วารสารวิจัย มข. 14 (11) : พฤศจิกายน 2552

ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการชักนำให้ต้นมะเขือเทศต้านทานโรคทางใบ

Efficiency of *Trichoderma* spp. for induction of foliar disease resistance in tomato

วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์ (Weerasak Saksirirat) [1*]
ปุญญิศา ชารีรักษ์ (Punyisa Charirak) [2]
วรรณดี บัญญัติรัชต (Wandee Bunyatratchata) [3]

บทคัดย่อ

ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จำนวน 4 ไอโซเลต ที่แยกจากดินในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ T9 (*T. harzianum*), T13 (*T. asperellum*), T17 (*T. asperellum*) และ T18 (*T. asperellum*) ในการชักนำให้ต้นมะเขือเทศต้านทานต่อโรคทางใบของมะเขือเทศ ได้ศึกษาโดยเลี้ยงเชื้อบนเมล็ดข้าวฟ่างที่นึ่งฆ่าเชื้อและผสมลงในดินปลูกมะเขือเทศพันธุ์สีดา แล้วปลูกเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria (XCV)* สาเหตุโรคใบจุดของมะเขือเทศ หลังการย้ายปลูก 2 สัปดาห์ เพื่อทดสอบความต้านทานโรคใบจุดในสภาพเรือนทดลอง ผลการทดสอบพบว่าไอโซเลต T9 ชักนำให้ต้นมะเขือเทศต้านทานโรคใบจุดได้ดีที่สุด โดยลดจำนวนจุดแผลลดลง 69.32 % รองลงมาได้แก่ T13, T17 และ T18 สำหรับการทดสอบการชักนำให้ต้นมะเขือเทศต้านทานโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อรา *Stemphylium solani* นั้นไอโซเลต T18 สามารถลดจำนวนแผลจุดได้มากที่สุด จำนวนจุดแผลลดลง 19.23 % รองลงมาคือไอโซเลต T9 ส่วน T13 และ T17 ประสิทธิภาพไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.01$) ส่วนการชักนำให้ต้นมะเขือเทศต้านทานต่อโรคใบจุดเป้ากระสุนที่เกิดจากเชื้อรา *Corynespora cassiicola* นั้นไอโซเลต T18 มีประสิทธิภาพดีที่สุด จำนวนจุดแผลลดลง 11.00 % รองลงมาได้แก่ไอโซเลต T9 และ T13 ส่วน T17 นั้นไม่สามารถลดการเกิดโรคได้ การศึกษานี้ชี้ให้เห็นถึงการกระตุ้นความต้านทานโรคทางใบในมะเขือเทศด้วยการใช้เชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp.

Abstract

The efficiency of 4 isolates of *Trichoderma* spp. isolated from cultivated soil of the northeastern region, T9 (*T. harzianum*), T13 (*T. asperellum*), T17 (*T. asperellum*) and T18 (*T. asperellum*) on the folia disease resistance induction in tomato was studied. The fungi was cultivated on sterilized sorghum grains and mixed in soil (2 % w/w). Tomato plants were transplanted into pots for two weeks, and then inoculated with folia disease pathogens, *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria (XCV)*, *Stemphylium solani* and *Corynespora*

[1]*รองศาสตราจารย์ สาขาโรคพืชวิทยา ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร และศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรฯ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*
[2]*นักวิจัย สาขาโรคพืชวิทยา ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร และศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยร่วม (AG-BIO/PERDO - CHE) คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*
[3]*ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*
[*]*Corresponding author, e-mail: weerasak@kku.ac.th*

cassiicola. The number of leaf spot symptoms for each pathogen was evaluated. The results show that isolate T9 (*T. harzianum*) reduced bacterial spot numbers the most at 69.32 %. The T13, T17 and T18 expressed spot reduction in descending order. For Stemphylium leaf spot, the isolate T18 reduced leaf spot of 19.23 % more than isolate T9. However, T13 and T17 did not reduce spot numbers (P>0.01). The isolate T18 exhibited target spot reduction of 11.00 %. Isolates T9 and T13 followed and T17 was not able to induce target spot resistance in tomato. This present study suggests the induction of folia diseases of tomato by using the antagonistic fungus, *Trichoderma* spp.

คำสำคัญ: เชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp., กระตุ้นความต้านทาน, โรคทางใบ

Keywords: Folia disease, induced resistance, *Trichoderma* spp.

บทนำ

มะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum* Mill.) เป็นพืชผักที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ นอกจากมะเขือเทศจะปลูกเป็นอุตสาหกรรมเพื่อการบริโภคสดแล้ว ประเทศไทยยังมีการปลูกมะเขือเทศเพื่อการผลิตเมล็ดพันธุ์สำหรับส่งออกต่างประเทศ ซึ่งทำรายได้เป็นจำนวนมากให้กับเกษตรกรรายย่อยและทำรายได้รวมระดับประเทศมากกว่า 300 ล้านบาทต่อปี (Keawplung, 1999) อุปสรรคที่สำคัญประการหนึ่งที่มีต่ออุตสาหกรรมการผลิตมะเขือเทศ คือปัญหาโรคของมะเขือเทศ สำหรับโรคที่มักพบและเป็นปัญหาได้แก่โรคใบจุด ซึ่งมีสาเหตุทั้งจากเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย เช่น โรคใบจุด (bacterial leaf spot) ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (*XCV*) ซึ่งเป็นโรคที่ถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดพันธุ์และโรคใบจุดที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Stemphylium solani* และใบจุดเป้ากระสุนที่เกิดจากเชื้อรา *Corynespora cassiicola* ซึ่งมักเป็นปัญหาแก่เกษตรกรที่ปลูกมะเขือเทศทำให้ไม่ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพดีและปริมาณตามที่ต้องการ

เชื้อรา *Trichoderma* spp. เป็นเชื้อราที่มีการนำมาใช้ควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชกันอย่างแพร่หลายด้วยคุณสมบัติในการเป็นเชื้อปรสิตต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิด โดยเชื้อรา *Trichoderma* spp. มีความสามารถในการอยู่ร่วมกับรากพืชโดยการแทงเส้นใยเข้าไปเจริญในชั้น cortex ของรากพืชโดยไม่ก่อความเสียหายแก่พืช ซึ่งมีความสำคัญกับกลไกการชักนำให้พืชสร้างความต้านทานโรค (Koch et al., 1999) ทำให้พืชสร้าง เอนไซม์ บางชนิดเป็นปริมาณมากซึ่งสามารถต่อต้านเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ (Engelberth et al., 2003) โดยการสร้างสารส่งสัญญาณคือ salicylic acid (SA) และ jasmonic acid (JA) และถูกลำเลียงไปยังส่วนต่างๆ ของพืชและไปกระตุ้นการทำงานของ *R* gene (Wasternack et al., 2006) ซึ่งเกี่ยวข้องกับกลไกการป้องกันตัวต่างๆ ของพืช เช่น *PR* gene ซึ่งทำหน้าที่สังเคราะห์ pathogenesis-related protein (PR-protein) ซึ่งสามารถจำแนกได้หลายชนิด บางชนิดพบว่าเป็นเอนไซม์ chitinase และ β-1,3 glucanase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายผนังเส้นใยของเชื้อราได้ (Parker, 2000) รวมไปถึงการกระตุ้นให้เกิดการสร้างสาร secondary metabolite เช่น nicotine และสารจำพวก phenolic compound โดยพืชที่ถูกชักนำให้เกิดความต้านทานนี้สามารถต้านทานต่อเชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส ไส้เดือนฝอย รวมไปถึงแมลงด้วย (Jones and Takemoto, 2004) นอกจากนี้การเจริญของเชื้อรา *Trichoderma* spp บนรากพืช ยังส่งเสริมการเจริญเติบโตของรากและช่วยให้พืชดูดซึมแร่ธาตุอาหารได้ดีขึ้นอีกด้วย (Harman et al., 2004)

เชื้อรา *Trichoderma* spp. มีความหลากหลายในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ของมะเขือเทศในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพืชในดินหลายชนิด (Saksirirat et al., 2005)

เช่นควบคุมเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* เป็นต้น (สุวิตา 2549) แต่คุณสมบัติในการกระตุ้นความต้านทานโรคทางใบนั้นยังไม่มีการศึกษาในประเทศไทย วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้จึงเน้นถึงประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการชักนำให้ต้นมะเขือเทศต้านทานต่อโรคทางใบของมะเขือเทศ สำหรับเป็นแนวทางของการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีอีกแนวทางหนึ่ง

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการชักนำให้ต้นมะเขือเทศสร้างความต้านทานโรคใบจุด

วางแผนการทดลองโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) 5 กรรมวิธีๆ ละ 5 ซ้ำ ใช้เชื้อ 4ไอโซเลตเป็นกรรมวิธีและการไม่ใช้เชื้อเป็นกรรมวิธีควบคุม มะเขือเทศ 1 ต้นถือเป็น 1 ซ้ำ ทดสอบ 3 การทดลองใน 3 โรคทางใบได้แก่ โรคใบจุดแบคทีเรีย (bacterial spot) ใบจุด Stemphylium และใบจุดเป้ากระสุน เตรียมหัวเชื้อ *Trichoderma* spp. โดยเลี้ยงเชื้อ *Trichoderma* spp. ไอโซเลต T9, T13, T17 และ T18 บนอาหาร PDA ให้มีอายุ 5 วัน จากนั้นย้ายเส้นใยเชื้อไปเลี้ยงในเมล็ดข้าวฟ่างนึ่งสุกที่บรรจุถุงพลาสติกและผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (28 ± 5°C) เป็นเวลา 7วันเส้นใยจะเจริญเต็มถุงสามารถนำไปใช้เป็นหัวเชื้อได้ ผสมหัวเชื้อ *Trichoderma* spp. ที่เตรียมได้ลงในดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วที่จะใช้ปลูกต้นมะเขือเทศ กระถางละ 20 กรัม/ดิน 1000 กรัม ในกรรมวิธีควบคุมไม่ผสมหัวเชื้อ *Trichoderma* spp. จากนั้นย้ายต้นกล้ามะเขือเทศพันธุ์สีดาลงปลูกในกระถาง จากนั้น 2 สัปดาห์ปลูกเชื้อสาเหตุโรคคือเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (*XCV*)โดยใช้ไม้พันลำลีนึ่งฆ่าเชื้อจุ่มสารแขวนลอยแบคทีเรียที่มีความขุ่น (OD = 1.0) เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ทาลงบนด้านบนใบ(abaxial) ของมะเขือเทศทุกใบ หลังย้ายต้นกล้าลงกระถาง 14 วัน ส่วนการปลูกเชื้อรา *Stemphylium solani* และ เชื้อรา *Corynespora cassiicola* นั้นฉีดพ่นสารแขวนลอยสปอร์ความเข้มข้น 10^6 สปอร์/มล.ด้วยกระบอกฉีดพ่น (sprayer) ลงบนใบมะเขือเทศให้ทั่วหลังย้ายต้นกล้าลงกระถาง 14 วัน เมื่อปลูกเชื้อสาเหตุโรคแล้วใช้ถุงพลาสติกคลุมต้นมะเขือเทศไว้เพื่อรักษาความชื้นให้เหมาะกับการเกิดโรคเป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วเอาถุงพลาสติกออก ประเมินการเป็นโรคหลังปลูกเชื้อสาเหตุเป็นเวลา 7, 10 และ 14 วันโดยการนับจำนวนจุดเนื้อเยื่อตายที่เกิดขึ้นบนใบมะเขือเทศทุกใบ นำข้อมูลจำนวนจุดไปวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้โปรแกรมทางสถิติ Mstat เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของกรรมวิธีโดยใช้ Duncan's multiple range test (DMRT)

ผลการวิจัย

ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการชักนำให้ต้นมะเขือเทศสร้างความต้านทานโรคใบจุด

จากการทดสอบประสิทธิภาพในการชักนำความต้านทานโรคทางใบในสภาพโรงเรือนโดยคัดเลือกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลต T9 (*T. harzianum*), T13 (*T. asperellum*), T17 (*T. asperellum*) และ T18 (*T. asperellum*) มาผลิตเป็นหัวเชื้อและผสมลงในดินปลูกมะเขือเทศ ผลการทดลองพบว่าไอโซเลต T9 ชักนำให้ต้นมะเขือเทศต้านทานโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อ *XCV* สาเหตุโรคใบจุดของมะเขือเทศ ได้ดีที่สุด โดยลดจำนวนจุดเนื้อเยื่อตายบนใบมะเขือเทศได้ 69.32% รองลงมาคือ T13 ลดจำนวนจุดได้ 34.66% T17 ลดจำนวนจุดได้ 37.41% และ T18 ลดจำนวนจุดได้ 44.77% สำหรับการทดสอบการชักนำให้ต้นมะเขือเทศต้านทานโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อรา *Stemphylium solani* นั้นไอโซเลต T18 สามารถลดจำนวนแผลจุดได้ 19.23% รองลงมาคือไอโซเลต T9 ส่วน T13 และ T17 ประสิทธิภาพไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.01$) ซึ่งลดจำนวนจุดแผลได้ 7.52%, 3.8% และ 3.69% ตามลำดับ ส่วนการชักนำให้ต้นมะเขือเทศต้านทานต่อโรคใบจุด

เป้ากระสุนที่เกิดจากเชื้อรา *Corynespora cassiicola* นั้น ไอโซเลต T18 มีประสิทธิภาพดีที่สุด รองลงมาได้แก่ ไอโซเลต T9 และ T13 ที่สามารถจำนวนแผลจุดได้ 11%, 10.21%, และ 10.09% ตามลำดับ ส่วน T17 นั้น ไม่สามารถลดการเกิดโรคได้ (ตารางที่ 1 , 2 และ 3)

ตารางที่ 1. ความรุนแรงของโรคใบจุดหลังปลูกเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (XCV) ร่วมกับการปลูกเชื้อ และไม่ปลูกเชื้อ *Trichoderma* spp. ไอโซเลตต่างๆ

ไอโซเลต	จำนวนจุดเฉลี่ย/ต้น[1/]					
	7 dpi[2/]	การลดลงของโรค (%)	10 dpi	การลดลงของโรค (%)	14 dpi	การลดลงของโรค (%)
T9 (*T. harzianum*)	71.50 d	61.68	85.63 d	54.12	97.88 c	69.32
T13 (*T. asperellum*)	115.75 bc	37.97	139.88 bc	25.04	169.63 b	34.66
T17 (*T. asperellum*)	125.63 b	32.68	150.88 b	19.15	162.50 b	37.41
T18 (*T. asperellum*)	99.12 c	46.89	120.88 c	35.23	143.38 b	44.77
กรรมวิธีควบคุม	186.63 a	0	245.75 a	0	259.63 a	0
C.V. (%)	18.90		17.68		15.87	

[1] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (P > 0.01, DMRT)
[2] dpi = day post inoculation (นับจำนวนจุดที่เกิดขึ้นบนใบหลังจากปลูกเชื้อ XCV 7, 10 และ 14 วัน)

ตารางที่ 2. การประเมินความรุนแรงของโรคใบจุดหลังปลูกเชื้อรา *Stemphylium solani* ร่วมกับการปลูกเชื้อและไม่ปลูกเชื้อ *Trichoderma* spp.

ไอโซเลต	จำนวนจุดเฉลี่ย/ใบ[1/]			
	7 dpi[2/]	การลดลงของโรค (%)	10 dpi	การลดลงของโรค (%)
T9 (*T. harzianum*)	19.96 bc	16.69	23.12 b	7.52
T13 (*T. asperellum*)	20.78 ab	13.27	25.04 abc	3.8
T17 (*T. asperellum*)	21.69 abc	9.47	25.18 abc	3.69
T18 (*T. asperellum*)	18.23 c	23.91	21.36 c	19.23
กรรมวิธีควบคุม	23.96 a	0	26.07 a	0
C.V. (%)	21.1		17.03	

1 ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (P > 0.01, DMRT)
2 dpi = day post inoculation (นับจำนวนจุดที่เกิดขึ้นบนใบ7 และ 10 วัน หลังการปลูกเชื้อ Stemphylium solani)

ตารางที่ 3. การประเมินความรุนแรงของโรคใบจุดหลังปลูกเชื้อรา *Corynespora cassiicola* ร่วมกับการปลูกเชื้อ และไม่ปลูกเชื้อ *Trichoderma* spp.

ไอโซเลต	จำนวนจุดเฉลี่ย/ใบ[1/]			
	7 dpi[2/]	การลดลงของโรค (%)	10 dpi	การลดลงของโรค (%)
T9 (*T. harzianum*)	88.76 ab	8.43	87.89 ab	10.21
T13 (*T. asperellum*)	86.04 bcd	11.24	88.01 ab	10.09
T17 (*T. asperellum*)	97.36 a	0	97.99 a	0
T18 (*T. asperellum*)	86.65 bc	10.61	87.12 abc	11.00
กรรมวิธีควบคุม	96.94 a	0	97.89 a	0
C.V. (%)	31.12		29.41	

[1] *ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (P > 0.05, DMRT)*
[2] *dpi = day post inoculation (นับจำนวนจุดที่เกิดขึ้นบนใบหลังการปลูกเชื้อ 5 และ 7 วัน)*

สรุปและวิจารณ์

เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลตต่างๆ ที่นำมาทดสอบในครั้งนี้พบว่าไอโซเลต T9 (*T. harzianum*) สามารถชักนำให้ต้นมะเขือเทศต้านทานโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อ *XCV* สาเหตุโรคใบจุดของมะเขือเทศได้ดีที่สุด โดยลดจำนวนจุดเนื้อเยื่อตายบนใบมะเขือเทศได้ 62.30% ส่วนไอโซเลตอื่นลดจำนวนจุดแผลลงได้ ในช่วงระหว่าง 34.41-44.78% สำหรับการทดสอบการชักนำให้ต้นมะเขือเทศต้านทานโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อรา *Stemphylium solani* นั้นไอโซเลต T18 (*T. asperellum*) สามารถลดจำนวนจุดแผลได้ 19.23% ไอโซเลตอื่นๆลดจำนวนจุดแผลได้ในช่วงระหว่าง 3.69-7.52 % ส่วนในโรคใบจุดเป้ากระสุนที่เกิดจากเชื้อรา *Corynespora cassiicola* นั้นไอโซเลต T18 มีประสิทธิภาพดีที่สุดโดยลดจำนวนจุดแผลได้ 11% ไอโซเลตอื่นๆ ลดจำนวนแผลได้ 10.09-10.21 % โดยธรรมชาติของเชื้อรา *Trichoderma* spp. นั้นเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีคุณสมบัติ ในการควบคุมโรคพืชในดินได้หลายชนิด ซึ่งนอกจากจะมีปฏิสัมพันธ์กับเชื้อสาเหตุโรคพืชในเชิงปฏิปักษ์แล้ว ยังมีรายงานถึงการกระตุ้นความต้านทานโรคพืชได้ในพืชหลายชนิด (Harman et al., 2004) นอกจากนี้ เชื้อรา *Trichoderma* spp. ในบางสายพันธุ์เมื่อปลูกเชื้อลงไปในดินจะอาศัยเพียงบริเวณรอบๆ รากพืช บางสายพันธุ์อาจเข้าไปอยู่ร่วมกับรากพืชโดยการแทงเส้นใยเข้าไปในชั้นเซลล์ epidermis ชั้นที่ 1 หรือ 2 เท่านั้น และบางสายพันธุ์เป็นเชื้อ endophyte เข้าไปอาศัยในท่อลำเลียงน้ำของพืชโดยไม่ก่อความเสียหายแก่พืช ซึ่งมีความสำคัญกับกลไกการชักนำให้พืชสร้างความต้านทานโรค โดยจะมีผลมากกับการชักนำพืช การที่เชื้อ *Trichoderma* spp. อาศัยและมีปฏิสัมพันธ์กับพืชอย่างใกล้ชิดทำให้เกิดการสร้างสารส่งสัญญาณ คือ ทำให้พืชเกิดความต้านทานและเกิดอย่างต่อเนื่องตลอดเวลาที่เชื้ออาศัยอยู่กับพืช (Hurtado, 2004, Jones and Takemoto, 2004) ดังนั้นผลการศึกษานี้ที่ต้นมะเขือเทศที่ได้รับการปลูกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้ง 4 ไอโซเลต สามารถต้านทานต่อโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อ *XCV* ได้ดีนั้น อาจเนื่องมาจาก การที่พืชสร้างสารเคมีหรือเอนไซม์ชนิดต่างๆ ขึ้นมาเช่นสาร salicylic acid, jusmonic acid หรือสารอื่นเช่น phytoalexin ที่มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย หรือสาร protinase inhibitor เป็นต้น

(Van Loon and Van Strien, 1999) ซึ่งจะไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์จากแบคทีเรีย หรือแม้กระทั่งการสร้างผนังเซลล์ของพืชที่หนาและแข็งขึ้นสำหรับป้องกันการเข้าสู่เซลล์พืช นอกจากนี้ในการศึกษาของ Alfano และคณะ (2007) ได้พบว่าเชื้อรา *Trichoderma hamatum* 382 กระตุ้นให้ต้นมะเขือเทศมีการแสดงออกของยีนถึง 45 ยีนเปรียบเทียบกับการไม่ใช้เชื้อ *T. hamatum* 382 นี้ ยีนดังกล่าวเป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับการแสดงออกความเครียดซึ่งไปมีผลต่อกระบวนการแมแทโบลิซึมในมะเขือเทศ ส่วนการที่ต้นมะเขือเทศต้านทานต่อโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อรา *Stemphylium solani* และ *Corynespora casiicola* ได้นั้นอาจมีผลมาจากเอนไซม์ chitinase และ β-1,3-glucanase ที่ต้นมะเขือเทศถูกกระตุ้นให้สร้างขึ้นโดยเชื้อรา *Trichoderma* spp. ซึ่งผลการศึกษานี้ได้ผลที่คล้ายกับรายงานของ Yedidia และคณะ (2000) ที่พบว่าหลังปลูกเชื้อรา *Trichoderma* T-203 ให้กับต้นกล้าแตงกวาเป็นเวลา 72 ชั่วโมงแล้วตัดเอาเนื้อเยื่อบริเวณรากมาย้อมด้วยสารเรืองแสงที่มีส่วนผสมของ 4-MU-(GlNAc) ซึ่งเป็น substrate ของเอนไซม์ chitinase เมื่อนำเนื้อเยื่อนั้นไปตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน พบว่าเนื้อเยื่อที่ปลูกเชื้อรา *Trichoderma* มีกิจกรรมของเอนไซม์ chitinase ซึ่งเกิดขึ้นเช่นเดียวกับการใช้ 2,6-dichloroisonicotinic acid เป็นตัวชักนำ และไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์ในกรรมวิธีที่ไม่ได้ปลูกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ทั้งนี้เอนไซม์ chitinase และ β-1,3-glucanase นั้นเป็นเอนไซม์ย่อยสลายผนังของเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ (Saksirirat et al., 1991) ทำให้จุดแผลที่เกิดจากเชื้อราในมะเขือเทศนั้นลดลงได้ นอกจากนี้ยังเกี่ยงข้องกับการทำงานของ PR gene ซึ่งทำหน้าที่สังเคราะห์ pathogenesis-related protein (PR-protein) ซึ่งเป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการต้านทานโรคของพืชและมีหลายชนิด บางชนิดพบว่าเป็นเอนไซม์ย่อยสลาย chitinase และ β-1,3 glucanase ที่พืชสร้างขึ้นแล้วไปมีผลต่อการย่อยสลายผนังเส้นใยของเชื้อราได้ (Parker, 2000) การศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นถึงประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. ซึ่งมีรายงานว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวเหลืองที่เกิดจากเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ในมะเขือเทศ (สุวิตา, 2549)แล้ว ยังสามารถชักนำให้ต้นมะเขือเทศมีความต้านทานโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *XCV* และใบจุดที่เกิดจากเชื้อรา *Stemphylium solani* และ ใบจุดเป้ากระสุนที่เกิดจากเชื้อรา *Corynespora cassiicola* โดยสะท้อนถึงกลไกการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่นอกเหนือไปจาก การแก่งแย่งแข่งขัน (competition) การเป็นปรสิต (parasitism) การสร้างสารยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืช (antibiosis) แล้ว ยังมีกลไกของการกระตุ้นความต้านทานโรค (induce systemic resistance) อีกด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยขอนแก่นและสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ภายใต้โครงการทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ประจำปี 2549 และทุนอุดหนุนวิจัยประเภททั่วไป มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ได้สนับสนุนทุนวิจัย และขอขอบคุณศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรเพื่อเศรษฐกิจที่ยั่งยืน และศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยร่วม (AG - BIO/PERDO - CHE) มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่เอื้อเฟื้อการใช้เครื่องมือและห้องปฏิบัติการ

เอกสารอ้างอิง

สุวิตา แสไพศาล. 2549. **เอนไซม์ย่อยสลายความสัมพันธ์ ทางพันธุกรรมของลำดับนิวคลีโอไทด์ ในส่วน ITS1-5.8S-ITS2 ของ rDNA และการโคลนยีนไคติเนสของเชื้อรา *Trichoderma*** spp. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืช วิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Alfano, G., M.L.L. Ivey, C. Cakir, J. Bos, I.B. Miller, S.A. Madden, S. Kamoun, and H.A.J.

Hoitink. 2007. Systemic modulation of gene expression in tomato by *Trichoderma hamatum* 382. **Phytopathology** 97: 429-437.

Engelberth, J., E.A. Schmelz, H.T. Alborn, Y.J. Cardoza, J. Huang, and J.H. Tumlinson. 2003. Simultaneous quantification of jasmonic acid and salicylic acid in plants by vapor-phase extraction and gas chromatography-chemical ionization-mass spectrometry. **Anal. Biochem.** 312: 242-250.

Harman G.E., C.R. Howell, A. Viterbo, I. Chet, and M. Lorito. 2004. *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbions. **Microbiology** 2: 43-56.

Hurtado, O. 2004. **Study and manipulation of the salicylic acid-dependent defense pathway in plants parasitized by *Orobanche aegyptiaca* Pers.** Master of Sciences Thesis, Plant Physiology, Virginia Polytechnic Institute and State University, USA.

Jones, D.A. and D. Takemoto. 2004. Plant innate immunity-direct and indirect recognition of general and specific pathogen-associated molecules. **Curr. Opin. Inmu.** 16:48-62.

Koch, T., T. Krumm, V. Jung, J. Engellbelbrth and W. Boland. 1999. Differential induction of plant volatile biosynthesis in the lima bean by early and late intermediates of the octadecanoid-signalling path way. **Plant Physiol.** 107:153-162.

Parker, E.J. 2000. **Signalling in plant disease resistance.** Pp. 198-217 in: Dickinson M. and Beynon J. (ed). Molecular plant pathology. Sheffield Academic Press, Sheffield, U.K.

Saksirirat, W. and H.H. Hoppe. 1991. Secretion of extracellular enzyme by *Verticillium psalliotae* Treschow and *Verticillium lecanii* (Zimm,) Viegas during growth on uredospore of the soybean rust fungus (*Phakopsora pachryrhizi* Syd). Inliquid cultures. **J. Phytopathol.** 131: 161-173.

Saksirirat, W., M. Chuebandit, P. Sirithorn, and N. Sanoamuang. 2005. **Species diversity of antagonistic fungus, *Trichoderma* spp. From seed production fields and its potential for control Fusarium wilt of tomato and cucurbits.** The 4th International Conference on Biopesticides. Feb.13-18, 2005. Imperial Maeping Hotel, Chiangmai, Thailand.

Van Loon, L.C. and E.A. Van Strien, 1999. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. **Physiol. Molec. Pl. Pathol.** 55: 85-97.

Wasternack C., I. Stenzel, B. Hause, G. Hause, C. Kutter, H. Maucher, J. Neumerkel, I. Feussner, and O. Miersch. 2006. The wound response in tomato - Role of jasmonic acid. **J. Pl. Physiol.** 163: 297-306.

Yedidia, I., N. Benhamou, Y. Kapulnik, and I. Chet. 2000. Induction and accumulation of PR proteins activity during early stage of root colonization by the mycoparasite *Trichoderma harzianum* strain T-203. **Plant Physiol. Biochem.** 38: 863-873.