

ผลการวิจัย

1. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการชักนำให้ต้นมะเขือเทศสร้างความต้านทานโรคใบจุดเป่ากระสุนที่เกิดจากเชื้อรา *Corynespora cassiicola*

เชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลต T24, T17 และ 88 สามารถชักนำให้ต้นมะเขือเทศมีความต้านทานต่อโรคใบจุดเป่ากระสุนได้ดีที่สุด โดยมีจำนวนจุดแผลลดลงถึง 83.88, 83.10 และ 78.12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (ปลูกเชื้อสาเหตุโรคเพียงอย่างเดียว) ซึ่งมีเชื้อรา *Trichoderma* อีกจำนวน 20 ไอโซเลต ที่สามารถชักนำให้ต้นมะเขือเทศมีความต้านทานต่อโรคใบจุดเป่ากระสุนในระดับต่างๆกัน (ตารางที่ 1)

2. การตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยสลายในใบมะเขือเทศจากการชักนำให้สร้างความต้านทานโรคโดยเชื้อรา *Trichoderma* spp.

ใบมะเขือเทศจากต้นที่ปลูกด้วยเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลต 162 มีกิจกรรมของเอนไซม์ chitinase สูงที่สุด เท่ากับ 857.24 μmol (GlcNac equivalent)/mg protein/hr รองลงมาคือ ใบมะเขือเทศจากต้นที่ปลูกด้วยเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลต T18, T13 และ T4 เท่ากับ 763.66, 750.62 และ 746.86 μmol (GlcNac equivalent)/mg protein/hr ตามลำดับ (ตารางที่ 2) สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์ β -1,3-glucanase พบสูงในใบมะเขือเทศจากต้นที่ปลูกด้วยเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลต T4, 103, 106, 162 และ 85 มีกิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 498.62, 471.12, 466.44, 453.53 และ 448.29 μmol (glucose equivalent)/mg protein/hr ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ส่วนกิจกรรมของเอนไซม์ protease นั้น พบสูงที่สุดในใบมะเขือเทศจากต้นที่ปลูกด้วยเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลต 85 เท่ากับ 850.32 μmol of amino acid (tyrosine equivalent)/mg protein/hr รองมาคือ ใบมะเขือเทศจากต้นที่ปลูกด้วยเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลต 67 และ 115 เท่ากับ 778.04 และ 775.47 μmol of amino acid (tyrosine equivalent)/mg protein/hr ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 1 จำนวนจุดแผลที่เกิดขึ้นบนใบมะเขือเทศหลังจากปลูกเชื้อรา *Corynespora cassiicola* ร่วมกับเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลตต่างๆ เป็นเวลา 14 วัน

ไอโซเลต	จำนวนจุดแผลเฉลี่ย ^{1/}	จำนวนจุดแผลลดลง (%)	ไอโซเลต	จำนวนจุดแผลเฉลี่ย ^{1/}	จำนวนจุดแผลลดลง (%)
T1	106.7 cdef	58.6	77	67.7 defg	73.4
T4	58.7 defg	76.9	78	93.3 cdef	63.3
T9	114.3 bcdef	55.1	85	86.7 cdefg	65.9
T10	68.3 defg	73.1	88	55.7 efg	78.1
T13	84.0 cdefg	67.0	89	98.7 cdef	61.2
T14	73.3 defg	71.2	90	64.0 defg	74.8
T17	43.3 fg	83.0	103	111.7 cdef	56.1
T18	91.0 cdefg	64.2	106	108.3 cdef	57.0
T19	125.7 bcdef	50.6	111	169.3 bc	33.4
T20	106.7 cdef	58.1	115	81.7 cdefg	67.9
T21	93.3 cdef	63.3	119	200.0 ab	21.4
T24	41.0 fg	83.9	122	106.7 cdef	58.1
T25	106.7 cdef	58.1	133	86.7 cdefg	65.9
T30	147.7 bcde	41.9	139	71.3 defg	72.0
T35	149.7 bcd	41.4	162	103.3 cdef	59.4
38	122.7 bcdef	51.8	177	90.7 cdefg	64.4
57	73.0 defg	71.3	Control1	0.00 g	-
67	70.0 defg	72.5	Control2	254.3 a	-
74	70.7 defg	72.2			
F-test	**		F-test	**	
C.V. (%)	27.50		C.V. (%)	27.50	

Control 1 = ต้นมะเขือเทศอายุ 14 วัน ปลูกเชื้อด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ

Control 2 = ต้นมะเขือเทศอายุ 14 วัน ปลูกเชื้อด้วยเชื้อรา *Corynespora cassiicola* เพียงอย่างเดียว

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.01$, DMRT)

ตารางที่ 2 กิจกรรมของเอนไซม์ chitinase ในใบมะเขือเทศที่ปลูกด้วยเชื้อรา *Corynespora cassiicola* ร่วมกับเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลต ต่างๆ เป็นเวลา 14 วัน

ไอโซเลต	กิจกรรมของเอนไซม์ [$\mu\text{mol (GlcNac equivalent)}/\text{mg protein/hr}$] ^{1/}	กิจกรรมของ เอนไซม์ เพิ่มขึ้น (%)	ไอโซเลต	กิจกรรมของเอนไซม์ [$\mu\text{mol (GlcNac equivalent)}/\text{mg protein/hr}$] ^{1/}	กิจกรรมของ เอนไซม์ เพิ่มขึ้น (%)
T1	744.5 abcd	16.7	77	574.8 bcdefg	-
T4	746.9 abc	17.1	78	593.6 bcdefg	-
T9	727.8 abcd	14.1	85	492.5 efgh	-
T10	723.0 abcd	13.4	88	564.5 bcdefg	-
T13	750.7 abc	17.7	89	606.1 bcdefg	-
T14	699.7 abcde	5.0	90	619.2 bcdefg	-
T17	705.5 abcd	10.6	103	711.0 abcd	11.4
T18	763.7 ab	19.7	106	763.6 abcdef	19.7
T19	731.6 abcd	14.7	111	587.1 bcdefg	-
T20	653.8 abcdefg	2.5	115	616.7 bcdefg	-
T21	583.5 bcdefg	-	119	565.7 bcdefg	-
T24	639.2 bcdefg	0.2	122	530.1 defg	-
T25	722.5 abcd	13.3	133	577.8 bcdefg	-
T30	629.2 bcdefg	-	139	706.7 abcd	10.8
T35	477.7 fgh	-	162	857.2 a	34.4
38	575.5 bcdefg	-	177	456.8gh	-
57	573.8 bcdefg	-	Contro1	337.68 h	-
67	561.2 bcdefg	-	Contro2	637.73 bcdefg	-
74	539.1 cdefg	-			
F-test	**		F-test	**	
C.V. (%)	16.75		C.V. (%)	16.75	

Control 1 = ใบของต้นมะเขือเทศอายุ 14 วัน ปลูกเชื้อด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ

Control 2 = ใบของต้นมะเขือเทศอายุ 14 วัน ปลูกเชื้อด้วยเชื้อรา *Corynespora cassiicola* เพียงอย่างเดียว

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.01$, DMRT)

ตารางที่ 3 กิจกรรมของเอนไซม์ β -1,3-glucanase ในใบมะเขือเทศที่ปลูกด้วยเชื้อรา *Corynespora cassiicola* ร่วมกับเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลต ต่างๆ เป็นเวลา 14 วัน

ไอโซเลต	กิจกรรมของเอนไซม์ [μ mol (glucose equivalent)/ mg protein/hr] ^{1/}	กิจกรรมของ เอนไซม์ เพิ่มขึ้น (%)	ไอโซเลต	กิจกรรมของเอนไซม์ [μ mol (glucose equivalent)/mg protein/hr] ^{1/}	กิจกรรมของ เอนไซม์ เพิ่มขึ้น (%)
T1	276.9 cdefghijklm	-	77	186.7 hijklm	-
T4	498.6 a	33.4	78	362.4 abcdefghi	-
T9	304.6 bcdefghijk	18.5	85	448.3 abc	19.9
T10	222.5 ghijklm	-	88	111.7 lm	-
T13	404.5 abcdefg	8.3	89	411.1 abcdef	10.0
T14	251.1 defghijklm	-	90	130.4 klm	-
T17	228.1 efghijklm	-	103	471.1 ab	26.1
T18	413.7 abcde	10.7	106	466.4 ab	24.8
T19	276.0 cdefghijklm	-	111	403.8 abcdefg	8.1
T20	236.7 efghijklm	-	115	437.4 abcd	17.1
T21	319.2 abcdefghij	-	119	435.2 abcd	16.5
T24	96.9 m	-	122	341.3 abcdefghi	-
T25	286.6 bcdefghijkl	-	133	185.4 ijklm	-
T30	312.3 abcdefghijk	-	139	266.1 cdefghijklm	-
T35	223.8 fghijklm	-	162	453.5 abc	21.4
38	319.2 abcdefghij	-	177	252.4 defghijklm	-
57	144.3 jklm	-	Contro1	182.1 ijklm	-
67	406.2 abcdefg	8.7	Contro2	373.6 abcdefgh	-
74	211.4 hijklm	-			
F-test	**		F-test	**	
C.V. (%)	22.19		C.V. (%)	22.19	

Control 1 = ใบของต้นมะเขือเทศอายุ 14 วัน ปลุกเชื้อด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ

Control 2 = ใบของต้นมะเขือเทศอายุ 14 วัน ปลุกเชื้อด้วยเชื้อรา *Corynespora cassiicola* เพียงอย่างเดียว

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.01$, DMRT)

ตารางที่ 4 กิจกรรมของเอนไซม์ protease ในใบมะเขือเทศที่ปลูกด้วยเชื้อรา *Corynespora cassiicola* ร่วมกับเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลต ต่างๆ เป็นเวลา 14 วัน

ไอโซเลต	กิจกรรมของเอนไซม์ [μ mol of amino acid (tyrosine equivalent)/mg protein/hr] ^{1/}	กิจกรรมของ เอนไซม์ เพิ่มขึ้น (%)	ไอโซเลต	กิจกรรมของเอนไซม์ [μ mol of amino acid (tyrosine equivalent)/mg protein/hr] ^{1/}	กิจกรรมของ เอนไซม์ เพิ่มขึ้น (%)
T1	646.3 bcde	-	77	709.2 abcde	-
T4	683.3 abcde	-	78	708.7 abcde	-
T9	672.2 abcde	-	85	850.3 a	19.2
T10	637.5 bcde	-	88	561.6 de	-
T13	693.1 abcde	-	89	713.0 abcde	-
T14	577.4 de	-	90	605.7 bcde	-
T17	575.1 de	-	103	719.4 abcde	0.9
T18	558.2 de	-	106	713.2 abcde	-
T19	632.0 bcde	-	111	641.0 bcde	-
T20	689.1 abcde	-	115	775.5 abc	8.7
T21	706.6 abcde	-	119	720.3 abcde	1.0
T24	558.6 de	-	122	713.2 abcde	0.0
T25	648.4 bcde	-	133	539.8 ef	-
T30	746.8 abcd	4.7	139	611.4 bcde	-
T35	558.1 cde	-	162	733.6 abcd	2.8
38	672.8 abcde	-	177	696.8 abcde	-
57	714.5 abcde	0.1	Contro1	389.5 f	-
67	778.0 ab	9.1	Contro2	713.2 abcde	-
74	583.4 de	-			
F-test	**		F-test	**	
C.V. (%)	14.08		C.V. (%)	14.08	

Control 1 = ใบของต้นมะเขือเทศอายุ 14 วัน ปลูกเชื้อด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ

Control 2 = ใบของต้นมะเขือเทศอายุ 14 วัน ปลูกเชื้อด้วยเชื้อรา *Corynespora cassiicola* เพียงอย่างเดียว

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (P > 0.01, DMRT)

3. การผลิตมวลชีวภาพและทดสอบความมีชีวิตของเชื้อรา *Trichoderma* spp.

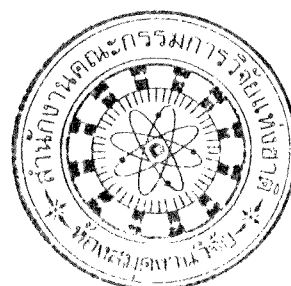
จากการทดสอบเลี้ยงเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลต T24, T17 และ 88 บนเมล็ดข้าวฟ่างที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วเคลือบด้วยแป้งเปียก (20%) ซึ่งเก็บไว้ในสภาพอุณหภูมิห้องปฏิบัติการ และที่อุณหภูมิ 10 °ซ พบว่าในช่วง 3 เดือนแรก เปอร์เซ็นต์ความงอกของเชื้อรา *Trichoderma* สามารถยังคงความมีชีวิตอยู่ โดยมีความงอก 100 เปอร์เซ็นต์ ไม่ว่าจะเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องหรือในตู้เย็นอุณหภูมิ 10 °ซ แล้วเปอร์เซ็นต์ความงอกของเชื้อจะลดลงเป็น 50 เปอร์เซ็นต์ ถ้าเก็บเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง แต่ในไอโซเลต T24 ก็ยังสามารถที่จะงอกได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์อยู่ ถึงแม้ว่าการงอกอาจจะช้าและมีการเปลี่ยนสีของสปอร์จากเดิมสีสปอร์เป็นสีเขียว เปลี่ยนเป็นสีเหลืองอมขาว ซึ่งอาจจะเกิดจากการเก็บรักษาเอาไว้นานๆ ทำให้เชื้ออาจมีการเปลี่ยนแปลงด้านลักษณะการเจริญเติบโต

แม้ว่าเชื้อเก็บเอาไว้สภาพที่เย็น และเชื้อสามารถที่จะงอกได้ 100 เปอร์เซ็นต์ก็ตาม แต่อาจมีการเปลี่ยนแปลงของเชื้อได้เช่นกัน หลังจากเก็บเอาไว้เป็นเวลานาน 4 เดือน โดยเชื้อทั้ง 3 ไอโซเลตคือ T24, T17 และ 88 เมื่อเก็บรักษาเอาไว้ที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ T24 มีความสามารถจะงอกได้ดีที่สุดคือ สามารถงอกได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และจะลดความงอกลงในเดือนต่อมา ส่วนวิธีการเก็บรักษาเอาไว้ในที่อุณหภูมิ 10 °ซ เชื้อทั้ง 3 ไอโซเลต ก็ยังคงความมีชีวิตอยู่ได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเชื้อรา *Trichoderma* spp. เปรียบเทียบระหว่างวิธีการที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ (28 ± 2 °ซ)

เดือนที่ทดสอบ (2552)	เปอร์เซ็นต์ความงอกของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. ไอโซเลต					
	T24		T17		88	
	30 ± 2 °ซ	10 °ซ	30 ± 2 °ซ	10 °ซ	30 ± 2 °ซ	10 °ซ
มิถุนายน	100	100	100	100	100	100
พฤษภาคม	100	100	100	100	100	100
กรกฎาคม	100	100	100	100	100	100
สิงหาคม	50*	100*	100*	100	50	100
กันยายน	50.5*	100*	100*	100*	50	100*
ตุลาคม	-	100*	45*	100*	-	100*

หมายเหตุ * ลักษณะของโคโลนีมีการเปลี่ยนสีจากเขียวเป็นเหลืองอมขาว



4. การทดสอบประสิทธิภาพมวลชีวภาพเชื้อรา *Trichoderma* sp. T24 ต่อเชื้อ *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* ในสภาพเรือนทดลอง

หลังจากการปลูกเชื้อรา *Trichoderma* sp. T24 ด้วยมวลชีวภาพทั้งที่เคลือบและไม่เคลือบด้วยแป้งเปียก ร่วมกับการปลูกเชื้อ Fol โดยเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีแมนโคเซป 1,800 มิลลิกรัมต่อลิตร ราดในอัตรา 20 มิลลิลิตร พบว่าในกรรมวิธีที่ปลูกมวลชีวภาพเชื้อ *Trichoderma* T24 (กรรมวิธีที่ 2 และ 3) ทั้งที่เป็นมวลชีวภาพที่เคลือบด้วยแป้งเปียกและไม่เคลือบด้วยแป้งเปียก ทำให้ต้นมะเขือเทศรอดตาย จากการเป็นโรคเหี่ยวเหลืองถึง 95 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งให้ค่าเทียบเท่ากับกรรมวิธีที่มีการใช้สารเคมีแมนโคเซปเข้มข้น 1,800 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งทำให้ต้นมะเขือเทศรอดตายจากการเป็นโรคถึง 100 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนกรรมวิธีที่ปลูกเชื้อ Fol เพียงอย่างเดียว นั้น มีต้นมะเขือเทศรอดตายเพียง 5 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์ต้นมะเขือเทศรอดตายจากการเป็นโรคเหี่ยวเหลือง หลังการปลูกมวลชีวภาพ เชื้อรา *Trichoderma* T24 ชนิดเคลือบและไม่เคลือบแป้งเปียก เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีแมนโคเซป

กรรมวิธี	ต้นรอดตาย (%) ¹	ตรรกษณการเป็นโรค ²
1. ปลูกเชื้อ Fol	5.0 b	5
2. ปลูกเชื้อ Fol + <i>Trichoderma</i> T24 (เคลือบแป้งเปียก)	95.0 a	1
3. ปลูกเชื้อ Fol + <i>Trichoderma</i> T24 (ไม่เคลือบแป้งเปียก)	95.0 a	1
3. ปลูกเชื้อ Fol + แมนโคเซป (1,800 mg/l)	100 a	1

¹ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันในคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$, DMRT)

² ประเมินตาม Marlatt และคณะ (1996)