การใช้เทคนิคทางเจลอิเลคโตรโฟรีซีส เพื่อจัดจำแนกเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* และจุลินทรีย์ต่อต้าน และการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศโดยชีววิธี

APPLICATION OF GEL ELECTROPHORESIS FOR IDENTIFICATION OF *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* INCLUDING ANTAGONISTIC FUNGI AND BIOLOGICAL CONTROL OF TOMATO WILT

นพรัตน์ จินดาวงษ์
NOPPARAT JINDAWONG

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช
บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2543

ISBN 974-648-025-1

การใช้เทคนิคทางเจลอิเลคโตรโฟรีซีส เพื่อจัดจำแนกเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* และจุลินทรีย์ต่อต้าน และการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศโดยชีววิธี

APPLICATION OF GEL ELECTROPHORESIS FOR IDENTIFICATION OF *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* INCLUDING ANTAGONISTIC FUNGI AND BIOLOGICAL CONTROL OF TOMATO WILT

T039759

นพรัตน์ จินดาวงษ์

NOPPARAT JINDAWONG

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช
บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2543

ISBN 974-648-025-1

หมู่.....
ทะเบียน 39759
เดือน, ปี 21 มิ.ย. 2544

.b.....
.i.....

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

APPLICATION OF GEL ELECTROPHORESIS FOR IDENTIFICATION OF *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* INCLUDING ANTAGONISTIC FUNGI AND BIOLOGICAL CONTROL OF TOMATO WILT

NOPPARAT JINDAWONG

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN PLANT PEST MANAGEMENT TECHNOLOGY

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2000

ISBN 974-648-025-1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPPYRIGHT 2000

SCHOLL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การใช้เทคนิคทางเจลอิเลคโตรโฟรีซีสเพื่อจัดจำแนกเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* และเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านและการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศโดยชีววิธี

APPLICATION OF GEL ELECTROPHORESIS FOR IDENTIFICATION OF *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* INCLUDING ANTAGONISTIC FUNGI AND BIOLOGICAL CONTROL OF TOMATO WILT

ชื่อนักศึกษา นางสาวนพรัตน์ จินดาวงษ์

รหัสประจำตัว 40066310

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ รศ.ดร.เกษม สร้อยทอง

อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม ผศ.ดร.ฉนิมนันต์ เจนอักษร

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์		ลายมือชื่อ
รศ.ดร.เกษม	สร้อยทอง	
ผศ.ดร.ฉนิมนันต์	เจนอักษร	
ผศ.ดร.นวลพรรณ	งามยี่สุ่น	
ผศ.ดร.รัตนา	ปรมาคม	

วัน/เดือน/ปี ที่สอบ 31 กรกฎาคม 2543 เวลา 13.00 น. เป็นต้นไป

สถานที่สอบ ณ ห้องประชุม คณะเทคโนโลยีการเกษตร ชั้น 1 ห้อง 1

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว

(รศ.ดร.บุญวัฒน์ อัตชู)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 13 **เดือน** กุมภาพันธ์ **พ.ศ.** 2544

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 8.5-90 kDa และเชื้อรา *T. hamatum* PC02 แถบโปรตีนมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 31.0-76 kDa

การทดสอบความสามารถในการเกิดโรคของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ทุก isolates พบว่าเชื้อรา Isolate No.5 ทำให้เกิดโรครุนแรงกับต้นกล้ามะเขือเทศมากที่สุด มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 94.0 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำเชื้อรา Isolate No.5 มาทดสอบหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการเกิดโรค พบว่าที่ระดับความเข้มข้น $3x10^6$ conidia/ml ทำให้เกิดโรครุนแรงสูงสุด

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดชนิดต่างๆจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านได้ Chaetoglobosin-c จากเชื้อรา *Ch. globosum*, Rotiorinol จากเชื้อรา *Ch. cupreum*, Trichotoxin A50 จากเชื้อรา *T. harzianum* และสารสกัดของ *T. hamatum* ที่ความเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 500 ppm ในการควบคุมเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบว่าสารสกัด *T. hamatum* ที่ความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อสาเหตุโรคและยับยั้งการสร้าง chlamydospore ได้ดีที่สุดเท่ากับ 41.32 และ 80.14 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สารสกัด Rotiorinol ที่ความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งการสร้าง macro-conidia และ micro-conidia ได้สูงสุดเท่ากับ 60.96 และ 60.23 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และสารสกัด Chaetoglobosin-C, Rotiorinol, Trichotoxin A50 และ *T. hamatum* มีค่า ED_{50} ในการยับยั้งการเจริญเติบโตเท่ากับ 2,367, 1,845, 4,978 และ 741ตามลำดับ มีค่า ED_{50} ในการยับยั้งการสร้าง macro-conidia เท่ากับ 967, 153, 747 และ 417 ตามลำดับ มีค่า ED_{50} ในการยับยั้งการสร้าง micro-conidia เท่ากับ 617, 135, 765 และ 144 ตามลำดับ มีค่า ED_{50} ในการยับยั้งการสร้าง chlamydospore เท่ากับ 84, 47, 198 และ 61 ตามลำดับ *Ch. cupreum* สามารถสร้างสาร Rotiorinol ซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้งการสร้าง micro-conidia, macro-conidia และ chlamydospore และสารสกัดจากจุลินทรีย์ต่อต้านสามารถชักนำให้เกิดภูมิคุ้มกันโรคกับต้นกล้ามะเขือเทศในกระถางทดลองได้ พบว่าสารสกัด *T. hamatum* ที่ความเข้มข้น 500 ppm สามารถชักนำให้สร้างภูมิคุ้มกันโรคได้สูงสุด คือไม่มีต้นตาย

การทดสอบหาความต้านทานของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 และเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน *Ch. globosum* Cg6, *Ch. cupreum* Cc8, *T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 ต่อ สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl บนอาหาร PDA พบว่าเชื้อราสาเหตุโรคดังกล่าวมีความต้านทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl ได้สูงสุดถึงระดับความเข้มข้น 0.8 ppm เชื้อรา *Ch. globosum* Cg6 และ *Ch. cupreum* Cc8 มีความต้านทานต่อ benomyl ได้ถึงระดับความเข้มข้น 0.6 ppm เชื้อรา *T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 มีความต้านทานต่อ benomyl ได้ถึงระดับความเข้มข้น 0.4 ppm และเมื่อทดสอบศักยภาพของจุลินทรีย์ต่อต้านต่อการควบคุมเชื้อรา *F. oxysporeum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 โดยวิธี bi-culture บนอาหารผสม benomyl ที่ความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านได้ พบว่า *Ch. globosum* Cg6, *Ch. cupreum* Cc8, *T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 ได้เท่ากับ 58.00, 49.33, 62.00 และ 51.11 และ เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากการทดลองควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* โดยใช้ยาเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านและสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl พบว่าการใช้จุลินทรีย์ต่อต้านสามารถควบคุมโรคได้เท่าเทียมกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา ซึ่งมีประสิทธิภาพการควบคุมโรคดังกล่าวจะเห็นเด่นชัดอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับ Control ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงถึง 64.40 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การใช้ยาเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน *Chaetomium* spp., *Trichoderma* spp., *Chaetomium* spp. ร่วมกับ *Trichoderma* spp. และสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพียง 25.20, 22.20, 19.98 และ 17.60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทำให้โรคลดลงเท่ากับ 69.80, 71.80, 75.90 และ 75.36 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และนอกจากนี้ยังพบว่าวิธีการใช้ยาเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านและสารเคมีสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณผลผลิตได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ control ซึ่งใน control มีปริมาณผลผลิตเท่ากับ 597.28 กรัมต่อต้น การใช้ยาเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน *Chaetomium* spp., *Trichoderma* spp., *Chaetomium* spp. ร่วมกับ *Trichoderma* spp. และสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl มีปริมาณผลผลิตเท่ากับ 946.55, 989.79, 1228.15 และ 1,266.15 กรัมต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งทำให้มีผลผลิตเพิ่มขึ้นเท่ากับ 36.94, 39.66, 51.37 และ 52.83 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Biological control of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* causing tomato wilt was conducted by applying antagonistic fungi in the form of biopellets compared with benomyl. Results showed that all antagonistic treatments could reduce the incidence of tomato wilt as effectively as benomyl. The non-treated one had incidence of tomato wilt of 64.40 percent, which significantly higher disease incidence than *Chaetomium*, *Trichoderma*, *Chaetomium* + *Trichoderma* and benomyl treatments which disease incidence were 25.20, 22.20, 19.98 and 17.60 percent, respectively, and the desease incidence decreased as 69.80, 71.80, 75.90 and 75.36 percent, respectively. It was also shown that tomato treated with either antagonists or fungicide gave better yield than the control. Withthis, *Chaetomium*, *Trichoderma*, *Chaetomium* + *Trichoderma* and benomyl treatments gave significantly better yield averaged 946.55, 989.79, 1,228.15 and 1,266.15 g/plant, respectively but the non-treated one averaged yield was 597.28 g/plant. It was concluded that the *Chaetomium*, *Trichoderma*, *Chaetomium* + *Trichoderma* and benomyl increased the yield of tomato as 39.94, 39.66, 51.37 and 52.83 percent, respectively.

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. เกษม สร้อยทอง อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ และผศ.ดร. ถนิมนันต์ เจนอักษร อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้ให้คำแนะนำและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี และขอขอบคุณ รศ.ดร. เกษม และคุณกอบบุญ สร้อยทอง ที่ให้ทุนส่วนหนึ่งในการทำงานวิจัยเพื่อทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

ขอขอบคุณ ผศ.ดร. สมเดช กนกเมธากุล และ ผศ.ดร. ขวัญใจ กนกเมธากุล ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่อนุเคราะห์สารสกัดจากเชื้อรา *Chaetomium globosum, Ch. cupreum, Trichoderma harzianum* และ *T. hamatum* ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์และสิ่งแวดล้อม และเจ้าหน้าที่สำนักงานปรมาณูเพื่อสันติ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการทำ freeze dry ตัวอย่างเชื้อรา

ขอขอบคุณ ผศ.ดร. สุรพล เศรษฐบุตร ภาควิชาเทคนิคเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของเชื้อราด้วยวิธี cluster analysis ในโปรแกรม SPSS

ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ และน้องๆ ทุกคนที่ช่วยเหลือและให้กำลังใจ จนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยดี

นพรัตน์ จินดาวงษ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... IV

กิตติกรรมประกาศ..... VII

สารบัญ..... VIII

สารบัญตาราง..... IX

สารบัญภาพ..... X

บทที่ 1 บทนำ..... 1

1.1 ความสำคัญและที่มา..... 1

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา..... 3

1.3 ขอบเขตการวิจัย..... 3

บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 5

2.1 การเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุ..... 5

2.2 การจัดจำแนกเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*..... 6

2.2.1 การจัดจำแนกโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา..... 6

2.2.2 การจัดจำแนกโดยใช้วิธี electrophoresis..... 6

2.3 การควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*..... 7

2.3.1 การควบคุมเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* โดยใช้สารเคมี.... 7

2.3.2 การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีในประเทศไทย..... 8

2.3.2.1 การใช้เชื้อรา *Chaetomium* spp. ในการควบคุมโรคพืช..... 8

2.3.2.2 การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรคพืช..... 12

2.3.3 การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีในต่างประเทศ..... 15

2.3.3.1 การใช้เชื้อรา *Chaetomium* spp. ในการควบคุมโรคพืช..... 15

2.3.3.2 การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรคพืช..... 17

2.3.3.3 การใช้เชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ.. 18

2.4 การสร้างภูมิคุ้มกันโรคของพืช..... 18

2.5 ความต้านทานของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ต่อสารเคมี..... 19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย..... 22

บทที่ 4 ผลการวิจัย..... 33

บทที่ 5 วิจารณ์ผลการวิจัย..... 106

บทที่ 6 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ..... 112

เอกสารอ้างอิง..... 116

ภาคผนวก..... 127

ประวัติผู้เขียน..... 128

ผลงานลงตีพิมพ์..... 129

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

4.1 เชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ที่แยกได้จากดินปลูกมะเขือเทศ และชิ้นส่วนที่แสดงอาการโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ..... 34

4.2 แสดงการปรากฏและไม่ปรากฏแถบโปรตีนของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* 52

4.3 แสดงการปรากฏและไม่ปรากฏแถบโปรตีนของเชื้อรา *Chaetomium globosum*..... 52

4.4 แสดงการปรากฏและไม่ปรากฏแถบโปรตีนของเชื้อรา *Chaetomium cupreum*, *Trichoderma harzianum* และ *T. hamatum* 53

4.5 การทดสอบหาเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate ที่ทำให้เกิดโรครุนแรงในต้นกล้ามะเขือเทศ..... 56

4.6 การทดสอบศักยภาพของเชื้อก่อโรคของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ที่มีต่อการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ..... 59

4.7 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No. 5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA.... 62

4.8 เปอร์เซ็นต์ขนาดของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน..... 62

4.9 จำนวน macro-conidia ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน..... 63

4.10 เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้าง macro-conidia ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน..... 63

4.11 จำนวน micro-conidia ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน..... 64

4.12 เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้าง micro-conidia ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน..... 64

4.13 จำนวนของ chlamydospore ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน..... 65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.14 จำนวนของ chlamydospore ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน..... 65

4.15 ค่า Ed_{50} ในการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน..... 66

4.16 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากจุลินทรีย์ต่อต้านในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 กับต้นกล้ามะเขือเทศ..... 68

4.17 ระดับการเกิดโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 ในต้นกล้ามะเขือเทศที่ทดสอบการชักนำให้เกิดภูมิคุ้มกันโรค..... 69

4.18 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 ในต้นกล้ามะเขือเทศ ในการทดสอบการชักนำให้เกิดภูมิคุ้มกันโรค..... 69

4.19 ความสูงของต้นในการทดสอบการชักนำให้ต้นกล้ามะเขือเทศสร้างภูมิต้านทานโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*..... 70

4.20 น้ำหนักสดรวมของต้นในการทดสอบการชักนำให้ต้นกล้ามะเขือเทศสร้างภูมิต้านทานโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*..... 70

4.21 น้ำหนักแห้งของต้นในการทดสอบการชักนำให้ต้นกล้ามะเขือเทศสร้างภูมิต้านทานโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*..... 71

4.22 การทดสอบความต้านทานของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 ต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl บนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน..... 77

4.23 การทดสอบความต้านทานของเชื้อรา *Chaetomium globosum* Cg6 ต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน..... 78

4.24 การทดสอบความต้านทานของเชื้อรา *Chaetomium cupreum* Cc8 ต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อายุ 20 วัน..... 79

4.25 การทดสอบความต้านทานของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* PC01 ต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อายุ 7 วัน..... 80

4.26 การทดสอบความต้านทานของเชื้อรา *Trichoderma hamatum* PC02 ต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน..... 81

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.27 การทดสอบ Bi-culture test ระหว่างเชื้อรา *Chaetomium globosum* Cg6 และเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 บนอาหาร PDA ผสม benomyl ที่ความเข้ม 0.02 ppm 85

4.28 การทดสอบ Bi-culture test ระหว่างเชื้อรา *Chaetomium cupreum* Cc8 และเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 บนอาหาร PDA ผสม benomyl ที่ความเข้ม 0.02 ppm 86

4.29 การทดสอบ Bi-culture test ระหว่างเชื้อรา *Trichoderma harzianum* PC01 และเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 บนอาหาร PDA ผสม benomyl ที่ความเข้ม 0.05 ppm 87

4.30 การทดสอบ Bi-culture test ระหว่างเชื้อรา *Trichoderma hamatum* PC02 และเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 บนอาหาร PDA ผสม benomyl ที่ความเข้ม 0.02 ppm 88

4.31 แสดงระดับการเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ภายหลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Chaetomium* และ *Trichoderma* ในกระถางทดลอง..... 93

4.32 การเจริญเติบโตของต้นมะเขือเทศภายหลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Chaetomium* และ *Trichoderma* ในกระถางทดลอง..... 102

4.33 ผลผลิตของมะเขือเทศภายหลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Chaetomium*และ *Trichoderma* ในกระถางทดลอง..... 105

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

3.1 แสดงการทำแผ่นเจลที่ประกอบด้วย separating gel และ stacking gel..... 25

3.2 แสดงการใส่ sample buffer และ standard marker..... 26

3.3 แสดงการ running ด้วยกระแสไฟฟ้า 150 Const.V., 60 mA..... 26

4.1 ลักษณะของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* isolate No.1..... 35

4.2 ลักษณะของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* isolate No.2..... 36

4.3 ลักษณะของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* isolate No.3..... 37

4.4 ลักษณะของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* isolate No.4..... 38

4.5 ลักษณะของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* isolate No.5..... 39

4.6 ลักษณะของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* isolate No.6..... 40

4.7 ลักษณะของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* isolate No.7..... 41

4.8 ลักษณะของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* isolate No.8..... 42

4.9 แสดงลักษณะของเชื้อ *Chaetomium globosum* Cg6..... 43

4.10 แสดงลักษณะของเชื้อ *Chaetomium cupreum* Cc8..... 44

4.11 แสดงลักษณะของเชื้อ *Trichoderma harzianum* PC01..... 45

4.12 แสดงลักษณะของเชื้อ *Trichoderma hamatum* PC02..... 46

4.13 แสดงการเกิดแถบโปรตีนของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* โดยเทคนิค SPS-PAGE..... 49

4.14 Dendrogram แสดงความสัมพันธ์ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*..... 49

4.15 แสดงการเกิดแถบโปรตีนของเชื้อรา *Chaetomium globosum* โดยเทคนิค SPS-PAGE ... 50

4.16 Dendrogram แสดงความสัมพันธ์ของเชื้อรา *Chaetomium globosum*..... 50

4.17 แสดงการเกิดแถบโปรตีนของเชื้อรา *Chaetomium cupreum, Trichoderma harzianum, Trichoderma hamatum* โดยเทคนิค SPS-PAGE..... 51

4.18 Dendrogram แสดงความสัมพันธ์ของเชื้อรา *Chaetomium cupreum, Trichodermaharzianum, Trichoderma hamatum*..... 51

4.19 ระดับการเกิดโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ ที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*..... 55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.20 การทดสอบหาเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate ที่ทำให้เกิดโรครุนแรงกับต้นกล้ามะเขือเทศ..... 55

4.21 แสดงระดับการเกิดโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ ที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum*f.sp. *lycopersici* 57

4.22 การทดสอบศักยภาพของเชื้อก่อโรคของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ที่มีต่อการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ..... 58

4.23 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA..... 61

4.24 การใช้สารสกัดจากจุลินทรีย์ต่อต้านในการชักนำให้ต้นมะเขือเทศสร้างภูมิต้านทานโรคเหี่ยวที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5..... 68

4.25 การทดสอบความต้านทานของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 ต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA 74

4.26 การทดสอบความต้านทานของเชื้อรา *Chaetomium globosum* Cg6 ต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA 74

4.27 การทดสอบความต้านทานของเชื้อรา *Chaetomium cupreum* Cc8 ต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA 75

4.28 การทดสอบความต้านทานของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* PC01 ต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA 75

4.29 การทดสอบความต้านทานของเชื้อรา *Trichoderma hamatum* PC02 ต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA 76

4.30 การทดสอบ Bi-culture ของเชื้อรา *Chaetomium globosum* Cg6 ร่วมกับเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสม benomyl ที่ความเข้มข้น 0.02 ppm 83

4.31 การทดสอบ Bi-culture ของเชื้อรา *Chaetomium cupreum* Cc8 ร่วมกับเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสม benomyl ที่ความเข้มข้น 0.02 ppm 83

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.32 การทดสอบ Bi-culture ของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* PC01 ร่วมกับเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสม benomyl ที่ความเข้มข้น 0.05 ppm 84

4.33 การทดสอบ Bi-culture ของเชื้อรา *Trichoderma hamatum* PC02 ร่วมกับเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสม benomyl ที่ความเข้มข้น 0.05 ppm 84

4.34 แสดงระดับการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*..... 90

4.35 การควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา ***Fusarium oxysporum*** f.sp. ***lycopersici*** โดยใช้ยาเชื้อ ***Chaetomium*** spp. 90

4.36 การควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา ***Fusarium oxysporum*** f.sp. *lycoppersici* โดยใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* spp. 91

4.37 การควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา ***Fusarium oxysporum*** f.sp. ***lycopersici*** โดยใช้ยาเชื้อ ***Chaetomium*** spp. ร่วมกับ *Trichoderma* spp. 91

4.38 การควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา ***Fusarium oxysporum*** f.sp. ***lycopersici*** โดยใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl 92

4.39 การควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา ***Fusarium oxysporum*** f.sp. ***lycopersici*** โดยไม่ใช้วิธีการใด (control) 92

4.40 ลักษณะโคโลนีและความหนาแน่นของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* จากดินปลูกมะเขือเทศที่ใช้ยาเชื้อ *Chaetomium* spp. ควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ..... 95

4.41 ลักษณะโคโลนีและความหนาแน่นของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* จากดินปลูกมะเขือเทศที่ใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* spp. ควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ..... 95

4.42 ลักษณะโคโลนีและความหนาแน่นของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* จากดินปลูกมะเขือเทศที่ใช้ยาเชื้อ *Chaetomium* spp. ร่วมกับ *Trichoderma* spp. ควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ..... 96

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.43 ลักษณะโคโลนีและความหนาแน่นของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* จากดินปลูกมะเขือเทศที่ใช้ benomyl ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ 96

4.44 ลักษณะโคโลนีและความหนาแน่นของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* จากดินปลูกมะเขือเทศที่ไม่ใช้อะไรในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ 97

4.45 แสดงการเปลี่ยนแปลงประชากรของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ภายหลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Chaetomium*และ *Trichoderma* ในกระถางทดลอง..... 97

4.46 การแยกเชื้อรา *Chaetomium* spp. จากดินปลูกมะเขือเทศโดยวิธี baiting (ใช้กระดาษ)..... 98

4.47 แสดงการเปลี่ยนแปลงประชากรของเชื้อรา *Chaetomium* spp. เปรียบเทียบกับเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ภายหลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Chaetomium*และ *Trichoderma* ในกระถางทดลอง..... 98

4.47 ลักษณะโคโลนีและความหนาแน่นของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้โดยวิธี soil plate technique ในช่วงระยะเวลาต่างๆ จากดินปลูกมะเขือเทศที่ใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ 99

4.48 ลักษณะโคโลนีและความหนาแน่นของประชากรเชื้อรา *Trichoderma* spp. จากดินปลูกมะเขือเทศที่ใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* spp. ภายหลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Chaetomium*และ *Trichoderma* ในกระถางทดลอง..... 99

4.49 ลักษณะโคโลนีและความหนาแน่นของประชากรเชื้อรา *Trichoderma* spp. จากดินปลูกมะเขือเทศที่ใช้ยาเชื้อ *Chaetomium* spp. ร่วมกับ *Trichoderma* spp. ภายหลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Chaetomium*และ *Trichoderma* ในกระถางทดลอง 100

4.50 แสดงการเปลี่ยนแปลงของประชากรเชื้อรา *Trichoderma* spp. เปรียบเทียบกับเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ภายหลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Chaetomium*และ *Trichoderma* ในกระถางทดลอง ..... .102

4.51 ลักษณะของต้นมะเขือเทศจากการควบคุมโรคเหี่ยวโดยชีววิธีที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ในกระถางทดลอง..... 103

4.52 ลักษณะของรากมะเขือเทศจากการควบคุมโรคเหี่ยวโดยชีววิธีที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ในกระถางทดลอง..... 103

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.53 ลักษณะของผลมะเขือเทศจากการควบคุมโรคเหี่ยวโดยชีววิธีที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ในกระถางทดลอง..... 105

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มา

มะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum* Mill.) เป็นพืชที่สามารถปลูกได้ในทุกประเทศ นิยมปลูกมากในประเทศจีน รัสเซีย ยุโรป และอเมริกา สำหรับในประเทศไทยมีการปลูกทั่วทุกภาค แต่นิยมปลูกกันมากในภาคเหนือ ได้แก่ เชียงใหม่ ลำปาง นครสวรรค์ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ หนองคาย นครพนม ขอนแก่น (มณีฉัตร, 2538) ในภาคเหนือสามารถปลูกมะเขือเทศได้ตลอดทั้งปี เนื่องจากมีอากาศเย็นซึ่งเป็นสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม สำหรับในภาคตะวันออกเฉียงเหนือนิยมปลูกในนาหลังจากเก็บเกี่ยวข้าวประมาณเดือนพฤศจิกายน และธันวาคม ซึ่งจะปลูกได้ก่อนภาคเหนือเล็กน้อย เพราะฤดูหนาวมีระยะเวลาค่อนข้างสั้น ดังนั้นจึงต้องมีการเตรียมต้นกล้าก่อน ตลอดระยะการปลูกสามารถเก็บผลผลิตได้ประมาณ 10 ครั้ง

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมะเขือเทศ มีเมล็ดรูปไข่ แบน เปลือกที่หุ้มเมล็ดมีขนละเอียดสั้นๆ สีน้ำตาลอ่อนปกคลุม ราก จะงอกออกจากเปลือกหุ้มเมล็ด มีสีขาว ระบบรากเป็นรากแก้ว มีรากแขนงและรากขนอ่อนจำนวนมาก ต้นที่อายุน้อยจะกลม เมื่อเจริญเป็นต้นแก่ลำต้นจะเป็นเหลี่ยม แล้วสร้างช่อดอกบริเวณข้อของลำต้น ดอกมีขนาดเล็ก สีเหลือง ผลมีหลายขนาด หลายสี ไม่แน่นอนขึ้นอยู่กับพันธุ์ของมะเขือเทศ (มณีฉัตร, 2538) มีการปลูกมะเขือเทศเพื่อใช้รับประทานสดและส่งโรงงานอุตสาหกรรม พันธุ์ที่นิยมปลูกกันมากคือพันธุ์พื้นเมืองหรือพันธุ์สีดา มะเขือเทศที่ใช้รับประทานสดนิยมปลูกพันธุ์มานาปาล พันธุ์ฟลอราเดล พันธุ์มาโกลบ พันธุ์สีดา และพันธุ์คาลิปโซ สำหรับพันธุ์ที่นิยมปลูกส่งโรงงานได้แก่ พันธุ์วีเอฟ 134-1-2 พันธุ์โรมา พันธุ์คาลเจ และพันธุ์เฟซเซทเตอร์ 502 มะเขือเทศเป็นพืชผักที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เป็นแหล่ง วิตามิน และแร่ธาตุที่จำเป็นต่อมนุษย์ (เกียรติเกษตร, มปพ.)

ปัญหาที่เกษตรกรผู้ปลูกมะเขือเทศต้องประสบเป็นอย่างมากในช่วงฤดูปลูกและนอกฤดูปลูกคือ ปัญหาทางด้านแมลง และโรค แมลงที่เป็นศัตรูสำคัญของมะเขือเทศคือ แมลงพวกปากดูดเช่น เพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟ ไรแดง แมลงหวี่ขาว และ หนอนเจาะผล (วัฒนา, 2525 และ Cal *et al.*, 1995) และโรคของมะเขือเทศสามารถเกิดได้หลายสาเหตุ เช่น เชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส ไส้เดือนฝอย และการขาดธาตุอาหาร โรคส่วนใหญ่ที่พบมักพบว่ามีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา เช่นโรคเน่าคอดิน เกิดจากเชื้อ *Pythium aphanidermatum, Sclerotium rolfsii* และ *Phytophthora* spp.โรคเหี่ยวเหลืองเกิดจาก *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* โรคก้นเน่า เกิดจากเชื้อ *Pyrenochaeta lycopersici,*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Phytophthora nicotinae, *Alternaria alternata, Helminthosporium carposaprum, Cladosporium herbarum* และ *P. capsici* โรคใบไหม้เกิดจากเชื้อรา *P. infestans* และโรคราแป้งเกิดจาก *Oidiopsis taurica* โรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียได้แก่ โรคเหี่ยวเขียว เกิดจากเชื้อ *Pseudomonas solanacearum* โรคแคงเกอร์ *Xanthomonas campestris* โรคก้นเน่าและ เกิดจากเชื้อ *Erwinia carotovora* (ศุภลักษณ์, 2536, สมศิริ, 2532 และ Yao *et al.*,1994) โรคที่เกิดจากเชื้อไวรัสได้แก่ Tobacco Mosaic Virus, Cucumber Mosaic Virus, Alfalfa Mosaic Virus และ Tomato Yellow Leaf Curl Virus (Blancard, 1992) และโรครากปมที่เกิดจากไส้เดือนฝอย *Meloidogyne incognita* (Shamar and Gill, 1992) จากโรคดังกล่าวข้างต้นพบว่าโรคเหี่ยวมะเขือเทศที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* เป็นโรคหนึ่งที่ระบาดทำความเสียหายแก่มะเขือเทศตามแหล่งปลูกมากถึง 40 เปอร์เซ็นต์ พบได้ในทุกระยะการเจริญเติบโต อาการจะรุนแรงมากในระยะออกดอกติดผล และในสภาพอุณหภูมิค่อนข้างสูง (เกษม, 2534ข) สำหรับเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* ที่พบมีด้วยกันหลายสายพันธุ์ บางสายพันธุ์พบว่าสามารถเกิดโรคได้รุนแรง และบางสายพันธุ์อาจไม่เกิดโรครุนแรงกับมะเขือเทศ ดังนั้นจึงได้มีการจัดจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคดังกล่าว โดยศึกษาจากความแตกต่างทางลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology) และหาน้ำหนักโมเลกุลโปรตีนด้วยวิธี Polyacrylamide Gel Eletophoresis (Pietro *et al.*, 1996)

ในการควบคุมโรคพืชที่มีมาตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน พบว่าเกษตรกรมีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชกันมาก และในปริมาณที่เพิ่มขึ้น ทำให้เกิดปัญหาต่างๆ ตามมา เช่น ทำให้เกิดสารพิษตกค้างในผลผลิตซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค เกิดปัญหาการดื้อยาทำให้ต้องใช้ในปริมาณที่มากขึ้น มีราคาแพง สภาพแวดล้อมเป็นพิษ ดินเสื่อม ดินแน่น เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตที่มีประโยชน์ Fuchs *et al.* (1970) พบว่า benomyl สามารถยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* และ *F. oxysporum* f.sp. *pisi* ได้ และ Etearian (1992) พบว่า carbendazim และ benomyl สามารถควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ได้ที่ความเข้มข้น 100 ppm ดังนั้นในปัจจุบันจึงได้มีนักวิจัยได้คิดค้นหาผลิตภัณฑ์ที่สามารถควบคุมโรคและแมลงศัตรูพืช แต่ต้องให้ได้ผลผลิตที่ได้มีกำไรสูงสุดคุ้มค่าทางเศรษฐกิจ ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมและเป็นที่ยอมรับของสังคม การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีก็เป็นวิธีการหนึ่งที่เป็นที่ยอมรับและสนใจของเกษตรกรในปัจจุบันนี้ การใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ เช่น เชื้อรา *Chaetomium* spp., *Trichoderma spp.*, *Penicillium* spp. หรือเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* เกษม (2532ข) ใช้เชื้อรา *Ch. cupreum* ควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Pseudomonas solanacearum* ในห้องปฏิบัติการและสภาพไร่ เกษม (2534ข) ใช้เชื้อรา *Ch. gracilie* ยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* เชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ เกษม (2535ข) ใช้ยาเชื้อ *Ch. cupreum* ควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศพันธุ์สีดา ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* พบว่ามีการเกิดโรค 7 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Amemiya *et al.* (1994) พบว่า *Ch. globosum* สามารถสร้างสารปฏิชีวนะ chetoglobosic A ยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Verticillium dahliae* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้ Sivan and Chet (1986) ใช้เชื้อรา *Trichoderma harzinum* ควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* และ *F. oxysporum* ในแตงโมได้ และพบว่าเชื้อรา *T. harzianum* สร้างสาร beta 1,3-glucanase และ chitinase ทำลาย chitin ได้ Rattink (1993) ใช้เชื้อรา *T. harzianum* ควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* เชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้ 70 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นในการทดลองนี้จึงได้นำเอาจุลินทรีย์ต่อต้าน *Ch. globosum, Ch. cupreum, T. harzinum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 มาใช้ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* เปรียบเทียบกับการใช้ benomyl เพื่อหาแนวทางในการลดการใช้สารเคมี

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อเปรียบเทียบการจัดจำแนกเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน *Chaetomium globosum, Ch. cupreum, Trichoderma harzianum* PC01, *T. hamatum* PC02 และเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology) และวิธี Polyacrylamide gel electrophoresis

1.2.2 เพื่อทดสอบหาสายพันธุ์ของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate ที่รุนแรงและหาศักยภาพของเชื้อในการทำให้เกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ

1.2.3 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน *Ch. globosum, Ch. cupreum, T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยว (*F. oxysporum* .f.sp. *lycopersici)* และชักนำให้เกิดภูมิคุ้มกันโรคเหี่ยว

1.2.4 เพื่อทดสอบหาความต้านทานของเชื้อรา *Ch. globosum, Ch. cupreum, T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 ต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl

1.2.5 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์ *Chaetomium* และ *Trichoderma* ในการป้องกันกำจัดเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* เปรียบเทียบสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl

1.3 ขอบเขตการวิจัย

เก็บตัวอย่างดินในแปลงมะเขือเทศที่เป็นโรค และตัวอย่างส่วนของมะเขือเทศที่แสดงอาการโรคเหี่ยวจากแปลงปลูกมะเขือเทศ ต. พบพระ อ. พบพระ จ. ตาก นำมาจัดจำแนกหาเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ร่วมกับการใช้เทคนิคทางเจลอิเลคโตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โฟรีซีส เพื่อคัดเลือกหา isolate ที่สามารถทำให้เกิดโรครุนแรงกับต้นมะเขือเทศ ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน และความต้านทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา (benomyl) ในสภาพห้องปฏิบัติการ และในกระถางปลูก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 การเข้าทำลายพืชของเชื้อสาเหตุ

เชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* สามารถแพร่กระจายได้โดย น้ำ ลม เครื่องมือ ดิน ปลูก เมล็ดพันธุ์ และ มนุษย์ เชื้อจะเข้าสู่พืชได้โดยเส้นใยหรือสปอร์ของเชื้อจะงอกเข้าสู่พืชทางปลายรากหรือทางแผล หรือตรงจุดที่รากแตกแขนง เส้นใยเจริญระหว่างเซลเข้าไปใน cortex เข้าสู่ xylem เส้นใยจะเจริญไปส่วนต่างๆ ของพืชโดยการแตกกิ่ง และสร้าง micro-conidia เมื่อ micro-conidia ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ก็จะเจริญเป็นเส้นใยเจริญเข้าไปในท่อลำเลียงข้างเคียง (Blakeman และ Williamson, 1994) เชื้อสามารถเข้าทำลายพืชได้โดยสร้างสารพิษ (toxin) เช่น fusaric acid, dehydrofusaric acid และ lycomalasmine ทำลาย xylem ทำให้อุดตันใน xylem และ vessels มีสาเหตุได้หลายสาเหตุ เช่น มีเส้นใย และ สปอร์อุดตัน หรือเกิดจากการสร้าง pectolytic และ cellulolytic enzymes ออกมาย่อยผนังเซลของ xylem และ vessel หรือเกิดจากการที่เชื้อโรคกระตุ้นให้พืชสร้าง tylose ซึ่งเป็นการเจริญของ protoplasm ของเซล parenchyma ที่อยู่ติดกับท่อน้ำยื่นเข้ามาขวางท่อน้ำ เพื่อป้องกันการเคลื่อนที่ของเส้นใย และสปอร์ แต่ก็มีผลเสียตามมาคือ น้ำและแร่ธาตุอาหารไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ และเมื่อเชื้อเข้าสู่พืชแล้วพบว่าจะสร้าง Indole-3-acetic acid (IAA) มากเกินทำให้ vessels เสียรูปทรง xylem parenchyma แบ่งตัวมากเกินทำให้เซลแตก ยุบตัวง่าย (สมศิริ, 2529 และ พรทิพย์, 2533) สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการพัฒนาของเชื้อ เชื้อสามารถเข้าทำลายพืชได้ดีในสภาพดินที่มีความชื้นปานกลาง อาการของโรคจะรุนแรง ถ้าอุณหภูมิของดินอยู่ระหว่าง 27-32 องศาเซลเซียส และถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 20 หรือสูงกว่า 34 องศาเซลเซียส จะไม่พบอาการโรคนี้ หรือในสภาพที่ดินขาดแคลเซียม มีไนโตรเจนสูง โปรแตสเซียมต่ำจะทำให้อาการรุนแรงมากขึ้น (Blancard, 1992) ลักษณะอาการสามารถพบได้ทุกระยะการเก็บเกี่ยว โดยระยะแรกพบว่าเส้นใบจะซีดลง ก้านใบลู่ลง ในระยะต้นกล้าจะตายหลังจากใบล่างเหลือง ต้นก็จะเหี่ยวฟุบลง แต่ในระยะออกดอกติดผล พบว่าใบล่างเหลืองซีด อาการอาจแสดงเพียงบางส่วนในด้านที่รากถูกเชื้อเข้าทำลาย ก้านใบลู่ลง ลำต้นแคระแกรน ใบแห้งร่วงและตายในที่สุด รากที่ถูกเชื้อเข้าทำลายมีสีน้ำตาล เปลือกหลุดร่อน ท่อน้ำมีสีน้ำตาล (ไพโรจน์, 2525)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 การจัดจำแนกเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

2.2.1 การจัดจำแนกโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology)

ในการจัดจำแนกเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ทางสัณฐานวิทยานี้ สามารถจัดจำแนกได้ดูจากลักษณะความแตกต่างของลักษณะโคโลนี ขนาด สี และรูปร่างของเส้นใย, macro-conidia, micro-conidia และ chlamydospore (Domsch and Gams, 1980)

เชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* จัดอยู่ใน Class Deuteromycetes Order Moniliales Family Tuberculariaceae เส้นใยสีขาว มีผนังกั้น เมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ถ้าอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมมีสีชมพูหรือสีม่วง เป็น Imperfect state สร้างสปอร์แบบไม่ใช้เพศ (asexual spore) มี 3 ชนิด คือ micro-conidia, macro-conidia และ chlamydospore ลักษณะของ micro-conidia รูปไข่ มี 1-2 เซล macro-conidia รูปเคียว มี 3-5 เซล มี foot cell สั้น และ chlamydospore มี 2 ลักษณะคือ terminal และ intercalary ซึ่งมีผนังหนา เชื้อสามารถอยู่รอดในดิน เศษซากพืชได้นานในรูปของ chlamydospore (Domsch and Gams, 1980)

2.2.2 การจัดจำแนกโดยใช้วิธี electrophoresis

การจัดจำแนกเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* โดยวิธี electrophoresis ซึ่งเป็นการแยกและวิเคราะห์ชีวโมเลกุลโดยอาศัยหลักชีวโมเลกุลที่มีประจุต่างกันย่อมมีแรงเคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้าต่างกัน โปรตีนมีประจุได้ เนื่องจากการแตกตัวของหมู่อะมิโน หมู่คาร์บอกซิล และหมู่อื่นๆ ใน Side chain ที่มีค่า pH หนึ่งๆ ของสารละลาย โปรตีนแต่ละชนิดจะมีปริมาณของประจุสุทธิที่แตกต่างกันออกไป ซึ่งอาจจะเป็นบวก ลบ หรือ กลางก็ได้ (พิณทิพ, 2536)

SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) เป็นวิธีการที่ใช้ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของโปรตีนระหว่างขั้นตอนการทำโปรตีนให้บริสุทธิ์ นอกจากนี้ยังเป็นวิธีที่ใช้ในการศึกษาและหาน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนหรือหน่วยย่อย (subunit) ของโปรตีน เมื่อใช้ควบคู่กับเทคนิคทาง Gel filtration chromatography ก็จะทำให้ทราบว่าโปรตีนนั้นๆ ประกอบด้วยหน่วยย่อยกี่หน่วย (อาภัสสรา, 2537)

Pietro et al. (1996) รายงานว่าเชื้อรา *F.* oxysporum f.sp. *lycopersici* เชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศสามารถสร้าง pectate lyase เมื่อเจริญในอาหารที่ประกอบด้วย polygulacturonic acid และที่เจริญในท่อน้ำของมะเขือเทศซึ่งเป็นแหล่ง carbon พบว่ามีน้ำหนักโมโลกุลเท่ากับ 25 kDa โดยวิธี SDS-PAGE นอกจากนี้ Patino and Vazguez. (1997) รายงานว่าเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *redicis-lycopersici* ที่เลี้ยงบนอาหาร pectin และ glucose สามารถผลิตสาร Beta-glucosidase และเนื่องจากสาร galacturonic acid หรือ sucrose ทำให้ Beta-glucosidase นี้สลายตัวได้ช้า และมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การแลกเปลี่ยนประจุบนแผ่นเจล ปรากฏเป็นแถบโปรตีนที่แตกต่างกันบน SDS-PAGE ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 86,000 Da และจากรายงานของ Garcia *et al.* (1997) รายงานว่า เชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ที่เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่ประกอบด้วย polygalacturonic acid สามารถสร้าง exopolygalacturonase ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 63,000 Da โดยวิธี SDS-PAGE

2.3 การควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

2.3.1 การควบคุมเชื้อรา *Fusarium oxysporum* โดยใช้สารเคมี

ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศนี้ เกษตรกรได้มีการใช้สารเคมีมาแต่สมัยโบราณ แต่ปัจจุบันปัญหาที่เกิดจากสารเคมี ได้แก่ สภาพแวดล้อมเป็นพิษ เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคและผู้ใช้ แต่เกษตรกรก็ยังให้ความนิยมต่อสารเคมี เนื่องจากสารเคมีให้ผลเร็วและมีประสิทธิภาพดี benomyl เป็นสารเคมีควบคุมเชื้อราชนิดหนึ่งที่เกษตรนิยมใช้ควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ Fuchs *et al.* (1970) รายงานว่า benomyl สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* และ *F. oxysporum* f.sp. *pisi* ได้โดยใช้ benomyl คลุกเมล็ดก่อนปลูกทำให้อัตราการงอกเพิ่มขึ้นและต้นแข็งแรงเพิ่มขึ้น จากการทดลองของ Gamboa (1985) ทดลองใช้สารเคมี benomyl และ carbendazim ฉีดลงในดินให้ชุ่มก่อนปลูกคาร์เนชั่น สามารถควบคุมโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* ได้ และ Lovang and Wildt (1998) ใช้สารสกัดจากใบ *Melia azaedarach* และ *Trichilia emetica* ความเข้มข้น 5, 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับ control (น้ำ) และ benomyl ในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum lindemathianum, Alternaria alternata, A. solani, Botrytis cinerea, F. oxysporum, F. solani* และ *Sclerotium scerotiorum* พบว่า benomyl ยับยั้งได้ดีที่สุด ส่วนสารสกัดจากพืชก็สามารถยับยั้งได้เช่นกัน

carbendazim ก็เป็นสารหนึ่งที่เกษตรกรนิยมใช้ควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจาก *F. oxysporum* จากรายงานของ Chanhan *et al.* (1988) รายงานว่า carbendazim (50 w.p.), carboxin (75 w.p.), quintozene (75 w.p.) และ thiram (75 w.p.) คลุกเมล็ดก่อนปลูกเพื่อควบคุมโรคเหี่ยวและรากเน่าที่เกิดจาก *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani* และ *F. solani* พบว่า carbendazim สามารถควบคุมเชื้อสาเหตุโรคได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง จากการทดลองของ Singh *et al.* (1989) พบว่าในประเทศอินเดีย ระหว่างปี ค.ศ. 1981-1984 โดยใช้ aldrin 0.5 เปอร์เซ็นต์ และ bavistin (carbendazim) 0.05 เปอร์เซ็นต์ ควบคุมเชื้อ *Ophiomyia phaseoli* และ *F. oxysporum* ในมะเขือเทศ พบว่าสามารถควบคุมโรคได้ 95.2 และ 98.3 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และให้ผลผลิตมากกว่าในการทดลองเปรียบเทียบแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ Kapoor and

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kumar (1991a) ใช้สารเคมีประเภทดูดซึม (benomyl, carbendazim และ thiophanatemethyl) และสารไม่ดูดซึม (captafol, captan และ thiram) พบว่า carbendazim และ benomyl มีพิษสูงสุดในการควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* และ *F. solani* และจากการทดลองของ Etearian (1992) ได้ใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา 13 ชนิด ในการควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* เชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศโดยใช้ความเข้มข้น 100 ppm ในอาหาร PDA พบว่าสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา carbendazim และ benomyl สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ผลสูงสุด

การใช้ chitosan ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* พบว่าสามารถควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้ดีโดย Lafontaine and Benhamou (1996) ใช้ chitosan 12.5 และ 37.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศในเรือนทดลอง พบว่าสามารถควบคุมได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ และการใช้ chitosan 37.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถควบคุมโรคได้ 90 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และสามารถตอบสนองต่อการเข้าทำลายเชื้อโรคได้อย่างรวดเร็ว

Yamada *et al.* (1986) รายงานว่า 5 phenyl phosphinic acids จาก ammonium salts, metal salts, esters และ amides ควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *raphani* และ *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ในมะเขือเทศได้ และการทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่า ammonium salts สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์และมีผลชักนำให้เชื้อโรคต้านทานต่อพืชอาศัยสูงขึ้น

2.3.2 การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีภายในประเทศไทย

2.3.2.1 การใช้เชื้อรา *Chaetomium spp.* ในการควบคุมโรคพืช

ในการควบคุมโรคของมะเขือเทศโดยใช้เชื้อรา *Chaetomium* spp. ในประเทศไทย เกษม (2532ข) ได้มีการทดสอบว่า *Ch. cupreum* สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อ *Pseudomonas solanacearum* ในสภาพห้องปฏิบัติการและในสภาพไร่ พบว่าการเลี้ยงเชื้อร่วมบนอาหาร PDA โดยนำเชื้อแบคทีเรียมาทำ dilution plate ที่ความเข้มข้น 10, 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5} และ, 10^{-6} ซึ่ง *Ch. cupreum* สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ทุกระดับความเข้มข้น ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-3} และ 10^{-5} มีค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งสูงสุดเท่ากับ 8.1 และ 8.2 มิลลิเมตร และความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าเฉลี่ยบริเวณยับยั้งต่ำสุด 2.8 มิลลิเมตร ส่วนในสภาพไร่การใช้สปอร์แขวนลอยของ *Ch. cupreum* สารสกัด *Ch. cupreum* และน้ำกลั่นฆ่าเชื้อฉีดพ่นทุก 20 วัน จนถึงการเก็บเกี่ยว พบว่าการใช้สปอร์แขวนลอยและสารสกัดจากเชื้อรา *Ch. cupreum* สามารถลดการเกิดโรคได้โดยมีการเกิดโรคสูงสุดเพียง 14 เปอร์เซ็นต์ และการใช้สปอร์แขวนลอยของ *Ch. cupreum* พบว่าต้นมะเขือเทศมีความสูงเฉลี่ยมากที่สุดคือ 64.65 เซนติเมตร ส่วนใน control มีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 46.55 เซนติเมตร ต่อมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกษม (2534ข) ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Ch. gracile* สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวมะเขือเทศ ที่เกิดจากเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* โดยวิธี bi-culture test พบว่า *Ch. gracile* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ 52 เปอร์เซ็นต์ เมื่อศึกษา antagonism ระหว่าง *Ch. gracile* และเชื้อสาเหตุโรคพืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์โดยวิธี slide bi-culture test พบว่า conidia ของรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ถูกทำลาย เซลแตก เนื่องจากส่วนของ protoplast ภายในเซลจับตัวกันเป็นก้อนและบางส่วนไหลทะลักออกจากเซล .จากการทดสอบในเรือนทดลอง โดยใช้สปอร์แขวนลอย และสารสกัดเชื้อรา *Ch. gracile* ฉีดพ่นลงดินรอบโคนต้นมะเขือเทศที่ปลูกในดินที่อบฆ่าเชื้อและไม่อบฆ่าเชื้อ พบว่าสามารถลดการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศพันธุ์สีดาได้ และมีประสิทธิภาพเท่าเทียมกับการใช้สารเคมี benzimidazole และให้ผลดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ control ต่อมา เกษม (2534ก) ใช้ *Ch. cupreum* มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคโคนเน่าของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ในสภาพไร่โดยใช้สปอร์ของเชื้อรา *Ch. cupreum* ในปริมาณ 500,000 สปอร์ต่อมิลลิลิตร พบว่าสามารถยับยั้งการเกิดโรคในสภาพไร่ได้ 81.15 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งประสิทธิภาพการยับยั้งดังกล่าว ยังด้อยกว่าการใช้สารเคมี PCNB แต่อย่างไรก็ตาม พบว่าการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของต้นมะเขือเทศจากทั้ง 2 กรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ต่อมา เกษม (2535ข) ใช้ยาเชื้อที่ผลิตจากเชื้อรา *Ch. cupreum* สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศพันธุ์สีดา ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ได้ พบว่าแปลงที่ใช้ยาเชื้อมีการเกิดโรค 7 เปอร์เซ็นต์ และแปลงที่ไม่ได้ใช้ยาเชื้อมีการเกิดโรค 20 เปอร์เซ็นต์ ต่อมา เกษม (2536ก) ใช้เชื้อรา *Ch. cupreum* ควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อ *Pseudomonas solanaceurum* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ต่อต้าน (antagonist) สายพันธุ์ที่เฉพาะเจาะจง และนำไปทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกันในห้องปฏิบัติการ ปรากฏว่า *Ch. cupreum* สามารถลดการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้กำมะถันผงและใช้น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ นอกจากนี้ยังแสดงให้เห็นว่าการใช้ *Ch. cupreum* มีผลทำให้ต้นมะเขือเทศเติบโตและให้ผลผลิตดีกว่าการทดลองเปรียบเทียบ ต่อมา เกษม (2536ค) พบว่า *Ch. cupreum* เป็นเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ซึ่งปรากฏว่า conidia ของเชื้อราสาเหตุโรคสูญเสียความสามารถในการทำให้เกิดโรค เนื่องจากเซลแตก และ protoplast ไหลออกจากเซลของเชื้อรา สามารถอธิบายได้ว่า เกิดจากขบวนการสร้างสารปฏิชีวนะ และได้พัฒนาจุลินทรีย์ต่อต้านเป็นยาเชื้อชนิดเม็ดเป็นยาเชื้อป้องกันกำจัดเชื้อราในดินชนิดเม็ด 2 รูปแบบคือ ยาเชื้อชนิดเม็ดที่ผลิตโดยใช้ sodium alginate ยาเชื้อชนิดเม็ดที่ผลิตโดยคลุกกับวัสดุอินทรีย์และอัดเป็นเม็ด พบว่าสามารถมีชีวิตอยู่รอดได้ 90 เปอร์เซ็นต์เมื่อเวลาผ่านไป 1 ปี นอกจากนี้ เกษม และ ชลฎา (2536) พบว่า *Ch. cupreum* สามารถควบคุมโรคเน่าระดับดินของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium ultimum* ได้ โดยเลี้ยงเชื้อร่วมบนอาหาร PDA พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. ultimum* ได้ 9.42 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำมาทำสอบใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เรือนทดลองโดยใช้สารสกัดจากรา *Ch. cupreum* ยาเชื้อชนิดเม็ดที่ผลิตจาก *Ch. cuprerum* เปรียบเทียบกับการการใช้น้ำกลั่น พบว่าการใช้สารสกัด และการใช้ยาเชื้อชนิดเม็ด มีการเกิดโรค 50 และ 52.70 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ใช้น้ำกลั่นมีการเกิดโรค 90 เปอร์เซ็นต์ และนอกจากนี้ ขวัญใจและคณะ (2536) พบว่าสารสกัดจากโป๊ยกั๊กความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ได้ 99.4 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดจากเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่สกัดด้วย methylcholride สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ 97.61 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดจากใบราชพฤกษ์สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ 97.73 เปอร์เซ็นต์

ได้มีการทดลองนำเชื้อรา *Chaetomium* spp. ไปใช้ควบคุมโรคอื่นๆ เช่นควบคุมโรคของข้าวโพด เกษม (2532ค) ได้ทดสอบคุณสมบัติของเชื้อรา *Ch. cupreum* ในการควบคุมโรคโคนเน่าของข้าวโพดหวานที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* พบว่าการใช้สารสกัดจากเชื้อรา *Ch. cupreum* สปอร์ของเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่ตายแล้ว และสปอร์ของเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่มีชีวิตปริมาณ 100,000 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ฉีดพ่นทุก 15 วัน พบว่าข้าวโพดหวานมีระดับการเกิดโรคโคนเน่าใกล้เคียงกันคือ 3.77, 3.61 และ 3.81 ตามลำดับ ส่วนวิธีการที่ใช้สารเคมี PCNB พบว่ามีระดับการเกิดโรคเท่ากับ 3.11 ซึ่งสามารถควบคุมโรคได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีที่ใช้น้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อ พบว่ามีระดับการเกิดโรคสูงสุดเท่ากับ 4.05 ส่วนในด้านความสูงของข้าวโพด ที่อายุ 15, 30, 45 และ 60 วัน ในทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ และความยาวฝักสดปลอกเปลือก ในทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่วิธีฉีดพ่นสารสกัดจาก *Ch. cupreum* มีแนวโน้มของน้ำหนักสดปลอกเปลือกสูงสุด 140.65 กรัม ต่อมา เกษม (2534ค) ได้ทดสอบศักยภาพในการควบคุมโดยชีววิธี โดยใช้เชื้อรา *Ch. globosum* ต่อต้านเชื้อราสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคกาบใบจุดของข้าวโพดหวาน ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Curvularia lunata* โดยวิธีการทดสอบเลี้ยงเชื้อร่วมในอาหาร PDA พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคได้ 74 เปอร์เซ็นต์ และมีบริเวณยับยั้ง 0.4 เซนติเมตร และการใช้เชื้อรา *Ch. globosun* ควบคุมเชื้อรา *C. lunata* ในสภาพเรือนทดลองพบว่าการใช้สปอร์แขวนลอยของ *Ch. globosum* ในอัตรา 50,000 สปอร์ต่อมิลลิลิตร สามารถควบคุมโรคใบจุดของข้าวโพดได้ดี มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำ 26-27 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งได้ผลใกล้เคียงกับการใช้สารเคมีประเภท benlate และมีแนวโน้มว่าในวิธีการที่ใช้ *Ch. globosum* พืชจะมีการเจริญเติบโตดีกว่าในวิธีการเปรียบเทียบ และ เกษม (2536ข) ทดสอบคุณสมบัติของเชื้อรา *Ch. globosum* ซึ่งเป็นเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านเชื้อรา *Curvularia lunata* บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม พบว่า *Ch. globosum* สามารถยับยั้งเชื้อรา *C. lunata* ได้ 60 เปอร์เซ็นต์ และสร้างบริเวณยับยั้งเท่ากับ 4 มิลลิเมตร เมื่อนำไปทดสอบในเรือนทดลองในดินอบฆ่าเชื้อ พบว่าการใช้สารแขวนลอยของ *Ch. globosum* คลุกเมล็ดข้าวก่อนปลูกการใช้สารสกัดฉีดพ่น และการใช้ benlate ฉีดทุกสัปดาห์ จนกระทั่งข้าวโพดอายุได้ 45 วัน พบการเกิดโรคมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับ control

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การใช้สปอร์แขวนลอยของเชื้อ จุลินทรีย์ต่อต้าน ลดการเกิดโรคได้ 15.4 เปอร์เซ็นต์ ในดินไม่อบฆ่าเชื้อ และ 36.5 เปอร์เซ็นต์ ในดินอบฆ่าเชื้อ ส่วนการใช้ benlate ลดการเกิดโรคได้ 21.25 และ 33.00 เปอร์เซ็นต์ และพบว่ามีน้ำหนักสดต่อต้น น้ำหนักราก และความสูงของต้นดีกว่า control

การนำจุลินทรีย์ต่อต้าน (microbial antagonists) ได้แก่ *Chaetomium globosum, Ch. cochliodes* และ *Ch. cupreum* และใช้สารสกัดจากจุลินทรีย์ต่อต้านดังกล่าว สามารถควบคุมโรคติดต่อทางเมล็ดข้าวได้ เช่น *Pyricularia oryzae, Fusarium moniliforme, Drechslera oryzae, Curvularia lunata, Rhizoctonia oryzae* และ *R. solani* ได้สำเร็จ และพบว่าจุลินทรีย์ต่อต้านสายพันธุ์ที่เฉพาะเจาะจงเท่านั้น ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดต่อการควบคุม ซึ่งสันนิษฐานว่าอาจเกิดจากกลไก 2 ลักษณะ คือ การเกิดการแข่งขัน (competition) และการสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiosis) (เกษม, 2532ก) นอกจากนี้ได้มีการนำเชื้อรา *Chaetomium* spp. มาควบคุมโรคข้าว โดย เกษม (2533) ได้ทำการทดสอบคุณสมบัติของเชื้อรา *Ch. cochliodes* และ *Ch. cuniculosum* เพื่อใช้ในการควบคุมโรคไหม้ของข้าว ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อรา *P. oryzae* พบว่าการคลุกเมล็ดก่อนปลูกด้วยสปอร์ของเชื้อรา *Ch. cochliodes* สารสกัดของเชื้อรา *Ch. cochliodes* และ captan มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคไหม้ที่เกิดในระยะต้นกล้าของข้าวสายพันธุ์ IR442-2-58 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรคไหม้ได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของต้นกล้าต่ำสุด 15, 22.5 และ 15 ตามลำดับ ในขณะที่ตัวเปรียบเทียบมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของต้นกล้าสูงสุดคือ 37.5 และเมื่อนำกล้าข้าวไปปลูก พบว่ากล้าข้าวที่คลุกเมล็ดด้วยสปอร์ของเชื้อรา *Ch. cochliodes* สารสกัดเชื้อรา *Ch. cupreum* และ captan มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของต้นกล้าต่ำ เท่ากับ 17.5, 20 และ 15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และนอกจากนี้ได้มีการใช้เชื้อรา *Ch. cuniculorum* คลุกเมล็ดข้าวก่อนปลูก พบว่าไม่สามารถควบคุมโรคใบไหม้ของข้าวได้ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าการใช้ *Chaetomium* spp. เป็นจุลินทรีย์ต่อต้าน เพื่อใช้ในการควบคุมเชื้อโรคพืช โดยชีววิธีนี้ขึ้นอยู่กับ species ของเชื้อราที่เฉพาะเจาะจงในแต่ละสายพันธุ์ และจากรายงานของเกษม (2535ก) รายงานว่าได้แยกเชื้อราจากนาข้าว พบว่า *Ch. trilaterale, Ch. globosum* และ *Ch. cochliodes* เป็นจุลินทรีย์ต่อต้านเชื้อรา *Penicillium oryzae* จากการทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกัน คุณสมบัติดังกล่าวเกิดขึ้นมาจากการเจริญแข่งขันซึ่งกันและกัน หรือจากการเกิดกิจกรรมของการสร้างสารปฏิชีวนะของจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีความสัมพันธุ์กับเชื้อโรค การคลุกเมล็ดข้าวพันธุ์ IR442-2-58 กับสารแขวนลอย หรือสารสกัดจากเชื้อรา *Chaetomium* spp. และปลูกในดินที่ผสมเชื้อก่อโรค *P. oryzae* มีผลต่อการควบคุมการติดเชื้อในระยะต้นกล้าได้ ซึ่งปกติแล้วเมล็ดข้าวที่ติดเชื้อโรคดังกล่าวจะทำให้เมล็ดเสียไม่งอก ซึ่งชี้ให้เห็นว่า *Chaetomium* spp. อาจสร้างสารปฏิชีวนะขึ้นมาควบคุมการเจริญของเชื้อโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากมีผลในด้านการควบคุมโรคได้แล้ว การคลุกเมล็ดด้วยจุลินทรีย์ต่อต้านยังมีผลทำให้ต้นกล้าข้าวเจริญดีขึ้นด้วย ทั้งในด้านความสูงของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้น การเจริญของระบบราก และน้ำหนักสดของต้น ซึ่งดีกว่าการทดลองเปรียบเทียบ และมีผลใกล้เคียงกับการคลุกเมล็ดข้าวด้วยสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา captan

2.3.2.2 การใช้เชื้อรา *Trichoderma spp.* ในการควบคุมโรคพืช

ในประเทศไทยได้มีการนำเชื้อรา *Trichoderma* spp. มาใช้ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีได้ โดยอรพรรณ และคณะ (2525) รายงานว่าการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคเน่าของผักตระกูลมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* นั้นอาจมีปัญหาเกี่ยวกับพิษตกค้างของสารเคมี ฉะนั้นในการใช้จุ ลินทรีย์ต่อต้าน เช่น *T. harzianum* ที่เลี้ยงบนชานอ้อย ในอัตรา 50 กรัมต่อตารางเมตร คลุกในดินที่มีเชื้อ *Sclerotium rolfsii* เปรียบเทียบกับการใช้ใช้ยา PCNB ในอัตรา 2 กรัมต่อตารางเมตร พบว่าการใช้ *T. harzianum* สามารถชลอการเกิดโรคโคนเน่าของมะเขือเทศได้ใกล้เคียงกับการใช้ PCNB อย่างเดียว หรือการใช้ทั้ง 2 อย่างร่วมกัน จากการทดลองของ วีระศักดิ์ และระวีวรรณ (2528) พบว่าการปลูกเชื้อ *T. harzianum* ซึ่งแยกได้จากดินปลูกมะเขือเทศ พริก ถั่วลิสง และกระเทียม ทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและเรือนทดลอง เนื่องจากเชื้อนี้เป็น parasite ของเชื้อราในดินที่เป็นสาเหตุของโรคพืชหลายชนิด โดยเฉพาะเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคกับระบบราก มีการดำรงชีพแบบ saprophyte ซึ่งเจริญได้ดีในดินทั่วไปในสภาพ pH ต่ำ และอุณหภูมิสูง ต่อมา บรรเจิด และจิระเดช (2529) รายงานว่า *T. harzianum* ที่แยกได้จากเมล็ด Sclerotia และจากดินสามารถยับยั้งการเจริญโดยคลุมทับโคโลนีของเชื้อรา *S. rolfsii* ได้ และนอกจากนี้ แสงมณี และคณะ (2529) รายงานว่าพบเชื้อราในดินบริเวณรากมะเขือเทศที่เป็นโรครากเน่า ได้แก่ *Sclerotium rolfsii* ซึ่งเป็นสาเหตุโรครากเน่าของมะเขือเทศ พบทั้งบริเวณที่เป็นโรคและในดินบริเวณรอบรากมะเขือเทศ ปกติไม่พบว่ามีอาการของโรคแต่พบเชื้อรา *T. harzianum* มากกว่าในดินที่เป็นโรครากเน่า

มีการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรคพืชชนิดต่างๆ โดย บรรเจิด (2530) ได้ทำการควบคุมเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ที่แยกจากดินโดยใช้เชื้อรา *T. harzianum* และ *Penicillium citrinum* ได้เท่าเทียมกับการใช้สารเคมี carboxin จากรายงานของจุฬารัตน์ (2531) พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* สามารถยับยั้งเชื้อรา *Fusarium moniliforme* และ *F. oxysporum* ซึ่งเป็นเชื้อที่ทำให้เกิดโรครุนแรงในอ้อย โดยเกิดลักษณะอาการกับต้นกล้าทำให้ไหม้แห้ง และตาเน่า ได้

จากการทดลองของ มณฑา และคณะ (2534) ได้ใช้ *Trichoderma* sp. ป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าของทานตะวันที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ในห้องปฏิบัติการและในกระถางปลูก จากการทดสอบในห้องปฏิบัติการ โดยเลี้ยงเชื้อร่วมบนอาหาร PDA พบว่าสปอร์ของ *Trichoderma* sp. สามารถเข้าไปอยู่ในเส้นใยของ *R. solani* และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *R. solani* โดยทำให้เส้นใยเหี่ยวแฟบ และแตกหักได้ภายใน 6 วัน ส่วนในกระถางปลูก ใช้ *Trichoderma* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อัตราส่วน 40 กรัมต่อดินอบฆ่าเชื้อ 300 กรัม พบว่าการคลุกเคล้าเชื้อราทั้งสองชนิด พบอาการที่ปลายรากที่เป็นสีน้ำตาล หลังจากคลุกเชื้อ 7 วัน พบอาการโคนต้นมีสีน้ำตาล หลังคลุกเชื้อ 15 วัน ส่วนที่คลุกด้วยเชื้อราทั้ง 2 ชนิด พบแต่ที่ปลายรากเท่านั้น และในกรรมวิธีที่คลุกด้วย *Trichoderma* sp. อย่างเดียว และที่ไม่ได้คลุกเชื้อ ไม่พบอาการโรคโคนเน่าแต่อย่างใด

สุภาพร และคณะ (2537) ใช้เชื้อรา *Trichoderma* 4 isolates คือ *T. harzianum* (CHAN01-13), *T. harzianum* (M4), *T.* (CHAN1-01-17) และ *T.* (CHAN1-01-12) ในการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของกล้าทุเรียนที่เกิดจากเชื้อรา *P. palmivora* โดยใช้เชื้อรา *Trichoderma* ผสมกับผงไดอะตอมไมท์:รำข้าว:ปุ๋ยอินทรีย์ อัตราส่วน 1:8:5:16 เปรียบเทียบกับการใช้ metalaxyl และ fosetyl AL ใส่ลงในดินปลูกกล้าทุเรียน 4-5 วัน ก่อนปลูกเชื้อ พบว่า *Trichoderma* ทุก isolates สามารถลดปริมาณเชื้อ *P. palmivora* ได้ดีที่สุดและไม่แตกต่างกัน คือมีเปอร์เซ็นต์ต้นรอดตายสูงสุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ (*T. harzianum* (M4) และ *T.* (CHAN-03-13)) ในขณะที่กรรมวิธีที่มีเชื้อ *P. palmivora* อย่างเดียวจะมีต้นตาย 50 เปอร์เซ็นต์ และจากการศึกษาของ สนชัย (2540) พบว่า *T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อรา *Phytophthora palmivora* เชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน โดยเลี้ยงเชื้อร่วมบนอาหาร PDA พบว่า *T. harzianum* PC01 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. palmivora* ได้ 76.77 เปอร์เซ็นต์ และ *T. hamatum* PC02 สามารถยับยั้งได้ 71.38 เปอร์เซ็นต์ และได้นำยาเชื้อ *Trichoderma* ชนิดเม็ดควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าในทุเรียนอายุ 1 ปี ในเรือนทดลอง โดยใช้อัตรา 10 กรัมต่อต้น พบว่าสามารถควบคุมโรคได้ 85 เปอร์เซ็นต์ และนอกจากนี้ได้นำไปควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าในสภาพไร่ ในอัตรา 80 กรัมต่อต้น สามารถควบคุมโรคได้ 68.78 เปอร์เซ็นต์ในปีแรก และ 80.60 เปอร์เซ็นต์ในปีที่ 2

สุรีรัตน์ และคณะ (2540) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. harzianum* (CB-PIN-01) ในการควบคุมโรครากเน่าของส้มเขียวหวานที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* โดยวิธีการหว่านส่วนผสมของเชื้อรา *T. harzianum* กับอาหารเสริม (รำข้าว) และสารเสริม (ปุ๋ยหมัก) อัตราส่วน 1:4:10 โดยหว่านรอบทรงพุ่มต้นส้มในอัตรา 100 กรัมต่อตารางเมตร พบว่ามีปริมาณเชื้อรา *T. harzianum* เพิ่มขึ้นจากเดิม 120-126 เท่า เมื่อเทียบกับเชื้อรา *P. parasitica* และความสมบูรณ์ของต้นจะเพิ่มขึ้น และจากรายงานของ พรพรรณ และ เกษม (2541) ได้ทำการทดลองใช้ยาเชื้อชนิดเม็ด คือ ยาเชื้อ *Trichoderma* (PC01+PC02) ในอัตราส่วน 10 กรัมต่อต้น ยาเชื้อ *Chaetomium* (CC+CG) ในอัตราส่วน 5 กรัมต่อต้น และการใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* 5 กรัมต่อต้น ร่วมกับยาเชื้อ *Chaetomium* 2.5 กรัมต่อต้น ในการป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวานซึ่งมีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ในพื้นที่ที่กำลังมีการระบาดของโรครุนแรงในแปลงปลูกของเกษตรกรที่ อ. พบพระ จ. ตาก ระหว่างเดือน เมษายน 2540-มกราคม 2541 โดยใช้ยาเชื้อดังกล่าวร่วมกับปุ๋ยกทม. และใช้ปูนขาวปรับสภาพดิน ทุก 4 เดือน พบว่าการใช้ยาเชื้อ *Chaetomium* สามารถลดการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกิดโรคได้สูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ 47.25 เปอร์เซ็นต์ รองมาคือการใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* ร่วมกับ ยาเชื้อ *Chaetomium* และยาเชื้อ *Trichoderma* อย่างเดียวสามารถลดการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 44.99 และ 44.66 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่ใช้วิธีการใด (control) จากการทดลองพบว่าปริมาณเชื้อ *P. parasitica* ในดินที่ระดับความลึก 15 และ 30 เซนติเมตร มีปริมาณลดลงในวิธีการที่ใช้ยาเชื้อ แต่ใน control มีปริมาณเชื้อ *P. parasitica* เพิ่มขึ้น

แสงมณี (2540) ได้ศึกษาผลของเชื้อรา *T. harzianum* 8 isolates ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Phytophthora parasitica* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทย โดยเลี้ยงเชื้อร่วมบนอาหาร PDA พบว่า *T. harzianum* No.P1 เจริญคลุมเชื้อรา *P. parasitica* ได้ดีที่สุดในเวลา 5 วัน และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 43.3 เปอร์เซ็นต์ และจากการศึกษากลไกในการเป็นปรปักษ์ของเชื้อรา *T. harzianum* ต่อเชื้อรา *P. parasitica* พบว่า *T. harzianum* สร้างเส้นใยพันรัดเส้นใยของเชื้อรา *P. parasitica* และเจาะเข้าไปแย่งอาหารอยู่ภายใน ทำให้เกิดช่องว่างภายในเส้นใยที่ทำลาย และผนังเส้นใยถูกย่อยสลาย เป็นผลให้เส้นใยดังกล่าวไม่สามารถเจริญเติบโตไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ และนอกจากนี้ยังพบว่า *T. harzianum* No.P1-4 และ *T. harzianum* No.P7 มีความสามารถสูงในการยับยั้งการสร้าง sporangium และนอกจากนี้ Sodsa-art and Soytong (1999) ได้มีการใช้ยาเชื้อชนิดเม็ดในแปลงเกษตร คือ ยาเชื้อ *Trichoderma* ชนิดเม็ด (PC01+PC02) ยาเชื้อ *Chaetomium* ชนิดเม็ด (CC5+CC10) และยาเชื้อร่วมกันสองชนิด (*Trichoderma+Chaetomium*) ในการป้องกันกำจัดโรครากเน่าของพริกไทย ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* MF3 ในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคมาก่อน โดยใช้ยาเชื้อดังกล่าวในอัตรา 20 กรัมต่อต้น ร่วมกับการใช้ปุ๋ยอินทรีย์กทม. ทุก 4 เดือน เป็นเวลา 12 เดือน พบว่าการใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* ร่วมกับยาเชื้อ *Chaetomium* สามารถป้องกันกำจัดโรครากเน่าโคนเน่าซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำสุด เท่ากับ 8.60 เปอร์เซ็นต์ การใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* และยาเชื้อ *Chaetomium* มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 10.94 และ 22.66 ตามลำดับ ซึ่งสามารถควบคุมโรคได้ผลดีใกล้เคียงกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราประเภท Metalayl ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 21.88 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่ใช้วิธีการใดเลย มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงถึง 71.63 เปอร์เซ็นต์ สรุปได้ว่าปริมาณเชื้อก่อโรค *P. palmivora* MF3 ในดินจะลดลง ในวิธีการที่ใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* ยาเชื้อ *Chaetomium* และการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา Metalaxyl อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับ ที่ไม่ใช้วิธีการใด ซึ่งมีปริมาณเชื้อก่อโรคเพิ่มขึ้น

จากการศึกษาของ สุมิตรา (2540) ได้ทดสอบการเลี้ยงเชื้อร่วมบนอาหาร PDA ระหว่างเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* IFFI กับเชื้อรา *T. harzianum* PC01 พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโต และยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ 74.13 และ 97.31 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และ *T. hamatum* PC02 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโต และยับยั้งการสร้างสปอร์ของ *C. gloeosporioides* ได้ 63.24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ 55.1 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* ชนิดเม็ดควบคุมโรคแอนแทรกโนสของมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ อายุ 5 ปี โดยใช้ 40 กรัมต่อต้น ทุก 4 เดือนร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ กทม. 5 กิโลกรัมต่อต้น พบว่าสามารถควบคุมโรคและปริมาณเชื้อได้ 55.33 และ 81.26 เปอร์เซ็นต์

2.3.3 การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีในต่างประเทศ

2.3.3.1 การใช้เชื้อรา *Chaetomium* spp. ในการควบคุมโรคพืช

ในต่างประเทศได้มีการทดลองนำเชื้อรา *Chaetomium* spp. มาใช้ในการควบคุมโรคของมะเขือเทศได้ เช่น จากรายงานของ Price (1982) ได้รายงานว่าสามารถแยกเชื้อรา *Ch. olivaceum* ซึ่งมีความสัมพันธ์เกี่ยวข้องกับการส่งเสริมความยาวรากของมะเขือเทศ และจากรายงานของ Amemiya *et al.* (1994) พบว่าเชื้อรา *Ch. globosum* สามารถสร้างสารปฏิชีวนะ Chaetoglobosin A ซึ่งสามารถยับยั้งการงอกของ สปอร์ของเชื้อรา *Verticillium dahliae* เชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้ และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ในสภาพการเลี้ยงเชื้อร่วมบนอาหาร PDA และนอกจากพบว่าสามารถควบคุมโรคอื่นๆ ได้อีกด้วย รวมทั้งจากรายงานของ Soytong *et al.* (1999) พบว่าได้ใช้ยาเชื้อชนิดเม็ดและชนิดผงที่ผลิตจากเชื้อรา *Ch. globosum* และ *Ch. cupreum* นำมาใช้ควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศในสาธารณประชาชนจีนที่เกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ในอัตรา 0.3, 0.5 และ 1.0 กรัมได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่งเมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองเปรียบเทียบ โดยเมื่อใช้ยาเชื้อชนิดเม็ดและชนิดผงที่อัตรา 1 กรัม สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้ 80 เปอร์เซ็นต์

นอกจากนี้ยังได้มีการใช้เชื้อรา *Chaetomium* spp. ในการควบคุมโรคพืชชนิดอื่นๆ ด้วย เช่น Chang Mew and Kommedahl (1972) ใช้สปอร์ของ *Ch. globosum* คลุกเมล็ดข้าวโพดทำให้ป้องกันเชื้อ *Penicillium* และ *Fusarium* spp. ได้โดยเฉพาะเชื้อรา *F. moniliforme* ในโรงเรือนเก็บเมล็ดพันธุ์ ต่อมา Brewer and Taylor (1980) รายงานว่าการแยกเชื้อรา *Chaetomium* spp. จากดิน 2563 ตัวอย่างจาก Nappam, N.S. สามารถแยกเชื้อรา *Chaetomium* spp. ได้ทั้งหมด 102 isolates พบว่าเชื้อรา *Ch. umbunatum* เป็น species ที่พบได้มากที่สุด จากการทดสอบการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Ch. umbonatum* ในห้องปฏิบัติการทั้งหมด 56 isolates โดยนำ culture มาตรวจสอบพบการสร้าง toxic metabolite ซึ่งสารสกัดจาก culture และสารสกัดจากเส้นใยเชื้อรา *Ch. umbonatum* นี้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ต่อมา Handoo and Aulakh (1982) รายงานว่าการใช้เชื้อรา *Ch. globosum* คลุกเมล็ดข้าวโพดจะสามารถลดปริมาณของเชื้อราในเมล็ดพันธุ์ได้ และลดการเจริญเติบโตของเชื้อราที่เหลือในเมล็ดได้ด้วย การคลุกเมล็ดข้าวโพดด้วยรา *Ch. globosum* ยังมีผลทำให้อัตราการงอกของเมล็ดสูงขึ้น โดยเพิ่มจำนวนต้นกล้าที่สมบูรณ์ และมีประสิทธิภาพในการลดการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เน่าเสียของเมล็ดที่มีสาเหตุมาจากเชื้อโรคในเมล็ดพันธุ์ ต่อมา Johnston and Booth (1983) ได้ทดลองใช้เชื้อรา *Chaetomium* spp. ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ และบาง species ของ *Chaetomium* เช่น *Ch. globosum* และ *Ch. cochliodes* สร้างสารปฏิชีวนะซึ่งสามารถควบคุมเชื้อโรคทางดินและโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้ เช่น *Helminthosporium* spp., *Fusarium* spp., *Alternaria* spp. และ *Rhizoctonia* spp. ต่อมา Heye and Andrews (1983) รายงานว่า *Ch. globosum* เป็นจุลินทรีย์ต่อต้านเชื้อ *Venturia inaequalis* เชื้อสาเหตุโรคของแอปเปิ้ล และ *Ch. cupreum* เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *Phomopsis sojae* เชื้อสาเหตุโรคของถั่วเหลือง ต่อมา Cullen and Andrews (1986) รายงานว่าการใช้เชื้อรา *Ch. globosum* สามารถลดและป้องกันการติดเชื้อของต้นกล้าแอปเปิ้ลจากเชื้อ *Venturia inaequalis* ใน growth chamber ได้ และขบวนการสร้างสารปฏิชีวนะจากรา *Ch.globosum* มีผลต่อพฤติกรรม และระดับความสัมพันธ์เป็นบวกต่อเชื้อ *V. inaequalis* บนต้นกล้าแอปเปิ้ล ต่อมา Gordon *et al.* (1987) ใช้ สปอร์ของเชื้อรา *Ch. globosum* คลุกเมล็ดผักกาดหวาน ป้องกันเชื้อ *Pythium ultimum* และ *Phoma betal* และ *Rhizoctonia solani* ในฝ้าย และยังมีการสร้างสาร Chaetomin เข้าทำลายเส้นใยของเชื้อ *P. ultimum* ต่อมา Di-Pietro *et al.* (1992) พบว่าสารสกัดจากเชื้อรา *Ch. cupreum* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคเน่าระดับดินของผักกาดหัว ซึ่งเกิดจากเชื้อ *Pythium ultimum* ได้สารสกัดดังกล่าวคือ 2-(beta-1, 3-dienyl) 3-hydroxy-4-(Zpenta - 1, 3-dienyl)-tetrahydrofuran (BHT), epidithiadiletopiperazine

2.3.3.2 การใช้เชื้อรา *Trichoderma spp.* ในการควบคุมโรคพืช

ในการควบคุมโรคของมะเขือเทศในต่างประเทศมีการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. กันมากเช่น Sportelli and D' Ercole (1983) รายงานว่าเชื้อรา *T. viride* สามารถลดอาการรุนแรงของโรคมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* และ *Rhizoctonia solani* ในระยะก่อนออกดอกและเก็บเกี่ยวในสภาพโรงเรือนได้ ต่อมา Tamimi and Hadwan (1985) พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* และ *Neurospora sitophila* สามารถยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ได้ 48 เปอร์เซ็นต์, *Macrophomina phaseoli* 40 เปอร์เซ็นต์ และ *Rhizoctonia solani* 55 เปอร์เซ็นต์ ต่อมา Ebene *et al.* (1986) ทำการแยกเชื้อราจากต้นมะเขือเทศที่เป็นโรคโคนเน่าพบเชื้อรา *Fusarium oxysporum, F. eqiseti, T. harzianum, T. hamatum, Aspergillus niger, A. flavus, A. sydowii* และ *A. foetidus* นำมาคัดเลือกในห้องปฏิบัติการ พบว่ามีเชื้อราเพียง 2 ชนิด คือ *T. viride* และ *T. harzianum* สามารถเข้าทำลายเชื้อรา *Corticium rolfsii* และในสภาพเรือนทดลองพบว่า *T. viride* สามารถยับยั้งโรคโคนเน่าของมะเขือเทศเชื้อสาเหตุโรคโคนเน่าของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *C. rolfsii* ได้ผลดี ต่อมา Ercole and Nipoti (1986) พบว่าเมื่อใช้เชื้อรา *Trichoderma viride, T. harzianum* และ *T.*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

koningii ในรูปของ spore suspension ความเข้มข้น $4.6x10^8$ สปอร์ต่อดิน 1 กรัม จะควบคุมเชื้อรา *Verticillium dahliae* และ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ได้อีกทั้งพบว่าทุก isolates สามารถลดระดับการเกิดโรคในมะเขือเทศได้ และสามารถเพิ่มผลผลิตได้ด้วย โดยมีผลผลิตเฉลี่ยต้นละ 0.95-1.5 กิโลกรัม ต่อมา Mukhopadhyay and Udadhaya (1986) สามารถใช้เชื้อรา *T. harzianum* ซึ่งแยกได้จากดินปลูกมะเขือเทศ นำมาใช้ควบคุมโรคโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* และยืนยันว่าสามารถต้านทานต่อสารเคมี PCNB และสามารถใช้สารเคมี PCNB ที่ความเข้มข้นต่ำร่วมกับเชื้อรา *T. harzianum* ได้ โดยจะลดอัตราการเกิดโรครากเน่าในแปลงปลูกได้ถึง 76 เปอร์เซ็นต์ ต่อมา Sivan and Chet (1986) รายงานว่าเชื้อรา *T. harzianum* ที่แยกได้จากดินบริเวณรอบรากฝ้าย สามารถควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ในมะเขือเทศ และ *F. oxysporum* f.sp. nivcum ในแตงโมได้ โดยใช้คลุกเมล็ดสามารถลดระดับการเกิดโรค และเพิ่มผลผลิตในภาคสนามได้ และพบว่า *T. harzianum* ผลิตสาร beta-1,3-glucanase และ chitinase ทำลาย chitin ซึ่งเป็นแหล่งสะสม carbon และ มี hydrolytic enzyme ย่อย cell wall ได้ ต่อมา Sivan *et al.* (1987) ได้ทำการปลูกมะเขือเทศ 2 ครั้งติดต่อกัน พบว่ามีเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* จึงได้นำเชื้อรา *T. harzianum* คลุกเมล็ดก่อนปลูก และใช้ methyl bromide อบดินก่อนปลูก พบว่าสามารถควบคุมการเกิดโรคได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ P=0.05 หลังจากนั้นนำตัวอย่างดินบริเวณรอบรากพืชมาตรวจสอบพบว่ามีปริมาณเชื้อรา *T. harzianum* เพิ่มขึ้น ต่อมา Rattink (1993) ได้ทดลองใช้เชื้อรา *T. harzianum* เพื่อควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* เชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศในเรือนทดลอง พบว่าสามารถลดการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้ 70 เปอร์เซ็นต์หรือมากกว่า ต่อมา Sivan and Chet (1993) ทดลองใช้เชื้อรา *T. harzianum* และอบดินด้วย Methyl bromide พบว่าสามารถควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* เชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ P.05 โดยเมื่อใช้สาร Methyl bromide 300 kg/ha จะสามารถควบคุมได้ดีเท่ากับที่ใช้ 700 kg/ha ซึ่งสามารถควบคุมโรคได้สูงสุดเท่ากับ 48 เปอร์เซ็นต์ และที่ใช้ *T. harzianum* พบว่าสามารถเพิ่มผลผลิตให้สูงขึ้นอีกด้วย และเมื่อนำตัวอย่างดินรอบรากมะเขือเทศมาตรวจสอบพบว่ามี *T. harzianum* 104-105 cfu/g และที่ใช้ antagonist ร่วมกับ methyl bromide 300 kg/ha พบปริมาณเชื้อรา *Fusarium* spp. $2x10^5$-$3x10^7$ cfu/g ต่อมา Bourbos *et al.* (1997) ใช้เชื้อรา *T. harzianum* และ *T. konigii* 0.15 กรัมต่อพื้นที่ 1 ตารางเมตร ควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* และนอกจากนี้ยังพบว่าสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นมะเขือเทศและผลผลิตอีกด้วย ต่อมา Lakin and Fravel (1998) ทดลองใช้เชื้อรา *T. harzianum* และ *Gliocladium virens* เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescence* ควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ในเรือนทดลองโดยใช้คลุกเมล็ดก่อนปลูก พบว่าทุกเชื้อสามารถควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถิติ เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescence* สามารถควบคุมโรคได้ 30-50 เปอร์เซ็นต์ เชื้อรา *T. harzianum* และ *Gliocladium virens* สามารถควบคุมโรคได้ 62-68 เปอร์เซ็นต์

2.3.3.3 การใช้จุลินทรีย์ชนิดอื่นในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ

นอกจากนี้ยังได้มีการนำจุลินทรีย์อื่นๆ มาใช้ในการควบคุมโรคของมะเขือเทศอีกด้วย เช่น Kapoor and Kar (1989) ทดลองใช้ *Bacillus* sp. ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* โดยใช้ *Azotobacter chroococcum* 3 strains และ *Bacillus* spp. 3 strains สามารถสร้าง antibiotics ยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ ต่อมา Kapoor and Kumar (1991b) ใช้เชื้อรา *Aspergillus fischerii* และ *Bacillus* sp. (BM-1) ควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* และ *F. solani* ที่อุณหภูมิ 20-27 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ 20-25 องศาเซลเซียส ต่อมา Cal *et al.* (1995) พบว่าสารสกัดจากเชื้อรา *Penicillium oxalicum, P. purpurogenum* และ *Aspergillus niduluns* สามารถลดการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ได้ 50, 45 และ 27 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ต่อมา Larena and Melgarejo (1996) พบว่าเชื้อรา *Penicillium purpurogenum* สร้างสาร beta-1,3-glucanase และ chitinase ซึ่งสามารถย่อยสลายเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* และ *Monilinia laxa* ได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ทำให้เซลแตก 90 เปอร์เซ็นต์ และสามารถเข้าครอบครองได้ 80 เปอร์เซ็นต์ และนอกจากนี้ยังพบว่าสามารถลดการเกิดโรคลงเหลือ 30 เปอร์เซ็นต์ และต่อมา Fuchs *et al.* (1997) ใช้เชื้อรา *F. oxysporum* FO47 สาเหตุโรคเหี่ยวของคาร์เนชั่น ชักนำให้เกิดความต้านทานต่อโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* โดยทำการทดลองปลูกพืชแบบไร้ดิน และในกระถาง พบว่า Fo47 สามารถป้องกันการเข้าทำลายของ *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ได้

2.4 การสร้างภูมิคุ้มกันโรคของพืช

ในพืชปกติมีการสร้างภูมิคุ้มกันอยู่แล้ว โดยมีการสร้างสารประกอบฟีนอลสามัญ เช่น กรดchlorogenic, cafeic และ scopoletin เป็นต้น ซึ่งสามารถพบได้ทั้งในพืชปกติ และพืชที่เป็นโรค แต่ในพืชที่เป็นโรคจะพบว่ามีการสร้างมากกว่าปกติ ภูมิคุ้มกันที่พืชจะสร้างก็ต่อเมื่อเป็นโรคหรือถูก รบกวน คือ phytoalexin ซึ่งจะสร้างเมื่อพืชถูกกระตุ้นจากการเข้าทำลายของเชื้อโรค เกิดแผลหรือ ทางเคมี ได้แก่สาร ipomeamarone, orchinol, pisatin, phaseolin และ rhitin สารต่างๆ นี้จะกระตุ้นให้แสดงอาการ necrosis ยับยั้งการสร้าง enzyme ของเชื้อโรค ยับยั้งการเจริญของสปอร์ กระตุ้นให้มีการหายใจเพิ่มขึ้นและเกิดกิจกรรมของเอนไซม์หลายชนิดให้เป็นพิษต่อเชื้อโรค และกระตุ้นให้พืชมีปฏิกิริยาแบบ hypersensitivity (ไพโรจน์, 2525) phytoalexin เป็นกลุ่มของสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อต้านเชื้อซึ่งพืชผลิตขึ้นมาในขบวนการตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นที่เป็นสิ่งมีชีวิต และไม่มีชีวิต จำพวกสารเคมี และสภาพทางฟิสิกส์ต่างๆ อย่างไม่เฉพาะเจาะจง และจัดเป็นปฏิกิริยาหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคของพืช โดยปกติทั่วไปจะไม่พบในพืชปกติ จากการทดลองพบว่าในพืชที่อ่อนแอและพืชที่ต้านทานสามารถผลิต phytoalexin ได้และสะสมในระดับที่สูงเพียงพอต่อการยับยั้งเชื้อโรค แต่ในพืชต้านทานจะสะสมได้ในระดับที่สูงและในอัตรารวดเร็วกว่าหลังจากได้รับเชื้อ (พรทิพย์, 2533)

ในการสร้างภูมิคุ้มกันโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ พบว่า alkaloid tomatine ซึ่งเป็นสารประกอบ phenol ของมะเขือเทศ สามารถป้องกันการงอกของสปอร์หรือการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ได้หลังจากพักตัว 0-14 วัน (Langcake *et al.*, 1972) จากรายงานของ Mace *et al.* (1972) ได้กล่าวไว้ว่ามะเขือเทศ มีการสังเคราะห์ และสะสม phenolic glycosides แบบอิสระ ซึ่งจะมีการสร้างเพิ่มมากขึ้นเมื่อเซลนั้นถูกทำลาย เพื่อป้องกันการถูกเข้าทำลาย สร้างความต้านทานให้แก่พืช นอกจากนี้ Yahia *et al.* (1992) รายงานว่ามะเขือเทศพันธุ์ต้านทานมี pectinmethylesterase และ polygalacturonase สูง ได้แก่พันธุ์ UC97-3 และ Peto 86 สามารถสร้าง oxidative enzyme ต้านทานเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* ได้โดยแช่เมล็ดใน carbendazim ก่อนปลูก

นอกจากนี้ยังพบว่าได้มีการกระตุ้นให้พืชสร้างภูมิคุ้มกันโรคโดยใช้ elicitor ของ Onozuka R-10 จาก *Trichoderma viride* พบว่ามีผลต่อเชื้อ *Botrytis cinerea* ในองุ่นได้อย่างมีนัยสำคัญ มีการตอบสนองต่อเชื้อแบบ hypersensitive อย่างเฉพาะเจาะจงในรูปของ 3,5,4-trihydroxy-stilbene ชักนำให้เกิด oxidative ได้โดยมีการสร้าง polyphenol oxidase L-minose (Calderon *et al.*, 1994) จากรายงานของ Bjorkman *et al.* (1998) พบว่าการชักนำให้ข้าวโพดหวานพันธุ์ super sweet เกิดความต้านทานโดยใช้ *Trichoderma harzianum* strain 1295-22 ช่วยเพิ่มศักยภาพให้แก่ราก ทำให้ไม่เป็นโรคและส่งเสริมการเจริญเติบโตเฉลี่ย 66 เปอร์เซ็นต์ ทำให้พืชมีความแข็งแรง โดยใช้ NaOCl 0.05% ทำให้เมล็ดเกิดความเครียด แล้วเกิด oxidative และพบว่ามีเชื้อรา *T. harzianum* เข้าครอบครองบริเวณราก และ Yano *et al.* (1999) รายงานว่า xylanase จาก *Trichoderma viride* สามารถชักนำให้เกิด oxidative burst และเกิด hypersensitivity กับใบยาสูบ โดยมีสาร Diphenylene iodonium และ N-acetyl-L-cysteine เป็นตัวกระตุ้น

2.5 ความต้านทานของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* ต่อสารเคมี

จากการที่เกษตรกรได้มีการใช้สารเคมีกันมากในแปลงปลูกมะเขือเทศ และในปัจจุบันพบว่าเกษตรกรต้องใช้สารเคมีในความเข้มข้นที่สูงมาก และมีความเป็นพิษที่สูงขึ้น เนื่องจากเชื้อรา *F.*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

oxysporum f.sp. *lycopersici* ได้มีการพัฒนาให้มีความต้านต่อสารเคมี โดยเชื้อโรคพัฒนาให้สามารถเข้าทำลายพืชได้ ความจริงแล้วความต้านทานของพืชต่อเชื้อโรคไม่ได้สูญเสียไป ยังคงมีอยู่ตามเดิม และยังมีผลต่อการป้องกันกำจัดเชื้อโรคชนิดเดิม แต่ไม่มีผลต่อเชื้อโรคชนิดใหม่ เชื้อโรคชนิดใหม่ปกติจะเกิดขึ้นในปริมาณที่ต่ำมากในประชากรเริ่มแรก และค่อยๆ เพิ่มขึ้นทั้งนี้เป็นผลเนื่องมาจากการคัดเลือกในประชากรของเชื้อที่สามารถต้านทานต่อสารเคมีได้ (ณรงค์, 2525)

การใช้ benomyl ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ Sozzi and Gessler (1980) พบว่ามีการใช้ benomyl ควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* และ *Botrytis cinerea* ในอัตราที่เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ทำให้เชื้อราต้านทานต่อ benomyl 2.5 เท่า ทำให้ต้องใช้ในอัตราที่เข้มข้นมากกว่า 100 ppm จากการทดสอบความต้านทาน benomyl ของ Gasztonyi *et al.* (1986) พบว่าเชื้อรา *F. oxysporum, Botrytis cinerea* และ *Venturia inaequalis* มีความต้านทานต่อ benomyl จากการใช้ benomyl ร่วมกับ N-phenyl carbamates ทำให้เชื้อรามีความต้านทานลดลง (negative) และ การใช้ benomyl เพียงอย่างเดียวมีความต้านทานเพิ่มขึ้น (positive) จากการทดลองนี้พบว่า chlorine ใน carbamate เป็นตัวช่วยให้เกิดความต้านทานลดลง ในทำนองเดียวกันนี้ Migheli *et al.* (1988) พบว่าการใช้ benomyl และ diethofencarb ร่วมกันในการควบคุมเชื้อรา *Botrytis cinerea, B. elliptica* และ *B. tulopae* ทำให้ความต้านทานต่อ benomyl ลดลง และเมื่อทดสอบ diethofencarb กับเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides, Cryptocline cydlaminis, F. oxysporum* f.sp. *dianthi, F. oxysporum* f.sp. *gladioli, F. roseum* และ *Monilia* sp. พบว่าเชื้อรามีความต้านทานต่อ benomyl นอกจากนี้ Abdel Rahman (1992) พบว่าการใช้ benomyl ควบคุมโรคเหี่ยว Fusarium ในฝ้ายและมะเขือเทศ และการควบคุมเชื้อ *Aspergillus fumigatus* พบว่า cell wall ของเชื้อราถูก benomyl กระตุ้นให้สร้างความต้านทานต่อสารเคมี และจากการศึกษาของ Yamaguchi *et al.* (1998) พบว่าประสิทธิภาพของ benomyl ต่อเชื้อรา *F. oxysporum* isolate MT0062 ในประเทศญี่ปุ่น พบว่าเชื้อรา *F. oxysporum* สามารถพัฒนาให้ต้านทานต่อ benomyl โดยทดสอบ benomyl, captan, chlorothalonil, dichlofluanid, flulolanil, mepronil, pencycuron, thiophanate-methyl, thiram, quintozene และ validamycin บนอาหาร PDA พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm ของ chlorothalonil, flutolanil, mepronil, pencycuron, quintozene และ validamycin ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *F. oxysporum* ได้ และการใช้ benomyl ที่ความเข้มข้น 100 ppm เชื้อรามีความสามารถต้านทานต่อ benomyl ได้ใน isolate BR09 และ BR11 แต่ถ้าผสมระหว่าง benomyl กับ thiophanate methyl พบว่าที่ความเข้มข้น 100 ppm สามารถควบคุมโรคเหี่ยวในเรือนทดลองได้ 93.1 เปอร์เซ็นต์ เชื้อรา *F. oxysporum* สามารถต้านทานต่อ carbendazim ได้โดย Mirkova (1988) ทดสอบความทนทานของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *dianthi* จำนวน 23 สายพันธุ์ต่อสารเคมี thiophanate methyl และ benomyl การทดสอบครั้งแรกพบว่าสารเคมีสามารถควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรคได้อย่างรวดเร็ว conidia ไม่สามารถเจริญเป็นโคโลนีได้ ต่อมาเชื้อรานี้สามารถพัฒนาให้มีความต้านทานต่อ bavistin (carbendazim), derosal (carbendazim) และ thiabendazole แต่การใช้ thiophanate methyl+thiram 0.15%, thiophanate methyl+mancozeb 0.2% และ carboxin+thiram 0.2% สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อราได้ และ Ondrej (1988) ได้ศึกษาความแตกแตกต่างผลผลิตเมล็ดของลูกแพร์ โดยทำการทดลองในถ้วยพลาสติกที่ผสมกับสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราชนิดต่างๆ ได้แก่ zineb+metallaxyl, metalaxyl, carbofuran+carbendazim+thiram พบว่าเชื้อรา *Pythium ultimum, Aphaomyces, Rhizoctonia solani, Fusarium solani* และ *F. oxysporum* สามารถต้านทานต่อสารเคมี เป็นผลทำให้เกิดโรคเฉลี่ยเพียง 29.4 เปอร์เซ็นต์ และอีก 3 ปีต่อมาพบว่าการเกิดโรคเพิ่มขึ้นเป็น 54 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นผลให้ผลผลิตลดลง โดยครั้งแรกได้ผลผลิตเมล็ด 14.22 กรัมต่อต้น และต่อมาลดลงเหลือ 4.74 กรัมต่อต้น

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 จัดจำแนกเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Chaetomium globosum* 12 strains, *Chaetomium cupreum* 10 strains, *Trichoderma harzianum* PC01 และ *Trichoderma hamatum* PC02

ทำการเก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบรากมะเขือเทศที่เกิดโรคเหี่ยวในแปลงปลูกมะเขือเทศ อ.พบพระ จ. ตาก จำนวน 5 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 500 กรัม และเก็บตัวอย่างส่วนต่างๆ ของมะเขือเทศ เช่น ใบ ผล ต้น และรากของมะเขือเทศที่แสดงอาการโรคเหี่ยว นำกลับมาแยกเชื้อในห้องปฏิบัติการ โดยนำตัวอย่างดินมาแยกหาเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* โดยวิธี soil plate technique และจากชิ้นส่วนที่เป็นโรคโดยวิธี tissue transplanting จนได้เชื้อบริสุทธิ์ แล้วนำเชื้อบริสุทธิ์เก็บในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เพื่อเก็บไว้ศึกษาความแตกต่างระหว่าง isolates ที่แยกได้ทั้งหมด โดยวิธีทางสัณฐานวิทยา (morphology) และ วิธี Polyacrylamide Gel Electophoresis

3.1.1 การจัดจำแนกเชื้อราโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology)

นำเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* ทุก isolates ที่แยกได้จากข้างต้น สำหรับเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านจะนำมาศึกษาเฉพาะ isolate ที่ได้รับรายงานว่าสามารถควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ได้ (Soytong and Soytong, 1996) ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวได้แก่ *Ch. globosum* 12 strains, *Ch. cupreum* 10 strains, *T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 (ได้รับความอนุเคราะห์จาก รศ.ดร. เกษม สร้อยทอง ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง) มาทำการศึกษาลักษณะโคโลนี สีของ culture รูปร่างและขนาดสปอร์ ตลอดจนโครงสร้างต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พร้อมทั้งถ่ายภาพประกอบ

3.1.2 การจำแนก ด้วยวิธี Polyacrylamide Gel Electophoresis

นำเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* บริสุทธิ์ที่ได้จากข้างต้น และเชื้อรา *Ch. globosum* 12 strains, *Ch. cupreum* 10 strains, *T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 มาจำแนกโดยเทคนิคเจลอิเลคโตรโฟรีซิส โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.2.1 การเตรียมสารสกัดโปรตีน (protein extracts)

นำเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Ch. globosum* 12 strains, *Ch. cupreum* 10 strains, *T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 (จากข้อ 1.1) มาเลี้ยงในอาหาร potato dextrose broth (PDB) 75 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุใน flasks ขนาด 100 มิลลิลิตร (โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.3 เซนติเมตร เจาะชิ้นวุ้นเชื้อรา ใส่ 1 ชิ้น/flask) จากนั้นทำการบ่มเชื้อโดยนำ flask ดังกล่าวไปวางบนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 20 วัน แล้วนำมากรองเอาแต่เส้นใยด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 1 ล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ซับให้แห้ง แล้วชั่งน้ำหนักสดของเชื้อ จากนั้นนำไปเข้าเครื่อง freeze dry เป็นเวลา 12 ชั่วโมง เพื่อทำให้แห้ง ชั่งน้ำหนักแห้ง แล้วนำตัวอย่างที่ผ่านการ freeze dry แล้ว ตัวอย่างละ 1 กรัม นำมาบดกับไนโตรเจนเหลวในโกร่ง เติม extraction buffer (ซึ่งประกอบด้วย Tris pH 7.5 4.482 กรัม, EDTA 0.0372 กรัม, sodium dodecyl sulfate (SDS) 2 กรัม, 2-Mercaptoethanol 1 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร) 9 มิลลิลิตร บดให้ละเอียด แล้วนำไปเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงด้วยความเร็ว 12,000 rpm. เป็นเวลา 20 นาที เก็บส่วนบน (supernatant) ไว้ในหลอด นำไปเก็บในตู้แช่แข็งเพื่อไว้ศึกษาต่อไป

3.1.2.2 การประกอบเครื่องมือ Mini-PROTEIN® II electrophoresis cell

ทำความสะอาดแผ่นกระจกด้วยเมทธานอลแล้วปล่อยทิ้งไว้ให้แห้ง หลังจากนั้นนำแผ่นกระจกประกบเข้าหากันโดยมี spacer คั่นระหว่างแผ่นกระจกทั้งสองเพื่อเป็นตัวกำหนดความหนาของแผ่นเจล แล้วนำแผ่นกระจกดังกล่าวมายึดด้วย clamp โดยให้กระจกแผ่นยาวกว่าอยู่ด้านนอกและแผ่นสั้นอยู่ด้านใน ปรับฐานของกระจกให้เท่ากันด้วย casting stand และติดตั้งกระจกบน casting stand เพื่อบรรจุเจลต่อไป

3.1.2.3 การทำ electrophoresis หรือ run gel

ทำการเตรียม separating gel ความเข้มข้น 12 เปอร์เซ็นต์ โดยนำน้ำกลั่น 2.63 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย A (acrylamide 15 กรัม, bis 0.4 กรัม) 3 มิลลิลิตร สารละลาย B (Tris-HCl 18.2 กรัม, sodium dodecyl sulfate pH 8.8 0.4 กรัม) 1.88 มิลลิลิตร คนเบาๆ ให้เข้ากัน จากนั้นหยดสารละลาย ammonium persulfate 10 เปอร์เซ็นต์ 25 ไมโครลิตร คนให้เข้ากันอีกครั้ง แล้วหยด TEMMED 5 ไมโครลิตร คนให้เข้ากัน จากนั้นใช้ pipette ขนาด 1 มิลลิลิตร ดูด separating gel ที่เตรียมได้ดังกล่าวปล่อยลงในช่องว่างระหว่างแผ่นกระจกบน casting stand จนกระทั่งสารละลาย acrylamide มีความสูงอยู่ในระดับห่างขอบแผ่นกระจกประมาณ 2.5 เซนติเมตร เติมน้ำกลั่นให้เต็มช่องเพื่อปรับระดับผิวหน้าเจล ใช้พลาสติกคลุม casting stand ไว้ประมาณ 45 นาที เพื่อให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

separating gel เกิดปฏิกิริยา polymerization อย่างสมบูรณ์ แล้วเทน้ำกลั่นที่อยู่เหนือเจลทิ้ง ซับด้วยกระดาษชำระให้แห้ง จากนั้นเตรียม stacking gel ซึ่งประกอบด้วยสารละลาย A (acrylamide 15 กรัม, bis 0.4 กรัม) 0.65 มิลลิลิตร สารละลาย C (Tris-HCl 6.05 กรัม, sodium dodecyl sulfate 0.4 กรัม) 1.25 มิลลิลิตร น้ำกลั่น 3.05 มิลลิลิตร 10% ammonium persulfate 25 ไมโครลิตร และ TEMMED 5 ไมโครลิตร คนให้เข้ากันแล้วใช้ pipette ขนาด 1 มิลลิลิตรดูด stacking gel ใส่ในช่องว่างระหว่างกระจกต่อจาก separating gel ให้เต็มช่องว่างโดยให้สารละลายดังกล่าวล้นออกมา แล้วใส่ comb ในช่องว่างระหว่างแผ่นกระจก ทิ้งไว้ประมาณ 45 นาที เพื่อให้เกิด polymerization ที่สมบูรณ์ (ภาพที่ 3.1) ถอด comb ออก แล้วถอดแผ่นกระจกออกจาก casting stand มาประกอบใน inner cooling core แล้วใส่ลงไปใน chamber ทำการเตรียม running buffer (Tris 30.2 กรัม, glycine 144 กรัม, sodium dodecyl sulfate 10 กรัม แล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร) ใส่ใน inner cooling core ให้ท่วมกระจกประมาณ 115 มิลลิลิตร ส่วน buffer ที่เหลือเทลงใน chamber แล้วนำ supernatant ที่ได้มาผสมกับ sample buffer หรือ loading buffer (Tris 1.52 กรัม, glycerol 20 มิลลิลิตร, sodium dodecyl sulfate 2 กรัม เติมน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร ปรับ pH 6.8 ด้วย HCl แล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร) ในอัตราส่วน 1:0.5 นำมาต้มในน้ำร้อนประมาณ 1 นาที ใช้ micro pipette ดูดส่วนผสมดังกล่าวหยดลงในช่อง (well) ของ stacking gel ช่องละ 15 ไมโครลิตร จนครบทุกช่อง แต่เหลือช่องแรกไว้ใส่ molecular weight standard เป็นตัวเปรียบเทียบ (ภาพที่ 3.2) จากนั้นจึงเปิด power supply และเดินเครื่องเป็นเวลา 50 นาที (150 Const.V., 60 mA) (ภาพที่ 3.3) แล้วแกะเจลออก แล้วนำไปย้อมสีด้วย coomasie blue

3.1.2.4 การย้อมสีแผ่นเจลด้วย coomasie blue

นำแผ่นเจลใส่กล่องพลาสติก เท fixing solution (ethyl alcohol 100 มิลลิลิตร, acetic acid 20 มิลลิลิตร, น้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร) ลงในกล่องพลาสติกให้ท่วมเจล เขย่าเบาๆ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นเท fixing solution ออกเก็บไว้ในขวดเดิม จากนั้นย้อมสีแผ่นเจลด้วย coomasie blue (ethyl alcohol 100 มิลลิลิตร, coomasie blue 0.1 กรัม, acetic acid 20 มิลลิลิตร, น้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร) เขย่าเบาๆ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วเท coomasie blue ออก ล้างเจลด้วย fixing solution อีกครั้ง (ล้างผ่าน) จากนั้นแช่ด้วย destaining sulution (ethyl alcohol 25 มิลลิลิตร, acetic acid 35 มิลลิลิตร, น้ำกลั่น 440 มิลลิลิตร) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หรือจนกว่าจะปรากฏแทบโปรตีนชัดเจน แล้วเก็บแผ่นเจลไว้ใน acetic acid 7 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.2.5 การวิเคราะห์ผล

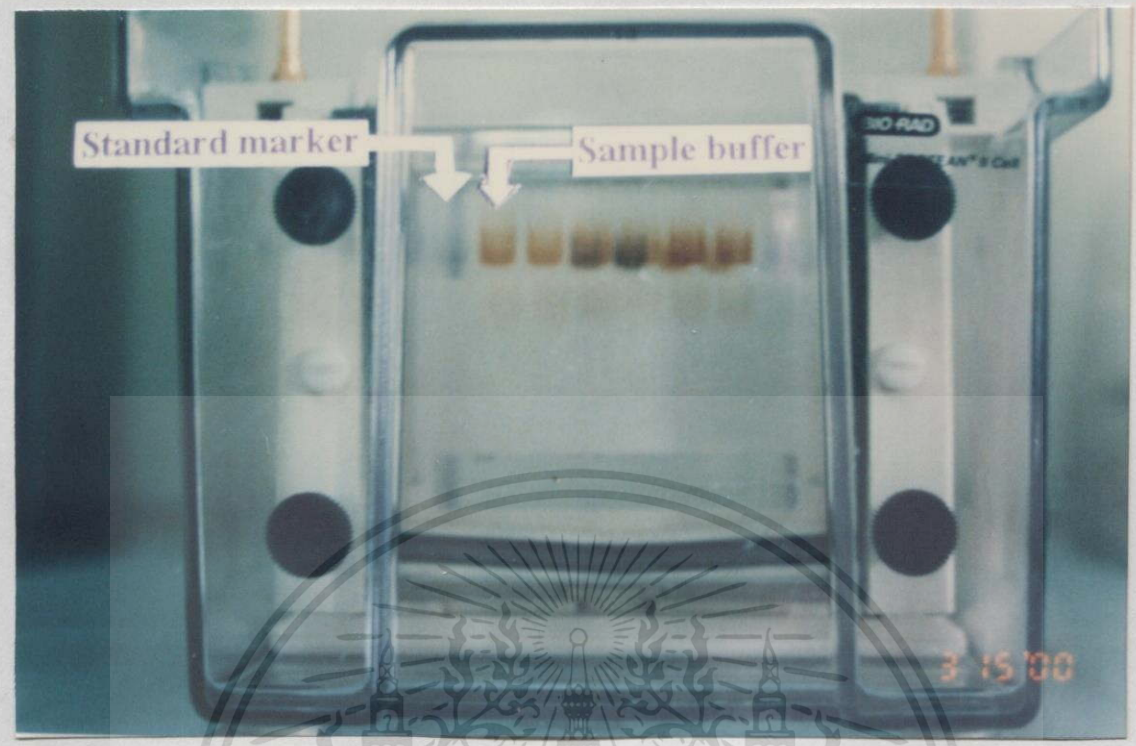
คำนวณหาน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนโดยทำการวัดระยะทางของแถบโปรตีนที่ปรากฏแล้วเปรียบเทียบกับแถบโปรตีนมาตรฐานซึ่งคำนวณได้จากค่า Rf โดย

$$Rf = \frac{\text{ระยะทางจากขอบ separating gel ถึงส่วนกลางของแต่ละแถบโปรตีน}}{\text{ระยะทาง tracking dye}}$$

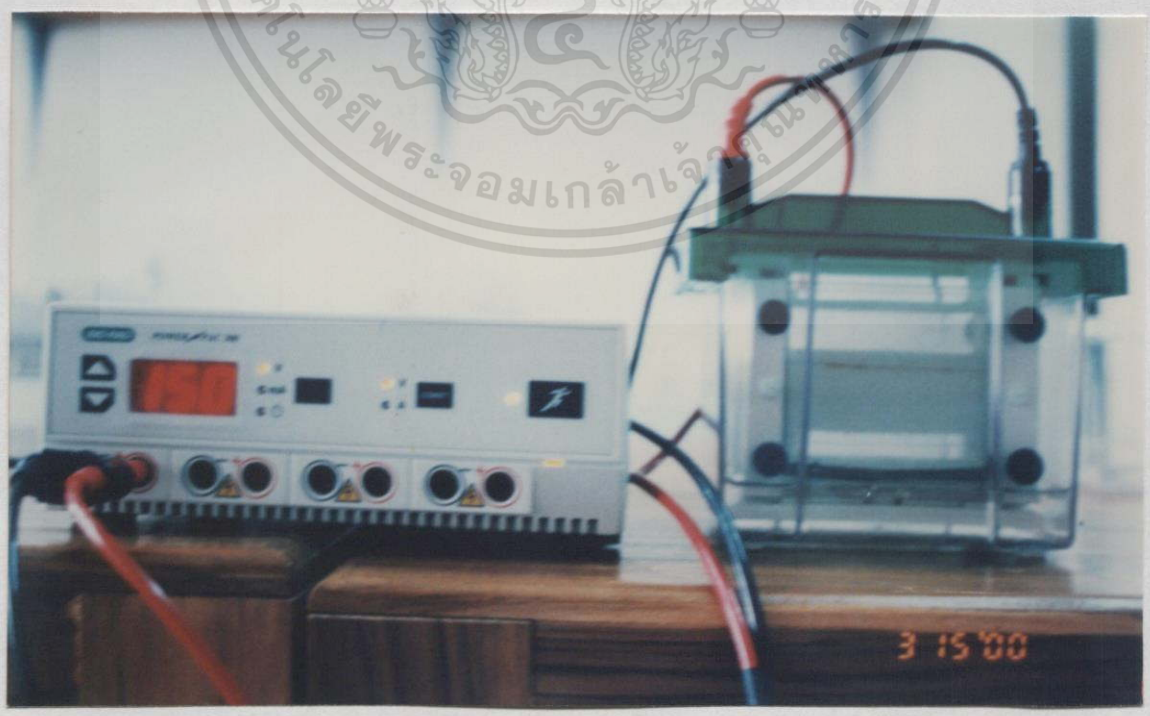
ทำการเปรียบเทียบ protein band ดูจากระยะการเคลื่อนที่ของ band ตรวจดูตำแหน่งของการปรากฏของ protein band ทำการบันทึกผลโดยใช้ตัวเลข คือ ถ้าปรากฏ protein band ให้สัญลักษณ์ 1 และถ้าไม่ปรากฏ protein band ให้สัญลักษณ์ 0 จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* และความสัมพันธ์ของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน *Ch. globosum*, *Ch. cupreum*, *T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SPSS (cluster analysis) และเสนอเป็น dendrogram แสดงความสัมพันธ์ดังกล่าว

ภาพที่ 3.1 แสดงการทำแผ่นเจลที่ประกอบด้วย separating gel และ stacking gel

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.2 แสดงการใส่ sample buffer และ standard marker



ภาพที่ 3.3 แสดงการ running ด้วยกระแสไฟฟ้า 150 Const.V., 60 mA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 การทดสอบความรุนแรงของเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ

3.2.1 การทดสอบหา isolates ที่รุนแรงต่อการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ

ทำการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) 4 ซ้ำๆ ละ 5 ต้น กำหนดให้เชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ที่แยกได้ในข้อ 3.1 เป็นวิธีการต่างๆ ตามจำนวน isolates ที่แยกได้ โดยนำเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ทุก isolates เลี้ยงเพิ่มจำนวนบนอาหาร PDA เป็นเวลา 15 วัน isolate ละ 10 plates จากนั้นปรับให้มีความเข้มข้น $3x10^6$ conidia/ml ปริมาตร 50 มิลลิลิตร (Fuchs, *et al.*,1997) แยกต่างหากจากกันในแต่ละ isolate แล้วนำต้นกล้ามะเขือเทศพันธุ์สีดาที่เพาะไว้ในกระบะเพาะอายุ 14 วัน ล้างรากให้สะอาดแล้วใช้กรรไกรตัดปลายรากประมาณ 0.3 เซนติเมตร จำนวน 5 ปลายรากต่อต้น นำมาแช่ใน spore suspension ของเชื้อรา *F. oxyspoorum* f.sp. *lycopersici* เป็นเวลา 5 นาที ในแต่ละ isolate แยกต่างหากจากกัน นำมาปลูกในถ้วยพลาสติกซึ่งมีส่วนผสม ดิน : ทราย : ปุ๋ยอินทรีย์ อัตรา 10 : 1 : 2 ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ทำการทดลองเป็นระยะเวลา 15 วัน

สังเกตและบันทึกผลการทดลอง โดยให้ระดับคะแนนการเกิดโรคเหี่ยวที่แสดงที่ใบมี 5 ระดับ โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Infantino *et al.* (1996) ดังนี้ คือ 1 = ต้นปกติ, 2 = ใบเหี่ยวเหลือง 1-25 เปอร์เซ็นต์, 3 = ใบเหี่ยว เหลือง 26-50 เปอร์เซ็นต์, 4 = ใบเหี่ยว เหลือง 51-75 เปอร์เซ็นต์, 5 = ใบเหี่ยว เหลือง 75-100 เปอร์เซ็นต์ (ตาย) พร้อมทั้งคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายของเชื้อได้จาก (จำนวนต้นที่เป็นโรค x ระดับการเกิดโรคเฉลี่ย / ระดับการเกิดโรคสูงสุด x จำนวนต้นทั้งหมด) x 100 (เกษม, 2534ค) เปรียบเทียบการเกิดโรคในแต่ละ isolate แล้วนำผลที่ได้ไปวิเคราะห์หาความแปรปรวนทางสถิติ เพื่อคัดเลือก isolate ที่ทำให้เกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศรุนแรงที่สุด เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

3.2.2 การทดสอบหาศักยภาพของเชื้อก่อโรค (inoculum potential)

ทำการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 5 ต้น 8 วิธีการ คือความเข้มข้นของสปอร์ (spore suspension) เท่ากับ 0, $1x10^4$, $5x10^4$, $1x10^5$, $5x10^5$, $1x10^6$, $3x10^6$ และ $5x10^6$ conidia/ml โดยนำเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate ที่รุนแรงที่สุดที่ได้จากข้อ 3.2.1 นำมาเลี้ยงเพิ่มจำนวนบนอาหาร PDA เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นปรับให้มีความเข้มข้นดังกล่าวในแต่ละวิธีการ(treatment) แล้วนำต้นกล้ามะเขือเทศอายุ 14 วัน มาล้างรากให้สะอาด แล้วตัดปลายรากขนาด 0.3 เซนติเมตร ทิ้ง จำนวน 5 รากต่อต้น จากนั้นแช่ใน spore suspension ที่เตรียมไว้จากข้างต้นเป็นเวลา 5 นาที แล้วนำต้นกล้าดังกล่าวมาปลูกในกระถางพลาสติกดำขนาด 4 นิ้ว ซึ่งมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนผสม ดิน : ทราย : ปุ๋ยอินทรีย์ อัตรา 10 : 1 : 2 ซึ่งผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ดูแลรดน้ำ และสังเกตผลการทดลองเป็นเวลา 15 วัน

ทำการบันทึกผลการทดลอง โดยให้ระดับการเกิดโรค และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค ตามวิธีการในข้อ 3.2.1.1 นำข้อมูลระดับการเกิดโรค และเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายของเชื้อไปวิเคราะห์หาความแปรปรวนทางสถิติ และเปรียบเทียบ treatment โดยวิธี Duncan Multiple's Range Test ที่ P = 0.05 และ P = 0.01 และหาระดับความเข้มข้นต่ำสุดของ spore suspension ที่ทำให้เกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศรุนแรงที่สุด เพื่อไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.3 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

ทำการทดลองแบบ 4x5 Factorial in Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 5 ซ้ำ โดยให้ชนิดสารสกัดเป็น Factor A มี 4 ชนิด ได้แก่ A1 = Chaetoglobosin-c สารสกัดจาก *Ch. globosum*, A2 = Rotiorinol สารสกัดจาก *Ch. cupreum*, A3 = Trichotoxin A50 สารสกัดจาก *T. harzianum* PC01 และ A4 = สารสกัดจาก *T. hamatum* PC02 และความเข้มข้นของสารสกัดเป็น Factor B มีทั้งหมด 5 ระดับ ได้แก่ B1 = 0 ppm, B2 = 10 ppm, B3 = 50 ppm, B4 = 100 ppm และ B5 = 500 ppm ซึ่งสารสกัดนี้ได้รับความอนุเคราะห์จาก ดร. สมเดช กนกเมธากุล และ ดร. ขวัญใจ กนกเมธากุล ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ทำการเตรียมสารดังกล่าวให้ได้ระดับความเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 500 ppm โดยใช้ Tris-HCl เป็นตัวทำละลาย ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA 40 มิลลิลิตร นำมานึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นเทอาหารผสมสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ ใส่จานเลี้ยงเชื้อขนาด 5.5 เซนติเมตร ใช้ cork borer ขนาด 0.3 ซม. เจาะบริเวณขอบโคโลนี ของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate ที่รุนแรงต่อการเกิดโรค (จากข้อ 3.2.1) ย้ายมาวางกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 5 วัน

ทำการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ นับปริมาณการสร้าง สปอร์ของเชื้อ หาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (Percent Inhibition, PI) PI = (R1-R2 /R1) x 100 โดย R1 = ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อใน control และ R2 = ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อในอาหารผสมสารสกัด นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติ และคำนวณหาค่า Effective Dose (ED_{50})

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านในการชักนำให้เกิดภูมิคุ้มกันโรคเหี่ยวของมะเขือเทศในกระถาง

ทำการทดลองแบบ 4x5 Factorial in Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 5 ต้น โดยให้ชนิดสารสกัดเป็น Factor A มี 4 ชนิด ได้แก่ A1 = Chaetoglobosin-c สารสกัดจาก *Ch. globosum*, A2 = Rotiorinol สารสกัดจาก *Ch. cupreum*, A3 = Trichotoxin A50 สารสกัดจาก *T. harzianum* PC01 และ A4 = สารสกัดจาก *T. hamatum* PC02 และให้ ความเข้มข้นของสารสกัดเป็น Factor B ซึ่งมี 5 ระดับ คือ B1 = 0 ppm, B2 = 10 ppm, B3 = 50 ppm, B4 = 100 ppm และ B5 = 500 ppm นำต้นกล้ามะเขือเทศพันธุ์สีดาอายุ 14 วัน ล้างรากให้สะอาด แล้วนำมา treat ด้วยสารสกัดจุลินทรีย์แต่ละชนิดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ทิ้งไว้ประมาณ 3 นาที จากนั้นนำต้นกล้ามะเขือเทศไปแช่ใน spore suspension ของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* สายพันธุ์ที่รุนแรง และในปริมาณความเข้มข้นที่ทำให้เกิดโรครุนแรง (ตามข้อ 3.2.1) เป็นเวลา 5 นาที นำมาปลูกในกระถางพลาสติกดำขนาด 4 นิ้ว ซึ่งมีส่วนผสม ดิน : ทราย : ปุ๋ยอินทรีย์ อัตรา 10 : 1 : 2 ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว หลังทำการทดลอง 15 วัน

ทำการบันทึกผลการทดลองโดยนับจำนวนต้นมะเขือเทศที่รอดตายจากการถูกเข้าทำลายจากเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยว แล้วนำผลที่ได้มาวิเคราะห์ผลหาค่าความแปรปรวนทางสถิติ

3.5 การทดสอบหาความต้านทานของเชื้อสาเหตุโรคและเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl

ทำการทดลองเลี้ยงเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Ch. globosum* Cg6, *Ch. cupreum* CC8, *T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 บนอาหาร PDA ผสมสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl แบบ CRD 8 วิธีการ ได้แก่ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6 และ 0.8 ppm จำนวน 4 ซ้ำ โดยเตรียมอาหาร PDA ที่มีส่วนผสมของสารเคมีควบคุมเชื้อรา benomyl ที่ความเข้มข้นดังกล่าว แล้วเทอาหารผสมสารเคมีใส่จานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาด 5.5 เซนติเมตร แล้วใช้ cork borer ขนาด 0.3 เซนติเมตร เจาะบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อรา แล้วย้ายมาวางกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลังจากนั้นบ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7-15 วัน

วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี นับปริมาณการสร้างสปอร์ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติ และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความต้านทานของเชื้อราต่อสารเคมี (chemical resistance, CR) CR(%) = (A1-A2/A1) x 100 โดย A1 = ค่าประเมินการเจริญเติบโตของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อราบนอาหารที่ไม่มีสารเคมี (0 ppm) และ A2 = ผลต่างของค่าประเมินการเจริญเติบโตของเชื้อราบนอาหารที่ไม่มีสารเคมี (0 ppm) กับอาหารที่มีสารเคมี

3.6 การทดสอบ bi-culture antagonistic test บนอาหารผสมสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl

ทำการทดลองเลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านบนอาหารผสมสารเคมีแบบ CRD เพื่อดูประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน *Ch. globosum*, *Ch. cupreum*, *T. hazianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 ในการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* โดยใช้ความเข้มข้นของ benomyl ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านแต่ละตัว (จากข้อ 3.5) ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาด 9 เซนติเมตร ใช้ cork borer ขนาด 0.3 เซนติเมตร ลนไฟฆ่าเชื้อ เจาะบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อรา *F. oxysporum* สายพันธุ์ที่รุนแรงที่สุด และเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านทั้ง 4 ชนิด จากนั้นใช้เข็มเขี่ยเชื้อลนไฟย้ายเชื้อรา *F. oxysporum* วางตรงข้ามกับเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านห่างจากขอบจานเลี้ยงเชื้อ 2 เซนติเมตร จำนวน 5 ซ้ำ แล้วบ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิห้อง (28-30 องศาเซลเซียส)

บันทึกผลการทดลองโดยหาเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง (Percent Inhibition, PI) ของเชื้อราสาเหตุโรคจาก bi-culture test โดยเปรียบเทียบกับ control ซึ่งเลี้ยงเฉพาะเชื้อโรคอย่างเดียว PI = (R1 - R2 / R1) x 100 โดย R1 = ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อในcontrol และ R2 = ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีหรือจำนวนสปอร์ของเชื้อใน bi-culture

3.7 การใช้จุลินทรีย์ต่อต้านควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศในกระถางทดลอง

ทำการทดลองแบบ Randomized Completely Block Design (RCBD) จำนวน 5 วิธีการ คือ ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดเม็ดจากเชื้อรา *Chaetomium* spp. (มีปริมาณสปอร์ $1.5x10^6$ cfu/ยาเชื้อ 1 กรัม) จำนวน 1.0 กรัม/ต้น, ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดเม็ดจากเชื้อรา *Trichoderma* spp. (มีปริมาณสปอร์ $5x10^6$ cfu/ยาเชื้อ 1 กรัม) จำนวน 2.0 กรัม/ต้น, ชีวผลิตภัณฑ์ชนิดเม็ดจากเชื้อรา *Chaetomium* spp. จำนวน 0.5 กรัม ร่วมกับชีวผลิตภัณฑ์ชนิดเม็ดจากเชื้อรา *Trichoderma* spp จำนวน 1.0 กรัม/ต้น benomyl ความเข้มข้น 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร พ่นลงดิน 20 มิลลิลิตร และการทดลองเปรียบ (ไม่ใช้วิธีการใด) จำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 5 ต้น ทำการเตรียมวัสดุปลูก ดิน : ทราย : ปุ๋ยอินทรีย์ ในอัตรา 10 : 1 : 2 ใส่ยาเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านและสารเคมีแยกต่างหากจากกัน รดน้ำให้ชื้นบ่มไว้ 10 วัน นำต้นกล้ามะเขือเทศอายุ 14 วัน ตัดปลายรากทิ้งประมาณ 0.3 เซนติเมตร จำนวน 5 รากต่อต้น แล้วแช่ลงใน spore suspension ของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate ที่รุนแรง (จากข้อ 3.2.1) ในปริมาณความเข้มข้นที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกิดโรครุนแรง (จากข้อ 3.2.2) จากนั้นนำต้นกล้าปลูกลงในวัสดุปลูกที่เตรียมไว้ในกระถางขนาด 12 นิ้ว

มีการดูแลรักษาดังนี้คือ มีการจัดการชลประทานและการเขตกรรม ตัดแต่งใบทุก 1 เดือน ปรับสภาพ pH ดินให้อยู่ในช่วง 5.5 - 7.0 และทำการควบคุมโรคและแมลงโดยในวิธีการที่ใช้ชีวผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์ (วิธีการที่ 1-3) จะทำการฉีด *Bacillus turingenesis* (Lepidopside) อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวนต้นละ 20 มิลลิลิตร (ได้รับความอนุเคราะห์จากประเทศรัสเซีย) เพื่อป้องกันกำจัดแมลง ส่วนในการทดลองที่ใช้ benomyl (วิธีการที่4) ใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลง methamidophos อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร จำนวน 20 มิลลิลิตร ฉีดพ่นทุก 5 วัน ใส่ปุ๋ยเคมี 16-16-16 หลังปลูก 15 และ 30 วัน และใส่ปุ๋ยเคมี 8-24-24 หลังปลูก 45 และ 60 วัน

ทำการเก็บข้อมูลดังนี้

ก. ประเมินระดับการเกิดโรค

ประเมินระดับการเกิดโรค และเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* เชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ (เหมือนข้อ 3.2.1) ทุก 1 เดือน

ข. ตรวจนับปริมาณเชื้อสาเหตุโรคและเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านในดินทุก 1 เดือน

โดยทำการเก็บตัวอย่างดินจากกระถางปลูกมะเขือเทศ กระถางละ 30 กรัม ทุกๆ 1 เดือน เพื่อนำมาตรวจดูการเปลี่ยนแปลงประชากรของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici, Chaetomium* spp. และ *Trichoderma* spp.

การตรวจหาปริมาณของเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* โดยนำตัวอย่างดินจำนวน 0.0025 กรัม ใส่จานเลี้ยงเชื้อแล้วเทอาหาร cerelose nitrate (ซึ่งประกอบด้วย cerelose 50 กรัม, KH_2PO_4 5 กรัม, $FeCl_3$ $6H_2O$ 0.02 กรัม, NH_4NO_3 10 กรัม, $MgSO_4 7H_2O$ 2.5 กรัม และ น้ำ 1 ลิตร) แล้วหมุนจานเลี้ยงเชื้อเบาๆ ให้ดินกระจายให้ทั่วจานเลี้ยงเชื้อ แล้วบ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง (28-30 องศาเซลเซียส) แล้วทำการตรวจนับปริมาณประชากรของเชื้อต่อดิน 1 กรัม (colony forming unit/g, (cfu/g)) ทุกวัน เป็นเวลา 5 วัน

การตรวจหาปริมาณของเชื้อรา *Chaetomium* spp. โดยนำตัวอย่างดินใส่จานเลี้ยงเชื้อ 20 กรัม แล้วพ่นน้ำกลั่นฆ่าเชื้อให้ชื้น แล้ววางกระดาษกรองขนาด 1x1 เซนติเมตร ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 10 ชิ้น หลังจากนั้นบ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง (28-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 30 วัน แล้วทำการตรวจนับประชากรของเชื้อต่อดิน 1 กรัม (colony forming unit/g, cfu/g)

การตรวจนับปริมาณของเชื้อรา *Trichoderma* spp. โดยนำตัวอย่างดินจำนวน 0.0025 กรัม ใส่จานเลี้ยงเชื้อแล้วเทอาหาร GANA (ซึ่งมีส่วนประกอบของ glucose 10 กรัม, NH_4NO_3 1 กรัม, difco bacto yeast extract 1 กรัม, K_2HPO_4 0.5 กรัม, $MgSO_4 7H_2O$ 0.5 กรัม, rose bengal 0.06 กรัม,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

streptomycin 0.03 กรัม, วุ้น 20 กรัม และน้ำ 1 ลิตร) แล้วหมุนจานเลี้ยงเชื้อเบาๆ ให้ดินกระจายให้ทั่วจานเลี้ยงเชื้อ แล้วบ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง (28-30 องศาเซลเซียส) ในที่มืด แล้วทำการตรวจนับปริมาณประชากรของเชื้อต่อดิน 1 กรัม (colony forming unit/g, cfu/g) ทุกวัน เป็นเวลา 5 วัน

ค. การเจริญเติบโต และผลผลิตของมะเขือเทศ

โดยวัดความสูงของต้นมะเขือเทศทุก 1 เดือน และบันทึกผล จำนวนดอกต่อต้น จำนวนช่อดอกต่อต้น ความกว้างของผล (เซนติเมตร) ความยาวของผล (เซนติเมตร) น้ำหนักผลผลิตต่อต้น (กรัม) น้ำหนักสดต่อต้น (กรัม) น้ำหนักแห้งต่อต้น (กรัม) ความยาวราก (เซนติเมตร) น้ำหนักสดราก (กรัม) และน้ำหนักแห้งราก (กรัม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัย

4.1 การจัดจำแนกเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ

4.1.1 การจำแนกเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

จากการแยกเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* เชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศในแปลงปลูกมะเขือเทศในพื้นที่ ต. พบพระ อ. พบพระ จ. ตาก ได้ทั้งหมด 8 isolates จากดินบริเวณโคนต้นที่เป็นโรคได้ 3 isolates คือ No.1, 2 และ 3 และจากส่วนที่เป็นโรคได้ 5 isolates ดังนี้ รากได้ No.4, 5 และ 6 จากใบได้ No.7 และจากผลได้ No.8 (ตารางที่ 4.1)

เชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* จัดอยู่ใน

Sub-division Deuteromycotina

Class Hyphomycetes

Order Moniliales

Family Tuberculariaceae

Genus *Fusarium*

Species *oxysporum*

ลักษณะของเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* บนอาหาร PDA เส้นใยสีขาว-เหลืองอ่อน ฟู สร้าง pigment สีชมพู-ส้ม เจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว และเมื่อนำมาศึกษาลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่ามีสร้างส่วนขยายพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ 3 ชนิด คือ macro-conidium, micro-conidium และ chlamydospore ลักษณะของ macro-conidium เป็นรูป fusoidal ผนังบาง ปลายแหลม มี foot cell ที่ปลายเป็น hook มี 3-5 septa , micro-conidium เป็นรูป elliptical ตรงหรือโค้งเล็กน้อยมี 1-2 เซล เกิดเป็นที่ปลาย phialide และ chlamydospore มี 2 แบบ คือ intercalary และ terminal chlamydospores

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 เชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ที่แยกได้จากดินปลูกมะเขือเทศ และชิ้นส่วนที่แสดงอาการโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ

Isolate	แยกได้จาก	วันที่
No.1	ดินบริเวณรอบราก	22 กันยายน 2541
No.2	ดินบริเวณรอบราก	22 กันยายน 2541
No.3	ดินบริเวณรอบราก	18 ตุลาคม 2541
No.4	ราก	17 สิงหาคม 2541
No.5	ราก	22 กันยายน 2541
No.6	ราก	18 ตุลาคม 2541
No.7	ใบ	22 กันยายน 2541
No.8	ผล	22 กันยายน 2541

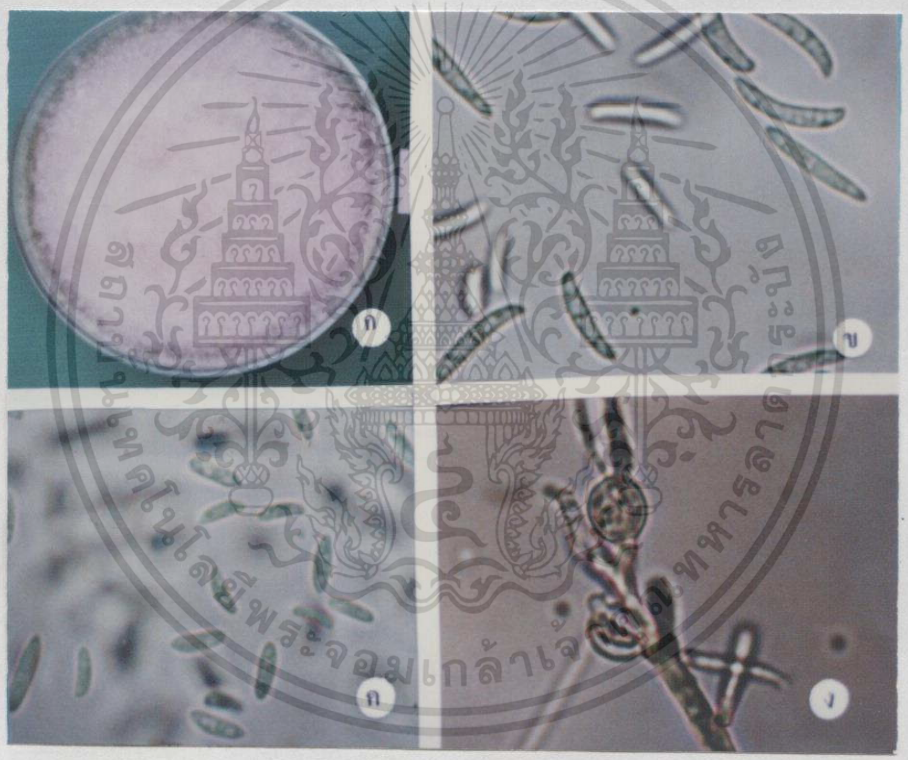
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Isolate No.1

รายละเอียดของเชื้อรา

แยกได้จากดินบริเวณรอบๆ รากมะเขือเทศ จากแปลงปลูกมะเขือเทศที่เป็นโรค ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สร้างเส้นใยสีขาว-เหลือง ฟู เจริญได้รวดเร็ว โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ที่อายุ 5 วัน สร้าง micro-conidium ขนาด 12.0 x 3.5 ไมโครเมตร มี 0-1 septum, macro-conidium ขนาด 45.0 x 4.5 ไมโครเมตร มี 3-5 septa และ chlamydospore ขนาด 15.5 ไมโครเมตร เป็นแบบ intercalary และ terminal (ภาพที่ 4.1)



ภาพที่ 4.1 ลักษณะของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* isolate No.1

ก. ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 5 วัน ข. ลักษณะ macro-conidia (400 เท่า)

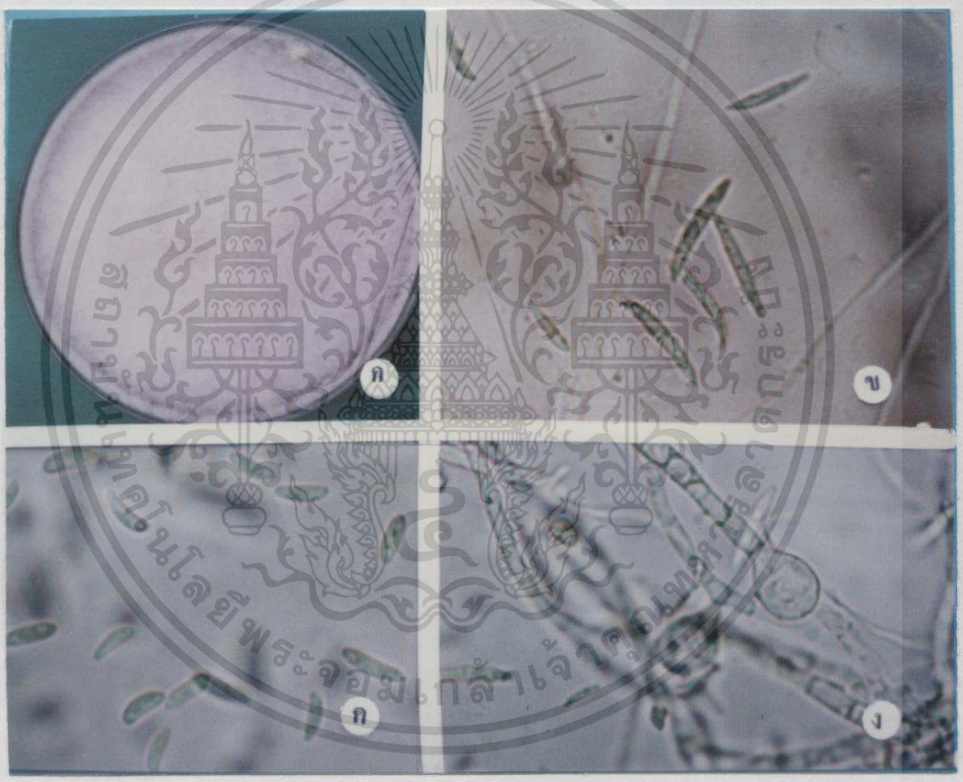
ค. ลักษณะ micro-conidia (400 เท่า) ง. ลักษณะ chlamydospore (400 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Isolate No.2

รายละเอียดของเชื้อรา

แยกได้จากดินบริเวณรอบๆ รากมะเขือเทศ จากแปลงปลูกมะเขือเทศที่เป็นโรค ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สร้างเส้นใยสีขาว-เหลือง ฟู เจริญได้รวดเร็ว โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตรที่อายุ 5 วัน สร้าง micro-conidium ขนาด 10.5 x 3.5 ไมโครเมตร มี 0-1 septum, macro-conidium ขนาด 45.0 x 4.0 ไมโครเมตร มี 3-5 septa และ chlamydospore เป็นแบบ intercalary และ terminal ขนาด 12.5 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4.2)



ภาพที่ 4.2 ลักษณะของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* isolate No.2

ก. ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 5 วัน ข. ลักษณะ macro-conidia (400 เท่า)

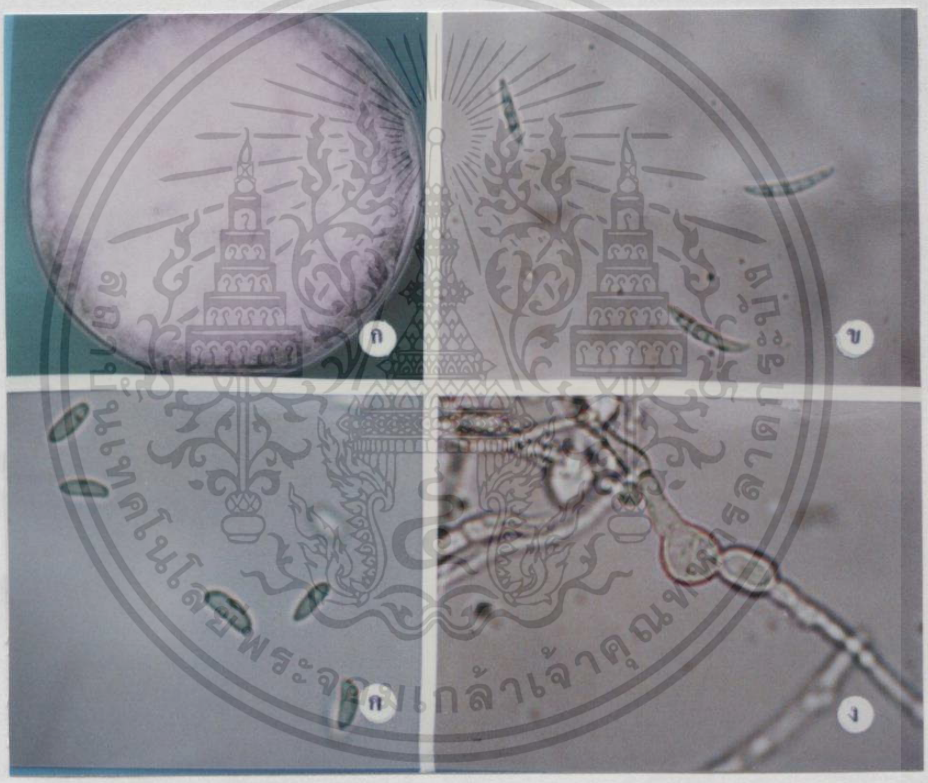
ค. ลักษณะ micro-conidia (400 เท่า) ง. ลักษณะ chlamydospore (400 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Isolate No.3

รายละเอียดของเชื้อรา

แยกได้จากดินบริเวณรอบๆ รากมะเขือเทศ จากแปลงปลูกมะเขือเทศที่เป็นโรค ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สร้างเส้นใยสีขาว-เหลือง ฟู เจริญได้รวดเร็ว โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตรที่อายุ 6 วัน สร้าง micro-conidium ขนาด 7.5 x 3.5 ไมโครเมตร มี 0-1 septum, macro-conidium ขนาด 30.0 x 3.0 ไมโครเมตร มี 3-5 septa และ chlamydospore เป็นแบบ intercalary และ terminal ขนาด 15.5 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4.3)



ภาพที่ 4.3 ลักษณะของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* isolate No.3

ก. ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 6 วัน ข. ลักษณะ macro-conidia (400 เท่า)

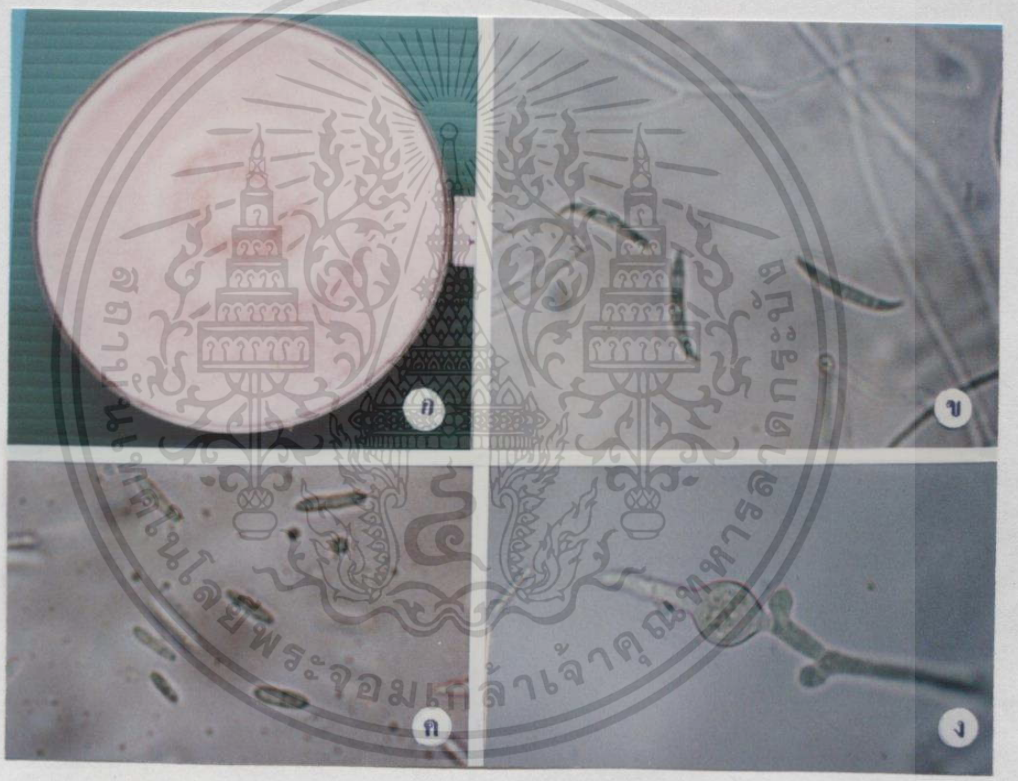
ค. ลักษณะ micro-conidia (400 เท่า) ง. ลักษณะ chlamydospore (400 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Isolate No.4

รายละเอียดของเชื้อรา

แยกเชื้อได้จากรากมะเขือเทศที่เป็นโรค ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สร้างเส้นใยสีขาว-เหลือง ฟู เจริญได้รวดเร็ว โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตรที่อายุ 5 วัน สร้าง micro-conidium ขนาด 10.5 x 3.5 ไมโครเมตร มี 0-1 septum, macro-conidium septa ขนาด 35.0 x 3.5 ไมโครเมตร มี 3-5 และ chlamydospore เป็นแบบ intercalary และ terminal ขนาด 15.5 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4.4)



ภาพที่ 4.4 ลักษณะของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* isolate No.4

ก. ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 5 วัน ข. ลักษณะ macro-conidia (400 เท่า)

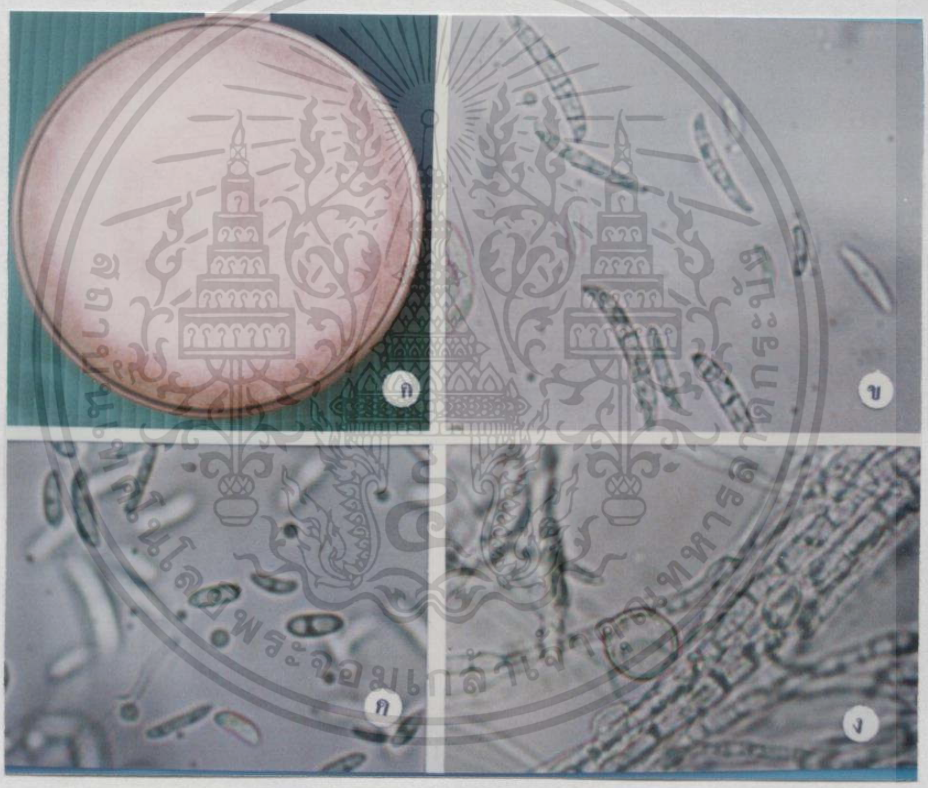
ค. ลักษณะ micro-conidia (400 เท่า) ง. ลักษณะ chlamydospore (400 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Isolate No.5

รายละเอียดของเชื้อรา

แยกเชื้อได้จากรากมะเขือเทศที่เป็นโรค ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สร้างเส้นใยสีขาว-เหลือง ฟู เจริญได้รวดเร็ว โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตรที่อายุ 5 วัน สร้าง micro-conidium ขนาด 7.5 x 3.5 ไมโครเมตร มี 0-1 septum, macro-conidium ขนาด 45.0 x 4.5 ไมโครเมตร มี 3-5 septa และ chlamydospore เป็นแบบ intercalary และ terminal ขนาด 17.5 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4.5)



ภาพที่ 4.5 ลักษณะของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* isolate No.5

ก. ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 5 วัน ข. ลักษณะ macro-conidia (400 เท่า)

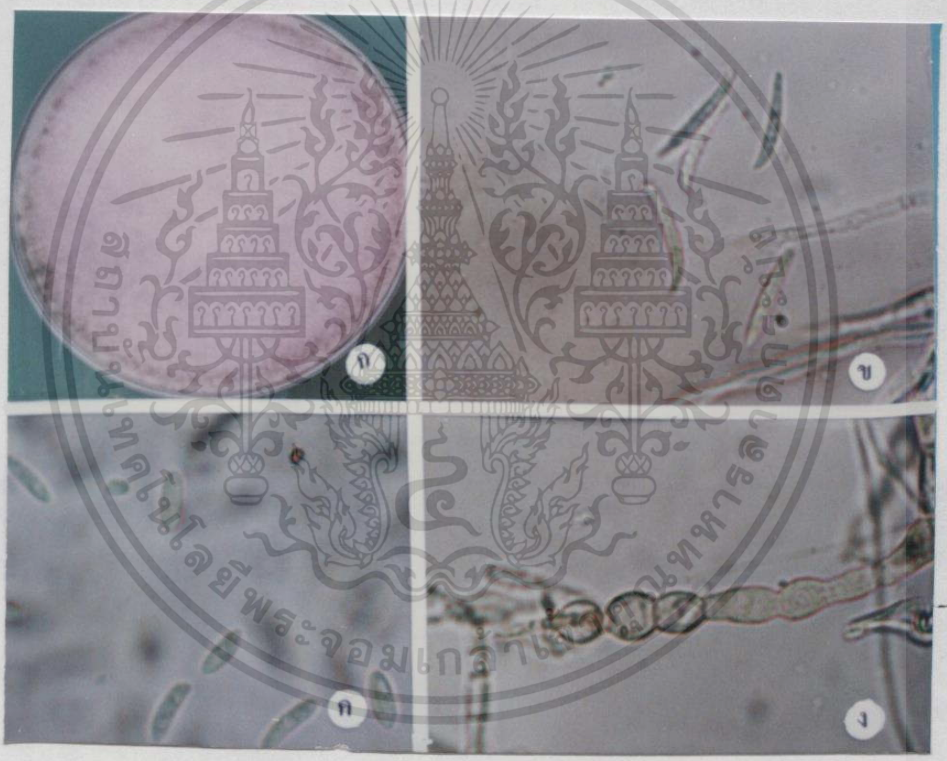
ค. ลักษณะ micro-conidia (400 เท่า) ง. ลักษณะ chlamydospore (400 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Isolate No.6

รายละเอียดของเชื้อรา

แยกเชื้อได้จากรากมะเขือเทศที่เป็นโรค ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สร้างเส้นใยสีขาว-เหลือง ฟู เจริญได้รวดเร็ว โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตรที่อายุ 5 วัน สร้าง micro-conidium ขนาด 7.5 x 3.5 ไมโครเมตร มี 0-1 septum, macro-conidium ขนาด 35.0 x 2.5 ไมโครเมตร มี 3-5 septa และ chlamydospore เป็นแบบ intercalary และ terminal ขนาด 12.5 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4.6)



ภาพที่ 4.6 ลักษณะของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* isolate No.6

ก. ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 5 วัน ข. ลักษณะ macro-conidia (400 เท่า)

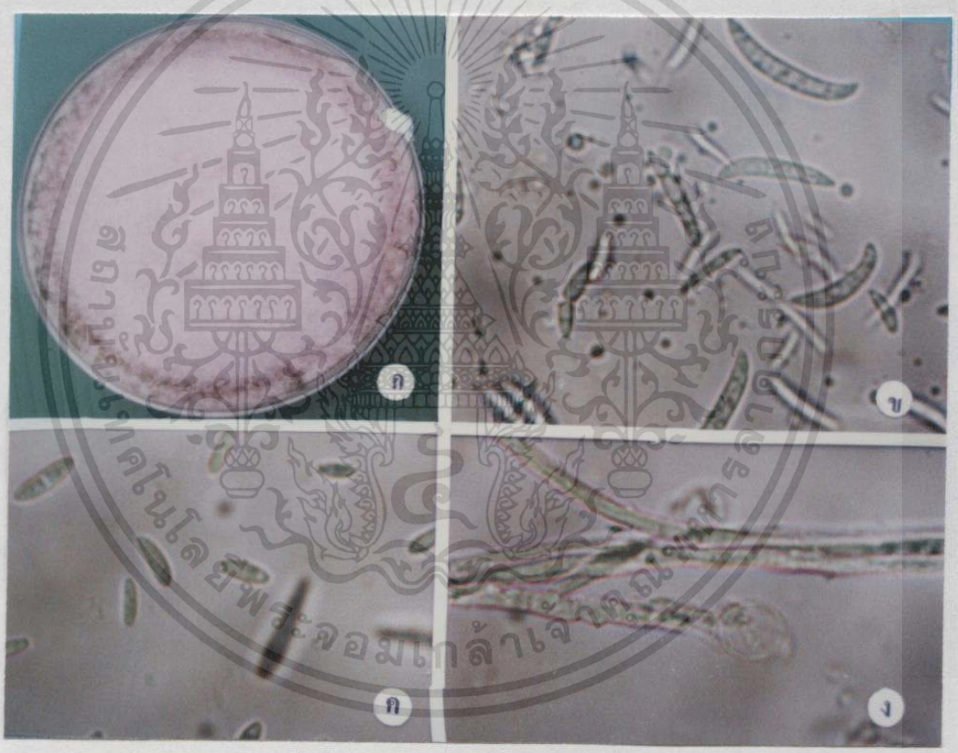
ค. ลักษณะ micro-conidia (400 เท่า) ง. ลักษณะ chlamydospore (400 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Isolate No.7

รายละเอียดของเชื้อรา

แยกเชื้อได้จากใบมะเขือเทศที่เป็นโรค ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สร้างเส้นใยสีขาว-เหลือง ฟู เจริญได้รวดเร็ว โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตรที่อายุ 6 วัน สร้าง micro-conidium ขนาด 10.5 x 3.5 ไมโครเมตร มี 0-1 septum, macro-conidium ขนาด 40.5 x 4.0 ไมโครเมตร มี 3-5 septa และ chlamydospore เป็นแบบ intercalary และ terminal ขนาด 12.5 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4.7)



ภาพที่ 4.7 ลักษณะของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* isolate No.7

ก. ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 6 วัน ข. ลักษณะ macro-conidia (400 เท่า)

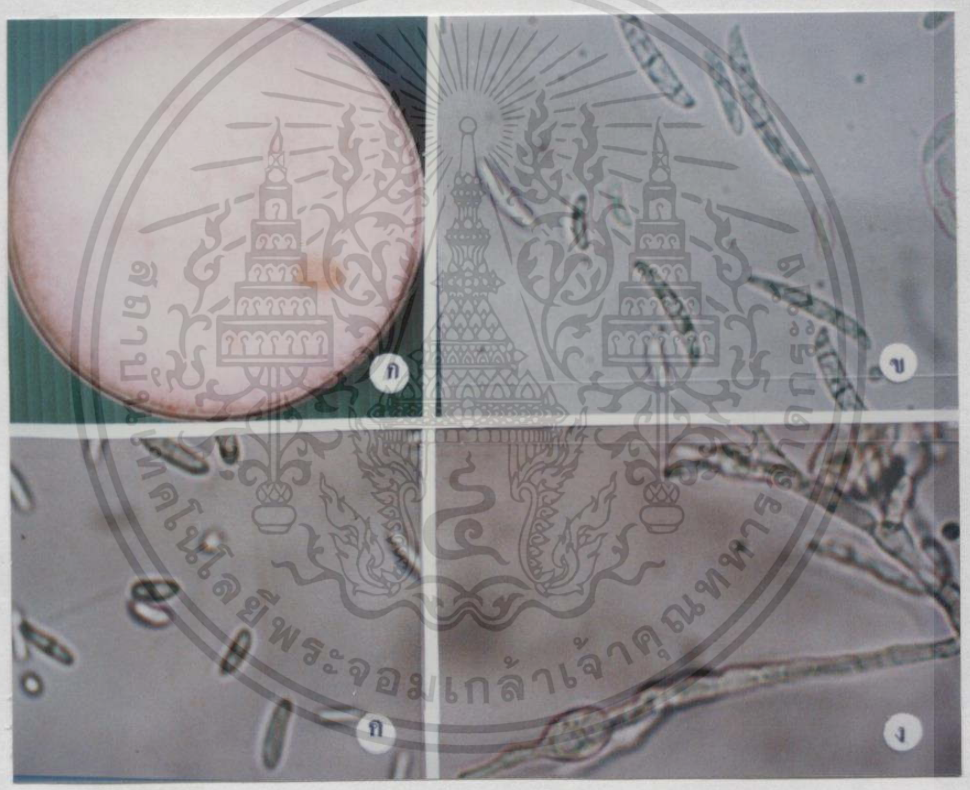
ค. ลักษณะ micro-conidia (400 เท่า) ง. ลักษณะ chlamydospore (400 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Isolate No.8

รายละเอียดของเชื้อรา

แยกเชื้อได้จากใบมะเขือเทศที่เป็นโรค ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สร้างเส้นใยสีขาว-เหลือง ฟู เจริญได้รวดเร็ว โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ที่อายุ 5 วัน สร้าง micro-conidium ขนาด 12.5 x 4.5 ไมโครเมตร มี 0-1 septum, macro-conidium ขนาด 45.5 x 4.5 ไมโครเมตร มี 3-5 septa และ chlamydospore เป็นแบบ intercalary และ terminal ขนาด 15.5 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4.8)



ภาพที่ 4.8 ลักษณะของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* isolate No.8

ก. ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 5 วัน ข. ลักษณะ macro-conidia (400 เท่า)

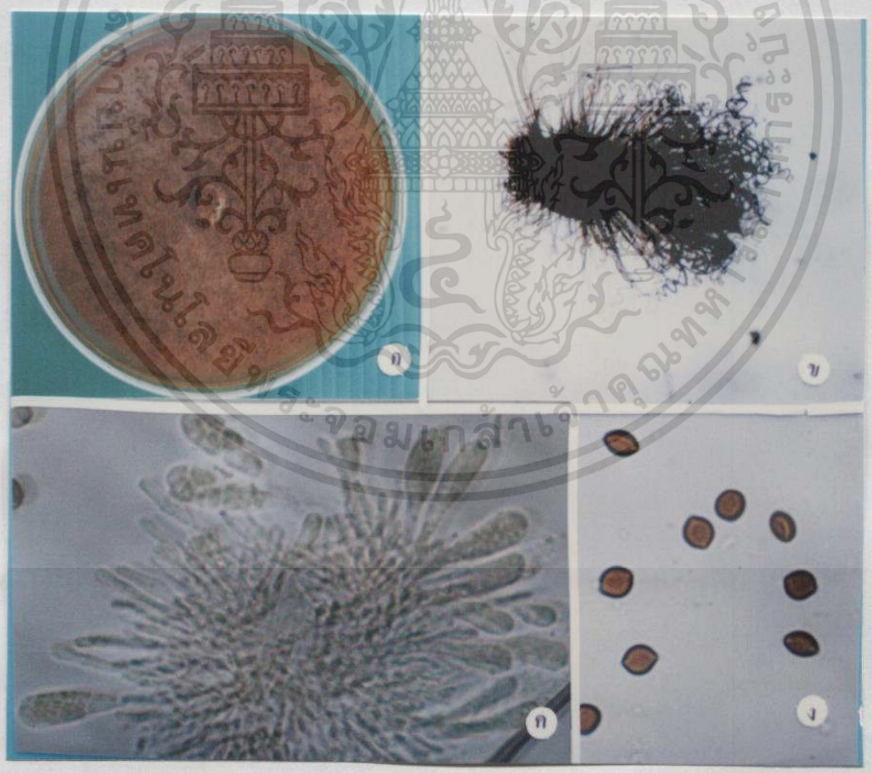
ค. ลักษณะ micro-conidia (400 เท่า) ง. ลักษณะ chlamydospore (400 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chaetomium globosum Cg6

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สร้างเส้นใยสีเขียวมะกอกหรือเขียวมะกอกเข้ม มีอัตราการเจริญเติบค่อนข้างรวดเร็ว สร้าง perithecia มีรูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลมปกคลุมด้วย hair จำนวนมาก มีผนังทึบ อยู่เป็นกลุ่มหรือกระจัดกระจาย มีขนาดประมาณ 300 x 250 ไมโครเมตร terminal hair มีรูปร่างโค้งงอเป็นคลื่นหรือเป็นขด ตรงปลายทู่ โดยปกติไม่มีการแตกกิ่งก้าน ผิวขรุขระเล็กน้อยและมีผนังกั้น ส่วน lateral hair มีลักษณะตรงหรือเป็นคลื่นเล็กน้อย asci มีรูปร่างแบบกระบอง (clavate) มีสภาพไม่คงทน ขนาดประมาณ 35 x 12 ไมโครเมตร ascospore มีรูปร่างคล้ายผลมะนาว (lemon-shaped) บรรจุอยู่ภายใน ascus จำนวน 8 อัน มีขนาดประมาณ 11.5 x 10.2 ไมโครเมตร เมื่อแก่เป็นสีน้ำตาล ผนังหนา และมี germ pore ที่ยอด (ภาพที่ 4.9)



ภาพที่ 4.9 แสดงลักษณะเชื้อ *Chaetomium globosum* Cg6

ก. ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 20 วัน ข. ลักษณะ perithecia (100 เท่า)

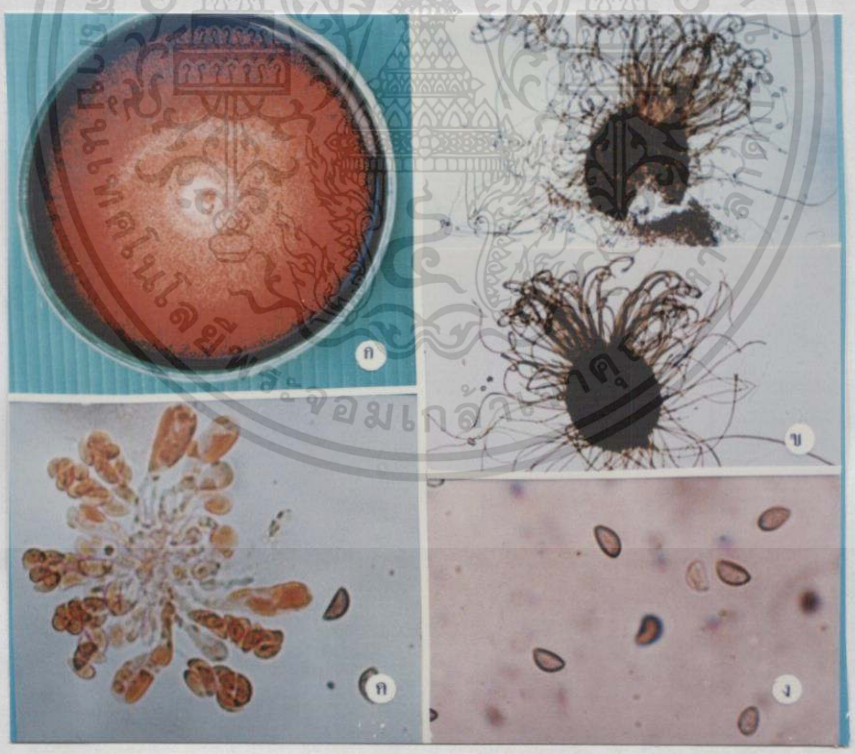
ค. ลักษณะ asci (400 เท่า) ง. ลักษณะ ascospores (400 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chaetomium cupreum Cc8

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA สร้าง pigment สีแดงบนอาหาร เส้นใยมีอัตราการเจริญเติบโตค่อนข้างช้า สร้าง perithecia รูปไข่ถึงกลม โดยมีผนังบางในระยะแรก และทึบในเวลาต่อมา เจริญเติบโตเต็มที่ภายในระยะเวลา 25 วัน โดยมีขนาดประมาณ 120-140 x 102-130 ไมโครเมตร terminal hair มีสีคล้ายทองแดง ตรงปลายขดเป็นวง ผิวหยาบ กว้างประมาณ 4.5 ไมโครเมตร lateral hair มีลักษณะคล้าย terminal hair แต่มีขนาดแคบกว่า (3.8 ไมโครเมตร) และมีรูปร่างตรง asci มีรูปร่างแบบกระบอง และมีสภาพไม่คงทน มีขนาดประมาณ 25-30 x 10-12 ไมโครเมตร ascospore มีรูปร่างคล้ายพระจันทร์เสี้ยว ใสไม่มีสีเมื่อยังอ่อน และจะกลายเป็นสีเขียวมะกอกเมื่อแก่แล้ว มีขนาดประมาณ 11 x 8 ไมโครเมตร และมี germ pore 1 อัน ที่ยอด (ภาพที่ 4.10)



ภาพที่ 4.10 แสดงลักษณะเชื้อ *Chaetomium cupreum* Cc8

ก. ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 25 วัน ข. ลักษณะ perithecia (100 เท่า)

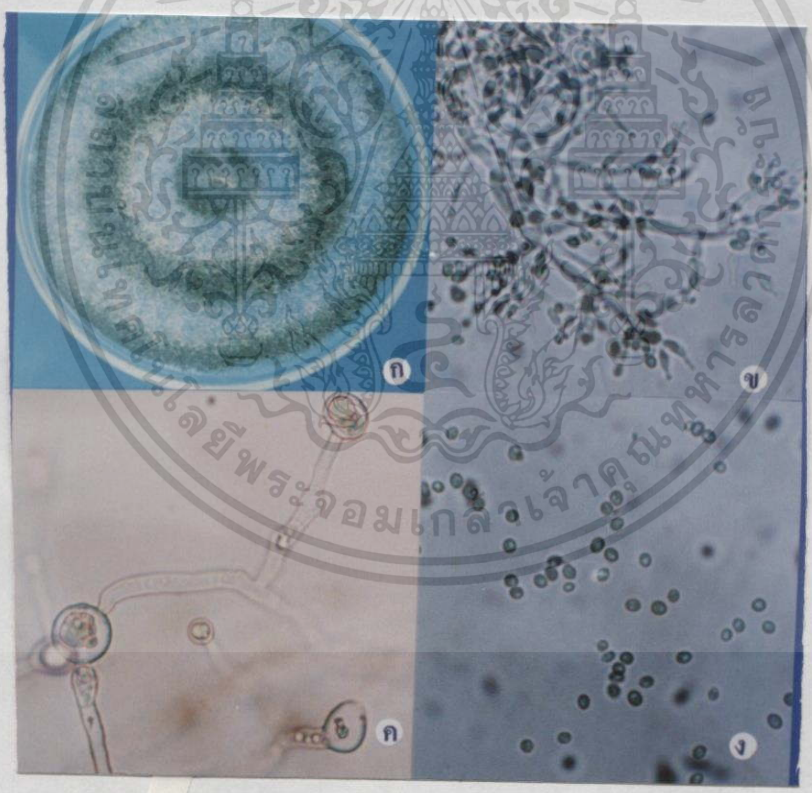
ค. ลักษณะ asci (400 เท่า) ง. ลักษณะ ascospores (400 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

***Trichoderma harzianum* PC01**

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เจริญอย่างรวดเร็ว เส้นใยใสไม่มีสี phialophore มีลักษณะเหมือนกับเส้นใย มีผนังกั้น และมีการแตกแขนงได้ดี มีความยาวประมาณ 2.5-5.0 ไมโครเมตร ส่วนปลายของ phialophore มีการแตกกิ่งก้านจะทำมุมฉากกับฐาน มีโครงสร้างที่เรียกว่า phialide เป็นรูป skittle-shape มีขนาด 5-7x 3-3.5 ไมโครเมตร เป็นจุดกำเนิดของ phialospores (conidia) ซึ่งมีรูปร่างกลม ขนาดประมาณ 2.8-3.2 x 2.5-2.8 ไมโครเมตร เมื่อแก่สปอร์มีสีเขียว chlamydospore เป็นแบบ intercalary และ terminal ส่วนใหญ่มีรูปร่างกลม ผนังเรียบ ไม่มีสี มีขนาดประมาณ 6-12 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4.11)



ภาพที่ 4.11 แสดงลักษณะของเชื้อ *Trichoderma harzianum* PC01

ก. ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 7 วัน ข. ลักษณะ thalli (100 เท่า)

ค. ลักษณะ chlamydospores (400 เท่า) ง. ลักษณะ conidia (100 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

***Trichoderma hamatum* PC02**

รายละเอียดของเชื้อรา

ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เจริญค่อนข้างช้า เส้นใยใสไม่มีสี ผนังเรียบ มีผนังกั้น มีขนาด 2-9 ไมโครเมตร phialophore มีลักษณะเหมือนกับเส้นใย มีผนังกั้น และมีการแตกแขนงได้ดี มีขนาดประมาณ 2.5-5.0 ไมโครเมตร ส่วนปลายของ phialophore มีโครงสร้างที่เรียกว่า phialide มีการรวมกลุ่มกันจำนวน 2-5 อัน มีรูปร่างอ้วนสั้นแบบลูกแพร์ มีขนาด 4-6.5x3-4 ไมโครเมตร เป็นจุดกำเนิดของ phialospores (conidia) ซึ่งมีรูปเหลี่ยมหรือกระสวยมีลักษณะหัวท้ายมน มีสีเขียวอ่อน ขนาดประมาณ 3.8-6.0x2.2-2.8 ไมโครเมตร เมื่อแก่สปอร์มีสีเขียว chlamydospore เป็นแบบ intercalary และ terminal รูปร่างกลม หรือค่อนข้างกลม ไม่มีสี ขนาดประมาณ 7-12.5 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4.12)

ภาพที่ 4.12 แสดงลักษณะของเชื้อ *Trichoderma hamatum* PC02

ก. ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน ข. ลักษณะ thalli (100 เท่า)

ค. ลักษณะ chlamydospores (400 เท่า) ง. ลักษณะ conidia (100 เท่า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.2 การจำแนกเชื้อราด้วยวิธี Polyacrylamide Gel Electophoresis

จากการใช้เทคนิคเจลอิเลคโตรโฟรีซีส เพื่อวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* จำนวน 8 isolates, *Ch. globosum* 12 isolates, *Ch. cupreum* 10 isolates, *T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 โดยบันทึกการปรากฏและไม่ปรากฏแถบโปรตีนพบว่าเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ที่ทำการทดสอบมีการสร้างแถบโปรตีนทั้งหมด 11 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 5.5-110 kDa (ภาพที่ 4.13) และเมื่อนำข้อมูลไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ด้วยวิธี cluster analysis ในโปรแกรม SPSS แล้วแสดงผลออกมาในรูป dendrogram (ภาพที่ 4.14) ทำให้สามารถจัดจำแนกความแตกต่างของเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ได้ 2 กลุ่มใหญ่ๆ โดยพิจารณาจากความถี่ของการเกิดและไม่เกิดแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากันบางตำแหน่ง (ตารางที่ 4.2) ดังนี้คือ

กลุ่มที่ 1 มี 4 isolates ได้แก่ No.1, 2, 3 และ 4 มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 28.5-110 kDa สามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้ 2 กลุ่มคือ

กลุ่มย่อยที่ 1.1 มี 2 isolates ได้แก่ No.2 และ 4

กลุ่มย่อยที่ 1.2 มี 2 isolates ได้แก่ No.1 และ 3

กลุ่มที่ 2 มี 4 isolates ได้แก่ No.5, 6, 7 และ 8 มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 5.5-112 kDa สามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้ 2 กลุ่มคือ

กลุ่มย่อยที่ 2.1 มี 2 isolates ได้แก่ No.7 และ 8

กลุ่มย่อยที่ 2.2 มี 1 isolate ได้แก่ No.5

กลุ่มย่อยที่ 2.3 มี 1 isolate ได้แก่ No.6

เชื้อรา *Ch. globosum* ที่ทำการทดสอบมีการสร้างแถบโปรตีนทั้งหมด 10 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 10.5-96 kDa (ภาพที่ 4.15) และเมื่อนำข้อมูลไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ด้วยวิธี cluster analysis ในโปรแกรม SPSS แล้วแสดงผลออกมาในรูป dendrogram (ภาพที่ 4.16) ทำให้สามารถจัดจำแนกความแตกต่างของเชื้อ *Ch. globosum* ได้ 3 กลุ่มใหญ่ๆ โดยพิจารณาจากความถี่ของการเกิดและไม่เกิดแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากันบางตำแหน่ง (ตารางที่ 4.3) ดังนี้คือ

กลุ่มที่ 1 มี 6 isolates ได้แก่ Cg1, Cg2, Cg3, Cg4, Cg5 และ Cg6 มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 10.5-80.0 kDa แบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้ 2 กลุ่มคือ

กลุ่มย่อยที่ 1.1 มี 5 isolates ได้แก่ Cg1, Cg2, Cg3, Cg5 และ Cg6

กลุ่มย่อยที่ 1.2 มี 1 isolate ได้แก่ Cg4

กลุ่มที่ 2 มี 5 isolates ได้แก่ Cg7, Cg8, Cg10, Cg11 และ Cg12 มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 10.5-87.4 kDa สามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้ 3 กลุ่มคือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มย่อยที่ 2.1 มี 3 isolates ได้แก่ Cg8, Cg11 และ Cg12

กลุ่มย่อยที่ 2.2 มี 1 isolate ได้แก่ Cg7

กลุ่มย่อยที่ 2.3 มี 1 isolate ได้แก่ Cg10

กลุ่มที่ 3 มี 1 isolate ได้แก่ Cg9 มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 10.5-96.0 kDa

เชื้อรา *Ch. cupreum* ที่ทำการทดสอบมีการสร้างแถบโปรตีนทั้งหมด 13 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 8.8-108.5 (ภาพที่ 4.17) และเมื่อนำข้อมูลไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ด้วยวิธี cluster analysis ในโปรแกรม SPSS แล้วแสดงผลออกมาในรูป dendrogram (ภาพที่ 4.18) ทำให้สามารถจัดจำแนกความแตกต่างของเชื้อ *Ch. cupreum* ได้ 3 กลุ่มใหญ่ๆ โดยพิจารณาจากความถี่ของการเกิดและไม่เกิดแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากันบางตำแหน่ง (ตารางที่ 4.4) ดังนี้คือ

กลุ่มที่ 1 มี 4 isolates ได้แก่ Cc3, Cc5, Cc8 และ Cc10 มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 8.5-108.5 kDa สามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้ 3 กลุ่มคือ

กลุ่มย่อยที่ 1.1 มี 2 isolates ได้แก่ Cc8 และ Cc10

กลุ่มย่อยที่ 1.2 มี 1 isolate ได้แก่ Cc3

กลุ่มย่อยที่ 1.3 มี 1 isolate ได้แก่ Cc5

กลุ่มที่ 2 มี 5 isolates ได้แก่ Cc1, Cc2, Cc4, Cc7 และ Cc9 มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 14.4-108.5 kDa สามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้ 3 กลุ่มคือ

กลุ่มย่อยที่ 2.1 มี 1 isolate ได้แก่ Cc4

กลุ่มย่อยที่ 2.2 มี 3 isolates ได้แก่ Cc1, Cc2 และ Cc9

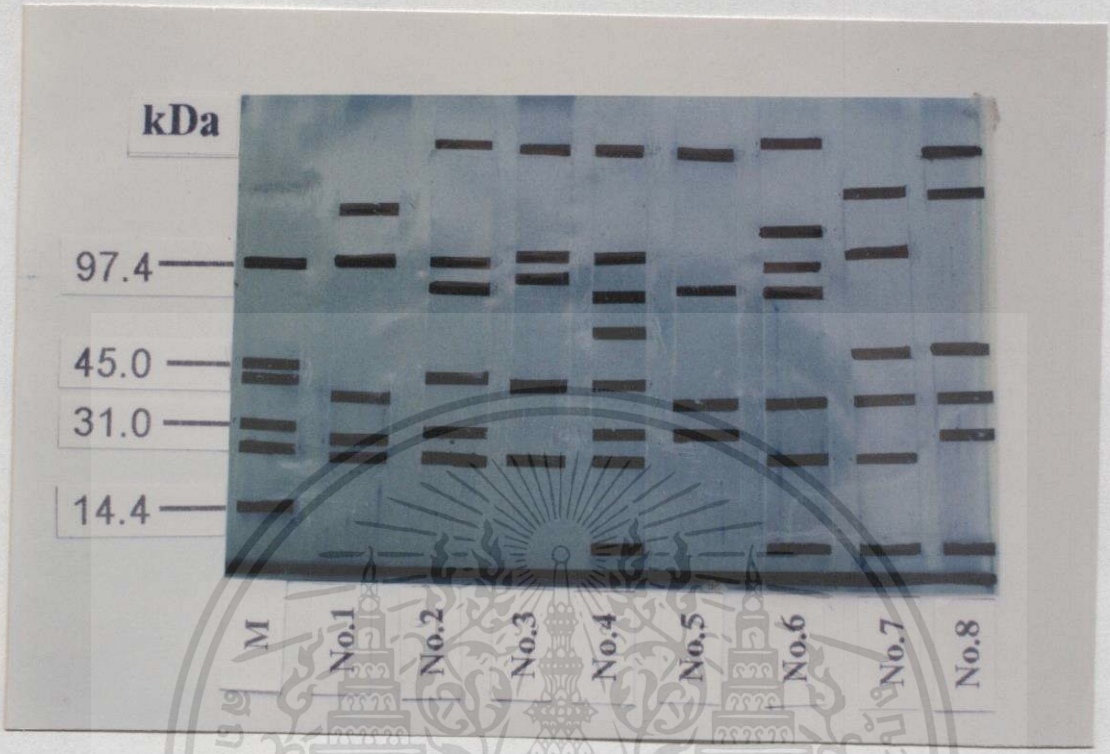
กลุ่มย่อยที่ 2.3 มี 1 isolate ได้แก่ Cc7

กลุ่มที่ 3 มี 1 isolates ได้แก่ Cc6 มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 30.5-108.5 kDa

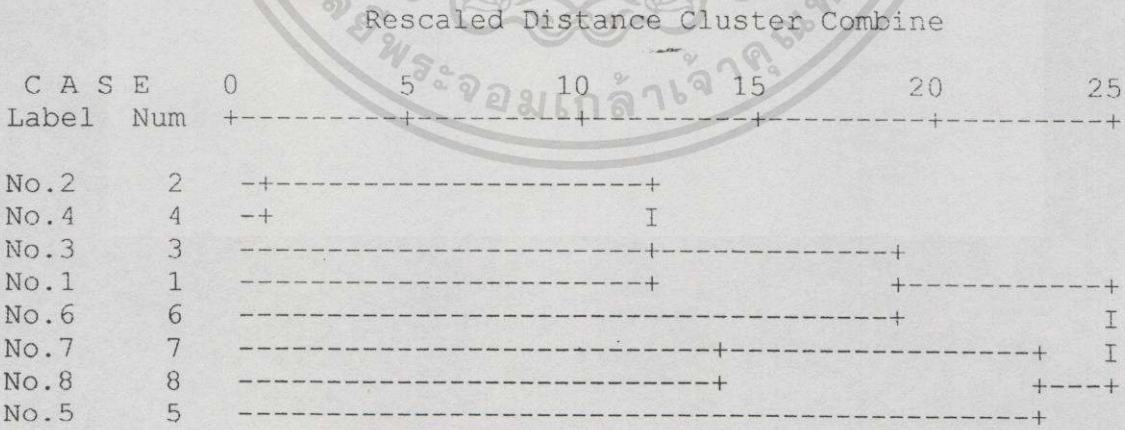
เชื้อรา *T. harzianum* PC01 ที่ทำการทดสอบมีการสร้างแถบโปรตีนทั้งหมด 6 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 8.5-90.0 kDa และเชื้อรา *T. hamatum* PC02 ที่ทำการทดสอบมีการสร้างแถบโปรตีนทั้งหมด 4 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 31-76 kDa

จากการวิเคราะห์ cluster analysis ของแถบโปรตีนที่ปรากฏในเชื้อสาเหตุโรคแต่ละ isolate เชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* จำนวน 8 สายพันธุ์ *Ch. globosum* จำนวน 12 สายพันธุ์ และ *Ch. cupreum* จำนวน 10 สายพันธุ์ ทำให้ทราบในเบื้องต้นว่า แต่ละสายพันธุ์มีความแตกต่างกันในระดับสายพันธุ์ (strain) อย่างชัดเจน นอกจากนี้ยังพบว่า *T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 มีความแตกต่างกันในระดับ species และเป็น isolate ที่มีคุณสมบัติในการควบคุมเชื้อราสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

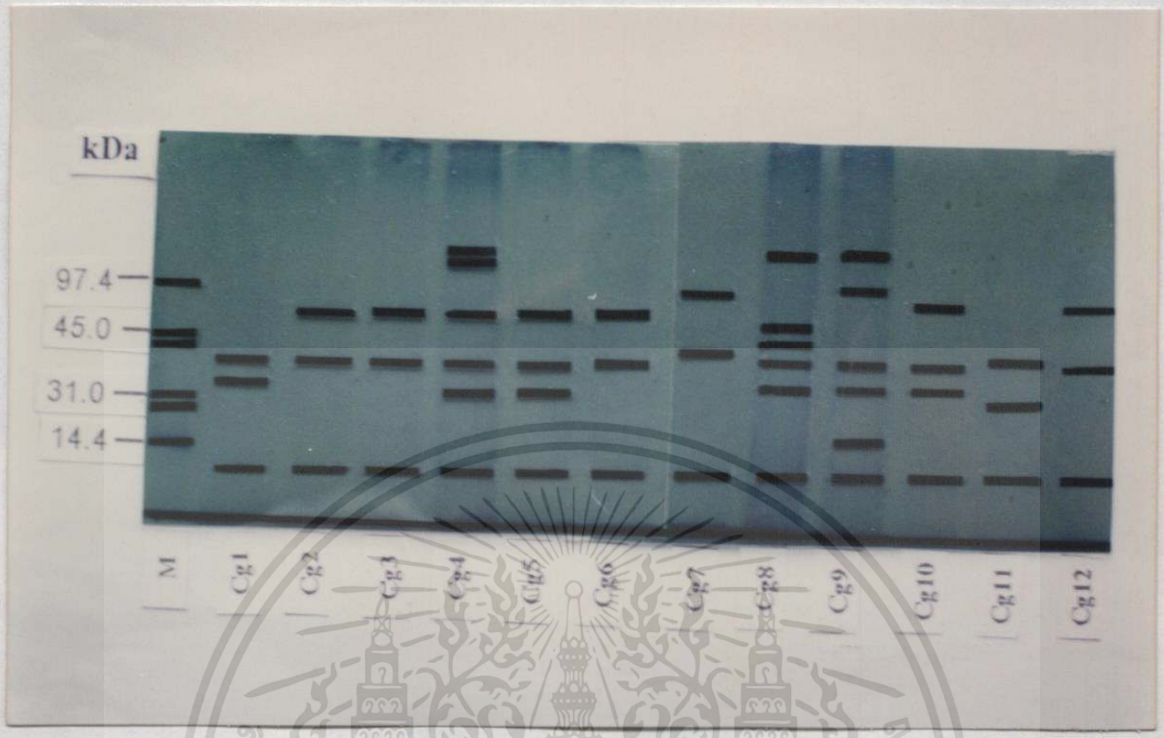


ภาพที่ 4.13 แสดงการเกิดแถบโปรตีนของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* โดยเทคนิค SPS-PAGE , M = Molecular weight marker, ตัวเลขด้านซ้าย แสดงน้ำหนักโมเลกุล

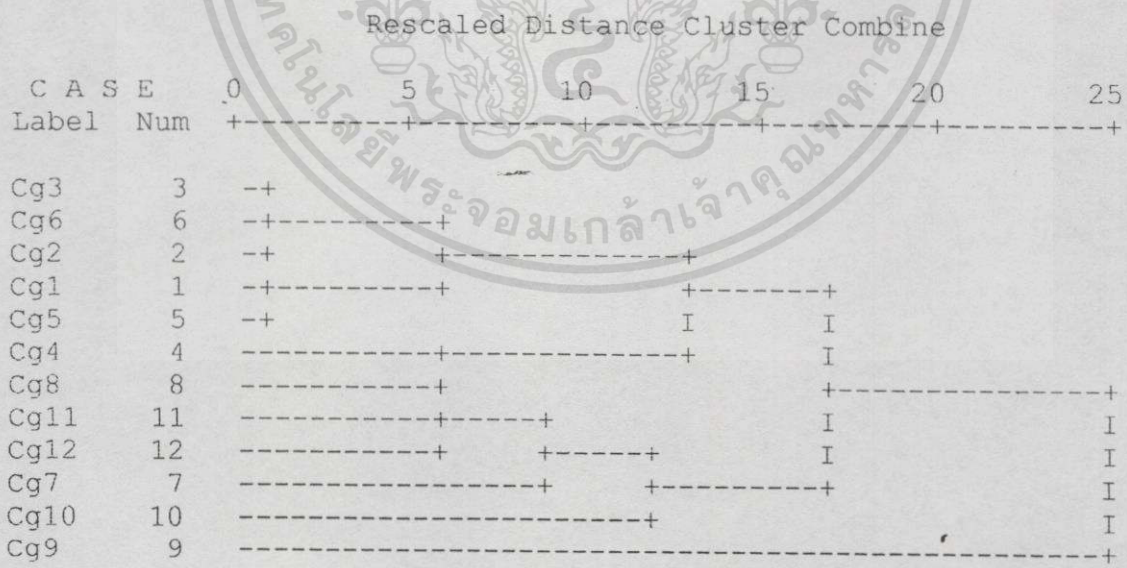


ภาพที่ 4.14 Dendrogram แสดงความสัมพันธ์ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



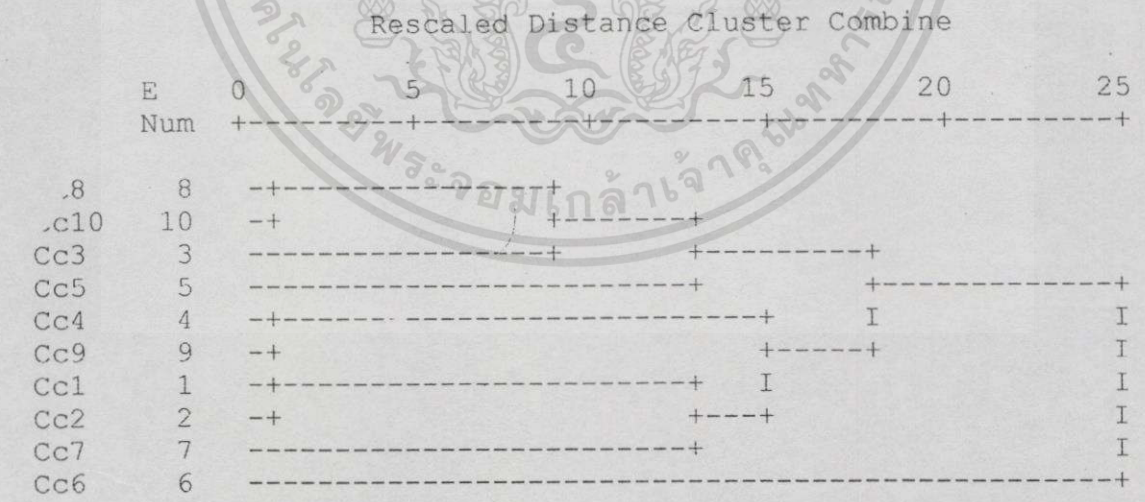
ภาพที่ 4.15 แสดงการเกิดแถบโปรตีนของเชื้อรา *Chaetomium globosum* โดยเทคนิค SPS-PAGE
M = Molecular weight marker, ตัวเลขด้านซ้าย แสดงน้ำหนักโมเลกุล



ภาพที่ 4.16 Dendrogram แสดงความสัมพันธ์ของเชื้อรา *Chaetomium globosum*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.17 แสดงการเกิดแถบโปรตีนของเชื้อรา *Chaetomium cupreum, Trichoderma harzianum, Trichoderma hamatum* โดยเทคนิค SPS-PAGE, M = Molecular weight marker, ตัวเลขด้านซ้าย แสดงน้ำหนักโมเลกุล



ภาพที่ 4.18 Dendrogram แสดงความสัมพันธ์ของเชื้อรา *Chaetomium cupreum*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 แสดงการปรากฏและไม่ปรากฏแถบโปรตีนของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ซึ่งกำหนดค่าการปรากฏแถบโปรตีนเป็น 1 และไม่ปรากฏแถบโปรตีนเป็น 0

Isolate	ค่าแทนการปรากฏและไม่ปรากฏแถบโปรตีน										
	แถบ1	แถบ2	แถบ3	แถบ4	แถบ5	แถบ6	แถบ7	แถบ8	แถบ9	แถบ10	แถบ11
No.1	0	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0
No.2	1	0	0	1	0	1	1	0	1	1	0
No.3	1	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0
No.4	1	0	0	1	0	1	1	0	1	1	1
No.5	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0
No.6	1	0	1	0	1	1	0	1	0	1	1
No.7	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	1
No.8	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1

ตารางที่ 4.3 แสดงการปรากฏและไม่ปรากฏแถบโปรตีนของเชื้อรา *Chaetomium globosum* ซึ่งกำหนดค่าการปรากฏแถบโปรตีนเป็น 1 และไม่ปรากฏแถบโปรตีนเป็น 0

Isolate	ค่าแทนการปรากฏและไม่ปรากฏแถบโปรตีน									
	แถบ1	แถบ2	แถบ3	แถบ4	แถบ5	แถบ6	แถบ7	แถบ8	แถบ9	แถบ10
Cg1	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1
Cg2	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1
Cg3	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1
Cg4	1	0	0	1	0	1	1	0	0	1
Cg5	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1
Cg6	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1
Cg7	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1
Cg8	1	0	0	1	1	1	1	0	0	1
Cg9	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1
Cg10	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1
Cg11	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1
Cg12	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 แสดงการปรากฏและไม่ปรากฏแถบโปรตีนของเชื้อรา *Chaetomium cupreum*, *Trichoderma harzianum* และ *T. hamatum* ซึ่งกำหนดค่าการปรากฏแถบโปรตีนเป็น 1 และไม่ปรากฏแถบโปรตีนเป็น 0

Isolate	ค่าแทนการปรากฏและไม่ปรากฏแถบโปรตีน												
	แถบ1	แถบ2	แถบ3	แถบ4	แถบ5	แถบ6	แถบ7	แถบ8	แถบ9	ถบ10	แถบ11	แถบ12	แถบ13
Cc1	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0
Cc2	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0
Cc3	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1	1
Cc4	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0
Cc5	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0
Cc6	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0
Cc7	0	1	0	1	1	0	1	0	1	0	1	1	0
Cc8	1	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	1	0
Cc9	0	0	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1
Cc10	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0
T01		0	1	0	1	0	1	1	1				
T02	0	1	0	1	1	1	0	0	0				

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

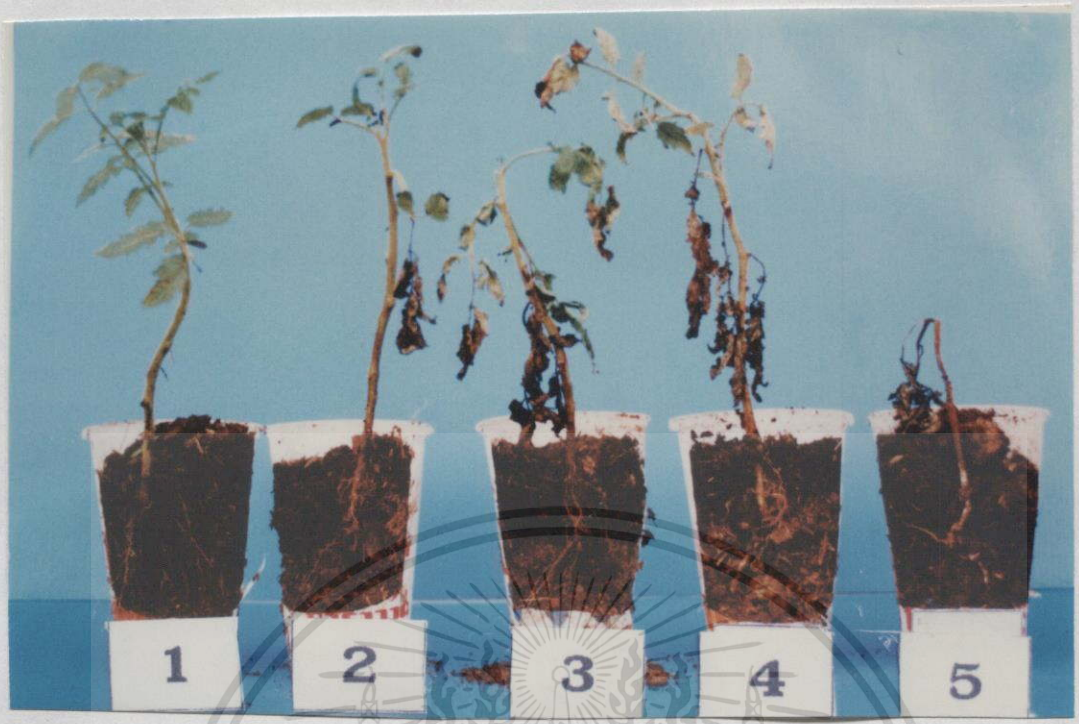
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การทดสอบความรุนแรงของเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ

4.2.1 การทดสอบหา isolates ที่รุนแรงต่อการเกิดโรคเหี่ยวของต้นมะเขือเทศ

จากการศึกษาความสามารถในการทำเกิดโรคเหี่ยวกับต้นกล้ามะเขือเทศของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* จำนวน 8 isolates ซึ่งได้จากการจำแนกโดยอาศัยลักษณะสัณฐานวิทยา (morphology) จากข้อ 4.1.1 หลังจากทำการปลูกเชื้อกับต้นกล้ามะเขือเทศ โดยการตัดปลายราก นำมาแช่ในสปอร์แขวนลอยของเชื้อที่ความเข้มข้น $3x10^6$ conidia/ml แล้วปลูกในดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นให้ระดับการเกิดโรคเป็น 5 ระดับ โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Infantino *et al.*(1996) ดังนี้ คือ 1 = ต้นปกติ, 2 = ใบเหี่ยว เหลือง 1-25 เปอร์เซ็นต์, 3 = ใบเหี่ยว เหลือง 26-50 เปอร์เซ็นต์, 4 = ใบเหี่ยว เหลือง 51-75 เปอร์เซ็นต์, 5 = ใบเหี่ยว เหลือง 75-100 เปอร์เซ็นต์ (ตาย) (ภาพที่ 4.19) พบว่าต้นกล้ามะเขือเทศจะแสดงอาการใบเหลือง และเหี่ยวไปในที่สุด โดย isolate No. 5 พบว่าทำให้เกิดโรครุนแรงกับต้นกล้ามะเขือเทศมากที่สุด มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 94เปอร์เซ็นต์ รองมาได้แก่ isolate No. 6, 4, 8, 7, 1, 2 และ 3 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 84, 78, 69, 59, 52.6, 52.4 และ 45 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 4.5) และเมื่อนำรากมาล้างทำความสะอาดพบว่ารากของมะเขือเทศมีการเน่าและเปื่อย (ภาพที่ 4.20)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.19 ระดับการเกิดโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ ที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* 1 = ต้นปกติ, 2 = ใบเหี่ยว เหลือง 1-25 เปอร์เซ็นต์, 3 = ใบเหี่ยว เหลือง 26-50 เปอร์เซ็นต์, 4 = ใบเหี่ยว เหลือง 51-75 เปอร์เซ็นต์, 5 = ใบเหี่ยว เหลือง 75-100 เปอร์เซ็นต์ (ตาย) (Infantino *et al.*, 1996)

ภาพที่ 4.20 การทดสอบหาเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate ที่ทำให้เกิดโรครุนแรงกับต้นกล้ามะเขือเทศ ก. อาการจากต้น ข. อาการจากราก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 การทดสอบหาเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate ที่ทำให้เกิดโรครุนแรงกับต้นกล้ามะเขือเทศ

Isolate	ระดับการเกิดโรค[1/]	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค[2/]
No.1	2.85 cd[3/]	52.4 de
No.2	2.75 cd	52.6 de
No.3	2.55 d	45.0 e
No.4	3.90 ab	78.0 abc
No.5	4.70 a	94.0 a
No.6	4.20 ab	84.0 ab
No.7	2.95 cd	59.0 cde
No.8	3.45 bc	69.0 bcd
CV %	11.56	16.28
DMRT.05	0.67	15.87
DMRT.01	0.89	23.84

[1/] ระดับการเกิดโรคมี 5 ระดับดังนี้ คือ 1 = ต้นปกติ, 2 = ใบเหี่ยว เหลือง 1-25 เปอร์เซ็นต์, 3 = ใบเหี่ยว เหลือง 26-50 เปอร์เซ็นต์, 4 = ใบเหี่ยว เหลือง 51-75 เปอร์เซ็นต์, 5 = ใบเหี่ยว เหลือง 75-100 เปอร์เซ็นต์ (ตาย) ดัดแปลงมาจาก Infantino *et al.* (1996)

[2/] เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค = (จำนวนต้นที่เป็นโรค x ระดับการเกิดโรคเฉลี่ย / ระดับการเกิดโรคสูงสุด x จำนวนต้นทั้งหมด) x 100 (เกษม, 2534ค)

[3/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test

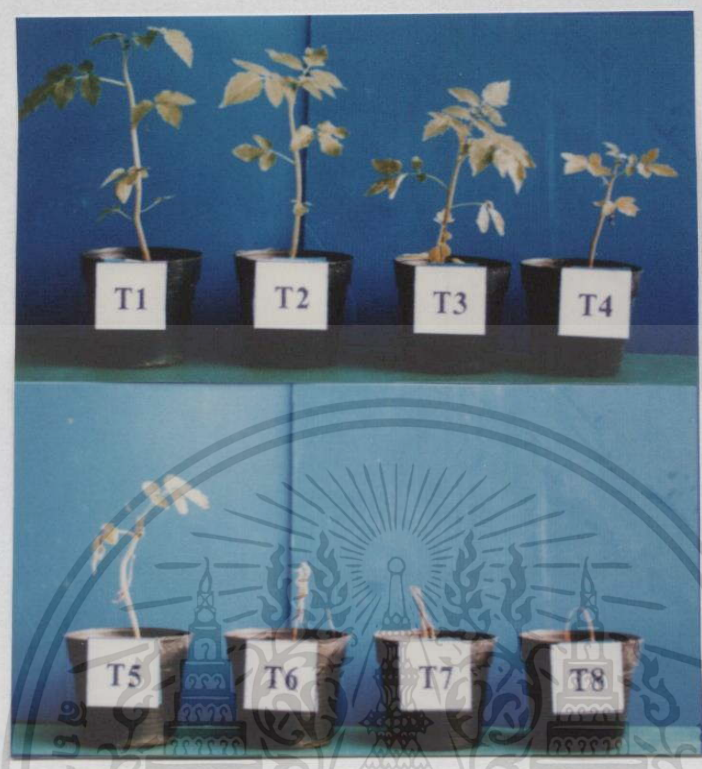
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 การทดสอบหาศักยภาพของเชื้อก่อโรค (inoculum potential)

จากการทดลองได้นำเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* No. 5 isolate ที่ทำให้เกิดโรครุนแรงกับต้นกล้ามะเขือเทศ มาทำการทดลองหาความเข้มข้นที่ทำให้เกิดโรครุนแรงและเหมาะสม โดยนำต้นกล้ามะเขือเทศอายุ 14 วัน โดยนำมาล้างราก แล้วตัดปลายรากทิ้ง 0.3 เซนติเมตร จำนวน 5 ราก นำรากมะเขือเทศแช่ใน spore suspension ที่ความเข้มข้น 0, $1x10^4$, $5x10^4$, $1x10^5$, $5x10^5$, $1x10^6$, $3x10^6$ และ $5x10^6$ conidia/ml แล้วปลูกในกระถางขนาด 4 นิ้ว เป็นเวลา 15 วัน แล้วให้ระดับการเกิดโรค กับต้นกล้ามะเขือเทศ 5 ระดับ โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Infantino *et al.* (1996) ดังนี้ คือ 1 = ต้นปกติ, 2 = ใบเหี่ยว เหลือง 1-25 เปอร์เซ็นต์, 3 = ใบเหี่ยว เหลือง 26-50 เปอร์เซ็นต์, 4 = ใบเหี่ยว เหลือง 51-75 เปอร์เซ็นต์, 5 = ใบเหี่ยว เหลือง 75-100 เปอร์เซ็นต์ (ตาย) (ภาพที่ 4.21) พบว่าที่ระดับความเข้มข้น $3x10^6$ และ $5x10^6$ conidia/ml มีระดับการเกิดโรคเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 5 และรองมาคือที่ความเข้มข้น $1x10^6$, $5x10^5$, $1x10^5$, $5x10^4$, $1x10^4$ และ 0 conidia/ml มีระดับการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 4.68, 4.35, 1.9, 1.4, 1 และ 1 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.22) และพบว่าที่ระดับความเข้มข้น $3x10^6$ และ $5x10^6$ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ และรองมาคือที่ความเข้มข้น $1x10^6$, $5x10^5$, $1x10^5$, $5x10^4$, $1x10^4$ และ 0 conidia/ml มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 93.00, 86.25, 27.2, 11.6, 0 และ 0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 4.6)

ภาพที่ 4.21 แสดงระดับการเกิดโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ ที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum*f.sp. *lycopersici* ดังนี้ 1 = ต้นปกติ, 2 = ใบเหี่ยว เหลือง 1-25 เปอร์เซ็นต์, 3 = ใบเหี่ยว เหลือง 26-50 เปอร์เซ็นต์, 4 = ใบเหี่ยว เหลือง 51-75 เปอร์เซ็นต์, 5 = ใบเหี่ยว เหลือง 75-100 เปอร์เซ็นต์ (ตาย) (Infantino *et al.*, 1996)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.22 การทดสอบศักยภาพของเชื้อก่อโรคของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ที่มีต่อการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ T1 = 0 conidia/ml (Control), T2 = $1x10^4$ conidia/ml, T3 = $5x10^4$ conidia/ml, T4 = $1x10^5$ conidia/ml, T5 = $5x10^5$ conidia/ml, T6 = $1x10^6$ conidia/ml, T7 = $3x10^6$ conidia/ml และ T8 = $5x10^6$ conidia/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 การทดสอบศักยภาพของเชื้อก่อโรคของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ที่มีต่อการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ

ปริมาณเชื้อก่อโรค (conidia/ml)	ระดับการเกิดโรค[1/]	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค[2/] (%)
0	1.00 e[3/]	0.00 e
$1x10^4$	1.00 e	0.00 e
$5x10^4$	1.40 d	11.60 d
$1x10^5$	1.90 c	27.00 c
$5x10^5$	4.35 b	86.25 b
$1x10^6$	4.65 ab	93.00 ab
$3x10^6$	5.00 a	100.00 a
$5x10^6$	5.00 a	100.00 a
CV%	3.87	8.76
DMRT.05	0.15	7.47
DMRT.01	0.20	10.04

[1/] ระดับการเกิดโรคมี 5 ระดับดังนี้ คือ 1 = ต้นปกติ, 2 = ใบเหี่ยว เหลือง 1-25 เปอร์เซ็นต์, 3 = ใบเหี่ยว เหลือง 26-50 เปอร์เซ็นต์, 4 = ใบเหี่ยว เหลือง 51-75 เปอร์เซ็นต์, 5 = ใบเหี่ยว เหลือง 75-100 เปอร์เซ็นต์ (ตาย) ดัดแปลงมาจาก Infantino *et al.* (1996)

[2/] เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค = (จำนวนต้นที่เป็นโรค x ระดับการเกิดโรคเฉลี่ย / ระดับการเกิดโรคสูงสุด x จำนวนต้นทั้งหมด) x 100 (เกษม, 2534ค)

[3/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

จากการทดลองเลี้ยงเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* บนอาหาร PDA ผสมสารสกัด Chaetoglobosin-C จากเชื้อรา *Ch. globosum*, Rotiorinol จากเชื้อรา *Ch. cupreum*, Trichotoxin A50 จากเชื้อรา *T. harzianum* และ สารสกัดรวมของ *T. hamatum* ที่ความเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 500 ppm เป็นเวลา 7 วัน พบว่าชนิดของสารสกัดและความเข้มข้นของสารสกัดมีผลทำให้การเจริญเติบโตของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดย control มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนียาวที่สุดเท่ากับ 5.5 เซนติเมตร และขนาดโคโลนีที่เล็กที่สุดได้แก่อาหาร PDA ผสมสารสกัด *T. hamatum* ที่ความเข้มข้น 500 ppm มีขนาดเท่ากับ 3.22 เซนติเมตร (ตารางที่ 4.7; ภาพที่ 4.23) และพบว่าอาหาร PDA ผสมสารสกัด *T. hamatum* ที่ความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดเท่ากับ 41.32 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.8) เมื่อนำเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* มาตรวจนับจำนวน macro-conidia, micro-conidia และ chlamydospore พบว่าชนิดและความเข้มข้นของสารสกัดมีผลในการยับยั้งการสร้าง macro-conidia, micro-conidia และ chlamydospore โดย control ที่ไม่ใช้สารสกัดมีการสร้าง macro-conidia, micro-conidia และ chlamydospore มากที่สุด (ตารางที่ 4.9-4.11) และเมื่อนำมาหาเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้าง macro-conidia สารสกัด Rotiorinol ที่ความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งการสร้าง macro-conidia ได้สูงสุดเท่ากับ 60.96 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.12) อีกทั้งสามารถยับยั้งการสร้าง micro-conidia ได้สูงสุดเท่ากับ 60.23 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.13) และสารสกัด *T. hamatum* ที่ความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งการสร้าง chlamydospore ได้สูงสุดเท่ากับ 80.14 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.14) และเมื่อนำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์หาค่า ED_{50} ของสารสกัดทั้ง 4 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* พบว่ามีค่าเท่ากับ 2,367, 1,845, 4,978 และ 741 ตามลำดับ ค่า ED_{50} ในการสร้าง macro-conidia เท่ากับ 969, 153, 747 และ 417 ตามลำดับ ค่า ED_{50} ในการสร้าง micro-conidia เท่ากับ 617, 135, 765 และ 144 ตามลำดับ และค่า EdD_{50} ในการสร้าง chlamydospore เท่ากับ 84, 47, 198 และ 61 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.15)

จากการทดลองจะเห็นได้ว่าชนิดและความเข้มข้นของสารสกัดมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโต การสร้าง macro-conidia, micro-conidia และ chlamydospore ของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* โดยสารสกัด *T. hamatum* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ดีที่สุด และสารสกัด *T. hamatum* และ Rotiorinol สามารถยับยั้งการสร้าง macro-conidia, micro-conidia และ chlamydospore ได้ดีที่สุด และนอกจากนี้ยังพบว่าที่ความเข้มข้นของสารสกัด 500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโต การสร้าง macro-conidia, micro-conidia และ chlamydospore ได้สูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.23 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 10 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

สารสกัด	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของ *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (ซม.) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (ppm)				
	0	10	50	100	500
Chaetoglobosin-C	5.5 a[1/]	5.00 b	4.84 bc	4.52 cd	3.9 e
Rotiorinol	5.5 a	4.60 cd	4.58 cd	4.38 d	3.62 ef
Trichotoxin A50	5.5 a	5.50 a	5.14 b	5.02 b	4.52 cd
T. hamatum	5.5 a	5.12 b	4.86 bc	3.24 f	3.22 f

[1/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test , CV = 4.10% , DMRT 0.01 = 0.38, DMRT 0.05 = 0.29

ตารางที่ 4.8 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน

สารสกัด	ระดับความเข้มข้น (ppm)			
	10	50	100	500
Chaetoglobosin-C	9.44 ef[1/]	12.16 def	17.79 cd	27.64 b
Rotiorinol	16.37 cde	16.73 cde	20.36 c	34.06 ab
Trichotoxin A50	0.00 g	6.53 fg	8.69 f	17.81 cd
T. hamatum	7.22 f	12 .0 def	35.11 a	41.32 a

[1/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test , CV = 23.07, DMRT 0.01 = 7.77, DMRT 0.05 = 5.99

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 จำนวน macro-conidia ($x10^5$) ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน

สารสกัด	ระดับความเข้มข้น (ppm)				
	0	10	50	100	500
Chaetoglobosin-C	36.0 a[1/]	30.0 ab	25.6 bcd	20.8 cdef	18.2 def
Rotiorinol	34.8 a	27.5 bc	23.5 cde	17.2 ef	13.4 f
Trichotoxin A50	31.7 ab	27.3 bc	25.0 bcd	20.6 cdef	17.5 ef
T. hamatum	35.0 a	25.4 bcd	20.2 cdef	17.4 ef	16.0 f

[1/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test , CV = 16.09%, DMRT 0.01 = 7.42, DMRT 0.05 = 5.72

ตารางที่ 4.10 เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้าง macro-conidia ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน

สารสกัด	ระดับความเข้มข้น (ppm)			
	10	50	100	500
Chaetoglobosin-C	16.53 fg[1/]	37.19 bcdef	41.17 abcde	48.69 abc
Rotiorinol	21.30 defg	31.34 bcdefg	50.76 ab	60.96 a
Trichotoxin A50	13.12 g	20.29 efg	34.27 bcdefg	44.18 abcd
T. hamatum	25.83 cdefg	44.84 abcd	48.79 abc	53.85 ab

[1/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test , CV = 32.93%, DMRT 0.01 = 23.37, DMRT 0.05 = 18.02

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 จำนวน micro-conidia ($x10^5$) ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน

สารสกัด	ระดับความเข้มข้น (ppm)				
	0	10	50	100	500
Chaetoglobosin-C	64.7 a[1/]	50.4 cd	45.7 cdef	37.9 efg	35.5 fghi
Rotiorinol	63.3 ab	47.6 cde	39.0 efgh	28.7 hij	24.8 j
Trichotoxin A50	63.3 ab	54.0 bc	50.4 cd	40.4 defg	34.8 ghij
T. hamatum	62.7 ab	45.9 cdef	37.8 efgh	28.7 hij	25.3 ij

[1/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test , CV = 12.96%, DMRT 0.01 = 10.83, DMRT 0.05 = 8.43

ตารางที่ 4.12 เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการสร้าง micro-conidia ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน

สารสกัด	ระดับความเข้มข้น (ppm)			
	10	50	100	500
Chaetoglobosin-C	21.28 efg[1/]	28.31 defg	41.03 abcde	44.84 abcd
Rotiorinol	24.29 defg	37.03cdef	54.07 abc	60.23 a
Trichotoxin A50	14.55 g	17.18 fg	35.22 cdef	44.29 abcd
T. hamatum	26.70 defg	38.98 bcde	53.37 abc	59.13 ab

[1/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test , CV = 28.74%, DMRT 0.01 = 20.65, DMRT 0.05 = 15.92

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.13 จำนวนของ chlamydospore ($x10^4$) ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน

สารสกัด	ระดับความเข้มข้น (ppm)				
	0	10	50	100	500
Chaetoglobosin-C	67 a[1/]	49.0 bcd	41.0 cde	28 efgh	24 ghij
Rotiorinol	68 a	49.0 bcd	43.0 bcd	22 hij	14 ij
Trichotoxin A50	67 a	56.4 ab	43.6 bcd	38 def	27 fghi
T. hamatum	68 a	53.0 bc	36.0 defg	28 efgh	13 j

[1/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test , CV = 17.62%, DMRT 0.01 = 14.08, DMRT 0.05 = 10.86

ตารางที่ 4.14 เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง chlamydospore ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน

สารสกัด	ระดับความเข้มข้น (ppm)			
	10	50	100	500
Chaetoglobosin-C	25.75 ef[1/]	38.31 cdef	57.18 abcd	64.18 abc
Rotiorinol	26.9 ef	35.90 def	67.12 ab	79.15 a
Trichotoxin A50	19.06 f	34.20 def	47.82 bcde	64.51 abc
T. hamatum	20.28 f	44.88 bcdef	54.71 abcd	80.14 a

[1/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ที่ P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test , CV = 29.39%, DMRT 0.01 = 26.72, DMRT 0.05 = 20.60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.15 ค่า ED_{50} ในการยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อผสมสารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน

สารสกัด	ED_{50} (ppm)			
	Colony	macro-conidia	Micro-conidia	chlamydospore
Chaetoglobosin-C	2,367	969	617	84
Rotiorinol	1,845	153	135	47
Trichotoxin A50	4,978	747	765	198
T. hamatum	741	417	144	61

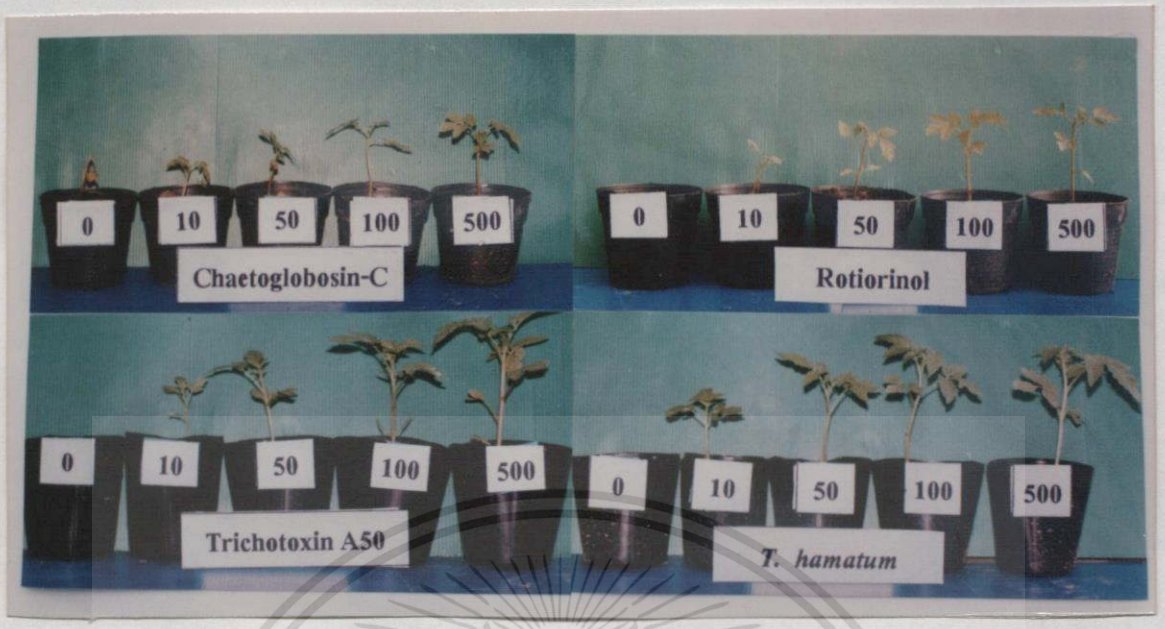
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านในการชักนำให้เกิดภูมิคุ้มกันโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ

จากการทดลองนำสารปฏิชีวนะจาก Chaetoglobosin-C ที่สกัดจากเชื้อรา *Ch. globosum*, Rotiorinol ที่สกัดจากเชื้อรา *Ch. cupreum*, Trichotoxin A50 ที่สกัดจากเชื้อรา *T. harzianum* และสารสกัดเชื้อรา *T. hamatum* มาทดสอบการชักนำให้เกิดภูมิคุ้มกันกับต้นกล้ามะเขือเทศที่ความเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 500 ppm พบว่าชนิดและความเข้มข้นของสารสกัดจุลินทรีย์ต่อต้านมีผลต่อการชักนำให้เกิดภูมิคุ้มกันโรคกับต้นกล้ามะเขือเทศ จากการนับจำนวนต้นที่รอดตายจากโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 ระดับการเกิดโรคเหี่ยวของต้นกล้า และเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค หลังจากทดลอง 15 วัน พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับ control และพบว่าสารสกัด *T. hamatum* ที่ความเข้มข้น 500 ppm สามารถชักนำให้สร้างภูมิคุ้มกันโรคได้สูงสุด โดยรอดตายทั้งหมด (ตารางที่ 4.16) ระดับการเกิดโรคเหี่ยวของต้นกล้ามะเขือเทศมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง จากการทดลองนี้พบว่า control (ไม่ได้ใช้สารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์) มีระดับการเกิดสูงสุดเท่ากับ 5 และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ สารสกัด *T. hamatum* ที่ความเข้มข้น 500 ppm สามารถสร้างภูมิคุ้มกันโรคเหี่ยวให้กับต้นมะเขือเทศได้พบว่ามีระดับการเกิดโรคเหี่ยวเท่ากับ 1.6 และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 32 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.17-4.18) และนอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตให้แก่ต้นมะเขือเทศได้แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยพบว่าสารสกัด Trichotoxin A50 ที่ความเข้มข้น 500 ppm มีผลทำให้ความสูง น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของต้นมะเขือเทศสูงสุด โดยมีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 17.4 เซนติเมตร (ตารางที่ 4.19) น้ำหนักสดเฉลี่ยเท่ากับ 5.27 กรัม (ตารางที่ 4.20) และน้ำหนักแห้งเฉลี่ยเท่ากับ 0.67 กรัม (ภาพที่ 4.24, ตารางที่ 4.21)

จากการทดลองจะเห็นได้ว่าชนิดและความเข้มข้นของสารสกัดมีผลต่อการชักนำให้เกิดภูมิคุ้มกันโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ โดยสารสกัด *T. hamatum* สามารถชักนำให้เกิดภูมิคุ้มกันโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้สูงสุด และนอกจากนี้ยังพบว่าที่ความเข้มข้นของสารสกัด 500 ppm สามารถชักนำให้เกิดภูมิกันโรคได้สูงสุด เช่นเดียวกับการควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.24 การใช้สารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านในการชักนำให้ต้นกล้ามะเขือเทศสร้างภูมิต้านทานโรคเหี่ยวที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5

ตารางที่ 4.16 จำนวนต้นกล้าที่รอดตายจากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากจุลินทรีย์ต่อต้านในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 กับต้นกล้ามะเขือเทศ

สารสกัด	ระดับความเข้มข้น (ppm)				
	0	10	50	100	500
Chaetoglobosin-C	0 e[1]	3.00 cd	3.00 cd	4.00 abc	4.00 abc
Rotiorinol	0 e	2.25 cd	2.50 d	2.50 d	3.00 cd
Trichotoxin A50	0 e	3.00 d	3.25 cd	4.50 ab	4.75 ab
T. hamatum	0 e	3.75 bc	3.75 bc	4.75 ab	5.00 a

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test, CV = 20.00%, DMRT 0.01 = 1.23, DMRT 0.05 = 0.95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.17 ระดับการเกิดโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 ในต้นกล้ามะเขือเทศที่ทดสอบการชักนำให้เกิดภูมิคุ้มกันโรค

สารสกัด	ระดับความเข้มข้น (ppm)				
	0	10	50	100	500
Chaetoglobosin-C	5 a[1/]	3.95 bcd	4.15 bc	3.40 cd	3.30 d
Rotiorinol	5 a	4.40 ab	4.30 ab	4.10 bc	3.95 bcd
Trichotoxin A50	5 a	4.10 bc	3.90 bcd	2.30 e	1.75 e
T. hamatum	5 a	3.85 bcd	3.50 cd	2.10 e	1.60 e

[1/] ค่าเฉลี่ยระดับการเกิดโรคจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test , CV = 9.63%, DMRT 0.01 = 0.77, DMRT 0.05 = 0.60, ระดับการเกิดโรคมี 5 ระดับ ดังนี้ 1 = ต้นปกติ, 2 = ใบเหี่ยว เหลือง 1-25 เปอร์เซ็นต์, 3 = ใบเหี่ยว เหลือง 26-50 เปอร์เซ็นต์, 4 = ใบเหี่ยว เหลือง 51-75 เปอร์เซ็นต์, 5 = ใบเหี่ยว เหลือง 75-100 เปอร์เซ็นต์ (ตาย) (Infantino *et al.*, 1996)

ตารางที่ 4.18 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 ในต้นกล้ามะเขือเทศ ในการทดสอบการชักนำให้เกิดภูมิคุ้มกันโรค

สารสกัด	ระดับความเข้มข้น (ppm)				
	0	10	50	100	500
Chaetoglobosin-C	100	40	40	20	20
Rotiorinol	100	55	50	50	40
Trichotoxin A50	100	40	35	10	5
T. hamatum	100	25	25	5	0

[1/] เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค = (จำนวนต้นทั้งหมด – จำนวนต้นที่รอดตาย) / จำนวนต้นทั้งหมด x 100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.19 ความสูงของต้นในการทดสอบการชักนำให้ต้นกล้ามะเขือเทศสร้างภูมิต้านทานโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*

สารสกัด	ระดับความเข้มข้น (ppm)				
	0	10	50	100	500
Chaetoglobosin-C	4.55 j[1/]	6.82 hij	10.20 g	12.85 def	14.95 bcd
Rotiorinol	4.80 ij	6.42 hij	10.57 g	13.20 cdef	14.88 bcd
Trichotoxin A50	4.68 j	7.03 hi	12.40 efg	15.25 abc	17.40 a
T. hamatum	4.85 j	7.10 h	11.92 fg	14.32 bcde	15.90 ab

[1/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test, CV = 10.46%, DMRT 0.01 = 2.35, DMRT 0.05 = 1.82

ตารางที่ 4.20 น้ำหนักสดรวมของในการทดสอบการชักนำให้ต้นกล้ามะเขือเทศสร้างภูมิต้านทานโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*

สารสกัด	ระดับความเข้มข้น (ppm)				
	0	10	50	100	500
Chaetoglobosin-C	1.18 h[1/]	1.83 g	2.76 f	3.23 ef	3.68 de
Rotiorinol	1.12 h	1.98 g	3.05 ef	3.17 ef	3.87 cd
Trichotoxin A50	1.07 h	1.99 g	3.12 ef	4.37 bc	5.27 a
T. hamatum	0.97 h	2.11 g	2.99 f	4.16 bcd	4.66 b

[1/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test , CV = 10.80%, DMRT 0.01 = 2.03, DMRT 0.05 = 1.57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.21 น้ำหนักแห้งของต้นในการทดสอบการชักนำให้ต้นกล้ามะเขือเทศสร้างภูมิต้านทานโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*

สารสกัด	ระดับความเข้มข้น (ppm)				
	0	10	50	100	500
Chaetoglobosin-C	0.13 j [1/]	0.24 hi	0.38 ef	0.46 cde	0.48 cd
Rotiorinol	0.14 j	0.22 i	0.32 gh	0.41 def	0.52 bc
Trichotoxin A50	0.13 j	0.25 hi	0.38 efg	0.52 bc	0.66 a
T. hamatum	0.12 j	0.25 hi	0.37 fg	0.49 cd	0.58 b

[1/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test , CV = 12.03%, DMRT 0.01 = 0.09, DMRT 0.05 = 0.07

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 การทดสอบหาความต้านทานของเชื้อสาเหตุโรคและเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านที่มีผลต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl

จากการเลี้ยงเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 และเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน *Ch. globosum* Cg6, *Ch. cupreum* Cc8, *T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 บนอาหาร PDA ผสม benomyl ที่ความเข้มข้น 0, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6 และ 0.8 ppm วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีที่อายุ 5 วัน และนับสปอร์ที่อายุ 10 วัน พบว่าขนาดโคโลนีเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ในอาหารที่ผสม benomyl มีผลทำให้การเจริญเติบโต การสร้าง macro-conidia, micro-conidia และ chlamydospore ของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 ลดลงตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ในด้านการเจริญเติบโตความต้านทานต่อ benomyl เริ่มลดลงที่ระดับความเข้มข้น 0.4 ppm มีความต้านทานเท่ากับ 92.27 เปอร์เซ็นต์ และสามารถต้านทานต่อ benomyl ได้ถึงระดับ 0.8 ppm มีความต้านทานเท่ากับ 66.02 เปอร์เซ็นต์ และความต้านทานของเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ในการสร้าง macro-conidia, micro-conidia และ chlamydospore เริ่มลดลงเมื่อมี benomyl แต่ที่ความเข้มข้น 0.8 ppm ก็ยังสามารถต้านทานได้ (ภาพที่ 4.25) ที่ความเข้มข้น 0, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6 และ 0.8 ppm มีการสร้าง macro-conidia เท่ากับ $40.25x10^5$, $37x10^5$, $36.75x10^5$, $34.25x10^5$, $32.75x10^5$, $30.75x10^5$, $29.75x10^5$ และ $27.5x10^5$ conidia/ml พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ความต้านในยับยั้งการสร้าง macro-conidia เท่ากับ 91.93, 91.30, 85.09, 83.37, 76.40, 73.91 และ 68.32 เปอร์เซ็นต์ การสร้าง micro-conidia เท่ากับ $67.5x10^5$, $62.5x10^5$, $62.5x10^5$, $59x10^5$, $58x10^5$, $54.5x10^5$, $49.75x10^5$ และ $39.25x10^5$ conidia/ml พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ความต้านในยับยั้งการสร้าง micro-conidia เท่ากับ 92.59, 92.59, 87.41, 85.93, 80.74, 73.70 และ 58.15 เปอร์เซ็นต์และมีการสร้าง chlamydospore เท่ากับ $32.25x10^4$, $30.25x10^4$, $29.25x10^4$, $23.5x10^4$, $18x10^4$, $14.25x10^4$, $13.5x10^4$ และ $12.5x10^4$ conidia/ml พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ความต้านในยับยั้งการสร้าง chlamydospore เท่ากับ 85.82, 82.98, 66.67, 48.94, 40.23, 38.30 และ 35.46 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 4.22)

เชื้อรา *Ch. globosum* Cg6 มีความต้านทานต่อ benomyl ได้ต่ำมาก พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ความต้านทานต่อ benomyl เริ่มลดลงที่ระดับความเข้มข้น 0.02 ppm มีความต้านทานเท่ากับ 86.11 เปอร์เซ็นต์ และสามารถต้านทานต่อ benomyl ได้ถึงระดับความเข้มข้น 0.6 ppm มีความต้านทานเท่ากับ 0.08 เปอร์เซ็นต์ และความต้านทานต่อการสร้างสปอร์พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.05 ppm เชื้อยังสามารถต้านทานได้ดี (42.35 เปอร์เซ็นต์) และที่ 0.8 ppm ไม่สามารถสร้างสปอร์ได้ (ภาพที่ 4.26) ที่ความเข้มข้น 0, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6 และ 0.8 ppm มีการสร้างสปอร์เท่ากับ $44.98x10^5$, $38.12x10^5$, $19.05x10^5$, $33x10^5$, $20.25x10^5$, $0.95x10^5$, $0.05x10^5$ และ 0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

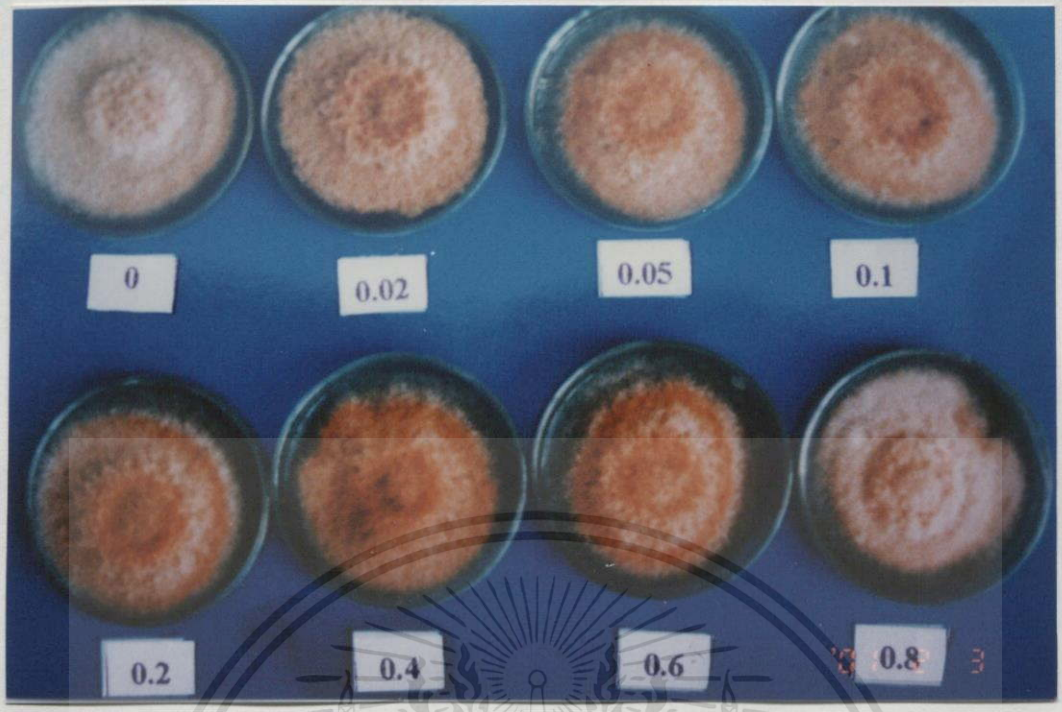
conidia/ml พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ความต้านในยับยั้งการสร้างสปอร์เท่ากับ 84.88, 42.35, 7.34, 4.13, 2.11, 0.11 และ 0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 4.23)

เชื้อรา *Ch. cupreum* Cc8 มีความต้านทานต่อ benomyl ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ พบว่าความต้านทานลดลงตามระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ความต้านทานต่อสารเคมีเริ่มลดลงที่ความเข้มข้น 0.02 ppm มีความต้านทานเท่ากับ 95.46 เปอร์เซ็นต์ และสามารถต้านทานต่อ benomyl ได้ถึงระดับความเข้มข้น 0.6 ppm มีความต้านทานเท่ากับ 0.03 เปอร์เซ็นต์ และความต้านทานต่อการสร้างสปอร์พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.1 ppm เชื้อยังสามารถต้านทานได้ดี (48.25 เปอร์เซ็นต์) และที่ 0.8 ppm ไม่สามารถสร้างสปอร์ได้ (ภาพที่ 4.27) ที่ความเข้มข้น 0, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6 และ 0.8 ppm มีการสร้างสปอร์เท่ากับ $37.1x10^5$, $32.53x10^5$, $29.75x10^5$, $17.9x10^5$, $7.88x10^5$, $1.83x10^5$, $0.5x10^5$ และ 0 conidia/ml พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ความต้านในยับยั้งการสร้างสปอร์เท่ากับ 87.68, 80.19, 48.25, 21.24, 4.93, 0.40 และ 0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.24)

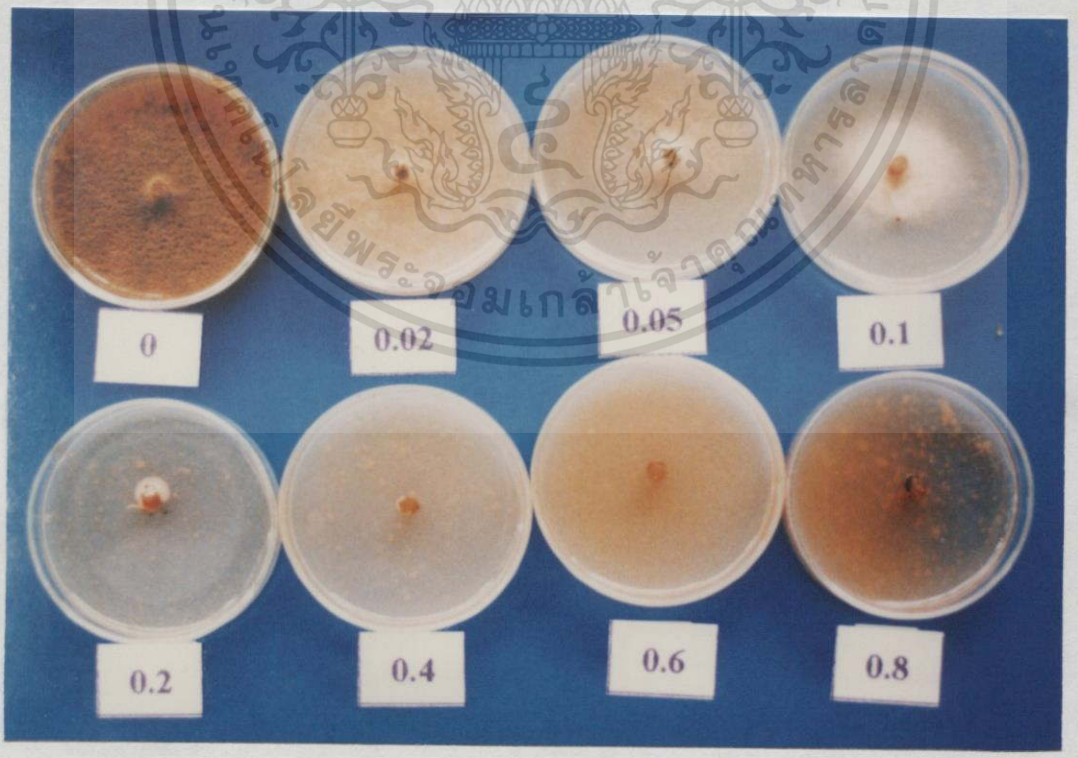
เชื้อรา *T. harzianum* PC01 มีความต้านทานต่อ benomyl ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ มีผลทำให้การเจริญของเชื้อรา *T. harzianum* PC01 ลดลงตามระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ความต้านทานต่อ benomyl เริ่มลดลงที่ความเข้มข้น 0.05 ppm มีความต้านทานเท่ากับ 96.82 เปอร์เซ็นต์ และสามารถต้านทานต่อ benomyl ได้ถึงระดับความเข้มข้น 0.4 มีความต้านทานเท่ากับ 0.30 เปอร์เซ็นต์ และความต้านทานต่อการสร้างสปอร์พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.2 ppm เชื้อยังสามารถต้านทานได้ดี (40.82 เปอร์เซ็นต์) และที่ 0.8 ppm ไม่สามารถสร้างสปอร์ได้ (ภาพที่ 4.28) ที่ความเข้มข้น 0, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6 และ 0.8 ppm มีการสร้างสปอร์เท่ากับ $1,462.5x10^5$, $1,343.8x10^5$, $1,148.3x10^5$, $1,025.3x10^5$, $597x10^5$, $82x10^5$, $1.3x10^5$ และ 0 conidia/ml พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ความต้านในยับยั้งการสร้างสปอร์เท่ากับ 91.88, 78.52, 70.12, 40.82, 5.61, 0.09 และ 0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 4.25)

เชื้อรา *T. hamatum* PC02 มีความต้านทานต่อ benomyl ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ มีผลทำให้การเจริญของเชื้อรา *T. hamatum* PC02 ลดลงตามระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ความต้านทานต่อสารเคมีเริ่มลดลงที่ความเข้มข้น 0.05 ppm มีความต้านทานเท่ากับ 98.63 เปอร์เซ็นต์ และสามารถต้านทานต่อ benomyl ได้ถึงระดับความเข้มข้น 0.4 ppm มีความต้านทานเท่ากับ 0.30 เปอร์เซ็นต์ และความต้านทานต่อการสร้างสปอร์พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.2 ppm เชื้อยังสามารถต้านทานได้ดี (45.73 เปอร์เซ็นต์) และที่ 0.8 ppm ไม่สามารถสร้างสปอร์ได้ (ภาพที่ 4.29) ที่ความเข้มข้น 0, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6 และ 0.8 ppm มีการสร้างสปอร์เท่ากับ $789.5x10^5$, $724x10^5$, $619.8x10^5$, $523x10^5$, $36.1x10^5$, $67.3x10^5$, $0.5x10^5$ และ 0 conidia/ml พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ความต้านในยับยั้งการสร้างสปอร์เท่ากับ 91.70, 78.51, 66.24, 45.73, 8.52, 0.06 และ 0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 4.26)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

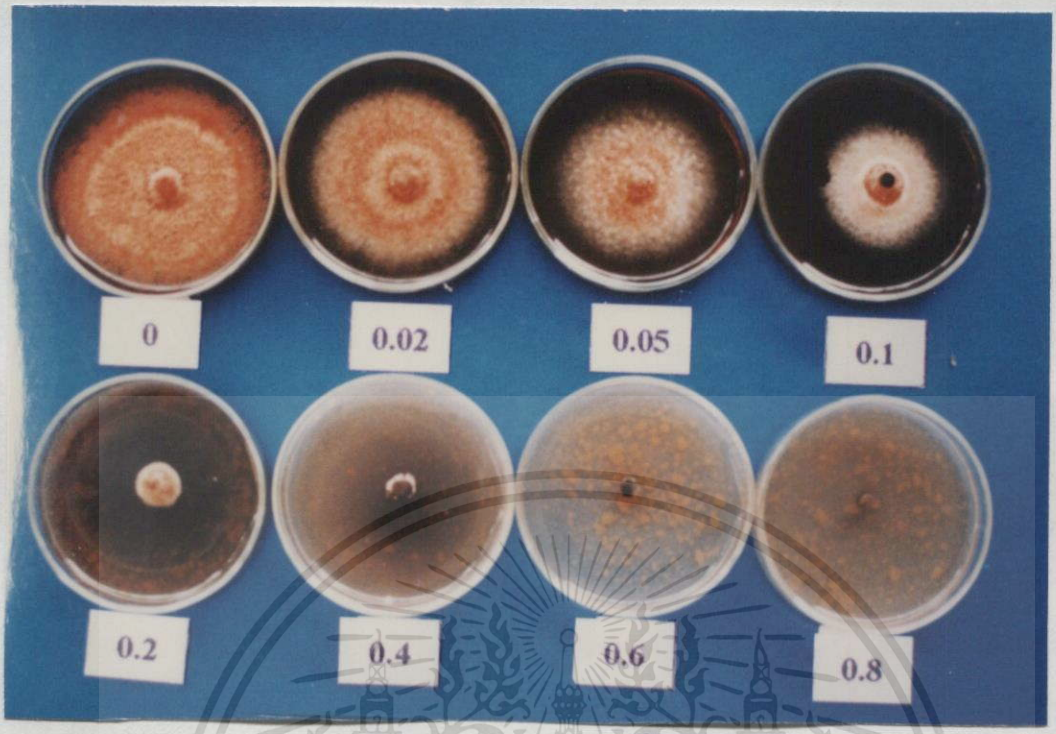


ภาพที่ 4.25 การทดสอบความต้านทานของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 ต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl ในระดับความเข้มข้นต่างๆ บนอาหาร PDA ที่อายุ 7 วัน

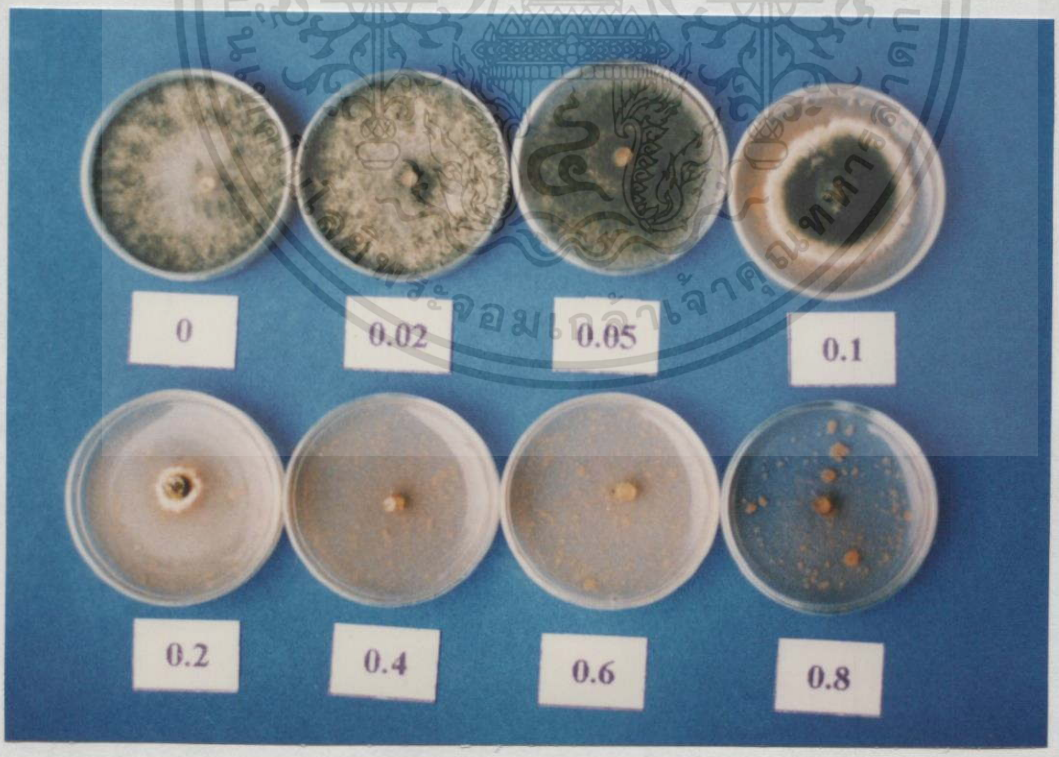


ภาพที่ 4.26 การทดสอบความต้านทานของเชื้อรา *Chaetomium globosum* Cg6 ต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl ในระดับความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 10 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

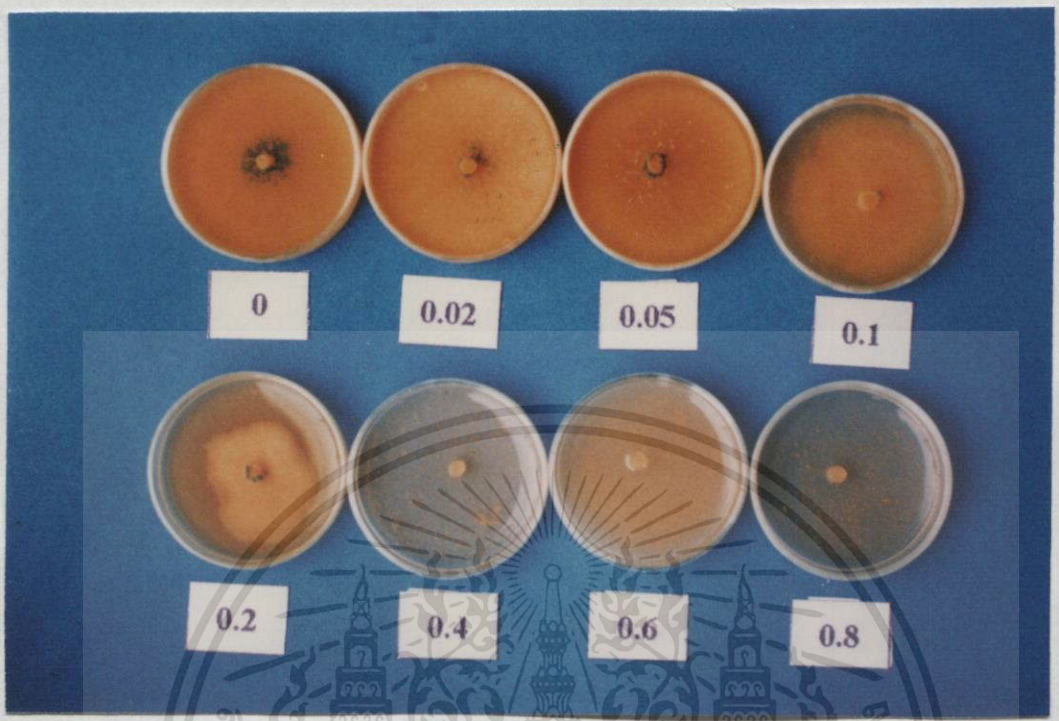


ภาพที่ 4.27 การทดสอบความต้านทานของเชื้อรา *Chaetomium cupreum* Cc8 ต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl ในระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อายุ 20 วัน



ภาพที่ 4.28 การทดสอบความต้านทานของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* PC01 ต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl ในระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อายุ 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.29 การทดสอบความต้านทานของเชื้อรา *Trichoderma hamatum* PC02 ต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl ในระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.22 การทดสอบความต้านทานของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 ต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl บนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน

benomyl (ppm)	ขนาดโคโลนี (ซม.)	% ต้านทาน[1/] (%)	macro-conidia x10^5 conidia/ml	% ต้านทาน (%)	Micro-conidia x10^5 conidia/ml	% ต้านทาน (%)	Chlamydospore x10^4 conidia/ml	% ต้านทาน (%)
0	5.50 a[2/]	100.00 a	40.25 a	-	67.50 a	-	35.25 a	-
0.02	5.50 a	100.00 a	37.00 ab	91.93	62.50 ab	92.59	30.25 ab	85.82
0.05	5.50 a	100.00 a	36.75 ab	91.30	62.50 ab	92.59	29.25 ab	82.98
0.1	5.50 a	100.00 a	34.25 abc	85.09	59.00 ab	87.41	23.50 bc	66.67
0.2	5.50 a	100.00 a	32.75 bc	81.37	58.00 bc	85.93	18.00 cd	48.94
0.4	5.13 b	92.27 b	30.75 bc	76.40	54.50 bc	80.74	14.25 d	40.23
0.6	4.47 c	80.61 c	29.75 bc	73.91	49.75 c	73.70	13.50 d	38.30
0.8	3.70 d	66.02 d	27.50 c	68.32	39.25 d	58.15	12.50 d	35.46
CV (%)	2.1	-	10.00	-	7.47	-	14.92	-
DMRT.05	0.16	-	5.41	-	6.81	-	5.30	-
DMRT.01	0.22	-	6.65	-	9.16	-	7.12	-

[1/] เปอร์เซ็นต์ความต้านทานของเชื้อราต่อสารเคมี (chemical resistance, CR) CR(%) = (A1-A2/A1) x 100 โดย A1 = ค่าประเมินการเจริญเติบโตของเชื้อราบนอาหารที่ไม่มีสารเคมี (0 ppm) และ A2 = ผลต่างของค่าประเมินการเจริญเติบโตของเชื้อราบนอาหารที่ไม่มีสารเคมี (0 ppm) กับอาหารที่มีสารเคมี

[2/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test

ตารางที่ 4.23 การทดสอบความต้านทานของเชื้อรา *Chaetomium globosum* Cg6 ต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน

benomyl (ppm)	ขนาดโคโลนี (ซม.)	ความต้านทาน[1/] (%)	จำนวนสปอร์ $x10^5$ spore/ml	ความต้านทาน (%)
0	5.50 a[2/]	-	44.98 a	-
0.02	4.75 b	86.11 a	38.18 a	84.88
0.05	3.80 c	68.09 b	19.05 b	42.35
0.1	2.83 d	51.36 c	3.30 c	7.34
0.2	1.00 e	18.43 d	2.03 c	4.13
0.4	0.40 f	7.27 e	0.95 c	2.11
0.6	0.08 f	1.36 e	0.05 c	0.11
0.8	0.00 f	0.00 e	0.00 c	-
CV (%)	9.52	-	28.99	-
DMRT.05	0.36	-	63.32	-
DMRT.01	0.48	-	85.15	-

[1/] เปอร์เซ็นต์ความต้านทานของเชื้อราต่อสารเคมี (chemical resistance, CR) CR(%) = (A1-A2/A1) x 100 โดย A1 = ค่าประเมินการเจริญเติบโตของเชื้อราบนอาหารที่ไม่มีสารเคมี (0 ppm) และ A2 = ผลต่างของค่าประเมินการเจริญเติบโตของเชื้อราบนอาหารที่ไม่มีสารเคมี (0 ppm) กับอาหารที่มีสารเคมี

[2/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test

ตารางที่ 4.24 การทดสอบความต้านทานของเชื้อรา *Chaetomium cupreum* Cc8 ต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อายุ 20 วัน

benomyl (ppm)	ขนาดโคโลนี (ซม.)	ความต้านทาน[1/] (%)	จำนวนสปอร์ $x10^5$ spore/ml	ความต้านทาน (%)
0	5.50 a[2/]	-	37.10 a	-
0.02	5.25 a	95.46 a	32.53 ab	87.68
0.05	4.27 b	77.72 b	29.75 b	80.19
0.1	3.30 c	60.02 c	17.90 c	48.25
0.2	1.42 d	25.88 d	7.88 d	21.24
0.4	0.60 e	10.91 e	1.83 de	4.93
0.6	0.30 ef	5.45 ef	0.15 e	0.40
0.8	0.00 f	0.00 f	0.00 e	-
CV (%)	9.44	-	20.47	-
DMRT.05	0.39	-	52.36	-
DMRT.01	0.53	-	70.42	-

[1/] เปอร์เซ็นต์ความต้านทานของเชื้อราต่อสารเคมี (chemical resistance, CR) CR(%) = (A1-A2/A1) x 100 โดย A1 = ค่าประเมินการเจริญเติบโตของเชื้อราบนอาหารที่ไม่มีสารเคมี (0 ppm) และ A2 = ผลต่างของค่าประเมินการเจริญเติบโตของเชื้อราบนอาหารที่ไม่มีสารเคมี (0 ppm) กับอาหารที่มีสารเคมี

[2/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test

ตารางที่ 4.25 การทดสอบความต้านทานของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* PC01 ต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อายุ 7 วัน

benomyl (ppm)	ขนาดโคโลนี (ซม.)	ความต้านทาน[1/] (%)	จำนวนสปอร์ x10^5 spore/ml	ความต้านทาน (%)
0	5.50 a[2/]	-	1462.5 a	-
0.02	5.50 a	100.00 a	1343.8 a	91.88
0.05	5.32 a	96.82 a	1148.3 b	78.52
0.1	3.55 b	65.79 b	1025.3 b	70.12
0.2	1.15 c	20.78 c	597.0 c	40.82
0.4	0.30 d	5.45 d	82.0 d	5.61
0.6	0.00 d	0.00 d	1.3 d	0.09
0.8	0.00 d	0.00 d	0.0 d	-
CV (%)	9.02	10.01	-	-
DMRT.05	0.39	6.65	-	-
DMRT.01	0.53	8.94	-	-

[1/] เปอร์เซ็นต์ความต้านทานของเชื้อราต่อสารเคมี (chemical resistance, CR) CR(%) = (A1-A2/A1) x 100 โดย A1 = ค่าประเมินการเจริญเติบโตของเชื้อราบนอาหารที่ไม่มีสารเคมี (0 ppm) และ A2 = ผลต่างของค่าประเมินการเจริญเติบโตของเชื้อราบนอาหารที่ไม่มีสารเคมี (0 ppm) กับอาหารที่มีสารเคมี

[2/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test

ตารางที่ 4.26 การทดสอบความต้านทานของเชื้อรา *Trichoderma hamatum* PC02 ต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อายุ 10 วัน

ความเข้มข้นของ benomyl (ppm)	การเจริญของ *Trichoderma hamatum*			
	ขนาดโคโลนี (ซม.)	ความต้านทาน[1/] (%)	จำนวนสปอร์ $x10^5$ spore/ml	ความต้านทาน (%)
0	5.50 a[2/]	-	789.5 a	-
0.02	5.50 a	100.00 a	724.0 ab	91.70
0.05	5.43 a	98.63 a	619.8 bc	78.51
0.1	4.80 b	87.27 b	523.0 c	66.24
0.2	3.18 c	57.73 c	361.0 d	45.73
0.4	0.30 d	5.45 d	67.3 e	8.52
0.6	0.00 e	0.00 d	0.5 e	0.06
0.8	0.00 e	0.00 d	0.0 e	-
CV (%)	4.56	-	16.39	-
DMRT.05	0.23	-	101.75	-
DMRT.01	0.31	-	136.82	-

[1/] เปอร์เซ็นต์ความต้านทานของเชื้อราต่อสารเคมี (chemical resistance, CR) CR(%) = (A1-A2/A1) x 100 โดย A1 = ค่าประเมินการเจริญเติบโตของเชื้อราบนอาหารที่ไม่มีสารเคมี (0 ppm) และ A2 = ผลต่างของค่าประเมินการเจริญเติบโตของเชื้อราบนอาหารที่ไม่มีสารเคมี (0 ppm) กับอาหารที่มีสารเคมี

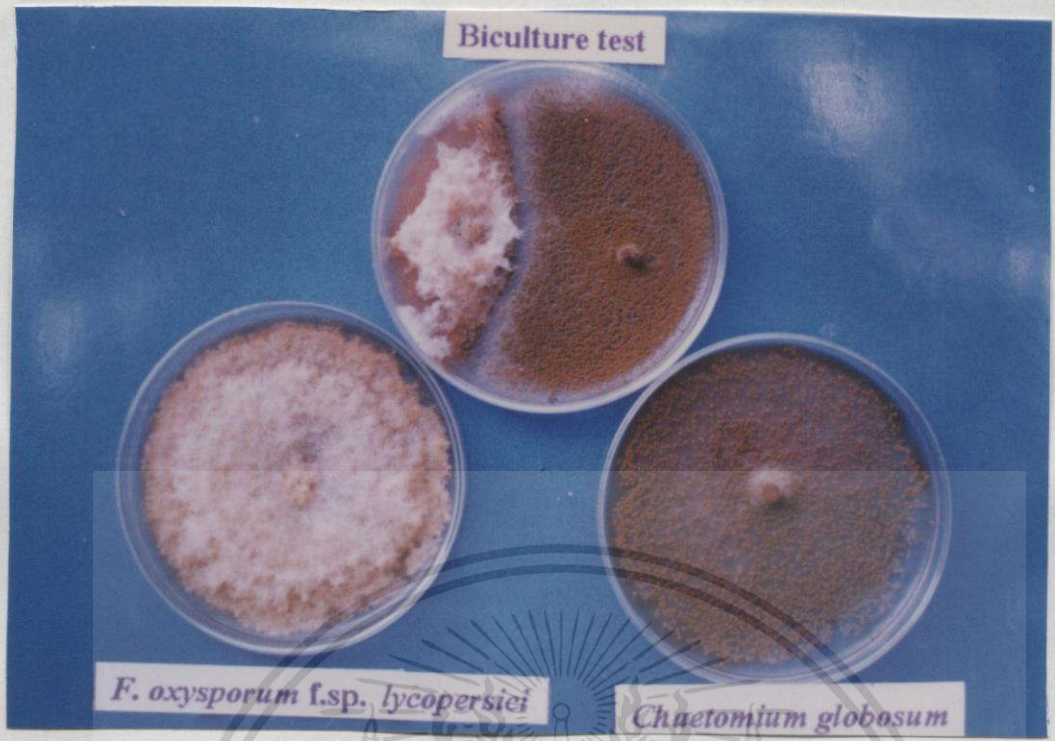
[2/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test

4.6 การทดสอบ bi-culture antagonistic test บนอาหารเลี้ยงเชื้อผสม benomyl

การทดลองนี้ได้นำผลของระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านลดการเจริญเติบโตลง จากการทดลองที่ 4.3.2.1 พบว่า ความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้เชื้อรา *Ch. globosum* Cg6 และ *Ch. cupreum* Cc8 เจริญเติบโตลดลงคือความเข้มข้น 0.02 ppm เชื้อรา *T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 การเจริญเติบโตเริ่มลดลงที่ความเข้มข้น 0.05 ppm โดยทำการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน *Ch. globosum* Cg6, *Ch. cupreum* Cc8, *T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 บนอาหารผสม benomyl ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่ทำให้การเจริญเติบโตลดลงร่วมกับเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านสามารถยับยั้งการเจริญเติบโต การสร้าง macro-conidia, micro-conidia และ chlamydospore ของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 ได้ โดย *Ch. globosum* Cg6 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 ได้ 58 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4.30) ยับยั้งการสร้าง macro-conidia ได้ 53.11 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการสร้าง micro-conidia ได้ 49.10 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งการสร้าง chlamydospore ได้ 58.57 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.27) *Ch. cupreum* Cc8 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 ได้ 49.33 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4.31) ยับยั้งการสร้าง macro-conidia ได้ 41.28 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการสร้าง micro-conidia ได้ 38.92 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งการสร้าง chlamydospore ได้ 42.35 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.28) *T. harzianum* PC01 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 ได้ 62 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4.32) ยับยั้งการสร้าง macro-conidia ได้ 58.14 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการสร้าง micro-conidia ได้ 50.46 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งการสร้าง chlamydospore ได้ 63.66 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.29) *T. hamatum* PC02 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 ได้ 51.11 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4.33) ยับยั้งการสร้าง macro-conidia ได้ 54.45 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการสร้าง micro-conidia ได้ 49.25 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งการสร้าง chlamydospore ได้ 61.17 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.30)

จากการทดลองจะเห็นได้ว่าในสภาพที่มี benomyl ตกค้างอยู่ในปริมาณที่เชื้อจุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้ เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านก็สามารถที่จะควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ได้ โดยพบว่าเชื้อรา *T. harzianum* PC01 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดเท่ากับ 62 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อรา *Ch. cupreum* Cc8 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ต่ำสุดเท่ากับ 49.33 เปอร์เซ็นต์

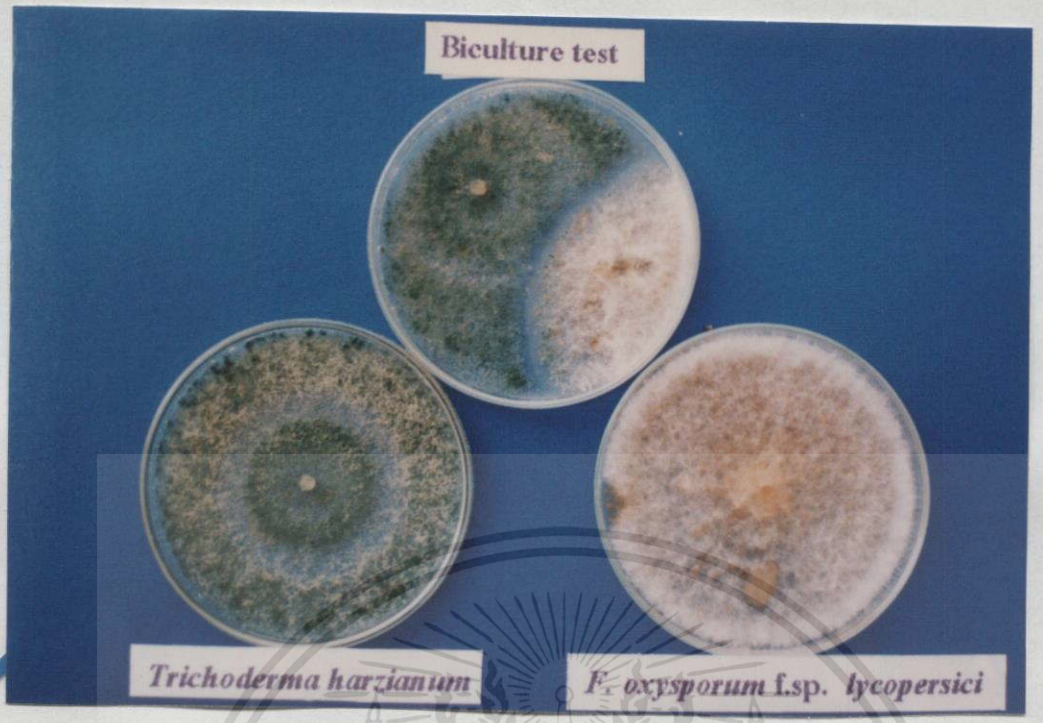
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.30 การทดสอบ Bi-culture ของเชื้อรา *Chaetomium globosum* Cg6 ร่วมกับเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสม benomyl ที่ความเข้มข้น 0.02 ppm ที่อายุ 15 วัน

ภาพที่ 4.31 การทดสอบ Bi-culture ของเชื้อรา *Chaetomium cupreum* Cc8 ร่วมกับเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสม benomyl ที่ความเข้มข้น 0.02 ppm ที่อายุ 25 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.32 การทดสอบ Bi-culture ของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* PC01 ร่วมกับเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสม benomyl ที่ความเข้มข้น 0.05 ppm ที่อายุ 7 วัน

ภาพที่ 4.33 การทดสอบ Bi-culture ของเชื้อรา *Trichoderma hamatum* PC02 ร่วมกับเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ผสม benomyl ที่ความเข้มข้น 0.05 ppm ที่อายุ 10 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.27 การทดสอบ Bi-culture test ระหว่าง *Chaetomium globosum* และ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* บนอาหาร PDA ผสม benomyl ที่ความเข้มข้น 0.02 ppm อายุ 15 วัน

วิธีการ	การเจริญของ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*							
	ขนาดโคโลนี		macro-conidia		micro-conidia		chlamydospore	
	(ซม.)	% ยับยั้ง	x10^5 conidia/ml	% ยับยั้ง	x10^5 conidia/ml	% ยับยั้ง	x10^5 conidia/ml	% ยับยั้ง
Control	9.00 a[1/]	-	228.2 a	-	408.0 a	-	100 a	-
Bi-culture	3.78 b	50	132.4 b	53.11	197.8 b	49.1	41 b	58.57
CV (%)	4.13	-	15.14	-	17.42	-	13.46	-
DMRT .05	0.44	-	49.07	-	91.52	-	14.72	-
DMRT .01	0.65	-	72.68	-	135.57	-	21.81	-

[1/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test

ตารางที่ 4.28 การทดสอบ Bi-culture test ระหว่าง *Chaetomium cupreum* และ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* บนอาหาร PDA ผสม benomyl ที่ความเข้มข้น 0.02 ppm อายุ 25 วัน

วิธีการ	การเจริญของ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*							
	ขนาดโคโลนี		macro-conidia		micro-conidia		chlamydospore	
	(ซม.)	% ยับยั้ง	x10^5 conidia/ml	% ยับยั้ง	x10^5 conidia/ml	% ยับยั้ง	x10^5 conidia/ml	% ยับยั้ง
Control	9.00 a[1]	-	218.5 a	-	400.0 a	-	90 a	-
Bi-culture	4.56 b	49.33	167.2 b	23.48	243.6 b	39.10	57 b	36.67
CV (%)	4.7	-	16.73	-	16.34	-	11.75	-
DMRT .05	0.49	-	59.10	-	82.59	-	14.31	-
DMRT .01	0.73	-	87.54	-	122.33	-	21.19	-

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test

ตารางที่ 4.29 การทดสอบ Bi-culture test ระหว่าง *Trichoderma harzianum* PC01 และ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* บนอาหาร PDA ผสม benomyl ที่ความเข้มข้น 0.02 ppm อายุ 7 วัน

วิธีการ	การเจริญของ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*							
	ขนาดโคโลนี		macro-conidia		micro-conidia		chlamydospore	
	(ซม.)	% ยับยั้ง	x10^5 conidia/ml	% ยับยั้ง	x10^5 conidia/ml	% ยับยั้ง	x10^5 conidia/ml	% ยับยั้ง
Control	9.00 a[1/]	-	225.2 a	-	413 a	-	97 a	-
Bi-culture	3.42 b	62	116.8 b	48.13	193 b	53.27	36 b	62.89
CV (%)	3.64	-	15.88	-	17.24	-	12.95	-
DMRT .05	0.35	-	49.89	-	80.37	-	13.66	-
DMRT .01	0.52	-	73.90	-	119.06		20.24	-

[1/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test

ตารางที่ 4.30 การทดสอบ Bi-culture test ระหว่าง *Trichoderma hamatum* PC02 และ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* บนอาหาร PDA ผสม benomyl ที่ความเข้มข้น 0.02 ppm อายุ 10 วัน

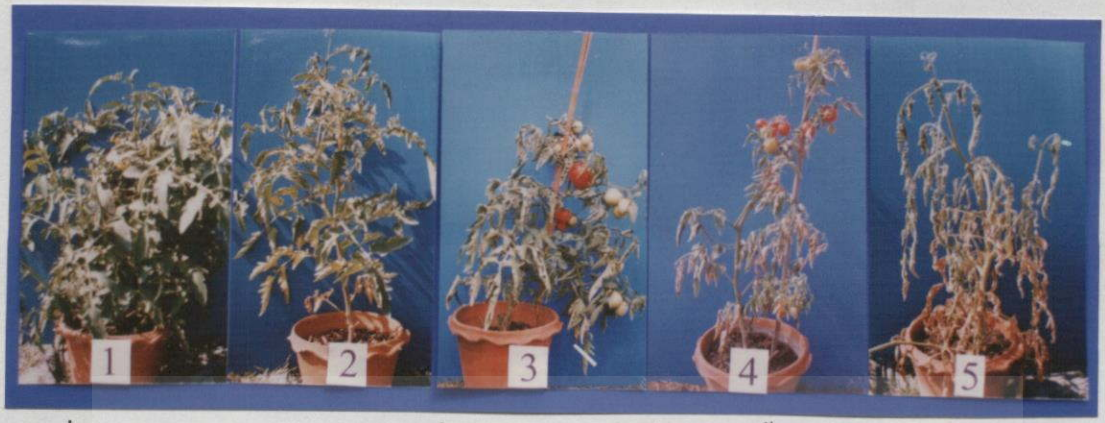
วิธีการ	การเจริญของ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*							
	ขนาดโคโลนี		macro-conidia		micro-conidia		chlamydospore	
	(ซม.)	% ยับยั้ง	x10^5 conidia/ml	% ยับยั้ง	x10^5 conidia/ml	% ยับยั้ง	x10^5 conidia/ml	% ยับยั้ง
Control	9.00 a[1/]	-	211.0 a	-	390 a	-	92 a	-
Bi-culture	3.86 b	51.11	127.4 b	39.62	200 b	48.72	33 b	59.6
CV (%)	3.78	-	15.63	-	19.42	-	14.85	-
DMRT .05	0.38	-	50.39	-	91.61	-	15.32	-
DMRT .01	0.56	-	74.65	-	135.70	-	22.70	-

[1/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test

4.7 การใช้จุลินทรีย์ต่อต้านควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศในกระถางทดลอง

การทดลองควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 ในกระถางทดลองขนาด 12 นิ้ว โดยใช้ *Chaetomium* spp. ชนิดเม็ด 1.0 กรัมต่อต้น, *Trichoderma* spp. ชนิดเม็ด 2 กรัมต่อต้น, *Chaetomium* spp. ชนิดเม็ด 0.5 กรัม ร่วมกับ *Trichoderma* spp. 1.0 กรัมต่อต้น, benomyl ความเข้มข้น 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อต้น และการทดลองเปรียบเทียบ (control) ใช้ระยะเวลาตั้งแต่เพาะปลูกถึงเก็บผลผลิต 102 วัน จากการทดลองนี้ให้ระดับการเกิดโรค 5 ระดับ โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Infantino *et al.* (1996) ดังนี้ คือ 1 = ต้นปกติ, 2 = ใบเหี่ยว เหลือง 1-25 เปอร์เซ็นต์, 3 = ใบเหี่ยว เหลือง 26-50 เปอร์เซ็นต์, 4 = ใบเหี่ยว เหลือง 51-75 เปอร์เซ็นต์, 5 = ใบเหี่ยว เหลือง 75-100 เปอร์เซ็นต์ (ตาย) (ภาพที่ 4.34) พบว่าวิธีการที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านและสารเคมีมีระดับการเกิดโรคเฉลี่ยและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับ control พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยพบว่าวิธีการที่ใช้ *Chaetomium* spp., *Trichoderma* spp., *Chaetomium* spp. ร่วมกับ *Trichoderma* spp. และ benomyl มีระดับการเกิดโรคเท่าเทียมกัน แต่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งเมื่อเปรียบเทียบกับ control พบว่าหลังจากปลูก 1 เดือน มีระดับการเกิดโรคเท่ากับ 1.25, 1.25, 1.2, 1.3 และ 2.5 และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 8, 6.8, 5.2, 8 และ 37.2 เปอร์เซ็นต์ หลังจากปลูก 2 เดือน มีระดับการเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 1.55, 1.55, 1.4, 1.45 และ 2.95 และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 12.4, 13.8, 11.2, 11.6 และ 49.4 เปอร์เซ็นต์ และหลังจากปลูก 3 เดือน มีระดับการเกิดโรคเท่ากับ 2.05, 2.00, 1.92, 1.85 และ 3.20 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 25.20, 22.20, 19.98, 17.60 และ 64.40 เปอร์เซ็นต์ และจากการทดลองนี้พบว่ามีการเกิดโรคลดลงเท่ากับ 69.80, 71.80, 75.90 และ 75.36 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับ control (ภาพที่ 4.35-4.39; ตารางที่ 4.31) จะเห็นได้ว่าการใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านและการใช้สารเคมีนั้นสามารถควบคุมโรคได้เท่าเทียมกัน แต่การใช้จุลินทรีย์ต่อต้านนั้นปลอดภัยต่อสภาพแวดล้อมและผู้บริโภค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.34 แสดงระดับการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ดังนี้ 1 = ต้นปกติ, 2 = ใบเหี่ยว เหลือง 1-25 เปอร์เซ็นต์, 3 = ใบเหี่ยว เหลือง 26-50 เปอร์เซ็นต์, 4 = ใบเหี่ยว เหลือง 51-75 เปอร์เซ็นต์, 5 = ใบเหี่ยว เหลือง 75-100 เปอร์เซ็นต์ (ตาย)

ภาพที่ 4.35 การควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* โดยใช้ยาเชื้อ *Chaetomium* spp.
ก. หลังปลูก 1 เดือน ข. หลังปลูก 2 เดือน ค. หลังปลูก 3 เดือน ง. หลังเก็บเกี่ยว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.36 การควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycoppersici* โดยใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* spp.
ก. หลังปลูก 1 เดือน ข. หลังปลูก 2 เดือน ค. หลังปลูก 3 เดือน ง. หลังเก็บเกี่ยว

ภาพที่ 4.37 การควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* โดยใช้ยาเชื้อ *Chaetomium* spp. ร่วมกับ *Trichoderma* spp.
ก. หลังปลูก 1 เดือน ข. หลังปลูก 2 เดือน ค. หลังปลูก 3 เดือน ง. หลังเก็บเกี่ยว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.38 การควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* โดยใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl
ก. หลังปลูก 1 เดือน ข. หลังปลูก 2 เดือน ค. หลังปลูก 3 เดือน ง. หลังเก็บเกี่ยว

ภาพที่ 4.39 การควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* โดยไม่ใช้วิธีการใด (control)
ก. หลังปลูก 1 เดือน ข. หลังปลูก 2 เดือน ค. หลังปลูก 3 เดือน ง. หลังเก็บเกี่ยว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.31 แสดงระดับการเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ภายหลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Chaetomium* และ *Trichoderma* ในกระถางทดลอง

วิธีการ	ระดับการเกิดโรค[1/]			เปอร์เซ็นต์เกิดโรค[2/]			การเกิดโรคลดลง[3/]
	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	(%)
T1[4/]	1.25 b[5/]	1.55 b	2.05 b	8.0 b	12.4 b	25.20 b	69.80
T2	1.25 b	1.55 b	2.00 b	6.8 b	13.8 b	22.20 b	71.65
T3	1.20 b	1.40 b	1.95 b	5.2 b	11.2 b	19.98 b	75.90
T4	1.30 b	1.45 b	1.85 b	8.0 b	11.6 b	17.60 b	75.36
T5	2.50 a	2.95 a	3.20 a	37.2 a	49.4 a	64.40 a	-
CV (%)	18.41	7.64	10.50	37.64	11.34	26.13	-
DMRT.05	8.17	3.72	12.99	7.56	3.44	12.03	-
DMRT.01	11.48	5.22	18.26	10.60	4.82	16.86	-

[1/] ระดับการเกิดโรคมี 5 ระดับ คือ 1 = ต้นปกติ, 2 = ใบเหี่ยว เหลือง 1-25 เปอร์เซ็นต์, 3 = ใบเหี่ยว เหลือง 26-50 เปอร์เซ็นต์, 4 = ใบเหี่ยว เหลือง 51-75 เปอร์เซ็นต์, 5 = ใบเหี่ยว เหลือง 75-100 เปอร์เซ็นต์ (ตาย) (Infantino *et al.*, 1996)

[2/] เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค = [(จำนวนต้นที่เป็นโรค x ระดับการเกิดโรคเฉลี่ย) / (ระดับการเกิดโรคสูงสุด x จำนวนต้นทั้งหมด)] x 100 (เกษม, 2534)

[3/] เปอร์เซ็นต์การลดลงของโรค = (การเกิดโรคใน control – การเกิดโรคใน treatment) / การเกิดโรคใน control

[4/] T1 = *Chaetomium* spp. ชนิดเม็ด 1.0 กรัมต่อต้น, T2 = *Trichoderma* spp. ชนิดเม็ด 2 กรัมต่อต้น, T3 = *Chaetomium* spp. ชนิดเม็ด 0.5 กรัม ร่วมกับ *Trichoderma* spp. 1.0 กรัมต่อต้น, T4 = bnomyl ความเข้มข้น 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อต้น และ T5 = การทดลองเปรียบเทียบ (cntrol)

[5/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจสอบปริมาณประชากรของเชื้อสาเหตุและเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านในดิน

จากการทดลองนี้ได้เก็บตัวอย่างดินในกระถางปลูกมะเขือเทศมาตรวจปริมาณเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Chaetomium* spp. และ *Trichoderma* spp. ก่อนปลูกและหลังปลูกทุก 1 เดือน พบว่าปริมาณเชื้อสาเหตุโรคเพิ่มขึ้นทุกเดือน (ภาพที่ 4.43-4.45) control ในสภาพดินก่อนปลูก และหลังปลูก 1 เดือนพบว่าวิธีการที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านและสารเคมีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ กับ แต่ดินเดือนที่ 2 และเดือนที่ 3 พบว่ามีจำนวนเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับ control ซึ่งสอดคล้องกับเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคคือปริมาณเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ที่เพิ่มขึ้นเป็นผลทำให้มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพิ่มขึ้นด้วย

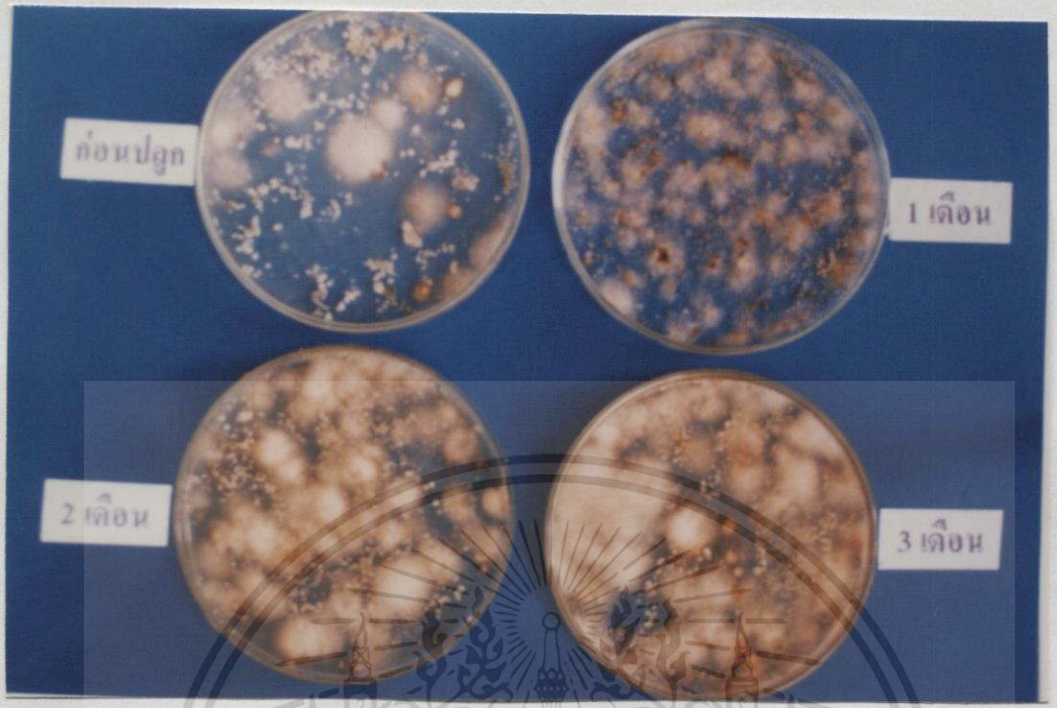
จากการทดลองเก็บตัวอย่างดินปลูกมะเขือเทศมาตรวจสอบดูปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านของแต่ละวิธี พบว่า วิธีการที่ใช้ยาเชื้อจาก *Chaetomium* spp. ในดินก่อนปลูก, 1 เดือน, 2 เดือน และ 3 เดือน โดยใช้กระดาษกรองเป็นเหยื่อล่อ แล้วบ่มไว้เป็นเวลา 1 เดือน (ภาพที่ 4.46) พบว่ามีปริมาณเชื้อ *Chaetomium* spp. เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ โดยวิธีการที่ใช้ *Chaetomium* spp. มีปริมาณเชื้อเท่ากับ 0.04, 28.66, 43.29, 57.25 cfu/ ดิน 1 กรัม และวิธีการที่ใช้ *Chaetomium* spp. ร่วมกับ *Trichoderma* spp. มีปริมาณเชื้อรา *Chaetomium* spp. เท่ากับ 0, 23.16, 38.29 และ 46.97 cfu/ดิน 1 กรัม (ภาพที่ 4.47) และในวิธีการที่ใช้ยาเชื้อจาก *Trichoderma* spp. นำมาตรวจหาปริมาณเชื้อรา *Trichoderma* spp. พบว่ามีปริมาณเพิ่มขึ้น โดยวิธีการที่ใช้ *Trichoderma* spp. มีปริมาณเชื้อรา *Trichoderma* spp. เท่ากับ $35x10^2$, $401x10^2$, $569x10^2$ และ $709x10^2$ cfu/ดิน 1 กรัม และวิธีการที่ใช้ยาเชื้อ *Chaetomium* spp. ร่วมกับ *Trichoderma* spp. มีปริมาณเชื้อ *Trichoderma* spp. เท่ากับ $11x10^2$, $363x10^2$, $369x10^2$ และ $453x10^2$ cfu/ ดิน 1 กรัม (ภาพที่ 4.48-4.50)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.40 ลักษณะโคโลนีและความหนาแน่นของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* จากดินปลูกมะเขือเทศที่ใช้ยาเชื้อ *Chaetomium* spp. ควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ

ภาพที่ 4.41 ลักษณะโคโลนีและความหนาแน่นของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* จากดินปลูกมะเขือเทศที่ใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* spp. ควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

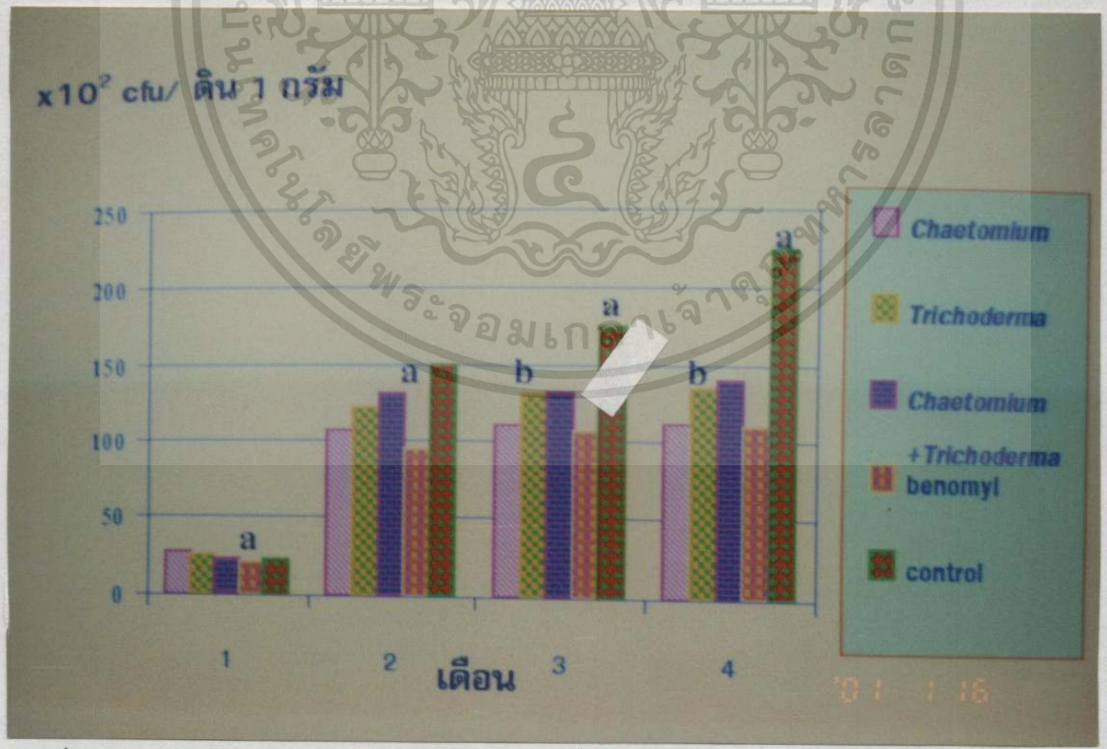


ภาพที่ 4.42 ลักษณะโคโลนีและความหนาแน่นของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* จากดินปลูกมะเขือเทศที่ใช้ยาเชื้อ *Chaetomium* spp. ร่วมกับ *Trichoderma* spp. ควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ

ภาพที่ 4.43 ลักษณะโคโลนีและความหนาแน่นของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* จากดินปลูกมะเขือเทศที่ใช้ benomyl ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

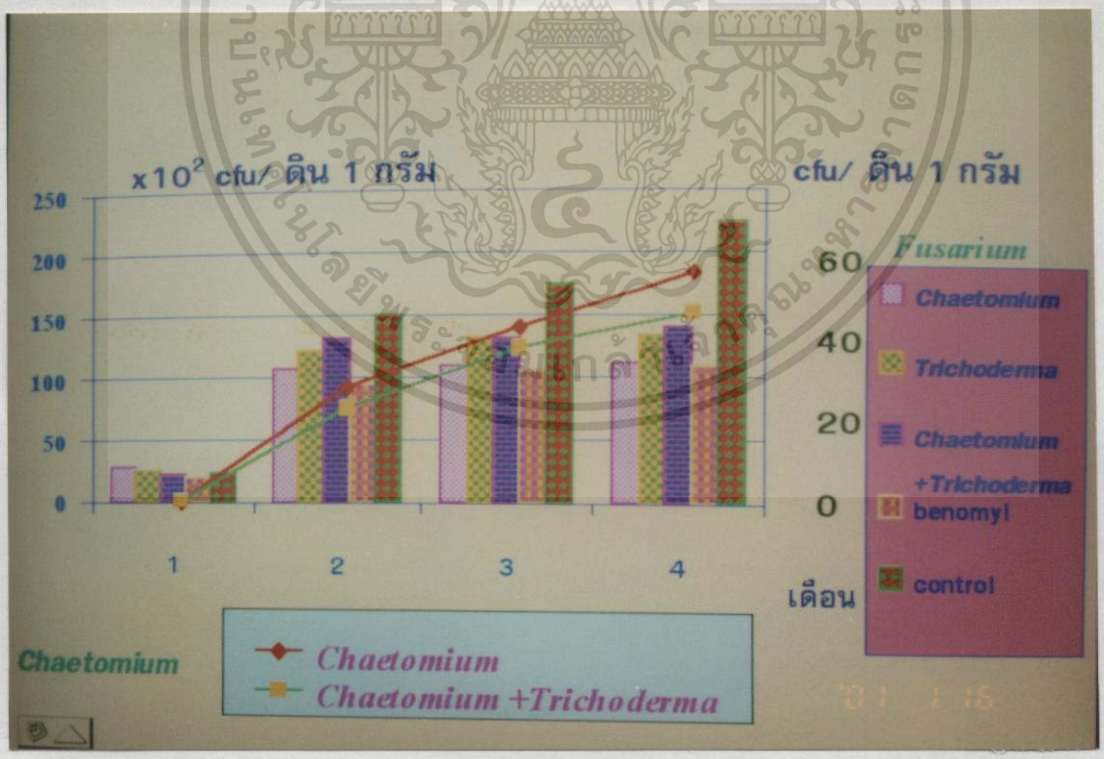
ภาพที่ 4.44 ลักษณะโคโลนีและความหนาแน่นของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* จากดินปลูกมะเขือเทศที่ไม่ใช้อะไรในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ



ภาพที่ 4.45 แสดงการเปลี่ยนแปลงประชากรของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ภายหลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Chaetomium*และ *Trichoderma* ในกระถางทดลอง

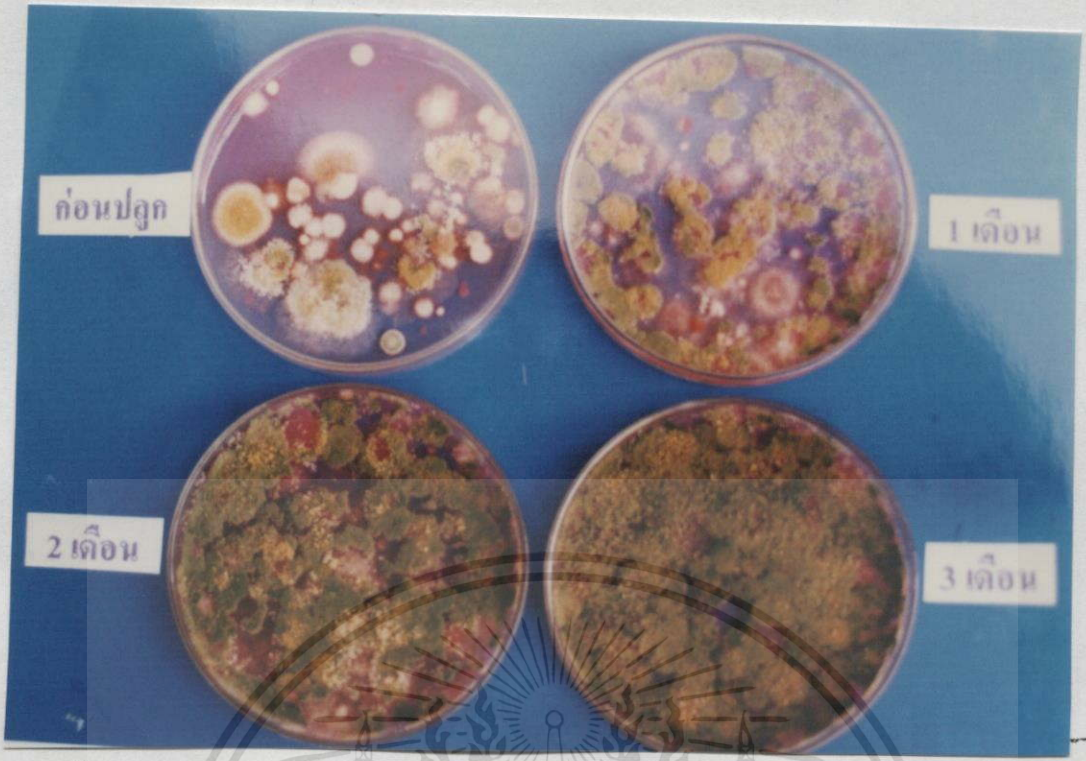
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.46 การแยกเชื้อรา *Chaetomium* spp. จากดินปลูกมะเขือเทศโดยวิธี baiting (ใช้กระดาษ)

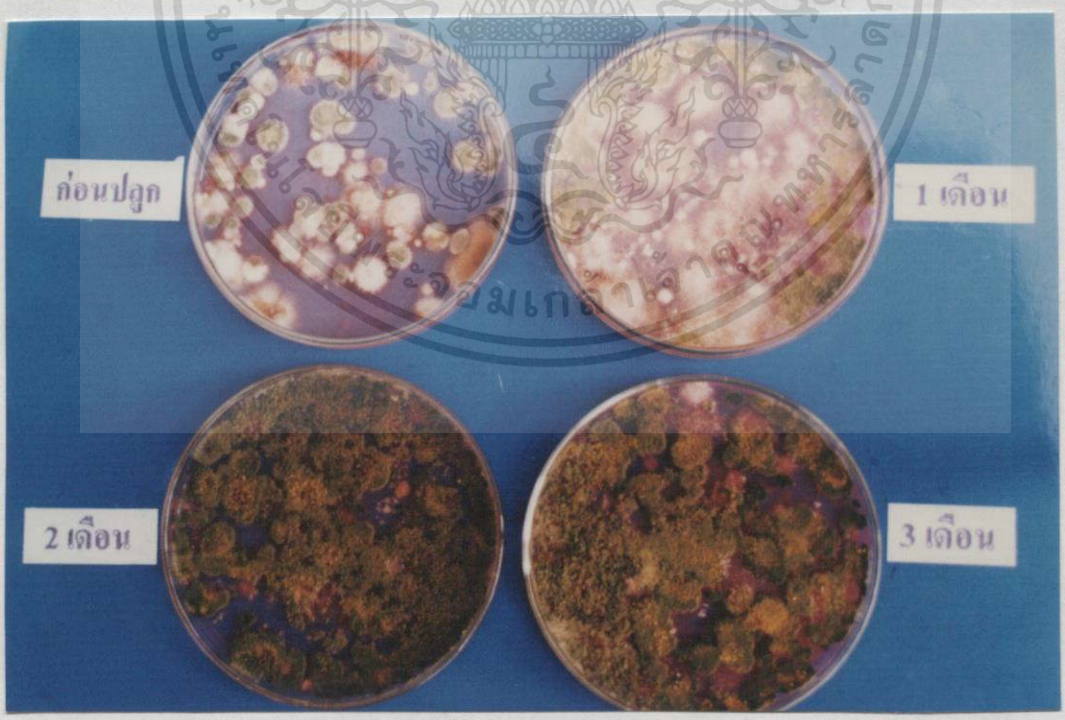


ภาพที่ 4.47 แสดงการเปลี่ยนแปลงประชากรของเชื้อรา *Chaetomium* spp. เปรียบเทียบกับเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ภายหลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Chaetomium*และ *Trichoderma* ในกระถางทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

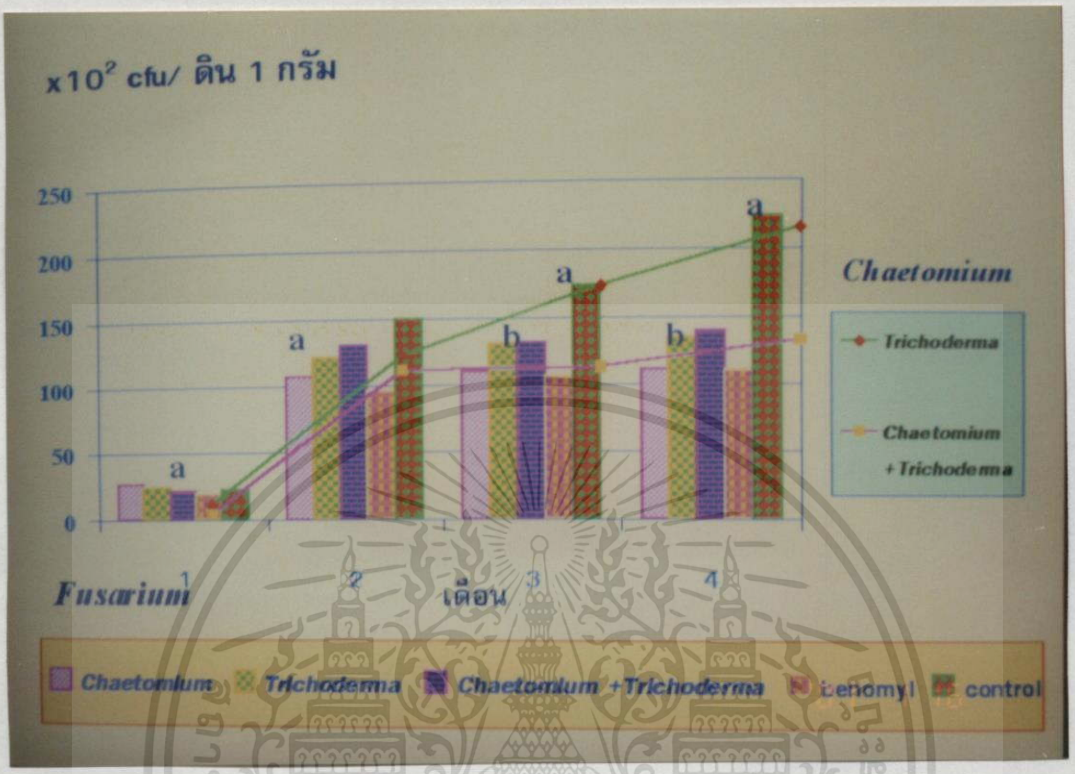


ภาพที่ 4.48 ลักษณะโคโลนีและความหนาแน่นของประชากรเชื้อรา *Trichoderma* spp. จากดินปลูกมะเขือเทศที่ใช้ยาเชื้อ *Trichoderma* spp. ภายหลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Chaetomium* และ *Trichoderma* ในกระถางทดลอง



ภาพที่ 4.49 ลักษณะโคโลนีและความหนาแน่นของประชากรเชื้อรา *Trichoderma* spp. จากดินปลูกมะเขือเทศที่ใช้ยาเชื้อ *Chaetomium* spp. ร่วมกับ *Trichoderma* spp. ภายหลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Chaetomium*และ *Trichoderma* ในกระถางทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.50 แสดงการเปลี่ยนแปลงของประชากรเชื้อรา *Trichoderma* spp. เปรียบเทียบกับเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ภายหลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Chaetomium*และ *Trichoderma* ในกระถางทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตและผลผลิตของมะเขือเทศ

ในด้านการเจริญเติบโตพบว่าการใช้ *Chaetomium* spp. ชนิดเม็ด 1.0 กรัมต่อต้น, *Trichoderma* spp. ชนิดเม็ด 2 กรัมต่อต้น, *Chaetomium* spp. ชนิดเม็ด 0.5 กรัม ร่วมกับ *Trichoderma* spp. 1.0 กรัมต่อต้น, benomyl ความเข้มข้น 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อต้น และการทดลองเปรียบเทียบ (control) วิธีการที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านและสารเคมีมีความสูง น้ำหนักสดต้น น้ำหนักสดราก ความยาวราก น้ำหนักแห้งต้น และน้ำหนักแห้งราก ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับ control พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยพบว่าวิธีการที่ใช้ *Chaetomium* spp., *Trichoderma* spp., *Chaetomium* spp. ร่วมกับ *Trichoderma* spp., benomyl และ control ต้นมะเขือเทศมีความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 80.6, 80.3, 90.8, 77.6 และ 50.6 เซนติเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 4.51) ต้นมะเขือเทศมีน้ำหนักสดต้นเฉลี่ยเท่ากับ 2257.95, 337.50, 344.10, 342.60 และ 189.00 กรัมตามลำดับ ต้นมะเขือเทศมีน้ำหนักแห้งต้นเฉลี่ยเท่ากับ 56.95, 67.59, 67.80, 70.70 และ 42.33 กรัมตามลำดับ ต้นมะเขือเทศมีความยาวรากเฉลี่ยเท่ากับ 43.03, 44.19, 43.63, 41.55 และ 28.85 เซนติเมตร (ภาพที่ 4.52) ต้นมะเขือเทศมีน้ำหนักสดรากเฉลี่ยเท่ากับ 55.56, 62.42, 63.40, 69.30 และ 43.60 กรัมตามลำดับ และต้นมะเขือเทศมีน้ำหนักแห้งรากเท่ากับ 7.16, 8.09, 8.47, 8.40 และ 4.86 กรัมตามลำดับ (ตารางที่ 4.32)

ในด้านผลผลิตของมะเขือเทศพบว่าการใช้ *Chaetomium* spp. ชนิดเม็ด 1.0 กรัมต่อต้น, *Trichoderma* spp. ชนิดเม็ด 2 กรัมต่อต้น, *Chaetomium* spp. ชนิดเม็ด 0.5 กรัม ร่วมกับ *Trichoderma* spp. 1.0 กรัมต่อต้น, benomyl ความเข้มข้น 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อต้น และการทดลองเปรียบเทียบ (control) วิธีการที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านและสารเคมีมีจำนวนช่อดอก และจำนวนดอก ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับ control พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ มีจำนวนช่อดอกเฉลี่ยเท่ากับ 12.80, 14.00, 13.30, 14.60 และ 7.25 ช่อดอกตามลำดับ และมีจำนวนดอกเฉลี่ยเท่ากับ 65.55, 85.50, 82.35, 94.25 และ 47.05 ดอกตามลำดับ จำนวนผลและน้ำหนักผลต่อต้นมีความแตกต่างกันทางสถิติ มีจำนวนผลเฉลี่ยเท่ากับ 27.95, 24.25, 30.30, 33.65 และ 17.60 ผลต่อต้นตามลำดับ และวิธีการที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านและสารเคมีมีน้ำหนักผลและขนาดผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับ control พบว่ามีน้ำหนักผลและขนาดผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยมีน้ำหนักผลเฉลี่ยเท่ากับ 34.65, 47.70, 39.42 และ23.34 กรัม และมีขนาดผลเท่ากับ 3.66, 3.98, 4.02, 3.70 และ 2.61 เซนติเมตร และน้ำหนักของผลผลิตเท่ากับ 946.55, 989.75, 1,228.15, 1,266.15 และ 597.28 กรัมต่อต้น ทำให้มีผลผลิตเพิ่มขึ้นเท่ากับ 36.94, 39.66, 51.37 และ 52.83 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับ control (ภาพที่ 4.53 , ตารางที่ 4.33)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.32 การเจริญเติบโตของต้นมะเขือเทศภายหลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Chaetomium* และ *Trichoderma* ในกระถางทดลอง

วิธีการ	ความสูง	น้ำหนักต้น (กรัม)		ความยาวราก	น้ำหนักราก (กรัม)	
	(ซม.)	สด	แห้ง	(ซม.)	สด	แห้ง
T1[1/]	80.6 a[2/]	257.95 a	56.95 a	43.03 a	55.56 ab	7.16 ab
T2	80.3 a	337.50 a	67.59 a	44.19 a	62.42 a	8.09 a
T3	90.8 a	344 10 a	67.8 a	43.63 a	63.40 a	8.47 a
T4	77.6 a	342.60 a	70.70 a	41.55 a	69.30 a	8.40 a
T5	50.6 b	189.00 b	42.33 b	28.85ba	43.60 b	4.86 b
CV (%)	12.10	34.45	36.07	12.62	13.59	16.35
DMRT .05	14.75	168.76	37.02	8.46	13.32	2.01
DMRT .01	20.72	237.18	52.03	11.89	18.72	2.82

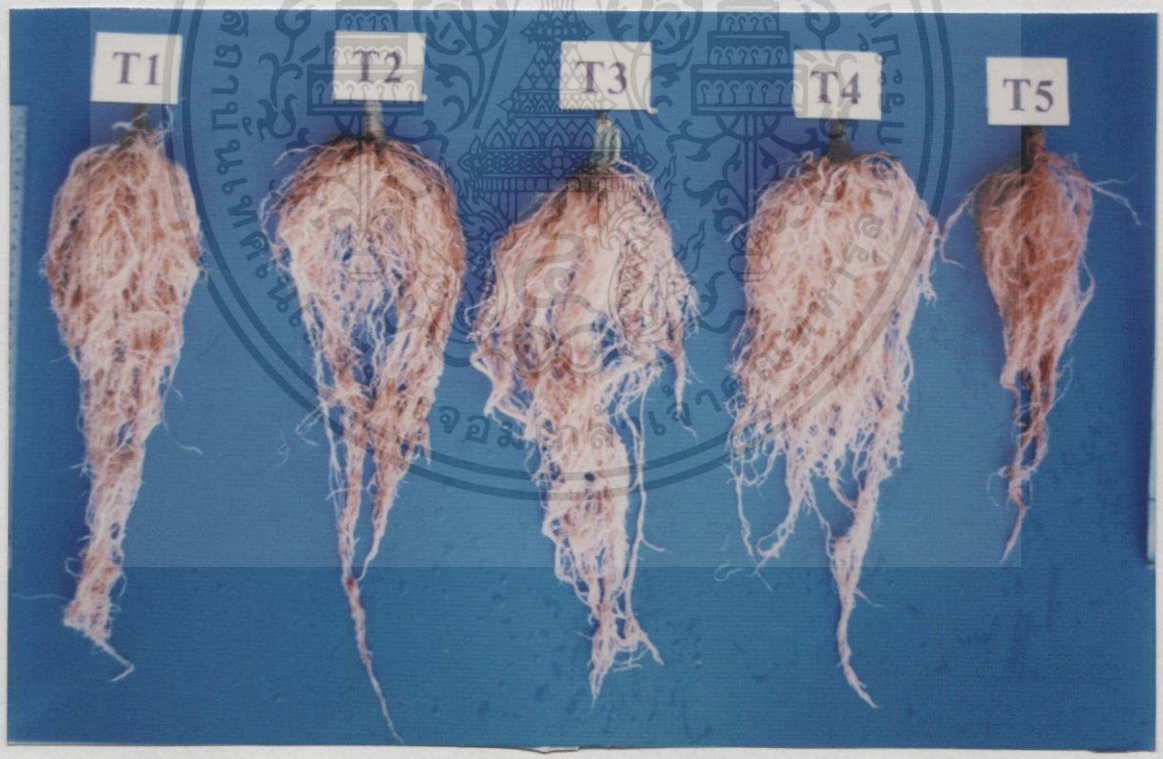
[1/] T1 = *Chaetomium* spp. ชนิดเม็ด 1.0 กรัมต่อต้น, T2 = *Trichoderma* spp. ชนิดเม็ด 2 กรัมต่อต้น, T3 = *Chaetomium* spp. ชนิดเม็ด 0.5 กรัม ร่วมกับ *Trichoderma* spp. 1.0 กรัมต่อต้น, T4 = benomyl ความเข้มข้น 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อต้น และ T5 = การทดลองเปรียบเทียบ (control)

[2/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำๆ ละ 5 ต้น ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.51 ลักษณะของต้นมะเขือเทศจากการควบคุมโรคเหี่ยวโดยชีววิธีที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ในกระถางทดลอง

T1 = *Chaetomium* spp. T2 = *Trichoderma* spp. T3 = *Chaetomium* spp.+ *Trichoderma* spp. T4 = benomyl T5 = control



ภาพที่ 4.52 ลักษณะของรากมะเขือเทศจากการควบคุมโรคเหี่ยวโดยชีววิธีที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ในกระถางทดลอง

T1 = *Chaetomium* spp. T2 = *Trichoderma* spp. T3 = *Chaetomium* spp.+ *Trichoderma* spp. T4 = benomyl T5 = control

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.33 ผลผลิตของมะเขือเทศภายหลังการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *Chaetomium*และ *Trichoderma* ในกระถางทดลอง

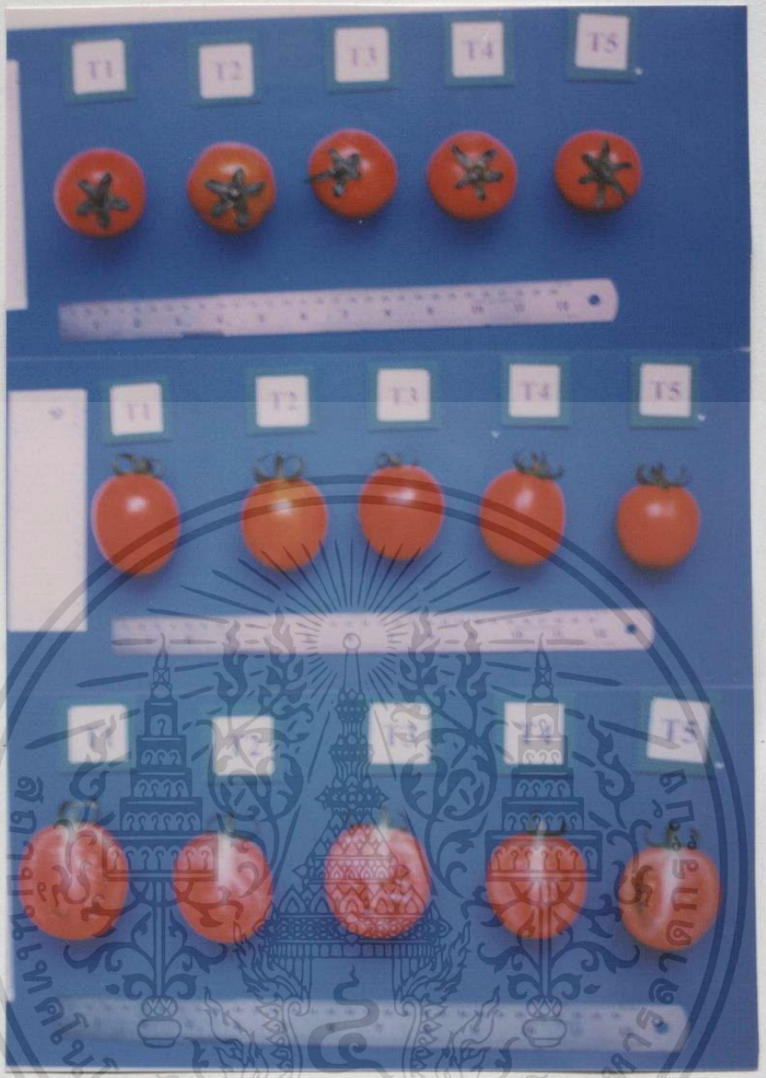
วิธีการ	จำนวนช่อดอก (ช่อ)	จำนวนดอก (ดอก)	จำนวนผล (ผล)	นน./ผล (กรัม)	ขนาดผล (ซม.)	นน.ผล/ต้น (กรัม)	การเพิ่มผล (%)[1/]
T1[2/]	12.80 a[3/]	65.55 ab	27.95 a	34.65 ab	3.66 a	946.55 ab	36.9
T2	14.00 a	85.50 a	24.25 a	47.70 a	3.98 a	989.79 ab	39.6
T3	13.30 a	82.35 a	30.30 a	39.42 a	4.02 a	1,228.15 a	51.3
T4	14.60 a	94.25 a	33.65 a	37.19 a	3.70 a	1,266.15 a	52.8
T5	7.25 b	47.05 b	17.60 b	23.34 b	2.61 b	597.28 b	-
CV (%)	17.94	18.65	28.64	15.47	11.16	25.49	-
DMRT .05	3.70	23.27	12.76	9.03	0.67	426.75	-
DMRT .01	5.20	32.70	17.93	12.69	0.94	599.76	-

[1/] การเพิ่มของผลผลิต = (ผลผลิตใน treatment – ผลผลิตใน control) x 100 / ผลผลิตใน treatment

[2/] T1 = *Chaetomium* spp. ชนิดเม็ด 1.0 กรัมต่อต้น, T2 = *Trichoderma* spp. ชนิดเม็ด 2 กรัมต่อต้น, T3 = *Chaetomium* spp. ชนิดเม็ด 0.5 กรัม ร่วมกับ *Trichoderma* spp. 1.0 กรัมต่อต้น, T4 = benomyl ความเข้มข้น 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อต้น และ T5 = การทดลองเปรียบเทียบ (control)

[3/] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำๆ ละ 5 ต้น ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น P = 0.01 โดยเปรียบเทียบ Treatment mean แบบ Duncan's Multiple Range Test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.51 ลักษณะของผลมะเขือเทศจากการควบคุมโรคเหี่ยวโดยชีววิธีที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ในกระถางทดลอง

T1 = *Chaetomium* spp. T2 = *Trichoderma* spp. T3 = *Chaetomium* spp.+ *Trichoderma* spp. T4 = benomyl T5 = control

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
วิจารณ์ผลการวิจัย

จากการสำรวจสาเหตุโรคของมะเขือเทศในแปลงปลูกมะเขือเทศของเกษตรกรในพื้นที่ ต. พบพระ อ. พบพระ จ. ตาก พบว่าส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ซึ่งสอดคล้องกับ วัฒนา (2529) และ สมภพ (2530) ซึ่งรายงานว่าสาเหตุโรคของมะเขือเทศส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ทำความเสียหายให้กับมะเขือเทศได้ ในแปลงปลูกได้ทุกระยะการปลูก และในต่างประเทศเองก็พบว่าเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* สามารถเข้าทำลายมะเขือเทศในประเทศอินเดียและ สเปนมากกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ ในปากีสถานมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ และในซีเรีย 30 เปอร์เซ็นต์ (Jimenez *et al.*, 1991)

จากการนำเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ทั้ง 8 isolates มาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา (การเจริญเติบโต รูปร่าง ขนาดของ macro-conidia, micro-conidia และ chlamydospore ตลอดจนโครงสร้างต่างๆ) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และทางเจลอิเลคโตรโฟรีซีส พบว่าเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ทั้ง 8 isolates ดังกล่าวจะมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ใกล้เคียงกันมาก แต่เมื่อนำมาศึกษาทางเจลอิเลคโตรโฟรีซีสจะพบว่ามีความแตกต่างกันทางน้ำหนักโมเลกุล ในการศึกษาครั้งนี้ได้พบว่าเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* มีการสร้างแถบโปรตีน 11 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 5.5-112 kDa ซึ่งมีความใกล้เคียงกับการทดลองของ Pietro *et al.* (1997) รายงานว่าเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* สามารถผลิตเอนไซม์ polygacturonase มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ที่ 74 kDa โดยวิธี SDS-PAGE และ Lainini *et al.* (1996) รายงานว่า *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* มีการสร้าง enzyme tomatinase ซึ่งเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา hydrolysis ของ alpha-tomatine พบว่ามีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 50 kDa และพบ N-glycosidase ที่น้ำหนักโมเลกุล 45 kDa สำหรับเชื้อรา *Ch. globosum* มีการสร้างแถบโปรตีน 10 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 10.5-96 kDa ซึ่งมีความใกล้เคียงกับการทดลองของ พินิต (2542) ซึ่งพบว่าเชื้อรา *Ch. globosum* มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 14.4-100 kDa สำหรับเชื้อรา *Ch. cupreum* มีการสร้างแถบโปรตีน 13 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 8.8-108.5 kDa ซึ่งมีความใกล้เคียงกับการทดลองของ วีระณีย์ (2542) พบว่าเชื้อรา *Ch. cupreum* มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 10.5-110 kDa สำหรับเชื้อรา *T. harzianum* มีการสร้างแถบโปรตีน 6 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 8.5-55 kDa ซึ่งมีความใกล้เคียงกับการทดลองของ Ximenes *et al.* 1996) รายงานว่าเชื้อรา *T. harzianum* มีการสร้างเอนไซม์ beta-xylosidase มีน้ำหนักโมเลกุล 52 kDa และ Noronha *et.al.* (1996) รายงานว่า เชื้อรา *T.*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

harzianum มีการสร้างเอนไซม์ beta- 1,3-glucanase ที่น้ำหนักโมเลกุล 36 kDa และเชื้อรา *T. hamatum* มีการสร้างแถบโปรตีน 4 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 31-42 kDa ซึ่งมีความใกล้เคียงกับการทดลองของ Fekete *et al.* (1997) รายงานว่าเชื้อรา *T. hamatum* มีการสร้างเอนไซม์ chitinase มีน้ำหนักโมเลกุล 42 kDa ในการศึกษา *Ch. globosum* 12 isolates, *Ch. cupreum* 10 isolates เป็นการเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์ (strain) ส่วน *T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 เป็นการเปรียบเทียบระหว่าง speceis โดยอาศัยการเคลื่อนที่ของโปรตีนในสนามไฟฟ้าจากขั้วลบไปสู่ขั้วบวกผ่านตัวกลางคือ polyacrylamide gel ซึ่งพบว่าโปรตีนขนาดใหญ่มีน้ำหนักโมเลกุลมากจะเคลื่อนที่ผ่านรูพรุนของเจลได้ช้ากว่าโปรตีนขนาดเล็กที่น้ำหนักโมเลกุลน้อย จึงปรากฏอยู่ส่วนบนของแผ่นเจล ส่วนโปรตีนขนาดเล็กจะปรากฏอยู่ส่วนล่างของเจล แต่ถ้าโปรตีนมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากันก็จะปรากฏแถบโปรตีนในตำแหน่งเดียวกัน (วาสนา, 2539) ซึ่งจะเห็นได้ว่าการจัดจำแนกโดยดูจากน้ำหนักโมเลกุลของเชื้อรานั้นบาง isolate ก็ถือว่าไม่แตกต่างกัน ดังนั้นการจัดจำแนกกลุ่มจะดูจากลักษณะที่แตกต่างกันภายนอกอย่างเดียวไม่ได้

จากการศึกษาความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับต้นกล้ามะเขือเทศของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* จำนวน 8 isolates ที่จำแนกได้ พบว่าเชื้อราแต่ละ isolate สามารถทำให้เกิดโรคได้แตกต่างกัน กล่าวคือ *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5, No.6, No.7 และ No.8 ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในกลุ่มเดียวกัน (5.5-112 kDa) สามารถทำให้เกิดโรคกับต้นกล้ามะเขือเทศได้ดีเมื่อเทียบกับ isolate อื่นๆ ที่เหลือ เพียงแต่ No.5 และNo.6 เกิดโรครุนแรงมากที่สุด ในขณะที่ No.7 และ No.8 เกิดโรครองลงมา ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Menzies *et al.* (1990) ที่นำเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* 4 isolates treate กับพืช 47 ชนิด 11 สายพันธุ์ พบว่าเป็นโรคกับ 37 ชนิดแต่ไม่รุนแรง และมีเพียง 1 isolate เท่านั้นที่ทำให้เกิดโรครุนแรงกับมะเขือเทศ ซึ่งแสดงว่าเชื้อมีความเฉพาะเจาะจงกับพืช และขึ้นอยู่กับความรุนแรงของเชื้อ ซึ่ง Venuto *et al.* (1995) ก็เห็นด้วยกับการที่ว่าเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* สายพันธุ์ที่รุนแรงสามารถทำให้เกิดอาการเหี่ยวกับพืชที่อ่อนแอ หรือมีความเฉพาะเจาะจงกับพืชอาศัย และความสามารถในการเกิดโรคได้นั้นก็ขึ้นอยู่กับปริมาณความเข้มข้นที่เหมาะสม ถึงแม้ว่าเชื้อราสาเหตุโรคจะถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันทางเจลอิเลคโตรโฟรีซีส ก็ยังมีความแตกต่างกันทางด้านการเกิดโรค

จากการทดลองได้ใช้ *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 ความเข้มข้นของสปอร์เท่ากับ $1x10^4$, $5x10^4$, $1x10^5$, $5x10^5$, $1x10^6$, $3x10^6$ และ $5x10^6$ conidia/ml พบว่าที่ความเข้มข้น $1x10^6$, $3x10^6$ และ $5x10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตรทำให้เกิดโรครุนแรงไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ที่ความเข้มข้น $3x10^6$ และ $5x10^6$ conidia/ml ทำให้เกิดโรครุนแรงที่สุดคือ 100 เปอร์เซ็นต์ รองมาได้แก่ความเข้มข้น $3x10^6$ conidia/ml มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 93 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นความเข้มข้นที่ทำให้เกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรครุนแรงและเหมาะสมคือ $3x10^6$ conidia/ml ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Katan *et al.* (1997) พบว่าที่ความเข้มข้นของสปอร์เชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ที่ $5x10^6$ conidia/ml สามารถทำให้เกิดโรคเหี่ยวกับมะเขือเทศได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น $5x10^4$ และ $1x10^4$ conidia/ml สามารถเกิดโรคได้ 68 และ 54 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังนั้นพอจะสรุปได้ว่าการที่จะทำให้พืชเกิดโรคได้นั้น ขึ้นอยู่กับความรุนแรงและปริมาณเชื้อสาเหตุโรค

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศบนอาหาร PDA พบว่าสารสกัด Chaetoglobosin-c จากเชื้อรา *Ch. globosum*, Rotiorinol จากเชื้อรา *Ch. cupreum*, Trichotoxin A50 จากเชื้อรา *T. harzianum* และสารสกัดของเชื้อรา *T. hamatum* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโต การสร้าง macro-conidia, micro-conidia และ chlamydospore ได้ โดยพบว่าสารสกัดจากเชื้อรา *T. hamatum* ที่ความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโต และการสร้าง chlamydospore ของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 ได้สูงสุดเท่ากับ 41.32 และ 80.14 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สารสกัด Rotiorinol ที่ความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งการสร้าง macro-conidia และ micro-conidia ได้สูงสุดเท่ากับ 60.96 และ 60.23 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ เกษม (2535ข) พบว่าสารสกัดอย่างหยาบของเชื้อรา *Ch. cupreum* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ได้ 28 เปอร์เซ็นต์ ต่อมาเกษม (2536ค) ได้ใช้สารสกัดของเชื้อรา *Ch. cupreum* ที่เลี้ยงในรำข้าวและสกัดด้วย methyl chloride สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ 97.61 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำสารสกัดมาทดสอบการชักนำให้เกิดภูมิคุ้มกันโรคเหี่ยวของมะเขือเทศในกระถางทดลองพบว่าสารสกัดของเชื้อรา *T. hamatum* ที่ความเข้มข้น 500 ppm สามารถชักนำให้มะเขือเทศต้านทานต่อเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ได้สูงสุด มีการเกิดโรคเท่ากับ 32 เปอร์เซ็นต์ แต่ที่ไม่ใช้สารสกัดชนิดใดเลยมีการเกิดโรคเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับ Vidhyasekaran (1988) ซึ่งกล่าวว่าในพืชที่ถูกรบกวนไม่ว่าจะเกิดจากบาดแผล เชื้อโรคเข้าทำลาย หรือเกิดจากความผิดปกติของสารเคมี พืชจะถูกกระตุ้นให้สร้าง phytoalexin และเกิดได้ดีกับเชื้อราที่ไม่ใช่เชื้อสาเหตุโรคพืช และนอกจากนี้ยังปล่อยเอนไซม์เข้าไปเปลี่ยนแปลงสารประกอบฟีนอลเชิงซ้อนในเนื้อเยื่อให้อยู่ในรูปสามัญและเป็นอันตรายต่อเชื้อโรคโดยตรง เช่น polyphenol oxidase จะ oxidise สารประกอบฟีนอลเชิงซ้อนให้อยู่ในรูปของสาร ควิโนน ส่วน Agrios (1997) กล่าวว่า phytoalexin นี้เป็นสารชีวเคมีที่พืชสร้างขึ้นหลังจากเชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลาย มีผลต่อกระบวนการ infection ของเชื้อโรค และพบมากในพืชตระกูล Leguminosceae, Solanaceae, Malvaceae, Convolvulaceae, Umbelliferae และ Compositae จากรายงานของ Yano *et al.* (1999) พบว่า xylanase จาก *T. viride* สามารถชักนำให้เกิด oxidative burst และเกิด hypersentitive reaction กับใบยาสูบ โดยมีสาร Diphenylene iodonium และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

N-acetyl-L-cysteine เป็นตัวกระตุ้น และ Bjorkman *et al.* (1998) พบว่า NaOCl 0.05 เปอร์เซ็นต์ ที่ใช้แช่เมล็ดข้าวโพดหวานแล้วเกิด oxidative burst และ *T. harzianum* strain 1295-22 ช่วยเพิ่มศักยภาพให้แก่รากทำให้ไม่เป็นโรคและสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตได้อีกด้วย และ Vinokurova (1991) รายงานว่าสาร Trichodermin ที่ได้จากเชื้อรา *Trichoderma* spp. สามารถควบคุมโรครากเน่าของมะเขือเทศ และ สตรอเบอรี่ที่เกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* และ *F. culmorum* ในเรือนทดลองได้ จากการทดลองนี้อาจพบได้ว่ามีการเกิด oxidative burst ด้วย ซึ่งน่าจะได้มีการทดลองต่อไป

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl ในการยับยั้งเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5, *Ch. globosum* Cg6, *Ch. cupreum* Cc8, *T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 พบว่าเชื้อรา *Ch. globosum* Cg6 และ *Ch. cupreum*Cc8 สามารถเจริญบนอาหารผสม benomyl ได้ถึงระดับ 0.6 ppm และ เชื้อรา *T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 สามารถเจริญบนอาหารผสม benomyl ได้ถึงระดับ 0.4 ppm แต่เชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 ที่ระดับความเข้มข้น 0.8 ppm ก็ยังสามารถเจริญบนอาหารผสม benomyl ได้ดี จากการทดลองนี้ถือได้ว่าเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 มีความต้านทานต่อ benomyl ได้สูงกว่า และจากรายงานของ Yamaguchi *et al.* (1998) พบว่าเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* สามารถต้านทาน benomyl ได้ 100 ppm

จากการทดสอบศักยภาพของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน *Ch. globosum* Cg6, *Ch. cupreum* Cc8, *T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 ในการควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 โดยวิธี bi-culture ในสภาพที่ benomyl ผสมอยู่ในระดับที่เชื้อจุลินทรีย์สามารถเจริญได้บนอาหาร PDA ผสม benomyl ที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านได้ พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านดังกล่าวต่างก็ยังมีความสามารถในการควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ได้ ดังนั้นถ้าเราได้มีการพัฒนาเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านให้ต้านทานต่อสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl เราก็สามารถที่จะนำไปใช้ในสภาพที่มีสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราตกค้างอยู่ได้ หรือนำไปใช้ร่วมกับสารเคมีได้ในอนาคต ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Amemiya *et al.* (1994) พบว่า Chaetoglobosin-C และ BHt ซึ่งเป็นสารสกัดของเชื้อรา *Ch. globosum* สามารถยับยั้งเชื้อ *Verticillium dahliae* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ และ *Pythium ultimum* สาเหตุโรค damping-off ของ sugar beet ได้โดยสารปฏิชีวนะดังกล่าวรวมทั้งตัวจุลินทรีย์ต่อต้านเองอาจจะมีผลต่อการเข้าทำลายเซลของเชื้อโรคพืช เกษม (2536ค) รายงานว่า *Ch. cupreum* สามารถทำให้สปอร์และเส้นใยของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* บวมและแตกออก และไหลออกจากเซลของเชื้อโรค ในทำนองเดียวกัน Padmodaya and Reddy (1996) รายงานผลการควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* โดยเชื้อรา *T. viride* และ *T. harzianum* ในอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม 7 วัน พบว่าสามารถยับยั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

F. oxysporum f.sp. *lycopersici* ได้ และ Dwivedi *et al.* (1993) พบว่า *T. viride* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lini* จากป่านได้ 68.2 เปอร์เซ็นต์ และ *T. piluliferum* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* จากมะเขือเทศได้ 64 เปอร์เซ็นต์

ผลการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศในกระถางทดลอง โดยใช้ยาเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านและสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl พบว่าการใช้จุลินทรีย์ต่อต้านสามารถควบคุมโรคได้เท่าเทียมกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา แต่เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองเปรียบเทียบ (control) พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ซึ่งใน control มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 64.40 เปอร์เซ็นต์ การใช้ยาเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน *Chaetomium* spp., *Trichoderma* spp., *Chaetomium* spp. ร่วมกับ *Trichoderma* spp. และสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 25.20, 22.20, ~~19~~.98 และ 17.60 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ทำให้มีการเกิดโรคลดลงเท่ากับ 69.8, 71.8, 75.9 และ 75.36 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และเมื่อนำตัวอย่างดินในกระถางปลูกตรวจนับปริมาณเชื้อก่อโรคทุกๆ เดือน พบว่าการควบคุมโรคโดยใช้ยาเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านและสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl ทำให้ปริมาณเชื้อก่อโรคไม่เพิ่มขึ้น และใน control มีปริมาณเชื้อก่อโรคเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ซึ่งจะเห็นได้ว่าใน control มีปริมาณเชื้อก่อโรคเพิ่มขึ้น การเกิดโรคจึงเพิ่มขึ้น แต่ในวิธีการที่ใช้ยาเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านปริมาณเชื้อก่อโรคไม่เพิ่มขึ้นเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านสามารถสร้างกลไกในการควบควบคุมเชื้อก่อโรค โดย *Ch. globosum* สร้างสาร Chaetoglobosin-C, *Ch. cupreum* สร้างสาร Rotiorinol และ *T. harzianum* สร้างสาร Trichotoxin A50 ยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ นอกจากนี้ยังพบว่าวิธีการที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านและสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณผลผลิตได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ control ซึ่งใน control มีปริมาณผลผลิตเท่ากับ 597.28 กรัมต่อต้น การใช้ยาเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน *Chaetomium* spp., *Trichoderma* spp., *Chaetomium* spp. ร่วมกับ *Trichoderma* spp. และสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl มีปริมาณผลผลิตเท่ากับ 946.55, 989.79, 1,228.15 และ 1,266.15 กรัมต่อต้นตามลำดับ ทำให้มีผลผลิตเพิ่มขึ้นเท่ากับ 36.94, 39.66, 51.37 และ 52.83 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งพบว่าสอดคล้องกับรายงานของ เกษม (2532ข) พบว่าการใช้เชื้อรา *Ch. cupreum* สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจาก *Pseudomonas lolanacearum* ได้โดยพบว่ามีการเกิดโรคเพียง 14 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตได้ เกษม (2534ข) ใช้ *Ch. gracile* ควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ได้เท่าเทียมกับการใช้สารเคมี benzimidazole รายงานของ Monaco (1991) พบว่าการใช้ *T. harzianum* และ *T. konigii* สามารถควบคุมโรคของมะเขือเทศและผักโขมได้ แล้วยังสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศและผักโขมได้ดีกว่าการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปรียบเทียบ Gromovikh *et al.* (1998) รายงานว่า *T. harzianum* สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Fusarium, Alternaria, Botrytis* และ *Pythium* ที่เป็นเชื้อสาเหตุโรครากเน่าในมะเขือเทศที่ปลูกในดินที่ฆ่าเชื้อและไม่ได้ฆ่าเชื้อ โดยคลุกเมล็ดด้วยเชื้อรา *T. harzianum* ก่อนปลูก นอกจากนั้น Rattink (1993) ทำการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน *Streptomyces griseoviridis, T. harzianum* และ *F. oxysporum* ที่ไม่ใช่สาเหตุโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ โดยพบว่าในห้องปฏิบัติการเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านสามารถเจริญได้ดีกว่าเชื้อโรค และในเรือนทดลองพบว่า *T. harzianum* สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ดีที่สุดเท่ากับ 70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากการทดลองนี้จะเห็นได้ว่าการใช้จุลินทรีย์ต่อต้านมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคและส่งเสริมการเจริญเติบและผลผลิตได้เท่าเทียมกับการใช้ benomyl ดังนั้นจึงควรส่งเสริมให้เกษตรกรใช้จุลินทรีย์ต่อต้านแทน benomyl เพราะการใช้ benomyl นั้นทำให้เกิดผลเสียกับสภาพแวดล้อม มนุษย์ และสัตว์ได้

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6
สรุปผลการวิจัย

จากการสำรวจหาสาเหตุโรคที่ทำให้มะเขือเทศตายก่อนเก็บเกี่ยวในพื้นที่ปลูกมะเขือเทศที่ ต. พบพระ อ. พบพระ จ. ตาก พบว่าเกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* และสามารถแยกได้ทั้งหมด 8 isolates โดยจากดินบริเวณโคนต้นที่เป็นโรคได้ 3 isolates คือ No.1, 2 และ 3 และจากส่วนที่เป็นโรคได้ 5 isolates ดังนี้ รากได้ No.4, 5 และ 6 จากใบได้ No.7 และจากผลได้ No.8 จากนั้นนำเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศทั้ง 8 isolates รวมทั้ง *Ch. globosum* 12 isolates, *Ch. cupreum* 10 isolates, *T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 มาจัดจำแนกโดยเทคนิคทางเจลอิเลคโตรโพรีซีสเพื่อวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของเชื้อราด้วยวิธี cluster analysis พบว่าเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* มีการสร้างแถบโปรตีน 11 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 5.5-110.0 kDa สามารถจัดจำแนกความแตกต่างของเชื้อได้ 2 กลุ่มใหญ่ๆ โดยพิจารณาจากความถี่ของการเกิดและไม่เกิดแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากันบางตำแหน่งดังนี้คือ

กลุ่มที่ 1 มี 4 isolates ได้แก่ No.1, 2, 3 และ 4 มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 28.5-110 kDa

กลุ่มที่ 2 มี 4 isolates ได้แก่ No.5, 6, 7 และ 8 มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 5.5-112 kDa

เชื้อรา *Ch. globosum* มีการสร้างแถบโปรตีน 10 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 10.5-96.0 kDa สามารถจัดจำแนกความแตกต่างของได้ 3 กลุ่มใหญ่ๆ โดยพิจารณาจากความถี่ของการเกิดและไม่เกิดแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากันบางตำแหน่ง ดังนี้คือ

กลุ่มที่ 1 มี 6 isolates ได้แก่ Cg1, Cg2, Cg3, Cg4, Cg5 และ Cg6 มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 10.5-80.0 kDa

กลุ่มที่ 2 มี 5 isolates ได้แก่ Cg7, Cg8, Cg10, Cg11 และ Cg12 มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 10.5-87.4 kDa

กลุ่มที่ 3 มี 1 isolate ได้แก่ Cg9 มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 10.5-96.0 kDa

เชื้อรา *Ch. cupreum* มีการสร้างแถบโปรตีน 13 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 8.8-108.5 kDa สามารถจัดจำแนกความแตกต่างของเชื้อได้ 3 กลุ่มใหญ่ๆ โดยพิจารณาจากความถี่ของการเกิดและไม่เกิดแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากันบางตำแหน่ง ดังนี้คือ

กลุ่มที่ 1 มี 4 isolates ได้แก่ Cc3, Cc5, Cc8 และ Cc10 มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 8.5-108.5 kDa

กลุ่มที่ 2 มี 5 isolates ได้แก่ Cc1, Cc2, Cc4, Cc7 และ Cc9 มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 14.4-108.5 kDa

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มที่ 3 มี 1 isolate ได้แก่ Cc6 มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 30.5-108.5 kDa

เชื้อรา *T. harzianum* มีการสร้างแถบโปรตีน 6 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 8.5-55 kDa และเชื้อรา *T. hamatum* มีการสร้างแถบโปรตีน 4 แถบ มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 31-42 kDa

จากการนำเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ทุก isolates ที่ความเข้มข้น $3x10^6$ conidia/ml มาทดสอบความสามารถในการเกิดโรค พบว่าเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 ทำให้เกิดโรครุนแรงกับต้นกล้ามะเขือเทศมากที่สุด มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 94 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* isolate No.5 มาทดสอบหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการเกิดโรค พบว่าที่ระดับความเข้มข้น $3x10^6$ และ $5x10^6$ conidia/ml มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน Chaetoglobosin-c จากเชื้อรา *Ch. globosum*, Rotiorinol จากเชื้อรา *Ch. cupreum*, Trichotoxin A50 จากเชื้อรา *T. harzianum* และ *T. hamatum* ที่ความเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 500 ppm ในการควบคุมเชื้อ *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นเวลา 7 วัน พบว่าสารสกัด *T. hamatum* ที่ความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อสาเหตุโรคได้ดีที่สุดเท่ากับ 41.32 เปอร์เซ็นต์ สารสกัด Rotiorinol ที่ความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งการสร้าง macro-conidia ได้สูงสุดเท่ากับ 60.96 เปอร์เซ็นต์ สารสกัด Rotiorinol ที่ความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งการสร้าง micro-conidia ได้สูงสุดเท่ากับ 60.23 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัด *T. hamatum* ที่ความเข้มข้น 500 ppm สามารถยับยั้งการสร้าง chlamydospore ได้สูงสุดเท่ากับ 80.14 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์หาค่า ED_{50} ของสารสกัด Chaetoglobosin-C, Rotiorinol, Trichotoxin A50 และ *T. hamatum* ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* เท่ากับ 2,367, 1,845, 4,978 และ 741 ตามลำดับ ค่า ED_{50} ในการสร้างการสร้าง macro-conidia เท่ากับ 969, 153, 747 และ 417 ตามลำดับ ค่า ED_{50} ในการสร้างการสร้าง micro-conidia เท่ากับ 617, 135, 765 และ 144 ตามลำดับ และค่า ED_{50} ในการสร้างการสร้าง chlamydospore เท่ากับ 84, 47, 198 และ 61 ตามลำดับ

จากการนำสารสกัดจาก Chaetoglobosin-C, Rotiorinol, Trichotoxin A50 และ *T. hamatum* มาทดสอบการชักนำให้เกิดภูมิคุ้มกันกับต้นกล้ามะเขือเทศที่ความเข้มข้น 0, 10, 50, 100 และ 500 ppm พบว่าสารสกัด *T. hamatum* ที่ความเข้มข้น 500 ppm สามารถชักนำให้สร้างภูมิคุ้มกันโรคได้สูงสุด คือไม่มีต้นตาย ส่วน control มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงสุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศได้อีกด้วย โดยพบว่าสารสกัด Trichotoxin A50 ที่ความเข้มข้น 500 ppm มีความสูง น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งสูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบหาประสิทธิภาพของ benomyl ที่มีผลยับยั้งต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* และเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านต่อต้าน *Ch. globosum* Cg6, *Ch. cupreum* Cc8, *T. harzianum* PC01 และ *T. hamatum* PC02 บนอาหาร PDA ผสม benomyl ที่ความเข้มข้น 0, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6 และ 0.8 ppm พบว่าเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* การเจริญเติบโตลดลงที่ระดับความเข้มข้น 0.4 ppm และสามารถเจริญบนอาหารผสม benomyl ได้ถึงระดับความเข้มข้น 0.8 ppm มีความต้านทานเท่ากับ 66.02 เปอร์เซ็นต์ เชื้อรา *Ch. globosum* การเจริญเติบโตลดลงที่ระดับความเข้มข้น 0.02 ppm และสามารถเจริญบนอาหารผสม benomyl ได้ถึงระดับความเข้มข้น 0.6 ppm มีความต้านทานเท่ากับ 1.36 เปอร์เซ็นต์ เชื้อรา *Ch. cupreum*Cc8 การเจริญเติบโตลดลงที่ระดับความเข้มข้น 0.02 ppm และสามารถเจริญบนอาหารผสม benomyl ได้ถึงระดับความเข้มข้น 0.6 ppm มีความต้านทานเท่ากับ 5.45 เปอร์เซ็นต์ เชื้อรา *T. harzianum* PC01 การเจริญเติบโตลดลงที่ระดับความเข้มข้น 0.05 ppm และสามารถเจริญบนอาหารผสม benomyl ได้ถึงระดับความเข้มข้น 0.4 ppm มีความต้านทานเท่ากับ 5.45 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อรา *T. hamatum* PC02 การเจริญเติบโตลดลงที่ระดับความเข้มข้น 0.05 ppm และสามารถเจริญบนอาหารผสม benomyl ได้ถึงระดับความเข้มข้น 0.4 ppm มีความต้านทานเท่ากับ 5.45 เปอร์เซ็นต์

จากการทดสอบควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ระดับความเข้มข้นต่ำสุดของ benomyl ที่เป็นผลให้เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านเริ่มลดการเจริญเติบโตลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยวิธี bi-culture พบว่า *Ch. globosum* Cg6 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ได้ 58 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการสร้าง macro-conidia ได้ 53.11 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการสร้าง micro-conidia ได้ 49.1 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งการสร้าง chlamydospore ได้ 58.57 เปอร์เซ็นต์ *Ch. cupreum* Cc8 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ได้ 49.33 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการสร้าง macro-conidia ได้ 41.28 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการสร้าง micro-conidia ได้ 38.92 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งการสร้าง chlamydospore ได้ 42.35 เปอร์เซ็นต์ *T. harzianum* PC01 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ได้ 62 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการสร้าง macro-conidia ได้ 58.14 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการสร้าง micro-conidia ได้ 50.46 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งการสร้าง chlamydospore ได้ 63.66 เปอร์เซ็นต์ *T. hamatum* PC02 สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ได้ 51.11 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการสร้าง macro-conidia ได้ 54.45 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการสร้าง micro-conidia ได้ 49.25 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งการสร้าง chlamydospore ได้ 61.17 เปอร์เซ็นต์

การทดลองควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ในกระถางทดลองขนาด 12 นิ้ว โดยใช้ *Chaetomium* spp. ชนิดเม็ด 1.0 กรัมต่อต้น, *Trichoderma* spp. ชนิดเม็ด 2 กรัมต่อต้น, *Chaetomium* spp. ชนิดเม็ด 0.5 กรัม ร่วมกับ *Trichoderma* spp. 1.0 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อต้น, benomyl ความเข้มข้น 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อต้น และการทดลองเปรียบเทียบ (control) ใช้ระยะเวลาตั้งแต่เพาะปลูกถึงเก็บผลผลิต 102 วัน พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ซึ่งใน control มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 60.40 เปอร์เซ็นต์ การใช้ยาเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน *Chaetomium* spp., *Trichoderma* spp., *Chaetomium* spp. ร่วมกับ *Trichoderma* spp. และสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 25.20, 22.20, 19.98 และ 17.60 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ทำให้มีการเกิดโรคลดลงเท่ากับ 69.8, 71.8, 75.9 และ 75.36 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และมีปริมาณเชื้อสาเหตุโรคเท่ากับ $224x10^2$ cfu/ดิน 1 กรัม ซึ่งปริมาณของเชื้อก่อโรคในดินจะมีความสัมพันธ์กับเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค คือปริมาณเชื้อก่อโรคจะเพิ่มขึ้นในทุกๆ เดือน และเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคก็เพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน และนอกจากนี้ยังพบว่าวิธีการใช้ยาเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านและสารเคมีสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณผลผลิตได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ control ซึ่งใน control มีปริมาณผลผลิตเท่ากับ 597.28 กรัมต่อต้น การใช้ยาเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้าน *Chaetomium* spp., *Trichoderma* spp., *Chaetomium* spp. ร่วมกับ *Trichoderma* spp. และสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl มีปริมาณผลผลิตเท่ากับ 946.55, 989.79, 1228.15 และ 1,266.15 กรัมต่อต้นตามลำดับ ทำให้มีผลผลิตเพิ่มขึ้นเท่ากับ 36.94, 39.66, 51.37 และ 52.83 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

เกษม สร้อยทอง. 2532ก. การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี. เอกสารคำสอนวิชาการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี. คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง. 167 หน้า.

เกษม สร้อยทอง. 2532ข. การควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจาก *Pseudomonas solanacearum* โดยชีววิธีในสภาพไร่. วารสารโรคพืช 9(2-4):47-53.

เกษม สร้อยทอง. 2532ค. การใช้ *Chaetomium cupreum* ในการควบคุมโรคโคนเน่าของข้าวโพดหวานที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ในสภาพไร่. วารสารโรคพืช 11(2):11-33.

เกษม สร้อยทอง. 2533. ประสิทธิภาพของรา *Chaetomium cochliodes* และ *Chaetomium cuniculorum* ใช้ในการป้องกันโรคไหม้ของข้าว (Rice Blast) ที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae*. วารสารแก่นเกษตร 18(2):15-17.

เกษม สร้อยทอง. 2534ก. การควบคุมโรคโคนเน่าของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ในสภาพไร่โดยชีววิธี. วารสารศูนย์บางพระ 28(2):15-17.

เกษม สร้อยทอง. 2534ข. การใช้รา *Chaetomium globosum* ควบคุมโรคใบจุดของข้าวโพด. ใน รายงานผลการวิจัยในการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 29 วันที่ 4-7 กุมภาพันธ์ 2534 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. หน้า 269-275.

เกษม สร้อยทอง. 2534ค. การใช้เชื้อรา *Chaetomium gracile* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร 8(12):1-7.

เกษม สร้อยทอง. 2535ก. การควบคุมโรคไหม้ของข้าวโดยการคลุกเมล็ดด้วยเชื้อราที่เป็นจุลินทรีย์ต่อต้านโดยชีววิธี. วารสารสงขลานครินทร์ 14 (1):59-65.

เกษม สร้อยทอง. 2535ข. การใช้ยาเชื้อที่ผลิตจาก *Chaetomium cupreum* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. วารสารศูนย์บางพระ 29(2) : 13-16.

เกษม สร้อยทอง. 2536ก. การควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจาก *Pseudomonas solanacearum* โดยชีววิธีในสภาพไร่. วารสารโรคพืช 11(3-4):73-78.

เกษม สร้อยทอง. 2536ข. การใช้เชื้อรา *Chaetomium globosum* ควบคุมโรคใบจุดของข้าวโพดหวานที่เกิดจากเชื้อรา *Curvularia lunata* โดยชีววิธี. วารสารศูนย์บางพระ 30(1):17-19.

เกษม สร้อยทอง. 2536ค. การพัฒนา *Chaetomium cupreum* เป็นยาเชื้อป้องกันกำจัดเชื้อราในดินเพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศโดยชีววิธี. ใน รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 1 วันที่ 20-22 ตุลาคม ณ โรงแรมรามาการ์เด้น กรุงเทพมหานคร. หน้า 375-387.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกษม สร้อยทอง และชลฏา สถิตวัฒโนทัย. 2536. การควบคุมโรคเน่าระดับดินของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium ultimum* Trow. โดยชีววิธี. ใน **รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ** ครั้งที่ 1 วันที่ 20-22 ตุลาคม ณ โรงแรมรามาการ์เด้นส์ กรุงเทพฯ.

เกียรติเกษตร กาญจนพิสุทธิ์. มปพ. พิมพ์ครั้งที่ 3. **มะเขือเทศ**. ศูนย์ผลิตตำราเกษตรเพื่อชนบท. นนทบุรี. 63 หน้า.

ขวัญใจ กนกเมธากุล, สมเดช กนกเมธากุล และ เกษม สร้อยทอง. 2536. การทดสอบการใช้สารสกัดจากรา *Chaetomium* และสารสกัดจากพืชบางชนิดในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* สาเหตุทำให้เกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ. วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร 10(2):5-10.

จุฬารัตน์ อินหว่าง. 2531. การควบคุมเชื้อรา *Rhizoctonia solani* โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดเลือกจากดินเกษตรกรรม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. คณะบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

ณรงค์ สิงห์บุระอุดม. 2525. **ความสัมพันธ์ทางพันธุศาสตร์ระหว่างพืชกับเชื้อโรค.** ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ . 256 หน้า.

บรรเจิด อินสว่าง และ จิระเดช แจ่มสว่าง. 2529. การควบคุมโรคโคนเน่าของมะเขือเทศ *Sclerotium rolfsii* โดยจุลินทรีย์จากดินเกษตรกรรม. ใน รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 24 ภาคโปสเตอร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 173-185.

บรรเจิด อินสว่าง. 2530. การควบคุมเชื้อรา *Rhizoctonia solani* โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่คัดจากดินเกษตรกรรม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. คณะบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 76 หน้า.

พรทิพย์ วงศ์แก้ว. 2533. **โรคพืชวิทยาขั้นสูง**. ภาควิชาโรคพืชวิทยา มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 282 หน้า.

พรพรรณ อู่สุวรรณ และ เกษม สร้อยทอง. 2540. การควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของส้มเขียวหวานที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* โดยชีววิธี . ใน **การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย** ครั้งที่ 24 วันที่ 19-21 ตุลาคม 2541 ณ ศูนย์ประชุมแห่งชาติ สิริกิติ์ กรุงเทพมหานคร. 862-863.

พิณทิพ รื่นวงษา. 2536. การแยกโปรตีนโดยวิธีการทำเจลอิเลคโตรโฟรีซีส . **หนังสือคู่มือปฏิบัติการวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพ : เทคนิคทางอนุพันธุศาสตร์และพันธุวิศวกรรม.** สมาคมเทคโนโลยีชีวภาพแห่งประเทศไทย. 4.1-4.9.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พินิต สดสะอาด. 2542. การควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของพริกไทยที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* โดยชีววิธีแบบผสมผสาน. **วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.** คณะบัณฑิตวิทยาลัย สาขาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง. 151 หน้า.

ไพโรจน์ จ้วงพานิช. 2525. **หลักวิชาโรคพืช.** ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 293 หน้า.

มณฑา นันทพันธ์, ปรีชา สุรินทร์ และสมคิด รัตนบุรี. 2534. การศึกษาวิธีการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าของทานตะวันโดยเชื้อรา *Trichoderma* sp. ใน **รายงานการสัมมนาทางวิชาการความก้าวหน้าเทคโนโลยีชีวภาพ การกสิกรรมและสิ่งแวดล้อม.** วันที่ 12-14 พฤศจิกายน ณ โรงแรมเชียงใหม่ออร์คิด จ. เชียงใหม่. หน้า 220-223.

มณีฉัตร นิกรพันธุ์. 2538. **มะเขือเทศ .** สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. กรุงเทพมหานคร. 98 หน้า.

วัฒนา สวรรยาธิปัติ. 2528. **การปลูกมะเขือเทศ.** กรมส่งเสริมฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ วิทยาเขตกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตร. 57 หน้า.

วาสนา ศิริรังษี. 2539. Gel electrophoresis ใน **วิทยาการทันสมัยในการตรวจวินิจฉัยโครโมโซมและยีน.** ภาควิชาจุลชีววิทยาคลีนิค คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

วีระณีย์ ศรีพรมสุข. 2542. การใช้เทคนิคทางเจลอิเลคโตรโฟรีซีสเพื่อจำแนกเชื้อรา *Colletotrichum* spp. และการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงโดยชีววิธี. **วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.** คณะบัณฑิตวิทยาลัย สาขาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง. 117 หน้า.

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

ศุภลักษณ์ ฮอกกะวัด. 2536. **โรคผักตระกูลพริกและมะเขือเทศ.** ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 249 หน้า.

สนชัย เพชรพรม. 2540. การควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าทุเรียนที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* (Butler) Butler โดยชีววิธีแบบผสมผสาน. **วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.** คณะบัณฑิตวิทยาลัย สาขาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง. 133 หน้า.

สมภพ ฐิตะวสันติ. 2530. **การผลิตมะเขือเทศเพื่อการค้า.** ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ.

สมศิริ แสงโชติ. 2529. **โรคพืชเบื้องต้น.** ภาควิชาโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 323 หน้า.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมศิริ แสงโชติ. 2532. **โรคพืชเศรษฐกิจและพืชผัก**. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 74 หน้า.

สุมิตรา น้อยเอี่ยม. 2540. **การควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์โดยชีววิธีแบบผสมผสาน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท**. คณะบัณฑิตวิทยาลัย สาขาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง. 180 หน้า.

แสงมณี ชิงดวง, ธนวัตน์ กำแหงฤทธิ์รงค์ และธรรมศักดิ์ อาจหาญ. 2529. **อิทธิพลของความเป็นกรดเป็นด่างที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราในดินบริเวณรอบรากมะเขือเทศ. รายงานวิจัย**. กลุ่มงานวิทยาไมโคร. กองโรคพืชและจุลวิทยา กรมวิชาการเกษตร.

แสงมณี ชิงดวง, ประเสริฐ เคร่งเปี่ยม และสุชาติ วิจิตรานนท์. 2540. ผลการใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* ที่มีต่อเชื้อรา *Phytophthora parasitica* เชื้อสาเหตุโรคเน่าของพริกไทย. **วารสารโรคพืช** 12:13-25.

สุภาพร อวรัญ, จิระเดช แจ่มสว่าง, อำไพวรรณ กรดร์นุวัฒน์ และรวี เสรฐภักดี. 2537. การใช้ส่วนผสมของเชื้อราในการควบคุมโรครากและโคนเน่าของต้นกล้าทุเรียนซึ่งเกิดจากเชื้อราฟัยทอฟทอรา พัลมิวอรา ใน **การประชุมทางวิชาการของวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 32** สาขาพืชวันที่ 3-5 กุมภาพันธ์ ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาตร์ กรุงเทพฯ หน้า 162-179.

อรพรรณ วิเศษสังข์, จุพล สาระนาค, คนึงนุช พิมพ์อุบล, วิชิต จรัสเจษฎา และลัษณา วรรณกีร์. 2525. การใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* และสาร PCNB ในการป้องกันกำจัดโรคเน่าจากเชื้อ *Sclerotium rolfsii* พบพืชตระกูลมะเขือ. **รายงานผลการวิจัยสาขาโรคพืชผักและไม้ประดับ**. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

อรสา ดิสถาพร, ธงชัย สถาพรวรศักดิ์, จิราภา จอมไธสง, อภนันน์ สุขกาย และวิเชียร ภิรมย์สุภาพ. 2540. การปลูกมะเขือเทศ. กรมส่งเสริมการเกษตร. 25 หน้า.

อาภัสสรา ชมิดท์. 2537. **เทคนิคอิเล็คโทรโฟรีซิส**. คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 85 หน้า.

Abdel Rahman, T.M.A. 1992. Effect of the fungicide benomyl on cell wall degration by some fungi. **Zetralblatt fur Mikrobiologie**. 147(5):329-333.

Agrios, N. G. 1997. **Plant Pathology**. Academic Press, California, USA. 635 p.

Amemiya, Y., Kondo, A., Hirukawa, T., and Kato, T. 1994. Antifungal substances produced by *Chaetomium globosum*. **Technical Bulletin of Faculty of Hoticulture Chiba University** . 48:13-18.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Berlinger, M.J. 1986. **The tomato crop**. Chapman and Hall Ltd. 11 New Fetter Lane, London. 391-441.

Bjorkman, M.J., Blanchard, L.M. and Harman, G.E. 1998. Growth enhancement of shunken-2 (sh-2) sweet corn by *Trichoderma harzainum* 1295-22 : effect of environmental stress. **Journal of the American Society for Horticultural Science**. 123(1):35-40.

Blankeman, J.P. and Williamson, B. 1994. **Ecology of Plant pathogens**. CAB International, Guildford. 362 p.

Blancard, D. 1992. **A colour atlas of tomato diseases**. Wolfe Publishing Ltd. I.N.R.A. vegetable Pathology Unit 84140 Moffavet, France. 211 p.

Bourbos, V.A., Michalopoulos, G., Skaoudridakis, M.T., Albajes, R. and Carnero, A. 1997. Biological control against *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* on tomato in anon-heated greenhouse. Integrated control in protected crops Mediteranean climate. **Proceedings of meeting at tenerite**, Canary Islands 20(4):58-62.

Brewer, D. and Taylor, A. 1980. The production of toxic metabolites by *Chaetomium* spp. isolated from Soil of permanent pasture. **Ann. Rev. Plant Pathol**. 58:89.

Cal, A. De., Pas Cual, S., Larena, I. and Melgarejo, P. 1995. Biological control of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. **Plant Pathology** 44(5):909-917.

Calderon, A.A., Zapata. J.M. and Barcelo, A.R. 1994. Peroxidase mediated formation of reveratrol oxidation products during the hypersensitive like reaction of grapevine cells to an eliciter from *Trichoderma viride*. **Physiological and Molecular Plant Pathology** 44(4):289-299.

Chanhan, M. S., M.S., Yadav, J.P. and Gangopadhydy, S. 1988. Chemical control of soil-borne fungal pathogen complex of seedling cotton. **Tropical-Pest Management** 34(2):159-161.

Chang Mew, I. and Kommedahl, T. 1972. Biological control of seedling of corn by coating kernels with antagonistic micro-organisms. **Phytopathology** 77:1470.

Cullen, D. and Andrews, H. 1986. Evidence for the role of antibiosis in the antagonism of *Chaetomium globosum* to the apple scab pathogen, *Venturia inaequali*. **Ann. Rev. Plant Pathol**. 64:63.

Di-Pietro, A.D., Gut, R.M., Pachlatko, J.P., Schwinn, F.J. and Di, P.A. 1992. Role of antibiotics produced by *Chaetomium globosum* in biocontrol of *Pythium ultimum*, a causal agent of damping-off. **Phytopathology** 82(2):131-135.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Domsch, K.H. and Gams, W. 1980. **Compendium of soil fungi**. Academic Press, London Ltd. 859p.

Dwivedi, S.K., Ambasht, R.S. and Dwivedi, R.S. 1993. Toxicity of some antagonistic fungi on pathogenic fungi of two econimic crops. **National Academy Science Letters** 16(7-8):209-210.

Ebene, A.C., Erinle, I.D. and Wokocha, R.C. 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.

Ercole, D. N. and Nipoti, P. 1986. Biological control of *Fusarium* and *Verticillium* infection in tomatoes under protected cultivation. **Culture-Protect** 15(3):55-59.

Etebarian, H.R. 1992. Studies on Fusarium wilt of tomato and its chemical control in Varamin area. **Iranian Journal of Agricultural Sciences** 23(1):1-4.

Fekete, C., Weszely, T. and Hornok, L. 1997. Assignment of a PCR-amplified chitinase sequence cloned from *Trichoderma hamatum* chromosomes of potential biocontrol species of *Trichoderma*. **FEMS Microbilogy Letters** 145(3):385-391.

Fuchs, A., Homans, A.L. and Dries, F.W. 1970. Systemic activity of benomyl against Fusarium wilt of pea and tomato plants. **Phythol**. 69:330-343.

Fuchs, J.G., Hoenne-L.Y. and Defago, G. 1997. Nonpathogenic *Fusarium oxysporum* strain FO47 induces resistance to *Fusarium* wilt in tomato. **Plant Disease** 81:492-496.

Gamboa, B. S. 1985. Selection of methods of application for the chemical control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* (prill. Of Del.) Snyd. of hams with systemic fungicides. **Revista-de la- Faculted-de Agronomia** 61-62(1-2):195-198.

Garcia, M.F.I., Pietro, A.D., Roncero, M.I.G. and Pietro, A.D. 1997. Purification and characterization of novel exopolygalacturonase from *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. FEMS **Microbiology Letters** 154(1):37-43.

Gasztonyi, M., Joswpovits, G. and Vegh, A. 1986. Cross-resistance relationships between the benzimidazole fungicides, N-phenyl carbamates and other related compounds. **Pests and Disease** 2:547-554.

Gordon, L.G., Walther, D. and Gindrat, D. 1987. Use of antagonists for seed dressing:effectiveness and mode of action against pathogens of damping-off. **Bulletin –OEPP**. 17(4):631-637.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Gromovilh, T.I., Gukasian, V.M., Golvanova, T.I. and Shmarlovskaya, S.V. 1998. *Trichoderma harzianum* Rifai Aggr. As a factor enhancing tomato plants resistance to the root rotting pathogens. **Mikoloya Fitopatologiya** 32(2):73-78.

Handoo, M.L. and Aulakh, K.S. 1982. Control of seed-borne fungi of maize by coating seeds with antagonistic ones. **Ann. Rev. Plant Pathol.** 60:327.

Heye, C.C. and Andrews, J.H. 1983. Antagonism of *Ahtelia bombacina* and *Chaetomium globosum* to the apple scab pathogen, *Venturia inequalis*. **Phytopathology** 73:650-654.

Infantino, A., Porta-Puglia, A. and Singh, K.B. 1996. Screening wild *Cicer* species for resistance to Fusarium wilt. **Plant Disease** 80:42-44.

Jimenez-Diaz, R.M., Singh, K.B., Trapero-Cassas, A. and Trapero-Casas, J.L. 1991. Resistance in kabuli chickpeas to Fusarium wilt. **Plant Disease** 75:914-918.

Johnston, A. and Booth, D.M. 1983. **Plant Pathologists Pocketbook**. Commonweath Mycological Institute. 439 p.

Kapoor, I.J. and Kumar, B. 1989. Antagonism of *Azotobacter* and *Bacillus* to *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. **Indian Phytopath**. 42(3):400-404.

Kapoor, I.J. and Kumar, B. 1991a. Relative efficacy of systemic and non-systemic fungicides against *Fusarium oxysporum* and *Fusarium solani* effecting tomato. **Indian Phytopath**. 44(1):87-93.

Kapoor, I.J. and Kumar, B. 1991b. Temperature effects on the antagonistic activity of fungal and *Bacterial* antagonist isolates of *Fusarium oxysporum* and *Fusarium solani*. **Indian Phytopath.** 44(1):80-86.

Katan, T., Shlevin, E. and Katan, J. 1997. Sporulation fo *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* on stem surfaces of tomato plants and aerial dissemination of inoculum. **Phytopathology** 87:712-719.

Lafontaine, P.J. and Benhamou, N. 1996. Chitosan treatment and emerging strategy for enhancing resistance of greenhouse tomato to infection by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. **Biocontrol Sciences and Technology** 6(1):111-124.

Lainini, K., Perez Esponosa, A., Peneda, M. and Puiz rubio, M. 1996. Purification and characterization of tomatinase from *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. **Applied and Environmental Microbiology** 62(5):1604-1609.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lakin, R.P. and Fravel, D.R. 1998. Efficacy of various fungal and bacterial biocontrol organisms for Fusarium wilt of tomato. **Plant Disease** 82(9):1022-1028.

Langcake, P., Drysdale, R.B. and Smith, H. 1972. Post infectional production in resistance of tomato to *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. **Physiol. Plant Pathol.** 2:17-25.

Larena, I. And Melgarejo, P. 1996. Biological control of *Monilinia laxa* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* by alytic enzyme producing *Peniciilium purpurogenum*. **Biological control** 6(3):361-367.

Lovang, U. and Wildt Persson, T. 1998. The effect of aqueous extracts of *Melia azedach* and *Trichilia emetica* selected pathogens of tomato, bean and maize. **Botanical pesticides**. Minor Field Studies International office Swedish University of Agricultural Sciences. 52:23.

Mace, M.E., Veech, J.A. and Beckmen, C.H. 1972. Fusarium wilt of susceptible and resistant tomato isolines : Histochemistry of vascular browning. **Phytopathology** 62:651-654.

Menzies, J.G., Koch, C, and Seywerd, F. 1990. Additions to the host range of *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*. **Plant Disease** 74:569-572.

Migheli, Q., Aloi, C. and Fullino, M.L. 1988. Evaluation of the *in vitro* activity of diethofencarb phenyl carbamate against some pathogens sensitive or resistant to benzimidazoles. **Difesa-delle Piante** 11(1):3-12.

Mirkova, E. 1988. Resistance of *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* to some systemic fungicides. **Rasteniev'dni-Nuiki**. 25(8):60-64.

Monaco, C.L. 1991. Growth increase in plants induced by *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma konigii*. **Revista de la Facultad de Agronomia La Plata** 66-67:75-77.

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

Noronha, E.F. and Ulhoa, C.J. 1996. Purification and characterization of an endo-beta-1,3-glucanase from *Trichoderma harzianum*. **Canadian Journal of Microbiology** 42 (10):1039-1044.

Ondrej, M. 1988. New information in the protection of pea against a complex of soil pathogens. **Bullentin Vyzkumny a Slechtitesky Ustav Zelinarsky Olomouc** 32:99-107.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Padmodaya. B. and Reddy. H.R. 1996. Screening of *Trichoderma* spp. against *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* causing wilt in tomato. **Indian Journal of Mycology and Plant Pathology** 26(3):266-).

Patino, B. and Vazquez, C. 1997. The effect of different pectic growth substrates on beta-glucosidase in *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* : partial purification and characterization. **Microbiological** 20(3):241-246.

Pietro, A.D., Roncero, M.I.G. and Pietro, A.D. 1996. Purification and characterization of a pectate lyase from *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* produced on tomato vascular tissue. **Physiological and Molecular Plant Pathology** 49(3):177-185.

Pietro, A.D., Roncero, M.I.G. and Pietro, A.D. 1997. Purification and characterization of an exo-polygalacturonase the tomato vascular wilt pathogen *Fusarium oxysporum*f.sp. *lycopersici*. **FEMS Microbiolgy Letters** 145(2):295-299.

Price, D. 1982. Fungal flora of tomato root in nutrient film culture. **Ann. Rev. Plant Pathol.** 60:279.

Rattink, H. 1993. Biological control of Fusarium crown and root rot of tomato on a recirculation substrate system medlingen. **Univerditieit Gent.** 58(3B):1329-1336.

Sharma, H.K. and Gill, J.S. 1992. Prevalence of race in root knot nematode, *Meloidogye incognita* in India. **Indian Journal of Nematology** 22(1):43-49.

Singh, D., Dhiman. J.S. and Saimbhi, M.S. 1989. Chemical control of stemly-wilt complex of peas. **Tropical Pest Management** 35(2) : 176-179.

Sivan, A. and Chet, I. 1986. Possible mechanisms for control of *Fusarium* spp. by *Trichoderma harzianum* British crop protection conference. **Pests and Diseases** 2 :865-872.

Sivan, A. and Chet, I. 1993. Integrated control of Fusarium crown and root rot of tomato with *Trichoderma harzianum* in combination with methyl bromide or soil solarization. **Crop-protecttion** 12(5):380-386.

Sivan, A., Elade, Y. and Chet, I. 1986. Biological control effect of a new Isolate of *Trichoderma harzianum* on *Pythium aphanidermatum*. **Phytopatholgy** 74:498-501.

Sivan, A., Ucko, O. and Chet, I. 1987. Biological control of *Fusarium* crown rot of tomato by *Trichoderma harzianum* under field conditions. **Plant Disease** 71(7) : 587-592.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sodsa-art, P. and Soythong, K. 1999. Biological control of black pepper root rot and basal stem rot in the field. **5th International Conference on Plant Protection in the Tropics** 15-18 March 1999. Kuala Lumpur, Malaysia. 145-147.

Soytong, K., Jindawong, N. and Yang, Q. 1999. Evaluation of *Chaetomium* for biological control of Fusarium wilt of tomato in P.R. China. **5th International Conference on Plant Protection in the Tropics** 15-18 March 1999. Kuala Lumpur, Malaysia. 484-487.

Soythong, K. and Soythong, K. 1996. Chaetomium as a new broad-spectrum mycofungicide. **Biopesticides: toxicity, safety, development and proper use proceedings of the first International Symposium on Biopesticides.** Narasuan University, Phitsanulok, Thailand: October 27-31, 1996. 124-132.

Sozzi, D. and Gessler, C. 1980. Fungicide resistant mutants of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* and *Botrytris cinerea* : Pathogenicity and fitness. **Phytopathology** 97:19-24.

Sportelli, M. and Ercole, N.D. 1983. The biological control of certain fungal diseases of tomatoes grown in greenhouse. **Phytopathology (Italy)** 33(6):35-38.

Tamimi, K. M. and Hadwan, H. A. 1985. Biological effect of *Neurospora sitophila* and *Trichoderma harzianum* on the growth of a range of sesamum wilt causing fungi *in vitro*. **Indian Phytopathology** 38(2) : 292-296.

Venuto, B.C., Smith, R.R. and Grau, C.R. 1995. Virulence, legume host specificity and genetic relatedness of isolates of *Fusarium oxysporum* from red clover. **Plant Disease** 79:406-410.

Vidhyasekaran, P. 1988. **Physiology of Disease Resistance in Plants.** CRC Press, Inc., Boca Roton, Florida. 149 p.

Vinokurova, T.P. 1991. Trichodermin against disease in protected soil. **Zashchita Rastenii Moskva** 1:16.

Ximenes, F. de A., Siveira, F.Q. de P., Filho, E. X. F., Ximes,F. de A. and Silveira, F. Q. de P. 1996. Production of beta-xylosidase activity by *Trichoderma harzianum* strains. **Current Microbiology** 33(2):71-77.

Yamada, Y., Oishi, T., Mukai, K. and Kato, T. 1986. Protective actives agent Fusarium disease of phenylphosphinic acids and related compounds. **Journal of Pesticide Science** 11(4):627-629.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Yamaguchi, K.I., Fukui, K. and Tokahashi, M. 1998. Fungicide sensitivity of non-pathogenic *Fusarium oxysporum* isolate MT0062, a potential biocontrol agent and induction of benomyl resistant mutant. **Journal of Pesticide Science** 23(4):407-409.

Yano, A., Suzuki, K. and Shinshi, H. 1999. A signalling pathway, independent of the oxidative burst, that leads to hypersensitive cell death in cultured tobacco cells includes a serine protase **Plant Journal** 18 (1):105-109.

Yao, G., Znang, F. and Li, Z. 1994. Control of Bacterial wilt soil amendment. **Chinese Journal of Biological control** 10(3):106-109.

Yehia, A.H, Abdel-Kader, D.A., Abou-Zeid, M.L. and Awas, N.G. 1992. Pathophysiological studies of oxidative and wall degrading enzyme activities in tomato plants infected with *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* . **Egyptian Journal of Microbiology** 27(2):265-280.

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

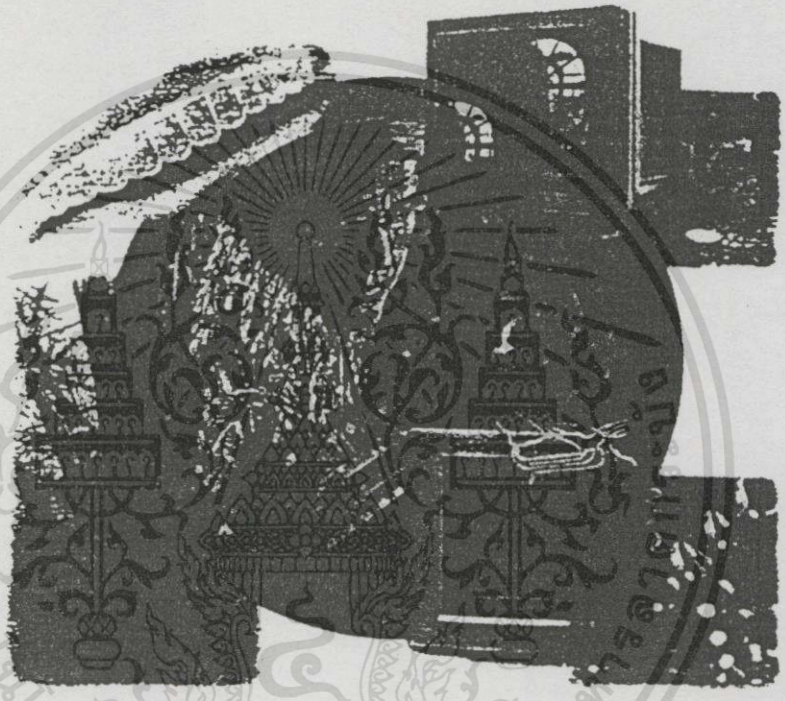
ประวัติผู้เขียน

นางสาวนพรัตน์ จินดาวงษ์ เกิดเมื่อวันที่ 11 กุมภาพันธ์ 2517 สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมจากโรงเรียนสตรีประเสริฐศิลป์ จ. ตราด และสำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช) คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ปีการศึกษา 2540 ปัจจุบันอยู่บ้านเลขที่ 45/1 หมู่ 5 ต. ห้วงน้ำขาว อ. เมือง จ. ตราด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

MAPPS
ifth International Conference 1999

Proceedings



PLANT PROTECTION IN THE TROPICS

Tropical plant protection in the information age

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5th International Conference on Plant Protection in the Tropics
15-18 March 1999, Kuala Lumpur, Malaysia.

Poster Paper

EVALUATION OF *CHAETOMIUM* FOR BIOLOGICAL CONTROL OF FUSARIUM WILT OF TOMATO IN P. R. CHINA

Kasem Soytong*, Nopparat Jindawong* and Yang Qian**
*Department of Plant Pest Management, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand, **Department of life Science and Engineering, Bioengineering Institute, Harbin Institute of Technology, Harbin 150001, P.R. China.

Summary: Ketomium® mycofungicides in pellet and powder formulations produced from *Chaetomium globosum (CG), Ch. cupreum (CC)* and *Ch. globosum+Ch. cupreum (CG+CC)* were developed and formulated in the P.R. China and evaluated for biological control of tomato wilt caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. lycopersici. Bi-culture test showed that the Ketomium® mycofungicides in pellet form of CG, CC and CG+CC could inhibit the mycelium growth of *F. oxysporum* f.sp. lycopersici in which the percent inhibition of radial growth were 84.61, 73.23 and 84.28, respectively. However, the powder form is as effective as the pellet form that could also inhibit mycelium growth of the tested pathogen. In pot experiment, it was showned that the Ketomium® mycofungicide both in pellet and powder forms could significantly reduce the tomato wilt at the application rate of 0.3, 0.5 and 1 g. It was concluded that the higher rate of application gave significantly better control of the disease than the lower rate of application. Moreover, It was observed that the Ketomium® mycofungicide treatments in both formulations gave better plant stands than the non-treated one. It was further noted that population of the pathogen reduced in Ketomium® mycofungicide treatments but increased in the control. It is concluded that the Ketomium® mycofungicide in both formulations produced in the P.R. China gave good results in controling tomato wilt cause by *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

Keyword: Ketomium® mycofungicides, *Chaetomium globosum* , *Chaetomium cupreum*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

INTRODUCTION

In Thailand, screening for biological control potential of *Chaetomium* species and strains, isolated from field soils, was first started in 1989. There were several reports indicating that specific strains of *Ch. cupreum* and *Ch. globosum* (3) could significantly reduce the pathogen inoculum and disease level in many economically important plant diseases e.g. rice blast caused by *Pyricularia oryzae* (1, 5), basal stem rot of corn and tomato and leaf spot of corn (4). It was also the first report of using *Ch. cupreum* to control *P. oryzae* (4), *F. oxysporum* f. sp. lycopersici (5, 6,7). Moreover, Soytong (8) stated that in many years of research work, several other strains of *Ch. cupreum* and *Ch. globosum* have been isolated and screened for their ability to control other economically important plant pathogens like *Phytophthora palmivora* (Root rot of Durian), *Phytophthora parasitica* (Root rot of Citrus) *Colletotrichum gloeosporioides* (Anthracnose),and could significantly reduced the growth of seed-borne pathogen of rice e.g. *Curcularia lunata, Drechslera oryzae, Fusarium moniliforme* and *P. oryzae* (4). *Ch. globosum* is reported to significantly suppress tomato wilt in Thailand caused by *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* and *Pseudomonas solanacerum*(2,3). It was also reported that *Ch.cupreum* could control tomato wilt in the fields (5). Formulation of the mycofungicide has gradually developed since 1992 and it has now been formulated into pellet and powder preparations. These biopellet and biopowder consisting of a mixture of 22 effective strains of *Ch. cupreum* and *Ch. globosum* were used.The effective strains of *Chaetomium* spp. have been formulated as biological products in the forms of pellet and powder (6) and effectively controlled many soil borne plant pathogens as a new broad spectrum mycofungicide (9). The objectives of these research

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5th International Conference on Plant Protection in the Tropics
15-18 March 1999, Kuala Lumpur, Malaysia.

were to study the Chinese plant pathogen, *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, and the growth of *Ch. globosum* and *Ch. cupreum* in the P.R.China, to evaluate the Ketomium-mycofungicides in the forms of pellet and powder developed and produced in the P. R. China and test for their efficacy to inhibit the Chinese isolate of *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* and reducing the disease incidence of tomato wilt in pot experiments, and to evaluate the shelf life or survival of Ketomium-mycofungicide.

MATERIALS AND METHODS

The pathogen, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* was isolated from disease plant parts and tested for pathogenicity in Gulin, Guangxi, P. R. China. The formulation of *Ch. cupreum* and *Ch.* globosum namely Ketomium® as a broad spectrum mycofungicide for Patent (Incl[3]. AO 1 N25/12; Thailand Patent No.6266; 22 February 1994 to 21 February 2014) contains the ascospores (propagules) approximately over 1.5 X 10^6 cfu/g were used throughout this research work. Ketomium® mycofungicide in pellet and powder forms was developed and produced with the standard method as previous reported (6),and registered in Guangxi province in P. R. China in 1998. Bi-culture antagonistic works were done in both formulation as in previous works (2). Two-factors factorial experiment in Randomized Complete Block Design with four replications was used. Treatment-combinations were mycofungicide and rate of application. Mycofungicides were used as follows: Ketomium® Powder and Ketomium® Pellet. Application rates were as follows:- 0.0, 0.3 0.5 and 1.0 g/plant. Soil medium consisted of soil:sand:compost at the ratio of 10:1:2 v/v and sterilized at 121 °C , 15 lbs/inch^2 for 40 min in Autoclave. The 150 g of sterilized soil medium was then put into each experimental pot and separately applied with either Ketomium® Powder or Ketomium® Pellet in each of the application rates. The inoculated pots with Ketomium® mycofungicides were then moistened and incubated at 20°C for 7 days before planting the 15-days old seedlings of tomato inoculated with 5-ml of inoculum concentration of 2.6 X 10^6 spore/ml. The experimental pots were moistened and maintained at 20°C, 12- hours of light period, 80 % relative humidity for 30 days. Soil plate technique was used to determine the population dynamic of the pathogen and Chaetomium (colony forming unit/g^{-1}.soil). Viable spore population was determined for both the pellet and powder forms by dilution plating assays at 25, 40, 55 and 70 days, after formulation and kept at 20°C. The standard method of testing is as described previously (9). The quality of Ketomium® mycofungicide must meet the standard of over 1.5 X 10^6 colony forming units/g of pellet or powder form.

Table 1. The reduction of disease level and disease severity index of tomato wilt after application of Ketomium® for 30 days in pot experiment.

Mycofungicide	Application rate	Disease level[1]	DSI[2]
Powder form	0.0 g	3.0 a[3]	100
	0.3 g	1.6 b	80
	0.5 g	0.4 b	40
	1.0 g	0.2 b	20
Pellet form	0.0 g	3.0 a	100
	0.3 g	1.8 b	90
	0.5 g	0.4 b	40
	1.0 g.	0.2 b	20

[1]Disease levels:- 1 = healthy seedlings, 2 = 1-30 % wilting of twig and yellowing leaves, 3 = 31-60 % wilting of yellowing leaves and 4 = over 61 % of wilting, yellowing leaves and died. [2]Disease Severity Index (DSI) was calculated as follows:- number of wilting plants X averaged disease level / total number of tested plants X highest disease level X 100.[3]Average of four replications. Means with the same letter in a column are not significantly different.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5th International Conference on Plant Protection in the Tropics
15-18 March 1999, Kuala Lumpur, Malaysia.

Poster Paper

RESULTS AND DISCUSSIONS

F. oxysporum f. sp. lycopersici caused damage to tomato plants grown in highland condition in Thailand (6) and also seriously destroyed the plants in Guilin, P.R. China. The Chinese plant pathogen, *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, was isolated and tested for pathogenicity to tomato seedlings. The growth of *Ch. globosum* and *Ch. cupreum in* PDA, pH 6.5 incubated at 20-25°C is the optimum condition for growing the cultures. The fruiting structures are produced within 45 days in P.R. China. Similar results are shown in Thailand (1). The evaluation of Ketomium® mycofungicide in the forms of pellet and powder for inhibition of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Chinese isolate) using Bi-culture antagonistic tests showed that Ketomium® in pellet formulations as follows: CG-pellet, CC-pellet and Ketomium® pellet significantly inhibited the colony and inoculum production of pathogen on bi-culture antagonistic plates as effective as Ketomium® in powder formulations:- CG-powder, CC-powder and Ketomium® powder. It was observed that all formulations had significantly inhibited the colony and reduced the inoculum of the pathogen with similar results in Thailand (5). The inhibition pattern showed that *Chaetomium* spp. had their hyphae just in front of the pathogen hyphae. The hyphae of pathogen were deformed that affected by the substances released from the *Chaetomium* hyphae (9).

The evaluation of Ketomium® mycofungicides in the forms of pellet and powder showed clearly that all formulations could significantly reduce the incidence of tomato wilt caused by *F. oxysporum* f. sp. lycopersici (Chinese isolate) in pot experiments (Table 1). These research was conducted in Guilin, Guangxi Province, P.R. China which differ in climate (ca. Temp. 20-25°C) from Thailand, but similar results were reported from tropical climate conditions in Thailand. This study was also similar to previous experiments for evaluating the Ketomium® mycofungicide done in Thailand (9), which indicated that Ketomium® mycofungicide in the forms of biopellet and biopowder applied to Fusarium-infested field soil, planted with tomato, could suppress both pathogen and disease incidence. Their study showed that the disease incidence of tomato treated with biopellets was significantly lower in the non-treated ones. It was observed in this study that all formulations of Ketomium® mycofungicide treated-plants have greater plant stands, higher fresh and dry weight of shoots and roots than the tomato plants from non-treated plantings. Although the experiments were conducted in difference ecological climates the results were Similar. Moreover, it was also found that field evaluation for the ability of formulations to control *Fusarium* wilt of tomato (F. oxysporum f. sp. lycopersici). The test for shelf life or survival of Ketomium® mycofungicide developed and formulated in P.R. China in the forms of pellet and powder were proved that this biological products could meet the quality standard required in Thailand. Ketomium®mycofungicide formulated from the mixture of 22 effective strains of *Ch. globosum* and *Ch. cupreum* gave same quality as in Thailand. As it revealed that the standard of Ketomium®mycofungicide produced in Thailand contains the ascospores (propagules) 1.5×10^6 cfu/g according to the registration of biological products at Department of Agriculture in Thailand (9). In this study, testing for the shelf life and its standard quality of Ketomium®produced in P.R. China surpassed standard in Thailand in which the average ascospores (propagules) of 143.21×10^6 cfu/g and the survival of the Ketomium® averaged 89.43 % after storage for 70 days. However, Soytong and Soytong (1997) stated that better shelf life of Ketomium®in biopellet (77%) compared with that the biopowder formulation (57%) was noted after storage for one year in Thailand.

REFERENCES

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5th International Conference on Plant Protection in the Tropics
15-18 March 1999, Kuala Lumpur, Malaysia.

1. Soytong, K. and T.H. Quimio. 1989. Kasetsart J.(Nat. Sci.)23:198-203.
2. Soytong, K. 1990. Proc. of the International Conference on Biotechnology and Environmental Science. Chulabhorn Research Institute.Thailand.
3. Soytong, K. 1991. Proc. of the XII International Plant Protection Congress. Rio de Janeiro, Brazil.
4. Soytong, K. 1992. Proc. of the International Conference on Biological Control in Tropical Agriculture. Malaysia.p. 135.
5. Soytong, K. 1992. Songklanakarin J. Sci. Technol.(14):60-65.
6. Soytong, K. 1993. Proc. of the 6th International Congress of Plant Pathology. Canada. p. 273.
7. Soytong, K. 1995. Proc. of the XIII International Plant Protection Congress, the Haque, The Netherland.
8. Soytong, K. 1995. Proc. of the XIII International Plant Protection Congress, The Hague-The Netherlands.
9. Soytong, Kasem and Soytong, Kobboon. 1997. Proc. of the first International Symposium on Biopesticides. FAO-Thailand, p.124—132.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้