



การแยกและการคัดเลือกเชื้อราไตรโคเดอร์มาจากดินขุยไผ่บริเวณอุทยานแห่งชาติ  
น้ำตกโยงจังหวัดนครศรีธรรมราชที่มีศักยภาพ  
ในการยับยั้งเชื้อรา *Phytophthora palmivora* (Butler) Butler

Isolation and Screening of *Trichoderma* spp. from Bamboo Soil in  
Nam Tok Yong National Park, Nakhon Si Thammarat Province for Inhibition of  
*Phytophthora palmivora* (Butler) Butler.

อังคณา ไสเกื้อ

สาขาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย  
วิทยาเขตนครศรีธรรมราช ต.ถ้ำใหญ่ อ.ทุ่งสง จ.นครศรีธรรมราช 80110

E-mail: angkana\_sai@hotmail.com

บทคัดย่อ

ทำการแยกเชื้อราไตรโคเดอร์มา สปีชีส์ (*Trichoderma* species) จากดินขุยไผ่บริเวณอุทยานแห่งชาติ  
น้ำตกโยง จ.นครศรีธรรมราช จำนวน 10 ตัวอย่าง โดยวิธี soil dilution plate บนอาหาร Martin's สามารถแยก  
เชื้อรา *Trichoderma* sp. ได้จำนวนทั้งสิ้น 5 ไอโซเลท เมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการยับยั้ง  
การเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora palmivora* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรครากเน่าและโคนเน่าของทุเรียนใน  
ห้องปฏิบัติการ โดยวิธี dual culture พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท NTY111, NTY211, NTY212,  
NTY214 และ NTY311 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *P. palmivora* โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ  
82.33, 81.15, 69.38, 69.35 และ 41.10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา  
ก่อโรคระหว่างเชื้อรา *Trichoderma harzianum* (สายพันธุ์การค้า) กับเชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท NTY111  
และ NTY211 พบว่า ประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *P. palmivora* ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ  
ทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

Received: Oct 19, 2013

Revised: Nov 25, 2013

Accepted: Dec 08, 2013

**คำสำคัญ:** การแยก, การคัดเลือก, ดินขุยไผ่, ไตรโคเดอร์มา สปีชีส์, *Phytophthora palmivora*,  
วิธี dual culture plant

### Abstract

In this study, five isolates of *Trichoderma* species were isolated from bamboo soil in Nam Tok Yong National Park by soil dilution plate method using Martin's medium. Antagonistic activity assay of all isolates of *Trichoderma* species were carried out by using dual culture plate technique against *Phytophthora palmivora*, a causative agent of root and stem rot disease of durian. *Trichoderma* sp. NTY111, NTY211, NTY212, NTY214 and NTY311 were found to inhibit the mycelium growth of plant pathogen with the percentage of 82.33, 81.15, 69.38, 69.35 and 41.10, respectively, when compare to the antifungal activity of *Trichoderma harzianum* (commercial strain). However, the inhibition of fungal mycelia of commercial strain did not significantly different ( $P < 0.05$ ) from the isolates NTY111 and NTY211.

**Keywords:** photosynthetic bacteria, 5-aminolevulinic acid, Plackett-Burman

### 1. บทนำ

ทุเรียนจัดอยู่ในอเดอร์ Mavales แฟมิลี Bambaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Durio zibethinus* Murr. เป็นผลไม้ยืนต้นขนาดใหญ่เจริญเติบโตและให้ผลผลิตได้ดีในเขตที่มีสภาพอากาศร้อนชื้นอุณหภูมิที่เหมาะสมประมาณ 10-46 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำฝนไม่น้อยกว่า 2,000 มิลลิเมตรต่อปี การกระจายตัวของฝนและความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศสูงประมาณ 75-85 เปอร์เซ็นต์ ในประเทศไทยแหล่งผลิตทุเรียนที่สำคัญอยู่ในจังหวัดภาคตะวันออก ได้แก่ จังหวัดระยอง จันทบุรี ตราด และปราจีนบุรี ปัจจุบันขยายพื้นที่ปลูกออกไปยังภาคอื่นๆ มากขึ้น ในช่วงฤดูฝนมีฝนตกชุกบางพื้นที่มีการระบายน้ำไม่ดีทำให้มีการแพร่ระบาดของเชื้อก่อโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียน [1] โรคดังกล่าวเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* (Butler) Butler. ซึ่งเป็นเชื้อราในดินอาศัยข้ามฤดูบนเศษซากพืชที่เคยเป็นโรค เศษอินทรีย์วัตถุในดิน หรืออาศัยบนพืชบางชนิด เชื้อราสร้างเส้นใยผนังหนารูปร่างกลมที่เรียกว่า chlamydospore อยู่ในดิน การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ เพศเมียจะสร้าง oogonium เพศผู้สร้าง antheridium เมื่อผสมกันทำให้เกิดสปอร์ผนังหนาเรียกว่า oospore หากอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมจะงอกและเจริญเป็นเส้นใยสร้าง sporangium เมื่อมีความชื้นสูงจะปล่อย zoospore เข้าทำลายรากพืช ยอด ใบ และส่วนต่างๆของต้นพืช ถ้ารากเน่ามากใบทุเรียนที่อยู่ปลายกิ่งจะแสดงอาการซีดเหลือง ชะงักการเจริญเติบโตและต่อมาจะร่วง ปลากรากผ่น้ำเปื้อน รากแขนงมีอาการเน่า ที่โคนจะปรากฏจุดดำน้ำและมักมีน้ำเยิ้มออกมา เนื้อเยื่อเปลือกและเนื้อเยื่อไม้เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม อาการจะลุกลามเน่ารอบโคนต้น ทำให้ใบร่วงหมดต้นและยืนต้นแห้งตายในเวลาต่อมา สำหรับในดินที่มีการระบายน้ำไม่ดี มีน้ำขัง เชื้อราจะแพร่ระบาดไปสู่ใบ กิ่ง และส่วนอื่นๆ ได้อีกด้วย [2] เกษตรกรมักแก้ปัญหาโดยการ ใช้สารเคมี etridiazole, fosetyl-AI, phosphoric acid และ metalaxyl แต่การใช้สารเคมีในปริมาณมากและระยะเวลาานจะทำให้เชื้อรา *P. palmivora* ต้านทานต่อสารเคมี [3] มีการนำ

เชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์มาใช้ทั้งควบคุมโรคและส่งเสริมการเจริญของพืช โดยพบว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. เป็นเชื้อราปฏิปักษ์ที่นำไปใช้เป็นสารชีวภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพควบคุมเชื้อราโรคพืชหลายชนิด [4, 5] โดยเฉพาะ *Trichoderma harzianum* ที่สามารถเข้าทำลายโรคพืชอื่นๆ อีกเช่น แอนแทรคโนสของถั่วเหลืองระยะต้นอ่อน [6] โรคเน่าระดับดินของคะน้า [7] โรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศ [8] โรคโคนเน่าของมะเขือเทศ [9] โรคเน่าสเคลอโรเทียมของข้าวบาร์เลย์ [4] โรคเน่าระดับดินของแตงกวา [10] โรคผลเน่าของทุเรียน [11] โรคดอกจุดสนิมของกล้วยไม้สกุลหวาย [12] โรคแอนแทรคโนสของพริก [13] โรครากผุขาวในถั่วเหลือง [14] โรคเชื้อราดำผักกาดแฟและโกโก้ [15] [16] โรคลำต้นเน่าในมะม่วง [17] นอกจากนี้สามารถควบคุมโรคพืชโดยตรงแล้วเชื้อรา *Trichoderma* sp. ยังสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตของพืชชนิดต่างๆ เช่น พริก [18] ดาวเรือง [19] กะหล่ำปลี [20] ผักกาดหัว [21] ปอโมโรเฮยะ [22] คะน้า [23] และถั่วเหลือง [14] เป็นต้น นอกจากนี้เชื้อรา *Trichoderma* sp. ยังช่วยให้เมล็ดพืชมีอัตราการงอกที่เร็วขึ้น [24] ช่วยชักนำให้ต้นพืชมีความต้านทานต่อเชื้อโรคพืช [10, 25] อีกด้วย

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อแยกและการคัดเลือกเชื้อรา ไตรโคเดอร์มา สปีชีส์ (*Trichoderma* species) จากดินขุยไผ่หรือดินใต้โคนไผ่ ซึ่งเป็นแหล่งอาหารที่ดีของเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มต่างๆ ทั้งเชื้อราแบคทีเรียและยีสต์ ดังนั้นการแสวงหาเชื้อราไตรโคเดอร์มาสายพันธุ์ใหม่ๆ ที่ดำรงชีวิตและใช้อินทรีย์วัตถุจากดินขุยไผ่เป็นแหล่งอาหาร ซึ่งเป็นดินที่ปราศจากการใช้สารเคมีใดๆ ทั้งสิ้นเพื่อนำเชื้อราไตรโคเดอร์มา มาประยุกต์ใช้ในการควบคุมเชื้อรา *P. palmivora* เป็นการจัดการเชื้อสาเหตุโรคพืชด้วยวิธีชีวภาพ จึงเป็นแนวทางหนึ่งในการนำไปใช้และพัฒนาการเกษตรของประเทศไปสู่ระบบเกษตรแบบยั่งยืนต่อไปในอนาคต

## 2. วัตถุประสงค์และวิธีดำเนินการวิจัย

### 2.1 การเก็บตัวอย่างดินขุยไผ่

เก็บตัวอย่างดินขุยไผ่จากบริเวณอุทยานแห่งชาติน้ำตกโยง บริเวณอุทยานแห่งชาติน้ำตกโยง ต.ถ้ำใหญ่ อ.ทุ่งสง จ.นครศรีธรรมราช ที่ระดับความลึก 10 เซนติเมตรจากผิวน้ำดิน โดยสุ่มเก็บบริเวณใต้กอไผ่ห่างจากกอไผ่ประมาณ 1 เมตร จำนวน 3 จุด ต่อ 1 กอ นำตัวอย่างดินขุยไผ่ที่เก็บมาผึ่งเพื่อลดความชื้นที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ก่อนนำไปใช้ทดลองต่อไป

### 2.2 การแยกเชื้อราไตรโคเดอร์มา

ชั่งตัวอย่างดินน้ำหนัก 10 กรัม ใส่ในขวดแก้วรูปชมพู่ที่บรรจุน้ำกลั่นที่นิ่งมาเชื้อปริมาตร 90 มิลลิลิตร เขย่า 20-30 นาที ดูดสารละลายแขวนลอยปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่า 1 นาที ทำการเจือจางดินให้ได้ระดับความเจือจาง  $10^{-2}$  และ  $10^{-3}$  ดูดสารละลายดินในแต่ละความเจือจาง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บนอาหาร Martin's [26] จากนั้นทำการเกลี่ยเชื้อแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน สังเกตและคัดเลือกโคโลนีเดี่ยวๆ ที่มีสีขาว ขาวอมเหลือง เทา ทั้งที่ขอบเรียบและขอบหยักและลักษณะคล้ายกำมะหยี่ไปทำให้บริสุทธิ์ โดยการเลี้ยงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อพีดีเอ (potato dextrose agar; PDA) เมื่อสร้างสปอร์ได้เต็มที่แล้วจึงนำไปศึกษาต่อไป [7]

### 2.3 การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา *Trichoderma* sp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* ในห้องปฏิบัติการ

เลี้ยงเชื้อรา *P. palmivora* (ได้รับอนุเคราะห์จากหน่วยวิจัยไม้ผลเขตร้อน มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์) และเชื้อรา *Trichoderma* sp. ที่คัดแยกได้บนอาหารฟิตีเอ เป็นเวลา 7 วัน โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะบริเวณขอบโคโลนีเชื้อราทั้งสอง จากนั้นย้ายชิ้นส่วนวุ้นของเชื้อราปฏิปักษ์คือ *Trichoderma* sp. และชิ้นส่วนวุ้นของเชื้อรา *P. palmivora* วางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อฟิตีเอในลักษณะตรงข้ามกันให้มีระยะห่าง 6 เซนติเมตร และทำการเลี้ยงเชื้อรา *P. palmivora* และเชื้อรา *Trichoderma* sp. แยกต่างหากบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อฟิตีเอเป็นชุดการทดลองเปรียบเทียบ (Control) จำนวน 3 ซ้ำ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน [27] คำนวณประสิทธิภาพเชื้อรา *Trichoderma* sp. (%) ในการยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อรา *P. palmivora* (percent inhibition of radial growth – PIRG) โดยใช้สูตรการคำนวณดังนี้ [28]

$$PIRG = \left( \frac{R_C - R_T}{R_C} \right) \times 100$$

$R_C$  = ค่าเฉลี่ยของรัศมีเชื้อรา *P. palmivora* ในกรรมวิธีควบคุม

$R_T$  = ค่าเฉลี่ยของรัศมีเชื้อรา *P. palmivora* ในกรรมวิธีทดสอบ

### 2.4 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของเชื้อรา *Trichoderma* sp.

เลี้ยงเชื้อรา *Trichoderma* sp. บนอาหารฟิตีเอเป็นเวลา 5 วัน บ่มเลี้ยงที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส นำไปทำ slide culture จากนั้นนำกระจกปิดสไลด์ไปหยดสี lactophenol cotton-blue แล้วนำไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดเลนส์ประกอบ (รุ่น Eclipse E100 ยี่ห้อ Nikon) เพื่อศึกษาลักษณะของเชื้อรา *Trichoderma* sp.

### 2.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ)

## 3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย

### 3.1 ผลการแยกเชื้อราไตรโคเดอร์มาจากดินขุยไผ่

การแยกเชื้อราไตรโคเดอร์มา จากตัวอย่างดินขุยไผ่ในบริเวณอุทยานแห่งชาติน้ำตกโยง จำนวน 10 ตัวอย่าง สามารถแยกเชื้อราไตรโคเดอร์มาโดยวิธี soil dilution plate บนอาหาร Martin's ได้จำนวนทั้งสิ้น 5 ไอโซเลท ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อบริสุทธิ์บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อฟิตีเอที่อุณหภูมิห้อง พบว่าสามารถจำแนกเชื้อราไตรโคเดอร์มาออกเป็น 3 กลุ่ม ตามสีของเส้นใย สีของสปอร์ การเจริญเติบโตของเส้นใยและการเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยพบกลุ่มที่มีเส้นใยสีขาว สปอร์สีเขียว มีการเจริญเติบโตของเส้นใยที่รวดเร็ว และสีของอาหารเลี้ยงเชื้อไม่มีการเปลี่ยนแปลงจำนวน 2 ไอโซเลท คือ NTY111 (รูปที่ 1 A และ B) และ

NTY211 (รูปที่ 1 C และ D) สำหรับกลุ่มที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนสีอาหารเลี้ยงเชื้อที่พบมากที่สุดเท่ากับ 3 ไอโซเลท คือ NTY214 (รูปที่ 1 E และ F) NTY311 (รูปที่ 2 A และ B) และ NTY212 (รูปที่ 2 C และ D) โดยจะเปลี่ยนสีของอาหารฟีดือเป็นสีเหลือง ส่วนเชื้อรา *T. harzianum* (สายพันธุ์การค้า) ที่นำมาใช้เป็นเชื้ออ้างอิงในการศึกษาครั้งนี้พบว่าไม่มีสปอร์สีเขียว เส้นใยมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว และไม่มีการเปลี่ยนสีของอาหารฟีดือ (รูปที่ 2 E และ F)

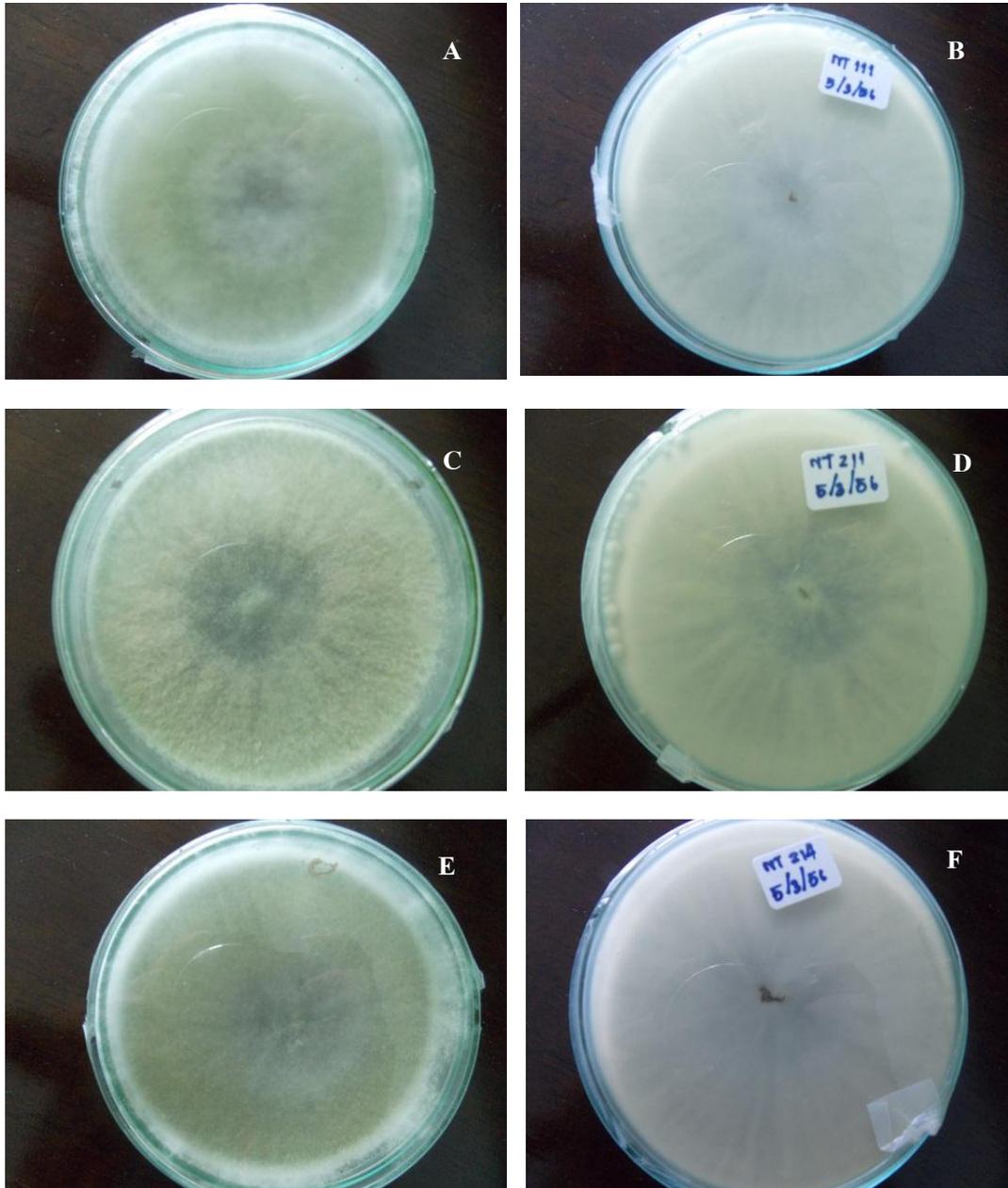
### 3.2 ผลการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราไตรโคเดอร์มาในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora*

จากการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งของเชื้อรา *Trichoderma* sp. ที่แยกได้จากดินขุยไผ่ จำนวน 5 ไอโซเลท คือ NTY311, NTY212, NTY111, NTY211 และ NTY214 กับเชื้อ *P. palmivora* โดยวิธี dual culture บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อฟีดือ พบว่า เชื้อราไตรโคเดอร์มาทั้ง 5 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora* ได้ (ดังแสดงในรูปที่ 3 A - F) มีค่าประสิทธิภาพในการยับยั้งระหว่าง 41.10–82.33 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าเชื้อราไตรโคเดอร์มา NTY111 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงสุด (82.33 %) (ตารางที่ 1) ในขณะที่เชื้อรา *T. harzianum* (สายพันธุ์การค้า) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเท่ากับ 84.69 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งประสิทธิภาพการยับยั้งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) กับเชื้อราไตรโคเดอร์มา NTY111 และ NTY211

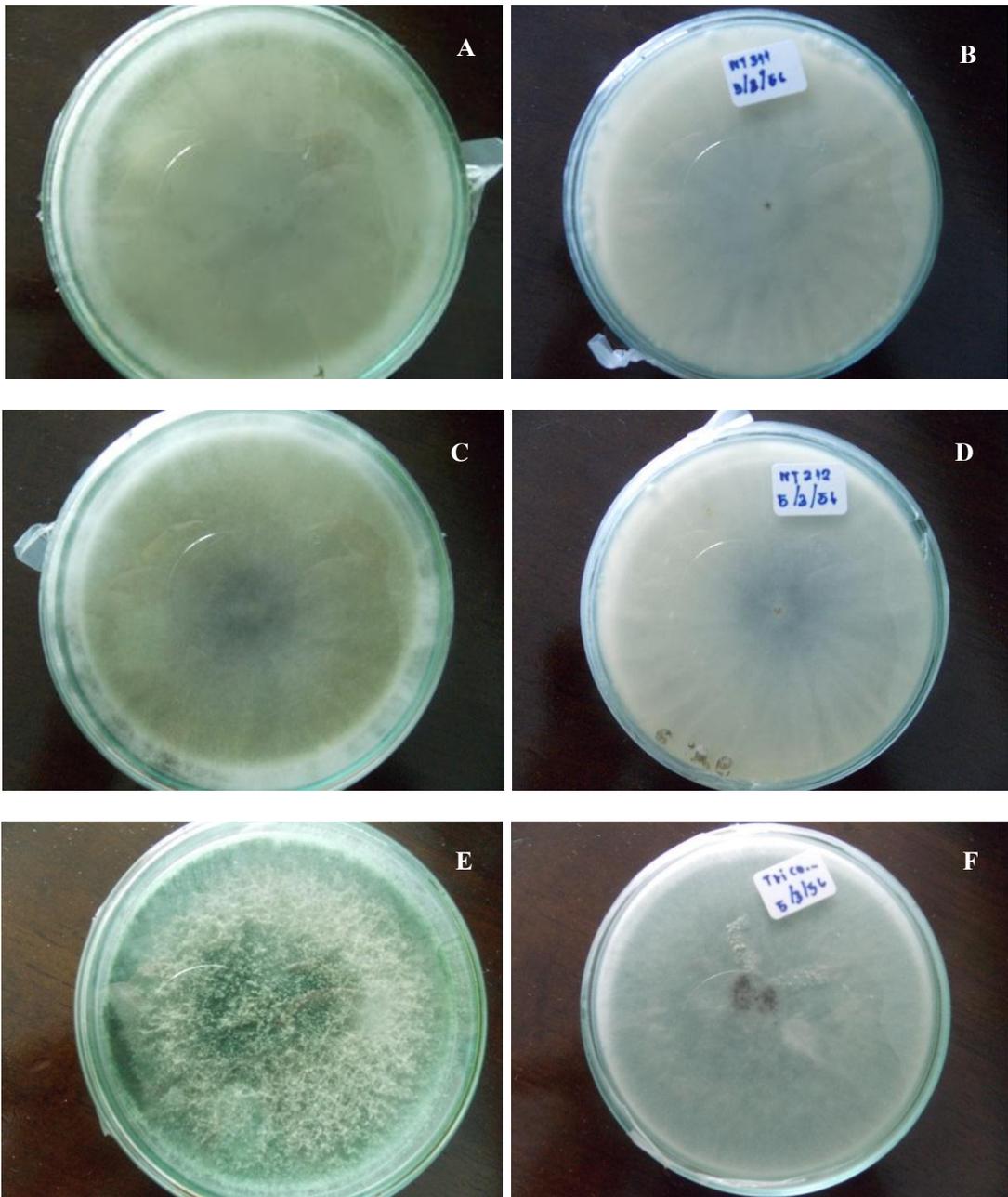
ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora* โดยเชื้อราไตรโคเดอร์มาที่คัดแยกได้บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อฟีดือ หลังการบ่มเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง นาน 5 วัน

| ไอโซเลท  | ประสิทธิภาพในการยับยั้ง (%) |
|--|-----------------------------|
| NTY111   | 82.33 <sup>c</sup>          |
| NTY211   | 81.15 <sup>c</sup>          |
| NTY214   | 69.35 <sup>b</sup>          |
| NTY311   | 41.10 <sup>a</sup>          |
| NTY212   | 69.38 <sup>b</sup>          |
| <i>Trichoderma harzianum</i> (สายพันธุ์การค้า) | 84.69 <sup>c</sup>          |

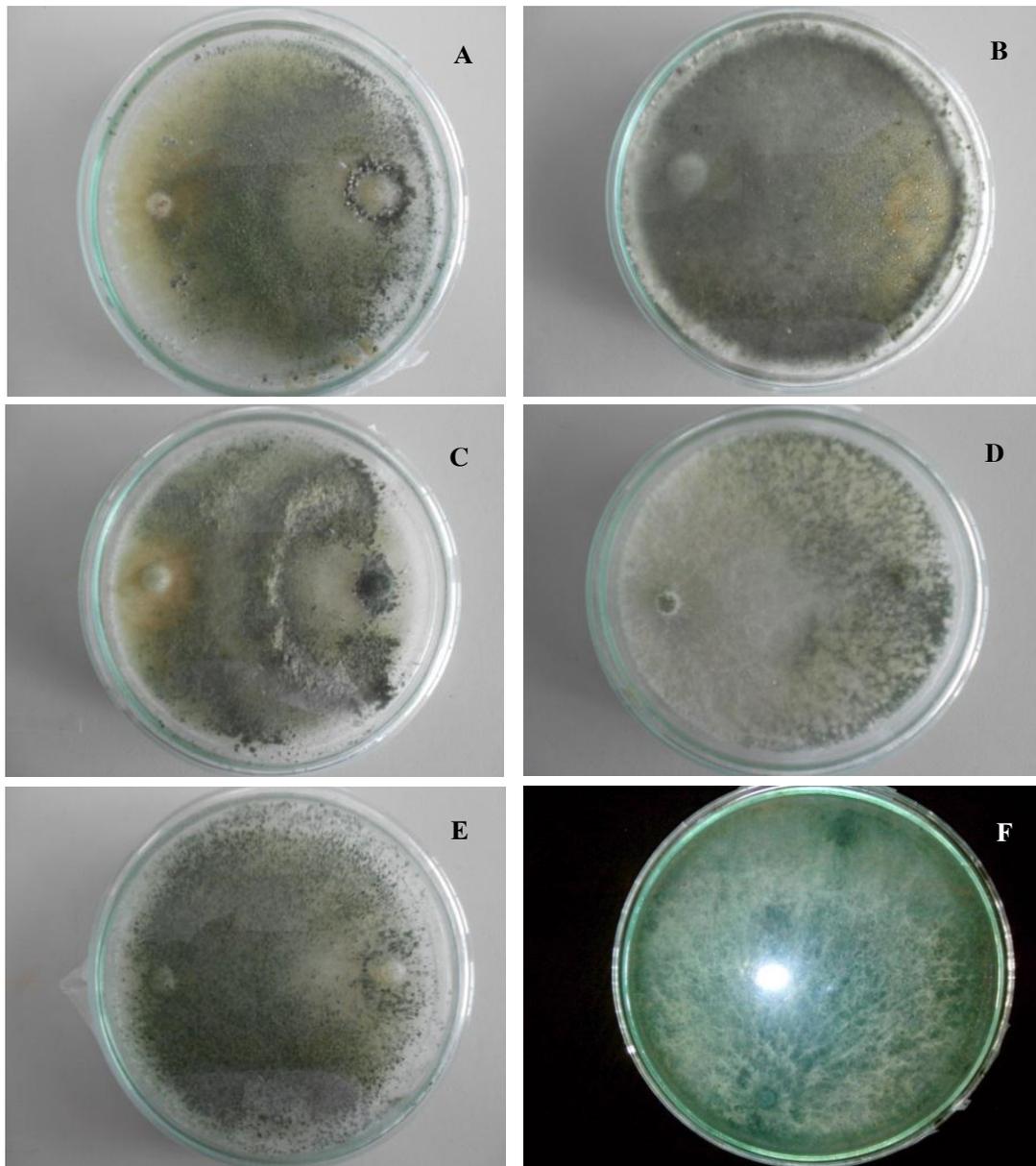
หมายเหตุ อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในแถวตั้งแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบตามวิธี DMRT



รูปที่ 1. ลักษณะ โคลนินของเชื้อราไตรโคเดอร์มาไอโซเลท NTY111 ด้านหน้า (A) และด้านหลัง (B) NTY211 ด้านหน้า (C) และด้านหลัง (D) และ NTY214 ด้านหน้า (E) และด้านหลัง (F) ที่เจริญบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อพีดีเอหลังจากบ่มเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง นาน 5 วัน



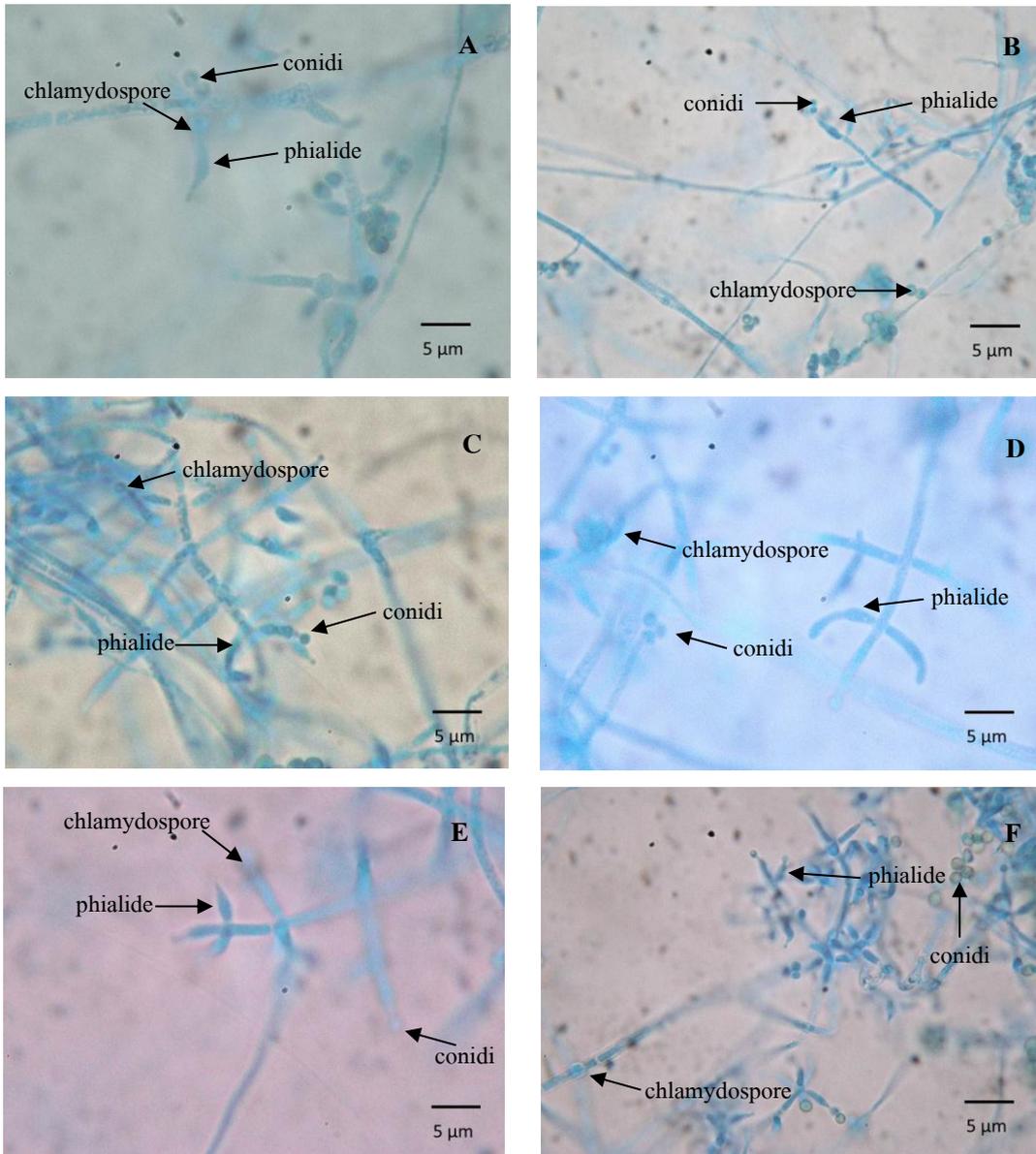
รูปที่ 2. ลักษณะโคโลนีของเชื้อราไตรโคเดอร์มาไอโซเลท NTY311 ด้านหน้า (A) และด้านหลัง (B) NTY212 ด้านหน้า (C) และด้านหลัง (D) และเชื้อรา *Trichoderma harzianum* (สายพันธุ์การค้า) ด้านหน้า (E) และ ด้านหลัง (F) ที่เจริญบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อพีดีเอหลังการบ่มเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง นาน 5 วัน



รูปที่ 3. การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งของเชื้อราไตรโคเดอร์มาไอโซเลท NTY311 (A) NTY212 (B) NTY214 (C) NTY211 (D) NTY111 (E) และเชื้อรา *Trichoderma harzianum* (สายพันธุ์การค้า) (F) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. palmivora* บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อพีดีเอหลังการบ่มเลี้ยงที่อุณหภูมิห้องนาน 5 วัน

### 3.3 ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของเชื้อราไตรโคเดอร์มา

เมื่อนำเชื้อราไตรโคเดอร์มาทั้ง 5 ไอโซเลทที่แยกได้มาบ่มเลี้ยงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อพีดีเอ นาน 5 วัน แล้วนำไปทำ slide culture จากนั้นตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเชื้อราไตรโคเดอร์มาทั้ง 5 ไอโซเลท สามารถสร้าง chlamyospore เส้นใยมีสีขาว สีของอาหารได้โคโลนีไม่เปลี่ยนแปลง รูปร่างและสีของ conidia มีรูปร่างค่อนข้างกลม สีเขียว กระจายอยู่ทั่วไป เส้นใยมีลักษณะเรียบ มีผนังกัน ส่วน phialides มีการแตกกิ่งก้านคล้ายเขาสัตว์ขนาดใหญ่ (รูปที่ 4 A - F)



รูปที่ 4. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อราไตรโคเดอร์มา ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า ไอโซเลท NTY111 (A) NTY211 (B) NTY214 (C) NTY311 (D) NTY212 (E) และ *T. harzianum* (F)

ซึ่งสอดคล้องกับ [29] ได้คัดแยกเชื้อราจำนวน 20 ไอโซเลทจากตัวอย่างดินในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศและพืชตระกูลแตง พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Fusarium oxysporium* f.sp. *lycopersici* (FOL) ซึ่งเป็นเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวของแตงเทศ และเมื่อจำแนกตามลักษณะโคโลนีบนอาหารพีดีเอและโครงสร้างทางจุลภาคสามารถบ่งชี้เชื้อราดังกล่าวเป็น 5 ชนิดคือ *T. aureoviride*, *T. reesei*, *T. piluliferum*, *T. harzianum* และ *T. koningii*

#### 4. สรุปผลการวิจัย

4.1 จากการทดลองสามารถแยกเชื้อรา *Trichoderma* sp. จากดินขุยไผ่บริเวณอุทยานแห่งชาติน้ำตกโยง ต.ถ้ำใหญ่ อ.ทุ่งสง จ.นครศรีธรรมราช ได้จำนวนทั้งหมด 5 ไอโซเลท คือ NTY111, NTY211, NTY214, NTY311 และ NTY212

4.2 เมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *P. palmivora* พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท NTY111 และ NTY211 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ถึง 82.33 เปอร์เซ็นต์ และ 81.15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งของเชื้อรา *T. harzianum* (สายพันธุ์การค้า) ที่จัดจำหน่ายให้แก่เกษตรกรเพื่อนำไปใช้เป็นเชื้อราปฏิปักษ์ พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้ง 84.69 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างกันกับเชื้อราที่แยกได้ทั้ง 2 ไอโซเลท อย่างนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

4.3 เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นพบว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. ที่คัดแยกได้ทั้ง 5 ไอโซเลท จะสร้างเส้นใยสีขาว ขอบเรียบ มีผนังกั้น มีโคโคนิเดียสีเขียวค่อนข้างกลม กระจายอยู่ทั่วไป ส่วนโพะลายด์จะมีลักษณะคล้ายกับเขาสัตว์ มีการแตกกิ่งก้านสาขา ซึ่งเป็นลักษณะที่คล้ายกับเชื้อรา *T. harzianum* ซึ่งเป็นเชื้อมาตรฐานที่นำมาใช้ศึกษาในครั้งนี้

#### 5. เอกสารอ้างอิง

- [1] เชษฐา กวางทอง, 2541. การใช้เทคโนโลยีการผลิตทุเรียนของเกษตรกรในจังหวัดจันทบุรี : ศึกษาเฉพาะกรณีอำเภอขลุง จังหวัดจันทบุรี. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- [2] ชรรมศักดิ์ สมมาตย์, 2532. การควบคุมโรคโคนเน่ารากเน่าของทุเรียนด้วยเทคนิคโรคพืช, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. เอกสารประกอบการบรรยาย: เทคนิคและกลยุทธ์ในการต่อสู้โรคทุเรียนและพริกไทย. สมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย.
- [3] Ferrin, D.M. and Kabashima, J.N. 1991. In vitro insensitivity to metalaxyl of isolates of *Phytophthora citricola* and *P. parasitica* from ornamental host in southern California. Plant Dis. 75: 1041-1044.

- [4] จิระเดช แจ่มสว่าง จิตนา ชะนะ เถลิ้มลาก ช่วยประสิทธิ์ สุพรรณิ ชีววิริยะกุล และวรรณวิไล เกษนรา. 2533. การประเมินประสิทธิภาพของเชื้อ *Trichoderma harzianum* ในการควบคุมโรคเน่าสเคลอโรเทียมของข้าวบาร์เลย์ในสภาพไร้ออกซิเจน. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 28: 163-171.
- [5] สุภาพร อารัญ จิระเดช แจ่มสว่าง อำไพวรรณ ภราครันุวัฒน์ และวี เสริฐภักดี. 2537. การใช้ส่วนผสมของผงเชื้อราไตรโคเดอร์มา ร่วมกับสารเคมีควบคุมเชื้อราในการควบคุมโรครากและโคนเน่าของกล้าทุเรียน ซึ่งเกิดจากเชื้อราไฟทอปทอรา พาล์มมิโวรา. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ครั้งที่ 32: 162-179.
- [6] เกศินี แก้วมาลา และสมบัติ ศรีชูวงศ์. 2552. ประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของถั่วเหลืองในระยะต้นอ่อน. วารสารเกษตร. 25(3): 229-236.
- [7] อรรถกร พรหมวี. 2551. การคัดเลือกและพัฒนาเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้จากดินขุยไผ่เพื่อใช้ควบคุมโรคเน่าระดับดินและส่งเสริมการเจริญเติบโตของคะน้า. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- [8] สุวิดา แสไพศาล วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์ และพรเทพ ถนอมแก้ว. 2549. การโคลนยีนไลตินเนสจากเชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* สาเหตุโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 37(6): 1021-1024.
- [9] จิระเดช แจ่มสว่าง กณิษฐา สังคะหะ และวรรณวิไล เกษนรา. 2536. การใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา ร่วมกับปุ๋ยหมักเพื่อควบคุมเชื้อ *Sclerotium rolfii* สาเหตุโรคโคนเน่าของมะเขือเทศ. [Online] Available <http://www.google.co.th/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&ved=0CDoQFjAC&url=http%3A%2F%2Frde.biotech.or.th23>. มีนาคม 2555.
- [10] Intana, W. 2003. Selection and development of *Trichoderma* spp. for high glucanase, antifungal metabolite producing and plant growth promoting isolates for biological control of cucumber damping-off caused by *Pythium* spp. Unpublished doctoral dissertation, Kasetsart University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Pathology.
- [11] ปัญญา กวางดี๊ด และสมศิริ แสงโชติ. 2545. การจัดการโรคผลเน่าของทุเรียน (*Durio Zibethinus* Murr.) ที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 33: 6 (พิเศษ), 45-48.
- [12] อารีรัตน์ เทียนขาว. 2550. ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* sp. ในการยับยั้งเชื้อรา *Curvularia eragrostidis* และควบคุมโรคดอกจุดสนิมของกล้วยไม้สกุลหวาย. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- [13] วิโรจน์ สิมพร. 2553. การใช้ *Trichoderma* sp. และ *Bacillus* sp. ในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum capsici* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก. SciMath คลังความรู้สู่ความเป็นเลิศ. [Online] Available <http://www.scimath.org/project/show/992>. 19 มีนาคม 2555.

- [14] Vidic, M. and Jasnic, S. 2011. Soybean diseases. In J. Miladinovic, M. Hrustic, and Vidic, M. (Eds.), Soybean. NoviSad-Becej: Institute of field and vegetable crops. Sojap rotein. pp.398-403.
- [15] Adejumo, T.O. 2005. Crop protection Strategies for major diseases of cocoa, coffee and cashew in Nigeria. **Afr. J. Biotechnol.** 4(2): 143-150.
- [16] Adebola, M.O. and Amadi, J.E. 2012. Studies on *Penicillium digitatum*, *Botryodiplodia theobromiae*, *Alternaria tenuis* and *Trichoderma harzianum* for biocontrol of *Phytophthora palmivora* Cocoa black pod disease pathogen. **American-Eurasian J. Agronomy.** 5(2): 30-34.
- [17] Suhanna, A., Norhanis, Y. and Hartinee, A. 2013. Application of *Trichoderma* spp. To control stem end rot disease of mango var. *Harumanis*. **J. Trop. Agric. and Fd. Sc.** 41(1): 159-168.
- [18] Inbar, J., M. Abramsky, D. Cohen and I. Chet.1994. Plant growth enhancement and disease control by *Trichoderma harzianum* in vegetable seedlings grown under commercial conditions. **Eur. J. Plant Patho.** 100 (5): 337-346.
- [19] Ousley, M.A., J.M. Lynch and J.M. Whipps.1994. The effects of addition of *Trichoderma* inocula on flowering and shoot growth of bedding plants. **Sci. Hortic.** 5: 147-159.
- [20] Rabeendran, N., D.J. Moot, E.E. Jones and A. Stewart. 2000. Inconsistent growth. promotion of cabbage and lettuce from *Trichoderma* isolates. **N.Z. Plant Prot.** 53: 143-146.
- [21] วิรัตน์ ภูวิวัฒน์ และเกษม สร้อยทอง. 2542. ผลของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ต่อการเจริญเติบโตของรากผักกาดหัว. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 17(2): 63-68
- [22] อภิสัทธี ชิตวณิช อรรถกร พรทวี และสมชาย ชคตระการ. 2551. ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* sp. ที่แยกได้จากดินปลูกพืชในฟาร์มเกษตรของมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของปอโมโรเฮยะ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 39(3): 238-241.
- [23] อรรถกร พรทวี สมชาย ชคตระการ วาริน อินทนา และจิระเดช แจ่มสว่าง. 2549. ศักยภาพของเชื้อรา *Trichoderma harzianu* สายพันธุ์ CB-Pin-01 ชนิดสดต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของคะน้า. วารสารวิทยาศาสตร์. 37(3) (พิเศษ): 149-152.
- [24] Watanabe, N. 1993. 3P moting effect of *Trichoderma* sp. on seed germination and plant growth in vegetables. Memoirs of the Institute of Sciences and Technology, Meiji University. 32(2): 9-17.
- [25] จิระเดช แจ่มสว่าง. 2549. การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี. นครปฐม: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, คณะเกษตรกำแพงแสน, ภาควิชาพืชศาสตร์.
- [26] Johnson, L.F. and Curl, E.A. 1972. Methods for research on the ecology of soil-borne plant pathogens. Burgess Publishing Co., Minneapolis, MN.

- [27] วาริน อินทนา มนตรี อิศร ไกรศีล ศุภลักษณ์ฉะฉน เศรษฐสกุลชัย ประคอง เข็นจิตต์ และทักษิณ สุวรรณโน. 2550. ประสิทธิภาพของเชื้อราไตรโคเดอร์มา ฮาซีเอนัม สายพันธุ์กลายในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการลดปริมาณเชื้อราไฟทอปธอรา พาล์มมิโวราในสวนทุเรียน. วิทยาศาสตร์กำแพงแสน. 5(3): 1-9.
- [28] ขจรเกียรติ ธิปทา จิรพรรณ โสภี และพิภัทร เจียมพิริยะกุล. 2533. การคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. เพื่อการควบคุมเชื้อรา *Pythium* spp. สาเหตุโรคน้ำคอดิน. เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยแม่โจ้, คณะผลิตกรรมการเกษตร, ภาควิชาอารักขาพืช.
- [29] วัลย์พร เชื้อบัณฑิต. 2548. ความหลากหลายของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. ในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ และการประยุกต์ใช้ในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.