



การต่อสู้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* ด้วยโซเดียมอัลจิเนตและประสิทธิภาพในการควบคุม
เชื้อราก่อโรคพืชบางชนิด

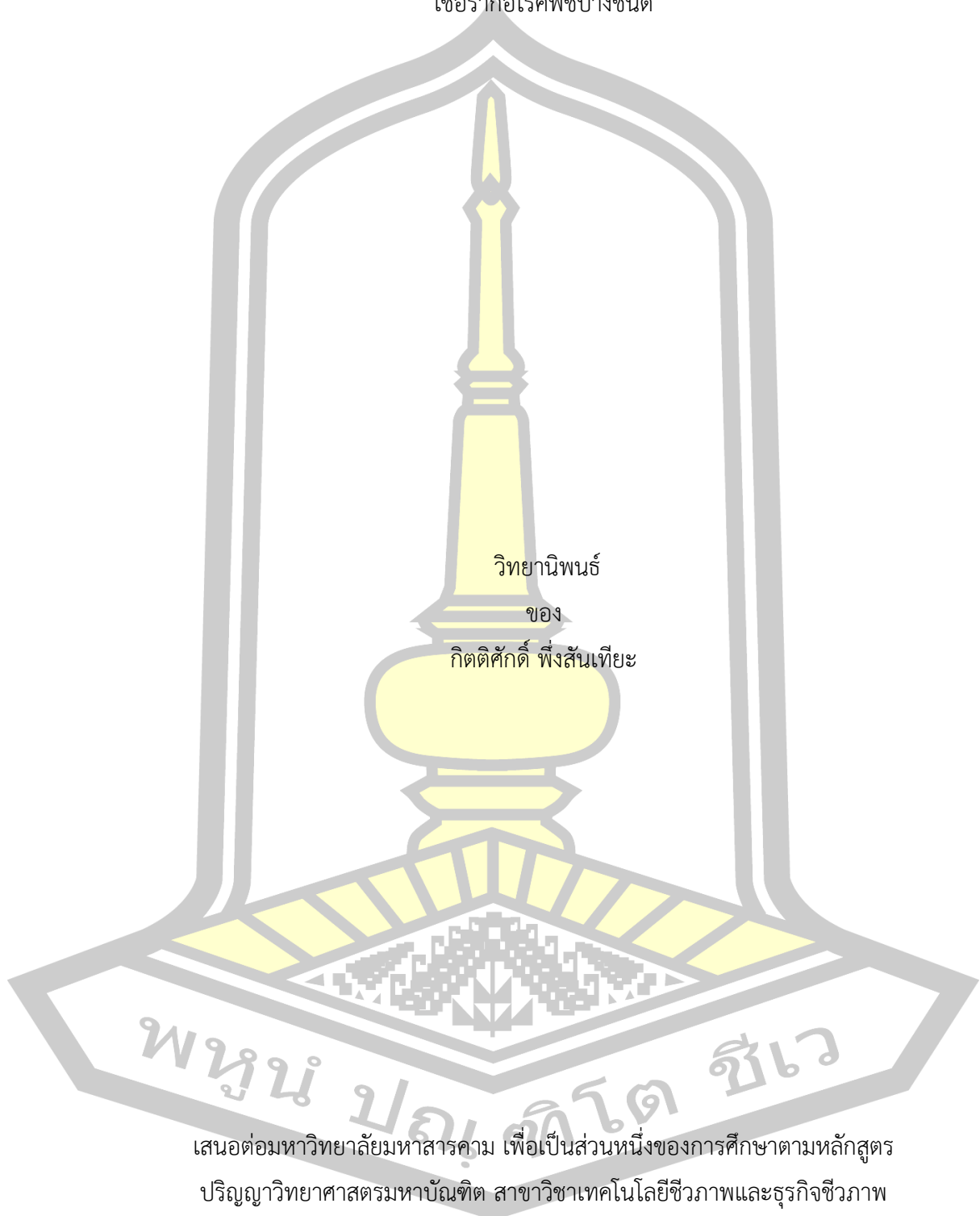
วิทยานิพนธ์
ของ
กิตติศักดิ์ พึ่งสันเทียะ

เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพและธุรกิจชีวภาพ

มิถุนายน 2568

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

การห่อหุ้มเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ด้วยโซเดียมอัลจินตและประสิทธิภาพในการควบคุม
เชื้อราก่อโรคพืชบางชนิด

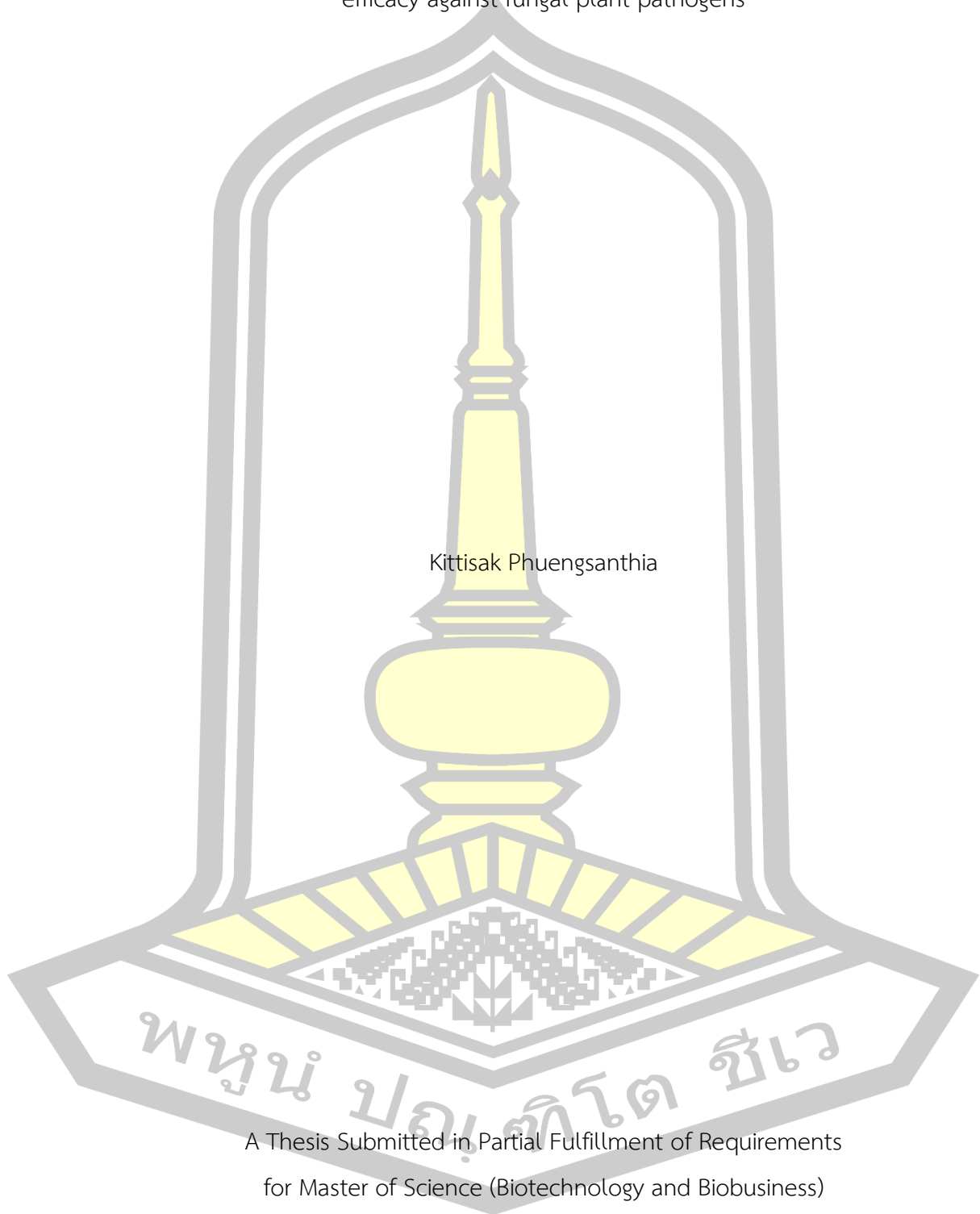


เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพและธุรกิจชีวภาพ

มิถุนายน 2568

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

Encapsulation of *Trichoderma harzianum* with sodium alginate and evaluation of efficacy against fungal plant pathogens



Kittisak Phuengsanthia

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of Requirements
for Master of Science (Biotechnology and Biobusiness)

June 2025

Copyright of Mahasarakham University



คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณาวิทยานิพนธ์ของนายกิตติศักดิ์ พึ่งสันเทียะ แล้วเห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพและธุรกิจชีวภาพ ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(รศ. ดร. เกรียงศักดิ์ บุญเที่ยง)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผศ. ดร. ประภัสสร บุขหมั่น)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผศ. ดร. ปิยรัตน์ นามเสนา)

.....กรรมการ

(รศ. ดร. วิจิตรา ทลวงอินทร์)

.....กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก

(ผศ. ดร. ปวีณา รัตน์เสนา)

มหาวิทยาลัยขอนแก่นให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพและธุรกิจชีวภาพ ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

..... (ศ. ดร. ปรีชา ประเทพา)

คณบดีคณะเทคโนโลยี

..... (ผศ. ดร. พลเดช เซาวรัตน์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อเรื่อง	การห่อหุ้มเชื้อรา <i>Trichoderma harzianum</i> ด้วยโซเดียมอัลจิเนตและประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืชบางชนิด		
ผู้วิจัย	กิตติศักดิ์ พิงสันเทียะ		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ประภัสสร บุขหมั่น ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปิยรัตน์ นามเสนา		
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพและธุรกิจชีวภาพ
มหาวิทยาลัย	มหาวิทยาลัยมหาสารคาม	ปีที่พิมพ์	2568

บทคัดย่อ

เชื้อราก่อโรคพืชเป็นปัจจัยสำคัญที่ก่อให้เกิดปัญหาในภาคการเกษตร โดยอาจส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อพืชและผลผลิตที่ลดลง งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์สปอร์ของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ที่ห่อหุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนต ในรูปแบบชีวภัณฑ์เม็ดเปียกและแห้ง โดยศึกษาลักษณะกายภาพ การรอดชีวิตของสปอร์ และประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืชภายใต้สภาวะ *in vitro* และการประยุกต์ใช้สำหรับการเพาะเมล็ดของมะเขือเทศ ชีวภัณฑ์เม็ดเปียกที่เก็บอุณหภูมิ 4 และ 28 ± 2 องศาเซลเซียส มีลักษณะกายภาพแตกต่างจาก ชีวภัณฑ์เม็ดแห้งอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีขนาดความกว้างเฉลี่ย 3.32 และ 3.23 มิลลิเมตร ความยาว 3.88 และ 3.66 มิลลิเมตร น้ำหนัก 0.0234 และ 0.0239 กรัม ค่า pH 6.80 และ 6.82 และค่าปริมาณน้ำอิสระ (a_w) 0.987 และ 0.994 ตามลำดับ ขณะที่เม็ดแห้งมีขนาดกว้างเฉลี่ย 0.94 และ 0.92 มิลลิเมตร ความยาว 1.20 และ 1.21 มิลลิเมตร น้ำหนัก 0.0015 กรัม ค่า pH 6.33 และ 6.31 และค่าปริมาณน้ำอิสระ (a_w) 0.448 และ 0.446 ตามลำดับ ชีวภัณฑ์ทั้งสองชนิดมีสีเขียวยและมีลักษณะเป็นทรงกลม ผิวเรียบ แต่เมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่า เม็ดเปียกมีพื้นผิวขรุขระเล็กน้อย ขณะที่เม็ดแห้งมีพื้นผิวที่เรียบหรือแตกและมีรูพรุน ผลการทดสอบการรอดชีวิตของสปอร์ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยที่ชีวภัณฑ์เม็ดเปียกที่เก็บ 4 และ 28 ± 2 องศาเซลเซียส มีจำนวนสปอร์เพิ่มขึ้นในช่วงการเก็บรักษา 0 ถึง 1 เดือน และค่อย ๆ ลดลง เมื่อเก็บรักษานานถึง 5 เดือน มีปริมาณการรอดชีวิตอยู่ที่ 6.56 และ 6.57 Log_{10} conidia g^{-1} ตามลำดับ ส่วนชีวภัณฑ์เม็ดแห้งที่เก็บ 4 องศาเซลเซียส มีปริมาณการรอดชีวิตลดลงเมื่อเก็บรักษาถึง 5 เดือน เหลือเพียง 1.33 Log_{10} conidia g^{-1} ขณะที่ชีวภัณฑ์เม็ดแห้งที่เก็บ 28 ± 2 องศาเซลเซียส มีการรอดชีวิตในช่วง 0 ถึง 1 เดือน เท่านั้น (6.80 และ 4.00 Log_{10} conidia g^{-1}) ผลการทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมเชื้อรา *Fusarium* sp., *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp. พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยที่ชีวภัณฑ์เม็ด

เปียกที่เก็บ 4 และ 28±2 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์การควบคุมเชื้อราทดสอบอยู่ระหว่าง 64.10 ถึง 86.86 เปอร์เซ็นต์ และ 65.38 ถึง 87.12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนชีวภัณฑ์เม็ดแห้งที่เก็บ 4 องศาเซลเซียส สามารถควบคุมเชื้อราทดสอบอยู่ระหว่าง 64.74 ถึง 83.73 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ชีวภัณฑ์เม็ดแห้งที่เก็บ 28±2 องศาเซลเซียส มีประสิทธิภาพการควบคุมเชื้อราทดสอบเฉพาะที่เก็บรักษา ระหว่าง 0 ถึง 1 เดือน เท่านั้น (66.66 ถึง 86.27 เปอร์เซ็นต์)

ผลการทดสอบการประยุกต์ใช้สำหรับการเพาะเมล็ดมะเขือเทศ พบว่าเปอร์เซ็นต์การงอก ความเร็วในการงอก เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงกว่า (93.50 ถึง 94.00 เปอร์เซ็นต์) และมีความเร็วในการงอกมากกว่า (3.35 ถึง 3.37 ต้น/วัน) เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ใช้กากล้นปลอดเชื้อ (90.50 ถึง 92.50 เปอร์เซ็นต์; 3.22 ถึง 3.32 ต้น/วัน) และมีค่าใกล้เคียงกับชุดควบคุมที่ใช้สารฆ่าเชื้อรา (94.00 ถึง 97.50 เปอร์เซ็นต์; 3.35 ถึง 3.52 ต้น/วัน) เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ต่ำกว่า (56.00 ถึง 60.00 เปอร์เซ็นต์) เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ใช้กากล้นปลอดเชื้อ (72.00 ถึง 73.00 เปอร์เซ็นต์) แต่สูงกว่าชุดควบคุมที่ใช้ สารฆ่าเชื้อรา (46.00 ถึง 58.00 เปอร์เซ็นต์) อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในด้านความยาวลำต้น ความยาวราก น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า ชีวภัณฑ์สปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ที่ห่อหุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนตชนิดเม็ดเปียกมีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุม เชื้อราก่อโรคพืช สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในระดับแปลงปลูก อีกทั้งยังสามารถต่อยอดสู่การพัฒนาชีวภัณฑ์ทางการเกษตรที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืชในเชิงพาณิชย์ ซึ่งเป็นทางเลือกหนึ่งที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกร

คำสำคัญ : การควบคุมโดยชีวภาพ, ชีวภัณฑ์, การห่อหุ้ม, *Trichoderma harzianum*, เชื้อราก่อโรคพืช

พจนัน ปณุกิตโต ชีวะ

TITLE	Encapsulation of <i>Trichoderma harzianum</i> with sodium alginate and evaluation of efficacy against fungal plant pathogens		
AUTHOR	Kittisak Phuengsanthia		
ADVISORS	Assistant Professor Prapassorn Bussaman , Ph.D. Assistant Professor Piyarat Namsena , Ph.D.		
DEGREE	Master of Science	MAJOR	Biotechnology and Biobusiness
UNIVERSITY	Maharakham University	YEAR	2025

ABSTRACT

Plant pathogenic fungi pose significant agricultural challenges, potentially as the cause of crop damage and reduced yields. This study evaluated the efficacy of *Trichoderma harzianum* spore-based bioproduct which were encapsulated in sodium alginate in both wet and dry granular forms. The study examined their characteristics, spore survival, and biocontrol effectiveness against plant pathogenic fungi under *in vitro* conditions and during the seedling stage of tomato plants. Wet granules stored at 4 and 28±2°C had significantly different characteristics from the other conditions, with an average size of 3.32 and 3.23 mm in width, 3.88 and 3.66 mm in length, weight at 0.0234 and 0.0239 g, pH at 6.80 and 6.82, and water activity (a_w) at 0.987 and 0.994, respectively. Dry granules that were store at 4 and 28±2°C were measured with average size at 0.94 and 0.92 mm in width, 1.20 and 1.21 mm in length, weight at 0.0015 g, pH at 6.33 and 6.31, and a_w at 0.448 and 0.446, respectively. Both were green and spherical, but scanning electron microscopy showed that the wet granules had a slightly rough surface, while the dry granules were wrinkled and porous. Spore survival tests showed that wet granules stored at 4°C and 28±2°C increased in spore count during the first month and then started to decline gradually, with the final survival rates of 6.56 and 6.57 Log₁₀ conidia g⁻¹ after 5 months of storage. Dry granules stored at 4°C declined to 1.33 Log₁₀ conidia g⁻¹ after five months, while those kept at 28±2°C survived only in the first month (6.80 and 4.00 Log₁₀ conidia g⁻¹).

1). Biocontrol tests against *Fusarium* sp., *Curvularia* sp., and *Alternaria* sp. showed that the wet granules stored at 4°C and 28±2°C had inhibition rates at 64.10 to 86.86% and 65.38 to 87.12%, respectively. Dry granules stored at 4°C were shown to have inhibition rates at 64.74 to 83.73%, while those kept at 28±2°C were found to be effective only in the first month (66.66-86.27%).

In tomato seedling trials, the plants treated with bioproduct were shown to have higher germination rates (93.50 to 94.00%) and faster germination speeds (3.35 to 3.37 plants/day) than the control plants which received only water (90.50 to 92.50%; 3.22 to 3.32 plants/day), and such rates were comparable to those received fungicide treatment (94.00 to 97.50%; 3.35 to 3.52 plants/day). Disease incidences in plants were found to be moderate when treating with bioproducts (56.00 to 60.00%) which were lower than the group receiving sterile water (72.00 to 73.00%) but slightly higher than that treated with fungicide (46.00 to 58.00%). There were no significant differences in stem length, root length, fresh weight, or dry weight among the treatments. Overall, this research showed that the wet granular bioproduct of *T. harzianum* encapsulated in sodium alginate was the most effective approach for controlling the plant pathogenic fungi. This formulation can be applied at the field level and has the potential to be further developed into high-efficiency agricultural bioproducts for commercial-scale fungal disease control. It represents an environmentally friendly alternative that benefits farmers.

Keyword : Biocontrol, Bioproduct, Encapsulation, *Trichoderma harzianum*, Plant pathogen

พหุ ประถมศึกษา

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วย ความกรุณาและความช่วยเหลืออย่างสูงยิ่งจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ประภัสสร บุขหมั่น อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิยรัตน์ นามเสนา อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รองศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ บุญเที่ยง ประธานกรรมการสอบ รองศาสตราจารย์ ดร.วิจิตรา หลวงอินทร์ อาจารย์บัณฑิตศึกษาประจำคณะ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา รัตนเสนา ผู้ทรงคุณวุฒิ ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ ตลอดจนช่วยเหลือแก้ไขข้อบกพร่อง ผู้วิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ หน่วยวิจัยโดยชีววิธีและเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ให้คำแนะนำและอนุเคราะห์สถานที่ อุปกรณ์ และเครื่องมือในการวิจัย

ขอขอบพระคุณ วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีร้อยเอ็ด ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ อุปกรณ์ และเครื่องมือในการวิจัย

ขอขอบพระคุณ ดร.จิรายุ สาอุตม์ อาจารย์ประจำภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏราชชนครินทร์ ที่ให้คำปรึกษาและช่วยเหลือในการทำวิจัยด้วยดีมาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณ ศูนย์เครื่องมือกลาง มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือในการวิจัย

ขอขอบพระคุณ สาขาวิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือในการวิจัย

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณครอบครัว บิดา มารดา ที่สนับสนุนทุนทรัพย์ให้โอกาสทางการศึกษา ตลอดจนอบรมสั่งสอนและเป็นกำลังใจที่สำคัญเสมอมา

พูนุ ปณุกิตโต ชีวะ กิตติศักดิ์ พึ่งสันเทียะ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ฉ
กิตติกรรมประกาศ.....	ช
สารบัญ.....	ณ
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญภาพ.....	ฉ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตการวิจัย.....	2
1.4 ทฤษฎี และสมมุติฐานของงานวิจัย.....	3
1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ.....	3
1.6 ผลที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย.....	4
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.1 เชื้อราไตรโครเดอร์มา (<i>Trichoderma</i> spp.).....	5
2.2 กลไกการควบคุมโรคพืชของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp.....	9
2.3 เชื้อราก่อโรคพืชที่ใช้ในการวิจัย.....	19
2.4 เทคโนโลยีการห่อหุ้ม (encapsulation technology).....	27
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	33
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	38
3.1 อาหาร สารเคมี วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการทำวิจัย.....	38

3.2 จุลินทรีย์ที่ใช้ในงานวิจัย.....	39
3.3 แผนการดำเนินงานวิจัย.....	40
3.4 การเตรียมจุลินทรีย์.....	40
3.5 การห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา <i>T. harzianum</i> ด้วยโซเดียมอัลจิเนต.....	41
3.6 การศึกษาลักษณะทั่วไปและประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ <i>T. harzianum</i>	42
3.7 การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ <i>T. harzianum</i> ต่อการควบคุมเชื้อรา <i>Fusarium</i> sp. <i>Curvularia</i> sp. และ <i>Alternaria</i> sp. ในระยะเพาะเมล็ดมะเขือเทศ.....	44
3.8 สถิติและการวิเคราะห์ข้อมูล.....	47
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	48
4.1 ผลการศึกษาลักษณะกายภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ <i>T. harzianum</i>	49
4.2 ผลการทดสอบการรอดชีวิตของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา <i>T. harzianum</i>	60
4.3 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา <i>T. harzianum</i> ต่อการควบคุม เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp., <i>Curvularia</i> sp. และ <i>Alternaria</i> sp.....	62
4.4 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ <i>T. harzianum</i> ต่อการควบคุม เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp., <i>Curvularia</i> sp. และ <i>Alternaria</i> sp. ในการประยุกต์ใช้สำหรับการ เพาะเมล็ดมะเขือเทศ.....	66
บทที่ 5 สรุปผล อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ.....	63
5.1 สรุปผล และอภิปรายผล.....	63
5.2 สรุปผลการทดลอง.....	69
5.3 ข้อเสนอแนะ.....	69
บรรณานุกรม.....	70
ภาคผนวก.....	82
ประวัติผู้เขียน.....	92

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 การศึกษาการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเชื้อรา <i>T. harzianum</i>	9
ตารางที่ 2 การต่อต้านเชื้อราก่อโรคพืชโดย <i>Trichoderma</i> spp.....	10
ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพของ <i>Trichoderma</i> spp. ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช	14
ตารางที่ 4 คุณสมบัติของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. ต่อการฟื้นฟูทางชีวภาพในดิน.....	16
ตารางที่ 5 ตัวอย่างวัสดุและเทคนิคต่าง ๆ ที่ใช้ในการห่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์.....	29
ตารางที่ 6 วิธีการทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ <i>T. harzianum</i> ต่อการควบคุมเชื้อรา <i>Fusarium</i> sp., <i>Curvularia</i> sp. และ <i>Alternaria</i> sp. ในการประยุกต์ใช้สำหรับการเพาะเมล็ดมะเขือเทศพันธุ์สีดา.....	46
ตารางที่ 7 ลักษณะกายภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ <i>T. harzianum</i>	58
ตารางที่ 8 การรอดชีวิตของสปอร์เชื้อรา <i>T. harzianum</i> (Log_{10} conidia g^{-1}) ในชีวภัณฑ์แต่ละสภาวะการเก็บรักษาเมื่อเก็บรักษาตั้งแต่ระยะเวลา 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 เดือน	61
ตารางที่ 9 ประสิทธิภาพการควบคุมเชื้อรา <i>Fusarium</i> sp. ของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา.....	63
ตารางที่ 10 ประสิทธิภาพการควบคุมเชื้อรา <i>Curvularia</i> sp. ของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา.....	64
ตารางที่ 11 ประสิทธิภาพการควบคุมเชื้อรา <i>Alternaria</i> sp. ของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา.....	65
ตารางที่ 12 ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ <i>T. harzianum</i> ต่อการควบคุมเชื้อรา <i>Fusarium</i> sp., <i>Curvularia</i> sp. และเชื้อรา <i>Alternaria</i> sp. ในการประยุกต์ใช้สำหรับการเพาะเมล็ดมะเขือเทศ.....	61

พจนานุกรมพืชโต ชีวะ

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพประกอบที่ 1 เชื้อรา <i>T. harzianum</i>	6
ภาพประกอบที่ 2 กลไกการควบคุมทางชีวภาพของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp.....	11
ภาพประกอบที่ 3 เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp. บนอาหาร PDA.....	20
ภาพประกอบที่ 4 สปอร์แบบไม่อาศัยเพศของเชื้อรา <i>F. oxysporum</i>	21
ภาพประกอบที่ 5 ลักษณะของโรคที่เกิดจากเชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.....	22
ภาพประกอบที่ 6 เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp. บนอาหาร PDA.....	23
ภาพประกอบที่ 7 Conidia, Conidiophores, Mycelium ของ <i>Curvularia</i> sp. กำลังขยาย 40 เท่า	24
ภาพประกอบที่ 8 เชื้อรา <i>Alternaria</i> sp. บนอาหาร PDA.....	26
ภาพประกอบที่ 9 สปอร์หลายเซลล์ของเชื้อรา <i>Alternaria</i> sp. ที่มีผนังกันตามขวางและตามยาว ..	26
ภาพประกอบที่ 10 การห่อหุ้ม (encapsulation).....	28
ภาพประกอบที่ 11 ชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ <i>T. harzianum</i>	59
ภาพประกอบที่ 12 ชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ <i>T. harzianum</i> สแกนด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แบบส่องกราด และการกระจายของสปอร์ <i>T. harzianum</i> (ลูกศรชี้) กำลังขยาย 300 เท่า (ภาพ แทรกกำลังขยาย 25 เท่า).....	60
ภาพประกอบที่ 13 การรอดชีวิตของสปอร์เชื้อรา <i>T. harzianum</i> (Log_{10} conidia g^{-1}) ในชีวภัณฑ์แต่ ละสภาวะการเก็บรักษา.....	62
ภาพประกอบที่ 14 ต้นกล้ามะเขือเทศที่ปกติและต้นกล้ามะเขือเทศที่เกิดโรคจากเชื้อรา <i>Fusarium</i> sp., <i>Curvularia</i> sp. และ <i>Alternaria</i> sp.....	62
ภาพประกอบที่ 15 การห่อหุ้มสปอร์ของเชื้อรา <i>T. harzianum</i> โดยใช้สปอร์แขวนลอยต์ของเชื้อรา ผสมกับโซเดียมอัลจิเนตหยดลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ด้วย ปั๊มดูดจ่ายของเหลวแบบรีดท่อ (peristaltic pump).....	86

ภาพประกอบที่ 16 ลักษณะชีวทัศน์หลังการห่อหุ้มสปอร์ของเชื้อรา <i>T. harzianum</i> ด้วยโซเดียม อัลจิเนต.....	86
ภาพประกอบที่ 17 ลักษณะของชีวทัศน์ชนิดเม็ดเปียก (A) และชีวทัศน์ชนิดเม็ดแห้ง (B)	87
ภาพประกอบที่ 18 ลักษณะเส้นใยของเชื้อราก่อโรคพืชที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ได้แก่ เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp. (A), <i>Curvularia</i> sp. (B) และ <i>Alternaria</i> sp. (C).....	87
ภาพประกอบที่ 19 ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา <i>T. harzianum</i> ที่เจริญจากเม็ดชีวทัศน์ชนิดเม็ดเปียก ต่อการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืช 3 ชนิด ด้วยวิธีการ dual culture.....	88
ภาพประกอบที่ 20 ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา <i>T. harzianum</i> ที่เจริญจากเม็ดชีวทัศน์ชนิดเม็ดแห้ง ต่อการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืช 3 ชนิด ด้วยวิธีการ dual culture.....	89
ภาพประกอบที่ 21 ลักษณะการงอกของเมล็ดมะเขือเทศเมื่อทดสอบเพาะเมล็ดโดยใช้ชีวทัศน์ชนิด เม็ดเปียกที่แชร์ร่วมกับสปอร์แขวนลอยของเชื้อราก่อโรคพืช 3 ชนิด.....	90
ภาพประกอบที่ 22 ลักษณะต้นกล้าของเมล็ดมะเขือเทศเมื่อทดสอบเพาะเมล็ดโดยใช้ชีวทัศน์ชนิดเม็ด เปียกที่แชร์ร่วมกับสปอร์แขวนลอยของเชื้อราก่อโรคพืช 3 ชนิด.....	91



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย

เกษตรกรโดยส่วนใหญ่นิยมใช้สารเคมีเพื่อการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืชเนื่องจากเห็นผลอย่างรวดเร็ว แต่ทว่าวิธีการนี้มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมมากมาย เช่น มลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม ผลกระทบต่อสุขภาพที่เป็นอันตรายต่อเกษตรกรและผู้บริโภค รวมถึงการเพิ่มโอกาสที่เชื้อราจะพัฒนาความต้านทานต่อสารเคมี (Mbaraga et al., 2012) ในขณะเดียวกัน การใช้สารเคมีอย่างต่อเนื่องส่งผลให้เกิดการสะสมในพื้นที่เพาะปลูก เกิดมลภาวะในดินซึ่งส่งผลกระทบต่อระบบนิเวศ นอกจากนี้ กระแสการบริโภคผลผลิตทางการเกษตรที่ปลอดภัยนั้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เพื่อลดปัญหาที่กล่าวมาข้างต้น กระบวนการควบคุมทางชีวภาพในระหว่างก่อนหรือหลังการเก็บเกี่ยวโดยใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ เช่น เชื้อรา ยีสต์ และแบคทีเรีย จึงเป็นวิธีที่ได้รับความนิยม เนื่องจากเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (Sellitto et al., 2021) การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืชเป็นอีกหนึ่งทางเลือก เนื่องจากเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรคพืชและได้รับการยอมรับอย่างแพร่หลายทั่วโลก (Asad, 2022) เชื้อรา *Trichoderma* spp. เป็นเชื้อราที่อาศัยอยู่ในดินสามารถสร้างโคนิเดีย (conidia) และเส้นใยได้จำนวนมาก เชื้อราชนิดนี้เป็นหนึ่งในเชื้อราที่เป็นปฏิปักษ์โดยมีลักษณะการเจริญเติบโตที่รวดเร็วและสามารถปรับตัวเข้ากับแหล่งที่อยู่อาศัยได้อย่างหลากหลาย (Siddiquee et al., 2009)

เชื้อรา *Trichoderma* spp. มีความเฉพาะเจาะจงกับโฮสต์ (host) และเป็นหนึ่งในสกุลของเชื้อราที่สำคัญ มีฤทธิ์เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราก่อโรคพืชหลายชนิด (Adnan et al., 2019) จากการศึกษาของ Abbas et al. (2022) รายงานว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. ถูกนำมาใช้ในการควบคุมทางชีวภาพ เนื่องจากมีกลไกในการเป็นปฏิปักษ์หลายรูปแบบ ได้แก่ การแก่งแย่งสารอาหาร การเป็นปรสิต การผลิตสารปฏิชีวนะและเอนไซม์เพื่อทำลายผนังเซลล์ของเชื้อราก่อโรคพืช (Zafra & Cortés-Espinosa, 2015) นอกจากนี้ยังส่งเสริมให้พืชเกิดความต้านทาน ซึ่งส่งผลดีต่อพืชและไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ (Zeilinger et al., 2016) เหตุนี้จึงจำเป็นต้องมีการพัฒนาความคงประสิทธิภาพและรูปแบบการใช้งานของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ให้เหมาะสม อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์จากเชื้อรา *Trichoderma* spp. เชิงพาณิชย์จำนวนมากเป็นสปอร์ชนิดเชื้อสด ซึ่งจำเป็นต้องจัดเก็บภายใต้อุณหภูมิที่ต่ำกว่า 28 องศาเซลเซียส เพื่อเก็บรักษาความคงประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ แต่การนำไปใช้งานในสภาพจริงนั้นไม่สามารถควบคุมสภาพแวดล้อมได้ (Maruyama et al., 2020) เนื่องจากมีหลายปัจจัยที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ เช่น อุณหภูมิ ความชื้น ความเป็นกรด-

ต่าง (pH) รังสีอัลตราไวโอเล็ต (ultraviolet) ปังจัยเหล่านี้ส่งผลให้เชื้อราไม่มีความเสถียรเท่าที่ควร เชื้อราที่ปลดปล่อยออกมาในบริเวณเป้าหมาย มีปริมาณน้อย หรือเกิดการสลายตัวของสารสำคัญในบริเวณเป้าหมายอย่างรวดเร็ว ทำให้ประสิทธิภาพการควบคุมเชื้อร่าก่อโรคพืชไม่เท่าที่ควร (Fraceto et al., 2018) ทั้งนี้มีรายงานผลการศึกษาวิธี การห่อหุ้มเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ด้วย โซเดียมอัลจิเนต (sodium alginate) ว่าสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมเชื้อรา *Bipolaris oryzae* ที่เป็นสาเหตุของโรคจุดสีน้ำตาลในข้าวได้ดี (Mohd Anuar et al., 2020) ดังนั้นการนำ เทคนิคการห่อหุ้ม (encapsulation) เพื่อรักษาความคงประสิทธิภาพของเชื้อราและความเหมาะสม ต่อการใช้งานอาจเป็นทางเลือกที่เหมาะสมสำหรับการพัฒนาชีวภัณฑ์เพื่อใช้ในการควบคุมเชื้อร่า ก่อโรคพืชและนำไปสู่การผลิตเชิงพาณิชย์

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการผลิตชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ของ *T. harzianum* และทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ต่อการควบคุมการเจริญของเชื้อร่าก่อโรคพืชบางชนิดทั้งใน ระดับห้องปฏิบัติการและการประยุกต์ใช้สำหรับการเพาะเมล็ดมะเขือเทศ

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อผลิตและศึกษาคุณสมบัติของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ของเชื้อรา *T. harzianum*

1.2.2 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ของเชื้อรา *T. harzianum* ต่อการ ควบคุมการเจริญของเชื้อรา *Fusarium sp.* *Curvularia sp.* และ *Alternaria sp.*

1.2.3 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ของเชื้อรา *T. harzianum* ต่อการ ควบคุมการเจริญของเชื้อรา *Fusarium sp.* *Curvularia sp.* และ *Alternaria sp.* ในการประยุกต์ใช้ สำหรับการเพาะเมล็ดมะเขือเทศ

1.3 ขอบเขตการวิจัย

การวิจัยในครั้งนี้ใช้โซเดียมอัลจิเนตเป็นวัสดุในการห่อหุ้มสปอร์ของ *T. harzianum* จากนั้นนำชีวภัณฑ์มาศึกษาลักษณะกายภาพและประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์หลังจากห่อหุ้ม โดยการ ทดสอบความเป็นกรด-ต่าง (pH) ทดสอบปริมาณน้ำอิสระ (water activity, a_w) ศึกษาพื้นผิว ภายนอกของชีวภัณฑ์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope, SEM) ทดสอบการรอดชีวิตของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ *T. harzianum* เมื่อทำการเก็บ รักษาระยะเวลาต่าง ๆ คือ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 เดือน ที่สภาวะอุณหภูมิ 4 และ 28 ± 2 องศา เซลเซียส ทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ *T. harzianum* ต่อการควบคุมเชื้อร่า *Fusarium sp.*, *Curvularia sp.* และ *Alternaria sp.* โดยวิธีการ dual culture และทดสอบ ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ *T. harzianum* ต่อการควบคุมการเจริญของเชื้อร่า

Fusarium sp., *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp. ทั้งในระดับห้องปฏิบัติการและการประยุกต์ใช้สำหรับการเพาะเมล็ดมะเขือเทศ

1.4 ทฤษฎี และสมมติฐานของงานวิจัย

ทฤษฎี : เชื้อรา *Trichoderma* spp. เป็นสิ่งมีชีวิตที่สามารถผลิตสารทุติยภูมิที่มีศักยภาพในการควบคุมการเจริญของเส้นใยและการงอกสปอร์ของเชื้อราก่อโรคพืช จากรายงานก่อนหน้านี้นี้พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. ถูกนำมาใช้ควบคุมโรคพืชและการผลิตในเชิงพาณิชย์อย่างแพร่หลายพบในรูปแบบของสารควบคุมทางชีวภาพ สารปรับสภาพดินและปุ๋ยธรรมชาติ นิยมใช้กับพืชหลายชนิดโดยวิธีการผสมกับสารละลาย ผสมดินปลูก ฉีดพ่นทางใบ และคลุกเมล็ดพันธุ์หรือแช่เมล็ดพันธุ์ก่อนปลูก

สมมติฐาน : ชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ของเชื้อรา *T. harzianum* มีผลต่อการควบคุมการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* sp., *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp. ในระดับห้องปฏิบัติการและการประยุกต์ใช้สำหรับการเพาะเมล็ดมะเขือเทศได้อย่างมีประสิทธิภาพ

1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ

1.5.1 เชื้อรา *Trichoderma harzianum* หมายถึง เชื้อราที่มีคุณสมบัติเป็นปฏิปักษ์และมีกลไกที่สำคัญสำหรับการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืช

1.5.2 โซเดียมอัลจิเนต (Sodium alginate) หมายถึง สารพอลิเมอร์ธรรมชาติที่สกัดจากสาหร่ายสีน้ำตาล ใช้เป็นวัสดุในการห่อหุ้มสปอร์ของเชื้อรา *T. harzianum* มีคุณสมบัติช่วยเพิ่มความคงตัวและยืดระยะเวลาการเก็บรักษา

1.5.3 การห่อหุ้ม (Encapsulation) หมายถึง กระบวนการห่อหุ้มสปอร์ของเชื้อรา *T. harzianum* โดยใช้สารห่อหุ้มเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพความคงตัวและยืดระยะเวลาการเก็บรักษา

1.5.4 ชีวภัณฑ์ (Bioproduct) หมายถึง ชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ของเชื้อรา *T. harzianum* ในรูปแบบเม็ดเปียกและเม็ดแห้ง มีความคงตัวจากกระบวนการห่อหุ้มสปอร์ด้วยโซเดียมอัลจิเนต

1.5.5 เชื้อก่อโรคในพืช (Plant pathogen) หมายถึง เชื้อราที่สามารถทำให้เกิดโรคในพืช เช่น *Fusarium* sp., *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp.

1.5.6 การควบคุมทางชีวภาพ (Biocontrol) หมายถึง กระบวนการใช้สิ่งมีชีวิต เช่น จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ หรือสารชีวภาพ เพื่อควบคุมโรคพืชทดแทนการใช้สารเคมี

1.6 ผลที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1.6.1 ได้ชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ของเชื้อรา *T. harzianum*

1.6.2 ทราบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ของเชื้อรา *T. harzianum* ต่อการควบคุมการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* sp., *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp. ที่ทดสอบในห้องปฏิบัติการ และการประยุกต์ใช้สำหรับการเพาะเมล็ดมะเขือเทศได้อย่างมีประสิทธิภาพ

1.6.3 ได้ต้นแบบชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ของเชื้อรา *T. harzianum* เพื่อต่อยอดผลการศึกษา และขยายผลไปสู่การผลิตในเชิงพาณิชย์ต่อไป



บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เชื้อราไตรโครเดอร์มา (*Trichoderma* spp.)

เชื้อรา *Trichoderma* spp. ถูกจำแนกและได้รับการรายงานครั้งแรกในปี ค.ศ. 1794 (Rajesh et al., 2016) สามารถจัดจำแนกอันดับอนุกรมวิธานได้ ดังนี้

Kingdom Fungi

Division Ascomycota

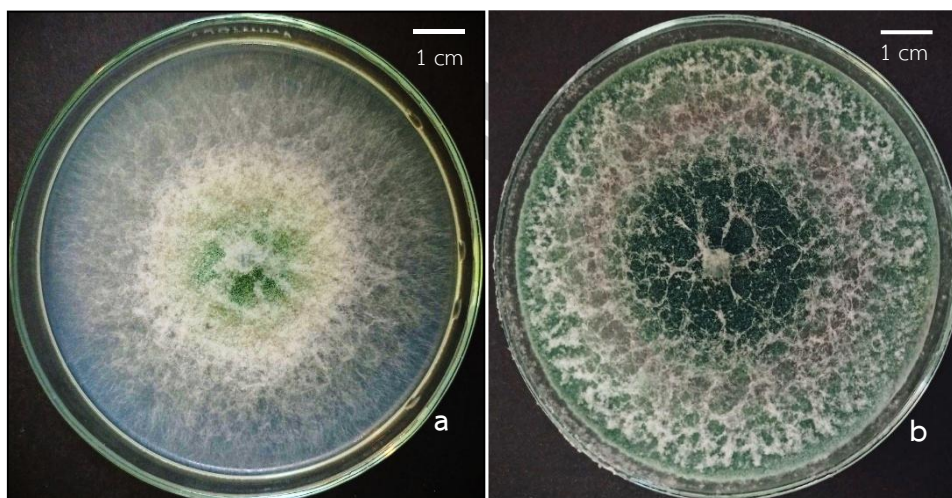
Class Sordariomycetes

Order Hypocreales

Family Hypocreaceae

Genus *Trichoderma*

เชื้อรา *Trichoderma* spp. ดำรงชีวิตอยู่ในดิน อาศัยเศษซากพืชซากสัตว์และอินทรีย์วัตถุ เป็นแหล่งอาหาร สามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้อย่างรวดเร็ว เชื้อรา *Trichoderma* spp. สามารถสร้างเส้นใยสีขาวและผลิตส่วนขยายพันธุ์ที่เรียกว่า โคนิเดีย (conidia) หรือสปอร์ (spore) จำนวนมาก เมื่อเจริญเต็มที่จะเปลี่ยนเป็นสีเขียว เชื้อรา *Trichoderma* spp. เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราก่อโรคพืชหลายชนิดโดยวิธีการเบียดเบียน หรือเป็นปรสิตและการแก่งแย่งอาหาร นอกจากนี้ยังสามารถผลิตเอนไซม์และสารปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการควบคุมทางชีวภาพ เช่น การทำลายผนังเซลล์ของเชื้อราก่อโรคและเหนี่ยวนำให้พืชเกิดความต้านทานต่อโรค (Waghunde et al., 2016) จากการศึกษาของ Sood et al. (2020) พบว่า เชื้อรา *Trichoderma* spp. มีความสามารถที่หลากหลาย โดยทั่วไปจะพบได้จากป่าหรือในดินที่ทำการเกษตร สายพันธุ์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. สามารถระบุได้จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาหรือลักษณะของโคนิเดีย (conidia) ที่มีลักษณะสีเขียว มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและแตกแขนงซ้ำ ๆ โดยทั่วไปจะใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาในการจำแนกชนิดของเชื้อรา *Trichoderma* spp. โดย Rajesh et al. (2016) ระบุว่า เชื้อราสกุล *Trichoderma* spp. มีประมาณ 10,000 สายพันธุ์ ในช่วงแรกสายพันธุ์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. มีลักษณะเป็นสีขาวคล้ายสำลี จากนั้นพัฒนาเป็นกระจุกขนาดเล็กมีสีเขียวอมเหลืองถึงเขียวเข้ม ที่อยู่ตรงกลางของกระจุกคือเชื้อที่กำลังเติบโต (ภาพประกอบที่ 1) เชื้อรา *Trichoderma* spp. มีการกระจายในดินทั่วไปเกือบทุกประเภท (Singh et al., 2014) สามารถพบบนเปลือกไม้ที่เน่าหรือบริเวณผิวรากของพืชเมื่อได้รับความเสียหายจากเชื้อราก่อโรคในพืช เชื้อราสกุลนี้สามารถย่อยอินทรีย์วัตถุและเติบโตอย่างรวดเร็ว (Tsai et al., 2008)



ภาพประกอบที่ 1 เชื้อรา *T. harzianum*

a เชื้อรา *T. harzianum* เจริญบนอาหาร PDA ระยะเวลา 3 วัน

b เชื้อรา *T. harzianum* เจริญบนอาหาร PDA ระยะเวลา 5 วัน

ที่มา : กิตติศักดิ์ พิงษ์สันเทียะ (2567)

เชื้อราสกุล *Trichoderma* spp. มีมากตั้งแต่ 3.1 ถึง 15 เปอร์เซ็นต์ ของเชื้อราทั้งหมด เนื่องจากขยายพันธุ์ได้ง่าย สภาพภูมิอากาศมีผลต่อการกระจายของเชื้อรา *Trichoderma* ตัวอย่างเช่น เชื้อรา *T. harzianum* เจริญได้ดีในสภาพอากาศอบอุ่น ในขณะที่เชื้อรา *T. viride* และ *T. polysporum* เจริญได้ดีในสภาพอากาศค่อนข้างเย็น และเชื้อรา *T. citrinoviride* มักพบในโซนเอเชียตะวันออกเฉียงใต้แต่ยังไม่พบในประเทศอินเดีย โดยทั่วไปเชื้อรา *Trichoderma* spp. จะเจริญได้ดีในดินที่มีสภาพเป็นกรด ในขณะที่เชื้อรา *T. pseudookoningi* และ *T. hamatum* เจริญได้ดีในดินที่มีความชื้นสูงกว่าเมื่อ เทียบกับเชื้อราชนิดอื่น ๆ (Ghazanfar et al., 2018)

เชื้อรา *Trichoderma* spp. เป็นเชื้อราที่สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ พบมากในดินเขตอบอุ่นและเขตร้อน มีสายพันธุ์ที่พบในดินทั้งหมด 101 ถึง 103 ชนิดต่อกรัม ซึ่งสามารถนำมาขยายหรือเพาะเชื้อได้ในห้องปฏิบัติการ อย่างไรก็ตาม มีเชื้อรา *Trichoderma* spp. หลายสายพันธุ์รวมทั้งสายพันธุ์ที่นิยมใช้ควบคุมทางชีวภาพ ส่วนใหญ่มักจะขยายพันธุ์โดยการสร้างสปอร์ กลุ่มของเชื้อราส่วนมากมีแนวโน้มที่จะกลายพันธุ์ในการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เชื้อรา *Trichoderma* spp. สามารถผลิตสปอร์ที่สมบูรณ์ และยังสามารถผลิตสารปฏิชีวนะที่มีประสิทธิภาพแม้ภายใต้สภาพแวดล้อมที่มีการแข่งขันสูง ในการแก่งแย่งสารอาหารและปัจจัยในการเจริญต่าง ๆ คุณสมบัติเหล่านี้จึงทำให้ *Trichoderma* spp. เป็นสายพันธุ์ที่โดดเด่นและแพร่หลายในระบบนิเวศ สามารถ

เจริญเติบโตได้ในทุ่งหญ้า บึง ป่า ดินเค็ม และทะเลทรายในทุกเขตภูมิอากาศ รวมถึงแอนตาร์กติก ทundra และพื้นที่เขตร้อน นอกจากนี้ยังพบในทะเลสาบ ในอากาศบริเวณใกล้เคียงกับต้นพืช และ เมล็ดพืชที่ยังมีชีวิตแทบทุกประเภท (Mukherjee et al., 2013) มีการศึกษาเกี่ยวกับการคัดแยก เชื้อรา *Trichoderma* spp. ในทะเลโดยศึกษาลักษณะและศักยภาพของเชื้อราเหล่านี้เพื่อใช้ในการ ควบคุมทางชีวภาพ และพบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ได้ดี (Gal-Hemed et al., 2011) จากการศึกษาของ Sala et al. (2021) รายงานว่าเชื้อรา *T. harzianum* สามารถสร้างโคนิเดีย (conidia) ได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อใช้กระบวนการบำบัดแบบ (sequential batch reactor: SBR) ร่วมกับกากเบียร์เป็นวัสดุหมัก ซึ่งเป็นแนวทางที่เหมาะสมสำหรับการสร้างโคนิ เดีย (conidia) ของเชื้อรา *T. harzianum* ในระดับอุตสาหกรรม นอกจากนี้ ยังมีรายงานจำนวนมาก เกี่ยวกับการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืชทั้งในประเทศไทยและ ต่างประเทศ และพบว่า เชื้อรา *T. harzianum* มีรายงานการใช้มากที่สุด (สายทอง แก้วฉาย, 2555)

คุณสมบัติของเชื้อรา *Trichoderma harzianum*

เชื้อรา *T. harzianum* มีโครงสร้างการสืบพันธุ์ 2 รูปแบบ คือการสืบพันธุ์ด้วย โคนิเดีย (conidia) และคลาไมโดสปอร์ (chlamydospore) เชื้อรา *T. harzianum* สามารถควบคุม โรคพืชได้หลายชนิด เช่น *Pythium* spp., *Phytophthora* spp., *Sclerotium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Colletotrichum* spp., *Alternaria* spp. และ *Fusarium* spp. (กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2563) ในประเทศไทยมีรายงานว่า เชื้อรา *T. harzianum* ที่เติมลงไป ในดินสามารถรอดชีวิตและเพิ่มปริมาณได้เองในสภาพธรรมชาติ โดยตรวจพบได้ในปริมาณที่สูงกว่า เชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่มีอยู่ในธรรมชาติ นอกจากนี้ ความลึกของดินมีอิทธิพลอย่างมากต่อ ความหลากหลายทางชีวภาพและการอยู่ร่วมกันของ เชื้อราในดิน อุณหภูมิ ความชื้นในดิน และชนิด ของดินเป็นปัจจัยสำคัญซึ่งมีผลต่อประสิทธิภาพของสารชีวภาพที่ผลิตขึ้น (biocontrol agents) มี รายงานว่า เชื้อรา *T. harzianum* เจริญได้ดีในสภาพแวดล้อมที่มีระดับความเป็นกรด-ด่างของดินที่ 5.5 ระดับอุณหภูมิต่ำกว่า 27 องศาเซลเซียส (กัทลีวัลย์ สุขช่วย และคณะ, 2557) ในดินที่มีความชื้น ค่อนข้างสูง จะช่วยส่งเสริมการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma* spp. มีรายงานเกี่ยวกับการใช้เชื้อรา *T. harzianum* ในการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืช ได้แก่ *F. solani* และ *F. oxysporum* ด้วยวิธีการ dual culture พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืชได้ มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการทดสอบการควบคุมเชื้อรา *F. solani* และ *F. oxysporum* ร่วมกับ มะเขือเทศในสภาพแปลงทดลอง พบว่าการใช้เชื้อรา *T. harzianum* สามารถลดความรุนแรงของโรค พืชได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อเทียบกับชุดควบคุม นอกจากนี้ยังส่งเสริมกิจกรรมการผลิตเอนไซม์เพอร์ ออกซิเดส (peroxidase) และพอลิฟีนอล ออกซิเดส (polyphenol oxidase) ส่งผลให้พืชมีความ ต้านทานต่อเชื้อราก่อโรค (Rashid et al., 2021) มีรายงานว่าเชื้อรา *T. harzianum* เป็นสารชีวภาพ

ที่ได้รับคามนิยมมากที่สุด เนื่องจากสารควบคุมเชื้อราส่วนใหญ่ที่เกษตรกรใช้ผลิตมาจากเชื้อรา *T. harzianum* ซึ่งมีคุณสมบัติเด่นในควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ด้วยกลไกการแข่งขัน สภาวะการเป็นปรสิต นอกจากนี้ยังสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช และยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช การลำเลียงแร่ธาตุที่ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ และรักษาสมดุลฮอร์โมนเพื่อการเจริญเติบโตที่เหมาะสม เชื้อรา *T. harzianum* สามารถเปลี่ยนธาตุเหล็กให้กลายเป็นรูปแบบที่ละลายน้ำได้โดยการสร้างไซเดอโรฟอรัส (siderophores) ซึ่งช่วยให้พืชดูดซึมธาตุเหล็กได้เต็มที่ นอกจากนี้เชื้อรา *T. harzianum* เป็นสารชีวภาพที่มีความหลากหลายในการใช้งานทางการเกษตร เชื้อรา *T. harzianum* สามารถเสริมศักยภาพในพืชให้ทนต่อปัจจัยชีวภาพและอนินทรีย์ที่ทำให้ผลผลิตลดลง ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช รวมถึงการป้องกันเชื้อราสาเหตุโรคพืช (Pani et al., 2021) มีรายงานว่าสารเมตาบอไลต์ (metabolite) ที่ผลิตโดยเชื้อรา *T. harzianum* มีประสิทธิภาพต่อการควบคุมเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และยังช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นมะเขือเทศ ลดความรุนแรงของโรค สารสกัดเมตาบอไลต์จากเชื้อรา *T. harzianum* จึงเป็นวิธีการควบคุมโรคพืชที่มีประสิทธิภาพ ต้นทุ่นดำ และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมสำหรับการเพาะปลูกมะเขือเทศ (Yan & Khan, 2021) จากการศึกษาของ Lian et al. (2023) รายงานว่า เชื้อรา *T. harzianum* ช่วยป้องกันการติดเชื้อเหี่ยวเน่าจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* และยังเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานทางสรีรวิทยาและชีวเคมีของต้นแตงกวา เพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ที่กระตุ้นการป้องกัน ส่งผลให้คุณภาพของต้นกล้าแตงกวาดีขึ้นเพิ่มความต้านทานต่อโรคเหี่ยวเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* และเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของแตงกวา นอกจากนี้ยังมีรายงานเกี่ยวกับการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเชื้อรา *T. harzianum* ดังตารางที่ 1



ตารางที่ 1 การศึกษาการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเชื้อรา *T. harzianum*

เชื้อรา	เชื้อก่อโรคพืช	การออกฤทธิ์	ที่มา
<i>T. harzianum</i>	<i>Pseudomonas syringae</i> Pvr. <i>phaseolicola</i>	สังเคราะห์เอนไซม์ peroxidase, (PO) and polyphenoloxidase (PPO)	Gailite (2005)
<i>T. harzianum</i> + <i>T. asperellum</i>	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i>	สังเคราะห์เอนไซม์ chitinase และ glucanase	Shoresh et al. (2010)
<i>T. harzianum</i>	<i>P. aphanidermatum</i>	สังเคราะห์เอนไซม์ phenyl ammonia lyase (PAL), PO และ PPO	Devi & Shivprakash (2013)
<i>T. harzianum</i>	<i>F. oxysporum</i>	สังเคราะห์เอนไซม์ NAGases, chitinases, glucanases และ proteases	Mondizar et al. (2011)
<i>T. harzianum</i>	<i>R. solani</i> <i>P. ultimum</i>	สังเคราะห์เอนไซม์ endopolygalacturonase ส่งผลให้ผนังเซลล์เสื่อมสภาพ	Moren-Diez et al. (2009)
<i>T. harzianum</i>	<i>S. sclerotiorum</i>	การเป็นปรสิตกับเชื้อราสาเหตุโรคพืช และยึดเกาะผนังเซลล์	Steyaert, et al. (2004)

ที่มา : ดัดแปลงจาก Singh et al. (2018)

2.2 กลไกการควบคุมโรคพืชของเชื้อรา *Trichoderma* spp.

เชื้อรา *Trichoderma* spp. ถูกนำไปใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์อย่างแพร่หลาย เช่น ผลิตเป็นสารควบคุมทางชีวภาพ สารปรับปรุงดินและปุ๋ยชีวภาพ ในกลุ่มของสารชีวภาพ เชื้อรา *Trichoderma* spp. ถูกนำมาใช้เป็นสารควบคุมทางชีวภาพมากที่สุด (Rush et al., 2021) และยังสามารถย่อยสลายพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide), สารไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon), สารประกอบคลอโรฟีนอล(chlorophenol) และสารเคมีที่ใช้กำจัดศัตรูพืชในการเพาะปลูก (Zhang & Zhang, 2009) ที่สำคัญเชื้อรา *Trichoderma* spp. สามารถควบคุมเชื้อราก่อโรคพืชได้อย่างมี

ประสิทธิภาพจากรายงานของ Zin & Badaluddin (2020) เชื้อรา *T. harzianum* สามารถผลิตสาร peptaibols ออกมาในปริมาณมากซึ่ง peptaibols เป็นเปปไทด์ (peptides) ที่ต้านจุลชีพ เนื่องจากสามารถยับยั้งกิจกรรมการสังเคราะห์ β -glucan synthase ในเชื้อราก่อโรคพืช ผลของ peptaibol ต่อ β -glucan synthase มีความเฉพาะเจาะจงและลดการรวมตัวของ glucose uridine diphosphate (UDP) ซึ่ง UDP-Glc เป็นองค์ประกอบสำหรับการสังเคราะห์โพลีแซคคาไรด์ (polysaccharides) ของผนังเซลล์ นอกจากนี้ยังมีรายงานของ Waghunde et al. (2016) ได้อธิบายว่า เชื้อรา *Trichoderma* spp. สามารถควบคุมทางชีวภาพได้หลายวิธี โดยเชื้อรา *Trichoderma* spp. สามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วหรือแก่งแย่งสารอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าเชื้อราชนิดอื่น นอกจากนี้ยังสามารถผลิตสารควบคุมทางชีวภาพโดยอาจหลั่งสารประกอบที่ชะลอหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรคในบริเวณโดยรอบ มีกลไกความเป็นปรกติกับเชื้อราก่อโรคพืช และยังสามารถช่วยส่งเสริมให้พืชผลิตสารเคมีที่ช่วยต้านทานเชื้อราก่อโรคพืช รวมทั้งสามารถเติบโตด้วยการอยู่ร่วมกับพืชและช่วยสนับสนุนการเจริญเติบโตของพืช นอกจากนี้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ยังมีความโดดเด่นในการต่อต้านเชื้อราก่อโรคพืชที่เกี่ยวข้องกับระบบราก ดังตารางที่ 2

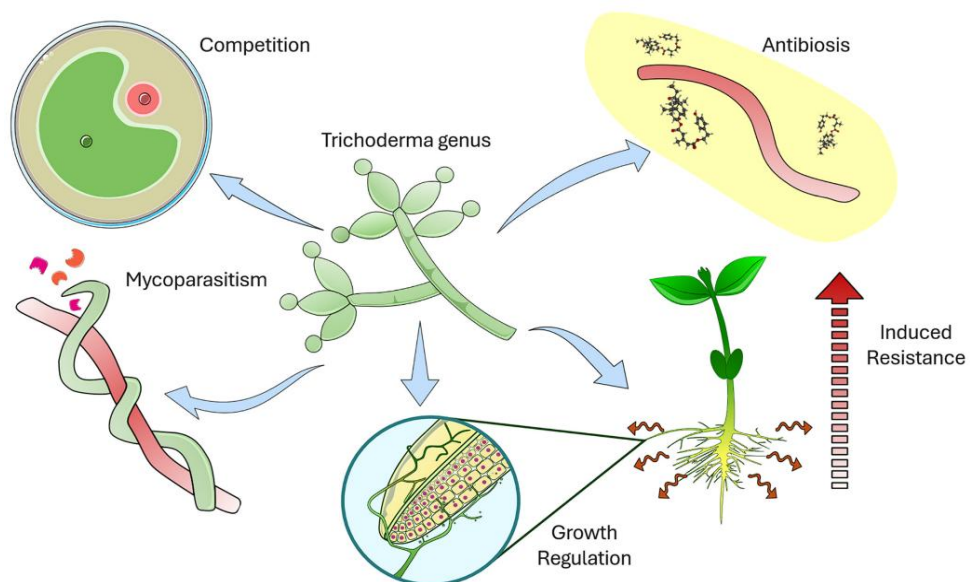
ตารางที่ 2 การต่อต้านเชื้อราก่อโรคพืชโดย *Trichoderma* spp.

ชนิดพืช	เชื้อราก่อโรคพืช	<i>Trichoderma</i> spp.	คุณสมบัติ	ที่มา
ฝ้าย	<i>R. solani</i>	<i>T. virens</i>	กระตุ้นให้เกิดไฟโตเอเล็กซินเทอร์พินอยด์ ที่เป็นพืชต่อเชื้อก่อโรค	Kumar et al. (2009)
พริกไทย	<i>P. capsici</i>	<i>T. harzianum</i>	ผลิตสาร phytoalexins capsidiol ที่เป็นพืชต่อเชื้อก่อโรค	Ahamed & Vermette (2009)
มะเขือเทศ	<i>P. syringe</i>	<i>T. virens</i>	กระตุ้นการหลั่งโปรตีนที่ทำให้เกิดการยับยั้งเชื้อก่อโรค	Salas-Marina et al. (2015)
แตงกวา	<i>P. syringe</i>	<i>T. asperellum</i>	ปรับเปลี่ยนการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการส่งสัญญาณ (jasmonic acid/ethylene)	Shoresh et al. (2005)

ที่มา : ดัดแปลงจาก Ghazanfar et al. (2018)

2.2.1 กลไกการยับยั้งของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ต่อเชื้อราก่อโรคพืช

เชื้อรา *Trichoderma* spp. เป็นเชื้อราที่มีศักยภาพสูงในการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืชหลายชนิด อีกทั้งยังช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชผ่านการพัฒนาระบบราก การดูดซึมธาตุอาหารการเพิ่มประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสง และสามารถผลิตสารชีวเคมีที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ เชื้อรา *Trichoderma* spp. มีกลไกที่สำคัญ ได้แก่ การแข่งขัน สภาวะการยับยั้ง การเป็นปรสิต และการกระตุ้นให้พืชเกิดความต้านทานต่อโรค (ภาพประกอบที่ 2) (Vindas-Reyes et al., 2024)



ภาพประกอบที่ 2 กลไกการควบคุมทางชีวภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp.

ที่มา : Vindas-Reyes et al. (2024)

2.2.1.1 การแข่งขัน (competition)

เชื้อรา *Trichoderma* spp. สามารถเจริญได้รวดเร็ว จึงสามารถแข่งขันกับ เชื้อราชนิดอื่นในด้านการเข้าครอบครองพื้นที่ และการแย่งสารอาหารจากเชื้อราก่อโรคในพืช โดยการแก่งแย่งแข่งขันในการดูดซับสารอาหารพวกสารอินทรีย์ต่าง ๆ เชื้อรา *Trichoderma* spp. สามารถนำไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพสำหรับการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืช เนื่องจากสามารถผลิตสารยับยั้ง

การเจริญเติบโตของเชื้อราอื่น ๆ ดังนั้นเชื้อรา *Trichoderma* spp. จึงถูกนำมาประยุกต์ใช้เพื่อให้เกิดการแข่งขันสำหรับการควบคุมทางชีวภาพ เช่น การควบคุมเชื้อรา *Botrytis cinerea* ที่เป็นเชื้อสาเหตุของโรคเน่าของไม้ดอกและไม้ผลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจหลายชนิด ซึ่งทำให้เกิดการสูญเสียทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวในหลายประเทศทั่วโลก จากรายงานนี้ชี้ให้เห็นว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. มีประสิทธิภาพในการดูดซึมและรับธาตุอาหารในดินมากกว่าเมื่อเทียบกับเชื้อราและสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ มีรายงานก่อนหน้านี้พบว่า เชื้อรา *Trichoderma* spp. สามารถควบคุม *Ceratocystis paradoxa* ที่ก่อโรคในอ้อยและสับปะรด (Rajesh et al., 2016) นอกจากนี้ยังพบการผลิต siderophores ที่มีประสิทธิภาพสูงในการจับกับโมเลกุลของธาตุเหล็ก และทำให้ดินบริเวณแหล่งที่อยู่อาศัยมีสภาพเป็นกรด ด้วยเหตุนี้จึงยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราชนิดอื่น และเข้าครอบครองพื้นที่อย่างรวดเร็ว กลไกการแข่งขันนี้ได้รับการพิสูจน์แล้วว่ามีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการควบคุมทางชีวภาพ (Benítez et al., 2004)

2.2.1.2 สภาวะการยับยั้ง (antibiosis)

เชื้อรา *Trichoderma* spp. มีการเจริญของเส้นใยอย่างรวดเร็ว สามารถดูดซับสารอินทรีย์มาใช้เป็นอาหารในการเจริญ ขยายพันธุ์ สร้างและปลดปล่อยสารพิษ หรือสารปฏิชีวนะออกมาภายนอกเซลล์ ซึ่งสารดังกล่าวจะมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคพืชที่อยู่ในบริเวณนั้น ๆ มีรายงานว่า เชื้อรา *T. virens* สามารถผลิตสารกลีโอวิริน (gliovirin) ที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. ultimum* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Howell, 1998) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า เชื้อรา *Trichoderma* spp. สามารถผลิตสารเมตาโบไลต์ ได้แก่ กรดฮาร์เซียนิก (harzianic acid), อะลามเมทิซิน (alamethicin), ไตรโคลิน (tricholin), เปปไทโบล (peptaibols), สารปฏิชีวนะ (antibiotic), 6-penthy- α -pyrone, แมสซี แลคโตน (massoilactone), วิริดิน (viridin), กลีโอวิริน (gliovirin), กลีโซพรีนิน (glisoprenin) และกรดเฮปเทลิติก (heptelidic acid) ซึ่งมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืช (Benítez et al., 2004)

2.2.1.3 การเป็นปรสิต (mycoparasitism)

การเป็นปรสิตเป็นหนึ่งในกลไกการควบคุมทางชีวภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จะเห็นได้อย่างชัดเจนจากการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่อาศัยความเป็นปรสิตโดยการหลั่งเอนไซม์ออกมาเพื่อสลายผนังเซลล์ก่อนที่จะใช้เส้นใยแทรกซึมเข้าไปภายในเส้นใยของโฮสต์ และทำลายโฮสต์ในที่สุด (Rajesh et al., 2016) โดยเอนไซม์สลายผนังเซลล์ที่หลั่งโดยเชื้อรา *Trichoderma* spp. ส่วนใหญ่เป็นเอนไซม์ไคตินเนส (chitinases), กลูคาเนส (glucanases) และโปรตีเอส (proteases) เชื้อรา *Trichoderma* spp. เมื่อทำการรุกรานจะเกิดการหดตัวของเส้นใยแล้วแทรกซึมเข้าไปยังเส้นใยของโฮสต์ การย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อราเป้าหมายโดยเอนไซม์ที่

ผลิตขึ้นเหล่านี้ ส่งผลดีต่อการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช ขณะเดียวกันนอกจากจะใช้เส้นใยแทรกซึมเข้าทำลายแล้ว เชื้อรา *Trichoderma* spp. ยังสามารถเจริญเติบโตเพื่อครอบครองพื้นที่อีกด้วย (Daguette et al., 2014)

2.2.1.4 การเหนี่ยวนำให้พืชเกิดความต้านทาน (induced resistance)

การเหนี่ยวนำให้เกิดความต้านทานอย่างเป็นระบบของพืช (systemic acquired resistance : SAR) โดยเกิดจากเชื้อรา *Trichoderma* spp. ผลิตโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมโรคพืช (pathogenesis-related : PR) ส่งผลให้พืชมีการสังเคราะห์กรดซาลิไซลิก (salicylic acid : SA), กรดแจสโมนิก (jasmonic acid : JA) และเอทิลีน (ethylene : ET) สารเหล่านี้จะถูกลำเลียงไปยังส่วนต่าง ๆ ของพืช เหนี่ยวนำให้เกิดความต้านทานต่อเชื้อราก่อโรคพืชและลดความรุนแรงของโรคที่เกิดกับพืช (Ghazanfar et al., 2018)

2.2.2 บทบาทของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ต่อการเจริญเติบโตของพืช

เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไม่เพียงแต่ควบคุมเชื้อราก่อโรคพืชเท่านั้น แต่ยังช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและช่วยให้รากแข็งแรงและกระตุ้นกลไกการปกป้องพืช เชื้อรา *Trichoderma* spp. บางสายพันธุ์ได้รับการพิสูจน์ว่าสามารถเจาะเข้าไปในผิวหนังชั้นนอกและสร้างพื้นผิวรากที่แข็งแรงและคงอยู่ได้นาน เชื้อรา *Trichoderma* spp. ถูกนำไปทดลองกับข้าวโพด หลังการทดสอบ เป็นเวลาหลายเดือนพบว่า รากพืชมีความยาวประมาณเป็นสองเท่าเมื่อเทียบกับพืชที่ไม่ได้รับเชื้อรา ซึ่งเชื้อรา *Trichoderma* spp. ยังผลิตกรดกลูโคนิก (gluconic acid) และกรดซิตริก (citric acid) เพื่อปรับความเป็นกรด-ด่าง ของดิน และเพิ่มการละลายของฟอสเฟต ธาตุอาหารรอง และส่วนประกอบแร่ธาตุ เช่น เหล็ก แมกนีเซียม และแมงกานีส (Ghazanfar et al., 2018) จากการรายงานของ Zin & Badaluddin (2020) ได้อธิบายเกี่ยวกับเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช โดยมีความสามารถในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช จากรายงานวิจัยส่วนใหญ่ที่ศึกษาเกี่ยวกับการใช้ เชื้อรา *Trichoderma* spp. พบว่าสามารถส่งเสริมความแข็งแรงของพืชได้ โดยการสร้างสภาพแวดล้อมที่เอื้ออำนวยและการผลิตสารทุติยภูมิจำนวนมาก (ตารางที่ 3) นอกจากนี้ยังมีปัจจัยมากมายใน การเจริญเติบโตของพืช ตัวอย่างเช่น อุณหภูมิ ความเข้มของแสง ปริมาณสารอาหารและแหล่งที่อยู่ของจุลินทรีย์และ rhizosphere บริเวณพื้นที่เฉพาะของดินที่อยู่รอบ ๆ รากพืชที่มีความเข้มข้นของสารอาหารซึ่งเป็นผลจากการสังเคราะห์แสงที่ปล่อยสารดังกล่าวออกมาจากรากในปริมาณมาก (Yuan et al., 2016) ซึ่งจำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของพืช

ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพของ *Trichoderma* spp. ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

เชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp.	ประสิทธิภาพของเชื้อรา	ชนิดพืช	ที่มา
<i>T. harzianum</i> N47	- เพิ่มจำนวนรากและความยาวราก	ถั่ว (<i>Pisum sativum</i>)	Naseby et al. (2000)
<i>T. harzianum</i>	- เพิ่มจำนวนรากและความยาวราก	แตงกวา (<i>Cucumis sativus</i>)	Yedidia et al. (2001)
<i>T. harzianum</i> strain M10	- เพิ่มการงอกของเมล็ดและช่วยในการเจริญเติบโตของต้นกล้า ผลิตกรด harzianic	มะเขือเทศ (<i>Solanum lycopersicum</i>)	Vinale et al. (2013)
<i>T. harzianum</i> strain SQR-T037	- รากมีความแข็งแรง เพิ่มความยาวของราก และส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้ามะเขือเทศ	มะเขือเทศ (<i>Solanum lycopersicum</i>)	Cai et al. (2013)
<i>T. virens</i>	- ผลิตสาร harzianolide		
<i>T. virens</i>	- ผลิตสารประกอบที่เกี่ยวข้องกับออกซิน indole-3-acetic acid, indole-3-acetaldehyde และ indole-3-ethanol	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Contreras-Cornejo et al. (2009)
<i>T. atroviride</i>	- ผลิต 6-pentyl-2H-pyran-2-one (6-PP) ซึ่งส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและกระตุ้นการสร้างรากด้านข้าง	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Garnica-Vergara et al. (2016)
<i>T. virens</i> และ <i>T. atroviride</i>	- ผลิตกรดแอบไซซิก (ABA)	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Contreras-Cornejo et al. (2015a, 2015b)

ที่มา : ดัดแปลงจาก Zin & Badaluddin. (2020)

2.2.2.1 ความสามารถในการย่อยทางชีวภาพของ *Trichoderma* spp.

เชื้อรา *Trichoderma* spp. ช่วยในการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุให้เป็นอนุภาคขนาดเล็กที่สิ่งมีชีวิตอื่นสามารถนำไปใช้ได้ เพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดินและคุณสมบัติอื่น ๆ ของดิน เช่น โครงสร้างพื้นผิว ความร่วนของดิน ความชื้นของดิน เป็นต้น เชื้อรา *Trichoderma* spp. ยังสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมที่หลากหลาย และทนทานต่อสารพิษต่าง ๆ ซึ่งช่วยในการควบคุมเชื้อโรคในดินและส่งเสริมสุขภาพของดิน (Asghar et al., 2024) ทำให้ดินมีเสถียรภาพและป้องกันผลกระทบของปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมที่มีต่อพืช (Plett & Martin, 2011)

2.2.2.2 เทคโนโลยีการฟื้นฟูทางชีวภาพ

มีรายงานว่า เชื้อรา *Trichoderma* spp. สามารถย่อยสลาย polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) นอกจากนี้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ยังมีศักยภาพในการย่อยสลายสารสังเคราะห์หลายชนิด ได้แก่ dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT), pentachlorophenol และ endosulfan จากรายงานของ Rajesh et al. (2016) พบว่าเอนไซม์ hydrolyses, peroxidase, lactases และเอนไซม์ชนิดอื่น ๆ ที่ผลิตโดยเชื้อรา *Trichoderma* spp. เป็นปัจจัยที่ช่วยในการย่อยสลายของสารปนเปื้อนเหล่านี้ ดังนั้นการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. จะทำให้ดินและสิ่งแวดล้อมมีคุณภาพดีขึ้น นอกจากนี้ยังจะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชอย่างยั่งยืนด้วย เชื้อรา *Trichoderma* spp. สามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วเนื่องจากความสามารถในการต้านทานต่อสารประกอบที่เป็นพิษหลายชนิด เช่น สารกำจัดเชื้อรา สารกำจัดวัชพืช ยาฆ่าแมลง และสารประกอบฟีนอลิก (phenolic) นอกจากนี้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ยังมีบทบาทสำคัญในการปรับสภาพทางชีวภาพของดินที่ปนเปื้อนด้วยยาฆ่าแมลง และมีความสามารถในการย่อยสลายยาฆ่าแมลงได้หลายประเภท เช่น organochlorines, organophosphates และ carbamates และมีรายงานว่าระบบการขนส่งโปรตีนในเชื้อรา *Trichoderma* spp. อาจจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับกลไกการต้านทานต่อสารประกอบที่เป็นพิษด้วย (Harman et al., 2004b) นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. เพื่อย่อยสลายสารพิษหลายชนิดในดิน (Rai et al., 2020) ดังตารางที่ 4

พูน ปณ ทิโต ชีเว

ตารางที่ 4 คุณสมบัติของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ต่อการฟื้นฟูทางชีวภาพในดิน

เชื้อรา	สารเคมีทางการเกษตร	ที่มา
<i>T. atroviridae</i>	organophosphate	Tang et al. (2020)
<i>T. harzianum</i>	ดินที่ปนเปื้อนโลหะ	Adams et al. (2007)
<i>Trichoderma</i> spp.	ไซยาไนด์ (cyanide)	Kredics et al. (2004)
<i>Trichoderma</i> spp.	มลพิษในดินและน้ำ	Hatvani et al. (2006)
<i>Trichoderma</i> spp.	- โลหะหนัก, สารประกอบ organometallic - น้ำทิ้งจากโรงพอกหนัง - ไซยาไนด์ (cyanide)	Harman et al. (2004)
<i>T. harzianum</i>	- ดีดีที (DDT), ดีลด์ริน (dieldrin) - เอนโดซัลแฟน (endosulfan) - เพนตา-คลอโร-ไนโตรเบนซีน (penta-chloro-nitro-benzene) - เพนตา-คลอโร-ฟีนอล (penta-chloro-phenol)	Katayama et al. (1993)
<i>T. harzianum</i>	- คลอร์ไพริฟอส (chlorpyrifos) - โฟโตฟิลด์ริน (photodieldrin)	Tabet et al. (1976)

ที่มา : ดัดแปลงจาก Rai et al. (2020)

2.2.3 การประยุกต์ใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ด้านการเกษตร

สารชีวภัณฑ์ควบคุมโรคพืชที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. กำลังเป็นที่นิยมในท้องตลาด โดยปัจจุบันในประเทศต่าง ๆ มีการผลิตสารชีวภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของเชื้อรา *Trichoderma* spp. มากกว่า 50 ชนิด และจำหน่ายให้กับเกษตรกรเพื่อใช้ในการเกษตรและเพิ่มผลผลิตให้มีคุณภาพมากยิ่งขึ้น ปัจจุบันผลิตภัณฑ์ที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. พบโดยทั่วไปมีส่วนผสมของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบการใช้สารชีวภัณฑ์จากเชื้อรา *T. harzianum* เป็นสารออกฤทธิ์ในกลุ่มปุ๋ยชีวภาพซึ่งปัจจุบันมีจำหน่ายทั่วไป ซึ่งสารชีวภัณฑ์ดังกล่าวเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพสูง ทั้งนี้กลไกที่เชื้อรา *Trichoderma* spp. ใช้ในการต่อต้านเชื้อราก่อโรค คือ การสร้างสารปฏิชีวนะและการแข่งขันจากการเจริญที่รวดเร็วและอื่น ๆ การประยุกต์ใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. สายพันธุ์ต่าง ๆ ในการผลิตสารควบคุมทางชีวภาพคือ ทางเลือกสำหรับใช้ในการเกษตรเพื่อควบคุมเชื้อราก่อโรคพืชในวงกว้าง (Rajesh et al., 2016)

เชื้อรา *Trichoderma* spp. ถูกผลิตเป็นสารควบคุมทางชีวภาพทางการค้ามากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อราปฏิปักษ์ชนิดอื่น (Rush et al., 2021) ส่งผลให้ได้รับความสนใจและมีความต้องการเชื้อรา *Trichoderma* spp. จะเพิ่มขึ้น กอปรกับมีกฎหมายที่เข้มงวดในการใช้สารเคมีเพื่อการเกษตรมากขึ้น ความพยายามในการวิจัยและพัฒนาในช่วงหลายทศวรรษที่ผ่านมาจึงมักจะเกี่ยวกับการพัฒนาชีวภัณฑ์ และศึกษาแนวทางการยืดอายุการเก็บรักษาที่นำไปสู่การใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลายในปัจจุบัน (Prasad et al., 2022) มีรายงานการทดสอบผลิตเชื้อรา *Trichoderma* spp. สูตรต่าง ๆ ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคจากดินเพื่อเพาะปลูกพืชในโรงเรือน ซึ่งใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวนมาก จึงจำเป็นต้องเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารที่มีต้นทุนต่ำและมีคุณสมบัติเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา อย่างไรก็ตามวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อราและการควบคุมประสิทธิภาพของเชื้อราเป็นหนึ่งในอุปสรรคที่สำคัญที่สุด เนื่องจากเชื้อราเป็นสิ่งมีชีวิตมีอายุการเก็บรักษาสั้น จึงอาจจะส่งผลต่อประสิทธิภาพในการใช้งาน แม้ว่าการผลิตเชื้อรา *Trichoderma* spp. สามารถทำได้ด้วยวิธีการที่หลากหลาย ซึ่งวิธีการที่นิยมคือการใช้เชื้อราบนวัสดุของแข็ง เช่น ฟางข้าว สาเล่ เมล็ดข้าวฟ่าง รำข้าวสาเล่ เปลือกของกาแฟรำข้าวสาเล่ และไคโอะตอมไมท์ผสมกากน้ำตาล และยังมีการผลิตในรูปแบบน้ำ ซึ่งเป็นการผลิตในรูปแบบเซลล์แขวนลอย สปอร์ถูกกระจายในน้ำ น้ำมันชีวภาพ หรือแร่ธาตุ ซึ่งทำให้มีน้ำหนักรวมและไม่เหมาะสำหรับการขนส่ง ส่งผลให้ความมีชีวิตของสปอร์และความคงตัวต่ำ นอกจากนี้ยังนิยมผลิตสารชีวภัณฑ์จากเชื้อรา *Trichoderma* spp. เพื่อควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชโดยใช้ผงแห้งเป็นสารตัวเติมในการผลิตทั่วโลก (Rajesh et al., 2016)

2.2.4 สูตรสำหรับการประยุกต์ใช้ควบคุมทางชีวภาพ

การพัฒนาสูตรที่เหมาะสมเป็นปัจจัยสำคัญในการเพิ่มประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมทางชีวภาพ สูตรที่ใช้ต้องสามารถรักษาความมีชีวิตของสปอร์ได้ติดทนต่อสภาวะแวดล้อม และสามารถนำไปใช้ได้ง่าย ทั้งนี้การเลือกสูตรที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับลักษณะของการนำไปใช้สภาพพื้นที่เพาะปลูก ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่ช่วยให้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพสามารถทำงานได้อย่างเต็มประสิทธิภาพ (Martinez et al., 2023)

2.2.4.1 สูตรแห้ง

สูตรการผลิตแบบแห้ง เป็นหนึ่งในสูตรที่ได้รับความนิยมมากที่สุดในการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเชื้อรา *Trichoderma* spp. เนื่องจากมีความสะดวกในการผลิตและใช้งาน ข้อได้เปรียบของสูตรแห้งคือความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนที่ต่ำกว่าสูตรเหลว เพราะความชื้นที่ต่ำช่วยลดโอกาสการเติบโตของจุลินทรีย์อื่น ๆ ที่อาจปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในรูปแบบสูตรแห้งมีเสถียรภาพสูงและสามารถจัดเก็บได้นานขึ้น โดยทั่วไป สูตรแห้งจะใช้แร่ธาตุเป็นสารพาหะ เนื่องจากแร่ธาตุมีคุณสมบัติในการกักเก็บน้ำสูง ซึ่งช่วยรักษาความสามารถในการมีชีวิตของสปอร์

เชื้อรา *Trichoderma* spp. ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ข้อดีของสูตรแห้งที่ใช้แร่ธาตุเป็นพื้นฐาน ได้แก่ ความง่ายในการผลิต อีกทั้งมีต้นทุนต่ำ และช่วยลดค่าใช้จ่ายของผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปเมื่อเทียบกับสูตรอื่น ๆ อย่างไรก็ตามสูตรแห้งก็มีข้อจำกัด ด้านอายุการเก็บรักษาที่สั้นลง เนื่องจากสปอร์อาจสูญเสียความสามารถในการมีชีวิตระหว่างกระบวนการผลิต นอกจากนี้ฝุ่นละอองที่เกิดขึ้นระหว่างการบรรจุ และใช้งานอาจฟุ้งกระจายในอากาศ ทำให้เกิดการแพร่กระจายของอนุภาคแร่ธาตุและสปอร์ ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อระบบทางเดินหายใจของผู้ใช้งานและก่อให้เกิดปัญหาสุขภาพ แม้ว่าสูตรแห้งจะมีข้อจำกัด แต่มีข้อดีในด้านความสะดวกในการผลิต ต้นทุนต่ำ และประสิทธิภาพที่เป็นที่ยอมรับ ทำให้สูตรแห้งยังคงได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายในตลาดเชิงพาณิชย์ สูตรแห้งที่ใช้กันอย่างแพร่หลายสำหรับผลิตภัณฑ์ที่มีเชื้อรา *Trichoderma* spp. ได้แก่ สูตรที่ใช้เวอร์มิคูไลต์ (vermiculite) หรือไบโอชาร์ (biochar) เป็นสารพาหะ ซึ่งช่วยเพิ่มความคงตัวของสปอร์และทำให้ผลิตภัณฑ์มีประสิทธิภาพมากขึ้นในการใช้งาน (Martinez et al., 2023)

2.2.4.2 สูตรของเหลวและเจล

สูตรของเหลวและเจลเป็นสูตรที่ถูกนำมาใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เชื้อรา *Trichoderma* spp. โดยใช้พอลิเมอร์ (polymer) ที่ละลายน้ำหรือน้ำมันเพื่อช่วยกักเก็บสปอร์ของเชื้อราให้อยู่ในสถานะที่มีความชื้นค่อนข้างสูง แม้ว่าสูตรเหล่านี้อาจมีข้อดีในด้านความสามารถในการใช้งานที่ง่ายและการกระจายตัวที่ดี แต่ยังคงมีความท้าทายในด้านความเสถียรของผลิตภัณฑ์ สูตรของเหลวและเจลมีค่าปริมาณน้ำอิสระ (water activity, a_w) ที่สูง ซึ่งส่งผลให้สปอร์มีแนวโน้มงอกตามธรรมชาติระหว่างการเก็บรักษา หรือเกิดความเสียหายจากการดูดซึมน้ำที่อาจทำให้สปอร์สูญเสียความสามารถในการมีชีวิต นอกจากนี้ สูตรเหล่านี้อาจมีโอกาสนปนเปื้อนจากแบคทีเรียได้สูง เนื่องจากมีความชื้นที่เอื้อต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อื่น ๆ ทำให้ต้องใช้กระบวนการผลิตที่ปลอดภัยและมีการควบคุมความสะอาด อย่างไรก็ตาม สูตรของเหลวและเจลยังคงได้รับความนิยมในอุตสาหกรรมเนื่องจากมีศักยภาพในการพัฒนาให้เหมาะสมกับการใช้งานที่หลากหลาย ปัจจุบันงานวิจัยได้ให้ความสำคัญกับการพัฒนาสูตรที่ช่วยรักษาความสามารถในการมีชีวิตของสปอร์ให้สามารถคงประสิทธิภาพได้นานกว่า 6 ถึง 12 เดือน ภายใต้สภาวะแวดล้อมทั่วไป ตัวอย่างของสูตรเหลวและเจลที่ถูกพัฒนาขึ้นในปัจจุบัน ได้แก่ สูตรที่ใช้เทคนิคการห่อหุ้มด้วยน้ำมัน และการใช้อัลจิเนต ซึ่งจะช่วยปกป้องสปอร์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จากสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม และช่วยยืดอายุการใช้งานของผลิตภัณฑ์ให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น (Martinez et al., 2023)

2.3 เชื้อราก่อโรคพืชที่ใช้ในการวิจัย

2.3.1 เชื้อรา *Fusarium* sp.

2.3.1.1 ข้อมูลทั่วไปของเชื้อรา *Fusarium* sp.

Fusarium sp. เป็นเชื้อราที่ส่งผลกระทบต่อความเสียหายของการผลิตพืชทั่วโลก มีรายงานว่า เชื้อรา *Fusarium* sp. สามารถแพร่ระบาดได้ทางดิน (soil-borne pathogen) เชื้อมีชีวิตรอดอยู่ในรูปแบบคลาไมโดสปอร์ (chlamydospore) นานหลายปี เชื้อรา *Fusarium* sp. หลายชนิดอาศัยอยู่ในดินที่มีการทำการเกษตร และเกาะติดกับรากพืชด้วยกลไกการเป็นปรสิต บางชนิดสร้างสารพิษ เช่น ฟูโมนิซิน (fumonisins) ซีราลีโนน (zearalenones) และไตรโคทีซีน (trichothecenes) ซึ่งทำให้เกิดโรคในพืชและเมื่อเข้าสู่ระบบท่อลำเลียงจึงส่งผลที่อันตรายต่อความแข็งแรงและต่อผลิตผลทางการเกษตร (Okungbowa & Shittu, 2012) เชื้อรา *Fusarium* sp. มีลักษณะเด่นคือ เส้นใยเจริญได้ดีและไม่ค่อยพบรายงานการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ลักษณะของโคโลนีเป็นสีขาว ในบางครั้ง เชื้อรา *F. oxysporum* อาจสร้างรงควัตถุสีแดง ในขณะที่เชื้อรา *F. solani* สร้างรงควัตถุสีเทาอมฟ้าหรือสีน้ำตาล เชื้อรา *Fusarium* sp. ก่อให้เกิดโรคในพืชหลายชนิด เช่น ในเมล็ดข้าวโพด ข้าว ข้าวสาลี และข้าวบาร์เลย์ พบในแทบทุกประเทศทั่วโลก (Hof, 2020) เชื้อรา *Fusarium* sp. สามารถจัดจำแนกอันดับอนุกรมวิธานได้ ดังนี้

Kingdom Fungi

Division Ascomycota

Class Sordariomycetes

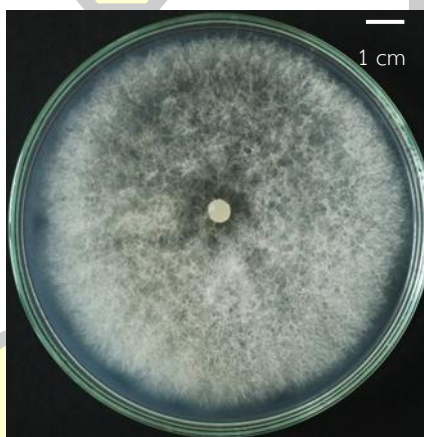
Order Hypocreales

Family Nectriaceae

Genus *Fusarium*

เชื้อรา *Fusarium* sp. มีมากกว่า 20 ชนิด ๆ ที่พบบ่อย ได้แก่ *F. solani*, *F. oxysporum*, *F. equiseti* และ *F. chlamydosporum* (Okungbowa & Shittu, 2012) การเข้าทำลายของ *Fusarium* sp. จะทำให้เกิดโรคในระบบท่อลำเลียงของพืช ส่งผลให้เกิดโรคเน่าในหัวเหง้า และรากของพืช ในประเทศไทยพบเชื้อราชนิดนี้แพร่กระจายในดิน ส่งผลให้เกิดโรคในพืชในกลุ่ม ธัญพืช ฝ้าย ถั่วลิสง หัวหอม กะหล่ำปลี แดงโม มะเขือเทศ พริก ถั่วฝักยาว และมันฝรั่ง นอกจากนี้เชื้อที่ติดไปกับเมล็ดพันธุ์สามารถทำให้เกิดโรคเมล็ดเน่าหรือรากเน่าเมื่องอกเป็นต้นกล้าได้อีกด้วย (อนันต์ วงเจริญ และคณะ, 2564) เชื้อรา *Fusarium* sp. สามารถเพาะเลี้ยงได้บนอาหาร potato dextrose agar (PDA) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จะทำให้เกิดโคโลนีที่มีลักษณะเหมือนปุยฝ้าย สีของโคโลนีมีสีขาว สีขาวอมเหลือง สีน้ำตาล สีแดง สีชมพูอมม่วง หรืออาจจะไม่มีสีก็ได้

(Okungbowa & Shittu, 2012) (ภาพประกอบที่ 3) การสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Fusarium* sp. โดยทั่วไปแล้วจะสร้างสปอร์แบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ การสร้างสปอร์แบบอาศัยเพศ เรียกว่า แอสโคสปอร์ (ascospores) ลักษณะของสปอร์ถูกสร้างภายในถุง เรียกว่า แอสคัส (ascus) สปอร์มีผนังหนาส่วนการสร้างสปอร์แบบไม่อาศัยเพศนั้นพบได้บ่อยกว่า สามารถสร้างได้ 3 รูปแบบ ได้แก่ ไมโครโคนิเดีย (microconidia) มาโครโคนิเดีย (macroconidia) และคลาไมโดสปอร์ (chlamydospores) (ภาพประกอบที่ 3) สปอร์เหล่านี้สามารถแพร่กระจายและเป็นสาเหตุของการเกิดโรคในพืชมากที่สุด มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม นอกจากนี้คลาไมโดสปอร์ยังเป็นสาเหตุของโรคเหี่ยวและทำให้พืชแสดงอาการของโรครุนแรงขึ้นตามจำนวนเชื้อที่ได้รับ (Ajmal et al., 2022)



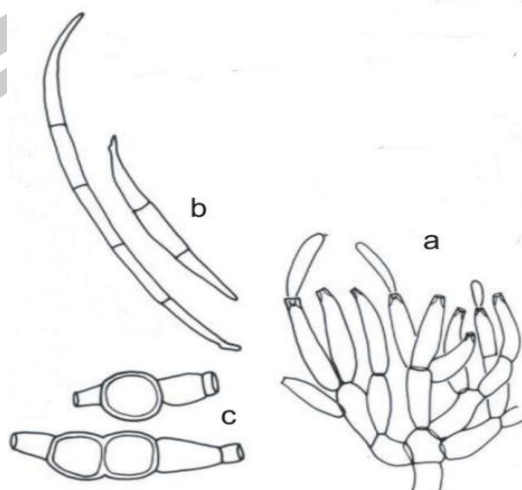
ภาพประกอบที่ 3 เชื้อรา *Fusarium* sp. บนอาหาร PDA

ที่มา : กิตติศักดิ์ พิงษ์สินทิยะ (2566)

2.3.1.2 วงจรชีวิตและกลไกการเกิดโรคของเชื้อรา *Fusarium* sp.

วงจรชีวิตของเชื้อรา *Fusarium* sp. แบ่งออกเป็น 3 ระยะ ได้แก่ ระยะพัก คือ เมื่อสภาวะที่ไม่เหมาะสมจะสร้างสเคอโรเทีย (sclerotia) ที่มีลักษณะเป็นเส้นใยที่รวมกันเป็นกลุ่ม หรือมีลักษณะเป็นเม็ดเพื่อพักตัวและงอกใหม่หากได้รับสภาวะที่เหมาะสม ส่วนระยะปรสิต คือระยะที่เชื้อรา *Fusarium* sp. จะเข้าทำลายระบบรากโดยแทรกเส้นใยผ่านชั้นเอพิเดอร์มิสของรากพืช (epidermis) และเจริญผ่านชั้นเอนโดเดอร์มิส (endodermis) จนถึงท่อไซเล็ม (xylem) ซึ่งทำหน้าที่ลำเลียงน้ำในพืช จากนั้นจะเข้าทำลายระบบท่อลำเลียงในส่วนราก ลำต้น และใบ ทำให้พืชเริ่มเหี่ยวและตายในที่สุด และระยะแซพโรไฟติก (saprophytic) คือเชื้อรา *Fusarium* sp. จะเจริญหรือก่อโครงสร้างบนพืชอาศัยโฮสต์ (host) ที่ตายไปแล้ว สปอร์ใหม่ที่เจริญสามารถกลับคืนสู่ดินหรือ

แพร่กระจายไปยังพืชชนิดอื่นได้ ในระยะนี้มีการสร้างคลาไมโดสปอร์ ที่สามารถดำรงชีวิตอยู่ในดินได้หลายปีและงอกใหม่เมื่อสภาวะเหมาะสม (Okungbowa & Shittu, 2012)



ภาพประกอบที่ 4 สปอร์แบบไม้อาศัยเพศของเชื้อรา *F. oxysporum*

(a) ไมโครโคนิเดีย (b) มาโครโคนิเดีย (c) คลาไมโดสปอร์

ที่มา : Okungbowa & Shittu. (2012)

2.3.1.3 อาการของโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium* sp.

พืชที่ได้รับเชื้อ *Fusarium* sp. จะแสดงอาการแคระแกร็น ใบเหลืองและเหี่ยว ใบมีสีแดง หากผ่าลำต้นตามแนวยาวภายในลำต้นจะเป็นเส้นสีดำแดง หรือสีชมพู ภายนอกลำต้นที่ได้รับผลกระทบเป็นส่วนใหญ่คือการเน่าของรากหรือลำต้น ส่วนความรุนแรงที่เกิดทางใบขึ้นอยู่กับปัจจัยที่มีผลต่อการแพร่กระจายของเชื้อรา ในระยะต้นอ่อนใบเลี้ยงจะเหี่ยวเฉาและร่วงหล่นทำให้ลำต้นเปลือย โรคที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium* sp. ในระยะแรกอาจสังเกตเห็นได้ยาก เนื่องจากมีอาการคล้ายคลึงกับโรคบางชนิด เช่น อาการยอดเน่าหรือรากเน่า โรคแคงเกอร์ อาการขาดธาตุอาหาร เป็นต้น การวิจัยข้างต้นชี้ให้เห็นว่าเมื่อพืชได้รับเชื้อรา *Fusarium* sp. ร่วมกับปัจจัยอื่น ๆ เช่น การเกิดแผลในระบบรากหรือลำต้นที่เกิดจากไส้เดือนฝอยหรือปุ๋ย อุณหภูมิที่สูงเกินไป หรือได้รับความชื้นสูงเกินไป ปัจจัยเหล่านี้จะส่งผลต่อความรุนแรงของโรค (Okungbowa & Shittu, 2012) โดยที่เชื้อราจะแทรกซึมเข้าไปในรากพืชก่อนที่จะเจริญเข้าทำลายในท่อลำเลียง อาการของพืชในระยะแรกจะเริ่มใบเหลือง และค่อย ๆ เหี่ยวลง เริ่มจากการเหี่ยวจากฐานใบแล้วค่อย ๆ ลูกกลมเป็นวงกว้างจนทั่วใบ (ภาพประกอบที่ 5) อาการเหล่านี้ส่งผลให้ต้นพืชตายอย่างรวดเร็ว (Chitwood-Brown et al., 2021)



ภาพประกอบที่ 5 ลักษณะของโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium* sp.

a ลักษณะภายนอกของต้นมะเขือเทศที่เกิดโรค

b ลักษณะภายในของต้นมะเขือเทศที่เกิดโรค

ที่มา : Chitwood-Brown et al. (2021)

2.3.2 เชื้อรา *Curvularia* sp.

2.3.2.1 ข้อมูลทั่วไปของเชื้อรา *Curvularia* sp.

เชื้อรา *Curvularia* sp. พบแพร่กระจายทั่วโลก โดยเฉพาะในพืชวงศ์หญ้า (Poaceae) และพืชเศรษฐกิจ เช่น ข้าว ข้าวโพด และข้าวสาลี นอกจากนี้ยังมีพืชอาศัยในวงศ์อื่น ๆ เช่น Actinidiaceae, Fabaceae, Iridaceae เป็นต้น เชื้อรา *Curvularia* sp. เป็นเชื้อก่อโรคสำคัญในพืชและเป็นเชื้อก่อโรคในมนุษย์ โดยทำให้เกิดโรคในระบบทางเดินหายใจ ผิวหนัง สมอ และกระจกตา โดยเฉพาะในผู้ที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง ลักษณะเด่นของเชื้อรา *Curvularia* sp. คือ เส้นใยฟูนุ่ม ระยะเวลาจะมีสีน้ำตาลเข้มจนเกือบดำ เมื่อเวลาผ่านไปกลุ่มเส้นใยจะเปลี่ยนเป็นสีดำ (ภาพประกอบที่ 6) เชื้อรา *Curvularia* sp. มีการจัดจำแนกอันดับอนุกรมวิธาน ดังนี้

Kingdom Fungi

Division Ascomycota

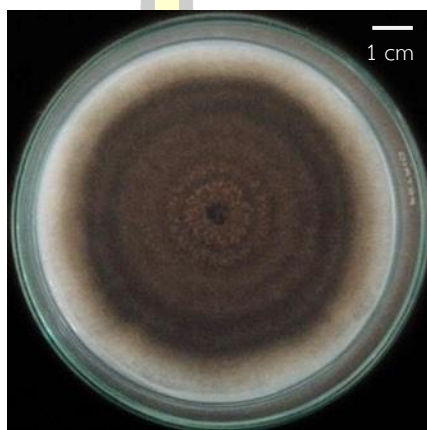
Class Dothideomycetes

Order Capnodiales

Family Pleosporaceae

Genus *Curvularia*

การสร้างสปอร์ (conidia) สีน้ำตาลที่มีเซลล์กลางขยายใหญ่ผิดปกติและโค้งงอ ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะที่ต่างจากสกุลเชื้อราที่คล้ายกัน เช่น *Bipolaris* sp. และ *Exserohilum* sp. ซึ่งการจำแนกชนิดระหว่างเชื้อเหล่านี้ต้องใช้ข้อมูลลำดับดีเอ็นเอ เนื่องจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาค่อนข้างคล้ายคลึงกันมาก (Marin-Felix et al., 2020)

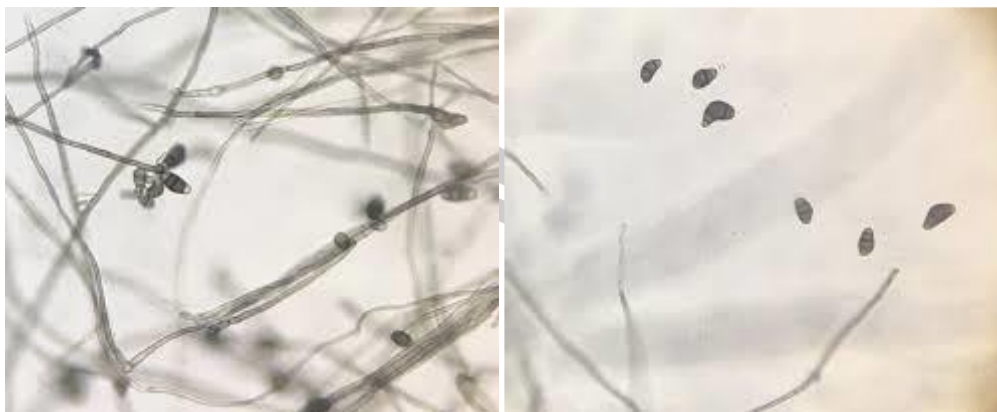


ภาพประกอบที่ 6 เชื้อรา *Curvularia* sp. บนอาหาร PDA

ที่มา : กิตติศักดิ์ พิงษ์สันเทียะ (2566)

2.3.2.2 ลักษณะของสปอร์เชื้อรา *Curvularia* sp.

ลักษณะของสปอร์จากการใช้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Zeiss Axioplan 2, Carl Zeiss, Germany) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบสปอร์จำนวนมากมีสีน้ำตาลเข้ม มีลักษณะโค้งงอในระดับต่าง ๆ กัน ส่วนปลายเรียวทั้งสองด้าน มีผนังกัน 3 ถึง 4 ชั้น มีเซลล์ตรงกลาง 1 หรือ 2 เซลล์ ใหญ่กว่าและเข้มกว่าเซลล์ปลายสุด สปอร์มีความยาวตั้งแต่ 17.5 ถึง 30.0 ไมโครเมตร และความกว้างอยู่ระหว่าง 8.8 ถึง 12.5 ไมโครเมตร ขนาดสปอร์เฉลี่ย 10.8 x 21.6 ไมโครเมตร (ภาพประกอบที่ 7)



ภาพประกอบที่ 7 Conidia, Conidiophores, Mycelium ของ *Curvularia* sp. กำลังขยาย 40 เท่า
ที่มา : Katushova et al. (2021)

2.3.2.3 โรคที่เกิดจากเชื้อรา *Curvularia* sp.

Curvularia sp. เป็นเชื้อก่อโรคใบจุดในพืชเขตร้อนและกึ่งเขตร้อน เช่น *Curvularia affinis* ก่อโรคในพืชสกุล *Dalbergia*, *Curvularia trifolii* ในหญ้า *Agrostis stolonifera*, *Curvularia hawaiiensis*, ในข้าว, *Curvularia pseudobrachyspora* ในลิลลี่, *Curvularia lunata* ในข้าวโพด และ *Curvularia aerea* ในทานตะวัน มีรายงานเกี่ยวกับการระบาดของโรคใบจุดซึ่งมีสาเหตุมาจาก *C. lunata* โดยก่อโรคในข้าว (*Oryza sativa* L.) พันธุ์ Mahsuri ในพื้นที่ซาบาร์ เกาะบอร์เนียวของประเทศมาเลเซีย โดยลักษณะของโรคคือมีจุดสีเหลืองอ่อนล้อมรอบด้วยวงสีน้ำตาล ขนาดประมาณ 2 ถึง 10 มิลลิเมตร บนใบข้าวอัตราการเกิดโรคสูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ และความรุนแรงของโรคอยู่ที่ประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเวลาผ่านไป จุดเหล่านี้จะรวมตัวกันกลายเป็นจุดขนาดใหญ่ขึ้น และส่งผลกระทบต่อพืช (Khoo et al., 2023) นอกจากนี้ เชื้อรา *Curvularia* sp. ยังเป็นสาเหตุของโรคเมล็ดด่างในข้าว (dirty panicle disease) ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญในการผลิตข้าว เนื่องจากสามารถระบาดรุนแรงและทำลายผลผลิต โดยโรคแสดงอาการในระยะออกรวง เริ่มจากจุดสีน้ำตาลหรือดำบนเมล็ดข้าว ตั้งแต่ระยะดอกเริ่มโผล่และเมล็ดเป็นน้ำ จนเห็นชัดเจนในช่วงเก็บเกี่ยว (วาสนา นิยมแสวง และคณะ, 2561) นอกจากนี้ รายงานของ Zhang et al. (2020) ยังระบุว่าเชื้อรา *Curvularia* sp. ชนิดต่าง ๆ ทั่วโลก ตัวอย่างเช่น *C. cymbopogonis* เป็นสาเหตุของโรคร้ายแรงในตะไคร้ในประเทศกัวเตมาลาและในประเทศแถบเอเชีย เช่น อินเดียและปากีสถาน การติดเชื้อส่งผลกระทบต่อผลผลิตน้ำมันและส่วนประกอบสำคัญของพืชเหล่านี้อย่างยิ่งสำคัญ อีกทั้งมีการค้นพบว่าเชื้อรา เช่น *C. verruciformis* และ *C. andropogonis* เป็นสาเหตุของโรคใบไหม้

ในพืชสกุล *Cymbopogon* ในหลายประเทศ เช่น ฟิลิปปินส์และอินเดีย การระบาดของเชื้อรา *Curvularia* sp. ซึ่งทำให้การติดตามและควบคุมการแพร่ระบาดของเชื้อราเป็นเรื่องจำเป็นสำหรับประเทศที่มีการเพาะปลูกพืชเหล่านี้อย่างกว้างขวาง นอกจากนี้ในประเทศจีนก็มีการพบโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Curvularia* sp. ในพืชหลายชนิด เช่น โรคใบไหม้ในว่านนางคำ (*Curcuma aromatica*) ในมณฑลไหหลำ นอกจากนี้ *C. fallax* ยังถูกระบุว่าเป็นสาเหตุของโรคใบกาบดำในมณฑล หูหนานอีกด้วย โดยกลุ่มวิจัยในจีนได้ค้นพบเชื้อรา *Curvularia* sp. ชนิดใหม่ 2 สายพันธุ์ คือ *C. asianensis* และ *C. microspora* ซึ่งมีผลกระทบต่อพืชประดับอย่าง *Epipremnum pinnatum* และ *Hippeastrum rutilum* เป็นต้น

2.3.3 เชื้อรา *Alternaria* sp.

2.3.3.1 ข้อมูลทั่วไปของเชื้อรา *Alternaria* sp.

เชื้อรา *Alternaria* sp. มีการจัดจำแนกอันดับอนุกรมวิธานได้ ดังนี้

Kingdom Fungi

Phylum Ascomycota

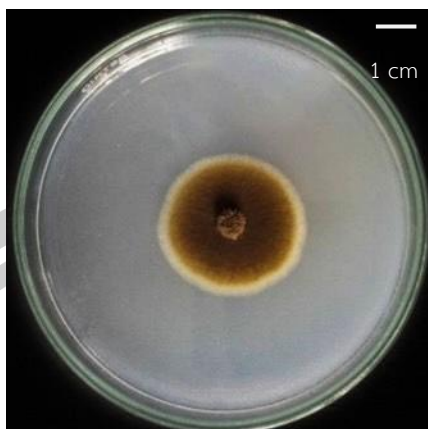
Class Dothideomycetes

Order Pleosporales

Family Alternariaceae

Genus *Alternaria*

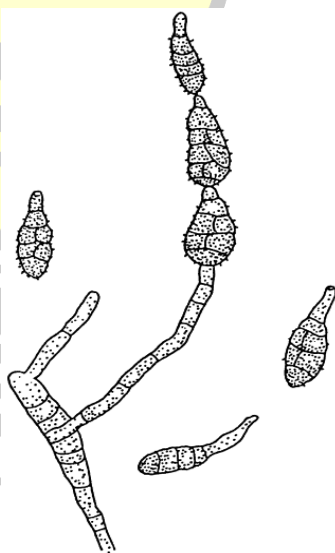
เชื้อราสกุล *Alternaria* sp. เป็นเชื้อราที่มีการแพร่หลายทั่วโลกและสามารถเจริญเติบโตในสภาพแวดล้อมที่หลากหลาย ทั้งในอากาศหรือในดิน เชื้อรานี้ถูกค้นพบครั้งแรกในปี พ.ศ. 2359 และปัจจุบันมีรายงานมากกว่า 300 ชนิด จำแนกออกเป็น 26 กลุ่มย่อย เชื้อรา *Alternaria* sp. เป็นกลุ่มที่มีความสำคัญในด้านการก่อโรคพืชผลเศรษฐกิจ และสามารถก่อให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจและยัง ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์ เช่น การเกิดโรคทางเดินหายใจและโรคหอบหืด (Wang et al., 2022) ลักษณะของโคโลนีของเชื้อรา *Alternaria* sp. ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA เส้นใยมีลักษณะละเอียดโดย ในระยะแรกเป็นสีขาวครีม เมื่อมีอายุเพิ่มขึ้นจะมีสีเขียวอมเทาเข้มจนเกือบดำ (ภาพประกอบที่ 8)



ภาพประกอบที่ 8 เชื้อรา *Alternaria* sp. บนอาหาร PDA

ที่มา : กิตติศักดิ์ พิงษ์สันเทียะ (2567)

เชื้อรา *Alternaria* sp. จะสร้างสปอร์ที่มีลักษณะแยกเป็นสองส่วนและมีสี่เหลี่ยม สปอร์เหล่านี้มีรูปร่างเป็นวงรี บางครั้งมีปลายที่ยาวออกมาเป็นห่วงโซ่ที่เรียงต่อกัน (ภาพประกอบที่ 9) เชื้อรา *Alternaria* sp. เป็นเชื้อราที่สามารถทำให้อาหารหลายชนิดเน่าเสียได้ ตัวอย่างเช่น มะเขือเทศ ผักสด พริกหยวก แอปเปิล รวมถึงพืชตระกูลถั่ว เช่น ถั่วลิสง ถั่วเฮเซลนัท และถั่วพีแคน นอกจากนี้ยังพบเชื้อรานี้ในเมล็ดพืช เช่น ข้าวสาลีและข้าวฟ่าง รวมถึงในเนื้อสัตว์และเครื่องเทศที่เก็บไว้ในอุณหภูมิต่ำ (Bullerman, 2003)



ภาพประกอบที่ 9 สปอร์หลายเซลล์ของเชื้อรา *Alternaria* sp. ที่มีผนังกันตามขวางและตามยาว

ที่มา : Bullerman (2003)

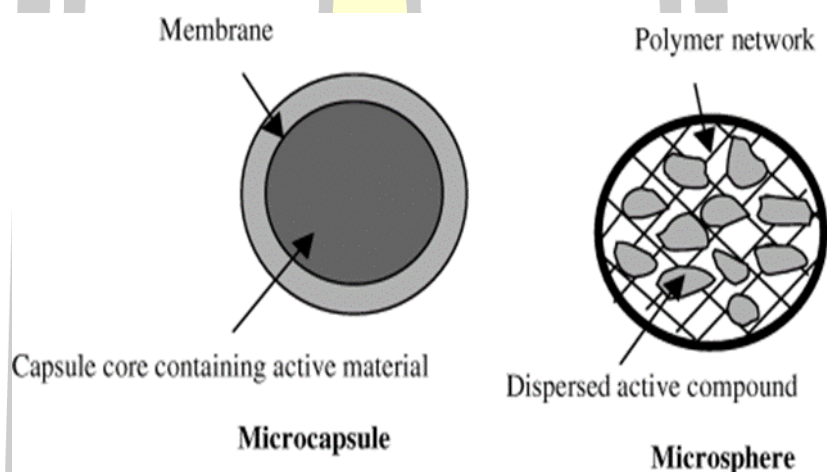
2.3.3.2 โรคที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria* sp.

เชื้อรา *Alternaria* sp. เป็นเชื้อราที่ก่อโรคในพืชโดยเฉพาะบริเวณใบ ทำให้เกิดรอยเนื้อตายบริเวณใบพืช ทำให้พืชมีความสามารถในการสังเคราะห์แสงลดลง เชื้อรานี้มักอาศัยอยู่ในส่วนที่เป็นเนื้อตายบริเวณกลางรอยโรค และปล่อยสารพิษที่ทำให้เกิดการแพร่กระจายไปยังเนื้อเยื่อพืชที่อยู่รอบ ๆ แม้ว่าเชื้อรา *Alternaria* sp. จะไม่ก่อให้เกิดการติดเชื้อในระบบรากหรือท่อลำเลียงน้ำและอาหารของพืชโดยตรง แต่สามารถอยู่รอดได้ในรูปของเส้นใยหรือสปอร์บนเศษซากพืชที่เน่าเปื่อยหรือการเข้าอาศัยในเมล็ดพืช ซึ่งเมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม สปอร์จะถูกแพร่กระจายไปโดยลมและทำให้เกิดการติดเชื้อในพืชได้ โดยเฉพาะเนื้อเยื่อที่มีรอยแตก การติดเชื้อของ *Alternaria* sp. เริ่มต้นจากสปอร์ที่มีเมลานินซึ่งอยู่ในระยะพักตัว เมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม สปอร์จะเกิดการงอกของเส้นใยที่สามารถแทรกผ่านปากใบ พืชผิว หรือรอยแตก โดยเชื้อราที่มีความรุนแรงน้อยมักจะเจาะเข้าสู่เนื้อเยื่อผ่านรอยแตกของพืช ขณะที่เชื้อราที่มีความรุนแรงสูงจะสามารถเจาะเข้าไปโดยตรงได้ เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อ เช่น คิวตินเนส (cutinase) และไลเปส (lipase) มีบทบาทสำคัญในการแทรกซึมและทำลายเนื้อเยื่อพืช (Thomma, 2003) มีรายงานเกี่ยวกับการเกิดโรคที่เป็นสาเหตุจากเชื้อรา *Alternaria* sp. ในมันฝรั่งซึ่งมีอาการใบไหม้ ซึ่งพบได้ทั่วโลกและทำลายผลผลิตได้อย่างมาก โรคนี้เกิดจากเชื้อรา *Alternaria* sp. 2 ชนิด ได้แก่ *Alternaria solani* และ *A. alternata* และสามารถเกิดได้ในสภาพอากาศที่มีอุณหภูมิสูงและมีความชื้นสูง โรคใบไหม้ระยะแรกสามารถทำให้เกิดความเสียหายอย่างมากทั้งในผลผลิตหัวมันฝรั่งและคุณภาพ โดยเฉพาะในสภาพอากาศอบอุ่นและมีความชื้น (Tsedaley, 2014)

2.4 เทคโนโลยีการห่อหุ้ม (encapsulation technology)

เทคโนโลยีการห่อหุ้มเป็นกระบวนการกักวัสดุแกนกลาง เช่น ของเหลว ก๊าซ อนุภาคของแข็ง เซลล์ สปอร์ของจุลินทรีย์ สารออกฤทธิ์ที่ละลาย เป็นต้น ห่อหุ้มภายในเปลือกแข็งหรือภายในเมทริกซ์ที่เป็นของแข็งหรือของเหลวเพื่อวัตถุประสงค์ในการควบคุมหรือกระตุ้นการปลดปล่อย การตรึงเพื่อลดการทำปฏิกิริยากับสิ่งแวดล้อมภายนอก เช่น ความร้อน แสง ความชื้น และป้องกันการเกิดออกซิเดชัน ลดการระเหยหรืออัตราการถ่ายเทมวลของสารที่ถูกกักเก็บไปสู่สิ่งแวดล้อมภายนอก ช่วยเพิ่มอายุการเก็บรักษา ตลอดจนการแยกหรือการป้องกันของวัสดุแกนเพื่อให้มีเฉพาะสารประกอบบางอย่างเท่านั้นที่แพร่ผ่านเข้ามาได้เท่านั้น วัสดุที่ถูกห่อหุ้มเรียกว่า วัสดุแกนหรือวัสดุหลัก (core) และวัสดุพาหะที่ใช้สำหรับห่อหุ้ม หรือกักเก็บ เรียกว่า วัสดุเปลือก (wall) (Dinsmore et al., 2002) ลักษณะของวัสดุเปลือกจะต้องมีความยืดหยุ่นสามารถยึดติดกับแกนได้ดี สามารถป้องกันแกนจากการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อม ตลอดจนการควบคุมการปล่อยของแกนในสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ตามวัตถุประสงค์ของการใช้งาน จะเห็นได้ว่าวัสดุเปลือกเป็นสิ่งสำคัญต่อเทคนิคการห่อหุ้ม การเลือกใช้

สารที่นำมาทำเป็นวัสดุห่อหุ้มจึงต้องเลือกใช้ให้เหมาะสมต่อวัสดุแกนที่ต้องการห่อหุ้มและสภาวะการใช้งานไม่มีความเป็นพิษ ในบางกรณีอาจต้องทำการห่อหุ้มถึง 2 ชั้น เพื่อป้องกันแกนชั้นในและแกนชั้นนอกด้วย สารที่สามารถนำมาทำเป็นวัสดุห่อหุ้ม มีหลายชนิดที่นิยมใช้และมีราคาไม่แพง คือ สารในกลุ่มของพอลิแซ็กคาไรด์ เช่น มอลโทเดกซ์ทริน โซเดียมอัลจิเนต และคาร์ราจีแนน เป็นต้น (ธัญนันท์ ฤทธิรมณี และอภิรดา พรปิ่นณวิชญ์, 2561) ตัวอย่างทั่วไปของวัสดุแกนที่ถูกห่อหุ้ม ได้แก่ ส่วนผสมในอาหารสำหรับผลิตภัณฑ์อาหารเสริมเพื่อสุขภาพ ยาปฏิชีวนะ ยาฆ่าแมลง น้ำหอม สารต้านจุลชีพ เป็นต้น ปัจจุบันเทคโนโลยีการห่อหุ้มได้รับการพัฒนาและเป็นที่ยอมรับในอุตสาหกรรมยา เคมีภัณฑ์ เครื่องสำอาง และอาหาร ในผลิตภัณฑ์อาหาร ไขมัน น้ำมัน วิตามิน แร่ธาตุ สี และเอนไซม์ เป็นวัสดุแกนที่ถูกห่อหุ้ม ซึ่งกระบวนการห่อหุ้มสารประกอบประกอบด้วยสองขั้นตอนดังนี้ ขั้นตอนแรกจะเป็นการรวมของวัสดุแกน เช่น กลิ่น ไขมัน หรือเอนไซม์ ด้วยสารละลาย เช่น พอลิแซ็กคาไรด์หรือโปรตีน ขั้นตอนที่สองคือการทำให้แห้งหรือทำให้สารเย็นลง (Madene et al., 2006) (ภาพประกอบที่ 10)



ภาพประกอบที่ 10 การห่อหุ้ม (encapsulation)

ที่มา : Madene et al. (2006)

มีรายงานการให้เทคโนโลยีการห่อหุ้มกับจุลินทรีย์ เพื่อปกป้องสปอร์ของจุลินทรีย์ เพิ่มความเสถียรให้สามารถปลดปล่อยจุลินทรีย์อย่างช้า ๆ อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับวัสดุและเทคนิคการห่อหุ้มต่าง ๆ ที่ใช้ในการห่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ (Saber-Riseh et al., 2021a) ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ตัวอย่างวัสดุและเทคนิคต่าง ๆ ที่ใช้ในการห่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์

วัสดุที่ใช้ห่อหุ้ม	เทคนิคการห่อหุ้ม	เชื้อจุลินทรีย์	ที่มา
แป้งข้าวโพด	ทำแห้งแบบพ่นฝอย	<i>Bacillus thuringiensis</i>	McGuire et al. (1996)
กัมอารบิก (gum arabic)	ทำแห้งแบบพ่นฝอย	<i>T. harzianum</i>	Muñoz-Celaya et al. (2012)
อัลจิเนต-เจลาติน (alginate-gelatin)	อิมัลชัน (emulsion)	<i>Pseudomonas fluorescens</i> VUPF5	Pour et al. (2019)
อัลจิเนต (alginate)	ทำแห้งแบบพ่นฝอย	<i>Bifidobacterium</i> BB-12	Holkem et al. (2017)
มอลโทเดกซ์ทริน-กัมอารบิก (maltodextrin-gum arabic)	ทำแห้งแบบพ่นฝอย	<i>Bacillus cereus</i> C1L	Chen et al. (2013)
อัลจิเนต-ไคโตซาน (alginate-chitosan)	อัดขึ้นรูป (extrusion)	<i>Lactobacillus casei</i> ATCC 393	Li et al. (2011)
อัลจิเนต-แป้ง-เบนโทไนต์ (alginate-starch-bentonite)	อัดขึ้นรูป (extrusion)	<i>R. planticola</i> Rs-2	Wu et al. (2012)
อัลจิเนต (alginate)	อัดขึ้นรูป (extrusion)	<i>Pseudomonas putida</i> CC-FR2-4 และ <i>Bacillus subtilis</i> CC-pg104	Rekha et al. (2007)

ที่มา : ดัดแปลงจาก Saberi-Riseh et al. (2021a)

2.4.1 วัสดุที่ใช้ในการห่อหุ้ม

การห่อหุ้มสปอร์ของจุลินทรีย์ให้มีความคงตัวจำเป็นต้องเลือกวัสดุห่อหุ้มที่เหมาะสม ซึ่งวัสดุห่อหุ้มต้องมีคุณสมบัติเข้ากันได้ทางชีวภาพ ไม่มีความเป็นพิษ สามารถละลายน้ำได้ และยอมให้น้ำ ซึมผ่าน เพื่อรักษาประสิทธิภาพการทำงานของจุลินทรีย์ที่ตรึงเอาไว้ วัสดุที่มีคุณสมบัติเหล่านี้มีทั้งประเภทที่ได้จากการสังเคราะห์และจากธรรมชาติ การใช้วัสดุสังเคราะห์จะทำให้มีความแข็งแรงเชิง

โครงสร้างและมีเสถียรภาพทางเคมี แต่การใช้วัสดุห่อหุ้มธรรมชาติจะทำให้คงอัตราออกของจุลินทรีย์ได้ดีกว่า (Rathore et al., 2013) ดังรายละเอียดต่อไปนี้

2.4.1.1 โซเดียมอัลจิเนต (sodium alginate)

โซเดียมอัลจิเนต เป็นสารที่สกัดจากสาหร่ายทะเลสีน้ำตาล (*Macrocystis pyrifera*) นอกจากนี้โซเดียมอัลจิเนตยังสามารถสังเคราะห์ได้โดยแบคทีเรียสายพันธุ์ *Pseudomonas* sp. และ *Azotobacter vinelandii* (Urtuvia et al., 2017) อัลจิเนตมีลักษณะโครงสร้างทางเคมีเป็นพอลิเมอร์แบบพอลิแอนไอออน (polyanion) เนื่องจากสามารถละลายน้ำได้ที่อุณหภูมิห้อง อัลจิเนตเป็นหนึ่งในพอลิเมอร์ธรรมชาติที่ได้รับการศึกษาวิจัยมากที่สุด เนื่องจากมีต้นทุนต่ำ ความเป็นพิษต่ำ ความเข้ากันได้ทางชีวภาพ ความสามารถในการย่อยสลายได้ทางชีวภาพ และความสามารถในการสร้างเจลในที่ที่มีไอออนแคลเซียม (Ca^{2+}) ทำให้สามารถใช้ร่วมกับพอลิเมอร์อื่น ๆ ในระบบนำส่งสารสำคัญที่ควบคุม การปลดปล่อยได้ (Frent et al., 2022) อัลจิเนตมีองค์ประกอบทางเคมีที่เสถียรที่ระดับความเป็นกรด-ด่าง 5 ถึง 10 และเป็นสารที่ยอมรับให้ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยา โดยใช้เป็นวัตถุเจือปนในอาหารเพื่อวัตถุประสงค์ที่หลากหลาย เป็นวัสดุช่วยทำให้แข็งโดยการทำให้เกิดอิมัลชัน ฟิล์ม หรือเจล วิธีการตรึงเซลล์ด้วยอัลจิเนตเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว ปลอดภัย และมีราคาไม่แพงมากนัก ซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นสารเร่งปฏิกิริยาชีวภาพได้อย่างกว้างขวาง (ดาราวดี วงษ์ชาติ, 2558) ปัจจุบันมีการใช้โซเดียมอัลจิเนตในอุตสาหกรรมอาหาร สิ่งทอ เทคโนโลยีการเกษตร ชีวการแพทย์ และเภสัชกรรม เนื่องจากสามารถดัดแปลงได้ง่ายโดยผ่านกระบวนการทางเคมีและฟิสิกส์เพื่อสร้างเมทริกซ์ เช่น ไฮโดรเจล ไมโครสเฟียร์ ไมโครแคปซูล ฟองน้ำ และเส้นใย เป็นต้น ก่อนหน้านี้โซเดียมอัลจิเนตถูกนำมาใช้ในด้านการเกษตร เช่น การห่อหุ้มจุลินทรีย์เพื่อควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชและส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช การบำบัดน้ำเสีย การเคลือบเมล็ดเพื่อเพิ่มการงอก การเคลือบผักและผลไม้เพื่อยืดอายุการเก็บรักษา และการควบคุมการปล่อยสารเคมีทางการเกษตร รวมถึงการใช้เป็นพาหะสำหรับเชื้อราและแบคทีเรียในการควบคุมทางชีวภาพ การใช้โซเดียมอัลจิเนตในการห่อหุ้มจุลินทรีย์ช่วยปกป้องและปลดปล่อยสารสำคัญอย่างช้า ๆ ในดินซึ่งช่วยให้พืชเจริญเติบโตได้ดีขึ้น และมีความปลอดภัย ไม่มีพิษ อีกทั้งการห่อหุ้มยังช่วยป้องกันผลกระทบจากปัจจัยภายนอก และเป็นวิธีที่ใช้ผลิต ผลิตภัณฑ์ควบคุมทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพ นอกจากนี้การย่อยสลายของอัลจิเนต ยังสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชและช่วยปรับปรุงดินได้อีกด้วย (Martinez-Cano et al., 2022)

2.4.1.2 เพคติน (pectin)

เพคตินเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่ละลายน้ำได้ซึ่งได้จากการสกัดผนังเซลล์ของพืช เช่น ผักและผลไม้ เป็นโพลีเมอร์ชีวภาพประจุลบและเป็นโพลีเมอร์ที่สำคัญที่ใช้ในการห่อหุ้ม เพคตินมักเกิดจากกรดเพคตินิก ซึ่งเป็นเจลที่สามารถเกิดขึ้นได้เมื่อสัมผัสกับสภาวะที่เหมาะสม เพคตินมีโมเลกุลขนาดใหญ่ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง สามารถเปลี่ยนเป็นไฮโดรเจลได้ มีโครงสร้างของโพลีเมอร์ที่ยืดหยุ่น ซึ่งสามารถพองตัวได้โดยไม่ละลายในน้ำ (Saber-Riseh et al., 2021a)

2.4.1.3 คาร์ราจีแนน (carrageenan)

คาร์ราจีแนน เป็นโพลีแซ็กคาไรด์ ที่สกัดได้จากสาหร่ายทะเลขนาดใหญ่ ซึ่งใช้เป็นสารเติมแต่งในอาหาร ในการละลายคาร์ราจีแนนที่มีช่วงความเข้มข้น 2 ถึง 5 เปอร์เซ็นต์ ต้องใช้อุณหภูมิที่ 60 ถึง 80 องศาเซลเซียส และสามารถชักนำให้เกิดเจลโดยการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในการห่อหุ้มโดยการเติม suspension ของแบคทีเรียลงในสารละลายคาร์ราจีแนนที่อุณหภูมิ 40 ถึง 45 องศาเซลเซียส แล้วทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง และจะใช้โพแทสเซียมไอออนจากสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ทำให้เจลมีความคงตัวหลังจากการขึ้นรูป (ดาราวดี วงษ์ชาติ, 2558)

2.4.1.4 เจลาติน (gelatin)

เจลาตินเป็นโปรตีนที่ได้จากคอลลาเจนซึ่งถูกย่อยสลายด้วยความร้อนหรือภาวะกรดต่าง พบได้ในผิวหนัง เส้นเอ็น และกระดูก มีกรดอะมิโนหลัก เช่น ไกลซีน (glycine) และโพรลีน (proline) นิยมนำมาใช้เดี่ยวหรือร่วมกับสารอื่นในการห่อหุ้มอย่างไรก็ตาม คุณสมบัติทางกายภาพของเจลาตินสามารถเปลี่ยนแปลงได้เนื่องจากเป็นสารที่มีลักษณะเป็นแอมโฟเทอริก (amphoteric) ดังนั้นจึงเป็นพอลิเมอร์ที่เหมาะสมสำหรับผสมกับคาร์โบไฮเดรตประจุลบ เช่น คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethyl cellulose) และอัลจิเนต (alginate) เป็นต้น (Saber-Riseh et al., 2021a) ในปัจจุบันมีการนำเจลาตินมาใช้ในการเป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์หลายชนิด เช่น เครื่องสำอาง อาหาร โดยเฉพาะในทางการแพทย์นิยมใช้เจลาตินในการผลิตเป็นแคปซูล สารเคลือบเม็ดยา เส้นใยนาโน สารเติมแต่งทางเภสัชกรรม และพาหะการปลูกถ่ายเซลล์ (Alipal et al., 2021) วัสดุห่อหุ้มมีคุณสมบัติที่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงต้องเลือกวัสดุที่มีความเหมาะสมต่อจุลินทรีย์เป้าหมาย เพื่อปกป้องสปอร์และประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์

2.4.2 เทคนิคการห่อหุ้ม (encapsulation technique)

การห่อหุ้มสามารถทำได้โดยหลายเทคนิคที่แตกต่างกัน แต่ละเทคนิคส่งผลต่อลักษณะทางกายภาพ ลักษณะทางเคมี คุณสมบัติและการใช้งาน เทคนิคการอัดขึ้นรูป การทำแห้งแบบพ่นฝอย

และอิมัลชัน เป็นเทคนิคที่นิยมและถูกนำมาใช้สำหรับการห่อหุ้มได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Saber-Riseh et al., 2021b)

2.4.2.1 เทคนิคการอัดขึ้นรูป (extrusion)

การอัดขึ้นรูปเป็นวิธีทางกายภาพสำหรับการห่อหุ้มเซลล์ของสิ่งมีชีวิต เทคนิคนี้จะใช้เซลล์ของจุลินทรีย์ผสมรวมกับพอลิเมอร์แบบแขวนลอย (polymer suspension) แล้วหยดลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) ผ่านกระบอบกฉืด ภายใต้การกวน เทคนิคการอัดขึ้นรูปเป็นเทคนิคที่ง่าย ต้นทุนต่ำ ไม่ส่งผลต่อความเสียหายของเซลล์และมีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนาน ขนาดเม็ดปิดหลังการห่อหุ้มขึ้นอยู่กับความหนืด ความเข้มข้นชนิดของพอลิเมอร์ (polymer) เส้นผ่านศูนย์กลางของกระบอบกฉืด และระยะห่างระหว่างกระบอบกฉืดกับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) (Saber-Riseh et al., 2021b) นอกจากนี้ความเข้มข้นของพอลิเมอร์ยังส่งผลต่อความแข็งและความอ่อนนุ่มของเม็ดชีวภัณฑ์ ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาการเชื่อมขวาง (cross-linking) ของแคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) (Bennacef et al., 2021)

2.4.2.2 เทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray-drying)

การทำแห้งแบบพ่นฝอยเป็นเทคนิคที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในการห่อหุ้มเซลล์โพรไบโอติกในอุตสาหกรรมอาหารและเหมาะสำหรับห่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์อื่น ๆ อีกด้วย เทคนิคนี้จะใช้เซลล์ของจุลินทรีย์ผสมรวมกับพอลิเมอร์แบบแขวนลอย (polymer suspension) แล้วพ่นเป็นละอองเข้าไปยังส่วนที่มีอุณหภูมิสูงของเครื่อง เทคนิคนี้จะทำให้ตัวทำละลายกลายเป็นไอ เหลือเฉพาะผง ที่ถูกห่อหุ้ม ข้อดีของเทคนิคนี้คือความเร็วและความสะดวกในการผลิต เหมาะสำหรับการผลิตในปริมาณที่มาก แต่มีข้อจำกัดคือการใช้อุณหภูมิที่สูงทำให้อัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ลดลง (Saber-Riseh et al., 2021b)

2.4.2.3 เทคนิคอิมัลชัน (emulsion)

อิมัลชันเป็นเทคนิคทางเคมีสำหรับการห่อหุ้มเซลล์ของสิ่งมีชีวิต วิธีนี้สามารถใช้เพื่อผลิตจุลินทรีย์มีชีวิตในปริมาณที่มาก เทคนิคนี้จะใช้เซลล์ของจุลินทรีย์ผสมรวมกับพอลิเมอร์แบบแขวนลอย (polymer suspension) จากนั้นผสมน้ำมัน แล้วเติมตัวอิมัลซิไฟเออร์ (emulsifier) แล้วกวนเพื่อผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ขนาดเม็ดปิดของเทคนิคนี้เกิดจากการกวนและอัตราส่วนของน้ำและน้ำมัน กระบวนการอิมัลชันช่วยให้จุลินทรีย์มีอัตราการรอดชีวิตสูงและนำไปเพาะเชื้อต่อได้ง่าย เทคนิคนี้ถูกนำมาใช้เพื่อเพิ่มอายุการเก็บรักษาให้เหมาะสมต่อการควบคุมทางชีวภาพ (Saber-Riseh et al., 2021b)

การห่อหุ้มช่วยป้องกันการสลายตัวของสารที่ถูกกักเก็บโดยลดการทำปฏิกิริยากับสิ่งแวดล้อมภายนอก ลดการระเหย ช่วยเพิ่มอายุการเก็บรักษา และสามารถควบคุมการปลดปล่อย

ของสารที่ถูกกักเก็บได้ (Madene et al., 2006) ดังนั้นเทคนิคการห่อหุ้มจึงถูกนำไปประยุกต์ใช้ในหลายวัตถุประสงค์ ในปัจจุบันมีการใช้เทคนิคการห่อหุ้มร่วมกับสิ่งมีชีวิต เช่น เชื้อราปฏิปักษ์ เป็นต้น

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ประภาช กาวีชา และคณะ (2563) ศึกษาการพัฒนาชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเพื่อควบคุมโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศ โดยใช้ปริมาณโคนิเดียของเชื้อรา *T. asperellum* ไอโซเลต TPK01-1 และโซเดียมอัลจินเตเท่ากัน แต่มีความเข้มข้นของกลีเซอรอล และแป้งมันสำปะหลังที่แตกต่างกัน พบว่าชีวภัณฑ์เชื้อรา *T. asperellum* ไอโซเลต TPK01-1 ที่เก็บไว้ในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีการรอดชีวิตสูงกว่าที่เก็บในอุณหภูมิห้อง โดยรวมแล้วเชื้อราแต่ละสายพันธุ์ยังคงสภาพการมีชีวิตได้ถึง 9 เดือน และยังคงความสามารถในการควบคุมการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* spp. โดยมีประสิทธิภาพการควบคุมตั้งแต่ 70 ถึง 73 เปอร์เซ็นต์ภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ

Pani et al. (2021) ศึกษาภาพรวมของการใช้เชื้อรา *T. harzianum* ซึ่งเป็นหนึ่งในจุลินทรีย์ชีวภาพที่ได้รับความนิยมมากที่สุด เนื่องจากผลิตภัณฑ์ชีวภาพที่ใช้สำหรับควบคุมเชื้อราก่อโรคพืชส่วนใหญ่มีส่วนผสมของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จากการศึกษาพบว่า กลไกหลักของเชื้อรา *T. harzianum* ได้แก่ สภาวะการเป็นปรสิตต่อเชื้อรา การสร้างสารปฏิชีวนะ และการแข่งขันกับเชื้อราก่อโรค ซึ่งทำให้เชื้อรา *T. harzianum* เป็นชีวภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพสูง นอกจากความสามารถในการควบคุมเชื้อก่อโรคแล้วเชื้อรา *T. harzianum* ยังมีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของรากและลำต้น เสริมสร้างความแข็งแรงให้พืช และทำหน้าที่เป็นแหล่งธาตุอาหาร อีกทั้งยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช

Santamarina & Rosello (2006) ศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิและปริมาณน้ำอิสระ (a_w) ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *T. harzianum* และประสิทธิภาพในการควบคุม เชื้อรา *Rhizoctonia solani* และ *Verticillium dahliae* พบว่าอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ทดสอบทั้งหมดเพิ่มขึ้นตามปริมาณน้ำอิสระที่สูงขึ้น โดยมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดที่ค่า a_w เท่ากับ 0.995 นอกจากนี้เชื้อรา *T. harzianum* สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และมีการเจริญเติบโตที่ลดลงเมื่ออุณหภูมิลดลงเหลือ 15 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับเชื้อราก่อโรค *R. solani* และ *V. dahliae* พบว่า *T. harzianum* สามารถเจริญเติบโตได้รวดเร็วกว่าเชื้อก่อโรคทั้งสองชนิดเมื่ออุณหภูมิลดลงเหลือ 15 และ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้ค่า a_w เท่ากับ 0.980 และ 0.995 นอกจากนี้ *T. harzianum* ยังสามารถควบคุมการเจริญเติบโตของ *R. solani* และ *V. dahliae* ได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่ออุณหภูมิลดลงเหลือ 15 ถึง 25 องศาเซลเซียส และค่า a_w อยู่ระหว่าง 0.950 ถึง 0.995

Gupta & Sharma (2013) ได้ทำการศึกษาการกำหนดอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับเชื้อรา *T. harzianum* โดยประเมินจากรัศมีของการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงของประชากรเชื้อราในปุ๋ยหมักชนิดต่าง ๆ ภายใต้สภาวะอุณหภูมิที่แตกต่างกัน จากการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตแบบบรีคมี และลักษณะของเส้นใยที่ขยายตัวบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* เจริญเติบโตได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 25 ถึง 30 องศาเซลเซียส เจริญเติบโตช้าลงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และไม่สามารถเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ดังนั้น อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อรา *T. harzianum* จึงอยู่ในช่วง 25 ถึง 30 องศาเซลเซียส หรือประมาณ 28 องศาเซลเซียส

Locatelli et al. (2018) ศึกษาการห่อหุ้มเชื้อรา *Trichoderma* sp. และประเมินอายุการเก็บรักษาสภาพเซลล์ ด้วยปริมาณโซเดียมอัลจินเตเท่ากันทุกการทดลอง แต่กำหนดปริมาณสารตัวเติมแตกต่างกัน ได้แก่ โซเดียมโพลีฟอสเฟต แป้ง เพคติน รำข้าวสาลี และกลีเซอรอล ทั้งหมด 19 สูตร พบว่าสารตัวเติมมีผลต่อการรักษาสภาพเซลล์แตกต่างกัน เมื่อทดลองในสภาวะอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส สูตรที่ 6 ที่เติมสารโซเดียมโพลีฟอสเฟต แป้ง เพคติน รำข้าวสาลี และกลีเซอรอล ความเข้มข้น 2, 0, 2, 0 และ 2 โดย มวล/ปริมาตร ตามลำดับ สามารถเก็บรักษาสภาพเซลล์ที่มีชีวิตสูงกว่า 10^6 CFU/กรัม หลังจากเก็บรักษา 14 เดือน

Larran et al. (2020) ศึกษาการใช้ *T. harzianum* เพื่อต้านเชื้อรา *Fusarium sudanense* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคใบไหม้ในต้นกล้าและเมล็ดเน่าในข้าวสาลี ผลการศึกษาพบว่าเชื้อรา *T. harzianum* สามารถควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อรา *F. sudanense* ได้ภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน โดยมีประสิทธิภาพสูงสุดที่ค่าปริมาณน้ำอิสระ a_w เท่ากับ 0.995, 0.980 และ 0.950 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และที่ค่า a_w เท่ากับ 0.995 และ 0.980 ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* สามารถเจริญเติบโตและครอบคลุมพื้นที่ได้อย่างรวดเร็วเมื่อเทียบกับเชื้อรา *F. sudanense* ใดๆก็ตาม เมื่อทำการทดสอบที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และค่า a_w เท่ากับ 0.950 พบว่าประสิทธิภาพในการแข่งขันของ *T. harzianum* ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

Maruyama et al. (2020) ศึกษาการห่อหุ้ม *T. harzianum* ด้วยโซเดียมอัลจินเตเพื่อช่วยรักษากิจกรรมของเอนไซม์และเพิ่มศักยภาพในการควบคุมทางชีวภาพ พบว่าสัณฐานวิทยามีลักษณะเป็นทรงกลม เมื่อทำการทดสอบความคงตัวของเชื้อรา *T. harzianum* ที่ถูกห่อหุ้มแสดงให้เห็นว่าการห่อหุ้มช่วยป้องกันเชื้อราจากรังสีอัลตราไวโอเล็ต (ultraviolet : UV) ส่วนการประเมินเชื้อราหลังการห่อหุ้ม พบว่ามีกระบวนการกำจัดไนเตรทเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับชุดควบคุม การห่อหุ้มเชื้อรา *T. harzianum* แสดงให้เห็นการเปลี่ยนแปลงการทำงานของระบบไคติโนไลติก (chitinolytic) ในการผลิตเอนไซม์ไคติเนส (chitinase) และกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส (cellulase) ส่วนการทดสอบในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชด้วยวิธี dual culture โดยใช้เชื้อรา *T. harzianum* ที่ห่อหุ้มด้วย

โซเดียมอัลจิเนตทั้งชนิดเปียกและชนิดแห้งที่มีความเข้มข้น 10^8 CFU/มิลลิลิตร ร่วมกับเชื้อรา *S. sclerotiorum* เทียบกับการใช้ เชื้อรา *T. harzianum* ชนิดไม่ห่อหุ้มโดยมีเกณฑ์จำแนกประเภท การเข้าครอบครองพื้นที่ของเชื้อราตั้งแต่ระดับ 1 ถึง 5 ดังนี้ ระดับ 1 หมายถึง เชื้อรา *T. harzianum* ครอบครองพื้นผิวอาหาร PDA ทั้งหมด ระดับ 2 หมายถึง เชื้อรา *T. harzianum* ครอบครองพื้นผิว อย่างน้อย 2 ใน 3 ส่วนของอาหาร PDA ระดับ 3 หมายถึง เชื้อรา *T. harzianum* และเชื้อร่าก่อโรค ครอบครองพื้นผิวอาหาร PDA อย่างละครึ่ง ระดับ 4 หมายถึง เชื้อร่าก่อโรคครอบครองพื้นผิวอย่าง น้อย 2 ใน 3 ส่วนของอาหาร PDA และระดับ 5 หมายถึง เชื้อร่าก่อโรคครอบครองพื้นผิวทั้งหมดของ อาหาร PDA ได้อย่างสมบูรณ์ จากการทดลองนี้ พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* ชนิดไม่ห่อหุ้มถูก จำแนกอยู่ในระดับมากกว่าหรือเท่ากับ 3 คือ เชื้อรา *T. harzianum* และเชื้อร่าก่อโรคครอบครอง พื้นผิวอาหาร PDA อย่างละครึ่ง แสดงให้เห็นว่า เชื้อรา *T. harzianum* ชนิดไม่ห่อหุ้มมีความเป็น ปฏิปักษ์ในระดับปานกลาง ส่วนเชื้อรา *T. harzianum* ที่ถูกห่อหุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนตทั้งชนิดเปียก และชนิดแห้งถูกจำแนกอยู่ในระดับน้อยกว่าหรือเท่ากับ 2 คือ เชื้อรา *T. harzianum* ครอบครอง พื้นผิวอย่างน้อย 2 ใน 3 ส่วนของอาหาร PDA แสดงให้เห็นว่าเชื้อรา *T. harzianum* ชนิดห่อหุ้มมี ความเป็นปฏิปักษ์ในระดับที่สูงกว่าเชื้อรา *T. harzianum* ชนิดไม่ห่อหุ้ม

Mohd Anuar et al. (2020) ศึกษาการห่อหุ้มเชื้อรา *T. harzianum* ด้วยโซเดียมอัลจิ เนตเพื่อควบคุมโรคจุดสีน้ำตาล (*Bipolaris oryzae*) ของข้าว (*Oryza sativa*) โดยการใช้ต้นกล้า ข้าวหลังการเพาะ 50 วัน การทดลองแบ่งเป็น 3 วิธี ๆ ละ 3 ซ้ำ ดังนี้ วิธีที่ 1 ใช้เฉพาะน้ำกลั่นเป็นชุด ควบคุมวิธีที่ 2 ใช้น้ำกลั่นร่วมกับเชื้อรา *B. oryzae* และต้นกล้าข้าว วิธีที่ 3 ใช้น้ำกลั่นร่วมกับเชื้อรา *B. oryzae* ต้นกล้าข้าว และเชื้อรา *T. harzianum* ที่ห่อหุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนต หลังจากการทดลอง 15 วัน ทำการประเมินระดับความรุนแรงของโรคโดยใช้เกณฑ์ดังนี้ ระดับ 0 หมายถึง ไม่เกิดโรค ระดับ 1 หมายถึง จุดสีน้ำตาลปกคลุมน้อยกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ ระดับ 3 หมายถึง จุดสี น้ำตาลปกคลุม 1 ถึง 10 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ ระดับ 5 หมายถึง จุดสีน้ำตาลปกคลุม 11 ถึง 25 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ ระดับ 7 หมายถึง จุดสีน้ำตาลปกคลุม 25 ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ และ ระดับ 9 หมายถึง จุดสีน้ำตาลปกคลุม 50 ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบ จากการทดลองพบว่าวิธีที่ 1 ความรุนแรงของโรคอยู่ในระดับ 0 คือไม่เกิดโรค ส่วนวิธีที่ 2 ความรุนแรงของโรคอยู่ในระดับ 9 โดยพบจุดสีน้ำตาลปกคลุม 59 ถึง 70 เปอร์เซ็นต์ และวิธีที่ 3 ความรุนแรงของโรคอยู่ในระดับ 3 โดย พบจุดสีน้ำตาลปกคลุม 21 ถึง 25 เปอร์เซ็นต์ การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อรา *T. harzianum* ที่ ถูกห่อหุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนตสามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคจุดสีน้ำตาลของข้าวได้อย่างมี ประสิทธิภาพ

Lopes et al. (2020) ศึกษาคุณลักษณะและความมีชีวิตของเชื้อรา *T. asperellum* BRM-29104 ที่ห่อหุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนต เชื้อรา *T. asperellum* BRM-29104 ด้วยวิธีการทำให้

เกิดเจลแล้วนำไปหยดลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) และการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (freeze drying) จากนั้นเก็บไว้ในอุณหภูมิ 8, 25 และ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 วัน พบว่าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของเม็ดปิดที่ทดลองด้วยวิธีการหยดและการทำแห้งแบบเยือกแข็งเท่ากับ 2.5 ± 0.2 และ 1.65 ± 0.1 มิลลิเมตร ตามลำดับ และมีการรอดชีวิตสูงสุด เมื่อเก็บไว้ในอุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส มีปริมาณเชื้อ 1.4×10^7 และ 3.0×10^8 CFU/กรัม ตามลำดับ ผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าการใช้โซเดียมอัลจิเนตเป็นวัสดุห่อหุ้มแล้วเข้าสู่กระบวนการทำแห้งแบบเยือกแข็งสามารถรักษาความมีชีวิตของเซลล์เชื้อรา *T. asperellum* BRM-29104 ได้ดี

Adzmi et al. (2021) ศึกษาการพัฒนาแอลจิเนต มอนต์มอริลโลไนต์ และแป้ง สำหรับการรักษาห่อหุ้มเชื้อรา *T. harzianum* และการประเมินอายุการเก็บรักษาสปอร์ ผลการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนส่องกราด (scanning electron microscope: SEM) พบว่ามีการกระจายตัวของสปอร์เชื้อราอย่างสม่ำเสมอ นอกจากนี้ การเก็บรักษาเม็ดชีวภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส พบว่ามีความเหมาะสมมากกว่าการเก็บที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เนื่องจากเม็ดชีวภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส สามารถรักษาการรอดชีวิตของสปอร์ได้ที่ค่า $6.59 \pm 0.12 \log \text{CFU g}^{-1}$ เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 7 เดือน

Qi et al. (2023) ศึกษาการพัฒนาไมโครแคปซูลของเชื้อรา *Trichoderma asperellum* เพื่อควบคุมโรคราน้ำค้างในแตงกวาซึ่งมีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Sphaerotheca fuliginea* โดยใช้กระบวนการห่อหุ้มสปอร์ด้วยโซเดียมอัลจิเนต พบว่า สปอร์ที่ถูกห่อหุ้มมีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่าสปอร์ที่ไม่ได้ห่อหุ้มอย่างมีนัยสำคัญ หลังจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง และ 4 องศาเซลเซียส นาน 3 เดือน สปอร์ที่ถูกห่อหุ้มยังคงมีชีวิตรอด 38 และ 51 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ขณะที่สปอร์ที่ไม่ได้ห่อหุ้มมีอัตราการรอดชีวิตเพียง 23 และ 35 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ชีวภัณฑ์มีคุณสมบัติในการปลดปล่อยสปอร์ในรูปแบบที่ควบคุมได้ เมื่อแช่ในน้ำกลั่นปลอดเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง สปอร์จะเริ่มถูกปล่อยออกมาอย่างช้า ๆ และสม่ำเสมอ หลังจาก 3 วัน สปอร์ยังคงถูกปลดปล่อยอย่างต่อเนื่องในปริมาณที่เพิ่มขึ้นเล็กน้อย และเมื่อครบ 6 วัน การปลดปล่อยสปอร์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญสัมพันธ์กับการสลายตัวของชีวภัณฑ์ หลังจาก 12 วัน สปอร์ถูกปลดปล่อยออกมา 80 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อครบ 15 วัน มีการปลดปล่อยสปอร์ถึง 91 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณสปอร์ทั้งหมดในชีวภัณฑ์ นอกจากนี้ สปอร์ที่ถูกห่อหุ้มยังมีความทนทานต่อสภาวะแวดล้อม หลังจากถูกเก็บที่อุณหภูมิ 54 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน และถูกฉายรังสี ultraviolet (UV) เป็นเวลา 0.5 ชั่วโมง อัตราการรอดชีวิตของสปอร์ที่ถูกห่อหุ้มอยู่ที่ 23 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าสปอร์ที่ไม่ได้ห่อหุ้มที่มีอัตราการรอดเพียง 3 และ 27 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทดลองภาคสนามพบว่าชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ของเชื้อรา *T. asperellum* มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรคราน้ำค้างในแตงกวาถึง 76 เปอร์เซ็นต์

จากการประมวลรายงานข้างต้นจึงถูกนำมาใช้เป็นแนวทางพัฒนาเทคนิคการห่อหุ้มจุลินทรีย์
ปฏิบัติเพื่อเพิ่มการคงประสิทธิภาพในการเก็บรักษา การปกป้องสปอร์จากสภาพแวดล้อมที่ไม่
เหมาะสม การปลดปล่อยของจุลินทรีย์ที่บริเวณเป้าหมาย และความเหมาะสมต่อการใช้งานในสภาวะ
ต่าง ๆ เพื่อประโยชน์ทางการเกษตรเพื่อการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น



บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการห่อหุ้มเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ด้วยโซเดียมอัลจิเนตและประเมินประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อร่าก่อโรคพืชบางชนิด มีขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย ดังต่อไปนี้

3.1 อาหาร สารเคมี วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการทำวิจัย

1. อาหารและสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

- 1.1 Potato dextrose agar (PDA) (Himedia, India)
- 1.2 เอทานอล (C₂H₅OH) (Prolabo, France)
- 1.3 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) (Ajax Finechem, Australia and New Zealand)
- 1.4 กรดไฮโดรคลอริก (HCl) (Ajax Finechem, Australia and New Zealand)
- 1.5 โซเดียมอัลจิเนต (sodium alginate) (บริษัท กรุงเทพเคมีภัณฑ์ ประเทศไทย จำกัด)
- 1.6 โซเดียมซิเตรท (sodium citrate) (KemAus™)
- 1.7 แคลเซียมคลอไรด์ (CaCl₂) (KemAus™)
- 1.8 Tween 20 (Pubchem, USA)
- 1.9 ผงวุ้น (agar) (BDH, England)
- 1.10 น้ำตาลซูโครส (Mitrphol, Thailand)
- 1.11 สารเคมีทางการเกษตร คาร์เบนดาซิม (carbendazim) (บริษัท แอ็กโกร ประเทศไทย จำกัด)

2. วัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

- 2.1 ขวดเก็บตัวอย่าง (Duran bottle) (Duran made, Germany)
- 2.2 หลอดทดลอง (tube) (Pyrex, USA)
- 2.3 ปีกเกอร์ (beaker) (Pyrex, USA)
- 2.4 ไมโครปิเปต (micropipette) (Finnpipette F1, Thermo scientific, Finland)
- 2.5 ทิป (tip) (Finn, Thermo scientific, Finland)
- 2.6 เข็มฉีดยา (needle) (Finn, Thermo scientific, Finland)

- 2.7 ลูป (loop) (Finn, Thermo scientific, Finland)
- 2.8 จานเพาะเชื้อ (petri plates) (Finn, Thermo scientific, Finland)
- 2.9 ฟลาสก์ (flask) (Pyrex ,USA)
- 2.10 ที่เจาะจุกคอร์ก (cork borer เส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร)
- 2.11 สไลด์นับเซลล์ (cell counting chamber) (Hemocytometer,Germany)
- 2.12 ถังออสมิเนียมชิปลือคทึบแสง ขนาด 8×10 เซนติเมตร (กว้าง×ยาว) หนา 0.16 มิลลิเมตร
- 2.13 กล่องเพาะเมล็ด ขนาด 12×12×8 เซนติเมตร (กว้าง×ยาว×สูง)
- 2.14 ตะเกียงแอลกอฮอล์ (alcohol burner) (Cotisen)
- 2.15 ตู้เก็บตัวอย่าง (-20 องศาเซลเซียส) (Panasonic, Thailand)
- 2.16 เครื่องวัดพีเอช (pH meter) (Mettler Toledo FiveEASYTMPlus, FEP20)
- 2.17 ตู้เขี่ยเชื้อ (laminar air flow) (ยูเนี่ยน ซายน์ เทรดิง จำกัด)
- 2.18 ตู้บ่ม (incubator) (Memmert GmbH Co, Germany)
- 2.19 เครื่องนึ่งความดันไอ (autoclaves) (เวลด์ไวด์ เทรดไทย จำกัด)
- 2.20 ตู้อบลมร้อน (hot air oven) (Binder, Germany)
- 2.21 เครื่องวัดความชื้น (water activity meter) (EZ-200, FREUND)
- 2.22 เครื่องผสมสาร (vortex mixer) (Products from Scientific Industries, USA)
- 2.23 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope: SEM) (Leo/1450 Carl Zeiss, Göttingen, Germany)
- 2.24 กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Nikon, Japan)
- 2.25 เวอร์เนีย (vernier caliper) (บริษัท โปรโทโรนิคส์ ประเทศไทย จำกัด)
- 2.26 เครื่องชั่งแบบละเอียด ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Ohaus, pa323c, USA)
- 2.27 ตู้เพาะเมล็ด (Termaks, KPB6395FL, S/N 2-858)

3.2 จุลินทรีย์ที่ใช้ในงานวิจัย

3.2.1 เชื้อรา *T. harzianum*

เชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากหน่วยวิจัยการควบคุมโดยชีววิธี คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

3.2.2 เชื้อราก่อโรคพืชที่ใช้ในงานวิจัย

เชื้อรา *Fusarium* sp. *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp. ได้รับความอนุเคราะห์จากหน่วยวิจัยการควบคุมโดยชีววิธี คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

3.3 แผนการดำเนินงานวิจัย

การศึกษาการห่อหุ้มเชื้อรา *T. harzianum* ด้วยโซเดียมอัลจิเนตและศึกษาประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium* sp., *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp. โดยทำการทดลองในห้องปฏิบัติการซึ่งได้รับความอนุเคราะห์ในการใช้สถานที่วิจัยที่ห้องปฏิบัติการหน่วยวิจัยการควบคุมโดยชีววิธี คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม และวิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีร้อยเอ็ด

3.4 การเตรียมจุลินทรีย์

3.4.1 การเพาะเลี้ยงเชื้อรา *T. harzianum* และเชื้อราก่อโรคพืช ได้แก่ เชื้อรา *Fusarium* sp. *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp.

นำเชื้อรา *T. harzianum* และเชื้อราก่อโรคพืช ได้แก่ เชื้อรา *Fusarium* sp. *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp. มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

3.4.2 การเตรียมสปอร์แขวนลอยเชื้อรา *T. harzianum* เพื่อทำการห่อหุ้ม

นำเชื้อรา *T. harzianum* ที่ทำการเพาะเลี้ยงจากข้อ 3.4.1 โดยเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ลงบนจานอาหาร PDA จากนั้นใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยม (spreader) เกลี่ยเส้นใยเชื้อราให้ทั่วเพื่อให้สปอร์กระจายตัว และเติม Tween 20 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 1 หยด เพื่อให้สปอร์เชื้อรากระจายตัวได้ดี ผสมโดยการเขย่าด้วยเครื่อง vortex mixer เป็นเวลา 1 นาที วัดปริมาณความเข้มข้นของสปอร์ด้วย hemacytometer จากนั้นปรับความเข้มข้นสปอร์แขวนลอยให้มีความเข้มข้นระดับ 2×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เป็นระดับความเข้มข้นสปอร์แขวนลอยที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืชและส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Abdel-Fattah et al., 2007; Gomes et al., 2017; Abdulkadir et al., 2022) เพื่อใช้ในขั้นตอนการห่อหุ้มสปอร์ด้วยสารห่อหุ้มโซเดียมอัลจิเนต (sodium alginate) ตามวิธีการในข้อ 3.5

3.4.3 การเตรียมสปอร์แขวนลอยเชื้อรา *Fusarium* sp. *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp. เพื่อทดสอบ

นำเชื้อรา *Fusarium* sp., *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงจากข้อ 3.4.1 โดยเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ลงบนจานอาหาร PDA จากนั้นใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยม (spreader) เกลี่ยเส้นใยเชื้อราให้ทั่วเพื่อให้สปอร์กระจายตัว และเติม Tween 20

ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 1 หยด เพื่อให้สปอร์เชื้อรากระจายตัวได้ดี จากนั้นเขย่าด้วยเครื่อง vortex mixer เป็นเวลา 1 นาที วัดปริมาณความเข้มข้นของสปอร์ด้วย hemacytometer และปรับความเข้มข้นของสปอร์แขวนลอยให้อยู่ในระดับ 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เป็นระดับความเข้มข้นของสปอร์แขวนลอยเชื้อราก่อโรคพืชระยะเริ่มต้นของการระบาดในสภาพแวดล้อม และมีระดับความรุนแรงเหมาะสมสำหรับการประเมินประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ (พชรมน เล็บสิงห์ และคณะ, 2564; Zhao et al., 2021)

3.5 การห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ด้วยโซเดียมอัลจิเนต

การห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ด้วยโซเดียมอัลจิเนตทำได้โดยใช้กระบวนการไอออนิกเจเลชัน ดัดแปลงจากวิธีของ Maruyama et al. (2020) โดยทำการหยดสารแขวนลอยโซเดียมอัลจิเนตลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) โดยการใช้โซเดียมอัลจิเนต ($\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_4\text{COONa}$) ที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ละลายด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อแล้วกวนผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นปรับค่า pH ให้ได้ 5.5 ถึง 5.6 แล้วเติมสปอร์แขวนลอยเชื้อรา *T. harzianum* ความเข้มข้น 2×10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ที่เตรียมไว้ในข้อ 3.4.2 ปริมาตร 1 ส่วนต่อสารละลายโซเดียมอัลจิเนต 1 ส่วน (1:1 v/v) เพื่อให้ได้ความเข้มข้นสปอร์แขวนลอยที่ 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร แล้วกวนเป็นเวลา 15 นาที เพื่อให้ได้ส่วนผสมที่เป็นเนื้อเดียวกัน หลังจากนั้นใช้ปั๊มดูดจ่ายของเหลวแบบรีดท้อ (peristaltic pump) ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของท่อหยดเท่ากับ 2 มิลลิเมตร เพื่อหยดส่วนผสมลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ขณะหยดทำการกวนด้วยแม่เหล็ก (magnetic bar) เพื่อไม่ให้ชีวภัณฑ์ทับซ้อนกัน จากนั้นนำชีวภัณฑ์ที่แช่ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต ไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้ชีวภัณฑ์คงตัว แล้วล้างชีวภัณฑ์ด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ จากนั้นผึ่งไว้ในตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow) ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จะได้ชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ของเชื้อรา *T. harzianum* จากนั้นทำการแบ่งชีวภัณฑ์ออกเป็น 2 ส่วน คือส่วนที่ 1 ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียก และส่วนที่ 2 ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้ง ซึ่งได้จากกระบวนการทำแห้งโดยนำชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกไปอบในตู้อบลมร้อน (hot air oven) อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง (ดัดแปลงจากวิธีการของ Locatelli et al., 2018) จะได้ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้ง จากนั้นนำเม็ดชีวภัณฑ์ทั้งชนิดเม็ดเปียกและชนิดเม็ดแห้งไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 28 ± 2 องศาเซลเซียส ในถุงอลูมิเนียมแบบซิปล็อคทึบแสง ขนาด 8×10 เซนติเมตร (กว้าง×ยาว) ความหนา 0.16 มิลลิเมตร

3.6 การศึกษาลักษณะทั่วไปและประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ *T. harzianum*

3.6.1 การศึกษาลักษณะทั่วไปของชีวภัณฑ์หลังการเก็บรักษาที่ระยะเวลาเริ่มต้น (0 เดือน)

3.6.1.1 การศึกษาขนาดและน้ำหนักของชีวภัณฑ์ โดยการนำชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* รวมถึงชุดควบคุมที่ไม่มีสปอร์เชื้อราทั้งชนิดเม็ดเปียกและชนิดเม็ดแห้งในแต่ละสภาวะการเก็บรักษา โดยใช้ชีวภัณฑ์แต่ละชนิด จำนวน 100 เม็ด บันทึกขนาดความกว้างและความยาวโดยใช้เวอร์เนียร์ ทำการวัดทีละ 1 เม็ด ส่วนการชั่งน้ำหนัก ใช้เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง โดยทำการชั่งทีละ 1 เม็ด จากนั้นหาค่าเฉลี่ย

3.6.1.2 ทดสอบความเป็นกรด-ด่าง (pH) การศึกษานี้ ดัดแปลงจากวิธีของ ประภาช กาวีชา และคณะ (2563) โดยการนำชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* รวมถึงชุดควบคุมที่ไม่มีสปอร์เชื้อราทั้งชนิดเม็ดเปียกและชนิดเม็ดแห้งในแต่ละสภาวะการเก็บรักษา ชนิดละ 0.50 กรัม มาละลายในสารละลายโซเดียมซิติเรท ($\text{Na}_2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 49.50 มิลลิลิตร โดยชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียก ใช้เวลาละลาย 1 ชั่วโมง ส่วนชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้ง ใช้เวลาละลาย 8 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่อง pH meter ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นหาค่าเฉลี่ย

3.6.1.3 ทดสอบปริมาณน้ำอิสระ (water activity, a_w) โดยการนำชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* รวมถึงชุดควบคุมที่ไม่มีสปอร์เชื้อราทั้งชนิดเม็ดเปียกและชนิดเม็ดแห้งในแต่ละสภาวะการเก็บรักษา ชนิดละ 1 กรัม มาวัดค่า a_w ด้วยเครื่อง water activity meter ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นหาค่าเฉลี่ย

3.6.1.4 ศึกษาลักษณะพื้นผิวภายนอกของชีวภัณฑ์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope: SEM) โดยนำชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* รวมถึงชุดควบคุมที่ไม่มีสปอร์เชื้อราทั้งชนิดเม็ดเปียกและชนิดเม็ดแห้งในแต่ละสภาวะการเก็บรักษา มาวิเคราะห์ลักษณะพื้นผิวภายนอกด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Leo/1450 Carl Zeiss, Göttingen, Germany) ที่ศูนย์เครื่องมือกลาง มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

3.6.2 การทดสอบการรอดชีวิตของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา *T. harzianum*

การทดสอบนี้ ดัดแปลงจากวิธีของ ประภาช กาวีชา และคณะ (2563) โดยเริ่มจากนำ ชีวภัณฑ์ทั้งชนิดเม็ดเปียกและชนิดเม็ดแห้งในแต่ละสภาวะการเก็บรักษา ชนิดละ 0.1 กรัม ละลายในโซเดียมซิติเรท ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 9.90 มิลลิลิตร โดยชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียก ใช้เวลาละลาย 1 ชั่วโมง ส่วนชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้ง ใช้เวลาละลาย 8 ชั่วโมง จากนั้นเติม Tween 20 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 1 หยด แล้วเขย่าด้วยเครื่อง vortex mixer เป็นเวลา 1 นาที เพื่อให้สปอร์เชื้อรากระจายตัว จากนั้นเจือจางตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 10^{-2} ถึง 10^{-5}

แล้วนำแต่ละระดับการเจือจาง มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA ด้วยวิธี spread plate โดยการใช้สปอร์แขวนลอยปริมาตร 100 ไมโครลิตร เกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหาร ทำการทดลองระดับการเจือจางละ 3 ซ้ำ จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA บันทึกและคำนวณหาปริมาณเชื้อราที่รอดชีวิต ทำการทดสอบเมื่อเก็บรักษาชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ที่ระยะเวลาต่าง ๆ คือ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 เดือน โดยใช้สูตรคำนวณตามวิธีของ ดาราวดี วงษ์ขาลี (2558) ดังนี้

$$\text{ปริมาณเชื้อราที่รอดชีวิต} = n \times 10^n \times 10 \text{ (cfu.ml}^{-1}\text{)} \quad (1)$$

โดยที่ n = จำนวนโคโลนี

10^n = ระดับความเข้มข้นเชื้อที่เจือจาง

3.6.3 การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ต่อการควบคุมเชื้อรา *Fusarium* sp., *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp.

การทดสอบนี้ ดัดแปลงจากวิธีของ Maruyama et al. (2020) โดยทำการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) จากนั้นเทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจานเพาะเชื้อจนแข็งตัวแล้วนำชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ทั้งชนิดเม็ดเปียกและชนิดเม็ดแห้งในแต่ละสถานะการเก็บรักษา วางบนอาหาร PDA ด้วยวิธี dual culture โดยวางชีวภัณฑ์และเชื้อราก่อโรคพืชในทิศทางตรงข้ามกัน วางห่างจากขอบจานเพาะเชื้อ 2 เซนติเมตร และเชื้อราทดสอบทั้ง 2 ชนิดห่างกัน 5 เซนติเมตร ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส จากนั้นวัดรัศมีการเจริญของโคโลนีเชื้อราหลังเพาะเลี้ยง 7 วัน แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การควบคุมของเชื้อรา (percent inhibition of radial growth : PIRG) ทำการทดสอบเมื่อเก็บรักษาชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ระยะเวลาตั้งแต่ 0 ถึง 5 เดือน สูตรคำนวณตามวิธีของ Gamliel et al. (1989) ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การควบคุม} = [(R_1 - R_2) / R_1 \times 100] \quad (2)$$

โดยที่ R_1 = รัศมีการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืชในชุดควบคุม (mm)

R_2 = รัศมีการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืชที่เพาะเลี้ยงร่วมกับชีวภัณฑ์ในชุดทดสอบ (mm)

3.7 การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ *T. harzianum* ต่อการควบคุมเชื้อรา *Fusarium sp.*, *Curvularia sp.* และ *Alternaria sp.* ในระยะเพาะเมล็ดมะเขือเทศ

การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ได้เลือกใช้ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกเป็นรูปแบบสำหรับการทดสอบ โดยกระบวนการห่อหุ้มสปอร์ดำเนินการตามวิธีระบุไว้ในหัวข้อ 3.5 จากนั้นนำชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกที่ได้หลังการผลิตมาทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมเชื้อรา *Fusarium sp.*, *Curvularia sp.* และ *Alternaria sp.* ในการประยุกต์ใช้สำหรับการเพาะเมล็ดของ มะเขือเทศพันธุ์สีดา ทำการออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design: CRD) ประกอบด้วย 9 วิธี วิธีละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 50 เมล็ด โดยทำการห่อเมล็ดมะเขือเทศด้วยผ้าขาวบาง ร่วมกับชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียก ตามวิธีดังตารางที่ 6 แล้วแช่ร่วมกับสปอร์แขวนลอยของเชื้อราทดสอบ แต่ละชนิด คือ เชื้อรา *Fusarium sp.*, *Curvularia sp.* และ *Alternaria sp.* ที่เตรียมไว้ในข้อ 3.4.3 ที่มีความเข้มข้นของสปอร์ 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการทดสอบการงอกของเมล็ดในสภาพห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Top of paper (TP) ตามวิธีการของ ISTA (2021) โดยการเพาะในกล่องพลาสติกขนาด $12 \times 12 \times 8$ เซนติเมตร แล้วนำกระดาษเพาะขนาด $12 \times 12 \times 8$ เซนติเมตร วางลงในกล่องจากนั้นเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 5 มิลลิลิตร แล้วเรียงเมล็ดให้ครบ 50 เมล็ด ปิดฝากล่องแล้วปิดทับด้วยพาราฟิล์มรอบกล่อง จากนั้นนำไปเพาะในตู้ควบคุมสภาพแวดล้อมที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสง 12 ชั่วโมง สลับมืด 12 ชั่วโมง ความชื้นสัมพัทธ์ 50 เปอร์เซ็นต์ ทำการนับจำนวนของเมล็ดที่งอกเป็นต้นกล้าปกติโดยวันแรกที่เริ่มนับ (first count) จนถึงวันสุดท้ายที่นับ (final count) คือวันที่ 7 ถึง วันที่ 14 แล้วทำการประเมินผล ดังนี้

3.7.1 ประเมินเปอร์เซ็นต์การงอก โดยนับจำนวนเมล็ดที่งอกเป็นต้นกล้าปกติตั้งแต่วันที่ 7 ถึงวันที่ 14 หลังเพาะเมล็ด จากนั้นคำนวณและรายงานผลเป็นเปอร์เซ็นต์ สูตรคำนวณตามวิธีของ ISTA (2021) ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การงอก} = (\text{จำนวนเมล็ดที่งอกเป็นต้นกล้าปกติ} / \text{จำนวนเมล็ดที่เพาะ}) \times 100 \quad (3)$$

3.7.2 ประเมินความเร็วในการงอก โดยนับจำนวนเมล็ดที่งอกเป็นต้นกล้าปกติ ตั้งแต่วันที่ 7 ถึงวันที่ 14 หลังเพาะเมล็ด จากนั้นคำนวณและรายงานผลความเร็วในการงอก สูตรคำนวณตามวิธีของ AOSA (1983) ดังนี้

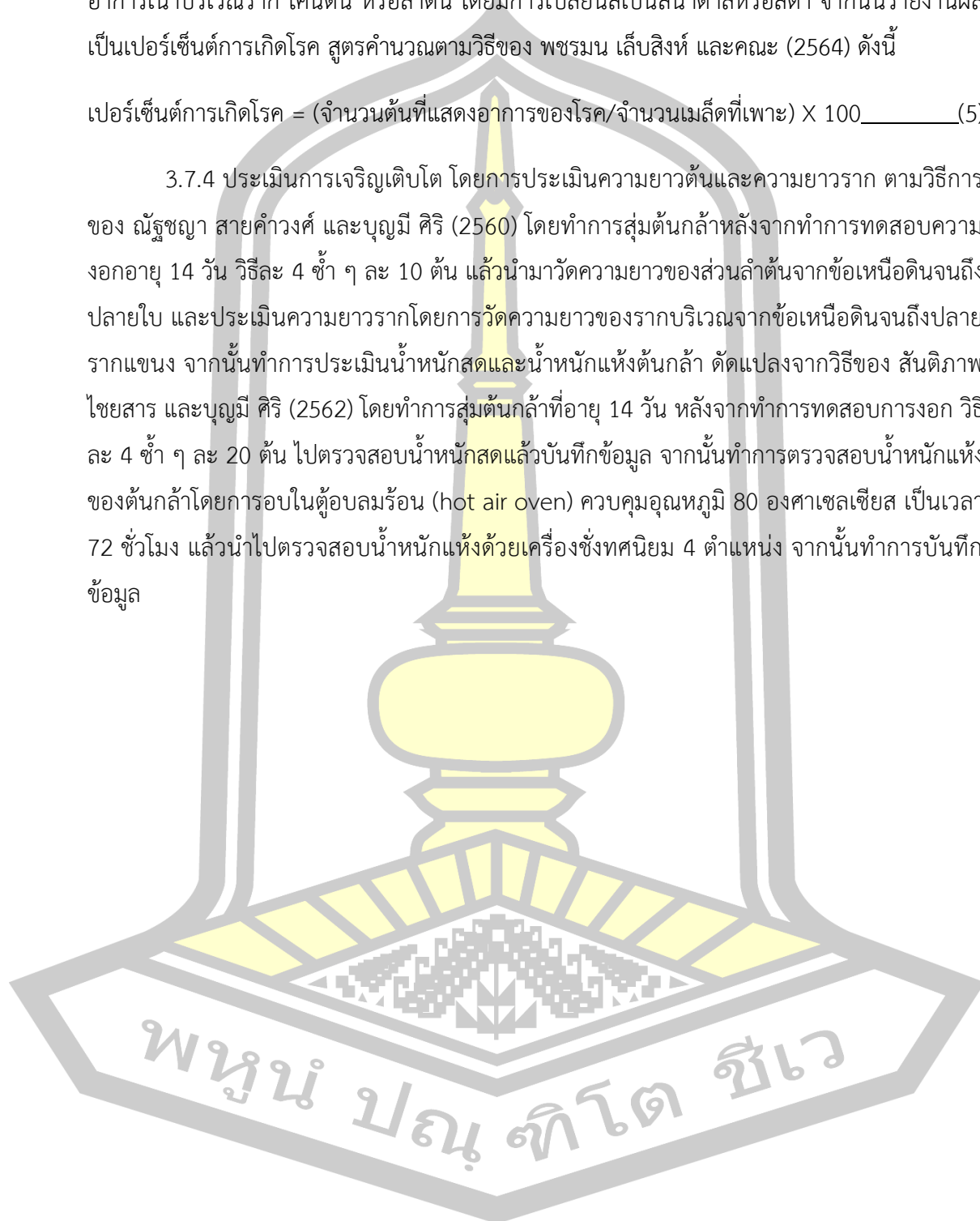
$$\text{ความเร็วในการงอก (ต้น/วัน)} = \sum [\text{ต้นกล้าที่งอกในแต่ละวัน} / \text{จำนวนวันหลังเพาะ}] \quad (4)$$

3.7.3 ประเมินเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค โดยการตรวจนับจำนวนต้นกล้าที่แสดงอาการของโรค ในวันที่ 14 หลังจากการเพาะเมล็ด พิจารณาลักษณะอาการผิดปกติที่แสดงถึงการเกิดโรค ต้นกล้ามีอาการใบจุดสีเหลือง สีน้ำตาล หรือสีดำ ใบแห้งหรือเหี่ยว ลำต้นแห้ง รวมถึงการพบเส้นใยเชื้อรา

สีน้ำตาลหรือสีดำขึ้นปกคลุมบริเวณใบและเปลือกเมล็ด นอกจากนี้ ต้นกล้าที่ติดเชื้อรุนแรงอาจมี อาการเน่าบริเวณราก โคนต้น หรือลำต้น โดยมีการเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาลหรือสีดำ จากนั้นรายงานผล เป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค สูตรคำนวณตามวิธีของ พชรมน เล็บสิงห์ และคณะ (2564) ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค} = (\text{จำนวนต้นที่แสดงอาการของโรค/จำนวนเมล็ดที่เพาะ}) \times 100 \text{ (5)}$$

3.7.4 ประเมินการเจริญเติบโต โดยการประเมินความยาวต้นและความยาวราก ตามวิธีการ ของ ญัฐชญา สายคำวงศ์ และบุญมี ศิริ (2560) โดยทำการสุ่มต้นกล้าหลังจากทำการทดสอบความ งอกอายุ 14 วัน วิธีละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 ต้น แล้วนำมาวัดความยาวของส่วนลำต้นจากข้อเหนือดินจนถึง ปลายใบ และประเมินความยาวรากโดยการวัดความยาวของรากบริเวณจากข้อเหนือดินจนถึงปลาย รากแขนง จากนั้นทำการประเมินน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งต้นกล้า ดัดแปลงจากวิธีของ สันติภาพ ไชยสาร และบุญมี ศิริ (2562) โดยทำการสุ่มต้นกล้าที่อายุ 14 วัน หลังจากทำการทดสอบการงอก วิธี ละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 20 ต้น ไปตรวจสอบน้ำหนักสดแล้วบันทึกข้อมูล จากนั้นทำการตรวจสอบน้ำหนักแห้ง ของต้นกล้าโดยการอบในตู้อบลมร้อน (hot air oven) ควบคุมอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง แล้วนำไปตรวจสอบน้ำหนักแห้งด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง จากนั้นทำการบันทึก ข้อมูล

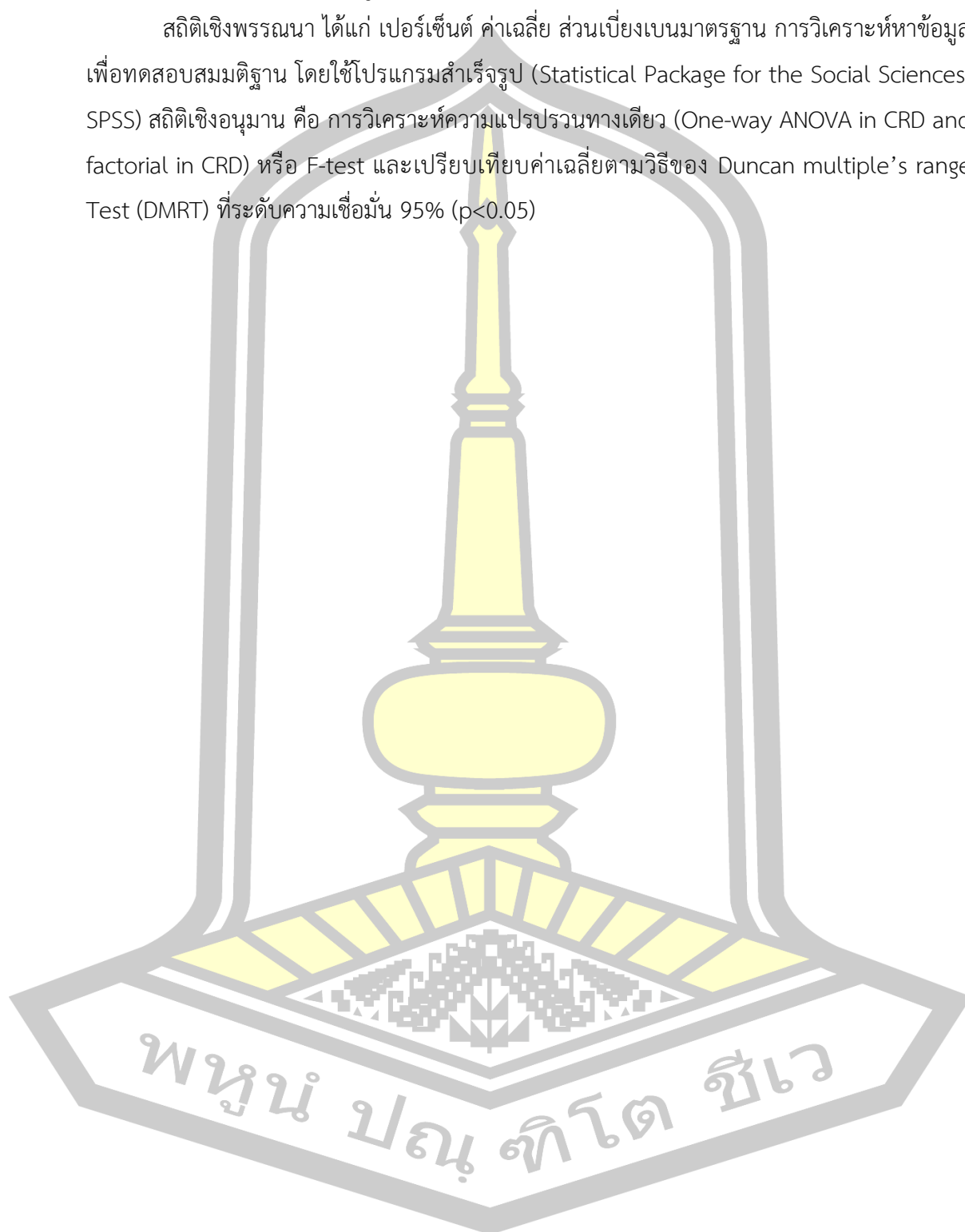


ตารางที่ 6 วิธีการทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ *T. harzianum* ต่อการควบคุมเชื้อรา *Fusarium* sp., *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp. ในการประยุกต์ใช้สำหรับการเพาะเมล็ดมะเขือเทศพันธุ์สีดา

วิธี	ส่วนผสมและอัตราส่วน
1	ชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา <i>T. harzianum</i> ชนิดเม็ดเปียก ปริมาณ 1 กรัม : <i>Fusarium</i> sp. ความเข้มข้น 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
2	ชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา <i>T. harzianum</i> ชนิดเม็ดเปียก ปริมาณ 1 กรัม : <i>Curvularia</i> sp. ความเข้มข้น 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
3	ชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา <i>T. harzianum</i> ชนิดเม็ดเปียก ปริมาณ 1 กรัม : <i>Alternaria</i> sp. ความเข้มข้น 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
4	น้ำกลั่นปลอดเชื้อ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร : <i>Fusarium</i> sp. ความเข้มข้น 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
5	น้ำกลั่นปลอดเชื้อ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร : <i>Curvularia</i> sp. ความเข้มข้น 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
6	น้ำกลั่นปลอดเชื้อ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร : <i>Alternaria</i> sp. ความเข้มข้น 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
7	สารฆ่าเชื้อราทางการค้า (คาร์เบนดาซิม) ความเข้มข้น 0.0005 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร : น้ำกลั่นปลอดเชื้อ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร : <i>Fusarium</i> sp. ความเข้มข้น 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
8	สารฆ่าเชื้อราทางการค้า (คาร์เบนดาซิม) ความเข้มข้น 0.0005 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร : น้ำกลั่นปลอดเชื้อ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร : <i>Curvularia</i> sp. ความเข้มข้น 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
9	สารฆ่าเชื้อราทางการค้า (คาร์เบนดาซิม) ความเข้มข้น 0.0005 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร : น้ำกลั่นปลอดเชื้อ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร : <i>Alternaria</i> sp. ความเข้มข้น 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

3.8 สถิติและการวิเคราะห์ข้อมูล

สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ เปอร์เซ็นต์ ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน การวิเคราะห์หาข้อมูลเพื่อทดสอบสมมติฐาน โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป (Statistical Package for the Social Sciences, SPSS) สถิติเชิงอนุมาน คือ การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA in CRD and factorial in CRD) หรือ F-test และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยตามวิธีของ Duncan multiple's range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)



บทที่ 4

ผลการวิจัย

งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อผลิตชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ของเชื้อรา *T. harzianum* ด้วยโซเดียมอัลจิเนต และศึกษาประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ต่อการควบคุมการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืชบางชนิด โดยเริ่มต้นจากการห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ด้วยโซเดียมอัลจิเนต แล้วนำไปเก็บรักษาด้วยวิธีการต่าง ๆ จากนั้นทำการศึกษาลักษณะกายภาพและการรอดชีวิตของชีวภัณฑ์รวมทั้งประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ต่อการควบคุมการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืช ได้แก่ เชื้อรา *Fusarium* sp., *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp. บนอาหาร PDA เมื่อทำการเก็บรักษาชีวภัณฑ์ ตั้งแต่ระยะเวลา 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 เดือน และทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ต่อการควบคุมเชื้อรา *Fusarium* sp., *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp. ในการประยุกต์ใช้สำหรับการเพาะเมล็ดมะเขือเทศ เมื่อปลูกเชื้อรา *Fusarium* sp., *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp. ลงบนเมล็ดมะเขือเทศ ร่วมกับชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียก โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely random design: CRD) ผู้วิจัยมีวิธีการนำเสนอข้อมูลตามลำดับดังนี้

4.1 ผลการศึกษาลักษณะกายภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ *T. harzianum* ที่ระยะเวลาเริ่มต้น (0 เดือน)

4.1.1 ผลการศึกษาขนาดและน้ำหนักของชีวภัณฑ์

4.1.2 ผลทดสอบความเป็นกรด-ด่าง (pH)

4.1.3 ผลทดสอบปริมาณน้ำอิสระ (water activity: a_w)

4.1.4 ผลการศึกษาลักษณะและพื้นผิวภายนอกของชีวภัณฑ์ด้วยกล้องจุลทรรศน์

อิเล็กตรอนแบบ ส่องกราด (scanning electron microscope: SEM)

4.2 ผลการทดสอบการรอดชีวิตของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ที่เก็บรักษาระยะเวลาต่างกัน

4.3 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ *T. harzianum* ต่อการควบคุมเชื้อรา *Fusarium* sp., *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp. ที่เก็บรักษาระยะเวลาต่างกัน

4.4 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ *T. harzianum* ต่อการควบคุมเชื้อรา *Fusarium* sp., *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp. ในการประยุกต์ใช้สำหรับการเพาะเมล็ดมะเขือเทศ

4.1 ผลการศึกษาลักษณะกายภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ *T. harzianum*

จากการศึกษาขนาดและน้ำหนักของชีวภัณฑ์หลังจากนำเม็ดชีวภัณฑ์ทั้งชนิดเม็ดเปียกและชนิดเม็ดแห้งที่เก็บรักษาระยะเวลาเริ่มต้น (0 เดือน) ในสภาวะอุณหภูมิ 4 และ 28 ± 2 องศาเซลเซียส ในถุงออลูมิเนียมแบบซีปล็อกทึบแสง ขนาด 8×10 เซนติเมตร (กว้าง \times ยาว) และความหนา 0.16 มิลลิเมตร

4.1.1 ผลการศึกษาขนาดและน้ำหนักของชีวภัณฑ์

จากการศึกษาพบว่า ขนาดและน้ำหนักของชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกและเม็ดแห้งภายใต้สภาวะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 28 ± 2 องศาเซลเซียส พบว่าชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียก ที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีขนาดความกว้างเฉลี่ย 3.32 มิลลิเมตร และความยาวเฉลี่ย 3.88 มิลลิเมตร โดยมีน้ำหนักเฉลี่ย 0.0234 กรัม ขณะที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส พบว่ามีขนาดความกว้างเฉลี่ย 3.23 มิลลิเมตร ความยาวเฉลี่ย 3.66 มิลลิเมตร และน้ำหนักเฉลี่ย 0.0239 กรัม ส่วนชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียก (ชุดควบคุม) ที่เก็บรักษาในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีขนาดความกว้างเฉลี่ย 3.20 มิลลิเมตร และความยาวเฉลี่ย 3.65 มิลลิเมตร โดยมีน้ำหนักเฉลี่ย 0.0219 กรัม ส่วนที่เก็บในอุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส มีขนาดความกว้างเฉลี่ย 3.17 มิลลิเมตร ความยาวเฉลี่ย 3.69 มิลลิเมตร และน้ำหนักเฉลี่ย 0.0205 กรัม เมื่อพิจารณาชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้ง พบว่า ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีขนาดความกว้างเฉลี่ย 0.94 มิลลิเมตร และความยาวเฉลี่ย 1.20 มิลลิเมตร โดยมีน้ำหนักเฉลี่ย 0.0015 กรัม ขณะที่การเก็บที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส มีขนาดความกว้างเฉลี่ย 0.92 มิลลิเมตร ความยาวเฉลี่ย 1.21 มิลลิเมตร และน้ำหนักเฉลี่ย 0.0015 กรัม ส่วนชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้ง (ชุดควบคุม) ที่เก็บในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีขนาดความกว้างเฉลี่ย 0.93 มิลลิเมตร และความยาวเฉลี่ย 1.19 มิลลิเมตร โดยมีน้ำหนักเฉลี่ย 0.0014 กรัม ขณะที่ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส มีขนาดความกว้างเฉลี่ย 0.91 มิลลิเมตร ความยาวเฉลี่ย 1.22 มิลลิเมตร และน้ำหนักเฉลี่ย 0.0013 กรัม เมื่อเปรียบเทียบชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกและเม็ดแห้งที่เก็บรักษาภายใต้สภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 28 ± 2 องศาเซลเซียส พบว่าขนาดและน้ำหนักมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยที่ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียก มีขนาดและน้ำหนักมากกว่าชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้ง เมื่อพิจารณาเฉพาะชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียก ภายใต้สภาวะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 28 ± 2 องศาเซลเซียส พบว่าชีวภัณฑ์ที่มี สปอร์เชื้อรา *T. harzianum* มีความกว้าง ความยาว และน้ำหนักโดยรวมมากกว่าชีวภัณฑ์ที่ไม่มีสปอร์ เชื้อรา *T. harzianum* (ชุดควบคุม) ในขณะที่ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้งที่เก็บรักษาในทั้ง 2 สภาวะ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ในด้านความกว้าง ความยาว และน้ำหนักของชีวภัณฑ์ ดังแสดงในตารางที่ 7

4.1.2 ผลทดสอบความเป็นกรด-ด่าง (pH)

จากการศึกษาพบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกและเม็ดแห้งภายใต้สภาวะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 28±2 องศาเซลเซียส พบว่าชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีค่า pH เท่ากับ 6.80 ขณะที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส มีค่า pH เท่ากับ 6.82 ส่วนชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียก (ชุดควบคุม) พบว่าค่า pH อยู่ที่ 6.83 ทั้งในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 28±2 องศาเซลเซียส เมื่อพิจารณาชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้ง พบว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีค่า pH เท่ากับ 6.33 ขณะที่การเก็บที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส มีค่า pH เท่ากับ 6.31 ส่วนชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้ง (ชุดควบคุม) พบว่าค่า pH อยู่ที่ 6.26 เมื่อเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส และ 6.28 เมื่อเก็บรักษาที่ 28±2 องศาเซลเซียส เมื่อเปรียบเทียบชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกและเม็ดแห้ง พบว่าค่า pH มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยที่ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกมีค่า pH สูงกว่าชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้ง อย่างไรก็ตาม ค่า pH ของชีวภัณฑ์แต่ละชนิดมีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยระหว่างสภาวะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 28±2 องศาเซลเซียส ดังแสดงในตารางที่ 7

4.1.3 ผลทดสอบปริมาณน้ำอิสระ (water activity: a_w)

จากการศึกษาพบว่า ค่า a_w ของชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกและเม็ดแห้งภายใต้สภาวะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 28±2 องศาเซลเซียส พบว่าชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียก ที่เก็บในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีค่า a_w เท่ากับ 0.987 ขณะที่การเก็บในที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส มีค่า 0.994 ส่วนชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียก (ชุดควบคุม) พบว่า ค่า a_w อยู่ที่ 0.989 และ 0.993 เมื่อเก็บในอุณหภูมิ 4 และ 28±2 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เมื่อพิจารณาชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้ง พบว่าการเก็บในที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีค่า a_w เท่ากับ 0.448 และการเก็บในอุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส มีค่า a_w เท่ากับ 0.446 ในขณะที่ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้ง (ชุดควบคุม) มีค่า a_w เท่ากับ 0.443 และ 0.430 เมื่อเก็บในที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 28±2 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกและเม็ดแห้ง พบว่า ค่า a_w มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยที่ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียก มีค่า a_w สูงกว่าชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้ง ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ลักษณะกายภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ *T. harzianum*

ชีวภัณฑ์	สภาวะการ เก็บรักษา	สูตร	ลักษณะกายภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ <i>T. harzianum</i>				
			ความกว้าง (มิลลิเมตร)	ความยาว (มิลลิเมตร)	น้ำหนัก (กรัม)	ค่า pH	ค่า a_w
เม็ดเปียก	4 °C	มีสปอร์เชื้อ	3.32±0.51 ^a	3.88±0.53 ^a	0.0234±0.0026 ^a	6.80±0.04 ^a	0.987±0.01 ^a
		ชุดควบคุม	3.20±0.45 ^b	3.65±0.78 ^b	0.0219±0.0030 ^b	6.83±0.04 ^a	0.989±0.01 ^a
	28±2 °C	มีสปอร์เชื้อ	3.23±0.42 ^{ab}	3.66±0.61 ^b	0.0239±0.0013 ^a	6.82±0.02 ^a	0.994±0.01 ^a
		ชุดควบคุม	3.17±0.57 ^b	3.69±0.51 ^b	0.0205±0.0027 ^b	6.83±0.02 ^a	0.993±0.01 ^a
เม็ดแห้ง	4 °C	มีสปอร์เชื้อ	0.94±0.13 ^c	1.20±0.16 ^c	0.0015±0.0003 ^c	6.33±0.13 ^b	0.448±0.03 ^b
		ชุดควบคุม	0.93±0.15 ^c	1.19±0.19 ^c	0.0014±0.0003 ^c	6.26±0.04 ^b	0.443±0.02 ^b
	28±2 °C	มีสปอร์เชื้อ	0.92±0.15 ^c	1.21±0.21 ^c	0.0015±0.0002 ^c	6.31±0.06 ^b	0.446±0.00 ^b
		ชุดควบคุม	0.91±0.13 ^c	1.22±0.19 ^c	0.0013±0.0003 ^c	6.28±0.04 ^b	0.430±0.02 ^b

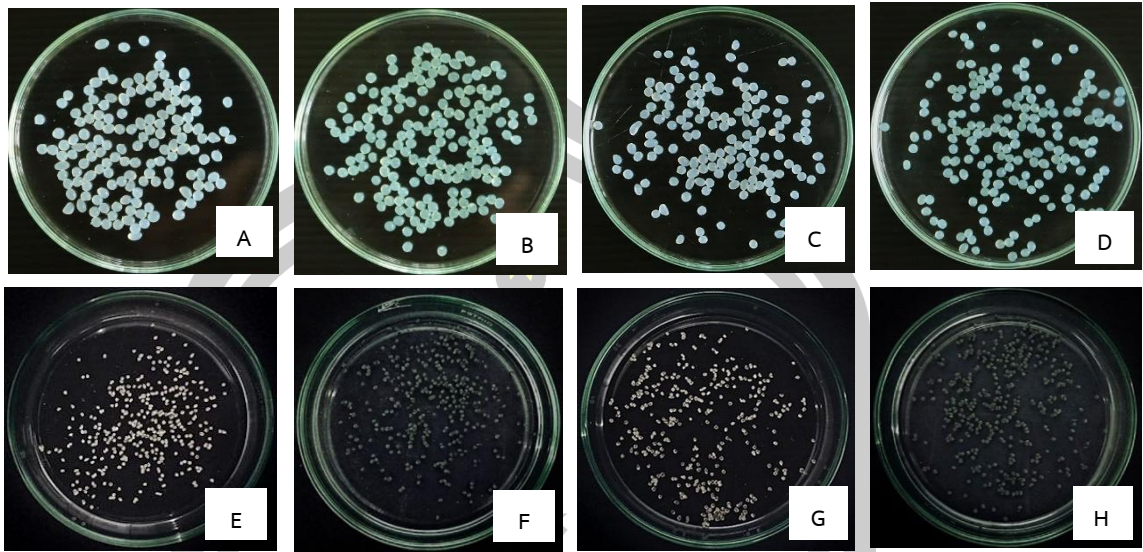
หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ชุดควบคุม = ไม่มีสปอร์เชื้อรา *T. harzianum*

ตัวอักษร ^{a,b,c,...} ที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4.1.4 ผลการศึกษาลักษณะและพื้นผิวภายนอกของชีวภัณฑ์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope: SEM)

ลักษณะภายนอกของชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกที่เก็บรักษาในสภาวะอุณหภูมิ 4 และ 28±2 องศาเซลเซียส เม็ดชีวภัณฑ์มีรูปทรงกลม พื้นผิวเรียบ สีเขียว เมื่อเทียบกับชุดควบคุมพบว่าเม็ดมีสีที่เข้มกว่าเนื่องจากมีสปอร์ของเชื้อรา *T. harzianum* เช่นเดียวกับชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้ง ที่เก็บรักษา ในสภาวะอุณหภูมิ 4 และ 28±2 องศาเซลเซียส เม็ดชีวภัณฑ์มีรูปทรงกลม สีเขียวเข้ม เมื่อเทียบกับ ชุดควบคุมจะมีสีที่เข้มกว่าเนื่องจากมีสปอร์ของเชื้อรา *T. harzianum* (ภาพประกอบที่ 11) เมื่อศึกษาลักษณะพื้นผิวภายนอกโดยการสแกนด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope: SEM) พบว่าชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียก ที่เก็บรักษาในสภาวะอุณหภูมิ 4 และ 28±2 องศาเซลเซียส มีลักษณะพื้นผิวเป็นเนื้อเดียวกัน และมีความขรุขระเล็กน้อย เมื่อเทียบกับชุดควบคุมเนื่องจากการกระจายของสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ขณะที่ลักษณะพื้นผิวของชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้งที่เก็บรักษาในสภาวะอุณหภูมิ 4 และ 28±2 องศาเซลเซียส มีลักษณะพื้นผิวหยาบหรือแตก มีความขรุขระและมีรูพรุน (ภาพประกอบที่ 12)



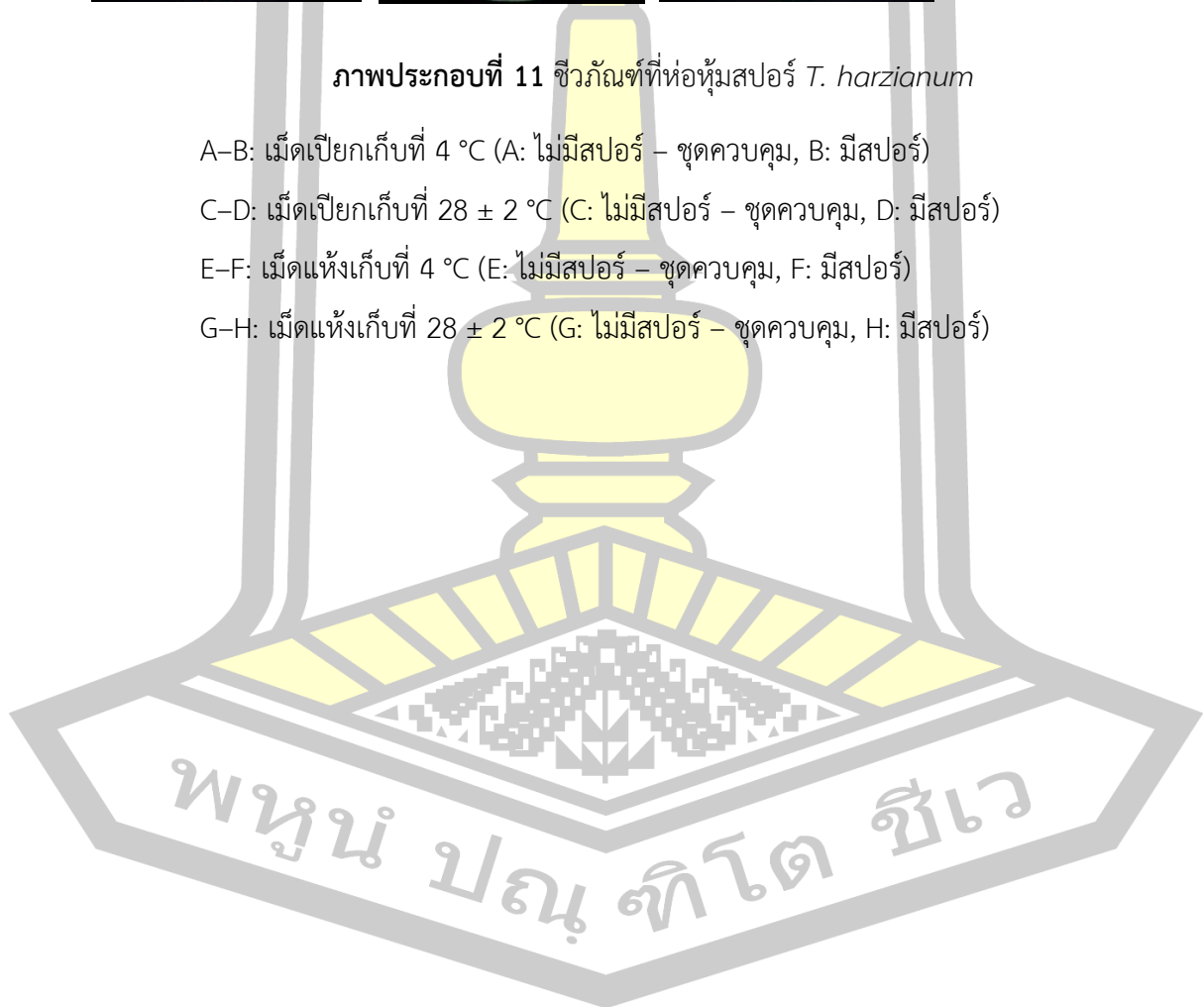
ภาพประกอบที่ 11 ชีวิตณ์ท์ที่ห่อหุ้มสปอร์ *T. harzianum*

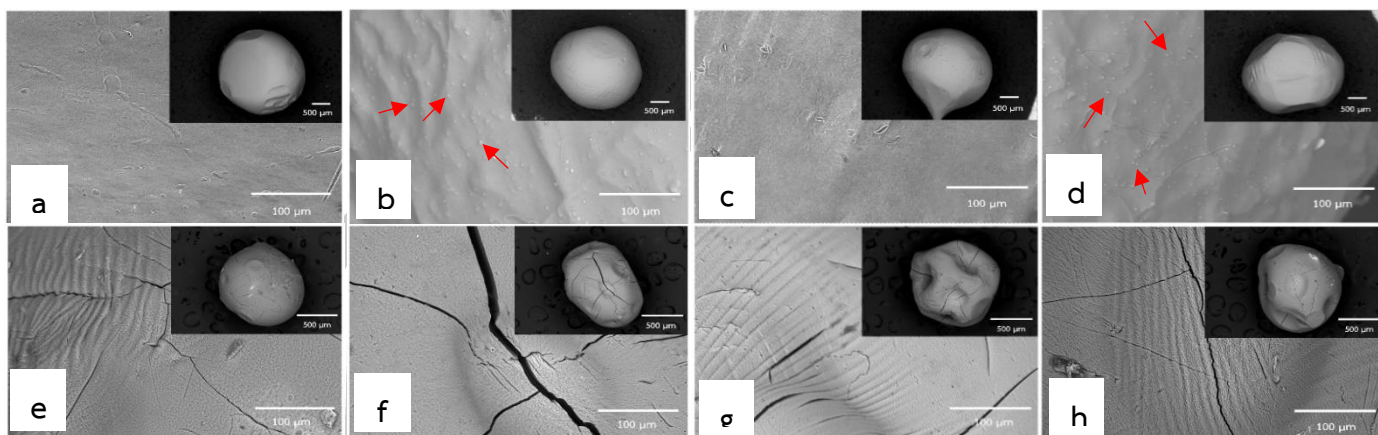
A-B: เม็ดเปียกเก็บที่ 4 °C (A: ไม่มีสปอร์ – ชุดควบคุม, B: มีสปอร์)

C-D: เม็ดเปียกเก็บที่ 28 ± 2 °C (C: ไม่มีสปอร์ – ชุดควบคุม, D: มีสปอร์)

E-F: เม็ดแห้งเก็บที่ 4 °C (E: ไม่มีสปอร์ – ชุดควบคุม, F: มีสปอร์)

G-H: เม็ดแห้งเก็บที่ 28 ± 2 °C (G: ไม่มีสปอร์ – ชุดควบคุม, H: มีสปอร์)





ภาพประกอบที่ 12 ชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ *T. harzianum* สแกนด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด และการกระจายของสปอร์ *T. harzianum* (ลูกศรชี้) กำลังขยาย 300 เท่า (ภาพแทรกกำลังขยาย 25 เท่า)

a-b เม็ดเปียกเก็บที่ 4 °C (a: ไม่มีสปอร์ – ชุดควบคุม, b: มีสปอร์)

c-d เม็ดเปียกเก็บที่ 28 ± 2 °C (c: ไม่มีสปอร์ – ชุดควบคุม, d: มีสปอร์)

e-f เม็ดแห้งเก็บที่ 4 °C (e: ไม่มีสปอร์ – ชุดควบคุม, f: มีสปอร์)

g-h เม็ดแห้งเก็บที่ 28 ± 2 °C (g: ไม่มีสปอร์ – ชุดควบคุม, h: มีสปอร์)

4.2 ผลการทดสอบการรอดชีวิตของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา *T. harzianum*

การรอดชีวิตหลังการห่อหุ้มของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* เมื่อเก็บรักษาตั้งแต่ระยะเวลา 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 เดือน ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียก ที่เก็บรักษาในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีปริมาณ เท่ากับ 6.63, 6.92, 6.82, 6.63, 6.60 และ 6.56 Log₁₀ conidia g⁻¹ ตามลำดับ ขณะที่เก็บรักษาในอุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส มีปริมาณ เท่ากับ 6.67, 7.09, 6.89, 6.75, 6.80 และ 6.57 Log₁₀ conidia g⁻¹ ตามลำดับ ส่วนการรอดชีวิตหลังการห่อหุ้มของชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้งที่เก็บรักษาในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีปริมาณ เท่ากับ 6.79, 6.83, 6.80, 4.00, 4.00 และ 1.33 Log₁₀ conidia g⁻¹ ตามลำดับ ขณะที่เก็บรักษาในอุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส มีปริมาณ เท่ากับ 6.80, 4.00, 0.00, 0.00, 0.00 และ 0.00 Log₁₀ conidia g⁻¹ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบชีวภัณฑ์เม็ดเปียกและเม็ดแห้งที่เก็บรักษาในอุณหภูมิ 4 และ 28 ± 2 องศาเซลเซียส ที่เก็บรักษาระยะเวลา 0 ถึง 5 เดือน พบว่าปริมาณการรอดชีวิตของสปอร์ *T. harzianum* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยชีวภัณฑ์เม็ดเปียกที่เก็บใน 2 สภาวะ (4 และ 28 ± 2

องศาเซลเซียส) มีการรอดชีวิตของสปอร์เพิ่มขึ้นในเดือนที่ 1 และลดลงอย่างต่อเนื่องเมื่อเก็บรักษา ระยะเวลา 5 เดือน มีปริมาณ การรอดชีวิต เท่ากับ 6.56 และ 6.57 Log_{10} conidia g^{-1} ตามลำดับ ขณะที่ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้งที่เก็บรักษาในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาในสภาวะ อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส มีปริมาณการรอดชีวิตลดลง เมื่อเก็บรักษาถึง 5 เดือน มีปริมาณการ รอดชีวิตเท่ากับ 1.33 และ 0.00 Log_{10} conidia g^{-1} ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 8 และ ภาพประกอบที่ 13

ตารางที่ 8 การรอดชีวิตของสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* (Log_{10} conidia g^{-1}) ในชีวภัณฑ์แต่ละ สภาวะการเก็บรักษาเมื่อเก็บรักษาตั้งแต่ระยะเวลา 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 เดือน

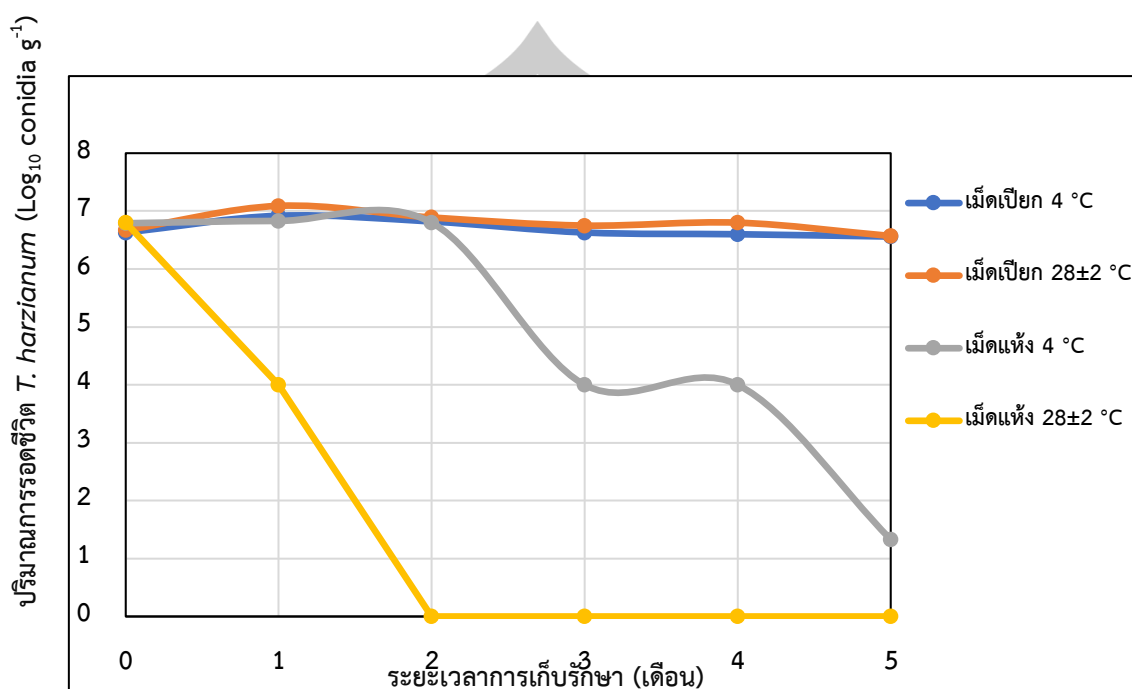
ชีวภัณฑ์	สภาวะ การเก็บ รักษา	การรอดชีวิตของ <i>T. harzianum</i> เมื่อเก็บรักษาตั้งแต่ระยะเวลา 0 ถึง 5 เดือน (ค่า Log_{10} conidia g^{-1})					
		0 เดือน	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน
เม็ดเปียก	4 °C	6.63±0.05 ^{bb}	6.92±0.02 ^{ba}	6.82±0.04 ^{aa}	6.63±0.05 ^{ab}	6.60±0.11 ^{ab}	6.56±0.07 ^{ab}
	28±2 °C	6.67±0.05 ^{abbc}	7.09±0.05 ^{aa}	6.89±0.11 ^{ab}	6.75±0.08 ^{abc}	6.80±0.08 ^{ab}	6.57±0.23 ^{ac}
เม็ดแห้ง	4 °C	6.79±0.10 ^{aa}	6.83±0.09 ^{ba}	6.80±0.04 ^{aa}	4.00±3.46 ^{aab}	4.00±3.46 ^{aab}	1.33±2.30 ^{bb}
	28±2 °C	6.80±0.08 ^{aa}	4.00±0.00 ^{cb}	0.00±0.00 ^{bc}	0.00±0.00 ^{bc}	0.00±0.00 ^{bc}	0.00±0.00 ^{bc}

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษร ^{a,b,c, ...} ที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตัวอักษร ^{A,B,C, ...} ที่แตกต่างกันในแนวนอน แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

พูน ปณ ทิโต ชีเว



ภาพประกอบที่ 13 การรอดชีวิตของสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* (Log_{10} conidia g^{-1}) ในชีวภัณฑ์แต่ละสภาวะการเก็บรักษา

4.3 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ต่อการควบคุมเชื้อรา *Fusarium* sp., *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp.

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ในรูปแบบเม็ดเปียกและเม็ดแห้ง ภายใต้สภาวะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 28±2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 เดือน ต่อการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืช 3 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Fusarium* sp., *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp. ทำการทดสอบด้วยวิธี dual culture พบว่าชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ในแต่ละสภาวะการเก็บรักษามีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญของเชื้อรา ก่อโรคพืชทั้ง 3 ชนิด แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อพิจารณาตามระยะเวลาการเก็บรักษาตั้งแต่ 0 ถึง 5 เดือน ดังที่แสดงในตารางที่ 9 ถึง 11

ตารางที่ 9 ประสิทธิภาพการควบคุมเชื้อรา *Fusarium* sp. ของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา

T. harzianum ที่เก็บในอุณหภูมิ 4 และ 28±2 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 0 ถึง 5 เดือน

ระยะเวลา การเก็บรักษา (เดือน)	ประสิทธิภาพการควบคุมเชื้อรา <i>Fusarium</i> sp. ของชีวภัณฑ์ (เปอร์เซ็นต์)			
	เม็ดเปียก		เม็ดแห้ง	
	อุณหภูมิ 4 °C	อุณหภูมิ 28±2 °C	อุณหภูมิ 4 °C	อุณหภูมิ 28±2 °C
0	78.94±0.00 ^{ba}	83.33±1.80 ^{aA}	81.25±0.00 ^{aA}	85.41±7.21 ^{aA}
1	81.23±0.00 ^{abA}	83.51±2.46 ^{aA}	82.12±3.09 ^{aA}	80.33±1.54 ^{aA}
2	84.80±4.09 ^{aA}	83.01±1.54 ^{aA}	82.32±1.35 ^{aA}	0.00±0.00 ^{bb}
3	84.06±1.10 ^{aA}	84.70±0.00 ^{aA}	83.73±0.95 ^{aA}	0.00±0.00 ^{bb}
4	82.16±1.10 ^{abA}	83.43±2.91 ^{aA}	81.26±1.40 ^{aA}	0.00±0.00 ^{bb}
5	81.14±4.02 ^{abA}	82.02±0.84 ^{aA}	80.91±3.07 ^{aA}	0.00±0.00 ^{bb}

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษร ^{a,b,c,...} ที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตัวอักษร ^{A,B,C,...} ที่แตกต่างกันในแนวนอน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 9 แสดงประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ในรูปแบบเม็ดเปียกและเม็ดแห้ง ภายใต้สภาวะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 28±2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0 ถึง 5 เดือน โดยทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium* sp. ด้วยวิธี dual culture เป็นเวลา 7 วัน พบว่า ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกและเม็ดแห้งที่เก็บในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์การควบคุมเชื้อราอยู่ระหว่าง 78.94 ถึง 84.80 เปอร์เซ็นต์ และ 80.91 ถึง 83.73 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกและเม็ดแห้งที่เก็บในอุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์การควบคุมเชื้อราอยู่ระหว่าง 82.02 ถึง 84.70 เปอร์เซ็นต์ และ 00.00 ถึง 85.41 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อพิจารณาผลการทดสอบตามระยะเวลาการเก็บรักษา พบว่า ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และชนิดเม็ดแห้งที่เก็บที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส มีประสิทธิภาพ ในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium* sp. แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) นอกจากนี้ เมื่อพิจารณาตามสภาวะการเก็บรักษา พบว่า ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ทั้งในรูปแบบเม็ดเปียกที่เก็บภายใต้สภาวะอุณหภูมิ 4 และ 28±2 องศาเซลเซียส และเม็ดแห้งที่เก็บภายใต้สภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์การควบคุมเชื้อรา *Fusarium* sp. ที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ขณะที่ชีวภัณฑ์รูปแบบเม็ดแห้งที่เก็บรักษาตั้งแต่เดือนที่ 2 ถึงเดือนที่ 5 ภายใต้สภาวะอุณหภูมิ

28±2 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์การควบคุมเชื้อ เท่ากับ 0.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างกันกับชีวภัณฑ์ชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 10 ประสิทธิภาพการควบคุมเชื้อรา *Curvularia* sp. ของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา

T. harzianum ที่เก็บในอุณหภูมิ 4 และ 28±2 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 0 ถึง 5 เดือน

ระยะเวลา การเก็บรักษา (เดือน)	ประสิทธิภาพการควบคุมเชื้อรา <i>Curvularia</i> sp. ของชีวภัณฑ์ (เปอร์เซ็นต์)			
	เมล็ดเปียก		เมล็ดแห้ง	
	อุณหภูมิ 4 °C	อุณหภูมิ 28±2 °C	อุณหภูมิ 4 °C	อุณหภูมิ 28±2 °C
0	64.10±1.10 ^{dA}	65.38±1.92 ^{bA}	64.74±1.10 ^{bA}	66.66±1.10 ^{aA}
1	69.75±0.57 ^{cA}	70.90±0.00 ^{aA}	70.29±1.04 ^{aA}	67.27±0.00 ^{aB}
2	70.12±1.17 ^{bcA}	70.80±2.34 ^{aA}	70.06±2.33 ^{aA}	0.00±0.00 ^{bB}
3	71.45±1.76 ^{abcA}	72.47±0.00 ^{aA}	71.40±1.71 ^{aA}	0.00±0.00 ^{bB}
4	72.48±0.00 ^{aA}	71.46±1.77 ^{aA}	70.43±1.76 ^{aA}	0.00±0.00 ^{bB}
5	72.18±1.27 ^{abA}	71.45±4.59 ^{aA}	72.18±2.55 ^{aA}	0.00±0.00 ^{bB}

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษร ^{a,b,c,...} ที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตัวอักษร ^{A,B,C,...} ที่แตกต่างกันในแนวนอน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 10 แสดงประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ในรูปแบบเมล็ดเปียกและเมล็ดแห้ง ภายใต้สภาวะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 28±2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0 ถึง 5 เดือน โดยทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Curvularia* sp. ด้วยวิธี dual culture เป็นเวลา 7 วัน พบว่า ชีวภัณฑ์ชนิดเมล็ดเปียกและเมล็ดแห้งที่เก็บในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราอยู่ระหว่าง 64.10 ถึง 72.48 เปอร์เซ็นต์ และ 64.74 ถึง 72.18 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ชีวภัณฑ์ชนิดเมล็ดเปียกและเมล็ดแห้งที่เก็บในอุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์การควบคุมเชื้อราอยู่ระหว่าง 65.38 ถึง 72.47 เปอร์เซ็นต์ และ 00.00 ถึง 67.27 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อพิจารณาผลการทดสอบตามระยะเวลาการเก็บรักษา พบว่าชีวภัณฑ์ชนิดเมล็ดเปียกและเมล็ดแห้งที่เก็บในอุณหภูมิ 4 และ 28±2 องศาเซลเซียส มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Curvularia* sp. แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) นอกจากนี้ เมื่อพิจารณาตามสภาวะการเก็บรักษา พบว่าชีวภัณฑ์ทั้งในรูปแบบเมล็ดเปียกที่เก็บภายใต้สภาวะอุณหภูมิ

4 และ 28±2 องศาเซลเซียส และเมล็ดแห้งที่เก็บภายใต้สภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์การควบคุมเชื้อรา *Curvularia* sp. ที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ขณะที่ชีวภัณฑ์รูปแบบเม็ดแห้งที่เก็บรักษาตั้งแต่เดือนที่ 2 ถึงเดือนที่ 5 ภายใต้สภาวะอุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์การควบคุมเชื้อรา เท่ากับ 0.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างกันกับชีวภัณฑ์ชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 11 ประสิทธิภาพการควบคุมเชื้อรา *Alternaria* sp. ของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา

T. harzianum ที่เก็บในอุณหภูมิ 4 และ 28±2 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 0 ถึง 5 เดือน

ระยะเวลา การเก็บรักษา (เดือน)	ประสิทธิภาพการควบคุมเชื้อรา <i>Alternaria</i> sp. ของชีวภัณฑ์ (เปอร์เซ็นต์)			
	เม็ดเปียก		เม็ดแห้ง	
	อุณหภูมิ 4 °C	อุณหภูมิ 28±2 °C	อุณหภูมิ 4 °C	อุณหภูมิ 28±2 °C
0	82.35±5.88 ^{aA}	84.31±3.39 ^{aA}	78.43±3.39 ^{aA}	86.27±3.40 ^{aA}
1	83.33±2.88 ^{aA}	85.00±0.00 ^{aA}	81.66±2.88 ^{aA}	78.33±5.77 ^{bA}
2	86.86±2.84 ^{aA}	87.12±3.30 ^{aA}	83.31±1.69 ^{aA}	0.00±0.00 ^{CB}
3	85.04±2.58 ^{aA}	85.38±2.00 ^{aA}	83.55±5.17 ^{aA}	0.00±0.00 ^{CB}
4	83.55±2.58 ^{aA}	83.14±1.45 ^{aA}	82.06±0.00 ^{aA}	0.00±0.00 ^{CB}
5	82.20±2.22 ^{aA}	83.48±4.44 ^{aA}	81.03±1.67 ^{aA}	0.00±0.00 ^{CB}

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษร ^{a,b,c,...} ที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตัวอักษร ^{A,B,C,...} ที่แตกต่างกันในแนวนอน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 11 แสดงประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ในรูปแบบเม็ดเปียกและเม็ดแห้ง ภายใต้สภาวะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 28±2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0 ถึง 5 เดือน โดยทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Alternaria* sp. ด้วยวิธี dual culture เป็นเวลา 7 วัน พบว่า ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกและเม็ดแห้งที่เก็บในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราอยู่ระหว่าง 82.20 ถึง 86.86 เปอร์เซ็นต์ และ 78.43 ถึง 83.55 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกและเม็ดแห้งที่เก็บในอุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์การควบคุมเชื้อราอยู่ระหว่าง 83.14 ถึง 87.12 เปอร์เซ็นต์ และ 00.00 ถึง 86.27 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำผลการทดสอบตามระยะเวลาการเก็บรักษา พบว่าชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้งที่เก็บในอุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา

Alternaria sp. แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) นอกจากนี้ เมื่อพิจารณาตามสภาวะการเก็บรักษา พบว่า เชื้อราทั้งหมดทั้งในรูปแบบเม็ดเปียกที่เก็บภายใต้สภาวะอุณหภูมิ 4 และ 28 ± 2 องศาเซลเซียส และเม็ดแห้งที่เก็บภายใต้สภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์การควบคุมเชื้อรา *Alternaria* sp. ที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ขณะที่เชื้อราในรูปแบบเม็ดแห้งที่เก็บรักษาตั้งแต่เดือนที่ 2 ถึงเดือนที่ 5 ภายใต้สภาวะอุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์การควบคุมเชื้อรา เท่ากับ 0.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างกันกับเชื้อราชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4.4 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ *T. harzianum* ต่อการควบคุมเชื้อรา *Fusarium* sp., *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp. ในการประยุกต์ใช้สำหรับการเพาะเมล็ดมะเขือเทศ

การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ในการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืช 3 ชนิด ได้ดำเนินการโดยใช้ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ซึ่งผลิตขึ้นตามกระบวนการที่ระบุไว้ในหัวข้อ 3.5 เชื้อราชนิดนี้ถูกคัดเลือกเพื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium* sp., *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp. ในการประยุกต์ใช้สำหรับการเพาะเมล็ดของมะเขือเทศพันธุ์สีดา ออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design: CRD) โดยแบ่งออกเป็น 9 วิธี วิธีละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 50 เมล็ด โดยทำการห่อเมล็ดมะเขือเทศด้วยผ้าขาวบางร่วมกับชีวภัณฑ์ ชนิดเม็ดเปียก ตามวิธีการในข้อ 3.7 ผลการทดลองพบว่า เปอร์เซ็นต์การงอกในวิธีที่ 1 ถึง 9 มีค่าระหว่าง 90.50 ถึง 97.50 เปอร์เซ็นต์ ค่าความเร็วในการงอกอยู่ในช่วง 3.22 ถึง 3.52 ต้น/วัน ขณะที่เปอร์เซ็นต์การเกิดโรครออยู่ระหว่าง 46.00 ถึง 73.00 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ ค่าความยาวลำต้นมีค่าอยู่ในช่วง 2.42 ถึง 2.52 เซนติเมตร ความยาวรากอยู่ในช่วง 7.51 ถึง 8.91 เซนติเมตร ค่าน้ำหนักสดอยู่ระหว่าง 0.0290 ถึง 0.0335 กรัม/ต้น และค่าน้ำหนักแห้งอยู่ในช่วง 0.0017 ถึง 0.0023 กรัม/ต้น จากผลการศึกษาพบว่า เปอร์เซ็นต์การงอก ความเร็วในการงอก และเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคทั้ง 9 วิธี มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) อย่างไรก็ตาม ค่าความยาวลำต้น ความยาวราก น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 12

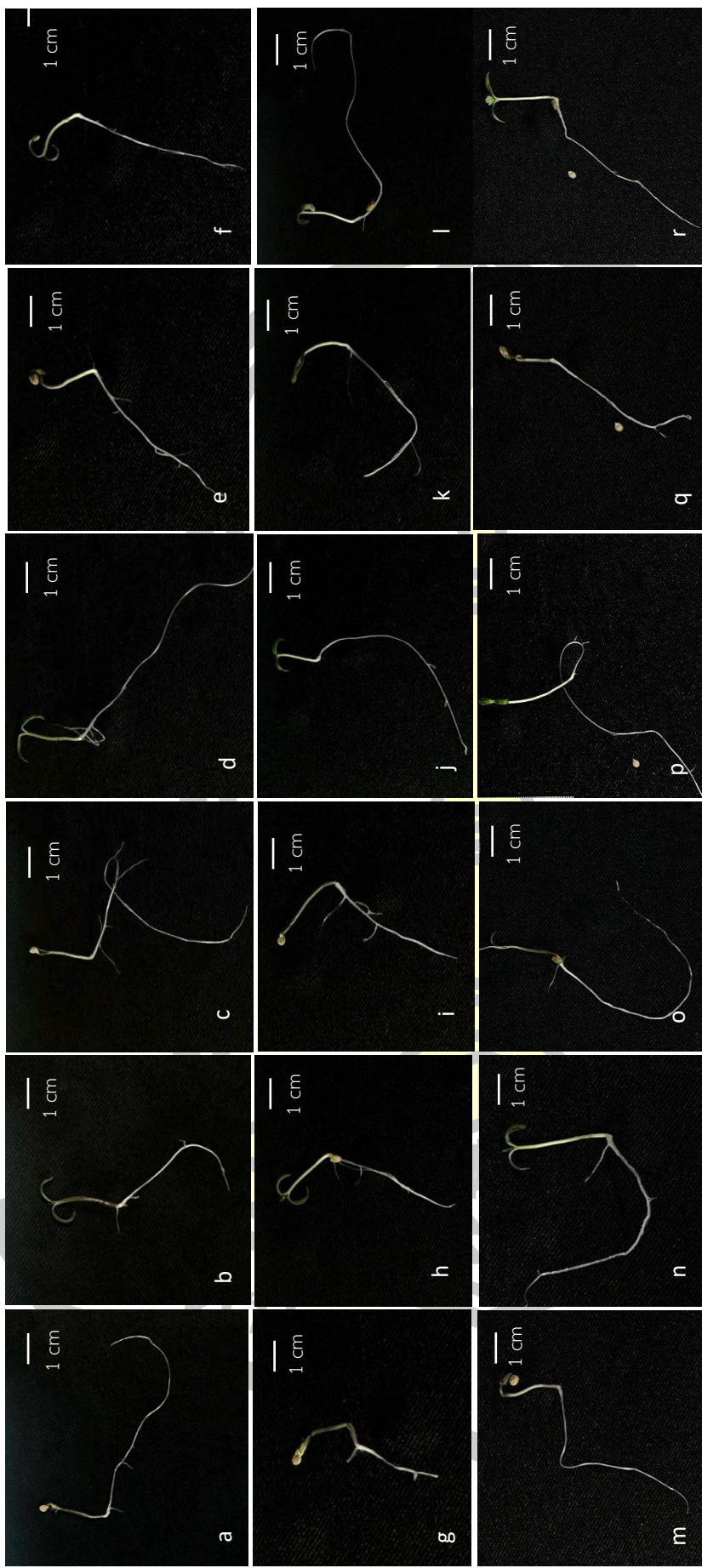
พหุบัณฑิต ชีวะ

ตารางที่ 12 ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ที่ต่อหุ้มสปอร์ *T. harzianum* ต่อการควบคุมเชื้อรา *Fusarium* sp., *Curvularia* sp. และเชื้อรา *Alternaria* sp. ในการประยุกต์ใช้สำหรับการเพาะเมล็ดมะเขือเทศ

วิธี	การออก (เปอร์เซ็นต์)	ความเร็ว ในการออก (ต้น/วัน)	การเกิดโรค (เปอร์เซ็นต์)	ความยาวลำต้น (เซนติเมตร)	ความยาวราก (เซนติเมตร)	น้ำหนัก (กรัม/ต้น)	น้ำหนักแห้ง (กรัม/ต้น)
ชีวภัณฑ์ + เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.	94.00±1.63 ^{abc}	3.37±0.05 ^{bc}	56.00±6.92 ^b	2.43±0.05 ^a	7.93±1.46 ^a	0.0290±0.001 ^a	0.0017±0.0003 ^a
ชีวภัณฑ์ + เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp.	93.50±1.00 ^{bc}	3.37±0.05 ^{bc}	60.00±2.82 ^b	2.42±0.06 ^a	7.58±0.52 ^a	0.0300±0.001 ^a	0.0018±0.0003 ^a
ชีวภัณฑ์ + เชื้อรา <i>Alternaria</i> sp.	94.00±2.30 ^{abc}	3.35±0.06 ^{bcd}	59.00±1.15 ^b	2.50±0.06 ^a	8.13±0.74 ^a	0.0300±0.002 ^a	0.0020±0.0004 ^a
น้ำกลั่น + เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.	90.50±1.00 ^c	3.22±0.05 ^d	72.00±4.89 ^c	2.52±0.03 ^a	7.67±0.78 ^a	0.0300±0.003 ^a	0.0021±0.0003 ^a
น้ำกลั่น + เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp.	92.00±1.63 ^c	3.30±0.08 ^{cd}	72.00±2.82 ^c	2.47±0.08 ^a	7.55±0.64 ^a	0.0306±0.004 ^a	0.0019±0.0006 ^a
น้ำกลั่น + เชื้อรา <i>Alternaria</i> sp.	92.50±1.91 ^c	3.32±0.09 ^{cd}	73.00±1.15 ^c	2.50±0.06 ^a	7.95±0.57 ^a	0.0335±0.002 ^a	0.0023±0.0002 ^a
Carbendazim + เชื้อรา <i>Fusarium</i> sp.	97.50±1.00 ^a	3.47±0.05 ^{ab}	46.00±13.85 ^a	2.45±0.06 ^a	7.52±0.14 ^a	0.0326±0.004 ^a	0.0017±0.0006 ^a
Carbendazim + เชื้อรา <i>Curvularia</i> sp.	97.00±1.41 ^{ab}	3.52±0.10 ^a	58.00±4.00 ^b	2.51±0.13 ^a	8.91±0.14 ^a	0.0318±0.002 ^a	0.0018±0.0003 ^a
Carbendazim + เชื้อรา <i>Alternaria</i> sp.	94.00±4.61 ^{abc}	3.35±0.17 ^{bcd}	51.00±5.78 ^{ab}	2.42±0.03 ^a	7.51±1.60 ^a	0.0327±0.005 ^a	0.0023±0.0002 ^a

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน; Carbendazim = สารฆ่าเชื้อราทางการค้า (0.0005 mg/ml)

ตัวอักษร a,b,c, ... ที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)



ภาพประกอบที่ 14 ต้นกล้ามะเขือเทศที่ปลูกและต้นกล้ามะเขือเทศที่เกิดโรคจากเชื้อรา *Fusarium* sp., *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp.

ต้นกล้าเกิดโรคเมื่อใช้ชีวภัณฑ์ + *Fusarium* sp. (a), ต้นกล้าที่เกิดโรคเมื่อใช้ชีวภัณฑ์ + *Fusarium* sp. (b), ต้นกล้าที่เกิดโรคเมื่อใช้ชีวภัณฑ์ + *Curvularia* sp. (c), ต้นกล้าที่เกิดโรคเมื่อใช้ชีวภัณฑ์ + *Curvularia* sp. (d), ต้นกล้าที่เกิดโรคเมื่อใช้ชีวภัณฑ์ + *Alternaria* sp. (e), ต้นกล้าที่เกิดโรคเมื่อใช้ชีวภัณฑ์ + *Fusarium* sp. (f), ต้นกล้าที่เกิดโรคเมื่อใช้ชีวภัณฑ์ + *Fusarium* sp. (g), ต้นกล้าที่เกิดโรคเมื่อใช้ชีวภัณฑ์ + *Fusarium* sp. (h), ต้นกล้าที่เกิดโรคเมื่อใช้ชีวภัณฑ์ + *Curvularia* sp. (i), ต้นกล้าที่เกิดโรคเมื่อใช้ชีวภัณฑ์ + *Curvularia* sp. (j), ต้นกล้าที่เกิดโรคเมื่อใช้ชีวภัณฑ์ + *Alternaria* sp. (k), ต้นกล้าที่เกิดโรคเมื่อใช้ชีวภัณฑ์ + *Fusarium* sp. (l), ต้นกล้าที่เกิดโรคเมื่อใช้ Carbendazim + *Fusarium* sp. (m), ต้นกล้าที่เกิดโรคเมื่อใช้ Carbendazim + *Fusarium* sp. (n), ต้นกล้าที่เกิดโรคเมื่อใช้ Carbendazim + *Curvularia* sp. (o), ต้นกล้าที่เกิดโรคเมื่อใช้ Carbendazim + *Curvularia* sp. (p), ต้นกล้าที่เกิดโรคเมื่อใช้ Carbendazim + *Alternaria* sp. (q), ต้นกล้าที่เกิดโรคเมื่อใช้ Carbendazim + *Alternaria* sp. (r)

บทที่ 5

สรุปผล อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผล และอภิปรายผล

งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อผลิตชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ของเชื้อรา *T. harzianum* ด้วยโซเดียมอัลจิเนต และศึกษาประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ต่อการควบคุมการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืช โดยเริ่มต้นจากการห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ด้วยโซเดียมอัลจิเนตและการเก็บรักษาด้วยวิธีการต่าง ๆ จากนั้นทำการศึกษาลักษณะกายภาพและการรอดชีวิตของชีวภัณฑ์รวมถึงประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ ต่อการควบคุมการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืช ได้แก่ เชื้อรา *Fusarium* sp., *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp. บนอาหาร PDA เมื่อทำการเก็บรักษาชีวภัณฑ์ ตั้งแต่ระยะเวลา 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 เดือน และทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกต่อการควบคุมเชื้อรา *Fusarium* sp., *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp. ในการประยุกต์ใช้สำหรับการเพาะเมล็ดมะเขือเทศ ซึ่งอภิปรายได้ดังนี้

จากการศึกษาลักษณะกายภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ *T. harzianum* พบว่าชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกที่เก็บรักษาในสภาวะอุณหภูมิ 4 และ 28±2 องศาเซลเซียส มีสีเขียว รูปทรงกลมสม่ำเสมอ พื้นผิวเรียบ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมพบว่า มีสีที่เข้มกว่าเนื่องจากมีสปอร์ของเชื้อรา *T. harzianum* ขณะที่ลักษณะของชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้ง ที่เก็บรักษาในสภาวะอุณหภูมิ 4 และ 28±2 องศาเซลเซียส เม็ดชีวภัณฑ์มีรูปทรงกลมสม่ำเสมอ สีเขียวเข้ม เมื่อเทียบกับชุดควบคุมจะมีสีที่เข้มกว่าเนื่องจากมีสปอร์ของเชื้อรา *T. harzianum* สอดคล้องกับงานวิจัยของ Maruyama et al. (2020) ที่รายงานว่าชีวภัณฑ์ที่เตรียมโดยใส่สปอร์เชื้อรา *T. harzianum* เม็ดชีวภัณฑ์มีรูปทรงกลมและมีสีเขียวเข้ม ซึ่งแตกต่างกับการไม่ใส่สปอร์เชื้อราที่มีลักษณะเป็นทรงกลมและมีสีขาวโปร่งใส เมื่อศึกษาลักษณะพื้นผิวภายนอกโดยการสแกนด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope: SEM) ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกที่เก็บรักษาในสภาวะอุณหภูมิ 4 และ 28±2 องศาเซลเซียส มีลักษณะพื้นผิวเป็นเนื้อเดียวกัน มีความขรุขระเล็กน้อย เมื่อเทียบกับชุดควบคุม เนื่องจากการกระจายของสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ขณะที่ลักษณะพื้นผิวของชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้งที่เก็บรักษาในสภาวะอุณหภูมิ 4 และ 28±2 องศาเซลเซียส มีลักษณะพื้นผิวหยาบหรือแตก มีความขรุขระและมีรูพรุน ที่เกิดจากการสูญเสียความชื้นจากกระบวนการทำให้แห้ง โดยมีรายงานวิจัยพบว่าพื้นผิวของชีวภัณฑ์มีความพรุนอาจเกิดจากกระบวนการทำให้แห้ง หลังจากกระบวนการทำให้แห้งพื้นผิวของชีวภัณฑ์จะเล็กลงและเกิดรอยแตกอีกทั้งยังมีรูพรุนจำนวนมาก ซึ่งเอื้อต่อการปลดปล่อยสปอร์จากเม็ดชีวภัณฑ์ (Maruyama et al., 2020; Qi et al., 2023)

จากการทดสอบการรอดชีวิตของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* เมื่อเก็บรักษาชีวภัณฑ์ตั้งแต่ระยะเวลา 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 เดือน พบว่าชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกที่เก็บรักษาในสภาวะอุณหภูมิ 4 และ 28 ± 2 องศาเซลเซียส มีปริมาณการรอดชีวิตเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บรักษาในระยะเวลา 1 เดือน และค่อย ๆ ลดลง เมื่อเก็บรักษาถึง 5 เดือน มีปริมาณการรอดชีวิต เท่ากับ 6.56 และ 6.57 Log_{10} conidia g^{-1} ตามลำดับ ขณะที่ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้งที่เก็บรักษาในสภาวะอุณหภูมิ 4 และ 28 ± 2 องศาเซลเซียส มีปริมาณการรอดชีวิตลดลง เมื่อเก็บรักษาถึง 5 เดือน มีปริมาณการรอดชีวิตเท่ากับ 1.33 และ 0.00 Log_{10} conidia g^{-1} ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกมีอัตราการรอดชีวิตของสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* สูงกว่าชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้ง ซึ่งเกิดจากกระบวนการผลิตชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้งที่มีการอบแห้ง กระบวนการนี้อาจส่งผลต่อการรอดชีวิตของเชื้อรา *T. harzianum* ดังรายงานวิจัยของ Locatelli et al. (2018) ที่รายงานว่าชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้งสูญเสียความชื้นเนื่องจากการสัมผัสกับอุณหภูมิและสภาพแวดล้อมในระหว่างการอบเป็นเวลานาน ส่งผลให้ความเข้มข้นของสปอร์ลดลงและส่งผลกระทบต่ออัตราการรอดชีวิตของสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ในชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้ง และเมื่อเก็บรักษาตั้งแต่ระยะเวลา 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 เดือน พบว่าชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกสามารถรักษาสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ได้ดีกว่า เนื่องจากชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกมีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการอยู่รอดของสปอร์ในระหว่างการเก็บรักษามากกว่าชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้ง เนื่องจากชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกที่เก็บในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและ 28 ± 2 องศาเซลเซียส มีค่าปริมาณน้ำอิสระ (water activity: a_w) เท่ากับ 0.987 และ 0.994 ตามลำดับ ซึ่งเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *T. harzianum* โดยเชื้อรา *T. harzianum* เจริญเติบโตได้ดีในสภาวะที่ค่า a_w อยู่ระหว่าง 0.950 ถึง 0.995 (Santamarina & Rosello, 2006; Larran et al., 2020) ดังนั้นชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกจึงมีความเหมาะสมต่อการรักษาความอยู่รอดของสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ถึงแม้เก็บรักษานาน 5 เดือน นอกจากนี้สังเกตได้ว่าปริมาณการรอดชีวิตของชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียก ที่เก็บในสภาวะอุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส มีปริมาณสปอร์ที่รอดชีวิตสูงกว่าที่เก็บในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งอาจเกิดจากสภาวะอุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส มีความเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา *T. harzianum* มากกว่า สอดคล้องกับงานวิจัยของ Gupta & Sharma, (2013) ที่รายงานว่าเชื้อรา *T. harzianum* เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 25 ถึง 30 องศาเซลเซียส จะเจริญเติบโตได้ช้าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และไม่พบการเจริญที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามการทดสอบการรอดชีวิตของสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* หลังการห่อหุ้มแสดงให้เห็นถึงความสามารถของโซเดียมอัลจิเนต ในการห่อหุ้มสปอร์ของเชื้อราและสภาวะการเก็บรักษาชีวภัณฑ์ทั้ง 2 สภาวะ ส่งผลที่แตกต่างกันต่อการรอดชีวิตของสปอร์เชื้อรา *T. harzianum*

จากการทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ *T. harzianum* ต่อการควบคุมเชื้อรา *Fusarium* sp., *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp. เมื่อทำการเก็บรักษาชีวภัณฑ์ ตั้งแต่ระยะเวลา 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 เดือน พบว่าชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกที่เก็บในสภาวะอุณหภูมิ 4 และ 28 ± 2 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์การควบคุมตั้งแต่ 64.10 ถึง 86.86 เปอร์เซ็นต์ และ 65.38 ถึง 87.12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ขณะที่ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้งที่เก็บรักษาในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์การควบคุมตั้งแต่ 64.74 ถึง 83.73 เปอร์เซ็นต์ ส่วนชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้งที่เก็บในสภาวะอุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืชในระยะเวลาการเก็บรักษา 0 ถึง 1 เดือน ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การควบคุมตั้งแต่ 66.66 ถึง 86.27 เปอร์เซ็นต์ จากผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกและเม็ดแห้งที่เก็บในสภาวะอุณหภูมิ 4 และ 28 ± 2 องศาเซลเซียส มีผลต่อประสิทธิภาพการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืชทั้ง 3 ชนิด แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยเฉพาะชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้งที่เก็บในสภาวะอุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส ที่ผ่านการเก็บรักษาตั้งแต่ระยะเวลาการเก็บรักษา 2 เดือนเป็นต้นไป จะไม่สามารถควบคุมเชื้อราก่อโรคพืชทั้ง 3 ชนิดได้ แต่เมื่อพิจารณาเฉพาะชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกที่เก็บในสภาวะอุณหภูมิ 4 และ 28 ± 2 องศาเซลเซียส กับชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้งที่เก็บในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืชทั้ง 3 ชนิดนั้น ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่าเปอร์เซ็นต์การควบคุมเชื้อรา *Curvularia* sp. มีค่าน้อยกว่าเมื่อเทียบกับ *Fusarium* sp. และ *Alternaria* sp. ความแตกต่างนี้อาจเกิดจากลักษณะการเจริญของ *Curvularia* sp. ที่สามารถเติบโตอย่างรวดเร็วบนอาหาร PDA ในช่วงอุณหภูมิ 25 ถึง 30 องศาเซลเซียส ซึ่งอาจส่งผลให้เชื้อรานี้มีความสามารถในการแข่งขันเพื่อแย่งพื้นที่และสารอาหารได้ดีกว่าในบางกรณี แม้ว่าโดยรวมแล้วชีวภัณฑ์ *T. harzianum* ยังมีอัตราการเจริญเติบโตที่เร็วและมีความสามารถในการแข่งขันที่สูงกว่า (Jeon et al., 2015) ผลการทดสอบนี้แสดงให้เห็นถึงผลกระทบเชิงบวกของการห่อหุ้มสปอร์ด้วยโซเดียมอัลจิเนตต่อกลไกการควบคุมทางชีวภาพ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Maruyama et al. (2020) ที่รายงานว่าเชื้อรา *T. harzianum* ที่ถูกห่อหุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนตทั้งชนิดเม็ดเปียกและชนิดเม็ดแห้ง เมื่อทำการทดสอบร่วมกับเชื้อรา *Sclerotinia sclerotiorum* พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* ที่ห่อหุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนตทั้งชนิดเม็ดเปียกและชนิดเม็ดแห้งสามารถครอบครองพื้นผิวบนอาหาร PDA ได้ถึง 2 ใน 3 ส่วน และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mancera-López et al. (2019) ที่รายงานว่าเชื้อรา *T. harzianum* ที่ห่อหุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนต สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อรา *Penicillium citrinum*, *Aspergillus awamori*, *Rhizoctonia solani* และ *Aspergillus niger* โดยเชื้อรา *T. harzianum* ที่ห่อหุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนต สามารถเจริญและครอบครองพื้นผิวอาหาร PDA ที่มีการเพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *P. citrinum* ได้อย่างสมบูรณ์ 100.00 เปอร์เซ็นต์ ขณะเดียวกันสามารถเจริญและครอบครองพื้นผิวบนอาหาร PDA ในการ

เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. awamori* และ *R. solani* ได้มากกว่า 75.00 เปอร์เซ็นต์ แต่เจริญและครอบครองพื้นผิวอาหาร PDA ในการเพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อรา *A. niger* ต่ำกว่า 25.00 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้อาจเกิดจากการเจริญที่รวดเร็วของเชื้อรา *A. niger* นอกจากนี้ ยังมีรายงานว่า การห่อหุ้มเชื้อรา *T. harzianum* ด้วยโซเดียมอัลจิเนตสามารถลดการเกิดโรคจุดสีน้ำตาลในข้าวที่เกิดจากเชื้อรา *Bipolaris oryzae* ได้ โดยพบความรุนแรงของโรคเพียง 21 ถึง 25 เปอร์เซ็นต์ (Mohd Anuar et al., 2020) การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ด้วยโซเดียมอัลจิเนต สามารถรักษาสปอร์ที่มีชีวิตของเชื้อรา *T. harzianum* และไม่ส่งผลกระทบต่อความสามารถในการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืช นอกจากนี้ยังช่วยกระตุ้นการสร้างสปอร์ขณะเก็บรักษาที่ระยะเวลาต่างกัน ส่งผลให้สปอร์เชื้อรากระจายทั่วเมล็ดชีวภัณฑ์เมื่อนำมาทดสอบด้วยวิธีการ dual culture บนอาหาร PDA ส่งผลให้มีการเจริญของเชื้อราอย่างรวดเร็ว ดังรายงานวิจัยของ Mancera-López et al. (2019) ที่รายงานว่าเมื่อวางเมล็ดชีวภัณฑ์บนผิวอาหาร PDA สารอาหารจะแพร่เข้าไปภายในเมล็ดชีวภัณฑ์ที่มีสปอร์ของเชื้อรา *T. harzianum* กระจายไปตามขนาดของเมล็ดชีวภัณฑ์ จึงส่งผลต่อการงอกอย่างรวดเร็วและสม่ำเสมอของสปอร์ ซึ่งส่งผลดีต่อประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืช อย่างไรก็ตามชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้งที่เก็บในสภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีปริมาณการรอดชีวิตของสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* เมื่อเก็บรักษาตั้งแต่ระยะเวลา 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 เดือน ลดลงอย่างต่อเนื่อง ดังแสดงในตารางที่ 8 แต่ยังสามารถควบคุมเชื้อราก่อโรคพืชทั้ง 3 ชนิดได้ ตั้งแต่ 64.74 ถึง 83.73 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งใกล้เคียงกับชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียก ทั้งนี้ประสิทธิภาพดังกล่าวอาจเกิดจากกลไกการแข่งขันของ *T. harzianum* ที่มีอัตราการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว สามารถยึดครองพื้นที่และแย่งชิงสารอาหารจากเชื้อราก่อโรคพืช นอกจากนี้ยังสามารถผลิตสารไซเดอโรฟอรัส (siderophore) ซึ่งมีบทบาทในการจับกับธาตุเหล็กและเปลี่ยนให้อยู่ในรูปที่ดูดซึมได้ง่าย ส่งผลให้สามารถเจริญเติบโตและแข่งขันกับเชื้อราก่อโรคพืชชนิดอื่น ได้อย่างมีประสิทธิภาพ แม้ในสภาวะที่ปริมาณการรอดชีวิตของสปอร์ลดลง (Tyskiewicz et al., 2022) ขณะที่ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้งที่เก็บในสภาวะอุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส สูญเสียประสิทธิภาพการควบคุมเชื้อราก่อโรค ตั้งแต่การเก็บรักษาเดือนที่ 2 เป็นต้นไป อย่างไรก็ตามชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้งมีผลต่อปริมาณการรอดชีวิตของสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ลดลงอย่างชัดเจน ทั้งที่เก็บรักษาในสภาวะอุณหภูมิ 4 และ 28 ± 2 องศาเซลเซียส ซึ่งจะส่งผลต่อประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์หากเก็บรักษาในระยะยาว สาเหตุการลดลงของสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* อาจเกิดจากค่าปริมาณน้ำอิสระ (a_w) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในเมล็ดชีวภัณฑ์ที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของสปอร์เชื้อรา ดังแสดงในผลการทดลอง (4.1.2 และ 4.1.3) ส่งผลให้สปอร์เชื้อราเกิดความเสื่อมสภาพ ซึ่งค่าปริมาณน้ำอิสระ (a_w) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อรา *Trichoderma* sp. มีการเจริญเติบโตสูงสุดเมื่อค่าปริมาณน้ำอิสระ (a_w) เท่ากับ 0.997 และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับ 4.0 มีการ

ผลิตเอนไซม์เมื่อค่าปริมาณน้ำอิสระ (a_w) ตั้งแต่ 0.910 ถึง 0.995 และระดับความเป็นกรด-ด่าง (pH) ตั้งแต่ 3.0 ถึง 7.0 (Kredics et al., 2004) นอกจากนี้ยังมีรายงานวิจัยของ Sempere & Santamarina (2007) ที่รายงานว่าค่าปริมาณน้ำอิสระ (a_w) มีผลต่อการเจริญเติบโตของ *T. harzianum* อย่างมีนัยสำคัญ และมีความสัมพันธ์กับประสิทธิภาพในการควบคุม เชื้อรา *Alternaria alternata* โดยเฉพาะในสภาวะที่ค่าปริมาณน้ำอิสระ (a_w) เท่ากับ 0.990 เชื้อรา *T. harzianum* สามารถควบคุม *A. alternata* ได้สูงสุดถึง 80 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตาม เมื่อค่าปริมาณน้ำอิสระ (a_w) ลดต่ำกว่า 0.850 ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์จะลดลงอย่างชัดเจน ดังนั้นการทดสอบนี้จึงแสดงให้เห็นว่าชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกจากกระบวนการห่อหุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนตเป็นรูปแบบชีวภัณฑ์ที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ในอนาคต

จากการทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ *T. harzianum* ต่อการควบคุม เชื้อรา *Fusarium* sp. *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp. ในการประยุกต์ใช้สำหรับการเพาะ เมล็ดมะเขือเทศ พบว่าเปอร์เซ็นต์การงอก ความเร็วในการงอก เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยเปอร์เซ็นต์การงอกของวิธีที่ใช้เชื้อราก่อโรคร่วมกับชีวภัณฑ์เท่ากับ 93.50 ถึง 94.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าชุดควบคุมที่ใช้เชื้อราก่อโรคร่วมกับน้ำกลั่นปลอดเชื้อมีค่าเท่ากับ 90.50 ถึง 92.50 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าใกล้เคียงกับชุดควบคุมที่ใช้เชื้อราก่อโรคร่วมกับสารฆ่าเชื้อราคาร์เบนดาซิม (carbendazim) มีค่าเท่ากับ 94.00 ถึง 97.50 เปอร์เซ็นต์ ความเร็วในการงอกของวิธีที่ใช้เชื้อราก่อโรคร่วมกับชีวภัณฑ์เท่ากับ 3.35 ถึง 3.37 ต้น/วัน ซึ่งสูงกว่าชุดควบคุมที่ใช้เชื้อราก่อโรคร่วมกับน้ำกลั่นปลอดเชื้อมีค่าเท่ากับ 3.22 ถึง 3.32 ต้น/วัน และใกล้เคียงกับชุดควบคุมที่ใช้เชื้อราก่อโรคร่วมกับสารฆ่าเชื้อรา (carbendazim) มีค่าเท่ากับ 3.35 ถึง 3.52 ต้น/วัน และเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของวิธีที่ใช้เชื้อราก่อโรคร่วมกับชีวภัณฑ์เท่ากับ 56.00 ถึง 60.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งต่ำกว่าชุดควบคุมที่ใช้เชื้อราก่อโรคร่วมกับน้ำกลั่นปลอดเชื้อมีค่าเท่ากับ 72.00 ถึง 73.00 เปอร์เซ็นต์ และใกล้เคียงกับชุดควบคุมที่ใช้เชื้อราก่อโรคร่วมกับสารฆ่าเชื้อรา (carbendazim) มีค่าเท่ากับ 46.00 ถึง 58.00 เปอร์เซ็นต์ การทดสอบนี้แสดงให้เห็นว่าชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* สามารถควบคุมเชื้อราก่อโรคพืชได้ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ใช้เชื้อราก่อโรคร่วมกับน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ซึ่งอาจเกิดจากกลไกของเชื้อรา *T. harzianum* สอดคล้องกับงานวิจัยของ Pani et al. (2021) ที่รายงานว่าเชื้อรา *T. harzianum* มีกลไกการแข่งขันเพื่อแย่งสารอาหาร การสร้างสารปฏิชีวนะ การเข้าทำลายเชื้อราก่อโรคโดยสภาวะการเป็นปรสิต และการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ดังรายงานวิจัยของ Carvalho et al. (2011) ที่รายงานว่ากลไกการเข้าทำลายเชื้อราก่อโรคโดยสภาวะการเป็นปรสิต และการสร้างสารปฏิชีวนะของเชื้อรา *T. harzianum* ช่วยลดการเกิดโรคในเมล็ดพันธุ์ถั่วแขกที่เกิดจากเชื้อรา *Aspergillus*, *Cladosporium* และ *S. sclerotiorum* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้กลไกการสร้างสารปฏิชีวนะของเชื้อรา *T. harzianum* นั้น เป็นกลไกสำคัญ

ในการควบคุมเชื้อราก่อโรคในพืช เนื่องจากสามารถผลิตสารปฏิชีวนะหลายกลุ่ม เช่น peptaibols, pyrones และ polyketides ซึ่งสารเหล่านี้มีคุณสมบัติในการรบกวนกระบวนการสร้างผนังเซลล์ ของเชื้อราก่อโรค ตลอดจนสามารถยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ของเชื้อราก่อโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Vinale et al., 2008; Shi et al., 2012) ซึ่งกลไกการออกฤทธิ์ของสารเหล่านี้มีความคล้ายคลึงกับสารฆ่าเชื้อราคาร์เบนดาซิม (carbendazim) เป็นสารป้องกันและกำจัดเชื้อราประเภทดูดซึม จัดอยู่ในกลุ่ม Benzimidazole มีสารออกฤทธิ์สำคัญ คือ Methyl benzimidazol-2-ylcarbamate สามารถควบคุมเชื้อราก่อโรคพืชได้หลายชนิด โดยมีกลไกการออกฤทธิ์รบกวนการทำงานของไมโครทิวบูล (microtubule) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในกระบวนการแบ่งเซลล์ของเชื้อรา ส่งผลให้การเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรคถูกยับยั้งไม่สามารถเจริญเติบโตได้ (Zhou et al., 2016; Bai et al., 2024) อย่างไรก็ตาม เฟอร์เซนต์การงอกของเมล็ดมะเขือเทศอาจมีผลมาจากระยะเวลาการแช่เมล็ดมะเขือเทศที่ส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์การงอกที่สูง โดยมีรายงานวิจัยระยะเวลาการแช่เมล็ดมะเขือเทศ 24 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุด (Sabongari & Aliero, 2004) นอกจากนี้ผลการทดสอบการใช้ชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ *T. harzianum* มีผลเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งส่งผลต่อการเพาะเมล็ด แต่เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคง่ายอยู่ในระดับที่ค่อนข้างสูง คือ 56.00 ถึง 60.00 เปอร์เซ็นต์สังเกตได้ว่าระยะเวลาการแช่ชีวภัณฑ์ร่วมกับเมล็ดอาจมีผลต่อการปลดปล่อยสปอร์เชื้อราในเมล็ดชีวภัณฑ์จึงส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค สอดคล้องกับรายงานของ Qi et al. (2023) ที่รายงานว่าประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์จะปลดปล่อยสปอร์อย่างช้า ๆ และสม่ำเสมอเมื่อแช่ในน้ำกลั่นปลอดเชื้อเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นสปอร์จะเริ่มถูกปล่อยอย่างช้า ๆ เมื่อผ่านไป 3 วัน สปอร์ยังคงถูกปล่อยอย่างต่อเนื่องแต่อยู่ในปริมาณที่เพิ่มขึ้นเล็กน้อย เมื่อผ่านไป 6 วัน สปอร์ถูกปลดปล่อยเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญซึ่งสัมพันธ์กับ การสลายตัวของชีวภัณฑ์ เมื่อเวลาผ่านไป 12 วัน สปอร์ถูกปลดปล่อยประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเวลาผ่านไป 15 วัน สปอร์ถูกปล่อยถึง 91 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณสปอร์ทั้งหมดในชีวภัณฑ์ ดังนั้น ระยะเวลาการแช่ชีวภัณฑ์อาจมีผลต่อประสิทธิภาพการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืชและส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคดังแสดงในตารางที่ 12 ส่วนความยาวลำต้น ความยาวราก น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยที่ความยาวลำต้นของวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์และชุดควบคุม (2.42 ถึง 2.52 เซนติเมตร) ความยาวราก (7.51 ถึง 8.91 เซนติเมตร) น้ำหนักสด (0.0290 ถึง 0.0335 กรัม/ต้น) และน้ำหนักแห้ง (0.0017 ถึง 0.0023 กรัม/ต้น) ซึ่งอาจเกิดจากชีวภัณฑ์ที่ใช้ในการทดสอบ ไม่ได้มีผลกระทบที่ชัดเจนต่อการเจริญเติบโตของพืชในระยะต้นกล้า บางกรณีชีวภัณฑ์อาจส่งผลต่อพืชในระยะยาว เช่น การต้านทานโรค หรือเพิ่มผลผลิตในระยะออกผล แต่ไม่ได้ส่งผลต่อการเจริญเติบโต ในระยะต้นกล้าอย่างมีนัยสำคัญ การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. อาจไม่ได้มีผลกระทบที่ชัดเจนในระยะต้นกล้าเนื่องจากต้นกล้ามีระบบรากที่ยังไม่สมบูรณ์และมีการ

เจริญเติบโตที่จำกัด แต่เมื่อพืชเจริญเติบโตและระบบรากแข็งแรงขึ้น *Trichoderma* spp. จะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและป้องกันโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Harman et al., 2004a)

5.2 สรุปผลการทดลอง

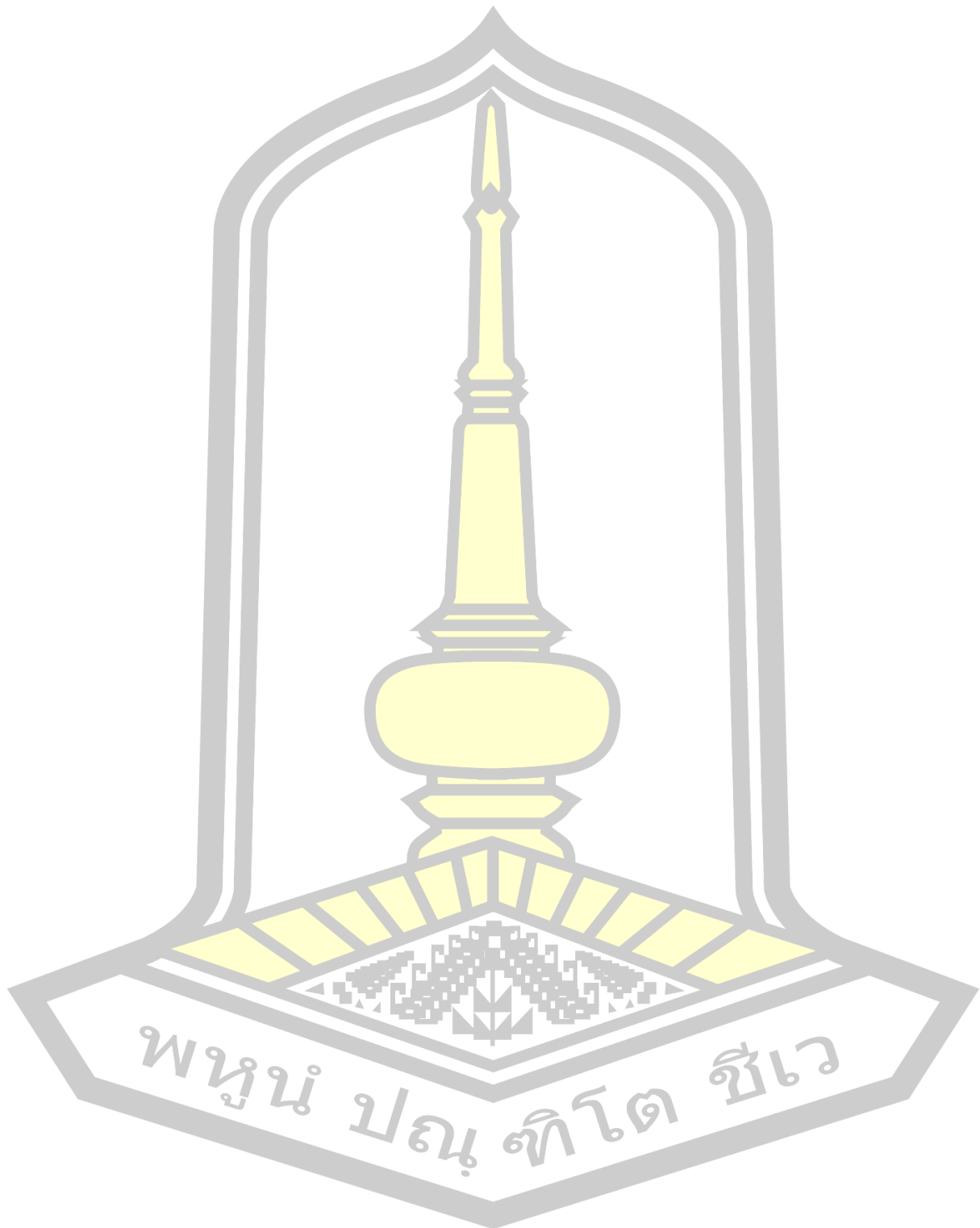
จากการผลิตชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ของเชื้อรา *T. harzianum* ด้วยโซเดียมอัลจิเนต และศึกษาประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ต่อการควบคุมการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืช ได้แก่ เชื้อรา *Fusarium* sp. *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp. สรุปได้ว่าชีวภัณฑ์ที่ห่อหุ้มสปอร์ของเชื้อรา *T. harzianum* โดยเฉพาะในรูปแบบเม็ดเปียก มีความเหมาะสมในการใช้งานทั้งในด้านการเก็บรักษาและประสิทธิภาพการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืช มีความสะดวกต่อการใช้งานและมีประสิทธิภาพสูงเมื่อเก็บรักษาในอุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกยังมีศักยภาพในการพัฒนาต่อเป็นผลิตภัณฑ์ชีวภัณฑ์เชิงพาณิชย์สำหรับนำไปใช้ทางการเกษตร

5.3 ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นและควรใช้สารเสริมในขั้นตอนการผลิตชีวภัณฑ์ห่อหุ้มสปอร์ของเชื้อรา *T. harzianum* เช่น รำข้าว หรือวัสดุทดแทนอื่น ๆ เพื่อช่วยยืดอายุการเก็บรักษาชีวภัณฑ์
2. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการแปรผันระยะเวลาการแช่ชีวภัณฑ์ร่วมกับการเพาะเมล็ดเพื่อศึกษาการปลดปล่อยสปอร์เชื้อราและการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืช



บรรณานุกรม



- กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2563). การใช้เชื้อจุลินทรีย์ (ชีวภัณฑ์) ในการควบคุมโรคพืช (พิมพ์ครั้งที่ 2, ฉบับปรับปรุง พ.ศ. 2560). กลุ่มโรงพิมพ์สำนักพัฒนาการถ่ายทอดเทคโนโลยี.
- กัทลีวัลย์ สุขช่วย สัญชัย พันธโชติ และสุมาณี พรหมรุขชาติ. (2557). ศึกษาความอยู่รอดของเชื้อรา *Trichoderma* และ *Phytophthora* ในสภาพสวนส้มที่มีการจัดการต่างกัน 3 แบบ. รายงาน วิจัยฉบับสมบูรณ์. สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ล้านนา.
- ณัฐชญา สายคำวงศ์ และบุญมี ศิริ. (2560). การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศหลังการเคลือบร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชและอายุเก็บรักษา. *วารสารเกษตรพระจอมเกล้า*, 37(1), 165-178.
- พชรมน เล็บสิงห์ อนันต์ วงเจริญ และสุวิตา แสไพศาล. (2564). การควบคุมโรคเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* โดยการใช้สารเคมีกำจัดเชื้อราและเชื้อราปฏิปักษ์. *แก่นเกษตร*, 49(4), 956-966.
- ดาราวดี วงษ์ชาลี. (2558). ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* สตรี *Encapsulate* ในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของพริก (วิทยานิพนธ์ปริญญาโท). มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, นครราชสีมา.
- ธัญนันท์ ฤทธิมณี และอภิรดา พรปถนวิษญ์. (2561). การเอนแคปซูเลชันแอนโทไซยานินจากขิงข้าวโพดหวานสีม่วงด้วยการทำแห้งแบบพ่นฝอย. *EAU Heritage Journal Science and Technology*, 12(2), 169-180.
- ประภาช กาวีชา วรรัตน์ นาดีโน วิไลวรรณ พัฒนาสันต์ และอภิเดช แสงดี. (2563). การพัฒนาชีวภัณฑ์ไตรโคเดอร์มาชนิดเม็ดเพื่อการควบคุมโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศ. *Thai Journal of Science and Technology*, 9(6), 832-843.
- วาสนา นิยมแสง เมธาวิ แซ่ฮึง และหัสยา สระหงษ์ทอง. (2561). การคัดแยกแอคติโนมัยซีทในดินที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *Curvularia* sp.. ใน งานประชุมวิชาการระดับชาติครั้งที่ 10 (หน้า 44-53). มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม, นครปฐม, ประเทศไทย.
- สายทอง แก้วฉาย. (2555). การใช้ไตรโคเดอร์มาในการควบคุมโรคพืช. *Princess of Naradhiwas University Journal*, 4(3), 108-123.
- สันติภาพ ไชยสาร และบุญมี ศิริ. (2562). ผลของการพอกเมล็ดพันธุ์ด้วยธาตุอาหารพืชที่แตกต่างกันต่อความงอก ความแข็งแรง และการเจริญเติบโตของต้นกล้ามะเขือเทศลูกผสม. *วารสารแก่นเกษตร*, 47(5), 877-90.

- อนันต์ วงเจริญ พชรมน เล็บสิงห์ และสุวิตา แสไพศาล. (2564). การควบคุมโรคเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* โดยการใช้สารเคมีกำจัดเชื้อราและเชื้อราปฏิปักษ์. *วารสารแก่นเกษตร*, 49(4), 956–966.
- Abbas, A., Mubeen, M., Zheng, H., Sohail, M. A., Shakeel, Q., Solanki, M. K., Iftikhar, Y., Sharma, S., Kashyap, B. K., & Hussain, S. (2022). *Trichoderma* spp. genes involved in the biocontrol activity against *Rhizoctonia solani*. *Frontiers in Microbiology*, 13, Article 884469.
- Abdel-Fattah, G. M., Shabana, Y. M., Ismail, A. E., & Rashad, Y. M. (2007). *Trichoderma harzianum*: a biocontrol agent against *Bipolaris oryzae*. *Mycopathologia*, 164, 81-89.
- Adnan, M., Islam, W., Shabbir, A., Khan, K. A., Ghramh, H. A., Huang, Z., Chen, H. Y., & Lu, G.-D. (2019). Plant defense against fungal pathogens by antagonistic fungi with *Trichoderma* in focus. *Microbial Pathogenesis*, 129, 7–18.
- Abdulkadir, A. I., Hayatu, M., Sani, L. A., & Ahmed, H. (2022). Biocontrol ability of *Trichoderma harzianum* on growth, disease incidence and yield of selected cowpea varieties (*Vigna unguiculata* L.) infested with *Colletotrichum lindemuthianum*. *BIMA Journal of Science and Technology*, 6(2), 65–76.
- Adzmi, F., Musa, M. H., Siddiqui, Y., Yun, W. M., Hamid, H. A., Abdu, A., & Abiri, R. (2021). Development of alginate-montmorillonite-starch with encapsulated *Trichoderma harzianum* and evaluation of conidia shelf life. *International Journal of Agriculture and Biology*, 23(1), 87–98.
- Ajmal, M., Hussain, A., Ali, A., Chen, H., & Lin, H. (2022). Strategies for controlling the sporulation in *Fusarium* spp. *Journal of Fungi*, 9(1), Article 10.
- Alipal, J., Pu'ad, N. M., Lee, T. C., Nayan, N. H. M., Sahari, N., Basri, H., & Abdullah, H. Z. (2021). A review of gelatin: Properties, sources, process, applications, and commercialisation. *Materials Today: Proceedings*, 42, 240–250.
- Asad, S. A. (2022). Mechanisms of action and biocontrol potential of *Trichoderma* against fungal plant diseases: A review. *Ecological Complexity*, 49, Article 100978.
- Association of Official Seed Analysts (AOSA). (1983). *Seed vigor testing handbook*. Association of official seed analysts.

- Asghar, W., Craven, K. D., Kataoka, R., Mahmood, A., Asghar, N., Raza, T., & Iftikhar, F. (2024). The application of *Trichoderma* spp., an old but new useful fungus, in sustainable soil health intensification: A comprehensive strategy for addressing challenges. *Plant Stress*, *12*, Article 100455.
- Bai, S., Zhang, M., Tang, S., Li, M., Wu, R., Wan, S., Chen, L., Wei, X., & Li, F. (2024). Research progress on benzimidazole fungicides: A review. *Molecules*, *29*(6), Article 1218.
- Bennacef, C., Desobry-Banon, S., Probst, L., & Desobry, S. (2021). Advances on alginate use for spherification to encapsulate biomolecules. *Food Hydrocolloids*, *118*, Article 106782.
- Benítez, T., Rincón, A. M., Limón, M. C., & Codón, A. C. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, *7*(4), 249–260.
- Bullerman, L. B. (2003). Spoilage: fungi in food – an overview. In B. Caballero, L. Trugo, & P. M. Finglas (Eds.), *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition* (2nd ed., pp. 5511–5522). Academic Press.
- Carvalho, D. D. C., Mello, S. C. M. D., Lobo Júnior, M., & Geraldine, A. M. (2011). Biocontrol of seed pathogens and growth promotion of common bean seedlings by *Trichoderma harzianum*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, *46*, 822-828.
- Chitwood-Brown, J., Vallad, G. E., Lee, T. G., & Hutton, S. F. (2021). Breeding for resistance to *Fusarium* wilt of tomato: A review. *Genes*, *12*(11), Article 1673.
- Daguerre, Y., Siegel, K., Edel-Hermann, V., & Steinberg, C. (2014). Fungal proteins and genes associated with biocontrol mechanisms of soil-borne pathogens: A review. *Fungal Biology Reviews*, *28*(4), 97–125.
- Dinsmore, A., Hsu, M. F., Nikolaidis, M., Marquez, M., Bausch, A., & Weitz, D. (2002). Colloidosomes: Selectively permeable capsules composed of colloidal particles. *Science*, *298*(5595), 1006–1009.
- Fraceto, L. F., Maruyama, C. R., Guilger, M., Mishra, S., Keswani, C., Singh, H. B., & de Lima, R. (2018). *Trichoderma harzianum*-based novel formulations: Potential

- applications for management of Next-Gen agricultural challenges. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 93(8), 2056–2063.
- Frent, O. D., Vicas, L. G., Duteanu, N., Morgovan, C. M., Jurca, T., Pallag, A., Muresan, M.E., Filip, S.M., Lucaciu, R-L., & Marian, E. (2022). Sodium alginate-Natural microencapsulation material of polymeric microparticles. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(20), Article 12108.
- Gal-Hemed, I., Atanasova, L., Komon-Zelazowska, M., Druzhinina, I. S., Viterbo, A., & Yarden, O. (2011). Marine isolates of *Trichoderma* spp. as potential halotolerant agents of biological control for arid-zone agriculture. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(15), 5100–5109.
- Gamliel, A., Katan, J., & Cohen, E. (1989). Toxicity of chloronitrobenzenes to *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani* as related to their structure. *Phytoparasitica*, 17(2), 101–106.
- Ghazanfar, M. U., Raza, M., Raza, W., & Qamar, M. I. (2018). *Trichoderma* as a potential biocontrol agent, its exploitation in agriculture: A review. *Plant Protection*, 2(3), 109–135.
- Gomes, E. V., Ulhoa, C. J., Cardoza, R. E., Silva, R. N., & Gutiérrez, S. (2017). Involvement of *Trichoderma harzianum* Epl-1 protein in the regulation of *Botrytis* virulence- and tomato defense-related genes. *Frontiers in Plant Science*, 8, Article 880.
- Gupta, V., & Sharma, A. K. (2013). Assessment of optimum temperature of *Trichoderma harzianum* by monitoring radial growth and population dynamics in different compost manures under different temperatures. *Octa Journal of Biosciences*, 1(2). 151–157.
- Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004a). *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 2(1), 43–56.
- Harman, G., Lorito, M., & Lynch, J. (2004b). Uses of *Trichoderma* spp. to alleviate or remediate soil and water pollution. *Advances in Applied Microbiology*, 56, 313–330.

- Hof, H. (2020). The medical relevance of *Fusarium* spp. *Journal of Fungi*, 6(3), Article 117.
- Howell, C. (1998). The role of antibiosis in biocontrol. In *Trichoderma and Gliocladium* (Vol. 2, pp. 173–184).
- International Seed Testing Association (ISTA). (2021). *International rules for seed testing* (Edition 2021). International Seed Testing Association.
- Jeon, S. J., Nguyen, T. T. T., & Lee, H. B. (2015). Phylogenetic status of an unrecorded species of *Curvularia*, *C. spicifera*, based on current classification system of *Curvularia* and *Bipolaris* group using multi loci. *Mycobiology*, 43(3), 210-217.
- Katshova, M., Beloshapkina, O., Tarakanov, R., & Dzhililov, F. (2021, February). Fungi of the genus *Curvularia* sp.-New pathogens of turfgrass in Russia. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 663, No. 1, p. 012007). IOP Publishing.
- Khoo, Y. W., Baadu, R., Shaiddin, A., Tan, H. T., Khaw, Y. S., Li, S. F., & Chong, K. P. (2023). First report of *Curvularia lunata* causing leaf spot on *Oryza sativa* in Sabah, Malaysian Borneo. *Plant Disease*, 107(7), Article 2233.
- Kredics, L., Manczinger, L., Antal, Z., Péntzes, Z., Szekeres, A., Kevei, F., & Nagy, E. (2004). *In vitro* water activity and pH dependence of mycelial growth and extracellular enzyme activities of *Trichoderma* strains with biocontrol potential. *Journal of Applied Microbiology*, 96(3), 491-498.
- Larran, S., Santamarina Siurana, M. P., Roselló Caselles, J., Simón, M. R., & Perelló, A. (2020). *In vitro* antagonistic activity of *Trichoderma harzianum* against *Fusarium sudanense* causing seedling blight and seed rot on wheat. *ACS Omega*, 5(36), 23276–23283.
- Lian, H., Li, R., Ma, G., Zhao, Z., Zhang, T., & Li, M. (2023). The effect of *Trichoderma harzianum* agents on physiological-biochemical characteristics of cucumber and the control effect against *Fusarium* wilt. *Scientific Reports*, 13(1), Article 17606.
- Locatelli, G. O., dos Santos, G. F., Botelho, P. S., Finkler, C. L. L., & Bueno, L. A. (2018). Development of *Trichoderma* sp. formulations in encapsulated granules (CG) and evaluation of conidia shelf-life. *Biological Control*, 117, 21–29.

- Lopes, A. R. d. O., Locatelli, G. O., Barbosa, R. d. M., Lobo Junior, M., Moura Mascarin, G., & Lamenha Luna Finkler, C. (2020). Preparation, characterisation and cell viability of encapsulated *Trichoderma asperellum* in alginate beads. *Journal of Microencapsulation*, 37(3), 270-282.
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., & Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release—A review. *International Journal of Food Science and Technology*, 41(1), 1–21.
- Mancera-López, M. E., Izquierdo-Estévez, W. F., Escalante-Sánchez, A., Ibarra, J. E., & Barrera-Cortés, J. (2019). Encapsulation of *Trichoderma harzianum* conidia as a method of conidia preservation at room temperature and propagation in submerged culture. *Biocontrol Science and Technology*, 29(2), 107-130.
- Marin-Felix, Y., Hernandez-Restrepo, M., & Crous, P. W. (2020). Multi-locus phylogeny of the genus *Curvularia* and description of ten new species. *Mycological Progress*, 19, 559-588.
- Martínez-Cano, B., Mendoza-Meneses, C. J., García-Trejo, J. F., Macías-Bobadilla, G., Aguirre-Becerra, H., Soto-Zarazúa, G. M., & Feregrino-Pérez, A. A. (2022). Review and perspectives of the use of alginate as a polymer matrix for microorganisms applied in agro-industry. *Molecules*, 27(13), Article 4248.
- Martinez, Y., Ribera, J., Schwarze, F. W., & De France, K. (2023). Biotechnological development of *Trichoderma*-based formulations for biological control. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 107(18), 5595-5612.
- Maruyama, C. R., Bilesky-José, N., de Lima, R., & Fraceto, L. F. (2020). Encapsulation of *Trichoderma harzianum* preserves enzymatic activity and enhances the potential for biological control. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, Article 225.
- Mbarga, J. B., Ten Hoopen, G. M., Kuate, J., Adiobo, A., Ngonkeu, M., Ambang, Z., Akoa, A., Tondje, P. R., & Begoude, B. (2012). *Trichoderma asperellum*: A potential biocontrol agent for *Pythium myriotylum*, causal agent of cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium*) root rot disease in Cameroon. *Crop Protection*, 36, 18-22.

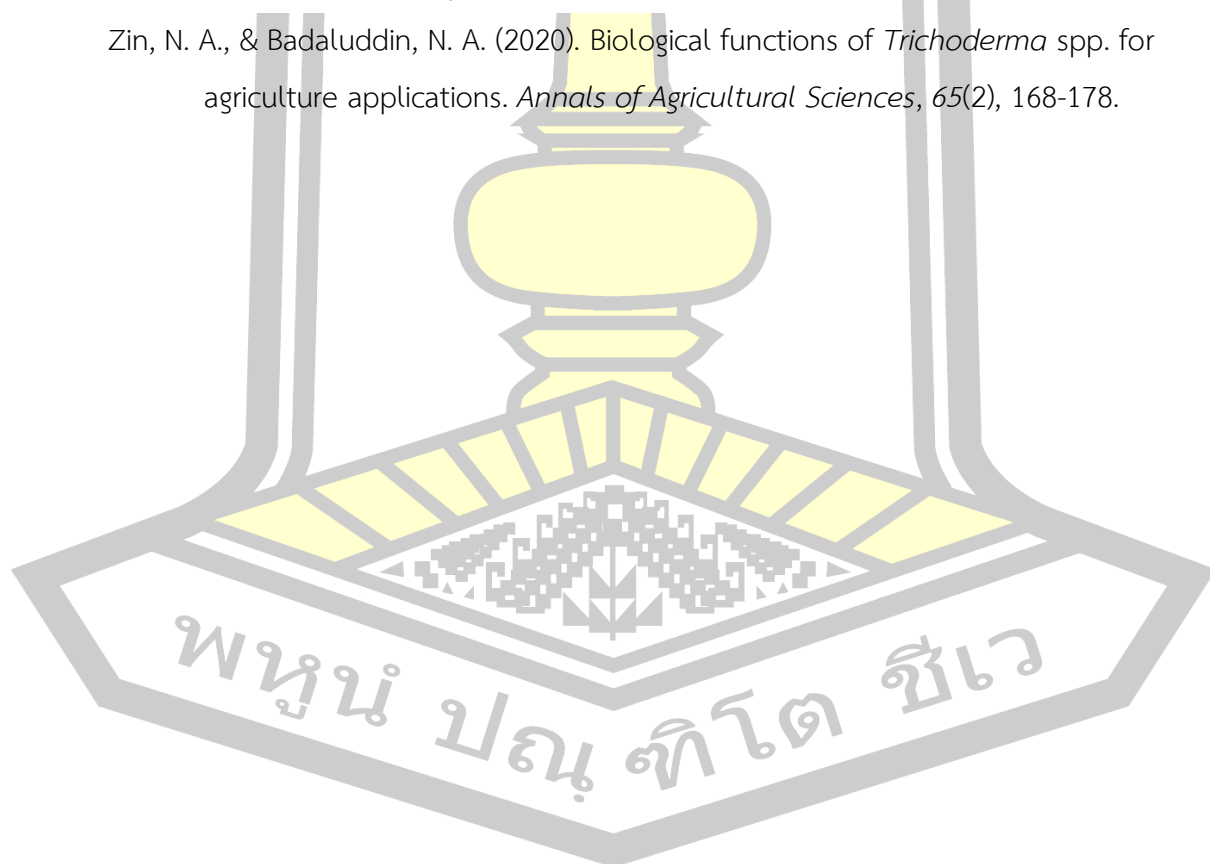
- Mohd Anuar, I., Ku Sulong, K., Abdul Ghani, H., & Wahab, M. (2020). Alginate encapsulation of *Trichoderma harzianum* against brown spot disease on rice (*Oryzae sativa*) in vivo assays. *Food Research*, 4(5), 138-141.
- Mukherjee, P. K., Horwitz, B. A., Singh, U. S., Mukherjee, M., & Schmoll, M. (2013). *Trichoderma* in agriculture, industry and medicine: An overview. In M. Schmoll & B. A. Horwitz (Eds.), *Trichoderma biology and applications* (pp. 1–9). CAB International.
- Okungbowa, F. I., & Shittu, H. O. (2012). *Fusarium* wilts: An overview. *Environmental Research Journal*, 6(2), 83–102.
- Pani, S., Kumar, A., & Sharma, A. (2021). *Trichoderma harzianum*: An overview. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Science*, 10(6), 32-39.
- Plett, J. M., & Martin, F. (2011). Blurred boundaries: lifestyle lessons from ectomycorrhizal fungal genomes. *Trends in Genetics*, 27(1), 14-22.
- Prasad, R. D., Poorna Chandrika, K. S., Desai, S., Greeshma, K., & Vijaykumar, S. (2022). Development, production, and storage of *Trichoderma* formulations for agricultural applications. In *Advances in Trichoderma biology for agricultural applications* (pp. 371–385). Springer International Publishing.
- Qi, Q., Fan, C., Wu, H., Sun, L., & Cao, C. (2023). Preparation of *Trichoderma asperellum* microcapsules and biocontrol of cucumber powdery mildew. *Microbiology Spectrum*, 11(3), Article e05084-22.
- Raj, N., Limbu, A. K., & Joshi, A. (2020). Impact of *Trichoderma* sp. in agriculture: A mini-review. *Journal of Biology and Today's World*, 9(7), 1-5.
- Rashid, T. S., Qadir, S. A., & Awla, H. K. (2021). Induction of defence related enzymes and biocontrol efficacy of *Trichoderma harzianum* in tomato plants infected with *Fusarium oxysporum* and *Fusarium solani*. *Acta Agriculturae Slovenica*, 117(1), 1-6.
- Rajesh, R. W., Rahul, M. S., & Ambalal, N. S. (2016). *Trichoderma*: A significant fungus for agriculture and environment. *African Journal of Agricultural Research*, 11(22), 1952–1965.

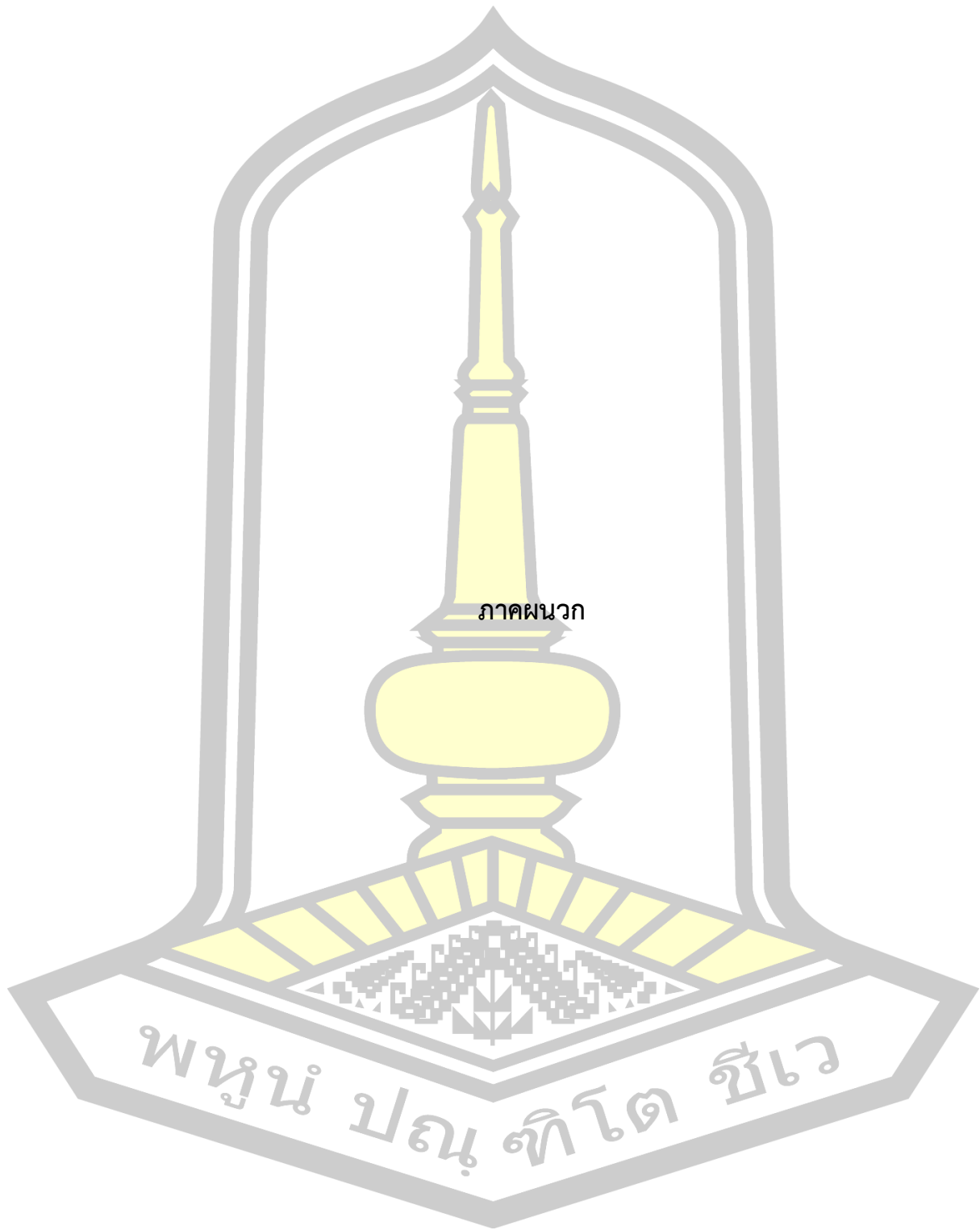
- Rathore, S., Desai, P. M., Liew, C. V., Chan, L. W., & Heng, P. W. S. (2013). Microencapsulation of microbial cells. *Journal of Food Engineering*, 116(2), 369-381.
- Rush, T. A., Shrestha, H. K., Gopalakrishnan Meena, M., Spangler, M. K., Ellis, J. C., Labbé, J. L., & Abraham, P. E. (2021). Bioprospecting *Trichoderma*: A systematic roadmap to screen genomes and natural products for biocontrol applications. *Frontiers in Fungal Biology*, 2, Article 716511.
- Saberi-Riseh, R., Moradi-Pour, M., Mohammadinejad, R., & Thakur, V. K. (2021a). Biopolymers for biological control of plant pathogens: Advances in microencapsulation of beneficial microorganisms. *Polymers*, 13(12), Article 1938.
- Saberi Riseh, R., Skorik, Y. A., Thakur, V. K., Moradi Pour, M., Tamanadar, E., & Noghabi, S. S. (2021b). Encapsulation of plant biocontrol bacteria with alginate as a main polymer material. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(20), Article 11165.
- Sabongari, S., & Aliero, B. L. (2004). Effects of soaking duration on germination and seedling growth of tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill). *African Journal of Biotechnology*, 3(1), 47-51.
- Sala, A., Barrena, R., Sanchez, A., & Artola, A. (2021). Fungal biopesticide production: Process scale-up and sequential batch mode operation with *Trichoderma harzianum* using agro-industrial solid wastes of different biodegradability. *Chemical Engineering Journal*, 425, Article 131620.
- Santamarina, M. P., & Rosello, J. (2006). Influence of temperature and water activity on the antagonism of *Trichoderma harzianum* to *Verticillium* and *Rhizoctonia*. *Crop Protection*, 25(10), 1130-1134.
- Sellitto, V. M., Zara, S., Fracchetti, F., Capozzi, V., & Nardi, T. (2021). Microbial biocontrol as an alternative to synthetic fungicides: Boundaries between pre- and postharvest applications on vegetables and fruits. *Fermentation*, 7(2), Article 60.

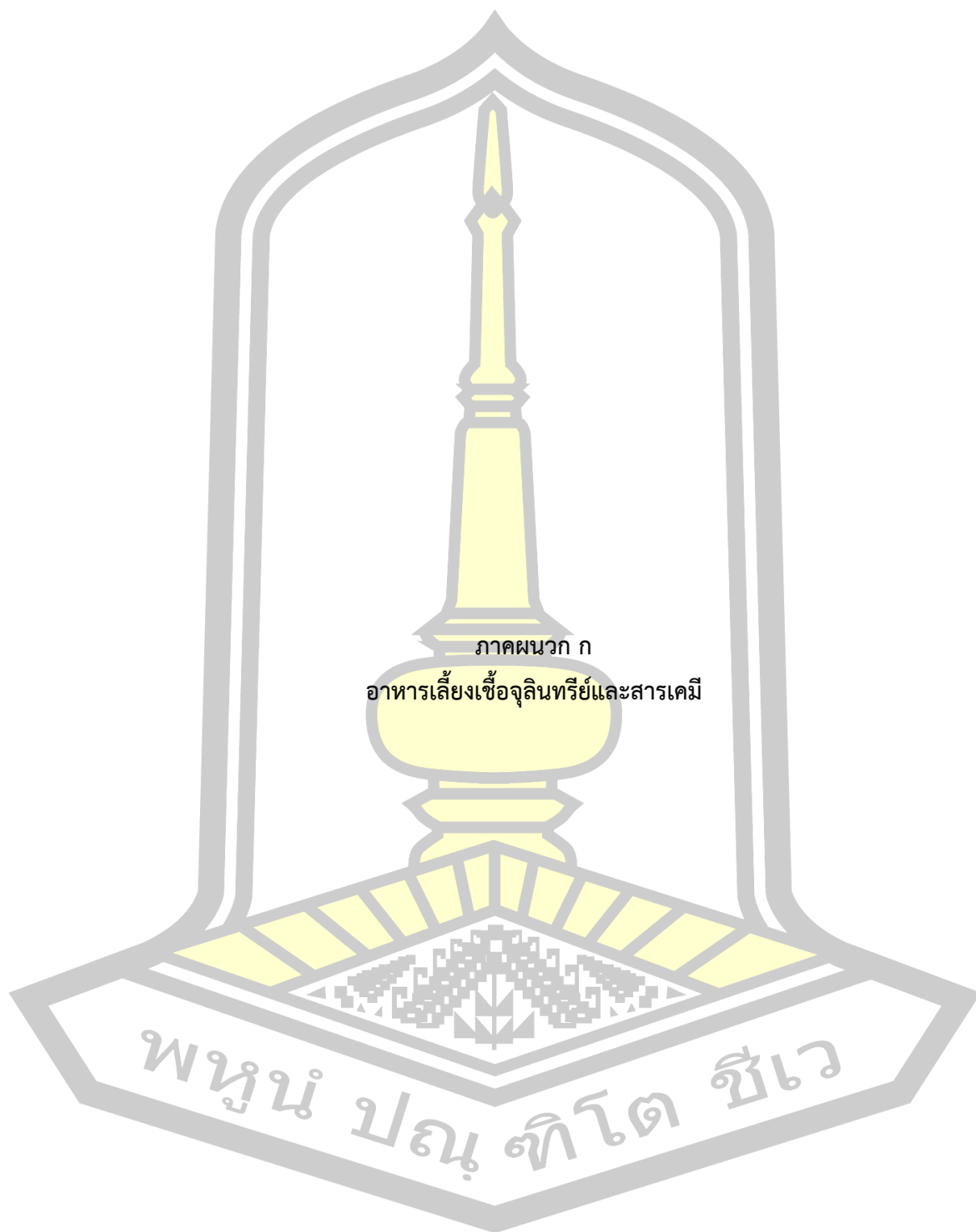
- Sempere, F., & Santamarina, M. P. (2007). *In vitro* biocontrol analysis of *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler under different environmental conditions. *Mycopathologia*, 163, 183-190.
- Shi, M., Chen, L., Wang, X. W., Zhang, T., Zhao, P. B., Song, X. Y., Sun, C. Y., Chen, X. L., Zhou, B. C., & Zhang, Y. Z. (2012). Antimicrobial peptaibols from *Trichoderma pseudokoningii* induce programmed cell death in plant fungal pathogens. *Microbiology*, 158(1), 166-175.
- Siddiquee, S., Yusuf, U. K., Hossain, K., & Jahan, S. (2009). *In vitro* studies on the potential *Trichoderma harzianum* for antagonistic properties against *Ganoderma boninense*. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 7(3&4), 970-976.
- Singh, A., Shahid, M., Srivastava, M., Pandey, S., Sharma, A., & Kumar, V. (2014). Optimal physical parameters for growth of *Trichoderma* species at varying pH, temperature and agitation. *Journal of Virology and Mycology*, 3(127), Article 2161-0517.1000127.
- Singh, A., Shukla, N., Kabadwal, B., Tewari, A., & Kumar, J. (2018). Review on plant-*Trichoderma*-pathogen interaction. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(2), 2382-2397.
- Sood, M., Kapoor, D., Kumar, V., Sheteiwiy, M. S., Ramakrishnan, M., Landi, M., Araniti, F., & Sharma, A. (2020). *Trichoderma*: The “secrets” of a multitasking biocontrol agent. *Plants*, 9(6), Article 762.
- Thomma, B. P. (2003). *Alternaria* spp.: From general saprophyte to specific parasite. *Molecular Plant Pathology*, 4(4), 225-236.
- Tsai, C., Tzeng, D., & Hsieh, S. (2008). Biological characteristics of biocontrol effective *Trichoderma* TA and PT103 strains isolated from rhizosphere of *Anoectochilus formosanus* Hayata. *Plant Pathology Bulletin*, 17(2), 127-142.
- Tsedaley, B. (2014). Review on early blight (*Alternaria* spp.) of potato disease and its management options. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 4(27), 191-199.
- Tyskiewicz, R., Nowak, A., Ozimek, E., & Jaroszuk-Scisiel, J. (2022). *Trichoderma*: The current status of its application in agriculture for the biocontrol of fungal

- phytopathogens and stimulation of plant growth. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4), Article 2329.
- Urtuvia, V., Maturana, N., Acevedo, F., Peña, C., & Díaz-Barrera, A. (2017). Bacterial alginate production: an overview of its biosynthesis and potential industrial production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(11), 1-10.
- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Woo, S. L., & Lorito, M. (2008). *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(1), 1-10.
- Vindas-Reyes, E., Chacón-Cerdas, R., & Rivera-Méndez, W. (2024). *Trichoderma* production and encapsulation methods for agricultural applications. *Agri Engineering*, 6(3), 2366-2384.
- Waghunde, R. R., Shelake, R. M., & Sabalpara, A. N. (2016). *Trichoderma*: A significant fungus for agriculture and environment. *African Journal of Agricultural Research*, 11(22), 1952-1965.
- Wang, H., Guo, Y., Luo, Z., Gao, L., Li, R., Zhang, Y., Kalaji, H. M., Qiang, S., & Chen, S. (2022). Recent advances in *Alternaria* phytotoxins: A review of their occurrence, structure, bioactivity, and biosynthesis. *Journal of Fungi*, 8(2), Article 168.
- Yan, L., & Khan, R. A. A. (2021). Biological control of bacterial wilt in tomato through the metabolites produced by the biocontrol fungus, *Trichoderma harzianum*. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 31, 1-9.
- Yuan, H., Zhu, Z., Liu, S., Ge, T., Jing, H., Li, B., Liu, Q., Lynn, T. M., Wu, J., & Kuzyakov, Y. (2016). Microbial utilization of rice root exudates: ¹³C labeling and PLFA composition. *Biology and Fertility of Soils*, 52(5), 615-627.
- Zafra, G., & Cortés-Espinosa, D. V. (2015). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Trichoderma* species: a mini review. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(24), 19426-19433.
- Zeilinger, S., Gruber, S., Bansal, R., & Mukherjee, P. K. (2016). Secondary metabolism in *Trichoderma*-chemistry meets genomics. *Fungal Biology Reviews*, 30(2), 74-90.

- Zhang, Q., Yang, Z. F., Cheng, W., Wijayawardene, N. N., Hyde, K. D., Chen, Z., & Wang, Y. (2020). Diseases of *Cymbopogon citratus* (Poaceae) in China: *Curvularia nanningensis* sp. nov. *MycKeys*, 63, 49–69.
- Zhang, S.-X., & Zhang, X. (2009). Effects of two composted plant pesticide residues, incorporated with *Trichoderma viride*, on root-knot nematode in balloonflower. *Agricultural Sciences in China*, 8(4), 447-454.
- Zhao, Q., Shi, Y., Wang, Y., Xie, X., Li, L., Guo, L., Chai, A., & Li, B. (2021). Quantifying airborne dispersal route of *Corynespora cassicola* in greenhouses. *Frontiers in Microbiology*, 12, Article 716758.
- Zhou, Y., Xu, J., Zhu, Y., Duan, Y., & Zhou, M. (2016). Mechanism of action of the benzimidazole fungicide on *Fusarium graminearum*: Interfering with polymerization of monomeric tubulin but not polymerized microtubule. *Phytopathology*, 106(8), 807-813.
- Zin, N. A., & Badaluddin, N. A. (2020). Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. *Annals of Agricultural Sciences*, 65(2), 168-178.







อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์และสารเคมี

1. สูตรอาหาร Potato dextrose agar (PDA)

Potato	200	กรัม
Dextrose	20	กรัม
Agar	17	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร

ผสมสารส่วนประกอบทั้งหมดเข้าด้วยกัน และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

2. การเตรียมสารละลายโซเดียมซิเตรท (Sodium Citrate) ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (w/v)

Sodium Citrate ($\text{NaC}_6\text{H}_5\text{O}_7$)	20	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร

ผสมสารส่วนประกอบทั้งหมดเข้าด้วยกัน และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

3. การเตรียมสารละลายโซเดียมอัลจิเนต ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (w/v)

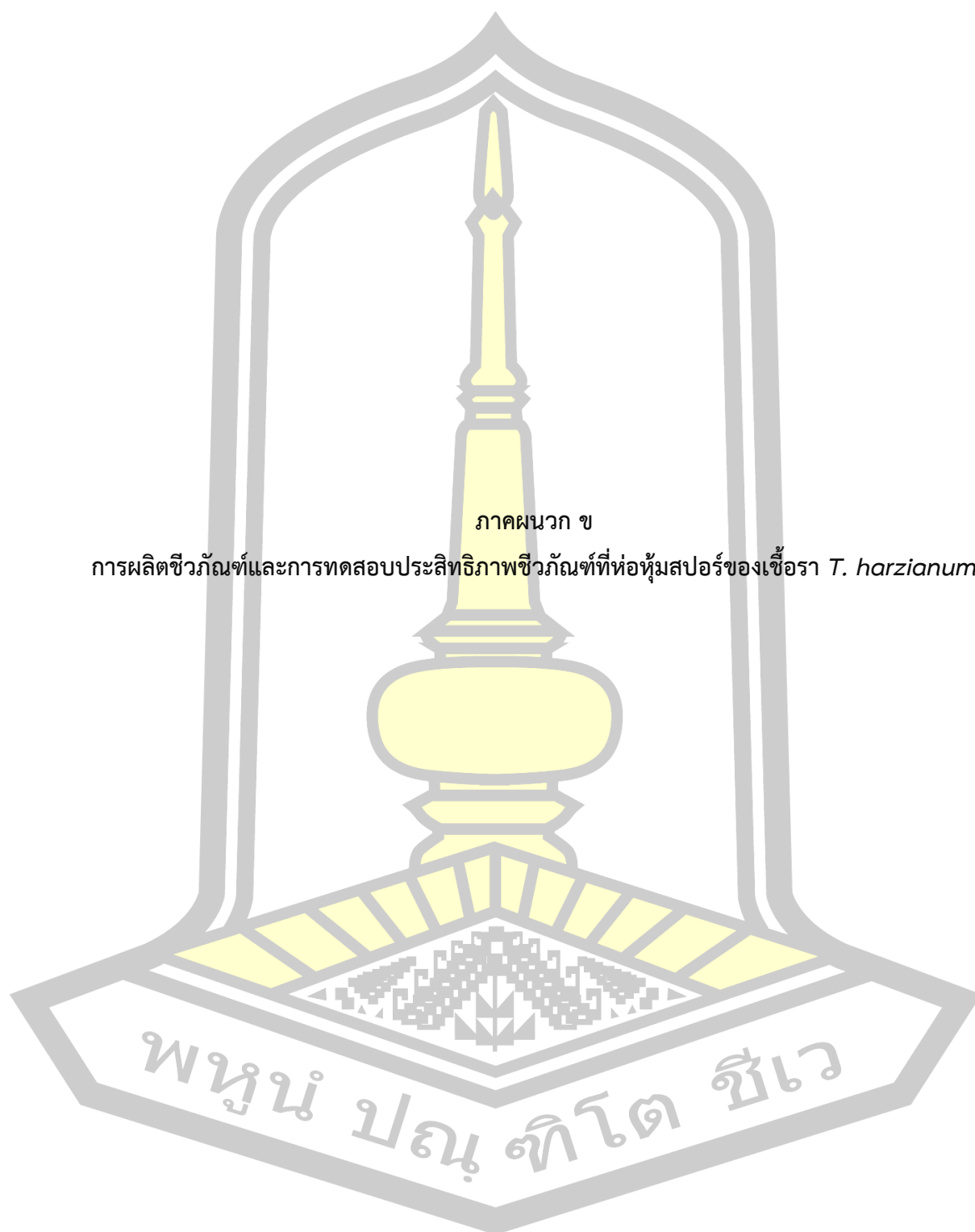
Sodium Alginate ($\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_4\text{COONa}$)	20	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อโซเดียมอัลจิเนตที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที ผสม Sodium Alginate ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว กับน้ำกลั่นปลอดเชื้อจากนั้นกวนผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน

4. การเตรียมสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์

Calcium Chloride Dihydrate ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	29.40	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร

ผสมสารส่วนประกอบทั้งหมดเข้าด้วยกัน และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

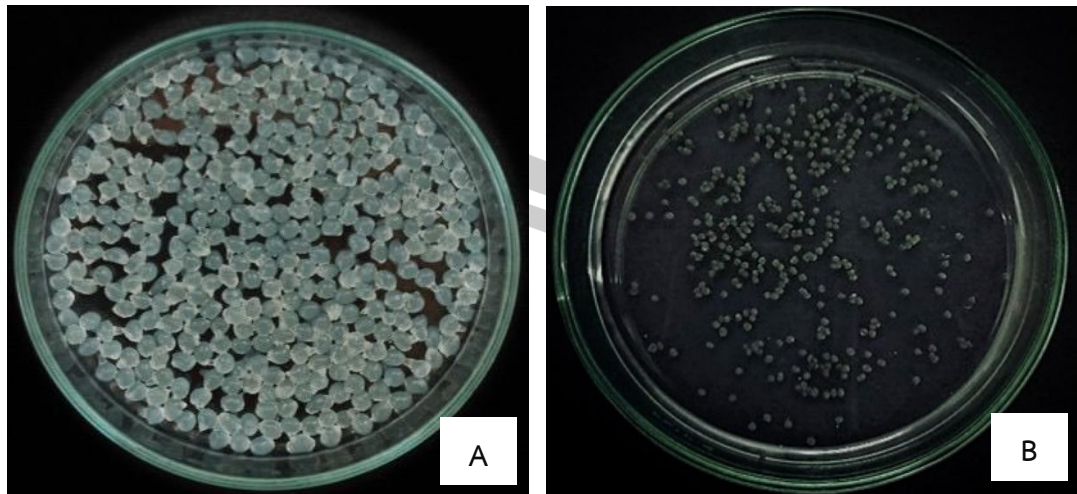




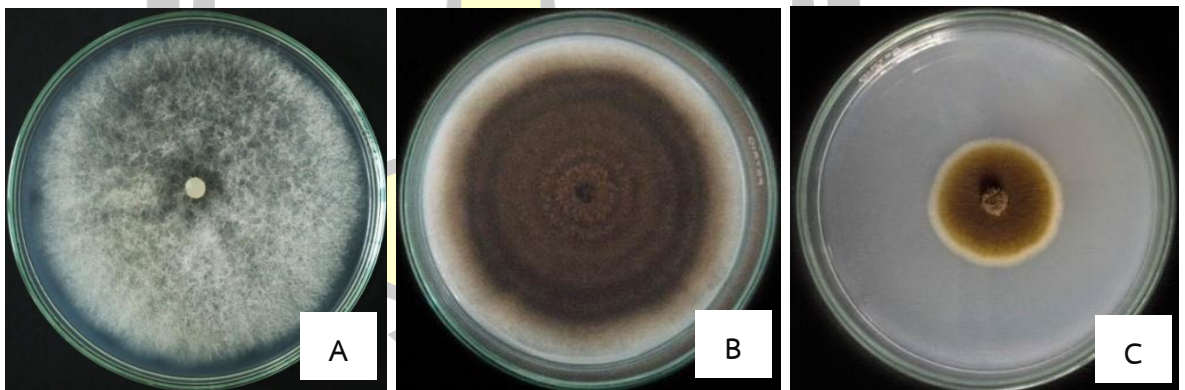
ภาพประกอบที่ 15 การห่อหุ้มสปอร์ของเชื้อรา *T. harzianum* โดยใช้สปอร์แขวนลอยค้ของเชื้อรา ผสมกับโซเดียมอัลจิเนตหยดลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ด้วยปั้มดูดจ่ายของเหลวแบบรีดท้อ (peristaltic pump)



ภาพประกอบที่ 16 ลักษณะชีวภัณฑ์หลังการห่อหุ้มสปอร์ของเชื้อรา *T. harzianum* ด้วยโซเดียมอัลจิเนต

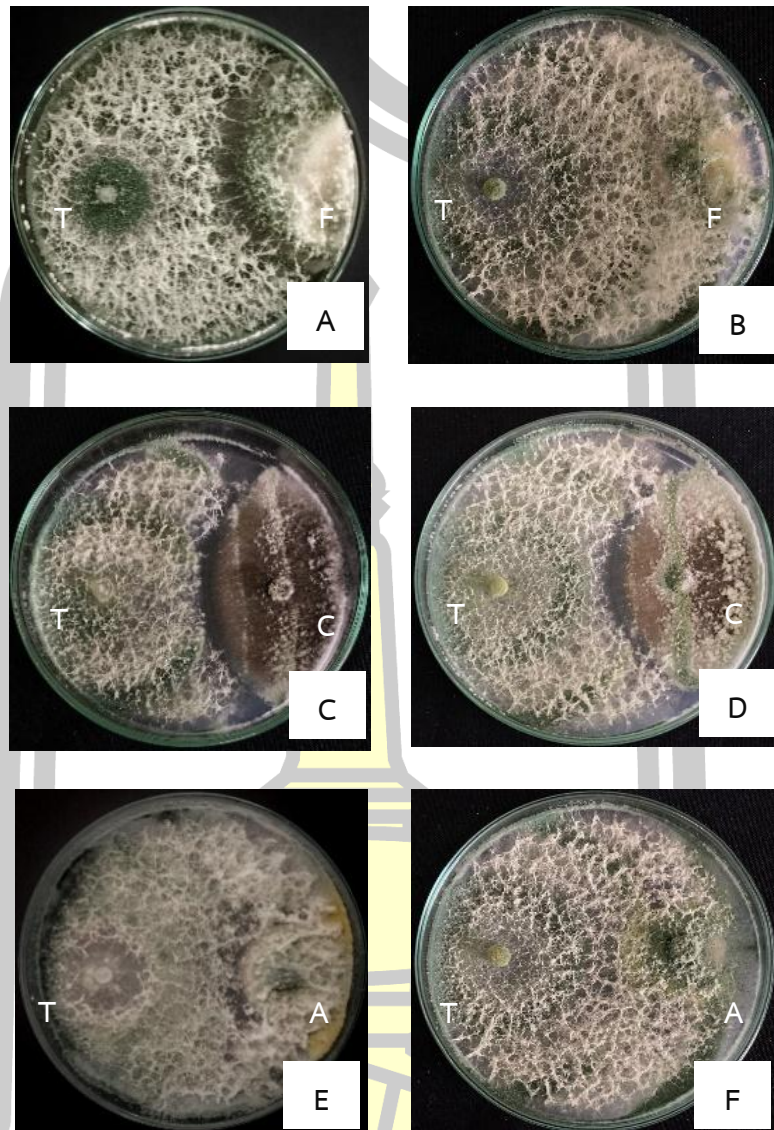


ภาพประกอบที่ 17 ลักษณะของชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียก (A) และชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้ง (B)



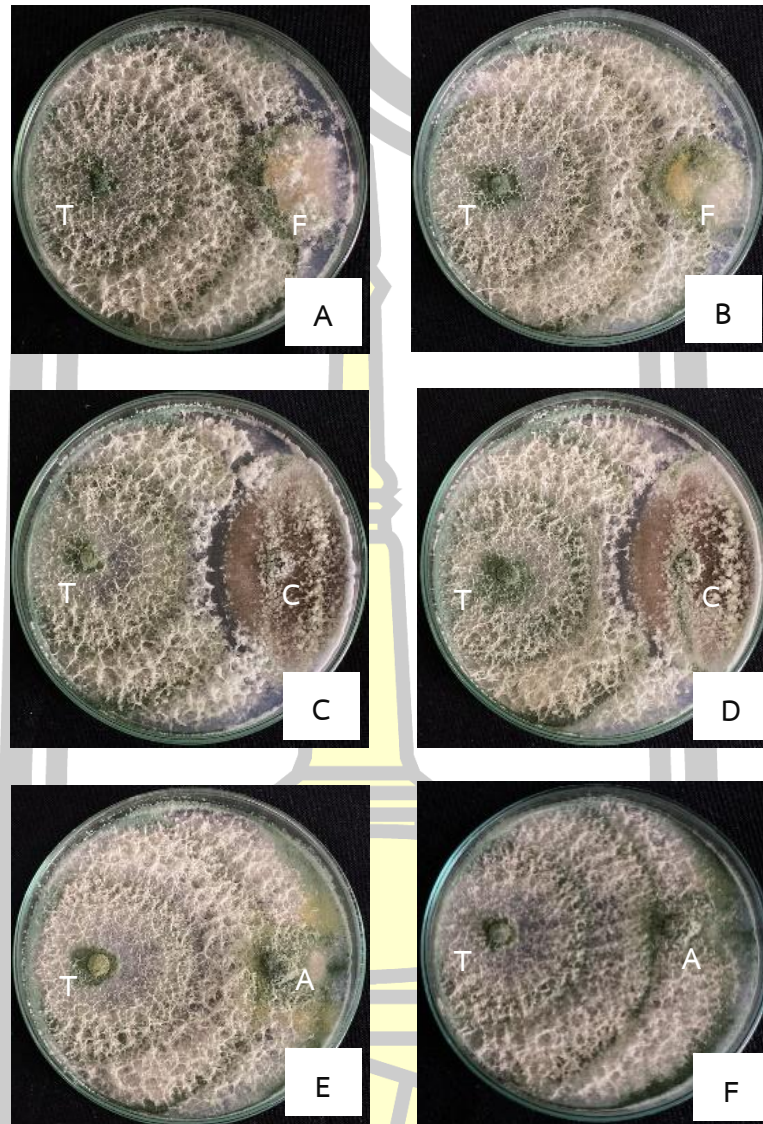
ภาพประกอบที่ 18 ลักษณะเส้นใยของเชื้อราก่อโรคพืชที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ได้แก่ เชื้อรา *Fusarium* sp. (A), *Curvularia* sp. (B) และ *Alternaria* sp. (C)

พหุบัน ปณ ทัโต ชีเว



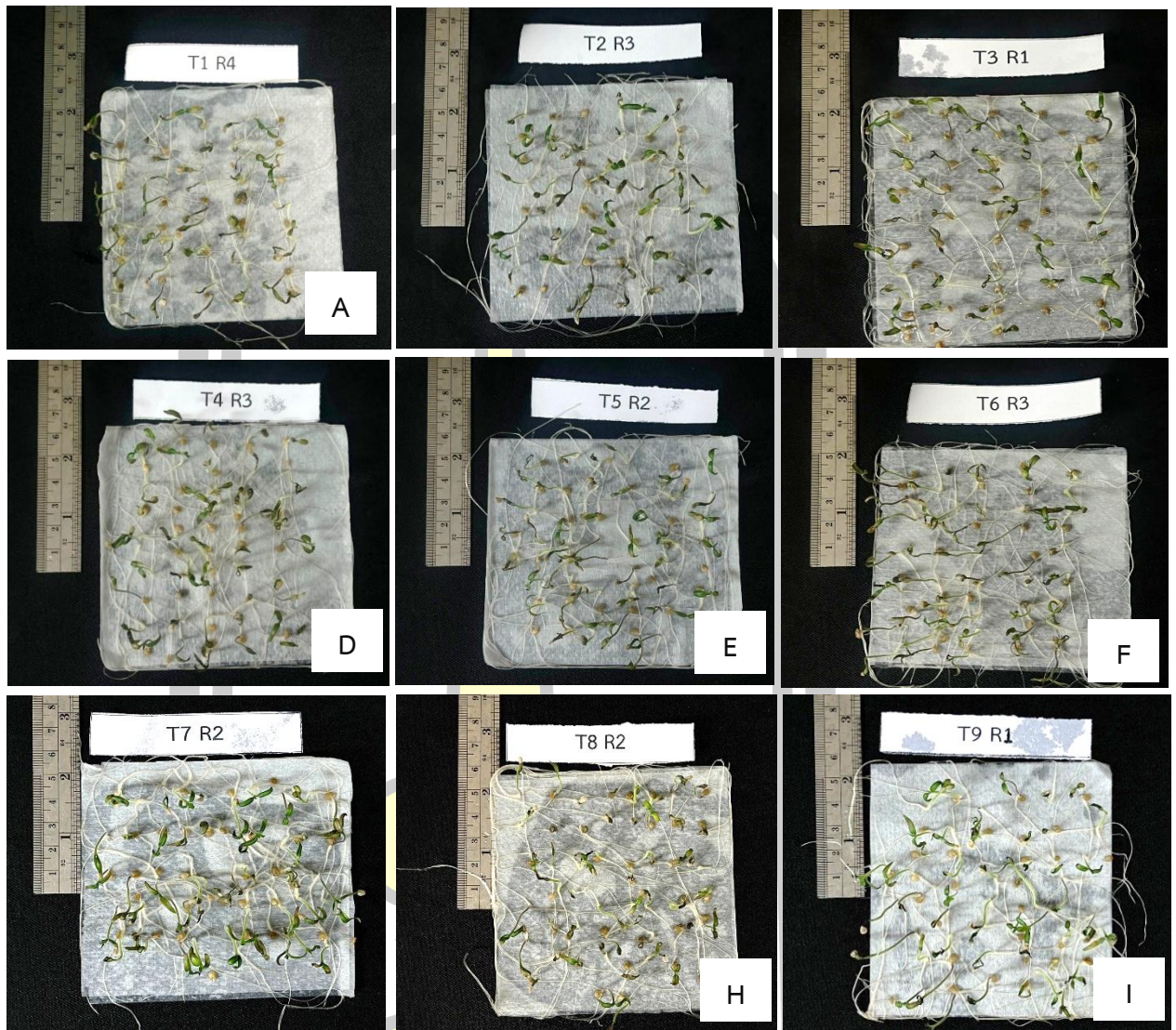
ภาพประกอบที่ 19 ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *T. harzianum* ที่เจริญจากเมล็ดชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียกต่อการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืช 3 ชนิด ด้วยวิธีการ dual culture

- ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียก 4 °C และ *Fusarium* sp. (A)
 ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียก 28±2 °C และ *Fusarium* sp. (B)
 ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียก 4 °C และ *Curvularia* sp. (C)
 ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียก 28±2 °C และ *Curvularia* sp. (D)
 ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียก 4 °C และ *Alternaria* sp. (E)
 ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียก 28±2 °C และ *Alternaria* sp. (F)



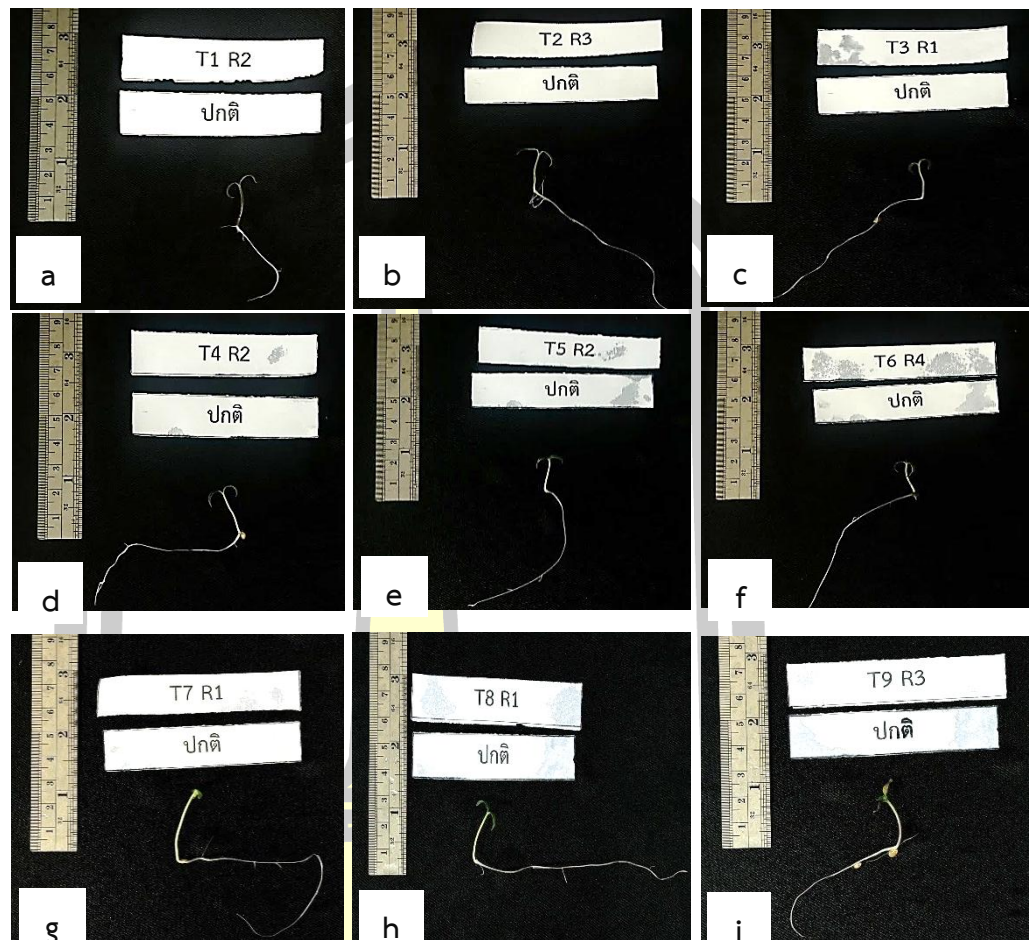
ภาพประกอบที่ 20 ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *T. harzianum* ที่เจริญจากเมล็ดชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้งต่อการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืช 3 ชนิด ด้วยวิธีการ dual culture

- ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้ง 4 °C และ *Fusarium* sp. (A)
 ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้ง 28±2 °C และ *Fusarium* sp. (B)
 ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้ง 4 °C และ *Curvularia* sp. (C)
 ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้ง 28±2 °C และ *Curvularia* sp. (D)
 ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดแห้ง 4 °C และ *Alternaria* sp. (E)
 ชีวภัณฑ์ชนิดเม็ดเปียก 28±2 °C และ *Alternaria* sp. (F)



ภาพประกอบที่ 21 ลักษณะการงอกของเมล็ดมะเขือเทศเมื่อทดสอบเพาะเมล็ดโดยใช้ชีวภัณฑ์ชนิด
เม็ดเปียกที่แฉ่ร่วมกับสปอร์แขวนลอยของเชื้อราก่อโรคพืช 3 ชนิด

ชีวภัณฑ์และเชื้อรา *Fusarium* sp. (A), ชีวภัณฑ์และเชื้อรา *Curvularia* sp. (B), ชีวภัณฑ์และเชื้อรา
Alternaria sp. (C), น้ำกลั่นปลอดเชื้อและเชื้อรา *Fusarium* sp. (D), น้ำกลั่นปลอดเชื้อและเชื้อรา
Curvularia sp. (E), น้ำกลั่นปลอดเชื้อและเชื้อรา *Alternaria* sp. (F), Carbendazim และเชื้อรา
Fusarium sp. (G), Carbendazim และเชื้อรา *Curvularia* sp. (H) และ Carbendazim และเชื้อรา
Alternaria sp. (I)



ภาพประกอบที่ 22 ลักษณะต้นกล้าของเมล็ดมะเขือเทศเมื่อทดสอบเพาะเมล็ดโดยใช้ชีวภัณฑ์ชนิด
 เม็ดเปียกที่แชร์ร่วมกับสปอร์แขวนลอยของเชื้อราก่อโรคพืช 3 ชนิด

ชีวภัณฑ์และเชื้อรา *Fusarium* sp. (a), ชีวภัณฑ์และเชื้อรา *Curvularia* sp. (b), ชีวภัณฑ์
 และเชื้อรา *Alternaria* sp. (c), น้ำกลั่นปลอดเชื้อและเชื้อรา *Fusarium* sp. (d), น้ำกลั่นปลอดเชื้อ
 และเชื้อรา *Curvularia* sp. (e), น้ำกลั่นปลอดเชื้อและเชื้อรา *Alternaria* sp. (f), Carbendazim
 และเชื้อรา *Fusarium* sp. (g), Carbendazim และเชื้อรา *Curvularia* sp. (h) และ Carbendazim
 และเชื้อรา *Alternaria* sp. (i)

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นายกิตติศักดิ์ พึ่งสันเทียะ
วันเกิด	วันที่ 14 เดือนธันวาคม พ.ศ. 2537
สถานที่เกิด	อำเภอสุวรรณภูมิ จังหวัดร้อยเอ็ด
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	บ้านเลขที่ 85 หมู่ 11 ตำบลช้างเผือก อำเภอสุวรรณภูมิ จังหวัดร้อยเอ็ด รหัสไปรษณีย์ 45130
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีร้อยเอ็ด บ้านเลขที่ 235 หมู่ที่ 4 ตำบลนิเวศน์ อำเภอธวัชบุรี จังหวัดร้อยเอ็ด รหัสไปรษณีย์ 45170
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2555 มัธยมศึกษาตอนปลายโรงเรียนช้างเผือกวิทยาคม พ.ศ. 2561 ปริญญาครุศาสตรบัณฑิต (ค.บ.) สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม พ.ศ. 2567 ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วท.ม) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพและธุรกิจชีวภาพ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

พูนัน ปณุกิตโต ชีวะ