

การคัดแยกเชื้อราปฏิปักษ์จากดินในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum sp.*และ *Phomopsis asparagi* ในพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี**Screening of Antagonistic Fungi from Soil for *Colletotrichum sp.* and *Phomopsis Asparagi* Inhibition in Kanchanaburi Province**อำพร สิริวิกัย (Ampron Siravikai)¹ กาญจนา เชิงทอง (Kanchana Chengthong)²สมาพร เรืองสังข์ (Samapon Reangsungka)³**บทคัดย่อ**

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ คัดเลือกเชื้อราในท้องถิ่นที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรค มาเป็นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ควบคุมโรคแอนแทรกโนส และโรคลำต้นไหม้ ในหน่อไม้ฝรั่งจากเชื้อ *Colletotrichum sp.* และ *Phomopsis asparagi* ในพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี พบว่า จากดิน 25 ตัวอย่าง ได้เชื้อจำนวน 95 ไอโซเลท ทดสอบการยับยั้งเชื้อด้วยวิธี Dual Culture Technique มีจำนวนเชื้อ 15 ไอโซเลท ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคแอนแทรกโนส และ % growth reduction มากกว่าร้อยละ 75 จำนวน 9 ไอโซเลท ไอโซเลทมีค่าสูงที่สุด ได้แก่ I43 I68 I93 ร้อยละ 90.97 ทางสถิติการยับยั้งเชื้อก่อโรคของทั้ง 9 ไอโซเลท ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับค่าความเชื่อมั่น 95% ($P \geq 0.05$) ลักษณะทางสัณฐานวิทยา I93 อยู่ในเชื้อราสกุล *Penicillium sp.* การทดสอบกับเชื้อรา *P. asparagi* ด้วยวิธี Detached Stem Technique จำนวนเชื้อที่สามารถยับยั้งการเชื้อก่อโรคได้มี จำนวน 7 ไอโซเลท ไอโซเลทที่ยับยั้งสูงได้แก่ I73 และ I35 ร้อยละ 83.33 และ 80.00 ตามลำดับ ทางสถิติการยับยั้งเชื้อก่อโรคของทั้ง 7 ไอโซเลท ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับค่าความเชื่อมั่น 95% ($P \geq 0.05$) ลักษณะทางสัณฐานวิทยา I73 และ I35 อยู่ในเชื้อราสกุล *Trichoderma sp.*

คำสำคัญ : เชื้อราปฏิปักษ์ *Colletotrichum sp.* *Phomopsis asparagi* จังหวัดกาญจนบุรี**Abstract**

The research aims to screen effective indigenous fungi for inhibiting fungal pathogens. Asparagus anthracnose and stem blight caused by *Colletotrichum sp.* and *Phomopsis asparagi* were controlled by antagonistic microorganisms. The study was conduct in Kanchanaburi area. The results showed that different 95 fungi were isolated from 25 soil samples. They were tested for fungal pathogen inhibition with Dual culture Technique. Fifteen fungal isolates could inhibit the anthracnose pathogen especially 9 isolates had % growth reduction more than 75%. The isolates of I43, I68 and I93 gave highest % growth reduction at 90.97%. However, they were not different statically at 95% confidence ($P \geq 0.05$). Morphology examination showed that I93 were *Penicillium sp.* Another experiment was examining antagonistic between initial 95 isolates and *Phomopsis asparagi* by Detached Stem Technique. It was found that 7 isolates could inhibit the pathogen and the effective inhibitors were I73 and I35 at 83.33 and 80.00 % growth reduction, respectively. All 7 isolates were not statistically different at 95% confidence ($P \geq 0.05$). Morphology examination showed that I73 and I35 were *Trichoderma sp.*

Keywords: Antagonistic microorganisms, *Colletotrichum sp.*, *Phomopsis asparagi*, Kanchanaburi area

1 นักศึกษาสาขาวิชาวิทยาศาสตร์ศึกษา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกาญจนบุรี e-mail address : sirawikai1@gmail.com

2 อาจารย์ประจำสาขาวิชาวิทยาศาสตร์ศึกษา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกาญจนบุรี e-mail address: chengthong@yahoo.com

3 อาจารย์ประจำสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกาญจนบุรี e-mail address: samako@yahoo.com



การจัดประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 5
The 5th STOU Graduate Research Conference

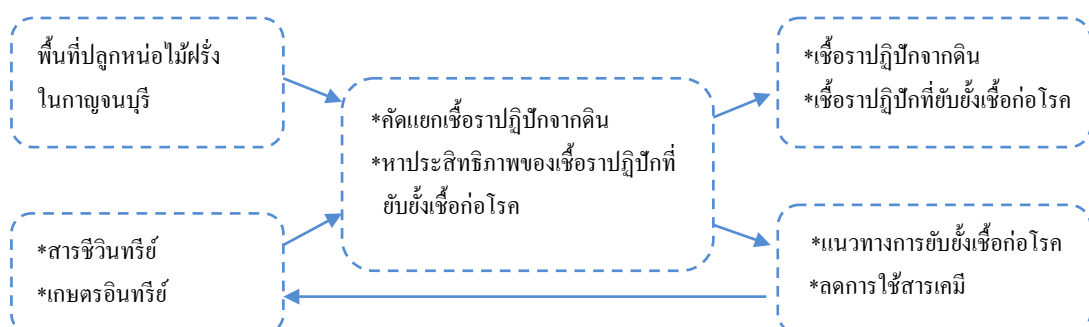
บทนำ

จากผลกระทบที่เกิดจากปัญหาโรคพืชในปัจจุบันส่งผลให้การผลิตและการส่งออกสินค้าทางการเกษตรได้รับความเสียหายอย่างมาก โดยเฉพาะหน่อไม้ฝรั่งซึ่งเป็นสินค้าทางการเกษตรที่เน้นคุณภาพและความปลอดภัยสูง ปัญหาโรคพืชของหน่อไม้ฝรั่งที่สร้างความเสียหายให้กับเกษตรกร ได้แก่ โรคแอนแทรคโนส และ โรคลำต้นไหม้ การใช้ยาฆ่าแมลงเพื่อหยุดการแพร่ระบาดของโรคส่งผลให้เกิดสารตกค้างในผลผลิตเกินเกณฑ์มาตรฐานการส่งออก การใช้สารชีวภัณฑ์ (Biocontrol) ในการหยุดการแพร่ระบาดของโรค ได้รับการสนับสนุนจากภาครัฐเพื่อลดปัญหาผลผลิตมีสารตกค้างที่ประสบอยู่ในขณะนี้ได้เป็นอย่างดี การพัฒนาด้านชีวภัณฑ์มีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องตลอดเวลาเพื่อหาสารชีวภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพในการหยุดการแพร่ระบาดของโรคในหน่อไม้ฝรั่ง ซึ่งสารเหล่านั้นได้จากเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรคที่เกิดกับหน่อไม้ฝรั่ง และกับพืชหลายชนิด อาทิเช่น เชื้อรากลุ่ม *Trichoderma sp.* เป็นเชื้อราที่ได้รับความนิยมสามารถยับยั้งการเกิดโรคของโรคพืชได้หลายโรค แต่ประสิทธิภาพของเชื้อก็ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง โดยเฉพาะในแต่ละพื้นที่ที่มีสภาพอากาศและสภาพแวดล้อมแตกต่างกัน การคัดแยกเชื้อราจากในท้องถิ่นจึงเป็นการแก้ไขปัญหาดังกล่าว โดยการนำเชื้อราที่มีอยู่ในท้องถิ่นมาใช้ในการยับยั้งการเกิดโรค ดังนั้นการนำดินในพื้นที่เพาะปลูกหน่อไม้ฝรั่งของเกษตรกรในจังหวัดกาญจนบุรี ซึ่งมีพื้นที่ปลูกหน่อไม้ฝรั่งเป็นอันดับต้นๆ ของประเทศ และยังเป็นแหล่งส่งออกหน่อไม้ฝรั่งที่สำคัญ เป็นแหล่งคัดเลือกจุลินทรีย์ท้องถิ่น เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคลำต้นไหม้ และแอนแทรคโนส ซึ่งเป็นโรคที่พบมากในพื้นที่ จึงมีความเหมาะสมเป็นอย่างมากในการเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้งการแพร่ระบาดของโรคในหน่อไม้ฝรั่ง เพื่อเป็นการสร้างแนวทางการเพาะปลูกแบบชีวภัณฑ์ ลดการใช้สารเคมีแก้ปัญหาระบาดของโรคในผลผลิตทางการเกษตร และเป็นการเพิ่มมูลค่าของผลผลิตทางการเกษตรได้อีกทางหนึ่ง

วัตถุประสงค์การวิจัย

คัดแยกเชื้อราปฏิปักษ์จากดิน และหาประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ที่ยับยั้งเชื้อก่อโรค

กรอบแนวคิดการวิจัย





การจัดประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 5

The 5th STOU Graduate Research Conference

วิธีดำเนินการวิจัย

การเก็บตัวอย่างดิน

เก็บตัวอย่างดินแบบสุ่ม โดยเลือกเก็บดินรอบๆ บริเวณรากพืช บริเวณพื้นที่ที่มีการปลูกหน่อไม้ฝรั่ง ในจังหวัดกาญจนบุรีขั้นตอนการเก็บตัวอย่างดินเพื่อนำมาวิเคราะห์ ชุดดินลึกประมาณ 1 หน้าจอบ (15-20 เซนติเมตร) เลือกเอาดินส่วนตรงกลาง และนำมาใส่ไว้ในถัง โดยเก็บดินหลายๆ จุดใน 1 แปลง เก็บบริเวณพื้นที่ด้านหน้า ตรงกลาง ด้านท้าย และนำดินทั้งหมดที่เก็บได้คลุกเคล้าให้เข้ากัน ผึ่งดินให้แห้งในที่ร่ม เมื่อดินแห้งแบ่งดินออกเป็น 4 ส่วน นำมา 1 ส่วน ประมาณ 0.5-1 กิโลกรัม บรรจุลงในถุงเตรียมนำมาวิเคราะห์ โดยเขียนรายละเอียดสถานที่เก็บบนกระดาษ แล้วใส่ถุงเล็กอีกชั้นเพื่อกันชื้นใส่ในถุงดิน เก็บตัวอย่างดินจากพื้นที่เก็บตัวอย่างจำนวน 5 แปลง ได้แก่ บริเวณเขตพื้นที่อำเภอคำชะอี อำเภอบ่อพลอย อำเภอหนองปรือ และอำเภอเมือง จังหวัดกาญจนบุรี ซึ่งเป็นแหล่งเพาะปลูกหน่อไม้ฝรั่งที่สำคัญ จำนวน 25 ตัวอย่าง นำไปทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคแอนแทรกโนส และโรคลำต้นไหม้ในหน่อไม้ฝรั่งที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum sp.* และ *P. asparagi* ต่อไป

การแยกเชื้อราปฏิปักษ์จากดิน

นำดินไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เพื่อนำมาแยกเชื้อจุลินทรีย์ โดยวิธี Soil dilution plate โดยชั่งดินที่ผ่านการอบให้ได้ 1 กรัม ตักใส่น้ำกลั่นฆ่าเชื้อปริมาตร 9 มิลลิลิตร จากนั้นเขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องเขย่า(vortex) เจือจาง suspension ของดิน ความเข้มข้นตั้งแต่ 10^{-1} – 10^{-6} แล้วเลือก suspension ของดิน ความเข้มข้นตั้งแต่ 10^{-4} – 10^{-6} ความเข้มข้นละ 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหาร Potato dextrose agar(PDA) จากนั้นใช้แท่งแก้วรูปตัวแอล(L) กลิ้งให้ทั่วผิวหน้าอาหารแล้วบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3-5 วัน เมื่อพบการเจริญของเชื้อออกเป็นโคโลนีเดี่ยวจึงย้ายลงบนอาหาร จากนั้นจึงเก็บเชื้อไว้ใน stock glycerol 20% ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพื่อใช้ทำการศึกษาคต่อไป (ดัดแปลงจากศุภลักษณ์ ขาเจริญ,2552)

การเตรียมสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *P. asparagi*

ด้วยการปลูกเชื้อรา *P. asparagi* บนท่อนหน่อไม้ฝรั่งที่ปราศจากโรคและผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย 1% sodium hypochlorite เป็นเวลา 5 นาที นานประมาณ 7 วัน เพื่อให้เชื้อสร้างสปอร์บริเวณรอยแผลจากนั้นเตรียมสปอร์แขวนลอยในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปรับความเข้มข้นให้ได้ 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

การทดสอบความสามารถของเชื้อราที่แยกได้ในการเป็นปฏิปักษ์ต่อการเจริญของเชื้อก่อโรคในหน่อไม้ฝรั่ง

นำเชื้อราก่อโรคในหน่อไม้ฝรั่ง ซึ่งได้จาก คลินิกพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ *colletotrichum sp.* และเชื้อราที่คัดแยกได้จากดิน มาเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 5 วัน แล้วใช้ cock borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ตัดบริเวณรอบนอกของส่วนที่มีการเจริญของเชื้อสม่ำเสมอ แล้วย้าย culture disc ของเชื้อราที่คัดแยกได้ และเชื้อราก่อโรค ด้วยเข็มเขี่ยฆ่าเชื้อ วางบนอาหาร PDA ในทิศทางที่ตรงข้ามกัน โดยให้ห่าง



การจัดประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 5

The 5th STOU Graduate Research Conference

จากขอบจานด้านละ 2 เซนติเมตร จัดให้เป็นชุดทดสอบ ส่วนในชุดควบคุมนั้นจะวาง culture disc ของเชื้อราก่อโรคเพียงอย่างเดียวห่างจากขอบจานเพาะเลี้ยงเชื้อ 2 เซนติเมตร ชนิดละ 3 ซ้ำ จากนั้นบ่มไว้ในที่อุณหภูมิห้อง เมื่อสังเกตเห็นเชื้อก่อโรคในชุดควบคุมเจริญจนเกือบเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จึงบันทึกผลโดยวัดขนาดความยาวของรัศมีของเชื้อก่อโรคพืชด้านที่ตรงข้ามกับเชื้อราที่คัดแยกได้ในชุดทดสอบ(R₂) และนำข้อมูลที่ได้อีกมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อของเชื้อราที่คัดแยกได้ต่อเชื้อก่อโรคพืช โดยสูตรที่ใช้ในการคำนวณคือ

สูตรคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต(Percent Inhibition of Radial Growth : PIRG)

$$PIRG = [(R_1 - R_2) / R_1] \times 100$$

R₁ = ความยาวรัศมีของโคโลนีเชื้อก่อโรคพืชในชุดควบคุม

R₂ = ความยาวรัศมีของโคโลนีเชื้อก่อโรคพืชในชุดทดสอบ

โดยประมาณค่าการยับยั้งดังนี้(เกษม, 2553 อ้างโดยสุกัลกษณ์ ยาเจริญ, 2552)

>75% มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงมาก

61-75% มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูง

51-60% มีประสิทธิภาพในการยับยั้งปานกลาง

< 50% มีประสิทธิภาพในการยับยั้งต่ำ

การทดสอบความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บนลำต้นหน่อไม้ฝรั่งด้วยวิธี Detached Stem Technique

ตัดส่วนลำต้นหน่อไม้ฝรั่งที่ไม่แสดงอาการของโรค เป็นท่อนขนาด 7 เซนติเมตร นำมาฆ่าเชื้อบริเวณผิวด้วยการแช่ใน 1% sodium hypochlorite เป็นเวลา 5 นาที ก่อนล้างให้แห้ง ทำแผลบริเวณส่วนกลางของแท่นหน่อไม้ฝรั่งด้วยเข็มปลายแหลมฆ่าเชื้อ จากนั้นเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในรูปของสปอร์หรือเซลล์แขวนลอยที่ความเข้มข้น 10⁸ สปอร์ต่อมิลลิลิตร เตรียม spore suspension ของเชื้อรา *P. asparagi* ความเข้มข้น 10⁸ สปอร์ต่อมิลลิลิตร หยด spore suspension ของเชื้อรา *P. asparagi* ลงบนแผลปริมาตร 0.02 มิลลิลิตร หลังจากนั้น 24 ชั่วโมง จึงหยดเซลล์แขวนลอยของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ปริมาตร 0.02 มิลลิลิตรลงบนแผล ทดลองเชื้อทดสอบละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ท่อน เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ กรรมวิธีควบคุมคือ การหยดน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 0.02 มิลลิลิตร แทนเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ บ่มเชื้อไว้ใน plate ให้ความชื้นที่อุณหภูมิห้อง วัดขนาดของแผลที่เกิดขึ้นเปรียบเทียบกับหลังปลูกเชื้อแล้ว 7 วัน คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ทำให้เกิดโรคหรือมีแผลขนาดเล็ก(ดัดแปลงนลินี ศิวากรณ์, 2553)

การจำแนกชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

นำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ได้คัดเลือกแล้วตามกรรมวิธีต่างๆ ไปจำแนกชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์โดยเทียบกับอนุกรมวิธานจุลินทรีย์

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์โดยใช้วิธีหาค่าเฉลี่ย (Mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation) โดยโปรแกรม spss v. 23 วิเคราะห์หาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ(Duncan) ของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่คัดแยกได้ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 (P < 0.05)



การจัดประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 5

The 5th STOU Graduate Research Conference

ผลการวิจัย

การแยกเชื้อราปฏิปักษ์จากดิน

จากการเก็บดินจากบริเวณพื้นที่เก็บตัวอย่าง จำนวน 5 แปลง บริเวณเขตพื้นที่อำเภอด่านมะขามเตี้ย อำเภอปอพลอย อำเภอหนองปรือ และอำเภอเมือง จังหวัดกาญจนบุรี ซึ่งเป็นแหล่งเพาะปลูกหน่อไม้ฝรั่งที่สำคัญได้ จำนวน 25 ตัวอย่าง สามารถทำการแยกเชื้อราที่ต่างชนิดกันได้ จำนวน 95 ไอโซเลท นำไปทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคแอนแทรกโนส และโรคลำต้นไหม้ในหน่อไม้ฝรั่งที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum sp.* และ *P. asparagi*

การทดสอบความสามารถของเชื้อราที่แยกได้ในการเป็นปฏิปักษ์ต่อการเจริญของเชื้อก่อโรคในหน่อไม้ฝรั่ง

นำเชื้อราที่ต่างชนิดกัน จำนวนทั้งหมด 95 ไอโซเลท มาทดสอบการยับยั้งเชื้อราก่อโรคโรคแอนแทรกโนสในหน่อไม้ฝรั่งที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum sp.* ด้วยวิธี Dual Culture Technique พบว่ามีจำนวนเชื้อรา จำนวน 15 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค และมี % growth reduction มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูง และสูงมาก ผลจากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราที่แยกได้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum sp.* พบว่า เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อราที่ถูกยับยั้ง เปรียบเทียบกับเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราที่เจริญปกติ (control) เชื้อที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Colletotrichum sp.* ได้ดีที่สุด คือ ไอโซเลท I43 I68 I93 ยับยั้งเชื้อได้ร้อยละ 90.97 ($\bar{X}=0.53, SD=0.05$) ดังตัวอย่าง I93 แสดงใน Figure 1 และ Figure 2 รองลงมา ได้แก่ ไอโซเลท I61 และ I45 I75 ยับยั้งเชื้อได้ร้อยละ 90.28 ($\bar{X}=0.56, SD=0.05$) และ 83.47 ($\bar{X}=0.96, SD=0.05$) ตามลำดับ และไม่มีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับค่าความเชื่อมั่น 95% ($P \geq 0.05$) จากการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่า I43 I61 และ I68 จัดอยู่ในเชื้อรากลุ่ม *Rhizopus sp.* และ I93 จัดอยู่ในเชื้อรากลุ่ม *Penicillium sp.* ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออยู่ในเกณฑ์สูงมากเมื่อเทียบกับเกณฑ์มาตรฐาน และผลการวิจัยของสกุลลักษณะยาเจริญ(2552) ส่วนอีก 87 ไอโซเลท เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum sp.* มีค่าร้อยละของการยับยั้งเชื้ออยู่ในเกณฑ์ต่ำ เมื่อเทียบกับเกณฑ์มาตรฐาน และผลการวิจัยของสกุลลักษณะยาเจริญ(2552) ซึ่งมีค่าเฉลี่ยของการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Fusarium oxysporum* ไม่ถึงร้อยละ 50 ดังในตารางที่ 1



การจัดประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 5

The 5th STOU Graduate Research Conference

ตารางที่ 1 ข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์โดยใช้วิธีหาค่าเฉลี่ย (Mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation)วิเคราะห์ความแตกต่างของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิบัติที่ได้คัดเลือก ทั้ง 15 ไอโซเลท โดยใช้ (One-way Anova,Duncan) ที่ค่าความเชื่อมั่น 0.05 ($P < 0.05$)

<i>Isolat</i>	<i>N</i>	<i>($\bar{x}$)Mean</i>	<i>($\pm SD$) Std.Deviation</i>	<i>Std. Error</i>	<i>%growth reduction</i>
I43	3	0.53 ^a	0.05	0.03	90.97
I45	3	0.96 ^b	0.05	0.03	83.47
I50	3	1.76 ^d	0.25	0.14	69.84
I57	3	1.43 ^c	0.11	0.06	75.63
I61	3	0.56 ^a	0.05	0.03	90.28
I62	3	1.50 ^c	0.30	0.17	74.44
I63	3	1.50 ^c	0.30	0.17	74.44
I66	3	1.33 ^c	0.15	0.08	77.34
I68	3	0.53 ^a	0.05	0.03	90.97
I72	3	1.76 ^d	0.25	0.14	69.94
I75	3	0.96 ^b	0.05	0.03	83.47
I80	3	1.66 ^d	0.15	0.08	71.55
I83	3	1.76 ^d	0.25	0.14	69.84
I90	3	1.33 ^c	0.15	0.03	77.34
I93	3	0.53 ^a	0.05	0.08	90.97
Control	3	5.8 ^e	0.15	0.17	0.00
Total	48	1.50	1.23	0.03	74.40

* ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่มีตัวอักษรกำกับในแนวดิ่งต่างกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P \geq 0.05$)



การจัดประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 5

The 5th STOU Graduate Research Conference



Figure 1

Figure 2

Figure 1 front of fungal characteristics; clear zone transparency of I93,
Figure 2 back of fungal characteristics; clear zone transparency of I93,

การทดสอบความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บนลำต้นหน่อไม้ฝรั่งด้วยวิธี **Detached Stem Technique**

นำเชื้อรา *P. asparagi* ถ่ายเชื้อลงบนบาดแผล และเชื้อราที่คัดแยกได้ ลงบนท่อนหน่อไม้ฝรั่ง จำนวน 95 ไอโซเลท โดยทำการทดสอบเชื้อทดสอบละ 3 ซ้ำ กรรมวิธีควบคุม คือ การหยดน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ 0.02 มิลลิลิตร แทนเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ จากนั้นนำท่อนหน่อไม้ฝรั่ง ที่ถ่ายเชื้อเรียบร้อยแล้ว มาทดสอบการยับยั้งเชื้อราก่อโรค แอนแทรกโนสในหน่อไม้ฝรั่งที่เกิดจากเชื้อรา *P. asparagi* พบว่ามีจำนวนเชื้อรา จำนวน 7 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค บนท่อนหน่อไม้ฝรั่งได้ ผลจากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราที่แยกได้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. asparagi* พบว่า เชื้อราที่คัดเลือกได้สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. asparagi* ได้ดีที่สุด ได้แก่ I1 I2 I35 I54 I73 I75 และ I95 ไอโซเลทที่มีร้อยละของการยับยั้งสูงได้แก่ I73 และ I35 ร้อยละ 83.33 ($\bar{X}=8.33, SD=0.57$) และ 80.00 ($\bar{X}=8.00, SD=1.00$) ตามลำดับ จากการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่า I73 และ I35 จัดอยู่ในเชื้อราสกุล *Trichoderma* sp. ค่าทางสถิติพบว่าร้อยละของการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคทั้ง 7 ไอโซเลท ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P \geq 0.05$) ดังในตารางที่ 2



การจัดประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 5

The 5th STOU Graduate Research Conference

ตารางที่ 2 ข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์โดยใช้วิธีหาค่าเฉลี่ย (Mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation) วิเคราะห์ความแตกต่างของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิบัติที่ได้อัดเลือก ทั้ง 7 ไอโซเลท โดยใช้ (One-way Anova, Duncan) ที่ค่าความเชื่อมั่น 0.05 ($P < 0.05$)

Isolat	N	$(\bar{X})$ Mean	($\pm$ SD) Std.Deviation	Std. Error	%growth reduction
I1	3	6.67	0.57	0.33	66.67 ^b
I2	3	5.33	0.57	0.33	53.33 ^c
I35	3	8.00	1.00	0.57	80.00 ^a
I54	3	6.33	1.15	0.66	63.33 ^b
I73	3	8.33	0.57	0.33	83.33 ^a
I75	3	4.67	0.57	0.33	46.66 ^b
I95	3	7.33	0.57	0.33	73.33 ^b
control	3	0.00	0.00	0.00	0.00 ^d
Total	24	5.83	2.61	0.53	58.36

* ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่มีตัวอักษรกำกับในแนวดิ่งต่างกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P \geq 0.05$)

อภิปรายผลการวิจัย

การทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคแอนแทรกโนส และโรคลำต้นไหม้ในหน่อไม้ฝรั่งที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum sp.* และ *P. asparagi* โดยทำการศึกษาในพื้นที่จังหวัดกาญจนบุรี ผลจากการทดลองประสิทธิภาพของเชื้อราที่แยกได้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ จากดิน 25 ตัวอย่าง สามารถทำการแยกเชื้อราที่ต่างชนิดกันได้ จำนวน 95 ไอโซเลท นำไปทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมโรคแอนแทรกโนส และโรคลำต้นไหม้ที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum sp.* และ *P. asparagi* พบว่า ผลจากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราที่แยกได้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum sp.* พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อราที่ถูกยับยั้ง เปรียบเทียบกับเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อราที่เจริญปกติ (control) เชื้อที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Colletotrichum sp.* ได้ดีที่สุดได้แก่ ไอโซเลท I43 I68 I93 ยับยั้งเชื้อได้ร้อยละ 90.97 ($\bar{X}=0.53, SD=0.05$) รองลงมาได้แก่ I61 และ I45 I75 ยับยั้งเชื้อได้ร้อยละ 90.28 ($\bar{X}=0.56, SD=0.05$) และ 83.47 ($\bar{X}=0.96, SD=0.05$) ตามลำดับ และ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับค่าความเชื่อมั่น 95% ($P \geq 0.05$) จากการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่า I43 I61 และ I68 จำแนกอยู่ในเชื้อราสกุล *Rhizopus sp.* และ I93 จำแนกอยู่ในเชื้อราสกุล *Penicillium sp.* ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้ออยู่ในเกณฑ์



การจัดประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 5

The 5th STOU Graduate Research Conference

สูงมากเมื่อเทียบกับมาตรฐาน ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยของพรอุษา แพร่วิณะสุข(2548)จากการคัดเลือกเชื้อราฟิวส์คอตเบอรี่เพื่อใช้ควบคุมโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อ *Colletotrichum sp.* ซึ่งเชื้อที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Colletotrichum sp.* สามารถยับยั้งการเจริญได้ร้อยละ 41.86 และอยู่ในสกุล *Penicillium sp.* เช่นเดียวกับ 193

เนื่องจากเชื้อ *P. asparagi* มีการเจริญของเส้นใยขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ และเมื่อเก็บเชื้อไว้สักระยะเชื้อจะหยุดการเจริญในที่สุด แต่เมื่อนำมาถ่ายเชื้อแล้วเลี้ยงบนเนื้อเยื่อของพืช หรือท่อนของหน่อไม้ฝรั่งเชื้อ *P. asparagi* จะเจริญได้ดีกว่าการเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ จึงไม่สามารถใช้วิธี วิธี Dual Culture Technique เพื่อสังเกตความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคทำให้ไม่สามารถระบุ % growth reduction ของเชื้อได้

จากการนำเชื้อราที่คัดแยกได้มาทดสอบกับเชื้อรา *P. asparagi* ด้วยวิธี Detached Stem Technique จำนวนเชื้อราที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคได้มี จำนวน 7 ไอโซเลต ไอโซเลตที่มีร้อยละของการยับยั้งสูงได้แก่ I73 และ I35 ร้อยละ 83.33 และ 80.00 ตามลำดับ ค่าทางสถิติพบว่าร้อยละของการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคทั้ง 7 ไอโซเลต ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P \geq 0.05$) จากการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่า I73 และ I35 จัดอยู่ในเชื้อราสกุล *Trichoderma sp.* ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ศิริทิพย์ แดงดี(2548)ทำการศึกษาเชื้อรา *T. harzianum* ในรูปเชื้อสดสามารถลดขนาดแผลบนลำต้นของหน่อไม้ฝรั่งได้ โดยมีค่าดัชนีการเกิดโรค 91.10 มากกว่าการใช้สารเคมีเบนโนมิลที่ลดขนาดแผลได้เพียงร้อยละ 44.45 ทศนาพร ทศกร และคณะ(2550)ได้ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. harzianum* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. asparagi* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยเชื้อรา *T. harzianum* สามารถยับยั้งการเจริญของ *P. asparagi* ได้ มากกว่าร้อยละ 99.92 เมื่อเทียบกับการใช้สาร azoxystrobin 25% W/V/SC ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ร้อยละ 74.71 เช่นเดียวกับเพ็ญจันทร์ และคณะ(2553)พบว่าเชื้อรา *Trichoderma sp.* สามารถต่อต้านการเจริญของเชื้อรา *Phomopsis sp.* ซึ่งเป็นเชื้อราก่อโรคในลิ้นจี่ และลำไย สุวรรณิ และคณะ (2557)พบว่าสารยับยั้งเชื้อราคาร์เบนดาซิมซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราก่อโรคในพืชได้เพียงร้อยละ 70.26 เมื่อนำ I73 และ I35 มาเปรียบเทียบกับสาร azoxystrobin 25% W/V/SC และคาร์เบนดาซิม พบว่า I73 และ I35 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราก่อโรคได้มากกว่าการใช้สารทั้งสองชนิด

จากผลการทดลองยังพบว่า เชื้อราบางไอโซเลตแสดงอาการก่อโรคร่วมกับเชื้อ *P. asparagi*. โดยเข้าทำลายเนื้อเยื่อของหน่อไม้ฝรั่งทำให้เกิดความเสียหายรุนแรงมากกว่าการเข้าทำลายของเชื้อ *P. asparagi*. เพียงชนิดเดียว ได้แก่ I11 I41 และ I61 และผลการทดลองยังทำให้ทราบอีกว่า เชื้อราที่คัดเลือกได้ I89 ยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค *P. asparagi*. ได้ดี แต่กลับก่อให้เกิดความเสียหายกับเนื้อเยื่อของหน่อไม้ฝรั่งเช่นเดียวกับเชื้อ *P. asparagi*.



การจัดประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 5

The 5th STOU Graduate Research Conference

ข้อเสนอแนะ

1. จากผลการวิจัยเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้นั้นมีประสิทธิภาพสูง และเป็นจุลินทรีย์ท้องถิ่นที่น่าจะนำไปใช้ร่วมกับการเพาะปลูกหน่อไม้ฝรั่งในพื้นที่เพาะปลูกจริง ทดแทนการใช้สารเคมี
2. ในขั้นต้นจะต้องมีการทดสอบในระดับกระถางเสียก่อน เพื่อยืนยันประสิทธิภาพการยับยั้งของเชื้อ และแน่ใจว่าเชื้อดังกล่าวจะไม่ก่อโรคต่อหน่อไม้ฝรั่ง หรือกับพืชชนิดอื่นก่อนนำไปใช้จริง และส่งตรวจเพื่อระบุชนิดของสายพันธุ์ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- ทัศนพร ทัศกร, อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และ ชารทิพย์ ภาสบุตร. (2550). ศึกษาผลการใช้วัสดุเพาะเห็ดร่วมกับเชื้อรา *Trichoderma spp.* ในการป้องกันกำจัดโรคลำต้นไหม้หน่อไม้ฝรั่ง. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2550 เล่มที่ 1. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตรกระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ. หน้า. 366 - 378.
- นลินี ศิวากรณ์, พงนา ตระกูลสุจริตน์ และเพลินพิศ สงสังข์. (2553). การควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของส้มโอ โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2553 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. เอกสารวิชาการลำดับที่ 1/2554. หน้า 2 592-2612
- พรอุษา แพร่วัดนะสุข. (2548). การคัดเลือกเชื้อราฟิวส์เรียสเพื่อใช้ควบคุมโรคใบจุดของสตรอเบอรี่ที่เกิดจากเชื้อ *Colletotrichum sp.* และ *Phomopsis obscurans* (วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.
- เพ็ญจันทร์ เมทวิจิตรแสง, แสงชัย เอกประทุมชัย, กนกวรรณ พุ่มพุทรา, ไวรจันต์ เดชมหิตกุล, อนวัช สุวรรณกุล และอนันต์ ทองทา. (2553). การผลิตเชื้อรา *Trichoderma spp.* เพื่อใช้เป็นสารชีวอินทรีย์สำหรับเกษตรอินทรีย์. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, กรุงเทพฯ
- ศิริทิพย์ แดงดีบ. (2548). การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคลำต้นไหม้ของหน่อไม้ฝรั่ง ที่เกิดจากเชื้อรา *Phomopsis asparagi* Bubak (วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ศุกลักษณ์ ขาเจริญ. (2552). การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่เหมาะสมเพื่อควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชในดิน (วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.
- สุวรรณณี แทนธานี, จารวี สุขประเสริฐ, สายจิต ดาวสุขโข และโสธญา รอดประเสริฐ. (2557). การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดว่านน้ำในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคผลเน่าที่แยกได้จากผลลิ้นจี่. *Bulletin of Applied Sciences*, 3(3), 88-89.