14410

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี

เรื่อง

การใช้ Trichoderma hamatum (Bonard.) Bain. ควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici

Biological control of Tomato wilt caused by Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici by using Trichoderma hamatum (Bonard) Bain.

T099015

โดย

นางสาว ปัญญรัตน์ สาลี

ป.ท.
ป524ก
2537

รศ.ดร. เกษม สร้อยทอง
ประธานกรรมการอาจารย์ที่ปรึกษา

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....39015
วัน,เดือน,ปี.....

ภาควิชารับรองแล้ว

นาย สำเริง ดำทอง
หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

ป.ท.
ป524ก
2536

# คำนิยม

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. เกษม สร้อยทอง อาจารย์ที่ปรึกษาที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและแก้ไขข้อบกพร่อง รวมถึงเป็นที่ปรึกษาทางวิชาการจนปัญหาพิเศษเล่มนี้สำเร็จเป็นรูปเล่มด้วยดี ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ปฏิบัติการติกเห็ด-รา คุณพิสมัย เรืองบุปผา และ คุณ ภูริสิทธิ์ ศรีนาง ที่ให้ความช่วยเหลืออำนวยความสะดวกในด้านต่าง ๆ ขอบคุณกำลังใจและความร่วมมือที่เพื่อน ๆ ให้มาตลอด

สุดท้าย ขอกราบขอบพระคุณ พ่อ แม่ ที่เสียสละทั้งแรงกาย แรงใจ ให้ความรักและกำลังใจจนงานสำเร็จลุล่วงด้วยดี

ปัญญรัตน์ สาลี

เดือน เมษายน พ.ศ. 2537

# บทคัดย่อ

ชื่อเรื่อง : การใช้ Trichoderma hamatum (Bonard.) Bain. ควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici

โดย : นางสาว ปัญญรัตน์ สาลี

ชื่อปริญญา : วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

สาขาวิชา : เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

ประธานกรรมการที่ปรึกษา : [signature]

(รศ.ดร. เกษม สร้อยทอง)

วันที่ 28 เดือน เมษายน พ.ศ. 2537

การจำแนกเชื้อรารอบรากมะเขือเทศ พบเชื้อราในดิน 11 species ได้แก่ Aspergillus flavus, A. fumigatus, A. niger, A. terreus, Cladosporium cladosporioides Curvularia eragrostidis, Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici, Penicillium nigricans, Sclerotium rolfsii, Trichoderma hamatum และ T. harzianum และเมื่อนำ T. hamatum มาใช้ทดสอบศักยภาพ ในการเป็นจุลินทรีย์ต่อต้านโรคเหี่ยวของมะเขือเทศจากเชื้อรา F. oxysporum f.sp. lycopersici ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม พบว่า T. hamatum สามารถเจริญครอบคลุมโคโลนีของเชื้อราสาเหตุทำให้เกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศพันธุ์สีดาได้ เมื่อนำรา T. hamatum ไปทดสอบเลี้ยงในอาหารที่มี pH และอุณหภูมิต่างกันพบว่า T. hamatum เจริญได้ดีที่สุดในอาหาร PDA + lactic acid (pH 4.5) ที่อุณหภูมิ 27-32 องศาเซลเซียส จากการนำ T. hamatum ไปผลิต เป็นยาเชื้อชนิดเม็ด (mycofungicide) และนำไปทดสอบในสภาพเรือนทดลอง เพื่อใช้ควบคุมโรคเหี่ยวมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา

F. oxysporum f.sp. lycopersici พบว่ายาเชื้อชนิดเม็ดที่ผลิตจาก T. hamatum ในอัตรา 0.25-0.50 กรัม/ถ้วย สามารถควบคุมโรคเหี่ยวมะเขือเทศได้เท่าเทียมการใช้สารเคมี PCNB

ABSTRACT

Title : Biological control of Tomato wilt caused by Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici by using Trichoderma hamatum (Bonard.) Bain.

By : Panyarat Salee

Degree : Bachelor of Science (Agriculture)

Major Field : Plant Pest Management Technology

Advisor : Kasam Soytong

( Assoc. Prof. Dr. Kasam Soytong )

The fungi from rhizoshere soils and roots of tomato were isolated and identified into 11 species as follow : Aspergillus flavus, A.fumigatus, A.niger, A.terreus,Cladosporium cladosporioides Curvularia eragrostidis, Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici, Penicillium nigricans, Sclerotium rolfsii, Trichoderma hamatum and T. harzianum. Withthis, T. hamatum was tested for antagonistic potential to control the Fusarium wilt of tomato in Bi-culture test in Petri-dishes which shown to be highly competitive growth when compared with the control. Moreover, T.hamatum grew well in the PDA media containing lactic acid, pH 4.5 at 27-32 C . Mycofungicide produced from T. hamatum in biopellet from could be prevented the pathogen causing Fusarium wilt of tomato at the rate of 0.25-0.50 g/pot in the greenhouse test as effectively as PCNB

# สารบาญ


| | หน้า |
|---|---|
| สารบาญ | (1) |
| สารบาญตาราง | (2) |
| สารบาญตารางผนวก | (3) |
| สารบาญภาพ | (5) |
| คำนำ | 1 |
| วัตถุประสงค์ | 3 |
| การตรวจเอกสาร | 4 |
| อุปกรณ์และวิธีการ | 10 |
| ผลการทดลอง | 17 |
| วิจารณ์ | 51 |
| สรุป | 53 |
| เอกสารอ้างอิง | 54 |

# สารบาญตาราง


| ตารางที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 1. | แสดงจำนวน isolates ของเชื้อราที่แยกได้จากรากมะเขือเทศพันธุ์สีดาที่อายุ 2 สัปดาห์ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อบนพื้นผิวหลายวิธีบนอาหารเลี้ยงเชื้อสภาพต่าง ๆ กัน | 25 |
| 2. | แสดงเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา Trichoderma hamatum ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อและอุณหภูมิที่ต่างกัน | 40 |
| 3. | แสดงเปอร์เซนต์การก่อโรคของเชื้อรา Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici ในการทดสอบความสามารถในการก่อโรค | 42 |
| 4. | แสดงค่าเฉลี่ย growth parameters ของมะเขือเทศจากการทดสอบในสภาพเรือนทดลอง | 45 |

สารบาญตารางภาคผนวก


| ตารางที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 1. | แสดงเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา Trichoderma hamatum ที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อและอุณหภูมิต่าง ๆ กัน | 59 |
| 2. | แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของอิทธิพลของอาหารเลี้ยงเชื้อและอุณหภูมิที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อรา Trichoderma hamatum | 60 |
| 3. | แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของเปอร์เซนต์การก่อโรคจากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคของรา Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici | 61 |
| 4. | แสดงค่าดัชนีการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศจากเชื้อรา Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici ในการทดสอบในสภาพเรือนทดลอง | 62 |
| 5. | แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความแตกต่างของค่าดัชนีการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ จากเชื้อรา Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici ในการทดสอบในสภาพเรือนทดลอง | 63 |
| 6. | แสดงจำนวนเมล็ดมะเขือเทศที่งอกในการทดสอบในสภาพเรือนทดลอง | 64 |
| 7. | แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของจำนวนเมล็ดที่งอกในการทดสอบในสภาพเรือนทดลอง | 65 |
| 8. | แสดงความสูงของต้นมะเขือเทศจากการปลูกด้วยวิธีการต่าง ๆ (treatments) ในสภาพเรือนทดลอง | 66 |
| 9. | แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความแตกต่างของความสูงของต้นจากการปลูกทดสอบในสภาพเรือนทดลอง | 67 |
| 10. | แสดงน้ำหนักต้นมะเขือเทศจากการปลูกด้วยวิธีการต่าง ๆ (treatments) | 68 |

หน้า

ในการปลูกทดสอบในสภาพเรือนทดลอง

11. แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความแตกต่างของน้ำหนักต้นจาก การปลูกทดสอบในสภาพเรือนทดลอง 69

12. แสดงความยาวรากของรากมะเขือเทศที่ปลูกด้วยวิธีการต่าง ๆ กัน (treatments) ในการปลูกทดสอบในสภาพเรือนทดลอง 70

13. แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความยาวราก จาก การปลูกทดสอบในสภาพเรือนทดลอง 71

14. แสดงน้ำหนักสดของรากมะเขือเทศที่ปลูกด้วยวิธีการต่าง ๆ (treatments) ในการปลูกทดสอบในสภาพเรือนทดลอง 72

15. แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของน้ำหนักสดราก จากการปลูกทดสอบ ในสภาพเรือนทดลอง 73

# สารบาญภาพ


| ภาพที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 1. | แสดงการล้างรากมะเขือเทศพันธุ์สีดาผ่านน้ำไหลเป็นเวลานาน 6 ชั่วโมง | 15 |
| 2. | แสดงลักษณะยาเชื้อชนิดเม็ดที่ผลิตจากเชื้อรา Trichoderma hamatum | 16 |
| 3. | แสดงลักษณะของเชื้อรา Aspergillus flavus Link. | 26 |
| 4. | แสดงลักษณะของเชื้อรา Aspergillus fumigatus Fresenius. | 27 |
| 5. | แสดงลักษณะของเชื้อรา Aspergillus niger V. Tiegh. | 28 |
| 6. | แสดงลักษณะของเชื้อรา Aspergillus terreus Thom. | 29 |
| 7. | แสดงลักษณะของเชื้อรา Cladosporium cladosporioides (Fres.)de Vries. | 30 |
| 8. | แสดงลักษณะของเชื้อรา Curvularia eragrostidis (P.Henn.) J.A. Meyer. | 31 |
| 9. | แสดงลักษณะของเชื้อรา Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici | 32 |
| 10. | แสดงลักษณะของเชื้อรา Penicillum nigricans (Bainier) | 33 |
| 11. | แสดงลักษณะของเชื้อรา Sclerotium rolfsii Tode. | 34 |
| 12. | แสดงลักษณะของเชื้อรา Trichoderma hamatum (Bonard.) Bain. | 35 |
| 13. | แสดงลักษณะของเชื้อรา Trichoderma harzianum Rifai. | 36 |
| 14. | แสดงการเลี้ยงเชื้อบนอาหาร POA ร่วมกันระหว่างรา Trichoderma hamatum และ Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici | 46 |
| 15. | แสดงการทดสอบความสามารถในการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศพันธุ์สีดา ที่เกิดจากเชื้อรา Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici ที่อายุ 3 สัปดาห์ | 47 |

หน้า

16. แสดงลักษณะกล้ามะเขือเทศพันธุ์สีดาที่ใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา PCNB และการทดลองเปรียบเทียบในการป้องกันและกำจัดเชื้อรา Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici ในสภาพเรือนทดลองที่อายุ 3 สัปดาห์ 48

17. แสดงการเปรียบเทียบระหว่างต้นกล้ามะเขือเทศที่เป็นโรคกับต้นกล้ามะเขือเทศที่ใช้ยาเชื้อในการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศพันธุ์สีดาที่เกิดจากเชื้อรา Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici 49

18. แสดงการเปรียบเทียบต้นกล้ามะเขือเทศที่ใช้ยาเชื้อและต้นกล้ามะเขือเทศที่ใช้สารเคมี PCNB ในการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici ที่อายุ 3 สัปดาห์ 50

# คำนำ

มะเขือเทศเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งที่นิยมปลูกกันทั่วไป ตลาดมีความต้องการสูงทั้งในลักษณะของการปลูกเป็นพืชรับประทานสด และปลูกเพื่อแปรรูปในโรงงานอุตสาหกรรม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระหว่างฤดูปลูกซึ่งจะอยู่ในช่วงฤดูฝน การดูแลรักษามะเขือเทศจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องปฏิบัติอย่างสม่ำเสมอ โรคและแมลงศัตรูมะเขือเทศนับว่าเป็นปัญหาสำคัญโดยเฉพาะโรคที่เกิดจากเชื้อราในดิน ซึ่งภาควิชาส่งเสริมและเผยแพร่ โครงการหลวง 2531 ได้แนะนำยาป้องกันกำจัดเชื้อรา (fungicide) สำหรับเกษตรกรไว้ได้แก่ โคแมค, แอนทราโคล คูปราวิท แอพรอน ไรโดมิล โดยเฉพาะโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici ซึ่งสามารถพบได้ทุกระยะการเจริญเติบโต และเป็นโรคสำคัญในระยะติดดอก ช่วงที่มีฝนตกชุก อากาศชื้น ได้แนะนำการป้องกันกำจัดโดยการ ฉีดพ่น คูปราวิท และโคแมค ตั้งแต่ระยะกล้าจนถึงเก็บเกี่ยว แต่ยาป้องกันกำจัดเชื้อราทั้งสองชนิด มีข้อควรระวังคือ ต้องใช้ในปริมาณที่พอดี ถ้ามีความเข้มข้นมากเกินไปจะทำให้ต้นเฉาตาย และห้ามฉีดพ่นในวันที่มีอากาศร้อน ข้อเสียสำหรับการใช้ยาป้องกันและกำจัดเชื้อราเป็นเวลานานและในปริมาณมากขึ้นมีผลทำให้เชื้อดื้อยา มีผลตกค้างในดินและสภาพแวดล้อมทำให้นิเวศน์วิทยาในดินเสียไป ยาป้องกันกำจัดเชื้อราอาจจะทำลายราที่เป็นจุลินทรีย์ต่อต้าน (microantagonist) ต่าง ๆ ได้

การควบคุมเชื้อโรคพืชโดยชีววิธีได้รับความสนใจนำมาใช้แทนการสารเคมี ถ้ารายงานการวิจัยของ เกษม (2533 ก) รายงานว่า ยาเชื้อชนิดเม็ดที่ผลิตจาก Chaetomium cupreum สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศพันธุ์สีดาที่เกิดจากเชื้อรา F. oxysporum f.sp. lycopersici โดยการโรยรอบโคนต้นมะเขือเทศในแปลงปลูกและเกษม (2534) กล่าวว่า การใช้ C. cupreum สามารถลดเปอร์เซนต์การเกิดโรคเน่าของมะเขือเทศจาก Sclerotium rolfsii ได้ผลดีในสภาพไร่ แม้จะด้อยประสิทธิภาพกว่าการควบคุมโดย

ใช้สาร PCNB แต่อย่างไรก็ตาม แนวโน้มของการเจริญเติบโตของต้นมะเขือเทศและผลผลิตในการทดลองเปรียบเทียบทั้งสองชนิดมีความใกล้เคียงกัน ดังที่กล่าวมาแล้วนั้น การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี จึงเป็นทางออกที่ควรนำไปใช้เพื่อแก้ไขปัญหาสารพิษตกค้างในสภาพแวดล้อมและนิเวศน์วิทยา ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญในปัจจุบัน

## วัตถุประสงค์

1. เพื่อจำแนกเชื้อราสาเหตุโรครากและเหี่ยวเทศจากแปลงปลูก

2. เพื่อศึกษาผลการใช้เชื้อรา Trichoderma hamatum ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici

3. เพื่อศึกษาแนวทางการผลิตยาเชื้อป้องกันกำจัดเชื้อรา (mycofungicide) ชนิดเม็ด (biopettets) เพื่อสะดวกในการใช้และเก็บรักษา

## การตรวจเอกสาร

มะเขือเทศมีชื่อสามัญว่า Tomato ชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Lycopersicon esculentum Mill. อยู่ในตระกูล Solanaceae พืชในตระกูลนี้นอกจากมะเขือเทศแล้วยังมีพืชอีกหลายชนิดที่มนุษย์เรานำมาใช้ประโยชน์ เช่น มันฝรั่ง พริก ยาสูบ มะเขือ เป็นต้น (เกียรติ เกษตร, 2532)

มะเขือเทศมีคุณค่าทางโภชนาการสูงโดยเป็นแหล่งโปรตีน วิตามิน และแร่ธาตุที่จำเป็นสำหรับมนุษย์ นอกจากนี้ยังให้ผลตลอดปี และมีราคาถูกกว่าเนื้อสัตว์ รูปร่างและขนาดรวมทั้งสีผลของมะเขือเทศจะต่างกันไปตามชนิดและพันธุ์ มีตั้งแต่ผลกลม รี ขนาดเล็ก ใหญ่ สีส้มสดหรือแดง

การปลูกมะเขือเทศในประเทศไทยแบ่งตามวัตถุประสงค์

เกียรติเกษตร (2532) รายงานว่า

1. การปลูกมะเขือเทศเพื่อส่งเสริมตลาดสำหรับบริโภคสด จากการสำรวจของกรมส่งเสริมการเกษตร พบว่า ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยเฉพาะจังหวัดหนองคาย นครพนม และขอนแก่นปลูกมะเขือเทศรับประทานสดมากที่สุด พันธุ์มะเขือเทศที่นิยมรับประทานสด ได้แก่ พันธุ์สีดา, พันธุ์สีดา มก., พันธุ์สีดาห้างฉัตร, พันธุ์เอสวีอาร์ดีซี-4 (SVRDC-4), พันธุ์แอล-28 (L-28), พันธุ์ซูก้าเพิร์ล 360 และ

2. การปลูกเพื่อส่งโรงงานอุตสาหกรรม โดยการปลูกนั้นคำนึงถึงคุณภาพเป็นพิเศษสำหรับแหล่งปลูกมะเขือเทศเพื่อส่งโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูป ได้แก่ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือ พันธุ์ที่นิยมปลูก ได้แก่ พันธุ์ มข. 2-0, พันธุ์ฟอร์จูน 360

นอกจากนี้ยังรายงานว่า พันธุ์มะเขือเทศที่ปลูกในไทยส่วนใหญ่เป็นพันธุ์ที่นำเข้ามาจากต่างประเทศทั้งสิ้น มะเขือเทศพันธุ์สีดามีอายุการเก็บเกี่ยว 74 วัน ลักษณะผลกลม มีสีแดงส้ม ทรงต้นค่อนข้างสูงแตกกิ่งก้านมาก ผลดก มะเขือเทศเป็นพืชที่เจริญเติบโตได้ดีในดินทั่วไป แต่

ดินที่เหมาะสม คือ ดินร่วนซุย มีอินทรีย์วัตถุสูง มีการระบายน้ำและอากาศได้ดี จึงจะทำให้มะเขือเทศสามารถเจริญเติบโตได้ดี ถ้าดินมีน้ำขังแฉะจะทำให้ต้นมะเขือเทศชะงักการเจริญเติบโตได้แคระแกรน หรือ อาจเหี่ยวและตายได้ ในสภาพดินเหนียวหรือดินร่วนปนทรายมะเขือเทศสามารถเจริญเติบโตได้แต่ต้องมีการปรับปรุงดินให้มีอินทรีย์วัตถุสูง สำหรับความเป็นกรด ด่าง (pH) ของดินที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของมะเขือเทศอยู่ระหว่าง 6-6.5 ความชื้นในอากาศก็มีผลกับมะเขือเทศ คือถ้าพื้นที่ปลูกมีความชื้นและอุณหภูมิของอากาศสูง จะทำให้มะเขือเทศเป็นโรคต่าง ๆ ที่เกิดกับใบได้ง่าย อุณหภูมิที่สูงหรือ ความชื้นต่ำก็มีผลทำให้ผลผลิตลดลงอย่างมาก โรคและแมลงเป็นปัญหาสำคัญประการหนึ่งในการปลูกมะเขือเทศ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการปลูกมะเขือเทศเพื่อการค้า เพราะสามารถทำลายต้นมะเขือเทศให้ได้รับความเสียหาย โดยเฉพาะโรคต่าง ๆ มีผลทำให้ผลผลิตที่ได้ต่ำลงมาก และบางโรคหากเกิดระบาดขึ้นก็ไม่สามารถแก้ไขให้กลับคืนเหมือนต้นปกติได้ นอกจากขุดทิ้งทำลายเสีย โรคที่ทำลายมะเขือเทศมีหลายโรคด้วยกัน แต่โรคที่นับว่าทำความเสียหายอย่างรุนแรงแก่การปลูกมะเขือเทศโรคหนึ่ง คือ โรคเหี่ยว ซึ่งเกิดจากเชื้อรา Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici

Watterson (1986) กล่าวว่า โรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici ซึ่งเรียกกันว่า โรค Fusarium Wilt เป็นโรคที่รุนแรงที่สุดในมะเขือเทศ และยังรายงานไว้ว่า เชื้อราชนิดนี้สามารถติดต่อทางเมล็ดและมีชีวิตอยู่ในดินได้เป็นเวลานาน สามารถติดต่อไปกับเศษซากพืช ระบบน้ำชลประทาน สามารถเข้าสู่พืชโดยทางราก อาการของโรคจะแสดงได้รวดเร็วเมื่อดินมีอุณหภูมิสูง ซึ่งโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อราดังกล่าวนี้ ต้นมะเขือเทศจะถูกทำลายตั้งแต่ระยะอยู่ในแปลงเพาะกล้า หรือหลังย้ายหล้า ต้นที่เป็นโรคเหี่ยวจากเชื้อรานั้น ยอดเหี่ยวแห้งเหลือง มีสีซีดต้นตายไป ถ้าเอาต้นที่เป็นโรคมาตัดขวางดูจะพบว่า บริเวณท่อน้ำท่ออาหารรอบ ๆ ต้นเน่า มีสีน้ำตาลหรือดำเป็นวงรอบโคนต้น บางครั้งจะพบเส้นใยของเชื้อราสีขาวอมชมพูอยู่บริเวณรอบโคนต้น หรือตามรากด้วย (ศูนย์ส่ง

เสริม และฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ, 2529)

การควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศนั้น เกษตรกรส่วนใหญ่ใช้ป้องกันกำจัดเชื้อราที่มีทั่วไปตามท้องตลาด เช่น PCNB, Benzimidazole, Benlate คลุกเมล็ดหรือราดหลังการปลูก ซึ่งสารเคมีเหล่านี้มีพิษตกค้างในดินได้เป็นเวลานาน ถ้าหากเป็นสารประเภทดูดซึมเข้าสู่ผลก็จะมีพิษตกค้างไปสู่ผู้บริโภค ดังนั้น การใช้จุลินทรีย์ต่อต้าน (Antagonist) ในการควบคุมเชื้อโรค (Pathogens) จึงมีผู้สนใจนำเอาไปทดลองการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีเป็นจำนวนมาก ถ้ารายงานของ อรพรรณและคณะ (2525) รายงานว่า การเพิ่มศัตรูของรา Sclerotium rolfsii ในธรรมชาติ เช่น Trichoderma harzianum โดยการปรับปรุงสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของรา T. harzianum สามารถลดการเกิดโรคโคนเน่า ของพืชตระกูลมะเขือเทศ โดยเท่าเทียมการใช้สารเคมี PCNB (pentachloronitrobenzene)

วีระศักดิ์ และระวีวรรณ (2528) พบว่า จากการปลูกเชื้อ T. harzianum ซึ่งแยกจากดินที่ปลูกมะเขือเทศ พริก ถั่วลิสง และโรครากเน่าของกระเทียม ทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและเรือนทดลอง เนื่องจากเชื้อนี้เป็น parasite ของเชื้อราในดินที่เป็นสาเหตุของโรคพืชหลายชนิด โดยเฉพาะเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคกับระบบรากดำรงชีพแบบ Saprophyte ซึ่งเจริญได้ดีในดินทั่วไปในสภาพ pH ต่ำ และอุณหภูมิสูง

เกษม (2529) พบว่า จากการศึกษาการจำแนกเชื้อราในเขตลาดกระบังโดยส่วนหนึ่งเป็นการแยกราจากดินที่ทำการปลูกมะเขือเทศ สามารถพบเชื้อรา Rhizopus arrhizus, Syncephalastru racemosum, Emericella rogulosa, Sordaria fimicola, A. nidulans, A. terreus, F.moniliform, F.tricinctum, T.virides, และ Torula sp.

เกษม (2532) รายงานว่า ในบางครั้งอาจพบสาเหตุการเน่าหลังการเก็บเกี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา Clalosporium spp. และ Rhizopus stolonifer

โดยเฉพาะการเน่าที่เกิดจาก Fusarium spp. นั้นผลจะมีลักษณะอ่อนนุ่มเนื้อเยื่อภายนอกจะเน่าฉ่ำน้ำ เส้นใยราสีเหลืองหรือสีชมพูเจริญปกคลุมอยู่ทั่วไป ขึ้นอยู่กับชนิดของรา Fusarium ใน species ต่าง ๆ ภายในของเนื้อเยื่อที่ติดเชื้อจะเป็นสีน้ำตาลอ่อน

เกษม (2535 ก) กล่าวว่า จากการใช้ยาเชื้อชนิดเม็ดที่ผลิตจาก Chaetomium cupreum ไปทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศพันธุ์สีดา ซึ่งเกิดจากเชื้อรา F. oxysporum f.sp. lycopersici ในสภาพไร่พบว่า การใช้ยาเชื้อโรยรอบโคนต้นมะเขือเทศ ในแปลงปลูกมีอัตราการเกิดโรคเพียง 7% ซึ่งเทียบกับแปลงมะเขือเทศที่ไม่ใช้ยาเชื้อ และไม่ใส่ปุ๋ยหมักมีโรคถึง 28%

Chiradej et al. (1992) รายงานว่า จากการทดลองใช้เชื้อรา Trichoderma isolate T-15, T-21, T-23, T-34, T-59, T-67, T-86, T-124, T-126 Trichoderma harzianum isolate Th-1 และ Penicillium sp.isolate P-30 ในการควบคุมโรคล้ำต้นเน่าของมะเขือเทศ จากเชื้อรา S.rolfsii ในเรือนทดลองพบว่า เมื่อนำสปอร์ของเชื้อรา ผสมกับข้าวฟ่างอบฆ่าเชื้อและรำข้าวอบฆ่าเชื้อ ในอัตราส่วน 1:5:25 โดยน้ำหนัก ไปโรยรอบโคนต้นมะเขือเทศที่ปลูกในสภาพธรรมชาติ เป็นเวลา 68 วัน มีเชื้อรา Trichoderma จำนวน 10 isolates และ Penicillium sp. จำนวน 1 isolate ที่สามารถลดการเกิดโรคเมื่อเปรียบเทียบกับ control

Sivan et al. (1984) รายงานการพบ เชื้อรา T.harzianum isolate ใหม่คือ T.harzianum (T-395) ที่สามารถควบคุมโรค damping-off ที่เกิดจากเชื้อ Pythium aphanidermatum ในถั่ว แตง มะเขือเทศ พริกไทย และ gypsophila โดยการใช้สปอร์คลุกเมล็ด ในอัตราส่วน $5x10^{9}$ สปอร์/มิลลิลิตร ก่อนนำเมล็ดลงปลูกในดิน

Lewis และ Papavizas (1985) พบว่า การใช้เส้นใยของรา Trichoderma spp. 14 isolates และ Gliocladium virens สามารถการเกิดของรา

Rhizotonia solani ได้อย่างน้อย 50% isolate ของ T. hamatum และ G. virens มีประสิทธิภาพมากกว่า T.harzianum และ T. viride

Ebenebe et al. (1986) ทำการแยกเชื้อราจากต้นมะเขือเทศที่เป็นโรคโคนเน่าพบ F. oxysporum, F. eqiseti, T.harzianum, T. hamatum, Aspergillus niger, A. flavus, A. sydowii และ A. foetidus นำมาคัดเลือกในห้องปฏิบัติการ ปรากฏว่า มีเชื้อราเพียง 2 ชนิด คือ T. viride และ T.harzianum สามารถเข้าทำลายโคโลนีของเชื้อรา Corticium rolfsii และในสภาพเรือนทดลองพบว่า T. viride สามารถยับยั้งโรคโคนเน่าของมะเขือเทศสาเหตุจากเชื้อรา C. rolfsii ได้ผลดี

Windham et al. (1986) ได้ทำการศึกษาเรื่องการเจริญเติบโตของต้นพืชที่เพิ่มขึ้นเนื่องจากการเพิ่มเชื้อ T. hamatum และ T. koningii ลงในดินที่ใช้ปลูกเพื่อเป็นที่แน่ชัดว่าการเจริญที่เพิ่มขึ้นเป็นผลมาจากเชื้อ Trichoderma spp. ที่ใส่ลงในดินอบฆ่าเชื้อ สามารถเพิ่มอัตราการงอกของต้นกล้ามะเขือเทศ และยาสูบ มากกว่าในการทดลองเปรียบเทียบ (control)

Mukhopadhyay และ Udadhyay (1986) สามารถใช้เชื้อ T. hamatum ซึ่งแยกจากดินที่ปลูกมะเขือเทศลงในดินที่มีเชื้อรา T.harzianum ซึ่งแยกจากดินที่ปลูกมะเขือเทศ S. rolfsii ซึ่งเป็นเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าของพืช และยืนยันผลว่า T. harzianum มีความทนทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราประเภท PCNB โดยเมื่อใช้ PCNB ในระดับความเข้มข้นต่ำร่วมกับเชื้อรา T. harzianum สามารถลดอัตราการเกิดโรครากเน่าในแปลงปลูกบีทได้ถึง 76%

Dewan and Sivasithamparam (1988) รายงานว่าพบเชื้อรา T. hamatum และ T. koningii บริเวณรอบรากของข้าวสาลีและ ryegrass ที่ฆ่าเชื้อพื้นผิวด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อมากกว่าบริเวณรอบรากที่ฆ่าเชื้อพื้นผิวด้วย NaOCl 6 เปอร์เซนต์ และ NaOCl

1.25 เปอร์เซนต์ เชื้อรา Trichoderma spp. เจริญได้ดีบนอาหาร PDA ผสม lactic acid (pH 4.5) มากกว่าบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (pH 5.6) หรือบนอาหาร PDA ผสม Streptomycin การเจริญของเชื้อรา Trichoderma spp. จะไม่มีความแตกต่างอย่างเห็นได้ชัดที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสขึ้นไป แต่จะมีความแตกต่างเห็นได้ชัดเมื่ออุณหภูมิต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียส

Jeschke & Nelson (1990) รายงานว่าจากการจำแนก species ของเชื้อรา Fusarium ที่ระดับความสูงของพื้นที่จะระดับน้ำทะเล 1400, 1100,850, 500, 250 และ 0 เมตร ใน Transkei จำนวน 10 species สามารถจำแนกอยู่ใน section, Sporetrichiella, Discolor, Gibbosum, Athrosporiella, Liscola, Elegans, Martiella และ Lateritium โดยที่ F. oxysporum, F. equiseti F. semitectum, F. nygamai และ F. solani พบได้ทั่วไป ส่วน F. oxysporum เป็นเชื้อที่พบได้จากตัวอย่างดิน

## อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการทดลองที่ตึกปฏิบัติการเห็ดและรา (ตึก M) ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง

**ขั้นตอนที่ 1 การแยกเชื้อราจากรากมะเขือเทศ**

เพาะมะเขือเทศพันธุ์สีดาในกระบะเพาะให้มีอายุประมาณ 2 สัปดาห์ สุ่มตัวอย่างมาจำนวน 20 ต้น นำมาล้างรากโดยวิธีผ่านน้ำไหลนาน 6 ชั่วโมง (ภาพที่ 1) ตัดรากมะเขือเทศทั้งหมดออกเป็นชิ้นขนาด 0.5 เซนติเมตร แบ่งรากออกเป็น 3 ส่วนเท่า ๆ กัน นำรากแต่ละส่วนไปล้างเพื่อฆ่าเชื้อพื้นผิว ในวิธีการต่าง ๆ กันโดย

ส่วนที่ 1 ฆ่าเชื้อพื้นผิวโดยใช้น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 4 ครั้ง

ส่วนที่ 2 ฆ่าเชื้อพื้นผิวในสารละลาย clorox 0.6 % นาน 10 นาที

ส่วนที่ 3 ฆ่าเชื้อพื้นผิวในสารละลาย clorox 1.25 % นาน 10 นาที

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อรา PDA (Potato Dextrose Agar) โดยใช้มันฝรั่งปอกเปลือก 200 กรัม ผงวุ้น 17 กรัม น้ำตาลกลูโคส 20 กรัม นำอาหารวุ้นไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที เทอาหารวุ้นลงไปในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อใช้สำหรับเลี้ยงเชื้อราจากรากมะเขือเทศ โดยแบ่งอาหารเลี้ยงเชื้อราออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่ PDA pH 5.5, PDA + HCL (0.5 ml/l), PDA + Streptomyein (100 มก./มล.) วางชิ้นส่วนของรากลงในจานอาหารทั้ง 3 ชนิด แยกจากกันให้มีปริมาณเท่า ๆกัน ประมาณ 50 ชิ้นต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) สังเกตการเจริญของเส้นใยหลังจากผ่านไป 24 ชั่วโมง แยกเส้นใยของเชื้อราที่เกิดขึ้น บริเวณชิ้นรากให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ เลี้ยงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำสไลด์ตรวจดูลักษณะของเชื้อจากกล้องจุลทรรศน์ ศึกษารายละเอียดและจัดจำแนกเชื้อราแต่ species แล้วย้ายราไปเลี้ยงในหลอดอาหารเอียง PDA นำไปเก็บ

รักษาไว้ โดยการเท mineral oil ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อด้วยความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลานาน 20 นาที ลงในหลอดอาหารเอียงให้ท่วมอาหาร 1 ซม. เก็บหลอดอาหารโดยการตั้งตรงเพื่อป้องกันไม่ให้ mineral oil ไหลออกมานอกหลอด

**ขั้นที่ 2 การทดสอบอิทธิพลของอาหารเลี้ยงเชื้อและอุณหภูมิที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma hamatum***

ทำการทดลองแบบ 3 factors factorial experiment in Completely Ramdomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ 6 Treatment Combimation โดยมี factor A เป็นเวลา $A_1$ = เวลา 24 ชั่วโมง, $A_2$ = ที่เวลา 48 ชั่วโมง และ $A_3$ = ที่เวลา 72 ชั่วโมง factor B เป็นอุณหภูมิ โดยที่ $B_1$ = ที่อุณหภูมิห้องปกติ (27-32 องศาเซสเซียส), $B_2$ = ที่อุณหภูมิห้องปรับอากาศ (22-25 องศาเซสเซียส) และ $B_3$ = ที่อุณหภูมิห้องที่แช่เย็น (5-7 องศาเซสเซียส) factor C เป็นชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยที่ $C_1$ = PDA (pH 5.5), $C_2$ = PDA + streptomycin (pH 5.6), $C_3$ = PDA + Hcl (pH 4.3) และ $C_4$ = PDA + Lactic acid (pH 4.5)

เตรียม PDA (pH 5.5), PDA + Streptomycin (pH 5.6) , PDA + Hcl (pH 4.3) และ PDA + Lactic acid (pH 4.5) ย้ายเชื้อรา *T.hamatum* ที่แยกได้จากรอบรากมะเขือเทศในขั้นตอนที่ 1 อายุ 7 วัน ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้ชิ้นวุ้นอยู่บริเวณกึ่งกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ชุด ที่อุณหภูมิต่าง ๆ กัน คือ ที่อุณหภูมิปกติ (27-32 องศาเซสเซียส), อุณหภูมิห้องปรับอากาศ (22-25 องศาเซสเซียส), อุณหภูมิห้องแช่เย็น (5-7 องศาเซสเซียส) สังเกตการเจริญเติบโตของราโดยการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของรา (เซนติเมตร ) ที่ 24,48 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ

**ขั้นที่ 3 ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของรา *Fusarium oxysporum f.sp.lycopersici***

ทำการแยกเชื้อราสาเหตุโรคพืชจากผลมะเขือเทศที่แสดงอาการของโรค โดยการนำมา

ทำ moistchamber บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 22-25 องศาเซสเซียส เป็นเวลา 7 วัน เมื่อพบเส้นใยของเชื้อราเจริญขึ้นจึงย้ายเชื้อลงในอาหาร PDA ให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ นำรำข้าวคลุกเคล้ากับน้ำแล้วบรรจุลงในถุงพลาสติกทนร้อน ขนาด 7 x 12 ซม. ถุงละ 20 กรัม จำนวน 10 ถุง แล้วนำไปนึ่งในหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121องศาเซสเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 50 นาที ย้ายเชื้อรา F. oxysporum f.sp. lycopresici ซึ่งเป็นเชื้อราสาเหตุทำให้เกิดโรคเหี่ยวในมะเขือเทศพันธุ์สีดา โดยการใช้ cork borrer ตัดชิ้นวุ้นที่มีเชื้อราสาเหตุโรคพืชเจริญอยู่ที่มีอายุ 3 วัน โดยให้ชิ้นวุ้นมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 5 มิลลิเมตร จำนวน 5 ชิ้นวุ้นต่อรำข้าวที่อบฆ่าเชื้อ 1 ถุง บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 27-32 องศาเซสเซียส เป็นเวลา 10 วัน นำดินผสมปุ๋ยหมัก (ในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร) ที่จะใช้ในการทดลอง อบฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอ 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซสเซียส นาน 50 นาที ติดต่อกันเป็นเวลา 3 วัน แบ่งดินใส่ถ้วยพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3.5 นิ้ว สูง 5 นิ้ว แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุด การทดลองเปรียบเทียบ control ไม่ผสมเชื้อรา F. oxysporum f.sp. lycopersici ลงในดินอบฆ่าเชื้อจำนวน 5 ถ้วย และใช้เชื้อราสาเหตุโรคพืชที่เลี้ยงในรำข้าวเป็นเวลา 10 วัน ผสมกับดินอบฆ่าเชื้อในอัตรา รำข้าว 1 ถุง (20 กรัม) ต่อดินอบฆ่าเชื้อ 200 กรัม จำนวน 5 ถ้วย นำเมล็ดมะเขือเทศพันธุ์สีดาเพาะลงในถ้วยดังกล่าว จำนวนถ้วยละ 10 เมล็ด สังเกตต้นที่แสดงอาการของโรค นำต้นกล้ามะเขือเทศที่แสดงอาการของโรคมาทำการแยกเชื้อราบริเวณรอบรากและโคนต้นโดย ถอนต้นกล้ามะเขือเทศที่ฆ่าเชื้อ ตัดเป็นชิ้นขนาด 0.5 ซม. วางลงในจานอาหาร PDA สังเกตการเจริญของราและนำมาจัดจำแนก โดยการทำสไลด์ตรวจสอบว่าเป็นเชื้อรา F. oxysporum f.sp.lycopersici หรือไม่

**ขั้นตอนที่ 4 ทดสอบความสัมพันธุ์ของเชื้อรา Trichoderma hamatum และ Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici**

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (Potato Dextrose Agar) แล้วย้ายชิ้นวุ้นที่มีเชื้อรา

T. hamatum อายุ 7 วัน และ F. oxysporum f.sp. lycopersici อายุ 7 วัน โดยการใช้ Cork borrer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้วโดยลนไฟบนตะเกียงแอลกอฮอล์ ใช้เข็มเขี่ยย้ายเชื้อราทั้งสองลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการจัดแบ่งอาณาเขตไว้ 2 ส่วน บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 27-32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน วัดความกว้างของ clear zone และบันทึกผลการทดลองเปรียบเทียบกับจานอาหารเลี้ยงเชื้อรา T. hamatum และเชื้อรา F. oxysporum f.sp. lycopersici ที่เป็นการทดลองเปรียบเทียบ สังเกตและเปรียบเทียบการเจริญแข่งขันกันระหว่างเชื้อราทั้งสองชนิด

**การทดสอบในสภาพเรือนทดลอง**

ทำการผลิตยาเชื้อป้องกันกำจัดเชื้อราชนิดเม็ด จากเชื้อรา T. hamatum ตามวิธีการของเกษม (2532 ข.) ดังแสดงในภาพที่ 2 ทำการตรวจสอบความมีชีวิต (viable population) ของยาเชื้อชนิดเม็ด ซึ่งเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องปรับอากาศ 22-25 องศาเซลเซียส ที่ 1 วัน, 2 สัปดาห์, 4 สัปดาห์ และ 6 สัปดาห์ ตามลำดับ โดยนำยาเชื้อชนิดเม็ดวางลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA แล้วสังเกตการเจริญของโคโลนีเชื้อราในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

การเตรียมเชื้อก่อโรค F. oxysporum f.sp. lycopersici โดยล้างเมล็ดข้าวฟ่างให้สะอาดนำไปอบฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลานาน 50 นาที บรรจุเมล็ดข้าวฟ่างในถุงพลาสติกทนร้อน ขนาด 7x12 ซม. ถุงละ 20 กรัม จำนวน 24 ถุง จากนั้นทำการย้ายชิ้นวุ้นที่มีเชื้อราสาเหตุโรคพืชเจริญอยู่ลงในถุง โดยเขี่ยชิ้นวุ้นที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 5 มิลลิเมตร จำนวน 5 ชิ้น ต่อ 1 ถุง บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 27-32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน นำดินผสมปุ๋ยหมัก อัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร อบฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 50 นาที แบ่งดินอบฆ่าเชื้อลงใน

ถ้วยพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3.5 นิ้ว สูง 5 นิ้ว ในปริมาณ 200 กรัม ผสมกับเชื้อก่อโรคที่เลี้ยงในเมล็ดข้าวฟ่างในปริมาณ 20 กรัม จำนวน 24 ถ้วย โดยทำการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 replications 6 treatments ดังนี้

$T_1$ ตัวเปรียบเทียบ (control) ใช้ดินอบฆ่าเชื้อผสมกับเชื้อก่อโรค

$T_2$ ใช้ยาเชื้อชนิดเม็ด CCG ในอัตรา 0.25 กรัม/ถ้วย

$T_3$ ใช้ยาเชื้อชนิดเม็ด CCG ในอัตรา 0.50 กรัม/ถ้วย

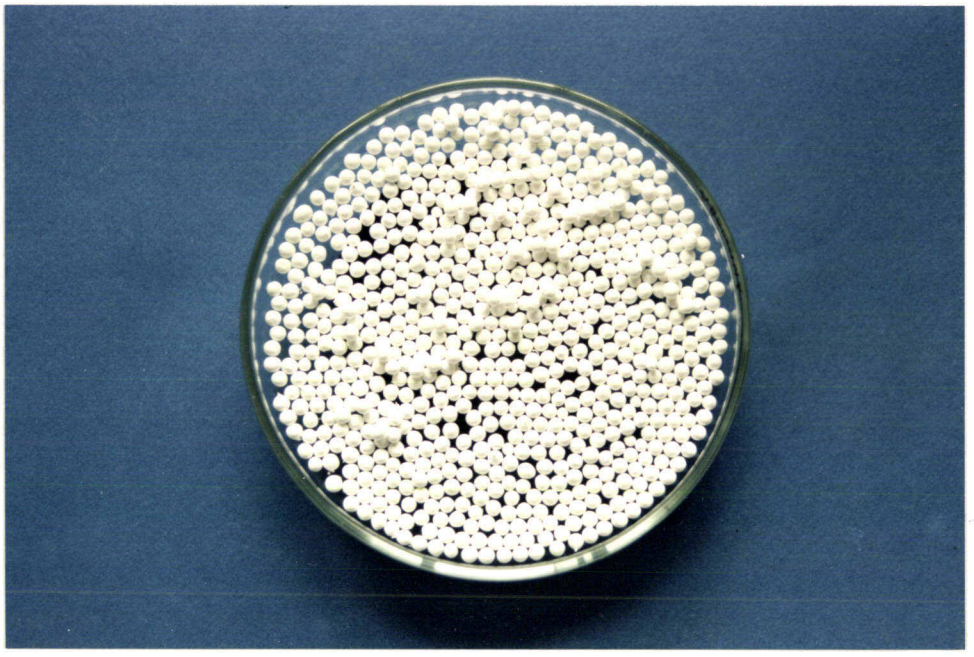
$T_4$ ใช้ยาเชื้อชนิดเม็ด CC ในอัตรา 0.25 กรัม/ถ้วย

$T_5$ ใช้ยาเชื้อชนิดเม็ด CC ในอัตรา 0.50 กรัม/ถ้วย

$T_6$ ใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อรา PCNB (1,000 ppm.)

ใน treatment ที่ 2, 3, 4 และ 5 ทำการหว่านยาเชื้อลงในดินปลูกดังกล่าว และบ่มไว้เป็นเวลา 2 สัปดาห์ จึงทำการเพาะเมล็ดมะเขือเทศพันธุ์สีดา จำนวน 5 เมล็ดต่อถ้วย ดูแล รดน้ำ บันทึกผลการทดลองโดยนับจำนวนต้นที่งอก การเกิดโรค ความยาวต้น ความยาวราก น้ำหนักสด และน้ำหนักสดราก

ภาพที่ 1 แสดงการล้างรากมะเขือเทศพันธุ์สีดาอายุประมาณ 2 สัปดาห์ ผ่านน้ำไหล เป็นเวลานาน 6 ชั่วโมง



ภาพที่ 2 แสดงลักษณะยาเชื้อชนิดเม็ดที่ผลิตจากเชื้อรา T. hamatum

## ผลการทดลอง

การแยกเชื้อราจากมะเขือเทศ

จากการแยกเชื้อราจากรากมะเขือเทศพันธุ์สีดา อายุ 2 สัปดาห์ จากกระบะเพาะพบเชื้อราจำนวน 11 isolates จำแนกได้ 11 species ดังนี้ Aspergillus flavus Lins. Isolate No. A.0104, A. fumigatus Fresenius. Isolate No. A.0113 A. niger V.Tiegh. Isolate No. B.0202,A.terrens Thom. Isolate No. A.3009 , Cladosporium cladosporioides (Fres.) de Vries. Isolate No.0110, Curvularia eragrostidis (P.Henn.) J.A. Meyer. Isolate No. A. 0305, Fusarium oxysporum Schlecht. f.sp. lycopersici (Sacc.) Synder & Hansen. Isolate No. C 0101, Penicillium nigricans (Bainier.) Thom. Isolate No. A. 0103, Sclerotium rolfsii Sacc. Isolate No. A.0206, Trichoderma hamatum (Bonard.) Bain. Isolte No. B. 0102 และ T. harzianum Rifai. Isolate No. A. 0404. พบเชื้อราที่แยกได้จากการฆ่าเชื้อบริเวณพื้นผิวรากมะเขือเทศ ด้วยน้ำกลั่น 4 ครั้ง บนอาหาร PDA (pH. 5.5) จำนวน 4 isolates ได้แก่เชื้อรา Aspergillus flavus , A. fumigatus , Cladosporium cladosporioides และ Penicillium nigricans บนอาหาร PDA + Streptomycin (pH. 5.6) พบเชื้อรา 1 isolate ได้แก่ Sclerotium rolfsii บนอาหาร PDA + HCl (pH. 4.3) พบเชื้อรา 2 isolates ได้แก่ Aspergillus terreus และ Curvularia eragrostidis และบนอาหาร PDA + lactic acid (pH. 4.5) พบเชื้อรา 1 isolate ได้แก่ Trichoderma harzianum สำหรับเชื้อราที่แยกได้จากการฆ่าเชื้อบริเวณพื้นผิวรากมะเขือเทศด้วย clorox 0.6% นาน 10 นาที บนอาหาร PDA (pH. 5.5) พบเชื้อรา

99015

1 isolate ได้แก่ Trichoderma hamatum บนอาหาร PDA + Streptomycin (pH.5.6) พบเชื้อรา 1 isolate ได้แก่ Aspergillus niger บนอาหาร PDA+ HCl (pH.4.3) และ PDA + lactic acid (pH.4.5) ไม่พบเชื้อราใดๆ ส่วนเชื้อราที่แยกได้จากการฆ่าเชื้อบริเวณพื้นผิวรากมะเขือเทศด้วย clorox 1.25% นาน 10 นาที บนอาหาร PDA (pH.5.5) พบเชื้อรา 1 isolate ได้แก่ Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici บนอาหาร PDA + streptomycin (pH. 5.6) , PDA + HCl (pH.4.3) และ PDA + lactic acid (pH.4.5) ไม่พบเชื้อราใดๆ (ตารางที่ 1)

รายละเอียดของเชื้อรา (specie description)

Aspergillus flavus Link.

Division Amastigomycota

Sub-division Deuteromycotina

Form-class Deuteromycetes

Form-order Moniliales

Form-family Moniliacaeae

Form-genus Aspergillus

Form-specie flavus

ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA สีเขียวอมเหลือง เจริญเติบโตขยายออกเป็นวง Conidial head แบบ radiate มี sterigmata 2 ชั้น vesicle ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 30 ไมครอน phialophore ไม่มีสี ผิวค่อนข้างขรุขระ ความกว้าง 12 ไมครอน ยาว 450-600 ไมครอน ที่ปลาย phialide สามารถให้กำเนิด phialospores สีเขียวอ่อน กลม ผิวขรุขระ ขนาด 3.8 ไมครอน มี foot cell สามารถสร้างส่วนขยายพันธุ์เรียกว่า sclerotia บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (ภาพที่ 2)

Aspergillus niger V. Tiegh.

Division Amastigomycota

Sub-division Deuteromycotina

Form-class Deuteromycota

Form-order Moniliales

Form-family Moniliaceae

Form-genus Aspergillus

Form-specie niger

โคโลนีบนอาหาร PDA เป็นสีดำถ่าน เจริญได้รวดเร็ว conidial head เป็นแบบ radiate มี sterigmata 2 ชั้น vesicle กลมใหญ่ (globose) สีใส ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 38 ไมครอน phialophore กว้าง 12-19 ไมครอน ยาว 700 ไมครอน phialospores สีดำ กลม ผนังขรุขระ ขนาด 3.8-4.3 ไมครอน มี foot cell ที่มีผนังหนา มีหลายรูปร่าง (ภาพที่4)

Aspergillus terreus Thom. Tsolate No. (a) 0309

Division Amastiogomycota

Sub-division Deuteromycotina

Form-class Deuteromycetes

Form-order Moniliales

Form-family Moniliaceae

Form-genus Aspergillus

Form-specie terreus

โคโลนีบนจานอาหาร PDA สีน้ำตาลอ่อนเจริญเต็มภายในเวลา 8-10 วัน conidial head แบบ columnar อัดกันแน่นเห็นเป็นสีน้ำตาลอมเหลือง sterigmata 2 ชั้น vesicle ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 17 ไมครอน phialophore สีใสขนาดกว้าง 7.6 ไมครอน ยาว 250 ไมครอน phialospore รูปร่างกลม ผิวเรียบ ขนาด 2 ไมครอน มี foot cell (ภาพที่5)

Cladosporium cladosporioides (Fres.) de Vries.

Division Eumycota

Sub-division Deuteromycotina

Form-class Hyphomycetes

Form-order Moniliales or. Hyphales

Form-family Dematiaceae

Form-genus Cladosporium

Form-specie Cladosporioides

โคโลนีบนอาหาร PDA สีเข้มเกือบดำ conidiophores ตรง ยาว สีเข้ม แตกกิ่งก้านได้มากบริเวณยอดมี conidia สีเข้ม cell เดียว,หลายรูปร่างและหลายขนาด ตั้งแต่รูปร่างเกือบกลมไปจนถึงรูปทรงกระบอก มีขนาด 2.5-5 x 3.5-15 ไมครอน บริเวณหัวท้าย มีสีเข้ม (ภาพที่6)

Curvularia eragrostidis (P.Henn.) J.A. Meyer

Division Eumycota

Sub-division Deuteromycotina

Form-class Hyphomycetes

Form-order Moniliales or Hyphales

Form-family Dematiaceae

14110

Form-genus Curvularia

Form-splecie eragrostidis

โคโลนีสีเข้ม เกือบดำบนอาหาร PDA เจริญเติบโตรวดเร็วแต่มีการสร้าง cjonidia ช้า conidiophore สีเข้ม หรือ สีน้ำตาล เป็นแบบ geniculata มี septate ผิวเรียบ สร้าง conidia ตรงปลาย conidia มีสีน้ำตาลเข้มถึงดำ มี 2-5 cell ขนาด 13x25 ไมครอน ส่วนปลายของ conidia เป็นเซลที่มีสีใส ตรงกลาง conidia เป็น cell สีเข้ม ส่วนใหญ่จะพบ conidia รูป broadly fusiform (ภาพที่7)

Fusarium oxysporum Schlecht. f.sp. lycopersici (Sacc.) Synder&Hansen

Division Eumycota

Sub-division Deuteromycotina

Form-class Hyphomycetes

Form-order Moniliales or Hyphales

Form-family Tuberculariaceae

Form-genus Fusarium

Form-specie oxysporum

Forma-specialise lycopersici

โคโลนีบนอาหาร PDA มีสีขาวอมชมพู ถึงเหลืองอ่อนๆเมื่อแก่จะมีสีเข้มขึ้น เส้นใยอ่อนนุ่มฟู สร้าง microconidia ที่ส่วนปลาย conidiophore ที่เกิดเดี่ยวๆ บนด้านข้างของเส้นใย หรือจากก้านที่แตกออกมาเป็น conidiophore สั้นๆ microconidia เป็นรูปรีหรือรูปไข่ หลายขนาด บางครั้งพบว่าเป็นรูปทรงกระบอกสั้น มี 1-2 cell ขนาด 2x7 ไมครอน macroconidia สร้างที่ส่วนปลาย เป็นรูปโค้งพระจันทร์เสี้ยวหัวท้ายแหลม มี 3-5 septate ขนาด 4x38 ไมครอน ด้านปลายมี hook (ภาพที่8)

[illegible]

Penicillium nigricans (Bainer.) Thom.

Division Eumycota

Sub-division Deuteromycotina

Form-class Deuteromycetes

Form-order Moniliales

Form-family Moniliaceae

Form-genus Penicillium

Form-specie nigricans

โคโลนีบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีสีเขียวอมเทา เจริญเร็ว แต่มีขอบเขตการเจริญของโคโลนีจำกัด phialophore สีใส ผนังเรียบ penicilli แบบ biverticillate-symmetrical สร้างสารสีเหลืองรอบๆโคโลนีบนอาหาร PDA สร้าง phialosres รูปร่างกลมมีหนามขนาดเล็กกระจายอยู่บนผิว ขนาดของ phialospore 2.5-3 ไมครอน (ภาพที่9)

Sclerotium rolfsii Sacc.

Division Eumycota

Sub-division Deuteromycotina

Form-class Agronomycetes

Form-order Mycelia Sterilia

Form-family -

Form-genus Sclerotium

Form-specie rolfsii

โคโลนีบนอาหาร PDA สีขาว เส้นใยหยาบมีผนังกั้น เจริญรวดเร็วราบไปบนผิวหน้าอาหาร มีการสร้าง ส่วนขยายพันธุ์ เมื่ออายุประมาณ 7 วัน เรียกว่า sclerotia

มีลักษณะเป็นเม็ดขาว ในระยะแรกเมื่ออายุมากขึ้นเม็ดขยายพันธุ์จะเป็นสีน้ำตาลแก่ กลม แข็ง ขนาด เส้นผ่านศูนย์กลาง 1-1.5 มิลลิเมตร (ภาพที่10)

Trichodesma hamatum (Bonard.) Bain.

Division Eumycota

Sub-division Deuteromycotina

Form-class Hyphomycetes

Form-order Moniliales or Hyphales

Form-family Moniliaceae

Form-genus Trichoderma

Form-specie hamatum

โคโลนีบนอาหาร PDA สีเขียว เมื่อยังอ่อนจะเห็นเป็นสีขาว เชื้อสามารถสร้างสารสีเหลืองและปลดปล่อยลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA phialophore สีใสมีการแตกกิ่งจากจุดเดียวกันออกเป็น 3 แขนง phialide มีขนาด 5.5x7.0 ไมครอน phialospores รูปทรงกระบอกสั้น สีเขียว ผนังเรียบมีขนาด 2.3x3 ไมครอน phialospores จะเกาะกันเป็นกลุ่ม เรียกว่า spore ball (ภาพที่11)

Trichoderma harzianum Rifai.

Division Eumycota

Sup-division Deuteromycotina

Form-class Hyphomycetes

Form-order Moniliales or Hyphales

Form-family Moniliaceae

Form-genus Trichoderma

Form-specie harzianum

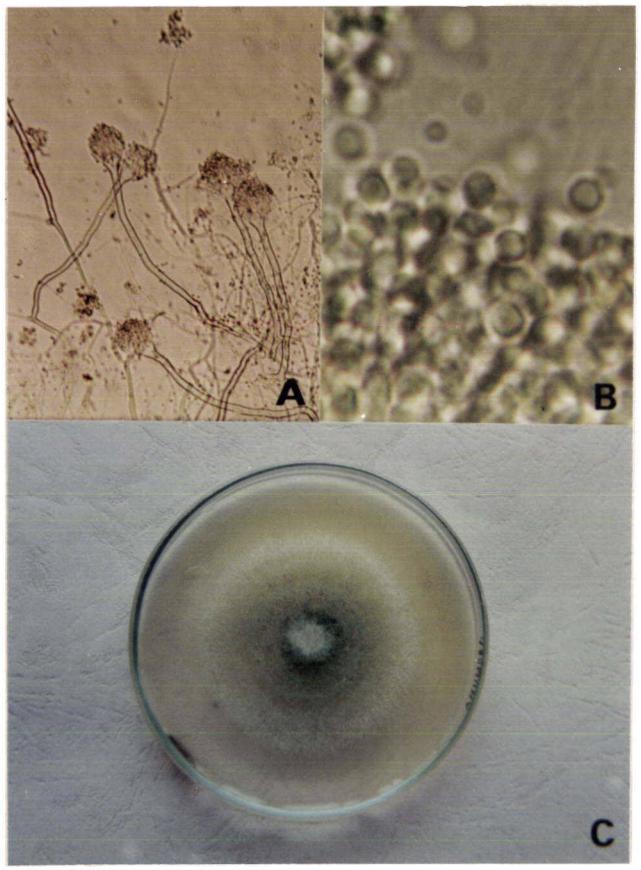
โคโลนีบนอาหาร PDA เจริญรวดเร็ว เมื่อยังอ่อนเส้นใยเป็นสีขาวฟู เมื่ออายุมากเปลี่ยนเป็นสีเขียว ไม่สร้างสารสีบนอาหาร PDA การแตกกิ่งก้านไม่อ่อนช้อยจะแตกออกเป็นสาขาตรงๆ phialide เกิดจากปลาย phialophore ที่จุดเดียวกัน แตกเป็น 3 กิ่ง phialide มีขนาด 5.5 x6.5 ไมครอน phialospores รูปไข่ หรือ รูปร่างเกือบกลม สีเขียว ผนังเรียบ ขนาด 2.5-3x2.5-3 ไมครอน (ภาพที่12)

ตารางที่ 1 จำนวน isolates ของเชื้อราที่แยกได้จากรากมะเขือเทศพันธุ์สีดา ที่อายุ 2 สัปดาห์ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อบนพื้นผิวหลายวิธี บนอาหารเลี้ยงเชื้อสภาพต่าง ๆ กัน

| เชื้อรา | A[1] | | | | B | | | | C | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1[2] | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Aspergillus flavus | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Aspergillus fumigatus | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Aspergillus niger | - | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - |
| Aspergillus terreus | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Cladosporium curvularia | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| curvularia eragrostidis | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Fusariumo xysporum .sp. lycopersici | - | - | - | - | - | - | - | - | 1 | - | - | - |
| Penicillium nigricans | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sclerotium rolfsii | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Trichoderma hamatum | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - |
| Trichoderma harzianum | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - |

1. A = ฆ่าเชื้อพื้นผิวรากด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 4 ครั้ง, B = ฆ่าเชื้อพื้นผิวรากด้วย clorox 0.6% นาน 10 นาที และ C = ฆ่าเชื้อพื้นผิวรากด้วย clorox 1.25% นาน 10 นาที

2. 1 = บนอาหาร PDA (pH 5.5), 3 = บนอาหาร PDA + HCl (pH 4.3) และ 4 = บนอาหาร PDA + lactic acid (pH 4.5)

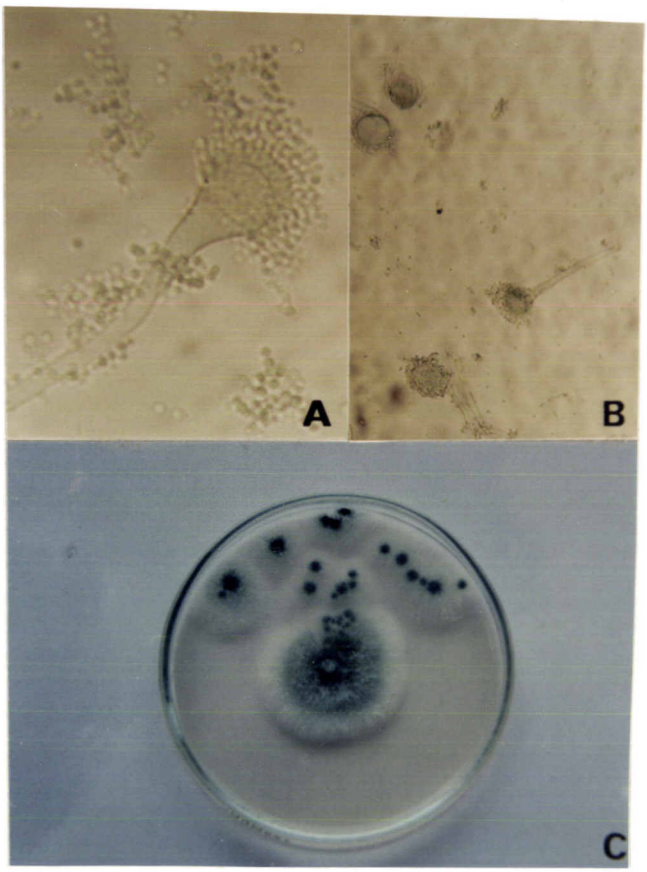



ภาพที่ 3 Aspergillus flavus Link.

A = ลักษณะ thallus (100x)

B = ลักษณะ phialospores (1,000x)

C = ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 5 วัน

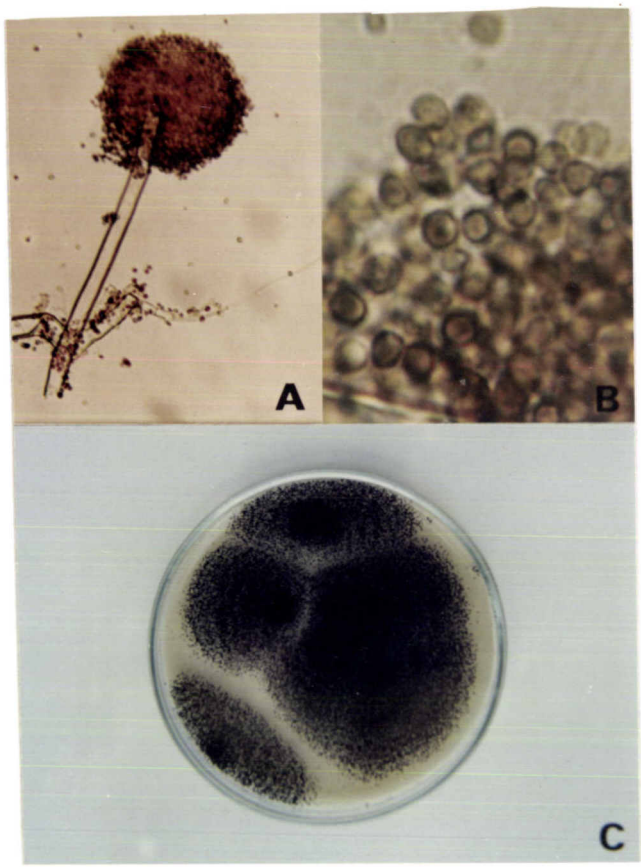



ภาพที่ 4 Aspergillus fumigatus Fresenius

A = ลักษณะ head, vesicle, phialide, phialospores (400x)

B = ลักษณะ thalli (100x)

C = ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 5 วัน

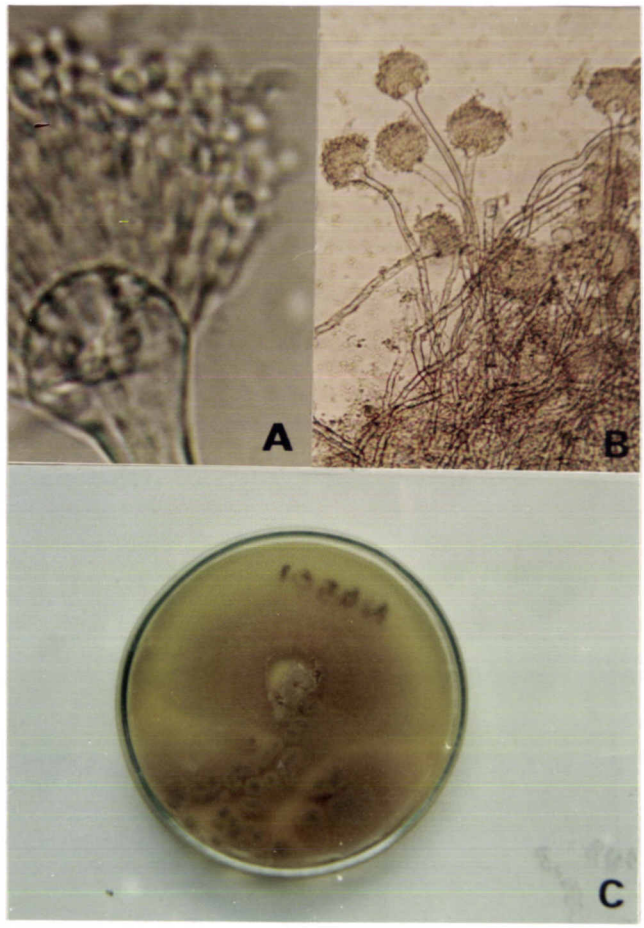



ภาพที่ 5 Aspergillus niger V. Tiegh

A = ลักษณะ thallus (400x)

B = ลักษณะ phialospores (1,000x)

C = ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 5 วัน

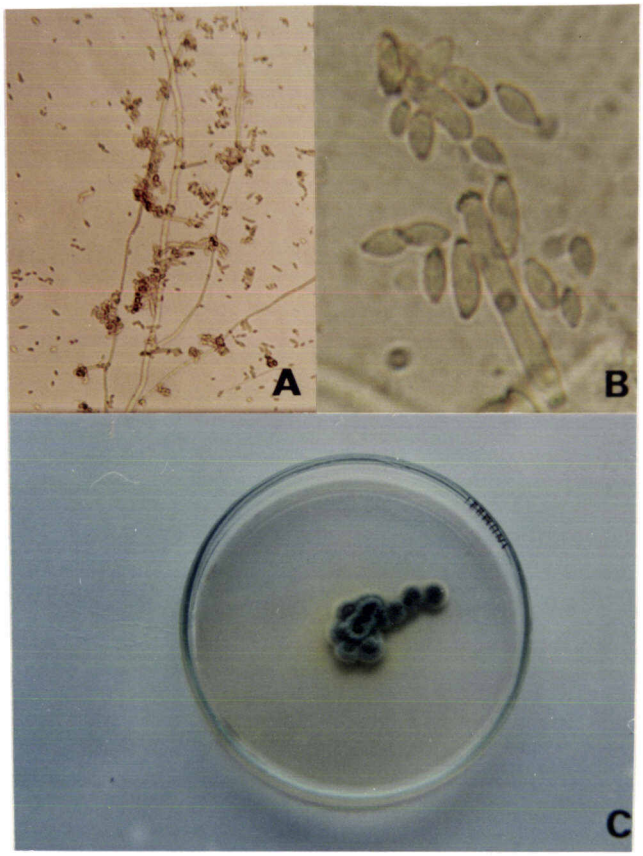



ภาพที่ 6 Aspergillus terreus Thom.

A = ลักษณะ vesicle, phialides (1,000x)

B = ลักษณะ thalli (400x)

C = ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 5 วัน

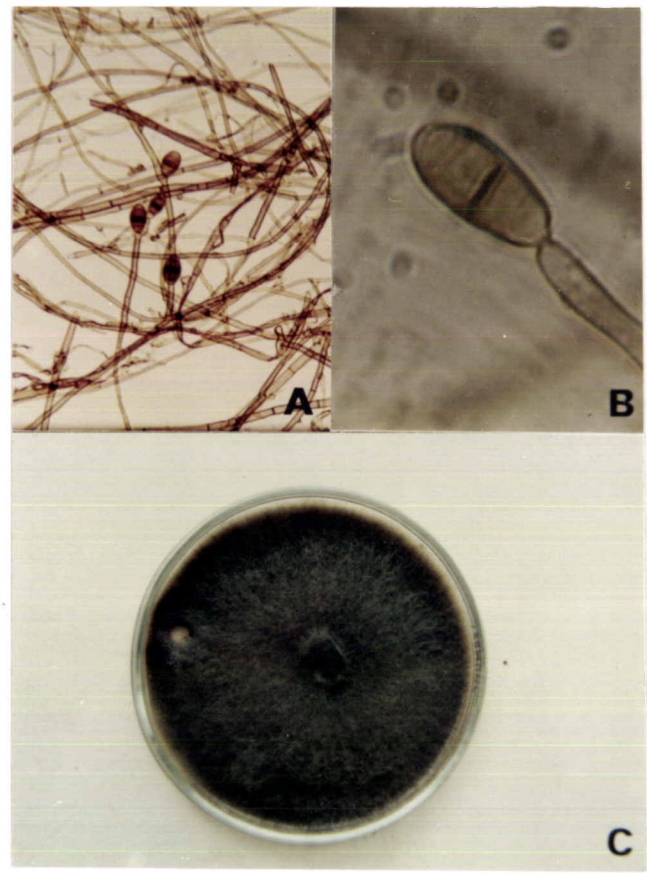



ภาพที่ 7 Cladosporium cladosporioides (Fres.) de. Veries.

A = ลักษณะ conidia และ เส้นใย (100x)

B = ลักษณะ conidia (1,000x)

C = ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 5 วัน

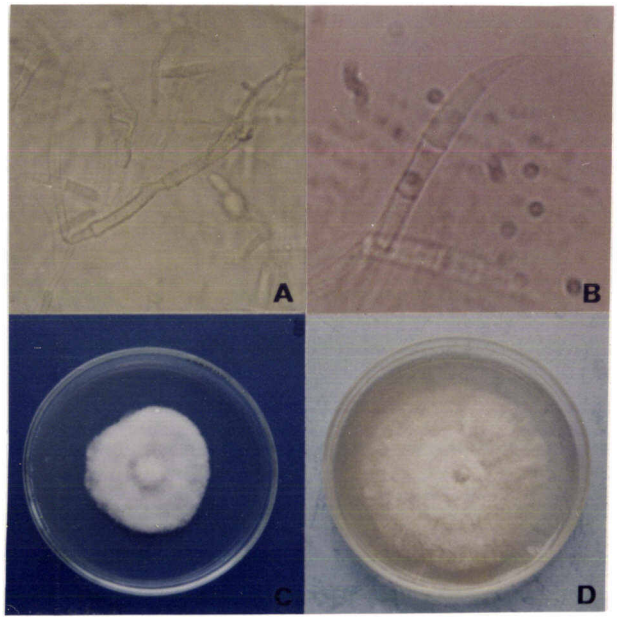



ภาพที่ 8 Curvularia eragrostidis (P.Henn.) J.A.Meyer.

A = ลักษณะเส้นใย และ conidia (100x)

B = ลักษณะ conidiophore และ conidia (1,000x)

C = ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 7 วัน



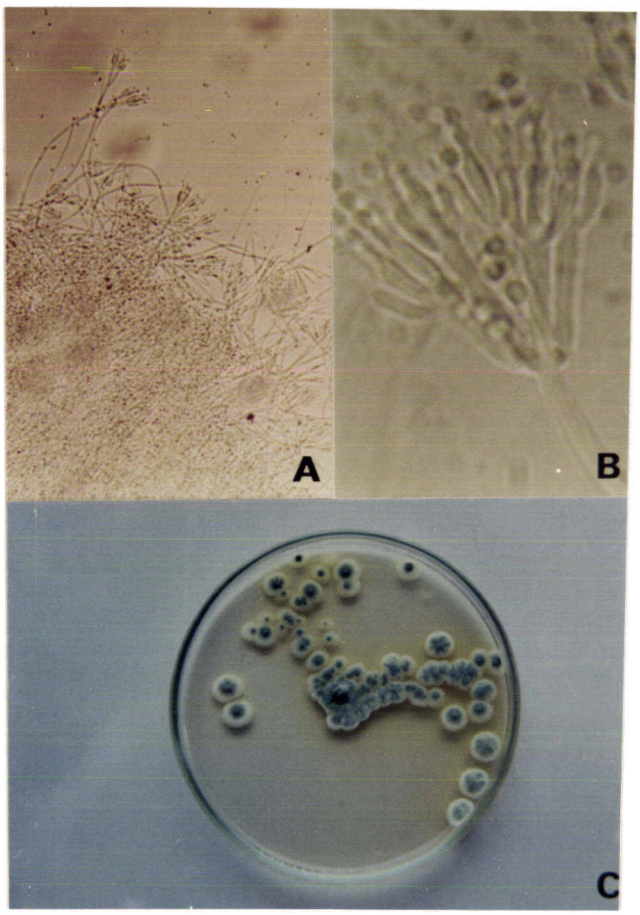

ภาพที่ 9 Fusarium oxysporum Schlecht. f.sp. lycopersici (Sacc.) Synder & Hansen

A = ลักษณะเส้นใย และ microconidia (400x)

B = ลักษณะ macroconidia (1,000x)

C = ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 3 วัน

D = ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 5 วัน

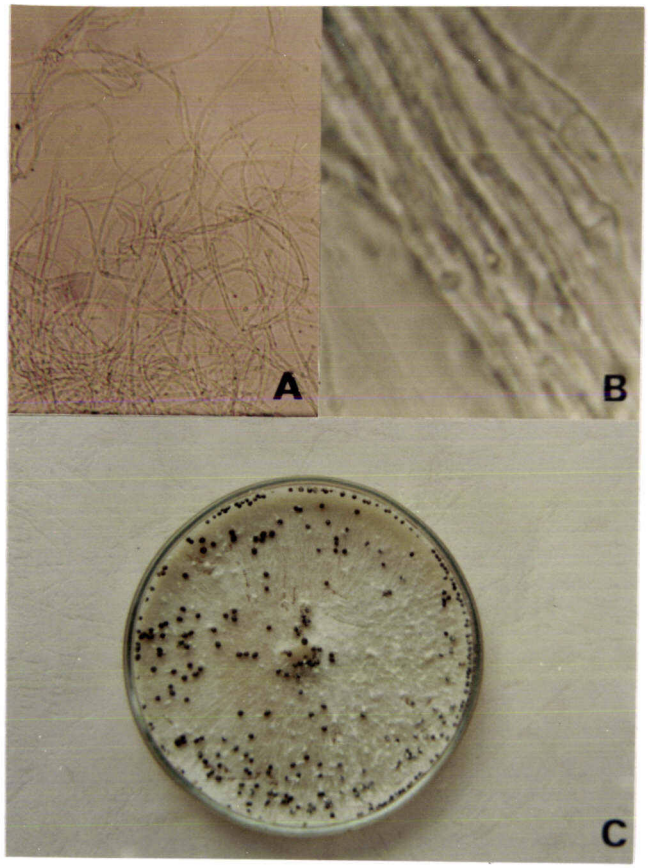



ภาพที่ 10 Penicillium nigricans (Bainier.) Thom.

A = ลักษณะ thalli (400x)

B = ลักษณะ phialide, phialophore, phialospore (1,000x)

C = ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 5 วัน

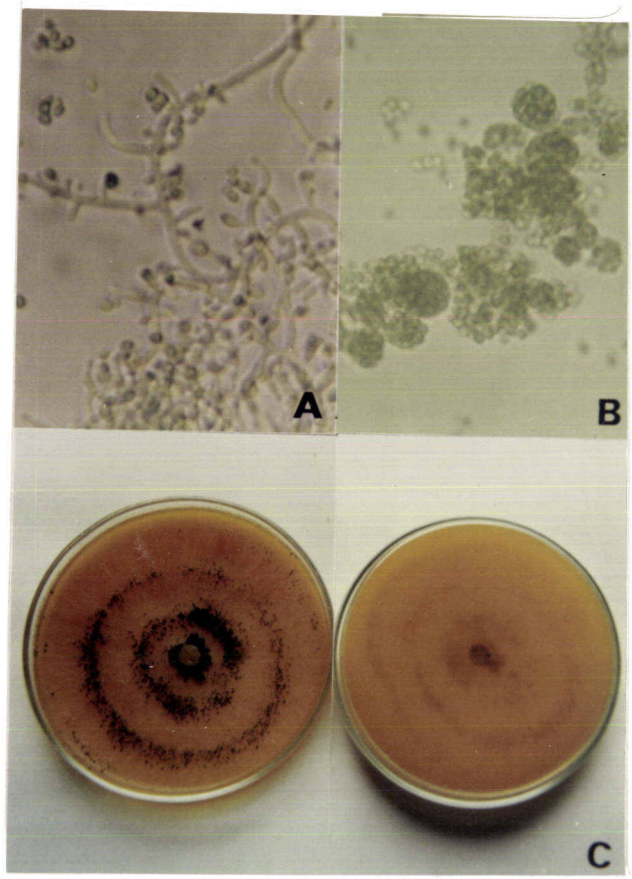



ภาพที่ 11 Sclerotium rolfsii Sacc.

A = ลักษณะเส้นใย (100x)

B = ลักษณะเส้นใย (1,000x)

C = ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 5 วัน

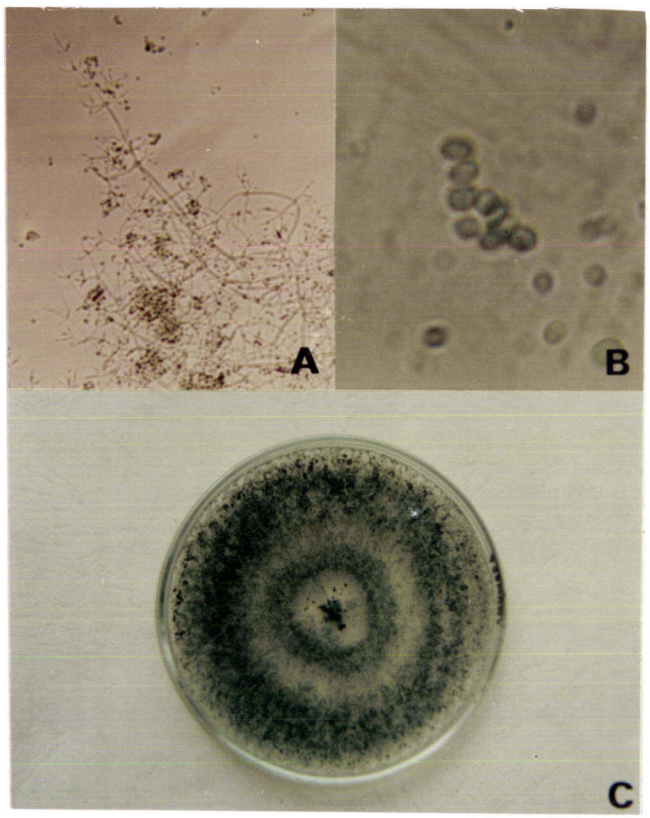



ภาพที่ 12 Trichoderma hamatum (Bonard.) Bain.

A = ลักษณะ phialide, phialphores และ การแตกกิ่ง (1,000x)

B = ลักษณะ spore ball (400x)

C = ลักษณะโคโลนีและการสร้างสารสีเหลืองบนอาหาร PDA ที่อายุ 5 วัน




ภาพที่ 13 Trichoderma harzianum Rifai

A = ลักษณะ phialide, phialphores และ การแตกกิ่ง (400x)

B = ลักษณะ spores (1,000x)

C = ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 5 วัน

การทดสอบอิทธิพลของอาหารเลี้ยงเชื้อ และอุณหภูมิที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma hamatum*

จากการทดลองพบว่า *T. hamatum* เจริญได้ดีที่สุดในเวลา 72 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 27-32 องศาเซลเซียสบนอาหาร 4 ชนิดคือ PDA (pH 5.5), PDA + Streptomycin (pH 5.6), PDA + HCl (pH 4.3) และ PDA + lactic acid (pH 4.5) มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 8.8 เซนติเมตร รองลงมาได้แก่ ที่เวลา 48 ชั่วโมง อุณหภูมิ 27-32 องศาเซลเซียส บนอาหาร PDA + lactic acid (pH 4.5) มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 8.55 เซนติเมตร และที่เวลา 72 ชั่วโมง อุณหภูมิ 22-25 องศาเซลเซียส บนอาหาร PDA + lactic (pH 4.5) มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเฉลี่ย 8.06 เซนติเมตร ที่เวลา 72 ชั่วโมง อุณหภูมิ 22-25 องศาเซลเซียส บนอาหาร PDA (pH 5.5 ), ที่เวลา 48 ชั่วโมง อุณหภูมิ 27-32 องศาเซลเซียส บนอาหาร PDA (pH 5.5), ที่เวลา 72 ชั่วโมง อุณหภูมิ 22-25 องศาเซลเซียส บนอาหาร PDA + HCl (pH 4.3) และที่เวลา 48 ชั่วโมง อุณหภูมิ 27-32 องศาเซลเซียส บนอาหาร PDA + Streptomycin (pH 5.6) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเท่ากับ 7.75, 7.71, 7.70 และ 7.70 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

สำหรับการเจริญของเชื้อรา *T. hamatum* ในเวลา 72 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 22-25 องศาเซลเซียส บนอาหาร PDA + Streptomycin (pH. 5.6) มีเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเท่ากับ 7.3 เซนติเมตร รองลงมาได้แก่ ที่เวลา 48 ชั่วโมง อุณหภูมิ 27-32 องศาเซลเซียส บนอาหาร PDA + HCl (pH. 4.3) ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเท่ากับ 6.35 เซนติเมตร ในขณะที่เวลา 48 ชั่วโมง อุณหภูมิ 22-25 องศาเซลเซียส บนอาหาร PDA + lactic acid (pH 4.5) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเท่ากับ 4.95 เซนติเมตร ส่วนที่เวลา 48 ชั่วโมง อุณหภูมิ 22-25 องศาเซลเซียส บนอาหาร PDA + HCl (pH 4.3), PDA ( pH. 5.5 ) PDA + Streptomycin (pH. 5.6 ) มีขนาดเส้น

ผ่าศูนย์กลางโคโลนีเท่ากับ 4.70, 4.58 และ 4.51 เซนติเมตร ตามลำดับ ผลการทดลองใกล้เคียงกับการเลี้ยง T. hamatum เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 27-32 องศาเซลเซียส บนอาหารทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ PDA ( pH. 5.5 ), PDA + Streptomycin (pH. 5.6 ), PDA + HCl (pH. 4.3), PDA + lactic acid (pH 4.5) มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเท่ากับ 2.47, 2.47, 2.42 และ 2.32 เซนติเมตร ตามลำดับ T. hamatum บนอาหาร 2 ชนิด คือ PDA + lactic acid (pH 4.5) และ PDA + HCl (pH 4.3) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเท่ากับ 1.42 และ 1.32 ตามลำดับและจากการทดลองพบว่าที่เวลา 24 ชั่วโมง อุณหภูมิ 22-25 องศาเซลเซียส บนอาหาร 2 ชนิด คือ PDA (pH 2.5) และ PDA + Streptomycin (pH. 5.6), PDA + HCl (pH. 4.3) และ PDA + lactic acid (pH. 4.5)

ตารางที่ 2 แสดงเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา Trichoderma hamatum ที่เจริญบนอาหารเลี้ยง และอุณหภูมิต่าง ๆ กัน

| เวลา(ชม.) | อุณหภูมิ (C) | PDA (pH) | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 5.5 | 5.6 | 4.3 | 4.5 |
| 24 | 27-32 | 2.48 i | 2.43 i | 2.31 i | 2.48 i |
| | 22-25 | 1.10 k | 1.05 k | 1.33 k | 1.43 j |
| | 5-7 | 0.70 l | 0.70 l | 0.70 l | 0.70 l |
| 48 | 27-32 | 7.71 d | 7.70 d | 6.35 f | 8.55 b |
| | 22-25 | 4.59 h | 4.51 h | 4.70 h | 4.95 g |
| | 5-7 | 0.70 l | 0.70 l | 0.70 l | 0.70 l |
| 24 | 27-32 | 8.80 a | 8.80 a | 8.80 a | 8.80 a |
| | 22-25 | 7.75 d | 7.30 d | 7.70 d | 8.06 c |
| | 5-7 | 0.70 l | 0.70 l | 0.70 l | 0.70 l |

1. ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ DMRT (p = 0.05) CV (%) = 3.98

การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ จากเชื้อรา Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici

จากการทดสอบเชื้อราสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศพันธุ์สีดาที่อายุ 15 วัน ปรากฏว่า เชื้อรา F. oxysporum f.sp. lycopersici ที่แยกได้จากผลมะเขือเทศสุก มีความสามารถทำให้เกิดโรคได้เฉลี่ยถึง 46 เปอร์เซนต์ โดยนับจากจำนวนเมล็ดที่ไม่งอกหรือตาย เป็นหลัก ซึ่งในดินปลูกอบฆ่าเชื้อผสมกับเชื้อก่อโรคจะมีเปอร์เซนต์เมล็ดไม่งอก หรือตายสูงกว่าในการทดลองเปรียบเทียบ และเมื่อแยกเชื้อรา บริเวณรอบรากมะเขือเทศจากต้นที่แสดงอาการโรค สามารถแยกเชื้อราสาเหตุโรคดังกล่าวได้ (ตารางที่ 3)

การทดสอบความสัมพันธุ์ของเชื้อรา Trichoderma hamatum และ Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici

การทดสอบในห้องปฏิบัติการ

จากการทดลองเลี้ยงเชื้อร่วมบนอาหาร PDA ระหว่างเชื้อรา Trichoderma hamatum และ F. oxysporum f.sp. lycopersici ที่อายุ 7 วัน บ่มไว้ที่อุณหภูมิ27-32 องศาเซลเซียสพบว่าโคโลนีของ T. hamatum บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เจริญได้รวดเร็วกว่าโคโลนีของ F. oxysporum f.sp. lycopersici และยังเจริญครอบคลุมโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคพืชในจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม บริเวณโคโลนีของเชื้อราทั้งสองชนิดในจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมเกิดสีเหลือง ซึ่งมาจากการสร้างสารสีเหลืองของเชื้อราต่อต้านทั่วทั้งจานอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่ในบริเวณรอบต่อของขอบโคโลนีเชื้อราทั้งสองจะเห็นเป็นบริเวณสีอ่อน เมื่อนำมาทำการตรวจดูผ่านกล้องจุลทรรศน์ พบว่า เส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชเกิดการสลายตัว ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการเข้าทำลายของเชื้อราต่อต้านทำให้เห็นเป็นบริเวณที่มีสีอ่อนกว่า (ภาพที่ 14)

ตารางที่ 3 แสดงเปอร์เซนต์การก่อโรคของเชื้อรา F. oxysporum f.sp. lycopersici ในการทดสอบความสามารถในการก่อโรค

| Treatment | จำนวนซ้ำ | | | | | ค่าเฉลี่ย[1] |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | |
| ดินอบฆ่าเชื้อ | 10 | 0 | 30 | 0 | 0 | 8 |
| ดินอบฆ่าเชื้อ+เชื้อโรค | 50 | 30 | 50 | 60 | 40 | 46 |

1. ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ เปอร์เซนต์การเกิดโรค = จำนวนต้นที่เป็นโรค/จำนวนต้นทั้งหมด x 100, CV (%) = 45.36

การทดสอบในสภาพเรือนทดลอง

จากการทดลองพบว่า การใช้ยาเชื้อชนิดเม็ด CCG (Trichoderma hamatum, $CaCl_2$ + Ca gluconate, อัตรา 0.25 และ 0.50 กรัม/ถ้วย และการใช้ยาฆ่าเชื้อ CC (T. hamatum, $CaCl_2$) ในอัตรา 0.25 และ 0.50 กรัม/ถ้วย ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศจากเชื้อรา F. oxysporum f.sp. lycopersici มีค่าดัชนีการเกิดโรคในระดับเดียวกันเท่ากับ 1.94, 1.25 และ 1.25 ตามลำดับ มีผลให้การควบคุมโรคได้เท่าเทียมกับการใช้สารเคมี PCNB (1,000 ppm.) ซึ่งมีค่าดัชนีการเกิดโรค 1.75 ในขณะที่วิธีการที่ไม่ใช้วิธีการใดในการควบคุมโรค มีดัชนีการเกิดโรคเฉลี่ย 3.25 (ตารางที่ 4)

แนวโน้มการงอกของเมล็ดมะเขือเทศพันธุ์สีดาที่ทำการทดลอง แสดงให้เห็นว่าการใช้ยาฆ่าเชื้อ CCG ในอัตรา 0.25 กรัม/ถ้วย มะเขือเทศ 5 เมล็ด ในการควบคุมโรค จำนวนการงอกเมล็ดสูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ 4.75 ในขณะที่ ใช้ยาเชื้อชนิดเม็ด CCG ในอัตรา 0.50 กรัม/ถ้วย และการใช้ยาเชื้อชนิดเม็ด CC ในอัตรา 0.25 และ 0.50 กรัม มีการงอกของเมล็ดเฉลี่ยเท่ากับ 4.5, 4.5 และ 4.25 ตามลำดับ เทียบเท่ากับการใช้สารเคมี PCNB ซึ่งมีค่าเฉลี่ยการงอกของเมล็ดเท่ากับ 3.5 ในขณะที่ไม่ใช้วิธีการใดในการควบคุมโรคมีการงอกของเมล็ดเฉลี่ยเท่ากับ 2.75

จากการทดลองพบว่า เฉลี่ยของต้นมะเขือเทศที่ทำการทดลองโดยวิธีการใช้ยาเชื้อ CCG ในอัตรา 0.50 กรัม/ถ้วย และการใช้ยาเชื้อ CC ในอัตรา 0.50 กรัม/ถ้วย ในการควบคุมโรค ปรากฏว่า ต้นมะเขือเทศเจริญได้ดีที่สุด มีความสูงเฉลี่ย และ 8.64 เซนติเมตร ตามลำดับ รองลงมาได้แก่ การใช้ยาเชื้อ CCG ในอัตรา 0.25 กรัม/ถ้วย และการใช้ยาเชื้อในอัตรา CC ในอัตรา 0.25 กรัม/ถ้วย มีความสูงของต้นเฉลี่ย เท่ากับ 7.78 และ 8.06 เซนติเมตร ตามลำดับ และการใช้เคมี PCNB ความสูงของต้นเฉลี่ยเท่ากับ 7.32 เซนติเมตร

การใช้ยาเชื้อ CCG ในอัตรา 0.25 และ 0.50 กรัม/ถ้วย น้ำหนักสดของต้นสูงสุดเท่ากับ 0.91 และ 0.83 กรัม ตามลำดับ รองลงมาได้แก่ การใช้ยาเชื้อ CC ในอัตรา 0.25 และ 0.50 กรัม/ถ้วย มีน้ำหนักสดของต้นเฉลี่ย 0.77 และ 0.69 กรัม ส่วนการใช้สารเคมี PCNB น้ำหนักสดของต้นเฉลี่ย เท่ากับ 0.55 เซนติเมตร

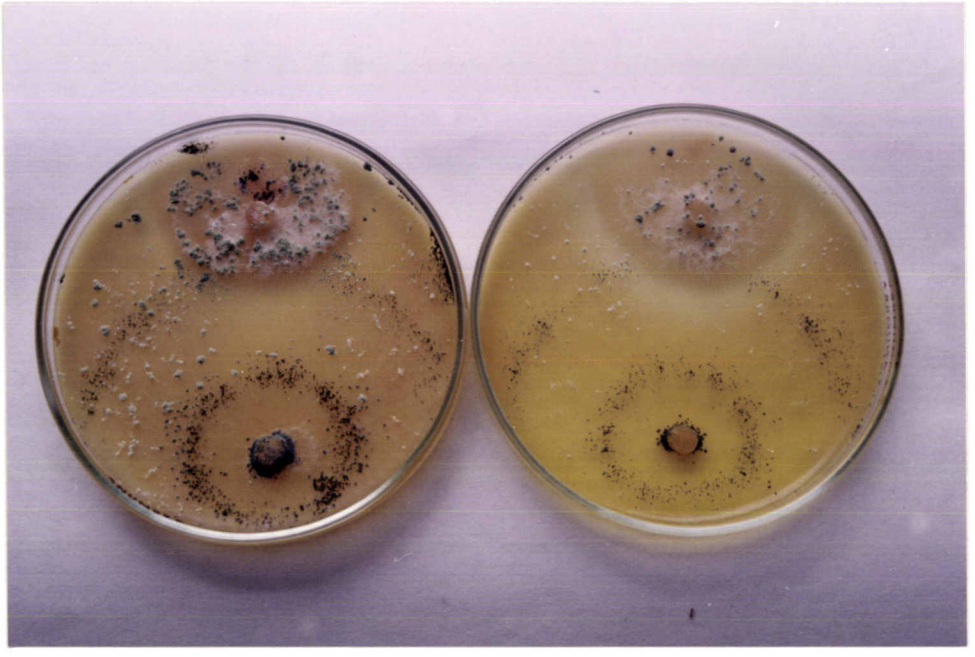
จากการทดลองพบว่า การใช้ยาเชื้อชนิดเม็ด CCG ในอัตรา 0.25 กรัม/ถ้วย 0.50 กรัม/ถ้วย, CC ในอัตรา 0.25 กรัม/ถ้วย และ 0.50 กรัม/ถ้วย การใช้สารเคมี PCNB ในอัตรา 1,000 ppm. ไม่มีผลใด ๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงความยาวราก เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการไม่ใช้สารเคมีใด ๆ ซึ่งจะเห็นได้ว่า มีความยาวรากเฉลี่ย 3.36, 3.42, 2.99, 3.16 และ 3.39 เซนติเมตร ตามลำดับ ในขณะที่ไม่ใช้วิธีการใด ๆ มีความยาวรากเฉลี่ย 3-13 เซนติเมตร และ ไม่มีผลใด ๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักสดของรากเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการไม่ใช้สารเคมีใด ๆ ซึ่งจะเห็นได้ว่ามีน้ำหนักสดของรากเฉลี่ยเท่ากับ 0.23, 0.27, 0.22, 0.26 และ 0.21 กรัม ตามลำดับ ในขณะที่ การทดลองเปรียบเทียบมีน้ำหนักสดของรากเฉลี่ย เท่ากับ 0.16 เซนติเมตร

ตารางที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ย growth parameters ของมะเขือเทศจากการทดสอบสภาพเรือนทดลอง

| วิธีการ[1] | ดัชนีการเกิดโรค[2] | จำนวนเมล็ดที่งอก | ความสูงของต้น (ซม.) | น้ำหนักสดต้น (กรัม) | ความยาวราก (ซม.) | น้ำหนักสดราก (กรัม) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ | 3.25 a | 2.75 b | 5.68 c | 0.18 c | 3.13 | 0.16 |
| CCG 0.25 กรัม | 1.94 b | 4.75 a | 7.78 ab | 0.91 a | 3.36 | 0.23 |
| CCG 0.50 กรัม | 1.25 b | 4.5 ab | 8.78 a | 0.83 a | 3.42 | 0.27 |
| CC 0.25 กรัม | 1.25 b | 4.5 ab | 8.06 ab | 0.77 ab | 2.99 | 0.22 |
| CC 0.50 กรัม | 1.25 b | 4.25 ab | 8.64 a | 0.69 ab | 3.16 | 0.26 |
| PCNB | 1.75 b | 3.5 ab | 7.32 b | 0.55 a | 3.39 | 0.21 |
| CV (%) | 28.48 | 27.20 | 9.60 | 35.36 | 12.85 | 27.17 |
| LSD.05 | 0.75 | 1.65 | 1.12 | 0.35 | - | - |
| LSD.01 | 1.03 | 2.29 | 1.54 | 0.48 | - | - |

1. CCG = *Trichoderma hamatum* ($CaCl_2$ + Ca gluconate), CC = *T. hamatum* ($CaCl_2$) 2. ดัชนีการเกิดโรคมี 5 ระดับ คือ ระดับที่ 1 = ไม่พบอาการของโรค (0%) ระดับที่ 2 = พบอาการของโรคเพียงเล็กน้อย ( 1-25%) ระดับที่ 3

= พบอาการของโรคปานกลาง (26-50%) ระดับที่ 4 = พบอาการของโรคค่อนข้างรุนแรง (51-75%) ระดับที่ 5 = พบอาการของโรครุนแรง (76-100%) 3. ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ



ภาพที่ 14 การเลี้ยงเชื้อบนอาหาร PDA ร่วมกันระหว่างรา *Trichoderma hamatum* (ล่าง) และ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (บน)

ภาพที่ 15 การทดสอบความสามารถ ในการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ พันธุ์สีดาที่เกิดจากเชื้อรา Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici ที่อายุ 3 สัปดาห์

ภาพที่ 16 ลักษณะต้นกล้ามะเขือเทศพันธุ์สีดา ที่ใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา (PCNB) (บน) และการทดลองเปรียบเทียบ (ล่าง) ในการป้องกันกำจัดเชื้อรา Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici ในสภาพเรือนทดลอง ที่อายุ 3 สัปดาห์

ภาพที่ 17 แสดงการเปรียบเทียบระหว่างต้นกล้ามะเขือเทศที่เป็นโรคกับต้นกล้ามะเขือเทศที่ใช้ยาเชื้อในการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศพันธุ์สีดาที่เกิดจากเชื้อรา Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici ที่อายุ 3 สัปดาห์ (การทดลองเปรียบเทียบ (control) (ซ้าย), การใช้ยาเชื้อ CCG 0.25 กรัม (กลาง) การใช้ยาเชื้อ CCG 0.50 กรัม (ขวา )

ภาพที่ 18 แสดงการเปรียบเทียบระหว่างต้นกล้ามะเขือเทศที่ใช้ยาเชื้อและต้นกล้ามะเขือเทศที่ใช้สารเคมี PCNB ในการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศพันธุ์สีดาที่เกิดจากเชื้อรา Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici ที่อายุ 3 สัปดาห์ (ใช้ยาเชื้อ CC 0.25 กรัม (ซ้าย), ใช้ยาเชื้อ CC 0.50 กรัม (กลาง), ใช้สารเคมี PCNB (ขวา))

## วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการแยกเชื้อราบริเวณรอบรากมะเขือเทศ โดยผ่านการฆ่าเชื้อบริเวณพื้นผิว และนำไปเลี้ยงแยกราในอาหารที่มีระดับ pH ต่าง ๆ กัน ปรากฏว่า ในวิธีการที่ฆ่าเชื้อด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 4 ครั้ง และเลี้ยงแยกราบนอาหาร PDA มี pH 0.5 พบเชื้อรา Aspergillus flavus , A. fumigatus, Cladosporium cladosporioides และ Penicillium nigricans ทดสอบการเลี้ยงดูเชื้อรา T. hamatum ปรากฏว่า เชื้อรา T. hamatum สามารถเจริญได้ดีที่สุดบนอาหาร PDA ( pH 5.5 ), PDA + Streptomycin (pH 5.6 ), PDA + HCl (pH 4.3) และ PDA + lactic acid (pH 4.5) ที่อุณหภูมิ 27-32 องศาเซลเซียส ในขณะที่ Dewan และ Sivasithamparam (1988) กล่าวว่า รา T. hamatum สามารถเจริญได้ดีในอาหาร PDA + lactic acid และการเจริญของเชื้อราดังกล่าวไม่มีความแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสขึ้นไป แต่จะมีความแตกต่างอย่างเห็นได้ชัดที่อุณหภูมิต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียส จากการทดลอง ปรากฏว่า เชื้อรา T. hamatum เป็นเชื้อราที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรค Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici ซึ่งสังเกตเห็นว่า โคโลนีของ รา T. hamatum เจริญครอบคลุมขึ้นไปบนโคโลนีของเชื้อรา F. oxysporum f.sp.lycopersici ซึ่ง เกษม (2533 ข.) รายงานว่า อาจจะเกิดจากกลไก การแข่งขันซึ่งกันและกันระหว่างเชื้อโรคกับจุลินทรีย์ต่อต้าน

จากการทดลองปรากฏว่า การใช้ยาเชื้อชนิดเม็ดที่ผลิตจาก T. hamatum ในอัตรา 0.25 กรัม และ 0.50 กรัม สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศพันธุ์สีดาได้ ซึ่ง เกษม (2535 ก.) รายงานว่า ได้ผลิตยาเชื้อชนิดเม็ดจาก Chaetomium cupreum โดยการใช้ยาเชื้อโรยรอบโคนต้นมะเขือเทศในแปลงปลูก สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศจาก F. oxysporum f.sp.lycopersici ได้เช่นเดียวกัน นอกจากนี้ วีรศักดิ์

และระวีวรรณ (2528) ยังรายงานว่า เชื้อรา T. harzianum ที่แยกได้จากดินปลูกมะเขือเทศ สามารถลดการเกิดโรคโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา Sclerotium rolfsii ได้ ซึ่งจากผลการทดลองนี้ สามารถแยกรา T. hamatum ได้จากบริเวณรอบรากมะเขือเทศ เช่นเดียวกับรายงานของ Ebenebe et al. (1986) และจากการทดลองใช้ยาเชื้อชนิดเม็ดที่ผลิตจาก T. hamatum นี้ปรากฏว่า มีผลให้ความสูงของต้นและความยาวของน้ำหนักสดของราก และเปอร์เซนต์ความงอกของ มะเขือเทศดีเพิ่มขึ้น

ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องรายงานของ Windham et al. (1986) ดังนั้นจะเห็นได้ว่า ถ้าหากสามารถรักษาหรือคงสภาพศักยภาพของจุลินทรีย์ต่อต้านเชื้อโรคที่อยู่ในสภาพเป็นเม็ดได้ จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการนำไปใช้ควบคุมโรคดังกล่าวได้อย่างกว้างขวางขึ้น

## สรุปผล

จากการแยกเชื้อราบริเวณรอบรากมะเขือเทศพันธุ์สีดาบนอาหาร PDA ที่มี pH ต่าง ๆ กัน พบเชื้อรา 11 species ได้แก่ Aspergillus flavus, A. fumigatus, A. niger, A. terreus, Cladosporium cladosporioides, Curvularia eragrostidis, Fusarium oxysporium f.sp. lycopersici, Penicillium nigricans, Sclerotium rolfsii, Trichoderma hamatum, T. harzianum เมื่อทดสอบการเจริญเติบโตของเชื้อรา T. hamatum พบว่า สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดบนอาหาร PDA ( pH 5.5 ), PDA + Streptomycin (pH 5.6 ), PDA + HCl (pH 4.3), PDA + lactic acid (pH 4.5) ที่อุณหภูมิ 27-32 องศาเซลเซียส ที่เวลา 72 ชั่วโมง รองลงมาได้แก่ การเจริญบนอาหาร PDA + lactic acid (pH 4.5) ที่อุณหภูมิ 27-32 องศาเซลเซียส ที่เวลา 48 ชั่วโมง ซึ่งจะเห็นได้ว่าเชื้อรา T. hamatum ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิ 5-7 องศาเซลเซียส บนอาหารเลี้ยงเชื้อทุกชนิดที่ใช้ในการทดสอบ T. hamatum สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา F.oxysporium f.sp. lycopersici บนอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม PDA โดย T. hamatum

# เอกสารอ้างอิง

เกษม สร้อยทอง. 2529. การศึกษาเชื้อสาเหตุในดินบริเวณแปลงเพาะปลูกในเขตลาดกระบัง วารสารเกษตรพระจอมเกล้า.

เกษม สร้อยทอง. 2532. โรคพืชวิทยาหลังการเก็บเกี่ยว. ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ.

เกษม สร้อยทอง. 2533ก. การใช้รา Chaetomium gracile ในการควบคุมโรคเหี่ยวมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา Fusalium oxysporum f.sp. lycopersici โดยชีววิธี วารสารส่งเสริมและวิจัยทางการแพทย์ของแม่โจ้

เกษม สร้อยทอง. 2533. วิวัฒนาการแนวความคิดเกี่ยวกับการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี วารสารศูนย์บางพระ .27(3):15-26

เกษม สร้อยทอง.2534.การควบคุมโรคโคนเน่าของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อ Selerotium rolfsii โดยชีววิธีในสภาพไร่นา. วารสารศูนย์บางพระ. 28 (2):15-14.

เกษม สร้อยทอง. 2535ก. การใช้ยาเชื้อที่ผลิตจาก Chetomium cupreum ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อ Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici ในสภาพดินที่มีคุณสมบัติในการป้องกันการกำจัดโรคพืช. วารสารศูนย์ บางพระ. 29(2):13-16

เกษม สร้อยทอง. 2535ข. การผลิตยาเชื้อสำหรับการควบคุมเชื้อโรคพืชโดยชีววิธี รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 30 29 มกราคม-1 กุมภาพันธ์ 2535 (สาขาพืช). มหาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 301-307.

เกียรติเกษตร กาญจนพิสุทธ์. 2532. มะเขือเทศผักอุตสาหกรรม. สวนผักชุด 4. ศูนย์ผลิตตำราเกษตรเพื่อชนบท . นนทบุรี . 63 หน้า.

โครงการหลวง ภาควิชาส่งเสริมและเผยแพร่การเกษตร. 2531. คู่มือส่งเสริมการปลูกผักและดอกไม้ที่สูงในประเทศไทย. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ .เชียงใหม่.

วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์ และ ระวีวรรณ ศรีละเอียด. 2528. การศึกษาเชื้อ Trichoderma spp. เพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าของผักและถั่วลิสงโดยชีววิธี. แก่นเกษตร . 13(5) : 278-282.

ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ. 2529. การปลูกมะเขือเทศ. สำนักงานส่งเสริมและฝึกอบรม. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.วิทยาเขตกำแพงแสน. นครปฐม.

อรวรรณ วิเศษสังข์, จุมพล สาระนาค, วิชิต จโสเจษฎา, คนิงนุช พิมพ์อุบล และลักขณา วรรณภีร์. 2535. การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคเน่าของพืชตระกูลมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา Sclerotium rolfsii. รายงานการค้นคว้าวิจัยประจำปี กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

Chiradij Chamswarng,kanita sangkata and Noppol Kateprasart.1992. Field Plot Screening of Antagenistic fungi Used for Biocontrol of Tomato Root and stem Rot Caused by Sclerotium rofsii. Kasetsart Journal (Nat.Sci) 26(5):25-29.

Dewan , M.M and K. Sivasithamparam. 1988. Identity and Frequency of occurence of Trichoderme spp. in roots of Wheat and Rye-grass in We stern Australia and their effect on root rot cause by Gaeumannomyces graminis var. tritici Plant and soil. (109):93-101.

Ebenebe, A.C.,I.D. Erinle and R.c. Wokocha. 1986. Biocontrol of the basal Stem Rot Disease of Tomato Caused by Corticium rolfsii (Sace) Curzi in Northern Nigeria. Tropical Pest Management. 32(1):35-39.

Jeschke,N. and P. E. Nelson.1990. Fusarium species isolated from soil collection at different attitude in the transei,Sountern Africa. Mycologia 82(6):727-733.

Lewis, J.A.and G.C.Papavizas.1985. Effect of Mycelial Preparation of Tricoderma and Gliocladium on Population of Rhizoetionia solani and the Incident of Damping-off.Phytopathology, 75:810-812.

Mukhopadhyay , A.N. and J.P. Upadhyay. 1986. Biological control of Sclerotium rolfsii by Trichoderma harzianum in Sugarbeet. Tropical Pest Management. 32(3): 215-220.

Nelson P.E.,R.J.Cole, T.A. Toussoun,Joe W. Damer and Ronald M. Windingstad. 1990. Fusarium species recover from West peanuts asscociated with Sandhill crane mortality. Mycologia 82(5): 526-565.

Sivan, A., Y.Elade and I. Chet. 1984. Biological control Effect of a new Isolate of Trichoderma harzianum on Pythium aphanidermatum. Phytopathology. 74:498-501.

Watterson, J.C. .1986. Disease. Atherton and Rudich (edn)in pp.443-484. Thai Tomato crop,A scientific Basic of Improvement Chapman and Hall. New York. 661 p.

Windham, M.T. ,Y.Elad and R.Baker.1986. Mechnism for Incresed PIant Growth Induced by Trichoderma spp. Phytopathology 76:518-521.

# ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 แสดงเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา Trichoderma hamatum ที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อและอุณหภูมิต่าง ๆ กัน

| Treatment[1] | จำนวนซ้ำ | | | | ค่าเฉลี่ย | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | | |
| A1B1C1 | 2.50 | 2.70 | 2.20 | 2.50 | 2.48 | i |
| A1B1C2 | 2.50 | 2.50 | 2.30 | 2.40 | 2.43 | i |
| A1B1C3 | 2.20 | 2.30 | 2.50 | 2.25 | 2.31 | i |
| A1B1C4 | 2.70 | 2.50 | 2.30 | 2.40 | 2.48 | i |
| A1B2C1 | 1.00 | 1.00 | 1.30 | 1.10 | 1.10 | k |
| A1B2C2 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1.20 | 1.05 | k |
| A1B2C3 | 1.30 | 1.20 | 1.40 | 1.40 | 1.33 | j |
| A1B2C4 | 1.40 | 1.35 | 1.50 | 1.45 | 1.43 | j |
| A1B3C1 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | l |
| A1B3C2 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | l |
| A1B3C3 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | l |
| A1B3C4 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | l |
| A2B1C1 | 7.75 | 8.00 | 7.50 | 7.60 | 7.71 | d |
| A2B1C2 | 7.75 | 8.10 | 7.25 | 7.70 | 7.70 | d |
| A2B1C3 | 6.20 | 6.00 | 6.70 | 6.50 | 6.35 | f |

| Treatment[1] | จำนวนซ้ำ | | | | ค่าเฉลี่ย | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | | |
| A2B1C4 | 8.60 | 8.80 | 8.30 | 8.50 | 8.55 | b |
| A2B2C1 | 4.25 | 4.70 | 5.20 | 4.20 | 4.59 | h |
| A2B2C2 | 4.45 | 4.50 | 4.60 | 4.50 | 4.51 | h |
| A2B2C3 | 4.48 | 4.70 | 4.60 | 4.70 | 4.70 | h |
| A2B2C4 | 4.75 | 4.90 | 5.35 | 4.80 | 4.95 | g |
| A2B3C1 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | l |
| A2B3C2 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | l |
| A2B3C3 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | l |
| A2B3C4 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | l |
| A3B1C1 | 8.80 | 8.80 | 8.80 | 8.80 | 8.80 | a |
| A3B1C2 | 8.80 | 8.80 | 8.80 | 8.80 | 8.80 | a |
| A3B1C3 | 8.80 | 8.80 | 8.80 | 8.80 | 8.80 | a |
| A3B1C4 | 8.80 | 8.80 | 8.80 | 8.80 | 8.80 | a |
| A3B2C1 | 7.70 | 7.70 | 8.00 | 7.60 | 7.75 | d |
| A3B2C2 | 7.20 | 7.30 | 7.40 | 7.30 | 7.30 | e |
| A3B2C3 | 7.60 | 7.80 | 7.70 | 7.70 | 7.70 | d |
| A3B2C4 | 8.00 | 8.20 | 8.25 | 7.80 | 8.06 | c |

| Treatment[1] | จำนวนซ้ำ | | | | ค่าเฉลี่ย | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | | |
| A3B3C1 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | 1 |
| A3B3C2 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | 1 |
| A3B3C3 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | 1 |
| A3B3C4 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | 0.70 | 1 |

1. $A_1$ = ที่เวลา 24 ชั่วโมง, $A_2$ = ที่เวลา 48 ชั่วโมง, $A_3$ = ที่เวลา 72 ชั่วโมง , $B_1$ = ที่อุณหภูมิปกติ 27-32 องศาเซลเซียส, $B_2$ = ที่อุณหภูมิห้องปรับอากาศ 22-25 องศาเซลเซียส, $B_3$ = ที่อุณหภูมิห้องแช่เย็น 5-7 องศาเซลเซียส, $C_1$ = PDA (pH 5.5), $C_2$ = PDA + Streptomycin (pH 5.6), $C_3$ = PDA + HCl (pH 4.3), $C_4$ = PDA + lactic acid (pH 4.5)

ตารางภาคผนวกที่ 2 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของอิทธิพลของอาหารเลี้ยงเชื้อราและอุณหภูมิที่มีผลต่อการเจริญของรา Trichoderma hamatum

| SOV | df | SS | MS | F | F.05 | F.01 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Treatment | 35 | 1494.3336 | 42.6952 | 1832.084** | 1.55 | 1.86 |
| A | 2 | 457.8176 | 228.9088 | 9822.646** | 3.07 | 4.79 |
| B | 2 | 779.3376 | 389.6688 | 16720.973** | 3.07 | 4.79 |
| C | 3 | 2.3617 | 0.7872 | 33.781** | 2.68 | 3.95 |
| AB | 4 | 245.1657 | 61.2914 | 2630.060** | 2.45 | 3.48 |
| AC | 6 | 2.1692 | 0.3615 | 15.513** | 2.17 | 2.96 |
| BC | 6 | 3.2072 | 0.5345 | 22.937** | 2.17 | 2.96 |
| ABC | 12 | 4.2746 | 0.3562 | 15.285** | 1.75 | 2.19 |
| ERROR | 108 | 2.5169 | 0.0233 | | | |
| TOTAL | 143 | 1496.8504 | 10.4675 | | | |

CV (%) = 3.980556596358482

| Factor A | Factor B | factor C |
|---|---|---|
| TIME | TEMP | MEDIA |
| 1. 24 | 1. 27-32 | 1. PDA |
| 2. 48 | 2. 22-25 | 2. PDA+STREP |
| 3. 72 | 3. 5-7 | 3. PDA+HCI |
| | | 4. PDA+LACT |

** = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 3 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรผันของเปอร์เซ็นต์การก่อโรคจากการทดสอบความสามารถในการก่อโรคของรา F. oxysporum f.sp. lycopersici

| SOV | df | SS | MS | F-cal | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | 0.05 | 0.01 |
| treatmeant | 1 | 3610.000 | 3610.000 | 24.067** | 5.32 | 11.26 |
| Error | 8 | 1200.000 | 150.000 | | | |
| Total | 9 | 4810.000 | 534.444 | | | |

** = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ , CV (%) = 45.36

ตารางภาคผนวกที่ 4 ค่าดัชนีการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศจากเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ในการทดสอบในสภาพเรือนทดลอง

| วิธีการ[1] | จำนวนซ้ำ | | | | ค่าเฉลี่ย |
|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | |
| น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ | 4.0 | 3.0 | 2.5 | 3.5 | 3.25 |
| CCG 0.25 กรัม | 1 | 1.5 | 2 | 3.25 | 1.94 |
| CCG 0.50 กรัม | 1 | 1.4 | 1.4 | 1.2 | 1.25 |
| CC 0.25 กรัม | 1 | 1.4 | 1.4 | 1.2 | 1.25 |
| CC 0.50 กรัม | 1 | 1.33 | 1.4 | 1.25 | 1.25 |
| PCNB | 1.4 | 2 | 1.6 | 2 | 1.75 |

1. CCG = Trichoderma hamatum ($CaCl_2$ + Ca gluconate) และ CC = T.hamatum ($CaCl_2$) ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำของดัชนีการเกิดโรคมี 5 ระดับ คือ ระดับที่ 1 = ไม่พบอาการโรค (0%) ระดับที่ 2 = พบอาการของโรคเพียงเล็กน้อย (1-25%) ระดับที่ 3 = พบอาการของโรคปานกลาง (51-75%) ระดับที่ 4 = พบอาการของโรครุนแรง (51-75%) ระดับที่ 5 = พบอาการของโรครุนแรง (76-100%)

ตารางภาคผนวกที่ 5 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความแตกต่างของค่าดัชนีการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ จากเชื้อรา Fusarium oxysporum f.sp. lycokpersici ในการทดสอบในสภาพเรือนทดลอง

| SOV | df | SS | MS | F-cal | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | 0.05 | 0.01 |
| Block | 3 | 0.791 | 0.264 | 1.030$^{ns}$ | 3.25 | 5.42 |
| Treatment | 5 | 12.139 | 2.428 | 9.489$^{**}$ | 2.90 | 4.56 |
| Fx.Error | 15 | 3.838 | 0.256 | | | |
| Total | 23 | 16-767 | 0.729 | | | |

ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ, ** = มีความแตกต่างกันอย่างมี, นัยสำคัญยิ่งทางสถิติ, CV (%)= 28.41

ตารางภาคผนวกที่ 6 จำนวนเมล็ดมะเขือเทศที่งอกในการทดสอบในสภาพเรือนทดลอง

| วิธีการ | จำนวนซ้ำ | | | | ค่าเฉลี่ย |
|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | |
| น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ | 1 | 4 | 2 | 4 | 2.75 |
| CCG 0.25 กรัม | 5 | 4 | 5 | 5 | 4.75 |
| CCG 0.50 กรัม | 3 | 5 | 5 | 5 | 4.5 |
| CC 0.25 กรัม | 3 | 5 | 5 | 5 | 4.5 |
| CC 0.50 กรัม | 5 | 3 | 5 | 4 | 4.25 |
| PCNB | 4 | 3 | 5 | 2 | 3.5 |

CCG = Trichodrma hamatum ($CaCl_2$ + Ca gluconate ) และ

CC = T. hamatum ($CaCl_2$)

ตารางภาคผนวกที่ 7 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของจำนวนเมล็ดที่งอกในการทดสอบในสภาพเรือนทดลอง

| SOV | df | SS | MS | F-cal | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | 0.05 | 0.01 |
| Block | 3 | 3.125 | 1.042 | 0.862$^{ns}$ | 3.29 | 5.42 |
| Treatment | 5 | 11.708 | 2.342 | 1.938$^{ns}$ | 2.90 | 4.56 |
| Ex.Error | 15 | 18.125 | 1.208 | | | |
| Total | 23 | 32.958 | 1.433 | | | |

ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ CV (%)= 27.20

ตารางภาคผนวกที่ 8 ความยาวต้นมะเขือเทศจากการปลูกด้วยวิธีต่างๆ (treatments) ในสภาพเรือนทดลอง

| วิธีการ | จำนวนซ้ำ | | | | ค่าเฉลี่ย |
|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | |
| น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ | 5.00 | 5.50 | 6.00 | 6.25 | 5.68 |
| CCG 0.25 กรัม | 8.20 | 7.25 | 9.10 | 6.60 | 7.78 |
| CCG 0.50 กรัม | 9.00 | 8.50 | 8.75 | 8.88 | 8.78 |
| CC 0.25 กรัม | 8.25 | 7.80 | 7.60 | 8.60 | 8.06 |
| CC 0.50 กรัม | 8.50 | 8.66 | 9.40 | 8.00 | 8.64 |
| PCNB | 8.75 | 6.33 | 6.70 | 7.50 | 7.32 |

CCG = Trichoderma hamatum ($CaCL_2$ + Ca gluconate) และ

CC = hamatum ($CaCl_2$)

ตารางภาคผนวกที่ 9 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความแตกต่างของความยาวต้นจากการปลูกทดสอบในสภาพเรือนทดลอง

| SOV | df | SS | MS | F-cal | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Block | 3 | 1.476 | 0.492 | 0.896$^{ns}$ | 3.29 | 5.42 |
| Treatment | 5 | 25.542 | 5.108 | 9.309$^{**}$ | 2.90 | 4.56 |
| Ex.Error | 15 | 8.231 | 0.549 | | | |
| Total | 23 | 35.247 | 1.532 | | | |

ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ, ** = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ, CV (%) = 9.60

ตารางภาคผนวกที่ 10 น้ำหนักต้นจากการปลูกด้วยวิธีการต่างๆ (treatments) ในการปลูกทดสอบในสภาพเรือนทดลอง

| วิธีการ[1] | จำนวนซ้ำ | | | | ค่าเฉลี่ย |
|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | |
| น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ | 0.03 | 0.27 | 0.13 | 0.29 | 0.18 |
| CCG 0.25 กรัม | 1.03 | 0.75 | 1.16 | 0.68 | 0.91 |
| CCG 0.50 กรัม | 0.63 | 0.85 | 0.86 | 0.96 | 0.83 |
| CC 0.25 กรัม | 0.58 | 0.74 | 0.84 | 0.91 | 0.77 |
| CC 0.50 กรัม | 1.02 | 0.41 | 0.90 | 0.43 | 0.69 |
| PCNB | 0.89 | 0.52 | 0.69 | 0.10 | 0.55 |

1. CCG = Trichoderma hamatum ( $CaCL_2$ + Ca gluconate) และ CC = T. hamatum ($CaCl_2$)

ตารางภาคผนวกที่ 11 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความแตกต่างของน้ำหนักต้นจากการปลูกทดสอบในสภาพเรือนทดลอง

| SOV | df | SS | MS | F-cal | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | 0.05 | 0.01 |
| Block | 3 | 0.158 | 0.053 | 0.990$^{ns}$ | 3.29 | 5.42 |
| Treatment | 5 | 1.368 | 0.274 | 5.133$^{**}$ | 2.90 | 4.56 |
| EX.Error | 15 | 0.799 | 0.053 | | | |
| Total | 23 | 2.325 | 0.101 | | | |

ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ** = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ , cv (%) = 35.36

ตารางภาคผนวกที่ 12 ความยาวรากของรากมะเขือเทศที่ปลูกด้วยวิธีการต่างๆ (treatments) ในการปลูกในสภาพเรือนทดลอง

| วิธีการ[1] | จำนวนซ้ำ | | | | ค่าเฉลี่ย |
|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | |
| น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ | 3.30 | 2.75 | 3.75 | 2.75 | 3.13 |
| CCG 0.25 กรัม | 3.44 | 3.30 | 3.92 | 2.75 | 3.36 |
| CCG 0.50 กรัม | 3.90 | 3.28 | 3.25 | 3.25 | 3.42 |
| CC 0.25 กรัม | 3.85 | 2.80 | 2.60 | 2.70 | 2.99 |
| CC 0.50 กรัม | 2.90 | 3.50 | 2.90 | 3.33 | 3.16 |
| PCNB | 3.88 | 3.17 | 3.00 | 3.50 | 3.39 |

1. CCG = Trichoderma hamatum ( $CaCl_2$ + Ca gluconate) และ

CC = T . hamatum ($CAcl_2$)

ตารางภาคผนวกที่ 13 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของความยาวรากจากการปลูกทดสอบในสภาพเรือนทดลอง

| SOV | df | SS | MS | F-cal | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Block | 3 | 0.850 | 0.283 | $1.635^{ns}$ | 3.29 | 5.42 |
| Treatment | 5 | 0.508 | 0.117 | $0.678^{ns}$ | 2.90 | 4.56 |
| Ex.ERROR | 15 | 2.598 | 0.173 | | | |
| Total | 23 | 4.035 | 0.175 | | | |

ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ , CV (%) = 12.85

ตารางภาคผนวกที่ 14 น้ำหนักสดของรากมะเขือเทศ ที่ปลูกด้วยวิธีการต่างๆ (treatments) ในการปลูกทดสอบในสภาพเรือนทดลอง

| วิธีการ[1] | จำนวนซ้ำ | | | | ค่าเฉลี่ย |
|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | |
| น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ | 0.09 | 0.18 | 0.22 | 0.15 | 0.16 |
| CCG 0.25 กรัม | 0.29 | 0.29 | 0.23 | 0.11 | 0.23 |
| CCG 0.50 กรัม | 0.29 | 0.26 | 0.28 | 0.25 | 0.27 |
| CC 0.25 กรัม | 0.13 | 0.27 | 0.25 | 0.24 | 0.22 |
| CC 0.50 กรัม | 0.28 | 0.19 | 0.37 | 0.21 | 0.26 |
| PCNB | 0.29 | 0.19 | 0.22 | 0.14 | 0.21 |

1. CCG = Trichoderma hamatum ($CaCl_2$ + Ca gluconate) และ
   CC = hamatum ($CaCl_2$)

ตารางภาคผนวกที่ 15 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของน้ำหนักสดราก จากการปลูกทดลองในสภาพเรือนทดลอง

| SOV | df | SS | MS | F-cal | F-table | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | F.05 | F.01 |
| Block | 3 | 0.019 | 0.006 | $1.654^{ns}$ | 3.29 | 5.42 |
| Treatment | 5 | 0.032 | 0.006 | $1.681^{ns}$ | 2.90 | 4.56 |
| Ex. Error | 15 | 0.56 | 0.004 | | | |
| Total | 23 | 0.17 | 0.005 | | | |

ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ CV (%) = 27.17