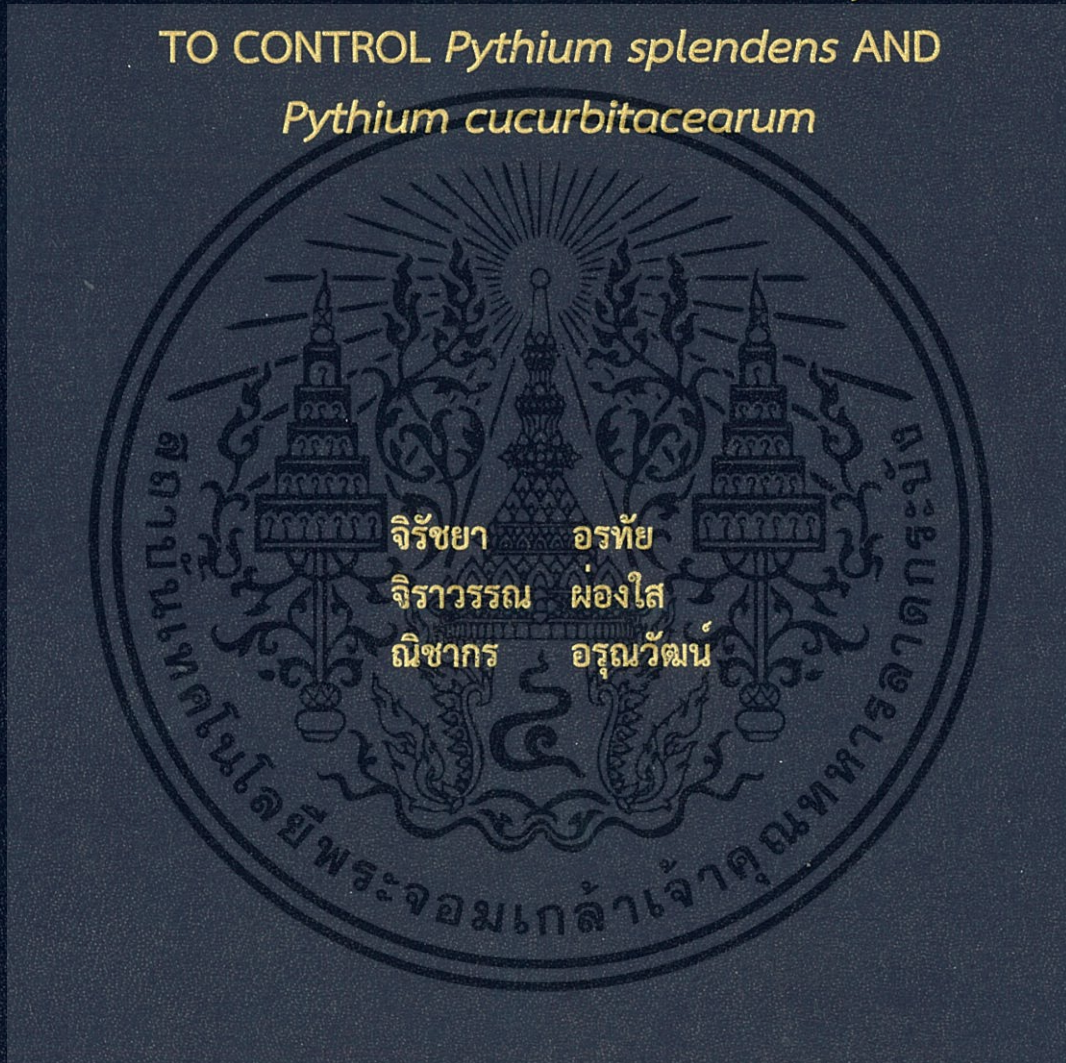


การทดสอบความสามารถเบื้องต้นของเชื้อ
Talaromyces muroii ในการควบคุมเชื้อ
Pythium splendens และ *Pythium cucurbitacearum*

PRELIMINARY INVESTIGATION OF *Talaromyces muroii*
TO CONTROL *Pythium splendens* AND
Pythium cucurbitacearum



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2559

การทดสอบความสามารถเบื้องต้นของเชื้อ
Talaromyces muroii ในการควบคุมเชื้อ
Pythium splendens และ *Pythium cucurbitacearum*

PRELIMINARY INVESTIGATION OF *Talaromyces muroii*
TO CONTROL *Pythium splendens* AND
Pythium cucurbitacearum



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

PRELIMINARY INVESTIGATION OF *Talaromyces muroii*
TO CONTROL *Pythium splendens* AND
Pythium cucurbitacearum



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHEL OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2016

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ การทดสอบความสามารถเบื้องต้นของเชื้อ *Talaromyces muroii* ในการควบคุมเชื้อ *Pythium splendens* และ *Pythium cucurbitacearum*
 Preliminary investigation of *Talaromyces muroii* to control *Pythium splendens* and *Pythium cucurbitacearum*

ชื่อนักศึกษา นางสาวจิรัชยา อรทัย รหัสนักศึกษา 56050811
 นางสาวจิราวรรณ ผ่องใส รหัสนักศึกษา 56050813
 นางสาวณิชากร อรุณวัฒน์ รหัสนักศึกษา 56050836

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
 ภาควิชา ชีววิทยา
 คณะ วิทยาศาสตร์
 มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
 ปีการศึกษา 2559
 อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2559

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม ประธานกรรมการ	
ดร.ณัฐวุฒิ รุ่งจินตมัย กรรมการ	 
ผศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	 

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาดเห็นนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การทดสอบความสามารถเบื้องต้นของเชื้อ <i>Talaromyces muroii</i> ในการควบคุมเชื้อ <i>Pythium splendens</i> และ <i>Pythium cucurbitacearum</i>	
	Preliminary investigation of <i>Talaromyces muroii</i> to control <i>Pythium splendens</i> and <i>Pythium cucurbitacearum</i>	
ชื่อนักศึกษา	นางสาวจิรัชยา อรทัย	รหัสนักศึกษา 56050811
	นางสาวจิราวรรณ ผ่องใส	รหัสนักศึกษา 56050813
	นางสาวณิชกร อรุณวัฒน์	รหัสนักศึกษา 56050836
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)	
ภาควิชา	ชีววิทยา	
คณะ	วิทยาศาสตร์	
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)	
ปีการศึกษา	2559	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม	

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราต่อต้าน *Talaromyces muroii* ในการควบคุมเชื้อรา *Pythium splendens* และ *Pythium cucurbitacearum* ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคในพืชหลายชนิด จากการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อที่เลี้ยงบนอาหาร PDA พบว่าเชื้อรา *P. splendens* และ *P. cucurbitacearum* มีอัตราการเจริญเติบโตเร็วกว่าเชื้อราต่อต้าน *T. muroii* และจากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. muroii* จำนวน 2 ไอโซเลต (EU18 และ EU25) ในการยับยั้งเชื้อรา *P. splendens* จำนวน 2 ไอโซเลต (CHP18 และ CHP19) และ *P. cucurbitacearum* จำนวน 1 ไอโซเลต (CHP14) ด้วยวิธีเลี้ยงเชื้อร่วม (Bi-culture) ในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่า *T. muroii* ไอโซเลต EU18 และ EU25 สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *P. splendens* CHP18 ได้ดี โดยมีค่ายับยั้งการสร้างสปอร์เท่ากับ 84.73 และ 96.11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อนำสารสกัดชั้น hexane, ethyl acetate และ methanol ของเชื้อรา *T. muroii* ทั้ง 2 ไอโซเลต มาศึกษาต่อการยับยั้งเชื้อรา *P. splendens* CHP18 ด้วยวิธี poison plate พบว่าสารสกัดจากชั้น ethyl acetate ของเชื้อรา *T. muroii* ไอโซเลต EU25 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *P. splendens* CHP18 ได้ดีที่สุด โดยมีค่า effective dose ที่ 50 เปอร์เซ็นต์ (ED₅₀) เท่ากับ 150.58 ppm

Title	Preliminary investigation of <i>Talaromyces muroii</i> to control <i>Pythium splendens</i> and <i>Pythium cucurbitacearum</i>	
Students	Jirutchaya Orathai	Student ID 56050811
	Jirawan Pongsai	Student ID 56050813
	Nichakorn Arunwat	Student ID 56050836
Degree	Bachelor of Science	
Major Program	Biotechnology	
Faculty	Science	
University	King mongkut's institute of technology ladkrabang (KMITL)	
Academic Year	2016	
Advisor	Asst. Prof. Dr. Supattra Poeaim	

Abstract

The purpose of this study was to test the efficacy of *Talaromyces muroii* against *Pythium splendens* and *Pythium cucurbitacearum* that are important pathogens cause root rot of various crops. Growth rates on PDA medium showed that *P. splendens* and *P. cucurbitacearum* has a faster mycelium growth rate than *T. muroii*. Two isolates of *T. muroii* (EU18 and EU25) were tested for their inhibition of two isolates of *P. splendens* (CHP18 and CHP19) and *P. cucurbitacearum* (CHP14) by bi-culture method under controlled laboratory conditions. The results showed that *T. muroii* isolates EU18 and EU25 were able to inhibit the spore formation of *P. splendens* CHP18 with the inhibition of spore pathogen at 84.73 and 96.11%, respectively. For the study of hexane, ethyl acetate and methanol crude extract, the crude extracts of 2 isolates of *T. muroii* EU18 and EU25 were assessed for antifungal activity against *P. splendens* CHP18 by poison plate method. The ethyl acetate crude extract of *T. muroii* EU25 expressed the highest antagonistic activity which inhibited spore pathogen at 50% effective dose (ED₅₀) at 150.58 ppm.

Keywords : *Talaromyces muroii*, *Pythium splendens* and *Pythium cucurbitacearum*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงเป็นอย่างดี ได้ด้วยความอนุเคราะห์ของบุคคลเหล่านี้ ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ซึ่งชี้แนะแนวทางการดำเนินงานวิจัย และข้อคิดเห็นในการแก้ปัญหาต่างๆในการทดลอง อบรมสั่งสอนและดูแลอย่างใกล้ชิด พร้อมทั้งยังคอยให้คำปรึกษาและตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องของเล่มโครงการพิเศษนี้ให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.อนุรักษ์ โพธิ์เอี่ยม ประธานกรรมการสอบ และดร.ณัฐวุฒิ รุ่งจินตามัย กรรมการสอบ ที่กรุณาให้คำแนะนำและข้อเสนอแนะต่างๆ เพื่อให้โครงการพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณพระคุณ รศ.ดร.เกษม สร้อยทอง อาจารย์ประจำภาควิชาการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่มอบความรู้เกี่ยวกับเชื้อรา และให้คำชี้แนะด้วยความเมตตาเสมอมา

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการประจำภาควิชาที่คอยอำนวยความสะดวกและช่วยเหลือทางด้านเครื่องมือและอุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์ ขอขอบคุณพี่ๆ น้องๆ ทุกคนที่มีส่วนช่วยเหลือและเสนอข้อคิดเห็นต่างๆในการทำโครงการพิเศษจนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี และให้กำลังใจตลอดระยะเวลาที่ทำโครงการพิเศษ

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และครอบครัว ที่คอยให้คำชี้แนะต่างๆ ในการทำโครงการพิเศษจนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี และยังเป็นกำลังใจที่สำคัญที่คอยสนับสนุนข้าพเจ้าเสมอมา

จิรัชยา อรทัย
จิรวรรณ ผ่องใส
ณิชากร อรุณวัฒน์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญรูป.....	ช
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 เชื้อราสกุล <i>Pythium</i>	3
2.2 โรคพืชที่เกิดจากเชื้อราสกุล <i>Pythium</i>	6
2.3 เชื้อราสกุล <i>Talaromyces</i>	7
2.4 การใช้ประโยชน์จากเชื้อราสกุล <i>Talaromyces</i>	8
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	10
3.1 แหล่งที่มา.....	10
3.2 สารเคมี.....	10
3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์.....	10
3.4 วิธีการทดลอง.....	11
3.4.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา.....	11
3.4.2 การเพิ่มปริมาณเชื้อรา <i>Talaromyces muroii</i> เชื้อรา <i>Pythium splendens</i> และ <i>Pythium cucurbitacearum</i>	11
3.4.3 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา <i>Talaromyces muroii</i> ที่มีผลต่อการควบคุมเชื้อรา <i>Pythium splendens</i> และ <i>Pythium cucurbitacearum</i>	11
3.4.4 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดยับยั้งจากเชื้อ <i>Talaromyces muroii</i> ต่อการควบคุมเชื้อราสาเหตุของโรค <i>Pythium splendens</i> และ <i>Pythium cucurbitacearum</i>	12
3.4.5 การตรวจสอบประสิทธิภาพสารสกัดยับยั้งต่อการควบคุมของเชื้อราสาเหตุของโรค <i>Pythium splendens</i> และ <i>Pythium cucurbitacearum</i> ด้วยวิธี poison plate.....	13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล.....	15
4.1 ผลของการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา.....	15
4.1.1 เชื้อรา <i>Talaromyces muroii</i>	15
4.1.2 เชื้อรา <i>Pythium splendens</i> และ <i>Pythium cucurbitacearum</i>	18
4.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา <i>Talaromyces muroii</i> ต่อการควบคุมเชื้อรา <i>Pythium splendens</i> และ <i>Pythium cucurbitacearum</i> ในสภาพห้องปฏิบัติการ.....	21
4.3 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา <i>Talaromyces muroii</i> ที่มีผลต่อการควบคุมเชื้อรา <i>Pythium splendens</i> และ <i>Pythium cucurbitacearum</i>	24
4.3.1 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา <i>Talaromyces muroii</i> EU18 ต่อการควบคุมเชื้อรา <i>Pythium splendens</i> CHP18.....	24
4.3.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา <i>Talaromyces muroii</i> EU25 ต่อการควบคุมเชื้อรา <i>Pythium splendens</i> CHP18.....	28
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	33
เอกสารอ้างอิง.....	34
ภาคผนวก.....	37
ภาคผนวก ก.....	38
ภาคผนวก ข.....	40

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 แสดงจำนวนสปอร์ของเชื้อรา และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ร่วมของเชื้อรา <i>Pythium cucurbitacearum</i> และ <i>Pythium Splendens</i>	23
4.2 ประสิทธิภาพของสารสกัดยับยั้งจากเชื้อรา <i>Talaromyces muroii</i> EU18 ที่มีผลต่อการ ควบคุมเชื้อรา <i>Pythium splendens</i> CHP18.....	27
4.3 ประสิทธิภาพของสารสกัดยับยั้งจากเชื้อรา <i>Talaromyces muroii</i> EU25 ที่มีผลต่อการ ควบคุมเชื้อรา <i>Pythium splendens</i> CHP18.....	31



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 แสดงวงจรของเชื้อราสกุล <i>Pythium</i>	5
3.1 แสดงการวางเชื้อต่อต้าน (antagonist) และเชื้อราสาเหตุโรค (pathogen) บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมรวมทั้งจานอาหารตัวควบคุมของเชื้อต่อต้าน และเชื้อสาเหตุโรค.....	12
3.2 แผนผังแสดงลำดับในการสกัดสารสกัดหยาบ.....	13
4.1 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Talaromyces muroii</i> EU18 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร PDA เป็นเวลา 15 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส; A: ลักษณะโคโลนีด้านหน้าจานเพาะเลี้ยง; B: ลักษณะโคโลนีด้านหลังจานเพาะเลี้ยง; C: ลักษณะเส้นใย (10X); D: ลักษณะ ascus (100X); E: ลักษณะ ascospore (100X) จากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง.....	16
4.2 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Talaromyces muroii</i> EU25 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร PDA เป็นเวลา 15 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส; A: ลักษณะโคโลนีด้านหน้าจานเพาะเลี้ยง; B: ลักษณะโคโลนีด้านหลังจานเพาะเลี้ยง; C: ลักษณะเส้นใย (10X); D: ลักษณะ ascus (100X); E: ลักษณะ ascospore (100X) จากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง.....	17
4.3 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Pythium cucurbitacearum</i> CHP14 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร PDA เป็นเวลา 15 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส; A: ลักษณะโคโลนีด้านหน้าจานเพาะเลี้ยง; B: ลักษณะโคโลนีด้านหลังจานเพาะเลี้ยง; C: ลักษณะเส้นใย (40X); D: ลักษณะ chlamydospore (100X); E: ลักษณะ chlamydospore (10X) จากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง.....	18
4.4 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Pythium splendens</i> CHP18 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร PDA เป็นเวลา 15 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส; A: ลักษณะโคโลนีด้านหน้าจานเพาะเลี้ยง; B: ลักษณะโคโลนีด้านหลังจานเพาะเลี้ยง; C: ลักษณะเส้นใย (10X); D: ลักษณะ chlamydospore (100X); E: ลักษณะ chlamydospore (10X) จากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง.....	19
4.5 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา <i>Pythium splendens</i> CHP19 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร PDA เป็นเวลา 15 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส; A: ลักษณะโคโลนีด้านหน้าจานเพาะเลี้ยง; B: ลักษณะโคโลนีด้านหลังจานเพาะเลี้ยง; C: ลักษณะเส้นใย (40X); D: ลักษณะ chlamydospore (100X); E: ลักษณะ chlamydospore (10X) จากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง.....	20
4.6 แสดงผลจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมระหว่างเชื้อรา <i>Talaromyces muroii</i> EU18 ต่อการควบคุมเชื้อ <i>Pythium cucurbitacearum</i> CHP14 (A), <i>Pythium splendens</i> CHP18 (B) และ <i>Pythium splendens</i> CHP19 (C).....	22
4.7 แสดงผลจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมระหว่างเชื้อรา <i>Talaromyces muroii</i> EU25 ต่อการควบคุมเชื้อรา <i>Pythium cucurbitacearum</i> CHP14 (A), <i>Pythium splendens</i> CHP18 (B) และ <i>Pythium splendens</i> CHP19 (C).....	22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.8 สารสกัดหยาบชั้น hexane, ethyl acetate และ methanol จากเชื้อรา <i>Talaromyces muroii</i> EU18 ที่มีผลต่อการควบคุมเชื้อรา <i>Pythium splendens</i> CHP18 ที่ระดับความเข้มข้น 0, 250, 500, 1000 และ 2000 ppm จำนวน 4 ซ้ำ.....	25
4.9 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรค <i>Pythium Splendens</i> CHP18 จากสารสกัดหยาบของเชื้อรา <i>Talaromyces muroii</i> EU18.....	26
4.10 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรค <i>Pythium splendens</i> CHP18 จากสารสกัดหยาบของ <i>Talaromyces muroii</i> EU18.....	26
4.11 สารสกัดหยาบชั้น hexane, ethyl acetate และ methanol จากเชื้อรา <i>Talaromyces muroii</i> EU25 ที่มีผลต่อการควบคุมเชื้อรา <i>Pythium splendens</i> CHP18 ที่ระดับความเข้มข้น 0, 250, 500, 1000 และ 2000 ppm จำนวน 4 ซ้ำ.....	29
4.12 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรค <i>Pythium splendens</i> CHP18 จากสารสกัดหยาบของ <i>Talaromyces muroii</i> EU25.....	30
4.13 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุ <i>Pythium splendens</i> CHP18 จากสารสกัดหยาบของ <i>Talaromyces muroii</i> EU25.....	30

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันการเพาะปลูกพืชทางการเกษตรจะประสบปัญหาเกี่ยวกับความเสียหายที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อราที่อาศัยอยู่ในดิน เช่น เชื้อราสกุล *Pythium* เชื้อราสกุล *Fusarium* เชื้อราสกุล *Phytophthora* เชื้อราสกุล *Rhizoctonia* เชื้อราสกุล *Sclerotium* และอื่นๆ (ประไพพร, 2537) ซึ่งก่อให้เกิดโรคต่างๆ แก่ต้นพืช เช่น เชื้อราสกุล *Pythium* ที่เป็นสาเหตุโรคน้ำเน่าระดับดิน (Damping-off) ก่อให้เกิดความเสียหายกับพืชเศรษฐกิจหลายชนิด อย่างเช่น พืชผักพวกตระกูล กระหล่ำ แดง บวบเหลี่ยม กระเจี๊ยบ ผักบุ้ง มะเขือเทศ ถั่ว พริก และหน่อไม้ฝรั่ง และยังพบในพืชไร่ เช่น ฝ้าย ถั่วเขียว ยาสูบ มันฝรั่ง โดยทำให้เกิดโรคน้ำเน่าระดับดิน ยอดเน่า ลำต้นเน่า นอกจากนี้ยังพบอีกว่าเชื้อราสกุล *Pythium* ยังก่อให้เกิดโรคกับต้นไม้ผลบางชนิดได้ เช่น โรครากเน่าลำต้นเน่าของสตอร์เบอร์รี่ ต้นกล้ามะละกอ โรคยอดเน่าของสับปะรด (ณรงค์, 2546) ลักษณะอาการของพืชที่ถูกเชื้อเข้าทำลายพืชจะแสดงอาการได้หลายแบบ เช่น เมล็ดเน่า (seed rot) อาการเน่าก่อนงอก (pre-emergence damping-off) ซึ่งทำให้ต้นกล้าตายก่อนที่จะโผล่ขึ้นมาบนดิน แต่ถ้าหากต้นกล้าสามารถงอกขึ้นมาบนดินได้ ส่วนของพืชที่อยู่ระดับดินก็จะถูกเชื้อนี้เข้าทำลาย เกิดอาการเน่าหลังงอก (post-emergence damping-off) โดยจะพบต้นกล้าจำนวนมากยุบตัว หรือล้มลงเป็นแห่งๆ ในแปลงปลูก (สุธา และคณะ, 2536)

จากการควบคุมเชื้อราดังกล่าว เกษตรกรส่วนใหญ่มักจะใช้สารเคมีกำจัดเชื้อราในการควบคุมโรคเป็นจำนวนมาก จากการใช้สารเคมีดังกล่าวในระยะเวลานานจะก่อให้เกิดสารพิษตกค้างในสภาพแวดล้อมและผลผลิตทางการเกษตร ซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคและผู้ผลิตเอง อีกทั้งส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศ ทำให้จุลินทรีย์และสิ่งมีชีวิตในดินตามธรรมชาติ ได้รับความกระทบกระเทือน นอกจากนี้การใช้สารเคมีควบคุมโรคพืชยังก่อให้เกิดการดื้อยาของโรคพืช และยากแก่การป้องกันและควบคุมโรคพืชอีกด้วย จากปัญหาดังกล่าวจึงได้มีผู้คิดค้นการควบคุมโรคพืชโดยวิธีต่างๆ เพื่อลดปริมาณการใช้สารเคมี ไม่ให้มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมต่อสิ่งแวดล้อมผู้ผลิตและผู้บริโภค (ณรงค์, 2546) เช่น การนำสารสกัดจากเชื้อรา *Talaromyces trachyspermus* มายับยั้งเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* สาเหตุโรคพืช (กมลวรรณ และคณะ, 2558) เป็นต้น ซึ่งจากการศึกษาพบว่าเชื้อราสกุล *Talaromyces* สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุของโรคพืชได้ และเป็นเชื้อราที่ดำรงชีวิตอยู่บนซากสิ่งมีชีวิต พบแพร่กระจายทั่วไปในดิน ฝุ่นละออง เศษพืช ปุ๋ยหมัก มูลสัตว์ รวมถึงอาหาร (เมอมร, 2558) สามารถแพร่กระจายและเพิ่มปริมาณในดินได้ดี ดังนั้นในโครงการพิเศษจึงมีการศึกษาเชื้อรา *Talaromyces muroii* เชื้อราต่อต้าน มาทำการประยุกต์ใช้ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุของโรคพืชในดินในระดับห้องปฏิบัติการ เนื่องจากเชื้อรา *Talaromyces muroii* สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชในเมล็ดกาแฟได้ (Soytong และ Poearim, 2015)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งในโครงการพิเศษนี้จะกล่าวถึงประสิทธิภาพของเชื้อรา *Talaromyces muroii* ในการยับยั้งเชื้อรา *Pythium splendens* และเชื้อรา *Pythium cucurbitacearum* ในวิธีอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม (Bi-culture) และวิธีทดสอบประสิทธิภาพการสกัดสารหยาบ (Poison plate) ในระดับห้องปฏิบัติการ

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. muroii* ที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อรา *P. splendens* และเชื้อรา *P. cucurbitacearum*

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 เชื้อรา *T. muroii* จำนวนทั้งหมด 2 ไอโซเลต (EU18 และ EU25) ได้รับความอนุเคราะห์จาก ผศ.ดร. สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม และ นางสาวเมอมร สร้อยทอง

1.3.2 เชื้อรา *P. splendens* จำนวนทั้งหมด 2 ไอโซเลต (CHP18 และ CHP19) และเชื้อรา *P. cucurbitacearum* จำนวนทั้งหมด 1 ไอโซเลต (CHP14) ได้รับความอนุเคราะห์จาก ผศ.ดร. สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม และนางสาวสุภานัน สุขศิริ

1.3.3 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อด้วยวิธีอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม (bi-culture) ของเชื้อรา *T. muroii* ที่มีผลต่อการควบคุมเชื้อรา *P. splendens* และเชื้อรา *P. cucurbitacearum* ที่เป็นสาเหตุของโรคในสภาพห้องปฏิบัติการ

1.3.4 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อด้วยสารสกัดหยาบของเชื้อรา *T. muroii* ที่มีผลต่อการควบคุมเชื้อรา *P. splendens* และเชื้อรา *P. cucurbitacearum* ด้วยวิธี poison plate โดยใช้ hexane, ethyl acetate และ methanol เป็นตัวทำละลาย

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบประสิทธิภาพของเชื้อราและสารสกัดหยาบเชื้อรา *T. muroii* ที่มีต่อการควบคุมเชื้อรา *P. splendens* และเชื้อรา *P. cucurbitacearum* สาเหตุของโรคเน่า ซึ่งจะ เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการประยุกต์ใช้ในการควบคุมเชื้อที่เป็นสาเหตุโรครพืชนในการทำเกษตรต่อไป

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เชื้อราสกุล *Pythium*

เชื้อราสกุล *Pythium* เป็นเชื้อราที่อาศัยอยู่ในดินชนิดหนึ่ง มีทั้งพวกแซโพรไฟต์ และปรสิตร พวกปรสิตรสามารถทำให้เกิดโรคกับพืช สัตว์และมนุษย์ โดยเชื้อราจะสร้างเส้นใยเจริญเข้าไปใน host เส้นใยของเชื้อราสกุล *Pythium* ปกติมีอายุสั้น สามารถอยู่ได้ในธรรมชาติเพียงวันเดียว แต่เชื้อราสามารถอยู่รอดในดินเป็นเวลานาน โดยสร้างโครงสร้างอื่นขึ้นมา (Lockwood, 1960; Stanghellini และ Hancock, 1971a) เช่น oospore ซึ่งมีผนังหนา (Hoppe, 1966; Stanghellini และ Buri; 1973; Stanghellini และ Nigh 1972; Trujillo และ Marcley, 1967) โดยมีการศึกษาได้รายงานว่ oospore ของเชื้อราสกุล *Pythium* สามารถมีชีวิตรอดอยู่ในดินเป็นเวลา 12 ปี แต่อัตรการงอกจะลดลง (Hoppe, 1966) และสามารถอยู่รอดในดินที่เย็นเป็นน้ำแข็งได้นานหลายเดือน นอกจากนี้ oospore แล้วยังพบ chlamydospore ดังรูปที่ 4.3, 4.4 และ 4.5 สามารถอยู่ในดินได้นานหลายปี ความสามารถในการอยู่รอดของเชื้อราสกุล *Pythium* จะจำกัดด้วยปัจจัยต่างๆของสภาพแวดล้อม เช่น ความชื้นของดิน ระดับคาร์บอนไดออกไซด์และออกซิเจน สำหรับโครงสร้างบางชนิดที่เชื้อราสกุล *Pythium* สร้างขึ้นมาแต่มีอายุสั้นคือ sporangium และ zoospore (Luna and Hine, 1964; Trujillo และ Hine, 1965)

เชื้อราสกุล *Pythium* อยู่ในชั้น (Class) Oomycetes ลำดับ (Order) Peronosporales วงศ์ (Family) Pythiaceae เป็นสาเหตุของโรคเน่าคอดิน หรือเน่าระดับดิน (damping-off) ของต้นกล้าพืชสำคัญหลายชนิด เข้าทำลายต้นกล้าพืช หรือเมล็ดพันธุ์ในดินก่อนงอก พบราพวกนี้เข้าทำลายต้นกล้าพืชในประเทศเขตร้อนต่างๆ เช่น ไทย อินเดีย อินโดนีเซีย มาเลเซีย ออสเตรเลีย ศรีลังกา ไนจีเรียและเขตกึ่งร้อน เช่น อิซราเอล แอฟริกาใต้ บางรัฐของสหรัฐอเมริกา ลิเบีย เป็นต้น ราทำลายต้นกล้าพืชในเรือนเพาะชำ แปลงตกล้าพืชมากมายหลายชนิดทั้งใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่ เช่น มะละกอ ถั่วลิสง ฝ้าย แตงโม มะม่วง กล้วยไม้ หญ้าชนิดต่างๆ ข้าว ถั่ว ชิง ยาสูบ มะเขือเทศ พริก ราเข้าทำลายเมล็ดก่อนเมล็ดพืชงอก เมล็ดมีลักษณะอาการเน่าทั้งที่ยังไม่งอก หรืองอกอยู่ในดิน ซึ่งทำให้สังเกตได้ยาก แต่หากเมล็ดงอกโผล่จากดิน แล้วเจริญเป็นต้นกล้าพืช ราเข้าทำลายที่ระดับดิน โคนต้นกล้าเกิดอาการฉ่ำน้ำ ทำต้นกล้าล้มพับอยู่เหนือดิน ใบเลี้ยงยังคงเขียว ไม่มีอาการเหี่ยว หากสภาพแวดล้อมเหมาะสมกับการเจริญของรา ความชื้นสูง ทำให้ต้นกล้าเน่าเป็นหย่อมๆ ในแปลงกล้า หรือในกระบะเพาะกล้า (อมรรัตน์ และคณะ, 2549)

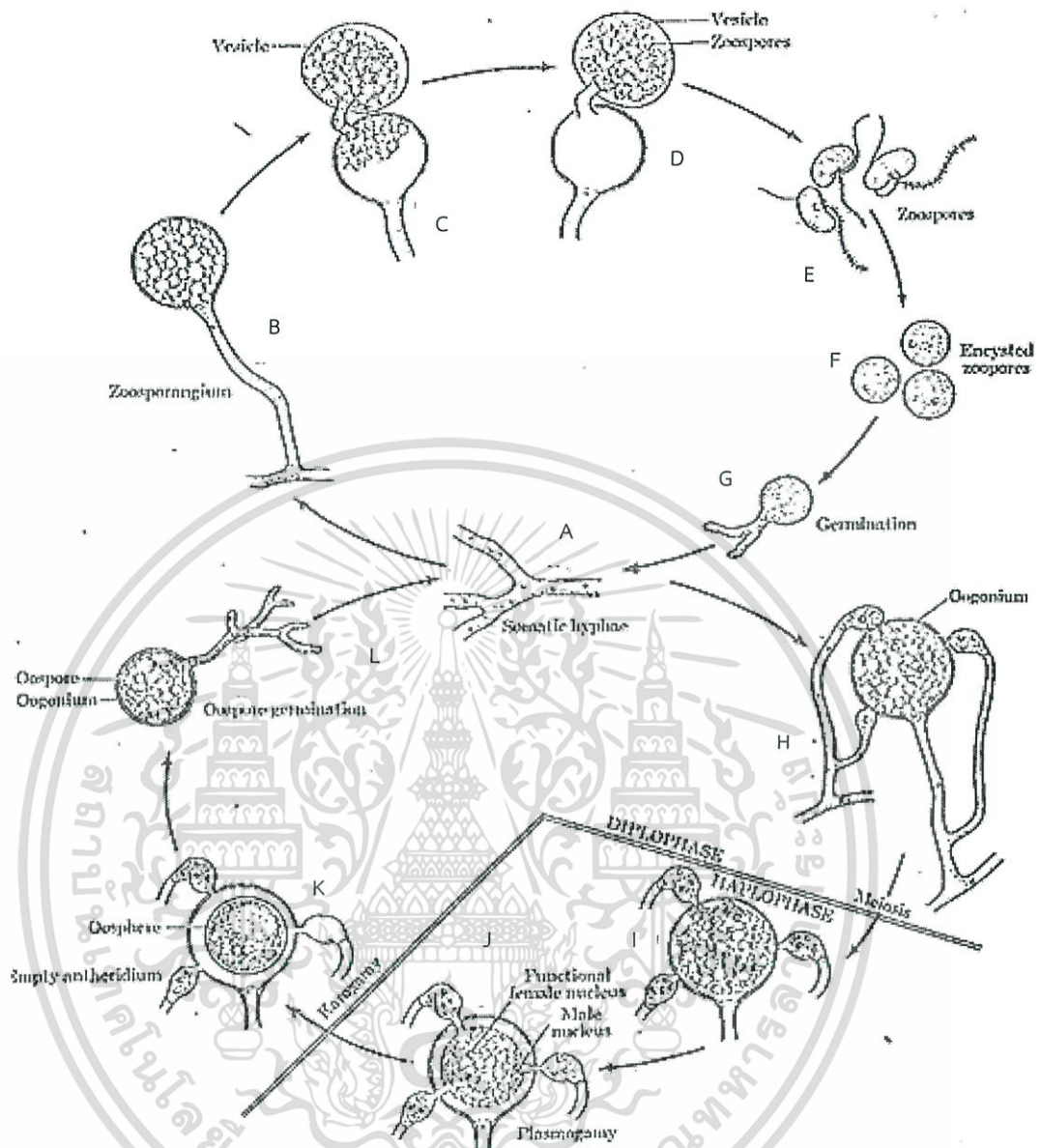
สามารถจัดจำแนกอนุกรมวิธานของเชื้อราสกุล *Pythium* ตามวิธีของ Alexopoulos และคณะ (1979) ได้ดังนี้

Division	Eumycota
Subdivision	Mastigomycotina
Class	Oomycetes
Order	Peronosporales
Family	Pythiaceae

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Van (1981) และ Waterhouse (1968) ได้บรรยายลักษณะต่างๆของเชื้อราสกุล *Pythium* ว่ามี เส้นใยไม่มีสี เส้นใยกว้างประมาณ 5-7 ไมครอน บางครั้งอาจกว้างถึง 10 ไมครอน ไม่มีผนังกันตามขวางยกเว้นในเส้นใยที่แก่หรือตรงตำแหน่งที่จะแยกไปเพื่อสร้างสปอร์ ซึ่งในการผลิตเส้นใย (aerial mycelium) จะขึ้นอยู่กับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ ถ้าเลี้ยงในอาหาร corn meal agar (CMA) หรือ potato carrot agar (PCA) พบว่าส่วนใหญ่จะไม่ผลิตเส้นใยอากาศ แต่ถ้าหากเลี้ยงบนอาหาร oatmeal agar พบว่ามีหลายชนิดจะสร้างเส้นใยอากาศได้มาก การสืบพันธุ์ของเชื้อมีทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ โครงสร้างแบบไม่อาศัยเพศได้แก่ sporangium หรือ zoosporangium หรือ zoospore ซึ่ง zoospore จะสร้างในโครงสร้างที่มีผนังบางเรียกว่า vesicle โดย vesicle จะผลิตขึ้นที่ส่วนท้ายของท่อปล่อย sporangium รูปร่างของ sporangium มีหลายแบบเช่น filamentous, nitrated filamentous, globose และ spherical ขนาดของ sporangium ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อท่อปล่อย zoospore ของ sporangium แบบ spherical ส่วนใหญ่จะสั้นกว่าแบบอื่นๆ ส่วน zoospore จะมี flagellum 2 เส้น ช่วยให้ว่ายน้ำได้รวดเร็ว ส่วนโครงสร้างแบบอาศัยเพศเมียคือ oogonium และอวัยวะเพศผู้คือ antheridium การเกิดของ oogonium อาจเกิดขึ้นที่ส่วนปลายของเส้นใยหรืออาจเกิดตรงระหว่างกลางของเส้นใย ผิวของ oogonium อาจมีผนังเรียบหรือมีหนามยื่นออกมารอบๆ ลักษณะของ antheridium ประกอบด้วยเซลล์ของ antheridium 1 อัน อาจมีก้านหรือไม่มีก้าน (sessile) antheridium อาจเกิดเป็นเซลล์ระหว่างเส้นใยหรือสร้างที่ปลายของเส้นใย เมื่อเซลล์ของ antheridium สัมผัสกับ oogonium แล้วจะสร้างท่อ fertilization แทรกเข้าไปใน oogonium การเกิดของ antheridium ที่เกิดจากก้านเดียวกันกับก้านของ oogonium เรียกว่า monoclinal หากการเกิดของ antheridium ที่เกิดจากต่างเส้นใยที่ไม่ต่อเนื่องกับ oogonium นั้นส่วนใหญ่ในการศึกษาจะเรียกว่า diclinal

ลักษณะการสืบพันธุ์ของอวัยวะเพศผู้และเพศเมียที่พบในเชื้อราสกุล *Pythium* เป็นแบบ paragynous, amphigynous และ hypogynous ลักษณะของ paragynous คือตำแหน่งสัมผัสปรากฏขึ้นบนจุดบนผนังของ oogonium สำหรับ hypogynous คือส่วนที่อยู่ใกล้ชิดกับก้านของ oogonium สำหรับ amphigynous คือส่วนที่อยู่ใกล้ชิดกับก้านของ oogonium กลายเป็น amphigynous ลักษณะส่วนมากที่พบในสกุล *Pythium* คือ paragynous โดยมี antheridium จำนวน 1 อันหรือมากกว่าที่เข้าเกาะที่ผิวของแต่ละ oogonium หลังจากการปฏิสนธิแล้ว oogonium จะเป็น zygote และพัฒนาไปเป็นสปอร์ผนังหนา คือ oospore ซึ่งมีหนึ่งหรือมากกว่าหนึ่ง oospore ต่อหนึ่ง oospore ผนังของ oospore มีลักษณะเรียบยกเว้นใน *P. dictyospora* มีผนังเป็นร่างแห วัฏจักรชีวิตของเชื้อราสกุล *Pythium* เป็นดังนี้



รูปที่ 2.1 แสดงวงจรของเชื้อราสกุล *Pythium*

A: Somatic hypha; B: zoosporangium; C: การสร้าง vesicle; D: แสดง zoospore; ภายใน vesicle; E: zoospore; F: encysted zoospore; G: การงอกของ zoospore; H: Gametangium; I: Gametangium หลังการเกิด meiosis; J: การผ่านของนิวเคลียสเพศผู้สู่ออสปอร์; K: นิวเคลียสรวมกันและเกิด oospore; L: การงอกของ oospore (ที่มา : Alexopoulos และ Mims, 1979)

ธีรเจต และคณะ (2559) กล่าวถึงลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *P. aphanidermatum* จากการจัดจำแนกในเบื้องต้น โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อพบว่า ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นแบบปุยฝ้าย (cottony) เจริญได้รวดเร็ว sporangium มีลักษณะคล้ายเส้นใย (filamentous sporangium) ดังรูปที่ 4.3, 4.4 และ 4.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อราสกุล *Pythium* เป็นพวกเกิดและอาศัยอยู่ในดิน (soil borne) มีความสามารถที่อยู่รอดด้วยการเป็นพวกซาโพไฟท์ (saprophyte) พวกนี้เป็นปรสิต (parasite) กับพืชเกือบทุกชนิด โดยเฉพาะเจาะจง มีความสำคัญต่อการเกษตร ทำให้เกิดโรคพืชหลายชนิดที่เป็นพืชเศรษฐกิจ เป็นสาเหตุของโรคเน่าคอดินของกล้าพืชและบางครั้งทำให้เกิดโรคโคนรากเน่าของพืชที่เจริญเติบโตโดยทำลายเนื้อเยื่อที่บอบบาง เข้าทำลายต้นกล้าพืชได้ทั้งก่อนและหลังการงอกของเมล็ดพืชในดิน เกิดการระบาดทำลายต้นกล้าได้รวดเร็วขึ้นอยู่กับชนิดและสภาพแวดล้อม แต่พืชบางชนิดอาจถูกราดวันนี้เข้าทำลายเมื่อตอนอายุมากๆ ได้ เช่น พืชตระกูลแตงที่ปลูกในที่ระบายน้ำไม่ดี ความไม่สมดุลเหมาะสมกับการใส่ปุ๋ยให้กับพืช หรือพืชที่ปลูกไร้ดิน เช่น ผักกระเฉด เป็นต้น (ทวี, 2549)

อมรรัตน์ และ พิระวรรณ (2552) ได้ทำการศึกษาการสำรวจ รวบรวม และจำแนกราสกุล *Pythium* สาเหตุโรคพืช ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อราสกุล *Pythium* จากแหล่งปลูกพืชทั่วประเทศ ระหว่างเดือนตุลาคม 2549 - กันยายน 2552 ได้ตัวอย่างโรคลำเนา ต้นเน่าของพืชชนิดต่าง ๆ นำมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้ เชื้อราสกุล *Pythium* สาเหตุโรคพืช ทั้งหมด 30 ไอโซเลต ได้เก็บรวบรวมตัวอย่างเมล็ดพันธุ์พืช จำนวน 13 ชนิดพืช ตรวจไม่พบเชื้อราสกุล *Pythium* ทุกชนิดพืช ส่วนการเก็บตัวอย่างดินจากแปลงปลูกพืช แปลงเพาะกล้าพืช ไม้ดอก ไม้ประดับ และพืชไร่จากแหล่งปลูก ได้ตัวอย่างดินคหน้า ดินปลูกวางตุ้งและดินปลูกสตรอเบอร์รี่ รวมได้ตัวอย่างดิน 11 ตัวอย่าง แยกได้เชื้อราสกุล *Pythium* จากดินปลูกพืช ทุกตัวอย่างรวมได้ เชื้อราสกุล *Pythium* บริสุทธิ์ ทั้งหมดจำนวน 41 ไอโซเลท จำแนกเป็นเชื้อราสกุล *Pythium* 15 ชนิด คือ *P. monospermum* สาเหตุโรคลำเนา แตงกวา *P. vanterpoolii* สาเหตุโรคลำเนา กะหล่ำปลีสีม่วง *Pythium* Group G สาเหตุโรคต้นเน่าผักกระเฉด โรครากเน่าต้นเหี่ยวสนมังกง *Pythium* Group HS สาเหตุโรคต้นเน่าผักกระเฉด *P. spinosum* และ *P. rostratum* สาเหตุโรคต้นเน่าสตรอเบอร์รี่ *P. indigoferae* สาเหตุโรคต้นเน่าผัก *P. middletonii* สาเหตุโรคต้นเน่าของต้นขวด *P. perplexum* สาเหตุโรคต้นเน่ารากเน่าผักไร้ดิน *P. tracheiphilum* สาเหตุโรคต้นเน่าต้นถั่วเขียว และโรครากเน่าต้นเน่ากล้วย *P. irregulare* และ *P. periplocum* สาเหตุโรคต้นเน่าต้นกล้วย *P. intermedium* สาเหตุโรคใบเน่าบัวประดับ และ *P. aphanidermatum* สาเหตุโรคลำเนามะเขือเทศ และโรคลำเนา ลำต้นเน่ามะละกอ พบในดินคหน้าทุกตัวอย่างจากสุพรรณบุรี ปทุมธานี เชียงใหม่และเชียงราย และดินวางตุ้งจากเชียงใหม่ และเชียงราย พบเชื้อรา *P. ultimum* ไอโซเลตอื่น ๆ

2.2 โรคพืชที่เกิดจากเชื้อสกุล *Pythium*

เชื้อราสกุล *Pythium* เป็นพวกเกิดและอาศัยอยู่ในดิน (soil borne) มีความสามารถที่อยู่รอดด้วยการเป็นพวกซาโพไฟท์ (saprophyte) พวกนี้เป็นปรสิต (parasite) กับพืชเกือบทุกชนิด โดยเฉพาะเจาะจงมีความสำคัญต่อการเกษตรทำให้เกิดโรคพืชหลายชนิดที่เป็นพืชเศรษฐกิจ เป็นสาเหตุของโรคเน่าคอดินของกล้าพืชและบางครั้งทำให้เกิดโรคโคนรากเน่าของพืชที่เจริญเติบโต โดยการเกิดโรคนั้นจะเข้าทำลายเนื้อเยื่อที่บอบบาง เข้าทำลายต้นกล้าพืชได้ทั้งก่อนและหลังการงอกของเมล็ดพืชในดิน การระบาดทำลายต้นกล้าได้อย่างรวดเร็วขึ้นอยู่กับชนิดของสภาพแวดล้อม แต่ละพืชบางชนิดอาจถูกราดวันนี้เข้าทำลายเมื่อตอนอายุมากๆ ได้เช่นพืชตระกูลแตงที่ปลูกที่ระบายน้ำไม่ดี ความไม่สมดุลเหมาะสมกับการใส่ปุ๋ยให้กับพืชหรือพืชที่ปลูกไร้ดิน เช่น ผักกระเฉด เป็นต้น (ทวี, 2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พืชที่เกิดจากการติดเชื้อราสกุล *Pythium* จะเกิดได้โดยส่วนของ germ tube หรือ zoospore หรือทั้งสองอย่างได้ในบางชนิด สำหรับ oospore จะงอกเมื่อมีการกระตุ้นด้วย ความชื้น ในระยะเวลาหนึ่งหรือสารที่ไหลซึมออกมาจากเมล็ดหรือรากของพืช (Hoppe, 1966) โดยในสภาพดิน ที่แห้งจะเป็นตัวจำกัดในการงอกของ oospore ซึ่งมีผลเช่นเดียวกับเชื้อแบคทีเรีย แต่ในเชื้อรา *P. aphanidermatum* พบว่ามีความสามารถในการใช้ธาตุอาหารและงอกในสภาพที่แห้งได้ (เกษม, 2532) ส่วนพืชที่จะติดเชื้อได้นั้นจะต้องมีปัจจัยเข้ามาเกี่ยวข้อง เช่นอุณหภูมิ และความชื้นของ ดิน หรือดินที่มีอินทรีย์วัตถุเพียงเล็กน้อยก็จะทำให้ประชากรของเชื้อรา *P. ullimum* เพิ่มขึ้นได้ (เกษม, 2532)

ธิติพร (2554) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการควบคุมโรคที่เกิดจาก เชื้อรา *P. aphanidermatum* ในถั่วพุ่มพันธุ์ โดยทำการศึกษาประสิทธิภาพสารสกัดจากพืช 7 ชนิด คือ กระเทียม ข่า ขมิ้นชัน ตะไคร้หอม สะเดา ผักแพว และผักแขยงที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ methanol acetone และ hexane ที่ระดับความเข้มข้น 10,000, 20,000, 30,000, 40,000 และ 50,000 ppm กับชุดควบคุมคือ น้ำกลั่น และสารเคมี Captan 1,000 ppm ในการควบคุมโรคที่ เกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในถั่วพุ่มพันธุ์ มมส.1 ในห้องปฏิบัติการ โดยวิธี poisoned food technique วางแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Random Design จำนวน 4 ซ้ำ ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดจากข่าและขมิ้นชันที่สกัดด้วยอะซิโตน สามารถยับยั้งการเจริญของ เชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้ดีที่สุด อย่างไรก็ตามสารสกัดจากพืชทดสอบทั้ง 7 ชนิดสามารถ ยับยั้งการเจริญของเชื้อราชนิดนี้ได้ขึ้นอยู่กับชนิดพืช ตัวทำละลาย และระดับความเข้มข้น

2.3 เชื้อราสกุล *Talaromyces*

เชื้อราสกุล *Talaromyces* มีโคโลนีสีขาวถึงสีเหลือง ค่อนข้างครีม ขมพู เขียว และสีส้ม มี fruiting body หรือ ascocarp แบบ cleistothecium หรือ gymnothecium มีลักษณะคล้ายถุง ปิดไม่มีช่องเปิด รูปร่าง globose (กลม) ถึง subglobose (ค่อนข้างกลม) ตัน แยกออกจากกันหรือ อยู่ติดกัน โดย ascomata wall ประกอบด้วยเส้นใยหนาๆ มีสีขาวถึงเหลือง ค่อนข้างครีม ค่อนข้าง ขมพู ส้ม ค่อนข้างแดงหรือเขียว ascus (พหูพจน์: asci) สร้างในลักษณะโซ่ และภายในบรรจุ 8 ascospores หรือบางครั้งบรรจุเพียง 2 ascospores ซึ่งมีลักษณะกลมถึงวงรี conidiopore มี พื้นผิวเรียบหรือขรุขระ และมีกิ่งก้าน phialide สองชั้น โดยสัดส่วนเล็กที่ด้านปลาย บางครั้งมีกิ่งก้าน phialide ชั้นเดียว conidia หรือ asexual spore ค่อนข้างกลม เชื้อราในสกุลนี้มีหลายสปีชีส์ ยกตัวอย่างเช่น

Talaromyces muroii พบว่ามี ascocarp สีเหลืองอ่อนถึงสีเหลือง รูปร่างค่อนข้างกลม ascospore รูปร่าง ellipsoidal (วงรี) ขนาด 3.5-6 × 3-4 ไมโครเมตร มีผนังค่อนข้างหนา ไม่มี ridge และ conidiphore สร้างกิ่งแบบ monoverticillate ถึง biverticillate ซึ่งส่วนย่อยมีกิ่งอยู่ ด้านปลาย (เมอมร, 2558) ดังรูป 4.1 และ 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 การใช้ประโยชน์จากเชื้อราสกุล *Talaromyces*

ธิดา และคณะ (2550) ทำการศึกษาความหลากหลายของเชื้อราสกุล *Talaromyces* จากดิน และผลต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืชในห้องปฏิบัติการ โดยทำการแยกเชื้อราจากดินด้วยวิธี soil plate ทั้ง 32 จังหวัดในประเทศไทย ได้เชื้อรา *T. flavus* ทั้งหมด 20 สายพันธุ์ และทำการสกัดสารทุติยภูมิจากเชื้อรา *T. flavus* ซึ่งจะใช้สารละลาย ethyl acetate เพื่อนำสารสกัดที่ได้ใช้ในการควบคุมเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคพืชกว่า 10 ชนิด ในสภาพห้องปฏิบัติการ และจากผลการทดสอบพบว่าเชื้อรา *T. flavus* ทุกสายพันธุ์สามารถควบคุมเชื้อรา *Phytophthora palmivora* ซึ่งเป็นสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนได้อย่างมีประสิทธิภาพ ขณะที่เชื้อรา *T. flavus* ทุกสายพันธุ์ ยกเว้น สายพันธุ์ T67 และ T137 สามารถควบคุมเชื้อรา *P. parasitica*, *F. oxysporum*, *F. semitectum*, *Colletotrichum capsici*, และ *C. gloeosporioides* ได้ปานกลาง แต่ทุกสายพันธุ์ไม่สามารถควบคุมเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae*, *Rhizoctonia oryzae* และ *Sclerotium rolfsii* ในสภาพห้องปฏิบัติการ

Dethoup และคณะ (2007) ทำการแยกเชื้อรา *T. flavus* ได้ทั้งหมด 122 ไอโซเลต จากดิน 45 ตัวอย่าง ใน 38 จังหวัดในประเทศไทย ศึกษาลักษณะทางสัณฐาน การเจริญเติบโตของโคโลนี สีของโคโลนีที่ขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีลักษณะที่แตกต่างกันภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบอเล็กตรอน ในการทดลองจะแยกเชื้อจากดินของจังหวัดเชียงใหม่และแม่ฮ่องสอน พบเชื้อรา *T. flavus* ทั้งหมด 20 สายพันธุ์ นำมาทดสอบความสามารถในการควบคุมกับเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคพืชทั้ง 15 สายพันธุ์ พบว่า เชื้อรา *T. flavus* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. palmivora* เชื้อรา *P. parasitica* เชื้อรา *Peronophythora litchii* เชื้อรา *C. capsici* เชื้อรา *C. gloeosporioides* เชื้อรา *Pestalotiopsis guepinii* เชื้อราสกุล *Phyllosticta* เชื้อรา *Curvularia lunata* เชื้อรา *Helminthosporium maydis* เชื้อรา *H. oryzae* และเชื้อรา *Fusarium oxysporum* ได้

กมลวรรณ และคณะ (2558) ทำการคัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟท์ จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ เชื้อรา *T. trachyspermus* (KUFA 35) เชื้อรา *Eurotium chevarii* (KUFA 39) เชื้อรา *Neosartorya* spp. (KUFA 41 และ 47) และเชื้อรา *Nigrospora* (KUFA 51) นำมาทำการสกัดสารทุติยภูมิและทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดที่ความเข้มข้น 10,000, 1,000, 100, 10 และ 1 ppm ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคพืชทั้ง 10 ชนิด ด้วยวิธี Dilution Plate ผลการทดสอบพบว่า สารสกัดจากเชื้อรา *T. trachyspermus* (KUFA 35) มีประสิทธิภาพสูงสุด รองลงมา ได้แก่ *Eurotium chevarii* (KUFA 39) เชื้อราสกุล *Neosartorya* (KUFA 41) เชื้อราสกุล *Neosartorya* (KUFA 47) และเชื้อราสกุล *Nigrospora* (KUFA 51) ตามลำดับ โดยที่ความเข้มข้น 100 ppm สารสกัดจากเชื้อรา *T. trachyspermus* (KUFA 35) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ได้ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ความเข้มข้น 1,000 ppm สารสกัดจากเชื้อรา *T. trachyspermus* (KUFA 35) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora* และเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้มากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ รวมถึงสารสกัดจากเชื้อรา *Eurotium chevarii* (KUFA 39) และเชื้อราสกุล *Neosartorya* (KUFA 41) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora* เชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* เชื้อรา *C. gloeosporioides* และเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่สารสกัดจากเชื้อราสกุล *Neosartorya* (KUFA 41) และเชื้อราสกุล *Nigrospora* (KUFA 51) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุ

โรคพืชได้ที่ความเข้มข้น 10,000 ppm เท่านั้น ศึกษานี้เท่านั้น ไม่นิยามให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Soytong และ Poeaim (2015) ได้ทำการศึกษาวินิจฉัยเรื่องการใช้เชื้อรา *T. muroii* ในการยับยั้งโรคที่เกิดในกาแฟ โดยทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *T. muroii* โดยนำสารสกัดหยาบที่ได้จากชั้น ethyl acetate และ metanol มาทำการทดสอบการเชื้อรา *C. coffeanum* ผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากเชื้อรา *T. muroii* ในชั้น methanol, acetone และ hexane ความเข้มข้นที่ 1000 ppm สามารถยับยั้งเชื้อรา *C. coffeanum* ได้ถึง 43.00, 60.75 และ 60.75 ตามลำดับ จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากเชื้อรา *T. muroii* สามารถยับยั้งเชื้อรา *C. coffeanum* โรคที่เกิดในเมล็ดกาแฟได้

ชุตินา และคณะ (2557) ทำการแยกราเอนโดไฟท์จากกิ่งและใบโสนบริเวณอำเภอด่างต่างๆ ของจังหวัดพระนครศรีอยุธยา พบราเอนโดไฟท์ จำนวน 143 สายพันธุ์ จัดจำแนกชนิดราได้ 7 สกุล 5 ชนิด ดังนี้ เชื้อรา *Chaetomium globosum* เชื้อรา *Curvularia lunata* เชื้อราสกุล *Curvularia* เชื้อรา *Nigrosporium sphaerica* เชื้อราสกุล *Pestalotiopsis* เชื้อราสกุล *Phomopsis* เชื้อรา *T. trachyspermus* เชื้อรา *Zygosporium masonii* และเชื้อราสกุล *Unidentified* เมื่อนำราเอนโดไฟท์ที่แยกได้ 21 สายพันธุ์ มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญ ของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 10 ชนิดบนอาหาร PDA พบว่า *T. trachyspermus* สายพันธุ์ 1-41-4 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้ง การเจริญของราสาเหตุโรคพืช โดยพบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Bipolaris maydis* สาเหตุโรคใบไหม้ข้าวโพด และ เชื้อรา *Alternaria alternata* สาเหตุโรคผลเน่าของสาลี่ได้ถึง 64.8 และ 76.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากงานวิจัยของ กมลวรรณ และคณะ (2558) ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Soytong และ Poeaim (2015) ที่ได้ทำการศึกษาสารสกัดจากเชื้อราสกุล *T. muroii* ในการยับยั้งเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคพืชต่างๆ ผลการทดลองพบว่า สารสกัดจากเชื้อรา *T. muroii* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum coffeanum* และเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ได้มากถึง 50 – 60 เปอร์เซ็นต์ และสอดคล้องกับงานวิจัยของ ธิดา และคณะ (2011) ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. flavus* ที่แยกได้ 20 ไอโซเลต กับเชื้อราสาเหตุโรค พบว่า *T. flavus* สามารถยับยั้ง *Pythium aphanidermatum* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 แหล่งที่มา

เชื้อรา *T. muroii* จำนวน 2 ไอโซเลต (EU18 และ EU25) ได้รับการอนุเคราะห์จาก ผศ.ดร. สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม และนางสาวเมอมร สร้อยทอง เชื้อรา *P. splendens* จำนวน 2 ไอโซเลต (CHP18 และ CHP19) และเชื้อรา *P. cucurbitacearum* จำนวน 1 ไอโซเลต (CHP14) ได้รับความอนุเคราะห์จาก ผศ.ดร. สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม และนางสาวสุภานัน สุขศิริ โดยจะเพิ่มปริมาณในจานเพาะเลี้ยงที่มีอาหาร PDA และขวดเพาะเลี้ยงที่มีอาหาร PDB

3.2 สารเคมี

3.2.1 สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

3.2.3.1 อาหาร potato dextrose agar (PDA)

3.2.3.2 อาหาร potato dextrose broth (PDB)

3.2.3.3 อาหาร water agar (WA)

3.2.3.4 สีย้อม lactophenol cotton blue

3.2.2 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดสารสกัดหยาบจากเชื้อรา

3.2.3.1 hexane

3.2.3.2 ethyl acetate

3.2.3.3 methanol

3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.3.1 autoclave

3.3.2 rotary vacuum evaporator

3.3.3 cock borer

3.3.4 hemacytometer

3.3.5 hot air oven

3.3.6 incubator

3.3.7 laminar air flow

3.3.8 needle

3.3.9 light microscope

3.3.10 duran

3.3.11 alcohol Burner

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.3.12 beaker
- 3.3.13 test tube rack
- 3.3.14 pipette
- 3.3.15 micropipette
- 3.3.16 micropipette Tips
- 3.3.17 platform Scale
- 3.3.18 shaking incubator
- 3.3.19 cylinder
- 3.3.20 whatman
- 3.3.21 spinner

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา

นำเชื้อราที่ได้รับความอนุเคราะห์มาทำการยืนยันด้วยการศึกษาจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยนำมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน สังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อและลักษณะสัณฐาน โดยทำการบันทึกสีและขนาดของโคโลนี และศึกษาลักษณะของเส้นใย ascus, ascospore และ chlamydospore ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง โดยย้อมเชื้อลงบนสไลด์ แล้วย้อมด้วยสีย้อม lactophenol cotton blue

3.4.2 การเพิ่มปริมาณเชื้อรา *Talaromyces muroii* เชื้อรา *Pythium splendens* และ *Pythium cucurbitacearum*

นำเชื้อรา *T. muroii* จำนวน 2 ไอโซเลต (EU18 และ EU25) ที่ได้รับความอนุเคราะห์จาก ผศ.ดร.สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม และนางสาวเมอมร สร้อยทอง และนำเชื้อรา *P. splendens* จำนวน 2 ไอโซเลต (CHP18 และ CHP19) เชื้อรา *P. cucurbitacearum* จำนวน 1 ไอโซเลต (CHP14) ที่ได้รับความอนุเคราะห์จาก ผศ.ดร. สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม และนางสาวสุภาณัน สุขศิริ โดยเพิ่มปริมาณในจานเพาะเลี้ยงที่มีอาหาร PDA จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส และสังเกตการเจริญเติบโตจนเต็มจานเพาะเลี้ยง

3.4.3 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Talaromyces muroii* ที่มีผลต่อการควบคุมเชื้อรา *Pythium splendens* และ *Pythium cucurbitacearum*

ทดสอบเชื้อรา *T. muroii* (เชื้อราต่อต้าน) ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณเชื้อ จำนวน 2 ไอโซเลต (EU18 และ EU25) ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรค *P. splendens* จำนวน 2 ไอโซเลต (CHP18, CHP19) และเชื้อรา *P. cucurbitacearum* จำนวน 1 ไอโซเลต (CHP14) ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราต่อต้านและเชื้อราสาเหตุโรคด้วยวิธีเลี้ยงเชื้อร่วม (Bi-culture) โดยใช้หลอดที่ผ่านการฆ่าเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะลงบนเชื้อราต่อต้านและเชื้อราสาเหตุโรคที่โตเต็มจานเพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA ย้ายขึ้นวันที่มีเชื้อรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้ในเชิงพาณิชย์เท่านั้น มิใช่สัญญาที่เห็นเป็นประโยชน์แก่บุคคลอื่น
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อต้านและเชื้อราสาเหตุโรคมาวางบนอาหาร PDA ในทางตรงกันข้ามกัน ให้มีระยะห่างจากกันที่ 4.5 เซนติเมตร และทำการเลี้ยงเชื้อราต่อต้านและเชื้อราสาเหตุของโรคแยกจากกันบนอาหาร PDA เป็นตัวเปรียบเทียบ (control) นำจานอาหารเลี้ยงรวมไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 30 วัน เมื่อครบเวลานับจำนวนสปอร์ของเชื้อราสาเหตุของโรคด้วย hemacytometer แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์ โดยใช้สูตร

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

R1 = จำนวนสปอร์ของเชื้อราสาเหตุของโรคในจานอาหารเปรียบเทียบ (control)

R2 = จำนวนสปอร์ของเชื้อราสาเหตุของโรคในจานอาหารเลี้ยงเชื้อรวม

ทำการวิเคราะห์ข้อมูล โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น P= 0.05 ด้วยโปรแกรม SPSS



รูปที่ 3.1 แสดงการวางเชื้อต่อต้าน (antagonist) และเชื้อราสาเหตุโรค (pathogen) บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อรวม รวมทั้งจานอาหารตัวควบคุมของเชื้อต่อต้านและเชื้อสาเหตุโรค

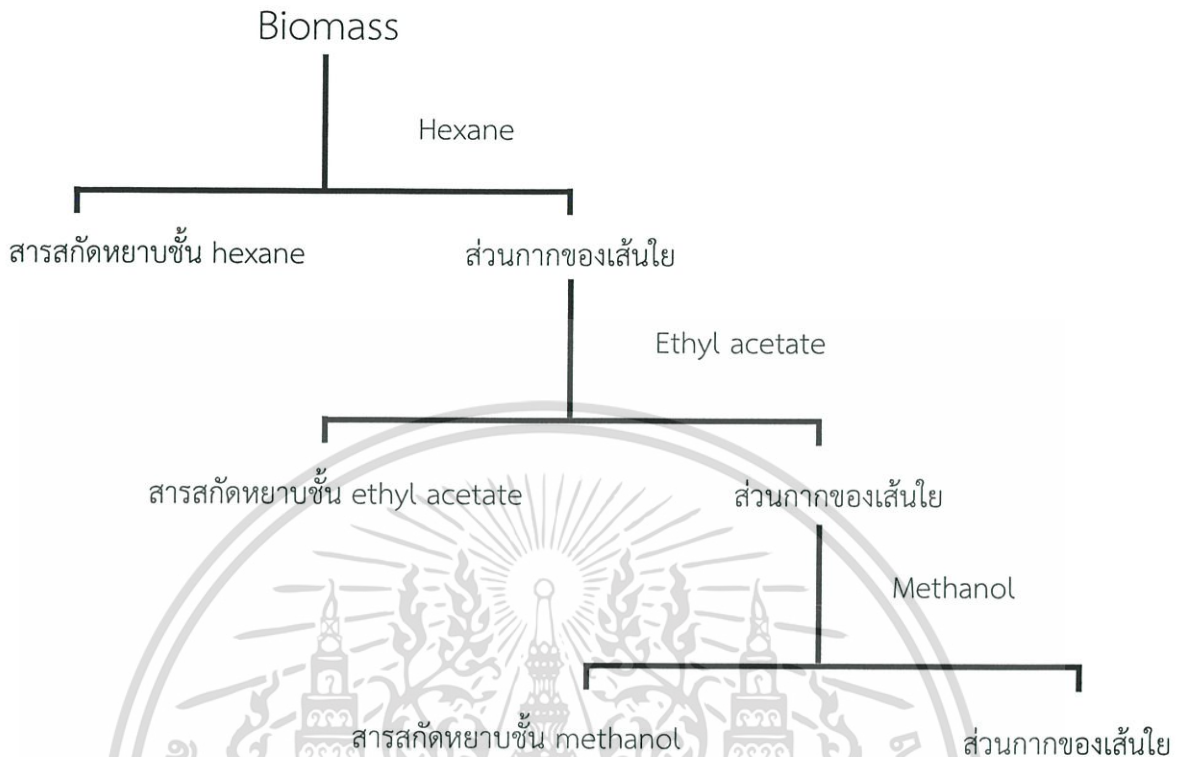
หมายเหตุ: ● = เชื้อราสาเหตุโรค *P. splendens* และ *P. cucurbitacearum*

● = เชื้อราต่อต้าน *T. muroii*

3.4.4 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดยับยั้งจากเชื้อรา *Talaromyces muroii* ต่อการควบคุมเชื้อราสาเหตุของโรคพืช *Pythium splendens* และ *Pythium cucurbitacearum*

เพิ่มปริมาณเชื้อรา *T. muroii* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และบ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 30 วัน จากนั้นนำส่วนของเชื้อรา (Biomass) ที่เลี้ยงไว้มากรองและอบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จนแห้งแล้วนำไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบด หลังจากนั้นนำมาแช่ในตัวทำละลาย hexane เป็นเวลา 5 วัน นำไปกรองด้วยกระดาษ whatman เบอร์ 1 แล้วนำไปแยกตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotary vacuum evaporator จะได้สารสกัดยับยั้งส่วน hexane แล้วจากนั้นนำกากที่ได้จากการกรองไปสกัดด้วยตัวทำละลายชั้นสูง คือ ethyl acetate และ methanol ตามลำดับ จะได้สารสกัดยับยั้ง ethyl acetate และ methanol เก็บไว้เพื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดยับยั้งจากเชื้อราต่อต้านที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 3 ไอโซเลต ดังแผนผังรูปที่ 3.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.2 แผนผังแสดงลำดับในการสกัดสารสกัดหยาบ

3.4.5 การตรวจสอบประสิทธิภาพสารสกัดหยาบต่อการควบคุมของเชื้อราสาเหตุของโรค

Pythium splendens และ *Pythium cucurbitacearum* ด้วยวิธี poison plate

ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบเชื้อรา *T. muroii* ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุของโรค *P. splendens* และ *P. cucurbitacearum* ในการเตรียมสารสกัดจะใช้ 2 เปอร์เซ็นต์ DMSO (dimethyl sulfoxide) เป็นตัวทำละลาย โดยนำสารสกัดหยาบชั้น hexane, ethyl acetate และ methanol ของเชื้อรา *T. muroii* มาละลายให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งเป็นการควบคุมในแต่ละการทดลอง

ปัจจัย A คือ ชนิดของสารสกัด ดังนี้

A1 = สารสกัดหยาบชั้น hexane

A2 = สารสกัดหยาบชั้น ethyl acetate

A3 = สารสกัดหยาบชั้น methanol

ปัจจัย B คือ ระดับความเข้มข้นของสารสกัด ดังนี้

B1 = ความเข้มข้น 0 ppm

B2 = ความเข้มข้น 250 ppm

B3 = ความเข้มข้น 500 ppm

B4 = ความเข้มข้น 1000 ppm

B5 = ความเข้มข้น 2000 ppm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากนั้นนำสารสกัดหยาบแต่ละชั้นที่ละลายด้วย 2 เปอร์เซ็นต์ DMSO ที่ขังให้น้ำหนักได้ตามความเข้มข้นที่กำหนด แล้วนำไปผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เตรียมไว้ จากนั้นให้นำขวดอาหาร PDA ที่ผสมสารสกัดหยาบแล้ว ไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อ autoclave ความดันไอน้ำที่ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมกับสารสกัดแต่ละชั้นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว มาเทลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ รอจนกว่าอาหารจะแข็งแล้วจึงย้ายชิ้นวุ้นโคโลนี เชื้อรา *P. splendens* และ *P. cucurbitacearum* สาเหตุโรคที่ใช้หลอดที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเจาะไว้มาวางลงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 30 วัน พร้อมทั้งบันทึกผลการทดลองโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีที่อายุ 4 วันและทำการนับสปอร์ของเชื้อราสาเหตุของโรคด้วย hemacytometer ที่อายุ 30 วัน แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างโคโลนี และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์ ดังนี้

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

R1 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อที่ 0 ppm (control)

R2 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อในแต่ละความเข้มข้น

ทำการวิเคราะห์ข้อมูล โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น $P= 0.05$ ด้วยโปรแกรม SPSS และคำนวณหาค่า Effective Dose (ED_{50}) ด้วยโปรแกรม GraphPad Prism 7.03

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลของการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา

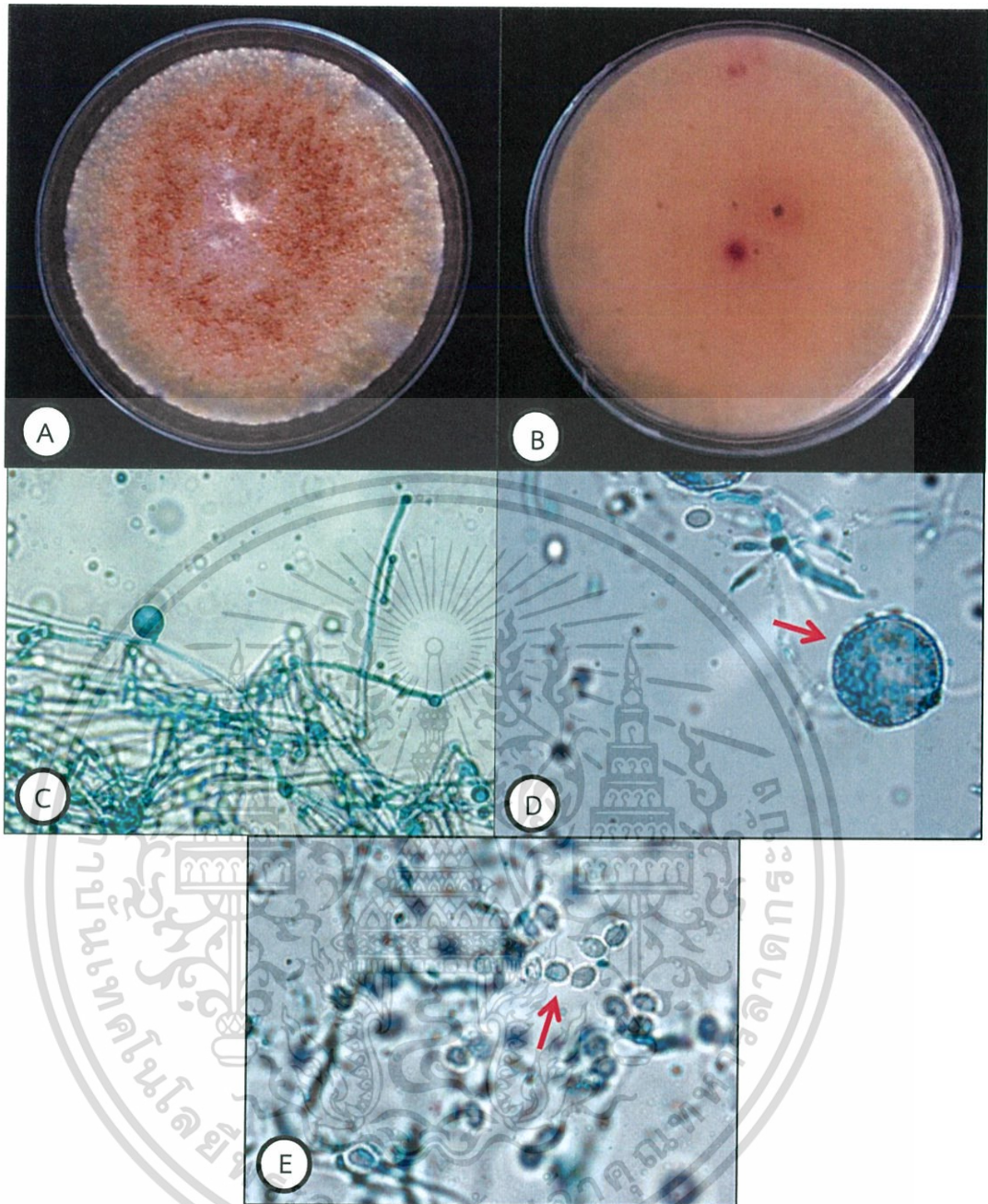
นำเชื้อราที่ได้รับความอนุเคราะห์มาทำการเลี้ยงและเพิ่มปริมาณบนจานเพาะเลี้ยงขนาด 90 มิลลิเมตร เพื่อตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา โดยทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผลการทดลองพบว่า จากการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา (การเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อ) เชื้อรา *T. muroii* จำนวน 2 ไอโซเลต (EU18 และ EU25) มีอัตราการเจริญเติบโตที่เท่ากันคือภายในระยะเวลา 7 วัน และเชื้อรา *P. splendens* จำนวน 2 ไอโซเลต (CHP18 และ CHP19) มีอัตราการเจริญเติบโตเร็วที่สุด ภายในระยะเวลา 4 วัน รองลงมาคือ เชื้อรา *P. cucurbitacearum* จำนวน 1 ไอโซเลต (CHP14) ที่เจริญเติบโตภายในระยะเวลา 7 วัน และเชื้อราทุกไอโซเลตสามารถเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อได้ทั้งหมดภายในระยะเวลา 14 วัน

4.1.1 เชื้อรา *Talaromyces muroii*

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *T. muroii* พบว่าขนาดโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีขนาดเท่ากับ 21.45 - 62.97 มิลลิเมตร เมื่ออายุ 7 วัน โคโลนีมีสีเหลืองส้ม ผิวหน้าโคโลนีเป็นปุย (flobose) เมื่อนำไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงจะพบ เส้นใย, ascus และ ascospore ดังรูปที่ 4.1 และ 4.2 ที่แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *T. muroii* EU18 และ *T. muroii* EU25

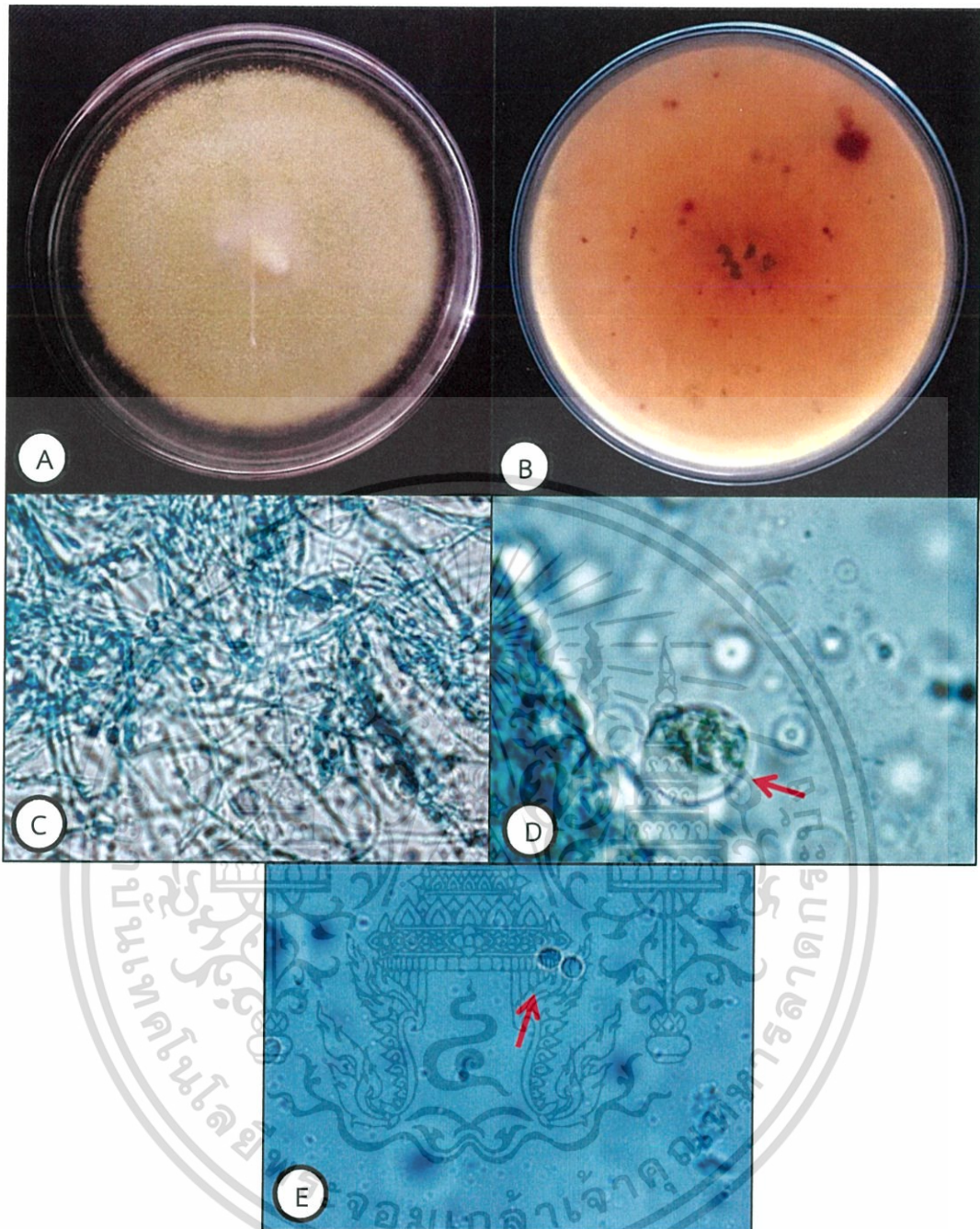
4.1.2 เชื้อรา *Pythium cucurbitacearum* และ *Pythium splendens*

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *P. cucurbitacearum* และเชื้อรา *P. splendens* พบว่าโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีขนาดเท่ากับ 25.98-64.01 มิลลิเมตร เมื่ออายุ 7 วัน โคโลนีมีสีขาวลักษณะฟู เจริญเป็นรicketมีออกด้านข้าง เมื่อนำไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงจะพบ เส้นใย และ chlamydospore ดังรูปที่ 4.3, 4.4 และ 4.5 ที่แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *P. cucurbitacearum* CHP14, *P. splendens* CHP18 และ *P. splendens* CHP19



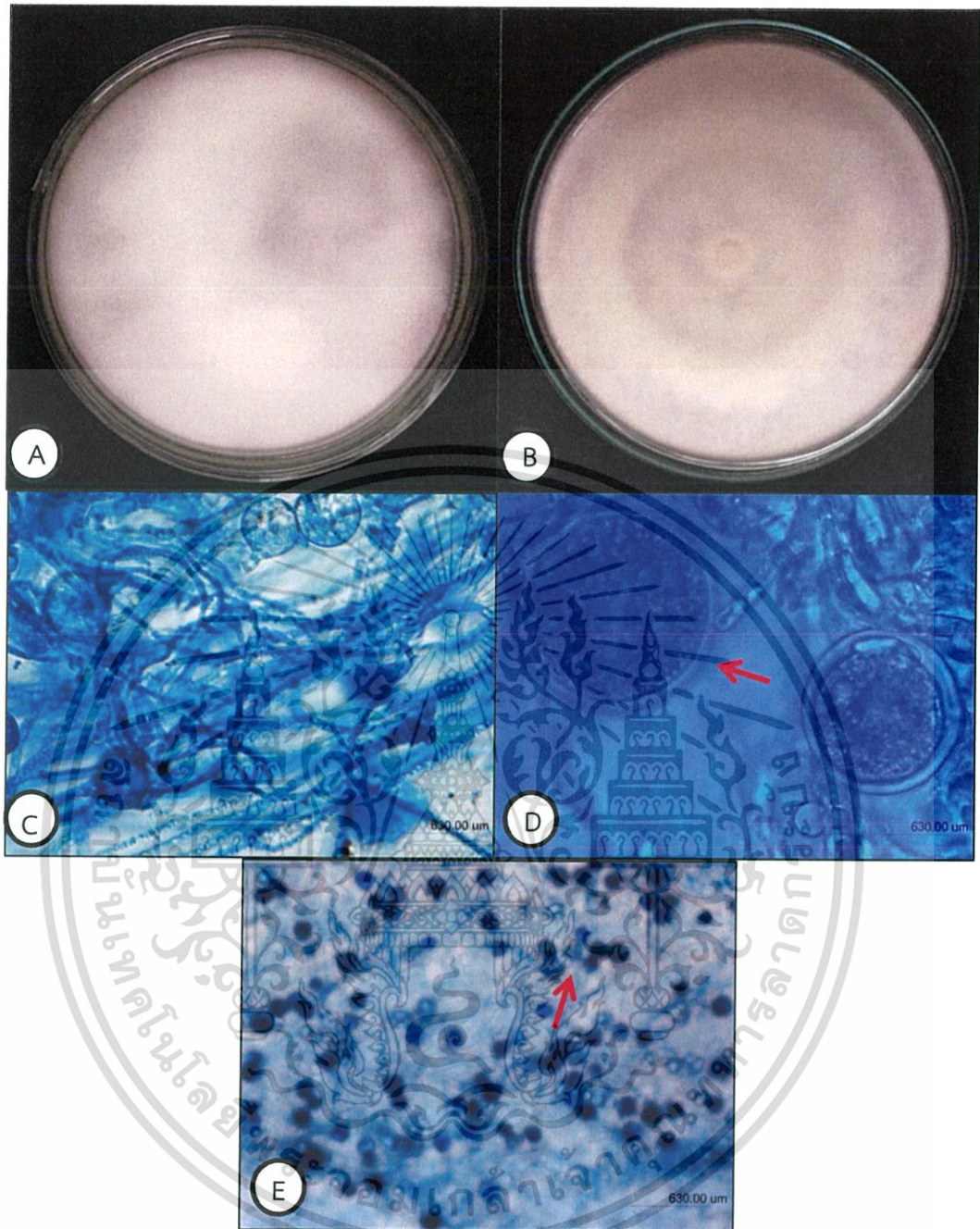
รูปที่ 4.1 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Talaromyces muroii* EU18 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร PDA เป็นเวลา 15 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส; A: ลักษณะโคโลนีด้านหน้าจานเพาะเลี้ยง; B: ลักษณะโคโลนีด้านหลังจานเพาะเลี้ยง; C: ลักษณะเส้นใย (10X); D: ลักษณะ ascus (100X); E: ลักษณะ ascospore (100X) จากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



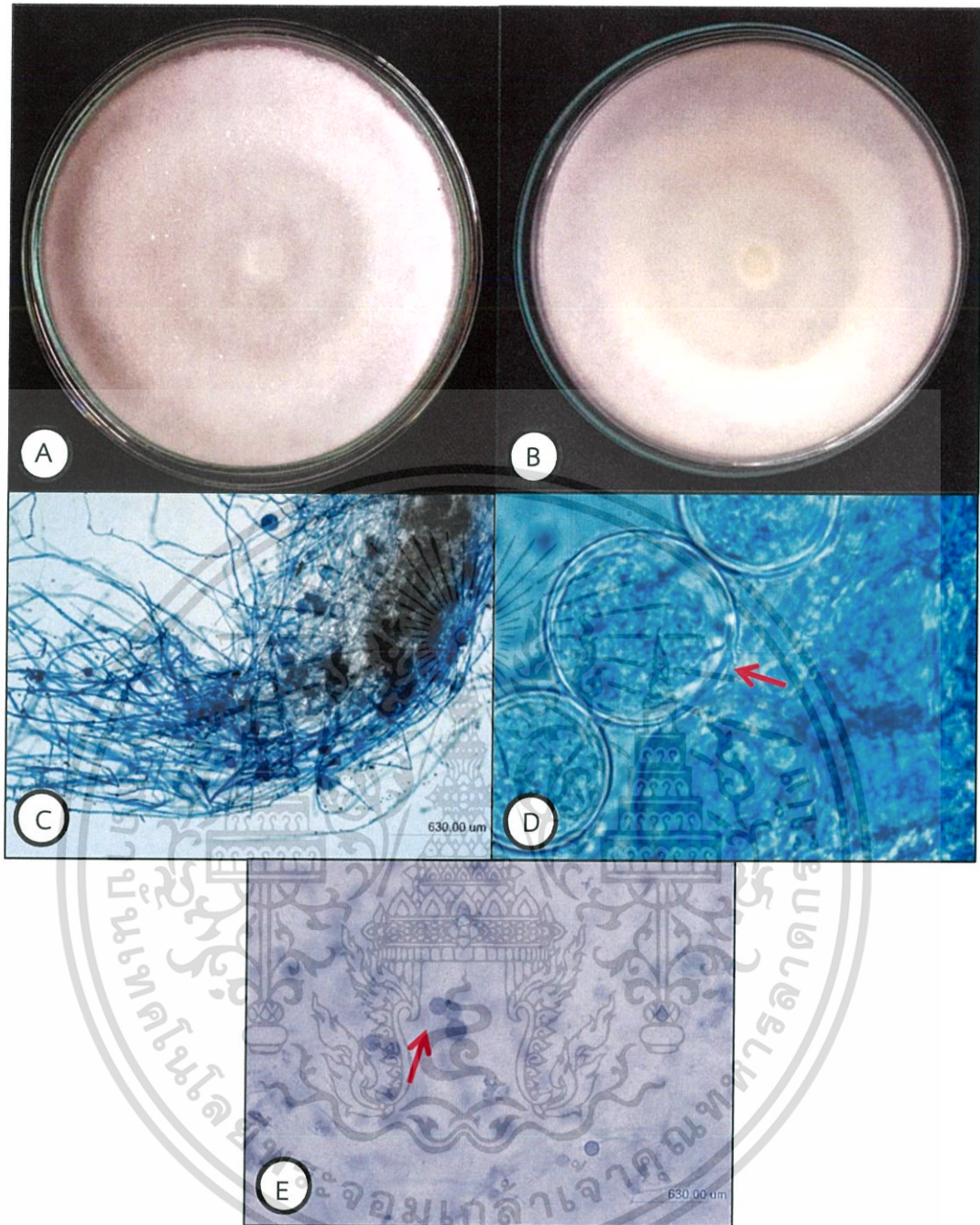
รูปที่ 4.2 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Talaromyces muroii* EU25 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร PDA เป็นเวลา 15 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส; A: ลักษณะโคโลนีด้านหน้าจานเพาะเลี้ยง; B: ลักษณะโคโลนีด้านหลังจานเพาะเลี้ยง; C: ลักษณะเส้นใย (10X); D: ลักษณะ ascus (100X); E: ลักษณะ ascospore (100X) จากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



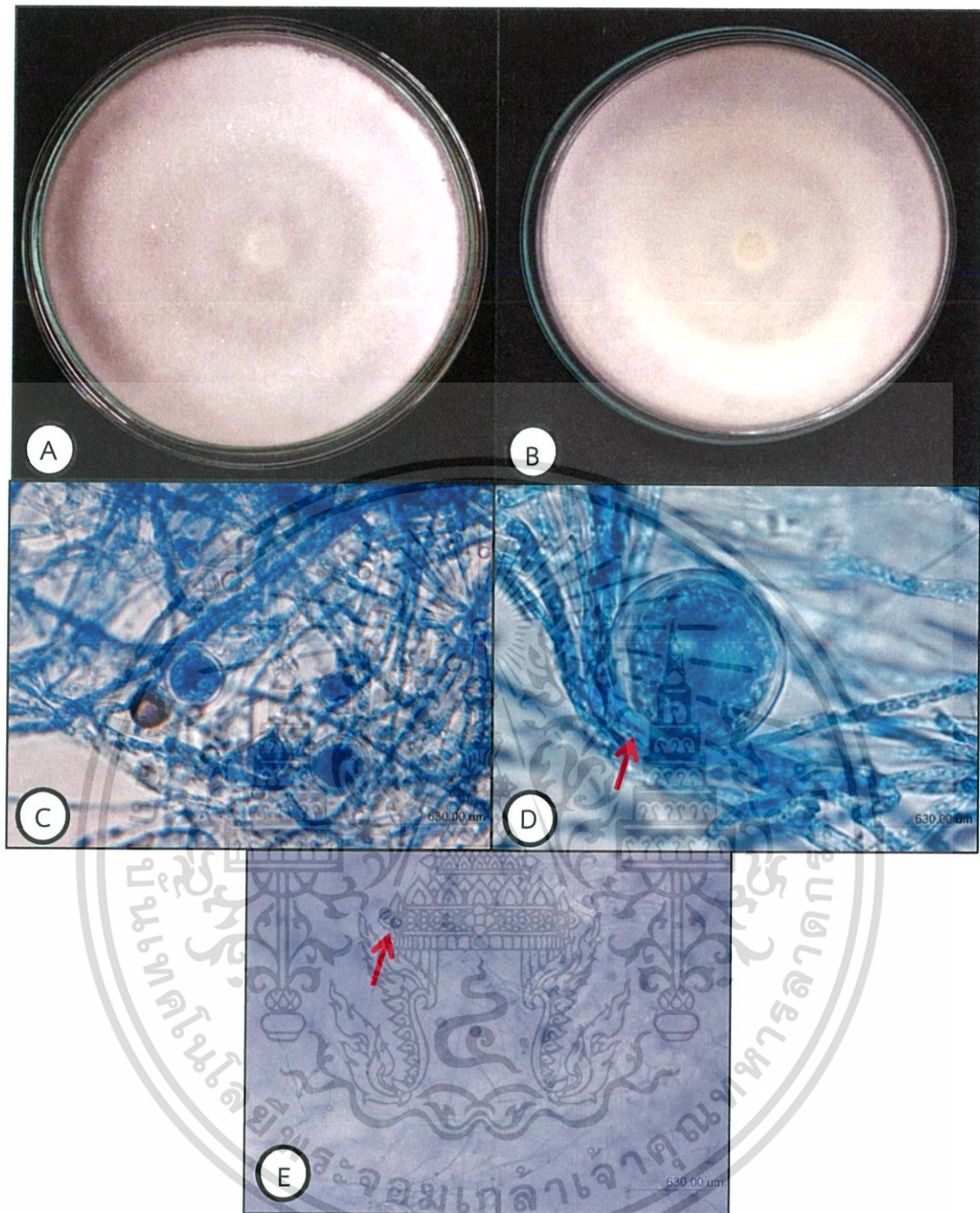
รูปที่ 4.3 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pythium cucurbitacearum* CHP14 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร PDA เป็นเวลา 15 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส; A: ลักษณะโคโลนีด้านหน้าจานเพาะเลี้ยง; B: ลักษณะโคโลนีด้านหลังจานเพาะเลี้ยง; C: ลักษณะเส้นใย (40X); D: ลักษณะ chlamydospore (100X); E: ลักษณะ chlamydospore (10X) จากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pythium splendens* CHP18 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร PDA เป็นเวลา 15 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส; A: ลักษณะโคโลนีด้านหน้าจานเพาะเลี้ยง; B: ลักษณะโคโลนีด้านหลังจานเพาะเลี้ยง; C: ลักษณะเส้นใย (10X); D: ลักษณะ chlamydo-spore (100X); E: ลักษณะ chlamydo-spore (10X) จากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Pythium splendens* CHP19 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร PDA เป็นเวลา 15 วัน ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส; A: ลักษณะโคโลนีด้านหน้าจานเพาะเลี้ยง; B: ลักษณะโคโลนีด้านหลังจานเพาะเลี้ยง; C: ลักษณะเส้นใย (40X); D: ลักษณะ chlamydospore (100X); E: ลักษณะ chlamydospore (10X) จากกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Talaromyces muroii* ต่อการควบคุมเชื้อรา *Pythium splendens* และ *Pythium cucurbitacearum* ในสภาพห้องปฏิบัติการ

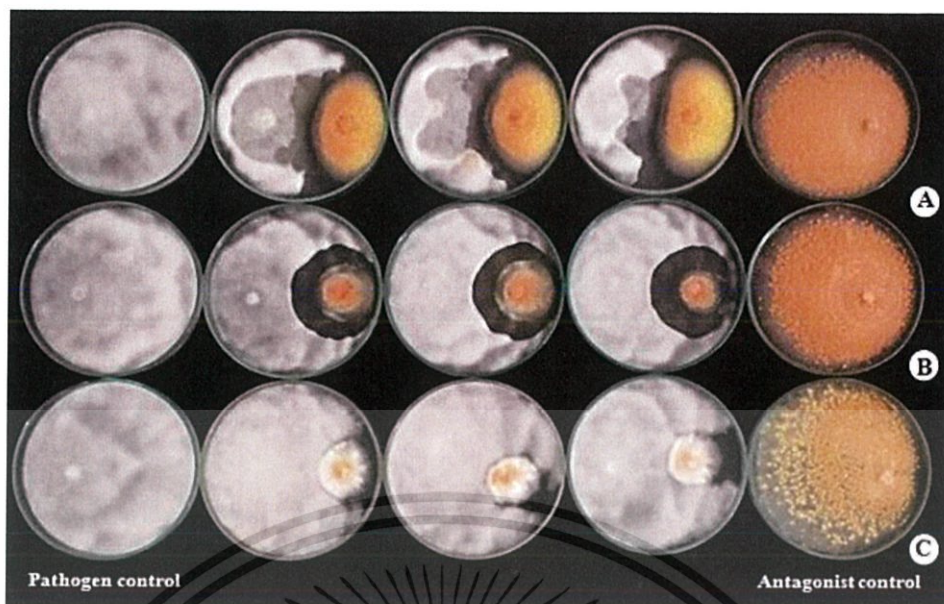
ในการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. muroii* ต่อการควบคุมเชื้อรา *P. splendens* และเชื้อรา *P. cucurbitacearum* เชื้อราก่อโรคในพืชหลายชนิด ในสภาพห้องปฏิบัติการ โดยการทดสอบอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกับอาหาร PDA ระหว่างเชื้อราต่อต้าน (antagonist) *T. muroii* กับเชื้อราสาเหตุโรค *P. splendens* และ *P. cucurbitacearum* เป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่า

เชื้อรา *T. muroii* EU18 สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *P. splendens* CHP18 ได้ดีที่สุด โดยคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์ แสดงดังตารางที่ 4.1 พบว่า สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรค *P. splendens* CHP18 เท่ากับ 84.73 เปอร์เซ็นต์ และยัง สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *P. cucurbitacearum* CHP14 และ *P. splendens* CHP19 เท่ากับ 78.67 และ 72.03 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และแสดงผลงานอาหารเชื้อราต่อต้าน *T. muroii* กับเชื้อราสาเหตุโรค *P. splendens* และ *P. cucurbitacearum* แสดงดังรูปที่ 4.6

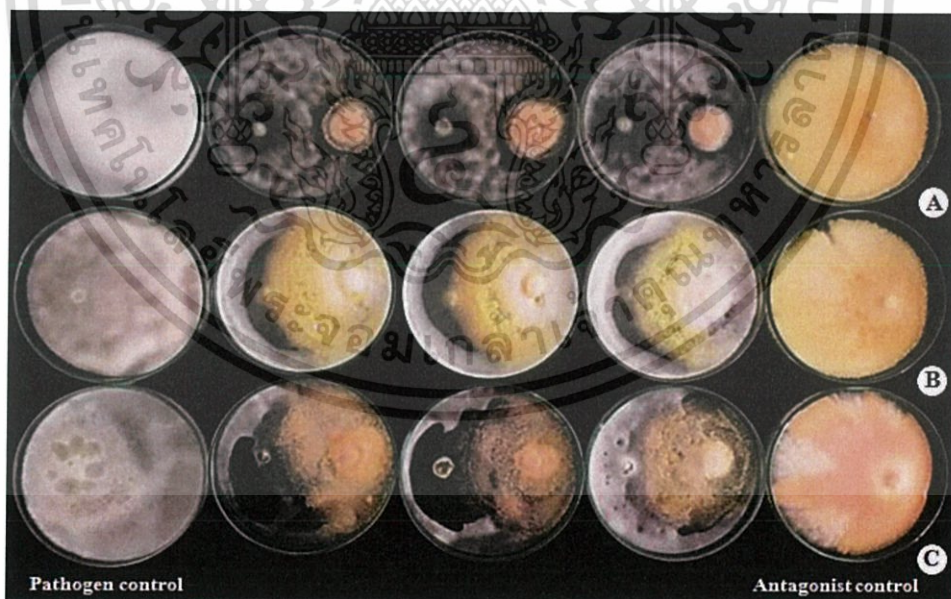
เชื้อรา *T. muroii* EU25 สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *P. splendens* CHP18 ได้ดีที่สุดเช่นกัน โดยคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์ แสดงดังตารางที่ 4.1 พบว่า สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรค *P. splendens* CHP18 เท่ากับ 96.11 เปอร์เซ็นต์ และยัง สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *P. splendens* CHP19 และ *P. cucurbitacearum* CHP14 โดยคิดเป็นการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรค 95.69 และ 60.66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และแสดงผลงานอาหารเชื้อราต่อต้าน *T. muroii* กับเชื้อราสาเหตุโรค *P. splendens* และ *P. cucurbitacearum* แสดงดังรูปที่ 4.7

จากผลการทดลองพบว่า *T. muroii* EU18 และ *T. muroii* EU25 สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *P. splendens* และ *P. cucurbitacearum* ได้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Dethoup และคณะ (2007) ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. flavus* จำนวน 20 สายพันธุ์ ในการควบคุมราสาเหตุโรคพืช 15 สายพันธุ์ ในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่า เชื้อรา *T. flavus* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้

ซึ่งจากผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. muroii* EU18 และ *T. muroii* EU25 สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *P. splendens* CHP18 ได้ดีที่สุด จึงนำเชื้อรา *T. muroii* EU18 และเชื้อรา *T. muroii* EU25 มาทำการศึกษาต่อ โดยทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบที่มีผลต่อการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรค *P. splendens* CHP18 ด้วยวิธี poison plate ต่อไป



รูปที่ 4.6 แสดงผลจําานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ร่วมระหว่างเชื้อรา *Talaromyces muroii* EU18 ต่อการควบคุมเชื้อรา *Pythium cucurbitacearum* CHP14 (A), *Pythium splendens* CHP18 (B) และ *Pythium splendens* CHP19 (C) เป็นระยะเวลา 30 วัน



รูปที่ 4.7 แสดงผลจําานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ร่วมระหว่างเชื้อรา *Talaromyces muroii* EU25 ต่อการควบคุมเชื้อรา *Pythium cucurbitacearum* CHP14 (A), *Pythium splendens* CHP18 (B) และ *Pythium splendens* CHP19 (C) เป็นระยะเวลา 30 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 แสดงจำนวนสปอร์ของเชื้อรา และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์บนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมของเชื้อรา *Pythium cucurbitacearum* และ *Pythium splendens*

Pathogen	<i>Talaromyces muroii</i> EU18			<i>Talaromyces muroii</i> EU25	
	จำนวนสปอร์ของ control±SE	จำนวนสปอร์±SE	%การยับยั้งการสร้างสปอร์	จำนวนสปอร์±SE	%การยับยั้งการสร้างสปอร์
CHP14	3.20±1.21	0.63±0.67	78.67 ^b	1.23±1.19	60.66 ^c
CHP18	10.37±4.92	1.43±1.52	84.73 ^{ab}	0.43±0.57	96.11 ^a
CHP19	6.67±3.12	1.67±1.56	72.03 ^{bc}	0.27±0.45	95.69 ^a

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามตัวอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ P=0.05 โดยเปรียบเทียบแบบ Duncan's Multiple Range Test % ยับยั้งการสร้างสปอร์ = $((R1-R2)/R1) \times 100$; R1 = จำนวนสปอร์ของเชื้อราสาเหตุของโรคในจานอาหารเปรียบเทียบ (control), R2 = จำนวนสปอร์ของเชื้อราสาเหตุของโรคในจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม (จำนวนสปอร์ หน่วย $\times 10^5$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร)

4.3 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Talaromyces muroii* ที่มีผลต่อการควบคุมเชื้อรา *Pythium splendens* และ *Pythium cucurbitacearum*

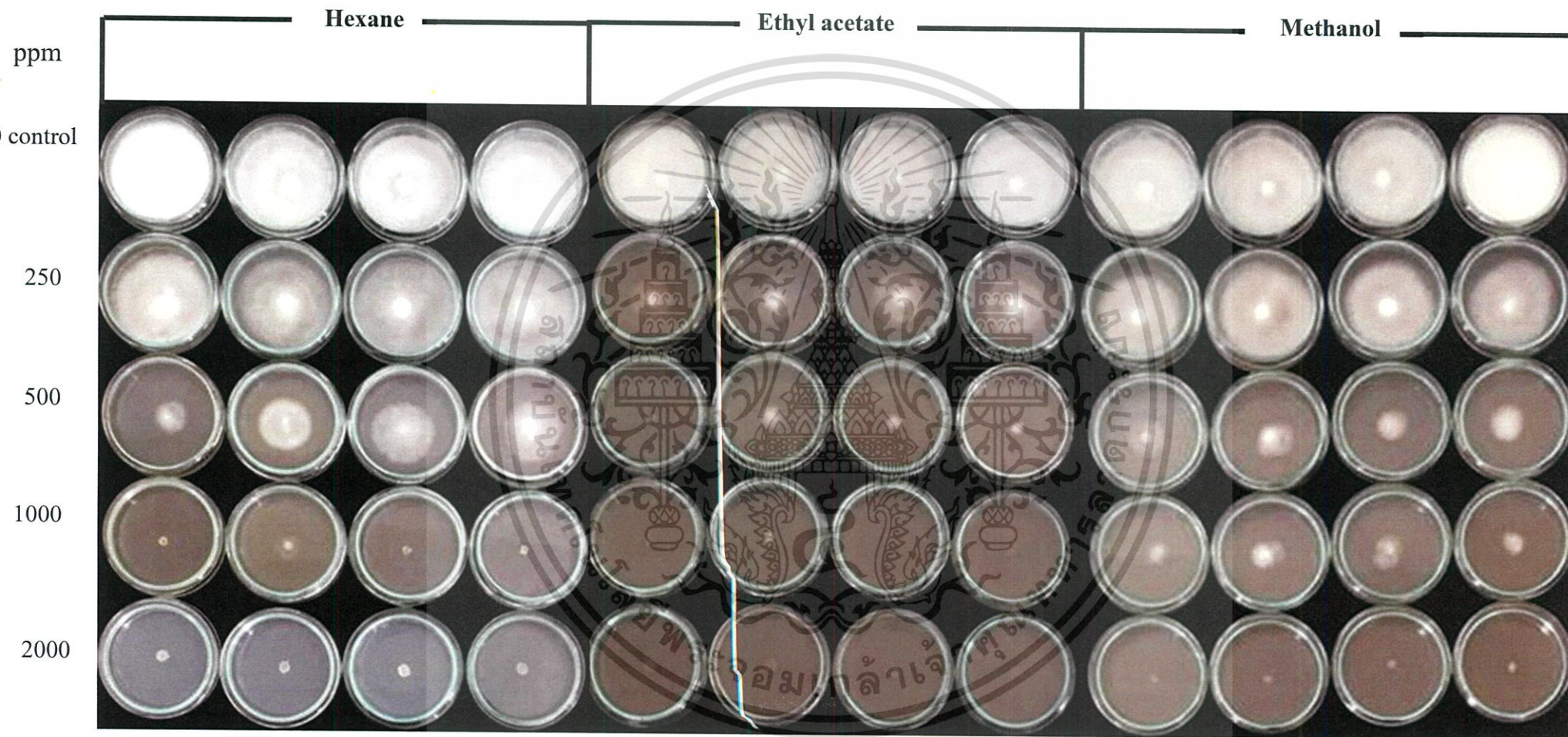
ในการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *T. muroii* ที่มีผลต่อการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรค *P. splendens* CHP18 ในสภาพห้องปฏิบัติการ โดยการทดสอบด้วยวิธี poison plate บนอาหารเพาะเลี้ยง PDA โดยนำเชื้อรา *T. muroii* ทั้ง 2 ไอโซเลต (EU18 และ EU25) มาทำการสกัดสารด้วยตัวทำละลายชั้น hexane, ethyl acetate และ methanol จนได้สารสกัดหยาบในแต่ละตัวทำละลาย

4.3.1 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Talaromyces muroii* EU18 ต่อการควบคุมเชื้อรา *Pythium splendens* CHP18

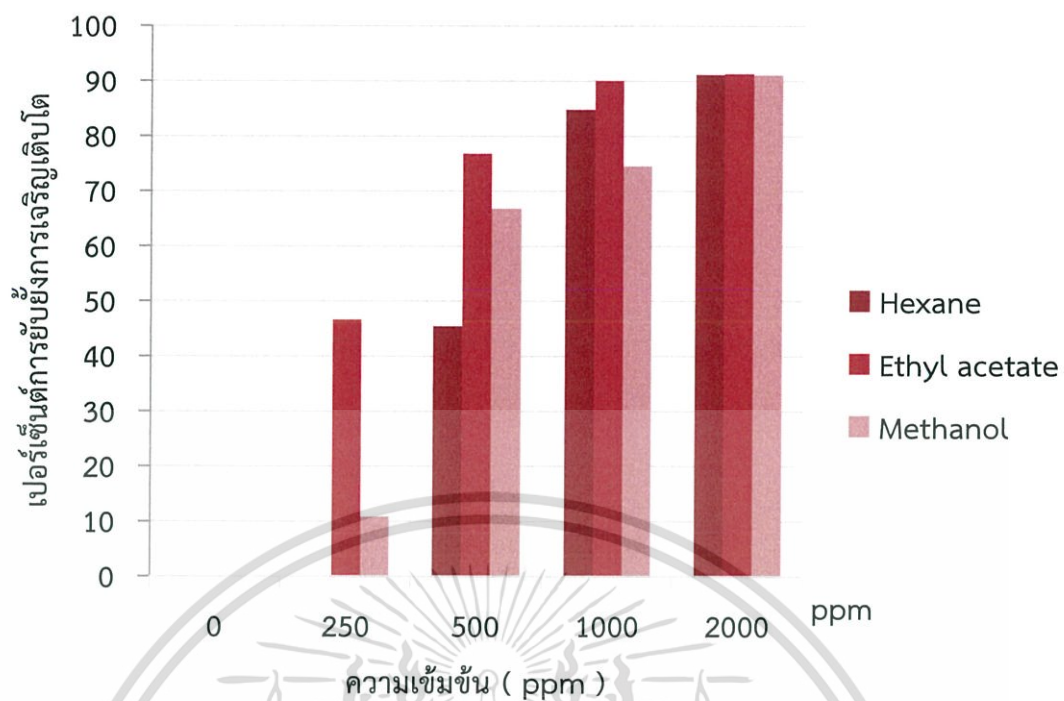
จากการทดสอบเชื้อรา *P. splendens* CHP18 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ได้ผสมสารสกัดชั้น hexane, ethyl acetate และ methanol จากเชื้อรา *T. muroii* EU18 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังแสดงในรูปที่ 4.8 แสดงให้เห็นถึงสารสกัดในแต่ละชั้นที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรค ซึ่งจะพบว่าทุกชั้นของสารสกัดที่ความเข้มข้นเท่ากับ 2000 ppm จะมีขนาดของโคโลนีเล็กกว่าความเข้มข้นระดับอื่นๆ และสอดคล้องกับผลการยับยั้งการเจริญเติบโตจากรูปที่ 4.9 แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบของชั้น hexane, ethyl acetate และ methanol ที่ความเข้มข้น 2000 ppm มีเปอร์เซ็นต์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. splendens* CHP18 ที่ไม่แตกต่างกัน ซึ่งมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตอยู่ที่ 91.21, 91.34 และ 91.12 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเมื่อเปรียบเทียบกับเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อรา *P. splendens* CHP18 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดหยาบที่ระดับความเข้มข้น 0 ppm (control) จะแสดงในตารางที่ 4.2

จากรูปที่ 4.10 แสดงผลเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อสาเหตุโรค พบว่าสารสกัดหยาบชั้น hexane และ methanol มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างสปอร์ได้มากที่สุด โดยที่ระดับความเข้มข้น 2000 ppm เท่ากับ 98.44 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจำนวนสปอร์ เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนสปอร์ของเชื้อรา *P. splendens* CHP18 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารสกัดหยาบในแต่ละชั้น ที่ระดับความเข้มข้น 0 ppm (control) ที่จะแสดงในตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.10 ซึ่งจะพบว่าจำนวนสปอร์ในสารสกัดแต่ละชั้นมีปริมาณที่แตกต่างกัน โดยที่จำนวนสปอร์ของสารสกัดชั้น ethyl acetate มีค่าน้อยที่สุด

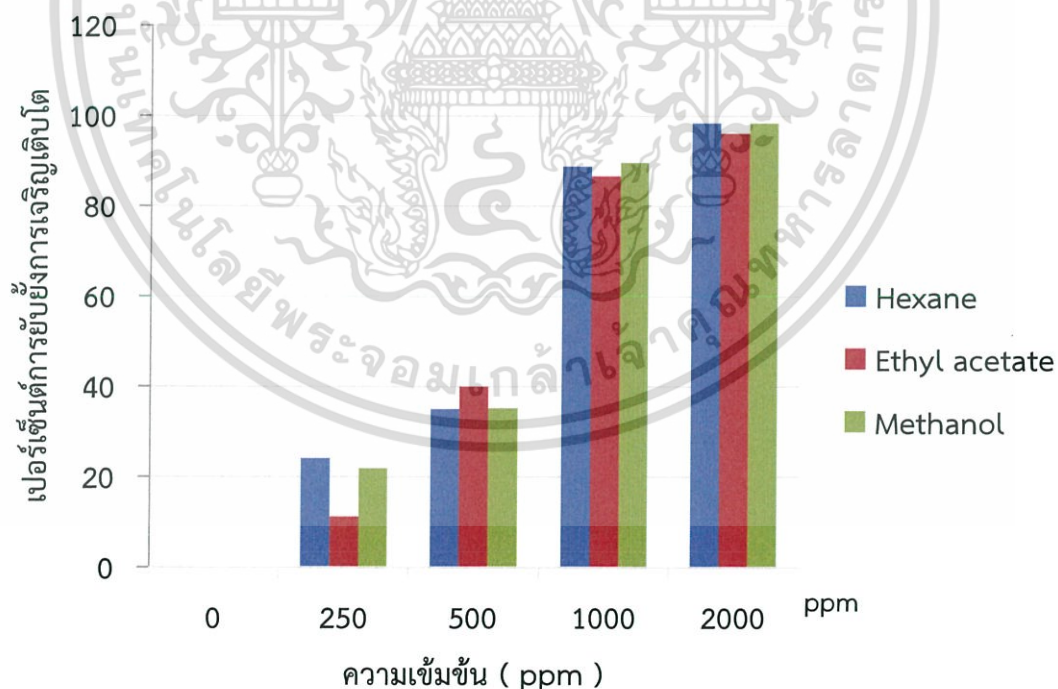
เมื่อเปรียบเทียบสารสกัดหยาบทั้ง 3 ชั้น พบว่า สารสกัดหยาบชั้น hexane, ethyl acetate และ methanol มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา *P. splendens* CHP18 ที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (ED_{50}) เท่ากับ 656.71, 585.46 และ 654.24 ppm แสดงดังในตารางที่ 4.2



รูปที่ 4.8 สารสกัดหยาบชั้น hexane, ethyl acetate และ methanol จากเชื้อ *T. muroii* EU18 ที่มีผลต่อการควบคุมเชื้อ *P. splendens* CHP18 ที่ระดับความเข้มข้น 0, 250, 500, 1000 และ 2000 ppm จำนวน 4 ซ้ำ



รูปที่ 4.9 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใยของเชื้อสาเหตุโรค *P. splendens* CHP18 จากสารสกัดหยาบของ *T. muroii* EU18



รูปที่ 4.10 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อสาเหตุโรค *P. splendens* CHP18 จากสารสกัดหยาบของ *T. muroii* EU18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Talaromyces muroii* EU18 ที่มีผลต่อการควบคุมเชื้อรา *Pythium splendens* CHP18

สารสกัด หยาบชั้น	ความ เข้มข้น (ppm)	เส้นผ่าน ศูนย์กลาง โคโลนี ±SE (ชม.) (4 วัน)	% การ ยับยั้งการ เจริญเติบโต	ปริมาณสปอร์ ±SE ($\times 10^4$ สปอร์ ต่อมิลลิลิตร) (30 วัน)	% การ ยับยั้งการ สร้างสปอร์	ED ₅₀ (ppm)
Hexane	0	4.64 ± 0.14	0	1.55 ± 0.10	0	656.71
	250	4.64 ± 0.14	0	1.18 ± 0.09	24.12	
	500	2.53 ± 0.68	45.17	1.18 ± 0.05	35.04	
	1000	0.71 ± 0.37	84.84	1.00 ± 0.08	84.84	
	2000	0.41 ± 0.03	91.21	0.03 ± 0.05	98.44	
Ethyl acetate	0	4.64 ± 0.14	0	1.30 ± 0.08	0	585.46
	250	2.47 ± 0.33	46.62	1.15 ± 0.10	11.26	
	500	1.08 ± 0.66	76.82	0.78 ± 0.05	40.06	
	1000	0.46 ± 0.02	90.07	0.18 ± 0.05	86.65	
	2000	0.40 ± 0.00	91.34	0.05 ± 0.06	96.15	
Methanol	0	4.64 ± 0.14	0	1.70 ± 0.08	0	654.24
	250	4.13 ± 0.08	10.88	1.33 ± 0.09	21.92	
	500	1.54 ± 0.22	66.85	1.10 ± 0.08	35.27	
	1000	1.18 ± 0.25	74.53	0.18 ± 0.05	89.69	
	2000	0.41 ± 0.03	91.12	0.03 ± 0.05	98.44	

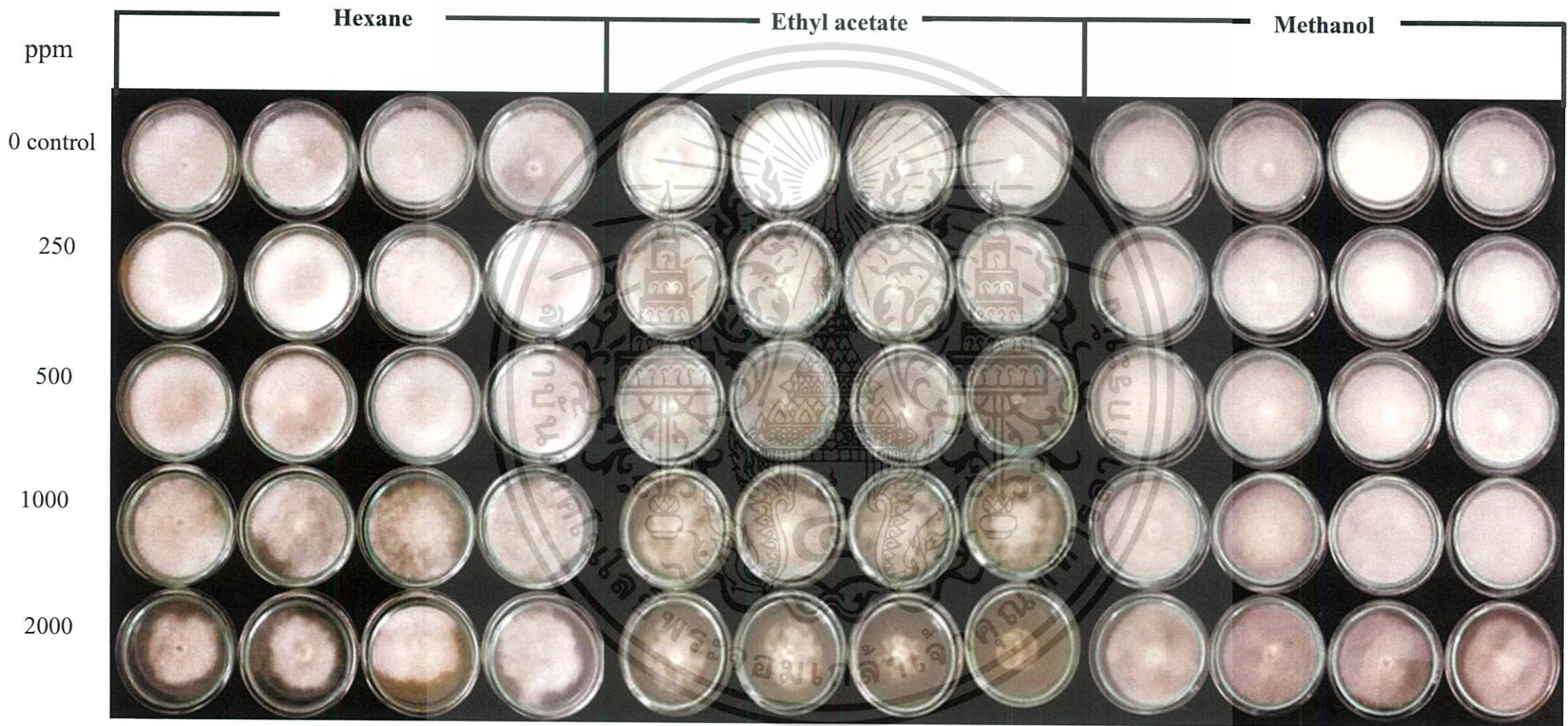
หมายเหตุ: % ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือสร้างสปอร์ = $((R1-R2)/R1) \times 100$; R1 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อที่ 0 ppm (ตัวควบคุม), R2 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อในแต่ละความเข้มข้น

4.3.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *Talaromyces muroii* EU25 ต่อการควบคุมเชื้อรา *Pythium splendens* CHP18

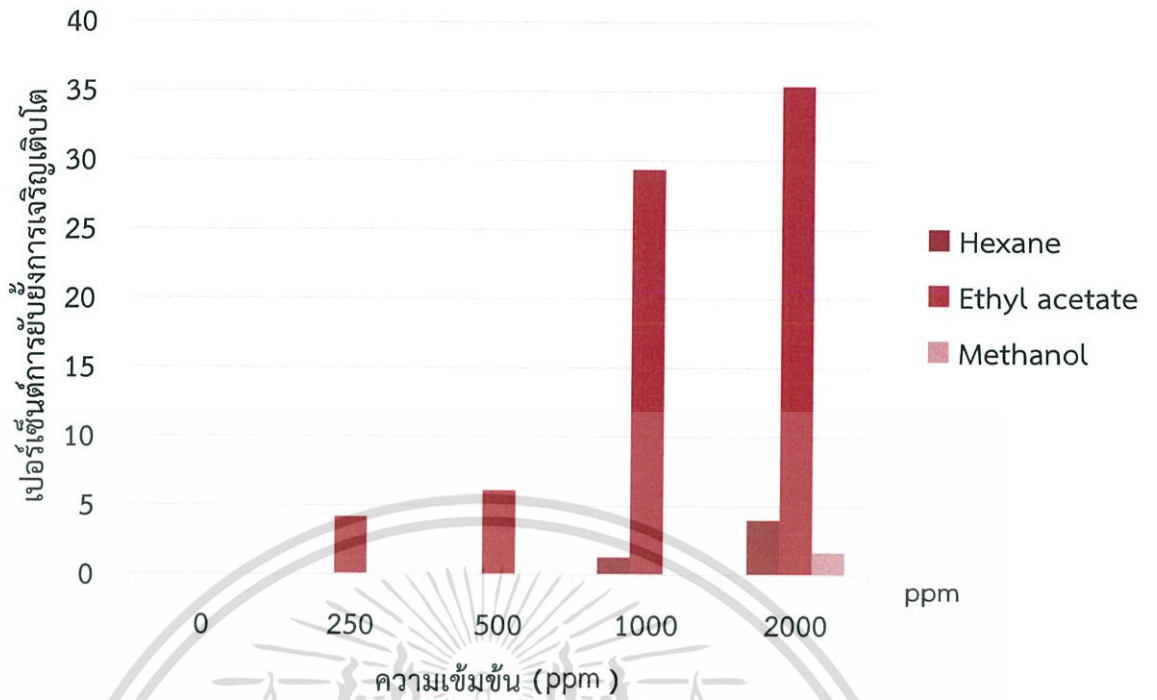
จากการเลี้ยงเชื้อรา *P. splendens* CHP18 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดชั้น hexane, ethyl acetate และ methanol จากเชื้อรา *T. muroii* EU25 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังแสดงในรูปที่ 4.11 จากรูปแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของสารสกัดในแต่ละชั้น โดยความเข้มข้นของสารสกัดในแต่ละชั้นมีการเจริญเติบโตของเชื้อที่ไม่แตกต่างกันแต่เมื่อนำมาหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจะพบว่าสอดคล้องกับผลการยับยั้งการเจริญเติบโตจากรูปที่ 4.12 แสดงให้เห็นถึงสารสกัดหยาบของชั้น ethyl acetate มีเปอร์เซ็นต์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. splendens* CHP18 ได้มากที่สุดที่ระดับความเข้มข้นที่ 2000 ppm เท่ากับ 35.39 เปอร์เซ็นต์ รูปที่ 4.12 ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเมื่อเปรียบเทียบกับเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อรา *P. splendens* CHP18 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดหยาบที่ระดับความเข้มข้น 0 ppm (control) จะแสดงในตารางที่ 4.3

จากรูปที่ 4.13 แสดงผลของเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อสาเหตุโรคพบว่าสารสกัดหยาบชั้น ethyl acetate มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างสปอร์ได้มากที่สุด โดยที่ระดับความเข้มข้น 2000 ppm เท่ากับ 93.75 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจำนวนสปอร์เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนสปอร์ของเชื้อรา *P. splendens* CHP18 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดหยาบที่ระดับความเข้มข้น 0 ppm (control) ที่จะแสดงในตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.13 ซึ่งจะพบว่าจำนวนสปอร์ในสารสกัดแต่ละชั้นมีปริมาณที่แตกต่างกัน โดยที่จำนวนสปอร์ของสารสกัดชั้น ethyl acetate มีค่าน้อยที่สุด

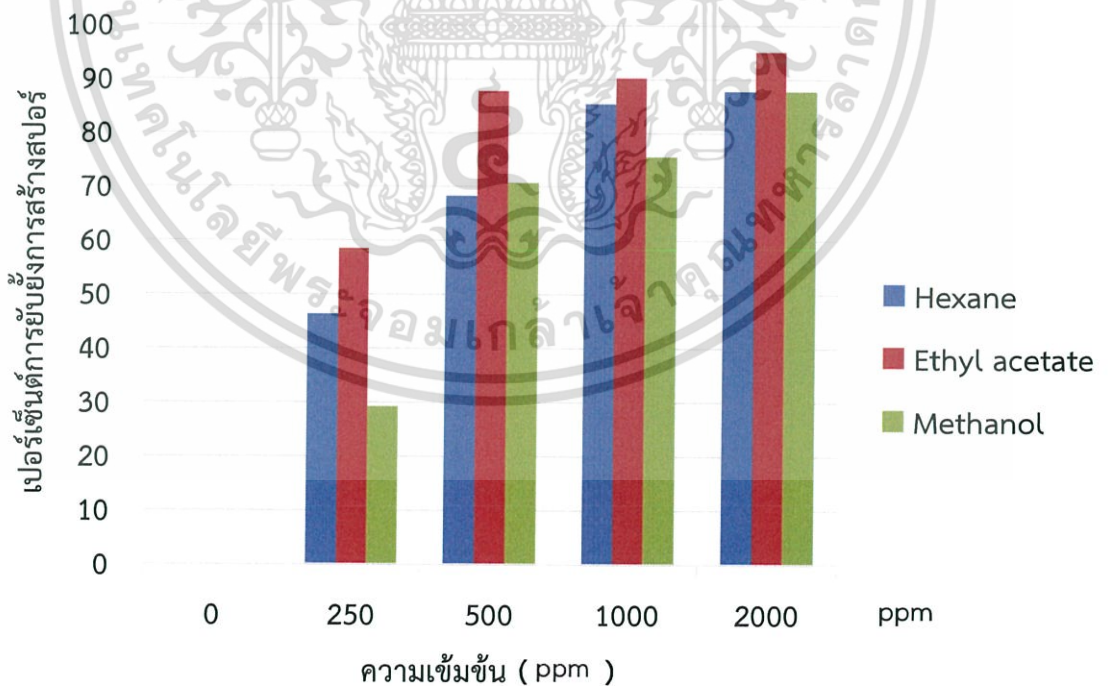
เมื่อเปรียบเทียบสารสกัดหยาบทั้ง 3 ชั้น พบว่า สารสกัดหยาบชั้น hexane, ethyl acetate และ methanol มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา *P. splendens* CHP18 ที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (ED₅₀) เท่ากับ 150.58, 182.26 และ 248.78 ppm แสดงดังตารางที่ 4.3



รูปที่ 4.11 สารสกัดหยาบชั้น hexane, ethyl acetate และ methanol จากเชื้อ *T. muroii* EU25 ที่มีผลต่อการควบคุมเชื้อ *P. splendens* CHP18 ที่ระดับความเข้มข้น 0, 250, 500, 1000 และ 2000 ppm จำนวน 4 ซ้ำ



รูปที่ 4.12 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใยของเชื้อสาเหตุโรค *P. splendens* CHP18 จากสารสกัดหยาบของ *T. muroii* EU25



รูปที่ 4.13 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อสาเหตุโรค *P. splendens*

CHP18 จากสารสกัดหยาบของ *T. muroii* EU25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ประสิทธิภาพของสารสกัดเหยาบจากเชื้อรา *Talaromyces muroii* EU25 ที่มีผลต่อการควบคุมเชื้อรา *Pythium splendens* CHP18

สารสกัด เหยาบชั้น	ความ เข้มข้น (ppm)	เส้นผ่าน ศูนย์กลางโคโลนี ±SE (ซม.) (4 วัน)	% การ ยับยั้งการ เจริญเติบโต	ปริมาณสปอร์ ±SE (× 10 ⁴ สปอร์ ต่อมิลลิลิตร) (30 วัน)	% การ ยับยั้งการ สร้าง สปอร์	ED ₅₀ (ppm)
Hexane	0	4.64 ± 0.14	0	1.75 ± 0.50	0	182.26
	250	4.64 ± 0.14	0	0.75 ± 0.50	56.59	
	500	4.64 ± 0.14	0	0.70 ± 0.26	60.76	
	1000	4.56 ± 0.05	1.28	0.40 ± 0.16	77.78	
	2000	4.48 ± 0.06	3.99	0.10 ± 0.12	93.75	
Ethyl acetate	0	4.46 ± 0.14	0	1.70 ± 0.53	0	150.58
	250	4.44 ± 0.11	4.18	0.55 ± 0.19	64.88	
	500	4.35 ± 0.09	6.12	0.50 ± 0.20	70.63	
	1000	3.23 ± 0.09	29.35	0.40 ± 0.16	74.75	
	2000	2.99 ± 0.08	35.39	0.30 ± 0.12	81.75	
Methanol	0	4.64 ± 0.14	0	1.80 ± 0.43	0	248.78
	250	4.64 ± 0.14	0	0.90 ± 0.70	51.54	
	500	4.64 ± 0.14	0	0.65 ± 0.34	59.57	
	1000	4.64 ± 0.14	0	0.25 ± 0.19	84.52	
	2000	4.56 ± 0.09	1.64	0.25 ± 0.25	87.05	

หมายเหตุ: % ยับยั้งการเจริญเติบโตหรือสร้างสปอร์ = $((R1-R2)/R1) \times 100$; R1 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อที่ 0 ppm (ตัวควบคุม), R2 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อในแต่ละความเข้มข้น

จากการเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบจากเชื้อทั้ง 2 ไอโซเลต จะพบว่าสารสกัดหยาบจากชั้น ethyl acetate จากเชื้อรา *T. muroii* EU25 มีความสามารถในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรค *P. splendens* CHP18 ได้มากที่สุด โดยความเข้มข้น 150.58 ppm สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. splendens* CHP18 ได้ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ และรองลงมาได้แก่ สารสกัดหยาบชั้น ethyl acetate จากเชื้อรา *T. muroii* EU18 ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 585.46 ppm สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. splendens* CHP18 ได้ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าสารสกัดหยาบจากชั้น ethyl acetate น่าจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งการสร้างสปอร์และการเจริญเติบโตของโคโลนีของเชื้อรา *P. splendens* CHP18 ได้เช่นเดียวกับการศึกษาของงานวิจัยของคุณกมลวรรณ และคณะ (2558) ที่ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *T. trachyspermus* ด้วยวิธี dilution plate ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช ผลการทดลองพบว่า สารสกัดจากเชื้อรา *T. trachyspermus* สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. muroii* ทั้ง 2 ไอโซเลต พบว่าเชื้อราสปิซิสเดียวกันแต่แตกต่างกันที่ไอโซเลตก็มีความมีประสิทธิภาพที่แตกต่างกัน อาจเกิดจากปัจจัยต่างๆ มากมาย เช่น ปัจจัยภายนอกที่เชื้อแต่ละไอโซเลตมาจากแหล่งกำเนิดต่างสถานที่ ซึ่งแต่ละสถานที่อาจมีสภาพอากาศ และสภาพแวดล้อม หรืออาจเกิดได้จากการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิและอาหารที่ไม่เหมือนกัน ทำให้เชื้อแต่ละไอโซเลตมีประสิทธิภาพในการยับยั้งที่แตกต่างกัน รวมถึงในการเพิ่มปริมาณเชื้อราในแต่ละครั้ง ควรมีการทดสอบเชื้อราก่อนนำมาทำการทดลองเนื่องจากการเพิ่มเชื้อในแต่ละครั้งอาจทำให้เชื้อมีประสิทธิภาพลดลง เช่นเดียวกับการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. muroii* EU04 และ *T. muroii* EU09 ของเมอมร (2558) พบว่าเชื้อรา *T. muroii* แยกต่างไอโซเลตกัน ก็สามารถมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อสาเหตุโรค *C. coffeanum* ได้ด้วยเช่นกัน และเช่นเดียวกับงานวิจัยของธิดา และคณะ (2550) ที่ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. flavus* ทั้ง 20 ไอโซเลต พบว่าเชื้อรา *T. flavus* แยกต่างไอโซเลตกันก็มีความสามารถในการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรค *Phytophthora pamivora* และเชื้ออื่นๆ ที่ต่างกัน

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการทดลองประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. muroii* ทั้ง 2 ไอโซเลต คือ EU18 และ EU25 ที่มีผลต่อการควบคุมเชื้อรา *P. splendens* และเชื้อรา *P. cucurbitacearum* ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคในพืชหลายชนิด ในสภาพห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธีอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม เป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่าเชื้อรา *T. muroii* EU18 สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *P. splendens* CHP18 ได้ดีที่สุด โดยสามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรค *P. splendens* CHP18 ได้เท่ากับ 84.73 เปอร์เซ็นต์ และยังสามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *P. cucurbitacearum* CHP14 และ *P. splendens* CHP19 เท่ากับ 78.67 และ 72.03 เปอร์เซ็นต์ ได้ตามลำดับ และเชื้อรา *T. muroii* EU25 สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *P. splendens* CHP18 ได้ดีที่สุด โดยสามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรค *P. splendens* CHP18 ได้เท่ากับ 96.11 เปอร์เซ็นต์ และยังสามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *P. splendens* CHP19 และ *P. cucurbitacearum* CHP14 ได้เท่ากับ 95.69 และ 60.66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อนำไปวิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่าเชื้อรา *T. muroii* EU18 และ *T. muroii* EU25 มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *P. splendens* CHP18 ได้ดีที่สุดที่ 84.73 และ 96.11 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อรา *T. muroii* EU25 สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *P. cucurbitacearum* CHP14 ได้น้อยที่สุดที่ 60.66 เปอร์เซ็นต์ และจากการนำสารสกัดหยาบชั้น hexane, ethyl acetate และ methanol ของเชื้อรา *T. muroii* EU18 และ EU25 มาทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบด้วยวิธี poison plate โดยการเลี้ยงเชื้อรา *P. splendens* CHP18 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสมสารสกัดหยาบชั้น hexane, ethyl acetate และ methanol ที่ความเข้มข้น 0 (ควบคุม), 250, 500, 1000 และ 2000 ppm พบว่าสารสกัดหยาบชั้น ethyl acetate จากเชื้อรา *T. muroii* EU25 สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. splendens* CHP18 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดหยาบ ได้ดีที่สุด โดยมีค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (ED_{50}) เท่ากับ 150.58

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. muroii* พบว่า มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *P. splendens* และเชื้อรา *P. cucurbitacearum* ได้ดี ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงเชื้อรา *T. muroii* ในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคอื่นๆเพิ่มเติม และควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับสารสกัดหยาบจากเชื้อรา *T. muroii* เพื่อวิเคราะห์หาสารออกฤทธิ์ที่สำคัญต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- กมลวรรณ ศรีตะ, ธิดา เดชฮวบ, ณรงค์ สิงห์บุระอุดม และอเนก กิจเจา. 2558. “ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบของราเอนโดไฟท์ที่แยกจากพืชป่าชายเลนในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชในสภาพห้องปฏิบัติการ.” หน้า 372-379. ใน ประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 52 สาขาพืช. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์เกษม สร้อยทอง. 2532. การควบคุมเชื้อโรคพืชโดยชีววิธี. คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ชุติมา แก้วกระจาย, ธิดา เดชฮวบ และเลิศชาย สถิตย์พนาวงศ์. 2557. “ประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์จากโสน (*Sesbania javanica*) ในการยับยั้งราสาเหตุโรคพืช.” *วารสารแก่นเกษตร*. 42(3) : 271-282.
- ณรงค์ บัวเจริญ. 2546. “การวิจัยประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ในการควบคุมเชื้อรา *Pythium* sp. สาเหตุโรคน้ำระดับดินของผักกาดเขียววางตั้ง.” รายงานการวิจัย วิทยาศาสตร์บัณฑิต (พืชศาสตร์) คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, สถาบันราชภัฏนครปฐม.
- ทวี เก่าศิริ. 2527. “โรคใบไหม้ของใบสาระแหน่.” *วารสารโรคพืช*. 3(1) : 10-13.
- ธิดา เดชฮวบ, เลขา มาโนช, นิพนธ์ วิสารทานนท์, จิระเดช แจ่มสว่าง, ศรีเมฆ ชาวโพงพาง, เสถียรพงศ์ โตอนันต์ และ อเนก กิจเจา. 2550. “ความหลากหลายของรา *Talaromyces* จากดินและผลต่อราสาเหตุโรคพืชในห้องปฏิบัติการ.” ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45 สาขาพืช. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ธิติพร โคตรชา, วรธนา สิ้นศิริ, นริศ สิ้นศิริ และประภัสสร บุษมัน. 2554. “ประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. ในถั่วพุ่มพันธุ์ มมส.1.” *วารสารแก่นเกษตร*. ปีที่ 39(ฉบับพิเศษ 1) : 184-189.
- ธีรเจต ตั้งจาดตรงศรีศรี, คเนศ ใจเก่งกาจ และพรหมมาศ คูหากาญจน์. 2559. “ผลของวัสดุเพาะกล้าอุนหภูมิ และสายพันธุ์ของผักสลัด ต่อความรุนแรงของโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* sp. ในระบบไฮโดรโปนิคส์.” หน้า 199-204. ใน งานประชุมวิชาการงานเกษตรนเรศวร ครั้งที่ 14 สาขาเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. มหาวิทยาลัยนเรศวร.
- ประไพพร ศิริคติธรรม. 2537. “อนุกรมวิธานและความสามารถในการทำให้เกิดโรคพืชของเชื้อรา *Pythium* spp. ที่แยกได้จากดินเพาะปลูกในภาคใต้ของประเทศไทย.” วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาโรคพืชวิทยา คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- เมอมร สร้อยทอง. 2558. “การคัดแยกและบ่งชี้ของเชื้อราสกุล *Talaromyces* และ *Neosartoya* จากดินและประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสในกาแฟ.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- สุธา วรรณารักษ์, จิระเดช แจ่มสว่าง, วิชัย ก่อประดิษฐ์สกุล และยงยุทธ โอสภสภ. 2536. “เชื้อรา *Pythium* spp. ที่แยกได้จากดินปลูกจากเมล็ดและรากของถั่วเหลืองฝักสดที่แสดงอาการเมล็ด และรากเน่า.” หน้า 614-622. ใน การประชุมวิชาการ ครั้งที่ 31 สาขาพืช. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อมรรัตน์ ภูไพบูลย์ และพีระวรรณ วัฒนวิภาส. 2552. “สำรวจ รวบรวม และจำแนกราก *Pythium* สาเหตุโรคพืช.” หน้า 1476-1488. ใน รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2552. เล่มที่ 3. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- Alexopoulos, C. J. and Mims, C. W. 1979. *Introductory Mycology*. New York. 1-613.
- Dethoup, T., Manoch, L., Visarathanonth, N., Chamswang, C. and Ki-jjoa, A. 2007. “Morphology and distribution of *Talaromyces flavus* from soil and potential use as a biological control agent against plant pathogenic fungi.” *Thai Journal of Agricultural Science*. 40(1-2) : 37-50.
- Hancock, J. G. and Grimes, D. W. 1990. “Colonization of rootlets of alfalfa by species of *Pythium* in relation to soil moisture.” *Phytopathology*. 80(12) : 1317-1322.
- Hoppe, P. E. 1966. “*Pythium* species still viable after 12 years in air-dried muck soil.” *Phytopathology*. 56(12) : 1411.
- Howard, R. J. and Moskaluk, E. 1989. “Crown and root rot of alfalfa in southern Alberta.” *Disease des plantes Survey au Canada*. 69(1) : 9.
- Lockwood, J. L. 1960. “Lysis of mycelium of plant-pathogenic fungi by natural soil.” *Phytopathology*. 50 : 787-789.
- Luna, L. V. and Hine, R. B. 1964. “Factors influencing saprophytic growth of *Pythium aphanidermatum* in soil.” *Phytopathology*. 54(8) : 955.
- Soytong, M. and Poeaim, S. 2015. “Antifungal activity of *Talaromyces muroii* against coffee anthracnose.” *Journal of Agricultural Technology*. 11(8) : 1941-1948.
- Mircetich, S. M. 1971. “The role of *Pythium* in feeder roots of diseased and symptomless peach trees and in orchard soli in peach tree decline.” *Phytopathol*. 61 : 357-360.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Van, P. N. 1981. "Monograph of the genus *Pythium*." *Studies in mycology*. 21. Baarn : Centraalbureau voor Schimmelcultures.
- Parveen, T. and Sharma, K. 2014. "Management of soft rot of ginger by botanicals." *International Journal of pharmacy and life sciences*. 5(4).
- Stanghellini, M. E. and Russell, J. D. 1973. "Germination in vitro of *Pythium aphanidermatum* oospores." *Phytopathology*. 63(1) : 133-137.
- Stanghellini, M. E., and Nigh E. L. 1972. Occurrence and survival of *Pythium aphanidermatum* under arid soil conditions in Arizona. *Plant disease reporter*. 56 : 507-510.
- Stanghellini, M. E. and Hancock, J. G. 1971. The sporangium of *Pythium ultimum* as a survival structure in soil. *Phytopathology*. 61 : 157-164.
- Stanghellini, M. E. and Burr, T. J. 1973. Germination in vivo of *Pythium aphanidermatum* oospores and sporangia. *Phytopathology*. 63(12) : 1493-1496.
- Trujillo, E. E. and Marcle, M. 1967. "Effect of soil temperature on survival of *Phytophthora parasitica* and *Pythium aphanidermatum*." *Phytopathol.* 57 : 9.
- Trujillo, E. E. and Hine, R. B. 1965. "The role of papaya residues in papaya root rot caused by *Pythium aphanidermatum* and *Phytophthora parasitica*." *Phytopatholog.* 55(12) : 1293-1298.
- Waterhouse, G. M. 1967. "Key to *Pythium* Pringsheim." *Mycology paper. Commonwealth Mycol. Inst. Kew, Surrey, England*.
- Waterhouse, G. M. 1968. *The genus Pythium pringsheim*. Commonwealth mycological Institute. England.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA)

- ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Potato Dextrose Agar (PDA) 39.0 กรัม
- ละลายอาหารด้วยน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร
- นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อ autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Broth (PDB)

- ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Potato Dextrose Broth (PDA) 24.0 กรัม
- ละลายอาหารด้วยน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร
- นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อ autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

การเตรียมสไลด์ เพื่อศึกษาลักษณะพื้นฐานวิทยา

- ใช้ needle ที่ฆ่าเชื้อแล้ว แล้วตัดชิ้นวุ้นขนาดประมาณ 0.5×1 เซนติเมตร
- วางชิ้นวุ้นลงสไลด์ ตากชิ้นวุ้นให้แห้งในอุณหภูมิห้อง
- ตัดชิ้นวุ้นเป็นชิ้นเล็กๆด้วยมีดโกน แล้ววางบนสไลด์
- หยดสีย้อม lactophenol cotton blue ลงบนสไลด์ของชิ้นวุ้นที่ตัดไว้
- ปิดด้วย cover slide แล้วนำไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่อไป

การนับจำนวนสปอร์ของราสาเหตุโรคด้วย hemacytometer

- ใช้ needle ที่ฆ่าเชื้อแล้วขีดผิวหน้าโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคทั้งหมด และจะขีดเฉพาะบริเวณที่เป็นโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรค สำหรับการทดสอบแบบ bi-culture
- บดด้วยแท่งแก้ว และทำการเจือจางด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาณ 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน
- ดูดสปอร์ลงมาในแอ่งของ hemacytometer ทั้ง 2 ด้าน ด้านละ 10 ไมโครลิตร
- นับสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยนับสปอร์ที่อยู่ใน 5 ช่องใหญ่ของ hemacytometer ของแต่ละด้าน แล้วคำนวณหาค่าเฉลี่ยของสปอร์ที่นับได้
- คำนวณจำนวนสปอร์ต่อมิลลิลิตร ดังสูตรต่อไปนี้
- จำนวนสปอร์ (สปอร์ต่อมิลลิลิตร) = ค่าเฉลี่ยสปอร์ $\times 10^4 \times$ ค่าความเจือจาง (dilution factor)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารสกัดหยาบเพื่อทำการทดสอบแบบ poison plate

- ซังสารสกัดหยาบ 22.5, 45, 90, 180 มิลลิกรัม ละลายด้วย 2 เปอร์เซ็นต์ DMSO
- ผสมสารสกัดหยาบที่สารละลายแล้วกับอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ให้ได้ความเข้มข้น 250, 500, 1000, 2000 ppm
- นำอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารสกัดหยาบนิ่งฆ่าเชื้อในหม้อ autoclave ความดันไอที่ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที
- เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ลงบนจานเพาะเลี้ยงขนาด 5 เซนติเมตร ปริมาตร 5 มิลลิกรัม จำนวน 6 ซ้ำ โดยนำมาใช้ในการบันทึกภาพถ่ายเพียง 4 ซ้ำ
- รอจนกว่าอาหารจะแข็งและนำไปใช้เลี้ยงเชื้อสาเหตุโรค เพื่อทำการทดสอบแบบ poison plate ต่อไป

ตัวอย่างการคำนวณน้ำหนักสารสกัดหยาบต่ออาหาร PDA ที่ใช้ทดสอบแบบ poison plate

- 1 ppm เท่ากับ 1 mg/l
เช่น ถ้าต้องการความเข้มข้น 10 ppm ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA 30 ml คำนวณดังนี้
 $10 \text{ ppm} = 10 \text{ mg}/1000 \text{ ml}$
ถ้าอาหาร PDA 1000 ml ใช้สารสกัด 10mg
ดังนั้นอาหาร PDA 30ml ใช้สารสกัด $= (10 \times 30) / 1000 = 0.3 \text{ mg}$

การวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี

- ทำการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีด้วย Vernier
- วัด 2 แกนที่ตัดฉากกัน แล้วทำการหาค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี

ภาคผนวก ข

ตารางภาคผนวกที่ ข-1 ANOVA ของการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *T. muroii* ต่อการควบคุมเชื้อสาเหตุโรค *P. splendens* และ *P. cucurbitacearum* ในสภาพห้องปฏิบัติการ

Descriptives

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งสปอร์

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
EU25+CHP14	6	78.6722	11.10637	4.53416	67.0167	90.3276	61.54	95.00
EU18+CHP19	6	84.7267	7.30808	2.98351	77.0573	92.3960	70.00	89.41
EU18+CHP14	6	72.0285	14.15212	5.77758	57.1768	86.8803	55.00	92.16
EU18+CHP18	6	60.6571	18.80455	7.67692	40.9229	80.3912	40.00	85.00
EU25+CHP19	6	96.1088	1.85697	.75811	94.1600	98.0576	92.94	98.33
EU25+CHP18	6	95.6851	1.96270	.80127	93.6254	97.7448	93.10	98.04
Total	36	81.3131	16.41566	2.73594	75.7588	86.8673	40.00	98.33

Test of Homogeneity of Variances

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งสปอร์

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.098	5	30	.002

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งสปอร์

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5741.820	5	1148.364	9.337	.000
Within Groups	3689.768	30	122.992		
Total	9431.588	35			

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการสร้างสปอร์

Duncan^a

	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Bi-culture	6			
EU25+CHP14	6	60.6571		
EU18+CHP19	6	72.0285	72.0285	
EU18+CHP14	6		78.6722	
EU18+CHP18	6		84.7267	84.7267
EU25+CHP19	6			95.6851
EU25+CHP18	6			96.1088
Sig.		.086	.069	.102

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ข-2 ANOVA ของการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. muroii* EU18 ต่อการควบคุม เชื้อราสาเหตุโรค *P. splendens* และ *P. cucurbitacearum* ในสภาพห้องปฏิบัติการ

Descriptives

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งสปอร์

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
EU18+CHP14	6	78.6722	11.10637	4.53416	67.0167	90.3276	61.54	95.00
EU18+CHP18	6	84.7267	7.30808	2.98351	77.0573	92.3960	70.00	89.41
EU18+CHP19	6	72.0285	14.15212	5.77758	57.1768	86.8803	55.00	92.16
Total	18	78.4758	11.80550	2.78258	72.6050	84.3465	55.00	95.00

Test of Homogeneity of Variances

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งสปอร์

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.237	2	15	.318

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งสปอร์

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	484.075	2	242.038	1.926	.180
Within Groups	1885.210	15	125.681		
Total	2369.286	17			

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งสปอร์

Duncan^a

	Subset for alpha = 0.05	
Bi-culture	N	1
EU18+CHP19	6	72.0285
EU18+CHP14	6	78.6722
EU18+CHP18	6	84.7267
Sig.		.081

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ข-3 ANOVA ของการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. muroii* EU25 ต่อการควบคุม เชื้อราสาเหตุโรค *P. splendens* และ *P. cucurbitacearum* ในสภาพห้องปฏิบัติการ

Descriptives

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งสปอร์

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
EU25+CHP14	6	60.6571	18.80455	7.67692	40.9229	80.3912	40.00	85.00
EU25+CHP18	6	96.1088	1.85697	.75811	94.1600	98.0576	92.94	98.33
EU25+CHP19	6	95.6851	1.96270	.80127	93.6254	97.7448	93.10	98.04
Total	18	84.1503	19.95952	4.70450	74.2247	94.0760	40.00	98.33

Test of Homogeneity of Variances

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งสปอร์

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
15.045	2	15	.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งสปอร์

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4967.942	2	2483.971	20.647	.000
Within Groups	1804.558	15	120.304		
Total	6772.499	17			

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งสปอร์

Duncan^a

Bi-culture	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
EU25+CHP14	6	60.6571	
EU25+CHP19	6		95.6851
EU25+CHP18	6		96.1088
Sig.		1.000	.948

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ข-4 ANOVA ของการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. muroii* EU18 ต่อการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรค *P. splendens* และ *P. cucurbitacearum* ในสภาพห้องปฏิบัติการ

Descriptives

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งสปอร์

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Hexane	4	656.7082	76.54260	38.27130	534.9118	778.5045	560.53	746.43
Ethyl acetate	4	585.4637	59.89872	29.94936	490.1515	680.7760	500.00	637.29
Methanol	4	654.2351	44.51999	22.26000	583.3939	725.0764	610.18	699.81
Total	12	632.1357	65.62138	18.94326	590.4418	673.8295	500.00	746.43

Test of Homogeneity of Variances

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งสปอร์

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.181	2	9	.837

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งสปอร์

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13081.855	2	6540.927	1.717	.234
Within Groups	34285.969	9	3809.552		
Total	47367.824	11			

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งสปอร์

Duncan^a

	Subset for alpha = 0.05	
สารสกัดหยาบชั้น	N	1
Ethyl acetate	4	585.4637
Methanol	4	654.2351
Hexane	4	656.7082
Sig.		.153

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ข-5 ANOVA ของการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. muroii* EU25 ต่อการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรค *P. splendens* และ *P. cucurbitacearum* ในสภาพห้องปฏิบัติการ

Descriptives

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งสปอร์

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Hexane	4	150.5767	19.25268	9.62634	119.9414	181.2120	130.96	170.68
Ethyl acetate	4	182.2563	27.64090	13.82045	138.2735	226.2391	148.70	207.46
Methanol	4	248.7802	157.36455	78.68228	-1.6219	499.1823	106.58	435.52
Total	12	193.8711	94.28782	27.21855	133.9634	253.7787	106.58	435.52

Test of Homogeneity of Variances

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งสปอร์

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
20.812	2	9	.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งสปอร์

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	20097.266	2	10048.633	1.164	.355
Within Groups	77694.863	9	8632.763		
Total	97792.129	11			

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งสปอร์

Duncan^a

สารสกัดหยาบชั้น	N	Subset for alpha = 0.05	
Hexane	4		150.5767
Ethyl acetate	4		182.2563
Methanol	4		248.7802
Sig.			.186

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

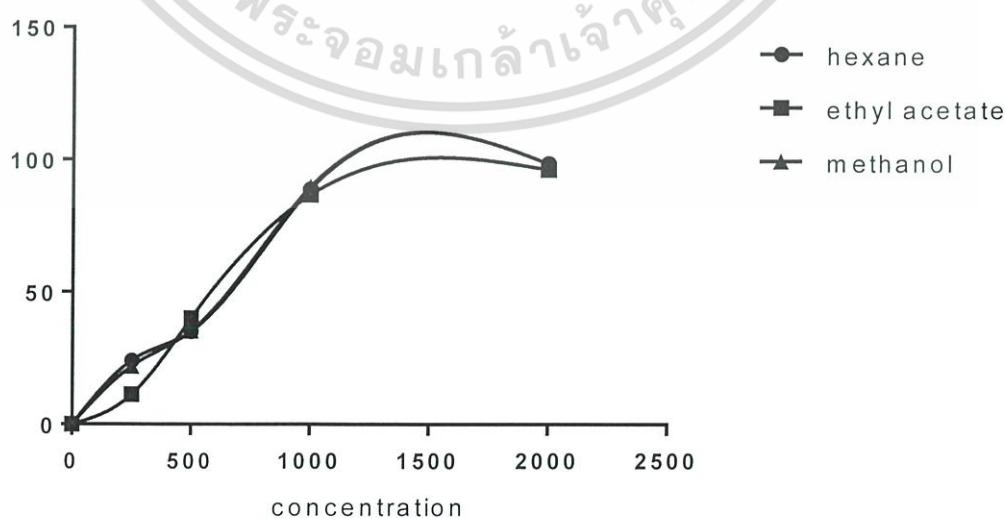
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ข-6 GraphPad Prism 7.03 ของผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบ จากเชื้อรา *T. muroii* EU18 ที่มีผลต่อการควบคุมเชื้อรา *P. splendens* CHP18

Concentration	hexane	ethyl acetate	methanol
0	0	0	0
250	24.12	11.26	21.92
500	35.04	40.06	35.27
1000	88.84	86.65	89.69
2000	98.44	96.15	98.44
	50	50	50

concentration ppm	hexane	ethyl acetate	methanol
667.97	50.00		
583.06		50.00	
656.89			50.00

Data 1

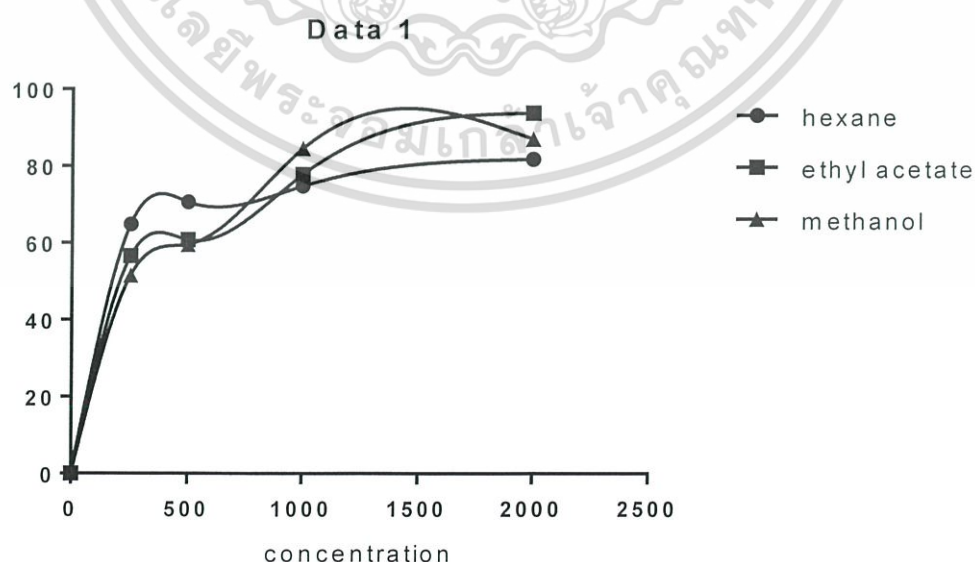


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ข-7 GraphPad Prism 7.03 ของผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบ จากเชื้อรา *T. muroii* EU25 ที่มีผลต่อการควบคุมเชื้อรา *P. splendens* CHP18

Concentration	hexane	ethyl acetate	methanol
0	0	0	0
250	64.88	56.59	51.54
500	70.63	60.76	59.57
1000	74.75	77.78	84.52
2000	81.75	93.75	87.05

concentration ppm	hexane	ethyl acetate	methanol
171.23	50.00		
204.12		50.00	
237.15			50.00



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ข-8 ตารางการวิเคราะห์ผลความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของร้อยละการยับยั้งสปอร์ระหว่างเชื้อ *T. muroii* EU18 และ *T. muroii* EU25 โดยใช้ T-Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Group Statistics

	VAR00001	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
VAR00002	1.00	6	84.7267	7.30808	2.98351
	2.00	6	96.1083	1.85692	.75808

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
Equal variances assumed	2.905	.119	-3.697	10	.004	-11.38167	3.07832	-18.24058	-4.52275
Equal variances not assumed			-3.697	5.643	.011	-11.38167	3.07832	-19.03109	-3.73224