

ประสิทธิภาพของสายพันธุ์ *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าของ  
ผักสลัด (*Lactuca sativa* L.) ที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium* spp.

ในระบบไฮโดรโพนิกส์

BIOCONTROL EFFICACY OF *TRICHODERMA* SPECIES AGAINST  
*FUSARIUM* ROOT ROT OF HYDROPONICALLY GROWN LETTUCE

(*LACTUCA SATIVA* L.)



เลขหมู่.....  
เลขทะเบียน **132477**  
วัน,เดือน,ปี... 18 ก.ค. 2557

b. 12609666  
i. ....

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเกษตรศาสตร์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2556

KMITL-2013-AG-M-065-147

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**BIOCONTROL EFFICACY OF *TRICHODERMA* SPECIES AGAINST  
*FUSARIUM* ROOT ROT OF HYDROPONICALLY GROWN LETTUCE  
(*LACTUCA SATIVA* L.)**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF  
MASTER OF SCIENCE IN AGRICULTURE  
FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

**2013**

**KMITL-2013-AG-M-065-147**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



**COPYRIGHT 2013**

**FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY**

**KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ประสิทธิภาพของสายพันธุ์ <i>Trichoderma</i> spp. ในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัด ( <i>Lactuca sativa</i> L.) ที่เกิดจากเชื้อรา <i>Fusarium</i> spp. ในระบบไฮโดรโปนิคส์
ชื่อนักศึกษา	นาย ธิติ ทองคำงาม
รหัสประจำตัว	54641151
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)
สาขาวิชา	เกษตรศาสตร์
พ.ศ.	2556
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์ ดร. ถนิมนันต์ เจนอักษร

### บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เพื่อประเมินประสิทธิภาพของเชื้อราท้องถิ่น (indigenous) *Trichoderma* spp. ที่ได้จากระบบไฮโดรโปนิคส์ ในการควบคุมโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัด (*Lactuca sativa* L.) ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium* spp. ในสภาพห้องปฏิบัติการและในระบบไฮโดรโปนิคส์ ซึ่งได้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ส่วนใหญ่ๆ

ส่วนที่ 1 การทดสอบในสภาพห้องปฏิบัติการ ดังมีรายละเอียดการทดลองดังนี้

การทดลองที่ 1.1 มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์ และศึกษาสัญญาณวิทยาของเชื้อสาเหตุโรค นอกจากนี้ยังทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อสาเหตุ (Pathogenicity test) กับผักสลัด 4 สายพันธุ์ (Cos, Green oak, Red oak และ Butter head) เพื่อเป็นการยืนยันซ้ำอีกครั้งหนึ่งในระบบไฮโดรโปนิคส์ ผลจากการศึกษาในระหว่างช่วงปี พ.ศ. 2554-2555 พบการเกิดและระบาดของโรครากเน่าและเหี่ยวในผักสลัดที่ปลูกในระบบ NFT ในฟาร์มไฮโดรโปนิคส์ ในจังหวัดสมุทรปราการและชลบุรี โรคดังกล่าวเกิดขึ้นกับผักสลัดทั้งชนิดห่อหัวและชนิดใบ โดยแสดงอาการ รากเน่า ใบล่างเหลืองเหี่ยว ลำต้นแคระแกรน และตายในที่สุด ถ้าผ่าส่วนโคนลำต้นและรากส่วนบน จะพบแผลสีน้ำตาลแดงและอาการเน่า จากการวินิจฉัยโรคจากส่วนของพืชที่แสดงอาการ ได้แก่ ราก ลำต้น ใบ รวมทั้งสารละลายธาตุอาหารพืช พบว่ามีสาเหตุมาจากเชื้อ *Fusarium oxysporum* และมีไส้เดือนฝอย *Pratylenchus* sp. เข้าทำลายร่วมด้วย การตรวจพบการเข้าทำลายของเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* ในผักสลัดที่ปลูกในระบบ NFT ครั้งนี้ เป็นการรายงานการตรวจพบครั้งแรกในประเทศไทย สำหรับการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคนั้นพบว่าเชื้อสาเหตุที่นำมาทำการทดสอบทุกไอโซเลท (ยกเว้น F 221-B) สามารถทำให้เกิดโรคเหี่ยวและรากเน่ากับผักสลัดทั้ง 4 สายพันธุ์ได้ โดยความรุนแรงของโรคจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของสาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พันธุ์ผักสลัด โดยพบว่าผักสลัดสายพันธุ์ Cos เป็นพันธุ์ที่อ่อนแอที่สุด นอกเหนือจากการศึกษาโรครากเน่าและเหี่ยวในผักสลัดแล้ว เป็นที่น่าสนใจว่าพบเชื้อรา *Fusarium oxysporum* (F 221-B) ซึ่งไม่ก่อให้เกิดโรคแต่กลับส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักสลัด ดังนั้นความสามารถในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชโดย F 221-B ควรได้รับการประเมินต่อไป เพื่อยืนยันถึงความสามารถของเชื้อดังกล่าวอีกครั้ง จึงทำการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้ได้ข้อมูลกระจ่างชัด และจัดเป็นส่วนขยายของวิทยานิพนธ์นี้

การทดลองที่ 1.2 การประเมินประสิทธิภาพของเชื้อ *Fusarium oxysporum* (F 221-B) (ซึ่งได้จากงานวิจัยของ ธิติและคณะ, 2555) ในด้านส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช 6 ชนิด (Cos, Green oak, Red oak, Butter head, คะน้า และ ถั่วเขียว) ที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์ รวมทั้งการศึกษาลักษณะโคโลนีของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ ซึ่งพบว่าเมล็ดที่คลุกเชื้อ F 221-B สามารถงอกได้เร็วกว่าปกติ 1 วัน ส่งผลให้มีเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด และความยาวของต้นกล้าสูงกว่า เมล็ดที่ไม่ได้คลุกเชื้อ อีกทั้งการใช้ spore suspension ของเชื้อ F 221-B ที่ระดับความเข้มข้น  $10^8$  spore/ml ใส่ลงในสารละลายธาตุอาหารพืช สามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตในด้าน จำนวนใบ ขนาดใบ ปริมาณคลอโรฟิลล์ (SPAD value) น้ำหนักสดต้นและราก รวมทั้งน้ำหนักแห้งต้นและราก ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (control) เชื้อ F 221-B สามารถอยู่รอดในระบบปลูกจนถึงสิ้นสุดการทดลอง สำหรับการศึกษาด้านอิทธิพลของอาหารเลี้ยงเชื้อ 6 ชนิดต่อการเจริญของเชื้อ พบว่าเชื้อ F 221-B เจริญทางเส้นใยได้ดีที่สุดบน carrot agar และ สร้าง microconidia และ macroconidia ได้ดีบน oatmeal agar โดยสรุป เชื้อรา *Fusarium oxysporum* (F 221-B) แสดงศักยภาพในการเป็นเชื้อราที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth-promoting fungus)

การทดลองที่ 1.3 วัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้เพื่อประเมินศักยภาพการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ในสภาพห้องปฏิบัติการของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 14 ไอโซเลท ที่มีต่อเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* สาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัด (*Lactuca sativa* L.) ที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์ โดยมุ่งเน้นศึกษาถึงกลไกของการยับยั้งใน 6 วิธีการ คือ Bi-culture antagonistic test, Volatile metabolite test, Leaf test, Cellophane membrane test, Culture filtrate test และ Root inoculation test จากการทดลองใน **Bi-culture test** พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* ทุกไอโซเลท มีศักยภาพในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรค ทั้ง 2 ไอโซเลท โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 53-73 เปอร์เซ็นต์ และ T 515-1, T 515-2 และ T 515-3 มีประสิทธิภาพสูงสุดสำหรับกลไกการยับยั้งในช่วง 3 วันแรกพบ antibiosis ซึ่งจะสังเกตเห็นขนาดของ clear zone แคบๆ หลังจากนั้นตรวจพบกลไก competition และ exploitation (mycoparasitism) สำหรับการทดลองด้วยวิธี **volatile metabolite test** พบว่า *Trichoderma* spp. ทุกไอโซเลทสามารถสร้างสารระเหยได้ แต่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งค่อนข้างต่ำอยู่ในช่วง 9.66-30.8 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในการทดสอบ Leaf test ทำการคัดเลือกตัวแทนเชื้อ *Trichoderma* spp. มาจำนวน 5 ไอโซเลท คือ (T 515-1, T 515-2, T 515-3,

T 315-1 และ T 415-2) ที่มีศักยภาพและคุณสมบัติครอบคลุมกลไกการยับยั้งของการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ สามารถลดความรุนแรงของโรคบนใบของผักสลัดที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ 5 ชนิด (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* F 114-B, F 221-R, F 422-G, *Curvularia* sp. และ *Alternaria* sp.) ได้ 50-80 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการทดสอบเกี่ยวกับสารไม่ระเหย (non-volatile metabolites) จะประกอบด้วยวิธีการ Cellophane test และ Culture filtrate test ที่ระดับความเข้มข้น 20, 40, 60, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองของ **Cellophane membrane test** แสดงให้เห็นว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทุกไอโซเลท สามารถสร้างสารไม่ระเหยลงในอาหารและมีผลทำให้ยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* ทั้ง 2 ไอโซเลท อยู่ในช่วง 70-92.4 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (control) โดยมี T 124-1, T 223-B, T 315-1, T 415-1, T 424-B, T 424-C, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3 แสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงสุด สำหรับการทดลอง **Culture filtrate test** พบว่า เมื่อความเข้มข้นของ Culture filtrate (CF) สูงขึ้นจะสามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อสาเหตุโรคทั้ง 2 ไอโซเลทได้ดีขึ้น โดย CF ที่ระดับความเข้มข้น 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ของ T 224-G, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ F 221-R ได้ 18, 33, 45 และ 38.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และ 26, 36.8, 46.8 และ 39.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนในไอโซเลท F 422-G ก็ให้ผลไปในทิศทางเดียวกัน นอกจากนี้ยังทำการทดสอบผลของ CF ต่อการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 2 ไอโซเลท พบว่า T 224-G, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3 สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อ F 221-R และ F 422-G ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ตั้งแต่ความเข้มข้น 20-100 เปอร์เซ็นต์ จากผลการทดลองดังกล่าว ซึ่งให้เห็นว่าประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile metabolite) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* ซึ่งประเมินโดยวิธี Cellophane test ให้ผลดีกว่าวิธี Culture filtrate ส่วนในการทดสอบ **Root inoculation test** กับกล้าผักสลัด Cos ในแก้วพลาสติกที่บรรจุด้วยสารละลายธาตุอาหารพืช พบว่า CF ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ ของตัวแทนเชื้อ *Trichoderma* spp. จำนวน 8 ไอโซเลท (T 124-1, T 223-B, T 224-G, T 415-1, T 424-C, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3) ที่มีศักยภาพและคุณสมบัติครอบคลุมกลไกการยับยั้งของการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ สามารถลดระดับความรุนแรงของโรคเหี่ยวและรากเน่าที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R และ F 422-G) ได้อยู่ในช่วง 66-94 เปอร์เซ็นต์

#### ส่วนที่ 2 การทดสอบในระบบไฮโดรโปนิคส์

การทดลองในส่วนนี้ ดำเนินการต่อจากส่วนแรก โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินศักยภาพในการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ของ *Trichoderma* spp. จำนวน 6 ไอโซเลท (T 223-B, T 224-G, T 415-1, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3) ที่แสดงประสิทธิภาพดีที่สุดในสภาพห้องปฏิบัติการ (จากส่วนที่ 1) เพื่อใช้ในการควบคุมโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัด Cos ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* 2 ไอโซเลท (F 221-R และ F 422-G) ที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหาร (Solution

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาด้านนี้ เมื่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่ขึ้นต้นการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

culture) โดยทำการวางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ ๆ ละ 2 ต้น ทำการจุ่มรากพืชอายุ 14 วัน ลงใน spore suspension ของเชื้อ *Trichoderma* spp. ดังกล่าว ความเข้มข้น  $1 \times 10^8$  spore/ml ปริมาณ 10 มิลลิลิตรต่อต้น เป็นเวลา 5 นาที และเทส่วนที่เหลือลงในสารละลายธาตุอาหารพืช จากนั้นอีก 3 วันทำการปลูกเชื้อสาเหตุโรค *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* (F 221-R และ F 422-G) ด้วยวิธีการจุ่มรากลงใน spore suspension ความเข้มข้น  $1 \times 10^6$  spore/ml ปริมาณ 10 มิลลิลิตรต่อต้น ส่วนที่เหลือเทลงในสารละลายธาตุอาหารพืช การประเมินผลเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค ความรุนแรงของโรค และการเจริญของพืช (จำนวนใบ ขนาดใบ คลอโรฟิลล์ SPAD value น้ำหนักสดต้นและราก น้ำหนักแห้งต้นและราก) ซึ่งกระทำทุกสัปดาห์ พบว่า เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 6 ไอโซเลท สามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและความรุนแรงของโรคได้อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีปลูกเชื้อ (inoculation) โดยมี T 224-G และ T 515-1 แสดงประสิทธิภาพในการลดความรุนแรงของโรคได้ สูงถึง 80-90 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 28 วันหลังการปลูกเชื้อ นอกจากการประเมินผลทางด้านโรคแล้ว ยังมีการตรวจสอบปริมาณความอยู่รอดของเชื้อสาเหตุโรคในสารละลายธาตุอาหารทุกสัปดาห์ และจากรากพืชหลังการเก็บเกี่ยว เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการประเมินผลทางด้านการเกิดโรค โดยพบว่า ในวันเก็บเกี่ยวผลผลิต ยังตรวจพบความอยู่รอดของ F 221-R และ F 422-G ในทุกกรรมวิธีที่ทรีด้วย *Trichoderma* spp. ในปริมาณ  $1.5 \times 10^4$  spore/ml แต่ยังมีค่าน้อยกว่าปริมาณความอยู่รอดในกรรมวิธีปลูกเชื้อ (inoculation) ซึ่งมีความเข้มข้นประมาณ  $3.2 \times 10^4$  spore/ml

ในด้านการเจริญเติบโตของพืช ผลเป็นไปในทิศทางเดียวกับการเกิดโรค กล่าวคือ ถึงกรรมวิธีที่ทรีด้วย *Trichoderma* spp. จะส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทั้งทางด้านจำนวนใบ ขนาดใบ คลอโรฟิลล์ SPAD value น้ำหนักสดต้นและราก รวมทั้งน้ำหนักแห้งต้นและราก โดยในการทดลองที่ทำการปลูกเชื้อสาเหตุโรคด้วย F 221-R พบว่า T 224-G ให้ผลในด้านน้ำหนักสดต่อต้นสูงที่สุด (57.71 กรัม/ต้น) อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (Healthy control) (27.6 กรัม/ต้น) และกรรมวิธีปลูกเชื้อ (inoculation) (3.59 กรัม/ต้น) สำหรับการทดลองที่ปลูกเชื้อด้วย F 422-G พบว่า T 515-3 ส่งเสริมการเจริญในด้านน้ำหนักสดต่อต้นสูงที่สุด (53.91 กรัม/ต้น) อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (Healthy control) (26.36 กรัม/ต้น) และกรรมวิธีปลูกเชื้อ (inoculation) F 422-G (11.23 กรัม/ต้น)

จากผลการศึกษาในครั้งนี้ แสดงให้เห็นชัดเจนว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 6 ไอโซเลท คือ T 223-B, T 224-G, T 415-1, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* (F 221-R และ F 422-G) ในสภาพห้องปฏิบัติการ และยิ่งไปกว่านั้น T 224-G และ T 515-1 ยังแสดงถึงประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ รวมทั้งส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักดังกล่าวด้วย ดังนั้นจึงควรนำเชื้อรา *Trichoderma* spp. ดังกล่าวข้างต้นมาศึกษาเพิ่มเติมถึงรูปแบบของการใช้ (Formulation) เพื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาดูเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการศึกษา

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยืนยันความเป็นไปได้ในการนำมาใช้ควบคุมโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ต่อไปในอนาคต



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<b>Thesis Title</b>	Biocontrol efficacy of <i>Trichoderma</i> species against <i>Fusarium</i> root rot of hydroponically grown lettuce ( <i>Lactuca sativa</i> L.)
<b>Student</b>	Mr. Titi Thongkamngam
<b>Student ID.</b>	54641151
<b>Degree</b>	Master of Science in Agriculture
<b>Program</b>	Agriculture
<b>Year</b>	2013
<b>Thesis Advisor</b>	Assoc. Prof. Dr. Taninnun Jaenaksorn

### ABSTRACT

Aim of this thesis was to determine biocontrol efficacy of indigenous isolates of *Trichoderma* spp. from hydroponics against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* incitant of lettuce wilt both *in vitro* and in hydroponics. The thesis was mainly divided into 2 parts.

Part 1 consisted of a series of the *in vitro* experiments as follows:

Experiment 1.1 was conducted to study on the wilt and root rot disease of hydroponically grown lettuce and identification of its causal pathogen. Besides, pathogenicity test of obtained isolates of pathogen was reconfirmed on four varieties (Butter head, Green oak, Red oak and Cos) of lettuce in lab scale-hydroponics. The results revealed that a new wilt and root disease was detected in commercial hydroponic farms of lettuce (*Lactuca sativa* L.) in Samutprakarn and Chonburi provinces during 2011-2012. Head lettuce cultivar as well as leaf lettuce grown in nutrient film technique was affected. Disease symptoms included root rot, yellowing and wilting of basal leaves as well as stunting and plant death. The cortex of the crown and upper root of infected plants became reddish-brown and decayed. The pathogen was consistently isolated from symptomatic plant root, stem, leaf and nutrient solution and identified as *Fusarium oxysporum* based on morphological characteristics. Besides, the nematode *Pratylenchus* sp. was also found with the symptomatic plant root. To our knowledge, this is the first report of *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* infecting lettuce grown in nutrient film technique in Thailand. Regarding the pathogenicity test, it was found that all 21 tested isolates of *F. oxysporum*, except F 221-B could cause the disease incidence on all tested lettuce. However, the disease severity differed among the varieties of lettuce. Cos lettuce was shown to be the most susceptible to this pathogen. Apart from the aspect of wilt and root rot disease of lettuce, interesting issue should be placed on

*Fusarium oxysporum* (F 221-B) which was not only shown to be avirulent but seemed to be promoting the growth of lettuce. Thus, the plant growth promoting ability of F 221-B should be further evaluated to reconfirm its ability as a supplement to the thesis.

Experiment 1.2 was conducted to determine the ability of the indigenous *F. oxysporum* (F 221-B) obtained from the previous experiment (Titi *et al.*, 2012), as a saprophytic plant growth-promoting fungus (PGPF) on growth of six kinds of plant, namely Cos lettuce, Green oak lettuce, Red oak lettuce, Butter head lettuce, kale and mung bean in hydroponics. The survival of this fungus was also evaluated at the end of cropping. Moreover, growth characteristics of the fungus on different media were studied. The results showed that treated seeds with F 221-B could germinate 1 day-faster than non treated seeds resulting in higher percentage of seed germination and seedling length. Furthermore, addition of F 221-B spore suspension at  $10^8$  spores/ml in nutrient solution significantly promoted growth (in terms of leaf number, leaf size, SPAD value, stem fresh and dry weight, root fresh and dry weight) of all tested plants compared to the control one. Survival of F 221-B could be detected at the end of cropping. Regarding the growth characteristics of this fungus, it revealed that carrot agar was the best for mycelial growth while oatmeal agar was the best for maximum sporulation (micro conidia and macro conidia). In conclusion, *F. oxysporum* (F 221-B) showed its ability as plant growth-promoting fungus (PGPF).

Experiment 1.3 was performed to determine *in vitro* antagonistic efficacy of 14 isolates of *Trichoderma* spp. from hydroponics against *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* incitant of wilt and root rot on hydroponically grown lettuce. Six types of assays, namely bi-culture antagonistic test, volatile metabolite test, leaf test, cellophane membrane test, culture filtrate test and root inoculation test were carried out. The results of **bi-culture test** revealed that all tested *Trichoderma* spp. had potential to inhibit the mycelial growth of the two isolates of pathogen (F 221-R and F 422-G) while the inhibition varied depending on the *Trichoderma* isolates ranging from 53-73 per cent. T 515-1, T 515-2 and T 515-3 were shown to give the highest inhibition. Regarding the antagonistic mechanisms, antibiosis of non volatile metabolites on PDA was observed only at the early stage of incubation (day 3) as slender strips of fungal growth inhibition. Later on, competition and exploitation were detected. Hyphal interactions and mycoparasitism were clearly noted under microscope. Concerning **volatile metabolite test**, efficacy of all tested *Trichoderma* spp. against the tested pathogens was rather low having about 9.66-30.8 percent of inhibition. Five selected isolates of *Trichoderma* spp. representing all 3 antagonistic mechanisms

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ผู้ใดเห็นชอบหรือขอใช้ในการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(T 515-1, T 515-2, T 515-3, T 315-1 and T 415-2) were further evaluated against 3 isolates of *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* (F 221-R, F 422-G and F 114-B), *Curvularia* sp. and *Alternaria* sp. on lettuce leaf. The **leaf test** showed that the five isolates of *Trichoderma* spp. could reduce the severity of diseases caused by 3 isolates of *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* about 50-80 per cent. Regarding the non volatile metabolites, cellophane membrane test as well as culture filtrate test at the concentration of 20, 40, 60, 80 and 100 per cent was represented. **Cellophane membrane test** revealed that all tested isolates of *Trichoderma* spp. could produce non-volatile metabolites into the culture media which were inhibiting the mycelial growth of the two tested isolates of *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* in the range of 70-92.4 per cent compared to the control. Amongst the tested *Trichoderma* spp., T 124-1, T 223-B, T 315-1, T 415-1, T 424-B, T 424-C, T 515-1, T 515-2 and T 515-3 were shown to give the highest inhibition. For **culture filtrate test**, it was observed that with an increase in concentration of culture filtrates of all tested isolates of *Trichoderma* spp., the radial mycelial growth of the two tested pathogens was proportionally decreased. At a concentration of 80 and 100 percent culture filtrate, T 224-G, T 515-1, T 515-2 and T 515-3 had the ability to control growth of F 221-R by 18, 33, 45 and 38.5 per cent, respectively and by 26, 36.8, 46.8 and 39.25 per cent, respectively. The same result was noted on the other isolate of pathogen (F 422-G). Culture filtrate test was further performed on spore germination of tested pathogens. T 224-G, T 515-1, T 515-2 and T 515-3 clearly showed complete inhibition (100 per cent) on spore germination of F 221-R and F 422-G at a concentration of 20-100 percent culture filtrate. From the results, it should be noted here that the result of non volatile metabolites from cellophane test was found more effective in suppressing the mycelial growth of *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* when compared to non volatile metabolites from culture filtrate test. In regard to **root inoculation test** on Cos lettuce seedling grown in plastic glass containing nutrient solution, culture filtrates from eight selected isolates of *Trichoderma* spp. representing all 3 inhibition mechanisms (T 124-1, T 223-B, T 224-G, T 415-1, T 424-C, T 515-1, T 515-2 and T 515-3) were effective in reducing the severity of root rot disease caused by F 221-R and F 422-G in the range of 66-94 per cent.

Part 2 was performed in hydroponic scale.

The experiment was further conducted to evaluate the biocontrol efficacy of the six potential isolates of *Trichoderma* spp. selected from the *in vitro* test (T 223-B, T 224-G, T 415-1, T 515-1, T 515-2 and T 515-3) for controlling the Cos lettuce wilt and root rot caused *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* (F 221-R and F 422-G) in Solution culture. Completely randomized

design (CRD) with 4 replications of 2 plants was employed. Plant roots (at the age of 14 days) were treated with *Trichoderma* spp. by dipping into its spore suspension ( $1 \times 10^8$  spore/ml and 10 ml per plant). Three days later, the plant roots were separately inoculated with spore suspension of F 221-R and F 422-G at the concentration of  $1 \times 10^6$  spore/ml and 10 ml per plant. Evaluation was weekly made on disease incidence, disease severity, and plant growth (leaf number and size, SPAD value, stem and root fresh weight, stem and root dry weight). The results showed that all six tested isolates of *Trichoderma* spp. could significantly suppress disease incidence as well as disease severity compared to the inoculated control. At 28 days post inoculation, T 224-G and T 515-1 were shown to give the highest disease suppression by 80-90 per cent. Apart from disease severity, survival of pathogen was also monitored from nutrient solution and finally checked from crop root at harvest. Survivals of pathogens (F 221-R and F 422-G) in all treatments treated with *Trichoderma* spp. detected at harvest (about  $1.5 \times 10^4$  spore/ml) were less than that of the inoculated control ( $3.2 \times 10^5$  spore/ml). In terms of crop growth, the results were in line with that of disease incidence and disease severity. That is, all treatments treated with *Trichoderma* spp. seemed to enhance growth of shoot and root. Regarding the experiment inoculated with F 221-R, plant treated with T 224-G gave significantly maximum shoot fresh weight (57.71 g/plant) compared to healthy control (27.6 g/plant) and inoculated control (3.59 g/plant). While T 515-3 gave significantly maximum shoot fresh weight (53.91 g/plant) compared to healthy control (26.36 g/plant) and inoculated control (11.23 g/plant) in the experiment inoculated with F 422-G.

Based on the present investigation, it is clear that the tested *Trichoderma* spp. (T 223-B, T 224-G, T 415-1, T 515-1, T 515-2 and T 515-3) were proven potential *in vitro* against *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* (F 221-R and F 422-G) while T 224-G and T 515-1 were effective in controlling the disease in hydroponics. Therefore, the fore-mentioned *Trichoderma* spp. can be used for further studies on their formulation to confirm the feasibility of using in lettuce wilt disease management in hydroponics.

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. ถนิมนันต์ เจนอักษร อาจารย์ที่ปรึกษา ที่คอยให้คำแนะนำและปรึกษาทางด้านวิชาการและประสบการณ์ชีวิต ตลอดจนให้ความช่วยเหลือสนับสนุนในการทำวิทยานิพนธ์แก่ข้าพเจ้าตลอดมา

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. สุภชัย รตโนภาส รศ.ดร. อธิธิสุนทร นันทกิจ ผศ.ดร. พรหมมาศ คูหากาญจน์ และ ดร. นงลักษณ์ เกรินทวงศ์ ที่ให้ความกรุณาตลอดจนขอแนะนำในการดำเนินการจัดทำวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงได้ดี

ขอขอบพระคุณ คุณพิสมัย เรืองบุบผา คุณจุฬาลักษณ์ ตลับนาค คุณกรุณา ชมชาติ คุณนันท์ นภัตจันทร์ คุณคมชิต แจ่มนิรัตน์ สาขาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร ที่ให้คำแนะนำ ความช่วยเหลือในการศึกษาทดลอง ประสบการณ์และข้อคิดต่าง ๆ ที่ทำให้การดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้เป็นไปได้อย่างดี

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อวิชุด ทองคำงาม คุณแม่จำปี ทองคำงาม คุณเกษภาเวศน์ ทองคำงาม และ คุณอาทิตย์ ทองคำงาม เป็นอย่างมาก ในความรัก ความเข้าใจ กำลังใจ การอุปการะเลี้ยงดู และสนับสนุนให้ทุนวิจัย ทุกสิ่งที่ท่านได้ให้ ตลอดจนให้ความช่วยเหลือ จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ธิตี ทองคำงาม

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	VI
กิตติกรรมประกาศ.....	X
สารบัญ.....	XI
สารบัญตาราง.....	XVI
สารบัญภาพ.....	XVIII
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มา.....	1
1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์.....	2
1.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 เชื้อรา <i>Fusarium</i> spp. ....	4
2.1.1 การจัดจำแนกกลุ่มเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> .....	4
2.1.2 ลักษณะอาการโรคเหี่ยว.....	4
2.1.3 ลักษณะการเข้าทำลายของเชื้อรา <i>Fusarium</i> spp. ....	5
2.2 การใช้เชื้อราปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคพืช.....	6
2.2.1 การใช้เชื้อแบคทีเรีย <i>Pseudomonas</i> spp. ในการควบคุมโรคพืช.....	6
2.2.2 การใช้เชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp. ในการควบคุมโรคพืช.....	7
2.2.3 การใช้เชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. ในการควบคุมโรคพืช.....	8
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	11
3.1 การเตรียมเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> และเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. ....	12
3.2 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรครากเน่าและเหี่ยวในผักสลัด (Pathogenicity test).....	12
3.3 การศึกษาพิเศษ เกี่ยวกับเรื่อง ประสิทธิภาพของเชื้อ <i>Fusarium oxysporum</i> สายพันธุ์ F 221-B ต่อการเจริญเติบโตของพืช.....	13
3.3.1 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> สายพันธุ์ F 221-B ต่อการงอกของเมล็ดพืช.....	13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.3.2 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> สายพันธุ์ F 221-B ต่อการเจริญเติบโตของพืช.....	13
3.3.3 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ <i>Fusarium oxysporum</i> สายพันธุ์ F 221-B.....	14
3.3.4 การศึกษาผลของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการเจริญทางเส้นใยและการสร้าง spore ของเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> สายพันธุ์ F 221-B และ F 422-G.....	14
3.4 การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. ต่อการเจริญของเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> ในสภาพห้องปฏิบัติการ.....	14
3.4.1 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัด <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> โดยวิธีเลี้ยงเชื้อในอาหารร่วมกัน (Bi-culture antagonistic test).....	14
3.4.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารระเหย (volatile metabolites) ของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. โดยวิธี Volatile - extracellular metabolite test.....	15
3.4.3 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ <i>Trichoderma</i> spp. 5 ไอโซเลท ที่เป็นตัวแทนของทั้ง 3 กลไกการยับยั้ง ในการควบคุมความรุนแรงของโรคบนใบผักสลัดที่มีสาเหตุจากเชื้อราสาเหตุโรค 5 ชนิด โดยวิธี Leaf test .....	16
3.4.4 การทดสอบประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolites) ของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 221-R และ F 422-G) โดยวิธี Cellophane membrane test.....	16
3.4.5 การทดสอบประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolites) ของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 221-R และ F 422-G) โดยวิธี Agar well diffusion assay.....	17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.4.6 การทดสอบประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolites) ของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 221-R และ F 422-G) โดยวิธี Spore germination test.....	17
3.4.7 การทดสอบประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolite) ของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 221-R และ F 422-G) สาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวในผักสลัด โดยวิธี Root inoculation test.....	17
3.5 การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. ในการควบคุมโรครากเน่าและเหี่ยวที่เกิดกับผักสลัดในระบบไฮโดรโปนิกส์ ( <i>In vivo</i> test).....	18
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	19
4.1 เชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> สาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัด.....	19
4.1.1 การศึกษาลักษณะอาการโรคและการแยกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัด 4 สายพันธุ์.....	19
4.1.2 การแยกเชื้อราปฏิปักษ์ <i>Trichoderma</i> spp. ....	21
4.1.3 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรครากเน่าและเหี่ยวกับผักสลัด (Pathogenicity test).....	22
4.2 การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> สายพันธุ์ F 221-B ต่อการเจริญเติบโตของพืช.....	25
4.2.1 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> สายพันธุ์ F 221-B ต่อการงอกของเมล็ดพืช.....	25
4.2.2 ผลของเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> สายพันธุ์ F 221-B ต่อการเจริญเติบโตของพืช.....	25
4.2.3 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ <i>Fusarium oxysporum</i> สายพันธุ์ F 221-B ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA.....	30
4.2.4 การศึกษาผลของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการเจริญทางเส้นใยและการสร้าง spore ของเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> สายพันธุ์ F 221-B และ F 422-G.....	31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.3 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัด <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lactucae</i> โดยวิธี Bi-culture antagonistic test.....	33
4.4 การทดสอบประสิทธิภาพของสารระเหย (volatile metabolites) ของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. โดยวิธี Volatile - extracellular metabolite test.....	41
4.5 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp 5 ไอโซเลท ที่เป็นตัวแทนของทั้ง 3 กลไกการยับยั้ง ในการควบคุมความรุนแรงของโรคบนใบผักสลัดที่มีสาเหตุจากเชื้อราสาเหตุโรค 5 ชนิด โดยวิธี Leaf test.....	46
4.6 การทดสอบประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolites) ของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 221-R และ F 422-G) โดยวิธี Cellophane membrane test.....	49
4.7 การทดสอบประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolites) ของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 221-R และ F 422-G) โดยวิธี Agar well diffusion assay.....	53
4.8 การทดสอบประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolites) ของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 221-R และ F 422-G) โดยวิธี Spore germination test.....	58
4.9 การทดสอบประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolite) ของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 221-R และ F 422-G) สาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวในผักสลัด โดยวิธี Root inoculation test.....	63
4.10 การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. ในการควบคุมโรครากเน่าและเหี่ยวที่เกิดกับผักสลัดในระบบไฮโดร โพนิกส์ ( <i>In vivo</i> test).....	67
บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง.....	78
บทที่ 6 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	88

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บรรณานุกรม.....	92
ภาคผนวก.....	100
ประวัติผู้เขียน.....	139



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
4.1	ลักษณะของเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> ทั้ง 21 ไอโซเลท ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA.....	20
4.2	ลักษณะของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. ทั้ง 14 ไอโซเลท ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA.....	21
4.3	การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรครากเน่าและเหี่ยวในผักสลัด 4 สายพันธุ์ โดยเชื้อรา <i>Fusarium</i> spp. ....	23
4.4	ผลของเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> สายพันธุ์ F 221 B ต่อการงอกของเมล็ดพืช...	26
4.5	แสดงการเจริญเติบโตของพืชในสารละลายธาตุอาหาร (solution culture) ที่ได้เชื้อ <i>Fusarium oxysporum</i> สายพันธุ์ F 221-B.....	28
4.6	แสดงปริมาณเชื้อ <i>Fusarium oxysporum</i> สายพันธุ์ F 221-B ที่สามารถอยู่รอดในการปลูกพืชในสารละลายธาตุอาหาร (solution culture) ที่ใช้ปลูกพืช 6 ชนิด.....	30
4.7	แสดงการเจริญของเชื้อ <i>Fusarium oxysporum</i> สายพันธุ์ F 221-B และ F 422-G บนอาหารเลี้ยงเชื้อ.....	32
4.8	ประสิทธิภาพของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. 14 ไอโซเลท ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตต่อเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 221-R) โดยวิธี Bi – culture antagonistic test.....	35
4.9	ประสิทธิภาพของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. 14 ไอโซเลท ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตต่อเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 422-G) โดยวิธี Bi – culture antagonistic test.....	36
4.10	ประสิทธิภาพของสารระเหย (volatile metabolites) เชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. 14 ไอโซเลท ที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 221-R และ F 422-G) โดยวิธี volatile metabolite test.....	43
4.11	การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ <i>Trichoderma</i> spp. 5 ไอโซเลท ที่เป็นตัวแทนของทั้ง 3 กลไกการยับยั้ง ในการควบคุมความรุนแรงของโรคบนใบผักสลัดที่มีสาเหตุจากเชื้อราสาเหตุโรค 5 ชนิด โดยวิธี Leaf test.....	47
4.12	ประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolites) ของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. 14 ไอโซเลท ต่อการเจริญทางเส้นใยเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 221-R และ F 422-G) โดยวิธี Cellophane membrane test.....	50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของลิขสิทธิ์

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4.13	ประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolites) ของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. ต่อการเจริญทางเส้นใยเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> F 221-R และ F 422-G โดยวิธี Agar well diffusion assay.....	54
4.14	ประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolites) ของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. 14 ไอโซเลท ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 221-R และ F 422-G) โดยวิธี Spore germination test.....	59
4.15	ประสิทธิภาพของ Culture filtrate ของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 221-R และ F 422-G) สาเหตุโรคเหี่ยวในผักสลัด โดยวิธี Root inoculation test.....	65
4.16	ประสิทธิภาพของเชื้อ <i>Trichoderma</i> spp. 6 ไอโซเลท ในการควบคุมโรครากเน่าและเหี่ยวที่มีสาเหตุจากเชื้อ <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 221-R และ F 422-G) ในผักสลัด Cos ที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหาร (solution culture).....	70
4.17	ความอยู่รอดของเชื้อ <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 221-R และ F 422-G) ในสารละลายธาตุอาหาร ที่ใช้ปลูกผักสลัด Cos ซึ่งมีการใส่เชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. (T 223-B, T 224-G, T 415-1, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3) ในระดับความเข้มข้น $10^8$ spore/ml (ตรวจสอบเมื่อพืชอายุ 24, 31, 38 และ 45 วัน).....	73
4.18	การเจริญเติบโตของผักสลัด Cos ในการควบคุมเชื้อ <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 221-R) สาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัด โดยเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. ในสารละลายธาตุอาหาร (solution culture) ที่อายุ 45 วัน.....	75
4.19	การเจริญเติบโตของผักสลัด Cos ในการควบคุมเชื้อ <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 422-G) สาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัด โดยเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. ในสารละลายธาตุอาหาร (solution culture) ที่อายุ 45 วัน.....	76

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า	
4.1	ลักษณะอาการของโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัดสายพันธุ์ Red oak ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> ไอโซเลท F 221-R A : อาการโคนเน่าและรากเน่าที่เกิดโรคบริเวณราก B : เมื่อผ่าส่วนโคนลำต้นจะพบแผลสีน้ำตาล C : ไม้เดือนฝอย <i>Pratylenchus</i> sp. D : โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน E : macroconidia (E1), microconidia (E2) และ F : chlamydospore ที่กำลังขยาย 400 เท่า.....	21
4.2	แสดงการเจริญเติบโตของพืช 6 ชนิด ที่อายุ 45 วัน ซึ่งปลูกในสารละลายธาตุอาหารพืชที่ผสม spore suspension ของเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> (F 221-B) (ภาพ ก = คื่นช่าย, ข = Red oak, ค = Butter head, ง = Cos, จ = Green oak และ ฉ = ถั่วเขียว ; 1 = control, 2 = $10^4$ spore/ml, 3 = $10^6$ spore/ml และ 4 = $10^8$ spore/ml).....	27
4.3	การเจริญของเชื้อรา F 221-B และ F 422-G บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Czapek dox agar (CZA), Sabouraud dextrose agar (SDA), Oat meal agar (OA), Potato dextrose agar (PDA), Cornmeal agar (CMA) และ Carrot agar (CA).....	32
4.4	ประสิทธิภาพของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. 14 ไอโซเลท ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 221-R) โดยวิธี Bi – culture antagonistic test (3, 5 และ 9 วันหลังการปลูกเชื้อ).....	37
4.5	ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. 8 ไอโซเลท ที่ยึดเกาะและแทงผ่านเข้าไปดูดอกอาหารในเส้นใยของเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 221-R) ที่กำลังขยาย 400 เท่า.....	38
4.6	ประสิทธิภาพของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. 14 ไอโซเลท ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F422-G) โดยวิธี Bi – culture antagonistic test (3, 5 และ 9 วันหลังการปลูกเชื้อ).....	39
4.7	ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. 9 ไอโซเลท ที่ยึดเกาะและแทงผ่านเข้าไปดูดอกอาหารในเส้นใยของเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 422-G) ที่กำลังขยาย 400 เท่า.....	40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.8	ประสิทธิภาพของสารระเหย (volatile metabolites) เชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. 14 ไอโซเลท ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 221-R) ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยวิธี Volatile metabolites test..... 44
4.9	ประสิทธิภาพของสารระเหย (volatile metabolites) เชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. 14 ไอโซเลท ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 422-G) ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยวิธี Volatile metabolites test..... 45
4.10	การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ <i>Trichoderma</i> spp 5 ไอโซเลท ที่เป็นตัวแทนของทั้ง 3 กลไกการยับยั้ง ในการควบคุมความรุนแรงของโรคบนใบผักสลัดที่มีสาเหตุจากเชื้อราสาเหตุโรค 5 ชนิด โดยวิธี Leaf test (9 วันหลังปลูกเชื้อ)..... 48
4.11	ประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolites) ของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. 14 ไอโซเลท ต่อการยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> สายพันธุ์ (F 221-R) โดยวิธี Cellophane membrane test (5 วันหลังจากปลูกเชื้อ)..... 51
4.12	ประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolites) ของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. 14 ไอโซเลท ต่อการยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> สายพันธุ์ (F 422-G) โดยวิธี Cellophane membrane test (5 วันหลังจากปลูกเชื้อ)..... 52
4.13	ประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolites) ของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. 9 ไอโซเลท ต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 221-R) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยวิธี Agar well assay ในอัตราความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ (3 วันหลังจากปลูกเชื้อ)..... 56
4.14	ประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolites) ของเชื้อรา <i>Trichoderma</i> spp. 9 ไอโซเลท ต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 422-G) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยวิธี Agar well assay ที่อัตราความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ (3 วันหลังจากปลูกเชื้อ)..... 57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.15	ลักษณะการงอกและความผิดปกติของ macroconidia ของเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 221-R) 5 ระดับความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ของ <i>Trichoderma</i> spp. 4 ไอโซเลท (T 224-G, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3) โดยวิธี Spore germination test ที่เวลา 48 ชั่วโมง.....	61
4.16	ลักษณะการงอกและความผิดปกติของ macroconidia ของเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 422-G) 5 ระดับความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ของ <i>Trichoderma</i> spp. 4 ไอโซเลท (T 224-G, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3) โดยวิธี Spore germination test ที่เวลา 48 ชั่วโมง.....	62
4.17	ลักษณะต้นและรากของผักสลัด Cos ที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่ใส่ Culture filtrate และไม่ใส่ Culture filtrate ของเชื้อ <i>Trichoderma</i> spp. 8 ไอโซเลท (T 124-1, T 223-B, T 224-G, T 415-1, T 424-C, T 515-1, T 515-2, T 515-3) ที่ระดับความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ และปลูกเชื้อ <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 221-R) โดยวิธี Root inoculation test (9 วันหลังปลูกเชื้อ).....	66
4.18	ลักษณะต้นและรากของผักสลัด Cos ที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่ใส่ Culture filtrate และไม่ใส่ Culture filtrate ของเชื้อ <i>Trichoderma</i> spp. 8 ไอโซเลท (T 124-1, T 223-B, T 224-G, T 415-1, T 424-C, T 515-1, T 515-2, T 515-3) ที่ระดับความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ และปลูกเชื้อ <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 422-G) โดยวิธี Root inoculation test (9 วันหลังปลูกเชื้อ).....	66
4.19	ลักษณะอาการรากของผักสลัด Cos ที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่ไม่ใส่เชื้อ และใส่เชื้อ <i>Trichoderma</i> spp. 6 ไอโซเลท (T 223-B, T 224-G, T 415-1, T 515-1, T 515-2, T 515-3) ที่ระดับความเข้มข้น ( $10^8$ spore/ml) ในสารละลายธาตุอาหาร (solution culture) และปลูกเชื้อสาเหตุโรค <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> F 221-R) ที่ 7, 14, 21 และ 28 วัน.....	71
4.20	ลักษณะอาการรากของผักสลัด Cos ที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่ไม่ใส่เชื้อ และใส่เชื้อ <i>Trichoderma</i> spp. 6 ไอโซเลท (T 223-B, T 224-G, T 415-1, T 515-1, T 515-2, T 515-3) ที่ระดับความเข้มข้น ( $10^8$ spore/ml) ในสารละลายธาตุอาหาร (solution culture) และปลูกเชื้อสาเหตุโรค <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 422-G) ที่ 7, 14, 21 และ 28 วัน.....	72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ภายในเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตจากสถาบัน

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.21	กราฟแสดงอุณหภูมิในโรงเรือนและในน้ำสารละลายธาตุอาหารของผักสลัด Cos ที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหาร (solution culture) ที่พืชอายุ 24, 31, 38 และ 45 วัน.....	73
4.22	ลักษณะต้นและรากของผักสลัด Cos ที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่ไม่ใส่เชื้อและใส่เชื้อ <i>Trichoderma</i> spp.6 ไอโซเลท (T 223-B, T 224-G, T 415-1, T 515-1, T 515-2, T 515-3) ที่ระดับความเข้มข้น ( $10^8$ spore/ml) และปลูกเชื้อ <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 221-R) ที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหาร (solution culture) ที่วันเก็บเกี่ยวผลผลิต (พืชอายุ 45 วัน).....	77
4.23	ลักษณะต้นและรากของผักสลัด Cos ที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่ไม่ใส่เชื้อและใส่เชื้อ <i>Trichoderma</i> spp.6 ไอโซเลท (T 223-B, T 224-G, T 415-1, T 515-1, T 515-2, T 515-3) ที่ระดับความเข้มข้น ( $10^8$ spore/ml) และปลูกเชื้อ <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 422-G) ที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหาร (solution culture) ที่วันเก็บเกี่ยวผลผลิต (พืชอายุ 45 วัน).....	77
1 ก	เชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> สาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัดที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหาร (solution culture).....	101
2 ก	เชื้อรา <i>Trichoderma harzianum</i> (T 124-1).....	102
3 ก	เชื้อรา <i>Trichoderma harzianum</i> (T 124-2).....	103
4 ก	เชื้อรา <i>Trichoderma harzianum</i> (T 223-B).....	104
5 ก	เชื้อรา <i>Trichoderma koningii</i> (T 224-B).....	105
6 ก	เชื้อรา <i>Trichoderma harzianum</i> (T 224-G).....	106
7 ก	เชื้อรา <i>Trichoderma koningii</i> (T 315-1).....	107
8 ก	เชื้อรา <i>Trichoderma harzianum</i> (T 324-B).....	108
9 ก	เชื้อรา <i>Trichoderma harzianum</i> (T 415-1).....	109
10 ก	เชื้อรา <i>Trichoderma harzianum</i> (T 415-2).....	110
11 ก	เชื้อรา <i>Trichoderma harzianum</i> (T 424-B).....	111
12 ก	เชื้อรา <i>Trichoderma harzianum</i> (T 424-C).....	112
13 ก	เชื้อรา <i>Trichoderma harzianum</i> (T 515-1).....	113

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
14 ก	เชื้อรา <i>Trichoderma harzianum</i> (T 515-2).....	114
15 ก	เชื้อรา <i>Trichoderma harzianum</i> (T 515-3).....	115



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มา

การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินเป็นแนวทางหนึ่งในการเพิ่มความมั่นคงทางอาหารให้กับประชาชน ภายใต้สภาวะภัยพิบัติทางธรรมชาติ เพราะการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินนี้ไม่จำเป็นต้องใช้พื้นที่มากในการเพาะปลูก อีกทั้งเป็นการใช้น้ำอย่างมีประสิทธิภาพ ให้ผลผลิตต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่สูงกว่าการปลูกพืชในดิน รวมทั้งยังหลีกเลี่ยงปัญหาด้านโรคที่ติดมากับดิน (soilborne disease) ได้ (พรหมมาศ, 2548) แต่อย่างไรก็ตามการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินก็ยังมีประสบปัญหาด้านโรคได้ ถ้ามีการปนเปื้อนของเชื้อโรคเข้ามาในระบบปลูก โดยเฉพาะโรคโคนเน่าและรากเน่าที่เกิดกับผักสลัด ซึ่งเคยมีการรายงานมาแล้วว่ามีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Pythium* spp. (Jaenaksorn *et al.*, 2010) ซึ่งอาการของโรคจะพบในระยะต้นกล้าโดยใบส่วนล่างเหลือง ต้นแคระแกรน รากเน่า และตายในที่สุด แต่จากการสำรวจโรคในช่วงปี พ.ศ. 2554-2555 ของผักสลัดที่ปลูกในระบบ Nutrient Film Technique (NFT) และจากตัวอย่างผักสลัดที่เป็นโรคที่เกษตรกรส่งเข้ามาตรวจ พบว่ามีอาการโรคที่คล้ายคลึงกับการเข้าทำลายของเชื้อรา *Pythium* spp. แต่สามารถทำให้เกิดโรคกับต้นกล้าไปจนถึงต้นโตได้ โดยพบแผลเกิดขึ้นบริเวณภายในลำต้น อาการโรครดดังกล่าวนี้มีการระบาดอย่างกว้างขวางในฟาร์มไฮโดรโปนิคส์ในเขตจังหวัดสมุทรปราการ และจังหวัดชลบุรี สำหรับในต่างประเทศได้มีรายงานถึงอาการโรครดดังกล่าวที่เกิดกับผักสลัดที่ปลูกในดิน ว่ามีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucaae* (McCreight *et al.*, 2005; Garibarian *et al.*, 2004; Matheron and Koike, 2003) ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสังเกตว่าเชื่อดังกล่าวจะสามารถเข้าทำลายพืชในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินชนิด NFT ได้จริงหรือไม่ ยิ่งไปกว่านั้นเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lactucaae* อยู่ใน Class Deuteromycetes ซึ่งไม่สามารถที่จะอาศัยอยู่ในน้ำได้ดีเหมือนกับเชื้อรา *Pythium* spp. ใน Class Oomycetes (Agrios, 2005) ที่สามารถอาศัยอยู่ในน้ำได้ดีดังที่ได้เคยมีการรายงานมาก่อนหน้านี้ (Jaenaksorn *et al.*, 2010) ดังนั้นการศึกษาในส่วนแรกของวิทยานิพนธ์นี้จึงมุ่งเน้นวินิจฉัยเพื่อหาสาเหตุที่แท้จริงของอาการโรคเหี่ยวและรากเน่าของผักสลัดในระบบ NFT โดยพิสูจน์ว่าเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucaae* เป็นสาเหตุจริงหรือไม่ ถ้าเป็นจริงก็จะเป็นการรายงานโรคนี้ครั้งแรกในระบบ NFT และทำการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคเหี่ยวและรากเน่ากับผักสลัดทั้ง 4 สายพันธุ์ เพื่อที่จะได้ใช้เป็นข้อมูลในการหาแนวทางในการควบคุมและป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวและรากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lactucaae* ได้อย่างถูกต้องต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในปัจจุบันนี้การใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* พบว่ามีข้อดีหรือข้อจำกัดหลายอย่าง โดยเฉพาะด้านความปลอดภัยต่อสุขภาพของผู้บริโภค รวมทั้งพืชตกค้างในสภาพแวดล้อม ตัวอย่างเช่น carbendazim มีพืชตกค้างสูง ถ้าใช้ต่อเนื่องเป็นเวลานานจะทำให้เชื้อเกิดความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดเชื้อราดังกล่าวได้ (Song *et al.*, 2004) ดังนั้นจึงมีการคิดค้นวิธีการอื่นๆ เพื่อควบคุมโรคพืชดังกล่าว ได้แก่ การใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพืช เช่น การใช้ *Pseudomonas putida* สายพันธุ์ PCL 1760 เพื่อควบคุมโรคผลเน่าและรากเน่าของมะเขือเทศ พบว่า สามารถลดปริมาณเชื้อ *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (Fol) ได้ (Shamil *et al.*, 2009) นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้เชื้อราที่มีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth promoting fungus, PGPF) และชักนำให้พืชเกิดความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคพืช (Induction of resistance in plant) ตัวอย่างเช่น การใช้เชื้อรา *Fusarium equiseti* GF 191 ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อ *F. oxysporum* อีกทั้งยังส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ (Horinouchi *et al.*, 2011) จากการศึกษาเบื้องต้นของ ธิติและคณะ (2556) ได้นำเชื้อ *F. oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B มาช่วยส่งเสริมในด้านการเจริญเติบโตของพืช 6 ชนิดก็ให้ผลในทิศทางเดียวกัน สำหรับเชื้อราปฏิปักษ์อีกชนิดหนึ่งที่ได้รับการยอมรับอย่างแพร่หลาย คือ เชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการนำมาใช้ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชในดิน (Vinale *et al.*, 2008)

ดังนั้นงานวิจัยในส่วนที่ถัดมานี้จะนำเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้จากจากระบบไฮโดรโปนิคส์มาศึกษาในสภาพห้องปฏิบัติการและในระบบปลูก ถึงศักยภาพในการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* สาเหตุโรคเหี่ยวของผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์

## 1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

- 1.2.1 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่มีต่อการเจริญของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* ในสภาพห้องปฏิบัติการ
- 1.2.2 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* สาเหตุโรคเหี่ยวและรากเน่าของผักสลัดในระบบไฮโดรโปนิคส์

### 1.3 ผลคาดว่าจะได้รับ

- 1.3.1 ทราบถึงศักยภาพและคุณสมบัติของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ท้องถิ่น (indigenous) ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* ในสภาพห้องปฏิบัติการ
- 1.3.2 ทราบถึงศักยภาพในการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ท้องถิ่น (indigenous) ในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* สาเหตุโรคเหี่ยวและรากเน่าของผักสลัดในระบบไฮโดรโปนิกส์
- 1.3.3 แนวทางในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ ที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและสภาพแวดล้อม



## บทที่ 2

# งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 เชื้อรา *Fusarium* spp.

#### 2.1.1 การจัดจำแนกกลุ่มของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* (Agrios, 2005)

เชื้อรา *F. oxysporum* จัดอยู่ใน

Kingdom Fungi

Division Eumycota

Class Deuteromycetes

Order Moniliales

การจัดจำแนกเชื้อรา *Fusarium* spp. โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าโคโลนีของเชื้อรา *F. oxysporum* มีหลายสี พบตั้งแต่สีซีดขาว เหลือง ชมพู จนถึงม่วง และเจริญได้ดีในอาหารที่มี pH ระหว่าง 6.5 – 7.0 ตามปกติเชื้อราจะสร้าง microconidia จำนวนมาก ซึ่ง microconidia มี 1 เซลล์ หรือ 2 เซลล์ รูปร่างต่างกันไปตั้งแต่รูปกลมจนถึงรูปไข่หรือรูปโค้งและมีขนาดตั้งแต่ 5-12 × 2.5-3.5 ไมโครเมตร (Burgess *et al.*, 1994) conidia จะสร้าง phialides ซึ่งเจริญจากด้านข้างของเส้นใย หรือจาก phialides ที่เจริญมาจาก conidiophores สั้น ๆ ซึ่งแตกแขนงจากเส้นใย macroconidia จนกระทั่งเจริญเต็มที่ พบว่ามี 3-5 septa รูปร่างส่วนใหญ่จะโค้งปลายเรียวยาวส่วนน้อยจะยาวตรงและมีขนาดต่างกันไป ขนาดของ macroconidia ที่พบตั้งแต่ 3 septa มีขนาด 27-46 × 3.5 ไมโครเมตร 4 septa มีขนาด 35-60 × 3.5 ไมโครเมตร และ 6-7 septa มีขนาด 50-66 × 3.5-5 ไมโครเมตร macroconidia ที่พบมากที่สุดได้แก่ ขนาด 27-46 × 3.5 ไมโครเมตร 3 septa (Correll, 1991) การสร้าง chlamydospore จะสร้างจากส่วนปลายสุดหรือระหว่างกลางของเส้นใย อาจจะอยู่เดี่ยวหรือต่อกันเป็นสายมีสีใส ผนังเรียบหรือขรุขระ (Booth, 1971)

#### 2.1.2 ลักษณะอาการโรคเหี่ยว

อาการจะแสดงที่ใบล่างก่อน ใบล่างจะเกิดอาการเหี่ยว อาจจะแสดงอาการเพียงด้านใด ด้านหนึ่งของต้น เนื่องจากเชื้อราเข้าทำลายรากพืชเฉพาะซีกเดียวของต้นก่อน เมื่อรากถูกทำลายทั้งหมดต้นก็จะเหี่ยวตาม (Agrios, 2005) สาเหตุของการเหี่ยวเกิดเนื่องจากการเคลื่อนที่ของน้ำและธาตุอาหารในลำต้นไม่สะดวกหรือหยุดชะงักลง โดยเมื่อเชื้อนี้เข้าไปอยู่ในท่ออาหารแล้วจะสร้างเอนไซม์พวก pectic methyl-esterase (PME) และ depolymerase (DP) enzyme ทั้งสองชนิดนี้จะทำลาย pectic substance ที่อยู่ในผนังเซลล์แล้วจะเข้าไปในชั้น parenchyma ของ xylem แล้วจะเกิดเป็น colloidal mass อุดอยู่ที่ขั้วยังทำให้อัตราการคายน้ำ (transpiration) ของพืชลดลงด้วยในระยะนี้จะเกิดอาการเหี่ยวขั้นแรก ต่อไปเชื้อราจะสร้างสาร lycoperasmin และ fusaric acid ขึ้น ทำให้เกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนำไปใช้ประโยชน์อื่นใดโดยไม่ได้รับอนุญาต

ไม่ว่าการณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาการเหี่ยวตลอด (permanent wilting) (เส็นท์ และอุดม, 2547) และจะเริ่มวงจรชีวิตของเชื้อเมื่อพืชเจริญเติบโตในดินที่มีเชื้อปนเปื้อนอยู่ conidia ของเชื้อจะสร้าง germ tube และเส้นใยจะงอกแทงผ่านปลายราก โดยตรงหรือผ่านทางบาดแผล เส้นใยจะเจริญผ่าน cortex ของรากไปยังช่องว่างระหว่างเซลล์ และเมื่อเจริญมาถึงท่อลำเลียงก็จะแผ่ขยายไปถึง ลำต้น ยอด ของพืชในขณะที่อยู่ในท่อลำเลียง เส้นใยจะมีการแตกแขนงและสร้าง microconidia ซึ่งจะถูกลดปล่อยและแพร่กระจายไปยังท่อลำเลียงของพืช เส้นใยจะแทงผ่านไปเซลล์ ที่อยู่ติดกันและจะผลิต microconidia ต่อไป

### 2.1.3 ลักษณะการเข้าทำลายของเชื้อรา *Fusarium* spp.

เชื้อรา *Fusarium* spp. จะงอก germ tube ของสปอร์หรือเส้นใยเข้าไปในรากพืชผ่านทางปลายราก (root tip) หรือทางบาดแผล จากนั้นเชื้อราจะสร้างเอนไซม์สำหรับสลายผนังเซลล์ของพืช ซึ่งเป็นขั้นตอนสำคัญของการแพร่กระจายของเชื้อรารายในพืช ตัวอย่างของเอนไซม์ที่เชื้อรา *F. oxysporum* สร้างขึ้นได้แก่ pectate lyase (PL) และ poly-galacturonase (PG) ซึ่งสามารถสลายโครงสร้างของ pectin และ homogalac ที่เป็นองค์ประกอบสำคัญของผนังเซลล์พืชตามลำดับ นอกจากนี้ยังสร้างเอนไซม์ endoxylanase ในการสลายพอลิเมอร์ของ xylem ที่อยู่ในโครงสร้างของ hemicelluloses อันเป็นองค์ประกอบหลักอีกชนิดหนึ่งของผนังเซลล์พืช (Nelson *et al.*, 1983)

เมื่อเชื้อราผ่านผนังเซลล์เข้าไปในเซลล์พืชแล้ว เส้นใยเชื้อราจะเจริญเติบโตโดยแตกกิ่งก้านสาขาและสปอร์แบบไม่อาศัยเพศที่เรียกว่า conidia ขึ้นภายในเซลล์พืช ซึ่งสามารถแพร่กระจายจากเซลล์สู่เซลล์โดยการสร้างเอนไซม์ขึ้นย่อยผนังเซลล์และเมื่อเส้นใยเจริญไปถึงท่อลำเลียงน้ำและอาหาร สปอร์ที่เส้นใยสร้างขึ้นสู่ด้านบนของลำต้น โดยอาศัยการไหลของน้ำและสารอาหาร (sap stream) ทำให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อรากลางขึ้นบน เมื่อมีการสร้างเส้นใยและสปอร์มากขึ้นจะส่งผลให้เกิดการอุดตันของท่อลำเลียงน้ำทำให้สารอาหารไม่สามารถส่งผ่านไปยังส่วนต่างๆ ของพืชเกิดการขาดน้ำได้และจะเหนียวน้ำให้เกิดการปิดของปากใบ (stomata) ทำให้ใบเหี่ยวและเหลือง นอกจากนี้การขาดสารอาหารภายในพืชเนื่องจากการอุดตันของท่อลำเลียงอาหาร จะส่งผลให้พืชเจริญเติบโตช้าและแคระแกร็นด้วย (Agrios, 2005)

เมื่อเส้นใยและสปอร์ของเชื้อราสามารถแทงทะลุออกมาสู่ผิวนอกของพืชอาศัย จะมีการปลดปล่อยสปอร์ 3 ชนิดออกมาสู่สภาพแวดล้อมภายนอก เส้นใยบางส่วนและ chlamydospore ซึ่งเป็นสปอร์ที่ทนต่อสภาพแวดล้อมจะยังคงเหลือรอดอยู่ในพืชที่ตายแล้วและสามารถอาศัยอยู่ในดินแม้ไม่มีพืชอาศัย เมื่อถึงฤดูเพาะปลูกอีกครั้งและมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม chlamydospore จะสร้าง germ tube เข้าไปในรากพืชเกิดสร้างเส้นใยและสปอร์ภายในพืชจนนำไปสู่การเกิดโรคเหี่ยว *Fusarium* spp. อีกครั้ง (Kidane, 2008)

## 2.2 การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคพืช

### 2.2.1 การใช้เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* spp. ในการควบคุมโรคพืช

Molina *et al.* (2000) ได้ศึกษาการเข้าครอบครองรากข้าวโพด และถั่วเหลือง โดยเชื้อ *Pseudomonas putida* KT 2440 ในสภาพโรงเรือน เมื่อใส่เชื้อ *Pseudomonas putida* KT 2440 ลงไปในดินที่ปลูกข้าวโพดและถั่วเหลือง พบว่าประชากรแบคทีเรียมีความสามารถในการอยู่รอดสูงในบริเวณ rhizosphere และเมื่อพิจารณาถึงวัสดุปลูก 2 ชนิดคือ ดินบริเวณรากพืชและดินนอกเขตรากพืช พบว่าเชื้อ *Pseudomonas putida* KT 2440 ที่เติมลงในดินบริเวณเขตรากพืชมีความหนาแน่นมากกว่าดินนอกเขตรากพืช และ Raja *et al.* (2002) ได้ศึกษาโดยทำการแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชบริเวณรากพืชและใบ โดยทำการศึกษาภายในห้องปฏิบัติการและในแปลงทดลอง พบว่าความเข้มข้นของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บริเวณเขตรากพืชและใบ มีผลต่อเชื้อสาเหตุโรคพืช

Khan *et al.* (2003) ทำการทดสอบประสิทธิภาพของ *Pseudomonas chlororaphis* สายพันธุ์ Tx-1 โดยจะใส่แบคทีเรียปริมาณ  $2 \times 10^3$  -  $1.2 \times 10^5$  cfu/ml ลงในสารละลายธาตุอาหาร 3 วัน หลังจากทำการปลูกเชื้อ *P. aphanidermatum* สาเหตุโรครากเน่าในพริกหวานในระบบปลูกไม่ใช้ดินในสภาพโรงเรือน พบว่าเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวทำให้พริกหวานไม่แสดงอาการโรครากเน่าสีน้ำตาลนอกจากนี้ *Pseudomonas chlororaphis* ยังช่วยลดความเสียหายที่เกิดจากเชื้อโรคอีกด้วย และยังพบว่าเชื้อยังสามารถครอบครองรากได้เท่ากับ 0.70-0.78 log cfu/g โดยจะส่งผลให้ zoospore ไม่สามารถเข้าทำลายพืชได้นอกจากนี้ยังช่วยลดความเสียหายที่เกิดจากเชื้อโรค 18-48 เปอร์เซ็นต์ สำหรับเดือนมกราคม 50-73 เปอร์เซ็นต์สำหรับเดือน กุมภาพันธ์ และ 62-77 เปอร์เซ็นต์ สำหรับเดือนมีนาคม

Koohakan *et al.* (2004) แสดงให้เห็นถึงความหนาแน่นประชากร และการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของประชากรของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ในระบบการผลิตมะเขือเทศแบบไม่ใช้ดิน พบว่า *Pseudomonas fluorescens* เป็นจุลินทรีย์ที่พบมากที่สุด รองลงมาคือ *Fusarium* spp. และ *Pythium* spp. โดยประชากรในแต่ละระบบปลูกจะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือระบบวัสดุปลูกที่ใช้ขี้เถ้าเป็นวัสดุปลูกพบเชื้อรา *Fusarium* spp. สูงที่สุด ส่วนวัสดุปลูกที่เป็น rock wool พบ *Pseudomonads* สูงที่สุด ระบบปลูกในสารละลาย เช่น ระบบ NFT และ DFT พบ *Pythium* spp. สูงที่สุด นอกจากนี้ในระบบปลูกแบบ DFT ยังพบ *Fusarium* spp. ในปริมาณสูง

Pagliaccia *et al.* (2007) พบว่าการใช้ *Pseudomonas fluorescens* ตั้งแต่ระยะเริ่มแรกของการปลูกพืชโดยในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน จะสามารถลดความรุนแรงของโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* spp. และ *Phytophthora* spp. ได้ อาจเนื่องมาจากการที่ *Pseudomonas fluorescens* สามารถเจริญครอบครองรากได้ในส่วนของ rhizoplane อีกทั้งยังสามารถสร้างสารพวก

siderophores ในการแข่งขันกับเชื้อสาเหตุโรค และประสิทธิภาพในการควบคุมจะดีขึ้นเมื่อมีการเติมสารจำพวก nitrapyrin ลงไป ทั้งยังสามารถยับยั้งการเข้าไปติดเชื้อของ zoospore ได้อีกด้วย

Kidane (2008) ได้รายงานการใช้เชื้อรา *Fusarium oxysporum* ที่ไม่ก่อให้เกิดโรค (Non-pathogenic *F. oxysporum*) และ การใช้เชื้อ *Pseudomonas fluorescens* มาควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดกับกล้วย ซึ่งมี *F. oxysporum* f. sp. *cubense* เป็นเชื้อสาเหตุ พบว่าเชื้อ *Ps. fluorescens* และ Non-pathogenic *F. oxysporum* มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* ได้

Sundaramoorthy *et al.*, (2011) ศึกษาถึงการใช้เชื้อไรโซแบคทีเรียที่เป็นปรสิตรกับเชื้อโรคเหี่ยว ร่วมกับโดยใช้แบคทีเรีย *Ps. fluorescens* สายพันธุ์ Pf1 และ *B. subtilis* สายพันธุ์ EPC 016 และ EPC 5 พบว่ามีประสิทธิภาพดี โดยแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถลดปริมาณการเกิดโรคเหี่ยวของพริกที่เกิดจากเชื้อ *F. solani* ได้

### 2.2.2 การใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรคพืช

พรหมมาศ และอิทธิสุนทร (2548) ใช้ผลิตภัณฑ์ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีที่ได้จากเชื้อรา *T. harzianum* และ *B. subtilis* อัตรา  $10^3$ - $10^6$  cfu/ml ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pythium myriotylum* สาเหตุโรครากเน่าของผักสลัดในสภาพ *in vitro* พบว่าทุกผลิตภัณฑ์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. myriotylum* ได้ โดยผลิตภัณฑ์ของเชื้อรา *T. harzianum* 3 ชนิด ชนิดที่ 1 อยู่ในรูปของสปอร์แขวนลอย (spore suspension) ชนิดที่ 2 และ 3 อยู่ในรูปสูตรผงละลายน้ำ (formulated powder) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. myriotylum* ได้ 22-100, 77-100 และ 100 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนผลิตภัณฑ์ของ *B. subtilis* สามารถยับยั้งการเจริญของ *P. myriotylum* ได้ 56-90 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้การใช้แบคทีเรียบริเวณเขตรอบรากพืชที่แยกได้จำนวน 16 ไอโซเลท ในอัตรา  $10^6$  cfu/ml ก็สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. myriotylum* ในสภาพ *in vitro* ได้ตั้งแต่ 38-96 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียบริเวณเขตรอบรากพืชที่แยกได้จากระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน อาจเป็นจุลินทรีย์อีกกลุ่มหนึ่งที่มีประสิทธิภาพและศักยภาพในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดที่ปลูกในระบบการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินได้

Viswanathan and Samiyappan (2002) รายงานถึงการใช้เชื้อไรโซแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ E7-17 มายับยั้งเชื้อ *Colletotrichum falcatum* สาเหตุโรคเหี่ยวเน่าแดงของอ้อยพันธุ์ K 93-236 ในสภาพโรงเรือนได้ และยังสามารถกระตุ้นการเจริญของพืชได้

Nourozian *et al.* (2006) ได้มีการทดสอบการใช้เชื้อ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ 53 และ 71 *Ps. fluorescens* สายพันธุ์ 32 และ *Streptomyces* สายพันธุ์ 3 มาควบคุมโรค Fusarium Head Blight (FHB) โดยมีเชื้อสาเหตุคือ *F. graminearum* โดยแบคทีเรีย ทั้ง 3 ชนิดแสดงเปอร์เซ็นต์ในการยับยั้ง

การเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุได้ แต่ใน *Streptomyces* สายพันธุ์ 3 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. graminearum* ได้ถึง 97 เปอร์เซ็นต์

Akila *et al.* (2011) รายงานการใช้สารสกัดที่ได้จากพืชร่วมกับเชื้อ *Ps. fluorescens* สายพันธุ์ Pfl และ *B. subtilis* สายพันธุ์ TRC54 เพื่อใช้ในการควบคุมโรคเหี่ยวของกล้วยที่เกิดจากเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *cubense* พบว่าเมื่อนำมาทดสอบในสภาพโรงเรือนและในแปลงปลูก การใช้สารสกัดจากพืชร่วมกับ *Ps. fluorescens* และ *B. subtilis* มีประสิทธิภาพได้ถึง 64 และ 75 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

### 2.2.3 การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรคพืช

แพรทอง และ จิระเดช (2549) ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. harzianum* (CB-Pin-01) ชนิดสดในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมพันธุ์กรีน คอส (green cos) ที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ในระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ NFT พบว่าการคลุกเมล็ดด้วยเชื้อรา *T. harzianum* (CB-Pin-01) มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมได้ดี ช่วยให้ผักกาดหอมมีการเจริญเติบโตดี

จิตติกร และ ถนิมนันต์ (2550) ศึกษาสารชีวภัณฑ์ในการป้องกันกำจัดโรคในระบบไฮโดรโปนิกส์ โดยเลือก ผลิตภัณฑ์มา 2 ชนิด 1. เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* 2. เชื้อรา *T. harzianum* เปรียบเทียบกับ *Trichoderma* sp. ที่แยกได้จากดินเกษตรกรรม พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ทุกชนิดที่แยกได้มีความสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ในสภาพห้องปฏิบัติการได้ ส่วนในด้านของผลผลิต จะเห็นได้ว่าเชื้อ *T. harzianum* และ *Trichoderma* sp. ส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดขาววางตุ้งฮ่องเต้ ในขณะที่เดียวกันเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่เป็นเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* ไม่มีผลต่อการเจริญของผักกาดขาววางตุ้งฮ่องเต้

Yedidia *et al.* (2001) พบว่าเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* สามารถเข้าไปอาศัยในรากพืชได้โดยไม่ทำความเสียหายแก่รากพืช อีกทั้งยังพบว่าพืชที่ได้รับเชื้อ *T. harzianum* จะมีกิจกรรมของเอนไซม์ peroxidase และ chitinase สูงเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจกล่าวได้ว่า *T. harzianum* อาจจะสามารถชักนำให้พืชเกิดความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคพืชได้

Howell (2003) รายงานว่าเชื้อรา *T. harzianum* สามารถชักนำให้พืชสร้าง fungitoxin และมี chitinase และ callose เพิ่มมากขึ้นในชั้นผิวด้านในของผนังเซลล์ ทำให้พืชมีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคได้มากขึ้น ส่วน Intana (2003) พบว่าสารกรองของเชื้อรา *T. harzianum* สามารถกระตุ้นให้ต้นแดงงามีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *Pythium irregulare* ได้

Harman *et al.* (2004) รายงานว่า *T. harzianum* T-39 สามารถชักนำให้ถั่วเกิดการต้านทานต่อเชื้อ *Botrytis cinerea* และ *Colletotrichum lindemuthianum* ได้ นอกจากนี้ถั่วแล้วยังพบว่าเชื้อรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*T. harzianum* สามารถชักนำความต้านทานได้ทั้งพืชใบเลี้ยงคู่และใบเลี้ยงเดี่ยว (Bigirimana *et al.*, 1997; Harman *et al.*, 2004) เชื้อรา *Trichoderma* spp. มีคุณสมบัติและศักยภาพการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์สูง สามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ใน 3 ลักษณะคือ การแข่งขันด้านปัจจัยในการดำรงชีวิตกับเชื้อราสาเหตุโรคพืช (competition) การเป็นปรสิต (parasitism) และการสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiosis) ดังพอสรุปงานวิจัยได้ดังนี้

กลไกการแข่งขัน (competition) เชื้อรา *T. harzianum* เป็นเชื้อราที่เจริญเติบโตเร็ว และสร้างสปอร์ในปริมาณที่สูง Prasad *et al.* (2002) ได้นำ *T. harzianum* มาควบคุมโรคเหี่ยวของถั่วแระ (pigeon pea) ที่เกิดจากเชื้อรา *F. udum* โดยการคลุกเมล็ด พบว่า *T. harzianum* สามารถลดการเจริญของเชื้อสาเหตุในดินได้ การสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiosis) เชื้อรา *Trichoderma* sp. สร้างสารปฏิชีวนะที่เกิดจากกระบวนการเมตาบอลิซึม โดยสารนี้มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคพืชได้ Eveleigh (1985) รายงานว่าสารที่เชื้อรา *Trichoderma* sp. สร้างขึ้นมี 3 ชนิด ดังนี้ 1. Trichothecene มีฤทธิ์ในการขัดขวางกระบวนการทำงานของเอนไซม์ peptidyl transferase ในเชื้อสาเหตุโรคพืช 2. Cyclic peptides สารกลุ่มนี้จะมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยไปทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เซลล์จุลินทรีย์แตก และ 3. Isocyanide สารกลุ่มนี้จะเกิดขึ้นได้ในบางสภาวะแต่พบได้น้อย เชื้อรา *Trichoderma* sp. สามารถสร้างสารปฏิชีวนะที่แตกต่างกันได้กว่า 100 ชนิดซึ่งสารที่มีคุณสมบัติในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* สารที่พบจะอยู่ในกลุ่ม alkyl pyrone isonitriles polyketides (Harman, 2000; Howell, 2003) โดยสารปฏิชีวนะดังกล่าวสามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้หลายชนิด เช่น *Rhizoctonia solani* และ *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* นอกจากนี้ Intana (2003) รายงานว่า *T. harzianum* สามารถสร้างสาร pentyl pyrone และ oxazole ที่ต่อต้านการเจริญของเชื้อรา *Pythium* spp. และควบคุมโรครากเน่าระดับดินของแตงกวา ผัก ไม้ดอก และถั่วเหลือง เป็นต้น

การเป็นปรสิต (exploitation) เชื้อรา *T. harzianum* สามารถยับยั้งการเข้าทำลายเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้หลายชนิด Elad *et al.* (1983) ได้รายงานว่ *T. harzianum* พันธุ์เส้นใยเชื้อรา *S. rolfsii* พร้อมทั้งผลิตเอนไซม์ glucanase และ chitinase ออกมาย่อยสลายผนังของเส้นใย และผนังของเม็ด sclerotia ซึ่งเส้นใยของ *T. harzianum* จะเจริญเข้าไปในเส้นใยเชื้อรา *S. rolfsii* ได้โดยตรง โดยเส้นใยเชื้อรา *T. harzianum* แทะผ่านเนื้อเยื่อชั้น rind และ cortex และหลังจากนั้นก็สร้าง chlamydospore อยู่ภายใน และสร้าง conidia อยู่ภายนอกเม็ด sclerotia (Henis *et al.*, 1983)

Stinson *et al.* (2006) ได้รายงานว่เชื้อรา *Chaetomium globosum* สามารถเจริญบริเวณเปลือกหุ้มข้าวโพดหวาน และเมื่อนำเชื้อดังกล่าวมาควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* ที่เป็นเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้ในข้าวโพดหวานที่ระยะต้นกล้าในสภาพโรงเรือนทดลอง และสภาพแปลงปลูกทดลอง ภายใต้อุณหภูมิ 27-30 องศาเซลเซียส พบว่า *C. globosum* ส่งเสริมการงอกของเมล็ดข้าวโพดหวาน และลดการเกิดโรคใบไหม้ของข้าวโพดหวานได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Akrami *et al.* (2011) รายงานการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. 3 สายพันธุ์ คือ *T. harzianum* T1, *T. asperellum* T2 และ *T. virens* T3 โดยศึกษาประสิทธิภาพในการใช้เพียงตัวเดียวและการใช้ร่วมกันว่ามีผลในการยับยั้งโรครากเน่าของถั่วลิสง ซึ่งมีเชื้อ *F. oxysporum* เป็นเชื้อสาเหตุได้หรือไม่โดยทำการทดสอบในสภาพห้องปฏิบัติการและในสภาพไร่ พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 3 สายพันธุ์ มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่าดังกล่าวได้

Basak and Basak (2011) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. viride* และ *T. harzianum* เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของต้นประคู้ที่เกิดจากเชื้อรา *F. solani* f.sp. *dalbergiae* โดยวิธีการเลี้ยงเชื้อร่วมกัน (Bi-culture test) พบว่าเชื้อรา *T. viride* และ *T. harzianum* มีประสิทธิภาพในการเป็นปรสิตกับเส้นใยเชื้อรา *F. solani* โดยเข้าไปพันรัดเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืช และเมื่อทดสอบในแปลงปลูก พบว่าเชื้อรา *T. viride* และ *T. harzianum* มีประสิทธิภาพในการลดโรคเหี่ยวของต้นประคู้ที่เกิดจากเชื้อรา *F. solani* ได้

Singh and Kumar (2011) ได้ศึกษาถึงการใช้เชื้อ *T. harzianum* และ สารสกัดจากพืช เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของเบญจมาศซึ่งมีเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *chrysanthemi* (Foc) เป็นเชื้อสาเหตุ โดยนำสารสกัดจากพืช 8 ชนิดและ เชื้อ *T. harzianum* ทั้ง 7 สายพันธุ์มาทดลอง พบว่า *T. harzianum* มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้เทียบเท่ากับสารสกัดจากพืชได้ และเมื่อนำมาทดสอบร่วมกัน พบว่า มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของเบญจมาศได้ดีกว่าการใช้เพียงตัวเดียว

Mishra *et al.* (2011) ได้ทำการค้นหาสายพันธุ์ *Trichoderma viride* สายพันธุ์ Tr 8 ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชดังนี้ *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Macrophomina phaseolina*, *Alternaria alternate*, *Fusarium solani* และ *colletotrichum capsici* เป็นเชื้อโรคที่เกิดกับถั่วเขียว โดยทำการทดสอบร่วมกันพบว่า เชื้อรา *T. viride* สายพันธุ์ Tr 8 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรครากเน่าข้างต้นได้ถึง 70.0, 68.2, 70.0, 73.3, 69.3 และ 70.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ หลังจากนั้นนำ culture filtrate ของเชื้อ *Trichoderma viride* สายพันธุ์ Tr 8 มาทดสอบ พบว่าในความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อโรคพืชได้ 3 ชนิด คือ *S. rolfsii*, *M. phaseolina* และ *C. capsici* ส่วนในความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคได้ทั้ง 6 ชนิด

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินงานวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ จะมีขั้นตอนการศึกษาดังต่อไปนี้

- 3.1 การเตรียมเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* และเชื้อรา *Trichoderma* spp.
- 3.2 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรครากเน่าและเหี่ยวในผักสลัด (Pathogenicity test)
- 3.3 การศึกษาพิเศษ เกี่ยวกับเรื่อง ประสิทธิภาพของเชื้อ *Fusarium oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B ต่อการเจริญเติบโตของพืช
- 3.4 การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ต่อการเจริญของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* ในสภาพห้องปฏิบัติการ (*In vitro*)
  - 3.4.1 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัด *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* โดยวิธีเลี้ยงเชื้อในอาหารร่วมกัน (Bi-culture antagonistic test)
  - 3.4.2 การศึกษาประสิทธิภาพของสารระเหย Volatile extracellular metabolite ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. โดยวิธี Volatile extracellular metabolite test
  - 3.4.3 การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคของผักสลัด โดยวิธี Leaf test
  - 3.4.4 การทดสอบประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolites) ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R และ F 422-G) โดยวิธี Cellophane membrane test
  - 3.4.5 การทดสอบประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolites) ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R และ F 422-G) โดยวิธี Agar well diffusion assay
  - 3.4.6 การทดสอบประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolites) ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R และ F 422-G) โดยวิธี Spore germination test
  - 3.4.7 การทดสอบประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolite) ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R และ F 422-G) สาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวในผักสลัด โดยวิธี Root inoculation test
- 3.5 การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดกับผักสลัด

ในระบบไฮโดร โพนิกส์ (*In vivo*)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.1 การเตรียมเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* และ เชื้อรา *Trichoderma* spp.

#### 3.1.1 การแยกเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* สาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวของ ผักสลัด 4 สายพันธุ์

นำผักสลัดที่แสดงอาการโรค ที่ได้มาจากการสำรวจและจากที่เกษตรกรส่งเข้ามาตรวจจาก ฟาร์มไฮโดรโพนิกส์ อ.บางพลี จ.สมุทรปราการ และ อ.ศรีราชา จ.ชลบุรี มาศึกษาลักษณะอาการโรคโดยละเอียดในห้องปฏิบัติการ และทำการแยกเชื้อสาเหตุโรคจากส่วนต่างๆของผักสลัดที่แสดงอาการโรค ได้แก่ ใบ ราก และ ลำต้น โดยวิธี Tissue transplanting technique บนอาหาร Water agar (WA) จากนั้นย้ายเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้มาเลี้ยงต่อลงในอาหาร Potato dextrose agar (PDA) และย้ายลง PDA slant เก็บไว้ใช้เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphology) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์รวมทั้งจัดจำแนกเชื้อราสาเหตุโรค (Identification)

#### 3.1.2 การแยกเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp.

แยกเชื้อ *Trichoderma* spp. จากตัวอย่างพืชและสารละลายธาตุอาหารพืชตามฟาร์มปลูกพืชไฮโดรโพนิกส์ นำมาแยกโดยวิธีการ Tissue transplanting technique และ Dilution plate โดยดูดสารละลายธาตุอาหารพืช 1 มิลลิลิตร ใส่ในน้ำ 9 มิลลิลิตร ทำการเจือจางให้ได้ระดับความเข้มข้น  $10^{-2}$  และ  $10^{-3}$  หลังจากนั้นดูดสารแขวนลอยที่ได้ 1 มิลลิลิตรไป spread ลงบนอาหาร *Trichoderma* selective media (TSM) บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน หลังจากนั้นสังเกตการเจริญของเชื้อราและคัดเลือกเส้นใยของเชื้อที่มีสีขาว ขาวอมเหลือง และสีเขียว ย้ายลงบนอาหาร PDA เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *Trichoderma* spp. และเก็บเชื้อ *Trichoderma* spp. ที่แยกได้เลี้ยงลงในหลอดทดลองที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ (PDA slant)

### 3.2 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรครากเน่าและเหี่ยวกับผักสลัด

นำเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* ทั้งหมด 21 ไอโซเลท ที่แยกได้จากข้อ 3.1.1 ซึ่งคัดเลือกมาเฉพาะไอโซเลท ที่แสดงอาการเน่าที่บริเวณส่วนรากและโคนลำต้น จำนวน 11 ไอโซเลท คือ F 221-G, F 221-B, F 221-R, F 221-C, F 223-B, F 222-G, F 422-B, F 322-R, F 121-B, F 422-G และ F 222-B มาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับผักสลัด 4 สายพันธุ์ คือพันธุ์เรดโอ๊ค (Red oak), บัตเตอร์เฮด (Butter head), กรีนโอ๊ค (Green oak) และ คอส (Cos) โดยทำการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) วิธีการละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 2 ต้น โดยเฉพาะเมล็ดผักสลัดบนฟองน้ำวัสดุปลูก โดยรดน้ำให้ชุ่มนาน 1 สัปดาห์ ในสัปดาห์ที่ 2 ให้สารละลายธาตุอาหารพืช ค่า  $EC = 1 \text{ ms/cm}^2$ ,  $pH = 5.8-6.2$  (Benoit, 1992) เมื่อพืชอายุ 3 สัปดาห์ ย้ายลงในภาชนะปลูกที่บรรจุสารละลายธาตุอาหารพืช ปริมาณ 5 ลิตร จากนั้นทำแผลบริเวณส่วนราก และนำรากของผักสลัดมาแช่ใน spore suspension ของ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* 10 มิลลิลิตร ต่อต้น ( $1 \times 10^6$  spore/ml) นาน 5 นาที และเท spore suspension ที่เหลือลงในภาชนะปลูก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บันทึกความรุนแรงของการเกิดโรค (Disease severity) โดยทำการประเมินความรุนแรงของโรคทุกวัน เป็นเวลา 2 สัปดาห์ โดยดัดแปลงวิธีการของ Yamauchi *et al.* (2001) โดยให้ระดับการเกิดโรคดังนี้ ระดับ 0 : ต้นพืชปกติไม่เป็นโรค รากสีขาว, ระดับ 1 : รากพืชมีสีน้ำตาลแดง, ระดับ 2 : รากพืชมีสีน้ำตาลแดงถึงเน่า, ระดับ 3 : รากพืชมีอาการเน่า พืชมีอาการเหี่ยวชั่วคราว, ระดับ 4 : รากพืชมีอาการเน่า พืชมีอาการเหี่ยวถาวร และ ระดับ 5 : ต้นพืชตาย

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทำการตรวจดูว่าเชื้อดังกล่าวยังคงอยู่ในสารละลายธาตุอาหารพืชหรือไม่ และทำการแยกเชื้อกลับจากผักสลัดที่แสดงอาการโรค เพื่อยืนยันว่าเชื้อดังกล่าวเป็นเชื้อสาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัด

### 3.3 การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B ต่อการ

#### เจริญเติบโตของพืช

นำเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B ที่ได้จากงานวิจัยของ ธิติและคณะ (2555) มาศึกษาถึงคุณสมบัติและความสามารถในการด้านส่งเสริมการเจริญของพืช 6 ชนิด โดยเริ่มจากการศึกษาผลต่อการงอกของเมล็ดพืชและตามด้วยผลต่อการเจริญเติบโตของพืชทดสอบดังกล่าว โดยมีรายละเอียดดังนี้

#### 3.3.1 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B ต่อการงอกของเมล็ดพืช

ทำการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) โดยนำเมล็ดผักสลัด 4 สายพันธุ์ เมล็ดคะน้า และ เมล็ดถั่วเขียว จำนวนอย่างละ 75 เมล็ด คลุกกับ spore suspension ของเชื้อ *Fusarium oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B ที่  $1 \times 10^6$  spore/ml ในปริมาณ 5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 5 นาที ส่วนในกรรมวิธีควบคุมใช้น้ำเป็นตัวคลุกเมล็ดแทน หลังจากนั้นนำเมล็ดที่ผ่านการคลุกแล้วใส่ในถาดเพาะเมล็ด เก็บไว้ในที่มืดแล้วสเปรย์น้ำเพื่อให้ความชื้นแก่เมล็ด จากนั้นทำการบันทึกการงอกของเมล็ดพืช และคำนวณเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด รวมทั้งบันทึกความยาวต้นกล้า โดยเปรียบเทียบกับวิธีควบคุมที่ไม่ได้ทำการใส่เชื้อ และวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ โดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น  $P = 0.05$

#### 3.3.2 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B ต่อการเจริญเติบโตของพืช

ทำการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 3 ต้น ซึ่งปลูกในสารละลายธาตุอาหาร (Solution culture) โดยนำกล้าผักสลัดที่ได้จากการทดลองที่ 3.3.1 มาอนุบาลในกระบะปลูกขนาด 25×34 เซนติเมตร ที่บรรจุด้วยสารละลายธาตุอาหารพืชค่า  $EC = 1 \text{ ms/cm}^2$ ,  $pH = 5.8-6.2$  (Benoit, 1992) เมื่อพืชอายุ 3 สัปดาห์ ย้ายลงในกระบะปลูกที่บรรจุสารละลายธาตุอาหารพืช  $EC = 1.8-2.0 \text{ ms/cm}^2$  ปริมาณ 5 ลิตร หลังจากนั้นเตรียม spore suspension

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษเท่านั้น เมื่อนำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตเป็นการฝ่าฝืน

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของเชื้อรา *F. 221-B* ที่ความเข้มข้น  $10^4$ ,  $10^6$  และ  $10^8$  spore/ml นำรากของผักสลัดมาแช่ใน spore suspension ของ *Fusarium* sp. 5 มิลลิลิตรต่อต้น นาน 5 นาที และเท spore suspension ที่เหลือลงใน กระบะปลูก ส่วนในกรรมวิธีควบคุม ใช้น้ำนิ่งฆ่าเชื้อเป็นตัวควบคุมแทน ทำการบันทึกผลโดยวัด ขนาดของใบ จำนวนใบ ค่าคลอโรฟิลล์ (SPAD value) เมื่อสิ้นสุดการทดลองทำการชั่งน้ำหนักสด และแห้งของต้นและราก รวมทั้งตรวจสอบปริมาณความอยู่รอดของเชื้อที่อยู่ในสารละลายธาตุ อาหารของพืชในทุกกรรมวิธี

### 3.3.3 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *Fusarium oxysporum* สายพันธุ์ *F. 221-B*

เลี้ยงเชื้อ *F. oxysporum* สายพันธุ์ *F. 221-B* ลงบนอาหาร PDA บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เมื่อเชื้ออายุ 7 วัน นำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อโดยละเอียด และ เปรียบเทียบกับเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* สายพันธุ์ *F. 422-G* ที่ก่อให้เกิดโรค เพื่อศึกษาความ แตกต่างของทั้ง 2 สายพันธุ์ และเก็บเชื้อเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

### 3.3.4 การศึกษาผลของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการเจริญทางเส้นใยและการสร้าง spore ของเชื้อรา

#### *F. oxysporum* สายพันธุ์ *F. 221-B* และ *F. 422-G*

วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 5 ซ้ำ โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดสอบ จำนวน 6 ชนิด คือ Czapek dox agar (CZA), Sabouraud dextrose agar (SDA), Oat meal agar (OA), Potato dextrose agar (PDA), Cornmeal agar (CMA) และ Carrot agar (CA) เชื้อ *F. oxysporum* ที่ นำมาทดสอบมี 2 สายพันธุ์ คือ *F. 221-B* ซึ่งไม่ก่อให้เกิดโรค และ *F. 422-G* สายพันธุ์ที่ก่อให้เกิด โรค โดยทำการเลี้ยงเชื้อทั้ง 2 ชนิด บนอาหาร PDA จนครบอายุ 7 วัน จากนั้นใช้ Cork borer ขนาด เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ตัดชิ้นวุ้นเชื้อดังกล่าวมาวางลงบริเวณกลางจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่มี อาหารแต่ละชนิด บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส และบันทึกการเจริญเติบโตของเส้นใย เชื้อราโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีทุกวัน และนับจำนวน macroconidia และ microconidia ของเชื้อรา *F. oxysporum* ด้วย Haemocytometer และนำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น  $P = 0.05$

## 3.4 การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ต่อการเจริญของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* ในสภาพห้องปฏิบัติการ

### 3.4.1 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย

เชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัด *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* โดย วิธีเลี้ยงเชื้อในอาหารร่วมกัน (Bi-culture antagonistic test)

การประเมินศักยภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 14 ไอโซเลท ในการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* สาเหตุโรครากเน่าเหี่ยวของผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์ 2 ไอโซเลท ที่แสดงอาการ โรครุนแรงที่สุด มาทดสอบโดยวิธี Bi-culture antagonistic tests (Akrami et al.,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อนุญาดเห็นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2011) ทำการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 5 ซ้ำ โดยเลี้ยงเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* และเชื้อ *Trichoderma* spp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วัน ใช้ Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะบริเวณขอบของโคโลนีของเชื้อทั้งสอง ย้ายชิ้นส่วนของเชื้อราแต่ละชนิดจำนวน 1 ชิ้น วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ในลักษณะตรงข้ามกัน ให้มีระยะห่างพอประมาณ สำหรับวิธีการเปรียบเทียบ (control) ให้เลี้ยงเชื้อทั้งสองแยกจากกันบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง บันทึกผลการทดลองโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อราสาเหตุโรค รวมทั้งคำนวณเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของโคโลนีของเชื้อรา *Fusarium* f.sp. *lactucae* (Growth inhibition; GI)

$$GI = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100$$

โดย R1 = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* ในจานอาหารเปรียบเทียบ (control)

R2 = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม (Bi-culture test)

จากการทดสอบ Bi-culture test นี้จะมีการตรวจและบันทึกกลไกการยับยั้ง ทั้งกลไก antibiosis, competition และ exploitation ส่วนกลไก exploitation นั้นจะตรวจสอบบริเวณที่เส้นใยของเชื้อทั้งสองเจริญชนกัน (interaction zone) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

### 3.4.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารระเหย Volatile extracellular metabolite ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. โดยวิธี Volatile extracellular metabolite test

การทดสอบประสิทธิภาพของสารระเหยที่เชื้อรา *Trichoderma* spp. สร้างขึ้นเพื่อใช้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* ในสภาพห้องปฏิบัติการ โดยตัดแปลงมาจากวิธีการของ Dennis and Webster (1971) โดยนำเชื้อ *Trichoderma* spp. จำนวน 14 ไอโซเลทเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และเลี้ยงเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* บนอาหาร PDA บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเปิดฝาออกและนำจานเพาะเลี้ยงเชื้อของเชื้อทั้ง 2 มาประกบกัน แล้วพันด้วย parafilm ให้แน่นเพื่อป้องกันการระเหยของสารออกมาภายนอกจานเพาะเลี้ยงเชื้อ ส่วนวิธีการควบคุมใช้จานอาหาร PDA ประกบแทนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ *Trichoderma* spp. วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของการเจริญของเชื้อ *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* โดยเปรียบเทียบกับวิธีการควบคุมทุกวัน

### 3.4.3 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Trichoderma* spp. 5 ไอโซเลท ที่เป็นตัวแทนของทั้ง 3 กลไกการยับยั้ง ในการควบคุมความรุนแรงของโรคบนใบผักสลัดที่มีสาเหตุจากเชื้อราสาเหตุโรค 5 ชนิด โดยวิธี Leaf test

คัดเลือกตัวแทนเชื้อ *Trichoderma* spp. ที่มีศักยภาพจากวิธี Bi-culture test (การทดลองที่ 3.4.1) และ Volatile extracellular metabolite test (การทดลองที่ 3.4.2) มา 5 ไอโซเลท โดยพิจารณาจากคุณสมบัติของเชื้อเพื่อให้ครอบคลุมถึงกลไกการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ทั้ง 3 กลไก มาประเมินถึงความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช จำนวน 5 ชนิด คือ *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* 3 ไอโซเลท (F 221-R, F 422-G และ F 114-B), *Alternaria* sp. และ *Curvularia* sp. บนใบผักสลัดปัตเตอร์เฮด ซึ่งเลือกใบชั้นที่ 3 จากฐานของต้นผักสลัด โดยวิธี Detached leaf test (ดัดแปลงจาก Wang *et al.*, 2011) โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) วิธีการละ 3 ซ้ำ (ใบ) ซ้ำละ 5 จุด ด้วยเข็มหมุด เริ่มจากทำแผลบนใบผักสลัดจำนวน 5 จุด หลังจากนั้นเตรียม spore suspension ของเชื้อ *Trichoderma* spp. ความเข้มข้น  $1 \times 10^6$  spore/ml ฉีดพ่นลงบนใบผักสลัด 1 มิลลิลิตรต่อใบ ทิ้งไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นทำการเจาะชั้นวุ้นเชื้อสาเหตุ วางลงบนจุดแผลของใบพืช ส่วนในกรรมวิธีควบคุมใช้ชั้นวุ้นเปล่าวางแทน จากนั้นวัดขนาดแผลเพื่อประเมินความรุนแรงของโรคเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

### 3.4.4 การทดสอบประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolites) ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R และ F 422-G) โดยวิธี Cellophane membrane test

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 14 ไอโซเลทที่แยกได้จากระบบไฮโดรโปนิคส์ ในการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* สาเหตุโรคเหี่ยวของผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์ ทดสอบโดยวิธี Cellophane membrane test ทำการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 5 ซ้ำ โดยนำเชื้อ *Trichoderma* spp. จำนวน 14 ไอโซเลท เลี้ยงบนกระดาษ Cellophane ที่วางทับอยู่บน PDA ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มทิ้งไว้ในที่มืด อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ส่วนกรรมวิธีควบคุมใช้กระดาษ Cellophane วางทับลงบน PDA แต่ไม่ใส่ก้อนชั้นวุ้นเชื้อ *Trichoderma* spp. หลังจากนั้นนำแผ่นกระดาษ Cellophane ออกจากจานอาหาร ปล่อยให้แห้งเป็นเวลา 2 ชั่วโมง และทำการวางเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* แต่ละไอโซเลท ลงบนบริเวณกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่นำแผ่นกระดาษ cellophane ออกแล้ว บ่มไว้ในที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พอร์ระยะเวลานานไป 48 ชั่วโมง ทำการสังเกตและบันทึกผล โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของการเจริญของเชื้อ *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* โดยเปรียบเทียบกับวิธีการควบคุมทุกวัน

### 3.4.5 การทดสอบประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolites)

ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R และ F 422-G) โดยวิธี Agar well diffusion assay

เตรียม Culture filtrate (CF) ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. 14 สายพันธุ์ โดยปรับความเข้มข้นให้ได้ 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 5 ซ้ำ โดยเลี้ยงเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* ลงตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร PDA บรรจุอยู่ บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน คัดแปลงวิธีการของ Fiddman and Rossall (1993) หลังจากนั้นใช้ cork borer ขนาด 0.5 มิลลิเมตร เจาะขึ้นรู้นให้ห่างจากเชื้อ 2 เซนติเมตร จำนวน 6 จุด ตามความเข้มข้นวางเป็นวงล้อมรอบเชื้อ *F.oxysporum* f.sp. *lactucae* นำขึ้นรู้นที่เจาะออก ปล่อยให้แห้ง 2 ชั่วโมง หยอด CF แต่ละความเข้มข้นในปริมาณ 40 ไมโครลิตร ต่อหลุม บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง บันทึกผลการทดลองโดยการวัดขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเชื้อในทุก ๆ ความเข้มข้นของ Culture filtrate และคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

### 3.4.6 การทดสอบประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolites)

ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R และ F 422-G) โดยวิธี Spore germination test

เตรียม CF ให้มีความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ หยดลงบนสไลด์หลุมในปริมาณ 30 ไมโครลิตร ที่มี spore suspension ของเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* ที่ความเข้มข้น  $1 \times 10^6$  spore/ml อยู่แล้ว 30 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน หลังจากนั้นนำสไลด์หลุมดังกล่าว ไปบ่มให้ความชื้นในกล่องพลาสติก เป็นเวลา 12, 24 และ 48 ชั่วโมง นำไปตรวจนับเปอร์เซ็นต์การงอกของ macroconidia ได้กล้องจุลทรรศน์ โดยคัดแปลงวิธีการของ Steinkellner and Mammeler, (2005) สังเกตการงอกของ macroconidia อย่างละ 100 สปอร์ เปรียบเทียบกับทุก ๆ กรรมวิธี เพื่อคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อ *F.oxysporum* f.sp. *lactucae* ที่เป็นผลมาจากประสิทธิภาพของ CF ของ *Trichoderma* spp. ในระดับความเข้มข้นต่างๆ

### 3.4.7 การทดสอบประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolite) ของ

เชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R และ F 422-G) สาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวในผักสลัด โดยวิธี Root inoculation test

ทำการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 5 ซ้ำ โดยวิธี Root inoculation test เพาะเมล็ดผักสลัดบนฟองน้ำ และรดน้ำนาน 1 สัปดาห์ หลังจากนั้นให้สารละลายธาตุอาหารที่มีค่า  $EC = 1 \text{ ms/cm}^2$ ,  $pH = 5.8-6.2$  เมื่อต้นกล้ามีอายุครบ 2 สัปดาห์ ทำการย้ายกล้าลง

ปลูกในแก้วพลาสติกที่บรรจุด้วยสารละลายธาตุอาหารพืช ปริมาตร 40 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเตรียม CF ของเชื้อ *Trichoderma* spp. จำนวน 8 ไอโซเลท คือ T 124-1, T 223-B, T 224-G, T 415-1, T 424-C, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3 ซึ่งเป็นไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพดีในการทดลอง Bi-culture test และ Volatile metabolite test โดยปรับให้มีความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ใส่ CF ของแต่ละความเข้มข้นลงในแก้วปลูก ปริมาณ 5 มิลลิลิตรต่อต้น จากนั้นอีก 3 วัน ปลูกเชื้อ ด้วย spore suspension ( $1 \times 10^6$  spore/ml) ของเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* ทั้ง 2 สายพันธุ์ที่รุนแรง คือ สายพันธุ์ F 221-R และ F 422-G ปริมาณ 5 มิลลิลิตรต่อต้น ลงในสารละลายธาตุอาหารพืช สังเกตและบันทึกผล พร้อมทั้งคำนวณเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของการเกิดโรคในกล้าผักสลัด

### 3.5 การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าและเหี่ยวที่เกิดขึ้นกับผักสลัดในระบบไฮโดรโปนิกส์ (*In vivo* test)

ทดสอบในสารละลายธาตุอาหารแบบเป่าอากาศ (solution culture) กับผักสลัด Cos ที่อ่อนแอต่อโรคที่สุดจากการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค โดยจัดการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ ๆ ละ 2 ต้น ดังรายละเอียด ดังต่อไปนี้

เพาะเมล็ดผักสลัด บนฟองน้ำ และรอน้ำนาน 2 สัปดาห์ หลังจากนั้นให้สารละลายธาตุอาหารที่มีค่า  $EC = 1 \text{ ms/cm}^2$ ,  $pH = 5.8 - 6.2$  เมื่อต้นกล้ามีอายุครบ 3 สัปดาห์ ย้ายลงระบบปลูกใส่ spore suspension ของเชื้อ *Trichoderma* spp. ความเข้มข้น  $1 \times 10^8$  spore/ml ลงในสารละลายธาตุอาหารพืช ปริมาณ 10 มิลลิลิตรต่อต้น จากนั้นอีก 3 วันจึงปลูกเชื้อด้วย spore suspension ( $1 \times 10^6$  spore/ml) ของเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* ทั้ง 2 สายพันธุ์ที่รุนแรงคือ สายพันธุ์ F 221-R และ F 422-G ปริมาณ 10 มิลลิลิตรต่อต้น ลงในสารละลายธาตุอาหารพืช

#### การบันทึกผล

##### 1. บันทึกผลด้านโรค

- วัดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (Disease incidence)
- วัดความรุนแรงของการเกิดโรค (Disease severity)
- ตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* โดยทำการ

ประเมินทุกอาทิตย์และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

##### 2. บันทึกผลด้านการเจริญเติบโตของพืช

- วัดการเจริญเติบโตของพืช (Growth of plant) โดย วัดขนาดใบ จำนวนใบ ปริมาณ chlorophyll ด้วยเครื่อง (SPAD value)

- เก็บผลผลิต โดยชั่งน้ำหนักสด และ น้ำหนักแห้ง ของต้นและราก

## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

#### 4.1 แยกเชื้อราปฏิปักษ์ และเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* สาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัด

##### 4.1.1 การศึกษาลักษณะอาการโรคและการแยกเชื้อสาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัด 4 สายพันธุ์

จากการศึกษาลักษณะอาการโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัด 4 สายพันธุ์ ได้แก่ Butter head, Red oak, Green oak และ Cos โดยลักษณะอาการโรคที่พบ คือ รากเน่า (ภาพที่ 4.1A) ใบเหลืองเหี่ยว ลำต้นแคระแกรน ถ้าผ่าส่วนโคนลำต้นจะพบแผลสีน้ำตาลแดงและอาการเน่า (ภาพที่ 4.1B) และเมื่อทำการแยกเชื้อก็พบว่าเกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* และมีไส้เดือนฝอย *Pratylenchus* sp. (ภาพที่ 4.1C) เข้าร่วมทำลายด้วย ซึ่งเชื้อสาเหตุดังกล่าวแยกจากผักสลัด Red oak ได้ 7 ไอโซเลท ดังนี้ จากราก 2 ไอโซเลท คือ F 221-R (ภาพที่ 4.1D) โดยพบสปอร์ของเชื้อ 3 แบบ คือ macroconidia, microconidia และ chlamydospore (ภาพที่ 4.1E และ ภาพที่ 4.1F) และ F 421-R จากใบ 2 ไอโซเลท คือ F 114-R และ F 223-R จากโคนต้น 3 ไอโซเลท คือ F 322-R, F 222-R และ F 422-R ในผักสลัด Butter head แยกได้ 7 ไอโซเลท ดังนี้ จากใบ 1 ไอโซเลท คือ F 223-B จากราก 3 ไอโซเลท คือ F 221-B, F 121-B และ F 421-B จากโคนต้น 3 ไอโซเลท คือ F 222-B, F 112-B และ F 322-B ในผักสลัด Green oak แยกได้ 4 ไอโซเลท ดังนี้ จากใบ 1 ไอโซเลท คือ F 223-G จากราก 1 ไอโซเลท คือ F 221-G และ จากโคนต้น 2 ไอโซเลท คือ F 222-G และ F 422-G สำหรับผักสลัด Cos แยกได้ทั้ง 3 ไอโซเลท พบที่รากและโคนต้น คือ F 221-C, F 421-C และ F 422-C (ตารางที่ 4.1)

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและจัดจำแนกเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* จำนวน 21 ไอโซเลทที่แยกได้จากผักสลัด โดยเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* เป็น Imperfection หรือ Asexual fungi อยู่ในกลุ่ม Deuteromycetes ซึ่งเป็น Filamentous ascomycetes ใน Phylum Ascomycota จัดอยู่ใน Kingdom Fungi (Agrios, 2005) พบว่าสีของโคโลนีของเชื้อรา มีตั้งแต่สีซีดขาว เหลือง ชมพู จนถึงม่วง และมีอัตราการเจริญของเชื้อ 3-4 เซนติเมตรต่อวัน ตามปกติเชื้อราจะสร้าง microconidia จำนวนมาก ซึ่ง microconidia มี 1 เซลล์ หรือ 2 เซลล์ รูปร่างต่างกันไป ตั้งแต่รูปกลมจนถึงรูปไข่หรือรูปโค้งและมีขนาดตั้งแต่ 5-12 × 2.5-3.5 ไมโครเมตร โดย microconidia จะเจริญจากด้านข้างของเส้นใย หรือจาก phialide ที่เจริญมาจาก conidiophores สั้น ๆ ซึ่งแตกแขนงจากเส้นใย ส่วน macroconidia จะถูกสร้างจาก sporodochium โดย macroconidia จะมี 3-5 เซลล์ มีขนาด 27-46 × 3.5 ไมโครเมตร รูปร่างส่วนใหญ่จะโค้งปลายเรียว ส่วนน้อยที่จะยาวตรง

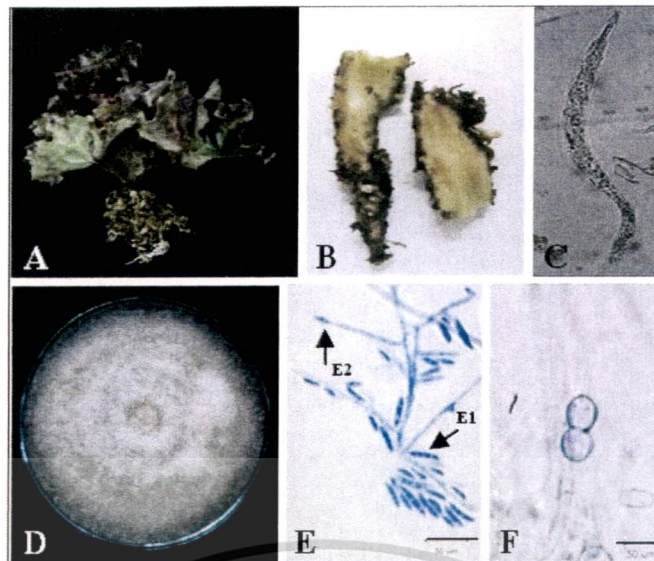
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และมีขนาดแตกต่างกันไป การสร้าง chlamydo-spores จะสร้างจากส่วนปลายสุดหรือระหว่างกลางของเส้นใย อาจอยู่เดี่ยวหรือต่อกันเป็นสายมีสี่เหลี่ยมรีหรือรูปวงรี

ตารางที่ 4.1 ลักษณะของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* ทั้ง 21 ไอโซเลท ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนี	รูปร่างและลักษณะ conidia	จัดจำแนก
F 114-R, F 221-G, F 221-C, F 222-R, F 222-G, F 321-R, F 112-B, F 322-R, F 223-R	โคโลนีมีสีเหลือง มีเส้นใยสีขาวเจริญขึ้นฟู ลักษณะเส้นใยละเอียด พบการสร้าง chlamydo-spore	พบการสร้าง macroconidia มีรูปร่างเป็นเส้นยาวพระจันทร์ มีผนังกันระหว่างเซลล์ 3-5 เซลล์ มีขนาด 27.4×4.1 $\mu\text{m}$ microconidia ขนาด 13.57 $\mu\text{m}$ มีรูปร่างทรงกระบอกรี ไม่มีผนังกัน	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
F 221-R, F 421-R, F 421-B, F 421-C, F 121-B, F 322-B	โคโลนีมีสีขาวปนเหลือง มีเส้นใยสีขาวเจริญขึ้นฟู พบการสร้าง chlamydo-spore	พบการสร้าง macroconidia ซึ่งมีรูปร่างคล้ายเส้นยาวพระจันทร์ มีผนังกันระหว่างเซลล์ 3-5 เซลล์ มีขนาด 28.56×3.5 $\mu\text{m}$ microconidia ขนาด 8.75 $\mu\text{m}$ รูปร่างทรงกระบอกรี มีผนังกันระหว่างเซลล์ 1 เซลล์	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
F 223-B, F 223-G, F 422-G, F 422-R, F 422-C	โคโลนีมีสีเหลือง สีภายใต้อาหารมีสีน้ำตาล พบการสร้าง chlamydo-spore	พบการสร้าง macroconidia มีรูปร่างเป็นเส้นยาวพระจันทร์ มีผนังกันระหว่างเซลล์ 3-5 เซลล์ มีขนาด 28.85×3. $\mu\text{m}$ microconidia ขนาด 9.60 $\mu\text{m}$ มีรูปร่างทรงกระบอกรี ไม่มีผนังกัน	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
F 221-B	โคโลนีมีสีเหลือง สีภายใต้อาหารมีสีชมพู พบการสร้าง chlamydo-spore	พบการสร้าง macroconidia มีรูปร่างเป็นเส้นยาวพระจันทร์ มีผนังกันระหว่างเซลล์ 3-5 เซลล์ มีขนาด 29.85×3.2 $\mu\text{m}$ microconidia ขนาด 9.80 $\mu\text{m}$ มีรูปร่างทรงกระบอกรี มีผนังกันระหว่างเซลล์ 1 เซลล์	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.1 ลักษณะอาการของโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัดสายพันธุ์ Red oak ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* ไอโซเลท F 221-R A : อาการโคนเน่าและรากเน่าที่เกิดโรคบริเวณราก B : เมื่อผ่าส่วน โคนลำต้นจะพบแผลสีน้ำตาล C : ไม้เดือนฝอย *Pratylenchus* sp. D : โคลินีบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน E : macroconidia (E1), microconidia (E2) และ F : chlamyospore ที่กำลังขยาย 400 เท่า

#### 4.1.2 การแยกเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp.

จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างพืชและสารละลายธาตุอาหารพืชจากฟาร์มไฮโดรโปนิกส์ โดยทำการเลี้ยงเชื้อบนอาหาร *Trichoderma* selective medium (TSM) (Elad et al., 1981) จนได้เชื้อบริสุทธิ์ โดยสามารถแยกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ได้ทั้งหมด 14 ไอโซเลท (ตารางที่ 4.2)

ตารางที่ 4.2 ลักษณะของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 14 ไอโซเลท ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA

ไอโซเลท	ลักษณะ โคลินี	รูปร่างและลักษณะ conidia	จัดจำแนก
T 124-1, T 124-2, T 223-B, T 224-G, T 324-B, T 415-1, T 415-2, T 424-B, T 424-C, T 515-1, T 515-2, T 515-3	โคลินีสีขาวปนเขียว มีเส้นใยสีเขียวเจริญขึ้นฟู พบการสร้าง chlamyospore	สีเขียว ผงเรียบ รูปร่างกลม, กิ่งกลม เจริญซ้อนกันเป็นวง หรือกระจายอยู่ทั่วไป ขนาด 3.8-6.75 x 3.2-6.75 $\mu\text{m}$ phialides มีจำนวน 2-4 อัน ขนาด 10-13.5 x 2.5 $\mu\text{m}$	<i>T. harzianum</i>
T 224-B, T 315-1	โคลินีสีขาว มีเส้นใยสีขาวเจริญขึ้นฟู พบการสร้าง chlamyospore	สีขาวปนเขียว ผงเรียบ รูปร่างค่อนข้างกลม เจริญกระจายอยู่ทั่วไป ขนาด 2.7 -5.5 x 2.5-3.9 $\mu\text{m}$ phialides มีจำนวน 2-5 อัน ขนาด 5-16 x 2.5-3.3 $\mu\text{m}$	<i>T. koningii</i>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.1.3 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรครากเน่าและเหี่ยวกับผักสลัด (Pathogenicity test)

พบว่า *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* เกือบทุกไอโซเลทที่นำมาทดสอบนั้นสามารถทำให้เกิดโรครากเน่าและเหี่ยวกับผักสลัดทั้ง 4 สายพันธุ์ได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (Disease incidence) และเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค (Disease severity) แตกต่างกันไป (ตารางที่ 4.3) ซึ่งสามารถแบ่งเชื้อดังกล่าวออกเป็นกลุ่มได้ 3 กลุ่ม ดังนี้ คือ กลุ่มแรกเป็นเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* ไอโซเลทที่ทำให้ผักสลัดเป็นโรครุนแรงที่สุดถึงขั้นทำให้ผักสลัดตายได้ ซึ่งมีอยู่ 2 ไอโซเลท คือ F 221-R และ F 422-G โดยไอโซเลท F 221-R จะทำให้ผักสลัดทั้ง 4 สายพันธุ์ แสดงอาการโรคหลังจากทำการปลูกเชื้อไปแล้ว 3 วัน โดยมีการเกิดโรคอยู่ในช่วง 32-64 เปอร์เซ็นต์ และความรุนแรงของโรคต่ำกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อระยะเวลาผ่านไป จนถึงวันที่ 9 หลังจากปลูกเชื้อ พบว่าการเกิดโรคของผักสลัดทุกสายพันธุ์เพิ่มเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ โดยมีระดับความรุนแรงของโรคเพิ่มขึ้นเป็น 52-72 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (15 วันหลังจากปลูกเชื้อ) ผักสลัดแสดง ความรุนแรงของโรคสูงถึง 92-100 เปอร์เซ็นต์ (ผักสลัดตาย) ส่วนไอโซเลท F 422-G สามารถทำให้ ผักสลัดทุกสายพันธุ์เป็นโรคได้ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวันที่ 5 หลังจากการปลูกเชื้อ โดยมีความรุนแรง ของโรคอยู่ในช่วง 23-46 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าความรุนแรงของโรคนี้ได้เพิ่มขึ้นเป็น 72-100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง สำหรับเชื้อในกลุ่มที่สองมีอยู่ 4 ไอโซเลท คือ F 322-R, F 422-B, F 121-B และ F 222-G ซึ่งเป็นกลุ่มที่ทำให้เกิดโรครองลงมา กล่าวคือเชื้อทั้ง 4 ไอโซเลทนี้ทำให้ผัก สลัดบางสายพันธุ์เริ่มแสดงอาการ โรคได้ตั้งแต่วันที่ 3 หลังปลูกเชื้อ แต่เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของ โรคต่ำมาก แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ผักสลัดเกือบทุกสายพันธุ์ (ยกเว้น Green oak) มี เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงถึง 64-100 เปอร์เซ็นต์ แต่ความรุนแรงของโรคยังต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ กล่าวคือ ไม่พบต้นตายในกลุ่มนี้ ส่วนเชื้อที่ถูกจัดอยู่ในกลุ่มที่สาม มีเพียง 1 ไอโซเลท คือ F 221-B ซึ่งเป็นที่น่าสนใจมาก กล่าวคือเชื้อไอโซเลทนี้ไม่ทำให้ผักสลัดทั้ง 4 สายพันธุ์เป็นโรคเลย นับตั้งแต่นั้น การปลูกเชื้อจนถึงสิ้นสุดการทดลอง ในทางตรงกันข้าม กลับช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต ของผักสลัด โดยพบว่าผักสลัดทุกสายพันธุ์ที่มีการปลูกเชื้อ F 221-B มีน้ำหนักสดสูงกว่าผักสลัดใน กรรมวิธีเปรียบเทียบที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ (Healthy control) (ไม่ได้แสดงผลในตาราง) ยิ่งไปกว่านั้นได้มีการ ยืนยันผลการทดลองของเชื้อ F 221-B โดยทำการทดลองซ้ำอีกครั้งซึ่งได้ผลเช่นเดียวกัน

จากการตรวจความอยู่รอดของเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* ในสารละลายธาตุอาหาร พืช พบว่ายังคงมีเชื้อราสาเหตุดังกล่าวอยู่ในระบบปลูก เมื่อสิ้นสุดการทดลองทำการแยกเชื้อกลับ จากต้นพืชที่แสดงอาการของโรครากเน่าและเหี่ยว สำหรับการแยกเชื้อสาเหตุจากผักสลัดที่แสดง อาการโรคอีกครั้งนั้น พบว่ายังได้เป็นเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* เช่นเดิม โดยมีรายงานการ

ตรวจพบโรคนี้ในต่างประเทศที่ปลูกในดิน (Pasquali *et al.*, 2007) ซึ่งจากงานวิจัยในครั้งนี้จะเป็น การตรวจพบครั้งแรกในพืชที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ที่ปลูกในประเทศไทย

ตารางที่ 4.3 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรครากเน่าและเหี่ยวในผักสลัด 4 สายพันธุ์ โดยเชื้อรา *Fusarium spp.*

<i>Fusarium</i> isolate	ชนิดผัก	การเกิดโรค (DI) <sup>1/</sup> : ความรุนแรงของโรค (DS) (%) <sup>2/</sup>							
		1 DAI*	3 DAI	5 DAI	7 DAI	9 DAI	11 DAI	13 DAI	15 DAI
Healthy control (non-inoculated)	Cos	0 <sup>1/</sup> :0 <sup>2/</sup>	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
	Green oak	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
	Red oak	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
	Butter head	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
F 221-G	Cos	0:0	16:3.3	16:3.3	16:3.3	16:6.6	16:6.6	16:6.6	16:6.6
	Green oak	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
	Red oak	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
	Butter head	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
F 221-C	Cos	0:0	16:3.3	16:3.3	16:3.3	16:6.6	16:6.6	16:6.6	16:6.6
	Green oak	0:0	0:0	16:3.3	32:9.9	32:13.2	32:13.2	32:13.2	32:13.2
	Red oak	0:0	16:3.3	16:3.3	32:9.9	32:9.9	32:16.5	32:16.5	32:16.5
	Butter head	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
F 221-B	Cos	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
	Green oak	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
	Red oak	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
	Butter head	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
F 221-R	Cos	0:0	64:13.2	80:26.4	100:36.3	100:59.4	100:79.2	100:92.4	100:100
	Green oak	0:0	32:6.6	48:13.2	64:33.3	100:52.8	100:75.9	100:89.1	100:95.7
	Red oak	16:3.3	32:13.2	64:33.3	100:52.8	100:72.9	100:89.1	100:95.7	100:100
	Butter head	0:0	48:9.9	48:16.5	64:33.3	100:52.8	100:69.3	100:82.5	100:92.4
F 223-B	Cos	16:6.6	48:6.6	48:16.5	48:16.5	48:16.5	48:16.5	48:16.5	48:16.5
	Green oak	0:0	32:6.6	48:9.9	48:9.9	48:9.9	48:9.9	48:9.9	48:9.9
	Red oak	32:16.5	64:23.1	64:33.3	64:39.6	64:42.9	64:42.9	64:42.9	64:42.9
	Butter head	0:0	32:6.6	32:6.6	32:6.6	32:6.6	32:6.6	32:6.6	32:6.6
F 222-G	Cos	0:0	16:3.3	64:16.5	100:19.8	100:23.1	100:33.3	100:33.3	100:33.3
	Green oak	0:0	0:0	16:3.3	16:3.3	64:13.2	64:13.2	64:16.5	64:16.5
	Red oak	0:0	32:6.6	100:23.1	100:26.4	100:36.3	100:46.2	100:59.4	100:69.3
	Butter head	0:0	48:9.9	80:23.1	80:23.1	100:33.3	100:52.8	100:52.8	100:52.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์อื่นใด

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

Fusarium isolate	ชนิดพืช	การเกิดโรค (DI) <sup>1</sup> : ความรุนแรงของโรค (DS) (%) <sup>2</sup>							
		1 DAI*	3 DAI	5 DAI	7 DAI	9 DAI	11 DAI	13 DAI	15 DAI
F 422-B	Cos	0 <sup>1</sup> :0 <sup>2</sup>	0:0	32:6.6	64:19.8	64:19.8	64:19.8	64:19.8	64:19.8
	Green oak	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
	Red oak	0:0	0:0	64:16.5	64:19.8	100:29.7	100:46.2	100:46.2	100:52.8
	Butter head	0:0	16:3.3	32:6.6	100:19.8	100:26.4	100:26.4	100:26.4	100:26.4
F 322-R	Cos	0:0	0:0	100:19.8	100:23.1	100:33.3	100:39.6	100:46.2	100:46.2
	Green oak	16:3.3	16:6.6	100:26.4	100:29.7	100:33.3	100:33.3	100:33.3	100:33.3
	Red oak	0:0	0:0	64:19.8	64:26.4	100:33.3	100:33.3	100:33.3	100:33.3
	Butter head	0:0	0:0	100:19.8	100:19.8	100:19.8	100:19.8	100:19.8	100:19.8
F 121-B	Cos	0:0	16:3.3	48:9.9	48:9.9	64:13.2	100:16.5	100:19.8	100:19.8
	Green oak	0:0	32:6.6	32:6.6	32:6.6	48:9.9	48:9.9	64:13.2	64:13.2
	Red oak	0:0	0:0	16:3.3	100:19.8	100:29.7	100:29.7	100:29.7	100:29.7
	Butter head	0:0	32:9.9	64:13.2	64:13.2	64:13.2	64:19.8	64:19.8	64:19.8
F 221-B (Repeat)	Cos	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
	Green oak	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
	Red oak	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
	Butter head	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
F 422-G	Cos	0:0	32:9.9	100:46.2	100:49.5	100:59.4	100:69.3	100:72.6	100:95.7
	Green oak	16:3.3	32:16.5	100:39.6	100:49.5	100:66	100:79.2	100:85.8	100:100
	Red oak	0:0	32:6.6	100:33.3	100:33.3	100:52.8	100:75.9	100:79.2	100:89.1
	Butter head	0:0	16:3.3	100:23.1	100:29.7	100:42.9	100:49.5	100:56.1	100:72.6
F 222-B	Cos	0:0	0:0	32:6.6	32:6.6	48:9.9	48:9.9	48:9.9	48:9.9
	Green oak	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
	Red oak	0:0	16:3.3	48:9.9	48:9.9	48:9.9	64:13.2	100:26.4	100:26.4
	Butter head	0:0	0:0	16:3.3	48:9.9	64:13.2	64:13.2	64:13.2	64:13.2

\*DAI = Day after inoculation

<sup>1</sup>% การเกิดโรค [Disease incidence, DI] =  $\frac{\text{จำนวนต้นที่แสดงอาการโรค}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}} \times 100$ <sup>2</sup>% ความรุนแรงของโรค [Disease severity, DS] =  $\frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนต้นที่แสดงอาการโรค} \times \text{ระดับอาการโรค)}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด} \times \text{ระดับอาการสูงสุด}} \times 100$ 

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 4.2 การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B ต่อการเจริญเติบโตของพืช

จากการนำเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B ที่ได้จากงานวิจัยของ ธิติและคณะ (2555) มาศึกษาถึงคุณสมบัติและความสามารถในการด้านส่งเสริมการเจริญของพืช 6 ชนิด โดยเริ่มจากการศึกษาผลต่อการงอกของเมล็ดพืชและตามด้วยผลต่อการเจริญเติบโตของพืชทดสอบดังกล่าว โดยมีรายละเอียดดังนี้

### 4.2.1 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B ต่อการออกของเมล็ดพืช

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *F. oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B ต่อการออกของเมล็ดพืชต่างๆ คือ ผักสลัด 4 สายพันธุ์ (Green oak, Butter head, Red oak และ Cos) เมล็ดคะน้า และ เมล็ดถั่วเขียว พบว่าการใช้เชื้อ *Fusarium* สายพันธุ์ F 221-B คลุกเมล็ดสามารถกระตุ้นให้เมล็ดพืชทดสอบทั้งหมด ยกเว้น Red oak งอกเร็วขึ้นกว่าปกติ 1 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่คลุกเชื้อ กล่าวคือ ในวันที่ 2 หลังจากเพาะเมล็ด พบว่าเมล็ดพืชที่คลุกด้วยเชื้อ F 221-B จำนวน 4 พืช ได้แก่ Green oak, Butter head, Cos และ ถั่วเขียว มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดคะน้า งอก 40 เปอร์เซ็นต์ และผักสลัด Red oak ยังไม่งอก ในขณะที่เมล็ดทดสอบทั้งหมดทั้ง 6 ชนิด ที่ไม่ได้คลุกเชื้อดังกล่าวไม่พบว่ามีกรงอกเลย แต่จะเริ่มงอกในวันที่ 3 ซึ่งส่งผลให้ขนาดของต้นกล้าในวันที่ 3 และ 5 ที่ได้จากเมล็ดที่ไม่ได้คลุกเชื้อมีแนวโน้มที่มีความยาวของต้นกล้าน้อยกว่าต้นกล้าที่ได้จากเมล็ดพืชที่คลุกเชื้อ (ตารางที่ 4.4) อย่างไรก็ตาม ขนาดความยาวของต้นกล้าทั้งหมดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

### 4.2.2 ผลของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B ต่อการเจริญเติบโตของพืช

จากการใช้ spore suspension ของเชื้อ *F. oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B ทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นคือ  $10^4$ ,  $10^6$  และ  $10^8$  spore/ml ใส่ลงในสารละลายธาตุอาหารพืช เพื่อปลูกพืชทดสอบ 6 ชนิด พบว่าในช่วงแรก ระดับความเข้มข้นของเชื้อ F 221-B ไม่มีผลต่อจำนวนใบและขนาดใบของพืชทั้ง 6 ชนิด เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (control) แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไปถึงวันที่ 38 และ 45 วัน เริ่มสังเกตเห็นอิทธิพลของระดับความเข้มข้นของเชื้อ F 221-B ต่อการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ กล่าวคือ ที่ระดับความเข้มข้น  $10^8$  spore/ml ของ F 221-B มีแนวโน้มทำให้จำนวนใบและขนาดของใบสูงกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ รวมทั้งกรรมวิธีควบคุม control (ตารางที่ 4.5) ส่วนอิทธิพลของระดับความเข้มข้นของ F 221-B ต่อค่า SPAD value พบว่าค่า SPAD value ของทุกพืช จะเริ่มมีค่าสูงขึ้นเมื่อพืชอายุเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรรมวิธีที่ใส่เชื้อ F 221-B กล่าวคือในกรรมวิธีที่ใส่เชื้อ F 221-B ความเข้มข้น  $10^8$  spore/ml จะมีค่า SPAD value สูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใส่  $10^4$  และ  $10^6$  spore/ml รวมทั้ง control ตามลำดับ ตัวอย่างเช่น ในผักสลัด Red oak, Cos, Butter

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

head ที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหาร (solution culture) ที่ไม่ได้รับเชื้อ F 221-B จะมีค่า SPAD value ในระยะแรกและเมื่อสิ้นสุดการทดลอง อยู่ในช่วง 24-30.2

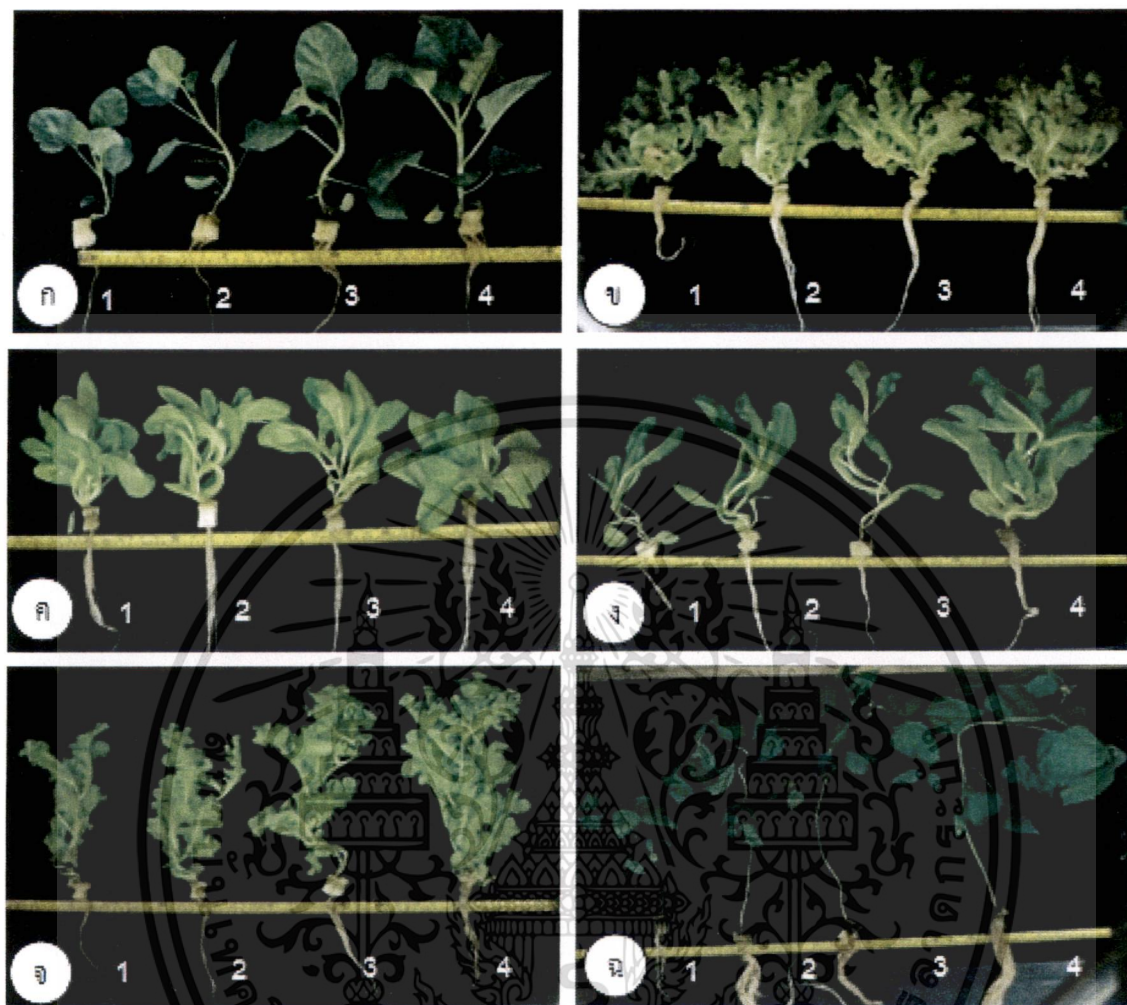
ตารางที่ 4.4 ผลของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สายพันธุ์ F 221 B ต่อการงอกของเมล็ดพืช

ชนิดพืช	เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดพืช		ความยาวต้นกล้าเฉลี่ย (ซม)			
	วันที่ 2		วันที่ 3		วันที่ 5	
	ไม่คลุกเชื้อ	คลุกเชื้อ	ไม่คลุกเชื้อ	คลุกเชื้อ	ไม่คลุกเชื้อ	คลุกเชื้อ
Cos	0	100	2.36ab <sup>L</sup>	3.48a	4.04b	5.78a
Green oak	0	100	2.41ab	3.57a	3.2ab	4.84a
Red oak	0	0	1.31ab	2.1a	2.01ab	3.47a
Butter head	0	100	2.6ab	3.31a	3.1ab	4.5a
คะน้า	0	40	1.7ab	2.7a	2.2ab	3.6a
ถั่วเขียว	0	100	3.4ab	4.6a	6.8b	8.7a

<sup>L</sup>/ค่าเฉลี่ยจาก 75 ซ้ำ ในแต่ละแถวแนวนอนที่ตามด้วยอักษรภาษาอังกฤษเหมือนกัน ที่ต่างกันจะมีความต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P=0.05

ในกรณีที่ได้รับเชื้อ F 221-B ความเข้มข้น  $10^8$  spore/ml ผักสลัดทั้ง 3 ชนิดมีค่า SPAD value ในวันที่ 24 อยู่ในช่วง 24.3-29.7 และสูงขึ้นไปถึง 34.8 ในวันสุดท้ายของการทดลองซึ่งค่าดังกล่าวสูงกว่า Control ที่ไม่ได้ทำการปลูกเชื้อ F 221-B (ตารางที่ 4.5) สำหรับผักทดสอบที่เหลืออีก 3 ชนิด กล่าวคือ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง Green oak ที่ไม่ได้รับและรับเชื้อมีค่า SPAD value เท่ากับ 15.2 และ 20 ตามลำดับ ส่วน คะน้า ในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อ  $10^8$  spore/ml มีค่า SPAD value อยู่ระหว่าง 43-47.3 สูงกว่าในกรรมวิธีเปรียบเทียบ และสำหรับ ถั่วเขียว ในการทดลองนี้มีค่า SPAD value ในกรรมวิธีเปรียบเทียบมีค่าเท่ากับ 33.1 ซึ่งน้อยกว่าในกรรมวิธีที่ใส่ spore suspension เชื้อ F 221-B ในทุกๆระดับความเข้มข้น โดยจะเห็นเด่นชัดสุดในความเข้มข้น  $10^8$  spore/ml ซึ่งมีค่าเท่ากับ 35.9 ส่วนในกรณีของน้ำหนักรากและน้ำหนักแห้ง (ตารางที่ 4.5, ภาพที่ 4.2) ผลเป็นไปในทิศทางเดียวกับ จำนวนใบ ขนาดใบ และ SPAD value กล่าวคือการใช้เชื้อรา F 221-B ที่ความเข้มข้น  $10^8$  spore/ml มีผลในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชทั้ง 6 ชนิด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุม (control) ทั้งในด้านน้ำหนักสดต้นและราก รวมทั้งน้ำหนักแห้ง ด้วยเหตุนี้ อาจจะเป็นเพราะเกิดจากปัญหาทางสภาพอากาศที่ร้อน ที่มีอุณหภูมิอยู่ในช่วง 37-39 องศาเซลเซียส ซึ่งอุณหภูมิของน้ำสารละลายที่พืชนั้นก็สูงเช่นเดียวกันจึงทำให้ขนาดของต้นและน้ำหนักต้นที่ได้นั้นมีขนาดเล็กผิดปกติไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.2 แสดงการเจริญเติบโตของพืช 6 ชนิด ที่อายุ 45 วัน ซึ่งปลูกในสารละลายธาตุอาหารพืช ที่ผสม spore suspension ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* (F 221-B) (ภาพ ก= ค่ะน้ำ, ข = Red oak, ค = Butter head, ง = Cos, จ = Green oak และ ฉ = ถั่วเขียว ; 1 = control, 2 =  $10^4$  spore/ml, 3 =  $10^6$  spore/ml และ 4 =  $10^8$  spore/ml)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 แสดงการเจริญเติบโตของพืชในสารละลายธาตุอาหาร (solution culture) ที่ได้เชื้อ *Fusarium oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B

ชนิดพืช	กรรมวิธี	การเจริญเติบโตของพืช															
		จำนวนใบ (ใบ)			ขนาดใบ (ซม.)			คลอโรฟิลล์ (SPAD Value)			น้ำหนักสด (กรัม)			น้ำหนักแห้ง (กรัม)			
		24วัน	31วัน	38วัน	45วัน	24วัน	31วัน	38วัน	45วัน	24วัน	31วัน	38วัน	45วัน	ราก	ลำต้น		
Red oak	(0) Healthy control	4.1a <sup>v</sup>	6.1a	13.3b	14.2b	1.7a	4.8a	11.7b	12b	24	24.1	24.3	27.6	0.84b	19.36b	0.13ab	0.81b
	10 <sup>1</sup> spore/ml	4.3a	6.3a	14b	15.8b	2a	5.7a	12.7ab	12.9b	24	24.4	24.9	28.4	1.19ab	22.65b	0.08ab	0.96ab
	10 <sup>6</sup> spore/ml	4.3a	6.8a	14.9ab	17.8ab	2a	5.7a	13ab	13.9ab	24.2	24.5	25.4	30.6	1.29ab	23.02b	0.09a	0.97ab
	10 <sup>8</sup> spore/ml	4.5a	7a	16.5a	18.7a	2.2a	5.9a	14a	14.2a	24.3	24.5	26.1	32.5	1.75a	29.37a	0.09a	1.17a
CV %	10.8	8.2	9.2	10.1	7.3	6.8	5.4	9.7	5.4	5.9	7.1	6.7	8.3	8.9	6.9	5.4	
Butter head	(0) Healthy control	4.6a	7.3a	13ab	14.6b	2.2a	4.7a	10.8b	11.9b	23.4	24.3	24.9	26.7	0.42b	12.66b	0.03b	0.53ab
	10 <sup>1</sup> spore/ml	4.7a	7.3a	13.2ab	15.8b	2.8a	4.7a	11.4ab	12.3ab	23.5	24.3	26.7	27.1	0.84ab	13.81b	0.04ab	0.59ab
	10 <sup>6</sup> spore/ml	4.9a	7.3a	14ab	16ab	2.8a	5.3a	11.4ab	12.3ab	26.4	26.4	27	28	0.98ab	15.89ab	0.06ab	0.74ab
	10 <sup>8</sup> spore/ml	5a	7.4a	15.3a	17.5a	2.8a	5.7a	12.6a	13.1a	26.9	27	27.1	28.3	1.37a	18.68a	0.08a	0.89a
CV %	8.4	6.9	7.1	5.6	8.4	8.9	7.4	8.7	7.9	6.5	7.2	7.9	6.5	5.4	7.4	8.9	
Cos	(0) Healthy control	4.5a	5.8a	8.4ab	9.8b	2.2a	6.9b	13.8b	14.8b	24.3	28.3	30	30.2	0.58b	9.98b	0.05b	0.53b
	10 <sup>1</sup> spore/ml	4.4a	6a	9.4ab	11.5b	3.3a	7.1ab	14.5ab	14.8b	28.6	29.2	30.5	31.6	0.73b	11.91b	0.06b	0.53b
	10 <sup>6</sup> spore/ml	4.5a	6.2a	9.5ab	11.9b	3.3a	8a	14.9ab	15b	28.8	29.5	31	31.9	0.76b	12.09b	0.11ab	0.60ab
	10 <sup>8</sup> spore/ml	4.5a	6.3a	9.8a	13.4a	3.3a	8.6a	15.8a	16.8a	29.7	30.6	32	34.8	1.63a	27.13a	0.18a	1.46a
CV %	10.9	8.1	9.1	7.8	6.5	14.1	8.4	9.6	7	7.2	8.3	5.2	7.6	9.8	7.9	6.4	

ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ในแต่ละคอลัมน์ที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05

ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

ชนิดพืช	กรรมวิธี	การเจริญเติบโตของพืช															
		จำนวนใบ (ใบ)			ขนาดใบ (ซม.)			คลอโรฟิลล์ (SPAD Value)			น้ำหนักสด (กรัม)			น้ำหนักแห้ง (กรัม)			
		24 วัน	31 วัน	39 วัน	45 วัน	24 วัน	31 วัน	38 วัน	45 วัน	24 วัน	31 วัน	38 วัน	45 วัน	ราก	ลำต้น	ราก	ลำต้น
Green oak	(0) Healthy control	4.5 <sup>a</sup>	5.9 <sup>a</sup>	12 <sup>b</sup>	12.9 <sup>b</sup>	1.6 <sup>a</sup>	4.5 <sup>ab</sup>	12.5 <sup>ab</sup>	13.2 <sup>b</sup>	14.9	15	15.1	15.2	0.6 <sup>b</sup>	10.6 <sup>b</sup>	0.06 <sup>ab</sup>	0.64 <sup>ab</sup>
	10 <sup>4</sup> spore/ml	4.7 <sup>a</sup>	6.7 <sup>a</sup>	12.1 <sup>b</sup>	13.7 <sup>b</sup>	2.2 <sup>a</sup>	5.5 <sup>a</sup>	12.6 <sup>ab</sup>	13.6 <sup>b</sup>	15.1	15.3	16	16.2	0.8 <sup>b</sup>	13.1 <sup>ab</sup>	0.08 <sup>ab</sup>	0.65 <sup>ab</sup>
	10 <sup>6</sup> spore/ml	4.8 <sup>a</sup>	6.7 <sup>a</sup>	13.5 <sup>ab</sup>	14.5 <sup>ab</sup>	2.5 <sup>a</sup>	5.7 <sup>a</sup>	12.7 <sup>ab</sup>	13.7 <sup>b</sup>	15.6	16	16.3	17.9	1.4 <sup>ab</sup>	13.4 <sup>ab</sup>	0.07 <sup>ab</sup>	0.68 <sup>ab</sup>
	10 <sup>8</sup> spore/ml	5 <sup>a</sup>	7 <sup>a</sup>	14.9 <sup>a</sup>	16 <sup>a</sup>	2.8 <sup>a</sup>	5.9 <sup>a</sup>	12.9 <sup>a</sup>	15.3 <sup>a</sup>	15.8	17.8	17.8	20	1.5 <sup>a</sup>	16 <sup>a</sup>	0.10 <sup>a</sup>	0.84 <sup>a</sup>
CV %	8.1	5.1	7.3	9.5	8.5	8.6	6.8	11.2	9.8	5.9	8.6	9.8	8.2	9.6	6.7	4.2	
คะน้า	(0) Healthy control	3.5 <sup>a</sup>	4.5 <sup>a</sup>	6.6 <sup>ab</sup>	6.8 <sup>b</sup>	1.7 <sup>a</sup>	2.4 <sup>a</sup>	5.2 <sup>b</sup>	6.5 <sup>b</sup>	40.7	41.6	41.7	43	0.2 <sup>c</sup>	6.7 <sup>b</sup>	0.03 <sup>bc</sup>	0.34 <sup>c</sup>
	10 <sup>4</sup> spore/ml	3.6 <sup>a</sup>	4.5 <sup>a</sup>	6.6 <sup>ab</sup>	7.7 <sup>b</sup>	1.7 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	6.2 <sup>ab</sup>	6.8 <sup>b</sup>	43.8	43.8	43.9	44.3	0.2 <sup>bc</sup>	8.4 <sup>b</sup>	0.05 <sup>b</sup>	0.43 <sup>bc</sup>
	10 <sup>6</sup> spore/ml	3.8 <sup>a</sup>	4.7 <sup>a</sup>	7.4 <sup>a</sup>	7.9 <sup>ab</sup>	1.8 <sup>a</sup>	3.2 <sup>a</sup>	6.2 <sup>ab</sup>	7.8 <sup>b</sup>	44	44.3	44.6	44.9	0.3 <sup>b</sup>	10.4 <sup>ab</sup>	0.05 <sup>b</sup>	0.53 <sup>b</sup>
	10 <sup>8</sup> spore/ml	3.9 <sup>a</sup>	4.7 <sup>a</sup>	7.4 <sup>a</sup>	8.1 <sup>6a</sup>	2.3 <sup>a</sup>	3.3 <sup>a</sup>	6.4 <sup>a</sup>	10.2 <sup>a</sup>	45.4	45.7	46.1	47.3	0.4 <sup>a</sup>	15.2 <sup>a</sup>	0.10 <sup>a</sup>	1.01 <sup>a</sup>
CV %	9.5	9.9	7.4	10.1	7.7	8.5	9.3	7.3	7.3	5.9	4.9	5.8	7.6	11.2	6.4	9.1	6.4
ถั่วเขียว	(0) Healthy control	5 <sup>a</sup>	6.5 <sup>a</sup>	13.9 <sup>b</sup>	15.1 <sup>b</sup>	2.6 <sup>a</sup>	4.6 <sup>ab</sup>	5.2 <sup>b</sup>	5.9 <sup>b</sup>	30.5	30.7	30.7	33.1	1.1 <sup>b</sup>	7.1 <sup>b</sup>	0.12 <sup>ab</sup>	0.84 <sup>b</sup>
	10 <sup>4</sup> spore/ml	5 <sup>a</sup>	7.6 <sup>a</sup>	14.5 <sup>ab</sup>	17.3 <sup>ab</sup>	2.6 <sup>a</sup>	4.5 <sup>ab</sup>	6.4 <sup>ab</sup>	6.9 <sup>b</sup>	32.9	33.1	33.3	33.4	1.2 <sup>b</sup>	7.7 <sup>b</sup>	0.12 <sup>ab</sup>	0.95 <sup>b</sup>
	10 <sup>6</sup> spore/ml	5.3 <sup>a</sup>	8 <sup>a</sup>	14.7 <sup>ab</sup>	17.8 <sup>ab</sup>	2.7 <sup>a</sup>	4.7 <sup>ab</sup>	6.7 <sup>ab</sup>	7.5 <sup>ab</sup>	33	33.2	33.4	34.7	1.3 <sup>b</sup>	8.5 <sup>b</sup>	0.13 <sup>ab</sup>	1.60 <sup>a</sup>
	10 <sup>8</sup> spore/ml	5.3 <sup>a</sup>	8.1 <sup>a</sup>	16 <sup>a</sup>	20 <sup>a</sup>	2.9 <sup>a</sup>	5 <sup>a</sup>	7 <sup>a</sup>	9.3 <sup>a</sup>	33.9	34	34.3	35.9	2.7 <sup>a</sup>	10.9 <sup>a</sup>	0.15 <sup>a</sup>	1.62 <sup>a</sup>
CV %	14.1	15.4	9.5	7.4	8.9	9.7	12.4	8.9	8.9	6.6	4.6	8.4	7.9	9.2	6.7	9.8	8.4

ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ในแต่ละทอสมันที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05

จากการตรวจสอบปริมาณความอยู่รอดของเชื้อรา *F. oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B ในระบบ DRFT (ราก+ สารละลายธาตุอาหารพืช) ในทุกๆ กรรมวิธี พบว่าเชื้อดังกล่าวสามารถอยู่รอดได้ตลอดการทดลอง โดยมีปริมาณเมื่อสิ้นสุดการทดลองใกล้เคียงกับปริมาณที่ใส่เชื้อในระยะเริ่มต้น (ตารางที่ 4.6)

ตารางที่ 4.6 แสดงปริมาณเชื้อ *Fusarium oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B ที่สามารถอยู่รอดในการปลูกพืชในสารละลายธาตุอาหาร (solution culture) ที่ใช้ปลูกพืช 6 ชนิด

กรรมวิธี	ปริมาณสปอร์		ปริมาณความอยู่รอดของเชื้อ <i>F. oxysporum</i> (F 221-B) (spore/ml)				
	เริ่มต้น	Cos	Butter head	Red oak	Green oak	คะน้า	ถั่วเขียว
control	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10 <sup>4</sup> spore/ml	2.2×10 <sup>4</sup>	1.1×10 <sup>4</sup>	1.5×10 <sup>4</sup>	1.4×10 <sup>4</sup>	1.6×10 <sup>4</sup>	1.5×10 <sup>4</sup>	1.5×10 <sup>4</sup>
10 <sup>6</sup> spore/ml	3.2×10 <sup>6</sup>	1.6×10 <sup>6</sup>	1.2×10 <sup>6</sup>	1.4×10 <sup>6</sup>	1.5×10 <sup>6</sup>	1.6×10 <sup>6</sup>	1.6×10 <sup>6</sup>
10 <sup>8</sup> spore/ml	3.6×10 <sup>8</sup>	1.4×10 <sup>8</sup>	1.4×10 <sup>8</sup>	1.4×10 <sup>8</sup>	1.4×10 <sup>8</sup>	1.4×10 <sup>8</sup>	1.6×10 <sup>8</sup>

#### 4.2.3 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *Fusarium oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

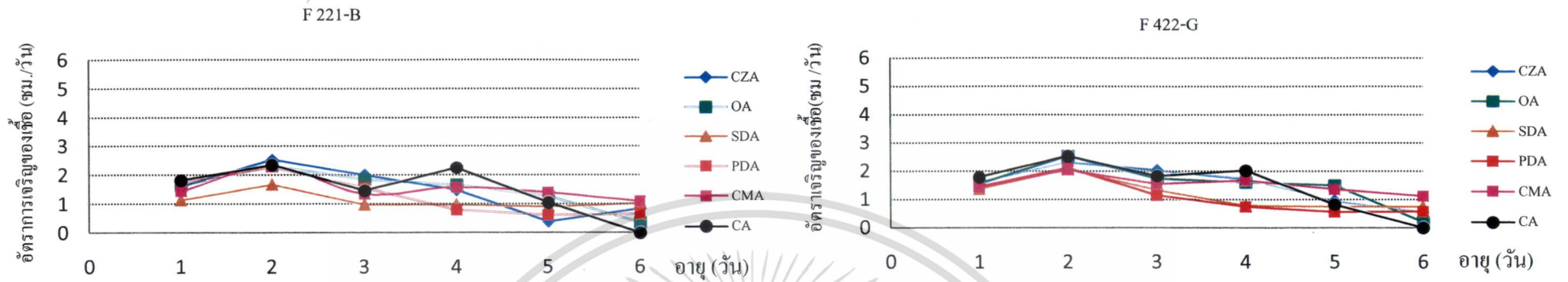
จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *F. oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B และ F 422-G พบว่า การเจริญของโค โคลินีสีเหลือง และสีภายใต้อาหารเลี้ยงเชื้อมีสีชมพู เมื่อระยะเวลาผ่านไป 3-5 วัน พบการสร้าง macroconidia มีรูปร่างเป็นเสี้ยวพระจันทร์ มีผนังกันระหว่างเซลล์ 3-5 เซลล์ มีขนาด 29.85×3.2 μm และเมื่อเวลาผ่านไป 7 วัน พบการสร้าง microconidia ความยาว 9.80 μm มีรูปร่างทรงกระบอกรี มีผนังกันระหว่างเซลล์ 1 เซลล์ และเมื่อเวลาผ่านไปจนถึงวันที่ 9 เชื้อมีการสร้าง chlamydospore ส่วนลักษณะการเจริญของเชื้อ F 422-G ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคโค โคลินีสีเหลือง และสีภายใต้อาหารมีสีน้ำตาล เมื่อเวลาผ่านไป 2-3 วัน มีการสร้าง macroconidia มีรูปร่างเป็นเสี้ยวพระจันทร์ มีผนังกัน 3-5 เซลล์ มีขนาด 28.85×3 μm และเมื่อเวลาผ่านไป 5-7 วัน พบการสร้าง microconidia ความยาว 9.60 μm มีรูปร่างแตกต่างกันไปตั้งแต่รูปกลมจนถึงรูปโค้งไม่มีผนังกันเซลล์ และวันที่ 8 มีการสร้าง chlamydospore ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบด้านการเจริญของเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์แล้ว พบว่าสายพันธุ์ F 221-B เจริญได้เร็วกว่า เชื้อ F 422-G มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1-2 เซนติเมตรต่อวัน บนอาหารเลี้ยง Potato dextrose agar (PDA)

#### 4.2.4 การศึกษาผลของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการเจริญทางเส้นใยและการสร้าง spore ของเชื้อรา

##### *Fusarium oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B และ F 422-G

จากการศึกษาผลของการเลี้ยงเชื้อรา *F. oxysporum* ทั้ง 2 สายพันธุ์ ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 6 ชนิด พบว่าเชื้อทดสอบทั้ง 2 สายพันธุ์ สามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารทั้ง 6 ชนิดใกล้เคียงกัน กล่าวคือในช่วงแรกการเจริญทางเส้นใยไม่แตกต่างกันในทุกๆ อาหารเลี้ยงเชื้อ วันที่ 2 จะเริ่มพบว่าอาหาร CA, OA และ CZA มีแนวโน้มที่จะให้ค่าการเจริญเติบโตของเส้นใยของเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์ ดีตามลำดับ และเมื่อวันที่ 5 พบว่าเชื้อทั้ง 2 ชนิดเจริญเต็มจานเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหาร CA (ภาพที่ 4.3) อย่างไรก็ตาม การเจริญของเชื้อทั้ง 2 บนอาหาร OA, CZA และ CMA ไม่แตกต่างกันทางสถิติ กับ CA สำหรับการสร้างสปอร์ พบว่าอาหาร OA เหมาะสมที่สุดสำหรับการสร้าง macroconidia และ microconidia ของ F 221-B คือ  $5.26$  และ  $2.18 \times 10^5$  spore/ml ตามลำดับ รองลงมาคือ อาหาร CMA สำหรับเชื้อ F 422-G อาหารที่ดีที่สุดสำหรับการสร้าง macroconidia และ microconidia คือ CA และ PDA ตามลำดับ (ตารางที่ 4.7)





ภาพที่ 4.3 การเจริญของเชื้อรา F 221-B และ F 422-G บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Czapek dox agar (CZA), Sabouraud dextrose agar (SDA), Oat meal agar (OA), Potato dextrose agar (PDA), Cornmeal agar (CMA) และ Carrot agar (CA)

ตารางที่ 4.7 แสดงการเจริญของเชื้อ *Fusarium oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B และ F 422-G บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อ	F 221-B				F 422-G					
	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (ซม) 5 วัน	ลักษณะสีของโคโลนี		จำนวนสปอร์ (spore/ml)		เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (ซม) 5 วัน	ลักษณะสีของโคโลนี		จำนวนสปอร์ (spore/ml)	
		ด้านบน	ด้านล่าง	Macroconidia	Microconidia		ด้านบน	ด้านล่าง	Macroconidia	Microconidia
Czapek's Dox agar (CZA)	7.9a <sup>U</sup>	White Velvet	Pink and white	6.4×10 <sup>4</sup> b <sup>U</sup>	4×10 <sup>4</sup> b	8.4a <sup>U</sup>	White Velvet	Brown and Yellow	7.8×10 <sup>4</sup> b <sup>U</sup>	4.6×10 <sup>4</sup> b
Oat meal agar (OA)	8.6a	White cotton	White and Pink	5.26×10 <sup>5</sup> a	2.18×10 <sup>5</sup> a	8.8a	White cotton	White and Yellow	1.86×10 <sup>5</sup> ab	1.72×10 <sup>5</sup> ab
Sabouraud's dextrose agar (SDA)	5.5c	White irregular margin	White irregular margin	7×10 <sup>4</sup> b	3.6×10 <sup>4</sup> b	6.1b	White irregular margin	White irregular margin	2.6×10 <sup>4</sup> b	1.8×10 <sup>4</sup> b
Potato dextrose agar (PDA)	6.8b	White cotton	White and Yellow	5.8×10 <sup>4</sup> b	2.6×10 <sup>4</sup> b	5.8c	White cotton	Yellow	1.94×10 <sup>5</sup> ab	2.3×10 <sup>5</sup> a
Cornmeal agar (CMA)	7.9a	White and Yellow	White and Pink	1.64×10 <sup>5</sup> ab	1.72×10 <sup>5</sup> ab	7.9a	White and Yellow	Yellow	1.12×10 <sup>5</sup> b	1.52×10 <sup>5</sup> ab
Carrot agar (CA)	9a	White and Yellow	White and Orange	1.5×10 <sup>5</sup> ab	1.46×10 <sup>5</sup> ab	9a	White and Yellow	Orange	2.62×10 <sup>5</sup> a	1.66×10 <sup>5</sup> ab

<sup>U</sup> ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ในแต่ละคอลัมน์เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี และ จำนวนสปอร์ ที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05

#### 4.3 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัด *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* โดยวิธี Bi-culture antagonistic test

จากการทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 14 ไอโซเลท คือ T 124-1, T 124-2, T 223-B, T 224-B, T 224-G, T 315-1, T 324-B, T 415-1, T 415-2, T 424-B, T 424-C, T 515-1, T 515-2 และ T515-3 ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* จำนวน 2 ไอโซเลท สาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์ ด้วยวิธี bi-culture test พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้งหมดสามารถยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* ได้ทั้ง 2 ไอโซเลท กล่าวคือในไอโซเลท F 221-R อัตราการเจริญของเชื้อ *Trichoderma* spp. ค่อนข้างต่ำในช่วง 3 วันแรก จึงทำให้เห็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งไม่เด่นชัดนัก ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 4.9-28.18 เปอร์เซ็นต์ โดยไอโซเลท T 415-2 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่ดีที่สุดเท่ากับ 28.18 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือไอโซเลท T 515-3, T 515-1 และ T 224-G โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งคือ 22.05, 20.83 และ 17.40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงวันที่ 5-7 หลังจากการปลูกเชื้อ พบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Trichoderma* spp. ทุกๆ ไอโซเลทค่อยๆ เพิ่มขึ้นซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้ออยู่ในช่วง 37.4-62.4 เปอร์เซ็นต์ โดยไอโซเลท T 415-1 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่ดีที่สุดเท่ากับ 62.4 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.8, ภาพที่ 4.4) รองลงมาคือไอโซเลท T 224-G, T 124-2, T 515-2, T 515-1 และ T 515-3 โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งคือ 59.2, 58.6, 56.7, 56.1 และ 54.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงสิ้นสุดการทดลอง (วันที่ 9 หลังจากการบ่มเชื้อ) พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่เพิ่มขึ้น โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่ม 1 คือกลุ่มของไอโซเลทที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อดีที่สุดซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อใกล้เคียงกันอยู่ในช่วง 60.1-67.4 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ ไอโซเลท T 415-1, T 224-G, T 124-2, T 515-2, T 515-1, T 223-B, T 324-B, T 515-3 และ T 224-B กลุ่มที่ 2 คือกลุ่มของไอโซเลทเชื้อที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้อยกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ คือ ไอโซเลท T 315-1, T 424-C T 424-B, T 415-2 และ T 124-1

สำหรับกลไกการยับยั้งที่ตรวจพบจากการศึกษาครั้งนี้มีครบทั้ง 3 กลไก กล่าวคือในระยะแรก (วันที่ 3 หลังจากการบ่มเชื้อ) จะเริ่มสังเกตเห็นกลไกแบบ antibiosis โดยพบ clear zone (ภาพที่ 4.4) และเมื่อระยะเวลาผ่านไปกลไก antibiosis นี้ จะถูกปกคลุมด้วยกลไก competition และ exploitation ตามลำดับ เมื่อเชื้อในกรรมวิธีควบคุมเจริญเต็มงานเพาะเลี้ยงเชื้อ ได้นำเชื้อในกรรมวิธี bi-culture test มาทำการศึกษาดังกลไก Exploitation (วันที่ 9 หลังจากการบ่มเชื้อ) โดยทำการตัดชิ้นวัฏบริเวณที่เชื้อเจริญชนกัน พบว่าเชื้อ *Trichoderma* spp. จำนวน 8 ไอโซเลท คือ T 124-1, T 124-2, T 223-B, T 315-1, T 324-B, T 415-1, T 424-B และ T 424-C สามารถเจริญเป็น parasite เข้าไปยึด

เกาะและแทงผ่านเข้าไปดูคินสารอาหารและทำลายเส้นใยของเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R) ได้ (ภาพที่ 4.5)

ส่วนในไอโซเลท F 422-G อัตราการเจริญของเชื้อ *Trichoderma* spp. ก่อนข้างต่ำในช่วง 3 วันแรก จึงทำให้เห็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งไม่เด่นชัดนัก ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 5.2-45 เปอร์เซ็นต์ โดยไอโซเลท T 515-2 และ T 515-3 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่ดีที่สุดเท่ากับ 45 และ 40.3 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ไอโซเลท T 515-1, T 415-1 และ T 224-G โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 34.4, 33.5 และ 30.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงวันที่ 5-7 หลังจากการปลูกเชื้อ พบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Trichoderma* spp. ทุกๆ ไอโซเลทค่อยๆ เพิ่มขึ้นซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้ออยู่ในช่วง 28.8-66.3 เปอร์เซ็นต์ โดยไอโซเลท T 515-2 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่ดีที่สุดเท่ากับ 66.3 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ไอโซเลท T 515-3, T 515-1, T 415-1, T 224-G และ T 223-B โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งคือ 66.3, 60, 59.3, 57.4 และ 54.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.9, ภาพที่ 4.6) และเมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงสิ้นสุดการทดลอง (วันที่ 9 หลังจากการบ่มเชื้อ) พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่เพิ่มสูงขึ้น โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ดังนี้ กลุ่ม 1 คือ กลุ่มของไอโซเลทที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ดีที่สุดซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อใกล้เคียงกันอยู่ในช่วง 60-73 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ ไอโซเลท T 515-2, T 515-3, T 515-1, T 415-1, T 224-G, T 223-B, T 415-2 และ T 124-1 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเป็น 73, 71, 68, 67.4, 66, 63.8, 62.4 และ 61 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ กลุ่มที่ 2 คือกลุ่มของไอโซเลทเชื้อที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้อยกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ คือ ไอโซเลท T 324-B, T 424-B, T 224-B, T 124-2 และ T 315-1

สำหรับกลไกการยับยั้งที่ตรวจพบจากการศึกษาครั้งนี้มีครบทั้ง 3 กลไก กล่าวคือในระยะแรก (วันที่ 3 หลังจากการบ่มเชื้อ) จะเริ่มสังเกตเห็นกลไกแบบ antibiosis โดยพบ clear zone (ภาพที่ 4.6) และเมื่อระยะเวลาผ่านไปกลไก antibiosis นี้ จะถูกปกคลุมด้วยกลไก competition และ exploitation ตามลำดับ เมื่อเชื้อในกรรมวิธีควบคุมเจริญเต็มงานเพาะเลี้ยงเชื้อ ได้นำเชื้อในกรรมวิธี bi-culture test มาทำการศึกษาถึงกลไก Exploitation (วันที่ 9 หลังจากการบ่มเชื้อ) โดยทำการตัดชิ้นวุ้นบริเวณที่เชื้อเจริญชนกัน พบว่าเชื้อ *Trichoderma* spp. จำนวน 9 ไอโซเลท คือ T 124-1, T 124-2, T 223-B, T 315-1, T 324-B, T 415-1, T 415-2, T 424-B และ T 424-C สามารถเจริญเป็น parasite เข้าไปยึดเกาะและแทงผ่านเข้าไปดูคินสารอาหารและทำลายเส้นใยของเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 422-G) ได้ (ภาพที่ 4.7)

นอกจากนั้นเป็นที่น่าสนใจว่าใน Bi-culture test ของเชื้อ *Trichoderma* spp. 3 ไอโซเลท คือ T 224-G, T 515-1 และ T 515-2 นั้นโคโลนีเชื้อสาเหตุในสิ่งที่ไม่ได้เผชิญหน้ากับเชื้อราปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไม่มีการเจริญเติบโตเมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุม ซึ่งน่าจะได้รับอิทธิพลจากสารระเหย (volatile metabolite) ที่ถูกสร้างจากเชื้อราปฏิปักษ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. 14 ไอโซเลท ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R) โดยวิธี Bi – culture antagonistic test

<i>Trichoderma</i> spp.	เส้นผ่านศูนย์กลาง โคลโลนี <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 221-R) (ชม)														
	วันที่ 3			วันที่ 5			วันที่ 7			วันที่ 9			กลไกการยับยั้ง <sup>3/</sup>		
	Control	Bi – culture	GI % <sup>2/</sup>	Control	Bi – culture	GI %	Control	Bi – culture	GI %	Control	Bi – culture	GI %	วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 9
T 124-1	4.08a <sup>1/</sup>	3.88b	4.90	6.2a	3.88b	37.4	7.8a	3.88b	50.2	9.0a	3.88b	56.9	A + C	C	E
T 124-2	4.08a	3.23b	11.02	6.2a	3.23b	47.9	7.8a	3.23b	58.6	9.0a	3.23b	64.1	A + C	C	E
T 223-B	4.08a	3.43b	11.51	6.2a	3.43b	44.7	7.8a	3.43b	56	9.0a	3.43b	61.8	C	C	E
T 224-B	4.08a	3.59b	12.25	6.2a	3.59b	42.1	7.8a	3.59b	54	9.0a	3.59b	60.1	A	A	A
T 224-G	4.08a	3.18b	17.40	6.2a	3.18b	48.7	7.8a	3.18b	59.2	9.0a	3.18b	64.6	A	A	A
T 315-1	4.08a	3.61b	16.17	6.2a	3.61b	41.9	7.8a	3.61b	53.7	9.0a	3.61b	59.8	C	C	E
T 324-B	4.08a	3.53b	13.48	6.2a	3.53b	43.1	7.8a	3.53b	54.7	9.0a	3.53b	60.7	A + C	C	E
T 415-1	4.08a	2.93b	15.93	6.2a	2.93b	52.7	7.8a	2.93b	62.4	9.0a	2.93b	67.4	A + C	C	E
T 415-2	4.08a	3.69b	28.18	6.2a	3.69b	40.4	7.8a	3.69b	52.6	9.0a	3.69b	59	A	A	A
T 424-B	4.08a	3.63b	9.55	6.2a	3.63b	41.4	7.8a	3.63b	53.4	9.0a	3.63b	59.6	A + C	C	E
T 424-C	4.08a	3.61b	11.51	6.2a	3.61b	41.7	7.8a	3.61b	53.7	9.0a	3.61b	59.8	A + C	C	E
T 515-1	4.08a	3.42b	20.83	6.2a	3.42b	44.8	7.8a	3.42b	56.1	9.0a	3.42b	62	A	A	A
T 515-2	4.08a	3.37b	12.00	6.2a	3.37b	45.6	7.8a	3.37b	56.7	9.0a	3.37b	62.5	A	A	A
T 515-3	4.08a	3.58b	22.05	6.2a	3.58b	42.2	7.8a	3.58b	54.1	9.0a	3.58b	60.2	A	A	A

<sup>1/</sup> ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละแถวแน่นอน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P=0.05 โดยวิธีของ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

<sup>2/</sup> คำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ (Growth Inhibition) ตามสูตร (GI = ((R1 – R2) / R1) x 100; R1 = เส้นผ่านศูนย์กลาง โคลโลนีของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* ในกรรมวิธีควบคุม R2 = เส้นผ่านศูนย์กลาง โคลโลนีเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* ในกรรมวิธีที่เลี้ยงเชื้อร่วมกับบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

<sup>3/</sup> กลไกการยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae*; C = Competition A = Antagonism และ E = Exploitation

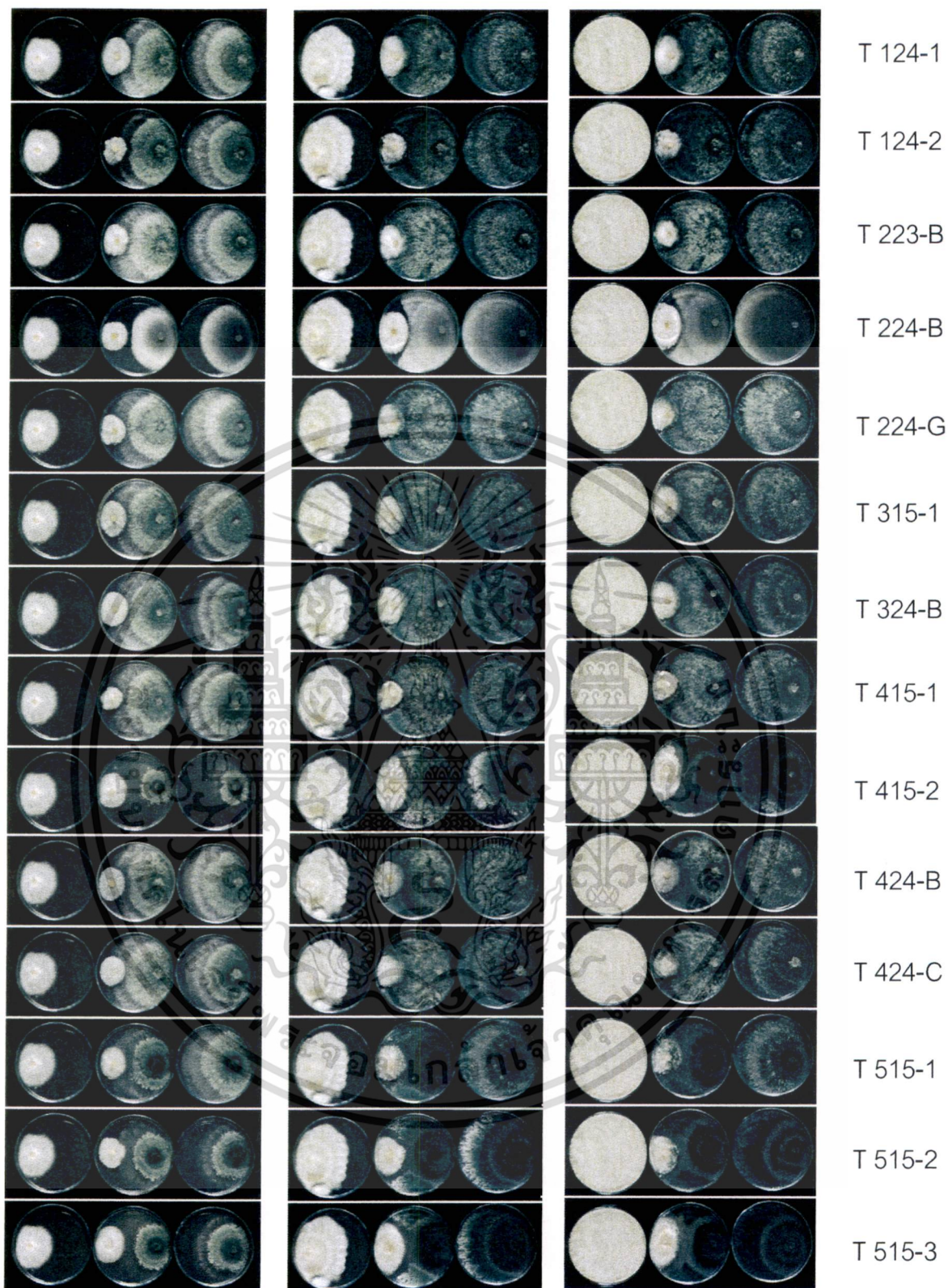
ตารางที่ 4.9 ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. 14 ไอโซเลท ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 422-G) โดยวิธี Bi-culture antagonistic test

<i>Trichoderma</i> spp.	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 422-G) (ซม)														
	วันที่ 3			วันที่ 5			วันที่ 7			วันที่ 9			กลไกการยับยั้ง <sup>3/</sup>		
	Control	Bi-culture	GI % <sup>2/</sup>	Control	Bi-culture	GI %	Control	Bi-culture	GI %	Control	Bi-culture	GI %	วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 9
T 124-1	4.42a <sup>1/</sup>	3.52b	20.7	5.8a	3.52b	39.3	7.2a	3.52b	51.1	9.0a	3.52b	61	A + C	C	E
T 124-2	4.42a	3.99a	9.72	5.8a	3.99b	31.2	7.2a	3.99b	44.6	9.0a	3.99b	55.7	A + C	C	E
T 223-B	4.42a	3.26b	26.2	5.8a	3.26b	43.8	7.2a	3.26b	54.7	9.0a	3.26b	63.8	A + C	C	E
T 224-B	4.42a	3.97b	10.2	5.8a	3.97b	31.6	7.2a	3.97b	44.9	9.0a	3.97b	55.9	A	A	A
T 224-G	4.42a	3.07b	30.5	5.8a	3.07b	47.1	7.2a	3.07b	57.4	9.0a	3.07b	66	A	A	A
T 315-1	4.42a	4.19a	5.20	5.8a	4.19b	28.8	7.2a	4.19b	41.8	9.0a	4.19b	53.4	A + C	C	E
T 324-B	4.42a	3.76b	14.9	5.8a	3.76b	35.2	7.2a	3.76b	47.8	9.0a	3.76b	58.2	A + C	C	E
T 415-1	4.42a	2.93b	33.5	5.8a	2.93b	49.5	7.2a	2.93b	59.3	9.0a	2.93b	67.4	A + C	C	E
T 415-2	4.42a	3.38b	23.5	5.8a	3.38b	41.7	7.2a	3.38b	53.1	9.0a	3.38b	62.4	A + C	C	E
T 424-B	4.42a	3.83a	13.3	5.8a	3.83b	34	7.2a	3.83b	46.8	9.0a	3.83b	57.4	A + C	C	E
T 424-C	4.42a	3.61b	18.3	5.8a	3.61b	37.8	7.2a	3.61b	50	9.0a	3.61b	60	A + C	C	E
T 515-1	4.42a	2.90b	34.4	5.8a	2.90b	50	7.2a	2.90b	60	9.0a	2.90b	68	A	A	A
T 515-2	4.42a	2.43b	45.0	5.8a	2.43b	58.1	7.2a	2.43b	66.3	9.0a	2.43b	73	A	A	A
T 515-3	4.42a	2.64b	40.3	5.8a	2.64b	54.5	7.2a	2.64b	63.3	9.0a	2.64b	71	A	A	A

<sup>1/</sup> ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละแถวแนวนอน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P=0.05 โดยวิธีของ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

<sup>2/</sup> คำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ (Growth Inhibition) ตามสูตร  $GI = ((R1 - R2) / R1) \times 100$ ; R1 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* ในกรรมวิธีควบคุม R2 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* ในกรรมวิธีที่เลี้ยงเชื้อร่วมกับบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

<sup>3/</sup> กลไกการยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae*; C = Competition A = Antagonism และ E = Exploitation



Fusarium- control    Bi-culture    Trichoderma- control    Fusarium- control    Bi-culture    Trichoderma- control    Fusarium- control    Bi-culture    Trichoderma- control

วันที่ 3

วันที่ 5

วันที่ 9

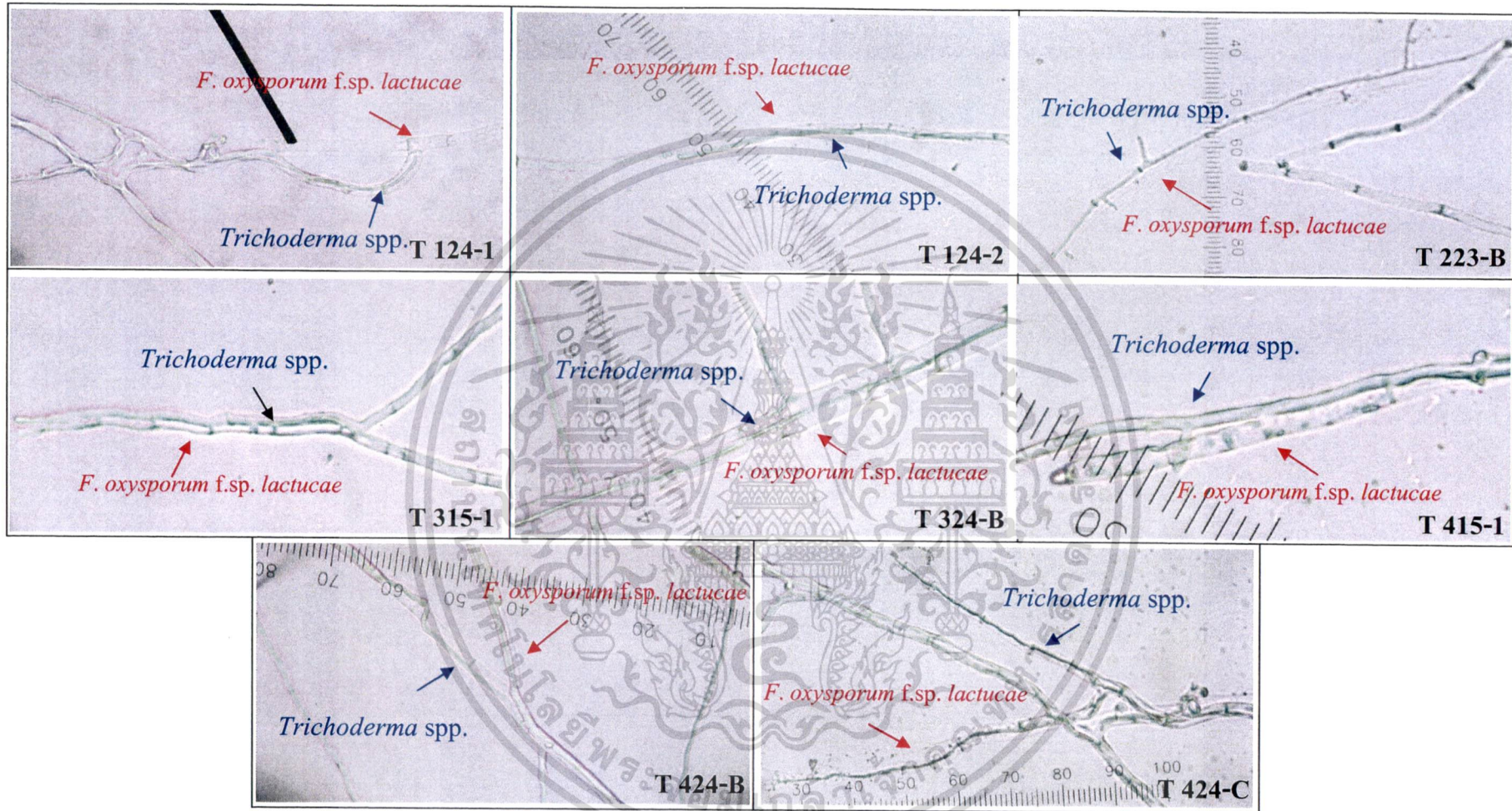
ภาพที่ 4.4 ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. 14 ไอโซเลต ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตเชื้อรา

*Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R) โดยวิธี Bi – culture antagonistic test (3, 5 และ 9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

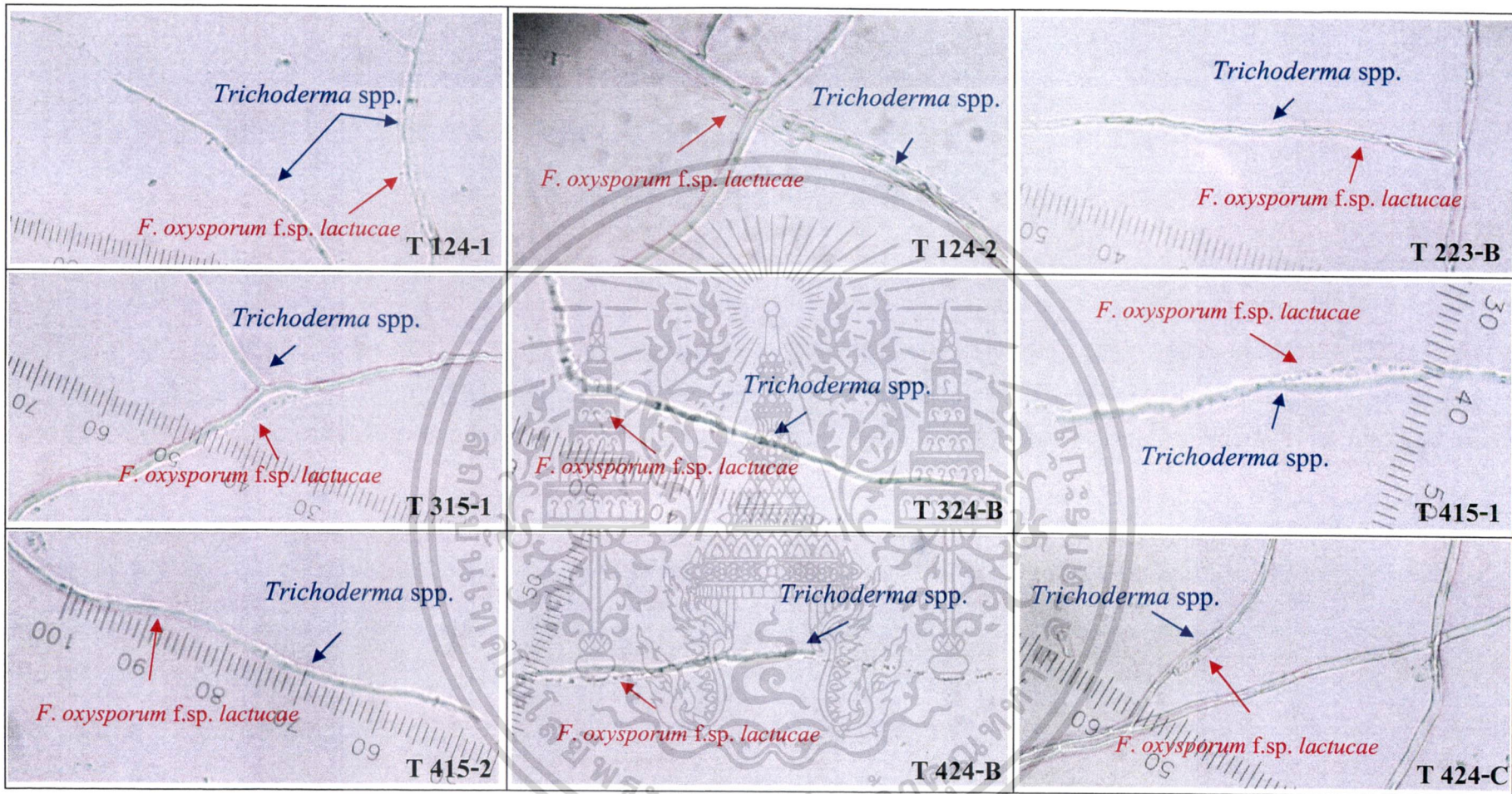
วันหลังการปลูกเชื้อ)

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.5 ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma* spp. 8 ไอโซเลท ที่ยึดเกาะและแทงผ่านเข้าไปดูตกินอาหารในเส้นใยของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R) ที่กำลังขยาย 400 เท่า





ภาพที่ 4.7 ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma* spp. 9 โขเลขที่ ยึดเกาะและแทงผ่านเข้าไปสู่ตุ่มกินอาหารในเส้นใยของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 422-G) ที่กำลังขยาย 400 เท่า

#### 4.4 การทดสอบประสิทธิภาพของสารระเหย (volatile metabolites) ของเชื้อรา *Trichoderma* spp.

##### โดยวิธี Volatile - extracellular metabolite test

การทดสอบประสิทธิภาพของสารระเหยจากเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 14 ไอโซเลท คือ T 124-1, T 124-2, T 223-B, T 224-B, T 224-G, T 315-1, T 324-B, T 415-1, T 415-2, T 424-B, T 424-C, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3 กับเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* สาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ จำนวน 2 ไอโซเลทโดยวิธี volatile extracellular metabolite test พบว่า *Trichoderma* spp. ทุกไอโซเลทสามารถสร้างสารระเหยได้ และมีผลทำให้โคโลนีของเชื้อ *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* ทั้ง 2 ไอโซเลทเจริญช้าลง กล่าวคือในไอโซเลท F 221-R ลักษณะการเจริญของเชื้อในช่วงวันแรก (1 วันหลังการบ่มเชื้อ) อัตราการเจริญของเชื้ออยู่ในระหว่าง 5.18-5.93 เซนติเมตร ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมแล้ว พบว่าเจริญช้ากว่าในกรรมวิธีควบคุม (control) ซึ่งในกรรมวิธีควบคุมมีอัตราการเจริญของเส้นใยถึง 6.3 เซนติเมตร และเมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงวันที่ 2 อัตราการเจริญของเส้นใยเชื้อเพิ่มสูงขึ้น แต่เมื่อถึงการเจริญของเชื้อ F 221-R ในเพลทที่ประกบร่วมกับเชื้อ *Trichoderma* spp. ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อก็ยังมีขนาดเล็กกว่าในวิธีการควบคุม ในช่วงวันที่ 3 หลังการปลูกเชื้อ (สิ้นสุดการทดลอง) เป็นวันที่เชื้อในชุดควบคุมเจริญเต็มเพลท อย่างไรก็ตามถ้าประเมินเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง พบว่าอยู่ในระดับไม่สูงมากนัก โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ F 221-R อยู่ในช่วง 14.1-27.1 เปอร์เซ็นต์ โดยไอโซเลท T 224-B และ T 515-2 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่ดีที่สุด คือ 23.5 และ 27.1 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.10) รองลงมาคือ ไอโซเลท T 224-G, T 515-1 และ T 515-3 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 19.8-20.1 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ลักษณะการเจริญของเส้นใยเชื้อ F 221-R ที่ประกบร่วมกันกับเชื้อ *Trichoderma* spp. มีลักษณะรูปร่างและสีของโคโลนีเชื้อผิดแปลกไปจากตัวควบคุม (control) ซึ่งอาจเป็นผลมาจากสารระเหยที่เชื้อ *Trichoderma* spp. ปล่อยออกมาทำให้ลักษณะการเจริญของเชื้อนั้นช้าลงและผิดแปลกไป (ภาพที่ 4.8)

ส่วนในไอโซเลท F 422-G ลักษณะการเจริญของเชื้อในช่วงวันแรก (1 วันหลังการบ่มเชื้อ) การเจริญของเชื้ออยู่ในระหว่าง 4.79-6.04 เซนติเมตร ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมแล้ว พบว่าเจริญช้ากว่าในกรรมวิธีควบคุม (control) ซึ่งในกรรมวิธีควบคุมมีอัตราการเจริญของเส้นใยถึง 6.15 เซนติเมตร และเมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงวันที่ 2 อัตราการเจริญของเส้นใยเชื้อเพิ่มสูงขึ้น แต่เมื่อถึงการเจริญของเชื้อ F 422-G ในเพลทที่ประกบร่วมกับเชื้อ *Trichoderma* spp. ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อก็ยังมีขนาดเล็กกว่าในวิธีการควบคุม และในช่วงวันที่ 3 หลังการปลูกเชื้อ (สิ้นสุดการทดลอง) เป็นวันที่เชื้อในชุดควบคุมเจริญเต็มเพลท แต่อย่างไรก็ตามถ้าประเมินเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง พบว่าอยู่ในระดับไม่สูงมากนัก โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ F 422-G อยู่ในช่วง 3.66-33 เปอร์เซ็นต์ โดยไอโซเลท T 223-B และ T 224-B มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่ดีที่สุด คือ 30.8 และ 33 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.10) รองลงมาคือ ไอโซเลท T 124-1, T 224-G,

T 515-1, T 515-2 และ T 515-3 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 21.6-29.7 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ลักษณะการเจริญของเส้นใยเชื้อ F 422-G ที่ประกบร่วมกันกับเชื้อ *Trichoderma* spp. มีลักษณะรูปร่างและสีของโคโลนีเชื้อ ผิดแปลกไปจากตัวควบคุม (control) ซึ่งเป็นผลมาจากสารระเหยที่เชื้อ *Trichoderma* spp. ปล่อยออกมาทำให้ลักษณะการเจริญของเชื้อนั้นช้าลงและผิดแปลกไป (ภาพที่ 4.9)

โดยสรุปจากการทดลองประสิทธิภาพของเชื้อ *Trichoderma* spp. ทั้ง 14 ไอโซเลทในครั้งนี พบว่า T 224-G, T 515-1 และ T 515-2 สามารถสร้างสารระเหยที่มีผลไปยับยั้งเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lactucaae* ทั้ง 2 ไอโซเลทได้สูงสุด คือ 33 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผลที่ได้นี้ไปสนับสนุนข้อสังเกตที่คณะผู้วิจัยได้ระบุไว้ใน Bi-culture test ที่ว่าน่าจะมีกลไกของสารระเหยได้ร่วมด้วย



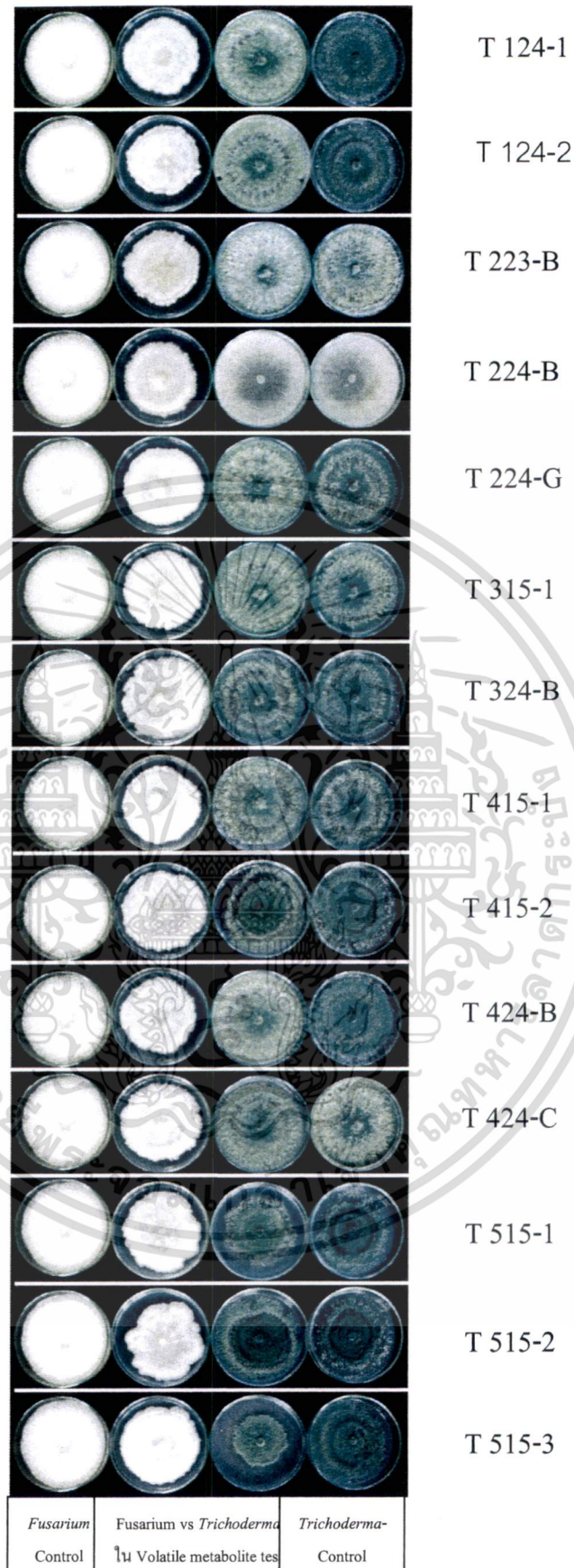
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 ประสิทธิภาพของสารระเหย (volatile metabolites) เชื้อรา *Trichoderma* spp. 14 ไอโซเลท ที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R และ F 422-G) โดยวิธี Volatile metabolite test

<i>Trichoderma</i> spp.	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 221-R)				<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 422-G)			
	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (ซม.)			% GI <sup>1/</sup> (วันที่ 3)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (ซม.)			% GI (วันที่ 3)
	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3 <sup>2/</sup>		วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	
Control	6.3	7.47	9	0	6.15	7.59	9	0
T 124-1	5.74 <sup>V</sup>	6.76	7.67	14.7	6.04	6.82	7	22.2
T 124-2	5.93	6.97	7.24	19.5	5.57	6.49	8.13	9.66
T 223-B	5.4	6.48	7.37	18.1	5.41	5.84	6.22	30.8
T 224-B	5.31	6.34	6.88	23.5	4.79	5.43	6.03	33
T 224-G	5.52	6.9	7.21	19.8	5.2	5.64	6.32	29.7
T 315-1	5.85	6.78	7.32	18.6	5.94	7.1	7.68	14.6
T 324-B	5.55	6.5	7.73	14.1	5.72	6.47	7.11	21
T 415-1	5.62	6.5	7.28	19.1	6.03	7.26	8.53	5.22
T 415-2	5.78	6.34	7.67	14.7	5.17	6.29	7.11	21
T 424-B	5.58	6.53	7.25	19.4	5.96	7.56	8.13	9.66
T 424-C	5.51	6.88	7.5	16.6	5.41	7.16	8.67	3.66
T 515-1	5.48	6.88	7.19	20.1	5.24	6.28	7.05	21.6
T 515-2	5.18	6.35	6.56	27.1	5.25	5.88	6.62	26.4
T 515-3	5.61	6.9	7.21	19.8	5.58	6.31	6.77	24.7

<sup>1/</sup> คำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ (Growth Inhibition) ตามสูตร  $GI = ((R1 - R2) / R1) \times 100$ ; R1 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae*. ในกรรมวิธีควบคุม R2 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* ในกรรมวิธีที่ประกบเชื้อเข้าหากัน

<sup>2/</sup> วันที่ 3 เป็นวันที่เชื้อในกรรมวิธีควบคุมเจริญเต็มงานเลี้ยงเชื้อ



ภาพที่ 4.8 ประสิทธิภาพของสารระเหย (volatile metabolites) เชื้อรา *Trichoderma* spp. 14 ไอโซเลท ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R) ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สแกนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า PDA โดยวิธี Volatile metabolites test

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.9 ประสิทธิภาพของสารระเหย (volatile metabolites) เชื้อรา *Trichoderma* spp. 14 ไอโซเลท ที่มีผล  
 เอกสารนี้เป็นเอกสารการเจริญเติบโตเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 422-G) ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ  
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ PDA โดยวิธี Volatile metabolites test และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.5 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Trichoderma* spp. 5 ไอโซเลท ที่เป็นตัวแทนของทั้ง 3 กลไกการยับยั้ง ในการควบคุมความรุนแรงของโรคนบนใบผักสลัดที่มีสาเหตุจากเชื้อราสาเหตุโรค 5 ชนิด โดยวิธี Leaf test

จากการคัดเลือกตัวแทนเชื้อ *Trichoderma* spp. มาจำนวน 5 ไอโซเลท คือ T515-1, T515-2, T515-3, T315-1 และ T415-2 ที่มีศักยภาพและคุณสมบัติการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ครอบคลุมทั้ง 3 กลไก มาประเมินความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช จำนวน 5 ชนิด คือ *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* 3 ไอโซเลท (F 114-B, F 221-R และ F 422-G) *Alternaria* sp. และ *Curvularia* sp. บนใบผักสลัด Butter head โดยวิธี Leaf test พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 5 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพในการลดความรุนแรงของโรคที่เกิดจากเชื้อสาเหตุโรค ทั้ง 5 ชนิดที่ทดสอบได้ กล่าวคือในช่วง 1-3 วันแรก ขนาดแผลในทุกกรรมวิธีที่ทรีทด้วยเชื้อรา *Trichoderma* spp. บนใบผักสลัด พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลง และเมื่อประเมินถึงความรุนแรงของโรคก็พบว่าความรุนแรงของการเกิดโรคนั้นน้อยซึ่งมีความรุนแรงของโรคเพียง 12.5 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธี inoculated control ซึ่งมีความรุนแรงของโรคอยู่ในช่วง 25-72.5 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงวันที่ 5-7 หลังจากการปลูกเชื้อ พบว่าขนาดของแผลในกรรมวิธีที่ใส่เชื้อ *Trichoderma* spp. ทั้ง 5 ไอโซเลท ค่อยๆขยายขนาดขึ้น อย่างไรก็ตามขนาดแผลก็ยังเล็กกว่าในกรรมวิธี inoculated control เมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงวันที่ 9 (วันสิ้นสุดการทดลอง) พบว่าความรุนแรงของโรคเพิ่มขึ้นถึง 100 เปอร์เซ็นต์ กล่าวคือจากภาพรวม *Trichoderma* spp. ทั้ง 5 ไอโซเลท สามารถลดความรุนแรงของโรคที่เกิดจากเชื้อ *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* ทั้ง 3 ไอโซเลท ได้สูงถึง 50-80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าในเชื้อ *Alternaria* sp. และ *Curvularia* sp. ที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.11, ภาพที่ 4.10)

ตารางที่ 4.11 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Trichoderma* spp. 5 ไอโซเลท ที่เป็นตัวแทนของ  
ทั้ง 3 กลไกการยับยั้ง ในการควบคุมความรุนแรงของโรคบนใบผักสลัดที่มีสาเหตุ  
จากเชื้อราสาเหตุโรค 5 ชนิด โดยวิธี Leaf test

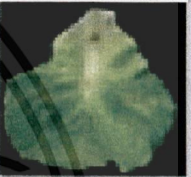





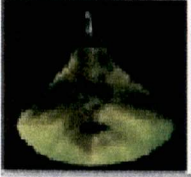







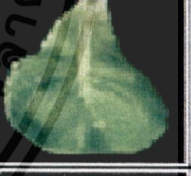




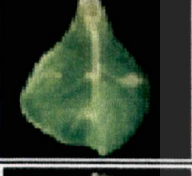

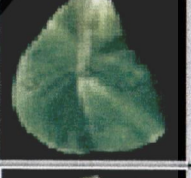




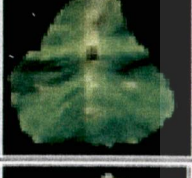






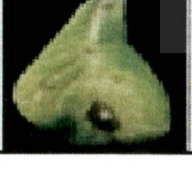

<i>Trichoderma</i> spp.	กรรมวิธี	ขนาดแผล (Ø,cm) : ความรุนแรงของโรค (%)				
		DAI* 1	DAI 3	DAI 5	DAI 7	DAI 9
Control (Healthy)	F 114-B	0.5: 12.5 <sup>1/</sup>	0.5 : 12.5	0.5 : 12.5	0.5 : 12.5	0.5 : 12.5
	F 221-R	0.5 : 12.5	0.5 : 12.5	0.5 : 12.5	0.5 : 12.5	0.5 : 12.5
	F 422-G	0.5 : 12.5	0.5 : 12.5	0.5 : 12.5	0.5 : 12.5	0.5 : 12.5
	<i>Curvularia</i> sp.	0.5 : 12.5	0.5 : 12.5	0.5 : 12.5	0.5 : 12.5	0.5 : 12.5
	<i>Alternaria</i> sp.	0.5 : 12.5	0.5 : 12.5	0.5 : 12.5	0.5 : 12.5	0.5 : 12.5
Control (Inoculation)	F 114-B	1.4 : 35	2.5 : 62.5	3.3 : 82.5	4 : 100	4 : 100
	F 221-R	1 : 25	1.5 : 37.5	2.1 : 52.5	3.2 : 80	4 : 100
	F 422-G	0.5 : 12.5	1 : 25	1.2 : 30	1.8 : 45	2.3 : 57.5
	<i>Curvularia</i> sp.	1.6 : 40	2.9 : 72.5	3.7 : 92.5	4 : 100	4 : 100
	<i>Alternaria</i> sp.	1.7 : 42.5	2.4 : 60	3 : 75	3.5 : 87.5	4 : 100
T 315-1	F 114-B	0.5 : 12.5	1 : 25	1.4 : 35	1.7 : 42.5	2 : 50
	F 221-R	0.5 : 12.5	1.3 : 32.5	1.8 : 45	1.8 : 45	2.1 : 52.5
	F 422-G	0.5 : 12.5	0.7 : 17.5	1 : 25	1.1 : 27.5	1.4 : 35
	<i>Curvularia</i> sp.	0.5 : 12.5	1.9 : 47.5	2.2 : 55	2.8 : 70	3.1 : 77.5
	<i>Alternaria</i> sp.	0.5 : 12.5	1.3 : 32.5	1.8 : 45	2.3 : 57.5	2.8 : 70
T 415-2	F 114-B	0.5 : 12.5	1.3 : 32.5	1.9 : 47.5	1.9 : 47.5	2.2 : 55
	F 221-R	0.5 : 12.5	0.9 : 22.5	1.1 : 27.5	1.5 : 37.5	2 : 50
	F 422-G	0.5 : 12.5	1 : 25	1.3 : 32.5	1.5 : 37.5	1.8 : 45
	<i>Curvularia</i> sp.	0.5 : 12.5	1.5 : 37.5	2.2 : 55	2.7 : 67.5	3 : 75
	<i>Alternaria</i> sp.	0.5 : 12.5	1.9 : 47.5	2.7 : 67.5	3.1 : 77.5	3.45 : 86.2
T 515-1	F 114-B	0.5 : 12.5	1 : 25	1 : 25	1.5 : 37.5	1.8 : 45
	F 221-R	0.5 : 12.5	0.7 : 17.5	1.1 : 27.5	1.1 : 27.5	1.3 : 32.5
	F 422-G	0.5 : 12.5	0.5 : 12.5	0.5 : 12.5	0.5 : 12.5	0.5 : 12.5
	<i>Curvularia</i> sp.	0.5 : 12.5	1.6 : 40	2 : 50	2.8 : 70	3.2 : 80
	<i>Alternaria</i> sp.	0.5 : 12.5	1.3 : 32.5	1.8 : 45	2 : 50	2.5 : 62.5
T 515-2	F 114-B	0.5 : 12.5	1.6 : 40	1.9 : 47.5	2 : 50	2.2 : 55
	F 221-R	0.5 : 12.5	0.8 : 20	1 : 25	1.1 : 27.5	1.4 : 35
	F 422-G	0.5 : 12.5	0.5 : 12.5	0.5 : 12.5	0.5 : 12.5	0.7 : 17.5
	<i>Curvularia</i> sp.	0.5 : 12.5	1.3 : 32.5	1.8 : 45	2 : 50	2.4 : 60
	<i>Alternaria</i> sp.	0.5 : 12.5	1 : 25	1.1 : 27.5	1.4 : 35	2.3 : 57.5
T 515-3	F 114-B	0.5 : 12.5	1.1 : 27.5	1.3 : 32.5	1.6 : 40	1.86 : 46.5
	F 221-R	0.5 : 12.5	0.5 : 12.5	1 : 25	1 : 25	1.4 : 35
	F 422-G	0.5 : 12.5	0.5 : 12.5	0.5 : 12.5	0.5 : 12.5	0.5 : 12.5
	<i>Curvularia</i> sp.	0.5 : 12.5	1 : 25	1 : 25	1.2 : 30	1.6 : 40
	<i>Alternaria</i> sp.	0.5 : 12.5	1 : 25	1.4 : 35	1.8 : 45	2.5 : 62.5

\*DAI = Day after Inoculation

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่เผยแพร่เพื่อการเรียนการสอนเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

<sup>1/</sup>% ความรุนแรงของโรค [Disease severity, DS] = ผลรวมของ (จำนวนต้นที่แสดงอาการโรค × ระดับอาการโรค) × 100  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดเบ่งสนธิสัญญา และผู้ยืมต้องแจ้งชื่อของเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้  
จำนวนต้นทั้งหมด × ระดับอาการสูงสุด

ภาพที่ 4.10 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Trichoderma* sp. 5 ไลโซแลท ที่เป็นส่วนหนึ่งของทั้ง 3 กลไกการยับยั้ง ในการควบคุมความรุนแรงของโรคนใบ  
 พืชลัดที่นำเข้ามาจากสหรัฐอเมริกา 5 ชนิด โดยวิธี Leaf test (9 วันหลังปลูกเชื้อ)

	Control (healthy)	T 315-1	T 415-2	T 515-1	T 515-2	T 515-3	Control (inoculation)
<i>Alternaria</i> sp.							
<i>Curvularia</i> sp.							
F 422-G							
F 221-R							
F 114-B							

#### 4.6 การทดสอบประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolites) ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ต่อการเจริญทางเส้นใยเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R และ F 422-G) โดยวิธี Cellophane membrane test

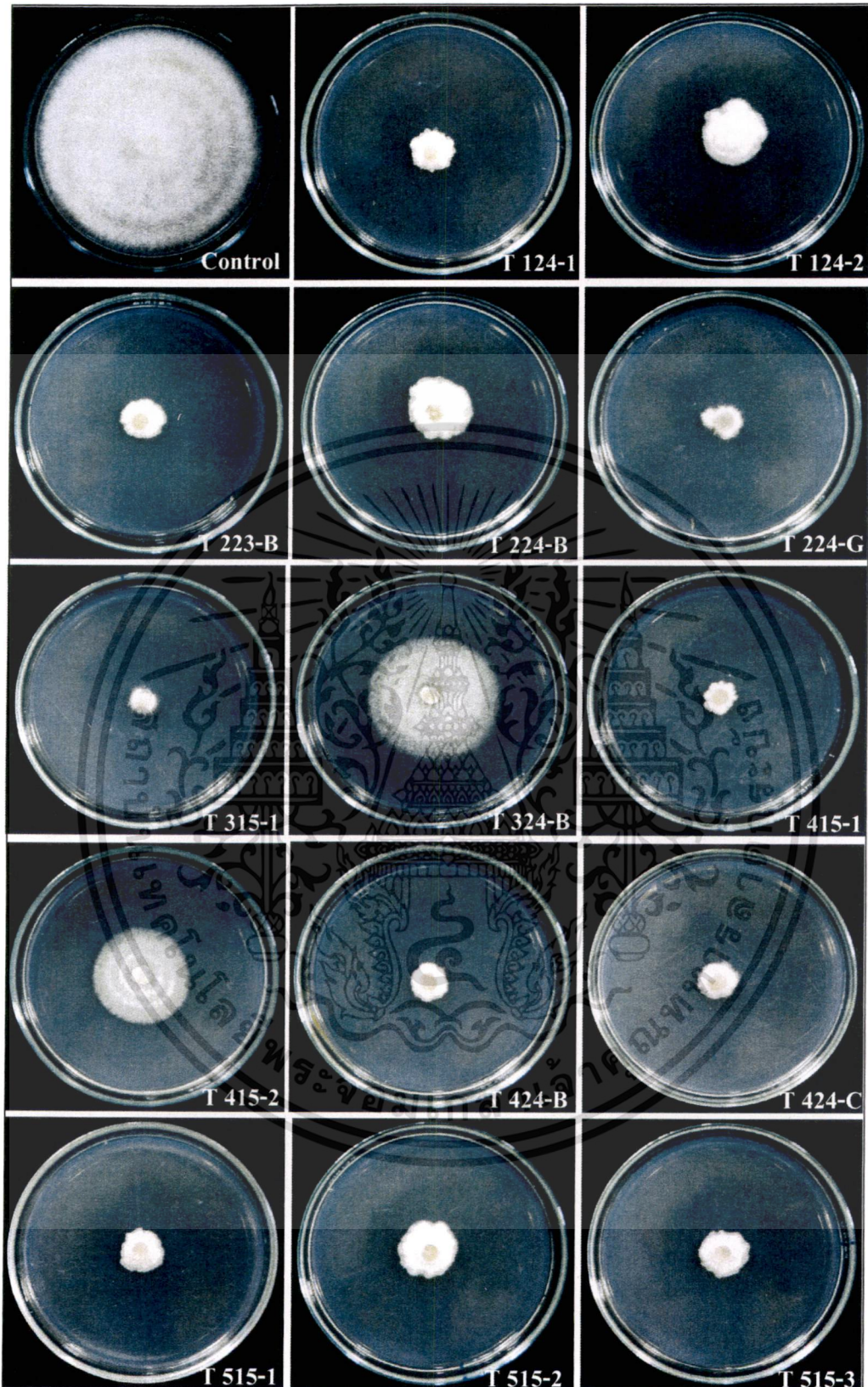
จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 14 ไอโซเลท คือ T 124-1, T 124-2, T 223-B, T 224-B, T 224-G, T 315-1, T 324-B, T 415-1, T 415-2, T 424-B, T 424-C, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3 ในการควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* จำนวน 2 ไอโซเลท สาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์ ทดสอบโดยวิธี Cellophane membrane test นั้น พบว่า *Trichoderma* spp. ทั้งหมดสามารถสร้างสารไม่ระเหย (non-volatile metabolite) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ได้ และมีผลไปยับยั้งการเจริญของเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* ทั้ง 2 ไอโซเลท กล่าวคือใน ไอโซเลท F 221-R อัตราการเจริญของเชื้อในกรรมวิธีที่ใส่เชื้อ *Trichoderma* spp. ในช่วงแรก 24 ชั่วโมง ไม่พบการเจริญของเชื้อ F 221-R เลย ซึ่งเมื่อประเมินเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ เท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อระยะเวลาผ่านไปถึงวันที่ 2 และ 3 ของการปลูกเชื้อ พบว่า อัตราการเจริญของเชื้อเพิ่มสูงขึ้นทำให้เมื่อคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจึงมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งค่อย ๆ ลดลง อย่างไรก็ตามก็ยังพบว่าอยู่ในระดับที่ค่อนข้างสูงโดยอยู่ในช่วง 62.8-100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.12) และเมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง (วันที่ 5 หลังจากการปลูกเชื้อ) พบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ F 221-R ในทุกกรรมวิธีที่มีการเลี้ยงเชื้อ *Trichoderma* spp. (ยกเว้น T 324-B) ลงบนกระดาษ cellophane membrane อยู่ในช่วง 78.1-90.2 เปอร์เซ็นต์ สำหรับ T 324-B แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่เพียง 55.7 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4.11)

ส่วนในไอโซเลท F 422-G อัตราการเจริญของเชื้อในกรรมวิธีที่ใส่เชื้อ *Trichoderma* spp. ในช่วงแรก 24 ชั่วโมง ไม่พบการเจริญของเชื้อ F 422-G เลย ซึ่งเมื่อประเมินเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ เท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อระยะเวลาผ่านไปถึงวันที่ 2 และ 3 ของการปลูกเชื้อ พบว่า อัตราการเจริญของเชื้อเพิ่มสูงขึ้นทำให้เมื่อคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจึงมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งค่อย ๆ ลดลง อย่างไรก็ตามก็ยังพบว่าอยู่ในระดับที่ค่อนข้างสูงโดยอยู่ในช่วง 68.5-100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.12) และเมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง (วันที่ 5 หลังจากการปลูกเชื้อ) พบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ F 422-G ในทุกกรรมวิธีที่มีการเลี้ยงเชื้อ *Trichoderma* spp. (ยกเว้น T 324-B) ลงบนกระดาษ cellophane membrane อยู่ในช่วง 70-88.3 เปอร์เซ็นต์ สำหรับ T 324-B แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่เพียง 69.1 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4.12)

ตารางที่ 4.12 ประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolites) ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. 14 ไอโซเลต ต่อการเจริญทางเส้นใยเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R และ F 422-G) โดยวิธี Cellophane membrane test

<i>Trichoderma</i> spp.	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 221-R)					<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 422-G)				
	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง GI (%) <sup>u</sup>					เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง GI (%)				
	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5
T 124-1	100	100	86.1	88.6	89.7	100	80	83.1	83	84.8
T 124-2	100	92.1	83.3	84.4	86	100	100	87.1	86.8	88.3
T 223-B	100	95.3	86.9	88.3	89.4	100	82.9	80	66	70
T 224-B	100	84.3	76.6	80.6	82.5	100	82.9	80.6	66.2	70
T 224-G	100	100	84.2	86.9	88.2	100	84.7	89	85.6	87.2
T 315-1	100	95.7	90	91.6	92.4	100	83.1	87.9	85.1	86.7
T 324-B	100	62.8	88.2	50.9	55.7	100	68.5	69.6	65.2	69.1
T 415-1	100	95.1	89.1	91	91.8	100	81.8	86.4	83.7	85.5
T 415-2	100	85.1	79.9	75.5	78.1	100	91.7	91.7	83.5	85.3
T 424-B	100	100	86.9	89.1	90.2	100	82.9	87.7	85.6	86.5
T 424-C	100	95.3	86.3	88.6	89.7	100	91.9	91.2	84.7	86.4
T 515-1	100	92.7	83.7	80.2	82.2	100	94.8	85.5	82.6	84.5
T 515-2	100	100	83.6	83.6	85.2	100	81.2	86.5	77.5	80
T 515-3	100	95.9	82.8	83.9	85.5	100	79.8	82.4	78.9	81.2

<sup>u</sup> คำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (Growth Inhibition) ตามสูตร  $GI = ((R1 - R2) / R1) \times 100$ ; R1 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* ในกรรมวิธีควบคุม R2 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* ในกรรมวิธีที่เลี้ยงเชื้อร่วมกับบนอาหารเลี้ยงเชื้อ



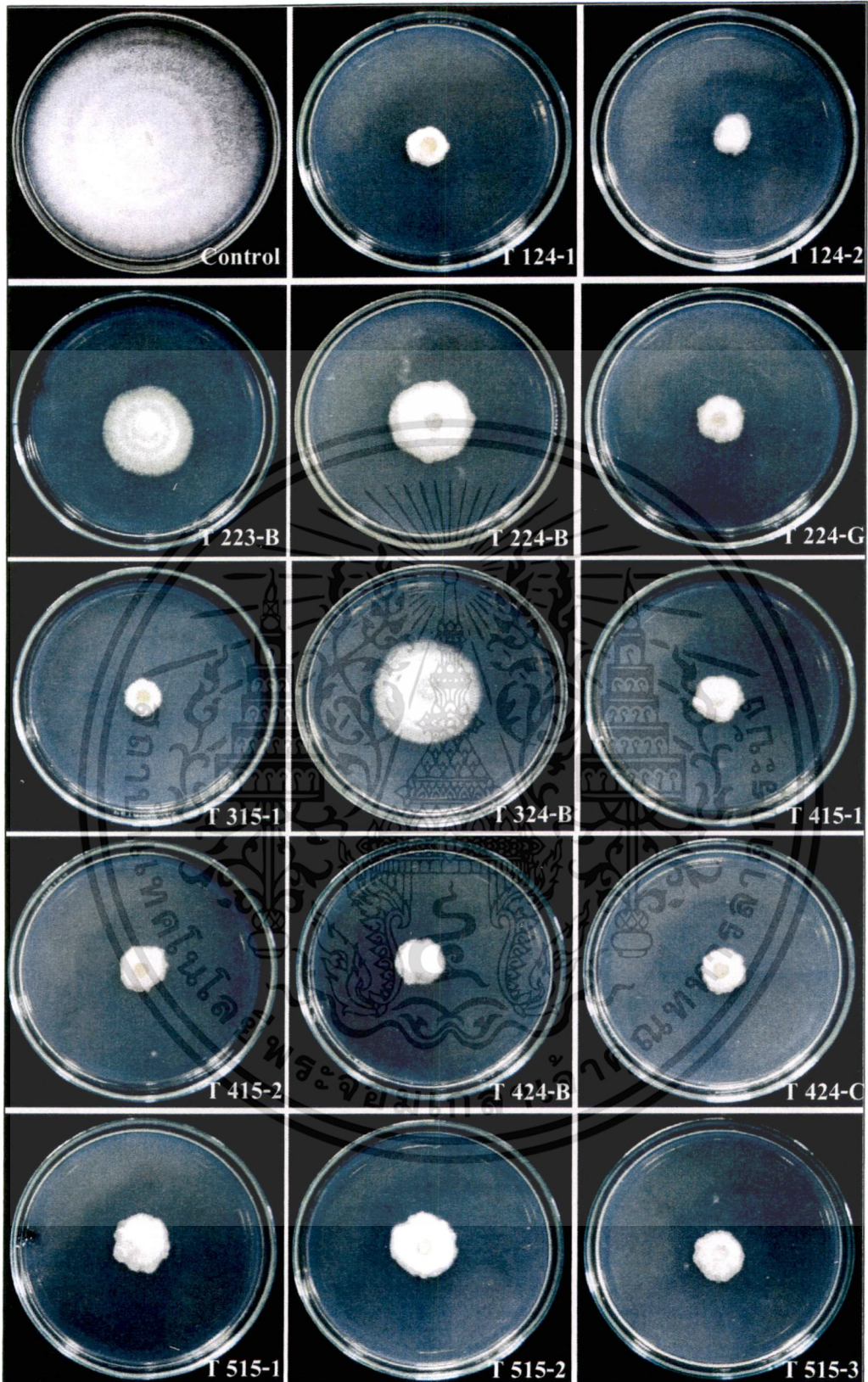
ภาพที่ 4.11 ประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolites) ของเชื้อรา

*Trichoderma* spp. 14 ไอโซเลต ต่อการยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา *Fusarium*

*oxysporum* f.sp. *lactucae* สายพันธุ์ (F 221-R) โดยวิธี Cellophane membrane test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า (5 วันหลังจากปลูกเชื้อ)

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.12 ประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolites) ของเชื้อรา

*Trichoderma* spp. 14 ไอโซเลท ต่อการยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา *Fusarium*

เอกสารนี้ เป็นเชื้อราที่ส่งมอบไว้สำหรับการแข่งขันในการหักงอกเห็ดโคนนี้ ไม่นานหลังจากที่เห็นใบเขียวระเหยขึ้นด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ก็ตาม ขอให้ท่านติดต่อผู้จัดทำต้นฉบับ และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

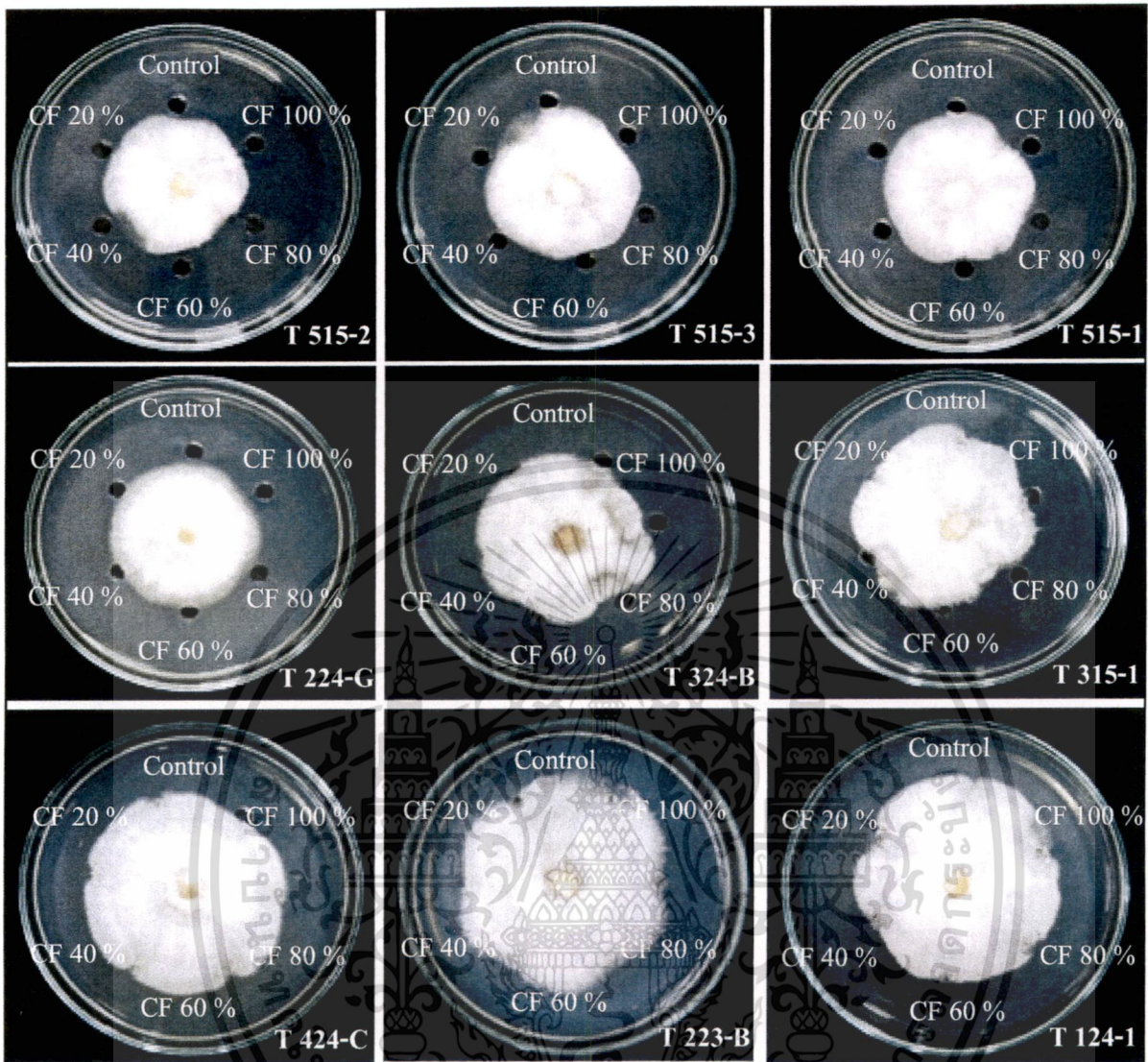
#### 4.7 การทดสอบประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolites) ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ต่อการเจริญทางเส้นใยเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R และ F 422-G) โดยวิธี Agar well diffusion assay

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 14 ไอโซเลท คือ T 124-1, T 124-2, T 223-B, T 224-B, T 224-G, T 315-1, T 324-B, T 415-1, T 415-2, T 424-B, T 424-C, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3 ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* (F 221-R และ F 422-G) สาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ ทดสอบโดยวิธี Agar well diffusion assay โดยใช้ Culture filtrate (CF) 5 ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (0, 20, 40, 60, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์) พบว่า CF ของเชื้อ *Trichoderma* spp. สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* ทั้ง 2 ไอโซเลทได้ไม่ตีมากนัก อีกทั้งเปอร์เซ็นต์การยับยั้งขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ CF ที่ใช้และระยะเวลาในการบ่มเชื้อ กล่าวคือ เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของ CF เปอร์เซ็นต์การยับยั้งก็สูงขึ้น ดังรายละเอียดต่อไปนี้ กรณีไอโซเลท F 221-R พบว่าในช่วงแรก (วันที่ 1-2 หลังการใส่ CF) CF ของ *Trichoderma* spp. ที่ระดับความเข้มข้น 20, 40 และ 60 เปอร์เซ็นต์ มีผลยับยั้งการเจริญของ F 221-R ได้เพียงเล็กน้อยอยู่ในช่วง 0.3-32.84 เปอร์เซ็นต์ และที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้น คือ 80-100 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสามารถยับยั้งได้เพิ่มขึ้นเป็น 6.15-37.95 เปอร์เซ็นต์ ในขณะเดียวกัน เมื่อบ่มเชื้อถึงวันที่ 3 พบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเพิ่มขึ้นไม่มากนัก อยู่ในช่วง 6.15-46.87 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่า T 124-1, T 223-B, T 224-G, T 315-1, T 324-B, T 424-C, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3 แสดงประสิทธิภาพสูงสุด (ตารางที่ 4.13, ภาพที่ 4.13)

ส่วนในไอโซเลท F 422-G พบว่าในช่วงแรก (วันที่ 1-2 หลังการใส่ CF) CF ของ *Trichoderma* spp. ที่ระดับความเข้มข้น 20, 40 และ 60 เปอร์เซ็นต์ มีผลยับยั้งการเจริญของ F 422-G ได้เพียงเล็กน้อยอยู่ในช่วง 0.74-36.29 เปอร์เซ็นต์ และที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้น คือ 80-100 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสามารถยับยั้งได้เพิ่มขึ้น 5.11-38.51 เปอร์เซ็นต์ ในขณะเดียวกัน เมื่อบ่มเชื้อถึงวันที่ 3 พบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเพิ่มขึ้นไม่มากนัก อยู่ในช่วง 8.02-40.7 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่า T 124-1, T 124-2, T 224-G, T 315-1, T 415-2, T 424-B, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3 แสดงประสิทธิภาพสูงสุด (ตารางที่ 4.13, ภาพที่ 4.14)

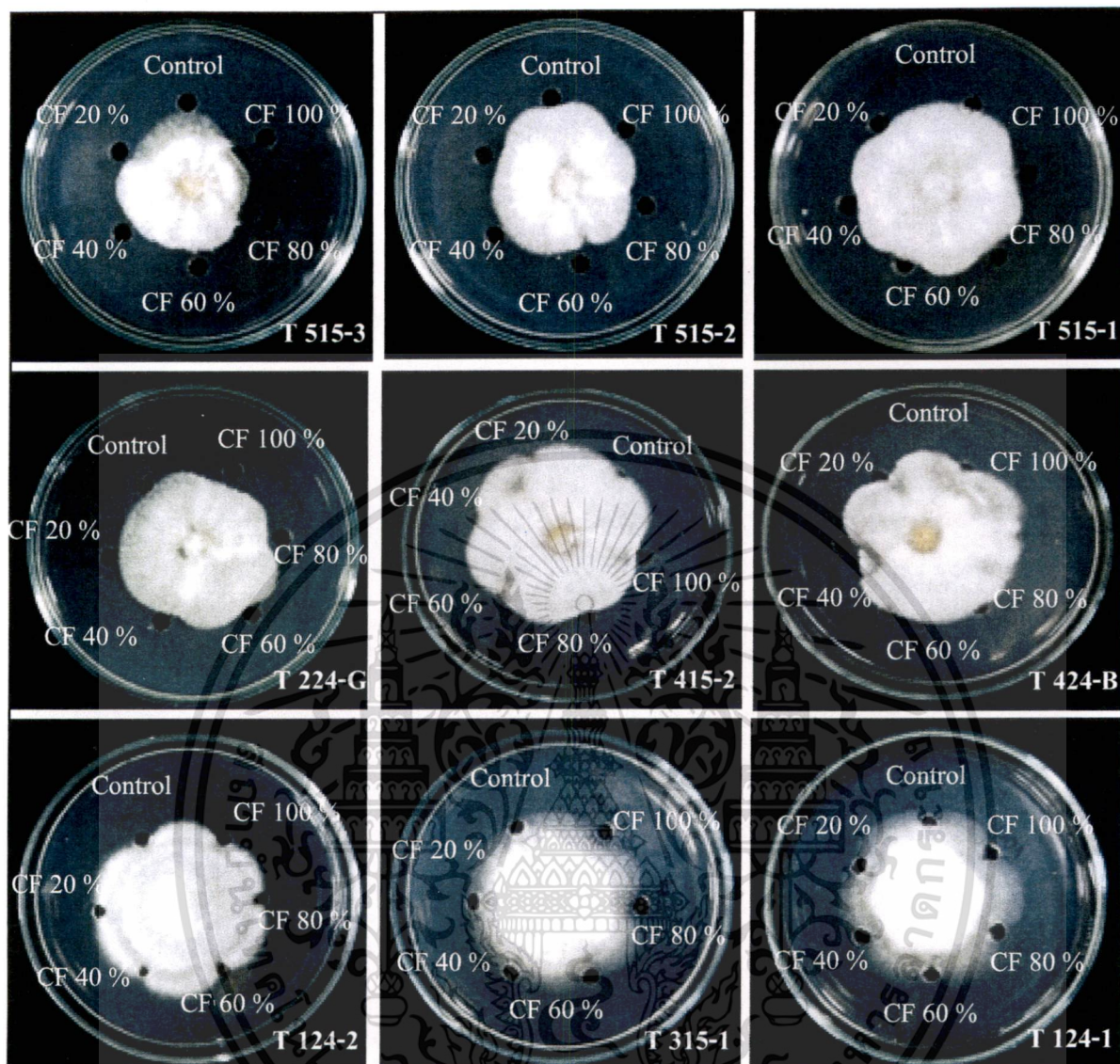
ตารางที่ 4.13 ประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolites) ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ต่อการเจริญทางเส้นใยเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* F 221-R และ F 422-G โดยวิธี Agar well diffusion assay

กรรมวิธี	วัน	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (Growth inhibition; GI)									
		<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 221-R)					<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 422-G)				
		20 %	40%	60%	80%	100%	20%	40%	60%	80%	100%
T 124-1	1	3.84	4.61	5.38	7.69	10.76	1.39	3.25	4.18	5.11	6.04
	2	7.4	8.14	8.88	11.11	14.07	4.5	6.3	7.2	8.1	9
	3	13.19	13.88	14.58	16.66	19.44	7.82	9.56	10.43	11.3	12.17
T 124-2	1	0.3	1.18	6.71	10.67	11.46	3.7	4.44	5.92	5.92	8.14
	2	3.81	4.58	9.92	14.5	13.74	7.8	8.51	9.92	9.92	12.05
	3	6.6	7.4	12.59	16.29	17.03	9.12	9.47	10.87	11.57	12.98
T 223 B	1	0.76	3.07	7.69	7.69	9.23	2.25	3.75	4.51	5.26	7.51
	2	11.03	13.1	15.17	17.24	18.62	3.7	5.18	5.92	6.66	8.88
	3	16.23	18.18	20.12	22.07	23.37	5.1	6.56	7.29	8.02	10.21
T 224-B	1	3.07	4.61	5.38	6.15	6.15	1.55	3.1	4.65	6.97	7.7
	2	5.97	7.4	8.2	8.95	8.95	2.3	3.84	5.38	7.69	8.46
	3	6.66	8.14	8.88	9.62	9.62	4.15	5.66	7.16	9.43	10.18
T 224 G	1	2.1	4.21	6.31	12.63	12.63	0.8	4	13.6	16.8	20
	2	7	9	11	17	17	2.36	4	14.96	18.11	21.25
	3	8.82	10.78	12.74	18.62	28.62	4.61	5.51	16.92	20	23.07
T 315-1	1	2.22	5.18	8.14	8.88	11.85	1.33	2	8	9.33	10
	2	8.96	11.72	14.48	15.17	17.93	3.26	3.92	9.8	11.11	11.76
	3	16.98	19.49	22.01	22.64	25.15	4.51	5.16	10.96	12.25	12.9
T 324-B	1	0.68	10.27	17.12	17.8	21.91	4	5.6	6.4	7.2	7.2
	2	3.33	12.66	19.33	20	24	4.7	6.34	7.14	7.93	7.93
	3	6.45	15.48	21.93	22.58	26.45	7.69	9.23	10	10.76	10.76



ภาพที่ 4.13 ประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolites) ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. 9 ไอโซเลต ต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยวิธี Agar well diffusion assay ในอัตราความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ (3 วันหลังจากปลูกเชื้อ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.14 ประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolites) ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. 9 ไอโซเลต ต่อการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 422-G) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ โดยวิธี Agar well diffusion assay ที่อัตราความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ (3 วันหลังจากปลูกเชื้อ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.8 การทดสอบประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolites) ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ต่อการรอกของสปอร์เชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R และ F 422-G) โดยวิธี Spore germination test

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ Culture filtrate (CF) 5 ระดับความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 14 ไอโซเลท คือ T 124-1, T 124-2, T 223-B, T 224-B, T 224-G, T 315-1, T 324-B, T 415-1, T 415-2, T 424-B, T 424-C, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3 กับสปอร์ของเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* (F 221-R และ F 422-G) สาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์ โดยวิธี Spore germination test นั้น พบว่า โดยภาพรวม CF ของเชื้อ *Trichoderma* spp. ทุกไอโซเลท (ยกเว้น T 424-C) ที่ระดับความเข้มข้นสูง (80 และ 100 เปอร์เซ็นต์) มีผลยับยั้งการงอกของ macroconidia เชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* ทั้ง 2 ไอโซเลทได้ดี โดยทำให้ macroconidia ของเชื้อผิดปกติไปเกิดอาการบวมและแตกสลายไปในที่สุด ในขณะที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (20, 40 และ 60 เปอร์เซ็นต์) จะมีผลชะลอการงอกของ macroconidia เชื้อสาเหตุโรคทั้ง 2 ไอโซเลทได้เฉพาะในช่วงแรกของการบ่มเชื้อเท่านั้น โดยเมื่อเวลาผ่านไป 12-48 ชั่วโมง macroconidia ของเชื้อดังกล่าวจะเริ่มงอกและมีเปอร์เซ็นต์การงอกใกล้เคียงกับในกรรมวิธีควบคุม อย่างไรก็ตามถึงแม้สปอร์จะงอกได้ แต่สปอร์ก็ยังคงแสดงลักษณะผิดปกติ คือ บวมและผิดรูปร่างไป

ถ้าพิจารณาโดยละเอียดถึงการใช้ CF ที่ระดับความเข้มข้นสูง คือ 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ และให้ผลดีนั้นจะพบจากจำนวน 14 ไอโซเลท ที่นำมาทดสอบมีเชื้อรา *Trichoderma* spp. 4 ไอโซเลท คือ T 224-G, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3 ที่สามารถให้ผลในการยับยั้งการงอกของ macroconidia ของเชื้อ *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* ทั้ง 2 ไอโซเลทได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.14 และ ภาพที่ 4.15, 4.16)

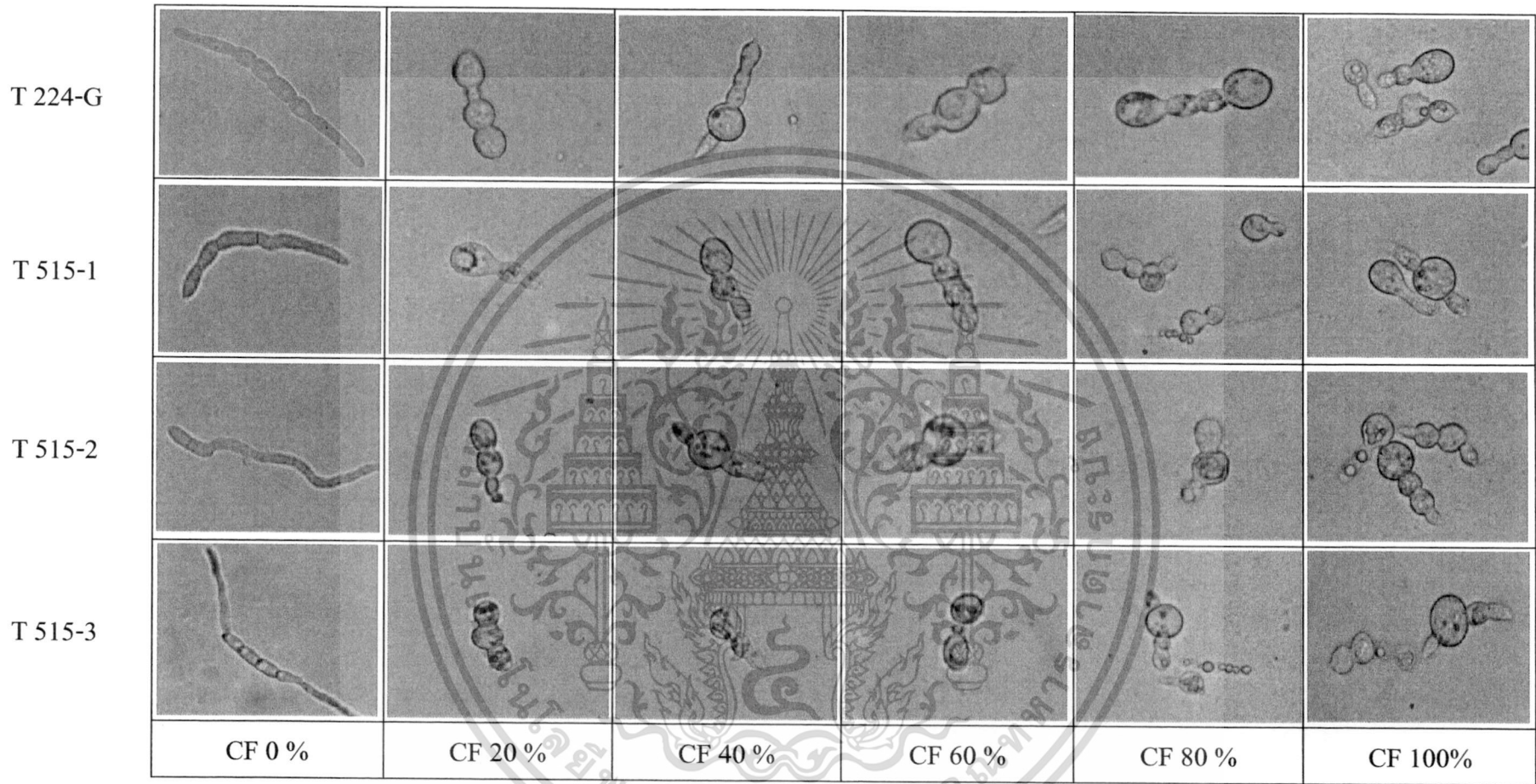
ตารางที่ 4.14 ประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolites) ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. 14 ไอโซเลท ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R และ F 422-G) โดยวิธี Spore germination test

กรรมวิธี	ชั่วโมง	การงอก Macroconidia ของ F 221-R							ลักษณะ ความผิดปกติ	การงอก Macroconidia ของ F 422-G							ลักษณะ ความผิดปกติ
		ในความเข้มข้นของ Culture filtrate						ในความเข้มข้นของ Culture filtrate									
		0 %	20 %	40%	60%	80%	100%	0 %		20%	40%	60%	80%	100%			
T 124-1	12	100	57	32	0	0	0	สปอร์บวม ผิดปกติรูปร่าง	100	67	52	42	23	12	สปอร์ผิดปกติ รูปร่าง		
	24	100	84	45	0	0	0		100	74	63	49	56	17			
	48	100	97	65	0	0	0		100	97	69	54	59	18			
T 124-2	12	100	65	34	23	0	0	สปอร์บวม ผิดปกติรูปร่าง	100	78	31	27	14	2	สปอร์ผิดปกติ รูปร่าง		
	24	100	87	42	27	0	0		100	97	42	31	19	5			
	48	100	100	65	27	0	0		100	100	68	37	25	11			
T 223 B	12	100	50	21	0	0	0	สปอร์บวม ผิดปกติรูปร่าง	100	50	21	9	0	0	สปอร์ผิดปกติ รูปร่าง		
	24	100	54	28	0	0	0		100	78	24	14	0	0			
	48	100	57	30	0	0	0		100	89	30	25	0	0			
T 224-B	12	100	64	46	25	0	0	สปอร์ผิดปกติ รูปร่าง	100	54	35	25	0	0	สปอร์ผิดปกติ รูปร่าง		
	24	100	68	48	28	0	0		100	63	41	28	0	0			
	48	100	72	52	38	0	0		100	79	52	38	0	0			
T 224 G	12	100	0	0	0	0	0	สปอร์เกิดการ บวมและ สลายออก	100	0	0	0	0	0	ผนังสปอร์ เกิดการสลาย		
	24	100	0	0	0	0	0		100	0	0	0	0	0			
	48	100	0	0	0	0	0		100	0	0	0	0	0			
T 315-1	12	100	70	62	54	21	0	สปอร์เกิดการ บวมออก	100	86	42	31	21	0	สปอร์ผิดปกติ รูปร่าง		
	24	100	86	64	57	24	0		100	93	57	43	29	0			
	48	100	100	72	60	28	0		100	100	70	60	35	0			
T 324-B	12	100	45	32	21	11	0	สปอร์ผิดปกติ รูปร่าง	100	45	32	28	17	5	สปอร์ผิดปกติ รูปร่าง		
	24	100	69	36	33	11	0		100	60	42	33	24	8			
	48	100	88	45	35	14	0		100	95	45	39	35	16			

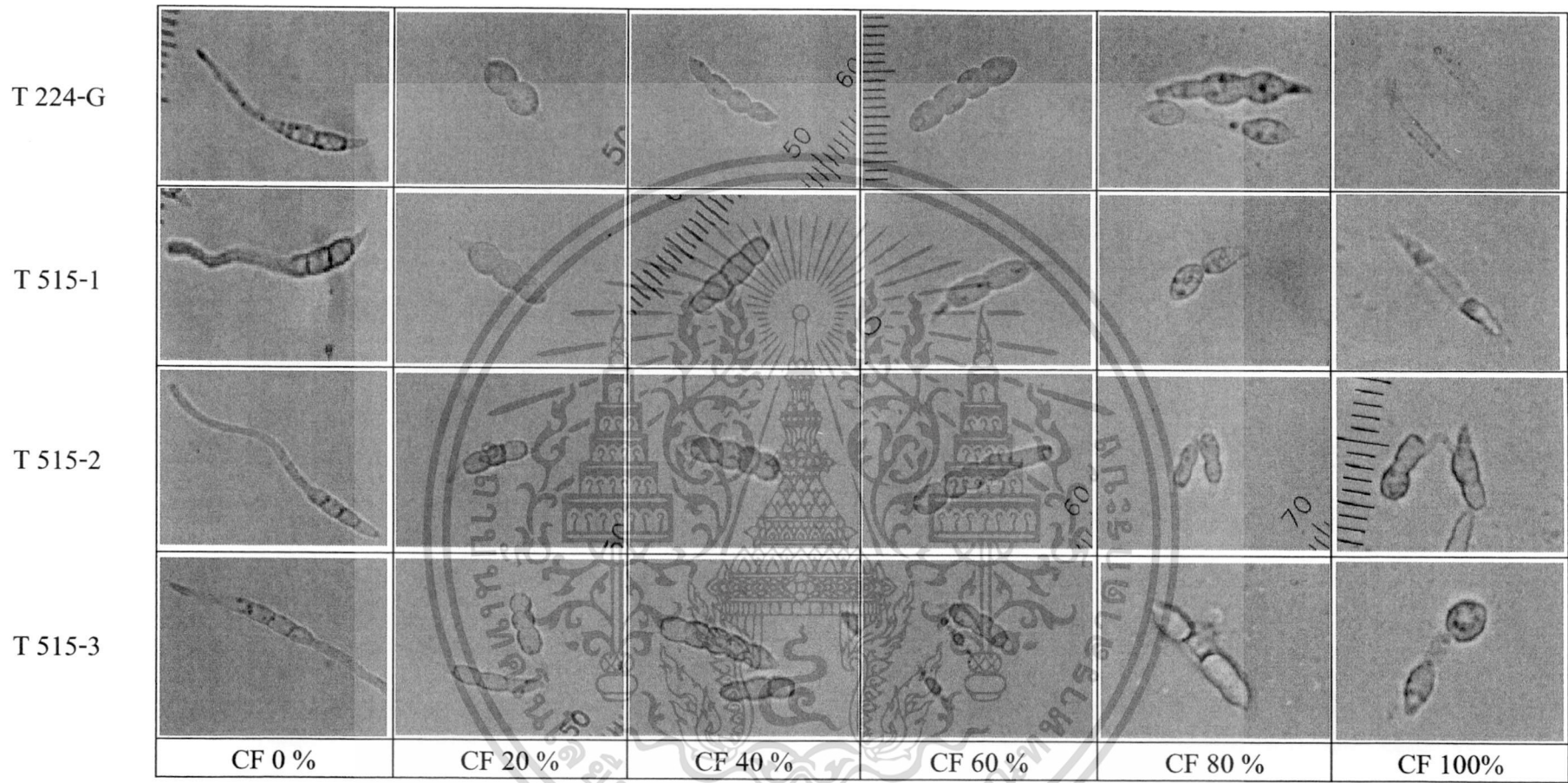
ตารางที่ 4.14 (ต่อ)

กรรมวิธี	ชั่วโมง	การงอก Macroconidia ของ F 221-R							ลักษณะ ความผิดปกติ	การงอก Macroconidia ของ F 422-G							ลักษณะ ความผิดปกติ
		ในความเข้มข้นของ Culture filtrate								ในความเข้มข้นของ Culture filtrate							
		0 %	20 %	40%	60%	80%	100%	0 %		20%	40%	60%	80%	100%			
T 415-1	12	100	16	6	0	0	0	สปอร์บวม ผิดปกติรูปร่าง	100	24	4	0	0	0	สปอร์ผิดปกติรูปร่าง		
	24	100	19	9	0	0	0		100	31	9	0	0	0			
	48	100	28	12	0	0	0		100	33	17	0	0	0			
T 415-2	12	100	76	34	0	0	0	สปอร์ผิดปกติรูปร่าง	100	88	46	23	0	0	สปอร์ผิดปกติรูปร่าง		
	24	100	82	37	0	0	0		100	89	53	32	0	0			
	48	100	88	40	0	0	0		100	98	65	45	0	0			
T 424-B	12	100	78	44	21	0	0	สปอร์ผิดปกติรูปร่าง	100	87	44	21	0	0	สปอร์ผิดปกติรูปร่าง		
	24	100	89	59	25	0	0		100	89	59	25	0	0			
	48	100	100	70	28	0	0		100	100	70	67	0	0			
T 424-C	12	100	80	67	42	21	9	สปอร์ผิดปกติรูปร่าง	100	100	76	32	21	0	สปอร์ผิดปกติรูปร่าง		
	24	100	100	75	45	25	12		100	100	84	43	25	0			
	48	100	100	78	45	25	16		100	100	92	45	25	0			
T 515-1	12	100	0	0	0	0	0	สปอร์เกิดการบวมและ สลายออก	100	0	0	0	0	0	ผนังสปอร์เกิดการสลาย		
	24	100	0	0	0	0	0		100	0	0	0	0	0			
	48	100	0	0	0	0	0		100	0	0	0	0	0			
T 515-2	12	100	0	0	0	0	0	สปอร์เกิดการบวมและ สลายออก	100	0	0	0	0	0	สปอร์เกิดการแตกหัก		
	24	100	0	0	0	0	0		100	0	0	0	0	0			
	48	100	0	0	0	0	0		100	0	0	0	0	0			
T 515-3	12	100	0	0	0	0	0	สปอร์เกิดการบวมและ สลายออก	100	0	0	0	0	0	ผนังสปอร์เกิดการสลาย		
	24	100	0	0	0	0	0		100	0	0	0	0	0			
	48	100	0	0	0	0	0		100	0	0	0	0	0			

<sup>v</sup>คำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ (Growth Inhibition) ตามสูตร  $GI = ((R1 - R2) / R1) \times 100$ ; R1 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* ในกรรมวิธีควบคุม R2 = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* ในกรรมวิธีที่เลี้ยงเชื้อร่วมกับบนอาหารเลี้ยงเชื้อ



ภาพที่ 4.15 ลักษณะการงอกและความผิดปกติของ macroconidia ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R) 5 ระดับความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ของ *Trichoderma* spp. 4 ไอโซเลท (T 224-G, T 515-1, T 515-2 และ T515-3) โดยวิธี Spore germination test ที่เวลา 48 ชั่วโมง



ภาพที่ 4.16 ลักษณะการงอกและความผิดปกติของ macroconidia ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 422-G) 5 ระดับความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ของ *Trichoderma* spp. 4 ไอโซเลต (T 224-G, T 515-1, T 515-2 และ T515-3) โดยวิธี Spore germination test ที่เวลา 48 ชั่วโมง

#### 4.9 การทดสอบประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolite) ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R และ F 422-G) สาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวในผักสลัด โดยวิธี Root inoculation test

จากการคัดเลือกตัวแทนเชื้อ *Trichoderma* spp. จำนวน 8 ไอโซเลท คือ T 124-1, T 223-B, T 224-G, T 415-1, T 424-C, T 515-1, T 515-2, T 515-3 ที่มีศักยภาพดีที่สุดในวิธีการ Agar well diffusion assay โดยนำ Culture filtrate ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์มาใช้ในการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* (F 221-R และ F 422-G) สาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ ทดสอบโดยวิธี Root inoculation test พบว่า CF ของเชื้อ *Trichoderma* spp. ทั้งหมดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวทั้ง 2 ไอโซเลทได้ กล่าวคือในไอโซเลท F 221-R เมื่อทำการปลูกเชื้อลงในผักสลัดในช่วง 3 วันแรก พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในกรรมวิธีที่ใส่ด้วย CF ของเชื้อ *Trichoderma* spp. 4 ไอโซเลท คือ T 224-G, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3 ไม่พบการเกิดโรคเลย เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีปลูกเชื้อ (inoculation) ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคถึง 80 เปอร์เซ็นต์ และความรุนแรงของโรคเท่ากับ 52.8 เปอร์เซ็นต์ พอจะสรุปได้ว่า CF ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 4 ไอโซเลทนั้น มีศักยภาพในการลดอาการของโรคได้ดีมากในระยะแรก ๆ ซึ่งเมื่อระยะเวลาผ่านไปถึงวันที่ 5 และ 7 หลังการปลูกเชื้อ ก็พบว่า เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและความรุนแรงของโรคนั้นเพิ่มสูงขึ้นในทุก ๆ กรรมวิธี อย่างไรก็ตามเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีที่ใส่ CF ของเชื้อ *Trichoderma* spp. ยังต่ำกว่า Control อยู่โดยสามารถลดระดับการเกิดโรคอยู่ในช่วง 20-80 เปอร์เซ็นต์และความรุนแรงของโรคอยู่ในช่วง 6.6-26.4 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีปลูกเชื้อ ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์และความรุนแรงของโรคเท่ากับ 95.7 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงวันที่ 9 หลังการปลูกเชื้อ (วันสิ้นสุดการทดลอง) พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีควบคุมสูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ต้นพืชตายหมด ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใส่ด้วย CF ของเชื้อ *Trichoderma* spp. มีเพียง 4 ไอโซเลท คือ T 224-G, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3 ที่สามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและความรุนแรงของโรคในผักสลัดได้สูงถึง 70 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่า CF สามารถลดการเกิดโรคของผักสลัดได้ (ตารางที่ 4.15, ภาพที่ 4.17)

ส่วนในไอโซเลท F 422-G เมื่อทำการปลูกเชื้อลงในผักสลัดในช่วง 3 วันแรก พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในกรรมวิธีที่ใส่ด้วย CF ของเชื้อ *Trichoderma* spp. มีเพียง 2 ไอโซเลท คือ T 224-G และ T 515-3 ที่ไม่พบการเกิดโรค เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีปลูกเชื้อ (inoculation) ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคถึง 70 เปอร์เซ็นต์ และความรุนแรงของโรคเท่ากับ 49.5 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า CF ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. มีศักยภาพในการลดอาการของโรคได้ ซึ่งเมื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระยะเวลาผ่านไปจนถึงวันที่ 5 และ 7 ของการปลูกเชื้อก็พบว่า เพอร์เซ็นต์การเกิดโรคและความรุนแรงของโรคนั้นได้เพิ่มสูงขึ้นในทุก ๆ กรรมวิธี อย่างไรก็ตามเพอร์เซ็นต์การเกิดโรคและความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีที่ใส่ CF ของเชื้อ *Trichoderma* spp. ยังต่ำอยู่ซึ่งสามารถลดระดับการเกิดโรคอยู่ในช่วง 20-60 เพอร์เซ็นต์และความรุนแรงของโรคอยู่ในช่วง 3.3-23.1 เพอร์เซ็นต์ โดยเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีปลูกเชื้อ (inoculation) ที่มีเพอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงถึง 100 เพอร์เซ็นต์และความรุนแรงของโรคเท่ากับ 85.8 เพอร์เซ็นต์ และเมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงวันที่ 9 หลังการปลูกเชื้อ (วันสิ้นสุดการทดลอง) พบว่าเพอร์เซ็นต์การเกิดโรคและความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีควบคุมสูงถึง 100 เพอร์เซ็นต์ต้นพืชตายหมด ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใส่ด้วย CF ของเชื้อ *Trichoderma* spp. มีเพียง 2 ไอโซเลท คือ T 224-G และ T 515-3 ที่สามารถลดเพอร์เซ็นต์การเกิดโรคและความรุนแรงของโรคในผักสลัดได้สูงถึง 70 เพอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่า CF สามารถลดการเกิดโรคของผักสลัดได้ (ตารางที่ 4.15, ภาพที่ 4.18)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

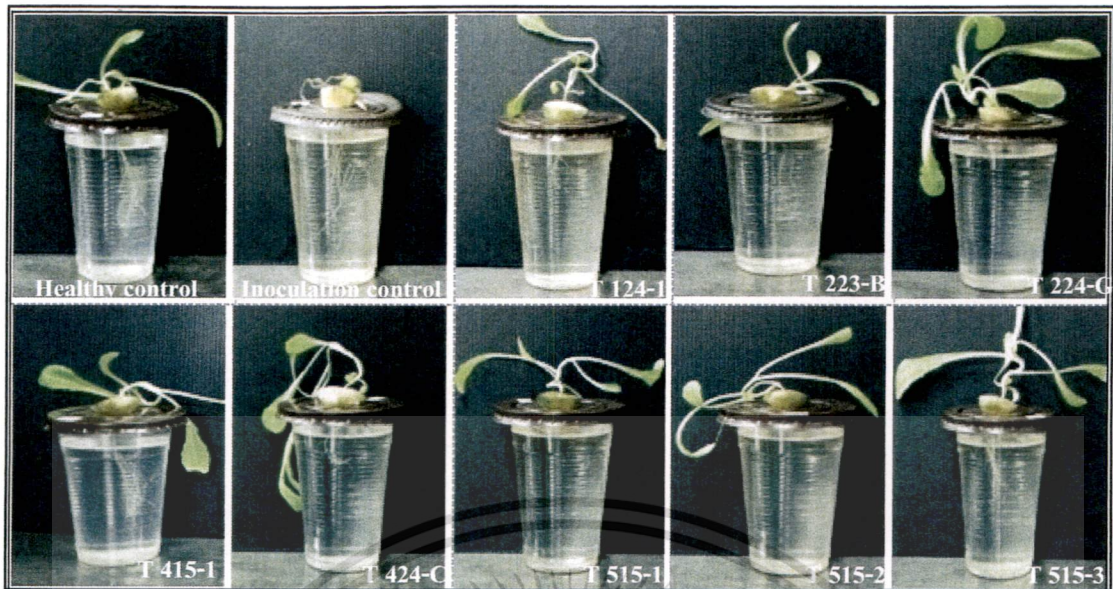
ตารางที่ 4.15 ประสิทธิภาพของ Culture filtrate ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R และ F 422-G) สาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวในผักสลัด โดยวิธี Root inoculation test

กรรมวิธี	การเกิดโรค (%) <sup>1/</sup> : ความรุนแรงของโรค (%) <sup>2/</sup>							
	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lactucae</i> (F 221-R)				<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lactucae</i> (F 422-G)			
	3 วัน	5 วัน	7 วัน	9 วัน	3 วัน	5 วัน	7 วัน	9 วัน
Control	0 : 0	0 : 0	0 : 0	0 : 0	0 : 0	0 : 0	0 : 0	0 : 0
Inoculation	80 : 52.8	100 : 89.1	100 : 95.7	100 : 100	70 : 49.5	100 : 66	100 : 85.8	100 : 100
T 124-1	40 : 9.9	40 : 13.2	60 : 16.5	60 : 16.5	20 : 6.6	40 : 13.2	60 : 13.2	60 : 19.8
T 223-B	40 : 9.9	40 : 13.2	60 : 16.5	60 : 16.5	20 : 9.9	40 : 13.2	60 : 16.5	60 : 16.5
T 224-G	0 : 0	20 : 3.3	20 : 6.6	20 : 6.6	0 : 0	0 : 0	20 : 6.6	20 : 6.6
T 415-1	40 : 6.6	40 : 9.9	40 : 9.9	40 : 13.2	20 : 6.6	40 : 9.9	40 : 9.9	40 : 13.2
T 424-C	60 : 13.2	60 : 16.5	80 : 26.4	80 : 26.4	40 : 9.9	60 : 18.5	80 : 23.1	80 : 33.3
T 515-1	0 : 0	20 : 3.3	20 : 6.6	20 : 6.6	20 : 3.3	20 : 3.3	20 : 6.6	20 : 6.6
T 515-2	0 : 0	20 : 3.3	20 : 6.6	20 : 6.6	20 : 3.3	20 : 3.3	20 : 6.6	20 : 9.9
T 515-3	0 : 0	0 : 0	20 : 6.6	20 : 6.6	0 : 0	0 : 0	20 : 3.3	20 : 6.6

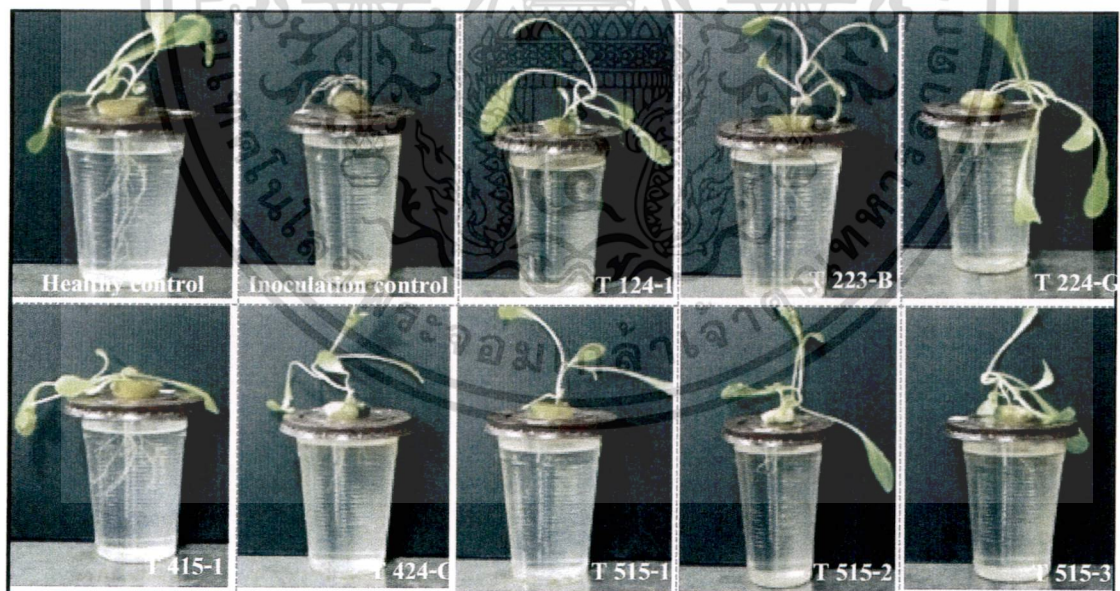
<sup>1/</sup> % การเกิดโรค [Disease incidence, DI] =  $\frac{\text{จำนวนต้นที่แสดงอาการโรค}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}} \times 100$

<sup>2/</sup> % ความรุนแรงของโรค [Disease severity, DS] =  $\frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนต้นที่แสดงอาการโรค} \times \text{ระดับความรุนแรงของโรค}^3)}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด} \times \text{ระดับความรุนแรงของโรคสูงสุด}} \times 100$

<sup>3/</sup> ระดับความรุนแรงของโรค 6 ระดับ ระดับ 0 : ต้นพืชปกติไม่เป็นโรค รากสีขาว, ระดับ 1 : รากพืชมีสีน้ำตาลแดง, ระดับ 2 : รากพืชมีสีน้ำตาลแดงถึงเน่า, ระดับ 3 : รากพืชมีอาการเน่า พืชมีอาการเหี่ยวชั่วคราว  
ระดับ 4 : รากพืชมีอาการเน่า พืชมีอาการเหี่ยวถาวร และ ระดับ 5 : ต้นพืชตาย



ภาพที่ 4.17 ลักษณะต้นและรากของผักสลัด Cos ที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่ได้ Culture filtrate และไม่ได้ Culture filtrate ของเชื้อ *Trichoderma* spp. 8 ไอโซเลท (T 124-1, T 223-B, T 224-G, T 415-1, T 424-C, T 515-1, T 515-2, T 515-3) ที่ระดับความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ และปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R) โดยวิธี Root inoculation test (9 วันหลังปลูกเชื้อ)



ภาพที่ 4.18 ลักษณะต้นและรากของผักสลัด Cos ที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่ได้ Culture filtrate และไม่ได้ Culture filtrate ของเชื้อ *Trichoderma* spp. 8 ไอโซเลท (T 124-1, T 223-B, T 224-G, T 415-1, T 424-C, T 515-1, T 515-2, T 515-3) ที่ระดับความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ และปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 422-G) โดยวิธี Root inoculation test (9 วันหลังปลูกเชื้อ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.10 การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรครากเน่า และเหี่ยวที่เกิดกับผักสลัดในระบบไฮโดรโปนิกส์ (*In vivo*)

จากการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* sp. จำนวน 6 ไอโซเลท คือ T 223-B, T 224-G, T 415-1, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3 (ซึ่งเป็น ไอโซเลทที่ให้ผลดีในทุกๆ วิธีการในสภาพห้องปฏิบัติการ) ในการควบคุมโรครากเน่าและเหี่ยวที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *F.oxysporum* f. sp. *lactucae* 2 ไอโซเลท (F 221-R และ F 422-G) ในผักสลัดที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารแบบเป่าอากาศ (solution culture) โดยมีการประเมินระดับการเกิดโรค (Disease incidence) และความรุนแรงของโรค รวมทั้งผลต่อการเจริญเติบโตของพืชในทุกสัปดาห์นั้น มีรายละเอียดผลการทดลองดังนี้

จากการทดลองที่มีการปลูกเชื้อสาเหตุโรคด้วยเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R) เมื่อพืชอายุ 24 วัน พบว่า ใน Healthy control พืชยังเจริญปกติดี สำหรับกรรมวิธีที่ใส่ *Trichoderma* spp. ทุกๆ ไอโซเลท สามารถลดระดับการเกิดโรคได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การลดการเกิดโรคแตกต่างกันออกไป โดยจะเห็นเด่นชัดสุดในไอโซเลท T 224-G ซึ่งเป็นไอโซเลทเดียวที่ไม่แสดงอาการเกิดโรคเลย และเมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงวันที่ 14 หลังจากปลูกเชื้อ (พืชอายุ 31 วัน) กรรมวิธีที่ปลูกเชื้อ (Inoculation) อาการของโรคค่อนข้างต่ำ อันเนื่องมาจากสภาพแวดล้อมและอุณหภูมิในโรงเรือนไม่เหมาะสมต่อเชื้อในการเข้าทำลายพืช โดยอุณหภูมิภายในโรงเรือนและในน้ำสารละลายธาตุอาหารอุณหภูมิก่อนข้างเย็นลง ในช่วงนี้ทำให้เกิดโรคน้อย (ภาพที่ 4.21) และพืชฟื้นตัวจากการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคได้อย่างรวดเร็ว ด้วยเหตุนี้จึงได้ทำการปลูกเชื้อสาเหตุโรคเป็นครั้งที่ 2 และพบว่า การปลูกเชื้อครั้งนี้ทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของพืชเพิ่มสูงขึ้นถึง 50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.16) และเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีควบคุมก็ค่อย ๆ เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาหลังจากปลูกเชื้อ ในขณะที่เดียวกันก็พบว่าในกรรมวิธีของไอโซเลท T 224-G และ T 515-1 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพียง 12.5 เปอร์เซ็นต์และความรุนแรงของโรค 6.6 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น และเมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงวันที่ 28 หลังการปลูกเชื้อครั้งที่ 2 (สิ้นสุดการทดลอง) พบว่าในกรรมวิธีปลูกเชื้อมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพิ่มสูงขึ้นถึง 100 เปอร์เซ็นต์และความรุนแรงของโรค 95.7 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใส่เชื้อ *Trichoderma* spp. ก็พบว่าให้ผลไปในทิศทางเดียวกันกับสัปดาห์ที่ 2 และ 3 โดยสรุปสำหรับ F 221-R ในกรรมวิธีที่ใส่ *Trichoderma* spp. มีความสามารถในการลดการเกิดโรคได้ถึง 25-80 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4.19)

เมื่อประเมินถึงปริมาณความอยู่รอดของเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R) ก็พบว่า มีปริมาณเริ่มต้นของสปอร์ เท่ากับ  $3.2 \times 10^6$  spore/ml และเมื่อทำการตรวจนับปริมาณความอยู่รอดของสปอร์ในครั้งแรก (พืชอายุ 24 วัน) พบว่าปริมาณความอยู่รอดของเชื้อในกรรมวิธี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(inoculation) มีปริมาณความอยู่รอดของสปอร์มากที่สุด คือ  $2.8 \times 10^6$  spore/ml และเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณความอยู่รอดในกรรมวิธีที่ใส่ด้วย *Trichoderma* spp. ก็พบว่าปริมาณความอยู่รอดของเชื้ออยู่ในระดับที่แตกต่างกันมาก โดยมี 4 ไอโซเลท คือ T 224-G, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3 ที่พบว่าปริมาณของเชื้อใกล้เคียงกันคือ  $1.3-1.7 \times 10^4$  spore/ml สัปดาห์ที่ 2 เป็นสัปดาห์ที่ได้มีการปลูกเชื้อ F 221-R เข้าเป็นรอบที่ 2 (พืชอายุ 31 วัน) ปริมาณความอยู่รอดของเชื้อหลังจากการปลูกเชื้อเพิ่มสูงขึ้น และเมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงวันที่ 45 หลังการปลูกเชื้อ (วันสิ้นสุดการทดลอง) ปริมาณความอยู่รอดของเชื้อในกรรมวิธีใส่เชื้อ *Trichoderma* spp. ในไอโซเลท T 224-G มีปริมาณของความอยู่รอดของสปอร์เชื้อน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับกรรมวิธีปลูกเชื้อ (inoculation) ซึ่งพบมีปริมาณความอยู่รอดของเชื้อ F 221-R ในสารละลายธาตุอาหารของผักสลัด Cos ที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์ เท่ากับ  $1.5 \times 10^6$  spore/ml (ตารางที่ 4.17) โดยสรุปจะเห็นว่าปริมาณของเชื้อจะค่อย ๆ ลดลงเมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงสิ้นสุดการทดลองที่เป็นเช่นนี้เพราะเชื้อชนิดนี้เป็นเชื้อที่ตรวจพบในน้ำจึงทำให้สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้

สำหรับการทดลองหลังจากปลูกเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 422-G) เมื่อพืชอายุ 24 วัน พบว่า ใน Healthy control พืชยังเจริญปกติดี สำหรับกรรมวิธีที่ใส่ *Trichoderma* spp. ทุกๆ ไอโซเลท สามารถลดระดับการเกิดโรคได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การลดการเกิดโรคแตกต่างกันออกไป โดยจะเห็นเด่นชัดสุดใน ไอโซเลท T 515-2 และ T 515-3 ซึ่งเป็น ไอโซเลทเดียวที่ไม่แสดงอาการเกิดโรคเลย และเมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงวันที่ 14 หลังจากปลูกเชื้อ (พืชอายุ 31 วัน) กรรมวิธีที่ปลูกเชื้อ (Inoculation) อาการของโรคค่อนข้างต่ำ อันเนื่องมาจากสภาพแวดล้อมและอุณหภูมิในโรงเรือนไม่เหมาะสมต่อเชื้อในการเข้าทำลายพืชโดยอุณหภูมิภายในโรงเรือนและในน้ำสารละลายธาตุอาหารอุณหภูมิค่อนข้างเย็นลง ในช่วงนี้ทำให้เกิดโรคน้อย (ภาพที่ 4.21) และพืชฟื้นตัวจากการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคได้อย่างรวดเร็ว ด้วยเหตุนี้จึงได้ทำการปลูกเชื้อสาเหตุโรคเป็นครั้งที่ 2 และพบว่า การปลูกเชื้อครั้งนี้ทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของพืชเพิ่มสูงขึ้นถึง 50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.16) และเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีควบคุมก็ค่อย ๆ เพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาหลังจากปลูกเชื้อ ในขณะที่เดียวกันก็ พบว่าในกรรมวิธีของ ไอโซเลท T 515-2 และ T 515-3 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพียง 12.5 เปอร์เซ็นต์และความรุนแรงของโรค 3.3 และ 6.6 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น และเมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงวันที่ 28 หลังการปลูกเชื้อครั้งที่ 2 (สิ้นสุดการทดลอง) พบว่าในกรรมวิธีปลูกเชื้อมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพิ่มสูงขึ้นถึง 87.5 เปอร์เซ็นต์และความรุนแรงของโรค 77.5 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใส่เชื้อ *Trichoderma* spp. ก็พบว่าให้ผลด้านการเกิดโรคและความรุนแรงของโรคไปในทิศทางเดียวกันกับสัปดาห์ที่ 2 และ 3 โดยสรุป สำหรับ F 422-G ในกรรมวิธีที่ใส่ *Trichoderma* spp. มีความสามารถในการลดการเกิดโรคได้ถึง 60 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4.20)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อประเมินถึงปริมาณความอยู่รอดของเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 422-G) ก็พบว่าปริมาณเริ่มต้นของสปอร์ เท่ากับ  $2.8 \times 10^6$  spore/ml และเมื่อทำการตรวจนับปริมาณความอยู่รอดของสปอร์ในครั้งแรก (พีชอายุ 24 วัน) พบว่าปริมาณความอยู่รอดของเชื้อในกรรมวิธี (inoculation) มีปริมาณความอยู่รอดของสปอร์มากที่สุด คือ  $2.4 \times 10^6$  spore/ml และเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณความอยู่รอดในกรรมวิธีที่ใส่ด้วย *Trichoderma* spp. ก็พบว่าปริมาณความอยู่รอดของเชื้ออยู่ในระดับที่แตกต่างกันมาก โดยมี 4 ไอโซเลท คือ T 224-G, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3 ที่พบว่าปริมาณของเชื้อใกล้เคียงกันคือ  $1.2-1.8 \times 10^4$  spore/ml สัปดาห์ที่ 2 เป็นสัปดาห์ที่ได้มีการปลูกเชื้อ F 422-G เข้าเป็นรอบที่ 2 (พีชอายุ 31 วัน) ปริมาณความอยู่รอดของเชื้อหลังจากการปลูกเชื้อเพิ่มสูงขึ้น และเมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงวันที่ 45 หลังการปลูกเชื้อ (วันสิ้นสุดการทดลอง) ปริมาณความอยู่รอดของเชื้อในกรรมวิธีใส่เชื้อ *Trichoderma* spp. ในไอโซเลท T 224-G และ T 515-3 มีปริมาณของความอยู่รอดของสปอร์เชื้อน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับกรรมวิธีปลูกเชื้อ (inoculation) ซึ่งพบมีปริมาณความอยู่รอดของเชื้อ F 422-G ในสารละลายธาตุอาหารของผักสลัด Cos ที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์ เท่ากับ  $2.2 \times 10^5$  spore/ml (ตารางที่ 4.17)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

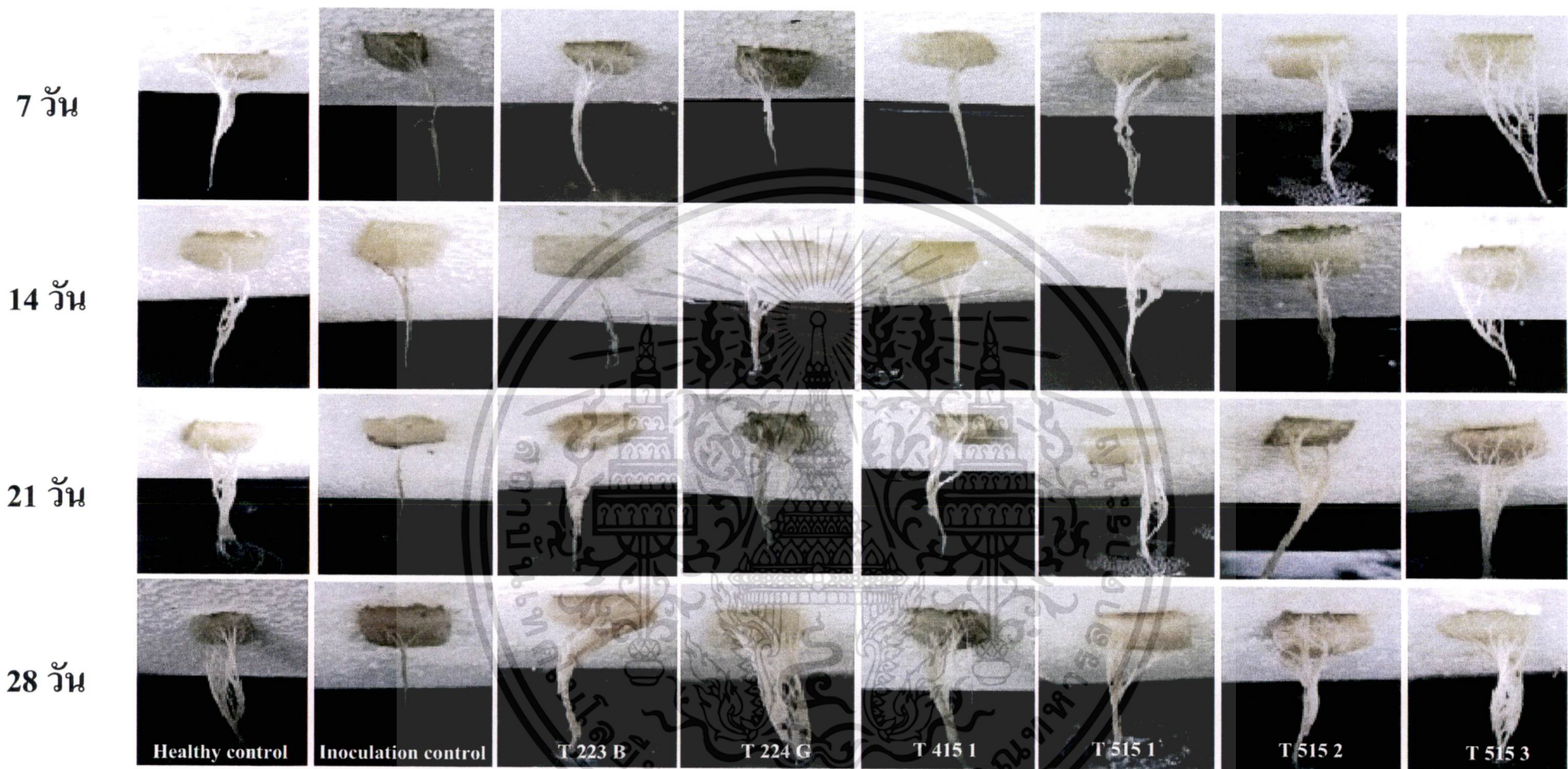
ตารางที่ 4.16 ประสิทธิภาพของเชื้อ *Trichoderma* spp. 6 ไอโซเลท ในการควบคุมโรครากเน่าและเหี่ยวที่มีสาเหตุจากเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R และ F 422-G) ในผักสลัด Cos ที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหาร (solution culture)

กรรมวิธี	การเกิดโรค (%) <sup>1/</sup> : ความรุนแรงของโรค (%) <sup>2/</sup>							
	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 221-R)				<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> (F 422-G)			
	7 วัน	14 วัน	21 วัน	28 วัน	7 วัน	14 วัน	21 วัน	28 วัน
Healthy Control	0 : 0	0 : 0	0 : 0	0 : 0	0 : 0	0 : 0	0 : 0	0 : 0
Inoculation	37.5 : 15	50 : 42.5	100 : 89.7	100 : 95.7	25 : 8.9	37.5 : 44.5	87.5 : 67.5	87.5 : 77.5
T 223-B	12.5 : 6.6	37.5 : 33.5	75 : 33.5	75 : 33.5	12.5 : 3.3	12.5 : 8.9	62.5 : 17.6	62.5 : 17.6
T 224-G	0 : 0	12.5 : 6.6	12.5 : 6.6	12.5 : 6.6	25 : 3.3	50 : 27.5	50 : 27.5	50 : 27.5
T 415-1	37.5 : 13	50 : 28.5	62.5 : 28.5	62.5 : 28.5	25 : 6.6	50 : 24.5	50 : 35	50 : 35
T 515-1	12.5 : 6.6	12.5 : 6.6	37.5 : 13	37.5 : 13	12.5 : 3.3	37.5 : 12.8	72.5 : 28.4	72.5 : 28.4
T 515-2	25 : 12.5	37.5 : 12.5	37.5 : 12.5	37.5 : 12.5	0 : 0	12.5 : 6.6	37.5 : 15	37.5 : 15
T 515-3	25 : 12.5	25 : 12.5	50 : 22.4	50 : 22.4	0 : 0	12.5 : 3.3	25 : 12.5	25 : 12.5

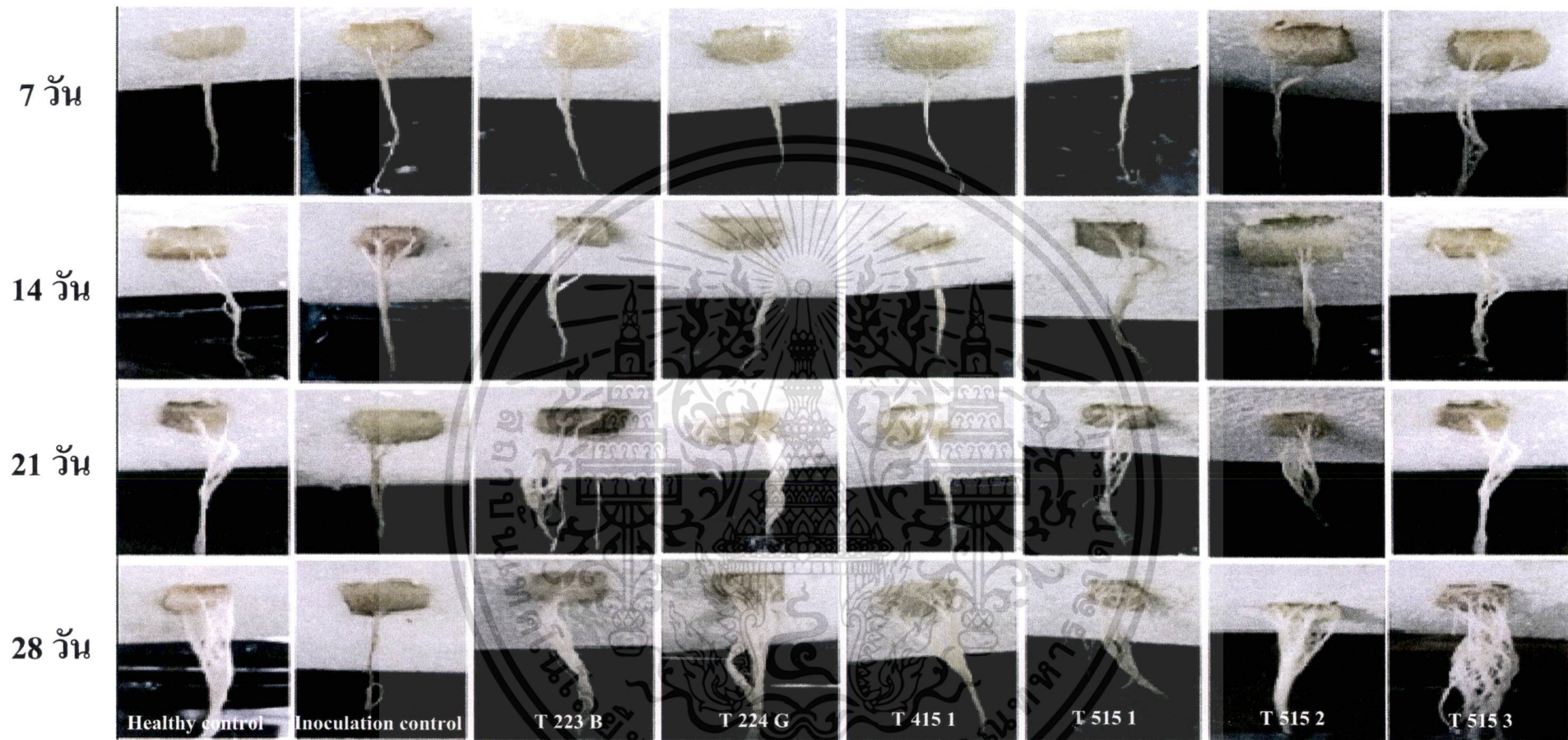
<sup>1/</sup> % การเกิดโรค [Disease incidence, DI] =  $\frac{\text{จำนวนต้นที่แสดงอาการโรค}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}} \times 100$

<sup>2/</sup> % ความรุนแรงของโรค [Disease severity, DS] =  $\frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนต้นที่แสดงอาการโรค} \times \text{ระดับความรุนแรงของโรค}^3)}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด} \times \text{ระดับอาการสูงสุด}} \times 100$

<sup>3/</sup> ระดับความรุนแรงของโรค 6 ระดับ ระดับ 0 : ต้นพืชปกติไม่เป็นโรค รากสีขาว, ระดับ 1 : รากพืชมีสีน้ำตาลแดง, ระดับ 2 : รากพืชมีสีน้ำตาลแดงถึงเน่า, ระดับ 3 : รากพืชมีอาการเน่า พืชมีอาการเหี่ยวชั่วคราว  
ระดับ 4 : รากพืชมีอาการเน่า พืชมีอาการเหี่ยวถาวร และ ระดับ 5 : ต้นพืชตาย

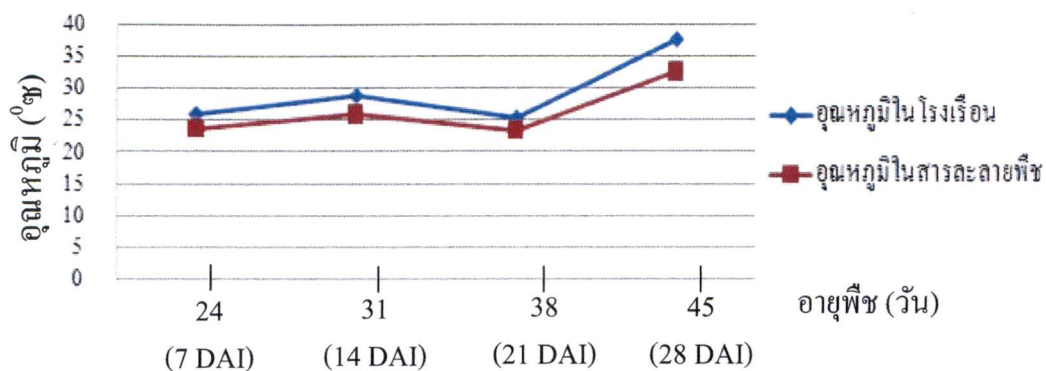


ภาพที่ 4.19 ลักษณะอาการรากของผักสลัด Cos ที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่ไม่ใส่เชื้อและใส่เชื้อ *Trichoderma* spp.6 ไอโซเลต (T 223-B, T 224-G, T 415-1, T 515-1, T 515-2, T 515-3) ที่ระดับความเข้มข้น ( $10^8$  spore/ml) ในสารละลายธาตุอาหาร (solution culture) และปลูกเชื้อสาเหตุโรค *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R) ที่ 7, 14, 21 และ 28 วัน



ภาพที่ 4.20 ลักษณะอาการรากของผักสลัด Cos ที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่ไม่ใส่เชื้อและใส่เชื้อ *Trichoderma* spp.6 ไอโซเลท (T 223-B, T 224-G, T 415-1, T 515-1, T 515-2, T 515-3) ที่ระดับความเข้มข้น ( $10^8$  spore/ml) ในสารละลายธาตุอาหาร (solution culture) และปลูกเชื้อสาเหตุโรค *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 422-G) ที่ 7, 14, 21 และ 28 วัน

### อุณหภูมิในระหว่างการปลูกพืช



ภาพที่ 4.21 กราฟแสดงอุณหภูมิในโรงเรือนและในน้ำสารละลายธาตุอาหารของผักสลัด Cos ที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหาร (solution culture) ที่พืชอายุ 24, 31, 38 และ 45 วัน

ตารางที่ 4.17 ความอยู่รอดของเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R และ F 422-G) ในสารละลายธาตุอาหาร ที่ใช้ปลูกผักสลัด Cos ซึ่งมีการใส่เชื้อรา *Trichoderma* spp. (T 223-B, T 224-G, T 415-1, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3) ในระดับความเข้มข้น  $10^8$  spore/ml (ตรวจสอบเมื่อพืชอายุ 24, 31, 38 และ 45 วัน)

กรรมวิธี	ปริมาณสปอร์เริ่มต้น	ปริมาณความอยู่รอดของเชื้อ <i>F. oxysporum</i> (F 221-R) (spore/ml)			
		พืชอายุ 24 วัน (7 DAI)	พืชอายุ 31 วัน <sup>1/</sup> (14 DAI)	พืชอายุ 38 วัน (21 DAI)	พืชอายุ 45 วัน (28 DAI)
Healthy control	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Inoculation	$3.2 \times 10^6$	$2.8 \times 10^6$	$2.2 \times 10^6$	$1.8 \times 10^6$	$1.5 \times 10^6$
T 223-B	$3.2 \times 10^6$	$1.6 \times 10^5$	$1.6 \times 10^6$	$1.6 \times 10^5$	$1.2 \times 10^5$
T 224-G	$3.2 \times 10^6$	$1.3 \times 10^4$	$1.2 \times 10^6$	$1.2 \times 10^4$	$0.9 \times 10^4$
T 415-1	$3.2 \times 10^6$	$1.6 \times 10^5$	$1.8 \times 10^6$	$1.7 \times 10^5$	$1.5 \times 10^5$
T 515-1	$3.2 \times 10^6$	$1.7 \times 10^4$	$1.6 \times 10^6$	$1.4 \times 10^4$	$1.3 \times 10^4$
T 515-2	$3.2 \times 10^6$	$1.4 \times 10^4$	$1.3 \times 10^6$	$1.3 \times 10^4$	$1.1 \times 10^4$
T 515-3	$3.2 \times 10^6$	$1.5 \times 10^4$	$1.7 \times 10^6$	$1.9 \times 10^4$	$1.5 \times 10^4$

กรรมวิธี	ปริมาณสปอร์เริ่มต้น	ปริมาณความอยู่รอดของเชื้อ <i>F. oxysporum</i> (F 422-G) (spore/ml)			
		พืชอายุ 24 วัน (7 DAI)	พืชอายุ 31 วัน <sup>1/</sup> (14 DAI)	พืชอายุ 38 วัน (21 DAI)	พืชอายุ 45 วัน (28 DAI)
Healthy control	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Inoculation	$2.8 \times 10^6$	$2.4 \times 10^6$	$1.5 \times 10^6$	$1.4 \times 10^6$	$2.2 \times 10^5$
T 223-B	$2.8 \times 10^6$	$1.6 \times 10^6$	$1.2 \times 10^6$	$1.4 \times 10^5$	$1.5 \times 10^5$
T 224-G	$2.8 \times 10^6$	$1.4 \times 10^4$	$1.4 \times 10^6$	$1.5 \times 10^4$	$1.3 \times 10^4$
T 415-1	$2.8 \times 10^6$	$1.6 \times 10^6$	$1.8 \times 10^6$	$2.4 \times 10^5$	$1.9 \times 10^5$
T 515-1	$2.8 \times 10^6$	$1.8 \times 10^4$	$1.6 \times 10^6$	$2.7 \times 10^4$	$1.5 \times 10^4$
T 515-2	$2.8 \times 10^6$	$1.3 \times 10^4$	$1.7 \times 10^6$	$2.4 \times 10^4$	$1.4 \times 10^4$
T 515-3	$2.8 \times 10^6$	$1.2 \times 10^4$	$1.4 \times 10^6$	$1.9 \times 10^4$	$1.2 \times 10^4$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ว่าหรับการใช้งานเพื่อการศึกษเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 1/ ทำการปลูกเชื้อสาเหตุ โรคซ้ำเป็นครั้งที่ 2 (เมื่อ 2 วันก่อนตรวจสอบปริมาณความอยู่รอดของเชื้อ F 221-R และ F 422-G)  
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การประเมินผลด้านการเจริญเติบโต มีรายละเอียดดังนี้

สำหรับการทดลองที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรคด้วยเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R) พบว่า ในกรรมวิธีควบคุม (Healthy control) พืชเจริญตามปกติ ส่วนในกรรมวิธีปลูกเชื้อ (inoculation) พืชมีการเจริญเติบโตน้อย ซึ่งมีผลสืบเนื่องจากการเกิดโรคและความรุนแรงของโรคที่สูง และเมื่อคู่ถึงกรรมวิธีที่ทรีทด้วยเชื้อรา *Trichoderma* spp. พบว่าส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทั้งทางด้านจำนวนใบ ขนาดใบ คลอโรฟิลล์ SPAD value น้ำหนักสดต้นและราก รวมทั้งน้ำหนักแห้งต้นและราก ให้ผลดีและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกรรมวิธีปลูกเชื้อ (inoculation) และ กรรมวิธีควบคุม (Healthy control) กล่าวคือ ไอโซเลท T 224-G ให้ผลในด้านน้ำหนักสดต่อต้นสูงที่สุด (57.71 กรัม/ต้น) อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (Healthy control) (27.6 กรัม/ต้น) และกรรมวิธีปลูกเชื้อ (inoculation) (3.59 กรัม/ต้น) (ตารางที่ 4.18; ภาพที่ 4.22)

ส่วนในการทดลองที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรคด้วยเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 422-G) พบว่า ในกรรมวิธีควบคุม (Healthy control) พืชเจริญตามปกติ ส่วนในกรรมวิธีปลูกเชื้อ (inoculation) พืชมีการเจริญเติบโตน้อย ซึ่งมีผลสืบเนื่องจากการเกิดโรคและความรุนแรงของโรคสูง และในกรรมวิธีที่ทรีทด้วยเชื้อรา *Trichoderma* spp. จะส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทั้งทางด้านจำนวนใบ ขนาดใบ คลอโรฟิลล์ SPAD value น้ำหนักสดต้นและราก รวมทั้งน้ำหนักแห้งต้นและราก ให้ผลดีและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกรรมวิธีปลูกเชื้อ (inoculation) และ กรรมวิธีควบคุม (Healthy control) กล่าวคือ ไอโซเลท T 515-3 ส่งเสริมการเจริญในด้านน้ำหนักสดต่อต้นสูงที่สุด (53.91 กรัม/ต้น) อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (Healthy control) (26.36 กรัม/ต้น) และกรรมวิธีปลูกเชื้อ (inoculation) F 422-G (11.23 กรัม/ต้น) (ตารางที่ 4.19; ภาพที่ 4.23)

ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 6 ไอโซเลท สามารถควบคุมโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์ได้ อีกทั้งยังสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้

ตารางที่ 4.18 การเจริญเติบโตของผักสลัด Cos ที่ได้รับการใส่เชื้อ *Trichoderma* spp. 6 ไอโซเลท และปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R) สาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัด ในสารละลายธาตุอาหาร (solution culture) ที่อายุ 45 วัน

กรรมวิธี	การเจริญเติบโตของพืช								ผลผลิต (กรัม/ต้น)							
	จำนวนใบ (ใบ)				ขนาดใบ (ซม)				คลอโรฟิลล์ (SPAD Value)				น้ำหนักสด		น้ำหนักแห้ง	
	24 วัน	31 วัน	38 วัน	45 วัน	24 วัน	31 วัน	38 วัน	45 วัน	24 วัน	31 วัน	38 วัน	45 วัน	ต้น	ราก	ต้น	ราก
Healthy Control	4.2ab <sup>u</sup>	7.2ab	14.2b	16.6b	3.2ab	7.2ab	13.2ab	16.67b	28.8	29.8	29.6	29.8	27.6b	1.93b	1.18b	0.14b
Inoculation	3.8c	4.3c	5.8c	7.6c	2.5c	4.5c	5.3c	6.25c	20.4	18.9	15.4	10.5	3.59c	0.15c	0.062c	0.02c
T 223-B	4.1ab	7.1ab	14.1b	17.8b	3.2ab	7.2ab	13.8ab	17.25b	30.5	31.4	30.1	30.9	30.2b	2.05b	1.12b	0.10b
T 224-G	4.8a	9.8a	16.9a	23.4a	3.5a	8.6a	16.5a	19a	33.4	31.8	32.7	33.8	57.71a	5.18a	2.45a	0.29a
T 415-1	4.4a	7.5ab	14.4b	17.5b	3.2ab	7.5ab	14.2ab	17.65b	27.6	28.5	29.8	30	28.04b	1.87b	1.08b	0.14b
T 515-1	4.5a	7.8ab	14.5b	17.9b	3.2ab	7.2ab	13.8ab	17.5b	28.7	29.5	29.7	30.4	37.5b	2.23b	1.28b	0.13b
T 515-2	4.6a	9.6a	15.6ab	22.8ab	3.3a	8.2a	15.3ab	18.75ab	31.6	31.9	32.4	32.7	40.7ab	2.83ab	1.45ab	0.19ab
T 515-3	4.5a	8.5ab	14.5b	18.3b	3.1ab	7.8ab	14.1ab	17.62b	29.6	30.8	31.5	31.2	28.1b	2.20b	1.22b	0.15b

<sup>u</sup> ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ในแต่ละคอลัมน์ที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกัน มีความแตกต่างกัน ที่ระดับความเชื่อมั่น P=0.05 โดยวิธีของ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

ตารางที่ 4.19 การเจริญเติบโตของผักสลัด Cos ที่ได้รับการใส่เชื้อ *Trichoderma* spp. 6 ไอโซเลท และปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 422-G) สาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัด ในสารละลายธาตุอาหาร (solution culture) ที่อายุ 45 วัน

กรรมวิธี	ค่าการเจริญเติบโตของพืช												น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม/ต้น)			
	จำนวนใบ (ใบ)				ขนาดใบ (ซม)				คลอโรฟิลล์ (SPAD Value)				น้ำหนักสด		น้ำหนักแห้ง	
	24 วัน	31 วัน	38 วัน	45 วัน	24 วัน	31 วัน	38 วัน	45 วัน	24 วัน	31 วัน	38 วัน	45 วัน	ต้น	ราก	ต้น	ราก
Healthy Control	4.2ab <sup>v</sup>	7.3ab	14.2b	15.7b	3.4ab	7.3b	13.2ab	15.4b	27.8	28.8	25.6	27.8	26.36b	1.56b	1.09b	0.15b
Inoculation	3.4c	6.5c	8.8c	12.2c	2.8c	4.5c	7.3c	10.4c	20.4	22.9	21.4	18.4	11.23c	0.42c	0.19c	0.04c
T 223-B	4.1ab	7.8ab	14.1b	18.6b	3.3ab	7.7ab	15.8ab	18.9b	30.5	31.4	30.1	30.1	39.93b	2.42b	1.57b	0.16b
T 224-G	4.2ab	7.4ab	14.2b	16.3b	3.5ab	7.4ab	14.5ab	17.3b	30.4	29.8	30.7	30.8	31.51b	1.85b	1.06b	0.13b
T 415-1	4.1ab	7.5ab	14.4b	17.9b	3.2b	7.5ab	14.2b	16.7b	27.6	28.5	29.8	30.6	29.50b	1.72b	1.12b	0.11b
T 515-1	4.2a	7.8ab	14.5b	17.4b	3.2b	7.2b	13.8b	15.6b	25.7	26.5	27.7	27.9	27.84b	1.44b	1.03b	0.09b
T 515-2	4.3a	8.9a	15.9ab	21.1ab	3.5ab	8.2ab	16.3ab	19.2ab	30.6	31.3	31.4	31.8	47.25ab	2.74ab	1.69ab	0.18ab
T 515-3	4.4a	9.4a	16.8a	23.4a	3.8a	8.9a	17.1a	21.7a	33.6	32.8	33.5	33.5	53.91a	3.89a	2.14a	0.26a

<sup>v</sup> ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ในแต่ละคอลัมน์ที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกัน มีความแตกต่างกัน ที่ระดับความเชื่อมั่น P=0.05 โดยวิธีของ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)



HealthyControl Inoculation T 223-B T 224-G T 415-1 T 515-1 T 515-2 T 515-3

ภาพที่ 4.22 ลักษณะต้นและรากของผักสลัด Cos ที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่ไม่ใส่เชื้อและใส่เชื้อ *Trichoderma* spp. 6 ไอโซเลท (T 223-B, T 224-G, T 415-1, T 515-1, T 515-2, T 515-3) ที่ระดับความเข้มข้น ( $10^8$  spore/ml) และปลูกเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lactucaae* (F 221-R) ที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหาร (solution culture) ที่วันเก็บเกี่ยวผลผลิต (พืชอายุ 45 วัน)



HealthyControl Inoculation T 223-B T 224-G T 415-1 T 515-1 T 515-2 T 515-3

ภาพที่ 4.23 ลักษณะต้นและรากของผักสลัด Cos ที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่ไม่ใส่เชื้อและใส่เชื้อ *Trichoderma* spp. 6 ไอโซเลท (T 223-B, T 224-G, T 415-1, T 515-1, T 515-2, T 515-3) ที่ระดับความเข้มข้น ( $10^8$  spore/ml) และปลูกเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lactucaae* (F 422-G) ที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหาร (solution culture) ที่วันเก็บเกี่ยวผลผลิต (พืชอายุ 45 วัน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราท้องถิ่น (indigenous) *Trichoderma* spp. ที่ได้จากระบบไฮโดรโปนิคส์ ในการควบคุมโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัด (*Lactuca sativa* L.) ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium* spp. ในสภาพห้องปฏิบัติการและในระบบไฮโดรโปนิคส์ ซึ่งได้แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ส่วนใหญ่ๆ

### ส่วนที่ 1 การศึกษาในสภาพห้องปฏิบัติการ

การทดลองที่ 1.1 จากการศึกษาในระหว่างช่วงปี พ.ศ. 2554-2555 พบการเกิดและระบาดของโรครากเน่าและเหี่ยวในผักสลัดที่ปลูกในระบบ NFT ในฟาร์มไฮโดรโปนิคส์ ในจังหวัดสมุทรปราการและชลบุรี โรคดังกล่าวเกิดขึ้นกับผักสลัดทั้งชนิดห่อหัวและชนิดใบ โดยแสดงอาการรากเน่า ใบล่างเหลืองเหี่ยว ลำต้นแคระแกรน และตายในที่สุด ถ้าผ่าส่วนโคนลำต้นและรากส่วนบน จะพบแผลสีน้ำตาลแดงและอาการเน่า จากการวินิจฉัยโรคจากส่วนของพืชที่แสดงอาการได้แก่ ราก ลำต้น ใบ รวมทั้งสารละลายธาตุอาหารพืช พบว่ามีสาเหตุมาจากเชื้อ *Fusarium oxysporum* และเมื่อศึกษาถึงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแล้ว สามารถจัดจำแนกเชื้อราได้เป็นเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* เป็น Imperfect หรือ Asexual fungi อยู่ในกลุ่ม Deuteromycetes ซึ่งเป็น Filamentous ascomycetes ใน Phylum Ascomycota จัดอยู่ใน Kingdom Fungi (Agrios, 2005) อีกทั้งยังพบไส้เดือนฝอย *Pratylenchus* sp. เข้าทำลายร่วมด้วย และการตรวจพบการเข้าทำลายของเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* ในผักสลัดที่ปลูกในระบบ NFT ครั้งนี้ เป็นการรายงานการตรวจพบครั้งแรกในประเทศไทย และเพื่อเป็นการยืนยันอีกครั้งหนึ่ง จึงทำการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อสาเหตุดังกล่าวที่แยกได้ จำนวน 21 ไอโซเลท กับผักสลัด 4 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อสาเหตุที่นำมาทำการทดสอบทุกไอโซเลท ยกเว้น F 221-B สามารถทำให้เกิดโรครากเน่าและเหี่ยวกับผักสลัดทั้ง 4 สายพันธุ์ได้ โดยความรุนแรงของโรคจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของสายพันธุ์ผักสลัด โดยพบว่าผักสลัดสายพันธุ์ Cos เป็นพันธุ์ที่อ่อนแอที่สุด โดยในทางตรงกันข้ามได้เคยมีการรายงานของต่างประเทศที่ตรวจพบการระบาดของโรคนี้ในผักสลัดที่ปลูกในดิน (Pasquali *et al.*, 2007) เชื้อชนิดดังกล่าวทำความเสียหายมากในประเทศญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา และอิตาลี (Yamauchi *et al.*, 2001; Matheron and Koike, 2003; Garibarian *et al.*, 2004) นอกเหนือจากการศึกษาโรครากเน่าและเหี่ยวในผักสลัดแล้ว เป็นที่น่าสนใจว่าพบเชื้อรา *Fusarium oxysporum* F 221-B ไม่ก่อให้เกิดโรคแต่กับส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักสลัด ดังนั้นความสามารถในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชโดย F 221-B ซึ่งได้รับการประเมินต่อไป เพื่อยืนยันถึงความสามารถของเชื้อดังกล่าวอีกครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**การทดลองที่ 1.2** การประเมินประสิทธิภาพของเชื้อ *Fusarium oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B ด้านส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช 6 ชนิด (Cos, Green oak, Red oak, Butter head, คะน้า และ ถั่วเขียว) ที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์ รวมทั้งการศึกษาลักษณะโคโลนิของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ชนิดต่าง ๆ ซึ่งพบว่าเมล็ดที่คลุกเชื้อ F 221-B สามารถงอกได้เร็วกว่าปกติ 1 วัน ส่งผลให้มีเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด และความยาวของต้นกล้าสูงกว่าเมล็ดที่ไม่ได้คลุกเชื้อ ผลจากการใช้ spore suspension ของเชื้อ *F. oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B ทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นคือ  $10^4$ ,  $10^6$  และ  $10^8$  spore/ml ใส่ลงในสารละลายธาตุอาหารพืช สำหรับพืชทดสอบ 6 ชนิด พบว่าในช่วงแรก ระดับความเข้มข้นของเชื้อ F 221-B ไม่มีผลต่อจำนวนใบและขนาดใบของพืชทั้ง 6 ชนิด เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (control) แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงวันที่ 38 และ 45 วัน เริ่มสังเกตเห็นอิทธิพลของระดับความเข้มข้นของเชื้อ F 221-B ต่อการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ กล่าวคือ ที่ระดับความเข้มข้น  $10^8$  spore/ml ของ F 221-B มีแนวโน้มทำให้จำนวนใบและขนาดของใบสูงกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ รวมทั้งกรรมวิธีควบคุม (control)

ส่วนอิทธิพลของระดับความเข้มข้นของ F 221-B ต่อค่า SPAD value พบว่าค่า SPAD value ของทุกพืช จะเริ่มมีค่าสูงขึ้นเมื่อพืชอายุเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรรมวิธีที่ใส่เชื้อ F 221-B กล่าวคือในกรรมวิธีที่ใส่เชื้อ F 221-B ความเข้มข้น  $10^8$  spore/ml จะมีค่า SPAD value สูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใส่  $10^4$  และ  $10^6$  spore/ml รวมทั้ง control ตามลำดับ ตัวอย่างเช่น ในผักสลัด Red oak, Cos, Butter head ที่ปลูกในระบบ DRFT ที่ไม่ได้รับเชื้อ F 221-B จะมีค่า SPAD value ในระยะแรกและเมื่อสิ้นสุดการทดลอง อยู่ในช่วง 24-30.2 ซึ่งค่าดังกล่าวนี้ใกล้เคียงกับค่า SPAD value ของผักที่ปลูกในดิน (Leon *et al.*, 2007 และ Myeong *et al.*, 2009) ในกรณีที่ได้รับเชื้อ F 221-B ความเข้มข้น  $10^8$  spore/ml ผักสลัดทั้ง 3 ชนิดมีค่า SPAD value ในวันที่ 24 อยู่ในช่วง 24.3-29.7 และสูงขึ้นถึง 34.8 ในวันสุดท้ายของการทดลองซึ่งค่าดังกล่าวสูงกว่า Control ที่ไม่ได้ทำการปลูกเชื้อ F 221-B ซึ่งผลดังกล่าวนี้สอดคล้องกับรายงานในปี ค.ศ. 2007 ที่กล่าวว่าค่า Chlorophyll content (SPAD value) ในผักสลัดจะถูกกระตุ้นได้โดยเชื้อ Mycorrhizal fungi 3 สายพันธุ์ (*Glomus mosseae*, *G. intraradices* และ *G. coronatum*) โดยในช่วงแรกค่า SPAD value จะเท่ากับ 14.11 และจะสูงขึ้นถึง 22.17 เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (Zuccearini, 2007) สำหรับผักทดสอบที่เหลืออีก 3 ชนิด กล่าวคือ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง Green oak ที่ไม่ได้รับและรับเชื้อมีค่า SPAD value เท่ากับ 15.2 และ 20 ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับ ค่า SPAD value ของผักสลัดใบเขียว สายพันธุ์ JGC ที่ปลูกในดิน ที่มีค่าเท่ากับ 17.8 (Myeong *et al.*, 2009) ส่วน คะน้า มีค่า SPAD value อยู่ระหว่าง 43-47.3 ในกรรมวิธีเปรียบเทียบและที่ใช้เชื้อ  $10^8$  spore/ml ซึ่งค่าดังกล่าวสูงกว่า ในรายงานของ Issarakraisila *et al.* (2007) ที่ระบุถึงค่า SPAD value ของกะน้าที่ปลูกในดินมีค่าประมาณ 39 สำหรับ ถั่วเขียว ในการทดลองนี้มีค่า SPAD value ในกรรมวิธีเปรียบเทียบและที่

ใส่เชื้อ  $10^8$  spore/ml อยู่ในช่วง 33.1-35.7 ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าในรายงานของ Ali *et al.* (2008) ที่ระบุถึงค่า SPAD value ของถั่วเขียว ที่มีค่าประมาณ 37.1

ในกรณีของน้ำหนักรากและน้ำหนักแห้ง (ตารางที่ 4.5, ภาพที่ 4.2) ผลเป็นไปในทิศทางเดียวกับ จำนวนใบ ขนาดใบ และ SPAD value กล่าวคือการใช้เชื้อรา F 221-B ที่ความเข้มข้น  $10^8$  spore/ml มีผลในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชทั้ง 6 ชนิด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุม (control) ทั้งในด้านน้ำหนักสดต้นและราก รวมทั้งน้ำหนักแห้ง ซึ่งผลการทดลองนี้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Anderson and Schmidt (2001) ที่รายงานว่าน้ำหนักรากแห้งของผักสลัดอยู่ในช่วง 0.067 – 0.134 กรัม ส่วนน้ำหนักสดของต้นนั้นจากการทดลองนี้ได้ค่าที่น้อยกว่าผักสลัดที่ปลูกเพื่อการค้า ซึ่ง Jensen (2001) ได้รายงานว่าผักสลัดที่ปลูกในระบบ DFT ช่วงวันที่ 40-45 จะอยู่ในช่วง 100 กรัม ด้วยเหตุนี้ อาจจะเป็นเพราะเกิดจากปัญหาทางสภาพอากาศที่ร้อนที่มีอุณหภูมิอยู่ในช่วง 37-39 องศาเซลเซียส ซึ่งอุณหภูมิของน้ำสารละลายที่พีชนั้นก็สูงเช่นเดียวกัน จึงทำให้ขนาดของต้นและน้ำหนักต้นที่ได้นั้นมีขนาดเล็กผิดปกติไป

จากการศึกษาผลของการเลี้ยงเชื้อรา *F. oxysporum* ทั้ง 2 สายพันธุ์ ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 6 ชนิด พบว่าเชื้อทดสอบทั้ง 2 สายพันธุ์ สามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารทั้ง 6 ชนิดใกล้เคียงกัน กล่าวคือในช่วงแรกการเจริญทางเส้นใยไม่แตกต่างกันในทุกๆ อาหารเลี้ยงเชื้อ วันที่ 2 จะเริ่มพบว่าอาหาร CA, OA และ CZA มีแนวโน้มที่จะให้ค่าการเจริญเติบโตของเส้นใยของเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์ ตีตามลำดับ และเมื่อวันที่ 5 พบว่าเชื้อทั้ง 2 ชนิดเจริญเต็มงานเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหาร CA (ตารางที่ 4.7) แต่อย่างไรก็ตาม การเจริญของเชื้อทั้ง 2 บนอาหาร OA, CZA และ CMA ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับ CA สำหรับการสร้างสปอร์ พบว่าอาหาร OA เหมาะสมที่สุดสำหรับการสร้าง macroconidia และ microconidia ของ F 221-B คือ  $5.26$  และ  $2.18 \times 10^5$  spore/ml ตามลำดับ รองลงมาคือ อาหาร CMA สำหรับเชื้อ F 422-G อาหารที่ดีที่สุดสำหรับการสร้าง macroconidia และ microconidia คือ CA และ PDA ตามลำดับ ซึ่งผลดังกล่าวข้างต้นนี้ สอดคล้องกับการรายงานของ Karnataka (2008) ที่รายงานว่าอาหาร OA เป็นอาหารที่ดีที่สุดต่อการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *gerberae* และ *F. oxysporum* f.sp. *dianthi* กล่าวคือมีการสร้าง macroconidia และ microconidia อยู่ที่  $8.0$  และ  $4.0 \times 10^6$  spore/ml ตามลำดับ

โดยสรุป เชื้อรา *Fusarium oxysporum* (F 221-B) แสดงศักยภาพในการเป็นเชื้อราที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth-promoting fungus)

การทดลองที่ 1.3 ประเมินศักยภาพการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ในสภาพห้องปฏิบัติการของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 14 ไอโซเลท ที่มีต่อเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* สาเหตุโรคเหี่ยวของผักสลัด (*Lactuca sativa* L.) ที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ โดยมุ่งเน้นศึกษาถึงกลไกของการยับยั้งใน 6 วิธีการ

### การทดลองที่ 1.3.1 Bi-culture antagonistic test

จากการทดลองใน Bi-culture antagonistic test พบว่า เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้งหมดมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* ได้ทั้ง 2 ไอโซเลท (ตารางที่ 4.8 และ ตารางที่ 4.9) โดยในช่วง 3-5 วันแรก อัตราการเจริญของเชื้อค่อนข้างต่ำจึงทำให้เห็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งไม่เด่นชัดนัก อยู่ในช่วง 9.72 – 58.1 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงสิ้นสุดการทดลอง (วันที่ 9 หลังจากการปลูกเชื้อ) พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่เพิ่มสูงขึ้น อยู่ในช่วง 53.4 – 73 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Perveen and Bokhari (2012) รายงานว่าจากการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 3 สายพันธุ์ (T1s, TDPs, TvPDs) ในการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum* ในอินทผลัม พบว่า T1s สามารถยับยั้งเชื้อดังกล่าวได้ดีที่สุดถึง 66.3 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ TDPs และ TvPDs ที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งคือ 57.4 และ 56.43 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และการรายงานของ Shaikh and Sahera (2013) ที่ระบุว่าเชื้อ *T. viride* และ *T. harzianum* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* ได้ 41.1 - 85.3 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีรายงานของ Patil *et al.* (2012) ที่สรุปถึงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่มีค่าใกล้เคียงกันกับงานวิจัยครั้งนี้เพียงแต่ใช้ยับยั้งกับเชื้อสาเหตุโรคอีกชนิดหนึ่ง คือ *Pythium aphanidermatum* สำหรับกลไกการยับยั้งที่ตรวจพบจากการศึกษาครั้งนี้มีครบทั้ง 3 กลไก กล่าวคือในระยะแรก (วันที่ 3 หลังจากการบ่มเชื้อ) จะเริ่มสังเกตเห็นกลไกแบบ antibiosis โดยพบ clear zone (ภาพที่ 4.5 และ ภาพที่ 4.6) และเมื่อระยะเวลาผ่านไปกลไก antibiosis นี้ จะถูกปกคลุมด้วยกลไก competition และ exploitation ตามลำดับ โดยพบว่าเชื้อ *Trichoderma* spp. จำนวน 9 ไอโซเลท สามารถเจริญเป็น parasite เข้าทำลายเส้นใยของเชื้อ pathogen ได้ (ภาพที่ 4.5 และ ภาพที่ 4.7) นอกจากนี้เป็นที่น่าสนใจว่าใน bi-culture test ของเชื้อ *Trichoderma* spp. 3 ไอโซเลท คือ T 224-G, T 515-1 และ T515-2 นั้น โคลนเชื้อสาเหตุในฝั่งที่ไม่ได้เผชิญหน้ากับเชื้อราปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไม่มีการเจริญเติบโตเมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุม ซึ่งน่าจะได้รับอิทธิพลจากสารระเหย (volatile metabolite) ที่ถูกสร้างจากเชื้อราปฏิปักษ์

### การทดลองที่ 1.3.2 Volatile-extracellular metabolite test

ผลจากการทดสอบประสิทธิภาพของสารระเหย พบว่า *Trichoderma* spp. ทุกไอโซเลทสามารถสร้างสารระเหยได้ และมีผลทำให้โคลนของเชื้อ *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* ทั้ง 2 ไอโซเลท เจริญช้าลงในช่วง 2 วันแรก และเมื่อวันที่ 3 หลังจากการบ่มเชื้อ พบว่าเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* ทั้ง 2 ไอโซเลท ในชุดควบคุมเจริญเต็มเพลท แต่อย่างไรก็ตามถ้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ใดเห็นภาพหรือเนื้อหาในเอกสารนี้ กรุณาอย่าเผยแพร่หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประเมินเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง พบว่าอยู่ในระดับไม่สูงมากนัก โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ F 422-G และ F 221-R อยู่ในช่วง 3.6-33 เปอร์เซ็นต์ และ 14.1-27.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้ลักษณะการเจริญของเส้นใยเชื้อจะมีลักษณะผิดปกติไปจากตัวควบคุม (control) โดยสอดคล้องกับงานวิจัยของ Shaikh and Sahera (2013) ที่ทดสอบกับเชื้อ *Fusarium* sp. ในดิน พบว่าเชื้อรา *T. viride* และ *T. harzianum* มีประสิทธิภาพในการสร้างสารเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อ *F. oxysporum* ได้ค่อนข้างน้อย โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 25.2-44.8 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีรายงานที่กล่าวถึงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรค 3 ชนิด *F. oxysporum*, *Rhizoctonia solani* และ *Sclerotium* sp. โดยสารระเหยที่ผลิตโดย *Trichoderma* spp. จำนวน 6 สายพันธุ์ ซึ่งมีค่าการยับยั้งการเจริญของเชื้ออยู่ประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์เช่นกัน Amin *et al.* (2010) แต่อย่างไรก็ตามมีบางงานวิจัย พบว่าสารระเหยจากเชื้อรา *Trichoderma* spp. มีประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อค่อนข้างสูง ได้แก่ เชื้อรา *Trichoderma saturnisporum* และ *T. harzianum* มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งด้วยสารระเหยต่อเชื้อ *Colletotrichum capsici* สูงถึง 59.39 เปอร์เซ็นต์ และ 67 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (Ajith and Lakshmidēvi, 2010) โดยสอดคล้องกับการรายงานของ Patil *et al.* (2012) ที่ได้รายงานถึงการใช้เชื้อรา *T. harzianum* ในการควบคุมโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium* spp. พบว่า *T. harzianum* มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่สูงถึง 74-87 เปอร์เซ็นต์ Vey *et al.* (2001) กล่าวว่าสารระเหยที่เชื้อรา *Trichoderma* spp. ผลิตขึ้นนั้น ได้แก่ ethylene, hydrogen cyanide, aldehydes และ ketones

โดยสรุปจากการทดลองประสิทธิภาพของเชื้อ *Trichoderma* spp. ทั้ง 14 ไอโซเลทในครั้ง นี้ พบว่า T 224-G, T 515-1 และ T 515-2 สามารถสร้างสารระเหยที่มีผลไปยับยั้งเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* ทั้ง 2 ไอโซเลทได้สูงสุด คือ 33 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผลที่นำไปสนับสนุนข้อสังเกตที่คณะผู้วิจัยได้ระบุไว้ใน Bi-culture test ที่ว่าน่าจะมีกลไกของสารระเหยมาร่วมด้วย

### การทดลองที่ 1.3.3 Leaf test

จากการคัดเลือกตัวแทนเชื้อ *Trichoderma* spp. มาจำนวน 5 ไอโซเลท คือ T 515-1, T515-2, T515-3, T315-1 และ T415-2 ที่มีศักยภาพและคุณสมบัติครอบคลุมทั้ง 3 กลไกการยับยั้งของการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ มาประเมินความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช จำนวน 5 ชนิด คือ *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* 3 ไอโซเลท (F 114-B, F 221-R และ F 422-G) *Alternaria* sp. และ *Curvularia* sp. บนใบผักสลัดบัตเตอร์เฮด พบว่า เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 5 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพในการลดความรุนแรงของโรคที่เกิดจากเชื้อสาเหตุโรค ทั้ง 5 ชนิดที่ทดสอบได้ กล่าวคือในช่วง 1-3 วันแรก ขนาดแผลในทุกกรรมวิธีที่พริทด้วยเชื้อรา *Trichoderma* spp. บนใบผักสลัด พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลง และเมื่อประเมินถึงความรุนแรงของโรคก็พบว่า ความรุนแรงของการเกิดโรคนั้นน้อยซึ่งมีความรุนแรงของโรคเพียง 12.5 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธี inoculated control ซึ่งมีความรุนแรงของโรคอยู่ในช่วง 25.0 -72.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานในหอสมุดของมหาวิทยาลัยเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้เผยแพร่ไปยังประโยชน์ในการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปอร์เซ็นต์ และเมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงวันที่ 5-7 หลังจากการปลูกเชื้อ พบว่าขนาดของแผลในกรรมวิธีที่ใส่เชื้อ *Trichoderma* spp ทั้ง 5 ไอโซเลท ขนาดของแผลค่อย ๆ ขยายขนาดขึ้น อย่างไรก็ตามขนาดแผลก็ยิ่งเล็กกว่าในกรรมวิธี inoculated control เมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงวันที่ 9 (วันสิ้นสุดการทดลอง) พบว่าความรุนแรงของโรคเพิ่มขึ้นถึง 100 เปอร์เซ็นต์ กล่าวคือจากภาพรวม *Trichoderma* spp. ทั้ง 5 ไอโซเลท สามารถลดความรุนแรงของโรคที่เกิดจากเชื้อ *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* ทั้ง 3 ไอโซเลท ได้สูงถึง 50-80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าในเชื้อ *Alternaria* sp. และ *Curvularia* sp. ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.11, ภาพที่ 4.10) ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลอง Bi-culture test และ Volatile metabolite test ซึ่งเป็นที่น่าแปลกใจว่า จากรายงานของ Elliott and Shamoun (2007) กล่าวถึงการทดสอบการยับยั้งอาการโรคที่ใบ (detached leaves) โดยใช้เชื้อ *Trichoderma atroviride* ได้ผลไม่ดีเท่ากับการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิบัฏ อย่างไรก็ตามมีรายงานของ Sutton and Peng (1993) กล่าวถึงการนำเชื้อ *Trichoderma viride* มาทดสอบเพื่อยับยั้งจำนวน Conidiophores ของเชื้อ *Botrytis cinerea* บนใบสตรอเบอร์รี่ (attached leaves) ในสภาพ Green house นั้น สามารถยับยั้งได้ถึง 97-100 เปอร์เซ็นต์

#### การทดลองที่ 1.3.4 Cellophane membrane test

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolites) ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 14 ไอโซเลท พบว่า *Trichoderma* spp. ทั้งหมดสามารถสร้างไม่ระเหยได้ และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้ง 2 ไอโซเลท กล่าวคือในไอโซเลท F 221-R อัตราการเจริญของเชื้อในกรรมวิธีที่ใส่เชื้อ *Trichoderma* spp. ในช่วงแรก 24 ชั่วโมงไม่พบการเจริญของเชื้อ F 221-R เลย ซึ่งเมื่อประเมินเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ เท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อระยะเวลาผ่านไปถึงวันที่ 2 และ 3 ของการปลูกเชื้อ พบว่า อัตราการเจริญของเชื้อเพิ่มสูงขึ้นทำให้เปอร์เซ็นต์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อค่อย ๆ ลดลง แต่อย่างไรก็ตามก็ยังพบว่าอยู่ในระดับที่ค่อนข้างสูงโดยอยู่ในช่วง 62.8-100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง (วันที่ 5 หลังจากการปลูกเชื้อ) พบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ F 221-R ในกรรมวิธีที่ใส่เชื้อ *Trichoderma* spp. มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 78.1-90.2 เปอร์เซ็นต์ และ F 422-G ในกรรมวิธีที่ใส่เชื้อ *Trichoderma* spp. มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 70-88.3 เปอร์เซ็นต์ โดยสอดคล้องกับการรายงานของ Ajith and Lakshmidēvi (2010) ซึ่งรายงานว่า การทดลองโดยใช้ non-volatile metabolites ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีกว่าในการใช้ volatile metabolites

โดยสรุปจากวิธีการทดลองที่ทำการเลี้ยงเชื้อสาเหตุโรคในตำแหน่งเดียวกันกับเชื้อรา *Trichoderma* spp. เพราะเกิดจากการสัมผัสกันโดยตรงจึงทำให้เชื้อราสาเหตุได้รับสารโดยตรงจึงทำให้การเจริญของเชื้อนั้นช้าลง แสดงให้เห็นว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทุกไอโซเลท สามารถสร้าง

สารไม่ระเหยลงในอาหารและมีผลทำให้ยับยั้งการเจริญทางเส้นใยทำให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในระดับที่ค่อนข้างสูง

### การทดลองที่ 1.3.5 Agar well diffusion assay

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารไม่ระเหย (non-volatile extracellular metabolites) ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ต่อการเจริญทางเส้นใยเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R และ F 422-G) โดยวิธี Agar well diffusion assay โดยเตรียม Culture filtrate (CF) 5 ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (0, 20, 40, 60, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์) พบว่า CF ของเชื้อ *Trichoderma* spp. สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* ทั้ง 2 ไอโซเลทได้ไม่ตีมากนัก อีกทั้งเปอร์เซ็นต์การยับยั้งขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ CF ที่ใช้และระยะเวลาในการบ่มเชื้อ กล่าวคือ เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของ CF เปอร์เซ็นต์การยับยั้งก็สูงขึ้น ดังรายละเอียดต่อไปนี้ กรณีไอโซเลท F 221-R พบว่าในช่วงแรก (วันที่ 1-2 หลังการใส่ CF) CF ของ *Trichoderma* spp. ที่ระดับความเข้มข้น 20, 40 และ 60 เปอร์เซ็นต์ มีผลยับยั้งการเจริญของ F 221-R ได้ เพียงเล็กน้อยอยู่ในช่วง 0.3-32.84 เปอร์เซ็นต์ และที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้น คือ 80-100 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสามารถยับยั้งได้เพิ่มขึ้นเป็น 6.15-37.95 เปอร์เซ็นต์ ในขณะเดียวกัน เมื่อบ่มเชื้อถึงวันที่ 3 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งก็เพิ่มขึ้นไม่มากนัก อยู่ในช่วง 6.15-46.87 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่า T 124-1, T 223-B, T 224-G, T 315-1, T 324-B, T 424-C, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3 แสดงประสิทธิภาพสูงสุด (ตารางที่ 4.13, ภาพที่ 4.13) สอดคล้องกับการรายงานของ Perveen and Bokhari, (2012) ซึ่งรายงานถึงการใช้ Culture filtrate ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 3 สายพันธุ์ (T1s, TDPs, และ TvPDs) ที่สามารถแสดงศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Fusarium oxysporum* ได้ โดยไอโซเลท TvPDs เป็นไอโซเลทที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้

ส่วนในไอโซเลท F 422-G พบว่าในช่วงแรก (วันที่ 1-2 หลังการใส่ CF) CF ของ *Trichoderma* spp. ที่ระดับความเข้มข้น 20, 40 และ 60 เปอร์เซ็นต์ มีผลยับยั้งการเจริญของ F 422-G ได้ เพียงเล็กน้อยอยู่ในช่วง 0.74-36.29 เปอร์เซ็นต์ และที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้น คือ 80-100 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสามารถยับยั้งได้เพิ่มขึ้น 5.11-38.51 เปอร์เซ็นต์ ในขณะเดียวกัน เมื่อบ่มเชื้อถึงวันที่ 3 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งก็เพิ่มขึ้นไม่มากนัก อยู่ในช่วง 8.02-40.7 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่า T 224-G, T 415-2, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3 แสดงประสิทธิภาพสูงสุด (ภาพที่ 4.14) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Mishra (2010) ที่ได้ทดสอบการยับยั้งของเชื้อรา *Trichoderma* spp. กับเชื้อรา *P. aphanidermatum* โดยใช้วิธี culture filtrates พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้อยู่ในระดับค่อนข้างต่ำอยู่ในช่วง 18.6-34.2 เปอร์เซ็นต์ แต่มีบางงานวิจัยที่กล่าวถึง ผลของการศึกษา Culture filtrate ของเชื้อ *Trichoderma* spp. 3 สายพันธุ์ ที่อัตราความเข้มข้น 10, 25 และ 50 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lentis* ได้ในช่วง 51.1-82 เปอร์เซ็นต์ (Sharfuddin and Mohanka, 2012)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยสรุปจากวิธีการทดลองโดยการใส่ Culture filtrate (CF) 5 ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันลงในหลุม จากการทดลองที่พบจะเห็นว่ามิเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อที่ค่อนข้างต่ำ ระยะการวางเชื้อกับหลุมใส่สารห่างกัน 2 เซนติเมตร จึงทำให้สารแพร่กระจายไปไม่ถึงเชื้อ อันเนื่องมาจากอัตราการแพร่ของสารนั้นมีการแพร่ออกมาเพียง 1.5 เซนติเมตร และอีกประการหนึ่งที่สำคัญคือตัวของสารไม่ได้ไปสัมผัสโดยตรงกับเชื้อจึงทำให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของเชื้ออยู่ในระดับค่อนข้างต่ำ

### การทดลองที่ 1.3.6 Spore germination test

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ Culture filtrate (CF) 5 ระดับความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 14 ไอโซเลท พบว่า โดยภาพรวม CF ของเชื้อ *Trichoderma* spp. ทุกไอโซเลท (ยกเว้น T 424-C) ที่ระดับความเข้มข้นสูง (80 และ 100 เปอร์เซ็นต์) มีผลยับยั้งการงอกของ macro conidia เชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* ทั้ง 2 ไอโซเลทได้ดี โดยทำให้ macroconidia ของเชื้อผิดปกติไปเกิดอาการบวมและแตกสลายไปในที่สุด ในขณะที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (20, 40 และ 60 เปอร์เซ็นต์) จะมีผลชะลอการงอกของ macroconidia เชื้อสาเหตุโรคทั้ง 2 ไอโซเลทได้ เฉพาะในช่วงแรกของการบ่มเชื้อเท่านั้น โดยเมื่อเวลาผ่านไป 12-48 ชั่วโมง macroconidia ของเชื้อดังกล่าวจะเริ่มงอกและมีเปอร์เซ็นต์การงอกใกล้เคียงกับในกรรมวิธีควบคุม แต่อย่างไรก็ตามถึงแม้สปอร์จะงอกได้ แต่สปอร์ก็ยังคงแสดงลักษณะผิดปกติ คือ บวมและผิดปกติรูปร่างไป ถ้าพิจารณาโดยละเอียดถึงการใช้ CF ที่ระดับความเข้มข้นสูง คือ 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ และให้ผลดีนั้นจะพบจากจำนวน 14 ไอโซเลท ที่นำมาทดสอบนั้น มี *Trichoderma* spp. 4 ไอโซเลท คือ T 224-G, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3 ที่สามารถให้ผลในการยับยั้งการงอกของ macroconidia ของเชื้อ *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* ทั้ง 2 ไอโซเลทได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Anil and Garampalli (2013) ที่รายงานว่าจากการนำเชื้อราท้องถิ่น *Trichoderma* spp. จำนวน 20 ไอโซเลท ที่แยกได้จากดินปลูกมะเขือเทศ มาควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Fol) พบว่า *T. harzianum*, *T. viride* และ *T. virens* สามารถยับยั้งเชื้อ Fol ได้ 83.33, 72.33 และ 70.17 ตามลำดับ และ Dar et al. (2013) รายงานว่าการใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride* และ *Gliocladium virens* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญทางเส้นใยและสปอร์ของเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *pini* ได้

### การทดลองที่ 1.3.7 Root inoculation test

จากการคัดเลือกตัวแทนเชื้อ *Trichoderma* spp. จำนวน 8 ไอโซเลท ที่มีศักยภาพดีที่สุดในการวิธีการ Agar well diffusion assay โดยนำ Culture filtrate ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์มาใช้ในการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* (F 221-R และ F 422-G) พบว่า CF ของเชื้อ *Trichoderma* spp. ทั้งหมดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวทั้ง 2 ไอโซเลทได้ กล่าวคือในไอโซเลท F 221-R เมื่อทำการปลูกเชื้อลงในผักสลัดในช่วง 3 วันแรก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการแข่งขันเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้เผยแพร่โดยไม่เสียค่าใช้จ่าย  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในกรรมวิธีที่ใส่ด้วย CF ของเชื้อ *Trichoderma* spp. 4 ไอโซเลท คือ T 224-G, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3 ที่ไม่พบการเกิดโรคเลย เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีปลูกเชื้อ (inoculation) ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคถึง 80 เปอร์เซ็นต์ และความรุนแรงของโรคเท่ากับ 52.8 เปอร์เซ็นต์ พอจะสรุปได้ว่า CF ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 4 ไอโซเลทนั้น มีศักยภาพในการลดอาการของโรคได้ดีมากในระยะแรก ๆ ซึ่งเมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงวันที่ 5 และ 7 หลังการปลูกเชื้อ ก็พบว่า เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและความรุนแรงของโรคนั้นเพิ่มสูงขึ้นในทุกๆกรรมวิธี และเมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงวันที่ 9 หลังการปลูกเชื้อ (วันสิ้นสุดการทดลอง) พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีควบคุมสูงถึง 100 (ต้นพืชตาย) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใส่ด้วย CF ของเชื้อ *Trichoderma* spp. มีเพียง 4 ไอโซเลท (T 224-G, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3) ที่สามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและความรุนแรงของโรคในผักสลัดได้สูงถึง 70 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่า CF สามารถลดการเกิดโรคของผักสลัดได้ ส่วนในไอโซเลท F 422-G กรรมวิธีปลูกเชื้อ (inoculation) แล้วพบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์และความรุนแรงของโรคเท่ากับ 85.8 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงวันที่ 9 หลังการปลูกเชื้อ (วันสิ้นสุดการทดลอง) พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและความรุนแรงของโรคในกรรมวิธีควบคุมสูงถึง 100 (ต้นพืชตาย) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใส่ด้วย CF ของเชื้อ *Trichoderma* spp. มีเพียง 2 ไอโซเลท (T 224-G และ T 515-3) ที่สามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและความรุนแรงของโรคในผักสลัดได้สูงถึง 70 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่า CF สามารถลดการเกิดโรคของผักสลัดได้ โดยสอดคล้องกับการรายงานของ Intana (2003) พบว่าสารกรองของเชื้อรา *T. harzianum* สามารถกระตุ้นให้ต้นแตงกวามีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *Pythium irregulare* และ Basak and Basak (2011) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. viride* และ *T. harzianum* เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของต้นประดู่ที่เกิดจากเชื้อรา *F. solani* f.sp. *dalbergiae* พบว่า *T. harzianum* มีประสิทธิภาพในการลดโรคเหี่ยวของต้นประดู่ที่เกิดจากเชื้อราดังกล่าวได้

## ส่วนที่ 2 การศึกษาในระบบไฮโดรโปนิคส์

การศึกษาในสภาพไฮโดรโปนิคส์ ถึงประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัดในระบบไฮโดรโปนิคส์ นำเชื้อรา *Trichoderma* sp. จำนวน 6 ไอโซเลท ซึ่งเป็นไอโซเลทที่ได้ผลดีในการทดลองสภาพห้องปฏิบัติการ มายับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* 2 ไอโซเลท (F 221-R และ F 422-G) สาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวในผักสลัดที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหาร (Solution culture) โดยมีการประเมินระดับการเกิดโรค (Disease incidence) และความรุนแรงของโรค รวมทั้งผลต่อการเจริญเติบโตของพืช จากการทดลองหลังจากปลูกเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R) ลงในระบบกรรมวิธีที่ปลูกเชื้อ (Inoculation) อาการของโรคก่อนข้างต่ำ อันเนื่องมาจากสภาพแวดล้อมและอุณหภูมิในโรงเรือนไม่เหมาะสมต่อเชื้อในการเข้าทำลายพืชโดยอุณหภูมิภายในโรงเรือนและในน้ำสารละลายธาตุอาหารมีการแปรผันขึ้นลงจึงทำให้เกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อเผยแพร่เห็นเป็นประโยชน์ในการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรคน้อย (ภาพที่ 4.21) แต่ในทิศทางตรงกันข้ามทำให้พืชพื้นด้วจากการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคได้อย่างรวดเร็ว ด้วยเหตุนี้จึงได้ทำการปลูกเชื้อเป็นครั้งที่ 2 โดยทำการปลูกเชื้อลงในพืชอายุ 31 วัน ซึ่งพบว่าการปลูกเชื้อครั้งนี้ทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของพืชเพิ่มสูงขึ้นถึง 50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.18) โดยเมื่อดูถึงเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคก็ค่อย ๆ เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่ปลูกเชื้อ และเมื่อดูถึงเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและความรุนแรงของโรค พบว่าไอโซเลท T 224-G และ T 515-1 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพียง 12.5 เปอร์เซ็นต์และความรุนแรงของโรค 6.6 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงวันที่ 28 หลังการปลูกเชื้อ (สิ้นสุดการทดลอง) พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพิ่มสูงขึ้นถึง 100 เปอร์เซ็นต์และความรุนแรงของโรค 95.7 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใส่เชื้อ *Trichoderma* spp. ให้ผลไปในทิศทางเดียวกันกับสัปดาห์ที่ 2 และ 3 โดยสรุปสำหรับ F 221-R ในกรรมวิธีที่ใส่ *Trichoderma* spp. มีความสามารถในการลดการเกิดโรคได้ถึง 25-80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ อรรถกร และคณะ (2551) รายงานผลการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. โดยเฉพาะ TS-083, TS-089, T-095, TS-011 และ TS - 126 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* สาเหตุโรคนำ ระดับดินในห้องปฏิบัติการ ที่ระดับ 57.04, 54.07, 51.85, 50.74 และ 49.63 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสามารถลดความรุนแรงในระดับโรงเรือนมีระดับการเกิดโรคหลังทำการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* 14 วัน เท่ากับ 10.56, 11.11, 11.67, 12.78 และ 13.89 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ขณะที่กรรมวิธีควบคุมมีความรุนแรงของโรคสูงสุดเท่ากับ 62.22 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสำหรับการทดลองหลังจากปลูกเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 422-G) พบว่าไอโซเลท T 515-2 และ T 515-3 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพียง 12.5 เปอร์เซ็นต์และความรุนแรงของโรค 3.3 และ 6.6 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และเมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงวันที่ 28 หลังการปลูกเชื้อ (สิ้นสุดการทดลอง) พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพิ่มสูงขึ้นถึง 87.5 เปอร์เซ็นต์และความรุนแรงของโรค 77.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใส่เชื้อ *Trichoderma* spp. ให้ผลไปในทิศทางเดียวกันกับสัปดาห์ที่ 2 และ 3 โดยสรุปสำหรับ F 221-R ในกรรมวิธีที่ใส่ *Trichoderma* spp. สามารถลดการเกิดโรคได้ถึง 60 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Ozbay and Newman (2004) ทำการศึกษาประสิทธิภาพเชื้อรา *Trichoderma harzianum* 2 สายพันธุ์ คือ T 22 และ T 95 ความเข้มข้น  $10^6$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร และ  $10^7$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร ควบคุมเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (Forl) สาเหตุโรคนำและรากเน่าในมะเขือเทศ ทำการทดสอบภายในระบบไฮโดรโปนิคส์ระหว่างการใช้กาบมะพร้าว และใยหิน โดยพบว่า การใช้กาบมะพร้าว และใยหิน สามารถทำให้มะเขือเทศมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคลดลง 79 และ 73 เปอร์เซ็นต์ ระดับความรุนแรงการเกิดโรคลดลง 45 และ 48 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำการชั่งน้ำหนักสด พบว่าเพิ่มสูงขึ้น 37 และ 25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับเมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ทำการปลูกเชื้อรา (Forl)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 6

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ผลการศึกษาโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ และการศึกษา ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อสาเหตุโรค ตลอดจนมีการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิด โรคของเชื้อสาเหตุ (Pathogenicity test) กับผักสลัด 4 สายพันธุ์ (Cos, Green oak, Red oak และ Butter head) พบว่า มีสาเหตุมาจากเชื้อ *Fusarium oxysporum* และมีไส้เดือนฝอย *Pratylenchus* sp. เข้าทำลายร่วมด้วย การตรวจพบการเข้าทำลายของเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* ในผัก สลัดที่ปลูกในระบบ NFT ครั้งนี้ เป็นการรายงานการตรวจพบครั้งแรกในประเทศไทย (ชิตติและคณะ , 2555) สำหรับการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคนั้น พบว่าเชื้อสาเหตุที่นำมาทำการ ทดสอบทุกไอโซเลท ยกเว้น ไอโซเลท F 221-B สามารถทำให้เกิดโรครากเน่าและเหี่ยวกับผักสลัด ทั้ง 4 สายพันธุ์ได้ โดยความรุนแรงของโรคจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของสายพันธุ์ผักสลัด โดยพบว่าผักสลัดสายพันธุ์ Cos เป็นพันธุ์ที่อ่อนแอที่สุด

ผลการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *Fusarium oxysporum* (F 221-B) (ชิตติและคณะ, 2555) ใน ด้านส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช 6 ชนิด (Cos, Green oak, Red oak, Butter head, คะน้า และ ถั่วเขียว) ที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ รวมทั้งการศึกษาลักษณะโคโลนีของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ชนิดต่าง ๆ ซึ่งพบว่า เมล็ดที่ติดเชื้อ F 221-B สามารถงอกได้เร็วกว่าปกติ 1 วัน ส่งผลให้มี เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด และ ความยาวของต้นกล้าสูงกว่าเมล็ดที่ไม่ได้ติดเชื้อ อีกทั้งการใช้ spore suspension ของเชื้อ F 221-B ที่ระดับความเข้มข้น  $10^8$  spore/ml ใส่ลงในสารละลายธาตุ อาหารพืช สามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตในด้าน จำนวนใบ ขนาดใบ ปริมาณคลอโรฟิลล์ (SPAD value) น้ำหนักสดต้นและราก รวมทั้งน้ำหนักแห้งต้นและรากได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (control) เชื้อ F 221-B สามารถอยู่รอดในระบบปลูกจนถึงสิ้นสุด การทดลอง สำหรับการศึกษากิจกรรมของอาหารเลี้ยงเชื้อ 6 ชนิดต่อการเจริญของเชื้อ พบว่าเชื้อ F 221-B เจริญทางเส้นใยได้ดีที่สุดบน carrot agar และ สร้าง microconidia และ macroconidia ได้ดี บน oatmeal agar โดยสรุป เชื้อรา *Fusarium oxysporum* (F 221-B) แสดงศักยภาพในการเป็นเชื้อรา ที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth-promoting fungus) (ชิตติและคณะ, 2556)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการศึกษาประสิทธิภาพในการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 14 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* จำนวน 2 ไอโซเลท สาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ ด้วยวิธี **Bi-culture test** พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้งหมดมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* ได้ทั้ง 2 ไอโซเลท โดยไอโซเลทที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ดีที่สุดซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราใกล้เคียงกันอยู่ในช่วง 60.1-67.4 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ ไอโซเลท T 124-2, T 223-B, T 224-B, T 224-G, T 324-B, T 415-1, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3 **Volatile extracellular metabolite test** พบว่า *Trichoderma* spp. ทุกไอโซเลทสามารถสร้างสารระเหยได้ และมีผลทำให้โคโลนีของเชื้อ *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* ทั้ง 2 ไอโซเลทเจริญช้าลงซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 19.8-20.1 เปอร์เซ็นต์

ผลการศึกษาการคัดเลือกตัวแทนเชื้อ *Trichoderma* spp. มาจำนวน 5 ไอโซเลท คือ T 515-1, T 515-2, T515-3, T315-1 and T415-2 ที่มีศักยภาพและคุณสมบัติครอบคลุมทั้ง 3 กลไกการยับยั้งของการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ มาประเมินความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าจำนวน 5 ชนิด คือ *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* 3 ไอโซเลท (F 114-B, F 221-R และ F 422-G) *Alternaria* sp. และ *Curvularia* sp. บนใบผักสลัดบัตเตอร์เฮด ด้วยวิธี **Leaf test** พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 5 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพในการลดความรุนแรงของโรคที่เกิดจากเชื้อสาเหตุโรค ทั้ง 5 ชนิดที่ทดสอบได้ โดยสามารถลดความรุนแรงของโรคที่เกิดจากเชื้อ *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* ทั้ง 3 ไอโซเลท ได้สูงถึง 50-80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าในเชื้อ *Alternaria* sp. และ *Curvularia* sp. ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์

ผลการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 14 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* สาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ จำนวน 2 ไอโซเลท ทดสอบโดยวิธี **Cellophane membrane test** พบว่า *Trichoderma* spp. ทั้งหมดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้ง 2 ไอโซเลท โดยในกรรมวิธีที่ใส่เชื้อ *Trichoderma* spp. มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 78.1-90.2 เปอร์เซ็นต์ การทดสอบโดยวิธี **Agar well diffusion assay** โดยนำ Culture filtrate (CF) 6 ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (0, 20, 40, 60, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์) พบว่า CF ของเชื้อ *Trichoderma* spp. สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้ง 2 ไอโซเลทได้ไม่มากนัก พบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อในกรรมวิธีที่ใส่ด้วย CF ความเข้มข้น 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งเชื้อได้เพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตามเปอร์เซ็นต์การยับยั้งก็ยังคงน้อยอยู่ ซึ่งอยู่ในช่วง 12.59-46.87 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการทดสอบโดยวิธี **Spore germination test** โดยนำ Culture filtrate (CF) 6 ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน (0, 20, 40, 60, 80 และ 100 เปอร์เซ็นต์) พบว่า CF ของเชื้อ *Trichoderma* spp. สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราทั้ง 2 ไอโซเลทได้ พบว่ามี CF ของ *Trichoderma* spp. จำนวน 4

ไอโซเลท คือ T 224-G, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3 ที่สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อดูถึงลักษณะความผิดปกติของสปอร์เชื้อ พบว่าระดับความเข้มข้นของ CF มีผลต่อสปอร์เชื้อทำให้สปอร์ของเชื้อมีลักษณะผิดปกติไปจากกรรมวิธีควบคุม (control) กล่าวคือ เมื่อทำการใส่ CF ความเข้มข้น 20, 40 และ 60 เปอร์เซ็นต์ สปอร์ของเชื้อเกิดอาการบวมและผิดปกติรูปร่าง แต่เมื่อใส่ CF ความเข้มข้น 80-100 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะความผิดปกติของสปอร์เชื้อเกิดอาการบวมและแตกสลายออก

ผลการศึกษาคัดเลือกตัวแทนเชื้อ *Trichoderma* spp. จำนวน 8 ไอโซเลท ที่มีศักยภาพดีที่สุดในการ Agar well diffusion assay โดยนำ Culture filtrate ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์มาใช้ในการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lactucaae* (F 221-R และ F 422-G) สาเหตุโรคเหี่ยวของผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์ ทดสอบโดยวิธี **Root inoculation test** พบว่า CF ของเชื้อ *Trichoderma* spp. ทั้งหมดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวทั้ง 2 ไอโซเลทได้ กรรมวิธีที่ใส่ด้วย CF ของเชื้อ *Trichoderma* spp. มีเพียง 4 ไอโซเลท (T 224-G, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3) ที่สามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและความรุนแรงของโรคในผักสลัดได้สูงถึง 70 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่า CF สามารถลดการเกิดโรคของผักสลัดได้

ผลจากการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* sp. จำนวน 6 ไอโซเลท (T 223-B, T 224-G, T 415-1, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3) ซึ่งเป็นไอโซเลทที่ได้ผลดีในทุกๆวิธีการที่ทำการทดลองในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lactucaae* 2 ไอโซเลท (F 221-R และ F 422-G) สาเหตุโรคเหี่ยวและรากเน่าในผักสลัดที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหาร (Solution culture) โดยมีการประเมินระดับการเกิดโรค (Disease incidence) และความรุนแรงของโรค รวมทั้งผลต่อการเจริญเติบโตของพืช พบว่า เชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 6 ไอโซเลท สามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและความรุนแรงของโรคได้อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีปลูกเชื้อ (inoculation) โดยมีไอโซเลท T 224-G และ T 515-1 แสดงประสิทธิภาพในการลดความรุนแรงของโรคได้ สูงถึง 80-90 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 28 วันหลังการปลูกเชื้อ นอกจากการประเมินผลทางด้านโรคแล้ว ยังมีการตรวจสอบปริมาณความอยู่รอดของเชื้อสาเหตุโรคในสารละลายธาตุอาหารทุกสัปดาห์ และจากรากพืชหลังการเก็บเกี่ยว เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการประเมินผลทางด้านการเกิดโรค โดยพบว่า ในวันที่เก็บเกี่ยวผลผลิต ยังตรวจพบความอยู่รอดของ F 221-R และ F 422-G ในทุกกรรมวิธีที่ทรีทด้วย *Trichoderma* spp. ในปริมาณ  $1.5 \times 10^4$  spore/ml แต่ยังมีค่าน้อยกว่าปริมาณความอยู่รอดในกรรมวิธีปลูกเชื้อ (inoculation) ซึ่งมีความประมาณ  $3.2 \times 10^4$  spore/ml

ในด้านการศึกษาเจริญเติบโตของพืช ผลเป็นไปในทิศทางเดียวกับการเกิดโรค กล่าวคือ ถึงกรรมวิธีที่พืชรด้วย *Trichoderma* spp. จะส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทั้งทางด้านจำนวนใบ ขนาดใบ คลอโรฟิลล์ SPAD value น้ำหนักสดต้นและราก รวมทั้งน้ำหนักแห้งต้นและราก โดยในการทดลองที่ทำการปลูกเชื้อสาเหตุโรคด้วย F 221-R พบว่า T 224-G ให้ผลในด้านน้ำหนักสดต่อต้นสูงที่สุด (57.71 กรัม/ต้น) อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (Healthy control) (27.6 กรัม/ต้น) และกรรมวิธีปลูกเชื้อ (inoculation) (3.59 กรัม/ต้น) สำหรับการทดลองที่ปลูกเชื้อด้วย F 422-G พบว่า T 515-3 ส่งเสริมการเจริญในด้านน้ำหนักสดต่อต้นสูงที่สุด (53.91 กรัม/ต้น) อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (Healthy control) (26.36 กรัม/ต้น) และกรรมวิธีปลูกเชื้อ (inoculation) F 422-G (11.23 กรัม/ต้น)

จากผลการศึกษาในครั้งนี้ แสดงให้เห็นชัดเจนว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 6 ไอโซเลท คือ T 223-B, T 224-G, T 415-1, T 515-1, T 515-2 และ T 515-3 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* (F 221-R และ F 422-G) ในสภาพห้องปฏิบัติการ และยังไปกว่านั้น T 224-G และ T 515-1 ยังแสดงถึงประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์

#### ข้อเสนอแนะ

1. จากผลการทดลอง พบว่าเชื้อ *Trichoderma* spp. สามารถผลิตสารไม่ระเหย(non-volatile metabolite) ลงในอาหาร และ สารระเหย (volatile metabolite) ส่งผลทำให้ยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้งทางด้านเส้นใยและสปอร์ของเชื้อสาเหตุ แต่อย่างไรก็ตามควรทำการศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับสารที่ผลิตให้ชัดเจน เพื่อที่จะได้นำมาใช้ในการควบคุมโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ
2. ควรทำการศึกษาเพิ่มเติมถึงคุณสมบัติของเชื้อ *Trichoderma* spp. ที่มีต่อพืชในด้านการกระตุ้นการเจริญเติบโตของผักสลัด เพื่อที่จะได้ใช้เป็นแนวทางในการผลิตผักในระบบไฮโดรโปนิกส์ให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น
3. ควรทำการศึกษาค้นคว้าถึงการนำเชื้อ *Trichoderma* spp. มาทำเป็นรูปแบบการใช้ (Formulation) ที่สามารถนำมาใช้ในการควบคุมโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์
4. ควรทำการขยายผลต่อถึงการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* สาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวในผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์แบบอื่น ๆ เช่นการปลูกในระบบ nutrient film technique (NFT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บรรณานุกรม

- ฐิติกร ปริยาพร และถนิมนันต์ เจนอักษร. 2550. “ชีวภัณฑ์ป้องกันกำจัดโรคพืช : ความอยู่รอดและผลต่อการเจริญเติบโตของผักกาดขาวกวางตุ้งฮ่องเต้ (*Brassica campestris* L. var. *chinensis*) ในระบบ Deep Flow Technique.” วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 25(3): 27-38.
- ฐิติ ทองคำงาม พรหมมาศ คุณากาญจน์ และถนิมนันต์ เจนอักษร. 2555. “รายงานครั้งแรกของโรคเหี่ยวในผักสลัดที่ปลูกในระบบ NFT ที่เกิดจากเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* และการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับผักสลัด 4 สายพันธุ์.” หน้า 71-81. ในการประชุมวิชาการงานเกษตรนเรศวร ครั้งที่ 10. พิษณุโลก : มหาวิทยาลัยนเรศวร.
- ฐิติ ทองคำงาม พรหมมาศ คุณากาญจน์ และถนิมนันต์ เจนอักษร. 2556. “ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* (F 221-B) ในด้านส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช 6 ชนิด ในระบบไฮโดรโปนิกส์ และลักษณะการเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ.” หน้า 46-51 ในการประชุมสัมมนาทางวิชาการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก ครั้งที่ 6. โรงแรมชลจันทร์ พัทยา รีสอร์ท ชลบุรี.
- แพรทอง ละมุด และจิระเดช แจ่มสว่าง. 2549. “ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ สาเหตุจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*.” วิทยานิพนธ์ปริญญาโท ภาควิชาโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- พรหมมาศ คุณากาญจน์ และอภิสิสุนทร นันทกิจ. 2548. “ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี และจุลินทรีย์บริเวณเขตรากพืชที่แยกได้จากสลัดที่ปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Pythium myriotylum*.” หน้า 1191-1194 ในการประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 5. โรงแรมเวลคัมจอมเทียนบีช พัทยา ชลบุรี.
- พรหมมาศ คุณากาญจน์. 2548. “ศักยภาพของแบคทีเรียบริเวณเขตรากพืชในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดที่เกิดจากเชื้อ *Pythium myriotylum* ในระบบ NFT.” หน้า 1082-1902. ในการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 7. เชียงใหม่.
- เสน่ห์ นิลมณี และอุดม ภูพิพัฒน์. 2547. “การศึกษาโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อฟิวซาเรียม *Fusarium Wilt of Tomato in Thailand*.” วารสารเกษตรศาสตร์ 4(4): 79-87.
- อรรถกร พรหมวี สมชาย ชคตระการ และจิระเดช แจ่มสว่าง. 2551. “ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้จากดินขุยไผ่ในการควบคุมโรคเน่าระดับดินของคะน้า.” วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 39(3): 180-184.

Agrios, G.N. 2005. **Plant pathology 5 ed.** New York : Academic Press. 992 press.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Akila, R., Rajendran, L., Harish, S., Saveetha, K., Raguchander, T. and Samiyappan, R. 2011. "Combined application of botanical formulations and biocontrol agents for the management *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc) causing *Fusarium* wilt in banana." **Biological Control** 57(3): 175-183.
- Akrami, M., Golzary, H. and Ahmadzadeh, M. 2011. "Evaluation of different combinations of *Trichoderma* species for controlling *Fusarium* rot of lentil." **African Journal of Biotechnology** 10(14): 2653-2658.
- Ali, B., Hasan, S.A., Hayat, S., Hayat, Q., Yadav, S., Fariduddin, Q. and Ahmad, A. 2008. "A role for brassinosteroids in the amelioration of aluminium stress through antioxidant system in mung bean (*Vigna radiate* L. Wilczek)." **Environmental and Experimental Botany** 62(2): 153-159.
- Ajith, P.S. and Lakshmidivi, N. 2010. "Effect of volatile and non-volatile compounds from *Trichoderma* spp. against *Colletotrichum capsici* incitant of anthracnose on bell peppers." **Nature and Science** 8(9): 265-269.
- 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 pathogen *in-vitro*". **Journal of Phytopathology** 2(10): 34-37.
- Anderson, R.G. and Schmidt, L.S. 2001. "Nutrient analysis of selected commercial organic fertilizers for greenhouse lettuce production." Kentucky Agricultural Experiment Station, College of Agriculture, University of Kentucky. **Floriculture Research Report 20-04**
- Anil, K.R. and Garampalli, R.H. 2013. "Screening of indigenous potential antagonistic *Trichoderma* species from tomato rhizospheric soil against *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*." **Journal of Agriculture and Veterinary Science** 4(3): 2319-2380
- Basak, A.C. and Basak, S.R. 2011. "Biological control of *Fusarium solani* f. sp. *dalbergiae*, The wilt pathogen of *Dalbergia sisoo* by *Trichoderma viride* and *T. harzianum*." **Journal of Tropical Forest Science** 23(4): 460-466.
- Belgrove, A. 2007. "Biocontrol of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* using non-pathogenic *F. oxysporum* endophytes". M.S. Thesis. University of Pretoria, Johannesburg.
- Benoit, F. 1992. **Practical guide for simple soilless culture techniques**. Sint-Katelijne Waver European Vegetable R&D Center. 72 p.

- Bigirimana, J., De Meyer, G., Poppe, J., Elad, Y. and Hofte, M. 1997. "Induction of systemic resistance on bean (*Phaseolus vulgaris*) by *Trichoderma harzianum*." **Medelelisen-Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen, Universiteit Gen.** 62: 1001-1007.
- Burgess, L.W., Summerell, B.A., Bullock, S., Gott, K.P. and Backhouse, D. 1994. **Laboratory manual for Fusarium research.** Sydney : University of Sydney. 133 p.
- Booth, C. 1971. **The Genus Fusarium.** The Eastern London : Press Limited. 237 p.
- Correll, J.C. 1991. "The relationship between formae specialis, races and vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*." **Phytopathology** 81(9): 1061-64.
- Dar, W.A., Beig, M.A., Ganie, S.A., Bhat, J.A., Rehman, S. and Razvi, S.M. 2013. In vitro study of fungicide and biocontrol agents against *Fusarium oxysporum* f.sp. *pini* causing root rot of Western Himalayan fir (*Abies pindrow*). **Academic Journals** 8(30): 1407-1412.
- Dennis, C. and Webster, J. 1971. "Antagonist properties of species group of *Trichoderma*; Production of volatile antibiotics." **Transactions British Mycological Society** 57(1): 41-78.
- Elad, Y., Chet, I. and Henis, Y. 1981. "A selective medium for improving quantitative isolation of *Trichoderma* spp. from soil." **Phytoparasitica** 9(1): 59-67.
- Elad, Y., Chet, I., Boyle, P. and Henis, Y. 1983. "Parasitism of *Trichoderma* spp. on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* scanning electron microscopy and fluorescence microscopy." **Phytopathology** 73(1): 85-88.
- Elliott, M. and Shamoun, S. 2007. "In vitro testing of biological control agents on A1 and A2 isolates of *Phytophthora pamorum*." 351-354. In **Proceedings of the Sudden Oak Death Third Science Symposium Santa Rosa, California.**
- Eveleigh, D.C. 1985. ***Trichoderma* in biology of industrial microorganisms.** (eds. A.L. Demain and Solomon N.A.) p 487-509. California : Benjamin & Cumming.
- Fiddman, P.J. and Rossall, S. 1993. "The production of antifungal volatile by *Bacillus subtilis*." **Journal of Applied Bacteriology** 74(2): 119-126.
- Garibarian, H.R., Gilardi, G. and Gullino, M.L. 2004. "First report of *Fusarium oxysporum* causing vascular wilt of lamb's lettuce (*Valerianella olitoria*) in Italy." **Plant Disease** 88 (1): 83.
- Harman, G.E. 2000. "Myths and dogmas of biocontrol: changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22." **Plant Disease** 84(4): 377-393.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Harman, G.E., Howell, C.R., Viterbo, A., Chet, I. and Lorito, M. 2004. "Trichoderma species opportunistic avirulent plant symbionts." **Microbiology** 2(1): 43-55.
- Henis, Y., Adams, P.B., Lewis, J.A. and Papavizas, G.C. 1983. "Penetration of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma* spp." **Phytopathology** 73: 1043-1046.
- Horinouchi, H., Watanabe, H., Taguchi, Y., Muslim, A. and Hyakumachi, M. 2011. "Biological control of Fusarium wilt of tomato with *Fusarium equiseti* GF 191 in both rock wool and soil systems." **International Organization for Biological Control (IOBC)** 56(6):915-923.
- Howell, C.R. 2003. "Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant disease: The history and evolution of current concepts." **Plant Disease** 87(1): 4-10.
- Intana, W. 2003. "Selection and development of *Trichoderma* spp. for high glucanase antifungal metabolist producing and plant growth promoting isolates for biological control of cucumber damping off caused by *Pythium* spp." Ph.D. Thesis Kasetsart University, Bangkok.
- Issarakraisila, M., Ma, Q. and Turner, D.W. 2007. "Photosynthetic and growth responses of juvenile Chinese kale (*Brassica oleracea* var. *alboglabra*) and Caisin (*Brassica rapa* subsp. *parachinensis*) to waterlogging and water deficit." **Scientia Horticulturae** 111(2): 107-113.
- Jaenaksorn, T., Koohakan, P. and Prathuangwong, S. 2010. "Efficacy of indigenous *Trichoderma* and PGPR for controlling *Pythium* root rot of lettuce (*Lactuca sativa* L.) grown in deep flow technique." 25-27. In **Proceedings of the 16th Asian Agricultural Symposium (ASS) and 1<sup>st</sup> International Symposium on Agricultural Technology (ISAT)**. Bangkok, Thailand.
- Jenkins, D.G., Cook, K.L., Garland, J.L. and Board, K.F. 2000. "Pythium invasion of plant-based life support system: biological control and sources." **Life Support & Biosphere Science: International Journal of Earth Space** 7(2): 209-218.
- Jensen, M.H. 2001. **Deep flow hydroponics-Past, Present and Future**. Controlled Environment Agriculture Center. University of Arizona.
- Karnataka, J. 2008. "Effect of media on the growth of *Fusarium oxysporum* f.sp. *gerberae* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*." **Agriculture Science** 21(2): 303-304.

- Khan, A., Sutton, J.C. and Grodzinski, B. 2003. "Effects of *Pseudomonas chlororaphis* on *Pythium aphanidermatum* and root rot in peppers grown in small-scale hydroponic troughs." **Biocontrol Science and Technology** 13(6): 615-630.
- Kidane, E.G. 2008. "Management of Fusarium wilt diseases using non-pathogenic *Fusarium oxysporum* and silicon." Ph.D. Thesis University of Kwazulu-Ntal, Pietermaritzburg.
- Koohakan, P., Ikeda, H., Jeanaksorn, T., Tojo, M., Kusakari, S.I., Okada, K. and Sato, S. 2004. "Evaluation of the indigenous microorganisms in soilless culture: occurrence and quantitative characteristics in the different growing systems." **Scientia Horticulturae** 101(1-2): 179-188.
- Leon, A.P., Vina, S.Z., Frezza, D., Chaves, A. and Chiesa, A. 2007. "Estimation of chlorophyll contents by correlations between SPAD-502 meter and chroma meter in butter head lettuce." **Communication in soil Science and Plant Analysis** 38(19-20): 2877-2885.
- Matheron, M.E. and Koike, S.T. 2003. "First report of Fusarium wilt of lettuce caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* in Arizona." **Plant Disease** 87 (10): 1265.
- Mccreight, J.D., Matheron, M.E., Tickes, B.R. and Platts, B. 2005. "Fusarium wilt race 1 on lettuce." **Hortscience** 40 (3): 529-531.
- Menzies, J.G. 1993. "A strain of *Trichoderma viride* pathogenic to germinating seeding of cucumber, pepper and tomato." **Plant Pathology** 42(5): 784-791.
- Mishra, V.K. 2010. "In vitro antagonism of *Trichoderma* Species against *Pythium aphanidermatum*." **Journal of Phytology** 2(9): 28-35
- Mishra, B.K., Mishra, R.K., Mishra, R.C., Tiwari, K.A., Yadav, R.S. and Dikshit, A. 2011. "Biocontrol efficacy of *Trichoderma viride* isolate against fungal plant pathogens causing disease in *Vigna radiata* L." **Archives of Applied Science** 3(2): 361-369.
- Molina, L., Ramos, C., Duque, E., Ronchel, M.C., Garca, J.M., Wyke, L. and Ramos, J.L. 2000. "Survival of *Pseudomonas putida* KT2440 in soil and in the rhizosphere of plants under greenhouse and environmental conditions." **Soil Biology and Biochemistry** 32(3): 315-321.
- Myeong, W.S., Dong, S.Y., Stanley, J.K., Gung, P.L. and Kuen, W.P. 2009. "Sesquiterpene lactones and bitterness in Korean leaf lettuce cultivars." **Hort Science** 44(2): 246-249.
- Nelson, P. E., Toussoun, T.A. and Marasas, W.F.O. 1983. "Fusarium species." **An Illustrated Manual for Identification**. U.S.A. : The Pennsylvania State University Press. 193 p.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Nourozian, J., Etebarian, H.R. and Khodakaramian, G. 2006. "Biological control of *Fusarium graminearum* on wheat by antagonistic bacteria." **Songklanakarin Journal Science and Technology** 2(3): 29-38.
- Ozbay, N. and Newman, S.E. 2004. "Evaluation of *Trichoderma harzianum* strains to control crown and root rot of greenhouse fresh market tomatoes." 79-85. In **Proceedings managing soil-borne pathogens, ed. A. Vanachter Acta Horticulturae**. Colorado state university.
- Pasquali, M., Dematheis, F., Gullino, M.L. and Garibaldi, A. 2007. "Identification of race 1 of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* on lettuce by inter-retrotransposon sequence-characterized amplified region technique." **Phytopathology** 97(8): 987-996.
- Patil, A., Laddha, A., Lunge, A., Paikrao, H. and Mahada, S. 2012. "In vitro antagonistic properties of selected *Trichoderma* species against tomato root rot causing *Pythium* species." **International Journal of Science Environment and Technology** 1(4): 302-315.
- Pagliaccia, D., Ferrin, D. and Stanghellini, M.E. 2007. "Chemo-biological suppression of root infecting zoospore pathogens in recirculating hydroponic systems." **Plant Soil** 299(1-2): 163-179.
- Perveen, K. and Bokhari, N.A. 2012. "Antagonistic activity of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* isolate from soil of date palm field against *Fusarium oxysporum*." **African Journal of Microbiology** 6(13): 3348-3353.
- Prasad, R.D., Rangeshwaran, R., Hegde, S.V. and Anuroop, C.P. 2002. "Effect of soil and seed application of *Trichoderma harzianum* on pigeon pea wilt caused by *Fusarium udum* under field condition." **Crop Protection** 21(4): 293-297.
- Raja, A.R., Shah, K.H., Aslam, M. and Memon, M.Y. 2002. "Response of phosphobacterial and mycorrhizal inoculation in wheat." **Asian Journal of Plant Science** 1(4): 322-323.
- Shaikh Farah, T. and Sahera, N. 2013. "In vitro assessment of antagonistic activity of *Trichoderma viride* and *Trichoderma harzianum* against pathogenic fungi." **Indian Journal of Applied Research** 3(1): 57-59.
- Shamil, Z. Validov, F. Kamilova and Lugtenberg Ben J.J. 2009. "*Pseudomonas putida* strain PCL1760 controls tomato foot and root rot in stone wool under industrial conditions in a certified greenhouse." **Biological Control** 48(1): 6-11.

- Sharfuddin, C. and Mohanka, R. 2012. "In vitro antagonism of indigenous *Trichoderma* isolate against phytopathogen causing wilt of lentil." **International Journal of Life Science & Pharma Research** 2(3): 195-202.
- Singh, P.K and Kumar, V. 2011. "Biological control of *Fusarium* wilt of Chrysanthemum with *Trichoderma* and botanicals." **Journal of Agricultural Technology** 7(6): 1603-1613.
- Song, W., Zhou, L., Yang, C., Cao, X., Zhang, L. and Liu, X. 2004. "Tomato *Fusarium* wilt and its chemical control strategies in a hydroponic system." **Crop Protection** 23(3): 243-247.
- Srinon, W., Chuncheen, K., Jirattiwatukul, K., Soyong, K. and Kanokmedhakul, S. 2006. "Efficacies of antagonistic fungi against *Fusarium* wilt disease of cucumber and tomato and the assay of its enzyme activity." **Journal of Agricultural Technology** 2: 191-201.
- Steinkellner, S.G. and Mammerrler, R.W. 2005. "Microconidia of the tomato pathogen *Fusarium oxysporum* in the presence of root exudates." **Plant Interaction** 1(1): 23-30.
- Sundaramoorthy, S., Raguchander, T. and Ragupathi, N. 2011. "Combinatorial effect of endophytic and plant growth promoting rhizobacteria against wilt disease of *Capsicum annum* L. caused by *Fusarium solani*." **Biological Control** 60(1): 59-67.
- Sutton, J.C. and Peng, G. 1993. "Biocontrol of *Botrytis cinerea* in strawberry leaves." **Phytopathology** 83(6): 615-621.
- Vey, A., Hoagland, R.E. and Butt, T.M. 2001. "Toxic metabolites of fungi bio control agent. Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential." **CAB International** 1: 311-346.
- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E.L., Marra, R., Woo, S.L. and Lorito, M. 2008. "*Trichoderma* plant pathogen interactions." **Soil Biology and Biochemistry** 40(1): 1-10.
- Viswanathan, R. and Samiyappan, R. 2002. "Role of oxidative enzymes in the plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) mediated induced systemic resistance in sugarcane against *Colletotrichum falcatum*." **Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten and Pflanzenschutz. Journal of Plant Diseases and Protection** 109: 88-100.
- Wang, H., Yan, H., Shin, J., Huang, L., Zhang, H. and Qi, W. 2011. "Activity against plant pathogenic fungi of *Lactobacillus plantarum* IMAU 10014 isolated from Xinjiang Koumiss in china." **Annals of Microbiology** 61:879-885.

- Yamauchi, N., Horiuchi, S. and Satou, M. 2001. "Pathogenicity groups in *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* on horticultural types of lettuce cultivars." **Plant Pathology** 67(4): 288-290.
- Yedidia, I., Srivastva, A.K., Kapunik, Y. and Chet, I. 2001. "Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants." **Plant and Soil** 235(2): 235-242.
- Zuccearini, P. 2007. "Mycorrhizal infection ameliorates chlorophyll content and nutrient uptake of lettuce exposed to saline irrigation." **Plant Soil Environment** 53(7): 283-289.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

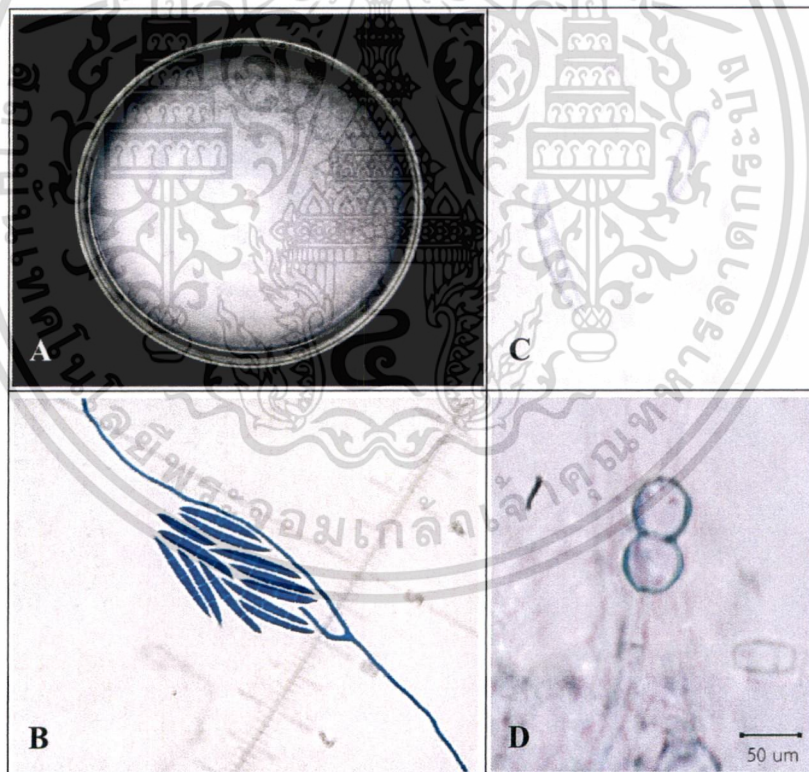


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก  
รายละเอียดของเชื้อราที่นำมาทดสอบ

เชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R)

ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA มีสีขาวฟู เจริญเต็มเพลทงานอาหารเลี้ยงเชื้อ (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร) ภายใน 7 วัน เมื่อทำการศึกษากายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบ เส้นใยสีใส มีผนังกัน พบการสร้าง macroconidia มีรูปร่างเป็นเส้นยาวพระจันทร์ มีผนังกันระหว่างเซลล์ 3-5 เซลล์ มีขนาด  $29.85 \times 3.2 \mu\text{m}$  โดย microconidia จะเจริญจากด้านข้างของเส้นใย หรือจาก phialide ที่เจริญมาจาก conidiophores ตื้น ๆ ซึ่งแตกแขนงจากเส้นใย microconidia ขนาด  $9.80 \mu\text{m}$  มีรูปร่างทรงกระบอกรี มีผนังกันระหว่างเซลล์ 1 เซลล์ มีการสร้าง chlamydospore (ภาพภาคผนวกที่ 1 ก)

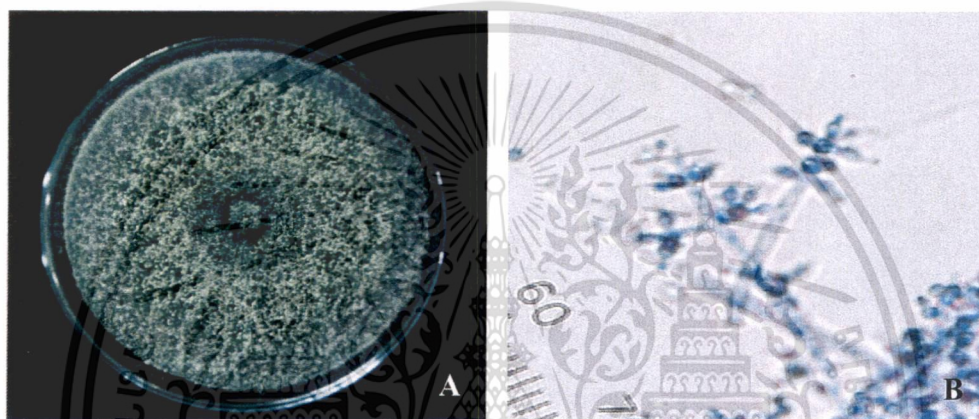


ภาพภาคผนวกที่ 1 ก เชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (F 221-R) สาเหตุโรครากเน่าและเหี่ยวของผักสลัดที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหาร (solution culture) A. ลักษณะโคโลนีเชื้อบนอาหาร PDA ที่อายุ 7 วัน B. macroconidia C. microconidia และ D. chlamydospore

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T 124-1)

ลักษณะโคโลนีสบนอาหาร PDA มีสีเขียวปนเขียวมีเส้นใยสีขาวเจริญขึ้นฟู เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร) 3 วัน เมื่อทำการศึกษาได้กล้องจุลทรรศน์พบว่า เส้นใยสี มีผนังกัน conidia สีเขียว ผนังเรียบ รูปร่างกลม เจริญซ้อนกันเป็นวง หรือกระจายอยู่ทั่วไป ขนาด  $3.8 \times 3.2-6.75 \mu\text{m}$  สร้าง phialides มีจำนวน 2-4 อัน/ช่อ ขนาด  $10-13.5 \times 2.5 \mu\text{m}$  ไม่พบการสร้าง chlamydospore (ภาพภาคผนวกที่ 2 ก)



ภาพภาคผนวกที่ 2 ก เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T 124-1) จากสารละลายธาตุอาหารพืชในระบบไฮโดรโปนิกส์ จังหวัดนครราชสีมา A. ลักษณะโคโลนีเชื้อบนอาหาร PDA ที่อายุ 4 วัน B. phialides และ conidia

## เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T 124-2)

ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA มีสีเขียวปนเขียว เส้นใยเจริญเป็นวงแหวน เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร) 3 วัน เมื่อทำการศึกษาค้นคว้าได้กล้องจุลทรรศน์พบว่า เส้นใยสี มีผนังกัน conidia สีเขียว ผนังเรียบ รูปร่างกลม เจริญซ้อนกันเป็นวง หรือกระจายอยู่ทั่วไป ขนาด  $3.5 \times 3.2-6.75 \mu\text{m}$  สร้าง phialides มีจำนวน 3 อัน/ช่อ ขนาด  $8-12.5 \times 2.5 \mu\text{m}$  ไม่พบการสร้าง chlamydospore (ภาพภาคผนวกที่ 3 ก)

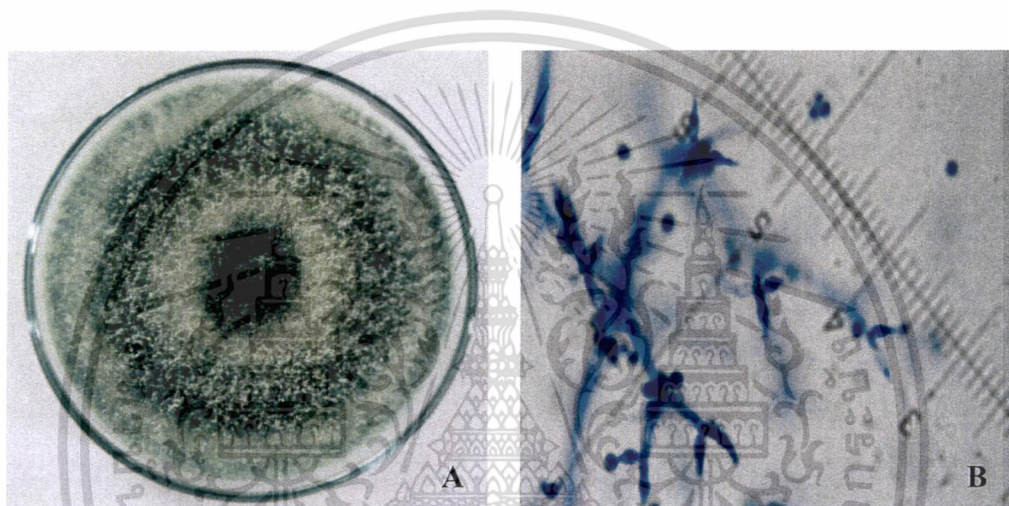


ภาพภาคผนวกที่ 3 ก เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T 124-1) จากสารละลายธาตุอาหารพืชในระบบไฮโดรโปนิกส์ จังหวัดนครราชสีมา A. ลักษณะโคโลนีเชื้อบนอาหาร PDA ที่อายุ 4 วัน B. phialides และ conidia

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T 223-B)

ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA มีสีเขียวปนเขียว เส้นใยเจริญเป็นวงแหวน เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร) 3 วัน เมื่อทำการศึกษาได้กล้องจุลทรรศน์พบว่า เส้นใยสี มีผนังกัน conidia สีเขียว ผนังเรียบ รูปร่างกลม เจริญซ้อนกันเป็นวง หรือกระจายอยู่ทั่วไป ขนาด  $3.9 \times 3.2-6.75 \mu\text{m}$  สร้าง phialides มีจำนวน 2-3 อัน/ซ่อ ขนาด  $10-12.5 \times 2.5 \mu\text{m}$  ไม่พบการสร้าง chlamydo-spore (ภาพภาคผนวกที่ 4 ก)



ภาพภาคผนวกที่ 4 ก เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T 223-B) จากรากผักสลัด Butter head ในระบบไฮโดรโปนิกส์ บางพลี จังหวัดสมุทรปราการ A. ลักษณะโคโลนีเชื้อบนอาหาร PDA ที่อายุ 4 วัน B. phialides และ conidia

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เชื้อรา *Trichoderma koningii* (T 224-B)

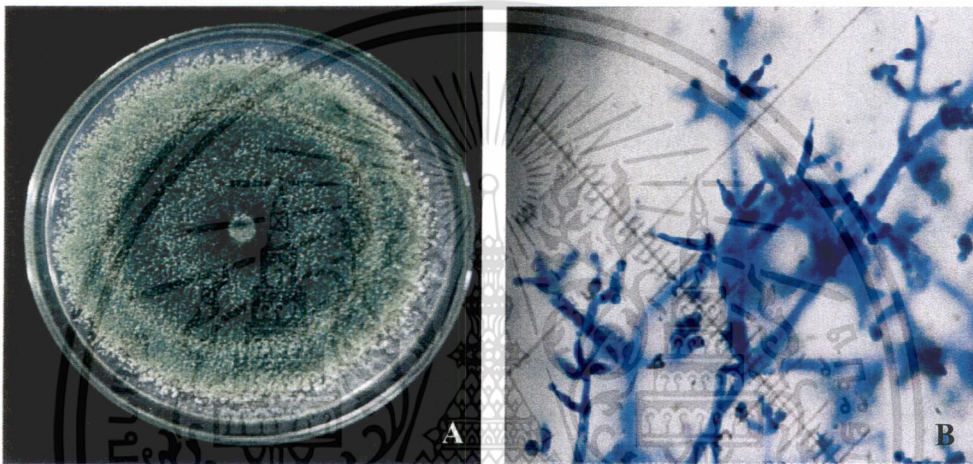
ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA มีเส้นใยสีขาวเจริญขึ้น เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร) 5 วัน เมื่อทำการศึกษาได้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า เส้นใยใส มีผนังกัน conidia สีขาวปนเขียว ผนังเรียบ รูปร่างค่อนข้างกลม เจริญกระจายอยู่ทั่วไป ขนาด  $5.5 \times 2.5-3.9 \mu\text{m}$  สร้าง phialides มีจำนวน 2-5 อัน ขนาด  $5-16 \times 2.5-3.3 \mu\text{m}$  ไม่พบการสร้าง chlamyospore (ภาพภาคผนวกที่ 5 ก)



ภาพภาคผนวกที่ 5 ก เชื้อรา *Trichoderma koningii* (T 224-B) จากรากผักสลัด Butter head ในระบบไฮโดร โพนิกส์ บางพลี จังหวัดสมุทรปราการ A. ลักษณะโคโลนีเชื้อบนอาหาร PDA ที่อายุ 4 วัน B. phialides และ conidia

## เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T 224-G)

ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA มีสีเขียวปนเขียว เส้นใยเจริญเป็นวงแหวน เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร) 3 วัน เมื่อทำการศึกษาได้กล้องจุลทรรศน์พบว่า เส้นใยสี มีผนังกัน conidia สีเขียว ผนังเรียบ รูปร่างกลม เจริญซ้อนกันเป็นวง หรือกระจายอยู่ทั่วไป ขนาด  $3.5 \times 3.3-6.75 \mu\text{m}$  สร้าง phialides มีจำนวน 2-3 อัน/ซ่อ ขนาด  $9-12.5 \times 2.5 \mu\text{m}$  ไม่พบการสร้าง chlamydospore (ภาพภาคผนวกที่ 6 ก)

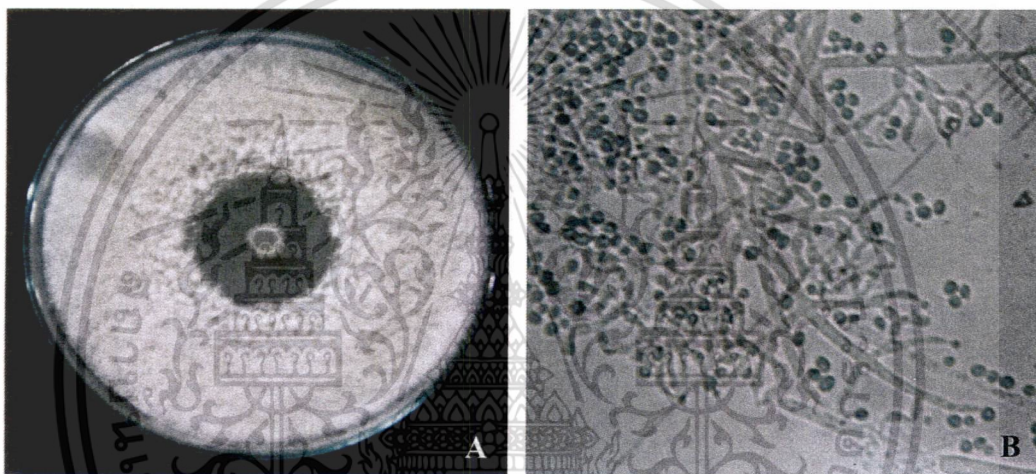


ภาพภาคผนวกที่ 6 ก เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T 224-G) จากรากพืชสัดัด Green oak ในระบบไฮโดรโปนิกส์ บางพลี จังหวัดสมุทรปราการ A. ลักษณะโคโลนีเชื้อบนอาหาร PDA ที่อายุ 4 วัน B. phialides และ conidia

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เชื้อรา *Trichoderma koningii* (T 315-1)

ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA มีเส้นใยสีขาวเจริญขึ้น เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร) 5 วัน เมื่อทำการศึกษาได้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า เส้นใยสี มีผนังกัน conidia สีขาวปนเขียว ผนังเรียบ รูปร่างค่อนข้างกลม เจริญกระจายอยู่ทั่วไป ขนาด  $2.7-5.5 \times 2.5-3.9 \mu\text{m}$  สร้าง phialides มีจำนวน 2-5 อัน ขนาด  $5-16 \times 2.5-3.3 \mu\text{m}$  ไม่พบการสร้าง chlamyospore (ภาพภาคผนวกที่ 7 ก)

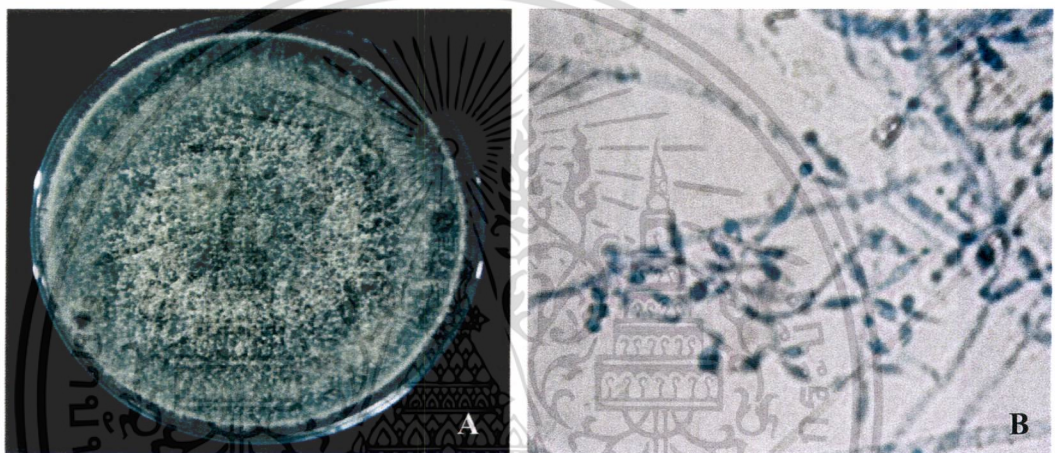


ภาพภาคผนวกที่ 7 ก เชื้อรา *Trichoderma koningii* (T 315-1) จากสารละลายธาตุอาหารพืชในระบบไฮโดรโปนิกส์ จังหวัดนครราชสีมา A. ลักษณะโคโลนีเชื้อบนอาหาร PDA ที่อายุ 4 วัน B. phialides และ conidia

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T 324-B)

ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA มีสีเขียวปนเขียว เส้นใยเจริญเป็นวงแหวน เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร) 3 วัน เมื่อทำการศึกษาได้กล้องจุลทรรศน์พบว่า เส้นใยสี มีผนังกัน conidia สีเขียว ผนังเรียบ รูปร่างกลม เจริญซ้อนกันเป็นวง หรือกระจายอยู่ทั่วไป ขนาด  $3.9 \times 3.2-6.75 \mu\text{m}$  สร้าง phialides มีจำนวน 2-3 อัน/ซ่อ ขนาด  $9-12.5 \times 2.5 \mu\text{m}$  ไม่พบการสร้าง chlamydospore (ภาพภาคผนวกที่ 8 ก)

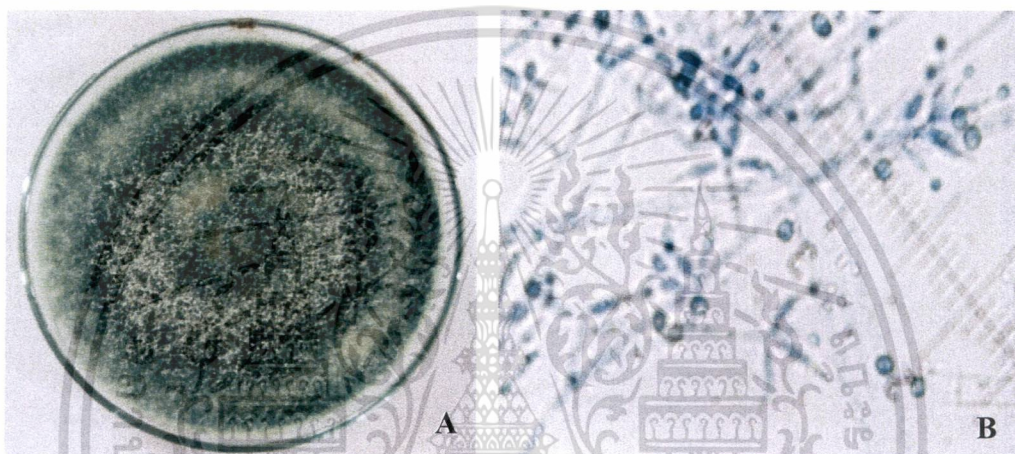


ภาพภาคผนวกที่ 8 ก เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T 324-B) จากรากผักสลัด Butter head ในระบบไฮโดร โพนิกส์ เขตร่มเกล้า กรุงเทพฯ A. ลักษณะโคโลนีเชื้อบนอาหาร PDA ที่อายุ 4 วัน B. phialides และ conidia

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T 415-1)

ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA มีสีเขียวปนเขียว เส้นใยเจริญเป็นวงแหวน เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร) 3 วัน เมื่อทำการศึกษาได้กล้องจุลทรรศน์พบว่า เส้นใยสี มีผนังกัน conidia สีเขียว ผนังเรียบ รูปร่างกลม เจริญซ้อนกันเป็นวง หรือกระจายอยู่ทั่วไป ขนาด  $3.6 \times 3.2-6.75 \mu\text{m}$  สร้าง phialides มีจำนวน 2-3 อัน/ข้อ ขนาด  $11-12.5 \times 2.5 \mu\text{m}$  ไม่พบการสร้าง chlamyospore (ภาพภาคผนวกที่ 9 ก)

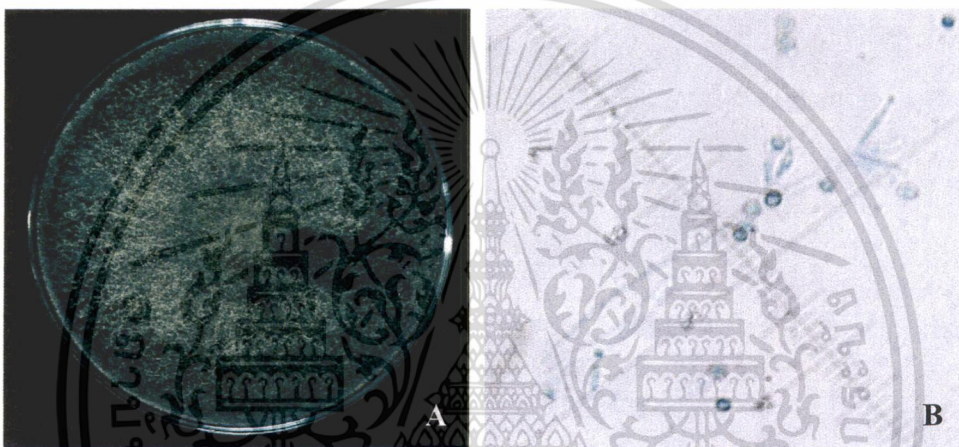


ภาพภาคผนวกที่ 9 ก เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T 415-1) จากสารละลายธาตุอาหารพืช ในระบบไฮโดรโปนิกส์ จังหวัดชลบุรี A. ลักษณะโคโลนีเชื้อบนอาหาร PDA ที่อายุ 4 วัน B. phialides และ conidia

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T 415-2)

ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA มีสีเขียวปนเขียว เส้นใยเจริญเป็นวงแหวน เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร) 3 วัน เมื่อทำการศึกษาได้กล้องจุลทรรศน์พบว่า เส้นใยสี มีผนังกัน conidia สีเขียว ผนังเรียบ รูปร่างกลม เจริญซ้อนกันเป็นวง หรือกระจายอยู่ทั่วไป ขนาด  $3.8 \times 3.2\text{-}6.75 \mu\text{m}$  สร้าง phialides มีจำนวน 2-3 อัน/ซ่อ ขนาด  $9\text{-}12.5 \times 2.5 \mu\text{m}$  ไม่พบการสร้าง chlamydospore (ภาพภาคผนวกที่ 10 ก)

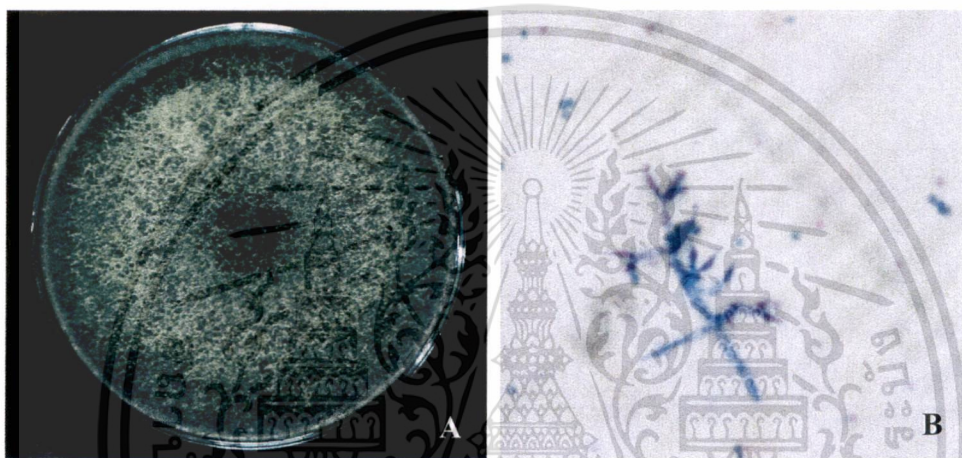


ภาพภาคผนวกที่ 10 ก. เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T 415-2) จากสารละลายธาตุอาหารพืช ในระบบไฮโดรโปนิกส์ จังหวัดชลบุรี A. ลักษณะโคโลนีเชื้อบนอาหาร PDA ที่อายุ 4 วัน B. phialides และ conidia

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T 424-B)

ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA มีสีเขียวปนเขียว เส้นใยเจริญเป็นวงแหวน เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร) 3 วัน เมื่อทำการศึกษาค้นคว้าได้กล้องจุลทรรศน์พบว่า เส้นใยสี มีผนังกัน conidia สีเขียว ผนังเรียบ รูปร่างกลม เจริญซ้อนกันเป็นวง หรือกระจายอยู่ทั่วไป ขนาด  $3.6 \times 3.2-6.75 \mu\text{m}$  สร้าง phialides มีจำนวน 2-3 อัน/ซ่อ ขนาด  $10-12.5 \times 2.5 \mu\text{m}$  ไม่พบการสร้าง chlamydo-spore (ภาพภาคผนวกที่ 11 ก)

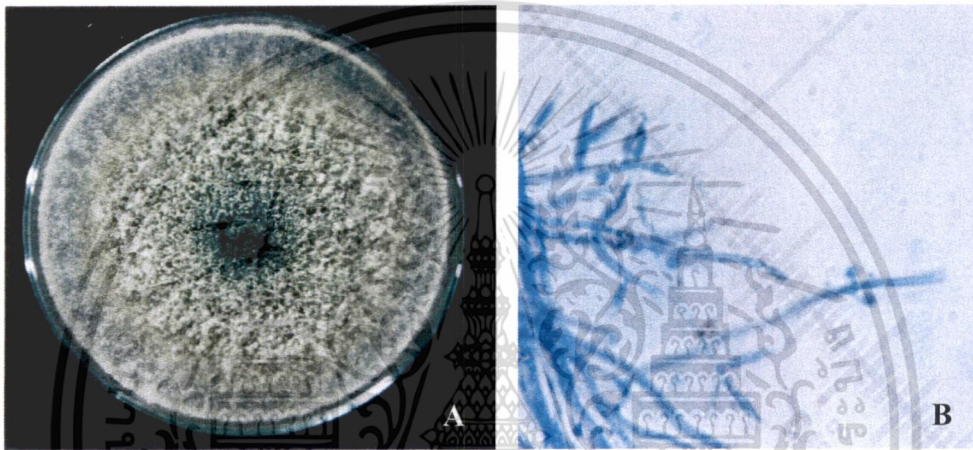


ภาพภาคผนวกที่ 11 ก เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T 424-B) จากรากของผักสลัด Butter head ในระบบไฮโดรโพนิกส์ จังหวัดชลบุรี A. ลักษณะโคโลนีเชื้อบนอาหาร PDA ที่อายุ 4 วัน B. phialides และ conidia

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T 424-C)

ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA มีสีขาวปนเขียว เส้นใยเจริญเป็นวงแหวน เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร) 3 วัน เมื่อทำการศึกษาได้กล้องจุลทรรศน์พบว่า เส้นใยสี มีผนังกัน conidia สีเขียว ผันเรียบ รูปร่างกลม เจริญซ้อนกันเป็นวง หรือกระจายอยู่ทั่วไป ขนาด  $3.7 \times 3.2-6.75 \mu\text{m}$  สร้าง phialides มีจำนวน 2-3 อัน/ช่อ ขนาด  $10-12.5 \times 2.5 \mu\text{m}$  ไม่พบการสร้าง chlamydospore (ภาพภาคผนวกที่ 12 ก)

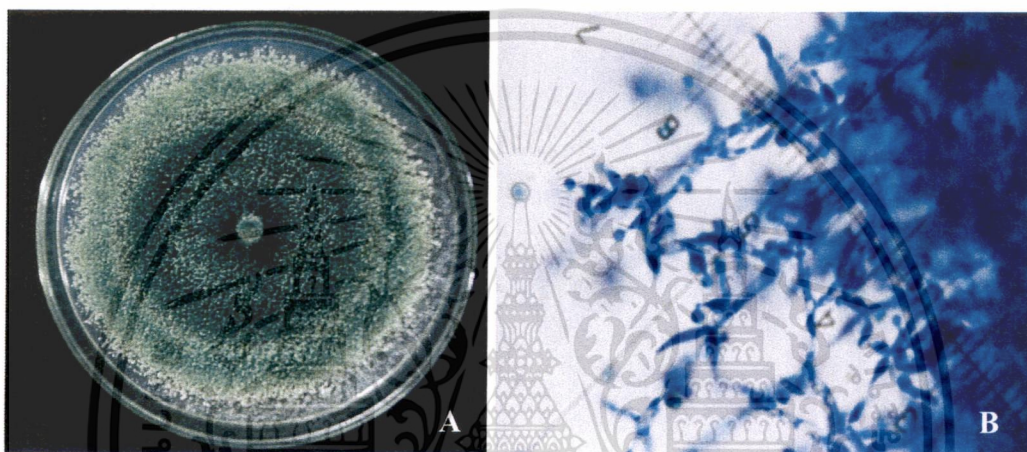


ภาพภาคผนวกที่ 12 ก เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T 424-C) จากรากของผักสลัด Cos ในระบบไฮโดรโปนิคส์ เขตร่มเกล้า กรุงเทพฯ A. ลักษณะโคโลนีเชื้อบนอาหาร PDA ที่อายุ 4 วัน B. phialides และ conidia

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T 515-1)

ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA มีสีเขียวปนเขียว เส้นใยเจริญเป็นวงแหวน เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร) 3 วัน เมื่อทำการศึกษาได้กล้องจุลทรรศน์พบว่า เส้นใยสี มีผนังกัน conidia สีเขียว ผนังเรียบ รูปร่างกลม เจริญซ้อนกันเป็นวง หรือกระจายอยู่ทั่วไป ขนาด  $3.9 \times 3.2\text{-}6.75 \mu\text{m}$  สร้าง phialides มีจำนวน 2-3 อัน/ซ่อ ขนาด  $10\text{-}12.5 \times 2.5 \mu\text{m}$  ไม่พบการสร้าง chlamydo-spore (ภาพภาคผนวกที่ 13 ก)

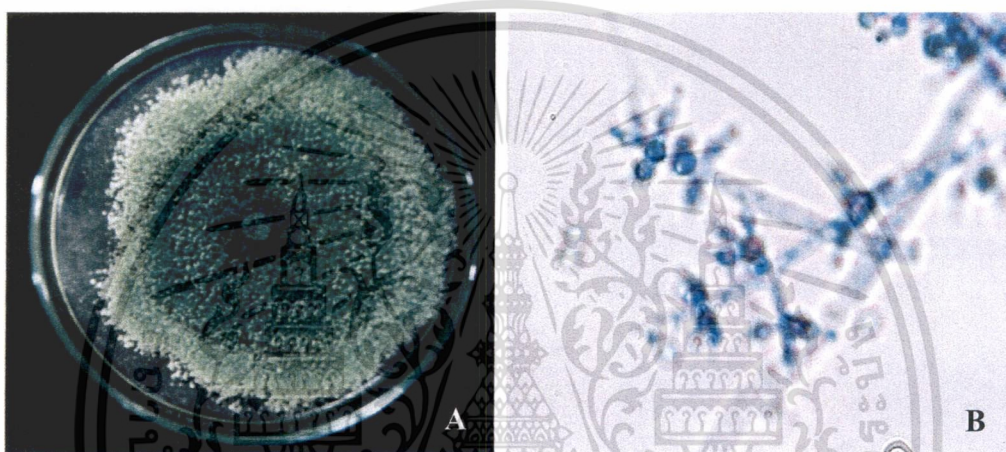


ภาพภาคผนวกที่ 13 ก เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T 515-1) จากรากของผักสลัด Cos ในระบบไฮโดรโปนิคส์ เขตมีนบุรี กรุงเทพฯ A. ลักษณะโคโลนีเชื้อบนอาหาร PDA ที่อายุ 4 วัน B. phialides และ conidia

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T 515-2)

ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA มีสีขาวปนเขียว เส้นใยเจริญเป็นวงแหวน เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร) 3 วัน เมื่อทำการศึกษาได้กล้องจุลทรรศน์พบว่า เส้นใยสี มีผนังกัน conidia สีเขียว ผนังเรียบ รูปร่างกลม เจริญซ้อนกันเป็นวง หรือกระจายอยู่ทั่วไป ขนาด  $3.5 \times 3.2-6.75 \mu\text{m}$  สร้าง phialides มีจำนวน 2-3 อัน/ซ่อ ขนาด  $8-12.5 \times 2.5 \mu\text{m}$  ไม่พบการสร้าง chlamydospore (ภาพภาคผนวกที่ 14 ก)



ภาพภาคผนวกที่ 14 ก เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T 515-2) จากรากของผักสลัด Cos ในระบบไฮโดรโปนิกส์ เขตมีนบุรี กรุงเทพฯ A. ลักษณะโคโลนีเชื้อบนอาหาร PDA ที่อายุ 4 วัน B. phialides และ conidia

## เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T 515-3)

ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA มีสีเขียวปนเขียว เส้นใยเจริญเป็นวงแหวน เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร) 3 วัน เมื่อทำการศึกษาได้กล้องจุลทรรศน์พบว่า เส้นใยสี มีผนังกัน conidia สีเขียว ผนังเรียบ รูปร่างกลม เจริญซ้อนกันเป็นวง หรือกระจายอยู่ทั่วไป ขนาด  $3.9 \times 3.2\text{-}6.75 \mu\text{m}$  สร้าง phialides มีจำนวน 2-3 อัน/ซ่อ ขนาด  $10\text{-}12.5 \times 2.5 \mu\text{m}$  ไม่พบการสร้าง chlamyospore (ภาพภาคผนวกที่ 15 ก)



ภาพภาคผนวกที่ 15 ก เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T 515-3) จากรากของผักสลัด Cos ในระบบไฮโดรโปนิคส์ เขตมีนบุรี กรุงเทพฯ A. ลักษณะโคโลนีเชื้อบนอาหาร PDA ที่อายุ 4 วัน B. phialides และ conidia

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ข

## รายละเอียดสารละลายธาตุอาหารที่ใช้ในการทดลอง

## สูตรสารละลายธาตุอาหาร

สารละลายธาตุอาหารที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ เป็นสารละลายธาตุอาหารสูตรของ Benoit (1992) ซึ่งมีส่วนผสมดังต่อไปนี้

สารละลาย A (ต่อน้ำ 20 ลิตร) : ความเข้มข้น 100 เท่า

potassium nitrate (14% N, 46% K <sub>2</sub> O)	0.592 kg.
calcium nitrate (15.5% N, 20% Ca)	1.340 kg.
Fe – chelate (6% Fe)	0.100 kg.

สารละลาย B (ต่อน้ำ 20 ลิตร) : ความเข้มข้น 100 เท่า

potassium nitrate (14% N, 46% K <sub>2</sub> O)	0.592 kg.
magnesium sulphate (16.7% MgO, 13% S)	0.320 kg.
mono – potassium phosphate (35% K <sub>2</sub> O, 53% P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	0.354 kg.
manganese sulphate (32% Mn)	0.40 g.
copper sulphate (25% Cu)	0.38 g.
zinc sulphate (23% Zn)	2.30 g.
borax (11.3% B)	5.70 g.
sodium molybdate (40% Mo)	0.24 g.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

### ผลงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์

ริติ ทองคำงาม พรหมมาศ กุหากาญจน์ และ ถนิมนันต์ เจนอักษร. 2555. “รายงานครั้งแรกของโรคเหี่ยวใน ผักสลัดที่ปลูกในระบบ NFT ที่เกิดจากเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* และการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคร่วมกับผักสลัด 4 สายพันธุ์” ในการประชุมวิชาการ งานเกษตรนเรศวรครั้งที่ 10. วันที่ 24-25 กรกฎาคม 2555 ณ คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก

ริติ ทองคำงาม พรหมมาศ กุหากาญจน์ และ ถนิมนันต์ เจนอักษร. 2556. “ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* (F 221-B) ในด้านส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช 6 ชนิดในระบบไฮโดรโปนิกส์ และลักษณะการเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ” ในการประชุมสัมมนาทางวิชาการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก ครั้งที่ 6. วันที่ 15-17 พฤษภาคม 2556 ณ โรงแรมชลจันทร์พัทยารีสอร์ท จังหวัดชลบุรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## รายงานครั้งแรกของโรคเหี่ยวในผักสลัดที่ปลูกในระบบ NFT ที่เกิดจากเชื้อ

*Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* และการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคลับ  
ผักสลัด 4 สายพันธุ์

First report of *Fusarium* wilt of NFT-grown lettuce caused by *Fusarium oxysporum*  
f.sp. *lactucae* in Thailand and its pathogenicity on four varieties  
of lettuce

ธิตี ทองคำงาม\* พรหมมาศ คูหากาญจน์ และ ถนิมนันต์ เจนอักษร

Titi Thongkamngam\*, Prommart Koohakan and Tanimnun Jaenaksorn

บทคัดย่อ

จากการศึกษาในระหว่างช่วงปี พ.ศ. 2554-2555 พบการเกิดและระบาดของ โรคเหี่ยวและรากเน่าในผักสลัดที่ปลูกในระบบ NFT ในฟาร์มไฮโดรโปนิกส์ ในจังหวัดสมุทรปราการและชลบุรี โรคดังกล่าวเกิดขึ้นกับผักสลัดทั้งชนิดห่อหัวและชนิดใบ โดยแสดงอาการ รากเน่า ใบล่างเหลืองเหี่ยว ลำต้นแคระแกรน และตายในที่สุด ถ้าผ่าส่วน โคนลำต้นและรากส่วนบน จะพบแผลสีน้ำตาลแดงและอาการเน่า จากการวินิจฉัยโรคจากส่วนของพืชที่แสดงอาการ ได้แก่ ราก ลำต้น ใบ รวมทั้งสารละลายธาตุอาหารพืช พบว่ามีสาเหตุมาจากเชื้อ *Fusarium oxysporum* และมีไส้เดือนฝอย *Pratylenchus* sp. เข้าทำลายร่วมด้วย การตรวจพบการเข้าทำลายของเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* ในผักสลัดที่ปลูกในระบบ NFT ครั้งนี้ เป็นการรายงานการตรวจพบครั้งแรกในประเทศไทย และเพื่อเป็นการยืนยันอีกครั้งหนึ่ง จึงทำการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อสาเหตุดังกล่าวที่แยกได้ จำนวน 21 ไอโซเลท กับผักสลัด 4 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อสาเหตุที่นำมาทำการทดสอบทุกไอโซเลท (ยกเว้น F 221-B) สามารถทำให้เกิด โรคเหี่ยวและรากเน่ากับผักสลัดทั้ง 4 สายพันธุ์ได้ โดยความรุนแรงของโรคจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของสายพันธุ์ผักสลัด โดยพบว่าผักสลัดสายพันธุ์ Cos เป็นพันธุ์ที่อ่อนแอที่สุด

คำสำคัญ: การปลูกพืชในระบบไฮโดรโปนิกส์ แบบ NFT, เชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae*, ผักสลัด

### Abstract

A new wilt and root disease was detected in commercial hydroponic farms of lettuce (*Lactuca sativa* L.) in Samutprakarn and Chonburi provinces during 2011-2012. Head lettuce cultivars as well as leaf lettuce grown in nutrient film technique were affected. Disease symptoms included root rot, yellowing and wilting of basal leaves as well as stunting and plant death. The cortex of the crown and upper root of infected plants became reddish brown and decayed. The pathogen was consistently

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

isolated from symptomatic plant root, stem, leaf and nutrient solution and identified as *Fusarium oxysporum* based on morphological characteristics. Besides, the nematode *Pratylenchus* sp. was also found with the symptomatic plant root. To our knowledge, this is the first report of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* infecting lettuce grown in nutrient film technique in Thailand. The pathogenicity test of 21 isolates was reconfirmed on four varieties of lettuce in hydroponics. The results showed that all tested isolates of *Fusarium oxysporum*, except F221-B could cause the disease incidence on all tested lettuce. However, the disease severity differed among the varieties of lettuce. Cos lettuce was shown to be the most susceptible to this pathogen.

**Keyword:** Nutrient film technique, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae*, Lettuce (*Lactuca sativa* L.)

## บทนำ

การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินน่าจะใช้เป็นแนวทางหนึ่งในการเพิ่มความมั่นคงทางอาหารให้กับประชาชนภายใต้สภาวะภัยพิบัติทางธรรมชาติ เพราะการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินนี้ไม่จำเป็นต้องใช้พื้นที่มากในการเพาะปลูก อีกทั้งมีการใช้น้ำอย่างมีประสิทธิภาพ ให้ผลผลิตต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่สูงกว่าการปลูกพืชในดิน รวมทั้งยังหลีกเลี่ยงปัญหาด้านโรคที่ติดมากับดิน (soilborne disease) ได้ (พรหมมาศ, 2005) แต่อย่างไรก็ตาม การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินก็ยังประสบปัญหาด้านโรคได้ ถ้าเกิดมีการปนเปื้อนของเชื้อโรคเข้ามาในระบบปลูก โดยเฉพาะโรคโคนเน่าและรากเน่าที่เกิดกับผักสลัด ซึ่งเคยมีการรายงานมาแล้วว่ามีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Pythium* spp. (Jaenaksom et al., 2010) ซึ่งอาการของโรคจะพบในระยะต้นกล้าโดยใบส่วนล่างเหลือง ต้นแคระแกรน รากเน่า และตายในที่สุด แต่จากการสำรวจโรคในช่วงปี พ.ศ. 2554-2555 ของผักสลัดที่ปลูกในระบบ Nutrient Film Technique (NFT) และจากตัวอย่างผักสลัดที่เป็นโรคที่เกษตรกรส่งเข้ามาตรวจ พบว่ามีอาการโรคที่คล้ายคลึงกับการเข้าทำลายของเชื้อรา *Pythium* spp. แต่สามารถทำให้เกิดโรคกับต้นกล้าไปจนถึงต้นโตได้ โดยพบแผลเกิดขึ้นบริเวณภายในลำต้น อาการโรสดังกล่าวนี้มีการระบาดอย่างกว้างขวางในฟาร์มไฮโดรโปนิกส์ในเขตจังหวัดสมุทรปราการ และจังหวัดชลบุรี สำหรับในต่างประเทศได้มีรายงานถึงอาการโรสดังกล่าวที่เกิดกับผักสลัดที่ปลูกในดิน ว่ามีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* (Garibaldi et al., 2004; Matheron, 2003) ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสังเกตว่าเชื่อดังกล่าวจะสามารถเข้าทำลายพืชในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินชนิด NFT ได้จริงหรือไม่ ยิ่งไปกว่านั้นเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* อยู่ในกลุ่ม Deuteromycetes ซึ่งไม่สามารถที่จะอาศัยอยู่ในน้ำได้ดีเหมือนกับเชื้อรา *Pythium* spp. ใน Class Oomycetes (Agrios, 2005) ที่สามารถอาศัยอยู่ในน้ำได้ดีดังที่ได้เคยมีการรายงานมาก่อนหน้านี้ (Jaenaksom et al., 2010) ดังนั้นการศึกษาค้นคว้าวิจัยเพื่อหาสาเหตุที่แท้จริงของอาการโรคเหี่ยวและรากเน่าของผักสลัดในระบบ NFT โดยพิสูจน์ว่าเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* เป็นสาเหตุจริงหรือไม่ ถ้าเป็นจริงก็จะเป็นการรายงานโรคนี้ครั้งแรกในระบบ NFT และทำการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคเหี่ยวและราก

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนากับผักสลัดทั้ง 4 สายพันธุ์ เพื่อที่จะได้ใช้เป็นข้อมูลในการหาแนวทางในการควบคุมและป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวและรากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* ได้อย่างถูกต้องต่อไป

### อุปกรณ์และวิธีการ

1. การศึกษาลักษณะอาการโรคและการแยกเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวและรากเน่าของผักสลัด 4 สายพันธุ์ นำผักสลัดที่แสดงอาการโรค ที่ได้มาจากการสำรวจและจากที่เกษตรกรส่งเข้ามาตรวจจากฟาร์มไฮโดรโปนิกส์ อ.บางพลี จ.สมุทรปราการ และ อ.ศรีราชา จ.ชลบุรี มาศึกษาลักษณะอาการโรคโดยละเอียดในห้องปฏิบัติการ และทำการแยกเชื้อสาเหตุโรคจากส่วนต่างๆของผักสลัดที่แสดงอาการโรค ได้แก่ ใบ ราก และ ลำต้น โดยวิธี Tissue transplanting technique บนอาหาร Water agar (WA) และแยกเชื้อสาเหตุโรคจากรากและสารละลายธาตุอาหารของพืชโดยวิธี Dilution plate บนอาหาร *Trichoderma* selective medium (TSM) จากนั้นย้ายเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้มาเลี้ยงต่อลงในอาหาร Potato dextrose agar (PDA) และย้ายลงใส่ใน PDA slant เก็บไว้ใช้เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphology) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์รวมทั้งจัดจำแนกเชื้อราสาเหตุโรค (Identification)

2. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคเกี่ยวกับผักสลัด (Pathogenicity test) 4 สายพันธุ์ นำเชื้อ *Fusarium* spp. ทั้งหมด 21 ไอโซเลท ที่แยกได้จากข้อ 1 มาทำการคัดเลือกเฉพาะไอโซเลทที่แสดงอาการเน่าที่บริเวณส่วนรากและโคนลำต้น จำนวน 11 ไอโซเลท คือ F 221-G, F 221-B, F 221-R, F 221-C, F 223-B, F 222-G, F 422-B, F 322-R, F 121-B, F 422-G และ F 222-B มาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับผักสลัด 4 สายพันธุ์ คือพันธุ์เรดโอ๊ค (Red oak), บัตเตอร์เฮด (Butter head), กรีน โอ๊ค (Green oak) และ คอส (Cos) โดยทำการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) วิธีการละ 3 ซ้ำๆ ละ 2 ต้น โดยเฉพาะเมล็ดผักสลัดบนฟองน้ำวัสดุปลูก โดยรดน้ำให้ชุ่มนาน 1 สัปดาห์ ในสัปดาห์ที่ 2 ให้สารละลายธาตุอาหารพืช ค่า EC = 1 ms/cm<sup>2</sup>, pH = 5.8-6.2 (Benoit, 1992) เมื่อพืชอายุ 3 สัปดาห์ ย้ายลงในกะละมังปลูกที่บรรจุสารละลายธาตุอาหารพืช ปริมาณ 5 ลิตร จากนั้นทำแผลบริเวณส่วนราก และนำรากของผักสลัดมาแช่ใน spore suspension ของ *Fusarium* spp. 10 มิลลิลิตรต่อต้น (1×10<sup>6</sup> spore/ml) นาน 5 นาที และเท spore suspension ที่เหลือลงในกะละมังปลูก

บันทึกความรุนแรงของการเกิดโรค (Disease severity) โดยทำการประเมินความรุนแรงของการเกิดโรคทุกวัน เป็นเวลา 2 สัปดาห์ (Yamauchi et al., 2001) ให้ระดับการเกิดโรสดังนี้ ระดับ 0 : ต้นพืชปกติไม่เป็นโรค รากสีขาว, ระดับ 1 : รากพืชมีสีน้ำตาลแดง, ระดับ 2 : รากพืชมีสีน้ำตาลแดงถึงเน่า, ระดับ 3 : รากพืชมีอาการเน่า พืชมีอาการเหี่ยวชั่วคราว, ระดับ 4 : รากพืชมีอาการเน่า พืชมีอาการเหี่ยวถาวร และ ระดับ 5 : ต้นพืชตาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทำการตรวจดูว่าเชื่อดังกล่าวยังคงมีชีวิตอยู่รอดในสารละลายธาตุอาหารพืชหรือไม่ และทำการแยกเชื้อกลับจากผักสลัดที่แสดงอาการโรค เพื่อยืนยันว่าเชื่อดังกล่าวเป็นเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวและรากเน่าของผักสลัด

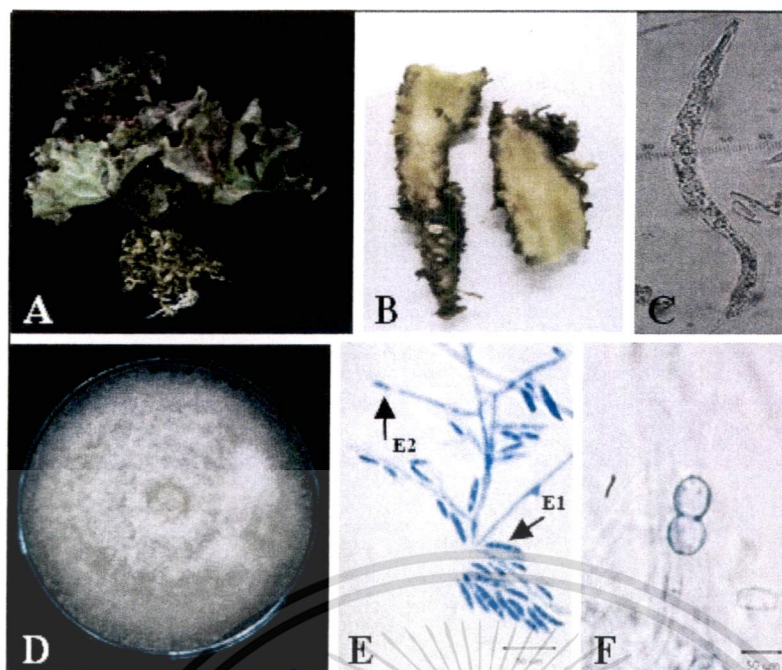
### ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

#### 1. การศึกษาลักษณะอาการโรคและการแยกเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวและรากเน่าของผักสลัด 4 สายพันธุ์

จากการศึกษาลักษณะอาการโรคเหี่ยวและรากเน่าของผักสลัด 4 สายพันธุ์ ได้แก่ Butter head, Red oak, Green oak และ Cos โดยลักษณะอาการโรคที่พบ คือ รากเน่า (ภาพที่ 1A) ใบเหลืองเหี่ยว ลำต้นแคระแกรน ถ้าผ่าส่วนโคนลำต้นจะพบแผลสีน้ำตาลแดงและอาการเน่า (ภาพที่ 1B) และเมื่อทำการแยกเชื้อก็พบว่าเกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* และมีไส้เดือนฝอย *Pratylenchus* sp. (ภาพที่ 1F) เข้าร่วมทำลายด้วย ซึ่งเชื้อสาเหตุดังกล่าวแยกจากผักสลัด Red oak ได้ 7 ไอโซเลท ดังนี้ จากราก 2 ไอโซเลท คือ F 221-R (ภาพที่ 1C) และ F 421-R จากใบ 2 ไอโซเลท คือ F 114-R และ F 223-R จากโคนต้น 3 ไอโซเลท คือ F 322-R, F 222-R และ F 422-R ในผักสลัด Butter head แยกได้ 7 ไอโซเลท ดังนี้ จากใบ 1 ไอโซเลท คือ F 223-B จากราก 3 ไอโซเลท คือ F 221-B, F 121-B และ F 421-B จากโคนต้น 3 ไอโซเลท คือ F 222-B, F 112-B และ F 322-B ในผักสลัด Green oak แยกได้ 4 ไอโซเลท ดังนี้ จากใบ 1 ไอโซเลท คือ F 223-G จากราก 1 ไอโซเลท คือ F 221-G และ จากโคน 2 ไอโซเลท คือ F 222-G และ F 422-G สำหรับผักสลัด Cos แยกได้จากรากและโคนต้น 3 ไอโซเลท คือ F 221-C, F 421-C และ F 422-C (ตารางที่ 1)

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและจัดจำแนกเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* จำนวน 21 ไอโซเลทที่แยกได้จาก (ข้อที่ 1) โดยเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* เป็น Imperfect หรือ Asexual fungi อยู่ในกลุ่ม Deuteromycetes ซึ่งเป็น Filamentous ascomycetes ใน Phylum Ascomycota จัดอยู่ใน Kingdom Fungi (Agrios, 2005) พบว่าสีของโคโลนีของเชื้อรา มีตั้งแต่สีซีดขาว เหลือง ชมพู จนถึงม่วง ตามปกติเชื้อราจะสร้าง microconidia จำนวนมาก ซึ่ง microconidia มี 1 เซลล์ หรือ 2 เซลล์ รูปร่างต่างกัน ไปตั้งแต่รูปกลมจนถึงรูปไข่หรือรูปโค้งและมีขนาดตั้งแต่ 5-12 × 2.5-3.5 ไมโครเมตร โดย microconidia จะเจริญจากด้านข้างของเส้นใย หรือจาก phialide ที่เจริญมาจาก conidiophores ขึ้น ๆ ซึ่งแตกแขนงจากเส้นใย ส่วน macroconidia จะถูกสร้างจาก sporodochium โดย macroconidia จะมี 3-5 เซลล์ มีขนาด 27-46 × 3.5 ไมโครเมตร รูปร่างส่วนใหญ่จะโค้งปลายเรียว ส่วนน้อยที่จะยาวตรงและมีขนาดแตกต่างกันไป การสร้าง chlamydospores จะสร้างจากส่วนปลายสุดหรือระหว่างกลางของเส้นใย อาจอยู่เดี่ยวหรือต่อกันเป็นสายมีสีใส ผนังเรียบหรือขรุขระ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 ลักษณะอาการของโรคเหี่ยวและรากเน่าของผักสลัดสายพันธุ์ Red oak ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* ไอโซเลท F 221-R : A : อาการโคนเน่าและรากเน่าที่เกิดโรคบริเวณราก B : เมื่อผ่าส่วนโคนลำต้นจะพบแผลสีน้ำตาล C : ไข่เดือนฝอย *Pratylenchus* sp. D : โคลินีบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน E : macroconidia (E1), microconidia (E2) และ F : chlamydospore ที่กำลังขยาย 400 เท่า

## 2. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคเหี่ยวกับผักสลัด (Pathogenicity test)

พบว่า *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* เกือบทุกไอโซเลทที่นำมาทดสอบนั้นสามารถทำให้เกิดโรคเหี่ยวและรากเน่ากับผักสลัดทั้ง 4 สายพันธุ์ได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (Disease incidence) และเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค (Disease severity) แตกต่างกันไป (ตารางที่ 2) ซึ่งสามารถแบ่งเชื้อ ดังกล่าวออกเป็นกลุ่มได้ดังนี้ คือ กลุ่มแรกเป็นเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* ไอโซเลทที่ทำให้ผักสลัดเป็นโรครุนแรงที่สุดถึงขั้นทำให้ผักสลัดตายได้ ซึ่งมีอยู่ 2 ไอโซเลท คือ F 221-R และ F 422-G โดย ไอโซเลท F 221-R จะทำให้ผักสลัดทั้ง 4 สายพันธุ์ แสดงอาการ โรคหลังจากทำการปลูกเชื้อไปแล้ว 3 วัน โดยมีการเกิดโรคอยู่ในช่วง 32-64 เปอร์เซ็นต์ และความรุนแรงของโรคต่ำกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อระยะเวลาผ่านไป จนถึงวันที่ 9 หลังจากปลูกเชื้อ พบว่าการเกิดโรคของผักสลัดทุกสายพันธุ์เพิ่มเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ โดยมีระดับความรุนแรงของโรคเพิ่มขึ้นเป็น 52-72 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (15 วันหลังจากปลูกเชื้อ) ผักสลัดแสดงความรุนแรงของโรคสูงถึง 92-100 เปอร์เซ็นต์ (ผักสลัดตาย) ส่วนไอโซเลท F 422-G สามารถทำให้ผักสลัดทุกสายพันธุ์เป็นโรคได้ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวันที่ 5 หลังจากการปลูกเชื้อ โดยมีความรุนแรงของโรคอยู่ในช่วง 23-46 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าความรุนแรงของโรคนี้ได้เพิ่มขึ้นเป็น 72-100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองสำหรับเชื้อในกลุ่มที่สองมีอยู่ 4 ไอโซเลท คือ F 322-R, F 422-B, F 121-B และ F 222-G ซึ่งเป็นกลุ่มที่ทำให้เกิดโรค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รองลงมา กล่าวคือเชื้อทั้ง 4 ไอโซเลทนี้ทำให้ผักสลัดบางสายพันธุ์เริ่มแสดงอาการ โรคได้ตั้งแต่วันที่ 3 หลังปลูกเชื้อ แต่เปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคต่ำมาก แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ผักสลัดเกือบทุกสายพันธุ์ (ยกเว้น Green oak) มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงถึง 64-100 เปอร์เซ็นต์ แต่ความรุนแรงของโรคยังต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ กล่าวคือ ไม่พบต้นตายในกลุ่มนี้ ส่วนเชื้อที่ถูกจัดอยู่ในกลุ่มที่สาม มีเพียง 1 ไอโซเลท คือ F 221-B ซึ่งเป็นที่น่าสนใจมาก กล่าวคือเชื้อ ไอโซเลทนี้ไม่ทำให้ผักสลัดทั้ง 4 สายพันธุ์เป็นโรคเลย นับตั้งแต่วันแรกของการปลูกเชื้อจนถึงสิ้นสุดการทดลอง ในทางตรงกันข้าม กลับช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักสลัด โดยพบว่าผักสลัดทุกสายพันธุ์ที่มีการปลูกเชื้อ F 221-B มีน้ำหนักสดสูงกว่าผักสลัดในกรรมวิธีเปรียบเทียบที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ (Healthy control) (ไม่ได้แสดงผลในตาราง) ยิ่งไปกว่านั้น ได้มีการยืนยันผลการทดลองของเชื้อ F 221-B โดยทำการทดลองซ้ำอีกครั้งซึ่งได้ผลเช่นเดียวกัน

จากการตรวจความอยู่รอดของเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* ในสารละลายธาตุอาหารพืช พบว่ายังคงมีเชื้อราสาเหตุดังกล่าวอยู่ในระบบปลูก เมื่อสิ้นสุดการทดลองทำการแยกเชื้อกลับจากต้นพืชที่แสดงอาการของโรคเหี่ยวและรากเน่า สำหรับการแยกเชื้อสาเหตุจากผักสลัดนี้แสดงอาการ โรคอีกครั้งนั้น พบว่ายังได้เป็นเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* อย่างเดิม โดยมีรายงานการตรวจพบโรคนี้ในต่างประเทศที่ปลูกในดิน (Pasquali et al., 2007) ซึ่งจากงานวิจัยในครั้งนี้จะเป็นการตรวจพบครั้งแรกในพืชที่ปลูกในระบบไฮโดรโปรอนิกส์ที่ปลูกในประเทศไทย

### สรุปผลการทดลอง

จากงานวิจัยครั้งนี้สรุปได้ว่าโรคเหี่ยวและรากเน่าที่เกิดกับผักสลัดที่ปลูกในระบบ NFT มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* จึงจัดว่าเป็นการรายงานการตรวจพบครั้งแรกในประเทศไทย โดยพบการระบาดของโรคอย่างกว้างขวางในฟาร์มปลูกผักสลัดที่ อ.ศรีราชา จ.ชลบุรี และ อ.บางพลี จ.สมุทรปราการ ซึ่งอาการของโรคนั้นจะทำความเสียหายให้กับต้นผักสลัดทั้งต้นที่ยังอายุน้อยไปจนถึงต้นที่โตเต็มที่แล้ว (McCreight et al., 2005; Matheron and Koike, 2003) ซึ่งพืชจะแสดงอาการ ใบล่างเหลืองเหี่ยว ลำต้นแคระแกรน รากเน่า และตายในที่สุด สำหรับการทดสอบความสามารถของเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* ในการทำให้เกิดโรคกับผักสลัดทั้ง 4 สายพันธุ์ คือ Red oak, Green oak, Butter head และ Cos พบว่าความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อดังกล่าวสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มคือกลุ่มที่หนึ่ง คือกลุ่มที่ทำให้เกิดโรครุนแรงมากที่สุด ได้แก่ ไอโซเลท F 221-R และ F 422-G สำหรับกลุ่มที่สองจะเป็นกลุ่มที่ทำให้เกิดโรคที่มีความรุนแรงต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และกลุ่มที่สามจะเป็นกลุ่มที่ส่งเสริมการเจริญของพืช ซึ่งเชื้อในกลุ่มนี้น่าจะนำไปใช้ในการศึกษาต่อไป จึงสรุปได้ว่าเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* เป็นเชื้อราสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคเหี่ยวและรากเน่ากับผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรโปรอนิกส์ เพื่อที่จะได้ใช้เป็นข้อมูลในการหาแนวทางในการควบคุมและป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวและรากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lactucae* ได้อย่างถูกต้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 ลักษณะของเชื้อราทั้ง 21 ไอโซเลท ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนี	รูปร่างและลักษณะ conidia	จัดจำแนก
F 114-R, F 221-G, F 221-C, F 222-R, F 222-G, F 321-R F 112-B, F 322-R, F 223-R	โคโลนีมีสีเหลือง มีเส้นใยสีขาวเจริญขึ้นฟู ลักษณะเส้นใยละเอียด พบ การสร้าง chlamydo-spore	สร้าง macroconidia รูปร่างโค้งปลายเรียว มีผนังกันเซลล์ 3-5 เซลล์ มีขนาด 27.4×4.1 μm และ microconidia ขนาด 13.57 μm มีรูปร่างทรงกระบอกรี ไม่มีผนังกันเซลล์	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
F 221-R, F 421-R, F 421-B, F 421-C, F 121-B, F 322-B	โคโลนีมีสีขาวปนเหลือง มีเส้นใยสีขาวเจริญขึ้นฟู พบ การสร้าง chlamydo-spore	สร้าง macroconidia รูปร่างคล้ายเสี้ยวพระจันทร์ มีผนังกันเซลล์ 3-5 เซลล์ มีขนาด 28.56×3.5 μm และ microconidia ขนาด 8.75 μm รูปร่างกลมจนถึงรูปไข่ มีผนังกันเซลล์ 1 เซลล์	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
F 221-B	โคโลนีมีสีเหลือง มีการสร้างสีภายใต้อาหารมีสีชมพู พบ การสร้าง chlamydo-spore	สร้าง macroconidia รูปร่างเป็นเสี้ยวพระจันทร์ มีผนังกันเซลล์ 3-5 เซลล์ มีขนาด 29.85×3.2 μm และ microconidia ขนาด 9.80 μm รูปร่างทรงกระบอกรี มีผนังกันเซลล์ 1 เซลล์	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>
F 223-B, F 223-G, F 422-G, F 422-R, F 422-C	โคโลนีมีสีเหลือง สีภายใต้อาหารมีสีน้ำตาล พบ การสร้าง chlamydo-spore	สร้าง macroconidia มีรูปร่างเป็นเสี้ยวพระจันทร์ มีผนังกันเซลล์ 3-5 เซลล์ มีขนาด 28.85×3 μm และ microconidia ขนาด 9.60 μm มีรูปร่างแตกต่างกันไปตั้งแต่รูปกลมจนถึงรูปโค้ง ไม่มีผนังกันเซลล์	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคเหี่ยวและรากเน่าในผักสลัด 4 สายพันธุ์ โดยเชื้อรา *Fusarium* spp.

<i>Fusarium</i> isolate	ชนิดผัก	การเกิดโรค (DI) <sup>1</sup> : ความรุนแรงของโรค (DS) (%) <sup>2</sup>							
		1 DAI*	3 DAI	5 DAI	7 DAI	9 DAI	11 DAI	13 DAI	15 DAI
Healthy control (non-inoculated)	Cos	0 <sup>1</sup> :0 <sup>2</sup>	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
	Green oak	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
	Red oak	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
	Butter head	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
F 221-G	Cos	0:0	16:3.3	16:3.3	16:3.3	16:6.6	16:6.6	16:6.6	16:6.6
	Green oak	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
	Red oak	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
	Butter head	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
F 221-C	Cos	0:0	16:3.3	16:3.3	16:3.3	16:6.6	16:6.6	16:6.6	16:6.6
	Green oak	0:0	0:0	16:3.3	32:9.9	32:13.2	32:13.2	32:13.2	32:13.2
	Red oak	0:0	16:3.3	16:3.3	32:9.9	32:9.9	32:16.5	32:16.5	32:16.5
	Butter head	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
F 221-B	Cos	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
	Green oak	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
	Red oak	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
	Butter head	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
F 221-R	Cos	0:0	64:13.2	80:26.4	100:36.3	100:59.4	100:79.2	100:92.4	100:100
	Green oak	0:0	32:6.6	48:13.2	64:33.3	100:52.8	100:75.9	100:89.1	100:95.7
	Red oak	16:3.3	32:13.2	64:33.3	100:52.8	100:72.9	100:89.1	100:95.7	100:100
	Butter head	0:0	48:9.9	48:16.5	64:33.3	100:52.8	100:69.3	100:82.5	100:92.4
F 223-B	Cos	16:6.6	48:6.6	48:16.5	48:16.5	48:16.5	48:16.5	48:16.5	48:16.5
	Green oak	0:0	32:6.6	48:9.9	48:9.9	48:9.9	48:9.9	48:9.9	48:9.9
	Red oak	32:16.5	64:23.1	64:33.3	64:39.6	64:42.9	64:42.9	64:42.9	64:42.9
	Butter head	0:0	32:6.6	32:6.6	32:6.6	32:6.6	32:6.6	32:6.6	32:6.6
F 222-G	Cos	0:0	16:3.3	64:16.5	100:19.8	100:23.1	100:33.3	100:33.3	100:33.3
	Green oak	0:0	0:0	16:3.3	16:3.3	64:13.2	64:13.2	64:16.5	64:16.5
	Red oak	0:0	32:6.6	100:23.1	100:26.4	100:36.3	100:46.2	100:59.4	100:69.3
	Butter head	0:0	48:9.9	80:23.1	80:23.1	100:33.3	100:52.8	100:52.8	100:52.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ตารางที่ 2 (ต่อ)

Fusarium isolate	ชนิดพืช	การเกิดโรค (DI) <sup>1</sup> : ความรุนแรงของโรค (DS) (%) <sup>2</sup>							
		1 DAI*	3 DAI	5 DAI	7 DAI	9 DAI	11 DAI	13 DAI	15 DAI
F 422-B	Cos	0 <sup>1</sup> :0 <sup>2</sup>	0:0	32:6.6	64:19.8	64:19.8	64:19.8	64:19.8	64:19.8
	Green oak	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
	Red oak	0:0	0:0	64:16.5	64:19.8	100:29.7	100:46.2	100:46.2	100:52.8
	Butter head	0:0	16:3.3	32:6.6	100:19.8	100:26.4	100:26.4	100:26.4	100:26.4
F 322-R	Cos	0:0	0:0	100:19.8	100:23.1	100:33.3	100:39.6	100:46.2	100:46.2
	Green oak	16:3.3	16:6.6	100:26.4	100:29.7	100:33.3	100:33.3	100:33.3	100:33.3
	Red oak	0:0	0:0	64:19.8	64:26.4	100:33.3	100:33.3	100:33.3	100:33.3
	Butter head	0:0	0:0	100:19.8	100:19.8	100:19.8	100:19.8	100:19.8	100:19.8
F 121-B	Cos	0:0	16:3.3	48:9.9	48:9.9	64:13.2	100:16.5	100:19.8	100:19.8
	Green oak	0:0	32:6.6	32:6.6	32:6.6	48:9.9	48:9.9	64:13.2	64:13.2
	Red oak	0:0	0:0	16:3.3	100:19.8	100:29.7	100:29.7	100:29.7	100:29.7
	Butter head	0:0	32:9.9	64:13.2	64:13.2	64:13.2	64:19.8	64:19.8	64:19.8
F 221-B (Repeat)	Cos	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
	Green oak	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
	Red oak	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
	Butter head	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
F 422-G	Cos	0:0	32:9.9	100:46.2	100:49.5	100:59.4	100:69.3	100:72.6	100:95.7
	Green oak	16:3.3	32:16.5	100:39.6	100:49.5	100:66	100:79.2	100:85.8	100:100
	Red oak	0:0	32:6.6	100:33.3	100:33.3	100:52.8	100:75.9	100:79.2	100:89.1
	Butter head	0:0	16:3.3	100:23.1	100:29.7	100:42.9	100:49.5	100:56.1	100:72.6
F 222-B	Cos	0:0	0:0	32:6.6	32:6.6	48:9.9	48:9.9	48:9.9	48:9.9
	Green oak	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0	0:0
	Red oak	0:0	16:3.3	48:9.9	48:9.9	48:9.9	64:13.2	100:26.4	100:26.4
	Butter head	0:0	0:0	16:3.3	48:9.9	64:13.2	64:13.2	64:13.2	64:13.2

\*DAI = Day after inoculation

$$^1\% \text{ การเกิดโรค [Disease incidence, DI]} = \frac{\text{จำนวนต้นที่แสดงอาการโรค}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}} \times 100$$

$$^2\% \text{ ความรุนแรงของโรค [Disease severity, DS]} = \frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนต้นที่แสดงอาการโรค} \times \text{ระดับอาการโรค)}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด} \times \text{ระดับอาการสูงสุด}} \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง

- พรหมมาศ คุหากาญจน์. (2005). ศักยภาพของแบคทีเรียบริเวณเขตรากพืชในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดที่เกิดจากเชื้อ *Pythium myriotylum* ในระบบ NFT. หน้า 1082-1902 ใน การประชุมวิชาการอรัรักษาศาสตร์แห่งชาติ ครั้งที่ 7 เชียงใหม่.
- Agrios, G.N. (2005). Plant pathology 5<sup>ed</sup>. Academic Press, New York. 992 p.
- Benoit, F. (1992). Practical guide for simple soilless culture techniques. Sint-Katelijne-Waver European Vegetable R&D Center.
- Garibarian, H.R., Gilardi, G. and Gullino, M.L. (2004). First report of *Fusarium oxysporum* causing vascular wilt of lamb 's lettuce (*Valerianella olitoria*) in Italy. Plant Disease 88 (1): 83.
- Jaenaksorn, T., Koohakan, P. and Prathuangwong, S. (2010). Efficacy of indigenous *Trichoderma* and PGPR for controlling *Pythium* root rot of lettuce (*Lactuca sativa* L.) grown in deep flow technique. 25-27. In Proceedings of the 16<sup>th</sup> Asian Agricultural Symposium (ASS) and 1<sup>st</sup> International Symposium on Agricultural Technology (ISAT) Bangkok, Thailand.
- Matheron, M.E. and Koike, S.T. (2003). First report of Fusarium wilt of lettuce caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* in Arizona. Plant Disease 87 (10): 1265.
- Mccreight, J.D., Matheron, M.E., Tickes, B.R. and Platts, B. (2005). Fusarium wilt race 1 on lettuce. Hortscience 40 (3): 529-531.
- Pasquali, M., Dematheis, F., Gullino, M.L. and Garibaldi, A. (2007). Identification of race 1 of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* on lettuce by inter-retrotransposon sequence-characterized amplified region technique. Phytopathology 97 (8): 987-996.
- Yamauchi, N., Horiuchi, S. and Satou, M. (2001). Pathogenicity groups in *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* on horticultural types of lettuce cultivars. Plant Pathology 67: 288-290.

ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* (F 221-B) ในด้านส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช  
6 ชนิดในระบบไฮโดรโปนิกส์ และลักษณะการเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

*Fusarium oxysporum* (F 221-B) as plant growth-promoting fungus (PGPF) on six plants  
in hydroponics and its growth characteristics on different media

ธิติ ทองคำงาม\* พรหมมาศ กูหากาญจน์ และ ถนิมนันต์ เจนอักษร

Titi Thongkamngam\*, Prommart Koojakan and Tanimnun Jaenaksorn

สาขาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

E-mail : [st\\_zazasexy@hotmail.com](mailto:st_zazasexy@hotmail.com) โทร. 081-6944520

### บทคัดย่อ

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้เป็นการประเมินประสิทธิภาพของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* (F 221-B) (ซึ่งได้จากงานวิจัยของ ธิติและคณะ, 2555) ในด้านส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช 6 ชนิด (Cos, Green oak, Red oak, Butter head, คะน้า และ ถั่วเขียว) ที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ รวมทั้งการศึกษาลักษณะโคโลนีของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ ซึ่งพบว่าเมล็ดที่คลุกเชื้อ F 221-B สามารถงอกได้เร็วกว่าปกติ 1 วัน ส่งผลให้มีเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดและความยาวของต้นกล้าสูงกว่าเมล็ดที่ไม่ได้คลุกเชื้อ อีกทั้งการใช้ spore suspension ของเชื้อ F 221-B ที่ระดับความเข้มข้น  $10^8$  spore/ml ใ้ลงในสารละลายธาตุอาหารพืชสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตในด้าน จำนวนใบ ขนาดใบ ปริมาณคลอโรฟิลล์ (SPAD value) น้ำหนักสดต้นและราก รวมทั้งน้ำหนักแห้งต้นและรากได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (control) เชื้อ F 221-B สามารถอยู่รอดในระบบปลูกจนสิ้นสุดการทดลอง สำหรับการศึกษากิจกรรมของอาหารเลี้ยงเชื้อ 6 ชนิดต่อการเจริญของเชื้อ พบว่าเชื้อ F 221-B เจริญทางเส้นใยได้ดีที่สุดบน carrot agar และ สร้าง micro conidia และ macro conidia ได้ดีบน oatmeal agar โดยสรุปเชื้อรา *Fusarium oxysporum* (F221-B) แสดงศักยภาพในการเป็นเชื้อราที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth-promoting fungus)

คำสำคัญ : *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae*, plant growth-promoting fungus, Hydroponics

### Abstract

Research was conducted to determine the ability of the indigenous *Fusarium oxysporum* (F221-B) obtained from the previous experiment (Titi *et al.*, 2012), as a saprophytic Plant growth-promoting fungus (PGPF) on growth of six kinds of plant, namely Cos lettuce, Green oak lettuce, Red oak lettuce, Butterhead lettuce, kale and mung bean in hydroponics. The survival of this fungus was also evaluated at the end of cropping. Moreover, growth characteristics of the fungus on different media were studied. The results showed that treated seeds with F221-B could germinate 1 day-faster than non treated seeds resulting in higher percentage of seed germination and seedling length. Furthermore, addition of F221-B spore suspension at  $10^8$  spores/ml in nutrient solution significantly promoted growth (in terms of leaf number, leaf size, SPAD value, stem fresh and dry weight, root fresh and dry weight) of all tested plants compared to the control one. Survival of F221-B could be detected at the end of cropping. Regarding the growth characteristics of this fungus, it revealed that carrot agar was the best for mycelial growth while oatmeal agar was the best for maximum sporulation (micro conidia and macro conidia). In conclusion, *Fusarium oxysporum* (F 221-B) showed its ability as plant growth-promoting fungus (PGPF).

**Keyword:** *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae*, plant growth-promoting fungus, Hydroponics

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 1. บทนำ

การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินเป็นแนวทางหนึ่งในการหลีกเลี่ยงและลดปัญหาด้านโรคที่ติดมากับดิน (soilborne disease) ได้ โดยปัจจุบันทั่วโลกนิยมปลูกพืชชนิดต่างๆ ในระบบนี้กันอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะในประเทศ ญี่ปุ่น บราซิล และ ไทย เนื่องจากการปลูกพืชในระบบนี้สามารถเพิ่มคุณภาพของพืชได้อย่างดี อีกทั้งยังประหยัดพื้นที่ในการปลูกมีการจัดการน้ำอย่างมีประสิทธิภาพ ผลผลิตต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่ยังสูงกว่าการปลูกในดิน (Furlani, 1999; Jaenaksorn *et al.*, 2010) แต่อย่างไรก็ตาม การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินก็ยังประสบปัญหาด้านโรคอยู่ ถ้าเกิดมีการปนเปื้อนของเชื้อโรคเข้ามาในระบบปลูก โดยเฉพาะโรคโคนเน่าและรากเน่าที่เกิดกับผักสลัด ซึ่งเคยมีการรายงานมาแล้วว่ามีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Pythium* spp. ปัจจุบันก็ได้มีแนวทางและวิธีการต่างๆ ที่มาช่วยลดการเกิดโรคในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน โดยวิธีการที่ได้รับความนิยมในปัจจุบัน คือ วิธีการควบคุมเชื้อโดยชีววิธีเพื่อเป็นการลดความเสียหายกับสารเคมีที่มีผลตกค้าง และเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ซึ่งวิธีการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีมีอยู่หลากหลายรูปแบบ (Paulitz, 1997) เช่น การใช้เชื้อแบคทีเรียบริเวณเขตรากพืชที่มีศักยภาพมาควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดในระบบ NFT และสามารถที่จะกระตุ้นการเจริญของพืชได้ (พรหมมาศ, 2005) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่ามีการใช้เชื้อราที่มีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช plant growth promoting fungus (PGPF) และชักนำให้พืชเกิดความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคพืช (Induction of resistance in plant) (Horinouchi *et al.*, 2011) ในปี พ.ศ. 2554 – 2555 ชิติ และคณะ ได้รายงาน ว่า จากผลการทดสอบการเกิดโรครากเน่าในผักสลัดที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* จำนวน 21 สายพันธุ์ พบว่ามีอยู่ 1 สายพันธุ์ คือ F 221-B ที่ได้มาจากระบบไฮโดรโปนิกส์ ไม่ก่อให้เกิดโรคกับผักสลัด 4 ชนิด แต่ในทางตรงกันข้ามกลับช่วยให้ผักสลัดทั้ง 4 ชนิดเจริญเติบโตได้ดีกว่าพืชที่เป็นตัวควบคุม (control) ด้วยเหตุนี้นักวิจัยจึงได้สนใจที่จะนำเชื้อดังกล่าวมาใช้ประโยชน์ในอนาคต หากพิสูจน์ได้จริงว่าเชื้อดังกล่าวมีคุณสมบัติเบื้องต้นในด้านส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชผักได้หลากหลายชนิด ก็น่าจะนำไปศึกษาต่อถึงคุณสมบัติของการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ควบคู่ต่อไป

ดังนั้นจึงทำการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B ในด้านส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช 6 ชนิด ในระบบไฮโดรโปนิกส์ เพื่อยืนยันว่าเชื้อดังกล่าวมีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth promoting fungus : PGPF) จริง และศึกษาลักษณะการเจริญของเชื้อราบนอาหารชนิดต่างๆ

## 2. อุปกรณ์และวิธีการ

### 2.1 การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B ต่อการเจริญเติบโตของพืช

นำเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B ที่ได้จากงานวิจัยของ ชิติและคณะ (2555) มาศึกษาถึงคุณสมบัติและความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช 6 ชนิด โดยเริ่มจากการศึกษาผลต่อการงอกของเมล็ดพืชและตามด้วยผลต่อการเจริญเติบโตของพืชทดสอบดังกล่าว โดยมีรายละเอียดดังนี้

#### 2.1.1 ผลต่อการงอกของเมล็ดพืช

ทำการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) โดยนำเมล็ดผักสลัด 4 สายพันธุ์ เมล็ดคะน้า และ เมล็ดถั่วเขียว จำนวนอย่างละ 75 เมล็ด คลุกกับ spore suspension ของเชื้อ *Fusarium oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B ที่  $1 \times 10^6$  spore/ml ในปริมาณ 5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 5 นาที ส่วนในกรรมวิธีควบคุมใช้น้ำเป็นตัวควบคุมแทน หลังจากนั้นนำเมล็ดที่ผ่านการคลุกแล้วใส่ในถาดเพาะเมล็ด เก็บไว้ที่มืดแล้วสเปรย์น้ำเพื่อให้ความชื้นแก่เมล็ด จากนั้นทำการบันทึกการงอกของเมล็ดพืช และคำนวณเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด รวมทั้งบันทึกความยาวต้นกล้า โดยเปรียบเทียบกับตัวควบคุมที่ไม่ได้ทำการใส่เชื้อ และวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ โดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น  $P = 0.05$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.1.2 ผลต่อการเจริญเติบโตของพืช

ทำการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 3 ต้น ซึ่งระบบที่ใช้ในการทดลองในครั้งนี้จะใช้ระบบ Dynamic Root Floating Technique (DRFT) โดยนำกล้าผักสลัดที่ได้จากการทดลองที่ (1) มาอนุบาลในกระบะปลูกขนาด 25×34 เซนติเมตร ที่บรรจุด้วยสารละลายธาตุอาหารพืชค่า EC = 1 ms/cm<sup>2</sup>, pH = 5.8-6.2 (Benoit, 1992) เมื่อพืชอายุ 3 สัปดาห์ ย้ายลงในกระบะปลูกที่บรรจุสารละลายธาตุอาหารพืช EC = 1.8-2.0 ms/cm<sup>2</sup> ปริมาณ 5 ลิตร หลังจากนั้นทำการเตรียม spore suspension ของเชื้อรา F 221-B ที่ความเข้มข้น 10<sup>4</sup>, 10<sup>6</sup> และ 10<sup>8</sup> spore/ml นำรากของผักสลัดมาแช่ใน spore suspension ของ *Fusarium* sp. 5 มิลลิลิตรต่อต้น นาน 5 นาที และเท spore suspension ที่เหลือลงในกระบะปลูก ส่วนในกรรมวิธีควบคุม ใช้น้ำนิ่งฆ่าเชื้อเป็นตัวควบคุมแทน ทำการบันทึกผลโดยวัดขนาดของใบ จำนวนใบ ค่าคลอโรฟิลล์ (SPAD value) เมื่อสิ้นสุดการทดลองทำการชั่งน้ำหนักสดและแห้งของต้นและราก รวมทั้งตรวจสอบปริมาณความอยู่รอดของเชื้อที่อยู่ในสารละลายธาตุอาหารของพืชในทุกกรรมวิธี

## 2.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *Fusarium oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B

ทำการเลี้ยงเชื้อ *Fusarium oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B ลงบนอาหาร PDA บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เมื่อเชื้ออายุ 7 วัน นำมาทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อโดยละเอียด และเปรียบเทียบกับเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* สายพันธุ์ F 422-G ที่ก่อให้เกิดโรค เพื่อศึกษาความแตกต่างของทั้ง 2 สายพันธุ์ และทำการเก็บเชื้อเพื่อที่จะได้นำไปใช้ในการทดลองต่อไป

## 2.3 การศึกษาผลของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการเจริญทางเส้นใยและการสร้าง spore ของเชื้อรา *F. oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B และ F 422-G

การศึกษาค้นคว้าวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 5 ซ้ำ โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดสอบจำนวน 6 ชนิด คือ Czapek dox agar (CZA), Sabouraud dextrose agar (SDA), Oat meal agar (OA), Potato dextrose agar (PDA), Cornmeal agar (CMA) และ Carrot agar (CA) เชื้อ *F. oxysporum* ที่นำมาทดสอบมี 2 สายพันธุ์ คือ F 221-B ซึ่งไม่ก่อให้เกิดโรค และ F 422-G สายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรค โดยทำการเลี้ยงเชื้อทั้ง 2 ชนิด บนอาหาร PDA จนครบอายุ 7 วัน จากนั้นใช้ Cork borer ขนาด 0.5 มิลลิเมตร ตัดชิ้นวุ้นเชื้อดังกล่าวมาวางลงบริเวณกลางจานเพาะเลี้ยงเชื้อ บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส และบันทึกการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราโดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีทุกวัน และนับจำนวน macroconidia และ microconidia ของเชื้อรา *F. oxysporum* และนำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.05

## 3. ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

### 3.1 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B ต่อการงอกของเมล็ดพืช

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *F. oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B ต่อการงอกของเมล็ดพืชต่างๆ คือ ผักสลัด 4 สายพันธุ์ (Green oak, Butter head, Red oak และ Cos) เมล็ดผักคะน้า และ เมล็ดถั่วเขียว พบว่าการใช้เชื้อ *Fusarium* สายพันธุ์ F 221-B คลุกเมล็ดสามารถกระตุ้นให้เมล็ดพืชทดสอบทั้งหมด ยกเว้น Red oak งอกเร็วขึ้นกว่าปกติ 1 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่คลุกเชื้อ กล่าวคือ ในวันที่ 2 หลังจากเพาะเมล็ด พบว่าเมล็ดพืชที่คลุกด้วยเชื้อ F 221-B จำนวน 4 พืช ได้แก่ Green oak, Butter head, Cos และ ถั่วเขียว มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดคะน้างอก 40 เปอร์เซ็นต์ และ ผักสลัด Red oak ยังไม่งอก ในขณะที่เมล็ดทดสอบทั้งหมดทั้ง 6 ชนิด ที่ไม่ได้คลุกเชื้อดังกล่าวไม่พบว่ามีอาการงอกเลย แต่จะเริ่มงอกในวันที่ 3 ซึ่งส่งผลให้ขนาดของต้นกล้าในวันที่ 3 และ 5 ที่ได้จากเมล็ดที่ไม่ได้คลุกเชื้อมีแนวโน้มที่มีความยาวของต้นกล้า น้อยกว่าต้นกล้าที่ได้จากเมล็ดพืชที่คลุกเชื้อ (ตารางที่ 1) แต่อย่างไรก็ตาม ขนาดความยาวของต้นกล้าทั้งหมดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 ผลของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สายพันธุ์ F 221 B ต่อการงอกของเมล็ดพืช

ชนิดพืช	เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดพืช		ความยาวคั่นกล้าเฉลี่ย (ซม)			
	วันที่ 2		วันที่ 3		วันที่ 5	
	ไม่คลุกเชื้อ	คลุกเชื้อ	ไม่คลุกเชื้อ	คลุกเชื้อ	ไม่คลุกเชื้อ	คลุกเชื้อ
Cos	0	100	2.36ab <sup>1/</sup>	3.48a	4.04b	5.78a
Green oak	0	100	2.41ab	3.57a	3.2ab	4.84a
Red oak	0	0	1.31ab	2.1a	2.01ab	3.47a
Butter head	0	100	2.6ab	3.31a	3.1ab	4.5a
คะน้า	0	40	1.7ab	2.7a	2.2ab	3.6a
ถั่วเขียว	0	100	3.4ab	4.6a	6.8b	8.7a

<sup>1/</sup> ค่าเฉลี่ยจาก 75 ซ้ำ ในแต่ละแถวแนวอนที่ตามด้วยอักษรภาษาอังกฤษเหมือนกัน ที่ต่างกันจะมีความต่างกันทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น P=0.05

### 3.2 ผลของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B ต่อการเจริญเติบโตของพืช

จากการใช้ spore suspension ของเชื้อ *F. oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B ทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นคือ  $10^4$ ,  $10^6$  และ  $10^8$  spore/ml ใต้ลงในสารละลายธาตุอาหารพืช เพื่อปลูกพืชทดสอบ 6 ชนิด พบว่าในช่วงแรก ระดับความเข้มข้นของเชื้อ F 221-B ไม่มีผลต่อจำนวนใบและขนาดใบของพืชทั้ง 6 ชนิด เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (control) แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงวันที่ 38 และ 45 วัน เริ่มสังเกตเห็นอิทธิพลของระดับความเข้มข้นของเชื้อ F 221-B ต่อการเจริญเติบโตของพืช ทดสอบกล่าวคือ ที่ระดับความเข้มข้น  $10^8$  spore/ml ของ F 221-B มีแนวโน้มทำให้จำนวนใบและขนาดของใบสูงกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ รวมทั้งกรรมวิธีควบคุม control (ตารางที่ 2) ส่วนอิทธิพลของระดับความเข้มข้นของ F 221-B ต่อค่า SPAD value พบว่าค่า SPAD value ของทุกพืช จะเริ่มมีค่าสูงขึ้นเมื่อพืชอายุเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรรมวิธีที่ใส่เชื้อ F 221-B กล่าวคือ ในกรรมวิธีที่ใส่เชื้อ F 221-B ความเข้มข้น  $10^8$  spore/ml จะมีค่า SPAD value สูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใส่  $10^4$  และ  $10^6$  spore/ml รวมทั้ง control ตามลำดับ ตัวอย่างเช่น ในผักสลัด Red oak, Cos, Butter head ที่ปลูกในระบบ DRFT ที่ไม่ได้รับเชื้อ F 221-B จะมีค่า SPAD value ในระยะแรกและเมื่อสิ้นสุดการทดลอง อยู่ในช่วง 24-30.2 ซึ่งค่าดังกล่าวนี้ใกล้เคียงกับค่า SPAD value ของผักที่ปลูกในดิน (Adrian *et al.*, 2007 และ Myeong *et al.*, 2009) ในกรณีที่ได้รับเชื้อ F 221-B ความเข้มข้น  $10^8$  spore/ml ผักสลัดทั้ง 3 ชนิดมีค่า SPAD value ในวันที่ 24 อยู่ในช่วง 24.3-29.7 และสูงขึ้นถึง 34.8 ในวันสุดท้ายของการทดลอง ซึ่งค่าดังกล่าวสูงกว่า Control ที่ไม่ได้ทำการปลูกเชื้อ F 221-B ซึ่งผลดังกล่าวนี้สอดคล้องกับรายงานในปี ค.ศ. 2007 ที่กล่าวว่าค่า Chlorophyll content (SPAD value) ในผักสลัดจะถูกกระตุ้นได้โดยเชื้อ Mycorrhizal fungi 3 สายพันธุ์ (*Glomus mosseae*, *G. intraradices* และ *G. coronatum*) โดยในช่วงแรกค่า SPAD value จะเท่ากับ 14.11 และจะสูงขึ้นถึง 22.17 เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (Zuccarini, 2007) สำหรับผักทดสอบที่เหลืออีก 3 ชนิด กล่าวคือ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง Green oak ที่ไม่ได้รับและรับเชื้อมีค่า SPAD value เท่ากับ 15.2 และ 20 ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับ ค่า SPAD value ของผักสลัดใบเขียวสายพันธุ์ JGC ที่ปลูกในดิน ที่มีค่าเท่ากับ 17.8 (Myeong *et al.*, 2009) ส่วน คะน้า มีค่า SPAD value อยู่ระหว่าง 43-47.3 ในกรรมวิธีเปรียบเทียบและที่ใส่เชื้อ  $10^8$  spore/ml ซึ่งค่าดังกล่าวสูงกว่าในรายงานของ Issarakraiaila *et al.* (2007) ที่ระบุถึงค่า SPAD value ของคะน้าที่ปลูกในดินมีค่าประมาณ 39 สำหรับ ถั่วเขียว ในการทดลองนี้มีค่า SPAD value ในกรรมวิธีเปรียบเทียบและที่ใส่เชื้อ  $10^8$  spore/ml อยู่ในช่วง 33.1-35.7 ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าในรายงานของ Ali *et al.* (2008) ที่ระบุถึงค่า SPAD value ของถั่วเขียว ที่มีค่าประมาณ 37.1

ในกรณีของน้ำหนักรากและน้ำหนักแห้ง (ตารางที่ 2, รูปที่ 1) ผลเป็นไปในทิศทางเดียวกับ จำนวนใบ ขนาดใบ และ SPAD value กล่าวคือการใช้เชื้อรา F 221-B ที่ความเข้มข้น  $10^8$  spore/ml มีผลในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชทั้ง 6 ชนิด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุม (control) ทั้งในด้านน้ำหนักสดต้นและราก รวมทั้งน้ำหนักแห้ง ซึ่งผล

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 แสดงการเจริญเติบโตของพืชในระบบ DFT ที่ใส่เชื้อ *F. oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B

ชนิดพืช	กรรมวิธี	การเจริญเติบโตของพืช															
		จำนวนใบ (ใบ)				ขนาดใบ (ซม.)				คลอโรฟิลล์ (SPAD Value)				น้ำหนักสด (กรัม)		น้ำหนักแห้ง (กรัม)	
		24วัน	31วัน	38วัน	45วัน	24วัน	31วัน	38วัน	45วัน	24วัน	31วัน	38วัน	45วัน	ราก	ลำต้น	ราก	ลำต้น
Red oak	(0) Healthy control	4.1a <sup>u</sup>	6.1a	13.3b	14.2b	1.7a	4.8a	11.7b	12b	24	24.1	24.3	27.6	0.84b	19.36b	0.13ab	0.81b
	10 <sup>4</sup> spore/ml	4.3a	6.3a	14b	15.8b	2a	5.7a	12.7ab	12.9b	24	24.4	24.9	28.4	1.19ab	22.65b	0.08ab	0.96ab
	10 <sup>6</sup> spore/ml	4.3a	6.8a	14.9ab	17.8ab	2a	5.7a	13ab	13.9ab	24.2	24.5	25.4	30.6	1.29ab	23.02b	0.09a	0.97ab
	10 <sup>8</sup> spore/ml	4.5a	7a	16.5a	18.7a	2.2a	5.9a	14a	14.2a	24.3	24.5	26.1	32.5	1.75a	29.37a	0.09a	1.17a
CV %		10.8	8.2	9.2	10.1	7.3	6.8	5.4	9.7	5.4	5.9	7.1	6.7	8.3	8.9	6.9	5.4
Butter head	(0) Healthy control	4.6a	7.3a	13ab	14.6b	2.2a	4.7a	10.8b	11.9b	23.4	24.3	24.9	26.7	0.42b	12.66b	0.03b	0.53ab
	10 <sup>4</sup> spore/ml	4.7a	7.3a	13.2ab	15.8b	2.8a	4.7a	11.4ab	12.3ab	23.5	24.3	26.7	27.1	0.84ab	13.81b	0.04ab	0.59ab
	10 <sup>6</sup> spore/ml	4.9a	7.3a	14ab	16ab	2.8a	5.3a	11.4ab	12.3ab	26.4	26.4	27	28	0.98ab	15.89ab	0.06ab	0.74ab
	10 <sup>8</sup> spore/ml	5a	7.4a	15.3a	17.5a	2.8a	5.7a	12.6a	13.1a	26.9	27	27.1	28.3	1.37a	18.68a	0.08a	0.89a
CV %		8.4	6.9	7.1	5.6	8.4	8.9	7.4	8.7	7.9	6.5	7.2	7.9	6.5	5.4	7.4	8.9
Cos	(0) Healthy control	4.5a	5.8a	8.4ab	9.8b	2.9a	6.9b	13.8b	14.8b	24.3	28.3	30	30.2	0.58b	9.98b	0.05b	0.53b
	10 <sup>4</sup> spore/ml	4.4a	6a	9.4ab	11.5b	3.3a	7.1ab	14.5ab	14.8b	28.6	29.2	30.5	31.6	0.73b	11.91b	0.06b	0.53b
	10 <sup>6</sup> spore/ml	4.5a	6.2a	9.5ab	11.9b	3.3a	8a	14.9ab	15b	28.8	29.5	31	31.9	0.76b	12.09b	0.11ab	0.60ab
	10 <sup>8</sup> spore/ml	4.5a	6.3a	9.8a	13.4a	3.3a	8.6a	15.8a	16.8a	29.7	30.6	32	34.8	1.63a	27.13a	0.18a	1.46a
CV %		10.9	8.1	9.1	7.8	6.5	14.1	8.4	9.6	7	7.2	8.3	5.2	7.6	9.8	7.9	6.4

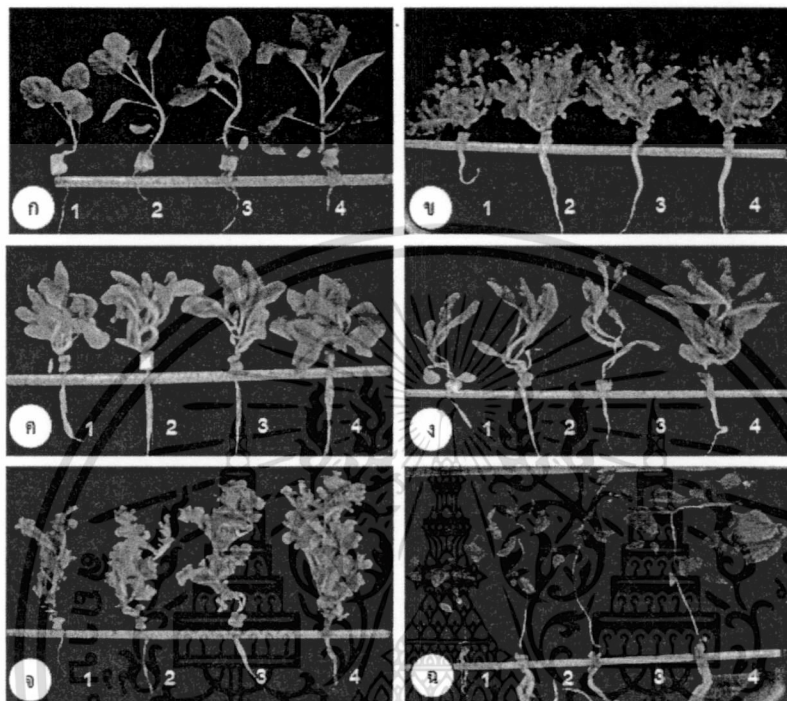
<sup>u</sup> ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ในแต่ละคอลัมน์ที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05

ตารางที่ 2 แสดงการเจริญเติบโตของพืชในระบบ DFT ที่ใส่เชื้อ *F. oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B (ต่อ)

ชนิดพืช	กรรมวิธี	การเจริญเติบโตของพืช															
		จำนวนใบ (ใบ)				ขนาดใบ (ซม.)				คลอโรฟิลล์ (SPAD Value)				น้ำหนักสด (กรัม)		น้ำหนักแห้ง (กรัม)	
		24วัน	31วัน	38วัน	45วัน	24วัน	31วัน	38วัน	45วัน	24วัน	31วัน	38วัน	45วัน	ราก	ลำต้น	ราก	ลำต้น
Green oak	(0) Healthy control	4.5a <sup>u</sup>	5.9a	12b	12.9b	1.6a	4.5ab	12.5ab	13.2b	14.9	15	15.1	15.2	0.6b	10.6b	0.06ab	0.64ab
	10 <sup>4</sup> spore/ml	4.7a	6.7a	12.1b	13.7b	2.2a	5.5a	12.6ab	13.6b	15.1	15.3	16	16.2	0.8b	13.1ab	0.08ab	0.65ab
	10 <sup>6</sup> spore/ml	4.8a	6.7a	13.5ab	14.5ab	2.5a	5.7a	12.7ab	13.7b	15.6	16	16.3	17.9	1.4ab	13.4ab	0.07ab	0.68ab
	10 <sup>8</sup> spore/ml	5a	7a	14.9a	16a	2.8a	5.9a	12.9a	15.3a	15.8	17.8	17.8	20	1.5a	16a	0.10a	0.84a
CV %		8.1	5.1	7.3	9.5	8.5	8.6	6.8	11.2	9.8	5.9	8.6	9.8	8.2	9.6	6.7	4.2
กะน้า	(0) Healthy control	3.5a	4.5a	6.6ab	6.8b	1.7a	2.4a	5.2b	6.5b	40.7	41.6	41.7	43	0.2c	6.7b	0.03bc	0.34c
	10 <sup>4</sup> spore/ml	3.6a	4.5a	6.6ab	7.7b	1.7a	3a	6.2ab	6.8b	43.8	43.8	43.9	44.3	0.2bc	8.4b	0.05b	0.43bc
	10 <sup>6</sup> spore/ml	3.8a	4.7a	7.4a	7.9ab	1.8a	3.2a	6.2ab	7.8b	44	44.3	44.6	44.9	0.3b	10.4ab	0.05b	0.53b
	10 <sup>8</sup> spore/ml	3.9a	4.7a	7.4a	8.16a	2.3a	3.3a	6.4a	10.2a	45.4	45.7	46.1	47.3	0.4a	15.2a	0.10a	1.01a
CV %		9.5	9.9	7.4	10.1	7.7	8.5	9.3	7.3	5.9	4.9	5.8	7.6	11.2	6.4	9.1	6.4
ถั่วเขียว	(0) Healthy control	5a	6.5a	13.9b	15.1b	2.6a	4.6ab	5.2b	5.9b	30.5	30.7	30.7	33.1	1.1b	7.1b	0.12ab	0.84b
	10 <sup>4</sup> spore/ml	5a	7.6a	14.5ab	17.3ab	2.6a	4.5ab	6.4ab	6.9b	32.9	33.1	33.3	33.4	1.2b	7.7b	0.12ab	0.95b
	10 <sup>6</sup> spore/ml	5.3a	8a	14.7ab	17.8ab	2.7a	4.7ab	6.7ab	7.5ab	33	33.2	33.4	34.7	1.3b	8.5b	0.13ab	1.60a
	10 <sup>8</sup> spore/ml	5.3a	8.1a	16a	20a	2.9a	5a	7a	9.3a	33.9	34	34.3	35.9	2.7a	10.9a	0.15a	1.62a
CV %		14.1	15.4	9.5	7.4	8.9	9.7	12.4	8.9	6.6	4.6	8.4	7.9	9.2	6.7	9.8	8.4

<sup>u</sup> ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ในแต่ละคอนกรีตที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05

การทดลองนี้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Anderson and Schmidt (2004) ที่รายงานว่าน้ำหนักรากแห้งของผักสลัดอยู่ในช่วง 0.067 – 0.134 กรัม ส่วนน้ำหนักสดของดินนั้นจากการทดลองนี้ได้ค่านี้น้อยกว่าผักสลัดที่ปลูกเพื่อการค้า ซึ่ง Jensen (2001) ได้รายงานว่าผักสลัดที่ปลูกในระบบ DFT ช่วงวันที่ 40-45 จะอยู่ในช่วง 100 กรัม ด้วยเหตุนี้อาจจะเป็นเพราะเกิดจากปัญหาทางสภาพอากาศที่ร้อน ที่มีอุณหภูมิอยู่ในช่วง 37-39 องศาเซลเซียส ซึ่งอุณหภูมิของน้ำสารละลายที่พีชนั้นก็สูงเช่นเดียวกันจึงทำให้ขนาดของดินและน้ำหนักดินที่ได้นั้นมีขนาดเล็กผิดปกติไป



รูปที่ 1 แสดงการเจริญเติบโตของพืช 6 ชนิด ที่อายุ 45 วัน ซึ่งปลูกในสารละลายธาตุอาหารพืชที่ผสม spore suspension ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* (F 221-B) (ภาพ ก= คะน้า, ข = Red oak, ค = Butter head, ง = Cos, จ = Green oak และ ฉ = ถั่วเขียว ; 1 = control, 2 =  $10^4$  spore/ml, 3 =  $10^6$  spore/ml และ 4 =  $10^8$  spore/ml)

จากการตรวจสอบปริมาณความอยู่รอดของเชื้อรา *F. oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B ในระบบ DRFT (ราก+ สารละลายธาตุอาหารพืช) ในทุกๆ กรรมวิธี พบว่าเชื้อดังกล่าวสามารถอยู่รอดได้ตลอดการทดลอง โดยมีปริมาณเมื่อสิ้นสุดการทดลองใกล้เคียงกับปริมาณที่ใส่เชื้อในระยะเริ่มต้น(ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 แสดงปริมาณเชื้อ *F. oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B ที่สามารถอยู่รอดในการปลูกพืชในระบบ DRFT ที่ใช้ปลูกพืช 6 ชนิด

กรรมวิธี	ปริมาณสปอร์เริ่มต้น	ปริมาณความอยู่รอดของเชื้อ <i>F. oxysporum</i> (F 221-B) (spore/ml)					
		Cos	Butter head	Red oak	Green oak	กะน้า	ถั่วเขียว
control	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
$10^4$ spore/ml	$2.2 \times 10^4$	$1.1 \times 10^4$	$1.5 \times 10^4$	$1.4 \times 10^4$	$1.6 \times 10^4$	$1.5 \times 10^4$	$1.5 \times 10^4$
$10^6$ spore/ml	$3.2 \times 10^6$	$1.6 \times 10^6$	$1.2 \times 10^6$	$1.4 \times 10^6$	$1.5 \times 10^6$	$1.6 \times 10^6$	$1.6 \times 10^6$
$10^8$ spore/ml	$3.6 \times 10^8$	$1.4 \times 10^8$	$1.4 \times 10^8$	$1.4 \times 10^8$	$1.4 \times 10^8$	$1.4 \times 10^8$	$1.6 \times 10^8$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.3 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *F. oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *F. oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B พบว่า การเจริญของโคโลนีมีสีเหลือง และสีภายใต้อาหารเลี้ยงเชื้อมีสีชมพู เมื่อระยะเวลาผ่านไป 3-5 วัน พบการสร้าง macroconidia มีรูปร่างเป็นเส้นยาว พระจันทร์ มีผนังกันระหว่างเซลล์ 3-5 เซลล์ มีขนาด  $29.85 \times 3.2 \mu\text{m}$  และเมื่อเวลาผ่านไป 7 วัน พบการสร้าง microconidia ขนาด  $9.80 \mu\text{m}$  มีรูปร่างทรงกระบอกรี มีผนังกันระหว่างเซลล์ 1 เซลล์ และเมื่อเวลาผ่านไปจนถึงวันที่ 9 เชื้อมีการสร้าง chlamydospore เกิดขึ้น ส่วนลักษณะการเจริญของเชื้อ F 422-G ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรค โคลนีมีสีเหลือง และสีภายใต้อาหารมีสีน้ำตาล เมื่อเวลาผ่านไป 2-3 วัน มีการสร้าง macroconidia มีรูปร่างเป็นเส้นยาวพระจันทร์ มีผนังกัน 3-5 เซลล์ มีขนาด  $28.85 \times 3 \mu\text{m}$  และเมื่อเวลาผ่านไป 5-7 วัน พบการสร้าง microconidia ขนาด  $9.60 \mu\text{m}$  มีรูปร่างแตกต่างกันไปตั้งแต่รูปกลมจนถึงรูปโค้ง ไม่มีผนังกันเซลล์ และวันที่ 8 มีการสร้าง chlamydospore ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับด้านการเจริญของเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์แล้ว พบว่าสายพันธุ์ F 221-B เจริญได้เร็วกว่า เชื้อ F 422-G ถึง 1-2 เซนติเมตรต่อวัน บนอาหารเลี้ยง Potato dextrose agar (PDA)

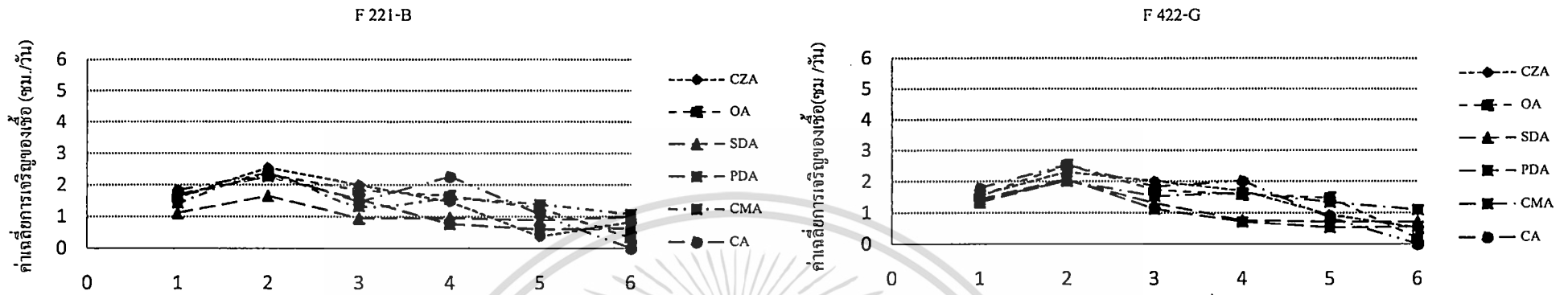
### 3.4 การศึกษาผลของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการเจริญทางเส้นใยและการสร้าง spore ของเชื้อรา *F. oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B และ F 422-G

จากการศึกษาผลของการเลี้ยงเชื้อรา *F. oxysporum* ทั้ง 2 สายพันธุ์ ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 6 ชนิด พบว่าเชื้อทดสอบทั้ง 2 สายพันธุ์ สามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารทั้ง 6 ชนิดใกล้เคียงกัน กล่าวคือในช่วงแรกการเจริญทางเส้นใยไม่แตกต่างกันในทุกๆ อาหารเลี้ยงเชื้อ วันที่ 2 จะเริ่มพบว่าอาหาร CA, OA และ CZA มีแนวโน้มที่จะให้ค่าการเจริญเติบโตของเส้นใยของเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์ ต่ำตามลำดับ และเมื่อวันที่ 5 พบว่าเชื้อทั้ง 2 ชนิดเจริญเต็มจานเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหาร CA (รูปที่ 2) แต่อย่างไรก็ตาม การเจริญของเชื้อทั้ง 2 บนอาหาร OA, CZA และ CMA ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับ CA สำหรับการสร้างสปอร์ พบว่าอาหาร OA เหมาะสมที่สุดสำหรับการสร้าง macroconidia และ microconidia ของ F 221-B คือ  $5.26$  และ  $2.18 \times 10^5$  spore/ml ตามลำดับ รองลงมาคือ อาหาร CMA สำหรับเชื้อ F 422-G อาหารที่ดีที่สุดสำหรับการสร้าง macroconidia และ microconidia คือ CA และ PDA ตามลำดับ ซึ่งผลดังกล่าวข้างต้นนี้สอดคล้องกับการรายงานของ Karataka (2008) ที่รายงานว่าอาหาร OA เป็นอาหารที่ดีที่สุดต่อการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *gerberae* และ *F. oxysporum* f.sp. *dianthi* กล่าวคือมีการสร้าง macroconidia และ microconidia อยู่ที่  $8.0$  และ  $4.0 \times 10^6$  spore/ml ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

## 4. สรุป

จากงานวิจัยครั้งนี้สรุปได้ว่า เชื้อ *F. oxysporum* สายพันธุ์ F 221-B สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทั้ง 6 ชนิดได้ กล่าวคือ จากการคลุกเมล็ดด้วยเชื้อดังกล่าวกับพืชทดลองมีผลต่อการงอกของเมล็ด ทำให้เมล็ดงอกถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเมื่อทำการเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมแล้วแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ หลังจากนั้นเมื่อย้ายพืชทดสอบมาปลูกลงในระบบ DRFT พบว่าความเข้มข้น  $10^8$  spore/ml ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชทั้ง จำนวนใบ ขนาดใบ คลอโรฟิลล์ น้ำหนักต้นและราก มีค่าที่สูงกว่าในระดับความเข้มข้นอื่นๆ ซึ่งเมื่อทำการเปรียบเทียบกับตัวควบคุมแล้ว เห็นว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และจากการทดสอบการเลี้ยงเชื้อ *Fusarium oxysporum* สายพันธุ์ 221-B ลงบนอาหารทั้ง 6 ชนิด พบว่าเชื้อราดังกล่าวสามารถเจริญได้ในทุกๆอาหาร แต่อาหาร CA เป็นอาหารที่ดีที่สุด กล่าวคือการเจริญของเส้นใยเชื้อดังกล่าวสามารถเจริญได้ดีที่สุด และ อาหาร OA เป็นอาหารที่สามารถทำให้เชื้อสร้างสปอร์ได้มาก จากที่กล่าวมาข้างต้น แสดงให้เห็นว่าเชื้อดังกล่าวเป็นเชื้อราที่มีคุณสมบัติในการส่งเสริมให้พืชเจริญเติบโตได้ (plant growth promoting fungus, PGPF) ซึ่งเชื้อสายพันธุ์นี้น่าจะได้นำเชื้อดังกล่าวมาศึกษาต่อถึงคุณสมบัติของการเป็นเชื้อราปฏิบัติน เพื่อที่จะได้ใช้เป็นแนวทางในการควบคุมโรคต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2 ค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อรา F 221-B และ F 422-G บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Czapek dox agar (CZA), Sabouraud dextrose agar (SDA), Oat meal agar (OA), Potato dextrose agar (PDA), Cornmeal agar (CMA) และ Carrot agar (CA)

ตารางที่ 4 แสดงการเจริญของเชื้อ *F. oxysproum* สายพันธุ์ F 221-B และ F 422-G บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อ	F 221-B				F 422-G					
	เส้นผ่านศูนย์กลาง	ลักษณะสีของโคโลนี		จำนวนสปอร์ (spore/ml)		เส้นผ่านศูนย์กลาง	ลักษณะสีของโคโลนี		จำนวนสปอร์ (spore/ml)	
	โคโลนี (ซม) 5 วัน	ด้านบน	ด้านล่าง	Macroconidia	Microconidia	โคโลนี (ซม) 5 วัน	ด้านบน	ด้านล่าง	Macroconidia	Microconidia
Czapek's Dox agar	7.9a <sup>v</sup>	White Velvet	Pink and white	6.4×10 <sup>6</sup> b <sup>1/</sup>	4×10 <sup>6</sup> b	8.4a <sup>1/</sup>	White Velvet	Brown and Yellow	7.8×10 <sup>6</sup> b <sup>1/</sup>	4.6×10 <sup>6</sup> b
Oat meal agar	8.6a	White cotton	White and Pink	5.26×10 <sup>6</sup> a	2.18×10 <sup>6</sup> a	8.8a	White cotton	White and Yellow	1.86×10 <sup>6</sup> ab	1.72×10 <sup>6</sup> ab
Sabouraud's dextrose agar	5.5c	White irregular margin	White irregular margin	7×10 <sup>6</sup> b	3.6×10 <sup>6</sup> b	6.1b	White irregular margin	White irregular margin	2.6×10 <sup>6</sup> b	1.8×10 <sup>6</sup> b
Potato dextrose agar	6.8b	White cotton	White and Yellow	5.8×10 <sup>6</sup> b	2.6×10 <sup>6</sup> b	5.8c	White cotton	Yellow	1.94×10 <sup>6</sup> ab	2.3×10 <sup>6</sup> a
Cornmeal agar	7.9a	White and Yellow	White and Pink	1.64×10 <sup>6</sup> ab	1.72×10 <sup>6</sup> ab	7.9a	White and Yellow	Yellow	1.12×10 <sup>6</sup> b	1.52×10 <sup>6</sup> ab
Carrot agar	9a	White and Yellow	White and Orange	1.5×10 <sup>6</sup> ab	1.46×10 <sup>6</sup> ab	9a	White and Yellow	Orange	2.62×10 <sup>6</sup> a	1.66×10 <sup>6</sup> ab

<sup>v</sup> ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ ในแต่ละคอลัมน์เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี และ จำนวนสปอร์ ที่ตามด้วยตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P = 0.05

## 5. เอกสารอ้างอิง

- ธิตี ทองคำงาม พรหมมาศ คูหาภาณูจน์ และ ถนิมนันต์ เจนอักษร. 2555. รายงานครั้งแรกของโรคเหี่ยวในผักสลัดที่ปลูกในระบบ NFT ที่เกิดจากเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* และการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับผักสลัด 4 สายพันธุ์. ใน การประชุมวิชาการงานเกษตรนเรศวร ครั้งที่ 10 หน้า 71-81.
- พรหมมาศ คูหาภาณูจน์. 2005. ศักยภาพของแบคทีเรียบริเวณเขตรากพืชในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดที่เกิดจากเชื้อ *Pythium myriotylum* ในระบบ NFT. ใน การประชุมวิชาการอรัญญาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 7 เชียงใหม่. หน้า 1082-1902.
- Adrian, P.L., Sonia, Z.V., Diana, F., Alicia, C. and Angel, C. 2007. Communication in Soil Science and Plant Analysis 38: 2877-2885.
- Ali, B., Hasan, S.A., Hayat, S., Hayat, Q., Yadav, S., Fariduddin, Q. and Ahmad, A. 2008. A role for brassinosteroids in the amelioration of aluminium stress through antioxidant system in mung bean. (*Vigna radiata* L. Wilczek). Environmental and Experimental Botany 62(2): 153-159.
- Anderson, R.G. and Schmidt, L.S. 2001. Nutrient analysis of selected commercial organic fertilizers for greenhouse lettuce production. Kentucky Agricultural Experiment Station, College of Agriculture, University of Kentucky.
- Benoit, F. 1992. Practical guide for simple soilless culture techniques. Sint-Katelijne-Waver European Vegetable R&D Center.
- Furlani, P.R. 1999. Hydroponic vegetable production in Brazil. Acta Horticulturae 481: 777-778.
- Horinouchi, H., Watanabe, H., Taguchi, Y., Muslim, A. and Hyakumachi, M. 2011. Biological control of Fusarium wilt of tomato with *Fusarium equiseti* GF 191 in both rock wool and soil systems. International Organization for Biological Control (IOBC) 56:915-923.
- Issarakraisila, M., Ma, Q. and Turner, D.W. 2007. Photosynthetic and growth responses of juvenile Chinese kale (*Brassica oleracea* var. *alboglabra*) and Caisin (*Brassica rapa* subsp. *parachinensis*) to waterlogging and water deficit. Scientia Horticulturae 111(2): 107-113.
- Jaenaksorn, T., Koohakan, P. and Prathuangwong, S. 2010. Efficacy of indigenous *Trichoderma* and PGPR for controlling *Pythium* root rot of lettuce (*Lactuca sativa* L.) grown in deep flow technique. 25-27. In Proceedings of the 16th Asian Agricultural Symposium (ASS) and 1<sup>st</sup> International Symposium on Agricultural Technology (ISAT). Bangkok, Thailand.
- Jensen, M.H. 2001. Deep flow hydroponics-Past, Present and Future. Controlled Environment Agriculture Center University of Arizona.
- Karnataka, J. 2008. Effect of media on the growth of *Fusarium oxysporum* f.sp. *gerberae* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi*. Agriculture Science 21(2): 303-304.
- Myeong, W.S., Dong, S.Y., Stanley, J.K., Gung, P.L. and Kuen, W.P. 2009. Sesquiterpene lactones and bitterness in Korean leaf lettuce cultivars. Hort Science 44(2): 246-249.
- Paulitz, T.C. 1997. Biological control of root pathogens in soilless and hydroponic systems. HortScience 32: 193-196.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Zuccearini, P. 2007 Mycorrhizal infection ameliorates chlorophyll content and nutrient uptake of lettuce exposed to saline irrigation. *Plant Soil Environment* 53(7): 283-289.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นาย ชิติ ทองคำงาม
วัน เดือน ปีเกิด	23 มีนาคม 2532
ภูมิลำเนา	143/21 ถนน ดอนนงก์ ตำบลตลาด อำเภอเมือง จังหวัดสุราษฎร์ธานี 84000
ประวัติการศึกษา	พ.ศ.2550 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนสุราษฎร์ธานี จังหวัดสุราษฎร์ธานี พ.ศ. 2554 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการจัดการ ศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ผลงานวิจัย	พ.ศ. 2555 ผลงานเรื่อง “รายงานครั้งแรกของโรคเหี่ยวใน ผักสลัดที่ปลูกในระบบ NFT ที่เกิดจากเชื้อ <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lactucae</i> และการทดสอบความสามารถใน การทำให้เกิดโรคร่วมกับผักสลัด 4 สายพันธุ์” ในการประชุม วิชาการ งานเกษตรนเรศวรครั้งที่ 10. วันที่ 24-25 กรกฎาคม 2555 ณ คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและ สิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก พ.ศ. 2556 ผลงานเรื่อง “ประสิทธิภาพของเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> (F 221-B) ในด้านส่งเสริมการเจริญเติบโตของ พืช 6 ชนิดในระบบไฮโดรโปนิกส์ และลักษณะการเจริญ ของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ” ในการประชุมสัมมนาทาง วิชาการมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก ครั้งที่ 6. วันที่ 15-17 พฤษภาคม 2556 ณ โรงแรมชลจันทร์ พัทยารีสอร์ท จังหวัดชลบุรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้