

1. ชุดโครงการวิจัย                                  วิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช
2. โครงการวิจัย                                        วิจัยและพัฒนาการควบคุมศัตรูพืชทางการเกษตรโดยชีววิธี
  - กิจกรรม    การผลิตและการใช้เชื้อจุลินทรีย์ควบคุมโรคพืช
  - กิจกรรมย่อย                                        การผลิตและการใช้เชื้อราควบคุมโรคพืช
3. ชื่อการทดลอง                                      การคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ที่มีศักยภาพ ในการควบคุมโรคใบจุดคะน้าสาเหตุจากเชื้อรา *Alternaria brassicicola*

Selection Efficacy of *Trichoderma harzianum* for control Chinese kale Leaf spot caused by *Alternaria brassicicola*
4. คณะผู้ดำเนินงาน
  - หัวหน้าโครงการทดลอง                            ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี                            สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
  - ผู้ร่วมงาน    อภิรัชต์ สมฤทธิ์                                      สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
  - ธารทิพย์ ภาสบุตร                                      สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

#### 5. บทคัดย่อ

เก็บตัวอย่างดินปลูกพืชชนิดต่างๆ ของเกษตรกร และวัสดุเพาะเห็ดจากฟาร์มเห็ดต่างๆ จำนวน 30 ตัวอย่าง นำมาทำการศึกษาค้นหาเชื้อรา *T. harzianum* ในห้องปฏิบัติการ สามารถจำแนกและเก็บเชื้อไว้ได้จำนวน 6 ไอโซเลท นำมาทดลองควบคุมโรคใบจุดคะน้า สาเหตุจากเชื้อรา *A. brassicicola* ในเรือนทดลอง พบว่า *T. harzianum* ไอโซเลทดินปลูกมะละกอแปลงพืชสวนศรีสะเกษให้ผลในการควบคุมโรคใบจุดคะน้าดีกว่าไอโซเลทอื่น เมื่อเทียบกับการพ่นน้ำเปล่า เมื่อนำไปทดลองในแปลงทดลอง ให้ผลเช่นเดียวกันกับสภาพเรือนทดลอง เมื่อดูจากเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคใบจุดคะน้า พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* มีผลในการควบคุมโรคใบจุดคะน้าได้ไม่มากนัก

#### Abstract

Soil samples crops of farmers and farm materials, cultivation of mushrooms for 30 samples to be studied in the laboratory for find *T. harzianum* can be classified into a number of six isolates.

Take *T. harzianum* control Chinese kale leaf spot caused by *A. brassicicola* in the greenhouse showed that *T. harzianum* isolates papaya plants Srisaket is better than other isolates compared to the water treatment. When applied to the field. The same effect on greenhouse conditions. When looking at the percentage Chinese kale leaf spot diseases. *T. harzianum* can control Chinese kale leaf spot was not much.

## 6. คำนำ

ราในสกุล *Alternaria* จัดเป็นเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคกับพืชเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น โรคใบจุดสีม่วงในพืชตระกูลหอมกระเทียม โรคใบจุดในผักกะหล่ำ พัฒนา และคณะ (2526) รายงานว่าเชื้อรา *Alternaria brassicae*, *Alternaria brassicicola* ทำให้เกิดโรคใบจุดกับพืชในตระกูลกะหล่ำ คือ ผักคะน้าจีน ผักกาดขาวปลี ผักกาดเขียวกวาดตั่ง กะหล่ำปลี กะหล่ำดอก กะหล่ำปม บร็อกโคลี่ *Alternaria porri* ทำให้เกิดโรคใบจุดม่วงหรือใบไหม้กับพืชพวกหอมแบ่ง หอมใหญ่ นิติยา (2545) รายงานว่าโรคใบจุดสีม่วงหรือโรคแผลสีม่วง เป็นโรคที่สำคัญที่แพร่ระบาดและสร้างความเสียหายรุนแรงกับพืชในสกุลหอมกระเทียมมากที่สุดโรคหนึ่ง โดยมีรายงานพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1879 ที่ประเทศสหรัฐอเมริกา โดยพบโรคใบจุดสีม่วงเกิดกับกระเทียมต้นหรือ leek และระบาดกับหอมหัวใหญ่ทำความเสียหายอย่างรุนแรงในอินเดีย ในประเทศไทยพบระบาดในฤดูหนาว เนื่องจากเป็นช่วงที่มีอากาศหนาวเย็น และมีน้ำค้างลงจัดเวลากลางคืนเหมาะกับการแพร่ระบาดของโรค หอมและกระเทียมที่ปลูกในฤดูหนาวพบเป็นโรคดังกล่าวรุนแรงเสมอ เกิดจากเชื้อ *Alternaria porri* นุชนารถ (2546) ได้รายงานโรคใบจุดออเลเทอ (*Alternaria leaf spot*) มีพืชอาศัยได้แก่ ผักกาดหอมหอม กะหล่ำปม กะหล่ำดาว ผักกาดฮ่องเต้ ค่ะน่ายอด ผักกาดขาวปลี ผักกาดหางหงษ์ หอมญี่ปุ่น เบบี๋แครอท มะเขือเทศ พริกหวาน

จากการที่ราในสกุล *Alternaria* จัดเป็นเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคกับพืชเศรษฐกิจหลายชนิด ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาเพื่อให้ได้วิธีการป้องกันกำจัดเชื้อราสกุล *Alternaria* ที่มีประสิทธิภาพ ในปัจจุบันการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชได้มีการพัฒนาการอย่างต่อเนื่อง มีการผลิตสารใหม่ๆ มากมายหลายชนิด ส่วนใหญ่เพื่อการป้องกันกำจัดโรคที่มีประสิทธิภาพสูงขึ้น มีความปลอดภัยต่อผู้ใช้สูงขึ้น แต่ก็มีการศึกษาถึงการใช่วิถีอินทรีย์ชนิดต่างๆ ที่สามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิด ดังนั้นจึงควรที่จะมีการศึกษาถึงชีวอินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพป้องกันกำจัดเชื้อราสกุล *Alternaria* สาเหตุโรคพืชด้วย ได้เคยมีรายงานถึงการใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* ว่าสามารถใช้ควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อ *Alternaria* ในผักที่ปลูกโดยไม่ใช้ดิน แต่การศึกษายังไม่ชัดเจนถึงรายละเอียดต่างๆ จึงสมควรที่จะได้มีการศึกษา เพื่อแนะนำเป็นทางเลือกให้กับเกษตรกรต่อไป

## 7. วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง เช่น กรรไกร ถุงพลาสติก ฯ

2. จานเลี้ยงเชื้อ อาหารเลี้ยงเชื้อ
3. เครื่องซั่ง กระจกตวง
4. กล้องถ่ายรูป
5. กล้องจุลทรรศน์
6. ป้ายปักแปลง ปากกาเขียนป้าย
7. เมล็ดพันธุ์คะน้า
8. ถังพ่นยา

## วิธีการ

1. เก็บรวบรวมเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ไอโซเลทต่างๆจากแปลงปลูกพืช และฟาร์มเห็ดของเกษตรกร โดยเก็บจากวัสดุปลูก ดินปลูก นำมาทำการศึกษาจำแนกชนิดเชื้อรา เก็บรักษาเชื้อราดังกล่าวในห้องปฏิบัติการ เพื่อใช้ในการศึกษาการควบคุมเชื้อรา *Alternaria brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดคะน้าในปีต่อไป

### 2. การทดลองในเรือนทดลอง

2.1. ปลูกคะน้าในกระถางๆ ละ 1 ต้น วางแผนการทดลองแบบ CRD 10 ซ้ำ 7 กรรมวิธี โดยใช้ต้นคะน้า 1 ต้นต่อ 1 ซ้ำ ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 พ่นเซลล์แขวนลอย *T. harzianum* ไอโซเลทดินต้นเมลอน

กรรมวิธีที่ 2 พ่นเซลล์แขวนลอย *T. harzianum* ไอโซเลทดินแปลงพริก

กรรมวิธีที่ 3 พ่นเซลล์แขวนลอย *T. harzianum* เชื้อจากเกษตรกรจ.อุบลราชธานี

กรรมวิธีที่ 4 พ่นเซลล์แขวนลอย *T. harzianum* ไอโซเลทจากก้อนเห็ดภูฏาน

กรรมวิธีที่ 5 พ่นเซลล์แขวนลอย *T. harzianum* ไอโซเลทดินถุงปลูกอ้อย

กรรมวิธีที่ 6 พ่นเซลล์แขวนลอย *T. harzianum* ไอโซเลทดินปลูกมะละกอ แปลงพืชสวนศรีสะเกษ

กรรมวิธีที่ 7 พ่นน้ำเปล่า

2.2. พ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *A. brassicicola* ลงบนกล้าคะน้าที่อายุ 45 วัน ใช้ถุงพลาสติกคลุมให้ความชื้น 48 ชั่วโมง

2.3. ฟันสปอร์และเส้นใยแขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* แต่ละไอโซเลท ที่มี ปริมาณเชื้อรา  $10^9$  cfu/ml. ลงบนกล้าคะน้าทดสอบตามกรรมวิธีที่กำหนดในแผนการ ทดลองโดยฟัน 3 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน ฟันครั้งแรกเมื่อพบคะน้าแสดงอาการโรคใบจุด

2.4. วัดผลโดยประเมินการเป็นโรค แบ่งระดับความรุนแรงเป็น 6 ระดับ

ระดับที่ 1 ใบไม่ปรากฏอาการโรค

ระดับที่ 2 ใบปรากฏอาการโรคร้อยละ 1-5 ของพื้นที่ใบ

ระดับที่ 3 ใบปรากฏอาการโรคร้อยละ 6-10 ของพื้นที่ใบ

ระดับที่ 4 ใบปรากฏอาการโรคร้อยละ 11-25 ของพื้นที่ใบ

ระดับที่ 5 ใบปรากฏอาการโรคร้อยละ 26-50 ของพื้นที่ใบ

ระดับที่ 6 ใบปรากฏอาการโรคมากกว่าร้อยละ 50 ของพื้นที่ใบ

การบันทึกข้อมูล

บันทึกการเกิดโรคใบจุดคะน้า ตามระดับความรุนแรงดังกล่าวข้างต้น ก่อนฟันเชื้อรา *T. harzianum* ทุกครั้ง และหลังฟันครั้งสุดท้าย 7 และ 14 วัน

3. การทดลองในแปลงทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 ฟันเซลล์แขวนลอย *T. harzianum* ไอโซเลทดินต้นเมลอน

กรรมวิธีที่ 2 ฟันเซลล์แขวนลอย *T. harzianum* ไอโซเลทดินแปลงพริก

กรรมวิธีที่ 3 ฟันเซลล์แขวนลอย *T. harzianum* เชื้อจากเกษตรกรจ.อุบลราชธานี

กรรมวิธีที่ 4 ฟันเซลล์แขวนลอย *T. harzianum* ไอโซเลทดินปลูกอ้อย

กรรมวิธีที่ 5 ฟันเซลล์แขวนลอย *T. harzianum* ไอโซเลทดินปลูกมะละกอ แปลง

พืชสวนศรีสะเกษ

กรรมวิธีที่ 6 ฟันน้ำเปล่า

โดยตัดกรรมวิธีไอโซเลทจากก้อนเห็ดภูฏานออก เนื่องจากเชื่อมีการปนเปื้อน ทำการ ปลูกคะน้าในแปลงทดลองขนาด 10 ตารางเมตรต่อแปลงย่อย ฟันสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *A. brassicicola* เมื่อพืชอายุ 30 วัน ทำการฟันเซลล์แขวนลอย *T. harzianum* แต่ละ กรรมวิธี จำนวน 4 ครั้ง ห่างกัน 7 วัน ฟันครั้งแรกเมื่อเริ่มพบอาการโรคใบจุด วัดผลการเกิด โรคก่อนฟันเซลล์แขวนลอย *T. harzianum* ทุกครั้ง และหลังฟันครั้งสุดท้าย 7 วัน

วัดผลโดยประเมินการเป็นโรค แบ่งระดับความรุนแรงเป็น 6 ระดับ

ระดับที่ 1 ใบไม่ปรากฏอาการโรค

ระดับที่ 2 ใบปรากฏอาการโรคร้อยละ 1-5 ของพื้นที่ใบ  
 ระดับที่ 3 ใบปรากฏอาการโรคร้อยละ 6-10 ของพื้นที่ใบ  
 ระดับที่ 4 ใบปรากฏอาการโรคร้อยละ 11-25 ของพื้นที่ใบ  
 ระดับที่ 5 ใบปรากฏอาการโรคร้อยละ 26-50 ของพื้นที่ใบ  
 ระดับที่ 6 ใบปรากฏอาการโรคมากกว่าร้อยละ 50 ของพื้นที่ใบ  
 เก็บข้อมูลการเกิดโรคใบจุดคาน้ำ 20 ต้นต่อแปลงย่อย นำมาหาค่าเฉลี่ย และ  
 วิเคราะห์ผลทางสถิติ ตามแผนการทดลอง

### เวลาและสถานที่

ดำเนินการระหว่าง ตุลาคม 2555 – กันยายน 2558 ที่ห้องปฏิบัติการและเรือนทดลองกลุ่ม  
 วิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และแปลงปลูกคาน้ำ จ.ลำพูน

### 8. ผลการทดลองและวิจารณ์

สำรวจและเก็บตัวอย่างเชื้อรา *T. harzianum* จากแปลงปลูกพืชของเกษตรกร และฟาร์ม  
 เห็ดของเกษตรกร จังหวัดต่างๆ ได้แก่ กาญจนบุรี นครปฐม เชียงใหม่ อุบลราชธานี นครราชสีมา  
 จันทบุรี ระยอง ชลบุรี มาทำการจำแนกในห้องปฏิบัติการ เก็บเชื้อรา *T. harzianum* ที่จำแนกได้ไว้  
 ใช้ในการทดลอง จากการเก็บตัวอย่างดิน พืช และวัสดุเพาะเห็ด 26 ตัวอย่าง สามารถเก็บเชื้อรา *T.*  
*harzianum* ได้จำนวน 6 ไอโซเลท เพื่อนำไปใช้ทดลองในโรงเรือนทดลองต่อไป

การทดลองในสภาพเรือนทดลอง

ผลการทดลองพบว่า กรรมวิธีที่ 6 *T. harzianum* ไอโซเลทดินปลูกมะละกอแปลงพืชสวน  
 ศรีสะเกษ ให้ผลในการควบคุมโรคใบจุดคาน้ำที่เกิดจากเชื้อรา *A. brassicicola* ได้ดีกว่ากรรมวิธีอื่นๆ  
 ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงอัตราการเกิดโรคใบจุดคาน้ำที่เกิดจากเชื้อรา *A. brassicicola* ในสภาพเรือนทดลอง

กรรมวิธี	อัตราการเกิดโรค				
	ก่อนพ่น ครั้งที่ 1	ก่อนพ่น ครั้งที่ 2	ก่อนพ่น ครั้งที่ 3	หลังพ่นครั้ง สุดท้าย 7 วัน	หลังพ่นครั้ง สุดท้าย 14 วัน
1. ไอโซเลทดินต้นเมลอน	3.4	4.1	4.5	4.6 ab	5.2 ab
2. ไอโซเลทดินแปลงพริก	3.4	4.3	4.7	4.8 ab	5.5 ab

3. เชื้อจากเกษตรกรจ. อุบลราชธานี	3.3	4.3	4.5	4.7 ab	5.6 b
4. ไอโซเลทจากก้อนเห็ด ภูพาน	3.2	4.2	4.6	4.8 ab	5.3 ab
5. ไอโซเลทดินถุงปลูกอ้อย	3.4	3.9	4.5	4.6 ab	5.3 ab
6. ไอโซเลทดินปลูกมะละกอ แปลงพืชสวนศรีสะเกษ	3.6	4	4.2	4.4 a	5.1 a
7. ฟันน้ำเปล่า	3.2	4	4.6	5 b	6 c
% CV	14.84	8.06	12.14	9.58	8.22

#### การทดลองในสภาพแปลงทดลอง

ผลการทดลองพบว่า *T. harzianum* จากดินไอโซเลทดินปลูกมะละกอแปลงพืชสวนศรีสะเกษ ให้ผลในการควบคุมโรคใบจุดคะน่าได้ดีกว่า กรรมวิธีอื่นๆ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีฟันน้ำเปล่า (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 แสดงอัตราการเกิดโรคใบจุดคะน่าที่เกิดจากเชื้อรา *A. brassicicola* ในสภาพแปลงทดลอง

กรรมวิธี	อัตราการเกิดโรค				
	ก่อนพ่นครั้งที่ 1	ก่อนพ่นครั้งที่ 2	ก่อนพ่นครั้งที่ 3	ก่อนพ่นครั้งที่ 4	หลังพ่นครั้งสุดท้าย 7 วัน
1. ไอโซเลทดินต้นเมลอน	1.83	2.63	3.65	4.78 b	5.6 b
2. ไอโซเลทดินแปลงพริก	1.73	2.65	3.83	4.4 ab	5.33 ab

3. เชื้อจากเกษตรกร. อุบลราชธานี	1.83	2.58	3.5	4.58 ab	5.55 b
4. ไอโซเลทดินถุงปลูกอ้อย	1.83	2.7	3.5	4.48 ab	5.3 ab
5. ไอโซเลทดินปลูกมะละกอ แปลงพืชสวนศรีสะเกษ	1.75	2.6	3.48	4.2 a	5.1 a
6. ฟันน้ำเปล่า	1.85	2.75	3.88	4.83 b	5.6 b
% CV	9.3	5.44	8.31	5.15	4.58

## 9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการทดลองพบว่าเชื้อรา *T. harzianum* จากดินไอโซเลทดินปลูกมะละกอแปลงพืชสวนศรีสะเกษ ให้ผลในการควบคุมโรคใบจุดคาน้ำได้ดีกว่ากรรมวิธีอื่นๆ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีฟันน้ำเปล่า แสดงให้เห็นว่าเชื้อรา *T. harzianum* สามารถใช้เป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สำหรับโรคใบจุดคาน้ำที่เกิดจากเชื้อรา *A. brassicicola* ได้ แต่จากการทดลองพบว่าระดับการเกิดโรคใบจุดคาน้ำที่เชื้อรา *T. harzianum* สามารถช่วยลดการเกิดโรคลงมีผลลดลงไม่มากนัก และทุกกรรมวิธีมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคใกล้เคียงกัน ดังนั้นหากจะนำเชื้อรา *T. harzianum* มาใช้ในการควบคุมโรคใบจุดคาน้ำ การพ่นทุก 7 วัน อาจไม่สามารถเพิ่มผลผลิตคาน้ำที่ไม่เป็นโรคได้มากนัก ดังนั้นหากมีการศึกษาพัฒนาวิธีการใช้เชื้อรา *T. harzianum* ให้เหมาะสมอาจเพิ่มประสิทธิภาพการใช้เชื้อรา *T. harzianum* ในการป้องกันกำจัดโรคใบจุดคาน้ำ ที่เกิดจากเชื้อรา *A. brassicicola* ได้ดีขึ้น ซึ่งผลการทดลองนี้ ใช้เป็นข้อมูลไปศึกษาถึงวิธีการที่จะเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบจุดคาน้ำให้ได้ผลมากขึ้นต่อไป

## 10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

รายงานผลงานวิจัยประจำปี เพื่อเป็นข้อมูลในการศึกษาต่อ และใช้ทำเอกสารแนะนำ

## 11. คำขอบคุณ

-

## 12. เอกสารอ้างอิง

นิตยา กันทลง. 2545. โรคสำคัญของพืชสกุลหอมและกระเทียมในประเทศไทย. เอกสารวิชาการ กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 96 หน้า

นุชนารถ จงเลขา. 2546. คู่มือการควบคุมโรคและศัตรูต่างๆของพืชผักแบบผสมผสาน. สำหรับ  
เจ้าหน้าที่ส่งเสริมผักบนที่สูง. ศูนย์อารักขาพืช มูลนิธิโครงการหลวง 163 หน้า.

พัฒนา สนธิรัตน์ วิรัช ชูบำรุง ประไพศรี พิทักษ์ไพรวรรณ และปิยะ เกียรติก้อง. 2526. เชื้อรา *Alternaria*  
ที่เป็นสาเหตุโรคใบจุดของพืชผักบางชนิด. วารสารโรคพืช ปีที่ 3 เล่มที่ 4. ต.ค.-ธ.ค. 2526. น.  
154-167.

### 13. ภาคผนวก