โครงงานสหกิจศึกษา

เรื่อง

ปริมาตรหัวเชื้อที่เหมาะสมในการผลิตขยาย

เชื้อราไตรโคเดอร์มาในข้าวสุก

Optimum Volumns of *Tirchoderma hazianum* for Production and

Enrichment in Cooked Rice

โดย

เจนจิรา ขันสะกุ

พ.ศ. 2560

โครงงานสหกิจศึกษา

เรื่อง ปริมาตรหัวเชื้อที่เหมาะสมในการผลิตขยาย เชื้อราไตรโคเดอร์มาในข้าวสุก

Optimum Volumns of *Tirchoderma hazianum* for Production and Enrichment in Cooked Rice

โดย

เจนจิรา ขันสะกุ

เสนอ

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (พืชศาสตร์)

พ.ศ. 2560

บทคัดย่อ

เจนจิรา ขันสะกุ. 2560. ใช้ปริมาตรหัวเชื้อที่เหมาะสมในการผลิตขยายเชื้อราไตรโคเดอร์มาในข้าวสุก. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช. คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ, ชลบุรี. 17 น.

อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุภากรณ์ เอี่ยมเข่ง

พนักงานที่ปรึกษา นางสาว ชิดชนก ชีวะประวัติ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) ศึกษาปริมาตรหัวเชื้อที่เหมาะสมในการผลิตขยายเชื้อราไตรโคเดอร์มาจากข้าวสุก 2) เพื่อทราบความเข้มข้นของเชื้อราไตรโคเดอร์มาที่ผลิตขยายจากปริมาตรหัวเชื้อที่ต่างกัน ใช้วิธีการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Complelely Randomized Design : CRD) ศึกษาที่ศูนย์ส่งเสริมเทคโนโลยีการเกษตรด้านอารักขาพืช จังหวัดชลบุรี ตั้งแต่ เดือนตุลาคม 2560 - เดือนพฤศจิกายน 2560ทำการทดลองโดยเตรียมข้าวสุกปริมาณ 250 กรัมใส่ถุงพลาสติก จากนั้นใส่หัวเชื้อราไตรโคเดอร์มาที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 3.73×10^{7} จำนวน 3, 7, 11 และ 15 หยดบ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องให้แสงสว่าง 24 ชั่วโมงหลังจากเขี่ยเชื้อ 2วันจึงขยำถุงที่เขี่ยเชื้อไว้ เพื่อให้เชื้อมีการกระจายตัว แล้วบ่มเชื้อต่ออีก 5วันจากนั้นจะนำมานับสปอร์โดยใช้เครื่องมือ Hemacytometer จากการทดลองพบว่า จำนวนหยดของหัวเชื้อน้ำไตรโคเดอร์มา ในการเพิ่มปริมาตรเชื้อราไตรโคเดอร์มาในข้าวสุก ภายหลังการเลี้ยงเชื้อ 7วัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อวัดความเข้มข้นของเชื้อราไตรโคเดอรมาที่ผลิตขยายครบ 7 วัน จากทั้ง 4 สิ่งทดลอง พบว่าเชื้อราไตรโคเดอร์มา มีความเข้มข้น 7.39×10^{8}, 8.19×10^{8}, 7.44×10^{8} และ 6.31×10^{8} สปอร์/มิลลิลิตร ตามลำดับ จะเห็นว่าความเข้มข้นจากสิ่งทดลองที่ 2 จำนวน 7 หยด ได้เชื้อราไตรโคเดอร์มาที่มีความเข้มข้นมากที่สุด คือ 8.19×10^{8} สปอร์/มิลลิลิตร รองลงมาคือสิ่งทดลองที่ 3, 1 และ 4 ซึ่งมีความเข้มข้น 7.44×10^{8} ,7.39×10^{8} และ 6.31×10^{8} สปอร์/มิลลิลิตร ตามลำดับ ดังนั้นคำแนะนำสำหรับให้เกษตรกรนำไปผลิตขยายเชื้อราไตรโคเดอร์มาพร้อมใช้เพื่อให้ได้จำนวนสปอร์เชื้อรามากที่สุดคือ 7 หยด แต่ถ้าเกษตรกรต้องการใช้หัวเชื้อในปริมาตรที่น้อยลง เพื่อประหยัดหัวเชื้อแต่ได้จำนวนถุงหรือจำนวนเชื้อพร้อมใช้ที่มากขึ้น แนะนำให้เกษตรกรใช้หัวเชื้อที่ 3 หยด เนื่องจากเชื้อมีความเข้มข้นที่ใกล้เคียงกัน และไม่มีความแตกต่างกันแต่อย่างใด

กิตติกรรมประกาศ

การที่ข้าพเจ้าได้จัดทำโครงงาน ณ ศูนย์ส่งเสริมเทคโนโลยีการเกษตรด้านอารักขาพืช จังหวัดชลบุรีตั้งแต่วันที่ 15 เดือนสิงหาคม ถึงวันที่ 1 เดือนธันวาคม 2560 ส่งผลให้ข้าพเจ้าได้รับความรู้และประสบการณ์ต่างๆ ที่เป็นประโยชน์แก่ข้าพเจ้าอย่างมาก สำหรับโครงงานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี ต้องขอบคุณการให้ความร่วมมือการช่วยเหลือ และการสนับสนุนจากหลายฝ่ายดังนี้

1. นายกฤษฎา ฉิมอินทร์ ตำแหน่งผู้อำนวยการศูนย์ส่งเสริมเทคโนโลยีการเกษตรด้านอารักขาพืช จังหวัดชลบุรี ที่เห็นความสำคัญของระบบการศึกษาแบบสหกิจศึกษา และได้ให้โอกาสที่มีคุณค่าอย่างยิ่งต่อข้าพเจ้า
2. นางสาวชิดชนก ชีวะประวัติ ตำแหน่งนักวิชาการส่งเสริมการเกษตรชำนาญการ พี่เลี้ยงและที่ปรึกษาการปฏิบัติงานสหกิจศึกษา
3. นางสาวสุมลนาถ โสสุทธิ์ ตำแหน่งนักวิชาการส่งเสริมการเกษตรปฏิบัติการ
4. นางทำนอง นามวิชัย ตำแหน่งนักวิชาการส่งเสริมการเกษตรชำนาญการ
5. นางสาวจิรนันท์ พันธ์ศิริ ตำแหน่งนักวิชาการส่งเสริมการเกษตร

รวมทั้งข้าราชการ ลูกจ้างประจำ และพนักงานผลิตขยายทุกท่าน ที่ไม่ได้กล่าวนามมา ณ ที่นี้

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ผู้มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่าน ที่เป็นทั้งพี่เลี้ยง คอยให้คำแนะนำ ให้ความช่วยเหลือดูแล และให้ความเข้าใจเกี่ยวกับการทดลอง รวมทั้งให้คำปรึกษาในการจัดเล่มโครงงาน จนโครงงานฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณไว้ ณ โอกาสนี้ด้วย

นางสาวเจนจิรา ขันสะกุ
ผู้จัดทำรายงาน
1 ธันวาคม 2560

สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	(1)
สารบัญภาพ	(2)
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	6
ผลการทดลอง	8
วิจารณ์	9
สรุปและข้อเสนอแนะ	10
เอกสารอ้างอิง	11
ภาคผนวก	13
ประวัติผู้จัดทำโครงการ	ก

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
ตารางที่ 1	ค่าเฉลี่ยที่ใช้ปริมาตรหัวเชื้อที่เหมาะสมในการผลิตขยายเชื้อราไตรโคเดอร์มาในข้าวสุก	8

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
ภาพที่ 1	ภาพ *Trichoderma harzianum*	2
ภาพที่ 2	วิธีการขยายเชื้อราไตรโคเดอร์มาโดยใช้ปลายข้าวเป็นวัสดุอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อ	5

คำนำ

เชื้อราไตรโคเดอร์มา *Trichoderma harzianum* จัดเป็นเชื้อราชั้นสูงที่เจริญได้ดีในดิน เศษซากพืช ซากของสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ รวมทั้งจุลินทรีย์ และวัสดุอินทรีย์ตามธรรมชาติ โดยสร้างเส้นใยสีขาวและผลิตส่วนขยายพันธุ์ที่เรียกว่า "โคนิเดีย" หรือ "สปอร์" เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงจะเห็นเส้นใยสีขาวและสปอร์เขียว เชื้อราไตรโคเดอร์มา ฮาเซียนัม สายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคอย่างถูกต้องตามหลักวิชาการแล้ว เป็นเชื้อราปฏิปักษ์หรือเชื้อราที่เป็นศัตรูต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้แก่ เชื้อราพิเทียม(โรคเน่าระดับดิน กล้ายุบ) , เชื้อราฟิวซาเรียม(โรคเหี่ยว) , เชื้อรา สเคลอโรเทียม (โรคโคนเน่า เหี่ยว) , เชื้อราไรซอคโทเนีย (โรคเน่าระดับดิน กล้ายุบ กล้าเน่า) , เชื้อราไฟทอปธอร่า (โรครากเน่าโคนเน่า)

ปัจจุบันเชื้อราไตรโคเดอร์มาเป็นที่รู้จักแพร่หลายของเกษตรกร และนิยมนำมาใช้ควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช เนื่องจากเป็นเชื้อราที่สามารถผลิตขยายได้ง่าย มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคพืช ศูนย์ส่งเสริมเทคโนโลยีการเกษตรด้านอารักขาพืช จังหวัดชลบุรี เป็นหน่วยงานหนึ่งที่ผลิตขยายหัวเชื้อไตรโคเดอร์มา สนับสนุนให้เกษตรกรเพื่อนำไปผลิตขยายเชื้อพร้อมใช้ด้วยตัวเอง การทดลองนี้ศึกษาถึงปริมาตรการใช้หัวเชื้อที่เหมาะสมในการผลิตขยายเชื้อราไตรโคเดอร์มาพร้อมใช้ เพื่อสามารถนำผลการทดลองมาใช้ส่งเสริมให้กับเกษตรกรได้อย่างถูกต้องและหมาะสมต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาปริมาตรหัวเชื้อที่เหมาะสมในการผลิตขยายเชื้อราไตรโคเดอร์มาจากข้าวสุก
2. เพื่อทราบความเข้มข้นของเชื้อราไตรโคเดอร์มาที่ผลิตขยายจากปริมาตรหัวเชื้อที่ต่างกัน

การตรวจเอกสาร

ภาพที่1 : *Trichoderma harzianum* จาก Wikimedia Commons

ชื่อวิทยาศาสตร์ :*Trichoderma harzianum*

ชื่อสามัญ : Trichoderma

วงศ์ (Family) : Moniliaceae

อันดับ (Order) : Hypocreales

เชื้อราไตรโคเดอร์มา (*Trichoderma* spp.)

เป็นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์หรือเป็นศัตรูต่อเชื้อราโรคพืชหลายชนิด มีสีเขียว เจริญเติบโตได้ดีในดิน บนเศษซากพืช ซากสิ่งมีชีวิต และซากอินทรีย์วัตถุตามธรรมชาติ ชอบสภาพดินที่ชื้นแต่ไม่แฉะ สามารถเป็นปรสิต (Parasite) โดยการพันรัด เส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืชแล้วสร้างเอนไซม์ เช่น ไคติเนส (chitinase) เบต้า-1,3 กลูคาเนส (β-1,3glucanase) และเซลลูเลส (cellulose) ย่อยสลายผนังเส้นใยของเชื้อโรคพืช จากนั้นจึงแทงเส้นใยเข้าไปเจริญอยู่ภายในเส้นใยโรคพืช ทำให้สูญเสียความมีชีวิตลง นอกจากนี้ยังมีความสามารถสูงในการแข่งขัน (Competition) กับเชื้อโรคพืชด้านการใช้อาหาร เจริญเติบโตสร้างเส้นใยและสปอร์ได้อย่างรวดเร็ว บางสายพันธุ์สามารถสร้างปฏิชีวนสาร (antibiotics) เพื่อยับยั้งหรือทำลายเส้นใยของเชื้อโรคจนเกิดการเหี่ยวสลายและตายได้ เชื้อราไตรโคเดอร์มา สามารถใช้ควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราในพืชหลายชนิด ทั้งพืชไร่ ไม้ผล พืชผัก และไม้ดอกไม้ประดับ ดังนี้

1. เชื้อราพิเทียม (*Pythium* spp.) ทำให้เกิดโรคยอดเน่าของต้นกล้า โรครากเน่า โคนเน่า ต้นเน่า โรคเน่าคอดิน

2. เชื้อราฟิวซาเรียม (*Fusarium* spp.) ทำให้พืชเกิดโรคกล้าไหม้ รากเน่า โคนลำต้นหรือกอเน่าแห้ง ผลเน่า โรคเหี่ยว

3. เชื้อราสเคลอโรเทียม (*Sclerotium rolfsii*) ทำให้เกิดโรคกล้าไหม้ โรคราแมล็ดผักกาด โรคโคนเน่า

4. เชื้อราไรซ็อกโทเนีย (*Rhizoctonia* spp.) ทำให้เกิดอาการโรคเมล็ดเน่า เน่าระดับคอดิน กล้าไหม้ รากเน่า หัวเน่า

5. เชื้อราไฟท็อบธอร่า (*Phytopthora* spp.) ทำให้พืชเกิดอาการโรครากเน่า โคนเน่า เน่าดำ ยอดและรากเน่า

6. เชื้อราคอลเลคโตตริกรัม (*Collectotrichum* spp.) ทำให้เกิดโรคแอนแทรกโนสในพืชผักต่างๆ

จิระเดช และ ดร.วรรณวิไล (พ.ศ.2528) ถึงปัจจุบัน สามารถคัดเลือกเชื้อราไตรโคเดอร์มาจากดินในธรรมชาติได้หลายสายพันธุ์ โดยเฉพาะสายพันธุ์ CB-Pin-01 มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรคของพืชเศรษฐกิจต่างๆทั้งพืชไร่ ไม้ผล พืชผัก และไม้ดอกไม้ประดับหลายชนิดได้ในสภาพแปลงเกษตรกร ทั้งโรคที่เกิดบนส่วนของพืชที่อยู่ใต้ดิน เช่น โรคเมล็ดเน่า โรคเน่าระดับดิน (โรคกล้ายุบ) รากเน่า หัวหรือแง่งเน่า และโคนเน่า เป็นต้น โรคที่เกิดบนส่วนของพืชที่อยู่เหนือดินไม่ว่าจะเป็นส่วนของ กิ่ง ผล ใบ หรือดอก เช่น โรคลำต้นไหม้ของหน่อไม้ฝรั่ง โรคแคงเกอร์ของมะนาว โรคราดำของมะเขือเทศ โรคใบปื้นเหลืองและโรคดอกสนิมของกล้วยไม้ โรคแอนแทรคโนสของมะม่วงและพริก ทั้งก่อนและหลังเก็บเกี่ยวผลผลิต นอกจากนี้ยังสามารถใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาควบคุมโรครากเน่าของพืชผักสลัดและผักกินใบต่างๆที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหาร (ระบบไฮโดรโพนิกส์) และจากผลการวิจัยล่าสุดพบว่าการแช่เมล็ดข้าวเปลือกก่อนใช้หว่านลงในนาข้าว ช่วยลดการเกิดโรคเมล็ดด่าง เมล็ดลีบ ของข้าวที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อราหลายชนิด ตลอดจนช่วยเพิ่มความสมบูรณ์และน้ำหนักเมล็ด และเพิ่มผลผลิตต่อไร่ได้ด้วย

จิระเดช และ ดร.วรรณวิไล (พ.ศ.2528) ได้พัฒนาชีวภัณฑ์เชื้อราไตรโคเดอร์มาให้อยู่ในรูปผงหัวเชื้อบริสุทธิ์ เพื่อให้เกษตรกรสามารถผลิตขยายเชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสดไว้ใช้ได้เองตามต้องการ ด้วยการหุงปลายข้าวให้สุกในหม้อหุงข้าวไฟฟ้า อัตราปลายข้าว 3 ส่วน น้ำ 2 ส่วน ตักใส่ถุงพลาสติกแล้วใส่ผงหัวเชื้อลงไปเล็กน้อย บ่มไว้ 5-7 วัน ก็สามารถนำเชื้อสดไปใช้ได้ ขณะนี้ได้พัฒนาเชื้อสดดังกล่าวให้เป็นชีวภัณฑ์ในรูปน้ำและรูปผงแห้งผสมน้ำเพื่อใช้พ่นส่วนต่างๆของพืชและพ่นลงดินได้ ผงหัวเชื้อบริสุทธิ์นี้มีสปอร์ของเชื้อราไตรโคเดอร์มาในปริมาณไม่น้อยกว่า 100 ล้านหน่วยชีวิต (สปอร์) ต่อผงเชื้อ 1 กรัม สามารถเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลานานไม่น้อยกว่า 1 ปีถ้าเก็บไว้ในตู้เย็น (ประมาณ 8-10 องศาเซลเซียส) แต่ถ้าเก็บที่อุณหภูมิในห้องปกติ (25-30 องศาเซลเซียส) สามารถเก็บไว้ได้นาน 6 เดือน

จากผลการศึกษาเชื้อราไตรโคเดอร์มาในระยะเริ่มต้น บรรเจิด (2530) และจิระเดช (2531) พบว่าเมล็ดข้าวฟ่างเป็นวัสดุอาหารที่เหมาะสมที่สุดสำหรับใช้เลี้ยงขยายเชื้อราไตรโคเดอร์มา เนื่องจากเชื้อราสามารถเจริญปกคลุมผิวเมล็ดได้อย่างรวดเร็ว และมีการสร้างสปอร์สีเขียวเข้มปริมาณมากภายใน 5-7 วัน หลังการปลูกเชื้อลงบนเมล็ดข้าวฟ่าง สำหรับขั้นตอนการเลี้ยงขยายเชื้อราไตรโคเดอร์มา บนเมล็ดข้าวฟ่าง เริ่มจากการต้มให้เมล็ดข้าวฟ่างสุก จนสังเกตเห็นเมล็ดเริ่มปริแตก กรองน้ำทิ้งแล้วปล่อยให้เมล็ดสะเด็ดน้ำก่อนบรรจุเมล็ดข้าวฟ่างลงในถุงพลาสติกทนร้อน ประมาณ 250 กรัม/ถุง (8X12นิ้ว) ใส่คอขวดแล้วอุดจุกสำลีไว้ นำถุงเมล็ดข้าวฟ่างไปนึ่งฆ่าที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที ปลูกเชื้อราไตรโคเดอร์มา ลงในถุงที่บรรจุเมล็ดข้าวฟ่างที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว โดยใช้ลวดซึ่งตีปลายให้แบน แล้วตัดให้ตรงปลายงอเล็กน้อย ลนไฟฆ่า

เชื้อ ก่อนใช้ตัดชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยและสปอร์ของหัวเชื้อใส่ลงบนเมล็ดพืชในถุง แล้วบ่มเชื้อไว้ในห้องที่ร่มและเย็น อากาศถ่ายเทสะดวก ไม่มีมดและแมลงรบกวน หลังบ่มเชื้อ 2 วัน ขยับถุงอีกครั้ง เพื่อให้เส้นใยกระจายตัว บ่มถุงเมล็ดข่าวฟ่างต่ออีก 3-5 วัน (ครบ 5-7 วันหลังปลูกเชื้อ) นำถุงเชื้อที่มีเชื้อซึ่งสร้างสปอร์สีเขียวเข้มไปใช้ หรือเก็บไว้ในตู้เย็น

ประมาณ ปี พ.ศ. 2533 กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ได้นำเชื้อราไตรเคอร์มา ฮาร์เซียนัม สายพันธุ์ดี จาก ผศ.ดร. จิระเดช แจ่มสว่าง ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ไปผลิตขยายบนเมล็ดข้าวฟ่างนึ่งฆ่าเชื้อ เพื่อเผยแพร่และแจกจ่ายให้แก่เกษตรกร โดยใช้ผสมรำข้าวและปุ๋ยอินทร์ในอัตรา 1:10:40 โดยน้ำหนัก สำหรับนำไปใส่ลงดินในแปลงปลูกพืช หว่านรอบโคนต้นพืชหรือหว่านใต้ทรงพุ่มของพืชเศรษฐกิจหลายชนิด เพื่อควบคุมโรคเน่าระดับดิน (กล้ายุบ) โรครากเน่า โรคโคนเน่า และโรคเหี่ยว บนพืชเศรษฐกิจต่าง ๆ เช่น พริก มะเขือเทศ ทุเรียนส้ม ฯลฯ

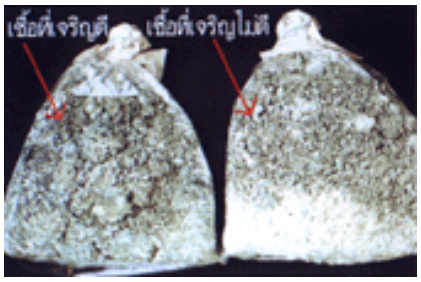
ในปี พ.ศ. 2538 จิระเดช และคณะผู้วิจัย ได้พัฒนาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสดโดยการใช้เมล็ดพืชบดละเอียดผสมกับวัสดุอินทรีย์ เพื่อทดแทนการใช้เมล็ดข้าวฟ่าง อย่างไรก็ตามเชื้อสดที่ได้นี้ไม่ได้นำไปใช้ควบคุมเชื้อโรคพืชโดยตรง แต่ได้นำไปใช้สำหรับกระบวนการผลิตเชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดผงแห้งของบริษัท ยูนิซีดส์ จำกัด ตามข้อตกลงในสัญญาการถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ภาคเอกชน ซึ่งลงนามโดยผู้แทนของสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และบริษัท ยูนิซิดส์ จำกัด เมื่อวันที่ 26 เมษายน พ.ศ. 2538

กนิษฐา และคณะ (2543) แห่งงานวินิจฉัยและกักกันศัตรูพืช ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ได้ผลิตเชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสด โดยใช้แกลบดินผสมรำข้าวละเอียด ในอัตราส่วน 1 : 1 โดยน้ำหนัก (100+100 กรัม) บรรจุลงในถุงพลาสติกทนร้อน แล้วเติมน้ำประมาณ 1 ถ้วยตวง คลุกเคล้าให้ส่วนผสมมีความชื้นทั่วทั้งถุง ใส่คอขวด อุดจุกสำลี ปิดกระดาษแล้วนำไปนึ่งอบฆ่าเชื้อก่อนนำไปใส่หัวเชื้อ บ่มถุงเชื้อเป็นเวลา 7 - 10 วัน ก่อนนำไปใช้กับพืช

จากการสนับสนุนงบประมาณของโครงการเกษตรกู้ชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จิระเดช และ วรรณวิไล (2542) ได้พัฒนาวิธีการขยายเชื้อราไตรโคเดอร์มาโดยใช้ปลายข้าวเป็นวัสดุอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อ โดยวิธีนำปลายข้าว 1 กิโลกรัม แช่ในน้ำสะอาด 2 ลิตร เป็นเวลานาน 1-2 ชั่วโมง กรองน้ำทิ้งไป ปล่อยให้ปลายข้าวสะเด็ดน้ำ ก่อนนำไปนึ่งให้สุกโดยใช้หม้อนึ่ง (ลังถึง) ประมาณ 10 นาที ผึ่งปลายข้าวให้อุ่น ก่อนตวงใส่ถุงพลาสติก ประมาณ 250 กรัม / ถุง (ขนาด 8 X 12 นิ้ว) ใส่หัวเชื้อสายพันธุ์ดี ในรูปผงแห้ง 2.5 กรัม / ถุง ใส่คอขวด อุดจุกสำลี หุ้มด้วยกระดาษ เขย่าหรือขยำปลายข้าว

ในถุงเพื่อคลุกเคล้าหัวเชื้อราให้สัมผัสกับปลายข้าวนึ่งอย่างทั่วถึง บ่มเชื้อไว้ในห้องที่มีอากาศถ่ายเท มีแสงสว่างเป็นเวลา 2 วัน เขย่าหรือขยำปลายข้าวในถุงอีกครั้ง แล้วบ่มต่ออีก 4 - 5 วัน ก่อนนำไปใช้

การนึ่งข้าวเพื่อใช้เป็น
วัสดุอาหารเลี้ยงเชื้อ



เชื้อราไตรโคเดอร์ม่า
เจริญในถุงข้าวนึ่ง

ภาพที่ 2 วิธีการขยายเชื้อราไตรโคเดอร์มาโดยใช้ปลายข้าวเป็นวัสดุอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อ

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์

1. ลังถึง (ซึงนึง)
2. เครื่องชั่ง
3. ทัพพีตักข้าว
4. ถุงพลาสติกใสทนร้อน (ใหม่) ขนาด 8 X 12 นิ้ว
5. ยางวง
6. เข็มเย็บผ้า หรือเข็มฉีดยา
7. ปลายข้าว ข้าวหัก หรือข้าวสาร (ทุกพันธุ์ ทั้งข้าวใหม่หรือข้าวเก่า)
8. หัวเชื้อราไตรโคเดอร์มาบริสุทธิ์ชนิดน้ำ

การทดลอง

1.วัดความเข้มข้นของหัวเชื้อราไตรโคเดอร์มา

หัวเชื้อราไตรไคเดอร์มาชนิดน้ำผลิตขยายโดยศูนย์ส่งเสริมเทคโนโลยีการเกษตรด้านอารักขาพืช จังหวัดชลบุรี ทำการศึกษาโดยนำหัวเชื้อมาวัดหาความเข้มข้นของสปอร์ ซึ่งใช้เครื่องมือ Haemacytometer ในการหาความเข้มข้นก่อน

2. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.1 เตรียมข้าวสารแช่น้ำ 30 นาที

2.2 ครบเวลา เทน้ำออก นำไปนึ่งในลังถึง 30 นาที

2.3 ครบเวลา ตักใส่ถุงร้อนขนาด 8 X 12 นิ้ว ปริมาณ 250 กรัมต่อถุง (ตักข้าวขณะร้อน)

2.4 แผ่ถุงข้าวและพับปากถุงลง เพื่อรอให้ข้าวอุ่น

2.5 ใส่หัวเชื้อจำนวน 3, 7, 11 และ 15 หยด ทำอย่างละ 4 ซ้ำ โดย 1 หยด มีปริมาตรเท่ากับ 35 ไมโครลิตร

2.6 ขยำถุงให้อาหารเลี้ยงเชื้อและหัวเชื้อคลุกเคล้ากัน แล้วนำไปวางบ่มเชื้อ ที่อุณหภูมิห้อง ให้แสงสว่าง 24 ชั่วโมง.

2.7 หลังจากเขี่ยเชื้อ 2วันให้มาขยำถุงที่เขี่ยเชื้อไว้ เพื่อให้เชื้อมีการกระจายตัวได้ ทั่วถึงอาหารเลี้ยงเชื้อ ต่อจากนั้นเราจะบ่มเชื้อต่ออีก 5 วัน เราก็จะได้เชื้อสดที่มีสปอร์

ข้อมูลที่จะเก็บเพื่อการวิเคราะห์

1. ความเข้มข้นของสปอร์ในแต่ละ สิ่งทดลองเมื่อครบอายุของเชื้อ
2. ถ่ายภาพการเจริญของเชื้อในทุกวันตั้งแต่วันผลิต
3. เก็บข้อมูล ความชื้น และ อุณหภูมิ ทุกวัน
4. การวิเคราะห์ข้อมูล

สถานที่และระยะเวลาการวิจัย

ณ ศูนย์ส่งเสริมเทคโนโลยีการเกษตรด้วนอารักขาพืช จังหวัดชลบุรี

เดือนสิงหาคม 2560 – เดือนธันวาคม 2560

ผลการทดลอง

จากการใช้ปริมาตรหัวเชื้อที่เหมาะสมในการผลิตขยายเชื้อราไตรโคเดอร์มาในข้าวสุก เพื่อผลิตเชื้อสดพร้อมใช้ โดยใช้ข้าวสุกเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อและใส่หัวเชื้อ จำนวน 3,7,11 และ15หยด พบว่าเมื่อสังเกตสิ่งทดลองทั้ง 4 สิ่งทดลองด้วยสายตาพบว่าหลังจากหยดหัวเชื้อ 3 วัน เชื้อทั้ง 4 สิ่งทดลองจะเริ่มสร้างสปอร์พร้อม ๆ กัน แต่หลังจากวันที่ 5 สิ่งทดลองที่ 2,สิ่งทดลองที่ 3 และสิ่งทดลองที่ 4 เริ่มสร้างเส้นใยใหม่อีกรอบ เมื่อบ่มเชื้อครบ 7 เชื้อก็ยังมีการเจริญบนอาหารสิ่งทดลองที่1 เริ่มสร้างเส้นใยใหม่อีกรอบ สิ่งทดลองที่ 2, สิ่งทดลองที่ 3 และสิ่งทดลองที่ 4 มีการเจริญเป็นเส้นใยใหม่เพิ่มมากขึ้น เมื่อทำการตรวจคำนวนหาสปอร์ ด้วยเครื่องมือ Haemacytometer ทำให้ทราบว่า สิ่งทดลองที่ 1 มีค่าเฉลี่ยจำนวนสปอร์ 7.39×10^8 สปอร์/มล. ,สิ่งทดลองที่ 2 มีค่าเฉลี่ยจำนวนสปอร์ 8.19×10^8 สปอร์/มล.,สิ่งทดลองที่ 3 มีค่าเฉลี่ยจำนวนสปอร์ 7.44×10^8 สปอร์/มล. และสิ่งทดลองที่ มีค่าเฉลี่ยจำนวนสปอร์ 6.31×10^8 สปอร์/มล. สรุปได้ว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยที่ใช้ปริมาตรหัวเชื้อที่เหมาะสมในการผลิตขยายเชื้อราไตรโคเดอร์มาในข้าวสุก

Treatment	ค่าเฉลี่ย
3 หยด	7.39×10^8 *
7 หยด	8.19×10^8 *
11 หยด	7.44×10^8 *
15 หยด	6.31×10^8 *

* ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 4 ซ้ำจำนวนสปอร์หลังบ่มเชื้อ 7 วัน

วิจารณ์ผล

ใช้ปริมาตรหัวเชื้อที่เหมาะสมในการผลิตขยายเชื้อราไตรโคเดอร์มาในข้าวสุก โดยใช้หัวเชื้อชนิดน้ำที่มีความเข้มข้น 3.73×10^7 สปอร์/มล. โดยใช้จำนวนหยดเป็นตัวเปรียบเทียบ พบว่าจำนวนหยดของหัวเชื้อที่ให้ผลิตขยายที่ต่างกัน เมื่อทำการตรวจนับความเข้มข้นของสปอร์หลังเขี่ยเชื้อ 7วัน ความเข้มข้นของจำนวนสปอร์ของเชื้อราไตรโคเดอร์มาที่ได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และจากกันสังเกตด้วยสายตาในวันที่ 3 หลังเขี่ยเชื้อ พบว่าสิ่งทดลองทั้ง 4 สิ่งทดลองเริ่มสร้างสปอร์สีเขียวพร้อม ๆ กัน โดยพบปริมาณสปอร์สีเขียวที่ใกล้เคียงกัน แต่เมื่อเชื้อราเจริญไปจนถึงวันที่ 5 หลังเขี่ยเชื้อ เริ่มสังเกตเห็นเส้นใยสีขาวของเชื้อราไตรโคเดอร์มาเกิดขึ้นอีกรอบ ในสิ่งทดลองที่ 2 ,สิ่งทดลองที่ 3 และสิ่งทดลองที่ 4 โดยพบเส้นใยสีขาวมากที่สุดคือ สิ่งทดลองที่ 4 รองลงมาคือ สิ่งทดลองที่ 3 และสิ่งทดลองที่ 2 ตามลำดับ จากการทดลองปริมาตรหัวเชื้อที่สูงทำให้เชื้อราไตรโคเดอร์มาสร้างเส้นใยใหม่เร็วกว่าการใช้ปริมาตรหัวเชื้อน้อยลงมา ซึ่งอาจจะเกิดจาก การใช้หัวเชื้อจำนวนมากขึ้น ทำให้สปอร์แย่งกันใช้อาหาร แย่งกันเจริญเติบโต และสร้างสปอร์รุ่นใหม่เร็วขึ้นอีกรอบและอีกสาเหตุหนึ่งคือ เมื่อเชื้อได้สปอร์ที่เร็วขึ้น เขียวครบอายุแล้วเชื้อมีความจำเป็นต้องสร้างเส้นใยใหม่อีกรอบเพื่อสร้างสปอร์รุ่นใหม่เป็นการดำรงเผ่าพันธุ

(นิรนาม , 2553) แต่เส้นใยสีขาวที่เกิดขึ้นอีกรอบจากทั้งสองสาเหตุนี้ จะไม่มีการสร้างสปอร์ใหม่หรือถ้าสร้างก็จะได้สปอร์รุ่นใหม่ที่น้อยและไม่แข็งแรง ซึ่งจะทำให้เกษตรสูญเสียสปอร์ดังกล่าวไป ดังนั้นในการทดลองครั้งต่อไป ควรมีการวัดความเข้มข้นของเชื้อพร้อมใช้ ตั้งแต่วันที่ 5 ของการบ่มเชื้อ เพื่อสังเกตดูความแตกต่างของเชื้อว่ามีความเข้มข้นเท่ากันหรือใกล้เคียงกันหรือไม่กับการบ่มเชื้อ 7 วัน ในปริมาตรหัวเชื้อที่เท่ากัน เพื่อเป็นทางเลือกให้เกษตรกร ได้ลดระยะเวลากานบ่มเชื้อลง ทำให้เกษตรกรสามารถนำเชื้อไปใช้ได้เร็วขึ้นในกรณีที่จำเป็นต้องใช้เชื้อเร่งด่วน เช่น เมื่อเริ่มเกิดโรค หรือเกิดการระบาดของโรคพืชขึ้น

สรุปผล

การใช้ปริมาตรหัวเชื้อที่เหมาะสมในการผลิตขยายเชื้อราไตรโคเดอร์มาในข้าวสุก โดยใช้หัวเชื้อที่มีความเข้มข้น 3.73 x 10^7 สปอร์/มล. ปริมาตรหัวเชื้อที่ใช้ 3, 7, 11 และ 15 หยดต่อถุง พบว่าเมื่อวัดความเข้มข้นของเชื้อราไตรโคเดอร์มาที่ผลิตขยายครบ 7 วัน จากทั้ง 4 สิ่งทดลอง พบว่าเชื้อราไตรโคเดอร์มา มีความเข้มข้น7.39 x 10^8, 8.19 x 10^8, 7.44 x 10^8 และ 6.31 x 10^8 สปอร์/มล. ตามลำดับ จะเห็นว่าความเข้มข้นจากสิ่งทดลองที่ 2 จำนวน 7 หยด ได้เชื้อราไตรโคเดอร์มาที่มีความเข้มข้นมากที่สุด คือ 8.19 x 10^8 สปอร์/มล. รองลงมาคือสิ่งทดลองที่ 3, 1 และ 4 ซึ่งมีความเข้มข้น7.44 x 10^8 ,7.39 x 10^8 และ6.31 x 10^8สปอร์/มล. ตามลำดับ เพราะฉะนั้นคำแนะนำสำหรับให้เกษตรกรนำไปผลิตขยายเชื้อพร้อมใช้เพื่อให้ได้จำนวนสปอร์เชื้อรามากที่สุด คือ 7 หยด แต่ถ้าเกษตรกรต้องการใช้หัวเชื้อในปริมาตรที่น้อยลง เพื่อประหยัดหัวเชื้อ แต่ได้จำนวนถุงหรือจำนวนเชื้อพร้อมใช้ที่มากขึ้น แนะนำให้เกษตรกรใช้หัวเชื้อที่จำนวน 3 หยด เนื่องจากเชื้อมีความเข้มข้นที่ใกล้เคียงกัน และไม่มีความแตกต่างกันแต่อย่างใด

ข้อเสนอแนะ

1. ควรทำการเขย่าขวดหัวเชื้อทุกครั้งเมื่อผลิตขยายเชื้อพร้อมใช้ในแต่ละถุงของงานทดลอง เนื่องจากหัวเชื้อที่นำมาผลิตขยายเป็นหัวเชื้อชนิดน้ำ เมื่อได้รับการเขย่าจะทำให้สปอร์แขวนลอยในน้ำและเกิดการกระจายตัวสม่ำเสมอ ซึ่งทำให้ความแปรปรวนของงานทดลองน้อยลง

2. หากมีการวิจัยในครั้งถัดไป ควรมีการเพิ่มจำนวนซ้ำของสิ่งทดลอง เพื่อลดค่า Error ของผลการทดลอง

3. ในการทำงานวิจัย หรืองานทดลองในเรื่องของเชื้อจุลินทรีย์ ควรมีห้องบ่มเชื้อที่มีอุณหภูมิคงที่ เนื่องจากอุณหภูมิ และความชื้นมีผลค่อนข้างมากต่อการเจริญของเชื้อ ซึ่งจะส่งต่อผลการทดลองที่ได้

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2545. **การผลิตผักปลอดภัยจากสารพิษ**. กองส่งเสริมพืชสวน กรมส่งเสริมการเกษตร. กรุงเทพฯ.

_____. 2555. **เชื้อราไตรโคเดอร์มา เชื้อราบิวเวอเรีย**. ในเอกสารวิชาการ : ศัตรูธรรมชาติที่สำคัญ. สำนักพัฒนาคุณภาพสินค้าเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร. กรุงเทพฯ.

_____ . 2556. **คู่มือปฏิบัติงานเจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตร การถ่ายทอดเทคโนโลยีการเกษตร**. สำนักพัฒนาการถ่ายทอดเทคโนโลยี กรมส่งเสริมการเกษตร. กรุงเทพฯ.

_____. 2557. **คู่มือโครงการพัฒนาคุณภาพสินค้าเกษตรสู่มาตรฐานด้านความปลอดภัย จากสารเคมี** เพื่อเฉลิมพระเกียรติพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว. กรมส่งเสริมการการเกษตร. กรุงเทพฯ.

จิระเดช แจ่มสว่าง. 2546**. การควบคุมโรคพืชและแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี.** โครงการเกษตรกู้ชาติ โครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีชีวภาพและชีวภัณฑ์ในการจัดการศัตรูพืช เพื่อทดแทนสารเคมีสังเคราะห์ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

จิระเดช แจ่มสว่าง และวรรณวิไล อินทนู. ไม่ปรากฏปีที่พิมพ์. ไตรโคเดอร์ม่า : **เชื้อรามหัศจรรย์สำหรับใช้ควบคุมโรคพืช.**แหล่งที่มา http://www.rdi.ku.ac.th/kufair50/plant/68_plant/68_plant.html, กันยายน 2558.

นิรนาม. 2553. **การจำแนกเชื้อราและการตรวจวินิจฉัยเชื้อรา**. แหล่งที่มาhttp://microorganismcowboy2007.blogspot.com/2010/06/fungi.html . 8 ธันวาคม 2560

มาลี ตั้งระเบียบ. 2551**. เชื้อรากำจัดแมลง**. สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลลำปาง, ลำปาง

วิไลภรณ์ ชนกนำชัย และปฏิวัติ วงศ์รัตนธรรม. 2555 . **การปลูกผักปลอดภัยจากสารพิษ**. แหล่งที่มา : http://www.eto.ku.ac.th/neweto/e-book/plant/herb_gar/save_veg.pdf. 8 กันยายน 2560.

ศูนย์บริหารศัตรูพืช จังหวัดชลบุรี. 2555. **เชื้อราเมตตาไรเซี่ยม**. เอกสารประกอบการถ่ายทอดความรู้โครงการส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตรเฉพาะด้าน ปี 2555. (อัดสำเนา)

_____. 2556. **เชื้อราบิวเวอเรีย**. เอกสารประกอบการถ่ายทอดความรู้โครงการส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตรเฉพาะด้าน ปี 2556. (อัดสำเนา)

ภาคผนวก

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก ประวัติผู้ปฏิบัติสหกิจศึกษาทางพืชศาสตร์

ชื่อ – สกุล นางสาวเจนจิรา ขันสะกุ

รหัสนักศึกษา 015730111021-7 สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช ชั้นปีที่ 4

ประวัติการศึกษา

ระดับ	สถานศึกษา	ปีที่จบการศึกษา	สาขาวิชา	วุฒิการศึกษา
มัธยมศึกษาตอนต้น	โรงเรียนเมืองพัทยา 8 (พัทยานุกูล)	2553		ม.3
มัธยมศึกษาตอนปลาย / ปวช.	โรงเรียนโพธิสัมพันธ์พิทยาคม	2556	คณิต-อังกฤษ	ม.6
อนุปริญญา(ปวส.)				

ประสบการณ์การทำกิจกรรมนักศึกษา

ช่วงเวลา (พ.ศ.)	กิจกรรม	ความรับผิดชอบ	หมายเหตุ
2557-2560	เข้าชมรมอีสานสัมพันธ์	ออกเปิดรับบริจาก	
2560	ช่วยงานแปลงไม้ผล สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช	ห่อผลกระท้อน	

รางวัลที่เคยได้รับ

ได้รับรางวัลที่ 2 ในการเข้าแข็งขันฝึกทักษะทางพืชศาสตร์ ตอนชั้นปีที่การศึกษา 2537