วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 2560 : 35 (1) : 60-71

ศักยภาพของสารสกัดชุมเห็ดเทศ (*Cassia alata* L.) ร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชในสภาพห้องปฏิบัติการ

In vitro Potential of Extract of Ringworm Bush (*Cassia alata* L.) and Antagonistic Fungi to Control Plant Pathogenic Fungi

สุริยสิทธิ์ สมนึก[1] และถนิมนันต์ เจนอักษร[1]
Suriyasit Somnuek[1]and Tanimnun Jaenaksorn[1]

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันได้มีการรายงานถึงการควบคุมโรคพืชแบบบูรณาการ โดยใช้สารสกัดร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์ (biological control agents: BCAs) อย่างไรก็ตามก่อนที่จะนำสารสกัดมาใช้ร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์นั้นควรทำการทดสอบเพื่อให้แน่ใจว่าสารสกัดจากพืชจะไม่เป็นพิษต่อเชื้อราปฏิปักษ์ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินประสิทธิภาพของสารสกัดชุมเห็ดเทศ (*Cassia alata*) ที่ระดับความเข้มข้น 5000, 10000 และ 20000 ppm ต่อการเจริญของเส้นใยและการงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืช จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Helminthosporium* sp., *Pestalotia* sp. และ *Rhizoctonia* sp. โดยทดลองควบคู่ไปกับเชื้อราปฏิปักษ์ทดสอบทุกชนิด ยกเว้น non-pathogenic *Fusarium oxysporum* F221-B ซึ่งเคยได้รับการรายงานว่าทนทานต่อน้ำคั้นชุมเห็ดเทศได้เป็นอย่างดี และศึกษาอิทธิพลร่วมของเชื้อราปฏิปักษ์ (*Trichoderma harzianum* จำนวน 5 ไอโซเลท และ F221-B) และสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชด้วยวิธี Dual culture assay บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดชุมเห็ดเทศ จากงานวิจัยครั้งนี้ พบว่าสารสกัดชุมเห็ดเทศทุกความเข้มข้นมีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญทางเส้นใยและการงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ทดสอบทุกชนิดได้อยู่ในช่วง 16-53 และ 32-94 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารสกัดดังกล่าวให้สูงขึ้นประสิทธิภาพในการยับยั้งก็จะมากขึ้นด้วย ส่วนการทดสอบกับเชื้อรา *T. harzianum* พบว่าสารสกัดดังกล่าวทุกความเข้มข้นไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อรา *T. harzianum* ทุกไอโซเลท สำหรับการทดสอบอิทธิพลร่วมนั้น พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* เจริญบนอาหารผสมสารสกัด สามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ (อยู่ในช่วง 45.3-69.6 เปอร์เซ็นต์) แต่น้อยกว่าศักยภาพที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* เพียงอย่างเดียว

คำสำคัญ : ชุมเห็ดเทศ เชื้อราปฏิปักษ์ เชื้อราสาเหตุโรคพืช ควบคุมโรคพืชแบบบูรณาการ

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 to BCAs. Therefore, this experiment was conducted to test 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 (*Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Helminthosporium* sp., *Pestalotia* sp. and *Rhizoctonia* sp.) as well as on antagonistic fungi except non-pathogenic *Fusarium oxysporum* F221-B which was previously reported to be tolerant to pressed juice of ring worm bush. Then, performances of all test antagonistic fungi (5 isolates of *Trichoderma harzianum* and F221-B) in combination with ringworm

[1]ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

bush extract were investigated using dual culture test on poisoned food medium. The results showed that the ringworm bush extract at concentrations revealed 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*. Regard to combined application, the result revealed that performance of *Trichoderma* isolates combined with the extract in inhibiting the tested pathogens (in the range of 45.3-69.6 percent) was shown less effective than that of *Trichoderma* alone.

Keywords: ringworm bush, antagonistic fungi, plant pathogenic fungi, integrated plant diseases control

คำนำ

เชื้อราสาเหตุโรคพืชเป็นสาเหตุสำคัญที่เข้าทำลายพืชที่เพาะปลูก ซึ่งสร้างความเสียหายทั้งคุณภาพและปริมาณของผลผลิต โดยที่เชื้อราสาเหตุโรคพืชสามารถเข้าทำลายพืชได้ทุกส่วน ตัวอย่างเช่น การเข้าทำลายของเชื้อ *Alternaria* sp. และ *Curvularia* sp. ทำให้เกิดโรคใบจุดในพืชตระกูลผักกาด เช่น กะหล่ำ กวางตุ้ง และคะน้า (ณัฐสุดา, 2553; อรพรรณ และจุมพล, 2558; Pattanmahakul and Strange, 1999) เชื้อ *Fusarium* sp. และ *Rhizoctonia* sp. เป็นสาเหตุโรคเหี่ยวและรากเน่าของพืชหลายชนิด (แพรทอง และคณะ, 2548; ธิติและคณะ, 2556ก) เชื้อ *Helminthosporium* sp. เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคใบจุดในพืชเศรษฐกิจที่ปลูกกันอย่างกว้างขวาง เช่น ข้าว ข้าวโพด (นพวรรณ, 2550; Ou, 1985) ในปัจจุบันเกษตรกรได้เล็งเห็นถึงอันตรายจากการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช จึงหันมาใช้วิธีการป้องกันที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมกันมากขึ้น ซึ่งมีหลายวิธีด้วยกัน ตัวอย่างเช่น การใช้เชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. ที่รู้จักกันเป็นอย่างดีเพื่อควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้หลายชนิด (ธิติ และคณะ, 2556ก; Jat and Agalave, 2013) และการใช้เชื้อรา non-pathogenic *Fusarium oxysporum* (F221-B) ที่มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (ธิติ และคณะ, 2556) มาเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ (Thongkamngam and Jaenaksorn, 2015) นอกจากการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์แล้ว การใช้สารสกัดที่ได้จากพืชเพื่อควบคุมโรคพืชก็เป็นอีกวิธีหนึ่งเพื่อทดแทนสารเคมีสังเคราะห์และได้รับผลที่ดีเช่นกัน ตัวอย่างเช่น การศึกษาของ พรประพา (2546) พบว่าสารสกัดจากใบชุมเห็ดเทศ (*Cassia alata* L.) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pythium aphanidermatum, Phytophthora parasitica* และ *F. oxysporum* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และยังมีรายงานการใช้ผงดอกชุมเห็ดเทศในการควบคุมการเจริญของ *Aspergillus flavus*, *As. parasiticus, F. oxysporum, H. oryzae, Candida albicans* และ *Microsporum audouinii* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตาม เพื่อให้ได้ผลดีที่สุดในการที่จะควบคุมโรคพืชนั้นควรใช้หลายวิธีร่วมกัน ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีแนวความคิดที่จะนำสารสกัดจากชุมเห็ดเทศมาใช้ร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช ซึ่งก่อนที่จะนำสารสกัดจากพืชมาใช้นั้น สารสกัดจากพืชควรมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้เป็นอย่างดีแต่ไม่ควรมีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ จึงทำการศึกษาอิทธิพลของสารสกัดจากชุมเห็ดเทศต่อการเจริญทางเส้นใยและการงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ควบคู่ไปกับเชื้อราปฏิปักษ์ที่ทดสอบทั้งหมด ยกเว้น non-pathogenic *Fusarium oxysporum* F221-B ซึ่งมีรายงานว่าสามารถทนทานต่อน้ำคั้นชุมเห็ดเทศได้เป็นอย่างดี (สุริยสิทธิ์ และคณะ, 2558) รวมทั้งศึกษาอิทธิพลร่วมของสารสกัดดังกล่าวกับเชื้อราปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชในสภาพห้องปฏิบัติการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

เชื้อราปฏิปักษ์และเชื้อราสาเหตุโรคพืช

เชื้อราปฏิปักษ์ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้คือ เชื้อรา *Trichoderma harzianum* จำนวน 5 ไอโซเลท ได้แก่ T114Kb, T121Kh, T112Sc, T114So ที่แยกได้จากแหล่งต่างๆ ในประเทศไทย (Somneuk *et al*., 2015) และ T.com จากผลิตภัณฑ์ทางการค้า

เชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ใช้ทดสอบ 6 ชนิด คือ *Alternaria* sp. และ *Curvularia* sp. สาเหตุโรคใบจุดคะน้า *Helminthosporium* sp. สาเหตุโรคใบจุดข้าวโพด *Fusarium* sp. และ *Rhizoctonia* sp. สาเหตุโรคเหี่ยวและรากเน่าผักสลัด, *Pestalotia* sp. สาเหตุโรคใบไหม้กล้วยไม้ ซึ่งได้รับอนุเคราะห์จากห้องปฏิบัติการโรคพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

การเตรียมสารสกัดชุมเห็ดเทศ

นำใบชุมเห็ดเทศมาล้างให้สะอาด จากนั้นนำไปอบให้แห้งด้วยเครื่อง hot air oven ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส แล้วนำใบที่แห้งบดหยาบและแช่ในเอทานอล (ethanol) 90 เปอร์เซ็นต์ อัตราส่วน 1:9 (w/v) เป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นนำสารสกัดที่ได้มากรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 93 และนำไประเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 44 องศาเซลเซียส จนได้สารสกัดที่มีลักษณะข้นเหนียว เก็บสารสกัดไว้ในขวดแก้วสีชาเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป โดยกำหนดเป็นความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์

1. การศึกษาอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช

โดยแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอนดังนี้

1.1 ศึกษาอิทธิพลสารสกัดชุมเห็ดเทศที่ระดับความเข้มข้น 0, 5000, 10000 และ 20000 ppm ต่อการเจริญของเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ด้วยวิธี Poisoned food assay ด้วยการวางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) จำนวน 5 ซ้ำ โดยการนำสารสกัดชุมเห็ดเทศที่เตรียมไว้ผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) ให้ได้ความเข้มข้นของสารสกัดตามที่ระบุไว้ข้างต้นและเทลงจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะบริเวณขอบของโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคพืชทดสอบอายุ 7 วัน และย้ายชิ้นวุ้นเชื้อราไปวางกึ่งกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารสกัดที่เตรียมไว้ สำหรับในชุดควบคุม (0 ppm) ให้เลี้ยงบนอาหาร PDA แทน

บันทึกผลการทดลอง โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราทดสอบทุกวัน พร้อมทั้งคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (Growth Inhibition : GI) ในวันสุดท้ายของการทดลอง ตามสูตร $GI = (R_1-R_2)/R_1 \times 100$ โดย R_1 = ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราทดสอบในชุดควบคุม และ R_2 = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราทดสอบในอาหารผสมสารสกัดในแต่ละความเข้มข้น

1.2 ศึกษาอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อการงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืชด้วยวิธี Spore germination assay โดยการเตรียม spore suspension ของเชื้อราทดสอบทั้ง 5 ชนิด ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ $1x10^6$ spores /ml นำ spore suspension ของเชื้อราทดสอบ ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ผสมสารสกัดของชุมเห็ดเทศ ปริมาณ 1 มิลลิลิตรลงหลอดทดลองขนาดเล็ก ให้ได้ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 5000, 10000 และ 20000 ppm นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องและตรวจนับเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่เวลา 12, 24, 48 และ 60 ชั่วโมง

2. การศึกษาอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อการเจริญของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma harzianum*

ทำการทดสอบอิทธิพลของสารสกัดต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* โดยวางแผนการทดลองและดำเนินการทดลองเหมือนข้อ 1.1 บันทึกผลการทดลอง โดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราทดสอบทุกวัน พร้อมทั้งคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ

สำหรับอิทธิของสารสกัดต่อการสร้างสปอร์นั้น จะใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุ่มเจาะบนโคโลนีของเชื้อราที่เลี้ยงบนอาหารผสมสารสกัด จำนวน 5 ชิ้น (สุ่มเจาะบริเวณนอก กลาง และในของโคโลนี) และใส่ลงในหลอดทดลองที่บรรจุน้ำปริมาณ 10 มิลลิลิตร นำไปปั่นด้วยเครื่อง Vortex mixer แล้วนำไปตรวจนับปริมาณของสปอร์โดยใช้ Haemacytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3. การศึกษาอิทธิพลร่วมของสารสกัดชุมเห็ดเทศกับเชื้อราปฏิปักษ์ต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยวิธี Dual culture test **ร่วมกับวิธี** Poisoned food technique

การทดลองนี้จะคัดเลือกระดับความเข้มข้นของสารสกัดชุมเห็ดเทศที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช จากข้อ 1 แต่ไม่ส่งผลต่อการเจริญของเชื้อราปฏิปักษ์จากข้อ 2 มาทำการทดสอบอิทธิพลร่วม โดยวางแผนการทดลองแบบ A×B 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) มาทดสอบกับเชื้อราสาเหตุโรคพืช 6 ชนิด โดยการนำสารสกัดชุมเห็ดเทศที่เตรียมไว้ผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ให้ได้ความเข้มข้นตามที่ต้องการทดสอบและเทลงจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำชิ้นวุ้นที่ได้จากการใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะบริเวณขอบของโคโลนีของเชื้อราปฏิปักษ์อายุ 3 วัน และเชื้อราสาเหตุโรคพืชอายุ 7 วัน ไปวางตรงข้ามกันบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดที่เตรียมไว้ให้มีระยะห่างของชิ้นวุ้นเชื้อราปฏิปักษ์กับเชื้อราสาเหตุโรคพืชเท่ากับ 6 เซนติเมตร ชุดควบคุมให้เลี้ยงเชื้อราทั้งสองแยกจากกันบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีการผสมสารสกัดชุมเห็ดเทศตามความเข้มข้นที่ทดสอบ บ่มที่อุณหภูมิห้อง

บันทึกผลการทดลองโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อสาเหตุโรคพืชทุกวัน พร้อมทั้งคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (Growth Inhibition : GI) ในวันสุดท้ายตามสูตร $GI = (R_1 - R_2)/R_1 \times 100$ โดย R_1 = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราสาเหตุโรคพืชในชุดควบคุมและ R_2 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคพืชในกรรมวิธีที่ผสมสารสกัดร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลการศึกษาอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช

จากการทดสอบอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศที่ระดับความเข้มข้น 5000, 10000 และ 20000 ppm ต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืชจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Helminthosporium* sp., *Pestalotia* sp. และ *Rhizoctonia* sp. พบว่าเมื่อระยะเวลาผ่านไป 7 วันหลังการปลูกเชื้อ (Day after inoculation; DAI) ยกเว้น *Alternaria* sp. (12 DAI) สารสกัดชุมเห็ดเทศทุกความเข้มข้นแสดงประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชทุกชนิดได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของแต่ละเชื้อราสาเหตุโรคพืชแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *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 (Figure 1 และ 2) และเมื่อพิจารณาถึงระดับความเข้มข้นของสารสกัดเห็นได้ว่า ยิ่งเพิ่มระดับความเข้มข้นสูงขึ้นประสิทธิภาพในการยับยั้งก็มากขึ้นเช่นกัน โดยสารสกัดชุมเห็ดเทศที่ระดับความเข้มข้น 20000 ppm แสดงประสิทธิภาพได้ดีที่สุด ซึ่งผลการทดสอบนี้เป็นไปในทิศทางเดียวกับการทดลองที่ผ่านมา ซึ่งพบว่าน้ำคั้นใบและน้ำคั้นดอกของชุมเห็ดเทศที่ความเข้มข้น 5000-20000 ppm สามารถควบคุมการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ (*Alternaria* sp., *Cuvularia* sp., *Fusarium* sp., *Pestalotia* sp. และ *Rhizoctonia* sp.) มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งอยู่ในช่วง 1.4-20.9 เปอร์เซ็นต์ และสามารถยับยั้ง เชื้อรา *Fusarium* sp. ได้ดีที่สุดเช่นกัน (สุริยสิทธิ์ และคณะ, 2558) และจะสังเกตได้ว่าการใช้ชุมเห็ดเทศรูปแบบสารสกัดมีประสิทธิภาพดีกว่าน้ำคั้น และยังพบการรายงานการใช้สารสกัดชุมเห็ดเทศที่มีตัวทำละลายอินทรีย์หลายชนิดรวมทั้งตัวทำละลายเอทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้หลายกลุ่ม ตัวอย่างเช่น เชื้อราสาเหตุโรคคน ได้แก่ *As.niger,*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น 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 ยังมีรายงานการใช้สารสกัดเอทานอลของชุมเห็ดเทศจากส่วนอื่นๆ เช่น ลำต้น ดอก ใบ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา Colletotrichum gloeosporiodes ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (ขวัญใจ และคณะ, 2537) นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้งานในรูปแบบอื่นอีก เช่น การใช้ผงดอกชุมเห็ดเทศผสมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ความเข้มข้น 10 และ 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา *As.flavus* (NCBT 101), *As.parasiticus* (NCBT 128), *F.oxysporum* (NCBT 156) และ *H. oryzae* (NCBT 165) ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (Abubacker *et al*., 2007)

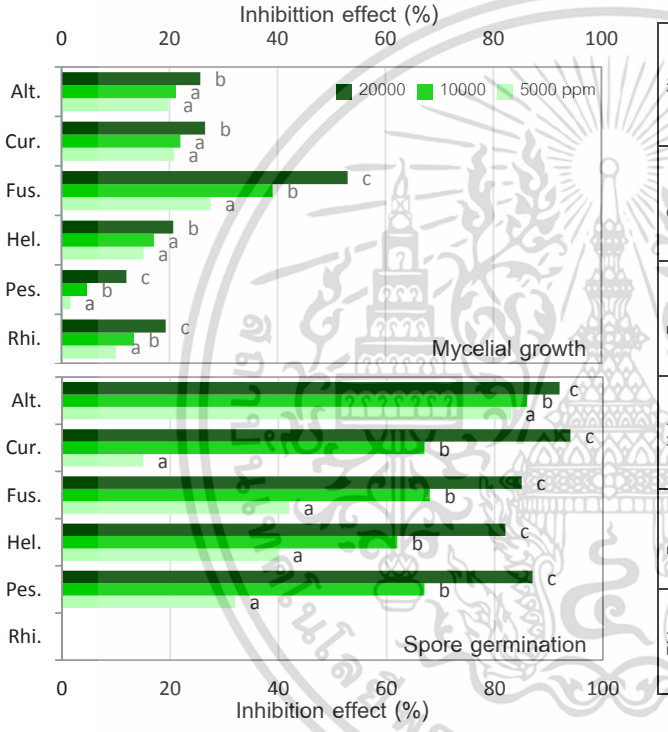

Figure 1 Inhibition effect of three concentrations of ringworm bush extract on plant pathogenic fungi; Alt.=*Alternaria* sp., Cur.=*Curvularia* sp., Fus.=*Fusarium* sp., Hel.=*Helminthosporium* sp., Pes.=*Pestalotia* sp. and Rhi.=*Rhizoctonia* sp.; Values are means of five replicates. Values in each column bar within each pathogen indicated with the same letter are not significantly different according to Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ($P \leq 0.05$).

Figure 2 Inhibition effect of ringworm bush extract on plant pathogenic fungi at 7 DAI (except, Alt. at 12 DAI); Alt.=*Alternaria* sp., Cur.=*Curvularia* sp., Fus.=*Fusarium* sp., Hel.=*Helminthosporium* sp., Pes.=*Pestalotia* sp. and Rhi.=*Rhizoctonia* sp.

สำหรับการทดสอบอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อการงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืชจำนวน 5 ชนิด พบว่าเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (60 ชั่วโมงหลังการปลูกเชื้อ) สารสกัดชุมเห็ดเทศทั้ง 3 ความเข้มข้นแสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราดังกล่าวได้ค่อนข้างเด่นชัด โดยยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Curvularia* sp. ได้ดีที่สุด มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง 94 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ *Alternaria* sp., *Pestalotia* sp., *Fusarium* sp. และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Helminthosporium sp. ซึ่งถูกยับยั้งอยู่ในช่วง 83-92, 32-87, 42-85 และ 39-82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยเฉพาะที่ระดับความเข้มข้น 20000 ppm ให้ผลยับยั้งดีที่สุด (Figure 1) สอดคล้องกับการทดลองที่ผ่านมาของคณะผู้วิจัย ที่พบว่าน้ำคั้นใบและน้ำคั้นดอกของชุมเห็ดเทศความเข้มข้น 5000-20000 ppm สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Alternaria* sp., *Curvalaria* sp., *Fusarium* sp. และ *Pestalotia* sp. โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งอยู่ในช่วง 64-94 เปอร์เซ็นต์ (สุริยสิทธิ์ และคณะ, 2558) และจะเห็นได้ว่าทั้งสารสกัดและน้ำคั้นจากชุมเห็ดเทศ สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสารสกัดคลอโรฟอร์มจากใบชุมเห็ดเทศ ความเข้มข้น 1000 ppm สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของ *F.oxysporum, Pythium* sp. และ *Phytophthora*sp. ได้ 70-100 เปอร์เซ็นต์ได้ด้วยเช่นกัน (พรประพา, 2546) จากผลการทดลองของผู้วิจัยนี้ จะเห็นว่าสารสกัดชุมเห็ดเทศมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อราทดสอบจะสูงกว่าการยับยั้งการเจริญทางเส้นใย ซึ่งน่าจะมีสาเหตุจากการที่สปอร์ของเชื้อราทดสอบถูกแช่จึงสัมผัสโดยตรงกับสารสกัดชุมเห็ดเทศ ส่งผลให้มีโอกาสแสดงประสิทธิภาพได้ชัดเจนกว่า สำหรับสารสำคัญที่มีอยู่ในชุมเห็ดเทศพบมีการรายงานว่า ชุมเห็ดเทศมีสารที่สำคัญหลายชนิดโดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มสาร Anthraquinones, Flavonoids glycosides และ Steroids (Khan *et al*., 2001; Hennebelle *et al*., 2009) โดยสารดังกล่าว มีการรายงานถึงคุณสมบัติในการเป็นสารออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราและแบคทีเรียได้หลายชนิด (Kazmi *et al*.,1994; Khan *et al*., 2001; Somchit *et al*., 2001 และ Saheli *et al*., 2012)

2. ผลการศึกษาอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อการเจริญของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp.

จากผลการทดสอบอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศที่ความเข้มข้น 5000, 10000 และ 20000 ppm ต่อการยับยั้งเจริญของเส้นใยเชื้อรา *T. harzianum* โดยวิธี Poisoned food technique พบว่า ในช่วงแรกของการทดสอบ (3 DAI) สารสกัดจากชุมเห็ดเทศทุกความเข้มข้นมีผลเพียงชะลอการเจริญของเชื้อรา *T. harzianum* ทุกไอโซเลทเท่านั้น และเมื่อเวลาผ่านไปจนสิ้นสุดการทดลอง (7 DAI) เชื้อรา *T. harzianum* ทุกไอโซเลท สามารถเจริญได้เต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารสกัดชุมเห็ดเทศ และไม่แตกต่างจากชุดควบคุม จากนั้นนำเส้นใยไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเส้นใยมีลักษณะที่ไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (Figure 3 และ 4) ซึ่งสรุปได้ว่าสารสกัดชุมเห็ดเทศทุกระดับความเข้มข้นไม่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *T. harzianum* และสปอร์ของ *T. harzianum* ทุกไอโซเลท มีรูปร่างที่เป็นปกติ ไม่แตกต่างจากชุดควบคุม และบางไอโซเลทกลับพบว่า ถูกกระตุ้นให้มีการสร้างปริมาณสปอร์มากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 1) จากผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดสอบน้ำคั้นใบและน้ำคั้นดอกของชุมเห็ดเทศ ที่พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* สามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมน้ำคั้นใบและน้ำคั้นดอกชุมเห็ดเทศที่ระดับความเข้มข้น 5000-2000 ppm ได้ (สุริยสิทธิ์ และคณะ, 2558) และยังพบการรายงานว่า เชื้อรา *T. harzianum* สามารถทนต่อสารสกัดชุมเห็ดเทศ (รูปแบบของสารสกัดด้วยน้ำ เฮกเซนและเมทธานอล) ความเข้มข้น 1,000 ppm ได้เช่นกัน (พรประพา, 2546) นอกจากนั้นยังพบว่า เชื้อรา *Trichoderma* sp. ทนทานต่อสารสกัดจากพืชอื่นๆ อีกได้หลายชนิด เช่น สารสกัดสาบเสือ ยี่หร่า และตะไคร้ ที่ระดับความเข้มข้น 100000 ppm (Omorusi *et al*., 2014) และทนทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช เช่น Captan, Thiabendazol และ Captan-Carboxin ที่ระดับ 5-2000 ppm (Chaparro *et al*., 2011) Blue copper และ Captaf (Captafol) ที่ระดับความเข้มข้น 50-300 ppm (Tapwal *et al*., 2012) จากผลการทดลองและการรายงานข้างต้น สรุปได้ว่าเชื้อรา T. *harzianum* มีคุณสมบัติที่ทนทานต่อสารสกัดจากพืชและสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชได้ดี จึงเหมาะที่จะนำไปใช้ร่วมกับสารสกัดจากพืชหรือสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช ในการควบคุมโรคพืชต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

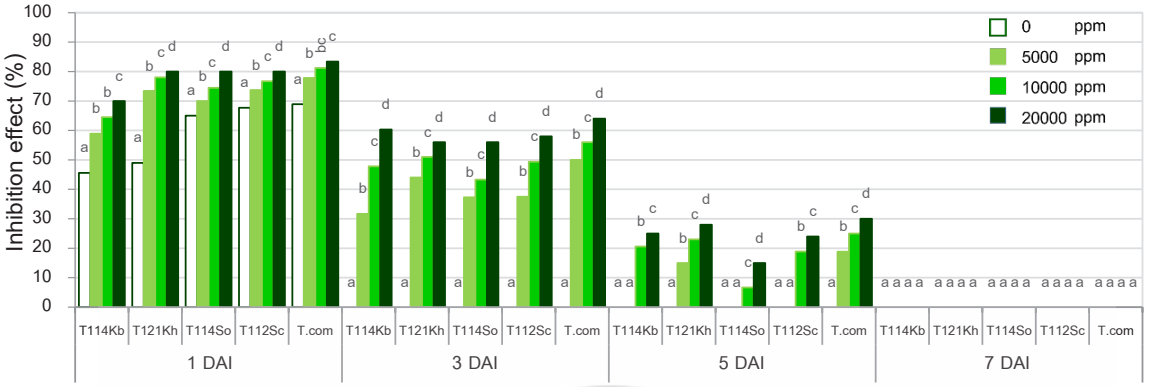

Figure 3 Effect of ringworm bush extract on mycelial growth of *T. harzianum* by Poisoned food technique; Values are means of five replicates. Values in each column bar within each pathogen indicated with the same letter are not significantly different according to Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ($P \leq 0.05$).

Table 1 Effect of different concentrations of ringworm bush extract on spore production of *T. harzianum* at 7 days.

Trichoderma spp.	Conc[n]	Number of spore (10^6/10 ml) 7 day	Remark
T114Kb	0	1.03b	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]Values are means of five replicates.Values in each isolate of *T.harzianum* followed by the same letter are not significantly different according to Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ($P \leq 0.05$).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

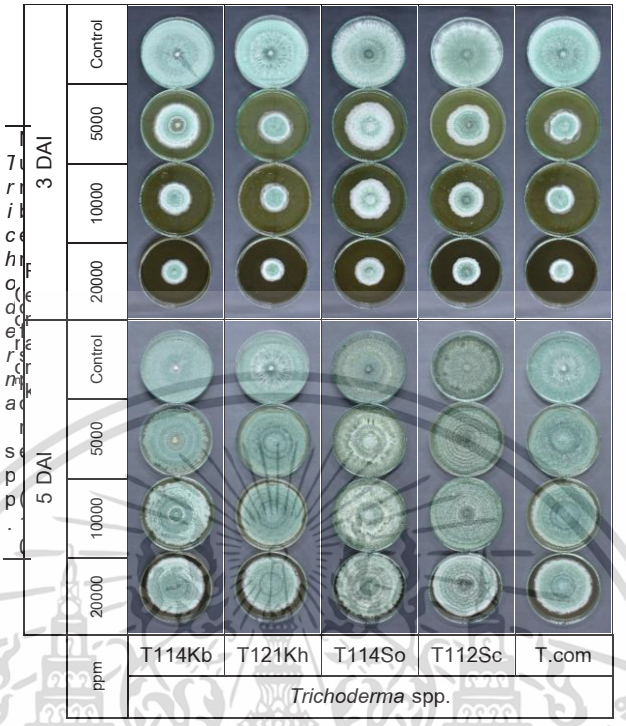

Figure 4 Plate showing colony of *T. harzianum* grown on PDA amended with ringworm bush extract at 3 and 5 DAI (by poisoned food assay).

3. ผลการศึกษาอิทธิพลร่วมของสารสกัดชุมเห็ดเทศกับเชื้อราปฏิปักษ์ต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยวิธี Dual culture assay ร่วมกับวิธี Poisoned food assay

ผลจากการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์จำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ *T. harzianum* T114Kb, T121Kh, T112Sc, T114So, T.com และ non-pathogenic *Fusarium oxysporum* F221-B ในการควบคุมการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืช 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 5 วันหลังการปลูกเชื้อ ยกเว้น *Alternaria* sp. (12 DAI) เชื้อราปฏิปักษ์ทุกไอโซเลทสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ทุกชนิด มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง 51.1-75.9 เปอร์เซ็นต์ โดย T114Kb ยับยั้งได้ดีที่สุด รองลงมาคือ T.com และ T112Sc (Figure 5) ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการทดลอง Dual culture test ที่ผ่านมา ซึ่งพบว่า T114Kb สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคทุกชนิดได้ อยู่ในช่วง 67.4-77.7 เปอร์เซ็นต์ (Somnuek *et al*., 2015) สำหรับกรรมวิธีที่ผสมสารสกัดชุมเห็ดเทศกลับพบว่า ในช่วงแรกของการทดสอบ พบว่าเชื้อราปฏิปักษ์ทุกไอโซเลทแสดงความสามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชเพียงเล็กน้อย (0-21.3 เปอร์เซ็นต์) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง เชื้อรา *T. harzianum* ทุกไอโซเลท ที่เลี้ยงบนอาหารผสมสารสกัดสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืชทั้ง 6 ชนิด ได้อย่างมีประสิทธิภาพ กล่าวคือเปอร์เซ็นต์การยับยั้งจะเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาผ่านไป โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 45.3-69.6 เปอร์เซ็นต์ แต่ก็ยังต่ำกว่ากรรมวิธีที่ไม่ผสมสารในขณะที่ F221-B สามารถยับยั้งได้ 26.5-51.6 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากชุดควบคุม (Figure 5 และ 6)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

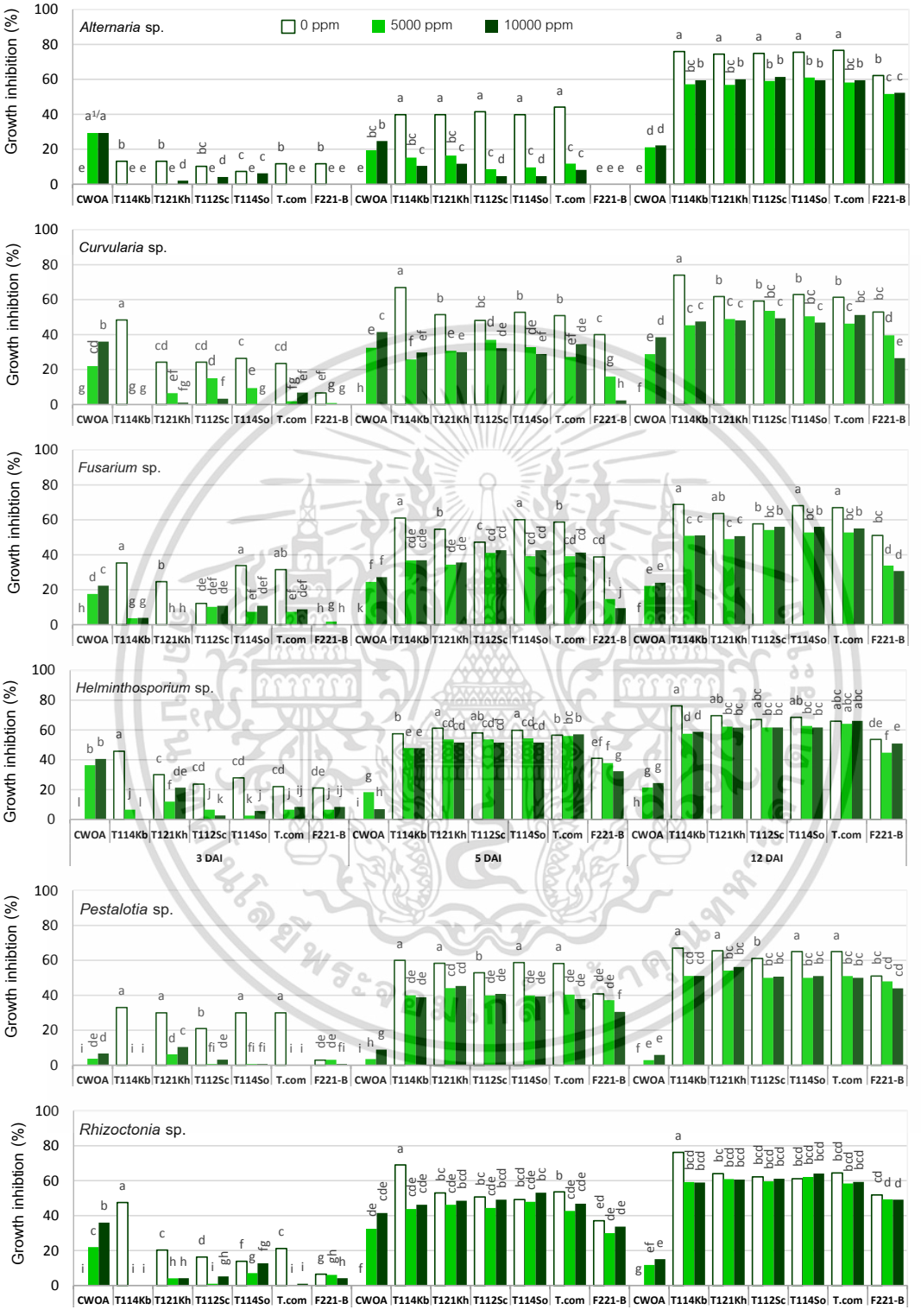

Figure 5 Biocontrol activity of antagonistic fungi against mycelial growth of plant pathogenic fungi on dual culture plate added with ringworm bush extract; CWOA= Control without antagonistic fungi.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถึงแม้ว่าประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ที่ทดสอบบนอาหารเลี้ยงผสมสารสกัดชุมเห็ดเทศ (5000 และ 10000 ppm) จะมีประสิทธิภาพต่ำกว่าชุดควบคุม (0 ppm) อาจเป็นเพราะอิทธิพลของสารสกัดดังกล่าว ที่ไปมีผลชะลอการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราปฏิปักษ์และไปยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชด้วย จึงทำให้เชื้อราปฏิปักษ์แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคได้ไม่ชัดเจนในช่วงแรก แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไปเชื้อราปฏิปักษ์สามารถแสดงศักยภาพในการยับยั้งได้ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากชุดควบคุม (Figure 5 และ 6) ถึงแม้ว่าประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ที่ทดสอบบนอาหารเลี้ยงผสมสารสกัดชุมเห็ดเทศ (5000 และ 10000 ppm) จะมีประสิทธิภาพต่ำกว่าชุดควบคุม (0 ppm) อาจเป็นเพราะอิทธิพลของสารสกัดดังกล่าว ที่ไปมีผลชะลอการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราปฏิปักษ์และไปยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชด้วย จึงทำให้เชื้อราปฏิปักษ์แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคได้ไม่ชัดเจนในช่วงแรก แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไปเชื้อราปฏิปักษ์สามารถแสดงศักยภาพในการยับยั้งได้ ซึ่งผลจากการทดลองแสดงให้เห็นว่าทั้งเชื้อราปฏิปักษ์และสารสกัดชุมเห็ดเทศมีอิทธิพลโดยตรงในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชแต่เมื่อนำมาทดสอบร่วมกันบน Dual culture plate กลับไม่เสริมฤทธิ์กันอย่างไรก็ตาม ยังพบรายงานความสำเร็จของการใช้เชื้อรา *T. harzianum* ร่วมกับสารสกัดจากพืช (ใบมะรุมความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สามารถลดเปอร์เซ็นต์การฟักตัวของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne javanica* ได้ 46 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การใช้สารสกัดเพียงอย่างเดียว มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง 30 เปอร์เซ็นต์ (Muhammad *et al*., 2014) ดังนั้นในความเป็นจริงแล้วการใช้ระดับเรือนทดลองหรือการปฏิบัติจริงในสภาพไร่ สามารถหลีกเลี่ยงวิธีการไม่ให้เชื้อรา *T. harzianum* สัมผัสกับสารสกัดชุมเห็ดเทศได้โดยตรง เช่น ทำการฉีดพ่นสารสกัดชุมเห็ดเทศก่อนฉีดพ่นสปอร์เชื้อรา *Trichoderma* sp.

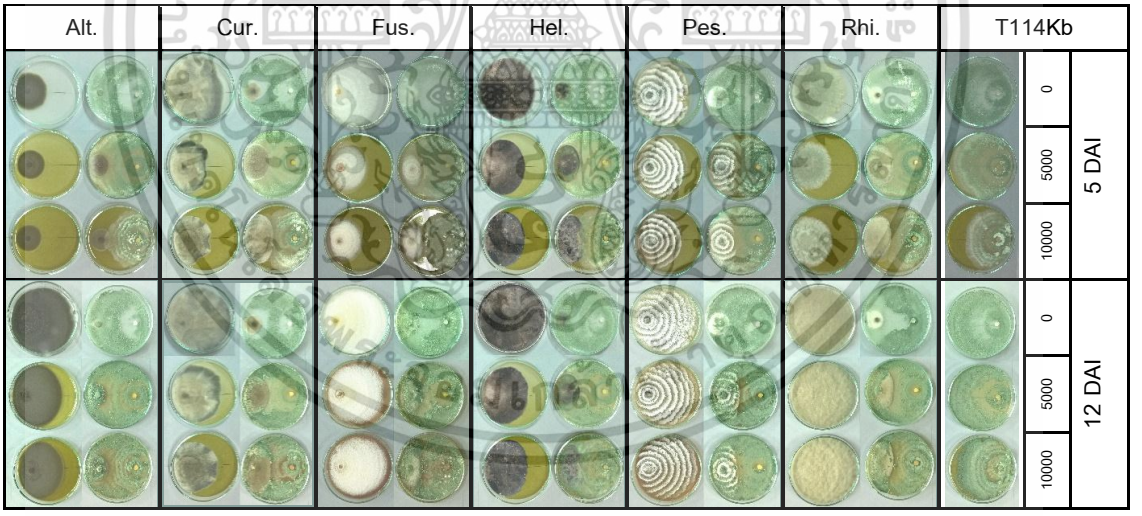

Figure 6 Antifungal activity of *T. harzianum* (T114KB) against plant pathogenic fungi on dual culture plate amended with ring worm bush extract; Alt.=*Alternaria* sp., Cur.=*Curvularia* sp., Fus.=*Fusarium* sp., Hel.=*Helminthosporium* sp., Pes.=*Pestalotia* sp. and Rhi.=*Rhizoctonia* sp.

สรุป

จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดชุมเห็ดเทศทุกความเข้มข้น มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการงอกของสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ทั้ง 6 ชนิด (*Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Helminthosporium* sp. *Pestalotia* sp. และ *Rhizoctonia* sp.)ได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง 16-53 และ 32-94 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศต่อการเจริญของเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* ทั้ง 5 ไอโซเลท พบว่าสารสกัดมีผลเพียงชะลอการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราปฏิปักษ์เท่านั้นซึ่งแสดงให้เห็นถึงคุณสมบัติที่ดีที่จะนำไปใช้ร่วมกับจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ สารสกัดจากพืชหรือสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช และสำหรับการทดสอบอิทธิพลร่วมของสารสกัดพืชดังกล่าวกับเชื้อราปฏิปักษ์ พบว่าเชื้อราปฏิปักษ์ทุกไอโซเลทที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารสกัดชุมเห็ดเทศ สามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ทุกชนิด อยู่ในช่วง 45.3-69.6 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น จึงควรทำการศึกษาต่อยอดในระดับเรือนทดลอง ถึงรูปแบบและวิธีการใช้สารสกัดร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์ เพื่อเป็นแนวทางในการป้องกันกำจัดโรคพืชอย่างบูรณาการและยั่งยืนต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณเงินรายได้ปี 2559 คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โครงการวิจัยเรื่อง การประเมินอิทธิพลของสารสกัดชุมเห็ดเทศ (*Cassia alata* L.) ต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชและเชื้อราปฏิปักษ์ เลขที่สัญญา 2559-01-04-001

เอกสารอ้างอิง

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

ณัฐสุดา บรรเลงสวรรค์. 2553. การป้องกันโรคใบจุดอัลเทอนาเรีย และโรคเหี่ยวฟิวซาเรี่ยมของพริกและมะเขือเทศโดยการใช้เชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ และเชื้อรา *Trichoderma harzianum*. ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. 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 ในระบบไฮโดรโปรนิกส์ และลักษณะการเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ. การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก ครั้งที่ 6. โรงแรมชลจันทร์ พัทยา รีสอร์ท ชลบุรี. หน้า 46-51.

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

พรประพา คงตระกูล. 2546. การศึกษาศักยภาพการปลูก โรค และแนวทางการป้องกันกำจัดเชื้อสาเหตุโรคที่พบ ของโหระพา (*Ocimum basilicum* L.) ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินแบบ Deep Flow Technique (DFT). ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ. 111 หน้า

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.

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

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

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

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

Kazmi, M. H., A. Malik, S. Hameed, N. Akhtar, and N.A. Samina, 1994. An anthraquinone derivative from *Cassia italica*. Phytochemistry36 (3): 761-763.

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

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

Odunbaku, O.A and O.A.F. Ilusanya. 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.

Omorusi, V. I., B. O. Bosah, I. O. Eguavoen, O. Osemwengie, N. O. Ogbebor and C. L. Igeleke. 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, p 380

Pattanamahakul, P. and R.N. Strange. 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.

Saheli, C., C. Sabyasachi and D. Sikha. 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.

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

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

Tapwal, A., R. Kumar, N. Gautam and S. Pandey 2012. Compatibility of *Trichoderma viride* for seleced fungicides and botanicals. International Journal of Plant Pathology 3(2): 89-94.

Thongkamngam T. and T. Jaenaksorn. 2015. Assessment of viability and efficacy of *Fusarium oxysporum* (F221-B) as BCA and PGPF during long term preservation. *in* Proceedings of the 2nd International Symposium on Agricultural Technology at A-One The Royal Cruise Hotel Pattaya, Thailand July 1-3, 2015.

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้