189777

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างดินจากบริเวณ rhizosphere ของพริกใน 5 พื้นที่ เพื่อแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp., *Aspergillus flavus* และ *Penicillium* sp. รวมทั้งจากสารชีวภัณฑ์ โดยวิธี dilution plate สามารถแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ได้ทั้งหมด 94 ไอโซเลตจากบริเวณรากพืช และ 6 ไอโซเลตจากสารชีวภัณฑ์ และเชื้อราที่ไม่ได้เป็นสาเหตุโรค 2 ชนิด คือ *Aspergillus flavus* และ *Penicillium* sp. จากการจัดจำแนกเชื้อรา โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา สามารถจัดจำแนกเชื้อราทั้ง 100 ไอโซเลต ออกเป็น 7 species เมื่อนำเชื้อทั้งหมดมาจัดจำแนกโดยใช้เทคนิค PCR-RFLP ร่วมกับ universal primer ITS1 และ ITS4 พบว่าผลผลิตของ PCR ที่ได้มีขนาด 600 คู่เบส เมื่อนำมาย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 3 ชนิด คือ *Sma*I, *Bam*HI และ *Eco*RI พบว่า เอนไซม์ *Bam*HI ย่อย ผลผลิตของ PCR ได้ทั้งหมดซึ่งสามารถแบ่งเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้งหมดออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่ 1 แถบดีเอ็นเอมีขนาดประมาณ 600 คู่เบสได้แก่ เชื้อรา *T. harzianum*, *T. hamatum*, *T. aureoviride* และ *T. viride* กลุ่มที่ 2 แถบดีเอ็นเอมีขนาด 480 และ 220 คู่เบส ได้แก่ เชื้อรา *T. koningii* กลุ่มที่ 3 แถบดีเอ็นเอที่มีขนาด 560 และ 140 คู่เบส ได้แก่ เชื้อรา *T. longibrachiatum* และ *T. pseudokoningii* โดยมีค่า similarity เท่ากับ 78% ซึ่งสอดคล้องกับการจัดจำแนกโดยอาศัยสัณฐานวิทยา เมื่อนำเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 100 ไอโซเลต มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* 2 ไอโซเลต ที่เป็นสาเหตุโรคเหี่ยวของพริก โดยวิธีการ dual culture technique พบว่ามีปฏิกิริยาที่แตกต่างกันอยู่ 3 รูปแบบ คือ 1. เชื้อราปฏิปักษ์เจริญปกคลุมเชื้อรา *F. oxysporum* ทั้งหมด 37 ไอโซเลต 2. ปฏิกิริยาเกิด clear zone 31 ไอโซเลต 3. เชื้อราปฏิปักษ์สร้าง secondary metabolite production 32 ไอโซเลต จากการทดสอบเบื้องต้นได้คัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* ทั้ง 2 ไอโซเลต ที่ดีที่สุดจำนวน 10 ไอโซเลต เมื่อนำมาทดสอบซ้ำพบว่า เชื้อรา *Trichoderma* sp. ที่ได้จากสารชีวภัณฑ์ 2 ให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* ไอโซเลตที่ 1 สูงสุดคือ 61.39% และเชื้อรา *Trichoderma* sp. ที่ได้จากสารชีวภัณฑ์ 4 ให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* ไอโซเลตที่ 2 สูงสุด คือ 72.50% เมื่อนำไปทดสอบกับเชื้อราที่ไม่ได้เป็นสาเหตุของโรค คือ เชื้อรา *Aspergillus flavus* และ เชื้อรา *Penicillium* sp. พบว่า สารชีวภัณฑ์ 6 มีผลต่อการยังยั้งเชื้อรา *Aspergillus flavus* สูงสุดคือ 66.67% ขณะที่สารชีวภัณฑ์ 1 มีผลต่อการยังยั้งเชื้อรา *Penicillium* sp. สูงสุดคือ 51.94% จากผลการทดลอง พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* ที่ได้จากสารชีวภัณฑ์ให้ผลยับยั้งดีกว่าที่ได้จากบริเวณรากพืชและมีผลในการยับยั้งเชื้อที่ไม่ได้เป็นสาเหตุของโรคพืชด้วย

Ninety-four isolates of *Trichoderma* spp. and non-pathogenic fungi, *Aspergillus flavus* and *Penicillium* sp. were randomly collected from the rhizosphere of chilli found in five different geographic regions. These isolates were isolated from the soil by dilution plate method and six isolates of *Trichoderma* spp. used in this study were from commercial *Trichoderma* spp. (biofungicides). The results of their morphological studies indicated that 100 isolates of *Trichoderma* spp. could be grouped into seven species. The polymorphism of the internal transcribed spacer (ITS) regions was also used to characterize isolated *Trichoderma* spp. in this study. The ITS regions of 100 isolates of *Trichoderma* spp. were amplified by polymerase chain reaction (PCR), using universal primers ITS1 and ITS4. The amplified products (600 bp) were then digested with *Bam*HI, *Sma*I and *Eco*RI. The *Bam*HI digestion profiles could classify the 100 isolates of *Trichoderma* spp. into three groups. These results resembled the results of the cluster analysis of PCR-RFLP data which clearly partitioned the 100 isolates studied into three groups (at 78 percent similarity). Group A was comprised of *T. harzianum* 34 isolates, *T. hamatum* 23 isolates, *T. aureoviride* 14 isolates and *T. viride* 1 isolate, Group B was comprised of *T. koningii* 4 isolates and Group C was comprised of *T. longibrachiatum* 19 isolates and *T. pseudokoningii* 5 isolates. The effects of all 100 isolates of *Trichoderma* spp. in controlling two isolates of *Fusarium oxysporum,* the causal agent of chilli wilt, were analyzed by using dual culture technique on PDA and the results could differentiate the studied isolates into three groups. The first group containing 37 isolates in which the *Trichoderma* spp. grew over the *F. oxysporum* colonies. The second group containing 31 isolates in which a clear zone occurred between the *Trichoderma* spp. and the *F. oxysporum* colonies. The third group was comprised of 32 isolates in which produced a secondary metabolite. The 10 isolates of *Trichoderma* spp., showing the best inhibitory effects against both isolates of *Fusarium* spp. were selected for reanalysis. The results of the analysis indicated that biofungicide2 showed the highest inhibitory effects on the growth of *F. oxysporum* isolate 1, with an inhibition rate of 61.39%, whereas biofugicide4 showed the highest inhibitory effects on the growth of *F. oxysporum* isolate 2, with an inhibition rate of 72.50%. In addition, biofungicide6 and biofungicide2, significantly inhibited the growth of *Aspergillus flavus* and *Penicillium* sp., at the inhibition rate of 66.67 and 51.94% respectively. It was significant that biofungicides could inhibit the growth of chilli wilt fungus, *F. oxysporum* and non-pathogenic fungi *Aspergillus flavus* and *Penicillium* sp. more efficiently than *Trichoderma* spp. isolated from chilli rhizosphere.