



การควบคุมเชื้อราปนเปื้อนในกระเทียม
ด้วยสารสกัดจากพืชและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในสภาพห้องทดลอง
In vitro Control of Fungal Contamination in Stored Garlic by
Herbal Extracts and Microbial Antagonists

หฤทัย ไทยสุชาติ^{1*} และ พรอนันต์ บุญก่อน¹

บทคัดย่อ

การควบคุมโดยชีววิธีเป็นทางเลือกที่ดีที่สุดสำหรับใช้ในการควบคุมโรคพืชทดแทนการใช้สารเคมีซึ่งสามารถปนเปื้อนในอาหารและก่อให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อม โดยการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์หรือสารสกัดจากธรรมชาติในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรค งานวิจัยนี้เป็นการทดสอบกิจกรรมต้านเชื้อราของสารสกัดจากกานพลู พลู และขมิ้นต่อเชื้อรา 3 ชนิด ได้แก่ *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. และ *Penicillium* sp. ซึ่งเป็นเชื้อราที่แยกได้จากกระเทียมและเกี่ยวข้องกับโรคหลังการเก็บเกี่ยว และประเมินประสิทธิภาพการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ด้วยวิธี dual culture ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 13 ไอโซเลต และ *Bacillus subtilis* ต่อเชื้อราทั้งสามชนิดด้วย ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดจากพืชทั้งหมดที่ทดสอบมีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อรา โดยสารสกัดจากกานพลูที่ความเข้มข้น 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพดีที่สุดโดยยับยั้งเชื้อราทั้งหมดที่ทดสอบได้อย่างสมบูรณ์ ทุกไอโซเลตของ *Trichoderma* spp. มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของโคโลนีเชื้อรา *Fusarium* sp. ในระดับปานกลางถึงระดับสูงโดยมีค่าร้อยละการยับยั้งระหว่าง 35-76 และประสิทธิภาพของ *B. subtilis* ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus* sp. สูงกว่าการยับยั้ง *Fusarium* sp. และ *Penicillium* sp.

¹Biology Program, Faculty of Science, Lampang Rajabhat University, Lampang, Thailand 52100

*Corresponding Author, E-mail: Haruthaitai@yahoo.com

ABSTRACT

Biological control is an attractive alternative to synthetic chemicals, which may enter the food supply and cause serious environmental problems. Biological control, in particular the application of microbial antagonists and natural extracts, has thus been investigated as a means of controlling various phytopathogenic fungi. *In vitro* studies were carried out to evaluate the antifungal activity of three herbal extracts (clove, betel leaf and turmeric) against *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. and *Penicillium* sp., which are connected with diseases appearing post-harvest. These three phytopathogenic fungi were isolated from stored garlic in Lampang. The antagonistic potential agent of 13 isolates of *Trichoderma* spp. and of *Bacillus subtilis* against the same three fungi was also investigated using dual culture techniques. The results revealed that all herbal extracts showed strong antifungal activity. Clove extract at a concentration of 5 and 10 mg/ml was the most effective, completely inhibiting the growth of all tested fungi. Most of the *Trichoderma* isolates showed moderate to high antagonistic activity with regard to *Fusarium* sp., with a 35-76 % reduction in colony growth, while they exhibited lower potential when applied to *Aspergillus* sp. and *Penicillium* sp. The efficacy of *B. subtilis* in inhibiting fungal growth on *Aspergillus* sp. is higher than on *Fusarium* sp. and *Penicillium* sp.

คำสำคัญ: กระเทียม เชื้อราแอสเพอร์จิลลัส เชื้อราฟิวซาเรียม เชื้อราเพนิซิลเลียม เชื้อราไตรโคเดอร์มา กานพลู พลู ขมิ้น

Keywords: Garlic, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichoderma*, Clove, Betel leaf, Turmeric

บทนำ

กระเทียมเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของภาคเหนือ โดยจังหวัดที่เป็นแหล่งผลิตกระเทียมมากที่สุดของประเทศไทย 4 อันดับแรก ได้แก่ เชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน พะเยา และลำปาง (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2557) ปัญหาหลักอย่างหนึ่งในการผลิตกระเทียมได้แก่ โรคของกระเทียม ซึ่งมีอยู่หลายโรค มีสาเหตุมาจากทั้งเชื้อรา แบคทีเรีย ไส้เดือนฝอย และไวรัส (McDonald et al., 2004; Schwartz and Mohan, 1995) นอกจากนี้ยังพบโรคหลังการเก็บเกี่ยวระบาดมากในเกือบทุกพื้นที่ สร้างปัญหาสำหรับการเก็บรักษากระเทียม และก่อ

ความเสียหายกับผลผลิตอย่างมาก โรคหลังการเก็บเกี่ยวมีสาเหตุหลักมาจากเชื้อรา โดยเชื้อสาเหตุโรคอาจเป็นชนิดเดียวกับโรคที่พบในแปลงปลูก เชื้อราสำคัญที่มีรายงานพบเป็นสาเหตุของโรคในกระเทียมที่เก็บเกี่ยวแล้ว ได้แก่ เชื้อราในสกุล *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus* และ *Botrytis allii* (Schwartz and Mohan, 1995)

การควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวที่เกิดจากเชื้อราในพืชผลการเกษตรด้วยวิธีทางชีวภาพมีการศึกษาและพัฒนาขึ้นเพื่อทดแทนการใช้สารเคมี การศึกษาและพัฒนาขึ้นเพื่อทดแทนการใช้สารเคมี การใช้สารเคมีคลุกกระเทียมเพื่อป้องกันโรคอาจส่งผลกระทบต่อการศึกษาต่อกรยอมรับของผู้บริโภค วิธีการทางชีวภาพ

เพื่อควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อราที่ศึกษากันอย่างกว้างขวางมีทั้งการใช้สารสกัดจากพืชและชีววิธี การควบคุมด้วยชีววิธีเป็นการนำจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มาทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคโดยเลือกใช้จุลินทรีย์ที่ไม่ใช่เชื้อสาเหตุโรคทั้งในคน สัตว์หรือพืช และมีรายงานการใช้ว่าได้ผลดีมาก่อน จนได้ชนิดของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพดีและพัฒนาให้สามารถนำไปใช้ได้จริง วิธีการนี้มีค่าใช้จ่ายต่ำและมีประสิทธิภาพสูง ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้นำเชื้อราและแบคทีเรียที่มีรายงานการใช้เพื่อควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคหลังการเก็บเกี่ยว ได้แก่ เชื้อรา *Trichoderma* sp. (Rajendiran et al., 2010; Bordbar et al., 2010; Gajera et al., 2011) แบคทีเรีย *Bacillus* sp. (Moshafi et al., 2011; Imran et al., 2012) และรวมถึงสารสกัดจากกานพลู พลุ และขมิ้น (Suprpta and Khalimi, 2009; Avasthi et al., 2010; Singh et al., 2012) มาทดสอบการยับยั้งเชื้อ *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. และ *Penicillium* sp. ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งวิธีที่ให้ผลดีสามารถนำมาพัฒนาเพื่อใช้ควบคุมโรคในกระเทียมหลังการเก็บเกี่ยวต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. แหล่งที่มาของเชื้อราสาเหตุโรค สารสกัดจากพืช และจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

เชื้อราปนเปื้อนในกระเทียมที่นำมาทดสอบแยกได้จากกระเทียมที่ซื้อจากตลาดขายส่งและแหล่งรับมัดกระเทียมในอำเภอเมือง จังหวัดลำปาง ได้แก่ เชื้อรา *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. และ *Penicillium* sp. ซึ่งคัดแยกได้จำนวน 5, 10 และ 4 ไอโซเลตตามลำดับ จากนั้นเลือกไอโซเลตที่ทำให้เกิดแผลในกระเทียมรุนแรงที่สุดมาทดสอบ (รูปที่ 1)

พืชที่นำมาทดสอบ คือ กานพลู พลุ และขมิ้น ซื้อจากร้านค้าทั่วไป จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่เลือกมาทดสอบ ได้แก่ เชื้อรา *Trichoderma* spp. แยกจากนาข้าวจำนวน 13 ไอโซเลต (Tri 01, 05, 07, 08, 09, 10, 11, 14, 15, 16, 17, 18 และ 20) ได้รับความอนุเคราะห์จากอาจารย์ศาสตรา ลาตปะละ และแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* จากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏลำปาง



รูปที่ 1 ลักษณะแผลของกระเทียมจากการปลูกเชื้อรา *Aspergillus* sp. (ก), *Fusarium* sp. (ข) และ *Penicillium* sp. (ค)

2. การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งด้วยสารสกัดจากพืช

2.1 การเตรียมสารสกัดจากพืช

นำกานพลู ใบพลู และหัวขมิ้น มาทำให้แห้งด้วยการตากลม จากนั้นบดให้ละเอียดแล้วชั่งปริมาณ 10 กรัม แช่ในเอทานอล 95% ปริมาตร 1,000

มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 วัน เมื่อครบเวลา นำมากรองด้วยกระดาษกรอง กากที่เหลือนำมาสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง ส่วนของเอทานอลที่ผ่านการกรองแล้วนำมาระเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยความชื้น (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส สารสกัดหยาบที่ได้เก็บ

รักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปทำการทดสอบต่อไป

การละลายและเจือจางสารสกัดใช้ตัวทำละลาย 10% DMSO โดยเตรียมเป็นสารสกัดหยาบเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรก่อน ในการทดสอบนำสารสกัดเข้มข้นมาผสมกับอาหาร PDA ที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว ให้ได้ความเข้มข้น 10, 5, 2.5 และ 1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หรือคิดเป็นร้อยละ 1, 0.5, 0.25 และ 0.125 น้ำหนักต่อปริมาตร ตามลำดับ

2.2 การทดสอบด้วยวิธี poisoned food technique

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมด้วยสารสกัดหยาบของพืชที่ต้องการทดสอบตามระดับความเข้มข้นในข้อ 2.1 ปลุกเชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 3 ชนิดบนอาหารที่ผสมสารสกัดจากพืชนี้ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์มี 5 ซ้ำ ตรวจสอบผลโดยวัดความยาวรัศมีของโคโลนีเชื้อราในงานทดสอบและงานควบคุม และคำนวณหาประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเส้นใย (% inhibition) จากสูตร

$$\% \text{ inhibition} = (R1-R2)/R1 \times 100$$

โดย R1 = ความยาวรัศมีของโคโลนีเชื้อราในงานควบคุม

R2 = ความยาวรัศมีของโคโลนีเชื้อราในงานทดสอบ

3. การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งด้วยเชื้อราปฏิปักษ์

เชื้อราทุกสายพันธุ์ที่ทดสอบเพาะเลี้ยงในอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้อง การทดสอบใช้วิธี dual culture โดยการปลุกเชื้อราปฏิปักษ์และเชื้อราที่แยกจากกระเทียม นำมาเพาะเลี้ยงร่วมกันบนอาหาร PDA ดำเนินการโดยใช้ cork borer เจาะตัดเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. ที่เจริญบนอาหารวันเป็นเวลา 7 วัน มาวางลงด้านหนึ่งของอาหาร PDA งานใหม่ ทำเช่นเดียวกันนี้กับเชื้อราที่แยกได้จากกระเทียม

(*Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. หรือ *Penicillium* sp.) โดยวางเชื้อราที่ด้านตรงข้าม วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ มี 5 ซ้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5-7 วัน ตรวจสอบผลโดยวัดความยาวรัศมีของโคโลนีเชื้อรา *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. และ *Penicillium* sp. ในงานทดสอบและงานควบคุม แล้วคำนวณหาประสิทธิภาพหรือร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใย

ศึกษากลไกการยับยั้ง โดยตรวจดูลักษณะของเส้นใยเชื้อราขณะทดสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยวิธี dual slide culture

4. การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์

แบคทีเรียที่นำมาทดสอบคือ *B. subtilis* เพาะเลี้ยงในอาหาร TSB บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาทดสอบ ส่วนเชื้อราที่แยกจากกระเทียมเพาะเลี้ยงในอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้อง

การทดสอบใช้วิธีเลี้ยงเชื้อร่วมกันเช่นเดียวกับการทดสอบในราปฏิปักษ์ แต่การเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียใช้ loop (loop) และโคโลนีแบคทีเรียและนำมาลากเป็นเส้นตรงที่ด้านตรงข้ามเชื้อราบนอาหาร วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์มี 5 ซ้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน ตรวจสอบผลโดยวัดความยาวรัศมีของโคโลนีเชื้อราในงานทดสอบและงานควบคุม แล้วคำนวณหาประสิทธิภาพการยับยั้ง และศึกษาลักษณะของเส้นใยเชื้อราขณะทดสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยวิธี dual slide culture

ผลการวิจัย

ประสิทธิภาพของสารสกัดจากกานพลู พลู และขมิ้น เชื้อรา *Trichoderma* spp. และแบคทีเรีย *B. subtilis* ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคหลังการเก็บเกี่ยวของกระเทียม ปรากฏผลการศึกษาดังนี้

1. การยับยั้งเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยวของกระเทียม ด้วยสารสกัดจากพืช

ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. และ *Penicillium* sp. ด้วยสารสกัดจากพืช 3 ชนิด ได้แก่ กานพลู พลู และขมิ้น ที่ความเข้มข้น 10, 5, 2.5 และ 1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยวิธี poisoned food

technique แสดงในตารางที่ 1 โดยพบว่า สารสกัดจากกานพลูที่ความเข้มข้น 10 และ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดจากใบพลูที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้งสามชนิดได้อย่างสมบูรณ์ ส่วนสารสกัดจากกานพลู ใบพลูที่ความเข้มข้นอื่นและขมิ้นทุกความเข้มข้นพบการเจริญของเชื้อรา

ตารางที่ 1 ผลการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. และ *Penicillium* sp. ด้วยสารสกัดจากพืชที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

พืชที่ใช้	ความเข้มข้นของสารสกัด (mg/ml)	ร้อยละการยับยั้งเชื้อรา		
		<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.
กานพลู	10	100 ^a	100 ^a	100 ^a
	5	100 ^a	100 ^a	100 ^a
	2.5	83 ^b	96 ^a	80 ^b
	1.25	63 ^c	70 ^c	50 ^c
ใบพลู	10	100 ^a	100 ^a	100 ^a
	5	62 ^c	78 ^b	70 ^b
	2.5	48 ^d	58 ^d	48 ^{cd}
	1.25	39 ^e	39 ^e	38 ^{de}
ขมิ้น	10	61 ^c	70 ^c	53 ^c
	5	58 ^c	67 ^c	51 ^c
	2.5	44 ^{de}	41 ^e	36 ^e
	1.25	30 ^f	21 ^f	31 ^e

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรต่างกันในระดับเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$)

2. การยับยั้งเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยวของกระเทียม ด้วยเชื้อรา *Trichoderma* spp.

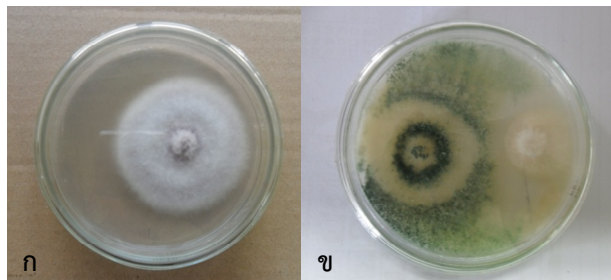
ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. และ *Penicillium* sp. ด้วยเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. จำนวน 13 ไอโซเลต แสดงในตารางที่ 2 โดยพบว่า เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 13 ไอโซเลต สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus* sp. และ *Penicillium* sp. ได้ระหว่าง

ร้อยละ 4-19 และ 2-24 ตามลำดับ ซึ่งถือว่ามีประสิทธิภาพต่ำ แต่สามารถยับยั้งเชื้อรา *Fusarium* sp. ได้ระหว่างร้อยละ 35-76 โดยไอโซเลต Tri 14 ยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด (รูปที่ 2) เมื่อตรวจสอบลักษณะของเส้นใยเชื้อรา *Fusarium* sp. ที่เพาะเลี้ยงร่วมกับ *Trichoderma* spp. (Tri 14) สังเกตพบการเจริญของเส้นใย Tri 14 เกิดขึ้นภายในเส้นใย *Fusarium* sp. (รูปที่ 3)

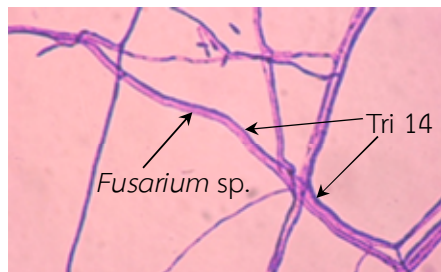
ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเจริญของ *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. และ *Penicillium* sp. ที่แยกได้จากกระเทียม

ไอโซเลตของ	ร้อยละการยับยั้งเชื้อรา			
	<i>Trichoderma</i>	<i>Aspergillus</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.
Tri 01	11 ^{de}	65 ^d	11 ^{cd}	
Tri 05	18 ^{ab}	41 ^{fg}	22 ^a	
Tri 07	8 ^{efg}	35 ^h	20 ^{ab}	
Tri 08	14 ^{cd}	35 ^h	13 ^{bc}	
Tri 09	4 ^h	68 ^c	4 ^{de}	
Tri 10	7 ^{gh}	44 ^f	24 ^a	
Tri 11	13 ^{cd}	51 ^e	7 ^{cde}	
Tri 14	7 ^{gh}	76 ^a	11 ^{cd}	
Tri 15	16 ^{abc}	71 ^b	13 ^{bc}	
Tri 16	9 ^{ef}	69 ^c	2 ^e	
Tri 17	15 ^{bc}	73 ^b	22 ^a	
Tri 18	5 ^{gh}	41 ^{fg}	9 ^{cde}	
Tri 20	19 ^a	40 ^g	13 ^{bc}	

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรต่างกันในระดับเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$)



รูปที่ 2 เชื้อรา *Fusarium* sp. (ก) และการเพาะเลี้ยงร่วมกันระหว่าง *Trichoderma* spp. (Tri 14) และ *Fusarium* sp. (ข)



รูปที่ 3 ลักษณะของเส้นใยเชื้อรา *Trichoderma* spp. (Tri 14) ที่เจริญภายในเส้นใยของ *Fusarium* sp.

3. การยับยั้งเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยวของกระเทียม ด้วยแบคทีเรีย *B. subtilis*

การทดสอบเพื่อควบคุมเชื้อรา *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. และ *Penicillium* sp. ด้วยเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ใช้วิธี dual culture พบว่า *B. subtilis* ยับยั้งการเจริญของ *Aspergillus* sp. ได้ดีที่สุดที่ร้อยละ 63 และยับยั้งเชื้อรา *Fusarium* sp. และ *Penicillium* sp. ได้ต่ำที่ร้อยละ 13 และ 8 ตามลำดับ และเมื่อศึกษาลักษณะเส้นใยเชื้อรา *Aspergillus* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยการทำ dual slide culture ร่วมกับ *B. subtilis* พบว่าเส้นใยเชื้อราบางส่วนมีลักษณะบวมเล็กน้อย แต่ลักษณะผิดปกติโดยรวมไม่ชัดเจน

สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

การศึกษาเพื่อประเมินประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคหลังการเก็บเกี่ยวในกระเทียม ทำโดยนำสารสกัดหยาบของพืช 3 ชนิด ได้แก่ กานพลู พลู และขมิ้นที่สกัดด้วยเอทานอลมาทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. และ *Penicillium* sp. ที่แยกจากกระเทียม พบว่า สารสกัดจากกานพลูมีประสิทธิภาพดีที่สุด รองลงมาคือ พลู โดยพบการยับยั้งการเจริญโดยสมบูรณ์ของเชื้อราทั้ง 3 ชนิด (ร้อยละ 100) เมื่อใช้สารสกัดจากกานพลูที่ความเข้มข้น 10 และ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดจากพลูที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารสกัดจากขมิ้นที่ความเข้มข้นสูงสุดที่ทดสอบ (10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ยับยั้งเชื้อทั้งสามได้ระหว่างร้อยละ 53-70 กานพลูเป็นพืชที่มีรายงานว่ามีประสิทธิภาพดีในการยับยั้ง *A. niger* ได้ เมื่อใช้ที่ความเข้มข้นร้อยละ 20 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้อย่างสมบูรณ์ (Avasthi et al., 2010) สารสกัดจากกานพลูสามารถยับยั้งเชื้อรา

F. oxysporum f. sp. *capsici* ได้ดี (Suprpta and Khalimi, 2012) และเมื่อใช้ร่วมกับสารสกัดจากพลูก็ให้ผลดีที่สุดในการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* สาเหตุโรค stem rot ในวานิลลา (Suprpta and Khalimi, 2009)

เมื่อนำเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. จำนวน 13 ไอโซเลต มาทดสอบการยับยั้งเชื้อราที่แยกจากกระเทียมทั้ง 3 ชนิด พบว่า *Trichoderma* spp. ทั้ง 13 ไอโซเลตมีประสิทธิภาพต่ำในการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus* sp. และ *Penicillium* sp. โดยมีค่าการยับยั้งอยู่ระหว่างร้อยละ 2-24 ขณะที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* sp. ได้ดีที่สุดที่ร้อยละ 35-76 โดยไอโซเลต Tri 14 มีประสิทธิภาพสูงสุด ผลของการใช้ *Trichoderma* ในการยับยั้ง *Fusarium* sp. ได้อย่างมีประสิทธิภาพนี้ มีรายงานไว้โดย Sahi and Khalid (2007) ที่พบว่า *T. viride* ควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* ได้ดีที่สุด รองลงมาเป็น *Trichoderma* สปีชีส์อื่น Ramezani (2010) รายงานว่า *T. harzianum* ยับยั้งการเจริญของ *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่า *T. koningii*, *T. longiconis*, *T. hamatum* และ *T. viride* ในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคหลังการเก็บเกี่ยวด้วยวิธี dual culture พบว่า *T. viride* สามารถยับยั้งเชื้อ *Fusarium* sp. ได้ร้อยละ 64 (Rajendiran et al., 2010) Kamala and Indira Devi (2012) คัดแยกเชื้อราในสกุล *Trichoderma* จากดินในอินเดียจำนวน 114 ไอโซเลต แล้วนำมาทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ พบว่า เชื้อรา *Trichoderma* จำนวนร้อยละ 80 มีคุณสมบัติการเป็นปฏิปักษ์ต่อ *F. oxysporum* นอกจากนี้ การประเมินความสามารถของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกจากฟาร์มไฮโดรโปนิคส์ต่อการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคได้

ระหว่างร้อยละ 53-73 (จิตติ และคณะ, 2556) เมื่อตรวจสอบลักษณะของเส้นใยเชื้อรา *Fusarium* sp. ที่เพาะเลี้ยงร่วมกับ *Trichoderma* spp. (Tri 14) สังเกตพบการเจริญของเส้นใย Tri 14 เกิดขึ้นภายในเส้นใย *Fusarium* sp. แสดงว่าเชื้อราปฏิปักษ์มีกลไกการเข้าทำลายด้วยการเป็นปรสิต ซึ่งสามารถพันรอบเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคและแทงเส้นใยเข้าไปภายในเส้นใยของเชื้อรา ทำให้เส้นใยสลายตัวและแฟบลง (อังคณา, 2551)

อย่างไรก็ตาม ในงานวิจัยอื่นมีการพบว่า *T. harzianum* สามารถควบคุมเชื้อรา *Aspergillus* sp. ได้ (วารารณ และคณะ, 2553) *T. viride* มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของ *A. niger* (Gajera et al., 2011) *T. virens* ควบคุมการเน่าของผลแอปเปิ้ลที่เกิดจากเชื้อ *P. expansum* (Bordbar et al., 2010) และ *T. viride* สามารถยับยั้งเชื้อ *A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, และ *Penicillium* sp. ได้ร้อยละ 55, 51, 52 และ 54 ตามลำดับ (Rajendiran et al., 2010) ผลการศึกษาที่ไม่สอดคล้องกันในรายงานนี้ซึ่งพบว่า *Trichoderma* spp. ทั้ง 13 ไอโซเลต ยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus* sp. และ *Penicillium* sp. ได้ต่ำ อาจเนื่องมาจากความหลากหลายของ *Trichoderma* ไม่มากพอที่จะตรวจพบชนิดที่มีประสิทธิภาพดีสำหรับการควบคุมเชื้อราดังกล่าว

แบคทีเรีย *B. subtilis* มีประสิทธิภาพต่ำเมื่อนำมาใช้ทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium* sp. และ *Penicillium* sp. ขณะที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Aspergillus* sp. ได้ค่อนข้างดี โดยมีค่าร้อยละการยับยั้งเท่ากับ 63 อย่างไรก็ตาม มีงานวิจัยที่รายงานว่า *Bacillus* sp. เป็นแบคทีเรียที่มีศักยภาพดีในการยับยั้งเชื้อราดังกล่าว เช่น Moshafi et al. (2011) คัดแยกแบคทีเรียจากดินแล้วทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ ผลการศึกษาพบว่าไอโซเลต FAS1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *A. niger* สูงมาก ซึ่งเมื่อจัดจำแนกพบว่า

เป็นแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* Gheorghe et al. (n.d.) รายงานว่า *Bacillus* sp. ให้ผลการยับยั้ง *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. และ *Fusarium* sp. อย่างมีประสิทธิภาพ และ Imran et al. (2012) รายงานว่า *Bacillus* 12 สายพันธุ์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งราสาเหตุโรคพืชหลัก ๆ ได้ดี และ *B. subtilis* ใช้ได้ดีทั้งในรูปแบบเชื้อโดยตรงและ filtrate ของเชื้อ

การทดสอบนำสารสกัดด้วยแอลกอฮอล์จาก กานพลู พลู และขมิ้น จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. และ *B. subtilis* มาใช้ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. และ *Penicillium* sp. ที่แยกได้จากกระเทียม สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อเปรียบเทียบและศึกษาวิธีการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคในกระเทียมหลังการเก็บเกี่ยวที่ได้ผลดีที่สุด นอกจากนี้ จากผลการศึกษาที่พบว่า สารสกัดกานพลูด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสูงและ *Trichoderma* spp. ไอโซเลต Tri 14 สามารถยับยั้งเชื้อรา *Fusarium* sp. ได้ดี จึงควรมีการศึกษาเพื่อพัฒนารูปแบบต่าง ๆ ที่เหมาะสมกับการนำมาใช้ควบคุมเชื้อราในกระเทียมต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏลำปาง ที่ให้ความอนุเคราะห์ด้านเครื่องมือและสถานที่ทำงานวิจัย และขอบคุณ มหาวิทยาลัยราชภัฏลำปาง สำหรับการอนุมัติทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณแผ่นดิน ปี พ.ศ. 2555

เอกสารอ้างอิง

จิตติ ทองคำงาม พรหมมาศ คูหากาญจน์ และถนิมนันต์ เจนอักษร. (2556). การประเมินความสามารถในการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ในสภาพห้องปฏิบัติการของ

- Trichoderma* ไอโซเลท ต่อเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucaae*. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 31(3): 57-67.
- วราภรณ์ บุญเกิด จิระเดช แจ่มสว่าง สุดฤดี ประเทืองวงศ์ สุพนจน์ กาเข็ม และจිරนนท์ แหยมสูงเนิน. (2553). ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ต่อการลดปริมาณเชื้อรา *Aspergillus* spp. ในแปลงปลูกข้าวโพดโดยชีววิธี. ใน: Proceedings of the 4th Workshop of Corn and Sorghum Research Project of Kasetsart University: Corn and sorghum yield increasing to improve the quality of life and environmental sustainability, Bangkok. 234-242.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2557). ข้อมูลพื้นฐานเศรษฐกิจการเกษตร ปี 2556. แหล่งข้อมูล: http://www.oae.go.th/download/download_journal/commodity56.pdf. ค้นเมื่อวันที่ 29 สิงหาคม 2557.
- อังคณา กันทาจันทร์. (2551). การควบคุมโรคเน่าดำของถั่วเขียว ผิดำพันธุ์พิษณุโลก 2 โดยใช้เชื้อราปฏิปักษ์และสารกำจัดเชื้อรา. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (โรคพืช), มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่: 93 หน้า.
- Avasthi, S., Gautam, A.K. and Bhadauria, R. (2010). Antifungal activity of plant products against *Aspergillus niger*: a potential application in the control of a spoilage fungus. Biological Forum-An International Journal. 2(1): 53-55.
- Bordbar, F.T., Etebarian, H.R., Sahebani, N. and Rohani, H. (2010). Control of postharvest decay of apple fruit with *Trichoderma virens* isolates and induction of defense responses. Journal of Plant Protection Research. 50(2): 146-152.
- Gajera, H., Rakholiya, K. and Vakharia, K. (2011). Bioefficacy of *Trichoderma* isolates against *Aspergillus niger* van Tieghem inciting collar rot in groundnut (*Arachis hypogaea* L.). Journal of Plant Protection Research. 51(3): 240-247.
- Gheorghie, A., Jecu, L., Voicu, A., Popea, F., Rosu, A. and Roseanu, A. (n.d.). Biological control of phytopathogen microorganisms with antagonist bacteria. แหล่งข้อมูล: <http://www.aidic.it/IBIC2008/webpapers/64Gheorghie.pdf>. ค้นเมื่อวันที่ 8 มีนาคม 2557
- Imran, H., Darine, T.H. and Mohamed, E.G. (2012). *In vitro* screening of soil bacteria for inhibiting phytopathogenic fungi. African Journal of Biotechnology. 11(81): 14660-14670.
- Kamala, Th. and Indira Devi, S. (2012). Biocontrol properties of indigenous *Trichoderma* isolates from North-east India against *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani*. African Journal of Biotechnology. 11(34): 8491-8499.
- McDonald, M.R., Jaime, M.A. and Hovius, M.H.Y. (2004). Management of diseases of onions and garlic. In Diseases of Fruits and Vegetables, Volume II. Netherlands: Kluwer Academic Publishers. pp. 149-200.
- Moshafi, M.H., Foorotnar, H., Ameri, A., Shakibaie, M., Dehghan-Noudeh, G. and Razavi, M. (2011). Antimicrobial activity of *Bacillus* sp. strain FAS1 isolated from soil. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences. 24(3): 269-275.
- Rajendiran, R., Jegadeeshkumar, D., Sureshdumar, B.T. and Nisha, T. (2010). *In vitro* assessment of antagonistic activity of *Trichoderma viride* against post harvest pathogens. Journal of Agricultural Technology. 6(1): 31-35.
- Ramezani, H. (2010). Antagonistic effects of *Trichoderma* spp. against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* causal agent of tomato wilt. Plant Protection Journal. 2(1): 167-173.

- Sahi, I.Y. and Khalid, A.N. (2007). *In vitro* biological control of *Fusarium oxysporum*-causing wilt in *Capsicum annum*. Myco-phytopathological Society of Pakistan. 5(2): 85-88.
- Schwartz, H.F. and Mohan, S.K. (1995). Compendium of Onion and Garlic Diseases. Minnesota: APS Press, St. Paul. p. 54.
- Singh, H., Alsamurai, G. and Syarhabil, M. (2012). Performance of botanical pesticides to control post-harvest fungi in citrus. International Journal of Scientific and Engineering Research. 3(4): 1-4.
- Suprpta, D.N. and Khalimi, K. (2009). Efficacy of plant extract formulations to suppress stem rot disease on vanilla seedlings. Journal of International Society for Southeast Asian Agricultural Sciences. 15(2): 34-41.
- Suprpta, D.N. and Khalimi, K. (2012). Anti-fungal activities of selected tropical plants from Bali island. Phytopharmacology. 2(2): 265-270.

