

ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma asperellum* CB-Pin-01 และ แคลเซียมซิลิเกต
ต่อการงอกและควบคุมโรคโคนเน่าจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ในพริกมันบางช้าง
**Efficacy *Trichoderma asperellum* CB-Pin-01 and Calcium Silicate to Seed
Germination and Control Stem Rot Caused by *Sclerotium rolfsii* in *Capsicum
annuum* cv. ‘Bangchang’**

เกรียงไกร แสงไข¹ สุภชัย อัมภา² และพรไพรินทร์ รุ่งเจริญทอง^{3*}

Kriangkrai Saengkai¹, Suphachai Amkha² and Pornpairin Rungcharoenthong^{3*}

บทคัดย่อ

ประสิทธิภาพของเชื้อราไตรโคเดอร์มาร่วมกับแคลเซียมซิลิเกต (Ca_2SiO_4) ต่อการงอกและควบคุมเชื้อราสเคลอโลเทียมเชื้อสาเหตุการเกิดโรคเน่าระดับดินในพริก 1) ศึกษาผลของเชื้อราไตรโคเดอร์มา และ Ca_2SiO_4 ต่อการงอกของเมล็ดพริก คือ ควบคุม (T1) แช่เมล็ดในสารแขวนลอยไตรโคเดอร์มาที่ 5 (T2) และ 10 (T3) กรัม/ลิตร แช่เมล็ดในสารแขวนลอยไตรโคเดอร์มา ที่ 5 และ 10 กรัม/ลิตร ร่วมกับสารละลาย Ca_2SiO_4 1 กรัม/ลิตร (T4) และ (T5) ตามลำดับ และแช่เมล็ดในสารละลาย Ca_2SiO_4 อัตรา 1 กรัม/ลิตร (T6) ผลการทดลองพบว่า การใช้สารแขวนลอยไตรโคเดอร์มา ที่ 5 กรัม/ลิตร ช่วยให้ระยะเวลาในการเกิดรากเร็วขึ้น รวมถึงเพิ่มดัชนีการงอกมากกว่าการใช้สารแขวนลอยไตรโคเดอร์มา ที่ 10 กรัม/ลิตร โดยการใช้สารแขวนลอยไตรโคเดอร์มาร่วมกับ Ca_2SiO_4 ส่งเสริมเปอร์เซ็นต์ครอบครองเขตอิทธิพลรอบรากของต้นกล้าพริก เพิ่มขึ้น 37.5- 50% เมื่อเทียบกับตำรับควบคุม 2) ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราไตรโคเดอร์มา ร่วมกับ Ca_2SiO_4 ควบคุมโรคโคนเน่าของพริกจากเชื้อราสเคลอโลเทียมในระดับโรงเรือน คือ ควบคุม (T1) วัสดุปลูกผสมเชื้อรา เชื้อราไตรโคเดอร์มา ที่อัตรา 1 กก./ 100 กก. วัสดุปลูก (T2) วัสดุปลูกผสมเชื้อราไตรโคเดอร์มา อัตรา 1 กก./ 100 กก. วัสดุปลูกร่วมกับ Ca_2SiO_4 อัตรา 20 กก./ไร่ (T3) และวัสดุปลูกผสม Ca_2SiO_4 ที่อัตรา 20 กก./ไร่ (T4) ผลการทดลองพบว่าการใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา อัตราส่วน 1 กก./100 กก. วัสดุปลูกร่วมกับ Ca_2SiO_4 อัตรา 20 กก./ไร่ ส่งผลให้ต้นกล้าพริกมีรอดตาย 40% เมื่อเทียบกับตำรับควบคุม และยังคงพบประชากรเชื้อราไตรโคเดอร์มา 1.23×10^6 CFU/g soil รอบรากต้นกล้าที่รอดตายจากดินที่มีเชื้อราสเคลอโลเทียม

คำสำคัญ: ไตรโคเดอร์มา สเคลอโรเทียม ซิลิโคน การงอก ต้นกล้าพริก

¹ นิสิตปริญญาโท สาขาวิทยาการพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

² ผศ.ดร., ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

³ อ.ดร., ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

¹ Master Student, Major of Plant Science, Kasetsart University, Nakhonpathom, 73140

² Asst. Prof., Department of Soil Science, Faculty of Agriculture at KamphaengSaen, Kasetsart University, Nakhonpathom, 73140

³ Dr., Department of Botany, Faculty of Liberals Art and Science, Kasetsart University, Nakhonpathom, 73140

* Corresponding author: Tel.: 086-1423388. E-mail address: faaspr@ku.ac.th

Abstract

The effect of *Trichoderma* was combined with Ca_2SiO_4 to seed germination and control rotten causes by *Sclerotium* on *Capsicum annuum* cv. 'Bangchang' were investigated. 1) Study effect *Trichoderma* with Ca_2SiO_4 on seed germination was observed. The experiment was composted of control (T1), seeds were soaked in *Trichoderma* suspension at 5 (T2) and 10 (T3) g/L, seeds were soaked in *Trichoderma* suspension at 5 and 10 g/L combined with Ca_2SiO_4 solution 1 g/L (T4) and (T5), respectively and seeded were soaked in Ca_2SiO_4 solution 1 g/L (T6). The results showed that seeds were early days to emergence and high germination index in *Trichoderma* suspension at 5 g/L higher than 10 g/L. However, *Trichoderma* suspension with Ca_2SiO_4 increased percentage of colonization root of seedling 37.5-50% compared with control. 2) The effect *Trichoderma* with Ca_2SiO_4 to control stem rotten causes by *Sclerotium* in green house experiments. The experiment was 4 treatments control (T1), planting media combined *Trichoderma* 1 kg/100 kg planting media (T2), planting media combined *Trichoderma* 1 kg/100 kg planting media with Ca_2SiO_4 20 kg/rai (T3) and planting media combined Ca_2SiO_4 20 kg/rai (T4). The results showed *Trichoderma* 1 kg/100 kg planting media with Ca_2SiO_4 at 20 kg/ rai gave 40% survival seedling rate compared with control. In addition it was found that *Trichoderma* populations 1.23×10^6 CFU/ g soil around root survival seedling after treated with *Sclerotium*.

Keywords: *Trichoderma*, *Sclerotium*, Silicon, Germination, Pepper Seedling

บทนำ

พริก (*Capsicum annuum*) เป็นพืชเศรษฐกิจ มีการบริโภคทั้งในประเทศและส่งออก โดยพบว่าในปี พ.ศ. 2556-2558 มีแนวโน้มผลผลิตสูงขึ้นตามลำดับ [1] พริกที่นิยมปลูก เช่น พริกชี้ฟ้า พริกชี้หนูและพริกหวาน [2] เนื่องจากสามารถนำไปใช้ประกอบอาหารทั้งในรูปแบบพริกสด พริกแห้ง และการแปรรูป เช่น ซอสพริก น้ำพริก เครื่องแกงและพริกน้ำจิ้ม พริกมีปัญหาเรื่องโรคระบาดและศัตรูพืชหลายชนิด โดยเฉพาะโรคโคนเน่า ที่เกิดจากเชื้อราสเคลอโรเทียม (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) ซึ่งมีอาการโคนต้นเน่าเป็นสีน้ำตาล บริเวณพื้นดินใกล้โคนต้นมีเส้นใยสีขาว ขนาดเท่าเมล็ดผักกาด ต้นที่โรคเข้าทำลาย แสดงอาการใบเหลือง และเหี่ยวตายในที่สุด ในปัจจุบันการบูรณาการการจัดการธาตุอาหารและชีววิธี สามารถนำมาใช้เพื่อลดปัญหาของโรคพืช [3] โดยเฉพาะการใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา (*T. asperellum* CB-Pin-01) สามารถเข้าทำลายเส้นใยของเชื้อราสเคลอโรเทียม [4-5] เช่นเดียวกับ ในพริกมีรายงานว่าสารทุติยภูมิของเชื้อราไตรโคเดอร์มา ในกลุ่ม trichothecens, cyclic peptides และ isocyanide สามารถยับยั้งยับยั้งเชื้อราสเคลอโรเทียม และลดอาการของโรคโคนเน่าได้ [6] นอกจากนั้นยังเพิ่มความงอกในเมล็ดแดงไทย [7] และเมล็ดพริก [8] นอกจากการประยุกต์ใช้ธาตุอาหารเสริมประโยชน์ ยังช่วยให้พืชเจริญเติบโตเสริมสร้างความแข็งแรงต่อการเข้าทำลายของโรคและแมลง โดยเฉพาะซิลิโคน [9] ที่มีบทบาทช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชหลายชนิดและเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของผนังเซลล์พืช การบรรเทาความเครียดจากปัจจัยชีวณะ (Biotic Stress) และปัจจัยชีวณะ (Abiotic Stress) ช่วยให้เซลล์พืชมีความแข็งแรงและมีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและแมลงศัตรูพืชต่างๆ มีรายงานว่าการใช้ซิลิโคน ช่วยลดการเข้าทำลายของเชื้อราแป้ง *Sphaerotheca* spp. ในใบแตงกวา [10] และช่วยลดการเกิดโรคราสนิทในใบถั่วเหลือง จากเชื้อรา *Phakopsora pachyrhizi* ถึง 15% เทียบจากคำรับควบคุม [11] นอกจากนี้ยังช่วยลดการเข้าทำลายของเพลี้ยไฟในพริก [12] ดังนั้น จึงสนใจศึกษาผลของเชื้อราไตรโคเดอร์มา และแคลเซียมซิลิเกตต่อการงอกของเมล็ดพริก รวมถึงการเข้าทำลายของเชื้อราสเคลอโรเทียม ในต้นกล้าพริกบางช้าง ในสภาพโรงเรือน

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการ

การทดลองที่ 1 ศึกษาอิทธิพลของเชื้อราไตรโคเดอร์มา และแคลเซียมซลิเคต/การงอกของเมล็ด พริกมันบางช้าง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยนำเมล็ดพริกมันบางช้าง จากศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อน มาเพาะเมล็ดด้วยวิธีแบบ top of paper โดยใช้กระดาษเพาะ 2 ชั้น วางในกล่อง กล่องละ 50 เมล็ด จำนวน 4 ซ้ำ/ซ้ำรับ โดยมี คำรับการทดลองดังนี้ คำรับที่ 1 เมล็ดแช่น้ำเปล่า (ควบคุม) คำรับที่ 2 แช่เมล็ดในเชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดผสมน้ำ อัตรา 5 กรัม/ลิตร คำรับที่ 3 ที่ 10 กรัม/ลิตร คำรับที่ 4 แช่เชื้อราไตรโคเดอร์มา ชนิดผสมน้ำอัตรา 5 กรัม/ลิตร และให้ สารละลายแคลเซียมซลิเคต 1 กรัม/ลิตร คำรับที่ 5 แช่เชื้อราไตรโคเดอร์มา ชนิดผสมน้ำอัตรา 10 กรัม/ลิตรและเพาะลงใน กล่องเพาะที่ให้สารละลายแคลเซียมซลิเคต 1 กรัม/ลิตร คำรับที่ 6 เมล็ดแช่น้ำเปล่าและให้สารละลายแคลเซียมซลิเคต 1 กรัม/ลิตร โดยนำเมล็ดพริกแช่น้ำเปล่า และสารละลายแขวนลอยเชื้อราไตรโคเดอร์มา ในอัตราต่างๆ เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และนำไป เพาะในกล่อง โดยในคำรับการทดลองที่ 5 และ 6 ใช้สารละลายแคลเซียมซลิเคตที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/ลิตร แคลเซียมซลิเคต 1 มิลลิกรัม/ลิตรช่วยกระตุ้นการงอกของเมล็ดพริกหวานได้ดี [13] บันทึกผลการทดลองโดยนับจำนวนเมล็ดที่งอกภายในแต่ละวัน เป็นเวลา 14 วัน และจำนวนเมล็ดที่งอกเป็นต้นกล้าปกติ ในแต่ละวันเพื่อคำนวณดัชนีการงอก (Germination Index; GI) [13] ตรวจสอบวันที่ 7 และ 14 หลังเพาะเมล็ดเพื่อคำนวณหาระยะเวลาในการเกิดราก (Day to Emergence; DTE) [14] หลังจากนั้นคำนวณหาค่าความงอกมาตรฐาน (Germination Percentage; GP) [13] รวมถึงเปอร์เซ็นต์ครอบครองเขตอิทธิพล รอบรากของเชื้อราไตรโคเดอร์มา โดยนำชิ้นส่วนของรากจากต้นกล้าที่เพาะไว้ที่ยาวมากกว่า 2 เซนติเมตร ล้างด้วยน้ำสะอาด ต่อมาแช่น้ำยาฆ่าเชื้อ (10 % โซเดียมไฮเปอร์คลอไรท์) เป็นเวลา 5 นาทีล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3 ครั้งและนำชิ้นส่วนราก ซับในกระดาษปลอดเชื้อให้แห้ง หลังจากนั้นวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin's medium เป็นเวลา 7 วัน และทำการคิด เปอร์เซ็นต์ครอบครองเขตอิทธิพลรอบรากโดยแต่ละคำรับมี 4 ซ้ำ ในแต่ละซ้ำจะใช้รากจากต้นกล้าที่มีความยาว และขนาด ใกล้เคียงกันจำนวน 4 ราก แต่ละรากคิดเป็น 25 %ของการครอบครองเขตอิทธิพลรอบรากหากมีการปรากฏของเชื้อราไตรโคเดอร์มา รอบราก หลังจากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ย

การทดลองที่ 2 ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราไตรโคเดอร์มา และแคลเซียมซลิเคตในการควบคุมโรคโคนเน่าของพริก จากเชื้อราสเคลอโรเทียม ในโรงเรือน

เตรียมเชื้อราสเคลอโรเทียมโดยนำส่วนปลายของเส้นใยเชื้อราสเคลอโรเทียม วางบนอาหาร potato dextrose agar ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 วัน หลังจากนั้นใช้ cock borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เจาะชิ้น วัสดุบริเวณขอบโคโลนี 5 ชิ้น ใส่ในข้าวเปลือกคั่วสุกที่บรรจุถุงพลาสติก 150 กรัม/ถุง ซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว จำนวน 20 ถุง ต่อมาทำการบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3-5 วัน การเตรียม ต้นกล้า โดยเพาะเมล็ดพริกมันบางช้าง ตามคำรับที่ 2 จากการทดลองที่ 1 คือ แช่เมล็ดพริกในสารแขวนลอยเชื้อรา ไตรโคเดอร์มาที่ 5 กรัม/ลิตรเพาะลงในถาดเพาะจนมีใบจริง 6 ใบ ย้ายลงกระถาง 6 นิ้ว คำรับละ 10 กระถาง โดยมีคำรับการ ทดลองดังนี้ T1 คำรับควบคุม (ไม่มีการให้เชื้อราสเคลอโรเทียม) T2 วัสดุปลูกเพียงอย่างเดียว T3 วัสดุปลูกผสมเชื้อราไตรโคเดอร์ มาอัตราส่วน 1 กก./100 กก. วัสดุปลูก T4 วัสดุปลูกผสมเชื้อราไตรโคเดอร์มา 1 กก./100 กก. วัสดุปลูกร่วมกับแคลเซียมซลิเคต 20 กก./ไร่ T5 วัสดุปลูกผสมแคลเซียมซลิเคต 20 กก./ไร่ โดยใน T3 และ T4 ใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา หลังจากนั้นนำ เชื้อราสเคลอโรเทียม ที่เจริญเต็มที่บนข้าวเปลือก ผสมลงในวัสดุปลูกแต่ละกระถาง 10 กรัม ใน T2, T3, T4 และ T5 คลุกเคล้าให้เข้ากับวัสดุปลูก ต่อมาทำการตรวจผลหลังจากปลูกเชื้อราสเคลอโรเทียม 7 วัน [15] โดยนับจำนวนต้นพริกที่ เสียชีวิตและ/หรือ ดาย ในแต่ละคำรับการทดลอง การตรวจนับประชากรเชื้อราไตรโคเดอร์มา ในดินหลังการทดลอง 7 วัน รวม ดินจากชำต้นกล้าพริกที่รอดตายในคำรับที่ 2 และ 3 แล้วทำการสุ่มตัวอย่างดินทดสอบมาชั่ง 1 กรัม ผสมกับน้ำยาฆ่าเชื้อ 9 มิลลิลิตรในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบเท่ากับ 200 rpm ก่อนนำไปทำให้เจือจาง

ตามลำดับ โดยการดูดสารดินแขวนลอย 1 มิลลิลิตรใส่ในหลอดน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ 9 มิลลิลิตร ควบน้ำแขวนที่เจือจาง 10^{-4} แล้วจึงจุดมาจำนวน 0.1 มิลลิลิตรหยด และเกลี่ยบนอาหาร Martin's medium บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3-5 วัน แล้วทำการตรวจนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นบนอาหาร และการครอบครองเขตอิทธิพลรอบราก

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. ผลของเชื้อราไตรโคเดอร์มา และแคลเซียมซิติลิกตต่อการงอกของเมล็ดพริกมันบางซ้าง

ผลการศึกษาระยะเวลาการเกิดรากของเมล็ดพริกมันบางซ้างที่แช่ในสารแขวนลอยเชื้อราไตรโคเดอร์มา และสารละลายแคลเซียมซิติลิกต พบว่าเมล็ดพริกที่แช่ด้วยสารแขวนลอยเชื้อราไตรโคเดอร์มา กระตุ้นระยะเวลาการเกิดรากได้ไม่แตกต่างจากคำรับควบคุม ในขณะที่เมล็ดพริกที่แช่ด้วยสารแขวนลอยเชื้อราไตรโคเดอร์มาพร้อมกับแคลเซียมซิติลิกต ต้องใช้ระยะเวลาการเกิดรากนานกว่าคำรับที่แช่ด้วยสารแขวนลอยเชื้อราไตรโคเดอร์มา และคำรับควบคุม ในขณะที่คำรับที่แช่ด้วยแคลเซียมซิติลิกต 1 มิลลิกรัม/ลิตร พบว่าจะใช้ระยะเวลาการงอกรากนานที่สุด (ตารางที่ 1) นอกจากนี้พบว่าคำรับควบคุมมีดัชนีการงอกสูงสุด รองลงมาพบในคำรับที่แช่ด้วยสารแขวนลอยเชื้อราไตรโคเดอร์มา คือ 5 และ 10 กรัม/ลิตร ตามลำดับ ในขณะที่คำรับที่แช่ด้วยสารแขวนลอยเชื้อราไตรโคเดอร์มา ร่วมกับ สารละลายแคลเซียมซิติลิกต มีดัชนีการงอกที่ลดลง และพบว่าในคำรับควบคุมให้ความงอกมาตรฐานสูงสุด ในขณะที่คำรับที่แช่ด้วยสารแขวนลอยเชื้อราไตรโคเดอร์มา ที่ 5 และ 10 กรัม/ลิตร มีความงอกมาตรฐาน 81% และ 73.5% ตามลำดับ ส่วนคำรับที่ใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา 5 และ 10 กรัม/ลิตร ที่ร่วมกับสารละลายแคลเซียมซิติลิกต 1 มิลลิกรัม/ลิตร มีความงอกมาตรฐาน 72% และ 75% และคำรับที่แช่ด้วยสารละลายแคลเซียมซิติลิกต 1 มิลลิกรัม/ลิตร มีความงอกมาตรฐาน 79.5%

เมื่อนำรากของต้นกล้าอายุ 14 วัน มาตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ครอบครองอิทธิพลรอบราก พบว่าต้นกล้าพริกในคำรับที่แช่ด้วยสารแขวนลอยเชื้อราไตรโคเดอร์มา ที่ 5 และ 10 กรัม/ลิตร มีเปอร์เซ็นต์ครอบครองอิทธิพลรอบรากที่ 25% และ 50% ในขณะที่ต้นกล้าที่แช่คำรับเชื้อราไตรโคเดอร์มา 5 และ 10 กรัม/ลิตร ที่ร่วมกับแคลเซียมซิติลิกต 1 มิลลิกรัม/ลิตร มีเปอร์เซ็นต์ครอบครองอิทธิพลรอบรากที่ 37.5% และ 50% (ภาพที่ 1) จากผลการทดลองพบว่า การใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา ร่วมกับแคลเซียมซิติลิกต มีเปอร์เซ็นต์ครอบครองอิทธิพลรอบรากของเชื้อราไตรโคเดอร์มา มากขึ้นเนื่องจากแคลเซียมที่แตกตัวจากแคลเซียมซิติลิกตเมื่อละลายในน้ำ [16] มีส่วนช่วยการสร้างผนังเซลล์ และการสืบพันธุ์ของจุลินทรีย์ [17] จึงพบเปอร์เซ็นต์ครอบครองอิทธิพลรอบรากของเชื้อราไตรโคเดอร์มาเพิ่มขึ้น ในคำรับที่ใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาพร้อมกับแคลเซียมซิติลิกต เมื่อเทียบกับคำรับที่ใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา เพียงอย่างเดียว ในขณะที่คำรับที่ใช้ไตรโคเดอร์มา 10 กรัม/ลิตรร่วมกับแคลเซียมซิติลิกต 1 กรัม/ลิตรและคำรับที่ใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา ที่ 10 กรัม/ลิตร มีเปอร์เซ็นต์ครอบครองอิทธิพลรอบรากที่เท่ากัน เนื่องจากประชากรของเชื้อราไตรโคเดอร์มาต่อพื้นที่เพิ่มขึ้น จึงเกิดการแย่งชิงอาหาร ของเสียที่ถูกปล่อยออกมารวมถึงปริมาณของคาร์บอนไดออกไซด์ที่เพิ่มขึ้นจากกระบวนการหายใจของเชื้อราไตรโคเดอร์มา เป็นตัวจำกัดปริมาณประชากรเอาไว้ในระดับหนึ่ง [18] ถึงจะมีปริมาณแคลเซียมที่ได้จากการแตกตัวของแคลเซียมซิติลิกต มาช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและสืบพันธุ์ก็ตาม

จากการทดลองพบว่าเมล็ดพริกมันบางซ้างที่แช่สารแขวนลอยเชื้อราไตรโคเดอร์มา ที่ 5 กรัม/ลิตรมีระยะเวลาการเกิดรากที่เร็ว และดัชนีการงอกรวมถึงความงอกมาตรฐานที่ดีกว่าคำรับที่ใช้สารแขวนลอยเชื้อราไตรโคเดอร์มา และแคลเซียมซิติลิกต จึงนำเมล็ดพริกมันบางซ้างแช่ในคำรับดังกล่าวเพื่อเตรียมต้นกล้าในการทดลองต่อไป

2. ผลทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราไตรโคเดอร์มา และแคลเซียมซิติเกต ในการควบคุมโรคโคนเน่าของพริกจากเชื้อราสเคลอโรเทียม ในระดับโรงเรือน

หลังจากผสมเชื้อราสเคลอโรเทียม ในวัสดุปลูกในแต่ละครั้งรับการทดลอง ภายใน 4 วัน พบต้นพริกมีใบเปลี่ยนเป็นสีเหลือง และเริ่มเหี่ยวลง มีบางต้นเหี่ยวตาย โดยเฉพาะในตำรับที่ใช้วัสดุปลูกเพียงอย่างเดียว และในวันที่ 7 พบว่าในตำรับที่ใช้วัสดุปลูกเพียงอย่างเดียว ต้นพริกตายทั้งหมด ส่วนในตำรับรับการทดลองที่มีเชื้อราไตรโคเดอร์มา มีเปอร์เซ็นต์ต้นรอดตาย 30% ต่อมาในตำรับที่มีเชื้อราไตรโคเดอร์มา ร่วมกับแคลเซียมซิติเกตมีเปอร์เซ็นต์ต้นรอดตาย 40% ในขณะที่ตำรับที่มีแคลเซียมซิติเกตพบเปอร์เซ็นต์ต้นรอดตาย 10% (ตารางที่ 2) จากการตรวจนับประชากรของเชื้อราไตรโคเดอร์มาในวัสดุปลูกหลังเสร็จสิ้นการทดลองด้วยการทำ serial dilution plate พบว่าตำรับที่มีเชื้อราไตรโคเดอร์มา พบปริมาณเชื้อ 1.45×10^6 CFU/g soil ในขณะที่ตำรับที่มีเชื้อราไตรโคเดอร์มา ร่วมกับแคลเซียมซิติเกต พบปริมาณเชื้อ 1.23×10^6 CFU/g soil (ตารางที่ 2 และ ภาพที่ 2) และพบการครอบครองเขตอิทธิพลรอบรากในทั้ง 2 ตำรับรับการทดลอง (ภาพที่ 3) ดังนั้นจากผลการทดลองการงอกของเมล็ดพริก พบว่าตำรับที่ใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาเพียงอย่างเดียว หรือร่วมกับสารละลายแคลเซียมซิติเกต ช่วยเหลือระยะเวลาในการเกิดราก รวมถึงความงอกมาตรฐานไม่แตกต่างจากตำรับควบคุม อาจเนื่องจากเชื้อราไตรโคเดอร์มา สามารถสร้างฮอร์โมนจิบเบอเรลลินที่ช่วยกระตุ้นการงอกของเมล็ดได้ [19] และพบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของเชื้อราไตรโคเดอร์มา มากขึ้น สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดได้ เพราะความเข้มข้นของสารคล้ายฮอร์โมนออกซินที่สร้างออกมาจะยับยั้งกระบวนการงอกของเมล็ด [20] สอดคล้องกับตำรับรับการทดลองที่ใช้สารแขวนลอยเชื้อราไตรโคเดอร์มาที่ 10 กรัม/ลิตร มีผลต่อการงอกของเมล็ดลดลง ในขณะที่การใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา ร่วมกับสารละลายแคลเซียมซิติเกต ช่วยเหลือระยะเวลาการเกิดราก ดัชนีการงอก รวมถึงความงอกมาตรฐานใกล้เคียงกับการใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา เพียงอย่างเดียว ทั้งนี้อาจเนื่องจากซิติคอนสามารถช่วยเคลื่อนย้าย แคลเซียมเข้าสู่ต้นกล้า [21] ที่มีส่วนช่วยการงอกของเมล็ด ในขณะที่เชื้อราไตรโคเดอร์มาใช้แคลเซียมในการเจริญเติบโตจึงช่วยปรับระดับความเข้มข้นแคลเซียมอยู่ในระดับที่เหมาะสมที่เมล็ดสามารถดูดแคลเซียม รวมถึงสารต่างๆ ไปใช้ได้ในการงอก ส่วนตำรับที่เมล็ดพริกแช่ด้วยแคลเซียมซิติเกตเพียงอย่างเดียว ซึ่งพบว่าระยะเวลาการงอกนาน และดัชนีการงอกน้อยกว่าในตำรับอื่น อาจเนื่องด้วยความเข้มข้นของแคลเซียมซิติเกตมีผลต่อค่าความต่างศักย์ของสารละลายภายนอกสูงกว่าภายในเมล็ดจึงทำให้การดูดน้ำเข้าสู่เมล็ดได้ช้ากว่าชุดควบคุม [22] และเมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์การครอบครองเขตอิทธิพลรอบราก เมื่อมีการใช้อัตราเชื้อที่สูงขึ้น รวมถึงเมื่อใช้ร่วมกับสารละลายแคลเซียมซิติเกตมีแนวโน้มทำให้เปอร์เซ็นต์การครอบครองเขตอิทธิพลรอบรากเพิ่มมากขึ้น ซึ่งน่าจะเป็นข้อดีสำหรับต้นกล้าในการเจริญเติบโตในแปลงปลูกเพราะเชื้อราไตรโคเดอร์มา ช่วยให้ต้นกล้าดูดซึมธาตุอาหาร เช่น แมกนีเซียม แคลเซียม และฟอสฟอรัส [23] รวมถึงป้องกันการเข้าทำลายเชื้อโรคในดิน ในการทดลองการใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา และแคลเซียมซิติเกต เพื่อการควบคุมโรคโคนเน่าของพริกจากเชื้อราสเคลอโรเทียม ในระดับโรงเรือน พบในตำรับที่มีเชื้อราไตรโคเดอร์มา ร่วมกับแคลเซียมซิติเกตในวัสดุปลูก มีเปอร์เซ็นต์การรอดตายของต้นกล้ามากที่สุดในการทดลอง รองลงมาคือตำรับที่มีเชื้อราไตรโคเดอร์มา และตำรับที่มีแคลเซียมซิติเกตเพียงอย่างเดียวในวัสดุปลูก (ตารางที่ 2) ทั้งนี้เพราะคุณสมบัติของเชื้อราไตรโคเดอร์มา ที่สามารถแก่งแย่งครอบครองพื้นที่ได้เร็วกว่า รวมถึงเป็นปรปักษ์กับเชื้อสาเหตุเกิดโรค โดยการเจริญเข้าทำลายเส้นใยเชื้อราสเคลอโรเทียม โดยตรง และการทำลายเม็ดสเคลอโรเทียม [24] ในขณะที่แคลเซียมซิติเกตสามารถช่วยให้พืชทนต่อการเข้าทำลายของเชื้อโรค โดยซิติคอนกระตุ้นกระบวนการ Induced Systemic Resistance (ISR) ในพืช และช่วยให้พืชมีการสร้าง oxidation enzyme รวมถึงส่งเสริมให้ผนังเซลล์ของพืชหนาขึ้นคล้ายกับคุณสมบัติของแคลเซียม [25] เมื่อมีการให้ซิติคอนทางดินจะสะสมตัวในรากได้ดีกว่าส่วนอื่น [26] ซึ่งจะช่วยให้เพิ่มความแข็งแรงให้กับรากโดยเพิ่มมวลชีวภาพ ขนาราก จำนวนรากแขนงและผนังเซลล์หนาขึ้นเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจจะช่วยลดการเข้าทำลายของเชื้อโรคบริเวณรากได้

ดีกว่าทางลำต้น แสดงให้เห็นว่าทั้งประสิทธิภาพของเชื้อรา ไตรโคเดอร์มา และแคลเซียมซิลิเกต มีบทบาทส่งเสริมการงอก และการยับยั้งการเข้าทำลายเชื้อราสเคลอโรเทียม

สรุปผล

การแช่เมล็ดพริกมันบางซ้างในตำรับที่มีสารแขวนลอยเชื้อรา *T. harzianum* ที่ 5 กรัม/ลิตร ช่วยให้ระยะเวลาในการเกิดรากเร็วขึ้น รวมถึงเพิ่มดัชนีการงอกมากกว่าการแช่เมล็ดพริกมันบางซ้างในสารแขวนลอยเชื้อรา *T. harzianum* ที่ 10 กรัม/ลิตร ขณะที่การผสมเชื้อรา *T. harzianum* อัตราส่วน 1 กก./100 กก. วัสดุปลูกร่วมกับแคลเซียมซิลิเกต อัตรา 20 กก./ไร่ ช่วยให้ต้นกล้าพริกมีเปอร์เซ็นต์การรอดจากการเข้าทำลายของ *S. rolfisii* จากสาเหตุโรคเน่าระดับดิน ได้มากกว่าการใช้เชื้อรา *T. harzianum* หรือแคลเซียมซิลิเกตเพียงอย่างเดียว

ตารางที่ 1 ผลของเชื้อราไตรโคเดอร์มา ร่วมกับสารละลายแคลเซียมซิลิเกตต่อ ระยะเวลาในการเกิดราก (DTE) ดัชนีการงอก (GI) ค่าความงอกมาตรฐาน (GP) ของเมล็ดพริกมันบางซ้าง และเปอร์เซ็นต์ครอบครองเขตอิทธิพลรอบรากของเชื้อรา ไตรโคเดอร์มาต้นกล้าพริกที่อายุ 14 วัน

ตำรับ	DTE (day)	GI	GP (%)	% colonization root seedling
Control (T1)	3.08 ^b	6.00 ^a	83.00 ^a	0.0
<i>Trichoderma</i> 5 gL ⁻¹ (T2)	3.67 ^{ab}	4.49 ^b	81.00 ^{ab}	25.0
<i>Trichoderma</i> 10 gL ⁻¹ (T3)	3.95 ^{ab}	4.23 ^b	73.50 ^{ab}	50.0
<i>Trichoderma</i> 5 gL ⁻¹ + Ca ₂ SiO ₄ 1 mgL ⁻¹ (T4)	3.84 ^{ab}	4.18 ^b	72.00 ^b	37.5
<i>Trichoderma</i> 10 gL ⁻¹ + Ca ₂ SiO ₄ 1 mgL ⁻¹ (T5)	4.52 ^a	3.05 ^c	75.00 ^{ab}	50.0
Ca ₂ SiO ₄ 1 mgL ⁻¹ (T6)	4.64 ^a	3.05 ^c	79.50 ^{ab}	0.0
F-test	**	**	**	-
C.V. (%)	17.36	7.09	6.19	-

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในสดมภ์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยวิธี LSD

** = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

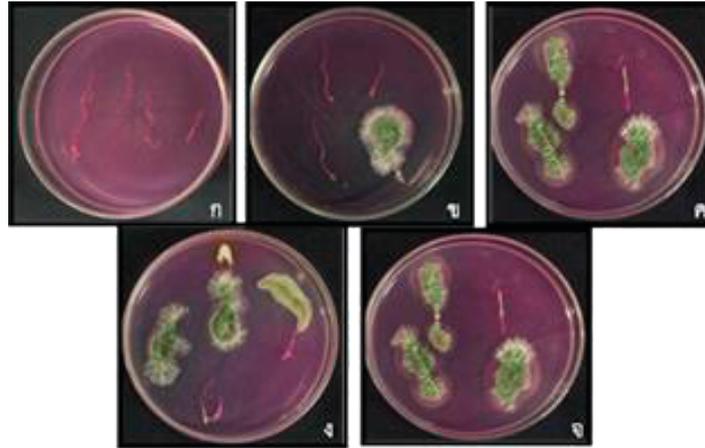
^{a, b, c} ตัวอักษรที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์รอดตายของต้นกล้าพริกมันบางซ้าง 7 วันหลังปลูก และจำนวนประชากรเชื้อราไตรโคเดอร์มาหลังเสร็จสิ้นการทดลอง

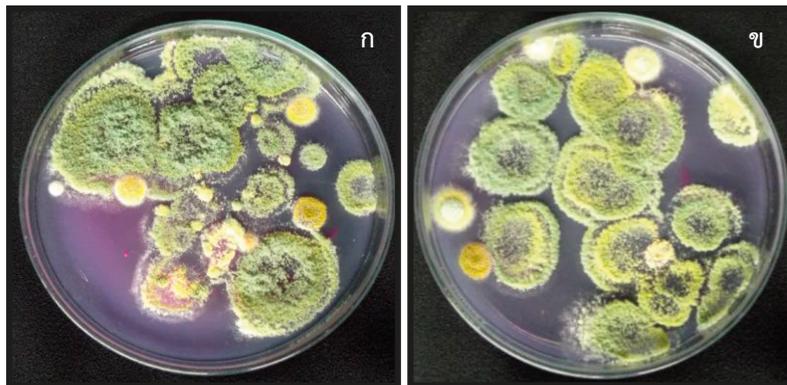
ตำรับ	ต้นที่รอดตาย ^{1/}	ประชากรเชื้อราไตรโคเดอร์มา CFU/g soil ^{2/}
T1 Control	80	-
T2 <i>Sclerotium</i>	0	-
T3 <i>Trichoderma</i> + <i>Sclerotium</i>	30	1.45 x 10 ⁶
T4 <i>Trichoderma</i> + <i>Sclerotium</i> + Ca ₂ SiO ₄	40	1.23 x 10 ⁶
T5 <i>Sclerotium</i> + Ca ₂ SiO ₄	10	-

^{1/} เปอร์เซ็นต์ต้นรอดตาย 7 วันหลังปลูกในดินมีเชื้อราสเคลอโรเทียม โดยคำนวณเปรียบเทียบกับเปอร์เซ็นต์ต้นรอดตายในตำรับซึ่งไม่ได้ใส่เชื้อราสเคลอโรเทียม และเชื้อทดสอบ

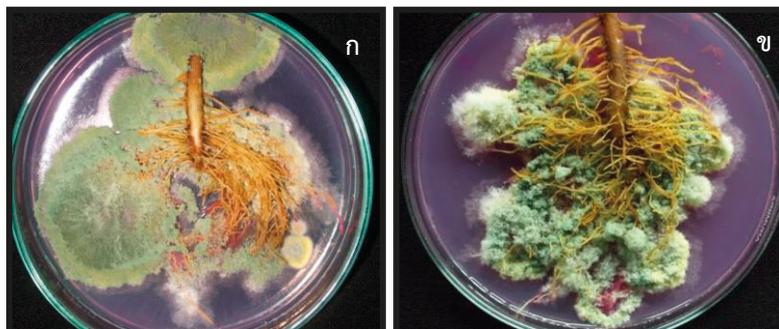
^{2/} ประชากรของเชื้อราไตรโคเดอร์มา 7 วันหลังปลูก บนอาหาร Martin's medium ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัม



ภาพที่ 1 การเข้าครอบครองเขตอิทธิพลรอบรากของเชื้อรา *T. harzianum* ในรากต้นกล้วยที่ปักชำ 14 วันหลังเพาะ โดย ก. ดำรับควบคุม ข. ดำรับที่มีเชื้อรา *T. harzianum* 5 กรัม/ลิตร ค. ดำรับที่มีเชื้อรา *T. harzianum* 10 กรัม/ลิตร ง. ดำรับที่มีเชื้อรา *T. harzianum* 5 กรัม/ลิตร ร่วมกับแคลเซียมซิติเกต 1 มิลลิกรัม/ลิตร จ. ดำรับที่มีเชื้อรา *T. harzianum* 10 กรัม/ลิตร ร่วมกับแคลเซียมซิติเกต 1 มิลลิกรัม/ลิตร



ภาพที่ 2 โคลนินของเชื้อรา *T. harzianum* ในวัสดุปลูกหลังเสร็จสิ้นการทดลองด้วยการทำ serial dilution plate โดย ก. คือดำรับที่มีเชื้อรา *T. harzianum* ผสมกับวัสดุปลูก ข. คือดำรับที่มีเชื้อรา *T. harzianum* ร่วมกับแคลเซียมซิติเกตผสมในวัสดุปลูก



ภาพที่ 3 การครอบครองเขตอิทธิพลรอบรากของเชื้อราไตรโคเดอร์มา ในรากต้นกล้วยที่ปักชำหลังจากเพาะเชื้อรา สเคลอโรเทียม 7 วัน โดย ก. คือดำรับที่มีเชื้อราไตรโคเดอร์มา เพียงอย่างเดียวผสมในวัสดุปลูก และ ข. คือดำรับที่มีเชื้อราไตรโคเดอร์มา ร่วมกับแคลเซียมซิติเกตผสมในวัสดุปลูก

เอกสารอ้างอิง

- [1] ศูนย์สารสนเทศการเกษตร. (2559). **พริกใหญ่แห้ง** (ออนไลน์). สืบค้นเมื่อ 27 ธันวาคม 2559, จาก www.oae.go.th.
- [2] ชำรง เครือชุมพล. (2552). **พริก** (ครั้งที่ 2). สำนักพิมพ์เกษตรสยามบุ๊คส์. กรุงเทพฯ.
- [3] Mahon, M. (2011). **Plant Science: Growth, Development and Utilization of Cultivated Plants**. Prentice Hall, UK.
- [4] Chet, E.Y. and Katan, J. (1980). “*Trichoderma harzianum*: A biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizocionia solani*”, **Phytopathology**. 70, 119-121.
- [5] Amin, F., Razdan, V.K., Mohiddin, F.A., Bhat, K.A. and Sheikh, P.A. (2010). “Effect of volatile metabolites of *Trichoderma* species against seven fungal plant pathogens in-vitro”, **Journal of Phytoogy**. 2(10), 34-37.
- [6] มณจันทร์ เมฆชน. (2547). “การทดลองใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum rifai* (AP-001) ในการป้องกันกำจัดโรครากเน่าและโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* Sacc. ที่ทำลายพริกชี้ฟ้าในแปลงเกษตรกร”, **วารสารวิทยาศาสตร์ มก.22**, 49-56.
- [7] Kaveh, H., Jartoodeh, S.V., Aruee, H. and Mazhabi, M. (2011). “Would trichoderma affect seed germination and seedling quality of two muskmelon cultivars, Khatooni and Qasri and increase their transplanting success”, **Journal of Environmental Sciences**. 5(15), 169-175.
- [8] Asaduzzaman, M., Alam, M.J. and Islam, M.M. (2010). “Effect of trichoderma on seed germination and seedling parameters of chili”, **Journal of Science Foundation**. 8(1), 141-150.
- [9] ยงยุทธ โอสดสภา. 2552. **ธาตุอาหารพืช**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- [10] Wolff, S.A., Karoliussen, I., Rohloff, J. and Strimbeck, R. (2012). “Foliar applications of silicon fertilizers inhibit powdery mildew development in greenhouse cucumber”, **Journal of Food, Agriculture and Environment**. 10(1), 355-359.
- [11] Arsenault-Labrecque, G., Menzies, J.G., and Bélanger, R.R. (2012). “Effect of silicon absorption on soybean resistance to *Phakopsora pachyrhizi* in different cultivars”, **Plant Disease**. 96(1), 37-42.
- [12] Dogramaci, M., Arthurs, S.P., Chen, J. and Osborne, L. (2013). “Silicon applications have minimal effects on *Scirtothrips dprsalis* (Thysanoptera: Thripidae) populations on pepper plant, *Capsicum annum L.*”, **Florida Entomologist**. 96(1), 48-54.
- [13] กุณิดา แก่นจันทร์. (2558). **การใช้ประโยชน์ของแคลเซียมซิลิเกตร่วมกับสภาวะการขาดธาตุเหล็กและสังกะสีในระบบการปลูกพืชไม่ใช้ดินต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพผลผลิตของพริกหวาน**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- [14] ISTA. (2013). **International Rules for Seed Testing**. The International Seed Testing Association. Switzerland.
- [15] Dhillon, N.P.S. (1995). “Seed priming of male sterile muskmelon (*Cucumis melo L.*)”, **Seed Science and Technology**. 23, 881-884.
- [16] จิรัสสา มีกลิ่นหอม. (2543). **ประสิทธิภาพของสารชีวภาพ ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum***. วิทยานิพนธ์ปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- [17] Marafon, A.C. and Endres, L. (2013). “Silicon:fertilization and nutrition in higher plants”, **Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**. 56 (4), 380-388.

- [18] Kenneth, T. (2000). **Nutrition and Growth of Bacteria** (online). Retrieved 17 December 2016, from <http://lecturer.ukdw.ac.id/dhira/NutritionGrowth/introduction.html>.
- [19] Marois, J. and Locke, J. (1985). "Population dynamics of *Trichoderma viride* in steamed plant growth medium", **Phytopathology**. 75(1), 115-118.
- [20] Hermosa, R., Viterbo, A., Chet, I. and Monte, E. (2012). "Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes", **Microbiology**. 158, 17-25.
- [21] Hajieghrari, B. (2010). "Effects of some iranian *Trichoderma* isolates on maize seed germination and seedling vigor", **African Journal of Biotechnology**. 9(28), 4342-4347.
- [22] Heckman, J. (2013). "Silicon:A beneficial substance", **Better Crops**. 93(4), 14-16.
- [23] วันชัย จันทร์ประเสริฐ. (2553). **สรีรวิทยาเมล็ดพันธุ์**. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- [24] Azarmi, R., Hajieghrari, B. and Giglou, A. (2011). "Effect of *Trichoderma* isolates on tomato seedling growth response and nutrient uptake", **Journal of Biotechnology**. 10(31), 5850-5855.
- [25] ชมพูนุช บุญราชแขวง. (2550). **สารทุติยภูมิจากเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ที่เจริญในอาหารเหลวและอาหารแข็ง ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrihum gloeosporioides* สาเหตุโรคนแอนแทรกโนสของผลพริก**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- [26] Cai, K., Gao, D. Chen, J. and Luo, S. (2009). "Probing the mechanisms of silicon-mediated pathogen resistance", **Plant Signaling & Behavior**. 4(1), 4-42.