รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุดปี 2560

.....

แผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาพืชสมุนไพรที่ใช้เป็นอาหาร

โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตปัญจขันธ์

กิจกรรม วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตปัญจขันธ์

ชื่อการทดลอง 2.3 ศึกษาจำแนกเชื้อสาเหตุโรคเน่าของปัญจขันธ์และการป้องกันกำจัดโดยชีววิธี

คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง นางสุธามาศ ณ น่าน ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย

ผู้ร่วมงาน นางศศิธร วรปิติรังสี[1] นายสนองจรินทร[1] นางสาวศิรากานต์ ขยันการ [2]

บทคัดย่อ

ศึกษาสาเหตุโรคเน่าของปัญจขันธ์ และการป้องกันกำจัดโรคโดยชีววิธี ดำเนินการทดลองระหว่างปี พ.ศ. 2559-2560 ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย โดยเก็บตัวอย่างโรคเน่าปัญจขันธ์ และดินปลูกจาก จ.เชียงใหม่ เชียงราย และพะเยา จำแนกหาเชื้อสาเหตุโรคและเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อใช้ทดสอบประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคและการควบคุมโรคในแปลงปลูก ผลจำแนกเชื้อสาเหตุโรคและพิสูจน์ความสามารถในการก่อโรค พบว่าโรคใบและต้นเน่าปัญจขันธ์เกิดจากเชื้อรา 3 ชนิดได้แก่ *Rhizoctonia sp.*, *Lasiodiplodia sp.* และ *Choanephora sp.* ทดสอบประสิทธิภาพของรา *Trichoderma spp.* แยกจากดินปลูก 10 ไอโซเลทและชีวภัณฑ์ 2 ไอโซเลทในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยราทั้ง 3 ชนิดโดยวิธี Dual culture test บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ปรากฏว่าไอโซเลท PYP1 และ PYP3 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใย *Rhizoctonia sp.* ได้สูงสุด 50.6% รองลงไปได้แก่ PYP4 และ PYP6 ยับยั้งได้ 50.1 และ 49.3% ตามลำดับ ในขณะที่ไอโซเลท PYP4 ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Lasiodiplodia sp.* ได้มากสูงสุด 67.3% รองลงไปคือ PYP3 และ KU ยับยั้งได้ 66.4 และ 65.6% ตามลำดับ ผลทดสอบกับเชื้อรา *Choanephora sp.* ไอโซเลท CRM1 และ PYP5 มีประสิทธิภาพยับยั้งเท่ากันคือ 49.3% รองลงไปได้แก่ CM ยับยั้งได้ 48.4% และ PYP6 ยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้เท่ากับ 47.6%

การทดสอบควบคุมโรคในแปลงปลูกภายใต้โรงเรือน วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี เปรียบเทียบกรรมวิธีควบคุมไม่ใช้กับการใช้ *Trichoderma spp.* คัดเลือกจากห้องปฏิบัติการ 4 ไอโซเลท และชีวภัณฑ์ KU โดยผลิตเชื้อสดใส่ในอัตรา 50 ก./หลุมก่อนปลูก ส่วนระยะต้นเจริญเติบโตใช้เชื้อสดอัตรา 1 กก. ผสมน้ำ 50 ล. ราดน้ำสปอร์ 100 มล./ต้น และใช้พ่นทุก 15 วัน ผลปรากฏว่าการใช้ไอโซเลท PYP4 มีประสิทธิภาพควบคุมโรคได้ดีที่สุดพบโรคต่ำสุด 31.8% รองลงไปได้แก่ CRM1 และ PYP1 เกิดโรค 33.3 และ

35.5% ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมพบโรคเน่าสูงสุดถึง 51.5% นอกจากนั้นวิธีที่ใช้ *Trichoderma sp.* ทั้ง 4 ไอโซเลท และชีวภัณฑ์ KU ทำให้ได้น้ำหนักผลผลิตสดและแห้งมากกว่ากรรมวิธีควบคุม (control)

รหัสการทดลอง 01-50-59-02-02-00-02-59

[1]ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย [2]ศูนย์วิจัยพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชเชียงใหม่

คำนำ

การปลูกปัญจขันธ์หรือเจียวกู่หลานให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพดี สำหรับใช้เป็นวัตถุดิบในกระบวนการผลิตชาปัญจขันธ์นั้น มีความจำเป็นต้องจัดการปัจจัยการผลิตให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต เช่น ดิน ปุ๋ย การให้น้ำ พรางแสง การกำจัดวัชพืชและป้องกันกำจัดแมลงในระหว่างที่ปัญจขันธ์กำลังเจริญเติบโต ส่วนการบริหารจัดการควบคุมโรคพืชนับเป็นสิ่งสำคัญเช่นเดียวกัน เพราะหากเกิดการระบาดของโรคปัญจขันธ์ในแปลงปลูก โดยไม่ทราบว่าสาเหตุที่แท้จริงเกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ชนิดใด ทำให้ไม่สามารถแก้ไขปัญหาโรคที่เกิดขึ้นได้อย่างเหมาะสม และมีประสิทธิภาพ ก็จะเกิดความเสียหายแก่ผลผลิตทั้งด้านปริมาณและคุณภาพ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงรายได้ศึกษาสมุนไพรปัญจขันธ์มาตั้งแต่ปีพ.ศ. 2549 โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเทคโนโลยีการผลิต และแปรรูปผลิตภัณฑ์มาอย่างต่อเนื่อง แต่ยังไม่มีการศึกษาและจำแนกเชื้อสาเหตุโรคที่สำคัญของปัญจขันธ์ โดยเฉพาะอาการต้นเน่าที่พบระบาดทั่วไปในแปลงปลูก ซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในระยะใกล้เก็บเกี่ยวผลผลิตปัญจขันธ์อายุประมาณ 3 เดือน ทำให้ผลผลิตเสียหายมากกว่า 20% โดยพบระบาดมากในช่วงฤดูฝนที่ความชื้นสูง ขณะนี้ยังไม่มีวิธีการจัดการโรคที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพ เมื่อพบโรคระบาดในแปลงมักใช้วิธีการถอนต้นที่แสดงอาการของโรคออกไปทำลายนอกแปลงปลูก อาการของโรคเน่าที่ยังไม่ทราบสาเหตุมี 2 ลักษณะคือ อาการใบเริ่มเป็นจุดแผลสีน้ำตาลเข้มหรือดำจากนั้นจะมีการแพร่ระบาดลุกลามทำความเสียหายอย่างรวดเร็ว และอาการที่ต้นเน่าเป็นสีเหลืองขุดดูที่บริเวณรากเกิดการเน่าทำให้ต้นแห้งตายในที่สุด ดังนั้นการทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาจำแนกชนิดของราหรือจุลินทรีย์สาเหตุโรคเน่าของปัญจขันธ์ และทดสอบวิธีการป้องกันกำจัดโรคโดยชีววิธีที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพเพื่อลดความเสียหายจากโรค

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อราสาเหตุโรคเน่าของปัญจขันธ์บริสุทธิ์แยกจากใบหรือต้นที่เป็นโรค
2. เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์แยกจากดินที่เก็บตัวอย่างจากแหล่งปลูกปัญจขันธ์
3. อาหารเลี้ยงเชื้อรา Potato Dextrose Agar (PDA) Martin’s medium ตู้เขี่ยเชื้อ และอุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการโรคพืช

4. กล้องจุลทรรศน์ และอุปกรณ์ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา
5. ต้นกล้าปัญจขันธ์ พันธุ์สิบสองปันนา ตาข่ายพรางแสง พลาสติกชนิดกันรังสียูวี กรรไกรตัดแต่งกิ่ง สมุดบันทึกข้อมูล อุปกรณ์สำหรับบันทึกข้อมูล กล้องบันทึกภาพ
6. เครื่องพ่นสารเคมีชนิดใช้เครื่องยนต์สะพายหลังสำหรับพ่นเชื้อราไตรโคเดอร์มา และสารชีวภัณฑ์
7. ปูนขาว ปุ๋ยคอก และอุปกรณ์ที่ใช้ในแปลงทดลอง เช่น จอบ ค้างไม้ไผ่ กรรไกรตัดแต่งกิ่ง ตะกร้าบรรจุผลผลิต เครื่องชั่งน้ำหนัก

วิธีการ แบ่งเป็น 2 ขั้นตอนการทดลองดังนี้

การทดลองที่ 1 ศึกษาและจำแนกเชื้อสาเหตุโรคต้นเน่าของปัญจขันธ์

1.1 สำรวจ เก็บตัวอย่างโรคเน่าปัญจขันธ์ และดินจากแปลงปลูกของเกษตรกรในพื้นที่ จ.เชียงใหม่ เชียงราย และพะเยา ห่อตัวอย่างใบหรือต้นเป็นโรคด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ ใส่ในถุงพลาสติก บันทึกรายละเอียด สถานที่ และวันที่เก็บ บรรจุตัวอย่างลงในกล่องเก็บความเย็นป้องกันไม่ให้ตัวอย่างเสียหายก่อนที่จะนำไปแยกเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการ

1.2 แยกเชื้อราสาเหตุโรคใช้วิธี tissue transplanting โดยตัดเนื้อเยื่อบริเวณรอยแผลต่อกับเนื้อเยื่อปกติของพืชเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 0.5x0.5 มิลลิเมตร แช่ในสารละลาย sodium hypochlorite 10% เป็นเวลา 3 นาที ล้างในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง นำไปซับบนกระดาษที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้แห้ง แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25$\pm$5 องศาเซลเซียส นาน 5-7 วัน แยกเชื้อบริสุทธิ์เลี้ยงบนอาหาร PDA และนำไปตรวจดูลักษณะของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อการจำแนกชนิดของราสาเหตุ สำหรับตัวอย่างดินที่เก็บจากแปลงปลูกใช้วิธี soil series dilution plate บนอาหาร Martin’s medium เพื่อแยกหาเชื้อรา *Trichoderma* spp. และเก็บรักษาเชื้อไว้ในหลอดอาหารเอียง หรือ PDA slant

1.3 การพิสูจน์การเกิดโรคของเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกจากอาการเน่าใช้วิธี Koch’s postulation นำเชื้อบริสุทธิ์ไปปลูกเชื้อให้กับใบปัญจขันธ์โดยใช้เทคนิค detached leaf บันทึกผลการเกิดโรคและลักษณะอาการ จากนั้นแยกเชื้อสาเหตุจากต้นที่แสดงอาการโรค เปรียบเทียบชนิดของราสาเหตุโรคที่ใช้ในการปลูกเชื้อในครั้งแรก และเก็บรักษาเชื้อสาเหตุโรคไว้ในหลอดอาหารเอียง PDA สำหรับใช้ในการทดสอบต่อไป

การทดลองที่ 2 ทดสอบการป้องกันกำจัดโรคต้นเน่าของปัญจขันธ์โดยชีววิธี

2.1 ทดสอบการป้องกันกำจัดโรคเน่าของปัญจขันธ์โดยชีววิธีในห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคเน่าปัญจขันธ์ โดยรา *Trichoderma spp*. ใช้วิธี Dual culture test บนอาหารเลี้ยงเชื้อรา PDA วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ 12 กรรมวิธี ประกอบด้วย

1 เชื้อรา *Trichoderma sp*. PYP1	7 เชื้อรา *Trichoderma sp*. CMD1
2 เชื้อรา *Trichoderma sp*. PYP2	8 เชื้อรา *Trichoderma sp*. CMD2
3 เชื้อรา *Trichoderma sp*. PYP3	9 เชื้อรา *Trichoderma sp*. CMD3
4 เชื้อรา *Trichoderma sp*. PYP4	10 เชื้อรา *Trichoderma sp*. CRM1

5 เชื้อรา *Trichoderma sp*. PYP5 11 ชีวภัณฑ์ *Trichoderma* KU

6 เชื้อรา *Trichoderma sp*. PYP6 12 ชีวภัณฑ์ *Trichoderma* CM

-ชีวภัณฑ์ *Trichoderma* KU คือเชื้อรา *T. harzianum* จากศูนย์ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี ม.เกษตรศาสตร์ ส่วนชีวภัณฑ์ *Trichoderma* CM เป็นชีวภัณฑ์การค้าที่มีจำหน่ายทั่วไป ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 ซม. เจาะชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยราสาเหตุโรคเน่าของปัญจขันธ์จากโคโลนีอายุ 3-5 วัน วางในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ห่างจากขอบจาน 2.0 ซม. และวางชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยรา *Trichoderma spp*. ตามกรรมวิธีด้านตรงข้ามในแนวเส้นผ่าศูนย์กลางเดียวกัน

-บ่มจานเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5-7 วัน จนกระทั่งเชื้อราสาเหตุโรคเน่าปัญจขันธ์ ในจานควบคุมเจริญเต็มจาน วัดรัศมีของโคโลนีเชื้อราสาเหตุโรค ในจานทดสอบและจานควบคุมซึ่งไม่มีเชื้อ *Trichoderma spp.* นำค่าที่ได้คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค (percent inhibition of radial growth = PIRG) จากสูตรดังนี้

$$PIRG = \frac{(RC - RT) \times 100}{RC}$$

RC = ความยาวรัศมีโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคในจานควบคุม (ไม่มีเชื้อรา *Trichoderma spp.*)

RT = ความยาวรัศมีโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคในจานทดสอบ

2.2 ทดสอบการป้องกันกำจัดโรคเน่าของปัญจขันธ์โดยชีววิธี ในโรงเรือนทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCBD จำนวน 4 ซ้ำ 6 กรรมวิธี โดยกรรมวิธี ประกอบด้วย

1 เชื้อรา *Trichoderma sp*. คัดเลือกไอโซเลท CRM1

2 เชื้อรา *Trichoderma sp*. คัดเลือกไอโซเลท PYP1

3 เชื้อรา *Trichoderma sp*. คัดเลือกไอโซเลท PYP4

4 เชื้อรา *Trichoderma sp*. คัดเลือกไอโซเลท PYP6

5 ชีวภัณฑ์ *Trichoderma* KU

6 กรรมวิธีควบคุม (ไม่ใช้ *Trichoderma*)

-สร้างโรงเรือนทดลองชั่วคราวพื้นที่ 1 งาน ภายในโรงเรือนเตรียมแปลงปลูกปัญจขันธ์ ขนาดแปลงทดลองย่อย 1.5 x 3.0 เมตร มุงหลังคาโรงเรือนด้วยพลาสติก และคลุมทับด้วยตาข่ายพรางแสง 70% นำกล้าปัญจขันธ์ที่ได้จากการเพาะเมล็ดอายุประมาณ 30 วัน ปลูกในแปลงจำนวน 20 ต้น/แปลงย่อย ใช้ระยะปลูก 0.3 x 1.0 เมตร

-เพิ่มปริมาณเชื้อรา *Trichoderma spp*. ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคเน่าได้ดีจากห้องปฏิบัติการ ผลิตด้วยการเลี้ยงบนข้าวสุกให้สร้างสปอร์สีเขียวของเชื้อสด (fresh culture) ใส่เชื้อสดรองก้น

หลุมก่อนปลูกหลุมละ 50 กรัม ในระยะการเจริญเติบโตของต้นใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาผสมน้ำ ด้วยอัตราเชื้อสด 1 กิโลกรัม/น้ำ 50 ลิตร ราดน้ำสปอร์ใส่รอบโคนต้น 100 มิลลิลิตร/ต้น ทุก 15 วัน จำนวน 5 ครั้ง หลังจากนั้นใช้วิธีพ่นน้ำสปอร์ ความเข้มข้น 10^8 cfu/ ml ทุก 15 วัน จำนวน 4 ครั้ง รวมการใช้ไตรโคเดอร์มาจำนวน 10 ครั้งเพื่อควบคุมโรคของต้นปัญจขันธ์ในโรงเรือนทดลอง

-ตรวจสอบการควบคุมโรคต้นเน่าแต่ละกรรมวิธี ประเมินการเกิดโรคโดย บันทึกข้อมูลการเกิดโรคเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคทุก 1 วันหลังจากปลูก 30-60 วัน รวมทั้งบันทึกข้อมูลด้านผลผลิตและการระบาดของโรคหรือศัตรูพืชชนิดอื่น

เวลาและสถานที่ ตุลาคม 2558 ถึง กันยายน 2560 (2 ปี)

ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ต.ป่าอ้อดอนชัย อ.เมือง จ.เชียงราย

ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาและจำแนกเชื้อสาเหตุโรคต้นเน่าของปัญจขันธ์

ผลการสำรวจเก็บรวบรวมตัวอย่างโรค และดินจากแหล่งปลูกปัญจขันธ์ในเขต จ. เชียงใหม่ เชียงรายและพะเยา สามารถเก็บตัวอย่างโรคของปัญจขันธ์ได้จำนวน 10 ตัวอย่าง นำไปแยกเชื้อจุลินทรีย์จากตัวอย่างโรคในห้องปฏิบัติการวิธี Tissue transplanting บนอาหารเลี้ยงเชื้อมาตรฐาน PDA สำหรับตัวอย่างดินที่เก็บจากแปลงปลูกใช้วิธี soil series dilution plate บนอาหาร Martin’s medium เพื่อแยกหาเชื้อรา *Trichoderma* sp. และใช้อาหาร Nutrient glucose agar (NGA) ในการแยกหาเชื้อ *Bacillus* sp. ผลปรากฏว่า ได้เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดจำนวน 95 ไอโซเลท โดยแยกเป็นเชื้อราจำนวน 60 ไอโซเลท และเชื้อแบคทีเรีย 35 ไอโซเลท ให้รหัสเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้เป็นตัวอักษรและตัวเลขตามแหล่งที่มาและชนิดของตัวอย่าง (ตารางที่1)

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกเชื้อบริสุทธิ์ได้ สามารถจำแนกเป็นเชื้อราจำนวน 60 ไอโซเลท ตรวจดูเส้นใยและสปอร์ของเชื้อราเพื่อจำแนก genus ของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า สามารถจำแนกได้เป็นเชื้อราใน 14 genus ได้แก่ *Aspergillus sp.* จำนวน 6 ไอโซเลท, *Choanephora sp.* จำนวน 5 ไอโซเลท, *Colletotrichum sp.* จำนวน 2 ไอโซเลท, *Dreshera sp.* 1 ไอโซเลท, *Fusarium sp.* จำนวน 3 ไอโซเลท, *Lasiodiplodia sp.* จำนวน 5 ไอโซเลท, *Macrophoma sp.* จำนวน 5 ไอโซเลท, *Nigrospora sp.* 2 ไอโซเลท, *Pennicillium sp.* จำนวน 5 ไอโซเลท, *Pestalotia sp.* 1 ไอโซเลท, *Phytophthora sp.* จำนวน 3 ไอโซเลท, *Pythium sp.* จำนวน 3 ไอโซเลท, *Rhizoctonia sp.* 2 ไอโซเลท และ *Trichoderma* sp. จำนวน 10 ไอโซเลท ส่วนเชื้อราที่จำแนก genus ไม่ได้จำนวน 7 ไอโซเลท (ตารางที่ 2 และภาพที่ 1)

พิสูจน์การเกิดโรคของเชื้อจุลินทรีย์ที่จำแนก ใช้วิธี Koch's postulation ทำการปลูกเชื้อให้ต้นปัญจขันธ์เพื่อพิสูจน์โรคโดยวิธี detached leaf ในห้องปฏิบัติการโรคพืช ผลการทดลองพบมีเชื้อราจำนวน 9 ไอโซเลท เกิดอาการเน่าของใบปัญจขันธ์ คือ CRM 6, CRM 7, CRM 19, CRM 23, CRM 24, CRM 25, CRM 27, CRM 29 และ CRM 32 (ตารางที่ 3) ผลการแยกเชื้อราสาเหตุที่ทำให้เกิดอาการโรคหลังจากการปลูกเชื้อซ้ำ ปรากฏมีเชื้อราเพียง 3 ไอโซเลทที่มีลักษณะของโคโลนี เส้นใยและสปอร์เหมือนกับเชื้อราที่แยกได้จากอาการโรคเน่าปัญจขันธ์ที่เก็บตัวอย่างครั้งแรก ได้แก่ CRM 19, CRM 24 และ CRM 29 ซึ่งสามารถจำแนกไอโซเลท CRM 19 เป็นเชื้อรา *Rhizoctonia sp.* ไอโซเลท CRM 24 เป็นเชื้อรา *Choanephora sp.*และ CRM 29 เป็นเชื้อรา *Lasiodiplodia sp.* (ภาพที่ 2) เก็บรักษาเชื้อทั้ง 3 ไอโซเลทไว้ในหลอดอาหารเอียงสำหรับใช้ในการทดลองขั้นตอนต่อไป

สำหรับเชื้อรา *Trichoderma* sp. สามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้จากดินในแหล่งปลูกปัญจขันธ์ จำนวน 10 ไอโซเลท แบ่งเป็นเชื้อเก็บตัวอย่างดินจากจังหวัดพะเยา 6 ไอโซเลท ได้แก่ PYP1, PYP2, PYP3, PYP4, PYP5 และ PYP6 จังหวัดเชียงราย 1 ไอโซเลท คือ CRM1 และจากจังหวัดเชียงใหม่ 3 ไอโซเลท ได้แก่ CMD1, CMD2 และ CMD นำไปทดสอบประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคเน่าปัญจขันธ์ในห้องปฏิบัติการโรคพืช เปรียบเทียบกับ ชีวภัณฑ์ *Trichoderma* KU และชีวภัณฑ์ *Trichoderma* CM (ภาพที่ 3)

ตารางที่ 1 ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้จากตัวอย่างโรคปัญจขันธ์และตัวอย่างดินในแปลงปลูกแหล่งต่างๆ

แหล่งเก็บตัวอย่าง	เชื้อรา (ไอโซเลท)	เชื้อแบคทีเรีย (ไอโซเลท)
อ.ดอยสะเก็ด จ.เชียงใหม่ (CMD)	17	-
อ.เมือง จ.เชียงราย (CRM)	31	10
อ.พญาเม็งราย จ.เชียงราย (CRPM)	6	6
อ.ปง จ.พะเยา (PYP)	6	5
อ.ภูซาง จ.พะเยา (PYPS)	-	14
รวม	60	35

ตารางที่ 2 ผลการจำแนก genus ของเชื้อราบริสุทธิ์ที่แยกได้จากโรคเน่าของต้นปัญจขันธ์ และดินในแปลงปลูก

Genus	แหล่งที่เก็บตัวอย่างโรคเน่าและดินในแปลงปลูกปัญจขันธ์				รวม
	CMD	CRM	CRPM	PYP[1]	
Aspergillus	1	3	2	-	6

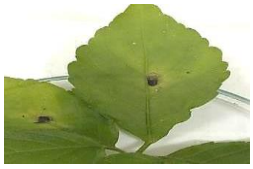
Choanephora	4	1	-	-	5
Colletotrichum	-	2	-	-	2
Dreshera	-	1	-	-	1
Fusarium	-	2	1	-	3
Lasiodiplodia	1	3	1	-	5
Macrophoma	1	4	-	-	5
Nigrospora	-	2	-	-	2
Penicillium	2	3	-	-	5
Pestalotia	1	-	-	-	1
Phytopthora	1	2	-	-	3
Pythium	1	2	-	-	3
Rhizoctonia	-	2	-	-	2
Trichoderma	3	1	-	6	10
Unknown[2]	2	4	1	-	7
รวม	17	32	5	6	60

[1] แหล่งปลูกที่ อ.ปง จ.พะเยา เก็บได้เฉพาะตัวอย่างดินในแปลงปลูก เนื่องจากเก็บเกี่ยวแล้ว จึงแยกได้เฉพาะราที่อาศัยในดิน (*Trichoderma sp.*)

[2] unknown คือเชื้อราที่ไม่สามารถจำแนกชนิดได้

ภาพที่ 1 ลักษณะของเชื้อราบริสุทธิ์ที่แยกเชื้อได้จากอาการเน่าของต้นปัญจขันธ์

ตารางที่ 3 ลักษณะของแผลจากการปลูกเชื้อราวิธี detached leaf บนใบปัญจขันธ์เพื่อพิสูจน์เชื้อสาเหตุของโรคในห้องปฏิบัติการ

ไอโซเลทของเชื้อรา ที่แยกได้จากโรคเน่าปัญจขันธ์	ลักษณะอาการของแผลบนใบที่ปลูกเชื้อซ้ำ วิธี detached leaf	
CRM 6 (*Colletotrichum sp.*)	-แผลรูปร่างค่อนข้างกลม สีน้ำตาลเข้ม ไม่มีเส้นใยของเชื้อราเจริญขยายออกจากชิ้นวุ้นที่ปลูกเชื้อบนใบ ใบเน่าเป็นสีน้ำตาลเข้มหลังจาก 7 วัน	
CRM 7 (*Dreshera sp.*)	-แผลกลมสีน้ำตาลปนเทา สีเหลืองรอบล้อมแผล กลางแผลมีเส้นใยเชื้อราเจริญฟู ขึ้นจากชิ้นวุ้นที่ใช้ปลูกเชื้อ	
CRM 19 (*Rhizoctonia sp.*)	-แผลสีน้ำตาลอ่อน ขยายจากเชื้อราบนชิ้นวุ้นที่ปลูกเชื้อ ทำให้เกิดอาการแผลเน่ายุบตัวลงและลุกลามทั้งใบ	
CRM 23 (*Lasiodiplodia sp.*)	-แผลไม่ขยายตัวจากจุดที่ปลูกเชื้อ เนื้อใบรอบๆ เปลี่ยนเป็นสีเขียวอ่อน เชื้อราบนชิ้นวุ้นแห้งลงหลังจากปลูกเชื้อ 7 วัน	
CRM 24 (*Choanephora sp.*)	-แผลกลมสีน้ำตาลเข้มปนดำ ขอบแผลสีเข้ม แผลขยายรวดเร็วภายใน 2 วันและทำให้ใบเน่าเมื่อปลูกเชื้อครบ 7 วัน	
CRM 25 (*Phytopthora sp.*)	-แผลสีดำปนเทา ขยายออกจากเชื้อราบนชิ้นวุ้นที่ใช้ปลูกเชื้อเพียงด้านเดียวและทำให้ใบเน่า	
CRM 27 (*Macrophoma sp.*)	-แผลค่อนข้างกลมสีดำ มีสีเขียวอ่อนรอบล้อมแผล แผลขยายตัว และเส้นใยเชื้อราที่ใช้ปลูกเชื้อฟูบนแผล	
CRM 29 (*Lasiodiplodia sp.*)	-แผลสีน้ำตาลปนเทา ขยายออกไปตามเส้นกลางใบ ตรงกลางแผลมีเส้นใยเชื้อ	

	ราเจริญฟูขึ้นจากชิ้นวุ้นที่ใช้ปลูกเชื้อ	
CRM 32 (*Lasiodiplodia sp.*)	-แผลที่ปลูกเชื้อรา เปลี่ยนเป็นสีดำและเส้นใยของเชื้อราเจริญขึ้นรอบๆแผลทำให้เปลี่ยนเป็นสีเทาอ่อน	

การทดลองที่ 2 ทดสอบการป้องกันกำจัดโรคต้นเน่าของปัญจขันธ์โดยชีววิธี

2.1 ประสิทธิภาพของ *Trichoderma spp* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา 3 ชนิด ได้แก่ *Rhizoctonia sp.* (CRM 19), *Choanephora sp.* (CRM 24) และ *Lasiodiplodia sp.* (CRM 29) สาเหตุโรคเน่าในห้องปฏิบัติการ

ผลการทดสอบของเชื้อรา *Rhizoctonia sp.* หลังจากบ่มเชื้อ 2 วัน พบว่า *Trichoderma sp*. ไอโซเลท PYP1 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Rhizoctonia sp.* ได้มากที่สุด 29.6% รองลงไปคือ PYP4 และ PYP3 ยับยั้งการเจริญได้ 29.2 และ 28.9% ตามลำดับ สำหรับการทดสอบในเชื้อรา *Lasiodiplodia sp.* พบว่า *Trichoderma sp*. ไอโซเลท CRM1 ให้ผลยับยั้งการเจริญของเส้นใยมากที่สุด 32.7% รองลงไปคือ PYP3 และ CMD2 ยับยั้งการเจริญได้เท่ากันคือ 28.6 % ในขณะที่ไอโซเลท CMD3 ยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้เท่ากับ 21.9%

เมื่อบ่มเชื้อเป็นเวลา 4 วัน พบว่าเชื้อรา *Trichoderma spp*. สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *Rhizoctonia sp.* เพิ่มขึ้นโดยไอโซเลท PYP1 ยังคงยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุด 50.6% รองลงไปได้แก่ PYP3 ยับยั้งได้เท่ากับ PYP4 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 50.1% และ PYP6 ยับยั้งได้ 49.3% ตามลำดับ

ผลทดสอบของเชื้อรา *Lasiodiplodia sp.* ปรากฏว่าเชื้อไอโซเลท PYP3 และ CRM1 ให้ผลยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้มากกว่าไอโซเลทอื่นเท่ากับ 50.9% รองลงไปคือ CMD2 และ PYP4 มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งเท่ากับ 50.0 และ 45.4% ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Rhizoctonia sp.* ในวันที่ 6 ซึ่งเป็นวันสุดท้ายของการทดสอบ พบว่า *Trichoderma sp*. ไอโซเลท PYP1 และ PYP3 มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ดีที่สุดเท่ากับ 50.6% รองลงไปได้แก่ PYP4 และ PYP6 สามารถยับยั้งได้ 50.1 และ 49.3% ตามลำดับ โดยผลการยับยั้งดังกล่าวไม่เปลี่ยนแปลงจากการบ่มเชื้อในเวลา 4 วัน (ตารางที่ 4 และภาพที่ 4) ส่วนผลการทดสอบของเชื้อรา *Lasiodiplodia sp.* หลังจากบ่มเชื้อ 6 วันปรากฏว่าไอโซเลท PYP4 มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ดีที่สุดเท่ากับ 67.3% รองลงไปคือ PYP3 และ KU ให้ผลการยับยั้งเท่ากับ 66.4 และ 65.6% ตามลำดับ (ตารางที่ 5 และ ภาพที่ 5)

ผลการทดสอบของเชื้อรา *Choanephora sp.* หลังจากบ่มเชื้อ 2 วัน พบว่าไอโซเลท CMD1 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้มากที่สุด 26.4% รองลงไปคือ CMD2 และ PYP5 ยับยั้งการเจริญได้ 22.2 และ 19.8% ตามลำดับ หลังจากบ่มเชื้อเป็นเวลา 4 วัน เชื้อรา *Trichoderma spp*. สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อราดังกล่าวได้เพิ่มขึ้น โดยพบว่าไอโซเลท CRM1 ยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุด 40.3% รองลงไปได้แก่ PYP5 ยับยั้งได้เท่ากับ 38.7 % และ PYP6 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ 37.6% ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Choanephora sp.* ในวันที่ 6 ของการทดสอบ พบว่าไอโซเลท CRM1 และ PYP5 มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ดีที่สุดเท่ากันคือ 49.3% รองลงไปได้แก่ CM และ PYP6 สามารถยับยั้งได้ 48.4 และ 47.6% ตามลำดับ (ตารางที่ 6 และภาพที่ 6)

ตารางที่ 4 การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Rhizoctonia sp*. ด้วยเชื้อรา *Trichoderma spp.* ทดสอบโดยวิธี Dual culture test บนอาหารเลี้ยงเชื้อรา PDA

Trichoderma spp.	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราหลังจากการบ่มเชื้อทดสอบ[1]		
	2 วัน	4 วัน	6 วัน
PYP1	29.6 a	50.6 a	**50.6** a
PYP2	24.5 de	47.1 c	47.1 c
PYP3	28.9 ab	50.1 ab	**50.6** a
PYP4	29.2 ab	50.1 ab	50.1 ab
PYP5	26.4 b-e	48.8 abc	48.8 abc
PYP6	27.0 a-d	49.3 ab	49.2 ab
CMD1	25.8 cde	48.8 abc	48.8 abc
CMD2	27.0 a-d	48.8 abc	48.8 abc
CMD3	27.0 a-d	48.8 abc	48.8 abc
CRM1	25.8 cde	48.4 bc	48.4 bc
Trichoderma KU	27.7 abc	48.8 abc	48.4 bc
Trichoderma CM	23.9 e	47.1 c	47.1 c
CV (%)	6.1	2.1	2.1

[1] เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ โดยคำนวณจาก

Percent inhibition of radial growth = PIRG

$$PIRG = \frac{(RC - RT) \times 100}{RC}$$

RC = ความยาวรัศมีโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคในจานควบคุม (ไม่มีเชื้อรา *Trichoderma spp.*)

RT = ความยาวรัศมีโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคในจานทดสอบ

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกัน แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี DMRT

ตารางที่ 5 การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Lasiodiplodia sp*. ด้วยเชื้อรา *Trichoderma spp.* ทดสอบโดยวิธี Dual culture test บนอาหารเลี้ยงเชื้อรา PDA

Trichoderma spp.	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราหลังจากการบ่มเชื้อทดสอบ[1]		
	2 วัน	4 วัน	6 วัน
PYP1	17.2 bc	43.1 b	64.7 ab
PYP2	16.5 c	42.6 b	64.3 ab
PYP3	28.6 ab	50.9 a	**66.4** a
PYP4	20.5 bc	45.4 ab	**67.3** a
PYP5	20.5 bc	44.4 ab	63.8 ab
PYP6	15.1 c	41.7 b	62.5 ab
CMD1	19.9 bc	43.1 b	57.7 b
CMD2	28.6 ab	**50.0** a	61.7 ab
CMD3	21.9 abc	44.9 ab	63.4 ab
CRM1	32.7 a	50.9 a	61.2 ab
Trichoderma KU	19.9 bc	44.4 ab	**65.6** a
Trichoderma CM	17.2 bc	43.1 b	63.8 ab
CV (%)	28.1	7.9	5.8

[1] เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ โดยคำนวณจาก

Percent inhibition of radial growth = PIRG

$$PIRG = \frac{(RC - RT) \times 100}{RC}$$

RC = ความยาวรัศมีโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคในจานควบคุม (ไม่มีเชื้อรา *Trichoderma spp.*)

RT = ความยาวรัศมีโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคในจานทดสอบ

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกัน แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี DMRT

ตารางที่ 6 การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Choanephora sp.* ด้วยเชื้อรา *Trichoderma spp.* ทดสอบโดยวิธี Dual culture test บนอาหารเลี้ยงเชื้อรา PDA

Trichoderma spp.	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราหลังจากการบ่มเชื้อทดสอบ[1]		
	2 วัน	4 วัน	6 วัน
PYP1	18.1 bc	33.3 abc	38.6 bc
PYP2	15.3 c	28.7 c	34.4 c
PYP3	16.7 bc	28.7 c	34.4 c
PYP4	14.3 c	34.4 abc	46.7 a
PYP5	19.8 bc	38.7 a	**49.3 a**
PYP6	15.6 c	37.6 a	47.6 a
CMD1	26.4 a	34.5 ab	39.7 bc
CMD2	22.2 ab	35.6 ab	40.7 b
CMD3	18.1 bc	31.0 bc	36.5 bc
CRM1	17.7 bc	40.3 a	**49.3 a**
Trichoderma KU	15.6 bc	35.5 ab	46.7 a
Trichoderma CM	15.6 bc	36.6 ab	**48.4 a**
CV (%)	19.3	9.7	7.5

[1] เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ โดยคำนวณจาก

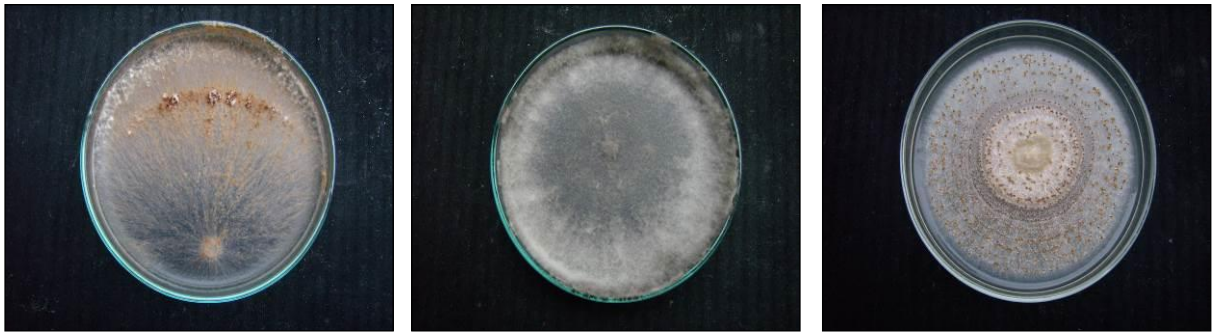
Percent inhibition of radial growth = PIRG

$$PIRG = \frac{(RC - RT) \times 100}{RC}$$

RC = ความยาวรัศมีโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคในจานควบคุม (ไม่มีเชื้อรา *Trichoderma spp.*)

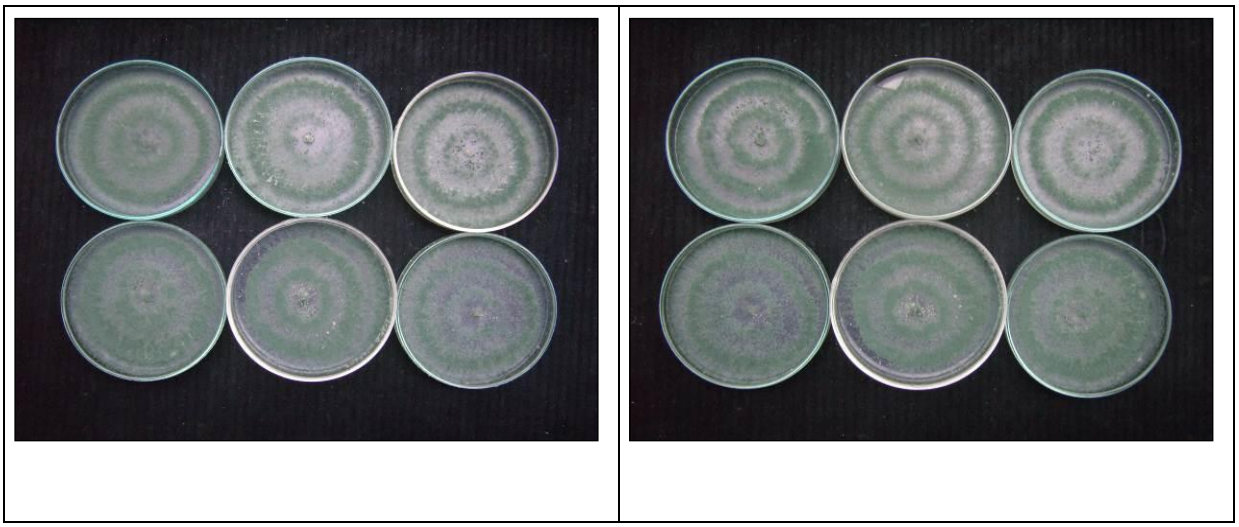
RT = ความยาวรัศมีโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคในจานทดสอบ

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกัน แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี DMRT



Rhizoctonia sp. (CRM 19) *Lasiodiplodia sp*. (CRM 29) *Choanephora sp.* (CRM 24)

ภาพที่ 2 ลักษณะโคโลนีและเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคเน่าของปัญจขันธ์เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อรา PDA



(a) (b)

ภาพที่ 3 ลักษณะโคโลนีและสปอร์ของเชื้อรา *Trichoderma spp.* ที่ใช้ในการทดสอบ 12 ไอโซเลทเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อรา PDA

(a) PYP1 PYP2 PYP3 (b) CMD1 CMD2 CMD3

PYP4 PYP5 PYP6 CRM1 KU CM

PYP1 PYP2 PYP3 PYP4 CMD1 CMD2 CMD3 CRM1

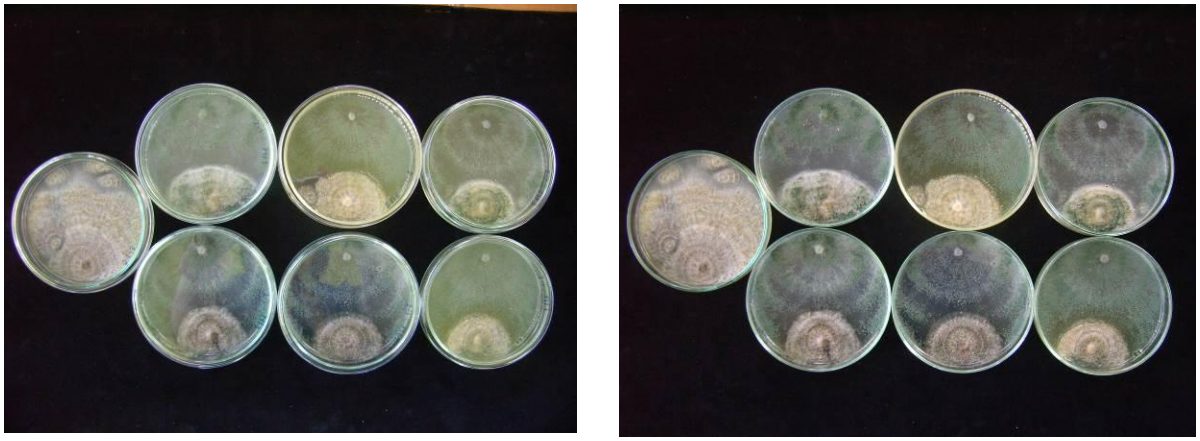
PYP5 PYP6 control KU CM control

ภาพที่ 4 ประสิทธิภาพของ *Trichoderma spp.* ในการยับยั้งการเจริญของรา *Rhizoctonia* sp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อรา PDA ทดสอบวิธี Dual culture test

PYP1 PYP2 PYP3 PYP4 CMD1 CMD2 CMD3 CRM1

PYP5 PYP6 control KU CM control

ภาพที่ 5 ประสิทธิภาพของ *Trichoderma spp.* ในการยับยั้งการเจริญของรา *Lasiodiplodia sp*. บนอาหาร PDA ทดสอบโดยวิธี Dual culture test



PYP1 PYP2 PYP3 CMD1 CMD2 CMD3

control control

PYP4 PYP5 PYP6 CRM1 KU CM

ภาพที่ 6 ประสิทธิภาพของ *Trichoderma spp.* ในการยับยั้งการเจริญของรา *Choanephora sp.* บนอาหารเลี้ยงเชื้อรา PDA ทดสอบโดยวิธี Dual culture test

การทดลองที่ 2 ทดสอบการป้องกันกำจัดโรคต้นเน่าของปัญจขันธ์โดยชีววิธี

2.2 ทดสอบการป้องกันกำจัดโรคเน่าของปัญจขันธ์โดยชีววิธีในโรงเรือนทดลอง ผลการใช้รา *Trichoderma spp.* เพื่อควบคุมโรคเน่าของปัญจขันธ์ในโรงเรือนทดลอง หลังการปลูกปัญจขันธ์ในแปลงทดลอง 30 วัน พบว่ามีการเกิดโรคค่อนข้างต่ำ ส่วนใหญ่อาการเกิดที่ใบแก่ส่วนล่างของต้นเกิดเป็นแผลจุดเล็กๆ จากนั้นแผลขยายลามทั้งใบทำให้เกิดอาการเน่าเป็นสีดำ ซึ่งสามารถตรวจนับโรคที่เกิดได้ตั้งแต่ 7.0-13.8 % โดยกรรมวิธีควบคุมไม่ใช้รา *Trichoderma spp.* เกิดโรคมากกว่ากรรมวิธีอื่น ผลการตรวจสอบโรคระยะ 40 วันหลังปลูกปรากฏว่าการใช้ *Trichoderma sp.* ไอโซเลท PYP1 มีประสิทธิภาพควบคุมโรคได้ดีที่สุด พบโรคเพียง 9.9 % รองลงไปได้แก่ PYP4 และ CRM1 เกิดโรค 11.2 และ 12.4 % ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมเกิดโรคสูงสุด 17.4%

ผลตรวจสอบโรคเมื่อครบอายุ 50 วันหลังการปลูก ปรากฏว่าการใช้ *Trichoderma sp.* ไอโซเลท PYP4 เกิดโรคต่ำสุด 15.3 % รองลงไปได้แก่ CRM1 เกิดโรค 16.5 และ PYP1 พบโรค 18.8 % ตามลำดับ โดยกรรมวิธีควบคุมเกิดโรค 27.0 % ซึ่งมากกว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma* ทั้ง 3 ไอโซเลท คือ PYP1, PYP4 และ CRM1 อย่างชัดเจน เมื่อครบอายุ 60 วันหลังปลูก พบว่าโรคเน่าของปัญจขันธ์ในแปลงทดลองระบาดเพิ่มมากขึ้น แต่การใช้ *Trichoderma sp.* ไอโซเลท PYP4 ยังคงมีประสิทธิภาพควบคุมโรคได้ดีที่สุด เกิดโรคต่ำสุด 31.8 %

รองลงไปคือ ไอโซเลท CRM1 และ PYP1 เกิดโรค 33.3 และ 35.5% ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีควบคุม พบโรคใบจุด ใบเน่าและต้นเน่าของปัญจขันธ์ สูงสุดถึง 51.5 % (ตารางที่ 7) ซึ่งการเกิดโรคดังกล่าวทำให้ผลผลิตเกิดความเสียหาย สำหรับในระยะ 60 วันนี้แสดงให้เห็นถึงผลของการใช้รา *Trichoderma* ไอโซเลท CRM1 PYP1 PYP4 และ PYP6 สามารถควบคุมการเกิดโรคของปัญจขันธ์ได้ดีกว่ากรรมวิธีควบคุม (control) เมื่อเก็บเกี่ยวผลผลิตสดและนำไปอบแห้งแปรรูปเป็นชาสมุนไพรปัญจขันธ์ในแต่ละกรรมวิธี พบว่าการใช้ *Trichoderma* ไอโซเลท PYP1 ให้น้ำหนักผลผลิตสดสูงสุด 7,800 กรัม น้ำหนักแห้ง 852.4 กรัม รองลงไปได้แก่ PYP6 ผลผลิตสด 7,630 กรัม น้ำหนักแห้ง 817.5 กรัม และPYP4 มีผลผลิตสด 7,500 กรัม น้ำหนักแห้ง 790.0 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยของปัญจขันธ์ในแปลงปลูกที่ใช้รา *Trichoderma sp.* ควบคุมโรคเน่า

กรรมวิธี	30 วัน (%) [1]	40 วัน (%)	50 วัน (%)	60 วัน (%)
1 ไอโซเลท CRM1	7.0 a	12.4 ab	16.5 a	33.3 a
2 ไอโซเลท PYP1	7.5 a	9.9 a	18.8 ab	35.5 a
3 ไอโซเลท PYP4	8.8 a	11.2 ab	15.3 a	31.8 a
4 ไอโซเลท PYP6	9.7 a	12.9 abc	21.3 abc	38.0 a
5 ชีวภัณฑ์ KU	9.0 a	15.7 bc	23.3 bc	41.0 ab
6 กรรมวิธีควบคุม (control)	13.8 b	17.4 c	27.0 c	51.5 b
% CV	28.3	23.4	18.8	18.8

[1] เปอร์เซ็นต์ของปัญจขันธ์เฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกัน แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี DMRT

ตารางที่ 8 น้ำหนักผลผลิตสดและแห้งของปัญจขันธ์จากแปลงทดลองควบคุมโรคโดยใช้รา *Trichoderma sp.*

กรรมวิธี	น้ำหนักสด (กรัม)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)
1 ไอโซเลท CRM1	7,200 a	787.5 a
2 ไอโซเลท PYP1	7,800 a	852.4 a
3 ไอโซเลท PYP4	7,500 a	790.0 a

4 ไอโซเลท PYP6	7,630 a	817.5 a
5 ชีวภัณฑ์ *Trichoderma* KU	7,430 a	797.5 a
6 กรรมวิธีควบคุม (control)	7,150 a	624.3 a
% CV	10.8	23.0

[1] น้ำหนักผลผลิตเฉลี่ยจาด 4 ซ้ำ ขนาดแปลงทดลองย่อย 1.5 ม.X3.0 ม. (4.5 ตารางเมตร) เก็บเกี่ยว 1 ครั้ง

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวสดมภ์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธี DMRT

ภาพที่ 7 เตรียมแปลงทดลอง ปลูกปัญจขันธ์ในโรงเรือนทดลองพรางแสง จำนวน 20 ต้น/แปลงย่อย คลุมแปลงด้วยฟางข้าวเพื่อรักษาความชื้นและป้องกันวัชพืช

ภาพที่ 8 ต้นปัญจขันธ์อายุ 14 วันหลังปลูกเจริญเติบโตและเริ่มขึ้นค้างในแปลงทดลอง

(ก) (ข)

ภาพที่ 9 การใส่เชื้อไตรโคเดอร์มาที่ผลิตรูปเชื้อสด (ก) ใช้อัตราเชื้อสด 1 กิโลกรัม/น้ำ 50 ลิตร ราดน้ำสปอร์ใส่รอบโคนต้น 100 มิลลิลิตร/ต้น ทุก 15 วัน จำนวน 5 ครั้ง และพ่นน้ำสปอร์เข้มข้น 10^8 cfu/ มิลลิลิตร ทุก 15 วัน จำนวน 4 ครั้ง

ภาพที่ 10 ตรวจสอบการโรคปัญจขันธ์ในแปลงทดลองแต่ละกรรมวิธีทุก 10 วัน ตั้งแต่อายุ 30-60 วันหลังปลูก

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

โรคใบและต้นเน่าของปัญจขันธ์ จากการจำแนกเชื้อโรคและพิสูจน์ความสามารถในการก่อโรคเกิดจากเชื้อรา 3 ชนิด ได้แก่ *Rhizoctonia sp*., *Lasiodiplodia sp*., และ *Choanephora sp.* การควบคุมโรคโดยชีววิธีโดยทดสอบประสิทธิภาพของรา *Trichoderma spp.* ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยราทั้ง 3 ชนิดวิธี Dual culture test พบว่าไอโซเลท PYP1 และ PYP3 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใย *Rhizoctonia sp*. ได้สูงสุด 50.6% ส่วนไอโซเลท PYP4 ยับยั้งเชื้อรา *Lasiodiplodia sp*. ได้สูงสุด 67.3% ในขณะที่ไอโซเลท CRM1 และ PYP5 มีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อรา *Choanephora sp.* ได้ 49.3% เท่ากัน

ทดสอบการควบคุมโรคในแปลงปลูกภายใต้โรงเรือนทดลอง การใช้ *Trichoderma sp.* ไอโซเลท PYP4 มีประสิทธิภาพควบคุมโรคได้ดีที่สุด และวิธีที่ใช้ *Trichoderma sp*. ทุกไอโซเลททำให้ได้น้ำหนักผลผลิตสดและน้ำหนักแห้งมากกว่ากรรมวิธีควบคุม (control)

สำหรับการนำรา *Trichoderma sp*. ไอโซเลทมีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคในห้องปฏิบัติการ และทดสอบการควบคุมโรคในสภาพเรือนทดลองหรือแปลงปลูกแล้วไปใช้ประโยชน์นั้น จำเป็นจะต้องมีการศึกษาเพื่อยืนยันผลซ้ำในการทดลองต่างสถานที่ หรือขยายผลในแปลงปลูกเพิ่มเติม รวมทั้งศึกษารูปแบบการพัฒนาเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ดังกล่าวเป็นชีวภัณฑ์เพื่อนำไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป เชื้อปฏิปักษ์ที่จะพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์จะต้องมีปริมาณของเชื้อที่ใช้ใกล้เคียงได้มาตรฐานทุกครั้งที่ผลิต ไม่มีเชื้ออื่นปะปน และมีคุณภาพในการควบคุมโรคคงที่สม่ำเสมอ มีอายุการเก็บรักษายาวนานไม่เป็นโทษต่อสิ่งมีชีวิตต่างๆ และไม่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมรวมทั้งสามารถนำไปใช้ร่วมกับวิธีการอื่นได้ และทำให้มีประสิทธิภาพการควบคุมโรคได้ดียิ่งขึ้น

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Trichoderma sp.* ไอโซเลท PYP4, CRM1, PYP1 และ PYP6 ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบจุดใบเน่าและต้นเน่าของปัญจขันธ์จากการทดลองนี้ สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานหรือแนวทางในการควบคุมโรคที่สำคัญโดยชีววิธีของพืชสมุนไพรชนิดอื่นที่มีปัญหาจากเชื้อสาเหตุชนิดเดียวกัน ซึ่งควรมีการทดลองซ้ำเพื่อยืนยันผลในสถานที่ต่างๆ หรือทดสอบขยายผลต่อในแปลงเกษตรกร และควรพัฒนารูปแบบของชีวภัณฑ์เพื่อให้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้อย่างสะดวก ซึ่งจะช่วยลดความเสียหายที่เกิดขึ้นจากเชื้อราสาเหตุโรคดังกล่าว ทำให้ได้วัตถุดิบสมุนไพรตั้งต้นที่มีคุณภาพดีสำหรับการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพร

คำขอบคุณ

ขอบคุณ นางสาวทิพวรรณ ปัญญาสีห์ นักวิชาการเกษตร นางอุรา เนตรสุวรรณ, นางฉวีวรรณ สุริยนต์, นายไพโรจน์ พรมวงค์, นายบุญธรรม อภิวงศ์, นายเกรียงศักดิ์ สุริยนต์ และนายดำรง เนตรสุวรรณ ผู้ช่วยนักวิจัย ที่ช่วยกันปฏิบัติงานทดลองนี้ให้สำเร็จ

เอกสารอ้างอิง

จรัญ ดิษฐ์ไชยวงศ์ ศศิธร วรปิติรังสี เสงี่ยม แจ่มจำรูญ และแสงมณี ชิงดวง. 2553. ศึกษาวิธีการปลูกและอายุเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมต่อผลผลิตและปริมาณสารสำคัญของปัญจขันธ์. รายงานเรื่องเต็มผลการทดลองสิ้นสุดปีงบประมาณ 2553. กรมวิชาการเกษตร. 6หน้า.

บัวบาง ยะอูป สมศักดิ์ รุ่งอรุณ และวรวิทย์ ยี่สวัสดิ์. 2552. การผลิตและแปรรูปเจียวกู่หลาน. สถานีวิจัยดอยปุย สถาบันค้นคว้าและพัฒนาระบบนิเวศเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. แหล่งข้อมูล: http://www.rdi.ku.ac.th/kasetresearch (เข้าถึงเมื่อ 5 พ.ค. 2557)

เย็นจิตร เตชะดำรงสิน. 2550. การพัฒนาสมุนไพรแบบบูรณาการ. กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก กระทรวงสาธารณสุข พิมพ์ครั้งที่ 1: กันยายน 2550. สำนักพิมพ์กิจการโรงพิมพ์องค์การทหารผ่านศึกในพระราชูปถัมภ์. 212หน้า.