

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การคัดเลือกเชื้อราบนผิวใบพืชตระกูลผักกาดเพื่อใช้ควบคุมโรคใบจุดของคะน้าที่เกิดจากเชื้อ *Alternaria brassicicola* โดยชีววิธี

ผู้เขียน นายเชิดชาย ปันจยสิทธิ์

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

อาจารย์ ดร.ชวณพิศ บุญจิตศิริกุล	ประธานกรรมการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชัยวัฒน์ โตนันต์	กรรมการ
อาจารย์ ดร. สรัญญา ณ ลำปาง	กรรมการ

บทคัดย่อ

การคัดเลือกเชื้อราผิวใบเพื่อใช้ในการควบคุมโรคใบจุดของคะน้า (*A. brassicicola*) โดยชีววิธีจากการเก็บตัวอย่างใบพืชตระกูลผักกาดที่ไม่เป็นโรค 5 ชนิด ได้แก่ กะหล่ำปลี ผักกาดขาว ผักกาดเขียวปลี บร็อคโคลี่ และคะน้า จาก 4 แหล่ง ได้แก่ 1.โครงการหลวงคอยอินทนนท์ อำเภอจอมทองจังหวัดเชียงใหม่ 2. อำเภอป่าซาง จังหวัดลำพูน 3. แปลงพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 4. แปลงผักเกษตรเขตชลประทาน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ นำใบแช่ในน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วเป็นเวลา 1 นาที แล้วนำน้ำกลั่นที่ใช้ล้าง streak บนอาหาร PDA incubate ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน สามารถแยกเชื้อราโดยวิธีการ Hyphal Tip Isolation ได้ 212 isolate และจากการทำ Dual Culture โดยทดสอบกับเชื้อ *A. brassicicola* สาเหตุของโรคใบจุดของคะน้าบนอาหาร PDA สามารถแบ่งเชื้อราตามลักษณะการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อ ได้ 3 กลุ่ม คือ 1. เจริญคลุมโคโลนีของเชื้อ *A. brassicicola* ทั้งหมด จำนวน 17 isolate 2. เกิด clear zone บนอาหาร จำนวน 13 isolate และ 3. เชื้อราทั้งสองชนิดเจริญมาชนกันจำนวน 180 isolate ได้คัดเลือกเชื้อราในกลุ่มที่ 1 และ 2 มาทำการศึกษา โดยเชื้อราในกลุ่มที่ 1 พบว่า *Fusarium* sp. (isolate 011) และ unknown (isolate 049) มีอัตราการเจริญดีที่สุดภายใน 3 วันแรก ขณะที่เชื้อรา *Penicillium* sp. (isolate 075) และ *Curvularia* sp. (isolate 101) สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ *A. brassicicola* ได้ดีที่สุด

โดยมีความงอกของสปอร์ 17.50 และ 18.05 เปอร์เซ็นต์ ลดลงจากชุดควบคุมถึง 76.71 และ 75.98 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และพบว่าเชื้อรา *Fusarium* sp. (isolate 170) และ *Penicillium* sp. (isolate 173) สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของ *A. brassicicola* ได้ดีที่สุดโดยมีจำนวนสปอร์  $5.40 \times 10^4$  และ  $1.02 \times 10^5$  spore/ml ซึ่งลดลงจากชุดควบคุมที่นับจำนวนสปอร์ได้คือ  $3.17 \times 10^6$  spore/ml ถึง 98.30 และ 96.85 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

จากผลดังกล่าวข้างต้นจึงได้คัดเลือกเชื้อราปฏิปักษ์จำนวน 6 isolate ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *A. brassicicola* ได้ดีที่สุดมาทดสอบในสภาพเรือนทดลอง โดยการฉีดพ่น spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ก่อนและหลังการฉีดพ่นเชื้อ *A. brassicicola* บนผิวใบคะน้าที่ 3, 5 และ 10 วันจากนั้นทำการบันทึกผลที่เวลา 7, 10 และ 14 วันหลังจากฉีดพ่นเชื้อสาเหตุ โดยบันทึกจำนวนใบและพื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย

พบว่าเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดก่อนการฉีดพ่นเชื้อสาเหตุ คือ unknown (isolate 049) พบจำนวนใบและพื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย คือ 10.00 และ 7.50 เปอร์เซ็นต์ ลดลงจากชุดควบคุม 89.01 และ 91.34 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งเชื้อรา unknown (isolate 049) นี้มีประสิทธิภาพดีที่สุดหลังจากพ่นเชื้อไปแล้วเป็นเวลา 3 วันและมีประสิทธิภาพนานถึง 7 วันหลังจากฉีดพ่นเชื้อสาเหตุ

จากนั้นฉีดพ่นเชื้อราปฏิปักษ์หลังจากฉีดพ่นเชื้อสาเหตุ พบเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อ *A. brassicicola* ได้ดีที่สุด คือ *Fusarium* sp. (isolate 170) และ *Curvularia* sp. (isolate 101) พบจำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายคือ 4.00 และ 6.66 เปอร์เซ็นต์ ลดลงจากชุดควบคุม 95.60 และ 92.68 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และพื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย คือ 9.13 และ 6.98 เปอร์เซ็นต์ ลดลงจากชุดควบคุม 89.46 และ 91.94 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งเชื้อราทั้ง 2 isolate นี้มีประสิทธิภาพดีที่สุด 10 วันหลังจากฉีดพ่นและมีประสิทธิภาพนานถึง 7 วัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับเชื้อ *Fusarium* sp. (isolate 170)

ผลจากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าเชื้อราผิวใบมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบจุดคะน้าที่เกิดจากเชื้อ *A. brassicicola* ซึ่งสามารถป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุได้ โดยเฉพาะเชื้อรา unknown (isolate 049) ในกลุ่มที่ 1 ซึ่งให้ผลดีในการนำไปใช้ทั้งฉีดพ่นก่อนและหลังการฉีดพ่นด้วย *A. brassicicola* อย่างไรก็ตามยังจำเป็นต้องมีการศึกษาถึงการนำไปใช้ การพัฒนา ปรับปรุง เชื้อดังกล่าวต่อไป

Thesis Title      Selection of Epiphyte Fungi from Crucifer Family for Biological Control of Chinese Kale Leaf Spot Caused by *Alternaria brassicicola*.

Author             Mr. Chirtchai Punjaisee

Degree             Master of Science (Plant Pathology)

Thesis Advisory Committee

Lect. Dr.	Chuanpit	Boonchitsirikul	Chairperson
Asst. Prof. Dr.	Chaiwat	To-anun	Member
Lect. Dr.	Saranya	Nalumpang	Member

### Abstract

Epiphyte fungi for the biological control of Chinese Kale leaf spots (*Alternaria brassicicola*) were sampled from healthy leaves of plant in Crucifer family; cabbage, white greens, Chinese mustard, broccoli and Chinese Kale. They were collected from 4 sites: 1. Doi Inthanon, Amphur Chomthong, Chiang Mai. 2. Amphur Phasang Lamphun 3. Horticulture plot, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University 4. Multiple Cropping Center, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. In order to isolate the fungi from the leaf surface, they were washed in sterile distilled water for 1 minute, the residual colloid being streak on a PDA medium. The culture media was incubated at room temperature for 7 days. Two hundred and twelve isolates were detected by Hyphal Tip Isolation technique. These could be divided into 3 groups after anti-effect testing with *A. brassicicola* by Dual Culture Technique on PDA media. The first group was 18 isolates, which were grown over the *A. brassicicola* colonies. The second group was 13 isolates that showed a clear zone, and the third group was 180 isolates that could grow adjacent to *A. brassicicola*. Group 1 and 2 were selected for study, the *Fusarium* sp. (isolates 011) and unknown (isolate 049) showing the highest growth rate within 3 days, while the *Penicillium* sp. (isolates 075) and *Curvularia* sp. (isolate 101) showed the most inhibited effect on spore germination, with a germination rates of 17.5 and 18.05 percent, respectively. The reductions in

spore germination rates were 76.71 and 75.98 percent, respectively, when compared with control. However the highest effect of spore production were *Fusarium* sp. (isolate 170) and *Penicillium* sp. (isolate 173) where the number of spore count was,  $5.40 \times 10^4$  and  $1.02 \times 10^5$  spore/ml, respectively, when compared with control  $3.17 \times 10^6$  spore/ml. The reduction in spore production had been decreased from 98.30 and 96.85 percent, respectively.

Six antagonist isolates which showed the best potential for inhibited growth of *A. brassicicola* were collected for green house test, by leaf-spraying with the antagonist before and after spraying with *A. brassicicola* spore suspension at 3, 5 and 10 days. The results were recorded at day 7, 10 and 14 after pathogen spraying by the number leaf infection and the leaf area damage.

The most effective antagonist used before a pathogen was sprayed is unknown (isolate 049), the number of leaf infection and the leaf area damage were 10.00 and 7.50 percent. This is a lesser percentage of infection when compared with control of 89.01 and 91.34, respectively. It was the best effect after 3 days of antagonist spraying and of prolonged effect for 7 days after pathogen inoculation.

When antagonist was sprayed after pathogen spraying, there were two isolates, which showed the most effective against pathogen infection. The first was *Fusarium* sp. (isolate 170), and the second was *Curvularia* sp. (isolate 101), the number of leaf infection were 4.00 and 6.66 percent. This is a decreased infection when compared with control of 95.60 and 92.68 percent, respectively, the leaf area damage were 9.13 and 6.98 percent. This is decreased infection when compared with control 89.46 and 91.94 percent, respectively. It was effective at 10 days post spraying and of prolonged effect for 7 days. It was non-significant to *Fusarium* sp. (isolate 170).

The result of this study indicates that epiphytic fungi have the potential of biological control against Chinese Kale leaf spots caused by *A. brassicicola*. It can be used as a protectant and against pathogen infection. Special unknown (isolate 049) whose group gave one good result when applied, both before and after spraying with *A. brassicicola* spore suspension. However, more research about antagonist activity, formulation, application and improvement of them are needed.