

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การรวบรวมและเตรียมตัวอย่างเชื้อรา

1.1 การรวบรวมตัวอย่างเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp.

รวบรวมเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. จากการศึกษาที่มีมาก่อนหน้านี้โดย พรพรรณ (2543) วรรณดี บัญญัติรัชตะ, มาลัยพร เชื้อบัณฑิต, สุวิตา แสไพศาล และสาขาวิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ได้รวบรวมและตรวจสอบแล้วว่าเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืช

2. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Trichoderma* sp. ในการชักนำให้พืชสร้างโปรตีนชนิดต่าง ๆ ซึ่งสามารถต่อต้านเชื้อสาเหตุโรค ในเรือนทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) แบ่งการทดลองออกเป็น 16 กรรมวิธีทดลอง ทำการทดลอง 10 ซ้ำ รายละเอียดกรรมวิธีมีดังนี้

กรรมวิธีทดลองที่ 1 ปลูกลงแปลงในดิน นึ่งฆ่าเชื้อ

กรรมวิธีทดลองที่ 2-16 ปลูกลงแปลงในดินที่นึ่งฆ่าเชื้อ ผสมเชื้อรา *Trichoderma* sp. 15 ไอโซเลต คือ T1, T4, T9, T10, T13, T14, T17, T18, T19, T20, T21, T24, T25, T30 และ T35 ตามลำดับ

2.1 เพาะแต่งเทศพันธุ์อ่อนแอของพืชผลิตเมล็ดพันธุ์ ย้ายปลูกลงเมื่ออายุ 2 สัปดาห์ลงในกระถางขนาดความจุปริมาตร 1,000 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยใช้ดินนึ่งฆ่าเชื้อ เมื่อเมื่อต้นกล้าตั้งตัวได้ปลูกลงเชื้อรา *Trichoderma* sp. ทั้ง 15 ไอโซเลต โดยเลี้ยงเชื้อให้มีอายุ 5-7 วัน แล้วล้างเอาสปอร์เพื่อทำเป็นสารแขวนลอยสปอร์ ตรวจนับจำนวนสปอร์ก่อนทำการปลูกลงเชื้อ (10^6 cfu/ml) โดยการราดสารแขวนลอยสปอร์ลงในกระถาง ที่ปลูกลงแปลงกระถาง ๆ ละ 20 มล.

2.2 เก็บใบแต่งเทศในวันที่ 0, 5, 10 และ 15 หลังจากปลูกลงเชื้อ เพื่อสกัดเอนไซม์ที่พืชสร้างขึ้น เนื่องจากการถูกชักนำและนำไปศึกษาแนวโน้มการสร้างและ กิจกรรมต่าง ๆ ของเอนไซม์ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการต้านทานเชื้อสาเหตุโรค

2.3 นำข้อมูลที่ได้จากแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรมทางสถิติ ANOVA เปรียบเทียบความแตกต่างของ ค่าเฉลี่ยของกรรมวิธี โดยใช้ Duncan's Multiple Rang Test (DMRT)