

บทที่ 1

บทนำ

1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

เชื้อรา *Sclerotium rolfsii* เป็นเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สามารถเข้าทำลายพืชเศรษฐกิจได้หลายชนิด เช่น ข้าว มะเขือเทศ พืชตระกูลถั่ว กระเทียม พริก ผักต่างๆ พืชอาหารสัตว์ และไม้ประดับ เชื้อราชนิดนี้ทำให้เกิดโรคโคนและลำต้นเน่า (Collar rot and stem rot) และโรครากเน่า (Root rot) ทำให้พืชตายได้ทั้งในระยะต้นกล้าและในระยะที่กำลังติดดอกออกผล ทำความเสียหายให้กับเศรษฐกิจของประเทศเป็นอย่างมาก เช่น ผลผลิตมะเขือเทศลดลง 25-30 เปอร์เซ็นต์ (Aycock, 1996) และผลผลิตของข้าวและถั่วลิสงลดลง 25-80 เปอร์เซ็นต์ (ถาวร, 2531) เชื้อชนิดนี้จะเข้าทำลายพืชอาศัยบริเวณโคนต้นระดับดินหรือใต้ผิวดินเล็กน้อย ที่บริเวณรอบลำต้นที่เชื้อเข้าทำลายจะพบเส้นใยของเชื้อราเป็นขุยหยาบสีขาวขึ้นคลุมแผล รอบโคนต้นระดับดินจะคอดและอาจพบเม็ดแข็งขนาดเท่าเม็ดถั่วฝักยาวขึ้นติดอยู่กับขุยสีขาวนี้ เรียกว่า เม็ดสเคลอโรเทียม (Sclerotium) หรือ เม็ดสเคลอโรติยา (Sclerotia) เม็ดดังกล่าวนี้เป็นเส้นใยของเชื้อราที่อัดแน่นเพื่อยู่ข้ามฤดูและใช้เป็นเครื่องหมาย (Sign) ในการจำแนกโรคนี้ออกจากโรคลำต้นเน่าและโรคเหี่ยวที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อชนิดอื่น ๆ มีการศึกษาและวิจัยเกี่ยวกับการป้องกันและกำจัดเชื้อราชนิดนี้ เช่น การใช้สารเคมีกำจัดโรค (วีระศักดิ์ และคณะ, 2540 ข) การอบดินด้วยพลังแสงอาทิตย์ (วีระศักดิ์ และคณะ, 2540 ก) การควบคุมโรคโดยชีววิธีผสมผสานกับการใช้สารเคมี (นิภาพร, 2538) พบว่าการควบคุมโรคนี้โดยชีววิธีเป็นแนวทางเลือกหนึ่งที่จะลดปัญหาการใช้สารเคมีลงได้

ปัจจุบันรัฐบาลไทยมีการรณรงค์ให้เกษตรกรหันมาใช้ปุ๋ยชีวภาพ เพื่อลดการใช้ปุ๋ยเคมีและเพื่อแก้ปัญหาการเสื่อมโทรมของดินที่เกิดจากการใช้ปุ๋ยเคมีติดต่อกัน ปุ๋ยหมักเป็นปุ๋ยอินทรีย์ชนิดหนึ่ง ที่ช่วยปรับโครงสร้างทางกายภาพของดินที่เสื่อมโทรมลงจากการใช้ปุ๋ยเคมีให้ดีขึ้น และยังให้ธาตุอาหารแก่ดินอีกด้วย นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าดินที่ใส่ปุ๋ยหมักจะช่วยยับยั้ง และกำจัดโรคพืชที่มีสาเหตุมาจากไส้เดือนฝอย (nematodes) แบคทีเรีย และ เชื้อราในดินได้ (Postma et al., 2003) เช่น โรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* (Hoitink, 1991), โรคเน่าคอดิน (damping off) ที่เกิดจากเชื้อ *Pythiummultimum* (McKellar et al., 2003) เป็นต้นซึ่งการควบคุมและยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชของปุ๋ยหมักส่วนหนึ่งเป็นผลมาจากจุลินทรีย์ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นเชื้อปฏิปักษ์ (antagonistic microorganism) กับเชื้อสาเหตุโรคพืช นอกจากนี้ในปัจจุบันเกษตรกรแต่ละท้องถิ่นมีกระแสดการผลิตและใช้ปุ๋ยหมักกันอย่างแพร่หลายโดยอาศัยเศษวัสดุทางการเกษตรที่มีในท้องถิ่น จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจที่จะเพิ่มมูลค่าของปุ๋ยหมักให้มากขึ้นโดยการเพิ่มจุลินทรีย์ที่เป็นปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุโรคพืชเพื่อหวังผลให้ปุ๋ยหมักที่เกษตรกรสามารถผลิตใช้ได้ทุกครัวเรือน มีคุณค่าในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชโดยไม่ต้องใช้สารเคมีหรือใช้ให้น้อยที่สุด

โครงการนี้เป็นปีที่ 2 (ปีงบประมาณ 2554; 1 ตุลาคม 2554 – 30 กันยายน 2555)

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยปีที่ 2 (ปีงบประมาณ 2554)

คัดเลือกเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคโคนเน่าและลำต้นเน่าสาเหตุจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ในสภาพเรือนทดลอง

ขอบเขตของโครงการวิจัยปีที่ 2

ทดสอบเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *S. rolfsii* ในระดับเรือนทดลอง

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ :

ได้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคโคนและลำต้นเน่า (Collar rot and stem rot) ของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *S. rolfsii*

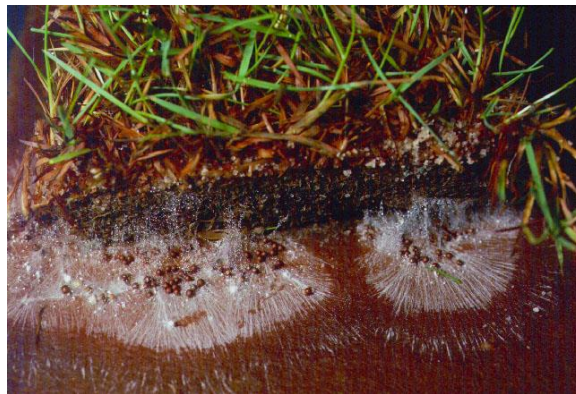
บทที่ 2

บททวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

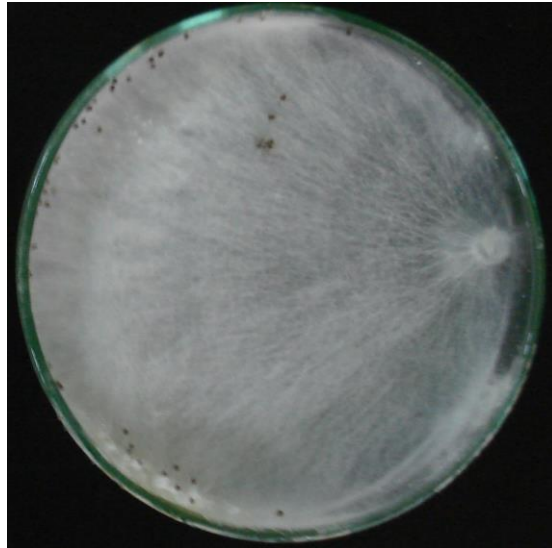
2.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Sclerotium rolfsii*

Sclerotium rolfsii จัดอยู่ใน Phylum Deuteromycota Class Deuteromycetes Form – class Agonomycetes เป็นสาเหตุของโรคพืชมากกว่า 270 ชนิด (Fichtner, 1999) เชื้อราสามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วในชิ้นส่วนพืชหรือในอาหารสังเคราะห์ เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ลักษณะเส้นใยจะเป็นสีขาวคล้ายเส้นไหม การเจริญของเส้นใยในพืชหรือในอาหารเลี้ยงจะมีลักษณะเหมือนกันคือเส้นใยจะเจริญแผ่ออกไปคล้ายพัด (รูปที่ 1, 2) *S. rolfsii* เป็นเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์สามารถอยู่ข้ามฤดูได้ในดินในรูปของสเคลอโรเตีย (sclerotia) ซึ่งเป็นเส้นใยที่มีชีวิตอัดกันแน่นจนเป็นเม็ดแข็งขนาดเท่าเมล็ดผักกาด เชื้อราจะสร้างเม็ด สเคลอโรเตีย หลังจากเส้นใยเจริญได้ประมาณ 4-7 วัน และจะถูกเปลี่ยนเป็นสีดำหรือสีน้ำตาลเข้มเกือบดำอย่างรวดเร็ว ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเม็ดสเคลอโรเตีย อยู่ระหว่าง 0.5-2.0 มิลลิเมตร สเคลอโรเตียอาจอยู่อย่างอิสระที่ผิวดิน หรืออยู่บนซากพืช อาจถูกฝังลึกลงไปในดินทำให้อยู่ข้ามฤดูได้ประมาณ 1 ปี หรือน้อยกว่า ดังนั้นการไถพรวนดินจนลึกเป็นกลวิธีหนึ่งที่จะควบคุมการเจริญของเชื้อราชนิดนี้ได้ สเคลอโรเตียที่พบใช้เป็นลักษณะ (sign) ในการจำแนกโรคนี้ออกจากโรคลำต้นเน่าและโรคเหี่ยวที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อชนิดอื่นๆได้



รูปที่ 2.1 ลักษณะการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* และเม็ดสเคลอโรเตีย (sclerotia) จากเศษซากพืชบนดิน (Fichtner, 1999)



รูปที่ 2.2 ลักษณะการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar

2.2 การแพร่กระจาย (distribution)

เชื้อรา *S. rolfsii* แพร่กระจายอยู่ในเขตร้อนหรือค่อนข้างร้อน หรือบริเวณอื่น ๆ ของโลกที่มีอุณหภูมิอบอุ่น ได้แก่ ตอนใต้ของประเทศสหรัฐอเมริกา ยุโรปตอนใต้ เขตทะเลเมดิเตอร์เรเนียน ฮาวาย แอฟริกา อินเดีย ญี่ปุ่น (Feneira and Boley, 1992) และประเทศไทย

2.3 สภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการเจริญ และการสร้างสเคลอโรเตีย (sclerotia)

2.3.1 อุณหภูมิ เชื้อรา *S. rolfsii* อาศัยอยู่ในเขตอบอุ่นของโลก อุณหภูมิที่เหมาะสมของการเจริญของเส้นใยจึงอยู่ระหว่าง 8-40 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดของการเจริญของเส้นใย และการสร้างสเคลอโรเตีย ระหว่าง 27-30 องศาเซลเซียส (Zoberi, 1980) เส้นใยถูกทำลายที่ 0 องศาเซลเซียส ส่วนสเคลอโรเตียสามารถรอดชีวิตที่อุณหภูมิ - 10 องศาเซลเซียส

2.3.2 ความเป็นกรดต่าง (pH) เชื้อรา *S. rolfsii* เจริญได้ดีในสภาพความเป็นกรด pH ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเส้นใยคือ 3.0-5.0 สเคลอโรเตียจะงอกได้ดีที่ pH อยู่ระหว่าง 2.0-5.0 และการงอกจะถูกยับยั้งที่ pH > 7.0

2.3.3 ความชื้น เชื้อรา *S. rolfsii* ต้องการความชื้นสูงในการเจริญของเส้นใย ถ้าความชื้นต่ำกว่าจุดอิ่มตัวจะยับยั้งการงอกของสเคลอโรเตีย แต่มีการศึกษาที่ยืนยันได้ว่า สเคลอโรเตีย จะงอกได้ดีที่สุดเมื่อมีความชื้นสัมพัทธ์อยู่ระหว่าง 25-35 % (Feneira and Boley, 1992)

2.4 ลักษณะการเข้าทำลายต้นพืช

เชื้อรา *S. rolfsii* จะเข้าทำลายพืชบริเวณโคนต้นระดับดินหรือใต้ผิวดินเล็กน้อย พืชจะแสดงอาการแผลแห้งตายรอบลำต้น บริเวณที่เชื้อเข้าทำลายจะพบเส้นใยของเชื้อราเป็นขุยหยาบสีขาวขึ้น

คลุ่มแผล รอบโคนต้นระดับดินจะคอดและอาจพบเม็ดแข็งขนาดเท่าเม็ดผักกาดของ เม็ด สเคลอโรเตียขึ้นติดอยู่กับขุยสีขาวนี้ ถ้าเชื้อเข้าทำลายพืชระยะต้นกล้าหรือระยะต้นอ่อน ลำต้นจะคอดกัก และหักพับแล้วพืชจะแห้งตายในเวลาต่อมาเหมือนกับอาการโรค damping off ในกรณีที่เป็นพืชที่มีผลที่อยู่ชิดดินเช่น มะเขือเทศและพืชตระกูลแตง ถ้าถูกเชื้อเข้าทำลายจะเกิดแผลยุบตัวลง ขอบแผลสีเหลืองผลจะเน่าอย่างรวดเร็ว มักพบเส้นใยและเม็ดสเคลอโรเตียขึ้นคลุมเต็มแผล (ศุภลักษณ์, 2536)

2.5 การควบคุมเชื้อรา *Sclerotium rolfsii*

สารเคมีฆ่าเชื้อรา (fungicide) ถูกนำมาใช้ในการควบคุมโรครอย่างกว้างขวาง สารเคมีหลายชนิดเป็นพิษต่อสเคลอโรเตีย สามารถยับยั้งการงอกของ สเคลอโรเตีย และยับยั้งการเจริญ เส้นใยของเชื้อรา *S. rolfsii* (Elad et al., 1980) เช่น การอบดินด้วยสารเคมีเช่น methyl bromide, chloropicrin หรือ metham-sodium สามารถยับยั้งการแพร่กระจายของโรคได้ แต่การใช้สารเคมีต่อเนื่องยาวนานทำให้เกิดปัญหาอย่างมากต่อสุขภาพของเกษตรกร และเกิดมลพิษต่อสภาพแวดล้อม นอกจากนี้ยังทำให้เชื้อสาเหตุโรคต้านทานต่อสารเคมีทำให้เกิดปัญหาตามมาไม่สิ้นสุด การเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonistic microbes) ในดิน เป็นการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีที่มีศักยภาพจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่มีความสนใจเพิ่มมากขึ้น (Rakh et al., 2011)

มีรายงานการใช้เชื้อจุลินทรีย์หลายกลุ่มยับยั้งการสร้าง sclerotia และการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *S. rolfsii* ได้แก่ แบคทีเรีย (bacteria) แอคติโนมัยสิท (actinomycetes) เชื้อราไมคอร์ไรซา (mycorrhizal fungus) และ เชื้อราปฏิปักษ์ที่มีการศึกษากันมากเพื่อใช้ในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีได้แก่ เชื้อราในกลุ่ม *Trichoderma* spp. (El-Katatny et al., 2001; Zaldivar et al., 2001) เชื้อราปฏิปักษ์จะมีกลไกในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชได้หลายกลไก เช่น การแก่งแย่งแข่งขันและครอบครองพื้นที่ (competition) เชื้อรา *Trichoderma* spp. มีคุณสมบัติเจริญได้อย่างรวดเร็วสามารถเข้าครอบครองพื้นที่และแย่งอาหารเพื่อการดำรงชีพก่อนที่เชื้อโรคพืชจะเจริญ รวมไปถึงกลไกการเป็นปรสิต (parasite) *Trichoderma* มีคุณสมบัติเป็น mycoparasite โดยเชื่อดังกล่าวจะต้องสร้างเอนไซม์ที่ย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อสาเหตุโรคพืช เอนไซม์จะถูกผลิตขึ้นภายในเซลล์และขับออกมาภายนอกเพื่อกระบวนการย่อยสลาย เอนไซม์ย่อยสลาย (Extracellular degrading enzymes) เช่น เอนโดกลูคาเนส (Endoglucanase), เอกโซกลูคาเนส (Exoglucanase), ไคติเนส (Chitinase), เบตา-1,3-กลูคาเนส (β -1,3-glucanase) และ โปรตีเอส (Protease) เป็นต้น เอนไซม์เหล่านี้มีบทบาทในการย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อราสาเหตุโรคพืช เช่น *S. rolfsii*, *Rhizoctonia solani* และ *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* ความสามารถในการผลิตเอนไซม์เหล่านี้ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. มีความสัมพันธ์กับความสามารถในการเข้าทำลายเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิด (Lorito et al., 1993; Sivan and Chet, 1989) ส่วนใหญ่เป็นเชื้อสาเหตุโรคพืชที่อยู่ในดิน อย่างไรก็ตามก็มีการศึกษาถึงความสัมพันธ์ของเชื้อราปฏิปักษ์ชนิดอื่นเช่น *Verticillium psalliotae* ต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่อยู่บริเวณใบพืช เช่น ราสนิม เป็นต้น โดยที่เชื้อราปฏิปักษ์ดังกล่าว มีการสร้างเอนไซม์ไคติเนส, เบตา-1,3-กลูคาเนส และ โปรตีเอส ซึ่งเป็นเอนไซม์ย่อยสลายยูริโดสปอร์ (Uredospore) ของราสนิมถั่วเหลือง (*Phakopsora pachyrhizi*) (Saksirirat and Hoppe, 1991) เป็นต้น ผนังเซลล์ของเชื้อรา *S. rolfsii* มีส่วนประกอบของ เบตา-1,3-กลูแคน (β -1,3-glucan) และ ไคติน (Chitin) (Elad et al., 1982) ดังนั้นเชื้อราปฏิปักษ์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ ไคติเนส, เบตา-1,3-กลูคาเนส จะสามารถย่อยสลายเส้นใย *S. rolfsii* ได้ จะเห็นได้ว่าเอนไซม์เหล่านี้เป็นกลไกหนึ่งซึ่งเชื้อราปฏิปักษ์ใช้ในการเข้าทำลายเชื้อสาเหตุโรคพืช นอกจากนี้ยังมีการศึกษาและวิจัยที่เกี่ยวข้อง

กับการควบคุมเชื้อราชนิดนี้ เช่น การใช้สารเคมี(วีระศักดิ์ และคณะ, 2540ข) การอบดินด้วยพลังแสงอาทิตย์ (วีระศักดิ์ และคณะ, 2540ก) การควบคุมโรคโดยชีววิธี (วีระศักดิ์ และรวีวรรณ, 2528) ตลอดจนการใช้สารเคมีผสมผสานกับเชื้อราปฏิปักษ์ (นิภาพร, 2538)

Danon และคณะ (2010) รายงานว่า เชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้จากกองปุ๋ยหมักยับยั้งการงอกของสเคลอโรเตีย โดยเจริญรอบ ๆ สเคลอโรเตีย ทำให้ไม่สามารถเจริญเป็นเส้นใยต่อไปได้

Ozgonen และ คณะ (2010) รายงานว่า เชื้อรา *arbuscular mycorrhizae* (AMF) ได้แก่ *Glomus etunicatum*, *Glomus mosseae*, *Glomus clarum*, *Glomus caledonium*, *Glomus fasciculatum* และ *Gigaspora margarita* มีประสิทธิภาพในการต้านทานเชื้อราสาเหตุโรคลำต้นเน่า (stem rot) ที่เกิดจากเชื้อรา *S. rolfii* โดยสามารถลดการติดเชื้อ (*infect*) *S. rolfii* ในถั่วลิสง (peanut) ระหว่าง 17.5 - 84.0% เชื้อ *G. caledonium* แสดงประสิทธิภาพสูงสุด ส่วนความรุนแรงของโรคลดลง 37.8 - 64.7% เชื้อ *G. caledonium* และ *G. clarum* ทำให้ความรุนแรงของโรคลดลงระหว่าง 63.3 และ 64.7% ตามลำดับ

Rawat และคณะ (2010) ศึกษาเส้นใยของเชื้อรา *S. rolfii* ที่ถูกยับยั้งโดยเชื้อรา *Trichoderma* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (light microscopy) และกล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน (transmission electron microscopy (TEM)) พบว่า เกิดกระบวนการรวมตัวและการสลายของไซโตพลาซึมที่ผนังเซลล์บริเวณปลายเส้นใยของเชื้อรา *S. rolfii*

Yaqub และ Shahzad (2005) รายงานว่าเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma. harzianum*, *T. longibrachiatum*, *T. pseudokoningii*, *T. polysporum* และ *Gliocladium virens* สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใย *S. rolfii* ในสภาพ *in vitro* โดยเชื้อราปฏิปักษ์จะใช้เส้นใยพันรัดรอบเส้นใยของ *S. rolfii* และปล่อยเอนไซม์ย่อยสลายเส้นใยของ *S. rolfii*

Jomduang และคณะ (1995) พบว่า เชื้อรา *T. harzianum* และ *Gliocladium virens* สามารถผลิต non-volatile inhibitors ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *S. rolfii*

Elad และคณะ (1982) รายงานว่าเชื้อรา *T. harzianum* สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใย *S. rolfii* เมื่อทดสอบโดยวิธี dual culture และพบว่าบริเวณที่ถูกยับยั้งมีการสร้างเอนไซม์ glucanase และ chitinase และเมื่อนำบริเวณที่เชื้อรา *S. rolfii* ถูกยับยั้งโดยเชื้อรา *T. harzianum* บน dual culture plate มาศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning Electron microscope) พบเส้นใยของเชื้อราปฏิปักษ์พันรอบและแทงทะลุบนเส้นใยของเชื้อรา *S. rolfii* นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อรา *T. harzianum* สามารถใช้ผนังเส้นใยของเชื้อรา *S. rolfii* เป็นแหล่งคาร์บอน

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.1. เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

เชื้อราปฏิปักษ์ (antagonistic fungi) 10 ไอโซเลตคือ UD12-10, กล5-2, UD12-102, UD4-6, กพ10-12, UD14-4, UD13-1, UD4-8, UD2-4 และ กพ5-2 แยกได้จากตัวอย่างดิน, ปุ๋ยหมักในเขตจังหวัดอุดรธานี และ กาฬสินธุ์ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *Sclerotium roflsii* ในสภาพห้องปฏิบัติการ เชื้อราทั้งหมดเก็บรักษาไว้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) slant (ภาคผนวก) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (⁰ซ) เพื่อนำไปศึกษาต่อไป ส่วนเชื้อราสาเหตุโรคโคนเน่าและลำต้นเน่า (*S. roflsii*) ได้รับจากภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ. เมือง จ. ขอนแก่น

3.2. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ในสภาพเรือนทดลอง

3.2.1 เตรียมต้นกล้ามะเขือเทศ

นำเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ (พันธุ์สีดา) มาแช่ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเพาะในกระบะเพาะบรรจุด้วยดินสำหรับเพาะเมล็ด (คลาสเมน) ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว จนกระทั่งมะเขือเทศมีอายุ 14 วันจึงนำมาใช้ในการศึกษา

3.2.2 การเตรียมดินปลูก

ผสมดินหลักสิบ : พีทมอส อัตรา 5:1 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลาประมาณ 2 – 3 ชั่วโมง

3.2.3 การเตรียมหัวเชื้อเมล็ดข้าวฟ่างและการเตรียมเชื้อราปฏิปักษ์ (Antagonistic fungi)

นำเมล็ดข้าวฟ่างแช่น้ำประมาณ 1 คืน แล้วนำไปต้มหรือนึ่งให้สุกพอดี ระวังอย่าให้เมล็ดบาน บรรจุใส่ถุงพลาสติกที่ทนร้อนประมาณ 500 กรัม ใช้คอขวดรัดปากถุงปิดด้วยจุกสำลี นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลาประมาณ 15-20 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น

เพาะเลี้ยงเชื้อราปฏิปักษ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร เจาะอาหารวุ้น PDA ที่มีปลายของเส้นใยเชื้อราปฏิปักษ์ จำนวน 3 ชิ้น ใส่ลงไปเลี้ยงในหัวเชื้อเมล็ดข้าวฟ่างที่เตรียมไว้แล้ว นำไปบ่มที่อุณหภูมิ $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 7 วัน นำไปใช้เป็นหัวเชื้อราปฏิปักษ์

3.2.4 เตรียมหัวเชื้อ *S. rolfsii*

เพาะเลี้ยงเชื้อ *S. rolfsii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร เจาะอาหารวุ้น PDA ที่มีปลายของเส้นใยเชื้อรา *S. rolfsii* จำนวน 3 ชิ้น ใส่ลงไปเลี้ยงในหัวเชื้อเมล็ดข้าวฟ่างที่เตรียมไว้แล้ว นำไปบ่มที่อุณหภูมิ $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 7 วัน นำไปใช้เป็นหัวเชื้อ *S. rolfsii*

3.2.5 วิธีทดสอบ

1 นำกล้ามะเขือเทศที่มีอายุ 14 วัน (เตรียมตามข้อ 3.2.1) ย้ายลงปลูกในกระถางที่มีดินปลูก (เตรียมตามข้อ 3.2.2) ปล๋อยทิ้งไว้ประมาณ 7 วันเพื่อให้มะเขือเทศตั้งตัวได้ จากนั้นปฏิบัติตามกรรมวิธีต่าง ๆ ทั้งหมด 44 กรรมวิธี (treatment) (ตารางที่ 3.1)

2 กรรมวิธี ที่ใส่ (treat) ราปฏิปักษ์ ให้นำหัวเชื้อราปฏิปักษ์ (เตรียมตามข้อ 3.2.3) ปริมาณ 20 กรัมผสมกับดินปลูกที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว (เตรียมตามข้อ 3.2.2) 1 กิโลกรัม ต่อ 1 กระถาง (เส้นผ่านศูนย์กลางกระถาง 6 นิ้ว) บ่มทิ้งไว้ 7 วัน ก่อนปลูกกล้ามะเขือเทศ (ตามข้อ 1)

3 ให้ปุ๋ย N-P-K สูตร 15-15-15 ทุกๆ 15 วันหลังย้ายปลูกกล้ามะเขือเทศ

4 การใช้สารเคมี: ผสมสารเคมี 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ใช้ในปริมาณ 250 มิลลิตร/กระถาง (สารเคมี คือสารในกลุ่ม คาร์บอกซิไมด์ (carboximide) สารออกฤทธิ์ที่สำคัญคือ 5,6-dihydro-2-methyl-1,4-oxathi-ine-3-carboxanilide ชื่อสามัญคือ คาร์บอกซิน (caboxin) ชื่อการค้าคือ ไวตาแว็กซ์ (vitavax)

วางแผนการทดลองแบบ complete randomized design (CRD) มีทั้งหมด 44 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ (คือ 5 กระจ่าง แต่ละกระจ่างปลูกมะเขือเทศ 4 ต้น รวมมะเขือเทศ 20 ต้น/กรรมวิธี) บันทึกข้อมูลระดับความรุนแรงของโรคและเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นมะเขือเทศที่ 7 และ 30 วัน หลังการปลูกเชื้อ *S. rolfsii*

ตารางที่ 3.1 กรรมวิธีการทดสอบการควบคุมโรคโคนเน่าและลำต้นเน่า (Collar rot and stem rot) ของ มะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ในสภาพเรือนทดลอง

กรรมวิธีที่ (treatments)	วิธีการทดสอบ ¹
1	มะเขือเทศ + UD12-10
2	มะเขือเทศ + UD12-10 + <i>S. rolfsii</i>
3	มะเขือเทศ + UD12-10 + สารเคมี
4	มะเขือเทศ + UD12-10 + <i>S. rolfsii</i> + สารเคมี
5	มะเขือเทศ + กล5-2
6	มะเขือเทศ + กล5-2 + <i>S. rolfsii</i>
7	มะเขือเทศ + กล5-2 + สารเคมี
8	มะเขือเทศ + กล5-2 + <i>S. rolfsii</i> + สารเคมี
9	มะเขือเทศ + UD12-102
10	มะเขือเทศ + UD12-102 + <i>S. rolfsii</i>
11	มะเขือเทศ + UD12-102 + สารเคมี
12	มะเขือเทศ + UD12-102 + <i>S. rolfsii</i> + สารเคมี
13	มะเขือเทศ + UD4-6
14	มะเขือเทศ + UD4-6 + <i>S. rolfsii</i>
15	มะเขือเทศ + UD4-6 + สารเคมี
16	มะเขือเทศ + UD4-6 + <i>S. rolfsii</i> + สารเคมี
17	มะเขือเทศ + กพ10-12

18	มะเขือเทศ + กพ10-12 + <i>S. rolfsii</i>
19	มะเขือเทศ + กพ10-12 + สารเคมี
20	มะเขือเทศ + กพ10-12 + <i>S. rolfsii</i> + สารเคมี
21	มะเขือเทศ + UD14-4
22	มะเขือเทศ + UD14-4 + <i>S. rolfsii</i>
23	มะเขือเทศ + UD14-4 + สารเคมี
24	มะเขือเทศ + UD 14-4 + <i>S. rolfsii</i> + สารเคมี

ตารางที่ 3.1 (ต่อ)

กรรมวิธีที่ (treatments)	วิธีการทดสอบ
25	มะเขือเทศ + UD13-1
26	มะเขือเทศ + UD13-1 + <i>S. rolfsii</i>
27	มะเขือเทศ + UD13-1 + สารเคมี
28	มะเขือเทศ + UD13-1 + <i>S. rolfsii</i> + สารเคมี
29	มะเขือเทศ + UD4-8
30	มะเขือเทศ + UD4-8 + <i>S. rolfsii</i>
31	มะเขือเทศ + UD4-8 + สารเคมี
32	มะเขือเทศ + UD4-8 + <i>S. rolfsii</i> + สารเคมี
33	มะเขือเทศ + UD2-4
34	มะเขือเทศ + UD2-4 + <i>S. rolfsii</i>
35	มะเขือเทศ + UD2-4 + สารเคมี
36	มะเขือเทศ + UD2-4 + <i>S. rolfsii</i> + สารเคมี
37	มะเขือเทศ + กพ5-2
38	มะเขือเทศ + กพ5-2 + <i>S. rolfsii</i>
39	มะเขือเทศ + กพ5-2 + สารเคมี
40	มะเขือเทศ + กพ5-2 + <i>S. rolfsii</i> + สารเคมี
41	มะเขือเทศ + <i>S. rolfsii</i>
42	มะเขือเทศ + สารเคมี
43	มะเขือเทศ + <i>S. rolfsii</i> + สารเคมี
44	มะเขือเทศ

หมายเหตุ: (1) เชื้อราปฏิปักษ์ คือ UD12-10, กล 5-2, UD12-102, UD4-6, กพ10-12, UD14-4, UD 13-1, UD4-8, UD2-4 และ กพ5-2 แยกได้จากดินและปุ๋ยหมักในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใย *S. rolfsii* ในสภาพห้องปฏิบัติการ

(2) สารเคมี คือสารในกลุ่ม คาร์บอกซิมา (carboximide) สารออกฤทธิ์ที่สำคัญคือ 5,6-dihydro-2-methyl-1,4-oxathi-ine-3-carboxanilide ชื่อสามัญคือ คาร์บอกซิน (caboxin) ชื่อการค้าคือ ไวตาแวกซ์ (vitavax)

(3) ต้นมะเขือเทศเพาะจากเมล็ดพันธุ์สด มีอายุ 14 วัน

บทที่ 4 ผลการทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราไอโซเลต UD12-10, กล5-2, UD12-102, UD4-6, กพ10-12, UD14-4, UD13-1, UD4-8, UD2-4 และ กพ5-2 ในการควบคุมโรคโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ในสภาพเรือนทดลอง

จากการนำเชื้อรา 10 ไอโซเลต ที่แยกได้จากดินและปุ๋ยหมักในเขตจังหวัดอุดรธานี (UD 12-10, UD 12-102, UD4-6, UD14-4, UD13-1, UD4-8, UD2-4) และ จังหวัดกาฬสินธุ์ (กล5-2, กพ 10-12, กพ5-2) ที่มีคุณสมบัติเป็นเชื้อปฏิปักษ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *S. rolfsii* ในระดับห้องปฏิบัติการ มาทดสอบการควบคุมโรคโคนเน่าและลำต้นเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *S. rolfsii* ในสภาพเรือนทดลอง เมื่อบันทึกผลหลังจากการใส่เชื้อ *S. rolfsii* 30 วัน พบว่า กรรมวิธีควบคุมได้แก่ กรรมวิธีที่ 41 - 44 กรรมวิธีที่ 41 (มะเขือเทศ + เชื้อรา *S. rolfsii*) มะเขือเทศตายหมดทุกต้น กรรมวิธีที่ 42 (มะเขือเทศ + สารเคมี) กรรมวิธีที่ 43 (มะเขือเทศ + *S. rolfsii* + สารเคมี) กรรมวิธีที่ 44 (ปลูกลมะเขือเทศอย่างเดียว) และ กรรมวิธีที่ 1, 5, 9, 13, 17, 21, 25, 29, 33, 37 (มะเขือเทศ + UD12-10, กล5-2, UD12-102, UD4-6, กพ10-12, UD14-4, UD13-1, UD4-8, UD2-4 และ กพ5-2 ตามลำดับ) แสดงอาการต้นปกติทุกต้น ส่วนกรรมวิธีที่ 2 (มะเขือเทศ + UD12-10 + *S. rolfsii*), 6 (มะเขือเทศ + กล5-2 + *S. rolfsii*), 10 (มะเขือเทศ + UD12-102 + *S. rolfsii*), 14 (มะเขือเทศ + UD4-6 + *S. rolfsii*), 18 (มะเขือเทศ + กพ10-12 + *S. rolfsii*), 22 (มะเขือเทศ + UD14-4 + *S. rolfsii*), 26 (มะเขือเทศ + UD13-1 + *S. rolfsii*), 30 (มะเขือเทศ + UD4-8 + *S. rolfsii*), 34 (มะเขือเทศ + UD2-4 + *S. rolfsii*), 38 (มะเขือเทศ + กพ5-2 + *S. rolfsii*) จำนวนมะเขือเทศที่รอดชีวิต คือ 70, 55, 80, 30, 90, 60, 45, 65, 35, 15 % ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีที่ 3 (มะเขือเทศ + UD12-10 + สารเคมี), 7 (มะเขือเทศ + กล5-2 + สารเคมี), 11 (มะเขือเทศ + UD12-102 + สารเคมี), 15 (มะเขือเทศ + UD4-6 + สารเคมี), 19 (มะเขือเทศ + กพ10-12 + สารเคมี), 23 (มะเขือเทศ + UD14-4 + สารเคมี), 27 (มะเขือเทศ + UD13-1 + สารเคมี), 31 (มะเขือเทศ + UD4-8 + สารเคมี), 35 (มะเขือเทศ + UD2-4 + สารเคมี), 39 (มะเขือเทศ + กพ5-2 + สารเคมี) จำนวนที่รอดชีวิต คือ 100, 100, 90, 100, 85, 100, 100, 100, 100, 100 % ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีที่ 4 (มะเขือเทศ + UD12-10 + *S. rolfsii* + สารเคมี), 8 (มะเขือเทศ + กล5-2 + *S. rolfsii* + สารเคมี), 12 (มะเขือเทศ + UD12-102 + *S. rolfsii* + สารเคมี), 16 (มะเขือเทศ + UD4-6 + *S. rolfsii* + สารเคมี), 20 (มะเขือเทศ + กพ10-12 + *S. rolfsii* + สารเคมี), 24 (มะเขือเทศ + UD14-4 + *S. rolfsii* + สารเคมี), 28 (มะเขือเทศ + UD13-1 + *S. rolfsii* + สารเคมี), 32 (มะเขือเทศ + UD4-8 + *S. rolfsii* + สารเคมี), 36 (มะเขือเทศ + UD2-4 + *S. rolfsii* + สารเคมี), 40 (มะเขือเทศ + กพ5-2

+ *S. rolfsii* + สารเคมี) จำนวนมะเขือเทศที่รอดชีวิต (ไม่แสดงอาการของโรค) คือ 100, 85, 60, 100, 100, 100, 100, 100, 90 % ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1)

ตารางที่ 4.1 ผลการทดสอบการควบคุมโรคโคนเน่าและลำต้นเน่า (Collar rot and stem rot) ของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ในสภาพเรือนทดลอง

ทรีตเมนต์ที่ (treatment)	วิธีการทดสอบ	มะเขือเทศที่รอดชีวิต (%)	
		7 วัน	30 วัน
1	มะเขือเทศ + UD12-10	100a	100a
2	มะเขือเทศ + UD12-10 + <i>S. rolfsii</i>	70cd	70bcde
3	มะเขือเทศ + UD12-10 + สารเคมี	100a	100a
4	มะเขือเทศ + UD12-10 + <i>S. rolfsii</i> + สารเคมี	100a	100a
5	มะเขือเทศ + กล5-2	100a	100a
6	มะเขือเทศ + กล5-2 + <i>S. rolfsii</i>	65cde	55efg
7	มะเขือเทศ + กล5-2 + สารเคมี	100a	100a
8	มะเขือเทศ + กล5-2 + <i>S. rolfsii</i> + สารเคมี	100a	85abc
9	มะเขือเทศ + UD12-102	100a	100a
10	มะเขือเทศ + UD12-102 + <i>S. rolfsii</i>	80bc	80abcd
11	มะเขือเทศ + UD12-102 + สารเคมี	100a	90ab
12	มะเขือเทศ + UD12-102 + <i>S. rolfsii</i> + สารเคมี	100a	60def
13	มะเขือเทศ + UD4-6	100a	100a
14	มะเขือเทศ + UD4-6 + <i>S. rolfsii</i>	55de	30hi
15	มะเขือเทศ + UD4-6 + สารเคมี	100a	100a
16	มะเขือเทศ + UD4-6 + <i>S. rolfsii</i> + สารเคมี	100a	100a
17	มะเขือเทศ + กฟ10-12	100a	100a
18	มะเขือเทศ + กฟ10-12 + <i>S. rolfsii</i>	90ab	90ab
19	มะเขือเทศ + กฟ10-12 + สารเคมี	100a	85abc
20	มะเขือเทศ + กฟ10-12 + <i>S. rolfsii</i> + สารเคมี	100a	100a
21	มะเขือเทศ + UD14-4	100a	100a
22	มะเขือเทศ + UD14-4 + <i>S. rolfsii</i>	70cd	60def
23	มะเขือเทศ + UD14-4 + สารเคมี	100a	100a
24	มะเขือเทศ + UD14-4 + <i>S. rolfsii</i> + สารเคมี	100a	100a

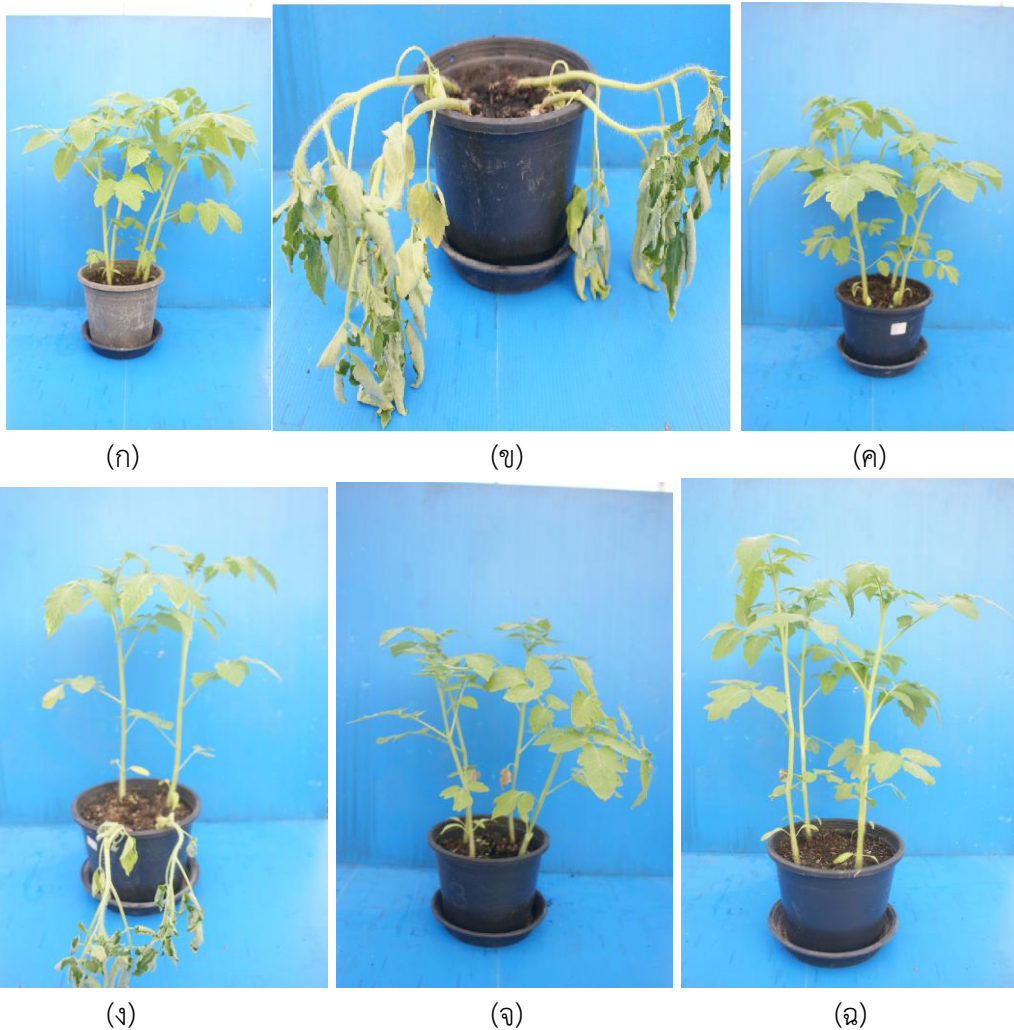
ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

ทรีตเมนต์ที่ (treatment)	วิธีการทดสอบ ¹	มะเขือเทศที่รอดชีวิต ² (%)	
		7 วัน	30 วัน

25	มะเขือเทศ + UD13-1	100a	100a
26	มะเขือเทศ + UD13-1 + <i>S. rolfsii</i>	60de	45fgh
27	มะเขือเทศ + UD13-1 + สารเคมี	100a	100a
28	มะเขือเทศ + UD13-1 + <i>S. rolfsii</i> + สารเคมี	100a	100a
29	มะเขือเทศ + UD4-8	100a	100a
30	มะเขือเทศ + UD4-8 + <i>S. rolfsii</i>	95ab	65cdef
31	มะเขือเทศ + UD4-8 + สารเคมี	100a	100a
32	มะเขือเทศ + UD4-8 + <i>S. rolfsii</i> + สารเคมี	100a	100a
33	มะเขือเทศ + UD2-4	100a	100a
34	มะเขือเทศ + UD2-4 + <i>S. rolfsii</i>	50e	35ghi
35	มะเขือเทศ + UD2-4 + สารเคมี	100a	100a
36	มะเขือเทศ + UD2-4 + <i>S. rolfsii</i> + สารเคมี	100a	100a
37	มะเขือเทศ + กฟ5-2	100a	100a
38	มะเขือเทศ + กฟ5-2 + <i>S. rolfsii</i>	25f	15ij
39	มะเขือเทศ + กฟ5-2 + สารเคมี	100a	100a
40	มะเขือเทศ + กฟ5-2 + <i>S. rolfsii</i> + สารเคมี	100a	90ab
41	มะเขือเทศ + <i>S. rolfsii</i>	0	0j
42	มะเขือเทศ + สารเคมี	100a	100a
43	มะเขือเทศ + <i>S. rolfsii</i> + สารเคมี	100a	100a
44	มะเขือเทศ	100a	100a
CV (%)		12.84	15.92

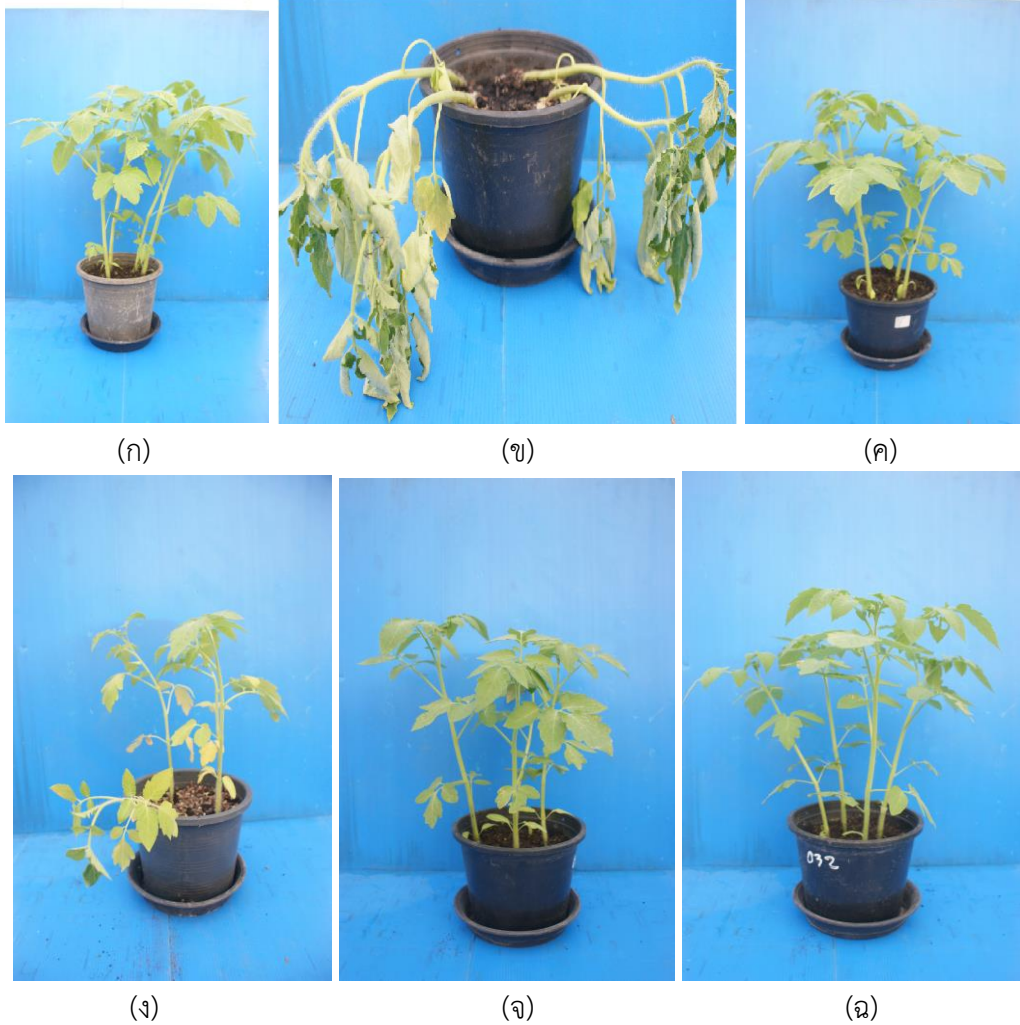
¹วางแผนการทดลองแบบ complete randomized design (CRD) มีทั้งหมด 44 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ

²ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % (DMRT) ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากกว่า 50 % แสดงว่ามะเขือเทศต้านทานต่อเชื้อ *Sclerotium rolfsii*



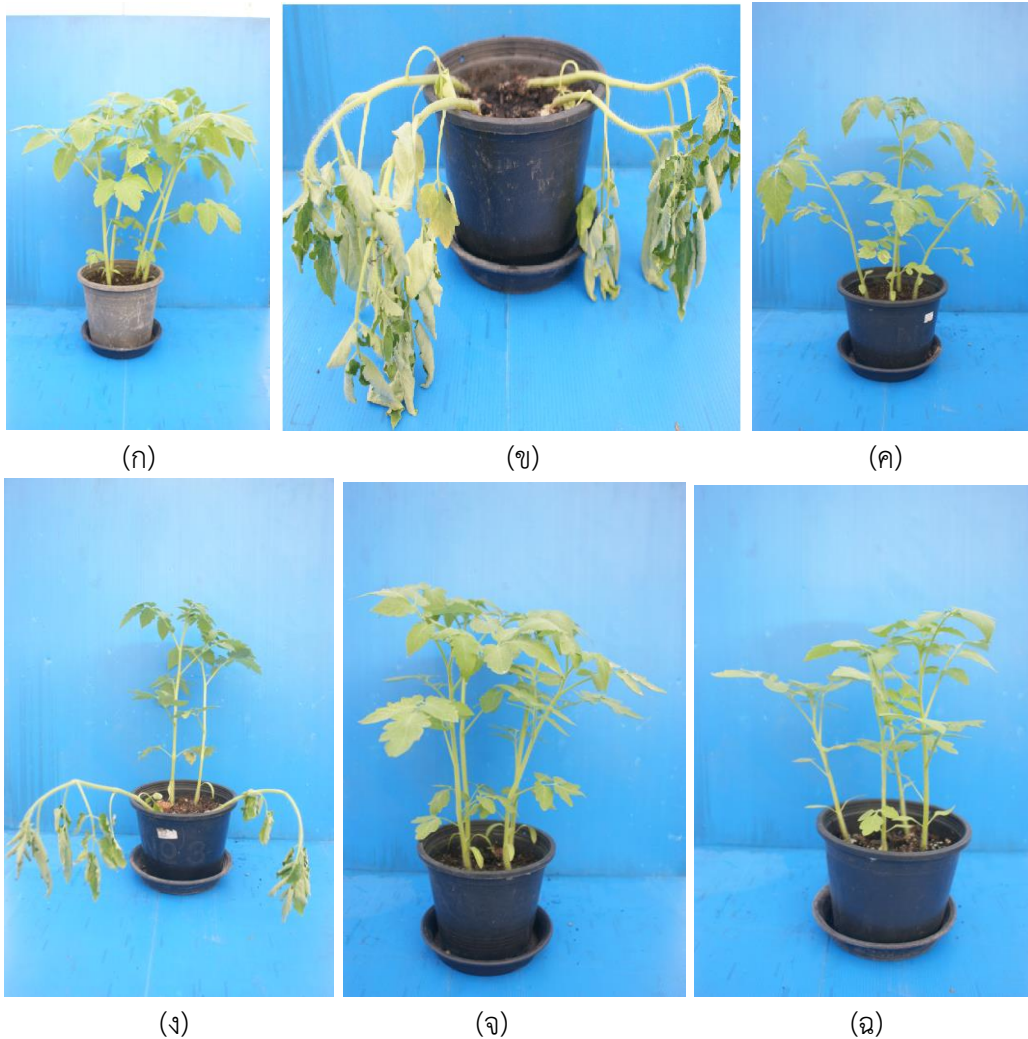
รูปที่ 4.1 ลักษณะต้นมะเขือเทศที่ทดสอบกับเชื้อราปฏิปักษ์ UD12-10 ในแต่ละกรรมวิธี

- (ก) มะเขือเทศปลูกในดินปลูกที่ฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีที่ 44)
- (ข) มะเขือเทศใส่เชื้อรา *Sclerotium rolfsii* (กรรมวิธีที่ 41)
- (ค) มะเขือเทศใส่เชื้อรา UD12-10 (กรรมวิธีที่ 1)
- (ง) มะเขือเทศใส่เชื้อรา UD12-10 และ *S. rolfsii* (กรรมวิธีที่ 2)
- (จ) มะเขือเทศใส่เชื้อรา UD12-10 และ สารเคมี (กรรมวิธีที่ 3)
- (ฉ) มะเขือเทศใส่เชื้อรา UD12-10, *S. rolfsii* และสารเคมี (กรรมวิธีที่ 4)



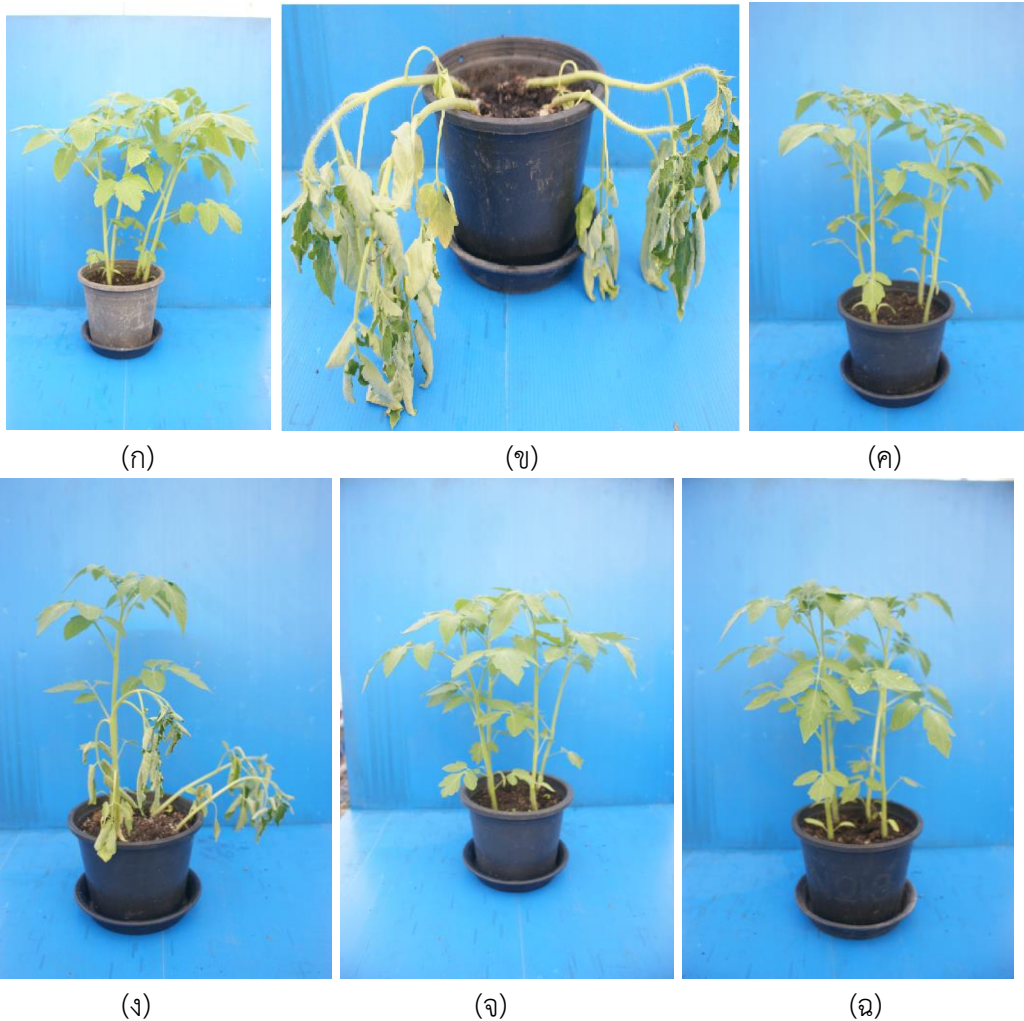
รูปที่ 4.2 ลักษณะต้นมะเขือเทศที่ทดสอบกับเชื้อราปฏิปักษ์ กล5-2 ในแต่ละกรรมวิธี

- (ก) มะเขือเทศปลูกในดินปลูกที่ฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีที่ 44)
- (ข) มะเขือเทศใส่เชื้อรา *Sclerotium rolfsii* (กรรมวิธีที่ 41)
- (ค) มะเขือเทศใส่เชื้อรา กล5-2 (กรรมวิธีที่ 5)
- (ง) มะเขือเทศใส่เชื้อรา กล5-2 และ *S. rolfsii* (กรรมวิธีที่ 6)
- (จ) มะเขือเทศใส่เชื้อรา กล5-2 และ สารเคมี (กรรมวิธีที่ 7)
- (ฉ) มะเขือเทศใส่เชื้อรา กล5-2, *S. rolfsii* และสารเคมี (กรรมวิธีที่ 8)



รูปที่ 4.3 ลักษณะต้นมะเขือเทศที่ทดสอบกับเชื้อราปฏิปักษ์ UD12-102 ในแต่ละกรรมวิธี

- (ก) มะเขือเทศปลูกในดินปลูกที่ฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีที่ 44)
- (ข) มะเขือเทศใส่เชื้อรา *Sclerotium rolfsii* (กรรมวิธีที่ 41)
- (ค) มะเขือเทศใส่เชื้อรา UD12-102 (กรรมวิธีที่ 9)
- (ง) มะเขือเทศใส่เชื้อรา UD12-102 และ *S. rolfsii* (กรรมวิธีที่ 10)
- (จ) มะเขือเทศใส่เชื้อรา UD12-102 และ สารเคมี (กรรมวิธีที่ 11)
- (ฉ) มะเขือเทศใส่เชื้อรา UD12-102, *S. rolfsii* และสารเคมี (กรรมวิธีที่ 12)



รูปที่ 4.4 ลักษณะต้นมะเขือเทศที่ทดสอบกับเชื้อราปฏิปักษ์ UD4-6 ในแต่ละกรรมวิธี

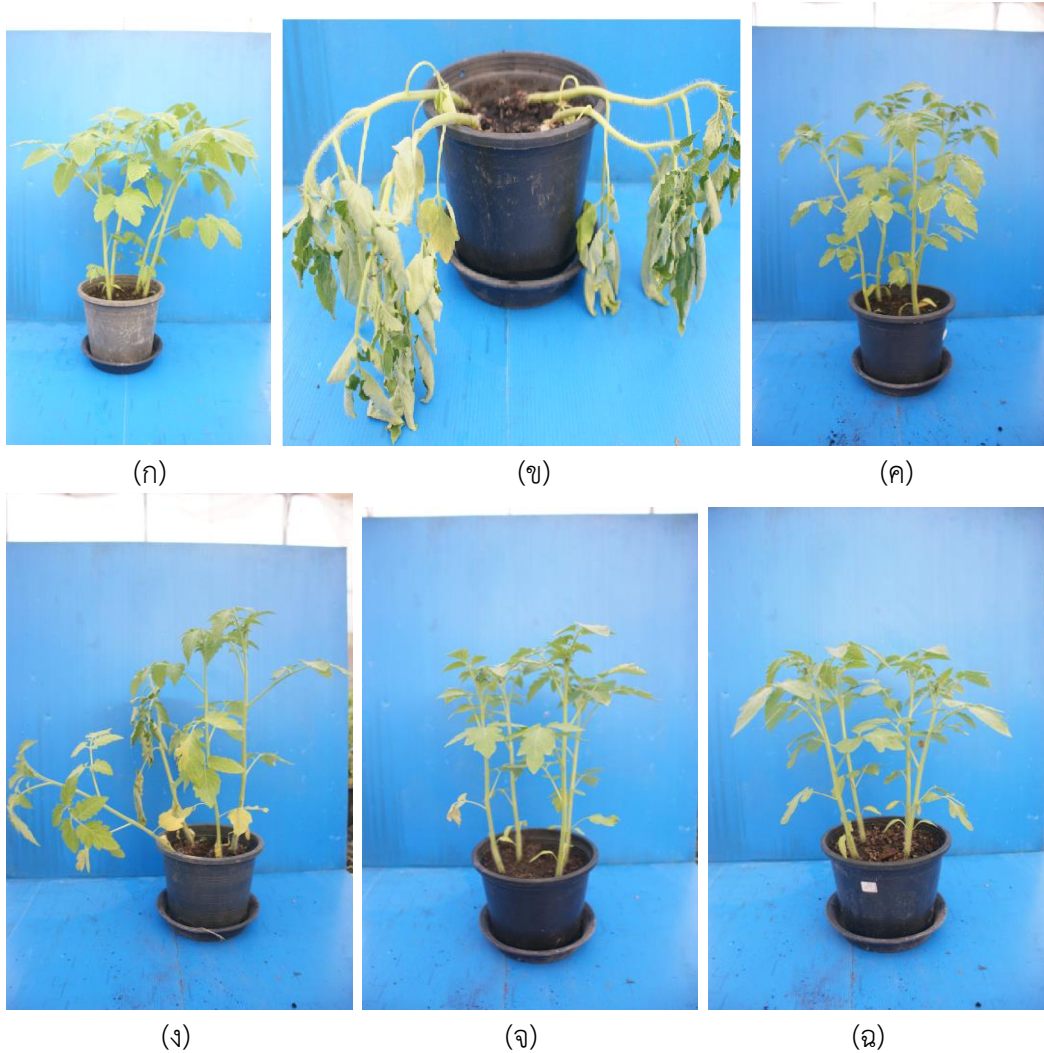
- (ก) มะเขือเทศปลูกในดินปลูกที่ฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีที่ 44)
- (ข) มะเขือเทศใส่เชื้อรา *Sclerotium rolfsii* (กรรมวิธีที่ 41)
- (ค) มะเขือเทศใส่เชื้อรา UD4-6 (กรรมวิธีที่ 13)
- (ง) มะเขือเทศใส่เชื้อรา UD4-6 และ *S. rolfsii* (กรรมวิธีที่ 14)
- (จ) มะเขือเทศใส่เชื้อรา UD4-6 และ สารเคมี (กรรมวิธีที่ 15)
- (ฉ) มะเขือเทศใส่เชื้อรา UD4-6, *S. rolfsii* และสารเคมี (กรรมวิธีที่ 16)



รูปที่ 4.5 ลักษณะต้นมะเขือเทศที่ทดสอบกับเชื้อราปฏิปักษ์ กพ10-12 ในแต่ละกรรมวิธี

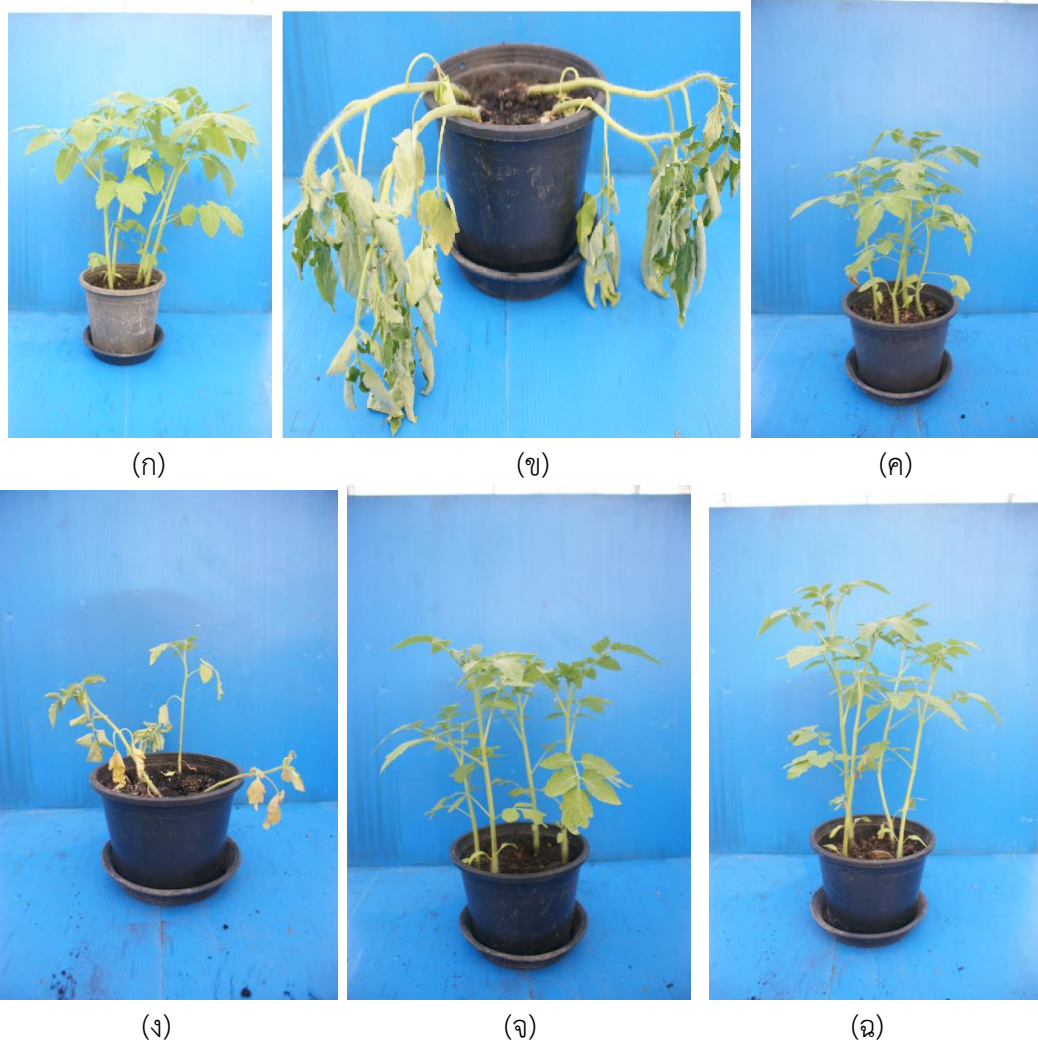
- (ก) มะเขือเทศปลูกในดินปลูกที่ฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีที่ 44)
- (ข) มะเขือเทศใส่เชื้อรา *Sclerotium rolfsii* (กรรมวิธีที่ 41)
- (ค) มะเขือเทศใส่เชื้อรา กพ10-12 (กรรมวิธีที่ 17)
- (ง) มะเขือเทศใส่เชื้อรา กพ10-12 และ *S. rolfsii* (กรรมวิธีที่ 18)
- (จ) มะเขือเทศใส่เชื้อรา กพ10-12 และ สารเคมี (กรรมวิธีที่ 19)

(ฉ) มะเขือเทศใส่เชื้อรา กพ10-12, *S. rolfsii* และสารเคมี (กรรมวิธีที่ 20)



รูปที่ 4.6 ลักษณะต้นมะเขือเทศที่ทดสอบกับเชื้อราปฏิปักษ์ UD14-4 ในแต่ละกรรมวิธี

- (ก) มะเขือเทศปลูกในดินปลูกที่ฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีที่ 44)
- (ข) มะเขือเทศใส่เชื้อรา *Sclerotium rolfsii* (กรรมวิธีที่ 41)
- (ค) มะเขือเทศใส่เชื้อรา UD14-4 (กรรมวิธีที่ 21)
- (ง) มะเขือเทศใส่เชื้อรา UD14-4 และ *S. rolfsii* (กรรมวิธีที่ 22)
- (จ) มะเขือเทศใส่เชื้อรา UD14-4 และ สารเคมี (กรรมวิธีที่ 23)
- (ฉ) มะเขือเทศใส่เชื้อรา UD14-4, *S. rolfsii* และสารเคมี (กรรมวิธีที่ 24)



รูปที่ 4.7 ลักษณะต้นมะเขือเทศที่ทดสอบกับเชื้อราปฏิปักษ์ UD13-1 ในแต่ละกรรมวิธี

- (ก) มะเขือเทศปลูกในดินปลูกที่ฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีที่ 44)
- (ข) มะเขือเทศใส่เชื้อรา *Sclerotium rolfsii* (กรรมวิธีที่ 41)
- (ค) มะเขือเทศใส่เชื้อรา UD13-1 (กรรมวิธีที่ 25)
- (ง) มะเขือเทศใส่เชื้อรา UD13-1 และ *S. rolfsii* (กรรมวิธีที่ 26)
- (จ) มะเขือเทศใส่เชื้อรา UD13-1 และ สารเคมี (กรรมวิธีที่ 27)
- (ฉ) มะเขือเทศใส่เชื้อรา UD13-1, *S. rolfsii* และสารเคมี (กรรมวิธีที่ 28)



รูปที่ 4.8 ลักษณะต้นมะเขือเทศที่ทดสอบกับเชื้อราปฏิปักษ์ UD4-8 ในแต่ละกรรมวิธี

- (ก) มะเขือเทศปลูกในดินปลูกที่ฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีที่ 44)
- (ข) มะเขือเทศใส่เชื้อรา *Sclerotium rolfsii* (กรรมวิธีที่ 41)
- (ค) มะเขือเทศใส่เชื้อรา UD4-8 (กรรมวิธีที่ 29)
- (ง) มะเขือเทศใส่เชื้อรา UD4-8 และ *S. rolfsii* (กรรมวิธีที่ 30)
- (จ) มะเขือเทศใส่เชื้อรา UD4-8 และ สารเคมี (กรรมวิธีที่ 31)
- (ฉ) มะเขือเทศใส่เชื้อรา UD4-8, *S. rolfsii* และสารเคมี (กรรมวิธีที่ 32)



(ก)



(ข)



(ค)



(ง)



(จ)



(ฉ)

รูปที่ 4.9 ลักษณะต้นมะเขือเทศที่ทดสอบกับเชื้อราปฏิปักษ์ UD2-4 ในแต่ละกรรมวิธี

(ก) มะเขือเทศปลูกในดินปลูกที่ฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีที่ 44)

(ข) มะเขือเทศใส่เชื้อรา *Sclerotium rolfsii* (กรรมวิธีที่ 41)

(ค) มะเขือเทศใส่เชื้อรา UD2-4 (กรรมวิธีที่ 33)

(ง) มะเขือเทศใส่เชื้อรา UD2-4 และ *S. rolfsii* (กรรมวิธีที่ 34)

(จ) มะเขือเทศใส่เชื้อรา UD2-4 และ สารเคมี (กรรมวิธีที่ 35)

(ฉ) มะเขือเทศใส่เชื้อรา UD2-4, *S. rolfsii* และสารเคมี (กรรมวิธีที่ 36)



รูปที่ 4.10 ลักษณะต้นมะเขือเทศที่ทดสอบกับเชื้อราปฏิปักษ์ กฟ5-2 ในแต่ละกรรมวิธี

- (ก) มะเขือเทศปลูกในดินปลูกที่ฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีที่ 44)
- (ข) มะเขือเทศใส่เชื้อรา *Sclerotium rolfsii* (กรรมวิธีที่ 41)
- (ค) มะเขือเทศใส่เชื้อรา กฟ5-2 (กรรมวิธีที่ 37)
- (ง) มะเขือเทศใส่เชื้อรา กฟ5-2 และ *S. rolfsii* (กรรมวิธีที่ 38)
- (จ) มะเขือเทศใส่เชื้อรา กฟ5-2 และ สารเคมี (กรรมวิธีที่ 39)
- (ฉ) มะเขือเทศใส่เชื้อรา กฟ5-2, *S. rolfsii* และสารเคมี (กรรมวิธีที่ 40)

บ ทที่ 5

อภิปรายและวิจารณ์ผลการทดลอง

มะเขือเทศเป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศที่ประสบกับปัญหาการทำลายจากเชื้อสาเหตุโรครด โดยเฉพาอย่างยิ่งเชื้อรา *Sclerotium rolfii* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคโคนและลำต้นเน่า (collar rot and stem rot) ทำความเสียหายอย่างมาก การควบคุมโดยชีววิธีเป็นทางเลือกหนึ่งในการป้องกันและลดการเกิดโรค งานวิจัยนี้มีระยะเวลา 3 ปี ปีที่ 1 (ปีงบประมาณ 2553) เก็บตัวอย่างดิน, ปุ๋ยหมัก, ดินที่มีเศษวัสดุ ในเขตจังหวัดอุดรธานี, กาฬสินธุ์, ขอนแก่น, นครราชสีมา, สระบุรี และกรุงเทพมหานคร จำนวน 125 ตัวอย่าง มาแยกเชื้อราได้จำนวน 547 ไอโซเลต นำเชื้อราทั้งหมดที่แยกได้มาทดสอบการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *S. rolfii* ด้วยเทคนิค dual culture บนอาหาร PDA plate พบว่าสามารถคัดแยกเชื้อราปฏิปักษ์ (antagonistic fungi) จำนวน 26 ไอโซเลต ซึ่งให้การยับยั้งอยู่ระหว่าง 42.89 – 80.00 % การทดสอบในสภาพห้องปฏิบัติการไม่เพียงพอที่จะนำเชื้อราปฏิปักษ์มาใช้ประโยชน์ในการควบคุมโรคในแปลงปลูก (Sivan and Chet, 1989a) Shoda (2000) กล่าวว่า การทดสอบในสภาพห้องปฏิบัติการ บางครั้งไม่สอดคล้องกับในสภาพเรือนทดลอง ต้องมีการทดสอบยืนยันก่อนนำไปใช้ในแปลงปลูก ดังนั้นรายงานวิจัยฉบับนี้คืองานวิจัยในปีที่ 2 (ปีงบประมาณ 2554) นำเชื้อราปฏิปักษ์ ที่แยกได้จากดินและปุ๋ยหมักในเขตจังหวัดอุดรธานี (UD 12-10, UD 12-102, UD4-6, UD14-4, UD13-1, UD4-8, UD2-4) และ จังหวัดกาฬสินธุ์ (กล5-2, กพ 10-12, กพ 5-2) ที่มีคุณสมบัติเป็นเชื้อปฏิปักษ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *S. rolfii* ในระดับห้องปฏิบัติการ มาทดสอบการควบคุมโรคโคนเน่าและลำต้นเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *S. rolfii* ในสภาพเรือนทดลอง จำนวน 44 กรรมวิธี ผลการทดลองพบว่า:

กรรมวิธีควบคุม (กรรมวิธีที่ 41 – 44) กรรมวิธีที่ 41 (มะเขือเทศ + เชื้อรา *S. rolfii*) มะเขือเทศทุกต้นเป็นโรคโคนและลำต้นเน่าตายหมด แสดงถึงความรุนแรงของเชื้อ *S. rolfii* ในการทำให้เกิดโรค จากการทดสอบตามกรรมวิธีที่ 42 (มะเขือเทศ+ สารเคมี) กรรมวิธีที่ 44 (ปลูกมะเขือเทศอย่างเดียว) และ กรรมวิธีที่ 1, 5, 9, 13, 17, 21, 25, 29, 33, 37 (มะเขือเทศ+ UD12-10, กล 5-2, UD 12-102, UD 4-6, กพ 10-12, UD 14-4, UD 13-1, UD 4-8, UD 2-4 และ กพ 5-2 ตามลำดับ) แสดงอาการต้นปกติทุกต้น แสดงให้เห็นว่าทั้งสารเคมี, ดินปลูก และเชื้อราปฏิปักษ์ทุกไอโซเลตไม่มีส่วนในการทำให้มะเขือเทศเป็นโรค มะเขือเทศจะเป็นโรคต่อเมื่อมีการใส่เชื้อ *S. rolfii* เท่านั้น กรรมวิธีที่ 43 (มะเขือเทศ + *S. rolfii* + สารเคมี) พบว่ามะเขือเทศปกติทุกต้นแสดงให้เห็นว่าสารเคมีสามารถควบคุมโรคโคนและลำต้นเน่าได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ส่วนกรรมวิธีที่ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลตในการควบคุมโรคคือ กรรมวิธีที่ 2 (มะเขือเทศ + UD 12-10 + *S. rolfii*), 6 (มะเขือเทศ + กล 5-2 + *S. rolfii*), 10 (มะเขือเทศ + UD 12-102 + *S. rolfii*), 14 (มะเขือเทศ + UD 4-6 + *S. rolfii*), 18 (มะเขือเทศ + กพ 10-12 + *S. rolfii*), 22 (มะเขือเทศ + UD 14-4 + *S. rolfii*), 26 (มะเขือเทศ + UD 13-1 + *S. rolfii*), 30 (มะเขือเทศ + UD 4-8 + *S. rolfii*), 34 (มะเขือเทศ + UD 2-4 + *S. rolfii*), 38 (มะเขือเทศ + กพ 5-2 + *S. rolfii*) จำนวนมะเขือเทศที่รอดชีวิต คือ 70, 55, 80, 30, 90, 60, 45, 65, 35, 15 % ตามลำดับ บันทึกผลหลังจากใส่เชื้อ *S. rolfii* 30 วัน แสดงให้เห็นว่า เชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลต กพ 10-12, UD12-102 และ UD12-10 มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรคโคนและลำต้นเน่าโดยจำนวนมะเขือเทศรอดชีวิตเท่ากับ 90, 80 และ 70 % ตามลำดับ โดยที่ไอโซเลต กพ 10-12 และ UD12-102 มีประสิทธิภาพสูงสุดจำนวนมะเขือเทศรอดชีวิตเท่ากับ 90, 80 ตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่สารเคมีควบคุมโรค

ส่วนกรรมวิธีที่ใช้เชื้อราปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลตร่วมกับสารเคมีได้แก่กรรมวิธีที่ 3 (มะเขือเทศ + UD 12-10 + สารเคมี), 7 (มะเขือเทศ + กล 5-2 + สารเคมี), 11 (มะเขือเทศ + UD 12-102 + สารเคมี), 15 (มะเขือเทศ + UD 4-6 + สารเคมี), 19 (มะเขือเทศ + กพ 10-12 + สารเคมี), 23 (มะเขือเทศ + UD 14-4 + สารเคมี), 27 (มะเขือเทศ + UD 13-1 + สารเคมี), 31 (มะเขือเทศ + UD 4-8 + สารเคมี), 35 (มะเขือเทศ + UD 2-4 + สารเคมี), 39 (มะเขือเทศ + กพ 5-2 + สารเคมี) จำนวนที่รอดชีวิต คือ 100, 100, 90, 100, 85, 100, 100, 100, 100, 100 % ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของมะเขือเทศ อยู่ระหว่าง 85-100 % โดยแต่ละกรรมวิธีไม่แสดงผลแตกต่างกัน และไม่มีผลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) เมื่อเทียบกับการกรรมวิธีที่ 42 ที่ใช้สารเคมีอย่างเดียวให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 100 % แสดงให้เห็นว่าเชื้อราปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลตและสารเคมีสามารถใช้ร่วมกันได้โดยไม่ส่งผลกระทบต่อผลของการรอดชีวิตของมะเขือเทศ

ส่วนกรรมวิธีที่ใช้เชื้อราปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลตร่วมกับสารเคมีเพื่อควบคุมโรคโคนและลำต้นเน่าได้แก่กรรมวิธีที่ 4 (มะเขือเทศ + UD 12-10 + *S. rolfsii* + สารเคมี), 8 (มะเขือเทศ + กล 5-2 + *S. rolfsii* + สารเคมี), 12 (มะเขือเทศ + UD 12-102 + *S. rolfsii* + สารเคมี), 16 (มะเขือเทศ + UD 4-6 + *S. rolfsii* + สารเคมี), 20 (มะเขือเทศ + กพ 10-12 + *S. rolfsii* + สารเคมี), 24 (มะเขือเทศ + UD 14-4 + *S. rolfsii* + สารเคมี), 28 (มะเขือเทศ + UD 13-1 + *S. rolfsii* + สารเคมี), 32 (มะเขือเทศ + UD 4-8 + *S. rolfsii* + สารเคมี), 36 (มะเขือเทศ + UD 2-4 + *S. rolfsii* + สารเคมี), 40 (มะเขือเทศ + กพ 5-2 + *S. rolfsii* + สารเคมี) จำนวนมะเขือเทศที่รอดชีวิต (ไม่แสดงอาการของโรค) คือ 100, 85, 60, 100, 100, 100, 100, 100, 100, 90 % ตามลำดับ ส่วนใหญ่พบว่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของมะเขือเทศสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับการใช้เชื้อราปฏิปักษ์ควบคุมโรคเพียงอย่างเดียว (กรรมวิธีที่ 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26, 30, 34, 38) ยกเว้นกรรมวิธีที่ 12 (มะเขือเทศ + UD 12-102 + *S. rolfsii* + สารเคมี) ที่เมื่อใช้สารเคมีร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์ UD12-102 ทำให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของมะเขือเทศลดลง แสดงให้เห็นว่าสารเคมีอาจมีผลกระทบต่อการใช้เชื้อราปฏิปักษ์ของไอโซเลตนี้ (ตารางที่ 4.1) งานวิจัยนี้สอดคล้องกับผลการทดลองของนักวิจัยหลายท่าน Widyastuti และคณะ (2003) รายงานการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. (*T. reesei*, *T. harzianum*) ในรูปของ alginate beads ควบคุมโรคโคน damping off ของกล้าสน (pine seedling) ที่เกิดจากเชื้อรา *S. rolfsii* ในสภาพเรือนทดลองได้อย่างมีประสิทธิภาพ ขณะที่ Elad และคณะ (1980) รายงานการใช้เชื้อรา *T. harzianum* ในรูปหิวเชื้อราข้าวสาลีในสภาพเรือนทดลองสามารถยับยั้งโรคของถั่ว ฝ้าย และมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *S. rolfsii* และ *Rhizoctonia solani* ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้สารละลายสปอร์ นอกจากนี้ นิภาพร (2538) รายงานการใช้เชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* (T20) ควบคุมโรคโคนเน่าลำต้นเน่าของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อ *S. rolfsii* ในสภาพแปลงปลูก ทำให้มะเขือเทศมีชีวิตรอด 61.1 % แต่ถ้าใช้ร่วมกับสารเคมีแมนโคเซบ (mancozeb) ความเข้มข้น 18,000 ppm ทำให้ต้นมะเขือเทศรอดตาย 88.9%

บทที่ 6

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการนำเชื้อราปฏิปักษ์ ที่แยกได้จากดินและปุ๋ยหมักในเขตจังหวัดอุดรธานี (UD 12-10, UD 12-102, UD4-6, UD14-4, UD13-1, UD4-8, UD2-4) และ จังหวัดกาฬสินธุ์ (กล5-2, กพ 10-12, กพ 5-2) ที่มีคุณสมบัติเป็นเชื้อปฏิปักษ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *S. rolfsii* ในระดับห้องปฏิบัติการ มาทดสอบยืนยันการควบคุมโรคโคนเน่าและลำต้นเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *S. rolfsii* ในสภาพเรือนทดลอง จำนวน 44 กรรมวิธี ผลการทดลองพบว่า เชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลต กพ 10-12, UD12-102 และ UD12-10 มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรคโคนเน่าและลำต้นเน่าโดยจำนวนมะเขือเทศรอดชีวิตเท่ากับ 90, 80 และ 70 % ตามลำดับ โดยที่ไอโซเลต กพ 10-12 และ UD12-102 มีประสิทธิภาพสูงสุดจำนวนมะเขือเทศรอดชีวิตเท่ากับ 90, 80 ตามลำดับ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่สารเคมีควบคุมโรค

งานทดลองนี้มีข้อเสนอแนะดังนี้

1. จากผลการทดลองพบว่าการใช้เชื้อราปฏิปักษ์ กพ 10-12 และ UD12-102 ควบคุมโรคโคนเน่าและลำต้นเน่าให้ผลการทดลองคือจำนวนมะเขือเทศรอดชีวิตไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่สารเคมีควบคุมโรค ควรนำเชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลต กพ 10-12 และ UD12-102 ศึกษาต่อถึงการควบคุมโรคในระดับแปลงปลูก และควรผลิตเป็นหัวเชื้อในรูปสูตรเพื่อการใช้ที่สะดวกและมีประสิทธิภาพมากขึ้น

2. เชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลตตามข้อ 1 และไอโซเลตอื่น ๆ ที่แม่ให้ผลการทดลองในการควบคุมโรคไม้ดีเท่าไอโซเลตตามข้อ 1 แต่เชื้อราปฏิปักษ์ทั้งหมดเมื่อใช้ร่วมกับสารเคมีให้ผลในการควบคุมโรคที่ดีขึ้น จากผลการทดลองพบว่าการใช้เชื้อราปฏิปักษ์ควบคุมโรคได้ผลดีในช่วง 7 วันแรกพอระยะต่อมาประสิทธิภาพการควบคุมโรคจะลดลง แต่การทดลองนี้ยังไม่ชัดเจน ควรทำการทดลองต่อไปในการนำเชื้อราปฏิปักษ์เหล่านี้มาใช้ร่วมกับสารเคมีโดยลดปริมาณสารเคมีลง เพื่อให้ผลในการควบคุมโรคอย่างเต็มประสิทธิภาพ คือใช้ร่วมกับสารเคมี แต่ลดการใช้สารเคมีลง

เอกสารอ้างอิง

- ถาวร วินิจสานันท์. 2531. โรคพืชไร่และพืชอาหารสัตว์.ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- นิภาพร บุญศักดิ์ดาพร. 2538. การคัดเลือกเชื้อ *Trichoderma* spp. ไอโซเลตที่ต้านทานต่อสารเคมีเพื่อควบคุมโรคโคนเน่าของมะเขือเทศซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* Sacc. โดยวิธีประสมประสาน. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาโรคพืชวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- วีรศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์, นิวัฒน์ เสนาะเมือง, พิศาล ศิริธร, ถาวร วินิจสานันท์ และ พรพรรณ พรหมเสถียร.2540ก. ผลของอุณหภูมิและการอบดินด้วยพลังงานแสงอาทิตย์ต่อความงอกและความสามารถในการทำให้เกิดโรคโคนเน่าในมะเขือเทศซึ่งเกิดจากเชื้อ *Sclerotium .rolfsii* Sacc. บทคัดย่อการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติครั้งที่ 3. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- วีรศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์, นิวัฒน์ เสนาะเมือง, พรพรรณ พรหมเสถียร,อนุชิต วรินทร์เสถียร.2540ข.การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมี tolcolfos-methyl ต่อโรคลำต้นเน่าของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium* Sacc. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า15(3):28-33
- วีรศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์ และระวีวรรณ ศรีละเอียด. 2528. การศึกษาเชื้อ *Trichoderma* spp. เพื่อใช้ป้องกันโรคโคนเน่าของผักและถั่วลิสงโดยชีววิธี. แก่นเกษตร. 13: 278-282.
- ศุภลักษณ์ ฮอกะวัด.2536. โรคผักตระกูลพริกและมะเขือ. ภาควิชาโรคพืชวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
- Aycock,R.1996. Stem rot and other diseases caused by *Sclerotium rolfsii* .N.C.Agric. Exp. Stn. Tech. Bull. 174.
- Danon, M., Y. Chen, and Y. Hadar. 2010. Ascomycete communities associated with suppression of *Sclerotium rolfsii* in compost. Fungal Ecology 3 :20-30.

- Elad, Y. , Katan, J. , Chet, I. 1980. Physical , biological, and chemical control integrated for soilborne diseases in potatoes. *In* Z. A. Punja, Ann. Rev. Phytopathol. 1985.23:97-127.
- Elad, Y., I. Chet, and J. Katan. 1980. *Trichoderma harzianum*: A biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. Phytopathology 70 (2): 119-121.
- Elad, Y., I. Chet, and Y. Henis. 1982. Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum*. Canadian Journal Microbiology. 28 : 719 – 725.
- Elad, Y., I. Chet, P. Boyle, and Y. Henis. 1982. Parasitism of *Trichoderma* spp. on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* –Scanning Electron Microscopy and Fluorescence Microscopy. Physiology and Biochemistry 73 :85-88.
- El-Katatny, M.H., M. Gudelj, K. H. Robra, M. A. Elnaghy, and G. M. Gubitz. 2001. Characterization of a chitinase and endo - β - glucanase from *Trichoderma harzianum* Rifi T24 involved in control of the phytopathogen fungi *Sclerotium rolfsii*. Apl. Microbiol. Biotechnol. 56: 137-143.
- Feneira, S. A. and R. A. Boley. 1992. *Sclerotium rolfsii*. (cited 18 December 2011) Available From : URL:<http://hbs.bishopmuseum.org/botany/taro/key/HawaiianKalo/Media/Html/adobe/dryrot.pdf>
- Fichtner, E. J. 1999. *Sclerotium rolfsii* Sacc. : ‘Kudzu of the Fungal World’ . (cited 18 December 2011) Available From : URL: <http://www.cals.ncsu.edu/course/pp728/Sclerotium/Srolfsii.html>
- Hoitink, H.A.J., and M.J. Boehm. 1991. Interactions between organic matter decomposition level, biocontrol agents and plant pathogens in soil-borne diseases. pp 63-77. In : Proc. of the 4th Brazillian Meeting on Biological control of Plant Diseases, Campinas, SO. Brazil. October 8-10, 1991.228 pp.
- Jomduang, J. and M. Sariah. 1995. Antagonistic Effect of Malaysian Isolates of *Trichoderma harzianum* and *Gliocladium virens* on *Sclerotium rolfsii*. PertanikaJ. Trop. Agric. Sci. 20 (1): 35-41.
- Khattabi, N., B. Ezzahiri, L. Louali, A. Oihabi. 2005. Antagonistic activity of *Trichoderma* isolates against *Sclerotium rolfsii* : screening of efficient isolates from Morocco soils for biological control. Phytopathologia Mediterranea43(3): 332-340.
- Lorito, M., G. E. Harman, C. K. Hayes, R. M. Broadway, A. Tronsmo, S. L. Woo, and A. di Pietro. 1993. Chitinolytic enzymes produced by *Trichoderma harzianum*: antifungal activity of purified endochitinase and chitobiase. Phytopathology. 83: 302-307.

- McKellar, M. E. and E. B. Nelson. 2003. Compost-Induced suppression of *Pythium* damping-Off is mediated by fatty-acid-metabolizing seed-colonizing microbial communities. *Appl. Environ Microbiol* 69(1): 452-460.
- Ozgonen, H., D. Soner Akgul, and Ali Erkilic. 2010. The effects of arbuscular mycorrhizal fungi on yield and stem rot caused by *Sclerotium rolfsii* Sacc in peanut. *African Journal of Agricultural Research* 5(2) :128-132
- Postma, J., M. Montanari, and P.H.J.F. van den Boogert. 2003. Microbial enrichment to enhance the disease suppressive activity of compost. *European J. of Soil Biology* 39: 157-163.
- Rakh, R. R. , L. S. Raut, S. M. Dalvi, and A. V. Manwar. 2011. Biological control of *Sclerotium rolfsii*, causing stem rot of groundnut by *Pseudomonas cf. monteilii* 9. *Recent Research in Science and Technology* 3(3): 26-34.
- Rawat, R. and L.Tewari. 2010. Transmission electron microscopic study of the cytological changes in *Sclerotium rolfsii* parasitized by a biocontrol fungus *Trichoderma* sp. *Mycology* 1 : 237–241.
- Saksirirat, W. and H. H. Hoppe. 1991. Secretion of extracellular enzymes by *Verticillium psalliotae* Treschow and *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas during growth on uredospores of the soybean rust fungus (*Phakopsora pachyrhizi* Syd.) in liquid cultures. *J. Phytopathology* 131: 161-173.
- Sivan, A. and I. Chet. 1989a. Degradation of fungal cell walls by lytic enzymes of *Trichoderma harzianum*. *General Microbiology* 135: 675-682.
- Shoda, M. 2000. Bacterial control of plant diseases. *J. Biosci and Bioeng* 98: 515-521.
- Widyastuti, S. M., Haryono, Sumardi, and D. yumiarti. 2003. Biological control of *Sclerotium rolfsii* damping-off of tropical pine (*Pine merkusii*) with three isolates of *Trichoderma* spp. *J. Biological Sciences* V3: 95-102.
- Yaqub, F and S. Shahzad. 2005. In vitro evaluation of microbial antagonists against *Sclerotium rolfsii*. *Pak. J. Bot.* 37 (4): 1033-1036.
- Zaldivar, M., J.G. Vlasquez, I. Contreras, and L.M. Perez. 2001. *Trichoderma aureoviride* 7-121, mutant with enhanced production of lytic enzymes: its potential use in waste cellulose degradation and/or biocontrol. *J. Biotechnol.* 4(3): 1-9.
- Zoberi, M . H. 1980. Some nutritional factors regulating formation of sclerotia of *Sclerotium rolfsii*. In Z. A. Punja, *Ann. Rev. Phytopathol.* 1985.23:97-127.

ภาคผนวก

ภาคผนวก
สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อรา

Potato Dextrose Agar (PDA)

Potato	200	กรัม
Dextrose	20	กรัม
Agar	15-20	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร

ซังมันฝรั่ง 200 กรัม หั่นเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมลูกเต๋า ใส่ลงในน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร นำไปต้มจนมันฝรั่งสุก นำมากรองผ่านผ้าขาวบาง ละลายผงวุ้นในน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร นำไปต้มจนผงวุ้นละลาย แล้วนำมาผสมกับน้ำต้มมันฝรั่ง เติมน้ำตาลกลูโคส ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °ซ เป็นเวลา 20 นาที แล้วจึงเทใส่จานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ฆ่าเชื้อ

ประวัติและผลงานนักวิจัย

2.1. ข้อมูลส่วนตัว

ชื่อ-นามสกุล:(ภาษาไทย)

นางวรรณดี บุญญัตริชิต

(ภาษาอังกฤษ)

Mrs. Wandee Bunyatratchata

หมายเลขบัตรประจำตัวประชาชน: 3-1016-00078-24-2

ตำแหน่งปัจจุบัน: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ระดับ 8

ที่ทำงาน: ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002

โทรศัพท์: 043 – 202377 โทรสาร 043 – 202377 E – mail address:
wanbun@kku.ac.th

2.2 ประวัติการศึกษา

ปีที่จบ การศึกษา	ระดับ ปริญญา	อักษรย่อปริญญาและชื่อ เต็ม	สาขาวิชา	ชื่อสถาบัน การศึกษา	ประเทศ
2524	ปริญญาตรี	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ.)	ชีววิทยา	มหาวิทยาลัย เชียงใหม่	ไทย
2533	ปริญญาโท	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วท.ม.)	จุลชีววิทยาทาง อุตสาหกรรม	จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย	ไทย
2549	ปริญญาเอก	ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต	โรคพืชวิทยา	มหาวิทยาลัย ขอนแก่น	ไทย

2.3 สาขาวิชาการศึกษา

จุลชีววิทยาทั่วไป, จุลชีววิทยาทางการเกษตร, การควบคุมทางชีวภาพ

2.4 ผลงานวิจัยที่พิมพ์ออกเผยแพร่ (บางส่วน)

Research Journal Publications

- Sudmoon, R., S., N. Sattayasai, **W. Bunyatratchata**, A. Chaveerach, and S. Nuchadomrong. 2008. Thermostable mannose-binding lectin from *Dendrobium findleyanum* with activities dependent on sulfhydryl content. *Acta Biochim Biophys Sin* 40: 811-818.
- Preecharam, S., S. Daduang, **W. Bunyatratchata**, T. Araki and S. Thammasirirak. 2008. Antibacterial activity from Siamese crocodile (*Crocodylus siamensis*) serum. *African Journal of Biotechnology* (in press)
- Thongtumma, S., S. Chanthai, **W. Bunyatratchata**, and C. Ruangviriyachai. 2007. A study on an influence of some factors affecting on pyocyanin. *Journal of Science Khon Kaen University* 35 (2): 123-133
- Hongthani, W., S. Chanthai, **W. Bunyatratchata** and C. Ruangviriyachai. 2007. Production and analysis of antibiotic phenazine from *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Science Khon Kaen University* 35 (1):49-59
- Thongtumma, S., P. Tansupo, **W. Bunyatratchata**, S. Chanthai and C. Ruangviriyachai. 2007. Capability in inhibition some bacterial growth using phenazine-producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Naresuan Agriculture Journal* 10(1): 41-50.
- Saosoong, K., S. Tongtumma, S. Chanthai, W. Wongphathanakul, **W. Bunyatratchata** and C. Ruangviriyachai. 2007. Isolation and study of chemical properties of pyocyanin produced from *Pseudomonas aeruginosa* TISTR 781 (ATCC 9027). *KKU Res. J.* 12(1): 24-32.

- Uawonggul, N., S. Thammasirak, A. Chaveerach, T. Arkaravichien, **W. Bunyaratatchata**, W. Ruangjirachuporn, P. Jearranaiprepame, T. Nakamura, M. Matsuda, M. Kobayashi, S. Hattori and S. Daduang. 2007. Purification and characterization of Heteroscorpine – 1 (HS-1) toxin from *Heterometrus laoticus* scorpion venom. *Toxicon*. 49(1): 19-29.
- Bunyaratatchata, W.**, W. Saksirirat. P. Sirithorn and P. Teerakulpisut. 2006. Genetic characterization of isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* as determined by ARDRA and RAPD analysis. *Khon Kaen Agriculture Journal*. 34 (3): 173-184.
- Bunyaratatchata, W.**, W. Saksirirat. P. Sirithorn and P. Teerakulpisut. 2005. Race Identification of Fusarium wilt Pathogen of Tomato, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* by pathogenic reaction on standard differential host and development of Thai differential host. *Khon Kaen Agriculture Journal* 33(2): 95 – 107.
- Bunyaratatchata, W.**, S. Thaboran, T. Somdee and K. Kong-ngohn. 2002. Detection of some bacteria in cooked foods in Khon Kaen University Campus. *KKU Res. J.* 7(1) : 38-50

Abstracts and Presentations

- Tongcharoen, C., W. Saksirirat, A. Wongcharoen, and **W. Bunyaratatchata**. 2008. Biological control of rhizosphere bacteria against *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* in Vitro. 20th Annual Meeting and International Conference of the Thai Society for Biotechnology. Mahasarakham University. (in Thailand).
- Charirak, P., W. Saksirirat and **W. Bunyaratatchata**. 2008. Degrading enzyme activities of chitinase and B-1,3-glucanase in tomato leaf induced by *Trichoderma* spp. 10Th Graduate Research Conference. Khon Kaen University (in Thailand)
- Ruangviriyachai, C., S. Chanthai and **W. Bunyaratatchata**. 2005. Phenazines Bioactive Compound from *Pseudomonas* spp. in Thailand. Proceedings the International conference on TSB annuals meeting: In novative Biotechnology ; The Era of Bionanotechnology. Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok, Thailand.
- Uawonggul, N., A. Chaveerach, S. Thammasirak, T. Arkaravichien, **W. Bunyaratatchata**, W. Ruangjirachuporn, P. Jearranaiprepame and S. Daduang. 2005. Investigation of Anti – microorganism Activity of Heteroscorpine – 1 (HS – 1), Neurotoxin from *Heterometrus laoticus* Thai Scorpion Venom. 2nd Yamada Symposium on Key Natural Organic Molecules in Biological Systems. Awaji Yumebutai International Conference Center, Hyogo, Japan.
- Saosoong, K., S. Tongtumma, S. Chanthai, W. Wongphathanakul, **W. Bunyaratatchata** and C. Ruangviriyachai. 2005. Production and Analysis of Pyocyanin from *Pseudomonas* sp. 31st Congress on Science and Technology of Thailand.

- Hongthani, W., C. Ruangviriyachai, S. Chanthai and W. Bunyatratchata. 2005. Production and Analysis of Bacterial phenazines. 4th Perch congress (in Thailand.)
- Bunyatratchata, W., W. Saksirirat. P. Sirithorn and P. Teerakulpisut. 2003. Race identification of Fusarium wilt pathogen of tomato, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* by pathogenic reaction on standard differential host and development of Thai differential host. 6th National Plant Protection Conference (in Thailand).
- Bunyatratchata, W., W. Saksirirat. P. Sirithorn and P. Teerakulpisut. 2003. Survey and race identification of Fusarium wilt pathogen of tomato, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* . KKU Annual Agricultural Seminar (in Thailand).

ประวัติและผลงานผู้ร่วมวิจัย

- ชื่อ นายวีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์
MR. Weerasak SAKSIRIRAT
- รหัสประจำตัวนักวิจัยแห่งชาติ : 38-40-0259 เลขประจำตัวประชาชน: 3-4299-00090-22-6
- ตำแหน่งปัจจุบัน : รองศาสตราจารย์ ระดับ 9
- ที่ทำงาน:
ภาควิชาโรคพืชวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
โทรศัพท์ / โทรสาร 043-343110, Email weerasak@mail.kku.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

ปีที่จบการศึกษา	ระดับปริญญา (ตรี โท เอก และ ประกาศนียบัตร) ชื่อเต็ม	อักษรย่อปริญญา	สาขาวิชาการศึกษา	วิชาเอก	ชื่อสถาบัน	ประเทศ
2521	ตรี	วท.บ.	เกษตรศาสตร์	อารักขาพืช	มหาวิทยาลัยขอนแก่น	ไทย
2524	โท	วท.ม.	จุลชีววิทยา	โรคพืช	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	ไทย
2533	เอก	Dr.-Ing.	Plant Protection	Plant Pathology	University of Kassel	Germany

6. งานวิจัยที่เผยแพร่(บางส่วน):

- วรรณดี บัญญัติรัชต วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์ พิศาล ศิริธร และ ปิยะดา อีร์กุลพิสุทธิ์. 2546. การสำรวจและจำแนก race ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ. การสัมมนาวิชาการเกษตรประจำปี 2546. 27-28 มกราคม 2546. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น. 401-410.
- สุวิตา แสไพศาล วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์ และ พรเทพ ถนนแก้ว. 2549. การตรวจสอบกิจกรรมของ Extracellular Degrading Enzymes ของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. การสัมมนา

- วิชาการเกษตรประจำปี 2549. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 23-24 มกราคม 2549.
- อรอุษา ลาวินิจ และ วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์. 2549. ความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ใช้ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชโดยชีววิธี การสัมมนาวิชาการเกษตรประจำปี 2549. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 23-24 มกราคม 2549.
- Saksirirat W.**, N. Sanoamuang, K. Thomma, J. Kamkajorn, S. Komain and S. Saepaisan. 2003. A new record of luminescent mushroom (*Omphalotus* sp.) in Thailand and studies on its cultivation and application. Proceedings of the 2nd International Conference on Medicinal Mushroom and Biodiversity and Bioactive Compounds. Pp. 251-257. 17-19 July 2003, PEACH, Pattaya, Thailand.
- Heebkaew R., **W. Saksirirat**, P. Sirithorn and P. Thummabenjapone. 2004. DNA fingerprints of straw mushroom (*Volvariella volvacea*) in Thailand. The IV ASIA-PACIFIC Mycological Congress. 14-19 November 2004, Chiang Mai, Thailand, page 149.
- Saksirirat, W.**, M. Chuebandit, P. Sirithorn and N. Sanoamuang. 2005. Species diversity of antagonistic fungus, *Trichoderma* spp. From seed production fields and its potential for control Fusarium wilt of tomato and cucurbits. The 4th International Conference on Biopesticides. Feb.13-18, 2005. Imperial Maeping Hotel, Chiangmai, Thailand.
- Sirimungkararat, S., T. Sangtamat, **W. Saksirirat** and Y. Waikakul. 2005. New food plants for eri silkworm rearing. Int. J. Wild Silkworm & Silk. 10: 27-34.
- Sirimungkararat, S., S. Kamoltip and **W. Saksirirat**. 2005. Reeling of eri cocoon (*Philosamia ricini* B.) for silk yarn production. Int. J. Wild Silkworm & Silk. 10: 35-39.
- Saksirirat W.**, J. Komkhajorn, N. Sanoamuang and H. Uairong. 2005. Towards genetic diversity of edible mushrooms in northeast Thailand by using amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA) technique. BioThailand 2005, 2-5 November 2005, Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok, Thailand, page 237.
- Yothalak, R., P. Thanonkeo and **W. Saksirirat**. 2005. Effect of cold shock on growth and protein synthesis in *Volvariella volvacea*. BioThailand 2005, 2-5 November 2005, Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok, Thailand, page 263.
- Charoensoparat K, S. Lunprorm, N. Aukkanit, **W. Saksirirat** and P. Thanonkeo. 2005. Biological function of G protein β subunit gene in *Rhizoctonia solani*. BioThailand 2005, 2-5 November 2005, Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok, Thailand, page 264.

Songpra, B., S. Sirimungkararat, H. Uairong, **W. Saksirirat**, P. Theerakulpisut and A. Phodee. 2006. A new record of entomopathogenic fungus, *Penicillium oxalicum* and its ITS-5.8S rDNA sequence data. Proceedings International Conference on Biopesticides IV, pp. 67-73. February 13-18th 2005, Chiang Mai, Thailand.

ยุวดี ชูประภาวรรณ วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์ อนันต์ หิรัญสาลี และ นิวัฒน์ เสนาะเมือง . 2550. การสำรวจ รวบรวม และประเมินประสิทธิภาพเชื้อราในดินในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ต่อด้านการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม. เกษตร 35: 104-114

ยุวดี ชูประภาวรรณ วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์ อนันต์ หิรัญสาลี และ นิวัฒน์ เสนาะเมือง . 2550. การประเมินประสิทธิภาพเชื้อราในดินต่อการควบคุมไส้เดือนฝอยรากปม *Meloidogyne incognita* สาเหตุโรครากปมพริกในแปลงปลูกพืชขนาดเล็ก. เกษตร 35: 189-195

7. ทรัพยากรทางปัญญา

7.1 อนุสิทธิบัตร เลขที่ 2315 วันที่ได้รับ 23 มกราคม 2549

วิธีการตรวจสอบ race 3 ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศ ด้วยเทคนิค Polymerize Chain Reaction (PCR)

7.2 อนุสิทธิบัตร เลขที่ 2316 วันที่ได้รับ 23 มกราคม 2549

ไพรเมอร์ (primer) ที่ใช้ตรวจสอบ race ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศ

