สรุปและวิจารณ์

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 35 ไอโซเลต ในการชักนำให้ต้นมะเขือเทศสร้างความต้านทานโรคใบจุดเป้ากระสุนที่เกิดจากเชื้อรา *Corynespora cassiicola* พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลต T24, T17 และ 88 สามารถชักนำให้ต้นมะเขือเทศมีความต้านทานโรคได้มากที่สุด มีจำนวนจุดแผลเฉลี่ยต่อต้นน้อยที่สุด สามารถลดจำนวนจุดแผลได้ถึง 83.88, 83.10 และ 78.12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

สำหรับการตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยสลายในใบมะเขือเทศที่ปลูกด้วยเชื้อรา *C. cassiicola* ร่วมกับเชื้อรา *Trichoderma* ทั้ง 35 ไอโซเลต เป็นเวลา 14 วัน พบว่าใบของต้นมะเขือเทศที่ได้รับการปลูกเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลต 162 มีกิจกรรมของเอนไซม์ chitinase สูงที่สุด และพบกิจกรรมของเอนไซม์ β-1,3-glucanase ในระดับสูง เช่นเดียวกับใบของต้น มะเขือเทศที่ปลูกด้วยเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลต T4 พบว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์ β-1,3-glucanase สูงที่สุด และมีกิจกรรมของเอนไซม์ chitinase ในระดับสูง และยังพบว่าใบของต้น มะเขือเทศที่ปลูกด้วยเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลต 85 มีกิจกรรมของเอนไซม์ protease สูงที่สุด และพบกิจกรรมของเอนไซม์ β-1,3-glucanase ในระดับสูงอีกด้วย

ผลการทดลองที่ได้มีความสอดคล้องกับการศึกษาของ Charirak และคณะ (2008) และ Saksirirat และคณะ (2009) ซึ่งได้ศึกษาการชักนำให้ต้นมะเขือเทศมีความต้านทานต่อโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อรา *Stemphylium solani* และเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas vesicotoria* pv. *vesicatoria* โดยใช้เชื้อรา *Trichoderma* พบว่า ต้นมะเขือเทศที่ปลูกเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลต T18 สามารถลดจำนวนแผลจุดที่เกิดจากเชื้อรา *S. solani* ได้ 19.23 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลต T9 สามารถลดจำนวนจุดเนื้อเยื่อตายบนใบมะเขือเทศได้ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *X. vesicotoria* pv. *vesicatoria* ได้ 62.30 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้พบว่าต้นมะเขือเทศมีกิจกรรมของเอนไซม์ chitinase และ β-1,3-glucanase เพิ่มสูงขึ้นที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม หลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 14 วัน

แนวทางในการนำเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไปใช้ในแปลงปลูกจริงในปัจจุบัน มีหลายวิธีที่นิยมใช้เช่นการเตรียมหัวเชื้อในรูปแบบต่างๆ เช่นเลี้ยงเชื้อบนข้าวฟ่างนึ่ง ข้าวเปลือกนึ่ง ข้าวสวยนึ่ง เป็นต้น ซึ่งเป็นวิธีที่ผลิตได้ง่าย การนำไปใช้ในแปลงนอกจากจะได้ประโยชน์ในการส่งเสริมความแข็งแรงแก่ต้นพืชแล้ว ขณะที่เชื้อรา *Trichoderma* spp. เจริญอยู่ในดินและอาศัยเศษซากพืชเป็นอาหาร ในเวลาเดียวกันยังสามารถป้องกันเชื้อราที่เข้ามาทำลายระบบรากของพืชเช่น เชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศ เชื้อรา *Sclerotium rolfsii* สาเหตุโรคโคนเน่าในพืชหลายชนิด (พรพรรณ, 2543) และจากงานทดลองของ วีระศักดิ์ และระวีวรรณ (2529) ที่ศึกษาถึงการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ควบคุมโรคเน่าของมะเขือเทศ พริก กระเทียมและถั่วลิสง ที่เกิดจากเชื้อรา *S. rolfsii* พบว่า สามารถควบคุมโรคเน่าได้เป็นที่น่าพอใจ เช่นเดียวกับ จิระเดช และคณะ (2536)

ที่ศึกษาการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่ผ่านการทดสอบประสิทธิภาพในระดับห้องปฏิบัติการและเรือนปลูกพืชทดลอง ใส่ลงบริเวณโคนต้นมะเขือเทศที่ปลูกในแปลงขนาดเล็กและขนาดใหญ่ พบว่าควบคุมโรคโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *S. rolfsii* ได้และ Saksirirat และคณะ (1996) ได้ทดสอบการควบคุมโรคโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *S. rolfsii* ด้วยเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* (T20) ในสภาพแปลงปลูกทำให้ต้นมะเขือเทศรอดตาย 61.1% หรือแม้กระทั่งการนำเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไปใช้ร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ชนิดอื่น เช่น *Streptomyceste* sp. และ *Bacillus* sp. ก็ไม่ส่งผลต่อการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. (อรอุษา, 2551) ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการนำเชื้อนี้ไปใช้ในระดับแปลงปลูก ทั้งนี้ในการทดลองนี้เป็นการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่เป็นไอโซเลตที่แยกจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งน่าจะมีการปรับตัวในสภาพแวดล้อมของภาคตะวันออกเฉียงเหนือได้ดี อย่างไรก็ตาม การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ควบคุมโรคพืช เป็นวิธีการทางชีวภาพหรือชีววิธีที่ต้องใช้ตัวเชื้อซึ่งยังคงมีชีวิตอยู่ จึงต้องพึ่งพาอาศัยสภาวะแวดล้อม และปัจจัยต่างๆ อีกหลายประการนอกเหนือไปจากคุณภาพและประสิทธิภาพของตัวเชื้อรา *Trichoderma* spp. เอง ดังนั้นการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ควบคุมโรคพืชให้ประสบผลสำเร็จ จึงต้องให้ความสนใจและเข้าใจอย่างจริงจัง ในรายละเอียดต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับปัจจัยต่างๆ ซึ่งอาจมีผลกระทบต่อการดำเนินกิจกรรมทางชีวเคมีรวมทั้งการดำรงชีพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในสภาพแวดล้อมของดินที่ใช้ปลูกพืช การนำเชื้อรา *Trichoderma* spp. ใส่ลงไปในดิน นอกจากจะสามารถควบคุมโรคพืชทางดินได้โดยตรงแล้ว ยังสามารถในการชักนำให้ต้นมะเขือเทศสร้างเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืช นั่นก็คือเอนไซม์ chitinase และ β-1,3-glucanase ซึ่งเป็นการกระตุ้นความต้านทานในต้นมะเขือเทศแบบ systemic acquired resistance (SAR) (Van Loon and Van Strien, 1999; Parker, 2000; and Heil and Bostock, 2002) การศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นถึงประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. ซึ่งได้ตรวจสอบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* แล้ว ยังสามารถชักนำให้ต้นมะเขือเทศมีความต้านทานโรคใบจุดเป้ากระสุนที่เกิดจากเชื้อรา *Corynespora cassiicola* โดยสะท้อนถึงกลไกการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่นอกเหนือไปจาก การแก่งแย่งแข่งขัน (competition) การเป็นปรสิต (parasitism) และการสร้างสารยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืช (antibiosis) แล้วยังมีกลไกของการกระตุ้นความต้านทานโรค (induce systemic resistance) อีกด้วย

จากผลการทดลองในวิธีการการเก็บรักษามวลชีวภาพ *Trichoderma* spp. ไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30±2 °ซ) และที่ตู้เย็น (10 °ซ) ระยะเวลาที่สามารถเก็บเอาไว้ในสภาพอุณหภูมิห้องในช่วง 3 เดือนแรก หลังจากนั้นความมีชีวิตของเชื้อรา *Trichoderma* จะลดลง โดยที่ไอโซเลต T17 มีความสามารถคงความมีชีวิตได้ดีที่สุด วิธีการเก็บรักษาเอาไว้ในตู้เย็นสามารถเก็บรักษาเอาไว้ได้นานกว่าวิธีการเก็บไว้ที่สภาพอุณหภูมิห้อง แต่ว่าเชื้อ *Trichoderma* จะมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของโคโลนี จากเขียวเป็นเหลืองอมขาว ซึ่งในการทดสอบความมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อรา *Trichoderma* นั้น ในสภาพอุณหภูมิห้องนั้นมีความแปรปรวนมากในบางวันมีอุณหภูมิ 23 °ซ แต่บางวันมีอุณหภูมิสูงถึง 36 °ซ การเคลือบเมล็ดข้าวฟ่างที่

เชื้อรา *Trichoderma* เจริญแล้วนั้น ควรใช้แป้งเปียกที่ไม่ข้นเกินไปเพาะจะเคลือบยาก และต้องปล่อยให้แป้งเปียกเย็นลงก่อน ซึ่งขั้นตอนนี้เป็นการเก็บรักษาความมีชีวิตรอดของเชื้อให้ยาวนานที่สุด แต่หากเก็บรักษาไว้ในที่อุณหภูมิต่ำ เช่นที่ 10 °ซ จะยืดอายุการเก็บรักษาไว้ได้นานถึง 6 เดือน โดยยังคงความมีชีวิตอยู่ นอกจากนี้เมื่อทดสอบประสิทธิภาพในการนำไปใช้ควบคุมโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศในเรือนทดลอง พบว่า ทำให้ต้นมะเขือเทศรอดตายจากการเป็นโรคถึง 95% อย่างไรก็ดีการเคลือบเมล็ดข้าวฟ่างด้วยแป้งเปียกก็ทำให้ได้ผลเท่ากัน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเมล็ดข้าวฟ่างที่ไม่เคลือบเป็นมวลชีวภาพที่เตรียมขึ้นมาใหม่ไม่ใช่มวลชีวภาพที่เก็บไว้นานก็มีความเป็นไปได้ที่เชื้อ *Trichoderma* ยังมีความแข็งแรงอยู่ หากมีการทดสอบซ้ำโดยใช้มวลชีวภาพที่เก็บรักษาไว้ในอายุการเก็บรักษาต่างๆ กันน่าจะให้ผลที่ชัดเจนถึงความสัมพันธ์ของการเก็บรักษาต่อประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศ

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ได้สนับสนุนทุนวิจัยประเภททุนอุดหนุนทั่วไป ประจำปีงบประมาณ 2552 ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรเพื่อเศรษฐกิจที่ยั่งยืน และศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยร่วม มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่เอื้อเฟื้อการใช้เครื่องมือและห้องปฏิบัติการ