



การเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อราจากมูลสัตว์ต่อเชื้อรา *Colletotrichum* sp.

ST01 สาเหตุโรคแอนแทรคโนสในพริก

Antagonistic Effect of Coprophilous Fungi Against *Colletotrichum* sp.

ST01 Causing Chili Anthracnose Disease

สันทนา ขวัญมณี¹ สุทิน พรหมพงษ์¹ อัจฉรา เพิ่ม¹ และ เสาวนิตย์ ซอบบุญ^{1*}

¹โปรแกรมวิชาชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา 90000

*Corresponding author, E-mail: chsaowanit@yahoo.com

บทคัดย่อ

พริกเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย ในขณะนี้พริกประสบปัญหาโรคแอนแทรคโนสจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ทำให้ผลผลิตพริกลดลง เกษตรกรส่วนใหญ่ควบคุมโรคโดยใช้สารเคมี ซึ่งมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและเกษตรกร ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้นำเชื้อราจากตัวอย่างมูลสัตว์กินพืช จำนวน 17 ไอโซเลต มาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ST01 ด้วยวิธี Dual culture บนอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar พบว่า เชื้อราจากมูลสัตว์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ST01 มากกว่าร้อยละ 60 มีจำนวน ทั้งสิ้น 5 ไอโซเลต คือ *Trichoderma* sp. ST10 *Trichoderma* sp. ST19 *Aspergillus* sp. ST14 *Aspergillus* sp. ST18 และ *Ceratocystis* sp. ST16 มีร้อยละการยับยั้งเท่ากับ 100.00±0.00 100.00±0.00 68.70±3.68 67.87±2.38 และ 63.70±3.60 ตามลำดับ จากผลการทดลองนี้เชื้อราจากมูลสัตว์มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ST01 ในระดับห้องปฏิบัติการ ดังนั้นมีความเป็นไปได้ว่าเชื้อราดังกล่าวอาจนำมาควบคุมโรคแอนแทรคโนสในพริกได้

ABSTRACT

Chili is one of an important economic crop of Thailand. Currently, chili is facing a problem of lower production caused by anthracnose disease from fungal pathogen, *Colletotrichum* spp. Most farmers use chemicals to control anthracnose in chili which directly affect environment and farmer's health. The objective of this study was to evaluate for their antagonistic activities of coprophilous fungi against *Colletotrichum* sp. ST01 by dual culture

technique on potato dextrose agar. Five of seventeen isolates (ST10, ST19, ST14, ST18, and ST16) showed high antagonistic activity of > 60% against *Colletotrichum* sp. ST01. The inhibition percentage of *Trichoderma* sp. TS10, *Trichoderma* sp. ST19, *Aspergillus* sp. ST14, *Apergillus* sp. ST18, and *Ceratocystis* sp. ST16 was 100.00 ± 0.00 , 100.00 ± 0.00 , 68.70 ± 3.68 , 67.87 ± 2.38 , and 63.70 ± 3.60 , respectively. Coprophilous fungi showed the potential to inhibit *Colletotrichum* sp. ST01 in laboratory level. It is possible that these fungi could be applied for controlling anthracnose disease in chili.

คำสำคัญ: เชื้อรามูลสัตว์ เชื้อราปฏิปักษ์ คอลเลโทริคัม โรคแอนแทรคโนสในพริก

Keywords: Coprophilous fungi, Antagonistic fungi, *Colletotrichum* sp., Chili Anthracnose Disease

บทนำ

พริกเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย มีคุณประโยชน์ในการปรุงแต่งรสชาติ กลิ่น และสีของอาหาร รวมทั้งใช้เป็นสมุนไพร เนื่องจากมีคุณค่าทางอาหารและยา และมีรสชาติเป็นเอกลักษณ์ไม่สามารถใช้ผลผลิตจากพืชอื่นทดแทนได้ และยังมีการใช้ในพิธีกรรมต่าง ๆ ผลผลิตที่มีส่วนประกอบของพริกมีหลากหลายชนิด ได้แก่ พริกป่น น้ำพริก น้ำจิ้มพริก ซอสพริก อาหารสำเร็จรูปบรรจุกระป๋องบางชนิด และอาหารกึ่งสำเร็จรูปที่มีพริกเป็นเครื่องปรุง นอกจากนี้ในปัจจุบันมีการสกัดสารเผ็ดที่เรียกว่า แคปไซซิน (capsaicin) ซึ่งมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา มาทำผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เพื่อใช้ประโยชน์ด้านสุขภาพ เช่น กระตุ้นการทำงานของกระเพาะอาหาร กระตุ้นการไหลเวียนของโลหิต บำรุงหัวใจ บรรเทาอาการปวดเมื่อย ฉีดพ่นรักษาอาการโรคไซนัส รวมทั้งใช้เพื่อควบคุมน้ำหนัก นอกจากนี้ยังได้นำพริกไปใช้ประโยชน์ด้านอื่น ๆ เช่น ใช้แทนแก๊สน้ำตาเพื่อปราบจลาจลและใช้เคลือบสายไฟและสายไฟเบอร์ออฟติกต่าง ๆ เพื่อป้องกันการกัดแทะของสัตว์ (กมล, 2553) ปัจจุบันจึงมีความต้องการใช้พริกทั้งการบริโภคผลสดและภาคอุตสาหกรรมการแปรรูปมากขึ้น แต่การผลิตพริกยัง

ประสบปัญหา กล่าวคือ ผลผลิตต่อพื้นที่ต่ำ ผลผลิตด้อยคุณภาพ รวมถึงปัญหาเรื่องมาตรฐานการผลิตและความปลอดภัยจากสารพิษตกค้าง ปัญหาต่าง ๆ เหล่านี้เป็นผลมาจากจุลินทรีย์ก่อโรคและแมลงซึ่งสร้างความเสียหายแก่พริก โรคที่สร้างความเสียหายต่อปริมาณและคุณภาพของพริกมีหลายสาเหตุ โดยเฉพาะโรคแอนแทรคโนสจากเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ได้แก่ *C. acutatum*, *C. capsici* และ *C. gloeosporioides* (Than et al., 2008; Pongpisutta et al., 2010) เป็นต้น ทำให้ผลผลิตลดลง ซึ่งเชื้อรากลุ่มนี้สามารถเข้าทำลายพริกได้ทุกชนิดและทุกระยะของการเจริญ (วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีศรีสะเกษ, 2558) ความรุนแรงมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของพริก หากมีเชื้อราติดมากับเมล็ดพันธุ์ เชื้อราจะเข้าทำลายต้นกล้าทำให้ต้นแห้งตาย และในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญ เชื้อราจะเข้าทำลายใบ กิ่งก้าน ลำต้น และผล ทำให้ใบร่วงเป็นจำนวนมาก และต้นพริกอาจแห้งตายได้ (ไทยเกษตร, 2556) การควบคุมโรคทำได้โดยการฉีดพ่นสารเคมี เช่น คาร์เบนดาซิม (carbendazim) แมนโคเซบ (mancozeb) เบนโนมิล (benomyl) โพรพิเนบ (propineb) ซิเนบ (zineb) และแมนโคเซบ (mancozeb) (นุชนารถ, 2554) เป็นต้น

การควบคุมโรคโดยใช้สารเคมีทำให้ผลผลิตทางการเกษตรเพิ่มขึ้นและสามารถควบคุมการกระจายของโรคได้ดี แต่การใช้สารเคมีในปริมาณมากติดต่อกันเป็นเวลานาน มีผลทำให้เชื้อสาเหตุของโรคต้านทานสารเคมีได้ (สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ, 2558) อีกทั้งก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมและก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพของเกษตรกรและผู้บริโภคได้ ดังนั้นการควบคุมโรคโดยชีววิธี (biological control) ที่มีการนำจุลินทรีย์ไปใช้ ได้แก่ แบคทีเรีย หรือเชื้อราในสิ่งแวดล้อมมาใช้ควบคุมเชื้อราสาเหตุของโรคจึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่มีผู้ให้ความสนใจเป็นอย่างมาก เพราะเป็นวิธีที่ช่วยลดสารเคมีที่เป็นอันตรายต่อเกษตรกรและผู้บริโภคได้ เช่น แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ CH6 และเชื้อรา *Trichoderma harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin01 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกใกล้เคียงกับสารเคมีคาร์เบนดาซิม เป็นต้น (นิพนธ์ และคณะ, 2558)

เชื้อรามูลสัตว์ (coprophilous fungi) เป็นเชื้อราอีกกลุ่มหนึ่งที่มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุในธรรมชาติ โดยสปอร์ของเชื้อรากลุ่มนี้มีความทนทานต่อกระบวนการย่อยอาหารในกระเพาะสัตว์ และสามารถงอกได้ใหม่เมื่อสัตว์ถ่ายมูลออกมาสู่

สิ่งแวดล้อมที่เหมาะสม และมีรายงานเชื้อรามูลสัตว์หลายชนิดสามารถสร้างสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืช เช่น *Sordaria fimicola* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pestalotiopsis guepinii*, *Colletotrichum capsici*, *Curvalaria lunata*, *Alternaria alternata* และ *Fusarium oxysporum* ได้มากกว่าร้อยละ 50 (Jeamjitt, 2007) เป็นต้น

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งของเชื้อราที่แยกได้จากมูลสัตว์กินพืชที่มีต่อเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสในพริก ในระดับห้องปฏิบัติการเพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการนำเชื้อราจากมูลสัตว์มาใช้ในการควบคุมโรคพืชทางชีววิธีต่อไป

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมเชื้อราทดสอบ

เพาะเลี้ยงเชื้อราทดสอบ ซึ่งคัดแยกมาจากมูลสัตว์เลี้ยงกินพืช 5 ชนิด คือมูลโค มูลช้าง มูลแพะ มูลม้าและมูลกระต่าย จำนวน 17 ไอโซเลต (ตารางที่ 1) บนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 3-5 วัน

ตารางที่ 1 เชื้อราทดสอบซึ่งแยกมาจากมูลสัตว์กินพืช

ไอโซเลต	แหล่งมูลสัตว์	ที่มาของมูลสัตว์
1. ST1	มูลโค	อาคารสระว่ายน้ำ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
2. ST21	มูลโค	อาคารสระว่ายน้ำ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
3. ST3	มูลโค	แปลงผักเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
4. ST18	มูลแพะ	แปลงผักเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
5. ST8	มูลโค	โรงเพาะเห็ด มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
6. ST10	มูลโค	สนามฟุตบอล มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา
7. ST19	มูลแพะ	บ้านนาปึก ต.นาทับ อ.จะนะ จ.สงขลา
8. ST22	มูลโค	บ้านนาปึก ต.นาทับ อ.จะนะ จ.สงขลา

ตารางที่ 1 เชื้อราทดสอบซึ่งแยกมาจากมูลสัตว์กินพืช (ต่อ)

	ไอโซเลต	แหล่งมูลสัตว์	ที่มาของมูลสัตว์
9.	ST24	มูลโค	บ้านนาปึก ต.นาทับ อ.จะนะ จ.สงขลา
10.	ST26	มูลโค	บ้านนาปึก ต.นาทับ อ.จะนะ จ.สงขลา
11.	ST29	มูลม้า	ร้านอาหารควบอย (หาดสมิหลา) อ.เมือง จ.สงขลา
12.	ST30	มูลม้า	ร้านอาหารควบอย (หาดสมิหลา) อ.เมือง จ.สงขลา
13.	ST14	มูลช้าง	หมู่ที่ 4 ต.โคกเจริญ อ.ทับปุด จ.พังงา
14.	ST16	มูลแพะ	หมู่ที่ 4 ต.โคกเจริญ อ.ทับปุด จ.พังงา
15.	ST27	มูลโค	หมู่ที่ 6 ต.แหลมสอม อ.ปะเหลียน จ.ตรัง
16.	ST9	มูลโค	บ้านหัวหิน ตำบลละงู อำเภอละงู จังหวัดสตูล
17.	ST13	มูลกระต่าย	หมู่ที่ 12 ต. ตาเนาะปุเต๊ะ อ.บันนังสตา จ.ยะลา

2. การแยกเชื้อรา *Colletotrichum* sp.

แยกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. สาเหตุโรคแอนแทรกโนสในพริก (ชมพูนุช, 2550) โดยการเก็บตัวอย่างพริกที่แสดงอาการของโรคมานำแยกเชื้อราด้วยวิธี tissue transplanting technique บนอาหาร potato dextrose agar บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 3-5 วัน ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราที่เจริญบนอาหารเพาะเชื้อตามวิธีของ Watanabe (2002) แยกเชื้อให้บริสุทธิ์ แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นแป้ง potato dextrose agar ในหลอด เพื่อเก็บไว้เป็น stock culture ในการทดสอบในขั้นต่อไป

3. ศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อราก่อโรค

ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราที่แยกจากมูลสัตว์กินพืชในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ด้วยวิธี Dual culture (ดัดแปลงจาก Jeamjitt, 2007) โดยเตรียมเชื้อราจากมูลสัตว์ และเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ด้วยการเพาะเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 3-5 วัน แล้วใช้ cork borer ปลอดเชื้อ (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร) เจาะบริเวณใกล้ขอบโคโลนีของเชื้อราจากมูลสัตว์และเชื้อรา *Colletotrichum* sp. นำมาวางบน potato dextrose agar โดยให้เชื้อราทั้ง

สองชนิดห่างกัน 2 เซนติเมตร (3 ซ้ำ) และเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Colletotrichum* sp. บนอาหาร potato dextrose agar เป็นเชื้อควบคุม บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 7 วัน ใช้ vernier caliper วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ในจานเพาะเชื้อร่วมกับเชื้อราจากมูลสัตว์และวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ในจานเพาะเลี้ยงควบคุม บันทึกผลการทดลอง

คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. โดยใช้สูตร $\{(Mc - Mt) / Mc\} \times 100$ (Mc หมายถึงรัศมีของโคโลนีเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ในจานเพาะเลี้ยงเชื้อชุดควบคุม และ Mt หมายถึงรัศมีของโคโลนีเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่เจริญในจานเพาะเชื้อร่วมกับเชื้อราจากมูลสัตว์ (Vincent, 1947 อ้างโดย Manmohan and Govindaiah, 2012)

จัดจำแนกเชื้อราจากมูลสัตว์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum* sp. โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อราจากมูลสัตว์บนอาหาร Potato dextrose agar บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 7 วัน ศึกษาลักษณะโคโลนีและลักษณะทางสัณฐานวิทยาและจำแนกเชื้อราจากมูลสัตว์โดย

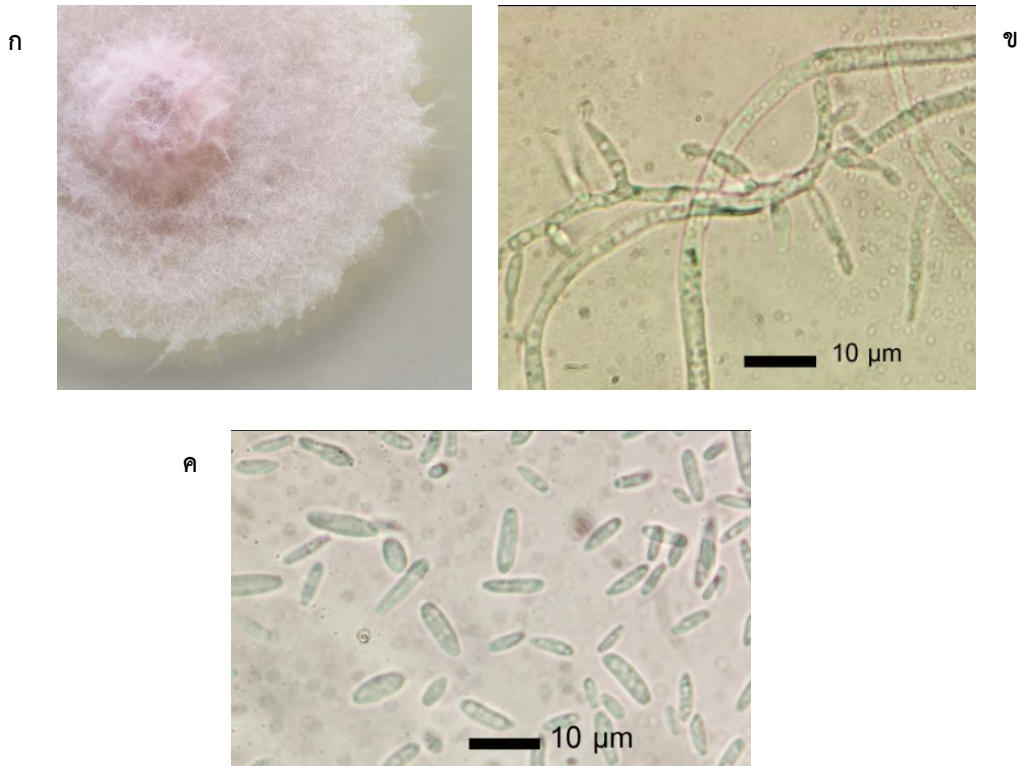
ใช้กล้องจุลทรรศน์แบบพื้นสว่าง (Barnett and Hunter, 1972)

ผลการวิจัย

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ST01 ที่แยกได้จากผลพริก มีลักษณะดังนี้คือ โคลนบนอาหาร PDA บ่มที่ อุณหภูมิห้อง นาน 7 วัน มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.60 ± 0.17 เซนติเมตร โคลนมีสีชมพู ลักษณะฟู ได้ โคลนมีสีน้ำตาลเหลือง โคนิเดีย มีรูปร่างไข่ จนถึง ทรงกระบอก ปลายมน มีขนาดเท่ากับ $2.5-3.5 \times 4.0-$

8.0 ไมโครเมตร ไฮฟาใส ไม่มีสี มีความกว้าง เท่ากับ $3.0-4.0$ ไมโครเมตร (รูปที่ 1)

การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ST01 ด้วยเชื้อราที่คัดแยกมาจากมูลสัตว์กินพืช จำนวน 17 ไอโซเลต ด้วยวิธี Dual culture พบว่าเชื้อราจากมูลสัตว์ที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งมากกว่าร้อยละ 60 จำนวน 5 ไอโซเลต คือ ST10, ST19, ST14, ST18 และ ST16 มีร้อยละการยับยั้งเท่ากับ 100.00 ± 0.00 , 100.00 ± 0.00 , 68.70 ± 3.68 , 67.87 ± 2.38 และ 63.70 ± 3.60 ตามลำดับ (ตารางที่ 2, รูปที่ 2)



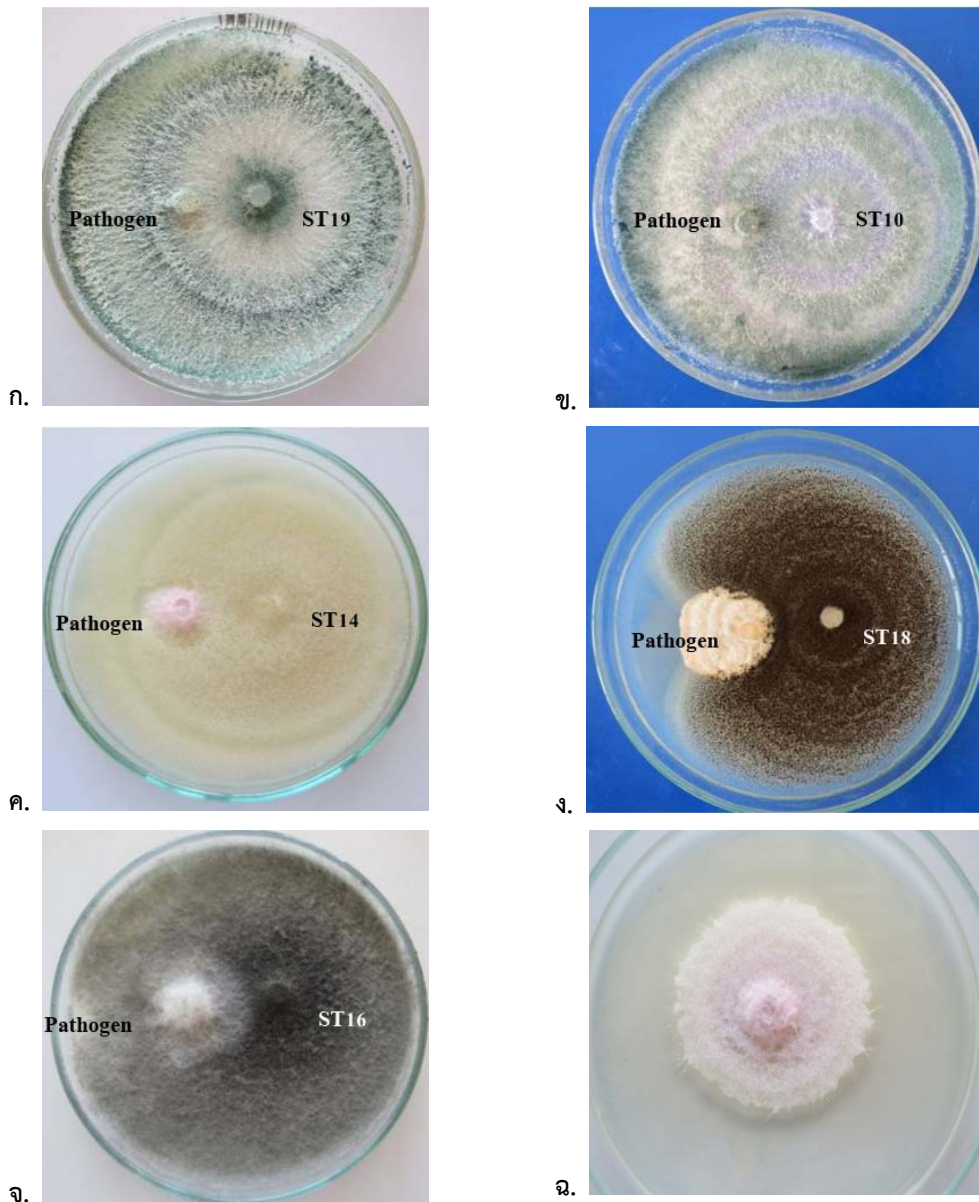
รูปที่ 1 ลักษณะโคโลนีและสัณฐานวิทยาของ *Colletotrichum* sp. ST01 เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่ อุณหภูมิห้อง นาน 7 วัน
ก. โคลนสีชมพู ลักษณะฟู ข. โคนิดีโอพอร์และไฮฟา ค. โคนิเดียรูปร่างรี-ท่อน

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพของเชื้อราจากมูลสัตว์ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ST01 ด้วยวิธี Dual culture บนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 7 วัน

ลำดับที่	ไอโซเลต	แหล่งเชื้อราจากมูลสัตว์	รัศมีของโคโลนี (มม.)	ร้อยละการยับยั้ง
1.	ST1	มูลโค	10.40±0.89	54.78±3.89
2.	ST3	มูลโค	10.00±0.71	55.65±3.64
3.	ST8	มูลโค	21.20±0.45	7.83±1.95
4.	ST9	มูลโค	12.40±0.55	46.09±2.38
5.	ST10	มูลโค	0.00±0.00	100.00±0.00
6.	ST13	มูลกระท่าย	19.00±0.63	17.39±3.08
7.	ST14	มูลช้าง	7.20±0.84	68.70±3.68
8.	ST16	มูลแพะ	8.33±0.81	63.70±3.60
9.	ST18	มูลแพะ	7.40±0.55	67.87±2.38
10.	ST19	มูลแพะ	0.00±0.00	100.00±0.00
11.	ST21	มูลโค	12.20±0.86	46.96±3.64
12.	ST22	มูลโค	10.60±0.54	53.91±2.38
13.	ST24	มูลโค	16.40±0.55	28.69±2.38
14.	ST26	มูลโค	14.80±0.84	32.92±2.55
15.	ST27	มูลโค	16.00±0.71	30.35±2.93
16.	ST29	มูลม้า	18.20±0.84	20.87±3.64
17.	ST30	มูลม้า	16.40±0.55	28.69±2.39
18.	Control	<i>Colletotrichum</i> sp. ST01 จากพริก	23.00±0.71	0.00±3.08

จากการศึกษาลักษณะโคโลนีและสัญญาณวิทยาของราจากมูลสัตว์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ST01 ทั้ง 6 ไอโซเลต บนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 7 วัน พบว่า เชื้อราไอโซเลต ST10 (มูลโค) และ ST19 (มูลแพะ) จัด

จำแนกเป็นสกุล *Trichoderma* สำหรับ ST14 (มูลช้าง) และ ST18 (มูลแพะ) จัดจำแนกเป็นสกุล *Aspergillus* ส่วนเชื้อราไอโซเลต ST16 (มูลแพะ) จัดจำแนกเป็นสกุล *Ceratocystis* ตามลำดับ (ตารางที่ 3)



รูปที่ 2 ประสิทธิภาพการยับยั้งระหว่างเชื้อราจากมูลสัตว์และเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ST01 ด้วยวิธี Dual culture บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิห้อง นาน 7 วัน

ก. ไอโซเลต ST19

ข. ไอโซเลต ST10

ค. ไอโซเลต ST14

ง. ไอโซเลต ST18

จ. ไอโซเลต ST16

ฉ. *Colletotrichum* sp. ST01

ตารางที่ 3 ลักษณะโคโลนีและขนาดของโครงสร้างเชื้อราจากมูลสัตว์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ST01 บนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 7 วัน

ไอโซเลต	ลักษณะโคโลนี	รูปร่างและขนาดของโครงสร้างเชื้อราบนอาหาร PDA (μm)					
		โคนเดี่ยว	โคนดีโอพอร์	เส้นใย	เวสิเคิล	เพียไลต์	คลาไมโดสปอร์
ST10 (<i>Trichoderma</i> sp.)	ฟู มีสีเขียวและขาว เป็นวงสลับกัน	กลม-รี	ผนังเรียบ	5.0-6.0	ไม่มี	3.0-4.0x	ไม่มี
		ผิวเรียบ	5.0-6.0x			7.0-9.0	
		3.0-4.5x	10.0-12.0				
ST14 (<i>Aspergillus</i> sp.)	ฟู สีน้ำตาล อมเหลือง ด้านใต้ โคโลนีมีสีเหลือง	กลม-รี ผิว	ผนังเรียบ	5.0-6.0	คล้าย	2.0-3.0x	ไม่มี
		ขรุขระเล็กน้อย	5.0-7.5x		กระบอก	6.0-8.0	
		2.0-2.5x	75.0-400.0		20-25		
		3.0-8.0					
ST16 (<i>Ceratocystis</i> sp.)	ฟู สีเทาดำฟู เล็กน้อย ใต้โคโลนีมีสีดำ	รูปร่างท่อน	ผนังเรียบ	4.0-5.0	ไม่มี	ไม่มี	รี ต่อเป็นสาย
		ผิวเรียบ	4.0-6.0x50-70				โซ่ ผิวเรียบ
		3.0-4.0x					3.5-4.5x
		5.0-6.0					5.0-7.0
ST18 (<i>Aspergillus</i> sp.)	ฟู สีน้ำตาลเข้ม ถึงดำ ใต้โคโลนีมีสี เหลืองอ่อน	กลม ผิวขรุขระ	ผนังเรียบ	7.0-14.0	กลม	3.0-5.0x	ไม่มี
		2.5-5.5x	5.0-11.0x		55-70	9.0-14.0	
		2.5-5.0	230.0-850.0				
ST 19 (<i>Trichoderma</i> sp.)	ฟู สีเขียวเข้มและสี ขาวเป็นวงสลับกัน	กลม-รี ผิวเรียบ	ผนังเรียบ	4.0-5.0	ไม่มี	3.0-5.0x	ไม่มี
		2.0-3.0x	3.0-4.0x			10.0-12.0	
		3.0-5.0	10.0-20.0				

วิจารณ์ผลการวิจัย

จากการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ST01 โดยใช้เชื้อราที่คัดแยกจากมูลสัตว์กินพืช พบว่าเชื้อราจากมูลสัตว์ที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ST01 มากกว่าร้อยละ 60 ทั้งสิ้นจำนวน 5 ไอโซเลต คือ *Trichoderma* sp. ST10 (มูลโค), *Trichoderma* sp. ST19 (มูลแพะ), *Aspergillus* sp. ST14 (มูลช้าง), *Aspergillus* sp. ST18 (มูลแพะ) และ *Ceratocystis* sp. ST16 (มูลแพะ) มีร้อยละการยับยั้งเท่ากับ 100.00 ± 0.00 , 100.00 ± 0.00 , 68.70 ± 3.68 , 67.87 ± 2.38 และ 63.70 ± 3.60 ตามลำดับ ซึ่ง

การศึกษาครั้งนี้เชื้อรา *Trichoderma* ทั้งสองไอโซเลตที่คัดแยกจากมูลโคและมูลแพะให้ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ST01 ได้ดีมาก ทำให้เชื้อรา *Colletotrichum* sp. ST01 ไม่สามารถเจริญได้เลย ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อราในสกุล *Trichoderma* หลายชนิดมีความสามารถควบคุมเชื้อราก่อโรคได้อย่างกว้างขวาง (Alwathnani and Perveen, 2012) ดังมีรายงานว่า เชื้อรา *Trichoderma* จำนวน 4 ชนิด คือ *T. harzianum*, *T. viride*, *T. viride* E และ *T. virens* (*Gliocladium virens*) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum capsici* โดยการศึกษาด้วยวิธี Dual culture บนอาหาร PDA ได้ (Kaur et al., 2006)

นอกจากนี้ *T. viride* และ *T. harzianum* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งราโรคพืชอีก 4 ชนิด คือ *Curvularia lunata*, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata* และ *Rhizoctonia solani* (Tapwal et al., 2015) เพราะเชื้อราในสกุลนี้มีกลไกหลายแบบ ได้แก่ ภาวะการยับยั้ง (antibiosis) การเป็นเชื้อราปรสิตกับเชื้อรา (mycoparasitism) การมีปฏิสัมพันธ์ของไฮฟา (hyphal interactions) (Schirmböck et al., 1994) และสามารถสร้างเอนไซม์ได้หลายชนิด เช่น ไคตินเนส (chitinase) บีตา-1-3 กลูคาเนส (β -1-3 glucanase) โปรตีเอส (protease) และเซลลูเลส (cellulase) (สุวิตา และคณะ, 2011) จึงสามารถย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ST01 ได้ และ นอกจากนี้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ยังสามารถควบคุมความรุนแรงของโรคพืชได้โดยการแข่งขันด้านปัจจัยการดำรงชีวิต เช่น การเข้าแย่งสารอาหาร การแย่งพื้นที่ในการเจริญโดยสร้างเส้นใยได้อย่างรวดเร็วและสร้างสปอร์ในปริมาณมาก (ชมพูนุช, 2550) จึงได้มีการประยุกต์ใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. สำหรับควบคุม *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคในพริก (Boonratkwang et al., 2007) และในการศึกษาครั้งนี้พบว่า มีเชื้อราสกุล *Aspergillus* จำนวน 2 ไอโซเลตสามารถยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ST01 คือ *Aspergillus* sp. ST14 และ *Aspergillus* ST18 มีร้อยละของการยับยั้ง เท่ากับ 68.70 ± 3.68 และ 67.87 ± 2.38 ตามลำดับ โดยโคโลนีของเชื้อรา *Aspergillus* ทั้งสองชนิดนี้ได้เจริญโอบล้อมเชื้อราก่อโรค ทำให้เชื้อราก่อโรคหยุดการเจริญ ทั้งนี้อาจเนื่องจาก *Aspergillus* ทั้งสองไอโซเลต สามารถสร้างเอนไซม์ไลติก (lytic enzyme) ย่อยทำลายผนังเซลล์ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ST01 ได้และมีการเจริญที่รวดเร็วกว่า ซึ่งได้มีรายงานว่าเชื้อราสกุล *Aspergillus*

จำนวน 4 ชนิด คือ *A. niger*, *A. flavus*, *A. sulphureus* และ *A. luchuensis* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* สาเหตุโรคเหี่ยวในมะเขือเทศได้ (Dwivedi and Enespa, 2013) และนอกจากนี้ยังมีรายงานว่าเชื้อรา *A. niger* (Pandey et al., 1993; Thakur and Harsh, 2014) *Trichoderma* spp. (Claydon et al., 1987) และ *T. harzianum* (Thakur and Harsh, 2014) สร้างสารปฏิชีวนะชนิดระเหยและแพร่กระจายได้ (diffusible volatile antibiotics) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ จึงสามารถยับยั้งการเจริญของ *C. gloeosporioides* ได้ และ *T. harzianum* ยังสร้างสารเชิงซ้อนที่ระเหย (volatile compound) กดการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *C. capsici* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคแอนแทรกโนสในพริกหยวกหรือพริกหวาน (bell peppers) (Ajith and Lakshmedevi, 2010) และในการศึกษาครั้งนี้ยังพบว่า *Ceratocystis* sp. ST16 มีร้อยละของการยับยั้งการเจริญของ *Colletotrichum* sp. ST01 เท่ากับ 63.70 ± 3.60 ซึ่งมีประสิทธิภาพดีใกล้เคียงกับเชื้อราสกุล *Aspergillus* ที่ได้ศึกษาในครั้งนี้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเชื้อรา *Ceratocystis* sp. ST16 มีความสามารถในการแข่งขันในการเข้าแย่งสารอาหารหรือการแย่งพื้นที่ในการเจริญ ดังจะเห็นได้ว่าเส้นใยมีการเจริญได้อย่างรวดเร็ว โคโลนีมีลักษณะฟู ปกคลุมโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ST01 จึงควรมีการศึกษากลไกการยับยั้งต่อไป

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการครั้งนี้พบว่า เชื้อราจากมูลสัตว์มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ST01 สาเหตุโรคแอนแทรกโนสในพริก ทั้งหมด 5 ไอโซเลต คือ สกุล *Trichoderma* sp. ST10, *Trichoderma* sp. ST19,

Aspergillus sp. ST14, *Aspergillus* sp. ST18 และ *Ceratocystis* sp. ST16 ดังนั้นจึงควรศึกษาการควบคุมโรคแอนแทรกโนสในพริกในภาคสนามเพื่อศึกษาแนวโน้มในการนำไปใช้ควบคุมโรคในพริกทางชีววิธีต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- กมล เลิศรัตน์. (2553). การผลิต การปลูก การแปรรูป และการตลาดของพริกและผลิตภัณฑ์พริกในประเทศไทย, แหล่งข้อมูล: http://www.trf.or.th/index.php?option=com_content&view=article&id=904&Itemid=161, ค้นเมื่อวันที่ 3 เมษายน 2558.
- ชมพูนุช บุญราชแขวง. (2550). อิทธิพลจากสารทุติยภูมิจากเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของพริก. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. นครปฐม: 81 หน้า.
- ไทยเกษตร (2556). โรคของพริก, แหล่งข้อมูล: <http://www.thaikasetsart.com>. ค้นเมื่อวันที่ 12 กันยายน 2558.
- นิพนธ์ ทวีชัย อุดมศักดิ์ เลิศสุชาตวนิช ไก่แก้ว สุธรรมมา และจิตรยา จารุจิตร. (2558). การจัดการโรคพืชโดยเทคโนโลยีชีวภาพ, แหล่งข้อมูล: http://www.rdi.ku.ac.th/kufair50/technology/02 techno/2_tech.html. ค้นเมื่อวันที่ 14 กันยายน 2558.
- นุชนารถ จงเลขา. (2554). โรคของพริกและการป้องกันกำจัด, แหล่งข้อมูล: <http://www.thaikasetsart.com>. ค้นเมื่อวันที่ 12 กันยายน 2558.
- วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีศรีสะเกษ. (2558). เชื้อโรคที่เป็นสาเหตุโรคพืช, แหล่งข้อมูล: <http://www.sskcat.ac.th/elearning/5.htm>. ค้นเมื่อวันที่ 12 กันยายน 2558.
- สุวิตา แสไพศาล วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์ และพัฒนา ศรีฟ้าฮุนเนอร์. (2011). การโคลนยีนไคตินเนส จากเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นความต้านทานโรคใบจุดเป่ากระสุนในมะเขือเทศ, แหล่งข้อมูล: http://resjournal.kku.ac.th/abstract/164_342.pdf. ค้นเมื่อวันที่ 1 มีนาคม 2558.
- สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. (2558). การหาสารออกฤทธิ์ต้านเชื้อโรคแอนแทรกโนสในพริกจากจุลินทรีย์, แหล่งข้อมูล: <http://www.nstda.or.th/nstda-r-and-d/17053-anthracnose>. ค้นเมื่อวันที่ 14 กันยายน 2558.
- Ajith, P.S. and Lakshmi Devi, N. (2010). Effect of volatile and non-volatile compounds from *Trichoderma* spp. against *Colletotrichum capsici* incitant of anthracnose on bell peppers. *Nature and Science*. 8(9): 265-269.
- Alwathnani, H.A. and Perveen, K. (2012). Biological control of *Fusarium* Wilt of tomato by antagonist fungi and cyanobacteria, Kingdom of Saudi Arabia. *African Journal of Biotechnology*. 11(5): 1100-1105.
- Barnett, H.L. and Hunter, B. (1972). *Illustrated Genera of Imperfect fungi*. Minnesota: Burgess Publishing Co. p. 241.
- Boonratkwang, C., Chamswang, C., Intanoo, W. and Juntharasri, V. (2007). Effect of secondary metabolites from *Trichoderma harzianum* strain Pm9 on growth inhibition of *Colletotrichum gloeosporioides* and Chili anthracnose control. In: *Proceeding of the 8th National Plant Protection Conference 20-22 November 2007*. Naresuan University, Phisanulok, Thailand. 323-336.
- Claydon, N., Allan, M., Hanson, J.R. & Avent, A.G. (1987). Antifungal alkyl pyrenes of *Trichoderma harzianum*. *Transactions of the British Mycological Society*. 88: 503-513.
- Dwivedi, S.K. & Enespa. (2013). In vitro efficacy of some fungi antagonists against *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*

- causing brinjal and tomato wilt. International Journal of Biological and Pharmaceutical Research. 4(1): 46-52.
- Jeamjitt, O. (2007). Diversity of coprophilous fungi, antagonism against plant pathogenic fungi, and secondary metabolites of *Ascodesmis macrospora* and *Sordaria fimicola*. Thesis for degree of doctor of philosophy, Kasetsart University. Bangkok: 173 pp.
- Kaur , M., Sharma, O.P. & Sharma, P.N. (2006). *In vitro* effect of *Trichoderma* species on *Colletotrichum capsici* causing fruit rot of Chili (*Capsicum annum* L.). Indian Phytopathology. 59(2): 243-245.
- Manmohan, M.S. & Govindaiah. (2012). Efficacy of botanical extracts against *Fusarium oxysporum* Schleht causing hulberry root rot-an invitro evaluation. Internal Journal of Science and Nature. 3(2): 267-271.
- Pandey, R.R., Arora, D.K. & Dubey, R.C. (1993). Antagonistic interactions between fungal pathogens and phylloplane fungi of guava. Mycopathologia. 124: 31-39.
- Pongpisutta, R., Winyarat, W., Rodkate, C. & Sangpleung, T. (2010). Morphological variation of *Colletotrichum* spp, causal agents of chilli anthracnose. Agricultural Science Journal. 41(1) (Supl.): 318-321.
- Schirmbock, M., Lorito, M., Wang, Y.L, Hayes, C.K., Arisan-Atac, I., Scala, F., Harman, G.E. & Kubicek, C.P. (1994). Parella formation and synergism of hydrolytic enzymes and peptaibol antibiotics, molecular mechanism involved in the antagonistic action of *Trichoderma harzianum* against phytopathogenic fungi. Journal of Applied and Environmental Microbiology. 60: 4364-4370.
- Tapwal, A., Thakur, G., Chandra, S. & Tyagi, A. (2015). *In-vitro* evaluation of *Trichoderma* species against seed borne pathogens. International Journal of Chemical and Biological Science Research Paper. 1(10): 2349-2724.
- Thakur, S. & Harsh, N.S.K. (2014). In vitro potential of volatile metabolites of phylloplane fungi of *Piper longum* as biocontrol agent against plant pathogen. International Journal of Science and Nature. 5(1): 33-36.
- Than, P.P., Jeewon, R., Hyde, K.D., Pongsupasamit, S., Mongkolporn, O. & Taylor, P.W.J. (2008). Characterization and pathogenicity of *Colletotrichum* species associated with anthracnose disease on Chili (*Capsicum* spp.) in Thailand. Plant Pathology. 57(3): 562-572.
- Watanabe, T. (2002). Pictorial atlas of soil and seed fungi morphologies of cultured fungi and key to species. 2nd ed. New York : CRC Press. pp. 225-229.
- Vincent, M.J. (1947). Distortion of fungal hyphae in the presence of certain inhibitors. Nature. 156: 850.

