อิทธิพลร่วมของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และสารสกัดชุมเห็ดเทศในการควบคุมเชื้อรา สาเหตุโรคพืชทางใบ

COMBINED EFFECT OF ANTAGONISTS WITH *CASSIA ALATA* L. EXTRACT AGAINST FUNGI CAUSING FOLIAR DISEASES

สุริยศิทธิ์ สมนึก

SURIYASIT SOMNUEK

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเกษตรศาสตร์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2559

KMITL-2016-AG-M-065-216

อิทธิพลร่วมของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และสารสกัดชุมเห็ดเทศในการควบคุมเชื้อรา สาเหตุโรคพืชทางใบ

COMBINED EFFECT OF ANTAGONISTS WITH *CASSIA ALATA* L. EXTRACT AGAINST FUNGI CAUSING FOLIAR DISEASES

สุริยสิทธิ์ สมนึก

SURIYASIT SOMNUEK

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาเกษตรศาสตร์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2559

KMITL-2016-AG-M-065-216

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COMBINED EFFECT OF ANTAGONISTS WITH *CASSIA ALATA* L. EXTRACT AGAINST FUNGI CAUSING FOLIAR DISEASES

SURIYASIT SOMNUEK

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN AGRICULTURE

FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2016

KMITL-2016-AG-M-065-216

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2016

FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ อิทธิพลร่วมของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และสารสกัดชุมเห็ดเทศในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชทางใบ

Combined effect of antagonists with *Cassia alata* L. extract against fungi causing foliar diseases

นักศึกษา นายสุริยสิทธิ์ สมนึก

รหัสประจำตัว 57604016

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา เกษตรศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ.ดร.ฉนิมนันต์ เจนอักษร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม -

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์		ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.อำมร	อินทร์สังข์	
รศ.ดร.ทรงยศ	ตันพิพัฒน์	
รศ.ดร.พรหมมาศ	คูหากาญจน์	
ดร.พรประพา	คงตระกูล	
รศ.ดร.ฉนิมนันต์	เจนอักษร	

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

วัน / เดือน/ ปี ที่สอบ 20 มิถุนายน 2559

สถานที่สอบ ห้องประชุมคณะเทคโนโลยีการเกษตร 1 (ชั้น 1 ตึกบุนนาค)

คณบดีรับรองแล้ว

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มณฑล แก่นมณี)

คณบดีคณะเทคโนโลยีการเกษตร

วันที่ 1 เดือน กรกฎาคม พ.ศ. 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	อิทธิพลร่วมของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และสารสกัดชุมเห็ดเทศในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชทางใบ
ชื่อนักนักศึกษา	นายสุริยสิทธิ์ สมนึก
รหัสนักศึกษา	57406016
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขา	เกษตรศาสตร์
พ.ศ.	2559
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์ ดร.ถนิมนันต์ เจนอักษร

บทคัดย่อ

ปัจจุบันมีรายงานการวิจัยหลายฉบับในการบูรณาการใช้ระหว่างสารสกัดจากพืชและชีววิธีเพื่อควบคุมโรค อย่างไรก็ตามก่อนจะนำสารสกัดจากพืชไปใช้ควรทำการทดสอบให้แน่นอนก่อนว่า สารสกัดจากพืชนั้นๆ ไม่เป็นพิษต่อเชื้อปฏิปักษ์หรือพืชที่ปลูก ดังนั้น งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินศักยภาพของสารสกัดชุมเห็ดเทศ (*Cassia alata*) และคัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช รวมทั้งอิทธิพลร่วมระหว่างสารสกัดชุมเห็ดเทศและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สำหรับควบคุมโรคใบจุด *Alternaria* ในคะน้า ซึ่งการทดลองได้แบ่งออกเป็น 2 ส่วน โดยส่วนแรกทำการศึกษาในสภาพห้องปฏิบัติการและส่วนที่สองศึกษาในระบบไฮโดรโปนิกส์

ส่วนที่ 1 (การทดลองในห้องปฏิบัติการ)

การทดลองที่ 1.1 ทำการแยกเชื้อและจัดจำแนกเชื้อรา *Trichoderma* spp. จากแหล่งที่แตกต่างกัน โดยเริ่มต้นจากเก็บตัวอย่างดินจาก 4 แหล่ง ได้แก่ จากแปลงนาที่มีการใช้สารเคมี แปลงนาเกษตรอินทรีย์ จังหวัดสุพรรณบุรี ดินป่าเขตสถานีวิจัยสิ่งแวดล้อม จังหวัดนครราชสีมา และสารละลายธาตุอาหารพืช ฟาร์มปลูกผักไฮโดรโปนิกส์ จังหวัดนครราชสีมา มาทำการแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ *Trichoderma*-selective media โดยวิธี Soil plate techniques และ Dilution plate techniques ผลปรากฏว่าแยกเชื้อราดังกล่าว ได้ทั้งหมด 9 ไอโซเลท คือ T111So, T114So, T111Sc, T112Sc, T114Kb, T415-2, T121Kh, T515-1 และ T515-2 จากนั้นทำการจัดจำแนกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้ โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่า เชื้อราทุกไอโซเลทสามารถเจริญบนอาหาร PDA ได้อย่างรวดเร็ว โดยเริ่มแรก colony จะมีสีขาว จากนั้นจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวอ่อนจนถึงสีเขียวเข้ม มีอัตราการเจริญอยู่ในช่วง 2.68-4.07 เซนติเมตรต่อวัน เมื่อนำเส้นใยไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า เส้นใยของเชื้อราใสไม่มีสี มีผนังกั้นตามแนวขวาง ที่ปลายเส้นใยจะพบ phialide จำนวน 2-4 verticils มีลักษณะเป็นแบบโบว์ลิ่งพิน ขนาด 4.9-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8.4×2.5-3.4 ไมโครเมตร ส่วน conidia มีลักษณะเป็นเซลล์เดียว (single-cell) สีเขียวอ่อน มีรูปร่างแบบ globose ถึง sub-globose (อยู่ในช่วง 2.6-3.5×2.5-2.9 ไมโครเมตร) ซึ่งลักษณะที่กล่าวมาข้างต้น สามารถจัดจำแนกเชื้อราได้ คือ *Trichoderma harzianum*

การทดลองที่ 1.2 ทำการประเมินศักยภาพของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืช 6 ชนิด โดยใช้นมหมักทางการค้าเป็นตัวแทนแบคทีเรียปฏิปักษ์ ในขณะที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. เป็นตัวแทนเชื้อราปฏิปักษ์ สำหรับแบคทีเรียปฏิปักษ์ ได้ทำการประเมินนมหมักทางการค้าจำนวน 4 ชนิด (FM1, FM2, FM3 และ FM4) ในการเป็นปฏิปักษ์ต่อการเจริญทางเส้นใยและการงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืชจำนวน 6 ชนิด คือ *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Helminthosporium* sp., *Pestalotia* sp., และ *Rhizoctonia* sp. นอกจากนี้ยังศึกษาการควบคุมโรคบนใบพืชในสภาพห้องปฏิบัติการ โดยวิธี Detached leaf test ซึ่งผลการศึกษาพบว่า นมหมักแต่ละชนิดมีระดับการยับยั้งที่แตกต่างกันไป โดย FM2 และ FM4 มีประสิทธิภาพดีที่สุด สามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชจำนวน 3 ชนิด คือ *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., and *Helminthosporium* sp. โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 54-56 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในการทดสอบการงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรค นมหมักทั้ง 4 ชนิด สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อราดังกล่าวทั้ง 5 ชนิดได้ มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ที่ 45-100 เปอร์เซ็นต์ และยังส่งผลทำให้สปอร์ของเชื้อรามีความผิดปกติ สำหรับการทดสอบบนใบพืชนั้น กลับพบว่าทั้งนมหมัก FM2 และ FM4 ไม่สามารถควบคุมโรคบนใบพืชได้ ซึ่งผลที่ได้นี้ไม่เป็นตามที่คาดไว้ โดยสรุป จากการที่นมหมักมีคุณสมบัติในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคแตกต่างกันไปดังกล่าวข้างต้น น่าจะเป็นผลมาจากความแตกต่างของเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่นำมาใช้ในกระบวนการหมักของนมแต่ละชนิด

ในกรณีที่เชื้อราปฏิปักษ์ ได้ทำการศึกษาในการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ของเชื้อรา *T. harzianum* จำนวน 5 ไอโซเลท จากแหล่งที่แตกต่างกัน (T121Kh, T114Kb, T114So, T112Sc และ commercial *Trichoderma*) ต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 6 ชนิด โดยวิธี Dual culture test พบว่า เชื้อรา *T. harzianum* ทั้ง 5 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชทุกชนิดได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 67.4-77.77 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไอโซเลท T114Kb มีความสามารถในการยับยั้งดีที่สุด รองลงมาคือ commercial *Trichoderma* (T.com) มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง อยู่ในช่วง 67.4-77.77 และ 64.81-77.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นเชื้อรา *Trichoderma* sp. สามารถนำไปใช้ทดสอบในสภาพโรงเรือนเพื่อยืนยันศักยภาพในการควบคุมโรคพืชต่อไป

ในการทดลองที่ 1.3 มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบชุมเห็ดเทศ (*Cassia alata*) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (5000, 10000 และ 20000 ppm) ต่อการเจริญทางเส้นใยและการงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืช จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *Alternaria* sp., *Curvularia* sp.,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Fusarium sp., *Helminthosporium* sp., *Pestalotia* sp. และ *Rhizoctonia* sp. จากงานวิจัยครั้งนี้ พบว่า สารสกัดชุมเห็ดเทศทุกความเข้มข้นมีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญทางเส้นใยและการงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ทดสอบทุกชนิดได้ อยู่ในช่วง 16-53 และ 32-94 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และยิ่งเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารสกัดดังกล่าวให้สูงขึ้น ประสิทธิภาพในการยับยั้งก็เพิ่มมากขึ้นด้วย

การทดลองที่ 1.4 ทำการประเมินอิทธิพลร่วมของเชื้อราปฏิปักษ์ทุกไอโซเลท (เชื้อรา *Trichoderma* sp. 5 ไอโซเลท และ F221B) กับสารสกัดหยาบชุมเห็ดเทศในการยับยั้งการเจริญเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยวิธี Dual culture plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดชุมเห็ดเทศ ผลการทดลองไม่เป็นดังที่คาดหวัง กล่าวคือเชื้อรา *T. harzianum* เจริญบนอาหารผสมสารสกัด สามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ อยู่ในช่วง 45.3-69.6 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น แต่น้อยกว่าศักยภาพที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* เพียงอย่างเดียว (ประมาณ 75 เปอร์เซ็นต์)

ส่วนที่ 2 (การทดลองในระบบไฮโดรโปนิกส์)

การทดลองที่ 1.5 วัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้เพื่อประเมินความเป็นพิษ (Phytotoxicity) ของสารสกัดหยาบชุมเห็ดเทศต่อต้นคะน้าใน 2 ช่วงอายุ ที่ปลูกในแก้วบรรจุสารละลายธาตุอาหารพืช และในระบบไฮโดรโปนิกส์แบบเป่าอากาศ การประเมินความเป็นพิษจะตรวจสอบจากอาการดังต่อไปนี้ คือ 1) แผลตาย (necrosis) ได้แก่ อาการไหม้บริเวณ ปลายใบ ขอบใบ พื้นที่ระหว่างเส้นใบ และทั่วทั้งใบพืช 2) การเปลี่ยนแปลงของสีใบพืช (chlorosis) ได้แก่ ใบมีสีเขียวเข้ม เส้นใบเหลือง และ ใบสีเหลือง ซึ่งผลการทดลองพบว่า สารสกัดหยาบชุมเห็ดเทศไม่เป็นพิษต่อต้นคะน้าที่ปลูก โดยไม่พบอาการผิดปกติดังกล่าวในพืชทั้ง 2 การทดลอง

การทดลองที่ 1.6 ทำการประเมินประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบชุมเห็ดเทศ 3 ความเข้มข้น (0, 10000 และ 20000 ppm) ร่วมกับเชื้อรา *Trichoderma* sp. (BCA) ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้า ที่มี *Alternaria* sp. เป็นเชื้อราสาเหตุโรค บนต้นคะน้าที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์แบบเป่าอากาศ โดยวางแผนการทดลองแบบ 2×3×3 Factorials in Completely randomized design (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ต้น ซึ่งปัจจัย A มี 2 ระดับ (ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช และไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช) ปัจจัย B ความเข้มข้นของสารสกัดพืช จำนวน 3 ระดับ (0, 10000 และ 20000 ppm) และปัจจัย C คือ ชนิดของเชื้อรา *Trichoderma* sp. จำนวน 3 ระดับ (non-treated, T114Kb และ T112Sc) สำหรับการใช้สารสกัดพืชร่วมกับ BCA จะฉีดพ่นสารสกัดพืชก่อน BCA ซึ่งผลการทดสอบกับคะน้าอายุ 40 วัน พบว่า ทั้ง 3 ปัจจัย มีผลต่อการลดเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค โดยปัจจัยความเข้มข้นของสารสกัด ที่ระดับเข้มข้น 10000 และ 20000 ppm ไม่แตกต่างกัน แต่ปัจจัยด้าน BCA พบว่า T114Kb และ T112Sc ให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กล่าวคือศักยภาพของสารสกัดพืชร่วมกับเชื้อรา BCA สามารถควบคุมโรคได้ โดยลดเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคได้ 56-60 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งประสิทธิภาพที่สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กับการใช้สารสกัดพืชเพียงอย่างเดียว (28-32 เปอร์เซ็นต์) หรือ BCA เพียงอย่างเดียว (1-47 เปอร์เซ็นต์)

ในขณะที่ การทดสอบกับพืชอายุ 60 วัน ผลการทดลองเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับคะน้าอายุ 40 วัน กล่าวคือ ทั้ง 3 ปัจจัยมีผลต่อการลดเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค โดยความเข้มข้นของสารสกัดพืช ที่ความเข้มข้น 10000 และ 20000 ppm แสดงผลไม่แตกต่างกัน รวมทั้งไอโซเลทของ BCA ก็มีผลการยับยั้งไม่แตกต่างกัน โดยภาพรวมการใช้สารสกัดร่วมกับ BCA สามารถลดเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคได้ อยู่ในช่วง 38-44 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าการใช้สารสกัดชุมเห็ดเทศเพียงอย่างเดียว (18-24 เปอร์เซ็นต์) ยิ่งไปกว่านั้นจะเห็นได้ว่า การใช้สารสกัดร่วมกับเชื้อรา BCA สำหรับควบคุมโรคใบจุด *Alternaria* ของคะน้าอายุ 60 วัน จะได้ผลการลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคที่น้อยกว่าการทดสอบกับพืชอายุ 40 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Combined effect of antagonists with *Cassia alata* L. extract against fungi causing foliar diseases
Student	Mr. Suriyasit Somnuek
Student ID.	57406016
Degree	Master of Science
Program	Agriculture
Year	2016
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Tanimnun Jaenaksorn

Abstract

At present, there are numerous reports on using plant extracts integrated with biological control agents (BCAs) to control plant diseases. However, before employing this particular alternative measure, plant extract should be tested to make sure that its fungicidal properties will not be toxic either to BCAs or to plant itself. Therefore, this research was conducted to determine potential of crude extract of ringworm bush (*Cassia alata*) and selected antifungal microorganisms singly on plant pathogenic fungi and in combination for controlling Alternaria leaf spot on kale. The thesis was mainly divided into 2 parts; the first part of this study consisted of a series of the *in vitro* experiments and the second part was composed of the experiments conducted in hydroponic system.

Part 1 (the *in vitro* experiments)

Experiment 1.1 was conducted in order to obtain biocontrol isolates of *Trichoderma* spp. from diverse areas for further studies in the following experiments. Firstly, *Trichoderma* species were collected from four different habitats, eg. organic and non-organic rice field in Supanburi province, forest at Sakaerat Environment Research Station in Nakhon Ratchasima province and nutrient solution sample from hydroponic farm. Nine isolates namely T111So, T114So, T111Sc, T112Sc, T114Kb, T415-2, T121Kh, T515-1 and T515-2 were successfully isolated on the modified *Trichoderma*-selective media by soil plate and dilution plate techniques. Then, their morphological characteristics were identified. All isolates grew completely on PDA (9 cm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

diameter) in 3 days at room temperature. The colony color was initially white and turned bright green to dark green later. Growth rate of colonies ranged between 2.68-4.07 cm/day. Mycelia were branched, septate, and hyaline. Single-celled light green, mostly globose conidia were formed and developed on phialide in the range of 2.6-3.5 ×2.5-2.9 μm. The phialides were in the range of 4.9-8.4 × 2.5-3.4 μm. These morphological characteristics were identical to the *T. harzianum* as reported in Chaveri and Samuels (2003).

Experiment 1.2 was performed to determine the antagonistic activity of bacteria and fungi against 6 plant pathogenic fungi. Commercial fermented milks represented bacterial antagonist whereas indigenous *Trichoderma* spp. represented fungal antagonist. Regard to bacterial antagonist, four brands of commercial fermented milks (FM1, FM2, FM3 and FM4) containing active lactic acid bacteria (LAB) was determined on mycelial growth and spore germination of six pathogenic fungi, including *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Helminthosporium* sp., *Pestalotia* sp., and *Rhizoctonia* sp. Besides, the effect of fermented milks on leaf diseases (*Alternaria* sp., *Curvularia* sp. and *Helmimthosporium* sp.) was further evaluated *in vitro* using detached leaf test. The results obtained from the study indicated that fermented milks inhibited the mycelial growth of the tested fungi to varying degrees. However, the inhibitory effect of FM2 and FM4 was more pronounced on growth of *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., and *Helminthosporium* sp. in the range of 54-56 percent. While, all four brands of fermented milks were found to inhibit spore germination (45-100 percent) of all tested fungi which occurred spore abnormalities. Based on the leaf test, no antagonistic activity of FM2 and FM4 was noted on any tested diseases. To conclude, the varying level of inhibitory effect exhibited by the tested fermented milks could be attributed to the different lactic acid bacteria used in fermentation process of each fermented milk.

In the regard of fungal antagonist, efficacy of *Trichoderma* spp. from five different habitats (T121Kh, T114Kb, T114So, T112Sc and commercial *Trichoderma*) was determined against mycelial growth of the above-mentioned six plant pathogenic fungi by dual culture test. The results showed that all tested *Trichoderma* spp. had potential to inhibit the mycelial growth of all tested pathogens. T114Kb showed the highest growth inhibition on *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Helminthosporium* sp. and *Rhizoctonia* sp. in the range of 67.40-77.77 percent and followed by commercial *Trichoderma* with 64.81-77.40 percent inhibition against *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Helminthosporium* sp. and *Rhizoctonia* sp. regarding antagonistic mechanism, antibiosis and competition mechanism were shown. Therefore, these

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

tested *Trichoderma* spp. can be used for further studies on *in vivo* to confirm the feasibility of using in plant disease control.

A series of experiment 1.3 was carried out to investigate the *in vitro* efficacy of extract of ringworm bush (*Cassia alata*) at different concentrations (5000, 10000 and 20000 ppm) against 6 genera of plant pathogenic fungi namely *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Helminthosporium* sp., *Pestalotia* sp. and *Rhizoctonia* sp. The results showed that the ringworm bush extract at all tested concentrations revealed its antifungal activity against mycelial growth and spore germination of all tested pathogens in the range of 16-53 and 32-94 percent, respectively. The higher the extract concentration, the more the inhibition effect on pathogens occurred. Moreover, the test extract was not shown to be toxic to all tested isolates of *Trichoderma*.

Experiment 1.4 was then performed to evaluate the performances of all test antagonistic fungi (5 isolates of *Trichoderma harzianum* and F221-B) in combination with ringworm bush crude extract for inhibiting the tested plant pathogens using dual culture test on poisoned food medium. Regard to combined application, it unexpectedly revealed that performance of *Trichoderma* isolates combined with the extract in inhibiting the tested pathogen (in the range of 45.3-69.6 percent) was shown less effective than that of *Trichoderma* alone (about 75 percent).

Part 2 (The experiments were performed in hydroponic scale.)

Experiment 1.5 was conducted to assess the possible occurrence of phytotoxicity of ringworm bush crude extract to kale at 2 growth stages in small plastic glass filled with nutrient solution and in hydroponics. Assessment parameters used for scoring phytotoxicity were 1) necrosis of established, namely tips of the leaves, edges of the leaves, areas between veins and total burning of the leaves 2) discoloration of established plant, namely darker green, yellow veins and chlorosis. Results showed no risk of phytotoxicity of such a crude extract throughout the both trials.

Experiment 1.6 was conducted to determine the potential of 3 concentrations (0, 10000 and 20000 ppm) of fresh leaf crude extract of ringworm bush (*Cassia alata* L.) in combination with antagonistic *Trichoderma* sp. (BCA) for controlling *Alternaria* leaf spot on kale grown in hydroponics system. 2x3x3 Factorials in Completely randomized design (CRD) with 3 replications of 3 plants were employed. Factor A was 2 groups (pathogen inoculation and non-inoculation). Factor B was 3 concentrations of plant extract (0, 10,000 and 20,000 ppm). Factor C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

was 3 kinds of BCA (non-treated, T114Kb and T112Sc). Co-treatment of plant extract and BCA was done by treating the plant extract prior to BCA.

At the plant age of 40 days, the results showed that all 3 factors had the significant effect on disease reduction. Within the factors of crude extract and BCA, 10,000 and 20,000 ppm gave no significant difference but the 2 BCAs showed significant difference. The potential of plant crude extract in combination with BCA for controlling *Alternaria* leaf spot was about 56-60 percent which was significant higher than using either plant crude extract alone (28-32 percent) or BCA alone (1-47 percent).

At the 60 days of plant age, it showed similar result of having the same lesion size as occurred at 40 days. All 3 factors had the significant effect on disease reduction. The plant crude extract of 10,000 and 20,000 ppm gave no significant difference while the 2 BCAs also showed no significant difference. Using plant crude extract in combination with BCA gave disease reduction over control about 38-44 percent which was significant higher than using either plant crude extract alone (18-24 percent). Surprisingly, using the plant crude extract in combination with BCA for controlling *Alternaria* leaf spot at the plant age of 60 days was shown less effective than that at the age of 40 days.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี ต้องขอขอบพระคุณในความกรุณาของอาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดร.ฉนิมนันต์ เจนอักษร ที่ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ ให้คำชี้แนะ แก้ปัญหา และแรงผลักดันในการทำวิทยานิพนธ์ อีกทั้งยังขัดเกลา อบรม สั่งสอน เพื่อให้ลูกศิษย์เป็นคนดีอยู่เสมอตลอดจนค่อยเป็นกำลังใจ เป็นที่ปรึกษาปัญหาต่างๆ ตลอดเวลาของข้าพเจ้า

ขอขอบพระคุณ ดร.พรประพา คงตระกูล ที่ค่อยช่วยเหลือ นำแนะ แก้ปัญหา และให้คำปรึกษาเพื่อทำวิทยานิพนธ์ที่ดี อีกท่านหนึ่งของข้าพเจ้า

ขอขอบคุณ นายธิติ ทองคำงาม นายคเณศ ใจเก่งกาจ นางสาวภัทริน วิจิตรตระการ และน้องๆ นักศึกษาในที่ปรึกษาของ รศ.ดร.ฉนิมนันต์ เจนอักษร ในห้องปฏิบัติการโรคพืชทุกคน ที่ค่อยช่วยเหลือในการทำการทดลองต่างๆ ของข้าพเจ้าที่ดีตลอดมา

ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้กำเนิด เลี้ยงดู ให้ความรัก ความห่วงใยและค่อยเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ นางสาวแจ๋ว สมนึก ที่เปรียบเหมือนดั่งมารดา ค่อยเลี้ยงดูแลเอาใจใส่ ให้ความรัก ความห่วงใย ความเมตตา ค่อยเป็นกำลังใจ อบรมบ่มนิสัย และให้ทุนทรัพย์สนับสนุนข้าพเจ้าให้ได้เล่าเรียนตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงปัจจุบันนี้

สุริยสิทธิ์ สมนึก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... V

กิตติกรรมประกาศ..... IX

สารบัญ..... X

สารบัญตาราง..... XV

สารบัญภาพ..... XVII

บทที่ 1 บทนำ..... 1

1.1 ความสำคัญและที่มา..... 1

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์..... 2

1.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ..... 2

บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 3

2.1 เชื้อราสาเหตุโรคสำคัญ..... 3

2.1.1 โรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria* sp. 3

2.1.2 โรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Curvularia* sp. 3

2.1.3 โรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium* sp. 4

2.1.2 โรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Helminthosorium* sp. 5

2.1.2 โรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Pestalotia* sp. 5

2.1.2 โรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. 6

2.2 การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และสารสกัดชุมเห็ดเทศในการควบคุมโรคพืช..... 7

2.2.1 การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช..... 7

2.2.2 การใช้สารสกัดชุมเห็ดเทศในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช..... 9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย..... 17
3.1 การตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์..... 18
3.2 การแยกและการจัดจำแนกเชื้อรา *Trichoderma* spp. 18
3.3 การศึกษาอิทธิพลของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ในสภาพห้องปฏิบัติการ..... 19
3.3.1 การศึกษาอิทธิพลของนมหมัก (เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์) ต่อการเจริญของเชื้อรา สาเหตุโรคพืช ในสภาพห้องปฏิบัติการ..... 19
3.3.1.1 การศึกษาอิทธิพลของนมหมักต่อการเจริญทางเส้นใยเชื้อรา สาเหตุโรคพืช โดยวิธี Dual culture test..... 19
3.3.1.2 การศึกษาอิทธิพลของนมหมักต่อการงอกของสปอร์เชื้อสาเหตุ โรคพืช โดยวิธี Spore germination test..... 20
3.3.1.3 การศึกษาอิทธิพลของนมหมักในการควบคุมโรคบนใบพืช (Detached leaf test)..... 20
3.3.2 การศึกษาอิทธิพลของเชื้อราปฏิปักษ์ต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยวิธี Dual culture test..... 20
3.4 การศึกษาอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคและ เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ในสภาพห้องปฏิบัติการ..... 21
3.4.1 การศึกษาอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อ ราสาเหตุโรคพืช โดยวิธี Poisoned food technique..... 21
3.4.2 การศึกษาอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา สาเหตุโรคพืช โดยวิธี Spore germination test..... 21
3.4.3 การศึกษาอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อการเจริญของเชื้อราปฏิปักษ์ โดยวิธี Poisoned food technique..... 22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.5 การศึกษาอิทธิพลร่วมของเชื้อราปฏิปักษ์กับสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยวิธี Dual culture test ร่วมกับวิธี Poisoned food technique..... 22
3.6 การทดสอบความเป็นพิษ (Phytotoxicity test) ของสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อต้นคะน้า..... 23
3.6.1 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบเอทานอลชุมเห็ดเทศต่อต้นคะน้า ในสารละลายธาตุอาหารพืช..... 23
3.6.2 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบเอทานอลชุมเห็ดเทศต่อต้นคะน้า ที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์..... 24
3.7 การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ร่วมกับสารสกัดชุมเห็ดเทศ ในการควบคุมเชื้อรา *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดกับผัก ในระบบไฮโดรโปนิกส์.... 25
บทที่ 4 ผลการทดลอง..... 28
4.1 การตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์..... 28
4.2 การแยกและการจัดจำแนกเชื้อรา *Trichoderma* spp. 28
4.3 การศึกษาอิทธิพลของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชในสภาพห้องปฏิบัติการ..... 32
4.3.1 การศึกษาอิทธิพลของนมหมัก (เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์) ต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ในสภาพห้องปฏิบัติการ..... 32
4.3.1.1 การศึกษาอิทธิพลของนมหมักต่อการเจริญทางเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยวิธี Dual culture test..... 32
4.3.1.2 การศึกษาอิทธิพลของนมหมักต่อการงอกของสปอร์เชื้อสาเหตุโรคพืชโดยวิธี Spore germination test..... 36
4.3.1.3 การศึกษาอิทธิพลของนมหมักในการควบคุมโรคบนใบพืช (Detached leaf test)..... 39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.3.2 การศึกษาอิทธิพลของเชื้อราปฏิปักษ์ต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยวิธี Dual culture test..... 41
4.4 การศึกษาอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคและเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ในสภาพห้องปฏิบัติการ..... 46
4.4.1 การศึกษาอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยวิธี Poisoned food technique..... 46
4.4.2 การศึกษาอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยวิธี Spore germination test..... 50
4.4.3 การศึกษาอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อการเจริญของเชื้อราปฏิปักษ์ โดยวิธี Poisoned food technique..... 53
4.5 การศึกษาอิทธิพลร่วมของเชื้อราปฏิปักษ์กับสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยวิธี Dual culture test ร่วมกับวิธี Poisoned food technique..... 57
4.6 การทดสอบความเป็นพิษ (Phytotoxicity test) ของสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อต้นคะน้า..... 65
4.6.1 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบเอทานอลชุมเห็ดเทศต่อต้นคะน้า ในสารละลายธาตุอาหารพืช..... 65
4.6.2 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบเอทานอลชุมเห็ดเทศต่อต้นคะน้า ที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์..... 66
4.7 การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ร่วมกับสารสกัดชุมเห็ดเทศ ในการควบคุมเชื้อรา *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดกับผัก ในระบบไฮโดรโปนิกส์.... 70
บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง..... 79

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 6 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ..... 86
บรรณานุกรม..... 89
ภาคผนวก..... 98
ประวัติผู้วิจัย..... 107

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	สารทุติยภูมิที่พบในชุมเห็ดเทศ	10
2.2	รูปแบบการใช้ชุมเห็ดเทศและเปอร์เซ็นต์การยังยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชและเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนผลิตผลทางการเกษตร	14
3.1	ข้อมูลของผลิตภัณฑ์นมหมักที่ใช้ในการทดสอบ	17
4.1	ปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ในผลิตภัณฑ์นมหมัก	28
4.2	แหล่งและที่มาของเชื้อรา *Trichoderma* spp.	30
4.3	ลักษณะของเชื้อรา *Trichoderma* sp. ที่แยกจาก 4 แหล่ง	30
4.4	ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์นมหมัก 4 ชนิด ต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยวิธี Dual culture test	33
4.5	ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์นมหมัก 4 ชนิด ต่อการงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืช	37
4.6	ประสิทธิภาพของนมหมัก 2 ชนิด ในการควบคุมโรคบนใบพืช (Detached leaf test)	40
4.7	ศักยภาพและกลไกของเชื้อรา *Trichoderma* sp. ในการยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชทางใบ โดยวิธี Dual culture test	42
4.8	ขนาดของ colony เชื้อราสาเหตุโรคพืชที่เลี้ยงบนอาหารผสมสารสกัดหยาบเอทานอลจากใบชุมเห็ดเทศ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยวิธี Poisoned food technique	47
4.9	อิทธิพลของสารสกัดหยาบเอทานอลจากใบชุมเห็ดเทศ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยวิธี Spore germination test	51
4.10	ปริมาณการสร้าง conidia ของเชื้อรา *Trichoderma* sp. ที่เจริญบนอาหาร PDA ผสมสารสกัดชุมเห็ดเทศความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 7 DAI	56
4.11	การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบเอทานอลชุมเห็ดเทศต่อต้นคะน้าที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์	67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.12 ประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ร่วมกับสารสกัดหยาบชุมเห็ดเทศ ในการควบคุมโรคใบจุดต้นคะน้า ที่อายุ 40 และ 60 วัน..... 72

4.13 ประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ร่วมกับสารสกัดหยาบชุมเห็ดเทศ ในการควบคุมโรคใบจุดต้นคะน้า ที่อายุ 40 และ 60 วัน..... 73

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
3.1	คะน้าที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ สำหรับทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ร่วมกับสารสกัดชุมเห็ดเทศ ในการควบคุมโรคใบจุด *Alternaria* sp.	27
4.1	ลักษณะ colony, phialide และ conidia ของเชื้อรา *Trichoderma* sp.	31
4.2	ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์นมหมัก 4 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยวิธี Dual culture test เมื่อระยะเวลาผ่านไป 8 วัน..	34
4.3	ลักษณะของเส้นใย *Alternaria* sp. บริเวณรอยขีดนม จาก Dual culture plate เมื่อเวลาผ่านไป 30 วัน.....	35
4.4	ความผิดปกติของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคที่แช่ในนมหมักที่เวลา 50 ชั่วโมง	38
4.5	ความสามารถของ *Trichoderma* sp. ในการยับยั้งการเจริญทางเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยวิธี Dual culture test ที่ 3 DAI and 9 DAI.....	43
4.6	ความสามารถการยับยั้งการเจริญทางเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืช ของ *Trichoderma* sp. โดยวิธี Dual culture test ที่ 3 DAI and 9 DAI.....	44
4.7	ประสิทธิภาพของสารสกัดชุมเห็ดเทศยับยั้งการเจริญทางเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยวิธี Poisoned food technique.....	48
4.8	การเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดชุมเห็ดเทศ ความเข้มข้นต่างๆ.....	49
4.9	ประสิทธิภาพของสารสกัดชุมเห็ดเทศยับยั้งการเจริญทางเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยวิธี Spore germination test.....	52
4.10	อิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อการเจริญทางเส้นใยเชื้อรา *Trichoderma* sp. โดยวิธี Poisoned food technique.....	54
4.11	การเจริญของเชื้อรา *Trichoderma* sp. บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดชุมเห็ดเทศความเข้มข้นต่างๆ.....	55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.12 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของเชื้อราปฏิปักษ์ต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 6 ชนิด เมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารสกัดชุมเห็ดเทศที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (Dual culture test ร่วมกับ Poisoned food assay) เมื่อ 3, 5 และ 12 DAI 58

4.13 ลักษณะของ colony เชื้อราสาเหตุโรคพืช 6 ชนิด เมื่อทดสอบกับเชื้อรา *Trichoderma* sp. (T114Kb) บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดชุมเห็ดเทศความเข้มข้นต่างๆ 64

4.14 ลักษณะต้นคะน้าที่ได้รับการฉีดพ่นด้วยสารสกัดชุมเห็ดเทศที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ 65

4.15 ลักษณะต้นคะน้า อายุ 50 วัน ที่ได้รับการฉีดพ่นด้วยสารสกัดชุมเห็ดเทศ ความเข้มข้น 20000 ppm และเชื้อรา T114Kb 69

4.16 ลักษณะต้นคะน้าอายุ 40 วัน ที่ได้รับการฉีดพ่นด้วยสารสกัดชุมเห็ดเทศที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และเชื้อรา *Trichoderma* sp. 75

4.17 ลักษณะต้นคะน้าอายุ 60 วัน ที่ได้รับการฉีดพ่นด้วยสารสกัดชุมเห็ดเทศที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และเชื้อรา *Trichoderma* sp. 77

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มา

การปลูกพืชเพื่อบริโภคและจำหน่าย มักจะพบปัญหาการเข้าทำลายของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคกับพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เชื้อราสาเหตุโรคพืชที่เป็นสาเหตุสำคัญ ในการเข้าทำลายพืชที่เพาะปลูก ซึ่งสร้างความเสียหายทั้งทางคุณภาพและปริมาณ ยิ่งไปกว่านั้น หากเชื้อราดังกล่าวเข้าทำลายส่วนของใบพืช จะสร้างความเสียหายจนไม่สามารถเก็บผลผลิตได้ หรือส่งผลให้มีการเจริญน้อยลง ตัวอย่างเช่น การเข้าทำลายของเชื้อ *Alternaria* sp. และ *Curvularia* sp. ทำให้เกิดโรคใบจุดในพืชตระกูล Brassicas เช่น ผักกาด กะหล่ำ กวางตุ้ง และคะน้า (Pattanmahakul and Strange, 1999; ณัฐสุดา, 2553; อรพรรณ และจุมพล, 2558) เชื้อ *Fusarium* sp. และ *Rhizoctonia* sp. ที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดอาการเหี่ยวและใบไหม้ของพืชหลายชนิด (แพรทอง และคณะ, 2548; ธิติและคณะ, 2556ก) เชื้อ *Helminthosporium* sp. เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคในพืชเศรษฐกิจ ที่ปลูกกันอย่างกว้างขวาง เช่น ข้าว ข้าวโพด (Ou, 1985; นพวรรณ, 2550) ในปัจจุบันเกษตรกรได้เล็งเห็นถึงอันตรายจากการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช จึงหันมาใช้วิธีการป้องกันที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมกันมากขึ้น ซึ่งมีหลากหลายวิธีด้วยกัน เช่น การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Lactobacillus plantarum* C5 ในการควบคุมเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสในพริก (Asma *et al.*, 2012) หรือการใช้เชื้อสาเหตุราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. ที่รู้จักกันเป็นอย่างดีเพื่อควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้หลากหลายชนิด (ธิติ และคณะ, 2556ก; Jat and Agalave, 2013) และการใช้เชื้อรา non-pathogenic *Fusarium oxysporum* (F221-B) ที่มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (ธิติ และคณะ, 2556 ข) มาเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ (Thongkamngam and Jaenaksorn, 2015) นอกจากการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์แล้ว การใช้สารสกัดที่ได้จากพืชเพื่อควบคุมโรคพืช ก็เป็นอีกวิธีหนึ่งเพื่อทดแทนสารเคมีสังเคราะห์และได้รับผลที่ดีเช่นกัน ตัวอย่างเช่น การใช้สารสกัดจากใบชุมเห็ดเทศ (*Cassia alata* L.) เพื่อควบคุมเชื้อ *Pythium aphanidermatum, Phytophthora parasitica* และ *F. oxysporum* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (พรประพา, 2546) และยังมีรายงานการใช้ผงดอกชุมเห็ดเทศในการควบคุมการเจริญของ *Aspergillus flavus*, *As. parasiticus, F. oxysporum, H. oryzae, Candida albicans* และ *Microsporum audouinii* ได้ (Abubacker *et al*., 2007) อย่างไรก็ตามเพื่อให้การควบคุมโรคนั้นมีประสิทธิภาพสูงสุด ควรใช้หลายวิธีร่วมกัน ซึ่งน่าจะมีความเป็นไปได้ เนื่องจากมีการรายงานของสุริยสิทธิ์ และคณะ (2558) ที่ระบุว่าน้ำคั้นใบและน้ำคั้นดอกชุมเห็ดเทศไม่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma* sp. แต่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญทางเส้นใยและการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พืชผักได้ ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีแนวความคิดที่จะนำสารสกัดจากชุมเห็ดเทศมาใช้ร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ เพื่อควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชทางใบ ในสภาพห้องปฏิบัติการและในระบบไฮโดรโปนิกส์

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาศักยภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคทางใบ รวมทั้งกลไกการควบคุม

1.2.2 เพื่อศึกษาอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศความเข้มข้นต่างๆ ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคทางใบ

1.2.3 เพื่อศึกษาอิทธิพลร่วมของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และสารสกัดชุมเห็ดเทศในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคทางใบในสภาพห้องปฏิบัติการและในระบบไฮโดรโปนิกส์

1.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบศักยภาพของเชื้อรา *Trichoderma* sp. ในการใช้ร่วมกับความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารสกัดหยาบชุมเห็ดเทศ เพื่อใช้ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคทางใบ และยังเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของการใช้เชื้อรา *Trichoderma* sp. ต่อพืชที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ให้ดียิ่งขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เชื้อราสาเหตุโรคสำคัญ

ในการเพาะปลูกพืชของเกษตรกรมักประสบปัญหาการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ซึ่งจะสร้างความสูญเสียแก่พืชผักเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่ง หากเกิดการระบาดกับพืชที่ใช้ใบสำหรับบริโภคด้วยแล้ว จะส่งผลให้ไม่สามารถเก็บผลผลิตขายได้เลย ทำให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจแก่เกษตรกรผู้เพาะปลูกเป็นจำนวนมาก ดังเช่น

2.1.1 โรคพืชที่เกิดจากเชื้อ *Alternaria* sp.

เชื้อรา *Alternaria* sp. เป็นเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคใบจุดแก่ต้นพืชหลายชนิด โดยจากลักษณะอาการของโรคจะเกิดขึ้นได้กับทุกส่วนของต้นผัก และทุกระยะการเจริญเติบโตตั้งแต่ต้นอ่อนที่เริ่มงอกจากเมล็ดจนโตเป็นต้นแก่ อาการขั้นแรกจะปรากฏให้เห็นโดยเกิดเป็นแผลเล็กๆ สีดำคล้ายอาการ damping-off ที่ลำต้น ต้นผักที่ถูกเชื้อเข้าทำลายตั้งแต่ระยะกล้านี้จะหยุดการเจริญเติบโตหรือชะงัก ในต้นแก่จะเกิดแผลจุดขึ้นบนใบ โดยเริ่มจากจุดเซลล์ตายเล็กๆ สีเหลืองขึ้นก่อน ต่อมาจะค่อยขยายโตขึ้นเป็นสีน้ำตาล เมื่อแผลแห้งจะเกิดจุดเล็กๆ สีน้ำตาลเข้มหรือดำ ขึ้นเป็นวงค่อนข้างกลมเรียงซ้อนกันเป็นชั้นๆ (concentric circle) จุดสีดำดังกล่าว คือกลุ่มของสปอร์ของเชื้อราที่สร้างขึ้นเพื่อใช้ในการแพร่กระจายหรือขยายพันธุ์ แผลก็มีขนาดต่างกัน ตั้งแต่เป็นจุดเล็กๆ จนขยายใหญ่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางใหญ่ถึง 2-3 นิ้ว ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความรุนแรง และส่วนหรือชนิดของพืชที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย (เชิดชัย, 2547) ซึ่งสามารถพบการเข้าทำลายของเชื้อราหลาย species เช่น *Alternaria brassicicola* หรือ *A. brassicae* มักจะเข้าทำลายใบของผักในตระกูลผักกาด และยังเป็นเชื้อราแฝงที่ติดมากับเมล็ด (seed-borne pathogen) อีกด้วย ส่วนแปลงที่ปลูกมะเขือเทศนั้น ก็พบเชื้อรา *A. solani* เป็นอีกหนึ่งสาเหตุที่สำคัญ เพราะเชื้อราสามารถเข้าทำลายได้ทั้งส่วนของลำต้น กิ่ง ใบ และผลของมะเขือเทศ (ณัฐสุดา, 2553; อรพรรณ และจุมพล, 2558)

2.1.2 โรคพืชที่เกิดจากเชื้อ *Curvularia* sp.

เชื้อรา *Curvularia* sp. มีลักษณะเส้นใยเริ่มแรกเป็นสีขาว และเมื่อแก่เปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้ม เส้นใยมีผนังกันตามแนวขวาง แตกกิ่งก้านมาก เส้นใยที่ยังอ่อนอยู่จะเป็นสีขาวและจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวจนถึงสีน้ำตาลเข้ม เมื่ออายุมากขึ้น ซึ่งสามารถเห็นผนังกั้นชัดเจน ลักษณะของ conidiophore มี septate ตรง ไม่แตกกิ่งก้าน มี conidia เกิดเป็นช่ออยู่ที่ส่วนปลายของ conidiophore ส่วนลักษณะ โค้ง มีสีเขียวจนถึงมีสีน้ำตาล conidia มี 3 septate เซลล์ตรงกลางมีขนาดใหญ่กว่าเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อื่น conidia งอก germtube ได้ 2 แบบ คือ งอกจากปลายข้างใดข้างหนึ่ง และงอกที่ปลายทั้ง 2 ข้าง นอกจากนี้แล้ว เชื้อราสามารถสร้าง chlamydospore มีลักษณะค่อนข้างกลม เกิดระหว่างเส้นใย ต่อกันเป็นลูกโซ่ มีสีเขียว เมื่อแก่จะเป็นสีน้ำตาลจนถึงดำ chlamydospore เกิดเป็นกระจุก เมื่อแก่ขึ้นจะมีสีเข้มขึ้นทำให้เห็นเป็นก้อนสีดำ ลักษณะนี้จะเกิดบนเนื้อเยื่อพืช ซึ่งเชื้อราดังกล่าวนั้นสามารถเข้าทำลายพืชได้หลายชนิดทั้ง ใบเลี้ยงเดียวและใบเลี้ยงคู่ โดยพบการรายงานว่าเชื้อ *Curvularia* sp. เป็นสาเหตุที่สำคัญ สร้างความเสียหายในการปลูกต่อการเพาะปลูกปาล์มน้ำมัน โดยเชื้อราจะทำให้ปาล์ม เกิดแผลจุดกลมบนพื้นที่ของใบเป็นจำนำมาก และถ้าโรคระบาดรุนแรงแผลจะรวมตัวกันจนใบเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เกิดอาการ die back การเจริญเติบโตของต้นกล้าชะงัก ในกรณีที่โรครุนแรงทำให้ต้นกล้าถึงตายได้ นอกจากปาล์มน้ำมันแล้ว (Turner, 1981; จิตรา และคณะ, 2557) ยังมีรายงานจากการสำรวจแหล่งเกษตรกรรมในประเทศไทยทั้ง พืชไร่ พืชสวน และวัชพืช ทำให้ทราบว่าเชื้อรา *Curvularia* spp. สามารถเข้าทำลายพืชเศรษฐกิจได้เป็นอย่างมาก เช่น *Curvularia lunata* เป็นสาเหตุโรคใบจุดและใบไหม้บน ข้าวโพด หน้าวัว เยอบีร่า สบู่ดำ และยังเข้าทำลายเมล็ดพันธุ์ข้าวและข้าวฟ่างอีกด้วย (พีระวรรณ และคณะ, 2553) ส่วนมาลาตีและคณะ (2556) ได้ศึกษาอาการใบจุดและคัดแยกเชื้อราที่เข้าทำลายผักสลัดในระบบไฮโดรโปนิกส์นั้น พบเชื้อรา *Curvularia* sp. เข้าทำลายพืชดังกล่าวเช่นกัน

2.1.3 โรคพืชที่เกิดจากเชื้อ *Fusarium* sp.

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Fusarium* sp. จะพบ colony หลายสี ตั้งแต่สีชีดขาว เหลือง ชมพู จนถึงม่วง และเจริญได้ดีในอาหารที่มี pH ระหว่าง 6.5 - 7.0 มีการสร้าง asexual spore 3 แบบ คือ macroconidia รูปร่างโค้งเล็กน้อย มีผนังกั้น 3–5 เซลล์ ไม่มีสี microconidia รูปไข่ มี 1-2 เซลล์ และ chlamydospore รูปร่างกลม ผนังหนา ผิวเรียบ มี 1-2 เซลล์ มักพบอยู่ตรงกลางหรือปลายเส้นใย ผนังเรียบหรือขรุขระ (Booth, 1977) โดยเชื้อราจะมีกลไกการเข้าทำลายพืชอาศัย เริ่มจากการเข้าบาดแผลและเพิ่มจำนวนของเชื้อราสาเหตุโรค จากนั้นจะเจริญเข้าไปในท่อลำเลียงน้ำของพืชอาศัย เชื้อราจะดูดสารอาหาร น้ำ หรือสารจำเป็นต่อการเจริญของเชื้อรา ด้วยการผลิตเอนไซม์ pectate lyase (PL) และ poly-galacturonase (PG) เพื่อย่อยผนังเซลล์พืช และสร้างสารพิษ เช่น fusaric acid และ dehydrofusaric acid ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของท่อลำเลียงน้ำอีกด้วย (ณัฐสุดา, 2553) ซึ่งเชื้อราสกุลนี้มีหลายชนิด และส่วนใหญ่จะทำให้เกิดโรคเหี่ยว (Fusarium wilt) โดยอาการมักเริ่มจากใบล่างก่อน จากนั้นใบและกิ่งก้านจะเหี่ยวห้อยลู่ลง ใบมี ลักษณะสีเหลืองซีดและร่วง อาการจะลุกลามสู่ส่วนบน ในที่สุดใบจะเหลือง และ แห้งตายทั้งต้น โรคนี้สามารถเกิดขึ้นได้ในผักหลายชนิด เช่น พริก มะเขือเทศ ผักตระกูลผักกาด โหระพา (*F. oxysporum*) รวมทั้งพืชตระกูลแตง (*F. oxysporum* f. sp. *melonis*) หน่อไม้ฝรั่ง (*F. moniliforme*, *F. oxysporum* f. sp. *asparagi*) จะสังเกตได้ง่ายคือ ใบล่างเหี่ยวแห้งด้านใดด้านหนึ่ง ต่อมาใบเหี่ยวทางซีกนั้นจะเหี่ยวมากขึ้น และเหี่ยวทั้งต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในเวลาต่อมา และเมื่อผ่าดูรากจะมีสีน้ำตาล นอกจากนี้แล้วเชื้อรายังทำให้เกิดอาการเน่าในการปลูกพืชตระกูลหอมและกระเทียม (อรพรรณ และจุมพล, 2558) และอีกโรคหนึ่งที่สำคัญคือ โรคตายพรายในกล้วย (panama disease) เชื้อราจะเข้าทำลายราก และเจริญเข้าไปอยู่ในท่อน้ำท่ออาหาร ทำให้เกิดการอุดตัน และเน่าเป็นสีน้ำตาล เมื่อโรคมีความรุนแรงมากจะเปลี่ยนเป็นสีแดงเข้มและแดงม่วง ซึ่งเป็นผลให้การส่งผ่านน้ำและแร่ธาตุอาหาร ใบจึงเกิดขาดน้ำมีลักษณะอาการเหี่ยวเฉา เปลี่ยนเป็นสีเหลือง ใบอาจเหี่ยวย่น การเจริญเติบโตจะชะงัก และไม่ผลิดอกออกผล (Daly and Walduck, 2006)

2.1.4 โรคพืชที่เกิดจากเชื้อ *Helminthosporium* sp.

ลักษณะของเชื้อรา *Helminthosporium* sp. เส้นใยมีสีเทาถึงน้ำตาลดำ และมีผนังกั้นตามแนวขวาง ในระยะไม่อาศัยเพศจะสร้าง spore หรือ conidia บน conidiophore แบบเดี่ยวหรือแบบกลุ่ม รูปร่างของ conodia มีลักษณะรียาวหัวเรียว มีผนังกั้นตามแนวขวางของ conidia การงอก germ tube มีหลายลักษณะ ตามแต่สกุลของเชื้อรา ซึ่งเชื้อรา *Helminthosrium* – complex จะมีอยู่จำนวน 4 สกุล คือ *Helminthosporium* spp., *Bipolaris* spp., *Drechslera* spp. และ *Exserohilum* spp. เชื้อราดังกล่าวนี้ จะก่อให้เกิดโรคที่สำคัญและสร้างความเสียหายแก่การเพาะปลูกพืชเศรษฐกิจ (วสันต์และคณะ, 2549; ศิริรัตน์, 2550) เช่น โรคใบจุดสีน้ำตาล ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *H. oryzae* (syn. *Bipolaris oryae*) เป็นโรคที่สำคัญพบได้เสมอในแปลงเพาะปลูกข้าวทั่วโลก โดยเชื้อราจะเข้าทำลายทางปากใบของข้าว เริ่มแรกจะเป็นจุดเล็กสีน้ำตาล มีสีเหลืองล้อมรอบ จากนั้นจะพัฒนาจนแผลมีขนาดใหญ่ขึ้น ตรงกลางแผลจะเป็นสีเทา หากเชื้อราเข้าทำลายในระยะข้าวออกร่วง จะทำให้เมล็ดเป็นจุดสีน้ำตาล หรือเกิดเป็นโรคเมล็ดด่างได้ ทำให้เมล็ดเสื่อมคุณภาพ และเสียหายง่ายเมื่อนำไปสี (Ou, 1985; ศิริรัตน์, 2550; กรมการข้าว, 2552) นอกจากข้าวแล้ว เชื้อรา *H. turcicum* (*Exserohilum turcicum*) ยังเป็นสาเหตุที่สำคัญของข้าวโพดอีกด้วย อย่างโรคใบไหม้แผลใหญ่ (northern corn leaf blight) เชื้อราจะเข้าทำลายใบล่างก่อน แล้วจะลุกลามทั่วต้นข้าวโพด หากเข้าทำลายในระยะออกไหม จะมีโอกาสทำให้ผลผลิตเสียหายมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ (Juliana *et al*., 2005; Reddy *et al*., 2013)

2.1.5 โรคพืชที่เกิดจากเชื้อ *Pestalotia* sp.

เชื้อ *Pestalotia* sp. (syn. *Pestalotiopsis* sp.) มีการสร้างเส้นใยสีขาวถึงสีน้ำตาลอ่อน เส้นใยมี septum และสร้าง spore หรือ conidia อยู่บน conidiophore พบกลุ่มของสปอร์สีดำ ลักษณะของ conidia มีรูปร่าง รีรูปไข่ มี septum 4-6 septum และ cell หัวและท้ายของ conidia ไม่มีสี ด้านท้ายของ conidia มีระยางค์ 2-3 เส้น ส่วนลักษณะของ acervulus ค่อนข้างแบน เกิดบนพืชอาศัย อยู่ใต้ชั้น cuticle หรือ exodermis ของพืช นอกจากนั้นแล้วยังสามารถสร้าง chlamydospore ซึ่งมีรูปร่างสั้น ไม่แตกแขนง สีอ่อน เป็นสาเหตุโรคใบจุด ดอกและผลเน่าของพืชหลายชนิด เช่น อดิศร (2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบการเข้าทำลายของเชื้อราดังกล่าวในกลุ่มไม้ตัดดอก ไม้ตัดใบ เช่น กุหลาบ โพรเทีย ซึ่งอยู่ในพื้นที่การเพาะปลูกพืชของมูลนิธิโครงการหลวง และยังสร้างความเสียหายที่สำคัญแก่ใบของต้นมังคุด มะม่วง กล้วย และลิ้นจี่ (ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี, 2556) รวมทั้งแปลงมะพร้าวอ่อนที่เพาะเพื่อส่งขายในต่างประเทศ ด้วยเช่นกัน (สุคนธ์ทิพย์ และคณะ, 2557) สำหรับในต่างประเทศ ก็พบรายงานการเข้าทำลายของเชื้อรา *Pestalotia* sp. เป็นสาเหตุโรคใบจุดแก่พืชหลายชนิด ทำให้ผลผลิตของมะพร้าวในบังคลาเทศลดลง (Rahman *et al*., 2013) ในประเทศกานา เชื้อราดังกล่าวเป็นปัญหาหลักของพื้นที่การปลูก *Shea nut* ที่เป็นพืชนิยมของประเทศ สร้างความเสียหายมากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ (Akrofi and Amoah, 2009) และในปี 2015 มีรายงานการอุบัติใหม่ของโรคใบจุดในพื้นที่การปลูกฝรั่งในอียิปต์อีกด้วย (Moustafa *et al*., 2015)

2.1.6 โรคพืชที่เกิดจากเชื้อ *Rhizoctonia* sp.

เชื้อรา *Rhizoctonia* sp. มีลักษณะที่สำคัญ คือ ไม่มีการสร้าง asexual spore สร้างเพียงเส้นใย มีผนังกั้นตามแนวขวางและมีสีน้ำตาล แตกแขนงและตั้งฉากกันบริเวณที่แตกแขนง มีการสร้างเม็ด sclerotium ซึ่งเกิดจาก การพันกันของเส้นใย โดยที่เชื้อดังกล่าวจะเข้าทำลายทางปากใบ หรือ บาดแผลบริเวณใบพืช เส้นใยจะงอกเข้าสู่พืชทางปากใบ และผ่านทางผิวใบโดยตรง เส้นใยของเชื้อราแตกแขนงเป็นจำนวนมากเจริญอยู่ระหว่างเซลล์พืช หรืออาจจะเข้าทำลายในส่วนของท่อน้ำและท่ออาหาร ส่งผลให้ต้นเหี่ยวและตายในที่สุด (Goswami *et al.,* 2010) โรคใบติดทุเรียน จะเกิดขึ้นกับใบเพสลาด (ใบกึ่งแก่) มีจุดฉ่ำน้ำรูปร่างไม่แน่นอน แผลจะขยายใหญ่ขึ้นเป็นสีน้ำตาลอ่อน และแผลจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเมื่อใบเริ่มแก่ขึ้น อาการไหม้จะเกิดที่บริเวณขอบใบด้านปลายใบ กลางใบหรือทั้งใบ เส้นใยของเชื้อรา สามารถทำลายใบที่อยู่ติดกันได้ (ยศิวรรณ, 2558) และยังสามารถเข้าทำลายใบของผักตระกูล Brassicaceae เช่น ผักกาด กวางตุ้ง คะน้า และผักกาดปลีเขียว โดยลักษณะอาการจะเริ่มใบช้ำ ต่อมาใบจะสลดเหี่ยว และในที่สุดใบจะทะลุขาดเน่า หากปล่อยให้ระบาดจะสร้างความเสียแก่ผลผลิตได้ทั้งหมด (อรพรรณ และ จุมพล, 2558) และสำหรับพืชเศรษฐกิจ อย่างเช่น ข้าว นั้น เชื้อรา *Rhizoctonia* sp. ก็เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคกาบใบแห้ง (sheath blight disease) โดยลักษณะการเข้าทำลายจะเริ่มพบโรคในระยะแตกกอ จนถึงระยะใกล้เก็บเกี่ยว ลักษณะแผลมีสีเขียวปนเทา ปรากฏตามกาบใบ ตรงบริเวณใกล้ระดับน้ำ แผลจะลุกลามขยายขึ้นถึงใบข้าว ทำให้ใบและกาบใบเหี่ยวแห้ง ผลผลิตจะลดลง (Chaleeprom, 2013)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และสารสกัดชุมเห็ดเทศในการควบคุมโรคพืช

วิธีการที่ใช้ในการป้องกันกำจัดโรคพืช ที่ไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และผู้บริโภคนั้น มีหลากหลายวิธีด้วยกัน เช่น การใช้ชีววิธี (Biological control) ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิดที่มีคุณสมบัติการเป็นปฏิปักษ์ (Antagonistic microorganism) และยังสามารถนำมาใช้เพื่อควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ อีกทั้งยังพบว่าการใช้สารสกัดจากพืช ก็ได้ผลดีเช่นกัน

2.2.1 การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช

Wang *et al*. (2011) ได้แยกเชื้อ *Lactobacillus plantarum*, *L. casei, L. fermentum*, *L. helveticus* และ *Enterococcus faecalis* จาก Koumiss ในเขตซินเจียง จากนั้นทำการทดสอบอิทธิพลของเชื้อแบคทีเรียดังกล่าว ต่อการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Botrytis cinerea, Alternaria solani, Phytophthora drechsleri* Tucker, *Fusarium oxysporum* และ *Glomerella cingulate* โดยวิธี spore germination assay พบว่า *L. plantarum* IMAU10014 สามารถยับยั้งการงอกของเชื้อราสาเหตุโรคพืชดังกล่าวได้อย่างมีประสิทธิภาพ และเมื่อนำไปทดสอบการควบคุมโรคใบจุดต้นมะเขือเทศที่มีเชื้อราสาเหตุ *B. cinerea* พบว่า สามารถควบคุมการเกิดโรคเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

และในปีถัดมา Asma *et al*. (2012) ได้นำ เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก (Lactic acid bacteria) ที่แยกได้จากผลไม้และผักดอง ไปทำการทดสอบกับเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรค Anthracnose ในพริก โดยวิธี dual culture test พบว่า *Lactobacillus plantarum* C5 สามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราดังกล่าวได้ นอกจากนี้ยังทำการทดสอบอิทธิพลของเชื้อ C5 การงอกของเมล็ดพริก พบว่า C5 สามารถลดการเข้าทำลายของเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้และยังเพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดพริกได้เป็นอย่างดี ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากชุดควบคุม (inoculated control)

ส่วนในประเทศไทย พบการรายงานของ สุริยสิทธิ์ และฉนิมนันต์ (2557) ที่กล่าวว่าการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ยังมีชีวิตในนมหมักทางการค้า 2 ชนิด สามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยและการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคพืช 6 ชนิด ได้เป็นอย่างดี โดยยับยั้งการเจริญทางเส้นใย อยู่ในช่วง 20-57 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งการงอกสปอร์เชื้อราดังกล่าว สูงถึง 81-100 เปอร์เซ็นต์

Ozbay and Newman (2004) ได้รายงานการศึกษาการควบคุมโรคพืชด้วยชีววิธี โดยใช้เชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. เป็นเชื้อราที่พบทั่วโลก และยังมีศักยภาพควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคในดินได้ ซึ่งเป็นเชื้อราที่เจริญเติบโตเร็วบนอาหารเลี้ยงเชื้อทั่วไป โดยพบกลไกลในการยับยั้งในการยับยั้งเชื้อก่อโรคดังนี้ กลไกลการแข่งขัน (Competition) เชื้อจะมีความสามารถในการในด้านการครอบครองพื้นที่และแย่งอาหาร แร่ธาตุ ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตได้ดีกว่าเชื้อโรค การสร้างสารปฏิชีวนะ (Antibiosis) เชื้อจะสร้างสารระเหยและสารไม่ระเหยในการยับยั้งเชื้อโรค ทำให้เชื้อโรคมีการเจริญเติบโตที่ผิดปกติไป การเป็นปรสิต (Mycoparasitism) เชื้อจะแทงเข้าไปในเส้นใยของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อโรคและดูดกินสารอาหารที่อยู่ภายในทำให้เชื้อโรคตาย และกลไกลการชักนำให้เกิดความต้านทาน (Induced resistance) เชื้อจะเจริญอยู่บริเวณรอบๆ รากพืชและจะช่วยกระตุ้นให้พืชสร้างสารออกมาเพื่อป้องกันตัวเองจากการถูกทำลายของเชื้อโรค และจากการทดลองพบว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. สายพันธุ์ T 39 ยังสามารถสร้างเอนไซม์พวก pectinases, cutinases, β-1,-3 glucanases และ chitinases ออกมาเพื่อย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อรา *Alternaria alternate* ในสภาพห้องปฏิบัติการได้

ส่วน Dennis and Webster (1971) ได้สังเกตความแตกต่างในความสามารถการเป็นปรสิตระหว่างสายพันธุ์ที่ต่างกันของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 90 ไอโซเลท ต่อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุโรคพืชในดินป่า พบ มีจำนวน 10 สายพันธุ์ ที่ไม่แสดงการพันรัดเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิดที่ใช้ในการทดสอบ อย่างไรก็ตามความสามารถในการผลิตสารปฏิชีวนะของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไม่มีความสัมพันธ์หรือแปรผันกับการเป็นปรสิตแต่อย่างใด

โสภา และคณะ (2552) ทำการศึกษาประสิทธิภาพในการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อรา *Trichoderma* sp. ที่แยกได้จากวัสดุเพาะเห็ด และตัวอย่างดินในแปลงเกษตรทุกอำเภอในจังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 156 ไอโซเลท ต่อเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ด้วยวิธี dual culture ในห้องปฏิบัติการ พบว่า ไอโซเลท T15, T42, T75 และ TM10 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญทางเส้นใยเท่ากับ 71.67, 54.93, 60.79 และ 25.42 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และทดสอบในสภาพโรงเรือนพบว่า โซเลท T15 และ T75 มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคได้ดี โดยพบการเกิดโรคกับต้นเพียง 25 เปอร์เซ็นต์ และ T42 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรค 48.75 เปอร์เซ็นต์ ส่วน TM10 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคต่ำ แสดงอาการโรคถึง 72.50 เปอร์เซ็นต์

สนอง (2553) รายงานว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. สามารถควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของต้นราชินีหินอ่อน สาเหตุจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* (Dastus) โดยการฉีดพ่นทางใบ หลังการปลูก 1-3 เดือน สามารถป้องการเกิดโรครากเน่าได้ดีที่สุด

วิพรพรรณ์ และคณะ (2557) ศึกษาการใช้เชื้อ *Trichoderma* sp. ในการควบคุมโรคและการเจริญเติบโตของแคนตาลูปในแปลงปลูก โดยจะทำการทดลอง 2 วิธี คือปลูกแคนตาลูปโดยการวางเชื้อ *Trichoderma* sp. ไว้ที่ก้นหลุม และปลูกแคนตาลูปโดยไม่ใส่เชื้อดังกล่าว พบว่าแคนตาลูปที่ใส่เชื้อรา *Trichoderma* sp. มีการเจริญทางลำต้นมาก โดยมีความสูงและจำนวนข้อ เท่ากับ 143.07 เซนติเมตร และ 27.90 ข้อ โดยไม่พบการเกิดโรค ส่วนแคนตาลูปที่ไม่ได้ใส่เชื้อ *Trichoderma* sp. พบการเกิดโรคราน้ำค้าง และโรคเหี่ยว ถึง 26.70 เปอร์เซ็นต์ และ 80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2 การใช้สารสกัดชุมเห็ดเทศในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช

ชุมเห็ดเทศ

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ชื่อวิทยาศาสตร์ :	*Cassia alata* (L.) Roxb.
ชื่อสามัญ :	Ringworm bush
ชื่อพ้อง :	*Senna alata* (L.) Roxb.
วงศ์ :	Fabaceae (Leguminosae-Caesalpinioideae)
ชื่ออื่น :	คาก ลับมีนหลวง หมากกะลิงเทศ ชุมเห็ดใหญ่ (โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ, 2558)

ไม้พุ่ม สูงประมาณ 2-3 เมตร แตกกิ่งก้านแนวขนานกับพื้นดินกิ่งแผ่ออกด้านข้าง มีขนสั้นนุ่ม **ใบ** เป็นใบประกอบแบบขนนกปลายคู่ ออกเรียงสลับ ใบย่อย 8-20 คู่ ยาว 5-15 เซนติเมตร ใบย่อยรูปขอบขนาน แกมรูปรี โคนใบมน ปลายใบมน กลม หรือเว้าเล็กน้อย ฐานใบมนไม่เท่ากันทั้งสองด้าน ขอบใบเรียบมีสีแดง แกนกลางใบหนา ยาวประมาณ 30-60 เซนติเมตร ก้านใบประกอบยาวประมาณ 2 เซนติเมตร หูใบรูปติ่งหู สามเหลี่ยม ยาว 6-8 มิลลิเมตร

ดอก ออกเป็นช่อใหญ่ตั้ง ออกตามซอกใบและปลายกิ่ง ช่อดอกแบบช่อกระจะ แคบๆ ออกตามซอกใบ ยาว 20-50 เซนติเมตร ดอกสีเหลืองทอง กลีบดอกมี 5 กลีบ สีเหลืองสด แผ่นกลีบรูปไข่เกือบกลม หรือรูปช้อน ยาวประมาณ 2 เซนติเมตร มีก้านกลีบสั้นๆ เกสรเพศผู้มีประมาณ 10 อัน อันยาว 2 อัน ก้านเกสรหนา ยาวประมาณ 4 มิลลิเมตร อับเรณูยาว 1.2-1.3 เซนติเมตร เกสรเพศผู้อันสั้น 4 อัน ก้านเกสรยาวประมาณ 2 มิลลิเมตร อับเรณูยาว 4-5 มิลลิเมตร เกสรเพศผู้ที่ลดรูป 4 อัน อับเรณูเปิดที่ปลาย รังไข่เกลี้ยง และมีจำนวนมาก ยอดเกสรขนาดเล็ก ใบประดับมีสีน้ำตาลแกมเหลือง หุ้มดอกที่ยังไม่บาน ใบประดับรูปรี ยาว 2-3 เซนติเมตร ร่วงง่าย ก้านดอกสั้น 2-4 มิลลิเมตร กลีบเลี้ยง 5 กลีบ เรียงซ้อนเหลื่อมในตาดอก รูปขอบขนาน ยาวไม่เท่ากัน ยาว 1-2 เซนติเมตร

ผล เป็นฝัก รูปแถบ ยาว แบน เกลี้ยง ขนาดกว้าง 1.5-2 เซนติเมตร ยาว 10-20 เซนติเมตร ฝักแก่มีสีดำแตกตามยาว มีสันกว้าง 4 สัน มีปีกกว้างประมาณ 5 มิลลิเมตร ฝักมีผนังกั้น เมล็ดมี 50-60 เมล็ดแบนรูปสามเหลี่ยมผิวขรุขระสีดำ (โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ, 2558; สำนักงานข้อมูลสมุนไพร, 2558; ฐานข้อมูลเครื่องยาสมุนไพรฯ, 2558; ฐานข้อมูลสมุนไพรฯ, 2558)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารสำคัญที่พบส่วนใหญ่เป็นสารประกอบทุติยภูมิ จะพบสารเหล่านี้ตามส่วนต่างๆของชุมเห็ดเทศ ซึ่งได้แสดงรายละเอียดและองค์ประกอบของสารดังต่อไปนี้ (ตารางที่ 2.1)

ตารางที่ 2.1 สารทุติยภูมิที่พบในชุมเห็ดเทศ (Hennebelle *et al.,* 2009)

Plant part	Chemical groups	Chemical compounds
Leaf	Flavonoid glycoside	kaempferol-3-O-gentiobioside
		Kaempferol
		Kaempferol-3-O-β-D-glucopyranoside
	Anthraquinones	Chrysophanol
		Emodin
		Aloe-emodin
		Rhein
		Isochrysophanol
		Aloe-emodin-8-*o*-β-glucoside
		Physcion-1-*o*-glucoside
	Anthraquinone glycoside	Rhein
		Aloe-emodium-8-Glucoside
		Sennoside A,B,C, and D
		Physcion-L-glucoside
	Polyphenol	2,3,7-tri-O-methylellagic
	Steroids	Stigmasterol
		β-sitosterol
	Ellagitannin	2,3,7-tri-o-methylellagic acid
	Phenolic acid	P-hydroxybenzoic acid
	Purine	Adenine
	Xanthone	Cassiaxanthone
Root	Anthraquinones	Alquinone
		Chrysophanol
		1,5-Dihydroxy-8-methoxy-2-Methylanthraquinone-3-o-β-Dglucopyranoside
		Physcion
		1,3,8-trihydroxy-2-methylanthraquinone
	Steroids	β-sitosterol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

Plant part	Chemical groups	Chemical compounds
Stem	Flavonoids glycoside	Kaempferol-3-O-Gentiobioside
	Flavonoids	Luteolin santal (7-*o*-methylorobol)
	Steroids	β-sitosterol
		Daucosterol
	Anthraquinones	Emodium
		1,5-Dihydroxy-2-methylanthraquinone
		5-hydroxy-2-methylanthraquinone-l-O-rutinoside
		Alatonal
	Anthrone	3-formyl-1,6,8,10-tetrahydroxyanthrone (alarone)
	Sterol	β-sitosterol
		Strigmasterol
	Benzoquinone	2,6-dimethoxybenzoquinone
	Coumarin	Dalbergin
Fruit	Anthraquinones	rhein
		Aloe-emodin
		Emodin
Seed	Polyalcohols	Glycerol
		Erythritol
	Carbohydrate	Galactomannans
	Flavonoids	Chysoeriol-7-o-(2”-o-β-D-mannopyranosyl)-β-D-allopyranoside
		Rhamntin-3-o-(2”-o-β-D-allopyranoside
	Flavonoids glycoside	Chrysoeriol-7-*O*-(2″-*O*-β-D-mannopyranosyl)-β -D-allopyranoside
		Rhamnetin-3-*O*-(2″-*O*-β-D-mannopyranosyl)-β-D-allopyranoside

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 (ต่อ)

Plant part	Chemical groups	Chemical compounds
Seed	Fatty acid	Linoleic acid
		Oleic acid
		Lignoceric acid
		Isopalmitic acid
		Palmitoleic acid
		Myristoleic acid
		Tridecanoic acid
		Tridecanoic acid
	Sterol	β-Sitosterol
		Sitostrol
		Stigmasterol
		Campesterol
		22-dihydrospinasterol
		28-isoavenasterol
	Anthraquinones	Rhein
		Aloe-emodin
		Emodium

จากตารางที่ 2.1 แสดงให้เห็นว่า ในชุมเห็ดเทศมีสารทุติยภูมิต่างๆ มากมาย โดยพบ กลุ่มสารAnthraquinones ในทุกส่วนของพืช รองลงมาคือ กลุ่มสาร Flavonoids glycoside และ Steroids เป็นสารออกฤทธิ์

งานวิจัยเกี่ยวกับการใช้ชุมเห็ดเทศในการควบคุมโรคพืช

Abubacker *et al*. (2007) ได้รายงานว่า ผลการทดสอบดอกชุมเห็ดเทศแห้งบดผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar ความเข้มข้น 10-15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราในกลุ่มที่สร้างสาร aflatoxin ได้แก่ *As. flavus* (NCBT 101) และ *Aspergillus parasiticus* (NCBT 128) เชื้อราสาเหตุโรคพืช ได้แก่ *F. oxysporum* (NCBT 156) และ *Helminthosporium oryzae* (NCBT 165) ได้ 75-100 เปอร์เซ็นต์

Alam *et al*. (2009) รายงานว่า สารสกัดเมทานอลจากใบและลำต้นของชุมเห็ดเทศ แสดงผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* และ *Salmonella typhi* ได้ โดยความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากใบชุมเห็ดเทศ 1.25 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และสารสกัดเอทานอลจากใบและลำต้นของชุมเห็ดเทศ มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* เช่นกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lubaina และ Murugan (2013) ได้รายงานว่า ใบชุมเห็ดเทศบดผสมน้ำความเข้มข้น 10000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อ *Alternaria sesame* ได้เป็นอย่างดี (บริเวณยับยั้ง 17 มิลลิเมตร) และสามารถลดการเกิดโรคจากเชื้อราดังกล่าวได้ 65.52 เปอร์เซ็นต์ รวมถึงความเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับความต้านทาน เช่น phenylalanine ammonia lyase (PAL), peroxidase (POX), polyphenol oxidase (PPO) และ phenolic หลังจากทำการฉีดพ่นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่มีการเพิ่มขึ้นของกิจกรรม ของเอนไซม์เป็น 2 เท่า ซึ่งมีผลต่อการต้านทาน ต่อเชื้อสาเหตุโรคในพืชอาศัยมากกว่าชุดควบคุม

ในขณะที่ Ogunjobi and Abiala (2013) รายงานว่าสารสกัดเอทานอลและน้ำจากใบชุมเห็ดเทศมีประสิทธิภาพเป็นยาต้านจุลินทรีย์ ได้แก่เชื้อ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* และ *Candida albicans* โดยสารสกัดน้ำของชุมเห็ดเทศ แสดงการยับยั้งเชื้อ *A. niger* มีบริเวณยับยั้งได้ดีที่สุด (27.2 มิลลิเมตร) รองลงมาคือ เชื้อ *S. typhimurium* มีบริเวณยับยั้ง 10.1 มิลลิเมตร

ส่วน พรประพา (2546) กล่าวว่า สารสกัดคลอโรฟอร์มจากใบชุมเห็ดเทศระดับความเข้มข้น 1000 ppm สามารถยับยั้งการสร้าง sporangium ของเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* และเชื้อรา *Phytophthora parasitica* และยังส่งผลต่อการเจริญเติบโตทางเส้นใย และการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* ได้ แต่ไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma* sp.

ด้าน วันทนี และพาฝัน (2555) ได้รายงานว่าผลจากการทดสอบสารสกัดจากใบชุมเห็ดเทศ โดยวิธี agar disc-diffusion method มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli* ได้ และมีบริเวณยับยั้ง อยู่ที่ 1.46 และ 1.43 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุม

พิสุทธิ์และคณะ (2548) รายงานว่า น้ำที่ได้จากการแช่ใบและต้นของชุมเห็ดเทศ อัตราส่วน 1 ต่อ 20 (น้ำหนักแห้งต่อปริมาตร) สามารถยับยั้ง การเจริญของเชื้อรา *Curvularia lunata* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์

จากประสิทธิภาพของสารสกัดชุมเห็ดเทศ ที่ได้กล่าวมาข้างต้น จึงทำการรวบรวมของรายงานการวิจัย ถึงวิธีการใช้และความเข้มข้นของสารสกัดดังกล่าว ในการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ ดังตารางที่ 2.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 รูปแบบการใช้ชุมเห็ดเทศและเปอร์เซ็นต์การยังยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชและเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนผลิตผลทางการเกษตร

No.	Plant part	Experiment	Type for use	Solvent	Microorganism	Usage rate (mg/ml)	% Inhibition	Reference
1	Flower	*In vitro*	powder	-	*Aspergillus flavus* *Aspergillus parasiticus*	10 and 15	75	Abubacker *et al*., (2007)
					Fusarium oxysporum *Helminthosporium oryzae*	15	100	
2	Leaf	*In vitro*	powder	Water	*Fusarium verticilliodes* *Fusarium oxysporum* *Fusarium scirpi*	15	15	Akanmu *et al*., (2013)
3	Leaf	*In vivo*	powder	Water	*Alternaria sesami*	100	65.52	Lubaina and Murugan, (2013)
4	Leaf	*In vitro*	Pressed juice	Water	*Phomopsis vexans* *F. oxysporum,* *Aspergillus flavus,* *A. niger,* *Curvularia lunata,* *Penicillium spp.*	1,000,000	87.52	Kuri *et al*., (2011)
5	Leaf	*In vitro*	Extract	Hot water Ethanol Ether	*Colletotrichum gloeosporioides* *F. oxysporum*	15	40	Wongkaew and Sinsiri (2013)
6	Leaf	*In vitro*	Extract	Water Ethanol	*A. niger* *P. notatum*	200	30	Timothy *et al*., (2012)

ตารางที่ 2.2 (ต่อ)

No.	Plant part	Experiment	Type for use	Solvent	Microorganism	Usage rate (mg/ml)	% Inhibition	Reference
7	Stem, Root	*In vitro*	Extract	Water	*Curvularia lunata*	15	99.87	พิสุทธิ์ และคณะ. (2548)
8	Leaf	*In vitro*	Extract	Methanol Water	*A. niger*	200	Clear zone 17-20 mm	Alalor *et al*. (2012)
9	Leaf	*In vitro*	Extract	Petroleum ether Methanol Ethanol	*Rhizopus* sp. *A. niger* *Bacillus subtilis* *Escherchia coli* *Pseudomonas aeruginosa* *Staphylococus aureus*	0.125	Clear zone 17 mm	Owoyale *et al*., (2005)
10	Leaf	*In vitro*	Extract	Ethanol	*Staphylococcus aureus,* *S. albus, Klebsiella pneumonia,* *Ps. aeruginosa, Proteus mirabilis,* *P. oxalicum, A. tamari, A. niger* *F. oxysporum* *F. vacitilus*	250	Moderate-high inhibition	Odunbaku and Ilusanya (2011)

สำหรับการที่จะนำสารสกัดที่ได้จากพืชไปใช้ประโยชน์ทางการเกษตรนั้น สารสกัดจากพืชควรได้รับการทดสอบก่อน เพื่อเป็นการยืนยันว่าสารสกัดจากพืชนั้นๆ ไม่เป็นพิษ (phytotoxicity) ต่อพืชผักที่จะนำไปใช้ ซึ่งมีรายงานหลายฉบับที่ทำการทดสอบสารสกัดจากพืชต่างๆ ต่อการเจริญของพืชหลายชนิดๆ เช่น

Rinez *et al*. (2011) ได้ศึกษาอิทธิพลของสารสกัดจากส่วนต่างๆ (ดอก ใบ ต้น ราก และผล) ของต้นยาสูบต่อการงอกและการเจริญของผักสลัด, หัวไช้ท้าว, *Peganum harmala* L. และ อาร์ทิโชก พบว่า สารสกัดทุกส่วน ที่ระดับความเข้มข้น 10, 20, 30 และ 40 กรัมต่อลิตร ไม่ยับยั้งการงอกของผักสลัดและหัวไชเท้า โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอก 14.07-100 เปอร์เซ็นต์

ในขณะที่ Anese *et al*. (2015) ได้รายงานว่าสารสกัดน้ำที่ได้จากส่วนต่างๆ ของต้น *Drimys brasiliensis* MIERS ความเข้มข้น 7.5, 5 และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ ทดสอบโดยวิธีแช่เมล็ด พบว่า สารสกัดทุกส่วนของต้น *Drimys brasiliensis* MIERS เป็นพิษต่อข้าวสาลีและหัวไชเท้าพืชดังกล่าว ส่งผลยับยั้งการงอกและการเจริญของพืชดังกล่าว

สำหรับ Sarkar *et al*. (2012) ได้ศึกษาอิทธิพลของ ชุมเห็ดไทย (*Cassia tora*) ต่อการงอกและการเจริญของของต้นมัสตาร์ด พบว่า สารสกัดชุมเห็ดไทย ความเข้มข้น มากกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ จะมีผลต่อการงอกและการเจริญของต้นมัสตาร์ด ทำให้ chlorophyll ลดลงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินงานวิจัย

การทดลองประกอบด้วย 2 ส่วน คือ การทดลองในระดับห้องปฏิบัติการและการทดลองในระบบไฮโดรโปนิกส์ เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ สารสกัดจากชุมเห็ดเทศ และความเป็นไปได้ในการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ร่วมกับสารสกัดจากชุมเห็ดเทศ โดยมีละเอียดดังนี้

การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

เชื้อราสาเหตุโรคพืช

เชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ใช้ในการทดสอบจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Helminthosporium* sp., *Pestalotia* sp. และ *Rhizoctonia* sp. จากห้องปฏิบัติการโรคพืช สาขาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เชื้อปฏิปักษ์

สำหรับเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ใช้ผลิตภัณฑ์นมหมัก ตามท้องตลาดที่ใช้ Lactic acid bacteria (LAB) ในกระบวนการหมัก ที่มีขาย มาทดสอบ จำนวน 4 ผลิตภัณฑ์ (ตารางที่ 3.1)

ตารางที่ 3.1 ข้อมูลของผลิตภัณฑ์นมหมักที่ใช้ในการทดสอบ

Brands of fermented milk	Type of fermented milk	fermented LAB
Fermented milk 1 (FM1)	โยเกิร์ต	*Lactobacillus bulgaricas* *Streptococcus thermophilus*
Fermented milk 2 (FM2)	นมเปรี้ยว	*L. paracaseci*
Fermented milk 3 (FM3)	นมเปรี้ยวโยเกิร์ต	*Bifidobacterium animalis* DN 17310, *S. themophilus, Lactococcus lactis*
Fermented milk 4 (FM4)	นมเปรี้ยว	*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* *L. casei shirota*

สำหรับเชื้อราปฏิปักษ์ ใช้ เชื้อ *Trichoderma* spp. จากตัวอย่างดินและน้ำตามแหล่งต่างๆ ทั้งหมด 5 แหล่ง และ เชื้อรา non-pathogenic *Fusarium oxysporum* F221B ที่มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญของพืช(ธิติและคณะ, 2556ก) และเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ (Thongkamngam *et al*., 2016) อีกทั้งยังสามารถทนทานต่อน้ำคั้นดอกและน้ำคั้นใบชุมเห็ดเทศได้ (สุริยสิทธิ์ และคณะ, 2558)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมสารสกัดเอทานอลชุมเห็ดเทศ

นำใบชุมเห็ดเทศปริมาณ 5 กิโลกรัม มาล้างให้สะอาด จากนั้นนำไปอบให้แห้งด้วยเครื่อง Hot air oven ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส แล้วนำใบที่แห้ง แช่ในเอทานอล (ethanol) 90 เปอร์เซ็นต์ อัตราส่วน 1:9 (w/v) เป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นนำสารสกัดที่ได้ปริมาณ 1000 มิลลิลิตร มากรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 93 และนำไประเหยเอาตัวทำละลายออก ด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 44 องศาเซลเซียส ได้สารสกัดที่มีลักษณะข้นเหนียว ปริมาณ 9 กรัม (9 เปอร์เซ็นต์) เก็บสารสกัดไว้ในขวดแก้วสีชา เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป โดยกำหนดเป็นความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์

การทดลองในห้องปฏิบัติการ

3.1 การตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

นำนมหมักที่ใช้ในการทดสอบ จำนวน 4 ชนิด มาทำการตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ยังมีชีวิต ด้วยวิธี Dilution plate technique โดยนำนมหมักมาเจือจางให้ได้ระดับ 10^{-3}- 10^{-5} และดูดนมหมักที่เจือจางแล้ว ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร มาเกลี่ยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar ให้ทั่วจานอาหาร บ่มไว้ที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะไร้อากาศ

3.2 การแยกและการจัดจำแนกเชื้อรา *Trichoderma* spp.

แยกเชื้อ *Trichoderma* spp. จากตัวอย่างดินและน้ำตามแหล่งต่างๆ ทั้งหมด 4 แหล่ง เพื่อให้ได้เชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. ที่หลากหลาย specie จึงทำการเก็บตัวอย่างจากแหล่งที่แตกต่างกัน ดังนี้

ก) ดินจากป่าธรรมชาติ เก็บตัวอย่างดินขุยไผ่จากบริเวณสถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช อำเภอวังน้ำเขียว จ.นครราชสีมา เพื่อให้ได้เชื้อรา *Trichoderma* sp. สายพันธุ์ wide type โดยสุ่มเก็บจำนวน 10 จุด จากนั้นแยกโดยวิธี Soil plate technique ด้วยการโรยดิน ลงบนอาหาร *Trichoderma* selective agar medium; TSM (Elad *et al*., 1981) แล้วนำไปบ่มในที่มืด

ข) ดินจากแปลงนาที่ใช้สารเคมี และดินจากแปลงนาที่ไม่ใช้สารเคมี เพื่อให้แยกได้เชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลทที่ปรับตัวทนต่อสารเคมี และไอโซเลททางการค้าที่ปรับตัวกับสภาพแวดล้อมแล้ว ตามลำดับ โดยการเก็บตัวอย่างดินจากแปลงนาโดยการสุ่ม 10 จุด นำมาแยกโดยวิธี Soil dilution plate technique ด้วยการชั่งดินปริมาณ 1 กรัม ผสมกับน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 9 มิลลิลิตร และทำการเจือจางให้ได้ระดับ 10^{-3}- 10^{-5} และดูดสารแขวนลอยดิน ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร ลงบน TSM จากนั้นเกลี่ยให้ทั่วจานเลี้ยงเชื้อแล้วนำไปบ่มในที่มืด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค) สารละลายธาตุอาหารพืชจากฟาร์มไฮโดรโปนิกส์ จังหวัดนครราชสีมา เพื่อให้แยกได้ เชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลททางการค้าที่ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมแล้ว โดยการเก็บสารละลายธาตุอาหารที่ผ่านพืชแล้ว ด้วยการสุ่มเก็บจำนวน 10 จุด จากนั้นนำมาแยกด้วย Dilution plate technique ทำการเจือจาง 10^{-2}-10^{-4} และดูดน้ำละลายที่เจือจางระดับต่างๆ ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร ลงบน TSM จากนั้นเกลี่ยเชื้อแล้วนำไปบ่มในที่มืด

สังเกตการเจริญของเชื้อราและย้ายลงบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) โดยวิธี Hyphal tip isolation เก็บเชื้อ *Trichoderma* spp. ที่แยกได้เลี้ยงลงในหลอดทดลองที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

การจัดจำแนกเชื้อ *Trichoderma* spp. โดยการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น

- ลักษณะการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ สีของโคโลนี ลักษณะของโคโลนี
- ลักษณะและขนาดของเส้นใย, condia, phialide ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.3 การศึกษาอิทธิพลของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ในสภาพห้องปฏิบัติการ

ในการทดลอง ได้แบ่งเชื้อปฏิปักษ์เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ โดยใช้นมหมักจำนวน 4 ผลิตภัณฑ์ และกลุ่มเชื้อราปฏิปักษ์ ได้แก่ ตัวแทนเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้จากข้อ 3.2 จำนวน 4 ไอโซเลท (แหล่งละ 1 ไอโซเลท) และ ผลิตภัณฑ์การค้า จำนวน 1 ไอโซเลท มาใช้ในการทดลองดังนี้

3.3.1 การศึกษาอิทธิพลของนมหมักต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ในสภาพห้องปฏิบัติการ

3.3.1.1 การศึกษาอิทธิพลของนมหมักต่อการเจริญทางเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยวิธี Dual culture test

ทำการทดสอบอิทธิพลของนมหมักจำนวน 4 ชนิดต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืช 6 ชนิด โดยวิธี Dual culture test (Rojan *et al*., 2010) วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ เริ่มจากเลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคพืชแต่ละชนิด บนอาหาร PDA บ่มไว้ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (25± °c) จากนั้นใช้ cork borer เส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เจาะลงบนขอบโคโลนีเชื้อทดสอบ และนำชิ้นวุ้นเชื้อนั้นมาวางตรงกลางจานเพาะเลี้ยงเชื้อ ใช้ loop จุ่มนมหมัก มาขีดเป็นกรอบสี่เหลี่ยมรอบชิ้นวุ้นเชื้อรา ปริมาณด้านละ 1 loop ให้มีระยะห่างจากชิ้นวุ้นด้านละ 2 เซนติเมตร สำหรับชุดควบคุมใช้น้ำนึ่งฆ่าเชื้อแล้วแทนนมหมัก

บันทึกผลการทดลอง

- โดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราสาเหตุโรคพืชทุกวัน พร้อมทั้งคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (Growth Inhibition: GI)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$GI = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100$$

โดย R1 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคพืชในกรรมวิธีควบคุม

R2 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคในกรรมวิธีที่เลี้ยงร่วมกับนมหมักบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

- ศึกษาความเปลี่ยนแปลงของเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.3.1.2 การศึกษาอิทธิพลของนมหมักต่อการงอกของสปอร์เชื้อเหตุโรคพืชโดยวิธี Spore germination test

เตรียม spore suspension ของเชื้อรา *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Helminthosporium* sp. และ *Pestalotia* sp. ความเข้มข้นสปอร์เท่ากับ 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ดูดสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคผสมกับนมหมัก อย่างละ 2 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองสำหรับชุดควบคุมใช้ Potato dextrose broth (PDB) ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ แทนนมหมัก ตรวจนับเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคโดยการนำมาหยดลงในสไลด์หลุม และส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ในเวลา 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง

3.3.1.3 การศึกษาอิทธิพลของนมหมักในการควบคุมโรคบนใบพืช (Detached leaf test)

คัดเลือกนมหมักที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชจากวิธี Dual culture test (จากข้อ 3.2.1.1) มาทำการทดสอบอิทธิพลในการควบคุมโรคบนใบผักสลัด Cos โดยวิธี Detached leaf test (ดัดแปลงจาก Wang *et al*., 2011) วางแผนการทดลองแบบ CRD วิธีการละ 3 ซ้ำ (ใบ) ทำแผลโดยใช้เข็มทิ่ม 5 ครั้งต่อแผล จำนวน 5 แผลต่อใบ จากนั้นใช้ loop จุ่มนมหมัก ปริมาณ 1 loop ทาบริเวณที่ทำแผลไว้ ทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง จากนั้นใช้ cork borer เส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตรเจาะลงบนขอบโคโลนีเชื้อที่มีอายุ 7 วัน มาวางบนแผลของใบพืช ส่วนในชุดควบคุมใช้ชิ้นวุ้นเปล่าวางแทน จากนั้นวัดขนาดแผลเพื่อประเมินความรุนแรงของโรคเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

3.3.2 การศึกษาอิทธิพลของเชื้อราปฏิปักษ์ต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยวิธี Dual culture test

ทำการศึกษาคุณสมบัติการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ของเชื้อรา *Trichoderma* sp. จำนวน 5 ไอโซเลท โดยคัดเลือกเชื้อราดังกล่าวจากข้อ 3.2 จำนวน 4 ไอโซเลท (แหล่งละ 1 ไอโซเลท) และผลิตภัณฑ์ทางการค้า 1 ไอโซเลท เพื่อเป็นตัวแทนของเชื้อราจากแหล่งที่แตกต่างกัน มาทำการทดสอบศักยภาพยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช 6 ชนิด ด้วยวิธี Dual culture test (Rojan *et al*., 2010) วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 5 ซ้ำ โดยเลี้ยงเชื้อรา *Trichoderma* sp. และเชื้อราสาเหตุโรคพืชบนอาหาร PDA เป็นเวลา 3 และ 7 วัน ตามลำดับ จากนั้นนำ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซนติเมตร เจาะลงบนขอบโคโลนีของเชื้อรา นำชิ้นวุ้นของเชื้อรา *Trichoderma* sp. และเชื้อราสาเหตุโรคพืช เชื้อละ 1 ชิ้น วางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ลักษณะตรงข้ามกัน โดยแต่ละเชื้อให้มีระยะห่างจากขอบจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 1.5 เซนติเมตร ชุดควบคุมให้เลี้ยงเชื้อราทั้งสองแยกจากกันบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มที่อุณหภูมิห้อง

บันทึกผลการทดลอง

- โดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อราสาเหตุโรคพืช คำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (Growth Inhibition: GI) ตามข้อ 3.3.1.1

3.4 การศึกษาอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และเชื้อราสาเหตุโรค ในสภาพห้องปฏิบัติการ

เพื่อที่จะนำสารสกัดหยาบเอทานอลการจากใบชุมเห็ดเทศไปใช้ร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์สารสกัดควรมีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช และไม่ควรเป็นพิษหรือยับยั้งเชื้อราปฏิปักษ์ ดังนั้นการทดลองนี้จึงทำการทดสอบอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเจริญเชื้อราสาเหตุโรคพืชและเชื้อราปฏิปักษ์ โดยมีรายละเอียดต่อไปนี้

3.4.1 การศึกษาอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยวิธี Poisoned food technique

ศึกษาอิทธิพลสารสกัดชุมเห็ดเทศ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 5000, 10000 และ 20000 ppm ต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ด้วยวิธี Poisoned food assay และวางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) จำนวน 5 ซ้ำ ด้วยการนำสารสกัดชุมเห็ดเทศที่เตรียมไว้ผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ให้ได้ความเข้มข้นของสารสกัดตามที่ระบุไว้ข้างต้น และเทลงจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะบริเวณขอบของโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคพืชทดสอบอายุ 7 วัน และย้ายชิ้นวุ้นเชื้อราไปวางกึ่งกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารสกัดที่เตรียมไว้ สำหรับในชุดควบคุม (0 ppm) ให้เลี้ยงบนอาหาร PDA แทน

บันทึกผลการทดลอง

- โดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ทุกความเข้มข้น และคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (Growth Inhibition: GI) ตามข้อ 3.3.1.1

3.4.2 การศึกษาอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยวิธี Spore germination test

ศึกษาอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศที่ระดับความเข้มข้น 0, 5000, 10000 และ 20000 ppm ต่อการงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืช จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ *Alternaria* sp.,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Curvularia sp., *Fusarium* sp., *Helminthosporium* sp. และ *Pestalotia* sp. ด้วยการเตรียม spore suspension ของเชื้อราทดสอบทั้ง 6 ชนิด ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ $1x10^6$ spores /ml จากนั้นดูด spore suspension ของเชื้อราทดสอบ ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ผสมสารสกัดของชุมเห็ดเทศ ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ลงหลอดทดลองขนาดเล็ก ให้ได้ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 5000, 10000 และ 20000 ppm นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง และตรวจนับเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่เวลา 12, 24 และ 48 ชั่วโมง

3.4.3 การศึกษาอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อการเจริญของเชื้อราปฏิปักษ์ โดยวิธี Poisoned food technique

เมื่อทำการศึกษาอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชแล้ว จึงทำการทดสอบอิทธิพลของสารจากชุมเห็ดเทศต่อการเจริญทางเส้นใยเชื้อราปฏิปักษ์ เพื่อคัดเลือกความเข้มข้นของสารจากชุมเห็ดเทศที่ไม่ส่งผลต่อการเจริญของเชื้อราปฏิปักษ์ในการทดสอบอิทธิพลร่วมของเชื้อราปฏิปักษ์กับสารจากชุมเห็ดเทศ (3.5) โดยวางแผนการทดลองเหมือนกับข้อ 3.4.1 แต่เปลี่ยนจาก เชื้อราสาเหตุโรคพืชเป็น เชื้อราปฏิปักษ์แทน

บันทึกผลการทดลอง

- โดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ทุกความเข้มข้น และคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (Growth Inhibition: GI) ตามข้อ 3.3.1.1

3.5 การศึกษาอิทธิพลร่วมของเชื้อราปฏิปักษ์กับสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยวิธี Dual culture test ร่วมกับวิธี Poisoned food technique

การทดลองนี้ใช้เชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. จำนวน 5 ไอโซเลท และเชื้อรา non-pathogenic *F. oxysporum* F221-B ได้คัดเลือกระดับความเข้มข้นของสารสกัดชุมเห็ดเทศที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช จากข้อ 3.4.1 และ 3.4.2 แต่ไม่ส่งผลต่อการเจริญของเชื้อราปฏิปักษ์ จากข้อ 3.4.3 มาทำการทดสอบอิทธิพลร่วม โดยวางแผนการทดลองแบบ 3×6 Factorials in CRD โดยมี

ปัจจัย A คือ ความเข้มข้นของสารสกัดชุมเห็ดเทศ 3 ระดับ (0, 5000 และ 10000 ppm)

ปัจจัย B คือ เชื้อราปฏิปักษ์ 6 ไอโซเลท (*T. harzianum* จำนวน 5 ไอโซเลท และ non-pathogenic *F. oxysporum* F221-B)

ทำการทดสอบกับเชื้อราสาเหตุโรคพืช 6 ชนิด โดยนำสารสกัดชุมเห็ดเทศที่เตรียมไว้ผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ให้ได้ความเข้มข้นตามที่ต้องการทดสอบ และเทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำชิ้นวุ้นที่ได้จากการใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะบริเวณขอบของโคโลนีของเชื้อราปฏิปักษ์อายุ 3 วัน และเชื้อราสาเหตุโรคพืชอายุ 7 วัน ไปวางตรงข้ามกันบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดที่เตรียมไว้ ให้มีระยะห่างของชิ้นวุ้นเชื้อราปฏิปักษ์กับเชื้อรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาเหตุโรคพืชเท่ากับ 6 เซนติเมตร ชุดควบคุมให้เลี้ยงเชื้อราทั้งสองแยกจากกันบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีการผสมสารสกัดชุมเห็ดเทศตามความเข้มข้นที่ทดสอบ บ่มที่อุณหภูมิห้อง

บันทึกผลการทดลอง

- โดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อราสาเหตุโรคพืช คำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (Growth Inhibition: GI)

$$GI = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100$$

โดย R1 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคพืชในกรรมวิธีควบคุม

R2 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคในกรรมวิธีที่ผสมสารสกัดร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์

การทดลองในระบบไฮโดรโปนิกส์

3.6 การทดสอบความเป็นพิษ (Phytotoxicity test) ของสารสกัดหยาบเอทานอลชุมเห็ดเทศต่อต้นคะน้า

การที่จะเอาสารสกัดจากพืชไปใช้ควบคุมโรคพืช สารสกัดไม่ควรมีพิษ (Phytotoxicity) กับพืชนั้นๆ ดังนั้นในการทดลองนี้ จึงเป็นการทดสอบความเป็นพิษ (Phytotoxicity test) ของสารสกัดหยาบเอทานอลชุมเห็ดเทศ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อต้นคะน้า โดยการทดลองแบ่งออกเป็น 2 การทดลอง ดังนี้

3.6.1 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบเอทานอลชุมเห็ดเทศต่อต้นคะน้าในสารละลายธาตุอาหารพืช

ทำการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดชุมเห็ดที่ระดับความเข้มข้น 5000, 10000 และ 20000 ppm ต่อต้นคะน้า 2 อายุ คืออายุ 21 วัน และ 30 วัน ด้วยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ต้น เริ่มต้นจากการเพาะและอนุบาลคะน้าในฟองน้ำ เป็นระยะเวลา 7 วัน จากนั้นเริ่มให้สารละลายธาตุพืชที่มีค่า EC เท่ากับ 1 mS/cm เป็นเวลาอีก 7 วัน และย้ายลงแก้วปลูกที่มีสารละลายธาตุอาหารที่มีค่า EC เท่ากับ 1.6-1.8 mS/cm, pH เท่ากับ 5.8-6.2 เมื่อพืชอายุได้ตามที่กำหนด จึงการฉีดพ่นสารสกัดชุมเห็ดเทศแต่ละความเข้มข้นที่ทดสอบ บนต้นคะน้า ปริมาณ 1 มิลลิลิตรต่อต้น สำหรับชุดควบคุมใช้น้ำนึ่งฆ่าเชื้อแทนสารสกัด

บันทึกผลการทดลอง

- บันทึกความผิดปกติของใบพืช ได้แก่ อาการไหม้ (burn) หรือแผลตาย (necrosis) ที่บริเวณปลายใบ ขอบใบ ระหว่างเส้นใบ และอาการสีผิดปกติ เช่น มีสีเหลืองบริเวณเส้นใบ ระหว่างเส้นใบ หรือทั่วทั้งใบ (chlorosis)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.2 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบเอทานอลชุมเห็ดเทศต่อต้นคะน้า ที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์

สำหรับการทดลองนี้ มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อศึกษาว่าสารสกัดจะเป็นพิษต่อพืชที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์หรือไม่ จึงทดสอบอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดที่ระดับความเข้มข้น 10000 และ 20000 ppm ต่อต้นคะน้าที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ ในขณะเดียวกันได้ศึกษาถึงขั้นตอนการฉีดพ่นสารสกัดและเชื้อรา *Trichoderma* sp. และเพื่อให้ตอบโจทย์ของวัตถุประสงค์หลักและรองในคราวเดียวกัน จึงวางแผนการทดลองแบบ 2×2×3×3 Factorials in CRD จำนวน 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ต้น โดยปัจจัยในการศึกษาดังนี้

ปัจจัย A คือ การฉีดพ่นสปอร์ *Alternaria* sp. จำนวน 2 ระดับ
(A1=ไม่ฉีดพ่น *Alternaria* sp.; A2=ฉีดพ่น *Alternaria* sp.)

ปัจจัย B คือ ขั้นตอนการฉีดพ่น จำนวน 2 ระดับ
(B1=ฉีดพ่นสารสกัดพร้อมฉีดพ่นเชื้อรา *Trichoderma* sp.;
B2=ฉีดพ่นสารสกัดก่อนฉีดพ่น *Trichoderma* sp.)

ปัจจัย C คือ ความเข้มข้นของสารสกัด จำนวน 3 ระดับ
(C1=0; C2=10000; C3=20000 ppm)

ปัจจัย D คือ เชื้อรา *Trichoderma* sp. จำนวน 3 ระดับ
(D1=ฉีดพ่นน้ำ; D2=ฉีดพ่น T114Kb; D3=ฉีดพ่น T112Sc)

เริ่มต้นจากการเพาะและอนุบาลคะน้าในฟองน้ำ เป็นระยะเวลา 7 วัน จากนั้นเริ่มให้สารละลายธาตุพืชที่มีค่า EC เท่ากับ 1 mS/cm เป็นเวลาอีก 7 วัน และย้ายลงกระบะปลูกขนาด 25×34×15 เซนติเมตร ที่บรรจุสารละลายธาตุอาหารค่า EC เท่ากับ 1.6-1.8 mS/cm, pH เท่ากับ 5.8-6.2 แบบเป่าอากาศ และเมื่อพืชอายุได้ 50 วัน จึงฉีดพ่นสารสกัดชุมเห็ดเทศตามความเข้มข้นที่กำหนดต้นคะน้า ปริมาณ 1 มิลลิลิตรต่อต้น ทิ้งไว้ 2 วัน จากนั้นฉีดพ่นสปอร์ของเชื้อรา *Trichoderma* sp. ความเข้มข้น 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 1 มิลลิลิตรต่อต้น เป็นเวลา 3 วัน สำหรับชุดควบคุมใช้น้ำนึ่งฆ่าเชื้อแทนสารสกัดและ *Trichoderma* sp.

บันทึกผลการทดลอง

1) บันทึกความผิดปกติของใบพืช

- แผลตาย (necrosis) ที่บริเวณปลายใบ ขอบใบ ระหว่างเส้นใบ หรืออาการไหม้ (burn)
- อาการสีผิดปกติ ได้แก่ มีสีเหลืองบริเวณเส้นใบ ระหว่างเส้นใบ หรือทั่วทั้งใบ (chlorosis)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) บันทึกด้านโรคพืช ได้แก่

-วัดขนาดแผล และคำนวณเปอร์เซ็นต์ลดความรุนแรงของโรค (% Disease reduction over control: % DR)

$$\% \text{ DR} = \frac{\text{ขนาดแผลกรรมวิธีควบคุม} - \text{ขนาดของแผลกรรมวิธีทดสอบ}}{\text{ขนาดแผลกรรมวิธีควบคุม}} \times 100$$

3.7 การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ร่วมกับสารสกัดชุมเห็ดเทศ ในการควบคุมเชื้อรา *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดกับผัก ในระบบไฮโดรโปนิกส์

ในการทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบเอทานอลจากใบชุมเห็ดเทศร่วมกับการใช้เชื้อรา *Trichoderma* sp. ในการควบคุมเชื้อรา *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดคะน้าที่มีอายุแตกต่างกัน คือ อายุ 30 เพื่อศึกษาการป้องกันโรคใบจุดคะน้าตั้งแต่ระยะเริ่มต้นเพาะปลูก และ 60 วันเป็นการป้องการโรคใบจุดหากจะใช้ต้นคะน้าเพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์ โดยคัดเลือกความเข้มข้นสารสกัดชุมเห็ดเทศที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชแต่ไม่ยับยั้งการเจริญของเชื้อราปฏิปักษ์ มาศึกษาประสิทธิภาพร่วมของสารสกัดชุมเห็ดเทศและเชื้อราปฏิปักษ์

โดยทดสอบบนต้นคะน้าที่ปลูกในกระบะขนาด 25×34×15 เซนติเมตร ที่บรรจุสารละลายธาตุอาหารค่า EC เท่ากับ 1.6-1.8 mS/cm, pH เท่ากับ 5.8-6.2 แบบเป่าอากาศแบบ วางแผนการทดลองแบบ 2×3×3 Factorials in CRD จำนวน 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ต้น ซึ่งปัจจัยในการศึกษามีดังนี้

ปัจจัย A คือ การฉีดพ่นสปอร์ *Alternaria* sp. จำนวน 2 ระดับ
(A1=ไม่ฉีดพ่น *Alternaria* sp.; A2=ฉีดพ่น *Alternaria* sp.)

ปัจจัย B คือ ความเข้มข้นของสารสกัด จำนวน 3 ระดับ
(B1=0; B2=10000; B3=20000 ppm)

ปัจจัย C คือ เชื้อรา *Trichoderma* sp. จำนวน 3 ระดับ
(C1=ฉีดพ่นน้ำ; C2=ฉีดพ่น T114Kb; C3=ฉีดพ่น T112Sc)

ทำการเพาะเมล็ดผักคะน้า บนฟองน้ำและรดน้ำเป็นเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นรดด้วยสารละลายธาตุอาหารพืชที่มีค่า EC = 1 ms/cm, pH = 5.8 – 6.2 เมื่อต้นกล้ามีอายุ 3 สัปดาห์ ทำการย้ายลงในกระบะขนาด 25×34×15 เซนติเมตร ที่บรรจุสารละลายธาตุอาหารค่า EC เท่ากับ 1.6-1.8 mS/cm, pH เท่ากับ 5.8-6.2 แบบเป่าอากาศ (ภาพที่ 3.1) เมื่ออายุพืชได้ตามที่กำหนดจึงทำการทดสอบ ซึ่งในการทดลองนี้ได้ใช้วิธีการฉีดพ่นสารสกัดพืชก่อน ฉีดพ่นเชื้อรา *Trichoderma* sp. เนื่องจากมีการรายงานว่า การฉีดพ่นสารสกัดชุมเห็ดเทศ สามารถกระตุ้นให้พืชสร้างเอนไซม์ phenylalanine ammonia lyase (PAL), peroxidase (POX), polyphenol oxidase (PPO) และ phenolic เพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า (Lubaina and Murugan, 2013) โดยการเตรียมสารชุมเห็ดเทศความเข้มข้นที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คัดเลือกจากข้อ 3.3 แล้วฉีดพ่นลงบนต้นผักคะน้า ปริมาณ 1 มิลลิลิตรต่อต้น ทั่วต้น และทิ้งไว้เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นเตรียม spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ ความเข้มข้น 1×10^{8} สปอร์ต่อมิลลิลิตร และฉีดพ่นลงบนทั่วต้นพืช ปริมาณ 1 มิลลิลิตรต่อต้น ทิ้งไว้ 3 วัน จึงทำการปลูกเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยวิธีวางชิ้นวุ้นบนใบคะน้า ต้นละ 2 ใบ ใบละ 1 ชิ้น

บันทึกผลการทดลอง

ด้านโรค

- วัดขนาดแผล
- คำนวณเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (Disease incidence)
- คำนวณเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค (Disease severity) เหมือนดังข้อ 3.5.2

ด้านการอิทธิพลของสารสกัดจากพืชและเชื้อราปฏิปักษ์

- วัดปริมาณคลอโรฟิลล์ (SPAD value) โดยใช้เครื่อง chlorophyll meter SPAD-502 ยี่ห้อ Konica minolta ซึ่งมีขั้นตอนการวัด ดังนี้
  1) ก่อนฉีดพ่นสารสกัดและเชื้อรา BCA
  2) หลังฉีดพ่นสารสกัด 2 วัน
  3) หลังฉีดพ่นเชื้อ BCA 3 วัน
  4) หลังปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 3, 5 และ 7 วัน (รอบบริเวณแผล 3 จุด)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 3.1 คะน้าที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ สำหรับทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ร่วมกับสารสกัดชุมเห็ดเทศ ในการควบคุมโรคใบจุด *Alternaria* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลอง

4.1 การตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

จากการตรวจนับปริมาณ Lactic acid bacteria ในผลิตภัณฑ์นมหมักทางการค้าจำนวน 4 ชนิด โดยวิธี Dilation plate technique บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar พบว่า นมหมัก FM 1, FM 2 และ FM 4 สามารถตรวจนับได้ โดยมีปริมาณเท่ากับ 4.83×10^8, 9.9×10^7 และ 8.6×10^8 cfu/ml ตามลำดับในขณะที่ FM 3 ไม่สามารถตรวจนับได้ ส่วนค่า pH ที่วัดได้ อยู่ในช่วง 3.43-4.25 (ตารางที่ 4.1)

ตารางที่ 4.1 ปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ในผลิตภัณฑ์นมหมัก

Brands of fermented milk	pH	Number of bacteria (cfu/ml)
Fermented milk 1 (FM1)	4.25	4.83×10^8
Fermented milk 2 (FM2)	3.68	9.9×10^7
Fermented milk 3 (FM3)	3.43	ไม่สามารถตรวจนับได้
Fermented milk 4 (FM4)	3.53	8.6×10^8

4.2 การแยกและการจัดจำแนกเชื้อรา *Trichoderma* spp.

จากการเก็บตัวอย่างดินและสารละลายธาตุอาหารพืชมาทำการคัดแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ได้เชื้อรา *Trichoderma* spp. นั้น ผลปรากฏว่าแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ได้ทั้งหมด 9 ไอโซเลท ได้แก่ T111So และ T114So จากดินแปลงนาอินทรีย์, T111Sc และ T112Sc จากดินแปลงนาสารเคมี ในจังหวัดสุพรรณบุรี T114Kb และ T415-2 จากดินป่าในเขตสถานีวิจัยสิ่งแวดล้อมสะแกราช จังหวัดนครราชสีมา และ T121Kh, T515-1 และ T515-2 จากสารละลายธาตุอาหาร ในแปลงปลูกผักไฮโดรโปนิกส์ จังหวัดนครราชสีมา (ตารางที่ 4.2)

จากนั้น นำเชื้อรา *Trichoderma* sp. ทั้ง 9 ไอโซเลท ไปศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา 2 ลักษณะ คือ 1) macro-characteristics ได้แก่ ลักษณะการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ลักษณะของ colony สีของ colony 2) micro-characteristics ได้แก่ ขนาด สีของเส้นใย phialide และ conidia โดยศึกษาบน slide culture ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ซึ่งผลปรากฏว่า เชื้อราทุกไอโซเลทมีการเจริญค่อนข้างเร็ว โดยไอโซเลท T114Kb และ T112Sc มีอัตราการเจริญเร็วที่สุด คือ 4.1 และ 4.0 เซนติเมตรต่อวัน ในขณะที่ไอโซเลทอื่นมีอัตราการเจริญ 3.3-3.7 เซนติเมตรต่อวัน (ตารางที่ 4.2) โดยช่วงแรก colony จะมีสีขาวและจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวอ่อน (T111So) จนถึงสีเขียวเข้ม (T112Sc, T114Kb, T415-2, T121Kh, T515-1 และ T515-2) ทั่วทั้งจานอาหารเพาะเชื้อ ในขณะที่ T114So และ T111Sc เปลี่ยนสีของ colony เป็นสีเขียวเข้มเฉพาะกลางจานอาหารเท่านั้น ยิ่งไปกว่านั้นไอโซเลท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

T111So และ T111Sc สามารถเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อให้เป็นสีเหลือง และเป็นที่น่าสนใจ พบเพียงไอโซเลท T114Kb เท่านั้น ที่ลักษณะของcolonyแตกต่างจากไอโซเลทอื่น คือ พบเส้นใยของเชื้อราบางๆ เป็นสีขาวบริเวณกึ่งกลางจานอาหาร PDA (ภาพที่ 4.1) สำหรับการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า เส้นใยมีผนังกั้นตามแนวขวาง แตกแขนงและใส ไม่มีสี ที่ปลายเส้นใยจะพบ phialide จำนวน 2-4 verticils มีลักษณะเป็นแบบโบว์ลิ่งพิน ขนาด 4.9-8.4×2.5-3.4 ไมโครเมตร ส่วน conidia มีลักษณะเป็นเซลล์เดียว (single-cell) สีเขียวอ่อน มีรูปร่างแบบ globose ถึง sub-globose (ขนาดอยู่ในช่วง 2.6-3.5×2.5-2.9 ไมโครเมตร) ซึ่งพัฒนามาจาก phialides (ตารางที่ 4.3 และ ภาพที่ 4.1) ซึ่งลักษณะที่กล่าวมา คือ *Trichoderma harzianum* (Kubicek and Harman, 2002; Chaveri and Samuels, 2003)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

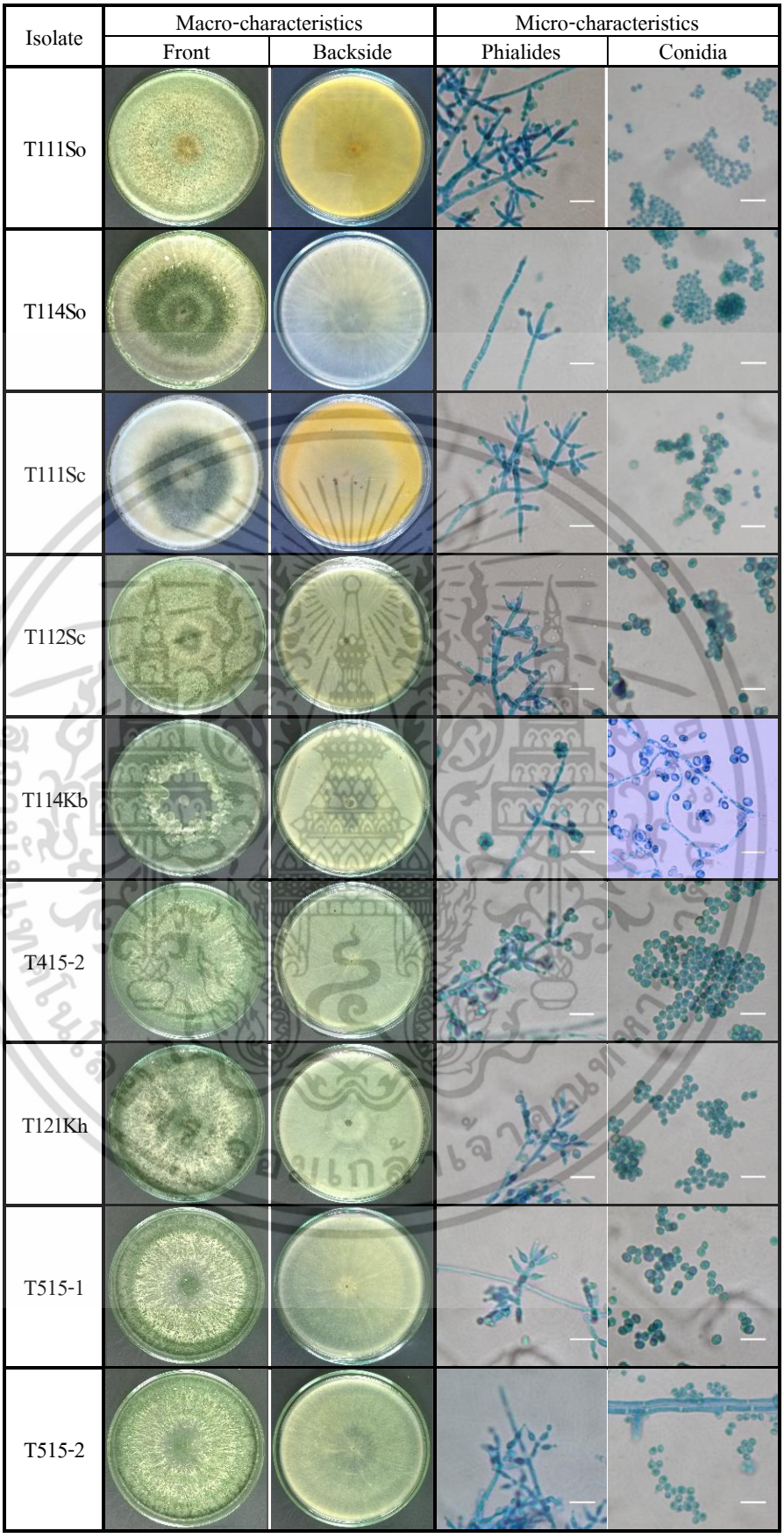
ตารางที่ 4.2 แหล่งและที่มาของเชื้อรา *Trichoderma* spp.

Trichoderma isolate	Sample types	Source of isolation	Location
T111So	Clay soil	Organic rice field	Supanburi
T114So	Clay soil	Organic rice field	Supanburi
T111Sc	Clay soil	Chemical rice field	Supanburi
T112Sc	Clay soil	Chemical rice field	Supanburi
T114Kb	Forest soil	Forest	Nakhon-ratchasima
T415-2	Forest soil	Forest	Nakhon-ratchasima
T121Kh	Nutrient solution	Hydroponic farm	Nakhon-ratchasima
T515-1	Nutrient solution	Hydroponic farm	Nakhon-ratchasima
T515-2	Nutrient solution	Hydroponic farm	Nakhon-ratchasima

ตารางที่ 4.3 ลักษณะของเชื้อรา *Trichoderma* sp. ที่แยกจาก 4 แหล่ง

Isolate	Growth rate (cm/day)	Phialides		Conidia	
		Number of verticils	Size (µm)	Shape	Size (µm)
T111So	3.4	3-4	5-8.4×2.6-3.3	Globose	2.6-3×2.6-2.9
T114So	3.3	2-3	4.9-7×3-3.4	Globose	2.8-3.2×2.5-2.9
T111Sc	3.5	3-4	7.2-8.0×2.5-2.9	Globose	2.6-3.1×2.5-2.7
T112Sc	4.0	3-4	5.3-6.7×3.1-3.4	Sub-to globose	2.7-2.8×2.7-2.9
T114Kb	4.1	2-3	6.7-7×2.7-3.0	Sub-to globose	2.6-3.2×2.8-2.9
T415-2	3.4	2-3	7-8×2.6 -2.8	Globose	2.9-3.5×2.8-2.9
T121Kh	3.5	2-3	5.2-6×2.5-2.6	Globose	2.7-3.4×2.6-2.8
T515-1	3.6	2-3	5.3-7.2×2.8-3.4	Globose	3-3.4×2.7-2.8
T515-2	3.7	2-3	5.7-6.4×2.9-3.2	Globose	2.7-3.3×2.6-2.9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.1 ลักษณะ colony, phialide และ conidia ของเชื้อรา *Trichoderma* sp.; Bar = 10 µm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การศึกษาอิทธิพลของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ในสภาพห้องปฏิบัติการ

4.3.1 การศึกษาอิทธิพลของนมหมักต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ในสภาพห้องปฏิบัติการ

4.3.1.1 การศึกษาอิทธิพลของนมหมักต่อการเจริญทางเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยวิธี Dual culture test

จากการทดสอบอิทธิพลของนมหมักจำนวน 4 ชนิด ต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช จำนวน 6 ชนิดโดยวิธี Dual culture test พบว่า มีนมหมักเพียง 2 ชนิดที่มีแนวโน้มที่ดี คือ นมหมักชนิดที่ 2 (FM2) และ นมหมักชนิดที่ 4 (FM4) สามารถชะลอการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 4 ชนิด ได้ตั้งแต่วันที่ 4 หลังจากปลูกเชื้อ (Day after inoculation; DAI) โดยเชื้อ *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp. และ *Helminthosporium* sp. ที่ทำการเลี้ยงร่วมกับนมหมักดังกล่าว มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางcolony อยู่ในช่วง 2.2 - 2.4, 2.7 - 2.8, 3.2 และ 2.4 - 2.8 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งเล็กกว่าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางcolonyในชุดควบคุม (3.9, 4.3, 3.9 และ 3.7 เซนติเมตร ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงวันที่ 4 และวันที่ 6 ผลการทดลองยังเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับวันที่ 2 คือ FM2 และ FM4 ยังคงทำให้ colony ของเชื้อทั้ง 4 มีขนาดเล็กกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวันที่ 8 ซึ่งสิ้นสุดการทดลอง สรุปได้ว่า FM2 และ FM4 สามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรค (Mycelial growth inhibition; GI) ได้ คือ *Alternaria* sp., *Curvularia* sp. และ *Helminthosporium* sp. โดยมีการยับยั้งอยู่ในช่วง 53.5-56.6 เปอร์เซ็นต์ และ *Fusarium* sp. มีค่าการยับยั้งอยู่ที่ 21.1 – 27.7 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.4, ภาพที่ 4.2) จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า FM2 และ FM4 มีประสิทธิภาพในการยังยั้งการเจริญทางเส้นใย น่าจะเป็นผลมาจาก LAB ที่อยู่ในนมหมัก โดยที่ FM2 ใช้ *Lactobacillus paracaseci* และ FM4 ใช้ *L. casei shirota* ในการหมักเพียงชนิดเดียวและมีค่า pH ที่ใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 3.1 และ 4.1)

เมื่อเวลาผ่านไป 30 วัน ผลการทดลองโดยวิธี Dual culture test ของ FM2 และ FM4 ต่อการเจริญทางเส้นใยเชื้อรา *Alternaria* sp., *Curvularia* sp. และ *Helminthosporium* sp. เป็นไปในทิศทางเดียวกัน คือ เส้นใยของเชื้อราไม่เจริญข้ามรอยขีดของนมหมัก และเมื่อนำเส้นใยของเชื้อราทั้ง 3 ชนิด ตรงบริเวณรอยขีดของนมหมัก ไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า ใยเส้นของเชื้อราดังกล่าว มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ผิดปกติไป คือ เส้นใย โป่งพอง สั้น บวมกลม ในขณะที่ลักษณะเส้นใยของเชื้อราในFM 1 มีการบวมและใหญ่ขึ้นและต่างไปจากชุดควบคุมซึ่งมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาปกติ (ภาพที่ 4.3)

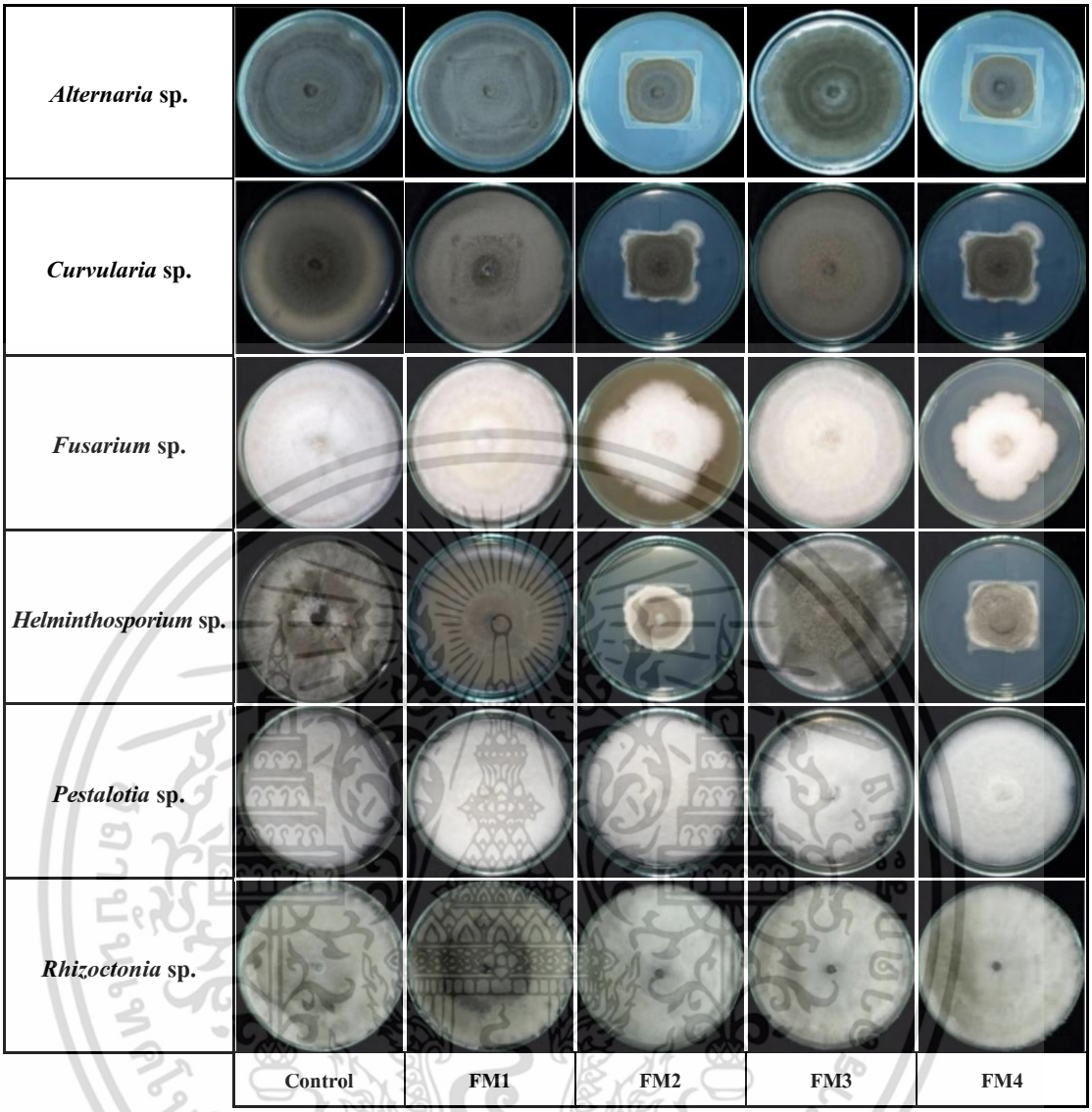
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์นมหมัก 4 ชนิด ต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยวิธี Dual culture test

Pathogen	Treatment	Diameter of colony growth (cm)				Growth inhibition over control (%) (8 Day)
		2 Day	4 Day	6 Day	8 Day	
Alternaria sp.	Control	3.9ab[1/]	6.3a	7.8a	9.0a	0
	FM1	3.7b	6.6a	8.0a	9.0a	0
	FM2	2.2c	3.4b	3.6b	4.1b	54.4
	FM3	4.0a	6.4a	7.7a	9.0a	0
	FM4	2.4c	3.3b	3.6b	4.1b	54.4
Curvularia sp.	Control	4.3a	6.8a	7.8a	9.0a	0
	FM1	4.0a	6.0b	7.0b	9.0a	0
	FM2	2.8c	3.5c	3.8c	4.2b	53.3
	FM3	4.4a	6.9a	7.8a	9.0a	0
	FM4	2.7c	3.2c	3.4c	4.0c	55.5
Fusarium sp.	Control	3.9a	6.6a	8.7a	9.0a	0
	FM1	3.9a	6.2bc	8.5a	9.0a	0
	FM2	3.2b	6.1c	6.7b	7.1b	21.1
	FM3	4.0a	6.4b	8.5a	9.0a	0
	FM4	3.2b	4.9d	5.9c	6.5c	27.7
Helminthosporium sp.	Control	3.7a	5.3b	6.6b	9.0a	0
	FM1	3.7a	5.3b	6.0c	9.0a	0
	FM2	2.4c	2.8c	3.6d	3.9b	56.6
	FM3	3.7a	6.2a	7.3a	9.0a	0
	FM4	2.8b	3.5b	3.8d	4.0b	55.5
Pestalotia sp.	Control	3.53a	5.7a	6.5ab	9.0a	0
	FM1	3.5ab	5.4b	6.4bc	9.0a	0
	FM2	3.3b	5.2b	6.5ab	9.0a	0
	FM3	3.4ab	5.4b	6.5a	9.0a	0
	FM4	3.1c	5.4b	6.4c	9.0a	0
Rhizoctonia sp.	Control	8.1ab	9a	9a	9a	0
	FM1	8.2ab	9a	9a	9a	0
	FM2	8.0b	9a	9a	9a	0
	FM3	8.4a	9a	9a	9a	0
	FM4	8.1ab	9a	9a	9a	0

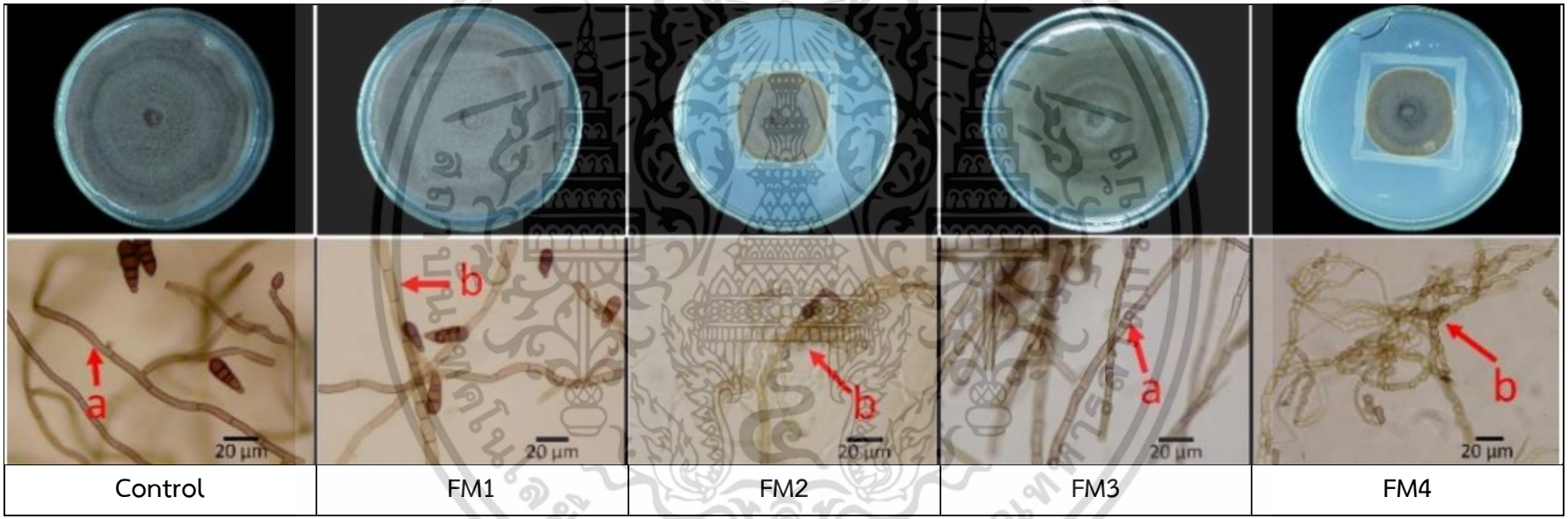
[1/]ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้งแต่ละวันของแต่ละเชื้อ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05 โดยวิธีของ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.2 ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์นมหมัก 4 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา สาเหตุโรคพืช โดยวิธี Dual culture test เมื่อระยะเวลาผ่านไป 8 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.3 ลักษณะของเส้นใย *Alternaria* sp. บริเวณรอยขีดนม จาก Dual culture plate เมื่อเวลาผ่านไป 30 วัน a = ลักษณะเส้นใยปกติ, b = ลักษณะเส้นใยที่ผิดปกติ

4.3.1.2 การศึกษาอิทธิพลของนมหมักต่อการงอกของสปอร์เชื้อราเหตุโรคพืชโดยวิธี Spore germination test

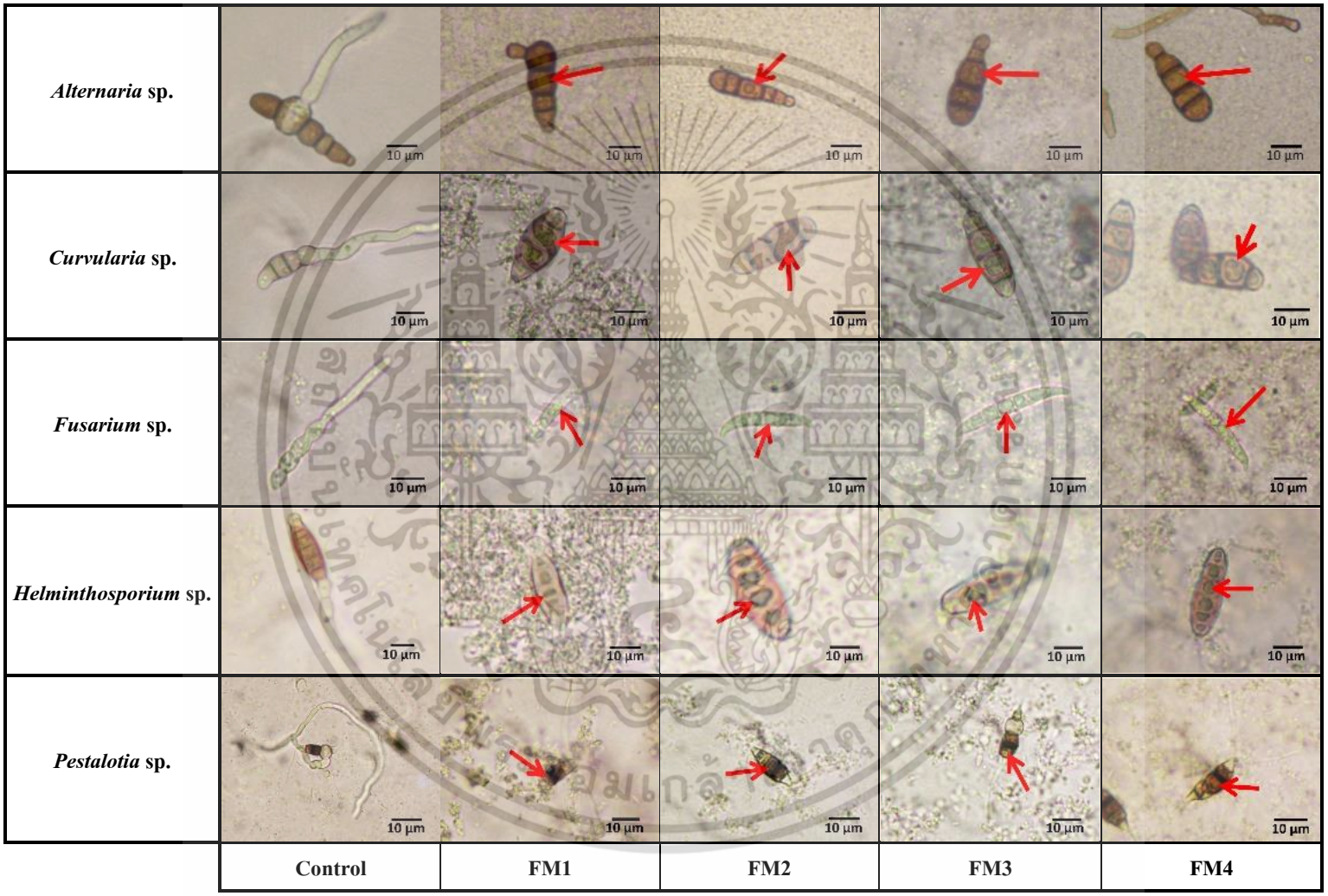
จากการทดสอบอิทธิพลของนมหมักทั้ง 4 ชนิดต่อการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 5 ชนิด คือ *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Helminthosporium* sp. และ *Pestalotia* sp. โดยวิธี Spore germination test พบว่า นมหมักทั้ง 4 ชนิดสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราดังกล่าวได้อย่างมีประสิทธิภาพ กล่าวคือ FM2 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับนมหมักอีก 3 ชนิด ได้ถึง 95 – 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ FM4, FM3 และ FM1 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 81 – 92, 45 – 81 และ 66 – 67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อสังเกตลักษณะของสปอร์ของเชื้อราดังกล่าวแล้ว พบว่ามีความผิดปกติไปเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม คือ cytoplasm มีการรวมตัวและจับตัวเป็นก้อนอย่างชัดเจน การทดลองนี้สอดคล้องกับการทดสอบในข้อที่ 1 คือ FM2 และ FM4 ยังคงได้ผลการยับยั้งดีที่สุด ส่วน FM1 และ FM3 ที่สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ น่าจะเป็นเพราะสปอร์ถูกแช่และสัมผัสโดยตรงกับนมหมัก จึงทำให้นมหมักสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ชัดเจน (ตารางที่ 4.5, ภาพที่ 4.4)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์นมหมัก 4 ชนิด ต่อการงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืช

Pathogen	Treatment	Spore germination (%)				
		12 hr	24 hr	36 hr	48 hr	50 hr
Alternaria sp.	Control	30	62	100	100	100
	FM1	0	21	32	32	32
	FM2	0	0	0	0	0
	FM3	5	14	14	15	14
	FM4	1	1	1	1	1
Curvularia sp.	Control	29	48	87	93	100
	FM1	0	17	17	29	33
	FM2	0	0	0	0	0
	FM3	1	8	20	19	19
	FM4	0	7	7	5	8
Fusarium sp.	Control	10	20	37	69	100
	FM1	0	2	8	20	33
	FM2	0	0	0	0	0
	FM3	1	3	17	31	32
	FM4	0	2	5	18	19
Helminthosporium sp.	Control	29	65	100	100	100
	FM1	14	25	36	47	49
	FM2	0	0	0	0	0
	FM3	33	62	64	67	69
	FM4	7	15	15	22	25
Pestalotia sp.	Control	7	33	51	84	100
	FM1	3	5	11	30	34
	FM2	0	0	3	4	5
	FM3	30	50	52	53	55
	FM4	11	12	6	8	13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



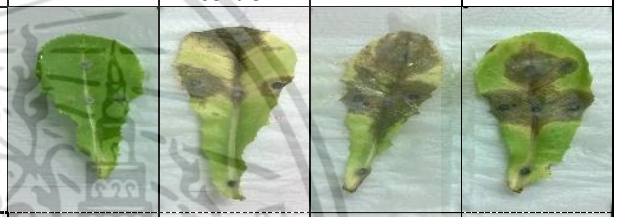
ภาพที่ 4.4 ความผิดปกติของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคที่แช่ในนมหมัก ที่เวลา 50 ชั่วโมง

4.3.1.3 การศึกษาอิทธิพลของนมหมักในการควบคุมโรคบนใบพืช (Detached leaf test)

จากการคัดเลือกนมหมักที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญทางเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืชจากวิธี Dual culture test มาทดสอบบนใบผักสลัด cos โดยวิธี Detached leaf test พบว่า 3 วันหลังจากปลูกเชื้อ *Alternaria* sp., *Curvularia* sp. และ *Helminthosporium* sp. แผลตรงบริเวณที่ทำการปลูกเชื้อราดังกล่าว ใน FM2 และ FM4 เกิดการลุกลามของเชื้อรามีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร ซึ่งมีขนาดเท่ากับปริมาณการทานมหมักลงไป เมื่อผ่านไป 4 วัน เชื้อ *Alternaria* sp. และ *Curvularia* sp. มีการลุกลามมากขึ้น และเกิดเป็นอาการแผลไหม้ใหญ่กว่าเมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยมีขนาดของแผลในช่วง 1.1 – 1.5 เซนติเมตร ส่วน *Helminthosporium* sp. มีขนาดแผลอยู่ในช่วง 0.6 - 1 เซนติเมตร ในชุดควบคุมของเชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 3 ชนิด มีขนาดแผลอยู่ในช่วง 0.6 – 1 เซนติเมตร เมื่อเวลาผ่านไป 5 วัน ขนาดของแผลใน FM2 และ FM4 มีขนาดใหญ่กว่าชุดควบคุมและไม่สามารถลดความรุนแรงของโรคได้ ซึ่งผลไม่เป็นไปตามคาดหวังและไม่สอดคล้องตามการทดสอบด้วยวิธี Dual culture test และวิธี Spore germination test ที่พบว่า LAB มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 3 ชนิดได้เป็นอย่างดี อาจเป็นเพราะน้ำตาลที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์ของนมหมัก เป็นอาหารให้กับเชื้อราดังกล่าว ทำให้เชื้อราสามารถเจริญได้ดี ซึ่งเป็นข้อจำกัดในการใช้ผลิตภัณฑ์นมหมักมาใช้ในการควบคุมโรค (ตารางที่ 4.6)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ประสิทธิภาพของนมหมัก 2 ชนิด ในการควบคุมโรคบนใบพืช (Detached leaf test)

Pathogen	Treatment	Diameter of lesion			Detached leaf test			
		3 day	4 day	5 day	Healthy control	Inoculated control	FM2	FM4
Alternaria sp.	Healthy control	-[1/]	-	-				
	Inoculated control	+	++	+++				
	FM2	++	+++	+++				
	FM4	++	+++	++++				
Curvularia sp.	Healthy control	-	-	-				
	Inoculated control	-	-	++				
	FM2	++	+++	++++				
	FM4	+++	+++	++++				
Helminthosporium sp.	Healthy control	-	-	-				
	Inoculated control	-	++	++				
	FM2	-	++	++				
	FM4	-	++	++				

[1/]- = no lesion, + = 0.1-0.5 cm, ++ = 0.6-1 cm, +++ = 1–1.5 cm, ++++ = >1.6 cm

4.3.2 การศึกษาอิทธิพลของเชื้อราปฏิปักษ์ต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยวิธี Dual culture test

การประเมินความสามารถในการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ของเชื้อรา *Trichoderma* sp. จำนวน 5 ไอโซเลท ต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 6 ชนิด ได้แก่ *Alternaria* sp. *Curvularia* sp. *Fusarium* sp. *Helminthosporium* sp. *Pestalotia* sp. และ *Rhizoctonia* sp. โดยวิธี dual culture test พบว่า ช่วงแรกของการปลูกเชื้อ (3 DAI) เชื้อรา *Trichoderma* sp. ทุกไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชทุกชนิดที่ทดสอบได้ โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์การ colony ของเชื้อราสาเหตุโรคพืช อยู่ในช่วง 2.00-2.03, 2.40-2.86, 2.93-3.1, 2.1-2.86, 2.1-3 และ 2.4-3.06 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง colony เท่ากับ 2.63, 3.1, 4.2, 3.13, 4.1 และ 4.23 ตามลำดับ ซึ่งส่วนใหญ่จะมีกลไกการยับยั้งแบบ antibiosis และเมื่อเวลาผ่านไป 5-7 DAI ผลยังคงเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับช่วงแรก (3 DAI) คือ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง colony ของเชื้อราสาเหตุโรคที่เลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *Trichoderma* sp. ยังคงมีขนาดเท่าเดิม แต่ขนาดผ่านศูนย์กลางของเชื้อราสาเหตุโรคพืชในชุดควบคุมมีการเจริญที่มากขึ้นตามลำดับ และเมื่อเวลาผ่านไปจนสิ้นสุดการทดลอง (9DAI) เชื้อรา *Trichoderma* sp. ทั้ง 5 ไอโซเลท ยังคงแสดงความสามารถไปในทิศทางเดียวกันกับช่วงแรกของการทดสอบ กล่าวคือ เชื้อรา *Trichoderma* sp. สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชทุกชนิดได้ อยู่ในช่วง 67.4-77.77 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งความสามารถของเชื้อรา *Trichoderma* sp. แต่ละไอโซเลทในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้น *Alternaria* sp. และจากที่กล่าวมาข้างต้นนั้น ยังพบอีกว่าไอโซเลท T114Kb ที่แยกจากดินป่า แสดงความสามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชทุกชนิดได้ดีที่สุด อยู่ในช่วง 67.4-77 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้น *Pestalotia* sp. ในขณะที่ T114So ที่แยกจากดินนาอินทรีย์ ก็แสดงสามารถยับยั้งได้ดีเช่นกัน โดยยับยั้ง *Alternaria* sp., *Pestalotia* sp. และ *Curvularia* sp. ได้ 77.77, 76.66 และ 73.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ยิ่งไปกว่านั้น เมื่อนำเส้นใยใน dual culture plate ไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กลับไม่พบกลไก exploitation (ตารางที่ 4.7 และภาพที่ 4.5 และ 4.6)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

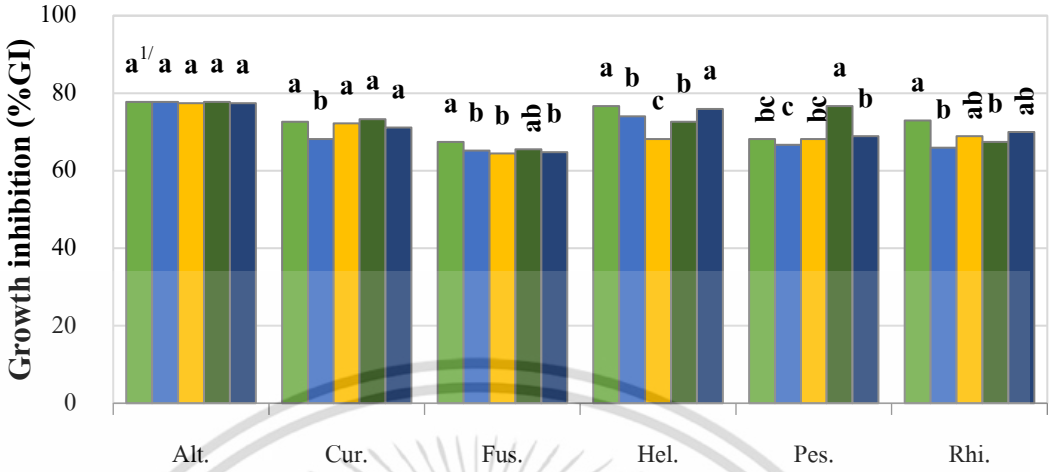
ตารางที่ 4.7 ศักยภาพและกลไกของเชื้อรา *Trichoderma* sp. ในการยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชทางใบ โดยวิธี Dual culture test

Pathogen	Treatments	Diameter of colony (cm)				Antagonistic mechanism[2/]	
		3 day	5 day	7 day	9 day	3 day	5, 7, 9 day
Alternaria sp.	Control	2.63a[1/]	3.90a	5.76a	9.00a		
	T114Kb	2.00b	2.00b	2.00b	2.00b	A+C	C
	T121Kh	2.00b	2.00b	2.00b	2.00b	A+C	C
	T112Sc	2.03b	2.03b	2.03b	2.03b	A	C
	T114So	2.00b	2.00b	2.00b	2.00b	A+C	C
	T.com	2.03b	2.03b	2.03b	2.03b	A+C	C
Curvularia sp.	Control	3.10a	4.53a	6.0a	9.00a		
	T114Kb	2.46b	2.46c	2.46c	2.46c	A+C	C
	T121Kh	2.86a	2.86b	2.86b	2.86b	A	A
	T112Sc	2.50c	2.50c	2.50c	2.50c	A	C
	T114So	2.40b	2.40c	2.40c	2.40c	A	A
	T.com	2.60b	2.60c	2.60c	2.60c	A	C
Fusarium sp.	Control	4.20a	6.16a	7.60a	9.00a		
	T114Kb	2.93c	2.93c	2.93b	2.93c	A	C
	T121Kh	3.13bc	3.13b	3.13b	3.13b	A	C
	T112Sc	3.2bc	3.2b	3.2b	3.2b	A	C
	T114So	3.1bc	3.1bc	3.1b	3.1b	A+C	C
	T.com	3.16b	3.16b	3.16b	3.16b	A+C	C
Helminthosporium sp.	Control	3.13a	4.5a	5.86a	9.00a		
	T114Kb	2.10d	2.10d	2.10d	2.10d	A+C	C
	T121Kh	2.33c	2.33c	2.33cd	2.33c	A	C
	T112Sc	2.86b	2.86b	2.86b	2.86b	A	C
	T114So	2.46c	2.46c	2.46c	2.46c	A	C
	T.com	2.16d	2.16d	2.16d	2.16d	A	C
Pestalotia sp.	Control	4.10a	6.06a	8.00a	9.00a		
	T114Kb	2.86bc	2.86bc	2.86bc	2.86bc	A+C	C
	T121Kh	3.00b	3.00b	3.00b	3.00b	A+C	C
	T112Sc	2.86bc	2.86bc	2.86bc	2.86bc	A+C	C
	T114So	2.10d	2.10d	2.10d	2.10d	A+C	C
	T.com	2.80c	2.80c	2.80c	2.80c	A	C
Rhizoctonia sp.	Control	4.23a	6.86a	9.00a	9.00a		
	T114Kb	2.40c	2.40c	2.40c	2.40c	A+C	C
	T121Kh	3.06b	3.06b	3.06b	3.06b	A	C
	T112Sc	2.80bc	2.80bc	2.80bc	2.80bc	A	A
	T114So	2.93b	2.93b	2.93b	2.93b	A	A
	T.com	2.70bc	2.70bc	2.70bc	2.70bc	A	C

[1/]ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้งแต่ละวันของแต่ละเชื้อ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05 โดยวิธีของ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

[2/]Antagonistic mechanism: A = Antibiosis, C = Competition

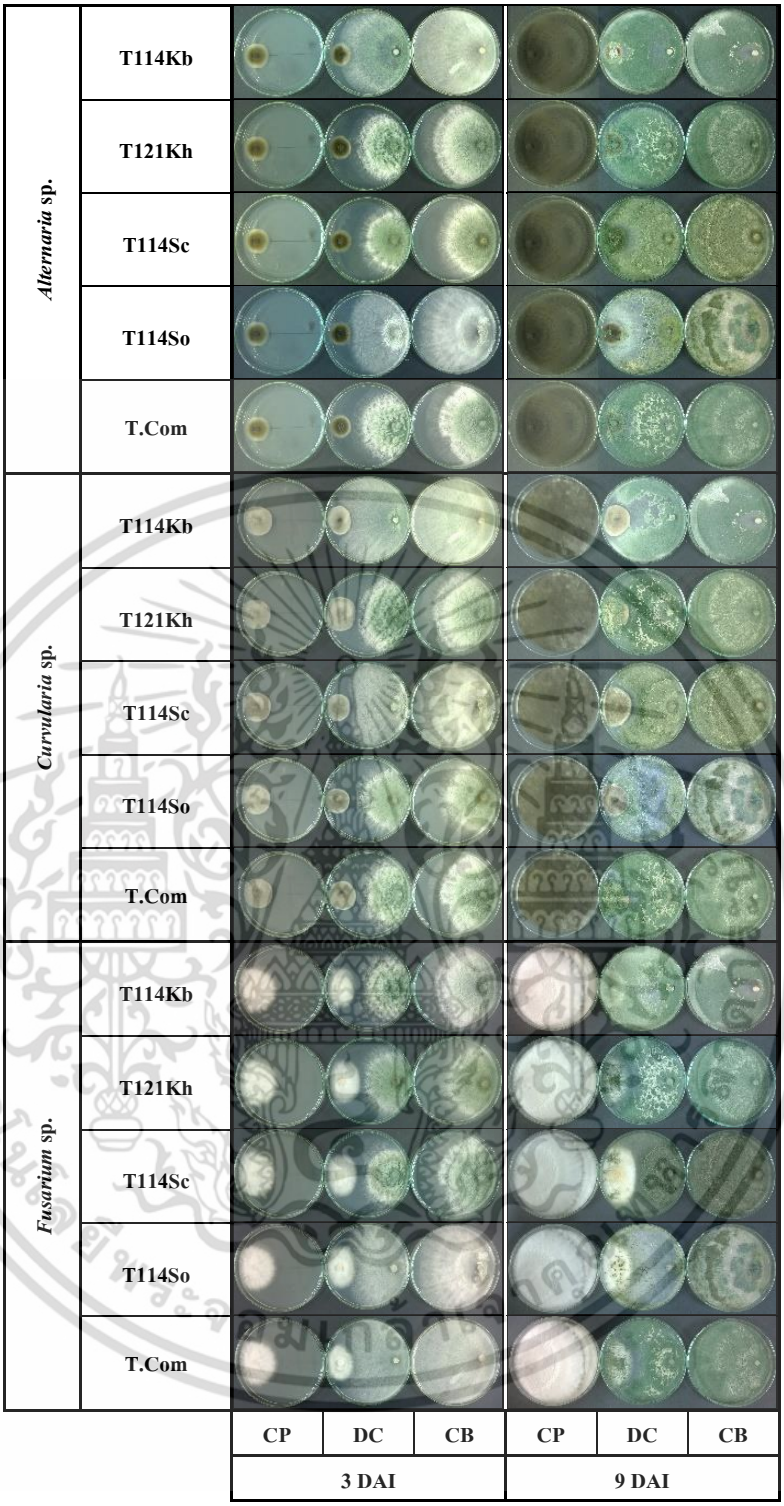
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.5 ความสามารถของ *Trichoderma* sp. ในการยับยั้งการเจริญทางเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยวิธี Dual culture test ที่ 9 DAI ; Alt. = *Alternaria* sp., Cur. = *Curvularia* sp., Fus. = *Fusarium* sp., Hel. = *Helminthosporuim* sp., Pes. = *Pestalotia* sp. และ Rhi. = *Rhizoctonia* sp.

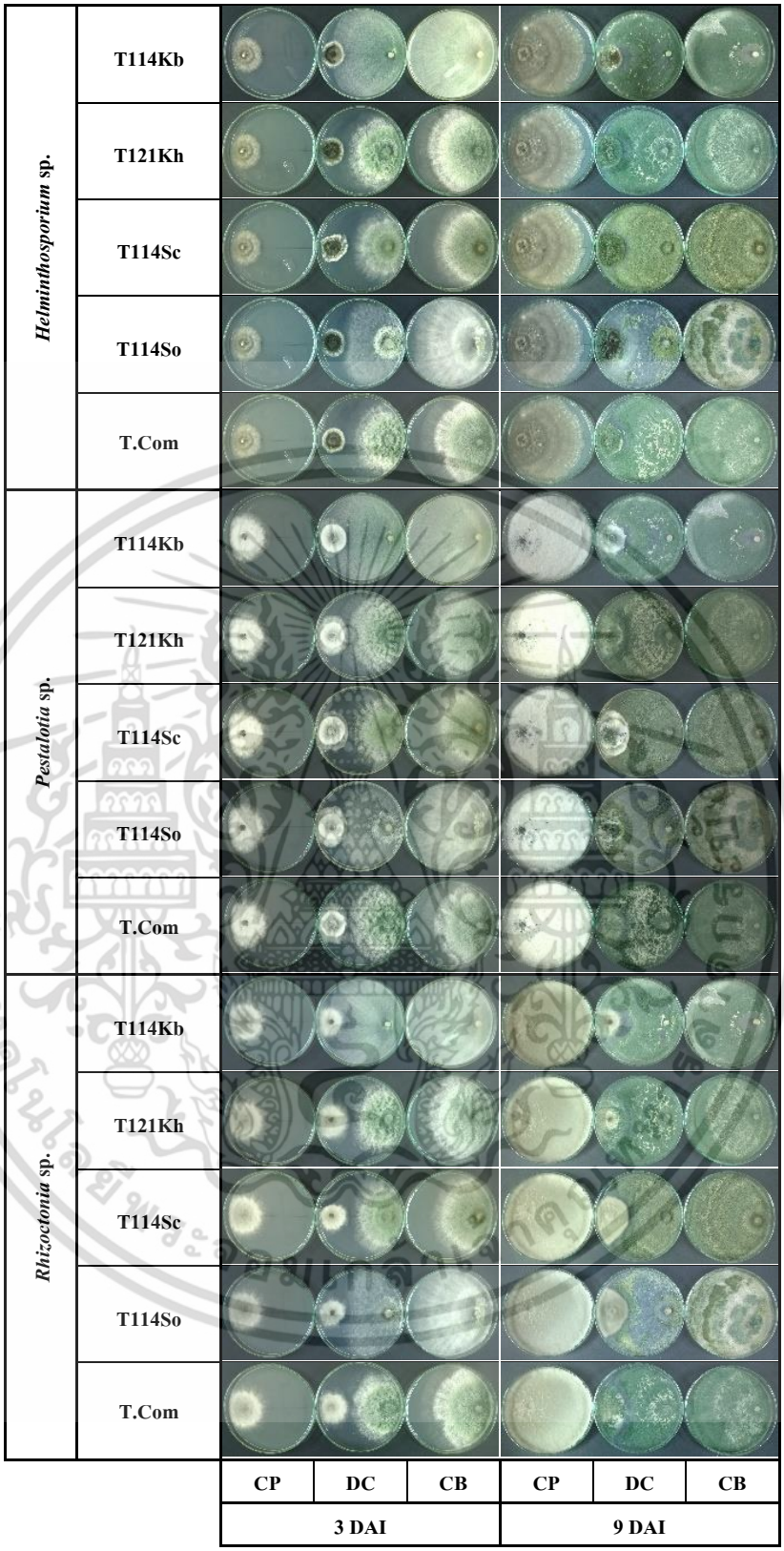
[1/]ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละเชื้อ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05 โดยวิธีของ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.6 ความสามารถการยับยั้งการเจริญทางเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืช ของ *Trichoderma* sp. โดยวิธี Dual culture test ที่ 3 DAI and 9 DAI; CP= control pathogen plate, DC= dual culture plate, CB= control BCA plate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.6 (ต่อ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การศึกษาอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคและเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในสภาพห้องปฏิบัติการ

4.4.1 การศึกษาอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยวิธี Poisoned food technique

จากการทดสอบอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศที่ระดับความเข้มข้น 5000, 10000 และ 20000 ppm ต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Helminthosporium* sp., *Pestalotia* sp. และ *Rhizoctonia* sp. พบว่า ช่วงแรกหลังการปลูกเชื้อหลังการปลูกเชื้อ (3 DAI) สารสกัดชุมเห็ดเทศทุกความเข้มข้น มีผลยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชทุกชนิดได้ โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง colony อยู่ในช่วง 1.59-1.6, 3.2-3.54, 2.56-3.52, 3.25-4.33, 3.65-4.23 และ 2.83-3.27 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเวลาผ่านไป 5 DAI ผลการทดลองเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับช่วงแรก กล่าวคือ สารสกัดทุกความเข้มข้นสามารถชะลอการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชทุกชนิดได้ โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ในช่วง 2.64-7.09 เซนติเมตรซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุม (3.73-7.41 เซนติเมตร) เมื่อระยะเวลาผ่านไป 7 DAI ยกเว้น *Alternaria* sp. (12 DAI) สารสกัดชุมเห็ดเทศความเข้มข้น 5000, 10000 และ 20000 ppm แสดงประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชทุกชนิดได้ อยู่ในช่วง 1.6-27.6, 4.7-19.1 และ 12-53 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของแต่ละเชื้อแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีสารสกัดยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา *Fusarium* sp. ได้ดีที่สุด (27-53 เปอร์เซ็นต์) รองลงมาคือ *Curvularia* sp., *Alternaria* sp. และ *Helminthosporium* sp. ถูกยับยั้งอยู่ในช่วง 20-26.6, 19.8-25.7 และ16- 21 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 4.7 และ 4.8) และเมื่อพิจารณาถึงระดับความเข้มข้นของสารสกัดจะเห็นว่า ยิ่งเพิ่มระดับความเข้มข้นสูงขึ้น ประสิทธิภาพในการยับยั้งก็จะมากขึ้นเช่นกัน โดยสารสกัดชุมเห็ดเทศที่ระดับความเข้มข้น 20000 ppm แสดงประสิทธิภาพได้ดีที่สุด (ตารางที่ 4.8 และภาพที่ 4.7 และ 4.8)

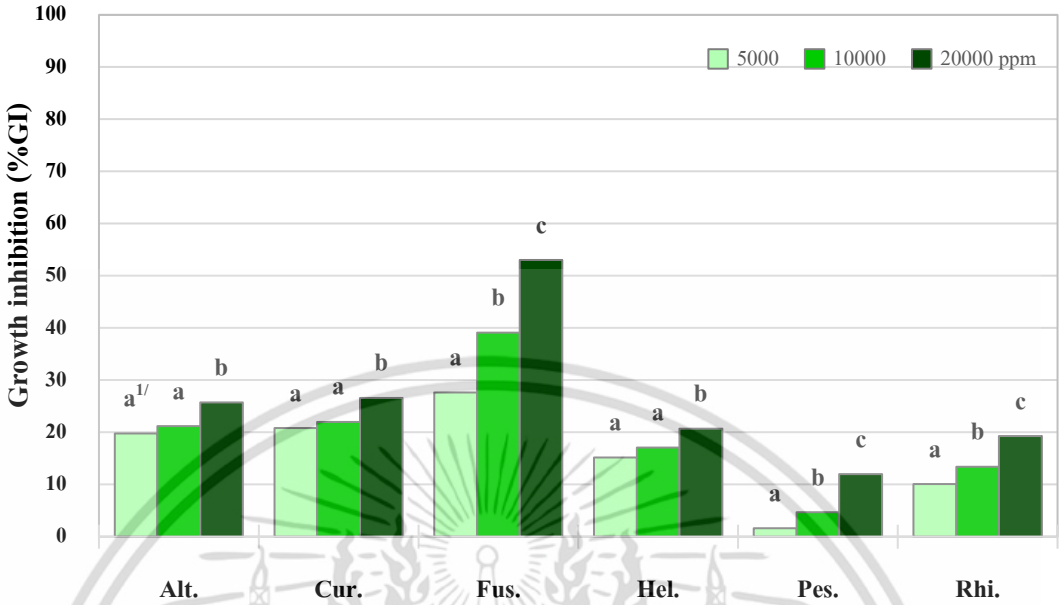
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 ขนาดของ colony เชื้อราสาเหตุโรคพืชที่เลี้ยงบนอาหารผสมสารสกัดหยาบเอทานอลจากใบชุมเห็ดเทศ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยวิธี Poisoned food technique

Pathogen	Concentration (ppm)	Colony diameter (cm)				
		3 DAI	5 DAI	7 DAI	9 DAI	12 DAI
Alternaria sp.	Control	2.28a[1/]	3.73a	5.20a	6.65a	9.00a
	5,000	1.60b	3.07b	4.15b	5.36b	7.21b
	10,000	1.66b	2.85bc	3.94bc	4.89c	7.09b
	20,000	1.59b	2.64c	3.78c	4.80c	6.68c
Curvularia sp.	Control	4.35a	7.13a	9.00a		
	5,000	3.54b	5.49b	7.12b		
	10,000	3.36bc	5.28b	7.02b		
	20,000	3.20c	5.18b	6.60c		
Fusarium sp.	Control	4.68a	7.02a	9.00a		
	5,000	3.52b	4.87b	6.51b		
	10,000	3.00c	4.12c	5.48c		
	20,000	2.56d	3.35d	4.23d		
Helminthosporium sp.	Control	4.5a	7.1a	9a		
	5,000	4.33b	6.62b	7.63b		
	10,000	4.10b	6.54b	7.46b		
	20,000	3.25c	5.98c	7.1c		
Pestalotia sp.	Control	4.44a	7.41a	9.00a		
	5,000	4.23b	7.09b	8.85a		
	10,000	4.10b	6.70c	8.57b		
	20,000	3.65c	6.19d	7.92c		
Rhizoctonia sp.	Control	4.04a	6.87a	9.00a		
	5,000	3.27b	5.93b	8.09b		
	10,000	3.12bc	5.84bc	7.79c		
	20,000	2.83c	5.21c	7.26d		

[1/]ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้งแต่ละวันของแต่ละเชื้อ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05 โดยวิธีของ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

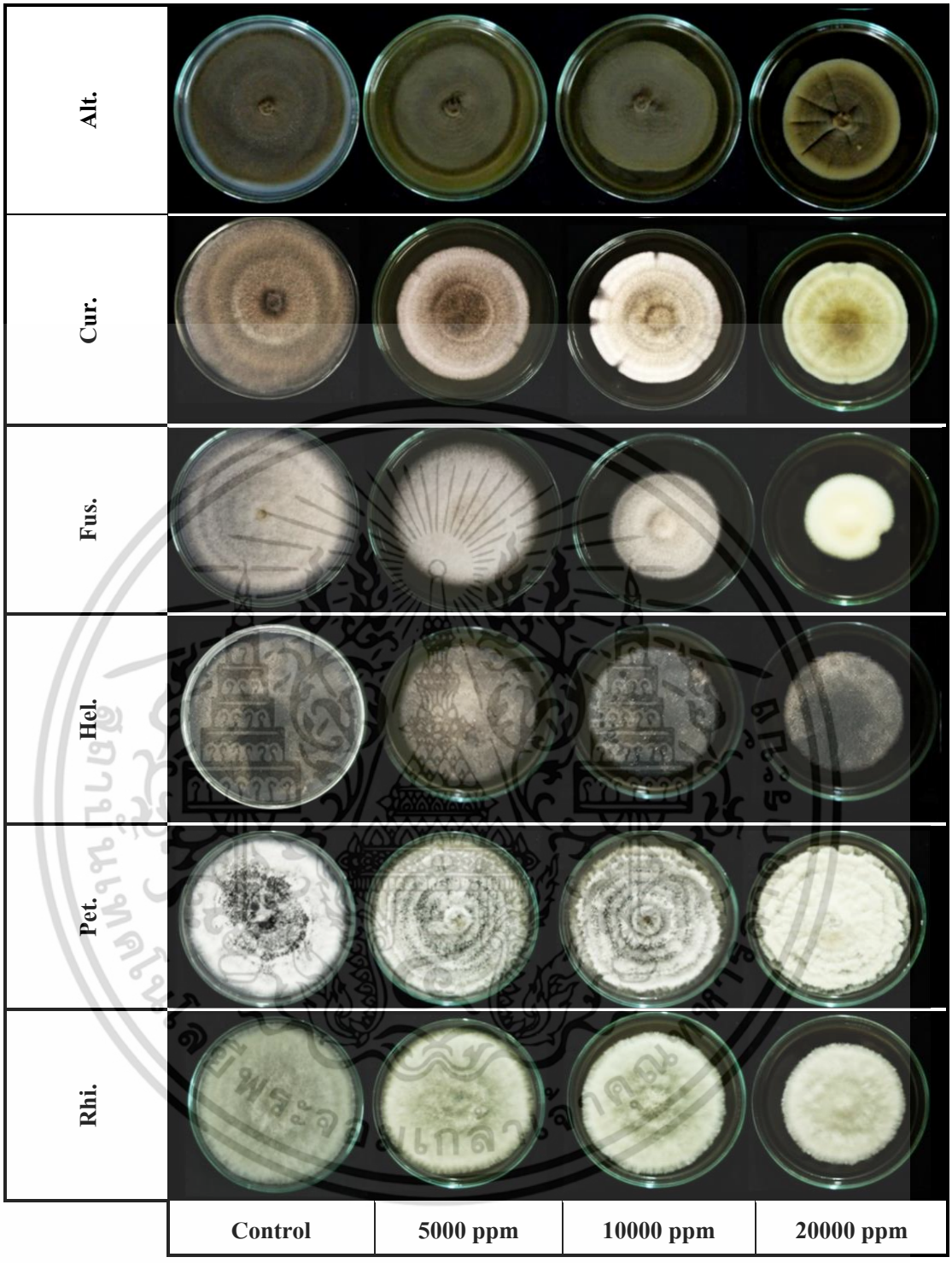
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.7 ประสิทธิภาพของสารสกัดชุมเห็ดเทศยับยั้งการเจริญทางเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืชโดยวิธี Poisoned food technique; Alt.=*Alternaria* sp., Cur.=*Curvularia* sp., Fus.=*Fusarium* sp., Hel.=*Helminthosporium* sp., Pes.=*Pestalotia* sp. และ Rhi.=*Rhizoctonia* sp.;

[1/]ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละเชื้อ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05 โดยวิธีของ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.8 การเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดชุมเห็ดเทศ ความเข้มข้นต่างๆ; Alt.=*Alternaria* sp., Cur.=*Curvularia* sp., Fus.=*Fusarium* sp., Hel.=*Helminthosporium* sp., Pes.=*Pestalotia* sp. และ Rhi.=*Rhizoctonia* sp.;

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.2 การศึกษาอิทธิพลของสารหยาบเอทานอลจากใบสกัดชุมเห็ดเทศต่อการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยวิธี Spore germination test

สำหรับการทดสอบอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศจำนวน 3 ระดับความเข้มข้น (5000, 10000 และ 20000 ppm) ต่อการงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืชจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp. *Helminthosporium* sp. และ *Pestalotia* sp. พบว่า ในช่วงแรกของการทดสอบ (24 ชั่วโมงหลังการแช่สปอร์) สารสกัด 3 ระดับความเข้มข้น สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคได้ทุกชนิดที่ทดสอบ โดยพบเปอร์เซ็นต์การงอกเพียง 7-8, 2-38, 7-32, 5-20 และ 1-15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากชุดควบคุม (40-60 เปอร์เซ็นต์) และเมื่อเวลาผ่านไป 36 และ 49 ชั่วโมงหลังการแช่สปอร์ (สิ้นสุดการทดลอง) ผลยังคงเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับช่วงแรกของการทดสอบ กล่าวคือ สารสกัดชุมเห็ดเทศทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น แสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราดังกล่าวได้ค่อนข้างเด่นชัด โดยยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Curvularia* sp. ได้ดีที่สุด สูงถึง 94 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ *Alternaria* sp., *Pestalotia* sp., *Fusarium* sp. และ *Helminthosporium* sp. ซึ่งถูกยับยั้งอยู่ในช่วง 83-92, 32-87, 42-85 และ 39-82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยเฉพาะที่ระดับความเข้มข้น 20000 ppm ให้ผลยับยั้งดีที่สุด (ตารางที่ 4.9 และภาพที่ 4.9)

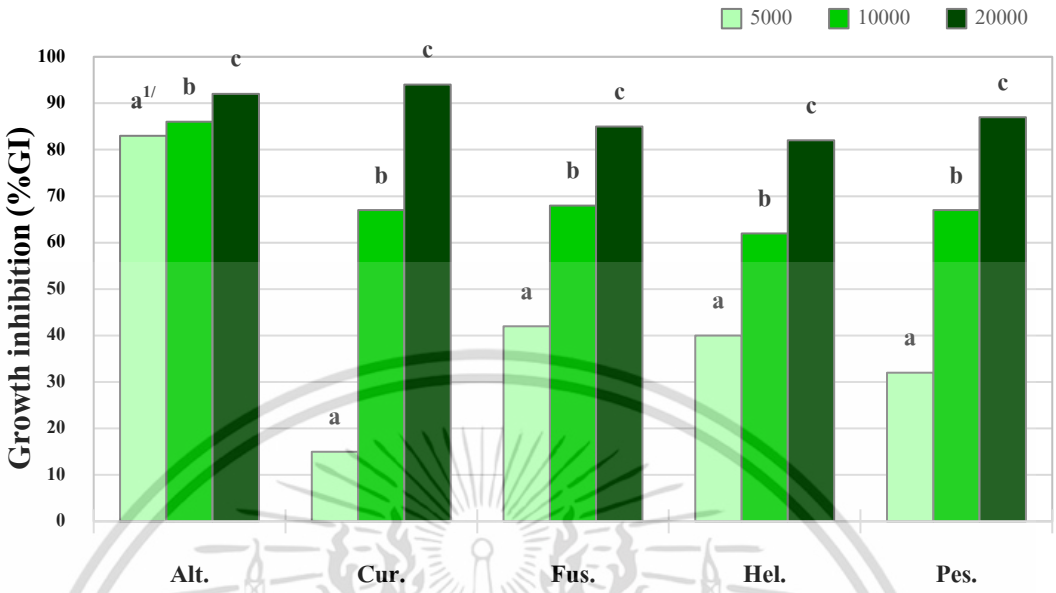
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 อิทธิพลของสารสกัดหยาบเอทานอลจากใบชุมเห็ดเทศ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยวิธี Spore germination test

Pathogen	Concentration	Spore germination (%)			
		12 hr	24 hr	36 hr	48 hr
Alternaria sp.	Control	0a	43a	68a	100a
	5000 ppm	0a	10b	13b	17b
	10000 ppm	0a	8c	10c	14c
	20000 ppm	0a	7d	7d	8d
Curvularia sp.	Control	39a	42a	100a	100a
	5000 ppm	33b	38b	80b	85b
	10000 ppm	9c	10c	13c	33c
	20000 ppm	2d	2d	3d	6d
Fusarium sp.	Control	0a	40a	100a	100a
	5000 ppm	0a	32b	57b	58b
	10000 ppm	0a	16c	23c	32c
	20000 ppm	0a	7d	11d	15d
Helminthosporium sp.	Control	20a	55a	95a	100a
	5000 ppm	7	20b	50b	60b
	10000 ppm	5c	15c	25c	38c
	20000 ppm	0d	5d	10d	18d
Pestalotia sp.	Control	0a	60a	65a	100a
	5000 ppm	0a	15b	60b	68b
	10000 ppm	0a	3c	30c	33c
	20000 ppm	0a	1d	12d	13d

[1/]ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้งแต่ละชั่วโมงของแต่ละเชื้อ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05 โดยวิธีของ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.9 ประสิทธิภาพของสารสกัดชุมเห็ดเทศยับยั้งการเจริญทางเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืชโดยวิธี Spore germination test; Alt.=*Alternaria* sp., Cur.=*Curvularia* sp., Fus.=*Fusarium* sp., Hel.=*Helminthosporium* sp., Pes.=*Pestalotia* sp. และ Rhi.=*Rhizoctonia* sp.

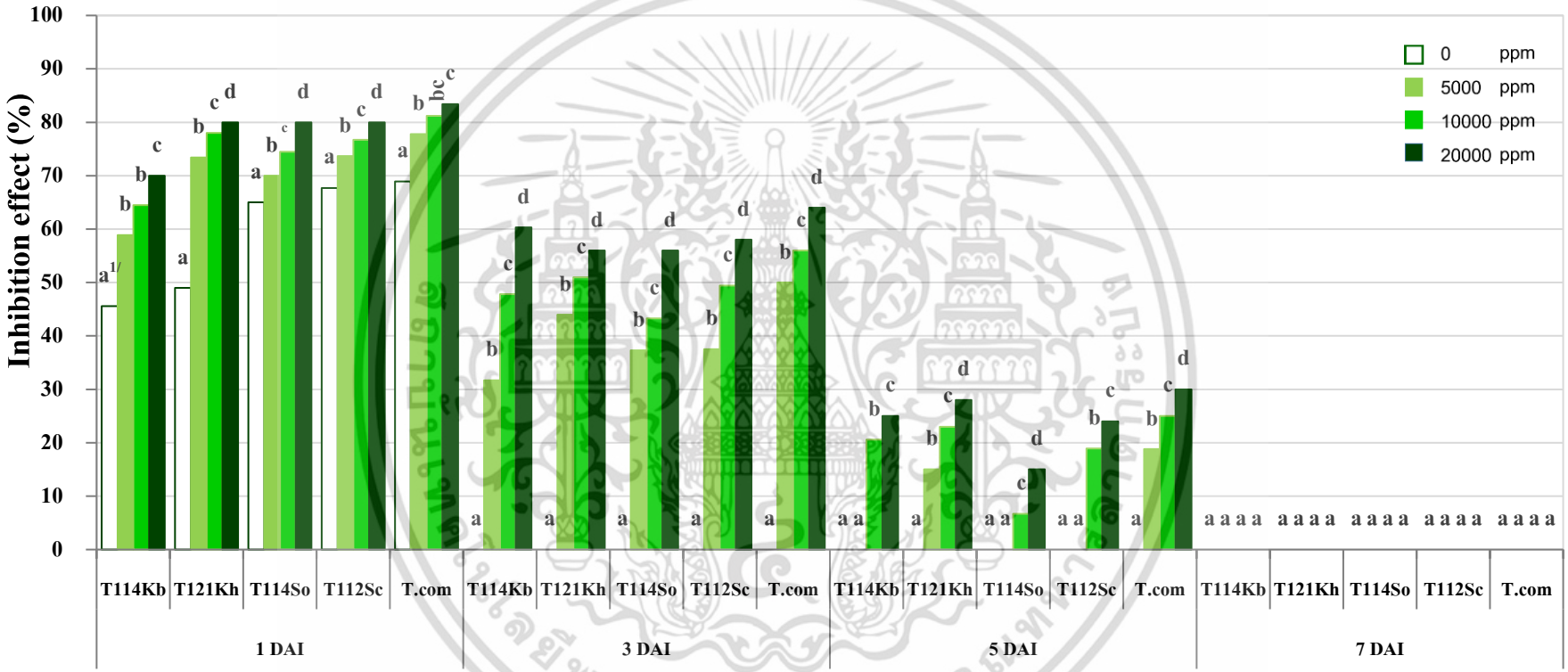
[1/]ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละเชื้อ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05 โดยวิธีของ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.3 การศึกษาอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อการเจริญของเชื้อราปฏิปักษ์ โดยวิธี Poisoned food technique

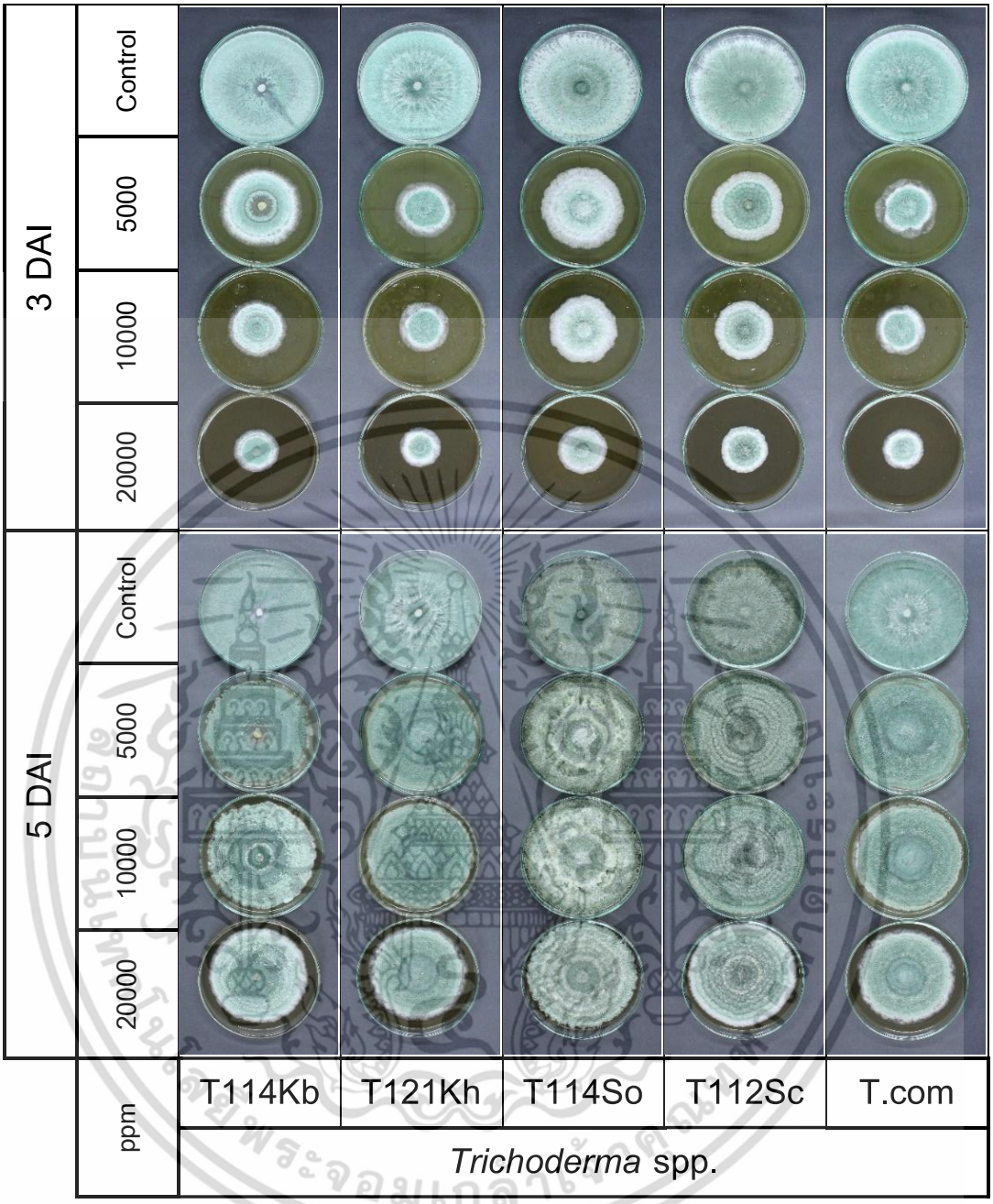
จากผลการทดสอบอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศ (ความเข้มข้น 5000, 10000 และ 20000 ppm) ต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา *T. harzianum* โดยวิธี Poisoned food technique พบว่า ในช่วงแรกของการทดสอบ (3 DAI) สารสกัดจากพืชดังกล่าวทุกความเข้มข้นมีผลเพียงชะลอการเจริญของเชื้อรา *T. harzianum* ทุกไอโซเลท เท่านั้น และเมื่อเวลาผ่านไปจนสิ้นสุดการทดลอง (7 DAI) เชื้อรา *T. harzianum* ทุกไอโซเลท สามารถเจริญได้เต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดชุมเห็ดเทศ และไม่แตกต่างจากชุดควบคุม จากนั้นนำเส้นใยไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเส้นใยมีลักษณะที่ไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (ภาพที่ 4.10 และ 4.11) ซึ่งพอจะสรุปได้ว่าสารสกัดชุมเห็ดเทศทุกระดับความเข้มข้นไม่มีผลต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา *T. harzianum* เลย จากนั้นทำการตรวจนับปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อราทุกไอโซเลทพบว่า สปอร์ของ *T. harzianum* ทุกไอโซเลท มีรูปร่างที่เป็นปกติ ไม่แตกต่างจากชุดควบคุม และบางไอโซเลท (T114Kb และ T.com)กลับพบว่า ถูกกระตุ้นให้มีการสร้างปริมาณสปอร์มากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.10)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.10 อิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อการเจริญทางเส้นใยเชื้อรา *Trichoderma* sp. โดยวิธี Poisoned food technique

[1/]ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละเชื้อของแต่ละวัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05 โดยวิธีของ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)



ภาพที่ 4.11 การเจริญของเชื้อรา *Trichoderma* sp. บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดชุมเห็ดเทศความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 ปริมาณการสร้าง conidia ของเชื้อรา *Trichoderma* sp. ที่เจริญบนอาหาร PDA ผสมสารสกัดชุมเห็ดเทศความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลา 7 DAI

Trichoderma spp.	Conc[n]	Number of spore (10^8 spores/10 ml) 7 DAI	Remark
T114Kb	0	1.03b[1/]	Normal spore
	5000	1.18a	Normal spore
	10000	1.15a	Normal spore
	20000	1.16a	Normal spore
T121Kh	0	0.44b	Normal spore
	5000	3.03a	Normal spore
	10000	2.89a	Normal spore
	20000	1.23a	Normal spore
T114So	0	1.01a	Normal spore
	5000	1.21a	Normal spore
	10000	1.32a	Normal spore
	20000	1.12a	Normal spore
T112Sc	0	0.52b	Normal spore
	5000	0.59b	Normal spore
	10000	0.59b	Normal spore
	20000	0.77a	Normal spore
T.com	0	0.74b	Normal spore
	5000	1.03b	Normal spore
	10000	1.51a	Normal spore
	20000	1.4a	Normal spore

[1/]ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละเชื้อ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05 โดยวิธีของ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

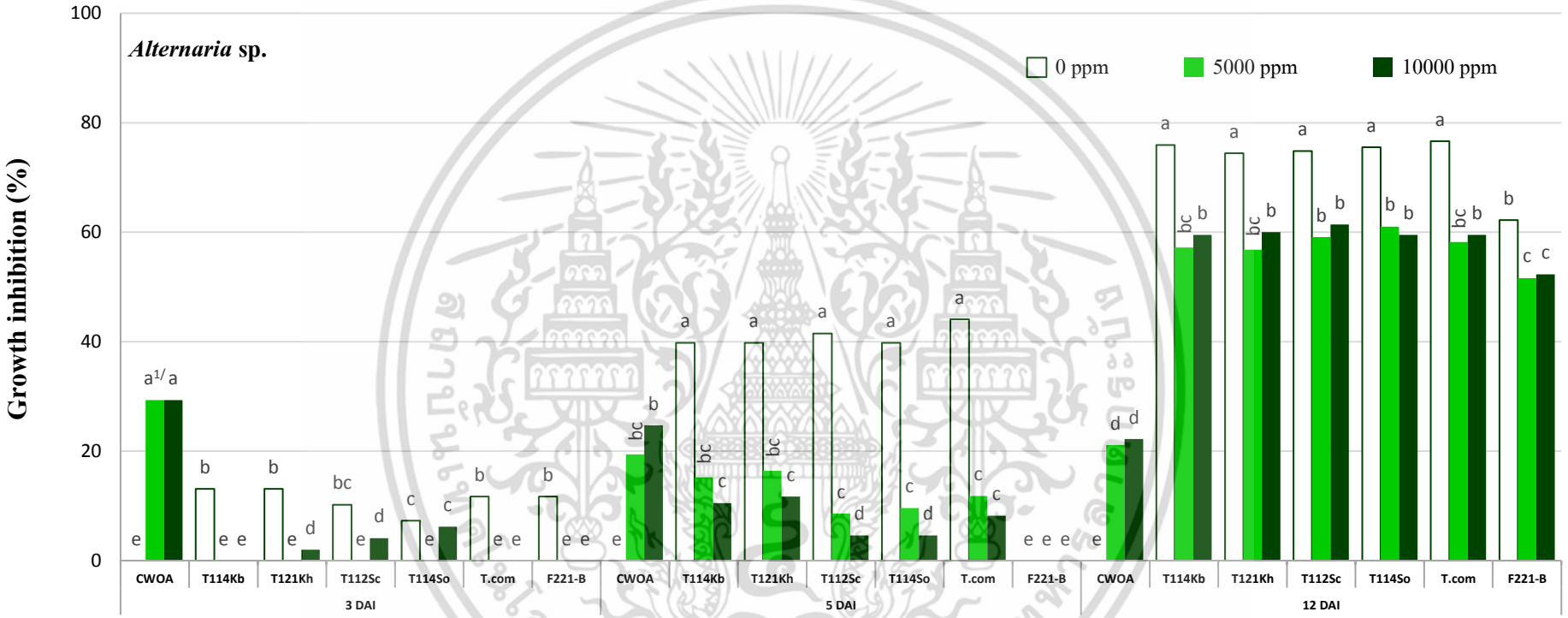
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 การศึกษาอิทธิพลร่วมของเชื้อราปฏิปักษ์กับสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยวิธี Dual culture test ร่วมกับวิธี Poisoned food technique

จากการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ จำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ *T. Harzianum* T114Kb, T121Kh, T112Sc, T114So, T.com และ non-pathogenic *Fusarium oxysporum* F221-B ในการควบคุมการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 6 ชนิด (Dual culture assay) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดชุมเห็ดเทศที่ระดับความเข้มข้น 0, 5000 และ 10000 ppm (Poisoned food assay) พบว่า กรรมวิธีที่ไม่ได้ผสมสารสกัด (0 ppm) ช่วงแรกของการปลูกเชื้อ (3 DAI) เชื้อรา *T. Harzianum* ทุกไอโซเลท สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ทุกชนิด อยู่ในช่วง 7.3-48 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ F221-B สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคได้เพียง 0-11.7 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเวลาผ่านไป 7 วันหลังการปลูกเชื้อ เชื้อราปฏิปักษ์ทุกไอโซเลทสามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ทุกชนิด ยกเว้น *Alternaria* sp. (12 DAI) มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง 51.1-75.9 เปอร์เซ็นต์ โดย T114Kb ยับยั้งได้ดีที่สุด รองลงมาคือ T.com และ T112Sc (ภาพที่ 4.12) ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการทดลอง Dual culture test ที่ผ่านมา ซึ่งพบว่า T114Kb สามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคได้ 67.4-77.7 เปอร์เซ็นต์ (Somnuek *et al*., 2015) สำหรับกรรมวิธีที่ผสมสารสกัดชุมเห็ดเทศกลับพบว่า ช่วงแรกของการทดสอบ พบว่า เชื้อราปฏิปักษ์ทุกไอโซเลทแสดงความสามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชเพียงเล็กน้อย (0-21.3 เปอร์เซ็นต์) แต่เมื่อสิ้นสุดการทดลอง เชื้อรา *T. harzianum* ทุกไอโซเลท ที่เลี้ยงบนอาหารผสมสารสกัด สามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชทั้ง 6 ชนิด ได้อย่างมีประสิทธิภาพ กล่าวคือ เปอร์เซ็นต์การยับยั้งจะเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาผ่านไป โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 45.3-69.6 เปอร์เซ็นต์ แต่ก็ยังต่ำกว่ากรรมวิธีที่ไม่ผสมสาร สำหรับ F221-B ในกรรมวิธีที่ไม่ผสมสารสกัด (0 ppm)สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 6 ชนิด ได้ 51-62 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัด ประสิทธิภาพกลับลดลง ยับยั้งได้เพียง 26.5-51.6 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น ซึ่งน่าจะเป็นผลมาจากสารสกัดชุดเห็ดเทศไปยับยั้งการเจริญของ F221-B ดังนั้นจึงไม่เหมาะหากนำมาใช้ร่วมกับสารสกัดชุมเห็ดเทศ

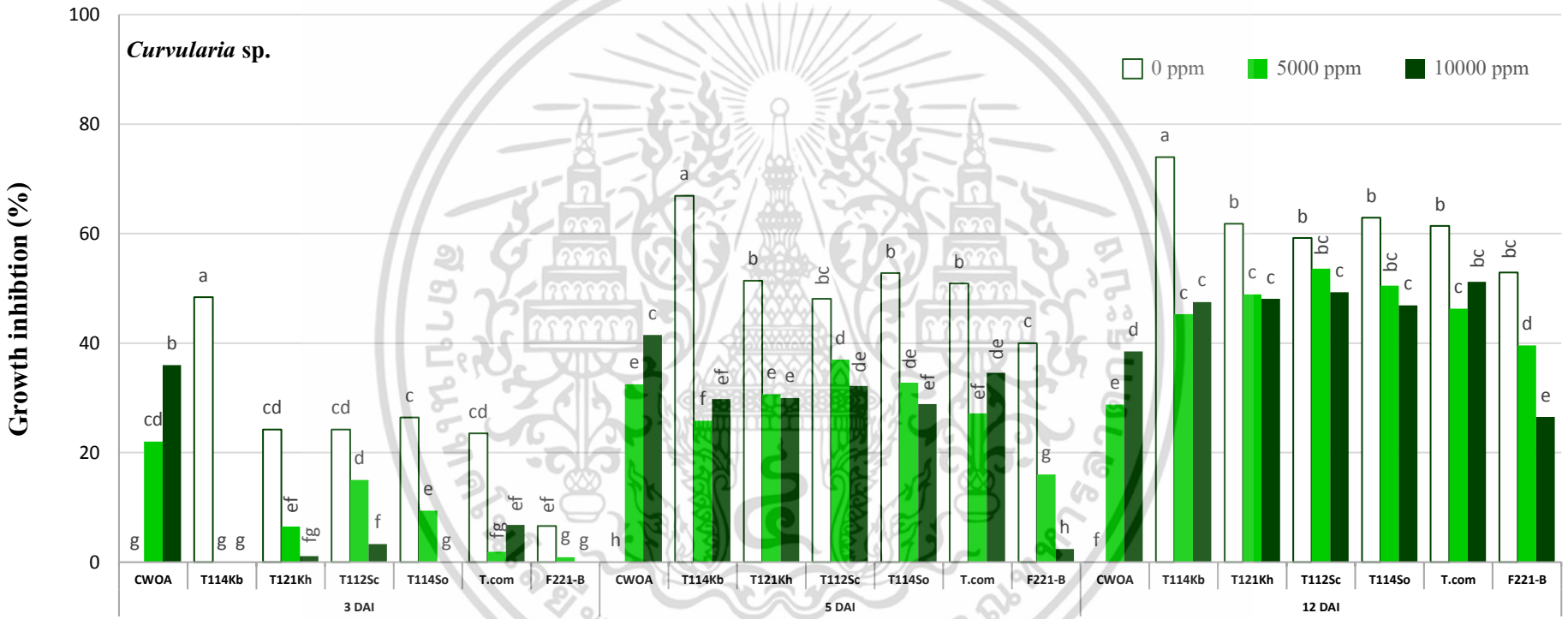
ถึงแม้ว่าประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ที่ทดสอบบนอาหารเลี้ยงผสมสารสกัดชุมเห็ดเทศ (5000 และ 10000 ppm) จะมีประสิทธิภาพต่ำกว่าชุดควบคุม (0 ppm) อาจเป็นเพราะอิทธิพลของสารสกัดดังกล่าว ที่ไปชะลอการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราปฏิปักษ์ และไปยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชด้วย จึงทำให้เชื้อราปฏิปักษ์แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคได้ไม่ชัดเจนในช่วงแรก แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไปเชื้อราปฏิปักษ์ สามารถแสดงความสามารถในการยับยั้งได้ ซึ่งผลจากการทดลองแสดงให้เห็นว่า ทั้งเชื้อราปฏิปักษ์และสารสกัดชุมเห็ดเทศมีอิทธิพลโดยตรงในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช แต่เมื่อนำมาทดสอบร่วมกันบน Dual culture plate กลับไม่เสริมฤทธิ์กัน เนื่องมาจากข้อจำกัดของวิธีการทดลองและประเมินผล (ภาพที่ 4.12 และ 4.13)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

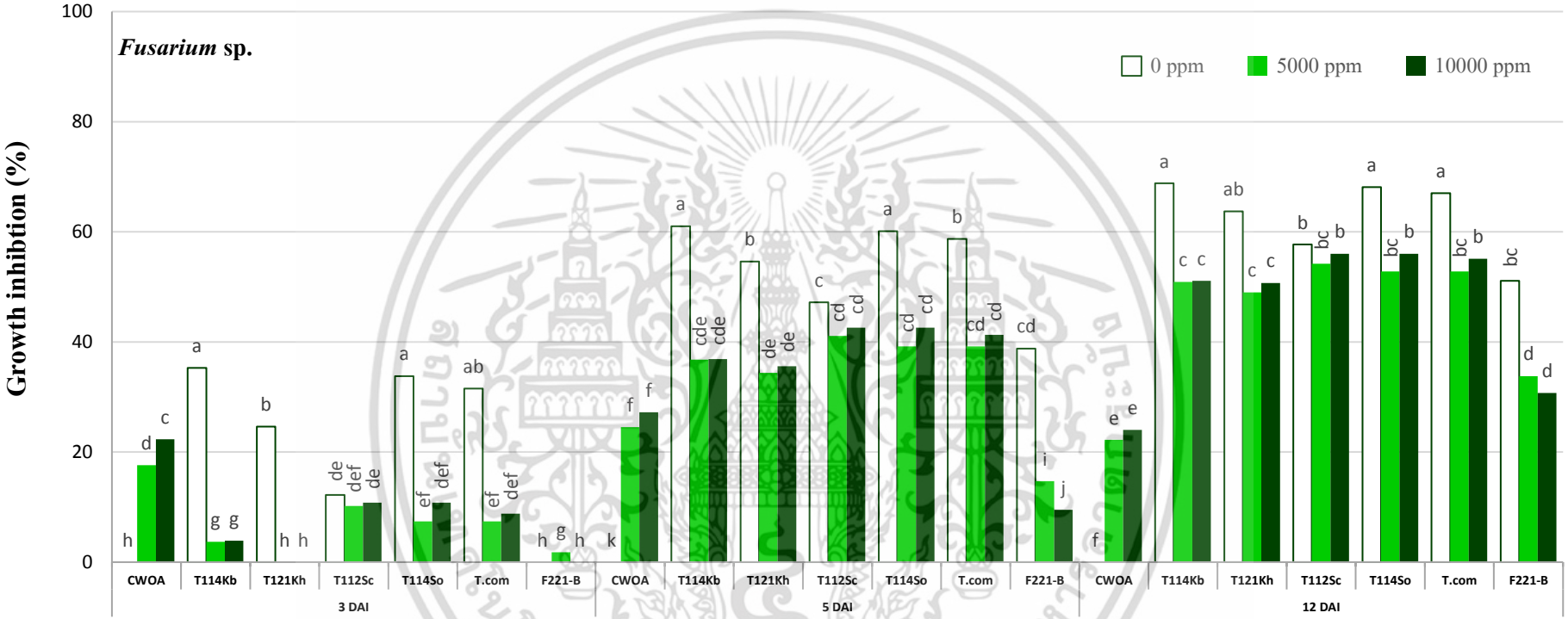


ภาพที่ 4.12 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของเชื้อราปฏิปักษ์ต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 6 ชนิด เมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารสกัดชุมเห็ดเทศที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (Dual culture test ร่วมกับ Poisoned food assay) เมื่อ 3, 5 และ 12 DAI; CWOA= Control without antagonistic fungi

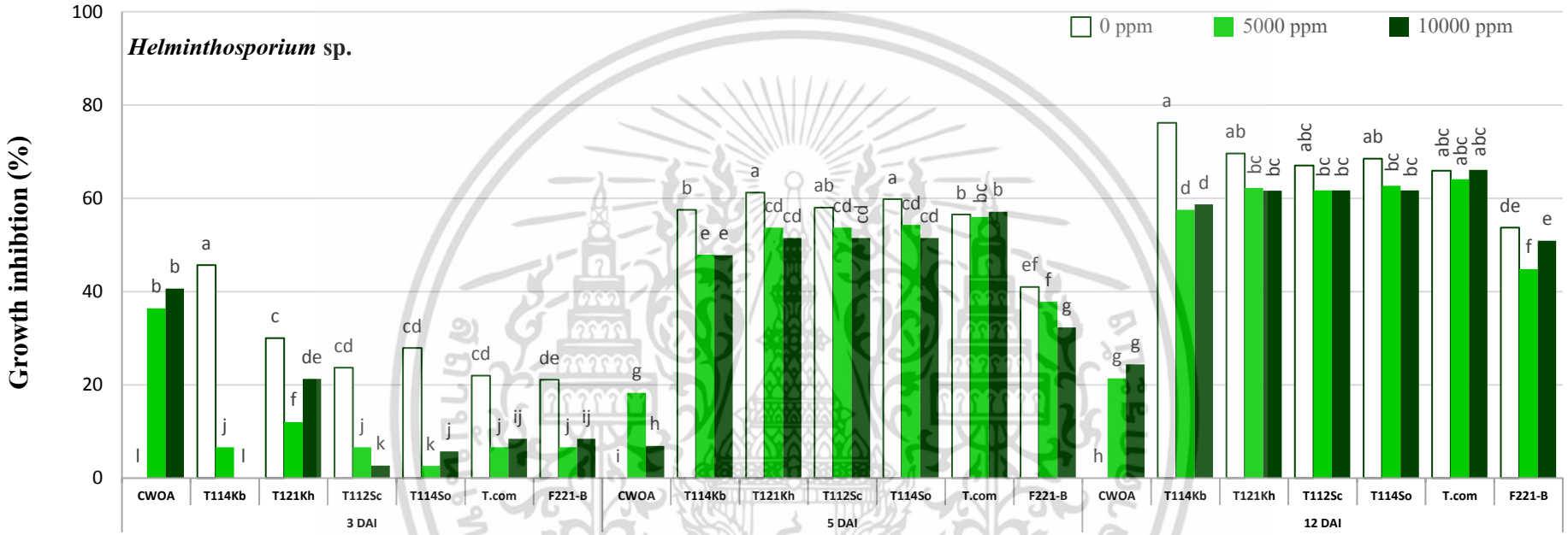
[1/]ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละวันของแต่ละเชื้อ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05 โดยวิธีของ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)


Curvularia sp.
0 ppm
5000 ppm
10000 ppm
Growth inhibtion (%)
100
80
60
40
20
0
CWOA
T114Kb
T121Kh
T112Sc
T114So
T.com
F221-B
3 DAI
5 DAI
12 DAI

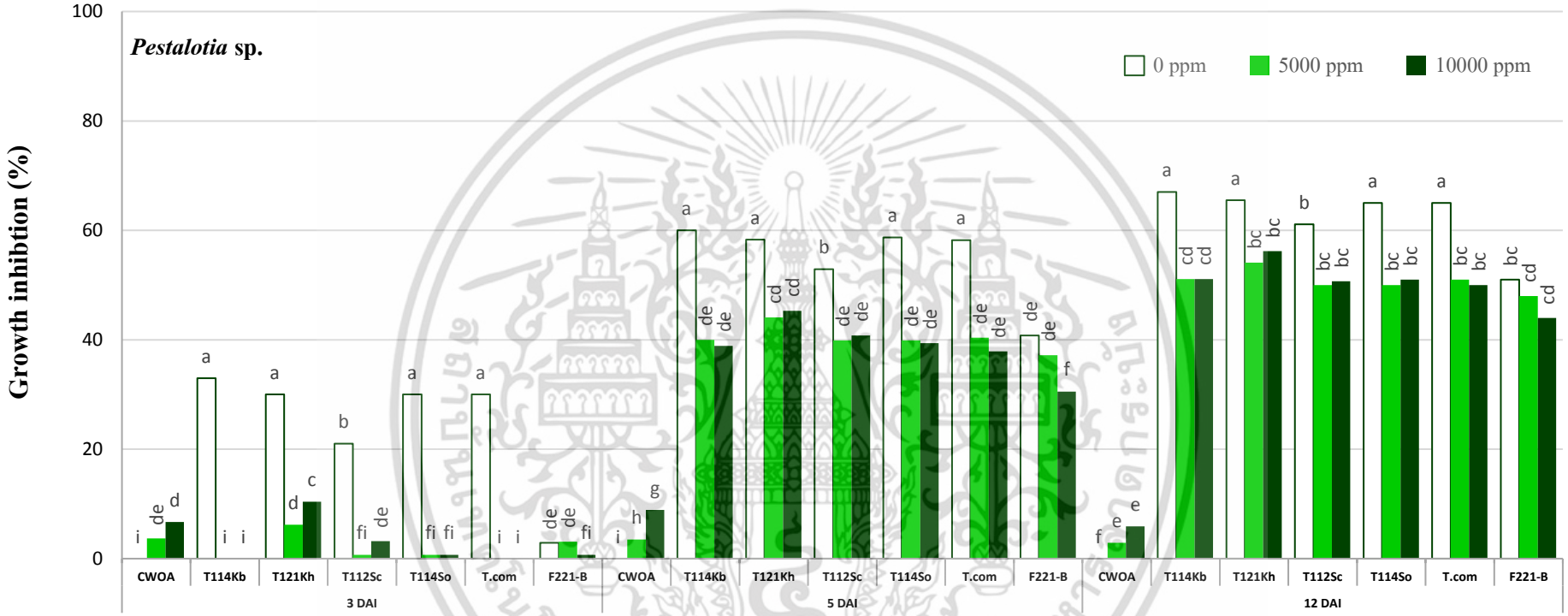
ภาพที่ 4.12 (ต่อ)


Fusarium sp.
0 ppm
5000 ppm
10000 ppm
Growth inhibtion (%)
100
80
60
40
20
0
CWOA
T114Kb
T121Kh
T112Sc
T114So
T.com
F221-B
3 DAI
5 DAI
12 DAI

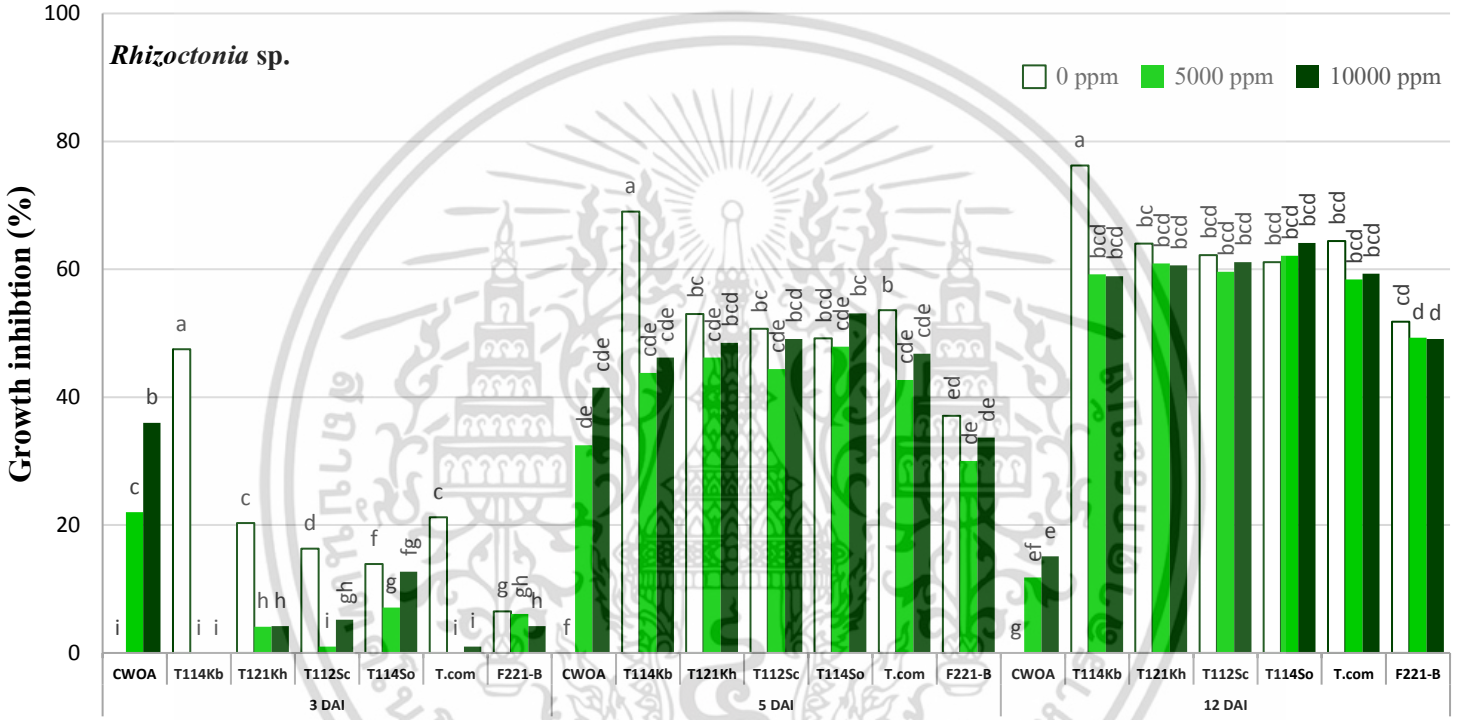
ภาพที่ 4.12 (ต่อ)


Helminthosporium sp.
0 ppm
5000 ppm
10000 ppm
Growth inhibtion (%)
100
80
60
40
20
0
CWOA
T114Kb
T121Kh
T112Sc
T114So
T.com
F221-B
3 DAI
5 DAI
12 DAI

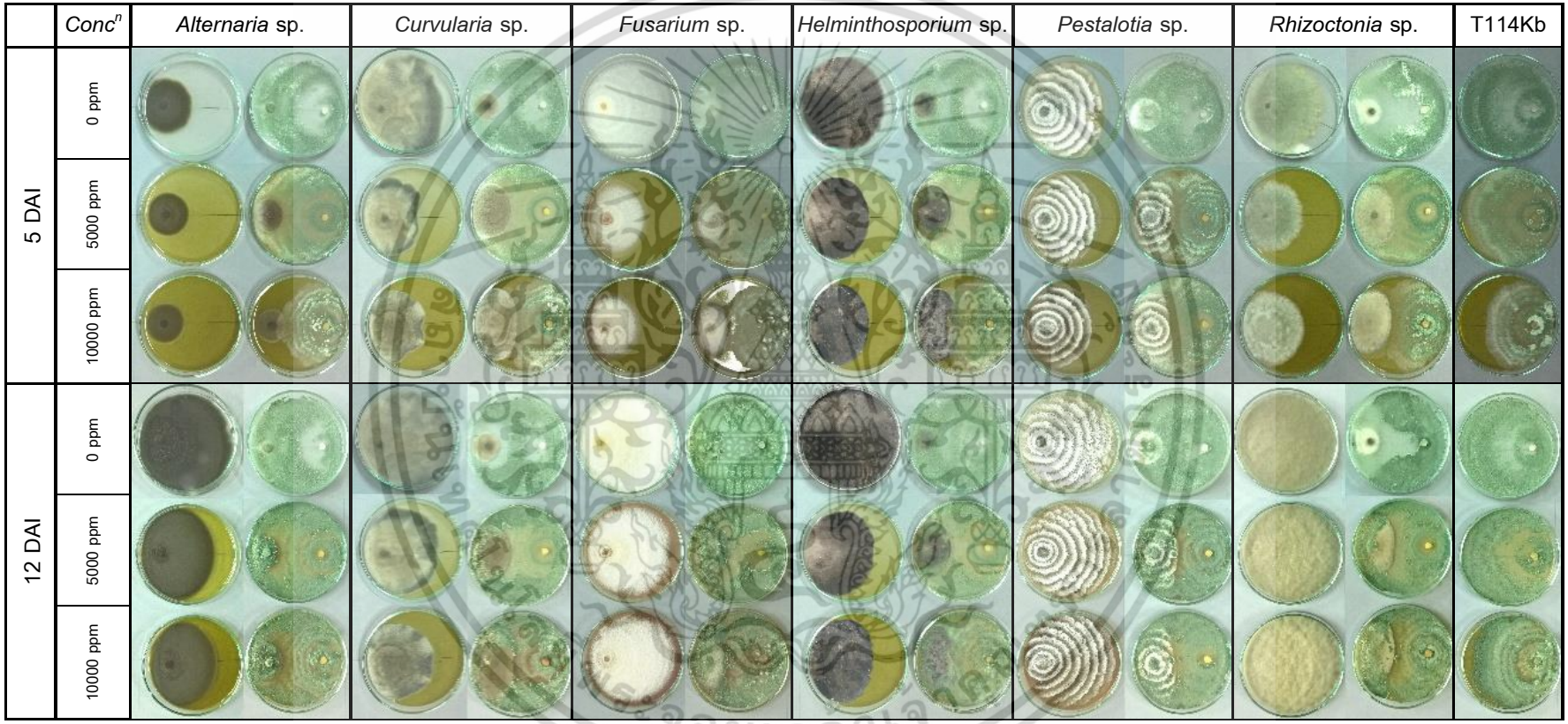
ภาพที่ 4.12 (ต่อ)


Pestalotia sp.
0 ppm
5000 ppm
10000 ppm
Growth inhibtion (%)
100
80
60
40
20
0
CWOA
T114Kb
T121Kh
T112Sc
T114So
T.com
F221-B
3 DAI
5 DAI
12 DAI

ภาพที่ 4.12 (ต่อ)


Rhizoctonia sp.
0 ppm
5000 ppm
10000 ppm
Growth inhibtion (%)
100
80
60
40
20
0
CWOA
T114Kb
T121Kh
T112Sc
T114So
T.com
F221-B
3 DAI
5 DAI
12 DAI

ภาพที่ 4.12 (ต่อ)

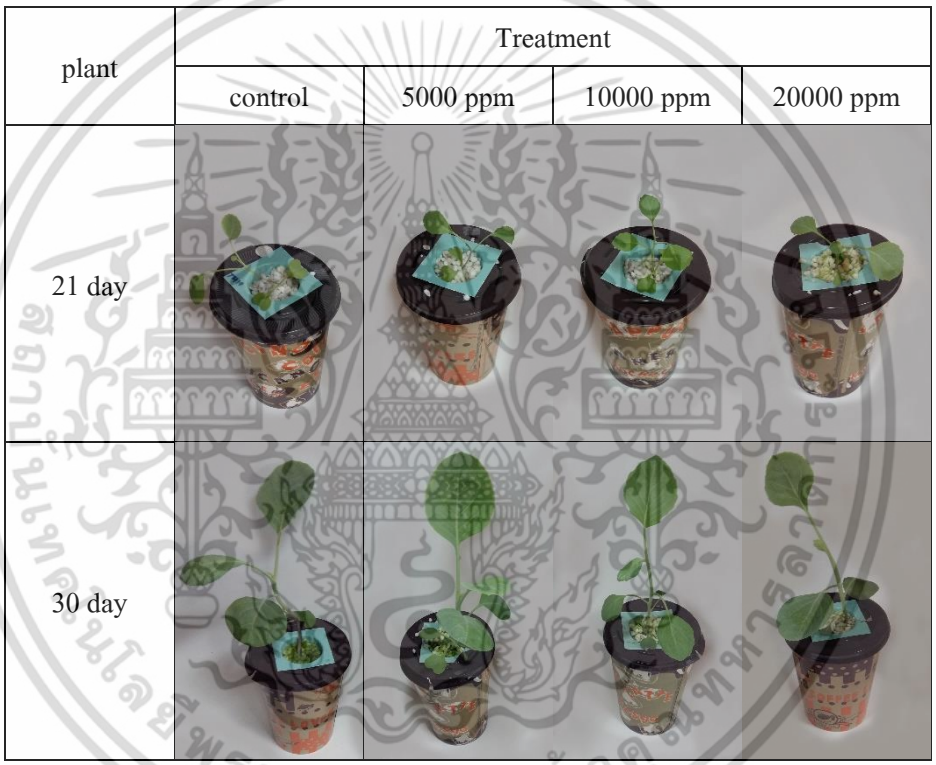


ภาพที่ 4.13 ลักษณะของ colony เชื้อราสาเหตุโรคพืช 6 ชนิด เมื่อทดสอบกับเชื้อรา *Trichoderma* sp. (T114Kb) บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดชุมเห็ดเทศความเข้มข้นต่างๆ

4.6 การทดสอบความเป็นพิษ (Phytotoxicity test) ของสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อต้นคะน้า

4.6.1 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบเอทานอลชุมเห็ดเทศต่อต้นคะน้าในสภาพห้องปฏิบัติการ

จากการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดชุมเห็ดเทศที่ระดับความเข้มข้น 5000, 10000 และ 20000 ppm ต่อต้นคะน้า 21 และ 30 วัน ที่ปลูกในแก้วบรรจุสารละลายธาตุอาหารพืช พบว่าสารสกัดทุกความเข้มข้นที่ทดสอบไม่เป็นพิษ (Phytotoxicity) ต่อต้นคะน้าทั้ง 2 อายุ ซึ่งไม่แตกต่างจากชุดควบคุม กล่าวคือ ไม่พบอาการผิดปกติ ได้แก่ อาการแผลไหม้ หรือแผลตาย และอาการเปลี่ยนสี (ภาพที่ 4.14)



ภาพที่ 4.14 ลักษณะต้นคะน้าที่ได้รับการฉีดพ่นด้วยสารสกัดชุมเห็ดเทศที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6.2 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบเอทานอลชุมเห็ดเทศต่อต้นคะน้า ที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์

จากการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบเอทานอลจากใบชุมเห็ดเทศที่ระดับความเข้มข้น 10000 และ 20000 ppm ต่อต้นคะน้า แสดงให้เห็นว่า การทดสอบเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการทดสอบคะน้า ที่ปลูกในแก้วบรรจุสารละลายธาตุอาหารพืช (4.6.1) อีกทั้งยังพบว่าทุกปัจจัย ไม่มีผลต่อความผิดปกติของใบพืช กล่าวคือ สารสกัดจากใบชุมเห็ดเทศทุกความเข้มข้นไม่เป็นพิษต่อต้นคะน้าที่ทดสอบ และไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (healthy control) ส่วนกรรมวิธีที่ฉีดพ่นด้วยสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคกลับพบว่า เชื้อรา *Alternaria* sp. ก่อให้เกิดโรคกับต้นคะน้าที่ทดสอบรุนแรงมาก โดยมีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค อยู่ในช่วง 14-92 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นปัญหาในการประเมินผลป้องกันกำจัดเบื้องต้น อีกทั้งข้อมูลยังมีความแปรปรวนอยู่มาก อย่างไรก็ตาม ผลการทดสอบ ยังพอที่จะสรุปได้ว่า 1) ขั้นตอนการฉีดพ่นระหว่างสารสกัดและสปอร์เชื้อรา *Trichoderma* sp. ให้ผลไม่แตกต่างกัน 2) ความเข้มข้นของสารสกัดชุมเห็ดเทศ มีผลไม่แตกต่างกัน และ 3) ไอโซเลทของเชื้อรา *Trichoderma* sp. ยับยั้งได้ไม่แตกต่างกัน ในการลดการเข้าทำลายของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยมีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคอยู่ในช่วง 14.6-71.6 เปอร์เซ็นต์ และแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (inoculated control) โดยชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์ การเกิดความรุนแรงของโรค 92.5 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.11 และภาพที่ 4.15)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบเอทานอลชุมเห็ดเทศต่อต้นคะน้า ที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์

Factor A	Factor B	Factor C	Factor D	Phytotoxicity		% DS
				Necrosis	Discolouration	
Non-inoculation	Treating plant extract prior BCA	0 ppm	non-trt	-	-	0k[1/]
			T114Kb	-	-	0k
			T112Sc	-	-	0k
		10000 ppm	non-trt	-	-	0k
			T114Kb	-	-	0k
			T112Sc	-	-	0k
		20000 ppm	non-trt	-	-	0k
			T114Kb	-	-	0k
			T112Sc	-	-	0k
	Treating plant extract and BCA same time	0 ppm	non-trt	-	-	0k
			T114Kb	-	-	0k
			T112Sc	-	-	0k
		10000 ppm	non-trt	-	-	0k
			T114Kb	-	-	0k
			T112Sc	-	-	0k
		20000 ppm	non-trt	-	-	0k
			T114Kb	-	-	0k
			T112Sc	-	-	0k
Pathogen inoculation	Treating plant extract prior BCA	0 ppm	non-trt	-	-	92.5a
			T114Kb	-	-	59.1bcd
			T112Sc	-	-	52.5c
		10000 ppm	non-trt	-	-	71.6b
			T114Kb	-	-	41.6f-i
			T112Sc	-	-	38.3hi
		20000 ppm	non-trt	-	-	45.8d-i
			T114Kb	-	-	32.5i
			T112Sc	-	-	54.1c-f
	Treating plant extract and BCA same time	0 ppm	non-trt	-	-	92.5a
			T114Kb	-	-	14.6j
			T112Sc	-	-	35.4i
		10000 ppm	non-trt	-	-	40ghi
			T114Kb	-	-	45.4d-i
			T112Sc	-	-	43.7e-i
		20000 ppm	non-trt	-	-	50.8d-h
			T114Kb	-	-	57.5cde
			T112Sc	-	-	65bc

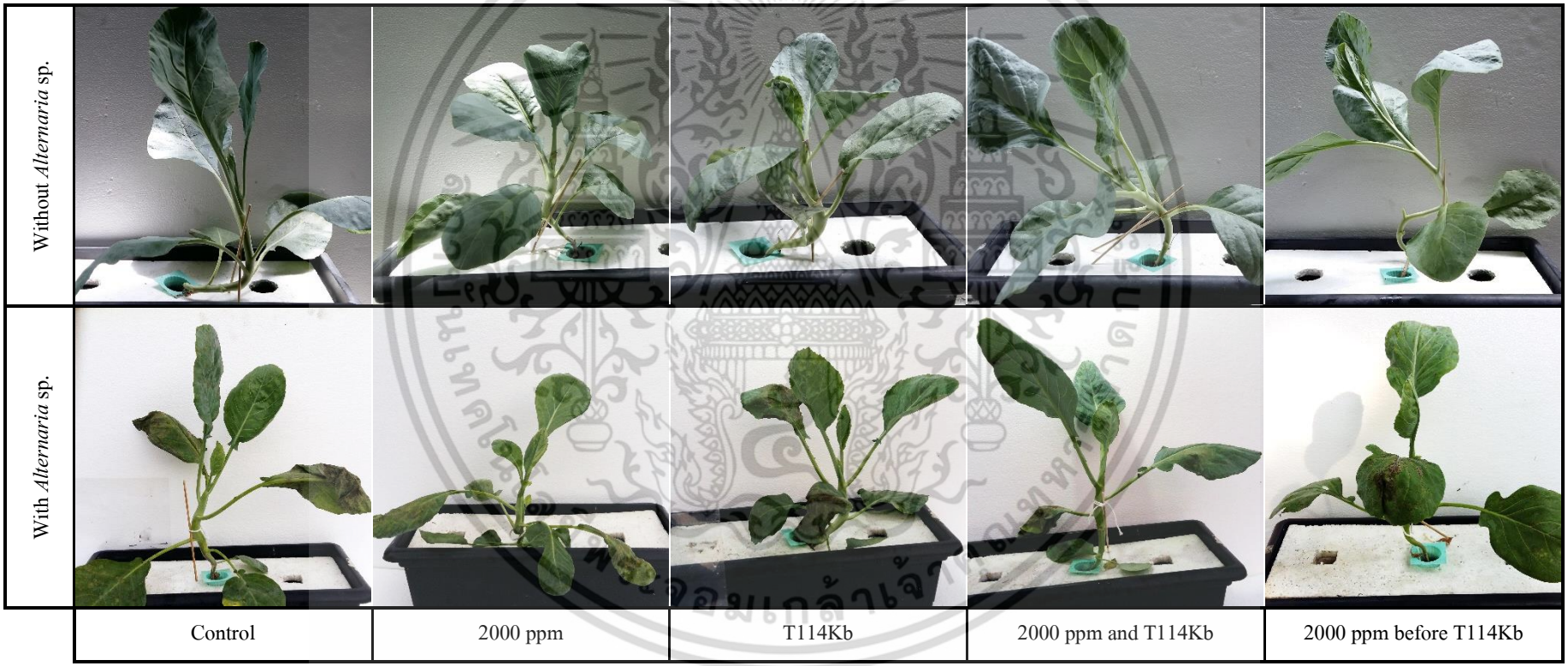
[1/]ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05 โดยวิธีของ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 (ต่อ)

Value of factor A	
Non-inoculation	0b
Pathogen inoculation	51.8a
Value of factor B	
Treating plant extract and BCA same time	27.1a
Treating plant extract prior BCA	24.7a
Value of factor C	
0 ppm	28.8a
10000 ppm	23.7b
20000 ppm	25.1ab
Value of factor D	
Non treated	32.7a
T114Kb	24.0b
T112Sc	20.9b
C.V. (%)	67.37
Value of data set (A)	**
Value of spry type (B)	ns
Value of extract concentration (C)	ns
Value of *Trichoderma* sp. (D)	**
A*B	ns
A*C	*
A*D	**
B*C	**
B*D	ns
C*D	**
A*B*C	**
A*B*D	**
B*C*D	**
A*B*C*D	**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.15 ลักษณะต้นคะน้า อายุ 50 วัน ที่ได้รับการฉีดพ่นด้วยสารสกัดชุมเห็ดเทศ ความเข้มข้น 20000 ppm และเชื้อรา T114Kb

4.7 การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ร่วมกับสารสกัดชุมเห็ดเทศ ในการควบคุมเชื้อรา *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดกับผัก ในระบบไฮโดรโปนิกส์

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา *Trichoderma* sp. (BCA) ได้แก่ T114Kb และ T112Sc ร่วมกับสารสกัดหยาบเอทานอลจากใบชุมเห็ดเทศที่ระดับความเข้มข้น 0, 10000 และ 20000 ppm ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้า วางแผนการทดลองแบบ 2×3×3 Factorials in CRD โดยมีปัจจัย A จำนวน 2 กลุ่ม (ไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค และปลูกเชื้อราสาเหตุโรค) ปัจจัย B คือ ระดับความเข้มข้นของสารสกัดชุมเห็ดเทศ จำนวน 3 ระดับ (0, 10000 และ 20000 ppm) และปัจจัย C จำนวน 3 ระดับ (non-treated, T114Kb และ T112Sc) ซึ่งในการทดสอบนี้ไม่เป็นไปตามช่วงเวลาที่แผนการทดลองได้วางไว้ เนื่องจากปัญหาสภาพอากาศร้อน โดยวัดอุณหภูมิโรงเรือนได้อยู่ที่ 40-44 องศาเซลเซียส และสารละลายธาตุอาหาร อยู่ที่ 38-40 องศาเซลเซียส ทำให้พืชเจริญช้ากว่าปกติ จึงทำให้ต้องเลื่อนช่วงเวลาในการทดสอบออกไปเป็น 40 และ 60 วัน ของอายุพืชทดสอบ ผลการทดสอบกับคะน้าอายุ 40 วัน พบว่า ปัจจัยทดสอบทั้ง 3 ปัจจัย มีผลต่อการลดเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค โดยปัจจัยด้านความเข้มข้นของสารสกัดพืชแสดงผลยับยั้งไม่แตกต่างกัน ในขณะที่ปัจจัยด้านไอโซเลทเชื้อ BCA มีผลยับยั้งที่แตกต่างกัน กล่าวคือ ช่วงแรกหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรค (3 DAI) กรรมวิธีที่ปลูกเชื้อรา *Alternaria* sp. เพียงอย่างเดียว (inoculated control) พบว่าขนาดของแผล เท่ากับ 0.71 เซนติเมตร ในขณะที่ทุกกรรมวิธีที่ใช้สารสกัดชุมเห็ดเทศและเชื้อรา BCA สามารถลดการเข้าทำลายของเชื้อราดังกล่าวได้ โดยมีขนาดแผล อยู่ในช่วง 0.24-0.6 เซนติเมตร ซึ่งต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเวลาผ่านไป 5-7 DAI เชื้อราสาเหตุโรคลุกลาม ทำให้เกิดแผลที่มีขนาดใหญ่ขึ้นตามลำดับ แต่ยังคงเป็นไปในทิศทางเดียวกับ 3 DAI กล่าวคือ ทุกกรรมวิธีที่ใช้สารสกัดและเชื้อรา BCA (ยกเว้น กรรมวิธีที่ใช้ T114Kb เพียงอย่างเดียว) ยังคงลดการเข้าทำลายของเชื้อรา *Alternaria* sp. ได้ โดยมีขนาดแผลอยู่ในช่วง 0.77-1.29 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับชุดควบคุม (1.78 เซนติเมตร) และเมื่อพิจารณาถึงกรรมวิธีที่ใช้สารสกัดชุมเห็ดเทศและเชื้อรา *Trichoderma* sp. จะเห็นได้ว่า การใช้สารสกัดร่วมกับเชื้อรา *Trichoderma* sp. จะลดความรุนแรงของโรคได้ 55.27-60.24 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับการใช้สารสกัด หรือ เชื้อรา *Trichoderma* sp. เพียงอย่างเดียว (ยกเว้น T114Kb) สามารถลดความรุนแรงของโรคได้ 28-32 และ 1-47 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.12; ภาพที่ 4.16)

สำหรับการทดสอบกับคะน้าอายุ 60 วัน ผลการทดลองเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการทดสอบกับคะน้าอายุ 40 วัน กล่าวคือ ทั้ง 3 ปัจจัย มีผลต่อการลดเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค โดยที่ ความเข้มข้นของสารสกัดที่ทดสอบมีประสิทธิภาพยับยั้งได้ไม่แตกต่างกัน ในขณะที่ ไอโซเลท *Trichoderma* sp. สามารถยับยั้งได้ไม่แตกต่างกัน กล่าวคือ ทุกกรรมวิธีที่ใช้สารสกัดชุมเห็ดเทศและเชื้อรา *Trichoderma* sp. สามารถความรุนแรงของโรคได้เป็นอย่างดี โดยกรรมวิธีที่ใช้สารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ร่วมกับเชื้อรา *Trichoderma* sp. สามารถลดความรุนแรงของโรคได้ 38-44 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างจากการใช้สารสกัดเพียงอย่างเดียว แต่ไม่แตกต่างจากการใช้ *Trichoderma* sp. เพียงอย่างเดียว อย่างไรก็ตาม ผลการลดเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคมีแนวโน้มที่ดี หากใช้สารสกัดชุดเทศร่วมกับเชื้อ BCA (ตารางที่ 4.12; ภาพที่ 4.17)

สำหรับปริมาณ chlorophyll (SPAD value) พบว่า ช่วงก่อนทำการทดสอบ หลังทำการฉีดพ่นสารสกัดชุมเห็ดเทศ และหลังฉีดพ่นเชื้อรา *Trichoderma* sp. ทั้ง 2 ปัจจัย (ปัจจัย B และ C) ไม่มีผลต่อปริมาณ chlorophyll แต่เมื่อปลูกเชื้อราสาเหตุโรคแล้ว ปัจจัย A มีความแตกต่างกัน กล่าวคือ ทั้ง 3 ช่วงระยะเวลาก่อนทำการปลูกเชื้อราสาเหตุโรค ปริมาณ chlorophyll ไม่แตกต่างกัน โดยมีค่า SPAD value ที่วัดได้เท่ากับ 46-56.08 เป็นเพราะไม่มีการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรค และเมื่อเวลาผ่านไป หลังปลูกเชื้อราสาเหตุโรค (3, 5 และ 7 DAI) กรรมวิธีที่ไม่ได้ปลูกเชื้อราสาเหตุโรค มีค่า SPAD value เท่ากับ 48.53-55.41 ใกล้เคียงกับช่วงก่อนปลูกเชื้อราสาเหตุโรค แต่กรรมวิธีที่ปลูกเชื้อรา *Alternaria* sp. กลับแสดงให้เห็นว่า ค่า SPAD value ที่วัดได้ลดลงอย่างเห็นได้ชัดเจน โดยมีค่าอยู่ในช่วง 16.57-27.52 ซึ่งแตกต่างจากกรรมวิธีที่ไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคดังกล่าว ปริมาณ chlorophyll สอดคล้องกับการทดสอบด้านการป้องกันโรค กล่าวคือ เมื่อพืชถูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช *Alternaria* sp. เข้าทำลาย เกิดแผล ยังส่งผลให้ปริมาณ chlorophyll บริเวณใกล้แผลลดลงตามไปด้วย (ตารางที่ 4.13)

ในขณะที่การทดสอบกับคะน้าอายุ 60 วัน ปริมาณ chlorophyll ยังคงเป็นในทิศทางเดียวกันกับการทดสอบช่วง พืชอายุ 40 วัน คือ ช่วงก่อนทำการทดสอบ หลังทำการฉีดพ่นสารสกัดชุมเห็ดเทศ และหลังฉีดพ่นเชื้อรา *Trichoderma* sp. ปริมาณ chlorophyll ไม่แตกต่างกัน โดยมีค่า SPAD value อยู่ในช่วง 45.93-55.41 ในขณะที่ช่วงหลังการปลูกเชื้อรา *Alternaria* sp. (3, 5 และ 7 DAI) กรรมวิธีที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืชและกรรมวิธีที่ไม่ได้ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคพืช แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยวัดค่า SPAD value ได้อยู่ในช่วง 16.27-28.42 และ 48.3-56.02 (ตารางที่ 4.13)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.12 ประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ร่วมกับสารสกัดหยาบชุมเห็ดเทศ ในการควบคุมโรคใบจุดต้นคะน้า ที่อายุ 40 และ 60 วัน

Factor A	Factor B (ppm)	Factor C	Plant age at 40 day				Plant age at 60 day			
			Lesion size (cm)			% DR[1/]	Lesion size (cm)			% DR
			3 DAI	5 DAI	7 DAI	7 DAI	3 DAI	5 DAI	7 DAI	7 DAI
Non-inoculation	0	non-trt	0f[2/]	0f	0e	100a	0f	0f	0d	100a
		T114Kb	0f	0f	0e	100a	0f	0f	0d	100a
		T112Sc	0f	0f	0e	100a	0f	0f	0d	100a
	10000	non-trt	0f	0f	0e	100a	0f	0f	0d	100a
		T114Kb	0f	0f	0e	100a	0f	0f	0d	100a
		T112Sc	0f	0f	0e	100a	0f	0f	0d	100a
	20000	non-trt	0f	0f	0e	100a	0f	0f	0d	100a
		T114Kb	0f	0f	0e	100a	0f	0f	0d	100a
		T112Sc	0f	0f	0e	100a	0f	0f	0d	100a
Pathogen inoculation	0	non-trt	0.71a	0.97a	1.78a	0e	0.84a	1.26a	1.9a	0d
		T114Kb	0.53bc	0.66d	1.77a	1e	0.64cd	0.75bc	1.1c	40.1b
		T112Sc	0.57bc	0.54e	0.94c	47.5c	0.54de	0.78bc	1.14c	40.1b
	10000	non-trt	0.54bc	0.86b	1.29b	27.8d	0.76ab	0.5d	1.45b	23.7c
		T114Kb	0.48cd	0.76c	0.71d	60.4b	0.63cde	0.64cd	1c	44.3b
		T112Sc	0.56bc	0.48e	0.74d	58.3b	0.72bc	0.68cd	1.17c	38.3b
	20000	non-trt	0.60b	0.90ab	1.21b	32d	0.5e	0.84b	1.56b	18c
		T114Kb	0.24e	0.51e	0.78d	56b	0.6de	0.68cd	1c	44.1b
		T112Sc	0.39d	0.52e	0.77d	57.4b	063cde	0.72bcd	1.1c	40.7b
Value of factor A										
Pathogen inoculation			0b	0b	0b	100a	0b	0b	0b	100a
Non-inoculation			0.5a	0.6a	1.1a	36.2b	0.65a	0.7a	1.29a	31b
Value of factor B										
0 ppm			0.3a	0.36a	0.74a	57.38b	0.33a	0.46a	0.7a	63.15b
10000 ppm			0.26b	0.34ab	0.45b	73.9a	0.35a	0.32b	0.61b	66.93a
20000 ppm			0.2c	0.32b	0.45b	73.69a	0.29b	0.37b	0.62b	66.40ab
Value of factor C										
Non treated			0.3a	0.45a	0.71a	59.52c	0.35a	0.45a	0.82a	56.39b
T114Kb			0.2c	0.32b	0.54b	69.16b	0.31b	0.34b	0.54b	71.02a
T112Sc			0.25b	0.25c	0.4c	76.25a	0.32ab	0.36b	0.57b	69.07a
C.V. (%)			37.28	22.07	26.70	14.47	33.24	40.37	23.38	15.05
Value of factor A			**	**	**	**	**	**	**	**
Value of factor B			**	*	**	**	*	**	*	*
Value of factor C			**	**	**	**	*	*	**	**
A*B			**	*	**	**	*	**	*	*
A*C			**	**	**	**	*	*	**	**
B*C			*	**	**	**	*	**	*	*
A*B*C			*	**	**	**	*	*	**	*

[1/]% DR= disease reduction over control

[2/]ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05 โดยวิธีของ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.13 ประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ร่วมกับสารสกัดหยาบชุมเห็ดเทศ ในการควบคุมโรคใบจุดต้นคะน้า ที่อายุ 40 และ 60 วัน

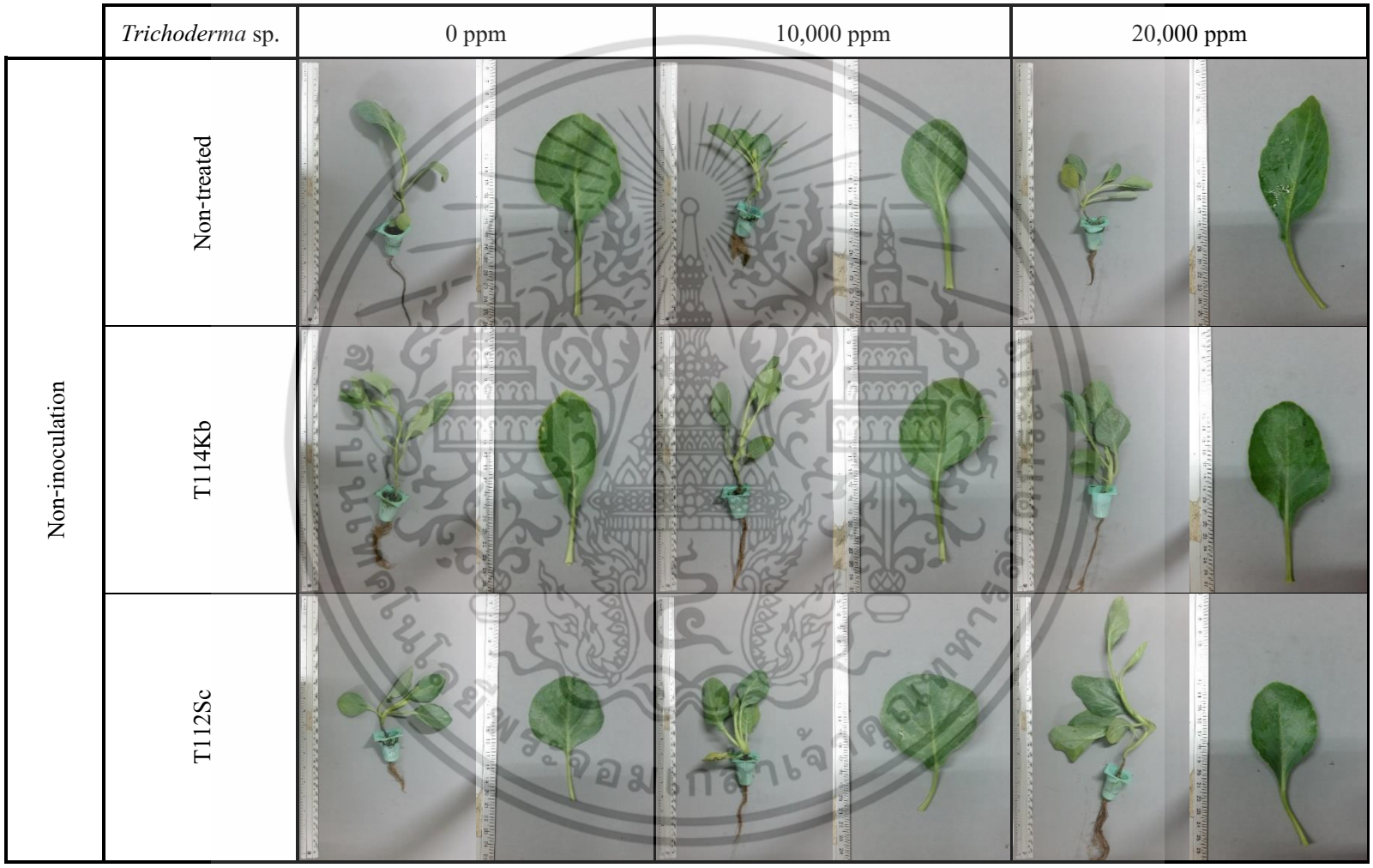
Factor A	Factor B (ppm)	Factor C	Chlorophyll content (SPAD value)											
			Plant age at 40 days						Plant age at 60 days					
			Prior to pathogen inoculation			After pathogen inoculation			Prior to pathogen inoculation			After pathogen inoculation		
			(1)	(2)	(3)	3DAI	5DAI	7DAI	(1)	(2)	(3)	3DAI	5DAI	7DAI
Non-inoculation	0	non-trt	46.50cd[1/]	50.30ab	51.97ab	51.97abc	54.66a	53.33abc	54.33a	52.96ab	52.99a	56.02a	50.90bcd	51.29abc
		T114Kb	50.24a-d	53.14ab	52.48ab	48.53c	51.84ab	49.48c	50.12ab	53.38ab	45.93b	51.22b	51.23bcd	52.58ab
		T112Sc	50.90a-d	50.89ab	49.27b	53.59ab	54.52a	49.92c	50.60ab	50.29ab	52.22a	54.86ab	53.82ab	51.20abc
	10000	non-trt	54.09ab	51.78ab	52.40ab	51.28abc	53.20ab	50.68bc	51.22ab	50.20ab	54.03a	50.90b	55.86a	53.64ab
		T114Kb	53.88ab	53.02ab	53.94ab	52.87ab	49.80b	55.41a	54.57a	54.83a	51.88a	52.11ab	49.54cd	48.30c
		T112Sc	52.53ab	54.42ab	52.38ab	53.46ab	49.50b	54.24ab	52.38ab	51.64ab	50.97ab	52.06ab	52.44abc	52.74ab
	20000	non-trt	53.58ab	51.97ab	52.30ab	53.37ab	50.34ab	51.08bc	52.40ab	51.76ab	50.14ab	52.38ab	53.34abc	51.60abc
		T114Kb	55.14a	52.33ab	50.74ab	54.62a	50.32ab	51.72abc	55.08a	49.07b	50.74ab	53.69ab	48.42d	55.07a
		T112Sc	52.74ab	49.63ab	49.32b	50.09bc	53.38ab	51.86abc	53.59ab	48.73b	54.62a	51.23b	51.62bcd	50.10bc
Pathogen inoculation	0	non-trt	46.00d	51.88ab	54.20ab	25.59d	19.28c	18.52d	53.50ab	53.80ab	51.81a	27.91c	20.03e	17.09d
		T114Kb	51.22abc	50.73ab	51.27ab	26.42d	20.66c	17.27d	52.32ab	50.86ab	52.19a	27.54c	20.60e	16.16d
		T112Sc	51.21abc	51.21ab	56.08a	25.74d	20.61c	17.77d	51.54ab	53.96ab	52.49a	27.70c	20.46e	17.97d
	10000	non-trt	53.01ab	53.01ab	52.93ab	27.06d	22.38c	18.46d	52.92ab	55.71a	52.60a	28.42c	19.69e	17.83d
		T114Kb	52.53ab	52.53ab	51.96ab	26.08d	20.62c	19.23d	49.97ab	51.44ab	53.06a	27.50c	21.52e	16.27d
		T112Sc	49.27bcd	49.27b	54.50ab	26.65d	19.90c	17.87d	54.36a	52.06ab	50.77ab	23.96c	22.42e	18.63d
	20000	non-trt	50.49a-d	50.49ab	52.09ab	25.81d	20.98c	18.07d	48.60b	50.33ab	54.18a	27.93c	20.35e	17.23d
		T114Kb	54.80a	54.80a	53.07ab	25.65d	20.79c	16.57d	51.84ab	50.19ab	49.90ab	27.67c	19.61e	18.36d
		T112Sc	51.52abc	51.52ab	49.57b	27.52d	20.08c	17.82d	53.80ab	53.72ab	53.58a	27.18c	21.82e	16.54d

Prior to pathogen inoculation, the extract treatment was done at 2 day before treating the BCA. Measurement SPAD value: (1) Before any treating, (2) At 2 days after treating the extract, (3) At 3 days after treating the BCA, and 3, 5, 7 DAI

[1/]ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05 โดยวิธีของ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 4.13 (ต่อ)

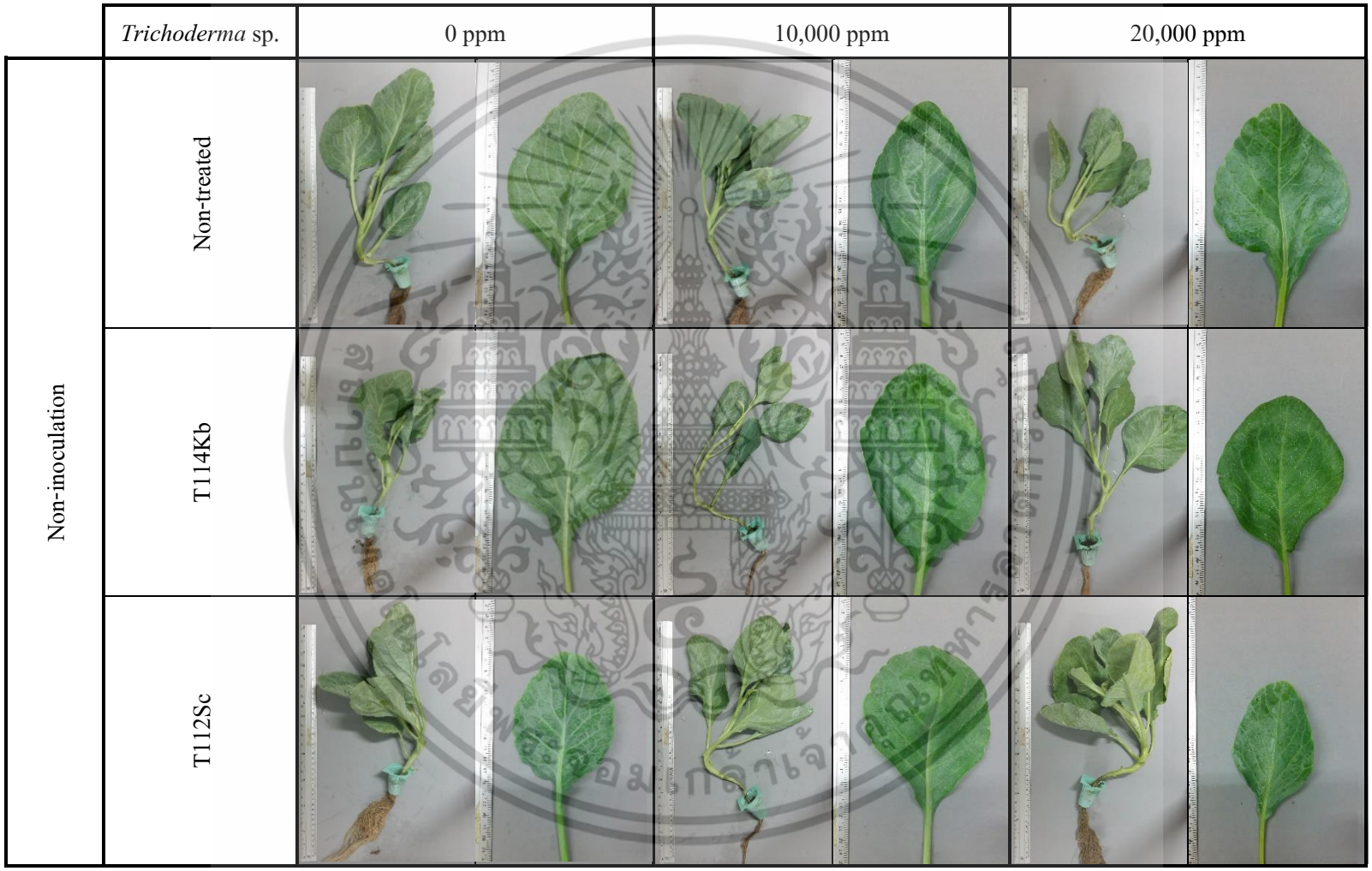
Factor A	Factor B (ppm)	Factor C	Chlorophyll contentr (SPAD value)											
			Plant age at 40 day						Plant age at 60 day					
			Prior to pathogen inoculation			After pathogen inoculation			Prior to pathogen inoculation			After pathogen inoculation		
			(1)	(2)	(3)	3DAI	5DAI	7DAI	(1)	(2)	(3)	3DAI	5DAI	7DAI
Value of factor A														
Non-inoculation			52.17a	51.94a	51.64a	52.19a	51.95a	51.96a	52.69a	52.45a	51.5a	52.71a	51.9a	51.83a
Pathogen inoculation			51.11a	51.71a	52.85a	26.27b	20.58b	17.95b	52.09a	51.42a	52.28a	27.3b	20.7a	17.34b
Value of factor B														
0 ppm			49.34b	51.35a	52.54a	38.63a	36.92a	34.38a	52.56a	52.64a	51.27a	40.01a	36.17a	34.38a
10000 ppm			52.55a	52.33a	53.01a	39.56a	35.89a	35.98a	52.55a	52.53a	52.21a	40.01a	36.9a	34.57a
20000 ppm			53.04a	51.79a	51.18a	39.5a	35.98a	34.51a	52.07a	50.63a	52.19a	39.15a	35.85a	34.8a
Value of factor C														
Non treated			50.61b	51.57a	52.64a	39.17a	36.8a	35.03a	52.71a	52.45a	52.62a	40.58a	36.69ab	34.78a
T114Kb			52.97a	52.76a	52.24a	39.02a	35.67a	34.94a	52.31a	51.73a	50.61a	39.95a	35.15b	34.45a
T112Sc			51.36ab	51.15a	51.85a	39.5a	36.33a	34.91a	52.16a	51.62a	52.44a	39.5a	37.1a	34.52a
C.V. (%)			10.55	10.9	11.92	11.35	13.02	12.99	11.49	11.68	12.09	12.36	11.46	12.35
Value of factor A			ns	ns	ns	**	**	**	ns	ns	ns	**	**	**
Value of factor B			**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Value of factor C			ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
A*B			ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
A*C			ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns
B*C			ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*
A*B*C			ns	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns



ภาพที่ 4.16 ลักษณะต้นคะน้าอายุ 40 วัน ที่ได้รับการฉีดพ่นด้วยสารสกัดชุมเห็ดเทศที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และเชื้อรา *Trichoderma* sp.

Pathogen inoculation
Trichoderma sp.
0 ppm
10,000 ppm
20,000 ppm
Non-treated
T114Kb
T112Sc

ภาพที่ 4.16 (ต่อ)



ภาพที่ 4.17 ลักษณะต้นคะน้าอายุ 60 วัน ที่ได้รับการฉีดพ่นด้วยสารสกัดชุมเห็ดเทศที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และเชื้อรา *Trichoderma* sp.

Pathogen inoculation
Trichoderma sp.
0 ppm
10,000 ppm
20,000 ppm
Non-treated
T114Kb
T112Sc

ภาพที่ 4.17 (ต่อ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
วิจารณ์ผลการวิจัย

จากการเก็บตัวอย่างดิน จากแปลงนาที่ใช้สารเคมี แปลงนาเกษตรอินทรีย์ จังหวัดสุพรรณบุรี และสถานีวิจัยสิ่งแวดล้อม จังหวัดนครราชสีมา และน้ำสารละลายธาตุอาหารพืช ฟาร์มปลูกผักไฮโดรโปนิกส์ จังหวัดนครราชสีมา มาทำการแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ผลปรากฏว่าแยกเชื้อราดังกล่าวได้ทั้งหมด 9 ไอโซเลท (T111So, T114So, T111Sc, T112Sc, T114Kb, T415-2, T121Kh, T515-1 และ T515-2) จากนั้นทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและจัดจำแนกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้ โดยจะศึกษา 2 ลักษณะ คือ macro-characteristics และ micro- characteristics พบว่า เชื้อราทุกไอโซเลทสามารถเจริญบนอาหาร PDA ได้อย่างรวดเร็ว โดยเริ่มแรก colony จะมีสีขาว จากนั้นจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวอ่อนจนถึงสีเขียวเข้ม เมื่อนำเส้นใยไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า เส้นใยของเชื้อราใสไม่มีสี มีผนังกั้นตามแนวขวาง ที่ปลายเส้นใยจะพบ phialide จำนวน 2-4 verticils มีลักษณะเป็นแบบโบว์ลิ่งพิน ขนาด 4.9-8.4×2.5-3.4 ไมโครเมตร ส่วน conidia มีลักษณะเป็นเซลล์เดียว (single-cell) สีเขียวอ่อน มีรูปร่างแบบ globose ถึง sub-globose (อยู่ในช่วง 2.6-3.5×2.5-2.9 ไมโครเมตร) ซึ่งลักษณะที่กล่าวมาข้างต้น สามารถจัดจำแนกเชื้อราได้ คือ *Trichoderma harzianum* (Kubicek and Harman, 2002; Chaveri and Samuels, 2003) และจากการศึกษาตัวอย่างดินในครั้งนี้จะเห็นได้ว่า เชื้อราที่พบทุกไอโซเลท คือ *T. harzianum* นั้น น่าจะมีความเป็นไปได้เนื่องจาก ในพื้นที่แปลงนาเกษตรอินทรีย์ และฟาร์มไฮโดรโปนิกส์ มีการใช้ เชื้อรา *Trichoderma* sp. ที่เป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้า อีกทั้งมีงานวิจัยหลายฉบับที่เก็บตัวอย่างดินและสารละลายธาตุอาหาร เช่น การเก็บตัวอย่างดินบริเวณรากของต้นยางพาราในประเทศมาเลเซีย (Zakaria, 1989) ตัวอย่างดิน 60 ตัวอย่างในจากพื้นที่แตกต่างกัน ในประเทศเคนยา (Okoth *et al.*, 2007) ตัวอย่างดินในแปลงนาข้าว 4 จังหวัด ในประเทศฟิลิปินส์ (Cumagun *et al*., 2000) และ ตัวอย่างน้ำสารละลายธาตุอาหารพืชในประเทศไทย (Pradubyart *et al*., 2013) มาแยกและจัดจำแนก พบว่าเป็นเชื้อรา *T. harzianum* ที่พบมากที่สุด

สำหรับการประเมินนมหมักทางการค้าจำนวน 4 ชนิด (FM1, FM2, FM3 และ FM4) ในการเป็นปฏิปักษ์ต่อการเจริญทางเส้นใยและการงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืชจำนวน 6 ชนิด คือ *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Helminthosporium* sp., *Pestalotia* sp., และ *Rhizoctonia* sp. พบว่า นมหมักแต่ละชนิดมีระดับการยับยั้งที่แตกต่างกันไป โดย FM2 และ FM4 มีประสิทธิภาพดีที่สุด สามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชจำนวน 3 ชนิด คือ *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., and *Helminthosporium* sp. โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

54-56 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในการทดสอบการงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรค นมหมักทั้ง 4 ชนิด สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อราดังกล่าวทั้ง 5 ชนิดได้ มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ที่ 45-100 เปอร์เซ็นต์ และยังส่งผลทำให้สปอร์ของเชื้อรามีความผิดปกติไป จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า FM2 และ FM4 มีประสิทธิภาพในการยังยั้งการเจริญทางเส้นใย น่าจะเป็นผลมาจาก Lactic acid bacteria (LAB) ที่อยู่ในนมหมัก โดยที่ FM2 ใช้ *Lactobacillus paracaseci* และ FM4 ใช้ *L. casei shirota* ในการหมักเพียงชนิดเดียวและมีค่า pH ที่ใกล้เคียงกัน ซึ่ง LAB ทั้ง 2 ชนิดนี้เคยได้รับรายงานว่า *L. paracaseci* D1 สามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Asma *et al*, 2012) และ *L. casei* IMAU10004 สามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใย ของเชื้อรา *Botrytis cinerea, Alternaria solani, Phytophthora drechsleri* Tucker, *Fusarium oxysporum* และ *Glomerella cingulata* มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 81.4, 79.8, 100, 88 และ 40.4 ตามลำดับ (Wang *et al*., 2011) และยังยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของ *Aspergillus fumigatus* ได้เปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่ดี ในขณะที่ FM1 และ FM3 ไม่สามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชทั้ง 6 ชนิดได้เลย ซึ่งจะสังเกตได้ว่า ทั้ง FM1 และ FM3 มีจำนวนชนิดของ Lactic acid bacteria (LAB) อยู่หลายชนิดที่ใช้ในการหมัก แต่ก็มี *S. thermophiles* ที่ใช้ในการหมักเหมือนกัน และใน FM3 ก็ไม่สามารถทำการตรวจนับเชื้อได้ อีกทั้งยังไม่พบการรายงานว่าสามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคได้ และมีรายงานของ Muhialdin and Hassan (2011) ว่า *Lactobacillus fermentum* Te007 สามารถยังยั้งการเจริญทางเส้นใยและงอกของสปอร์เชื้อรา *A. oryzae* ได้อย่างประสิทธิภาพ และจากการศึกษาของ Lavermicocca *et al.* (2000) พบว่า *Lactobacillus* sp. สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *A. niger* FTDC3227, *A. flavus* FTDC3226, *Eurotium rubrum* FTDC3228, *E. repens* IBT18000, *Endomyces fibuliger* IBT605, *Penicillium corylophilum* IBT6978, *Penicillium roqueforti* IBT18687 และ *Monilia sitophila* IDM/FS5 ได้ถึง 55–100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งน่าจะเป็นเพราะ แบคทีเรียสร้างสารบางอย่างออกมาซึมผ่านเข้าไปในอาหารวุ้น ทำให้เชื้อราไม่สามารถเจริญเข้าใกล้ หรือเจริญผ่านแบคทีเรียได้ สารบางอย่างที่แบคทีเรียสร้างยังยับยั้งการสร้างผนังของเชื้อรา ส่งผลให้เชื้อราไม่แบ่งเซลล์ต่อไปได้ จึงทำให้เส้นใยมีลักษณะที่ผิดปกติไป (วานิด, 2552) สำหรับการทดสอบบนใบพืชนั้น กลับพบว่าผลที่ได้นี้ไม่เป็นตามที่คาดไว้ โดยทั้งนมหมัก FM2 และ FM4 ไม่สามารถควบคุมโรคบนใบพืชได้เลย อีกทั้งยังมีรายงานที่คล้ายกันของ Wang *et al*. (2011) ที่ระบุว่า การใช้ supernatant ของ *L. plantarum* IMAU 10014 สามารถควบคุม *Botrytis cineria* บนในมะเขือเทศได้เพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับชุดควบคุม จากผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่า น่าจะเป็นข้อจำกัดในการใช้ผลิตภัณฑ์นมหมักมาใช้ในการควบคุมโรค

การประเมินความสามารถในการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ของเชื้อรา *T. harzianum* จำนวน 5 ไอโซเลท จากแหล่งที่แตกต่างกัน ต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 6 ชนิด โดยวิธี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Dual culture test พบว่า เชื้อรา *T. harzianum* ทั้ง 5 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชทุกชนิดได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 67.4-77.77 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไอโซเลท T114Kb มีความสามารถในการยับยั้งดีที่สุด รองลงมาคือ T.com มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง อยู่ในช่วง 67.4-77.77 และ 64.81-77.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. เป็นเชื้อราที่มีการเจริญที่รวดเร็ว และมีรายงานการวิจัยมากมายของเชื้อราดังกล่าวถึงประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้หลายชนิด เช่น *Alternaria alternate* (Gveroska and Ziberoski, 2012; Jat and Agalave, 2013), *A. brasicicola* (Amin *et al*., 2010), *Aspergillus flavus*, Curvularia lunata, *Fusarium moniliforme, F. oxysporum* (Jat and Agalave, 2013), *F. oxysporum* f.sp. *adzuki* (Rojan et al, 2010), *Heminthosporium oryzae* (Amin *et al*., 2010), *Macrophomina phaseolina* (Sreedevi *et al*., 2011), *Penicillium notatum, P. chrysogenum* (Jat and Agalave, 2013), *Pythium* sp. (Patil *et al*., 2012), และ *Rhizoctonia solani* (Lewis and Lumsden, 2001) นอกจากนี้แล้วยังพบว่าในช่วงแรกของการทดสอบ เชื้อรา *Trichoderma* sp. ทุกไอโซเลทส่วนมากจะแสดงกลไกการยับยั้งแบบ antibiosis และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง จะพบกลไกการยับยั้งแบบ competition แต่ไม่พบกลไก exploitation (นำเส้นใยไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของธิติ และคณะ (2556 ก) ที่พบกลไก competition ของเชื้อ *Trichoderma* sp. ในการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp., *Curvularia* sp. และ *Fusarium* sp. ที่ทดสอบโดยวิธี Dual culture test

จากการทดสอบอิทธิพลของสารสกัดหยาบเอทานอลจากใบชุมเห็ดเทศที่ระดับความเข้มข้น 5000, 10000 และ 20000 ppm ต่อการเจริญทางเส้นใยและการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคพืช 6 ชนิด ได้แก่ *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Helminthosporium* sp., *Pestalotia* sp. และ *Rhizoctonia* sp. พบว่าสารสกัดทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยและการงอกของสปอร์ของเชื้อราทั้ง 6 ชนิดได้เป็นอย่างดี โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งอยู่ในช่วง 16-53 และ 32-94 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญจากชุดควบคุม โดยเฉพาะที่ระดับความเข้มข้น 20000 ppm จะแสดงประสิทธิภาพยับยั้งดีที่สุด และจะสังเกตได้ว่าประสิทธิภาพของสารสกัดชุดเห็ดเทศในการยับยั้งสปอร์เชื้อราดังกล่าวจะแสดงผลได้ดี กว่าการทดสอบกับเส้นใย ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ สุริยสิทธิ์ และคณะ (2558) ที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำคั้นดอกและน้ำคั้นใบจากชุมเห็ดเทศ ที่ระดับความเข้มข้น 5000-20000 ppm ต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชผัก 6 ชนิด (*Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Helminthosporium* sp., *Pestalotia* sp. และ *Rhizoctonia* sp.) พบว่าสปอร์ถูกยับยั้งมากกว่าเส้นใย โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 62-94 และ 5.3-20.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และยังพบการรายงานการใช้สารสกัดชุมเห็ดเทศที่มีตัวทำละลายอินทรีย์หลายชนิด รวมทั้งตัวทำละลายเอทานอล ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้หลายกลุ่ม ตัวอย่างเช่น เชื้อราสาเหตุโรคคน ได้แก่ *As. niger*,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Penicillium notatum, Microsporium canis และ *Trichophyton mentagrophytes* (Timothy *et al.*, 2012) และกลุ่มเชื้อราสาเหตุโรคพืช ได้แก่ *Rhizopus* spp, *P. oxalicum, As. tamari, As. niger, F. oxysporum* และ *F. vacitilus* (Odunbaku and Ilasanya, 2011) นอกจากสารสกัดจากใบแล้ว และยังมีรายงานการใช้สารสกัดเอทานอลของชุมเห็ดเทศจากส่วนอื่นๆ อีก เช่น ลำต้น ดอก ใบ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporiodes* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (ขวัญใจ และคณะ, 2537) นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้งานในรูปแบบอื่นอีก เช่น การใช้ผงดอกชุมเห็ดเทศผสมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ความเข้มข้น 10 และ 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา *Aspergillus flavus* (NCBT 101), *As. parasiticus* (NCBT 128), *F. oxysporum* (NCBT 156) และ *H. oryzae* (NCBT 165) ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (Abubacker *et al.*, 2007) ซึ่งจากผลที่กล่าวมาข้างต้น น่าจะเป็นเพราะ ชุมเห็ดเทศมีสารที่สำคัญหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่ง กลุ่มสาร Anthraquinones, Flavonoids glycosides และ Steroids (Khan *et al.*, 2001; Hennebelle *et al.*, 2009) โดยสารดังกล่าวมีการรายงานถึงคุณสมบัติในการเป็นสารต้านทานหรือยับยั้งการเจริญของเชื้อรา และแบคทีเรียได้หลากหลายชนิด (Kazmi *et al*., 1994; Khan *et al*., 2001; Somchit *et al.*, 2001 และ Saheli *et al*., 2012)

สำหรับการทดสอบสารสกัดชุมเห็ดเทศจำนวน 3 ความเข้มข้น (5000, 10000 และ 20000 ppm) ต่อการเจริญของเชื้อรา *T. harzianum* จำนวน 5 ไอโซเลท ได้แก่ T114Kb, T121Kh, T114So, T112Sc และ T.com พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* ทุกไอโซเลทที่ทดสอบสามารถเจริญบนอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดชุมเห็ดเทศความเข้มข้นที่กำหนด ได้ไม่แตกต่างจากชุดควบคุม และเมื่อทำการตรวจนับปริมาณการสร้างสปอร์ของเชื้อราดังกล่าวทุกไอโซเลท พบว่า สปอร์ของเชื้อรา *T. harzianum* ทุกไอโซเลท ไม่มีความผิดปกติ และมีปริมาณการสร้างสปอร์ไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (T114So และ T112Sc) ในขณะที่บางไอโซเลท (T114Kb, T121Kh และ T.com) มีการกระตุ้นให้สร้างปริมาณสปอร์มากกว่าชุดควบคุม ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากชุดควบคุม ซึ่งผลการทดลองนี้พบว่าสอดคล้องกับการทดสอบน้ำคั้นใบและน้ำคั้นดอกของชุมเห็ดเทศ ที่พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* สามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมน้ำคั้นใบและน้ำคั้นดอกชุมเห็ดเทศที่ระดับความเข้มข้น 5000-2000 ppm ได้ (สุริยสิทธิ์ และคณะ, 2558) และยังพบการรายงานว่า เชื้อรา *T. harzianum* สามารถทนต่อสารสกัดชุมเห็ดเทศ (รูปแบบของสารสกัดน้ำ เฮกเซน และเมทธานอล) ความเข้มข้น 1,000 ppm ได้เช่นกัน (พรประพา, 2546) นอกจากนั้น ยังพบว่า เชื้อรา *Trichoderma* sp. ทนทานต่อสารสกัดจากพืชอื่นๆ ได้อีกหลายชนิด เช่น สารสกัดจากสาบเสือ ยี่หร่า และตะไคร้ ที่ระดับความเข้มข้น 100,000 ppm (Omorusi *et al*., 2014) และทนทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช เช่น Captan, Thiabendazol และ Captan-Carboxin ที่ระดับ 5-2,000 ppm (Chaparro *et al.*, 2011) Blue copper และ Captaf (Captafol) ที่ระดับความเข้มข้น 50-300 ppm (Tapwal *et al.*, 2012)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในขณะที่การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ จำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ *T. harzianum* T114Kb, T121Kh, T112Sc, T114So, T.com และ non-pathogenic *Fusarium oxysporum* F221-B ในการควบคุมการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 6 ชนิด (Dual culture assay) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดชุมเห็ดเทศที่ระดับความเข้มข้น 0, 5000 และ 10000 ppm (Poisoned food assay) พบว่า กรรมวิธีที่ไม่ผสมสารสกัด (0 ppm) เชื้อรา *T. harzianum* ทุกไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ทุกชนิด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 51.1-75.9 เปอร์เซ็นต์ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ไอโซเลท T114Kb แสดงความสามารถยับยั้งได้ดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องการทดสอบที่ผ่านมาของผู้วิจัย ที่ทดสอบศักยภาพในการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ของเชื้อรา *T. harzianum* จำนวน 5 ไอโซเลท (T114Kb, T121Kh, T112Sc, T114So, T.com) และพบว่าเชื้อปฏิปักษ์ดังกล่าวสามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง 67.4-77.7 เปอร์เซ็นต์ (Somnuek *et al*., 2015) และสำหรับกรรมวิธีที่ผสมสารสกัดหยาบเอทานอล เมื่อสิ้นสุดการทดลองเชื้อรา *Trichoderma* sp. สามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งอยู่ในช่วง 45.3-69.6 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เชื้อรา F221-B สามารถยับยั้งได้เพียง 26.5-51.6 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. harzianum* ในกรรมวิธีที่ทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารสกัด จะมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งที่น้อยกว่า ชุดควบคุม (0 ppm) น่าจะเป็นเพราะอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศ มีผลชะลอการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราปฏิปักษ์ ในขณะเดียวกันก็มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชด้วย จึงทำให้เชื้อราปฏิปักษ์แสดงศักยภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ไม่ชัดเจน แต่เมื่อเวลาผ่านไป เชื้อราปฏิปักษ์ สามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ แต่เมื่อนำมาทดสอบร่วมกันบน Dual culture plate กลับไม่เสริมฤทธิ์กัน เนื่องมาจากข้อจำกัดของวิธีการทดลองและประเมินผล แต่อย่างไรก็ตาม ยังพบรายงานความสำเร็จของการใช้เชื้อรา *T. harzianum* ร่วมกับสารสกัดจากพืช (ใบมะรุมความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สามารถลดเปอร์เซ็นต์การฟักตัวของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne javanica* ได้ 46 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การใช้สารสกัดเพียงอย่างได้ มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง 30 เปอร์เซ็นต์ (Muhammad *et al*., 2014) ดังนั้นในความเป็นจริงแล้วการใช้ระดับเรือนทดลองหรือการปฏิบัติจริงในสภาพไร่ สามารถหลีกเลี่ยงวิธีการไม่ให้เชื้อรา *T. harzianum* สัมผัสกับสารสกัดชุมเห็ดเทศได้โดยตรง

สำหรับการทดสอบความเป็นพิษ (Phytotoxicity) ของสารสกัดชุมเห็ดเทศที่ระดับความเข้มข้น 5000, 1000 และ 20000 ppm ต่อต้นคะน้าที่ปลูกในแก้วบรรจุสารละลายธาตุอาหารพืช และในระบบไฮโดรโปนิกส์ พบว่าสารสกัดไม่เป็นพิษต่อต้นคะน้าที่ปลูก โดยไม่พบความผิดปกติของพืชดังกล่าว ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Rinez *et al*. (2011) ที่กล่าวว่าสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 10-40 กรัมต่อลิตร ไม่มีผลยับยั้งการงอกของเมล็ดและการเจริญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของผักสลัดและ หัวไชเท้า นอกจากนี้จะเห็นได้จากผลการทดลองที่ 4.6 คือ หลังจากการฉีดพ่นสารสกัดชุมเห็ดเทศที่ระดับความเข้มข้น 10000 และ 20000 ppm ลงบนใบผักคะน้าอายุ 40 และ 60 วัน ผลการวัดปริมาณ chlorophyll (SPAD value) ไม่แตกต่างจากช่วงก่อนฉีดพ่นสารสกัด โดยมีค่า SPAD value ประมาณ 45-56 เป็นการยืนยันได้อีกทางหนึ่ง ซึ่งต่างจากการรายงานของ Sarkar *et al.* (2012) กลับพบว่าสารสกัดจากพืชตระกูล Cassia (ชุมเห็ดเทศไทย) ความเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ มีผลยับยั้งการงอกและการเจริญของต้นมัสตาร์ด อีกทั้งยังลดปริมาณ chlorophyll อีกด้วย อาจเป็นเพราะความเข้มข้นที่ใช้ค่อนข้างสูงมาก ในขณะที่ผู้วิจัยใช้สารสกัดชุมเห็ดเทศในระดับความเข้มข้นที่ต่ำ คือ 10000 และ 20000 ppm (0.5, 1 และ 2 เปอร์เซ็นต์) จึงไม่เป็นพิษต่อต้นคะน้าที่ปลูก

การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ร่วมกับสารสกัดหยาบเอทานอลจากใบชุมเห็ดเทศ (ความเข้มข้น 10000 และ 20000 ppm) ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุใบจุดกับต้นคะน้า 2 ช่วงอายุพืช ในระบบไฮโดรโปนิกส์ ซึ่งผลการทดสอบกับคะน้าอายุ 40 วัน พบว่า การใช้สารสกัดชุมเห็ดเทศร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์ สามารถลดความรุนแรงของโรคได้เป็นอย่างดี โดยมีเปอร์เซ็นต์ลดความรุนแรงของโรคอยู่ในช่วง 55.27-60.24 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับการใช้สารสกัดชุมเห็ดเทศเพียงอย่างเดียว (28-32 เปอร์เซ็นต์) หรือ เชื้อรา *Trichoderma* sp. เพียงอย่างเดียว (47 เปอร์เซ็นต์) ยกเว้น เชื้อรา T114Kb ที่ไม่สามารลดความรุนแรงของโรคได้ อย่างไรก็ตาม ในช่วงแรกของการทดสอบ (3 และ 5 DAI) เชื้อรามีประสิทธิภาพสามารถลดความรุนแรงของโรคได้ ซึ่งแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ น่าจะเป็นผลมาจาก ในช่วงที่ทดสอบสภาพอากาศร้อน จึงทำให้ไม่เอื้อต่อการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma* sp. ในขณะที่กรรมวิธีที่ใช้สารสกัดร่วมกันเชื้อราปฏิปักษ์กลับได้ผลที่ดี โดยกรรมวิธีนี้จะทำการฉีดพ่นสารสกัดชุมเห็ดเทศก่อนฉีดพ่นเชื้อรา *Trichoderma* sp. ทำให้พืชได้รับการกระตุ้น และสร้างเอนไซม์ phenylalanine ammonia lyase (PAL), peroxidase (POX), polyphenol oxidase (PPO) และ phenolic ซึ่งเป็นเอนไซม์กระตุ้นการเกิดความต้านทานโรคของพืช (Lubaina and Murugan, 2013)

สำหรับการทดสอบกับต้นคะน้าอายุ 60 วัน ผลเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการทดสอบคะน้าอายุ 40 วัน กล่าวคือ การใช้สารสกัดชุมเห็ดเทศร่วมกับเชื้อรา *Trichoderma* sp. แสดงผลยับยั้งได้ดีกว่า (อยู่ในช่วง 38-44 เปอร์เซ็นต์) การใช้สารสกัดชุมเห็ดเทศเพียงอย่างเดียว (18-24 เปอร์เซ็นต์) สำหรับการใช้สารสกัดจะเห็นได้ว่า มีประสิทธิภาพน้อยกว่าการทดสอบกับคะน้าช่วงอายุ 40 วัน ซึ่งเป็นผลมาจาก หลังฉีดพ่นสารสกัดพืชเกิดฝนตก ทำให้สารสกัดที่ฉีดพ่นถูกน้ำฝนชะล้างออกไปในบางส่วน จึงส่งผลให้ทั้งการใช้สารสกัดเพียงอย่างเดียว หรือการใช่ร่วมกันของสารสกัดพืชและเชื้อรา BCA มีประสิทธิภาพที่น้อยลง แต่อย่างไรก็ตาม ผลการทดสอบจะเห็นได้ว่าประสิทธิภาพการควบคุมโรคของสารสกัดชุมเห็ดเทศร่วมกับ *Trichoderma* sp. จะมีแนวโน้มที่ดีหากใช้ในช่วงพืชที่อายุยังน้อยอยู่ น่าจะได้ผลที่ดียิ่งขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ El-Sharkawy *et al.* (2015) ที่ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของการใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum*,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces viridosporus* และ การใช้เชื้อราร่วมกับแบคทีเรีย เพื่อควบคุมโรคราสนิมในข้าวสาลี ในระยะต้นอ่อน และต้นแก่ พบว่า การใช้เชื้อรา *T. harzianum* ร่วมกับ *S. viridosporus* สามารถลดความรุนแรงของโรคที่เกิดขึ้นได้ดีกว่า (46.7-75 เปอร์เซ็นต์) การใช้เชื้อราเพียงอย่างเดียว (25-36 เปอร์เซ็นต์) หรือการใช้แบคทีเรียเพียงอย่างเดียว (41-50 เปอร์เซ็นต์) และยังพบอีกว่า การใช้ *T. harzianum* ร่วมกับ *S. viridosporus* สามารถลดความรุนแรงของโรคในพืชต้นอ่อน (75 เปอร์เซ็นต์) ได้ดีกว่าต้นแก่ (46.7 เปอร์เซ็นต์) นอกจากนี้ยังพบการรายงานการใช้เชื้อรา *Trichoderma* sp. ร่วมกับสารสกัดจากพืชในการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคของพืช อีกหลายฉบับ เช่น การรายงานของ Adandonon *et al*. (2006) ที่การใช้เชื้อรา *Trichoderma* sp. ร่วมกับสารสกัดมะรุม เพื่อควบคุมเชื้อรา *Sclerotium* sp. สาเหตุโรคเน่าในถั่วพุ่ม (Adandonon *et al*., 2006) หรือการใช้ *Trichoderma* sp. ร่วมกับ สารสกัดกระเทียมและสารเคมี เพื่อควบคุมเชื้อ *Pythium ultimum* สาเหตุโรคกล้าเน่าในต้นมะเขือยาว (Gholve *et al*., 2014) ได้เป็นอย่างดี โดยการใช้เชื้อรา *Trichoderma* sp. ร่วมกับสารสกัดพืช สามารถลดการเกิดโรคได้สูงกว่าการใช้สารสกัดพืชหรือเชื้อรา *Trichoderma* เพียงอย่างเดียว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากการบูรณาการใช้ร่วมกัน เพื่อควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราแล้ว ยังพบอีกว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. สามารถใช้ร่วมกับสารสกัดพืชได้อีกหลายชนิด เพื่อควบคุมไส้เดือนฝอย *Meloidogyne* sp. สาเหตุโรคพืช เช่น สารสกัดใบมะรุม (Muhammad *et al*., 2014), สารสกัดสะเดา, สารสกัดดาวเรือง, สารสกัดผกากรอง และ Rapeseed (Feyisa *et al*., 2015) ได้เป็นอย่างดี ซึ่งน่าจะเป็นเพราะเชื้อรา *Trichoderma* sp. ทนทานต่อสารสกัดพืชและสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชได้ (พรประพา, 2546; สุริยสิทธิ์ และคณะ, 2558 ; Chaparro *et al*., 2011 ; Tapwal *et al*., 2012; Omorusi *et al*., 2014) จึงไม่ถูกสารสกัดพืชหรือสารเคมีดังกล่าวยับยั้งการเจริญ ส่งผลให้ทั้งเชื้อรา *Trichoderma* sp. และสารสกัดพืชแสดงประสิทธิภาพร่วมกันได้เป็นอย่างดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการเก็บตัวอย่างดิน (จากแปลงนาใช้สารเคมี แปลงนาเกษตรอินทรีย์ จังหวัดสุพรรณบุรี และสถานีวิจัยสิ่งแวดล้อม จังหวัดนครราชสีมา) และสารละลายธาตุอาหารพืช (ฟาร์มปลูกผักไฮโดรโปนิกส์ จังหวัดนครราชสีมา) มาทำการแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ผลปรากฏว่าแยกเชื้อราดังกล่าว ได้ทั้งหมด 9 ไอโซเลท (T111So, T114So, T111Sc, T112Sc, T114Kb, T415-2, T121Kh, T515-1 และ T515-2) จากนั้นทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและจัดจำแนกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้ โดยจะศึกษา 2 ลักษณะ คือ macro-characteristics และ micro- characteristics พบว่า เชื้อราทุกไอโซเลท สามารถจัดจำแนกเชื้อราได้ คือ *Trichoderma harzianum* (Kubicek and Harman, 2002; Chaverri and Samuels, 2003)

ผลการประเมินนมหมักทางการค้าจำนวน 4 ชนิด (FM1, FM2, FM3 และ FM4) ในการเป็นปฏิปักษ์ต่อการเจริญทางเส้นใยและการงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืชจำนวน 6 ชนิด คือ *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Helminthosporium* sp., *Pestalotia* sp., และ *Rhizoctonia* sp. พบว่า นมหมักทั้ง 4 ชนิด มีอิทธิพลต่อการเจริญทางเส้นใยและการงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืชทั้ง 6 ชนิด กล่าวคือ การทดสอบนมหมักต่อการเจริญทางเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืช FM2 และ FM4 สามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา *Alternaria* sp., *Curvularia* sp. และ *Helminthosporium* sp. โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 53.3 – 56.6 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมแล้วแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และการทดสอบนมหมักต่อการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรค พบว่า FM2 สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคได้ทุกชนิด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 95 – 100 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับนมหมักอีก 3 ชนิด ที่สามารถยับยั้งได้ 45 – 66 เปอร์เซ็นต์ และจากการคัดเลือกนมหมักที่มีประสิทธิภาพที่ดี เพื่อทดสอบการควบคุมโรคบนใบผักสลัด cos คือ FM2 และ FM4 พบว่า นมหมักทั้ง 2 ชนิด ไม่สามารถลดความรุนแรงของโรคได้ ซึ่งยังเป็นข้อจำกัดในการนำมาใช้

จากผลการประเมินความสามารถในการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ของเชื้อรา *T. harzianum* จำนวน 5 ไอโซเลท ต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 6 ชนิด โดยวิธี Dual culture test พบว่า เชื้อรา *T. harzianum* ทั้ง 5 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชทุกชนิดได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 67.4-77.77 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไอโซเลท T114Kb มีศักยภาพยับยั้งดีที่สุด จึงเหมาะที่จะนำไปทำการทดลองต่อยอด ถึงความทนทานต่อสารสกัดชุมเห็ดเทศ ก่อนที่จะนำไปใช้ร่วมกัน เพื่อใช้ป้องกันกำจัดโรคพืชต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดสอบอิทธิพลของสารสกัดหยาบเอทานอลจากใบชุมเห็ดเทศ จำนวน 3 ระดับความเข้ม (5000, 10000 และ 20000 ppm) ต่อการเจริญทางเส้นใยและการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคพืช 6 ชนิด ได้แก่ *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Helminthosporium* sp., *Pestalotia* sp. และ *Rhizoctonia* sp. พบว่า สารสกัดทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยและการงอกของสปอร์ของเชื้อราดังกล่าวได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งอยู่ในช่วง 16-53 และ 32-94 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญจากชุดควบคุม โดยเฉพาะที่ระดับความเข้มข้นที่ 20000 ppm จะแสดงประสิทธิภาพยับยั้งดีที่สุด ส่วนการทดสอบ สารสกัดหยาบชุมเห็ดเทศจำนวน 3 ความเข้มข้น คือ 5000, 10000 และ 20000 ppm ต่อการเจริญของเชื้อรา *T. harzianum* จำนวน 5 ไอโซเลท พบว่า เมื่อสิ้นสุดการทดลอง เชื้อรา *Trichoderma* sp. ทุกไอโซเลทสามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดชุมเห็ดเทศได้ ซึ่งไม่แตกต่างจากชุดควบคุม ซึ่งแสดงให้เห็นถึงคุณสมบัติที่ดีและเหมาะสมของเชื้อราปฏิปักษ์ที่จะนำไปใช้ร่วมกับสารสกัดจากพืชหรือสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช

สำหรับผลการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ จำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ *T. hazianum* T114Kb, T121Kh, T112Sc, T114So, T.com และ non-pathogenic *Fusarium oxysporum* F221-B ในการควบคุมการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 6 ชนิด (Dual culture assay) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดชุมเห็ดเทศที่ระดับความเข้มข้น 0, 5000 และ 10000 ppm (Poisoned food assay) พบว่า เชื้อราปฏิปักษ์ทุกไอโซเลทที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารสกัดชุมเห็ดเทศ สามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ทุกชนิด อยู่ในช่วง 45.3-69.6 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นแนวโน้มที่ดีที่จำนำไปใช้การป้องกันกำจัดโรคพืช ในระบบไฮโดรโปนิกส์ได้

ผลการทดสอบความเป็นพิษ (Phytotoxicity) ของสารสกัดชุมเห็ดเทศที่ระดับความเข้มข้น 5000, 10000 และ 20000 ppm ต่อต้นคะน้าที่ปลูกในแก้วบรรจุสารละลายธาตุอาหารพืช และในระบบไฮโดรโปนิกส์ พบว่าสารสกัดไม่เป็นพิษต่อต้นคะน้าที่ปลูก โดยไม่พบความผิดปกติของพืชดังกล่าว แสดงถึงแนวทางที่ดีสำหรับนำไปใช้กับต้นพืช เพื่อใช้ป้องกันกำจัดโรคพืชได้

ผลการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ร่วมกับสารสกัดหยาบเอทานอลจากใบชุมเห็ดเทศ (ความเข้มข้น 10000 และ 20000 ppm) ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุใบจุด *Alternaria* ของต้นคะน้าอายุ 40 และ 60 วัน ในระบบไฮโดรโปนิกส์ พบว่า การใช้เชื้อรา *T. harzianum* ร่วมกับสารสกัดชุมเห็ดเทศสามารถลดความรุนแรงของโรคใบจุดได้เป็นอย่างดี โดยลดเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงได้อยู่ในช่วง 55.27-60.24 (คะน้าอายุ 40 วัน) และ 45.93-55.41 (คะน้าอายุ 60 วัน) เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับการใช้สารสกัดชุมเห็ดเทศ หรือ *Trichoderma* sp. เพียงอย่างเดียว ซึ่งน่าจะเป็นเพราะการเสริมฤทธิ์กัน ระหว่างเชื้อรา *Trichoderma* sp. และสารสกัดชุมเห็ดเทศในการลดความรุนแรงของโรคที่เกิดขึ้น อย่างไรก็ตาม จะเห็นได้ว่า จะมีแนวที่ดี หากใช้กับพืชที่อายุน้อย ยิ่งจะได้ผลที่ดีขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองที่กล่าวมาข้างต้นพอที่จะสรุปได้ว่า 1) เชื้อรา *Trichoderma* sp. มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ อีกทั้งมีความทนทานต่อสารสกัดชุมเห็ดเทศได้เป็นอย่างดี ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ดีของเชื้อราดังกล่าว ที่จะนำไปใช้ควบคุมเชื้อราสาเหตุโรค และศึกษาต่อยอดต่อไป 2) สารสกัดชุมเห็ดเทศทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยและการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ระดับความเข้มข้นสูง (20000 ppm) มีประสิทธิภาพยับยั้งได้ดีที่สุด อีกทั้งสารสกัดดังกล่าวไม่เป็นพิษต่อต้นคะน้าในทุกช่วงอายุที่ทดสอบ จึงเหมาะที่จะนำไปใช้ร่วมกับเชื้อรา *Trichoderma* sp. 3) การใช้เชื้อรา *Trichoderma* sp. ร่วมกับสารสกัดชุมเห็ดเทศ ทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและ ระบบไฮโดรโปนิกส์ สามารถควบคุมเชื้อราและโรคได้

ข้อเสนอแนะ

1. จากการศึกษาในครั้งนี้จะเห็นได้ว่า การใช้เชื้อรา *Trichoderma* sp. ร่วมกับสารสกัดชุมเห็ดเทศเพื่อควบคุมโรคใบจุดในคะน้าในระบบไฮโดรโปนิกส์ มีประสิทธิภาพประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ อาจเป็นผลมาจากสภาพภูมิอากาศที่ร้อน (ก่อนทำการทดลอง) และฝนตก (หลังฉีดพ่นสารสกัด) จึงทำให้ประสิทธิภาพยังไม่ชัดเจน ดังนั้นควรทำการศึกษาอีกครั้ง ในสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญของพืช เพื่อยืนยันถึงประสิทธิภาพในการใช้เชื้อรา *Trichoderma* sp. ร่วมกับสารสกัดชุมเห็ดเทศในการควบคุมโรคใบจุดคะน้า
2. จากผลการทดลอง ควรทำการศึกษาถึงความคงทนของประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* sp. และสารสกัดชุมเห็ดเทศ ในระบบไฮโดรโปนิกส์ ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้า เพื่อเป็นแนวทางในการบูรณาการใช้ร่วมระหว่างเชื้อราและสารสกัดในสภาพจริง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กรมการข้าว. 2552. **โรคเมล็ดด่าง**. [ออนไลน์] เข้าที่: http://phon.khonkaen.doae.go.th/data/rice.pdf (26 มกราคม 2559)

ขวัญใจ กนกเมธากุล, สมเดช กนกเมธากุล และ เกษม สร้อยทอง. 2537. การทดสอบสารสกัดจากพืชบางชนิดในสกุล *Cassia* L. ต่อเชื้อรา. **วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น** 20-22(3-3): 112-119.

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี. 2558. **ชุมเห็ดเทศ**. [ออนไลน์] เข้าถึง: http://www.rspg.or.th/plants_data/herbs/herbs_05_3.htm (10 พฤษภาคม 2558)

จิตรา กิตติโมรากุล, วสันณ์ เพชรรัตน์ และเสมอใจ ชื่นจิตต์. 2557. การควบคุมเชื้อ *Curvularia oryzae* สาเหตุโรคใบจุดในปาล์มน้ำมัน โดยการใช้สารเคมีและชีววิธี. **วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์** 1(1): 39-47.

เชิดชาย ปันจัยสีห์. 2547. การคัดเลือกเชื้อราบนผิวใบพืชตระกูลผักกาดเพื่อใช้ควบคุมโรคใบจุด ของคะน้าที่เกิดจากเชื้อ *Alternaria brassicicola* โดยชีววิธี. **วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่**. 119 หน้า

ฐานข้อมูลเครื่องยาสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 2558. **ชุมเห็ดเทศ**. [ออนไลน์] เข้าถึง http://www.thaicrudedrug.com/main.php?action=viewpage&pid=53 (10 พฤษภาคม 2558)

ฐานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 2558. **ชุมเห็ดเทศ**. [ออนไลน์] เข้าถึง http://www.phargarden.com/main.php?action=viewpage&pid=40 (10 พฤษภาคม 2558)

ณัฐสุดา บรรเลงสวรรค์. 2553. การป้องกันโรคใบจุดอัลเทอนาเรีย และโรคเหี่ยวฟิวซาเรี่ยมของพริกและมะเขือเทศโดยการใช้เชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ และเชื้อรา *Trichoderma harzianum*. **วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่**. 116 หน้า

ธิติ ทองคำงาม พรหมมาศ คูหากาญจน์ และถนิมนันต์ เจนอักษร. 2556ก. การประเมินความสามารถในการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ในสภาพห้องปฏิบัติการของ *Trichoderma* ไอโซเลท ต่อเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* สาเหตุโรคเหี่ยวของผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์. **วารสารเกษตรพระจอมเกล้า** 31 (3): 57-67.

ธิติ ทองคำงาม, พรหมมาศ คูหากาญจน์ และถนิมนันต์ เจนอักษร. 2556ข. ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* (F 221-B) ในด้านส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช 6 ชนิด ในระบบไฮโดรโพนิกส์ และลักษณะการเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ. ใน **รายงานการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก ครั้งที่ 6**. โรงแรมชลจันทร์ พัทยา รีสอร์ท ชลบุรี. หน้า 46-51.

นพวรรณ นิลสุวรรณ. 2550. ความหลากหลายของเชื้อรา *Helminthosporium* complex และความสามารถในการใช้ควบคุมวัชพืชโดยชีววิธี. **วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา**. 125 หน้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พรประพา คงตระกูล. 2546. การศึกษาศักยภาพการปลูก โรค และแนวทางการป้องกันกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคที่พบ ของโหระพา (*Ocimum basilicum* L.) ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินแบบ Deep Flow Technique (DFT). **วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง**. 110 หน้า.

พิสุทธิ์ พวงนาค, เมธี รุ่งโรจน์สกุลม สณี ตันติกุล และสรัญญา สิตะพงษ์. 2548. **ศักยภาพของสารสกัดจากวัชพืชต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Curvularia lunata***. [ออนไลน์] เข้าถึง http://plantpro.doae.go.th/disease-research/P-38.pdf. (30 มีนาคม 2558)

พีระวรรณ พัฒนาวิภาส, ทัศนาพร ทัศคร และ ธารทิพย ภาสบุตร. 2553. **สำรวจ รวบรวม และจำแนกเชื้อราสกุล *Curvularia* spp**. [ออนไลน์] เข้าถึง: http://www.doa.go.th/research/attachment.php?aid=705 (20 พฤษภาคม 2558)

แพรทอง ละมุล จิระเดช แจ่มสว่าง วรรณวิไล อินทนู และธรรมศักดิ์ ทองเกตุ. 2548. อิทธิพลของการปรับค่าสารละลายธาตุอาหารต่อประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์. ใน **รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 7** : อารักขาพืช เพื่อคุณภาพชีวิตและสิ่งแวดล้อม. 2-4 พฤศจิกายน 2548. โรงแรมโลตัส ปางสวนแก้ว จังหวัดเชียงใหม่.

มาลาตี ประดับญาติ, นงลักษณ์ เภรินทวงค์ และณนิมนันต์ เจนอักษร. 2556. การทดสอบความสามารถในการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ในสภาพห้องปฏิบัติการของ *Trichoderma* spp. ต่อเชื้อรา สาเหตุโรคใบจุดของผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์. ใน **รายงานการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก ครั้งที่ 6** ชลบุรี.

วสันณ์ เพชรรัตน์, เสมอใจ ชื่นจิตต์และนพวรรณ นิลสุวรรณ. 2549. **ความหลากหลายของเชื้อรา *Helminthosporium* complex และความสามารถในการใช้ควบคุมวัชพืชโดยชีววิธี**. [ออนไลน์] เข้าถึง: http://natres.psu.ac.th/researchcenter/websitebio/research49/weed49.pdf. (30 มีนาคม 2558)

วันทนี สว่างอารมณ์ และ พาฝัน จันทร์เล็ก. 2555. การเปรียบเทียบผลของสารสกัดจากสมุนไพรต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli.* **ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์** ปีที่ 12.

วานิด รอดเนียม. 2552. การคัดเลือกและการเตรียมสูตรสำเร็จ *Bacillus subtilis* เพื่อควบคุมโรคใบจุดที่เกิดจาก *Alternaria longiper* ในผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์. **วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาการจัดการทรัพยากรดิน มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์**. 111 หน้า.

วิพรพรรณ์ เนื่องเม็ก และ รัตนาภรณ์ นครไชสง. 2557. การศึกษาการป้องกันกำจัดโรคใบจุดของผักกาดหอมในระบบการปลูกแบบไฮโดรโปนิกส์ด้วยสารสกัดสมุนไพร **วารสารนเรศวรพะเยา** 7(2): 131-136.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ศิริรัตน์ ศิริพรวิศาล. 2550. **การศึกษาความหลากหลายของรา *Bipolaris oryzae* และความสัมพันธ์ต่อการเกิดโรคใบจุดสีน้ำตาลในพื้นที่เพาะปลูกข้าวนาปรัง จังหวัดพระนครศรีอยุธยา**. [ออนไลน์] เข้าถึง: http://e-book.ayutthayastudies.aru.ac.th/Pdf/Sirirat_Report.pdf. (30 มีนาคม 2558)

ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี. 2556. **เทคโนโลยีการผลิตมังคุดเพื่อการส่งออก**. [ออนไลน์] เข้าถึง http://www.doa.go.th/hrc/chantaburi/images/files/tecno_mgst3.pdf. (30 มีนาคม 2558)

ยศิวรรณ เรื่อศรีจันทร์. 2558. **โรคใบติดทุเรียน** [ออนไลน์] เข้าถึง: http://www.trat.doae.go.th/data/warn/warn114.pdf?filename=index. (30 มีนาคม 2558)

สนอง ทองปาน. 2553. การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. เพื่อควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่า ของต้นราชินีหินอ่อน *Scindapsus aureus* ที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* (Dastur.). **วารสารสิ่งแวดล้อม** 1(1): 73-83.

สำนักงานข้อมูลสมุนไพร. 2558. **ชุมเห็ดเทศ**. [ออนไลน์] เข้าถึง: http://www.medplant.mahidol.ac.th/pubhealth/cassiaal.html. (10 พฤษภาคม 2558)

สุคนธ์ทิพย์ สมบัติ, วรัญญา มาลี, อลงกต โพธิ์ดี, คมศร แสงจินดา และชมัยพร บัวมาศ. 2557. ศึกษามาตรการสุขอนามัยพืชในการส่งออกผลมะพร้าวอ่อน หน้า 2516-2530. *ใน*: สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช (ผู้รวบรวม), **รายงานผลงานวิจัย ประจำปี 2557 เล่มที่ 4**, กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สุริยสิทธิ์ สมนึก และถนิมนันต์ เจนอักษร. 2557. การประเมินคุณสมบัติของนมหมักในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืช. 15-22. *ใน* **รายงานการประชุมวิชาการเกษตรนเรศวร ครั้งที่ 12**. มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก.

สุริยสิทธิ์ สมนึก, ไพลิน เนินหาด, ทิพปะภา เมฆพัฒน์ และถนิมนันต์ เจนอักษร. 2558. อิทธิพลของน้ำคั้นชุมเห็ดเทศ (*Cassia alata* L.) ต่อเชื้อราปฏิปักษ์และเชื้อราสาเหตุโรคพืชผัก. **วารสารเกษตรพระจอมเกล้า** (พิเศษ) 735-744.

โสภา จอมอิ่น, อังสนา อัครพิศาล, ชาตรี สิทธิกุล และ ชาญณรงค์ ดวงสะอาด. 2552. ประสิทธิภาพของเชื้อราไตโรคเดอร์มาที่รวบรวมได้จากจังหวัดเชียงใหม่ในการควบคุมเชื้อรา *Sclerotium rolfsii*. **วารสารเกษตร** 25(1): 21-29.

อดิศร กระแสชัย. 2547. **คู่มือการแก้ปัญหาโรคและแมลงของไม้ตัดดอก ไม้ตัดใบและไม้กระถาง**. มูลนิธิโครงการหลวง. 101 หน้า.

อรพรรณ วิเศษสังข์ และจุมพล สาระนาค. 2558. **โรคพืชผักและการป้องกันกำจัด**. สยามคัลเลอร์พริน. กรุงเทพมหานคร. 164 หน้า.

Abubacker, M.N., Ramanathan, R. and Kumar, S.T. 2007. *In vitro* antifungal activity of *Cassia alata* Linn. flower extract. **Natural Product Radiance** 7(1): 6-9.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Adandonon, A., Aveling, T.A.S., Labuschagne, N. and Tamo, M. 2006. Biocontrol agents in combination with *Moringa oleifera* extract for integrated control of Sclerotium-caused cowpea damping-off and stem rot. **European Journal of Plant Pathology** 115(4): 409-418.

Akanmu, A.O., Abiale, M.A., Akanmu, A.D., Mudiaga P.M. and Odebode, A.C. 2013. Plant extracts abated pathogenic *Fusarium* species of millet seedlings. **Archives of Phytopathology and Plant Protection** 46(10): 1189-1205.

Akrofi, A.Y. and Amoah, F.M. 2009. *Pestalotia* spp. causes leaf spot of *Vitellaria paradoxa* in Ghana. **African Journal of Agricultural Research** 4 (4): 330-333.

Alalor, C.A., Igwilo, C.I. and Jeroh, E. 2012. Assessment of antifugal potential of aqueous and methanol extracts of *Cassia alata*. **Asian Journal of Biological Science** 5(2): 120-125

Alam, M.T., Karim, M.M. and Shakila, N.K. 2009. Antibacterial activity of different organic extracts of *Achyranthes aspera* and *Cassia alata*. **Journal of Scientific Research** 1(2): 393-398.

Amin, F., Razdan, V. K., Mohiddin, F. A., Bhat, K. A. and Sheikh, P. A. 2010. Effect of volatile metabolites of *Trichoderma* species against seven fungal plant pathogens in-vitro. **Journal of Phytology** 2(10): 34-37

Anese, S., Grisi, P.U., Jatoba, L.J., Pereira, V.C. and Gualtieri, S.C.J. 2015. Phytotoxic activity of different plant parts of *Drimys brasiliensis* MIERS on germination and seedling development. **Bioscience Journal** 31(3): 923-933.

Asma Seleh, W. E., Hassan, Z., Mokhtar, A. and Aween, M. 2012. Efficacy of *Lactobacillus plantarum* C5 cell and their supernatant against *Colletotrichum gloeosporioides* on germination rate of chilli seeds. **Research Journal of Biological Sciences** 7 (4):159-164.

Benoit, F. 1992. **Practical guide for simple soilless culture techniques**. European vegetable R&D center. Sint-katelijne-water, Belgium 71 pp.

Booth, C. 1977. **Fusarium: laboratory guide to the identification of the major species**. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, 58 pp.

Chaleeprom, W. 2013. **Fungi group**. [online] Available: http://plantdisease.bettergreat.com/doku.php?id=photo:rice1 (30 March 2015)

Chaparro, A. P., Carvajal L.H. and Orduz, S. 2011. Fungicide tolerance of *Trichoderma asperelloides* and *T. harzianum* strains. **Agricultural Science Journal** 2(3): 301-307.

Chaverri, P. and Samuels, G.J. 2003. *Hypocrea/Trichoderma* (Ascomycota, Hypocreales, Hypocreaceae): species with green ascospores. **Studies in Mycology** 48:1–116

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Cumagun, C.J.R., Hockenhull, J. and Lubeck, M. 2000. Characterization of *Trichoderma* isolate from Philippine rice fields by UP-PCR and rDNA-ITS1 analysis: Identification of UP-PCR markers. **Journal of Phytopathology** 148: 109-115.

Daly, A. and Walduck, G. 2006. ***Fusarium* wilt of banana (Panama Disease)**. Northern Territory Government. 151 pp.

Dennis, C. and Webster, J. 1971. Antagonistic properties of species - groups of *Trichoderma*. I: Production of non-volatile antibiotics. **Transactions of the British Mycological Society** 57: 25-39.

Elad, Y., I. Chet and Y. Henis. 1981. A selective medium for improving quantitative isolation of *Trichoderma* spp. from soil. **Phytoparasitica** 9(1): 59-67.

El-Sharkawy, H.H.A., Tohamey, S. and Khalil, A.A. 2015. Combined effect of *Streptomyces viridosporus* and *Trichoderma harzianum* on controlling wheat leaf rust caused by *Puccinia triticina*. **Plant Pathology Journal** 14(4): 182-188.

Feyisa, B., Lencho, A., Selvaraj, T. and Getaneh, G. 2015. Evaluation of some botanicals and *Trichoderma harzianum* for the management of tomato root-knot nematode (*Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chit Wood). **Advances in Crop Science and Technology** 4(1).

Gholve, V.M., Tatikundalwar, V.R., Suryawanshi, A. P. and Utpal, D. 2014. Effect of fungicides, plant extracts / botanicals and bioagents against damping off in brinjal. **African Journal of Microbiology Research** 8(30): 2835-2848.

Goswami, B.K., Bhuiyan, K.A. and Mian, I.H. 2010. Morphological and pathogenic variations in the isolates of *Rhizoctonia solani* in Bangladesh. **Bangladesh Journal of Agricultural** 35(3): 375-380.

Gverroska, B. and Ziberoski, J. 2012. *Trichoderma harzianum* as a biocontrol agent against *Alternaria alternata* on tobacco. **Applied Technologies and Innovation** 7(2): 67-76.

Hennebelle, T., Weniger, B., Joseph, H., Sahpaz, S. and Bailleul, F. 2009. *Senna alata*. **Fitoterapia** 80. 385-393.

Jat, J.G. and Agalave, H.R. 2013. Antagonistic properties of *Trichoderma* species against oilseed-borne fungi. **Science Research Reporter** 3(2): 171-174.

Juliana, B.O., Marco, G.A., Isaías, O.G. and Luis, E.A.C. 2005. New resistance genes in the *Zea mays* - *Exserohilum turcicum* pathosystem. **Genetics and Molecular Biology** 28(3): 435-439.

Kazmi, M. H., Malik, A., Hameed, S., Akhtar, N. and Samina, N.A. 1994. An anthraquinone derivative from *Cassia italica*. **Phytochemistry** 36 (3), 761-763.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Khan, M. R., M. Kihara and A. D. Omoloso. 2001. Antimicrobial activity of *Cassia alata*. **Fitoterapia** 75 (2), 561-564.

Kubicek, C.P. and Harman, G.E. 2002. ***Trichoderma* and *Gliocladium*: Basic Biology, Taxonomy and Genetics, Volume1**. Taylor and Francis Ltd, 278 pp.

Kuri, S.K., Islam, M.R., and Mondal, U. 2011 Antifungal potentiality of some botanical extracts against important seedborne fungal pathogen associated with brinjal seeds, *Solanum melongena* L. **Journal of Agricultural Technology** 7(4): 1139-1153.

Lavermicocca, P., Valerio, F., Evidente, A., Lazzaroni, S., Corsetti, A. and Gobbetti, M. 2000. Purification and characterization of novel antifungal compounds from the sourdough *Lactobacillus plantarum* Strain 21B. **Applied and Environmental Microbiology** 66(9): 4084-4090.

Lewis, J.A. and Lumsden, R.D. 2001. Biocontrol of damping of greenhouse-grown crops caused by *Rhizoctonia solani* with a formulation of *Trichoderma* spp. **Crop Protection** 20: 49-56.

Lubaina, A. S. and Murugan, K. 2013. Physiological and biochemical characterization of *Senna alata* (L.) Roxb. leave extract- A plant based fungicide against *Alternaria* leaf spot in sesame. **World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences** 2(6): 5790-5801.

Moustafa, M.S.H., Hala, A.M.E. and Asmaa, M.A.A. 2015. Pestalotia leaf spot a new disease affect guava trees in Egypt. **International Journal of Scientific & Engineering Research** 6(10): 1306-1312.

Muhammad M., Nazir, J., Sajid, A. K., Hafiz, U. K., Huma A. and Muhammad, K. 2014. Combined efficacy of *Moriga oleifera* leaves and fungus, *Trichoderma harzianum* against *Meloidgyne javanica* on eggplant. **Pakistan Journal of Zoology** 46(3): 827-832.

Muhialdin, B.J. and Hassan, Z. 2011. Screening of lactic acid bacteria for antifungal activity against *Aspergillus oryzae***. American Journal of Applied Sciences** 8(5): 447-451.

Odunbaku, O.A and Ilusanya, O.A.F. 2011. Synergistic effect of ethanol leaf extract of *Senna alata* and antimicrobial drugs on some pathogenic microbes. **Advances in Environmental Biology** 5(8): 2162-2165.

Ogunjobi, A.A. and Abiala, M.A. 2013. Antimicrobial activity of *Senna alata* and *Phyllanthus amarus*. **Global Journal of Pharmacology** 7(2): 198-202.

Okoth, S. A., Roimen, H., Mutsotso, B., Muya E. and Okoth, P. 2007. Land use systems and distribution of *Trichoderma* species in Embu region, Kenya. **Tropical and Subtropical Agroecosystems** 7: 105-112.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Omorusi, V.I., Bosah B.O., Eguavoen I.O., Osemwengie O., Ogbebor N.O. and Igeleke C.L. 2014. Inhibitory efficacy of some potential leaf extract on some root panthogens. **America Journal of Research Communication** 2(11): 114-125.

Ou, S.H. 1985. **Rice Diseases.** 2nd edition. Commonwealth Mycological Institute Kew, Survey, England, 380 pp.

Owoyale, J.A., Olatunji, G.A. and Oguntoye, S.O. 2005. Antifungal and antibacterial activities of an alcoholic extract of *Senna alata* leaves. **Journal of Applied Sciences and Environmental Management** 9 (3): 105-107.

Ozbay, N. and Newman, S. E. 2004. Biological control with *Trichoderma* spp. with emphasis on *Trichoderma harzianum*. **Pakistan Journal of Biological Science** 7(4): 478-484.

Patil, A., Laddha, A., Lunge, A., Paikrao, H. and Mahure, S. 2012. In vitro antagonistic properties of selected *Trichoderma* species against tomato root rotcausing *Pythium* species. **International Journal of Science, Environment** 1(4): 302-315.

Pattanamahakul, P. and Strange, R.N. 1999. Identification and toxicity of *Alternaria brassicicola,* the causal agent of dark leaf spot disease of *Brassica* species grown in Thailand. **Plant Pathology** 48: 749-755.

Pradubyart, M., Parinthawong, N. and Jaenaksorn, T. 2013. In vitro screening of antagonistic *Trichoderma* sp. against pathogenic fungi causing leaf spot of vegetable crop grown in hydroponics**.** *in* **Proceedings of 6th Rajamangala University of Technilogy Tawan-ok Research Conference**: 52-57.

Rahman, S., Adhikary, S. K., Sultana, S., Suraiya Y. and Nusrat, J. 2013. *In vitro* evaluation of some selected fungicides against *Pestalotia palmarum* (Cooke.) causal agent of grey leaf spot of coconut. **Journal of Plant Pathology and Microbiology** 4(9).

Reddy, T. R., Reddy, P. N., Reddy, R. R. and Reddy, S. S. 2013. Management of Turcicum leaf blight of maize caused by *Exserohilum Turcicum* in maize. **International Journal of Scientific and Research Publications** 3(10): 2013.

Rinez, A., Ladhari, A., Omezzine, F., Rinez I. and Haouala, R. 2011. Phytotoxicity of *Nicotiana glauca* Graham aqueous extracts, a Tunisian invasive plant. *in* **3rd International Symposium on Weeds and Invasive Plants**, October 2-7, 2011 in Ascona, Switzerland.

Rojan, P J., Tyagi, R.D., Prevost, D., Brar, S.K., Pouleur, S. and Surampall, R.Y. 2010. Mycoparasitic *Trichoderma viride* as a biocontrol agent against *Fusarium oxysporum* f.sp. *adzuki* and *Pythium arrhenomanes* and as a growth promotor of soy bean. **Crop Protection** 29:1452-1459.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Saheli, C., Sabyasachi, C.and Sikha, D. 2012. An overview on the ethnophytopathological studies of *Cassia alata* - an important medicinal plant and the effect of VAM on its growth and productivity. **International Journal of Research in Botany** 2(4): 13-19

Sarkar, E., Chatterjee, S.N. and Charaborty, P. 2012. Allelopathic effect of *Cassia tora* on seed germination and growth of mustard. **Turkish Journal of Botany** 36: 488-495.

Somchit, M.N., Mutalib, A.R., Ruddy Hasmawie, M. and Murni, A. 2001. In vitro antifungal and antibacterial properties of Euphorbiahirta. **Journal of Tropical Medicinal Plants** 2 (2): 179-182.

Somnuek S., Kongtragoul P. and Jaenaksorn T. 2015. Assessment of the antagonistic activity of *Trichoderma* spp. from five different habitats on plant pathogenic fungi. *in* **Proceedings of 2nd International Symposium on Agricultural Technology** at A-One The Royal Cruise Hotel Pattaya, Thailand July 1-3, 2015.

Sreedevi, B., Devi, C.M. and Saigopal, D.V.R. 2011. Isolation and screening of effective *Trichoderma* spp. against the root rot pathogen *Macrophominaphaseolina*. **Journal of Agricultural Technology** 7(3): 623-635.

Tapwal, A., Kumar, R., Gautam, N. and Pandey, S. 2012. Compatibility of *Trichoderma viride* for seleced fungicides and botanicals. **International Journal of Plant Pathology**.

Thongkamngam, T. and Jaenaksorn, T. 2015. Colonization of plant root and punctured surface tissue by non-pathogenic and pathogenic *Fusarium oxysporum*. *in* **Proceedings of 2nd International Symposium on Agricultural Technology** at A-One The Royal Cruise Hotel Pattaya, Thailand July 1-3, 2015

Thongkamngam, T. and Jaenaksorn, T. 2016. Efficacy of culture filtrate from *Fusarium oxysporum* F221-B against plant pathogenic fungi in vitro and Fusarium root rot and wilt disease in hydroponics. **Agricultural Technology International Journal** 12(3): 513-526.

Timothy, S.Y., Wazis, C. H. and Maspalma, I. D. 2012. Antifungal activity of aqueous and ethanolic leaf extract of *Cassia alata* Linn. **Journal of Applied Pharmaceutical Science** 2(7) 182-185.

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

Wang, H., Yun, H., Shin, J., Huang, L., Zhang, H. and Qi, W. 2011. Activity against plant pathogenic fungi of *Lactobacillus plantarum* IMAU10014 isolated from Xinjiang koumiss in China. **Annals of Microbiology** 61:879-885.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Wongkaew, P. and W. Sinsiri. 2014. Effectivenss of ringworm cassia and turmeric plant extracts on growth inhibition against some important plant pathogenic fungi. **American Journal of Plant Sciences** 5:615-626.

Zakaria M. H. 1989. Some Aspects of the biology and chemically assisted biological control of *Ganoderma* species in Malaysia, Ph.D. thesis, University of Putra, Malaysia.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA)

Potato	200	g
Dextrose	20	g
Agar	18	g
Water	1	L

อาหารเลี้ยงเชื้อ *Trichoderma* selective media (ดัดแปลง Elad *et al*., 1981)

$MgSO_4$ $7H_2O$	0.2	g
K_2HPO_4	0.9	g
KCL	0.15	g
$NH4NO_3$	1	g
Glucose	3	g
Rose bengal	0.15	g
Captan	20	g
Matalaczul	0.1	g
Agar	18	g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

รายละเอียดสารละลายธาตุอาหารที่ใช้ในการทดลอง

สารละลายธาตุอาหารพืชที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ เป็นสูตรสำหรับผักที่ใช้ใบรับประทาน ของ Benoit (1992) ซึ่งมีส่วนผสมดังนี้

สารละลาย A (ต่อน้ำ 10 ลิตร)

$CaNO_3$	670	g
KNO_3	296	g
Fe-EDDHA	50	g

สารละลาย B (ต่อน้ำ 10 ลิตร)

KNO_3	296	g
$KH2PO_4$	177	g
$MgSO_4$	160	g

จุลธาตุ

NICK SPRAY	30	g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
ผลงานที่ลงตีพิมพ์เผยแพร่

Somnuek S., Kongtragoul P. and Jaenaksorn T. 2015. Assessment of the antagonistic activity of *Trichoderma* spp. from five different habitats on plant pathogenic fungi. *in* **Proceedings of 2nd International Symposium on Agricultural Technology** at A-One The Royal Cruise Hotel Pattaya, Thailand July 1-3, 2015.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2nd International Symposium on Agricultural Technology (ISAT2015)
Oral Full Papers
O-29

Assessment of the Antagonistic Activity of *Trichoderma* spp. from Five Different Habitats on Plant Pathogenic Fungi

Suriyasit SOMNUEK[1]* Pornprapa KONGTRAGOUL[2] and Tanimnun JAENAKSORN[1]

[1]Department of Plant Production Technology, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, Thailand
[2]Program in Horticulture, Department of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Prince of Chumphon Campus, Chumphon, Thailand
*Corresponding email: suriyasitsom@gmail.com

ABSTRACT

The antagonistic efficacy of *Trichoderma* spp. from five different habitats (T121Kh, T114Kb, T114So, T112Sc and commercial *Trichoderma*) were determined on mycelial growth of six plant pathogenic fungi, namely *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Helminthosporium* sp., *Pestalotia* sp., and *Rhizoctonia* sp. by dual culture test. The results showed that all tested *Trichoderma* spp. had potential to inhibit the mycelial growth of all tested pathogens. T114Kb showed the highest growth inhibition on *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Helminthosporium* sp. and *Rhizoctonia* sp. in the range of 67.40-77.77 percent and followed by commercial *Trichoderma* with 64.81-77.40 percent inhibition against *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Helminthosporium* sp. and *Rhizoctonia* sp. regarding antagonistic mechanism, antibiosis and competition mechanism were shown. Therefore, these tested *Trichoderma* spp. can be used for further studies on *in vivo* to confirm the feasibility of using in plant disease control.

Keywords: *Trichoderma* spp., Antagonists, Plant pathogenic fungi

Introduction

Fungi are responsible for approximately more than 70% of all major crop diseases (Agrios, 2005). Plant diseases that are caused by fungi reduce the crops, create markings, affect the flowers and fruits, finally causing death of the plant. In recent years, there has been a growing trend towards the search for alternatives to chemical pesticides in many crops (Walter, 2009) due to the harmful effect of chemical to human and environment. In regard to the control of such plant diseases, biological control is considered as one of the more reliable, sustainable, eco-friendly approaches to the management of plant disease. *Trichoderma* fungi are the most popular agents used in a biological control (Monte, 2001; Gveroska and Ziberoski, 2012). Before the application of biocontrol agent, it is however necessary to first do various *in vitro* studies such as impact of each species of biocontrol agent on each pathogen. Therefore, the purpose of this study was to determine the antagonistic effect of indigenous *Trichoderma* spp. from different habitats in Thailand on 6 genera of plant pathogenic fungi in laboratory condition.

Materials and Methods

Antagonistic fungi. The tested *Trichoderma* isolates were obtained from different habitats in Thailand. These include T121Kh and T114Kb from nutrient solution in hydroponics farm and forest soil at Nakhon-Ratchasima province, T114So and T112Sc from clay soil in organic and chemical rice field in Suphanburi province, respectively. While, T. com was obtained from commercial product.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Plant pathogenic fungi. Six genera of plant pathogenic fungi (*Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Helminthosporium* sp., *Pestalotia* sp., *Fusarium* sp. and *Rhizoctonia* sp.) were provided by Plant Pathology Laboratory, Department of Plant Production Technology, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok Thailand.

Antagonism assessment. The antagonistic activities of all *Trichoderma* spp. isolates were tested determined by dual culture technique. The experimental design used was a completely randomized with five replications for each isolates. A mycelial plug (5 mm in diameter) from the margin of 3 day-old culture of *Trichoderma* spp. and 7 day-old culture of plant pathogenic fungi were placed opposite to each other equidistant from the periphery (2 cm). In control plates, an agar plug of only *Trichoderma* (without pathogen) or only plant pathogenic fungi (without *Trichoderma*) was placed on the PDA plates. All plates were incubated at room temperature. Diametrical growth of pathogen isolates was daily measured and the percentage of growth inhibition (GI) was calculated in relation to growth of the controls without *Trichoderma* as follows: Growth inhibition percentage (GI) (%) = [(CP-T)/CP] × 100; where GI is inhibition of diametrical mycelial growth; CP is the diameter of colony measurement of each plant pathogenic fungi in the control; T is the diameter of colony of the pathogen the presence of *Trichoderma* isolates.

Results and Discussion

Antagonistic activities of *Trichoderma* spp. from 5 different habitats were determined against mycelia growth of 6 plant pathogenic fungi by dual culture test. The results showed that all tested *Trichoderma* spp. presented antagonistic potential against all tested fungi from the early stage of incubation (3 DAI) and their potentialities on inhibiting fungal growth varied among tested fungi in the range of 8.5-49 % through mostly antibiosis mechanism (Figure 1). At the end of incubation (9 DAI), all 5 isolates of *Trichoderma* spp. were capable of influencing the growth of all tested pathogens (64.44-77.77 % growth inhibition) and their antagonistic activities were significantly different in all tested pathogens except in *Alternaria* sp. Overall, T114Kb from forest soil was found to be more efficient in influencing the growth of tested pathogens through competition mechanism with marked inhibitory effect on mycelial growth of all test fungi (in the range of 67.4-77.77 %) except for *Pestalotia* sp., while T114So from clay soil of organic rice field was shown to induce the maximum inhibition of growth of *Pestalotia* sp. (76.66%) as well as *Alternaria* sp. (77.77%) and *Curvularia* sp. (73.33%) (Figure 1, 2). Besides, no deformations of pathogen hyphae were observed under microscopic observations implying that test *Trichoderma* spp. having no exploitation mechanism. Fungi of the genus *Trichoderma* have long been recognized for their ability to act as biocontrol agents against plant pathogens (Harman, 2006; Gveroska and Ziberoski, 2012; Patil *et al*., 2012; Jat and Agalave, 2013). In present study, we found *Trichoderma* from forest soil (T114Kb) and from clay soil of organic rice field (T114So) were having quite high antagonistic activity (64.44-77.77 %) against test pathogens which were in line with the other researches being revealed that *Trichoderma* spp. gave the highest inhibition on growth of *Alternaria* sp. (73.56%), *Curvularia* sp. (68.22%) (Pradubyart *et al*., 2013) and *F. oxysporum* (73%) (Thongkamngam *et al*., 2013).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

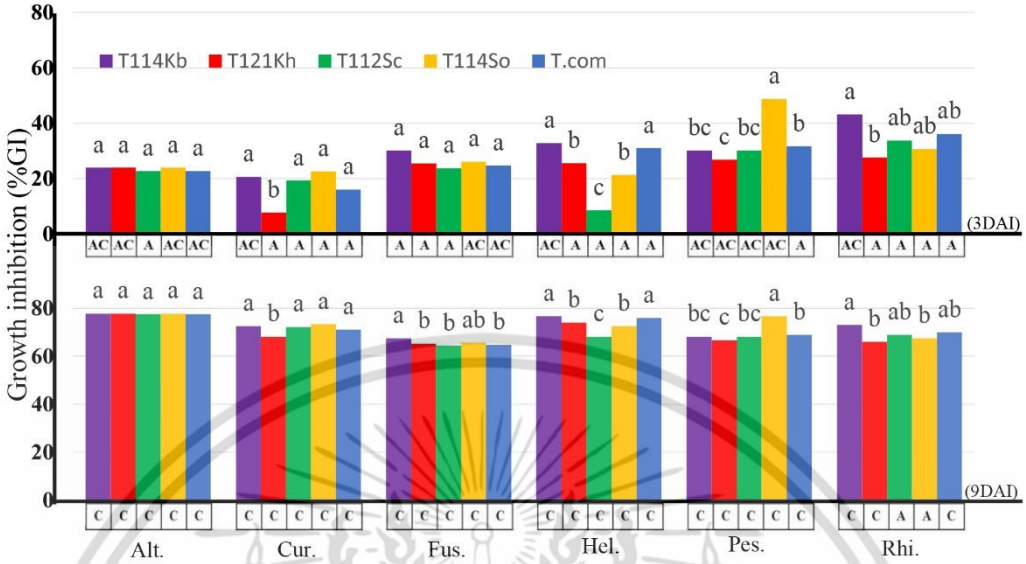


Figure 1 Antagonistic activity of *Trichoderma* spp. on plant pathogenic fungi by dual culture test at 3 DAI and 9 DAI. ; Alt. = *Alternaria* sp., Cur. = *Curvularia* sp., Fus. = *Fusarium* sp., Hel. = *Helminthosporuim* sp., Pes. = *Pestalotia* sp. and Rhi. = *Rhizoctonia* sp.; Values are means of five replicates. The same letter on column bars with in each pathogen are not different significantly according to Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ($P \leq 0.05$); A = Antibiosis, C = Competition mechanism

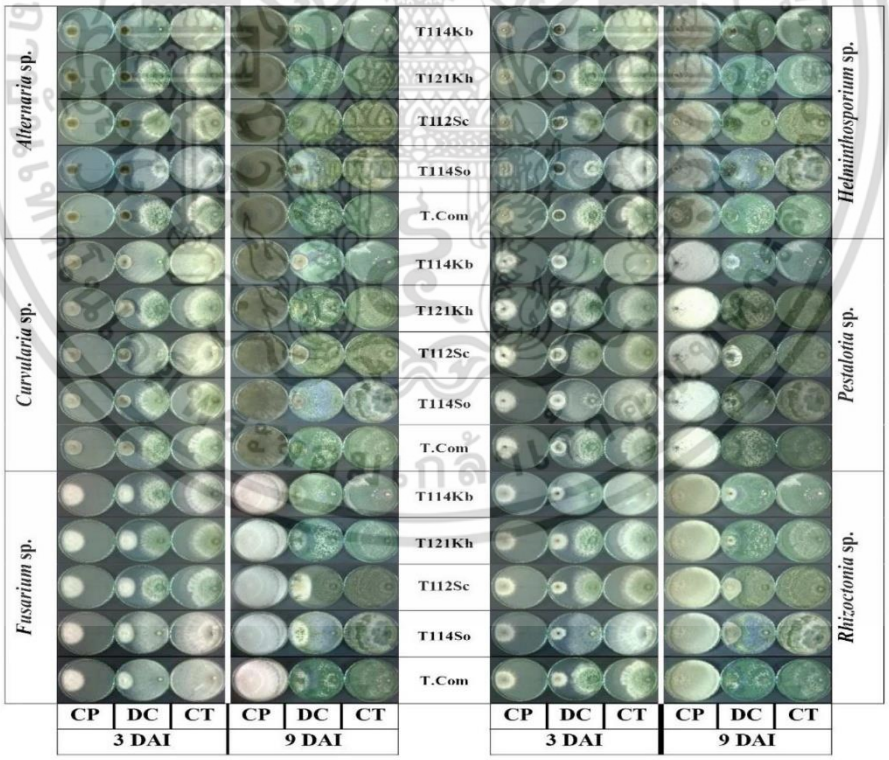


Figure 2 Dual-culture of *Trichoderma* spp. against plant pathogenic fungi at 3 and 9 DAI. CP = Control pathogen plate; DC = Dual culture plate; CT = Control *Trichoderma* plate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Conclusion

This study confirms *in vitro* biological activity of all tested *Trichoderma* spp. from 5 different habitats towards 6 genera of plant pathogenic fungi. T114Kb from forest soil was found to be more efficient in giving marked inhibitory effect on mycelial growth of all test fungi in the range of 67.4-77.77 %, while T114So from clay soil of organic rice field also offered significant inhibition of growth (73.33-77.77 %) of 3 genera of tested fungi. To conclude, the strong antagonistic effect of T114Kb and T114So towards *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Helminthosporium* sp., *Pestalotia* sp. and *Rhizoctonia* sp. can be applied in biological control of these pathogens and should be further studied in order to be incorporated into other eco-friendly control measures such as cultural and physical control.

Acknowledgment

The authors are sincerely thankful to Plant Pathology Laboratory, Department of Plant Production Technology, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology for facilities support and providing the plant pathogenic fungi.

References

Agrios, G.N. 2005. Plant pathology, Elsevier Academic Press, California, 952 p.

Gverroska, B. and J. Ziberoski. 2012. *Trichoderma harzianum* as a biocontrol agent against *Alternaria alternata* on tobacco. Applied Technologies and Innovation 7(2): 67-76.

Harman, G.E. 2006. Overview of mechanism and uses of *Trichoderma* spp. Phytopathology 96:190-194.

Jat, J.G. and H.R. Agalave. 2013. Antagonistic properties of *Trichoderma* species against oilseed-borne fungi. Science Research Reporter 3(2): 171-174.

Monte, E. 2001. Understanding *Trichoderma*: Between biotechnology and microbial ecology. International. Microbiology 4:1-4.

Patil, A., A. Laddha, A. Lunge, H. Paikrao and S. Mahure. 2012. In vitro antagonistic properties of selected *Trichoderma* species against tomato root rot causing *Pythium* species. International Journal of Science, Environment 1 (4): 302-315.

Pradubyart, M., N. Parinthawong and T. Jaenaksorn. 2013. In vitro screening of antagonistic *Trichoderma* sp. against pathogenic fungi causing leaf spot of vegetable crop grown in hydroponics. Proceedings of 6th Rajamangala University of Technology Tawan-ok Research Conference: 52-57.

Thongkamngam, T., P. Koohakan, and T. Jaenaksorn. 2013. *In-Vitro* assessment of antagonistic efficacy of *Trichoderma* isolates against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* incitant of wilt on hydroponically grown lettuce. King Mongkut's Agricultural Journal 31 (3): 57-67.

Walters, D. 2009. Disease control in crops: Biological and environmentally-friendly approaches. Wiley-Blackwell, West Sussex, 280 p.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นายสุริยสิทธิ์ สมนึก
วันเดือนปีเกิด	30 ธันวาคม 2529
ภูมิลำเนา	23 ม.3 ตำบลบ้านแป้ง อ.บางปะอิน จ.พระนครศรีอยุธยา 13160
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2548 สำเร็จการศึกษา มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนบางปะอิน “ราชานุเคราะห์ ๑” จังหวัดพระนครศรีอยุธยา พ.ศ. 2552 สำเร็จการศึกษา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
ผลงานวิจัย	พ.ศ. 2558 ผลงานเรื่อง “Assessment of the antagonistic activity of *Trichoderma* spp. from Five Different Habitats on Plant Pathogenic Fungi” *in* Proceedings of 2nd International Symposium on Agricultural Technology at A-One The Royal Cruise Hotel Pattaya, Thailand July 1-3, 2015.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้