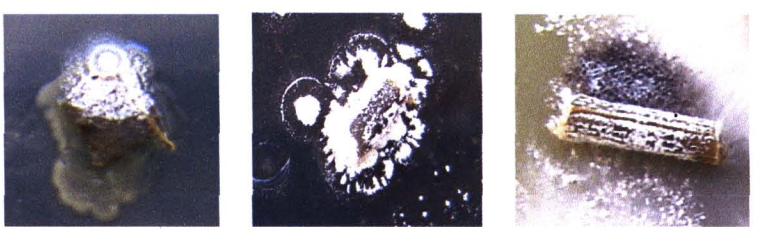
บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. การเก็บรวบรวมเชื้อและการแยกเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์จากส่วนต่าง ๆ ของต้นพริกและมะเขือเทศ ที่ปลูกในจังหวัดเชียงใหม่

1.1 การเก็บตัวอย่างต้นพริกและมะเขือเทศและการแยกเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์

จากการุแยกเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ จากส่วน ใบ ก้าน และรากของต้นพริกและมะเขือเทศ ที่ปลูกในพื้นที่สูงและพื้นที่ราบจาก 3 อำเภอ ในจังหวัดเชียงใหม่ คือ อำเภอแม่แจ่ม 1 พื้นที่ อำเภอสันทราย 2 พื้นที่ และอำเภอแม่วาง 6 พื้นที่ โดยทำการแยกเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ จากส่วนของชิ้นพืชที่วางบนอาหาร IMA-2 เป็นเวลาประมาณ 1 เดือน พบโคโลนีที่มีลักษณะสปอร์คล้ายผงแป้งปกคลุมบริเวณผิวหน้าของชิ้นพืช (ภาพ 4) โดยสามารถแยกเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ ได้รวม 95 ไอโซเลท โดยแยกเชื้อได้จากพริกที่ปลูกในอำเภอแม่แจ่มจำนวน 2 ไอโซเลท แยกเชื้อจากพริกที่ปลูกในอำเภอสันทรายจำนวน 12 ไอโซเลท แยกเชื้อจากพริกและมะเขือเทศที่ปลูกในอำเภอแม่วางได้จำนวน 41 ไอโซเลท และ 40 ไอโซเลท เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเชื้อแอกติโนไมซีสต์ที่แยกได้จากส่วนต่าง ๆ ของพืช พบว่า ส่วนใหญ่แยกได้จากกิ่ง โดยแยกเชื้อได้ทั้งหมด จำนวน 46 ไอโซเลท ส่วนของใบ และรากแยกเชื้อได้ 29 ไอโซเลท และ 20 ไอโซเลท ตามลำดับ (ตารางที่ 2)



ก. ข. ค.

ภาพ 4 ลักษณะโคโลนีของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ที่เจริญจากใบ กิ่งและรากของพริกและมะเขือเทศหลังจากเลี้ยงบนอาหาร Inhibitory Mold Agar 2 (IMA-2) ระยะเวลา 1 เดือน ก. เชื้อเจริญจากใบของพริก ข. เชื้อที่เจริญจากกิ่งของมะเขือเทศ ค. เชื้อเจริญจากรากของพริก

ตารางที่ 2 จำนวนไอโซเลทของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ ที่แยกได้จากใบ กิ่งและราก ของต้นพริกและมะเขือเทศ ที่ปลูกในพื้นที่อำเภอแม่แจ่ม สันทราย และแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่

พื้นที่ปลูก	ชนิดพืช	บริเวณที่พบเชื้อแอกติโนไมซีสต์			รวม
		ใบ	กิ่ง	ราก	
อ.แม่แจ่ม	พริก	-	2	-	2
อ.สันทรายพื้นที่ที่ 1	พริก	4	-	-	4
อ.สันทรายพื้นที่ที่ 2	พริก	-	4	4	8
อ.แม่วางพื้นที่ที่ 1	พริก	5	-	13	18
อ.แม่วางพื้นที่ที่ 2	พริก	-	4	3	7
อ.แม่วางพื้นที่ที่ 3	พริก	-	16	-	16
อ.แม่วางพื้นที่ที่ 4	มะเขือเทศ	3	-	-	3
อ.แม่วางพื้นที่ที่ 5	มะเขือเทศ	14	-	-	14
อ.แม่วางพื้นที่ที่ 6	มะเขือเทศ	3	20	-	23
รวม		29	46	20	95

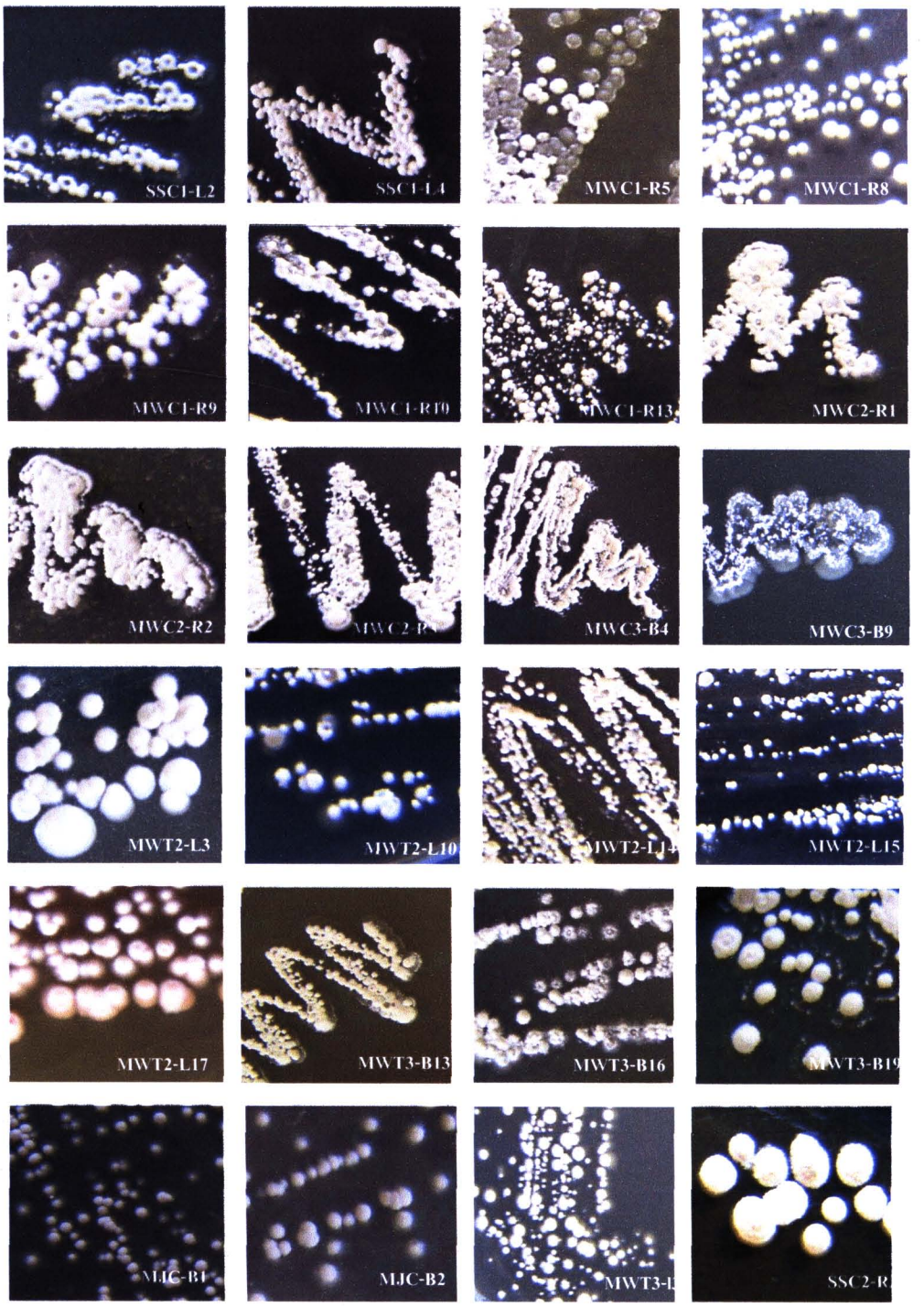
1.2 การจำแนกชนิดของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์

จากการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ ทั้งหมด 95 ไอโซเลท โดยศึกษาลักษณะรูปร่าง สีของโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ IMA-2 ทำการย้อมสีเพื่อตรวจดูลักษณะลักษณะเส้นใย การแตกแขนงของเส้นใย และลักษณะการเรียงตัวของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดเลนส์ประกอบที่กำลังขยาย 1000 เท่า สามารถจำแนกเชื้อตามหลักการจำแนกของ Williams *et al.* (1989) ได้เป็น 2 สกุล คือ สกุล *Streptomyces* จำนวน 83 ไอโซเลท และสกุล *Nocardia* จำนวน 12 ไอโซเลท

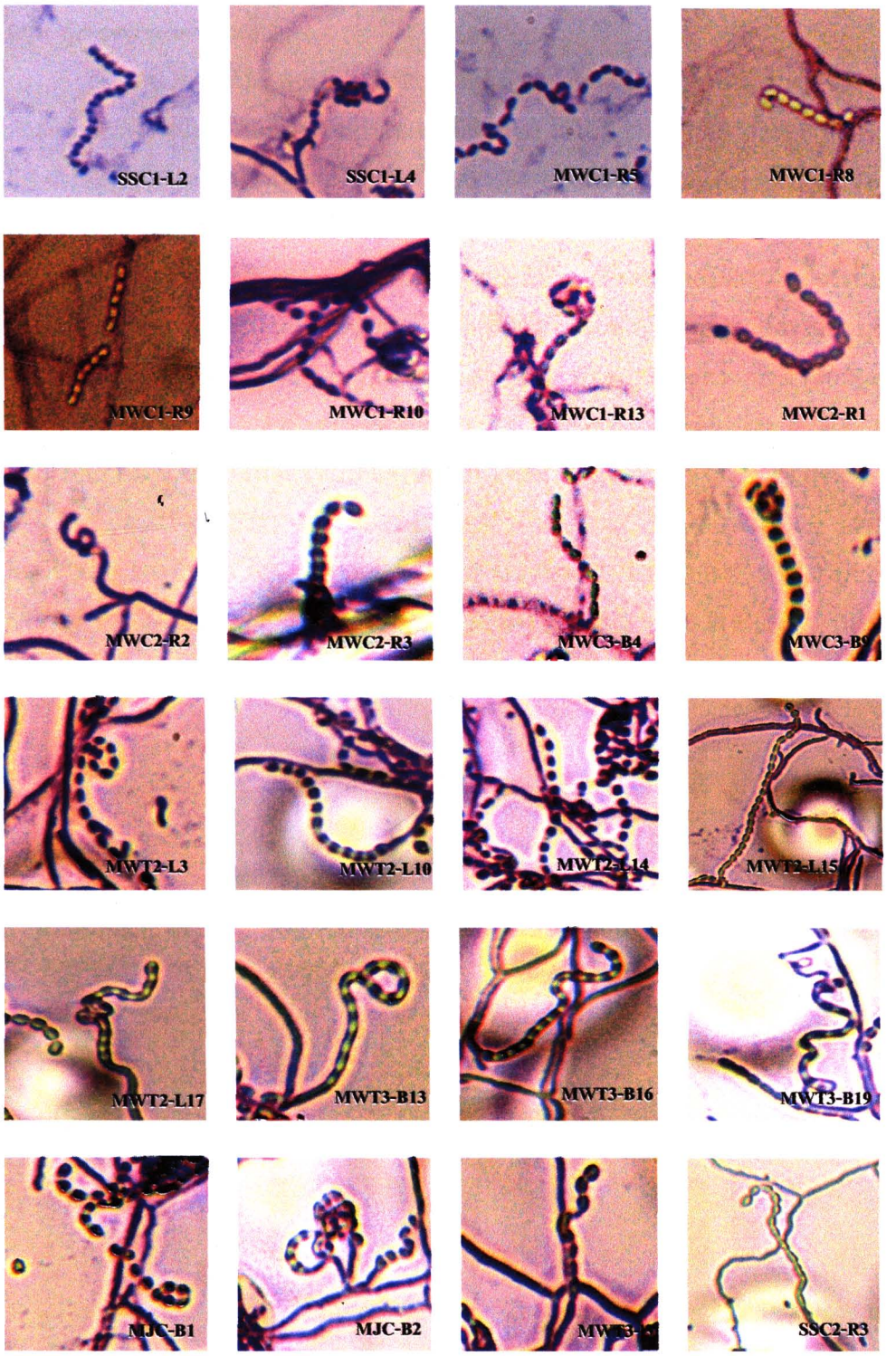
โดยเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ ที่จัดจำแนกอยู่สกุล *Streptomyces* เมื่อตรวจดูลักษณะรูปร่าง สี และลักษณะการเจริญของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ IMA-2 และลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สามารถแบ่งเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ที่จัดจำแนกอยู่ในสกุล *Streptomyces* ได้ออกเป็น 4 กลุ่ม ดังนี้คือ

กลุ่ม *Streptomyces* กลุ่มที่ 1

เชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ กลุ่มนี้สร้างโคโลนีเจริญขึ้นบนอาหารและสร้างสปอร์ได้เร็ว มีลักษณะโคโลนีขนาดเล็ก รูปร่างค่อนข้างกลมผิวเรียบมัน โคโลนีที่พบมีสีครีม, สีเหลือง, สีส้มอ่อน, สีขาวขุ่น และสีขาวครีม มี substrate mycelium สีขาวขุ่น, สีขาวครีม และสีครีม มี aerial mycelium สร้างสปอร์คล้ายผงแป้งสีขาว สีขาวครีม เมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นผงแป้งสีขาวขุ่น เหลืองอ่อนและสีเทา เมื่อตรวจสอบลักษณะการเรียงตัวของสปอร์ใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเชื้อสร้างสปอร์ต่อกันเป็นสายยาวโดยมีลักษณะการเรียงตัวที่แตกต่างกันหลายแบบ ได้แก่ retinaculiaperti type, rectiflexible type และ spirale type เชื้อแอกติโนไมซีสต์ที่จัดจำแนกอยู่ในกลุ่มนี้มีทั้งหมด จำนวน 32 ไอโซเลท ดังนี้ MJC-B1, MJC-B2, SSC2-L2, SSC2-L4, SSC2-R3, MWC1-R5, MWC1-R8, MWC1-R9, MWC1-R10, MWC1-R13, MWC2-R1, MWC2-R2, MWC2-R3, MWC3-B4, MWC3-B9, MWT2-L3, MWT2-L5, MWT2-L6, MWT2-L10, MWT2-L14, MWT2-L15, MWT2-L17, MWT3-L3, MWT3-B1, MWT3-B7, MWT3-B8, MWT3-B10, MWT3-B12, MWT3-B13, MWT3-B14, MWT3-B16 และ MWT3-B19 (ภาพ 5 และ 6)



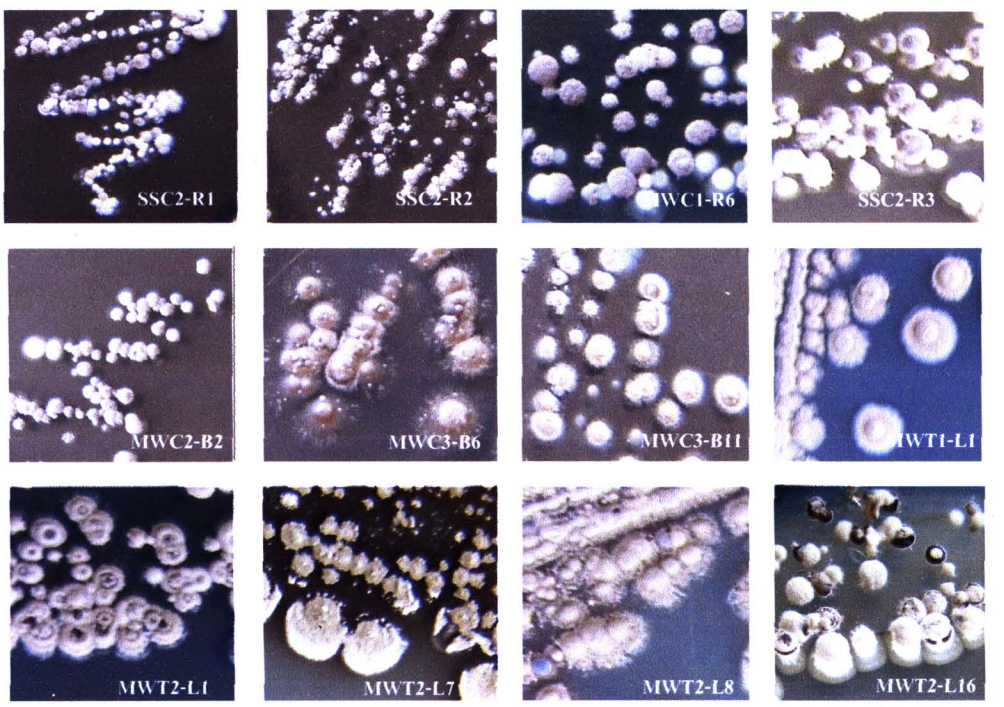
ภาพ 5 ลักษณะและสีของโคโลนีของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ สกุล *Streptomyces* กลุ่มที่ 1 อายุ 7 วัน บนอาหาร Inhibitory Mold Agar 2 (IMA-2)



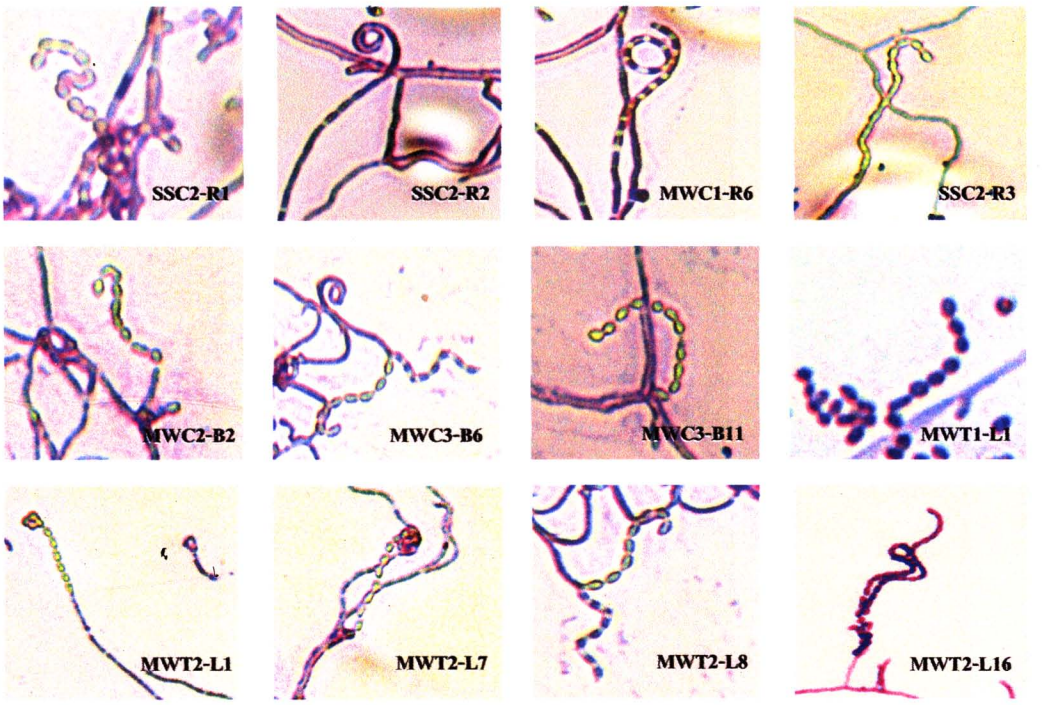
ภาพ 6 ลักษณะการเรียงตัวของสปอร์ของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ สกุล *Streptomyces* กลุ่มที่ 1 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 1000 เท่า

กลุ่ม *Streptomyces* กลุ่มที่ 2

เชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ กลุ่มนี้สร้างโคโลนีเจริญขึ้นบนอาหารอย่างรวดเร็ว และสร้างสปอร์ฟูขึ้นมาบนอาหารอย่างชัดเจน มีลักษณะโคโลนี รูปร่างค่อนข้างกลม ขอบโคโลนีมีลักษณะเป็นเส้นใยคล้ายเส้นใยของเชื้อราแผ่ออกมารอบ ๆ โคโลนี โคโลนีที่พบเป็น สีขาวขุ่น สีเทาอ่อนและสีน้ำตาลอ่อน มี substrate mycelium สีน้ำตาลอ่อนและสีเทา มี aerial mycelium สร้างสปอร์คล้ายผงแป้งสีเทา สีน้ำตาลอ่อน สีเทาปนดำและสีน้ำตาลปนดำ โดยจะสร้างสปอร์ฟูขึ้นมาบนอาหารอย่างชัดเจน เมื่อแก่สปอร์จะเปลี่ยนเป็นผงแป้งสีเทาเข้มและน้ำตาลดำ เมื่อตรวจสอบลักษณะการเรียงตัวของสปอร์ใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเชื้อสร้างสปอร์ต่อกันเป็นสายยาวโดยมีลักษณะการเรียงตัวที่แตกต่างกันหลายแบบ ได้แก่ retinaculiaperti type, rectiflexible type โดยเชื้อแอกติโนไมซีสต์ที่จัดจำแนกอยู่ในกลุ่มนี้มีทั้งหมด จำนวน 23 ไอโซเลท ดังนี้ SSC2-R1, SSC2-R2, SSC2-B1, SSC2-B2, SSC2-B3, SSC2-B4, MWC1-L5, MWC1-R6, MWC2-B1, MWC2-B2, MWC2-B3, MWC2-B4, MWC3-B6, MWC3-B10, MWC3-B11, MWT1-L1, MWT2-L1, MWT2-L7, MWT2-L8, MWT2-L16, MWT3-B4, MWT3-B5 และ MWT3-B20 (ภาพ 7 และ 8)



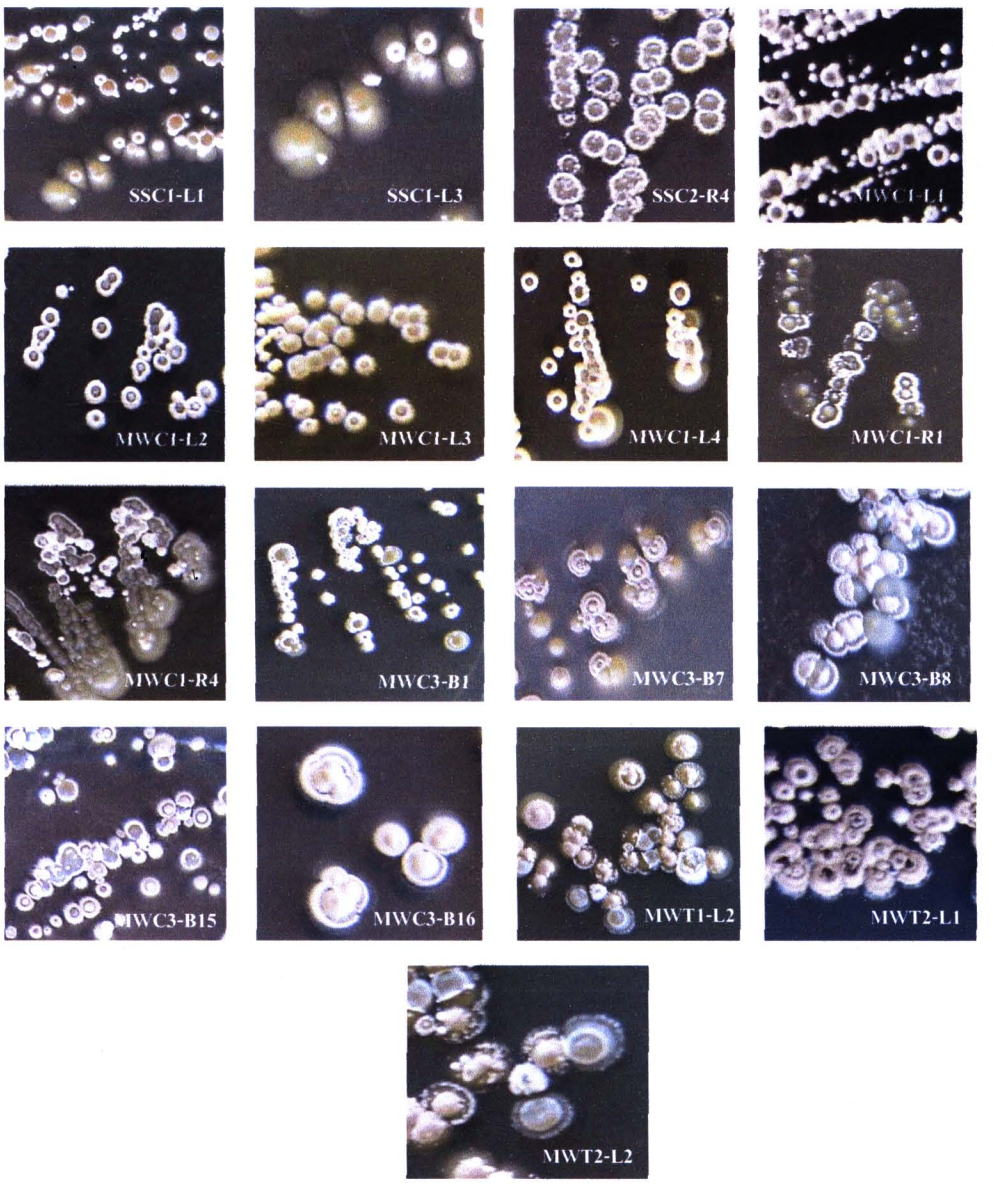
ภาพ 7 ลักษณะและสีของโคโลนีของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ สกุล *Streptomyces* กลุ่มที่ 2 อายุ 7 วัน บนอาหาร Inhibitory Mold Agar 2 (IMA-2)



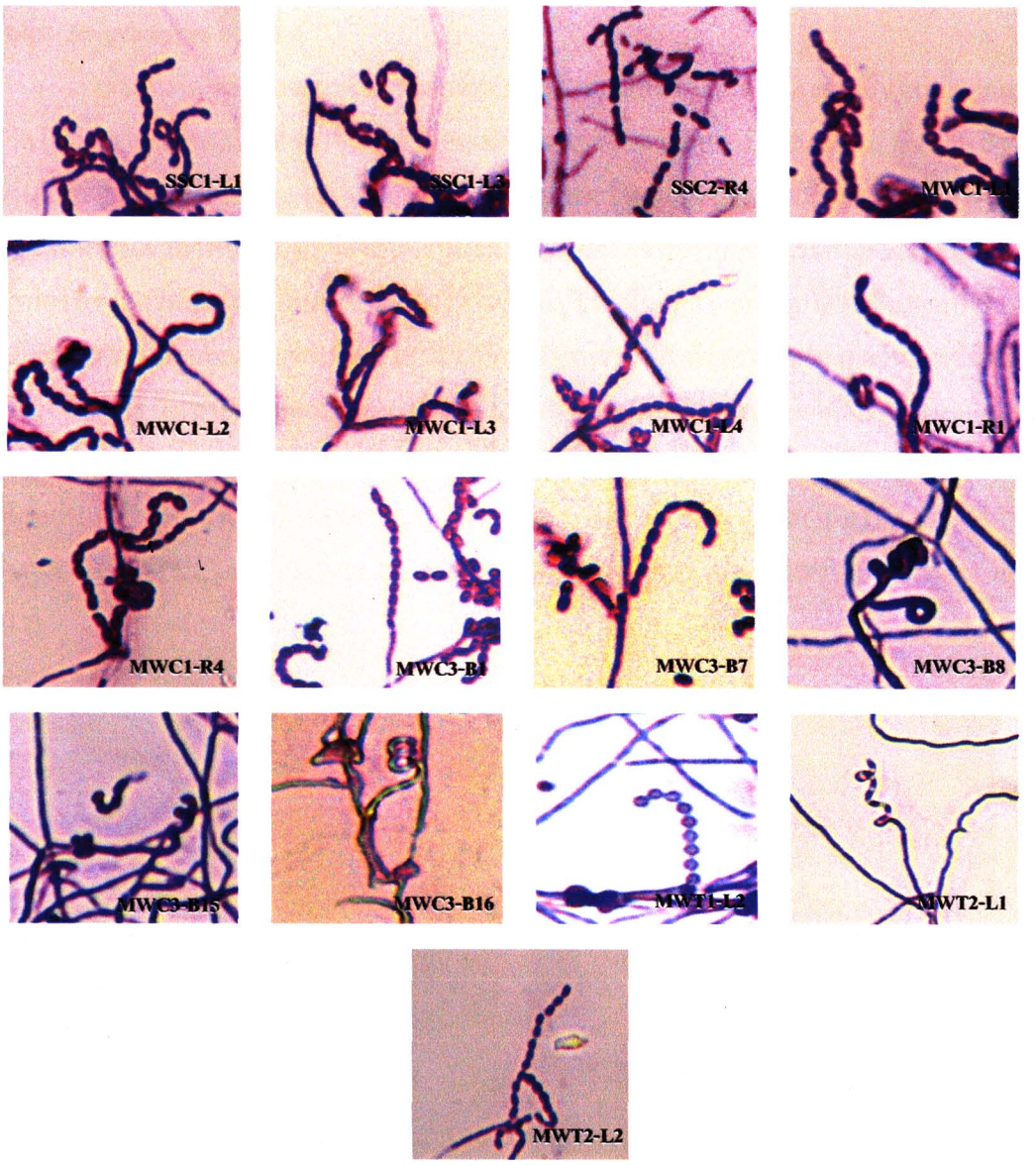
ภาพ 8 ลักษณะการเรียงตัวของสปอร์แบบ retinaculiaperti type และ rectiflexible type ของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ สกุล *Streptomyces* กลุ่มที่ 2 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า

กลุ่ม *Streptomyces* กลุ่มที่ 3

เชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์กลุ่มนี้สร้างโคโลนีเจริญขึ้นบนอาหารและสร้างสปอร์ช้ากว่ากลุ่ม *Streptomyces* กลุ่มที่ 1 และ 2 โดยจะสร้างสปอร์ขึ้นบริเวณรอบ ๆ โคโลนีลักษณะเป็นวงซ้อนกันเป็นชั้น ๆ ลักษณะโคโลนีที่พบเป็นสีขาวขุ่น สีส้มอ่อน สีครีม และสีน้ำตาลอ่อน มี substrate mycelium สีครีม สีขาวขุ่น และสีน้ำตาลอ่อน มี aerial mycelium สร้างสปอร์คล้ายผงแป้งสีขาว สีน้ำตาลอ่อน สีครีมและสีเทาอ่อน เมื่อแก่สปอร์จะเปลี่ยนเป็นผงแป้งสีน้ำตาลและสีเทา เมื่อตรวจสอบลักษณะการเรียงตัวของสปอร์ใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเชื้อสร้างสปอร์ต่อกันเป็นสายยาวโดยมีลักษณะการเรียงตัวที่แตกต่างกันหลายแบบ ได้แก่ retinaculiaperti type, rectiflexible type และ spirale type โดยเชื้อแอกติโนไมซีสต์ที่จัดจำแนกอยู่ในกลุ่มนี้มีทั้งหมด จำนวน 17 ไอโซเลท ดังนี้ SSC2-L1, SSC2-L3, SSC2-R4, MWC1-L1, MWC1-L2, MWC1-L3, MWC1-L4, MWC1-R1, MWC1-R4, MWC3-B1, MWC3-B7, MC3-B8, MWC3-B15, MWC3-B16, MWT1-L2, MWT2-L1 และ MWT2-L2 (ภาพ 9 และ10)



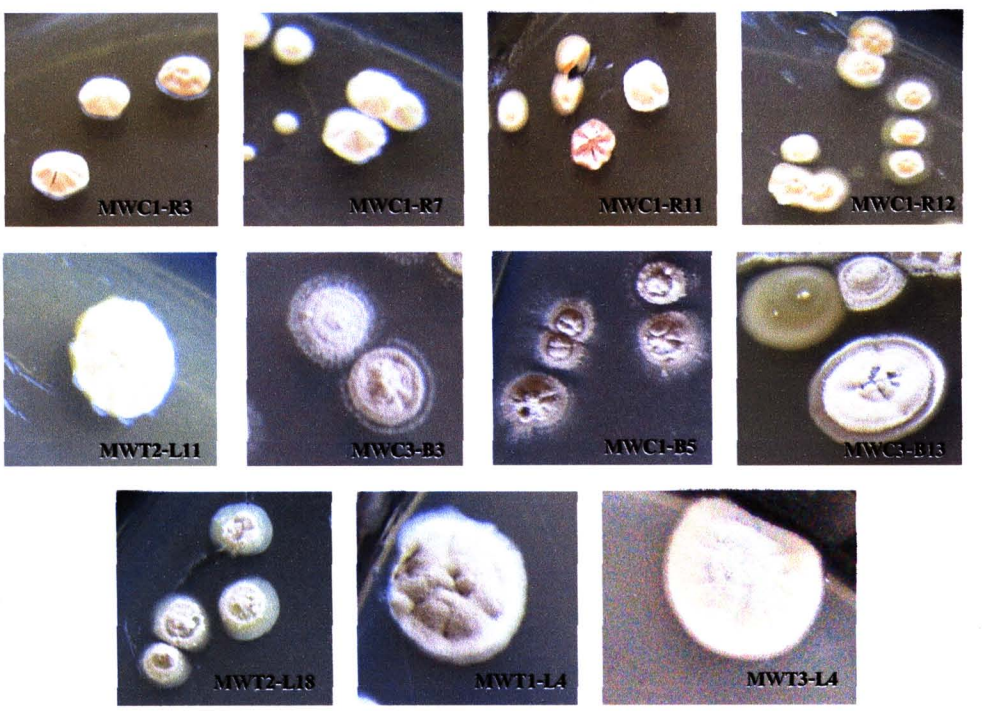
ภาพ 9 ลักษณะและสีของโคโลนีของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ สกุล *Streptomyces* กลุ่มที่ 3 อายุ 7 วัน บนอาหาร Inhibitory Mold Agar 2 (IMA-2)



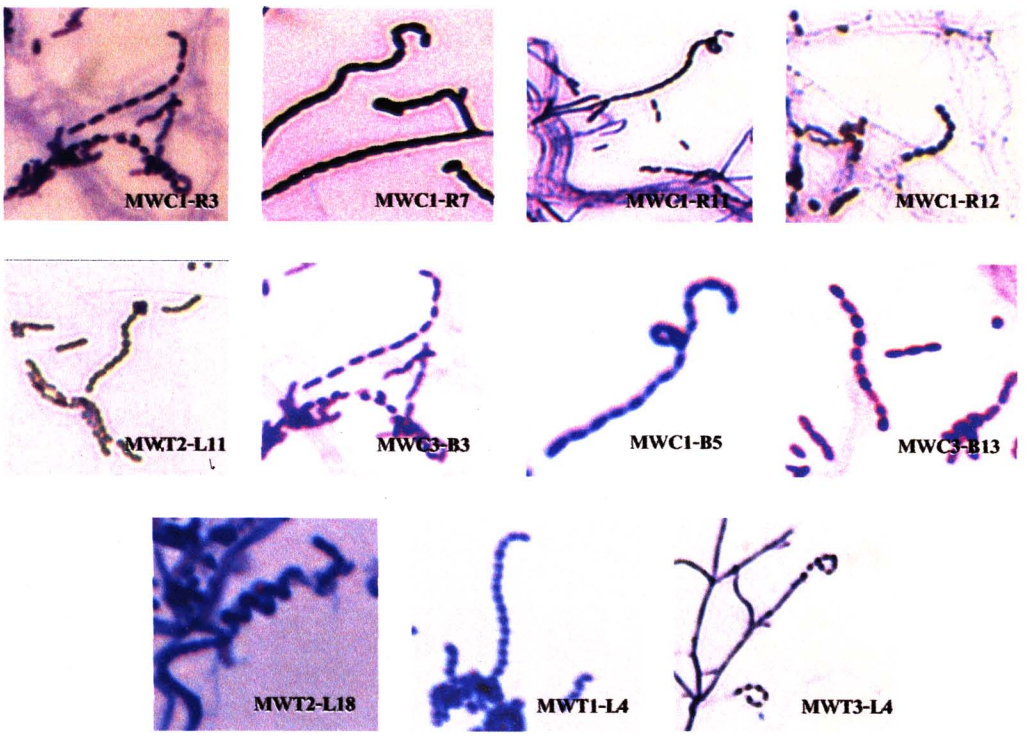
ภาพ 10 ลักษณะการเรียงตัวของสปอร์แบบ retinaculiaperti type, rectiflexible type และ spirale type ของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ สกุล *Streptomyces* กลุ่มที่ 3 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 1000 เท่า

กลุ่ม *Streptomyces* กลุ่มที่ 4

เชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์กลุ่มนี้สร้างโคโลนีที่มีลักษณะผิวย่นเป็นจีบเข้าสู่กลางโคโลนี โคโลนีที่พบเป็นสีขาวขุ่น สีส้มอ่อน สีครีมและสีน้ำตาลอ่อน มี substrate mycelium สีขาวขุ่น และสีน้ำตาลอ่อน มี aerial mycelium สร้างสปอร์คล้ายผงแป้งสีขาว สีส้มอ่อน สีน้ำตาลอ่อน และสีเทาอ่อน โดยพบลักษณะของสปอร์บนโคโลนีมีสีเทาฟูขึ้นมาบนอาหารอย่างชัดเจนและสร้างสปอร์สีขาวครีมและส้มอ่อนแบนติดบนโคโลนีไม่ฟูขึ้น เมื่อแก่สปอร์จะเปลี่ยนเป็นผงแป้งสีเทา เมื่อตรวจสอบลักษณะการเรียงตัวของสปอร์ใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเชื้อสร้างสปอร์ต่อกันเป็นสายยาวโดยมีลักษณะการเรียงตัวที่แตกต่างกันหลายแบบ ได้แก่ retinaculiaperti type, rectiflexible type และ spirale type โดยเชื้อแอกติโนไมซีสต์ที่จัดจำแนกอยู่ในกลุ่มนี้มีทั้งหมดจำนวน 11 ไอโซเลท ดังนี้ MWC1-R3, MWC1-R7, MWC1-R11, MWC1-R12, MWC3-B3, MWC3-B5, MWC3-B13, MWT1-L4, MWT2-L11 , MWT2-L18 และ MWT3-L4 (ภาพ 11 และ 12)



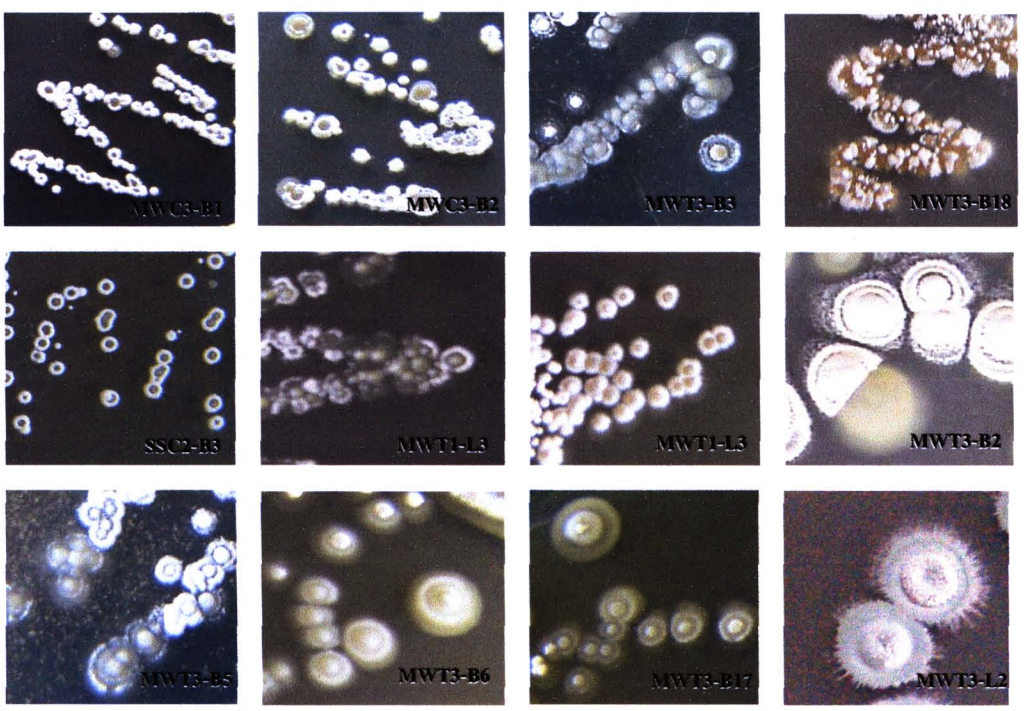
ภาพ 11 ลักษณะและสีของโคโลนีของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ สกุล *Streptomyces* กลุ่มที่ 4 อายุ 7 วัน บนอาหาร Inhibitory Mold Agar 2 (IMA-2)



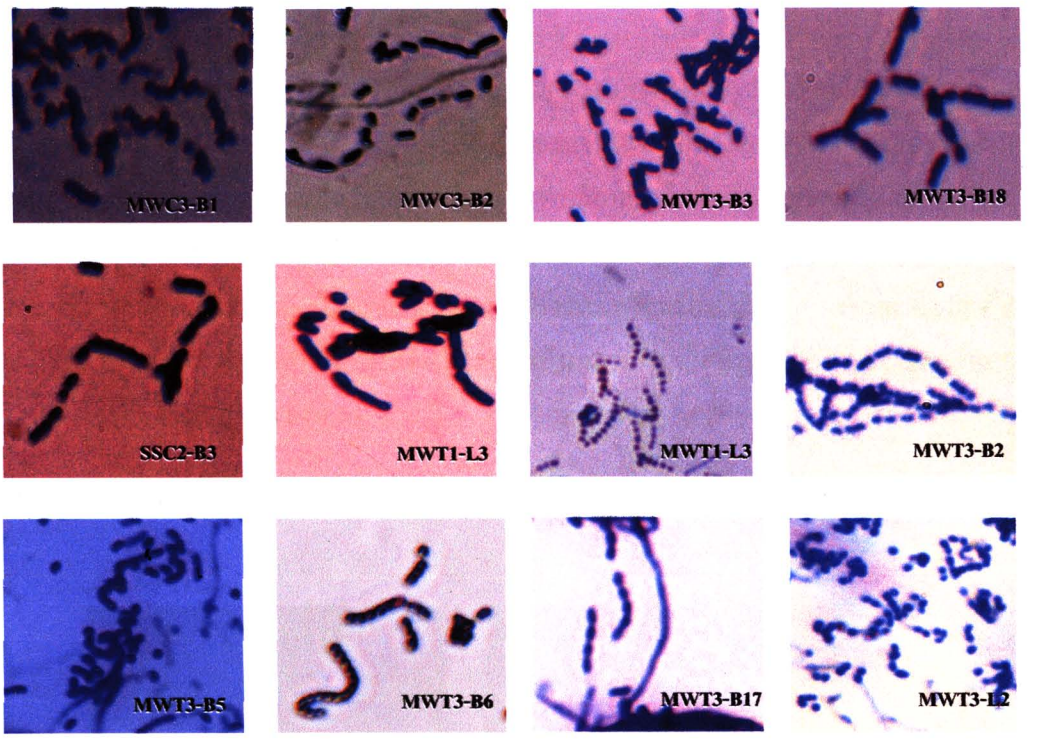
ภาพ 12 ลักษณะการเรียงตัวของสปอร์แบบ retinaculiaperti type, rectiflexible type และ spirale type ของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ สกุล *Streptomyces* กลุ่มที่ 4 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 1000 เท่า

กลุ่มสกุล *Nocardia*

เชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ กลุ่มสกุล *Nocardia* สร้างโคโลนีและสปอร์ช้ากว่ากลุ่ม *Streptomyces* โคโลนีที่พบเป็น สีส้ม สีครีมและสีน้ำตาลอ่อน มี substrate mycelium สีขาวครีมและสีน้ำตาลอ่อน มี aerial mycelium สร้างสปอร์คล้ายผงแป้งสีขาว สีขาวครีม สีน้ำตาลอ่อน สีเทาและสีเขียวขี้ม้า บางโคโลนีพบขอบของโคโลนีมีลักษณะคล้ายเส้นใยของเชื้อราแผ่ออกมา และพบการสร้างสปอร์ขึ้นบริเวณรอบ ๆ โคโลนีลักษณะเป็นวงซ้อนกันเป็นชั้น ๆ เมื่อแก่สปอร์จะเปลี่ยนเป็นผงแป้งสีเทา เขียวเข้ม เมื่อตรวจสอบลักษณะการเรียงตัวของสปอร์ใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเชื้อสร้างสปอร์ต่อกันเป็นสายยาวรูปร่างไม่แน่นอน แบบ irregularly zig-zagged บางไอโซเลท สปอร์เกิดการแตกหัก เชื้อแอกติโนไมซีสต์ ที่จัดจำแนกอยู่ในกลุ่มนี้มีทั้งหมด จำนวน 12 ไอโซเลท ดังนี้ SSC2-B3, MWC3-B1, MWC3-B2 MWT1-L3, MWT3-L2, MWT3-L3, MWT3-B2, MWT3-B3, MWT3-B5, MWT3-B6, MWT3-B17 และ MWT3-B18 (ภาพ 13 และ14)



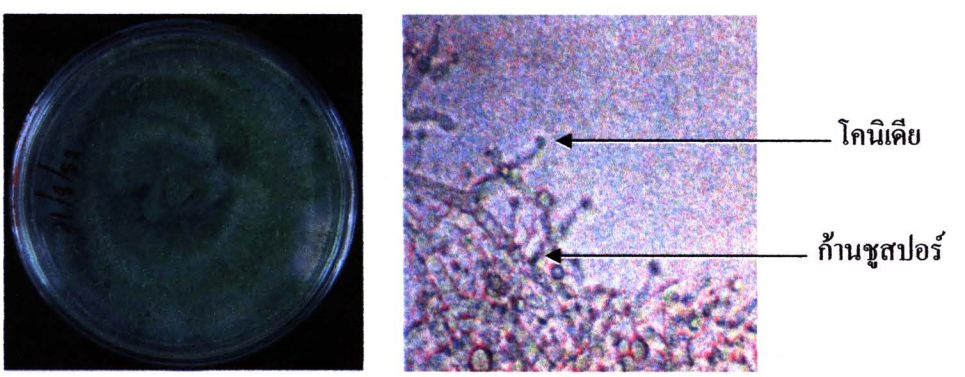
ภาพ 13 ลักษณะและสีของโคโลนีของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ กลุ่มสกุล *Nocardia* อายุ 10 วัน บนอาหาร Inhibitory Mold Agar 2 (IMA-2)



ภาพ 14 ลักษณะการเรียงตัวของสปอร์เป็นสายยาวรูปร่างไม่แน่นอน และสปอร์ที่เกิดการแตกหักของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ กลุ่มสกุล *Nocardia* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า

2. การเตรียมเชื้อรา *Trichoderma harzianum*

เลี้ยงเชื้อรา *T. harzianum* โดยใช้เชื้อราในรูปแบบผงสำเร็จรูปใช้สำหรับผลิตเป็นเชื้อสด ผลิตโดย บริษัท ยูนิเซฟจำกัด นำผงเชื้อมาเลี้ยงบนอาหาร PDA ปริมาณผงเชื้อ 1 กรัม/1 จานอาหาร PDA เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 7 วัน พบลักษณะโคโลนีเจริญรวดเร็ว บริเวณที่สร้างสปอร์มีสีเขียวปนขาว แล้วเปลี่ยนเป็นสีเข้มขึ้น สีของอาหารใต้โคโลนีไม่เปลี่ยนแปลง เส้นใยแตกแขนงมีผนังกั้น ไม่มีสี พบ chlamydospore มีรูปร่างกลม ผิวเรียบ เกิดระหว่างและปลายเส้นใย phailide มีรูปร่างรูปร่างคล้ายลูกพินโบว์ลิ่ง เกิดเป็นกลุ่มโคนิเดียมีรูปร่างกลม มีสีเขียวอ่อนเมื่อรวมกันจะมีสีเขียวเข้มขึ้น (ภาพ 15)



ก. ข.

ภาพ 15 ลักษณะโครงสร้างของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* บนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA)

ก. ลักษณะโคโลนีอายุ 7 วัน บนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA)

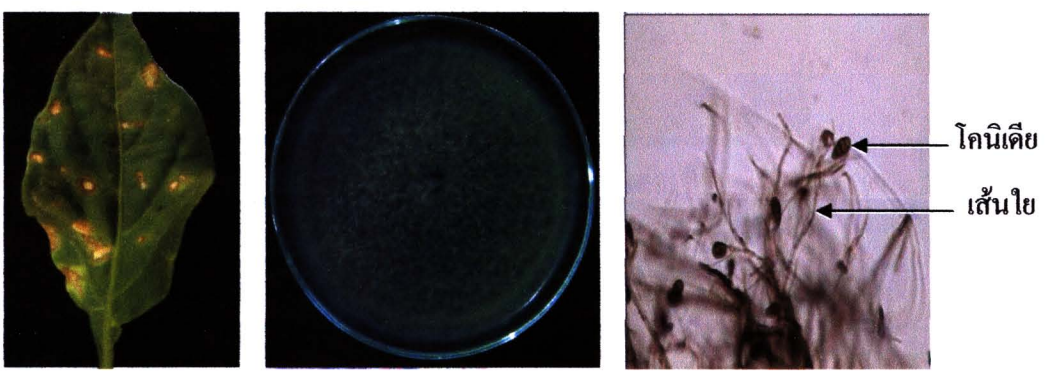
ข. ลักษณะทางสัณฐานวิทยา : โคนิเดียและก้านชูสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

3. การเก็บเชื้อและการแยกเชื้อราสาเหตุของโรคใบจุด และโรคเหี่ยวของพริกและมะเขือเทศ

เก็บรวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดและโรคเหี่ยว คือ เชื้อรา *Alternaria* sp. และเชื้อรา *F. oxysporum* จากพริกและมะเขือเทศ

3.1 การแยกเชื้อรา *Alternaria* sp. สาเหตุโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ

แยกเชื้อรา *Alternaria* sp. ได้จากใบพริกที่เกิดอาการใบจุด ลักษณะอาการของโรค พบจุดแผลสีน้ำตาลขนาดประมาณ 5 มิลลิเมตร ลักษณะแผลขยายออกเป็นวงซ้อน ๆ กัน มีบริเวณสีเหลืองล้อมรอบแผล จากการทำการแยกเชื้อรา *Alternaria* sp. จากใบพริก เลี้ยงเชื้อบนอาหาร PDA เป็นระยะเวลา 10 วัน พบลักษณะโคโลนีสีน้ำตาลดำ เมื่อตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบลักษณะเส้นใยสีน้ำตาลอ่อน มีผนังกั้นภายใน ลักษณะโคนิเดียสีน้ำตาลเข้ม รูปทรงกระบอกมีผนังกั้นตามขวางและตามยาวโคนิเดียต่อกันเป็นลูกโซ่หรือเกิดเดี่ยว ๆ (ภาพ 16)



ก. ข. ค.

ภาพ 16 ลักษณะอาการของโรคใบจุดของพริก และโครงสร้างของเชื้อรา *Alternaria* sp. บนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA)

ก. ลักษณะแผลของโรคใบจุดของพริก

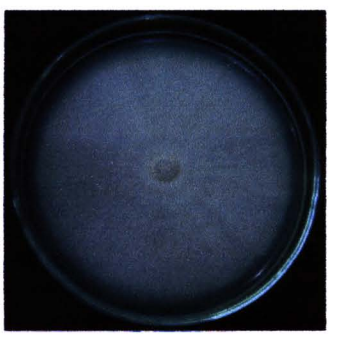
ข. ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Alternaria* sp. อายุ 10 วัน บนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA)

ค. ลักษณะทางสัณฐานวิทยา : โคนิเดียและเส้นใย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

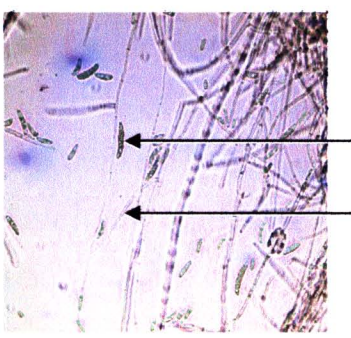
3.2 การแยกเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ

แยกเชื้อราจากตัวอย่างต้นมะเขือเทศที่เป็นโรคเหี่ยว ลักษณะอาการของโรคที่พบ ใบและกิ่งก้านเหี่ยวห้อยลู่ลงโดยพบอาการบริเวณส่วนล่างของต้นเป็นส่วนใหญ่ ใบมีลักษณะสีเหลืองซีด บางใบเหี่ยวเป็นสีน้ำตาลแห้ง เมื่อผ่าลำต้นดูจะพบบริเวณท่อน้ำท่ออาหารถูกทำลายเป็นสีน้ำตาลอ่อน เมื่อทำการแยกเชื้อจนได้เชื้อบริสุทธิ์เลี้ยงเชื้อรา *F. oxysporum* บนอาหาร PDA เป็นระยะเวลา 10 วัน พบลักษณะโคโลนีสีขาว เส้นใยฟู เมื่อตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบลักษณะเส้นใยผอมบางไม่มีสี พบโคนิเดียเป็นแบบ microconidia มี 1 เซลล์ รูปไข่ บางอันอาจมี 2-3 เซลล์ และ macroconidia มีหลายเซลล์ ปลายโค้งงอเล็กน้อย มีผนังกั้นภายใน (ภาพ 17)

ก.



ข.



ค.

ภาพ 17 ลักษณะอาการของโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ และโครงสร้างของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* บนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA)

ก. ลักษณะใบเหลืองและท่อน้ำท่ออาหารถูกทำลายเป็นสีน้ำตาลอ่อน

ข. ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* อายุ 10 วัน

ค. ลักษณะทางสัณฐานวิทยา : โคนิเดียและเส้นใย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

4. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์และเชื้อรา *Trichoderma hatzianum* ในการควบคุมเชื้อรา *Alternaria* sp. และ *Fusarium oxysporum* สาเหตุของโรคใบจุดและโรคเหี่ยวของพริกและมะเขือเทศ

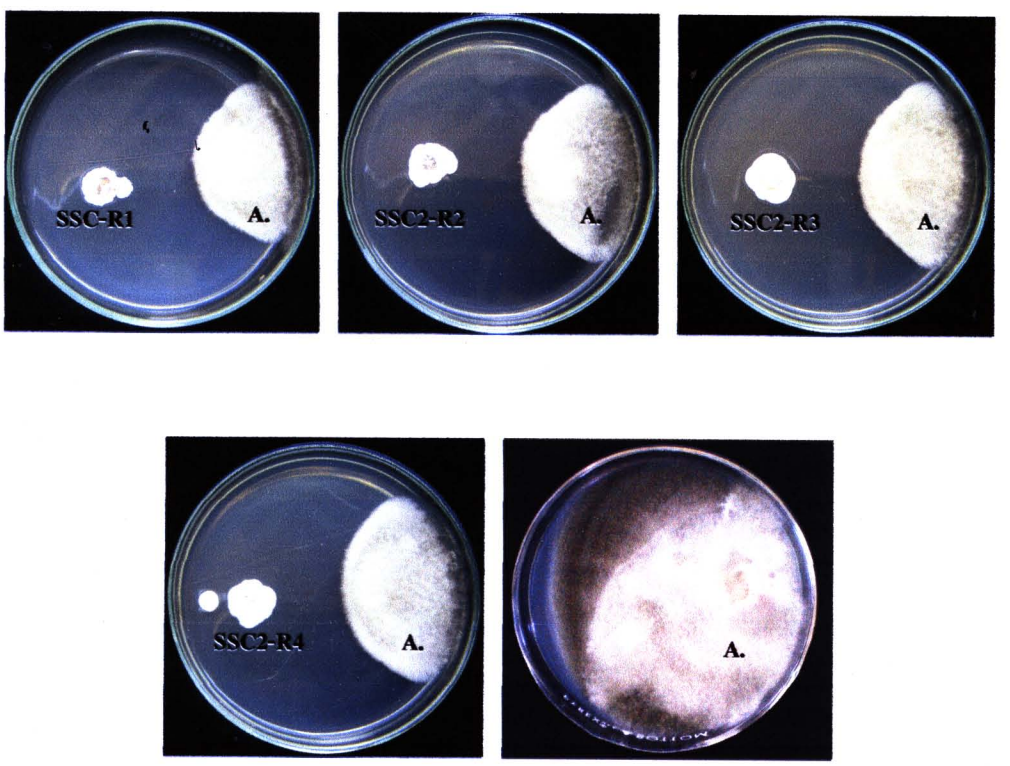
การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ ในการควบคุมเชื้อรา *Alternaria* sp. และ *Fusarium oxysporum* สาเหตุของโรคใบจุด ของพริกและมะเขือเทศ

นำเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ ที่แยกจากพริกและมะเขือเทศ มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. และ *F. oxysporum* โดยวิธี dual culture พบว่าเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. อยู่ระหว่าง 0-80.52 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อรา *F. oxysporum* อยู่ระหว่าง 0-81.50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำการวัดค่าความเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ สามารถประมาณค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดังนี้ เชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp. ในระดับการยับยั้งสูงมาก มีประสิทธิภาพในการยับยั้งมากกว่า 75 เปอร์เซ็นต์ พบปริมาณ 2.10 เปอร์เซ็นต์ ในระดับการยับยั้งสูง มีประสิทธิภาพในการยับยั้งอยู่ระหว่าง 61 – 75 เปอร์เซ็นต์ พบปริมาณ 5.26 เปอร์เซ็นต์ ในระดับการยับยั้งปานกลาง มีประสิทธิภาพในการยับยั้งอยู่ระหว่าง 51 – 60 เปอร์เซ็นต์ พบปริมาณ 10.56 เปอร์เซ็นต์และในระดับการยับยั้งต่ำ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ พบปริมาณ 82.10 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* ในระดับการยับยั้งสูงมาก มีประสิทธิภาพในการยับยั้งมากกว่า 75 เปอร์เซ็นต์ พบปริมาณ 1.05 เปอร์เซ็นต์ ในระดับการยับยั้งสูง มีประสิทธิภาพในการยับยั้งอยู่ระหว่าง 61 – 75 เปอร์เซ็นต์ พบปริมาณ 5.26 เปอร์เซ็นต์ ในระดับการยับยั้งปานกลาง มีประสิทธิภาพในการยับยั้งอยู่ระหว่าง 51 – 60 เปอร์เซ็นต์ พบปริมาณ 16.84 เปอร์เซ็นต์และในระดับการยับยั้งต่ำ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ พบปริมาณ 76.84 เปอร์เซ็นต์

เมื่อจำแนกเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ ตามชนิดของพืชและพื้นที่ปลูกต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้งสองชนิด พบว่าเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ ที่แยกได้จากพริกที่ปลูกในอำเภอแม่แจ่ม (MJC) ทั้งหมด 2 ไอโซเลท ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้งสองชนิดได้เลย

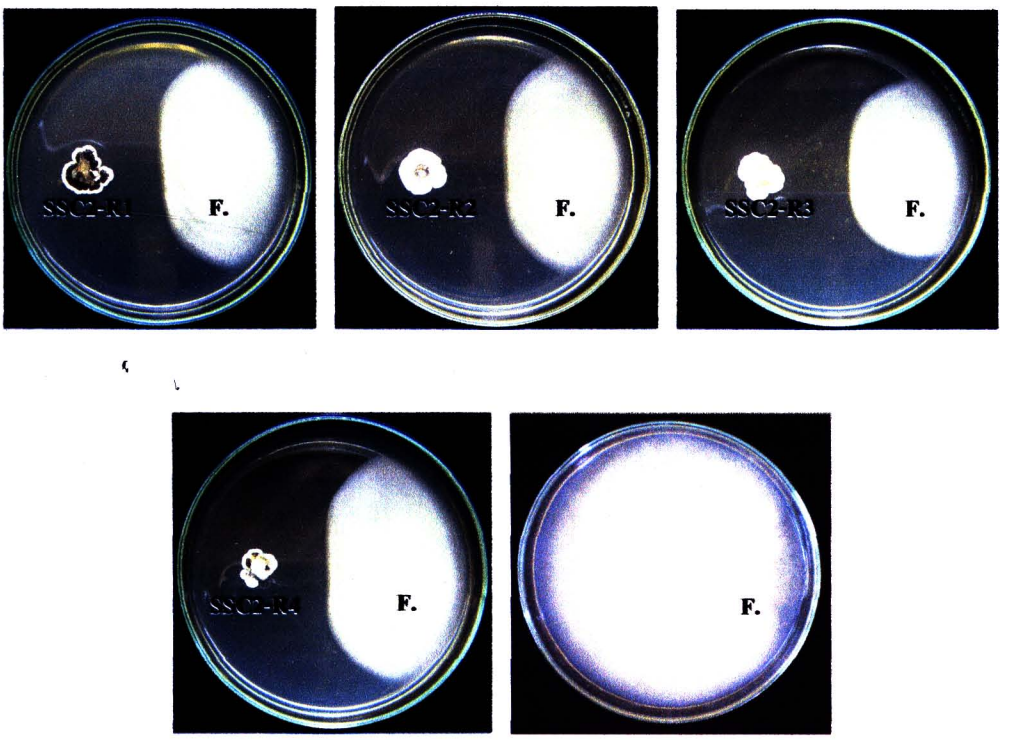
เชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ ที่แยกได้จากพริกที่ปลูกในอำเภอสันทรายทั้ง 2 พื้นที่ (SSC1 และSSC2) ทั้งหมด 12 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพในยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. อยู่ระหว่าง 15.67-80.52 เปอร์เซ็นต์และเชื้อรา *F. oxysporum* อยู่ระหว่าง 42.75-81.50 เปอร์เซ็นต์

โดยพบว่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 2 ชนิดมีความแตกต่างกันและแตกต่างจากชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อีกทั้งเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ ที่แยกได้จากรากของพริกที่ปลูกในอำเภอสันทรายพื้นที่ที่ 2 ทั้งหมด 4 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท SSC2-R1, SSC2-R2, SSC2-R3 และ SSC2-R4 เป็นกลุ่มเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้ง 2 ชนิด อยู่ในระดับการยับยั้งสูงและสูงมาก (ภาพ 18 และ 19)



ชุดควบคุม

ภาพ 18 ประสิทธิภาพของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ ไอโซเลท SSC2-R1, SSC2-R2, SSC2-R3 และ SSC2-R4 ที่แยกได้จากรากของพริก ที่ปลูกในอำเภอสันทรายพื้นที่ที่ 2 ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. (A.) ระยะเวลา 10 วัน



ภาพ 19 ประสิทธิภาพของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ ไอโซเลท SSC2-R1, SSC2-R2, SSC2-R3 และ SSC2-R4 ที่แยกได้จากรากของพริก ที่ปลูกในอำเภอสันทรายพื้นที่ที่ 2 ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* (F.) ระยะเวลา 10 วัน

เชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ ที่แยกได้จากพริกที่ปลูกในอำเภอแม่วางทั้ง 3 พื้นที่ (MWC1, MWC2 และMWC3) ทั้งหมด 41 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. อยู่ระหว่าง 0-63.10 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อรา *F. oxysporum* อยู่ระหว่าง 0-62.14 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่าความสามารถในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 2 ชนิดมีความแตกต่างกันและแตกต่างจากชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ ที่แยกได้จากมะเขือเทศที่ปลูกในอำเภอแม่วางทั้ง 3 พื้นที่ (MWT1, MWT2 และ MWT3) ทั้งหมด 40 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. อยู่ระหว่าง 0-65.35 เปอร์เซ็นต์และเชื้อรา *F. oxysporum* อยู่ระหว่าง 0-57.23 เปอร์เซ็นต์โดยพบว่าความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้ง 2 ชนิดมีความแตกต่างกันและแตกต่างจากชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากผลการคัดเลือกเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. และ *F. oxysporum* ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญตั้งแต่ 50 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไปมีจำนวน 17 ไอโซเลท และ 22 ไอโซเลท ตามลำดับ โดยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราในระดับปานกลางถึงระดับสูงมาก และเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ ที่ให้ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้ง 2 ชนิดได้สูงที่สุดและมีประสิทธิภาพในการยับยั้งมากกว่า 75 เปอร์เซ็นต์อยู่ในระดับการยับยั้งสูงมาก คือ ไอโซเลท SSC2-R1 ซึ่งแยกได้จากรากพริกที่ปลูกในอำเภอสันทรายพื้นที่ที่ 2 โดยพบว่ามีความสามารถในการยับยั้งเชื้อราทั้ง 2 ชนิดได้ 80.53 และ 81.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3 และ 4)

ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ จำนวน 17 ไอโซเลท ที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. ตั้งแต่ 50 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป

เชื้อแอกติโนไมซีสต์ (ไอโซเลท)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง[1]
SSC1-L1	53.65[fgh2]
SSC1-L3	51.68[h]
SSC2-B1	59.10[de]
SSC2-B2	52.08[gh]
SSC2-B3	56.70[ef]
SSC2-R1	80.53[a]
SSC2-R2	73.65[b]
SSC2-R3	75.93[b]
SSC2-R4	74.70[b]
MWC1-L3	51.18[h]
MWC1-L4	56.35[efg]
MWC1-R4	63.10[cd]
MWC1-R5	55.65[efgh]
MWC2-B1	65.35[c]
MWC3-B2	53.68[fgh]
MWC3-B8	63.70[c]
MWC3-B16	53.23[fgh]
CV (%)	5.25
LSD = 0.05	4.56

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Least-significant difference ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ จำนวน 22 ไอโซเลท ที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* ตั้งแต่ 50 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป

เชื้อแอกติโนไมซีสต์ (ไอโซเลท)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง[1]
SSC1-L1	57.89[ef2]
SSC1-L3	51.90[hi]
SSC2-B1	61.77[d]
SSC2-B3	51.35[i]
SSC2-R1	81.50[a]
SSC2-R2	69.55[c]
SSC2-R3	74.80[b]
SSC2-R4	68.73[c]
MWC2-B2	55.40[fg]
MWC2-B3	52.32[ghi]
MWC3-B1	57.25[ef]
MWC3-B2	54.45[fghi]
MWT1-L1	54.65[fghi]
MWT2-L2	62.14[d]
MWT2-L7	59.28[de]
MWT2-L8	55.28[fgh]
MWT3-L3	52.35[ghi]
MWT3-B1	52.40[ghi]
MWT3-B7	57.23[ef]
MWT3-B10	53.33[ghi]
MWT3-B15	51.48[i]
MWT3-B17	52.95[ghi]
CV (%)	4.23
LSD = 0.05	3.50

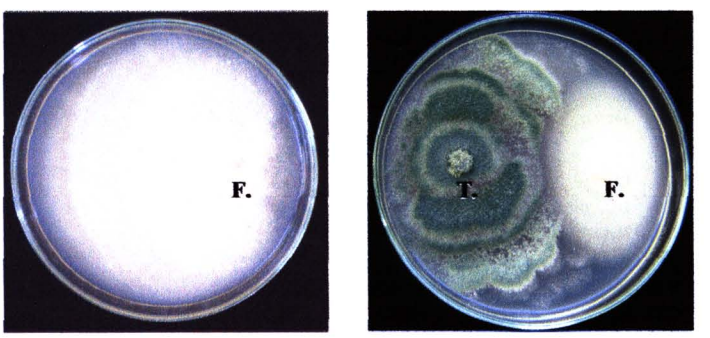
[1] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Least-significant difference ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ในการควบคุมเชื้อรา *Alternaria* sp. และ *Fusarium oxysporum* สาเหตุของโรคใบจุดและโรคเหี่ยวของพริกและมะเขือเทศ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. harzianum* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. และ *F. oxysporum* โดยวิธี dual culture พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. และ *F. oxysporum* ในระดับการยับยั้งสูงมาก โดยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งมากกว่า 75 เปอร์เซ็นต์ โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. ได้ 75.66 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* ได้ 86.75 เปอร์เซ็นต์ (ภาพ 20)

ชุดควบคุม ก.



ชุดควบคุม ข.

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

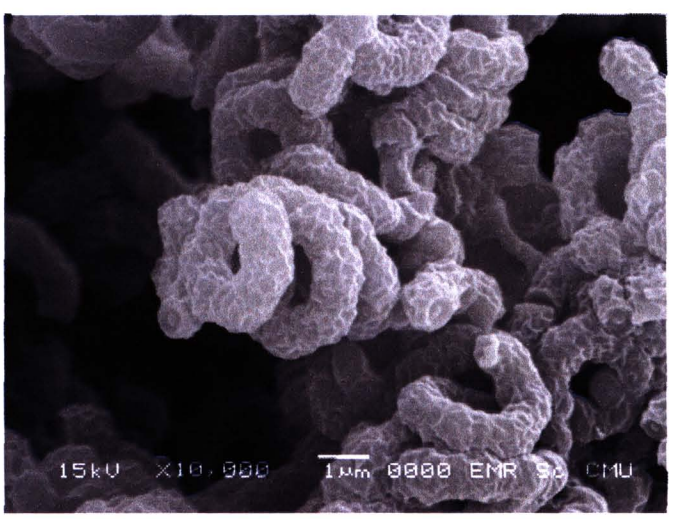
ภาพ 20 ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. และ *Fusarium oxysporum* ระยะเวลา 10 วัน

ก. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. harzianum* (T.) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. (A.)

ข. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. harzianum* (T.) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* (F.)

5. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ ไอโซเลท SSC2-R1 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning Electron Microscopy, SEM)

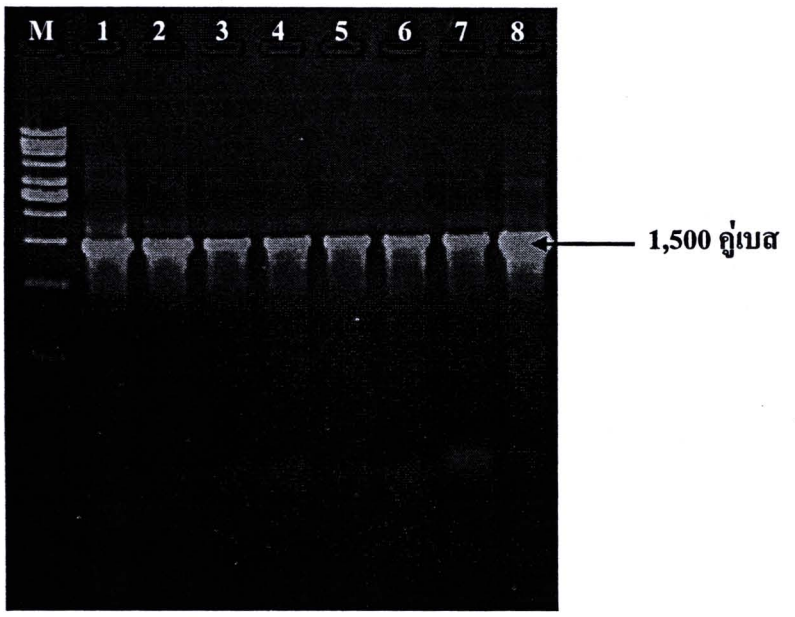
จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ จำนวน 95 ไอโซเลท ในการควบคุมเชื้อรา *Alternaria* sp. และ *F. oxysporum* สาเหตุของโรคใบจุด และโรคเหี่ยวของพริกและมะเขือเทศ พบว่าเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ ไอโซเลท SSC2-R1 มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Alternaria* sp. และ *F. oxysporum* ได้ดีที่สุด จึงได้ทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ ไอโซเลท SSC2-R1 ภายใต้กล้อง SEM สามารถอธิบายลักษณะของเชื้อได้ ดังนี้ เชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ ไอโซเลท SSC2-R1 ที่กำลังขยาย 10000 เท่า พบมีสปอร์ลักษณะเป็นท่อนสั้น ๆ ผิวของสปอร์หยาบขรุขระ สปอร์เรียงต่อกันเป็นสายสั้นถึงยาวแบบ spirales type (ภาพ 21) ซึ่งเชื้อมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาคล้ายกับเชื้อแอกติโนไมซีสต์ สกุล *Streptomyces*



ภาพ 21 ลักษณะสปอร์เรียงต่อกันเป็นสายสั้นถึงยาวแบบ spirales type ของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ ไอโซเลท SSC2-R1 ภายใต้กล้อง SEM ที่กำลังขยาย 10000 เท่า

6. การวิเคราะห์ดีเอ็นเอของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ ด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP)

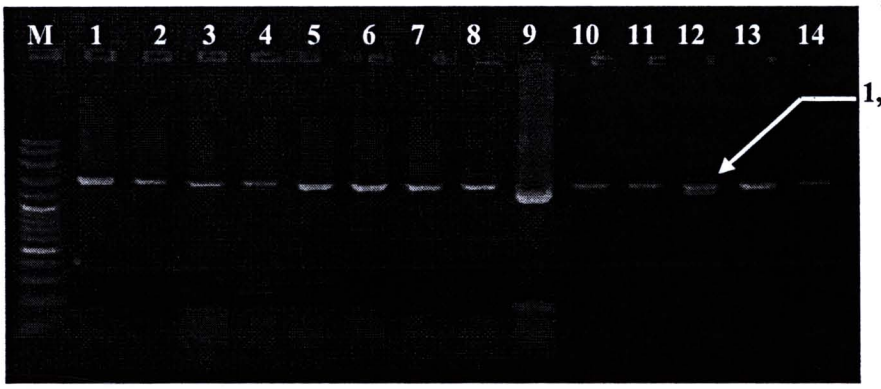
จากการสกัดดีเอ็นเอของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ ที่แยกได้จากใบ กิ่งและราก ของต้นพริกและมะเขือเทศ จำนวน 95 ไอโซเลท จากการตรวจปริมาณดีเอ็นเอ โดยการทำอิเลคโตรโฟรีซีส ในอะกาโรสเจล 1 เปอร์เซนต์ เพื่อตรวจสอบคุณภาพและปริมาณของดีเอ็นเอเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน โดยนำดีเอ็นเอมาเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยา PCR ร่วมกับ ไพรเมอร์ F1 (5'-AGAGTTTGATCITGGCTCAG-3') และ R5 (5'-ACGGITACCTTGTTACGACTT-3') บริเวณยีนที่ตำแหน่ง 16S rDNA ของเชื้อแอกติโนไมซีสต์ พบว่าได้ผลิตภัณฑ์ PCR ขนาดประมาณ 1,500 คู่เบส (ภาพ 22) เมื่อนำเอาผลผลิตของ PCR มาย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 5 ชนิด คือ *Sph*I, *Kpn*I, *Pst*I, *Sca*I และ *Kzo* 91 หลังจากการย่อยผลผลิตของ PCR ด้วยเอนไซม์แล้วทำการตรวจสอบผลบนอะกาโรสเจล อิเลคโตรโฟรีซิส พบว่าเมื่อใช้เอนไซม์ *Sph*I ย่อยผลผลิตของ PCR ได้แถบดีเอ็นเอ 2 รูปแบบ คือ แบบที่ 1 ดีเอ็นเอไม่ถูกย่อยได้ดีเอ็นเอที่มีขนาด 1,500 คู่เบส และแบบที่ 2 ได้ดีเอ็นเอที่มีขนาด 1,050 และ 450 คู่เบส (ภาพ 23) ใช้เอนไซม์ *Kpn*I ย่อยผลผลิตของ PCR ได้แถบดีเอ็นเอที่มีขนาด 1,050 และ 450 คู่เบส (ภาพ 24) ใช้เอนไซม์ *Pst*I ย่อยผลผลิตของ PCR ได้แถบดีเอ็นเอ 4 รูปแบบ คือ แบบที่ 1 ดีเอ็นเอไม่ถูกย่อยได้ดีเอ็นเอที่มีขนาด 1,500 คู่เบส แบบที่ 2 ได้ดีเอ็นเอที่มีขนาด 1,050 และ 450 คู่เบส แบบที่ 3 ได้ดีเอ็นเอที่มีขนาดประมาณ 900, 500 และ 100 คู่เบส และแบบที่ 4 ได้ดีเอ็นเอที่มีขนาด 850 และ650 คู่เบส (ภาพ 25) ใช้เอนไซม์ *Sca*I ย่อยผลผลิตของ PCR พบว่าดีเอ็นเอไม่ถูกย่อยได้ดีเอ็นเอที่มีขนาด 1,500 คู่เบส (ภาพ 26) และใช้เอนไซม์ *Kzo* 91 ย่อยผลผลิตของ PCR ได้แถบดีเอ็นเอ 4 รูปแบบ คือ แบบที่ 1 ดีเอ็นเอไม่ถูกย่อยได้ดีเอ็นเอที่มีขนาด 1,500 คู่เบส แบบที่ 2 ได้ดีเอ็นเอที่มีขนาดประมาณ 800, 300, 200 และ 100 คู่เบส แบบที่ 3 ได้ดีเอ็นเอที่มีขนาดประมาณ 650, 650 และ 200 คู่เบส และแบบที่ 4 ได้ดีเอ็นเอที่มีขนาด 650, 550, 200 และ 100 คู่เบส (ภาพ 27)



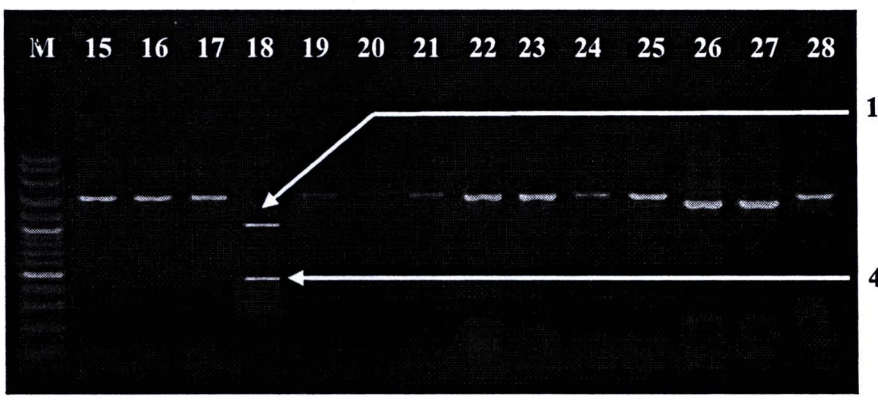
ภาพ 22 ลักษณะแถบดีเอ็นเอของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ จำนวน 8 ไอโซเลท ขนาด 1,500 คู่เบส โดยนำดีเอ็นเอมาเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยา PCR รวมกับ ไพรเมอร์ F1 และ ไพรเมอร์ R5 บริเวณยีนที่ตำแหน่ง 16S rDNA

M : marker 1 kb ladder

ไอโซเลทที่ 1-8 ได้แก่ ไอโซเลท MJC-B1, MJC-B2, SSC2-L1, SSC2-L2, SSC2-L3, SSC2-L4, SSC2-B1 และ SSC2-B2



ก.



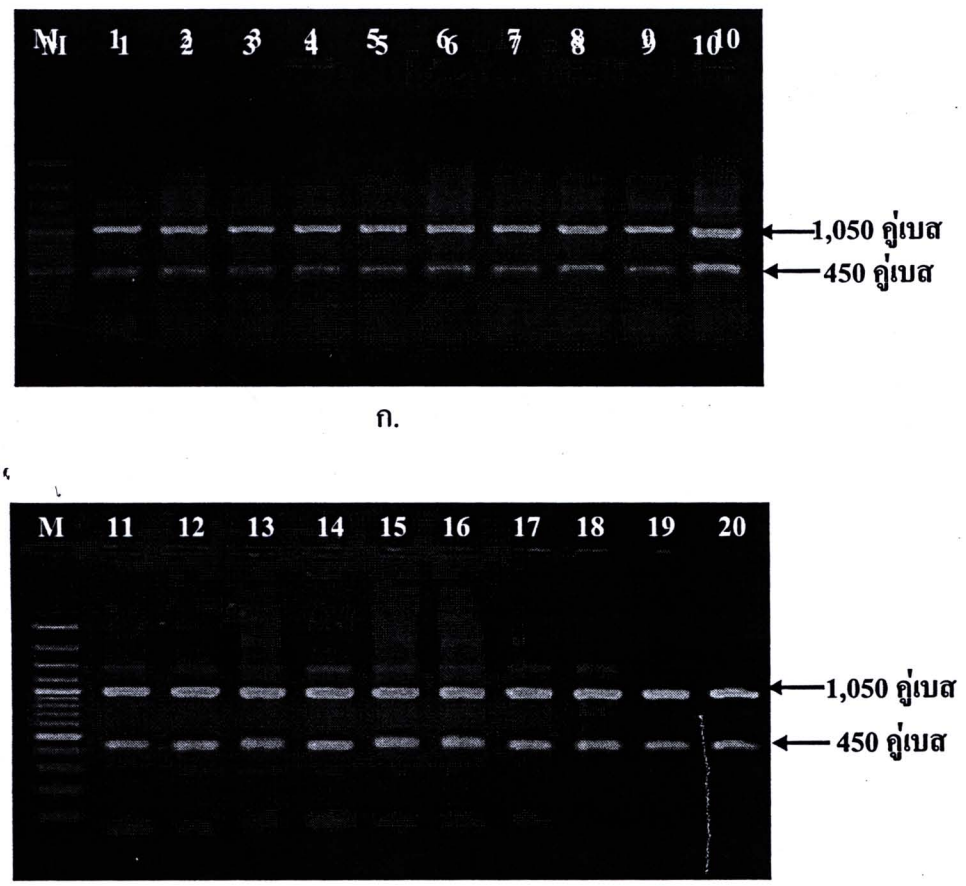
ข.

ภาพ 23 ลักษณะแถบดีเอ็นเอของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ จำนวน 28 ไอโซเลท ที่แยก
ด้วยเทคนิค PCR-RFLP โดยใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ *Sph*I

M : marker 1 kb ladder

ก. : ไอโซเลทที่ 1-14 ได้แก่ ไอโซเลท MWC2-R3, MWC3-B4, MWC3-B5, MWC3-B6, MWC3-B7, MWC3-B8, MWC3-B9, MWC3-B10, MWC3-B11, MWC3-B12, MWC3-B13, MWC3-B14 และ MWT1-L1

ข. : ไอโซเลทที่ 15-28 ได้แก่ ไอโซเลท MWT2-L1, MWT2-L2, MWT2-L5, MWT2-L6, MWT2-L7, MWT2-L8, MWT2-L11, MWT2-L14, MWT2-L16, MWT2-L17, MWT2-L18, MWT3-L2, MWT3-L3 และ MWT3-L4

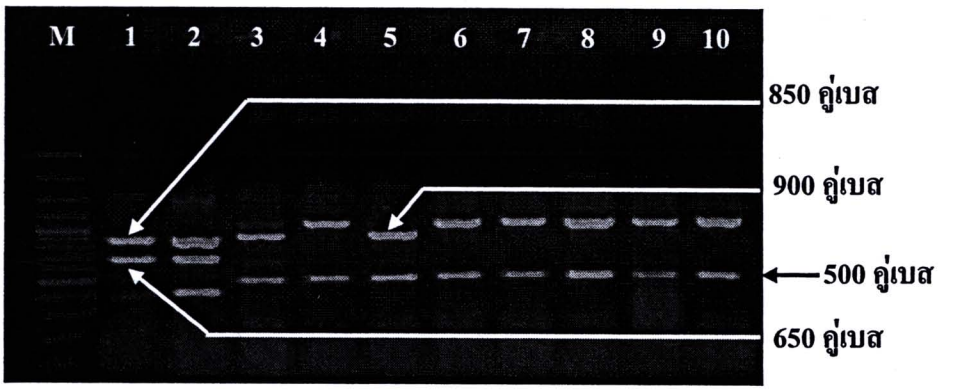


ภาพ 24 ลักษณะแถบดีเอ็นเอของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ จำนวน 20 ไอโซเลท ที่แยกด้วยเทคนิค PCR-RFLP โดยใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ *Kpn*I

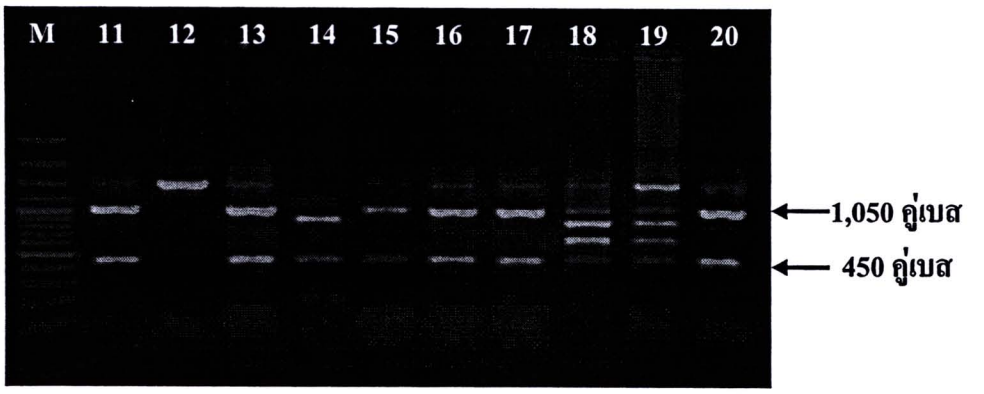
M : marker 1 kb ladder

ก : ไอโซเลทที่ 1-10 ได้แก่ ไอโซเลท MWC2-R3, MWC3-B4, MWC3-B5, MWC3-B6, MWC3-B7, MWC3-B8, MWC3-B9, MWC3-B10, MWC3-B11 และ MWC3-B12

ข.: ไอโซเลทที่ 11-20 ได้แก่ ไอโซเลท MWT2-L1, MWT2-L2, MWT2-L5, MWT2-L6, MWT2-L7, MWT2-L8, MWT2-L11, MWT2-L14, MWT2-L16 และ MWT2-L17



ก.



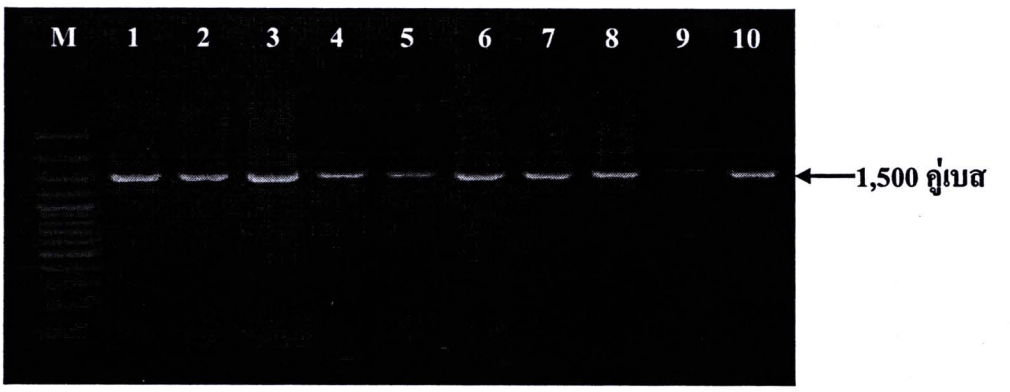
ข.

ภาพ 25 ลักษณะแถบดีเอ็นเอของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ จำนวน 20 ไอโซเลท ที่แยกด้วยเทคนิค PCR-RFLP โดยใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ *Pst*I

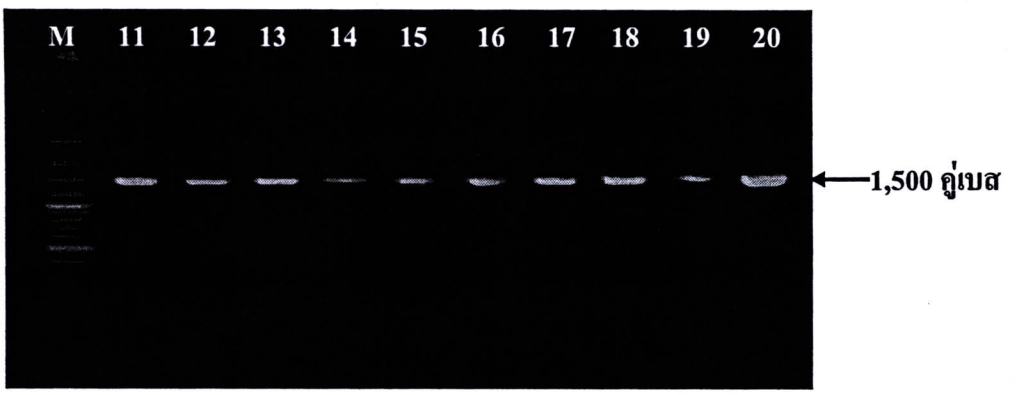
M : marker 1 kb ladder

ก. : ไอโซเลทที่ 1-10 ได้แก่ ไอโซเลท MJC-B1, MJC-B1, SSC2-R4, MWC1-L1, MWC1-L2, MWC1-L3, MWC1-L4, MWC1-R2, MWC1-R12 และ MWT2-L14

ข. :ไอโซเลทที่ 11-20 ได้แก่ ไอโซเลท MWC1-R10, MWC1-R11, MWC1-R13, MWC3-B1, MWC3-B2, MWC3-B3, MWC3-B4, MWC2-R1, MWC2-R2 และ MWC2-R3



ก.



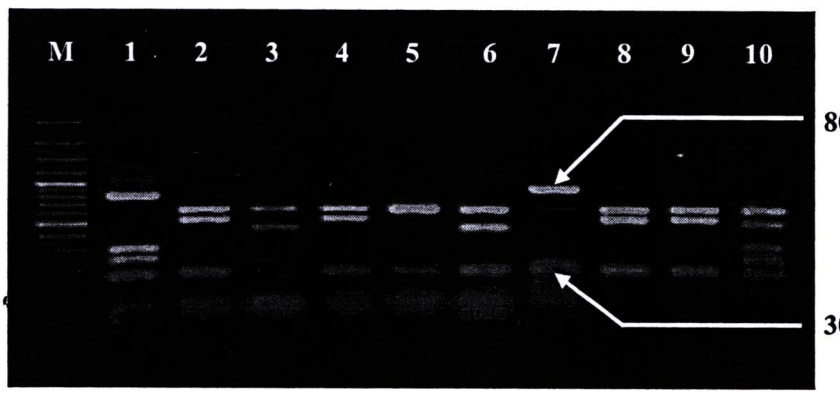
ข.

ภาพ 26 ลักษณะแถบดีเอ็นเอของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ จำนวน 20 ไอโซเลท ที่แยกด้วยเทคนิค PCR-RFLP โดยใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ *Sca*I

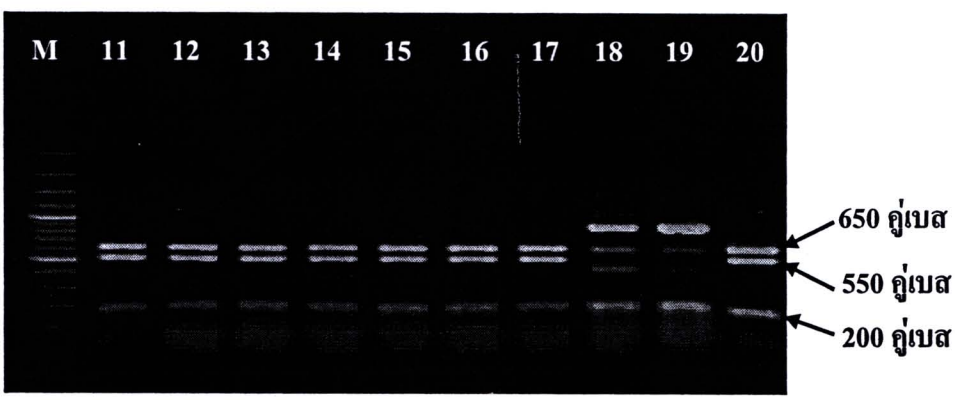
M : marker 1 kb ladder

ก.: ไอโซเลทที่ 1-10 ได้แก่ ไอโซเลท MJC-B1, MJC-B1, SSC2-R4, MWC1-L1, MWC1-L2, MWC1-L3, MWC1-L4, MWC1-R2, MWC1-R12 และ MWT2-L14

ข.: ไอโซเลทที่ 11-20 ได้แก่ ไอโซเลท MWC1-R10, MWC1-R11, MWC1-R13, MWC3-B1, MWC3-B2, MWC3-B3, MWC3-B4, MWC2-R1, MWC2-R2 และ MWC2-R3



ก.



ข.

ภาพ 27 ลักษณะแถบดีเอ็นเอของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ จำนวน 20 ไอโซเลท ที่แยกด้วยเทคนิค PCR-RFLP โดยใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะ *Kzo* 91

M : marker 1 kb ladder

ก.: ไอโซเลทที่ 1-10 ได้แก่ ไอโซเลท MWT3-L3, MWT3-B1, MWT3-B2, MWT3-B3, MWT3-B4, MWT3-B5, MWT3-B6, MWT3-B7, MWT3-B8 และ MWT3-B9

ข.: ไอโซเลทที่ 11-20 ได้แก่ ไอโซเลท MWT3-B10, MWT3-B11, MWT3-B12, MWT3-B13, MWT3-B14, MWT3-B15, MWT3-B16, MWT3-B17, MWT3-B18 และ MWT3-B19

เมื่อนำผลที่ได้มาทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป NTSYSpc เพื่อจัดกลุ่มเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ ทั้งหมดจำนวน 95 ไอโซเลท ที่ค่า similarity เท่ากับ 0.52 สามารถแบ่งกลุ่ม ได้จำนวน 4 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 คือ กลุ่ม A ประกอบด้วยเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ จำนวน 64 ไอโซเลท ดังนี้ MJC-B1, B2, SSC1-L2, L4, SSC2-L1, L3, R1, R2, R3, MWC1-L1, L3, L4, L5, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R9, R10, R12 , R13, MWC2- R1, R2, R3, B2, B3, B4, MWC3-B4, B8, B10, B12, B14, B15, B16, B17, MWT1-L1, L2, MWT2-L2, L3, L5, L6, L7, L14, L16, L17, MWT3-B1, B7, B8, B10, B11, B12, B15, B16, B19, B20, MWT3-L4 และ MWT3-R14

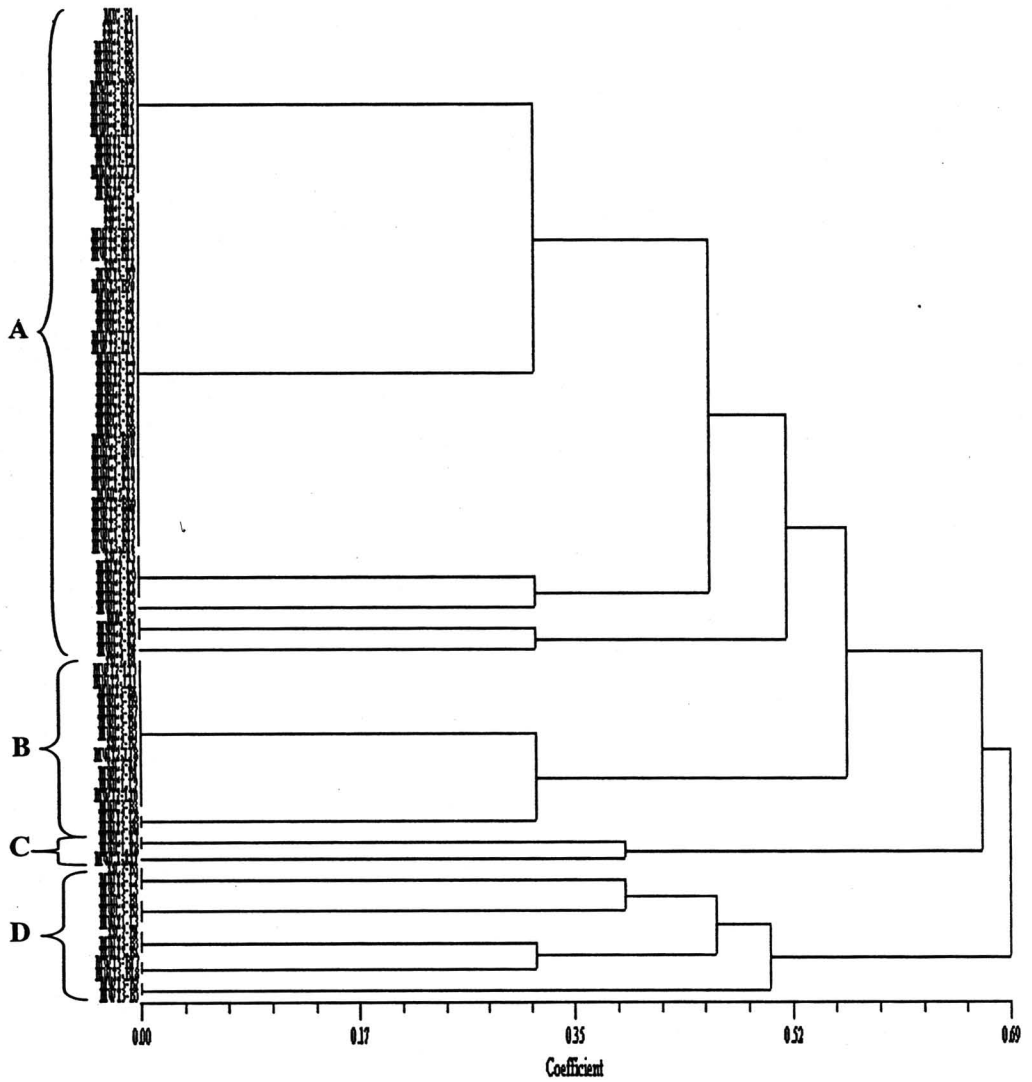
เชื้อแอกติโนไมซีสต์ ในกลุ่มนี้แยกได้จากตัวอย่างของต้นพริกและมะเขือเทศที่ปลูกในพื้นที่ราบและพื้นที่สูง โดยเป็นเชื้อที่แยกได้จากต้นพริกที่ปลูกในพื้นที่ราบอำเภอสันทราย จำนวนทั้งหมด 7 ไอโซเลท ซึ่งเป็นเชื้อที่แยกได้จากส่วนใบจำนวน 4 ไอโซเลท และรากจำนวน 3 ไอโซเลท โดยกลุ่มเชื้อที่แยกได้จากส่วนของรากพริกที่ปลูกในอำเภอสันทรายพื้นที่ที่ 2 ทั้งหมด 3 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท SSC2-R1, SSC2-R2 และ SSC2-R3 เป็นกลุ่มเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้ง 2 ชนิดอยู่ในระดับการยับยั้งสูงและสูงมาก อีกทั้งเชื้อไอโซเลท SSC2-R1 เป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้ง 2 ชนิดได้ดีที่สุด เชื้อที่แยกได้จากต้นพริกและมะเขือเทศที่ปลูกในพื้นที่สูงอำเภอแม่แจ่มและแม่วาง พบจำนวนทั้งหมด 52 ไอโซเลท โดยเป็นเชื้อที่แยกได้จากใบของต้นพริกที่ปลูกในอำเภอแม่แจ่ม จำนวนทั้งหมด 2 ไอโซเลท และเป็นเชื้อที่แยกได้จากอำเภอแม่วางทั้งหมด 50 ไอโซเลท ซึ่งเป็นเชื้อที่แยกได้จากพริกจำนวน 28 ไอโซเลท แยกเชื้อได้จากส่วนของใบ 4 ไอโซเลท กิ่งจำนวน 11 ไอโซเลท และรากจำนวน 13 ไอโซเลท ส่วนเชื้อที่แยกได้จากต้นมะเขือเทศพบจำนวน 22 ไอโซเลท โดยเป็นเชื้อที่แยกได้จากส่วนของใบ 11 ไอโซเลท จากกิ่งจำนวน 10 ไอโซเลท และจากรากจำนวน 1 ไอโซเลท ซึ่งจากข้อมูลข้างต้นจะพบว่าเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ ที่พบในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่เป็นเชื้อที่แยกได้จากพื้นที่สูงอำเภอแม่วางจำนวน 85.94 เปอร์เซ็นต์ แยกได้จากพื้นที่ราบอำเภอสันทราย 10.94 เปอร์เซ็นต์และแยกได้จากพื้นที่สูงอำเภอแม่แจ่ม 3.13 เปอร์เซ็นต์ จัดเป็นเชื้อที่แยกได้จากพริกและมะเขือเทศจำนวน 65.63 เปอร์เซ็นต์ และ 34.38 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

กลุ่มที่ 2 คือ กลุ่ม B ประกอบด้วยเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ จำนวน 16 ไอโซเลท ดังนี้ SS2-B1, B2, SSC2-R4, MWC1-L2, MWC2-B1, L10, B3, B5, B6, B7, B9, L8, MWT3-L11 และ MWT3-B4 โดยเป็นเชื้อที่แยกได้จากต้นพริกที่ปลูกในพื้นที่ราบอำเภอสันทราย จำนวนทั้งหมด 3 ไอโซเลท ซึ่งแยกได้จากส่วนกิ่งจำนวน 2 ไอโซเลท และรากจำนวน 1 ไอโซเลท เชื้อที่แยกได้จากต้นพริกและมะเขือเทศที่ปลูกในพื้นที่สูงอำเภอแม่วาง พบจำนวนทั้งหมด 13 ไอโซเลท

จัดเป็นเชื้อที่แยกได้จากพริกจำนวน 8 ไอโซเลท โดยแยกเชื้อได้จากส่วนของใบจำนวน 2 ไอโซเลท และกิ่งจำนวน 6 ไอโซเลท ส่วนเชื้อที่แยกได้จากต้นมะเขือเทศพบจำนวน 5 ไอโซเลท โดยเป็นเชื้อที่แยกได้จากส่วนของใบจำนวน 3 ไอโซเลท และจากกิ่งจำนวน 2 ไอโซเลท ซึ่งจากข้อมูลข้างต้นจะพบว่าเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ ที่พบในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่เป็นเชื้อที่แยกได้จากพื้นที่สูงอำเภอ แม่วาง จำนวน 81.25 เปอร์เซ็นต์ และแยกได้จากพื้นที่ราบอำเภอสันทรายจำนวน 18.75 เปอร์เซ็นต์ เป็นเชื้อที่แยกได้จากพริกและมะเขือเทศจำนวน 68.75 เปอร์เซ็นต์ และ 31.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

กลุ่มที่ 3 คือ กลุ่ม C ประกอบด้วยเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ จำนวน 3 ไอโซเลท ดังนี้ MWC1-R7, R8 และ MWC1-R11 ซึ่งเชื้อทั้ง 3 ไอโซเลท เป็นเชื้อที่แยกได้จากส่วนของรากพริกที่ปลูกในพื้นที่สูงอำเภอแม่วาง เมื่อจัดจำแนกเชื้อแต่ละไอโซเลทตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่า เชื้อทุกไอโซเลทที่อยู่ในกลุ่ม A, B และ C จัดอยู่ใน สกุล *Streptomyces*

กลุ่มที่ 4 คือ กลุ่ม D ประกอบด้วยเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ จำนวน 12 ไอโซเลท ดังนี้ SSC2-B3, MWC3-B1, B2, MWT1-L3, MWT3-L2, L3, B2, B3, B5, B6, B17 และ MWT3-B18 โดยเป็นเชื้อที่แยกได้จากรากของต้นพริกที่ปลูกในพื้นที่ราบอำเภอสันทราย จำนวน 1 ไอโซเลท เชื้อที่แยกได้จากต้นพริกและมะเขือเทศที่ปลูกในพื้นที่สูงอำเภอแม่วาง พบจำนวนทั้งหมด 11 ไอโซเลท จัดเป็นเชื้อที่แยกได้จากใบของต้นพริกจำนวน 2 ไอโซเลท ส่วนเชื้อที่แยกได้จากต้นมะเขือเทศพบจำนวน 9 ไอโซเลท โดยเป็นเชื้อที่แยกได้จากส่วนของใบจำนวน 3 ไอโซเลท และจากกิ่งจำนวน 6 ไอโซเลท ซึ่งจากข้อมูลข้างต้นจะพบว่าเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ ที่พบในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่เป็นเชื้อที่แยกได้จากพื้นที่สูงอำเภอแม่วางจำนวน 91.66 เปอร์เซ็นต์ แยกได้จากพื้นที่ราบอำเภอสันทรายจำนวน 8.34 เปอร์เซ็นต์ เป็นเชื้อที่แยกได้จากพริกและมะเขือเทศจำนวน 25.00 เปอร์เซ็นต์ และ 75.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อจัดจำแนกเชื้อแต่ละไอโซเลทตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่า เชื้อทุกไอโซเลทจัดอยู่ใน สกุล *Nocardia* (ภาพ 28)



ภาพ 28 Dendrogram แสดงการจัดกลุ่มเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ จากการวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอทั้ง 9 polymorphic band ทั้ง 95 ไอโซเลท โดยวิธี UPGMA ด้วยค่า Dice's similarity coefficient ที่ค่า similarity เท่ากับ 0.52 แบ่งได้ 4 กลุ่ม

A : ไอโซเลท MJC-B1, B2, SSC1-L2, L4, SSC2-L1, L3, R1, R2, R3, MWC1-L1, L3, L4, L5, R1, R2, R3, R4, R5, R6, R9, R10, R12 , R13, MWC2- R1, R2, R3, B2, B3, B4, MWC3-B4, B8, B10, B12, B14, B15, B16, B17, MWT1-L1, L2, MWT2-L2, L3, L5, L6, L7, L14, L16, L17, MWT3-B1, B7, B8, B10, B11, B12, B15, B16, B19, B20, MWT3-L4 และ MWT3-R14

B : ไอโซเลท SS2-B1, B2, SSC2-R4, MWC1-L2, MWC2-B1, L10, B3, B5, B6, B7, B9, L8, MWT3-L11 และ MWT3-B4

C : ไอโซเลท MWC1-R7, R8 และMWC1-R11

D : ไอโซเลท SSC2-B3, MWC3-B1, B2 MWT1-L3, MWT3-L2, L3, B2, B3, B5, B6, B17 และ MWT3-B18

7. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ และเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ต่อการควบคุมโรคใบจุดโรค และโรคเหี่ยวของพริกและมะเขือเทศในสภาพโรงเรือน

7.1 การเพิ่มปริมาณเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ ไอโซเลท SSC2-R1 และเชื้อรา *Trichoderma harzianum*

การเพิ่มปริมาณของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ ไอโซเลท SSC2-R1 ในข้าวเจ้า

เมื่อเลี้ยงเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอคติโนมัยซัส ไอโซเลท SSC2-R1 ในข้าวเจ้าแล้วบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ พบผงสปอร์ลักษณะคล้ายผงแป้งสีขาวเทาเกาะอยู่บนผิวเมล็ดข้าวเจ้า

การเพิ่มปริมาณของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ในเมล็ดข้าวฟ่าง

ทำการเลี้ยงเชื้อรา *T. harzianum* ในเมล็ดข้าวฟ่าง หลังบ่มเชื้อเป็นระยะเวลา 2 วัน พบการเจริญของเส้นใยสีขาวของเชื้อรา *T. harzianum* บริเวณผิวของเมล็ดข้าวฟ่าง เมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 7 วัน พบการเจริญของเส้นใยสีขาวและสปอร์สีเขียวเข้มของเชื้อราเจริญขึ้นเต็มถุง

7.2 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ และเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ต่อการควบคุมโรคใบจุดของพริกและมะเขือเทศ

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ และเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ต่อการควบคุมโรคใบจุดของพริก

จากการทดลองพบว่าในการทดลองกรรมวิธีที่ 1 ฉีดพ่นเชื้อแอกติโนไมซีสต์ ไอโซเลท SSC2-R1 บริเวณต้นพืชและปลูกเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยหลังจากการปลูกเชื้อราเป็นระยะเวลา 7 วัน ทำการตรวจดูอาการ และทำการประเมินความรุนแรงของโรค พบว่าต้นพริกเกิดโรคที่ ความรุนแรงระดับ 1 ต้นพืชมีอาการใบจุด 1-25 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ใบสุ่ม พบเปอร์เซ็นต์ใบที่เกิดโรค 34.85 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุมที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และพบการเข้าทำลายของโรค 35.00 เปอร์เซ็นต์ การทดลองกรรมวิธีที่ 2 คลุกเชื้อรา *T. harzianum* ลงในดินปลูก และปลูกเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยหลังจากการปลูกเชื้อราเป็นระยะเวลา 7 วัน ทำการตรวจดูอาการ และทำการประเมินความรุนแรงของโรค พบว่าต้นพริกเกิดโรคที่ ความรุนแรงระดับ 1 ต้นพืชมีอาการใบจุด 1-25 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ใบสุ่ม พบเปอร์เซ็นต์ใบ

ที่เกิดโรค 34.30 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุมที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และพบการเข้าทำลายของโรค 30.00 เปอร์เซ็นต์ การทดลองกรรมวิธีที่ 3 คลุกเชื้อรา *T. harzianum* ลงในดินปลูก และฉีดพ่นเชื้อแอกติโนไมซีสต์ ไอโซเลท SSC2-R1 บริเวณต้นและปลูกเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยหลังจากการปลูกเชื้อราเป็นระยะเวลา 7 วัน ทำการตรวจดูอาการ และทำการประเมินความรุนแรงของโรค พบว่าต้นพริกเกิดโรคที่ ความรุนแรงระดับ 1 ต้นพืชมีอาการใบจุด 1-25 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ใบสุ่ม พบเปอร์เซ็นต์ใบที่เกิดโรค 37.98 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุมที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และพบการเข้าทำลายของโรค 45 เปอร์เซ็นต์ และการทดลองกรรมวิธีที่ 4 ชุดควบคุม ปลูกด้วยเชื้อรา *Alternaria* sp. ลงบนต้นพริกโดยหลังจากการปลูกเชื้อราเป็นระยะเวลา 7 วัน ทำการตรวจดูอาการ และทำการประเมินความรุนแรงของโรค พบว่าต้นพริกเกิดโรคที่ ความรุนแรง ระดับ 2 ต้นพืชมีอาการใบจุด 26-50 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ใบสุ่มพบเปอร์เซ็นต์ใบที่เกิดโรค 50.12 เปอร์เซ็นต์ และพบการเข้าทำลายของโรค 40.00 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 5 และภาพ 29)

ตารางที่ 5 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ และเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ต่อการควบคุมโรคใบจุดของพริกในสภาพโรงเรือน เปอร์เซ็นต์ใบที่เป็นโรคและเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเข้าทำลายใบของเชื้อรา *Alternaria* sp. ในต้นพริก

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์ใบที่เป็นโรค[1]	เปอร์เซ็นต์ดัชนีการทำลาย
1	34.85[b2]	35.00[a]
2	34.30[b]	30.00[a]
3	37.98[b]	45.00[a]
4	50.12[a]	40.00[a]
CV (%)	2.18	4.49
LSD = 0.05	11.57	25.93

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Least-significant differenceที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 1 ฉีดพ่นเชื้อแอกติโนไมซีสต์ ไอโซเลท SSC2-R1 บริเวณต้นพืชและปลูกเชื้อรา *Alternaria* sp. ภายหลังจากการฉีดพ่นเชื้อแอกติโนไมซีสต์ไอโซเลท SSC2-R1 เป็นระยะเวลา 7 วัน

กรรมวิธีที่ 2 คลุกเชื้อรา *T. harzianum* ลงในดินปลูก และปลูกเชื้อรา *Alternaria* sp. ภายหลังจากการคลุกเชื้อรา *T. harzianum* ลงในดินปลูก เป็นระยะเวลา 7 วัน

กรรมวิธีที่ 3 คลุกเชื้อรา *T. harzianum* ลงในดินปลูก และฉีดพ่นเชื้อแอกติโนไมซีสต์ ไอโซเลท SSC2-R1 บริเวณต้นและปลูกเชื้อรา *Alternaria* sp. ภายหลังจากการคลุกเชื้อรา *T. harzianum* ลงในดินปลูกและฉีดพ่นเชื้อแอกติโนไมซีสต์ ไอโซเลท SSC2-R1 เป็นระยะเวลา 7 วัน

กรรมวิธีที่ 4 ชุดควบคุม ปลูกด้วยเชื้อรา *Alternaria* sp.

ก. ข.

ภาพที่ 29 ระดับความรุนแรงของโรคใบจุดที่เกิดขึ้นกับใบพริกในระดับ 1 และระดับ 2

ก. ระดับ 1 ต้นพืชมีอาการใบจุด 1-25 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ใบสุ่ม

ข. ระดับ 2 ต้นพืชมีอาการใบจุด 26-50 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ใบสุ่ม

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ และเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ต่อการควบคุมโรคใบจุดของมะเขือเทศ

จากการทดลองพบว่าในการทดลองกรรมวิธีที่ 1 ฉีดพ่นเชื้อแอกติโนไมซีสต์ ไอโซเลท SSC2-R1 บริเวณต้นพืชและปลูกเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยหลังจากการปลูกเชื้อราเป็นระยะเวลา 7 วัน ทำการตรวจดูอาการและทำการประเมินความรุนแรงของโรค พบว่าต้นมะเขือเทศเกิดโรคที่ความรุนแรงระดับ 1 ต้นพืชมีอาการใบจุด 1-25 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ใบสุ่ม พบเปอร์เซ็นต์ใบที่เกิดโรค 21.73 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุมที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และพบการเข้าทำลายของโรค 25.00 เปอร์เซ็นต์ การทดลองกรรมวิธีที่ 2 คลุกเชื้อรา *T. harzianum* ลงในดินปลูกและปลูกเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยหลังจากการปลูกเชื้อราเป็นระยะเวลา 7 วัน ทำการตรวจดูอาการและทำการประเมินความรุนแรงของโรค พบว่าต้นมะเขือเทศเกิดโรคที่ ความรุนแรงระดับ 1 ต้นพืชมีอาการใบจุด 1-25 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ใบสุ่ม พบเปอร์เซ็นต์ใบที่เกิดโรค 34.63 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุมที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และพบการเข้าทำลายของโรค 22.50 เปอร์เซ็นต์ การทดลองกรรมวิธีที่ 3 คลุกเชื้อรา *T. harzianum* ลงในดินปลูกและฉีดพ่นเชื้อแอกติโนไมซีสต์ ไอโซเลท SSC2-R1 บริเวณต้นและปลูกเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยหลังจากการปลูกเชื้อราเป็นระยะเวลา 7 วัน ทำการตรวจดูอาการและทำการประเมินความรุนแรงของโรค พบว่าต้นมะเขือเทศเกิดโรคที่ ความรุนแรงระดับ 1 ต้นพืชมีอาการใบจุด 1-25 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ใบสุ่ม พบเปอร์เซ็นต์ใบที่เกิดโรค 31.08 เปอร์เซ็นต์ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุมที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และพบการเข้าทำลายของโรค 22.5 เปอร์เซ็นต์ และการทดลองกรรมวิธีที่ 4 ชุดควบคุม ปลูกด้วยเชื้อรา *Alternaria* sp. ลงบนต้นพริกโดยหลังจากการปลูกเชื้อราเป็นระยะเวลา 7 วัน ทำการตรวจดูอาการ และทำการประเมินความรุนแรงของโรค พบว่าต้นพริกเกิดโรคที่ความรุนแรง ระดับ 2 ต้นพืชมีอาการใบจุด 26-50 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ใบสุ่มพบเปอร์เซ็นต์ใบที่เกิดโรค 42.30 เปอร์เซ็นต์ และพบการเข้าทำลายของโรค 35.00 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 6 และภาพ 30)

ตารางที่ 6 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ และเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ต่อการควบคุมโรคใบจุดของมะเขือเทศ เปอร์เซ็นต์ใบที่เป็นโรคและเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเข้าทำลายใบของเชื้อรา *Alternaria* sp. ในต้นมะเขือเทศ

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์ใบที่เป็นโรค[1]	เปอร์เซ็นต์ดัชนีการทำลาย
1	21.75[c2]	25.00[ab]
2	34.63[ab]	22.50[b]
3	31.08[bc]	22.50[b]
4	42.30[a]	35.00[a]
CV (%)	2.15	3.01
LSD = 0.05	10.73	12.18

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ

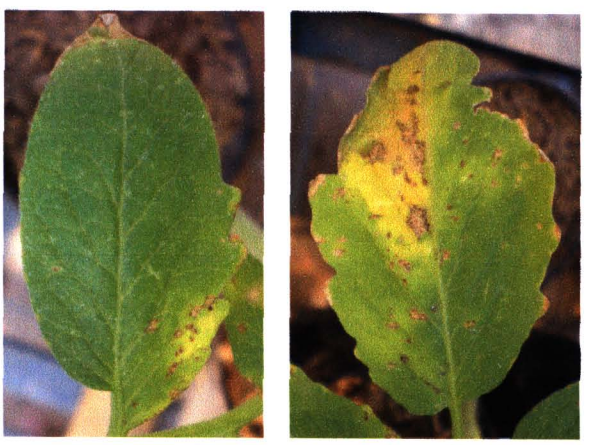
[2]ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Least-significant differenceที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 1 ฉีดพ่นเชื้อแอกติโนไมซีสต์ ไอโซเลท SSC2-R1 บริเวณต้นพืชและปลูกเชื้อรา *Alternaria* sp. ภายหลังจากการฉีดพ่นเชื้อแอกติโนไมซีสต์ ไอโซเลท SSC2-R1 เป็นระยะเวลา 7 วัน

กรรมวิธีที่ 2 คลุกเชื้อรา *T. harzianum* ลงในดินปลูก และปลูกเชื้อรา *Alternaria* sp. ภายหลังจากการคลุกเชื้อรา *T. harzianum* ลงในดินปลูก เป็นระยะเวลา 7 วัน

กรรมวิธีที่ 3 คลุกเชื้อรา *T. harzianum* ลงในดินปลูก และฉีดพ่นเชื้อแอกติโนไมซีสต์ ไอโซเลท SSC2-R1 บริเวณต้นและปลูกเชื้อรา *Alternaria* sp. ภายหลังจากการคลุกเชื้อรา *T. harzianum* ลงในดินปลูกและฉีดพ่นเชื้อแอกติโนไมซีสต์ ไอโซเลท SSC2-R1 เป็นระยะเวลา 7 วัน

กรรมวิธีที่ 4 ชุดควบคุม ปลูกด้วยเชื้อรา *Alternaria* sp.



ก. ข.

ภาพ 30 ระดับความรุนแรงของโรคใบจุดที่เกิดขึ้นกับใบมะเขือเทศในระดับ 1 และระดับ 2

ก. ระดับ 1 ต้นพืชมีอาการใบจุด 1-25 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ใบสุ่ม

ข. ระดับ 2 ต้นพืชมีอาการใบจุด 26-50 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ใบสุ่ม

7.3 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ และเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ต่อการควบคุมโรคเหี่ยวของพริกและมะเขือเทศ

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ และเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ต่อการควบคุมโรคเหี่ยวของพริก

จากการทดลองพบว่าในทุกกรรมวิธี คือ กรรมวิธีที่ 1 ราดเชื้อแอกติโนไมซีสต์ ไอโซเลท SSC2-R1 บริเวณโคนต้นพืชและปลูกเชื้อรา *F.oxysporum* กรรมวิธีที่ 2 คลุกเชื้อรา *T. harzianum* ลงในดินปลูกและปลูกเชื้อรา *F. oxysporum* กรรมวิธีที่ 3 คลุกเชื้อรา *T. harzianum* ลงในดินปลูก และราดเชื้อแอกติโนไมซีสต์ ไอโซเลท SSC2-R1 บริเวณต้นและปลูกเชื้อรา *F. oxysporum* และกรรมวิธีที่ 4 ชุดควบคุม ปลูกด้วยเชื้อรา *F. oxysporum* โดยหลังจากการปลูกเชื้อราเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ ทำการตรวจดูอาการ และทำการประเมินความรุนแรงของโรค ต้นพริกในทุกกรรมวิธีที่ทำการทดลองเกิดโรคเหี่ยวในลักษณะเหมือนกัน คือ พบความรุนแรงของโรคอยู่ในระดับ 1 ต้นพืชแสดงอาการเหี่ยวน้อยกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 7 และภาพ 31)

ตารางที่ 7 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ และเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ต่อการควบคุมโรคเหี่ยวของพริก เปอร์เซ็นต์จำนวนต้นพริกในแต่ละกรรมวิธีที่เกิดโรคเหี่ยวที่ระดับความรุนแรงต่าง ๆ

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์ของต้นพริกที่เกิดโรคเหี่ยวที่ระดับความรุนแรงต่าง ๆ[1]					
	0	1	2	3	4	5
1	-	100	-	-	-	-
2	-	100	-	-	-	-
3	-	100	-	-	-	-
4	-	100	-	-	-	-

[1]การประเมินระดับความรุนแรงของโรค

ระดับ 0 ต้นพืชไม่แสดงอาการเหี่ยว
ระดับ 1 ต้นพืชแสดงอาการเหี่ยวน้อยกว่า 25 เปอร์เซ็นต์
ระดับ 2 ต้นพืชแสดงอาการเหี่ยว 26-50 เปอร์เซ็นต์
ระดับ 3 ต้นพืชแสดงอาการเหี่ยว 51-75 เปอร์เซ็นต์
ระดับ 4 ต้นพืชแสดงอาการเหี่ยว 76-100 เปอร์เซ็นต์
ระดับ 5 ต้นพืชตาย

กรรมวิธีที่ 1 ราดเชื้อแอกติโนไมซีสต์ ไอโซเลท SSC2-R1 บริเวณโคนต้นพืชและปลูกเชื้อรา *F.oxysporum* ภายหลังจากการราดเชื้อแอกติโนไมซีสต์ ไอโซเลท SSC2-R1 เป็นระยะเวลา 7 วัน

กรรมวิธีที่ 2 คลุกเชื้อรา *T. harzianum* ลงในดินปลูก และปลูกเชื้อรา *F. oxysporum* ภายหลังจากการคลุกเชื้อรา *T. harzianum* ลงในดินปลูกเป็นระยะเวลา 7 วัน

กรรมวิธีที่ 3 คลุกเชื้อรา *T. harzianum* ลงในดินปลูก และราดเชื้อแอกติโนไมซีสต์ไอโซเลท SSC2-R1 บริเวณต้นและปลูกเชื้อรา *F. oxysporum* ภายหลังจากการคลุกเชื้อรา *T. harzianum* ลงในดินปลูกและราดเชื้อแอกติโนไมซีสต์ ไอโซเลท SSC2-R1 เป็นระยะเวลา 7 วัน

กรรมวิธีที่ 4 ชุดควบคุม ปลูกด้วยเชื้อรา *F. oxysporum*

ก. ข.

ภาพ 31 ลักษณะต้นพริกที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ และเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ต่อการควบคุมโรคเหี่ยว

ก. ต้นพืชปกติไม่แสดงอาการของโรค

ข. ความรุนแรงของโรคเหี่ยวที่เกิดกับต้นพริกที่ความรุนแรงของโรคระดับ 1 ต้นพืชแสดงอาการเหี่ยวน้อยกว่า 25 เปอร์เซ็นต์

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ และเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ต่อการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ

จากการทดลองพบว่าในกรรมวิธีที่ 1 ราดเชื้อแอกติโนไมซีสต์ ไอโซเลท SSC2-R1 บริเวณโคนต้นพืชและปลูกเชื้อรา *F.oxysporum* โดยหลังจากการปลูกเชื้อราเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ ทำการตรวจดูอาการ และทำการประเมินความรุนแรงของโรค พบว่าต้นพริกเกิดโรคที่ระดับ 2 ต้นพืชแสดงอาการเหี่ยว 26-50 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 25 เปอร์เซ็นต์ และเกิดโรคที่ระดับ 3 ต้นพืชแสดงอาการเหี่ยว 51-75 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 75 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีที่ 2 คลุกเชื้อรา *T. harzianum* ลงในดินปลูก และปลูกเชื้อรา *F. oxysporum* และกรรมวิธีที่ 3 คลุกเชื้อรา *T. harzianum* ลงในดินปลูกและราดเชื้อแอกติโนไมซีสต์ ไอโซเลท SSC2-R1 บริเวณต้นและปลูกเชื้อรา *F. oxysporum* ทั้ง 2 กรรมวิธีพบต้นมะเขือเทศทุกต้นเกิดโรคที่ระดับความรุนแรงเดียวกันคือ เกิดโรคที่ระดับ 2 ต้นพืชแสดงอาการเหี่ยว 26-50 เปอร์เซ็นต์ และกรรมวิธีที่ 4 ชุดควบคุม ปลูกด้วยเชื้อรา *F. oxysporum* เกิดโรคที่ระดับความรุนแรงระดับ 3 ต้นพืชแสดงอาการเหี่ยว 51-75 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 75 เปอร์เซ็นต์ และเกิดโรคที่ระดับความรุนแรง 4 ต้นพืชแสดงอาการเหี่ยว 76-100 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 25 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 8 และภาพ 32)

ตารางที่ 8 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อเอนโดไฟท์ติก แอกติโนไมซีสต์ และเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ต่อการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ เปอร์เซ็นต์จำนวนต้นมะเขือเทศในแต่ละกรรมวิธีที่เกิดโรคเหี่ยวที่ระดับความรุนแรงต่าง ๆ

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์ของต้นพริกที่เกิดโรคเหี่ยวที่ระดับความรุนแรงต่าง ๆ[1]					
	0	1	2	3	4	5
1	-	-	25	75	-	-
2	-	100	-	-	-	-
3	-	100	-	-	-	-
4	-	-	-	75	25	-

[1]การประเมินระดับความรุนแรงของโรค

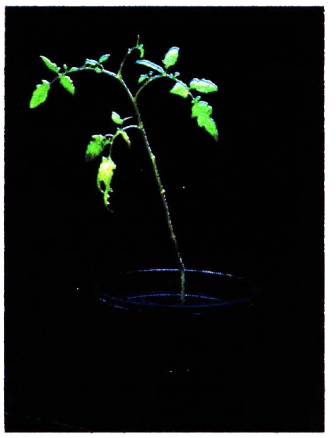
ระดับ 0 ต้นพืชไม่แสดงอาการเหี่ยว
ระดับ 1 ต้นพืชแสดงอาการเหี่ยวน้อยกว่า 25 เปอร์เซ็นต์
ระดับ 2 ต้นพืชแสดงอาการเหี่ยว 26-50 เปอร์เซ็นต์
ระดับ 3 ต้นพืชแสดงอาการเหี่ยว 51-75 เปอร์เซ็นต์
ระดับ 4 ต้นพืชแสดงอาการเหี่ยว 76-100 เปอร์เซ็นต์
ระดับ 5 ต้นพืชตาย

กรรมวิธีที่ 1 ราดเชื้อแอกติโนไมซีสต์ ไอโซเลท SSC2-R1 บริเวณโคนต้นพืชและปลูกเชื้อรา *F.oxysporum* ภายหลังจากการราดเชื้อแอกติโนไมซีสต์ ไอโซเลท SSC2-R1 เป็นระยะเวลา 7 วัน

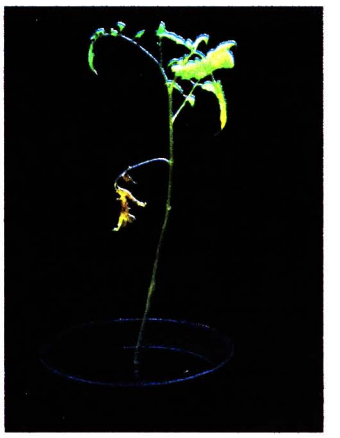
กรรมวิธีที่ 2 คลุกเชื้อรา *T. harzianum* ลงในดินปลูกและปลูกเชื้อรา *F. oxysporum* ภายหลังจากการคลุกเชื้อรา *T. harzianum* ลงในดินปลูกเป็นระยะเวลา 7 วัน

กรรมวิธีที่ 3 คลุกเชื้อรา *T. harzianum* ลงในดินปลูกและราดเชื้อแอกติโนไมซีสต์ ไอโซเลท SSC2-R1 บริเวณต้นและปลูกเชื้อรา *F. oxysporum* ภายหลังจากการคลุกเชื้อรา *T. harzianum* ลงในดินปลูกและราดเชื้อแอกติโนไมซีสต์ ไอโซเลท SSC2-R1 เป็นระยะเวลา 7 วัน

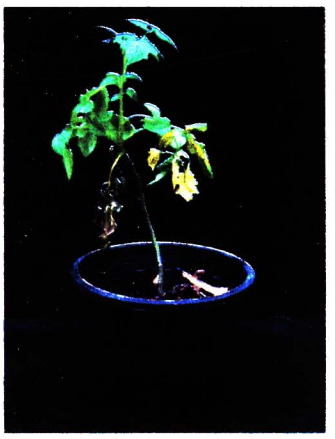
กรรมวิธีที่ 4 ชุดควบคุม ปลูกด้วยเชื้อรา *F. oxysporum*



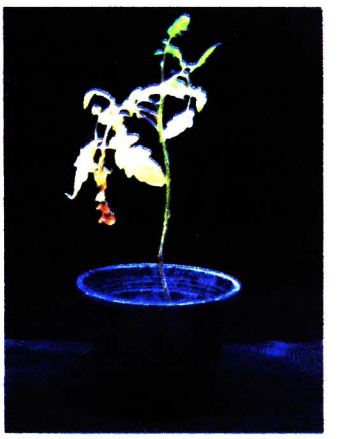
ก.



ข.



ค.



ง.

จ.

ภาพ 32 ลักษณะต้นมะเขือเทศที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อเอนโดไฟท์ติกแอกติโนไมซีสต์ และเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ต่อการควบคุมโรคเหี่ยว

ก. ต้นพืชปกติไม่แสดงอาการของโรค

ข. ความรุนแรงของโรคเหี่ยวที่เกิดกับต้นพริกที่ความรุนแรงของโรคระดับ 1 ต้นพืชแสดงอาการเหี่ยวน้อยกว่า 25 เปอร์เซ็นต์

ค. ความรุนแรงของโรคเหี่ยวที่เกิดกับต้นพริกที่ความรุนแรงของโรคระดับ 2 ต้นพืชแสดงอาการเหี่ยวน้อยกว่า 26-50 เปอร์เซ็นต์

ง. ความรุนแรงของโรคเหี่ยวที่เกิดกับต้นพริกที่ความรุนแรงของโรคระดับ 3 ต้นพืชแสดงอาการเหี่ยวน้อยกว่า 51-75 เปอร์เซ็นต์

จ. ความรุนแรงของโรคเหี่ยวที่เกิดกับต้นพริกที่ความรุนแรงของโรคระดับ 4 ต้นพืชแสดงอาการเหี่ยวน้อยกว่า 76-100 เปอร์เซ็นต์