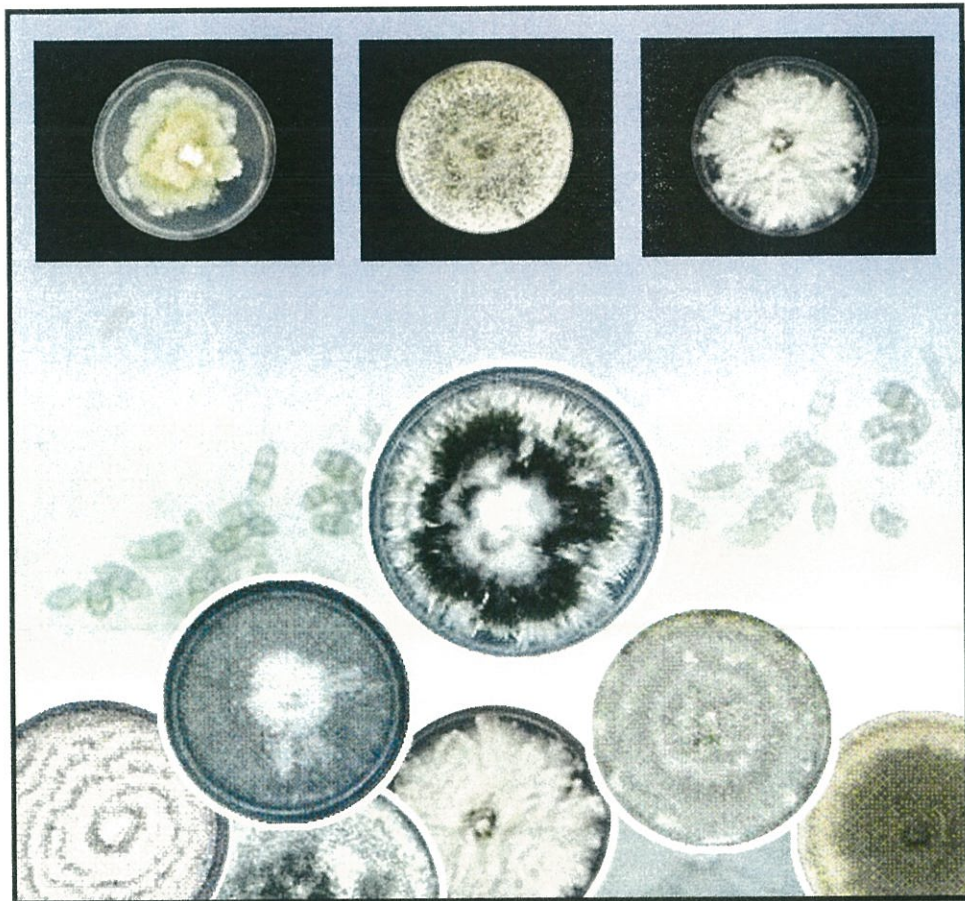




โครงการวิจัยที่ ภ. 52-08 / ย. 2 / รายงานฉบับที่ 1 (ฉบับสมบูรณ์)

# การวิจัยและพัฒนา Bio-fumigant เพื่อควบคุมโรคและแมลง ในผลไม้สดหลังการเก็บเกี่ยว



สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย  
กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

โครงการวิจัยที่ ภ. 52-08/ย.2

การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวและระบบการจัดการคุณภาพผัก  
และผลไม้สด

โครงการย่อยที่ 2

การวิจัยและพัฒนา Bio-fumigant เพื่อควบคุมโรคและแมลง  
ในผลไม้สดหลังการเก็บเกี่ยว

รายงานฉบับที่ 1 (ฉบับสมบูรณ์)

การวิจัยและพัฒนา Bio-fumigant เพื่อควบคุมโรคและแมลง  
ในผลไม้สดหลังการเก็บเกี่ยว

โดย

คณิงนิจ บุษราคัม	อนวัช สุวรรณกุล
สดศรี เนียมเปรม	ลาวัลย์ ชตานนท์
สุพัตรา เปี่ยมวารี	ปพิชญา กองจินดา

บรรณาธิการ  
ลิขิต หาญจางสิทธิ์  
บุญเรียม น้อยชุมแพ  
ศิริสุข ศรีสุข

ว., ปทุมธานี 2556  
สงวนลิขสิทธิ์

รายงานฉบับนี้ได้รับการอนุมัติให้พิมพ์โดย  
ผู้ว่าการสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย



(นายจวุฒิ เสาวพฤกษ์)  
ผู้ว่าการ

## คำนำ

ผลิตผลทางการเกษตรที่เก็บเกี่ยวมาแล้วจำเป็นต้องผ่านกระบวนการล้างและฆ่าเชื้อที่ผิวและเก็บที่อุณหภูมิเย็นให้เร็วที่สุด และควบคุมสภาพการเก็บรักษาเพื่อลดโอกาสการเกิดโรคเน่าหลังการเก็บเกี่ยว อย่างไรก็ตาม ปัญหาดังกล่าวก็ยังคงมีอยู่โดยเฉพาะเมื่อมีการเก็บรักษาเป็นเวลานาน จึงมีความจำเป็นในการใช้สารเคมีกำจัดโรคดังกล่าว แต่เนื่องจากปัจจุบันมีการตระหนักถึงความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและสารตกค้างในธรรมชาติมากขึ้นทำให้การใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชนั้นมีข้อจำกัดมากขึ้น รวมทั้งประสิทธิภาพของสารกำจัดศัตรูพืชด้อยลงอันเนื่องมาจากการเกิดความต้านทานของศัตรูพืชต่อสารเคมี ดังนั้น จึงมีแนวคิดในการใช้ชีววิธีในการควบคุมโรคพืช (biological control) มาใช้เพื่อทดแทนการใช้สารเคมี.

การควบคุมโดยชีววิธีเป็นการใช้จุลินทรีย์ที่ไม่ก่อโรคมารักษาและยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคเน่ามีลักษณะการควบคุมอยู่ 3 ชนิด คือ มีการสร้างสารพิษไปยับยั้งหรือกำจัดจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ มีการแย่งพื้นที่และสารอาหารในการเจริญเติบโตและการเป็นปรสิต โดยลักษณะการควบคุม 2 ชนิดหลังนี้ มีการนำไปกันอย่างแพร่หลายในเชิงการค้า การสร้างสารพิษไปยับยั้งหรือกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคนั้นเป็นวิธีการควบคุมที่มีประสิทธิภาพดี เพียงแต่ยังมีข้อจำกัดอยู่บ้างเนื่องจากเกรงว่าจะมีผลกระทบต่อผู้บริโภค ถ้าสารพิษนั้นสัมผัสกับผลิตผลโดยตรง.

การสร้างสารพิษของจุลินทรีย์นั้นแบ่งออกเป็น 2 ชนิด ตามคุณสมบัติของสาร คือ ชนิดที่ระเหย (volatile) และไม่ระเหย (non-volatile) จึงมีความพยายามในการใช้จุลินทรีย์กลุ่มที่สร้างสารที่ระเหยได้ มาใช้เพื่อที่สารนั้นจะได้ไม่มาสัมผัสกับผลิตผลโดยตรง โดยจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้เป็นราเอนโดไฟต์ (endophytic fungi) ที่จำแนกได้จากพืชเขตร้อน ดังนั้น การศึกษาและการจำแนกเอนโดไฟต์ เพื่อใช้ประโยชน์ในงานดังกล่าวจึงเป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่งเพราะนอกจากจะเป็นการลดการใช้และการนำเข้าสารเคมี และการกีดกันทางการค้าแล้ว ยังเป็นการนำจุลินทรีย์ที่มีอยู่แล้วในธรรมชาติมาใช้ให้เกิดประโยชน์และเกิดมูลค่าเพิ่มขึ้นต่อไป.

## วัตถุประสงค์โครงการ

1. เพื่อแยกและจัดจำแนกเชื้อราชนิดเอนโดไฟต์ที่มีประสิทธิภาพในการนำมาใช้ป้องกันและกำจัดโรคเน่าหลังการเก็บเกี่ยวแมลงที่เป็นศัตรูพืชควบคุม (quarantine insects) จากแหล่งธรรมชาติ
2. เพื่อเก็บรวบรวมสายพันธุ์ราชนิดเอนโดไฟต์ ที่จำแนกได้ไว้ใน culture collection unit ของศูนย์จุลินทรีย์ (MIRCEN), วว. เพื่อการใช้ประโยชน์ต่อไป
3. เพื่อตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีของสารระเหยจากราเอนโดไฟต์ที่มีคุณสมบัติเป็น Bio-fumigant เพื่อพัฒนาไปใช้ป้องกันและกำจัดโรคเน่าในผลไม้สดหลังการเก็บเกี่ยว

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการการวิจัยและพัฒนา Bio-fumigant เพื่อควบคุมโรคและแมลงในผลไม้สดหลังการเก็บเกี่ยวสำเร็จลุล่วงได้ ต้องขอขอบคุณสภาวิจัยแห่งชาติ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยที่สนับสนุนงบประมาณในการจัดทำโครงการวิจัยนี้ ขอขอบคุณสวนสมุนไพรเฉลิมพระเกียรติสถานีวิจัยลำตะคอง จ. นครราชสีมา, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, สวนสมุนไพรสถาบันวิจัยยาง จ. กระบี่, สวนพฤกษศาสตร์สากลภาคใต้ (ทุ่งค่าย) จ. ตรัง และศูนย์ส่งเสริมและพัฒนาอาชีพการเกษตร จังหวัดกระบี่ (พืชสวน) จ. กระบี่ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเก็บตัวอย่างพืชสมุนไพรเพื่อนำมาใช้ในการทดลองและสุดท้ายขอขอบคุณ ดร. รุจิรา ดีวัฒนวงศ์ ที่ให้คำแนะนำในการเขียนรายงานฉบับนี้.

## สารบัญ

	หน้า
บทกล่าวนำ	ก
วัตถุประสงค์ของโครงการ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญตาราง	จ
สารบัญรูป	ฉ
ABSTRACT	1
บทคัดย่อ	2
1. บทนำ	3
2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ	6
3. ผลการทดลองและวิจารณ์	16
4. สรุปผลการทดลอง	37
5. ข้อเสนอแนะ	38
6. เอกสารอ้างอิง	39
7. ภาคผนวก	41
ภาคผนวก ก ลักษณะราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากการทดลอง	42
ภาคผนวก ข ตัวอย่างการคัดเลือกราเอนโดไฟต์ที่มีคุณสมบัติเป็น Bio-fumigant	54
ภาคผนวก ค แสดงโครมาโทแกรมองค์ประกอบทางเคมีของสารระเหยจากราเอนโดไฟต์ที่มีคุณสมบัติเป็น Bio-fumigant	70

## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1. ชื่อสามัญและชื่อวิทยาศาสตร์ของสมุนไพรที่เก็บจากสวนสมุนไพรเฉลิมพระเกียรติ สถานีวิจัยลำตะคอง จ. นครราชสีมา	6
ตารางที่ 2. ชื่อสามัญและชื่อวิทยาศาสตร์ของสมุนไพรที่เก็บจากสวนสมุนไพรสถาบันวิจัยยางหรือศูนย์วิจัยยาง จ. กระบี่	8
ตารางที่ 3. ชื่อสามัญและชื่อวิทยาศาสตร์ของสมุนไพรที่เก็บจากสถานีวิจัยพืชสวน จ. กระบี่	8
ตารางที่ 4. ชื่อสามัญและชื่อวิทยาศาสตร์ของสมุนไพรที่เก็บจากสวนพฤกษศาสตร์สากลภาคใต้ (ทุ่งค่าย) จ. ตรัง	9
ตารางที่ 5. การคัดเลือกกราเอนโดไฟต์ที่สร้างสารระเหยไปยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช	24
ตารางที่ 6. การคัดเลือกกราเอนโดไฟต์ที่สร้างสารระเหยไปยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช	25
ตารางที่ 7. องค์ประกอบทางเคมีของสารระเหยจากราเอนโดไฟต์ LK-6-3 อายุ 18 วัน	27
ตารางที่ 8. องค์ประกอบทางเคมีของสารระเหยจากราเอนโดไฟต์ LK-7-6 อายุ 28 วัน	28
ตารางที่ 9. องค์ประกอบทางเคมีของสารระเหยจากราเอนโดไฟต์ KB-H3-4 อายุ 18 วัน	28
ตารางที่ 10. องค์ประกอบทางเคมีของสารระเหยจากราเอนโดไฟต์ KB-H5-6 อายุ 6 วัน	29
ตารางที่ 11. องค์ประกอบทางเคมีของสารระเหยจากราเอนโดไฟต์ TR-B3-8 อายุ 3 วัน	30
ตารางที่ 12. องค์ประกอบทางเคมีของสารระเหยจากราเอนโดไฟต์ LK-51A-3 อายุ 18 วัน	31
ตารางที่ 13. องค์ประกอบทางเคมีของสารระเหยจากราเอนโดไฟต์ LK-R10-2 อายุ 12 วัน	32
ตารางที่ 14. องค์ประกอบทางเคมีของสารระเหยจากราเอนโดไฟต์ KB-H10-8 อายุ 18 วัน	33
ตารางที่ 15. องค์ประกอบทางเคมีของสารระเหยจากราเอนโดไฟต์ LK-51B-1 อายุ 6 วัน	34
ตารางที่ 16. องค์ประกอบทางเคมีของสารระเหยจากราเอนโดไฟต์ LK-51A-4 อายุ 28 วัน	35
ตารางที่ 17. องค์ประกอบทางเคมีของสารระเหยจากราเอนโดไฟต์ KB-H3-6 อายุ 18 วัน	36



## สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1. การทดสอบความสามารถของราเอนโดไฟต์ที่ต้องการคัดเลือกอายุ 7 วัน กับราสาเหตุโรคพืช	11
รูปที่ 2. การทดสอบความสามารถของราเอนโดไฟต์ที่ต้องการคัดเลือกอายุ 7 วัน กับราสาเหตุโรคพืช	12
รูปที่ 3. ส่วนประกอบหลักของเครื่อง GC	13
รูปที่ 4. ส่วนประกอบหลักของเครื่อง MS	14
รูปที่ 5. ราเอนโดไฟต์ที่เจริญออกมาจากตัวอย่างพืชที่วางลงบนอาหาร PDA อายุ 2 วัน	17
รูปที่ 6. ตัวอย่างราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากสวนสมุนไพรเกษียรดี สถานีวิจัยลำตะคอง จ. นครราชสีมา เจริญบนอาหาร PDA อายุ 14 วัน	18
รูปที่ 7. ตัวอย่างราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากสถาบันวิจัยยางหรือศูนย์วิจัยยาง จ. กระบี่ เจริญบนอาหาร PDA อายุ 14 วัน	19
รูปที่ 8. ตัวอย่างราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากสถาบันวิจัยยางหรือศูนย์วิจัยยาง จ. กระบี่ เจริญบนอาหาร PDA อายุ 14 วัน	20
รูปที่ 9. ตัวอย่างราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากสวนพฤกษศาสตร์สากลภาคใต้ (ทุ่งค่าย) จ. ตรัง เจริญบนอาหาร PDA อายุ 14 วัน	21
รูปที่ 10. เชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ใช้ในการทดลอง	22

# RESEARCH AND DEVELOPMENT OF BIO-FUMIGANT TO CONTROL POSTHARVEST DISEASES AND INSECTS OF TROPICAL FRUITS

Kanungnid Busarakam, Anawat Suwanagul, Sodsri Neamprem, Lawan  
Chatanon, Supatra Pemvaree and Papitchaya Kongchinda

## ABSTRACT

The objective of this study was to use volatile mstter-producing fungi to control postharvest diseases of horticultural produce in order to avoid direct contact between produce and fungi. In this study, 46, 65, 152, and 24 endophytic fungal strains were isolated from plant samples of 51, 9, 10, and 3 species collected from Lamtakhong Research Station (Nakhon Ratchasima), Rubber Research Center (Krabi), Horticultural Research Center (Krabi) and Peninsular Botanical Garden (Trang), respectively. All isolates were screened for their production of volatile organic compounds (VOCs). Antifungal activities were then tested against 5 pathogenic fungi: *Alternaria alternata*, *Curvularia clavata*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Penicillium digitatum* and *Phomopsis* sp. The results showed that 11 isolates produced antifungal volatiles that inhibited growth of fungus on PDA medium in 3-section Petri dishes. The inhibition percentages of the pathogen growth by isolates LK6-3, LK7-6, KB-H3-4, KB-H5-6, TR-B3-8, LK-51A-3, KB-R10-2, KB-H10-8, LK-51B-1, LK51A-4 and KB-H3-6 were 22, 19.6, 19.2, 17.5, 16.2, 15.9, 14.8, 10.3, 9.7, 6.3 and 5, respectively. Chemical composition of selected antifungal volatiles was analyzed by GC-MS and confirmed by comparison of mass spectra data with the NIST database. The mixture of VOCs consisted primarily of acids, esters, alcohols, ketones and lipids.

# การวิจัยและพัฒนา Bio-fumigant เพื่อควบคุมโรคและแมลง ในผลไม้สดหลังการเก็บเกี่ยว

คณิงนิจ บุขราคำ<sup>1</sup>, อนวัช สุวรรณกุล<sup>1</sup>, สดศรี เนียมเปรม<sup>1</sup>,  
ลาวัลย์ ชदानนท์<sup>2</sup>, สุพัตรา เปี่ยมวาริ<sup>1</sup> และปพิชญา กองจินดา<sup>1</sup>

## บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ เพื่อที่จะใช้จุลินทรีย์ในกลุ่มนี้เป็นราเอนโดไฟต์ (endophytic fungi) ที่แยกได้จากพืชโดยวิธีฆ่าเชื้อที่ผิวหน้า. การทดลองครั้งนี้แยกราเอนโดไฟต์จากพืชในแหล่งต่างๆ ได้แก่ สถานีวิจัยลำตะคอง จ. นครราชสีมา ได้ราเอนโดไฟต์ 46 ไอโซเลตจากพืช 51 ชนิด, ศูนย์วิจัยยาง จ. กระบี่ ได้ราเอนโดไฟต์ 65 ไอโซเลตจากพืช 9 ชนิด, สถานีวิจัยพืชสวน จ. กระบี่ ได้ราเอนโดไฟต์ 152 ไอโซเลตจากพืช 10 ชนิด และสวนพฤกษศาสตร์สากลภาคใต้ จ. ตรัง ได้ราเอนโดไฟต์ 24 ไอโซเลตจากพืช 3 ชนิด. จากนั้น คัดเลือกราเอนโดไฟต์ที่สร้างกลิ่นเพื่อไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 5 ชนิด คือ *Alternaria alternata*, *Curvularia clavata*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Penicillium digitatum* และ *Phomopsis* sp. พบว่า มีเชื้อราเอนโดไฟต์ 11 ไอโซเลต ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ได้แก่ LK6-3, LK7-6, KB-H3-4, KB-H5-6, TR-B3-8, LK-51A-3, KB-R10-2, KB-H10-8, LK-51B-1, LK51A-4 และ KB-H3-6 โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเฉลี่ย 22, 19.6, 19.2, 17.5, 16.2, 15.9, 14.8, 10.3, 9.7, 6.3 และ 5 ตามลำดับ.

นำราเอนโดไฟต์ที่ได้มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารระเหยที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชโดยใช้แก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโทรเมทรี (GC/MS) โดยเทียบกับฐานข้อมูลของ NIST, พบว่า ราเอนโดไฟต์จะสร้างสารประกอบทางเคมีที่ระเหยได้ เช่น แอลกอฮอล์, กรด, เอสเทอร์, คีโตน และไขมัน.

<sup>1</sup> ฝ่ายเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

<sup>2</sup> ฝ่ายชีววิทยาศาสตร์, วว.

## 1. บทนำ

การใช้สารเคมีสังเคราะห์จำนวนมากอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน ประกอบกับการใช้สารเคมีอย่างขาดความรู้ความเข้าใจในการใช้สารเคมีอย่างถูกต้องของเกษตรกร เป็นสาเหตุให้โรคพืชรวมทั้งแมลงเกิดการดื้อยา. ปริมาณสารเคมีที่ใช้จึงเพิ่มมากขึ้น, ทำให้เกิดปัญหาการตกค้างของสารเคมีในผลิตผลทางการเกษตร ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญของการทำการค้าระหว่างประเทศ (Supreeya *et al.* 2003).

การควบคุมโดยชีววิธี เป็นการใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคและเป็นที่ยอมรับกันอย่างแพร่หลายมากขึ้น, โดยกลไกการควบคุม คือ การสร้างสารพิษ, การแย่งพื้นที่อาศัย และการเป็นปรสิต.

ราเอนโดไฟต์ (endophytic fungi) เป็นกลุ่มราที่อาศัยอยู่ภายในช่องว่างของพืชที่มีชีวิตในทุกลส่วนของพืช เช่น ลำต้น, ก้าน, ใบ, ราก และใบ. ความสัมพันธ์ของราเอนโดไฟต์และพืชเป็นแบบพึ่งพาอาศัยกัน. นอกจากนี้ ราเอนโดไฟต์ยังเป็นกลุ่มราที่มีความแตกต่างกันทั้งชนิดและนิเวศวิทยา (Strobel and Long 1998).

Carroll (1990) ได้ทำการศึกษาและรวบรวมข้อมูลที่เป็นประโยชน์ของพืชที่ได้รับจากราเอนโดไฟต์ไว้ ดังนี้ :

1. สร้างสารที่เป็นพิษในพืชเพื่อป้องกันการเข้าทำลายของแมลง.
2. ช่วยให้พืชสังเคราะห์แสงได้มาก, โดยหญ้าที่มีราเอนโดไฟต์จะยังคงมีการสังเคราะห์แสงได้มากที่สุดถึงฤดูร้อน เมื่อเปรียบเทียบกับหญ้าที่ไม่มีราเอนโดไฟต์.
3. ลดการเกิดเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคเน่าหลังการเก็บเกี่ยว.
4. ป้องกันการก่อโรคในพืช เช่น ราเอนโดไฟต์ที่พบในใบยาสูบไม่สามารถทำให้เกิดอาการโรคจุดสีน้ำตาล และยังพบอีกว่า ในต้นกล้าของยาสูบที่เพาะในเรือนเพาะชำจะไม่พบราเอนโดไฟต์, แต่เมื่อนำไปปลูกในไร่จะพบราเอนโดไฟต์ในใบยาสูบ.
5. ช่วยยับยั้งการเข้าทำลายของไส้เดือนฝอยและทำให้พืชสามารถเจริญในระยะที่นานกว่าและไม่ต้องใช้ปุ๋ยมาก.
6. การสร้างฮอร์โมนเร่งการเจริญเติบโต เช่น indo-3-acetic acid (IAA) และ cytokinin ซึ่งเร่งกระบวนการออกดอกของพืชอาศัย.

7. การสร้างสารปฏิชีวนะ เชื้อราเอนโดไฟต์หลายชนิดสร้างสารปฏิชีวนะในขณะเพาะเลี้ยง ซึ่งมีผลต้านแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุให้เกิดโรคในคนและพืช.

ราเอนโดไฟต์ที่พบในพืชนั้นมีประโยชน์ในการควบคุมการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชได้. Feath and Hammon (1997) ได้ทดลองแยกราเอนโดไฟต์จากต้นโอ๊กและพบว่า ในต้นที่มีราเอนโดไฟต์จะมีความเสียหายจากตัวหนอนของ *Carmeneria* (Lepidoptera : Grscillariidae) น้อยกว่าต้นที่ไม่มีราเอนโดไฟต์ ซึ่งงานวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Preszler *et al.* (1996) ที่ได้ศึกษาด้านไม้ที่มีราเอนโดไฟต์นั้นจะไม่ถูกแมลงทำลาย หรือถูกทำลายน้อยมาก.

มีรายงานวิจัยพบว่า ราเอนโดไฟต์หลายชนิดสามารถสร้างสารที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ โดยด้านการเจริญของเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย เช่น ราเอนโดไฟต์ *Cryptosporiopsis cf. quercina* ที่แยกจากต้น *Tripterigium wilfordii* ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรที่พบในประเทศแถบทวีปยุโรป. สารที่พบในราเอนโดไฟต์ชนิดนี้ คือ สารประเภท cyclopeptide ชื่อว่า Criptocandin (Strobel *et al.* 1999).

Li *et al.* (2001) ยังพบว่า ราเอนโดไฟต์ *Pestalotiopsis jesteri* สามารถสร้างสาร jesterone ที่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อราได้.

ในอดีตที่ผ่านมาสารระเหยที่นำไปใช้รมดินเพื่อกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ หรือนำไปใช้รมผลิตผลทางการเกษตรเพื่อป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูพืชควบคุม ได้แก่ methyl bromide. แต่เนื่องจากสารดังกล่าวมีผลต่อชั้นโอโซนในบรรยากาศ, ทำให้เกิดปัญหากับสิ่งแวดล้อมโดยรวมของโลก, ทำให้มีการยกเลิกใช้สารนี้, จึงมีความพยายามในการหาสารทดแทนชนิดใหม่ สารที่จะนำมาแทนที่โดยมากแล้วเป็นน้ำมันหอมระเหยจากธรรมชาติ ทั้งจากพืชและสารระเหยจากเชื้อจุลินทรีย์.

Ezra *et al.* (2004) พบว่า ราเอนโดไฟต์ชื่อ *Muscodor albus* ที่แยกได้จากต้นอบเชย (*Cinnamomum zeylanicum*) ประเทศฮอนดูรัส สร้างสารระเหยที่สามารถควบคุมราสาเหตุโรคเน่าของต้นกล้าได้อย่างมีประสิทธิภาพ. สารระเหย (volatile organic compounds, VOCs) ที่ *M. albus* สร้างมีอยู่ 5 กลุ่ม (เช่นเดียวกับราชนิดอื่นๆ) คือ alcohol, ester, ketone, acid และ lipid, โดยสามารถควบคุมรา *Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum*, *P. aphanidermatum*, *Verticillium dahliae*, *Fusarium avenaceum*, *Phytophthora capsici*, *P. palmivora*,

*P. nicotianae*, *Sclerotinia minor*, *S. rolfsii* รวมทั้งโรคที่เกิดจากไส้เดือนฝอย *Meloidogyne incognita* และ *Pratylenchus* spp.

Mercier and Jimenez (2004) พบว่า *M. albus* ยังสามารถควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวของเชอร์รี่, ลูกท้อ, แอปเปิ้ล, สตอเบอร์รี่ และองุ่น ที่เกิดจากเชื้อ *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum acutatum*, *Geotrichum candidum*, *Monilinia fructicola*, *Mucor pyriformis*, *Penicillium expansum* และ *P. digitatum*.

Ting et al. (2010) พบว่า สารระเหยจากราเอนโดไฟต์ที่แยกจากต้นกล้วย (*Musa* spp.), ต้นหญ้า (grass weed), ต้นไมยราบ (*Mimosa pudica*) และต้นบานบุรีหนู (*Allamanda* spp.) สามารถยับยั้งโรคเหี่ยว (Fusarium wilt disease) ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* F. sp. *cubense* Race 4 ได้ร้อยละ 1.43-31.43. โดยสารระเหยที่พบได้แก่ butane 2-methyl, 1-butanol 3-methyl, 1,4-methanol-1H-cyclopropa [d] pyridazine,  $\beta$ -butyrolactone และ 2-butenedinitrile.

วัตถุประสงค์ของการทำวิจัยครั้งนี้ เพื่อแยกและจัดจำแนกเชื้อราชนิดเอนโดไฟต์ที่มีคุณสมบัติเป็น Bio-fumigant ที่มีประสิทธิภาพในการนำมาใช้ป้องกันและกำจัดโรคเน่าหลังการเก็บเกี่ยวและพัฒนา เพื่อใช้ประโยชน์ต่อไปในอนาคต.

## 2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

### 2.1 วัสดุ

ตัวอย่างพืชสมุนไพร จากแหล่งต่างๆ โดยเลือกตัวอย่างจากแหล่งที่ไม่ได้ใช้สารเคมีในการทำเกษตรและตัวอย่างที่มีลักษณะสมบูรณ์แข็งแรง ไม่เป็นโรค ดังนี้ :

1. สวนสมุนไพรเฉลิมพระเกียรติ สถานีวิจัยลำตะคอง จ. นครราชสีมา, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.
2. สถาบันวิจัยยางหรือศูนย์วิจัยยาง จ. กระบี่.
3. สถานีวิจัยพืชสวน จ. กระบี่.
4. สวนพฤกษศาสตร์สากลภาคใต้ (ทุ่งค่าย) จ. ตรัง.

ตารางที่ 1. ชื่อสามัญและชื่อวิทยาศาสตร์ของสมุนไพรที่เก็บจากสวนสมุนไพรเฉลิมพระเกียรติ สถานีวิจัยลำตะคอง วว. จ. นครราชสีมา

รหัส	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์
LK 1	กำลังช้างเผือก	<i>Hiptage benghalensis</i> (linn)Kurz sub sp. <i>Candicans</i> (Hook.f.) <i>sirirugsa</i>
LK 2	รางจืดต้น	<i>Cassia hirsute</i> Linn.
LK 3	ฝาง	<i>Caesalpinia sappan</i> L.
LK 4	ช้องแมว	<i>Gimelina philippensis</i> Cham.
LK 5	แคบ้าน	<i>Sesbania grandiflora</i> Desv.
LK 6	ทองกวาว	<i>Butea monosperma</i> (Lam.) Taubert
LK 7	พิกุล	<i>Mimumsops elengi</i> Linn.
LK 8	ขมิ้นเครือ	<i>Arcangelisia flava</i> (L.) Merr.
LK 9	มะลิ (ดอกเล็ก, ไม่ซ้อน)	<i>Jasminum sambac</i> (L.) Aiton
LK 10	พญายา	<i>Naringi crenclata</i> (Roxb.) Nicoson
LK 11	ยี่โถ	<i>Nerium indicum</i> Mill.
LK 12	กระเบื้องเจ็ดตัว	<i>Excoecaria cochichinensis</i> Lour.
LK 13	รางจืดดอกม่วง	<i>Thunbergia laurifolia</i> Linn.
LK 14	หญ้าน้ำปิ้ง	<i>Murdannia loriferemis</i> (Hask)Rolla Ravet <i>Kammathy</i>
LK 15	มะหาด	<i>Artocarpus lalxoocha</i> Roxb.
LK 16	มะนาวเทศ	<i>Triphadia trifolia</i> (Burm.f.)P. Wils
LK 17	ดีปลี	<i>Piper longum</i> Linn.
LK 18	ลำโพง	<i>Datura metel</i> Linn.

ตารางที่ 1. (ต่อ)

รหัส	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์
LK 19	รำเพย	<i>Thevetia peruviana</i> (Pers.) K. Schum.
LK 20	กระทิง	<i>Calophyllum inophyllum</i> Linn.
LK 21	หอมหมื่นลี้	<i>Osmanthus fragrans</i> Lour.
LK 22	จันทน์หอม	<i>Mansonia gagei</i> Drumm.
LK 23	หางไหลแดง	<i>Derris elliptica</i> (Roxb.) Benth.
LK 24	สมอภีเพก	<i>Ferrialia belerica</i> Rox Var Typica.
LK 25	ว่านหอยแครง	<i>Tradescantia spathacea</i> Stearn.
LK 26	ดาโ้ะ	<i>Bauhinia aureifolia</i> K. et S.S. Larsen.
LK 27	ฟ้าทลายโจร	<i>Andrographis paniculata</i> (Burm.f.) Wall.ex Nees.
LK 28	เสลดพังพอนตัวผู้	<i>Barleria lupulina</i> Lindl.
LK 29	ช้างงาเดียว	<i>Thunia alba</i> (Lindl.) Rchb.f.
LK 30	ตองแตก	<i>Baliospermum solanifolium</i> (Burm.) Surech.
LK 31	การบูร	<i>Cinnamomom camphora</i> Nee ex Eberm.
LK 32	หนุมานประสานกาย	<i>Schefflera leucantha</i> R. Vig.
LK 33	สลอด	<i>Croton tiglium</i> Linn.
LK 34	มะเกลือ	<i>Diospyros mollis</i> Griff.
LK 35	เขยตาย	<i>Glycosmis cochichinensi</i> Pierre.
LK 36	เอื้องหมายนา	<i>Costus speciosus</i> (Koen.) Smith.
LK 37	กาแฟ	<i>Coffea canephora</i> .
LK 38	ขันทองพญาบาท	<i>Suregada multiforum</i> (A.juss) Bail.
LK 39	ตะขาบบิน	<i>Muehlwnbeckia ptyelada</i> Meissn.
LK 40	มะตูม	<i>Aegle marmelos</i> Corr.
LK 41	กระดังงา	<i>Cananga odorata</i> (Lam.) Hooker F& Thoms.
LK 42	เดือยไก่	<i>Dasymaschalon lomentaceum</i> Finet & Gagnep.
LK 43	ทุ้งฟ้า	<i>Alstonia macrophylla</i> Wall. ex G. Don.
LK 44	โคคา	<i>Erythroxylum coca</i> Lam.
LK 45	กระทือ	<i>Zingiber zerumbet</i> (linn.) Sm.
LK 46	ส้มกุ้ง	<i>Begonia inflata</i> C.B. Clarte.
LK 47	เพชรสังฆาต	<i>Cissus quadrangularis</i> Linn.
LK 48	ยูคาลิปตัส	<i>Eucalyptus citriodora</i> .
LK 49	พิกุล	<i>Mimusops elengi</i> Linn.
LK 50	โมก	<i>Wrightia religiosa</i> Benth.
LK 51	จันทน์เทศน์	<i>Myristica fragrans</i> Houtt.



ตารางที่ 2. ชื่อสามัญและชื่อวิทยาศาสตร์ของสมุนไพรที่เก็บจากสวนสมุนไพรสถาบันวิจัยยาง หรือศูนย์วิจัยยาง จ. กระบี่

รหัส	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์
KB-R1	เพกา	<i>Orcyllum indicum</i> Vent.
KB-R2	สารภี	<i>Mammea siamensis</i> T. Anders.
KB-R3	จันทน์เทศ	<i>Myristica fragrans</i> Houtt.
KB-R4	เทพทาร์	<i>Cinnamomum porrectum</i> Kosterm.
KB-R5	อบเชย	<i>Cinnamomum verum</i> J.Presl
KB-R7	สมุลแว้ง	<i>Cinnamomum thailandica</i> Kosterm.
KB-R8	อบเชยไทย	<i>Cinnamomum bejolghota</i> หรือ <i>C. iners</i> Rein w. ex. Blume.
KB-R9	พลูป่า หรือ พลูช้าง	<i>Scindapsus officinalis</i> Schott.
KB-R10	กระวานแดง	<i>Amomum krevanh</i> Pierre.

ตารางที่ 3. ชื่อสามัญและชื่อวิทยาศาสตร์ของสมุนไพรที่เก็บจากสถานีวิจัยพืชสวน จ. กระบี่

รหัส	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์
KB-H1	สารภี	<i>Mammea siamensis</i> T. Anders.
KB-H2	กานพลู	<i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merrill & Perry.
KB-H3	อบเชย	<i>Cinnamomum verum</i> J.Presl.
KB-H4	รางจืด	<i>Thunbergia luarifolia</i> Linn.
KB-H5	แมงดา	<i>Cinnamomum porrectum</i> Kosterm.
KB-H6	ตีป्ली	<i>Piper retrofracnon</i> Vahl.
KB-H7	ส้มแขก	<i>Garcinia atroviridis</i> Griff. ex T. Anderson.
KB-H8	หางไหล	<i>Derris elliptica</i> Benth.
KB-H9	เพกา	<i>Orcyllum indicum</i> Vent.
KB-H10	ยอ	<i>Morinda citrifolia</i> Linn.

ตารางที่ 4. ชื่อสามัญและชื่อวิทยาศาสตร์ของสมุนไพรที่เก็บจากสวนพฤกษศาสตร์สากลภาคใต้ (ทุ่งค่าย) จ. ตรัง

รหัส	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์
TR-B1	สุพรรณ	ไม่มีชื่อวิทยาศาสตร์
TR-B2	จันทน์ป่า	<i>Myristica fragrans</i> Houtt.
TR-B3	มะกอก	<i>Derris elliptica</i> Benth.

## 2.2 อุปกรณ์และอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

### 2.2.1 อุปกรณ์

- หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) HICLAVE™ รุ่น HVE-50.
- ตู้เลี้ยงเชื้อ (Laminar flow) รุ่น Napflow.
- เครื่องชั่ง 5 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BR210D, Germany.
- เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง OHAUS CORP รุ่น Scout™ Pro, Germany.
- ตู้บ่มเชื้อ Memmert.
- กล้องจุลทรรศน์ Leica.
- กล้องสเตอริโอ Nikon รุ่น SMZ 800.
- โถดูดความชื้น (dessicator).
- ตู้เย็น -20 องศาเซลเซียส ยี่ห้อ Brandt.
- waterbath รุ่น SUB 14 ยี่ห้อ Grant.
- เครื่อง GC รุ่น TraceGC Ultra และ detector เป็นเครื่อง MS รุ่น Polaris Q ของบริษัท Thermo Finnigan, USA.

### 2.2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

Potato Dextrose Agar (PDA) ยี่ห้อ Difco™.

## 2.3 วิธีการ

### 2.3.1 การแยกจากพืช (Okane (1997) และ Bayman *et al.* (1997))

- นำพืชส่วนใบ, ก้าน และกิ่ง มาล้างน้ำทำความสะอาด, โดยเปิดให้น้ำไหลผ่าน. จากนั้นตัดให้เป็นชิ้นเล็กๆ ขนาด 0.5x0.5 เซนติเมตร, แล้วแช่ในเอทานอลความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์

นาน 1 นาที, ตามด้วยสารละลายโซเดียมไฮเพอร์คลอไรด์ที่มีความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 นาที และสุดท้ายแช่ในเอทานอลความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 นาที. แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง, แล้วซับให้แห้งบนกระดาษกรองที่ฆ่าเชื้อแล้ว.

2. นำส่วนใบ, ก้าน และกิ่งของพืชที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิวแล้ว ไปวางบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้อง, สังเกตการงอกของเส้นใยของราออกมาจากบริเวณขอบใบหรือขอบก้านและกิ่งของพืช ภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ.

3. เมื่อพบว่า มีเส้นใยของราเอนโดไฟต์ออกมาจากชิ้นส่วนของใบ, ก้าน และกิ่งของพืช จึงแยกส่วนปลายของเส้นใยไปเพาะเลี้ยงต่อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ใหม่. ทำเช่นนี้หลายครั้ง จนกระทั่งได้เชื้อที่บริสุทธิ์. ตรวจสอบความบริสุทธิ์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์.

### 2.3.2 การจัดจำแนกราเอนโดไฟต์

นำราเอนโดไฟต์ที่แยกได้ไปเลี้ยงให้บริสุทธิ์. จากนั้น จัดจำแนกราเอนโดไฟต์ที่ได้โดยการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology) เช่น ลักษณะของรา, สีของเส้นใย, สัณฐานของสปอร์ และการสร้างสปอร์.

### 2.3.3 การคัดเลือกราเอนโดไฟต์ที่มีคุณสมบัติเป็น Bio-fumigant

2.3.3.1 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช (Yoshida *et al.* 2001).

1. เลี้ยงราเอนโดไฟต์ที่ต้องการทดสอบฤทธิ์ Bio-fumigant, โดยเลือกราเอนโดไฟต์ที่สร้างกลิ่นมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ให้มีอายุ 7 วัน. จากนั้น นำมาวางในจานอาหาร PDA ที่ตัดอาหารตรงกลางจานเพาะเชื้อออกเป็นเส้นตรงกว้าง 2 เซนติเมตร. เลี้ยงเชื้อราที่ต้องการทดสอบ นาน 7 วัน. จากนั้น นำราสาเหตุโรคมาวางในทิศตรงข้ามกัน, โดยราสาเหตุโรคพืชที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ *Alternaria sp.*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Penicillium digitatum*, *Phomopsis sp.* และ *Curvularia clavata* ดังแสดงในรูปที่ 1.

2. เมื่อราในชุดควบคุมเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อถือว่าสิ้นสุดการทดลอง.

3. คำนวณค่าประสิทธิภาพในการป้องกันการเจริญเติบโตของรา, โดยใช้สูตรคำนวณ

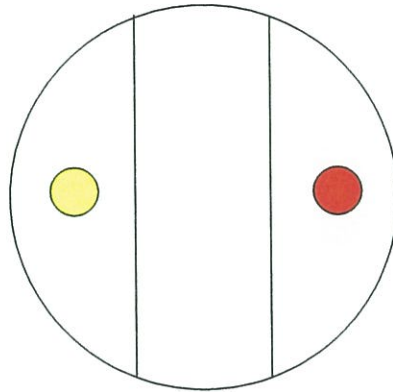
ดังนี้ :

$$\% \text{ growth reduction} = \frac{(Dc - Ds) \times 100}{Dc}$$

(เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง)

Dc คือ เส้นผ่านศูนย์กลางของราทดสอบที่เพาะเลี้ยงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นชุดควบคุม.

Ds คือ เส้นผ่านศูนย์กลางของราทดสอบที่เพาะเลี้ยงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พร้อมราสาเหตุโรคพืช.



รูปที่ 1. การทดสอบความสามารถของราเอนโดไฟต์ที่ต้องการคัดเลือก อายุ 7 วัน กับราสาเหตุโรคพืช.



ราที่ต้องการคัดเลือก



ราสาเหตุโรคพืช

2.3.3.2 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช (Yoshida *et al.* 2001).

นำราเอนโดไฟต์ที่คัดเลือกไว้ในข้อ 2.3.3.1 มาคัดเลือกอีกครั้ง. โดยราสาเหตุโรคพืชที่ใช้ในการทดลอง จะเป็นชนิดเดียวกันกับการทดลองที่ 2.3.3.1 โดยมีขั้นตอนการทดลอง ดังนี้ :

1. เลี้ยงราที่ต้องการคัดเลือก ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ให้มีอายุ 7 วัน, แล้วจึงนำมาวางในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ภายในมีการแบ่งช่องทั้งหมด 3 ช่อง. แต่ละช่องบรรจุอาหาร PDA ปริมาตร 5 มิลลิลิตร, ทำการถ่ายเชื้อเพียง 1 ช่อง, เลี้ยงเชื่อนาน 7 วัน. จากนั้น จึงนำราสาเหตุโรคพืชเลี้ยงลงในอาหาร 2 ช่องที่เหลือ. สังเกตการเจริญเติบโตของราสาเหตุโรคพืชเทียบกับชุดควบคุม.

2. เมื่อราในชุดควบคุมเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ถือว่าสิ้นสุดการทดลอง.

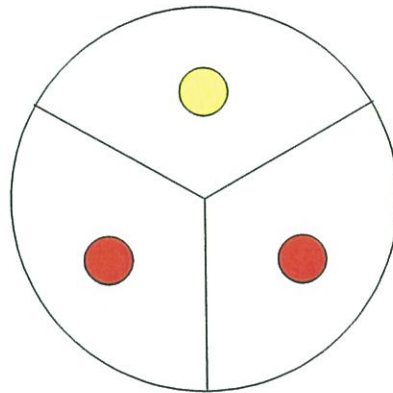
3. คำนวณค่าประสิทธิภาพในการป้องกันการเจริญเติบโตของรา โดยใช้สูตรคำนวณ

ดังนี้ :

$$\% \text{ growth reduction (เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง)} = \frac{(Dc-Ds) \times 100}{Dc}$$

Dc คือ เส้นผ่านศูนย์กลางของราทดสอบที่เพาะเลี้ยงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นชุดควบคุม.

Ds คือ เส้นผ่านศูนย์กลางของราทดสอบที่เพาะเลี้ยงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พร้อมราสาเหตุโรคพืช.



รูปที่ 2. การทดสอบความสามารถของราเอนโดไฟต์ที่ต้องการคัดเลือก อายุ 7 วัน กับราสาเหตุโรคพืช.

● ราที่ต้องการคัดเลือก

● ราสาเหตุโรคพืช

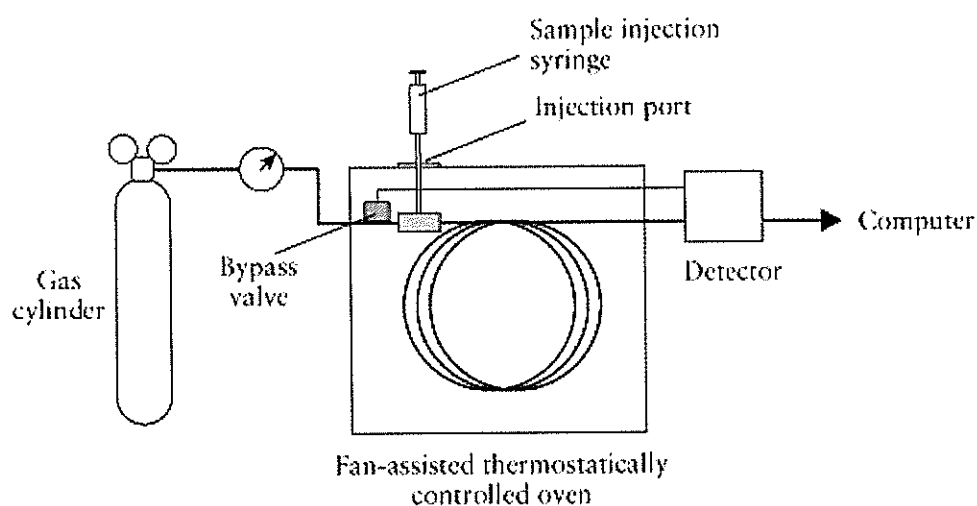
2.3.4 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารระเหย (volatile organic compounds) จากราเอนโดไฟต์ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพืชโดยใช้แก๊สโครมาโทกราฟีแมสสเปกโทรเมตรี (GC-MS)

GC-MS ประกอบไปด้วย 2 ส่วน คือ GC เป็นเครื่องมือที่ใช้แยกสารผสมที่สามารถระเหยเป็นไอได้ออกจากกัน, ใช้หลักการควบคุมอุณหภูมิให้สารที่ต้องการวิเคราะห์ระเหยกลายเป็นไอ, แล้วเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ เพื่อแยกสารผสมออกจากกัน.

เครื่อง GC ประกอบด้วยองค์ประกอบพื้นฐาน 4 ส่วน ดังแสดงในรูปที่ 3 ([www.kmitl.ac.th/sisc/GC-MS/main.html](http://www.kmitl.ac.th/sisc/GC-MS/main.html)). ส่วนแรก เป็นถังบรรจุแก๊สตัวพา (carrier gas) ทำหน้าที่เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) ทำหน้าที่พาสารตัวอย่างเข้าสู่ส่วนควบคุมอุณหภูมิ (oven), โดยภายในจะประกอบด้วยคอลัมน์ที่ถูกบรรจุด้วยวัฏภาคนิ่ง (stationary phase). สารผสมที่ต้องการวิเคราะห์จะถูกนำเข้าสู่เครื่องผ่านทางช่องฉีดสาร (injection port) ซึ่งเป็นส่วนที่ควบคุมอุณหภูมิให้สูงกว่าจุดเดือดของสารที่ต้องการวิเคราะห์, เพื่อให้สารตัวอย่างระเหยเป็นไอทั้งหมด ก่อนที่จะเคลื่อนที่ผ่านเข้าสู่

คอลัมน์. สารตัวอย่างที่เคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์จะแยกกันออกตามแรง relative solubility ของสารแต่ละตัวต่อวัฏภาคนี้, ออกเป็นส่วนๆ และเดินทางเข้าสู่ส่วนที่สาม ซึ่งเป็นตัวตรวจวัด (detector) เพื่อทำให้เกิดสัญญาณขึ้น. สัญญาณที่ได้จะถูกส่งต่อไปยังส่วนสุดท้าย ซึ่งเป็นระบบเก็บข้อมูล (data processing and storage). สัญญาณจะถูกประมวลและแสดงผลออกมาเป็นกราฟ.

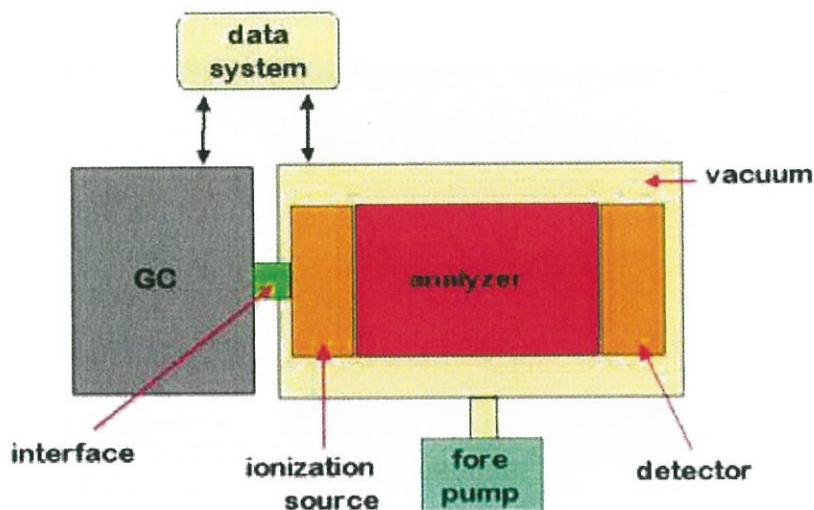
ความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (แกน X) และปริมาณ (แกน Y) เป็นกราฟที่เรียกว่า โครมาโทแกรม (chromatogram).



รูปที่ 3. ส่วนประกอบหลักของเครื่อง GC.

MS เป็นเทคนิคการตรวจวิเคราะห์ชนิดหนึ่ง ดังแสดงในรูปที่ 4 ([www.kmitl.ac.th/sisc/GC-MS/main.html](http://www.kmitl.ac.th/sisc/GC-MS/main.html)) นิยมใช้วิเคราะห์โครงสร้างของสาร, ใช้หลักการพิจารณารูปแบบการแตกตัวของโมเลกุล เมื่อถูกกระแสของอิเล็กตรอน (stream of electrons) จากแหล่งพลังงานพุ่งชน. สารประกอบจะแตกตัวเป็นส่วนย่อย (fragment) ในรูปของไอออน (ions) แล้วแยกไอออนตามขนาดมวล, ได้รูปแบบที่แน่นอน (definite pattern) ของจำนวนไอออน ซึ่งเรียกว่า สเปกตรัมมวล (mass spectrum) ซึ่งมีลักษณะเฉพาะที่เป็นเอกลักษณ์สำหรับสารหนึ่งๆ, จึงสามารถระบุโครงสร้างของสารประกอบอินทรีย์ได้ (รายชนาคร 2537).

## Mass spectrometer components



รูปที่ 4. ส่วนประกอบหลักของเครื่อง MS.

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC-MS นั้น มีความเหมาะสมที่สุดในการใช้แยกและวิเคราะห์องค์ประกอบของสารตัวอย่างที่มีคุณสมบัติที่ระเหยได้ ดังนั้น จึงต้องศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการแยกสารระเหยที่ราเอนโดไฟต์สร้างขึ้น.

2.3.4.1 เลียงราเอนโดไฟต์ที่คัดเลือกไว้ว่า มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชบนอาหาร PDA ในขวดเก็บแก๊สปริมาตร 50 มิลลิลิตร. ปิดพาราฟิล์มให้แน่น, เลียงที่อุณหภูมิห้อง. โดยจะฉีด GC/MS เพื่อองค์ประกอบของสารระเหยจากเชื้อราเอนโดไฟต์ทุก 3, 6, 9, 12, 15, 18, 28 และ 38 วัน. ในการทดลองนี้ใช้อาหารเลียงเชื้อ PDA เป็นตัวควบคุม.

2.3.4.2 ใช้ Solid phase micro-extraction syringe (SPME) (50/30  $\mu\text{m}$  DVB/Carboxen<sup>TM</sup>/PDMS stableFlex<sup>TM</sup> ดัดแปลงจากวิธีของ (Strobel *et al.* 2001, Ting *et al.* 2007) ดูดซับกลิ่นนาน 50 นาที ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส.

### 2.3.4.3 ระบบที่ใช้ของเครื่อง GC-MS

#### เครื่อง GC

ใช้คอลัมน์แบบ capillary ชนิด AT<sup>TM</sup>-WAX(polyethyleneglycol) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.25 มิลลิเมตร, ความยาว 60 เมตร, ความหนาของ liquid phase 0.25 ไมครอน และใช้ก๊าซฮีเลียม (UltraHigh Purity) เป็น carrier gas. โปรแกรมอุณหภูมิ (Temperature

programming) และภาวะต่างๆ ของเครื่องดัดแปลงจากวิธีของ Ezra *et al.* (2004). อุณหภูมิของตัวนำสารเข้า 220 องศาเซลเซียส, อุณหภูมิของคอลัมน์เริ่มต้น 40 องศาเซลเซียส, นาน 2 นาที. จากนั้น เพิ่มอุณหภูมิในอัตรา 5 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึง 240 องศาเซลเซียส, แล้วทิ้งไว้ นาน 3 นาที. อัตราการไหลของก๊าซฮีเลียมที่ 1 มิลลิลิตร/นาที และใช้ splitless mode ในการฉีด.

#### เครื่อง MS

- อุณหภูมิส่วนเชื่อมต่อ 250 องศาเซลเซียส.
- พลังงานเฉลี่ยของอิเล็กตรอน 70 eV.
- อุณหภูมิของแหล่งผลิตไอออน 250 องศาเซลเซียส.
- Scan mode : Full scan 35-360 amu. (atomic mass units).
- ใช้ฐานข้อมูล NIST (National Institute of Standards and Technology)

ในการเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมี.

### 2.3.5 การเก็บรักษาราดิโอไฟต์ที่แยกได้

#### 2.3.5.1 การเลี้ยงรบบนกระดาษกรอง (Fong *et al.* 2000)

นำกระดาษกรองที่อบฆ่าเชื้อขนาด 0.5x0.5 เซนติเมตร วางบนจานอาหาร PDA ให้ทั่ว, แล้วนำชิ้นส่วนรวางบนกระดาษกรอง. เมื่อราเจริญเติบโตเต็มที่แล้ว (ประมาณ 7-14 วัน ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อรา), ให้นำกระดาษกรองที่มีราเจริญอยู่ไปวางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่อบฆ่าเชื้อแล้วและทำให้แห้งโดยนำไปใส่ในโถดูดความชื้นจนแห้ง. นำไปเก็บในซองอะลูมิเนียมฟอยล์ที่อบฆ่าเชื้อแล้ว, นำไปเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส.

2.3.5.2 เลี้ยงจุลินทรีย์ประสิทธิภาพสูงเหล่านั้นให้บริสุทธิ์ นำไปฝากเก็บที่ศูนย์เก็บและรวบรวมสายพันธุ์จุลินทรีย์ ที่ฝ่ายวิทยาศาสตร์ชีวภาพ, วว.



### 3. ผลการทดลองและวิจารณ์

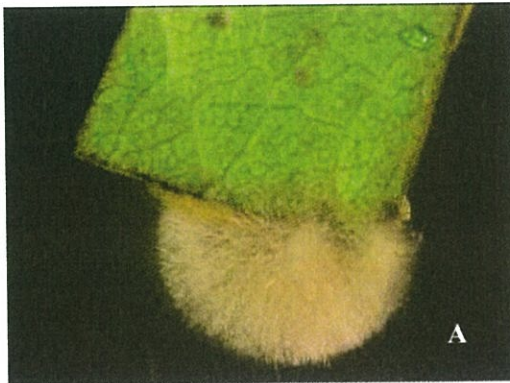
โรคพืช เป็นปัญหาสำคัญสำหรับการเพาะปลูกรวมทั้งการส่งออก ซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายกับเกษตรกรผู้ปลูกและผู้ส่งออก. การเกิดโรคนี้อาจเกิดขึ้นตั้งแต่เริ่มเพาะปลูก จนกระทั่งหลังการเก็บเกี่ยว. การควบคุมโรคพืชมีหลายวิธี, วิธีที่ง่ายและได้ผลเร็ว คือ การใช้สารเคมี. แต่เมื่อใช้ติดต่อกันเป็นเวลานาน, ปัญหาที่ตามมา คือ เชื้อโรคเกิดการต้านทานต่อสารเคมี, การปนเปื้อน และการตกค้างของสารเคมีในผลิตผลการเกษตร, สิ่งแวดล้อม และผู้บริโภค เช่น แคปแทน (captan) และเบนโนมิล (benomyl), ที่จัดให้อยู่ในกลุ่มสารที่อาจก่อให้เกิดมะเร็งในมนุษย์, จึงถูกห้ามใช้และวางขายตามท้องตลาด. สารเคมีทั้งสองชนิดนี้ในอดีต นิยมใช้อย่างแพร่หลายในผลิตผลการเกษตรหลังการเก็บเกี่ยว.

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (biological control/biocontrol) คือ การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonistic microorganism) ซึ่งเป็นแบคทีเรีย, รา หรือไวรัส เข้าควบคุมจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช (plant pathogen). กลไกการควบคุมโดยชีววิธี แบ่งออกเป็น 4 ลักษณะ คือ :

1. การแข่งขัน (competition), เชื้อปฏิปักษ์มีความสามารถแข่งขันกับเชื้อสาเหตุโรคพืช, ในด้านการใช้สารอาหาร, อากาศ และการครอบครองพื้นที่ได้ดีกว่า ทำให้เชื้อสาเหตุไม่สามารถเจริญเติบโตได้.
2. การทำลายชีวิต (antibiosis), เชื้อปฏิปักษ์มีความสามารถในการผลิตสารที่มีคุณสมบัติยับยั้งหรือทำลายเชื้อสาเหตุโรคพืชได้. สารที่ผลิตออกมานั้นเรียกว่า สารพิษ (toxin) หรือสารปฏิชีวนะ (antibiotic).
3. การเป็นปรสิต (parasitism), เชื้อปฏิปักษ์มีคุณสมบัติเป็นปรสิต (parasite) เข้าไปทำลายสิ่งมีชีวิตที่เข้าไปอาศัย.
4. การชักนำให้พืชเกิดความต้านทานโรค (induced resistance), เป็นการใช้จุลินทรีย์ชนิดเดียวกับที่ทำให้พืชอาศัยนั้นเกิดโรค แต่เป็นสายพันธุ์ที่ไม่รุนแรง ไปกระตุ้นให้พืชอาศัยสร้างความต้านทาน, ก่อนที่สายพันธุ์รุนแรงจะเข้าทำลาย.

#### 3.1 การแยกราเอนโดไฟต์จากพืชสมุนไพร

การแยกราเอนโดไฟต์จากพืชสมุนไพรที่เก็บมาจากแหล่งต่างๆ พบว่า ราเอนโดไฟต์จะเจริญออกมาจากท่อลำเลียงของพืช, มีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาวเมื่อส่องดูใต้กล้องสเตรียโอ ดังแสดงในรูปที่ 5 จากนั้นทำการถ่ายเส้นใยไปเลี้ยงในอาหาร PDA ใหม่ จนได้ราเอนโดไฟต์ที่บริสุทธิ์.



รูปที่ 5. ราเอนโดไฟต์ที่เจริญออกมาจากตัวอย่างพืชที่วางลงบนอาหาร PDA อายุ 2 วัน.

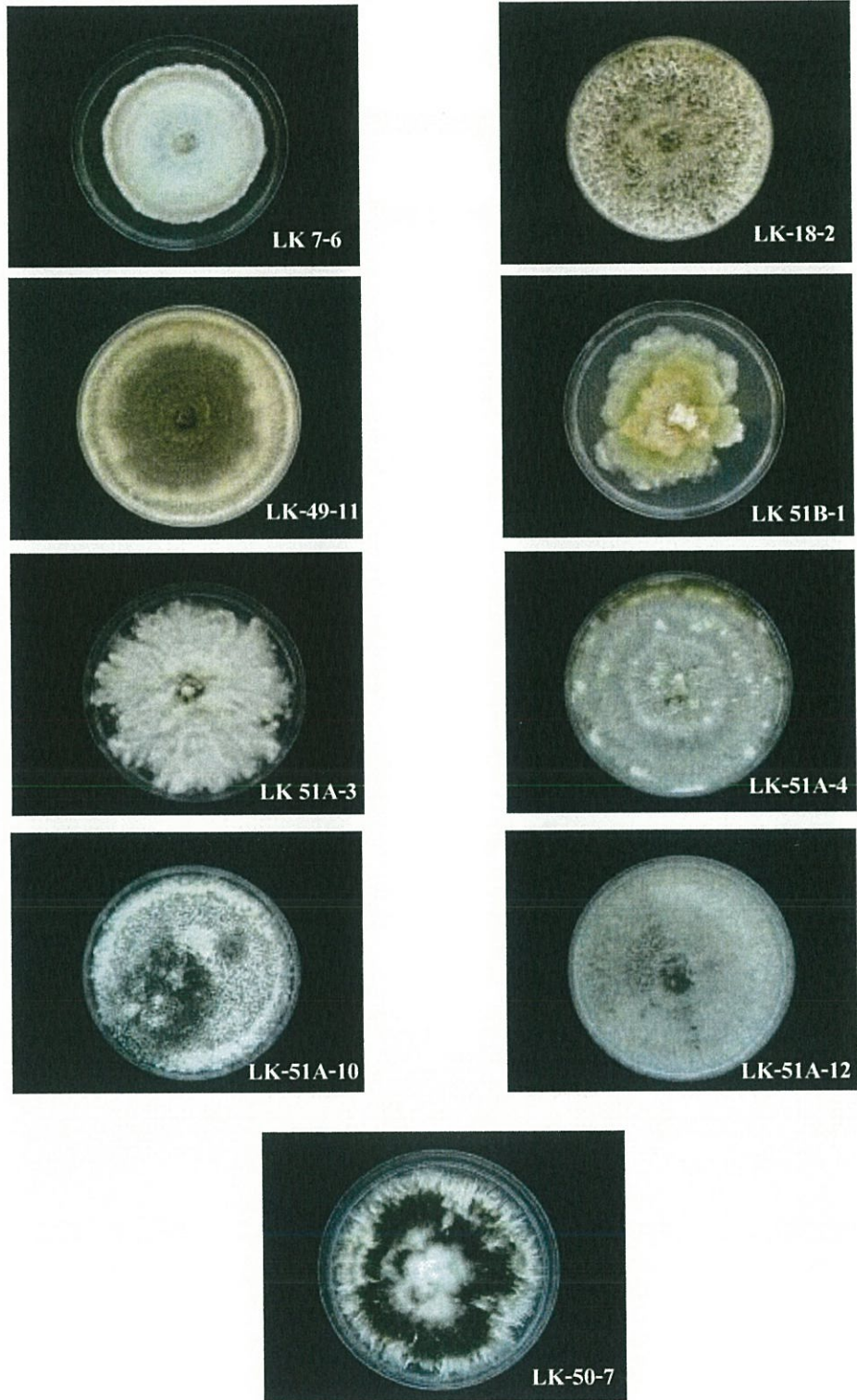
A เส้นใยราเอนโดไฟต์ที่เจริญออกจากส่วนใบ.

B เส้นใยราเอนโดไฟต์ที่เจริญออกจากส่วนก้านใบ.

### 3.1.1 ตัวอย่างพืชสมุนไพรจากสวนสมุนไพรเฉลิมพระเกียรติ สถานีวิจัยลำตะคอง

#### จ. นครราชสีมา

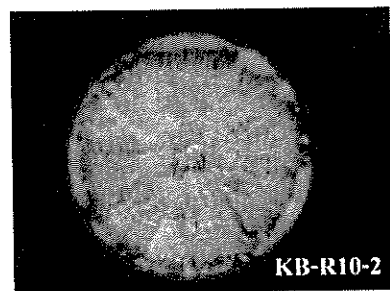
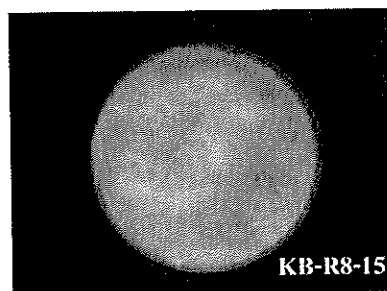
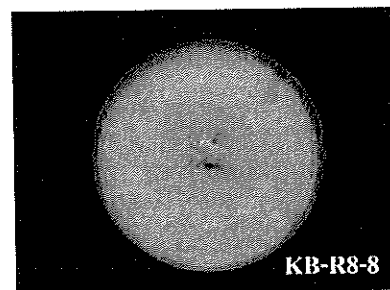
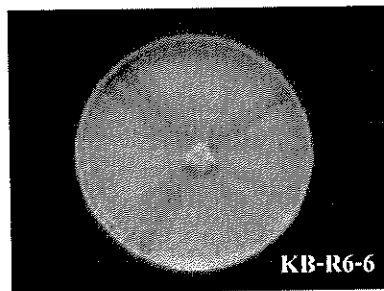
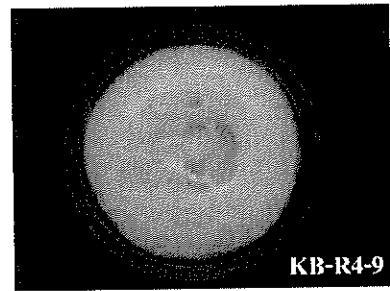
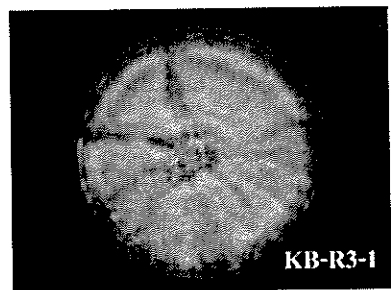
แยกราจากพืชทั้งหมด 51 ชนิด, ได้ราเอนโดไฟต์ 46 ไอโซเลต. จากนั้น จัดจำแนกชนิดของราเอนโดไฟต์ที่แยกได้, โดยการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology) เช่น ลักษณะของรา, สีของเส้นใย, สีสันครีต, การสร้างสปอร์. ลักษณะต่างๆ ของราเอนโดไฟต์ที่แยกได้ ดังแสดงในภาคผนวก ก และตารางที่ 1 และตัวอย่างราเอนโดไฟต์บางส่วนที่แยกได้ ดังแสดงในรูปที่ 6.



รูปที่ 6. ตัวอย่างราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากสวนสมุนไพรเกษียรดี  
 สถานีวิจัยลำตะคอง จ. นครราชสีมา บนอาหาร PDA อายุ 14 วัน.

### 3.1.2 ตัวอย่างพืชสมุนไพรจากสถาบันวิจัยยาง หรือ ศูนย์วิจัยยาง จ. กระบี่

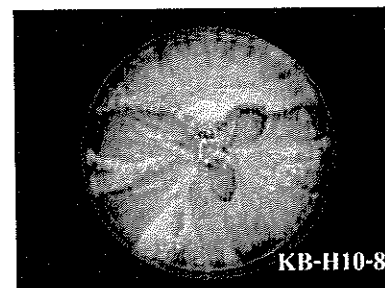
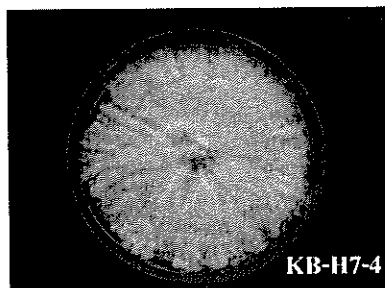
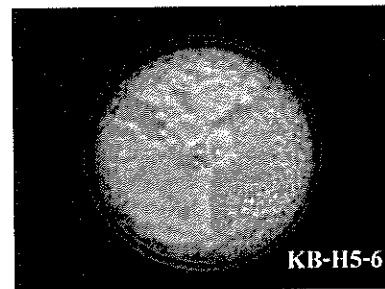
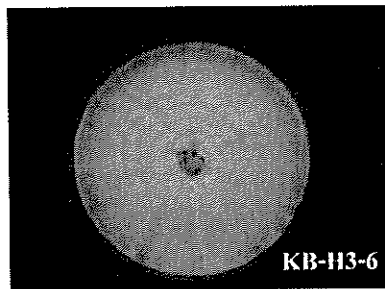
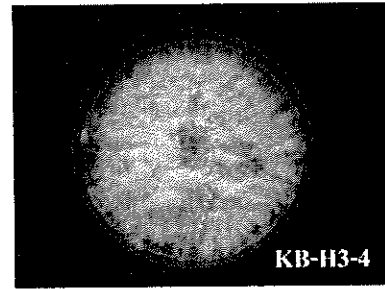
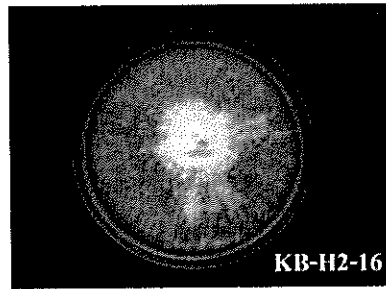
แยกราจากพืชทั้งหมด 9 ชนิด, ได้ราเอนโดไฟต์ 65 ไอโซเลต. จากนั้น จัดจำแนกชนิดของราเอนโดไฟต์ที่แยกได้, โดยการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น ลักษณะของรา, สีของเส้นใย, สีสรงควัตถุ, การสร้างสปอร์. ลักษณะต่างๆ ของราเอนโดไฟต์ที่แยกได้ ดังแสดงในภาคผนวก ก และตารางที่ 2 และตัวอย่างราเอนโดไฟต์บางส่วนที่แยกได้ ดังแสดงในรูปที่ 7.



รูปที่ 7. ตัวอย่างราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากสถาบันวิจัยยางหรือศูนย์วิจัยยาง จ. กระบี่ บนอาหาร PDA อายุ 14 วัน.

### 3.1.3 ตัวอย่างพืชสมุนไพรจากสถานีวิจัยพืชสวน จ.กระบี่

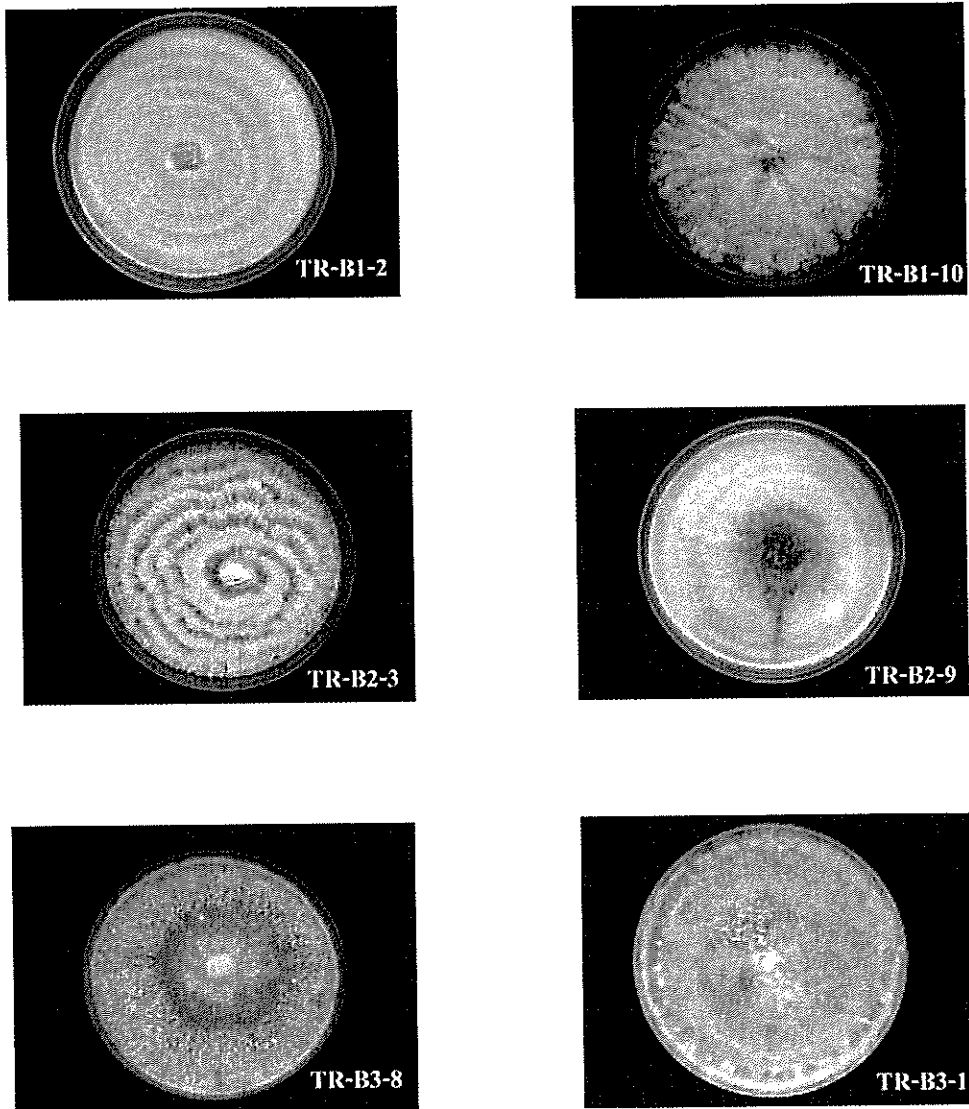
แยกราจากพืชทั้งหมด 10 ชนิด, ได้ราเอนโดไฟต์ 152 ไอโซเลต. จากนั้น จัดจำแนกชนิดของราเอนโดไฟต์ที่แยกได้, โดยการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น ลักษณะของรา, สีของเส้นใย, สีสรงควัตถุ, การสร้างสปอร์. ลักษณะต่างๆ ของราเอนโดไฟต์ที่แยกได้ ดังแสดงในภาคผนวก ก และตารางที่ 3 ตัวอย่างราเอนโดไฟต์บางส่วนที่แยกได้ ดังแสดงในรูปที่ 8.



รูปที่ 8. ตัวอย่างราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากสถาบันวิจัยยางหรือศูนย์วิจัยยาง จ. กระบี่ บนอาหาร PDA อายุ 14 วัน.

3.1.4 ตัวอย่างพืชสมุนไพรจากสวนพฤกษศาสตร์สากลภาคใต้ (ทุ่งค่าย) จ. ตรัง

แยกราจากพืชทั้งหมด 3 ชนิด, ได้ราเอนโดไฟต์ 24 ไอโซเลต. จากนั้น ทำการจำแนกชนิดของราเอนโดไฟต์ที่แยกได้, โดยการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น ลักษณะของรา, สีของเส้นใย, สีสรงควัตถุ, การสร้างสปอร์. ลักษณะต่างๆ ของราเอนโดไฟต์ที่แยกได้ ดังแสดงในภาคผนวก ก และตารางที่ 4 ตัวอย่างราเอนโดไฟต์บางส่วนที่แยกได้ ดังแสดงในรูปที่ 9.



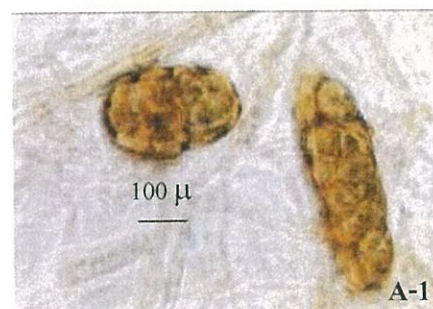
รูปที่ 9. ตัวอย่างราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากจากสวนพฤกษศาสตร์สากลภาคใต้ (ทุ่งค่าย) จ. ตรัง บนอาหาร PDA อายุ 14 วัน.



ผลการจัดจำแนกราเอนโดไฟต์ที่แยกได้, โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา, พบว่าราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากตัวอย่างที่ผ่านมานั้น ที่สร้างสปอร์เป็นราในกลุ่ม Coelomycetes ได้แก่ *Alternaria* sp., *Colletotrichum acunatum*, *C. gloeosporioides*, *Fusarium* sp., *Nigrospora* sp., *Pestalotiopsis* sp. และ *Phomopsis* sp. ส่วนรากลุ่มที่ไม่สร้างสปอร์โดยมีเส้นใยสีขาวและดำ (sterile mycelium) เป็นราในกลุ่ม Mycelia sterilia และราในกลุ่ม Xylariaceae ซึ่งไม่สามารถจัดจำแนกชนิดได้. โดยจะจัดจำแนกชนิดได้โดยการสกัด DNA เพื่อหาลำดับเบส. จากนั้น นำราเอนโดไฟต์ที่แยกได้ไปเลี้ยงให้บริสุทธิ์แล้วเก็บราเอนโดไฟต์ที่แยกได้ด้วยวิธีเก็บแห้งในกระดาษกรอง, โดยการเลี้ยงรบนอาหาร PDA ที่มีกระดาษกรองวางอยู่. ปล่อยให้รานั้นเจริญจนเต็มกระดาษกรองอายุประมาณ 10-14 วัน, ตึงกระดาษกรองออก, แล้วทำให้แห้ง โดยการนำไปวางในโถดูดความชื้น. เมื่อแห้งแล้ว ให้เก็บในกระดาษอะลูมิเนียมฟอยล์ที่อบฆ่าเชื้อแล้ว, แล้วนำไปเก็บไว้ในตู้เย็น -20 องศาเซลเซียส.

### 3.2 การคัดเลือกราเอนโดไฟต์ที่มีคุณสมบัติ Bio-fumigant

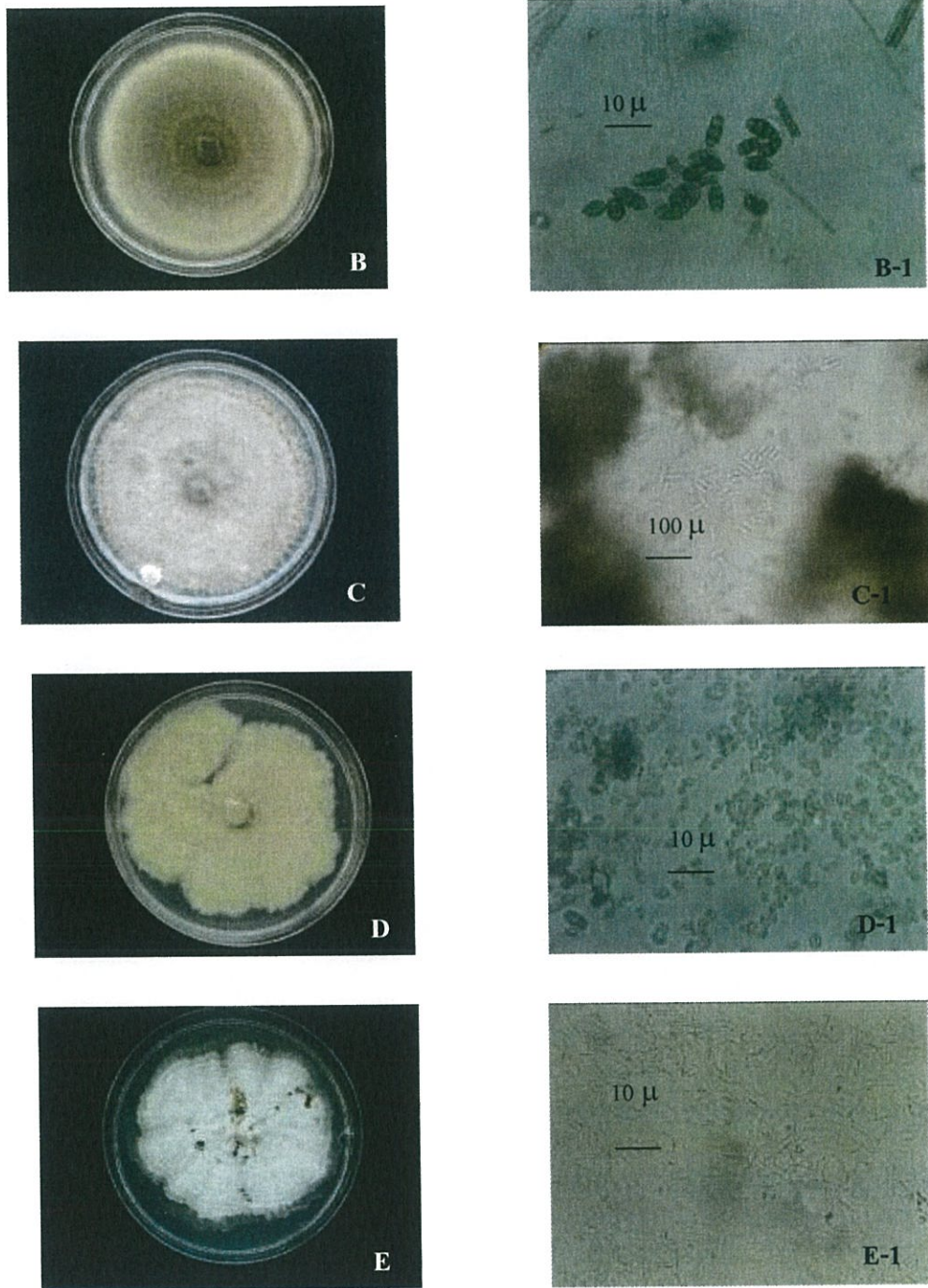
การคัดเลือกราเอนโดไฟต์ที่มีคุณสมบัติเป็น Bio-fumigant, ทำได้โดยการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช โดยใช้ราสาเหตุโรคพืชทั้งหมด 5 ชนิด คือ *Alternaria alternata*, *Curvularia clavata*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Penicillium digitatum* และ *Phomopsis* sp. ดังแสดงในรูปที่ 10 ราชทั้ง 5 ชนิดนี้ เป็นสาเหตุโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยวที่สำคัญ. ตัวอย่างเช่น *A. alternata*, *P. digitatum* และ *Phomopsis* sp. เป็นสาเหตุโรคเน่าของผักผลไม้. *C. gloeosporioides* ก่อให้เกิดโรคแอนแทรกโนส, โดยจะเข้าทำลายเกือบทุกส่วนของพืชตั้งแต่ต้นกล้า, ใบ, ลำต้น, ดอก และผล (Sutton 1980) และ *C. clavata* ก่อให้เกิดโรคใบจุดของพืช เช่น ใบของผักสลัด.



รูปที่ 10. ราสาเหตุโรคพืชที่ใช้ในการทดลอง.

A : *Alternaria alternata* เลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 14 วัน.

A-1 : conidia (1000x).



รูปที่ 10. (ต่อ)

B : *Curvularia clavata* เลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 14 วัน B-1 : conidia (400x).  
 C : *Colletotrichum gloeosporioides* เลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 14 วัน  
 C-1 : hyalineconidia (400x).  
 D : *Penicillium digitatum* เลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 14 วัน D-1 : conidia (400x).  
 E : *Phomopsis* sp. เลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 14 วัน E-1 : conidia (100x).



### 3.2.1 การทดสอบความสามารถของราเอนโดไฟต์ในการสร้างสารระเหยมายับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช

จากการทดลองนำราเอนโดไฟต์ที่แยกได้มาคัดเลือกคุณสมบัติเป็น Bio-fumigant, โดยการสร้างสารระเหยที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งราสาเหตุโรคพืช 5 ชนิด โดยวางราเอนโดไฟต์บนอาหาร PDA ไว้ด้านหนึ่งของจานเพาะเชื้อ, อีกด้านหนึ่งวางราสาเหตุโรคพืช, ส่วนกลางของจานเพาะเชื้อ ตัดขึ้นวุ้นออก 2 เซนติเมตร, พบว่า ราเอนโดไฟต์ที่มีประสิทธิภาพในการสร้างสารระเหยมายับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช 11 ไอโซเลต ได้แก่ LK6-3, LK7-6, KB-H5-6, TR-B3-8, KB-H3-4, KB-R10-2, LK51A-3, KB-H10-8, LK51B-1, KB-H3-6 และ LK51A-4. โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเฉลี่ยเป็น 24, 18.8, 17.5, 16.5, 15.2, 13.5, 13.2, 10.3, 8.8, 8.6 และ 6.3 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 5, ภาคผนวก ข และรูปที่ 1.

ตารางที่ 5. การคัดเลือกราเอนโดไฟต์ที่สร้างสารระเหยไปยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช

รา เอนโดไฟต์	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของราสาเหตุโรคพืช					เปอร์เซ็นต์ การยับยั้ง เฉลี่ย
	<i>A.alternata</i>	<i>C.gloeosporioides</i>	<i>C.clavata</i>	<i>P.digitatum</i>	<i>Phomopsis</i> sp.	
LK-51A-3	-	13.2	-	-	13.3	13.2
LK-51A-4	-	-	-	-	6.3	6.3
LK-6-3	-	24	-	-	-	24
LK-7-6	-	25	12.5	-	-	18.8
LK-51B-1	5	-	-	12.5	-	8.8
KB-R10-2	-	-	13.5	-	-	13.5
KB-H3-4	-	15.2	-	-	-	15.2
KB-H3-6	-	-	-	-	8.6	8.6
KB-H5-6	25	-	-	10	-	17.5
KB-H10-8	-	-	-	10.3	10.2	10.3
TR-B3-8	25	-	-	7.9	-	16.5

### 3.2.2 การทดสอบความสามารถของราเอนโดไฟต์ในการสร้างสารระเหยมายับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช

นำราเอนโดไฟต์ที่คัดเลือกไว้ในข้อ 3.2.1 มาทดสอบคุณสมบัติเป็น Bio-fumigant อีกครั้ง, โดยเลี้ยงในจานเพาะเชื้อที่เป็น 3 ช่องบนอาหาร PDA. เลี้ยงราเอนโดไฟต์ที่ต้องการทดสอบ 1 ช่อง และราสาเหตุโรคพืชที่ต้องการทดสอบในอาหาร 2 ช่องที่เหลือ, โดยเทียบกับราสาเหตุโรคพืชที่เป็นชุดควบคุม, พบว่า ราเอนโดไฟต์ที่มีประสิทธิภาพในการสร้างสารระเหยมายับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช 11 ไอโซเลต ได้แก่ LK6-3, LK7-6, KB-H3-4, KB-H5-6, TR-B3-8, LK-51A-3, KB-R10-2, KB-H10-8, LK-51B-1, LK51A-4 และ KB-H3-6. โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเฉลี่ยเป็น 22, 19.6, 19.2, 17.5, 16.2, 15.9, 14.8, 10.3, 9.7, 6.3 และ 5 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 6, ภาคผนวก ข และรูปที่ 3-13.

ตารางที่ 6. การคัดเลือกราเอนโดไฟต์ที่สร้างสารระเหยไปยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช

รา เอนโดไฟต์	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของราสาเหตุโรคพืช					เปอร์เซ็นต์ การยับยั้ง เฉลี่ย
	<i>A.alternata</i>	<i>C.gloeosporioides</i>	<i>C.clavata</i>	<i>P.digitatum</i>	<i>Phomopsis</i> sp.	
LK-51A-3	-	15.9	-	-	15.8	15.9
LK-51A-4	-	-	-	-	6.3	6.3
LK-6-3	-	22	-	-	-	22
LK-7-6	-	20.8	18.4	-	-	19.6
LK-51B-1	8	11.4	-	-	-	9.7
KB-R10-2	-	-	14.8	-	-	14.8
KB-H3-4	-	19.2	-	-	-	19.2
KB-H3-6	-	-	-	-	5	5
KB-H5-6	25	-	-	10	-	17.5
KB-H10-8	-	-	-	17.5	3	10.3
TR-B3-8	25.5	-	-	6.8	-	16.2

จากผลการทดลองจะเห็นว่า ราเอนโดไฟต์จะสร้างสารระเหยที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งราสาเหตุโรคพืชแตกต่างกัน, โดยจะยับยั้งราสาเหตุโรคพืชได้มากที่สุด 2 ชนิด. ผลการทดลองทั้ง 2 วิธี ให้ผลการทดลองสอดคล้องกัน. นอกจากนั้น มีรายงานกล่าวถึงความสามารถของราเอนโดไฟต์ในการยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช.

Mercier *et al.* (2004) รายงานว่า ราเอนโดไฟต์ *Muscodor albus* สามารถสร้างสารระเหยที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืชหลายชนิดที่เป็นสาเหตุทำให้ผลไม้เน่า เช่น *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum sp.*, *Geotrichum sp.*, *Monilinia sp.*, *Penicillium expansum* และ *Rhizopus sp.* ในระดับห้องปฏิบัติการ.

### 3.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารระเหย (volatiles organic compound) จากราเอนโดไฟต์ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งราสาเหตุโรคพืช

ผลจากการทดลองนำราเอนโดไฟต์ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งราสาเหตุโรคพืชมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารระเหยที่ราเอนโดไฟต์สร้างขึ้นที่อายุ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 28 และ 38 วัน, ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นตัวควบคุม, โดยใช้เครื่อง GC/MS, พบว่า ปริมาณสารระเหยที่สร้างขึ้นจะแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของรา, โดยเทียบกับฐานข้อมูลของ NIST (National Institute of Standards and Technology) พบว่า ราเอนโดไฟต์ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งราสาเหตุโรคพืชมีองค์ประกอบทางเคมีของสารระเหยเป็นสารประเภทแอลกอฮอล์, กรด, เอสเทอร์, คีโตน และไขมันเหมือนกัน. องค์ประกอบเคมี, มวลโมเลกุล และสูตรโมเลกุลของสารระเหยจากราเอนโดไฟต์แต่ละชนิด ดังแสดงในตารางที่ 7-16, รูปที่ 1-12 และภาคผนวก ค.

### 3.4 เก็บตัวอย่างราเอนโดไฟต์ที่แยกได้

ตัวอย่างราเอนโดไฟต์ที่แยกได้เก็บในกระดาษกรองที่อบฆ่าเชื้อขนาด 0.5x0.5 เซนติเมตรที่ทำแห้งโดยนำไปใส่ในโถดูดความชื้น, แล้วเก็บในช่องอะลูมิเนียมฟอยล์ที่อบฆ่าเชื้อ, เก็บในตู้เย็น -20 องศาเซลเซียส, ที่ฝ่ายเทคโนโลยีการเกษตรและที่ศูนย์เก็บและรวบรวมสายพันธุ์จุลินทรีย์, ศูนย์จุลินทรีย์ ฝ่ายวิทยาศาสตร์ชีวภาพ, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.

ตารางที่ 7. องค์ประกอบทางเคมีของสารระเหยจากราเอนโดไฟต์ LK-6-3 อายุ 18 วัน

ชื่อองค์ประกอบ	เวลา	มวล	สูตร
	(นาที)	โมเลกุล	โมเลกุล
9-Octadecen-12-ynoic acid	14.65	292	C <sub>19</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>
Santolinatriene	15.21	136	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
Fura,2-pentyl	16.11	138	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O
Dihydrofuro[2,3-e]phenalene, 6-methoxy	16.35	356	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>6</sub>
2(3H)-Naphthalenone,4,4a,5,6,7,8-hexahydro-1-methoxy	16.95	180	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>
2-Octanone	17.60	128	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O
9-Methyl-z-10-tetradecen-1-olacetate	18.75	268	C <sub>17</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>
4-Pentenal, 2-methyl	19.20	98	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O
2-Isopropylidene-3-methyl-1-phenyl	20.20	226	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> O
E-3-Pentadecen-2-ol	22.49	226	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O
Benz[b]indole[1,2-d]pyran-3,6a,9,10(6H)-tetrol,7,11-b-dihydro	22.97	226	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O
Preg-9[11]-en-3-one,18,20 dihydroxy	23.72	286	C <sub>23</sub> H <sub>36</sub> O <sub>4</sub>
Allylmethallyether	24.57	112	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>
2-Undecanone	25.83	170	C <sub>11</sub> H <sub>22</sub> O
Caryophyllene	26.21	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
1H-Indene,2-butyl-5-hexyloctahydro	28.60	264	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub>
Naphthalene, 1,2,4a,5,6,8a-hexahydro	29.08	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
3-buten-2-one, 4[5,5-dimethyl-1-oxaspiro[2.5]oct-4-yl]	29.29	208	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>
7,9-Dimethyl-8-nitrobicyclo[4.3.1]decan-10	29.41	225	C <sub>12</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>3</sub>
Z,Z,Z-4,6,9-Nonadecatriene	29.53	262	C <sub>19</sub> H <sub>34</sub>
Benzyl Alcohol	32.15	108	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O
Phenylethyl Alcohol	32.93	122	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O
9-Methyl-z-10-tetradecan-1-olacetate	34.59	268	C <sub>17</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>
10,12,14-Nonacosatriynoic acid	37.66	426	C <sub>29</sub> H <sub>46</sub> O <sub>2</sub>
Hexadecanoic acid	39.57	284	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>

ตารางที่ 8. องค์ประกอบทางเคมีของสารระเหยจากราเอนโดไฟต์ LK-7-6 อายุ 28 วัน

ชื่อองค์ประกอบ	เวลา (นาที)	มวล โมเลกุล	สูตร โมเลกุล
Santolinatriene	15.15	136	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
Dihydrofuro[2,3-e]phenalene	16.27	356	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>6</sub>
2-Heptanol	18.27	116	C <sub>7</sub> H <sub>16</sub> O
4,5,6,7-Tetrahydroxy-1,8,8,9-tetramethyl	20.37	340	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>
Acetic acid	22.11	60	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>
Cyclohexane, 1, 2, 4-tris(methylene)	27.15	120	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub>
1,3-Cyclooctadiene,5-bromo	29.15	186	C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> Br
Aniline	29.64	93	C <sub>6</sub> H <sub>7</sub> N
Acetic acid,2-phenylethylester	30.99	164	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>
Phenylethyl Alcohol	32.96	122	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O
Benzothiazole	34.18	135	C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> NS
Phenol,2,4-bis[1,1-dimethylethyl]	40.43	206	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O

ตารางที่ 9. องค์ประกอบทางเคมีของสารระเหยจากราเอนโดไฟต์ KB-H3-4 อายุ 18 วัน

ชื่อองค์ประกอบ	เวลา (นาที)	มวล โมเลกุล	สูตร โมเลกุล
2-Butanone,3,4-epoxy-3-ethyl	16.73	114	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>
4-Nonanone	18.76	142	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub>
Benzene,2-ethyl-3-methyl	20.20	120	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub>
Pregn-9(11)-en-3-one	20.46	376	C <sub>23</sub> H <sub>36</sub> O <sub>4</sub>
3,5-Androstadiene-17-one oxime	22.98	285	C <sub>19</sub> H <sub>27</sub> NO
4H-Cyclopropa[5',6]benz[1',2',7,8]azulenol	23.58	422	C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> O <sub>8</sub>
1,4-Methano-1H-indene,octahydro-4-methyl-8-methylene	24.50	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
Naphtalene,1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,8a-dimethyl	25.60	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene,2,6-dimethyl-6-[4-methyl-3-pentyl]	25.76	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
Azulene,1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro	25.86	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
Cyclohexane,1,2,4-tris(methylene)	27.14	120	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub>
Tricyclo[5.4.0.0(2,8)]undec-9-ene,2,6,6,9-tetramethyl	27.93	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
Menthol,1'-(butyn-3-one-1-yl)	28.61	222	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>
1,4-Bis-(3,3-dimethyl-but-1-ynyl)-2,6,6-trimethyl-cyclohex-2-ene	29.28	316	C <sub>21</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>

ตารางที่ 9 (ต่อ)

ชื่อองค์ประกอบ	เวลา	มวล	สูตร
	(นาทีก)	โมเลกุล	โมเลกุล
1,4-Methanoazulen-7-ol,decahydro-1,5,5,8a-tetramethyl	29.42	222	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O
Hydrocortisone Acetate	30.50	404	C <sub>23</sub> H <sub>32</sub> O <sub>6</sub>
Acetic acid,2-phenylethylester	30.98	164	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>
Carticosterone	31.77	340	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>
Phenylethyl Alcohol	32.95	122	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O
Azulene,1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro	38.95	340	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>
1-H-2-Benzopyran-1-one-3,4-dihydro-8-hydroxy-3-methyl	44.21	178	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>

ตารางที่ 10. องค์ประกอบทางเคมีของสารระเหยจากราเอนโดไฟต์ KB-H5-6 อายุ 6 วัน

ชื่อองค์ประกอบ	เวลา	มวล	สูตร
	(นาทีก)	โมเลกุล	โมเลกุล
Cyclohexene,1-methyl-4-[1-methylethyl]	15.25	136	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
1b,5,5,6a-Tetramethyl-octahydro-1-oxa-cyclopropa	16.96	208	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>
Benzene,1-chloro-3,5-bis[1,1-dimethylethyl]	19.21	280	C <sub>17</sub> H <sub>25</sub> ClO
4,5,6,7-Tetrahydroxy-1,8,8,9-tetramethyl-8,9-dihydrophenal	20.35	342	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>
3,5-Androstadien-17-one oxime	22.97	285	C <sub>19</sub> H <sub>27</sub> NO
Cyclohexanepropanol,2,2-dimethyl-6-methylene	24.23	182	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O
Caryophyllene	26.22	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
Androstan-17-one,3-ethyl-3-hydroxy	26.69	318	C <sub>21</sub> H <sub>34</sub> O
Benzeneacetamide	27.14	135	C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> NO
Benzoic acid	27.66	150	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>
1H-Indene,2-butyl-5-hexyloctahydro	28.60	264	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub>
Naphtalene,1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,8a-dimethyl	29.05	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
5,6,6-Trimethyl-5-[3-oxobol-1-eny]-1-oxaspiro[2,5]octan-4-one	29.30	236	C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub>
1,3,3-Trimethyl-2-[2-methyl-cyclopropyl]-cyclohexene	29.42	178	C <sub>13</sub> H <sub>22</sub>
2-Hydroxy-2,4,4-trimethyl-3-[3-methylbuta-1,3dienyl]	30.49	222	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>
Furan,3-phenyl	31.88	144	C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> O
Phenylethyl Alcohol	32.95	122	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O
Pregna-1,4-diene-3,20-dione,11,17,21-trihydroxy	38.11	360	C <sub>21</sub> H <sub>28</sub> O <sub>5</sub>
Stearic acid,3-[octadecycloxy]propylester	43.12	594	C <sub>39</sub> H <sub>78</sub> O <sub>3</sub>

ตารางที่ 11. องค์ประกอบทางเคมีของสารระเหยจากราเอนโดไฟต์ TR-B3-8 อายุ 3 วัน

ชื่อองค์ประกอบ	เวลา (นาที)	มวล โมเลกุล	สูตร โมเลกุล
$\alpha$ -Phellandrene	10.47	136	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene,2,6,6-trimethyl	12.82	136	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
Cyclohexene,1-methyl-4-[1-methylethylidene]	14.76	136	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
Dihydrofuro[2,3-e]phenalene,6-methoxy-8-oxo-2,3,3,10-tetramethyl	16.12	356	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>6</sub>
1,3,5,7-Cyclooctatetraene	16.93	104	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub>
Benzene,1-methyl-2-[1-methylethyl]	17.32	134	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>
2-Cyclohexen-1-ol,1-methyl-4-[1-methylethyl]	22.35	154	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
4[1,1-Dimethylallyl]-9-methoxy-7H-furo	22.96	284	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>
2-Cyclohexene-1-ol,1-methyl-4-[methylethyl]	24.52	154	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
3-Cyclohexen-1-ol,4-methyl-1-[1-methylethyl]	25.98	154	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
1H-Indene,2-butyl-5-hexyloctanhydro	28.60	264	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub>
Cholestan-3-ol,2-methylene	29.42	400	C <sub>28</sub> H <sub>48</sub> O
Phenylethyl Alcohol	32.96	122	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O

ตารางที่ 12. องค์ประกอบทางเคมีของสารระเหยจากราเอนโดไฟต์ LK-51A-3 อายุ 18 วัน

ชื่อองค์ประกอบ	เวลา (นาที)	มวลโมเลกุล	สูตร โมเลกุล
Santolinatriene	15.14	136	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
Furan,2-pentyl	16.10	138	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O
2-Butanone,3,4-epoxy-3-ethyl	16.73	114	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>
4-Nonanone	18.76	142	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O
4-Pentenal,2-methyl	19.21	98	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub> O
Benzene,1-ethyl-3-methyl	20.20	120	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub>
2-Hexen-1-ol,2-ethyl	21.82	128	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O
3,7,3',4'-Tetrahydroxyflavone	22.99	286	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>
2-Undecanol	23.58	172	C <sub>11</sub> H <sub>24</sub> O
3,5-Dimethylanisole	24.68	136	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O
Azulene,1,1,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,4-dimethyl	25.97	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
2-Ethyl-4-methylanisole	26.58	150	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O
Benzenemethanol,4-[1-methylethyl]	27.14	150	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O
1H-Indrene,2-butyl-5-hexyloctahydro	28.60	264	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub>
1,4-Metnanoazulen-7-ol,decahydro-1,5,5,8a-tetramethyl	29.41	222	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O
Acetic acid,2-phenylethylester	30.98	164	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>
4-Isopropyl-3-methoxymethylene-1,1-dimethyl- cyclohexane	31.14	196	C <sub>13</sub> H <sub>24</sub> O
3,5-Dimethylanisole	24.68	136	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O
Benzyl Alcohol	32.16	108	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O
Phenylethyl Alcohol	32.95	122	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O



ตารางที่ 13. องค์ประกอบทางเคมีของสารระเหยจากราเอนโดไฟต์ LK-R10-2 อายุ 12 วัน

ชื่อองค์ประกอบ	เวลา (นาที)	มวลโมเลกุล	สูตรโมเลกุล
Cyclohexene,1-methyl-4-[1-methylethyl]	15.27	136	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
1H-Naphthalene-2-one,3,4,5,6,7,8-hexahydro-4a, 8a-dimethyl	16.96	180	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O
4-Nonanone	18.75	142	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O
Benzene,1-ethyl-3-methyl	20.20	120	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub>
Benz[b]indeno[1,2-dipyrans-3,6a,9,10(6H)-tetrol, 7,11b-dihydro	22.97	286	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>
2-Undecanol	23.57	172	C <sub>11</sub> H <sub>24</sub> O
3,5-Dimethylanisole	24.68	136	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O
Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene,2,6-dimethyl	25.75	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
Azulene,1,1,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,4-dimethyl	25.96	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
Menthol,1'-[butyl-3-one-1-yl]	28.59	222	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>
1,4-Metnanoazulen-7-ol,decahydro-1,5,5,8a- tetramethyl	29.28	222	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O
Butanoic acid,1a,2,5,5a,6,9,10,10a-octahydro-5, 5a-dihydroxy	30.48	418	C <sub>24</sub> H <sub>34</sub> O <sub>6</sub>
Phenylethyl Alcohol	32.94	122	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O
Trans-z- $\alpha$ -Bisolone epoxide	35.58	220	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O
2-Isopropen-4a,8-dimethyl	38.94	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>

ตารางที่ 14. องค์ประกอบทางเคมีของสารระเหยจากราเอนโดไฟต์ KB-H10-8 อายุ 18 วัน

ชื่อองค์ประกอบ	เวลา (นาที)	มวล โมเลกุล	สูตรโมเลกุล
1-Cyclopentylcyclopentene	15.30	136	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
2-Butanone,3-4-epxy-3-ethyl	16.73	114	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>
2-Nonanone	18.75	142	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O
4-Pentenal,2-methyl	19.21	98	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O
Benzene,1-ethyl-3-methyl	20.19	120	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub>
Cyclopropanedodecanoic acid,2-octyl,methylester	21.02	366	C <sub>24</sub> H <sub>46</sub> O <sub>2</sub>
1-Pentyn-3-ol	22.55	84	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O
2-Nonanol	23.58	144	C <sub>9</sub> H <sub>20</sub> O
3,5-Dimethylanisole	24.68	136	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O
Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene,2,6-dimethyl-6-[4-methyl-3-pentenyl]	25.76	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
Azulene	25.97	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
Phenol,2,3,5,6-tetramethyl	26.56	150	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O
2-Isopropylidene-3-methylhexa-3,5-dienal	27.14	150	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O
1H-Indene,2-butyl-5-hexyloctahydro	27.94	264	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub>
Naphthalene	28.80	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
Azulene	28.94	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
1,4-Methanoazulen-7-ol	29.41	222	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O
Acetic acid,2-phenylester	30.97	164	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>
Phenylethyl Alcohol	32.94	122	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O
Naphthalene,decahydro-1,1,4a-trimethyl-6-methylene	40.24	272	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub>

ตารางที่ 15. องค์ประกอบทางเคมีของสารระเหยจากราเอนโดไฟต์ LK-51B-1 อายุ 6 วัน

ชื่อองค์ประกอบ	เวลา (นาที)	มวล โมเลกุล	สูตรโมเลกุล
$\alpha$ -Phellandrene	10.53	136	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene,2,6,6-trimethyl	13.07	136	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
Cyclohexene,1-methyl-4-[1-methylethylidene]	14.72	136	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
1,4-Cyclohexadiene,1-methyl-4-[1-methylethyl]	16.62	136	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
1,3,5,7-Cyclooctatetraene	16.93	104	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub>
Benzene,1-methyl-2-[1-methylethyl]	17.30	134	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>
4,5,6,7-Tetrahydroxy-1,8,8,9-tetramethyl-8,9-dihydrophenalenol	20.35	342	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>
Thujone	22.04	152	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O
Cyclohexanone,5-methyl-2-[1-methylethyl]	22.67	154	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
Benz[b]indeno[1,2-dipyran-3,6a,9,10(6H)-tetrol,7,11b-dihydro	22.98	286	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>5</sub>
2-Cyclohexene-1-ol,1-methyl-4-[1-methylethyl]	24.51	154	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
1-Propanal,1-[1-cyclohexen-1-yl]	25.51	138	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O
3-Cyclohexen-1-ol,4-methyl-1-[1-methylethyl]	25.98	122	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
13-Heptadecyn-1-ol	26.76	252	C <sub>17</sub> H <sub>32</sub> O
1H-Indene,5-butyl-6-hexyloctahydro	28.61	264	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub>
Napthalene,1,2,4a,5,6,8a-hexahydro	29.09	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
5,6,6-Trimethyl-5-[3-oxobut-1-enyl]-1-oxaspiro[2.5]octan-4-one	29.29	236	C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub>
1,3,3-Trimethyl-2-[2-methyl-cyclopropyl]-cyclohexene	29.42	178	C <sub>13</sub> H <sub>22</sub>
Chloestan-3-ol,2-methylene	30.49	400	C <sub>28</sub> H <sub>48</sub> O
Phenylethyl Alcohol	32.96	122	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O

ตารางที่ 16. องค์ประกอบทางเคมีของสารระเหยจากราเอนโดไฟต์ LK-51A-4 อายุ 28 วัน

ชื่อองค์ประกอบ	เวลา (นาที)	มวล โมเลกุล	สูตรโมเลกุล
Santolinatriene	15.14	136	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
1,4-Cyclohexadiene,1-methyl-4-[1-methylethyl]	15.56	136	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
Dihydrofuro[2,3-e]phenalene,6-methoxy	16.26	356	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O <sub>6</sub>
2,6-Dimethyl-1,3,5,7-octatetratene	16.73	134	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>
2-Heptanol	18.26	116	C <sub>7</sub> H <sub>16</sub> O
4,5,6,7-Tetrahydroxy-1,8,8,9-tetramethyl-8,9-dihydrophenaleno[1,2-b]furan-3-one	20.35	342	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>
Cyclohexanone,5-methyl-2-[1-methylethyl]	22.67	154	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
4[1,1-Dimethylallyl]-9-methoxy-7H-furo[3,2-g]-benzopyran-7-one	22.97	284	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>
3,6-Dimethyl-2,3,3a,4,5,7a-hexahydrobenzofuran	24.00	152	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O
1H-cycloprople azulene,1a,2,3,4,4a,5,6,7b-octahydro-1,1,4,7-tetramethyl	24.58	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
Cyclohexanol,5-methyl-2-[1-methylethyl]	25.06	198	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>
Cyclopentane,1-isobutylidene-3-methyl	26.76	138	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub>
Aniline	29.63	93	C <sub>6</sub> H <sub>7</sub> N
1-Methylcyclohexa-1,3-diene	30.10	94	C <sub>7</sub> H <sub>10</sub>
Bicyclo[2.2.1]heptane,2,2-dimethyl-3-methylene	32.12	136	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
Phenylethyl Alcohol	32.94	122	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O
Benzothiazole	34.17	135	C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> NS
Phenol,2-ethyl	38.11	122	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O

ตารางที่ 17. องค์ประกอบทางเคมีของสารระเหยจากราเอนโดไฟต์ KB-H3-6 อายุ 18 วัน

ชื่อองค์ประกอบ	เวลา (นาที)	มวล โมเลกุล	สูตรโมเลกุล
3,7,3',4'-Tetrahydroxyflavone	12.19	286	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>
Cyclohexene,1-methyl-4-[1-methylethyl]	15.16	136	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
Furan,2-pentyl	15.99	138	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O
3,6-Dimethyl-4-octanone	16.76	156	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O
4-Nonanone	18.76	142	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O
4-Pentenal,2-methyl	19.22	98	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O
3-Octanol	20.30	130	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub> O
Pregn-9(11)-en-3-one,18,20-dihydroxy-cyclic 1,2-ethanediylacetal	20.45	376	C <sub>23</sub> H <sub>36</sub> O <sub>4</sub>
Benzene,1-methyl-4-[1-methylethyl]	21.62	132	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub>
Cyclobutancarboxylic acid,2-propenylester	22.55	140	C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>
2-Decanol	23.58	158	C <sub>10</sub> H <sub>22</sub> O
3,5-Dimethylanisole	24.68	136	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O
Z,Z,Z-4,6,9-Nonadecatriene	25.59	262	C <sub>19</sub> H <sub>34</sub>
Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene,2,6-dimethyl-6-[4-methyl- 3-pentenyl]	25.76	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
Azulene	25.97	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
1H-Indene,5-butyl-6-hexyloctahydro	28.60	264	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub>
Naphthalene,1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-1, 8a-dimethyl-7-[1-methylethenyl]	28.79	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>

#### 4. สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองแยกราเอนโดไฟต์จากพืชด้วยวิธีฆ่าเชื้อที่ผิวหน้าจากพืชแหล่งต่างๆ ได้แก่ สถานีวิจัยลำตะคอง จ. นครราชสีมา ได้ราเอนโดไฟต์ 46 ไอโซเลต จากพืช 51 ชนิด, จากศูนย์วิจัยยาง จ. กระบี่ ได้ราเอนโดไฟต์ 65 ไอโซเลต จากพืช 9 ชนิด, จากสถานีวิจัยพืชสวน จ. กระบี่ ได้ราเอนโดไฟต์ 152 ไอโซเลต จากพืช 10 ชนิด และจากสวนพฤกษศาสตร์สากลภาคใต้ จ. ตรัง ได้ราเอนโดไฟต์ 24 ไอโซเลต จากพืช 3 ชนิด. การจัดจำแนกเชื้อราเอนโดไฟต์ที่แยกได้ โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology), พบว่า ราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากตัวอย่างที่สร้างสปอร์เป็นราในกลุ่ม Coelomycetes ได้แก่ *Alternaria* sp., *Colletotrichum acunatum*, *C. gloeosporioides*, *Fusarium* sp., *Nigrospora* sp., *Pestalotiopsis* sp. และ *Phomopsis* sp. ส่วนรากลุ่มที่ไม่สร้างสปอร์โดยมีเส้นใยสีขาวและดำ (sterile mycelium) เป็นราในกลุ่ม *Mycelia sterilia* และราในกลุ่ม *Xylariaceae* ซึ่งไม่สามารถจัดจำแนกชนิดได้. จากนั้น คัดเลือกราเอนโดไฟต์ที่มีคุณสมบัติเป็น Bio-fumigant, โดยทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช 5 ชนิด คือ *Alternaria alternata*, *Curvularia clavata*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Penicillium digitatum* และ *Phomopsis* sp. โดยวิธีแรก, วางราเอนโดไฟต์บนอาหาร PDA ไว้ด้านหนึ่งของจานเพาะเชื้อ, อีกด้านหนึ่งวางราสาเหตุโรคพืช. ส่วนกลางของจานเพาะเชื้อ ตัดขึ้นวุ้นออก 2 เซนติเมตร พบว่า ราเอนโดไฟต์ที่มีประสิทธิภาพในการสร้างสารระเหยมายับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช 11 ไอโซเลต ได้แก่ LK6-3, LK7-6, KB-H5-6, TR-B3-8, KB-H3-4, KB-R10-2, LK51A-3, KB-H10-8, LK51B-1, KB-H3-6 และ LK51A-4. โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเฉลี่ยเป็น 24, 18.8, 17.5, 16.5, 15.2, 13.5, 13.2, 10.3, 8.8, 8.6 และ 6.3 ตามลำดับ. วิธีที่ 2, ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืชในจานเพาะเชื้อ 3 ช่องบนอาหาร PDA, โดยใส่เชื้อราเอนโดไฟต์ที่ต้องการทดสอบ 1 ช่องและราสาเหตุโรคพืช 2 ช่อง, พบว่า มีราเอนโดไฟต์ 11 ไอโซเลต ที่สามารถยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช ได้แก่ LK6-3, LK7-6, KB-H3-4, KB-H5-6, TR-B3-8, LK-51A-3, KB-R10-2, KB-H10-8, LK-51B-1, LK51A-4 และ KB-H3-6. โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเฉลี่ยเป็น 22, 19.6, 19.2, 17.5, 16.2, 15.9, 14.8, 10.3, 9.7, 6.3 และ 5 ตามลำดับ. ผลการทดลองทั้ง 2 วิธีสอดคล้องกัน. ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสารระเหยที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งราสาเหตุโรคพืชจากราเอนโดไฟต์ พบว่า เป็นสารในกลุ่มแอลกอฮอล์, กรด, เอสเทอร์, คีโตน และไขมัน. ราเอนโดไฟต์จะสร้างสารกลุ่มนี้ช่วงที่ราเอนโดไฟต์มีอายุ 3-38 วัน ขึ้นกับชนิดของราเอนโดไฟต์. การทดลองนี้เป็นการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการ ควรพัฒนานำไปใช้กับผลไม้สดหลังการเก็บเกี่ยวในสภาวะจริง. โครงการนี้ได้เก็บรักษาราเอนโดไฟต์ที่แยกได้ที่ฝ่ายเทคโนโลยีการเกษตรและศูนย์จุลินทรีย์ ฝ่ายวิทยาศาสตร์ชีวภาพ, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.

## 5. ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับราเอนโดไฟต์ที่ไม่สามารถจัดจำแนกชนิดได้ โดยการสกัด DNA เพื่อหาลำดับเบส และควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีของสารระเหยที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งราสาเหตุโรคพืช เพื่อนำมาพัฒนาใช้กับผักผลไม้สดหลังการเก็บเกี่ยวในสภาวะจริง และควรพัฒนาราเอนโดไฟต์ให้เป็นสารชีวภัณฑ์ เพื่อใช้ควบคุมและกำจัดศัตรูพืช ทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว เพื่อลดการใช้สารเคมีที่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม.

## 6. เอกสารอ้างอิง

- รายชื่อนคร, มงคล. 2537. แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี. เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.  
ศูนย์บริการเครื่องมือวิทยาศาสตร์. 2554. แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี. [ออนไลน์]. เข้าถึง  
ได้จาก: <http://www.kmitl.ac.th/sisc/GC-MS/main.html> [เข้าถึงเมื่อ : 10 สิงหาคม 2554].
- Bayman, P., Lobron, L. L., tremblay, R. L. and Lodge, D. J., 1997. Variation in endophytic fungi from roots and leaves of *Lepanthes* (Orchidaceae). *New Phytologist.*, 135, pp. 143-149.
- Carroll, G. C., 1990. Fungal endophytes in vascular plants: mycological research opportunities in Japan. *Trans. Mycol. Soc. Japan.*, 31, pp. 103-116.
- Ezra, D., Hess, W. M. and Strobel, G., 2004. New endophytic isolates of *Muscodora albus*, a volatile-antibiotic-producing fungus. *Microbiology.*, 150, pp. 4023-4031.
- Faeth, S. H. and Hammon, K. E., 1997. Fungal endophyte in oak trees: experimental analyses of interactions with leafminers. *Ecology.*, 78, pp. 820-827.
- Fong, Y. K., Anuar, H. P., Tham, F. Y. and Sanderson, F.R., 2000. A Modified filter paper technique of long-term preservation of some fungal culture. *Mycologist.*, 14, Part 3.
- Li, J. Y. and Strobel, G. A., 2001. Jesterone and hydroxyl-jesterone antioomycete cyclohexenone epoxides from the endophytic fungus *Pestalotiopsis jesteri*. *Phytochemistry.*, 57, pp. 261-265.
- Mercier, J. and Jimenez, J. I., 2004. Control of fungal decay of apples and peaches by the biofumigant fungus *Muscodora albus*. *Postharvest biology and technology.*, 31, pp. 1-8.
- Okane, I., Nakagiri, A. and Ito, T., 1997. Preliminary study of endophytic fungi in evergreen plants from Ishigaki and Irimote Islands. The Institute for Fermentation, Osaka Research Communications., 18, pp. 45-71.
- Preszler, R.W., Gaylord, E.S. and Boecklen, W. J., 1996. Reduced parasitism of leaf-mining moth on trees with high infection frequencies of endophytic fungus, *Oecologia.*, 108, pp. 159-199.



- Strobel, G. A. and Long, D. M., 1998. Endophytic Microbes Embody Pharmaceutical Potential. *ASM News.*, 64(5), pp. 263-266.
- Strobel, G. A., Miller, R. V., Martinez-miller, C., Condrón, M. M., Teplow, D. B. and Hess, W. M., 1999. *Cryptosporiopsis* cf. *quercina*. *Microbiology.*, 145, pp. 1919-1926.
- Strobel, G. A., Daisy, B., Castillo, U. and Harper, J., 2001. Volatile antimicrobial from *Muscodor albus*, a novel endophytic fungus. *Microbiology.*, 147, pp. 2943-2950.
- Supreeya, M., Sanoamuang, N., Sirithorn, P. and Thummabenjapone, P., 2003. Antagonistic ability of *Bacillus* spp. from various sources to some plant pathogens. KKU : In Annual Agricultural Seminar for Year 2003, 27-28 January.
- Sutton, B. C., 1980. The coelomycetes fungi imperfecti with pycnidia acervuli and stroma. England : Commonwealth Mycological Institute, 695 p.
- Ting, A. S. Y., Meon, S., Kadir, J., Radu, S. and Singh, G., 2008. Endophytic microorganism as potential growth promoters of banana. *Biocontrol.*, 53, pp. 541-553.
- Ting, A. S. Y., Mah, S. W. and Tee, C. S., 2010. Identification of Volatile Metabolites from Fungal Endophytes with Biocontrol Potential towards *Fusarium oxysporum* F. sp. *Cubense* Race 4. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences.*, 5(2), pp. 177-182.
- Yoshida, S. et al., 2001. Antimicrobial activity of culture filtrate of *Bacillus amyloliquefaciens* RC-2 isolated from mulberry leaves. *Phytopathology.*, 91, pp. 181-187.

## 7. ภาคผนวก

ภาคผนวก ก  
ลักษณะราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากการทดลอง

จากการทดลองเก็บตัวอย่างพืชหลายชนิดจากแหล่งต่างๆ เพื่อจะได้ราเอนโดไฟต์ที่มีความหลากหลาย ได้แก่ :

1. ตัวอย่างราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากการเก็บตัวอย่างพืชที่สวนสมุนไพรเกษียรดี สถานีวิจัยลำตะคอง จ. นครราชสีมา ดังแสดงในตารางที่ 1.

ตารางที่ 1. ลักษณะราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากการเก็บตัวอย่างพืชที่สวนสมุนไพรเกษียรดี สถานีวิจัยลำตะคอง จ. นครราชสีมา

รหัส	ราเอนโดไฟต์	ลักษณะ
LK-1		
LK-1-2	<i>Mycelia sterilia</i>	เส้นใยละเอียดสีขาว สร้างสีม่วงลงในอาหาร PDA
LK-2		
LK-2-3	Xylariaceous	เส้นใยสีขาว
LK-5		
LK-5-3	<i>Mycelia sterilia</i>	โคโลนีขอบหยัก สีเทาเขียว-ดำ
LK-6		
LK-6-3*	<i>Mycelia sterilia</i>	เส้นใยสีขาว มีสีดำบางประปราย เส้นใยบางส่วนเจริญอยู่ภายในอาหารไม่สร้างสปอร์ โตช้า
LK-7		
LK-7-6*	<i>Mycelia sterilia</i>	เส้นใยสีขาวกลืนเหม็น สร้างสีน้ำตาลลงในอาหาร
LK-10		
LK-10-1	<i>Curvularia lunata</i>	เส้นใยฟูสีดำ
LK-11		
LK-11-2	<i>Mycelia sterilia</i>	เส้นใยสีขาว สร้าง synnemata สีขาวคล้ายดอกเห็ด
LK-12		
LK-12-5	<i>Phomopsis</i> sp.	เส้นใยเรียบไปกับอาหาร สร้างสปอร์ 2 แบบ
LK-18		
LK-18-5	<i>Nigrospora</i> sp.	เส้นใยเรียบสีเทา
LK-31		
LK-31-1	<i>Aspergillus terreus</i>	เส้นใยเรียบสีดำ สร้างสปอร์

หมายเหตุ : \* หมายถึง ราเอนโดไฟต์ที่แยกได้มีการสร้างกลิ่น

ตารางที่ 1. (ต่อ)

รหัส	ราเอนโดไฟต์	ลักษณะ
LK-35		
LK-35-6	<i>Fusarium</i> sp.	สร้าง uniphilide สปอร์ค่อนข้างยาวเห็น foot shaped
LK-36		
LK-36-1	<i>Curvularia</i> sp.	เส้นใยฟูสีดำ สร้างสปอร์
LK-37		
LK-37-9	<i>Nigrospora</i> sp.	เส้นใยเรียบสีเทา
LK-38		
LK-38-5	<i>Pestalotiopsis</i> sp.	เส้นใยเรียบสีขาวย สร้างสปอร์
LK-49		
LK-49-2	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	เส้นใยฟูสีขาวย สร้างสารเมือกสีส้ม
LK-49-3	<i>Phoma</i> sp.	เส้นใยสีขาวย สปอร์มีขนาดเล็ก
LK-49-4	<i>Alternaria</i> sp.	เส้นใยเรียบ สีเทา-ดำ
LK-49-2	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	เส้นใยฟูสีขาวย
LK-49-3	<i>Phoma</i> sp.	เส้นใยสีขาวย สปอร์มีขนาดเล็ก
LK-49-7	<i>Alternaria</i> sp.	เส้นใยเรียบ สีเทา-ดำ
LK-49-11*	<i>Alternaria</i> sp.	เส้นใยเรียบ สีเทา-ดำ
LK-50		
LK-50-2	<i>Nigrospora</i> sp.	เส้นใยเรียบสีเทา
LK-50-3*	<i>Phomopsis</i> sp.	โคโลนีสีเหลือง
LK-50-5	<i>Phomopsis</i> sp.	โคโลนีสีขาวย
LK-50-6	<i>Mycelia sterilia</i>	เส้นใยละเอียดสีขาวย สร้างสีม่วงลงในอาหาร PDA
LK-50-7*	Xylariaceous	เส้นใยฟูสีขาวย-เขียว
LK-50-10	<i>Mycelia sterilia</i>	โคโลนีขอบหยัก สีเทาเขียว-ดำ

ตารางที่ 1. (ต่อ)

รหัส	ราเอนโดไฟต์	ลักษณะ
LK-51		
LK51A-1	<i>Mycelia sterilia</i>	เส้นใยสีขาว มีสีดำบ้างประปราย เส้นใยบางส่วนเจริญอยู่ภายในอาหาร ไม่สร้างสปอร์ โตช้า
LK51A-2	<i>Mycelia sterilia</i>	กลิ่นเหม็น สร้างสีน้ำตาลลงในอาหาร
LK51A-3*	<i>Curvularia lunata</i>	เส้นใยฟูสีดำเทา สร้างสปอร์
LK51A-4*	<i>Mycelia sterilia</i>	เส้นใยสีขาว สร้าง synnemata สีขาวคล้ายดอกเห็ด เส้นใยพันกัน
LK51A- 5	<i>Phomopsis</i> sp.	เส้นใยเรียบไปกับอาหาร สร้างสปอร์ 2 แบบ
LK51A- 8	<i>Nigrospora</i> sp.	เส้นใยเรียบสีเทา
LK51A- 9	<i>Aspergillus terreus</i>	เส้นใยเรียบสีดำ
LK51A- 10*	<i>Fusarium</i> sp.	สร้าง uniphilide สปอร์ค่อนข้างยาวเห็น foot shaped
LK51A- 11	<i>Curvularia</i> sp.	เส้นใยฟูสีดำ
LK51A- 12	<i>Nigrospora</i> sp.	เส้นใยเรียบสีเทา
LK51A- 13	<i>Pestalotiopsis</i> sp.	เส้นใยเรียบสีขาว สร้างสปอร์
LK51A- 16	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	เส้นใยฟูสีขาว สร้างสารเมือกสีส้ม
LK51A- 19	<i>Phoma</i> sp.	เส้นใยสีขาว สปอร์มีขนาดเล็ก
LK51A- 20	<i>Alternaria</i> sp.	เส้นใยเรียบ สีเทา-ดำ
LK-51B		
LK51B- 1	<i>Alternaria</i> sp.	เส้นใยเรียบ สีเทา-ดำ
LK51B- 10	<i>Alternaria</i> sp.	เส้นใยเรียบ สีเทา-ดำ
LK51B- 12	<i>Nigrospora</i> sp.	เส้นใยเรียบสีเทา
LK51B- 13	<i>Phomopsis</i> sp.	โคโลนีสีเหลือง
LK51B- 15	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	เส้นใยฟูสีขาวอมเทา

2. ตัวอย่างราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากการเก็บตัวอย่างพืชที่สถาบันวิจัยยางหรือศูนย์วิจัยยาง จ. กระบี่ ดังแสดงในตารางที่ 2.

ตารางที่ 2. ลักษณะราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากการเก็บตัวอย่างพืชที่สถาบันวิจัยยาง หรือ ศูนย์วิจัยยาง จ. กระบี่

รหัส	ราเอนโดไฟต์	ลักษณะ
KB-R2		
KB-R2-1	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	โคโลนีค่อนข้างหนา เส้นใยฟูสีเทา-ดำ
KB-R2-2	<i>Pyrenomyces Sphaeriales</i> <i>Xylariaceae</i>	สร้าง ascospore สีดำ
KB-R2-4	<i>Phomopsis</i> sp.	โคโลนีสีขาว เส้นใยซ้อนกันเป็นชั้นๆ
KB-R2-5	<i>Phomopsis</i> sp.	โคโลนีสีเหลือง
KB-R2-6*	<i>Phomopsis</i> sp.	โคโลนีสีเหลือง
KB-R2-7	<i>Phomopsis</i> sp.	โคโลนีสีขาว เรียบ สร้าง pigment สีดำ
KB-R2-8	<i>Phomopsis</i> sp.	โคโลนีสีขาว เส้นใยซ้อนกันเป็นชั้นๆ
KB-R2-9	<i>Phomopsis</i> sp.	โคโลนีสีขาว เส้นใยซ้อนกันเป็นชั้นๆ
KB-R2-10*	<i>Xylariaceae</i>	ไม่ค่อยพบ synnemata เส้นใยฟู
KB-R2-12	<i>Xylariaceae</i>	เส้นใยฟู สร้าง synnemata ขนาดเล็ก
KB-R2-13	<i>Phomopsis</i> sp.	โคโลนีสีเหลือง เชื้อราโคค่อนข้างช้า
KB-R2-14	<i>Phyllosticta</i> sp.	โคโลนีสีเขียว-เทา เส้นใยเรียบ
KB-R2-15	<i>Phomopsis</i> sp.	โคโลนีสีเหลือง สร้าง pigment สีดำ
KB-R2-16	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	โคโลนีสีเทาเข้ม สร้างสารเมือกสีส้ม
KB-R3		
KB-R3-1*	<i>Xylariaceae</i>	เส้นใยฟู synnemata ยาวมาก spore สีครีม-ส้ม
KB-R3-2	<i>Xylariaceae</i>	synnemata สั้นมาก จำนวนมาก spore สีครีม
KB-R3-3	<i>Xylariaceae</i>	เส้นใยฟู ไม่ค่อยพบ synnemata
KB-R3-4	<i>Xylariaceae</i>	เส้นใยฟู พบ synnemata ไม่มาก ขนาดเล็ก
KB-R3-5	<i>Xylariaceae</i>	โคโลนีสีขาว synnemata ผอมไม่ยาวมากนัก
KB-R3-7	<i>Phomopsis</i> sp.	โคโลนีสีเหลือง
KB-R3-8	<i>Pestalotiopsis</i> sp.	เส้นใยเรียบ สีขาว

หมายเหตุ : \* หมายถึง ราเอนโดไฟต์ที่แยกได้มีการสร้างกลิ่น

ตารางที่ 2. (ต่อ)

รหัส	ราเอนโดไฟต์	ลักษณะ
KB-R3		
KB-R3-9	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	โคโลนีค่อนข้างนูน เส้นใยฟูสีเทา-ดำ
KB-R3-10	<i>Mycelia sterilia</i>	Dematiaceous hyphomycetes สี grey
KB-R3-12	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	โคโลนีค่อนข้างนูน เส้นใยฟูสีเขียว-ดำ
KB-R3-13	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	เส้นใยฟูสีขาว สร้างสารเมือกสีส้ม
KB-R3-23	<i>Mycelia sterilia</i>	เส้นใยฟูสีขาว ไม่สร้างสปอร์
KB-R3-24	<i>Mycelia sterilia</i>	เส้นใยฟูสีขาว ไม่สร้างสปอร์
KB-R3-25	Xylariaceae	เส้นใยเรียบสีขาว synnemata สีครีม
KB-R4		
KB-R4-1*	<i>Mycelia sterilia</i>	เส้นใยบางสีน้ำตาลอ่อน มีกลิ่น
KB-R4-3	<i>Phomopsis</i> sp.	โคโลนีสีขาว สร้าง pigment สีดำ
KB-R4-4	<i>Phomopsis</i> sp.	โคโลนีสีขาว
KB-R4-5	<i>Mycelia sterilia</i>	เส้นใยบางสีขาว ไม่สร้างสปอร์
KB-R4-6	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	เส้นใยฟูสีขาว สร้างสารเมือกสีส้ม
KB-R4-7	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	เส้นใยฟูสีเทาเข้ม
KB-R4-8	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	เส้นใยฟูสีขาว สร้างสารเมือกสีส้ม
KB-R6		
KB-R6-2*	<i>Mycelia sterilia</i>	ไม่สร้าง Fruiting body เส้นใยบางสีน้ำตาลทอง (มีกลิ่น)
KB-R6-4	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	เส้นใยฟูสีเทา
KB-R6-5	<i>Colletotrichum acunatum</i>	เส้นใยฟูสีขาวอมเทา
KB-R6-6*	<i>Mycelia sterilia</i>	เส้นใยสีขาวราบไปกับหน้าอาหาร ไม่สร้าง Fruiting body
KB-R6-10	<i>Pestalotiopsis</i> sp.	เส้นใยฟูสีขาว สร้าง pigment สีดำ
KB-R6-12	<i>Phomopsis</i> sp.	โคโลนีสีเหลือง
KB-R6-13	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	โคโลนีค่อนข้างนูน เส้นใยฟูสีเทา-ดำ
KB-R6-14	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	เส้นใยฟูสีขาว สร้างสารเมือกสีส้ม
KB-R6-15	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	โคโลนีค่อนข้างนูน เส้นใยฟูสีเขียว-ดำ
KB-R6-16	Xylariaceae	synnemata ไม่ยาวมากนัก
KB-R6-18	<i>Cladosporium Cladosporioides</i>	โคโลนีค่อนข้างนูน เส้นใยฟูสีเทา-ดำ
KB-R6-19	Pyrenomycetes Spheriales Xylariaceae	โคโลนีสีเขียวอมดำ สร้าง stroma



ตารางที่ 2. (ต่อ)

รหัส	ราเอนโดไฟต์	ลักษณะ
KB-R8		
KB-R8-2	Xylariaceous	synnemata ยาวขนาดใหญ่ สปอร์สีครีม
KB-R8-3	<i>Phomopsis</i> sp.	โคโลนีสีเหลือง
KB-R8-5	Xylariaceous tiny synnemata	เส้นใยเรียบสีขาว
KB-R8-6	Xylariaceous tiny synnemata	เส้นใยเรียบสีขาว
KB-R8-7	Xylariaceous	เส้นใยเรียบสีขาว เจริญเติบโตช้า
KB-R8-8*	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	เส้นใยฟู สีขาว-เทา มีกลิ่น
KB-R8-9	<i>Phomopsis</i> sp.	โคโลนีสีขาว เส้นใยซ้อนกันเป็นชั้น
KB-R8-10	<i>Phomopsis</i> sp.	โคโลนีสีขาว เส้นใยซ้อนกันเป็นชั้น
KB-R8-11	<i>Phomopsis</i> sp.	โคโลนีสีขาว เส้นใยซ้อนกันเป็นชั้น
KB-R8-13	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	เส้นใยฟูสีขาว สร้างสารเมือกสีส้ม
KB-R8-15*	<i>Mycelia sterilia</i>	เส้นใยฟู สีขาว มีกลิ่น
KB-R8-16	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	โคโลนีค่อนข้างนูน เส้นใยฟูสีเทา-ดำ
KB-R10		
KB-R10-1	Xylariaceous	เส้นใยฟู synnemata ขนาดปานกลาง-ยาว spore สีครีม
KB-R10-2*	Xylariaceous	เส้นใยฟูสีขาว-ครีม synnemata ขนาดกลาง-ยาว
KB-R10-3	Pyrenomycetes Spheriales xylariaceae	โคโลนีสีเขียวมดำ สร้าง stroma
KB-R10-4	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	เส้นใยฟู สร้าง synnemata สีครีม ค่อนข้างสั้น
KB-R10-5	Xylariaceous	เส้นใยเรียบสีขาว เจริญเติบโตช้า
KB-R10-8	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	เส้นใยฟูสีขาว สร้างสารเมือกสีส้ม
KB-R10-9	<i>Phomopsis</i> sp.	โคโลนีสีขาว เส้นใยซ้อนกันเป็นชั้น

3. ตัวอย่างราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากการเก็บตัวอย่างพืชที่สถานีวิจัยพืชสวน จ. กระบี่ ดังแสดงในตารางที่ 3.

ตารางที่ 3. ลักษณะราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากการเก็บตัวอย่างพืชที่สถานีวิจัยพืชสวน จ. กระบี่

รหัส	ราเอนโดไฟต์	ลักษณะ
KB-H2		
KB-H2-1	<i>Fusarium semitectum</i>	เส้นใยฟูสีขาว สร้างสปอร์
KB-H2-6	<i>Acremonium</i> sp.	เส้นใยสีขาวย่นไปกับอาหาร สร้าง spore ขนาดเล็ก
KB-H2-7*	Xylariaceae	ไม่ค่อยพบ Synnemata มีกลิ่น เส้นใยฟู สีขาว
KB-H2-9	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	โคโลนีค่อนข้างหนูน เส้นใยฟูสีเขียว-ดำ
KB-H2-10	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	เส้นใยฟูสีเทาเมื่ออายุมากขึ้นเส้นใยจะเป็นสีดำ
KB-H2-15	<i>Phomopsis</i> sp.	ไม่พบ Fruiting body เส้นใยสี cinnamon
KB-H2-16*	<i>Mycelia sterilia</i>	เส้นใยฟูสีขาวย โคโลนีสีขาว-ครีม
KB-H3		
KB-H3-3	Xylariaceae synnemata	สีขาวครีมป้อมๆ ไม่ยาวมากนัก spore สีครีม
KB-H3-4*	Xylariaceae	เส้นใยฟูสร้างสปอร์สีครีม synnemata ยาวใหญ่สี dark grey
KB-H3-6*	Xylariaceae	มีกลิ่น synnemata ขนาดใหญ่มีทั้งรูป club-shape and loob เส้นใยเรียบ สีขาว
KB-H3-7	Xylariaceae	เส้นใยฟูไม่ค่อยพบ synnemata
KB-H3-10	<i>Virgareilla</i> sp.	Colony dark brown
KB-H3-11	<i>Mycelia sterilia</i>	เส้นใยบางใสละเอียด สร้าง pigment สีส้มอมชมพู ลงในอาหาร
KB-H3-12	Xylariaceae	เส้นใยฟูไม่ค่อยพบ synnemata
KB-H3-13	<i>Phomopsis</i> sp.	เส้นใยเรียบสีขาว โตช้า สร้าง pigment สีดำ
KB-H3-15	<i>Mycelia sterilia</i>	เส้นใยสีขาวย ไม่สร้างสปอร์
KB-H3-16	<i>Phomopsis</i> sp.	สร้าง alpha spore > beta spore
KB-H3-17	<i>Fusarium oxysporum</i>	เส้นใยฟูสีขาวย เมื่ออายุมากขึ้นเส้นใยจะมีสีม่วง
KB-H3-18	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	โคโลนีค่อนข้างหนูน เส้นใยฟูสีเทา-ดำ
KB-H3-22	Xylariaceae	Pyrenomycetes Sphiriales Xylariaceae สร้าง ascospore สีดำ

หมายเหตุ : \* หมายถึง ราเอนโดไฟต์ที่แยกได้มีการสร้างกลิ่น

ตารางที่ 3. (ต่อ)

รหัส	ราเอนโดไฟต์	ลักษณะ
KB-H4		
KB-H4-1	Xylariaceouse	tiny synnemata
KB-H4-2*	Xylariaceous	synnemata เยอะมาก spore สีส้ม
KB-H4-3	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	เส้นใยฟูสีขาวอมเทา สร้างสารเมือกสีส้ม
KB-H4-4	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	โคโลนีค่อนข้างหนูน เส้นใยฟูสีเขียว-ดำ
KB-H4-5	<i>Phomopsis</i> sp.	โคโลนีสีขาวและมีสีเหลืองปน
KB-H4-9	<i>Phomopsis</i> sp.	โคโลนีสีขาวและมีสีเหลืองปน
KB-H4-13	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	เส้นใยฟูสีเทาเข้ม สร้างสารเมือกสีส้ม
KB-H4-14	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	เส้นใยฟูสีขาวอมเทา สร้างสารเมือกสีส้ม
KB-H5		
KB-H5-1	<i>Phomopsis</i> sp.	โคโลนีสีขาว เส้นใยซ้อนกันเป็นชั้น
KB-H5-2	Xylariaceous	เส้นใยฟู
KB-H5-3	<i>Pestalotiopsis</i> sp.	เส้นใยฟู สีขาว สร้างสปอร์
KB-H5-4	Xylariaceous	เส้นใยฟู synnemata พอมและยาว
KB-H5-5	Xylariaceous	เส้นใยฟู synnemata พอมและยาว
KB-H5-6*	<i>Pestalotiopsis</i> sp.	เส้นใยฟูสีขาว-เทา สร้าง pigment สีดำ
KB-H5-7	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	เส้นใยฟูสีเทาเข้ม สร้างสารเมือกสีส้ม
KB-H5-8	<i>Cladosporium / Cyindrocladium</i>	
KB-H5-9	<i>Pyricularia</i> sp.	Spore hyaline single cell
KB-H5-10	<i>Fusarium oxysporum</i>	เส้นใยฟูสีเทาเข้ม เมื่ออายุมากขึ้นเส้นใยเป็นสีขาอมม่วง
KB-H5-11	<i>Pestalotiopsis</i> sp.	เส้นใยฟูสีเทาเข้ม สร้าง pigment สีดำ
KB-H7		
KB-H7-3	Xylariaceous	เส้นใยฟู สร้าง synnemata พอมมาก spore ellipsoid single cell
KB-H7-4*	Xylariaceous	เส้นใยฟูสีเทาเข้ม สร้าง synnemata ยาว สีน้ตาล-ดำ spore สีส้ม-ครีม
KB-H7-5	Xylariaceous	เส้นใยฟูค่อนข้างราบไปกับหน้าอาหาร
KB-H7-6	Xylariaceouse	เส้นใยฟู สร้าง synnemata พอมมาก spore ellipsoid single cell
KB-H7-7	Xylariaceous	เส้นใยฟูไม่ค่อยพบการสร้าง synnemata

ตารางที่ 3. (ต่อ)

รหัส	ราเอนโดไฟต์	ลักษณะ
KB-H7-10	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	เส้นใยฟูสีเทาเข้ม
KB-H7-11	<i>Phomopsis</i> sp.	เส้นใยเรียบสีขาว โตช้า สร้าง pigment สีดำ
KB-H7-12	Xylariaceous synnemata	สีน้ำตาลล้น พบไม่มาก
KB-H7-13	Xylariaceous	สร้าง synnemata สีขาวครีม รูปร่างยาว
KB-H7-14	<i>Pestalotiopsis</i> sp.	เส้นใยฟูสีขาว สร้าง pigment สีดำ
KB-H8		
KB-H8-2	<i>Mycelia sterilia</i>	มีกลิ่นเหมือนเห็ด
KB-H8-3	<i>Phomopsis</i> sp.	โคโลนีสีเหลือง เส้นใยเรียบซ้อนกันเป็นชั้น
KB-H8-4	<i>Acremonium</i> sp.	เส้นใยสีขาวแนบไปกับอาหาร มี spore ขนาดเล็ก
KB-H8-5*	<i>Phomopsis</i> sp.	เส้นใยเรียบสีขาว โตช้า สร้าง pigment สีดำ
KB-H8-6	<i>Phomopsis</i> sp.	เส้นใยเรียบสีขาว โตช้า สร้าง pigment สีดำ
KB-H8-7	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	โคโลนีค่อนข้างนูน เส้นใยฟูสีเทา-ดำ
KB-H9		
KB-H9-1	<i>Phomopsis</i> sp.	สร้าง alpha spore > beta spore
KB-H9-2	<i>Phomopsis</i> sp.	โคโลนีสีขาวอมเทา เส้นใยเรียบ
KB-H9-3	<i>Phomopsis</i> sp.	โคโลนีสีเหลือง เส้นใยเรียบซ้อนกันเป็นชั้น
KB-H9-4	<i>Phomopsis</i> sp.	สร้าง alpha spore > beta spore
KB-H9-5	<i>Phomopsis</i> sp.	โคโลนีสีขาวอมเทา เส้นใยเรียบ
KB-H9-6	<i>Phomopsis</i> sp.	โคโลนีสีเหลือง เส้นใยเรียบซ้อนกันเป็นชั้น
KB-H9-7*	<i>Acremonium</i> sp.	เส้นใยแนบไปกับอาหาร
KB-H9-8	<i>Phomopsis</i> sp.	สร้าง alpha spore > beta spore
KB-H9-10	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	โคโลนีค่อนข้างนูน เส้นใยฟูสีเทา-ดำ
KB-H9-11	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	เส้นใยฟูสีเทา
KB-H9-12	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	เส้นใยฟูสีเทาเข้ม สร้างสารเมือกสีส้ม
KB-H10	<i>Phomopsis</i> sp.	สร้าง alpha spore > beta spore
KB-H10-3	Xylariaceous	เส้นใยฟู พบ synnemata น้อย
KB-H10-4	Xylariaceous	พบ synnemata ขนาดใหญ่ ก้านสีดำ
KB-H10-5	Xylariaceous	synnemata จำนวนมากไม่ยาวมากนัก spore สีครีม
KB-H10-7	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	เส้นใยฟูสีเขียว-ดำ
KB-H10-8*	Xylariaceous	spore สีครีม เส้นใยฟู สร้าง synnemata ล้นพบไม่มาก

ตารางที่ 3. (ต่อ)

รหัส	ราเอนโดไฟต์	ลักษณะ
KB-H10		
KB-H10-9	<i>Mycelia sterilia</i>	เส้นใยสีขาว ไม่สร้างสปอร์
KB-H10-10	<i>Mycelia sterilia</i>	สร้างเส้นใยสีทอง (cinnamon) ไม่พบการสร้าง spore เส้นใยบาง และบางส่วนเจริญลงในmedium
KB-H10-11	<i>Phomopsis</i> sp.	โคโลนีสีขาวอมเทา เส้นใยเรียบ
KB-H10-12	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	โคโลนีค่อนข้างนูน เส้นใยฟูสีเทา-ดำ
KB-H10-13	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	โคโลนีค่อนข้างนูน เส้นใยฟูสีเขียว-ดำ
KB-H10-14	<i>Phomopsis</i> sp.	สร้าง alpha spore > beta spore
KB-H10-15	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	เส้นใยฟูสีเทา
KB-H10-16	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	เส้นใยฟูสีขาวอมเทา
KB-H10-17	Xylariaceous	synnemata ขนาดใหญ่ ก้านสีดำ สร้าง spore คริม เส้นใยฟู

4. ตัวอย่างราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากการเก็บตัวอย่างพืชที่สวนพฤกษศาสตร์สากลภาคใต้ (ทุ่งค่าย)  
จ. ตรัง ดังแสดงในตารางที่ 4.

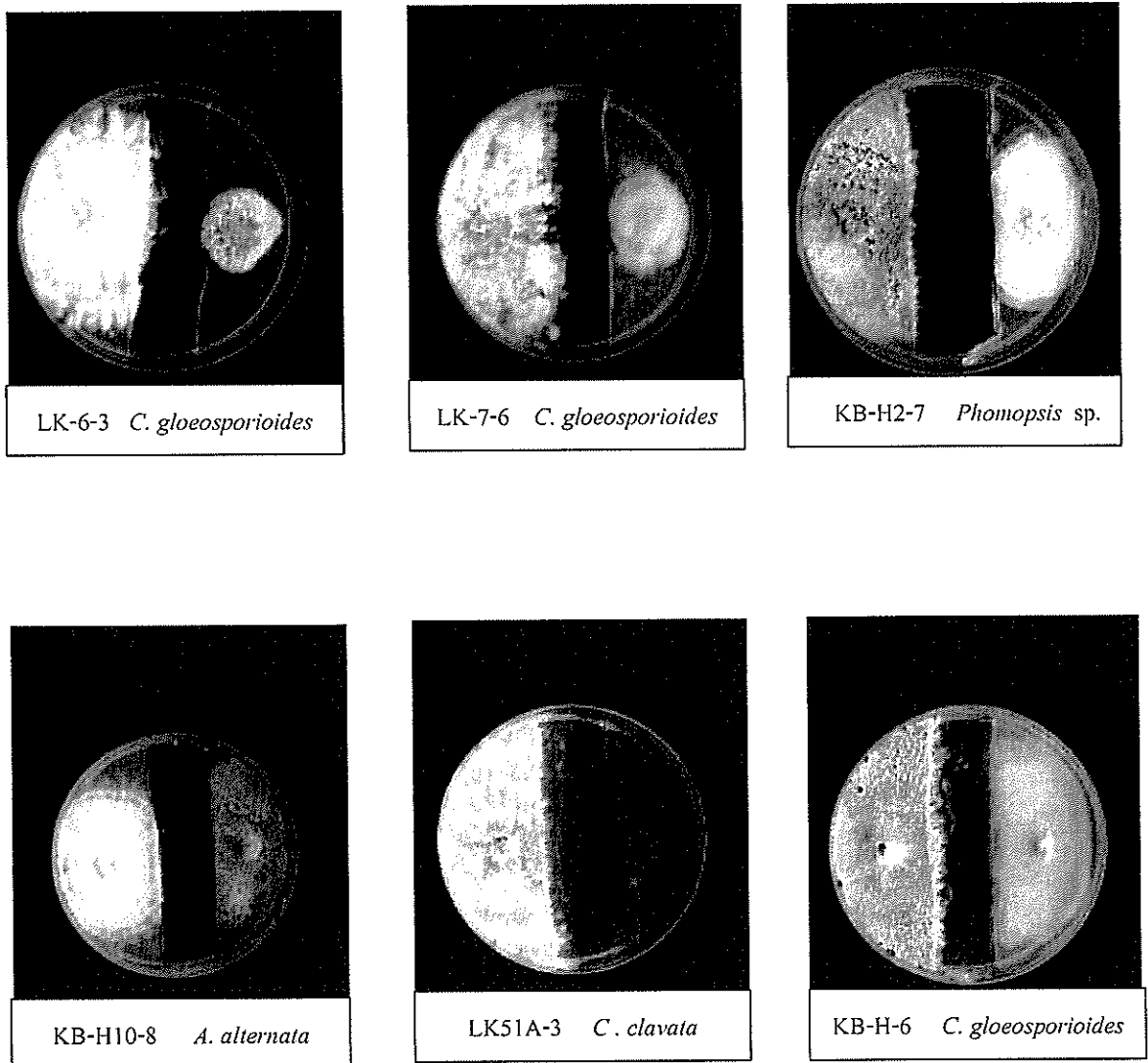
ตารางที่ 4. ลักษณะราเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากการเก็บตัวอย่างพืชที่สวนพฤกษศาสตร์สากลภาคใต้ (ทุ่งค่าย) จ. ตรัง

รหัส	ราเอนโดไฟต์	ลักษณะ
TR-B1		
TR-B1-1	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	โคโลนีค่อนข้างนูน เส้นใยฟูสีเทา-ดำ
TR-B1-2	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	เส้นใยฟูสีขาวอมเทา สร้างสารเมือกสีส้ม
TR-B1-3*	Pyrenomyces Spheriales Xylariaceae	โคโลนีสีเขียวมดำ สร้าง stroma
TR-B1-4	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	โคโลนีค่อนข้างนูน เส้นใยฟูสีเทา-ดำ
TR-B1		
TR-B1-6	<i>Pestalotiopsis</i> sp.	เส้นใยฟูสีขาว สร้าง pigment สีดำ สร้างสปอร์
TR-B1-8	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	เส้นใยฟูสีขาวอมเทา
TR-B1-9	<i>Phyllosticta</i> sp.	โคโลนีสีเขียว-เทา เส้นใยเรียบ
TR-B1-10	Xylariaceous	เส้นใยฟูสีขาวอมเทา สร้างสารเมือกสีส้ม
TR-B2		
TR-B2-1	Xylariaceous	synnemata ผอมบาง สีครีม เส้นใยฟู
TR-B2-2	Xylariaceous	เส้นใยฟู synnemata ค่อนข้างยาว spore สีครีม
TR-B2-3	Xylariaceous	เส้นใยฟูมาก ไม่ค่อยพบ synnemata
TR-B2-4	Xylariaceous	เส้นใยฝังในเนื้ออาหารสีค่อนข้างดำ synnemata สีน้ำตาลครีม สปอร์สีครีม
TR-B2-5	<i>Phyllosticta</i> sp.	โคโลนีสีเขียว-เทา เส้นใยเรียบ
TR-B2-9	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	เส้นใยฟูสีขาวอมเทา สร้างสารเมือกสีส้ม
TR-B3		
TR-B3-1	<i>Curvularia</i> sp.	Dematiaceous hyphomycetes brown
TR-B3-3	<i>Phomopsis</i> sp.	เส้นใยเรียบสีขาว โตช้า สร้าง pigment สีดำ
TR-B3-5	<i>Phomopsis</i> sp.	เส้นใยเรียบสีขาว ซ้อนกันเป็นชั้น
TR-B3-6	<i>Phomopsis</i> sp.	เส้นใยเรียบสีขาว-เหลือง สร้าง pigment สีดำ
TR-B3-7	<i>Phomopsis</i> sp.	เส้นใยเรียบสีขาว โตช้า สร้าง pigment สีดำ
TR-B3-8	<i>Phomopsis</i> sp.	เส้นใยฟูสีขาว-ครีม
TR-B3-9	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	เส้นใยฟูสีเทา-ดำ
TR-B3-10	<i>Fusarium semitectum</i>	เส้นใยฟูสีขาว สร้างสปอร์

หมายเหตุ : \* หมายถึง เชื้อราเอนโดไฟต์ที่แยกได้มีการสร้างกลิน

ภาคผนวก ข  
ตัวอย่างการคัดเลือกราเอนโดไฟต์ที่มีคุณสมบัติเป็น Bio-fumigant

จากการทดลองนำราเอนโดไฟต์ที่แยกได้มาคัดเลือกคุณสมบัติเป็น Bio-fumigant โดยการสร้างสารระเหยที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งราสาเหตุโรคพืช 5 ชนิด. โดยวางราเอนโดไฟต์บนอาหาร PDA ไว้ด้านหนึ่งของจานเพาะเชื้ออีกด้านหนึ่งวางราสาเหตุโรคพืช, ตรงส่วนกลางของจานเพาะเชื้อตัดชิ้น วั่นออก 2 เซนติเมตร, พบว่า ราเอนโดไฟต์ที่มีประสิทธิภาพในการสร้างสารระเหยมายับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืชได้แก่ ตัวอย่างบางส่วนต่อไปนี้ ดังแสดงในรูปที่ 1.



รูปที่ 1. ราเอนโดไฟต์ที่สร้างสารระเหยมายับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช.



นำราเอนโดไฟต์ที่คัดเลือกไว้ก่อนหน้านี้ มาทดสอบคุณสมบัติเป็น Bio-fumigant อีกครั้ง. โดยเลี้ยงในจานเพาะเชื้อที่เป็น 3 ช่องบนอาหาร PDA, เลี้ยงราเอนโดไฟต์ที่ต้องการทดสอบ 1 ช่อง และถ่ายเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ต้องการทดสอบในอาหาร 2 ช่องที่เหลือ, โดยเทียบกับราสาเหตุโรคพืชที่เป็นชุดควบคุม ดังแสดงในรูปที่ 2 แสดงตัวอย่างราเอนโดไฟต์ที่มีประสิทธิภาพในการสร้างสารระเหยมายับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคพืช ดังแสดงในรูปที่ 3-13.

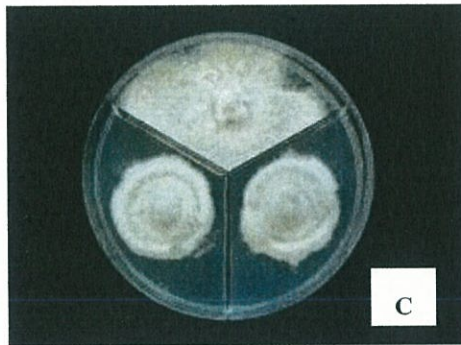


รูปที่ 2. ตัวอย่างราสาเหตุโรคพืชที่ใช้เป็นตัวควบคุมในการทดลอง อายุ 7 วัน บนอาหาร PDA.

A : *Alternaria alternata*      B : *Curvularia clavata*

C : *Colletotrichum gloeosporioides*      D : *Penicillium digitatum*

E : *Phomopsis* sp.



รูปที่ 3. ตัวอย่างราเอนโดไฟต์ LK-6-3 ที่ยับยั้งการเจริญของ  
ราสาเหตุโรคพืช บนอาหาร PDA ป่มนาน 7 วัน.

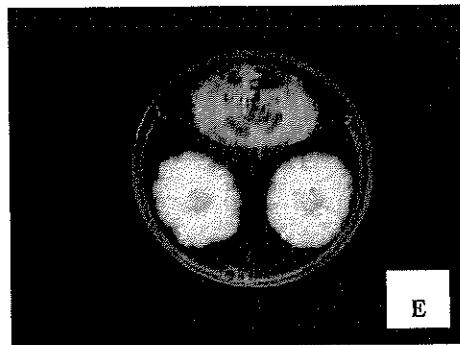
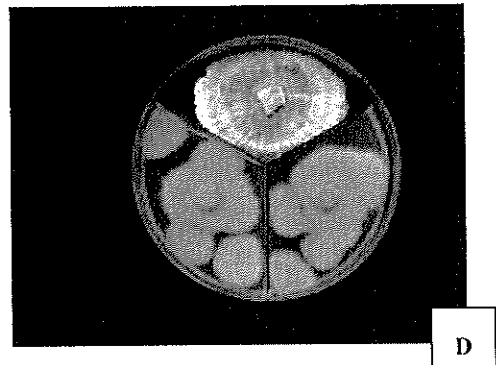
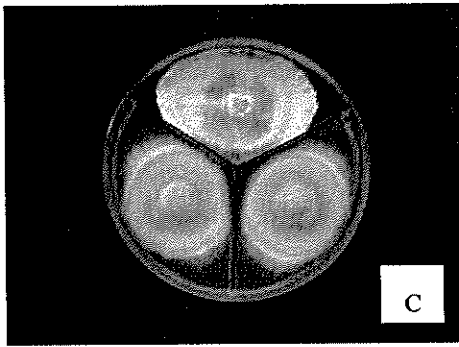
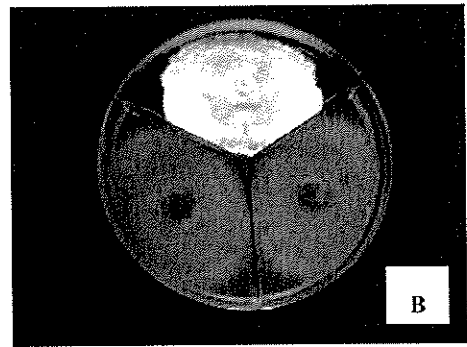
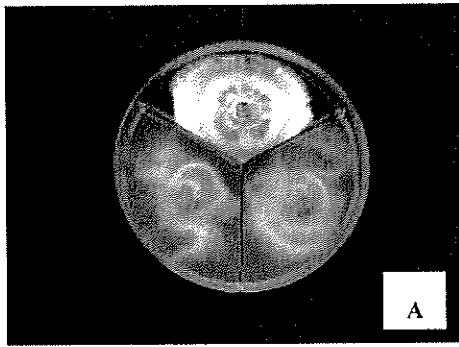
A : *A. alternata*

B : *C. clavata*

C : *C. gloeosporioides*

D : *P. digitatum*

E : *Phomopsis* sp.



รูปที่ 4. ตัวอย่างราเอนโดไฟต์ LK-7-6 ที่ยับยั้งการเจริญของ  
ราสาเหตุโรคพืช บนอาหาร PDA ป่มนาน 7 วัน.

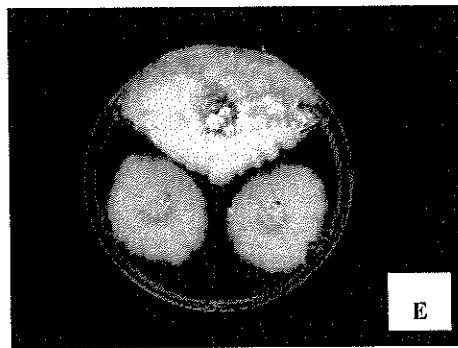
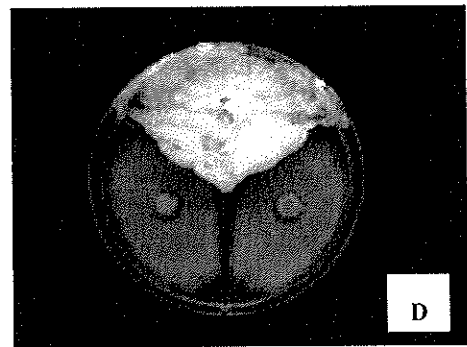
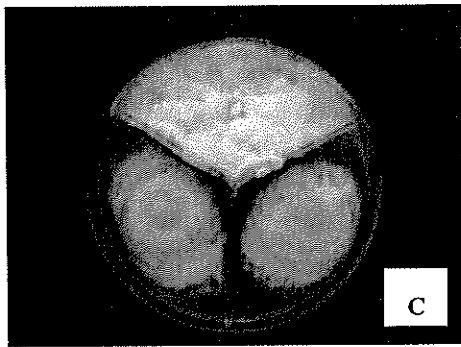
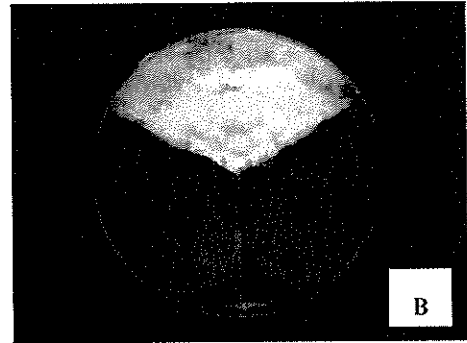
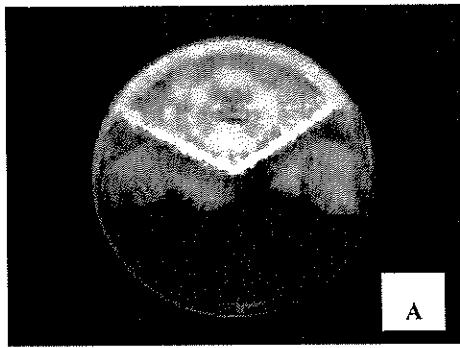
A : *A. alternata*

B : *C. clavata*

C : *C. gloeosporioides*

D : *P. digitatum*

E : *Phomopsis* sp.



รูปที่ 5. ตัวอย่างราเอนโดไฟต์ LK-7-6 ที่ยับยั้งการเจริญของ  
ราสาเหตุโรคพืช บนอาหาร PDA ป่มานาน 7 วัน.

A : *A. alternata*

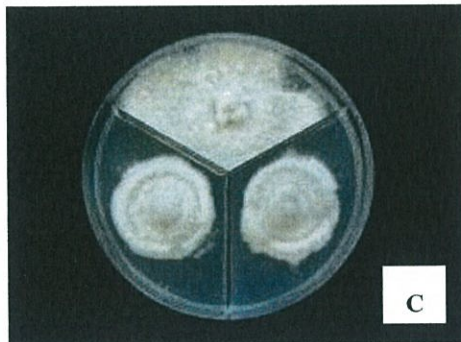
B : *C. clavata*

C : *C. gloeosporioides*

D : *P. digitatum*

E : *Phomopsis* sp.





รูปที่ 6. ตัวอย่างราเอนโดไฟต์ KB-H5-6 ที่ยับยั้งการเจริญของ  
ราสาเหตุโรคพืช บนอาหาร PDA บ่มนาน 7 วัน.

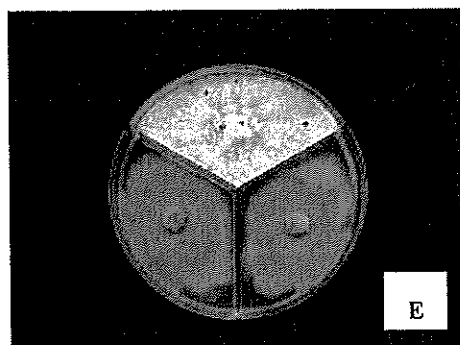
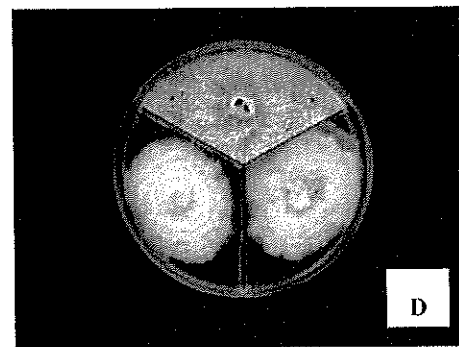
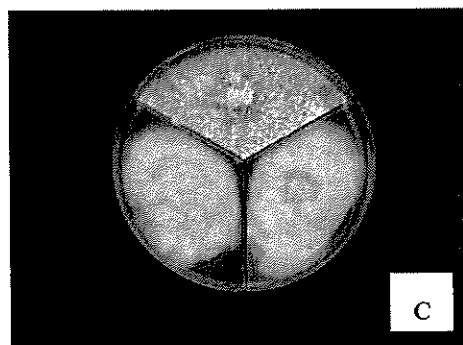
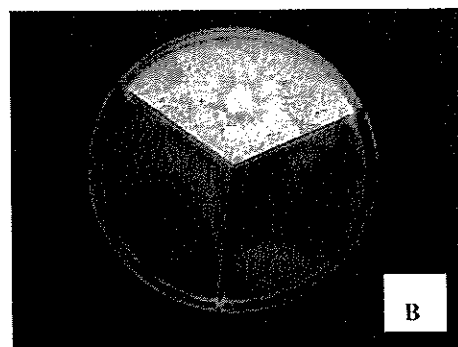
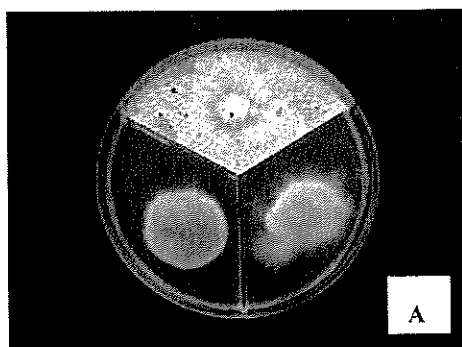
A : *A. alternata*

B : *C. clavata*

C : *C. gloeosporioides*

D : *P. digitatum*

E : *Phomopsis* sp.



รูปที่ 7. ตัวอย่างราเอนโดไฟต์ TR-B3-8 ที่ยับยั้งการเจริญของ  
ราสาเหตุโรคพืช บนอาหาร PDA ป่มนาน 7 วัน.

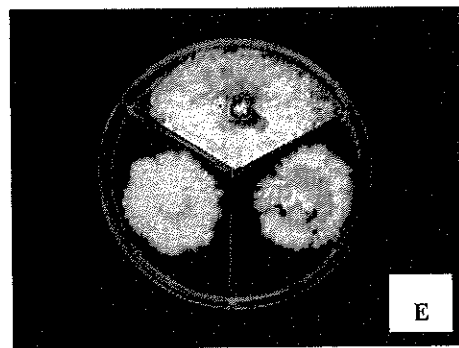
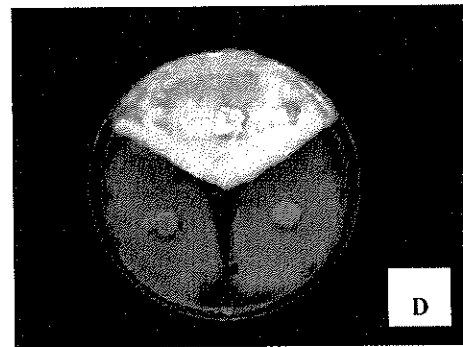
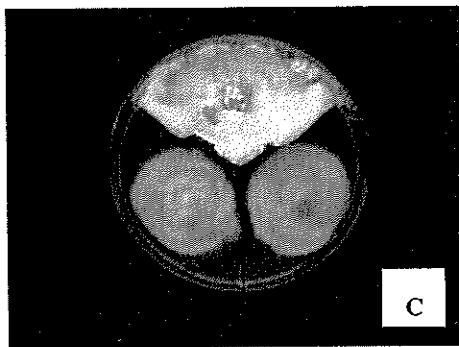
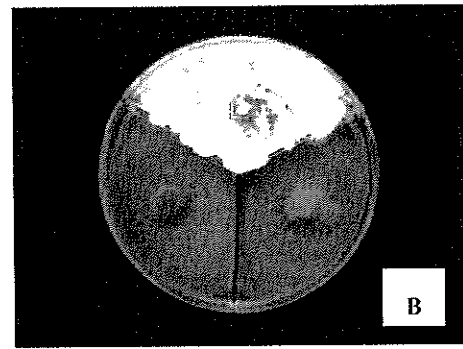
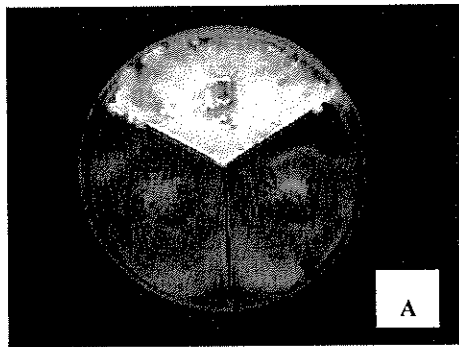
A : *A. alternata*

B : *C. clavata*

C : *C. gloeosporioides*

D : *P. digitatum*

E : *Phomopsis* sp.



รูปที่ 8. ตัวอย่างราเอนโดไฟต์ LK-51A-3 ที่ยับยั้งการเจริญของ  
ราสาเหตุโรคพืช บนอาหาร PDA ป่มนาน 7 วัน.

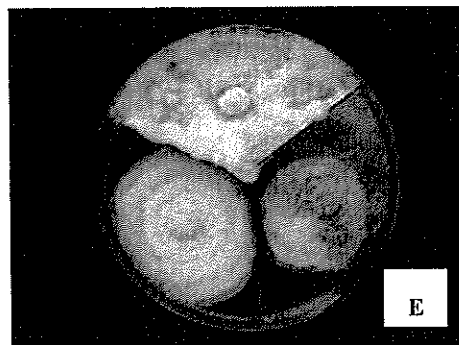
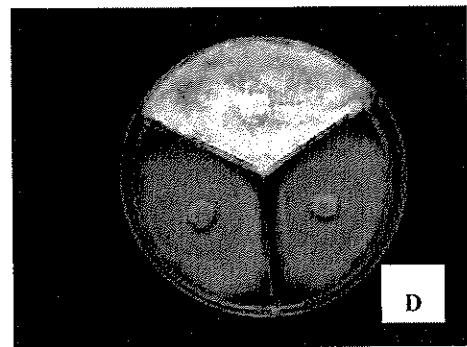
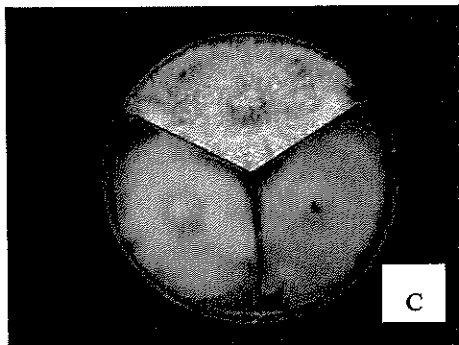
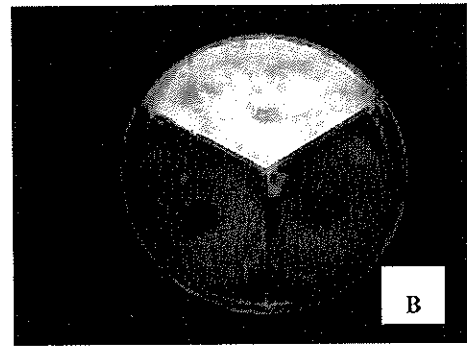
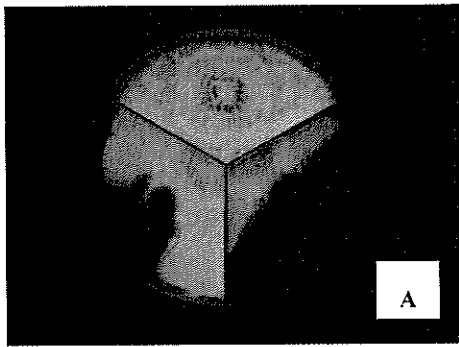
A : *A. alternata*

B : *C. clavata*

C : *C. gloeosporioides*

D : *P. digitatum*

E : *Phomopsis* sp.



รูปที่ 9. ตัวอย่างราเอนโดไฟต์ KB-R10-2 ที่ยับยั้งการเจริญของ  
ราสาเหตุโรคพืช บนอาหาร PDA ป่มานาน 7 วัน.

A : *A. alternata*

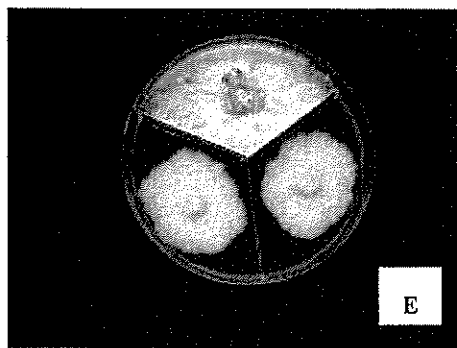
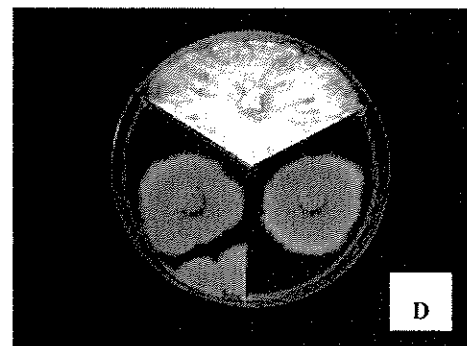
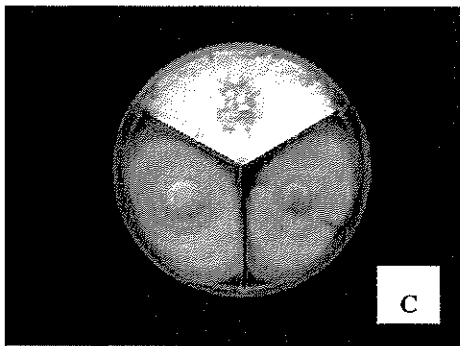
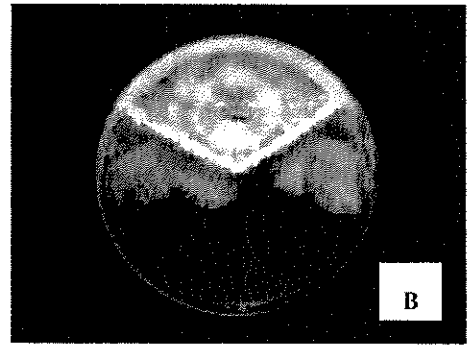
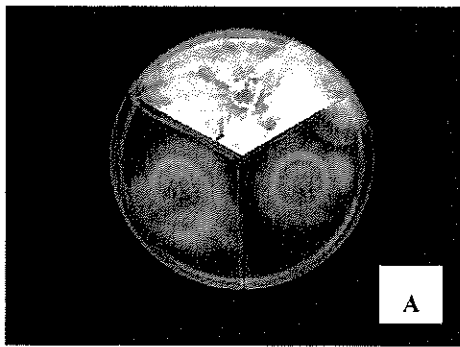
B : *C. clavata*

C : *C. gloeosporioides*

D : *P. digitatum*

E : *Phomopsis* sp.





รูปที่ 10. ตัวอย่างราเอนโดไฟต์ KB-H10-8 ที่ยับยั้งการเจริญของ  
ราสาเหตุโรคพืช บนอาหาร PDA บ่มนาน 7 วัน.

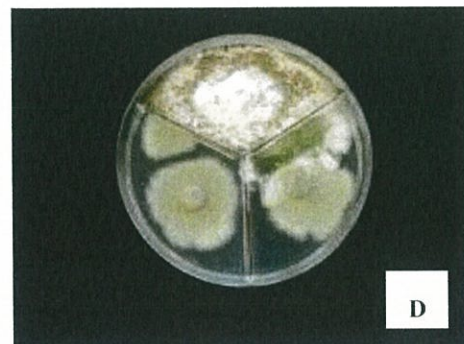
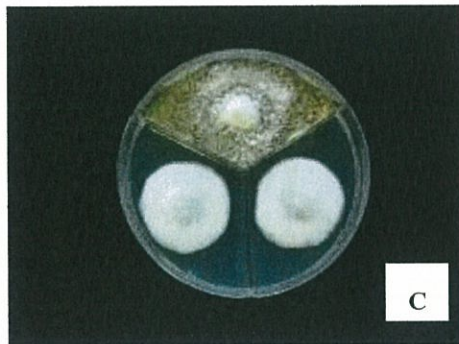
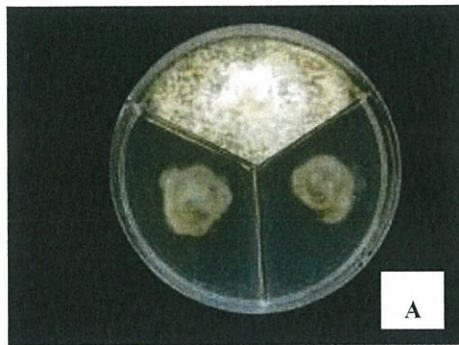
A : *A. alternata*

B : *C. clavata*

C : *C. gloeosporioides*

D : *P. digitatum*

E : *Phomopsis* sp.



รูปที่ 11. ตัวอย่างราเอนโดไฟต์ LK-51B-1 ที่ยับยั้งการเจริญของ  
ราสาเหตุโรคพืช บนอาหาร PDA บ่มนาน 7 วัน.

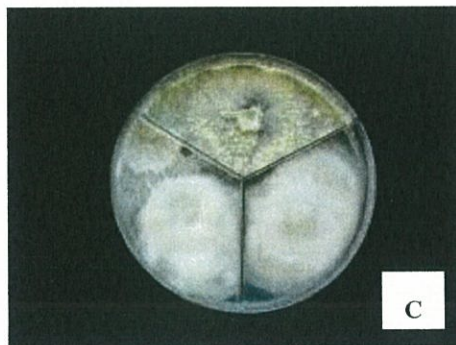
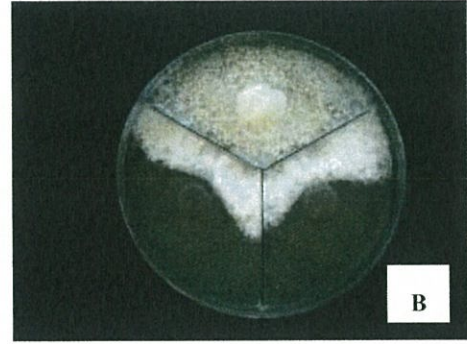
A : *A. alternata*

B : *C. clavata*

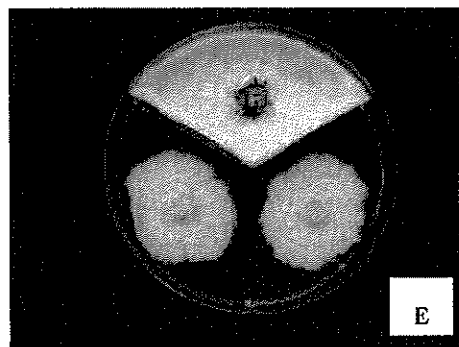
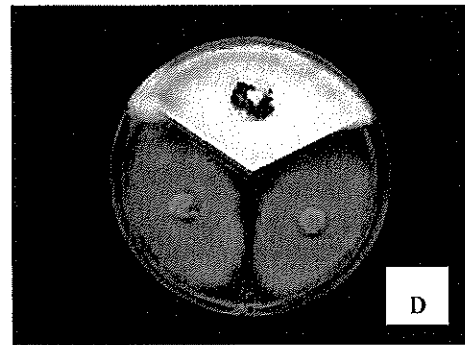
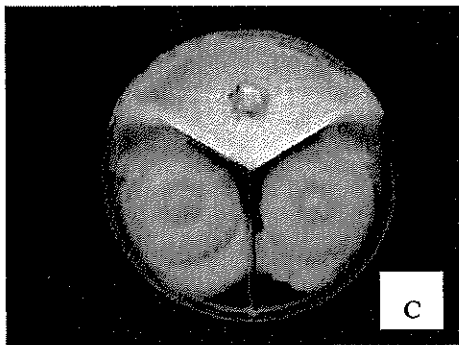
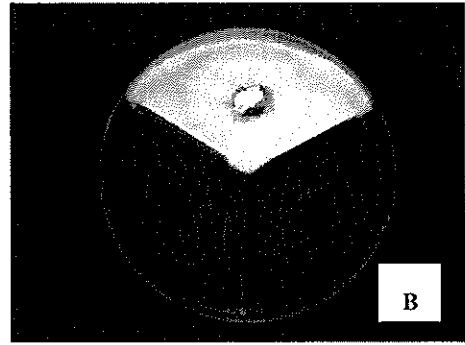
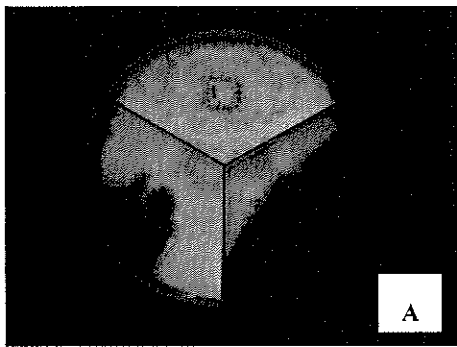
C : *C. gloeosporioides*

D : *P. digitatum*

E : *Phomopsis* sp.



รูปที่ 12. ตัวอย่างราเอนโดไฟต์ LK-51A-4 ที่ยับยั้งการเจริญของ  
ราสาเหตุโรคพืช บนอาหาร PDA บ่มนาน 7 วัน.  
A : *A. alternata*                      B : *C. clavata*  
C : *C. gloeosporioides*              D : *P. digitatum*  
E : *Phomopsis* sp.



รูปที่ 13. ตัวอย่างราเอนโดไฟต์ KB-H3-6 ที่ยับยั้งการเจริญของ  
ราสาเหตุโรคพืช บนอาหาร PDA ป่มนาน 7 วัน.

A : *A. alternata*

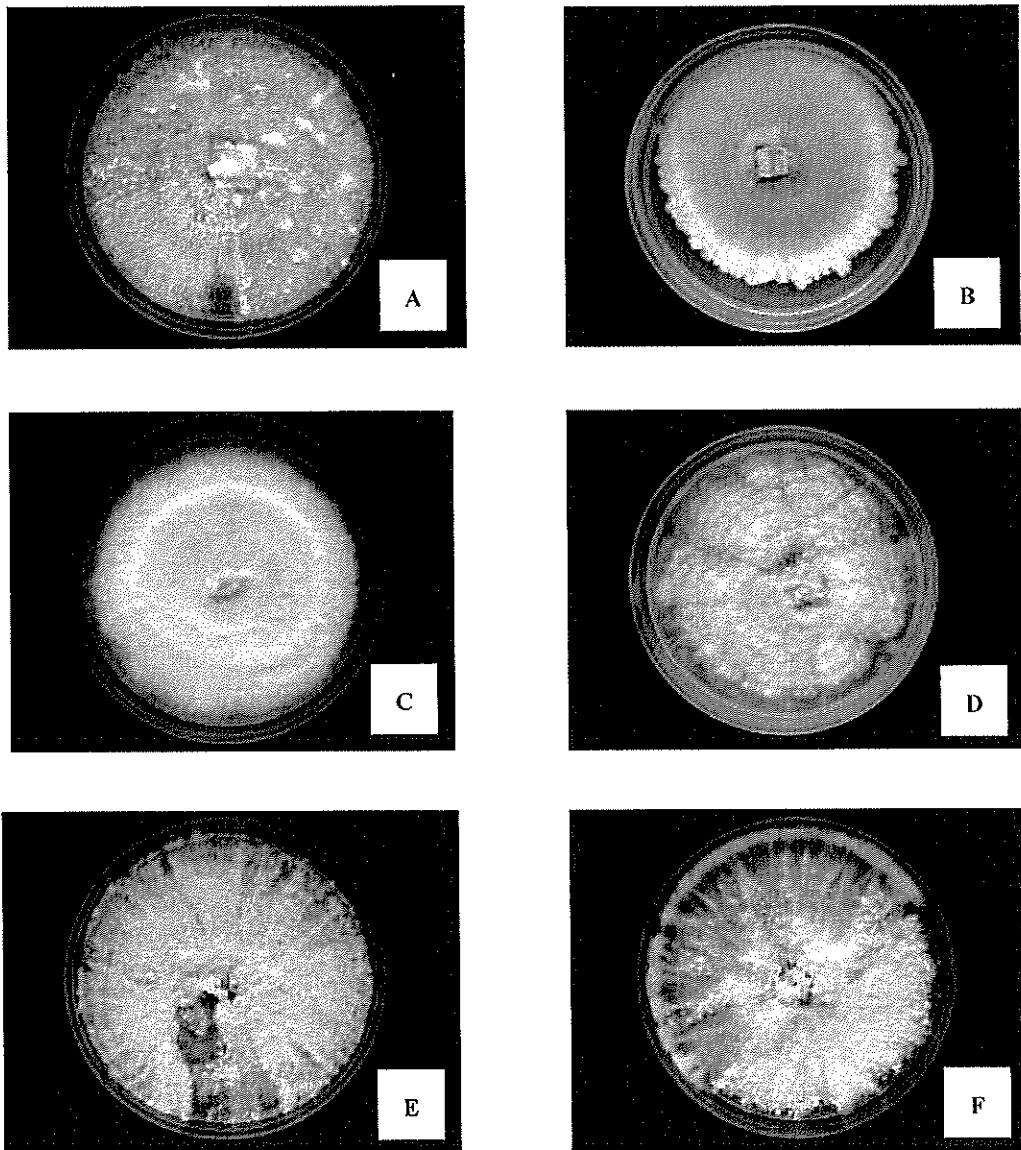
B : *C. clavata*

C : *C. gloeosporioides*

D : *P. digitatum*

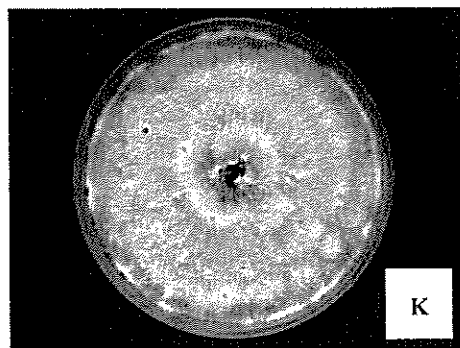
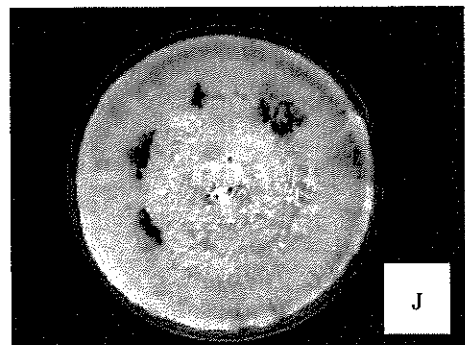
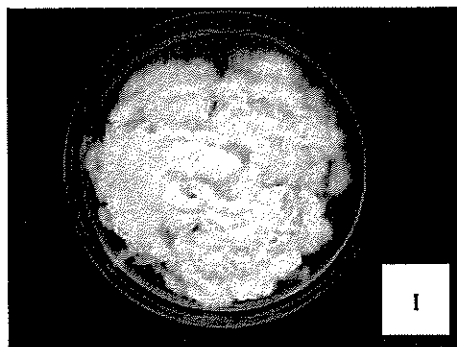
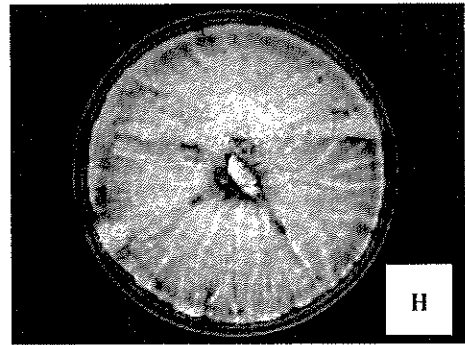
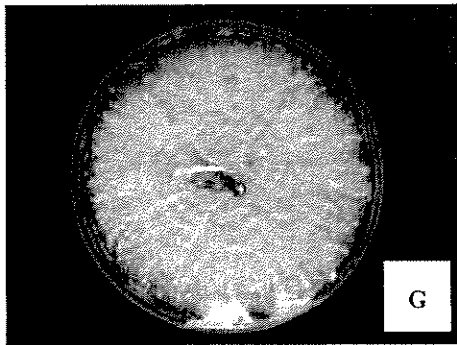
E : *Phomopsis* sp.

ผลจากการคัดเลือกราเอนโดไฟต์ที่มีคุณสมบัติเป็น Bio-fumigant จากการสร้างสารระเหยมายับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชพบว่า มีราเอนโดไฟต์ 11 ไอโซเลต ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช, ได้แก่ LK6-3, LK7-6, KB-H5-6, TR-B3-8, KB-H3-4, KB-R10-2, LK51A-3, KB-H10-8, LK51B-1, KB-H3-6 และ LK51A-4 ดังแสดงในรูปที่ 14.



รูปที่ 14. ตัวอย่างราเอนโดไฟต์ที่สร้างสารระเหยที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช อายุ 14 วัน บนอาหาร PDA.

- |             |              |
|-------------|--------------|
| A : LK-6-3  | B : LK-7-6   |
| C : KB-H5-6 | D : TR-B3-8  |
| E : KB-H3-4 | F : KB-R10-2 |



รูปที่ 14. (ต่อ)

G : LK-51A-3

H : KB-H10-8

I : LK-51B-1

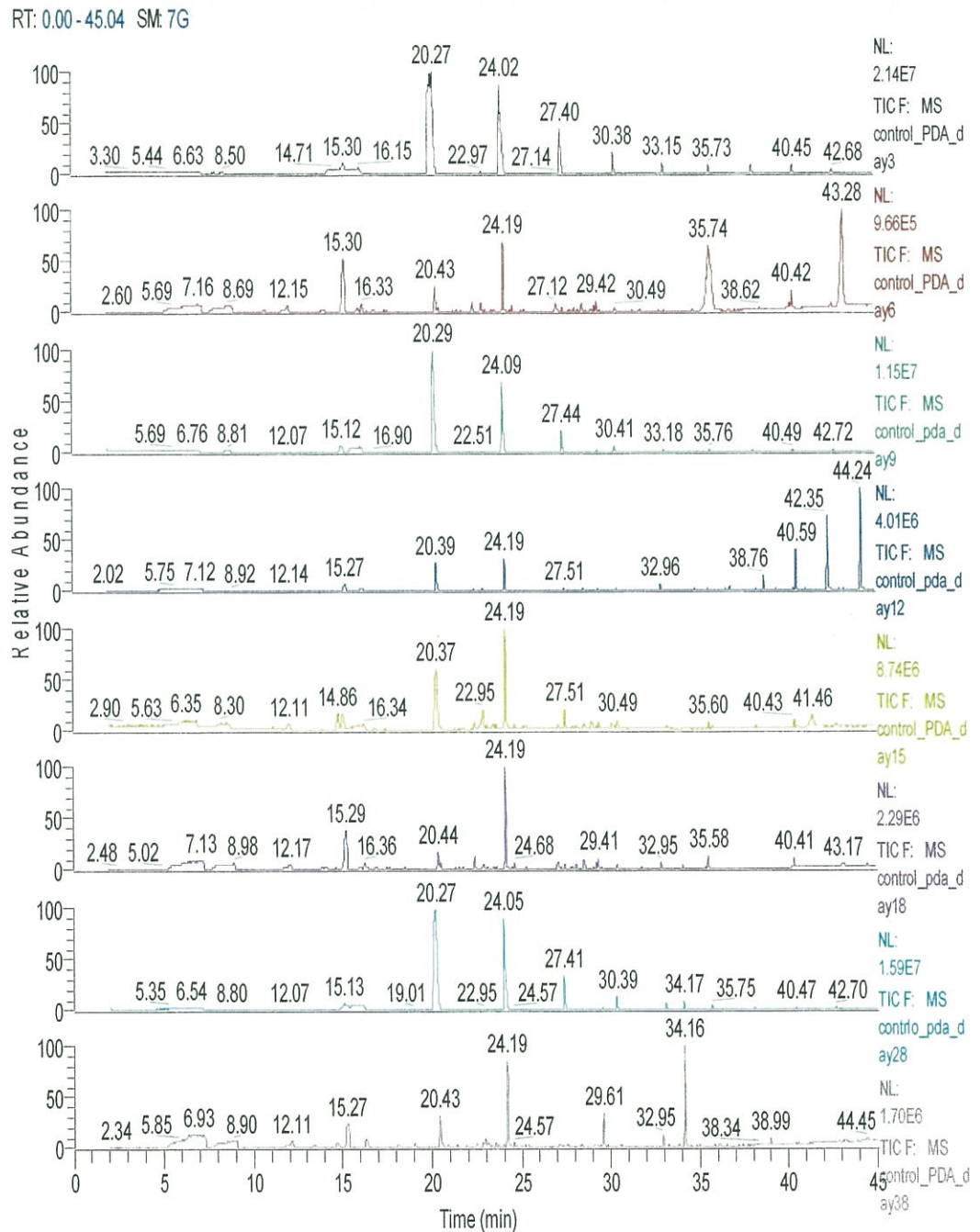
J : KB-H3-6

K : LK-51A-4

ภาคผนวก ค  
แสดงโครมาโทแกรมองค์ประกอบทางเคมีของสารระเหยจากราเอนโดไฟต์  
ที่มีคุณสมบัติเป็น Bio-fumigant



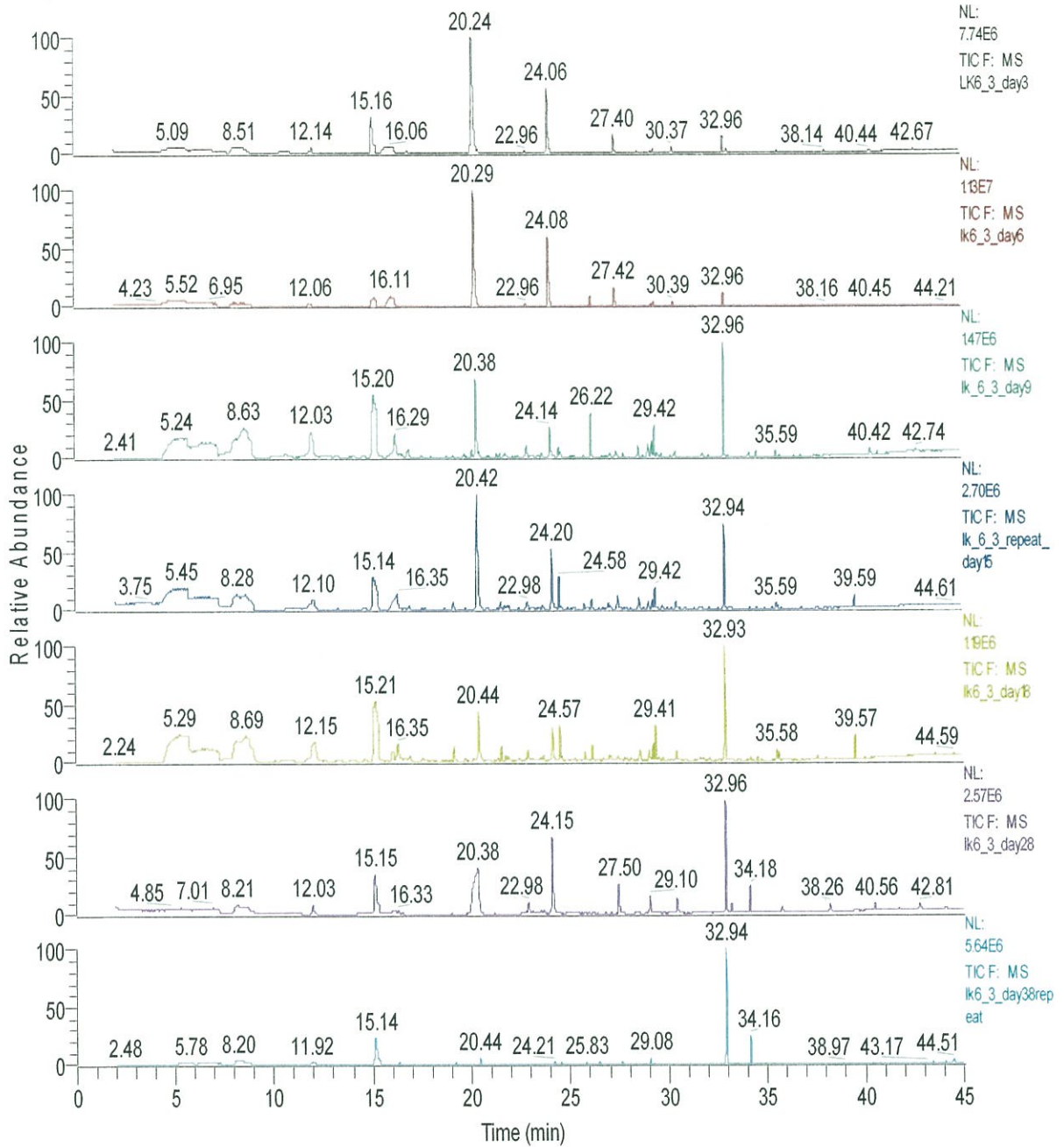
จากผลการวิเคราะห์ห้องปฏิบัติการทางเคมีของสารระเหยจากเชื้อราเอนโดไฟต์ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่เป็น Bio-fumigant, โดยใช้เครื่อง GC-MS เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ที่ 3, 6, 9, 12, 15, 18, 28 และ 38 วัน โดยใช้อาหาร PDA เป็นตัวควบคุม ดังแสดงในรูปที่ 1 และโครมาโทแกรมของตัวอย่างราเอนโดไฟต์แต่ละไอโซเลตที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ดังแสดงในรูปที่ 2-12.



รูปที่ 1. โครมาโทแกรมของอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA 3, 6, 9, 12, 15, 18, 28 และ 38 วัน.

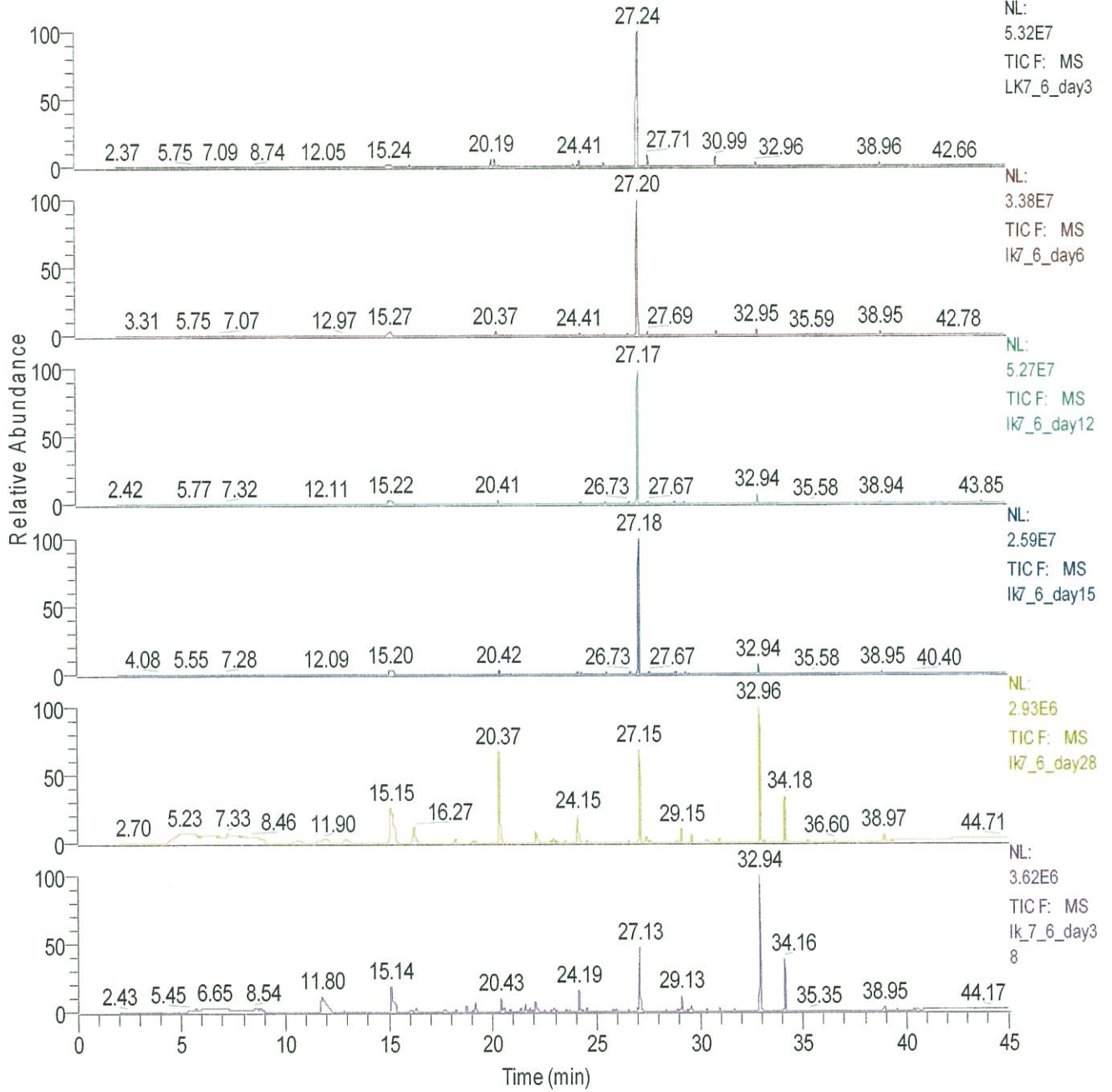


RT: 0.00 - 45.04 SM: 7G



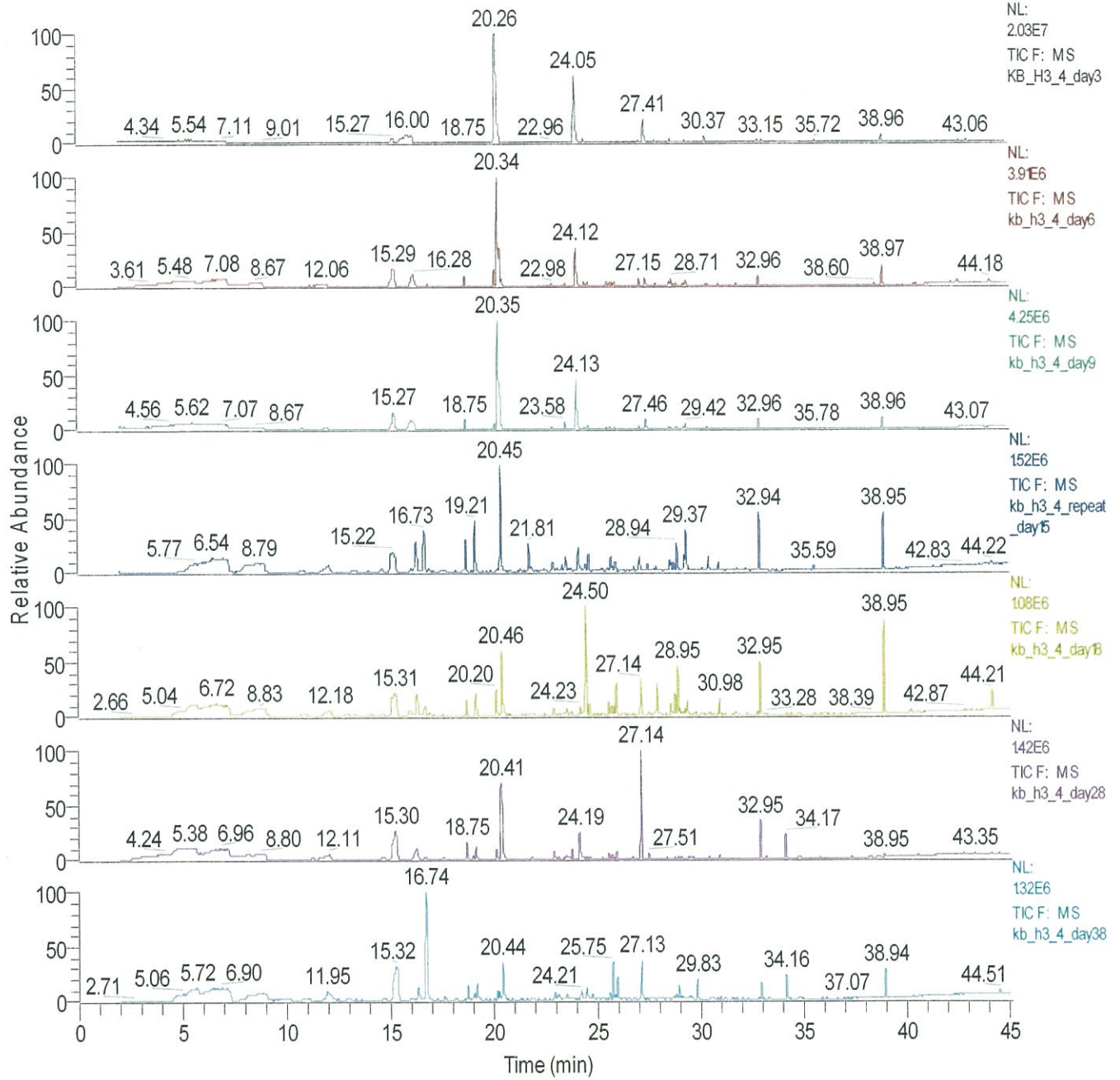
รูปที่ 2. โครมาโทแกรมของราเอนโดไฟต์ LK-6-3 อายุ 3, 6, 9, 15, 18, 28 และ 38 วัน.

RT: 0.00 - 45.07 SM: 7G



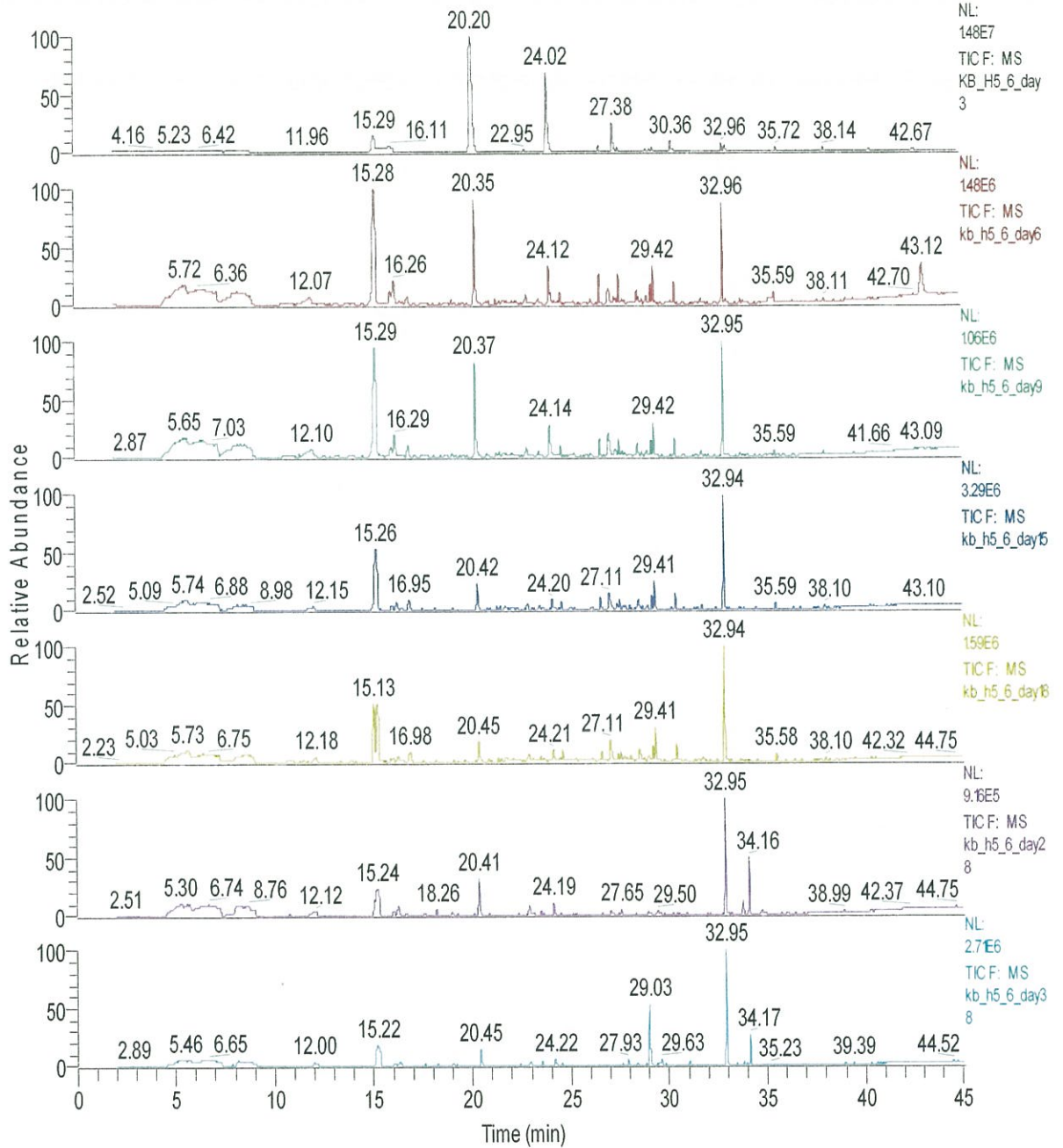
รูปที่ 3. โครมาโทแกรมของราเอนโดไฟต์ LK-7-6 อายุ 3, 6, 12, 15, 28 และ 38 วัน.

RT: 0.00 - 45.08 SM: 7G



รูปที่ 4. โครมาโทแกรมของราเอนโดไฟต์ KB-H3-4 อายุ 3, 6, 9, 15, 18, 28 และ 38 วัน.

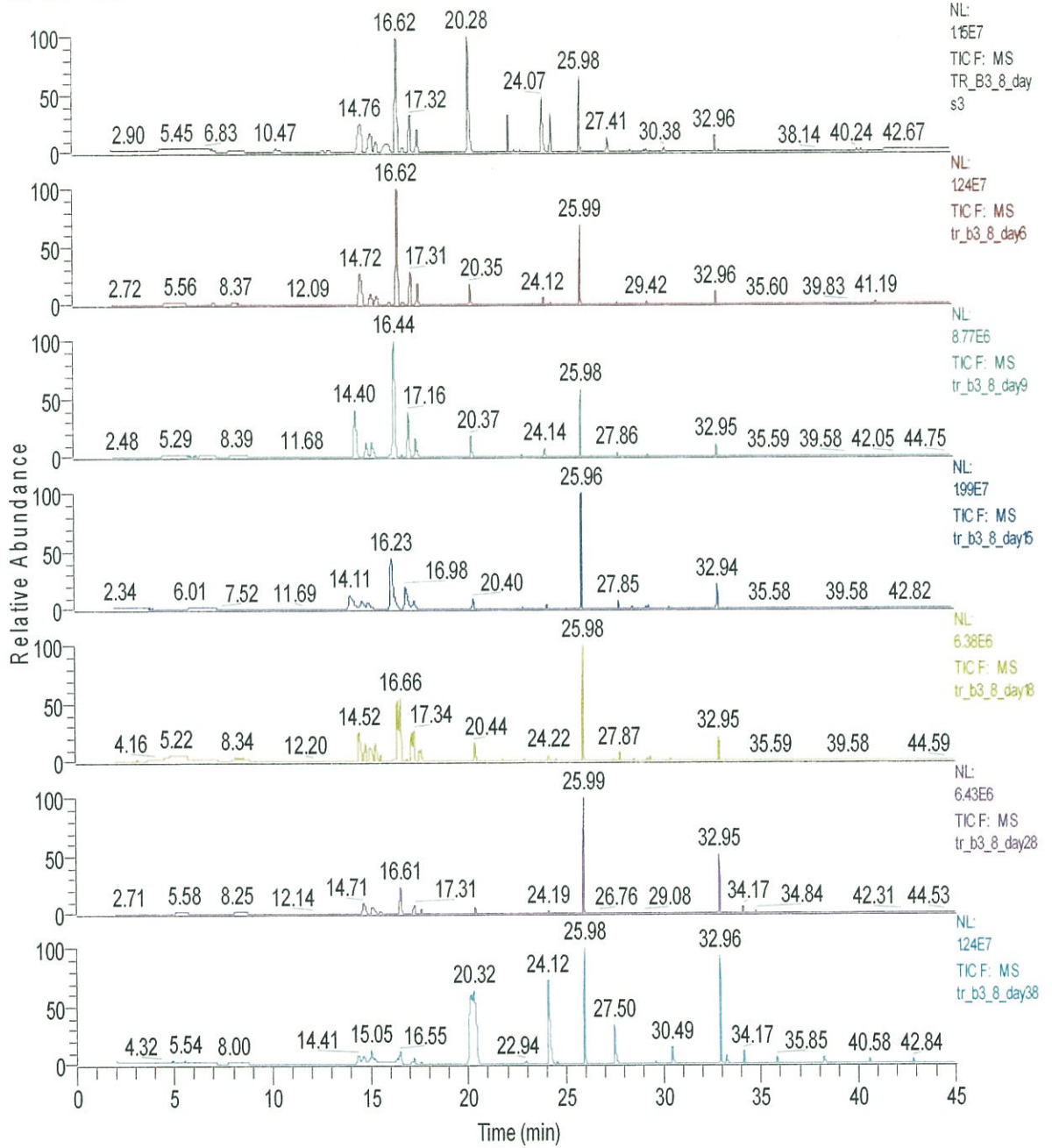
RT: 0.00 - 45.08 SM: 7G



รูปที่ 5. โครมาโทแกรมของราเอนโดไฟต์ KB-H5-6 อายุ 3, 6, 9, 15, 18, 28 และ 38 วัน.

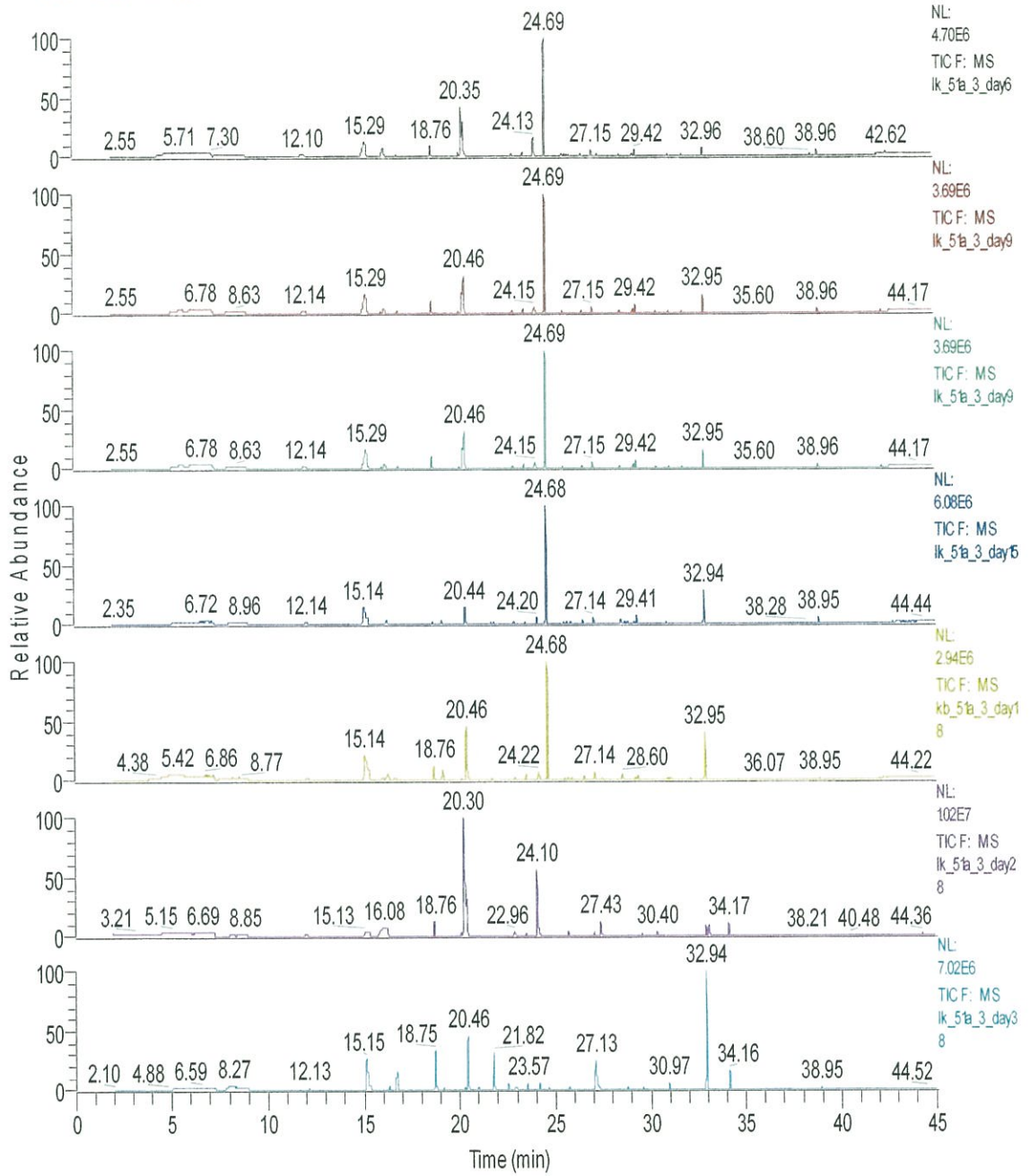


RT: 0.00 - 45.06 SM: 7G



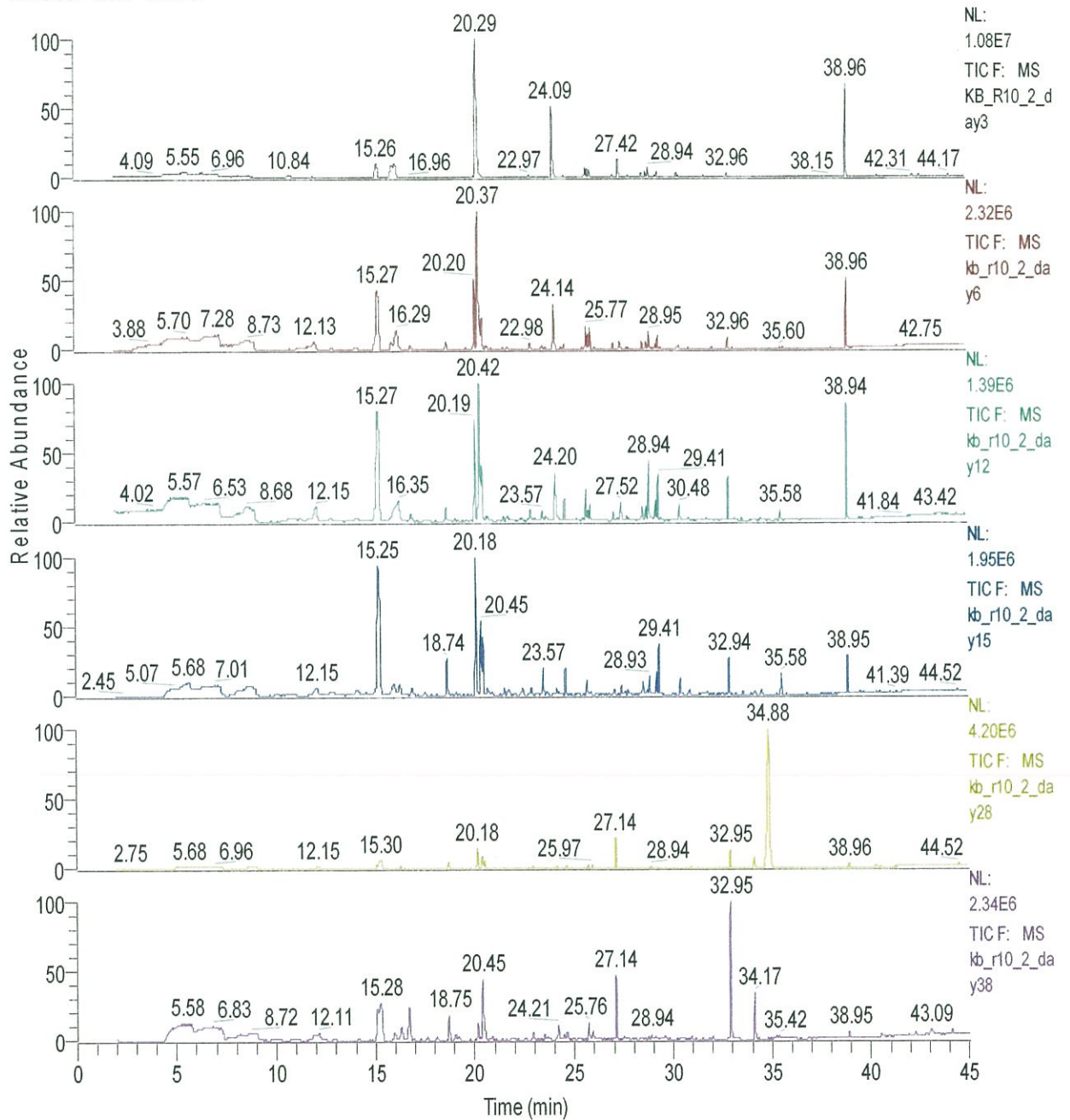
รูปที่ 6. โครมาโทแกรมของราเอนโดไฟต์ TR-B3-8 อายุ 3, 6, 9, 15, 18, 28 และ 38 วัน.

RT: 0.00 - 45.07 SM: 7G



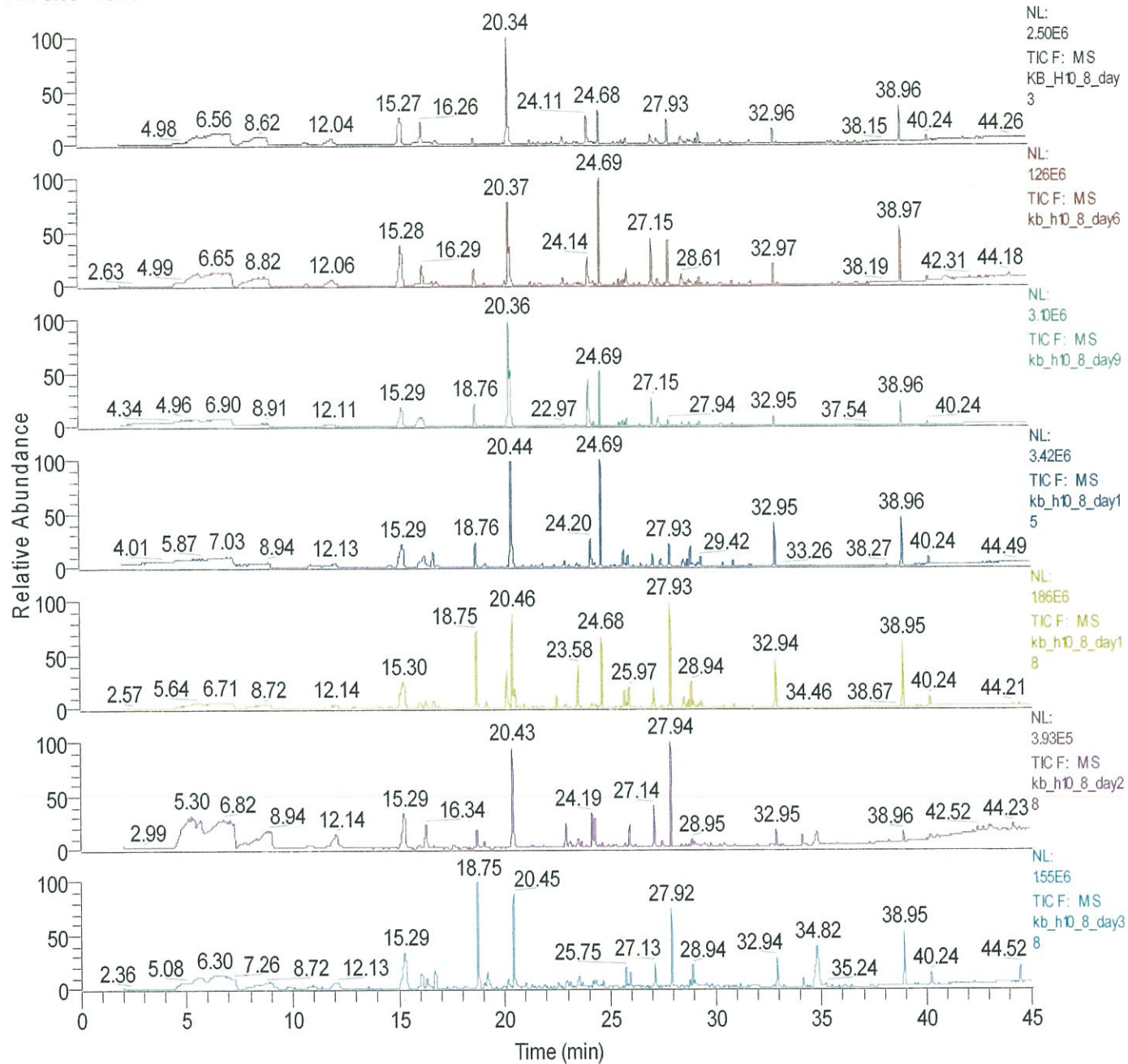
รูปที่ 7. โครมาโทแกรมของราเอนโดไฟต์ LK-51A-3 อายุ 3, 6, 9, 15, 18, 28 และ 38 วัน.

RT: 0.00 - 45.02 SM: 7G



รูปที่ 8. โครมาโทแกรมของราเอนโดไฟต์ KB-R10-2 อายุ 3, 6, 9, 15, 18, 28 และ 38 วัน.

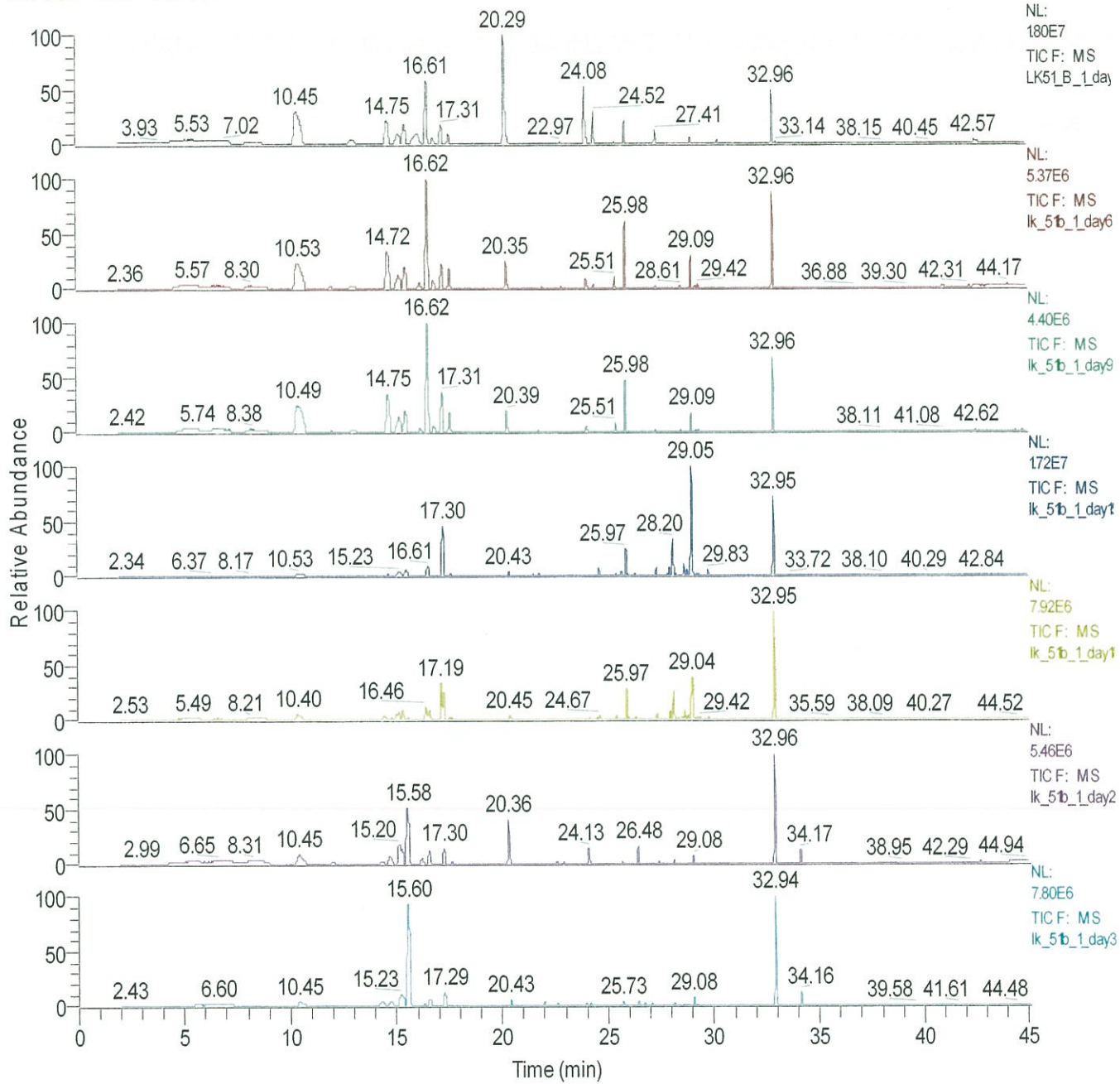
RT: 0.00 - 45.06 SM: 7G



รูปที่ 9. โครมาโทแกรมของราเอนโดไฟต์ KB-H10-8 อายุ 3, 6, 9, 15, 18, 28 และ 38 วัน.

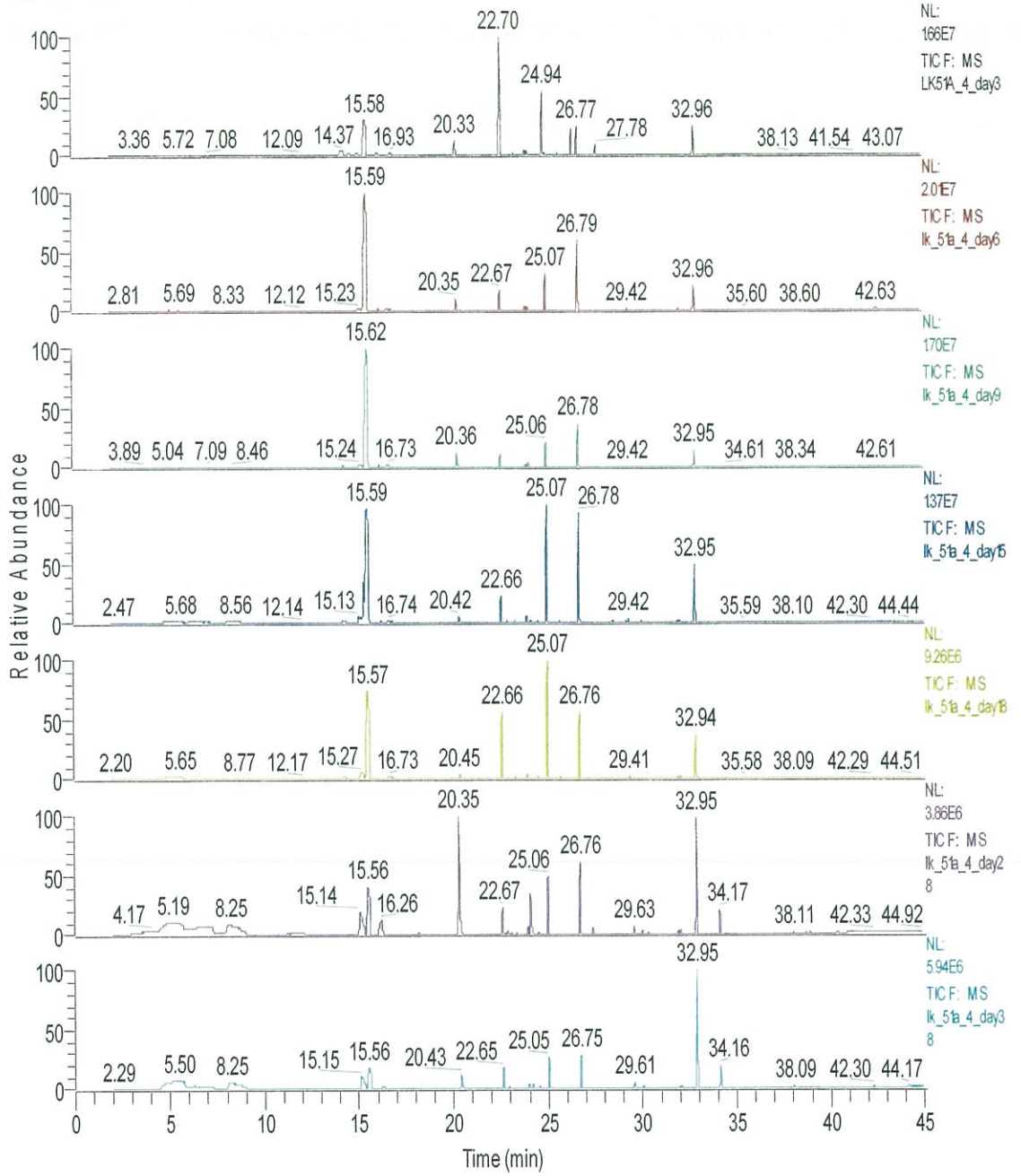


RT: 0.00 - 45.07 SM: 7G



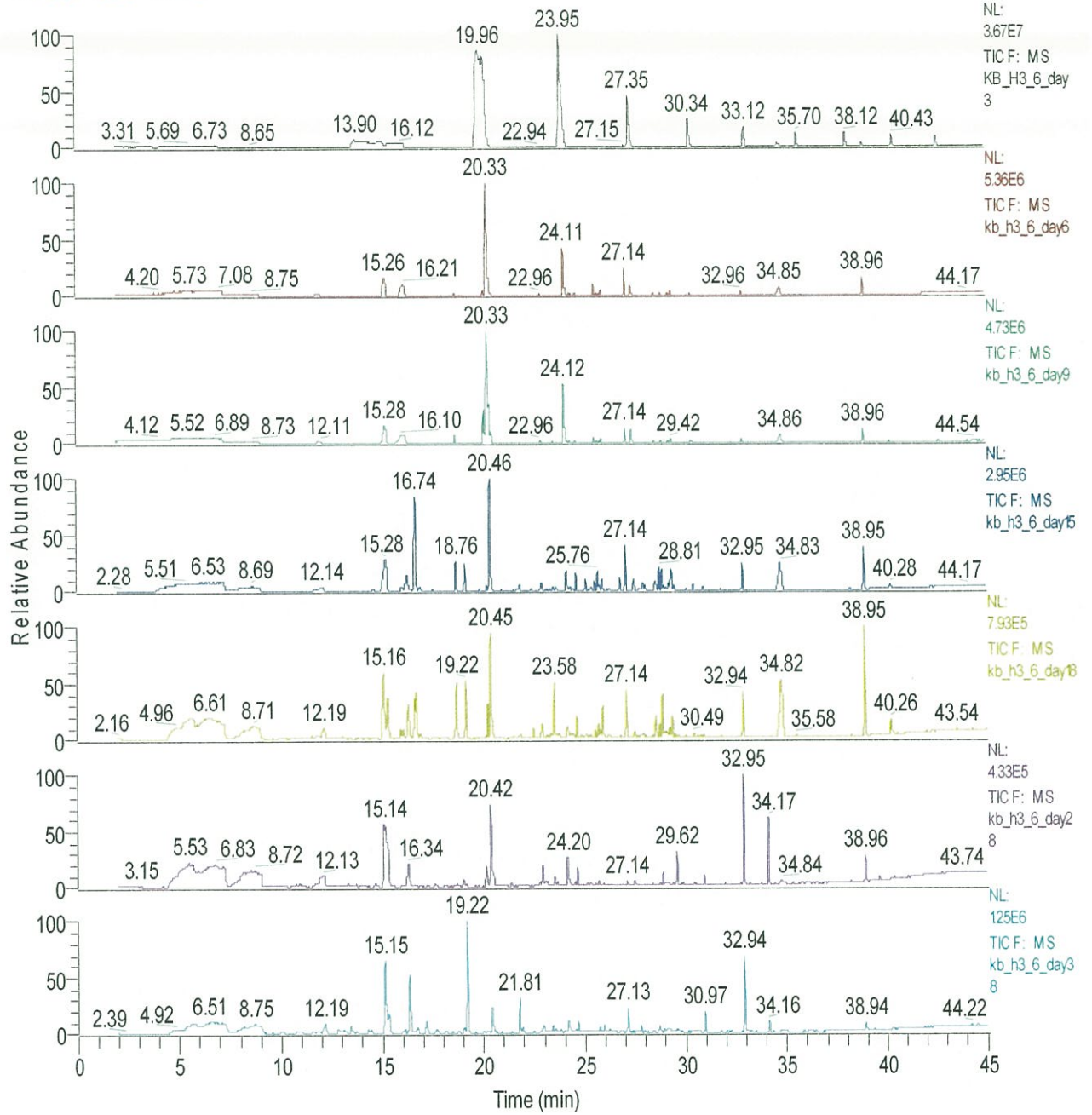
รูปที่ 10. โครมาโทแกรมของราเอนโดไฟต์ LK-51B-1 อายุ 3, 6, 9, 15, 18, 28 และ 38 วัน.

RT: 0.00 - 45.08 SM: 7G



รูปที่ 11. โครมาโทแกรมของราเอนโดไฟต์ LK-51A-4 อายุ 3, 6, 9, 15, 18, 28 และ 38 วัน.

RT: 0.00 - 45.06 SM: 7G



รูปที่ 12. โครมาโทแกรมของราเอนโดไฟต์ KB-H3-6 อายุ 3, 6, 9, 15, 18, 28 และ 38 วัน.