

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานผลการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2541

เรื่อง การจัดจำแนก สรีรวิทยา พืชอาศัยของเชื้อรา *Colletotrichum* spp.
และการควบคุมเชื้อโรคโดยใช้สารสกัดจากจุลินทรีย์

Identification, Physiology, Host Ranges of *Colletotrichum* spp.
and Its Disease Causal Agent Control Using Microbial Extracts



ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

RCH

OK

623

M38

จชมทจ

มิถุนายน 2543

เลขหมู่.....

เลขทะเบียน 36086

วัน, เดือน, ปี 6 ก.ค. 2543

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่วางไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การจัดจำแนก สรีรวิทยา พืชอาศัยของเชื้อรา *Colletotrichum* spp.
และการควบคุมโรคโดยใช้สารสกัดจากจุลินทรีย์

บทคัดย่อ

จากการศึกษาลักษณะพื้นฐานวิทยาของเชื้อรา *Colletotrichum* species ซึ่งเป็นสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจบางชนิด โดยสามารถรวบรวมได้ทั้งหมด 20 isolates และทำการจำแนกให้อยู่ในระดับ species ได้ 4 species ดังนี้คือ *C. dematium* จำนวน 2 isolates ได้แก่ isolate Sb001 และ Sb002 (จากโหระพา), *C. gloeosporioides* จำนวน 16 isolates ได้แก่ isolate A001 (จากวาสนา), A002 (จากหนวดปลาหมึก), A003 (จากอมรเบิกฟ้า), C001 (จากส้มโชกุน ลำปาง), C002 (จากส้มโชกุน ลำปาง), C003 (จากส้มเขียวหวาน แพร่), C004 (จากส้มเขียวหวาน แพร่), C006-1 (จากส้มเขียวหวาน ตาก), C007-2 (จากส้มโชกุน ตาก), Ft001 (จากปาล์มหางหมาป่า), M002-2 (จากมะม่วงเขียวเสวย), M003 (จากมะม่วงอกร่อง), Pay001 (จากมะละกอ), Pep001 (จากพริกไทย), Sap001 (จากชมพู), และ St002 (จากสตอเบอรี่), *C. lindemuthianum* จำนวน 1 isolate ได้แก่ Pea001 (จากถั่วลิสง) และ *C. musae* จำนวน 1 isolate ได้แก่ Ban001 (จากกล้วยน้ำว้า)

จากการศึกษาลักษณะความต้องการทางสรีรวิทยาของเชื้อ *C. gloeosporioides* isolate M002-2 สาเหตุของโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง พบว่าเชื้อราเจริญเติบโตและสร้างสปอร์ได้ดีบนอาหาร PDA ที่ระดับ pH 6 ซึ่งเชื้อราดังกล่าวนอกจากจะสามารถทำให้เกิดโรคกับมะม่วงแล้วยังทำให้เกิดโรคบนพืชอาศัยชนิดอื่นๆ อีกเช่น ส้มเขียวหวาน ละมุด ฝรั่ง มะกอกน้ำ ขนุน มะเขือเทศ พริกหยวก และถั่วลิสงได้ด้วย และจากการใช้สารสกัดจากจุลินทรีย์ *Chaetomium globosum* และ *Ch. cupreum* ในการควบคุมเชื้อ *C. gloeosporioides* พบว่า pure compound ชื่อ chaetoglobosin C ซึ่งสกัดได้จากเชื้อรา *Ch. globosum* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ได้ดีที่สุดโดยสามารถยับยั้งได้มากกว่า 98 เปอร์เซ็นต์

Identification, Physiology, Host Ranges of *Colletotrichum* spp.
and Its Disease Causal Agent Control Using Microbial Extracts

Abstract

A study on morphology of *Colletotrichum* species 20 isolates which caused anthracnose of some plants were studied and identified into species level. They were yielded into 4 species as follows: *C. dematium* there were 2 isolates namely; Sb001 and Sb002 (sweet basil), *C. gloeosporioides* there were 16 isolates namely; A001 (dracaena), A002 (scheffera), A003 (mandivila), C001 (tangerine, Lampang), C002 (tangerine, Lampang), C003 (tangerine, Phrae), C004 (tangerine, Phrae), C006-1 (tangerine, Tak), C007-2 (tangerine, Tak), Ft001 (fox tail palm), M002-2 (mango var. Kheow-sawei), M003 (mango var. Ok-rong), Pay001 (papaya), Pep001 (pepper), Sap001 (rose apple), and St002 (strawberry), *C. lindemuthianum* there was 1 isolate namely; Pea001 (peanut) and *C. musae* there was 1 isolate namely; Ban001 (banana).

The result of a study on physiology of *C. gloeosporioides* M002-2 causing anthracnose of mango was conducted *in vitro*. It was shown that the suitable medium and acidity level for the growth of colony and spore production were observed on PDA pH6. Besides that, pathogenicity tests of *C. gloeosporioides* M002-2 on various host plants were shown that *C. gloeosporioides* could also caused anthracnose on tangerine, sapodilla, guava, *Elaeocarpus hygrophilus* Kurz., jack fruit, tomato, sweet pepper and peanut. The microbial extracts of *Chaetomium globosum* and *Ch. cupreum* were tested for controlling of *C. gloeosporioides in vitro*. It was found that pure compound from *Ch. globosum*, namely chaetoglobosin C could inhibit the radial growth and reduce the spore production of *C. gloeosporioides* which were more than 98 percent.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
สารบัญ	III
สารบัญตาราง	IV
สารบัญภาพ	V
สารบัญตารางผนวก	VII
สารบัญภาพผนวก	VIII
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	3
ขอบเขตการวิจัย	3
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
วิธีดำเนินงานวิจัย	8
ผลการวิจัย	10
วิจารณ์ผลการวิจัย	45
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	48
เอกสารอ้างอิง	51
ภาคผนวก	55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงเชื้อ <i>Colletotrichum</i> species ต่างๆ ที่แยกได้จากพืชอาศัยต่างชนิดกัน	11
2	แสดงค่าประเมินการเจริญเติบโตและจำนวนสปอร์ของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> บนอาหารที่มีระดับ pH แตกต่างกัน	33
3	แสดงเส้นผ่าศูนย์กลางแผลบนพืชอาศัยประเภทไม้ผลหลังจากปลูกเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> บน detached leaves หรือ detached fruits	36
4	แสดงเส้นผ่าศูนย์กลางแผลบนพืชอาศัยประเภทพืชผักและถั่วงอกหลังจากปลูกเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> บน detached leaves หรือ detached fruits	36
5	แสดงเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> บนสารสกัดจากจุลินทรีย์ที่มีความเข้มข้นต่างๆ	41



สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Isolate A001	12
2	แสดงเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Isolate A002	13
3	แสดงเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Isolate A003	14
4	แสดงเชื้อ <i>Colletotrichum musae</i> Isolate Ban001	15
5	แสดงเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Isolate C001	16
6	แสดงเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Isolate C002	17
7	แสดงเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Isolate C003	18
8	แสดงเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Isolate C004	19
9	แสดงเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Isolate C006-1	20
10	แสดงเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Isolate C007-2	21
11	แสดงเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Isolate Ft001	22
12	แสดงเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Isolate M002-2	23
13	แสดงเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Isolate M003	24
14	แสดงเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Isolate Pay001	25
15	แสดงเชื้อ <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> Isolate Pea001	26
16	แสดงเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Isolate Pep001	27
17	แสดงเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Isolate Sap001	28
18	แสดงเชื้อ <i>Colletotrichum dematium</i> Isolate Sb001	29
19	แสดงเชื้อ <i>Colletotrichum dematium</i> Isolate Sb002	30
20	แสดงเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Isolate St002	31
21	แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Isolate M002-2 ที่อายุ 4 วัน	34
22	แสดงการเกิดโรคบนพืชอาศัยประเภทไม้ผลหลังจากปลูกเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	37
23	แสดงการเกิดโรคบนพืชอาศัยประเภทพืชผักและถั่วลิสงหลังจากปลูกเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	38
24	แสดงการเข้าทำลายของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> บนผลฝรั่งที่อายุ 8 วัน	39

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
25	แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> บนสารสกัดจากจุลินทรีย์ <i>Trichoderma harzianum</i> และ <i>T. hamatum</i>	42
26	แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> บนสารสกัดจากจุลินทรีย์ <i>Chaetomium globosum</i> และ <i>Ch. Cupreum</i>	43
27	แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> บนสารสกัด chaetioglobosin C	44



สารบัญตารางผนวก

ตารางผนวกที่		หน้า
1	แสดงเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> บนอาหารชนิดต่างๆ	56



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพผนวก

ภาพผนวกที่		หน้า
1	แสดงเชื้อ <i>Chaetomium globosum</i> Cg8	57
2	แสดงเชื้อ <i>Chaetomium cupreum</i> Cc9	58
3	แสดงเชื้อ <i>Trichoderma harzianum</i> T88-2	59



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทนำ

ความสำคัญและที่มา

เชื้อรา *Colletotrichum* spp. เป็นสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจหลายชนิด โดยโรคดังกล่าวจะเป็นชื่อเรียกลักษณะอาการของโรคที่มีแผลเป็นจุดมีขอบเขต การเรียกชื่อโรคนี้จะจำกัดเฉพาะโรคที่เกิดกับเชื้อราที่มีการสร้าง conidia บน fruiting structure ที่มีลักษณะคล้ายจานก้นลึกที่เรียกว่า acervulus ได้แก่เชื้อราใน genus *Pestalotia*, *Melanconium* และ *Epicoccum* เป็นต้น สำหรับเชื้อรา *Colletotrichum* นี้ก็เป็นเชื้อราอีก genus หนึ่งที่รู้จักกันมานาน และในปัจจุบันพบว่าเชื้อดังกล่าวสามารถทำความเสียหายให้แก่พืชเศรษฐกิจอื่น ๆ ได้อย่างกว้างขวางนับตั้งแต่พืชไร่ พืชสวน ไม้ดอกไม้ประดับ และไม้ผล โดยสามารถเข้าทำลายได้ทุกระยะของการเจริญเติบโตและทุกส่วนของพืช (Bailey and Jeger, 1992) โรคนี้พบว่าเชื้อสาเหตุเริ่มแรก (primary inoculum) มักจะติดมากับเมล็ดจากต้นที่เป็นโรค (seed borne) (Balardin *et al.*, 1997) หรือเชื้อด่างซึ่งอยู่บนเศษซากพืชที่ตกค้างอยู่บนดิน และจะระบาดได้ดีในสภาพอากาศร้อนชื้นและมีฝนตกชุก หรือมีหมอกลงจัด โดยมักจะปลิวไปกับลม ฝน หรือติดมากับแมลง ตลอดจนเครื่องมือการเกษตรต่างๆ อย่างไรก็ตาม นอกจากนั้นยังพบว่าแอนแทรคโนสเป็นโรคที่สำคัญหลังการเก็บเกี่ยว (post-harvest) ของพืชแทบทุกชนิดอีกด้วย ซึ่งจะทำให้ผลไม้น่าเกิดความเสียหายมาก ดังเช่นที่พบในมะม่วง (*Mangifera indica* L.) ซึ่งเป็นไม้ผลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและนิยมปลูกกันมากในประเทศไทย โดยสามารถปลูกได้ทั่วทุกภาคของประเทศ และสามารถปลูกได้ดีในดินแทบทุกชนิด อีกทั้งยังทนต่อความแห้งแล้งและทนน้ำได้ดีพอสมควร การปลูกมะม่วงนอกจากจะปลูกไว้เพื่อบริโภคภายในประเทศ นับตั้งแต่ปลูกไว้ในบริเวณบ้านและปลูกเพื่อการค้าเป็นสวนขนาดใหญ่แล้ว ก็ยังสามารถส่งเป็นสินค้าออกได้อีกด้วย ซึ่งพบว่าสามารถทำรายได้ให้ประเทศในปีหนึ่งๆ คิดเป็นเงินหลายล้านบาททีเดียว โดยแหล่งผลิตมะม่วงที่สำคัญของไทย ได้แก่ จังหวัดฉะเชิงเทรา ราชบุรี ปทุมธานี นครราชสีมา เชียงใหม่ และปราจีนบุรี ซึ่งผลผลิตมะม่วงที่สามารถส่งออกจำหน่ายยังต่างประเทศมีทั้งมะม่วงสด และมะม่วงบรรจุกระป๋อง โดยมะม่วงสดมีประเทศลูกค้าที่สำคัญ ได้แก่ ฮองกง มาเลเซีย สิงคโปร์ ญี่ปุ่น และได้หวัน ส่วนมะม่วงบรรจุกระป๋องมีประเทศลูกค้าที่สำคัญ คือ ออสเตรเลีย แคนาดา เนเธอร์แลนด์ และสหรัฐอเมริกา (อารมณ, 2537) นอกจากนี้ยังพบว่าหลายๆ ประเทศในเขตร้อนก็นิยมปลูกมะม่วงกันมากเช่นเดียวกัน และในปัจจุบันนี้การผลิตมะม่วงของประเทศไทยได้รับการพัฒนาขึ้นเป็นอย่างมาก ซึ่งเป็นผลมาจากความร่วมมือในการค้นคว้าวิจัยไม้ผลชนิดนี้จากหลายๆ ฝ่ายที่เกี่ยวข้อง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการขยายพันธุ์มะม่วง ตลอดจนการคัดเลือกเมล็ด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พันธุ์ การเปลี่ยนยอดพันธุ์ การดูแลรักษาให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพ การบรรจุหีบห่อที่ดี และการส่งเสริมทางด้านการตลาดทั้งภายในและต่างประเทศ โดยมีมะม่วงหลายพันธุ์ที่ได้รับการพัฒนาและเป็นที่ยอมรับกันอย่างแพร่หลาย ได้แก่ พันธุ์น้ำดอกไม้ เขียวเสวย อกร่อง หนังกกลางวัน พิมเสน แรด และโชคอนันต์ เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามถึงแม้การผลิตมะม่วงจะได้รับการพัฒนาอย่างที่ดีมาแล้ว ปัจจุบันหนึ่งซึ่งจะมีผลต่อการจำกัดการผลิตทั้งในด้านปริมาณและคุณภาพของมะม่วง นั่นก็คือปัญหาจากโรคพืช โดยเฉพาะโรคแอนแทรคโนส ซึ่งมีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. ซึ่งได้สร้างความเสียหายให้แก่มะม่วงเป็นจำนวนมากตามที่ได้กล่าวมาแล้ว

จากสาเหตุที่เชื้อรา *Colletotrichum* สามารถเข้าทำลายพืชได้อย่างกว้างขวางโดยพืชชนิดหนึ่งๆ อาจถูกเชื้อ *Colletotrichum* หลายๆ species เข้าทำลาย ตัวอย่างเช่น สตรอเบอร์รี่ในประเทศสหรัฐอเมริกา และอิสราเอล ซึ่งมีเชื้อสาเหตุโรคถึง 3 ชนิดคือ *C. fragariae*, *C. gloeosporioides* และ *C. acutatum* (Freeman and Katan, 1997; King et al., 1997) ในทำนองเดียวกันเชื้อ *Colletotrichum* ชนิดหนึ่งๆ ก็มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับพืชหลายชนิดได้เช่นเดียวกัน ดังเช่นรายงานของ Adaskaveg and Hartin (1997) และ Timmer et al. (1998) ที่พบว่าเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของอัลมอนด์ (almond) – ท้อ ถั่วพีแคน (pecan) แอปเปิ้ล และสตรอเบอร์รี่ เกิดจากเชื้อราชนิดเดียวกันคือ *C. acutatum* จากสาเหตุนี้เองจึงทำให้เกิดความสับสนในการจำแนกเชื้อ *Colletotrichum* ขึ้น ถึงแม้ว่านักโรคพืชบางกลุ่มได้ทำการจำแนกเชื้อโดยอาศัยอัตราการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน หรืออุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต (optimal temperature) แตกต่างกัน ตลอดจนการผลิตสารบางอย่างหรือ pigment ของเชื้อราเข้ามาช่วยด้วย เช่น *C. acutatum* มักจะสร้างสารสีแดงบนอาหาร ซึ่งต่างจาก *C. gloeosporioides* ที่พบว่า culture มักมีสีขาวถึงเทาเข้มและมักมีอัตราการเจริญเติบโตเร็วกว่า *C. acutatum* (Freeman et al., 1998) ดังนั้นเชื้อรา *Colletotrichum* ในแต่ละ isolate จึงน่าจะมี ความแตกต่างกันทางด้านลักษณะพื้นฐานวิทยา ซึ่งอาจจะขึ้นอยู่กับพืชอาศัยที่ต่างชนิดกัน

และเนื่องจากเชื้อรา *Colletotrichum* ทำให้พืชเกิดความเสียหายได้อย่างกว้างขวางตามที่กล่าวมาแล้ว จึงทำให้เกิดการระบาดของโรคแอนแทรคโนสเป็นไปอย่างกว้างขวางเช่นเดียวกัน และเป็นผลทำให้เกษตรกรมีการใช้สารเคมีเข้ามาควบคุมโรคดังกล่าวมากขึ้นในแต่ละปี ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่าสารเคมีนอกจากจะให้ผลดีในการป้องกันกำจัดโรคพืชแล้ว ส่วนมากยังก่อให้เกิดปัญหาต่างๆ ตามมามากมาย เช่น การเกิดมลพิษในสภาพแวดล้อม การมีพิษตกค้างในผลิตภัณฑ์เกษตร ตลอดจนเป็นต้นเหตุชักนำให้จุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชด้านทานต่อสารเคมีดังกล่าวได้ด้วย เพราะฉะนั้นในด้านการป้องกันกำจัด จึงน่าจะนำเอาวิธีการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีเข้ามาใช้ เพื่อให้สอดคล้องกับกระแสของโลกที่มุ่งเน้นให้มีการหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมี ดังนั้นการศึกษาค้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นี้จึงมุ่งเน้นในการจัดจำแนกเชื้อ *Colletotrichum* spp. โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ตลอดจนทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนพืชอาศัยอื่นๆ เพื่อเป็นแนวทางเบื้องต้นในการป้องกันการแพร่ระบาดของโรคแอนแทรคโนส อีกทั้งศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากจุลินทรีย์ต่อต้าน *Chaetomium globosum* , *Ch. cupreum* , *Trichoderma harzianum* และ *T. hamatum* โดยมีรายงานการใช้สารสกัดจากจุลินทรีย์ต่อต้านดังกล่าวในการควบคุมเชื้อโรคพืชอย่างได้ผลมาแล้ว เช่น ใช้ควบคุมเชื้อ *Fusarium*, *Phytophthora* และ *Botrytis* เหล่านี้เป็นต้น (เกษม, 2535; Elad et al., 1992; Heller and Theiler, 1994; Kahl et al., 1995) ดังนั้นในการทดลองนี้จึงได้ลองนำเอาสารสกัดจากจุลินทรีย์ต่อต้านดังกล่าวมาควบคุมเชื้อ *Colletotrichum* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงเพื่อศึกษาถึงประสิทธิภาพต่อการควบคุมเชื้อโรคพืชดังกล่าว

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา (morphology) และจัดจำแนกเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ให้อยู่ในระดับ species ที่ถูกต้อง
2. ทดสอบความสามารถต่อการเข้าทำลายพืชอาศัยชนิดอื่นๆ ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*
3. ทดสอบหาสภาพอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. gloeosporioides*
4. ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากจุลินทรีย์ต่อการควบคุมเชื้อ *C. gloeosporioides*

ขอบเขตการวิจัย

เก็บตัวอย่างพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจประเภทไม้ผล พืชผัก และไม้ดอกไม้ประดับในบริเวณเขตภาคกลางและภาคเหนือของประเทศไทย ที่แสดงอาการโรคแอนแทรคโนส จำแนกเชื้อราโดยศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา ทดสอบการเกิดโรคบนพืชอาศัยชนิดอื่นๆ ทดสอบหาสภาพอาหารและระดับ pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Colletotrichum* ตลอดจนทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากจุลินทรีย์ต่อต้านต่อการควบคุมเชื้อ *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาการจำแนกเชื้อรา ความต้องการทางสรีรวิทยา และความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อ *Colletotrichum* spp.

Natural et al. (1994) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับความต้องการอาหารและความเป็นกรด-ด่างของเชื้อ *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของหน้่าวัว (*Anthurium andreanum*) พบว่าเชื้อมีการเจริญเติบโตโดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโคโคนีและสร้างสปอร์มากที่สุดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ pH 5.5 เมื่อป่มในอุณหภูมิห้อง ส่วนบนอาหาร corn meal agar, carrot decoction agar และ tomato fruit decoction agar พบว่าเชื้อรามีการเจริญเติบโตดี แต่ปริมาณการสร้างสปอร์น้อยกว่าในอาหาร PDA

Denoyes and Baudry (1995) ได้ทำการจัดจำแนกเชื้อ *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของสตรอเบอรี่ในประเทศฝรั่งเศส จำนวน 16 isolates โดยใช้วิธีการเปรียบเทียบลักษณะสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยา พบว่า 14 isolates เป็นเชื้อ *C. acutatum* โดยมีรูปร่าง conidia เป็นแบบ fusiform conidia และมีการเจริญเติบโตช้า ส่วน 2 isolates ที่เหลือเป็น *C. gloeosporioides* ซึ่งมีรูปร่าง conidia เป็นแบบ cylindrical conidia และมีการเจริญเติบโตเร็ว สำหรับความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อ *C. gloeosporioides* ในสตรอเบอรี่พันธุ์อ่อนแอ พันธุ์ต้านทานปานกลาง และพันธุ์ต้านทานมากอยู่ในระดับต่ำ ในขณะที่ *C. acutatum* สามารถแบ่งระดับความสามารถในการทำให้เกิดโรคออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มแรกทำให้เกิดโรครุนแรงในพันธุ์ต้านทานปานกลางและต้านทานมาก ส่วนกลุ่มที่สองทำให้เกิดโรครุนแรงในพันธุ์ต้านทานปานกลาง แต่ไม่ทำให้เกิดโรคในพันธุ์ต้านทานมาก

Thomas and Frederiksen (1995) ได้ศึกษาถึงการสร้างสปอร์ของเชื้อ *C. graminicola* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของข้าวฟ่างในอาหารต่างชนิดกัน พบว่าในอาหารแข็งคือ potato dextrose agar และ oat meal agar พบการสร้างสปอร์ซึ่งมีรูปร่างแบบ falcate ภายในระยะเวลา 7 วัน โดยมีจำนวนการสร้างสปอร์ประมาณ 21×10^4 และ 25×10^4 conidia ต่อตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนในอาหารเหลวคือ Fries's liquid medium และ potato dextrose broth พบการสร้างสปอร์ที่มีรูปร่างแบบ oval ภายในระยะเวลา 2 วัน โดยมีจำนวนการสร้างสปอร์เท่ากับ 1.3×10^6 และ 2.8×10^6 conidia ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และใน potato dextrose broth พบว่า oval conidia ลดจำนวนลงในวันที่ 4 ถึงวันที่ 6 แต่กลับมีการสร้าง falcate conidia ขึ้นมาแทน และภายในระยะเวลา 10 วันพบ falcate conidia มีจำนวนอยู่ระหว่าง 1.9×10^6 ถึง 4.6×10^6 conidia ต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Byrne *et al.* (1997) รายงานการปลูกเชื้อโดยใช้ conidial suspension ของเชื้อ *C. coccodes* สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของมะเขือเทศ ที่ความเข้มข้น 5×10^5 conidia ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร โดยหยดลงบนใบมะเขือเทศ และบ่มภายใต้สภาพความชื้นสูงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการตรวจนับการงอกของ conidia และการสร้าง appressoria ทุก 2 ชั่วโมง พบว่า ใบมะเขือเทศที่บ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมงมีปริมาณการงอกของ conidia สูงที่สุดถึง 68.3 เปอร์เซ็นต์ และพบการสร้าง melanized appressoria มากที่สุดถึง 62 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการสร้าง unmelanized appressoria พบมากที่สุดเพียง 38.3 เปอร์เซ็นต์เมื่อบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

Goes and Kimati (1997a; 1997b) ทำการศึกษาเชื้อ *C. acutatum* และ *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของส้มในประเทศบราซิล พบว่าสามารถจัดจำแนกเชื้อ ออกเป็น 3 กลุ่มคือ SGO (slow-growing orange), KLA (key lime anthracnose) และ FG (fast-growing gray) ซึ่งเชื้อดังกล่าวมักจะทำให้ผลอ่อนของส้มร่วงและกลีบดอกเกิดจุดแห้งตาย โดยกลุ่มใหญ่ที่พบและทำให้เกิดโรคมากที่สุดคือ FG และพบว่าเชื้อรากลุ่มดังกล่าวมีการสร้าง appressoria ชนิด lobated มากที่สุด ส่วนกลุ่ม SGO และ KLA สร้าง appressoria จำนวนน้อย ซึ่งเป็นชนิด clavate และ round appressoria ตามลำดับ

Norman and Strandberg (1997) ศึกษาโรคแอนแทรกโนสของ leatherleaf fern ในรัฐฟลอริดา ซึ่งเกิดจากเชื้อ *C. acutatum* และเป็นสาเหตุทำให้ผลผลิตของพืชตระกูลเฟิร์นบาง ชนิดลดลงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่าเชื้อดังกล่าวสามารถมีชีวิตอยู่รอดได้ในเศษซากพืช และสามารถมีชีวิตรอดได้นานมากกว่า 3 เดือนภายใต้สภาพห้องปฏิบัติการ ส่วนความมีชีวิตรอดของ conidia และ sclerotia ลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อดินอยู่ในสภาพที่มีความชื้น 12 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป แต่ในสภาพดินแห้งพบว่า conidia สามารถมีชีวิตอยู่รอดได้นานถึง 12 เดือน และ conidial suspension ที่ความเข้มข้นต่ำสุดคือ 100 conidia ต่อมิลลิลิตร สามารถทำให้เกิดการติดเชื้อบน ใบ leatherleaf fern ได้

Sanogo *et al.* (1997) ศึกษาความรุนแรงของโรคแอนแทรกโนสของมะเขือเทศซึ่งเกิด จากเชื้อ *C. coccodes* ในพินนิคลาเนีย ขึ้นอยู่กับปริมาณน้ำฝนและระยะเวลาที่ฝนตก รวมทั้งยัง ขึ้นอยู่กับความชื้นสัมพัทธ์และอุณหภูมิในบรรยากาศด้วย โดยพบว่าทุกๆ 4 วันที่ทำการสำรวจตั้งแต่วันที่ 27 สิงหาคม 2536 ถึง 29 สิงหาคม 2537 เมื่อมีฝนตกทำให้ผลมะเขือเทศเกิดการติดเชื้อ 15 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ Sanoko and Pennypacker (1997) ยังพบการงอกของ sclerotia ของเชื้อ *C. coccodes* 2 ประเภท หลังจากวาง sclerotia บนกระดาษกรองที่มีความชื้นซึ่งวางอยู่ในจานเลี้ยงเชื้อที่หุ้มด้วย parafilm และไม่หุ้ม โดยบ่มจานเลี้ยงเชื้อดังกล่าวไว้ที่อุณหภูมิ 10-34 องศาเซลเซียส ภายใต้ช่วงแสงสว่าง 14 ชั่วโมง เป็นเวลา 5 วัน พบว่าในจานเลี้ยงเชื้อที่หุ้มด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

parafilm มีการงอกของ sclerotia เป็นจำนวนมาก ส่วนงานเลี้ยงเชื้อที่ไม่ถูกห่อหุ้มมีการสร้าง setae และ conidial masses ที่สั้นกว่าบน sclerotia และพบจำนวน colony forming unit (cfu) ของ sclerotia ในงานเลี้ยงเชื้อที่ไม่ได้ห่อหุ้มด้วย parafilm มากกว่าในงานเลี้ยงเชื้อที่ถูกห่อหุ้ม และในสภาพภายใต้แสงสว่างพบจำนวน cfu มากกว่าในสภาพมืดเช่นเดียวกัน

การศึกษาการควบคุมเชื้อ *Colletotrichum* และเชื้อโรคพืชชนิดอื่นๆ โดยใช้จุลินทรีย์ต่อต้านและสารสกัดจากจุลินทรีย์

การควบคุมเชื้อโรคพืชโดยใช้จุลินทรีย์ต่อต้านนั้น มีรายงานที่แสดงถึงความสำเร็จต่อการใช้จุลินทรีย์ต่อต้านดังกล่าว โดย เกษม (2535) รายงานว่าเม็ดยาเชื้อที่ผลิตจาก *Ch. cupreum* สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศซึ่งเกิดจากเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ในสภาพไร่ได้โดยสามารถลดอัตราการเกิดโรคให้เหลือเพียง 7 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น และในทำนองเดียวกันกับ Elad *et al.* (1992) รายงานว่าการใช้ *T. harzianum* สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อ *B. cinerae* สาเหตุโรค grey mould ของมะเขือเทศ แตงกวา และสตรอเบอรี่ได้นอกจากนั้น Amemiya *et al.* (1994) ได้รายงานการใช้สารสกัด chaetoglobosin A ซึ่งสกัดได้จากเชื้อ *Chaetomium globosum* ในการควบคุมโรค *Verticillium wilt* ของมะเขือเทศ พบว่าสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อ *Verticillium dahliae* ได้อย่างสมบูรณ์ที่ความเข้มข้น 32 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนั้นยังพบว่าสารสกัดดังกล่าวสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *V. albo-atrum* และ *Rhizoctonia solani* ได้อีกด้วย อีกทั้งเชื้อ *Ch. globosum* สายพันธุ์ที่มีการสร้างสาร BHT และ chaetomin ก็สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pythium ultimum* สาเหตุโรค damping-off ของ sugarbeet ได้เช่นเดียวกัน (Dio Pietro *et al.*, 1992) รวมทั้ง Kahl *et al.* (1995) ได้รายงานว่า จุลินทรีย์ต่อต้านดังกล่าวสามารถจำกัดการเจริญเติบโตและยับยั้งการสร้างสปอร์ของ *B. cinerae* สาเหตุโรคเน่าของ lily ได้

Heller and Theiler (1994) ได้ศึกษาถึงการใช้เชื้อ *Ch. globosum*, *Gliocladium virens* และ *T. viride* ในการเป็น antagonists และ mycoparasites ของเชื้อ *Phytophthora* 4 species คือ *P. cinnamoni*, *P. cactorum*, *P. fragariae* และ *P. nicotinae* พบว่า antagonist ทั้งสามชนิดสามารถเจริญครอบคลุมไปบนโคโลนีของเชื้อ *Phytophthora* และสามารถทำลายเซลล์ของเชื้อให้แตกได้ นอกจากนั้นยังพบว่าสารเคมี benlate มีผลทำให้ประสิทธิภาพของ antagonist ลดลง โดยเมื่อทดสอบใน dual culture พบว่า antagonist ลดความ active ลงหลังจากถูก treated ด้วยสารเคมีเป็นเวลา 77 วัน

Hwang and Kim (1995) รายงานการใช้สารปฏิชีวนะ tubercidin ซึ่งสกัดได้จากเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces violaceoniger* ในการควบคุมการเจริญของเชื้อ *C. gloeosporioides*,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Phytophthora capsici และ *Magnaporthe grisea* ในต้นพริกทั้งในสภาพ *in vitro* และ *in vivo* พบว่าสาร tubercidin ที่ความเข้มข้นต่ำกว่า 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. capsici* และ *M. grisea* ได้ดีกว่า *C. gloeosporioides* ซึ่งพบว่ามีประสิทธิภาพเท่ากับหรือมากกว่าการใช้สารเคมี metalaxyl และพบว่า tubercidin ที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถทำให้เกิดความเป็นพิษ (phytotoxic) ต่อต้นพริกได้

Freitas and Pizzinatto (1997) ศึกษาเกี่ยวกับการควบคุมโรคแอนแทรกในสของฝ้ายซึ่งเกิดจากเชื้อ *C. gossypii* โดยใช้เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescent* และ *Bacillus* ในห้องปฏิบัติการ พบว่าการทดสอบบนอาหาร King B *P. fluorescent* เกือบทุก isolate สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *C. gossypii* ได้ ส่วนการทดสอบบนอาหาร PDA พบว่า เชื้อ *P. fluorescent* เพียง 2 isolates และ *Bacillus* ทุก isolate สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อโรคได้ สำหรับการทดสอบในโรงเรือนโดยทำการปลูกเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านและเชื้อโรคพืชลงในเมล็ดและสังเกตการงอก พบว่าใน treatment ที่มีการปลูกเชื้อ *C. gossypii* จะลดความสามารถในการงอกของเมล็ดลง และ *P. fluorescent* 4 isolates มีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าในกรณีที่ไม่มีการปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืชลงไปเท่านั้น ดังนั้นจึงแสดงให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวมีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเท่านั้น แต่ไม่มีคุณสมบัติในการควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. gossypii*

Lo et al. (1997) ศึกษาการใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* strain 1295-22 ควบคุมเชื้อ *Pythium* สาเหตุโรครากเน่าใน creeping bentgrass โดยใช้วิธีพ่น conidial suspension และใช้เม็ดยาเชื้อ พบว่าทั้งสองวิธีสามารถลดการเกิดโรครากเน่าได้ทั้งในสภาพโรงเรือนและในสภาพไร่ และพบว่าประชากรของ *T. harzianum* บริเวณรอบๆ รากพืชมีปริมาณเพิ่มขึ้น 10-100 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับ control

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา (morphology) เพื่อจำแนกเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ

ทำการเก็บตัวอย่างพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจที่แสดงอาการโรคแอนแทรคโนส และนำมาแยกเชื้อโดยวิธี tissue transplanting จากนั้นย้ายเชื้อรามาเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มภายใต้อุณหภูมิห้อง (28-30 องศาเซลเซียส) เพื่อให้เจริญเป็นเชื้อบริสุทธิ์ ทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราดังกล่าว โดยศึกษาลักษณะโคโลนี สีของ culture รูปร่างและขนาดของสปอร์ ตลอดจนโครงสร้างต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และทำการจำแนกเชื้อ (identification) ให้อยู่ในระดับ species ที่ถูกต้อง

2. การศึกษาลักษณะความต้องการทางสรีรวิทยา (physiology) ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง

วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD จำนวน 4 ขั้ว โดยนำเชื้อ *C. gloeosporioides* มาเลี้ยงขยายปริมาณบนอาหาร PDA และใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตรเจาะส่วนรอบนอกโคโลนี จากนั้นย้ายเชื้อรามาเลี้ยงบนอาหาร 4 ชนิดที่ต้องการจะทดสอบในจานอาหารขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5.5 เซนติเมตร โดยมีปัจจัยที่จะศึกษา 2 ปัจจัย คือ

ปัจจัย A = ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งมี 4 ชนิด คือ

A1 = potato dextrose agar (PDA)

A2 = potato sucrose agar (PSA)

A3 = mango fruit agar (MFA)

A4 = mango leaf agar (MLA)

ปัจจัย B = ระดับความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของอาหาร ซึ่งมี 6 ระดับ คือ

B1 = pH 3

B2 = pH 4

B3 = pH 5

B4 = pH 6

B5 = pH 7

B6 = pH 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการบ่มเชื้อดังกล่าวที่อุณหภูมิห้อง (28-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 4 วัน บันทึกผลการทดลองโดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีและนับจำนวนการสร้างสปอร์ของเชื้อรา

3. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* บนพืชอาศัย (host range) ชนิดอื่น ๆ

เลี้ยงเชื้อ *C. gloeosporioides* บนอาหาร PDA และทำการปลูกเชื้อลงบนใบพืชชนิดอื่น ๆ ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ โดยใช้ปลายเข็มแทง 4-5 จุดเพื่อให้เกิดแผลบนใบพืชก่อนแล้วจึงตัดชิ้นวัชที่มีเชื้อเจริญขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตรวางลงบนรอยแผลนั้น โดยทำการทดลอง isolate ละ 4 ซ้ำๆ ละ 5 ใบ และใบละ 4 จุด นำใบมะม่วงที่ปลูกเชื้อเรียบร้อยแล้วมาบ่มไว้ในถุงพลาสติกขึ้นที่อุณหภูมิห้อง (28-30 องศาเซลเซียส) สังเกตความรุนแรงของโรคที่เกิดขึ้นและบันทึกผลการเกิดโรคโดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผล จากนั้นทำการพิสูจน์โรคว่าอาการที่ปรากฏบนใบมะม่วงเป็นอาการเนื่องจากการเข้าทำลายของเชื้อ *Colletotrichum* จริงหรือไม่ โดยการแยกเชื้อราจากชิ้นส่วนเนื้อเยื่อพืชบริเวณขอบแผลมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อและทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาอีกครั้งหนึ่ง

4. การควบคุมเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงโดยใช้สารสกัดจากจุลินทรีย์

ทำการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ โดยใช้สารสกัดจากจุลินทรีย์ 5 ชนิด โดยเป็น crude extract 4 ชนิด ได้แก่ *Trichoderma harzianum* (สกัดโดยใช้ ethyl acetate), *T. hamatum* (สกัดโดยใช้ methyl alcohol), *Chaetomium globosum* (สกัดโดยใช้ hexane), *Ch. cupreum* (สกัดโดยใช้ hexane) และ pure compound 1 ชนิด คือ chaetoglobosin C (สกัดได้จาก *Ch. globosum*) โดยจุลินทรีย์ดังกล่าวได้รับความอนุเคราะห์จาก รศ.ดร. เกษม สร้อยทอง ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และทำการสกัดสารโดย ผศ.ดร. สมเดช กนกเมธากุล ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

โดยเตรียมสารสกัดข้างต้นให้ได้ความเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 500 ppm บนอาหาร PDA วางชิ้นส่วนเชื้อ *C. gloeosporioides* เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 ซม. ลงบนจานอาหารเส้นผ่าศูนย์กลาง 5.5 ซม. ที่มีส่วนผสมดังกล่าว บ่มจานอาหารไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 5 วัน จากนั้นวัดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี และนับจำนวนการสร้างสปอร์ นำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป IRRISTAT

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการวิจัย

1. การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา (morphology) เพื่อจำแนกเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ

จากการแยกเชื้อ *Colletotrichum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสในพืชอาศัยชนิดต่างๆ โดยวิธี tissue transplanting และทำการจำแนกเชื้อดังกล่าวโดยวิธีศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา (morphology) อันประกอบด้วยศึกษาลักษณะการเจริญเติบโต สีของโคโลนี รูปร่างและขนาดของสปอร์ ตลอดจนโครงสร้างต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ซึ่งทำการศึกษาทั้งหมด 20 isolates พบว่าสามารถจำแนกเชื้อ *Colletotrichum* ออกได้เป็น 4 species ดังนี้คือ *C. dematium* จำนวน 2 isolates ได้แก่ isolate Sb001 และ Sb002 (จากโหระพา), *C. gloeosporioides* จำนวน 16 isolates ได้แก่ isolate A001 (จากวาสนา), A002 (จากหนวดปลาหมึก), A003 (จากอมรเบ็กฟ้า), C001 (จากส้มโชกุน ลำปาง), C002 (จากส้มโชกุน ลำปาง), C003 (จากส้มเขียวหวาน แพร่), C004 (จากส้มเขียวหวาน แพร่), C006-1 (จากส้มเขียวหวาน ตาก), C007-2 (จากส้มโชกุน ตาก), Ft001 (จากปาล์มหางหมาป่า), M002-2 (จากมะม่วงเขียวเสวย), M003 (จากมะม่วงอกร่อง), Pay001 (จากมะละกอ), Pep001 (จากพริกไทย), Sap001 (จากชมพู) และ St002 (จากสตรอเบอรี่), *C. lindemuthianum* จำนวน 1 isolate ได้แก่ Pea001 (จากถั่วลิสง) และ *C. musae* จำนวน 1 isolate ได้แก่ Ban001 (จากกล้วยน้ำว้า) (ตารางที่ 1) รวมทั้งได้แสดงรายละเอียดของเชื้อราในแต่ละ isolate ไว้ในภาพที่ 1 ถึงภาพที่ 20 โดยจะพบความแตกต่างทั้งในด้านการเจริญเติบโต สีของ culture ตลอดจนโครงสร้างต่างๆ ซึ่งจากวิธีการดังกล่าวสามารถแยกความแตกต่างของเชื้อราที่อยู่ต่างกลุ่ม species ได้ แต่ไม่สามารถแยกความแตกต่างกันอย่างเด่นชัดของเชื้อราในกลุ่ม species เดียวกันได้ ดังนั้นจึงควรจะทำการศึกษาโดยใช้ลักษณะสัณฐานควบคู่ไปกับเทคนิควิธีการอื่นๆ ในลำดับที่สูงขึ้นต่อไป

ตารางที่ 1 แสดงเชื้อ *Colletotrichum* species ต่างๆ ที่แยกได้จากพืชอาศัยต่างชนิดกัน

Isolate	พืชอาศัย	ส่วนของพืชที่เป็นโรค	Species
A001	วาสนา	ใบ	<i>C. gloeosporioides</i>
A002	หนวดปลาหมึก	ใบ	<i>C. gloeosporioides</i>
A003	อมรเบ็กฟ้า	ใบ	<i>C. gloeosporioides</i>
Ban001	กล้วยน้ำว้า	ผล	<i>C. musae</i>
C001	ส้มโชกุน (ลำปาง)	ผล	<i>C. gloeosporioides</i>
C002	ส้มโชกุน (ลำปาง)	ผล	<i>C. gloeosporioides</i>
C003	ส้มเขียวหวาน (แพร่)	ผล	<i>C. gloeosporioides</i>
C004	ส้มเขียวหวาน (แพร่)	ผล	<i>C. gloeosporioides</i>
C006-1	ส้มเขียวหวาน (ตาก)	ผล	<i>C. gloeosporioides</i>
C007-2	ส้มโชกุน (ตาก)	ใบ	<i>C. gloeosporioides</i>
Ft001	ป่าส้มทางหมาป่า	ใบ	<i>C. gloeosporioides</i>
M002-2	มะม่วงเขียวเสวย	ใบ	<i>C. gloeosporioides</i>
M003	มะม่วงอกร่อง	ใบ	<i>C. gloeosporioides</i>
Pay001	มะละกอ	ผล	<i>C. gloeosporioides</i>
Pea001	ถั่วลิสง	ใบ	<i>C. lindemuthianum</i>
Pep001	พริกไทย	ใบ	<i>C. gloeosporioides</i>
Sap001	ชมพู	ผล	<i>C. gloeosporioides</i>
Sb001	โหระพา	ใบ	<i>C. dematium</i>
Sb002	โหระพา	ใบ	<i>C. dematium</i>
St002	สตรอเบอร์รี่	ใบ	<i>C. gloeosporioides</i>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

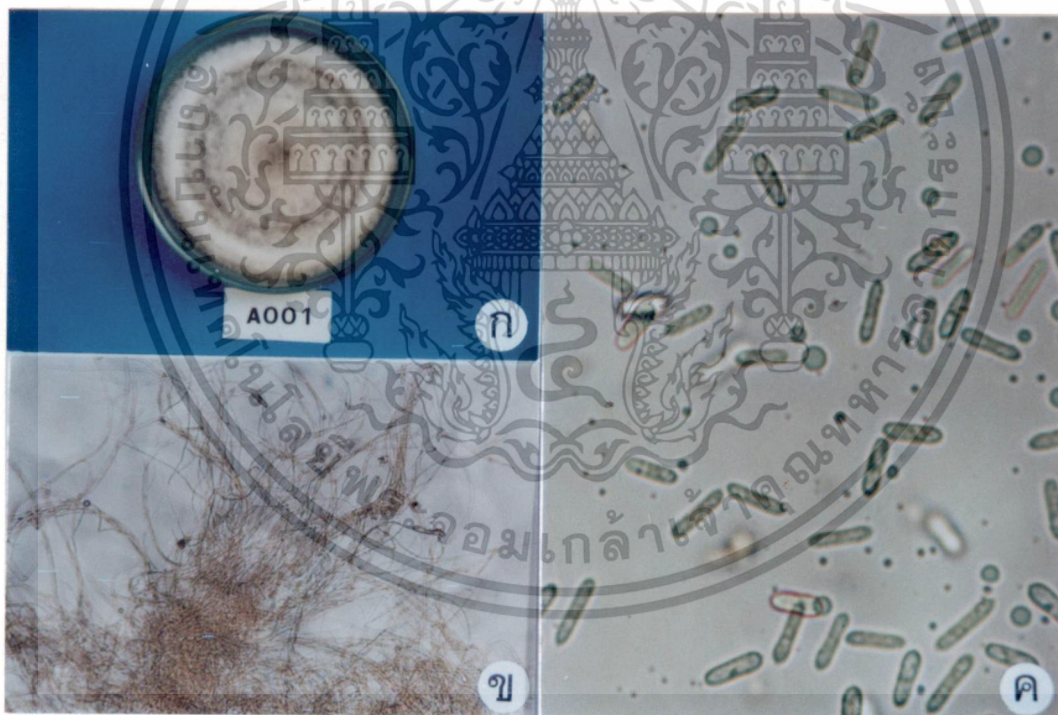
โรคแอนแทรกโนสของวาสนา (*Dracaena* sp.)

Isolate A001

เชื้อสาเหตุ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีขาวอมน้ำตาล สร้างเส้นใยฟูสีน้ำตาลอ่อน โดยเจริญเป็นวงบนผิวหน้าอาหาร เจริญเติบโตค่อนข้างช้าโดยเจริญมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตรที่อายุ 8 วัน ขอบโคโลนีค่อนข้างเรียบ สร้าง conidial masses สีส้มอมชมพูไม่มากนัก conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี เซลเดียว ขนาดประมาณ $11.25-16.25 \times 2.5-3.75$ ไมโครเมตร ไม่พบการสร้าง sclerotia, chlamydospores และ setae (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 แสดงเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* Isolate A001

ก. โคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 8 วัน

ข. เส้นใย 100 เท่า

ค. conidia 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

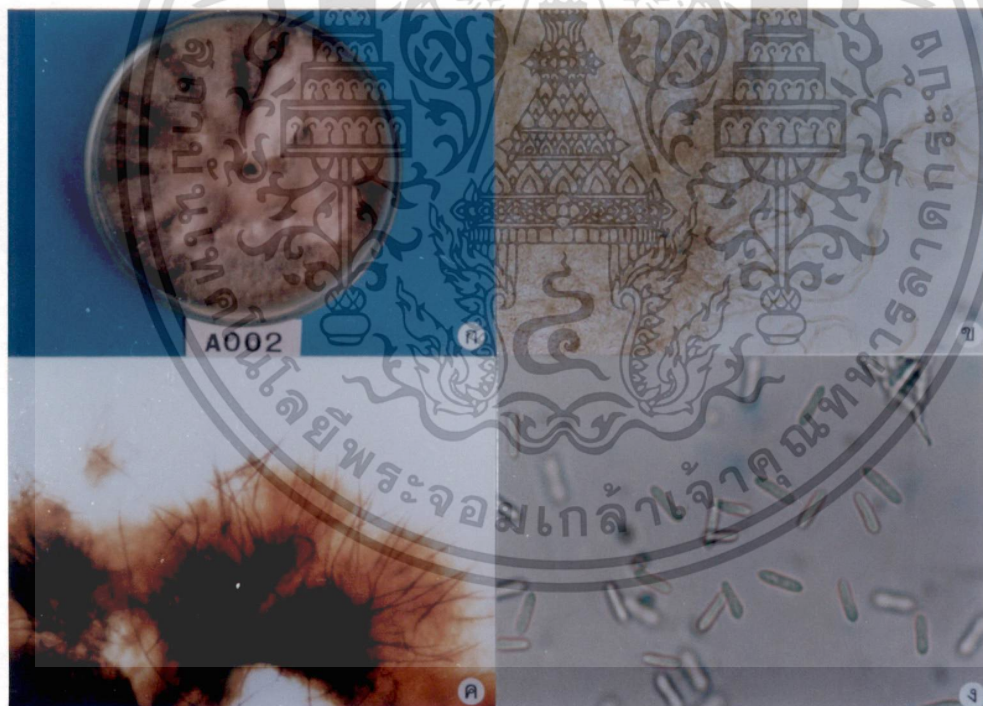
โรคแอนแทรกโนสของหนวดปลาหมึก (*Scheffera* sp.)

Isolate A002

เชื้อสาเหตุ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีน้ำตาล และพบการเจริญเป็นแถบสีน้ำตาลเข้มจากบริเวณกึ่งกลางโคโลนี สร้างเส้นใยฟูสีน้ำตาลอ่อน บางสภาวะอาจมีการเจริญของเส้นใยมากหรือน้อยแตกต่างกัน มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตรที่อายุ 7 วัน ขอบโคโลนีเรียบ สร้าง conidial masses สีส้มอมชมพูกระจายบนผิวน้ำอาหาร conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี เซลเดียว ขนาดประมาณ $12.5-15 \times 3.5-5$ ไมโครเมตร ไม่สร้าง sclerotia และ chlamydospores แต่พบการสร้าง setae สีน้ำตาลเข้มจำนวนมาก โดยมีขนาดประมาณ $87.5-162.5 \times 2.5-3.75$ ไมโครเมตร (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 แสดงเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* Isolate A002

- ก. โคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 7 วัน
- ข. เส้นใย 100 เท่า
- ค. setae 100 เท่า
- ง. conidia 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรคแอนแทรกโนสของอมรมเบ็กฟ้า (*Mandivila sp.*)

Isolate A003

เชื้อสาเหตุ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีขาว สร้างเส้นใยฟูสีขาวถึงขาวอมน้ำตาลอ่อน เจริญเติบโตค่อนข้างเร็ว โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตรที่อายุ 6 วัน ขอบโคโลนีเรียบ สร้าง conidial masses สีส้มอมชมพูไม่มากนัก conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใส ไม่มีสี เซลเดียว ขนาดประมาณ 12.5-15 x 2.5-5 ไมโครเมตร ไม่พบการสร้าง setae และ sclerotia แต่เริ่มมีการสร้าง chlamydospores สีน้ำตาลเข้มบ้างเล็กน้อย (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 แสดงเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* Isolate A003

ก. โคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 6 วัน

ข. เส้นใย 100 เท่า

ค. conidia 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรคแอนแทรกโนสของกล้วยน้ำว้า (*Musa sapientum* L.)

Isolate Ban001

เชื้อสาเหตุ *Colletotrichum musae* (Berk. & Curt.) Arx.

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีขาวอมน้ำตาลอ่อน สร้างเส้นใยฟูสีขาว และเมื่ออายุมากขึ้นจะเปลี่ยนเป็นสีชาวมเทา เจริญเติบโตเร็ว โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตรที่อายุ 5 วัน ขอบโคโลนีเรียบ สร้าง conidia กระจุกกระจายทั่วทั้งโคโลนีจำนวนมาก โดยขนาดของ conidia มีความแปรปรวนมาก คือมีทั้งขนาดสั้นและยาว รูปร่างของ conidia มีลักษณะแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี เซลเดียว ขนาดประมาณ 12.5-35 x 3-5 ไมโครเมตร ไม่พบการสร้าง setae, chlamydospores และ sclerotia (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 แสดงเชื้อ *Colletotrichum musae* Isolate Ban001

ก. โคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 5 วัน

ข. เส้นใย 100 เท่า

ค. conidia 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

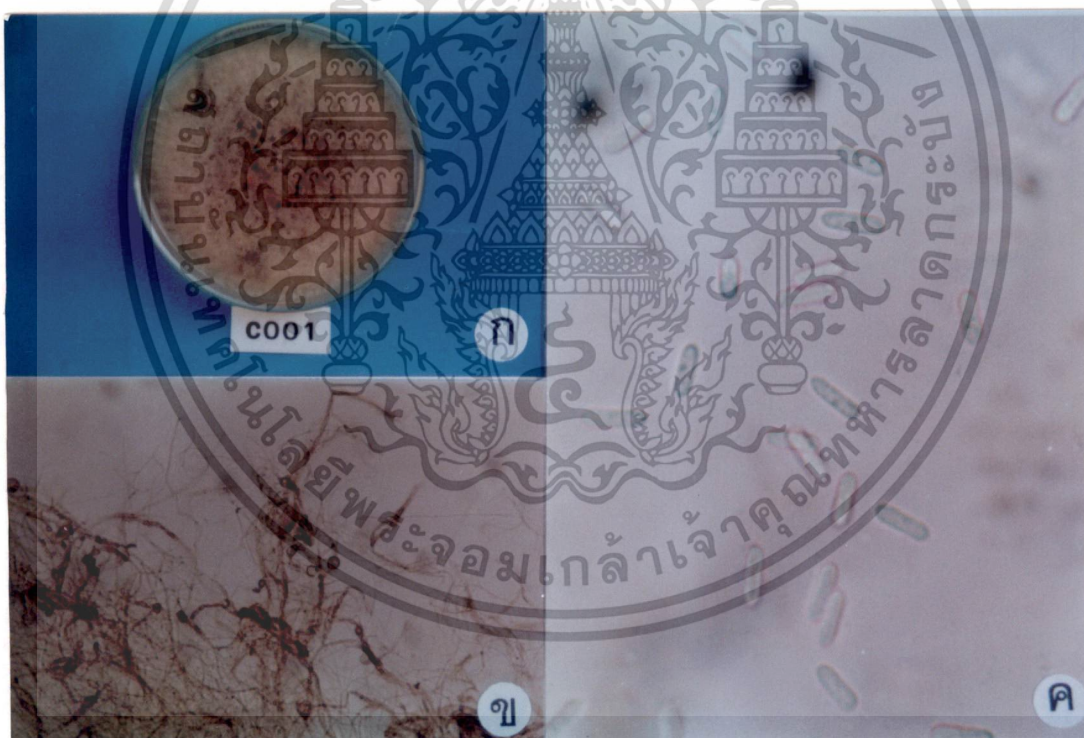
โรคแอนแทรกโนสของส้มโชกุน จังหวัดลำปาง (*Citrus reticulata* Blanco)

Isolate C001

เชื้อสาเหตุ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สร้างเส้นใยขนาดเล็กสีน้ำตาลอ่อนถึงน้ำตาลเข้มค่อนข้างบาง และพบปริมาณการสร้าง terminal และ intercalary chlamydospores สีน้ำตาลเข้มจำนวนมาก มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตรที่อายุ 7 วัน ขอบโคโลนีเรียบ พบการสร้าง conidial masses สีส้มอมชมพูกระจายอยู่ทั่วไปบนผิวหน้าอาหาร และมีการสร้างเมือกใบบนผิวหน้าโคโลนีค่อนข้างมาก ลักษณะ conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี เชลเดียว มีขนาดประมาณ 12.5-14 x 3.75-5 ไมโครเมตร (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 แสดงเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* Isolate C001

ก. โคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 7 วัน

ข. เส้นใยและ chlamydospores 100 เท่า

ค. conidia 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรคแอนแทรกโนสของส้มโชกุน จังหวัดลำปาง (*Citrus reticulata* Blanco)

Isolate C002

เชื้อสาเหตุ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สร้างเส้นใยขนาดใหญ่สีน้ำตาลอ่อนถึงน้ำตาลเข้ม พบปริมาณการสร้าง intercalary chlamydospore สีน้ำตาลเข้มค่อนข้างมาก เจริญเติบโตค่อนข้างช้า โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตรที่อายุ 8 วัน ขอบโคโลนีเรียบ สร้าง conidial masses สีส้มอมชมพูกระจายบนผิวหน้าอาหารปริมาณน้อย แต่ไม่พบการสร้างเมือกใด ลักษณะ conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี เซลเดียว มีขนาดประมาณ 12.5-16.25 x 3.75-5 ไมโครเมตร (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 แสดงเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* Isolate C002

ก. โคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 8 วัน

ข. เส้นใยและ chlamydospores 100 เท่า

ค. conidia 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรคแอนแทรกโนสของส้มเขียวหวาน จังหวัดแพร่ (*Citrus nobilis* Lour.)

Isolate C003

เชื้อสาเหตุ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สร้างเส้นใยสีน้ำตาลอ่อน เจริญเติบโตค่อนข้างช้า โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตรที่อายุ 8 วัน ขอบโคโลนีเรียบ สร้าง conidial masses สีส้มอมชมพูกระจายบนผิวหน้าอาหารจำนวนมาก ลักษณะ conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี เชลเดี่ยว มีขนาดประมาณ $12.5-18.75 \times 2.75-5$ ไมโครเมตร เริ่มมีการสร้าง chlamydospores สีน้ำตาลเข้มบ้างเล็กน้อย (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 แสดงเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* Isolate C003

ก. โคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 8 วัน

ข. เส้นใย 100 เท่า

ค. conidia 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรคแอนแทรกโนสของส้มเขียวหวาน จังหวัดแพร่ (*Citrus nobilis* Lour.)

Isolate C004

เชื้อสาเหตุ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สร้างเส้นใยสีน้ำตาลอ่อนถึงน้ำตาลเข้ม มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตรที่อายุ 7 วัน ขอบโคโลนีเรียบ สร้าง conidial masses สีชมพูอ่อนและสีดำกระจายเป็นวง ลักษณะ conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี เซลเดียว มีขนาดประมาณ $12.75-18 \times 3.75-5$ ไมโครเมตร ไม่พบการสร้าง chlamydospores, setae และ sclerotia (ภาพที่ 8)



ภาพที่ 8 แสดงเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* Isolate C004

ก. โคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 7 วัน

ข. เส้นใย 100 เท่า

ค. conidia 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

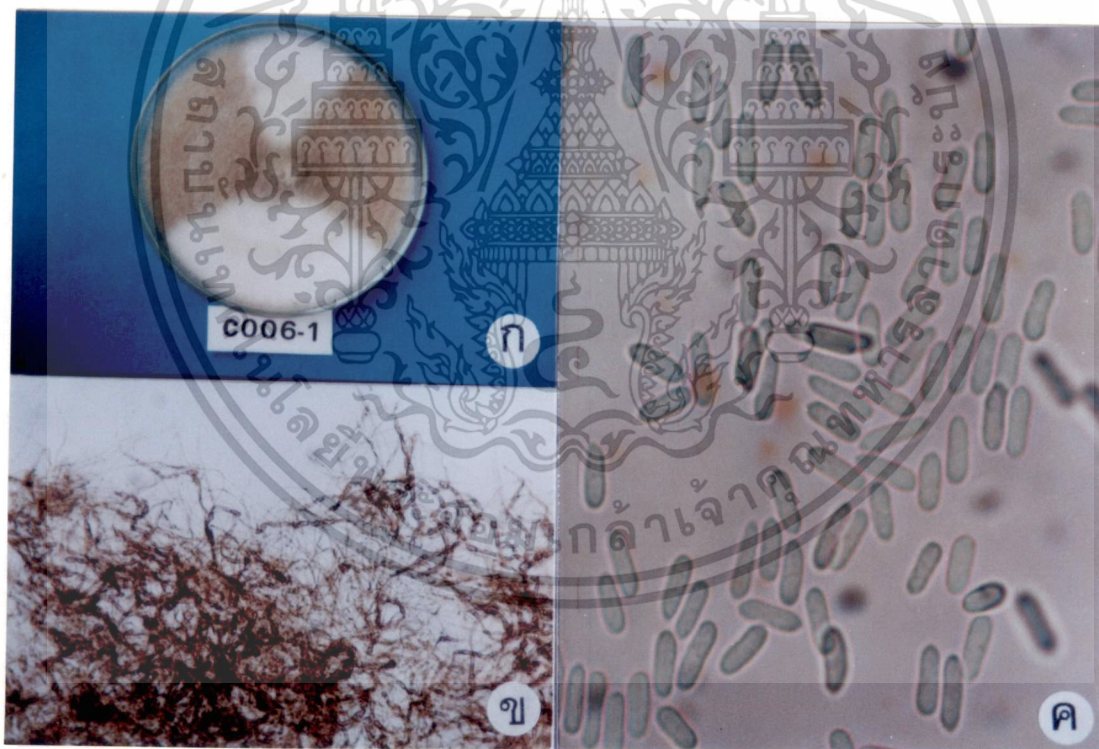
โรคแอนแทรกโนสของส้มเขียวหวาน จังหวัดตาก (*Citrus nobilis* Lour.)

Isolate C006-1

เชื้อสาเหตุ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สร้างเส้นใยฟูสีขาวถึงขาวอมน้ำตาลหรือน้ำตาลเข้ม การเจริญของเชื้อมีความแปรปรวนค่อนข้างมาก โดยบางครั้งพบการสร้าง conidial masses ซึ่งเจริญเป็นวง (concentric ring) จำนวนมาก แต่บางสภาวะกลับพบเส้นใยจำนวนมาก หรืออาจพบการเจริญเป็นแถบของเส้นใยบน conidial masses มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตรที่อายุ 7 วัน ขอบโคโลนีเรียบ สร้าง conidial masses ปริมาณน้อย ลักษณะ conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี เซลเดียว ขนาดประมาณ $12.5-15 \times 4.25-5$ ไมโครเมตร ไม่พบการสร้าง sclerotia และ setae แต่พบการสร้าง intercalary chlamydospores สีสน้ำตาลเข้มจำนวนมาก (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 แสดงเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* Isolate C006-1

ก. โคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 7 วัน

ข. เส้นใยและ chlamydospores 100 เท่า

ค. conidia 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรคแอนแทรกโนสของส้มโชกุน จังหวัดตาก (*Citrus reticulata* Blanco)

Isolate C007-2

เชื้อสาเหตุ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีน้ำตาลอมเทาถึงเทาเข้ม สร้างเส้นใยฟูสีน้ำตาลอ่อนถึงน้ำตาลเข้ม มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตรที่อายุ 7 วัน ขอบโคโลนีเรียบ สร้าง conidial masses สีส้มอมชมพูเจริญเป็นวงจำนวนมาก conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี เซลเดียว ขนาดประมาณ 12.5-17.5 x 4.5-5 ไมโครเมตร พบการสร้าง setae สีน้ำตาลเข้มปริมาณน้อย โดยมีขนาดประมาณ 75-100 x 2.5-4.5 ไมโครเมตร (ภาพที่ 10)



ภาพที่ 10 แสดงเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* Isolate C007-2

ก. โคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 7 วัน

ข. เส้นใย 100 เท่า

ค. setae 100 เท่า

ง. conidia 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรคแอนแทรกโนสของปาล์มหางหมาป่า (*Wodyetia bifurcata*)

Isolate Ft001

เชื้อสาเหตุ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สร้างเส้นใยฟูสีขาวหรือขาวอมน้ำตาลอ่อนจำนวนมาก ขอบโคโลนีเรียบ มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตรที่อายุ 7 วัน สร้าง conidial masses สีส้มอมชมพูไม่มากนัก ลักษณะ conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี เชลเดียว มีขนาดประมาณ 12.5-17.5 x 3-4.75 ไมโครเมตร ไม่พบการสร้าง chlamydospores และ setae (ภาพที่ 11)



ภาพที่ 11 แสดงเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* Isolate Ft001

ก. โคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 7 วัน

ข. เส้นใย 100 เท่า

ค. conidia 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

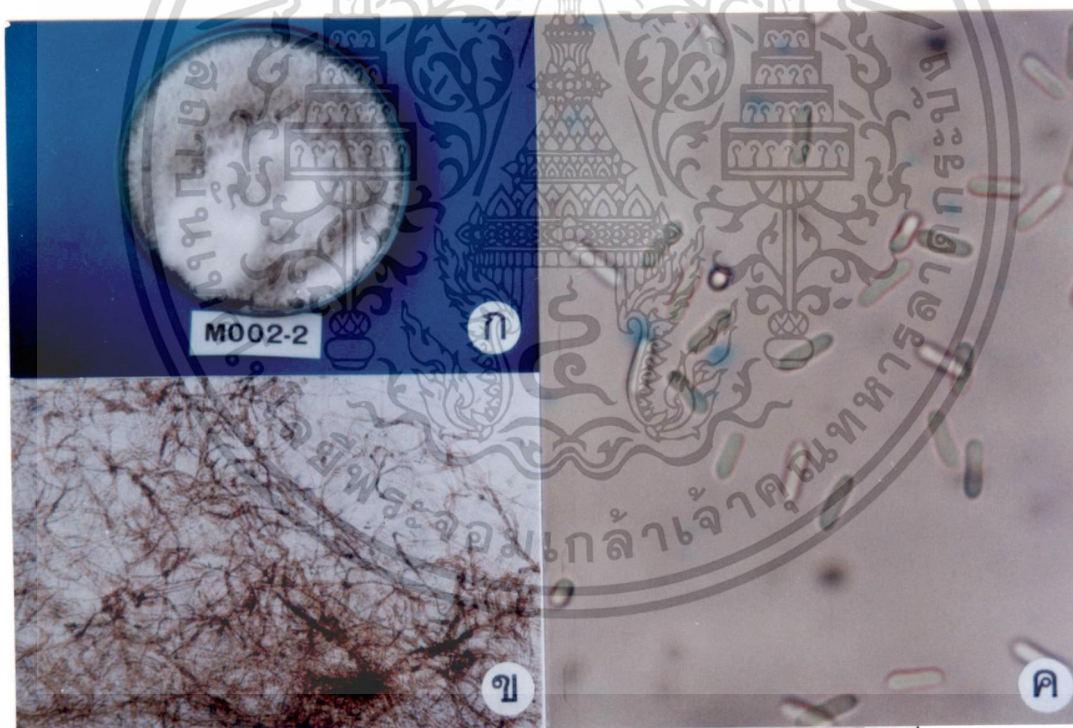
โรคแอนแทรกโนสของมะม่วงพันธุ์เขียวเสวย (*Mangifera indica* L.)

Isolate M002-2

เชื้อสาเหตุ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีเส้นใยฟูสีขาวถึงขาวอมเทาหรือขาวอมน้ำตาล ขอบโคโลนีเรียบ พบการเจริญของเส้นใยจำนวนมาก มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตรที่อายุ 7 วัน สร้าง conidial masses สีส้มอมชมพูไม่มากนักและไม่เจริญเป็นวงบนอาหาร ลักษณะ conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี เชลเดียว มีขนาดประมาณ 10.25-17.5 x 2.5-3.75 ไมโครเมตร ไม่พบการสร้าง setae และ sclerotia แต่พบว่ามี การสร้าง intercalary chlamydospores สีน้ำตาลเข้มจำนวนมาก (ภาพที่ 12)



ภาพที่ 12 แสดงเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* Isolate M002-2

ก. โคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 7 วัน

ข. เส้นใยและ chlamydospores 100 เท่า

ค. conidia 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรคแอนแทรกโนสของมะม่วงพันธุ์กร่อง (*Mangifera indica* L.)

Isolate M003

เชื้อสาเหตุ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA การเจริญมีความแปรปรวนมาก บางสภาวะพบการสร้าง conidial masses สีส้มอมชมพูจำนวนมาก แต่บางสภาวะกลับพบการสร้างเส้นใยสีน้ำตาลอ่อนถึงน้ำตาลเข้มจำนวนมาก เจริญเติบโตค่อนข้างช้า โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตรที่อายุ 8 วัน ขอบโคโลนีเรียบ สร้าง conidial masses สีส้มอมชมพูจำนวนมากและเจริญเป็นวงบนอาหาร ลักษณะ conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี เซลเดียว มีขนาดประมาณ 13.13-17 x 3.75-5 ไมโครเมตร พบการสร้าง terminal และ intercalary chlamydospores สีน้ำตาลเข้มจำนวนมาก แต่ไม่พบการสร้าง sclerotia และ setae (ภาพที่ 13)



ภาพที่ 13 แสดงเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* Isolate M003

ก. โคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 8 วัน

ข. เส้นใยและ chlamydospores 100 เท่า

ค. conidia 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

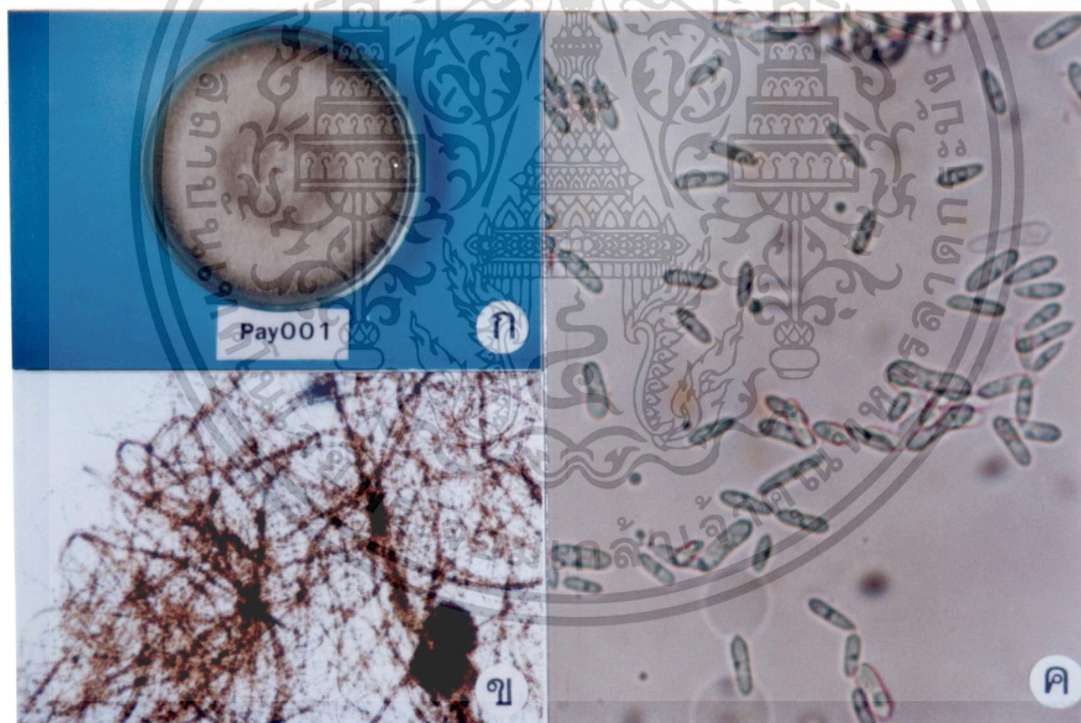
โรคแอนแทรกโนสของมะละกอ (*Carica papaya* L.)

Isolate Pay001

เชื้อสาเหตุ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีเส้นใยฟูสีขาวอมเทาถึงเทาเข้ม เจริญเติบโตช้า โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ที่อายุ 9 วัน ขอบโคโลนีเรียบ สร้าง conidial masses สีส้มอมชมพูไม่มากนัก ลักษณะ conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี เซลเดียว มีขนาดประมาณ $12.5-20 \times 3-5$ ไมโครเมตร ไม่พบการสร้าง setae แต่พบการสร้าง sclerotia (ภาพที่ 14)



ภาพที่ 14 แสดงเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* Isolate Pay001

ก. โคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 9 วัน

ข. เส้นใยและ sclerotia 100 เท่า

ค. conidia 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

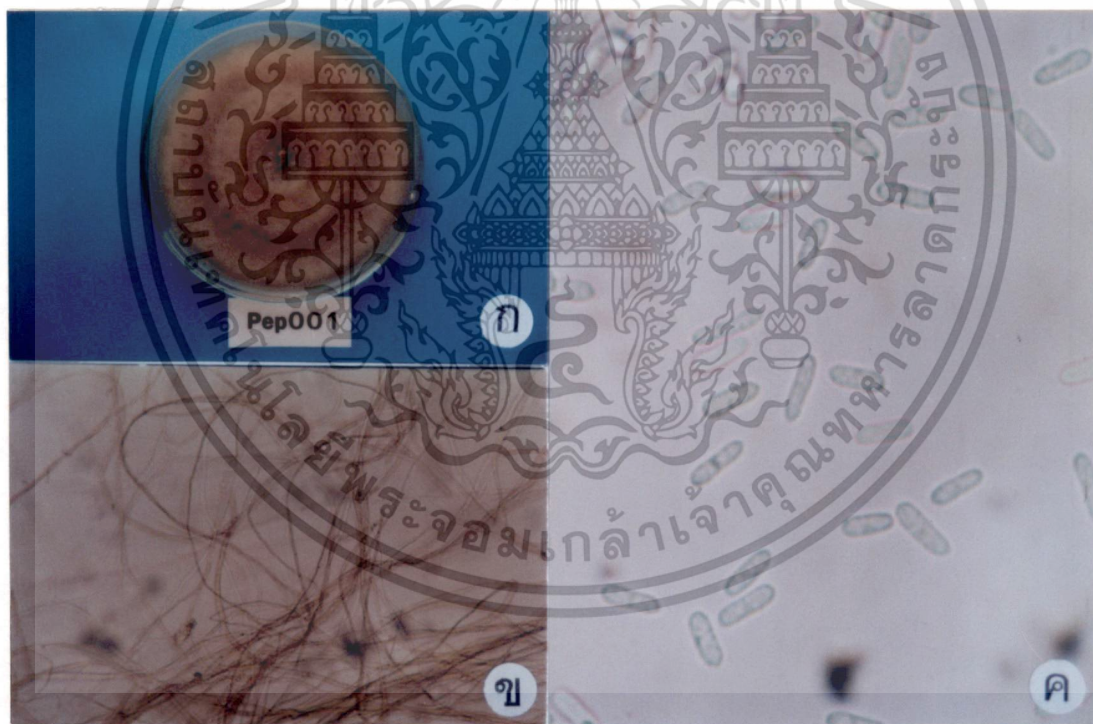
โรคแอนแทรกโนสของพริกไทย (*Piper nigrum* L.)

Isolate Pep001

เชื้อสาเหตุ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สร้างเส้นใยฟูสีขาวถึงขาวอมน้ำตาล และจะกลายเป็นสีเหลืองหม่นอมน้ำตาลเมื่ออายุมากขึ้น มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตรที่อายุ 7 วัน ขอบโคโลนีเรียบ สร้าง conidial masses สีส้มอมชมพูเป็นวง (concentric ring) แต่บางครั้งพบการสร้าง conidial masses เป็นสีดำ ลักษณะ conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี เซลเดียว มีขนาดประมาณ 12.5-15 x 3.75-5 ไมโครเมตร ไม่พบการสร้าง setae, chlamydospores และ sclerotia (ภาพที่ 16)



ภาพที่ 16 แสดงเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* Isolate Pep001

ก. โคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 7 วัน

ข. เส้นใย 100 เท่า

ค. conidia 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

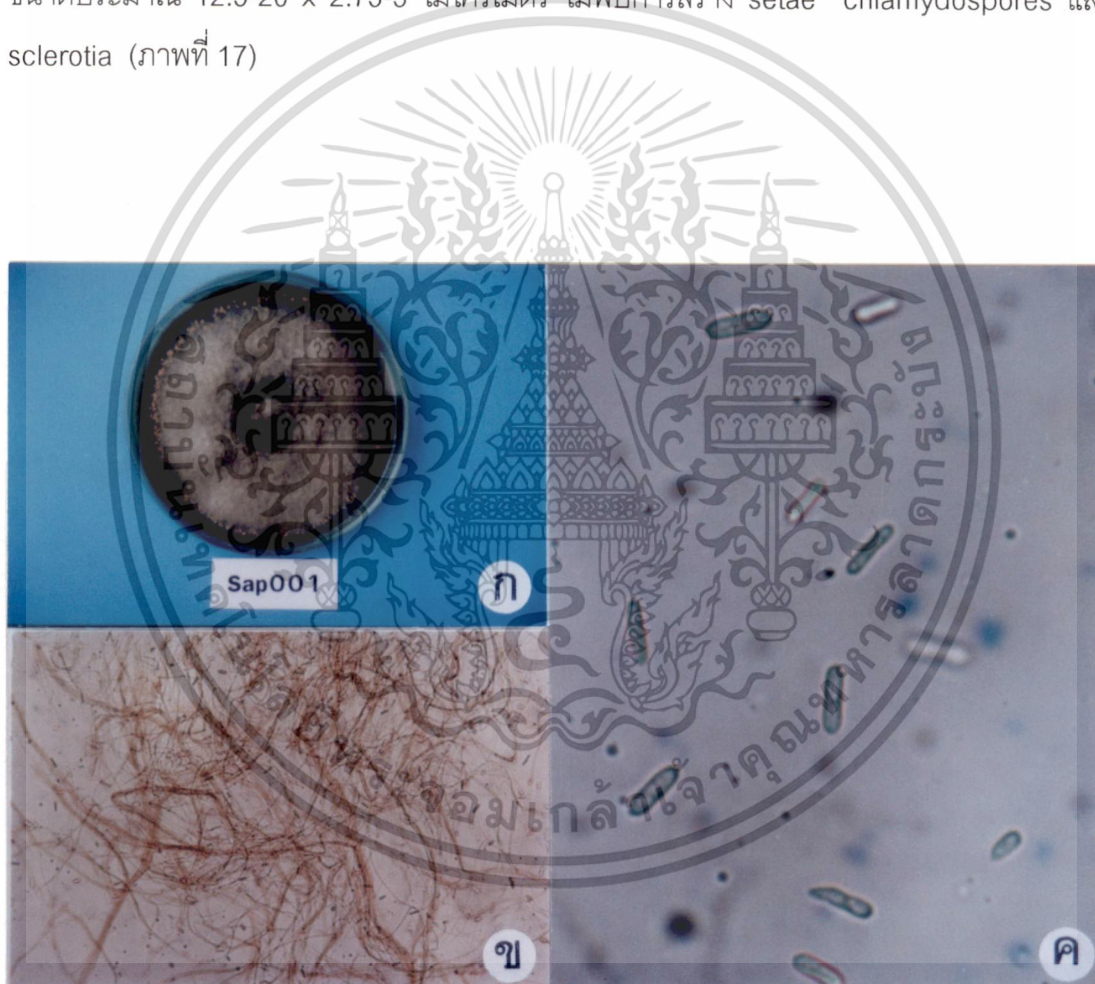
โรคแอนแทรกโนสของชมพู่ (*Eugenia* spp.)

Isolate Sap001

เชื้อสาเหตุ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สร้างเส้นใยฟูสีขาวอมเทาถึงเทาเข้ม มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตรที่อายุ 7 วัน ขอบโคโลนีเรียบ สร้าง conidial masses สีส้มอมชมพูเป็นวงบนผิวหน้าอาหาร ลักษณะ conidia มีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี เชลเดี่ยว มีขนาดประมาณ 12.5-20 x 2.75-5 ไมโครเมตร ไม่พบการสร้าง setae chlamyospores และ sclerotia (ภาพที่ 17)



ภาพที่ 17 แสดงเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* Isolate Sap001

ก. โคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 7 วัน

ข. เส้นใย 100 เท่า

ค. conidia 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรคแอนแทรกโนสของโหระพา (*Ocimum basilicum*)

Isolate Sb001

เชื้อสาเหตุ *Colletotrichum dematium* (Pers. & Fr.) Grove

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีน้ำตาลอมเทา พบการเจริญของเส้นใยสีน้ำตาลปริมาณน้อย มีการเจริญเป็นร่องสีน้ำตาลเข้มจากบริเวณกึ่งกลางโคโลนี เจริญเติบโตช้า โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตรที่อายุ 9 วัน ขอบโคโลนีเรียบ สร้าง conidial masses สีส้มอ่อน โดย conidia มีรูปร่างแบบ falcate หรือ fusiform มีขนาดประมาณ 15-25 x 2.5 ไมโครเมตร พบการสร้าง setae แบบหลวมๆ สีน้ำตาลเข้มถึงดำจำนวนมาก โดย setae มีขนาดประมาณ 175-250 x 5-7.5 ไมโครเมตร (ภาพที่ 18)



ภาพที่ 18 แสดงเชื้อ *Colletotrichum dematium* Isolate Sb001

ก. โคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 9 วัน

ข. เส้นใย 100 เท่า

ค. setae 400 เท่า

ง. conidia 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

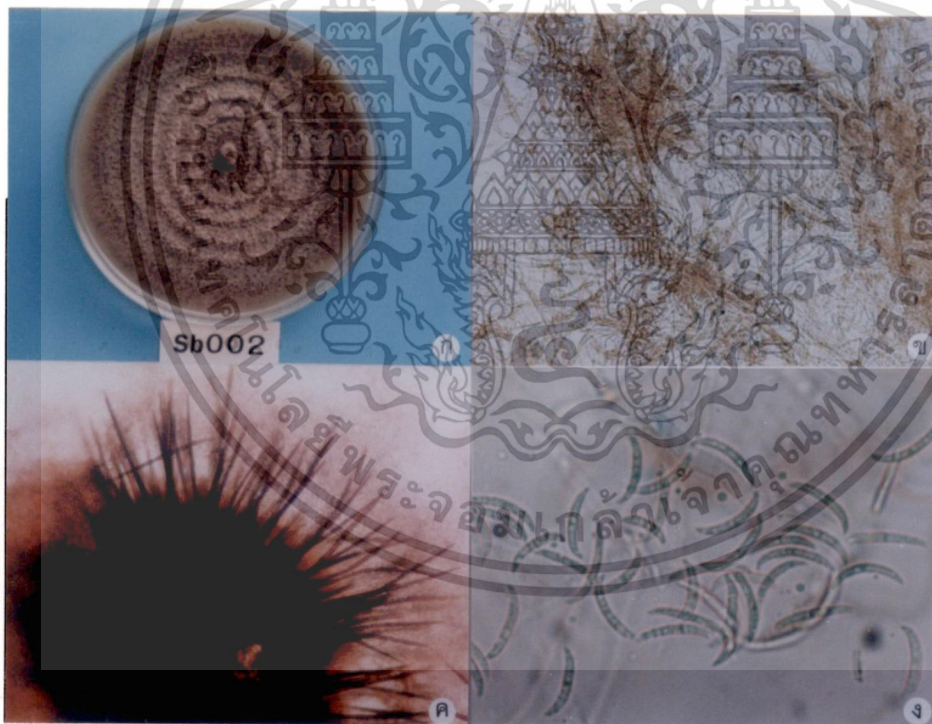
โรคแอนแทรกโนสของโหระพา (*Ocimum basilicum*)

Isolate Sb002

เชื้อสาเหตุ *Colletotrichum dematium* (Pers. & Fr.) Grove

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีน้ำตาลเข้มอมเทา พบการเจริญของเส้นใยสีน้ำตาลปริมาณน้อย ไม่พบเป็นร่องจากกึ่งกลางโคโลนี เจริญเติบโตช้า โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตรที่อายุ 9 วัน ขอบโคโลนีเรียบ สร้าง conidial masses สีส้มอ่อน โดย conidia มีรูปร่างแบบ falcate หรือ fusiform มีขนาดประมาณ 20-25 x 2.5-3.13 ไมโครเมตร พบการสร้าง setae แบบหนาแน่นสีน้ำตาลเข้มถึงดำจำนวนมาก โดย setae มีขนาดประมาณ 187.5-250 x 5 ไมโครเมตร (ภาพที่ 19)



ภาพที่ 19 แสดงเชื้อ *Colletotrichum dematium* Isolate Sb002

- ก. โคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 9 วัน
- ข. เส้นใย 100 เท่า
- ค. setae 400 เท่า
- ง. conidia 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

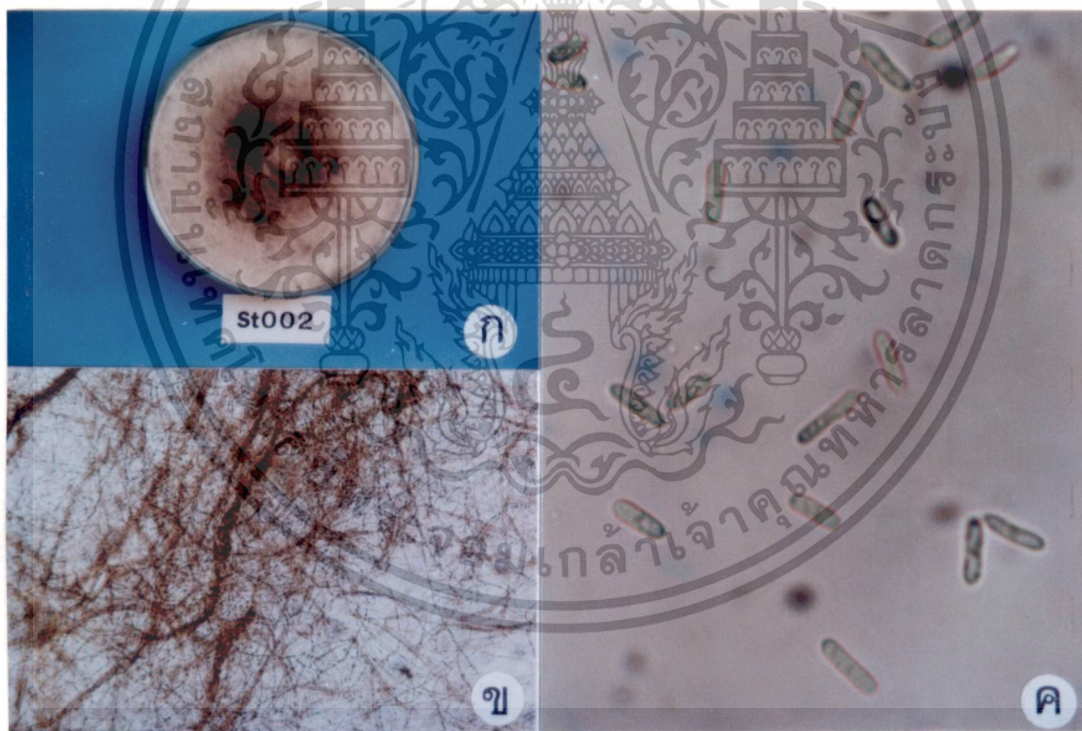
โรคแอนแทรกโนสของสตรอเบอรี่ (*fragaria chiloensis*) Duchesne

Isolate St002

เชื้อสาเหตุ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สร้างเส้นใยฟูสีน้ำตาลอ่อน เมื่ออายุมากขึ้นจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม เจริญมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ที่อายุ 7 วัน ขอบโคโลนีเรียบ สร้าง conidial masses สีส้มอมชมพูไม่มากนัก conidia รูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ใสไม่มีสี เซลเดียว ขนาดประมาณ $10.5-17 \times 3.5-4.5$ ไมโครเมตร ไม่พบการสร้าง setae, chlamydospores และ sclerotia (ภาพที่ 20)



ภาพที่ 20 แสดงเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* Isolate St002

ก. โคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 7 วัน

ข. เส้นใย 100 เท่า

ค. conidia 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การศึกษาลักษณะความต้องการทางสรีรวิทยา (physiology) ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. gloeosporioides* บนอาหาร 4 ชนิดคือ potato dextrose agar (PDA), potato sucrose agar (PSA), mango fruit agar (MFA) และ mango leaf agar (MLA) ที่มีระดับ pH แตกต่างกัน ตั้งแต่ pH 3-8 โดยทำการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อที่อายุ 4 วัน และทำการแปลงผลให้เป็นค่าประเมินการเจริญเติบโตเพื่อให้สอดคล้องกับความหนาแน่นของเส้นใย รวมทั้งบันทึกจำนวนสปอร์ที่อายุ 25 วัน พบว่าชนิดของอาหาร และระดับ pH มีปฏิกริยาสัมพันธ์ (interaction) ต่อกันทั้งในด้านการเจริญเติบโต และการสร้างสปอร์ของเชื้อรา ดังจะเห็นได้จากผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยใช้ F-test ของปัจจัย A (ชนิดของอาหาร) x ปัจจัย B (ระดับ pH) ที่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งชี้ให้เห็นว่าการเจริญเติบโตและจำนวนสปอร์ที่แตกต่างกันในแต่ละ treatment combination มีผลมาจากความแตกต่างทั้งชนิดของอาหารและระดับ pH นั้นเอง โดยพบว่า *Colletotrichum* ที่เลี้ยงบน potato dextrose agar ระดับ pH 6 มีการเจริญเติบโตและสร้างสปอร์ดีที่สุด โดยมีค่าประเมินการเจริญเติบโตเท่ากับ 21.6 และ 7.59×10^7 ตามลำดับ (ภาพที่ 21) เจริญดีรองลงมาคือ บนอาหาร mango fruit agar ที่ระดับ pH 5-8 และสร้างสปอร์ค่อนข้างดีบนอาหาร potato sucrose agar และ mango fruit agar ที่ระดับ pH 6 (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 แสดงค่าประเมินการเจริญเติบโตและจำนวนสปอร์ของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* บนอาหารที่มีระดับ pH แตกต่างกัน

ชนิดอาหาร	ระดับ pH	ค่าประเมินการเจริญเติบโต ^{1/}	จำนวนสปอร์ ($\times 10^7$) ^{2/}
Potato dextrose agar (PDA)	3	4.73 k ^{3/}	0.68 jk ^{1/}
	4	6.67 j	1.93 g-j
	5	12.08 h	3.1 d-g
	6	21.6 a	7.59 a
	7	18.65 cd	4.44 cd
	8	11.7 h	0.02 k
Potato sucrose agar (PSA)	3	7.33 j	0.74 jk
	4	14.14 g	1.22 ijk
	5	15.71 ef	4.19 cde
	6	16.24 e	6.01 b
	7	15.68 ef	4.62 c
	8	14.63 fg	2.95 e-h
Mango fruit agar (MFA)	3	6.53 j	0.71 jk
	4	17.95 d	1.59 h-k
	5	19.5 bc	3.71 c-f
	6	20.35 b	6.05 b
	7	19.65 bc	2.39 f-l
	8	19.22 bcd	1.13 ijk
Mango leaf agar (MLA)	3	0.63 l	0.02 k
	4	4.03 k	0.19 k
	5	9.25 l	0.18 k
	6	9.68 l	0.24 k
	7	8.83 l	0.16 k
	8	4.36 k	0.07 k

F-test

ทรีทเมนต์	**	**
ชนิดอาหาร (factor A)	**	**
ระดับ pH (factor B)	**	**
A x B	**	**

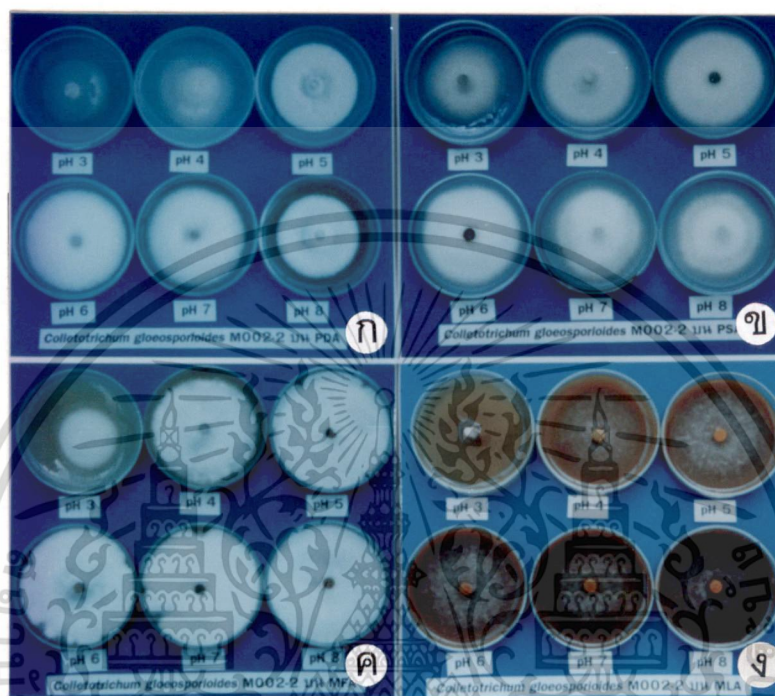
^{1/} ค่าประเมินการเจริญเติบโต (4 วัน) = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (ซม.) \times ระดับความหนาแน่นของเส้นใย (ตารางผนวกที่ 1)

^{2/} จำนวนสปอร์ บันทึกลงที่ 25 วัน

^{3/} ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 21 แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* M002-2 ที่อายุ 4 วัน

- ก. บนอาหาร potato dextrose agar (PDA)
- ข. บนอาหาร potato sucrose agar (PSA)
- ค. บนอาหาร mango fruit agar (MFA)
- ง. บนอาหาร mango leaf agar (MLA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงบนพืชอาศัย (host ranges) ชนิดอื่นๆ

จากการนำเชื้อ *C. gloeosporioides* ซึ่งเป็น isolate ที่แยกได้มาจากมะม่วงเขียวเสวย มาทดสอบการเกิดโรคบนพืชอาศัยประเภทไม้ผลชนิดอื่นๆ ที่มีการปลูกร่วมกับมะม่วงในประเทศไทย บน detached leaves หรือ detached fruits จำนวน 5 ชนิดได้แก่ ส้มเขียวหวาน ละครุด ฝรั่ง มะกอกน้ำ และขนุน โดยปมเชื้อไว้ในถุงพลาสติกชั้นที่อุณหภูมิห้อง (28-30 องศาเซลเซียส) พบว่า เชื้อ *C. gloeosporioides* สามารถทำให้เกิดโรครุนแรงที่สุดบนละครุด รองลงมาคือส้มเขียวหวาน โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางแผล 2.47 และ 1.25 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนบนฝรั่ง มะกอกน้ำ และขนุน ก็สามารถทำให้เกิดโรคได้ในระดับหนึ่งแต่ไม่รุนแรงมากนัก (ตารางที่ 3 และภาพที่ 22) นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อ *C. gloeosporioides* บนพืชอาศัยประเภทพืชผักและพืชไร่บางชนิด ได้แก่ มะเขือเทศ พริกไทย พริกหยวก และถั่วลิสง เพื่อศึกษาความหลากหลายของพืชอาศัยต่อการเข้าทำลายของเชื้อดังกล่าว พบว่า *C. gloeosporioides* ทำให้เกิดโรครุนแรงที่สุดบนมะเขือเทศ รองลงมาคือบนถั่วลิสง และพริกหยวก โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางแผล 3.14, 1.5 และ 1.17 เซนติเมตร ตามลำดับ แต่ไม่สามารถทำให้เกิดโรคบนพริกไทยได้ (ตารางที่ 4 และ ภาพที่ 23)

จากผลการทดลองข้างต้นที่พบว่าหลังจากปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* มีพืชบางชนิดที่ไม่เป็นโรคหรือเป็นโรคในระดับที่ไม่รุนแรง เช่น ฝรั่ง มะกอกน้ำ ขนุน และพริกไทย จึงได้ศึกษาถึงกลไกบางอย่างของเหตุการณ์ดังกล่าว โดยใช้ผลฝรั่งซึ่งผ่านการปลูกเชื้อมาแล้วเป็นเวลา 8 วันเป็นตัวแทนในการศึกษา พบว่าหลังจากที่เชื้อมีการเจริญของเส้นใยเข้าสู่เนื้อเยื่อพืชตามรอยแผลที่เจาะไว้ เชื้อก็สามารถใช้ประโยชน์จากสารอาหารภายในเซลล์พืชนั้นได้เพียงระยะหนึ่งก็เกิดการชะงักการเจริญเติบโตของเส้นใย และไม่สามารถเจริญครอบคลุมไปบนเนื้อเยื่อของผลฝรั่งได้อีก โดยเนื้อเยื่อที่ติดเชื่อดังกล่าวสามารถแกะให้หลุดออกจากเนื้อเยื่อพืชปกติได้ (ภาพที่ 24)

ตารางที่ 3 แสดงเส้นผ่าศูนย์กลางแผลบนพืชอาศัยประเภทไม้ผลหลังจากปลูกเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* บน detached leaves หรือ detached fruits

พืชอาศัย	ระยะเวลาในการปลูกเชื้อ (วัน)	เส้นผ่าศูนย์กลางแผลจากการปลูกเชื้อ <i>C. gloeosporioides</i> (ซม.) ^{1/}
ส้มเขียวหวาน	10	1.25
ละมุด	12	2.47
ฝรั่ง	8	0.92
มะกอกน้ำ	8	0.79
ขนุน	6	0.81

^{1/} ค่าเฉลี่ยจาก 20 ซ้ำ

ตารางที่ 4 แสดงเส้นผ่าศูนย์กลางแผลบนพืชอาศัยประเภทพืชผักและถั่วลิสงหลังจากปลูกเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* บน detached leaves หรือ detached fruits

พืชอาศัย	ระยะเวลาในการปลูกเชื้อ (วัน)	เส้นผ่าศูนย์กลางแผลจากการปลูกเชื้อ <i>C. gloeosporioides</i> (ซม.) ^{1/}
มะเขือเทศ	8	3.14
พริกไทย	5	0
พริกหยวก	6	1.17
ถั่วลิสง	4	1.5

^{1/} ค่าเฉลี่ยจาก 20 ซ้ำ

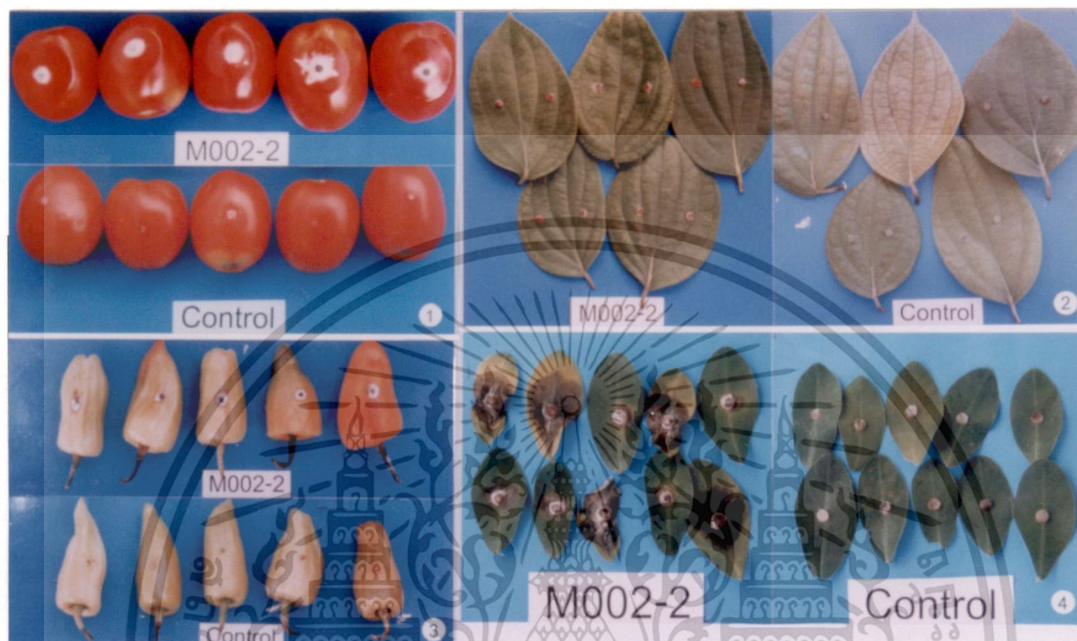


ภาพที่ 22 แสดงการเกิดโรคบนพืชอาศัยประเภทไม้ผลหลังจากปลูกเชื้อ

Colletotrichum gloeosporioides

1 = ละมุด 2 = มะกอกน้ำ 3 = ขนุน 4 = ส้มเขียวหวาน และ 5 = ฝรั่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 23 แสดงการเกิดโรคบนพืชอาศัยประเภทพีชฝักและถั่วลิสงหลังจากปลูกเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides*

1 = มะเขือเทศ 2 = พริกไทย 3 = พริกหยวก และ 4 = ถั่วลิสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

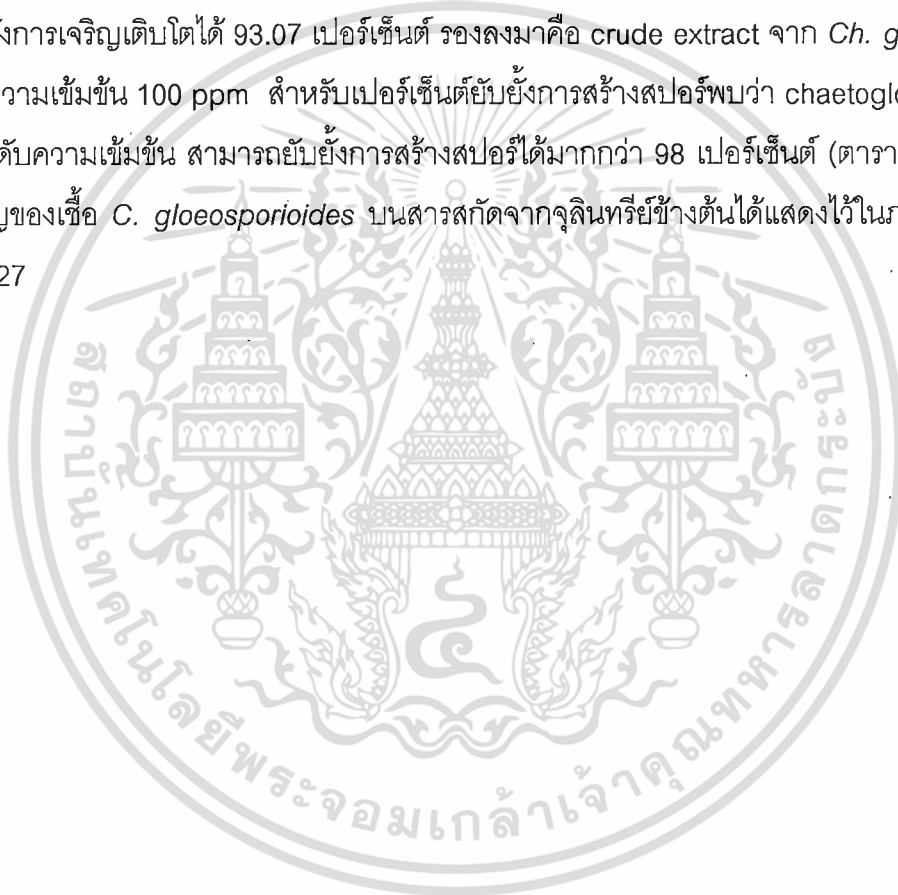


ภาพที่ 24 แสดงการเข้าทำลายของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides*
บนผลฝรั่งที่อายุ 8 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การควบคุมเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงโดยใช้สารสกัดจากจุลินทรีย์

จากการควบคุมเชื้อ *C. gloeosporioides* โดยใช้สารสกัดจากจุลินทรีย์ 5 ชนิด ได้แก่ crude extract จาก *T. harzianum* (EtoAC), crude extract จาก *T. hamatum*, (MeOH), crude extract จาก *Ch. globosum* (Hexane), crude extract จาก *Ch. cupreum* (Hexane) และ pure compound ชื่อ chaetoglobosin C จาก *Ch. globosum* โดยใช้ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 0, 10, 50, 100 และ 500 ppm ปรมที่อุณหภูมิห้อง (28-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 5 วัน พบว่า chaetoglobosin C สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ดีที่สุดที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm โดยยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 93.07 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ crude extract จาก *Ch. globosum* ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm สำหรับเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้างสปอร์พบว่า chaetoglobosin C ในทุกระดับความเข้มข้น สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้มากกว่า 98 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 5) ซึ่งการเจริญของเชื้อ *C. gloeosporioides* บนสารสกัดจากจุลินทรีย์ข้างต้นได้แสดงไว้ในภาพที่ 25, 26 และ 27



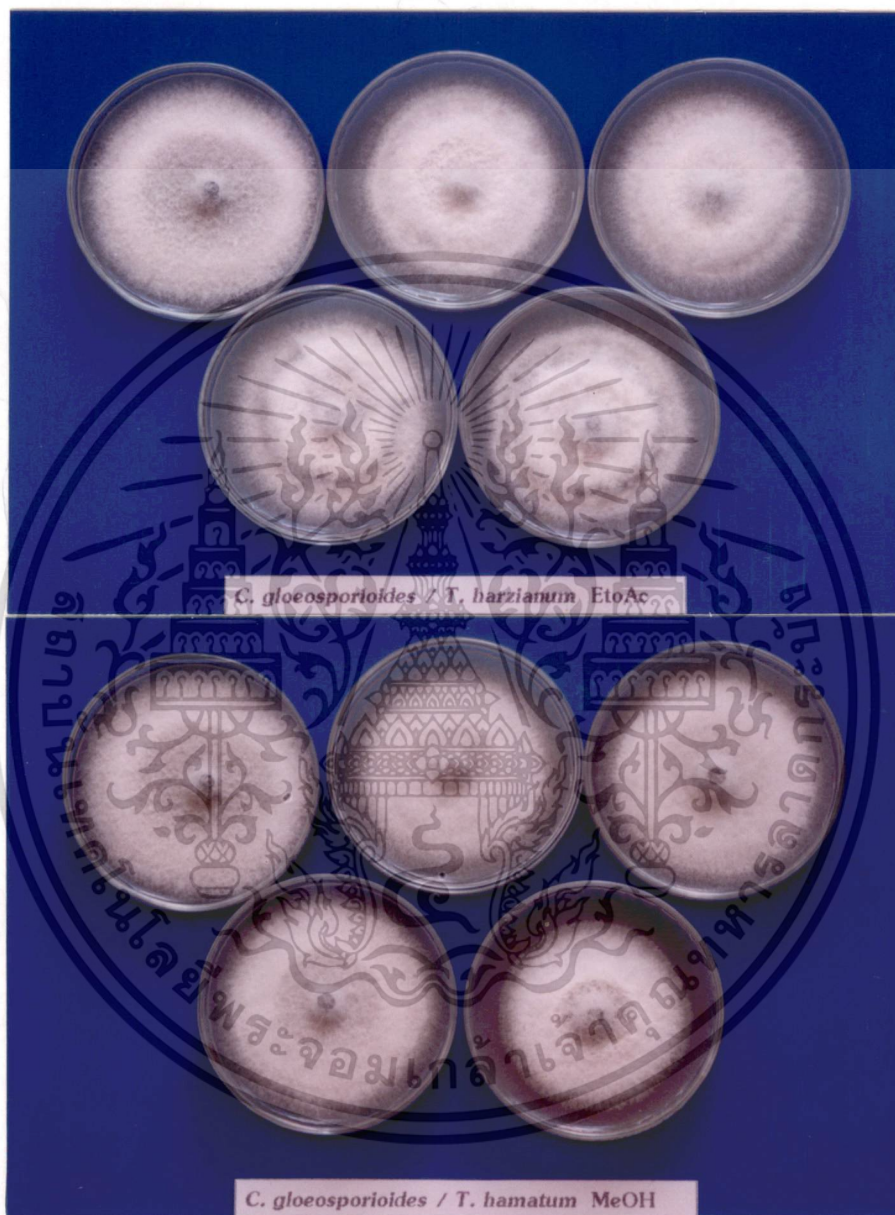
ตารางที่ 5 แสดงเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* บนสารสกัดจากจุลินทรีย์ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ชนิดสารสกัด	ระดับความเข้มข้น (ppm)	การยับยั้งการเจริญเติบโต (%) ¹	การยับยั้งการสร้างสปอร์ (%) ²
<i>Trichoderma harzianum</i> (EtoAC)	0	0.00 m ³	0.00 l
	10	15.55 hi	50.69 i
	50	16.07 gh	71.15 g
	100	17.7 fg	70.44 g
	500	19.28 f	83.24 d
<i>Trichoderma hamatum</i> (MeOH)	0	0.00 m	0.00 l
	10	12.07 jk	38.67 k
	50	18.54 f	45.43 j
	100	19.69 f	66.89 h
	500	29.37 c	80.54 e
<i>Chaetomium globosum</i> (Hexane)	0	0.00 m	0.00 l
	10	18.02 f	44.99 j
	50	25.96 d	51.25 i
	100	34.54 b	66.32 h
	500	30.44 c	80.39 e
<i>Chaetomium cupreum</i> (Hexane)	0	0.00 m	0.00 l
	10	10.8 k	77.98 f
	50	13.90 ij	84.16 d
	100	14.89 hi	86.29 c
	500	23.23 e	91.05 b
chaetoglobosin C (pure compound จาก <i>Ch. globosum</i>)	0	0.00 m	0.00 l
	10	1.01 m	98.09 a
	50	3.19 l	99.09 a
	100	24.22 de	99.29 a
	500	93.07 a	100 a

¹ % ยับยั้งการเจริญเติบโต = (เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีบน control ลบด้วยเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีบน treated) / (เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีบน control) x 100 ; บันทึกผลที่ 7 วัน

² % ยับยั้งการสร้างสปอร์ = (จำนวนสปอร์บน control ลบด้วยจำนวนสปอร์บน treated) / (จำนวนสปอร์บน control) x 100 ; บันทึกผลที่ 20 วัน

³ ค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำในแต่ละคอลัมน์ตามด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 25 แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* บนสารสกัด
จากจุลินทรีย์ *Trichoderma harzianum* (บน) และ *T. hamatum* (ล่าง)
ซ้ายไปขวา : 0 ppm, 10 ppm, 50 ppm,
100 ppm, 500 ppm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 26 แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* บนสารสกัด
จากจุลินทรีย์ *Chaetomium globosum* (บน) และ *Ch. cupreum* (ล่าง)
ซ้ายไปขวา : 0 ppm, 10 ppm, 50 ppm,
100 ppm, 500 ppm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 27 แสดงการเจริญเติบโตของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* บนสารสกัด chaetoglobosin C
 ซ้ำยไปขาว : 0 ppm, 10 ppm, 50 ppm,
 100 ppm, 500 ppm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการวิจัย

จากการจำแนกเชื้อรา *Colletotrichum* spp. โดยจำแนกตามลักษณะสัณฐานวิทยา (morphology) จำนวน 20 isolates ซึ่งทำการศึกษาลักษณะการเจริญเติบโต รูปร่างและขนาดของสปอร์ ตลอดจนโครงสร้างต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าสามารถจำแนกได้เป็น 4 species คือ *C. dematium* จำนวน 2 isolates *C. gloeosporioides* จำนวน 16 isolates *C. lindemuthianum* จำนวน 1 isolate และ *C. musae* จำนวน 1 isolate โดยเชื้อราในแต่ละ specie มีความแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดโดยเฉพาะขนาดและรูปร่างของสปอร์ กล่าวคือ *C. dematium* มีรูปร่างแบบ falcate หรือ fusiform ซึ่งมีรูปร่างคล้ายพระจันทร์เสี้ยว และมีความแตกต่างจาก *C. gloeosporioides* ซึ่งมีรูปร่างแบบ cylindrical หัวท้ายมน ในขณะที่ *C. lindemuthianum* กลับมีรูปร่างสปอร์แบบ dumbbell ซึ่งมีขนาดใหญ่และสั้นกว่า *C. gloeosporioides* สำหรับ *C. musae* มีรูปร่างแบบ cylindrical แต่แตกต่างจาก *C. gloeosporioides* ตรงที่สปอร์มีทั้งขนาดสั้นและยาวมาก และเมื่อพิจารณาถึงในแต่ละ species พบว่า ถึงแม้จะเป็น species เดียวกันก็สังเกตเห็นความแตกต่างกันหลายประการ กล่าวคือ ลักษณะการเจริญเติบโตและสีของโคโลนีแตกต่างกัน อัตราการเจริญเติบโตแตกต่างกัน ขนาดของสปอร์แตกต่างกัน ตลอดจนโครงสร้างต่างๆ อาจจะมีการสร้างหรือไม่สร้างแตกต่างกัน ดังจะเห็นได้จากเชื้อ *C. gloeosporioides* isolates ต่างๆ ซึ่งจากผลการทดลองสามารถจำแนกได้ 16 isolates และในแต่ละ isolate ก็มีความแตกต่างกันออกไป เช่น บาง isolate มีโคโลนีสีขาว บาง isolate มีโคโลนีสีเทาอมน้ำตาล หรือบาง isolate พบการสร้าง setae หรือ chlamydospore แต่บาง isolate กลับไม่สร้าง เหล่านี้เป็นต้น ซึ่งเหตุการณ์ดังกล่าวสอดคล้องกับการรายงานของ Freeman *et al.* (1998) ที่รายงานไว้ว่า เชื้อ *C. gloeosporioides* ถึงแม้จะเป็น species เดียวกันแต่ถ้าแยกมาจากพืชอาศัยต่างชนิดกัน หรือแม้แต่พืชอาศัยชนิดเดียวกันแต่ต่างแหล่ง ก็ทำให้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราแตกต่างกันไปด้วย เนื่องจากเชื้อรา species ดังกล่าวมีความแปรปรวนมากนั่นเอง นอกจาก *Colletotrichum* แล้วความแปรปรวนดังกล่าวยังสามารถเกิดได้ในเชื้อราอื่นๆ อีกหลายชนิด เช่น *Phytophthora cryptogea* (Latorre *et al.*, 1995) เป็นต้น

จากการนำเชื้อ *C. gloeosporioides* M002-2 มาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนพืชอาศัยชนิดอื่นๆ ทั้งไม้ผล พืชผัก และพืชไร่ จำนวน 9 ชนิด ได้แก่ ส้มเขียวหวาน ละครมุดฝรั่ง มะกอกน้ำ ขนุน มะเขือเทศ พริกไทย พริกหยวก และถั่วลิสง พบว่า *C. gloeosporioides* มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนพืชแต่ละชนิดแตกต่างกัน โดยในไม้ผลจะพบอาการรุนแรงบนละครมุด และส้มเขียวหวานมากที่สุด (เส้นผ่าศูนย์กลางแผล 2.47 และ 1.25 เซนติเมตร ตามลำดับ) ส่วนบนฝรั่ง มะกอกน้ำ และขนุน พบอาการของโรคเพียงเล็กน้อยเท่านั้น สำหรับความเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถในการทำให้เกิดโรคบนพืชผักและถั่วลันเตา พบว่า เชื้อราดังกล่าวมีความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนมะเขือเทศมากที่สุด รองลงมาคือบนถั่วลันเตา และพริกหยวก (เส้นผ่าศูนย์กลางแผล 3.14, 1.5 และ 1.17 เซนติเมตร ตามลำดับ) แต่ไม่สามารถทำให้เกิดโรคบนพริกไทยได้ จากผลการทดลองข้างต้นมีข้อสังเกตบางประการกล่าวคือ ระยะเวลาที่ใช้ในการปลูกเชื้อบนพืชแต่ละชนิดไม่เท่ากัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับโครงสร้างของพืชแต่ละชนิดว่ามีความแข็งแรงและทนทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อและทนทานต่อความเครียดเนื่องจากการใช้เทคนิค detached leave หรือ detached fruit เพียงใด ซึ่งปัจจัยดังกล่าวนี้เองอาจจะมีผลต่อการพัฒนาการเกิดโรคในพืชให้มีความรุนแรงมากหรือน้อยแตกต่างกัน ดังจะสังเกตได้จากการปลูกเชื้อบนมะเขือเทศซึ่งใช้ระยะเวลาในการปลูกเชื้อ 12 วัน และทำให้ขนาดของแผลมีความกว้างมากกว่าในส้มเขียวหวานซึ่งใช้ระยะเวลาในการบ่มเชื้อเพียง 10 วัน อย่างไรก็ตาม Park et al. (1989) กล่าวว่าความรุนแรงของโรคที่เกิดขึ้นมักเกิดกับผลไม้สุกมากกว่าในผลไม้ดิบ เนื่องจากผลไม้สุกมีองค์ประกอบของ glucose, fructose และ amino acid มากกว่า ซึ่งสารประกอบเหล่านี้จะกระตุ้นให้มีการงอกของสปอร์และการเจริญของเส้นใยที่ดีขึ้น และจะทำให้เกิดการติดเชื้อและความเสียหายของโรคเพิ่มขึ้น ดังจะเห็นได้จากผลการทดลองที่ทำการปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* บนผลมะเขือเทศสุก ซึ่งพบว่าทำให้เกิดอาการของโรครุนแรงมาก

จากกรณีที่เชื้อ *C. gloeosporioides* M002-2 ไม่สามารถทำให้เกิดโรครุนแรงบนฝรั่งตามผลการทดลองข้างต้น อาจจะสามารถอธิบายได้ว่าพืชได้สร้างกลไกบางอย่างเพื่อป้องกันการลุกลามของเชื้อ โดยเซลล์ของพืชอาจจะได้รับการกระตุ้นจากสารที่เชื้อปลดปล่อยออกมาแล้วทำให้เป็นชั้นเนื้อเยื่อขึ้น โดยชั้นดังกล่าวจะช่วยยับยั้งไม่ให้เชื้อเจริญขยายวงกว้างออกไป และยังระงับการไหลเวียนของน้ำและอาหารจากเนื้อเยื่อพืชปกติไปยังเนื้อเยื่อที่เป็นโรค จึงทำให้เชื้อไม่สามารถใช้ประโยชน์ได้และตายอยู่ในขอบเขตของแผลซึ่งสามารถแยกออกมาจากเนื้อเยื่อพืชปกติได้ (Agrios, 1978) หรือในกรณีหนึ่งคือพืชมีการสร้าง phenolic compound ซึ่งพืชสร้างขึ้นเพื่อป้องกันการบุกรุกของเชื้อ โดย Pascholati et al. (1993) กล่าวว่าตัวเชื้อ *Colletotrichum* เองก็มีกลไกในการป้องกันตนเองจาก phenolic compound ได้เช่นกัน นั่นคือการผลิตเมือก (mucilage) รอบๆ acervuli นั้นเอง

จากการทดสอบหาสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อ *C. gloeosporioides* บนอาหารต่างกัน 4 ชนิดคือ potato dextrose agar (PDA) potato sucrose agar (PSA) mango fruit agar (MFA) และ mango leaf agar (MLA) ที่มีระดับ pH แตกต่างกัน ตั้งแต่ pH 3-8 และบ่มเชื้อดังกล่าวไว้ภายใต้อุณหภูมิห้อง (28-30 องศาเซลเซียส) พบว่า *C. gloeosporioides* เจริญเติบโตและสร้างสปอร์ได้ดีบนอาหาร PDA pH 6 ซึ่งมีความใกล้เคียงกับการทดลองของ Hegde et al. (1993) ที่กล่าวว่า *C. gloeosporioides* มีการเจริญเติบโตได้ดีที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สื่อบนอาหาร potato dextrose broth ที่ระดับ pH 5-6.5 โดยปรับให้ที่อุณหภูมิ 25-35 องศาเซลเซียส ในขณะที่ Kalaimani (1995) ก็ให้ผลในการทำงานเหมือนกันคือ *C. falcatum* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคได้แดงของอ้อย ก็มีการเจริญเติบโตและสร้างสปอร์ได้ดีบนระดับ pH 6-7 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเช่นเดียวกัน

จากการทดสอบศักยภาพของสารสกัดจากจุลินทรีย์ 5 ชนิด ซึ่งสกัดได้จาก *T. harzianum*, *T. hamatum*, *Ch. globosum* และ *Ch. cupreum* ซึ่งนำมาใช้ทั้งในรูปแบบ crude extracts (สารสกัดอย่างหยาบ) และ pure compound (สารสกัดบริสุทธิ์) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 500 ppm พบว่า สารสกัดที่อยู่ในรูปแบบ crude extracts มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อ *C. gloeosporioides* ได้ในระดับหนึ่ง นั้นแสดงว่า จุลินทรีย์ต่อต้านดังกล่าวน่าจะสร้างกลไกบางอย่างในการควบคุมโรคพืชได้อย่างได้ผล เช่น อาจจะมีการสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiotic) ซึ่งจะสังเคราะห์ได้จากสารสกัดที่มีสีน้ำตาลอ่อน (ผลิตขึ้นโดย *Ch. globosum*) และสารสีแดง (ผลิตขึ้นโดย *Ch. cupreum*) แต่ในกรณีที่ เป็น pure compound คือ chaetoglobosin C ซึ่งเป็นสารสกัดที่มีความบริสุทธิ์สูง พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ได้มากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Dio Pietro *et al.* (1992) และ Amemiya *et al.* (1994) ที่พบว่า chaetoglobosin C และ BHT ซึ่งเป็นสารสกัดจาก *Ch. globosum* สามารถยับยั้งเชื้อ *Verticillium dahliae* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ และ *Pythium ultimum* สาเหตุโรค damping-off ของ sugarbeet ได้ โดยสารปฏิชีวนะดังกล่าวรวมทั้งตัวจุลินทรีย์ต่อต้านเองอาจจะมีผลต่อการเข้าทำลายเซลล์ของเชื้อโรคพืช ดังเช่นพบในรายงานของ Heller and Theiler (1994) ที่พบว่า *Ch. globosum* สามารถเจริญครอบคลุมไปบนโคโลนีของ *Phytophthora* และสามารถทำให้เซลล์ของเชื้อโรคพืชแตกได้

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการจำแนกเชื้อรา *Colletotrichum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจบางชนิด จำนวน 20 isolates โดยวิธีศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology) พบว่าสามารถจำแนกได้เป็น 4 species ดังนี้คือ *C. dematium* จำนวน 2 isolates ได้แก่ isolate Sb001 และ Sb002 (จากโหระพา), *C. gloeosporioides* จำนวน 16 isolates ได้แก่ isolate A001 (จากวาสนา), A002 (จากหนวดปลาหมึก), A003 (จากอมรมเบ็กฟ้า), C001 (จากส้มโชกุน ลำปาง), C002 (จากส้มโชกุน ลำปาง), C003 (จากส้มเขียวหวาน แพร่), C004 (จากส้มเขียวหวาน แพร่), C006-1 (จากส้มเขียวหวาน ตาก), C007-2 (จากส้มโชกุน ตาก), Ft001 (จากปาล์มหางหมาป่า), M002-2 (จากมะม่วงเขียวเสวย), M003 (จากมะม่วงอกร่อง), Pay001 (จากมะละกอ), Pep001 (จากพริกไทย), Sap001 (จากชมพู) และ St002 (จากสตอเบอรี่), *C. lindemuthianum* จำนวน 1 isolate ได้แก่ Pea001 (จากถั่วลิสง) และ *C. musae* จำนวน 1 isolate ได้แก่ Ban001 (จากกล้วยน้ำว้า) ซึ่งจากการจำแนกดังกล่าวจะเห็นว่าเชื้อ *Colletotrichum* ถึงแม้จะถูกจัดให้อยู่ในกลุ่ม species เดียวกัน แต่ก็ยังพบความแตกต่างของโครงสร้างภายในอื่นๆ มากมาย เช่น ขนาดของสปอร์แตกต่างกัน พบการสร้าง setae หรือไม่สร้างแตกต่างกัน ตลอดจนอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อแตกต่างกัน ด้วยเหตุนี้จึงกล่าวได้ว่า การจำแนกเชื้อราโดยศึกษาลักษณะโครงสร้างภายนอกเพียงอย่างเดียว ไม่เพียงพอต่อการจำแนกกลุ่ม species .ให้ถูกต้องและแม่นยำได้ ดังนั้นจึงควรจะทำการศึกษาในระดับที่สูงขึ้นไป กล่าวคือ ควรจะทำการศึกษาค่าความแตกต่างของเชื้อในระดับโมเลกุล โดยใช้เทคนิคต่างๆ เข้ามาช่วย เช่น เทคนิค isozyme (Kollar, 1994; Surve-lyer *et al.*, 1995; Harrington *et al.*, 1996) หรือการศึกษาในระดับ DNA โดยอาศัยเทคนิคอื่นๆ เช่น randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) หรือ restriction fragment length polymorphism (RFLP) (Harrington and Wingfield, 1995; Trigiano *et al.*, 1995; Balardin *et al.*, 1997; Sicard *et al.* 1997) เป็นต้น

จากการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนพืชอาศัยชนิดอื่นๆ ของเชื้อ *C. gloeosporioides* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง พบว่าเชื้อราดังกล่าวสามารถทำให้เกิดโรคบนพืชอาศัยชนิดอื่นๆ อีกหลายชนิด ได้แก่ ละมุด ฝรั่ง มะกอกน้ำ ขนุน มะเขือเทศ พริกหยวก และถั่วลิสง ได้อีกด้วย ซึ่งอาการของโรคที่เกิดขึ้นจะแสดงอาการมากหรือน้อยแตกต่างกัน โดยพบว่าบนมะเขือเทศแสดงอาการของโรครุนแรงที่สุด รองลงมาคือละมุด

จากการทดสอบหาสภาพที่เหมาะสมการเจริญเติบโตของเชื้อ *C. gloeosporioides* บนอาหาร 4 ชนิดที่มีระดับ pH แตกต่างกัน เพื่อศึกษาถึงความต้องการสภาพที่เหมาะสมของเชื้อรา

ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการนำไปปรับใช้เพื่อให้การควบคุมโรคพืชโดยใช้จุลินทรีย์ได้ผลดียิ่งขึ้น โดยพบว่าชนิดของอาหารและระดับ pH มีผลทำให้การเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อราแตกต่างกัน โดยบนอาหาร PDA ที่ระดับ pH 6 พบการเจริญและการสร้างสปอร์ของเชื้อดีที่สุด

จากการควบคุมเชื้อ *C. gloeosporioides* โดยใช้สารสกัดจากจุลินทรีย์ 5 ชนิด โดยแบ่งเป็น crude extracts 4 ชนิด ซึ่งสกัดได้จาก *T. harzianum*, *T. hamatum*, *Ch. globosum* และ *Ch. cupreum* และ pure compound 1 ชนิด คือ chaetoglobosin C ซึ่งสกัดได้จาก *Ch. globosum* ที่ระดับความเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 500 ppm พบว่า chaetoglobosin C สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ดีที่สุดที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm (ยับยั้งได้ 93.07 เปอร์เซ็นต์) และสามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ดีมากในทุกระดับความเข้มข้น โดยยับยั้งได้มากกว่า 98 เปอร์เซ็นต์



ข้อเสนอแนะ

ในการจำแนกเชื้อ *Colletotrichum* spp. โดยอาศัยลักษณะสัณฐานวิทยา (morphology) ควรจะศึกษาลักษณะ appressoria ควบคู่ไปกับการศึกษาขนาดและรูปร่างของสปอร์ตลอดจนโครงสร้างอื่นๆ ของเชื้อ เนื่องจากรูปร่างและขนาดของ appressoria มีความเฉพาะเจาะจงต่อ species ของเชื้อ และน่าจะมีความแปรปรวนน้อยกว่าสปอร์ เพื่อเพิ่มความแม่นยำต่อการจำแนกเชื้อ (identification) ให้สูงขึ้น ดังพบในรายงานของ Kanapathipillai (1996) ที่รายงานว่า *Colletotrichum* สามารถสร้าง appressoria ที่มีขนาดและรูปร่างเดียวกันบนพืชอาศัยต่างชนิดกัน

จากการใช้จุลินทรีย์ต่อต้านในการควบคุมโรคพืช ซึ่งจะให้ประสพผลสำเร็จได้นั้นต้องขึ้นอยู่กับทั้งคุณสมบัติเฉพาะตัวของจุลินทรีย์ต่อต้านและปัจจัยแวดล้อมอื่นๆ ดังเช่นจากการทดสอบหาชนิดของอาหาร และระดับ pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ต่อต้าน ซึ่งเป็นการทดสอบเบื้องต้นเพื่อนำไปสู่การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีอย่างมีประสิทธิภาพในสภาพไร่ กล่าวคือควรมีการปรับปรุงสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ต่อต้าน เช่น การเพิ่มอินทรีย์วัตถุในดิน หรือปรับระดับความเป็นกรด-ด่างของดินให้อยู่ในระดับ pH 6-7 ด้วยปัจจัยต่างๆ เหล่านี้จะทำให้จุลินทรีย์ต่อต้านมีศักยภาพในการควบคุมโรคพืชเพิ่มสูงขึ้น ถึงแม้ว่าในสภาพพื้นที่ดังกล่าวจะมีการตกค้างของสารเคมีกำจัดเชื้อรา carbendazim อยู่ในปริมาณหนึ่งก็ตาม นอกจากนั้นการไม่ปลูกพืชหลักร่วมกับหรือปลูกในบริเวณใกล้เคียงกับพืชอาศัยอื่นของเชื้อโรค ดังเช่นในการทดลองข้างต้นที่พบว่านอกจากเชื้อ *C. gloeosporioides* จะเข้าทำลายมะม่วงโชคอนันต์แล้ว ยังสามารถเข้าทำลายพืชอื่นๆ อีก 8 ชนิด คือ ละมุด มะกอกน้ำ ขนุน ส้มเขียวหวาน ฝรั่ง มะเขือเทศ พริกหยวก และถั่วลิสง ซึ่งถ้าหากมีการปฏิบัติโดยไม่ปลูกพืชดังกล่าวข้างต้นร่วมกับมะม่วงโชคอนันต์ ก็จะเป็นแนวทางหนึ่งในการควบคุมหรือป้องกันการระบาดของโรคได้ และวิธีการดังกล่าวก็จะเป็นการส่งเสริมให้การควบคุมโรคพืชได้ผลดียิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- เกษม สร้อยทอง. 2535. การใช้ยาเชื้อที่ผลิตจาก *Chaetomium cupreum* .ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ในสภาพดินที่มีคุณสมบัติในการป้องกันกำจัดโรคพืช. วารสารศูนย์บางพระ. 29: 13-16.
- อารมณ อุดมสิน. 2537. ข่าวเศรษฐกิจการเกษตร. 40(44): 30-31.
- Adaskaveg, J.E. and R.J. Hartin. 1997. Characterization of *Colletotrichum acutatum* isolates causing anthracnose of almond and peach in California. *Phytopathology*. 87: 979-987.
- Agrios, G.N. 1978. *Plant Pathology*. Academic Press., New York. 703 p.
- Amemiya, Y., Kondo, A., Hiano, K., Hirukawa, T. and T. Kato. 1994. Antifungal substances produced by *Chaetomium globosum*. *Technical Bulletin of Faculty of Horticulture, Chiba University*. 48: 13-18.
- Bailey, J.A. and M.J. Jeger. 1992. *Colletotrichum* Biology, Pathology and Control. C.A.B. International, Wallingford Oxon. UK. 387 p.
- Balardin, R.S., Jarosz, A.M. and J.D. Kelly. 1997. Virulence and molecular diversity in *Colletotrichum lindemuthianum* from South, Central and North America. *Phytopathology*. 87: 1184-1191.
- Byrne, J.M., Hausbeck, M.K. and R. Hammerschmidt. 1997. Conidial germination and appressoria formation of *Colletotrichum coccodes* on tomato foliage. *Plant Dis*. 81: 715-718.
- Denoyes, B. and A. Baudry. 1995. Species identification and pathogenicity study of French *Colletotrichum* strains isolate from strawberry using morphological and cultural characteristics. *Phytopathology*. 85: 53-57.
- Dio Pietro, A., Gut-rella, M., Pachlatko, J.P. and F.S. Scwinn. 1992. Role of antibiotics produced by *Chaetomium globosum* in biocontrol of *Pythium ultimum* , a causal agent of damping-off. *Phytopathology*. 82: 131-135.
- Elad, Y., Zimand, G., Verhoeff, K., Malathrakis, N.E. and B. Williamson. 1992. Intergration of biological and chemical control for grey mould. Recent advances in *Botrytis* research. *Proceedings of the 10th International Botrytis Symposium*. Greece. 272-276.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Freeman, S. and E. Shabi. 1996. Cross-infection of subtropical and temperature fruits by *Colletotrichum* species from various hosts. *Physiol. and Molecul. Plant Pathol.* 49: 395-404.
- Freeman, S. and T. Katan. 1997. Identification of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose and root necrosis of strawberry in Israel. *Phytopathology.* 87: 516-521.
- Freeman, S., Katan, T. and E. Shabi. 1998. Characterization of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose disease of various fruits. *Plant Dis.* 82: 596-605.
- Freitas, S. and M.A. Pizzinatto. 1997. Action of rhizobacteria on the *Colletotrichum gossypii* incidence and growth promotion in cotton seedlings (*Gossypium hirsutum*). *Summa Phytopathologica.* 23: 36-41.
- Goes, A. and H. Kimati. 1997a. Pathogenic characterization of isolates of *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* from citrus plants. *Summa Phytopathologica.* 23: 10-14.
- Goes, A. and H. Kimati. 1997b. Morphological characterization of isolates of *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides* associated with postbloom fruit drop disease. *Summa Phytopathologica.* 23: 4-10.
- Harrington, T.C. and B.D. Wingfield. 1995. A PCR-based identification method for species of *Amillaria*. *Mycologia.* 87: 280-288.
- Harrington, T.C., Steimel, J.P., Wingfield, M.J. and G.A. Kile. 1996. Isozyme variation and species delimitation in the *Ceratocystis coerulescens* complex. *Mycologia.* 88: 104-113.
- Hegde, Y., Hegde, R.K. and S. Kulkarni. 1993. Physiological studies on *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. and Sacc. causing anthracnose of arecanut. *Karnataka J. of Agricultural Sci.* 6: 411-412.
- Heller, W.E. and H.R. Theiler. 1994. Antagonism of *Chaetomium globosum*, *Gliocladium virens* and *Trichoderma viride* to four soil-borne *Phytophthora* species. *Phytopathology.* 141: 390-394.
- Hwang, B.K. and B.S. Kim. 1995. In vivo efficacy and in vitro activity of tubercidin, an antibiotic nucleoside, for control of *Phytophthora capsici* blight in *Capsicum annuum*. *Pesticide Sci.* 44: 255-260.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Kahl, J., Molhock, W.M.L., Van, der plus, C.H. and N.J. Fokkema,. 1995. Effect of *Ulocladium atrum* and other antagonists on sporulation of *Botrytis cinerea* on dead lily leaves exposed to field conditions. *Phytopathology*. 85: 393-401.
- Kanapathipillai, V.S. 1996. Comparative studies of isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* from eighteen malasian hosts. *Pertanika J. of Tropical Agri Sci*. 19: 7-15.
- King, W.T., Madden, L.V., Ellis, M.A. and L.L. Wilson. 1997. Effects of temperature on sporulation and latent period of *Colletotrichum* spp. infecting strawberry fruit. *Plant. Dis*. 81: 77-84.
- Kollar, A. 1994. Characterization of specific induction, activity, and isozyme polymorphism of extracellular cellulases from *Venturail inaqualis* detected *in vitro* and on the host plant. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 7: 603-611.
- Latorre, B., Perez, G.F., Wilcox, W.F. and R. Torres. 1995. Comparative protein electrophoretic and isoenzymic patterns of *Phytophthora cryptogea* isolates from Chile kiwifruit and North American deciduous fruits. *Plant Dis*. 79: 703-708.
- Lo, C.T. Nelson, E.B. and G.E. Harman. 1997. Improved biocontrol efficacy of *Trichoderma harzianum* 1295-22 for foliar phases of turf diseases by use of spray applications. *Plant Dis*. 81: 1132-1138.
- Natural, M.P., Balmaceda, F. and M.J.C.M. Estrada. 1994. Anthracnose of *Anthurium andreanum* Andre. Pest Management Council of the Philippines, Inc., College, Laguna. PMCP. 86 pp.
- Norman, D.J. and J.O. Strandberg. 1997. Survival of *Colletotrichum acutatum* in soil and plant debris of leatherleaf fern. *Plant Dis*. 81: 117-1180.
- Park, W.M., Kim, S.H. and Y.H. Ko. 1989. Susceptibilization of a red pepper (*Capsicum annuum* L.) to *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. In relation to the ripening of fruits. *Korean J. of Plant Pathol*. 5: 262-270.
- Pascholati, S.F., Deising, H., Leite, B., Anderson, D. and R.L. Nicholson. 1993. Cutinase and non-specific esterase activities in the conidial mucilage of *Colletotrichum graminicola*. *Physiol. mol. Plant pathol*. 42: 37-51.
- Sanogo, S. and S.P. Pennypacker. 1997. Factors affecting sporogenic and myceliogenic germination of sclerotia of *Colletotrichum coccodes*. *Plant Dis*. 81: 333-336.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Sanogo, S., Pennypacker, S.P., Stevenson, R.E. and A.A. MecNab. 1997. Weather variables associated with infection of tomato fruit by *Colletotrichum coccodes*. *Plant Dis.* 81: 753-756.
- Sicard, D., Buchet, S., Michalakakis, Y. and C. Neema. 1997. Genetic variability of *Colletotrichum lindemuthianum* in wild populations of common bean. *Plant Pathology.* 46: 355-365.
- Surve-lyer, R.S., Adams, G.C., Iezzoni, A.F. and A.L. Jones. 1995. Isozyme detection and variation in *Leucostoma* species from *Prunus* and *Malus*. *Mycologia.* 87: 471-482.
- Thomas, M.D. and R.A. Frederiksen. 1995. Dynamics of oval and falcate conidium production of *Colletotrichum graminicola* from sorghum. *Mycologia.* 87: 87-89.
- Timmer, L.W., Brown, G.E. and Zitko, S.E. 1998. The role of *Colletotrichum* spp. In postharvest anthracnose of citrus and survival of *C. acutatum* on fruit. *Plant Dis.* 82: 415-418.
- Trigiano, R.N., Caetano-Anolles, G., Bassam, B.J. and M.T. Windham. 1995. DNA amplification fingerprinting provides evidence that *Discula destructiva*, the cause of dogwood anthracnose in North America, is an introduced pathogen. *Mycologia.* 87: 490-500.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวก

ตารางผนวกที่ 1 แสดงเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* บนอาหารชนิดต่างๆ

ชนิดของอาหาร	ระดับ pH	เส้นผ่าศูนย์กลาง (ซม.) ^{1/}	ระดับความหนาแน่นของเส้นใย ^{2/}
Potato dextrose agar (PDA)	3	2.36	2
	4	3.34	2
	5	4.03	3
	6	5.4	4
	7	4.66	4
	8	3.9	3
Potato sucrose agar (PSA)	3	3.66	2
	4	4.71	3
	5	5.24	3
	6	5.43	3
	7	5.23	3
	8	4.89	3
Mango fruit agar (MFA)	3	3.26	2
	4	4.49	4
	5	4.88	4
	6	5.09	4
	7	4.91	4
	8	4.8	4
Mango leaf agar (MLA)	3	0.63	1
	4	4.03	1
	5	4.63	2
	6	4.84	2
	7	4.41	2
	8	4.36	1

^{1/} เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (ซม.) ที่อายุ 4 วัน ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ

^{2/} ระดับความหนาแน่นของเส้นใย มี 5 ระดับ คือ ระดับ 0 หมายถึง ไม่มีการเจริญของเส้นใย ระดับ 1 หมายถึง โคโลนีมีเส้นใยบางมาก ระดับ 2 หมายถึง โคโลนีมีเส้นใยบาง ระดับ 3 หมายถึง โคโลนีมีเส้นใยหนาแน่นปานกลาง และระดับ 4 หมายถึง โคโลนีมีเส้นใยหนาแน่นมาก

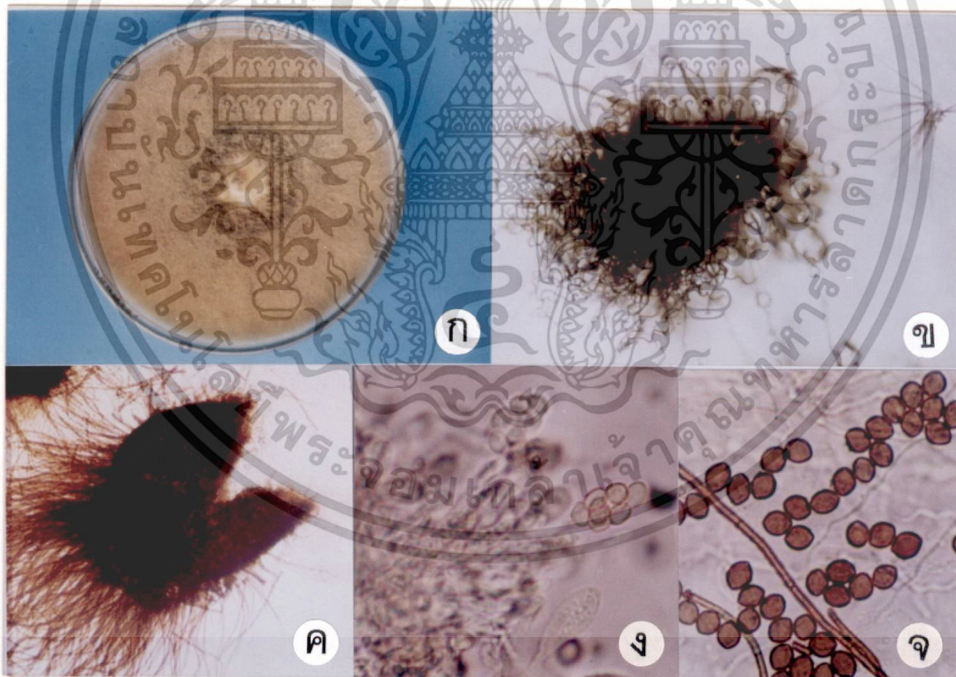
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพผนวก

Chaetomium globosum Cg8

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สร้างเส้นใยสีเขียวมะกอกหรือเขียวมะกอกเข้ม มีอัตราการเจริญเติบโต 8 มิลลิเมตรต่อวัน สร้าง perithecia มีรูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลมปกคลุมด้วย hair จำนวนมาก มีผนังที่บอบบางเป็นกลุ่มหรือกระจัดกระจาย มีขนาดประมาณ 300 x 250 ไมโครเมตร terminal hair มีรูปร่างโค้งงอเป็นคลื่นหรือเป็นขด ตรงปลายหู่ โดยปกติไม่มีการแตกกิ่งก้าน ผิวขรุขระเล็กน้อยและมีผนังกัน ส่วน lateral hair มีลักษณะตรงหรือเป็นคลื่นเล็กน้อย asci มีรูปร่างแบบกระบอง (clavate) มีสภาพไม่คงทน ขนาดประมาณ 35 x 12 ไมโครเมตร ascospore มีรูปร่างคล้ายผลมะนาว (lemon-shaped) บรรจุอยู่ใน ascus จำนวน 8 อัน มีขนาดประมาณ 11.5 x 10.2 ไมโครเมตร เมื่อแก่เป็นสีน้ำตาล ผงหนา และมี germ pore ที่ยอด (ภาพผนวกที่ 1)



ภาพผนวกที่ 1 แสดงเชื้อ *Chaetomium globosum* Cg8

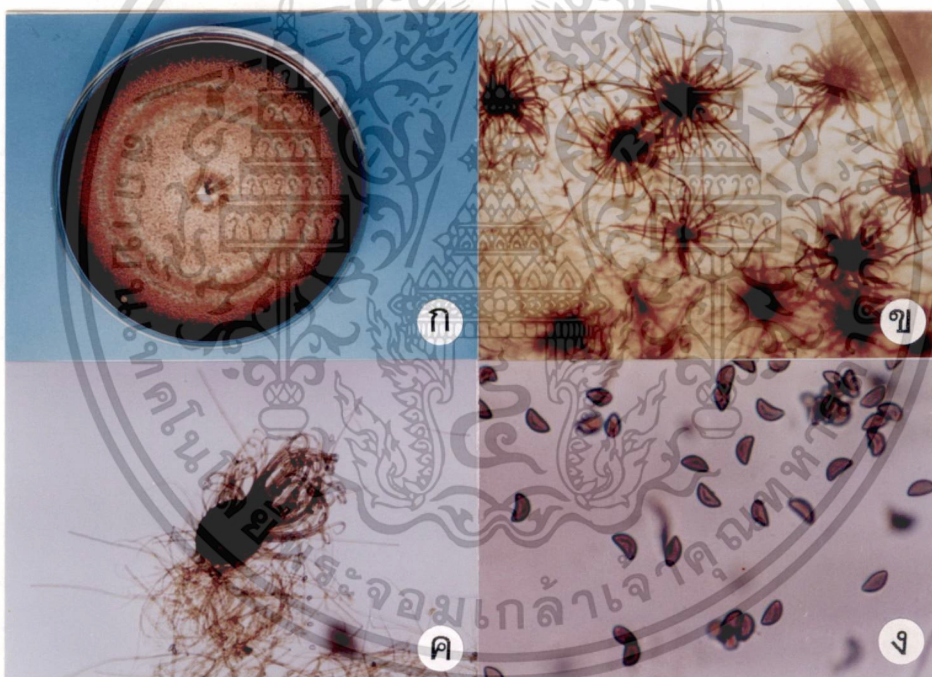
- ก. โคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน
- ข. perithecium บนผิวหน้าอาหาร PDA 40 เท่า
- ค. perithecium 40 เท่า
- ง. young ascospores ใน asci 400 เท่า
- จ. ascospores 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chaetomium cupreum Cc9

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สร้าง pigment สีแดงบนอาหาร เส้นใยมีอัตราการเจริญเติบโต 5 มิลลิเมตรต่อวัน สร้าง perithecia รูปร่างไข่ถึงกลม โดยมีผนังบางในระยะแรกและทึบในเวลาต่อมา เจริญเติบโตเต็มที่ภายในระยะเวลา 14 วัน โดยมีขนาดประมาณ 120-140 x 102-130 ไมโครเมตร terminal hair มีสีคล้ายทองแดง ตรงปลายชัดเป็นวง ผิวหยาบ กว้างประมาณ 4.5 ไมโครเมตร lateral hair มีลักษณะคล้าย terminal hair แต่มีขนาดแคบกว่า (3.8 ไมโครเมตร) และมีรูปร่างตรง asci มีรูปร่างแบบกระบอก และมีสภาพไม่คงทน มีขนาดประมาณ 25-30 x 10-12 ไมโครเมตร ascospore มีรูปร่างคล้ายพระจันทร์เสี้ยว ใสไม่มีสีเมื่อยังอ่อน และจะกลายเป็นสีเขียวมะกอกเมื่อแก่แล้ว มีขนาดประมาณ 11 x 8 ไมโครเมตร และมี germ pore 1 อันที่ยอด (ภาพผนวกที่ 2)



ภาพผนวกที่ 2 แสดงเชื้อ *Chaetomium cupreum* Cc9

- ก. โคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 14 วัน
- ข. perithecia บนผิวหน้าอาหาร PDA 40 เท่า
- ค. perithecium 40 เท่า
- ง. ascospores 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Trichoderma harzianum T88-2

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีเขียวและเจริญซ้อนกันเป็นวง (concentric ring) มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตรที่อายุ 5 วัน สร้างเส้นใยใสไม่มีสี phialophore มีลักษณะเหมือนกับเส้นใย มีผนังกัน และมีการแตกแขนงได้ดี มีความยาวประมาณ 2.5-5 ไมโครเมตร ตอนปลายของ phialophore มีโครงสร้างที่เรียกว่า phialide ซึ่งมีรูปร่างเรียวยาวและมีจำนวน 3 แฉก มีความยาวประมาณ 7-8 ไมโครเมตร โดย phialide เป็นจุดกำเนิดของ phialospores (conidia) ซึ่งมีรูปร่างกลม ขนาดประมาณ $2.8-3.2 \times 2.5-2.8$ ไมโครเมตร ไม่มีการปลดปล่อย pigment บนอาหาร และพบว่าเชื้อรามีการเจริญเติบโตดีที่สุดที่อุณหภูมิ 15-35 องศาเซลเซียส ที่ระดับ pH 3.7-4.7 (ภาพผนวกที่ 3)



ภาพผนวกที่ 3 แสดงเชื้อ *Trichoderma harzianum* T88-2

ก. โคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 8 วัน

ข. conidia 400 เท่า

ค. phialides 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้