บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการแยกเชื้อราที่ผิวใบพืชตระกูลผักกาดจำนวน 5 ชนิดคือ กะหล่ำปลี ผักกาดขาว ผักกาดเขียวปลี บร็อคโคลี่ และคะน้าจาก 4 แหล่งสามารถแยกเชื้อราทั้งหมดจำนวน 212 isolate นำเชื้อราที่แยกได้มาทดสอบการเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อรา *A. brassicicola* สาเหตุของโรคใบจุดคะน้าโดยวิธีการ Dual Culture Technique เกิดปฏิกิริยาขึ้นอยู่ 3 แบบ คือ 1. เชื้อราปฏิปักษ์เจริญคลุมเชื้อสาเหตุ (*A. brassicicola*) ทั้งหมดจำนวน17 isolate ดังต่อไปนี้ *Aspergillus* spp. จำนวน 3 isolate ได้แก่ 048, 104 และ 190 *Nigrospora* spp. จำนวน 2 isolate ได้แก่ 072 และ 089 *Penicillium* spp. จำนวน 2 isolate ได้แก่ 006, 077 *Fusarium* spp. จำนวน 2 isolate ได้แก่ 011 และ 028 *Trichoderma* sp. จำนวน 1 isolate ได้แก่ 197 และ unknown จำนวน 7 isolate ได้แก่ 033, 049, 088, 103, 147, 174 และ 212 2. เชื้อราปฏิปักษ์เกิด clear zone กับเชื้อสาเหตุ (*A. brassicicola*) ทั้งหมดจำนวน 13 isolate ดังต่อไปนี้ *Aspergillus* sp. จำนวน 1 isolate ได้แก่ 142 *Colletotrichum* sp. จำนวน 1 isolate ได้แก่ 035 *Fusarium* sp. จำนวน 1 isolate ได้แก่ 170 *Nigrospora* spp. จำนวน 3 isolate ได้แก่ 057, 070 และ 096 *Penicillium* spp. จำนวน 3 isolate ได้แก่ 075, 120 และ 173 *Curvularia* spp. จำนวน 4 isolate ได้แก่ 101, 134, 146 และ 202 3. เชื้อราทั้งสองชนิดเจริญชนกัน ทั้งหมดจำนวน 180 isolate

เมื่อนำเชื้อราในกลุ่มที่ 1 คือเชื้อราปฏิปักษ์เจริญคลุมเชื้อสาเหตุ (*A. brassicicola*) และกลุ่มที่ 2 คือเชื้อราปฏิปักษ์เกิด clear zone กับเชื้อสาเหตุ (*A. brassicicola*) มาทดสอบประสิทธิภาพในห้องปฏิบัติการ โดยวัดอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อราในกลุ่มที่ 1 บนอาหาร PDA วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราที่เวลา 3, 5, 7, 10 และ 14 วันพบว่า เชื้อรา *Fusarium* sp. (isolate 011) มีอัตราการเจริญเติบโตดีที่สุด โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีในวันที่ 3 ได้ 6.5 เซนติเมตรและในวันที่ 5, 7, 10 และ 14 วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราได้เท่ากันคือ 7.5 เซนติเมตร และเชื้อราที่มีอัตราการเจริญเติบโตดีที่สุดรองลงมา คือ เชื้อรา unknown (isolate 049) โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีในวันที่ 3 ได้ 6.3 เซนติเมตรและในวันที่ 5, 7, 10 และ 14 วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราได้เท่ากันคือ 7.5 เซนติเมตร ซึ่งอัตราการเจริญของเชื้อราทั้ง 2 isolate ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ สาเหตุที่เชื้อรา *Fusarium* sp. (isolate 011) มีอัตราการเจริญเติบโตดีที่สุดเนื่องจากในช่วง 3 วันแรกเชื้อรามีอัตราการเจริญอย่างรวดเร็วและมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีมากกว่าเชื้อรา isolate อื่น ซึ่งเมื่อคัดเลือกเชื้อรา isolate นี้ไปเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ น่าจะมีประสิทธิภาพดีเพราะมีการเจริญเติบโตได้ดีและรวดเร็ว ทำให้สามารถแข่งขันกับเชื้อชนิดอื่นได้ ซึ่งสอดคล้องกับ คนัย (2543) ได้กล่าวว่า การใช้ประโยชน์จากเชื้อจุลินทรีย์ที่อาศัย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

บนผิวของผลผลิต และการใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านเชื้อสาเหตุโรคปลูกลงบนผลผลิต จุลินทรีย์ที่ดีจะต้องสามารถเจริญได้ดี รวดเร็ว และสามารถแข่งขันกับเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่อาศัยอยู่ในธรรมชาติในระดับที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรค

เมื่อนำเชื้อราในกลุ่มที่ 2 คือเชื้อราปฏิปักษ์เกิด clear zone กับเชื้อสาเหตุ (*A. brassicicola*) ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราโดยการใส่ spore suspension ของ *A. brassicic*ola ลงใน culture filtrate ของเชื้อราปฏิปักษ์ จากนั้นจึงทำการนับความงอกและจำนวนสปอร์ของเชื้อ *A. brassicicola* ที่เวลา 3, 5 และ 7 วัน โดยพบว่าเชื้อรา *Penicillium* sp. (isolate 075) มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อ *A. brassicicola* โดยมีความงอกสปอร์ของเชื้อ *A. brassicicola* ในวันที่ 3 11.10% วันที่ 5 15.00% และในวันที่ 7 17.50% ซึ่งในวันที่ 7 ความงอกของสปอร์ต่ำกว่าชุดควบคุม 76.71% เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่มีความงอกของสปอร์ 75.17% รองลงมาคือ *Curvularia* sp. (isolate 101) โดยมีความงอกสปอร์ของเชื้อ *A. brassicicola* ในวันที่ 3 10.27% วันที่ 5 15.55% และในวันที่ 7 18.05% ซึ่งในวันที่ 7 ความงอกของสปอร์ต่ำกว่าชุดควบคุม ถึง 75.98% เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่มีความงอกของสปอร์ 75.17% ดังนั้นเชื้อราทั้งสอง isolate คือ *Penicillium* sp. (isolate 075) และ *Curvularia* sp. (isolate 101) มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อ *A. brassicicola* โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เนื่องจากเชื้อราทั้งสองอาจจะสามารถสร้างสาร antibiotic หรือ toxin ซึ่งสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ในระดับค่อนข้างสูงซึ่งควรมีการวิเคราะห์ให้แน่นอนในขั้นตอนต่อไป

จากนั้นทำการตรวจนับจำนวนการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *A. brassicicola* ที่ใส่ใน culture filtrate ที่เวลา 3, 5 และ 7 วัน ด้วย haemacytometer ของเชื้อราปฏิปักษ์ พบว่า เชื้อรา *Fusarium* sp. (isolate 170) มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อ *A. brassicicola* โดยนับจำนวนสปอร์ของเชื้อ *A. brassicicola* ที่เวลา 3 วันได้ 0.22×10^5 spore/ml วันที่ 5 ได้ 0.38×10^5 spore/ml และวันที่ 7 ได้ 0.54×10^5 spore/ml ซึ่งในวันที่ 7 จำนวนสปอร์ของเชื้อ *A. brassicicola* ต่ำกว่าชุดควบคุม 98.29% เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่นับจำนวนสปอร์ได้ 31.74×10^5 spore/ml รองลงมาคือเชื้อรา *Penicillium* sp. (isolate 173) โดยนับจำนวนสปอร์ของเชื้อ *A. brassicicola* ที่เวลา 3 วันได้ 0.28×10^5 spore/ml วันที่ 5 ได้ 0.68×10^5 spore/ml และวันที่ 7 ได้ 1.02×10^5 spore/ml ซึ่งในวันที่ 7 จำนวนสปอร์เฉลี่ยของเชื้อ *A. brassicicola* ต่ำกว่าชุดควบคุมถึง 96.78% เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่นับจำนวนสปอร์ได้ 31.74×10^5 spore/ml ดังนั้นเชื้อราทั้งสอง isolate คือ *Fusarium* sp. (isolate 170) และ *Penicillium* sp. (isolate 173) มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อ *A. brassicicola* โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เนื่องจากเชื้อราทั้งสองอาจจะสามารถสร้างสาร antibiotic หรือ toxin ซึ่งสามารถยับยั้งสร้างสปอร์ได้ในระดับสูงมาก ซึ่งจากการทดสอบแสดงให้เห็นว่าสาร antibiotic หรือ toxin มีผลต่อการยับยั้งการงอกและการสร้างสปอร์ที่แตกต่างกัน โดยเชื้อราที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการสร้างสปอร์อาจไม่สามารถ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ดีที่สุดเช่นกัน ดังนั้นจึงแสดงให้เห็นว่าเชื้อราปฏิปักษ์แต่ละชนิดสามารถผลิตสารในการยับยั้งได้แตกต่างกัน จึงส่งผลต่อการยับยั้งเชื้อสาเหตุได้แตกต่างกันด้วย

ดังนั้นจึงได้คัดเลือกเชื้อรามีประสิทธิภาพดีที่สุด ในการยับยั้งการงอกของสปอร์และการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *A. brassicicola* ของเชื้อรากลุ่มที่ 2 ทั้งหมด 4 isolate ซึ่งได้แก่ *Penicillium* sp. (isolate 075), *Curvularia* sp. (isolate 101), *Fusarium* sp. (isolate 170) และ *Penicillium* sp. (isolate 173) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Intanoo *et al.* (2000) ได้ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียจากผิวใบของผักคะน้า พบเชื้อแบคทีเรียจำนวน 2 isolate คือ WS16 *(Bacillus cereus)* และ WS18 *(Bacillus megaterium)* ซึ่งมีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. brassicicola* ซึ่งแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดสามารถลดการงอกของสปอร์และยังทำให้เส้นใยของเชื้อรา *A. brassicicola* เจริญผิดปกติ และยังลดความสามารถลดการเข้าทำลายของเชื้อรา *A. brassicicola* ได้ Lavermicocca *et al.* (2001) รายงานว่าสามารถแยกเชื้อแบคทีเรียจากผิวใบของต้นมะกอกได้จำนวน 200 isolate พบว่าเชื้อ *Lactobacillus plantarum, Leuconostoc mesenteroides sub sp. mesenteroides, Leuco*nostoc spp., *Enterococcus faecium* และ *Enterococcus* spp. ซึ่งเป็นเชื้อพวก lactic acid bacteria ผลิตกรดแลคติกสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ Rodgers and Shaw (2001) รายงานว่าสามารถแยกเชื้อจากผิวใบของข้าวสาลี พบเชื้อแบคทีเรีย 3 isolate ได้แก่ *Sporobolomyces roseus, Pantoea agglomerans* และ *Pseudomonas fluorescens* ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้ผลิตสาร antibiotic ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Septoria tritici*

จากผลการทดลองข้างต้น จึงได้นำเชื้อราที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการเจริญคลุมเชื้อสาเหตุจำนวน 2 isolate ได้แก่ *Fusarium* sp. (isolate 011) และ Unknown (isolate 049) และเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์และการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *A. brassicicola* จำนวน 4 isolate ได้แก่ *Penicillium* sp. (isolate075), *Curvularia* sp. (isolate 101), *Fusarium* sp. (isolate 170) และ *Penicillium* sp. (isolate 173) มาทดสอบในสภาพเรือนทดลองโดยแบ่งเป็น 2 แบบ คือ แบบแรกทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ก่อนการฉีดพ่น spore suspension ของ *A. brassicicola* เป็นเวลา 3, 5 และ 10 วัน จากนั้นทำการบันทึกผลที่ 7, 10 และ 14 วัน พบเชื้อราปฏิปักษ์ที่ฉีดพ่นไปแล้วเป็นเวลา 3 วันให้ผลดีที่สุด และมีประสิทธิภาพดีที่สุดหลังจากปลูกเชื้อแล้วเป็นเวลา 7 วัน พบว่าเชื้อรา unknown (isolate 049) มีจำนวนใบที่ถูกเชื้อ *A. brassicicola* เข้าทำลาย 10.00% ลดลงจากชุดควบคุม 89.01% แต่หลังจาก 10 วันประสิทธิภาพการควบคุมโรคลดลง โดยในวันที่ 14 พบจำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย 16.66% รองลงมาคือ *Penicillium* sp. (isolate 173) พบจำนวนใบที่ถูกเชื้อ *A. brassicicola* เข้าทำลาย 10.93% ลดลงจากชุดควบคุม 87.99% ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับเชื้อรา unknown (isolate 049) แต่หลังจาก 7 วันประสิทธิภาพการควบคุมโรคลดลง โดยในวันที่ 10 พบจำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย 12.50% และวันที่ 14 17.18% จากนั้นทำการวัดพื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อ *A. brassicicola* เข้าทำลาย พบว่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เมื่อฉีดพ่น spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ไปแล้วเป็นเวลา 3 วันให้ผลดีที่สุดและมีประสิทธิภาพดีที่สุดหลังจากปลูกเชื้อแล้วเป็นเวลา 7 วัน พบว่าเชื้อรา *Curvularia* sp. (isolate 101) มีพื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายน้อยที่สุด คือ 7.25% ลดลงจากชุดควบคุม 91.63% แต่หลังจาก 10 วันประสิทธิภาพการควบคุมโรคลดลง โดยในวันที่ 14 พบพื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย 8.33% รองลงมาคือเชื้อรา unknown (isolate 049) พบพื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย คือ 7.50% ลดลงจากชุดควบคุม 91.34% ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับเชื้อรา *Curvularia* sp. (isolate 101) และหลังจาก 7 วันพบว่าประสิทธิภาพการควบคุมโรคคงที่ โดยไม่พบพื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายเพิ่มจนถึงวันที่ 14

เมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์หลังการฉีดพ่น spore suspension ของ *A. brassicicola* เป็นเวลา 3, 5 และ 10 วัน จากนั้นทำการบันทึกผลที่ 7, 10 และ 14 วัน พบว่าหลังการฉีดพ่นเชื้อราปฏิปักษ์แล้วเป็นเวลา 10 วันให้ผลดีที่สุดและมีประสิทธิภาพดีที่สุดหลังจากปลูกเชื้อแล้วเป็นเวลา 7 วัน พบว่าเชื้อรา *Fusarium* sp. (isolate170) มีจำนวนใบที่ถูกเชื้อ *A. brassicicola* เข้าทำลาย 4.00% ลดลงจากชุดควบคุม 95.60% แต่หลังจาก 7 วันประสิทธิภาพการควบคุมโรคลดลง โดยในวันที่ 10 พบจำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย 8.00% และวันที่ 14 12.00% รองลงมาคือ *Penicillium* sp. (isolate 075) มีจำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย 4.16% ลดลงจากชุดควบคุม 95.43% ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับเชื้อรา *Fusarium* sp. (isolate170) แต่หลังจาก 7 วันประสิทธิภาพการควบคุมโรคลดลง โดยในวันที่ 10 พบจำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย 8.33% และวันที่ 14 12.50% ส่วนพื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อ *A. brassicicola* เข้าทำลาย พบว่าเมื่อฉีดพ่น spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ไปแล้วเป็นเวลา 10 วันให้ผลดีที่สุดและมีประสิทธิภาพดีที่สุดหลังจากปลูกเชื้อแล้วเป็นเวลา 7 วันพบเชื้อรา *Curvularia* sp. (isolate 101) มีพื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายน้อยที่สุด คือ 6.98% ลดลงจากชุดควบคุม 91.94% แต่หลังจาก 7 วันประสิทธิภาพในการควบคุมโรคลดลง โดยวันที่ 10 พบพื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย 7.11% และวันที่ 14 13.29% รองลงมาคือเชื้อรา unknown (isolate 049) มีพื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อ *A. brassicicola* เข้าทำลาย 8.13% ลดลงจากชุดควบคุม 90.61% ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับเชื้อรา *Curvularia* sp. (isolate 101) แต่หลังจาก 7 วันประสิทธิภาพในการควบคุมโรคลดลงโดยวันที่ 10 มีพื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย 8.60% และวันที่ 14 9.76% ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Sharma *et al.* (1984-1985) พบว่าได้มีการนำเชื้อ Actinomycete fungus คือ *Streptomyces arabicus* ควบคุมเชื้อ *A. brassicae* และ *A. brassicicola* ที่เป็นสาเหตุของโรคใบจุดได้ทดสอบทั้งในห้องปฏิบัติการและในไร่นา ประเทศฟินแลนด์ โดยการฉีดพ่นที่ใบด้วย *Streptomyces griseoviridis* (15 mg/g seed) พบว่าสามารถควบคุม *A. brassicicola* ได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากการทดสอบประสิทธิภาพในการฉีดพ่นเชื้อราปฏิปักษ์ทั้ง 6 isolate ทั้งก่อนและหลังการฉีดพ่นเชื้อสาเหตุ พบว่า เชื้อราที่มีประสิทธิภาพและให้ผลดีในกลุ่มที่เจริญคลุมเชื้อสาเหตุ พบเชื้อรา unknown (isolate 049) สามารถที่จะนำมาใช้ในการควบคุมโรคได้ดีที่สุด ขณะที่เชื้อราในกลุ่มที่สร้างสาร antibiotic หรือ toxin พบว่าเชื้อราที่มีประสิทธิภาพสูงสุด คือ *Fusarium* sp. (isolate 170) และ *Curvularia* sp. (isolate 101) โดยเชื้อราทั้งสองนี้สามารถควบคุมการเข้าทำลายและอาการของโรคได้ครอบคลุมในระยะเวลา 7 วัน ซึ่งหลังจากนั้นประสิทธิภาพของเชื้อจะลดลง จึงต้องมีการฉีดพ่นซ้ำ ซึ่งในการนำไปประยุกต์ใช้จริงในสภาพแปลงปลูกควรใช้เชื้อราทั้งสองชนิดนี้ควบคู่กันไปและใช้หลังจากเริ่มเกิดการระบาดของโรคในช่วงระยะเวลาประมาณ 10 วัน จากนั้นทำการฉีดพ่นทุกๆ 7 วันซึ่งสามารถลดการลุกลามของโรคได้เป็นอย่างดี แต่อย่างไรก็ตามเชื้อราปฏิปักษ์ที่แยกได้เป็นเชื้อ สาเหตุโรคของพืชอีกหลายชนิด ซึ่งยังไม่ได้ทำการจำแนกถึงระดับ species ของเชื้อราดังกล่าว และในการนำไปใช้กับพืชชนิดอื่นจึงมีความจำเป็นที่ต้องศึกษาถึงผลกระทบต่อไปด้วย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved