

ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ต่อการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum* sp.
สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของผลพริก ในสภาพห้องปฏิบัติการ
Antagonistic Activity of *Trichoderma* spp. for Controlling *Colletotrichum* sp.
Causing Chili Fruit Anthracnose *in vitro*

กรกนก สมบูรณ์พันธ์¹ พรประพา คงตระกูล² และ ถนิมนันต์ เจนอักษร¹
Kornkanok Somboonpun¹, Pomprapa Kongtragoul² and Tanimnun Jaenaksom¹

Abstract

Antagonist activities of three isolates of *Trichoderma* spp. were evaluated *in vitro* against *Colletotrichum* sp., a causal agent of chili fruit anthracnose. Based on dual culture test, all tested isolates of *Trichoderma* spp. namely TH 114-G, TH02 and T 525-1 showed an antagonistic potential against *Colletotrichum* sp. about 57.7%, 51.3% and 39.7%, respectively when compared to the only pathogen after inoculation for 7 days. Competition and exploitation were found as the main antagonistic mechanisms. Regard to slide culture test, all tested isolates of *Trichoderma* spp. could penetrate into hyphae of *Colletotrichum* sp.

Keywords: Antagonist, anthracnose disease, chili

บทคัดย่อ

ประเมินประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 3 ไอโซเลท เพื่อเป็นเชื้อต่อต้านเชื้อรา *Colletotrichum* sp. สาเหตุโรคแอนแทรกโนสของผลพริก ในสภาพห้องปฏิบัติการ จากการศึกษาโดยวิธี dual culture พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท TH 114-G, TH02, และ T525-1 มีประสิทธิภาพเป็นเชื้อต่อต้าน โดยยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ได้ 57.7%, 51.3% และ 39.7% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ทำกรปลูกเชื้อราสาเหตุโรคเพียงอย่างเดียวเป็นเวลา 7 วัน โดยแสดงกลไกต่อต้านที่สำคัญ คือ การแข่งขัน (competition) และการเข้าทำลาย (exploitation) และจากการศึกษาโดยวิธี slide culture พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทุกไอโซเลท สามารถแทงผ่านเข้าไปในเส้นใยของเชื้อรา *Colletotrichum* sp.

คำสำคัญ: เชื้อต่อต้าน, โรคแอนแทรกโนส, พริก

คำนำ

พริกมีความสำคัญทั้งภาคอุตสาหกรรมและครัวเรือน แต่ผลผลิตพริกยังไม่เพียงพอต่อความต้องการ เนื่องจากมีข้อจำกัดหลายประการที่ก่อความเสียหาย รวมทั้งปัญหาเรื่องมาตรฐานความปลอดภัยเนื่องจากสารพิษตกค้างจากการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยเฉพาะปัญหาด้านโรคก่อความเสียหายแก่ผลพริกทั้งเชิงปริมาณและคุณภาพ เช่น โรคแอนแทรกโนส (anthracnose) ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* และ *C. capsici* (Pakdeevaporn *et al.*, 2005) สามารถก่อให้เกิดความเสียหายทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวผลพริก เชื้อราชนิดนี้เมื่ออุณหภูมิและความชื้นเหมาะสมจะสร้าง acervulus บนแผล ให้กำเนิดสปอร์ของเชื้อราจำนวนมากและแพร่กระจายไปยังผลพริกอื่น ๆ อย่างรวดเร็วจากปัญหาดังกล่าวเกษตรกรนิยมใช้สารเคมีซึ่งทำให้เกิดสารพิษตกค้างทั้งในผลพริกและสภาพแวดล้อม ส่งผลเสียต่อผู้ผลิตและผู้บริโภค รวมถึงสิ่งมีชีวิตต่างๆ จากปัญหาดังกล่าว จึงมีการศึกษาการควบคุมโรคดังกล่าวโดยชีววิธี (biological control) เพื่อเป็นทางเลือกหนึ่งของการป้องกันกำจัดเชื้อสาเหตุโรคให้มีความปลอดภัย โดยคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonistic microorganism) จากธรรมชาติเพื่อทดสอบประสิทธิภาพต่อการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช เช่น เชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่สามารถพบได้ทั่วไปในดิน เศษซากพืชซากสัตว์ และบริเวณรากพืช และสามารถควบคุมโรคเชื้อสาเหตุโรคพืชโดยมีกลไกการทำงาน คือ การสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiotics), การแก่งแย่งแข่งขัน (competition), การเป็นปรสิต (mycoparasitism or

¹ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ

²Department of Plant Production Technology, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok

³หลักสูตรพืชสวน ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร

⁴Horticultural Program, Department of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Prince of Chumphon Campus, Chumphon

exploitation) รวมทั้งสามารถชักนำให้พืชสร้างภูมิคุ้มกัน (induced resistance) และ/หรือ กระตุ้นให้พืชสร้างสารเร่งการเจริญเติบโต (plant growth regulators) (จิระเดช, 2547; สายทอง, 2555) ดังรายงานของ จิรัชสา (2547) ที่กล่าวว่า *Trichoderma harzianum* (CB-Pin-01) เมื่อฉีดพ่นโดยใช้เป็นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราจำนวน 4 ครั้งต่อสัปดาห์ในสภาพแปลง พบว่าสามารถช่วยลดการเกิดโรคแอนแทรกคโนสบนผลพริกที่เกิดจากเชื้อรา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ได้ดีเทียบเท่ากับการใช้สารเคมี benomyl ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 3 สายพันธุ์ เพื่อควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum* sp. สาเหตุโรคแอนแทรกคโนสบนผลพริกในสภาพห้องปฏิบัติการ เพื่อศึกษากลไกการยับยั้ง และเพื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในระดับแปลงปลูกต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการแยกเชื้อราสาเหตุ *Colletotrichum* spp. จากตัวอย่างผลพริกที่แสดงอาการของโรคแอนแทรกคโนสด้วยวิธี Tissue transplanting technique และคัดเลือกไอโซเลท C2 ที่แสดงเปอร์เซ็นต์ก่อโรคบนผลพริกรุนแรง 100% เพื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท TH 114-G, TH02, และ T525-1 โดยนำเชื้อราปฏิปักษ์ดังกล่าวมาจาก นายธิตติ ทองคำงาม นักศึกษาปริญญาเอก โรคพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สจล. กรุงเทพฯ เพื่อศึกษากลไกในการต่อต้านเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกคโนสของผลพริก โดยวิธี dual culture และวิธี slide culture โดยเลี้ยงเชื้อ *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท C2 และเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. แต่ละไอโซเลท บนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน แล้วใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะบริเวณขอบโคโลนี แล้วย้ายชิ้นส่วนของเชื้อราปฏิปักษ์แต่ละชนิดวางบนอาหาร PDA และย้ายชิ้นส่วนของเชื้อ *Colletotrichum* sp. วางด้านตรงข้ามกัน ทำการเลี้ยงเชื้อปฏิปักษ์ และ เชื้อ *Colletotrichum* sp. แยกจากกันบนอาหาร PDA เป็นชุดเปรียบเทียบ (Control) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง บันทึกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. เพื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโต

ผล

จากการทดลองพบว่า เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลท TH 114-G, TH02, และ T525-1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท C2 สายพันธุ์ที่ก่อโรครุนแรงบนผลพริก โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง ในวันที่ 3 คือ 11.1, 16.7 และ 8.3 เพิ่มขึ้นเป็น 50.7, 46.3 และ 44 ในวันที่ 5 ตามลำดับ และ ในวันที่ 7 พบว่า ไอโซเลท T114-G มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum* sp. สูงที่สุด คือ 57.7 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาเป็น ไอโซเลท TH02 คือ 51.3 เปอร์เซ็นต์ (Table 1, Figure 1) และจาก Figure 1 พบว่า เชื้อรา *Trichoderma* sp. ทั้ง 3 ไอโซเลท มีกลไกการแข่งขัน (competition) กับเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท C2 โดยสามารถเจริญคลุมทับเส้นใยของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. อย่างรวดเร็ว นอกจากนี้พบว่า เชื้อรา *Trichoderma* sp. ทั้ง 3 ไอโซเลท มีกลไกการเข้าทำลาย (exploitation) โดยการนำเส้นใยในบริเวณที่ทับกันทั้งสองฝ่ายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า เส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma* spp. แทรกเข้าไปในเส้นใยของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. (Figure 2)

Table 1 Antagonistic activity of 3 isolates *Trichoderma* spp. on *Colletotrichum* sp. causing chili fruit anthracnose by dual culture and slide culture test.

Treatment	Diameter of pathogen colony (cm)			Growth inhibition (%)			Antagonistic mechanisms
	3	5	7 days	3	5	7 days	
1. Control <i>Colletotrichum</i> sp.	3.6	6.7	7.8	0	0	0	-
2. <i>Trichoderma</i> spp. TH 114-G	-	-	-	0	0	0	-
3. <i>Trichoderma</i> spp. TH02	-	-	-	0	0	0	-
4. <i>Trichoderma</i> spp. T525-1	-	-	-	0	0	0	-
5. TH 114-G + <i>Colletotrichum</i> sp.	3.2	3.3	3.3	11.1	50.7	57.7	C+E
6. TH02 + <i>Colletotrichum</i> sp.	3.0	3.6	3.8	16.7	46.3	51.3	C+E
7. T525-1 + <i>Colletotrichum</i> sp.	3.3	3.7	4.7	8.3	44.8	39.7	C+E

C = competition, E = exploitation

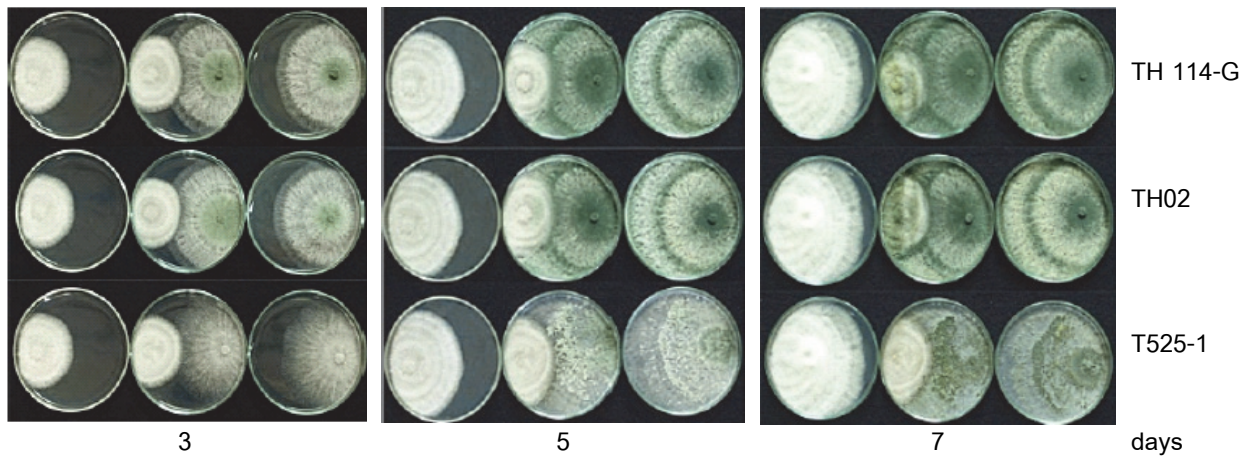


Figure 1 Effectiveness of 3 isolates *Trichoderma* sp. on *Colletotrichum* sp. causing chili fruit anthracnose by dual culture test after inoculation for 7 days

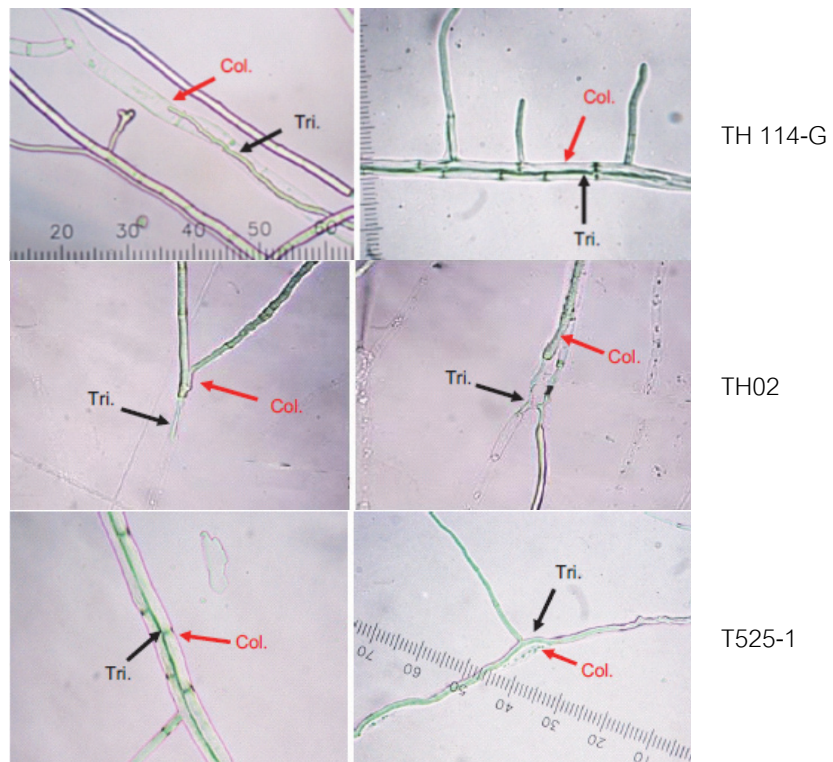


Figure 2 Effectiveness of 3 isolates *Trichoderma* sp. on *Colletotrichum* sp. causing chili fruit anthracnose by slide culture test after inoculation for 3 days

วิจารณ์ผล

ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* sp. 3 สายพันธุ์ ต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Colletotrichum* sp. บนอาหาร PDA พบว่า แสดงกลไกที่ชัดเจน 2 แบบ คือ การแข่งขัน (competition) และการเข้าทำลาย (exploitation) ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งประมาณ 39.7 ถึง 57.7 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับรายงานของ Meena *et al.* (2003) ที่พบว่าเชื้อรา *T. viride* และ *T. harzianum* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชโดยมีกลไกการแข่งขันกันครอบครองพื้นที่ และมีการสร้างสารระเหยปฏิชีวนะขึ้นมาในภายหลัง โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 50 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อนำมาศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบกลไกการเข้าทำลายของเชื้อ *Trichoderma* sp. เป็นแบบปรสิต (parasite) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Harman and Bjorkman (1998) ศึกษาประสิทธิภาพเชื้อรา *Trichoderma* sp. ในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ และเมื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า เส้นใยของเชื้อ

Trichoderma sp. จะเจริญเข้าพันรัดเกาะอยู่ที่ผนังเส้นใย และแทงเส้นใยเข้าไปภายในเส้นใยของเชื้อรา และยังสามารถคล้องกับรายงานของ Mishra and Behera (2011) ศึกษากลไกของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ต่อการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum falcatum* พบว่า เป็นปรสิตภายในเส้นใยของเชื้อโรค และการสร้างสารปฏิชีวนะซึ่งสังเกตได้จากเกิด clear zone ตลอดจนมีผลต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์และการสร้าง germ tube จากประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* sp. ดังกล่าว คณะผู้วิจัยจะนำไปทดสอบประสิทธิภาพในระดับแปลงปลูกต่อไป

สรุป

เชื้อรา *Trichoderma* sp. สายพันธุ์ T114-G, TH02 และ T525-1 แสดงกลไกการแข่งขัน (competition) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตทางเส้นใยของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. สายพันธุ์ C2 ที่รุนแรงต่อการก่อโรคแอนแทรคโนสบนผลพริก ที่ 57.7, 51.3 และ 39.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีกลไกการเข้าทำลาย (exploitation) โดยแทงผ่านเข้าไปภายในเส้นใยของเชื้อรา ก่อโรค เมื่อส่องใต้กล้องจุลทรรศน์

คำขอขอบคุณ

ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการโรคพืช ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ สำหรับเชื้อเพื่อสถานที่ และอุปกรณ์ในการทำงานวิจัย และสนับสนุนทุนวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- จิระเดช แจ่มสว่าง. 2547. การควบคุมโรคผักโดยชีววิธี. เอกสารประกอบการฝึกอบรม หลักสูตรการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีในการปลูกผักกระบบไม่ใช้ดิน และภายในโรงเรือน จัดโดย สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) (ชุดโครงการ-การจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสาน) และคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วันที่ 13 กุมภาพันธ์ 2547 ณ อาคารเจ้าคุณทหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร.
- จิรัชสา มีกลิ่นหอม. 2547. การคัดเลือกและการใช้จุลินทรีย์ที่แยกได้จากมิวไบพืชในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สายทอง แก้วฉาย. 2555. การใช้ไตรโคเดอร์มาในการควบคุม โรคพืช วารสารมหาวิทยาลัยราชภัฏวราชนครินทร์ 4(3): 108-123
- Harman, G.E. and T.C. Bjorkman. 1998. Potential and existing uses of *Trichoderma* and *Gliocladium* for plant disease control and plant growth. *Biological Control and Commercial Application* 21: 229-265.
- Meena, R.L., R.S. Rathore and K. Mathur. 2003. Efficacy of biocontrol agents against *Rhizoctonia solani* f. sp. *sasakii* causing banded leaf and sheath blight of maize. *Journal of Mycology and Pathology* 33: 310 – 312.
- Mishra, M.K. and B. Behera. 2011. Antagonistic effect of various bioagent against different isolates of *Colletotrichum falcatum* went causing red rot of sugarcane. *Journal Plant Protection Environment* 8(1): 71-77.
- Pakdeevaporn, P., S. Wasee, P.W.J. Taylor and O. Mongkolporn. 2005. Inheritance of resistance to anthracnose caused by *Colletotrichum capsici* in *Capsicum*. *Plant Breeding* 124: 206-208.