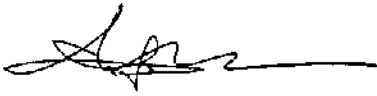
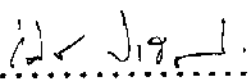


ชื่อวิทยานิพนธ์ การคัดเลือกเชื้อ *Trichoderma* spp. ไอโซเลตที่ต้านทานต่อสารเคมี
เพื่อควบคุมโรคโคนเน่าของมะเขือเทศซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Sclerotium*
rolfsii Sacc. โดยวิธีประสมประสาน

ชื่อผู้ทำวิทยานิพนธ์ นางสาวนิภาพร บุญศักดิ์พร

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์


.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วีระศักดิ์ สักดิ์ศิริวัฒน์)


.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อำนวย ปาเงินบุรารักษ์)


.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. พิศาล ศิริธร)

บทคัดย่อ

เชื้อราแอนทาโกนิสต์ *Trichoderma* spp. จำนวน 27 ไอโซเลต ได้ถูกนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Sclerotium rolfsii* Sacc. ในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่าทุกไอโซเลตสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. rolfsii* ได้ โดยมีระยะการเจริญเติบโตของโคโลนีแตกต่างกันทางสถิติ จึงได้เลือกเชื้อ *Trichoderma* spp. ที่มีประสิทธิภาพดี จำนวน 15 ไอโซเลต เพื่อศึกษาถึงการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. rolfsii* ที่เจริญจากเมล็ดเคลอโรเทียม กิจกรรมของ extracellular enzyme (cellulase, protease, lipase และ α -amylase) และประสิทธิภาพในการควบคุมโรคโคนเน่าของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อ *S. rolfsii* ในสภาพเรือนทดลองพบว่าเชื้อ *T. koningii* (T27) สามารถยับยั้งการเจริญของเมล็ดเคลอโรเทียมได้ดีที่สุด เชื้อ *Trichoderma* spp. ที่นำมาตรวจสอบมี

กิจกรรมของเอนไซม์ cellulase และ protease แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเชื้อไฮโซเลต T27 มีกิจกรรมของเอนไซม์ cellulase และ T12 มีกิจกรรมของเอนไซม์ protease สูงที่สุด ส่วนกิจกรรมของเอนไซม์ lipase นั้นเชื้อทุกไฮโซเลตมีกิจกรรมโดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และไม่สามารถตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์ α -amylase ในทุกไฮโซเลต สำหรับการควบคุมโรคโคนเน่าของมะเขือเทศในสภาพเรือนทดลอง พบว่า ไฮโซเลต T20 และ T27 ทำไหมะเขือเทศโรคตายมากที่สุด (100%) ในขณะที่ T12, T19, T21, T14, T16, T18, T24 และ T26 มีประสิทธิภาพรองลงมาตามลำดับ (80-90%)

จากผลการทดลองดังกล่าวข้างต้น ได้คัดเลือกไฮโซเลตที่เหมาะสม (T20 และ T24) ร่วมกับไฮโซเลตที่มีรายงานว่ามีประสิทธิภาพ (T2, T25, T25 และ T27) เพื่อทดสอบความทนทานต่อสารเคมีควบคุมเชื้อรา 5 ชนิด ละ 5 ความเข้มข้น และดูผลของสารควบคุมเชื้อราดังกล่าวต่อ *S. rolfsii* พบว่าสารเคมี mancozeb เข้มข้น 18,000 $\mu\text{g/ml}$ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. rolfsii* แต่ไม่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Trichoderma* spp. ทุกไฮโซเลต ส่วน pentachloronitrobenzene (PCNB) ที่ระดับความเข้มข้น 7,200 $\mu\text{g/ml}$ นั้น มีเพียง T25 และ T26 เท่านั้นที่สามารถทนทานได้

เพื่อนำเอาเชื้อ *Trichoderma* spp. ไปใช้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงได้คัดเลือกไฮโซเลตที่ทนทานต่อ mancozeb จำนวน 3 ไฮโซเลต คือ T20, T25 และ T27 เพื่อนำไปทดสอบการผลิคมวลชีวภาพจากกระดาษหนังสือพิมพ์ กระดาษลังลูกฟูก ขี้เลื่อย เมล็ดข้าวฟ่าง ช้างข้าวโพด และวัสดุเหลือทิ้งจากการสกัดน้ำผลไม้ (สับปะรด และส้ม) ผสมรำข้าว 5% โดยปริมาตร และทดสอบร่วมกับสารเคมีที่มีการแนะนำให้ใช้ในสภาพไร่ (mancozeb, PCNB, *Bacillus subtilis* (ชัยหล่า®) และ BS (®)) ในการใช้ร่วมกับแต่ละไฮโซเลต พบว่า T20 เจริญเติบโตได้รวดเร็วกว่าไฮโซเลตอื่นในเมล็ดข้าวฟ่างและกระดาษหนังสือพิมพ์ แต่เมื่อเปรียบเทียบ colony forming unit (cfu/g) แล้ว ช้างข้าวโพดกลับให้ค่า cfu/g สูงสุด (424.7×10^5) แต่ได้เลือกวัสดุขี้เลื่อยเป็นวัสดุเพื่อเพิ่มปริมาณเชื้อ เพราะราคาถูก และสะดวกในการเตรียมมากกว่าวัสดุอย่างอื่น ส่วน mancozeb เข้มข้น 18,000 $\mu\text{g/ml}$ เมื่อทดสอบร่วมกับเชื้อไฮโซเลต

T20, T27 และ T25 ทำให้มะเขือเทศรอดตาย 80, 70 และ 50% ตามลำดับ จึงได้เลือกการเพิ่มปริมาณเชื้อไฮโซเลต T20 ด้วยเชื้อและสารเคมี mancozeb เข้มข้น 18,000 $\mu\text{g/ml}$ เพื่อใช้ในการทดสอบการควบคุมโรคโคนเน่าของมะเขือเทศในสภาพเรือนทดลองและแปลงปลูก โดยวิธีประสมประสาน

ผลการทดลองในสภาพเรือนทดลองและแปลงปลูก ชี้ให้เห็นว่าเชื้อไฮโซเลต T20 ร่วมกับ mancozeb ทำให้มะเขือเทศรอดตายได้ถึง 90 และ 88.9% ส่วนการใช้ T20 เพียงอย่างเดียวทำให้มะเขือเทศรอดตาย 75 และ 61.1% ในสภาพเรือนทดลองและแปลงปลูกตามลำดับ ในขณะที่มะเขือเทศในการรวมวิธีตรวจสอบ (SR) รอดตาย 0%

นอกจากนี้ได้มีการตรวจสอบเบื้องต้นในการผลิตสาร secondary metabolite ของเชื้อไฮโซเลต T20, T24 และ T27 โดยการใช้ thin layer chromatography พบสารที่เรืองแสง UV 365 nm จำนวน 5 จุด แต่เมื่อตรวจสอบด้วยสารละลายเงินไนเตรท จะพบสารที่มีค่า Rf แตกต่างกัน 8 จุด

S. rolfsii was T27 (*T. koningii*). Based on their extracellular enzyme activities, it was found that all fifteen isolates tested, produced significantly cellulolytic and proteolytic activities. The high cellulolytic activity was qualitatively detected from isolate T27, however, the high proteolytic activity was produced by isolate T12. All isolates of antagonist produced non-significantly lipolytic activity, however, α -amylolytic activity was not detectable. Isolates T20 and T27 of *Trichoderma* spp. were able to protect tomato seedling 100% from this disease while isolates T12, T19, T21, T14, T16, T18, T24 and T26 (*T. hamatum*) protected seedling 80-90% respectively.

The suitable isolates, T20 and T24 showing the good result of antagonistic ability tested under green-house condition and isolates T2, T25, T26 and T27 reported as biocontrol agents, were selected to test for their tolerance against five fungicides, each contains 5 concentrations. *Sclerotium rolfsii* was also tested for such effect in this experiment. Mancozeb (18,000 μ g/ml) inhibited the growth of *S. rolfsii* but did not effect on all isolates of *Trichoderma* spp. tested. Only isolates T25 and T26 were tolerant to PCNB (7,200 μ g/ml).

To improve the practical applicability of *Trichoderma* spp. the mancozeb tolerant isolates, T20, T25 and T27 were conducted for their mass production and application with recommended fungicides (mancozeb, PCNB *Bacillus subtilis* (Subtila®) and BS (®)) to control the stem rot of tomato under green-house condition. It was obviously observed that isolate T20 grew more rapidly on sorghum grains and newspaper than other materials.