การกระตุ้นความต้านทานโรคในพืชตระกูลแตงด้วยเชื้อราปฏิปักษ์
Induction of disease resistance in cucurbits by antagonistic fungi

วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์[1] วรรณดี บัญญัติรัชต[2] อนันต์ หิรัญสาลี[1] สุมิศา อรุณโณ[1]
[1]สาขาโรคพืชวิทยา ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
[2]ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002

บทคัดย่อ

การศึกษาการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการกระตุ้นความต้านทานโรคต้นแตกยางไหลของแตงเทศ โดยนำเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 15 ไอโซเลต ได้แก่ T1, T4, T9, T10, T13, T14, T17, T18, T19, T20, T21, T24, T25, T30 และ T35 ที่แยกได้จากดินในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มาเลี้ยงเชื้อเพื่อเพิ่มปริมาณในวัสดุ 3 ชนิด ได้แก่ ข้าวฟ่าง, ข้าวหัก และแกลบผสมร่วมกับรำ (1:2 โดยปริมาตร) พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp เจริญเติบโตและมีปริมาณสปอร์มากที่สุดในวัสดุแกลบผสมกับรำข้าว จากการทดสอบความสามารถในการยับยั้งของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ต่อเชื้อราสาเหตุโรคต้นแตกยางไหลในห้องปฏิบัติการ พบว่าทุกไอโซเลตมีความสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *D. bryoniae* โดยไอโซเลต T4, T13, T14, T17, T18, T21, T24, T25 และ T35 มีการเจริญของเส้นใย 70 มิลลิเมตร ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *D. bryoniae* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นได้นำหัวเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 15 ไอโซเลต มาผสมกับดินสำหรับปลูกแตงเทศก่อนปลูกเชื้อรา *D. bryoniae* พบว่า ต้นแตงเทศที่ปลูกด้วยเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลต T10 มีขนาดความยาวเฉลี่ยของแผลบนใบเล็กที่สุดในสภาพเรือนทดลองและแปลงปลูกขนาดเล็กคือ 3.17 และ 2.25 มิลลิเมตร ลดการเกิดโรคได้มากถึง 80.36 และ 88.47 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนต้นแตงเทศที่ปลูกด้วยเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลต T25 มีขนาดความยาวเฉลี่ยของแผลบนลำต้นน้อยที่สุดทั้งในสภาพเรือนทดลองและสภาพแปลงปลูก ได้แก่ 7.73 และ 9.12 มิลลิเมตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคลดลง 60.87 และ 35.77 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากการเปรียบเทียบการส่งเสริมการเจริญเติบโตของแตงเทศเมื่อปลูกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 15 ไอโซเลต พบว่าไอโซเลต T1, T13, T14, T19 และ T24 สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตทำให้ต้นแตงเทศมีน้ำหนักต้นสดเพิ่มมากขึ้นโดยมีน้ำหนัก 29.70, 29.40, 29.58, 29.76 และ 29.73 กรัม ตามลำดับ ส่วนไอโซเลต T24 และ T25 ทำให้ต้นแตงเทศมีน้ำหนักรากสดเพิ่มมากขึ้นโดยมีน้ำหนัก 6.26 และ 5.41 กรัม ตามลำดับหลังจากได้ทำการชั่งน้ำหนักสดแล้วนำไปอบแห้งและนำมาชั่งน้ำหนักแห้ง พบว่าไอโซเลต T35 ทำให้ต้นมะเขือเทศมีน้ำหนักแห้งของลำต้นเพิ่มมากขึ้นโดยมีน้ำหนัก 3.02 กรัม และไอโซเลต T17, T18 และ T35 ทำให้ต้นมะเขือเทศมีน้ำหนักแห้งของรากเพิ่มมากขึ้นโดยมีน้ำหนัก 0.30, 0.32 และ 0.28 กรัม ตามลำดับ

การตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การครอบครองรากแตงเทศหลังจากการปลูกเชื้อ *Trichoderma* spp. 14 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีมีเชื้อรา *Trichoderma* spp. ครอบครองอยู่บนผิวราก ระหว่าง

33.33-80.0 เปอร์เซ็นต์ โดยเฉพาะวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. virens* (T35) มีเปอร์เซ็นต์การครอบครองรากแตงเทศได้ดี คือ 80.0 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ไอโซเลต T4, T14, T24 และ T25 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การครอบครองรากแตงเทศคือ 50.0%, 56.67%, 66.67% และ 60.0% ตามลำดับ

จากการตรวจสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการชักนำให้แตงเทศมีกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยสลาย โดยได้ตรวจวัดกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยสลายที่แตงเทศถูกกระตุ้นโดยเชื้อรา *Trichoderma* spp. 3 ชนิดได้แก่ chitinase, β-1,3-glucanase และ protease จากใบของต้นแตงเทศที่ปลูกในดินที่คลุกด้วยเชื้อรา *Trichoderma* spp. แล้วเก็บใบแตงเทศหลังจากปลูกเชื้อในวันที่ 0, 5, 10 และ 15 วัน เพื่อสกัดและตรวจวัดกิจกรรมของเอนไซม์ chitinase, β-1,3-glucanase และ protease ในเชิงปริมาณ ผลการทดสอบพบว่าทุกเอนไซม์มีกิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มมากสูงสุดในวันที่ 15 โดยพบว่าไอโซเลตที่ชักนำให้มีกิจกรรมของเอนไซม์ chitinase เรียงจากสูงไปต่ำ 3 ลำดับแรกได้แก่ ไอโซเลต T25, T10 และ T24 ซึ่งมีกิจกรรมของเอนไซม์ 7.43, 5.65 และ 5.43 μmol(GlcNAc)/ mg protein /hr ตามลำดับ สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์ β-1,3-glucanase ได้แก่ ไอโซเลต T10, T13 และ T25 ซึ่งมีกิจกรรมของเอนไซม์ 3.28, 3.19 และ 3.13 μmol(Glu)/mg protein/hr ซึ่งสามารถชักนำให้แตงเทศมีกิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มขึ้นตามลำดับ ส่วนไอโซเลต T20, T24 และ T18 สามารถชักนำให้เกิดกิจกรรมของเอนไซม์ protease เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ปลูกเชื้อ *Trichoderma* spp. โดยมีกิจกรรมของเอนไซม์ 4.46, 4.44 และ 4.24 μmol(tyrosine)/mg protein/hr ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นถึงประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. ในการชักนำความต้านทานโรคต้นแตกยางไหล ซึ่งสามารถลดการเกิดโรคได้และยังส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นแตงเทศ นอกจากนี้ยังสามารถชักนำให้พืชชนิดอื่นสร้างเอนไซม์ย่อยสลายได้อีกหลายชนิด

ABSTRACT

The objective of this study was to use of *Trichoderma* spp. for induction of resistance against gummy stem blight disease causal by *Didymella bryoniae* (Auersw) Rehm. of melon. The *Trichoderma* spp. 15 isolates, T1, T4, T9, T10, T13, T14, T17, T18, T19, T20, T21, T24, T25, T30, and T35 were isolated from cultivated soil of northeastern region. All 15 isolates were cultured on 3 different substrates to produce conidia using three types of cereals, sorghum, broken rice, and rice bran mixed with husk. The most suitable substrates for *Trichoderma* spp. cultivation was

rice bran mixed with husk (1:2 v/v). The fungi were inoculated in soil of melon potted plants after soil infestation of pathogen in greenhouse and small pot size experiments. The result showed that *T. virens* (T10) induced resistance with melon expression small size of spot on leaves as 3.17 and 2.25 mm. The best disease reduction was 80.36 and 88.47 percent in greenhouse and small pot, respectively. For stem symptom , *Trichoderma erinaceum* (T25) induced resistance with small size of spot as 7.73 and 9.12 mm, the best disease reduction of 60.87 and 35.77 percent in greenhouse and small pot, respectively.

The growth promotion of cantaloupe using *Trichoderma* spp. showed that T1, T13, T14, T19 and T24 promoted the growth of cantaloupe and increase stem fresh weight with 29.70, 29.40, 29.58, 29.76 and 29.73 g respectively. Isolates T24 and T25 increase root fresh weigh of melon 6.26 and 5.41 g. For dry weighed it was found that isolates T35 increased with 3.02 g and isolates T17, T18 and T35 increased root dry weight with 0.30, 0.32 and 0.28 g, respectively. At 14 days after inoculation colonization of *Trichoderma* spp. was detected on root all treatments using *Trichoderma* spp. colonization between 33.33 to 80.0% on the root surface was detected, *T. virens* (T35) showed percentage of colonization 80% followed by isolate T4, T14, T24 and T25, with percentages of 50.0%, 56.67%, 66.67% and 60.0%, respectively.

The efficiency of *Trichoderma* spp. in induction of degrading enzyme activity of melon was conduucted. Chitinase, β-1,3-glucanase and protease activities were detected in melon leaves derived from melon plants grown in pot soil infested with 15 northeastern isolates of *Trichoderma* spp. Melon leaves were evaluated quantitatively on degrading enzyme activities in 0, 5, 10 and 15 days after inoculation with *Trichoderma* spp. Result showed that all enzyme activities were detected with maximum activities on 15 days after inoculation with *Trichoderma* spp. High chitinolytic activity was detected by inoculation of isolates T25, T10 and T24 in descending order, 7.43, 5.65 and 5.43 μmol(GlcNAc)/ mg protein /hr. For β-1,3-glucanase, isolates T10, T13 and T25 induced melon plants to express enzyme activities of 3.28, 3.19 and 3.13 μmol(Glu)/mg protein/hr**.** Proteolytic activities in melon leaves were increased when inoculated with *Trichoderma* isolates T20, T24 and T18 with amount of 4.46, 4.44 and 4.24 μmol(tyrosine)/mg protein/hr. The result indicates the efficiency of *Trichoderma* spp. in degrading enzyme induction in melon plant for disease defense.

This study suggests the efficacy of antagonistic fungi *Trichoderma* spp. induced resistance to gummy stem blight disease of cucurbits, which can reduce the disease and to promote the growth.