แบบรายงานการใช้จ่ายเงินโครงการวิจัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประจำปีงบประมาณ 2560

การแยกเชื้อราจากดินรอบรากและราเอนโดไฟต์ของข้าวเพื่อคัดสายพันธุ์ส่งเสริมการเจริญของข้าว

Isolation of rhizosphere soil fungi and endophytic fungi from rice *oryza sativa)* and screening for growth promotion

ผศ. ดร. วัฒนชัย พงษ์นาค

และ

นางสาวเธียรรัตน์ หลีวิจิตร

หัวหน้าโครงการวิจัย และผู้ร่วมวิจัย

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2559 ถึงวันที่ 30 กันยายน 2560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

บทคัดย่อ

จากการแยกเชื้อราเอนโดไฟต์ และเชื้อราในดินบริเวณรอบรากข้าว ทำการแยกเชื้อราจากต้นข้าวที่มีสุขภาพดี ไม่มีโรค จากส่วนใบ ลำต้น ราก และดินบริเวณรอบรากข้าว โดยใช้วิธีการ tissue transplanting และ Soil Plate Technique ผลการทดลองพบว่า การแยกและคัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟต์จากข้าว พบว่า สามารถแยกเชื้อราเอนโดไฟต์จากข้าว 2 สายพันธุ์ คือ ข้าวเจ้าหอมสุพรรณบุรี และปทุมธานี 80 สามารถจำแนกเชื้อรา 8 สกุล ได้แก่ *Aspergillus* sp., *Chaetomium* sp., *Colletotrichum* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp. และ *Trichoderma* sp. และเชื้อราในดินบริเวณรอบรากข้าว ในดินชุดกรุงเทพ จำนวน 3 แปลง สามารถจำแนกเชื้อรา 9 สกุล ได้แก่ *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp., *Chaetomium* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Rhizopus* sp. และ *Xylaria* sp. สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Chaetomium* sp.ทำการทดสอบการเจริญเติบโตของข้าว พบว่า สารสกัด crude hexane ที่ความเข้มข้น 100 ppm จากเชื้อรา *ch. brasilense* ให้ความสูงของต้นและความยาวรากสูงสุดในข้าวสุพรรณบุรี1 สารสกัด crude methanol ที่ความเข้มข้น 100 ppm จากเชื้อรา *ch. brasilense* ให้ความสูงของต้นและความยาวรากสูงสุดในข้าวปทุมธานี80 นอกจากนี้สารสกัด crude methanol ที่ความเข้มข้น 500 ppm จากเชื้อรา *ch. globosum* ที่ทำการทดสอบในข้าวสุพรรณบุรี1 จะให้ความสูงของต้นและความยาวรากสูงสุด สารสกัด crude methanol ที่ความเข้มข้น 100 ppm จากเชื้อรา *ch. globosum* จะให้ความสูงของต้นและความยาวรากสูงสุด แต่สารสกัด crude ethyl acetate ที่ความเข้มข้น 50 ppm ให้ความยาวรากสูงสุด สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *ch. cupreum* ทำการทดสอบในข้าวสุพรรณบุรี1 พบว่า สารสกัด crude methanol ที่ความเข้มข้น 500 ppm ให้ความสูงของต้น และสารสกัด crude hexane ให้ความยาวรากสูงสุด อย่างไรก็ตาม ข้าวปทุมธานี80 ที่ทำการทดสอบด้วย สารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Ch. Cupreum* ผลการทดลองพบว่า สารสกัด crude ethyl acetate ที่ความเข้มข้น 50 ppm ให้ความสูงของต้นและสารสกัด crude methanol ที่ความเข้มข้น 50 ppm ให้ความยาวรากที่สูงที่สุด

.b 12881466
.i

เลขหมู่
เลขทะเบียน 149339
วัน. เดือน. ปี 13 ก.พ. 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Abstract

The objective of study was to isolate, identify fungi from rhizosphere soil and endophytic fungi from rice (*Oryza sativa* L.). Fungi were isolated from rhizosphere soil and healthy leaves, shealths and roots by using the soil plate method and tissue transplanting methods. The results showed that Endophytic fungi were isolated from different parts of healthy plants from 2 rice var. Khao Jow Hawm Suphan Buri and Pathum Thani 80. Endophytic fungi isolates were identified into 8 species; *Aspergillus* sp., *Chaetomium* sp., *Colletotrichum* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp. And *Trichoderma* sp. The total rhizosphere soil fungi isolates found 9 species as follows:- *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp., *Chaetomium* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Rhizopus* sp. and *Xylaria* sp. Crude extract and nano-particle from *Chaetomium* sp. were tested for the growth of rice Results showed that crude hexane extract at 100 ppm from *ch. brasilense* gave significantly highest in plant height and most root length of rice var. Supanburi1. Crude methanol extract at 100 ppm from *ch. brasilense* gave significantly highest in plant height and most root length of rice var. Pathumthani 80. Moreover, crude methanol extract at 500 ppm from *ch. globosum* tested in rice var. Suphanburi 1 gave significantly highest in plant height and most root length. Crude methanol at 100 ppm from *ch. globosum* gave significantly highest in plant height and most root length but crude ethyl acetate extract at 50 ppm gave the height in root length. The crude extracts from *ch. cupreum* tested in rice var. Suphanburi 1 revealed that crude methanol extract at 500 ppm gave significantly highest in plant height and crude hexane extract gave the highest in root length. However, rice var. Pathumthani 80 was tested with crude extract from *Ch. Cupreum*. Results showed that crude ethyl acetate extract at 50 ppm gave significantly highest in plant height and crude methanol extract at 50 ppm gave the hightest in the most length.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... II

สารบัญ..... III

บทที่ 1 บทนำ..... 1

บทที่ 2 ทฤษฎีและความสำคัญของงานวิจัย..... 3

บทที่ 3 วิธีการดำเนินการ..... 7

บทที่ 4 ผลวิจัยและการอภิปรายผล..... 11

บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง..... 36

บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง..... 38

เอกสารอ้างอิง..... 39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ข้าว (*Oryza sativa*) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานหลักที่สำคัญสำหรับมนุษย์ และเป็นอาหารหลักของคนไทยมาช้านาน ประเทศไทยนั้นจัดเป็นประเทศ ผู้ส่งออกข้าวมากที่สุดในโลก (ในระหว่างปี พ.ศ. 2556-2559) ซึ่งประชากรส่วนใหญ่จะประกอบอาชีพทำนา และทำการเพาะปลูกข้าว เพื่อใช้ในการบริโภค สำหรับประเทศไทยจะมีพื้นที่ปลูกข้าวประมาณ 69.5 ล้านไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2558) ได้ผลผลิตเฉลี่ยประมาณปีละ 462 กิโลกรัมต่อไร่ (กรมการข้าว. 2558) จะมีการเพาะปลูกเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากข้าวมีราคาที่ดี จึงทำให้เกษตรกรมีการขยายพื้นที่สำหรับปลูกข้าวเพิ่มมากขึ้น มีปริมาณน้ำฝนเพียงพอต่อการเจริญเติบโตของข้าว จึงทำให้ข้าวมีผลผลิตเพิ่มสูงขึ้น แต่ยังพบปัญหาในการปลูกข้าวในประเทศไทย ได้แก่ ผลผลิตคุณภาพของข้าวอยู่ในระดับต่ำ โดยพบว่า โรคและแมลง เป็นสาเหตุหนึ่งของการทำให้ข้าวมีคุณภาพลดลง โดยการปลูกข้าวจะมีโรคหลายชนิดเข้ามาทำลาย โรคเหล่านี้อาจนำความเสียหายให้กับข้าวที่ปลูกได้ ในการป้องกันกำจัดโรคข้าว มักใช้สารเคมีในการควบคุมโรค แต่ถ้าใช้ต่อเนื่องเป็นเวลานาน จะส่งผลให้เกิดความเสี่ยงต่อการเกิดความต้านทานของโรคพืชได้ (Suzuki *et al.* 2010) และยังเกิดปัญหาดินเสื่อมสภาพตามมา ซึ่งเกิดจากส่วนใหญ่มักจะใช้ปุ๋ยเคมี เพื่อช่วยในการเพิ่มผลผลิตเร่งให้มีปริมาณที่มากขึ้น และรวมถึงการใช้สารเคมีต่างๆ ยังทำให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม โดยอาจทำให้สารเคมีตกค้างอยู่ในต้นข้าว และในสภาพแวดล้อมระบบนิเวศของนาข้าว (Naik *et al.* 2009) หากใช้เป็นเวลานานติดต่อกันจะทำให้เชื้อราต้านทานสารเคมีชนิดนั้น รวมถึงดินส่วนที่สัมผัสกับรากหรือบริเวณรอบรากพืช (Rhizosphere) บริเวณนี้จะเป็นส่วนที่มีกิจกรรมของจุลินทรีย์อยู่หนาแน่น มีเชื้อรากลุ่มเอนโดไฟต์ (Endophyte) ที่เป็นจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อของพืชบริเวณราก ลำต้น และกิ่ง โดยที่ไม่ก่อให้เกิดโรคต่อพืช โดยจะอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัย (Mutualistic symbiosis) ต้นพืชให้อาหารและที่อยู่อาศัยแก่เอนโดไฟต์ ในขณะเดียวกันเอนไซม์ไฟเทสที่สร้างจากเอนโดไฟต์สามารถย่อยสารไฟติค (Phytic) ให้กลายเป็นสารฟอสฟอรัสที่พืชสามารถนำไปใช้โดยตรงในการเจริญเติบโตได้ ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อการเติบโตต่อการผลิตพืช นับว่าเป็นการให้ปุ๋ยแก่พืชในอีกรูปแบบหนึ่ง ซึ่งพบว่า เชื้อราเอนโดไฟต์จะมีศักยภาพในการใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพสำหรับพืชได้ โดยประโยชน์ที่สำคัญของจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในดินบริเวณรอบรากของพืช ยังมีบทบาทในการส่งเสริมการเจริญของพืช ที่เรียกว่า Plant Growth Promoting (PGP) (Hayat *et al.* 2010) ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้ จะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช เช่น ช่วยตรึงไนโตรเจน, ผลิตฮอร์โมนพืช, ช่วยให้รากมีพื้นที่ผิวมากขึ้น มีความสามารถในการเพิ่มการหมุนเวียนของน้ำและธาตุอาหาร สร้างวิตามินได้เพิ่มสูงขึ้น (Rodriguez *et al.* 2009; Strobel *et al.* 2004) ได้แก่ *Chaetomium* sp., *Gliocladium* sp., *Penicillium* sp. และ *Trichoderma* spp. (เกษม สร้อยทอง. 2532; จิระเดช แจ่มสว่าง. 2552) จุลินทรีย์นี้จะมีกลไกหลายอย่างที่ช่วยในการส่งเสริมการเจริญของพืช เช่น จุลินทรีย์ที่บริเวณรอบๆรากของพืช จะผลิตหรือสร้างสารที่พืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถนำไปใช้ในการเจริญได้ โดยสามารถผลิตสารทุติยภูมิ ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคในพืชได้ (Verma *et al.* 2009) หรือจุลินทรีย์สามารถช่วยเปลี่ยนรูปธาตุอาหารที่พืชจำเป็นต้องใช้ในการเจริญที่มีอยู่ในดิน เพื่อให้พืชสามารถดูดซึม และนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้ จากลักษณะของข้าวที่มีระบบรากฝอยช่วยในการเจริญเติบโต ดังนั้นการดูดน้ำและแร่ธาตุของข้าวจึงจะต้องพึ่งพาอาศัยจุลินทรีย์ในดินและเชื้อจุลินทรีย์เอนโดไฟต์ในการทำหน้าที่ช่วยในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นข้าว (Phosri *et al.* 2010) และสามารถใช้จุลินทรีย์ในการเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร

ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อทำการแยก จำแนกชนิด ความหลากหลายของเชื้อราเอนโดไฟต์ในดินบริเวณรอบรากข้าวที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต และคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพโดยสกัดเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เพื่อใช้ส่งเสริมการเจริญของข้าว สามารถที่จะช่วยให้เกษตรกรได้ผลผลิตเพิ่มมากขึ้น โดยไม่ต้องทำลายดินให้เสียสภาพ ที่มีสาเหตุมาจากการใช้สารเคมี ลดต้นทุนการผลิต และสามารถนำประโยชน์ของจุลินทรีย์มาประยุกต์ใช้พัฒนาทางด้านเกษตรกรรมต่อไป

1.2. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1.2.1 เพื่อแยกเชื้อราเอนโดไฟต์ และเชื้อราในดินบริเวณรากข้าวที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

1.2.2 เพื่อจัดจำแนกเชื้อราเอนโดไฟต์ และเชื้อราในดินบริเวณรากข้าวโดยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

1.2.3 เพื่อศึกษาผลของเชื้อราเอนโดไฟต์ต่อการงอกของเมล็ดข้าวและการเจริญต้นกล้า

1.3. ขอบเขตของโครงการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาวิจัยในระดับห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางจุลินทรีย์ที่ช่วยการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว โดยใช้เชื้อราเอนโดไฟต์รอบบริเวณรอบรากพืชในดิน โดยทำการคัดเลือกแยกเชื้อราเอนโดไฟต์ และเชื้อราในดินบริเวณรอบรากข้าว แล้วทำการจัดจำแนกเชื้อราเอนโดไฟต์ที่ส่งเสริมการเจริญของพืชในระดับห้องปฏิบัติการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง/การทบทวนวรรณกรรม

2.1 แนวคิด ทฤษฎีหลักตามประเด็นให้ครอบคลุมเรื่องที่วิจัย

2.1.1 ข้าว (Rice : *Oryza sativa* L.)

เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวในตระกูล Oryza ในวงศ์ Gramineae/Poaceae เป็นพืชอาหารที่สำคัญชนิดหนึ่งของโลก โดยประชากรมากกว่าหนึ่งในสามของโลกบริโภคข้าวเป็นหลัก โดยเฉพาะประเทศในภูมิภาคเอเชียจะนิยมรับประทานข้าวเป็นอาหารหลักมากกว่าในภูมิภาคอื่นๆของโลก ข้าวที่นิยมปลูกเพื่อบริโภคมีอยู่ 2 ชนิด คือ ข้าว *Oryza glaberrima* ปลูกในทวีปแอฟริกา และข้าว *Oryza sativa* พบปลูกทั่วไปทุกประเทศ โดยข้าวที่ค้าขายกันในตลาดโลกส่วนใหญ่เป็นข้าว *Oryza sativa* ซึ่งสามารถแบ่งออกได้ตามแหล่งปลูกคือ ข้าว Indica มีลักษณะเมล็ดยาวรี เป็นข้าวที่ปลูกในเอเชียเขตมรสุม ข้าว Japonica มีลักษณะเมล็ดป้อมกลมรี รวงแน่น ปลูกในเขตอบอุ่น และข้าว Javanica เป็นข้าวที่มีลักษณะเมล็ดป้อมใหญ่ รวงยาว ปลูกในประเทศอินโดนีเซีย และฟิลิปปินส์ แต่ไม่ได้รับความนิยมเพราะให้ผลผลิตต่ำ (ปิยนันท์. 2543) ข้าวที่ปลูกในประเทศไทยส่วนใหญ่เป็นข้าว Indica ซึ่งแบ่งออกเป็นข้าวเจ้าและข้าวเหนียว ประกอบด้วยหลายพันธุ์ โดยมีการพัฒนาพันธุ์ขึ้นใหม่ รวมกับข้าวพันธุ์พื้นเมืองเดิม พันธุ์ข้าวเหล่านี้มีทั้งชนิดข้าวเจ้าและข้าวเหนียว มีทั้งพันธุ์ที่ปลูกเฉพาะนาปีและปลูกได้ตลอดปีและมีบางพันธุ์เป็นข้าวหอม พันธุ์ข้าวส่วนใหญ่เป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง มีความต้านทานต่อโรคและแมลงที่สำคัญ มีคุณภาพการหุงต้มตามความต้องการของผู้บริโภค ตลอดจนทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่เป็นปัญหาสำคัญ อย่างไรก็ตามงานปรับปรุงดูแลพันธุ์ข้าวยังคงต้องดำเนินการต่อไปอย่างต่อเนื่อง (สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว. 2555)

2.1.2 เชื้อราเอนโดไฟต์

เอนโดไฟต์ คือ สิ่งมีชีวิตที่ในช่วงหนึ่งหรือตลอดวงจรชีวิต สามารถอาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อของพืชได้ อาจเป็นกลุ่มของแบคทีเรีย แอคทิโนมัยซีส เชื้อรา และปรสิตของพืช ซึ่งสิ่งมีชีวิตดังกล่าวจะพบอยู่ในเนื้อเยื่อที่มีชีวิตของพืช สามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนภายในเนื้อเยื่อโดยไม่ก่ออันตรายต่อพืชอาศัย (ณัฐวุฒิ. 2005) เชื้อรากลุ่มเอนโดไฟต์ (Endophyte) เป็นจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อของพืชบริเวณราก ลำต้น และกิ่งโดยที่ไม่ก่อให้เกิดโรคต่อพืช โดยเชื้อราเอนโดไฟต์และต้นพืชจะอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัยกัน (Mutualistic symbiosis) ต้นพืชให้อาหารและที่อาศัยแก่เอนโดไฟต์ ในขณะเดียวกันเอนไซม์ไฟเทส (Phytase) ที่สร้างจากเอนโดไฟต์สามารถย่อยสาร“ไฟติค” (Phytic) ให้กลายเป็นสารฟอสฟอรัสที่พืชสามารถนำไปใช้โดยตรงในการเติบโตได้ โดยที่นับวันปริมาณของฟอสฟอรัสอิสระที่อยู่ในธรรมชาติจะมีน้อยลง ทำให้พืชและสัตว์เศรษฐกิจที่ต้องการฟอสฟอรัสนั้น ไม่ได้รับปริมาณฟอสฟอรัสได้ตามปริมาณที่เพียงพอ ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อการเติบโตจนส่งผลกระทบต่อการผลิตพืชและสัตว์โดยรวมในที่สุด นับว่าเป็นการให้ปุ๋ยแก่พืชในอีกรูปแบบหนึ่ง ซึ่งพบว่าเชื้อราเอนโดไฟต์มีศักยภาพในการใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพสำหรับข้าวได้โดยประโยชน์ที่สำคัญของจุลินทรีย์เหล่านี้ยัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชที่อาศัยอยู่รอบๆ บริเวณรากข้าว คือ ช่วยในการตรึงไนโตรเจน ผลิตฮอร์โมนพืช ช่วยให้รากมีพื้นที่ผิวมากขึ้นมีผลช่วยในการดูดน้ำและธาตุอาหารได้มากขึ้น (Rodriguez et al. 2009; Strobel et al. 2004) และพบว่าเชื้อราเอนโดไฟต์ส่วนใหญ่สามารถใช้ส่วนประกอบของเซลล์พืช ได้ มีการสรางเอนไซม์และสร้างองค์ประกอบที่ช่วยเร่งการเจริญเติบโตของพืช และสร้างสารที่สามารถใช้ประโยชน์ในทางเภสัชกรรมหรือทางเกษตรกรรมได้ (Bacon. 1977) การใช้จุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชสายพันธุ์ที่คัดเลือกในท้องถิ่น มักให้ผลตอบสนองของผลผลิตได้ดีกว่าสายพันธุ์มาตรฐาน (Type strains) นอกจากยังมีการรายงานพบว่าเชื้อราเอนโดไฟต์สามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคในพืชหลากหลายชนิด (Verma et al. 2009; Rahman and Saiga. 2005) ซึ่งการพัฒนาและส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในระบบการเกษตรชีวภาพและอินทรีย์นั้น มีการศึกษาแต่การพัฒนานำไปใช้ในแปลงปลูกจริงยังมีน้อย

2.1.3 จุลินทรีย์รอบรากพืช

จุลินทรีย์มีบทบาทอย่างมากในกระบวนการแปรสภาพ อินทรียวัตถุในดิน (Soil organic matter) ให้กลายเป็นธาตุอาหารจุลินทรีย์ในดินที่มีศักยภาพช่วยในการเพิ่มธาตุอาหารพืช จุลินทรีย์จะที่ช่วยให้ธาตุอาหาร เป็นประโยชน์กับพืช จุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช จุลินทรีย์เร่งปุ๋ยหมัก และจุลินทรีย์ย่อยสลายสารพิษในดิน จุลินทรีย์ในดินจะเติบโตและสร้างกลุ่มรอบผิวราก หรือในรากพืชและช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (สุวรรณี. 2555) บริเวณรอบรากพืช (Rhizosphere) คือ พื้นที่ในดินส่วนที่สัมผัสกับรากหรือบริเวณรอบๆ รากพืช เป็นที่ทราบกันดีว่า บริเวณนี้เป็นส่วนที่มีกิจกรรมของจุลินทรีย์อยู่หนาแน่น เนื่องจากรากพืชจะปลดปล่อยสารอินทรีย์ที่เกิดจากกระบวนการสังเคราะห์แสงและกระบวนการอื่นๆ ภายในต้นพืชออกมาจำนวนมากในบริเวณปลายของรากฝอยไปสู่อนุภาคของดินในบริเวณดังกล่าว (Brimecombe et al. 2007) เพราะฉะนั้นจึงทำให้บริเวณรอบรากพืชมีความหลากหลายของจุลินทรีย์สูงกว่าดินในบริเวณอื่น โดยคิดเป็นรามากกว่า 10-20 เท่า และแบคทีเรีย 2-20 เท่า (Morgan et al. 2005) ผลของจุลินทรีย์รอบรากต่อพืช พบว่ามีความสามารถในการเพิ่มการหมุนเวียนของน้ำและแร่ธาตุ สร้างวิตามินและสารส่งเสริมการเจริญของพืช เช่น ออกซิน จิบเบอเรลลิน และการต่อต้านเชื้อก่อโรคโดยการแข่งขันหรือสร้างสารปฏิชีวนะ ปัจจุบันมีความพยายามที่จะควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (Biological control) เพื่อแก้ไขหรือลดปัญหาจากการใช้สารเคมี โดยการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในกลุ่มของแบคทีเรีย ได้แก่ *Bacillus* spp. และ *Pseudomonas* spp. (Brimecombe et al. 2007; Pagliaccia et al. 2007) และในกลุ่มของรา ได้แก่ *Chaetomium* sp., *Gliocladium* sp., *Penicillium* sp. และ *Trichoderma* spp. (เกษม. 2532; จิระเดช. 2552)

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง/การทบทวนวรรณกรรม

Pinruan et al. (2010) ศึกษาเชื้อราเอนโดไฟต์จากปาล์มน้ำมัน พบเชื้อราในกลุ่ม Xylariaceous และ Basidiomycete ส่วนในข้าวได้มีการศึกษาเชื้อราเอนโดไฟต์จากส่วนต่างๆ เช่น ใบ กาบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบ ลำต้น พบเชื้อรา เช่น *Chaetomium globosum, Penicillium chrysogenum, Cladosporium cladosporioides* (Naik et al. 2009) *Acremonium* sp., *Alternara* sp., *Ampelomyces, Arthrinium, Aspergillus* sp., *Botryosphaeria* sp., *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp., *Paecilomycetes* sp., *Pyricularia* sp., *Helminthosporium* sp. (Yuan et al. 2011; Tian et al. 2004)

ฤทัยรัตน์ (2551) ได้ทำการศึกษา เชื้อราเอนโดไฟต์เป็นเชื้อราที่อาศัยอยู่ในพืชแล้วส่งผลให้พืชมีการเจริญเติบโตที่ดี และมีความต้านทานต่อโรคมากขึ้น การทดลองแยกเชื้อราเอนโดไฟต์จากส่วนของราก ลำต้น และใบของพืชเศรษฐกิจ 3 ชนิดคือ มะเขือเทศ ส้ม และยางพารา สามารถแยกเชื้อราเอนโดไฟต์ได้ทั้งหมด 298 ไอโซเลท การจำแนกในระดับ genus สามารถจำแนกได้เป็น 9 กลุ่ม คือ *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Papularia* spp., *Curvularia* spp., *Colletotrichum* spp., *Idriella* spp., *Nodulosporium* spp. และ *Geotrichum* spp.

Tian et al. (2004) รายงานว่า ข้าวเป็นแหล่งของเชื้อราเอนโดไฟต์ ที่มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืช ได้หลายชนิด เช่น *M. grisea, R. solani, Fusarium monliforme, Xanthomonas oryzae, Nigrospora oryzae, Macrophomina phaseolina, Phomasorghina* และ *Alternaria alternata*

Huang et al. (2008) ได้ศึกษาเชื้อราเอนโดไฟต์จากพืชสมุนไพรของจีน 29 ชนิด พบเชื้อราเอนโดไฟต์มากมายหลายชนิดที่เด่นๆ ได้แก่ *Alternaria, Colletotrichum, Phoma, Phomopsis, Xylaria* และ *mycelia sterilia* (เชื้อราที่ ไม่พบการสร้างสปอร์)

สายทอง (2557) ศึกษาการแยกเชื้อราเอนโดไฟต์จากใบของข้าวหอมกระดังงา และศึกษาการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อราเอนโดไฟต์ต่อเชื้อรา *Pyricularia grisea* สาเหตุโรคไหม้ของข้าว โดยแยกเชื้อราเอนโดไฟต์จากใบข้าว วางบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) ได้เชื้อราเอนโดไฟต์ทั้งหมด 93 ไอโซเลท เปอร์เซ็นต์ชิ้นพืชที่พบเอนโดไฟต์เจริญออกมาได้ 72.2% จำนวนชิ้นพืชที่มีเชื้อราเจริญออกมาเท่ากับ 4.33 และจำนวนไอโซเลทของเชื้อเอนโดไฟต์ต่อชิ้นพืชเท่ากับ 1.2 พบว่าเป็นเชื้อรา *Chaetomium* sp. (10.75%) *Penicillium* sp. (8.62%) *Aspergillus* sp. (6.45%) *Trichoderma* sp. (2.15%) และ *Xylaria* sp. (1.07%), *Fusarium* sp. (1.07%) *Colletotrichum* sp. (1.07%) และ sterile form ในการทดสอบการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ พบว่า ไอโซเลทที่มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. grisea* สาเหตุโรคไหม้ของข้าวมากที่สุด 2 ไอโซเลท คือ NHS021 และ NHS022 เป็น 95.4 และ 91.5 ตามลำดับ ซึ่งเชื้อทั้งสองไอโซเลทเป็น *Trichoderma* sp.

มนสวรรค์ (2553) การศึกษาถึงบทบาทของราเอนโดไฟต์ที่ทำหน้าที่กระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชยังมีไม่มากนักเนื่องจากการศึกษาส่วนใหญ่จะเกี่ยวกับเชื้อรา mycorrhiza แต่ถึงแม้จะพบเชื้อรา mycorrhiza ในรากพืชมากกว่า 80% ของพืช แต่เชื้อราชนิดนี้จะต้องอาศัยอยู่กับพืชอาศัยเท่านั้น ไม่สามารถนำมาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการได้ เชื้อราเอนโดไฟต์ *Piriformospora indica* ซึ่งอาศัยอยู่ในรากของพืชมีผลในการเพิ่มน้ำหนักของรากและยอดของพืชหลายชนิดหญ้าชนิด *Lolium perenne* เมื่อถูกทำให้ติดราเอนโด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไฟต์ชนิด Epichle typhina ทำให้พืชมีน้ำหนักน้อยลง แต่เมื่อติดราเอนโดไฟต์ชนิด Neotyphodium lolii จะมีผลทำให้พืชมีน้ำหนักเพิ่มขึ้น ผลของการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชอาจเนื่องจากสารที่ได้จากราเอนโดไฟต์มีผลในการยับยั้งเชื้อก่อโรคพืชหลายๆ ชนิด

เลขา และคณะ (2544) พืชทุกชนิดสามารถแยกและพบเชื้อราเอนโดไฟต์ได้ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้อราเอนโดไฟต์สามารถพบได้ทั่วไปในพืช โดยพืชแต่ละชนิดพบเชื้อราเอนโดไฟต์อย่างน้อย 1 ชนิดหรือมากกว่า ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของพืช เช่น เชื้อราเอนโดไฟต์ที่แยกจากกล้วยไม้คนละสายพันธุ์ จะพบเชื้อราเอนโดไฟต์ที่แตกต่างกัน พืชสกุลหญ้า สามารถแยกได้เชื้อราเอนโดไฟต์ที่หลากหลาย โดยพบ *Xylaria* sp. สูงสุด รองลงมา คือ *Colletotrichum* sp. และ *Eupeniillium* sp. (ศิริรัตน์. 2546) จึงเห็นได้ว่าเชื้อราบางสายพันธุ์เป็นเอนโดไฟต์ของพืชหลายชนิด

ณัฏฐา (2557) ศึกษาความหลากหลายของราบริเวณรอบรากอ้อย ในจังหวัดพื้นที่ภาคกลางของประเทศไทย ทำการแยกราโดยวิธี Soil Plate โดยใช้อาหาร Glucose Ammonium Nitrate agar (GAN) ศึกษาจำแนกชนิดของเชื้อราจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยเพาะเลี้ยงราบนอาหารวุ้น โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาขนาดใหญ่ของสปอร์และส่วนขยายพันธุ์อื่นๆ ขนาดเล็ก ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ Stereo และ Compound ตามลำดับ ผลการศึกษาสามารถแยกได้เชื้อราบริเวณรอบรากอ้อยได้ 141 สายพันธุ์ จำแนกได้ 29 สกุล 10 ชนิด ได้แก่ Zygomycota 5 สายพันธุ์ (*Absidia* spp., *Cunninghamella* spp., *Mucor* spp., *Rhizopus* spp. และ *Syncephalastrum* sp.) และ Ascomycota 24 สายพันธุ์ (*Acremonium* sp., *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. terreus*, *Chaetomium crispatum*, *Chaetomium* spp., *Curvularia* spp., *Drechslera* spp., *Emericella* sp., *Emericella* sp., *Eupenicillium* spp., *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Fusarium* spp., *Geotrichum* sp., *Humicola fuscoatra*, *Myrothecium cinctum*, *Papulaspora* sp., *Penicillium* spp., *Stachybotrys* sp., *Talaromyces* sp., *Thielavia terricola* และ *Trichoderma* spp.)

ชวิศา (2559) ศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์จากดินบริเวณรอบรากปาล์มน้ำมันในภาคใต้ของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดตรัง ปัตตานี พังงา ภูเก็ต และสงขลา โดยการแยกราและแบคทีเรียจากตัวอย่างดินจำนวน 15 ตัวอย่าง ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Dilution Pour Plate ได้เชื้อจุลินทรีย์ 185 ไอโซเลท ซึ่งประกอบด้วยเชื้อรา 26 ชนิด ใน 16 สกุล (*Acremonium* spp., *Aspergillus* spp., *Chaetomium* spp., *Chrysosporium* spp., *Cladosporium* spp., *Curvularia* spp., *Eupenicillium* spp., *Fusarium* spp., *Glioladium* sp., *Mucor* spp., *Paecilomyces* spp., *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp., *Scopulariopsis* sp., *Talaromyces* spp. และ *Trichoderma* spp.) แบคทีเรียจำนวน 5 ชนิด ใน 3 สกุล (*Bacillus* spp., *Pseudomonas* sp. และ *Serratia* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การเตรียมตัวอย่างเพื่อแยกเชื้อราในดินบริเวณรอบรากของข้าว

3.1.1 เก็บตัวอย่างดินจากรอบบริเวณรอบรากของข้าวที่มีลักษณะสมบูรณ์ ไม่แสดงอาการของโรคใดๆ โดยทำการสุ่มเก็บตัวอย่างบริเวณรากของข้าว ประมาณจุดละ 10 กรัม ขุดลึกลงไปประมาณ 0-15 เซนติเมตร ผึ่งให้แห้งในห้องปฏิบัติการ และนำมาร่อนด้วยตะแกรงขนาด 250 ไมครอน นำดินที่ได้มาทำการแยกจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการ

3.1.2 เก็บตัวอย่างของต้นข้าว 2 สายพันธุ์ คือ ข้าวเจ้าหอมสุพรรณบุรี1 และ ปทุมธานี 80 จากแปลงของเกษตรกรเขตลาดกระบัง หนอกจอก และมีนบุรี ที่มีความอุดมสมบูรณ์และไม่เป็นโรค ซึ่งในระยะออกรวง แล้วทำการแยกการเชื้อราเอนโดไฟต์ในห้องปฏิบัติการ

3.2 การแยกเชื้อราในดินและเชื้อราเอนโดไฟต์จากข้าว

3.2.1 การแยกเชื้อราในดินโดยวิธี Soil Plate

นำดินที่ได้มาทำการแยกเชื้อราด้วยวิธี Soil Plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Water agar (WA) แล้วนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน หรือกระทั่งสังเกตเห็นโคโลนีของเชื้อราที่เจริญทั้งในและบนอาหารเลี้ยงเชื้อ จึงทำการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ให้ได้เป็นโคโลนีเดี่ยว หรือเชื้อบริสุทธิ์ แล้วใช้เข็มเขี่ยเชื้อ ลงในอาหารสูตร PDA (Potato Dextrose Agar) นำเชื้อเก็บไว้เก็บเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง 28-30 องศาเซลเซียส ใช้ศึกษาต่อไป

3.2.2 การแยกเชื้อราเอนโดไฟต์จากข้าว โดยวิธี Tissue Transplanting

เก็บตัวอย่างต้นพืช นำมาแยกเชื้อราเอนโดไฟต์ โดยนำมาล้างด้วยน้ำสะอาด ตัดเนื้อเยื่อใบและเส้นกลางใบข้าว บริเวณ 3 ใบ ที่อยู่ด้านบนของต้นข้าว ส่วนลำต้น และราก ตัดเป็นรูปสี่เหลี่ยมขนาด 3 x 3 มิลลิเมตร จากนั้นทำการแยกเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค Tissue Transplanting โดยดัดแปลงวิธีการกำจัดเชื้อที่ผิวใบจาก Naik et al. (2009) นำชิ้นส่วนของใบ แช่ในแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 2 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองฆ่าเชื้อ แล้วนำไปวางในจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารสูตร WA (เลขา และคณะ. 2544) บ่มที่อุณหภูมิห้อง 28-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 วัน สังเกตการเปลี่ยนแปลงจนกว่าจะมีเส้นใยของเชื้อราเจริญออกมาจากชิ้นส่วนของข้าว แล้วใช้เข็มเขี่ยลนไฟ ฆ่าเชื้อตัดชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้อรา โดยตัดบริเวณปลายเส้นใย นำไปใส่ในอาหารสูตร PDA เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ เก็บเชื้อบริสุทธิ์ในหลอดอาหารสูตร PDA จำแนกชนิดของเชื้อที่แยกได้ โดยศึกษาลักษณะรูปร่างสปอร์ ลักษณะทางโคโลนี การเจริญเติบโต การสร้างสปอร์ สัณฐานวิทยาของจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 การจำแนกเชื้อราเอนโดไฟต์ และเชื้อราในดินบริเวณรอบรากข้าวโดยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

การศึกษาการจำแนกจุลินทรีย์ นำเชื้อบริสุทธิ์ของราจากดินบริเวณรอบรากพืช และ ในต้นพืชมาเลี้ยงบนอาหารสูตร PDA (Potato Dextrose Agar) ในจานเลี้ยงเชื้อ เช่น อาหารวุ้น ตรวจดูลักษณะการเจริญ สี ขนาดโคโลนี การสร้าง Pigment อุณหภูมิที่เหมาะสม การเปลี่ยนสีวุ้นอาหาร ฯลฯ บันทึกรายละเอียด และถ่ายภาพเชื้อราบนอาหารในจานเลี้ยงเชื้อ ทำ Slide Culture เพื่อตรวจดูลักษณะของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ Stereo และ Compound ถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์ บันทึกรายละเอียดลักษณะที่สำคัญเปรียบเทียบกับเอกสารอ้างอิง (Domsch et al. 1993 ; Ellis. 1971)

3.4 การคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว

เมื่อทำการแยกเชื้อราเป็นเชื้อบริสุทธิ์แล้ว ทำการคัดเลือกไอโซเลทสายพันธุ์เชื้อราที่ปลดปล่อยสารลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และทำการคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต โดยทำการคัดเลือกจากเอกสารอ้างอิง ทำการคัดเลือกไว้ทดสอบประมาณ 3 สายพันธุ์ จากนั้นทำไอโซเลทสายพันธุ์ที่ได้รับการคัดเลือกมาสกัดสาร secondary metabolite ตามวิธีของ Kanokmedhakul et al. (2006)

3.4.1 การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive compouds) จากเชื้อราเอนโดไฟต์

นำเชื้อราที่ได้ทำการคัดเลือก เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยง Potato dextrose broth (PDB) เป็นเวลา 30 วัน หลังจากนั้นนำเส้นใยเชื้อจุลินทรีย์มากรอกและตากแห้ง ชั่งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง นำเส้นใยแห้งไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นแล้วแช่ด้วยตัวทำละลาย Hexane ในปริมาตร 1:1(V/V) แช่ไว้ 5 วัน หลักจากนั้นกรอกแยกกากกับสารละลาย นำสารละลายที่กรองได้ไปกลั่นตัวทำละลายออก แบบลดความดันโดยใช้เครื่อง Rotary vacuum evaporator ส่วนที่ได้จากการกลั่นตัวทำละลายออกเรียกว่า crude เก็บในภาชนะแล้วชั่งหาน้ำหนัก crude ที่ได้ และนำกากที่ได้จากการกรองไปแช่ในตัวทำละลาย Ethyl Acetate (EtOAc) และ Methanol (MeOH) ตามลำดับ ผลสุดท้ายจะได้ crude ของ Hexane, Ethyl Acetate (EtOAc), Methanol (MeOH) ตามลำดับ **(ภาพที่ 1)**

3.4.2 ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive compouds) จากเชื้อรา เอนโดไฟต์

นำ crude extracts จากเชื้อราที่ได้ทำการคัดเลือก มาทำละลายใน 2% DMSO (Dimethyl sulfoxide) ทำการทดลอง แบบ 3×5 factorial experiment in completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ โดยมีปัจจัย A คือ ชนิดของสารสกัด ดังนี้

A1 = สารสกัดจาก Hexane

A2 = สารสกัดจาก Ethyl acetate

และ A3 = สารสกัดจาก Methanol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัจจัย B คือ ระดับความเข้มข้นของสารสกัด ซึ่งแบ่งเป็น 6 ระดับ ดังนี้

B1= ความเข้มข้น 0 ppm

B2= ความเข้มข้น 10 ppm

B3= ความเข้มข้น 50 ppm

B4= ความเข้มข้น 100 ppm

B5= ความเข้มข้น 500 ppm

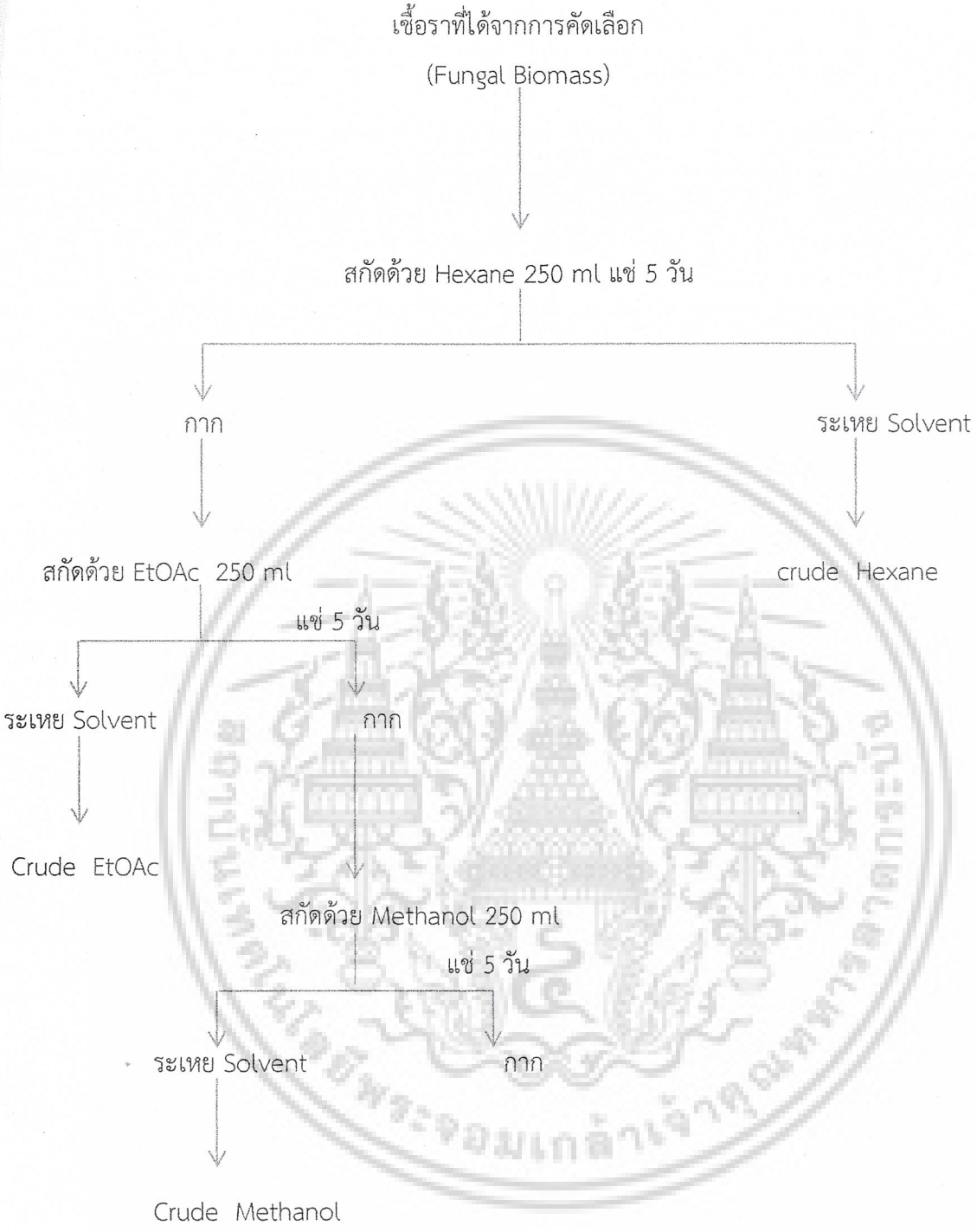
และ B5 = ความเข้มข้น 1,000 ppm

แล้วทำการทดสอบทดสอบการเจริญเติบโตของข้าว โดยการจุ่มหรือแช่เมล็ดข้าวในแต่ละ treatment เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำเมล็ดข้าวมาวางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จำนวน 10 เมล็ด วางในจานเพาะเลี้ยงเชื้อ ที่รองด้วยกระดาษกรอง filter papers whatman no.4 หยดน้ำกลั่นฆ่าเชื้อให้กระดาษกรองชื้น แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 28-30 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะที่มีแสงปกติ แล้วทำการสังเกตการงอกของเมล็ดข้าวทุกวันเป็นเวลา 14 วัน

3.5 การเก็บผลและการวิเคราะห์ผล

หลังจากทำการสังเกตการงอกของเมล็ดข้าว ทำการนับเมล็ดข้าวที่งอก, วัดความยาวของราก, นับจำนวนของราก และวัดความสูงของลำต้น นำข้อมูลผลการทดลองที่ได้วิเคราะห์หาความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of variance : ANOVA) และเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น P= 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 แผนผังแสดงการสกัดสารจากเชื้อราที่ได้ทำการคัดเลือก (Kanokmedhakul et al. 2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัย

4.1 การจำแนกเชื้อราเอนโดไฟต์ และเชื้อราในดินบริเวณรอบรากข้าวโดยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

4.1.1 การแยกเชื้อราในดินบริเวณรอบรากข้าว

จากการเก็บสุ่มตัวอย่างดินบริเวณรอบรากพืช โดยทำการสุ่มตัวอย่างมาจากแปลงเกษตรกรจำนวน 3 แปลง โดยทำการแยกเชื้อราด้วยวิธี Soil Plate พบว่า แยกเชื้อราในดินบริเวณรอบรากข้าว ได้ทั้งหมด 105 ไอโซเลต สามารถจำแนกราโดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาในเบื้องต้นจนถึงระดับสกุล สามารถจำแนกรา 11 สกุล ได้แก่ *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Trichoderma* spp., *Chaetomium* spp., *Curvularia* spp., *Fusarium* spp., *Gliocladium* sp., *Phytopthora* spp., *Rhizoctonia* spp., *Rhizopus* spp. *Xylaria* sp. ดังตารางที่ 1 ซึ่งจะพบเชื้อราที่มีความหลากหลาย เนื่องจากมีปัจจัยที่ส่งผลต่อสภาพอากาศเฉพาะพื้นที่ของแปลงนา เช่น ภูมิอากาศของแหล่งปลูก ความหนาแน่นของต้นข้าว และความชื้นดิน เป็นต้น

4.1.2 การแยกและคัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟต์จากข้าว

จากการเก็บตัวอย่างต้นข้าว นำส่วนของต้น ใบ รากของข้าวทั้งสอง สายพันธุ์ คือ ข้าวเจ้าหอมสุพรรณบุรี และ ข้าวปทุมธานี ที่มีความอุดมสมบูรณ์ ไม่มีเชื้อก่อโรค โดยนำมาแยกเชื้อราเอนโดไฟต์ มาล้างด้วยน้ำสะอาด ตัดเนื้อเยื่อใบและเส้นกลางใบข้าว บริเวณ 3 ใบ ที่อยู่ด้านบนของต้นข้าว ส่วนลำต้น และราก ตัดเป็นรูปสี่เหลี่ยมขนาด 3 x 3 มิลลิเมตร จากนั้นทำการแยกเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค Tissue Transplanting โดยดัดแปลงวิธีการกำจัดเชื้อที่ผิวใบจาก Naik et al. (2009) พบว่า สามารถแยกเชื้อราเอนโดไฟต์จากข้าวทั้งหมด 95 ไอโซเลต สามารถจำแนกราโดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาในเบื้องต้นจนถึงระดับสกุล สามารถจำแนกรา 9 สกุล ได้แก่ *Aspergillus* spp., *Chaetomium* spp., *Colletotrichum* spp., *Curvularia* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Phytophthora* spp., *Rhizopus* spp. and *Trichoderma* spp. โดยจะความหลากหลายของราเอนโดไฟต์มีความแตกต่างกันในแต่ละพันธุ์ข้าวและจากตัวอย่างส่วนที่แตกต่างกัน ดังตารางที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง แสดงการจำแนกเชื้อราในดินบริเวณรอบรากข้าว

No.	Fungal species	Location
1	*Trichoderma harzianum*	Bangkok Series 1
2	*Rhizopus* spp.	Bangkok Series 1
3	*Rhizoctonia* spp.	Bangkok Series 1
4	*Aspergillus niger*	Bangkok Series 1
5	*Chaetomium* sp.	Bangkok Series 1
6	*Phytopthora* sp.	Bangkok Series 1
7	*Trichoderma* spp.	Bangkok Series 1
8	*Penicillium* spp.	Bangkok Series 2
9	*Fusarium oxysporum*	Bangkok Series 2
10	*Aspergillus niger*	Bangkok Series 2
11	*Trichoderma* spp.	Bangkok Series 2
12	*Chaetomium cupreum*	Bangkok Series 2
13	*Fusarium solani*	Bangkok Series 2
14	*Aspergillus flavus*	Bangkok Series 3
15	*Gliocladium* sp.	Bangkok Series 3
16	*Curvularia* spp.	Bangkok Series 3
17	*Xylaria sp.*	Bangkok Series 3
18	*Fusarium* spp.	Bangkok Series 3
19	*Aspergillus terreus*	Bangkok Series 3
20	*Fusarium oxysporum*	Bangkok Series 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง แสดงการจำแนกเชื้อราเอนโดไฟต์จากชิ้นส่วนของข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์

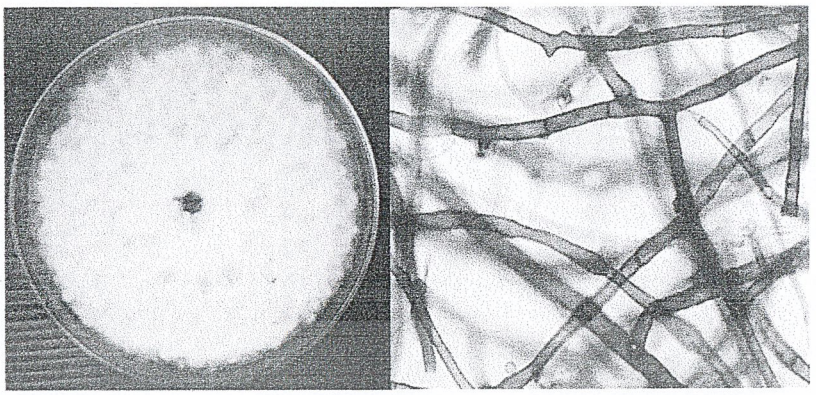
Rice varieties	Fungal species	Parts of plants
	Colletotrichum spp.	Leaf
Khao Jow Hawm	*Trichoderma* sp.	Leaf
Suphan Buri	*Aspergillus flavus*	Root
	Penicillium sp.	Leaf
	Chaetomium cupreum	Leaf
	Rhizopus spp.	Root
	Fusarium oxysporum	Stem
	Curvularia lunata	Leaf
	Curvularia lunata	Leaf
Pathum Thani 80	*Aspergillus flavus*	Root
	Trichoderma harzianum	Stem
	Penicillium sp.	Stem
	Fusarium solani	Leaf
	Phythium spp.	Root
	Aspergillus niger	Root
	Chaetomium globosum	Stem
	Colletotrichum spp.	Leaf
	Chaetomium brasilense	Stem

4.1.3 การจำแนกเชื้อราเอนโดไฟต์ และเชื้อราในดินบริเวณรอบรากข้าวโดยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

การศึกษาการจำแนกจุลินทรีย์ นำเชื้อบริสุทธิ์ของราจากดินบริเวณรอบรากพืช และ ในต้นพืชมาเลี้ยงบนอาหารสูตร PDA (Potato Dextrose Agar) ในจานเลี้ยงเชื้อ เช่น อาหารวุ้น ตรวจดูลักษณะการเจริญ สี ขนาดโคโลนี การสร้าง Pigment อุณหภูมิที่เหมาะสม การเปลี่ยนสีวุ้นอาหาร ฯลฯ เพื่อตรวจดูลักษณะของราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ Stereo และ Compound ถ่ายภาพจากกล้องจุลทรรศน์ บันทึกรายละเอียดลักษณะที่สำคัญเปรียบเทียบกับเอกสารอ้างอิง (Domsch et al. 1993 ; Ellis. 1971)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เชื้อรา *Xylaria* spp.



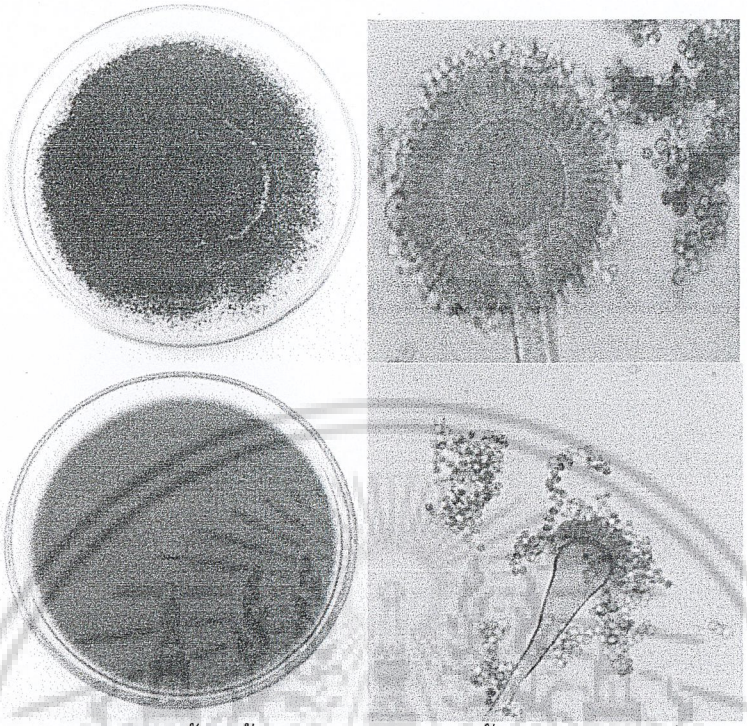
ลักษณะของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA จะมีการเจริญเติบโตช้า มีเส้นใยสีขาวเจริญเติบโตในรูปแบบ “นิ้วมือหรือรูปมือ” ที่โผล่ออกมาจากต้นตอกลายเป็นสีน้ำตาลเข้มเป็นสีน้ำตาลเข้มกลายเป็นสีดำคล้ำ ส่วนบนจะปรากฏเป็นผงสีขาวปลายแหลมสีดำเมื่อโตเต็มที่มีขนสีดำและมีขน Stromata เป็นทรงกระบอกซึ่งไม่สามารถแยกได้ทำให้เกิด Ascoacrp

- เชื้อรา *Trichoderma* spp.

ลักษณะของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA จะมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ซึ่งมีอายุ 3-5 วัน จะเริ่มมีการเจริญเติบโต เป็นกระจุกสีขาวแล้วจะค่อยพัฒนาไปเป็นสีเขียว เริ่มจะเป็นวง เนื่องจากมีการผลิตสปอร์ หลังจากนั้นจะกลับเป็นปกติสีน้ำตาลอ่อนสีส้มสีเหลืองหรือสีซีด จะผลิต septate, เส้นใยสีใส conidiophores ค่อนข้างสั้นแตกแขนงในมุมที่กว้าง (ใกล้ 90 $^{\circ}$) มักให้เป็นลักษณะรูปปีระมิด, Phialides เป็นขวดหรือ รูป ampule (ที่สูงขึ้นที่ฐาน), สปอร์เป็นรูปวงรี และเป็นผนังเรียบหรือขรุขระขึ้นอยู่กับชนิด, สปอร์เซลล์เดียว (2.5-5 ไมครอน) มักจะมีสีเขียวและมีการแตกของก้านชูสปอร์ซับซ้อนมาก สีของโคโลนีส่วนใหญ่เกิดจากการสร้างสีของสปอร์

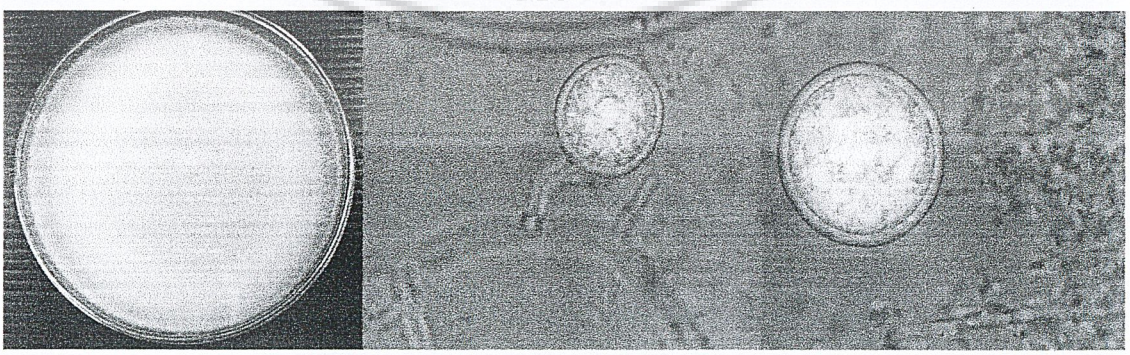
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เชื้อรา *Aspergillus spp.*



ลักษณะของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เส้นใยจะมีสีน้ำตาลและจะเปลี่ยนเป็นสีดำอย่างรวดเร็ว เนื่องจาก Conidia พัฒนาเม็ดสีระหว่างการเจริญเติบโต หรือบางชนิดมีสีเขียว ที่มีการเจริญเติบโตของผิวเป็นเนื้อนุ่มเนียนหรือเป็นผงแสดงเฉดสีเขียวต่างๆโดยทั่วไปและอาจมีเส้นขอบสีขาว พื้นผิวมักจะฟูและเบาบาง โดยเฉพาะอย่างยิ่งใกล้ศูนย์และ conidiophores มีลักษณะตั้งตรงขึ้น บริเวณตรงปลายขยายออกมา มีรูปร่างค่อนข้างกลม บริเวณดังกล่าวจะมีโครงสร้างซึ่งเป็นฐานของ conidia เรียกว่า phialides ส่วน conidia มีรูปร่างกลม มีหลายสี เช่น ดำ เขียว น้ำตาล เป็นต้น บริเวณตรงฐานของ conidiophores มีเซลล์พิเศษเรียกว่า foot cells ซึ่งเป็นลักษณะพิเศษที่ใช้ในการสังเกต

- เชื้อรา *Pythium* spp.

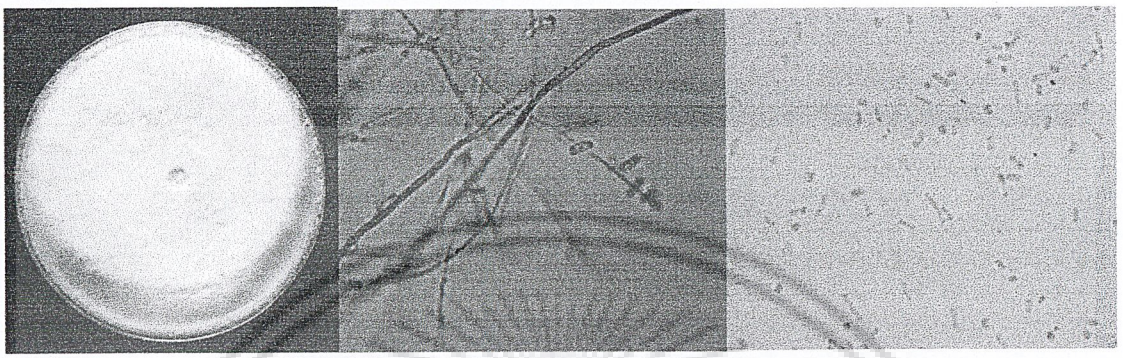


ลักษณะของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เส้นใยจะมีสีขาวปุยนุ่ม หรือ ปุยฝ้าย มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว เส้นใยจะไม่มีสี ไม่มีกิ่งก้าน เจริญเติบโตเป็นเส้นตรง เส้นใยไม่มีสีไม่มีผนังกั้น ผิวผนังเรียบ มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

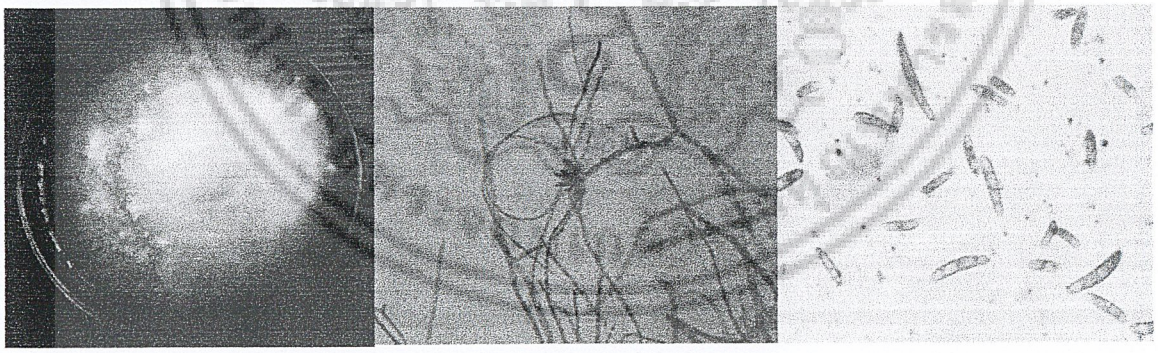
สปอร์รูปร่างกลม มีหางสามารถว่ายน้ำได้ ภายในถึงที่แยกออกมาจากสปอร์ จะผลิต zoospores แต่มี sporangia ใหญ่มาก ซึ่งเป็นทรงกลม อยู่ภายในเนื้อเยื่อของพืชเพื่อเข้าทำลาย

- เชื้อรา *Colletotrichum* spp



ลักษณะของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เส้นใยมีสีขาว แล้วจะค่อยเปลี่ยนเป็นสีเทา มีการเจริญหนาแน่นเมื่อยังอ่อน เส้นใยไม่มีสี หรือมีสีน้ำตาลอ่อน จนถึง น้ำตาลแก่ เส้นใยแตกกิ่งก้าน มี septate ส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อรา เรียกว่า conidia มีลักษณะเซลล์เดียว ไม่มีสี ไม่มีผนังกั้น ลักษณะตรง หรือโค้งงอ มีรูปร่างหลายแบบ เกิดบนก้านชู conidiophore และ บางครั้งสร้าง หรือ ไม่สร้าง sclerotia บนอาหารเลี้ยงเชื้อ conidia เดี่ยวๆไม่มีสีเซลล์เดียว ผนังบาง เรียบ ลักษณะรูปร่างรูปไข่ หรือ ยาวรีตรงหรือโค้ง

- เชื้อรา *Fusarium* spp.

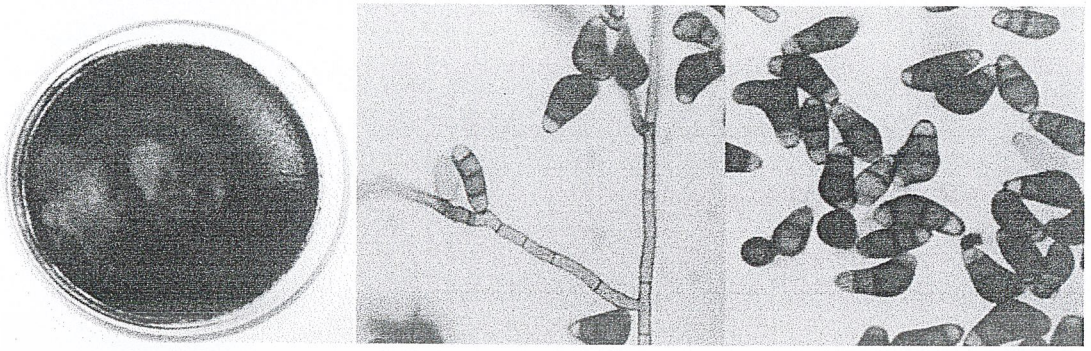


ลักษณะของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เส้นใยฟูมาก ทีการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว มีสีขาวอมเทา สีชมพู ม่วง หรือเหลือง หลังจากนั้นจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ทั้งในเส้นใยและอาหารเลี้ยงเชื้อ conidia ไม่มีสี มีอยู่ 2 ชนิดคือ macroconidia จะมีหลายเซลล์ และมีเซลล์รูปร่างโค้ง และ microconidia มีรูปร่างเป็นรูปทรงกลมโค้งเล็กน้อยโค้ง มีผนังกั้น 3-5 มีเซลล์เดียว รูปทรงไข่ อาจต่อเป็นเส้นสาย ส่วนรูปไข่ มี Chlamydospores มีผนังหนา อาจเดี่ยวๆหรือคู่ และมีเส้นใยเรียบหรือขรุขระผนัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

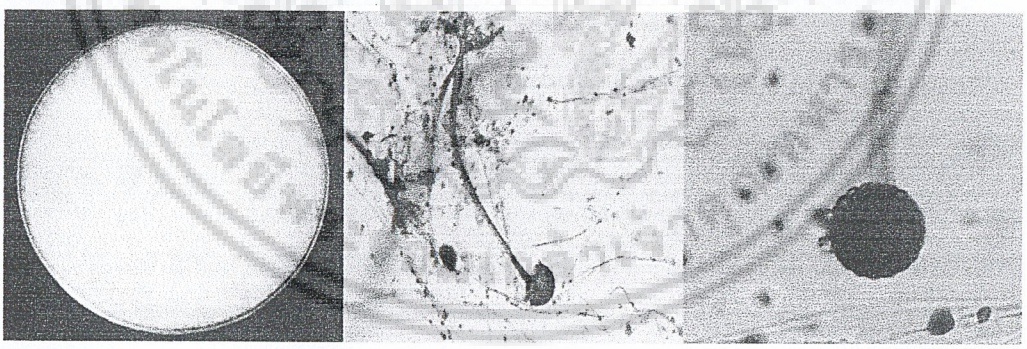
หอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

- เชื้อรา *Curvularia lunata*



ลักษณะของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีการเจริญเติบโตรวดเร็ว มีเส้นใยเจริญหนาแน่น โคโลนีจะมีสีเทา เมื่อผ่านไป 7-10 วัน จะมีสีเข้มขึ้นจนเป็นเห็นเป็นสีดำ เส้นใยมี septate แตกกิ่งก้านมากมาย เส้นใยอ่อนจะไม่มีสี เมื่อเส้นใยแก่จะเห็น septate ได้ชัด จะสร้าง conidium มี 3-5 เซลล์ ตรงกลางมีสีเข้มกว่าเซลล์หัวท้าย เกิดบนก้าน conidiophore สีเข้มไม่แตกกิ่งก้าน แต่อาจมีการ proliferation ออกทางด้านข้างใกล้ส่วนปลาย ทำให้สร้างสปอร์เพิ่มขึ้นได้อีก และก้าน conidiophore มีลักษณะเป็นข้อหัก หรือจะมี septate ลักษณะตรง ไม่แตกกิ่งก้าน เมื่อแก่จะมีสีเข้มมี conidia เกิดติดเป็นช่ออยู่ที่ส่วนปลาย conidiophore

- เชื้อรา *Rhizopus* spp.

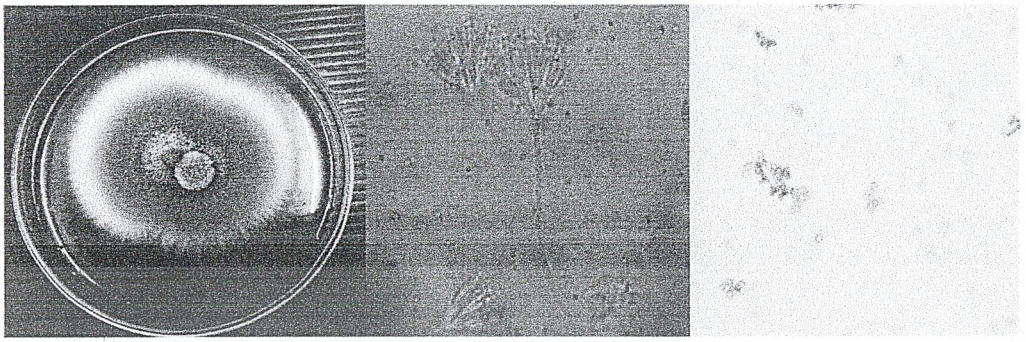


ลักษณะของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เส้นใยฟูมาก มีสีขาว มีเส้นใยที่เหนียว มีสปอร์สีดำ เมื่อดูผ่านใต้กล้องจุทรรศน์ เส้นใยแบบไม่มีผนังกั้น มี rhizoids ในตำแหน่งที่ฐานของ sporangiophore และ stolons ส่วน sporangiophores ไม่มีการแตกกิ่งก้าน มี sporangia รูปร่างกลม สามารถสืบพันธุ์แบบมีเพศด้วย โดยการสร้าง zygospores

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

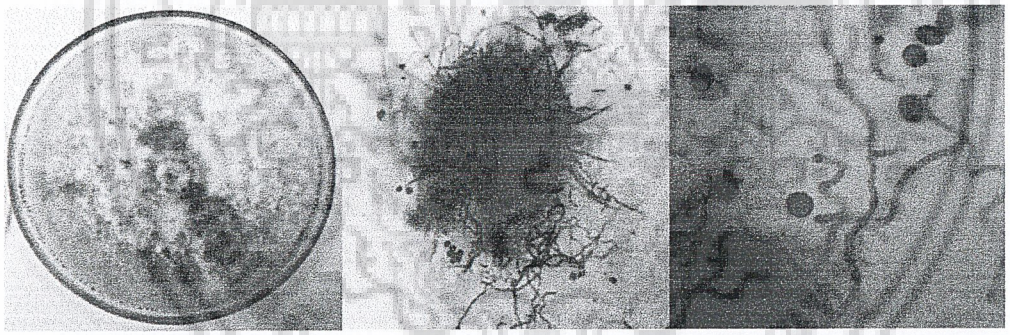
149339

- เชื้อรา *Penicillium* spp.



ลักษณะของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA การเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและเจริญเติบโตอย่างเต็มที่ประมาณ 5 วัน ลักษณะเส้นใยจะเป็นปุยหิมะ มีสีเขียวสีฟ้าสีเขียวหรือสีเทาสีเขียวมักจะมีขอบสีขาวรอบๆ มี conidiophore ตั้งตรงขึ้นมาจากฐาน บริเวณเกือบถึงยอดจะมีการแตกแขนงออกมาในลักษณะคล้ายไม้กวาด (brush-like) เพื่อเป็นฐานรองรับ conidia ที่จะถูกสร้างอยู่บน phialides ซึ่งเมื่อ phialides แก่เต็มที่จะผลิต, conidia ไม่มีสีหรืออาจมีสีที่ค่อนข้างสดใส รูปร่างค่อนข้างกลมหรือรูปไข่

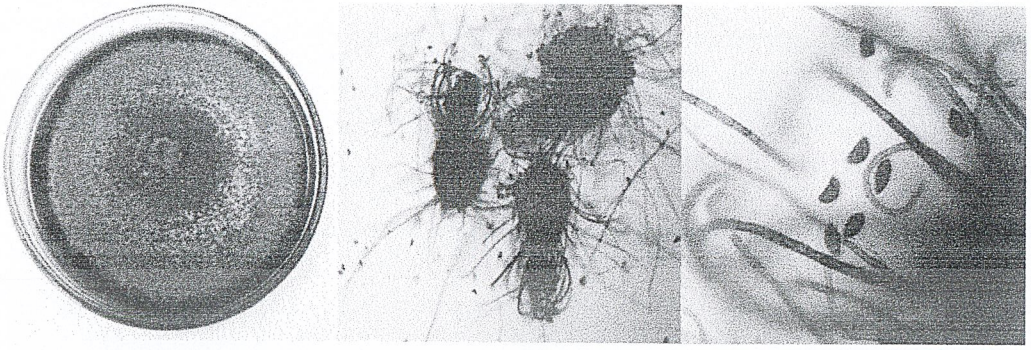
- เชื้อรา *Chaetomium globosum*



ลักษณะของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA การเจริญเติบโตช้าๆ เส้นใยเล็กๆ มีสีน้ำตาลเข้มหรือสีดำมีสีน้ำตาลกลม ๆ ขนมีลักษณะม้วนปลายเล็บหยัก หรือม้วนอย่างอิสระ และ Ascospores มีสีเขียวอ่อนไปจนถึงมะกอกสีน้ำตาลเข้มมะนาวแบนราบเรียบโผล่ขึ้นมาพร้อมกับ papillae, Asci จะมีรูปร่างเป็นรูปทรงกระบอง, Ascospores มีสีน้ำตาลอ่อน ถึงสีน้ำตาลเข้มมีรูปร่างคล้ายมะนาวมีปลายทั้งสองข้างเป็นปลายรูพรุน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เชื้อรา *Chaetomium cupreum*



ลักษณะของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA การเจริญเติบโตปานกลาง เส้นใยจะมีสีแดง เนื่องจากมีการผลิตเม็ดสี เส้นใยจะมีผนังกั้น จะโตเต็มที่ภายใน 10-14 วัน ขนที่ออกมามีการหมุนเวียนหรือขดตัว ขนข้างติดกันหยาบกร้านประดุจเส้นผม, Asci จะมีรูปร่างเป็นรูปทรงกระบอง มี 8 Ascospores และ Ascospores เป็น reniform

- เชื้อรา *Chaetomium brasiliense*

ลักษณะของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA การเจริญเติบโตปานกลาง เส้นใยจะมีสีเทาหรือเกือบขาว หลังจากนั้นจะกลายเป็นสีดำ เมื่ออายุมาก เส้นใยจะกลายเป็นสีเข้มเนื่องจากมีเม็ดสี ascomata เป็นทรงกลม มีช่องเปิดด้านบน หรือ ostiolate, มีผนังสีเข้มของเซลล์เชิงมุม ขนที่เกิดจากขนอ่อน มีความยืดหยุ่นหยักหรือมีเกลียวขดหนืดสีน้ำตาลเข้มสีแดงเข้มหรือสีแดงเข้ม, asci ทรงกระบอก ก้านสั้นมี 8 ascospores แผ่แบนออกเป็นคู่สีน้ำตาลเข้มเมื่อโตเต็มที่ มีรูขุมขนที่ปลายทอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเอนโดไฟต์ต่อการส่งเสริมการเจริญของข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี1 และปทุมธานี80

4.3.1 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบ (Crude Extracts) ของเชื้อรา *Ch. brasiliense* ต่อการเจริญเติบโตของข้าวสุพรรณบุรี1 และปทุมธานี80

จากการทดลองสารสกัดหยาบ (Crude extracts) จาก crude hexane, crude ethyl acetate และ crude methanol ของ *Ch. brasiliense* ที่มีต่อการงอกของเมล็ดข้าวสุพรรณบุรี1 เป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่า สารสกัด crude ethyl acetate ที่ความเข้มข้น 50 ppm มีเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดข้าวสูงที่สุด เท่ากับ 72.5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองเปรียบเทียบที่ความเข้มข้น 0 ppm และรองลงมา คือ สารสกัด crude hexane และ crude methanol ที่ความเข้มข้น 500 และ50 ppm มีค่าเท่ากับ 70 และ 67.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm ในทุกตัวทำละลายจะให้เปอร์เซ็นต์การงอกที่ต่ำที่สุด

สารสกัดหยาบของ *Ch.brasiliense* มีผลต่อความสูงของต้น และความยาวรากของเมล็ดข้าวสุพรรณบุรี1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P = 0.05) โดยพบว่า สารสกัด crude hexane ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm มีผลต่อความสูงของต้นและความยาวรากมากที่สุด เท่ากับ 21.23 และ 19.78 มิลลิเมตร ตามลำดับ รองลงมา คือ สารสกัด crude methanol ที่ความเข้มข้น 100 ppm มีความสูงของต้นและความยาวราก เท่ากับ 16.31 และ 19.45 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยจะให้ค่าสูงกว่าชุดการทดลองเปรียบเทียบที่ความเข้มข้น 0 ppm อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 6, ภาพที่ 18)

จากการทดลองสารสกัดหยาบ (Crude extracts) จาก crude hexane, crude ethyl acetate และ crude methanol ของ *Ch. brasiliense* ต่อการงอกของเมล็ดข้าวปทุมธานี80 พบว่า สารสกัด crude hexane จาก *Ch. brasiliense* ที่ความเข้มข้น 50 ppm มีเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดข้าวสูงที่สุด เท่ากับ 72.5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองเปรียบเทียบที่ความเข้มข้น 0 ppm และรองลงมาคือ สารสกัด crude methanol และ crude ethyl acetate ความเข้มข้น 50 และ 100 ppm มีค่าเท่ากับ 67.5 และ 70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm ในทุกตัวทำละลายจะให้เปอร์เซ็นต์การงอกที่ต่ำที่สุด

นอกจากนี้สารสกัดหยาบของ *Ch. brasiliense* มีผลต่อความสูงของต้น และความยาวรากของเมล็ดข้าวปทุมธานี80 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P=0.05) โดยพบว่า สารสกัด crude methanol ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm มีผลต่อความสูงของต้น และความยาวรากมากที่สุด เท่ากับ 22.33 และ 22.86 มิลลิเมตร ตามลำดับ รองลงมา คือ สารสกัด crude ethyl acetate ที่ความเข้มข้น 100 ppm มีความสูงของต้น และความยาวราก เท่ากับ 21.18 และ 22.64 มิลลิเมตร ตามลำดับ ได้ให้ค่าสูงกว่าชุดการทดลองเปรียบเทียบที่ความเข้มข้น 0 ppm อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 7, ภาพที่ 19)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบ (Crude Extracts) ของเชื้อรา *Ch. globosum* ต่อการเจริญเติบโตของข้าวสุพรรณบุรี1 และปทุมธานี80

จากการทดลองสารสกัดหยาบ (Crude extracts) จาก crude hexane, crude ethyl acetate และ crude methanol ของ *Ch. globosum* ที่มีต่อการงอกของเมล็ดข้าวสุพรรณบุรี1 เป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่า สารสกัด crude ethyl acetate ที่ความเข้มข้น 50 ppm มีเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดข้าวสูงที่สุด เท่ากับ 70 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองเปรียบเทียบที่ความเข้มข้น 0 ppm และรองลงมา คือ สารสกัด crude methanol และ crude hexane ที่ความเข้มข้น 500 และ 50 ppm มีค่าเท่ากับ 65 และ 62.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งที่ความเข้มข้น 1000 ppm ในทุกตัวทำละลายจะให้เปอร์เซ็นต์การงอกที่ต่ำที่สุด

สารสกัดหยาบของ *Ch. globosum* มีผลต่อความสูงของต้น และความยาวรากของเมล็ดข้าวสุพรรณบุรี1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P = 0.05) โดยพบว่า สารสกัด crude methanol ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm มีผลต่อความสูงของต้นและความยาวรากมากที่สุด เท่ากับ 15.30 และ 11.77 มิลลิเมตร ตามลำดับ รองลงมา คือ สารสกัด crude ethyl acetate ที่ความเข้มข้น 100 ppm มีความสูงของต้น และความยาวราก เท่ากับ 14.06 และ 9.01 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยให้ค่าสูงกว่าชุดการทดลองเปรียบเทียบที่ความเข้มข้น 0 ppm อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 8, ภาพที่ 20)

จากการทดลองสารสกัดหยาบ (Crude extracts) จาก crude hexane, crude ethyl acetate และ crude methanol ของ *Ch. globosum* ต่อการงอกของเมล็ดข้าวปทุมธานี80 เป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่า สารสกัด crude hexane ของ *Ch. globosum* ที่ความเข้มข้น 50 ppm มีเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดข้าวสูงที่สุด เท่ากับ 67.5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองเปรียบเทียบที่ความเข้มข้น 0 ppm และรองลงมา คือ สารสกัด crude ethyl acetate และ crude methanol ที่ความเข้มข้น 10 ppm มีค่าเท่ากับ 66 และ 65 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm ในทุกตัวทำละลายจะให้เปอร์เซ็นต์การงอกที่ต่ำที่สุด

นอกจากนี้สารสกัดหยาบของ *Ch. globosum* มีผลต่อความสูงของต้น และความยาวรากของเมล็ดข้าวปทุมธานี80 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P = 0.05) โดยพบว่า สารสกัด crude methanol ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm มีผลต่อความสูงของต้น และความยาวรากมากที่สุด เท่ากับ 12.76 และ 11.14 มิลลิเมตร ตามลำดับ รองลงมา คือ สารสกัด crude ethyl acetate ที่ความเข้มข้น 50 ppm มีความสูงของต้น และความยาวราก เท่ากับ 12.30 และ 11.52 มิลลิเมตร ตามลำดับ ได้ให้ค่าสูงกว่าชุดการทดลองเปรียบเทียบที่ความเข้มข้น 0 ppm อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 9, ภาพที่ 21)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.3 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบ (Crude Extracts) ของเชื้อรา *Ch.cupreum* ต่อการเจริญเติบโตของข้าวสุพรรณบุรี1 และปทุมธานี80

จากการทดลองสารสกัดหยาบ (Crude extracts) จาก crude hexane, crude ethyl acetate และ crude methanol ของ *Ch. cupreum* ที่มีต่อการงอกของเมล็ดข้าวสุพรรณบุรี1 เป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่า สารสกัด crude ethyl acetate ที่ความเข้มข้น 100 ppm มีเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดข้าวสูงที่สุด เท่ากับ 72.5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองเปรียบเทียบที่ความเข้มข้น 0 ppm และรองลงมา คือ สารสกัดจากตัวทำละลาย crude methanol และ crude hexane ที่ความเข้มข้น 500 และ 50 ppm มีค่า เท่ากับ 67.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งที่ความเข้มข้น 1000 ppm ในทุกตัวทำละลายจะให้เปอร์เซ็นต์การงอกที่ต่ำที่สุด

สารสกัดหยาบของ *Ch. cupreum* มีผลต่อความสูงของต้น และความยาวรากของเมล็ดข้าวสุพรรณบุรี1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P = 0.05) โดยพบว่า สารสกัด crude methanol ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm มีผลต่อความความสูงของต้น และความยาวรากมากที่สุด เท่ากับ 18.50 และ 15.88 มิลลิเมตร ตามลำดับ รองลงมา คือ สารสกัด crude ethyl acetate ที่ความเข้มข้น 100 ppm มีความสูงของต้น และความยาวราก เท่ากับ 18.07 และ 14.55 มิลลิเมตร ตามลำดับ โดยให้ค่าสูงกว่าชุดการทดลองเปรียบเทียบที่ความเข้มข้น 0 ppm อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 10, ภาพที่ 22)

จากการทดลองสารสกัดหยาบ (Crude extracts) crude hexane, crude ethyl acetate และ crude methanol ของ *Ch. cupreum* ต่อการงอกของเมล็ดข้าวปทุมธานี80 เป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่า สารสกัด crude hexane ที่ความเข้มข้น 10 ppm มีเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดข้าวสูงที่สุด เท่ากับ 70 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองเปรียบเทียบที่ความเข้มข้น 0 ppm และรองลงมา คือ สารสกัด crude methanol และ crude ethyl acetate ที่ความเข้มข้น 500 และ 50 ppm มีค่าเท่ากับ 67.5 และ 62.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm ในทุกตัวทำละลายจะให้เปอร์เซ็นต์การงอกที่ต่ำที่สุด

นอกจากนี้สารสกัดหยาบของ *Ch. cupreum* มีผลต่อความสูงของต้น และความยาวรากของเมล็ดข้าวปทุมธานี80 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P = 0.05) โดยพบว่า สารสกัด crude hexane ที่ระดับความเข้มข้น 10 ppm มีผลต่อความสูงของต้น และความยาวรากมากที่สุด เท่ากับ 12.60 และ 11.27 มิลลิเมตร ตามลำดับ รองลงมา คือ สารสกัด crude ethyl acetate ที่ความเข้มข้น 50 ppm มีความสูงของต้น และความยาวราก เท่ากับ 12.49 และ 10.52 มิลลิเมตร ตามลำดับ ได้ให้ค่าสูงกว่าชุดการทดลองเปรียบเทียบที่ความเข้มข้น 0 ppm อย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 11, ภาพที่ 23)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 ผลของสารสกัดหยาบ (Crude Extracts) จาก *Ch.brasiliense* ต่อการเจริญเติบโตข้าวสุพรรณบุรี1 เป็นระยะเวลา 7 วัน

สารสกัดหยาบ (Crude extracts)	ความเข้มข้น (ppm)	การงอก (%)	ความสูงของต้น[1/] (มิลลิเมตร)	ความยาวราก[1/] (มิลลิเมตร)
Hexane	0	45	12.72f1[1/]	9.79de[1/]
	10	25	16.37bc	13.35b-d
	50	52.5	17.58b	15.81a-c
	100	65	21.23a	19.78a
	500	70	9.19g	10.10de
	1000	27.5	5.17h	5.67f
Ethyl acetate	0	45	12.32f	9.73de
	10	67.5	15.39b-e	12.29cd
	50	72.5	13.04ef	16.02a-c
	100	42.5	12.32f	10.27de
	500	60	12.69f	10.38de
	1000	30	6.02h	4.65f
Methanol	0	65	12.77f	10.29de
	10	60	13.67d-f	14.55bc
	50	67.5	15.52b-d	13.70b-d
	100	65	16.31bc	19.45a
	500	65	13.98c-f	17.50ab
	1000	45	9.94g	6.97ef
	C.V. (%)		11.75	21.46

[1/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P=0.05 โดยเปรียบเทียบ Treatment Mean แบบ Duncan Multiple Range Test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 ผลของสารสกัดหยาบ (Crude extracts) จาก *Ch. brasiliense* ต่อการเจริญเติบโตข้าวปทุมธานี 80 เป็นระยะเวลา 7 วัน

สารสกัดหยาบ (Crude extracts)	ความเข้มข้น (ppm)	การงอก (%)	ความสูงของต้น[1/] (มิลลิเมตร)	ความยาวราก[1/] (มิลลิเมตร)
Hexane	0	65	12.41f-h[1/]	11.86f-h[1/]
	10	57.5	17.02cd	17.82b
	50	72.5	20.21ab	21.01a
	100	67.5	14.68d-f	16.80b-d
	500	42.5	11.14g-i	14.23d-f
	1000	40	8.96i	9.71hi
Ethyl acetate	0	62.5	13.17e-g	11.94f-h
	10	57.5	16.60c	14.44c-f
	50	52.5	19.03bc	16.95bc
	100	70	21.18ab	22.64a
	500	42.5	17.16cd	15.34b-e
	1000	40	9.39i	9.25i
Methanol	0	62.5	13.02e-g	11.34g-i
	10	52.5	16.35cd	14.12ef
	50	57.5	18.53bc	15.32b-e
	100	67.5	22.33a	22.86a
	500	62.5	15.15de	13.62e-g
	1000	40	10.04hi	10.09hi
	C.V. (%)		11.36	11.09

[1/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P=0.05 โดยเปรียบเทียบ Treatment Mean แบบ Duncan Multiple Range Test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 ผลของสารสกัดหยาบ (Crude Extracts) จาก *Ch. globosum* ต่อการเจริญเติบโตข้าวสุพรรณบุรี1เป็นระยะเวลา 7 วัน

สารสกัดหยาบ (Crude extracts)	ความเข้มข้น (ppm)	การงอก (%)	ความสูงของต้น[1/] (มิลลิเมตร)	ความยาวราก[1/] (มิลลิเมตร)
Hexane	0	55	10.00c-f[1/]	5.82c-e[1/]
	10	52.5	12.26bc	8.22bc
	50	62.5	13.16ab	9.72ab
	100	57.5	11.72b-d	7.15b-d
	500	55	9.39d-f	5.50c-e
	1000	52.5	8.37f	3.70ef
Ethyl acetate	0	60	9.50d-f	5.83c-e
	10	65	11.61b-e	7.34b-d
	50	70	10.03c-f	7.52b-d
	100	52.5	14.06ab	9.01ab
	500	40	9.92c-f	4.75d-f
	1000	35	6.09g	2.28f
Methanol	0	60	9.57d-f	7.72b-d
	10	50	11.55b-e	8.02bc
	50	55	12.4bc	9.25ab
	100	62.5	14.02ab	10.08ab
	500	65	15.30a	11.77a
	1000	45	9.07ef	5.57c-e
	C.V. (%)		14.17	25.81

[1/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P=0.05 โดยเปรียบเทียบ Treatment Mean แบบ Duncan Multiple Range Test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 ผลของสารสกัดหยาบ (Crude Extracts) ของ *Ch. globosum* ต่อการเจริญเติบโตข้าวปทุมธานี80 เป็นระยะเวลา 7 วัน

สารสกัดหยาบ (Crude extracts)	ความเข้มข้น (ppm)	การงอก (%)	ความสูงของต้น[1/] (มิลลิเมตร)	ความยาวราก[1/] (มิลลิเมตร)
Hexane	0	65	10.82ab[1/]	8.13c-f[1/]
	10	65	11.52a	10.68ab
	50	67.5	10.38a-c	10.25a-c
	100	62.5	10.51a-c	9.81a-d
	500	62.5	9.92a-d	7.56d-g
	1000	60	6.35e	6.40fg
Ethyl acetate	0	65	9.57a-d	8.13c-f
	10	66	10.60a-c	9.08b-e
	50	57.5	12.30a	11.52a
	100	57.5	5.83e	8.90 b-e
	500	57.5	7.43c-e	7.25e-g
	1000	47.5	6.87de	5.59g
Methanol	0	60	8.07b-e	7.63d-g
	10	65	10.31a-c	8.89 b-e
	50	52.5	10.27a-c	9.61a-e
	100	55	12.76a	11.14ab
	500	45	11.57a	10.24a-c
	1000	32.5	6.24e	5.34g
	C.V. (%)		21.04	16.46

[1/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P=0.05 โดยเปรียบเทียบ Treatment Mean แบบ Duncan Multiple Range Test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 ผลของสารสกัดหยาบ (Crude Extracts) จาก *Ch.cupreum* ต่อการเจริญเติบโตข้าวสุพรรณบุรี 1 เป็นระยะเวลา 7 วัน

สารสกัดหยาบ (Crude extracts)	ความเข้มข้น (ppm)	การงอก (%)	ความสูงของต้น[1/] (มิลลิเมตร)	ความยาวราก[1/] (มิลลิเมตร)
Hexane	0	62.5	11.50e-g[1/]	11.24d-f[1/]
	10	52.5	15.84a-c	12.97c-e
	50	67.5	16.68ab	19.71a
	100	52.5	15.62a-c	13.22cd
	500	47.5	10.36fg	10.35e
	1000	40	8.52g	6.21f
Ethyl acetate	0	50	10.92e-g	7.54g
	10	57.5	13.00c-f	10.62f
	50	52.5	16.07a-c	10.72f
	100	72.5	18.07a	14.55bc
	500	60	11.50e-g	5.53g
	1000	47.5	8.61g	2.46h
Methanol	0	50	11.65-f	12.49c-f
	10	42.5	13.76b-e	13.23cd
	50	52.4	13.89b-e	13.67bc
	100	60	13.56b-e	14.47bc
	500	67.5	18.50a	15.88b
	1000	40	14.68c-d	13.09cd
	C.V. (%)		14.35	12.77

[1/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P=0.05 โดยเปรียบเทียบ Treatment Mean แบบ Duncan Multiple Range Test (DMRT)

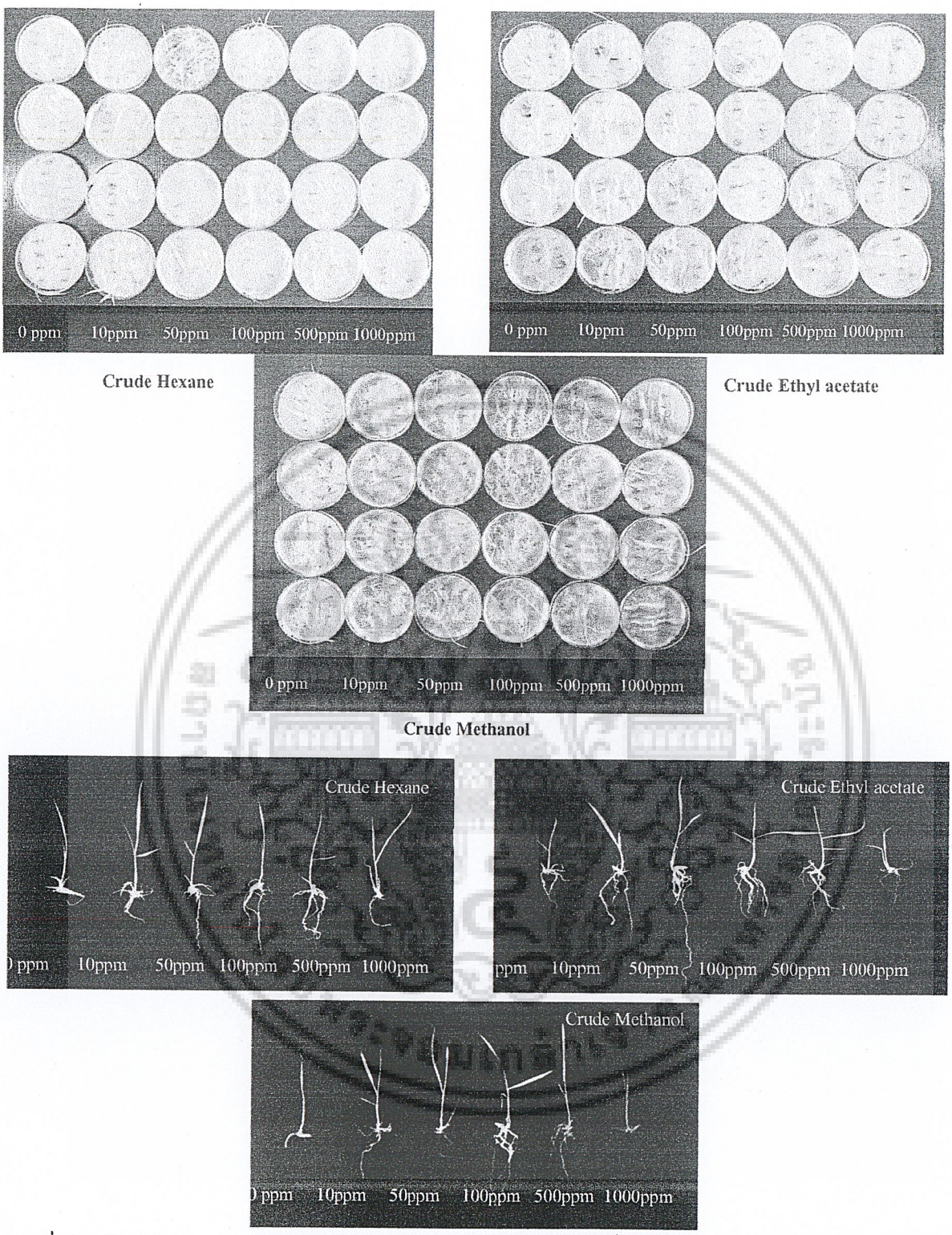
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 ผลของสารสกัดหยาบ (Crude Extracts) จาก *Ch. cupreum* ต่อการเจริญเติบโตข้าวปทุมธานี80 เป็นระยะเวลา 7 วัน

สารสกัดหยาบ (Crude extracts)	ความเข้มข้น (ppm)	การงอก (%)	ความสูงของต้น[1/] (มิลลิเมตร)	ความยาวราก[1/] (มิลลิเมตร)
Hexane	0	65	9.83b-d[1/]	10.84a-c[1/]
	10	70	12.60a	11.27ab
	50	62.5	8.17de	9.49a-d
	100	57.5	9.02c-e	7.44de
	500	42.5	8.40de	5.95ef
	1000	37.5	5.97d-f	6.03ef
Ethyl acetate	0	60	9.45b-d	7.83de
	10	50	11.41ab	7.62de
	50	62.5	12.49a	10.52a-c
	100	47.5	8.74c-e	8.63cd
	500	40	8.40de	9.17a-d
	1000	37.5	7.60f	4.19f
Methanol	0	60	7.10ef	11.20ab
	10	57.5	8.88c-e	8.57cd
	50	62.5	11.41ab	11.54a
	100	52.5	10.61a-c	11.30ab
	500	67.5	11.18ab	8.99b-d
	1000	42.5	7.92d-f	8.65cd
	C.V. (%)		14.47	16.87

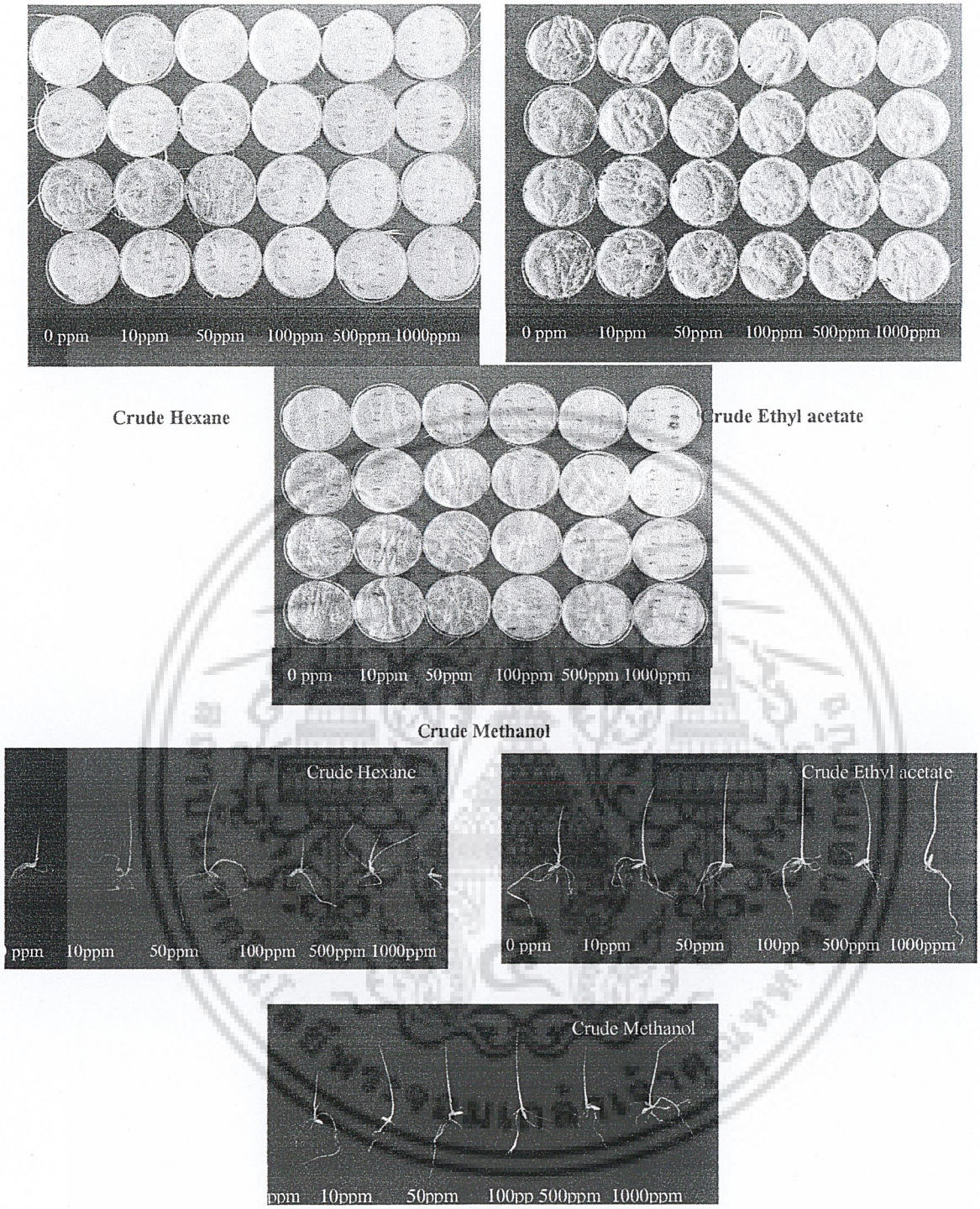
[1/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P=0.05 โดยเปรียบเทียบ Treatment Mean แบบ Duncan Multiple Range Test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



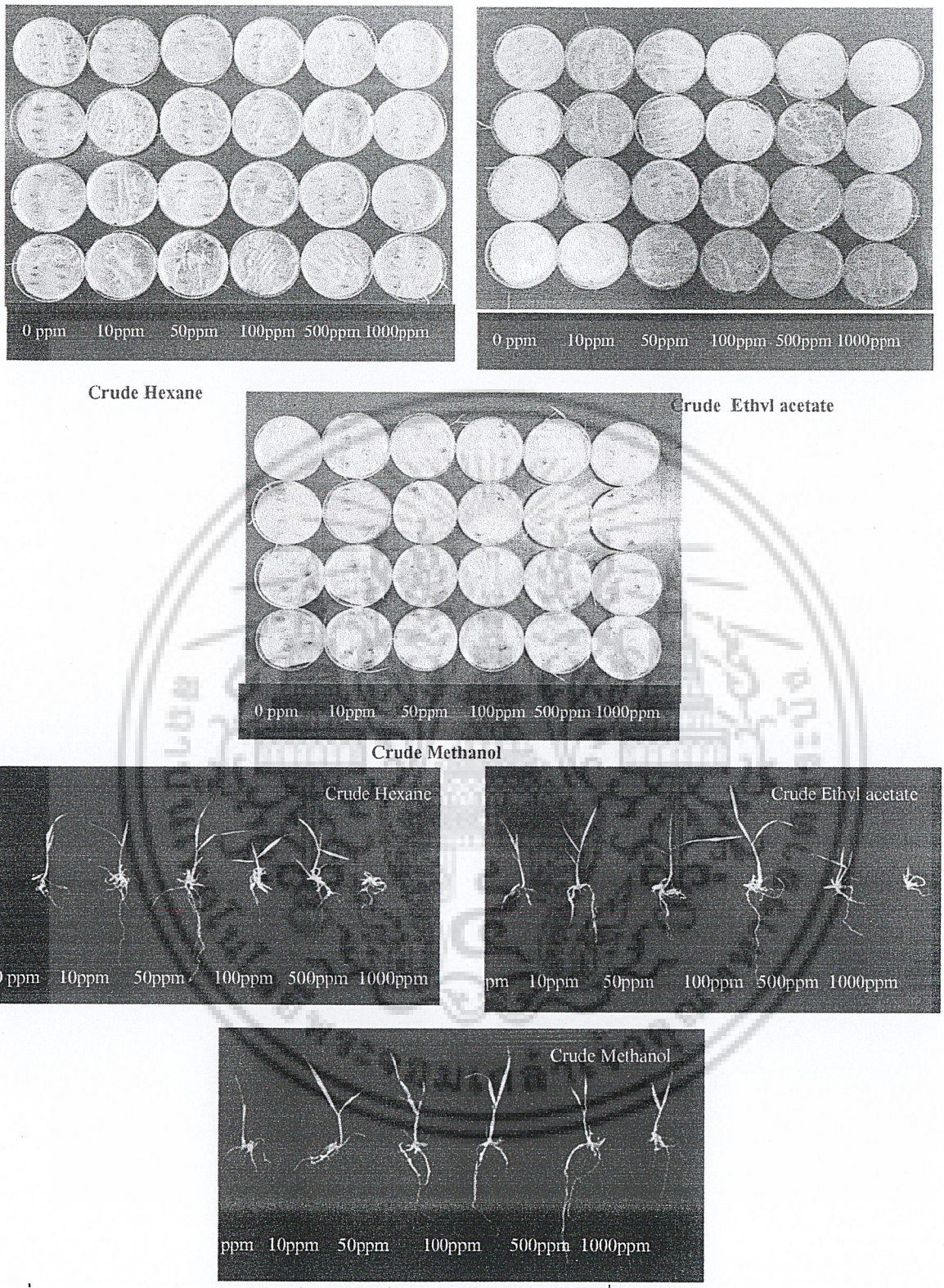
ภาพที่ 2 ลักษณะการงอกของเมล็ดของเมล็ดข้าวสุพรรณบุรี1 เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดหยาบ (Crude Extracts) ของเชื้อรา *Ch. brasiliense* เป็นระยะเวลา 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



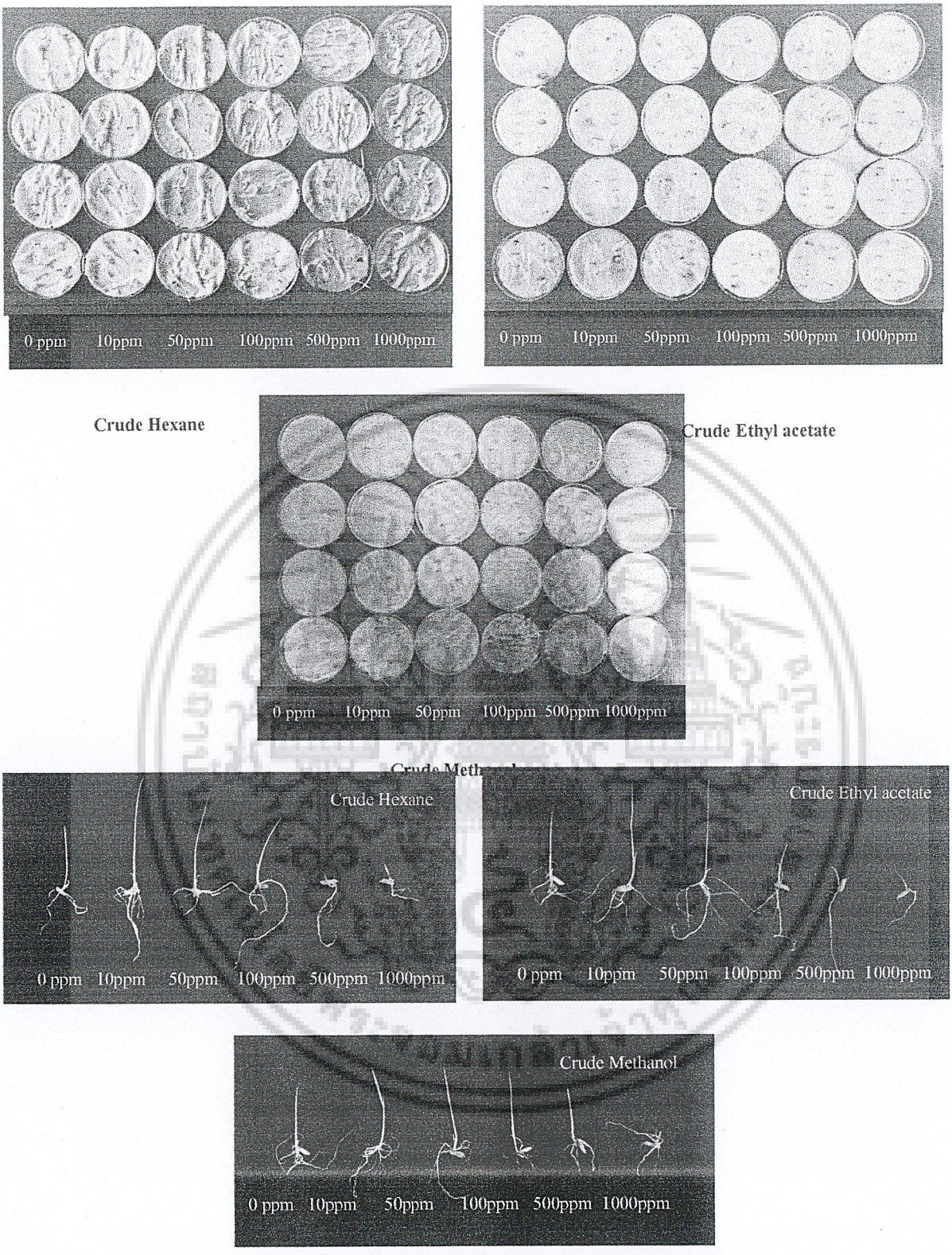
ภาพที่ 3 ลักษณะการงอกของเมล็ดของเมล็ดข้าวปทุมธานี80 เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดหยาบ (Crude Extracts) ของเชื้อรา *Ch. brasiliense* เป็นระยะเวลา 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



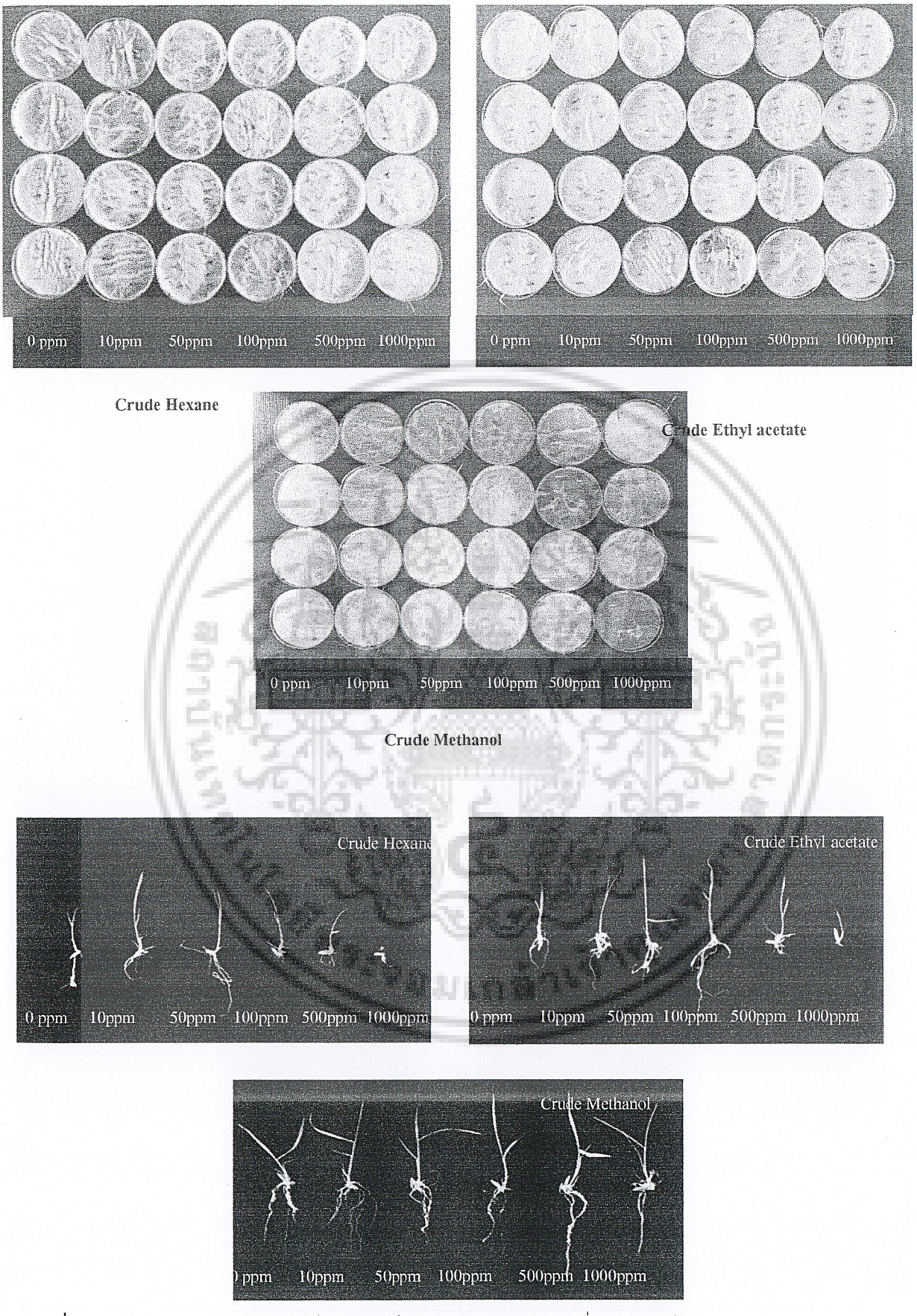
ภาพที่ 4 ลักษณะการงอกของเมล็ดของเมล็ดข้าวสุพรรณบุรี1 เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดหยาบ (Crude Extracts) ของเชื้อรา *Ch. globosum* เป็นระยะเวลา 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



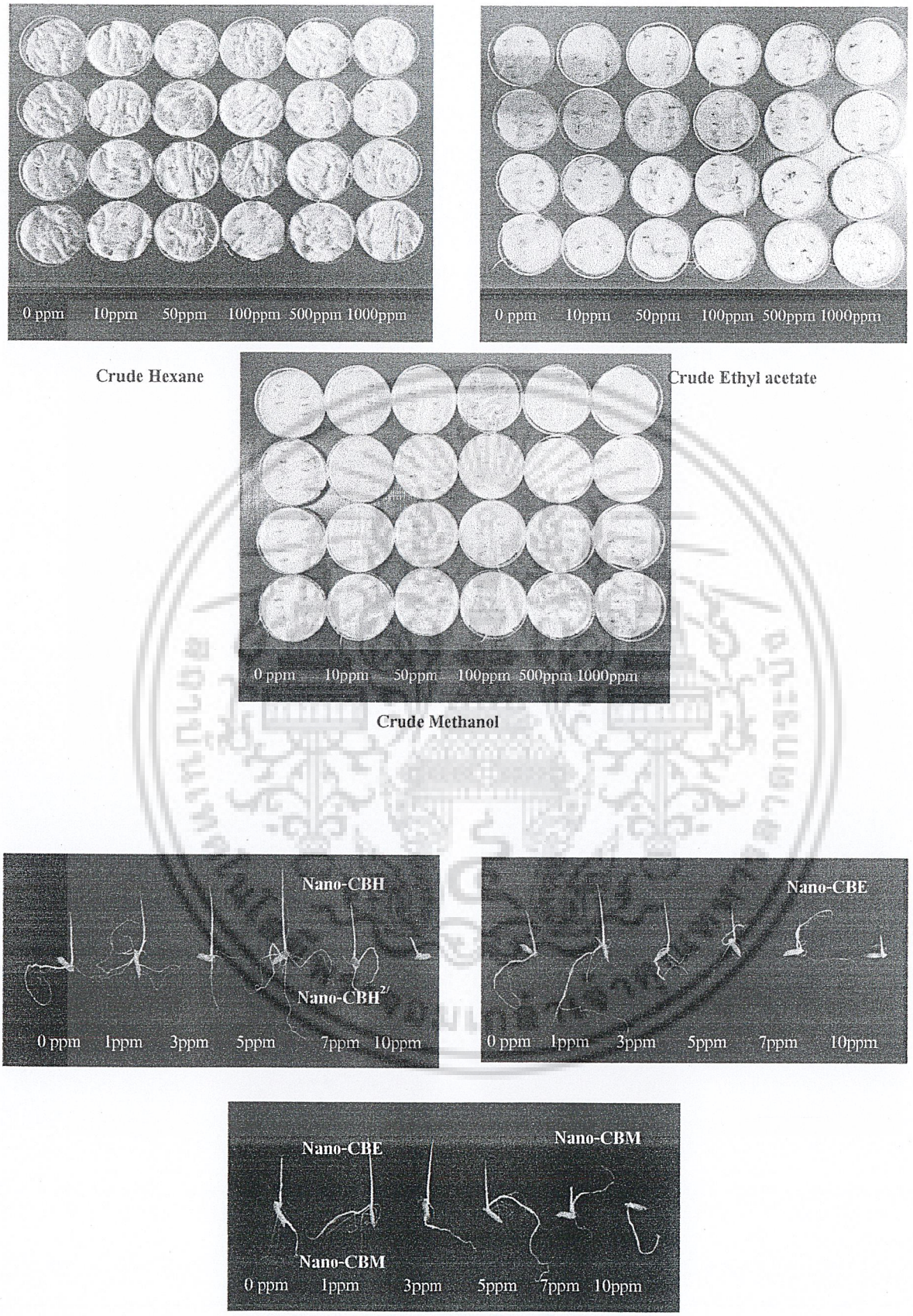
ภาพที่ 5 ลักษณะการงอกของเมล็ดของเมล็ดข้าวปทุมธานี80 เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดหยาบ (Crude Extracts) ของเชื้อรา *Ch. globosum* เป็นระยะเวลา 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 6 ลักษณะการงอกของเมล็ดของเมล็ดข้าวสุพรรณบุรี1 เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดหยาบ (Crude Extracts) ของเชื้อรา *Ch. cupreum* เป็นระยะเวลา 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 7 ลักษณะการงอกของเมล็ดของเมล็ดข้าวปทุมธานี80 เมื่อทดสอบด้วยสารอนุภาคนาโน (Nano-particles) ของเชื้อรา *Ch. cupreum* เป็นระยะเวลา 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
วิจารณ์ผลการทดลอง

การแยกเชื้อราในดินบริเวณรอบรากข้าวและเชื้อราเอนโดนไฟต์จากข้าว

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบรากพืช จากพื้นที่ฉะเชิงเทราจำนวน1 แปลง และกรุงเทพมหานคร 2 แปลง พบว่า แยกเชื้อราในดินบริเวณรอบรากข้าว จำนวน 90 ไอโซเลท และนำมาจัดจำแนกเชื้อโดยลักษณะสัณฐานวิทยาในเบื้องต้น สามารถจำแนกเชื้อรา 9 สกุล ได้แก่ *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp., *Chaetomium* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Rhizopus* sp. และ *Xylaria* sp. ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Gaddeyya (2012) ที่ได้ทำการแยกเชื้อราในดินที่ปลูก ข้าว อ้อย ฝ้าย และข้าวโพด พบเชื้อ *A. flavus, A. fumigatus, A. niger, A. nidulans, A. terreus, P. chrysogenum, P. frequentans, P. funiculosum, T. viride, T. harzianum, F. oxysporum, F. solani, C. clavata, C. lunata, and R. stolanifer* ที่มีความหลากหลายสายพันธุ์เชื้อราจำนวนมาก และยังพบอีกว่า เชื้อราที่พบมากที่สุดบริเวณรอบรากพืชได้แก่ *Trichoderma* sp. รองลงมาคือ *Aspergillus niger* และ *Fusarium sp.* เป็นเชื้อราที่มีความสำคัญและมีประสิทธิภาพในการควบคุม เชื้อราสาเหตุโรคพืช ได้แก่ เชื้อรา *Trichoderma* sp. มีการพบมากที่สุด และจัดว่าเป็นเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ รองลงมา *Aspergillus* sp. (จิระเดช แจ่มสว่าง. 2552) และ *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp. และ *Chaetomium* sp. ตามลำดับ ซึ่งจากผลการทดลองเป็นไปในแนวโน้มเดียวกัน เพราะอาจจะมีค่าความเป็นกรดและด่างที่เหมาะสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์บริเวณนั้น (Passamani *et al.*, 2014) และจากผลการทดลองนี้ยังได้พบเชื้อราที่ต่างกัน คือ *Rhizoctonia* sp. และ *Xylaria* และการแยกและคัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟต์จากข้าวทั้ง 2 พันธุ์ คือพันธุ์สุพรรณบุรี1 และปทุมธานี พบว่า สามารถจำแนกเชื้อรา 8 สกุล ได้แก่ *Aspergillus* sp., *Chaetomium* sp., *Colletotrichum* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp. และ *Trichoderma* sp. โดยสอดคล้องกับงานวิจัยของ สายทอง แก้วสาย (2557) ที่ได้ทำการศึกษาการแยกเชื้อราเอนโดไฟต์จากใบของข้าวหอมกระดังงา พบเชื้อราเอนโดไฟต์เจริญออกมา เป็นเชื้อรา *Chaetomium* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Trichoderma* sp., *Xylaria* sp., *Fusarium* sp. และ *Colletotrichum* sp. เช่นเดียวกับ Latiffah *et al.* (2010) และ Tian *et al.* (2004) ซึ่งแยกเชื้อราเอนโดนไฟต์จากข้าวในประเทศมาเลเซีย และจีนตามลำดับ ซึ่งพบ *Fusarium* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. และ *Curvularia* sp. จากผลการทดลองได้สอดคล้องกับผลการทดลองข้างต้น และสามารถแยกเชื้อราจากข้าวที่ได้ต่างกัน คือ *Rhizopus* sp. ที่ได้จากส่วนราก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเอนโดไฟต์ต่อการส่งเสริมการงอกของเมล็ดข้าวพันธุ์ สุพรรณบุรี1 และปทุมธานี80

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Chaetomium* sp. ต่อการส่งเสริมการงอกของเมล็ด พบว่าเชื้อราเอนโดไฟต์ สามารถส่งเสริมการงอกของเมล็ดข้าวได้ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมเปรียบเทียบ (Control) แต่จะมีเปอร์เซ็นต์การงอกที่ต่ำ ซึ่งอาจจะมีปัจจัยมาจาก พันธุ์ของพืช อายุของเมล็ดพันธุ์ ระยะเวลาในการแช่เมล็ด อุณหภูมิ ชนิด และความเข้มข้นของสารที่ใช้แช่เมล็ดพันธุ์ เปอร์เซ็นต์การงอกที่เพิ่มสูงขึ้นได้ (พีระยศ แข็งขัน. 2546; พจนา สีขาว และบุญมี ศิริ. 2549; พจนา ศรีขาวและคณะ. 2551; Berjak and Villiers. 1972; Basu and Pal. 1979; Parera and Cantiffe. 1994; Giri and Schillinger. 2003; Carvalho *et al.*, 2005.; Basra *et al.*, 2006) โดยจากการทดสอบด้วยสารสกัดหยาบ (Crude Extracts) จากเชื้อราเอนโดไฟต์ สามารถที่จะส่งเสริมการงอกของเมล็ดข้าวได้ และมีฤทธิ์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นข้าวในระยะกล้า ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Syamia *et al.* (2015) ที่พบว่า เชื้อราเอนโดไฟต์ที่แยกจากต้นข้าวในพื้นที่ Pulu Mandoti ประเทศอินโดนีเซีย ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดข้าว แต่สามารถส่งเสริมการเจริญของเมล็ดข้าวที่งอกได้เป็นเวลา 7 วัน และสารสกัดจากเชื้อราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากต้นข้าว อาจมีความสามารถในการสังเคราะห์ฮอร์โมน ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่ม Indole acetic acid (IAA) และ Gibberellic acid (GA) เป็นสารที่ช่วยทำให้พืชมีเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นโดยเพิ่มความสูงของต้นและความยาวรากให้เพิ่มสูงขึ้นได้ และยังสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชด้านอื่นๆได้ด้วย (Waqas *et al.*, 2012; Uthandi *et al.*, 2010) เช่น เชื้อรา *Ch. globosum* สามารถหลั่งฮอร์โมนพืช IAA (Khan *et al.*, 2011a) และ GA_s (Rademacher. 1994; Bomke *et al.*, 2008; Kawaide. 2006; Hamayun *et al.*, 2010) จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราเอนโดไฟต์ ทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Ch. globosum*, *Ch. Cupreum* และ *Ch. brasilense* พบว่า สามารถที่จะผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตที่ส่งผลต่อการงอกของเมล็ด โดยจากการรายงานของ Kanokmedhakul *et al.* (2002) ได้รายงานว่า เชื้อรา *Ch. globosum* KMITL 0802 สามารถจะผลิตสาร Chaetoglobosin-C ซึ่งมีความสามารถที่จะใช้ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชได้บางชนิด เชื้อรา *Ch. cupreum* สามารถผลิตสาร routiorinols A-C และ routiorin และเชื้อรา *Ch. brasilense* จะสร้างสาร chaetoglobosin C (Kanokmedhakul *et al.*, 2002 ; Soytong *et al.*, 2001; Sibounnavong *et al.*, 2012) และนอกจากนี้ได้พบสาร chaetoglobosin A จากเชื้อรา *Ch.brasilense* ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพตัวใหม่ที่ช่วยในการส่งเสริมการเจริญเติบโต ซึ่งจะสอดคล้องการทดลองนี้ คือ เชื้อรา *Ch. brasilense* จะมีแนวโน้มดีที่มีประสิทธิภาพต่อการส่งเสริมการงอกเมล็ดข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี1 และปทุมธานี80 โดยเชื้อราเอนโดไฟต์จะมีการดูดซึมสารสกัดเข้าไป จากนั้นเส้นใยของเชื้อราเจริญไปสู่ส่วนออวุล (Ovule) เมื่อเมล็ดพืชนั้นเจริญเป็นต้นอ่อน เชื้อราที่อาศัยอยู่ภายในก็เจริญเติบโตไปพร้อมกัน (Clay and Schardl. 2002; Schardl *et al.*, 2004) โดยเชื้อราเอนโดไฟต์แต่ละชนิดมีความสามารถในการสร้างสารเมทาบอไลท์ที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของความสูงของต้นและเพิ่มความยาวของรากได้ เมื่อเทียบกับชุดเปรียบเทียบควบคุม ที่มีผลต่อการเจริญของเมล็ดข้าวได้แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6
สรุปผลการทดลอง

สามารถจำแนกเชื้อราดินบริเวณรอบรากพืชได้ เชื้อรา 9 สกุล ได้แก่ *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp., *Chaetomium* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Rhizopus* sp. และ *Xylaria* sp. และการแยกและคัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟต์จากข้าวทั้ง 2 พันธุ์ พบเชื้อราเอนโดไฟต์ด้วยกัน 8 สกุล ได้แก่ *Aspergillus* sp., *Chaetomium* sp., *Colletotrichum* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp. และ *Trichoderma* sp.

ในส่วนการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบ (Crude Extracts)) ของเชื้อรา *Chaetomium* sp. ต่อการเจริญเติบโตของข้าว 2 สายพันธุ์ พบว่า ข้าวสุพรรณบุรี1ที่ทำการทดสอบด้วยสารสกัด Crude Hexane จากเชื้อรา *Ch.brasilense* ที่ความเข้มข้น 100 ppm และ ปทุมธานี80 ทดสอบด้วยสารสกัด Crude Methanol จากเชื้อรา *Ch.brasilense* ที่ความเข้มข้น 100 ppm มีผลทำให้เมล็ดข้าวจะมีความยาวยอดและความยาวรากสูงสุด และเมล็ดข้าวจะมีเปอร์เซ็นการงอกที่สูงกว่าชุดเปรียบเทียบควบคุม (0 ppm)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กรมการข้าว. 2558. **พันธุ์ข้าว กข6**. [Online]. Available: http://www.brrd.in.th/rkb/varieties/index.phpFile=content.php&id=11html. (20/06/2559).

กรมการข้าว. 2532. **มาตรฐานเมล็ดพันธุ์ข้าว (Rice Seed Standard)**. [Online]. Available: http://spr.brrd.in.th/web/index.php/2009-10-05-15-12-45/31-seed-production?start=3. (10/05/2560).

กรมพัฒนาที่ดิน. 2548. **ลักษณะและสมบัติของชุดดินในภาคกางของประเทศไทย**. สำนักสำรวจดินและวางแผนการใช้ดิน. เอกสารวิชาการฉบับที่ 54/03/48.

กรมวิชาการเกษตร. 2555. **หลักการผลิตข้าวอินทรีย์**. กลุ่มงานส่งเสริมและพัฒนา เกษตรอินทรีย์สำนักพัฒนาคุณภาพสินค้าเกษตรกรมส่งเสริมการเกษตร.

กานต์ จิตสุวรรณรักษ์ และอนันต์ วงเจริญ. 2559. ผลของเชื้อราเอนโดไฟต์ต่อการควบคุมโรคไหม้ของข้าว (*Oryza sativa* L.). **วารสารแก่นเกษตร**. ปีที่ 44(1) : 232-237.

เกษม สร้อยทอง. 2532. การใช้รา *Chaetomium cupreum* ในการควบคุมโรคไหม้ของข้าวโดยชีววิธี. **วารสารโรคพืช**. 9:28-35.

เครือวัลย์ อัตตะวิริยะสุข. 2536. **คุณภาพเมล็ดข้าวทางกายภาพและมาตรฐานข้าว**. ในการปรับปรุงคุณภาพข้าวสำหรับผู้ดำเนินธุรกิจโรงสี. กรุงเทพฯ. สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร.กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 60-76.

จำรัส โปร่งศิริวัฒนา. 2534 . **ความรู้เรื่องข้าว**. สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ: 141.

จิระเดช แจ่มสว่าง. 2552. **ไตรโคเดอร์มา: เชื้อราปฏิปักษ์ควบคุมโรคพืช**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. นครปฐม.

ชวิศา ทองรัตน์ และ ชนินันท์ พรสุริยา. 2559. ความหลากหลายของจุลินทรีย์จากดินบริเวณรอบรากปาล์มน้ำมัน ในภาคใต้ของประเทศไทย. **ในการประชุมวิชาการเกษตร ครั้งที่ 17. มหาวิทยาลัยขอนแก่น**. 930-935.

ชาญ มงคล. 2536. **ข้าว**. ภาคพัฒนาตำราและเอกสารวิชาการ หน่วยศึกษานิเทศก์ กรมการฝึกหัดครู, กรุงเทพ ฯ. 149.

ณัฏฐา บุญคุ้มครอง, อรอุมา เพียซ้าย, พัชรวิภา ใจจักรคำ, อนงค์นุช สาสนรักกิจ, ศรีเมฆ ชาวโพงพาง, สุพจน์ กาเซ็ม และ สราวุธ รุ่งเมฆารัตน์. 2558. ความหลากหลายของเชื้อราบริเวณรอบรากอ้อยในพื้นที่ปลูกเขตภาคกลางของประเทศไทย. **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 53 สาขาพืช** . 930-935.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ณัฐวุฒิ รุ่งจินดามัย. 2005. เชื้อราเอนโดไฟต์ที่ผลิตสารต้านจุลินทรีย์ในพืชสกุล Garcinia. **วิทยานิพนธ์.** 189.

ทัศนีย์ อัตตะนันทน์. 2550. **ดินที่ใช้ปลูกข้าว.** ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร ภาควิชาปฐพีวิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน. กรุงเทพฯ. 359

ประสูติ สิทธิสรวง . 2524. **ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับข้าว (สรีรวิทยาของข้าวจากภาพ).** กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.79.

ปิยะนันท์ อึ้งทรงธรรม. 2543. **ครอบครัวข้าว(สายพันธุ์ข้าว).** [Online]. Available: http:// nutrition.anamai.moph.go.th/temp/files/K-center/morning54/4.pdf. (22/05/2559).

พจนา สีขาว และ บุญมี ศิริ. 2549. ผลของการคัดแยกโดยใช้ของเหลวและการกระตุ้นการงอกของเมล็ดเปียกด้วยสารเคมีต่างชนิดต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพเมล็ดพันธุ์พริกหวาน. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร.** 37(พิเศษ): 177-180.

พจนา สีขาว, ชินานาตย์ ไกรนารถ และ บุญมี ศิริ. 2551. การเปลี่ยนแปลงคุณภาพเมล็ดพันธุ์พริกหวานหลังการกระตุ้นความงอกด้วยวิธี seed priming. **วารสารแก่นเกษตร.** 36:295-304.

พรทิพย์ แย้มสุวรรณ, ปฏิมาพร ปลอดภัย, เสมอใจ ชื่นจิตต์ และวสันณ์ เพชรรัตน์. 2557. สารสกัดจากเชื้อ *Trichoderma* sp. ในการควบคุมเชื้อ *Rigidoporus microporus* สาเหตุโรครากขาวของยางพารา (*Hevea brasiliensis Muell*. Arg.). **วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์.** 1(1) : 66-71.

พีระยศ แข็งขัน. 2546. การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี และคุณภาพเมล็ดในระหว่างการเร่งอายุ และการใช้สารเคมีเพื่อชะลอการเสื่อม และปรับปรุงคุณภาพของเมล็ดพันธุ์พริกหวาน. **วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต** สาขาวิชาพืชไร่ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ยงยุทธ โอสถสภา. 2549. **ปุ๋ยทางใบ.** สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 164.

ฤทัยรัตน์ คำแสน. 2551. ความสามารถของเชื้อราเอนโดไฟต์จากมะเขือเทศ ส้ม และยางพาราในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราความสามารถของเชื้อราเอนโดไฟต์จาก มะเขือเทศ ส้ม และยางพาราในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา. **วิทยานิพนธ์ปริญญา สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ.** มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

เลขา มาโนช และจินตนา ชะนะ. 2539. **การเก็บรวบรวมและรักษาสายพันธุ์เชื้อราในดินและน้ำ.** รายงานโครงการิจัยฉบับสมบูรณ์ ศูนย์พันธุวิศวะกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ.

เลขา มาโนช, กัญญา เจริญไทย, คนึงนิจ บุศราคำ, พรพิมล อธิปัญญาคม, อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และอรอุมา เจียมจิตต์. 2554. เชื้อราโรคพืช รา endophyte และราดินในประเทศไทย. **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39 สาขาพืช** .มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 502-510.

วรรณฤดี หิรัญรัตน์. 2552. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากราเอนโดไฟต์. **วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ** ปีที่ 12 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม - ธันวาคม 2552. 90-100.

สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว. 2555. **องค์ความรู้เรื่องข้าว.** กรมการข้าว กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. [Online]. Available: http://www.ricethailand.go.th. (22/06/2559).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุวรรณี แทนธานี. 2555. จุลินทรีย์...เทคโนโลยีชีวภาพเพื่อการปรับปรุงบำรุงดิน. **วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ** ปีที่ 60. 160: 36-39.

อนันต์ วงเจริญ. 2557. การคัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟต์จากข้าว (*Oryza sativa* L.) ที่มีประสิทธิภาพ ยับยั้งราสาเหตุโรคข้าว. **วารสารแก่นเกษตร.** 42(3): 385-396.

อรรควุฒิ ทัศน์สองชั้น. 2530. **เรื่องของข้าว (rice story).** ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

อัจฉรียา ชมเชย. 2559. **ผลของเชื้อราเอนโดไฟต์ต่อการงอกเมล็ดและการเจริญของต้นข้าวหอมมะลิ** . โครงการวิจัยสนับสนุนจาก มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ โดยการสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.).

อาภากร หล่องทองหลาง. 2553. ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของ *Azospirillum largimobile* และ *Azotobacter vinelandii* ในการปลูกข้าวระบบประณีต. **ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช** มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. 80.

Abbott, S.P., Sigler, L., McAleer, R., McGough, D.A., Rinaldi, M.G., Mizell, G. 1995. Fatal cerebral mycoses caused by the Ascomycete *Chaetomium strumarium*. **J. Clin. Microbiol.** 33(10):2692-2698.

Ahammed, S.K., Aggarwal, R., Renu. 2005. Use of PCR based RAPD technique for characterization of *Chaetomium globosum* isolates. **Acta Phytopath. Entomol.** Hungarica 40: 303-314.

Bacon, C.W., Porter, J.K., Robbins, J.D. and Luttrell, E.S. 1977. **Epichloetyphina from toxic tall fescue grasses.** Applied and Environmental Microbiology. 34: 576- 581.

Basra, S.M.A., Farooq, M., Wahid, A. and Khan, M.B. 2006. **Rice seed invigoration by hormonal and vitamin priming.** Seed Sci. & Technol. 34:753-758.

Biswas, S.K, srivastava, K.D., Biswas, D.R. and Aggarwal R. 2002. Effect of Foliar spray of Chaetomium globosum on Total Protein, Nitrogen and Carbon Contents of wheat. **Annals of Plant Protection Science.** 10(1) : 76-79.

Bomke, C., Rojas, M.C., Gong, F., Hedden P. and Tudzynski, B. 2008. Isolation and characterization of the gibberellin biosynthetic gene cluster in Sphaceloma manihoticola. **Appl. Environ. Microbiol.**, 74: 5325-5339.

Brimecombe, M.J., De Leij, F.A.A.M. and Lynch, J.M. 2007. **Rhizodeposition and microbial populations.** In: Pinton, R. Z. Varanini, P. Nannipieri. (eds) The rhizosphere: biochemistry and organic substances at the soil-plant interface. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, London, New York.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Carvalho, B.M.L., dos Santos Dias, D.C.F., dos Santos Dias, L.A. and Araujo, E.F. 2005. Germination and vigour of primed asparagus seeds. **Sci. Agri.** 62:319324.

Chandra, Sekhar,V., Prameela Devi,T., Kamil, D. and Dama Ram,C. 2015. **Division of Plant Pathology Indian**. Agricultural Research Institute, Pusa Campus, New Delhi, New Delhi, India.

Clay, K. and Schardl C. 2002. Evolutionary origins and ecological consequences of endophyte symbiosis with grasses. **American Naturalist** 160: 99–127.

Costa, JM. and Loper, JE. 1994. Characterization of siderophore production by the biological control agent Enterobacter cloacae. **Molecular plant-microbe interactions**. 7: 440-448.

Dar, Joselito and Soytong, K. 2013. In vitro testing of nanomaterials containing globosum ethyl acetate extract against *Fusarium orysparum* f sp. lycopersici (race 2). **International Journal of Agricultural Technology**. 28-29, 2013. 5.

De Datta, S.K. 1981. **Principles and practices of rice production. Department of Agronomy**. The International Rice Research Institute. Los Banos Philippines. 618.

Dingle, J. and McGee, P. A. 2003. Some endophytic fungi reduce the density of pustules of Puccinia 260 recondita f. sp. tritici in wheat. **Mycol. Res.** 107: 310-316.

Domsch, K.M., Gams, W. and Anderson, T.H. 1993. **Compendium of soil fungi vol. I & 2nd Ed.** Academic Press, London. 859(2): 405.

Ellis, M.B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institue, Kews. 608 p. Gochenaur, A.E. and M.P. Backus. 1962. A new species of Neurospora from Wisconsin lowland soil. **Mycologia**. 54: 555-562.

Gaddeyya, G., Shiny, P., Niharika, Bharathi, P., and Ratna Kumar, P. K. 2012. Isolation and identification of soil mycoflora in different crop fields at Salur Mandal. **Research Library Advances in Applied Science Research**. 3(4):2020-2026.

Giri, G.S. and Schillinger, W.F. 2003. Seed priming winter wheat for germination, emergence, and yield. **Crop Sci.** 43:2135-2141.

Hamayun, M., Khan, S.A., Khan, A.L., Rehman, G., Kim, Y., Iqbal, I., Hussain, J., Sohn, E. and Lee, I.J. 2010. Gibberellins production and plant growth promotion from pure cultures of

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Cladosporium sp. MH-6 isolated from Cucumber (*Cucumis sativus*. L.). **Mycologia**, 102: 989-995.

Hayat, R., Ali, S., Amara, U., Khalid, R. and Ahmed, I. 2010. Soil beneficial bacteria and their role in Plant growth promotion. **Annals of Microbiology**. 60(1): 579-598.

Hyuncheol, D., Swenson, C. and James B. G. 1998. Chaetochalasin A: A new Bioactive

Kanokmedhakul, S., Kanokmedhakul, K., Nasomjai, P., Louangsysouphanh, S., Soytong, K., Kongsaeree. P., Prabpai. S. and Suksamrarn, A. 2006. Antifungal azaphilones from the fungus *Chaetomium cupreum* CC3003. **Journal Natural Products**. 69(6) : 891-895.

Kanokmedhakul, S., Kanokmedhakul, K., Phonkerd, N., Soytong, K., Kongsaree, P. and Suksamrarn, A. 2002. Antimycobacterial anthraquinonechromanone compound and diketopiperazine alkaloid from the fungus *Chaetomium globosum* KMITL-N0802. **Planta Medica** 68:834-836.

Kumar, S., Stecher, G., and Tamura, K. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. **Molecular Biology and Evolution** 33:1870-1874

Kawaide, H. 2006. Biochemical and molecular analysis of gibberellins biosynthesis in fungi. **Biosci.Biotech. Biochem.**, 70: 583-590.

Khokhar, I., Haider, M. S., Mukhtar, I., Ali, A., Mushtaq, S. and Ashfaq, M. 2013. Effect of Penicillium species culture filtrate on seedling growth of wheat. **International research journal of agricultural science and soil science**. 3(1); 24- 29.

Kyuma, K. 2004. Paddy Soil Science. **Kyoto University Press and Trans Pacific Press**. 280.

Latiffah, Z., Amira, S.Y., Baharuddin, S, and Maziah, Z. 2010. Endophytic Fungi from Paddy. **Tropical Life Sciences Research**, 21(1), 101–107.

Morgan, J.A.W., Bending, P.J., and White, G.D. 2005. Biological costs and benefits to plant microbeinteractions in the rhizosphere. **Journal of Experimental Botany**. 56: 1729-1739.

My Agriculture Information Bank. 2011. **Scope and Importance of Soil Microbiology**. Agriinfo, India.

Naik, S.B., Shashikala, J. and Krishnamurthy, Y.L. 2009. Study on the diversity of endophytic communities from rice (*Oryza sativa* L.) & their antagonistic activities in vitro. **Microbiological Research**. 164: 290-296.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nath, R., Sharma, G.D. and Barooah, M. (2015). Plant growth promoting endophytic fungi isolated from tea (*Camellia sinensis*) shrubs of assum, india. **Applied ecology and environmental research.** 13(3): 877-891.

Pagliaccia, D., Ferrin, D. and Stanghellini, M.E. 2007. Chemo-biological suppression of root infecting zoosporic pathogens in recirculating hydroponic systems. **Plant Soil.** 299: 163-179.

Pinruan, U., Rungjindamai, N., Choeyklin, R., Lumyong, S., Hyde, K.D. and Gareth Jones, E.B. 2010. Occurrence & diversity of basidiomycetousendophytes from the oil palm, Elaeisguineensis in Thailand." **Fungal Diversity.** 41: 71-88.

Ponnamperuma, F. N. 1981. **Properties of Tropical Rice Soils.** Lecture series delivered to graduate students at the Tropical Agriculture College, H. Cardenas, Tabasco, Mexico, July 23-25, 1981.

Qin, J.C., Zhang, Y.M.,. Gao, J.M,. Bai, M.S, Yang, S.X., Laatsch, H. and Zhang, A.L.. 2009. Bioactive metabolites produced by *Chaetomium globosum*, an endophytic fungus isolated from Ginkgo biloba. **Bioorg. Med. Chem. Lett.,** 19: 1572-1575.

Rai, J.N, Tewari, J.P, Mukerji, K.G. 1964. *Achaetomium*, a new genus of Ascomycetes. Can. **J. Bot.** 42:693-697.

Rademacher, W. 1994. Gibberellin formation in microorganisms. **Plant Growth Reg.,** 15: 303-314.

Rahman, M.H. and Saiga, S. 2005. Endophytic fungi (*Neotyphodium coenophialum*) affect the growth and mineral uptake, transport and efficiency ratios in tall fescue (*Festuca arundinacea*). **Plant Soil.** 272: 163–171.

Reddy, V. R., Rao, P. V. and Reddy, C. V. 1988. Chemical composition and nutritive value of processed neem cake. **Indian J. Anim. Sci.,** 68: 870-873.

Rodriguez, R.J., White, J.F., Arnold, A.E and Redman, R.S. 2009. Fungal endophytes: diversity and functional roles. New Phytologist. 182: 314-330.

. Symbioses of grasses with seedborne fungal endophytes. **Annu. Rev. Plant Biol.** 55: 315-340.

Shanthiyaa V., Saravanakumar D. , Rajendran L., Karthikeyan G., Prabakar K., Raguchander T. 2013. Use of *Chaetomium globosum* for biocontrol of potato late blight disease. **Crop Protection** 52 (2013) 33-38.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sibounnavong P., Sibounnavong P.S., Kanokmedhakul S. and Soytong, K. 2012: Antifungal activities of *Chaetomium brasilense* CB01 and *Chaetomium cupreum* CC03 against *Fusarium oxysporum* f.sp. lycopersici race 2. **Journal of Agricultural Technology**, 8: 1029–1038.

Soytong, K. 1989. Antagonism of *Chaetomium cupreum* to *Pyricularia oryzae*: a case study to biocontrol ofa rice blast disease. **Thai Phytopathology.** 9: 28-33.

Soytong, K. 1992. Antagonism of *Chaetomium cupreum* to *Pyricularia oryzae*. **Journal of Plant Protection in the Tropics.** 9: 17-24.

Soytong, K. 1992. Biological Control of rice blast disease by seed coating with antagonistic fungi. **Songklanakarin Journal of Science and Technology** 14: 59-65.

Soytong, K. 2014. Bio-formulation of *Chaetomium cochliodes* for controlling brown leaf spot of rice. **Journal of Agricultural Technology.** 10(2):321-337.

Soytong, K., Kanokmedhakul, S., Kukongviriyapa, V. and Isobe, M. 2001. Application of *Chaetomium* species (Ketomium®) as a new broad spectrum biological fungicide for plant disease control: A review article. **Fungal Diversity** 7: 1-15.

Strobel, G., Daisy, B., Castillo, U. and Harper, J. 2004. Natural products from endophytic microorganisms. **Journal of Natural Products**. 67: 257-268.

Suzuki, F., Yamaguchi, J., Koba, A., Nakajima, T. and Arai, M. 2010. Changes in fungicide resistance frequency and population structure of *Pyricularia oryzae* after discontinuance of MBI-D fungicides. **Plant Disease Journal.** 94: 329-334.

Syamsia, Kuswinantib, T., Syamunb, E. and Masniawati, A. 2015. The potency of endophytic fungal isolates collected from local aromatic rice as indole acetic acid (IAA) producer. **Procedia food science**. 3: 96 – 103.

Syed, N.A., David, J.M., Pearl, K.C, Ly, Jennifer, A.S, Peter, A. McGee. 2009. Do plant endophytic and free-living Chaetomium species differ. **Australas. Mycol.** 28:51–55.

Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. **Mol. Biol. Evol.** 28:2731-2739.

Tian, X. Cao, L., Tan, L.X., Zeng, H.M., Jia, Q.G., Han, Y.Y. and S.N., Zhou, 2004. Study on the communities of endophytic fungi and endophytic actinomycetes from rice and their antipathogenic activities in vitro. **World Journal Microbiol Biotechnol.** 20: 303–309.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tongon, R. and Soytong, K. 2016. Fungal Metabolites from *chaetomium brasilense* to Inhibit *Fusarium solani*. **International Journal of Agricultural Technology** 12(7.1):1463-1472.

Ulrich, K., Ulrich, A. and Ewald. D. 2008. Diversity of endophytic bacterial communities in poplar grown under field conditions. **FEMS Microbiol Ecol.** 63: 169-180.

Umamaheswari, C. and Prabhakaran, N. 2012. **Molecular Taxonomy of *Chaetomium* Species**. Division of Plant Pathology, IndianAgricultural Research Institute, Pusa Campus, New Delhi, Delhi India.

Uthandi, S., Karthikeyan, S., Sabarinathan, K. G. 2010: Gibberellic acid production by Fusarium fuzikoroi SG2. **Journal of scientific and industrial research**. 69(03): 211-214.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้