรรมวิธี	การเกิดโรค (%)				% การเกิดโรค <sup>1/</sup> เฉลี่ย	% การเกิด โรคลดลง
	1 เดือน	4 เดือน	8 เดือน	12 เดือน		
<i>Trichoderma</i> (T)	5.47 a <sup>2/</sup>	9.38 ab	14.07 ab	22.66 b	12.89	68.36
<i>Chaetomium</i> (C)	1.57 a	4.70 ab	7.82 ab	10.94 b	6.25	84.72
TxC	0.50 a	0.78 b	0.78 b	8.60 b	2.66	87.99
Metalaxyl	5.47a	15.63 a	17.97 ab	21.88 b	15.23	69.45
control	6.25 a	14.84 a	31.25 a	71.63 a	30.99	

1/ % การเกิดโรค = จำนวนต้นที่เป็นโรค/จำนวนต้นทั้งหมด x 100

2/ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P= 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test

ตารางที่ 3.15 การเปลี่ยนแปลงประชากรของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* ในดินภายหลังการใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดในการควบคุมโรครากเน่าของพริกไทย ในแปลงทดลองเป็นเวลา 1 ปี

กรรมวิธี	ปริมาณเชื้อรา <i>P. palmivora</i> (cfu x 10 <sup>3</sup> /g. <sup>-1</sup> )				% เชื้อก่อโรค ลดลง	
	1 เดือน	4 เดือน	8 เดือน	12 เดือน		
<i>Trichoderma</i> T	2.5 a <sup>1/</sup>	2.0 b	1.6 b	1.7 b	1.95	40.36
<i>Chaetomium</i> C	2.7 a	2.0 b	1.7 b	1.7 b	2.02	38.22
TxC	2.6 a	2.5 b	2.0 b	1.6 b	2.17	33.63
Metalaxyl	3.1 a	2.8 ab	2.2 b	1.5 b	2.40	26.60
control	3.1 a	3.6 a	3.2 a	3.2 a	3.27	

1/ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P= 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test

ตารางที่ 3.16 การเจริญครอบครอง colonization ของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* ในดินปลูก  
พริกไทยจากการใช้เชื้อล่อ

กรรมวิธี	Colonization ของเชื้อรา <i>P. palmivora</i> (%) <sup>1/</sup>				เฉลี่ย	% ลดลง
	1 เดือน	4 เดือน	8 เดือน	12 เดือน		
<i>Trichoderma</i> (T)	73.75 a	68.75 a	38.75 a	23.50 b	51.18	44.36
<i>Chaetomium</i> (C)	74.50 a	76.25 a	53.75 a	39.00 b	60.87	33.83
TxC	59.50 a	73.25 a	46.25 a	42.00 b	55.25	39.94
Metalaxyl	78.00 a	87.00 a	83.25 a	46.75 b	73.75	19.83
control	97.50 a	93.50 a	97.25 a	79.75 a	92.00	

1/ colonization(%) = จำนวนเชื้อ *Phytophthora palmivora* ที่ครอบครองใบพืช/ด้วยจำนวนใบพริกไทยทั้งหมด x 100

2/ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P= 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test

ตารางที่ 3.17 การเจริญเติบโตของต้นพริกไทยพันธุ์มาเลเซียในแปลงทดลองใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *P. palmivora* เป็นเวลา 1 ปี

กรรมวิธี	ความสูงต้น(ซม.)			
	1 เดือน	4 เดือน	8 เดือน	12 เดือน
<i>Trichoderma</i> T	33.07 a 1/	112.72 a	147.31 a	200.64 a
<i>Chaetomium</i> C	33.08 a	75.30 b	145.06 a	208.12 a
TxC	34.27 a	74.89 b	139.39 a	172.82 a
Metalaxyl	33.61 a	75.18 b	134.79 a	177.82 a
control	33.91 a	60.43 c	71.49 b	81.88 b

1/ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P= 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test

ตารางที่ 3.18 ผลการวิเคราะห์ธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของต้นพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย จากดินแปลงปลูกพริกไทยก่อนและหลังการทดลอง

ธาตุอาหาร	ก่อนการทดลอง	หลังการทดลอง(12 เดือน) <sup>1/</sup>
อินทรีย์วัตถุ (OM) %	2.61	2.4
ฟอสฟอรัส (P) ppm.	8.80	33.4
โปแตสเซียม (K) ppm.	83.40	127.6
เหล็ก (Fe) ppm.	16.56	15.99
แมงกานีส (Mn) ppm.	10.57	15.06
สังกะสี (Zn) ppm.	0.80	-3.15
ทองแดง (Cu) ppm.	0.84	2.24
กำมะถัน(S) ppm.	23.86	2.24
แคลเซียม (Ca) ppm.	235.00	626.80
แมกนีเซียม (Mg) ppm.	85.32	151.56
pH	5.26	6.06

<sup>1/</sup> ก่อนปลูกพริกไทยหลังปลูกพริกไทย เก็บตัวอย่างดินไปวิเคราะห์ธาตุอาหารหลังจากปลูกแล้วมีการใส่เชื้อจุลินทรีย์ ปรับสภาพดิน และใส่ปุ๋ยอินทรีย์ กทม. ร่วมกับวิธีการเขตกรรม เป็นระยะเวลา 12 เดือน



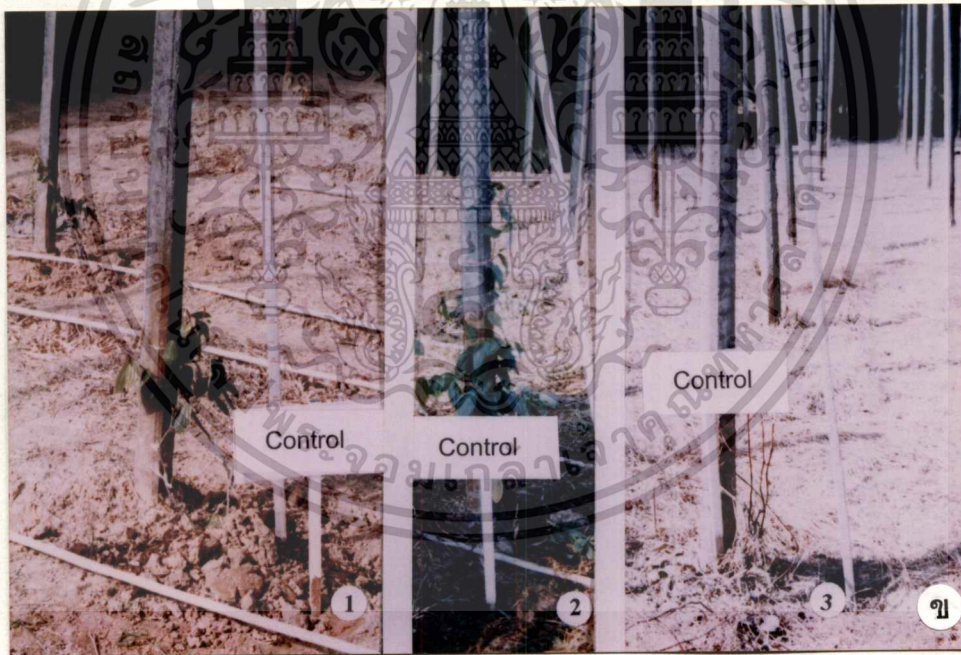
ภาพที่ 3.27 การป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย โดยชีววิธีแบบผสมผสาน ก. การใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* ชนิดเม็ด ข. การทดลองเปรียบเทียบ (Control) เมื่อพริกไทยอายุ 4, 8 และ 12 เดือน (ดั่ง 1, 2, 3 ตามลำดับ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



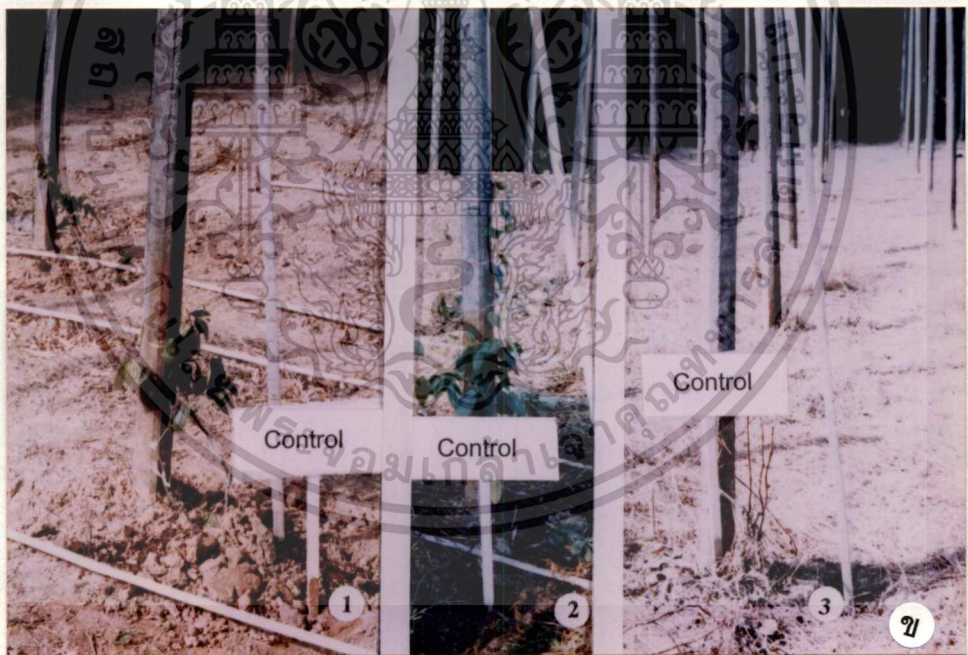
ภาพที่ 3.28 การป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย โดยชีววิธีแบบผสมผสาน ก. การใช้ยาเชื้อ *Chaetomium* ชนิดเม็ด ข. การทดลองเปรียบเทียบ (Control) เมื่อพริกไทยอายุ 4, 8 และ 12 เดือน (ตั้ง 1, 2, 3 ตามลำดับ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.29 การป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย โดยชีววิธีแบบผสมผสาน ก. การใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* ชนิดเม็ด ข. การทดลองเปรียบเทียบ (Control) เมื่อพริกไทยอายุ 4, 8 และ 12 เดือน (ดั่ง 1, 2, 3 ตามลำดับ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

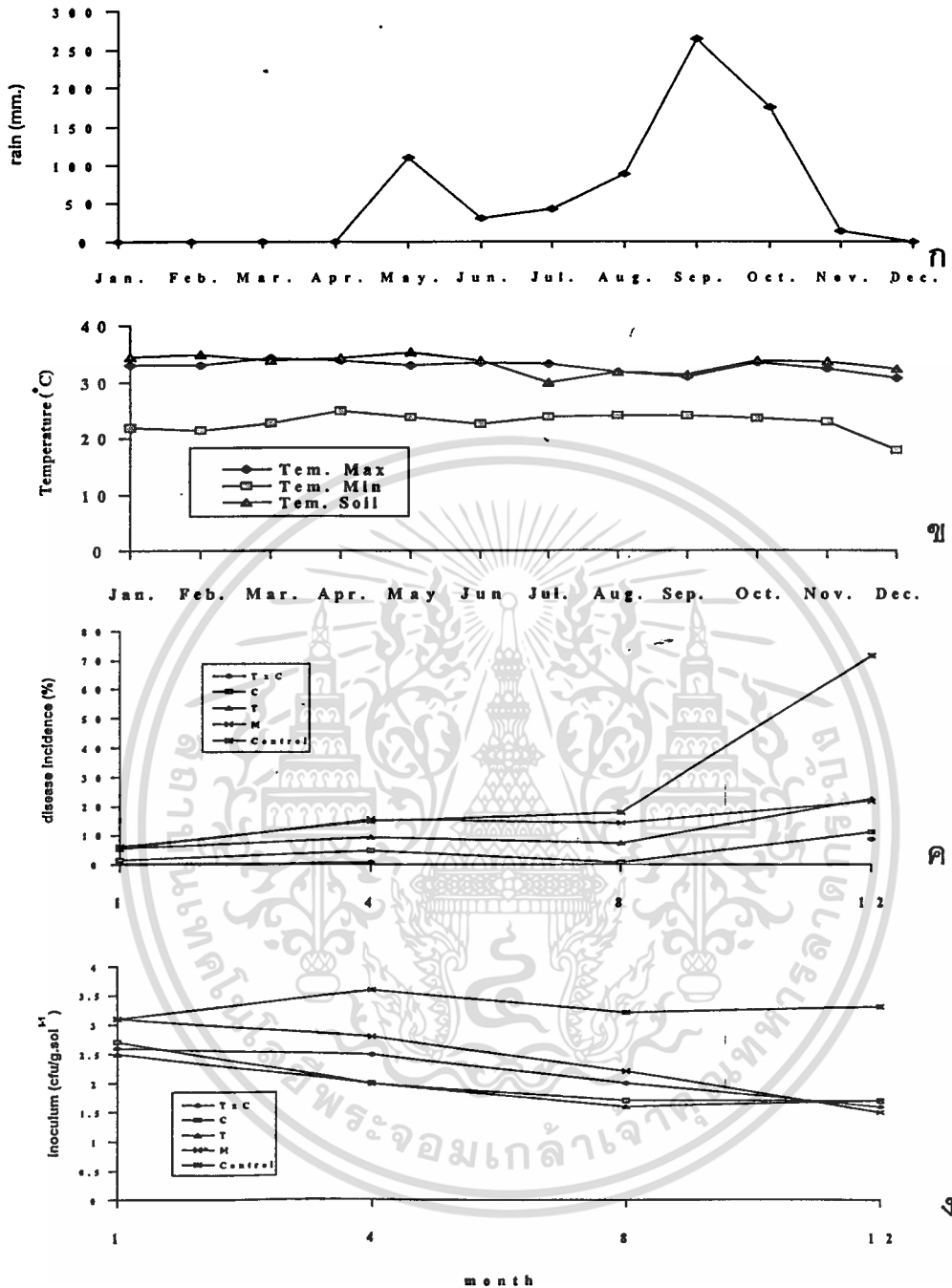


ภาพที่ 3.30 การป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย โดยชีววิธีแบบผสมผสาน ก. การใช้สารเคมี Metalaxyl ข. การทดลองเปรียบเทียบ (control) เมื่อพริกไทยอายุ 4, 8 และ 12 เดือน (ดั่ง 1, 2, 3 ตามลำดับ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.5 การศึกษาข้อมูลภูมิอากาศที่มีผลต่อการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี

จากการศึกษาข้อมูลทางสภาพภูมิอากาศ เช่น อุณหภูมิอากาศ อุณหภูมิดิน ปริมาณน้ำฝน เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค และปริมาณเชื้อก่อโรค ตลอดระยะเวลา 12 เดือน พบว่าอุณหภูมิดิน และอุณหภูมิอากาศ ไม่มีอิทธิพลต่อการเกิดโรค และปริมาณเชื้อก่อโรคในดิน เนื่องจากอุณหภูมิอากาศ อุณหภูมิดิน ไม่ผันแปรมากนัก (ภาพที่ 31ข) แต่ปริมาณน้ำฝนน่าจะมีอิทธิพลต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดโรครวมทั้งปริมาณเชื้อก่อโรคดังจะเห็นได้จากในช่วงที่มีปริมาณน้ำฝนมากตั้งแต่ เดือน พฤษภาคม สิงหาคม กันยายน และตุลาคม (ภาพที่31ก) ช่วงนี้พริกไทยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพิ่มขึ้นตามลำดับ ทั้งการทดลองที่ใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดและการใช้สารเคมี เนื่องจากมีฝนตกชุก ดินมีความชื้นสูงและความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศสูงสภาพแวดล้อมต่างๆ เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. palmivora* ในขณะที่การทดลองเปรียบเทียบ (control) มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงกว่าวิธีการใช้ยาเชื้อและสารเคมี Metalaxyl (ภาพที่31ค) อย่างไรก็ตามในช่วงระยะเวลาดังกล่าว แม้ว่าการใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรคและสารเคมี Metalaxyl จะมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงเนื่องจากสภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเกิดโรคแต่ปริมาณเชื้อก่อโรคในดินก็ลดลงตามลำดับ เนื่องจากผลของการใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรคและสารเคมี Metalaxyl ในขณะที่การทดลองเปรียบเทียบ (control) มีปริมาณเชื้อก่อโรคเพิ่มขึ้น มีผลทำให้ต้นพริกไทยเป็นโรคมามากขึ้นตามไปด้วย (ภาพที่ 31ง)



ภาพที่ 3.31 สภาพภูมิอากาศที่มีผลต่อการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี  
 ก. ปริมาณน้ำฝน ข. อุณหภูมิ ค. เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค ง. ปริมาณเชื้อก่อโรค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 6. การจัดโปรแกรมการควบคุมโรคของพริกไทยโดยชีววิธีแบบผสมผสาน

โรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยเป็นโรคที่สำคัญอันดับหนึ่ง ที่ทำความเสียหายให้กับเกษตรกรผู้ปลูกพริกไทยมากที่สุด ถ้าเป็นรุนแรงจะตายหมดทั้งแปลงภายใน 1-2 ปี ฉะนั้นการวางแผนควบคุมโรคโดยจัดโปรแกรมไว้เพื่อสะดวกในการปฏิบัติงานจึงมีความจำเป็นอย่างมาก และมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรค ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้(ตารางที่ 3.20)

### โรครากเน่าโคนเน่า

- การใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรคพืช *Trichoderma* และ *Chaetomium* ก่อนการต้องปรับสภาพดินให้มีความเป็นกรด-ด่าง อยู่ในระดับปานกลาง ระหว่าง 5.5-6.5 โดยใช้ปูนขาวปรับสภาพดิน ร่วมกับการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ หลังจากนั้นจึงใส่ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรคพืชคลุกเคล้าลงในหลุมปลูกให้ดินมีความชื้น บ่มดินก่อนปลูกพริกไทย 1 สัปดาห์ เพื่อให้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรคพืชเจริญเติบโตเข้าทำลายและลดปริมาณเชื้อสาเหตุโรค การใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรคพืชต้องใส่ทุก 4 เดือน เพื่อเพิ่มปริมาณยาเชื้อในดินให้มากกว่าเชื้อสาเหตุโรค ถ้าใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* เพื่อป้องกันใช้ในอัตรา 10 กรัมต่อต้น ถ้าเป็นโรครุนแรงใช้ในอัตรา 20 กรัมต่อต้น หรือใช้ *Chaetomium* เพื่อป้องกันโรคควรใช้ในอัตรา 5 กรัมต่อต้น ถ้าเป็นโรครุนแรง ใช้ในอัตรา 10 กรัมต่อต้น

- การใช้สารสกัดจากจุลินทรีย์ *Chaetomium* spp. และ *Trichoderma* spp. เพื่อควบคุมโรคทางใบเช่น โรคแอนแทรคโนส ใบจุด สาหร่าย โรคราสีชมพู เป็นต้น โดยใช้ฉีดพ่นให้ทั่วทรงพุ่มทุกเดือน ในอัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตรผสมสารจับใบ การใช้อย่างสม่ำเสมอจะช่วยป้องกันหรือลดปริมาณโรคให้น้อยลง

### แมลงศัตรูพริกไทย

เพลี้ยแป้ง จะเข้าทำลายโดยการดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบแก่ ใบอ่อน ยอดอ่อน ดอก และรวงเมล็ดของพริกไทย มีลำตัวกลมแบน บนตัวมีขนเล็กๆ และไขริยาว คล้ายแป้งปกคลุม ตัวแก่มักจะเกาะอยู่กับที่ ตัวอ่อนเล็กจะเคลื่อนย้ายไปมาบ้าง การเข้าทำลายมักจะทำลายเป็นกลุ่มๆ ถ้าเข้าทำลายบริเวณใบอ่อนและยอดอ่อน แห้งและร่วงหล่นได้ และจะถ่ายมูลเป็นน้ำเหนียวๆ ทำให้เกิดราดำบนใบพริกไทยถ้าเป็นมากจะทำให้พริกไทยชะงักการเจริญเติบโต ดอกและเมล็ดพริกไทยไม่สมบูรณ์พบระบาดทั้งปี แต่ระบาดมากในช่วงพริกไทยแตกใบอ่อน ซึ่งเป็นช่วงฤดูฝน

การป้องกันกำจัด การใช้สารสกัดสะเคา ฉีดพ่นให้ทั่วบริเวณทรงพุ่มทุกเดือน เพื่อป้องกันถ้าระบาดมากใช้สารเคมีพวก มาลาไรออน อโซคริน ฉีดพ่น เป็นครั้งคราว

เพลี้ยอ่อน พบมากในช่วงระยะพริกไทยแตกใบอ่อน จะพบอยู่รวมกันเป็นกลุ่มๆ ได้ใบอ่อนของพริกไทย ตัวมีขนาดเล็กสีเขียว ส่วนมากจะเกาะนิ่งอยู่กับที่ ทำลายใบพริกไทยโดยการดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบอ่อน ทำให้ใบอ่อนหงิกงอเหลืองด่าง ใบแคระแกรน การแตกยอดช้ากว่าปกติ พบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระบามากในช่วงฤดูฝน และพริกไทยแคบอ่อน

**การป้องกันกำจัด** ควรใช้สารสะเคาฉีดพ่นทุก 1 เดือน ถ้าระบามากควรใช้สารเคมีพวก อโซคริน มาลาไรออน ฉีดพ่นเป็นครั้งคราว

**วัชพืช** วัชพืชจะคอยแย่งน้ำและธาตุอาหารจากต้นพริกไทย และยังเป็นที่อยู่อาศัยของศัตรูพืชต่างๆของพริกไทย และกีดขวางการปฏิบัติงานในสวนพริกไทย แต่สิ่งที่สำคัญคืออย่าให้ระบบรากของพริกไทยกระทบกระเทือน หรือเป็นแผล เพราะจะทำให้เชื้อโรคเข้าทำลายได้ง่าย อย่างไรก็ตาม การกำจัดวัชพืชจะมีปัญหาในปีแรกๆ เท่านั้น เมื่อต้นพริกไทยโตเต็มที่แล้ว แสงแดดจะต้องถึงพื้นน้อยลงวัชพืชจะไม่ค่อยขึ้นหนาแน่นนัก ในแปลงที่ใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรคพืช ไม่ควรใช้ยากำจัดวัชพืชควรกำจัดวัชพืชโดยวิธีใช้เครื่องตัดหญ้าหรือปลูกพืชคลุมดิน

**การใส่ปุ๋ย** ควรใส่ปุ๋ยอินทรีย์ เช่นปุ๋ยคอก ปุ๋ยหมัก นับว่าจำเป็นต่อการปลูกพริกไทยเพราะจะทำให้ดินร่วนซุย เหมาะต่อการเจริญเติบโตของต้นพริกไทย และควรใส่ควบคู่กับปุ๋ยวิทยาศาสตร์ การใส่ปุ๋ยปีหนึ่งจะใส่ 2 ช่วงคือ ดันฤดูฝน และปลายฤดูฝน โดยใส่ระหว่างต้นพริกไทย และรดน้ำให้ปุ๋ยละลายลงไปในดิน ปุ๋ยวิทยาศาสตร์ที่ใช้ทั่วไปคือ 15-15-15 และ 12-24-12 ใส่ปลายปี ในปีหนึ่งจะใส่ปีละ 4-5 ครั้ง

**การเขตรกรรม**

**การให้น้ำและการระบายน้ำ** การให้น้ำมีหลายวิธี เช่นให้น้ำแบบร่อง แบบสปริงเกอร์ และให้แบบน้ำหยด หรือวิธีอื่นๆก็สามารถนำมาใช้ได้ แล้วแต่ความสะดวกและเหมาะสมของแต่ละท้องถิ่น ประการที่สำคัญคือ ให้ต้นพริกไทยได้รับน้ำอย่างเพียงพอและสม่ำเสมอ เพื่อให้ต้นพริกไทยเจริญเติบโต แข็งแรง ไม่ชะงักการเจริญเติบโต ในหน้าฝนควรทำร่องระบายน้ำ เพื่อไม่ให้น้ำท่วมแปลง เพราะน้ำจะท่วมขังทำให้ต้นพริกไทยเน่าตายได้ และดินแน่นที่บรากขาดอากาศ ทำให้รากเสียหายได้ ในฤดูแล้งควรให้น้ำ 7-10 วันต่อครั้ง โดยสังเกตหน้าดินแห้งก็ให้น้ำ

**การตัดแต่งกิ่ง** ควรตัดแต่งกิ่งแขนง บริเวณโคนต้นออกให้หมด ให้โคนต้นโปร่ง อากาศถ่ายเทได้ดี ไม่ชื้นแฉะเกินไป เพราะจะทำให้เกิดโรครากเน่าได้ง่าย นอกจากนี้พวกไหลที่แตกออกมาแถวๆบริเวณโคนต้นให้ตัดออกให้หมด และเด็ดใบที่เกิดจากบริเวณข้อของลำต้น ที่อยู่ตรงพุ่มออกให้หมดเพื่อไม่ให้ทรงพุ่มอับชื้น ถ้าเป็นพริกไทยที่มีอายุหลายปี จะแตกกิ่งยอดและกิ่งข้างมาก จนเป็นพุ่มทึบ หลังเก็บผลแล้วให้ตัดกิ่งที่แน่นที่บออกเสียบ้าง การตัดแต่งกิ่งควรทำทุกปี เพื่อรักษาทรงพุ่มให้สวยงามอยู่เสมอ

**การปรับสภาพดิน** ควรปรับสภาพดินอยู่เสมอๆ โดยใช้ปูนขาวหรือปูนโดโลไมต์ ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ให้มี ดินอยู่ในสภาพเป็นกลาง(pH 5.5-6.5) ซึ่งเหมาะต่อการเจริญเติบโตของพริกไทย

**การคลุมดินด้วยวัสดุอินทรีย์** ใช้หญ้าแห้ง หรือฟางข้าว คลุมต้นพริกไทยเพื่อรักษาความชื้นในดิน ในหน้าฝนไม่ควรคลุมดินเพราะจะทำให้ดินในแปลงปลูกชื้นแฉะเกินไป โรคระบาดง่าย และไม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อให้บริการแก่เกษตรกรและผู้สนใจเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.19 ตารางการจัดโปรแกรมควบคุมโรครากเน่าและโคนผริกไทยพันธุ์มาเลเซียโดยชีววิธี  
แบบผสมผสาน

วิธีการ	เดือน												
	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	
รากเน่าโคนเน่า													
1. ใช้จุลินทรีย์ <i>Trichoderma</i>	/				/				/				/
<i>Chaetomium</i>	/				/				/				/
2. สารสกัดจุลินทรีย์	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
แมลง													
เพลี้ยแป้ง เพลี้ยอ่อน													
1. สารเคมี มาลาไรซอน	/						/				/		
อโซดริน	/										/		
2. สารสกัดสะเดา		/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
วัชพืช													
การกำจัดวัชพืช	/		/		/		/		/		/		
การใส่ปุ๋ย													
15-15-15	/				/				/				
12-24-12					/				/				
ปุ๋ยอินทรีย์	/				/				/				/
เขตกรรม													
การให้น้ำ	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
พูนโคนต้น						/							
ตัดแต่งกิ่งให้โปร่ง					/								
การปรับสภาพดิน	/				/				/				/
การคลุมดินด้วยวัสดุอินทรีย์	/				/				/				/

## บทที่ 4

### วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย ในพื้นที่จังหวัดจันทบุรี พบการปรากฏของโรค (disease prevalence) 74 เปอร์เซ็นต์ มีการเกิดโรค(disease incidence) เฉลี่ย 16.71 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งอยู่ในระดับที่จะก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจโดยปกติเกษตรกรในจังหวัดจันทบุรี ใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชพวก Metalaxyl และ Ridomil ติดต่อกันมาเป็นเวลาไม่ต่ำกว่า 20 ปี ปัจจุบันยังไม่สามารถควบคุมโรคให้ต่ำกว่าระดับความเสียหายทางเศรษฐกิจได้ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการคือยาของเชื้อ *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทย

จากการทดลองนี้ปรากฏว่าเชื้อราสาเหตุทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทย คือ *P. palmivora* MF3 ซึ่งตรงกับรายงานของ Tsao and Tummakate (1977) ว่าเชื้อราสาเหตุทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยในประเทศไทย คือ *P. palmivora* และยังมีรายงานในประเทศมาเลเซียว่าเชื้อรา *Phytophthora* สาเหตุทำให้เกิดโรคพริกไทย คือ *P. palmivora* (Holliday and Mowat, 1963; Turner, 1969) ในประเทศบราซิลและเปรู (Alconero *et al.*, 1972) ใน Kamataka (Sastri and Hegde, 1991) ในอินโดนีเซียมีรายงานว่าเกิดจากเชื้อรา *P. palmivora* var. *piperis* (Muller, 1936) ในอินเดียมีรายงานว่าเกิดจากเชื้อรา *P. parasitica* var. *piperina* (Dastur, 1935) และ *P. colocasiae* (Thompson, 1929) อย่างไรก็ตามในประเทศไทยมีรายงานเพิ่มเติมว่าโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทย เกิดจากเชื้อรา *P. parasitica* (แสงมณี 2531; ประเสริฐ และคณะ 2534; เตียน, 2536; แสงมณี, 2538) แต่จากการทดลองนี้พบว่า เชื้อรา *P. palmivora* เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคกับพริกไทยซึ่งตรงกับรายงานของ Tsao และ Tummakate (1977) และ Pechprom and Soyong (1997) ว่าเชื้อ *P. palmivora* ดังกล่าวนอกจากจะมีสาเหตุทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนแล้วยังสามารถทำให้พริกไทยเกิดโรคได้เช่นเดียวกัน

จากการศึกษาความแตกต่างระหว่าง isolates ของ *P. palmivora* สายพันธุ์ MF3 ซึ่งดูจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา ใกล้เคียงกับรายงานของ Erwin (1983) มีลักษณะสำคัญดังนี้ sporangia มีรูปร่างค่อนข้างกลม ถึงรูปไข่ pedicel สั้นประมาณ 2-5 ไมครอนซึ่ง *P. palmivora* MF3 มีลักษณะ sporangia แตกต่างไปจากรายงานของ Tsao and Tummakate (1977) และเมื่อนำทุก isolates มาเปรียบเทียบกับ protein bands โดยวิธี SDS-PAGE ซึ่งแต่ละ bands มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน และสามารถแบ่งเชื้อรา *P. palmivora* MF3 ที่แยกได้จากโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทย เป็น 5 กลุ่ม คือ กลุ่ม A, B, C, D และ E อย่างไรก็ตามจากรายงานของ Hall *et al.* (1969) รายงานว่าได้ protein pattern ของเชื้อรา *P. palmivora* ทั้งหมด 21 isolates ซึ่งแยกได้จากโรคเน่าของพืชต่างๆ เช่น ยางพารา โกโก้ และพริกไทย ปรากฏว่ามีความแตกต่างกันของ protein pattern เป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับบริการเชิงงานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม C และ D เป็นต้น อย่างไรก็ตามจากการทดลองนี้ปรากฏว่า *P. palmivora* isolate P1 ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรครากเน่าของพริกไทย มี protein bands 18 bands จากการทดลองกล่าวได้ว่าสามารถใช้เทคนิค SDS-PAGE ในการแยกความแตกต่างของเชื้อรา *P. palmivora* ระหว่าง isolates ได้ อย่างไรก็ตามจากการเปรียบเทียบ protein pattern ระหว่างจุลินทรีย์ต่อต้านแต่ละ isolate ปรากฏว่าสามารถใช้ protein pattern แยกความแตกต่างของจุลินทรีย์ต่อต้านได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม 1 ได้แก่ *T.harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 ซึ่งกลุ่มนี้ยังสามารถแยกความแตกต่างของ protein pattern ระหว่าง species ของ *Trichoderma* spp. ได้อย่างชัดเจน เช่นเดียวกับกลุ่มที่ 2 ซึ่งมี protein pattern ของ *C. globosum* CG5 และ *C. cupreum* CC10 มีความแตกต่างกัน

จากการทดสอบความสามารถในการเกิดโรค ปรากฏว่าเชื้อรา *P. palmivora* สามารถเจริญเข้าทำลายเนื้อเยื่อของใบพริกไทยได้อย่างรุนแรง และยังเข้าทำลายพืชอื่นๆ เช่น ทุเรียนพันธุ์ชะนี ใบทุเรียนพันธุ์กระดุม ใบทุเรียนพันธุ์หมอนทอง ใบทุเรียนพันธุ์ก้านยาว ใบลองกอง ใบข่างพารา ใบเงาะ ใบมังคุด เช่นเดียวกับ Pechprom and Soyong (1997) รายงานว่าเชื้อรา *P. palmivora* เชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนพันธุ์ชะนี ทำให้เกิดโรคกับพริกไทยได้ ฉะนั้นในการปลูกพริกไทยควรหลีกเลี่ยงพืชที่เป็นพืชอาศัยอื่นๆ ของเชื้อสาเหตุโรคด้วยและไม่ควรจะปลูกในบริเวณเดียวกันยกเว้นมะไฟ ที่เชื้อรา *P. palmivora* ไม่สามารถเข้าทำลายได้

จากการทดสอบความต้องการอาหาร และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. palmivora* ปรากฏว่า เชื้อรา *P. palmivora* เจริญเติบโตได้ดีที่สุดบนอาหาร CA ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งสอดคล้องกับสนชัย (2540) รายงานว่า เชื้อ *P. palmivora* เจริญเติบโตได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งใกล้เคียงกับ Sastry et al. (1991) พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ *P. palmivora* อยู่ระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียส ในขณะที่ Waterhouse (1963) รายงานว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 27.5-32 องศาเซลเซียส

จากการทดสอบศักยภาพของจุลินทรีย์ต่อต้านในการควบคุมเชื้อรา *P. palmivora* MF3 ในห้องปฏิบัติการ ปรากฏว่า *T. harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02, *C. cupreum* CC10 และ *C. globosum* CG5 สามารถควบคุมโรคและยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคได้มากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับรายงานของสนชัย (2540) และจากการศึกษาปฏิกริยาระหว่างเชื้อรา *P. palmivora* MF3 กับเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า *T. harzianum* และ *T. hamatum* สร้างเส้นใยพันรัดเส้นใย *P. palmivora* MF3 ทำให้เส้นใยของเชื้อ *P. palmivora* MF3 แยกหักเป็นท่อน ซึ่งสอดคล้องกับแสงมณี (2540) รายงานว่า *T. harzianum* สามารถสร้างเส้นใยพันรัดเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าของวนิลา และเจาะเข้าแย่งอาหารที่อยู่ข้างในและย่อยสลายฝังเส้นใย ทำให้เส้นใยไม่สามารถเจริญต่อไปได้ ซึ่งอาจจะเกี่ยวข้องกับเชื้อรา

*Trichoderma* spp. เช่น *T. harzianum* สามารถสร้างสาร  $\beta$ -1,3 glucanase และ Chitinase ออกมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ย่อยสลายผนังเซลล์ภายนอก (Chet *et al.*, 1981; Dennis and Webster, 1971) จากการสังเกตพบว่า เชื้อรา *T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 นั้นเป็นจุลินทรีย์ต่อต้านที่เจริญเติบโตเร็ว ซึ่งเจริญครอบคลุมโคโลนีของเชื้อรา *P. palmivora* MF3 ได้อย่างรวดเร็วในระยะเวลาสั้น ในขณะที่ *C. cupreum* CC10 และ *C. globosum* CG5 มีการเจริญเติบโตช้ากว่า จึงใช้เวลามากกว่าในการเจริญครอบคลุมโคโลนีของเชื้อรา *P. palmivora* ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของสนชัย (2540) และ สุมิตรา (2540) นอกจากนี้ยังสังเกตพบว่าโคโลนีของเชื้อรา *P. palmivora* จะยุบตัวอย่างรวดเร็ว เนื่องจากการที่เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านปลดปล่อยสารปฏิชีวนะบางอย่างออกมาทำลายเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* (ขวัญใจ และคณะ, 2536) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า *C. globosum* อาจจะสร้างสารปฏิชีวนะบางอย่างออกมาต่อต้านหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (Chang and Kommedahl, 1968; Heye and Andrews, 1983) ทั้งนี้สมเดช และคณะ (2538) ได้รายงานว่า *C. cupreum* สามารถสร้างสารปฏิชีวนะ ชื่อ Chaetocuprin ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้

ผลการทดสอบการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซียในสภาพเรือนทดลองปรากฏว่า การใช้ยาเชื้อ *Chaetomium* ชนิดเม็ด *Trichoderma* ชนิดเม็ด และการใช้ยาเชื้อร่วมกันสองชนิด และสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา *Metalaxyl* สามารถลดการเกิดโรคและลดปริมาณเชื้อก่อโรคได้เท่าเทียมกันซึ่งมากกว่า 17-64 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่สนชัย (2540) รายงานว่า การใช้ยาดังกล่าวในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนพันธุ์ชะนีที่เกิดจากเชื้อรา *P. palmivora* ในสภาพเรือนทดลองนั้นยาเชื้อ *Trichoderma* สามารถลดการเกิดโรคได้ 85.79 เปอร์เซ็นต์ การใช้ยาเชื้อ *Chaetomium* ลดการเกิดโรคได้ 85.60 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมี การใช้ *Chaetomium* ชนิดเม็ดใส่ลงในดินอัตรา 1 กรัมต่อตารางเมตร เป็นเวลา 1 สัปดาห์ ก่อนย้ายต้นกล้ามะเขือเทศปลูก และใส่ในอัตราเดิมทุก 1 เดือน จนเก็บเกี่ยว สามารถลดการเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* ได้เท่าเทียมกับการใช้สารเคมี ป้องกันกำจัดเชื้อรา (เกษม, 2536) และมีรายงานว่า การใช้ *T. harzianum* และ *C. globosum* สามารถควบคุมโรคใบจุดของต้นกล้าข้าวสาลีที่เกิดจากเชื้อ *Pseudocercospora herpotrichoides* ได้ (Hinton and Parry, 1993)

ผลการทดสอบในสภาพแปลงทดลองปรากฏว่าการใช้ยาเชื้อร่วมกันสองชนิด ในอัตรา 20 กรัมต่อต้น สามารถลดการเกิดโรคได้ 87.99 เปอร์เซ็นต์ การใช้ยาเชื้อ *Chaetomium* ชนิดเม็ด สามารถลดการเกิดโรคได้ 84.7 เปอร์เซ็นต์ การใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* ชนิดเม็ดสามารถลดการเกิดโรคได้ 68.36 เปอร์เซ็นต์ และการใช้สารเคมีป้องกันกำจัด *Metalaxyl* ลดการเกิดโรคได้ 69.45 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันระหว่างการใช้ยาเชื้อหรือการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา *Metalaxyl* แต่การใช้ยาเชื้อร่วมกันสองชนิดจะมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยได้ดีกว่าเนื่องจากมีจุลินทรีย์ถึงสองชนิดที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรค และยัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไม่มีผลตกค้างในดิน และไม่ทำลายสภาพแวดล้อมอีกด้วย ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ สนชัย (2540) ว่าการใช้ยาเชื้อ *Chaetomium* การเกิดโรคลดลง 81.04 เปอร์เซ็นต์ การใช้ *Trichoderma* การเกิดโรคลดลง 80.60 เปอร์เซ็นต์ ในขณะเดียวกัน Park and Kim (1989) รายงานว่า การใช้ *Trichoderma* spp. สามารถควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยที่เกิดจากรา *P. capsici* ได้นอกจากนี้ Soytong and Soytong (1977) กล่าวว่าการใช้ยาเชื้อ *Chaetomium* ชนิดเม็ดในอัตรา 40 กรัมต่อต้น สามารถควบคุมเชื้อรา *P. palmivora* มีผลทำให้ทุเรียนมีการฟื้นตัวจากโรครากเน่าโคนเน่าถึง 88.2 เปอร์เซ็นต์

จากข้อสังเกตความสำเร็จของการใช้ยาเชื้อ *Chaetomium* ในสภาพแปลงทดลองอย่างต่อเนื่องในพื้นที่ปลูกพริกไทยที่มีการระบาดของเชื้อรา *P. palmivora* มาก่อนซึ่งเกษตรกรเจ้าของสวนเคยใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา *Metaxyl* ติดต่อกันเป็นเวลานาน จนกระทั่งใช้ไม่ได้ผลเป็นสาเหตุให้พริกไทยตายหมดทั้งแปลง ทั้งนี้เนื่องจากปัญหาการดื้อยาของเชื้อรา *P. palmivora* ต่อสารเคมีดังกล่าว (Deahl and DeMuth, 1993) โดยพื้นที่ดังกล่าวมีสภาพดินเสื่อมโทรม ดินแน่น อินทรีย์วัตถุต่ำ การระบายน้ำไม่ดี สภาพดินค่อนข้างเป็นกรด จากเหตุผลดังกล่าวการนำเชื้อยาเชื้อป้องกันกำจัดโรคพืช ได้แก่ *Chaetomium* ชนิดเม็ด ที่ผลิตและพัฒนามาจาก *C. globosum* และ *C. cupreum* (เกษม, 2535) นำเข้าไปทดแทนสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา ร่วมกับการจัดการโรคแบบผสมผสาน (integrated disease management) ได้แก่ การตัดแต่งกิ่งบริเวณโคนต้นให้โปร่ง แสงแดดส่องถึง การปรับสภาพ pH ของดิน การบำรุงระบายน้ำ การหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยเฉพาะสารเคมีกำจัดวัชพืช การใช้ปุ๋ยอินทรีย์เพื่อเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดินแล้ว ยังจะเป็นอาหารของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านที่ใส่ลงไปทุก 4 เดือน แล้ว ยังเพิ่มปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านในดินซึ่งจะสามารถลดปริมาณเชื้อก่อโรค *P. palmivora* ในดินลงมีผลทำให้ดินพริกไทยเกิดโรคลดลงจนต่ำกว่าระดับความเสียหายทางเศรษฐกิจ อย่างไรก็ตามในการใช้วัสดุอินทรีย์คลุมดินและการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ ไร่ข้าวสาลี เปลือกถั่วลิสง เมล็ดฝ้ายปนแห้ง ใส่ปรับปรุงดินสามารถยับยั้งปริมาณเชื้อ *P. palmivora* ในดินซึ่งเป็นสาเหตุโรคเหี่ยวของพริกไทยได้ Dutta et al. (1995) ปังจี้ดังกล่าวจึงเป็นปังจี้เสริมให้การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีในภาคสนาม ให้ได้ผลเท่าเทียมกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา และสามารถลดการเกิดโรคให้ต่ำกว่าระดับความเสียหายทางเศรษฐกิจ ซึ่งกล่าวได้ว่าประสบความสำเร็จ แล้วและเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่เกษตรกรจะเลือกใช้วิธีการจัดการโรคพืชดังกล่าว

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการสำรวจการแพร่ระบาดของโรครากเน่าโคนเน่าพริกไทยในพื้นที่จังหวัดจันทบุรี จำนวน 138.76 ไร่ เกษตรกร 39 ราย พบว่ามีการปรากฏของโรค (disease prevalence) 64 เปอร์เซ็นต์ พริกไทยเกิดโรค (disease incidence) เฉลี่ย 16.71 เปอร์เซ็นต์ และระดับการเกิดโรค เฉลี่ย 2.09 กล่าวคือมีอาการใบเหลืองและมีจุดแผลเล็กสีดำประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์ของทรงพุ่ม จากการแยกเชื้อราสาเหตุโรคทำให้เกิดโรคจากส่วนของรากเน่าโคนเน่าและดินบริเวณรอบราก พบเชื้อรา *Phytophthora palmivora* MF3 จัดจำแนกโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเทคนิค SDS-PAGE (Polyacrylamide gel electrophoresis) เปรียบเทียบความแตกต่างระดับ isolate ปรากฏว่ามีความแตกต่างกันแบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่ม A ได้แก่ Isolate P5 และ Isolate P7 กลุ่ม B ได้แก่ Isolate P1, Isolate P2 และ Isolate P10 กลุ่ม C ได้แก่ Isolate P3 กลุ่ม D ได้แก่ Isolate P6, Isolate P8, Isolate P11 และ Isolate P12 กลุ่ม E ได้แก่ Isolate P4 และ Isolate P9

จากการนำทุก Isolates ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค พบว่า Isolate P1 มีความรุนแรงต่อการเกิดโรคกับพริกไทยมากที่สุด และยังก่อให้เกิดโรคกับพืชอาศัยอื่นๆ ได้แก่ ทูเรียนพันธุ์หมอนทอง ทูเรียนพันธุ์กระดุม ทูเรียนพันธุ์ชะนี ทูเรียนพันธุ์ก้านยาว ลองกอง เงาะ และข่างพารา ยกเว้นไม่เกิดโรคกับ มะไฟ ฉะนั้นควรหลีกเลี่ยงการปลูกพืชที่เป็นพืชอาศัยของเชื้อโรค ไม่ควรปลูกในบริเวณเดียวกัน และพบว่า *P. palmivora* Isolate P1 เจริญเติบโตได้ดีที่สุดในอาหาร carrot agar ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

การเลี้ยงเชื้อร่วมบนอาหาร PDA ระหว่างเชื้อรา *P. palmivora* MF3 กับเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน *C. globosum* CG5, *C. cupreum* CC10, *T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 พบว่า *T. harzianum* PC01 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อรา *P. palmivora* MF 3 ได้ดีที่สุดในห้องปฏิบัติการมีค่าเฉลี่ยการยับยั้งการเจริญเติบโต 78.45 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ *T. hamatum* PC02, *C. cupreum* CC10 และ *C. globosum* CG5 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อราสาเหตุของโรคดังกล่าวได้ 77.37, 65.68 และ 63.84 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และพบว่ากลไกการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคเนื่องจาก *T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 สามารถเจริญสร้างเส้นใยพันรัดเส้นใยของเชื้อ *P. palmivora* MF3 ทำให้เส้นใยแตกหักเป็นท่อน ส่วน *C. globosum* CG5 และ *C. cupreum* CC10 อาจจะ สร้างสารปฏิชีวนะย่อยสลายเส้นใยของเชื้อรา *P. palmivora* MF3

การใช้ยาเชื้อชนิดเม็ดป้องกันกำจัดเชื้อรา (Mycofungicide) ในเรือนทดลองพบว่า พบว่า การใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรคพืช และการใช้สารเคมี Metalxyl ในอัตรา 20 กรัมต่อต้นสามารถควบคุมโรคได้ผลดีเท่าเทียมกัน ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการ

ทดลองไม่ใช้สารใด (control) ในด้านปริมาณเชื้อก่อโรคในดินพบว่าการใช้ยาเชื้อ *Chaetomium* มีผลให้ปริมาณเชื้อก่อโรคลดลง 54.76 เปอร์เซ็นต์ การใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* และยาเชื้อ *Trichoderma* ร่วมกับ *Chaetomium* มีปริมาณเชื้อก่อโรคลดลงเท่ากับ 52.38 และ 48.80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา Metalaxyl ซึ่งมีปริมาณเชื้อก่อโรคลดลง 22.61 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ไม่ใช้วิธีการใด(control) มีปริมาณเชื้อก่อโรคเพิ่มมากขึ้น

จากการใช้ยาเชื้อชนิดเม็ด *Trichoderma* (PC01+ PC02) ยาเชื้อ *Chaetomium* (CC10+CG5) และยาเชื้อร่วมกันสองชนิด (*Tichoderma* + *Chaetomium*) ในการป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทย ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* MF3 ในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคมาก่อน โดยใช้ยาเชื้อดังกล่าวในอัตรา 20 กรัมต่อดัน ร่วมกับการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ กทม. ทุก 4 เดือนเป็นเวลา 12 เดือนพบว่าการใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรคพืช และการใช้สารเคมี Metalaxyl สามารถควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของพริกไทยได้ผลดีเท่าเทียมกันทั้งเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและปริมาณเชื้อก่อโรคในดิน แต่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับไม่ใช้วิธีการใด (control) ซึ่งมีปริมาณเชื้อก่อโรคในดินเพิ่มมากขึ้น แต่ถ้าคำนึงผลเสียต่อสภาพแวดล้อมการใช้สารเคมีนานๆ จะทำให้สภาพดินเสียสารเคมีตกค้างในดินมากและทำให้เชื้อโรคด้านทานยายากต่อการป้องกันกำจัด ฉะนั้นการใช้ยาเชื้อ ชนิดเดียว หรือการใช้ยาเชื้อร่วมกันสองชนิดน่าจะเป็นทางเลือกที่ดีที่สุดในการป้องกันกำจัดโรครากเน่าและโคนเน่าของพริกไทย

นอกจากนี้ยังพบว่าวิธีการที่ใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัด โรคพืช และสารเคมี Metalaxyl ในระยะเวลา 1 ปี มีการเจริญเติบโตทางลำต้น(ความสูง) ได้ใกล้เคียงกันไม่แตกต่างกันทางสถิติแต่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับ control

## เอกสารอ้างอิง

- เกษม สร้อยทอง. 2532ก. การใช้ *Chaetomium cupreum* ในการควบคุมโรคไหม้ของข้าวโดยชีววิธี. วารสารโรคพืช 9(1): 28-33.
- เกษม สร้อยทอง. 2532ข. การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี. ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. หน้า 167.
- เกษม สร้อยทอง 2532ค. การใช้ *Chaetomium cupreum* ในการควบคุมโรคไหม้ของข้าวโดยชีววิธี. วารสารโรคพืช 9(1): 28-33.
- เกษม สร้อยทอง. 2532ง. การควบคุมโดยชีววิธีของโรคโคนเน่า ข้าวโพดหวานที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ในสภาพไร่. วารสารโรคพืช 9(2-4): 47-53
- เกษม สร้อยทอง. 2533. ประสิทธิภาพของรา *Chaetomium cochliodes* และ *Chaetomium cuniculorum* ใช้ในการป้องกันโรคไหม้ของข้าว (Rice Blast) ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae*. แก่นเกษตร 18(2) 89-96.
- เกษม สร้อยทอง. 2534ก. การควบคุมโรคโคนเน่าของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium-rolfsii* โดยชีววิธีในสภาพไร่. วารสารศูนย์บางพระ 28(2) 15-17.
- เกษม สร้อยทอง. 2534ข. การใช้รา *Chaetomium globosum* ควบคุมโรคใบจุดของข้าวโพด. หน้า 269-275. รายงานผลการวิจัยในการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 29 วันที่ 4-7 กุมภาพันธ์ 2534. ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.
- เกษม สร้อยทอง. 2535ก. การใช้รา *Chaetomium gracile* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการ เกษตร 8(2) 1-7.
- เกษม สร้อยทอง. 2535ข. การควบคุมโรคไหม้ของข้าวโดยการคลุกเมล็ดด้วยเชื้อราที่เป็นจุลินทรีย์ต่อต้านโดยชีววิธี. วารสารสงขลานครินทร์ 14(1)59-65.
- เกษม สร้อยทอง. 2535ค. การใช้ยาเชื้อที่ผลิตจาก *Chaetomium cupreum* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ในสภาพดินที่มีคุณสมบัติในการป้องกันกำจัดโรคพืช. วารสารศูนย์บางพระ หน้า 13-16.
- เกษม สร้อยทอง. 2535ง. การผลิตยาเชื้อสำหรับควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี. รายงานการประชุมทางวิชาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 30 วันที่ 29 มกราคม-1 กุมภาพันธ์ 2535 สาขาพืช หน้า 310-317.

เกษม สร้อยทอง. 2536ก. การทดสอบศักยภาพย่อยสลายของเชื้อราที่มีคุณสมบัติย่อยสลายเซลลูโลส ในการผลิตปุ๋ยหมักโดยใช้วัสดุอินทรีย์จากพืช. วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร 2: 37-42.

เกษม สร้อยทอง. 2536ข. การใช้รา *Chaetomium globosum* ควบคุมโรคใบจุดของข้าวโพดหวานที่เกิดจากเชื้อรา *Curvularia lunata* โดยชีววิธี. วารสารศูนย์บางพระ 30(1)17-19.

เกษม สร้อยทอง. 2536ค. การพัฒนา *Chaetomium cupreum* เป็นยาเชื้อป้องกันกำจัดเชื้อราในดิน เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศโดยชีววิธี. หน้า 375-387. รายงานการประชุมวิชาการ อารักขาพืชแห่งชาติ. ครั้งที่ 1 วันที่ 20-22 ตุลาคม ณ โรงแรมรามารการ์เดินส์ กรุงเทพฯ.

เกษม สร้อยทอง. 2538. จุลินทรีย์กับการควบคุมโรคพืช. หน้า 1-8. เอกสารประกอบการสัมมนา เรื่อง การจัดการเสนอผลงานวิจัย และการพบกันระหว่างผู้วิจัยและผู้ใช้ประโยชน์ครั้งที่ 4 : ทางเลือกที่เหมาะสมเพื่อผลิตพืช วันที่ 2 กันยายน 2538 ณ โรงแรมเชียงใหม่ฮอ์ริค จ. เชียงใหม่.

เกษม สร้อยทอง และ ชลฎา สถิตวัฒน์. 2536. การควบคุมโรคเน่าระดับดินของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium ultimum* Trow. โดยชีววิธี. รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ. ครั้งที่ 1 วันที่ 20-22 ตุลาคม ณ โรงแรมรามารการ์เดินส์ กรุงเทพฯ.

ขวัญใจ กนกเมฆากุล, สมเดช กนกเมฆากุล และ เกษม สร้อยทอง. 2536. การทดสอบการใช้ สารสกัดจากรา *Chaetomium* และสารสกัดจากพืชบางชนิด ในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersic* สาเหตุทำให้เกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ. วารสารส่งเสริมวิชาการเกษตร 10: 5-10.

จิระเดช แจ่มสว่าง, จินตนา ชนะ, เถลิ้มลาภ ช่วยประสิทธิ์, สุพรรณิ ชีววิริยะกุล และ วรณวิไล เกษรา. 2533. การประเมินประสิทธิภาพของเชื้อ *Trichoderma harzianum* ในการควบคุมโรคไหม้สเคลอโรทีียมของข้าวบาร์เลย์ในสภาพไรโดยชีววิธี. หน้า 29-31. รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 28 วันที่ 29-31 สาขาพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 29-31

จิระเดช แจ่มสว่าง, จินตนา ชนะ, เถลิ้มลาภ ช่วยประสิทธิ์, สุพรรณิ ชีววิริยะกุล, ธีรยุทธ คูจินดา, วรณวิไล เกษรา สุธา วรณารักษ์, กัลลิวัดย์ สุขช่วย และ สำนัก ภายภาค. 2535. ผงเชื้อราไตรโคเดอร์มา:ผลิตภัณฑ์ลดถูกเมล็ดที่มีศักยภาพสูงในการควบคุมโรคค้ำแห้งของข้าวบาร์เลย์. หน้า 309-320. รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 30 สาขาพืช. วันที่ 29 มกราคม-1 กุมภาพันธ์ ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

จิระเดช แจ่มสว่าง, สุธามาศ อินตะสอน, และ อำไพวรรณ ภราคร์นุวัฒน์. 2538. บทบาทของ จุลินทรีย์ปฏิปักษ์และสารเคมีเมทาแล็คซิล ในการควบคุมโรครากเน่าของกิ่งคอนสัมเขียวหวานที่เกิดจากเชื้อราฟัยทอปทอราพาราซิติกา. หน้า 231-237. รายงานการประชุมทาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิชาการ ครั้งที่ 33 สาขาพืช วันที่ 30 มกราคม-1 กุมภาพันธ์ ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.  
กรุงเทพฯ.

จิระเดช แจ่มสว่าง, กนกนาถ เรืองวิเศษ, อำไพวรรณ ภราคร์นุวัฒน์, ชวลิต ยังประยูร, จัชนีย์ ชุ่ม  
จิตต์ และ สุขวัฒน์ จันทรปรณิก. 2540. ศักยภาพของเชื้อรา *Trichoderma harzianum*  
ในการลดปริมาณเชื้อรา *Phytophthora palmivora* และเพิ่มความสมบูรณ์ของทุเรียนที่เป็น  
โรครากเน่า. หน้า 315. (บทคัดย่อ)รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 35 สาขาพืช วัน  
ที่ 4-7 กุมภาพันธ์ ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ไชยา อัยสุนเนิน. 2531. การปลูกเครื่องเทศ. เรื่องแสงการพิมพ์. หน้า. 71.

ประเสริฐ เกร่งเปี่ยม,เอียน ศิลาชัย, แสงมณี ชิงดวง และ เสริมศักดิ์ รักรธรรม. 2534. ศึกษาสาเหตุ  
โรครากเน่าของโคลูกบรีนม. รายงานผลการวิจัย ปี 2534 กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรม  
วิชาการเกษตร. หน้า 50-53.

มณฑา นันทพันธ์, ปรีชา สุรินทร์, สมคิด รัตนบุรี. 2534. การศึกษาวิธีการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่า  
ของทานตะวันโดยเชื้อรา *Trichoderma* sp. หน้า 220-223. รายงานการสัมมนาทางวิชาการ  
ความก้าวหน้าเทคโนโลยีชีวภาพ การกลีกรวมและสิ่งแวดล้อม. วันที่12-14 พฤศจิกายน ณ  
โรงแรมเชียงใหม่ฮอริคัล จ. เชียงใหม่.

มณฑจันทร์ เมฆธน และ ชัยวัฒน์ กระจุกฤกษ์. 2535. การป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน  
โดยชีววิธีด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* AP01 (ลาร์มิน่า). หน้า 200-208 รายงานการ  
ประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 32 สาขาพืช วันที่ 3-5 กุมภาพันธ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.  
กรุงเทพฯ.

วัฒนา สวรรยาธิปิติ. 2531. การปลูกพริกไทย. ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ.  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. หน้า 29.

เศรษฐกิจการเกษตร, สำนักงาน. 2538. ข่าวเศรษฐกิจการเกษตร. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร  
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ 40(400): 35-37.

ส่งเสริมการเกษตร, กรม. 2536. สถิติการปลูกไม้ผล-ไม้ยืนต้น. กองแผนงาน กรมส่งเสริมการ  
เกษตร หน้า 367.

สนชัย เพ็ชรพรหม. 2540. การควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora*  
*palmivora* (Butler) Butler โดยชีววิธีแบบผสมผสาน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท คณะบัณฑิต  
วิทยาลัย สาขาวิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณ  
ทหารลาดกระบัง. หน้า 133.

แสงมณี ชิงดวง, เอียน ศิลาชัย, อุบล กือประโคน และ สัจชัย ดันตยาภรณ์. 2531. ศึกษาเชื้อรา  
สาเหตุโรครากเน่าพริกไทย. รายงานผลการวิจัย ปี 2531 กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการ  
เกษตร. หน้า 127-132.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- แสงมณี ชิงดวง. 2536. การควบคุมโรครากเน่าพริกไทย. รายงานผลการวิจัยก้าวหน้าประจำปี 2536. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 60-63.
- แสงมณี ชิงดวง, ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช, ประเสริฐ เครื่องเปี่ยม และ ประยูร พัฒน์ทอง. 2538. ศึกษาประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดโรคพืชบางชนิดต่อโรครากเน่าและโคนเน่าของพริกไทย. รายงานผลการวิจัยปี 2538 กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. หน้า 84-96.
- แสงมณี ชิงดวง, ประเสริฐ เครื่องเปี่ยม และ สุชาติ วิจิตรานนท์. 2540. ผลของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ที่มีต่อเชื้อรา *Phytophthora parasitica* และ *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทย และ โรคน้ำค้ำของวานิลลา. วารสารโรคพืช 12: 13-25
- สุณิรัตน์ สิมะเคือ, จิระเดช แจ่มสว่าง, อำไพวรรณ ภรรคร์นุวัฒน์ และ ชวลิต ยังประยูร. 2540. การประยุกต์ใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* เพื่อควบคุมโรครากเน่าของส้มเขียวหวานซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ในสวนของเกษตรกร. หน้า 315.(บทคัดย่อ) รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ครั้งที่ 35 สาขาพืช วันที่ 4-7 กุมภาพันธ์ ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.
- สุธามาศ อินตะสอน, จิระเดช แจ่มสว่าง, อำไพวรรณ ภรรคร์นุวัฒน์ และ ธงชัย มาลา. 2537. ประสิทธิภาพของส่วนผสมเชื้อโครโคเดอร์มา เมื่อใช้ร่วมกับสารเคมีควบคุมเชื้อรา ต่อโรครากเน่าของต้นกล้าส้มเขียวหวานที่เกิดจากเชื้อราพาราซิติกา. หน้า 144-161. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 32 สาขาพืช วันที่ 3-5 กุมภาพันธ์ ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- สุภาพร อวัญ, จิระเดช แจ่มสว่าง, อำไพวรรณ ภรรคร์นุวัฒน์ และ รวี เสธฐภักดี. 2537. การใช้ส่วนผสมของเชื้อราในการควบคุมโรครากและโคนเน่าของกล้าทุเรียนซึ่งเกิดจากเชื้อราฟythophthora ฟธอรา พัลมิวอรา. หน้า 162-179. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ครั้งที่ 32 สาขาพืช วันที่ 3-5 กุมภาพันธ์ ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- สนชัย เพ็ชรพรหม. 2540. การควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* (Butler) Butler โดยชีววิธีแบบผสมผสาน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท คณะบัณฑิตวิทยาลัย สาขาวิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. หน้า 133.
- สมเดช กนกเมธากุลม ขวัญใจ กนกเมธากุล และ เกษม สร้อยทอง. 2538. การศึกษาสารเคมีจากเชื้อราคีโตเมียมคูปรัม. รายงานการวิจัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น ประจำปี 2538. ขอนแก่น. หน้า 28

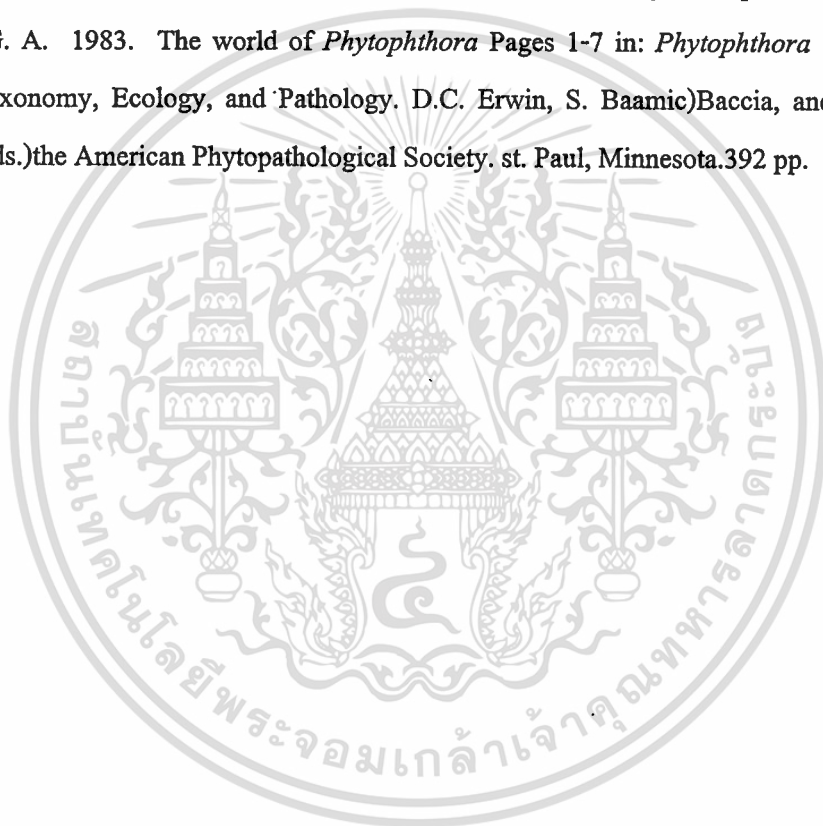
- สุมิตราน้อยเอี่ยม. 2540. การควบคุมโรคแอนแทรกโนสของมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์โดยชีววิธีแบบผสมผสาน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท คณะบัณฑิตวิทยาลัย สาขาวิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. หน้า 180.
- อุรจกทา กสิกรรมไพบูลย์, วิชัย โฆสิตร์คน, นิพนธ์ ทวีชัย และ อลิต้า เมฆสองสี. 2535. ผลของเชื้อแบคทีเรียแอนทาโกนิสต์ต่อการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ. หน้า 321-328 การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ครั้งที่ 30 สาขาพืช วันที่ 29 มกราคม-1 กุมภาพันธ์ ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- อุบล คือประโคน, สมศักดิ์ เสียงก้อง, และสัจชัย ดันตยาภรณ์. 2528. เชื้อรา *Phytophthora* ชนิดต่างๆ ในประเทศไทย. หน้า 409-420. รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ครั้งที่ 23 สาขาพืช วันที่ 4-7 กุมภาพันธ์ ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- อุคม โกสัยสุก. 2529. การปลูกพืชไร่. อักษรบัณฑิตการพิมพ์. หน้า 45.
- เอียน ศิลาชัย. 2536. โรคพืชไม้ผล สมุนไพร และการป้องกันกำจัด. กองโรคพืช และจุลชีววิทยากรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 314.
- Albretini, L. Moletti, M. Sarr. A. and Sy, A.A. 1990. Biological control of *Pyricularia oryzae*: parameters of stability of antagonistic activity. *Phytopathologia Mediterranea* 29(3): 175-183.
- Alexopoulos, C. J. and C. W. Mims. 1979. *Introductory Mycology*. Third Edition. John Wiley and Sons. 632 pp.
- Alconero, R., Albuquerque, F., Almeyda N. and Santiago A.G. 1972. *Phytophthora* foot rot of back pepper in Brazil and Puerto Rico. *Phytopathology* 62: 144-148.
- Amemiya, Y. Kondo, A. Hirano, K. Hirukawa, T. and Kato, T. 1994. Antifungal substances produced by *Chaetomium globosum*. *Technical Bulletin of Faculty of Horticulture Chiba University* 48: 13-18.
- Ames, L. M. 1950. New species of cellulose destroying fungi II. *Mycologia* 42: 642-645.
- Chambers, S.M. and Scot, E.S. 1995. In vitro antagonism of *Phytophthora cinnamomi* and *P. citricola* by isolates of *Trichoderma* spp. and *Gliocladium virens*. *Phytopathology* 143(8): 471-477.
- Chang, I. And Kommedahl, T. 1968. Biological control of seedling of corn by coating kernels with antagonistic micro-organisms. *Phytopathology* 77:1470.
- Chee, K. H. 1969. Hosts of *Phytophthora palmivora*. *Rev. Appl. Mycol.* 48: 337-334

- Cullen, D. and Andrews, J. H. 1984. Evidence for the role of antibiosis in the antagonism of *Chaetomium globosum* to the apple scab pathogen, *Venturia inaequalis*. Can. J. Bot. 62: 1819-1823.
- Deahl, K.L. and Demuth, S.P. 1993. First report of resistance of *Phytophthora infestans* to metalaxyl in Eastern Washington Southwestern British Columbia. Plant Disease 77: 429.
- Di-Pietro, A. D. Gut, R. M. Pachlatko, J. P. Schwinn, F.J. and Di, P. A. 1992. Role of antibiotics produced by *Chaetomium globosum* in biocontrol of *Pythium ultimum*, a causal agent of damping-off. Phytopathology 82(2): 131-135.
- Domsch, K. H. and Games, W. 1980. Compendium of soil fungi (v.1) Academic Press. 859 pp.
- Dastur, J. F. 1935 Disease of pan (*Piper betle*) in the Central Provinces. Proc. Indian Acad. Sci, (Sect. B) 1: 778-815.
- Dutta, P.K., Hegde, R.K. 1995. Effect of organic amendments on the suppression of *Phytophthora palmivora* (Butler) Butler causing Black Pepper wilt. Plant-Health 1:56-60
- Erwin, D. C. Bartnicki-Garcia, S. and Tsao, P. H. 1983. *Phytophthora* Its biology, Taxonomy, Ecology and Pathology. The American Phytophthological Society, St. Paul, Minnesota. 392 pp.
- Fang, J.G. and Tsao, P.H. 1995a. Evaluation of *Pythium nunn* as a potential biocontrol agentst *Phytophthora* root rots of Azalea and Sweet orange. Phytopathology 85: 29-36.
- Fang, J.G. and Tsao, P.H. 1995b. Efficacy of *Penicillium funiculosum* as a Biological Control Agent Against *Phytophthora* Root rots of Azalea and Citrus. Phytopathology 85: 871-878.
- Gordon, L.G., Walther, D. and Gindrat, D. 1987. Use of antagonists for seed dressing: effectiveness and mode of action against pathogens of damping-off. Bulletin-OEPP. 17(4): 631-637.
- Harrison, Y.A. and Stewart, A. 1988. Selection of fungal antagonists for biological control of onion white rot in New Zealand. New Zealand J. of Experimental Agriculture 16(3): 249-256.
- Heye, C.C. and Andrews, J.H. 1983. Antagonism of *Athelia bombacina* and *Chaetomium globosum* to the apple scab pathogen, *Venturia inaequalis*. Phytopathology 73:650-654
- Hinton, M.J. and Parry, D.W. 1993. Screening selected fungi ofr antagonism to wards *Pseudocercospora herpotrichoides* (Fron) Deighton, the cause of eyespot disease of cereals. Biocontrol Science and Technology 3(1):13-19.

- Holliday, P., and Mowat, W. P. 1963. Foot rot of *Piper nigrum* L. (*Phytophthora palmivora*). Commom. Mycol. Inst. Phytopathol. Pap. 5: 1-62.
- Holmes, K.A. and Benson, D.M. 1994. Evaluation of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* for Biocontrol of *Phytophthora parasitica* on *Catharathus roseus*. Plant Dis. Rep.78(2) 193-199.
- Johnston, A. and Booth, C. 1983. Plant Pathologists Pocketbook. Commonweath Mycological Institute. 439 p.
- Joseph, M.C. and Coffey, M.D. 1984. Development of Eabouatory Resistance to Metalaxyl in *Phytophthora citricola*. Phytopathology 74: 1411-1414.
- Kaosiri, T. 1978. Morphological Taxanomic and Cytological Studies of *Phytophthora palmivora*. California: Ph.D. Thesis. University of California, Riverside.
- Kohl, J. Molhoek, W. M. L. Plas, C.V.D. Fokkema, N.J. and Van, D. P.C. 1995. Effect of *Ulocladium atrum* and other antagonists on sporulation of *Botrytis cinerea* on dead lily leaves exposed to field conditions. Phytopathology 85(4): 393-401.
- Manandhar, J.B. Thapliyal, P.N. Cavanaugh, K.J. and Sinclair, J.B. 1987. Interaction between pathogenic and saprobic fungi isolated from soybean roots and seeds. Mycopathologia 98(2): 69-75.
- Newhook, F.J., Waterhouse, G.M., Stamps, D.J. 1978. Tabular key to the species of *Phytophthora* De Bary Mycogical. Paper No. 143. 1-20 pp.
- Park, J. and Kim, K. 1989. Biological control of *Phytophthora* crown and root rot of greenhouse pepper with *Trichoderma harzianum* and *Enterobacter agglomerans* by improved method of application. Korean. J. of Plant. Pathology 5(1)1-12.
- Pechprome, P. and Soyong, K. 1997. Integrated Biological control of Durian stem and root rot caused by *Phytophthora palmivora*. Biopesticides: Toxicity, Safety, Development and Proper Use Proceedings First International Symposium on Biopesticides. Naresuan University Phitsanulok, Thailand. (October 27- 31, 1996)P.
- Petcharat, V. and Soyong, K. 1991. Chaetomium in soil under para rubber. Songklanakarinn J. Sci. Technol 13(3-4) : 129-132.
- Quimio, T. H. 1984. Advanced Mycology. Lecture Syllabus. Dept. of Plant Pathology. University of the Philippines at Los Bannos. College, Laguna. 228 pp.
- Roiger, D.J. and S. N.Jeffers, 1991. Evaluation of *Trichoderma* spp. for biological control of *Phytophthora* crown and root rot of apple seedling. Phytopathology 81(8): 910-917.

- Sastry, M.N.L. and Hegde, R.K. 1992. Soil percolation and efficacy of fungicides on the inoculum of *Phytophthora palmivora* MF4 the incitant of black pepper wilt. Indian Phytopathology 15(1)71-73
- Seth, H. K. 1970. A monograph of the genus *Chaetomium*. Nova Hedwigia 37: 1-133.
- Soytong, K. and Quimio, T.H. 1989. A Taxonomic Study on the Philippine species of *Chaetomium*. The Philippine Agriculturist 72(1): 59-72.
- Soytong, K. 1991. Species of *Chaetomium* in Thailand soils Thai Phytopathology 11: 8-94.
- Soytong, K. 1995. *Chaetomium* as a biocontrol agent against plant pathogens. Proc.of The XIII International Plant Protection Congress. The Hague-The Netherlands (2-7 July).
- Soytong, K. and Soyotong, K. 1997. *Chaetomium* as a New Broad - Spectrum Mycofungicide. Biopesticides: Toxicity, Safety, Development and Proper Use. Proceedings of the First International Symposium on Biopesticides. Naresuan University Phitsanulok, Thailand. (October 27- 31, 1996) P.
- Smith, V.L., Wilcox, W. F. and Harman, G. E. 1990. Potential for biological control of *Phytophthora* root and crown rots of apple by *Trichoderma* and *Gliocladium* spp. Phytopathology 80(9)880-885.
- Suzui, T.U. Kueprakone and Kamhangridthirong, T. 1979. *Phytophthora* spp. isolated from some economic plants in Thailand. Tech. Bull. Trop. Agric. Res. Center Japan. 12:32-41.
- Thompson. A. 1929. *Phytophthora* species in Malaya. Malayan Agric. J. 17: 53-100.
- Tsao, P. H. and Tummakate A. 1977. The identity of a *Phytophthora* species from Black Pepper in Thailand. Mycologia 69:631-637.
- Turner, G. J. 1969. *Phytophthora palmivora* from Piper betel in Sarawak. Trans. Frit. Mycol. Soc. 52: 411-418.
- Tveit, M. and Moore, M. B. 1954. Isolates of *Chaetomium* that protect oats from *Helminthosporium victoriae*. Phytopathology 44: 686-689.
- Tveti, M. and R. K. S. Wood. 1955. The control of Fusarium blight in oat seedlings with antagonistic species of *Chaetomium*. Ann. Appl. Biol. 43: 538-552.
- Von arx. J. A., Dreyfuss, M. and Muller, E. 1984. A revolution of *Chaetomium* and the Chaetomiaceae. Persoonia. 12: 169-176.
- Vorob'eva, Yu.V.; Shemyakina, V.P., Kvasnyuk, N.Ya. and Kyznetsova, I.F. 1990. *Phytophthora* tolerance of systemic fungicides. Phytopathology 6: 28-29.

- Wahid, P. and Zaubin R. 1993. Crop improvement and cultivation of black pepper. Indonesian Agricultural Research and Development . 15(2) 27-30.
- Waterhouse, G.M. 1956. The Genus *Phytophthora* Diagnoses(or Descriptions) and figures from the original paper. Commonwealth Mycological Institute Kew, Surrey No. 12:120.
- Waterhouse, G.M. 1963. Key to the species of *Phytophthora* De Bary. Commonwealth Mycol. Inst. Mycol. Papers 92:1-22.
- Waterhouse, G.M. 1970. The genus *Phytophthora* De Bary Diagnoses(or Description) and figures from the original Papers, 2 nd ed. Commonwealth Mycol. Papers 122:50.
- Zentmyer, G. A. 1983. The world of *Phytophthora* Pages 1-7 in: *Phytophthora* Its, Biology, Texonomy, Ecology, and Pathology. D.C. Erwin, S. Baamic)Baccia, and P. H. Tsao (eds.)the American Phytopathological Society. st. Paul, Minnesota.392 pp.





เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

ตารางผนวกที่ 1 ความสามารถในการเกิดโรคของเชื้อ *Phytophthora palmivora* isolates P1-P12

Isolates	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางแผลเน่า				
	R1	R2	R3	R4	R5
P1	6.05	6.50	6.60	7.00	6.80
P2	5.00	4.10	5.50	5.50	6.50
P3	4.10	6.70	5.50	3.50	7.20
P4	7.40	6.40	8.00	6.00	3.40
P5	6.20	6.50	7.20	6.50	5.00
P6	5.20	6.70	7.60	7.30	5.90
P7	5.20	5.80	5.50	5.40	4.60
P8	5.80	5.90	5.60	5.90	5.50
P9	7.00	5.50	6.80	6.60	5.50
P10	5.50	5.80	7.50	5.00	5.60
P11	6.50	6.20	7.00	5.60	5.80
P12	6.10	5.50	4.90	6.40	6.80

ตารางผนวกที่ 2 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 1

SOV	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Treatment	11	11.47	1.04	1.16 <sup>NS</sup>	1.99	2.64
Error	48	43.08	0.89			
Total	59	54.55				

NS = non significant C.V. = 15.8%

ตารางผนวกที่ 3 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลเน่า หลังจากการปลูกเชื้อ *Phytophthora palmivora* MF3 isolate P1 ที่อายุ 6 วัน

พืช	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผลเน่า				
	R1	R2	R3	R4	R5
ใบพริกไทย	2.64	3.03	2.36	2.85	2.68
ใบทุเรียนพันธุ์ชะนี	2.98	3.23	3.16	3.25	3.03
ใบเงาะ	3.51	3.50	4.01	3.33	2.77
ใบทุเรียนพันธุ์กระดุม	3.93	4.10	3.68	3.81	3.84
ใบทุเรียนพันธุ์หมอนทอง	3.63	4.50	4.60	4.85	4.85
ใบทุเรียนพันธุ์ก้านยาว	4.91	4.38	4.20	4.28	4.32
ใบยางพารา	2.78	3.02	2.96	2.80	2.83
ใบลองกอง	4.01	4.56	3.69	4.14	4.17
ใบมะไฟ	0.51	0.50	0.50	0.50	0.51
ใบมังคุด	1.97	1.77	1.49	1.76	1.69

ตารางผนวกที่ 4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 3

SOV	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Treatment	9	70.79	7.86	101.95**	2.12	2.88
Error	40	3.08	0.07			
Total	49					

\*\* = Highly significant at 1% level C.V. = 8.9 %

ตารางผนวกที่ 5 ค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของการเกิดโรคกับพืชอาศัยอื่นๆ

พืช	ระดับความรุนแรงของโรค				
	R1	R2	R3	R4	R5
ใบพริกไทย	3.9	4.0	3.9	3.9	4.0
ใบทุเรียนพันธุ์ชะนี	4.0	4.0	3.9	3.8	3.8
ใบเงาะ	3.0	3.2	3.3	3.3	3.5
ใบทุเรียนพันธุ์กระดุม	3.8	3.9	3.6	4.0	4.0
ใบทุเรียนพันธุ์หมอนทอง	3.8	3.9	3.9	3.7	3.7
ใบทุเรียนพันธุ์ก้านยาว	3.9	4.0	3.9	3.9	4.0
ใบยางพารา	3.0	3.4	3.2	3.1	3.5
ใบลองกอง	3.0	3.0	3.0	3.1	3.2
ใบมะไฟ	1.0	1.0	1.1	1.1	1.0
ใบมังคุด	2.3	2.0	2.2	2.5	2.6

ตารางผนวกที่ 6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 5

SOV	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Treatment	9	39.10	4.34	221.27**	2.12	2.88
Error	40	0.78	0.01			
Total	49	39.89				

\*\* = Highly significant at 1% level C.V. = 4.3%

ตารางผนวกที่ 7 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเชื้อ *Phytophthora palmivora* MF3 isolate P1 บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ ที่ อายุ 6 วัน

อาหาร	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง(ซม.)				
	R1	R2	R3	R4	R5
WA	6.5	6.0	5.0	6.5	6.5
CMA	9.0	7.5	7.5	8.0	8.0
PDA	7.0	6.8	6.2	6.4	7.0
V8	9.0	8.0	8.0	9.0	7.5
CZ	6.0	4.5	5.5	5.5	6.5
OMA	8.8	9.0	8.2	9.0	8.0
CA	9.0	8.9	9.0	9.0	9.0

ตารางผนวกที่ 8 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 7

SOV	DF	SS	MS	F	F.05	F.01
Treatment	6	52.62	8.77	28.50 **	2.44	3.51
Error	28	8.61	0.30			
Total	34	61.23				

\*\* = Highly significant at 1% level CV. = 7.4 %

ตารางผนวกที่ 9 แสดงปริมาณ sporangium x 10<sup>4</sup>/มิลลิลิตร บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ

อาหาร	sporangium x 10 <sup>4</sup> /มิลลิลิตร				
	R1	R2	R3	R4	R5
WA	75	50	25	50	50
CMA	175	225	150	100	100
PDA	325	375	250.00	225	300
V8	450	375	325	350	400
CZ	125	75	150	50	50
OMA	625	500	450	575	500
CA	375	400	500	350	325

ตารางผนวกที่ 10 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 9

SOV	DF	SS	MS	F	F.05	F.01
Treatment	6	949607.14	158267.85	54.21 **	2.44	3.53
Error	28	81750.00	2919.64			
Total	34	1031357.14				

\*\* = Highly significant at 1% level CV. = 20.1 %

ตารางผนวกที่ 11 แสดงปริมาณ zoospore x 10<sup>6</sup>/ มิลลิลิตร บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ

อาหาร	zoospore x10 <sup>6</sup> / มิลลิลิตร				
	R1	R2	R3	R4	R5
WA	2.00	1.25	0.75	1.25	1.25
CMA	3.75	4.25	2.50	3.00	4.00
PDA	5.75	4.75	6.25	2.25	4.25
V8	8.50	11.25	7.50	9.00	11.25
CZ	2.50	1.75	1.50	2.25	1.50
OMA	14.50	10.25	8.75	15.00	13.25
CA	20.00	21.75	21.75	18.00	17.25

ตารางผนวกที่ 12 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 11

SOV	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Treatment	6	1388.12	231.35	83.88 **	2.25	3.53
Error	28	77.22	2.75			
Total	34					

\*\* = Highly significant at 1% level C.V. = 21.5 %

ตารางผนวกที่ 13 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเชื้อ *Phytophthora palmivora* MF3 isolate P1  
บนอาหาร CA ที่อุณหภูมิต่างๆ กัน

อุณหภูมิ	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของ โคลินี				
	R1	R2	R3	R4	R5
10	3.5	3.0	3.8	2.7	3.0
20	7.8	7.5	7.5	7.3	6.8
30	9.0	8.7	8.8	9.0	9.0
40	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5

ตารางผนวกที่ 14 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 13

SOV	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Treatment	3	221.46	73.82	838.70**	3.24	5.29
Error	16	1.40	0.08			
Total	19	222.87				

\*\* Highly significant at 1% level C.V. = 5.9%

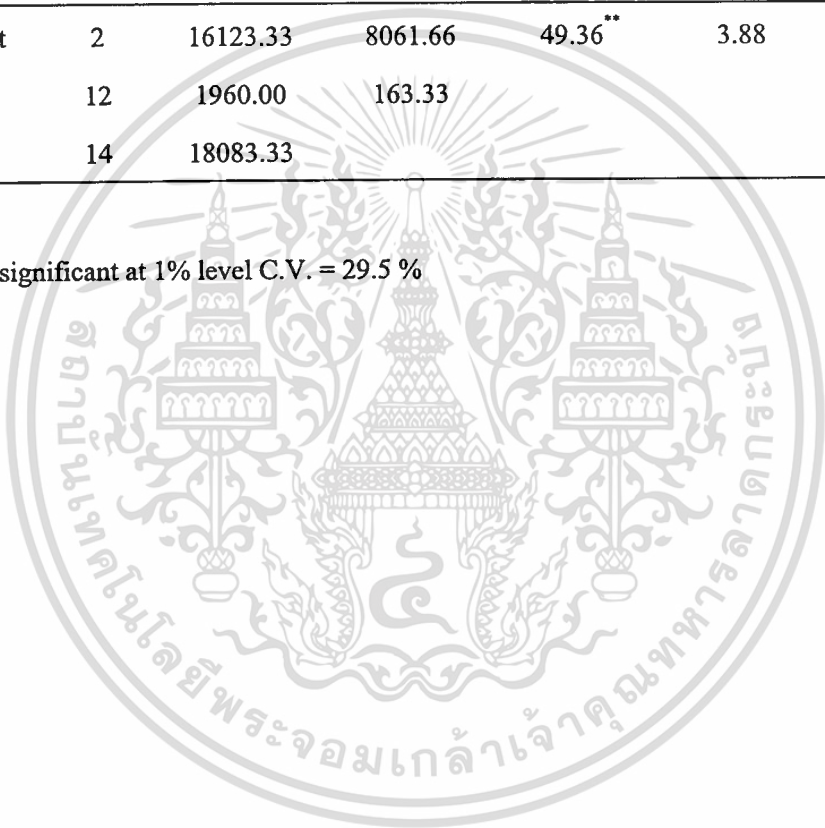
ตารางผนวกที่ 15 ปริมาณ sporangium  $\times 10^4$ /มิลลิลิตร บนอาหาร CA ที่อุณหภูมิต่างๆกัน

อุณหภูมิ	sporangium/มิลลิลิตร ( $\times 10^4$ )				
	R1	R2	R3	R4	R5
10	5	10	5	15	5
20	40	30	35	45	25
30	75	100	115	80	65

ตารางผนวกที่ 16 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 15

SOV	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Treatment	2	16123.33	8061.66	49.36**	3.88	6.83
Error	12	1960.00	163.33			
Total	14	18083.33				

\*\* Highly significant at 1% level C.V. = 29.5 %



ตารางผนวกที่ 17 ปริมาณ zoospores  $\times 10^4$ /มิลลิลิตร บนอาหาร CA ที่อุณหภูมิต่างๆ กัน

อุณหภูมิ	zoospores/มิลลิลิตร ( $\times 10^4$ )				
	R1	R2	R3	R4	R5
10	0.2	0.4	0.2	0.6	0.2
20	1.6	1.2	1.4	1.8	1.0
30	3.0	4.0	4.6	3.2	2.6

ตารางผนวกที่ 18 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 17

SOV	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Treatment	2	25.79	12.89	49.36**	3.88	6.83
Error	12	3.136	0.26			
Total	14	28.93				

\*\* Highly significant at 1% level C.V. = 29.5 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 19 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* MF3 isolate P1  
ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม ที่อายุ 10 วัน

จุลินทรีย์ต่อต้าน	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง(เซนติเมตร)				
	R1	R2	R3	R4	R5
<i>Trichoderma harmatum</i>	1.80	1.95	2.20	1.87	2.25
<i>Trichoderma harzianum</i>	2.00	1.90	1.86	1.94	1.89
<i>Chaetomium globosum</i>	3.25	3.34	3.12	3.18	3.20
<i>Chaetomium cupreum</i>	3.02	2.89	3.34	2.91	3.11
Control	8.90	8.80	8.90	8.95	8.95

ตารางผนวกที่ 20 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 19

SOV	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Treatment	4	168.17	42.04	2412.13 **	2.87	4.43
Error	20	0.34	0.01			
Total	24	168.52				

\*\* = Highly significant at 1% level = C.V. = 3.5%

ตารางผนวกที่ 21 ศักยภาพของจุลินทรีย์ต่อต้านในการควบคุมเชื้อรา *Phytophthora palmivora* MF3 isolate P1 ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม PDA ที่อายุ 10 วัน

จุลินทรีย์ต่อต้าน	% การยับยั้งการเจริญเติบโต				
	R1	R2	R3	R4	R5
<i>Trichoderma harmatum</i>	79.76	77.84	75.28	79.11	74.86
<i>Trichoderma harzianum</i>	77.53	78.84	79.10	78.32	78.88
<i>Chaetomium globosum</i>	63.48	63.34	64.94	64.47	64.25
<i>Chaetomium cupreum</i>	66.06	2.89	63.34	67.48	65.25

ตารางผนวกที่ 22 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 21

SOV	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Treatment	3	875.92	291.97	110.42**	3.24	5.29
Error	16	42.30	2.64			
Total	19	918.23				

\*\* = Highly significant at 1% level C.V. = 2.3%

ตารางผนวกที่ 23 ระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย ในสภาพเรือน  
ทดลองหลังจากการใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora*  
*palmivora* ที่ระยะเวลา 2 เดือน

วิธีการ	ระดับการเกิดโรค				
	R1	R2	R3	R4	R5
<i>Trichoderma</i> (T)	1.0	1.2	2.0	2.2	1.6
<i>Chaetomium</i> (C)	1.0	1.2	2.0	1.0	1.6
TxC	1.8	1.4	2.4	1.4	1.4
Metalaxyl	3.8	3.6	4.8	3.6	3.0
Control	3.4	3.6	4.6	3.4	4.2

ตารางผนวกที่ 24 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 23

SOV	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Treatment	4	1.95	0.48	55.61**	2.87	4.43
Error	20	0.17	0.008			
Total	24	2.13				

\*\* = Highly significant at 1% level C.V. = 7.1%

ตารางผนวกที่ 25 ระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย ในสภาพเรือน  
ทดลองหลังจากการใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora*  
*palmivora* ที่ระยะเวลา 4 เดือน

วิธีการ	ระดับการเกิดโรค				
	R1	R2	R3	R4	R5
<i>Trichoderma</i> (T)	1.3	1.3	1.2	1.3	1.3
<i>Chaetomium</i> (C)	1.2	1.3	1.2	1.2	1.1
TxC	1.4	1.5	1.5	1.4	1.4
Metalaxyl	2.5	2.6	2.4	2.5	2.5
Control	2.9	3.0	2.8	2.7	2.5

ตารางผนวกที่ 26 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 25

SOV	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Treatment	4	11.01	2.75	264.71**	2.87	4.43
Error	20	0.20	0.01			
Total	24	11.22				

\*\* = Highly significant at 1% level C.V. = 5.5%

ตารางผนวกที่ 27 ระดับการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย ในสภาพเรือน  
ทดลองหลังจากการใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora*  
*palmivora* ที่ระยะเวลา 6 เดือน

วิธีการ	ระดับการเกิดโรค				
	R1	R2	R3	R4	R5
<i>Trichoderma</i> (T)	1.0	1.2	2.0	2.2	1.6
<i>Chaetomium</i> (C)	2.0	1.2	2.0	1.0	1.3
TxC	1.8	1.6	2.4	1.4	1.4
Metalaxyl	2.6	2.1	2.8	2.6	2.9
Control	3.3	3.5	3.8	3.4	2.8

ตารางผนวกที่ 28 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 27

SOV	DF	SS	MS	F	F.05	F.01
Treatment	4	12.88	3.22	18.30**	2.87	4.43
Error	20	3.52	0.17			
Total	24	16.40				

\*\* = Highly significant at 1% level C.V. = 19.5%

ตารางผนวกที่ 29 ประชากรส่วนขยายพันธุ์ (propagules) ของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* MF3 isolate P1 ในสภาพเรือนทดลอง ที่ระยะเวลา 2 เดือน

วิธีการ	propagules ( $\times 10^3$ )				
	R1	R2	R3	R4	R5
<i>Trichoderma</i> (T)	2.9	2.9	2.8	2.5	2.6
<i>Chaetomium</i> (C)	2.6	2.4	2.3	2.6	2.7
TxC	2.8	2.6	2.5	2.9	2.9
Metalaxyl	3.5	3.4	3.5	3.8	3.2
Control	3.8	3.6	3.4	3.5	3.7

ตารางผนวกที่ 30 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 29

SOV	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Treatment	4	4.77	1.19	36.16**	2.87	4.43
Error	20	0.66	0.03			
Total	24	5.43				

\*\* = Highly significant at 1% level C.V. = 6.0%

ตารางผนวกที่ 31 ประชากรส่วนขยายพันธุ์(propagules) ของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* MF3 isolate P1 ในสภาพเรือนทดลอง ที่ระยะเวลา 4 เดือน

วิธีการ	propagules (x10 <sup>3</sup> )				
	R1	R2	R3	R4	R5
<i>Trichoderma</i> (T)	1.7	1.6	1.8	1.8	1.8
<i>Chaetomium</i> (C)	1.6	1.4	1.3	1.6	1.6
TxC	1.5	1.9	1.8	1.9	1.9
Metalaxyl	2.9	2.5	2.8	2.7	2.9
Control	3.5	3.0	3.4	3.2	3.5

ตารางผนวกที่ 32 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 31

SOV	DF	SS	MS	F	F.05	F.01
Treatment	4	12.13	3.03	114.04**	2.87	4.43
Error	20	0.53	0.02			
Total	24	12.66				

\*\* = Highly significant at 1% level C.V. = 7.3%

ตารางผนวกที่ 33 ประชากรส่วนขยายพันธุ์ (propagules) ของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* MF3 isolate P1 ในสภาพเรือนทดลอง ที่ระยะเวลา 6 เดือน

วิธีการ	propagules (x10 <sup>3</sup> )				
	R1	R2	R3	R4	R5
<i>Trichoderma</i> (T)	1.0	1.2	2.0	2.2	1.6
<i>Chaetomium</i> (C)	1.0	1.2	2.0	1	1.6
TxC	1.8	1.4	2.4	1.4	1.4
Metalaxyl	3.8	3.6	4.8	3.6	3.4
Control	3.4	3.6	4.6	3.4	4.2

ตารางผนวกที่ 34 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 33

SOV	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Treatment	4	30.75	7.68	28.35**	2.87	4.43
Error	20	5.42	0.27			
Total	24	36.18				

\*\* = Highly significant at 1% level C.V. =21.3 %

ตารางผนวกที่ 35 การเจริญเติบโตของต้นต้นพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย ในแปลงทดลองใช้ยาเชื้อ  
ป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่า ที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora*  
ที่ระยะเวลา 1 เดือน

วิธีการ	ความสูง(ซม.)			
	R1	R2	R3	R4
<i>Trichoderma</i> (T)	35.50	32.30	31.30	33.20
<i>Chaetomium</i> (C)	35.62	32.28	30.90	33.56
TxC	35.50	32.84	34.22	34.54
Metalaxyl	34.54	32.87	33.96	33.10
Control	32.78	33.00	34.60	35.27

ตารางผนวกที่ 36 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 35

SOV	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Replication	3	13.91	4.63	3.14 <sup>NS</sup>	3.49	6.95
Treatment	4	4.37	1.09	<1	3.26	6.41
Error	12	17.70	1.47			
Total	19	35.98				

NS = non significant C.V. = 3.6 %

ตารางผนวกที่ 37 การเจริญเติบโตของต้นต้นพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย ในแปลงทดลองใช้ยาเชื้อ  
ป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่า ที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora*  
ที่ระยะเวลา 4 เดือน

วิธีการ	ความสูง(ซม.)			
	R1	R2	R3	R4
<i>Trichoderma</i> (T)	125.09	117.76	110.60	97.43
<i>Chaetomium</i> (C)	72.03	78.13	72.66	78.39
TxC	71.10	77.00	71.96	79.50
Metalaxyl	81.04	84.48	59.50	75.72
Control	53.57	63.21	64.06	60.91

ตารางผนวกที่ 38 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 37

SOV	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Replication	3	187.61	62.53	1.00 <sup>NS</sup>	3.49	6.95
Treatment	4	6096.89	1524.22	24.45 <sup>**</sup>	3.26	6.41
Error	12	748.13	62.34			
Total	19	7032.64				

\*\* = Highly significant at 1% level NS = non significant C.V. = 10.6 %

ตารางผนวกที่ 39 การเจริญเติบโตของต้นต้นพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย ในแปลงทดลองใช้ยาเชื้อ  
ป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่า ที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora*  
ที่ระยะเวลา 8 เดือน

วิธีการ	ความสูง(ซม.)			
	R1	R2	R3	R4
<i>Trichoderma</i> (T)	167.47	151.13	132.45	138.22
<i>Chaetomium</i> (C )	149.91	148.48	135.31	146.55
TxC	133.80	144.91	134.31	144.55
Metalaxyl	135.73	163.61	97.50	142.34
Control	68.40	70.75	66.33	80.50

ตารางผนวกที่ 40 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 39

SOV	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Replication	3	1473.94	491.31	3.11 <sup>NS</sup>	3.49	6.95
Treatment	4	16129.28	4032.32	25.55 <sup>**</sup>	3.26	6.41
Error	12	1894.09	157.84			
Total	19	19497.32				

\*\* = Highly significant at 1% level NS = non significant C.V. = 12.0 %

ตารางผนวกที่ 40 การเจริญเติบโตของต้นต้นพริกไทยพันธุ์มาเลเซีย ในแปลงทดลองใช้ยาเชื้อ  
ป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่า ที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora*  
ที่ระยะเวลา 12 เดือน

วิธีการ	ความสูง(ซม.)			
	R1	R2	R3	R4
<i>Trichoderma</i> (T)	231.45	202.84	170.66	197.62
<i>Chaetomium</i> (C )	220.32	214.50	196.72	200.97
TxC	200.21	210.50	190.51	190.38
Metalaxyl	164.31	220.16	124.00	202.83
Control	85.00	72.25	82.80	87.50

ตารางผนวกที่ 42 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 41

SOV	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Replication	3	3908.99	1302.99	1.18 <sup>NS</sup>	3.49	6.95
Treatment	4	40845.08	10211.27	9.26 <sup>**</sup>	3.26	6.41
Error	12	13235.09	1102.92			
Total	19	57989.17				

\*\* = Highly significant at 1% level NS = non significant C.V. = %

ตารางผนวกที่ 43 การเจริญครอบครอง( colonization) ของ เชื้อ *Phytophthora palmivora* ในดิน  
ปลูกพริกไทย จากการใช้เชื้อล่อที่ระยะเวลา 1 เดือน

วิธีการ	colonization(%)			
	R1	R2	R3	R4
<i>Trichoderma</i> (T)	98	67	36	94
<i>Chaetomium</i> (C )	90	38	83	37
TxC	81	30	93	94
Metalaxyl	100	30	98	84
Control	100	98	97	95

ตารางผนวกที่ 44 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 43

SOV	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Replication	3	4238.55	1412.85	2.76 <sup>NS</sup>	3.49	6.95
Treatment	4	2974.80	743.70	1.45 <sup>NS</sup>	3.26	6.41
Error	12	6153.20	512.76			
Total	19	13366.55				

NS = non significant C.V. = 29.5 %

ตารางผนวกที่ 45 การเจริญครอบครอง( colonization) ของ เชื้อ *Phytophthora palmivora* ในดิน  
ปลูกพริกไทย จากการใช้เชื้อล่อที่ระยะเวลา 4 เดือน

วิธีการ	colonization(%)			
	R1	R2	R3	R4
<i>Trichoderma</i> (T)	65	72	60	78
<i>Chaetomium</i> (C )	43	100	74	88
TxC	100	61	32	100
Metalaxyl	99	85	100	64
Control	98	96	94	86

ตารางผนวกที่ 46 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 45

SOV	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Replication	3	414.15	138.05	<1	3.49	6.95
Treatment	4	1668.50	417.12	<1	3.26	6.41
Error	12	5797.10	483.09			
Total	19	7879.75				

C.V. = 27.6 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 47 การเจริญครอบครอง( colonization) ของ เชื้อ *Phytophthora palmivora* ในดิน  
ปลูกพริกไทย จากการใช้เชื้อล่อที่ระยะเวลา 8 เดือน

วิธีการ	colonization(%)			
	R1	R2	R3	R4
<i>Trichoderma</i> (T)	35	60	25	35
<i>Chaetomium</i> (C )	50	70	40	55
TxC	60	55	45	25
Metalaxyl	93	85	75	80
Control	100	90	100	99

ตารางผนวกที่ 48 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 47

SOV	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Replication	3	764.55	254.85	2.28 <sup>NS</sup>	3.49	6.95
Treatment	4	10134.80	2533.70	22.70 <sup>**</sup>	3.26	6.41
Error	12	1339.20	111.60			
Total	19	12238.55				

\*\* = Highly significant at 1% level NS = non significant C.V. = 16.5%

ตารางผนวกที่ 49 การเจริญครอบครอง (colonization) ของ เชื้อ *Phytophthora palmivora* ในดิน  
ปลูกพริกไทย จากการใช้เหยื่อล่อที่ระยะเวลา 12 เดือน

วิธีการ	colonization(%)			
	R1	R2	R3	R4
<i>Trichoderma</i> (T)	35	27	12	20
<i>Chaetomium</i> (C)	25	46	53	32
TxC	41	27	38	62
Metalaxyl	53	47	63	24
Control	85	93	72	69

ตารางผนวกที่ 50 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 49

SOV	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Replication	3	154.00	51.33	<1	3.49	6.95
Treatment	4	6842.70	1710.67	8.32 **	3.26	6.41
Error	12	2466.50	205.54			
Total	19	9463.20				

\*\* = Highly significant at 1% level C.V. = 31.0%

ตารางผนวกที่ 51 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคหลังจากการใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรคพืชในการควบคุม  
โรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยในแปลงทดลอง ที่ระยะเวลา 1 เดือน

วิธีการ	การเกิดโรค(%)			
	R1	R2	R3	R4
<i>Trichoderma</i> (T)	0.00	9.38	6.25	6.25
<i>Chaetomium</i> (C)	0.00	3.13	3.13	0.00
TxC	0.00	0.00	1.00	0.99
Metalaxyl	9.38	0.00	6.25	06.25
Control	6.25	18.75	0.00	0.00

ตารางผนวกที่ 52 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 51

SOV	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Replication	3	39.47	13.15	<1	3.49	6.95
Treatment	4	109.87	27.46	1.10 <sup>NS</sup>	3.26	6.41
Error	12	298.53	24.87			
Total	19	447.89				

NS = non significant C.V. = 129.5 %

ตารางผนวกที่ 53 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคหลังจากการใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรคพืชในการควบคุม  
โรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยในแปลงทดลอง ที่ระยะเวลา 4 เดือน

วิธีการ	การเกิดโรค(%)			
	R1	R2	R3	R4
<i>Trichoderma</i> (T)	3.13	12.50	9.38	12.50
<i>Chaetomium</i> (C)	0.00	6.25	9.38	3.13
TxC	0.00	0.00	3.13	0.00
Metalaxyl	18.75	12.50	12.50	18.75
Control	6.25	25.00	0.00	28.13

ตารางผนวกที่ 54 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 53

SOV	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Replication	3	165.98	55.32	1.18 <sup>NS</sup>	3.49	6.95
Treatment	4	657.12	164.28	3.51*	3.26	6.41
Error	12	561.67	46.80			
Total	19	1384.78				

\* = significant at 5% level NS = non significant C.V. = 75.5 %

ตารางผนวกที่ 55 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคหลังจากการใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรคพืชในการควบคุม  
โรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยในแปลงทดลอง ที่ระยะเวลา 8 เดือน

วิธีการ	การเกิดโรค(%)			
	R1	R2	R3	R4
<i>Trichoderma</i> (T)	9.38	12.50	21.88	12.50
<i>Chaetomium</i> (C )	0.00	6.25	9.38	15.63
TxC	0.00	0.00	3.13	0.00
Metalaxyl	21.88	12.50	18.75	18.75
Control	31.25	12.50	0.00	81.25

ตารางผนวกที่ 56 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 55

SOV	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Replication	3	878.86	292.95	1.09 <sup>NS</sup>	3.49	6.95
Treatment	4	2102.30	525.57	1.96 <sup>NS</sup>	3.26	6.41
Error	12	3217.99	268.16			
Total	19	6199.16				

NS = non significant C.V. = 113.9 %

ตารางผนวกที่ 57 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคหลังจากการใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรคพืชในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทยในแปลงทดลอง ที่ระยะเวลา 12 เดือน

วิธีการ	การเกิดโรค(%)			
	R1	R2	R3	R4
<i>Trichoderma</i> (T)	12.50	21.88	34.38	21.88
<i>Chaetomium</i> (C )	3.13	9.38	15.63	15.63
TxC	9.38	12.50	6.25	6.25
Metalaxyl	28.13	12.50	21.88	25.00
Control	78.13	67.75	46.88	93.75

ตารางผนวกที่ 58 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 57

SOV	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Replication	3	197.82	65.94	<1	3.49	6.95
Treatment	4	10532.71	2633.17	21.43**	3.26	6.41
Error	12	14774.20	122.85			
Total	19	12204.74				

\*\* = Highly significant at 1% level C.V. = 40.8 %

ตารางผนวกที่ 59 ประชากรส่วนขยายพันธุ์ (propagule) ของเชื้อ *Phytophthora palmivora* MF3 ภายหลังจากใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรคพืชในแปลงทดลองที่ระยะเวลา 1 เดือน

วิธีการ	propagule(cfu/soil.g <sup>-1</sup> x10 <sup>3</sup> )			
	R1	R2	R3	R4
<i>Trichoderma</i> (T)	3.2	2.4	2.8	1.6
<i>Chaetomium</i> (C)	3.6	2.0	2.4	2.8
TxC	2.4	3.6	2.0	3.6
Metalaxyl	2.4	2.8	3.6	3.6
Control	3.6	3.2	2.8	2.8

ตารางผนวกที่ 60 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 59

SOV	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Replication	3	0.28	0.09	<1	3.49	6.95
Treatment	4	1.08	0.27	<1	3.26	6.41
Error	12	6.08	0.50			
Total	19	7.44				

C.V. = 24.9%

ตารางผนวกที่ 61 ประชากรส่วนขยายพันธุ์ (propagule) ของเชื้อ *Phytophthora palmivora* MF3  
 ภายหลังจากใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรคพืชในแปลงทดลองที่ระยะเวลา 4 เดือน

วิธีการ	propagule(cfu/soil.g <sup>-1</sup> x10 <sup>3</sup> )			
	R1	R2	R3	R4
<i>Trichoderma</i> (T)	2.0	2.4	2.0	1.6
<i>Chaetomium</i> (C)	3.2	1.6	1.2	2.0
TxC	2.0	2.4	2.4	3.2
Metalaxyl	2.0	2.8	3.2	3.2
Control	4.0	3.6	3.6	3.2

ตารางผนวกที่ 62 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 61

SOV	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Replication	3	0.08	0.02	<1	3.49	6.95
Treatment	4	7.07	1.76	4.70**	3.26	6.41
Error	12	4.51	0.37			
Total	19	11.67				

\*\* = significant at 1% level C.V. = 23 %

ตารางผนวกที่ 63 ประชากรส่วนขยายพันธุ์ (propagule) ของเชื้อ *Phytophthora palmivora* MF3 ภายหลังจากใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรคพืชในแปลงทดลองที่ระยะเวลา 8 เดือน

Treatment	propagule(cfu/soil.g <sup>-1</sup> x10 <sup>3</sup> )			
	R1	R2	R3	R4
<i>Trichoderma</i> (T)	2.0	1.6	1.6	1.2
<i>Chaetomium</i> (C)	2.0	2.0	1.6	1.2
TxC	2.0	2.0	1.6	2.4
Metalaxyl	1.6	2.4	2.4	2.4
Control	3.6	4.0	2.8	2.4

ตารางผนวกที่ 64 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 63

SOV	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Replication	3	0.72	0.24	1.20 <sup>NS</sup>	3.49	6.95
Treatment	4	6.52	1.63	8.05 <sup>*</sup>	3.26	6.41
Error	12	2.43	0.20			
Total	19	9.68				

\* = significant at 5% level NS = non significant C.V. = 21 %

ตารางผนวกที่ 65 ประชากรส่วนขยายพันธุ์ (propagule) ของเชื้อ *Phytophthora palmivora* MF3  
ภายหลังการใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรคพืชในแปลงทดลองที่ระยะเวลา 12 เดือน

วิธีการ	propagule(cfu/soil.g <sup>-1</sup> x10 <sup>3</sup> )			
	R1	R2	R3	R4
<i>Trichoderma</i> (T)	1.6	2.0	2.0	1.2
<i>Chaetomium</i> (C)	1.2	2.0	2.4	1.2
TxC	1.2	2.6	1.6	2.0
Metalaxyl	2.0	1.6	1.2	1.2
Control	3.6	3.2	3.2	2.8

ตารางผนวกที่ 66 การวิเคราะห์ผลทางสถิติจากตารางผนวกที่ 65

SOV	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Replication	3	0.53	0.17	1.04 <sup>NS</sup>	3.49	6.95
Treatment	4	8.04	2.01	11.70 <sup>**</sup>	3.26	6.41
Error	12	2.06	0.17			
Total	19	10.64				

\*\* = Highly significant at 1% level NS = non significant CV = 21.4 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## BIOLOGICAL CONTROL OF BLACK PEPPER ROOT AND BASAL STEM ROT IN THE FIELD

Pinit Sodsa-art\* and Kasem Soyong\*

\*Department of Plant Pest Management, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand.

**Summary.** The application of pelleted mycofungicide formulations of *Trichoderma* (PC01+PC02), *Chaetomium* (CG=CG), and mixtures of these mycofungicides were conducted in infested field soil in Chantaburi Province for the control of root and stem rot of black pepper (*Piper nigrum* L.) caused by *Phytophthora palmivora*. Application rates of 20 g/plant together with the incorporation of lime and organic compost every 4-months for 1 year were used. Results showed that application of the mixtures of *Trichoderma* and *Chaetomium* mycofungicides could significantly reduce disease incidence which averaged as 8.6 percent, followed by the application of *Trichoderma* and *Chaetomium* where disease incidence were 10.9 and 22.6 percent, respectively. Disease incidence recorded for the *Chaetomium* treatment was not significantly different from that of the metalaxyl treatment which averaged 21.8 percent. All treatments resulted in significantly lower disease incidence than the untreated ones which showed the highest percentage of disease incidence. The inoculum of *P. palmivora* in rhizosphere soil of black pepper was significantly lower in the mycofungicide and metalaxyl treatments as compared to the untreated one. The tallest plant stand was in the *Chaetomium* treatment, followed by *Trichoderma* treatment, metalaxyl treatment and the mixture of mycofungicides, averaging 208, 200, 177 and 173 cm respectively. These figures were also significantly higher than that obtained for the untreated ones.

**Keywords:** mycofungicide, *Chaetomium*, *Trichoderma*, black pepper

### INTRODUCTION

Biological control technology for plant diseases has drawn increasing attention among plant pathologists and researchers. Black pepper (*Piper nigrum* L.) is an economically important crop in the east and south of Thailand. The most serious disease here is basal and root rot caused by *Phytophthora palmivora* Butler, first reported in 1977(7). Black pepper is usually planted in between rows of durian trees which are also seriously infected by the same pathogen (3). Application of chemical fungicides has been recognized to cause environmental pollution and leave chemical residues in the soil, water and agricultural products, and it is well-known that continuous use of chemical fungicides leads to the development of resistance in the pathogen. Research and development in biological control is one strategy for the integration of biocontrol technology with cultural and other control measures (6). These integrated control strategies were highly successful in controlling the *Phytophthora* rot of durian in the field after application of the mixtures of *Chaetomium* or *Trichoderma* (3). The aim of this project was to evaluate the efficacy of mycofungicides formulated from mixed strains of *Chaetomium cupreum* CC10 and *Chaetomium globosum* CG5 or *Trichoderma harzianum* PC01 and *Trichoderma hamatum* PC02, in pellet forms, for controlling *Phytophthora* rot of Black pepper under field conditions.

### METHODS

A black pepper plantation where *P. palmivora* is a serious problem was chosen for field experiments of *Chaetomium* and *Trichoderma* pellets during 1997 to 1998. A total of 640 plants were planted with a 2 X 2 m spacing. The experiment was conducted using Randomized Complete Block Design (RCBD) with four replicates (32 plants per replication). There were four treatments: applying *Chaetomium* pellets at 20 g/plant, applying Metalaxyl at 40 g/plant, a mixture of *Chaetomium* and *Trichoderma* pellets at 20 g each/plant, applying Metalaxyl at 20 g/plant and a untreated control. The same experiment was repeated every four months with the other cultural control practices such as removal of weeds, adjusting soil acidity by liming, adding organic compost, removing disease plant parts and improving water drainage integrated into the experiment.

## RESULTS AND DISCUSSION

*P. palmivora* has seriously infected not only black pepper but also durian and other host plants in Thailand (3). Our work confirmed the report of Tsao and Tummakate (7). The tested mycofungicides in pellet form of *Trichoderma* (PC01+PC02), *Chaetomium* (CG=CG), and mixtures of these mycofungicides were conducted to compare them with a chemical fungicide, metalaxyl in the field control of root and stem rot. Results show that the use of these mycofungicides, with incorporation of lime and organic compost every 4-months for 1 year gave a significant reduction in disease incidence. Similar results were obtained previously with durian (6). The application of the mixtures of *Trichoderma* and *Chaetomium* mycofungicides significantly reduced disease incidence which averaged at 8.6 percent, followed by the application of *Trichoderma* or *Chaetomium* alone recorded disease incidences of 10.9 and 22.6 percent, respectively. This indicates that *Trichoderma* and *Chaetomium* can significantly suppress the pathogen, *P. palmivora* in the field. It was noted that adjusting soil pH to 6.5, proper soil drainage and adding organic compost were the most important cultural practices to be integrated with biological control in the field (3). This study revealed that the *Chaetomium* treatment did not result in significant differences in disease incidence when compared to the metalaxyl treatment in which the disease incidence averaged at 21.8 percent. This indicates that the continuous application of this chemical fungicide in endemic areas may have resulted in the development of resistance in the pathogen, *P. palmivora* to the chemical fungicide. All mycofungicide treatments gave significantly lower disease incidences than the untreated ones which showed the highest percentage of disease incidence; similar results were obtained in previous work (4,8). The observed reduction in disease incidence is due to the lower inoculum of *P. palmivora* in the treated rhizosphere soils. It implies a saprophytic competitive growth; similar to the observations of Kolh *et al.* who stated that the pathogen inoculum of *Botrytis cinerea* was reduced in plant debris by *C. globosum* (2). Another possible mechanism of biological control implies antibiosis in that the tested antagonists may play a possible role through the production of antagonistic substances(1). It was also observed that when the mycofungicides were applied to healthy black pepper as a protectant, it gave complete protection.

Table 1. Population dynamics of *Phytophthora* inoculum and antagonistic fungi in rhizosphere soil of black pepper.

Treatments	Propagule (cfu/soil. g <sup>-1</sup> )				Colonization (%) <sup>1/</sup>			
	1 month	4 month	8 month	12 month	1 month	4 month	8 month	12 month
T	2.5 a <sup>2/</sup>	2.0 b	1.6 b	1.7 b	73.7	68.7	35.0	23.5
C	2.7 a	2.0 b	1.7 b	1.7 b	74.5	76.2	18.0	39.0
T/C	2.6 a	2.5 b	2.0 b	1.6 b	59.5	73.2	34.0	42.0
Metalaxyl	3.1 a	2.8 ab	2.2 b	1.5 b	78.0	87.0	66.5	46.7
Control	3.1 a	3.6 a	3.2 a	3.2 a	97.5	93.5	100.0	79.7

1/ Colonization (%) = number of colonized leaf discs with *P. palmivora* / total number of tested leaf discs x 100.

2/ Average of four replications. Means followed by a common letter in each column are not significantly different by DMRT at P = 0.01.

T=*Trichoderma* pellets, C=*Chaetomium* pellets.

Table 2. Disease incidence and plant stands of black pepper after application of mycofungicides and metalaxyl.

Treatments	Plant stands (cm.)				Disease incidence (%) <sup>1/</sup>			
	1 month	4 month	8 month	12 month	1 month	4 month	8 month	12 month
T	33.0 a <sup>2/</sup>	112.7a	147.3a	200.6 a	5.47 a	9.3 ab	14.0ab	22.6 b
C	33.0 a	75.3 b	145.0a	208.1 a	1.57 a	4.7 ab	7.8 ab	10.9 b
T/C	34.2 a	74.8 b	139.3a	172.8 a	0.50 a	0.7 b	0.7 b	8.6 b
Metalaxyl	33.6 a	75.1 b	134.7a	177.8 a	5.47 a	15.6 a	17.9ab	21.8 b
Control	33.9 a	60.4 c	71.4 b	81.8 b	6.25 a	14.8 a	31.2 a	71.3 a

1/ Disease incidence (%) = number of infected plants/total number of tested plant(healthy and infected)x 100

2/ Average of four replicates. Means followed by a common letter in each column are not significantly different by DMRT at P = 0.01.

T=*Trichoderma* pellets, C=*Chaetomium* pellets

This research project was partly supported by the International Foundation for Science (IFS), Sweden.

### REFERENCES

1. Heye, C. C. and J. H. Andrews. 1983. *Phytopathology* 73:650-654.
2. Kohl, J., Molhoek, W. H. L., C. H. van der Plas and H. J. Fokkema. 1995. *Phytopathology*, 85:393-400.
3. Pechprom, S. and Soyong, K. 1996. Proc. 1st International Symposium on Biopesticides, pp.228-233.
4. Sodsa-Art, P. and K. Soyong. 1998. Proc. 24<sup>th</sup> Congress on Sci. and Tech. Of Thailand, pp.858-859.
5. Soyong, K. 1992. *J. Plant Protection in Tropics*, 9:17-24.
6. Soyong, K. and K. Soyong. 1996. Proc. 1st International Symposium on Biopesticide. pp.124-132.
7. Tsao, P. H. and A. Tummakate. 1977. *Mycologia*, 69:631-637.
9. Usuwat, P. and K. Soyong. 1998. Proc. 24<sup>th</sup> Congress on Sci and Tech. Of Thailand, pp 862-863



## ภาคผนวก ก

## Stock solution electrophoresis

## Extraction buffer

Tris pH 7.5	4.482	กรัม
EDTA	0.0372	กรัม
Sodium dodecyl sulfate	2	กรัม
2- Merczptoethanol	1	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

## Separating gel

สารละลาย A: 30% Acrylamide	3	มิลลิลิตร
สารละลาย B: 1.5 M Tris-HCl/0.4% SDS ปรับ pH 8.8	1.88	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	2.63	มิลลิลิตร
10% Ammonium persulfate	25	ไมโครลิตร
TEMMED	5	ไมโครลิตร

## Stacking gel

สารละลาย A: 30% Acrylamide	0.65	มิลลิลิตร
สารละลาย C: 0.5 M Tris-HCl/0.4% SDS ปรับ pH 6.8	1.25	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	3.05	มิลลิลิตร
10% Ammonium persulfate	25	ไมโครลิตร
TEMMED	5	ไมโครลิตร

## Runing buffer

Tris	30.2	กรัม
Glycine	144	กรัม
Sodium dodecyl sulfate (SDS)	10	กรัม
น้ำ	1000	มิลลิลิตร

## Sample buffer

Tris	1.52	กรัม
Glycera	20	มิลลิลิตร
Sodium dodecyl sulfate (SDS)	10	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Bromphenol Blue	1	มิลลิลิตรกรัม
น้ำกลั่น	40	มิลลิลิตร
ปรับ pH 6.8 ด้วย HCl เติมน้ำให้ครบ 100		มิลลิลิตร

#### สารละลาย Coomassie blue

Methyl alcohol	100	มิลลิลิตร
Coomassie Blue-R	0.1	กรัม
Acetic acid	20	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	80	มิลลิลิตร

#### สารละลาย Destaining

Methyl alcohol	25	มิลลิลิตร
Acetic acid	35	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	440	มิลลิลิตร

#### สารละลาย Fixing

Methyl alcohol	100	มิลลิลิตร
Acetic acid	20	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	80	มิลลิลิตร

#### สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ (Media) ที่ใช้ในการทดลอง

##### 1. Water agar ส่วนประกอบ

วุ้น	17	กรัม
น้ำกลั่น	1000	ลบ.ซม.

##### 2. Corn meal agar ส่วนประกอบ

corn meal agar		กรัม
น้ำกลั่น	1000	ลบ.ซม.

##### 3. Potato dextrose agar ส่วนประกอบ

มันฝรั่ง	200	กรัม
Dextrose agar	20	กรัม
วุ้น	17	กรัม
น้ำกลั่น	1000	ลบ.ซม.

##### 4. Oat meal agar ส่วนประกอบ

Oat meal agar		กรัม
น้ำกลั่น	1000	ลบ. ซม.

##### 5. V-8 juice agar ส่วนประกอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของโรงเรียนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

V-8 juice	200	ลบ. ชม.
Calcium carbonate	3	กรัม
วุ้น	17	กรัม
น้ำกลั่น	800	ลบ. ชม.

#### 6. Carrot agar ส่วนประกอบ

Carrot	200	กรัม
วุ้น	17	กรัม
น้ำกลั่น	1000	ลบ. ชม.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ประวัติผู้เขียน

นายพินิต สดสะอาด เกิดเมื่อวันที่ 12 กรกฎาคม 2506 ที่ ต.เขาน้อย อ.ปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ จบการศึกษาระดับมัธยมศึกษาที่โรงเรียนเมืองปราณบุรี ประกาศนียบัตรวิชาชีพ วิทยาลัยเกษตรกรรมเพชรบุรี และสำเร็จการศึกษาส่งเสริมการเกษตรบัณฑิต สาขาส่งเสริมการเกษตร มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ปีการศึกษา 2530 และวิทยาศาสตร์บัณฑิต (พืชไร่-นา) สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล (วิทยาเขตสุรินทร์) ปีการศึกษา 2534 เข้ารับราชการในตำแหน่งเจ้าหน้าที่การเกษตร สังกัดศูนย์บริการโครงการสูบน้ำด้วยไฟฟ้า จ.เลย กรมพัฒนาและส่งเสริมพลังงาน กระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2536 ปัจจุบันดำรงตำแหน่งเจ้าพนักงานการเกษตร ศูนย์บริการโครงการสูบน้ำด้วยไฟฟ้า จ.เลย ต.นาโปลิง อ.เมือง จ.เลย 42000 โทร (042) 812232



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้