

การคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. เพื่อควบคุมโรคโคนเน่าแก่นตะวั่นที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* Screening of *Trichoderma* spp. to Control Stem Rot Disease of Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) Caused by *Sclerotium rolfsii*

สุภาภรณ์ เอี่ยมข่ง^{1,*} นิรัตน์ หนูทอง¹ และ สุนัสตา ไสรรัตน์สะ¹Ieamkheng, S.^{1,*}, Noothong, N. and Soratsa, S.¹¹ คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก ต. บางพระ อ. ศรีราชา จ. ชลบุรี 20110¹ Faculty of Agriculture and Natural Resources, Rajamangala University of Technology Tawan-ok, Bangpra, Sriracha, Chonburi 20110

* Corresponding author: ieamkheng@hotmail.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. เพื่อใช้ควบคุมเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* สาเหตุโรคโคนเน่า แก่นตะวั่น โดยการเก็บตัวอย่างดิน ชี้เลื่อย ไม้ จากแหล่งตามธรรมชาติ จำนวน 32 ตัวอย่าง นำมาคัดแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. โดยดัดแปลงจากวิธี tissue transplanting method สามารถแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ได้ 10 ไอโซเลท ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่า เชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้เป็นเชื้อรา *T. harzianum* 1 ไอโซเลท (T-30) เชื้อรา *T. hamatum* 3 ไอโซเลท (T-01, T-31 และ T-32) เชื้อรา *T. longibrachiatum* 1 ไอโซเลท (T-02) เชื้อรา *T. viridae* 3 ไอโซเลท (T-08, T-12 และ T-24) และเชื้อรา *T. koningii* 2 ไอโซเลท (T-27 และ T-28) ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทุก ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *S. rolfsii* พบว่า ทุกไอโซเลทมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *S. rolfsii* แตกต่างกัน (71.56-89.97 เปอร์เซ็นต์) เชื้อรา *T. harzianum* ไอโซเลท T-30 มีประสิทธิภาพสูงสุด (89.97 เปอร์เซ็นต์) เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อรา *Trichoderma* spp. ตัวควบคุม (83.73 เปอร์เซ็นต์) ในขณะที่ *T. hamatum* ไอโซเลท T-01 และ *T. koningii* T-28 มีประสิทธิภาพต่ำสุด (71.60 และ 71.56 เปอร์เซ็นต์) จากการวิจัยครั้งนี้พบว่า เชื้อรา *T. harzianum* ไอโซเลท T-30 มีประสิทธิภาพสูงสุด และจะถูกนำไปใช้ในการศึกษาต่อไป

คำสำคัญ: การควบคุมโดยชีววิธี ไตรโคเดอร์มา โรคโคนเน่า แก่นตะวั่น

Abstract

The main of this research to select the capacity of *Trichoderma* spp. against *Sclerotium rolfsii* causing of Jerusalem artichoke stem rot disease. Thirty two samples were collected from soils, sawdust and leaves from natural places and *Trichoderma* spp. were isolated by modified tissue transplanting method. Ten isolates were identified based on morphological characteristic. The results showed that there were *T. harzianum* 1 isolate (T-30), *T. hamatum* 3 isolates (T-01, T-31 and T-32), *T. longibrachiatum* 1 isolate (T-02) *T. viridae* 3 isolates (T-08, T-12 and T-24) and *T. koningii* 2 isolates (T-27 and T-28). Evaluation on the capacity of those isolates against to *S. rolfsii* was investigated. The results revealed that all of *Trichoderma* spp. isolates showed the variable efficiency to inhibit the mycelium growth of *S. rolfsii* (from 71.56 to 89.97%). *Trichoderma* spp. isolate T-30 was the best potential against *S. rolfsii* (89.97%) when compared with control (83.73%). While,

T. harzianum isolate T-01 and T. koningii isolate T-28 showed the lowest inhibition (71.60 and 71.56%). From this research, T. harzianum isolate T-30 was the best potential inhibition and will be further used in future study.

Keywords: Biological control, *Trichoderma* spp., stem rot disease, Jerusalem artichoke

บทนำ

แก่กันตะวัน (*Jerusalem artichoke*) เป็นพืชล้มลุกในตระกูลเดียวกับทานตะวัน มีถิ่นกำเนิดมาจากทวีปอเมริกาเหนือ ซึ่งเป็นพืชพื้นเมืองของประเทศแคนาดา เป็นพืชที่ให้ประโยชน์ในหลายๆ ด้าน ทั้งทางด้านสุขภาพ ทางด้านเกษตร ทางด้านการท่องเที่ยวหรือแม้กระทั่งทางด้านการผลิตพลังงานทดแทน นอกจากนี้ แก่กันตะวันยังมีระบบรากที่หนาแน่นสามารถเกาะยึดดินทรายไว้ได้อย่างเหนียวแน่น จึงจัดให้เป็นพืชอนุรักษ์ดินที่น่าสนใจอีกชนิดหนึ่ง แก่กันตะวันมักจะไม่ค่อยพบปัญหาด้านศัตรูพืชมากนักเนื่องจากเป็นพืชที่มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อม อย่างไรก็ตาม มีรายงานการสำรวจพบเชื้อสาเหตุโรคหลายชนิดที่เข้าทำลายแก่กันตะวัน ได้แก่ เชื้อรา ไวรัส แบคทีเรีย และไส้เดือนฝอย ซึ่งความรุนแรงและการระบาดของโรคแต่ละชนิดขึ้นกับแหล่งปลูก และสภาพแวดล้อมที่เอื้ออำนวยต่อการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุ (พรทิพย์, 2549) ซึ่งโรคที่มีรายงานการเข้าทำลายในทุกๆระยะการเจริญเติบโตของแก่กันตะวันได้แก่ โรคราสนิม (rust) ที่เกิดจากเชื้อรา *Puccinia helianthi* โรคราแป้ง (powdery mildew) ที่เกิดจากเชื้อรา *Erysiphe cichoracearum* โรคราใบจุดและใบไหม้ที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria*, *Aschochyta*, *Septoria* และ *Colletotrichum* โรคเหี่ยวเหลือง ที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* โรครากเน่าโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium*, *Sclerotinia*, *Sclerotium*, *Phymatotrichum* และ *Phytophthora* นอกจากนี้ ยังมีโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่เข้าทำลายหัวแก่กันตะวันโดยตรง ได้แก่ โรคน้ำเน่าของต้น และหัวแก่กันตะวันที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia carotovora* และ *E. atroseptica* และโรคเหี่ยวเขียวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* เป็นต้น (McCarter and Kays, 1984; พรทิพย์, 2549) ปัจจุบัน โรคที่สำคัญต่อการเพาะปลูกแก่กันตะวันคือ โรคน้ำเน่าของต้นที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ซึ่งเป็นโรคที่เกิดบริเวณโคนต้นใกล้ผิวดิน โดยหัวแก่กันตะวันจะเป็นจุดก่อนจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและเน่า ส่วนใบจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง แล้วค่อยๆ ชิด และร่วงหล่น กิ่งเริ่มแห้งและตายในที่สุด การใช้สารเคมีในการป้องกันอาจมีอันตรายต่อผู้บริโภค เนื่องจากแก่กันตะวันใช้บริโภคแบบสด ดังนั้น การป้องกันกำจัดเชื้อสาเหตุของโรคโดยชีววิธีจึงเป็นวิธีที่มีความปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค การป้องกันกำจัดโรคที่เกิดกับแก่กันตะวันมีหลายวิธี ตั้งแต่การคัดเลือกพันธุ์แก่กันตะวันที่ต้านทานโรค การใช้ปุ๋ยอินทรีย์ หรืออินทรีย์วัตถุร่วมกับการใช้โคโคซาน หรือการใช้จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์เช่น เชื้อรา *Trichoderma* หรือเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* หรือ *Bacillus* ใส่ลงในดินปลูก ก็สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรคได้เช่นกัน (พรทิพย์, 2549; Rattikarn et al., 2013; Shanzhao et al., 2013) ดังนั้น วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือ การคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. จากแหล่งธรรมชาติ และศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จากธรรมชาติในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *S. rolfsii* เพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดโรคทั้งในสภาพก่อน และหลังการเก็บเกี่ยวเพื่อหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมี และเพื่อความปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค

อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่างเชื้อรา *Sclerotium rolfsii*

เชื้อรา *S. rolfsii* สาเหตุโรคน้ำเน่าของแก่กันตะวันที่ใช้เป็นตัวอย่างในการทดลองครั้งนี้ ถูกแยกจากดินบริเวณรอบโคนต้นแก่กันตะวัน และโคนต้นแก่กันตะวันที่แสดงอาการโรคน้ำเน่าที่ปลูกในแปลงพืชไร่ สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก และเก็บเป็นเชื้อราบริสุทธิ์บนอาหาร PDA (Potato dextrose agar) ก่อนจะนำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

การรวบรวม การแยกเชื้อ และการเก็บตัวอย่างเชื้อรา *Trichoderma* spp.

เก็บตัวอย่าง เปลือกไม้ ใบไม้ เศษวัสดุ ขี้เลื่อย และดิน จากแหล่งต่างๆ ทั้งภายในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก และแหล่งต่างๆ ในอำเภอสรีราชา จังหวัดชลบุรี นำมาแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. โดยวิธีการดัดแปลงจากวิธี tissue transplanting technique

โดยการเก็บตัวอย่างเปลือกไม้ ใบไม้ เศษวัสดุ ซึ่เลื้อย และดิน มาวางบนอาหาร PDA และแยกให้ได้เชื้อราบริสุทธิ์ เก็บรักษาบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วันสำหรับใช้ในการทดลองต่อไป

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Trichoderma* spp.

เชื้อรา *Trichoderma* spp.บริสุทธิ์ ทุกไอโซเลทที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน นำมาตรวจดูลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยดูลักษณะโคโลนี สีของโคโลนี สีของเส้นใย ลักษณะการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และตรวจดูลักษณะสปอร์และเส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อจัดจำแนกสปีชีส์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. (Rifai, 1969; Beagle-Ristaino and Papavizas, 1985)

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* สาเหตุโรคโคนเน่าแก่บนตะวันในห้องปฏิบัติการ

ทำการทดลองด้วยวิธี dual-culture test โดยตัดชิ้นวุ้นบริเวณปลายเส้นใยของเชื้อรา *S. rolfsii* ที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นเวลา 5 วันวางลงบนอาหาร PDA ห่างจากขอบจานเลี้ยงเชื้อ 1 เซนติเมตร และตัดชิ้นวุ้นบริเวณปลายเส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma* spp. แต่ละไอโซเลทที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 5 วัน วางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ห่างจากขอบจานเลี้ยงเชื้อ 1 เซนติเมตร ในฝั่งตรงข้าม วางแผนการทดลองแบบ CDR ทำการทดลอง 10 ไอโซเลท ไอโซเลทละ 5 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT บ่มที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน วัดรัศมีการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *S. rolfsii* แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (Percent inhibition rate growth: PIRG) โดยใช้สูตร

$$PIRG = [(RC-RT)/RC] \times 100$$

โดย RC คือ ค่าเฉลี่ยของรัศมีโคโลนีเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ในจานเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีเชื้อรา *Trichoderma* spp.

(ชุดควบคุม)

RT คือ ค่าเฉลี่ยของรัศมีโคโลนีเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ในจานเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อรา *Trichoderma* spp.

ผล และวิจารณ์ผลการทดลอง

การรวบรวม การแยกเชื้อ และการเก็บตัวอย่างเชื้อรา *Trichoderma* spp.

จากการเก็บตัวอย่างเปลือกไม้ ใบไม้ เศษวัสดุ ซึ่เลื้อย และดิน จากแหล่งต่างๆ ได้ตัวอย่างจำนวน 32 ตัวอย่าง เมื่อนำตัวอย่างทั้งหมดมาแยกเชื้อ และทำให้บริสุทธิ์ สามารถจัดจำแนกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ได้ 10 ไอโซเลท (T-01 ถึง T-32) (Table 1)

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Trichoderma* spp.

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 10 ไอโซเลท พบว่า แต่ละไอโซเลทมีลักษณะแตกต่างกัน ดังนี้

ลักษณะของโคโลนีของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท T-01 ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีอัตราการเจริญที่ค่อนข้างต่ำที่สุด (3.93 ซม./วัน) (Table 2) ในขณะที่ เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท T-31 และ T-32 มีอัตราการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ สูงกว่า (4.68 และ 4.25 ซม./วัน) (Table 2) ซึ่งเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 3 ไอโซเลท ใช้เวลา 3-4 วัน ในการเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า มีสีขาวหรือสีเทาเขียว มีลักษณะค่อนข้างฟู มีสีเขียวเทา รอบนอกสีขาว เมื่อตรวจลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 3 ไอโซเลท ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบผนังเส้นใยเรียบ มีผนังกัน ก้านชูสปอร์ที่ปลาย ลักษณะรูปกรวย และสปอร์ลักษณะวงกลม สีใส (Figure 1B) จากข้อมูลดังกล่าวสามารถสรุปได้ว่า เชื้อราไอโซเลท T-01 T-31 และ T-32 คือเชื้อรา *T. hamatum*

ลักษณะของโคโลนีของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท T-02 ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีอัตราการเจริญ 4.12 ซม./วัน (Table 2) โดยใช้เวลาเฉลี่ย 4 วัน สามารถเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า มีสีเทาเขียว เส้นใยฟูแบบหลวมๆ เมื่อตรวจลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบเส้นใยมีการแตกกิ่งก้านคล้ายเขาสัตว์ ผนังเส้นใยเรียบ ก้านชูสปอร์ที่ปลายสุด หนาสั้นรูปกระสวย (Figure 1C) จากข้อมูลดังกล่าวสามารถสรุปได้ว่า เชื้อราไอโซเลท T-02 คือเชื้อรา *T. longibrachiatum*

ลักษณะของโคโลนีของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท T-08, T-12 และ T-24 ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีอัตราการเจริญเท่ากับ 4.51, 4.56 และ 4.24 ซม./วัน ตามลำดับ (Table 2) ซึ่งเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 3 ไอโซเลท ใช้เวลาเฉลี่ย 4 วัน สามารถเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า มีลักษณะค่อนข้างฟู มีสีเขียวเข้มอมเหลือง แต่บางครั้งอาจจะแสดงสีที่แตกต่างออกไปอย่างชัดเจนตั้งแต่สีขาว สีเหลืองไปจนถึงสีเขียวอ่อน เมื่อตรวจลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 3 ไอโซเลท ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบผนังเส้นใยเรียบ มีผนังกัน ก้านชูสปอร์ที่ปลายสุดค่อนข้างยาว รูปกรวย สปอร์ลักษณะวงกลม สีใส (Figure 1 D) จากข้อมูลดังกล่าวสามารถสรุปได้ว่า เชื้อราไอโซเลท T-08 T-12 และ T-24 คือเชื้อรา *T. viridae*

ลักษณะของโคโลนีของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท T-27 และ T-28 ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีอัตราการเจริญเท่ากับ 4.78 และ 4.48 ซม./วัน (Table 2) โดยใช้เวลาเฉลี่ย 4 วัน สามารถเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า มีลักษณะค่อนข้างฟู มีลักษณะเป็นวงรอบหรือเป็นวงแหวน มีสีเขียวเข้ม รอบนอกสีขาว เมื่อตรวจลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 2 ไอโซเลท ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบผนังเส้นใยเรียบ มีผนังกัน ก้านชูสปอร์ที่ปลายสุดค่อนข้างยาว รูปกรวย สปอร์ลักษณะวงกลม สีใส (Figure 1 E) จากข้อมูลดังกล่าวสามารถสรุปได้ว่า เชื้อราไอโซเลท T-27 และ T-28 คือเชื้อรา *T. koningii*

เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท T-30 มีอัตราการเจริญเท่ากับ 4.72 ซม./วัน (Table 2) โดยใช้เวลาเฉลี่ย 3 วัน สามารถเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า ค่อนข้างฟู มีสีเขียวอมเทา โคโลนีรอบนอกสีขาว เมื่อตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบผนังเส้นใยเรียบ มีผนังกัน ก้านชูสปอร์ที่ปลายสุด ลักษณะรูปกรวย และสปอร์มีลักษณะวงกลม สีใส (Figure 1A) จากข้อมูลดังกล่าวสามารถสรุปได้ว่าเชื้อรา ไอโซเลท T-30 คือเชื้อรา *T. harzianum* เช่นเดียวกับตัวควบคุม (T-00)

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 10 ไอโซเลท โดยดูลักษณะโคโลนี สีของโคโลนี สีของเส้นใย ลักษณะการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และตรวจดูลักษณะสปอร์และเส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า แต่ละไอโซเลทมีลักษณะแตกต่างกัน สามารถจัดจำแนกเชื้อรา *Trichoderma* spp. โดยดูจากลักษณะของ conidiophores และ conidia ออกเป็น 5 ชนิด ได้แก่ *T. harzianum*, *T. hamatum*, *T. longibrachiatum*, *T. viridae* และ *T. koningii* (Rifaii, 1969; Beagle-Ristaino and Papavizas, 1985)

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* สาเหตุโรคโคนเน่าแค้น ตะวันในห้องปฏิบัติการ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 10 ไอโซเลทเปรียบเทียบกับเชื้อรา *T. harzianum* ซึ่งเป็นตัวควบคุม (control) ในการยับยั้งเชื้อรา *S. rolfsii* สาเหตุโรคโคนเน่าแค้นตะวันในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้ทุกไอโซเลท มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *S. Rolfsii* แตกต่างกัน เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท T-30 มีประสิทธิภาพสูงสุด คือ 89.97 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อรา *T. harzianum* ตัวควบคุม เท่ากับ 83.73 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ไอโซเลท T-28 มีประสิทธิภาพต่ำสุด เท่ากับ 71.56 เปอร์เซ็นต์ (Table 2) จากการศึกษาความสามารถในการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *S. rolfsii* โดยวิธี dual-culture test พบว่า เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทุกไอโซเลทมีกลไกเป็นแบบ competition (Table 2, Figure 2a and c) โดยมีลักษณะของการการแก่งแย่งสารอาหาร แก่งแย่งพื้นที่การเจริญ และขัดขวางการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *S. rolfsii* (จิระเดช, 2546; Harman, 2004) ซึ่งเชื้อรา *Trichoderma* spp. สามารถเจริญคลุมเส้นใยเชื้อรา *S. rolfsii* ได้อย่างสมบูรณ์ ยกเว้นเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท T-01 ซึ่งมีอัตราการเจริญค่อนข้างต่ำ (Table 2) นอกจากนี้ยังพบกลไก exploitation จากการเข้าทำลายเส้นใยเชื้อรา *S. rolfsii* เป็นแบบ predator ซึ่งเป็นการพันรัดเส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma* spp. (Table 2, Figure 3) (จิระเดช และวรรณวิไล, 2542) และกลไก antibiosis ที่พบมีลักษณะเป็น clear zone เกิดขึ้นระหว่างเชื้อรา *S. rolfsii* และเชื้อรา *Trichoderma* spp. (Table 2, Figure 2b) เช่นเดียวกับรายงานของ มาลาตี และคณะ (2556) ที่ได้ทดสอบความสามารถในการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ต่อเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดของผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์ จากการทดลอง พบว่า กลไกหลักของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่ศึกษานั้น คือกลไก competition และ exploitation

สรุปผล

จากการสำรวจเก็บตัวอย่างเปลือกไม้ ใบไม้ เศษวัสดุ ซี้เลื้อย และดิน จากแหล่งต่างๆ ได้ตัวอย่างจำนวน 32 ไอโซเลท สามารถนำแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. บริสุทธิ์ จำนวน 10 ไอโซเลท ซึ่งจากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าเป็น เชื้อรา *T.hamatum*, *T.viridae*,

leamkheng et al. (2016)

T.longibrachiatum และ *T.harzianum* เมื่อนำเชื้อรา *Trichoderma* spp. บริสุทธิ์ที่แยกได้มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *S. rolfsii* ในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่า เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทุกไอโซเลท มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *S.roltsii* ได้เป็นอย่างดี เมื่อเปรียบเทียบการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma* spp. พบว่า เชื้อรา *Trichoderma* spp. แต่ละไอโซเลทมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *S.roltsii* ได้แตกต่างกัน โดยเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท T-30 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *S.rolfsii* สูงสุด เท่ากับ 89.97 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่า *T.harzianum* ตัวควบคุม (T-00) ที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 83.73 เปอร์เซ็นต์

เอกสารอ้างอิง

- จิระเดช แจ่มสว่าง. 2546. การควบคุมโรคพืชและแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี. นครปฐม: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.
- จิระเดช แจ่มสว่าง และวรรณวิไล อินทนู. 2542. การพัฒนาการผลิตหัวเชื้อราไตรโคเดอร์มาเพื่อเกษตรกร. กรุงเทพฯ: สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- พรทิพย์ วงศ์แก้ว. 2549. แก่นตะวัน (Jerusalem artichoke) ในประเทศไทยมีโอกาศประสบภัยจากศัตรูพืชแบบไหนกัน. วารสารแก่นเกษตร 34: 112-123.
- มาลาตี ประดับญาติ, นงลักษณ์ เภรินทวงค และณิมนันต์ เจนอักษร. 2556. การทดสอบความสามารถในการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ในสภาพห้องปฏิบัติการของ *Trichoderma* spp. ต่อเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดของผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์. น. 52-57. ในรายงานสืบเนื่องจากการประชุมสัมมนาวิชาการมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก ครั้งที่ 6 วันที่ 15-17 พฤษภาคม 2556, โรงแรมชลจันทร์ รีสอร์ท พัทยา, ชลบุรี.
- Beagle-Ristaino, J.E. and G.C., Papavizas. 1985. Survival and proliferation of propagules of *Trichoderma* spp. and *Gliocladium virens* in soil and in plant rhizosphere. *Phytopathology* 75: 729-732.
- Harman, G. E. 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 96: 190-194.
- McCarter S.M. and S.J. Kays. 1984. Disease limiting Production of Jerusalem artichoke in Georgia. *Plant Disease* 68: 299-302.
- Sennoi R., N. Singkham, S. Jogloy, S. Boonlue, W. Saksirirat, T. Kesmala and A. Patanothai. 2013. Biological control of southern stem rot caused by *Sclerotium rolfsii* using *Trichoderma harzianum* and arbuscular mycorrhizal fungi on Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). *Crop Protection* 54: 148-153.
- Rifai, M.A. 1969. A reversion of the genus *Trichoderma*. *Mycol papers, M.C.I.* 116: 1-56.
- Jin S., L. Liu, Z. Liu, X. Long, H. Shao and J. Chen. 2013. Characterization of marine *Pseudomonas* spp. antagonist towards three tuber-rotting fungi from Jerusalem artichoke, a new industrial crop. *Industrial Crops and Products* 43: 556-561.

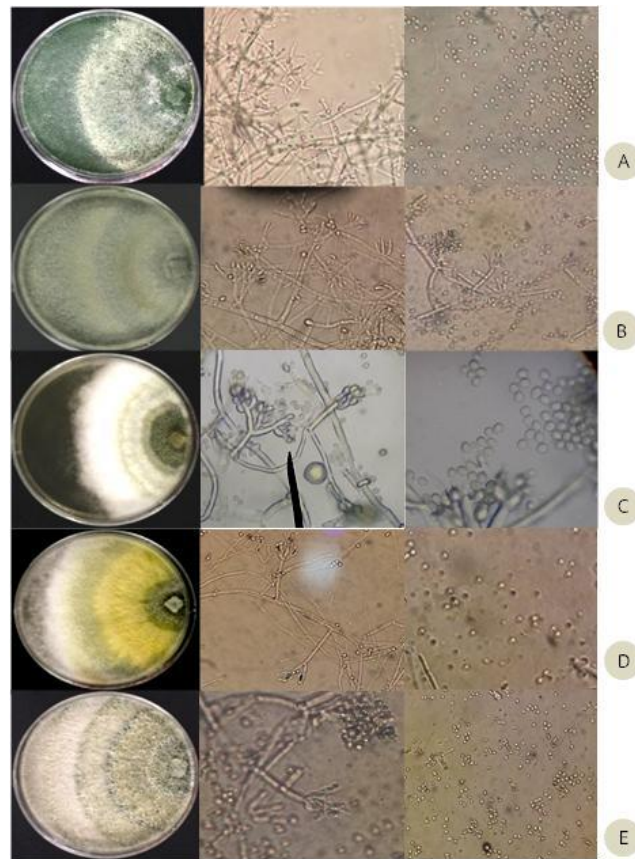


Figure 1 Characters of colony, conidiophores and conidia of various isolates of *Trichoderma* spp. after 7 days of culture on PDA medium. A: *T. harzianum*, B: *T. hamatum*, C: *T. longibrachiatum*, D: *T. viridae*, E: *T. koningii*

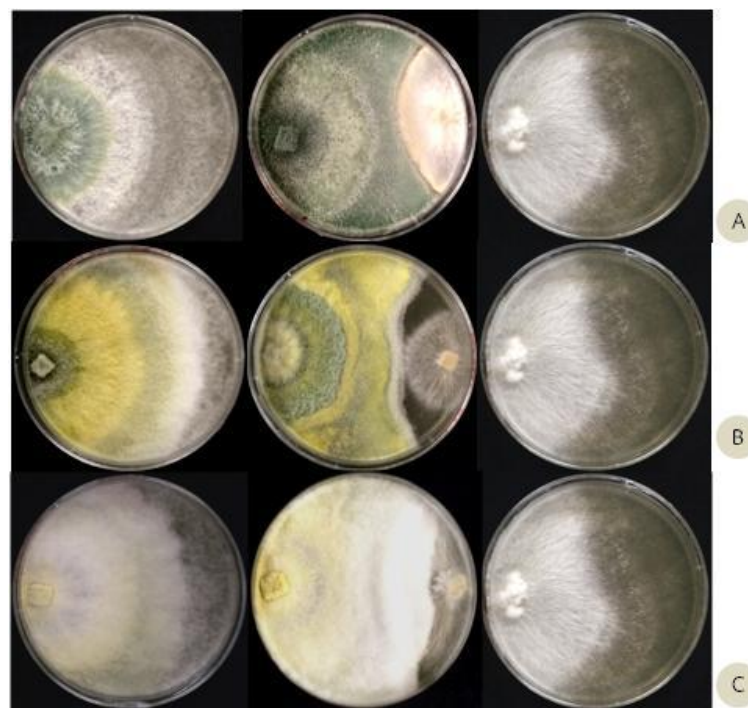


Figure 2 Dual culture of representative isolates of *Trichoderma* spp. against to *S. rolfsii* at 7 days after inoculation. A: *T. harzianum* (T-00, control); B: a representative *Trichoderma* spp. showed the antibiotic mechanism; C: a representative *Trichoderma* spp. showed the competition mechanism.

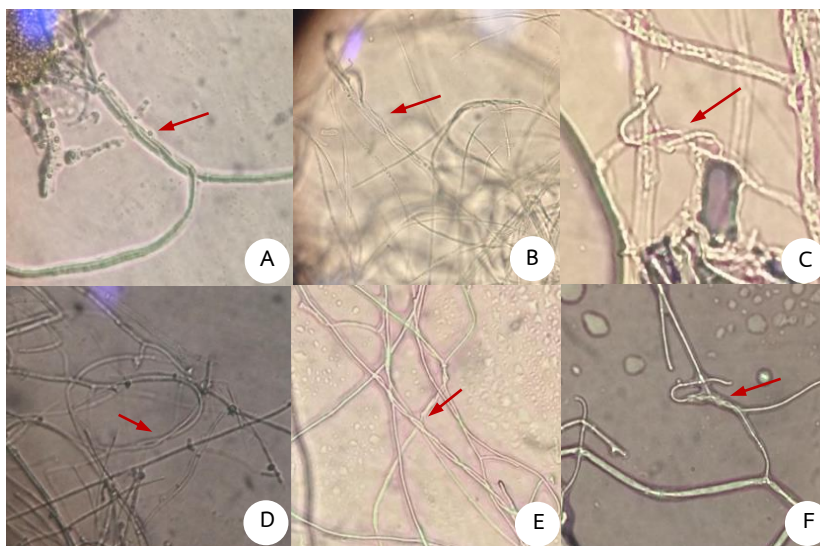


Figure 3 Hyphal interactions as mycoparasitism between *Trichoderma* spp. and *Sclerotium rolfsii*. A: *T. harzianum* (control), B: T-01, C: T-28, D: T-30, E: T-31 and F: T-32. Arrows indicated the location of *Trichoderma* spp. coiling.

Table 1 Isolation sources of *Trichoderma* spp. and isolates used in this study.

Isolates	Sources of Isolation	Location
T-00 (control)	commercial <i>Trichoderma</i> spp.	Kasetsart University, Khamphang Sean campus, Nakorn-Pathom
T-01	sawdust	Mushroom farm, Division of Plant Bioproduction Technology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Rajamangala University of Technology Tawan-ok, Chonburi
T-02	bamboo leaf	Faculty of Agriculture and Natural Resources, , Rajamangala University of Technology Tawan-ok, Chonburi
T-08	soil	Division of Plant Bioproduction Technology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, , Rajamangala University of Technology Tawan-ok, Chonburi
T-12	sawdust	Mushroom farm, Bangpra, Sriracha, Chonburi
T-24	soil	Star Fruit tree, Bangpra, Sriracha, Chonburi
T-27	soil	Rice plotting, Division of Plant Bioproduction Technology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Rajamangala University of Technology Tawan-ok, Chonburi
T-28	soil	Rice plotting, Division of Plant Bioproduction Technology, Faculty of Agriculture and Natural

T-30	soil	Resources, Rajamangala University of Technology Tawan-ok, Chonburi Jerusalem artichoke field, Division of Plant Bioproduction Technology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Rajamangala University of Technology Tawan-ok, Chonburi
T-31	soil	Jerusalem artichoke field, Division of Plant Bioproduction Technology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Rajamangala University of Technology Tawan-ok, Chonburi
T-32	<i>Paphiopedilum</i> leaf	Orchid nursery, Division of Plant Bioproduction Technology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Rajamangala University of Technology Tawan-ok, Chonburi

Table 2 Effect of *Trichoderma* spp. to inhibit *Sclerotium rolfsii* using Dual-culture test

<i>Trichoderma</i> spp.	Growth rate (cm./day)	% inhibition ¹ (7 day)	<i>S. rolfsii</i> mechanism of action		
			Antibiosis ²	Competition	Exploitation ³
Control	5.17	83.73 ^b	-	+	+
T-01	3.93	71.60 ^f	+	+	+
T-02	4.12	80.93 ^c	+	+	nt ⁴
T-08	4.51	72.19 ^f	-	+	nt
T-12	4.56	75.87 ^c	+	+	nt
T-24	4.24	78.41 ^d	+	+	nt
T-27	4.78	77.08 ^{de}	-	+	nt
T-28	4.48	71.56 ^f	-	+	+
T-30	4.72	89.97 ^a	-	+	+
T-31	4.68	76.00 ^e	-	+	+
T-32	4.25	73.41 ^f	-	+	+