



รายงานการปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

เรื่อง ผลของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราต่อการเจริญเติบโตของ
เชื้อราไตรโคเดอร์มาในระดับห้องปฏิบัติการ

Effect of Fungicide on the Growth of *Trichoderma asperellum*
at the Laboratory level

โดย

นายณัฐนันท์	ตะพองมาตร	รหัสนักศึกษา	036430324001-4
นางสาวชนกานต์	สมบุญจิตฤดี	รหัสนักศึกษา	036430324002-2
นายธนุศิลป์	พลอยพานิชเจริญ	รหัสนักศึกษา	036430324022-0
นายพงศธร	คงเจริญ	รหัสนักศึกษา	036430324030-3

สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี

ปฏิบัติงาน ณ ศูนย์ส่งเสริมเทคโนโลยีการเกษตรด้านอารักขาพืชจังหวัดชลบุรี

15 หมู่ 11 ตำบล หนองปรือ อำเภอบางละมุง จังหวัดชลบุรี 20150



รายงานการปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

เรื่อง ผลของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราต่อการเจริญเติบโตของ
เชื้อราไตรโคเดอร์มาในระดับห้องปฏิบัติการ

Effect of Fungicide on the Growth of *Trichoderma asperellum*
at the Laboratory level

โดย

นายณัฐนันท์	ตะพองมาตร	รหัสนักศึกษา	036430324001-4
นางสาวชนกานต์	สมบุญจิตฤดี	รหัสนักศึกษา	036430324002-2
นายธนุศิลป์	พลอยพานิชเจริญ	รหัสนักศึกษา	036430324022-0
นายพงศธร	คงเจริญ	รหัสนักศึกษา	036430324030-3

สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี

ปฏิบัติงาน ณ ศูนย์ส่งเสริมเทคโนโลยีการเกษตรด้านอารักขาพืชจังหวัดชลบุรี

15 หมู่ 11 ตำบล หนองปรือ อำเภอบางละมุง จังหวัดชลบุรี 20150



ใบรับรองสหกิจศึกษา
คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร
สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร
เรื่อง ผลของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา
ไตรโคเดอร์มาในระดับห้องปฏิบัติการ
Effect of Fungicide on the Growth of *Trichoderma asperellum*
at the Laboratory level

โดย

นายณัฐนันท์	ตะพองมาตร	รหัสนักศึกษา	036430324001-4
นางสาวชนกานต์	สมบุญจิตฤดี	รหัสนักศึกษา	036430324002-2
นายธนศิลป์	พลอยพานิชเจริญ	รหัสนักศึกษา	036430324022-0
นายพงศธร	คงเจริญ	รหัสนักศึกษา	036430324030-3

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาสหกิจศึกษา

.....
(ผศ.ดร.บัญชา เวียงสมุทร)

กรรมการ

.....
(นางท่านอง นามวิชัย)

กรรมการ

.....
(นางสาวปาจริย์ คล้ายสุขโข)

หัวหน้าสาขาวิชา

.....
(นางสาวพัชรา บำรุง)

วันที่ 21 ตุลาคม 2567

27 กันยายน 2567

เรื่อง ขอส่งรายงานการปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

เรียน อาจารย์ที่ปรึกษาสหกิจศึกษา สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

ตามที่ข้าพเจ้านายณัฐนันท์ ตะพองมาตร นางสาวชนกานต์ สมบูรณ์จิตติ นายธนุศิลป์ พลอยพานิชเจริญ และนายพงศธร คงเจริญ นักศึกษาสาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตจันทบุรี ได้ไปปฏิบัติงานสหกิจศึกษา ณ ศูนย์ส่งเสริมเทคโนโลยีการเกษตรด้านอารักขาพืชจังหวัดชลบุรี และได้รับมอบหมายจากพนักงานที่ปรึกษา(Job supervisor) ให้ทำโครงการวิจัยเรื่อง ผลของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราไตรโคเดอร์มาในระดับห้องปฏิบัติการ (Effect of Fungicide on the Growth of *Trichoderma asperellum* at the Laboratory level)

บัดนี้ การปฏิบัติงานสหกิจศึกษาได้สิ้นสุดลงแล้ว ข้าพเจ้านายณัฐนันท์ ตะพองมาตร นางสาวชนกานต์ สมบูรณ์จิตติ นายธนุศิลป์ พลอยพานิชเจริญ และนายพงศธร คงเจริญ ขอส่งรายงานจำนวน 1 เล่ม มาพร้อมนี้เพื่อขอรับคำปรึกษาต่อไป

จึงเรียนมาเพื่อโปรดพิจารณา

ขอแสดงความนับถือ

.....
(นายณัฐนันท์ ตะพองมาตร และคณะ)

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์ดูแลเอาใจใส่เป็นอย่างดีในหลายๆด้าน และทุกฝ่ายที่เกี่ยวข้องที่เป็นที่ปรึกษาการค้นคว้าโดยให้คำปรึกษาแนะนำวิธีแก้ไขปัญหาอุปสรรคต่างๆ ที่เกิดขึ้น รวมทั้งให้กำลังใจด้วยความเมตตาตั้งแต่เริ่มทำวิจัยฉบับนี้จนสำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ที่กำหนดไว้ ขอขอบคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบคุณ นางทำนอง นามวิชัย นางสาวปจจริย คล้ายสุขโข และเจ้าหน้าที่นักวิชาการทุกท่าน ที่กรุณาให้คำปรึกษาและข้อแนะนำต่างๆ ที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่ง ตั้งแต่เริ่มต้นศึกษาจนสำเร็จลุล่วงที่สละเวลาในการตรวจทานความถูกต้องและบกพร่องของงานวิจัย และข้อแนะนำต่างๆ ที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่ง

ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บัญชา เวียงสมุทร ที่ปรึกษาสหกิจศึกษา ที่กรุณาให้คำปรึกษาข้อแนะนำต่างๆแก้ไขข้อบกพร่องของงานวิจัย และตรวจทานความถูกต้องของภาษาในงานวิจัยฉบับนี้ ตลอดจนการแนะแนวทางในการปรับตัวให้เข้ากับการฝึกสหกิจศึกษา ณ งานที่ปฏิบัติงาน

นอกจากนี้ผู้วิจัยขอขอบพระคุณเหล่าคณาจารย์สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตรที่ให้โอกาสและสนับสนุนในการทำวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยหวังว่างานวิจัยฉบับนี้จะมีประโยชน์อยู่ไม่น้อย และขอแสดงความกตัญญูตเวทีตาคุณ แต่บิดา มารดา และผู้มีพระคุณทุกท่าน สำหรับข้อบกพร่องต่างๆ ที่อาจจะเกิดขึ้นนั้น ผู้วิจัยขอน้อมรับผิดเพียงผู้เดียวและยินดีที่จะรับฟัง

(นายณัฐนันท์ ตะพองมาตร และคณะ)

21 ตุลาคม 2567

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลกระทบของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *T. asperellum* ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design ประกอบด้วย 5 สิ่งทดลอง สิ่งทดลองละ 5 ซ้ำ ทำการทดสอบกับสารเคมี 4 ชนิด ได้แก่ โพรพาโมคาร์บ ไฮโดรคลอไรด์ 72.2 % W/V SL, วาเลตามัยซิน 3 % W/V SL, คลอโรทาโลนิล 50 % W/V SC, กรดฟอสโฟนิก 40 % W/V SL และเชื้อรา *T. asperellum* ชุดควบคุม โดยใช้เทคนิค Poisoned Food Technique เพื่อทดสอบการเจริญเติบโตและลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *T. asperellum* ผลการทดสอบพบว่า คลอโรทาโลนิล 50 % W/V SC มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *T. asperellum* โดยมีการยับยั้งที่ 87.39 % ในวันที่ 3 และยับยั้งการผลิสปอร์อย่างชัดเจน เส้นใยเจริญเติบโตไม่สมบูรณ์ ส่วนกรดฟอสโฟนิก 40 % W/V SL มีผลยับยั้งที่ 17.93 % ในวันที่ 3 ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของสปอร์อย่างชัดเจน และสปีสปอร์มีความผิดปกติ โพรพาโมคาร์บ ไฮโดรคลอไรด์ 72.2 % W/V SL มีผลยับยั้งเล็กน้อยที่ 6.84 % สามารถเจริญเติบโตได้ใกล้เคียงชุดควบคุม เส้นใยมีความหนาแน่นน้อยกว่าชุดควบคุม วาเลตามัยซิน 3 % W/V SL ไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโต แต่ส่งเสริมการเจริญเติบโตในช่วงแรก โดยมีอัตราการเจริญเติบโตที่ 13.25 % ในวันที่ 1 และ 9.38 % ในวันที่ 2 การผลิสปอร์โดยมีการเจริญเติบโตเทียบเท่ากับเส้นใยเชื้อรา *T. asperellum* ชุดควบคุม ซึ่งข้อมูลนี้สามารถนำไปใช้เพื่อพิจารณาเลือกใช้สารเคมีร่วมกับเชื้อรา *T. asperellum* ในการควบคุมโรคพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพในภาคการเกษตร

คำสำคัญ: เชื้อรา *Trichoderma asperellum*, สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา, การเจริญเติบโต, การยับยั้งการเจริญเติบโต

Abstract

This study aimed to investigate the effects of fungicides on the growth of *Trichoderma asperellum* in a laboratory setting. The experiment was designed using a Completely Randomized Design (CRD) with 5 treatments, each replicated 5 times. Four chemical fungicides were tested: Propamocarb Hydrochloride 72.2 % W/V SL, Validamycin 3 % W/V SL, Chlorothalonil 50 % W/V SC, and Phosphonic Acid 50 % W/V SC, along with a control group using *T. asperellum*. The Poisoned Food Technique was employed to assess fungal growth and hyphal characteristics. Results showed that Chlorothalonil 50 % W/V SC had the highest efficacy in inhibiting *T. asperellum* growth, with an 87.39 % inhibition on day 3 and a significant reduction in spore production, leading to abnormal hyphal growth. Phosphonic Acid 50 % W/V SC demonstrated 17.93 % inhibition on day 3, clearly affecting spore growth and causing abnormal spore coloration. Propamocarb Hydrochloride 72.2 % W/V SL exhibited slight inhibition at 6.84 % with fungal growth close to the control group, though hyphal density was lower. Validamycin 3 % W/V SL did not inhibit growth and even promoted early-stage growth, with a 13.25 % increase on day 1 and 9.38 % on day 2. Spore production and hyphal growth were comparable to the control group's *T. asperellum*. These findings can inform the selection of appropriate fungicides to be used in conjunction with *T. asperellum* for effective plant disease control in agriculture.

Keywords: *Trichoderma asperellum*, fungicides, growth, growth inhibition.

สารบัญ

	หน้า
จดหมายนำส่ง	I
กิตติกรรมประกาศ	II
บทคัดย่อภาษาไทย	III
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	IV
สารบัญ	V
สารบัญตาราง	VII
สารบัญภาพ	VIII
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	2
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
1.4 ขอบเขตการศึกษา	2
1.5 สถานที่ทำการศึกษา	2
1.6 ระยะเวลาในการศึกษา	3
บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 เชื้อราไตรโคเดอร์มา (<i>Trichoderma asperellum</i>)	4
2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ	9
2.3 สารเคมีกำจัดศัตรูพืช	11
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	15
บทที่ 3 วิธีการศึกษาและแผนการปฏิบัติงาน	16
3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี	16
3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย	17
3.3 การเก็บข้อมูล	19
3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล	20
บทที่ 4 ผลและอภิปรายผลการศึกษา	21
4.1 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา <i>T. asperellum</i>	21
4.2 เปรียบเทียบเส้นใยของเชื้อรา <i>T. asperellum</i>	23

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลการศึกษา	26
บรรณานุกรม	29
ภาคผนวก	36

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 3.2.2 อัตราในการเจือจางสารเคมีในอาหาร	18
ตารางที่ 4.1 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>T. asperellum</i>	22

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของเชื้อรา <i>T. asperellum</i>	4
ภาพที่ 3.2.1 การเตรียมเชื้อรา <i>T. asperellum</i>	17
ภาพที่ 3.2.2 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยวิธี Poisoned Food Technique	18
ภาพที่ 3.2.3 การนำ <i>T. asperellum</i> cork วางบนอาหาร PDA	19
ภาพที่ 4.1 ลักษณะการเจริญเติบโตของ <i>T. asperellum</i> ในแต่ละวัน	23
ภาพที่ 4.2 เส้นใยของเชื้อรา <i>T. asperellum</i> หลังจากวางเชื้อบนสารเคมีครบ 2 วัน	24

สารบัญภาพผนวก

ภาพผนวกที่	หน้า
ภาพผนวกที่ 1 การนึ่งฆ่าเชื้อ (Sterilization) อุปกรณ์ในการทดลอง	38
ภาพผนวกที่ 2 ผลิตภัณฑ์สารเคมีที่ใช้ทดสอบ	39
ภาพผนวกที่ 3 ขั้นตอนการเตรียมอาหาร PDA สำหรับเพาะเชื้อ <i>T. asperellum</i>	40
ภาพผนวกที่ 4 การเพาะเลี้ยงเชื้อรา <i>T. asperellum</i> เชื้อรา <i>T. asperellum</i> ครบ 24 ชั่วโมง	40
ภาพผนวกที่ 5 Poisoned Food Technique	41
ภาพผนวกที่ 6 การนำฟองแม่พันธุ์ cork และวางบนอาหารที่ผสมสารเคมี	42
ภาพผนวกที่ 7 การวัดระยะการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>T. asperellum</i>	42
ภาพผนวกที่ 8 การเจริญเติบโตหลังจากวางเชื้อรา <i>T. asperellum</i> 1 DAI	43
ภาพผนวกที่ 9 การเจริญเติบโตหลังจากวางเชื้อรา <i>T. asperellum</i> 2 DAI	43
ภาพผนวกที่ 10 การเจริญเติบโตหลังจากวางเชื้อรา <i>T. asperellum</i> 3 DAI	44
ภาพผนวกที่ 11 การเจริญเติบโตหลังจากวางเชื้อรา <i>T. asperellum</i> 4 DAI	44
ภาพผนวกที่ 12 การเจริญเติบโตหลังจากวางเชื้อรา <i>T. asperellum</i> 5 DAI	45
ภาพผนวกที่ 13 การเจริญเติบโตหลังจากวางเชื้อรา <i>T. asperellum</i> 6 DAI	45
ภาพผนวกที่ 14 การเจริญเติบโตหลังจากวางเชื้อรา <i>T. asperellum</i> 7 DAI	46

บทที่1

บทนำ

1.1ความสำคัญและที่มาของปัญหา

เชื้อราไตรโคเดอร์มา (*Trichoderma asperellum*) เป็นจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ควบคุมโรคพืชได้หลายชนิด จัดอยู่ใน Class: Sordariomycetes ,Family: Hypocreaceae หากสภาพแวดล้อมและความชื้นเหมาะสมจะสามารถสร้างสปอร์ได้ในปริมาณมาก ซึ่งอาศัยอาหารจากเศษวัสดุอินทรีย์ต่าง ๆ โดยเป็นปรสิตร ที่คอยเบียดเบียนเชื้อราโรคพืช มีความสามารถในการขยายตัวที่รวดเร็ว เมื่อเชื้อรา *T. asperellum* มาสัมผัส กับเส้นใยของโรคพืชจะเริ่มจากการแทงเข้าไปในเส้นใยของโรคพืชและปล่อยเอนไซม์เพื่อเข้าทำลายรวมถึงดูดกินสารอาหารภายในตัวของโรคพืชจนหมดแล้วนำสารอาหารที่ได้นั้นมาสร้างเป็นสปอร์เพื่อขยายตัว (อริษา จิตรติกุลและคณะ, 2566) ขณะที่สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราเป็นสิ่งที่เกษตรกรนิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในการควบคุมโรคพืชต่าง ๆ แม้ว่าการใช้สารเคมีเหล่านี้จะมีประสิทธิภาพในการป้องกันโรคพืชได้ดี แต่ก็มีผลข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์ เช่น การทำลายจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในดิน การสะสมสารเคมีตกค้างในผลผลิต และการสร้างความต้านทานต่อสารเคมีในโรคพืช ดังนั้นการศึกษาเกี่ยวกับผลกระทบของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราต่อเชื้อรา *T. asperellum* จึงเป็นสิ่งจำเป็นในการระบุชนิดสารเคมีที่มีผลกระทบเชิงลบต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *T. asperellum* ซึ่งเป็นแนวทางส่งเสริมให้เกษตรกรนำไปประยุกต์ใช้ร่วมกันกับสารเคมี

การวิจัยนี้มีความสำคัญในการเพิ่มความรู้เกี่ยวกับการใช้ร่วมกันระหว่างเชื้อรา *T. asperellum* กับสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราในสภาพห้องปฏิบัติการ ซึ่งจะช่วยให้ทราบถึงผลกระทบของสารเคมีเหล่านี้ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *T. asperellum* ได้ดียิ่งขึ้น เพื่อเป็นข้อมูลที่มีประโยชน์ในการพัฒนาแนวทางการประยุกต์ใช้ควบคุมโรคพืชแบบผสมผสานระหว่างการใช้ชีวภัณฑ์และสารเคมีอย่างเหมาะสมในสภาพแปลงปลูก

1.2 วัตถุประสงค์

- 1) เพื่อศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อรา *T. asperellum* ต่อการอยู่รอดหลังจากทดสอบร่วมกับสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา ในระดับห้องปฏิบัติการ
- 2) เพื่อเป็นแนวทางส่งเสริมให้เกษตรกรได้นำเชื้อรา *T. asperellum* ไปใช้ร่วมกับสารเคมี

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) ทราบถึงผลกระทบของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *T. asperellum*
- 2) สามารถระบุกลุ่มชนิดสารเคมีที่มีผลกระทบต่ออัตราการเจริญเติบโตของเชื้อรา *T. asperellum*
- 3) ได้แนวทางส่งเสริมให้เกษตรกรนำไปประยุกต์ใช้ในการใช้รวมกันกับสารเคมี

1.4 ขอบเขตการศึกษา

การวิจัยครั้งนี้ศึกษาทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการศูนย์ส่งเสริมเทคโนโลยีการเกษตรด้านอารักขาพืช จังหวัดชลบุรี โดยมีขอบเขตการศึกษาดังนี้

- 1) ทำอาหารเลี้ยงเชื้อรา *T. asperellum* เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 2) เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยวิธีการ Poisoned Food Technique
- 3) นำเชื้อรา *T. asperellum* ที่เลี้ยงไว้ cork เพื่อนำไปวางบนอาหารที่เตรียมไว้
- 4) สังเกตเจริญเติบโตของเชื้อรา *T. asperellum*
- 5) เก็บผลการเจริญเติบโตของเชื้อรา *T. asperellum* ทำการวิเคราะห์และเขียนรายงานผล

1.5 สถานที่ทำการศึกษา

1.5.1 ชื่อและที่ตั้งของสถานประกอบการ

ศูนย์ส่งเสริมเทคโนโลยีการเกษตรด้านอารักขาพืช จ.ชลบุรี 15 หมู่ 11 ตำบลหนองปรือ อำเภอบางละมุง จังหวัดชลบุรี 20150

1.5.2 ลักษณะธุรกิจของสถานประกอบการ

หน่วยงานราชการ สังกัดสำนักงานส่งเสริมและพัฒนาการเกษตรที่ 3 จังหวัดระยอง กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

1.5.3 วิสัยทัศน์/บทบาทและหน้าที่

วิสัยทัศน์: เป็นองค์กรหลักในการพัฒนา ส่งเสริมและสนับสนุนเทคโนโลยีด้านอารักขาพืช อย่างมีประสิทธิภาพ

บทบาทและหน้าที่:

- 1) ศึกษา ทดสอบ ประยุกต์ และพัฒนาการใช้เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน ให้เหมาะสมกับพื้นที่
- 2) ส่งเสริมและถ่ายทอดเทคโนโลยีด้านการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน
- 3) ดำเนินการผลิตขยายปัจจัยการควบคุมศัตรูพืช
- 4) ให้บริการ และสนับสนุนการตรวจวิเคราะห์ วินิจฉัย แจ้งเตือนภัยการระบาดและให้คำแนะนำด้านการจัดการศัตรูพืช
- 5) ปฏิบัติหน้าที่อื่นๆ ตามที่ได้รับมอบหมาย

1.5.4 ตำแหน่งและลักษณะงานที่ได้รับมอบหมาย

- 1) ตำแหน่งงานผลิตขยายศัตรูธรรมชาติ/งานส่งเสริมการเกษตร
- 2) ลักษณะงานรับผิดชอบการผลิตขยายศัตรูธรรมชาติ

1.5.5 พนักงานที่ปรึกษา และตำแหน่งของพนักงานที่ปรึกษา

- 1) นางทำนอง นามวิชัย ตำแหน่ง นักวิชาการส่งเสริมการเกษตรชำนาญการ
- 2) นางสาวนางสาวปาจริย์ คล้ายสุขโขตำแหน่ง นักวิชาการส่งเสริมการเกษตรปฏิบัติการ

1.6 ระยะเวลาในการศึกษา

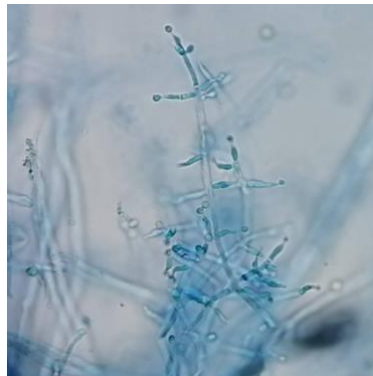
เริ่มทำงานทดลองตั้งแต่วันที่ 1 กรกฎาคม 2567 – 27 กันยายน 2567

บทที่ 2

แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เชื้อราไตรโคเดอร์มา (*Trichoderma asperellum*)

เชื้อราไตรโคเดอร์มา (*Trichoderma asperellum*) เป็นราที่พบได้ทั่วไปในดินเกือบทุกชนิดทั้งดินในป่าดินที่เพาะปลูก เศษซากพืช ซากสัตว์ อินทรีย์วัตถุและบริเวณระบบรากของพืช ชอบสภาพพื้นดินชื้นแต่ไม่แฉะมีอินทรีย์วัตถุอุดมสมบูรณ์ เป็นราที่มีการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณได้อย่างรวดเร็ว ขยายพันธุ์โดยการสร้างสปอร์มีประสิทธิภาพสูงในการเจริญแข่งขัน ควบคุมและยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้หลายชนิด เช่นเชื้อราไรซอกโทเนีย (*Rhizoctonia solani*) เชื้อราไฟทอปทอรา (*Phytophthora* spp.) เชื้อราสเคลอโรเทียม (*Sclerotium* spp.) เชื้อราฟิวซาเรียม (*Fusarium* sp.) เชื้อราพิเทียม (*Pythium* spp.) เป็นต้น (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช, 2563)



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของเชื้อรา *T. asperellum* ประกอบด้วยเส้นใย ก้านชูสปอร์ และสปอร์
ที่มา : จากการทดลอง, 2567

2.1.1อนุกรมวิธานของเชื้อรา *T. asperellum*

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Trichoderma asperellum*

ชั้น (Class): Sordariomycetes

อันดับ (Order): Hypocreales

วงศ์ (Family): Hypocreaceae

2.1.2 ลักษณะของเชื้อรา *T. asperellum*

เมื่อเลี้ยงเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (Potato Dextrose Agar) โคโลนีของ *T. asperellum* มีลักษณะเป็นปุยสีขาว พู และเจริญเติบโตได้รวดเร็ว เส้นใยของเชื้อราค่อนข้างหนา และแตกแขนงออกไป สปอร์ของ *T. asperellum* มีลักษณะกลมหรือค่อนข้างกลม ผิวขรุขระ มีตุ่มนูนรูปทรงไม่แน่นอน และมักเกิดเป็นกระจุก โคนิเดียเหล่านี้มีสีเขียวอ่อนถึงสีเขียวเข้ม ก้านชูโคนิเดียแตกกิ่งก้านออกด้านข้าง ส่วนปลายของแต่ละก้านจะมี Phialide รูปร่างทรง Ampulliform แบบเดี่ยว หรือแตกแขนงออกจากจุดเดียวกัน จำนวน 2-4 Phialides โดยทั่วไป โคนิเดียของ *T. asperellum* มีขนาดประมาณ $1.74-3.11 \times 2.20-3.84$ ไมโครเมตร (อริษา และคณะ, 2566)

2.1.3 กลไกการควบคุมโรคของ เชื้อรา *T. asperellum*

เชื้อรา *T. asperellum* มีคุณสมบัติและศักยภาพสูงในการใช้ควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช และประสบความสำเร็จในการผลิตเพื่อการค้า เนื่องจากสามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วสร้างสปอร์ได้ปริมาณสูงมาก สามารถแข่งขันกับเชื้อโรคพืช หรือจุลินทรีย์ที่มีอยู่รอบข้างได้ดีปรับตัวเองให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี ทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ทนทานต่อสารเคมีในดินได้ดี สามารถเจริญร่วมกับรากพืชและช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (จิระเดช แจ่มสว่าง, 2547; Benitez *et al.*, 2004; Vinale *et al.*, 2006) กลไกการควบคุมโรคของเชื้อรา *T. asperellum* มีหลายกลไกที่สำคัญ ๆ เช่น การสร้างสารปฏิชีวนะ (Antibiotics) การแข่งขัน (Competition) การเป็นปรสิต (Mycoparasitism) และการชักนำให้เกิดความต้านทาน (Induced Resistance) (Fravel *et al.*, 2003; Viterbo *et al.*, 2007; Howell, 2003; Vinale *et al.*, 2008; Woo and Lotito, 2007; Benitez *et al.*, 2004) ซึ่งกลไกการทำงานเหล่านี้จะทำงานในเวลาเดียวกัน ทำให้เชื้อราสาเหตุโรคพืชสร้างความต้านทานได้ยาก (Tang *et al.*, 2001) กลไกการทำงานของ เชื้อรา *T. asperellum* มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

การสร้างสารปฏิชีวนะ (Antibiotics)

การสร้างสารปฏิชีวนะเป็นกลไกที่สำคัญที่นำมาคัดเลือกการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ เป็นการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งโดยการสร้างสารของสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่ง สารดังกล่าวอาจจะมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโต หรืออาจทำให้ตายได้ สารเคมีดังกล่าวอาจเป็นสารปฏิชีวนะ (Antibiotic) และสารจำพวกเอนไซม์ (Extracellular Enzymes) เชื้อรา *T. asperellum* บางสายพันธุ์สามารถผลิตสารประกอบที่มีผลในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ด้วย (Tang *et al.*, 2001; Harman *et al.*, 2004; Benitez *et al.*, 2004; Viterbo *et al.*, 2007; Haggag and Mohamed, 2007) เชื้อรา *T. asperellum* สามารถผลิตสารปฏิชีวนะมากมายหลายชนิด ซึ่งมีมากกว่า 100 ชนิด (Tang *et al.*, 2001; Harman *et al.*, 2004) เช่น Gliotoxin, Harzianic acid, Trichoviridin, Viridio, และ Alamethicins (Kaewchai *et al.*, 2009) สารเหล่านี้มีคุณสมบัติหลายอย่าง เช่น ย่อยสลายผนังเซลล์ (Benitez *et al.*, 2004) เช่น สาร Trichotoxin A50 ที่ผลิตจาก เชื้อรา *T. harzianum* PC01 สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของ *Phytophthora palmivora* (Suwan *et al.*, 2000) สาร Tricholin ที่ผลิตโดยเชื้อรา *T. viridae* สามารถยับยั้งเชื้อรา *R. solani* และ สารระเหย (Volatile organic compounds, VOCs) ที่ผลิตโดยเชื้อรา *T. asperellum* มีผลยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* (Elad *et al.*, 1981)

การแข่งขัน (Competition)

การที่สิ่งมีชีวิตสองชนิดหรือมากกว่าสองชนิดอยู่ด้วยกัน มีความต้องการอาหารและที่อยู่อาศัยที่มีจำกัดก็ทำให้เกิดการแข่งขันกัน เพื่อให้ได้อาหาร และปัจจัยอื่น ๆ สำหรับการเจริญเติบโต (Viterbo *et al.*, 2007) การแข่งขันระหว่างเชื้อราปฏิปักษ์และเชื้อราสาเหตุโรคพืช เป็นการเข้าแทนที่ของเชื้อราปฏิปักษ์เพื่อต้องการอาหาร และธาตุที่จำเป็นในดินและบริเวณรอบ ๆ รากพืช (Irtwange, 2006) นอกจากนี้ยังปรับสภาพไม่ให้เหมาะกับการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (Benitez *et al.*, 2004) เชื้อรา *T. asperellum* เป็นเชื้อราที่มีการแข่งขันที่ดีในด้านที่อยู่อาศัย และแหล่งอาหาร มีความสามารถในการเข้าครอบครองรากพืชได้รวดเร็วกว่าเชื้อราสาเหตุโรคพืช ถ้าในดินมีปริมาณของเชื้อ *T. asperellum* สูงย่อมพิสูจน์ได้ว่าเชื้อรา *T. asperellum* สามารถที่จะเป็นผู้แข่งขันที่ดีในการแย่งที่อยู่อาศัยและแหล่งอาหาร นอกจากนั้นยังสามารถเพิ่มโอกาสในการแข่งขันกับเชื้อราสาเหตุโรคได้มากขึ้นด้วย (จิระเดช แจ่มสว่าง, 2544) Viterbo *et al.*, (2007) กล่าวว่า เชื้อรา *T. harzianum* T-35 สามารถควบคุมเชื้อรา *Fusarium* sp. สาเหตุโรคพืชหลายชนิดได้ เนื่องจากเชื้อรา *T. asperellum* สามารถแข่งขันเพื่อแย่งอาหารและมีความสามารถในการเข้าครอบครองพื้นที่บริเวณรากพืชได้ดีกว่า

การเป็นปรสิต (Maycoparasitism)

เชื้อรา *T. asperellum* เป็นพาราไซต์กับเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิด โดยการที่เชื้อรา *T. asperellum* สร้างเส้นใยพันรัดเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช แล้วปลดปล่อยเอนไซม์ออกมาเพื่อสลายผนังเส้นใยก่อนที่จะแทงส่วนของเส้นใยเข้าไปภายในเส้นใยของเชื้อโรค ใช้อาหารจากภายในเส้นใยของเชื้อโรค ทำให้กิจกรรมด้านการเจริญของเส้นใยเชื้อโรคลดลงอย่างมาก (Harman et al. 2004 Benitez et al., 2004; Viterbo et al., 2007) การที่เชื้อรา *T. asperellum* สามารถสร้างเอนไซม์ออกมาย่อยสลายเส้นใยของเชื้อราชนิดอื่น เป็นกลไกที่สำคัญในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช เอนไซม์ที่เชื้อรา *T. asperellum* ผลิต เช่น Chitinases, Proteases, Cellulase และ P-1, 3 Glucanases (Tang et al., 2001; Whipps, 2001; Viterbo et al., 2007) ตัวอย่าง เช่น เชื้อรา *T. asperellum* ผลิตเอนไซม์ เพนิซิลลิน (Penicillin) กริเซโอฟูลวิน (Griseofulvin) ที่สามารถย่อยผนังเซลล์และลดกิจกรรม ของเอนไซม์ endo-polygalacturonase and exo-polygalacturonase ของเชื้อรา *Botrytis cinerea* สาเหตุโรคราสีเทา (Grey mold) ทำให้ลดความรุนแรงของโรคได้ (Elad and Kapat, 1999; Harman et al., 2004) นอกจากนี้เชื้อรา *T. harzianum* เป็นปรสิตกับเชื้อรา *Pythium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Phytophthora* sp., *Sclerotium* sp. โดยการสร้างเอนไซม์ B-1, 3 Glucanase, Chitinase และ Cellulase ทำลายเส้นใยเชื้อราดังกล่าว โดยการย่อยสลายผนังเซลล์ แล้วเข้าไปเจริญสร้างเส้นใยภายในเส้นใยของเชื้อราก่อโรค

ชักนำให้เกิดความต้านทาน (Induced Resistance)

การชักนำให้เกิดความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคพืชเกิดขึ้นกับทุกพืช ซึ่งเป็นกลไกการต่อต้านการเกิดโรคของพืช และเกิดอย่างซับซ้อน (Harman et al., 2004) การเกิดการต้านทานของพืชอาจเกิดเฉพาะที่ หรือเกิดทั่วทั้งต้น ขึ้นอยู่กับชนิด แหล่ง และปริมาณของสิ่งกระตุ้น (Pal and Cardener, 2006) เชื้อรา *T. asperellum* สามารถกระตุ้นให้พืชเกิดความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคพืช ได้ทั้งเชื้อรา เชื้อแบคทีเรีย และเชื้อไวรัส (Harman 2006; Haggag, 2008, Yedidia et al., 1999) Harman et al. (2004) ได้รายงานว่าการค้นพบว่าเชื้อรา *T. asperellum* สามารถชักนำให้เกิดการต้านทานในพืช ได้เมื่อปี ค.ศ. 1997 โดย Bigirimana และคณะ พบว่า เชื้อรา *T. asperellum* ชักนำให้ใบถั่วต้านทานต่อเชื้อรา *Botrytis cinerea* และ *Colletotrichum lindemuthianum* ถึงแม้ว่าจะใช้เชื้อรา *T. asperellum* ชนิดนี้ที่ราก

ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Plant Growth Regulators)

นอกจากกลไกของเชื้อรา *T. asperellum* ที่มีคุณสมบัติในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชแล้ว ยังช่วยในการเจริญเติบโตของพืช เช่น ไม้ดอกไม้ประดับที่ปลูกในกระถาง พืชผัก กล้าไม้ผลที่เพาะด้วยเมล็ด ตลอดจนกิ่งปักชำ และพืชหัว โดยช่วยเพิ่มขนาด ความสูง น้ำหนักของต้น และช่วยในการสร้างดอกของพืช (จิระเดช แจ่มสว่าง, 2547) ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดหอม มะเขือเทศ และพริกไทย โดยผลผลิตเพิ่มมากถึง 3 เท่า เมื่อเทียบกับไม่ใช้ (Vinale et al., 2008) อาจเป็นเพราะเชื้อรา *T. asperellum* มาสร้างสารเร่งการเจริญเติบโตต่างๆได้ หรือเชื้อรา *T. asperellum* มาสร้างสารไปกระตุ้นให้พืชสร้างสารเร่งการเจริญเติบโตมากกว่าปกติ หรือเชื้อรา *T. asperellum* ไปขัดขวางหรือทำลาย จุลินทรีย์ต่าง ๆ ที่รบกวนระบบรากของพืช ทำให้ระบบรากพืชสมบูรณ์ และแข็งแรงสามารถดูดซับอาหารและแร่ธาตุ ต่าง ๆ ในดินได้ดี (จิระเดช แจ่มสว่าง, 2547, Benitez et al., 2004; Harman et al., 2004) เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์กลาย และสายพันธุ์ดั้งเดิมสามารถผลิต Harzianic acid, Harzianic acid isomer และ Pentyl Pyrone ซึ่งสารเหล่านี้ช่วยเพิ่มน้ำหนักสดของต้นและรากแดงกว่าได้ทั้งการทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการและในระดับโรงเรือน หรือการเพาะเมล็ดที่ปลูกในดินซึ่งปลูกหรือโรยด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มา พบว่าเมล็ดจะงอกเร็วกว่าปกติ 2-3 วัน และต้นกล้าจะมีขนาดใหญ่โตกว่าปกติ (จิระเดช แจ่มสว่าง, 2547)

2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

ส่วนประกอบของอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA)

PDA	26.5 กรัม
วุ้น	15 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

Potato Dextrose Agar (PDA) เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ (Nutrient Agar) ที่ใช้สำหรับเลี้ยงเชื้อรา ยีสต์และแบคทีเรีย (ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, 2567) เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้รับความนิยมและใช้งานอย่างแพร่หลายในการเพาะเลี้ยงเชื้อราหลายชนิด รวมถึงเชื้อราไตรโคเดอร์มา (*Trichoderma* spp.) อาหารชนิดนี้ประกอบด้วยมันฝรั่ง (Potato) ซึ่งเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตสำคัญ และเดกซ์โตรส (Dextrose) ซึ่งเป็นน้ำตาลที่ช่วยกระตุ้นการสร้างสปอร์และการเจริญเติบโตของเชื้อรา อาหารเลี้ยงเชื้อถูกพัฒนาขึ้นเพื่อเป็นสื่อกลางในการเพาะเลี้ยงเชื้อราในห้องปฏิบัติการ ช่วยให้เกิดการเจริญเติบโตของโคโลนีที่มีลักษณะชัดเจนและสามารถวัดผลได้ง่ายในสภาพแวดล้อมที่ควบคุม และยังคงใช้อย่างแพร่หลายในงานวิจัยและการผลิตเชื้อราเพื่อการควบคุมศัตรูพืชทางชีวภาพ อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA จัดเป็นอาหารที่ไม่ทราบองค์ประกอบที่แน่นอนเพราะส่วนประกอบมาจากสิ่งมีชีวิต (Complex media) โดยทั่วไปมีองค์ประกอบหลัก ได้แก่ น้ำสกัดมันฝรั่ง น้ำตาลกลูโคสและวุ้น อย่างไรก็ตามหัวมันฝรั่งสดถูกเข้าทำลายให้เกิดการเน่าเสียได้ง่ายโดยจุลินทรีย์ และมักมีการงอกรากในระหว่างการเก็บรักษาทำให้ไม่สามารถเก็บรักษาเพื่อใช้เป็นเวลานานได้ (ประสงค์สม และ สุกฤตา, 2560) โดยทั่วไปในห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยาจะมีการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ แบบสำเร็จรูปซึ่งสามารถใช้งานได้สะดวก รวดเร็ว แต่มีข้อเสีย คือ ราคาแพง เนื่องจากในห้องปฏิบัติการจำเป็นต้องเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อในปริมาณมาก ผลทำให้ต้นทุนสูงไปด้วย ในอดีตการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA แบบดั้งเดิมที่เตรียมจากหัวมันฝรั่งถึงแม้ต้นทุนในการเตรียมจะต่ำแต่ใช้ระยะเวลาในการเตรียมมันฝรั่ง (J. Gopal 1998) ในมันฝรั่ง มีองค์ประกอบและคุณค่าทางอาหารที่สำคัญหลายชนิด โดยในมันฝรั่ง 100 กรัม มีองค์ประกอบ เช่น น้ำ(ร้อยละ 77.8) พลังงาน (83 แคลอรี) โปรตีน (2 กรัม) คาร์โบไฮเดรต (19.1 กรัม) ใยอาหาร (1 กรัม) กรดแอสคอร์บิก (38 มิลลิกรัม) แคลเซียม (19 มิลลิกรัม) แมกนีเซียม (20 มิลลิกรัม) โพแทสเซียม (370 มิลลิกรัม) ฟอสฟอรัส (56 มิลลิกรัม) โซเดียม (9 มิลลิกรัม) และวิตามินต่าง ๆ เช่น วิตามินเอ ไทอามีน ไรโบฟลาวิน และไนอะซิน (บุญธรรม, 2547) อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นอาหารที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์ของ *T. harzianum* ได้ดีที่สุด โดยเปรียบเทียบกับ MEA, CMA, และ SDA ผลการทดลองพบว่า *T. harzianum* มีเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตสูงสุดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อยู่ที่ 100% เมื่อเทียบกับ MEA ที่ 85%, CMA ที่ 75% และ SDA ที่ 65% (Zehra, A., et al. 2017). จากการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของ *T. viride* บนอาหารเพาะเลี้ยงชนิดต่าง ผลการทดลองพบว่า *T. viride*

เจริญเติบโตได้ดีที่สุดบน PDA โดยมีอัตราการเจริญเติบโตและการสร้างสปอร์สูงกว่า MEA และ CMA อย่างมีนัยสำคัญ โดยพบว่าเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตบน PDA อยู่ที่ 100 % เมื่อเทียบกับ MEA ที่ 90 % และ CMA ที่ 80 % (Kumar, R., and Dubey, R. 2018).

2.2.1 Poisoned Food Technique (เทคนิคการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา)

Poisoned Food Technique เป็นเทคนิคที่ผสมสารทดสอบกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ความเข้มข้นต่างๆเพื่อทำให้เกิดความเป็นพิษในอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อใช้ในการทดสอบการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา (กัลทิมา, 2554) โดยหลักการคือ การนำสารที่ต้องการทดสอบไปผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วสังเกตผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อนั้น อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้กันทั่วไปคือ PDA MEA หรืออาหารเลี้ยงเชื้ออื่นๆ ที่เหมาะสมกับชนิดของเชื้อราที่ศึกษา โดยจะแบ่งอาหารเลี้ยงเชื้อออกเป็นชุด ๆ และเติมสารทดสอบในปริมาณที่แตกต่างกันลงไปในแต่ละชุด เพื่อเปรียบเทียบผลลัพธ์ นำเชื้อราที่ต้องการศึกษา มาเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมจนได้โคโลนีที่เจริญเติบโตดี จากนั้นจึงนำมาตัดเป็นชิ้นเล็กๆ หรือเจาะเป็นดิสก์เพื่อนำไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ วางชิ้นส่วนของเชื้อราลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมสารทดสอบ และชุดควบคุม (อาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ผสมสารทดสอบ) จากนั้นบ่มเชื้อที่อุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสม วัดผลโดยการสังเกตและบันทึกการเจริญเติบโตของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชุด ผลการทดสอบอาจแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อราที่นำมาทดสอบ

ผลรายงานการทดสอบผลกระทบของสารป้องกันกำจัดเชื้อราต่อเชื้อราปฏิปักษ์ ด้วยวิธี Poisoned Food Technique โดย นำสาร Carbendazim 50 % SC สาร Metalaxyl 35 % DS มาผสมน้ำนิ่งฆ่าเชื้อตามอัตราที่แนะนำและผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA หลอมเหลว ที่อุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส อัตรา 1 มิลลิลิตร ต่ออาหาร 20 มิลลิลิตร โดยมีอาหารที่ผสมน้ำนิ่งฆ่าเชื้อเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ เทอาหารที่ได้ลงในจานเพาะเชื้อ (Petri Dish) ปลอ่ยไว้ให้หน้าอาหารแห้งและแข็งตัวประมาณ 2 ชั่วโมง นำเชื้อราทดสอบวางบริเวณกึ่งกลางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่เตรียมไว้ จากนั้นบ่มจานเพาะเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ดวงกมล และคณะ, 2560; สุณีรัตน์ และคณะ, 2554)

2.3 สารเคมีกำจัดศัตรูพืช

สารเคมีกำจัดศัตรูพืช คือ สารที่มีจุดมุ่งหมายใช้เพื่อป้องกัน ทำลาย ดึงดูด ขับไล่ หรือควบคุม ศัตรูพืชและการจำหน่าย หรือระหว่างกระบวนการผลิตสินค้าเกษตร อาหาร หรืออาหารสัตว์ หรือ เป็นสารที่อาจใช้กับสัตว์เพื่อควบคุมปรสิตภายนอก (สป.คคส., 2556)

2.3.1 โพรพาโมคาร์บ ไฮโดรคลอไรด์ 72.2 % W/V SL

โพรพาโมคาร์บ ไฮโดรคลอไรด์ (Propamocarb Hydrochloride) เป็นสารป้องกัน กำจัดโรคพืชกลุ่มสารเคมี Carbamate Fungicide (กลุ่ม 28) ควบคุมป้องกันและกำจัดโรคพืชที่เกิด จากเชื้อราหลายชนิด โดยเฉพาะโรคที่เกิดจากเชื้อราในกลุ่ม ไฟทอปธอรา (*Phytophthora* sp.) ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคสำคัญทางการเกษตรหลายชนิด เช่น โรคใบไหม้ โรครากเน่า โรคโคนเน่า และโรคเน่าและในผลผลิต

โรคพืชที่ใช้ควบคุม

- 1) โรคใบไหม้ พบได้ในพืช เช่น มันฝรั่ง มะเขือเทศ พริก
- 2) โรครากเน่าและโคนเน่า พบได้ในพืช เช่น ทูเรียน ส้ม มะละกอ
- 3) โรคเน่าและในผลไม้ พบได้ในผลไม้ เช่น เงาะ ทูเรียน
- 4) โรคเน่าดำในกล้วยไม้ เป็นโรคที่สำคัญในกล้วยไม้หลายชนิด เป็นโรคที่เกิดจาก เชื้อราในกลุ่มไฟทอปธอรา (*Phytophthora* sp.)

กลไกการออกฤทธิ์

ยับยั้งการสังเคราะห์กรดไขมัน โพรพาโมคาร์บจะเข้าไปยุ่งเกี่ยวกับกระบวนการสังเคราะห์ กรดไขมันในเซลล์เชื้อรา ซึ่งกรดไขมันมีความสำคัญในการสร้างผนังเซลล์ที่แข็งแรง เมื่อกระบวนการนี้ ถูกยับยั้งผนังเซลล์ของเชื้อราจะอ่อนแอลง ทำให้เซลล์เสียรูปและตายในที่สุด เพิ่มปริมาณสเตอรอล ในเซลล์เชื้อราให้สูงขึ้นอย่างผิดปกติ ซึ่งสเตอรอลเป็นองค์ประกอบสำคัญของเยื่อหุ้มเซลล์ การเปลี่ยนแปลงปริมาณสเตอรอลจะทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เสียหายและรั่ว ทำให้สารอาหารและของเสีย รั่วไหลออกจากเซลล์ ยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก (DNA และ RNA) ซึ่งเป็นสารพันธุกรรมที่ จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและการแบ่งเซลล์ของเชื้อราเมื่อกระบวนการนี้ถูกยับยั้ง เชื้อราจะไม่สามารถ เพิ่มจำนวนและขยายพันธุ์ได้

2.3.2 วาเลตามัยซิน 3 % W/V SL

วาเลตามัยซิน (Validamycin) เป็นสารป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืช กลุ่มสารเคมี Antibiotic (กลุ่ม 26) เป็นสารปฏิชีวนะชนิดหนึ่งที่ใช้ในการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา โดยเฉพาะเชื้อราในกลุ่ม Rhizoctonia ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนในระดับพันธุกรรมของแบคทีเรีย ซึ่งเป็นกระบวนการที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและการแบ่งตัวของเซลล์แบคทีเรีย

โรคพืชที่ใช้ควบคุมยับยั้ง

- 1) โรคกาบใบแห้งในข้าว เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อรา *R. solani* ทำให้กาบใบข้าวเน่าและแห้ง ส่งผลให้ผลผลิตข้าวลดลง
- 2) โรคใบติดในทุเรียน เป็นโรคที่เกิดจากเชื้อรา *R. solani* ทำให้ใบทุเรียนติดกันเป็นกลุ่ม
- 3) โรคราแป้งในเงาะ แม้ว่าวาเลตามัยซินจะไม่ได้ใช้โดยตรงในการควบคุมโรคราแป้ง

กลไกการออกฤทธิ์

ยับยั้งการสังเคราะห์เซลล์ผนังเซลล์ของเชื้อรา ยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ไคติน ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญของผนังเซลล์ของเชื้อรา ทำให้เชื้อราไม่สามารถสร้างผนังเซลล์ใหม่ได้ และในที่สุดก็ตายไป รบกวนการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา ทำให้เชื้อราไม่สามารถแพร่กระจายและเข้าทำลายพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ (บริษัทเคมีแพคจำกัด, 2567)

2.3.3 คลอโรทาโลนิล 50 % W/V SC

คลอโรทาโลนิล (Chlorothalonil) เป็นสารป้องกันกำจัดโรคพืชกลุ่มสารเคมี Chloronitrile (กลุ่ม M5) ยับยั้งการสร้างเอนไซม์ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา โดยเฉพาะอย่างยิ่งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างผนังเซลล์ของเชื้อรา เมื่อเชื้อราไม่สามารถสร้างผนังเซลล์ใหม่ได้อย่างถูกต้องก็จะหยุดการเจริญเติบโตและตาย

โรคพืชที่ใช้ควบคุมยับยั้ง

- 1) โรคใบจุด พบได้ในพืชตระกูลกุหลาบ เช่น กุหลาบ ซา เกิดจากเชื้อรา *Marssonina rosae*
- 2) โรคใบจุดสีน้ำตาล พบได้ในข้าว เกิดจากเชื้อรา *Drechslera oryzae* เช่น โรคใบจุดดำ
- 3) โรคราน้ำค้าง พบได้ในพืชผักแตงกวา ผักกาด หอมใหญ่เกิดจากเชื้อราในกลุ่ม *Peronospora parasitica* ทำให้ใบพืชมีจุดสีเหลืองหรือน้ำตาล โรครานิมพบได้ในพืช เช่น ข้าว ข้าวโพด ถั่วเหลือง เกิดจากเชื้อรา ในกลุ่ม *Puccinia* เช่น *Puccinia graminis* ในข้าวสาลี ทำให้ใบพืชมีจุดสีน้ำตาลแดง คล้ายสนิม

4) โรคแอนแทรคโนส พบได้ในพืช เช่น มะม่วง มะเขือเทศ แตงโม พริก เกิดจากเชื้อ

Colletotrichum gloeosporioides

กลไกการออกฤทธิ์

คลอโรทาโลนิลออกฤทธิ์แบบสัมผัส จะทำงานได้ดีเมื่อสัมผัสกับส่วนของพืชที่เป็นโรค เช่น ใบ ลำต้น หรือผล การยับยั้งการสร้างเอนไซม์ เมื่อคลอโรทาโลนิลสัมผัสกับเชื้อรา จะเข้าไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่สำคัญหลายชนิด เช่น เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารประกอบฟีนอล ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของผนังเซลล์ของเชื้อรา รบกวนการสร้างผนังเซลล์ เมื่อการสร้างผนังเซลล์ของเชื้อราถูกยับยั้ง เชื้อราจะไม่สามารถเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ได้ ทำให้โรคหยุดการแพร่ระบาด

2.3.4 กรดฟอสโฟนิก 40 % W/V SL

กรดฟอสโฟนิก (Phosphonic acid) เป็นสารป้องกันกำจัดโรคพืช กลุ่มสารเคมี Phosphonate (กลุ่ม 33) ควบคุมป้องกันและกำจัดโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราหลายชนิด โดยเฉพาะโรคที่เกิดจากเชื้อราในกลุ่มไฟทอปธอรา (*Phytophthora* sp.) ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคสำคัญทางการเกษตรหลายชนิด เช่น โรคใบไหม้ โรครากเน่า โรคโคนเน่า และโรคเน่าและในผลผลิต

โรคพืชที่ใช้ควบคุมยับยั้ง

- 1) โรครากเน่า โคนเน่า เช่น โรครากเน่าโคนเน่าในทุเรียน ยางพารา สับปะรด
- 2) โรคยอดเน่า เช่น โรคยอดเน่าในสับปะรด
- 3) โรคใบจุด เช่น โรคใบจุดในพืชผัก
- 4) โรคแคงเกอร์ เช่น โรคแคงเกอร์ในส้ม
- 5) โรคเหี่ยว เช่น โรคเหี่ยวในพืชตระกูลมะเขือ ไฟทอปธอรา (*Phytophthora* sp.)

กลไกการออกฤทธิ์

เสริมสร้างความแข็งแรงให้กับผนังเซลล์พืชไปกระตุ้นให้พืชสร้างสารฟอสโฟลิพิด (Phospholipid) ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของผนังเซลล์พืช ทำให้ผนังเซลล์มีความแข็งแรงและทนทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อราและมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยรา ทำให้เชื้อราไม่สามารถขยายพันธุ์และทำลายพืชได้และช่วยกระตุ้นให้พืชสร้างสารป้องกันตัว (Phytoalexin) ซึ่งเป็นสารที่ช่วยต้านทานโรค ทำให้พืชมีความต้านทานต่อโรคเพิ่มขึ้น

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สุภาพร และคณะ (2537) ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. 8 ไอโซเลทในรูปส่วนผสมผง เชื้อรา *Trichoderma* spp. ผงโคอะตอมไมท์ รำข้าว และปุ๋ยอินทรีย์ (TDRO-mix) อัตรา 1:8:5:16 หรือ สารเคมี Metalaxyl (กลุ่ม4) และ Fosethyl Al อัตรา 1.25 และ 0.63 กรัมต่อลิตรตามลำดับ เพื่อควบคุม เชื้อรา *P. palmivora* สาเหตุของโรครากและโคนเน่าของทุเรียน ในห้องปฏิบัติการพบว่า เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทุกไอโซเลท เมื่อใส่ลงในดินที่มีเชื้อรา *P. palmivora* แล้วสามารถลดปริมาณเชื้อรา *P. palmivora* ได้อย่างมีนัยสำคัญ TDRO-mix มีประสิทธิภาพสูงกว่า Metalaxyl หรือ Fosethyl Al อัตราดังกล่าว โดยตรวจไม่พบเชื้อ *P. palmivora* เหลืออยู่ในดินเลยเมื่อการใช้เชื้อรา *Trichoderma* sp. (CHAN-03-13) หรือ เชื้อรา *T. harzianum* (M4) เพียงอย่างเดียว แต่เมื่อนำ TDRO-mix มาใช้ร่วมกับ Metalaxyl หรือ Fosethyl Al อัตราต่ำดังกล่าวกลับไม่ได้ช่วยให้ปริมาณเชื้อรา *P. palmivora* ลดลงกว่าการใช้ TDRO-mix เพียงอย่างเดียว อย่างไรก็ตามการใช้ TDRO-mix ร่วมกับ Metalaxyl ให้ผลดีกว่า Fosethyl Al ส่วนการทดสอบเพื่อควบคุมโรครากและโคนเน่าของกล้าทุเรียนในเรือนปลูกพืชทดลอง โดยใส่ผงเชื้อ TDRO-mix ลงไปในดินปลูกแล้วบ่มเชื้อไว้ 4-5 วัน ก่อนปลูกเชื้อรา *P. palmivora* บริเวณรากกล้าทุเรียน พบว่า เชื้อรา *Trichoderma* sp. ทุกไอโซเลทสามารถลดการเกิดโรคได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีควบคุมไอโซเลทที่ลดการเกิดโรคได้ดีที่สุดคือ เชื้อรา *T. harzianum* (M4) และ เชื้อรา *Trichoderma* sp. (CHAN-03-13) โดยมีต้นที่รอดทั้งหมดและเมื่อใช้ผงเชื้อ TDRO-mix ของเชื้อรา *T. harzianum* ร่วมกับสารเคมี Metalaxyl อัตราต่ำ จะลดการเกิดโรคได้ดีกว่าเมื่อใช้ร่วมกับ Fosethyl Al และการใช้สารเคมีอัตราต่ำเพียงอย่างเดียว

ดวงกมล และคณะ (2566) ทำการศึกษาประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดเชื้อรา และวิธีการใช้ที่เหมาะสม ในการควบคุมโรคกล้าเน่าในกระบะเพาะกล้าข้าว รวมทั้งศึกษาผลกระทบต่อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ดำเนินการทดสอบประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดเชื้อรา ในสภาพโรงเรือนทดลองและแปลงเพาะกล้าข้าว ศูนย์วิจัยข้าวชัยนาท ปี พ.ศ. 2565 ผลการทดลองพบว่า การแช่เมล็ดและการคลุกเมล็ดเป็นเวลา 12 ชั่วโมง การพ่นสาร Fenbuconazole 24 % W/SC อัตรา 8-40 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร และสาร Hexaconazole 5 % W/SC อัตรา 4-20 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 20 ลิตร บนเมล็ดพันธุ์ข้าว สามารถลดการเกิดโรคกล้าเน่าได้ร้อยละ 71.55-83.88 ส่วนผลกระทบของสารป้องกันกำจัดต่อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) และ nutrient agar (NA) พบว่า สาร Fenbuconazole 24 % W/SC สาร Hexaconazole 5 % W/SC (กลุ่ม3) สาร Carbendazim 50 % SC และสาร Metalaxyl 35 % DS มีผลกระทบต่อการเจริญของเส้นใย

เชื้อรา *B. bassiana*, *M. anisopliae* และ *T. harzianum* และสาร Metalaxyl 35 % DS และมีผลต่อการสร้างสปอร์ของ *T. harzianum* แต่สารดังกล่าวนี้ไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens*

กนกกร และคณะ (2561) ศึกษาผลกระทบของสารเคมีกำจัดเชื้อราต่อเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทำการแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. จากสวนทุเรียนในจังหวัดจันทบุรีได้ทั้งหมด 14 ไอโซเลท เมื่อนำมาทดสอบกับสารเคมีที่เกษตรกรได้รับคำแนะนำ ได้แก่ Metalaxyl, Benlate, Carbendazim, Thiophanate-methyl, Iprodione และ Prochloraz ด้วยวิธี Poisoned Food Technique ในอัตราทดสอบตามฉลากพบว่าเชื้อ *Trichoderma* spp. สามารถเจริญได้ในสารเคมีที่ทดสอบคือ Metalaxyl และ Iprodione เมื่อทำการตรวจสอบความสามารถในการเจริญของเชื้อราที่ความเข้มข้นของสารกำจัดเชื้อราสูงขึ้น พบว่า เชื้อรา *Trichoderma* spp. สามารถเจริญได้บนอาหารผสม Metalaxyl ความเข้มข้น 900 ppm ซึ่งมากกว่าอัตราที่แนะนำถึง 6 เท่า โดยโคโลนีถูกยับยั้งเพียงเล็กน้อย ในขณะที่การทดสอบกับ Iprodione พบว่ามีเชื้อราที่แยกได้ 3 ไอโซเลทสามารถเจริญได้ถึงแม้ความเข้มข้นของสาร Iprodione สูงถึงระดับ 1200 ppm ซึ่งแสดงถึงความต้านทานของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่พบในสภาพธรรมชาติต่อสารกำจัดโรคพืช

เดชจรรย์ และคณะ (2566) ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma phayaoense* (L1 I3) ต่อการเจริญในการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราและสารเคมีทางการเกษตรในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราจำนวนทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ คาร์เบนดาซิม แมนโคเซป เมทาแลกซิล และคาร์ซูกาไมซิน สารกำจัดวัชพืช ได้แก่ ไกลโฟเซต และสารควบคุมวัชพืช ได้แก่ อะลาคลอร์ โดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) ผสมกับสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชแต่ละชนิดที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันจำนวน 3 ระดับ ได้แก่ ความเข้มข้นครึ่งเท่าของที่แนะนำ ในฉลากความเข้มข้นที่แนะนำในฉลาก และความเข้มข้น 2 เท่าของที่แนะนำในฉลาก พบว่าเชื้อรา *T. phayaoense* (L1 I3) สามารถเจริญใน สารเคมีเมทาแลกซิล และสารเคมีไกลโฟเซตที่ความเข้มข้นครึ่งหนึ่งของฉลากแนะนำ โดยมีการเจริญ 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ แมนโคเซปความเข้มข้นครึ่งหนึ่งของฉลากแนะนำ เมทาแลกซิล และไกลโฟเซตความเข้มข้นแบบตามฉลากแนะนำโดย มีการเจริญ 96.5% ส่วนสารเคมีที่เชื้อรา *T. phayaoense* (L1 I3) ไม่สามารถเจริญได้ คือ คาร์เบนดาซิม อัตราความเข้มข้นแบบตามฉลากแนะนำและ 2 เท่าของฉลากแนะนำ เชื้อราไม่สามารถเจริญได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเจริญ 0.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผลการวิจัยนี้แสดงให้เห็นถึงการพิจารณาใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่เหมาะสม และไม่ส่งผลต่อประสิทธิภาพของเชื้อราที่เป็นปฏิปักษ์ในการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน

บทที่ 3

วิธีการศึกษาและแผนการปฏิบัติงาน

3.1 วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 วัสดุอุปกรณ์

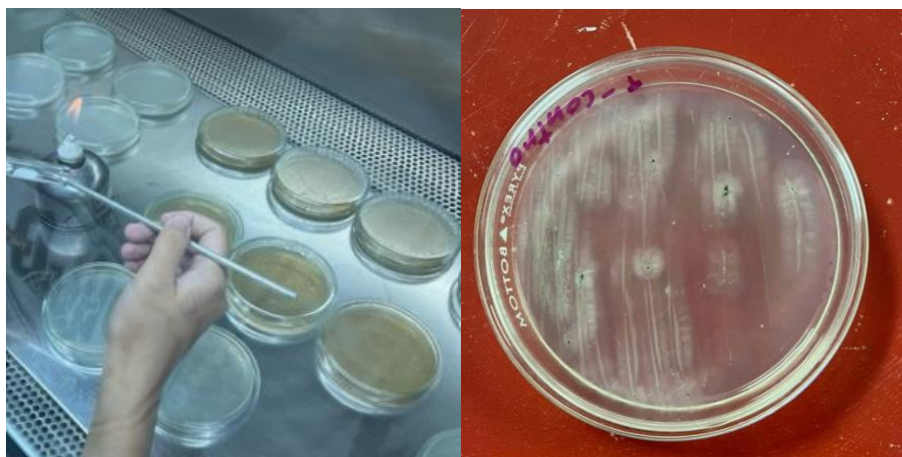
- จานเพาะเชื้อ (Petri Dish)	40 ใบ
- ขวดชมพู่ (Erlenmeyer Flask) ขนาด 200 มิลลิลิตร	5 ใบ
- ปีกเกอร์ (Beaker)	4 ใบ
- ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol lamp)	1 อัน
- ห่วงถ่ายเชื้อ (Inoculating loop)	2 อัน
- เข็มเขี่ยเชื้อ (Inoculation Needle)	2 อัน
- ช้อนตักสาร (Spatula)	1 คัน
- เครื่องดูดจ่ายสารละลายอัตโนมัติ (Automatic Pipette)	1 เครื่อง
- เครื่องอบนิ่งฆ่าเชื้อแบบความดันไอน้ำ (Autoclave)	1 เครื่อง
- ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Air Flow)	1 ตู้
- กล้องจุลทรรศน์ (Microscope)	1 เครื่อง
- กระดาษสไลด์ หรือ แผ่นสไลด์ (Microscope Slides)	5 แผ่น
- แผ่นปิดสไลด์ (Coverslips)	5 แผ่น
- เครื่องซั่งสารอัตโนมัติ	1 เครื่อง
- แอลกอฮอล์ 70 %	1 ขวด
- หม้อ	1 ใบ
- ไม้พาย	1 อัน
- อะลูมิเนียมฟอยล์	9 แผ่น
- สำลี	1 ม้วน
- ยางวง	20 เส้น

- ไม้บรรทัด	1 อัน
- หลอดผ่านการฆ่าเชื้อ เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร	5 อัน
- Thermometer	1 อัน
- น้ำกลั่น (Distilled Water)	1000 มิลลิลิตร
- PDA (Potato Dextrose Agar)	39 กรัม
- พ่อแม่พันธุ์เชื้อรา <i>T. asperellum</i>	1 หลอด
- เชื้อรา <i>T. asperellum</i> (F1)	3 จานเพาะ
- สีย้อมเชื้อรา (Lactophenol Cotton Blue)	1 ขวด
- โพรพาโมคาร์บ ไฮโดรคลอไรด์ 72.2 % W/V SL (Propamocarb Hydrochloride 72.2 % W/V SL)	1 ขวด
- วาเลดามัยซิน 3 % W/V SL (Validamycin 3 % W/V SL)	1 ขวด
- คลอโรทาโลนิล 50 % W/V SC (Chlorothalonil 50 % W/V SC)	1 ขวด
- กรดฟอสโฟนิก 40 % W/V SL (Phosphonic acid 40 % W/V SL)	1 ขวด

3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.2.1 การเตรียมเชื้อรา *T. asperellum* (F1)

นำพ่อแม่พันธุ์เชื้อรา *T. asperellum* มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป PDA นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำไปใช้ cork วางบนอาหารที่เตรียมด้วยวิธี Poisoned Food Technique



ภาพที่ 3.2.1 การเตรียมเชื้อรา *T. asperellum* (F1)

ที่มา : จากการทดลอง, 2567

3.2.2 การทดสอบด้วยวิธี Poisoned Food Technique

นำสารเคมีกำจัดโรคพืช 4 ชนิด มาเจือจางกับอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิประมาณ 45 °c โดยมีอัตราในการเจือจางตามความเข้มข้นที่แนะนำบนฉลาก ดังตารางที่ 3.2.2



ภาพที่ 3.2.2 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อทดสอบด้วยวิธี Poisoned Food Technique

ที่มา : จากการทดลอง, 2567

ตารางที่ 3.2.2 อัตราในการเจือจางสารเคมีตามความเข้มข้นที่แนะนำบนฉลาก ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

ลำดับ	ชื่อสารเคมี	สารเคมี/อาหาร PDA
1	โพรพาโมคาร์บ ไฮโดรคลอไรด์ 72.2 % W/V SL (Propamocarb Hydrochloride 72.2 % W/V SL)	0.006ppm/150 ml
2	วาเลดามัยซิน 3% W/V SL (Validamycin 3 % W/V SL)	0.03 ppm/150 ml
3	คลอโรทาโลนิล 50% W/V SC (Chlorothalonil 50 % W/V SC)	0.03 ppm/150 ml
4	กรดฟอสโฟนิก 40% W/V SC (Phosphonic acid 40 % W/V SL)	0.05 ppm/150 ml

เทอาหารที่ผสมสารเคมีลงในจานเพาะเชื้อ พักให้อาหารอุ่นให้แห้งตัวประมาณ 2 ชั่วโมง นำเชื้อรา *T. asperellum* ที่อายุ 24 ชั่วโมง ใช้หลอดปลอดเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร cork วางบริเวณกึ่งกลางอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งมีอาหารชุดควบคุม เป็นการเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อรา *T. asperellum* วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ประกอบด้วย 5 สิ่งทดลอง สิ่งทดลองละ 5 ซ้ำ โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

- สิ่งทดลองที่ 1 เชื้อรา *T. asperellum* กับสารเคมีโพรพาโมคาร์บ ไฮโดรคลอไรด์ 72.2 % W/V SL
- สิ่งทดลองที่ 2 เชื้อรา *T. asperellum* กับสารเคมีวาเลียมัยซิน 3 % W/V SL
- สิ่งทดลองที่ 3 เชื้อรา *T. asperellum* กับสารเคมีคลอโรทาโลนิล 50 % W/V SC
- สิ่งทดลองที่ 4 เชื้อรา *T. asperellum* กับสารเคมีกรดฟอสโฟนิก 40 % W/V SL
- สิ่งทดลองที่ 5 ชุดควบคุม เชื้อรา *T. asperellum* ไม่มีสารเคมี



ภาพที่ 3.2.3 การนำเชื้อรา *T. asperellum* มา cork วางบนอาหาร PDA
ที่มา : จากการทดลอง, 2567

3.3 การเก็บข้อมูล

3.3.1 บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโต *T. asperellum* หลังการทดสอบ

โดยวัดการเจริญเติบโตของโคโลนีเชื้อราทุกวัน บันทึกแกน X และแกน Y เพื่อหาค่าเฉลี่ยรัศมีของโคโลนี โดยวัดการเจริญเติบโตจนกว่า เชื้อรา *T. asperellum* ชุดควบคุม จะเจริญเติบโตเต็มจานเพาะเชื้อ หลังจากนั้นนำข้อมูลที่ได้คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา โดยเปรียบเทียบกับ เชื้อรา *T. asperellum* ชุดควบคุม (Percent Inhibition of Radial Growth-PIRG) ตามวิธีการของ Vincent (1927)

การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา (%)

$$\frac{\text{รัศมีโคโลนีเชื้อราชุดควบคุม} - \text{รัศมีโคโลนีเชื้อราชุดทดสอบ}}{\text{รัศมีโคโลนีเชื้อราชุดควบคุม}} \times 100$$

3.3.2 การดูเส้นใย นำเส้นใยเชื้อรา *T. asperellum* ที่วางบนสารเคมีครบ 2 วัน

ได้แก่ สารเคมีโพรพาโมคาร์บ ไฮโดรคลอไรด์ 72.2 % W/V SL สารเคมีวาเลตามัยซิน 3 % W/V SL สารเคมีคลอโรทาโลนิล 50% W/V SC สารเคมีกรดฟอสฟอริก 40 % W/V SL และเชื้อรา *T. asperellum* ชุดควบคุม มาเชื่อมเส้นใย โดยหยดสีย้อมเชื้อรา (Lactophenol Cotton Blue) บนกระจกสไลด์หลังจากนั้นนำเส้นใยเชื้อรา *T. asperellum* มาวางบนสีย้อมเชื้อราและปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ แล้วนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40x เพื่อดูโครงสร้างของเส้นใยเชื้อรา

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยใช้ Least Significant Difference (LSD) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม SX Statistix ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % ($P < 0.01$) ในการวิเคราะห์ทางสถิติ

บทที่ 4

ผลและอภิปรายผลการศึกษา

จากการทดสอบเชื้อรา *T. asperellum* กับสารเคมีกำจัดเชื้อราในงานเพาะเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมกับสารเคมีโดยทำการทดสอบดังต่อไปนี้ สารเคมีโพรพาโมคาร์บ ไฮโดรคลอไรด์ 72.2 % W/V SL สารเคมีวาลิดามัยซิน 3 % W/V SL สารเคมีคลอโรทาโลนิล 50 % W/V SC สารเคมีกรดฟอสโฟนิก 40 % W/V SL และ เชื้อรา *T. asperellum* ชุดควบคุม มีผลการทดสอบดังนี้

4.1 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *T. asperellum* เมื่ออายุครบทั้ง 7 วัน

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของเชื้อรา *T. asperellum* หลังจากวางเชื้อครบ 1 วัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99 % ($p < 0.01$) โดยพบว่า สารเคมีคลอโรทาโลนิล 50 % W/V SC มีการยับยั้งเชื้อรา *T. asperellum* มากที่สุด ที่ 87.54 % รองลงมา คือ สารเคมีกรดฟอสโฟนิก 40 % W/V SL ที่ 42.99 % และสารเคมีโพรพาโมคาร์บ ไฮโดรคลอไรด์ 72.2 % W/V SL ที่ 11.97 % ตามลำดับแต่ในขณะที่ การใช้สารเคมีวาลิดามัยซิน 3 % W/V SL ร่วมกับเชื้อรา *T. asperellum* ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *T. asperellum* ได้

หลังจากวางเชื้อรา *T. asperellum* ครบ 2 วัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติอย่างยิ่งที่ความเชื่อมั่น 99 % ($p < 0.01$) โดยพบว่า สารเคมีคลอโรทาโลนิล 50 % W/V SC มีการยับยั้งเชื้อรา *T. asperellum* มากที่สุด ที่ 91.97% รองลงมา คือ สารเคมีกรดฟอสโฟนิก 40 % W/V SL ที่ 17.93 % และสารเคมีโพรพาโมคาร์บ ไฮโดรคลอไรด์ 72.2 % W/V SL ที่ 22.87 % ตามลำดับแต่ในขณะที่ การใช้สารเคมีวาลิดามัยซิน 3 % W/V SL ร่วมกับเชื้อรา *T. asperellum* ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *T. asperellum* ได้

หลังจากวางเชื้อรา *T. asperellum* ครบ 3 วัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติอย่างยิ่งที่ความเชื่อมั่น 99 % ($p < 0.01$) โดยพบว่า สารเคมีคลอโรทาโลนิล 50 % W/V SC มีการยับยั้งเชื้อรา *T. asperellum* มากที่สุด ที่ 87.39 % รองลงมา คือ สารเคมีกรดฟอสโฟนิก 40 % W/V SL ที่ 39.82% และสารเคมีโพรพาโมคาร์บ ไฮโดรคลอไรด์ 72.2% W/V SL ที่ 6.84% ตามลำดับแต่ในขณะที่การใช้สารเคมีวาลิดามัยซิน 3% W/V SL ร่วมกับเชื้อรา *T. asperellum* ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *T. asperellum* ได้

หลังจากวางเชื้อรา *T. asperellum* ครบวันที่ 4 5 6 และ 7 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99 % ($p < 0.01$) โดยพบว่าสารเคมีคลอโรทาโลนิล 50 % W/V SC มีการยับยั้งเชื้อรา *T. asperellum* มากที่สุด ที่ 87.01 % 86.57% 85.65 % และ 84.61 % ตามลำดับ แต่ในขณะที่ การใช้สารเคมีกรดฟอสฟอนิก 40 % W/V SL สารเคมีโพรพาโมคาร์บ ไฮโดรคลอไรด์ 72.2 % W/V SL สารเคมีวาลิдамัยซิน 3 % W/V SL ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *T. asperellum* ได้ในวันที่ 4 5 6 และ 7 (ดังตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.1)

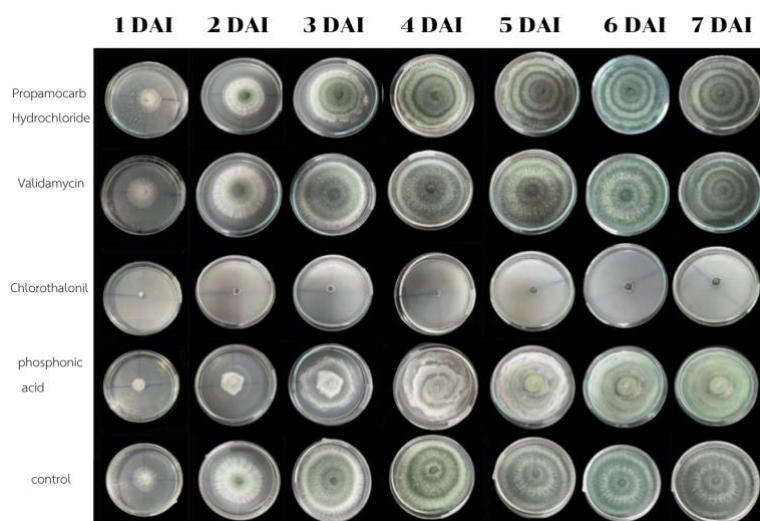
ตารางที่ 4.1 เปอร์เซนต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *T. asperellum*

Treatment	1 DAI ^{1/}	2 DAI	3 DAI	4 DAI	5 DAI	6 DAI	7 DAI
1.Propamocarb Hydrochloride 72.2% W/V SL	11.97 ^c	22.87 ^c	6.84 ^c	00.00 ^b	00.00 ^b	00.00 ^b	00.00 ^b
2.Validamycin 3% W/V SL	^{2/} -13.25 ^e	-9.38 ^e	00.00 ^d	00.00 ^b	00.00 ^b	00.00 ^b	00.00 ^b
3.Chlorothalonil 50% W/V SC	87.54 ^a	91.97 ^a	87.39 ^a	87.01 ^a	86.57 ^a	85.65 ^a	84.61 ^a
4.Phosphonic acid 50% W/V SL	42.99 ^b	39.82 ^b	17.93 ^b	00.00 ^b	00.00 ^b	00.00 ^b	00.00 ^b
5.Control	00.00 ^d	00.00 ^d	00.00 ^d	00.00 ^b	00.00 ^b	00.00 ^b	00.00 ^b
F-test ($p < 0.01$)	**	**	**	**	**	**	**
C.V. %	16.33	18.20	15.90	3.61	3.60	4.11	4.08

^{1/} หมายถึง DAI ย่อมาจาก days after inoculation

^{2/} หมายถึง มีเจริญเติบโตเร็วกว่า control (เครื่องหมาย -) โดยไม่ถูกยับยั้ง

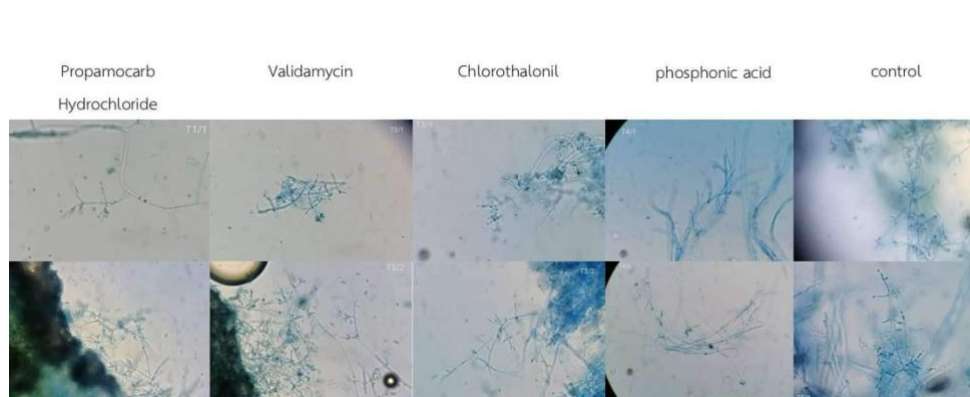
** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99 % ($p < 0.01$)



ภาพที่ 4.1 ลักษณะการเจริญเติบโต เชื้อรา *T. asperellum* บนอาหารวันในแต่ละวัน
ที่มา : จากการทดลอง, 2567

4.2 การดูโครงสร้างของเส้นใยเชื้อรา *T. asperellum*

จากภาพที่ 4.2 แสดงการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *T. asperellum* การเจริญเติบโตหลังจากวางเชื้อรา *T. asperellum* บนสารเคมีได้ 2 วัน และภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40x ช่วยให้เห็นถึงผลกระทบจากการสารเคมีชัดเจนยิ่งขึ้น สารเคมีโพพาโมคาร์บ ไฮโดรคลอไรด์ 72.2 % W/V SL ส่งผลต่อการเจริญเติบโตน้อย โดยเชื้อรา *T. asperellum* สามารถเจริญเติบโตได้ใกล้เคียงชุดควบคุม แต่เส้นใยมีความหนาแน่นน้อยกว่าหากเทียบกับเส้นใยเชื้อรา *T. asperellum* ชุดควบคุม สารเคมีวาเลดามัยซิน 3 % W/V SL ไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา ทั้งเส้นใยและการผลิตสปอร์โดยมีการเจริญเติบโตเทียบเท่ากับเส้นใยเชื้อรา *T. asperellum* ชุดควบคุม สารเคมีคลอโรทาโลนิล 50 % W/V SC มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราอย่างชัดเจน โดยจะเห็นได้ว่าเส้นใยไม่สมบูรณ์และการผลิตสปอร์ที่น้อยเมื่อเทียบกับเส้นใยเชื้อรา *T. asperellum* ชุดควบคุมและสารเคมีกรดฟอสโฟนิก 40 % W/V SL ส่งผลต่อการต่อการเจริญเติบโตของสปอร์อย่างชัดเจน โดยจะเห็นได้ว่าไม่มีการสร้างก้านสปอร์ช่วงแรก แต่เริ่มมีการสร้างสปอร์ในวันที่ 4 ขึ้นไป และสีของสปอร์มีความผิดปกติเห็นได้อย่างชัดเจน



ภาพที่ 4.2 เส้นใยของเชื้อรา *T. asperellum* หลังจากวางเชื้อบนสารเคมีได้ 2 วัน
ที่มา : จากการทดลอง, 2567

จากการทดลองโดยใช้สารเคมี 4 ชนิด ได้แก่ สารเคมีโพพาโมคาร์บ ไฮโดรคลอไรด์ 72.2 % W/V SL, สารเคมีวาเลดามัยซิน 3 % W/V SL, สารเคมีคลอโรทาโลนิล 50 % W/V SC และสารเคมีกรดสารเคมี กรดฟอสโฟนิก 40 % W/V SL ซึ่งได้ทำการทดสอบเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการใช้สารเคมี จากผลการทดสอบข้างต้นสามารถเห็นได้ว่า สารเคมีคลอโรทาโลนิล 50 % W/V SC ผลกระทบต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *T. asperellum* อย่างมีนัยสำคัญ สามารถหยุดการเจริญของเชื้อราทั้งในวันที่ 1, 2 และ 3 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตที่ 87.39 % และเมื่อครบ 7 วันมีการยับยั้งการเจริญเติบโตที่ 84.61 % ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลวิจัยของ Mahmoud, S. A., and Mohamed, F. M. (2018) ที่ได้ทดสอบผลของสารคลอโรทาโลนิล 50 % W/V SC ต่อเชื้อรา *T. koningii* ซึ่งเป็นสายพันธุ์หนึ่งของไตรโคเดอร์มา พบว่า คลอโรทาโลนิล 50 % W/V SC ที่มีความเข้มข้นสูงสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *T. koningii* ได้อย่างมีนัยสำคัญ ทำให้เชื้อรานี้สูญเสียความสามารถในการแข่งขันกับเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในพืชที่ระบุว่าสารเคมีคลอโรทาโลนิล 50 % W/V SC เป็นสารที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในด้านการป้องกันกำจัดเชื้อราในพืช อย่างไรก็ตาม ผลที่ได้แสดงถึงความเข้ากันไม่ได้ของสารนี้กับเชื้อรา *T. asperellum* ซึ่งอาจเป็นอุปสรรคในการนำเชื้อรานี้ไปใช้ร่วมกับคลอโรทาโลนิลในสภาพการเกษตรจริง สำหรับสารเคมีกรดฟอสโฟนิก 40 % W/V SL พบว่า มีผลกระทบต่อการยับยั้งเชื้อราในระดับปานกลาง ที่ 17.93 % ในวันที่ 3 และเจริญเติบโตเต็มเพลทในวันที่ 4 แต่ยังคงมีผลกระทบต่อการเชื้อราในการสร้างสปอร์ จึงไม่ควรใช้สารนี้ร่วมกับเชื้อรา *T. asperellum* ในภาคการเกษตร Smillie, R., Grant, B. R., and Guest, D. (1989) ได้กล่าวว่า ฟอสโฟต์หรือกรดฟอสโฟนิกมีบทบาทในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Phytophthora* spp. โดยกลไก

ทางอ้อมจะช่วยเสริมระบบภูมิคุ้มกันของพืช และฟอสไฟต์ยังทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราโดยตรง

สารเคมีโพรพาโมคาร์บ ไฮโดรคลอไรด์ 72.2 % W/V SL มีผลยับยั้ง 6.84 % ในวันที่ 3 ซึ่งน้อยกว่าคลอโรทาโลนิล 50 % W/V SC และกรดฟอสโฟนิก 40 % W/V SL แต่ยังคงมีการยับยั้งที่ชัดเจนทำให้สารนี้ยังคงเป็นสารที่ควรพิจารณานำไปทดสอบในแปลงปลูกในการใช้ร่วมกับเชื้อรา *T. asperellum*

สารเคมีวาเลตามัยซิน 3 % W/V SL ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *T. asperellum* แต่ส่งเสริมการเจริญเติบโตในวันที่ 1 ที่ 13.25 % และวันที่ 2 ที่ 9.38 % และในวันที่ 3 เจริญเต็มงานเพาะเชื้อ พร้อมกับชุดควบคุม ซึ่งงานวิจัยของ Qiong Wu, et al. (2017) ได้ศึกษาการทำงานร่วมกันของ วาเลตามัยซิน 3 % W/V SL และ *T. asperellum* GDFS1009 เพื่อต่อต้านเชื้อก่อโรคกาบใบข้าวโพด พบว่า วาเลตามัยซิน 3 % W/V SL ไม่มีผลกระทบที่มีนัยสำคัญต่อการเจริญเติบโตต่อกระบวนการ Metabolism และกลไกการควบคุมเชื้อโรคของ *T. asperellum* GDFS1009 ซึ่งได้แสดงให้เห็นถึงความเข้ากันได้ของเชื้อรากับสารนี้ ทำให้วาเลตามัยซิน 3 % W/V SL เป็นตัวเลือกที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการนำไปทดสอบใช้ร่วมกับเชื้อรา *T. asperellum* ในภาพแปลงปลูก

บทที่ 5

สรุปผลการศึกษา

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินผลกระทบของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *T. asperellum* ซึ่งเป็นเชื้อราที่มีประโยชน์ในด้านการควบคุมเชื้อโรคในดิน โดยมุ่งเน้นการศึกษาความสามารถของเชื้อราในการเจริญเติบโตเมื่อสัมผัสกับสารเคมีชนิดต่าง ๆ เพื่อประเมินความสามารถในการอยู่ร่วมกันกับสารเคมี ระบุกลุ่มชนิดสารเคมีที่มีผลกระทบเชิงลบต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *T. asperellum* และเพื่อส่งเสริมการนำเชื้อราไปใช้ประโยชน์ร่วมกับสารเคมีในภาคการเกษตรอย่างมีประสิทธิภาพ จากการทดลองโดยใช้สารเคมี 4 ชนิด ได้แก่ สารเคมีโพรพาโมคาร์บไฮโดรคลอไรด์ 72.2 % W/V SL, สารเคมีวาลิดามัยซิน 3 % W/V SL, สารเคมีคลอโรทาโลนิล 50 % W/V SC และสารเคมีกรดสารเคมีกรดฟอสฟินิก 40 % W/V SL ซึ่งได้ทำการทดสอบเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการใช้สารเคมี จากผลการทดสอบข้างต้นสามารถเห็นได้ว่า สารเคมีคลอโรทาโลนิล 50 % W/V SC ผลกระทบต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *T. asperellum* อย่างมีนัยสำคัญ สามารถหยุดการเจริญของเชื้อราทั้งในวันที่ 1, 2 และ 3 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตที่ 87.39 % และเมื่อครบ 7 วันมีการยับยั้งการเจริญเติบโตที่ 84.61 % ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลวิจัยของ Mahmoud, S. A., and Mohamed, F. M. (2018) ที่ได้ทดสอบผลของสารคลอโรทาโลนิล 50 % W/V SC ต่อเชื้อรา *T. koningii* ซึ่งเป็นสายพันธุ์หนึ่งของไตรโคเดอร์มา พบว่า คลอโรทาโลนิล 50 % W/V SC ที่มีความเข้มข้นสูงสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *T. koningii* ได้อย่างมีนัยสำคัญ ทำให้เชื้อรานี้สูญเสียความสามารถในการแข่งขันกับเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคในพืชที่ระบุว่าสารเคมีคลอโรทาโลนิล 50 % W/V SC เป็นสารที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในด้านการป้องกันกำจัดเชื้อราในพืช อย่างไรก็ตาม ผลที่ได้แสดงถึงความเข้ากันไม่ได้ของสารนี้กับเชื้อรา *T. asperellum* ซึ่งอาจเป็นอุปสรรคในการนำเชื้อรานี้ไปใช้ร่วมกับคลอโรทาโลนิลในสภาพการเกษตรจริง สำหรับสารเคมีกรดฟอสฟินิก 40 % W/V SL พบว่า มีผลกระทบต่อการยับยั้งเชื้อราในระดับปานกลาง ที่ 17.93 % ในวันที่ 3 และเจริญเติบโตเต็มเพลทในวันที่ 4 แต่ยังคงมีผลกระทบต่อเชื้อราในการสร้างสปอร์ จึงไม่ควรใช้สารนี้ร่วมกับเชื้อรา *T. asperellum* ในภาคการเกษตร Smillie, R., Grant, B. R., and Guest, D. (1989) ได้กล่าวว่า ฟอสไฟต์หรือกรดฟอสฟินิกมีบทบาทในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Phytophthora* spp. โดยกลไกทางอ้อมจะช่วยเสริมระบบภูมิคุ้มกันของพืช และฟอสไฟต์ยังทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราโดยตรง

สารเคมีโพรพาโมคาร์บ ไฮโดรคลอไรด์ 72.2 % W/V SL มีผลยับยั้ง 6.84 % ในวันที่ 3 ซึ่งน้อยกว่า คลอโรทาโลนิล 50 % W/V SC และกรดฟอสโฟนิก 40 % W/V SL แต่ยังคงมีการยับยั้งที่ชัดเจน ทำให้สารนี้ยังคงเป็นสารที่ควรพิจารณานำไปทดสอบในแปลงปลูกในการใช้ร่วมกับเชื้อรา *T. asperellum*

สารเคมีวาลิดามัยซิน 3 % W/V SL ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *T. asperellum* แต่ส่งเสริมการเจริญเติบโตในวันที่ 1 ที่ 13.25 % และวันที่ 2 ที่ 9.38 % และในวันที่ 3 เจริญเต็มจานเพาะเชื้อ พร้อมกับชุดควบคุม ซึ่งงานวิจัยของ Qiong Wu, et al. (2017) ได้ศึกษาการทำงานร่วมกันของ วาลิดามัยซิน 3 % W/V SL และ *T. asperellum* GDFS1009 เพื่อต่อต้านเชื้อก่อโรคกาบใบข้าวโพด พบว่า วาลิดามัยซิน 3 % W/V SL ไม่มีผลกระทบที่มีนัยสำคัญต่อการเจริญเติบโตต่อกระบวนการ Metabolism และกลไกการควบคุมเชื้อโรคของ *T. asperellum* GDFS1009 ซึ่งได้แสดงให้เห็นถึงความเข้ากันได้ของเชื้อรากับสารนี้ ทำให้วาลิดามัยซิน 3 % W/V SL เป็นตัวเลือกที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการนำไปทดสอบใช้ร่วมกับเชื้อรา *T. asperellum* ในภาพแปลงปลูก

จากการนำเชื้อรา *T. asperellum* 2 วัน มาขยายภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40x พบว่า สารเคมีแต่ละชนิดส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสปอร์ของเชื้อรา *T. asperellum* สารเคมีคลอโรทาโลนิล 50 % W/V SC ยับยั้งการเจริญเติบโตและการผลิตสปอร์อย่างชัดเจน เส้นใยไม่สมบูรณ์และการผลิตสปอร์ที่น้อยเมื่อเทียบกับเส้นใยเชื้อรา *T. asperellum* ชุดควบคุม สารเคมีโพรพาโมคาร์บ ไฮโดรคลอไรด์ 72.2 % W/V SL การเจริญเติบโตของเชื้อราใกล้เคียงชุดควบคุม แต่การผลิตสปอร์และความหนาแน่นของสปอร์ลดลงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับเส้นใยเชื้อรา *T. asperellum* ชุดควบคุม สารเคมีกรดฟอสโฟนิก 40 % W/V SL ส่งผลต่อการต่อการเจริญเติบโตของสปอร์อย่างชัดเจน โดยไม่มีการสร้างก้านชูสปอร์ช่วงแรก และเริ่มมีการสร้างสปอร์ในวันที่ 4 ขึ้นไป แต่สีของสปอร์มีความผิดปกติเห็นได้อย่างชัดเจน สารเคมีโพรพาโมคาร์บ ไฮโดรคลอไรด์ 72.2 % W/V SL ส่งผลต่อการเจริญเติบโตน้อย โดยเชื้อรา *T. asperellum* สามารถเจริญเติบโตได้ใกล้เคียงชุดควบคุมแต่เส้นใยมีความหนาแน่นน้อยหากเทียบกับเส้นใยเชื้อรา *T. asperellum* ชุดควบคุม สารเคมีวาลิดามัยซิน 3 % W/V SL ไม่มีผลการเจริญเติบโตและการผลิตสปอร์ มีการเจริญเติบโตและผลิตสปอร์เทียบเท่ากับเส้นใยเชื้อรา *T. asperellum* ชุดควบคุม

ข้อเสนอแนะ

- 1) อุปกรณ์ในการทดลองไม่เพียงพอ มีการใช้งานอุปกรณ์ร่วมกับนักวิชาการ

2) เนื่องจากไม่ได้ทำการนับจำนวนสปอร์ของเชื้อรา *T. asperellum* จึงไม่สามารถระบุได้ว่าสปอร์ที่ผลิตมีปริมาณมากหรือน้อยกว่าชุดควบคุม ดังนั้นจึงแนะนำให้เพิ่มการวิเคราะห์ปริมาณสปอร์ในครั้งต่อไป เพื่อประเมินผลกระทบที่ชัดเจนของสารเคมีต่อการผลิตสปอร์

3) ควรทำการทดลองในสภาพแวดล้อมจริงและศึกษาผลกระทบของสารเคมีต่อ *T. asperellum* ในระยะยาว เพื่อยืนยันผลลัพธ์ที่ได้จากห้องปฏิบัติการและประเมินความทนทานของเชื้อราต่อสภาพแวดล้อมและสารเคมีที่ใช้

บรรณานุกรม

- กนกกร นาคอ้น, ชัยณรงค์ รัตนกริชากุล, และรัตติยา พงศ์พิสุทธา. (2561). การตอบสนองต่อสารเคมีกำจัดโรคพืชของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้จากพื้นที่ปลูกทุเรียน จังหวัดจันทบุรี. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 56:(หน้า 39-46). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ
- กัลติมา พิชัย. (2555). การศึกษาการใช้สารสกัดพืชสมุนไพรบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญในพื้นที่สะลง อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่ เพื่อ พัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ท้องถิ่น.มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ : เชียงใหม่.
- คณะกรรมการพัฒนาคุณภาพชีวิตสาธารณสุขและคุ้มครองผู้บริโภค. (2556). ความเห็นและข้อเสนอแนะการคุ้มครองผู้บริโภคจากอันตรายของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชคาร์โบฟูราน เมทโทมิลอีพีเอ็น และไดโครโตฟอส. พิมพ์ครั้งที่ 1 มีนาคม 2556. แผนงานพัฒนาวิชาการและกลไกคุ้มครองผู้บริโภคด้านสุขภาพ อาคารนวัตกรรมทางเภสัชศาสตร์ ชั้น 2 .คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย. ถนนพญาไท เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10300. 31หน้า.
- จิระเดช แจ่มสว่าง, วรณวิไล อินทนู และถวัลย์ คุ่มช้าง. (2544). ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* สูตรสำเร็จต่างๆ ในการควบคุมโรคโคนเน่าของถั่วฝักยาวที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii*. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39 สาขาพืช สาขาส่งเสริมและนิเทศศาสตร์เกษตร 5-7 กุมภาพันธ์ 2544. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39. หน้า 236-242.
- จิระเดช แจ่มสว่าง, ศศิธร วุฒิวนิชย์, วรณวิไล อินทนู, วิวัฒน์ เสือสะอาด, โกศล เจริญสม, อรพรรณ เกินอาษา, สมพร วงศ์วิวัฒน์ และทิพย์วดี อรรถธรรม. (2545). การควบคุมโรคพืชและแมลงศัตรูโดยชีววิธี: เอกสารประกอบการฝึกอบรม. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน คณะเกษตร คลินิกสุขภาพพืช.
- เดชจัญญ์ เรืองฤทธิ์. (2567). การประเมินผลของสารฆ่าเชื้อราและสารเคมีทางการเกษตรบางชนิดต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Trichoderma phayaoense* (L1 I3) ในระดับห้องปฏิบัติการ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร,มหาวิทยาลัยพะเยา
- ดวงกมล บุญช่วย, ชณินพัฒน์ ทองรอด, จิราพร แจ่มประดิษฐ์, บุษกร เศรษฐีโพธิ์, วันพร เข้มมุกด์, สุกัญญา อรัณมิตร, และพยอม โคเบลล์. (2566). ประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อราต่อการควบคุมโรคกล้าเน่าของข้าวและผลกระทบต่อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์. วารสารวิชาการข้าว ปีที่ 14 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม - ธันวาคม 2566 หน้า 85-75.

บุญธรรม บุญเลา. (2547). คู่มือการปฏิบัติงานเรื่องการปลูกมันฝรั่ง (Potato).

(รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์). เชียงใหม่: ฝ่ายพัฒนาเกษตรที่สูง, สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการ, มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

ประสงค์สม ปุณยอุปพัทธ์ และสุกฤตา ปุณยอุปพัทธ์. (2560). กระบวนการและจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในการผลิตอาหารหมัก. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย . 302 หน้า.

เนียรวรรณ มีเจริญ. (2560). อาหารเลี้ยงเชื้อและการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์. สืบค้น 5 ก.ย. 67 จาก <https://www.scimath.org/lesson-biology/item/7439-2017-08-11-04-33-12>

ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, และดร.นิธิยา รัตนพานนท์. (2564). Culture,Media อาหารเลี้ยงเชื้อ สืบค้น 2 ก.ย.2567 จาก <https://www.modernlab888.com/article/6/%E0%B8%AD%E0%B8%B2%E0%B8%AB%E0%B8%B2%E0%B8%A3%E0%B9%80%E0%B8%A5%E0%B8%B5%E0%B9%89%E0%B8%A2%E0%B8%87%E0%B9%80%E0%B8%8A%E0%B8%B7%E0%B9%89%E0%B8%AD-culture-media>

วิพรพรรณ เนื่องเม็ก, ประสิทธิ์ ผาผ่อง, และมนัส ทิตยวรรณ. (2557). ผลของเชื้อราไตรโคเดอร์มาต่อการเจริญเติบโตและควบคุมโรคของแคนตาลูปในแปลงปลูก วารสารแก่นเกษตร 42 (ฉบับพิเศษ 3)หน้า 680–685.

บริษัทเคมแฟคจำกัด. (2567). วาลิตามัยซินสารป้องกันและกำจัดเชื้อรา. สืบค้น 5 ก.ย.67 จาก <https://www.kemfac.com/category>

ศรีจันทร์ ศรีจันทร์. (2565).คำแนะนำการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช จากงานวิจัยปี 2565 โครงการวิจัยและพัฒนาการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อใช้เป็นคำแนะนำในการผลิตพืชบริโภคในประเทศและส่งออก. (รายงานวิจัย). กรมวิชาการเกษตร. 208 หน้า.

สายทอง แก้วฉาย. (2555). การใช้ไตรโคเดอร์มาในการควบคุมโรคพืช. วารสารมหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์, 4(3): หน้า.108-129 .

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. (2563). เอกสารวิชาการ ชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดศัตรูพืช. กรุงเทพฯ: บริษัท นิวัตรมดาการพิมพ์ (ประเทศไทย) จำกัด

สุกราดา สุนธาภิรมย์, เสาวนิตย์ โพธิพูนศักดิ์, ศรีจันทร์ ศรีจันทร์, และพฤทธิชาติ ปุณวัฒน์. (2563). เอกสารวิชาการ คำแนะนำการป้องกันแมลง-สัตว์ศัตรูพืช อย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัยจากงานวิจัย.กลุ่มบริหารศัตรูพืช กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. 230 หน้า.

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. (2563). เอกสารวิชาการ ชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดศัตรูพืช.กรุงเทพฯ : บริษัท นิวัตรมดาการพิมพ์ (ประเทศไทย) จำกัด.

- สุภาพร อวัญญู, จิระเดช แจ่มสว่าง, อำไพวรรณ ภราดรพันธุ์ และ รวี เสธฐักดี. (2537). การใช้ ส่วนผสมของผงเชื้อราไตรโคเดอร์มา ร่วมกับสารเคมีควบคุมเชื้อราในการควบคุมโรครากและโคนเน่าของกล้วยรีน ซึ่งเกิดจากเชื้อราฟัยทอฟthora พัลมิวรา. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 32 สาขาพืช 3-5 กุมภาพันธ์ 2537. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 32. หน้า 162-179. ทบวงมหาวิทยาลัย
- สุศักดิ์ บุญรุ่ง, และฉวีวรรณ มลิวัลย์. (2564). การเก็บรักษาน้ำสกัดมันฝรั่งเพื่อทดแทนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA). วารสารวิชาการที่ประชุมสภาข้าราชการ พนักงานและลูกจ้าง มหาวิทยาลัยแห่งประเทศไทย. 11(1): หน้า 29-35.
- สุนิรัตน์ วัฒนาศิลากรณ์, สายันท์ สดุดี, เสมอใจ ชื่นจิตต์, และจรัสศรี นวลศรี. (2554). การคัดเลือกต้นตออย่างพาราที่ทนทานต่อโรครากขาว. กำหนดการและบทคัดย่อการประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 10. การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 10. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ หน้า 154
- อริษา จิตกรกุล, พยอม โคเบลลี, ไอลดา ชุมแสง, สุนิสา ผิวน้ำไฟ,และธีรดา หวังสมบูรณ์ดี. (2566). ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวโมเลกุลของเชื้อราปฏิปักษ์โรคพืช *Trichoderma asperelloides* TDOAE002 วารสารวิชาการข้าว ปีที่ 14(ฉบับที่ 1) หน้า 51-65 .
- Benítez, T., Rincón, M. A., Limón, M. C., and Codon, C. A. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* spp. strains. International microbiology. 7(4): 249-260.
- Bigirimana, J., De Meyer, G., Poppe, J., Elad, Y. and Hofte, M. (1997). Induction of systemic resistance on bean (*Phaseolus vulgaris*) by *Trichoderma harzianum*. Agricultural and Food Sciences, Biology. 62: 1001-1007.
- Elad, Y., Chet, I., and Henis, Y. (1981). Biological control of *Rhizoctonia solani* in strawberry fields by *Trichoderma harzianum*. Plant-Soil An International Journal on Plant-Soil Relationships. 60: 245-254.
- Elad, Y. and Kapat, A. (1999). The role of *Trichoderma harzianum* protease in the biocontrol for *Botrytis cinerea*. European Journal of Plant Pathology. 105 (2):177-189. Available at <https://doi.org/10.1023/A:1008753629207>
- Guthrie, J. (1978). Tautomerization equilibria for phosphorous acid and its ethyl esters, free energies of formation of phosphorous and phosphonic acids and

their ethyl esters, and pK values for ionization of the B-H bond in phosphonic acid and phosphonic esters. *Canadian Journal of Chemistry*. 57(8):79-802.

Available at <https://doi.org/10.1139/v79-135>

Guthrie, J. P. (1979). Tautomerization equilibria for phosphorous acid and its ethyl esters, free energies of formation of phosphorous and phosphonic acids and their ethyl esters, and pKa values for ionization of the P—H bond in phosphonic acid and phosphonic esters. *Canadian Journal of Chemistry*. 57(2): 236–239. Available at <https://doi.org/10.1139/v79-039>

Gopal, J., Minocha, L. and Dhaliwal H. S. (1998). Microtuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Cell Reports*, 17(10): 794–798. DOI: 10.1007/s002990050485

Kumar, R., and Dubey, R. (2018). Plant growth promotion and abiotic stress mitigation in rice using endophytic fungi: Advances made in the last decade. *Mycological Research*. 22(4):112-118.

Kaewchai, S., Soyong, K., and Hyde, K. D. (2009). Mycofungicides and fungal biofertilizers. *Fungal Diversity*. 38(3): 25–50.

Haggag, W. M., and Mohamed, H. A. A. (2007). Biotechnological aspects of microorganisms used in plant biological control. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*. 1(1):7–12.

Irtwange, V. S. (2006). Application of biological control agents in pre - and postharvest operations. *Agricultural Engineering International*. 8(3): 1–12.

Mahmoud, S. A., and Mohamed, F. M. (2018). Tolerance and biological removal of fungicides by *Trichoderma* species isolated from the endosphere of wild Rubiaceae plants. *Journal of Basic Microbiology*. 58(10): 850–859. Available at <https://doi.org/10.1002/jobm.201800081>.

Pal, K., and Gardener, B. M. (2006). Biological control of plant pathogens. *The Plant Health Instructor*. 6:1–25. <https://doi.org/10.1094/PHI-A-2006-1117-02>.

Petrucci, R. H., Harwood, W. S., and Herring, F. G. (2002). *General chemistry: Principles and modern Applications*. (8th ed.1025–1026). Prentice Hall.

Poudel, S., Khanal, P., K. C., B., Pokharel, S., and Gauli, S. (2023). Biological control of

- fungus phytopathogens with *Trichoderma harzianum* and its fungicidal properties. International Journal of Applied Biology. 7(1): 1–10. <https://doi.org/10.20956/ijab.v7i1.26502>.
- Qiong Wu, Lida Zhang, Hai Xia, Chuanjin Yu, Kai Dou, Yaqian Li, and Jie Chen. (2017). Omics for understanding synergistic action of validamycin A and *Trichoderma asperellum* understanding synergistic action of validamycin A and *Trichoderma* properties. International Journal of Applied Biology. 7(1): 1–10. Available at <https://doi.org/20956/ijab.v7i1.26502>. Qiong
- Wu, Lida Zhang, Hai Xia, Chuanjin Yu, Kai Dou, Yaqian Li, and Jie Chen. (2017). Omics for understanding synergistic action of validamycin A and *Trichoderma asperellum* GDFS1009 against maize sheath blight pathogen. Scientific Reports. 7: 12345–12356.
- Suwan, S., Isobe, M., Kanokmedhakul, S., Lourit, N., Kanokmedhakul, K., Soyong, K., and Koga, K. (2000). Elucidation of high micro-heterogeneity of an acidic-neutral trichotoxin mixture from *Trichoderma harzianum* by electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry. Journal of Mass Spectrometry. 35(12): 1438–1451. Available at [https://doi.org/10.1002/1096-9888\(200012\)35:12<1438::AID-JMS80>3.0.CO;2-Q](https://doi.org/10.1002/1096-9888(200012)35:12<1438::AID-JMS80>3.0.CO;2-Q).
- Vinale, F., Marra, R., Scala, F., Ghisalberti, E. L., Lorito, M., and Sivasithamparan, K., (2006). Major secondary metabolites produced by two commercial *Trichoderma* strains active against different phytopathogens. Letters in Applied Microbiology. 43(2): 143–148. Available at <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2006.01939.x>
- Vincent, J. M. (1947). Distortion of fungal hyphae in the presence of certain inhibitors. Nature, 159(4051): 850. Available at <https://doi.org/10.1038/159850b0>
- Fravel, D., Olivain, C., and Alabouvette, C. (2003). *Fusarium oxysporum* and its biocontrol. New Phytologist. 157(3): 493–502. Available at <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00700>.
- Viterbo, A., Wiest, A., Brotman, Y., Chet, I., and Kenerley, C. (2007). The 18mer peptides from *Trichoderma virens* elicit plant defence responses. Molecular Plant Pathology. 8(6): 737–746. Available at <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00430>.

- Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., and Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*. 2(1): 43–56. Available at <https://doi.org/10.1038/nrmicro797>
- Howell, C. R. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Disease*. 87(1): 4–10. Available at <https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.1.4>
- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Woo, S. L., and Lorito, M. (2008). *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry*. 40(1): 1–10. Available at <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.07.002>
- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Woo, S. L., and Lorito, M. (2008). *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry*. 40(1):1–10. Available at <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.07.002>
- Whipps, J. M. (2001). Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*. 52(1): 487–511. Available at <https://doi.org/10.1093/Jexbo/52.suppl1.487>
- Woo, S.L. and Lorito, M. (2007). Exploiting the interactions between fungal antagonists pathogens and the plants biocontrol. In: *Novel Biotechnologies for Biocontrol Agent Enhancement and Management*, Vurro M. and Gressel J. (eds.), Springer. 107-130.
- Tang, W., Yang, H. and Ryder, M. (2001). Research and Application of *Trichoderma* spp. In *Biological Control of Plant Pathogens*. IN: *Bio-Exploitation of Filamentous Fungi*. (eds. Pointing, S.B. and Hyde, K.D.) *Fungal Diversity Research Series*, 6: 403- 435.
- Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., and Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*. 2(1): 43-56.
- Suwan, S., Isobe, M., Kanokmedhakul S., Lourit, N., Kanokmedhakul K., and Soyotong K. (2000). Elucidation of high micro-heterogeneity of an acidic-neutral trichotoxin mixture from *Trichoderma harzianum* by electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*.

35(12):1438-1451. Available at: [https://doi: 10.1002/1096-9888\(200012\)35:12<1438::AID-JMS80>3.0.CO;2-Q](https://doi.org/10.1002/1096-9888(200012)35:12<1438::AID-JMS80>3.0.CO;2-Q).

Zehra, A., Dubey, M. K., Meena, M., and Upadhyay, R. S., (2017). Effect of different Environmental. conditions on growth and sporulation of some *Trichoderma* species and their biocontrol potential against Fusarium wilt of chickpea. *Journal of Environmental Biology*. 38(2):197-203. Available at [https://doi:10.22438/jeb/38/2/MS-251](https://doi.org/10.22438/jeb/38/2/MS-251)

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก ภาพงานทดลอง

ภาคผนวก ข ขั้นตอนการเตรียมอาหาร PDA

ภาคผนวก ก
ภาพงานทดลอง



ภาพผนวกที่ 1 : การนึ่งฆ่าเชื้อ (Sterilization) อุปกรณ์ในการทดลอง โดยใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำอัตโนมัติ (Autoclave)

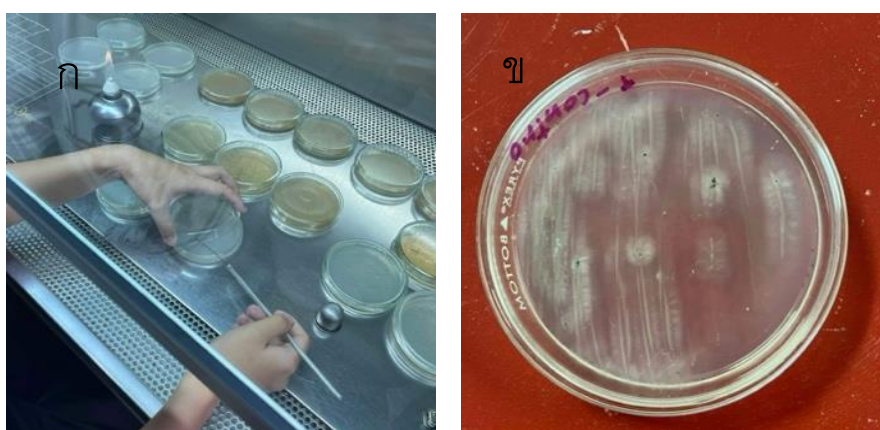
ที่มา : จากการทดลอง, 2567



ภาพผนวกที่ 2 : ผลิตภัณฑ์สารเคมีที่ใช้ทดสอบ ก) ไพโรพามคาร์บ ไฮโดรคลอไรด์ 72.2 % W/V SL
 ข) วาเลียมัยซิน 3 % W/V SL ค) คลอโรทาโลนิล 50% W/V SC ง) กรดฟอสโฟนิก 40 % W/V SL
 ที่มา : จากการทดลอง, 2567



ภาพผนวกที่ 3 : ขั้นตอนการเตรียมอาหาร PDA สำหรับเพาะเชื้อ *T. asperellum* (F1)
ที่มา : จากการทดลอง, 2567



ภาพผนวกที่ 4 : ก) การเพาะเลี้ยงเชื้อรา *T. asperellum* (F1)
ข) เชื้อรา *T. asperellum* ครบ 24 ชั่วโมง
ที่มา : จากการทดลอง, 2567



ภาพผนวกที่ 5 : Poisoned Food Technique

- ก) การใช้ไซริงค์ดูดสารเคมีจากขวด
- ข) การพักสารเคมีในบีกเกอร์
- ค) การใช้ Automatic Pipette ดูดสารเคมีผสมกับอาหาร PDA
- ง) การเทอาหารที่ผสมสารเคมีลงจานเพาะเชื้อ (plate)

ที่มา : จากการทดลอง, 2567



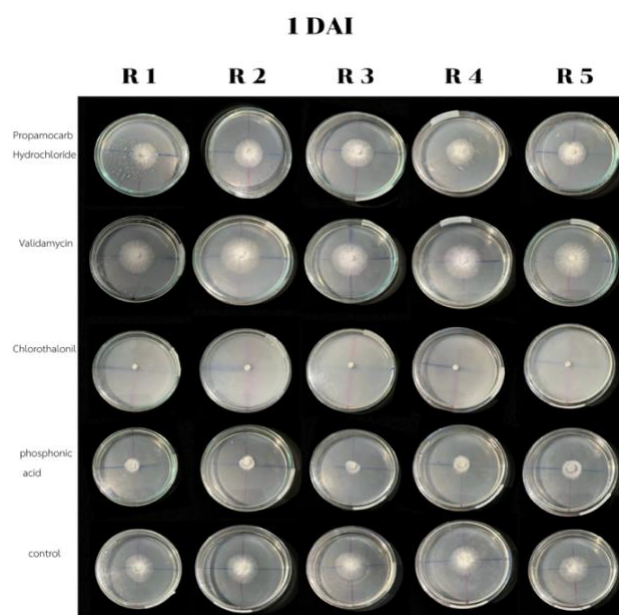
ภาพผนวกที่ 6 : การนำพ่อแม่พันธุ์เชื้อรา *T. asperellum* มา cork และวางบนอาหารที่ผสมสารเคมี

ที่มา : จากการทดลอง, 2567

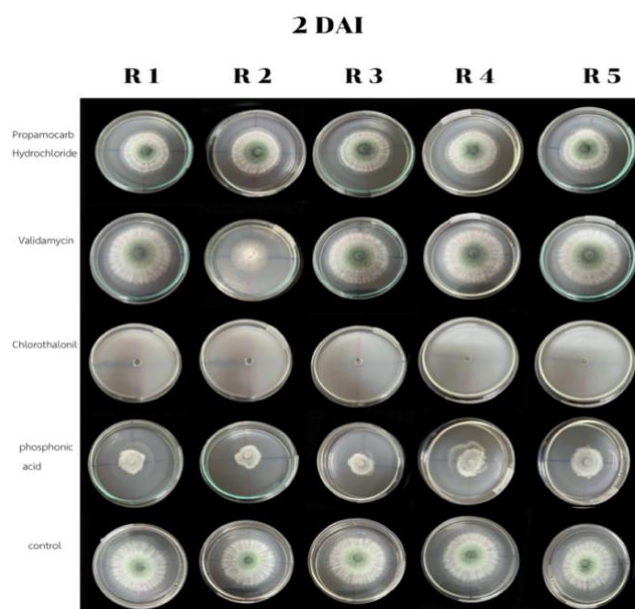


ภาพผนวกที่ 7 : การวัดรัศมีการเจริญเติบโตของเชื้อรา *T. asperellum*

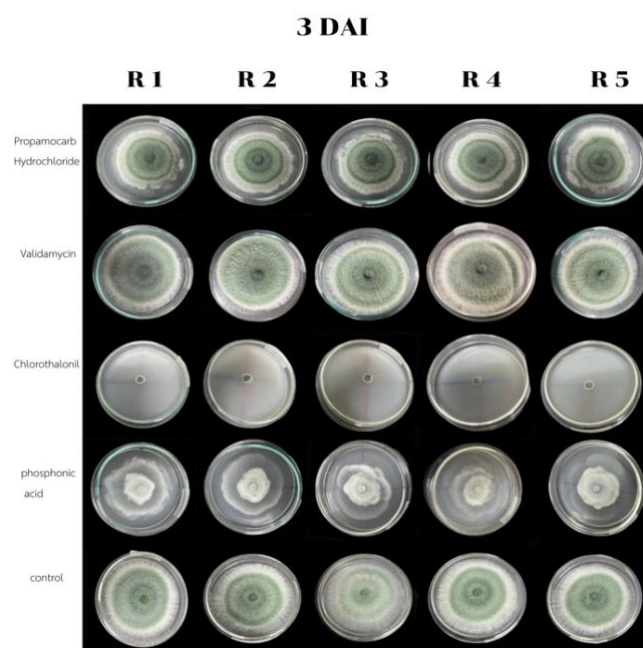
ที่มา : จากการทดลอง, 2567



ภาพผนวกที่ 8 : การเจริญเติบโตหลังจากวางเชื้อรา *T. asperellum* บนสารเคมี 1 DAI
ที่มา : จากการทดลอง, 2567

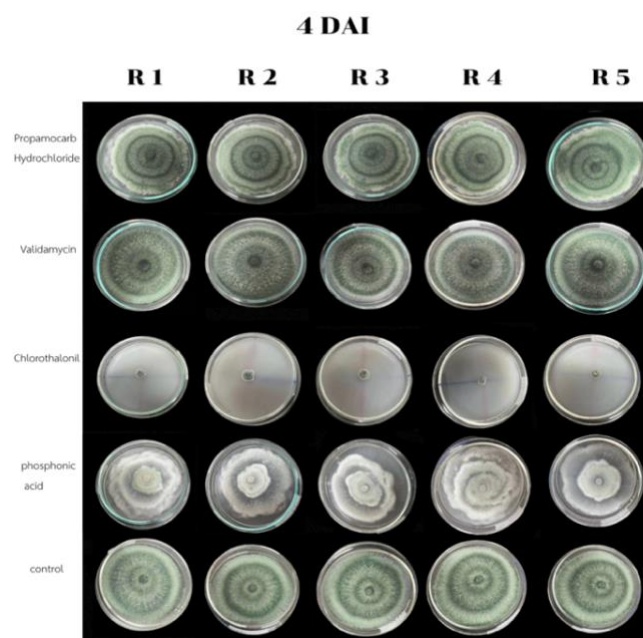


ภาพผนวกที่ 9 : การเจริญเติบโตหลังจากวางเชื้อรา *T. asperellum* บนสารเคมี 2 DAI
ที่มา : จากการทดลอง, 2567



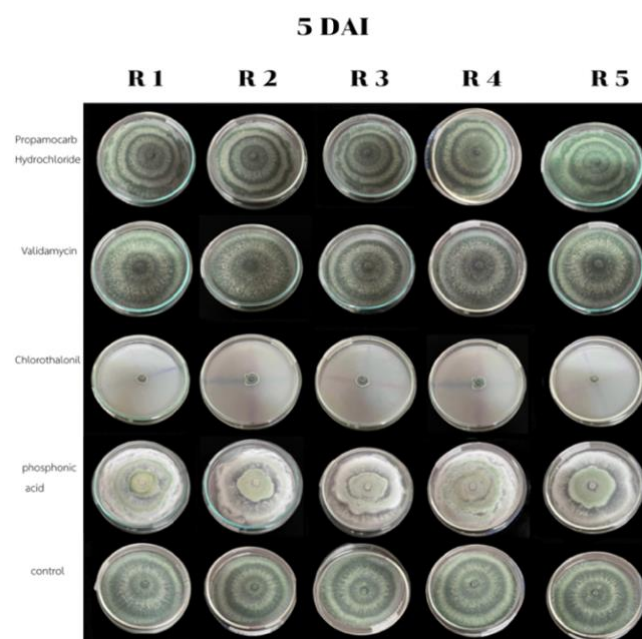
ภาพผนวกที่ 10 : การเจริญเติบโตหลังจากวางเชื้อรา *T. asperellum* บนสารเคมี 3 DAI

ที่มา : จากการทดลอง, 2567

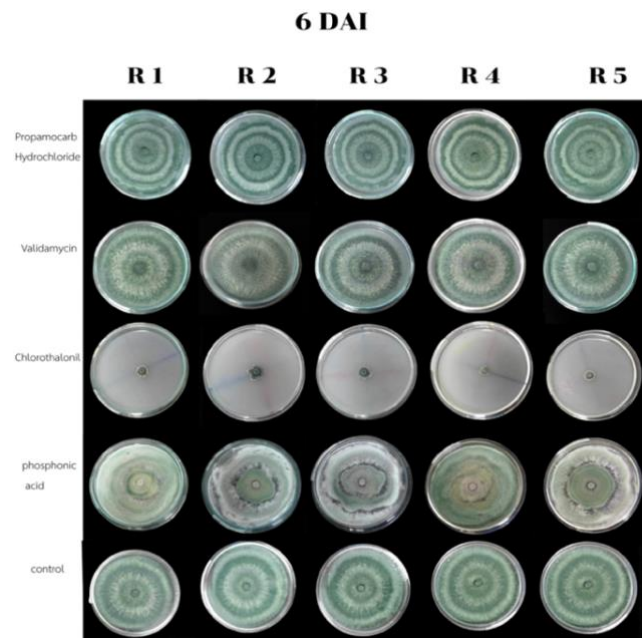


ภาพผนวกที่ 11 : การเจริญเติบโตหลังจากวางเชื้อรา *T. asperellum* บนสารเคมี 4 DAI

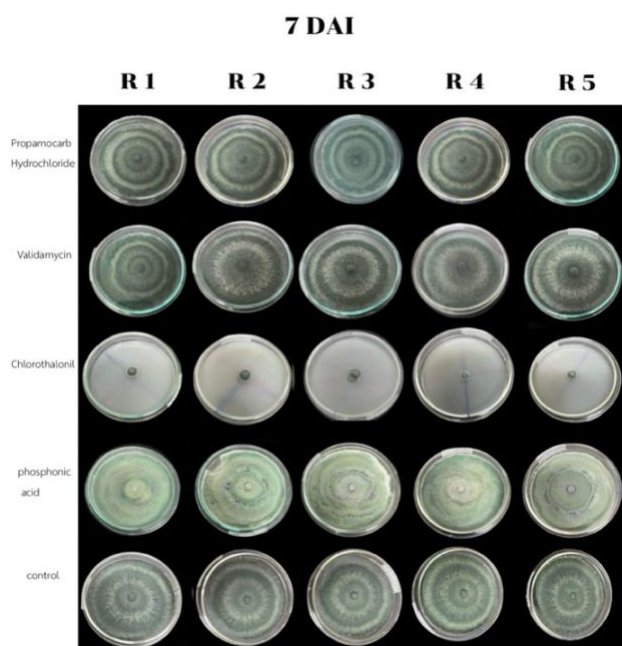
ที่มา : จากการทดลอง, 2567



ภาพผนวกที่ 12 : การเจริญเติบโตหลังจากวางเชื้อรา *T. asperellum* บนสารเคมี 5 DAI
ที่มา : จากการทดลอง, 2567



ภาพผนวกที่ 13 : การเจริญเติบโตหลังจากวางเชื้อรา *T. asperellum* บนสารเคมี 6 DAI
ที่มา : จากการทดลอง, 2567



ภาพผนวกที่ 14 : การเจริญเติบโตหลังจากวางเชื้อรา *T. asperellum* บนสารเคมี 7 DAI

ที่มา : จากการทดลอง, 2567

ภาคผนวก ข
ขั้นตอนการเตรียมอาหาร PDA

ขั้นตอนการเตรียมอาหารสำเร็จรูป PDA

1. ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป PDA ปริมาณ 39 กรัม
2. เตรียมน้ำกลั่น 1000 ml. เทใส่ภาชนะสำหรับต้ม พร้อมทั้งใส่อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป (PDA)
3. นำไปต้มให้วุ้นละลายด้วยไฟอ่อน คนเป็นระยะเพื่อให้วุ้นละลายเร็วขึ้นและเพื่อป้องกันการไหม้
4. เมื่อวุ้นละลายหมดแล้ว นำไปเทลงใน Flask Flask ละ 150 ml. อุดด้วยสำลี หุ้มด้วยกระดาษฟอยล์ รััดด้วยยางวง
5. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไออัตโนมัติ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121⁰cความดัน 15 ปอนด์ เป็นเวลา 25 นาที
6. ครบเวลานำออกจากหม้อนึ่ง ตั้งพักให้สารละลาย PDA เย็นลงที่อุณหภูมิประมาณ 45 ถึง 50⁰c เพื่อป้องกันการเกิดฟองหรือไอน้ำเมื่อเทลงจานเพาะเชื้อ
7. เทสารละลาย PDA ลงในจานเพาะเชื้อ(Petri Dish)ปริมาณ 20 ml/ Petri ปิดฝาจานเพาะเชื้อทันที หลังจากเทเสร็จเพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ในอากาศ