

ศักยภาพของปุ๋ยชีวภาพจากราเอนโดไฟท์ (*Fusarium endophyticum*)
เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคเหี่ยวเหสีอง
(*Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici*) และ
แอนแทรคโนส (*Colletotrichum capsici*) ในพริกหวาน



ฉันทพร ยานะวงษ์

วิทยานิพนธ์เสนอมหาวิทยาลัยพะเยา เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร

พฤษภาคม 2567

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยพะเยา

ศักยภาพของปุ๋ยชีวภาพจากราเอนโดไฟท์ (*Fusarium endophyticum*)
เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคเหี่ยวเหลือง
(*Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici*) และ
แอนแทรคโนส (*Colletotrichum capsici*) ในพริกหวาน



ธัญพร ยานะวงษ์

วิทยานิพนธ์เสนอมหาวิทยาลัยพะเยา เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร
พฤษภาคม 2567
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยพะเยา

POTENTIAL OF BIOFERTILIZER FROM ENDOPHYTIC FUNGUS (*FUSARIUM ENDOPHYTICUM*)
TO PROMOTE GROWTH AND CONTROL FUSARIUM WILT (*FUSARIUM OXYSPORUM* F. SP.
CAPSICI) AND ANTHRACNOSE (*COLLETOTRICHUM CAPSICI*) OF BELL PEPPERS



TANYAPORN YANAWONG

A Thesis Submitted to University of Phayao
in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Master of Science Degree in Agricultural Science
May 2024

Copyright 2024 by University of Phayao

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ศักยภาพของปุ๋ยชีวภาพจากราเอนโดไฟท์ (*Fusarium endophyticum*)

เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคเหี่ยวเหลือง

(*Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici*) และ

แอนแทรคโนส (*Colletotrichum capsici*) ในพริกหวาน

ของ ฉันทพร ยานะวงษ์

ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร

ของมหาวิทยาลัยพะเยา

..... ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

(ดร. นครินทร์ สุวรรณราช)

..... ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิพรพรรณ เนื่องเม็ก)

..... อาจารย์บัณฑิตศึกษามหาวิทยาลัยพะเยา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วาสนา พิทักษ์พล)

..... คณบดีคณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิพรพรรณ เนื่องเม็ก)

- เรื่อง:** ศักยภาพของปุ๋ยชีวภาพจากราเอนโดไฟท์ (*Fusarium endophyticum*) เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคเหี่ยวเหลือง (*Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici*) และ แอนแทรคโนส (*Colletotrichum capsici*) ในพริกหวาน
- ผู้วิจัย:** ฉันทพร ยานะวงษ์, วิทยานิพนธ์: วท.ม. (วิทยาศาสตร์การเกษตร), มหาวิทยาลัยพะเยา, 2566
- อาจารย์ที่ปรึกษา:** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิพรพรรณ เนื่องเม็ก
- คำสำคัญ:** ราเอนโดไฟท์, การละลายฟอสเฟต, การเจริญเติบโตของพืช

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาศักยภาพของปุ๋ยชีวภาพจากราเอนโดไฟท์เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคเหี่ยวเหลือง *Fusarium oxysporum* f. sp. *capsici* และแอนแทรคโนส *Colletotrichum capsici* ในพริกหวาน ทำการทดสอบความสามารถราเอนโดไฟท์ในการละลายธาตุอาหาร บนอาหารแข็งทั้งหมด 271 ไอโซเลท พบว่า มีรา 8 ไอโซเลท ที่สามารถละลายธาตุอาหาร $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ และรา *Fusarium endophyticum* (22 SGC 4V / 4-1) มีค่า Solubilization Index (S) มากที่สุด และมีประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟต (P- solubilization) ในอาหารเหลวที่มีส่วนประกอบของ $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, CaCO_3 , CoCO_3 , ZnO , ZnCO_3 , FePO_4 , และดินขาว เท่ากับ 74.09, 49.98, 6.04, 124.35, 169.66, 287.26 และ 45.62 ตามลำดับ การศึกษาสร้างสารกระตุ้นการเจริญเติบโต พบว่า สามารถผลิตกรดอินโดอะซีติก เท่ากับ 34.108 ($\mu\text{g/ml}$) และผลิตไซโตคอรินเท่ากับ 17.03 มิลลิเมตร ในขณะที่ทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์บนอาหารแข็ง พบว่ารา *F. endophyticum* (22 SGC 4V / 4-1) มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์โคติเนส เอนไซม์เซลลูเลส เอนไซม์โปรติเอส และเอนไซม์ไฟเตส มีค่า HC value เท่ากับ 10.00 5.14 10.44 และ 24.83 ตามลำดับ การนำรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V / 4-1) มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *C. capsici* และ *F. oxysporum* f.sp. *capsici* ด้วยวิธี dual culture test พบว่าราเอนโดไฟท์ *F. endophyticum* (22 SGC 4V / 4-1) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. capsici* และ *Fusarium oxysporum* f.sp. *capsici* ได้ 41.10% และ 44% ตามลำดับ การทดสอบผล *F. endophyticum* (22 SGC 4V / 4-1) ต่อการกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์ พบว่าที่ความเข้มข้น 1.0×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ส่งผลให้เมล็ดพืชผัก 5 ชนิด ได้แก่ พริกหวาน กะหล่ำปลีรูปหัวใจ ค่ะน้าเห็ดหอม ผักกาดขาว และมะเขือเทศ มีอัตราการงอกมากที่สุด เท่ากับ 85.55%, 75.55%, 95.55%, 86.66% และ 93.33% ตามลำดับ การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชีวภาพอัดเม็ด *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) พบว่าหลังจากเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ นาน 6 เดือน ที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส มีชีวิตรอดมากที่สุด เฉลี่ยเท่ากับ 87.55 เปอร์เซ็นต์ และการศึกษาผลของผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคของพริกหวาน พบว่าสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตด้านความสูง จำนวนใบ น้ำหนักสดต้น น้ำหนักราก ความยาวราก เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น รวมถึงปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในพืช ปริมาณฟอสฟอรัสในพืช และปริมาณโพแทสเซียม ตีกว่าชุดควบคุม และสามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสและโรคเหี่ยวเหลืองในพริกได้

Title: POTENTIAL OF BIOFERTILIZER FROM ENDOPHYTIC FUNGUS (*FUSARIUM ENDOPHYTICUM*) TO PROMOTE GROWTH AND CONTROL FUSARIUM WILT (*FUSARIUM OXYSPORUM* F. SP. *CAPSICI*) AND ANTHRACNOSE (*COLLETOTRICHUM CAPSICI*) OF BELL PEPPERS

Author: Tanyaporn Yanawong, Thesis: M.Sc. (Agricultural Science), University of Phayao, 2023

Advisor: Assistant Professor Dr. WIPORN PAN NUANGMEK

Keywords: endophytic fungi, phosphate solubilization, plant growth

ABSTRACT

The objective of this research is to study the potential of biofertilizers from endophytic fungi to promote growth and control wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. *Capsica*) and anthracnose (*Colletotrichum capsica*) in bell peppers. Test the ability of 271 isolates of endophyte fungi to nutrient solution on solid agar were found to have eight isolates that were able to dissolve the nutrient contain $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ and *Fusarium endophyticum* (22 SGC 4V / 4-1) had the highest Solubilization Index (S), and is effective in dissolving phosphate (P- solubilization) in liquid agar containing with $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, CaCO_3 , CoCO_3 , ZnO, ZnCO_3 , FePO_4 and kaolin with 74.09, 49.98, 6.04, 124.35, 169.66, 287.26 และ 45.62%, respectively. Study of growth stimulating substances found to be able to produce Indo acetic acid was 34.108 ($\mu\text{g/ml}$) and siderophore production was 17.03 mm. While testing the enzyme production ability on solid media, it was found that *F. endophyticum* (22 SGC 4V / 4-1) had the ability to produce chitinase enzyme, cellulase enzyme, protease enzyme and phytase enzyme had HC values of 10.00, 5.14, 10.44, and 24.83, respectively. *F. endophyticum* (22 SGC 4V / 4-1) was tested for its efficiency in inhibiting the growth of mycelium of *C. capsici* and *F. oxysporum* f.sp. *capsici* using the dual culture test method. It was found that, *F. endophyticum* (22 SGC 4V / 4-1) was able to inhibit the growth of *C. capsici* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *capsici* by 41.10% and 44%, respectively. Testing the effect of *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) on stimulating seed germination. It was found that the concentration was 1.0×10^8 spores per milliliter of *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) showed a result, seeds of five types of vegetables, comprising with bell peppers, heart-shaped cabbage, shiitake kale, Chinese cabbage, and tomatoes, had the highest germination rates of 85.55%, 75.55%, 95.55%, 86.66%, and 93.33%, respectively. The development of the bio-pelletized product *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) found that after storing the product for six months at a temperature of 8 degrees Celsius, it had the highest survival rate. The average is 87.55 percent. Study of the effect of a biological product of *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) on growth promotion and disease control of bell peppers. It was found that it can promote growth in height, number of leaves, plant fresh weight, root weight, root length, and stem diameter. Including the total nitrogen, total phosphorus and total potassium content in plants, higher than the control and can control anthracnose and yellow wilt in chili peppers.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) โครงการทุนพัฒนานักวิจัย เพื่ออุตสาหกรรมระดับปริญญาโท (พวอ.) ประจำปี 2564 สัญญาเลขที่ N41A640249 ที่สนับสนุนงบประมาณในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิพรพรรณ เนื่องเม็ก อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์เป็นอย่างยิ่งที่กรุณาให้โอกาส ให้ความรู้ แนะนำ คอยให้คำปรึกษา ให้ความช่วยเหลือต่างๆ ตลอดการศึกษา และคอยให้กำลังใจเสมอมา ชี้แนะแนวทางในการทำวิทยานิพนธ์และให้คำแนะนำในการเขียนเล่มวิทยานิพนธ์ ตลอดจนตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ วิทยานิพนธ์เล่มนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ดร.นครินทร์ สุวรรณราช ประธานกรรมการในการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ และ ดร.จตุรงค์ คำหล้า ที่ให้คำแนะนำ ถ่ายทอดความองค์ความรู้ เทคนิค และวิธีการวางแผนทดลอง และดูแลช่วยเหลือในการแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ในการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. มนัส ทิพย์วรรณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วาสนา พิทักษ์พล และ ดร. บุญร่วม คิดคำ กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำปรึกษา ตรวจสอบและคำแนะนำในการแก้ไขวิทยานิพนธ์ เล่มนี้ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณ คุณพ่อ คุณแม่ พี่ชาย และคู่ชีวิต ที่คอยให้กำลังใจ และให้คำปรึกษาที่ดี ตลอดจนการสนับสนุนในด้านต่าง ๆ ที่ทำให้มีกำลังใจและแรงผลักดัน ในการทำวิจัยในครั้งนี้ สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ธัญพร ยานะวงษ์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญรูปภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
ขอบเขตของการวิจัย	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย	2
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
พริกหวาน.....	3
โรคแอนแทรกโนส (Anthracnose).....	4
โรคแอนแทรกโนสในพริก	5
โรคเหี่ยวเหลืองในพริก	5
ความหลากหลายของราเอนโดไฟท์	6
ประโยชน์ของราเอนโดไฟท์.....	7
การควบคุมศัตรูพืช.....	7
ลดการเกิดเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคเน่าหลังการเก็บเกี่ยว	8
การสร้างฮอร์โมนเร่งการเจริญเติบโต	9

การสร้างสารปฏิชีวนะ	9
ทนการทำลายจากแมลงและสังเคราะห์แสงได้มาก	9
การสร้างฮอร์โมนเร่งการเจริญเติบโต	10
การสร้างสารปฏิชีวนะ	10
ราเอนโดไฟท์ในการช่วยให้พืชการผลิตสารกระตุ้นการเจริญเติบโต และต้านทานต่อ ความเครียด (abiotic stress tolerance)	10
ราเอนโดไฟท์และการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี	10
การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี	11
การพัฒนาสูตรสำเร็จของชีวภัณฑ์	11
ลักษณะของสูตรที่เหมาะสมในการผลิตชีวภัณฑ์	12
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	12
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	16
1. การคัดเลือกเอนโดไฟท์ที่มีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช	16
1.1 การแยกราเอนโดไฟท์จากพืชสมุนไพรร	16
1.2 การทดสอบความสามารถในการละลายธาตุอาหาร	16
1.3 การบ่งบอกชนิดของเชื้อราเอนโดไฟท์	16
2. การทดสอบประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ที่มีความสามารถในการละลายธาตุอาหาร	17
2.1 การทดสอบประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟต (P- solubilization)	17
2.2 การตรวจสอบการผลิตสารกระตุ้นการเจริญเติบโตกรดอินโดอะซีติก (Indole Acetic Acid: IAA)	17
2.3 การทดสอบการผลิตไซเดอโรฟอรัส (Siderophores)	18
2.4 การศึกษาความสามารถในการผลิตเอนไซม์ย่อยเซลล์เชื้อราสาเหตุโรค	18
2.5 การทดสอบเชื้อราเอนโดไฟท์ที่สามารถเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อเชื้อก่อโรค (dual culture test)	19

2.6 การทดสอบการกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์พืช	20
3. การพัฒนาสูตรชีวภัณฑ์เชื้อราเอนโดไฟท์	21
3.1 พัฒนาชีวภัณฑ์สูตรเม็ด (pillette granular formulation)	21
3.2 การประเมินผลผลิตภัณฑ์จากเชื้อราเอนโดไฟท์ที่โดยการตรวจเช็คการมีชีวิตรอดของ เชื้อราเอนโดไฟท์ในสูตรสำเร็จ	21
4. การศึกษาผลของผลิตภัณฑ์จากราเอนโดไฟท์ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุม โรคในพริกในระดับโรงเรือน	21
4.1 การทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตและคุณภาพผลผลิตของพริก	21
4.2 การทดสอบควบคุมโรคแอนแทรคโนสและโรคเหี่ยวเหลืองในพริก	22
1) การทดสอบการควบคุมโรคแอนแทรคโนส <i>Colletotrichum capsici</i>	22
2) การทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวเหลือง <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>capsici</i>	24
บทที่ 4 ผลการทดลอง	26
1. การคัดเลือกเอนโดไฟท์ที่มีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช	26
1.1 การทำให้ราเอนโดไฟท์บริสุทธิ์	26
1.2 การทดสอบความสามารถในการละลายธาตุอาหาร	26
1.3 การศึกษาลักษณะทางอนุชีววิทยา	32
ราเอนโดไฟท์ไอโซเลท 2ST/5-1	32
ราเอนโดไฟท์ไอโซเลท 65 SRC 2IV/2-1	33
ไอโซเลท 51 SRC 2IV/2-1	33
ไอโซเลท 22 SGC 4V/4-1	33
2. การทดสอบประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ <i>Fusarium endophyticum</i> (22 SGC 4V/4-1) ที่มีความสามารถในการละลายธาตุอาหาร	35
2.1 การทดสอบประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟต (P- solubilization)	35
2.2 การตรวจสอบการผลิตสารกระตุ้นการเจริญเติบโตกรดอินโดอะซีติก (Indole Acetic Acid: IAA)	37

2.3 การทดสอบการผลิตไซเดอโรฟออร์ (Siderophores).....	38
2.4 การศึกษาความสามารถในการผลิตเอนไซม์ย่อยเซลล์เชื้อราสาเหตุโรค	39
2.5 การคัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟท์ที่สามารถเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อเชื้อก่อโรค (dual culture test).....	42
2.6 การทดสอบการกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์พืช	43
3. การพัฒนาสูตรชีวภัณฑ์เชื้อราเอนโดไฟท์	47
3.1 การทดสอบการมีชีวิตรอดของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่คัดเลือกในสูตรสำเร็จ	47
4. การศึกษาผลของผลิตภัณฑ์จากเชื้อราเอนโดไฟท์ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคในพริกในระดับโรงเรือน	49
1) การทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตและคุณภาพผลผลิตของพริกหวาน	49
การเจริญเติบโตของพริกหวาน	49
ผลผลิตของผลพริกหวาน	53
น้ำหนักต้นและน้ำหนักรากของพริกหวาน	55
วิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในพืช	57
2) การทดสอบควบคุมโรคแอนแทรคโนสและโรคเหี่ยวเหลืองในพริก.....	59
การทดสอบการควบคุมโรคแอนแทรคโนสในพริกหวานในระดับโรงเรือน	59
การทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวเหลืองในพริกหวานในระดับโรงเรือน	60
บทที่ 5 บทสรุป	62
สรุปผลการวิจัย	62
การทดลองที่ 1 การคัดเลือกเอนโดไฟท์ที่มีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช.....	62
การทดลองที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ที่มีความสามารถในการละลายธาตุอาหาร.....	62
การทดลองที่ 3 การพัฒนาสูตรชีวภัณฑ์เชื้อราเอนโดไฟท์	63

การทดลองที่ 4 การศึกษาผลของผลิตภัณฑ์จากเชื้อราเอนโดไฟท์ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคในพริกในระดับโรงเรือน.....	64
อภิปรายผลการวิจัย	64
การคัดเลือกเอนโดไฟท์ที่มีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช	64
การทดสอบประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ที่มีความสามารถในการละลายธาตุอาหาร	66
การพัฒนาสูตรชีวภัณฑ์เชื้อราเอนโดไฟท์	68
บรรณานุกรม	2
ภาคผนวก	12
ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อรา.....	13
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด และปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมด	14
ประวัติผู้วิจัย	19



สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 1 ประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ <i>Fusarium endophyticum</i> (22 SGC 4V/4-1) ที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตบนอาหารแข็ง Pikovskaya's.....	27
ตาราง 2 น้ำหนักแห้งของราเอนโดไฟท์ที่มีความสามารถในการละลายธาตุอาหาร $(Ca_3(PO_4)_2)$	28
ตาราง 3 ประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ <i>Fusarium endophyticum</i> (22 SGC 4V/4-1) ที่ในการละลายฟอสเฟตบนอาหารแข็งที่มีส่วนประกอบของธาตุอาหาร $Ca_3(PO_4)_2$, $CaCO_3$, $CoCO_3$, ZnO , $ZnCO_3$, $FePO_4$, และดินขาว และน้ำหนักเส้นใยแห้ง.....	30
ตาราง 4 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาของราเอนโดไฟท์ที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟต	34
ตาราง 5 การละลายฟอสเฟตของ <i>Fusarium endophyticum</i> (22 SGC 4V/4-1) ในอาหารเหลว จำนวน 7 วัน	36
ตาราง 6 แสดงปริมาณกรดอินโดอะซีติก (IAA) ที่ผลิตจากราเอนโดไฟท์ <i>Fusarium endophyticum</i> (22 SGC 4V/4-1)	37
ตาราง 7 ความสามารถของรา <i>Fusarium endophyticum</i> (22 SGC 4V/4-1) ในการผลิตเอนไซม์ ไคติเนส เซลลูเลส โปรติเอส ไฟเตส บนอาหารแข็ง	39
ตาราง 8 เพอร์เซ็นต์การงอก เวลาเฉลี่ยที่ใช้ในการงอก ความสูงต้น และความยาวรากของเมล็ดผัก 5 ชนิด	45
ตาราง 9 อัตราการมีชีวิตรอดของรา <i>Fusarium endophyticum</i> (22 SGC 4V/4-1) ในผลิตภัณฑ์แบบเม็ด ที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 6 เดือน.....	48
ตาราง 10 แสดงความสูง จำนวนใบ เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น ความยาวราก และขนาดทรงพุ่มของพริกหวาน.....	50
ตาราง 11 แสดงน้ำหนักผลผลิตและขนาดของผลผลิตของพริกหวาน.....	53
ตาราง 12 แสดงน้ำหนักต้น น้ำหนักรากของพริกหวานในระดับโรงเรือน	55

ตาราง 13 แสดงปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมด และโพแทสเซียมที่ทั้งหมดของ พริกหวาน	58
ตาราง 14 แสดงคะแนนการเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรกโนสของพริกหวานใน ระดับโรงเรียน	59
ตาราง 15 แสดงคะแนนการเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวเหลืองของพริกหวานใน ระดับโรงเรียน	61



สารบัญรูปภาพ

	หน้า
ภาพ 1 ตัวอย่างของเชื้อราก่อโรคแอนแทรกนอส <i>Colletotrichum capsici</i>	5
ภาพ 2 ตัวอย่างของเชื้อราก่อโรคเหี่ยวเหลืออง <i>Fusarium oxysporum</i>	6
ภาพ 3 ราแอนราแอนโตไฟท์ในการละลายธาตุอาหารดดยการเกิดวงใสบนธาตุ	29
ภาพ 4 การเกิดวงใสบนธาตุอาหาร $Ca_3(PO_4)_2$, $CaCO_3$, $CoCO_3$, ZnO , $ZnCO_3$, $FePO_4$ และดิน ขาวของไอโซเลท <i>Fusarium endophyticum</i> (22 SGC 4V/4-1).....	31
ภาพ 5 Gel electrophoresis ของ PCR product ของเชื้อราทั้ง 4 ไอโซเลทที่สกัดได้	32
ภาพ 6 แสดงการเปลี่ยนสีของอาหารบริเวณรอบโคโลนีของราแอนโตไฟท์ <i>Fusarium</i> <i>endophyticum</i> (22 SGC 4V/4-1)	38
ภาพ 7 ลักษณะการสร้างเอนไซม์ไคติเนส ของรา <i>Fusarium endophyticum</i> (22 SGC 4V/4-1) บนอาหาร colloidal chitin agar	40
ภาพ 8 ลักษณะการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส ของ <i>Fusarium endophyticum</i> (22 SGC 4V/4-1) บนอาหาร carboxyl methyl cellulose.....	40
ภาพ 9 ลักษณะการสร้างเอนไซม์โปรติเอสของ <i>Fusarium endophyticum</i> (22 SGC 4V/4-1) บน อาหาร skim milk agar	41
ภาพ 10 ลักษณะการสร้างเอนไซม์ไฟเตส <i>Fusarium endophyticum</i> (22 SGC 4V/4-1) บน อาหาร calcium phytate agar.....	41
ภาพ 11 ทดสอบการยับยั้งสาเหตุโรคแอนแทรกนอส (<i>Colletotrichum capsici</i>) ของราแอนโตไฟท์ <i>Fusarium endophyticum</i> (22 SGC 4V/4-1) ด้วยวิธี dual culture test.....	42
ภาพ 12 ทดสอบการยับยั้งราสาเหตุโรคเหี่ยวเหลืออง (<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>capsici</i>) ของ รา <i>Fusarium endophyticum</i> (22 SGC 4V/4-1) ด้วยวิธี dual culture test.....	43
ภาพ 13 แสดงการเจริญเติบโตของต้นพริกหวาน	51
ภาพ 14 แสดงการเจริญเติบโตของพริกหวาน	52
ภาพ 15 แสดงน้ำหนักและขนาดของผลผลิตพริกหวาน	54

ภาพ 16 แสดงน้ำหนักและขนาดของผลผลิตพริกหวาน56



บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

พริกหวาน มีชื่อเรียกทางวิทยาศาสตร์ว่า *Capsicum annuum* L. นิยมปลูกในเมืองไทย อยู่ที่จังหวัด ชัยภูมิ นครราชสีมา เชียงใหม่ อุบลราชธานี ศรีสะเกษ เลย นครปฐม และราชบุรี และช่วงที่มีผลผลิตออกมากจะอยู่ในเดือนมีนาคม - เมษายน พื้นที่ประมาณ 1,744 ไร่ ผลผลิตรวมต่อปีประมาณ 2,688 ตัน (ระบบสารสนเทศการผลิตพืชทางการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร, 2566) โดยพริกหวานจะมีอยู่ 3 สีคือ สีแดง สีเหลือง และสีเขียว ลักษณะผลคล้ายรูประฆัง เปลือกหนา ภายในมีเมล็ดสีเหลืองอ่อนเกาะอยู่ในแกนกลาง พริกหวานเป็นพริกที่ไม่มีความเผ็ด สามารถรับประทานได้ทั้งแบบสด หรือผ่านการปรุงสุกแล้ว พริกหวานเป็นพืชผักที่มีประโยชน์ต่อร่างกายมาก ประกอบด้วยวิตามินและสารอาหารมากมาย คือวิตามินซี วิตามินเค วิตามินเอ วิตามินบี โฟลทสเซียม แคลเซียม ฟอสฟอรัส เบตาแคโรทีน คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน และเส้นใยต่าง ๆ สารอาหารที่อยู่ในพริกหวานเหล่านี้ มีส่วนช่วยในการบำรุงร่างกาย พริกหวานถือเป็นพืชผักชนิดหนึ่งที่มีราคาของผลผลิตดี ในช่วงที่ผลผลิตมีราคาสูง จะมีราคาขายอยู่ที่ลูกละ 50 - 80 บาท นอกจากนั้นยังเป็นพืชผักที่มีความต้องการของตลาดที่ดีทั้งในปัจจุบันและในอนาคต ในการปลูกพริกจะพบปัญหาโรคระบาดในพริก ถือเป็นปัญหาที่สำคัญ คือโรคเหี่ยวเหลือง และโรคแอนแทรคโนส โดยโรคแอนแทรคโนสเกิดจากรา *Colletotrichum* spp. สามารถเข้าทำลายผลผลิตตั้งแต่ระยะดอก ผลอ่อน โดยยังไม่แสดงอาการของโรค จัดเป็นการเข้าทำลายแบบแฝง (quiescent infection) จะแสดงอาการชัดเจนเมื่อผลผลิตแก่หรือเริ่มสุก และโรคเหี่ยวเหลืองเกิดจากรา *Fusarium oxysporum* หรือ “โรคเหี่ยวเหลือง” หากเกิดโรคในระยะกล้า ต้นพริกจะแสดงอาการมีแผลฉ่ำน้ำบริเวณคอต้นเหี่ยว และล้มพับเป็นหย่อม ๆ แต่ถ้าเกิดโรคในระยะต้นโตแล้ว เชื้อราจะเข้าทำลายรากพริกหรือโคนต้นที่อยู่ระดับผิวดิน (ษศิวรรณ, 2557) ดังนั้นเกษตรกรจำเป็นต้องใช้สารเคมีในการควบคุมกำจัดโรค ซึ่งส่งผลให้ต้นทุนการผลิตสูง ทำให้เกษตรกรประสบกับปัญหาการขาดทุน นอกจากนี้ปัญหาเรื่องสารพิษตกค้างในผลผลิตทางการเกษตร ยังเป็นอุปสรรคต่อการส่งออก และมีผลเสียต่อสุขภาพของผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อมอีกด้วย ดังนั้นการวิจัยหาวิธีป้องกันไม่ให้ผลผลิตพืชถูกศัตรูเข้าทำลาย โคนการใช้จุลินทรีย์ในการป้องกันกำจัดโรคพืชเป็นอีกแนวทางหนึ่ง ที่มีการศึกษาวิจัยกันอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้ราที่เป็นประโยชน์ในการ

ควบคุมโรคในปริมาณที่มากขึ้น พืชโดยชีววิธี ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่จะพัฒนาส่งเสริมให้เกษตรกรนำมาใช้ในการผลิตพืชปลอดสารพิษเพื่อการส่งออกและบริโภค (อรอุมา, 2557) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเพื่อการคัดเลือกกลุ่มของราที่มีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช เช่น จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการละลายธาตุอาหารที่ไม่ละลายน้ำได้ เป็นหนึ่งในกลไกสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของพืช (Gaidn, 2016) ว่าจะมีการสร้างกรดอินทรีย์มาละลายฟอสเฟต ทำให้มีปริมาณฟอสเฟตในรูปที่เป็นประโยชน์ในดินสูงขึ้น เนื่องจากฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารหลักที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช แต่มักถูกตรึงอยู่ในรูปของสารประกอบฟอสเฟตที่ไม่ละลายน้ำทำให้พืชไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ดังนั้นการศึกษามีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกราที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพริก และพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ชีวภาพชนิดใหม่ที่มีคุณภาพในด้านการส่งเสริมการเจริญเติบโต และควบคุมโรคพืช เพื่อเป็นทางเลือกที่ดีสำหรับเกษตรกรในการลดหรือเลิกใช้สารเคมีให้น้อยลง เพื่อให้เกิดความปลอดภัย และเป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้ประโยชน์จากเชื้อรา

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อคัดเลือกราเอนโดไฟท์ที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพริกหวาน
2. เพื่อศึกษาผลของผลิตภัณฑ์จากราเอนโดไฟท์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคในพริก

ขอบเขตของการวิจัย

1. การคัดเลือกราเอนโดไฟท์ที่มีประสิทธิภาพในการละลายธาตุอาหารที่ไม่ละลายน้ำ
2. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชีวภาพอัดเม็ดของราเอนโดไฟท์ และทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการควบคุมโรคในพริกในระดับโรงเรือน
3. ขอบเขตระยะเวลา ทำการศึกษาตั้งแต่เดือนกรกฎาคม 2562 – พฤษภาคม 2566
4. ขอบเขตสถานที่ ทำการศึกษา ณ คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย

1. มีผลิตภัณฑ์ใหม่ที่สามารถนำมาใช้ในการส่งเสริมการเจริญเติบโต และควบคุมโรคพืชได้
2. ได้วัสดุที่ใช้ในการพัฒนาสูตรที่มีราคาถูก และเหมาะสมต่อการผลิตชีวภัณฑ์ รวมถึงวิธีการที่เหมาะสมในการพัฒนาชีวภัณฑ์ส่งเสริมการเจริญเติบโตและกำจัดโรคพืช

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

พริกหวาน

พริกหวาน หรือพริกระฆัง มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Capsicum annuum* L. มีชื่อสามัญว่า Bell Peper, Sweet Peper, Capsicum เป็นพืชในวงศ์มะเขือเทศ (Solanaceae) จัดเป็นพืชข้ามปี คือมีอายุหลายปีแต่นิยมปลูกเป็นพืชฤดูเดียวมากกว่าเพราะผลผลิตในปีแรกจะให้ผลผลิตสูงที่สุด แต่ในปีต่อไปปริมาณผลผลิตจะน้อยลงจึงนิยมปลูกแค่ปีเดียวเท่านั้น

พริกหวานนับว่าเป็นพืชเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง ที่นิยมปลูกกันโดยทั่วไปและสามารถทำรายได้ให้แก่ผู้ปลูกได้มาก ทั้งยังเป็นพืชที่ได้รับความนิยมบริโภค เนื่องจากมีรสหวานและไม่เผ็ด มีคุณค่าทางอาหารสูง พริกหวานจะมีลำต้นสูงประมาณ 0.5 - 1.5 เมตร รากมีความลึกในแนวตั้งประมาณ 90 - 120 เซนติเมตร แผ่กว้างรอบโคนต้นประมาณ 90 เซนติเมตร รากเจริญเติบโต และหนาแน่นมาที่ความลึก 50 - 60 เซนติเมตร ลำต้นช่วงแรกจะตั้งตรงเป็นต้นเดี่ยว เมื่อออกช่อดอกบริเวณยอดจะมีการแตกแขนงไปเรื่อย ๆ จนมีกิ่งเป็นจำนวนมาก ยิ่งกิ่งมีเป็นจำนวนมากจำนวนผลผลิตก็จะสูงตามไปด้วย กิ่งแก่นั้นเปราะหักง่าย มีใบเดี่ยวออกตามกิ่งและลำต้น ออกสลับกันจนถึงยอด ดอกมีสีขาว และสีม่วง ดอกเป็นดอกเดี่ยวคือในหนึ่งก้านจะมีเพียงดอกเดียวเท่านั้นไม่ออกดอกเป็นช่อ ดอกพริกหวานจัดเป็นดอกสมบูรณ์เพศ คือมีเกสรตัวผู้ และเกสรตัวเมียอยู่ในดอกเดียวกัน สามารถผสมพันธุ์ในดอกหรือนอกดอกก็ได้ ด้วยเหตุนี้จึงมีพริกหวานสายพันธุ์ผสมข้ามสายพันธุ์เกิดขึ้นอยู่เสมอ ดอกมี 5 กลีบ มีเกสรอยู่ตรงกลางของกลีบ เกสรตัวเมียมี 1 อยู่ตรงกลาง ส่วนเกสรตัวผู้เป็นเกสรย่อยอยู่รอบ ๆ เกสรตัวเมีย ขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเมล็ด เจริญเติบโตในพื้นที่ความชื้นน้อย อากาศอบอุ่นและมีอุณหภูมิอยู่ที่ 20-25 องศาเซลเซียส เม็ดสีคลอโรฟิลล์เป็นที่มาของสีเขียวในพริกหวาน เม็ดสีแอนโทไซยานินจะทำให้พริกหวานมีสีม่วง เม็ดสีแคโรทีนอยด์ทำให้พริกหวานเป็นสีเหลือง สีส้ม และสีแดง ส่วนการผสมของเม็ดสีคลอโรฟิลล์ ไลโคปีน และเบต้าแคโรทีนจะทำให้พริกหวานมีสีน้ำตาล ผลพริกหวานที่ทั้งรูปทรงเรียวยาว และทรงคล้ายระฆังขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ พริกหวานที่มีรูปทรงเรียวยาวจะมีรสเผ็ดมากกว่าที่มีรูปทรงคล้ายระฆัง (Adhikari and Pandey, 2019)

ปัญหาศัตรูพืชในการผลิตทางการเกษตรส่งผลให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น เนื่องจากเกษตรกรต้องเพิ่มค่าใช้จ่ายในการซื้อสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช ซึ่งพริกก็เป็นพืชอีกหนึ่ง

ชนิดที่ประสบปัญหาการเกิดโรคหลายชนิด ซึ่งจะส่งผลในประสบปัญหาทางด้านคุณภาพและปริมาณ ซึ่งโรคที่พบมากได้แก่ โรคแอนแทรคโนส และโรคเหี่ยวเหลือง เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ผลผลิตพริกเสียหาย ราก่อโรคแอนแทรคโนสเป็นราสกุล *Colletotrichum* ที่สามารถทำลายผลผลิตพริกได้มากถึง 10 – 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งรา *C. capsici* และ *C. gloeosporioides* เป็นเชื้อที่ทำลายผลพริกมากที่สุด (Hong and Hwang, 1998) ราก่อโรคเหี่ยวเหลืองเป็นราสกุล *Fusarium* โรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* หากเกิดโรคในระยะกล้า ต้นพริกจะแสดงอาการมีแผลฉ่ำน้ำบริเวณคอต้น เหี่ยว และล้มพับเป็นหย่อม ๆ แต่ถ้าเกิดโรคในระยะต้นโตแล้ว เชื้อราจะเข้าทำลายรากพริกหรือโคนต้นที่อยู่ระดับผิวดิน (ลำยอง, 2556)

โรคแอนแทรคโนส (Anthracnose)

โรคแอนแทรคโนส เป็นโรคพืชที่ทำให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตทั้งปริมาณและคุณภาพ มีเชื้อราที่มีความสำคัญ เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนส อยู่ในจำแนก *Colletotrichum* ทำให้เกิดความสูญเสียกับพืชเศรษฐกิจ มีพืชอาศัยมากถึง 470 สกุล ทั้งพืชตระกูล ถั่ว หนุ่ย ผัก ไม้ผล และไม้ประดับ ทำให้ผลผลิตเน่าเสียอายุการเก็บเกี่ยวสั้น ไม่สามารถขนส่งระยะไกลได้ การระบาดของโรคเกิดขึ้นรวดเร็ว และรุนแรงในเขตที่มีอุณหภูมิ และความชื้นสูง เชื้อราสามารถเข้าทำลายได้ทุกส่วนของพืชตั้งแต่ลำต้น ใบ ก้าน ดอก ผล และเมล็ดทำให้เปอร์เซ็นต์การงอกลดลงถ้าเกิดกับต้นกล้าจะทำให้ต้นกล้าแห้งตายได้ ซึ่งการเข้าทำลายของในส่วนของราก และหัว ที่อยู่ใต้ดิน ทำให้เกิดโรคแอนแทรคโนสได้ โดยการเข้าทำลายของเชื้ออาจเป็นได้ทั้งแบบมีเชื้อหลายสปอร์เข้าทำลายพืชชนิดเดียว หรือเชื้อสปอร์เดียวเข้าทำลายพืชหลายชนิดก็ได้ เชื้อรา *Colletotrichum* spp. สามารถเข้าทำลายเซลล์พืชโดยตรงไม่ต้องผ่านช่องเปิดธรรมชาติหรือบาดแผล สามารถเข้าทำลายผลผลิต ตั้งแต่ระยะดอก ผลอ่อน โดยยังไม่แสดงอาการของโรค จัดเป็นการเข้าทำลายแบบแฝง (quiescent infection) จะแสดงอาการชัดเจนเมื่อผลผลิตแก่หรือเริ่มสุก ดังนั้นการเข้าทำลายจะเริ่มตั้งแต่อยู่ในแปลงปลูก โรคนี้พบกระจายอยู่ทั่วไปโดยเฉพาะในเขตร้อนชื้นจะพบการระบาดอย่างรุนแรง การระบาดของเชื้ออาศัยลมฝน หรือแมลงที่บินมาเกาะบริเวณแผลทำให้สปอร์แพร่กระจายไปยังที่ต่าง ๆ เมื่อถูกความชื้นก็สามารถงอกเจริญได้ (พิสุทธิ, 2562)

ลักษณะอาการของโรคแอนแทรคโนส

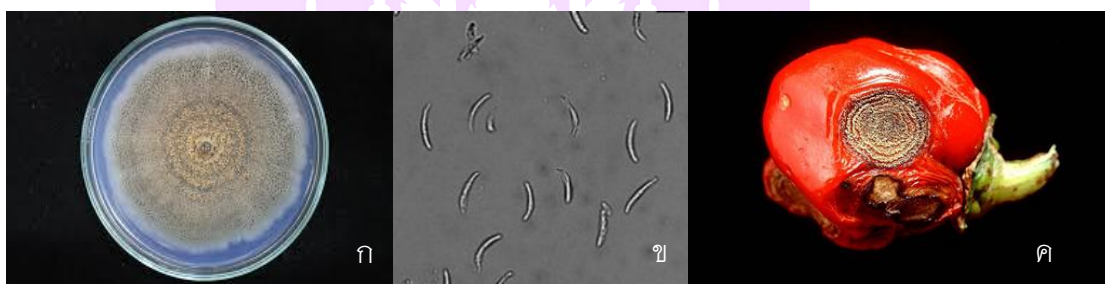
อาการของโรคแอนแทรคโนส เริ่มจากจุดแผลแห้งเล็ก ๆ สีน้ำตาลแล้วค่อย ๆ ขยายขึ้นขยายออกเป็นวงกลมหรือวงรีซ้อนกันเป็นชั้น ๆ อาการของโรคจะเห็นชัดเจนในระยะที่ผลเริ่มสุกเมื่อมีความชื้นสูงจะพบการสร้างกลุ่มของสปอร์หรือ conidia สีส้มหรือสีชมพูเป็นหยดเหลว

ชั้นบริเวณแผลโรคแอนแทรคโนสที่เกิดบนใบ ถ้าเกิดกับใบอ่อนทำให้ใบหงิกงออาการเริ่มจากจุดสีเทา และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มอยู่กระจุกกระจาย เนื้อเยื่อกลางแผลบาง และฉีกขาดแล้วเป็นรู นอกจากนี้โรคแอนแทรคโนสยังสามารถเข้าทำลายกิ่งทำให้เกิดอาการไหม้ได้

โรคแอนแทรคโนสในพริก

โรคแอนแทรคโนส หรือโรคกุ้งแห้งพริก (*Collectotrichum* sp.) นับว่าเป็นโรคที่สำคัญของเกษตรกรผู้ปลูกพริกเป็นอย่างมาก เพราะเป็นโรคประจำตัวของพริกเลยทีเดียว โรคนี้เกิดจากเชื้อรา *Collectotrichum* sp. ที่พบเข้าทำลายพริกก็มีอยู่ 3 ชนิดด้วยกัน คือ

- 1) *Collectotrichum gloesporioides* เข้าทำลายพริกผลใหญ่
- 2) *C. capsici* เข้าทำลายพริกได้ในทุกระยะ (ภาพ 1)
- 3) *C. piperatum* เข้าทำลายพริกหวาน



ภาพ 1 ตัวอย่างของเชื้อราก่อโรคแอนแทรคโนส *Collectotrichum capsici*

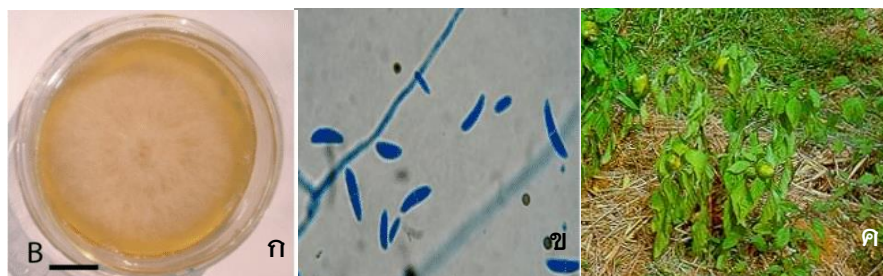
หมายเหตุ: ก = ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Collectotrichum capsici*, ข = ลักษณะสปอร์ของเชื้อรา *Collectotrichum capsici* และ ค = ลักษณะบาดแผลหรืออาการของโรค

ที่มา: Modify (Shenoy et al., 2007)

โรคเหี่ยวเหลืองในพริก

โรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* หรือ “โรคเหี่ยวเหลือง” หากเกิดโรคในระยะกล้า ต้นพริกจะแสดงอาการมีแผลฉ่ำน้ำบริเวณคอต้น เหี่ยว และล้มพับเป็นหย่อม ๆ แต่ถ้าเกิดโรคในระยะต้นโตแล้ว เชื้อราจะเข้าทำลายรากพริกหรือโคนต้นที่อยู่ระดับผิวดิน เมื่อใช้มีดปาดที่ผิวโคนต้นบริเวณระดับเหนือดินให้ลึกถึงท่อลำเลียงอาหาร จะพบว่าท่อลำเลียงอาหารเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดง ซึ่งอาการผิดปกติของท่อลำเลียงอาหารนี้จะลามไปถึงส่วนรากด้วย ส่วนใบที่อยู่ตอนล่างในทรงพุ่มหรือบริเวณรอบทรงพุ่มจะเหลือง และร่วง ต้นพริกจะแสดงอาการเหี่ยวช่วงแดดร้อนจัดแต่จะฟื้นในตอนเช้า และจะเหี่ยวถาวรภายใน 2 - 7 วัน พริกจะยืนต้นตายหรือใบร่วงหมด หากเกิดโรคในระยะออกดอกติดผล ดอกและผลจะร่วง (ภาพ 2)

โรคนี้อพบบ่อยในสภาพอากาศร้อน และความชื้นในดินสูงเชื้อราสาเหตุของโรคเหี่ยวพริก สามารถแพร่กระจายโดยทางดิน น้ำ และฝน พบโรคได้บ่อยในฤดูฝนหรือปลายฤดูฝน ต้นฤดูหนาว



ภาพ 2 ตัวอย่างของเชื้อราก่อโรคเหี่ยวเหลือง *Fusarium oxysporum*

หมายเหตุ: ก = ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Fusarium oxysporum*, ข = ลักษณะสปอร์ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* และ ค = ลักษณะบาดแผลหรืออาการของโรค

ที่มา: Modify (Ullah et al., 2018)

ความหลากหลายของราเอนโดไฟท์

ราเอนโดไฟท์ซึ่งความสัมพันธ์ที่เชื่อมอยู่กับพืชอาศัยอยู่ร่วมกันแบบ symbiosis และมีการค้นพบสารออกฤทธิ์ที่ใหม่ และน่าสนใจที่จะนำไปใช้ทางการแพทย์ อุตสาหกรรมและเกษตรกรรม ประโยชน์บางอย่างของสารออกฤทธิ์ที่รู้จักกันดีในตอนนี้คือ สารต่อต้านมะเร็ง สารต่อต้านเชื้อรา สารต่อต้านแบคทีเรีย สารฆ่าแมลง และสารยับยั้งภูมิคุ้มกัน (Strobel, 2002) ดังนั้นราเอนโดไฟท์เป็นเชื้อที่ได้รับการพิจารณาให้เป็นทรัพยากรที่สำคัญ สำหรับการนำมาใช้เป็นสารควบคุมทางชีวภาพในกำจัดศัตรูพืช (แมลงและเชื้อโรค)

เอนโดไฟท์ คือเชื้อราหรือแบคทีเรียที่ช่วงหนึ่งหรือตลอดทั้งช่วงชีวิตอาศัยอยู่ในพืช โดยไม่ทำให้พืชแสดงอาการเป็นโรค (Wilson, 2000) ความสัมพันธ์ที่เชื่อมอยู่กับพืชมีได้ตั้งแต่การอาศัยอยู่ร่วมกันแบบ Symbiosis จนถึงการเป็นเชื้อราก่อโรค ในกรณีของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็น Symbiotic อาจมีการค้นพบสารประกอบอินทรีย์ที่เป็นสารชนิดใหม่ และไม่ค่อยมีมากที่เกิดขึ้นจากความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อ และพืชอาศัยที่สนับสนุนกันและกันอยู่ ซึ่งในขณะเดียวกันอาจมีการค้นพบสารออกฤทธิ์ที่ใหม่ และน่าสนใจที่จะนำไปใช้ทางการแพทย์ อุตสาหกรรมและเกษตรกรรม ประโยชน์บางอย่างของสารออกฤทธิ์ที่รู้จักกันดีในตอนนี้คือ สารต่อต้านมะเร็ง สารต่อต้านเชื้อรา สารต่อต้านแบคทีเรีย สารฆ่าแมลง และสารยับยั้งภูมิคุ้มกัน (Strobel,

2002) ปัจจุบันมีความเชื่อว่ารา endophytes มีแนวโน้มที่จะผลิตสารออกฤทธิ์ชนิดใหม่หลายชนิด (Tejesvi, Kini, Prakash, Subbiah and Shetty, 2007) และมีงานวิจัยที่แสดงให้เห็นว่า พืชสมุนไพรบางชนิดมีราอาศัยอยู่ร่วม ซึ่งราที่แยกได้จากภายในต้นสมุนไพรนั้นผลิตสารออกฤทธิ์ชนิดเดียวกันกับพืช ตัวอย่างเช่น เชื้อราที่เจริญอยู่ในต้น Yew ซึ่งผลิตสาร Taxol เช่นเดียวกับพืช (Pulici et al., 1996; Stierle, Strobel and Stierle, 1993) ซึ่งมีการคาดการณ์ว่าสารที่ออกฤทธิ์ที่สร้างขึ้นโดยสมุนไพร อาจจะถูกสร้างขึ้นโดยราที่อาศัยในพืชสมุนไพรนั้นด้วย การได้มาซึ่งราชนิดใหม่ก็คาดหวังว่าจะเป็นแหล่งของสารใหม่ที่มีประโยชน์ที่จะใช้ศึกษาต่อไปได้

ราเอนโดไฟท์แยกได้จากพืชหลายชนิดในป่าดิบ และป่าเบญจพรรณตลอดจนพืชจำพวกสน (Fisher and Petrini, 1990) นอกจากนี้ยังมีรายงานหลายฉบับที่รายงานว่าราเอนโดไฟท์สามารถพบได้ในพืชอาศัยทุกชนิดที่รวมถึงพืชบกมากกว่า 200 ชนิดและพืชน้ำจืดมากกว่า 20 วงศ์ ตัวอย่างเช่น สาหร่ายทะเลขนาดใหญ่ มอส เฟิร์น gymnosperms พืชใบเลี้ยงเดี่ยว พืชสมุนไพร และไม้เนื้อแข็งบางชนิด (Lodge, Fisher and Sutton, 1996; Petrini, 1991) การศึกษารา endophytes ในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวส่วนใหญ่ทำการศึกษาในพืชวงศ์หญ้าที่เจริญในเขตร้อนโดยเฉพาะอย่างยิ่งรา *Clavicipitaceous* endophytes และความเป็นประโยชน์ต่อพืชอาศัยดังกล่าว (Dahlman, Eichenseer and Siegel, 1991)

ในเขตร้อนมีการศึกษารา endophytes ในพืชพวกปาล์ม (Froehlich and Petrini, 2000) ไม้กล้วยที่ปลูกเป็นการค้า (*Musa acuminata*) ในประเทศออสเตรเลีย และบรูไน (Brown, Hyde and Guest, 1998) พืชตระกูลขิง (Bussaban, Lumyong, Lumyong, McKenzie and Hyde, 2001) และการศึกษาราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากกล้วยป่าในประเทศไทย (Photita, Lumyong, Lumyong and Hyde, 2001) การศึกษาราเอนโดไฟท์ในเขตร้อนขึ้นปัจจุบันมีความน่าสนใจมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากว่าราเอนโดไฟท์มีความหลากหลาย และมีความสามารถในการผลิตสารต่างๆ มากมาย (Hyde, 2001)

ประโยชน์ของราเอนโดไฟท์

การควบคุมศัตรูพืช

เชื้อราเอนโดไฟท์เป็นเชื้อราที่อยู่ภายในกิ่ง ใบ และส่วนต่าง ๆ ของพืช โดยไม่ทำให้พืชเกิดอาการเป็นพิษ และเป็นโรคพืช การศึกษาวิจัยเรื่องราเอนโดไฟท์เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมโรคพืชทางชีววิธีจึงมีผู้สนใจศึกษากันมาก พืชที่นำมาศึกษาควรเป็นพืชที่เจริญในพื้นที่ที่ปลอดจากมลภาวะ และสารพิษ (Worapong et al., 2002) พบว่าราเอนโดไฟท์ *Muscoder albus* จากอบเชย *Cinnamomum zeylanicum* สามารถสร้างสารระเหยที่มีประสิทธิภาพในการ

ยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืชหลายชนิดได้แก่ *Sclerotinia sclerotiorum*, *R. solani* และแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* (เลขา มาโนช และคณะ, 2552) ที่นำสารระเหยที่ได้จากเชื้อรา *M. albus* ไปใช้เป็นยาฆ่าแมลงในการกำจัดตัวอ่อน และตัวเต็มวัยผีเสื้อในหัวมันฝรั่ง ในโรงเก็บมันฝรั่งได้อย่างมีประสิทธิภาพ (เลขา มาโนช และคณะ, 2552ก) ซึ่งพบว่า มีการนำเชื้อราแอนโดไฟท์ *M. albus* มาเลี้ยงบนเมล็ดแคนตาลูปไรน์ เพื่อให้เชื้อราสร้างสารระเหยในการควบคุม *Meloidogyne chitwoodi* และ *M. Hapha* ไล่เดือนฝอยสาเหตุโรคพืชในห้องปฏิบัติการและในโรงเรือนปลูกพืชทดลองที่ประเทศสหรัฐอเมริกาได้อีกด้วย (เลขา มาโนช และคณะ 2552) พบว่าราแอนโดไฟท์ที่ไม่สร้างโครงสร้างของสปอร์ สร้างเฉพาะเส้นใยเท่านั้น (sterile mycelium) ที่แยกได้จากอูดพิซ (*Typhonium trilobatum*) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้หลายชนิดได้แก่ *Pythium ultimum*, *Phytophthora palmivora*, *P. cinnamomi*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Colletotrichum lagenerium* และ *Rhizoctania solani*

ลดการเกิดเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคเน่าหลังการเก็บเกี่ยว

การเกิดเชื้อราในแต่ละฤดูในใบ และผลของแคนเบอร์รี่ที่ไม่มีอาการโรค และที่พ่นฆ่าเชื้อรา captofol, chlorothalonil และ mancozeb จำนวน 3 ครั้ง ในช่วงห่างกัน 14 วัน เพื่อป้องกันโรคหลังการเก็บเกี่ยว สามารถแยกเชื้อราได้จากส่วนของใบ และผลที่เก็บตัวอย่างตลอดปี หลังจากทำการฆ่าเชื้อที่ผิว และพบเชื้อเพียง 7 ชนิดที่เป็นเชื้อสาเหตุของโรค ได้แก่ *Apostrasseria lunata*, *Botryoshaeria vaccinia*, *Glomerella cinglulata*, *Godroni acassandrae* และ *Physalospora vaccinii* ที่มีสัณฐานต่างกัน 2 ชนิด *Phytophthora* sp. และ *Pyrenobotrys campacia* และอีก 3 ชนิด ที่มีความเป็นไปได้ที่จะทำให้เกิดโรคเชื้อ *B. vaccinii* และ *P. vaccinii* พบในความถี่สูงและพบเสมอ สัดส่วนของใบ และผลที่แยกได้นั้นจะสูงขึ้นตามเวลาที่ฤดูกาลผ่านไป ในตัวอย่างที่ใส่ยาฆ่าเชื้อราก็ไม่พบความแตกต่างของราแอนโดไฟท์ ในช่วงของฤดูที่ศึกษาทั้งใบ และผล การใช้ยาฆ่าเชื้อราก็ไม่พบความแตกต่างของราแอนโดไฟท์ ในช่วงของฤดูที่ศึกษาทั้งใบ และผล การใช้ยาฆ่าเชื้อราซ้ำไป 2-6 สัปดาห์ จะเพิ่มจำนวนในใบ และผล การให้ยาในช่วงเกือบสิ้นสุดของฤดูกาลจะลดจำนวนโคโลนีของราแอนโดไฟท์ เชื้อราสาเหตุโรคพืชและ *B. vaccinii* ในใบ และผล แต่เชื้อราอื่นไม่มีผลสรุปว่าการใช้ยาฆ่าเชื้อราในช่วง 10 สัปดาห์ หลังตัดดอกแตกจะลดการเกิดเชื้อราในใบ และผลของแคนเบอร์รี่ได้ดีกว่าการให้ในระยะก่อนนี้

การสร้างฮอร์โมนเร่งการเจริญเติบโต

เอนโดไฟท์สามารถกระตุ้นการเจริญโดยต้นพืชที่มีราเอนโดไฟท์อยู่ จะมีการเจริญเติบโตมากกว่าต้นพืชที่ไม่มีเอนโดไฟท์ โดยช่วยทำให้พืชดูดซับธาตุอาหารได้มากขึ้น ตัวอย่างเช่นการสร้าง Indole-3-acetic acid (IAA) และ Indole-3-acetonitrile ซึ่งจะพบใน *Aureobasidium pullplan*, *Epicoccum purpurascens* ส่วน cytokinin ที่ผลิตโดย *Hypoxyylon serpens* ที่แยกจากยาสูบ จะช่วยเร่งกระบวนการออกดอกของไฮสท์ (Fisher, Anson and Petrini, 1984)

ราเอนโดไฟท์สามารถผลิตฮอร์โมนพืช เช่น จิบเบอเรลลิน และออกซิน เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชอาศัย (Rodriguez, Woodward and Redman, 2012) และ (Waqas et al., 2012) พบว่าราเอนโดไฟท์ *Phoma glomerata* LWL2 และ *Penicillium* sp. LWL3 สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตแคนตาลูปในสภาพแล้งได้ ในขณะที่ (Chen et al., 2010) พบว่าเชื้อรา *Fusarium* sp. DL26 และ *Pyrenochaeta* sp. DL351 สามารถกระตุ้นการเจริญของพืชได้ และ (Khan et al., 2012) พบว่าเชื้อราเอนโดไฟท์ *Phaecilomeces formosus* LHL10 ทำให้แดงกว่าที่อยู่ในสภาพดินเค็ม สามารถกระตุ้นการเจริญทำให้ต้นเจริญโต โดยมีปลายยอดยืดยาวมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ

การสร้างสารปฏิชีวนะ

ราเอนโดไฟท์หลายชนิดสร้างสารปฏิชีวนะในขณะเพาะเลี้ยง ซึ่งมีผลต่อต้านแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุโรคคน และพืช ซึ่งมีรายงานผลการทดสอบว่าราเอนโดไฟท์มากกว่า 30% ของทั้งหมดที่ทำการคัดเลือกสร้างสารต้านเชื้อรา และยังอธิบายถึงสารปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์กว้างของ *Cryptosporiopsis* sp. ซึ่งเป็นเชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จาก *Vaccinium myrtillus* และพบว่า *Coniothyrium* sp. และ *Microsphaeropsis* sp. เกือบทุกชนิดจะสร้างสารปฏิชีวนะจำนวนมาก

ทนการทำลายจากแมลงและสังเคราะห์แสงได้มาก

จากการประชุมของสถาบันของ USDA ใน Atlanta เมื่อปี 1994 มีรายงานสรุปว่าหญ้าเลี้ยงสัตว์ fescue ที่ไม่มีราเอนโดไฟท์นั้นจะเสี่ยงต่อการทำลายของแมลง และไม่มีคงทนต่อความแห้งแล้ง และการแทะเล็มของสัตว์ นอกจากนี้ นักวิจัยจาก Winthrop College ใน South Carolina ได้ทำการวิจัย และรายงาน ว่า fescue ที่มีราเอนโดไฟท์จะยังคงมีการสังเคราะห์แสงได้มากที่อุณหภูมิสูง เมื่อเปรียบเทียบกับหญ้าที่ไม่มีราเอนโดไฟท์ (Worapong et al., 2001)

การสร้างฮอร์โมนเร่งการเจริญเติบโต

การสร้าง Indole-3-acetic acid (IAA) และ Indole-3-acetonitrile ซึ่งจะพบใน *Aureobasidium pullianum*, *Epicoccum purpurascens* ส่วน cytokinin ที่ผลิตโดย *Hypoxyton serpens* ที่แยกจากยาสูบ จะช่วยเร่งกระบวนการออกดอกของโฮสต์ (Fisher et al., 1984)

การสร้างสารปฏิชีวนะ

ราเอนโดไฟท์หลายชนิดสร้างสารปฏิชีวนะในขณะที่เพาะเลี้ยง ซึ่งมีผลต่อต้านแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุโรคคนและพืช ซึ่งมีรายงานผลการทดสอบว่า ราเอนโดไฟท์มากกว่า 30% ของทั้งหมดที่ทำการคัดเลือก สร้างสารต้านเชื้อรา และยังอธิบายถึงสารปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์กว้างของ *Cryptosporiopsis* sp. ซึ่งเป็นเชื้อราเอนโดไฟท์ ที่แยกได้จาก *Vaccinium myrtillus* และพบว่า *Coniothyrium* sp. และ *Microsphaeropsis* sp. เกือบทุกชนิดจะสร้างสารปฏิชีวนะจำนวนมาก

ราเอนโดไฟท์ในการช่วยให้พืชการผลิตสารกระตุ้นการเจริญเติบโต และต้านทานต่อความเครียด (abiotic stress tolerance)

ราเอนโดไฟท์สามารถช่วยป้องกันพืชอาศัยจากสภาพแล้ง (Clay and Schardl, 2002) และยังสามารถทนต่อความเค็ม (Waller et al., 2005) และนอกจากนี้ยังพบว่าพืชที่มีราเอนโดไฟท์อาศัยอยู่สามารถทนต่อสภาพโลกร้อนได้ ในขณะที่พืชที่ไม่มีราเอนโดไฟท์อาศัยอยู่จะไม่สามารถทนต่อสภาพแห้งแล้ง สภาพความเค็มของดิน และการเข้าทำลายของโรคพืชได้ (Saikkonen, Saari and Helander, 2010)

ราเอนโดไฟท์สามารถผลิตฮอร์โมนพืช เช่นจิบเบอเรลลิน และออกซิน เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชอาศัย (Rodriguez et al., 2012) และ (Waqas et al., 2012) พบว่าราเอนโดไฟท์ *Phoma glomerata* LWL2 และ *Penicillium* sp. LWL3 สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตข้าวในสภาพแล้งได้ ในขณะที่ (Chen et al., 2010) พบว่า เชื้อรา *Fusarium* sp. DL26 และ *Pyrenochaeta* sp. DL351 สามารถกระตุ้นการเจริญของพืชได้ และพบว่าราเอนโดไฟท์ *Phaeoacremonium formosus* LHL10 ทำให้แดงกว่าที่อยู่ในสภาพดินเค็ม สามารถกระตุ้นการเจริญทำให้ต้นเจริญโต โดยมีปลายยอดยืดยาวมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ

ราเอนโดไฟท์และการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี

เชื้อราเอนโดไฟท์ถูกคาดหวังว่าจะมีศักยภาพในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี ซึ่งมีความสามารถควบคุมเชื้อราที่เข้าทำลายแบบแฝงได้ (Petrini, 1993) และนอกจากนี้ยัง

สามารถกระตุ้นให้พืชมีความต้านทานต่อโรค และกระตุ้นให้พืชสร้างสารบางอย่างเพื่อป้องกันตัวเองจากโรคและแมลง (Clay, 1991)

การศึกษาการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีจากราเอนโดไฟท์ เช่นถ้ามีเชื้อรา *Lophoderimium conigenum* ซึ่งเป็นเชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากผลของ Scots pine needles อยู่ ผล และก้านผลจะไม่เกิดโรคซึ่งมีสาเหตุมาจากเชื้อรา *L. seditiosum* ซึ่งเชื้อราโรคพืชจะถูกกำจัดโดยราเอนโดไฟท์ (Minter, 1981) และนอกจากนี้ราเอนโดไฟท์ในพืชบางชนิดยังสร้างสาร secondary metabolite antagonistic ต่อต้านการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (Liu, Zou, Lu and Tan, 2001) ราเอนโดไฟท์ในพืช *Spondias nimbina* สามารถผลิตสาร secondary metabolite สำหรับควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีได้ (Rodrigues, Hesse and Werner, 2000) นอกจากนี้สารทุติยภูมิที่ราเอนโดไฟท์สร้างขึ้นสามารถควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวได้ด้วย (Nuangmek, McKenzie and Lumyong, 2008)

ปัจจุบันมีการควบคุมโรคโดยชีววิธีมากขึ้น โดยนำเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์มาใช้ทั้งควบคุมโรค และส่งเสริมการเจริญของพืช โดยพบว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. เป็นเชื้อราปฏิปักษ์ที่นำไปใช้เป็นสารชีวภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพควบคุมเชื้อราโรคพืชหลายชนิด (จิระเดช และคณะ, 2533; สุภาพร และคณะ, 2537) นอกจากนี้สามารถควบคุมโรคพืชโดยตรงแล้วเชื้อรา *Trichoderma* sp. ยังสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโต และเพิ่มผลผลิตของพืชหลายชนิด

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี

การนำเชื้อปฏิปักษ์ (antagonist) ชนิดหนึ่งหรือมากกว่า ซึ่งมีอยู่ทั่วไปตามธรรมชาติในบริเวณผิวพืชส่วนเหนือดินบริเวณราก และดินรอบรากที่มีความสามารถในการแข่งขัน (competition) ทางด้านแหล่งแร่ธาตุอาหาร และแหล่งที่อยู่อาศัย การเป็นปรสิต (parasite) รวมถึงการผลิตสารปฏิชีวนะ (antibiotics) ออกมายับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่น มาใช้ในการควบคุมโรคพืชทดแทนหรือควบคู่ไปกับการใช้สารเคมี โดยเฉพาะอย่างยิ่งแบคทีเรียที่อาศัยอยู่กับรากพืช (rhizobacteria) และช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชที่เรียกว่า plant growth promoting rhizobacteria (PGPR)

การพัฒนาสูตรสำเร็จของชีวภัณฑ์

สูตรน้ำ (Liquid formulation) เป็นสูตรที่ผลิตได้ง่ายแต่เก็บรักษาได้ยาก และไม่สะดวกในการขนส่ง โดยใช้น้ำและ emulsion oil เป็นตัวเติมด้วยสารช่วยจับใบ (surfactants, sficher) สี อาหาร สารป้องกันการจับตัวเป็นน้ำแข็ง สารป้องกันเซลล์ และเสริมประสิทธิภาพ เช่นโพลีเมอร์ (polymer) กัม (gam) และคาร์บอกซีเมททิลเลลูโลส (carboxymethylcellulose)

การผลิตสูตรน้ำทำได้โดยการเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวแล้วนำมาผสมกับน้ำหรือสารตัวอื่น ๆ หรือใช้เชื้อผงมาละลายในน้ำและเติมสารต่าง ๆ ลงไปดังกล่าวข้างต้น

ชนิดผงแห้ง (powder) สูตรที่ผลิตได้ง่ายสามารถเก็บรักษาได้ยาวนานกว่าสูตรน้ำขนส่งสะดวก ได้จากการผสมเชื้อสดกับผงสารพาต่าง ๆ เช่น ไคอะตอมเซียมเฮิร์ต เวอร์มิคูไลท์ ไพโรฟิลไลท์ หรือผงดินเหนียว เป็นต้น จากนั้นจึงนำไปตากหรืออบให้แห้งที่อุณหภูมิไม่สูงนัก ก่อนบดเป็นผงละเอียด

ชนิดเม็ด (pellet) เป็นสูตรที่นิยมนำเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ ได้จากการใช้สารโพลีเมอร์อินทรีย์บางชนิด เช่น อัลจิเนท โพลีอะครีลาไมด์ หรือคาราจีแนน ห่อหุ้มเม็ดเชื้อ หรือการใช้เชื้อเคลือบบนผิวของสารพาบางชนิด

ชนิดเกล็ด (granule) ได้จากการใช้สปอร์ของเชื้อสดผสมกับสารพาที่ละลายน้ำได้ดี หรือแขวนลอยดี ตกตะกอนช้า ทำให้อยู่ในรูปเกล็ดแห้ง

ลักษณะของสูตรที่เหมาะสมในการผลิตชีวภัณฑ์

มีอายุการเก็บรักษาที่นาน ไม่เป็นพิษต่อพืช ทนต่อสภาพแวดล้อม มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพืช ละลายได้ดีในน้ำ ตัวพาต้องมีราคาถูก และพร้อมสำหรับ และสามารถเข้ากันได้กับสารเคมีอื่น ๆ ได้ (Kumar and Gupta, 2012)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ชนิทร และคณะ (2553) ศึกษาจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชโดยแยกราเอนโดไฟท์จากต้นคะน้าปกติที่ไม่มีการเข้าทำลายของโรค และแมลง พบราและสามารถจัดกลุ่มเป็น 4 taxa คือ *Alternaria* spp., *Nigrospora* sp., *Pestalotiopsis* sp. และ *Mycelia Sterilia* และคัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟท์ที่มีอัตราการเจริญเร็วที่สุดจำนวน 5 ไอโซเลท เพื่อทดสอบผลต่อความงอกของเมล็ดคะน้า พบว่าราเอนโดไฟท์ 4 ไอโซเลท ยกเว้น *Alternaria*1 มีเปอร์เซ็นต์ความงอกไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และผลต่อการเจริญเติบโตของคะน้าในระยะต้นกล้า เมื่อวัดผลจากน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของต้นกล้าพบว่า ต้นกล้าที่ปลูก ด้วยเชื้อราเอนโดไฟท์ *Nigrospora sacchari* มีน้ำหนักมากที่สุด แต่ทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกัน ทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งไม่ได้ปลูกด้วยราเอนโดไฟท์

ลาวรรณ และดุสิต (2557) ทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตพืชด้วยจุลินทรีย์ที่อยู่ในบริเวณรอบรากพืชด้วยกลไกโดยตรงของจุลินทรีย์ในการผลิตฮอร์โมนพืช โดยทดสอบเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* SP007s ในการผลิตฮอร์โมนพืช IAA และ GA3 ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตพืชในระบบการผลิตคะน้าอินทรีย์ และพบว่าเชื้อปฏิปักษ์ SP007s สามารถผลิต

IAA และ GA3 ได้ปริมาณมากในอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient glucose broth เท่ากับ 47.5 และ 54.7 $\mu\text{g ml}^{-1}$ ตามลำดับ จากการตรวจสอบด้วยวิธี High-performance liquid chromatography (HPLC) ในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่าเชื้อปฏิปักษ์ SPO07s สามารถผลิต และปลดปล่อย IAA และ GA3 ที่มีประสิทธิภาพส่งเสริมเปอร์เซ็นต์การงอก จำนวนรากแขนง ความสูงต้น และความยาวรากของต้นกล้าคะน้า ได้เท่ากับฮอร์โมนสังเคราะห์ IAA และ GA3 ส่งผลให้พืชมีการดูดซึมสารอาหาร และน้ำได้ดีขึ้น นอกจากนี้ ยังพบประสิทธิภาพในการลดโรคขอบใบทอง และใบจุดอัลเทอร์นาเรีย ถึง 71.3 และ 73.9% ตามลำดับ หลังมีการคลุกเมล็ด และพ่นใบด้วยเชื้อปฏิปักษ์ SPO07s (10^6 cfu / ml) เมื่อคะน้าอายุ 14, 28 และ 42 วัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่า นอกจากการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีด้วยเชื้อปฏิปักษ์ SPO07s ยังมีประสิทธิภาพสูงในการเป็นผู้ผลิตฮอร์โมนพืช

(Nenwani, Doshi, Saha and Rajkumar, 2010) ได้ศึกษา เชื้อรา F1 ซึ่งแยกจากบริเวณราก และคัดเลือกรากละลายฟอสเฟต บนอาหารแข็ง Pikovskaya's agar ที่ความสามารถก่อให้เกิดแคเรียโซน (zone of solubilization) ทำการประเมินประสิทธิภาพของ F1 ในการละลายฟอสเฟตโดยธรรมชาติโดยการตรวจวิเคราะห์ฟอสฟาเตส และไฟเตส กิจกรรมของ F1 ที่ผลิตเอนไซม์อัลคาไลน์ และกรดฟอสฟาเตสเท่ากับ 1.86 และ 1.90 EU ตามลำดับ และกิจกรรมไฟเตสเท่ากับ 28 mU ความเข้มข้นของไฮเดอโรฟอรัซชนิด catechol และ hydroxymate ที่ผลิตโดย F1 เท่ากับ 4.50 และ 4.55 $\mu\text{g} / \text{ml}$ ตามลำดับ และผลิต IAA ได้ 11.45 $\mu\text{g} / \text{ml}$ เชื้อรบางชนิดอาจมีคุณสมบัติที่เกี่ยวข้องกับ biocontrol ของเชื้อโรคพืชเช่นการผลิตเอนไซม์ chitinase which ซึ่งเป็น 0.037 EU สำหรับ F1 ไอโซเลท F1 คือ เชื้อ *Absidia* spp. ที่มีศักยภาพในการเป็นสารชีวภาพที่มีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

(Gaid, 2016) ศึกษาการที่ละลายฟอสเฟต กลไกและการประยุกต์ใช้ในการทนเค็มในข้าวสาลี พบว่า *Aspergillus niger* (ITCC6719) และ *Trichoderma harzianum* (ITCC 6721) มีประสิทธิภาพการละลายของไตรแคลเซียมฟอสเฟต (TCP), Udaipurrock ฟอสเฟต (URP), อะลูมิเนียมฟอสเฟต (AP) และเพอร์ริกฟอสเฟต (FP) โดยมีหน้าที่เป็นคาร์บอน การเพิ่มความเข้มข้นของกลูโคสจาก 1 ถึง 7% ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้การละลายฟอสฟอรัส (P) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ แต่สายพันธุ์ของราแต่ละสายพันธุ์จะต้องการความเข้มข้นของคาร์บอนที่เหมาะสมที่สุดที่แตกต่างกัน การเพิ่มขึ้นของการผลิตกรดซิตริก (citric acid) โดยการเพิ่มความเข้มข้นของคาร์บอนในระหว่างการละลาย FP โดย *T. harzianum* การกรองเซลล์ที่ปลดปล่อย *A. niger* ตรวจพบ phytase สูง และกิจกรรม phosphatase กรดต่ำในขณะที่ผลลัพธ์มีความสอดคล้องกันเมื่อเทียบกับ *T. harzianum* ทั้งราสายพันธุ์นี้มีคุณสมบัติในการเจริญเติบโตของ

พืชเช่นการออกซิเจน และไซโตคอริน และสามารถละลาย Zn ได้ ในระบบไฮโดรโพนิค (ความเข้มข้นของไซโตคอริน 60 mM) การเสริมด้วยการกรองเชื้อจากราแต่ละลายพันธุ์ทำให้การเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวสาลีเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับควบคุมแบบไม่กรองวัฒนธรรม การใช้ *A. niger* เป็นสารชีวภาพจะเป็นแนวทางที่ยั่งยืนในการปรับปรุงความมีอยู่ของดิน P ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช และบรรเทาผลกระทบจากความเครียดที่เกิดจากความเค็ม

(Alia, Ashta and Ratsimalahelo, 2017) แยกราเอนโดไฟท์ติก *Thermomyces* sp. (CpE) จากราก delile (*Cullen plicata*) จากทะเลทรายร้อน และทดสอบการทนต่อความเครียดจากความร้อนในพืชแตงกวา โดยนำเมล็ดพันธุ์แตงกวาจุ่มในสารแขวนลอยสปอร์ของเอนโดไฟท์ CpE และปลูกในห้องเป็นเวลา 3 สัปดาห์ก่อนที่จะย้ายไปปลูกในเดือนพฤษภาคมถึงเดือนกรกฎาคม พบว่า CpE ช่วยลดความเครียดที่เกิดจากความร้อนในพืชแตงกวา ลดการคายน้ำ เพิ่มความยาวราก นอกจากนี้ยังพบว่า CpE ทำให้เกิดการสะสมของน้ำตาลรวม, flavonoids, saponins, โปรตีนที่ละลายน้ำได้ และกิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระได้

(Zhou L. S., Tang and Guo, 2018) ศึกษาการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (PGPF) โดยใช้ *Salvia miltiorrhiza* ในมณฑลเหอหนานของจีน และ *Alternaria* sp. A13 ราเอนโดไฟท์ได้แยกจากราก หน่อ และใบพืช และทำการประเมินการทำงานร่วมกันระหว่าง *S. miltiorrhiza* และ *Alternaria* sp. A13 โดยศึกษาผลกระทบต่อกรเจริญเติบโตของต้นกล้า, การสะสมของสารออกฤทธิ์ และกิจกรรมของเอนไซม์สำคัญสำหรับการสังเคราะห์ทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพ เป็นเวลา 6 เดือน ภายใต้สภาพแปลง พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักสด 140%, น้ำหนักแห้ง 138%, และการเพิ่มของกรดฟีนอลิกทั้งหมด, กรด lithospermic A และ B (LAA และ LAB, ตามลำดับ) 210%, 128% และ 213% ตามลำดับ การตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องแสดงให้เห็นว่าผลของ A13 ต่อการสะสม LAB มีความสัมพันธ์กับการทำงานของกรดซินนามิก 4-hydroxylase (C4H) ในทางเดินฟีนิลโพรพิรอยด์ จากการทดสอบจึงสามารถบอกได้ว่า *Alternaria* sp. A13 ไม่เพียง แต่มีส่วนช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของราก *S. miltiorrhiza* แต่ยังช่วยเพิ่มของกรดฟีนอลิกทั้งหมด, กรด lithospermic A และ B จึงแสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการประยุกต์ใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพสำหรับการเพาะปลูก

(Adhikari and Pandey, 2019) การศึกษาศักยภาพของราเอนโดไฟท์ 5 ชนิด ที่แยกได้จากรากของ *Taxus Wallichiana* ได้แก่ *Penicillium* (GBPI TWR_F1, GBPI TWR_F2 และ GBPI TWR_F3) และ *Aspergillus* 2 ไอโซเลท (GBPI TWR_F4 และ GBPI TWR_F5) ทดสอบ

ความสามารถในการละลายฟอสเฟตที่ไม่ละลายในสถานะของ tricalcium (TCP), อลูมิเนียม (AIP), และฟอสเฟตเหล็ก (FeP) ที่อุณหภูมิต่ำผ่านการผลิต ฟอสเฟส พบว่าราเอนโดไฟท์ 5 ชนิดมีความสามารถในการละลายฟอสเฟตโดยใช้สารตั้งต้น ได้แก่ แคลเซียม อลูมิเนียมและไฮดรอกไซด์ฟอสเฟต พร้อมกับการผลิตฟอสเฟส และเอนไซม์ไฟเตส ราไอโซเลทที่ละลายฟอสเฟตสูงสุดและกิจกรรมไฟเตส คือราไอโซเลท GBPI TWR_F2 (*P. daleae*) ที่ $83.42 \pm 3.41 \mu\text{g} / \text{ml}$ TCP, $57.63 \pm 0.79 \mu\text{g} / \text{ml}$ AIP, and $57.76 \pm 1.70 \mu\text{g} / \text{ml}$ FeP at 15 องศาเซลเซียส GBPI TWR_F2 and GBPI TWR_F5 (*Aspergillus* sp.) ผลิตแคลเซียมไฟเตสสูงสุดที่ 25 และ 15 องศาเซลเซียส 10.33 ± 0.13 และ $10.37 \pm 0.37 \mu\text{m} / \text{ml}$. ตามลำดับ การผลิตฟอสฟาเตสนั้นสูงกว่าในสภาวะที่เป็นกรดเมื่อเปรียบเทียบกับอัลคาไลน์ ในการวัดปริมาณกรดอินทรีย์ผ่าน HPLC กรดมาลิก และกรดซัคซินิกจะถูกกำหนดในปริมาณสูงสุด 0.97 ± 0.003 และ $0.92 \pm 0.008 \mu\text{g} / \text{ml}$ ตามลำดับตามด้วยออกซาลิก ($0.71 \pm 0.006 \mu\text{g} / \text{ml}$.) และกรดแลคติก ($0.61 \pm 0.005 \mu\text{g} / \text{ml}$.)

(Chitphithak, Kaewchai and Pornsuriya, 2020) ได้คัดกรองความสามารถละลายฟอสเฟตบนอาหาร PDA ของ *Aspergillus* spp. จำนวน 43 ไอโซเลท ที่แยกจากดินในจังหวัดนราธิวาส ปัตตานี และยะลา ได้ด้วยวิธีเชื้อจางสารละลายดินเป็นลำดับครั้งละ 10 เท่าที่ และระบุชนิดด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา และลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง internal transcribed spacer (ITS) ได้ 7 ชนิดได้แก่ *A. aculeatus*, *A. alabamensis*, *A. carbonarius*, *A. clavatus*, *A. japonicus*, *A. niger* และ *A. terreus* จากการทดสอบการละลายฟอสเฟตของรา *Aspergillus* spp. ที่แยกได้โดยวิธี halo zone test บนอาหารแข็ง Pikovskaya พบว่ารา *A. alabamensis* และ *A. carbonarius* สามารถละลายฟอสเฟตได้ดี

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การคัดเลือกเอนโดไฟท์ที่มีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

1.1 การแยกราเอนโดไฟท์จากพืชสมุนไพร

ทำการแยกเส้นใยบริสุทธิ์ของราเอนโดไฟท์ โดยขอความอนุเคราะห์เชื้อเอนโดไฟท์จาก ศูนย์ความเป็นเลิศด้านความหลากหลายของจุลินทรีย์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จำนวน 364 ไอโซเลท แยกราบริสุทธิได้ จำนวน 271 ไอโซเลท เพื่อนำมาคัดเลือกเอนโดไฟท์ที่มีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชต่อไป

1.2 การทดสอบความสามารถในการละลายธาตุอาหาร

ทดสอบโดยการเลี้ยงราเอนโดไฟท์บริสุทธิ์จำนวน 271 ไอโซเลท ในอาหารแข็งที่มี ส่วนประกอบของธาตุอาหารที่ไม่ละลายน้ำ ได้แก่ $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, CaCO_3 , CuO , $\text{CuCO}_3 \cdot \text{Cu}(\text{OH})_2$, CoCO_3 , ZnO , ZnCO_3 , FePO_4 , MnO , MgCO_3 , เฟลด์สปาร์ และดินขาว ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ตามวิธีของ (Fomina, Alexander, Colpaert and Gadd, 2005) โดยผสมในอาหาร แข็ง PDA จากนั้นเจาะชิ้นส่วนของราเอนโดไฟท์ขนาด 0.5×0.5 เซนติเมตร วางบนอาหารแข็งที่มี ส่วนประกอบของธาตุอาหารที่ไม่ละลายน้ำ จำนวน 3 ซ้ำ จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศา เซลเซียส ในที่มืดนาน 5 วัน จากนั้นทำการวัดเคลียร์โซน (holo zone) และคำนวณ Solubilization index (SI) โดยคำนวณจาก เส้นผ่านศูนย์กลางการเกิดเคลียร์โซนหารด้วยเส้น ผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราเอนโดไฟท์ (Vitorino et al., 2012)

$$\text{solubilization index (SI)} = \frac{\text{ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี} + \text{วงใส}}{\text{ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี}}$$

1.3 การบ่งบอกชนิดของเชื้อราเอนโดไฟท์

การบ่งบอกชนิดของราเอนโดไฟท์ที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟต โดยศึกษา ลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และใช้เทคนิคอณูชีววิทยา โดยการสกัด ดีเอ็นเอของราเอนโดไฟท์ ใช้ชุดสกัดดีเอ็นเอ FavorPrep™ Tissue Genomic DNA Extraction Mini Kit และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค Polymerase chain reaction (PCR) โดยใช้ไพรเมอร์ 1 คู่ ได้แก่ ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') และ ITS5 (5'-GGAGTAAAAGTCGTAACAAG

-3') จากนั้นทำดีเอ็นเอบริสุทธิ์ โดยใช้ชุด NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up แล้ววัดปริมาณ PCR product ด้วยเครื่อง Thermo Scientific Nano One Microvolume UV – Vis Spectrophotometer ทำการตรวจสอบ PCR product อีกครั้งด้วย Gel electrophoresis โดยเทียบขนาดกับดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 100 คู่เบส

2. การทดสอบประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ที่มีความสามารถในการละลายธาตุอาหาร

2.1 การทดสอบประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟต (P- solubilization)

คัดเลือกราเอนโดไฟท์ที่มีความสามารถละลายธาตุอาหารที่ดีที่สุดจากการทดลอง 1.2 คือรา *Fusarium endophyticum* (22 SGC 4V / 4-1) และนำมาศึกษาการละลายฟอสเฟต ดัดแปลงวิธีการจาก (Saravanakumar, Arasu and Kathiresan, 2013) โดยเลี้ยงรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V / 4-1) ในอาหารเหลว National Botanical Research Institute's phosphate growth (NBRIP) medium [10 g. glucose, 5 g. $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, 5 g. $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0.25 g. $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.2 g. KCl, and 0.1 g. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (per liter), pH 7] ที่ผสม 1% ของ $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, FePO_4 , CaCO_3 , CoCO_3 , ZnO , ZnCO_3 และดินขาว เป็นแหล่งของฟอสเฟต ทำการทดลอง 3 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน ตรวจสอบกิจกรรมโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 880 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟ มาตรฐานของ KH_2PO_4 (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และวิเคราะห์การเพิ่มขึ้นหรือลดลงของการละลายฟอสเฟต (%) โดยชุดควบคุม คืออาหารทดสอบปลอดเชื้อ

2.2 การตรวจสอบการผลิตสารกระตุ้นการเจริญเติบโตกรดอินโดอะซีติก (Indole Acetic Acid: IAA)

ทดสอบสามารถของรา *Fusarium endophyticum* (22 SGC 4V / 4-1) ในการผลิตสารกระตุ้นการเจริญเติบโตกรดอินโดอะซีติก (Indole Acetic Acid: IAA) ตามวิธีของ (Tsavkelova, Cherdyntseva, Botina and Netrusov, 2007) โดยเลี้ยงรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V / 4-1) ในอาหาร Potato dextrose broth (PDB) ที่ผสม 0.2% L-tryptophan บ่มที่ 25 องศาเซลเซียส ความเร็ว 125 รอบต่อนาที นาน 5 วัน จากนั้นวัดปริมาณการผลิต IAA วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร (nm) โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer (Suwannarach, Kumla, Matsui and Lumyong, 2015) และ high performance liquid chromatography (HPLC) techniques (Kumla, Suwannarach, Bussaban, Matsui and Lumyong, 2014) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design: CRD) จำนวน 2 กรรมวิธี ๆ ละ 3 ซ้ำ ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (น้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว)

กรรมวิธีที่ 2 สารสกัดจากเชื้อรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1)

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of Variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธีด้วยการทดสอบแบบพิสัยเชิงพหุคูณ (Duncan's New Multiple Range Test: DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

2.3 การทดสอบการผลิตไซเดอโรฟอรัส (Siderophores)

นำรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ทดสอบการผลิตไซเดอโรฟอรัส (Siderophores) ด้วยวิธี Chrome Azurol S (CAS) agar plate assay บนอาหาร CAS agar โดยเจาะชั้นนูนของรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ขนาด 0.5 x 0.5 เซนติเมตร วางบนอาหารและบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส นาน 3 วัน วัดผลโดยดูการเปลี่ยนแปลงสีของอาหารบริเวณรอบโคโลนี คือโซนการเปลี่ยนแปลงสีรอบโคโลนีเป็นสีชมพูแสดงว่ามีการผลิตไซเดอโรฟอรัส (Siderophores) และวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design: CRD) จำนวน 2 กรรมวิธี ๆ ละ 3 ซ้ำ ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (ไม่ปลูกเชื้อบนอาหาร CAS agar)

กรรมวิธีที่ 2 ราเอนโดไฟท์ *F. endophyticum* (22 SGC 4V / 4-1)

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of Variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธีด้วยการทดสอบแบบพิสัยเชิงพหุคูณ (Duncan's New Multiple Range Test: DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

2.4 การศึกษาความสามารถในการผลิตเอนไซม์ย่อยเซลล์เชื้อราสาเหตุโรค

ศึกษาความสามารถของรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ในการผลิตเอนไซม์ย่อยเซลล์เชื้อราสาเหตุโรคพืช ได้แก่ chitinase (ไคติเนส) cellulase (เซลลูเลส), protease (โปรติเอส), phytase (ไฟเตส) โดยเลี้ยงรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ในอาหาร PDB บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน จากนั้นกรองเส้นใยออกด้วยกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 แล้วนำ culture filtrate มาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที จากนั้นนำส่วนน้ำใส (supernatant) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร มาตรวจทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์ต่าง ๆ โดยการหยอดลงในอาหารทดสอบ Potato dextrose agar (PDA) ที่ผสม 2.4% colloidal chitin, pH 6.0 (สำหรับ chitinase), 1% gelatin (สำหรับ protease) และ 4% carboxymethylcellulose sodium salt (สำหรับ cellulase) 1% phytase (สำหรับ phytase) ทำการทดสอบจำนวน 3 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส

นาน 5 วัน ประเมินกิจกรรมโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส ตามวิธีการของ (สุวิตา, 2549)

2.5 การทดสอบเชื้อราเอนโดไฟท์ที่สามารถเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อเชื้อก่อโรค (dual culture test)

นำรา *Fusarium endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) มาเลี้ยงบนอาหาร PDA ร่วมกับเชื้อสาเหตุโรคด้วยวิธี dual culture technique (Arnold, Maynard, Gilbert, Coley and Kursar, 2000) โดยใช้ราสาเหตุโรคพริก คือ *Colletotrichum capsici* และ *Fusarium oxysporum* f.sp. *capsici* (ใช้เชื้อราจากมหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน) โดยวางเชื้อราเอนโดไฟท์ร่วมกับเชื้อสาเหตุโรค ให้ห่างจากขอบจาน 2 เซนติเมตร โดยที่วางเชื้อราเอนโดไฟท์กับเชื้อราสาเหตุโรคไว้ตรงข้ามกันในแนวเส้นผ่าศูนย์กลางของจานอาหาร บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส) นาน 7 วัน ทำการวัดรัศมีการเจริญของราสาเหตุโรคในจานอาหาร ทดลอง และจานควบคุม

คำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืช (Percent inhibition of radial growth : PIRG) (เกษม สร้อยทอง, 2532)

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืช (PIRG) = $((R1-R2) / R1) \times 100$

เมื่อ R1 = ความยาวรัศมีของโคโลนีเชื้อราโรคพืชในจานควบคุม

R2 = ความยาวรัศมีของโคโลนีเชื้อราโรคพืชในจานทดสอบ

โดยประเมินประสิทธิภาพการยับยั้ง ดังนี้

>75 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งระดับสูงมาก

>60 - 75 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งระดับสูง

>50 - 60 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งระดับปานกลาง

>50 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งระดับต่ำ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) แบ่งเป็น 2 กรรมวิธี ๆ ละ 5 ซ้ำ ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ร่วมกับเชื้อรา *C. capsici*

กรรมวิธีที่ 2 เชื้อรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ร่วมกับเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *capsici*

โดยให้เชื้อรา *C. capsica* และ *F. oxysporum* f.sp. *capsici* เป็นจานควบคุม (ไม่ปลูกเชื้อราก่อโรค)

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of Variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่าง (Duncan's New Multiple Range Test: DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

2.6 การทดสอบการกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์พืช

การทดสอบการกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์พืชทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ พริกหวานแคลิฟอเนียร์ กะหล่ำปลีรูปหัวใจ ตะนาเห็ดหอม ผักกาดขาว มะเขือเทศสีดา โดยทำการฆ่าเชื้อพื้นผิวของเมล็ดพันธุ์ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5% (NaOCl) เป็นเวลา 5 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ซับด้วยกระดาษที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ และทำให้แห้งในอากาศที่ปลอดเชื้อ ทำการเตรียมสารแขวนสปอร์ของรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ที่ความเข้มข้น 1.0×10^2 , 1.0×10^4 , 1.0×10^6 และ 1.0×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร และแช่เมล็ดที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วในสารแขวนลอยตามลำดับ และทำให้แห้งเป็นเวลา 2 ชั่วโมงในที่ปลอดเชื้อ (Jain, Singh, Singh and Singh, 2015; Singh, Jain, Sarma, Upadhyay and Singh, 2013) นำเมล็ดที่แช่ด้วยสารแขวนลอยแล้วบ่มเก็บไว้ในห้องที่ 28-30 องศาเซลเซียส โดยคงความชื้นสัมพัทธ์ 98% ไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วบันทึกผลการทดลอง โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design: CRD) จำนวน 5 กรรมวิธี ๆ ละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 100 เมล็ด ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)

กรรมวิธีที่ 2 แช่สารแขวนสปอร์ของรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ที่ความเข้มข้น 1.0×10^2 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 3 แช่สารแขวนสปอร์ของรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ที่ความเข้มข้น 1.0×10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 4 แช่สารแขวนสปอร์ของรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ที่ความเข้มข้น 1.0×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 5 แช่สารแขวนสปอร์ของรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ที่ความเข้มข้น 1.0×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

3. การพัฒนาสูตรชีวภัณฑ์เชื้อราเอนโดไฟท์

3.1 พัฒนาชีวภัณฑ์สูตรเม็ด (pillette granular formulation)

โดยการเตรียมสารแขวนลอยสปอร์รา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ที่ความเข้มข้น 1.0×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร นำไปผสมกับผงเวอร์มิคูไลต์ และแป้งข้าวเหนียว อัตราส่วน 7: 3 จากนั้นนำไปอัดเม็ดด้วยเครื่องบรรจุเม็ดอัตโนมัติ ยี่ห้อ Rich Packing รุ่น ZP-17D ทำให้แห้งโดยเตาอบลมหมุนเวียนที่ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นบรรจุชีวภัณฑ์ ปริมาณ 5 กรัม ในขวดแก้วขนาด 4 ออนซ์ (113.65 ml) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 8, 30, และ 40 องศาเซลเซียส นาน 1-6 เดือน เพื่อประเมินคุณภาพต่อไป

3.2 การประเมินผลผลิตจากเชื้อราเอนโดไฟท์ที่โดยการตรวจเช็คการมีชีวิตรอดของเชื้อราเอนโดไฟท์ในสูตรสำเร็จ

นำผลิตภัณฑ์แบบเม็ดของรา *Fusarium endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) มาประเมินการมีชีวิตรอด โดยวิธี dilution spread plate (Sriram et al., 2011) โดยการสุมซึ่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์จากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ปริมาณ 1 กรัม ละลายลงในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่นนิ่งเข้าเชื่อปริมาตร 9 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางจนได้ความเข้มข้น 1:1,000,000 หรือ 1.0×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร แล้วดูดตัวอย่างเชื้อที่ 2 ระดับความเข้มข้นสุดท้ายคือ 10^5 และ 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และทำการ spread plate ให้ทั่วจานแล้วนำไปบ่มไว้ในตู้ Incubator ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับการเจริญของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

4. การศึกษาผลของผลิตภัณฑ์จากราเอนโดไฟท์ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคในพริกในระดับโรงเรือน

4.1 การทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตและคุณภาพผลผลิตของพริก

เพาะต้นกล้า พริกหวาน พันธุ์แคลิฟอเนียร์ (สีเขียว) ในถาดเพาะกล้า ขนาด 104 หลุม ที่มีวัสดุปลูกสำเร็จรูปมีส่วนผสมของ ดิน และแกลบดำ อัตราส่วน 2:1 จำนวน 1 เมล็ดต่อหลุม ให้น้ำวันละครึ่ง (ช่วงเย็น) จากนั้นเตรียมดิน และเติมธาตุอาหารที่ไม่ละลายน้ำ (ดินขาว) อัตรา 1 กรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม เมื่อต้นกล้าอายุได้ 30 วัน จึงย้ายปลูกในถุงปลูกขนาด 9 x 18 นิ้วที่มีวัสดุปลูกจำนวน 4 กิโลกรัม ถุงละ 1 ต้น ให้น้ำด้วยระบบน้ำหยด วางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design : RCBD) จำนวน 5 ซ้ำ ๆ ละ 5 ต้น และใส่ผลิตภัณฑ์ชีวภาพอัดเม็ดจากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ปริมาณ 12 กรัมต่อ 1 ครั้ง ทุกๆ 7 วัน ทำการทดลองทั้งหมด 3 กรรมวิธี ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (ไม่ใส่ปุ๋ย)

กรรมวิธีที่ 2 ดินขาวระนอง อัตรา 1 กรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม และใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1)

กรรมวิธีที่ 3 ดินขาวระนอง อัตรา 1 กรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม และใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1)

บันทึกผลการเจริญเติบโต และผลผลิต วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of Variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธีด้วยการทดสอบแบบพหุเชิงพหุต้นแค่น (Duncan's New Multiple Range Test: DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และ 0.01

การบันทึกผลการทดลอง มีดังนี้

1) วัดการเจริญเติบโตทางด้านความสูงของต้นพริก โดยวัดความสูงของต้นพริกจากระดับคอรากถึงส่วนยอด จำนวนใบ และวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้นที่ระดับโคนต้นสูง ขึ้นมา 5 เซนติเมตร โดยใช้เวอร์เนียร์คาลิเปอร์ หน่วยเป็นมิลลิเมตร

2) ชั่งน้ำหนักแห้งของต้นพริก หลังเก็บเกี่ยวผลผลิต โดยนำรากมาล้างให้สะอาด รมด้วยฟอร์มาลินให้รากขาด จากนั้นตัดบริเวณส่วนเหนือดิน และส่วนของรากแยกออกจากกัน แล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นชั่งน้ำหนักแห้งส่วนที่อยู่เหนือดิน และน้ำหนักแห้งส่วนรากของกล้าไม้แต่ละต้น และนำมาคำนวณดังนี้

$$\text{ECM dependency} = \frac{(\text{Biomass of ECM plant} - \text{Biomass of non-ECM plant}) \times 100}{\text{Biomass of ECM plant}}$$

3) วิเคราะห์ธาตุอาหารในพืช ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม โดยวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในพืช วิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสในพืช และวิเคราะห์โพแทสเซียมในพืช

4.2 การทดสอบควบคุมโรคแอนแทรคโนสและโรคเหี่ยวเหลืองในพริก

1) การทดสอบการควบคุมโรคแอนแทรคโนส *Colletotrichum capsici*

เตรียมเพาะกล้าพริกหวาน แคลิฟอเนียร์ (สีเขียว) ในถาดเพาะกล้า ขนาด 104 หลุม ที่มีวัสดุปลูกสำเร็จรูปมีส่วนผสมของดิน และแกลบดำ อัตราส่วน 2: 1 เมื่อต้นกล้าอายุได้ 30 วัน จึงย้ายปลูกในถุงปลูกขนาด 9 x 18 นิ้ว ที่มีวัสดุปลูกจำนวน 4 กิโลกรัม ถุงละ 1 ต้น โดยนำผลิตภัณฑ์จากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ใส่ลงในถุงบรรจุดินปลูก (ใส่ลงพื้นก่อนปลูก) ถุงละ 125 กรัม และใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1)

หลังจากย้ายปลูกต้นกล้าในวันที่ 7, 14 และ 21 ถุงละ 125 กรัม จากนั้นทำการให้น้ำด้วยระบบน้ำหยด จนต้นพริกมีอายุ ประมาณ 60 วัน (ช่วงที่พริกออกดอก) หลังลงปลูกในถุงดำ นำเชื้อรา *C. capsici* ที่เลี้ยงในอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน มาทำสารละลายแขวนลอยสปอร์ (spore suspension) โดยชูดเอาเส้นใยของเชื้อรา *C. capsici* ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ใส่ลงในน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว ให้มีระดับความเข้มข้นที่ 1.0×10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ฉีดพ่นลงบนต้นพริก (চারতিথ্য রত্নে, 2559) โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design : RCBD) จำนวนทั้งหมด 4 กรรมวิธี ๆ ละ 5 ซ้ำ ๆ ละ 5 ต้น ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (ไม่ใส่เชื้อ)

กรรมวิธีที่ 2 ชุดควบคุม ใส่เชื้อรา *C. capsici*

กรรมวิธีที่ 3 สารเคมีกำจัดเชื้อราทางการค้า Carbendazim ความเข้มข้น 50 ppm (กรมวิชาการเกษตร, 2556) + *C. capsici*

กรรมวิธีที่ 4 ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) + *C. capsici*

ทำการบันทึกผลความรุนแรงของโรค (disease severity) ซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคอยู่ที่ 1-5 ระดับ โดยบันทึกหลังจากการปลูกถ่ายเชื้อบนต้นพริกเป็นเวลา 14 วัน ดังนี้

ระดับ 1 = ไม่มีอาการของโรค

ระดับ 2 = มีอาการของโรค 25 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 3 = มีอาการของโรค 26-50 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 4 = มีอาการของโรค 51-75 เปอร์เซ็นต์

ระดับ 5 = มีอาการของโรค 76-100 เปอร์เซ็นต์

นำค่าที่ได้ไปคำนวณดัชนีการเกิดโรค (Disease Severity Index, DSI) ด้วยสูตรของ (Kumar et al., 2014) ดังนี้

$$DSI = \frac{\sum(ni \times i)}{n \times 5} \times 100$$

โดย i = ระดับความรุนแรงของโรค (1, 2, 3, 4, 5 หรือ 6)

ni = จำนวนต้นที่มีอาการในระดับ i

n = จำนวนต้นทั้งหมดในชุดการทดลองแต่ละชุด

2) การทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวเหลือง *Fusarium oxysporum* f.sp. *capsici*

เตรียมเพาะกล้าพริกพริกหวาน แคลอพอเนียร์ (สีเขียว) ในถาดเพาะกล้าขนาด 104 หลุม ที่มีวัสดุปลูกสำเร็จรูปมีส่วนผสมของดิน และแกลบดำ อัตราส่วน 2: 1 เมื่อต้นกล้าอายุได้ 30 วัน จึงย้ายปลูกในถุงปลูกขนาด 9 x 18 นิ้ว ที่มีวัสดุปลูกจำนวน 4 กิโลกรัม ถุงละ 1 ต้น โดยนำผลผลิตภัณฑ์จากราเอนโดไฟท์ *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ใส่ลงในถุงบรรจุดินปลูก (ใส่ลงในพื้ก่อนปลูก) ถุงละ 125 กรัม และใส่ผลผลิตภัณฑ์จากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) หลังจากย้ายปลูกต้นกล้าในวันที่ 7, 14 และ 21 ถุงละ 125 กรัม จากนั้นทำการให้น้ำด้วยระบบน้ำหยด จนต้นพริกมีอายุ 1 เดือน (หรือประมาณ 30 วัน) หลังลงปลูกในถุงดำ นำเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *capsici* ที่เลี้ยงในอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน มาทำเป็นสารละลายแขวนลอยสปอร์ (spore suspension) โดยชูดเอาเส้นใยของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *capsici* ที่เจริญบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ใส่ลงในน้ำกลั่นที่หนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ให้มีระดับความเข้มข้นที่ 1.0×10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปลูกลงบริเวณโคนต้นพริก โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design : RCBD) จำนวนทั้งหมด 4 กรรมวิธี ๆ ละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 ต้น ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (ไม่ใส่เชื้อ)

กรรมวิธีที่ 2 ชุดควบคุม ใส่เชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *capsici*

กรรมวิธีที่ 3 สารเคมีกำจัดเชื้อราทางการค้า ควินโทซีน+อีทริไดอะโซล 150 ppm (กรมวิชาการเกษตร, 2556) + *F. oxysporum* f.sp. *capsici*

กรรมวิธีที่ 4 ใส่ผลผลิตภัณฑ์จากราเอนโดไฟท์ + *F. oxysporum* f.sp. *capsici*

ทำการบันทึกผลความรุนแรงของโรค (disease severity) ซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคอยู่ที่ 1-6 ระดับ โดยบันทึกหลังจากการปลูกถ่ายเชื้อบนต้นพริกเป็นเวลา 21 วัน โดยปรับเปลี่ยนมาจากวิธีของ (Sibounnavong *et al.*, 2010) ดังนี้

1 = ไม่มีอาการ

2 = มีอาการบนใบ 1-20 เปอร์เซ็นต์ (ใบล่างเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลือง)

3 = พืชมีใบเหลืองและเหี่ยวแห้ง 21-40 เปอร์เซ็นต์

4 = พืชมีใบเหลืองและเหี่ยวแห้ง 41-60 เปอร์เซ็นต์

5 = พืชมีใบเหลืองและเหี่ยวแห้ง 61-80 เปอร์เซ็นต์ (ใบมีสีน้ำตาลเกือบถึงยอด)

6 = ต้น ใบเหลืองและเหี่ยวแห้ง 81-100 เปอร์เซ็นต์ หรือตาย

นำค่าที่ได้ไปคำนวณดัชนีการเกิดโรค (Disease Severity Index, DSI) ด้วยสูตรของ (Kumar *et al.*, 2014) ดังนี้

$$DSI = \frac{\sum(n_i \times i)}{n \times 5} \times 100$$

โดย i = ระดับความรุนแรงของโรค (1, 2, 3, 4, 5 หรือ 6)

n_i = จำนวนต้นที่มีอาการในระดับ i

n = จำนวนต้นทั้งหมดในชุดการทดลองแต่ละชุด



บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. การคัดเลือกเอนโดไฟท์ที่ความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

1.1 การทำให้ราเอนโดไฟท์บริสุทธิ์

ราเอนโดไฟท์ จำนวนทั้งหมด 364 ไอโซเลท ได้รับความอนุเคราะห์จากห้องปฏิบัติการวิจัยด้านการพัฒนาอย่างยั่งยืนของทรัพยากรธรรมชาติ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ นำมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีการเจริญทั้งหมดจำนวน 271 ไอโซเลท และนำไปทดลองถัดไป

1.2 การทดสอบความสามารถในการละลายธาตุอาหาร

จากการศึกษาความสามารถในการละลายธาตุอาหาร $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ของราเอนโดไฟท์ทั้งหมด 271 ไอโซเลท พบว่า มีราทั้งหมด 8 ไอโซเลท ได้แก่ SGC 2ST/5-1, 65 SRC 2IV/2-1, 51 SRC 2IV/2-1, 22 SGC 4V/4-1, STCA 2/26, ROCK 3, SCA 2/12 และ STCA 2/3 มีความสามารถในการละลายธาตุอาหาร $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ โดยมีค่า Solubilization Index (SI) เท่ากับ 1.09, 1.15, 1.11, 1.28, 1.16, 1.28, 1.09 และ 1.11 ตามลำดับ (ตาราง 1 และภาพ 3)

นำราเอนโดไฟท์ที่มีความสามารถในการละลายธาตุอาหาร ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) ไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า ไอโซเลท SGC 2ST/5-1, 65 SRC 2IV/2-1, 51 SRC 2IV/2-1, 22 SGC 4V/4-1, STCA 2/26, ROCK 3, SCA 2/12 และ STCA 2/3 มีน้ำหนักแห้งเท่ากับ 15.93, 17.67, 5.43, 15.83, 17.63, 2.43, 17.53, 2.23 กรัม ตามลำดับ (ตาราง 2)

จากการศึกษาความสามารถในการละลายธาตุอาหาร $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, CaCO_3 , CuO , $\text{CuCO}_3 \cdot \text{Cu}(\text{OH})_2$, CoCO_3 , ZnO , ZnCO_3 , FePO_4 , MnO , MgCO_3 , เฟลด์สปาร์ และดินขาวความเข้มข้น 0.5% ของรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) พบว่ามีประสิทธิภาพในการละลาย $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, CaCO_3 , CoCO_3 , ZnO , ZnCO_3 , FePO_4 , และดินขาว โดยมีค่า Solubilization Index (SI) เท่ากับ 1.28, 1.56, 2.11, 2.50, 2.40, 2.30, และ 2.25 ตามลำดับ และจากการนำรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ที่มีความสามารถในการละลายธาตุอาหาร $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, CaCO_3 , CoCO_3 , ZnO , ZnCO_3 , FePO_4 , และดินขาว ไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็น

เวลา 48 ชั่วโมง พบว่า มีน้ำหนักแห้งของเส้นใยเท่ากับ 15.83, 17.67, 8.23, 5.32, 6.54, 3.35, 3.56, 3.74 ตามลำดับ (ตาราง 3 และภาพ 4)

ตาราง 1 ประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ *Fusarium endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตบนอาหารแข็ง Pikovskaya's

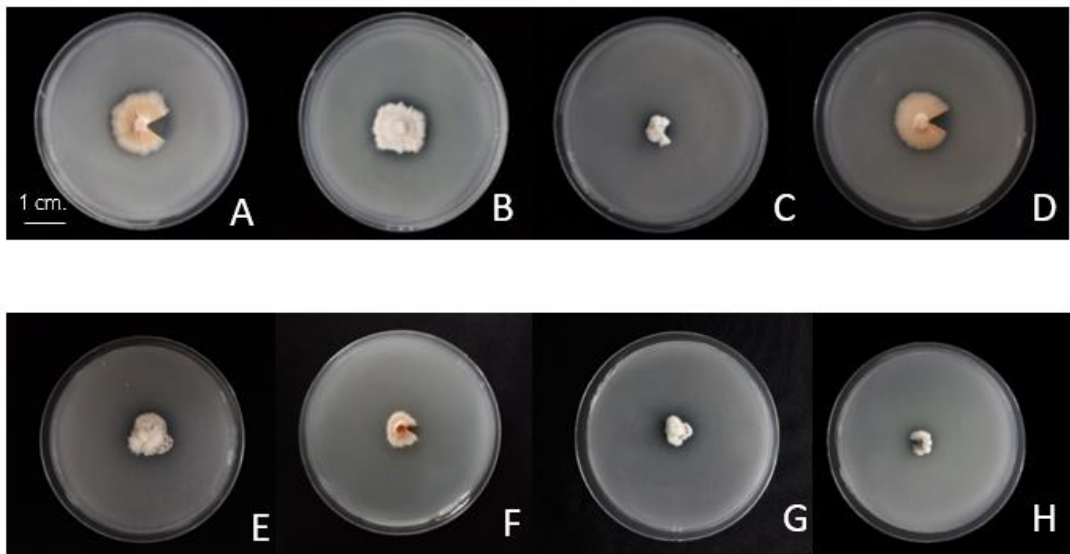
Isolates	Solubilization Index (SI) $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$
SGC 2ST/5-1	1.09 ± 0.04
65 SRC 2IV/2-1	1.15 ± 0.12
51 SRC 2IV/2-1	1.11 ± 0.17
22 SGC 4V/4-1	1.28 ± 0.05
STCA 2/26	1.16 ± 0.06
ROCK 3	1.28 ± 0.06
SCA 2/12	1.09 ± 0.04
STCA 2/3	1.11 ± 0.02
F-test	ns
CV %	2.15

หมายเหตุ : ตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธี ทดสอบแบบพิสัยเชิงพหุคูณแคเน (Duncan's New Multiple Range Test: DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ตาราง 2 น้ำหนักแห้งของราเอนโดไฟท์ที่มีความสามารถในการละลายธาตุอาหาร
(Ca₃(PO₄)₂)

Isolates	Dry Weight (DW) (มิลลิกรัม)
SGC 2ST/5-1	15.93 ± 3.52 ^a
65 SRC 2IV/2-1	17.67 ± 1.10 ^a
51 SRC 2IV/2-1	5.43 ± 1.86 ^b
22 SGC 4V/4-1	15.83 ± 5.42 ^a
STCA 2/26	17.63 ± 6.55 ^a
ROCK 3	2.43 ± 0.15 ^b
SCA 2/12	7.57 ± 2.63 ^{ab}
STCA 2/3	2.23 ± 0.12 ^b
F-test	*
CV %	3.54

หมายเหตุ : ตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธี ทดสอบแบบพิสัยเชิงพหุคูณแดน (Duncan's New Multiple Range Test: DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05



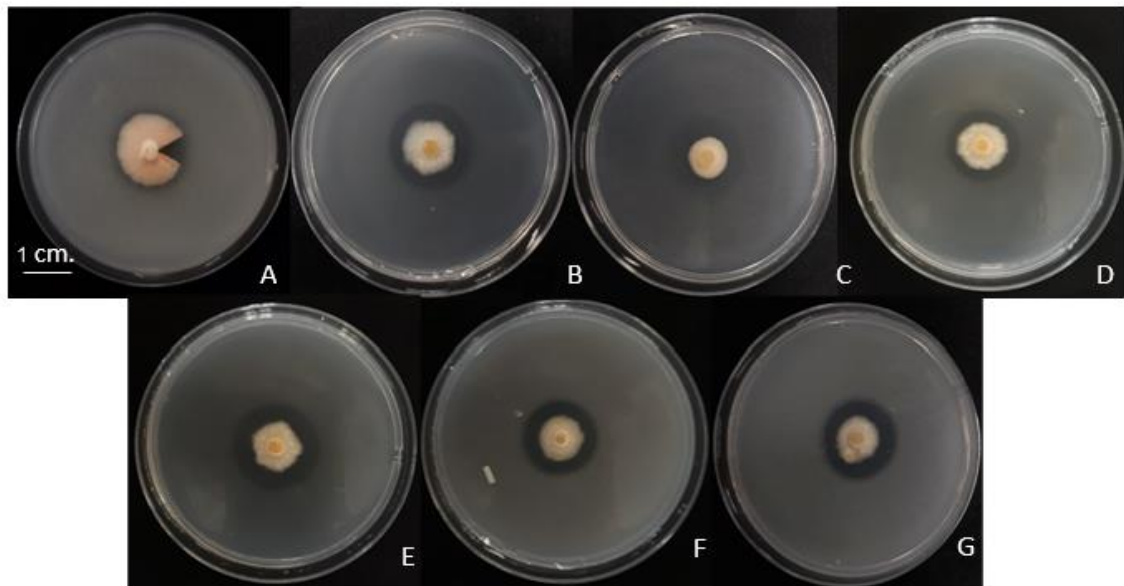
ภาพ 3 ราเอนราเอนโตไฟท์ในการละลายธาตุอาหารดัดยการเกิดวงใสบนธาตุ

หมายเหตุ: อาหารที่ผสมธาตุอาหาร $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ [A = ไอโซเลขที่ SGC 2ST/5-1, B = ไอโซเลขที่ 65 SRC 2IV/2-1, C = ไอโซเลขที่ 51 SRC 2IV/2-1, D = ไอโซเลขที่ 22 SGC 4V/4-1, E = ไอโซเลขที่ STCA 2/26, F = ไอโซเลขที่ ROCK 3, G = ไอโซเลขที่ SCA 2/12 และ H = ไอโซเลขที่ STCA 2/3]

ตาราง 3 ประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ *Fusarium endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ที่
ในการละลายฟอสเฟตบนอาหารแข็งที่มีส่วนประกอบของธาตุอาหาร
 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, CaCO_3 , CoCO_3 , ZnO , ZnCO_3 , FePO_4 , และดินขาว และน้ำหนักเส้น
ใยแห้ง

ธาตุอาหารที่ไม่ละลายน้ำ	Solubilization Index (SI)	Dry Weight (DW) (มิลลิกรัม)
$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1.28 ± 0.05^e	15.83 ± 5.42^a
FePO_4	1.56 ± 0.03^e	8.23 ± 0.23^b
CaCO_3	2.11 ± 2.31^{cd}	5.32 ± 0.85^{cd}
ZnO	2.50 ± 0.04^a	6.54 ± 1.25^c
ZnCO_3	2.40 ± 0.12^a	3.35 ± 1.45^e
CoCO_3	2.30 ± 0.17^{ab}	3.56 ± 2.14^d
ดินขาว	2.25 ± 0.12^c	3.74 ± 1.87^d
F-test	*	*
CV %	4.58	6.31

หมายเหตุ : ตัวอักษรต่างกันในสตมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยการวิเคราะห์
ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่าง
ของค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธี ทดสอบแบบพิสัยเชิงพหุต้นแดน (Duncan's New Multiple
Range Test: DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

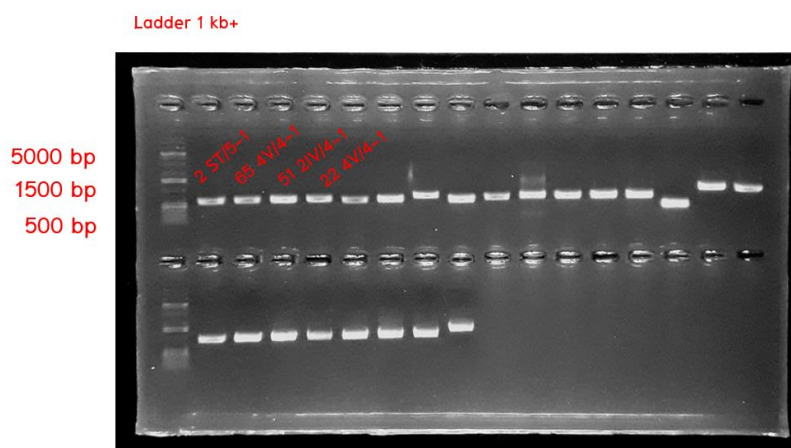


ภาพ 4 การเกิดวงใสบนธาตุอาหาร $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, CaCO_3 , CoCO_3 , ZnO , ZnCO_3 , FePO_4 และดินขาวของเชื้อรา *Fusarium endophyticum* (22 SGC 4V/4-1)
 หมายเหตุ: [A = $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, B = CaCO_3 , C = CoCO_3 , D = ZnO , E = ZnCO_3 , F = FePO_4 และ G = ดินขาว]



1.3 การศึกษาลักษณะทางอณูชีววิทยา

ในการศึกษาได้ทำการคัดเลือกราที่สามารถละลายธาตุอาหารที่อยู่ในรูปแบบที่ไม่ละลายน้ำได้ จากนั้นศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของรา สังเกตในช่วงเวลาระยะเวลา 5 วัน ที่ราเจริญบนอาหาร PDA และใช้เทคนิคอณูชีววิทยาเพื่อบ่งบอกชนิดของราเอนโดไฟท์ที่มีความสามารถในการละลายธาตุอาหารผลการเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยใช้ไพรเมอร์ ITS4 และ ITS5 ได้ PCR product ดังภาพ (ภาพ 5)



ภาพ 5 Gel electrophoresis ของ PCR product ของเชื้อราทั้ง 4 ไอโซเลทที่สกัดได้

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าราเอนโดไฟท์จำนวน 3 ไอโซเลท คือ 2ST/5-1, 65 SRC 2IV/2-1, และ 22 SGC 4V/4-1 จัดอยู่ในสกุล *Fusarium* และราเอนโดไฟท์ไอโซเลท 51 SRC 2IV/2-1 จัดอยู่ในสกุล *Muscador* (ตาราง 4)

ราเอนโดไฟท์ไอโซเลท 2ST/5-1

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่า ไอโซเลท 2ST/5-1 อยู่ในสกุล *Fusarium* ซึ่งมีลักษณะโคโลนี มีเส้นใยสีน้ำตาลอ่อนเหลือง เมื่อเจริญเต็มที่จะมีโคโลนีสีแดง conidia มี 2 แบบ คือ macroconidia และ microconidia มี 3-5 เซลล์ ต่อ 1 conidia ไอโซเลท 2ST/5-1 พบ microconidia ซึ่งมีความยาวเฉลี่ย 22.5 μm มีความกว้างเฉลี่ย 2.90 μm ใช้ลำดับเบสของยีนส์ ITS เพื่อบ่งบอกชนิดของราไอโซเลท 2ST/5-1 พบว่า มีความคล้ายคลึงกับ *Fusarium endophyticum* ที่ 99.64%

ราเอนโดไฟท์ไอโซเลท 65 SRC 2IV/2-1

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่า ไอโซเลท 65 SRC 2IV/2-1 อยู่ในสกุล *Fusarium* ซึ่งมีลักษณะโคโลนี มีเส้นใยสีน้ำตาลอ่อนเหลือง เมื่อเจริญเต็มที่จะมีโคโลนีสีแดง conidia มี 2 แบบ คือ macroconidia และ microconidia มี 3-7 เซลล์ต่อ 1 conidia ไอโซเลท 65 SRC 2IV/2-1 พบ macroconidia มีความยาวเฉลี่ย 51.51 μm มีความกว้างเฉลี่ย 3.3 μm มีขนาดใหญ่กว่า microconidia ซึ่งมีความยาวเฉลี่ย 25.2 μm มีความกว้างเฉลี่ย 3.15 μm ใช้ลำดับเบสของยีนส์ ITS เพื่อบ่งบอกชนิดของราไอโซเลท 65 SRC 2IV/2-1 พบว่ามีความคล้ายคลึงกับ *Fusarium endophyticum* ที่ 99.10%

ไอโซเลท 51 SRC 2IV/2-1

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่า ไอโซเลท 51 SRC 2IV/2-1 อยู่ในสกุล *Muscodor* ซึ่ง รา *Muscodor* ไม่พบการสร้างสปอร์ มีการสร้างไอร่เหย ลักษณะเส้นใยแบบม้วนเป็นขด (coiling) ลูกครีสีแดงซี ซึ่งเป็นลักษณะเด่นของราสกุล *Muscodor* ลักษณะโคโลนีมีเส้นใยสีขาว coiling มีความกว้างเฉลี่ย 21.9 μm มีความยาวเฉลี่ย 29.5 μm ใช้ลำดับเบสของยีนส์ ITS เพื่อบ่งบอกชนิดของราไอโซเลท 51 SRC 2IV/2-1 พบว่ามีความคล้ายคลึงกับ *Muscodor equiseti* ที่ 100%

ไอโซเลท 22 SGC 4V/4-1

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่า ไอโซเลท 22 SGC 4V/4-1 จัดอยู่ในสกุล *Fusarium* ซึ่งมีลักษณะโคโลนี มีเส้นใยสีน้ำตาลอ่อนเหลือง เมื่อเจริญเต็มที่จะมีโคโลนีสีแดง conidia มี 2 แบบ คือ macroconidia และ microconidia มี 1-2 เซลล์ต่อ 1 conidia ไอโซเลท 22 SGC 4V/4-1 พบ microconidia มีความยาวเฉลี่ย 21.7 μm มีความกว้างเฉลี่ย 2.1 μm ใช้ลำดับเบสของยีนส์ ITS เพื่อบ่งบอกชนิดของราไอโซเลท 22 SGC 4V/4-1 พบว่ามีความคล้ายคลึงกับ *Fusarium endophyticum* ที่ 99.00%

ตาราง 4 แสดงลักษณะสำคัญของราแอมโนโตไฟท์ที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟต

Isolate	Taxa	Figures	character
SGC 2ST/5-1	<i>Fusarium endophyticum</i>		yellow mycelium, microconidia 22.5 μm \times 2.90 μm , 3-5 cell / conidia
65 SRC 2IV/2-1	<i>Fusarium endophyticum</i>		yellowish brown mycelium, macroconidia 51.51 μm \times 3.3 μm , microconidia 25.2 μm \times 3.15 μm , 3-7 cell / conidia
51 SRC 2IV/2-1	<i>Muscodor equiseti</i>		white mycelium, no spore formation, coiling mycelium (21.9 μm \times 29.5 μm)
22 SGC 4V/4-1	<i>Fusarium endophyticum</i>		light brown mycelium, microconidia 21.7 μm \times 2.1 μm , 1-2 cell/conidia.

2. การทดสอบประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ *Fusarium endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ที่มีความสามารถในการละลายธาตุอาหาร

2.1 การทดสอบประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟต (P- solubilization)

จากการศึกษาความสามารถในการละลายธาตุอาหาร $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, CaCO_3 , CoCO_3 , ZnO , ZnCO_3 , FePO_4 , และดินขาว (อาหารเหลว) จำนวน 7 วัน พบว่า *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) สามารถละลายฟอสเฟต p-solubilization เท่ากับ 74.09, 49.98, 6.04, 124.35, 169.66, 287.26 และ 45.62 ตามลำดับ (ตาราง 5)



ตาราง 5 การละลายฟอสเฟตของ *Fusarium endophyticum* (22 SCG 4V/4-1) ในอาหารเหลว จำนวน 7 วัน

Treatment	P- solubilization (mg/L)						
	ธาตุอาหารที่ไมละลายน้ำ						
	Ca ₃ (PO ₄) ₂	FePO ₄	CaCO ₃	Zno	ZhCO ₃	CoCO ₃	ดินขาว
Control	6.18 ± 0.53 ^b	42.55 ± 1.94 ^b	3.15 ± 0.89 ^b	14.17 ± 3.13 ^b	8.29 ± 0.64 ^b	21.91 ± 0.44 ^b	11.71 ± 0.24 ^b
<i>F. endophyticum</i> (22 SCG 4V/4-1)	74.09 ± 3.63 ^a	49.98 ± 1.40 ^a	6.04 ± 0.91 ^a	124.35 ± 9.3 ^a	169.66 ± 12.43 ^a	287.26 ± 7.5 ^a	45.62 ± 6.2 ^a
F-test	*	*	*	*	*	*	*
CV %	12.31	5.24	6.47	24.10	25.12	26.84	5.81

หมายเหตุ : ตัวอักษรต่างกันในสัณฐานเดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธี ทดสอบแบบพิสัยเชิงพหุคูณ (Duncan's New Multiple Range Test: DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

2.2 การตรวจสอบการผลิตสารกระตุ้นการเจริญเติบโตกรดอินโดอะซีติก (Indole Acetic Acid: IAA)

การตรวจสอบสามารถของราเอนโดไฟท์ *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ในการผลิตสารกระตุ้นการเจริญเติบโตกรดอินโดอะซีติก (Indole Acetic Acid: IAA) ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร (nm) โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer พบว่ารา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) สร้างกรดอินโดอะซีติกเท่ากับ 34.10 ($\mu\text{g/ml}$) (ตาราง 6)

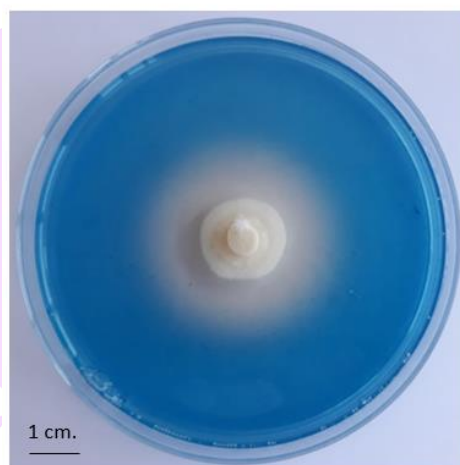
ตาราง 6 แสดงปริมาณกรดอินโดอะซีติก (IAA) ที่ผลิตจากราเอนโดไฟท์ *Fusarium endophyticum* (22 SGC 4V/4-1)

กรรมวิธี	ค่าดูดกลืนแสงที่ 530 nm	ความเข้มข้นของ IAA ($\mu\text{g/ml}$)
control	0	0.00 \pm 0.00 ^b
<i>F. endophyticum</i> (22 SGC 4V/4-1)	0.285	34.10 \pm 0.12 ^a
F-test		*
%CV		1.68

หมายเหตุ : ตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธี ทดสอบแบบพิสัยเชิงพหุคูณแดน (Duncan's New Multiple Range Test: DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

2.3 การทดสอบการผลิตไซเดอโรฟออร์ (Siderophores)

การทดสอบการผลิตไซเดอโรฟออร์ของรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงสีของอาหารบริเวณรอบโคโลนี คือโซนการเปลี่ยนแปลงสีรอบโคโลนี เป็นสี Light yellow แสดงว่ามีการผลิตไซเดอโรฟออร์ (Siderophores) มีวงใส วัดวงใสได้เท่ากับ 17.03 มิลลิเมตร (ภาพ 6)



ภาพ 6 แสดงการเปลี่ยนสีของอาหารบริเวณรอบโคโลนีของราแอนโดไฟท์ *Fusarium endophyticum* (22 SGC 4V/4-1)

2.4 การศึกษาความสามารถในการผลิตเอนไซม์ย่อยเซลล์เชื้อราสาเหตุโรค

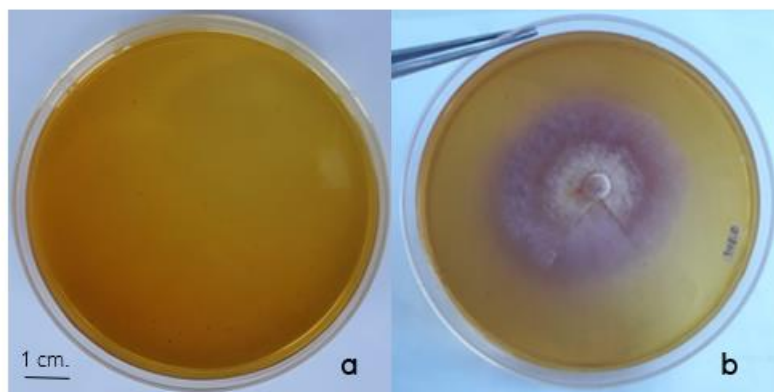
จากการทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไคติเนส เซลลูเลส โปรติเอส ไฟเตส บนอาหารแข็งของรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) พบว่ามีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไคติเนส โดยเปลี่ยนสีอาหารจากสีเหลืองเป็นสีม่วง ขนาดเฉลี่ยเท่ากับ 4.8 เซนติเมตร ซึ่งค่ามี HC value เท่ากับ 10.00 มิลลิเมตร (ภาพ 7) ส่วนการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส บนอาหาร carboxyl methyl cellulose agar (CMC agar) พบมีวงใสเกิดขึ้นใต้โคโลนี ขนาดเฉลี่ยเท่ากับ 2.43 เซนติเมตร ซึ่งค่ามี HC value เท่ากับ 5.14 มิลลิเมตร (ภาพ 8) ในขณะที่การผลิตเอนไซม์โปรติเอสบนอาหาร skim milk agar พบว่ามีความสามารถในการผลิตเอนไซม์โปรติเอส โดยมีวงใสเกิดขึ้นรอบโคโลนี ขนาดเฉลี่ยเท่ากับ 4.0 เซนติเมตร มิลลิเมตร ซึ่งค่ามี HC value เท่ากับ 10.44 มิลลิเมตร (ภาพ 9) และการทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไฟเตสบนอาหาร calcium phytate agar พบว่าสามารถในการผลิตเอนไซม์ไฟเตส โดยมีวงใสเกิดขึ้นรอบโคโลนี ขนาดเฉลี่ย 4.5 เซนติเมตร ซึ่งค่ามี HC value เท่ากับ เท่ากับ 24.83 ± 2.06 มิลลิเมตร (ภาพ 10) (ตาราง 7)

ตาราง 7 ความสามารถของรา *Fusarium endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ในการผลิตเอนไซม์ไคติเนส เซลลูเลส โปรติเอส ไฟเตส บนอาหารแข็ง

enzyme	Clear zone (cm.)	HC value	positive
chitinase	4.8 ± 0.45	10.00 ± 0.1	+
cellulase	2.43 ± 1.21	5.14 ± 0.89	+
Protease	4.0 ± 0.30	10.44 ± 0.16	+
phytate	4.5 ± 0.12	24.83 ± 2.06	+++

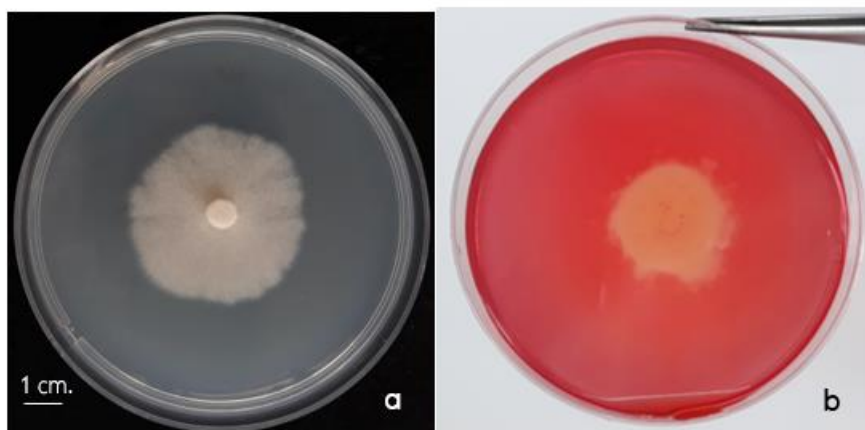
หมายเหตุ chitinase +, <10–20 mm; ++, 21–40 mm; +++, 41–60 mm; +++++, >60 mm

cellulase, Prptase, phytate +, <10 mm; ++, 10–20 mm; +++, 21–30 mm; +++++, >30 mm



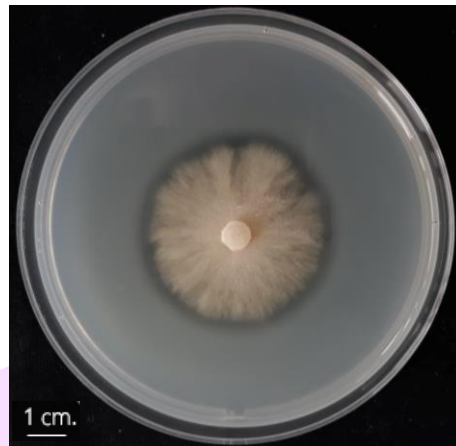
ภาพ 7 ลักษณะการสร้างเอนไซม์ไคติเนส ของรา *Fusarium endophyticum*
(22 SGC 4V/4-1) บนอาหาร colloidal chitin agar

หมายเหตุ: [a = control และ b = *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1)]



ภาพ 8 ลักษณะการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส ของ *Fusarium endophyticum*
(22 SGC 4V/4-1) บนอาหาร carboxyl methyl cellulose

หมายเหตุ: (a = ลักษณะโคโลนี b = วงใสที่เกิดขึ้นใต้โคโลนี)



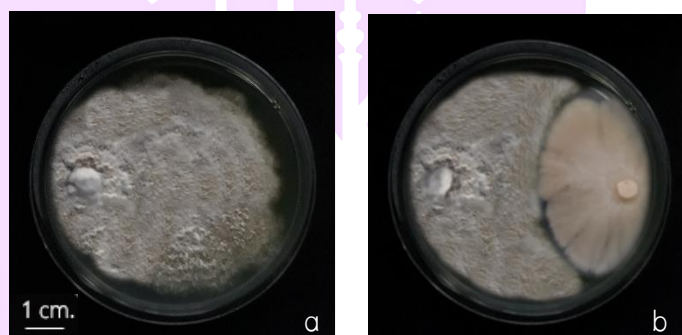
ภาพ 9 ลักษณะการสร้างเอนไซม์โปรติเอสของ *Fusarium endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) บนอาหาร skim milk agar



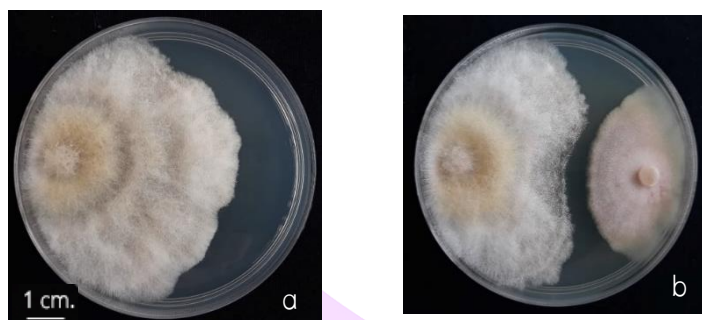
ภาพ 10 ลักษณะการสร้างเอนไซม์ไฟเตส *Fusarium endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) บนอาหาร calcium phytate agar

2.5 การคัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟท์ที่สามารถเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อเชื้อก่อโรค (dual culture test)

การทดสอบความสามารถของรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญ ได้แก่ โรคแอนแทรคโนส (*Colletotrichum capsici*) และโรคเหี่ยวเหลือง (*Fusarium oxysporum* f.sp. *capsici*) บนอาหาร PDA ด้วยวิธี dual culture technique พบว่ารา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) สามารถยับยั้งเชื้อรา *C. capsici* และ *F. oxysporum* f.sp. *capsici* โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง เท่ากับ 41.02% และ 44% ตามลำดับ (ภาพ 11 – 12)



ภาพ 11 ทดสอบการยับยั้งสาเหตุโรคแอนแทรคโนส (*Colletotrichum capsici*) ของราเอนโดไฟท์ *Fusarium endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ด้วยวิธี dual culture test
 หมายเหตุ: [a = (ชุดควบคุม) *C. capsici*, b = (ชุดทดสอบ) *C. capsici* และราเอนโดไฟท์ *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1)]



ภาพ 12 ทดสอบการยับยั้งราสาเหตุโรคเหี่ยวเหลือง (*Fusarium oxysporum* f.sp. *capsici*) ของรา *Fusarium endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ด้วยวิธี dual culture test
 หมายเหตุ: [a = (ชุดควบคุม) *F. oxysporum* f.sp. *capsici*, b = (ชุดทดสอบ) *F. oxysporum* f.sp. *capsici* และ รา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1)]

2.6 การทดสอบการกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์พืช

การศึกษาราดินโดไฟท์ *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดพืชผัก 5 ชนิด พบว่าสารแขวนสปอร์ที่ความเข้มข้น 1.0×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ทำให้พันธุ์พริกหวาน กะหล่ำปลีรูปหัวใจ คื่นช่ายเห็ดหอม ผักกาดขาว และมะเขือเทศ มีอัตราการงอกมากที่สุดเท่ากับ 85.55%, 75.55%, 95.55%, 86.66% และ 93.33% ตามลำดับ (ตาราง 8)

เวลาเฉลี่ยที่ใช้ในการงอก พบว่าสารแขวนสปอร์ของรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ที่ความเข้มข้น 1.0×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ทำให้เวลาเฉลี่ยที่ใช้ในการงอกของต้นอ่อนของพริกหวานแคลิฟอเนียร์ กะหล่ำปลีรูปหัวใจ คื่นช่ายเห็ดหอม และมะเขือเทศ น้อยที่สุด เท่ากับ 2.10, 2.38, 1.88, 2.08 และ 1.93 วัน หลังการเพาะ (ตาราง 8)

ด้านความสูง พบว่าสารแขวนสปอร์ของรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ที่ความเข้มข้น 1.0×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ทำให้ความสูงของต้นอ่อนของพริกหวานแคลิฟอเนียร์ กะหล่ำปลีรูปหัวใจ คื่นช่ายเห็ดหอม และมะเขือเทศ ค่ามากที่สุดและมากกว่ากรรมวิธีอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เท่ากับ 2.98, 3.96, 2.66 และ 11.14 เซนติเมตร ในขณะที่ ความสูงของต้นอ่อนผักกาดขาว ที่แช่ในสารแขวนสปอร์ของรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ที่ความเข้มข้น 1.0×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีความสูงมากที่สุด เฉลี่ยเท่ากับ 2.99 เซนติเมตร แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่แช่ในสารแขวนสปอร์ที่ความเข้มข้น 1.0×10^4 และ 1.0×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร (ตาราง 8)

ความยาวราก พบว่าสารแขวนสปอร์ของรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ที่ความเข้มข้น 1.0×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ทำให้ความยาวรากของต้นอ่อนของพริกหวาน แคลิฟอร์เนียร์ กะหล่ำปลีรูปหัวใจ ค่ะน้าเห็ดหอม และมะเขือเทศ มีค่ามากที่สุดและมากกว่ากรรมวิธีอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เท่ากับ 2.72, 3.46, 2.68, 3.87, 3.90 เซนติเมตร ในขณะที่ความยาวรากของต้นอ่อนผักกาดขาว ที่แช่ในสารแขวนสปอร์ของรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ที่ความเข้มข้น 1.0×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีความสูงมากที่สุด เฉลี่ยเท่ากับ 3.63 เซนติเมตร แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่แช่ในสารแขวนสปอร์ที่ความเข้มข้น 1.0×10^4 และ 1.0×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร (ตาราง 8)



ตาราง 8 เปอร์เซ็นต์การงอก เวลาเฉลี่ยที่ใช้ในการงอก ความสูงต้น และความยาวราก
ของเมล็ดผัก 5 ชนิด

Vegetables	Treatments	Germination (%)	mean germination time (days)	Height (cm)	Root length (cm)
พริกหวาน (แคลลิฟอเนียร์)	control	68.88 ± 0.22 ^b	2.61 ± 0.12 ^a	2.84 ± 0.25 ^b	2.10 ± 0.12 ^b
	1x10 ²	73.33 ± 0.85 ^b	2.45 ± 0.24 ^c	2.61 ± 0.10 ^b	2.00 ± 0.28 ^b
	1x10 ⁴	71.10 ± 0.22 ^b	2.53 ± 0.17 ^b	2.57 ± 0.13 ^b	2.00 ± 0.17 ^b
	1x10 ⁶	74.99 ± 0.19 ^b	2.40 ± 0.51 ^c	2.93 ± 0.23 ^a	2.00 ± 0.06 ^b
	1x10 ⁸	85.55 ± 0.40 ^a	2.10 ± 0.11 ^d	2.98 ± 0.14 ^a	2.72 ± 0.08 ^a
	F-test	*	*	*	*
	% CV	6.52	2.35	2.14	3.45
กะหล่ำหัวใจ (เออร์รี่เจอซีเวค ฟิลด์)	control	51.10 ± 0.22 ^b	3.52 ± 0.71 ^a	2.58 ± 0.3 ^b	2.20 ± 0.63 ^c
	1x10 ²	51.10 ± 0.22 ^b	3.52 ± 0.31 ^a	2.79 ± 0.55 ^b	2.58 ± 0.09 ^c
	1x10 ⁴	66.66 ± 0.84 ^b	2.70 ± 0.48 ^b	2.75 ± 0.15 ^b	2.96 ± 0.62 ^b
	1x10 ⁶	73.33 ± 0.85 ^a	2.45 ± 0.41 ^c	3.45 ± 0.55 ^{ab}	2.80 ± 0.32 ^b
	1x10 ⁸	75.55 ± 0.22 ^a	2.38 ± 0.36 ^c	3.96 ± 0.29 ^a	3.46 ± 0.33 ^a
	F-test	*	*	*	*
	% CV	5.30	2.47	3.56	5.75
คะน้าเห็ดหอม (ฮ็องกง)	control	79.99 ± 0.84 ^b	2.25 ± 0.22 ^a	2.12 ± 0.08 ^b	1.43 ± 0.15 ^b
	1x10 ²	84.44 ± 0.44 ^b	2.13 ± 0.10 ^b	2.21 ± 0.10 ^{ab}	1.47 ± 0.18 ^b
	1x10 ⁴	82.21 ± 0.22 ^b	2.19 ± 0.13 ^b	2.28 ± 0.22 ^{ab}	1.61 ± 0.12 ^{ab}
	1x10 ⁶	88.88 ± 0.22 ^a	2.03 ± 0.10 ^c	2.32 ± 0.13 ^{ab}	1.73 ± 0.07 ^{ab}
	1x10 ⁸	95.55 ± 0.22 ^a	1.88 ± 0.08 ^d	2.66 ± 0.13 ^a	2.08 ± 0.07 ^a
	F-test	*	*	*	*
	% CV	4.25	3.25	6.32	3.52

ผักกาดขาว	control	66.66 ± 0.84 ^b	2.70 ± 0.62 ^d	2.64 ± 0.10 ^b	3.41 ± 0.15 ^b
	1x10 ²	73.33 ± 0.84 ^b	2.45 ± 0.54 ^b	2.78 ± 1.01 ^b	3.43 ± 0.39 ^b
	1x10 ⁴	75.55 ± 0.22 ^b	2.38 ± 0.71 ^b	2.94 ± 0.24 ^a	3.50 ± 0.15 ^{ab}
	1x10 ⁶	77.77 ± 0.22 ^{ab}	2.31 ± 0.10 ^c	2.99 ± 0.22 ^a	3.63 ± 0.26 ^a
	1x10 ⁸	86.66 ± 0.84 ^a	2.08 ± 0.18 ^d	2.98 ± 0.03 ^a	3.87 ± 0.34 ^a
F-test	*	*	*	*	
% CV	2.54	4.12	9.32	8.21	
มะเขือเทศสีดา	control	61.46 ± 0.84 ^d	2.70 ± 0.85 ^a	6.33 ± 1.02 ^c	2.43 ± 0.32 ^b
	1x10 ²	74.14 ± 0.85 ^{cd}	2.45 ± 0.26 ^b	6.71 ± 0.97 ^c	2.71 ± 0.58 ^b
	1x10 ⁴	87.77 ± 0.93 ^{ab}	2.05 ± 0.83 ^d	8.16 ± 0.67 ^{bc}	3.02 ± 0.95 ^{ab}
	1x10 ⁶	79.99 ± 0.84 ^{bc}	2.25 ± 0.11 ^c	10.35 ± 0.29 ^{ab}	3.46 ± 0.37 ^{ab}
	1x10 ⁸	93.33 ± 0.84 ^a	1.93 ± 0.56 ^d	11.14 ± 0.66 ^a	3.90 ± 0.83 ^a
F-test	*	*	*	*	
% CV	6.52	3.45	4.35	5.68	

หมายเหตุ : ตัวอักษรต่างกันในระดับเดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธีทดสอบแบบพหุคูณเชิงพหุคูณแค่น (Duncan's New Multiple Range Test: DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3. การพัฒนาสูตรชีวภัณฑ์เชื้อราเอนโดไฟท์

3.1 การทดสอบการมีชีวิตรอดของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่คัดเลือกในสูตรสำเร็จ

หลังจากเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) นาน 6 เดือน พบว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส มีชีวิตรอดมากที่สุด เฉลี่ยเท่ากับ 87.55 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีชีวิตรอดของรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) เฉลี่ยเท่ากับ 77.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส หลังเก็บรักษาได้ 6 เดือน การมีชีวิตรอดของรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) เฉลี่ยเท่ากับ 62.31 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 9)



ตาราง 9 อัตราการมีชีวิตรอดของรา *Fusarium endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ในผลัดภักดิ์แบบเม็ด ที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 6 เดือน

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	อัตราการรอดชีวิต (%)					
	เดือนที่					
	1	2	3	4	5	6
8	98.20 ± 0.21 ^a	96.24 ± 3.35 ^b	93.24 ± 0.24 ^a	91.20 ± 0.31 ^a	91.27 ± 0.22 ^a	87.55 ± 0.14 ^a
30	91.13 ± 1.25 ^{ab}	89.24 ± 5.57 ^c	88.78 ± 0.27 ^{bc}	87.94 ± 0.10 ^b	85.64 ± 0.31 ^b	77.25 ± 0.30 ^b
40	98.10 ± 0.24 ^a	98.01 ± 0.41 ^a	89.94 ± 1.28 ^b	75.14 ± 0.25 ^c	71.35 ± 0.15 ^c	62.31 ± 0.14 ^c
F-test	*	*	*	*	*	*
CV	0.25	0.33	0.75	1.03	1.54	3.24

หมายเหตุ : ตัวอักษรต่างกันในสัณฐานเดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยการใช้วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละการมีชีวิต ทดสอบแบบพิสัยเชิงพหุคูณแดน (Duncan's New Multiple Range Test: DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

4. การศึกษาผลของผลิตภัณฑ์จากเชื้อราเอนโดไฟท์ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโต และควบคุมโรคในพริกในระดับโรงเรือน

1) การทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตและคุณภาพผลผลิตของพริกหวาน การเจริญเติบโตของพริกหวาน

การเจริญเติบโตของพริกหวานตลอดอายุ 24 สัปดาห์ พบว่า ความสูงและขนาดทรงพุ่มในกรรมวิธีที่ 3 ใส่ดินขาวระนอง อัตรา 1 กรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม และใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) มีค่ามากที่สุด และมากกว่ากรรมวิธีอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 87.64 และ 69.93 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนความยาวราก พบว่าการใส่ดินขาวระนอง อัตรา 1 กรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม และใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) มีค่ามากที่สุด เฉลี่ยเท่ากับ 22.26 เซนติเมตร แต่ไม่แตกต่างจากกรรมวิธีที่ 2 ดินขาวระนอง อัตรา 1 กรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม และไม่ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ซึ่งมีความยาวราก เฉลี่ยเท่ากับ 20.62 เซนติเมตร ในขณะที่จำนวนใบ และเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น มีค่าไม่แตกต่างกันทั้ง 3 กรรมวิธี (ตาราง 10 และ ภาพ 13-14)

ตาราง 10 แสดงความสูง จำนวนใบ เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น ความยาวราก และขนาดทรงพุ่มของพริกหวาน

กรรมวิธี	ความสูง (เซนติเมตร)	จำนวนใบ (ใบ)	เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น (เซนติเมตร)	ความยาวราก (เซนติเมตร)	ขนาดทรงพุ่ม (เซนติเมตร)
กรรมวิธีที่ 1	55.24 ± 5.41 ^{bc}	68.46 ± 2.31	15.72 ± 1.20	14.93 ± 0.21 ^b	56.46 ± 2.51 ^b
กรรมวิธีที่ 2	60.54 ± 2.04 ^b	68.66 ± 1.56	15.50 ± 0.98	20.62 ± 1.23 ^{ab}	60.13 ± 1.32 ^{ab}
กรรมวิธีที่ 3	87.64 ± 6.31 ^a	73.66 ± 2.35	16.01 ± 1.65	22.26 ± 3.51 ^{ab}	69.93 ± 2.64 ^a
F-test	*	ns	ns	*	*
CV%	13.29	9.41	7.45	10.21	5.31

หมายเหตุ : ตัวอักษรต่างกันในสัณฐานเดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธี ทดสอบแบบพิสัยเชิงพหุคูณแดน (Duncan's New Multiple Range Test: DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (ไม่ใส่ปุ๋ย)

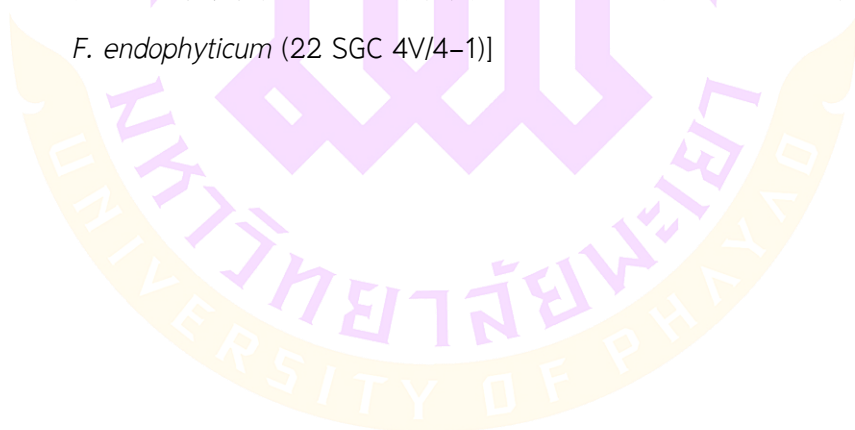
กรรมวิธีที่ 2 ดินขาวระนอง อัตรา 1 กรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม และไม่ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1)

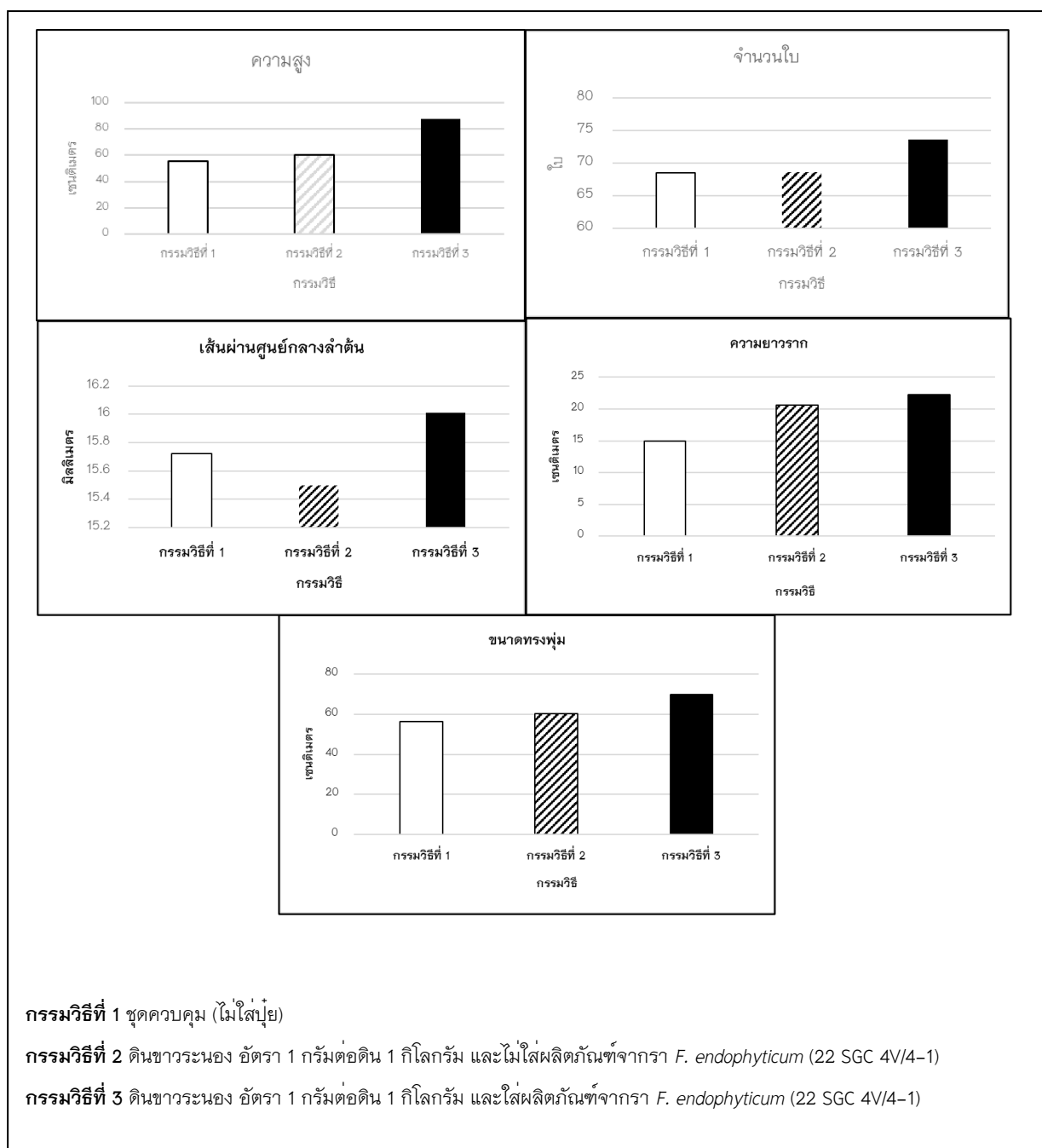
กรรมวิธีที่ 3 ดินขาวระนอง อัตรา 1 กรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม และใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1)



ภาพ 13 แสดงการเจริญเติบโตของต้นพริกหวาน

หมายเหตุ: [a = ชุดควบคุม (ไม่ใส่ปุ๋ย) b = ดินขาวระนอง อัตรา 1 กรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม และ
ไม่ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *Fusarium endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) และ c = ดิน
ขาวระนอง อัตรา 1 กรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม และใส่ผลิตภัณฑ์จากรา
F. endophyticum (22 SGC 4V/4-1)]





ภาพ 14 แสดงการเจริญเติบโตของพริกหวาน

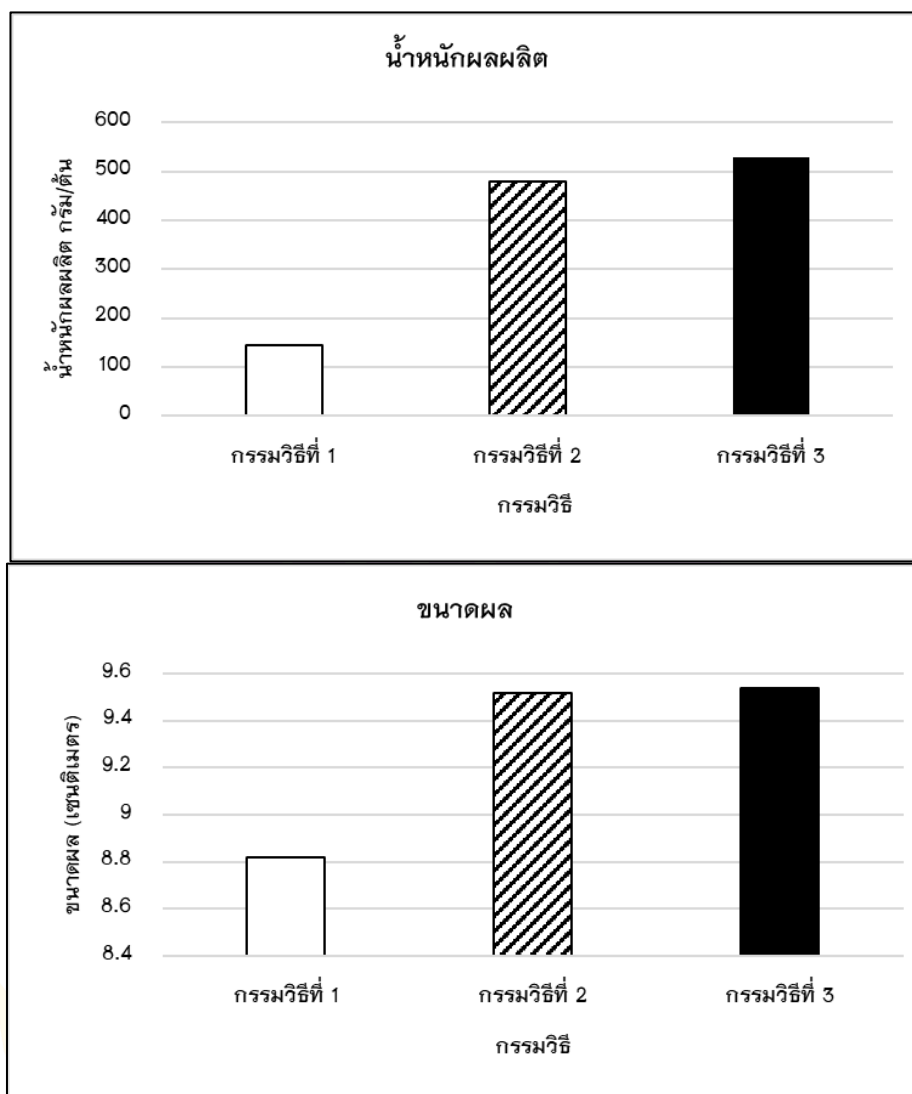
ผลผลิตของผลพริกหวาน

การเก็บข้อมูลผลผลิตของผลพริก จำนวน 10 ครั้ง ระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า กรรมวิธีที่ 3 ดินขาวระนอง อัตรา 1 กรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม และใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) มีค่าน้ำหนักผลผลิตและขนาดผล มากที่สุดและมากกว่า ชุดควบคุม แต่ไม่แตกต่างจากกรรมวิธีที่ 2 ดินขาวระนอง อัตรา 1 กรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม และ ไม่ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) โดยมีค่าน้ำหนักผลผลิตและขนาด ผล เฉลี่ยเท่ากับ 530.12 กรัม/ต้น และ 9.54 เซนติเมตร โดยกรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (ไม่ใส่ปุ๋ย) มีน้ำหนักผลผลิต และขนาดผลต่อต้น น้อยที่สุด เท่ากับ 144.76 กรัม 8.82 เซนติเมตร (ตาราง 11, ภาพ 15)

ตาราง 11 แสดงน้ำหนักผลผลิตและขนาดของผลผลิตของพริกหวาน

กรรมวิธี	น้ำหนักผลผลิต (กรัม/ต้น)	ขนาดผล (เซนติเมตร)
1. ชุดควบคุม (ไม่ใส่ปุ๋ย)	144.76 ± 4.67 ^b	8.82 ± 0.29 ^b
2. ดินขาวระนอง อัตรา 1 กรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม และ ไม่ใส่ผลิตภัณฑ์จาก <i>F. endophyticum</i> (22 SGC 4V/4-1)	479.13 ± 11.46 ^a	9.52 ± 0.54 ^a
3. ดินขาวระนอง อัตรา 1 กรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม และ ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา <i>F. endophyticum</i> (22 SGC 4V/4-1)	530.12 ± 11.05 ^a	9.54 ± 0.43 ^a
F-test	*	*
CV%	21.5	4.95

หมายเหตุ : ตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธี ทดสอบแบบพิสัยเชิงพหุคูณ (Duncan's New Multiple Range Test: DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05



กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (ไม่ใส่ปุ๋ย)

กรรมวิธีที่ 2 ดินขาวระนอง อัตรา 1 กรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม และใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1)

กรรมวิธีที่ 3 ดินขาวระนอง อัตรา 1 กรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม และใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1)

ภาพ 15 แสดงน้ำหนักรวมและขนาดของผลผลิตฟริกหวาน

น้ำหนักรากต้นและน้ำหนักรากของพริกหวาน

น้ำหนักรากต้นและน้ำหนักรากของพริกหวาน พบว่ากรรมวิธีที่ 3 ดินขาวระนอง อัตรา 1 กรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม และใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) มีค่าน้ำหนักรากต้นสดและน้ำหนักรากต้นแห้ง และน้ำหนักรากสด มากที่สุดและมากกว่าชุดควบคุม แต่ไม่แตกต่างจากกรรมวิธีที่ 2 ดินขาวระนอง อัตรา 1 กรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม และไม่ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) โดยมีค่าน้ำหนักรากต้นสด และน้ำหนักรากต้น และน้ำหนักรากสด เฉลี่ยเท่ากับ 278.43, 81.79 และ 90.72 กรัม ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีที่ 2 มีค่า น้ำหนักรากแห้งมากที่สุด เฉลี่ยเท่ากับ 47.55 กรัม แต่ไม่แตกต่างจากกรรมวิธีที่ 3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนกรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (ไม่ใส่ปุ๋ย) มีน้ำหนักรากต้นสด น้ำหนักรากต้นแห้ง น้ำหนักรากสด และน้ำหนักรากแห้ง น้อยที่สุด เท่ากับ 129.02 กรัม, 18.98 กรัม, 62.77 กรัม, และ 16.63 กรัม ตามลำดับ (ตาราง 12, ภาพ 16)

ตาราง 12 แสดงน้ำหนักรากต้น น้ำหนักรากของพริกหวานในระดับโรงเรือน

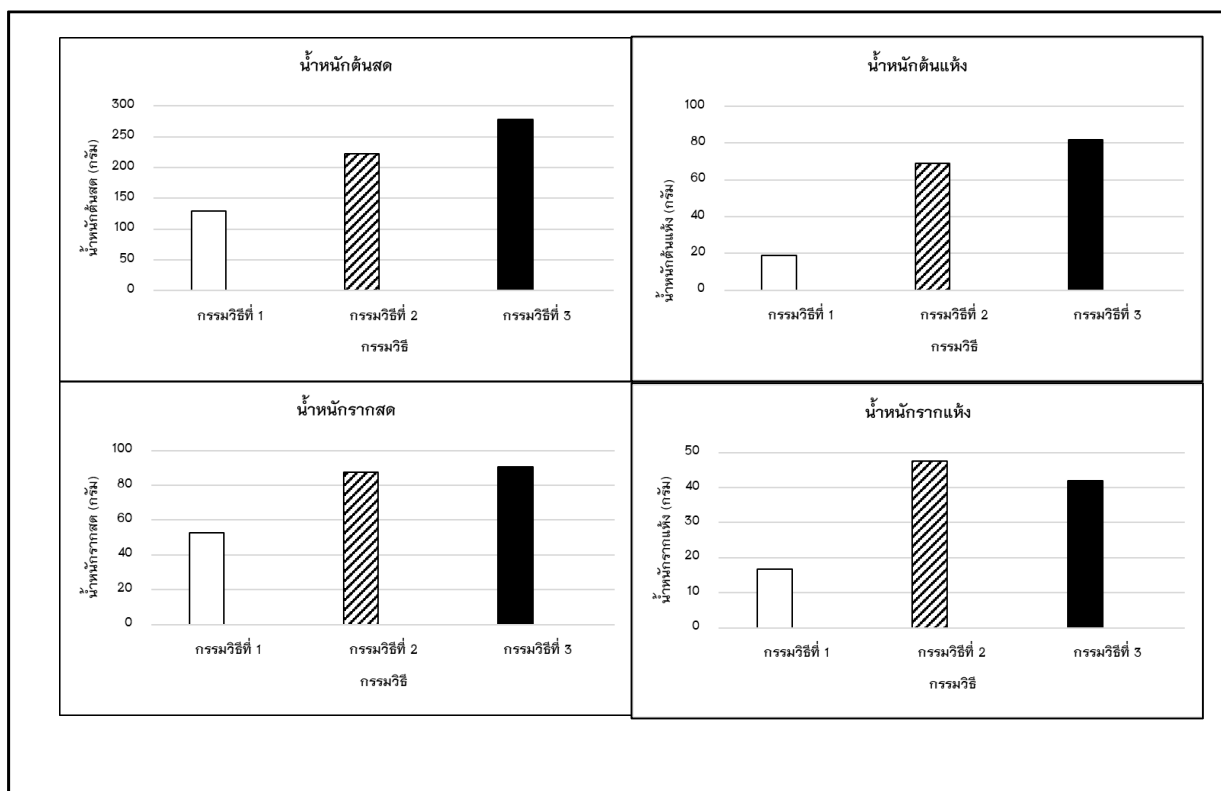
กรรมวิธี	น้ำหนักรากต้น (กรัม)		น้ำหนักราก (กรัม)	
	สด	แห้ง	สด	แห้ง
1	129.02 ± 0.97 ^b	18.98 ± 0.11 ^b	62.77 ± 0.43 ^b	16.63 ± 0.11 ^b
2	222.77 ± 6.26 ^a	68.89 ± 6.43 ^a	87.57 ± 2.36 ^a	47.55 ± 1.33 ^a
3	278.43 ± 5.67 ^a	81.79 ± 7.61 ^a	90.72 ± 2.12 ^a	41.97 ± 2.49 ^a
F-test	*	*	*	*
CV%	11.48	17.59	12.89	22.89

หมายเหตุ : ตัวอักษรต่างกันในสัณฐานเดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธี ทดสอบแบบพิสัยเชิงพหุคูณแดน (Duncan's New Multiple Range Test: DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (ไม่ใส่ปุ๋ย)

กรรมวิธีที่ 2 ดินขาวระนอง อัตรา 1 กรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม และไม่ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1)

กรรมวิธีที่ 3 ดินขาวระนอง อัตรา 1 กรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม และใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1)



กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (ไม่ใส่ปุ๋ย)

กรรมวิธีที่ 2 ดินขาวระนอง อัตรา 1 กรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม และใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1)

กรรมวิธีที่ 3 ดินขาวระนอง อัตรา 1 กรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม และใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1)

ภาพ 16 แสดงน้ำหนักและขนาดของผลผลิตพริกหวาน

วิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในพืช

การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมด และโพแทสเซียมทั้งหมด พบว่ากรรมวิธีที่ 2 และ 3 มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด และปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมด มากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ 3 ใส่ดินขาวระนอง อัตรา 1 กรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม และใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด มากที่สุดและมากกว่าชุดควบคุม เท่ากับ 0.53% และ 0.052 ppm ส่วนปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมด ในกรรมวิธีที่ 3 ใส่ดินขาวระนอง อัตรา 1 กรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม และใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) มีค่ามากที่สุด เท่ากับ 0.53 ppm แต่ไม่ต่างจากกรรมวิธีที่ 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยค่าปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมดของกรรมวิธีที่ 2 ดินขาวระนอง อัตรา 1 กรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม และไม่ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) เท่ากับ 0.51 ppm (ตาราง 13)

ตาราง 13 แสดงปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมด และโพแทสเซียมที่ทั้งหมดของพริกหวาน

กรรมวิธี	ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (%)	ฟอสฟอรัสทั้งหมด (ppm)	โพแทสเซียมทั้งหมด (ppm)
1	0.20 ± 0.01 ^c	0.049 ± 0.000 ^c	0.49 ± 0.44 ^b
2	0.22 ± 0.03 ^b	0.051 ± 0.001 ^b	0.51 ± 0.01 ^a
3	0.35 ± 0.02 ^a	0.052 ± 0.002 ^a	0.53 ± 0.14 ^a
F-test	*	*	*
CV%	3.11	2.16	3.90

หมายเหตุ : ตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธี ทดสอบแบบพิสัยเชิงพหุคูณแคเน (Duncan's New Multiple Range Test: DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (ไม่ใส่ปุ๋ย)

กรรมวิธีที่ 2 ดินขาวระนอง อัตรา 1 กรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม และไม่ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1)

กรรมวิธีที่ 3 ดินขาวระนอง อัตรา 1 กรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม และใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1)

2) การทดสอบควบคุมโรคแอนแทรกคโนสและโรคเหี่ยวเหลืองในพริก

การทดสอบการควบคุมโรคแอนแทรกคโนสในพริกหวานในระดับโรงเรือน

จากการประเมินความรุนแรงการเกิดโรคแอนแทรกคโนสหลังจากปลูกเชื้อสาเหตุ *C. capsica* นาน 21 วัน พบว่าต้นพริกในกรรมวิธีที่ไม่ใส่เชื้อ มีคะแนนการเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรคเฉลี่ยน้อยที่สุด เท่ากับ 1.02 คะแนน และ 6.00% ตามลำดับ รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใส่สารเคมีกำจัดเชื้อราทางการค้า Carbendazim ความเข้มข้น 50 ppm (กรมวิชาการเกษตร, 2556) + *C. capsici* เท่ากับ 3.35 คะแนน และ 41.00% และกรรมวิธีที่ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) + *C. capsici* มีคะแนนการเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรค เท่ากับ 3.24 คะแนน และ 45.00% ในขณะที่ 2 กรรมวิธีที่ใส่เชื้อรา *C. capsica* มีคะแนนการเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรคเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 3.75 คะแนน และ 50.20% ตามลำดับ (ตาราง 14)

ตาราง 14 แสดงคะแนนการเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแอนแทรกคโนสของพริกหวานในระดับโรงเรือน

กรรมวิธี	คะแนนการเกิดโรค (คะแนน)	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (%)
กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (ไม่ใส่เชื้อ)	1.02 ± 0.21 ^c	6.00 ± 0.71 ^c
กรรมวิธีที่ 2 ชุดควบคุม ใส่เชื้อรา <i>C. capsici</i>	3.75 ± 2.51 ^a	50.20 ± 5.70 ^a
กรรมวิธีที่ 3 สารเคมีกำจัดเชื้อราทางการค้า Carbendazim ความเข้มข้น 50 ppm (กรมวิชาการเกษตร, 2556) + <i>C. capsici</i>	3.35 ± 5.32 ^{ab}	41.00 ± 4.00 ^b
กรรมวิธีที่ 4 ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา <i>F. endophyticum</i> (22 SGC 4V/4-1) + <i>C. capsici</i>	3.24 ± 3.56 ^{ab}	45.00 ± 3.18 ^{ab}
F-test	*	*
CV%	3.11	14.26

หมายเหตุ : ตัวอักษรต่างกันในสมมติเดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธี ทดสอบแบบพิสัยเชิงพหุคูณ (Duncan's New Multiple Range Test: DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

การทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวเหลืองในพริกหวานในระดับโรงเรียน

จากการประเมินความรุนแรงการเกิดโรคเหี่ยวเหลืองหลังจากปลูกเชื้อสาเหตุ *F. oxysporum* f.sp. *capsici* นาน 21 วัน พบว่าต้นพริกในชุดควบคุม (ไม่ใส่เชื้อ) มีคะแนนการเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรคเฉลี่ยน้อยที่สุด เท่ากับ 0.00 คะแนน และ 0.00% รองลงมาคือกรรมวิธีที่ 3 ใส่สารเคมีกำจัดเชื้อราทางการค้า คิวโนโทซิน+อีทรีไดอะโซล 150 ppm (กรมวิชาการเกษตร, 2556) + *F. oxysporum* f.sp. *capsici* เท่ากับ 1.92 คะแนน และ 38.33% ในขณะที่กรรมวิธีที่ 4 ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) + *F. oxysporum* f.sp. *capsici* มีคะแนนการเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรค เท่ากับ 2.75 คะแนน และ 55.00% ส่วนกรรมวิธีที่ใส่เชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *capsici* มีคะแนนการเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรคเฉลี่ยมากที่สุดและมากกว่ากรรมวิธีอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าคะแนนการเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรค เฉลี่ยเท่ากับ 4.08 คะแนน และ 87.67% ตามลำดับ (ตาราง 15)



ตาราง 15 แสดงคะแนนการเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวเหลืองของพริกหวานในระดับโรงเรือน

กรรมวิธี	คะแนนการเกิดโรค (คะแนน)	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (%)
กรรมวิธีที่ 1 ชุตควบคุม (ไม่ใส่เชื้อ)	0.00 ± 0.00 ^d	0.00 ± 0.00 ^d
กรรมวิธีที่ 2 ชุตควบคุม ใส่เชื้อรา <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>capsici</i>	4.08 ± 0.90 ^a	81.67 ± 18.01 ^a
กรรมวิธีที่ 3 สารเคมีกำจัดเชื้อราทางการค้า ควินโทซีน+อีทริไดอะโซล 150 ppm (กรมวิชาการเกษตร, 2556) + <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>capsici</i>	1.92 ± 0.29 ^c	38.33 ± 5.77 ^c
กรรมวิธีที่ 4 ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา <i>F. endophyticum</i> (22 SGC 4V/4-1) + <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>capsici</i>	2.75 ± 0.62 ^b	55.00 ± 12.43 ^b
F-test	*	*
CV%	36.14	30.22

หมายเหตุ : ตัวอักษรต่างกันในสัณฐานเดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละกรรมวิธี ทดสอบแบบพิสัยเชิงพหุคูณแดน (Duncan's New Multiple Range Test: DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

บทที่ 5

บทสรุป

สรุปผลการวิจัย

การทดลองที่ 1 การคัดเลือกราเอนโดไฟท์ที่มีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

1) การทดสอบความสามารถในการละลายธาตุอาหารจากการศึกษาความสามารถในการละลายธาตุอาหาร $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, CaCO_3 , CuO , $\text{CuCO}_3 \cdot \text{Cu}(\text{OH})_2$, CoCO_3 , ZnO , ZnCO_3 , FePO_4 , MnO , MgCO_3 , เฟลด์สปาร์ และดินขาว ความเข้มข้น 0.5% ของราเอนโดไฟท์ ไอโซเลท 22 SGC 4V/4-1 พบว่า ไอโซเลท 22 SGC 4V/4-1 มีประสิทธิภาพในการละลาย $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, CaCO_3 , CoCO_3 , ZnO , ZnCO_3 , FePO_4 , และดินขาว โดยมีค่า Solubilization Index อยู่ที่ 1.28, 1.56, 2.11, 2.50, 2.40, 2.30, และ 2.25 ตามลำดับ

2) การศึกษาลักษณะทางอนุชีววิทยา จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าราเอนโดไฟท์จำนวน 3 ไอโซเลท คือ 2ST/5-1, 65 SRC 2IV/2-1, และ 22 SGC 4V/4-1 จัดอยู่ในสกุล *Fusarium* และราเอนโดไฟท์ ไอโซเลท 51 SRC 2IV/2-1 จัดอยู่ในสกุล *Muscodor*

การทดลองที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ที่มีความสามารถในการละลายธาตุอาหาร

2.1 การทดสอบประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟต (P- solubilization) จากการศึกษาศักยภาพในการละลายธาตุอาหาร $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, CaCO_3 , CoCO_3 , ZnO , ZnCO_3 , FePO_4 , และดินขาว (อาหารเหลว) จำนวน 7 วันของราเอนโดไฟท์ไอโซเลท 22 SGC 4V/4-1 พบว่า *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) สามารถละลายฟอสเฟต p-solubilization เท่ากับ 74.09 mg/L

2.2 การตรวจสอบการผลิตสารกระตุ้นการเจริญเติบโตกรดอินโดอะซีติก (Indole Acetic Acid: IAA) จากการตรวจสอบราเอนโดไฟท์ที่สามารถผลิตสารกระตุ้นการเจริญเติบโตกรดอินโดอะซีติก (Indole Acetic Acid: IAA) ของรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) พบว่ามีปริมาณสารกระตุ้นการเจริญเติบโตกรดอินโดอะซีติกเท่ากับ 34.108 ± 0.06 ($\mu\text{g/ml}$)

2.3 การทดสอบการผลิตไซเดอโรฟอรัส (Siderophores) จากการทดสอบการผลิตไซเดอโรฟอรัสของรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงสีของอาหารบริเวณรอบโคโลนี คือสีของการเปลี่ยนแปลงสีรอบโคโลนีเป็นสี Light yellow แสดงว่ามีการผลิตไซเดอโรฟอรัส (Siderophores) มีการผลิตไซเดอโรฟอรัสเท่ากับ 17.03 ± 2.68 มิลลิเมตร

2.4 การศึกษาความสามารถในการผลิตเอนไซม์ย่อยเซลล์เชื้อราสาเหตุโรค จากการทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์โคติเนส เซลลูเลส โปรติเอส ไฟเตส บนอาหารแข็งของพบว่า *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์โคติเนส โดยเปลี่ยนสีอาหารจากสีเหลืองเป็นสีม่วง ซึ่งมี HC value เท่ากับ 10 ± 0.1 มิลลิเมตร ผลิตเอนไซม์เซลลูเลส โดยมีวงใสเกิดขึ้นใต้โคโลนี ขนาดเท่ากับ 5.14 ± 0.89 มิลลิเมตร ผลิตเอนไซม์โปรติเอส โดยมีวงใสเกิดขึ้นรอบโคโลนี ขนาดเท่ากับ 10.44 ± 0.16 มิลลิเมตร และผลิตเอนไซม์ไฟเตส โดยมีวงใสเกิดขึ้นรอบโคโลนี ขนาดเท่ากับ 24.83 ± 2.06 มิลลิเมตร

2.5 การคัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟท์ที่สามารถเป็นเชื้ออปฏิปักษ์ต่อเชื้อก่อโรค (dual culture test) พบว่า รา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) สามารถยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum capsici* โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อได้ 41.02% และสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *capsici* ได้ 44%

2.6 การทดสอบการกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์พืชจากการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมต่ออัตราการงอก ความสูงต้น ความยาวราก และระยะเวลาที่ใช้ในการงอกของเมล็ดผัก พบว่าการแช่เมล็ดพันธุ์พริกหวาน กะหล่ำปลี คื่นช่ายเห็ดหอม ผักกาดขาว และมะเขือเทศในกรรมวิธีที่ 5 สารละลายสปอร์ *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ที่ความเข้มข้น 1.0×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีความยาวราก ความสูงต้น และมีอัตราการงอกมากที่สุด และใช้ระยะเวลาในการงอกน้อยที่สุด

การทดลองที่ 3 การพัฒนาสูตรชีวภัณฑ์เชื้อราเอนโดไฟท์

การทดสอบการมีชีวิตรอดของเชื้อรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ในสูตรสำเร็จที่อุณหภูมิ 8, 28 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่าการมีชีวิตลดลงเมื่อเก็บรักษาไว้นานขึ้น โดยหลังจากเก็บรักษาได้ 6 เดือนผลิตภัณฑ์ชีวภาพ ที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส มีชีวิตรอดของรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) มากที่สุด เฉลี่ยเท่ากับ 87.55 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส การมีชีวิตรอดของรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) เฉลี่ยเท่ากับ 77.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การทดลองที่ 4 การศึกษาผลของผลิตภัณฑ์จากเชื้อราเอนโดไฟท์ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคในพริกในระดับโรงเรือน

การทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตและคุณภาพผลผลิตของพริกหวาน การเจริญเติบโตของพริกหวานตลอดอายุ 24 สัปดาห์ พบว่ากรรมวิธีที่ 3 ใส่ดินขาวระนอง อัตรา 1 กรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม และใส่ผลิตภัณฑ์จากราเอนโดไฟท์ *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตด้านความสูง จำนวนใบ น้ำหนักสดต้น น้ำหนักราก ความยาวราก เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น รวมถึงปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในพืช ปริมาณฟอสฟอรัสในพืช และปริมาณโพแทสเซียม เท่ากับ 87.64 เซนติเมตร, 69.93 เซนติเมตร, 530.12 กรัมต่อต้น และ 9.54 เซนติเมตร 222.77 กรัม 68.89 กรัม 87.57 กรัม และ 47.55 กรัม 0.35% 0.052 ppm และ 0.053 ppm ซึ่งมากกว่ากรรมวิธีอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสและโรคเหี่ยวเหลืองในพริกได้

อภิปรายผลการวิจัย

การคัดเลือกเอนโดไฟท์ที่มีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

การคัดเลือกราเอนโดไฟท์ทั้งหมด 271 ไอโซเลท ที่มีความสามารถในการละลายธาตุฟอสเฟต โดยใช้ $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ พบว่าราสามารถในการผลิตเอนไซม์ไคตินเนส (chitinase) เซลลูเลส (cellulase) โปรตีเอส (protease) และ เอนไซม์ไฟเตส (phytase) บนอาหารทดสอบ โดยมีขนาดวงใสบนอาหารที่ 4.8, 2.43, 4.0, และ 4.5 เซนติเมตร ตามลำดับตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับ Gaind (2016) ที่ศึกษาราที่ละลายฟอสเฟต ในรูปของไตรแคลเซียมฟอสเฟต (TCP), Udaipurrock ฟอสเฟต (URP), อะลูมิเนียมฟอสเฟต (AP) และเฟอร์ริกฟอสเฟต (FP) พบว่ารา *Aspergillus niger* (ITCC6719) และ *Trichoderma harzianum* (ITCC 6721) มีความสามารถละลายสารดังกล่าว โดยราที่มีความสามารถในการละลายธาตุอาหารที่ไม่ละลายน้ำเป็นหนึ่งในกลไกสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของพืช เนื่องจากราที่มีความสามารถในการละลายธาตุอาหารที่ไม่ละลายน้ำได้ โดยกลไกสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการละลายฟอสเฟตของจุลินทรีย์คือการสร้างกรดอินทรีย์ (acidification) กระบวนการเกิดคีเลต (chelating agent) และกระบวนการแลกเปลี่ยนไอออน (ion exchange) (Dadarwal, 1997) ทำให้มีปริมาณฟอสเฟตในรูปที่เป็นประโยชน์ในดินสูงขึ้น กลไกที่สำคัญคือการสร้างกรดอินทรีย์ (Vikram, Krishnaraj, Hamzehzarghani and Jagadeesh, 2007) จะส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืช ชานเดียวกับการรายงานของ (Adhikari and Pandey, 2019) ได้ศึกษาดัชนีภาพของราเอนโดไฟท์จำนวน 5 ชนิด ที่แยกได้จากรากของ *Taxus Wallichiana* ที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตที่ไม่ละลายในสถานะของ tricalcium (TCP), อลูมิเนียม (AIP), และฟอสเฟตเหล็ก (FeP) พบว่า

Penicillium (GBPI TWR_F1, GBPI TWR_F2 และ GBPI TWR_F3) และสองสายพันธุ์ที่มี *Aspergillus* (GBPI TWR_F4 และ GBPI TWR_F5) มีความสามารถละลายฟอสเฟตโดยใช้สารตั้งต้น ได้แก่ แคลเซียม อนุพันธ์และ ไอออนฟอสเฟต ทั้งนี้เชื่อมีการสร้างเอนไซม์ไฟเตสในการละลายฟอสเฟต และมีรายงานการศึกษาการใช้รา *Fusarium lateritium* ร่วมกับ *Trichoderma harzianum* ในการป้องกันเชื้อ *Eutypa lata* ในการตัดแต่งกิ่งองุ่น พบว่าสามารถยับยั้งการสร้างสปอร์และทำให้การเกิดโรคลดลง (John et al., 2005) และการศึกษาของ วรวิรัตน์ คะหะปะนะ และคณะ (2562) ได้ทดสอบการสร้างเอนไซม์อะไมเลส ไลเปส เซลลูเลส เพคตินเนส และโปรติเอส พบว่าราเอนโดไฟท์ รหัส SfL 06 สามารถสร้างเอนไซม์อะไมเลส โดยมีค่า (enzyme production ratios) EPR เท่ากับ 1.61 ± 0.11 ส่วนการสร้างเอนไซม์ไลเปส พบว่าราเอนโดไฟท์ รหัส AoL 05 มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์ไลเปสได้สูงสุด โดยมีค่า EPR เท่ากับ 2.05 ± 0.03 และราเอนโดไฟท์รหัส CfS 02 มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส โดยมีค่า EPR เท่ากับ 2.89 ± 0.09 และราเอนโดไฟท์รหัส FrS 07 มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เพคตินเนส โดยมีค่า EPR เท่ากับ 2.76 ± 0.23 และการศึกษาทดสอบการสร้างเอนไซม์โปรติเอส พบว่าราเอนโดไฟท์รหัส CfL 04 มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์โปรติเอส โดยมีค่า EPR เท่ากับ 3.21 ± 0.23 เนื่องจากการที่เชื้อราเอนโดไฟท์แต่ละชนิดมีการผลิต เอนไซม์ต่างกันเป็นผลมาจากการถูกควบคุมโดย สภาวะของสารอาหารภายในเซลล์พืช โดยพืช สามารถชักนำให้เชื้อราผลิตเอนไซม์ได้ และเชื้อราเอนโดไฟท์จะสร้างเอนไซม์เพื่อย่อยสลายสับเสตรต่างๆ ของพืชที่จำเพาะต่อเอนไซม์นั้นๆ (Centis, Guillas, Séjalon, Esquerré–Tugayé and Dumas, 1997) โดยมีเอนไซม์หลายชนิดที่ เชื้อราสร้างขึ้นเพื่อนำไปใช้ประโยชน์กับตัวเอง เช่น สร้างเอนไซม์เซลลูเลสขึ้นเพื่อย่อยผนังเซลล์ ซึ่ง (Picard, Tirilly and Benhamou, 2000) พบว่าเชื้อราเอนโดไฟท์ *Trichoderma viride* สร้างเอนไซม์เซลลูเลสในการย่อยเซลลูโลสบนผนังเซลล์ของเชื้อ *Phytophthora* spp. ซึ่งเป็นเชื้อราสาเหตุโรคพืช เพื่อยับยั้งการ เจริญเติบโตของเชื้อ และมีรายงานว่าเชื้อราเอนโดไฟท์สร้างเอนไซม์เพคตินเนสขึ้นเพื่อย่อยสลายเพคติน ซึ่งเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในการให้ความ แข็งแรงแก่ผนังของเซลล์พืช ส่วนเอนไซม์อะไมเลส เป็นเอนไซม์ในกลุ่ม Hydrolases มีรายงานว่าถูก สร้างขึ้นเพื่อใช้เปลี่ยนแปลงให้เป็นน้ำตาลโดยการ ทาลายพันธะ 1,4-glycosidase ในโมเลกุลของแป้ง ทำให้มีขนาดโมเลกุลเล็กลง เพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนช่วยในการเจริญเติบโต (วิราสิณีและนพ พล, 2556) และเอนไซม์ไลเปสเป็นเอนไซม์ที่ไฮโดรไลซ์โมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ให้เป็นกลีเซอรอล และกรดไขมันอิสระ (Jaeger et al., 1994)

การทดสอบประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ที่มีความสามารถในการละลายธาตุอาหาร

การทดสอบประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ที่มีความสามารถในการละลายธาตุอาหาร $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, CaCO_3 , CoCO_3 , ZnO , ZnCO_3 , FePO_4 , และดินขาว (อาหารเหลว) จำนวน 7 วันของ รา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) พบว่าราสามารถละลายฟอสเฟต p-solubilization เท่ากับ 74.09 mg / L ซึ่งสอดคล้องกับ (Elias, Woyessa and Muleta, 2016) ทำการศึกษาคุณสมบัติของราที่ละลายฟอสเฟตที่ใช้ตัวกลาง Pikovskaya (PVK) ที่เป็นของแข็งและของเหลว ราทั้งหมด 359 ไอโซเลทได้มาจากตัวอย่าง ถั่วฮาริคอต ถั่วพาะ ทะล่ำปาลี มะเขือเทศ และอ้อย ราที่ละลายได้ของฟอสเฟตที่แยกได้อยู่ในสกุลของ *Aspergillus* (55.69%), *Penicillium* spp. (23.35%) และ *Fusarium* (9.58%) ดัชนีการละลาย (SI) อยู่ในช่วง 1.10 ถึง 3.05 ไอโซเลทที่กำหนดให้เป็น JUHbF95 (*Aspergillus* sp.) และ JUFbF59 (*Penicillium* sp.) สามารถละลายในปริมาณสูงสุดของ P 728.77 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ และ 514.44 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ตามลำดับ จาก TCP (tricalcium ฟอสเฟต) หลังจากบ่ม 15 วัน ละลายได้ดีที่สุด (363 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) การศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่ามีราหลากหลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับพืช P-solubilizing ซึ่งอาจทำหน้าที่เป็นปุ๋ยชีวภาพที่มีศักยภาพ

การผลิตสารกระตุ้นการเจริญเติบโตกรดอินโดอะซีติก (Indole Acetic Acid: IAA) ของ รา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) พบว่ามีปริมาณสารกระตุ้นการเจริญเติบโตกรดอินโดอะซีติกเท่ากับ 34.108 ± 0.06 ($\mu\text{g} / \text{ml}$) ซึ่งสอดคล้องกับ (Abdel-Motaal, Kamel, El-Zayat and Abou-Ellail, 2020) ซึ่งทำการทดสอบคุณสมบัติของราเอนโดไฟท์ *A. flavus* พบว่ามีความสามารถในการผลิตฮอร์โมน IAA และยังสามารถในการละลายฟอสเฟตได้เช่นกัน เนื่องจากราเอนโดไฟท์ *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ที่มีความสามารถในการละลายธาตุอาหาร สามารถผลิตสาร indole-3-acetic acid (IAA) ที่เป็นสารควบคุมการเติบโตของพืช และมีบทบาทช่วยกระตุ้นการแบ่งเซลล์ของลำต้นของต้นกล้าให้ยืดขยาย เซลล์เพิ่มมากขึ้นจากเดิม (Glick, 2014; Honma and Shimomura, 1978) รวมถึงการศึกษาของ (Bader, Salerno, Covacevich and Consolo, 2020) ที่รายงานว่าราเอนโดไฟท์ *T. harzianum* มีความสามารถผลิต IAA และละลายฟอสเฟตได้ และยังสามารถยับยั้งเชื้อราก่อโรคในพืชได้อีกด้วย นอกจากนั้น IAA ยังทำหน้าที่กระตุ้นการเจริญที่ปลายรากพืชทำให้มีพื้นผิวสัมผัสเพิ่มขึ้น และเพิ่มความสามารถในการลำเลียงธาตุอาหาร (Yang, Li, Li, Li and Yu, 2009) รวมถึงการทำหน้าที่ ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชโดยการตรึงไนโตรเจนในชั้นบรรยากาศเพื่อช่วยในการยืดขยายเซลล์มากยิ่งขึ้น

การศึกษาการผลิตไซเดอโรฟอรัส (Siderophores) ของราเอนโดไฟท์ *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) พบว่า มีการผลิตไซเดอโรฟอรัสเท่ากับ 17.03 มิลลิเมตร ซึ่งสอดคล้องกับ ทศพล (2559) ได้ศึกษาการผลิต siderophore ของ *C. gloeosporioides* CMU-A109 พบว่า *C. gloeosporioides* CMU-A109 สร้างวงสี เหลืองบนอาหารแข็ง CAS ซึ่งเป็นผลบวกในการผลิต siderophore และเมื่อตรวจสอบชนิด siderophore โดยสารทดสอบพบว่า *C. gloeosporioides* CMU-A109 ผลิต siderophore ชนิด hydroxamate เมื่อราผลิตไซเดอโรฟอรัสจะทำให้ปริมาณธาตุ เหล็กในสิ่งแวดล้อมลดลง ส่งผลให้การนำธาตุเหล็กเข้าสู่เซลล์ของจุลินทรีย์ก่อโรคพืชไม่ สมบูรณ์ เนื่องจากธาตุเหล็กไม่เพียงพอ เพราะมีความสำคัญต่อการเจริญของเซลล์ และการ เข้าทำลายพืชของจุลินทรีย์โรคพืชเช่นกัน ดังนั้นจึงทำให้ความสามารถในการก่อโรคพืชของ จุลินทรีย์ก่อโรคพืชลดลง จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิต siderophore เพื่อจับธาตุเหล็ก (Fe^{3+}) และแร่ธาตุอื่นๆในสิ่งแวดล้อมเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการเจริญของเซลล์ได้ (Chaiharn, Chunchaleuchanon, and Lumyong, 2009; Khamna, Yokota and Lumyong, 2009; Neilands, 1995) นอกจากนี้ siderophore ที่ผลิตโดยจุลินทรีย์สามารถส่งเสริมการเจริญแก่พืชโดยการ เพิ่มธาตุเหล็กให้อยู่ในรูปที่ พืชสามารถนำไปใช้เป็นการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช และ แยกจับธาตุเหล็กของ (Chaiharn et al., 2009; Khamna et al., 2009; A. Mahmoud and Abd-Alla, 2001; Renshaw et al., 2002)

การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมต่ออัตราการงอก ความสูงต้น ความยาวราก และ ระยะเวลาที่ใช้ในการงอกของเมล็ดผัก พบว่ากรรมวิธีที่ 5 แซ่เมล็ดพันธุ์ พริกหวาน กะหล่ำปลี ค่ะน้าเห็ดหอม ผักกาดขาวและมะเขือเทศ ในสารละลายสปอร์ *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ที่ความเข้มข้น 1.0×10^8 สปอร์ต่อมิลลิเมตร ให้ความยาวราก ความสูงต้น และมีอัตรา การงอกมากที่สุด และใช้ระยะเวลาในการงอกน้อยที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับ (อภิวิชญ์, 2566) การศึกษาพบว่า *T. phayaoense* (L113) เหมาะสมต่ออัตราการงอก ความสูงต้น และความยาว ราก ของต้นกล้ามะเขือเทศ พบว่าการแช่เมล็ดมะเขือเทศในสารแขวนลอยสปอร์ของรา *T. phayaoense* (L113) ที่ระดับความเข้มข้น 1.0×10^2 สปอร์ต่อมิลลิเมตร มีอัตราการงอก ความ สูงต้น และความยาวรากของต้นกล้ามะเขือเทศมากที่สุด และ (Mahmood, Turgay, Farooq and Hayat, 2016) รายงานว่า การไพร้มเมล็ดร่วมกับจุลินทรีย์ชีวภาพเป็นหนึ่งในวิธีการที่ดีสำหรับการ เตรียมความพร้อมให้กับเมล็ดโดยสามารถช่วยให้เมล็ดสามารถงอกได้ดีงอกสม่ำเสมอ และต้นกล้ามีความสมบูรณ์แข็งแรงเพิ่มสูงขึ้นดังนั้นวิธีการไพร้มเมล็ดร่วมกับจุลินทรีย์สามารถ ทำให้เมล็ดมีการเพิ่มของประชากรจุลินทรีย์

การพัฒนาสูตรชีวภัณฑ์เชื้อราเอนโดไฟท์

การทดสอบการมีชีวิตรอดของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่คัดเลือกในสูตรสำเร็จจากการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์จากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) พบว่าการมีชีวิตลดลงเมื่อเก็บรักษาไว้นานขึ้น โดยหลังจากเก็บรักษาได้ 6 เดือน ผลิตภัณฑ์ชีวภาพ ที่อุณหภูมิ 8, 30 และ 40 องศาเซลเซียส มีชีวิตรอดของรามากที่สุดเฉลี่ยเท่ากับ 87.55, 77.25 และ 62.31 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับ ปวีณา สังข์แก้ว, (2556) ได้ศึกษาโดยเก็บรักษาสูตรสำเร็จของเชื้อ *Streptomyces griseus* subsp. *formicus* ในอุณหภูมิห้อง (28–32 องศาเซลเซียส) และที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีอายุการเก็บรักษานานกว่าอุณหภูมิห้อง ทั้งนี้จะเห็นว่าหลังการเก็บรักษาในสภาวะอุณหภูมิที่ต่ำจะมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดมากกว่าการเก็บรักษาในสภาวะอุณหภูมิที่สูงกว่า โดยในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หรืออุณหภูมิต่ำ มักใช้เก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์ ทำให้เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสม ซึ่งจะสามารถยืดระยะเวลาอายุการเก็บรักษาเชื้อในสูตรสำเร็จให้นานออกไป อีกทั้งการรายงานของ กรมวิชาการเกษตร (2564) ได้รายงานการเก็บรักษาปุ๋ยชีวภาพว่า ประเทศไทยมีอุณหภูมิค่อนข้างสูง โดยเฉพาะสำคัญในฤดูร้อนช่วงเดือนเมษายน ดังนั้นการเก็บรักษาปุ๋ยชีวภาพจึงควรมีความระมัดระวัง การเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4–10 องศาเซลเซียส หรือเก็บไว้ในที่เย็น ๆ ทั้งนี้การรักษาคุณภาพของปุ๋ยชีวภาพที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตที่ต้องการทั้งความชื้น และออกซิเจน ดังนั้นในการเก็บรักษาจึงต้องระวังไม่ให้กระทบความร้อน หรือแสงแดดโดยตรงที่จะทำให้จุลินทรีย์ลดปริมาณลงและเสื่อมคุณภาพได้

การศึกษามลของผลิตภัณฑ์จากเชื้อราเอนโดไฟท์ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคในพริกในระดับโรงเรือน

การทดสอบการเจริญเติบโตของพริกหวานตลอดอายุ 24 สัปดาห์ พบว่าการรมวิธีที่ใส่ดินขาวระนอง อัตรา 1 กรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม และใส่ผลิตภัณฑ์จากราเอนโดไฟท์ *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) มีความสูงจำนวนใบ เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น ความยาวราก และขนาดทรงพุ่ม มากกว่ากรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (ไม่ใส่ปุ๋ย) และกรรมวิธีที่ 2 ที่ใส่ดินขาวระนอง อัตรา 1 กรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม และไม่ใส่ผลิตภัณฑ์จากราเอนโดไฟท์ *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ วิพรพรรณ เนื่องเม็ก (2557) ได้ศึกษาผลของรา *Trichoderma* sp. ต่อการเจริญเติบโต และการควบคุมโรคแคนตาอูบในแปลง วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยมีทั้งหมด 2 กรรมวิธี ได้แก่ การปลูกแคนตาอูบที่รองกัน หลุมด้วยรา *Trichoderma* sp. และการปลูกแคนตาอูบที่ไม่ใส่รา *Trichoderma* sp. รองกันหลุมก่อนปลูก พบว่าต้นแคนตาอูบใส่รา *Trichoderma* sp. รองกันหลุมก่อนปลูก มีการเจริญเติบโตทางลำต้น

มากที่สุด โดยมีความสูงและจำนวนข้อ เท่ากับ 143.07 เซนติเมตร และ 27.90 ข้อ ตามลำดับ โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากราเอนโดไฟท์ พบว่าราเอนโดไฟท์เป็นราที่อาศัยอยู่ในต้นพืช โดยไม่ก่อให้เกิดอาการของโรคใด ๆ กับพืช โดยอย่างน้อยที่สุดในช่วงหนึ่งของวงจรชีวิตอยู่ในลักษณะต่างพึ่งพาอาศัยกันแบบภาวะสมชีพ (ประไพพิศ อินเสน, 2560) นอกจากนี้การนำราเอนโดไฟท์มาเป็นราที่มีความสัมพันธ์กับพืช โดยการกระตุ้นระบบการป้องกันตัวเองและส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช หรือรา สามารถแข่งขันเพื่อแย่งอาหารและมีความสามารถในการเข้าครอบคลุม หรือส่งเสริมการเจริญเติบโต และมีความต้านทานโรคได้ดีขึ้น อีกทั้งงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่รายงานว่าร่าเอนโดไฟท์ *Piri. indica* สามารถส่งเสริมการเจริญของพืช ข้าวบาร์เลย์ (barley) ข้าวโพด (maize) พาร์สลีย์ (parsley) ปอปลาร์ (poplar) และ ยาสูบ (tobacco) (Varma et al., 1999; Waller et al., 2005) เช่นเดียวกับการปลูกเชื้อราเอนโดไฟท์ (*Scolecobasidium humicola* และ *Mus. cinnamomi*) ลงในกล้ามะเขือเทศ พบว่า สามารถส่งเสริมการเจริญทำให้ต้นมะเขือเทศเจริญได้ดีกว่า ชุดควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อ (Mahmoud R. S. and Narisawa, 2013; Suwannarach et al., 2015) ในขณะเดียวกัน (Z. Zhou et al., 2014) รายงานราเอนโดไฟท์ (*Alternaria* spp., *Phomopsis* sp. และ *Cladosporium* sp.) ที่คัดแยกจากดอกไม้ในเมืองยูนานประเทศจีนสามารถส่งเสริมการเจริญและเพิ่มปริมาณคลอโรฟิลล์ของต้นกล้ายาสูบได้มี หรือการรายงานการปลูกเชื้อราเอนโดไฟท์ (*Phoma* spp.) ที่คัดแยกจากพืชสมุนไพร (*Tinospora cordifolia* และ *Calotropis procera*) สามารถส่งเสริมการเจริญของกล้าข้าวโพดได้ดีกว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ (Kedar Nath, Solanky and Kumawat, 2014)

การทดสอบประสิทธิภาพของราเอนโดไฟท์ *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนส และโรคเหี่ยวเหลืองในพริกหวานในระดับโรงเรือน หลังจากปลูกเชื้อสาเหตุ *C. capsici* นาน 21 วัน พบว่าต้นพริกในกรรมวิธีที่ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) + *C. capsici* มีคะแนนการเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรค เท่ากับ 3.24 คะแนน และ 45.00% ในขณะที่ กรรมวิธีที่ใส่เชื้อรา *C. capsici* มีคะแนนการเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรคเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 3.75 คะแนน และ 50.20% ส่วนความรุนแรงการเกิดโรคเหี่ยวเหลืองหลังจากปลูกเชื้อสาเหตุ *F. oxysporum* f.sp. *capsici* นาน 21 วัน พบว่ากรรมวิธีที่ ใส่ผลิตภัณฑ์จากรา *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) + *F. oxysporum* f.sp. *capsici* มีคะแนนการเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรค เท่ากับ 2.75 คะแนน และ 55.00 % ในขณะที่กรรมวิธีที่ใส่เชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *capsici* มีคะแนนการเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรคเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 4.08 คะแนน และ 87.67% ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ สายทอง แก้วฉาย (2555) ไตรโคเดอร์มา (*Trichoderma* spp.) เป็นเชื้อราปฏิปักษ์ที่มี

ประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช และสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตให้แก่พืช โดยในปัจจุบันมีการรายงานว่ารากไตรโคเดออร์มาที่สามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช มีหลายสายพันธุ์ เช่น *Trichoderma harzianum*, *T. viride* และ *T. virens* และสามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิด เช่น *Phytophthora* spp., *Pythium* spp. , *Rhizoctonia solani* . , *Fusarium* spp. , *Sclerotium rolfsii* . , *Alternaria* spp. , *Colletotrichum* spp., *Sclerotinia sclerotiorum* และ *Botrytis cinerea* ซึ่งกลไกการควบคุมโรคของราเอนโดไฟท์ *F. endophyticum* (22 SGC 4V/4-1) อาจเกิดการสร้างสารปฏิชีวนะ [เอนไซม์ไคตินเนส (chitinase) เซลลูเลส (cellulase) โปรตีเอส (protease) และเอนไซม์ไฟเตส (phytase)] เพื่อควบคุมโรคพืช ซึ่งชี้ให้เห็นอย่างชัดเจนว่ารากเอนโดไฟท์มีศักยภาพในการควบคุมโรคโรคแอนแทรคโนส และโรคเหี่ยวเหลืองในพริกหวาน เช่นเดียวกับการรายงานของ (อนันต์, 2557) ได้ศึกษารากเอนโดไฟท์ ไอโซเลต GRO3 เป็นไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคข้าวทุกชนิดที่ใช้ในการทดสอบ นอกจากนี้ยังสามารถผลิตเอนไซม์ย่อยสลายเซลล์เชื้อราสาเหตุโรคพืช ได้แก่ chitinase, proteinase และ cellulase การผลิตสารที่ส่งเสริมการเจริญของพืชได้แก่ IAA และการละลายฟอสเฟต อีกทั้งยังสามารถลดการเกิดโรคกล้าเน่าที่เกิดจากเชื้อ BIP CUR และ FUS2 ได้ รวมถึง ช่วยส่งเสริมให้กล้าข้าวเจริญแข็งแรงในด้านของการเพิ่มความยาวราก ความสูงลำต้น และน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของลำต้น



บรรณานุกรม

- จิระเดช แจ่มสว่าง จิตนา ชะนะ เฉลิมลาภ ช่วยประสิทธิ์ สุพรรณณี ชีววิริยะกุล และวรรณวิไลเกษ
นรา. (2533). การประเมินประสิทธิภาพของเชื้อ *Trichoderma harzianum* ในการควบคุม
โรคเน่าสเคลอโรเทียมของข้าวบาร์เลย์ในสภาพไรโรโดยชีววิธี. การประชุมทางวิชาการของ
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 28, 163-171.
- ชนิทร ดวงสะอาด, พรพิมล อธิปัญญาคม, และ สุณิรัตน์ สิมะเต็อ. 2553. จุลินทรีย์ส่งเสริมการ
เจริญเติบโตของพืช. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. หน้า196-
205.
- ทศพล นำปนลัก. (2559). การผลิต indole-3-acetic acid โดยราเอนโดไฟท์สกุล *Colletotrichum*
ที่แยกได้จากต้นกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้าและผลต่อการเจริญของพืช.วิทยานิพนธ์
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่.
- ธารทิพย์ รัตนะ. (2559). ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากสับปะรดและมะละกอ ในการ
ต่อต้านราก่อโรคแอนแทรกโนสในพริก. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 24(3),
456-468.
- ประไพพิศ อินเสน. (2560). สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากราเอนโดไฟท์. คณะเภสัชศาสตร์
มหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเซีย.
- ปวีณา สังข์แก้ว. (2556). สูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Streptomyces griseus* subsp.
formicus สำหรับ การยับยั้งโรครากขาวของยางพารา. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร
มหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืชวิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา. 98 หน้า.
- ลักษณะ วรรณภีร์ และ กอบเกียรติ บันสิทธิ์. (2536). เอกสารวิชาการเรื่อง การผลิต การตลาด
พริก: โรคแมลง-ศัตรูพริก และการป้องกันกำจัด. กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวง
เกษตรและสหกรณ์. 30 - 38 หน้า.
- เลขา มาโนช, อรุณา เพี้ยชัย, ธิตา เดชฮวบ, จิตรา เกาะแก้ว, อำนาจ เขี่ยมวิจารย์, และ เสียง
แจ้ว พิริยพจนต์. (2552). การควบคุมรา *Rhizoctonia* สาเหตุโรคขาว ขาวโพด และ
ทุเรียน โดยเชื้อราดินและราเอนโดไฟท์. ในการประชุมวิชาการของ
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47 (หน้า 542-547). กรุงเทพฯ:
- เลขา มาโนช, อรุณา เพี้ยชัย, ธิตา เดชฮวบ, จิตรา เกาะแก้ว, อำนาจ เขี่ยมวิจารย์, และ เสียง
แจ้ว พิริยพจนต์. (2552ข). ความหลากหลายของเห็ด รา ไลเคน และการใช้ประโยชน์.
กรุงเทพฯ: คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

- วิพรพรรณ เนื่องเม็ก ประสิทธิ์ ผาผ่อง, และมนัส ทิตยวรรณ. (2557). ผลของเชื้อราไตรโคเดอร์มาต่อการเจริญเติบโต และควบคุมโรคของแคนตาลูปในแปลงปลูก. วารสารแก่น เกษตร, 42(3), 680-685.
- วิพรพรรณ เนื่องเม็ก และวรวุฒิ อ้ายดวง. (2560). การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อราในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคเหี่ยวของแคนตาลูป. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 4(2).
- วิราลีณี จันทร์เป็ง และนพพล เล็กสวัสดิ์. (2556). เอนไซม์อะไมเลส. เชียงใหม่: สำนักวิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- วิลาวรรณ เชื้อบุญ, ดุสิต อธิภูวัฒน์. (2557). สตรีโมนฟิซผลิตจาก *Pseudomonas fluorescens* SP007s ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของคะน้าอินทรีย์. มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. 3(3): 196-205.
- ษศิวรรณ เรือศรีจันทร์. (2557) หนอนใยผัก. จัดหมายข่าวพยากรณ์และเตือนภัยการระบาดของศัตรูพืช สำนักงานเกษตรจังหวัดตราด, 3(3), 1-3.
- สายทอง แก้วฉาย. (2555). การใช้ไตรโคเดอร์มาในการควบคุมโรคพืช. วารสารมหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์, 4(3), 108-123.
- สุภาพร อรรถวิญ จิระเดช แจ่มสว่าง อำไพวรรณ ภราดรภูวัฒน์ และรวี เสริฐภักดี. (2537). การใช้ส่วนผสมของผงเชื้อราไตรโคเดอร์มา ร่วมกับสารเคมีควบคุมเชื้อราในการควบคุมโรครากและโคนเน่าของกล้วยเรือน ซึ่งเกิดจากเชื้อราไฟทอปทอรา พาล์มมิโวรา. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ครั้งที่ 32, 162-179.
- สุวิดา แสไพศาล. (2549). เอนไซม์ย่อยสลาย ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลำดับนิวคลีโอไทด์ในส่วน ITS1-5.8S-ITS2 ของ rDNA และการโคลนยีนโคดีเนสของเชื้อรา *Trichoderma* spp. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.
- อนันต์ วงษ์เจริญ. (2557). การคัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟต์จากข้าว (*Oryza sativa* L.) ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งราสาเหตุโรคข้าว. วารสารแก่นเกษตร. 42 (3) : 385-396
- อภิวิชญ์ คำเงิน. (2566). ผลของราเอนโดไฟท์ *Trichoderma phayaoense* (L113) ต่อการกระตุ้นการงอกของเมล็ดมะเขือเทศ 10 สายพันธุ์. วารสารแก่นเกษตร. 1: 253-263.
- อรอุมา เพี้ยซ้าย. (2557). การใช้ราเอนโดไฟท์ควบคุมโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยว. ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว 13(3), 4-6.

- Abde-Motaal, F.A., Kamel, N., Zayat, S.E. and Ellail, M.A. (2020). Early blight suppression and plant growth promotion potential of the endophyte *Aspergillus flavus* in tomato plant. *Annals of Agricultural Sciences*. 65: 117–123.
- Adhikari, P., and A. Pandey. (2019). Phosphate solubilization potential of endophytic fungi isolated from *Taxus wallichiana* Zucc. Roots. *Rhizosphere*. 9: 2–9.
- Alia, H., Ashta, A., and Ratsimalahelo, Z. (2017). A modified household economic portfolio model for assessing impact of microfinance using diaries. *Qualitative Market Research: An International Journal*, 20(1), 2–27.
- Arnold, A.E., Maynard, Z., Gilbert, G.S., Coley, P.D. and Kursar, T.A. (2000). Are tropical fungal endophytes hyper diverse?. *Ecology Letters*. 3, 267–274.
- Bader, A. N., Salerno, G. L., Covacevich, F. and Consolo, V. F. (2020). Native *Trichoderma harzianum* strains from Argentina produce indole-3 acetic acid and phosphorus solubilization, promote growth and control wilt disease on tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Journal of King Saud University – Science*. 32: 867–873.
- Brown, K.B., Hyde, K.D. and Guest, D.I. (1998). Preliminary studies on endophytic fungal communities of *Musa acuminata* species complex in Hong Kong and Australia. *Fungal Diversity*. 1, 27–51.
- Bussaban, B. Lumyong, S., Lumyong, P. McKenzie, E.H.C. and Hyde K.D. (2001). Endophytic fungi from *Amomum siamense*. *Canadian Journal of Microbiology*. 47, 1–6.
- Centis, S., Guillas, I., Séjalon, N., EsquerréTugayé, M. T., and Dumas, B. (1997). Endo-polygalacturonase genes from *Colletotrichum lindemuthianum*: cloning of CLPG2 and comparison of its expression to that of CLPG1 during saprophytic and parasitic growth of the fungus. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 10(6), 769– 775.
- Chaiharn, M., Chunhaleuchanon, S., and Lumyong, S. (2009). Screening Siderophore Producing Bacteria as Potential Biological Control Agent for Fungal Rice Pathogens in Thailand. *World. Journal of Microbiology and Biotechnology* 25: 1919–1928.
- Chen, X.M., Dong, H.L. and Hu, K.X. (2010). Diversity and Antimicrobial and plant growth promoting activities of endophytic fungi in *Dendrobium loddigessi* Folfe. *Journal of plant growth regulator*. 29, 328–337.

- Chitphithak, I., Kaewchai, S., and Pornsuriya, C. (2020). Identification and Screening of Phosphate Solubilizing *Aspergillus* Species Isolated from Soil in the Three Southern Border Provinces of Thailand. *Princess of Naradhiwas University Journal*, 12(1), 163–172.
- Clay, K. (1991). Endophytes as antagonists of plant pests. In *Microbial Ecology of Leaves* (Andrews, J.H. and Hirano, S.S. eds.), pp. 331–357. Berlin: Springer–Verlag.
- Clay, K. and Schardl, C.L. (2002). Evolutionary origins and ecological consequences of endophyte symbiosis with grasses. *American Naturalist*. 160, S99–S127.
- Dadarwal, K.R. (1997). *Microorganisms for Sustainable Crop Production*. Jodhpur. 293–308.
- Dahlman, D. L., Eichenseer, H. E. R. B. E. R. T., & Siegel, M. R. (1991). Chemical perspectives on endophyte–grass interactions and their implications to insect herbivory. *Microbial mediation of plant–herbivore interactions*, 227–252.
- Elias, F., Woyessa, D. and Muleta, D. (2016). Phosphate solubilization potential of rhizosphere fungi isolated from plants in Jimma Zone, Southwest Ethiopia. *International journal of microbiology*. ID5472601
- Fisher, P.J. and Petrini, O. (1990). A comparative study of fungal endophytes in xylem and bark of *Alnus* species in England and Switzerland. *Mycological Research*. 94, 313–319.
- Fisher, P.J., Anson, A.E. and Petrini, O. (1984). Antibiotic activity of some endophytic fungi from ericaceous plants. *Botanica Helvetica*. 94, 249–253.
- Fomina, M. A., Alexander, I. J., Colpaert, J. V., and Gadd, G. M. (2005). Solubilization of toxic metal minerals and metal tolerance of mycorrhizal fungi. *Soil Biology and Biochemistry*, 37(5), 851–866.
- Fröhlich, J., Hyde, K.D. and Petrini, O. (2000). Endophytic fungi associated with palms. *Mycological Research*. 104, 1202–1212.
- Gaind S. (2016). Phosphate dissolving fungi: Mechanism and application in alleviation of salt stress in wheat. *Microbiological Research* 193, 94–102.
- Glick, B.R. (2014). Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research* 169: 30– 39.

- Hong, J.K. and Hwang, B.K. (1998). Influence of inoculum density, wetness duration, plant age, inoculation method, and cultivar resistance on infection of pepper plants by *Colletotrichum cocodes*, Plant Disease 82, 1079–1083.
- Honma, M. and Shimomura, T. (1978). Metabolism of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. Agricultural and Biological Chemistry 43: 1825–1831.
- Hyde, K.D. (2001). Increasing the likelihood of novel compound discovery from fungi. In Bio-Exploitation of Filamentous Fungi. S.B. Pointing and K.D. Hyde, eds. Fungal Diversity Research Series 6: Fungal Diversity Press, Hong Kong. pp 77–91.
- Jaeger, Stephane R., Bauke W.D., Charles C., Margreet van H., and Onno M. (1994). Bacterial lipases. FEMS Microbiology Reviews;15, 29–63
- Jain, A., Singh, A., Singh, S., and Singh, H.B., (2015). Phenols enhancement effect of microbial consortium in pea plants restrains *Sclerotinia sclerotiorum*. Biol.Control. 89, 23–32.
- John, S., T.J. Wicks, J.S. Hunt, M.F. Lorimer, H. Oakey, and E.S. Scott. (2005). Protection of grapevine pruning wounds from infection by *Eutypa lata* using *Trichoderma harzianum* and *Fusarium lateritium*. Australasian Plant Pathology. 34(4): 569–575.
- Kedar Nath, K. N., Solanky, K. U., and Kumawat, G. L. (2014). Effective approaches of potential bioagent, phytoextract, fungicide and cultural practice for management of banana fruit rot disease.
- Khamna, S., Yokota, A., and Lumyong, S. (2009). Actinomycetes isolated from medicinal plant rhizosphere soils: diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore production. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 25, 649–655.
- Khan, A.L., Hamayun, M., Kang, S.M., Kim, Y, H., Jugn, H.Y., Lee, J.H. and Lee, I. J. (2012). Endophytic fungi association via gibberellins and indole acetic acid can improve plant growth under abiotic stress: and example of *Paecilomyces formosus* LHL10. BMC Microbiology. 12, 3–14.
- Kumar, H., and Gupta, N. (2012). Neurological disorders and barriers for neurological rehabilitation in rural areas in Uttar Pradesh: A cross-sectional study. Journal of neurosciences in rural practice, 3(01), 12–16.

- Kumla, J., Suwannarach, N., Bussaban, B., Matsui, K., and Lumyong, S. (2014). Indole-3-acetic acid production, solubilization of insoluble metal minerals and metal tolerance of some sclerodermatoid fungi collected from northern Thailand. *Annals of microbiology*, 64(2), 707–720.
- Liu, C.H., Zou, W.X., Lu, H. and Tan, R.X. (2001). Antifungal activity of *Artemisia annua* endophyte against phytopathogenic fungi. *Journal of Biotechnology*. 88: 277–282.
- Lodge, D. J., Fisher, P. J., and Sutton, B. C. (1996). Endophytic fungi of *Manilkara bidentata* leaves in Puerto Rico. *Mycologia*, 88(5), 733–738.
- Mahmood, A., Turgay, O.C., Farooq, M. and Hayat, R. (2016). Seed biopriming with plant growth promoting rhizobacteria: a review. *FEMS Microbiology Ecology* 92(8): 1–14. fiw112.
- Mahmoud, A. L. E., and Abd-Alla, M. H. (2001). Siderophores production by some microorganisms and their effect on Bradyrhizobium–mung bean symbiosis., 157–162.
- Mahmoud, R. S., and Narisawa, K. (2013). A new fungal endophyte, *Scolecobasidium humicola*, promotes tomato growth under organic nitrogen conditions. *PLoS One*, 8(11), e78746.
- Neilands, J. B. (1995). Siderophores: structure and function of microbial iron transport compounds. *Journal of Biological Chemistry*, 270(45), 26723–26726.
- Neuwani, V., Doshi, P., Saha, T., and Rajkumar, S. (2010). Isolation and characterization of a fungal isolate for phosphate solubilization and plant growth promoting activity. *J Yeast Fungal Res*, 1(1), 9–14.
- Nuangmek, W., McKenzie, E.H.C. and Lumyong, S. (2008). Endophytic fungi from wild banana (*Musa acuminata* Colla) works against anthracnose disease caused by *Colletotrichum musae*. *Research Journal of Microbiology*. 3, 368–374.
- Petrini, O. (1991). Fungal endophytes of tree leaves. In *Microbial Ecology of Leaves* (Andrews, J.H. & Hirano, S.S. eds.), pp. 179–197. Berlin: Springer Verlag.
- Petrini, O. (1993). Endophytes of *Pteridium* spp.: Some considerations for biological control. *Sydowia*. 45, 330–338.

- Photita, W., Lumyong, S., Lumyong, P. and Hyde, K.D. (2001). Endophytic fungi of wild banana (*Musa acuminata*) at Doi Suthep Pui national Park. *Mycological Research*, 105, 1508–1513.
- Picard, K., Tirilly, Y., and Benhamou, N. (2000). Cytological effects of cellulases in the parasitism of *Phytophthora parasitica* by *Pythium oligandrum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(10), 4305–4314.
- Pulici, M., Sugawara, F., Koshino, H., Uzawa, J., Yoshida, S., Lobkovsky, E., and Clardy, J. (1996). Pestalotiopsins A and B: new caryophyllenes from an endophytic fungus of *Taxus brevifolia*. *The Journal of organic chemistry*, 61(6), 2122–2124.
- Renshaw, J. C., Robson, G. D., Trinci, A. P., Wiebe, M. G., Livens, F. R., Collison, D., and Taylor, R. J. (2002). Fungal siderophores: structures, functions and applications. *Mycological Research*, 106(10), 1123–1142.
- Rodrigues, K.F., Hesse, M. and Werner, C. (2000). Antimicrobial activities of secondary metabolites produced by endophytic fungi from *Spondias mombin*. *Journal Basic Microbiology*. 40, 261–267.
- Rodriguez, R.J, Woodward, C.J. and Redman, R.S. (2012). Fungal influence on plant tolerance to stress. In *Biocomplexity of plant fungal interaction*; Southworth, D. ed. Wiley–Blackwell: Oxford, UK.
- Saikkonen, K., Saari, S. and Helander, M. (2010). Defensive mutualism between plant and endophytic fungi? *Fungal Diversity*. 41, 101–113.
- Saravanakumar, K., Shanmuga Arasu V., and Kathiresan. K. (2013). Effect of Trichoderma on soil phosphate solubilization and growth improvement of *Avicennia marina*. *Aquat. Bot.* 104, 101–105.
- Shenoy, B. D., Jeewon, R., Lam, W. H., Bhat, D. J., Than, P. P., Taylor, P. W., and Hyde, K. D. (2007). Morpho–molecular characterisation and epitypification of *Colletotrichum capsici* (*Glomerellaceae*, *Sordariomycetes*), the causative agent of anthracnose in chilli. *Fungal Diversity*, 27(1), 197–211.
- Singh, A., Jain, A., Sarma, B.K., Upadhyay, R.S., Singh, H.B., (2013). Rhizosphere microbes facilitate redox homeostasis in *Cicer arietinum* against biotic stress. *Ann. Appl. Biol.* 163, 33–46.

- Sriram, M. I., Gayathiri, S., Gnanaselvi, U., Jenifer, P. S., Raj, S. M., and Gurunathan, S. (2011). Novel lipopeptide biosurfactant produced by hydrocarbon degrading and heavy metal tolerant bacterium *Escherichia fergusonii* KLU01 as a potential tool for bioremediation. *Bioresource technology*, 102(19), 9291–9295.
- Stierle, A., Strobel, G., and Stierle, D. (1993). Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae*, an endophytic fungus of Pacific yew. *Science*, 260(5105): 214–216
- Strobel, G. A. (2002). Microbial gifts from rain forests¹. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 24(1), 14–20.
- Suwannarach, N., Kumla J., Matsui K., Lumyong S. (2015). Characterization and efficacy of *Muscodora cinnamomi* in promoting plant growth and controlling Rhizoctonia root rot in tomatoes. *Biological Control* 90, 25–33.
- Tejesvi, M.V., Kini, K.R., Prakash, H.S., VenSubbiah and Shetty, H.S. (2007). Genetic diversity and antifungal activity of species of *Pestalotiopsis* isolated as endophytes from medicinal plants. *Fungal Diversity*. 24, 37–54.
- Tsavkelova, E. A., Cherdyntseva, T. A., Botina, S. G., and Netrusov, A. I. (2007). Bacteria associated with orchid roots and microbial production of auxin. *Microbiological research*, 162(1), 69–76.
- Ullah S., Naz. F., Fiaz. M., Sher. H., Hussain. S., Ahmad. S., and Khalid. A.N. (2018). In vitro evaluation of commonly available fungicides against three fungal isolates. *Plant Pathology & Quarantine* 8(1), 67–77
- Varma, A., Verma, S., Sudha, Sahay, N., Bütehorn, B., and Franken, P. (1999). *Piriformospora indica*, a cultivable plant–growth–promoting root endophyte. *Applied and environmental Microbiology*, 65(6), 2741–2744.
- Vikram, A., P.U. Krishnaraj, H. Hamzezarghani, and K.S. Jagadeesh. (2007). Growth promotional potential of *Pseudomonas fluorescens* FPD 10 and its interaction with *Bradyrhizobium* sp. *Research Journal of Microbiology*. 2: 354–361.
- Vitorino, L.C., Silva, F.G., Soares, M.A., Souchie, E.L., Costa, A.C., and Lima, W.C. (2012). Solubilization of calcium and iron phosphate and in vitro production of Indoleacetic acid by Endophytic isolates of *Hyptis marrubioides* Epling (Lamiaceae). *International Research Journal of Biotechnology* 3, 47–54.

- Waller, F., Achatz, B., Baltruschat, H., Fodor, J., Becker, K., Fischer, M., and Kogel, K. H. (2005). The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt–stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(38), 13386–13391.
- Waller, F., Achatz, B., Baltruschat, H.J., Becker, K., Fischer, M., Heier, T., Huckelhoven, R., Neumann, C., Wettstein, D.V., Franken, P. and Kogel K. (2005). The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt–stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proceeding of Natural Academic of Science*. 102, 13386–13391.
- Waqas, M., Khan, A.L., Kamram, M., Hamayun, M., Kang, S.M., Kim, Y.H. and Lee, I.J. (2012). Endophytic fungi produce gillerellins and indole acetic acid and promotes host plant growth during stress. *Molecular*.7, 10754–10773.
- Wilson, D. (2000). Ecology of woody plant endophytes. In: *Microbial Endophytes*. Marel Dekker. pp. 389–420.
- Worapong, J., Strobel, G.A., Daisy, B., Castillo, U., Baird, G and Hess, W.M. (2002). *Muscodor roseusanam* nov. an endophyte from *Grevillea teridifolia*. *Mycotaxon*. 81, 463–475.
- Worapong, J., Strobel, G.A. I, Ford, E.J., Li, J.Y., Baird, G. and Hess, W.M. (2001). *Muscodor albus* gen. et sp. nov. an endophyte from *Cinnamomum zeylanicum*. *Mycotaxon*. 79, 67–79.
- Yang, O., Li, C., Li, H., Li, Y. and Yu, N. (2009). Degradation of synthetic reactive azo dyes and treatment of textile wastewater by a fungi consortium reactor. *Biochemical Engineering Journal* 43: 225–230
- Zhou, L.S., Tang, K, Guo, S.X. (2018). The plant growth–promoting fungus (PGPF) *Alternaria* sp A13 markedly enhances *Salvia miltiorrhiza* root growth and active ingredient accumulation under greenhouse and field conditions. *International Journal of Molecular Sciences* 19, 270–284.
- Zhou, Z., Zhang, C., Zhou, W., Li, W., Chu, L., Yan, J., and Li, H. (2014). Diversity and plant growth–promoting ability of endophytic fungi from the five flower plant species collected from Yunnan, Southwest China. *Journal of plant interactions*, 9(1), 585–591.



ภาคผนวก

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อรา

Potato dextrose agar (PDA)

Potato dextrose broth	26.5 กรัม
Agar	15-17 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร
Chloramphenicol	0.05 กรัม

ต้มน้ำกลั่นปริมาตร 800 มิลลิลิตรให้เดือด จากนั้นเทส่วนผสมต่าง ๆ ลง แล้วเติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วคนให้ส่วนผสมของอาหารละลาย จากนั้นเทอาหารใส่ในขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 500 มิลลิลิตร ขวดละประมาณ 200 มิลลิลิตร ปิดจุกด้วยสำลี ปิดทับด้วยกระดาษ รัดด้วยยางรัด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

Potato dextrose broth (PDB)

Potato dextrose broth	35.0 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร
Chloramphenicol	0.05 กรัม

ต้มน้ำกลั่นปริมาตร 800 มิลลิลิตรให้เดือด จากนั้นเทส่วนผสมต่าง ๆ ลง แล้วเติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วคนให้ส่วนผสมของอาหารละลาย จากนั้นเทอาหารใส่ในขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 500 มิลลิลิตร ขวดละประมาณ 200 มิลลิลิตร ปิดจุกด้วยสำลี ปิดทับด้วยกระดาษ รัดด้วยยางรัด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

ภาคผนวก ข การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด และ ปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมด

วิธีวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด

ชั่งตัวอย่างพืช จำนวน 0.3xxx กรัม ใส่ใน Kieldahl flask ขนาด 800 มิลลิลิตร เติม salicylic Acid จำนวน 2 กรัม จากนั้นเติม 98 เปอร์เซ็นต์ Sulfuric acid ปริมาณ 40 มิลลิลิตร และ Sodium Thiosulfate Pentahydrate จำนวน 5 กรัม นำไปตั้งบนเตาย่างตัวอย่าง ทำการย่อยตัวอย่างโดยใช้ไฟปานกลาง จนกระทั่งได้สารละลายสีน้ำตาล ปิดไฟ แล้วตั้งทิ้งไว้ให้เติม Mixed catalyst จำนวน 10 กรัม แล้วทำการย่อยอีกครั้งจนได้สารละลายสีเขียวใส ปิดไฟทิ้งไว้ให้เย็น เติมน้ำกลั่น 350 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย Sodium hydroxide ปริมาณ 100 มิลลิลิตร และ Zinc granular จำนวน 5 กรัม นำ Kjeldahl flask ต่อกับเครื่องกลั่น โดยให้ปลายเครื่องกลั่นจุ่มอยู่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่บรรจุสารละลายกรดบอริก ปริมาณ 100 มิลลิลิตร และสารละลาย Mixed indicator ปริมาณ 4-5 หยด ทำการกลั่นจนได้ปริมาตรของสารละลายใน Erlenmeyer flask ปริมาณ 350 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้ไปไตเตรทกับสารละลาย Hydrochloric acid (HC) มาตรฐาน 0.2 N บันทึกผลทำ Blank โดยไม่ใส่ตัวอย่าง และทำการวิเคราะห์เช่นเดียวกับตัวอย่าง

วิธีคำนวณ

$$\text{Total N (\%)} = \frac{\text{N(HC)} \times [\text{มิลลิลิตร (HC)} - \text{มิลลิลิตร (Blank)}] \times \text{น้ำหนักรวมของตัวอย่าง (กรัม)}}{\text{น้ำหนักรวมของตัวอย่าง (กรัม)}}$$

วิธีวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด

1. การเตรียม Reagent

กรดผสม Nitric acid: Perchloric acid อัตรา 1:1 ผสม 69-70 เปอร์เซ็นต์ Nitric acid กับ 69-70 เปอร์เซ็นต์ Perchloric acid อัตราส่วน 1:1

2. Molybdovanadate reagent

ชั่ง Ammonium molybdate tetrahydrate จำนวน 40 กรัม ใส่ใน Beaker ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมน้ำร้อน (น้ำกลั่น) ปริมาณ 400 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ให้เย็นชั่ง Ammonium

metovanadate ปริมาณ 2 กรัม ใส่ Beaker ขนาด 1000 มิลลิลิตร เติมน้ำร้อน (น้ำกลั่น) ปริมาณ 400 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นเติม 69-70 เปอร์เซนต์ Perchloric acid ปริมาณ 450 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน ทิ้งไว้ให้เย็นค่อย ๆ รินผสมสารละลาย Ammonium molybdate tetrahydrate ลงในสารละลาย Ammonium metavanadate ใน Volumetric flask ขนาด 2,000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายสีเหลืองอ่อนเขย่าให้เข้ากัน และถ่ายเก็บไว้ในขวดสีชา

2. Molybdovanadate reagent

ชั่ง Ammonium molybdate tetrahydrate จำนวน 40 กรัม ใส่ใน Beaker ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมน้ำร้อน (น้ำกลั่น) ปริมาณ 400 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันตั้งไว้ให้เย็นชั่ง Ammonium metavanadate ปริมาณ 2 กรัม ใส่ Beaker ขนาด 1000 มิลลิลิตร เติมน้ำร้อน (น้ำกลั่น) ปริมาณ 400 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นเติม 69-70 เปอร์เซนต์ Perchloric acid ปริมาณ 450 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน ทิ้งไว้ให้เย็นค่อย ๆ รินผสมสารละลาย Ammonium molybdate tetrahydrate ลงในสารละลาย Ammonium metavanadate ใน Volumetric flask ขนาด 2,000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายสีเหลืองอ่อนเขย่าให้เข้ากัน และถ่ายเก็บไว้ในขวดสีชา

3. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

3.1 สารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส (Standard P) 1,000 ppm ชั่ง Potassium dihydrogen phosphate ซึ่งผ่านการอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง จำนวน 1.0984 กรัม ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน

3.2 สารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส 100 ppm ปิเปตสารละลายมาตรฐาน ฟอสฟอรัส 1,000 ppm ปริมาณ 10 มิลลิลิตร ใส่ Volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน

3.3 สารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 ppm (Working standard) ดูดสารละลายโดยใช้ปิเปตสารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัส 100 ppm ปริมาณ 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 มิลลิลิตร ใส่ Volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

4. การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่างจำนวน 0.3xx-1.00X กรัมใส่ Erlenmeyer flask ขนาด 125 มิลลิลิตร หรือใส่ Digestion tube เต็มกรดผสม Nitric acid: Perchloric acid ปริมาณ 20 มิลลิลิตร นำไปย่อยบน Hot plate หรือ Digestion block ที่อุณหภูมิไม่เกิน 220 องศาเซลเซียส ย่อยจนมีควันสีขาวเกิดขึ้นเหนือสารละลายหรือสารละลายมีลักษณะสีใส ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 30-40 นาที จากนั้นยกออกจาก Hot plate หรือ Digestion block ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นถ่ายสารละลายตัวอย่าง แล้วล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่นใส่ Volumetric flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน ในกรณีที่เป็นสารละลายมีตะกอนขุ่นนำไปผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1

5. วิธีวิเคราะห์

ดูดสารละลายโดยใช้ปิเปตสารละลายตัวอย่างปริมาณ 5 มิลลิลิตร หรือตามความเหมาะสม เข้มข้นของตัวอย่าง ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร เต็ม Molybdovanadate ปริมาณ 10 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1:10 ของปริมาตร Volumetric flask) ปรับน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากันแล้วทิ้งไว้ 30 นาที นำ Working standard 0,1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 ppm เต็ม Molybdovanadate reagent ปริมาณ 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วทิ้งไว้ 30 นาที นำสารละลายตัวอย่างและ Working stand ไปวัดความเข้มของสี ด้วย Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร บันทึกค่า Absorbance (A) หรือ Transmittance (%T) หาค่าความเข้มของสารละลายตัวอย่าง โดยเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ของสารละลายตัวอย่างกับกราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มของฟอสฟอรัส และค่า A หรือ %T ของ Working standard (Standard curve)

6. วิธีคำนวณ

$$P (\%) = \frac{\text{ppm P ของกราฟมาตรฐาน} \times \text{ปริมาตรสุดท้าย} \times 100}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)} \times 10^6}$$

$$\text{Total P}_2\text{O}_5 (\%) = \frac{\%P \times [(2 \times \text{Atomic wt. of P}) + (5 \times \text{Atomic wt. of O})]}{2 \times \text{Atomic wt. of P}}$$

วิธีวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมด

1. การเตรียม Reagent

1.1 ชั่ง Calcium carbonate จำนวน 12.5 กรัม ใส่ใน Beaker ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เติม 36–38 เปอร์เซ็นต์ Hydrochloric acid (HCl) ปริมาณ 105 มิลลิลิตรลงไปทีละน้อย นำไปต้มจนเดือด ทิ้งไว้ให้เย็น เทใส่ Volumetric flask ขนาด 1,000 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน

1.2 กรดผสม Nitric acid : Perchloric acid อัตรา 1: 1 ผสม 69–70 เปอร์เซ็นต์ Nitric acid กับ 69–70 เปอร์เซ็นต์ Perchloric acid ในอัตราส่วน 1: 1 โดยปริมาตร

2. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

2.1 สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียม (Standard K) 100 ppm ดูดสารละลายโดยใช้ปิเปตสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียม 1,000 ppm ปริมาณ 10 มิลลิลิตร ใส่ volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน

2.2 สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียม 100 ppm ปริมาณ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15 ppm (Working standard) ปิเปตสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียม 100 ppm ปริมาณ 0, 3, 6, 9, 12 และ 15 มิลลิลิตร ใส่ Volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตรปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน

3. การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่างจำนวน 1.xxxx กรัม ใส่ Erlenmeyer flask ขนาด 125 มิลลิลิตร เติมกรดผสม Nitric acid: Perchloric acid จำนวน 20 มิลลิลิตร นำไปย่อยบน Hot plate หรือ Digestion block ที่อุณหภูมิไม่เกิน 220 องศาเซลเซียส ย่อยจนมีควันสีขาวเกิดขึ้นเหนือสารละลายหรือสารละลายมีลักษณะสีใส ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 30–40 นาที จากนั้นยกลงจาก Hot plate หรือ Digestion block ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นถ่ายสารละลายตัวอย่าง แล้วล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่นใส่ Volumetric flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน ในกรณีที่เป็นสารละลายมีตะกอนชุ่นนำไปผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1

4. วิธีวิเคราะห์

ปิเปตสารละลายตัวอย่าง ให้มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมอยู่ในช่วง 0–15 ppm ใส่ลงใน Volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตรเติมสารละลาย Suppressor 10 มิลลิลิตร

และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน นำ Working standard 0, 3, 6, 9, 12 และ 15 ppm เติมสารละลาย Suppressor 10 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากัน นำสารละลายไปวัดค่า Intensive of emission ด้วย Flame photometer หาค่าความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง โดยเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ของสารละลายตัวอย่างกับกราฟที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโพแทสเซียมกับค่า Intensive of emission ของ Working standard (Standard curve)

5. วิธีการคำนวณ

$$\text{Total K}_2\text{O} (\%) = \frac{1.2046 \times \text{ppm K} \times \text{ปริมาตรสุดท้าย} \times 100}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)} \times 10^6}$$



ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาวฉันทยพร ยานะวงษ์
วัน เดือน ปี เกิด	21 ตุลาคม พ. ศ. 2539
สถานที่เกิด	ตาก
วุฒิการศึกษา ที่อยู่ปัจจุบัน	พ.ศ. 2561 วท. บ. (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยพะเยา, พะเยา 336 หมู่ 9 บ้านแม่ละเมาสามัคคี ตำบล พะวอ อำเภอ แม่สอด จังหวัด ตาก รหัสไปรษณีย์ 63110 ข้อมูลที่ติดต่อ เบอร์โทร 065 076 5030 Email: songtanyaporn@gmail.com
ผลงานตีพิมพ์	ฉันทยพร ยานะวงษ์, นครินทร์ สุวรรณราช และ วิพรพรรณ เนื่องเม็ก. (2566). ผลของราเอนโดไฟท์ <i>Fusarium laterolithium</i> ต่อการกระตุ้นงอก ของเมล็ดพันธุ์ฝัก 5 ชนิด. แก่นเกษตร. 51(1): 246-252. ฉันทยพร ยานะวงษ์, นครินทร์ สุวรรณราช และ วิพรพรรณ เนื่องเม็ก. (2563). การคัดเลือกราเอนโดไฟท์ที่มีคุณสมบัติในการละลาย ฟอสเฟต. แก่นเกษตร. 51(1): 1209-1214.
รางวัลที่ได้รับ	-