# ประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ที่แยกได้จากเมล็ดกะหล่ำปลี ในการควบคุมโรคใบจุดของต้นกล้ากะหล่ำปลี

# Efficacy of Antagonistic Fungi Isolated from Cabbage Seeds in Controlling Leaf Spot Disease of Cabbage Seedlings

***อนงค์นาถ แต่เชื้อสาย[1/] และ สมบัติ ศรีชูวงศ์[1/]***

*Anongnat Taechuesai[1/] and Sombat Srichuwong[1/]*

**Abstract** : Detection of seed-borne fungi in 3 cultivars of cabbage seed samples was conducted by PDA Agar method, sixteen isolates of fungi were found. All isolates were tested *in vitro* for their efficacy as antagonists growth inhibition of *Alternaria brassicicola* which causes Alternaria leaf spot of cabbage. The Dual culture technique was used. It was found that *Trichoderma harzianum*, *T. viride* and *Chaetomium globosum* gave better results than the others, in that sequence. When seven selected antagonistic fungi were tested in controlling the seed-borne pathogen, *T. harzianum* and *T. viride* gave similar results in reducing percentage of seed infection, increasing percentages of seed germination, seedling emergence, normal seedling development, shoot length, fresh and dry weights.

**Keywords** : cabbage, Alternaria leaf spot, *Alternaria brassicicola*, antagonistic fungi, control

**บทคัดย่อ** : จากการตรวจหาชนิดของเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดกะหล่ำปลี 3 พันธุ์ ด้วยวิธีเพาะบนอาหารวุ้น PDA พบเชื้อรา 16 ไอโซเลท นำเชื้อราทุกไอโซเลทที่แยกได้ไปทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดของกะหล่ำปลี โดยวิธี Dual culture พบว่าเชื้อรา *Trichoderma harzianum*, *T. viride* และ *Chaetomium globosum* ให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้งดีกว่าเชื้อราชนิดอื่นๆ ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อรา 7 ชนิดที่คัดเลือกแล้วไปทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเชื้อรา *A. brassicicola* บนเมล็ดกะหล่ำปลี พบว่า *T. harzianum* และ *T. viride* ช่วยลดเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อของเมล็ดและเพิ่มเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ด ความงอกโผล่พ้นดิน ต้นกล้าปกติ ความยาวราก น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของต้นกล้าได้ดีไม่แตกต่างกัน

**คำสำคัญ** : กะหล่ำปลี โรคใบจุดออลเทอนาเรีย เชื้อราปฏิปักษ์ การป้องกันกำจัด

[1/]ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ. เชียงใหม่ 50200

[1/]Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.

## คำนำ

โรคที่สำคัญมากโรคหนึ่งของกะหล่ำปลี ที่พบมากตามแหล่งปลูกต่าง ๆ คือ โรคใบจุดออลเทอนาเรีย (Alternaria leaf spot) ซึ่งเกิดจากเชื้อราสาเหตุคือ *Alternaria brassicicola* โดยเชื้อรานี้ก่อให้เกิดโรคกับพืชผักตระกูลกะหล่ำแทบทุกชนิด ได้แก่ กะหล่ำดอก กะหล่ำดาว กะหล่ำปม กะหล่ำปลี คะน้า บรอคโคลี่ ผักกาดกวางตุ้ง ผักกาดขาวปลี ผักกาดเขียวปลี ผักกาดหัว และแรดิช โดยเข้าทำลายพืชได้ทุกส่วนและทุกระยะการเจริญเติบโตและเป็นโรคสำคัญที่เป็นอุปสรรคต่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ (สกุลศักดิ์, 2540) โดยเชื้อราสาเหตุสามารถเข้าทำลายต้นกล้าทันทีที่งอกจากเมล็ด ปรากฏอาการจุดขนาดเล็กสีดำบนลำต้นคล้ายกับโรคโคนเน่าระดับดิน (damping-off) ของต้นกล้า ทำให้ต้นกล้าเกิดอาการโคนเน่าหรือแคระแกร็น ชะงักการเจริญเติบโต เมื่อย้ายต้นกล้าที่เป็นโรคลงแปลงปลูกจะไม่เจริญเติบโตเหมือนต้นปกติทั่วไป อาการที่ใบจะเริ่มจากใบแก่ซึ่งอยู่ด้านล่างก่อน โดยปรากฏเป็นจุดแผลเนื้อเยื่อตายขนาดเล็กจนถึงขนาดแผลประมาณ 5 - 7.5 เซนติเมตร และมีสีเหลืองล้อมรอบแผล บริเวณแผลจะปรากฏกลุ่มโคโลนีสีเข้มเรียงซ้อนกันเป็นวงหลายชั้น (สกุลศักดิ์, 2540) เมื่ออาการรุนแรงเนื้อเยื่อบริเวณกลางแผลจะบางคล้ายกระดาษ แผลสามารถขยายขนาดลามติดกันได้ ทำให้มีขนาดไม่สม่ำเสมอ (Dixon, 1981) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าเชื้อรา *A. brassicicola* เป็นเชื้อราสาเหตุโรคที่สำคัญซึ่งทำให้เกิดความเสียหายต่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ในประเทศอังกฤษ (Moore, 1994; อ้างโดย สมพร, 2541) ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อรานี้สามารถติดไปกับเมล็ดพืชตระกูลกะหล่ำได้ถึง 40% โดยเมล็ดกะหล่ำปลีมีเชื้อราปนเปื้อนสูงถึง 50% ในประเทศไทยเคยมีรายงานจากฝ่ายกักกันพืชว่าเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีที่นำเข้าจากประเทศญี่ปุ่นมีเชื้อรานี้ติดปนเปื้อนมาสูงถึง 90% ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ความงอกของเมล็ดลดลงและต้นอ่อนไม่เจริญเติบโต (อรพรรณ และจุมพล, 2531) การป้องกันกำจัดเชื้อราต่าง ๆ ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์อาจทำได้หลายวิธี เช่น การใช้รังสี การแช่น้ำร้อน รวมทั้งการคลุกหรือแช่เมล็ดพันธุ์ในสารเคมี แม้ว่าการใช้สารเคมีจะเป็นที่นิยมทั่วไปเนื่องจากใช้ง่าย สะดวก รวดเร็ว และมีประสิทธิภาพสูง รวมทั้งใช้ได้ง่ายกับเมล็ดพันธุ์ในปริมาณมาก อย่างไรก็ตามการใช้สารเคมีกับเมล็ดพันธุ์ก็มีข้อจำกัดหลายอย่าง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเรื่องของอันตรายที่จะเกิดขึ้นกับผู้ใช้และสภาพแวดล้อมทั่วไป ปัจจุบันจึงได้มีการนำวิธีการอื่น ๆ เข้ามาใช้เพื่อทดแทน อาทิ การควบคุมเชื้อโรคโดยชีววิธีด้วยการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์บางชนิดคลุกเมล็ดก่อนปลูก และประสบผลสำเร็จในการช่วยลดการเกิดโรคกับเมล็ดและต้นกล้าในพืชหลายชนิด เช่น ในข้าว (เกษม, 2533; นลินี และคณะ, 2535) และถั่วเหลือง (Mannandher *et al*., 1987; Yeh and Sinclair, 1980) แหล่งที่ได้มาของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ใช้ควบคุมโรคพืชส่วนใหญ่แยกมาจากดิน (Baker and Cook, 1974; Chang and Kommendahl, 1968) ซึ่งมีรายงานน้อยมากที่มีการศึกษาหาเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับเมล็ด เพื่อนำมาใช้ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคในเมล็ด

การวิจัยครั้งนี้จะเป็นการแยกเชื้อราต่าง ๆ จากเมล็ดพืชผักตระกูลกะหล่ำ เพื่อนำมาคัดเลือกความเป็นไปได้ในการศึกษาถึงประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อโรคและโรคที่ติดมากับเมล็ด ตลอดจนผลกระทบต่อความงอกและความแข็งแรงของต้นกล้า ซึ่งสามารถใช้เป็นทางเลือกหนึ่งในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีทดแทนการใช้สารเคมี

## อุปกรณ์และวิธีการ

### 1. ตรวจหาชนิดและปริมาณของเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลี

เมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีที่ใช้ในการทดลองมี 3 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ No. 1 ตราลูกโลก, พันธุ์ New Jersey และพันธุ์ Ruby Perfection ซึ่งได้จากมูลนิธิโครงการหลวงนำมาตรวจหาเชื้อราที่ติดมากับเมล็ด โดยวิธีเพาะบนอาหารวุ้น (PDA plate method) ตามมาตรฐานสากลของ International Seed Testing Association (ISTA, 1999) พันธุ์ละ 400 เมล็ด และทำการแยกเชื้อบริสุทธิ์เก็บเป็น stock culture เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

### 2. การทดสอบเบื้องต้นในการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อราปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Alternaria brassicicola*

2.1 การศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria brassicicola* บนอาหาร PDA โดยวิธี Dual culture

นำเชื้อราที่แยกได้จากเมล็ดกะหล่ำปลีทุกไอโซเลทมาทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *A. brassicicola* โดยวิธี Dual culture บนอาหาร PDA โดยทำกรรมวิธีละ 5 ซ้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง บันทึกการเจริญของเชื้อราสาเหตุ โดยวัดขนาดความยาวรัศมีของโคโลนีเชื้อราสาเหตุด้านที่เจริญไปทางเชื้อราปฏิปักษ์ และวัดความยาวรัศมีของโคโลนีเชื้อราสาเหตุจากชุดควบคุม นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งรัศมีการเจริญ (percent inhibition rate growth หรือ PIRG) ของเชื้อสาเหตุ จากสูตร

$$PIRG = \frac{R_1 - R_2}{R_1} \times 100$$

โดย $R_1$ คือ รัศมีการเจริญของเชื้อราสาเหตุในจานชุดควบคุม

$R_2$ คือ รัศมีการเจริญของเชื้อราสาเหตุด้านที่เจริญไปทางเชื้อราปฏิปักษ์

คัดเลือกเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราสาเหตุตั้งแต่ 50 % ขึ้นไปเพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

2.2 การศึกษาผลของเชื้อราปฏิปักษ์ต่อการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Alternaria brassicicola*

เตรียม spore suspension ของเชื้อรา *A. brassicicola* ความเข้มข้น $10^6$- $10^7$ spore/ml และ mycelium หรือ spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ ความเข้มข้น $10^7$- $10^8$ spore/ml จากนั้นดูด spore suspension ของ *A. brassicicola* หยดลงบนแผ่นสไลด์ที่มีชิ้นวุ้นบางบนสไลด์ และหยด spore suspension หรือ mycelium suspension เชื้อราปฏิปักษ์ตามลงไป และปิดฝาจานอาหารเพื่อรักษาความชื้น จากนั้นทุก ๆ 2 ชั่วโมง ทำการ fix สปอร์โดยหยด lactophenol ลงไป ปิดด้วย cover slip ทำการตรวจนับจำนวนสปอร์ของเชื้อราที่งอกและคำนวณเปอร์เซ็นต์ความงอกของสปอร์

3. **การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ต่อการควบคุมเชื้อราบนเมล็ด ความงอกของเมล็ด การเกิดโรคและความแข็งแรงของต้นกล้า**

นำเชื้อราปฏิปักษ์ที่ผ่านการคัดเลือกจากการทดลองที่ 2.1 และเชื้อรา *A. brassicicola* มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณบนอาหาร PDA จากนั้นนำมาทำ spore suspension ความเข้มข้น $10^7$- $10^8$ spore/ml นำ spore suspension ของเชื้อรา *A. brassicicola* ปริมาตร 10 ml ผสมกับ spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์แต่ละชนิดปริมาตรเท่ากัน นำเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลีที่ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย 0.1% Sodium hypochlorite นาน 5 นาที แช่เมล็ดใน suspension นาน 2 ชั่วโมง ผึ่งให้แห้ง จากนั้นแบ่งเมล็ดออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกนำไปเพาะบนกระดาษชื้นและส่วนที่สองเพาะในดินฆ่าเชื้อ ทุกกรรมวิธีเพาะจำนวน 300 เมล็ด วางแผนการทดลองแบบ Split Plot in CRD บันทึกผลโดยตรวจหาปริมาณของเชื้อรา *A. brassicicola* บนเมล็ดที่เพาะบนกระดาษชื้น ความงอกของเมล็ดในจานทดลอง และความงอกโผล่พ้นดิน ต้นกล้าปกติ ความยาวราก น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง จากการเพาะเมล็ดในดินฆ่าเชื้อ

## ผลการทดลอง

1. **การตรวจหาชนิดและปริมาณของเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์กะหล่ำปลี**

จากการแยกเชื้อราจากเมล็ดกะหล่ำปลีโดยการเพาะเมล็ดกะหล่ำปลี บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สามารถแยกเชื้อราได้ทั้งหมด 16 ไอโซเลท ได้แก่ *Alternaria brassicicola*, *A. tenuis*, *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp. ไอโซเลท 1, *Aspergillus* sp. ไอโซเลท 2, *Aspergillus* sp. ไอโซเลท 3, *Cladosporium cladosporioides*, *Chaetomium globosum*, *Curvularia lunata*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium* sp., *Trichoderma harzianum*., *T. viride*, unknown ไอโซเลท 1, unknown ไอโซเลท 2 และ unknown ไอโซเลท 3 เมื่อเปรียบเทียบเชื้อรา *A. brassicicola* ในกะหล่ำปลีแต่ละพันธุ์พบว่ามีเชื้อรา *A. brassicicola* ในพันธุ์ New Jersey มากที่สุดคือ 8.50%

**2. การทดสอบเบื้องต้นในการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อราปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Alternaria brassicicola***

2.1 ผลการศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria brassicicola* บนอาหาร PDA โดยวิธี Dual culture

จากการทดสอบเลี้ยงเชื้อรา *A. brassicicola* บนอาหาร PDA พร้อมกับเชื้อราปฏิปักษ์ 15 ไอโซเลทที่แยกได้จากการทดลองที่ 1 พบว่ามีเชื้อรา 3 ชนิดได้แก่ *Trichoderma harzianum*, *T. viride* และ *Chaetomium globosum* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. brassicicola* ได้ดีตามลำดับ เมื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *A. brassicicola* พบว่า *Trichoderma harzianum* ให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงสุด รองลงมาได้แก่ *T. viride* และ *C. globosum* ซึ่งให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 73.96, 71.05 และ 68.41% ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

จากการสังเกตลักษณะการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. brassicicola* โดยเชื้อราปฏิปักษ์ทั้ง 3 ชนิด พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* และ *T. viride* ทำให้เส้นใยของเชื้อราสาเหตุหยุดการเจริญและเชื้อราจะเจริญบนเส้นใยของเชื้อราสาเหตุ ทำให้เส้นใยของเชื้อราสาเหตุยุบตัวลง ส่วนเชื้อรา *C. globosum* พบว่าทำให้เส้นใยของ เชื้อรา *A. brassicicola* หยุดการเจริญ (ภาพที่ 1)

Table 1 Comparison of effectiveness of 15 isolates of fungi in inhibiting the growth of *Alternaria brassicicola* in Dual culture test.

| Fungi | Growth Inhibition (%)[1] |
|---|---|
| *Aspergillus* sp. Isolate 1 | 36.83 f [2] |
| *Aspergillus* sp. Isolate 2 | 11.37 i |
| *Aspergillus* sp. Isolate 3 | 63.44 c |
| *Alternaria* sp. | 52.34 d |
| *Alternaria tenuis* | 42.69 e |
| *Cladosporium cladosporioides* | 31.55 g |
| *Chaetomium globosum* | 68.41 b |
| *Curvularia lunata* | 45.88 e |
| *Fusarium* sp. | 62.27 c |
| *Fusarium oxysporum* | 45.04 e |
| *Trichoderma harzianum* | 73.96 a |
| *Trichoderma viride* | 71.05 ab |
| unknown Isolate 1 | 18.99 h |
| unknown Isolate 2 | 51.75 d |
| unknown Isolate 3 | 8.16 j |
| $LSD_{(P = 0.05)}$ | 2.43 |
| CV (%) | 3.22 |

[1]Each value is a mean of 5 replicates of 5 plates.

[2]Means in column followed by the same letter are not significantly different at P = 0.01 according to LSD.

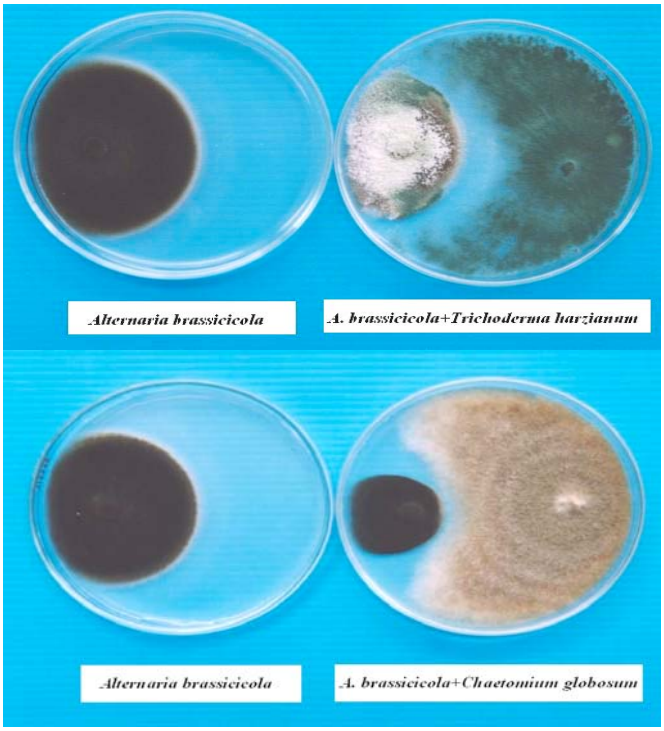


Figure 1 Control and Dual culture of *Trichoderma harzianum* (above) and *Chaetomium globosum* (below) against *Alternaria brassicicola.*

3. **ศึกษาผลของเชื้อราปฏิปักษ์ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา** *Alternaria brassicicola*

จากการทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ทั้ง 15 ชนิดในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *A. brassicicola* เมื่อทำการ fix สปอร์ไว้นาน 24 ชั่วโมง พบว่าเชื้อราปฏิปักษ์ที่สามารถลดความงอกของสปอร์ของ *A. brassicicola* ได้แก่ *T. harzianum*, *T. viride* และ *C. globosum* โดยมีเปอร์เซ็นต์ความงอกของสปอร์ของเชื้อรา *A. brassicicola* ตามลำดับดังนี้ 49.05, 56.25 และ 67.35% และยังพบว่ามีเชื้อราอีกหลายชนิดที่ให้ผลยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *A. brassicicola* ได้แต่เป็นเปอร์เซ็นต์ไม่มากนัก เช่น Unknown ไอโซเลท 3, *Aspergillus* sp. ไอโซเลท 3, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium* sp. และ *Alternaria* sp. ตามลำดับ ส่วนเชื้อราอื่น ๆ ที่เหลือไม่สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *A. brassicicola* ได้เลย (ตารางที่ 2)

4. **การศึกษาผลของเชื้อราปฏิปักษ์ต่อการควบคุมเชื้อราบนเมล็ด ความงอกของเมล็ด การเกิดโรคและความแข็งแรงของต้นกล้า**

4.1 การเพาะบนกระดาษชื้น

ผลจากการเพาะเมล็ดบนกระดาษชื้น พบว่า เชื้อราปฏิปักษ์ทุกชนิดช่วยเพิ่มความงอกให้แก่เมล็ดกะหล่ำปลีเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่แช่ใน inoculum เพียงอย่างเดียว โดยเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพช่วยเพิ่มความงอกให้แก่เมล็ดกะหล่ำปลีได้ดีที่สุด คือ *T. harzianum* และ *T. viride* รองลงมาได้แก่ *C. globosum* โดยในกรรมวิธีของเมล็ดที่แช่ใน inoculum ผสม *T. harzianum*, *T. viride* และ *C. globosum* มีความงอกของเมล็ด 79.00, 77.67 และ 67.00% ตามลำดับ แต่ทั้ง *T. harzianum* และ *T. viride* ให้เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดไม่แตกต่างจากชุดควบคุมที่แช่ในน้ำกลั่น ส่วนผลของเชื้อราปฏิปักษ์ต่อการติดเชื้อของเมล็ด พบว่า กรรมวิธี

แช่เมล็ดใน inoculum ผสม *T. harzianum* และ *T. viride* มีประสิทธิภาพช่วยลดการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุได้ดี โดยมีเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อของเมล็ด 24.33 และ 28.67% ตามลำดับ ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ สำหรับผลของเชื้อราปฏิปักษ์ต่อเปอร์เซ็นต์ของต้นกล้าปกติ พบว่ากรรมวิธีแช่เมล็ดใน inoculum ผสม *T. harzianum* มีประสิทธิภาพช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์ต้นกล้าปกติได้ดีไม่แตกต่างจากกรรมวิธีการใช้ *T. viride* รองลงมาคือกรรมวิธีการใช้ *C. globosum* โดยมีเปอร์เซ็นต์ต้นกล้าปกติ 66.67, 64.33 และ 55.00% ตามลำดับ สำหรับชุดควบคุมแช่ใน inoculum เพียงอย่างเดียว พบว่าเมล็ดมีความงอกต่ำสุดคือ 22.00% มีเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อของเมล็ดสูงสุดคือ 98.67% และต้นกล้าที่งอกนั้นมีความผิดปกติทั้งหมด (ตารางที่ 3)

Table 2 Effect of antagonistic fungi on spore germination (%) of *Alternaria brassicicola.*

| Antagonistic fungi | Spore germination (%)[1] |
|---|---|
| *Aspergillus* sp. Isolate 1 | 100.00 |
| *Aspergillus* sp. Isolate 2 | 100.00 |
| *Aspergillus* sp. Isolate 3 | 74.86 |
| *Alternaria* sp. | 95.65 |
| *Alternaria tenuis* | 100.00 |
| *Cladosporium cladosporioides* | 100.00 |
| *Chaetomium globosum* | 67.35 |
| *Curvularia lunata* | 100.00 |
| *Fusarium* sp. | 88.15 |
| *Fusarium oxysporum* | 78.43 |
| *Trichoderma harzianum* | 49.05 |
| *Trichoderma viride* | 56.25 |
| Unknown Isolate 1 | 100.00 |
| Unknown Isolate 2 | 100.00 |
| Unknown Isolate 3 | 72.09 |
| Control | 100.00 |

[1]Each value is a mean of 4 replicates.

Table 3 Effect of antagonistic fungi on seed germination, seed infection and normal seedling development of cabbage seed inoculated with *Alternaria brassicicola* in moist petridishes.

| Antagonistic fungi | Germination (%)[1] | Seed infection (%)[1] | Normal seedling(%)[1] |
|---|---|---|---|
| Ab + *Aspergillus* sp. Isolate 3 | 38.00 d[2] | 72.33 b | 27.67 d |
| Ab + *Alternaria* sp. | 42.33 d | 67.67 bc | 32.33 d |
| Ab + *Chaetomium globosum* | 67.00 b | 57.67 d | 55.00 b |
| Ab + *Fusarium* sp. | 53.33 c | 64.33 cd | 42.33 c |
| Ab + *Trichoderma harzianum* | 79.00 a | 24.33 ef | 66.67 a |
| Ab + *Trichoderma viride* | 77.67 a | 28.67 e | 64.33 a |
| Ab + Unknown Isolate 2 | 50.00 c | 65.00 c | 34.33 d |
| Ab + Inoculated control | 22.00 e | 98.67 a | 0.00 e |
| Ab + Uninoculated control | 82.67 a | 21.33 f | 69.00 a |
| $LSD_{(P = 0.05)}$ | 6.98 | 6.68 | 7.68 |
| CV (%) | 5.03 | 5.11 | 7.50 |

[1]Each value is a mean of 3 replicates of 300 seeds.

[2]Means in column followed by the same letter are not significantly different at P = 0.01 according to LSD.

Ab: *Alternaria brassicicola* the same

**4.2 การเพาะบนดินฆ่าเชื้อ**

ผลจากการเพาะเมล็ดบนดินที่ฆ่าเชื้อแล้ว พบว่า กรรมวิธีการแช่เมล็ดใน inoculum ผสมเชื้อราปฏิปักษ์ทุกชนิดยกเว้นกรรมวิธีแช่เมล็ดใน inoculum ผสม *Alternaria* sp.มีประสิทธิภาพช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์ความงอกโผล่พ้นดินให้แก่ต้นกล้ากะหล่ำปลีได้ดี เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่แช่เมล็ดใน inoculum เพียงอย่างเดียว โดยพบว่า *T. harzianum* มีประสิทธิภาพดีที่สุด รองลงมาคือ *T. viride* และ *C. globosum* โดยมีความงอกของเมล็ด 77.33, 68.33 และ 56.67% ตามลำดับ โดยทั้ง *T. harzianum* และ *T. viride* ให้ผลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกรรมวิธีอื่น ๆ และชุดควบคุม ส่วน *C. globosum* ให้เปอร์เซ็นต์ความงอกโผล่พ้นดินไม่แตกต่างจากชุดควบคุมที่แช่เมล็ดในน้ำกลั่น สำหรับผลของเชื้อราปฏิปักษ์ต่อเปอร์เซ็นต์ต้นกล้าปกติ พบว่า *T. harzianum* มีประสิทธิภาพช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์ต้นกล้าปกติได้ดีที่สุด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกรรมวิธีอื่น ๆ โดยกรรมวิธีแช่เมล็ดใน inoculum ผสม *T. harzianum* มีเปอร์เซ็นต์ต้นกล้าปกติ 74.67% รองลงมาคือกรรมวิธีแช่เมล็ดใน inoculum ผสม *T. viride* และ *C. globosum* ให้เปอร์เซ็นต์ต้นกล้าปกติ 66.00 และ 54.67% ตามลำดับ สำหรับการทดสอบผลของเชื้อราปฏิปักษ์ต่อความแข็งแรงของต้นกล้ากะหล่ำปลี พบว่ากรรมวิธีแช่เมล็ดใน inoculum ผสม *T. harzianum* ให้ความยาวลำต้นของต้นกล้าสูงสุด รองลงมาคือ *T. viride* และ *C. globosum* ตามลำดับ แต่ *T. harzianum* และ *T. viride* ให้ผลไม่แตกต่างกัน จากการวัดน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นกล้า พบว่า กรรมวิธีแช่เมล็ดใน inoculum ผสม *T. harzianum* ให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งสูงสุด รองลงมาคือ *T. viride* และ *C. globosum* ตามลำดับ แต่ *T. harzianum* และ *T. viride* ให้ผลไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 4)

Table 4 Effect of antagonistic fungi emergence, normal seedling development and seed vigor of cabbage seed inoculated with *Alternaria brassicicola* in sterilized soil.

| Treatment | Emergence (%)[1] | Normal Seedling (%)[1] | Shoot length (%)[2] | Fresh Weight (%)[3] | Dry weight (%)[3] |
|---|---|---|---|---|---|
| Ab + *Aspergillus* sp. Isolate 3 | 44.67 ef[4] | 38.67 d | 4.63 cd | 5.219 ef | 0.454 fg |
| Ab + *Alternaria* sp. | 32.33 g | 28.67 e | 4.36 d | 4.924 f | 0.428 g |
| Ab + *Chaetomium globosum* | 56.67 cd | 54.67 c | 4.82 bc | 6.240 bc | 0.596 bc |
| Ab + *Fusarium* sp. | 49.33 de | 47.00 c | 4.70 bcd | 6.181 abc | 0.557 cd |
| Ab + *Trichoderma harzianum* | 77.33 a | 74.67 a | 5.50 a | 7.455 a | 0.654 a |
| *Ab + Trichoderma viride* | 68.33 b | 66.00 b | 5.13 ab | 6.595 b | 0.638 ab |
| Ab + Unknown Isolate 2 | 54.33 cd | 51.00 c | 4.74 bcd | 5.646 de | 0.491 ef |
| Ab + Inoculated control | 37.67 fg | 18.67 f | 3.76 e | 4.947 f | 0.431 g |
| Ab + Uninoculated control | 60.00 c | 50.00 c | 4.88 bc | 5.936 cd | 0.519 de |
| $LSD_{(P = 0.05)}$ | 8.24 | 7.70 | 0.44 | 0.59 | 0.05 |
| CV (%) | 6.57 | 6.87 | 13.80 | 4.23 | 4.14 |

[1]Each value is a mean of 3 replicates of 300 seeds.

[2]Each value is a mean of 3 replicates of 30 seedlings.

[3]Each value is a mean of 3 replicates of 60 seedlings.

[4]Means in column followed by the same letter are not significantly different at P = 0.01 according to LSD.

Ab: *Alternaria brassicicola*

## สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการจำแนกชนิดของเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดโดยวิธีเพาะบนอาหารวุ้น พบเชื้อรา *A. brassicicola* และเชื้อราอื่น 15 ไอโซเลท โดยพบเชื้อรา *A. brassicicola* ในพันธุ์ New Jersey มากที่สุดคือ 8.50% เมื่อนำเชื้อราทั้ง 15 ไอโซเลทมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *A. brassicicola* โดยวิธี Dual culture พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* ให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงสุด รองลงมาได้แก่ *T. viride* และ *C. globosum* โดยให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 73.96, 71.05 และ 68.41% ตามลำดับ นอกจากนั้นยังพบลักษณะการยับยั้งระหว่างเชื้อราที่นำมาทดสอบกับเชื้อรา *A. brassicicola* มี 3 ลักษณะคือ เชื้อราปฏิปักษ์จะเจริญชนกับเชื้อราสาเหตุแต่ไม่เจริญทับกัน ลักษณะที่สองคือ เชื้อราปฏิปักษ์เจริญทับเชื้อราสาเหตุ และลักษณะที่สามคือ จะเกิด clear zone ระหว่างเชื้อราปฏิปักษ์และเชื้อราสาเหตุ โดยทั้งสามลักษณะจะส่งผลให้เชื้อราสาเหตุเจริญเติบโตช้าลงหรือถูกยับยั้งการเจริญเติบโต Cook and Baker (1983) กล่าวว่าการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ที่ช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคได้ อาจเกิดจากกลไกสำคัญ 3 ลักษณะ คือ การเป็นปรสิต การสร้างปฏิชีวนะสาร และการแข่งขันด้านความรวดเร็วในการเจริญเติบโต จากการศึกษาผลของเชื้อราปฏิปักษ์ต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของสปอร์ของเชื้อรา *A. brassicicola* พบว่า *T. harzianum*, *T. viride* และ *C. globosum* ให้ผลยับยั้งการงอกสปอร์เชื้อราสาเหตุได้ดีตามลำดับ สำหรับผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ด การเข้าทำลายเมล็ด และการเกิดโรคของต้นกล้ากะหล่ำปลีจากการเพาะบนกระดาษชื้น พบว่าทั้ง *T. harzianum* และ *T. viride* มี

ประสิทธิภาพช่วยเพิ่มความงอกของเมล็ด ลดการติดเชื้อของเมล็ด และเพิ่มเปอร์เซ็นต์ต้นกล้าปกติได้ดี นอกจากนั้นเมื่อตรวจสอบผลจากการเพาะเมล็ดบนดินที่ฆ่าเชื้อแล้ว พบว่า *T. harzianum* และ *T. viride* มีประสิทธิภาพช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์ความงอกโผล่พ้นดิน ต้นกล้าปกติ ความยาวราก น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของต้นกล้ากะหล่ำปลีได้ดีเช่นเดียวกัน ซึ่ง Baker (1988) ได้รายงานไว้ว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. นอกจากทำหน้าที่ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชแล้วยังสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชด้วย แต่ต้องขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่น ๆ อีกหลายประการ เช่น ชนิดของพืช ความเป็นกรดเป็นด่างของดิน ระดับอุณหภูมิ ความชื้นและการระบายอากาศของดิน ความเข้มข้นและปริมาณของเชื้อราปฏิปักษ์ เป็นต้น มีรายงานในการศึกษาการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. เหล่านี้คลุกเมล็ดซึ่งสามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคและส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชหลายชนิด เช่น ถั่ว (cowpea) (Alagarsamy and Sivaprakasem, 1988), ทานตะวัน (sunflower) และถั่วเขียว (mungbean) (Hussain *et al*., 1990) และถั่วเหลือง (soybean) (Farzana *et al*., 1991)

ดังนั้นในงานวิจัยนี้สามารถนำเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ที่แยกได้จากเมล็ดกะหล่ำปลีมาใช้ในการควบคุมโรคใบจุดของต้นกล้ากะหล่ำปลีได้ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและความแข็งแรงของต้นกล้า อาจใช้เป็นแนวทางหนึ่งในป้องกันกำจัดโรคเพื่อลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายลง และนำไปประยุกต์ใช้ในแปลงปลูกได้ต่อไป

## กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้ทำวิจัยขอขอบคุณ มูลนิธิโครงการหลวงที่สนับสนุนงบประมาณการวิจัย และโครงการการใช้เทคโนโลยีที่เหมาะสมในการลดการใช้สารเคมีเกษตรในภาคเหนือตอนบน (ATRACT) ที่มีส่วนสนับสนุนอุปกรณ์การทดลองวิจัยบางส่วน

## เอกสารอ้างอิง

เกษม สร้อยทอง. 2533. ประสิทธิภาพของรา *Chaetomium cochliodes* และ *Chaetomium cuniculorum* ใช้ในการป้องกันโรคไหม้ของข้าว (Rice Blast) ที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae*. แก่นเกษตร 18(2): 89-96.

นลินี จาริกภากร, พาณี หนูนิ่ม, บุญมี วาริรสอาด และมนูญ เอกชัย. 2535. การควบคุมโรคข้าวโดยวิธีคลุกเมล็ดด้วย *Bacillus subtilis*. วารสารวิชาการเกษตร 10: 85-89.

สกุลศักดิ์ โอฬารสกุล. 2540. โรคของพืชประเภทผักและการควบคุม. ภาควิชาเกษตรศาสตร์ คณะเกษตรและอุตสาหกรรมการเกษตร สถาบันราชภัฏลำปาง, ลำปาง, 542 หน้า.

สมพร แสนมณี. 2541. การใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพรบางชนิดในการควบคุมโรคใบจุดออลเทอนาเรียของกะหล่ำปลี. ปัญหาพิเศษหลักสูตรปริญญาตรี ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 49 หน้า.

อรพรรณ วิเศษสังข์ และ จุมพล สาระนาค. 2531. โรคใบจุดของพืชตระกูลกะหล่ำและการป้องกันกำจัด. วารสารโรคพืช 8(3-4): 131-136.

Alagarsamy, G. and K. Sivaprakasam. 1988. Effect of antagonists in combination with carbendazim against *Macrophomina phaseolina* infection in cowpea. J. Biol. Control 2(2): 123-125.

Baker, R. 1988. *Trichoderma* spp. as plant-growth stimulations. Crit. Rev. Biotechnol. 7: 97 - 106.

Baker, K.F. and R.S. Cook. 1974. Biological Control of Plant Pathogens. W.H. Freeman Co., San Francisco. 433 pp.

Chang, I. and T. Kommendahl. 1968. Biological control of seedling blight of corn by coating kernels with antagonistic microorganisms. Phytopathology 58: 1395-1401.

Cook. R.J. and K.F. Baker. 1983. The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens. American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. 539 pp.

Dixon, G.R. 1981. Vegetable Crop Disease. School of Agriculture, Aberdeen. 400 pp.

Farzana, A., A. Ghaffer and F. Ali. 1991. Effect of seed treatment with biological antagonists on rhizosphere mycoflora and root infecting fungi of soybean. Pakistan J. Botany 23(2): 183–188.

Hussain, S., A. Ghaffer and M. Aslam. 1990. Biological control of *Macrophomina phaseolina* charcoal rot of sunflower and mungbean. J. Phytopathology 130: 117-160.

Mannandher, J.B., P. N. Thapliyal, K.L. Cavanaugh and J.B. Sinclair. 1987. Interaction between pathogenic and saprophytic fungi isolated from soybean roots and seeds. Mycopathologia 98: 69-75.

ISTA. 1999. International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Association, Annexes 1976. Seed Science and Technology 4: 3–49.

Yeh, C.C. and J.B. Sinclair. 1980. Effects of *Chaetomium cupreum* on seed germination and antagonism to other seed-borne fungi of soybean. Plant Disease 64: 468–470.