

สรุปและวิจารณ์

1. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพวัสดุที่ใช้ในการขยายเชื้อรา *Trichoderma* spp.

จากการศึกษาการเปรียบเทียบประสิทธิภาพวัสดุที่ใช้ในการขยายเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 15 ไอโซเลต พบว่า เชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลต T4, T17, T13 และ T24 สามารถสร้างสปอร์ได้มากที่สุดในข้าวฟ่าง สำหรับไอโซเลต T1, T20, T10 และ T14 สามารถสร้างสปอร์ได้มากที่สุดในข้าวหัก ส่วนในวัสดุแกลบผสมรำข้าวพบเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลต T17, T13, T25 และ T35 สร้างสปอร์ได้มากที่สุด และยังพบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. เจริญเติบโตและสร้างสปอร์ได้ดีที่สุดในวัสดุขยายแกลบผสมรำข้าว รองลงมาคือ ข้าวฟ่าง และข้าวหัก ตามลำดับ การที่เชื้อรา *Trichoderma* spp. เจริญและเพิ่มปริมาณในวัสดุขยายแกลบผสมรำข้าว อาจเนื่องมาจากในรำข้าวนี้มีสารอาหารที่เชื้อรา *Trichoderma* spp. ต้องการในปริมาณมาก และเมื่อนำมาผสมร่วมกับแกลบแล้วทำให้มีพื้นที่ผิวมากเพียงพอต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Trichoderma* spp. สอดคล้องกับ Rini และ Sulochana (2007) ที่ได้ทำการศึกษาการเพิ่มปริมาณของเชื้อรา *T. harzianum* ในรำข้าว ขี้เลื่อยและขุยมะพร้าว พบว่า เชื้อรา *T. harzianum* เจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณได้มากที่สุด มีปริมาณสปอร์เท่ากับ 31.0×10^8 cfu g⁻¹ ในหัวเชื้อที่เป็นรำข้าว รองลงมาได้แก่ ขี้เลื่อย และขุยมะพร้าว ตามลำดับ

2. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการชักนำให้แตงเทศสร้างความต้านทานต่อโรคต้นแตกยางไหลที่เกิดจากเชื้อรา *Didymella bryoniae*

จากการทดสอบความสามารถของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *D. bryoniae* ในห้องปฏิบัติการ พบว่าทุกไอโซเลตนั้นมีความสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *D. bryoniae* โดยไอโซเลต T4, T13, T14, T17, T18, T21, T24, T25 และ T35 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *D. bryoniae* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ไอโซเลต T1, T9, T10, T19, T20 และ T30 สอดคล้องกับงานทดลองของ Zhang และคณะ (1999) ได้ศึกษาถึงคุณสมบัติของเชื้อรา *T. virens* 2 ไอโซเลต คือ TV-4 และ TV-6 พบว่าเชื้อรา *T. virens* ทั้ง 2 ไอโซเลตสามารถผลิตสารปฏิชีวนะ คือ gliotoxin และสาร secondary metabolites ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืชทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ เชื้อรา *Acremonium cucurbitacearum*, *D. bryoniae*, *Monosporascus cannonballus*, *Macrophomina phaseolina* และ *Phomopsis cucurbitae* ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *A. cucurbitacearum* ได้ 82.0 % และ 100% สำหรับเชื้อรา *D. bryoniae*, *M. cannonballus*, *M. phaseolina* และ *P. cucurbitae*

การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการชักนำให้แตงเทศสร้างความต้านทานต่อโรคต้นแตกยางไหลในระดับเรือนทดลอง พบว่าแตงเทศที่ปลูกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ร่วมกับเชื้อรา *D. bryoniae* ทุกกรรมวิธีสามารถลดอาการใบไหม้ลงได้ การปลูกเชื้อรา *T. virens* ไอโซเลต T10 ร่วมกับเชื้อรา *D. bryoniae* สามารถลดอาการใบไหม้มากที่สุด รองลงมา คือ แตงเทศที่ปลูกเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลต T14, T35, T18 และ T17 เมื่อนำเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 5 ไอโซเลตนี้ไปทดสอบในแปลงปลูกขนาดเล็ก พบว่าแตงเทศที่ปลูกด้วยเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลต T10 ร่วมกับเชื้อรา *D. bryoniae* เกิดอาการใบไหม้น้อยที่สุด รองลงมาได้แก่ไอโซเลต T17, T35 และ T14 ตามลำดับ สำหรับกรรมวิธีที่ปลูกเฉพาะเชื้อรา *D. bryoniae* จะทำให้แตงเทศเกิดอาการใบไหม้มากกว่ากรรมวิธีที่ปลูกเชื้อร่วมกับเชื้อรา *Trichoderma* spp. Chilosi และ Magro (1998) พบว่าเชื้อ

รา *D. bryoniae* มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์เพคตินไลเอส (pectin lyase) ซึ่งเอนไซม์นี้สามารถย่อยเพคตินในเซลล์พืชทำให้พืชแสดงอาการใบไหม้

สำหรับการปลูกเชื้อรา *D. bryoniae* ที่ลำต้นของแตงเทศในระดับเรือนทดลอง พบว่าแตงเทศที่ปลูกเชื้อ *Trichoderma* ไอโซเลต T10, T21, T24 และ T25 ร่วมกับเชื้อรา *D. bryoniae* มีความยาวเฉลี่ยของผลบนลำต้นลดลง จึงได้คัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลตเหล่านี้ไปทดสอบในแปลงปลูกขนาดเล็ก พบว่าการปลูกเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลต T25 ร่วมกับเชื้อรา *D. bryoniae* ทำให้ขนาดของผลบนลำต้นเล็กที่สุด รองลงมา คือแตงเทศที่ปลูกด้วยเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลต T10, T24 และ T21 ตามลำดับ ได้มีการศึกษาการกระตุ้นความต้านทานต่อโรคต้นแตงกวางไห้ในแตงกวาก่อนหน้านี้โดย ปุณณิศา (2551) พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลต T13 ลดการเกิดโรคที่ใบแตงโดยลดความยาวแผลเฉลี่ยที่ใบได้ 18.36% รองลงมาคือไอโซเลต T18 และ T9 โดยลดการเกิดโรคได้ 7.1% และ 6.38% ตามลำดับ สำหรับการทดสอบการลดการเข้าทำลายที่ลำต้นแตงกวา พบว่า T18 สามารถลดความยาวแผลเฉลี่ยที่ลำต้นแตงลงได้ 50% รองลงมาคือไอโซเลต T13, T17 และ T9 โดยลดความยาวแผลเฉลี่ยลงได้ 39.93%, 39.61% และ 36.03% ตามลำดับ จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการชักนำให้แตงเทศสร้างความต้านทานต่อโรคต้นแตงกวางไห้ พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นความต้านทานต่อโรคพืชได้ และยังสามารถกระตุ้นความต้านทานต่อโรคพืชอีกหลายชนิด เช่น Khan และคณะ (2004) ที่ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพในการชักนำพืชให้สร้างความต้านทานโดยใช้เชื้อ *T. hamatum* 382 (T382) ทดสอบกับโรค *Phytophthora crown rot* และ *leaf blight* ของแตงกวา (*Cucumis sativas*) ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora capsici* งานทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าความรุนแรงของโรคลดลงเมื่อใช้ T382 ผสมลงในวัสดุปลูกก่อนที่จะทำการย้ายกล้า

3. การส่งเสริมการเจริญเติบโตของแตงเทศเมื่อปลูกเชื้อรา *Trichoderma* spp.

จากการศึกษาเปรียบเทียบการส่งเสริมการเจริญเติบโตของแตงเทศเมื่อปลูกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 15 ไอโซเลต พบว่าไอโซเลต T1, T13, T14, T19 และ T24 สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโต ทำให้ต้นแตงเทศมีน้ำหนักต้นสดเพิ่มมากขึ้น ส่วนไอโซเลต T24 และ T25 ทำให้ต้นแตงเทศมีน้ำหนักรากสดเพิ่มมากขึ้น หลังจากได้ทำการชั่งน้ำหนักสดแล้วนำไปอบแห้งและนำมาชั่งน้ำหนักแห้ง พบว่าไอโซเลต T35 มีน้ำหนักแห้งของลำต้นเพิ่มมากขึ้น และไอโซเลต T17, T18 และ T35 มีน้ำหนักแห้งของรากเพิ่มมากขึ้น นอกจากเชื้อรา *Trichoderma* spp. จะทำให้พืชตระกูลแตงมีการเจริญเติบโตมากขึ้นแล้วยังสามารถทำให้พืชอื่นๆเจริญเติบโตได้ดียิ่งขึ้นเช่นกัน Fontenelle และคณะ (2011) ได้ศึกษาเชื้อรา *Trichoderma* spp. 28 ไอโซเลต โดยได้เลี้ยงเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในข้าวสาลีเพื่อเพิ่มปริมาณ จากนั้นปลูกเชื้อรา *Trichoderma* spp. โดยใช้อัตราส่วนหัวเชื้อ 2% ของวัสดุปลูกกับต้นกล้ามะเขือเทศ จากนั้นอายุ 30 วันประเมินผลโดยการชั่งน้ำหนักแห้งพบว่า ไอโซเลต IB 01/03, IB 15/06, IB 28/07, IB 28/15, IB 30/07, IB 31/06, IB 32/06, IB 37/01, IB 38/11, IB 42/03, IB 42/15 และ IB 46/10 มีเปอร์เซ็นต์การเจริญของมะเขือเทศเพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเจริญ 250, 300, 816.67, 350, 900, 200, 308.33, 650, 333.33, 508.33, 308.33 และ 191.67% ตามลำดับ

4. ตรวจสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* sp. ในการครอบครองรากพืช

จากการศึกษาการตรวจเปอร์เซ็นต์การครอบครองรากแตงเทศหลังจากการปลูกเชื้อ *Trichoderma* spp. พบว่าทุกกรรมวิธีมีเชื้อรา *Trichoderma* spp. ครอบครองอยู่บนผิวราก

โดยเฉพาะวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. virens* (T35) มีเปอร์เซ็นต์การครอบครองรากแตกต่งได้ดีที่สุด รองลงมาได้แก่ไอโซเลต T4, T14, T24 และ T25 ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ จิระเดช และคณะ (2536) ซึ่งได้ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. harzianum* ในการครอบครองรากพืชหลังจากเพาะเมล็ดเป็นเวลา 21 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีสามารถตรวจพบเชื้อรา *T. harzianum* บนผิวรากพืชได้ โดยเฉพาะกรรมวิธีที่ฉีดพ่นด้วยสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* และกรรมวิธีที่ปลูกเมล็ดในพีทที่ผสมเชื้อชนิดสด อัตราเชื้อสดต่อพีท 100 ลิตร ซึ่งพบว่ามีรากที่ถูกเชื้อรา *T. harzianum* เข้าครอบครองได้ที่ 86.9 และ 85.9 % ตามลำดับ

5. การตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยสลายในใบแตกต่งจากการชักนำให้สร้างความต้านทานโรคโดยเชื้อรา *Trichoderma* spp.

จากการทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยสลายทั้ง 3 ชนิด ในใบของแตกต่งที่ถูกกระตุ้นโดยเชื้อรา *Trichoderma* spp. พบว่าค่าของกิจกรรมเอนไซม์ย่อยสลายทั้ง 3 ชนิดนี้ในแต่ละช่วงเวลาค่อนข้างแปรปรวนอยู่บ้างในบางไอโซเลตกิจกรรมวันที่ 5, 10 และ 15 น้อยกว่าวันที่ 0 เช่น ไอโซเลต T13 มีกิจกรรมของเอนไซม์ chitinase สูงในวันที่ 0 หลังการปลูกเชื้อเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมและลดลงในวันที่ 5 และหลังจากนั้นจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ และสำหรับไอโซเลต T10, T17, T20, T24, T25 และ T35 มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ chitinase เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องหลังจากการปลูกเชื้อ 0, 5, 10 และ 15 วัน

จากการตรวจสอบกิจกรรมเอนไซม์ β -1,3-glucanase พบว่าในวันที่ 0 หลังการปลูกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลต T13 มีกิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ในวันที่ 5 หลังจากปลูกเชื้อพบว่าไอโซเลต T1, T4, T10, T19, T21, T25 และ T35 มีกิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มขึ้น ในวันที่ 10 หลังจากปลูกเชื้อพบว่าไอโซเลต T19 และ T24 มีกิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มขึ้น และในวันที่ 15 หลังการปลูกเชื้อ พบว่าไอโซเลต T10, T13, T24 และ T25 มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มขึ้นจากกรรมวิธีควบคุม นอกจากนี้ยังพบว่าเกือบทุกไอโซเลตมีค่าของกิจกรรมเอนไซม์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องหลังจากปลูกเชื้อ 0 - 15 วัน และพบว่าไอโซเลต T10, T13, T24 และ T25 มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เพิ่มขึ้นสูงกว่าไอโซเลตอื่นๆ

ผลการทดลองเช่นเดียวกับกิจกรรมของเอนไซม์ chitinase และเอนไซม์ β -1,3-glucanase กล่าวคือกิจกรรมของเอนไซม์ protease ในแต่ละวันหลังปลูกเชื้อนั้นค่อนข้างแปรปรวน พบว่าในวันที่ 0 หลังการปลูกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลต T1 และ T18 มีกิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มขึ้น ในวันที่ 5 หลังจากปลูกเชื้อพบว่าไอโซเลต T1, T4, T18 และ T35 มีกิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มขึ้น ในวันที่ 10 หลังจากปลูกเชื้อพบว่าไอโซเลต T14 และ T19 มีกิจกรรมของเอนไซม์ และในวันที่ 15 หลังการปลูกเชื้อ พบว่าไอโซเลต T18, T20 และ T24 มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มขึ้นแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม และนอกจากนี้ยังพบว่าไอโซเลต T9, T17, T24 และ T30 มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องหลังจากการปลูกเชื้อ 0 - 15 วัน

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่ากิจกรรมของเอนไซม์ chitinase จะสูงกว่า β -1,3-glucanase ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเอนไซม์ chitinase เป็นเอนไซม์ที่สามารถกระตุ้นด้วย substrate ที่เป็นไคติน ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่าเส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ซึ่งมีไคตินเป็นองค์ประกอบนั้นไปกระตุ้นให้รากพืชผลิตเอนไซม์ chitinase มากขึ้น (Giri et al, 1998) และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นค่อนข้างคงที่ ส่วนเอนไซม์ β -1,3-glucanase มีกิจกรรมของเอนไซม์สูงสุดแตกต่างกันในแต่ละไอโซเลตและเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมเห็นว่าไม่แตกต่างกันมากอาจเนื่องจากว่าเป็นเอนไซม์ที่ไม่สามารถกระตุ้นด้วย substrate (Sameer et al, 1996) และพบว่าไอโซเลต T20 (*T. harzianum*) สามารถชักนำให้เกิด

กิจกรรมของเอนไซม์ protease มากที่สุดในวันที่ 15 ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Janice และ Carlo (2002) ที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* กระตุ้นให้เกิดกิจกรรมของเอนไซม์ protease เพื่อใช้ในการควบคุมโรคพุ่มไม้กวาดแหม่มของต้นโกโก้

จากผลของการศึกษานี้ชี้ให้เห็นประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. นั้นมีประสิทธิภาพในการกระตุ้นให้แตงเทศสร้างเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ซึ่งเป็นการกระตุ้นความต้านทานแบบ systemic acquired resistance (SAR) ที่มีผู้รายงานไว้ก่อนหน้านี้แล้ว (Van Loon et al, 1998; Parker, 2000 and Heil and Bostock, 2002) ซึ่งผลการทดลองนี้ได้สอดคล้องไปในทิศทางเดียวกัน ทั้งนี้ในการทดลองนี้เป็นการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลตที่แยกได้จากภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ซึ่งน่าจะมีการปรับตัวในสภาพแวดล้อมในตะวันออกเฉียงเหนือได้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ได้สนับสนุนทุนวิจัยประเภททุนอุดหนุนทั่วไป ประจำปีงบประมาณ 2554 ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรเพื่อเศรษฐกิจที่ยั่งยืน และศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยร่วม มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่เอื้อเพื่อการใช้เครื่องมือและห้องปฏิบัติการ