

การพัฒนาชีวภัณฑ์จากเชื้อรา *Myrothecium inundatum* ในการควบคุมจอก Bio-formulation Development from *Myrothecium inundatum* for Controlling Water Lettuce

ราเชนทร์ ขาวสุริจันท์ อนุรักษ์ วิริยะภูมิสิริ และอรวรรณ ปิยะบุญ*

Rachain Khawsurijan, Anurak Viriyapoomsiri and Orawan Piyaboon*

สาขาวิชาชีววิทยาและวิทยาศาสตร์สุขภาพ โรงเรียนมหิดลวิทยานุสรณ์ อำเภอพุทธมณฑล จังหวัดนครปฐม 73170
Department of Biology and Health Science, Mahidol Wittayanusorn School, Phuttamonthon, Nakhon Pathom 73170, Thailand

*Corresponding author, e-mail: orawan.piy@mwit.ac.th

(Received: May 7, 2020; Revised: Oct 7, 2020; Accepted: Oct 12, 2020)

บทคัดย่อ

จอก (*Pistia stratiotes* L.) เป็นวัชพืชที่ก่อให้เกิดปัญหาด้านแหล่งน้ำและการเติบโตอย่างรวดเร็ว ในการกำจัดจอกด้วยชีววิธีมีการใช้เชื้อรา *Myrothecium inundatum* ที่มีความจำเพาะและมีประสิทธิภาพในการก่อโรคใบไหม้ในจอกในธรรมชาติ วัตถุประสงค์งานวิจัยเพื่อพัฒนาชีวภัณฑ์ของเชื้อราในการควบคุมจอก โดยการคัดเลือกเชื้อรา *M. inundatum* ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดเพื่อทำชีวภัณฑ์ของเชื้อรา *M. inundatum* ด้วยการนำเชื้อราแต่ละไอโซเลตมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เพื่อทดสอบการเจริญเติบโตของโคโลนี จำนวนสปอร์ของเชื้อรา และการก่อโรคในจอก พบว่าเชื้อรา *M. inundatum* ไอโซเลตที่ 1 และ 4 มีประสิทธิภาพที่ดีที่สุดในการนำไปทำเป็นชีวภัณฑ์ หลังจากนั้นการทำชีวภัณฑ์ของเชื้อราสูตรแป้งสาลีและสูตรแป้งทัลคัมจากเชื้อรา *M. inundatum* ไอโซเลตที่ 1 และ 4 เพื่อทดสอบการเกิดโรคในจอก พบว่าชีวภัณฑ์จากเชื้อรา *M. inundatum* สูตรแป้งสาลีมีระดับความรุนแรงก่อโรคในจอกมากกว่าชีวภัณฑ์จากเชื้อรา *M. inundatum* สูตรแป้งทัลคัม ดังนั้นการพัฒนาชีวภัณฑ์ของเชื้อรา *M. inundatum* มาควบคุมการแพร่พันธุ์จอกในแหล่งน้ำธรรมชาติเพื่อการถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ชุมชนในการศึกษาเป็นลำดับต่อไป

คำสำคัญ : โคโลนี จำนวนสปอร์ เชื้อรา *Myrothecium inundatum* แป้งทัลคัม

Abstract

Water lettuce (*Pistia stratiotes* L.) is a major problem in water resources and rapid growth. Biological control using *Myrothecium inundatum* is specific pathogen and efficient causing leaf blight in nature. This research aimed to develop bio-formulation development from *M. inundatum* for controlling water lettuce. Screening for effective strains of *M. inundatum* were cultured on PDA for study growth of colony, spore number and pathogenicity test. The result indicated that *M. inundatum* isolate-1 and isolate-4 were selected for bio-formulation development for controlling water lettuce. Next, Preparation of talc-based powder and wheat flour-based powder formulations of *M. inundatum* isolate-1 and isolate-4 were tested pathogenicity in water lettuce. Wheat flour-based powder formulation showed a higher disease severity on water lettuce than talc-based powder formulation. In the next study, fungal formulation development for controlling water lettuce will be tested in natural water source on technology transfer of the community.

Keywords: Colony, Spore number, *Myrothecium inundatum*, Talcum powder

บทนำ

จอก (*Pistia stratiotes* L.) เป็นวัชพืชน้ำที่ขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็วซึ่งหากจอกไปปกคลุมบริเวณผิวน้ำของแหล่งน้ำแล้วนั้น จะทำให้สิ่งมีชีวิตที่อยู่ใต้น้ำตายเพราะขาดออกซิเจนในการดำรงชีวิต แสงแดดส่องไม่ถึงใต้น้ำทำให้พืชที่อยู่ใต้น้ำไม่สามารถสังเคราะห์ด้วยแสงได้ เกิดน้ำเน่าเสีย แหล่งน้ำตื้นเขินอันเนื่องมาจากการทับถมของจอก (Novković *et al.*, 2019, p. 219) มีผลกระทบต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตและมนุษย์ในบริเวณนั้นไม่ว่าจะเป็นการทำประมง การคมนาคมทางเรือ จำนวนนักท่องเที่ยวที่ลดลง ในปัจจุบันมีวิธีการแก้ไขปัญหajokที่เต็มแหล่งน้ำโดยใช้เรือลากจอกเหล่านี้ไปทำลายทิ้งบนบก หรืออาจใช้วิธีจ้างคนมากำจัดจอกเหล่านี้แต่การใช้วิธีเหล่านี้ค่อนข้างที่จะเสียเวลาและเสียงบประมาณ จึงหันมาใช้สารเคมีในการกำจัดวัชพืชน้ำ เช่น Glyphosate, 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) และ Diquat (Mudge & Netherland, 2014, p. 75) แต่ก็ยังมีข้อเสียคือการใช้สารเคมีทำให้แหล่งน้ำบริเวณนั้นมีสารพิษตกค้างทำให้เมื่อกำจัดจอกออกไปแล้วยังต้องเผชิญกับปัญหาแหล่งน้ำเป็นพิษ จึงนิยมใช้แรงงานคนและเรือลากมากกว่า ดังนั้นการใช้จุลินทรีย์เป็นหนึ่งในทางเลือกที่น่าสนใจซึ่งสามารถใช้ประโยชน์เนื่องจากมีความปลอดภัยต่อมนุษย์และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะเชื้อราที่มีความหลากหลายและพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วในอาหารเลี้ยงเชื้อและเชื้อราเป็นจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น เอนไซม์ สารทุติยภูมิ และสารพิษ โดยเฉพาะเชื้อรา *Myrothecium inundatum* เป็นเชื้อราในสกุลของ *Myrothecium* พบได้ทั่วไป เช่น ในดิน และพืชหลายชนิด และเชือรุดังกล่าวมีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ยาปฏิชีวนะ (Antibiotic) และสารพิษจากเชื้อรา (Mycotoxin) เพื่อใช้ในการกำจัดจอก (Hoagland *et al.*, 2012, p. 1514) ยกตัวอย่างเช่น เอนไซม์ Cellulases และ Xylanase (Okunowo *et al.*, 2010, p. 1076) และสารพิษจากเชื้อรา เช่น Roridin และ Verrucarins (Piyaboon *et al.*, 2016, p. 133) ดังนั้นงานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อพัฒนาชีวภัณฑ์จากเชื้อรา *M. inundatum* ในการควบคุมจอกเพื่อเป็นทางเลือกใหม่สำหรับนำมาใช้ประโยชน์ต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม โดยผลการศึกษาสามารถใช้เป็นแนวทางในการลดการใช้สารเคมีและอันตรายที่อาจเกิดจากสารเคมี นอกจากนี้ยังเป็นการพัฒนาและเพิ่มคุณค่าของทรัพยากรธรรมชาติที่มีอยู่ในประเทศอีกด้วย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อเป็นแนวทางในการใช้ชีวภัณฑ์จากเชื้อรามาเป็นสารกำจัดวัชพืชสำหรับจอก

วิธีดำเนินการวิจัย

การเพาะเลี้ยงและตรวจสอบสัณฐานวิทยาเชื้อรา *Myrothecium inundatum*

เชื้อรา *M. indunatum* จำนวน 5 ไอโซเลทที่แยกจากตัวอย่างจอกที่เป็นโรคใบไหม้ในจังหวัดลำพูนจำนวน 1 ไอโซเลท พะเยา จำนวน 2 ไอโซเลท และเชียงใหม่ จำนวน 2 ไอโซเลท ของภาคเหนือในประเทศไทย ถูกเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (Potato Dextrose Agar) อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ 12 ชั่วโมง สลับมืด 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 14 วัน หลังจากนั้นเชื้อรา *M. indunatum* ถูกตรวจสอบลักษณะโคโลนีของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และลักษณะของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ยี่ห้อ Olympus รุ่น CX21

การคัดเลือกเชื้อราเพื่อทำชีวภัณฑ์ของเชื้อรา

การเจริญเติบโตของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อรา

เชื้อรา *M. indunatum* จำนวน 5 ไอโซเลท ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ 12 ชั่วโมง สลับมืด 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 14 วัน ถูกตัดด้วย Cork borer ให้ได้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.9 เซนติเมตร แล้วมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยแต่ละไอโซเลทของเชื้อรา *M. indunatum* ทำซ้ำ 5 ซ้ำ หลังจากนั้นวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแต่ละโคโลนีในวันที่ 14 ของการเจริญเติบโตของเชื้อราแต่ละไอโซเลท หลังจากนั้นบันทึกผลและวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (One-way ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT (Duncan's multiple range test) เพื่อหาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การนับจำนวนสปอร์ของเชื้อรา

นำเชื้อรา *M. indunatum* จำนวน 5 ไอโซเลท ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน มาละลายเป็นสปอร์แขวนลอยของเชื้อราแต่ละไอโซเลทให้มีปริมาตร 20 มิลลิลิตร จากนั้นนำสปอร์



แขวนลอยที่ได้ไปนับจำนวนสปอร์ด้วยไฮโมไซโตมิเตอร์ แล้วบันทึกจำนวนสปอร์และวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (One-way ANOVA) และหาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ด้วยวิธี DMRT

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราในการเกิดโรคในจอก

เตรียมต้นจอกปราศจากโรคขนาดประมาณ 15 ตารางเซนติเมตร และนำมาฆ่าเชื้อที่ผิวพืชด้วยสารละลายไฮโปคลอไรต์ที่มีความเข้มข้น 10% เป็นเวลา 5 นาที และนำต้นจอกผ่านการฆ่าเชื้อมาล้างด้วยน้ำปราศจากเชื้อ หลังจากนั้นพ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *M. inundatum* แต่ละไอโซเลทที่มีความเข้มข้น 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตรที่ต้นจอก โดยการทำการทดลองแบบ CRD (Completely randomized design) โดยแต่ละกรรมวิธีทำซ้ำจำนวน 5 ซ้ำ จากนั้นต้นจอกที่ศึกษานำไปวางไว้ในตู้ควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (Growth chamber) ที่มีความชื้นสัมพัทธ์ 100% นาน 24 ชั่วโมง และนำออกมาไว้ในสภาพโรงเรือน แบ่งต้นจอกเป็น 7 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 5 ต้น โดยแบ่งการทดลองออกเป็นกรรมวิธีควบคุมและกรรมวิธีทดลอง ดังนี้ กรรมวิธีควบคุมเชิงลบ พ่นน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ และกรรมวิธีควบคุมเชิงบวก พ่น 0.5% Glyphosate-isopropylammonium (ไกลโฟเซต 48) เป็นความเข้มข้นที่เกษตรกรใช้ ส่วนกรรมวิธีทดลอง ทั้งหมด 5 กรรมวิธี ได้แก่ กรรมวิธีทดลองที่ 1 พ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อราไอโซเลทที่ 1 กรรมวิธีทดลองที่ 2 พ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อราไอโซเลทที่ 2 กรรมวิธีทดลองที่ 3 พ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา ไอโซเลทที่ 3 กรรมวิธีทดลองที่ 4 พ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อราไอโซเลทที่ 4 และกรรมวิธีทดลองที่ 5 พ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อราไอโซเลทที่ 5 หลังจากนั้นประเมินความรุนแรงของการเกิดโรคในจอกในวันที่ 14 ของการทดลอง โดยแบ่งระดับความรุนแรงออกเป็น 5 ระดับ ได้แก่ ระดับ 0 คือ ใบที่ไม่แสดงอาการเป็นโรค ระดับ 1 คือ ร้อยละของพื้นที่ใบที่เป็นโรค เป็น 1-25 ของพื้นที่ใบทั้งหมด ระดับ 2 คือ ร้อยละของพื้นที่ใบที่เป็นโรค เป็น 26-50 ของพื้นที่ใบทั้งหมด ระดับ 3 คือ ร้อยละของพื้นที่ใบที่เป็นโรค เป็น 51-75 ของพื้นที่ใบทั้งหมด และระดับ 4 คือ ร้อยละของพื้นที่ใบที่เป็นโรคเป็น 76-100 ของพื้นที่ใบทั้งหมด ต่อจากนั้นนำผลการประเมินการเกิดโรคในแต่ละการทดลองไปบันทึกผลและวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (One-way ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ดำเนินการคัดเลือกไอโซเลทของเชื้อรา *M. inundatum* ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดเพื่อใช้ทำชีวภัณฑ์จากความสามารถในการเจริญเติบโตของโคโลนีของเชื้อรา จำนวนสปอร์ของเชื้อรา และประสิทธิภาพของเชื้อราในการเกิดโรคในจอก

การทำชีวภัณฑ์ของเชื้อรา

การทำชีวภัณฑ์ของเชื้อรา ด้วยการนำไอโซเลทของสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *M. inundatum* ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดมาผสมกับสารขึ้นรูป คือ การทำชีวภัณฑ์ของเชื้อราโดยใช้แป้งสาลีด้วยการนำสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *M. inundatum* ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดผสมกับแป้งสาลีและดินขาว จากนั้นนวดแป้งสาลีที่มีสปอร์ของเชื้อราให้มีความหนาของแป้งสาลี 1 มิลลิเมตร แล้วอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง และบดให้เป็นผง ส่วนการทำชีวภัณฑ์ของเชื้อราโดยใช้แป้งทาลัมด้วยการนำสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *M. inundatum* ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดผสมกับแป้งทาลัม และ Carboxy methyl cellulose (CMC) แล้วอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง (Tamreihaoa et al., 2016, p. 261) และบดให้เป็นผง

การทดสอบชีวภัณฑ์ของเชื้อราในการเกิดโรคในจอก

นำผงชีวภัณฑ์ของเชื้อราสูตรแป้งสาลีปริมาณ 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 25 มิลลิลิตร และผงชีวภัณฑ์ของเชื้อราสูตรแป้งทาลัม ปริมาณ 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 25 มิลลิลิตร จะได้สารละลายของชีวภัณฑ์ที่มีความเข้มข้นของเชื้อรา 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร โดยการทำการทดลองแบบ CRD โดยแต่ละกรรมวิธีทำซ้ำจำนวน 5 ซ้ำ แบ่งการทดลองออกเป็นกรรมวิธีควบคุม คือกรรมวิธีควบคุมเชิงลบ พ่นน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ และกรรมวิธีควบคุมเชิงบวก พ่น 0.5% Glyphosate ส่วนกรรมวิธีทดลอง ประกอบด้วยกรรมวิธีทดลองที่ 1 พ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อราไอโซเลทที่ 1 กรรมวิธีทดลองที่ 2 พ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อราไอโซเลทที่ 4 กรรมวิธีทดลองที่ 3 พ่นสารละลายชีวภัณฑ์สูตรแป้งสาลีของเชื้อราไอโซเลทที่ 1 กรรมวิธีทดลองที่ 4 พ่นสารละลายชีวภัณฑ์สูตรแป้งสาลีของเชื้อราไอโซเลทที่ 4 กรรมวิธีทดลองที่ 5 พ่นสารละลายชีวภัณฑ์สูตรแป้งทาลัมของเชื้อราไอโซเลทที่ 1 และกรรมวิธีทดลองที่ 6 พ่นสารละลายชีวภัณฑ์สูตรแป้งทาลัมของเชื้อราไอโซเลทที่ 4 โดยแต่ละกรรมวิธีพ่นสารต่าง ๆ ปริมาตรละ 5 มิลลิลิตรที่ต้นจอกปราศจากโรค จากนั้นนำไปวางไว้ใน Growth chamber ที่มีความชื้นสัมพัทธ์ 100% นาน 24 ชั่วโมง และนำออกมาไว้ในสภาพโรงเรือน แล้วประเมินความรุนแรงของการเกิดโรคในจอกในวันที่ 14 ของการทดลอง โดยแบ่งระดับความรุนแรงออกเป็น 5 ระดับ ได้แก่ ระดับ 0 คือ ใบที่ไม่แสดงอาการเป็นโรค ระดับ 1 คือ ร้อยละ

ของพื้นที่ใบที่เป็นโรค เป็น 1-25 ของพื้นที่ใบทั้งหมด ระดับ 2 คือ ร้อยละของพื้นที่ใบที่เป็นโรค เป็น 26-50 ของพื้นที่ใบทั้งหมด ระดับ 3 คือ ร้อยละของพื้นที่ใบที่เป็นโรค เป็น 51-75 ของพื้นที่ใบทั้งหมด และระดับ 4 คือ ร้อยละของพื้นที่ใบที่เป็นโรค เป็น 76-100 ของพื้นที่ใบทั้งหมด หลังจากนั้นนำผลการประเมินการเกิดโรคในแต่ละการทดลองไปวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (One-way ANOVA) และหาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ด้วยวิธี DMRT

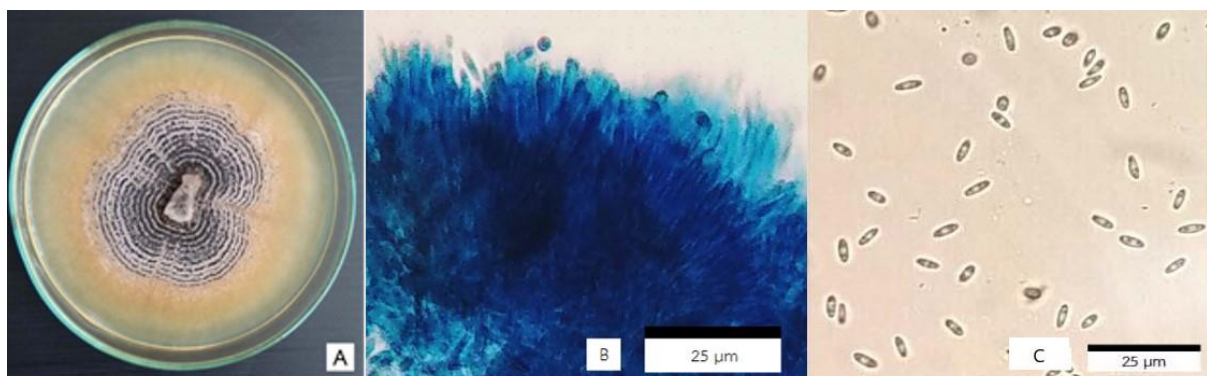
การตรวจสอบความมีชีวิตของเชื้อราด้วยวิธีการ Dilution plate count

นำผงชีวภัณฑ์ของเชื้อราสูตรแป้งสาลีและผงชีวภัณฑ์ของเชื้อราสูตรแป้งท้าวคัมเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน ปริมาณ 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อให้มีปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร เทียบกับสปอร์แขวนลอยของเชื้อราไอโซเลทที่ 1 และ 4 ที่มีความเข้มข้น 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 9 มิลลิลิตร และเจือจางชีวภัณฑ์ของเชื้อราและสปอร์แขวนลอยของเชื้อราด้วยวิธี Serial dilution หลังจากนั้นนับจำนวนโคโลนีที่ปรากฏขึ้นและคำนวณเป็นจำนวนสปอร์ที่มีชีวิตรอด

ผลและอภิปรายผลการวิจัย

การเพาะเลี้ยงและการตรวจสอบสัณฐานวิทยาเชื้อรา *M. inundatum*

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *M. inundatum* พบโคโลนีสีขาวและสปอร์มีสีเขียวเข้ม (A) เมื่อศึกษาสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดใช้แสงพบสปอร์มีเส้นใยมีลักษณะเป็น Phialide (B) และมีรูปร่างทรงกระบอกปลายปิด มีขนาดเฉลี่ย 1.7×5.2 ไมครอน (C) ดังภาพที่ 1 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Chen *et al.* (2016, p. 66) ซึ่งรายงานลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *M. inundatum* มีสัณฐานวิทยาที่สอดคล้องกัน



ภาพที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Myrothecium inundatum*; Concentric zones of Diffused sporodochia on PDA for 14 days (A), Conidiophores ย้อมสีด้วย LCB (Lactophenol cotton blue) (B, 400X) และ Conidia (C, 400X)

การคัดเลือกเชื้อรา *M. inundatum* เพื่อทำชีวภัณฑ์ของเชื้อรา

การศึกษาการเจริญเติบโตของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อรา *M. inundatum* ไอโซเลทที่ 1, 4 และ 5 มีเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังตารางที่ 1 และผลของจำนวนสปอร์ของสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *M. inundatum* ทั้งไอโซเลทที่ 1, 2, 3 และ 4 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังตารางที่ 1 ดังนั้นเชื้อรา *M. inundatum* ทั้ง 5 ไอโซเลทมีความสามารถในการเจริญของโคโลนีและการสร้างสปอร์เหมือนกันหรือแตกต่างกันถึงแม้เชื้อราชนิดเดียวกันแต่ความหลากหลายทางพันธุกรรมทั้งทางปริมาณและคุณภาพ (Longya *et al.*, 2020, p.13) นอกจากนี้เชื้อรา *M. inundatum* ไอโซเลทที่ 1, 2, 3 และ 4 มีประสิทธิภาพในการก่อโรคในจอกไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังตารางที่ 2 เชื้อรา *M. inundatum* สามารถทำให้เกิดโรคใบไหม้ในจอก เนื่องจากเชื้อรา *M. inundatum* สร้างเอนไซม์ Cellulases ไปย่อยสลายผนังเซลล์และสร้าง Mycotoxin มีผลทำให้เกิดความเสียหายของเนื้อเยื่อและทำให้เชื้อราสามารถกลุ่กลามทำให้เกิดโรคใบไหม้ในจอกเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kongjomrak

et al. (2019, pp. 59-61) รายงานว่าเชื้อรา *M. inundatum* ที่เก็บตัวอย่างจากจอกที่เป็นโรคมักมีความสามารถทำให้เกิดโรคในจอกด้วยเอนไซม์ Cellulases and Xylanase และ Mycotoxin

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีและจำนวนสปอร์ของสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *M. inundatum*

ไอโซเลทของเชื้อรา	ค่าเฉลี่ยของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี (เซนติเมตร)	จำนวนสปอร์ของสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา (สปอร์/มิลลิลิตร)
1	6.66±0.44 ^{ab*}	2.76×10 ^{8 a*}
2	6.15±0.20 ^c	2.61×10 ^{8 ab}
3	6.50±0.17 ^b	2.57×10 ^{8 ab}
4	6.92±0.23 ^a	3.08×10 ^{8 a}
5	6.87±0.05 ^a	1.76×10 ^{8 b}

*ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน แล้วตามด้วยตัวอักษรที่ภาษาอังกฤษกำกับต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบกับ DMRT

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงก่อโรคในจอกในวันที่ 14 จากสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา

ไอโซเลทของเชื้อรา	ระดับความรุนแรงก่อโรค
กรรมวิธีควบคุมเชิงลบ	0.00±0.00 ^{d*}
1	3.67±0.58 ^{ab}
2	2.67±1.16 ^b
3	3.00±1.00 ^{ab}
4	3.33±0.58 ^{ab}
5	1.33±0.58 ^c
กรรมวิธีควบคุมเชิงบวก	4.00±0.00 ^a

*ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน แล้วตามด้วยตัวอักษรที่ภาษาอังกฤษกำกับต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบกับ DMRT

จากการคัดเลือกเชื้อรา *M. inundatum* เพื่อทำชีวภัณฑ์ของเชื้อราด้วยความสามารถในการเจริญเติบโตของเชื้อรา การนับจำนวนสปอร์ของเชื้อรา และการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *M. inundatum* ก่อโรคในจอก พบว่าเชื้อรา *M. inundatum* ไอโซเลทที่ 1 และ 4 มีประสิทธิภาพในการก่อโรคในจอกสูงที่สุดเมื่อนำไปทำเป็นชีวภัณฑ์ของเชื้อรา

การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์จากเชื้อรา *M. inundatum* ในการควบคุมจอก

ชีวภัณฑ์จากเชื้อรา *M. inundatum* ในสูตรแบ่งทลคัมของเชื้อรา ไอโซเลท 1 และ 4 มีความสามารถทำให้เกิดโรคในจอก และชีวภัณฑ์ของเชื้อรา *M. inundatum* ไอโซเลทที่ 1 และ 4 ของสูตรแบ่งสาลีและสูตรแบ่งทลคัมมีระดับความรุนแรงของการก่อโรคในจอกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังตารางที่ 4 โดยชีวภัณฑ์ของเชื้อรา *M. inundatum* ที่ใช้สูตรแบ่งสาลีมีระดับความรุนแรงของการก่อโรคไม่แตกต่างกับสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา เพราะ ชีวภัณฑ์ของเชื้อรา *M. inundatum* ของสูตรแบ่งสาลี มีส่วนประกอบด้วยแบ่งเป็นสารประสานให้กับสปอร์ของเชื้อรา และเป็นสารช่วยในการยึดเกาะระหว่างชีวภัณฑ์ของเชื้อรากับผิวใบพืช (Sarwar, 2015, p. 117) ส่วนแบ่งทลคัมเป็นสารพาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการแพร่กระจายและการเกาะยึดผิวพืช (Sarma et al., 2011, p. 457)

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงก่อโรคในจอกในวันที่ 14 จากการใช้ชีวภัณฑ์ของเชื้อรา *M. inundatum* ไอโซเลทที่ 1 และ 4 ของสูตรที่ใช้แป้งสาลีและสูตรแป้งถั่วลิสง

กรรมวิธี	ระดับความรุนแรงก่อโรค
กรรมวิธีควบคุมเชิงลบ	0.00±0.00 ^a
สปอร์แขวนลอยไอโซเลท 1	3.33±0.52 ^{ab}
สปอร์แขวนลอยไอโซเลท 4	3.17±0.75 ^b
สูตรแป้งสาลีไอโซเลท 1	2.67±1.21 ^b
สูตรแป้งสาลีไอโซเลท 4	2.50±1.50 ^b
แป้งถั่วลิสงไอโซเลท 1	1.00±0.00 ^c
แป้งถั่วลิสงไอโซเลท 4	1.17±0.41 ^c
กรรมวิธีควบคุมเชิงบวก	4.00±0.00 ^a

*ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน แล้วตามด้วยตัวอักษรที่ภาษาอังกฤษกำกับต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบตาม DMRT

การตรวจสอบการมีชีวิตรอดของเชื้อรา *M. inundatum* ในชีวภัณฑ์ของเชื้อรา

การมีชีวิตรอดของเชื้อราจากชีวภัณฑ์ของเชื้อราสูตรที่ใช้แป้งสาลีและสูตรที่แป้งถั่วลิสงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และการมีชีวิตรอดของเชื้อราจากชีวภัณฑ์ของเชื้อราสูตรที่ใช้แป้งสาลีและสูตรแป้งถั่วลิสงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังตารางที่ 5 โดยการรอดชีวิตของสปอร์ของเชื้อราไอโซเลท 1 และ 4 แตกต่างจากสปอร์แขวนลอยของเชื้อราไอโซเลท 1 และ 4 เนื่องจากกระบวนการทำชีวภัณฑ์ของเชื้อราสูตรแป้งถั่วลิสงมีการใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเพื่อลดความชื้นในการขึ้นรูปชีวภัณฑ์ที่มีผลต่อการรอดชีวิตของสปอร์เชื้อรา แสดงว่าอุณหภูมิและค่าวอเตอร์แอคทิวิตี (Water activity) เป็นพารามิเตอร์ที่สำคัญที่สุดที่ยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของเชื้อรา (Dagno *et al.*, 2010, p. 525)

ตารางที่ 5 จำนวนสปอร์ของเชื้อรา *M. inundatum* ที่มีชีวิตรอดในชีวภัณฑ์ของเชื้อรา

รูปแบบของชีวภัณฑ์	จำนวนสปอร์ของเชื้อรา (x10 ⁵ CFU/g)
สปอร์แขวนลอยของเชื้อราไอโซเลทที่ 1	378±3.5 ^a
สปอร์แขวนลอยของเชื้อราไอโซเลทที่ 4	203±2.9 ^b
สูตรแป้งสาลีของเชื้อราไอโซเลทที่ 1	5.4±1.2 ^c
สูตรแป้งสาลีของเชื้อราไอโซเลทที่ 4	3.7±1.1 ^c
สูตรแป้งถั่วลิสงของเชื้อราไอโซเลทที่ 1	3.3±1.3 ^c
สูตรแป้งถั่วลิสงของเชื้อราไอโซเลทที่ 4	3.7±0.9 ^c

*ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน แล้วตามด้วยตัวอักษรที่ภาษาอังกฤษกำกับต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบตาม DMRT

สรุปผลการวิจัย

ชีวภัณฑ์จากเชื้อรา *M. inundatum* สูตรแป้งสาลีและสูตรแป้งถั่วลิสงมีประสิทธิภาพในการเกิดโรคใบไหม้ในจอกโดยชีวภัณฑ์จากเชื้อรา *M. inundatum* สูตรที่ใช้แป้งสาลีมีระดับความรุนแรงก่อโรคในจอกสูงกว่าชีวภัณฑ์จากเชื้อรา *M. inundatum* สูตรแป้งถั่วลิสง แต่การใช้สารเคมี Glyphosate ความเข้มข้น 0.5% มีประสิทธิภาพการเกิดโรคใบไหม้จอกสูงกว่าชีวภัณฑ์จากเชื้อรา *M. inundatum* ในการศึกษาในระดับภายใต้สภาพโรงเรือนเท่านั้น หากมีการนำชีวภัณฑ์จากเชื้อรา *M. inundatum* ไปใช้ร่วมกับวิธีกลในการควบคุมการแพร่พันธุ์ของจอกในแหล่งน้ำธรรมชาติ เพื่อลดงบประมาณสำหรับการกำจัดจอกจากแหล่งน้ำและปลอดภัยต่อสารเคมี

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสาขาวิชาชีววิทยาและวิทยาศาสตร์สุขภาพ โรงเรียนมหิดลวิทยานุสรณ์สำหรับทุนวิจัย และเอื้อเฟื้อสถานที่ วัสดุ อุปกรณ์ต่าง ๆ สำหรับทำงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Chen, Y., Ran, S. F., Dai, D. Q., Wang, Y., Hyde, K.D., Wu, Y. M., et al. (2016). Mycosphere essays 2 *Myrothecium*. *Mycosphere*, 7(1), 64-80.
- Connick, W. J., Bovette, C. D. and Mcalpine, J. R. (1991). Formulation of mycoherbicides using a pasta-like process. *Biological Control*, 1(4), 281-287.
- Dagno, K., Lahlali, R., Diourte', M. & Jijakli M. H. (2010). Effect of temperature and water activity on spore germination and mycelial growth of three fungal biocontrol agents against water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *Journal of Applied Microbiology*, 110, 521-528.
- Hoagland, R. E., Boyette, C. D., Vaughn, K. C., Teaster, N. D. & Stetina K. (2012). Effects of *Myrothecium verrucaria* on ultrastructural integrity of kudzu (*Pueraria montana* var. lobata) and phytotoxin implications. *American Journal of Plant Sciences*, 3, 1513-1519.
- Kongjornrak, A., Teeranate, P., Thinthani, T. and Piyaboon, O. (2019). Screening, identification and evaluation of potential biocontrol fungi against water lettuce. *International Journal of Agricultural Technology*, 15(1), 55-62.
- Longya, A., Talumphai, S. & Jantasuriyarat, C. (2020). Morphological Characterization and Genetic Diversity of Rice Blast Fungus, *Pyricularia oryzae*, from Thailand Using ISSR and SRAP Markers. *Journal of Fungi*, 6(38), 1-13.
- Mudge, C. R. & Netherland M. D. (2014). Response of giant bulrush, water hyacinth, and water lettuce to foliar herbicide applications. *Journal of Aquatic Plant Management*, 52, 75-80.
- Novković, M. M., Anđelković, A. A., Cvijanović D. L., Novković, M. Z., Vukov, D. M., Šipoš, S. S., et al. (2019). The beginnings of *Pistia stratiotes* L. invasion in the lower Danube delta: the first record for the Province of Vojvodina (Serbia). *BiolInvasions Records*, 8(2), 218-229.
- Okunowo, W. O., Gbenle, G. O., Osuntoki, A. A., Adekunle, A. A. & Ojokuku, S. A. (2010). Production of cellulolytic and xylanolytic enzymes by a phytopathogenic *Myrothecium roridum* and some avirulent fungal isolates from water hyacinth. *African Journal of Biotechnology*, 9(7), 1074-1078.
- Piyaboon, O., Pawongrat, R., Unartngam, J., Chinawong, S. & Unartngam, A. (2016). Pathogenicity, host range and activities of a secondary metabolite and enzyme from *Myrothecium roridum* on water hyacinth from Thailand. *Weed Biology and Management*, 16(3), 132-144.
- Sarma, M. V. R. K., Kumar, V., Saharan¹, K., Srivastava, R., Sharma, A. K., Prakash, A., et al. (2011). Application of inorganic carrier-based formulations of fluorescent pseudomonads and *Piriformospora indica* on tomato plants and evaluation of their efficacy. *Journal of Applied Microbiology*, 111, 456-466.
- Sarwar, M. (2015). Commonly available commercial insecticide formulations and their applications in the field. *International Journal of Materials Chemistry and Physics*, 1(2), 116-123.
- Tamreihaoa, K., Ningthoujama, D. S, Nimaichanda, S., Singha, E. S., Reenac, P., Singhc, S. H., et al. (2016). Biocontrol and plant growth promoting activities of a *Streptomycescorchorusii* strain UCR3-16 and preparation of powder formulation for application as biofertilizer agents for rice plant. *Microbiological Research*, 192, 260-270.