

บทความวิจัย (Research Article)

คัดกรอง *Trichoderma* spp. ที่เป็นปฏิปักษ์ต่อ *Ganoderma orbiforme*
เชื้อราสาเหตุโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมัน

Antagonistic screening of *Trichoderma* spp. against *Ganoderma boninense*, a causal pathogen of basal stem rot disease in oil palm

ดวงฤทัย ศรีช่วย¹, ธัญชนก ไชยรินทร์^{1*}

¹ วิชาเอกการจัดการศัตรูพืช สาขาวิชานวัตกรรมการเกษตรและการจัดการ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90110

Duangruetai Srichuay¹, Thanunchanok Chairin^{1*}

¹Pest Management, Agricultural Innovation and Management Division, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, 90110

* Corresponding author

E-mail address: thanunchanok.c@psu.ac.th

Received: 16/07/2024; Revised: 10/09/2024; Accepted: 16/09/2024

คำสำคัญ	บทคัดย่อ
<i>Trichoderma</i> spp. <i>Ganoderma orbiforme</i> การคัดกรองเบื้องต้น การควบคุมด้วยชีววิธี	<i>Ganoderma orbiforme</i> เป็นเชื้อราสาเหตุโรคลำต้นเน่า (Basal stem rot) ของปาล์มน้ำมัน (<i>Elaeis guineensis</i>) ซึ่งเป็นหนึ่งในปัญหาร้ายแรงที่ส่งผลกระทบต่อกระบวนการผลิตพืชปาล์มที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ราชบัณฑิตยสถานได้คัดกรอง <i>Trichoderma</i> spp. จัดเป็นสารควบคุมโรคพืชทางชีวภาพที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม การศึกษานี้ได้คัดกรอง <i>Trichoderma</i> spp. จำนวน 8 ไอโซเลต ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย <i>G. orbiforme</i> K4/2 ด้วยวิธี dual culture โดยพบว่า <i>Trichoderma</i> spp. จำนวน 4 ไอโซเลต แสดงการยับยั้งมากกว่าร้อยละ 70 <i>Trichoderma</i> ไอโซเลต Z1-02 มีการยับยั้งสูงที่สุด (ร้อยละ 73.26) รองลงมาคือ ไอโซเลต T1-01 (ร้อยละ 72.22), ไอโซเลต SP1-01 (ร้อยละ 71.87) และ Z1-01 (ร้อยละ 71.87) ตามลำดับ เมื่อตรวจสอบการสร้างสารยับยั้งการเจริญของเชื้อราในน้ำกรองเลี้ยงเชื้อ <i>Trichoderma</i> spp. พบว่า <i>Trichoderma</i> ไอโซเลต SP1-01 และ Z1-02 สร้างเอนไซม์ในกลุ่มย่อยผนังเซลล์ของเชื้อราสาเหตุโรค คือ เอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนส โดยมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 0.0175 และ 0.0071 U/ml ตามลำดับ

KEYWORDS

Trichoderma spp.
Ganoderma orbiforme
 Primary screening
 Biocontrol

ABSTRACT

Ganoderma orbiforme is a fungus that causes basal stem rot disease in oil palms (*Elaeis guineensis*). It is one of the severe problems affecting economically important oil crops production. The antagonistic fungus, *Trichoderma* spp. is an environmentally friendly biological plant disease control microagent for controlling plant diseases. In this study, eight isolates of *Trichoderma* spp. were screened their ability to inhibit the mycelial growth of *G. orbiforme* K4/2 using the dual culture method. Four isolates demonstrated more than 70% inhibition, with *Trichoderma* sp. Z1-02 showing the highest percentage of inhibition (73.26%), followed by *Trichoderma* sp. T1-01 (72.22%), *Trichoderma* sp. SP1-01 (71.87%) and *Trichoderma* sp. Z1-01 (71.87%). Examining antifungal metabolites in culture filtrates revealed that *Trichoderma* spp. isolates SP1-01 and Z1-02 produced β -1,3- glucanase, one of the cell wall-degrading enzymes. The β -1,3- glucanase activities of isolates SP1-01 and Z1-02 were measured at 0.0175 U/ml and 0.0071 U/ml, respectively.

1. บทนำ

Ganoderma orbiforme (syn. *Ganoderma boiniense*) อยู่ในวงศ์ Ganodermataceae เป็นเชื้อราสาเหตุโรคลำต้นเน่า (Basal stem rot) ของปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis*) (Santiago et al., 2023) และพืชชนิดอื่น ๆ เช่น มะพร้าว หมากรูด และปาล์มเลื้อย (Anothai et al., 2023) ในประเทศแถบแอฟริกา ละตินอเมริกา และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ รวมถึงประเทศไทย มีการปลูกปาล์มน้ำมันกันอย่างแพร่หลาย สำหรับอาการของโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมัน ได้แก่ ใบเหี่ยว ใบเหลือง ยอดไม่คลี่ และปรากฏดอกเห็ดบนลำต้นส่วนล่าง แต่ลักษณะอาการของโรสดังกล่าวไม่ปรากฏเด่นชัดในระยะที่เป็นต้นกล้า (Samlikamnoed et al., 2023) *G. boninense* สามารถเข้าทำลายพืชอาศัยโดยการสร้างเอนไซม์ย่อยผนังเซลล์พืช ได้แก่ แลคเคส (laccase) ลิกนินเปอร์ออกซิเดส (lignin peroxidase) และแมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (manganese peroxidase)

Trichoderma spp. เป็นจุลินทรีย์ควบคุมทางชีวภาพ (Biological control agent) ที่ใช้ในการควบคุมโรคพืช ซึ่งเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (Kaewsalong et al., 2019) โดยสามารถยับยั้งเชื้อสาเหตุโรค ช่วยส่งเสริมการเจริญของพืช และชักนำให้พืชเกิดความต้านทาน (Pascale et al., 2017) มีรายงานว่า *Trichoderma* หลายสายพันธุ์ สามารถควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราได้ เช่น *T. asperellum* T76-14 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *G. boninense* บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ กระตุ้นการตอบสนองของต้นกล้าปาล์มน้ำมันโดยสร้างเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อรา และยับยั้งการแพร่กระจายของเชื้อ *G. boninense* ในเนื้อเยื่อพืชอาศัยและในดิน (Samlikamnoed et al., 2023) ในขณะที่ *T. asperelloides* PSU-P1 สามารถควบคุมเชื้อรา *Stagonosporopsis cucurbitacearum* ซึ่งเป็นสาเหตุโรคน้ำลายของลำต้นเมล่อน (Ruangwong et al., 2021) และ *T. virens* สามารถควบคุมเชื้อ *Phytophthora capsici* ซึ่งเป็นเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้ของพริกไทย (Tomah et al., 2020) นอกจากนี้ยังมีการนำ *T. longibrachiatum* T (SP)-20 มาใช้ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย *Sclerotium rolfsii* ซึ่งเป็นเชื้อราสาเหตุโรคโคนเน่าในถั่วลิสง (Ayyandurai et al., 2023) และพบว่า *T. harzianum* ITEM3636 สามารถยับยั้ง *Fusarium solani* RC386 ซึ่งเป็นเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าสีน้ำตาลของถั่วลิสง โดยการสร้างสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ที่เป็นเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ โคติเนส

(chitinase), เอ็น-อะซิติลกลูโคซามินิเดส (N-Acetyl- β -D-glucosaminidase; NAGase), โปรตีเอส (protease) และกลูคาเนส (glucanase) (Erazo et al., 2021) จากการศึกษาวิจัยที่ได้ยกตัวอย่างมาข้างต้น ล้วนมีการคัดกรอง *Trichoderma* เพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรค เพื่อนำไปต่อยอดในการผลิตเป็นสารควบคุมทางชีวภาพเชิงอุตสาหกรรมได้

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดกรองเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้จากดิน โดยตรวจสอบกลไกการเป็นปฏิปักษ์ของ *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *G. orbiforme* K4/2 ซึ่งเป็นสาเหตุโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมัน เพื่อนำไปสู่การพัฒนาต่อยอดเป็นชีวภัณฑ์ควบคุมโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันต่อไป

2. วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

2.1 เชื้อปฏิปักษ์และเชื้อสาเหตุโรคพืช

นำเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. ที่แยกได้จากดินจำนวน 8 ไอโซเลต ได้แก่ SP1-01, SP1-02, SP1-03, SP1-04, SP2-01, T1-01, Z1-01 และ Z1-02 และเชื้อราสาเหตุโรค *Ganoderma orbiforme* K4/2 จากคลังเก็บเชื้อ (Culture collection) ห้องปฏิบัติการโรคพืช สาขาวิชาวนวัฒนกรรมและการจัดการ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ มาเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) บ่มที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 และ 5 วัน ตามลำดับ โดยจะบ่ม *G. orbiforme* K4/2 ในที่มีด (Santiago et al., 2023) ก่อนนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

2.2 คัดกรองเชื้อปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค *Ganoderma orbiforme* K4/2 ด้วยวิธี dual culture

ตรวจสอบความสามารถของ *Trichoderma* spp. ต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *G. orbiforme* K4/2 ด้วยวิธี dual culture โดยเจาะขึ้นวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้อราปฏิปักษ์และเชื้อสาเหตุโรคด้วย cork borer ขนาด 5 มิลลิเมตร โดยวางขึ้นวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้อ *G. orbiforme* K4/2 ก่อนเป็นเวลา 3 วัน จากนั้นจึงวางขึ้นวุ้นที่มีเส้นใยของ *Trichoderma* spp. แต่ละไอโซเลตลงในทิศตรงกันข้าม สำหรับตัวอย่างชุดควบคุมวางเฉพาะขึ้นวุ้นที่มีเส้นใยเชื้อ *G. orbiforme* K4/2 เพียงอย่างเดียว จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน สังเกตการเจริญของเชื้อราปฏิปักษ์ และเชื้อราสาเหตุโรค วัดรัศมีของเส้นใยเชื้อราแล้วคำนวณร้อยละของการยับยั้งการเจริญ (Baiyee et al., 2019) ดังสมการ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) วิธีการละ 4 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Tukey's Multiple Comparison test ($P \leq 0.05$)

$$\text{Percentage Inhibition of Radial Growth (PIRG)} = [(R1 - R2)/R1] \times 100$$

R1 = รัศมีเฉลี่ยของโคโลนีราสาเหตุโรคที่เจริญบนอาหารชุดควบคุม

R2 = รัศมีเฉลี่ยของโคโลนีราสาเหตุโรคที่เจริญบนอาหารชุดทดสอบ

2.3 การเตรียมน้ำกรองเลี้ยงเชื้อปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp.

เลี้ยงเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* แต่ละไอโซเลตที่ได้จากการคัดเลือกในขั้นตอนแรก ในอาหารเหลว half potato dextrose broth (half PDB) (Onufrak et al., 2024) เพื่อกระตุ้นให้เชื้อสร้างสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิ โดยใช้ cork borer ขนาด 5 มิลลิเมตร เจาะขึ้นวุ้นที่มีเส้นใย *Trichoderma* อายุ 3 วัน ไอโซเลตละ 3 ขึ้น ใส่ลงในอาหารเหลวปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร บ่มบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน กรองเส้นใยเชื้อราออกจากอาหารเหลวด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 และ millipore syringe filter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร (Sartorius Stedim Biotech, Germany) จะได้น้ำกรองเลี้ยงเชื้อปฏิปักษ์ *Trichoderma* (ดัดแปลงจาก Boukaew et al., 2024)

2.4 การทดสอบการยับยั้งเชื้อรา (antifungal activity) ของน้ำกรองเลี้ยงเชื้อปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp.

ทดสอบความสามารถของน้ำกรองเลี้ยงเชื้อปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *G. orbiforme* K4/2 ด้วยวิธี gel diffusion (ดัดแปลงจาก Chirin and Petcharat, 2017) โดยใช้ cork borer ขนาด 5 มิลลิเมตร เจาะขึ้นวุ้นอาหาร PDA จำนวน 5 หลุม โดยให้แต่ละหลุมห่างจากขอบจานอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 เซนติเมตร แล้วนำขึ้นวุ้นที่มีเส้นใย

ของเชื้อ *G. orbiforme* K4/2 ซึ่งมีอายุ 5 วัน ไปวางตรงกลางอาหาร PDA นำไปบ่มในที่มืดอุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นหยดน้ำกรองเลี้ยงเชื้อของ *Trichoderma* spp. ไอโซเลต SP1-01, T1-01, Z1-01 และ Z1-02 ลงไปในหลุม ๆ ละ 40 ไมโครลิตร และหยดอาหารเหลว half PDB สำหรับตัวอย่างในชุดควบคุม จากนั้นบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ทำการทดลองจำนวน 4 ซ้ำ คำนวณค่าการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *G. orbiforme* K4/2 (Erazo et al., 2021) ดังสมการ

$$\text{การยับยั้งการเจริญของเส้นใย (ร้อยละ)} = [(C-T) / C] \times 100$$

C = รัศมีของเส้นใยเชื้อราในชุดควบคุม (วัดจากจุดศูนย์กลางจนถึงปลายเส้นใย)

T = รัศมีของเส้นใยของเชื้อรา (วัดจากจุดศูนย์กลางไปยังวงใส)

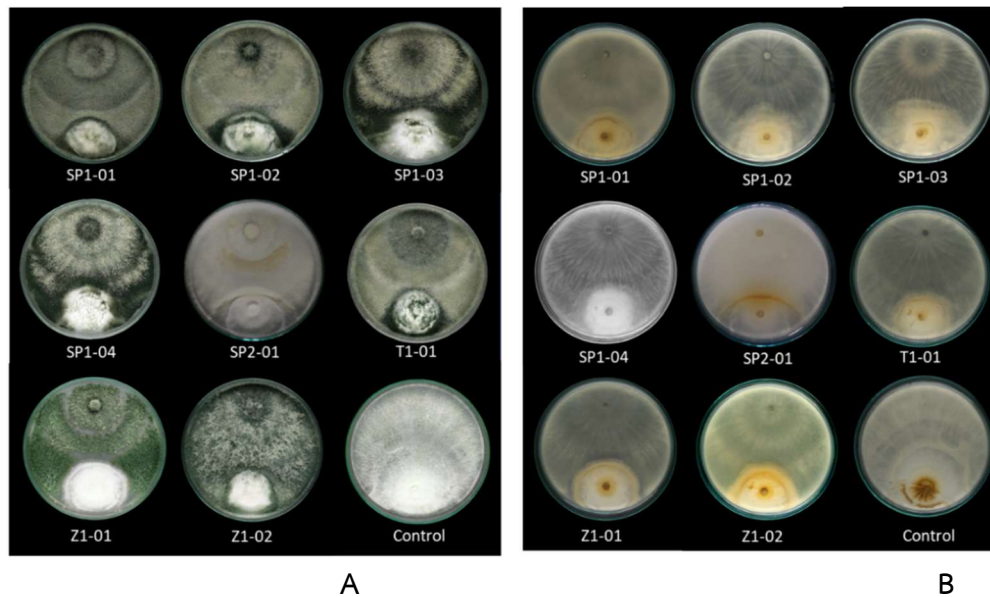
2.5 การตรวจสอบค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไคติเนส และเบตา-1,3-กลูคาเนส

วัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์ย่อยผนังเซลล์ (cell wall-degrading enzyme; CWDE) ได้แก่ ไคติเนส และเบตา-1,3-กลูคาเนส (β -1,3-glucanase) ด้วยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS) (ดัดแปลงจาก Miller, 1959) โดยใช้ colloidal chitin ร้อยละ 1 ใน potassium phosphate buffer (50 mM, pH 7) เป็น substrate solution สำหรับเอนไซม์ไคติเนส และใช้ laminarin ร้อยละ 1 ใน sodium acetate buffer (100 mM, pH 5.0) สำหรับเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนส โดยเติมกรองเลี้ยงเชื้อราปฏิปักษ์ที่ได้จากการทดลองข้างต้น และ substrate solution อย่างละ 250 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมสารละลาย DNS ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer จากนั้นหยุดปฏิกิริยาโดยการนำไปต้มในน้ำเดือด เป็นเวลา 10 นาที พักให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 575 และ 550 นาโนเมตร สำหรับเอนไซม์ไคติเนส และเบตา-1,3-กลูคาเนส ตามลำดับ โดยค่ากิจกรรมของเอนไซม์ ไคติเนส 1 ยูนิต (unit, U) เท่ากับปริมาณของเอนไซม์ที่สามารถย่อยไคตินได้เป็น N-Acetyl-D-glucosamine 1 ไมโครโมล ในเวลา 1 นาที ส่วนค่ากิจกรรมของเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนส 1 ยูนิต (unit, U) เท่ากับปริมาณของเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลาย laminarin เป็น glucose 1 ไมโครโมล ในเวลา 1 นาที

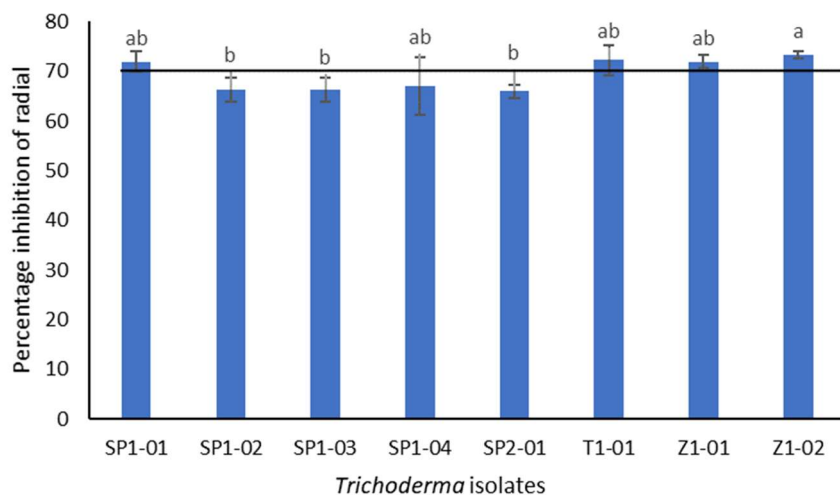
3. ผลการทดลอง

3.1 การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *Ganoderma orbiforme* K4/2 ด้วยเชื้อปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp.

จากการคัดกรองเชื้อปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *G. orbiforme* K4/2 ด้วยวิธี dual culture พบว่าเชื้อปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. มีการเจริญอย่างรวดเร็ว โดยแย่งอาหารและพื้นที่บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อควบคู่กับเชื้อ *G. orbiforme* K4/2 (ภาพที่ 1) โดยพบว่ามีเชื้อปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. จำนวน 4 ไอโซเลต ได้แก่ Z1-02, T1-01, SP1-01 และ Z1-01 ที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย *G. orbiforme* K4/2 ได้มากกว่าร้อยละ 70 โดยมีค่าร้อยละของการยับยั้งเท่ากับ 73.26, 72.22, 71.87 และ 71.87 ตามลำดับ (ภาพที่ 2) แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



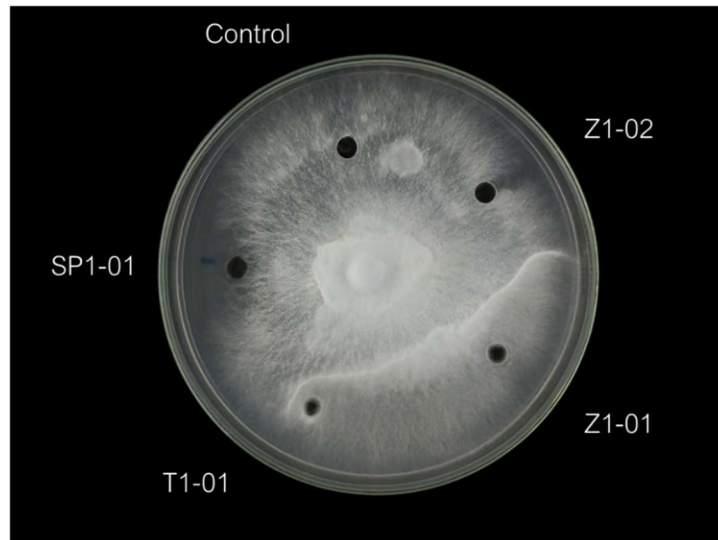
ภาพที่ 1 การยับยั้งการเจริญของเส้นใย *Ganoderma orbiforme* K4/2 ด้วยเชื้อปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. โดยวิธี dual culture หลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน โดยภาพ A: ภาพมุมมองบน และ ภาพ B: ภาพด้านล่างจานอาหารเลี้ยงเชื้อ



ภาพที่ 2 ร้อยละการยับยั้งการเจริญของเส้นใย *G. orbiforme* K4/2 ด้วยเชื้อปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. โดยวิธี dual culture ^{1/} ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $p < 0.05$ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Tukey's Multiple Comparison test

3.2 การยับยั้งเชื้อราของน้ำกรองเลี้ยงเชื้อปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp.

จากการทดสอบการสร้างสารยับยั้งเชื้อราในน้ำกรองเลี้ยงเชื้อ *Trichoderma* spp. จำนวน 4 ไอโซเลต ที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *G. orbiforme* K4/2 ที่มากกว่าร้อยละ 70 พบว่าเชื้อปฏิปักษ์ *Trichoderma* ไอโซเลต SP1-01 สามารถสร้างสารที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *G. orbiforme* K4/2 ได้ โดยพบบริเวณยับยั้งข้างหลุมที่หยดน้ำกรองเลี้ยงเชื้อปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. ของทั้งสองไอโซเลต (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 ผลการยับยั้งการเจริญของเส้นใย *G. orbiforme* K4/2 ด้วยน้ำกรองเลี้ยงเชื้อ *Trichoderma* spp. โดยวิธี gel diffusion หลังจากบ่มในที่มีด ที่อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

3.3 สร้างเอนไซม์ไคติเนส และเบตา-1,3-กลูคาเนส ของ *Trichoderma* spp.

เมื่อตรวจสอบค่ากิจกรรม CWDE ของเชื้อปฏิปักษ์ *Trichoderma* ไอโซเลต SP1-01 เปรียบเทียบกับ ไอโซเลต Z1-02 พบว่าเชื้อปฏิปักษ์ *Trichoderma* ทั้งสองไอโซเลตไม่สร้างเอนไซม์ไคติเนส แต่ *Trichoderma* ไอโซเลต SP1-01 สร้างเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนส โดยมีค่ากิจกรรมเท่ากับ 0.0175 มากกว่า *Trichoderma* ไอโซเลต Z1-02 ที่มีค่ากิจกรรมเท่ากับ 0.0071 ยูนิตต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ค่ากิจกรรมเอนไซม์ไคติเนสและเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนส ในน้ำกรองเลี้ยงเชื้อ *Trichoderma* spp.

<i>Trichoderma</i> isolates	Enzyme activity (U/ml) ^{1/}	
	Chitinase	Beta-1,3-glucanase
SP1-01	0.0000 $\pm$ 0.0000	0.0175 $\pm$ 0.0064
Z1-02	0.0000 $\pm$ 0.0000	0.0071 $\pm$ 0.0189

^{1/}ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

4. วิเคราะห์ผลการทดลอง

กลไกการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ส่วนใหญ่ที่พบ ได้แก่ การเป็นปรสิต การแข่งขันแย่งพื้นที่และอาหาร การทำลายชีวิต เช่น สร้างสารปฏิชีวนะ สร้างเอนไซม์ย่อยผนังเซลล์เชื้อสาเหตุโรค และการชักนำให้พืชเกิดความต้านทาน (Asad, 2022; Ayyandurai et al., 2023) งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่ใช้ทดสอบมีความสามารถในการแย่งพื้นที่อาศัยกับเชื้อ *G. orbiforme* K4/2 เมื่อทดสอบด้วยวิธี dual culture (ภาพที่ 1) ซึ่งเป็นกลไกการแก่งแย่งแข่งขัน (Competition) เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีกลไกดังกล่าวไม่เพียงแต่แก่งแย่งพื้นที่อาศัย แต่รวมถึงการแก่งแย่งอาหาร จึงทำให้เชื้อสาเหตุโรคไม่สามารถเจริญได้ (Chong et al., 2009; Petrisor et al., 2016) สอดคล้องกับการศึกษาของ Muniroh et al. (2019) ที่พบว่าเชื้อปฏิปักษ์ *T. asperellum* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *G. boninense* บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อได้ ร้อยละ 76.85 และจากการศึกษาของ Anothai et al. (2023) ที่พบว่าเชื้อปฏิปักษ์ *T. virens* K1-02 มีความสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *G. boninense* K4/2 ได้ถึงร้อยละ 80.86

จากการทดสอบการสร้างสารยับยั้งเชื้อรา พบว่าเชื้อปฏิปักษ์ *Trichoderma* ไอโซเลต SP1-01 และ Z1-02 สร้างสารยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *G. orbiforme* K4/2 ได้ ซึ่งคาดว่ากลไกดังกล่าวคือกลไกการทำลายชีวิต (Antibiosis) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Erazo et al. (2021) ที่พบว่าน้ำกรองเลี้ยงเชื้อปฏิปักษ์ *T. harzianum* สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุ

โรคบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อได้ Asad (2022) รายงานว่าเชื้อปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. สามารถผลิตสารทุติยภูมิ ได้แก่ สารประกอบที่ไม่ระเหย (non-volatile compounds) เช่น เอนไซม์ย่อยผนังเซลล์เชื้อราสาเหตุโรค สารพิษ และสารปฏิชีวนะ และยังสามารถสร้างสารประกอบที่ระเหยได้ (volatile compounds) เช่น สารในกลุ่มแอลกอฮอล์ เพื่อยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค โดยสารประกอบที่ไม่ระเหยซึ่งเชื้อรา *Trichoderma* ไอโซเลต SP1-01 และ Z1-02 สร้างขึ้นในการศึกษาครั้งนี้คือ เอนไซม์เบตา-1, 3-กลูคาเนส ซึ่งมีคุณสมบัติในการย่อยผนังเซลล์ของเชื้อรา สอดคล้องกับ Erazo et al. (2021) ที่พบว่าเชื้อปฏิปักษ์ *T. harzianum* ITEM 3636 สามารถยับยั้งเชื้อรา *Fusarium solani* RC386 โดยการสร้างเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติในการย่อยผนังเซลล์ เช่น กลูคาเนส ไคติเนส และโปรติเอส เป็นต้น

5. บทสรุป

Trichoderma spp. SP1-01 และ Z1-02 มีคุณสมบัติเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อ *G. orbiforme* K4/2 ได้ ด้วยกลไกการแข่งขัน และมีการสร้างเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนสซึ่งเป็นเอนไซม์ย่อยผนังเซลล์ของรา *G. orbiforme* K4/2 จากงานวิจัยในครั้งนี้เป็นจุดเริ่มต้นสู่การพัฒนาต่อยอดในการผลิตชีวภัณฑ์ควบคุมโรคลำต้นเน่าของปาล์มน้ำมันต่อไปได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนเรียนดีคณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

เอกสารอ้างอิง

- Anothai, J., Intara-anan, S., Samlikamnoed, P., & Chairin, T. (2023). Understanding factors influencing growth and lignocellulosic enzyme of *Ganoderma* for developing integrated control strategies for basal stem rot disease in oil palm. *Tropical plant pathology*, 48, 154–162. <https://doi.org/10.1007/s40858-022-00551-8>
- Asad, S. A. (2022). Mechanisms of action and biocontrol potential of *Trichoderma* against fungal plant diseases - A review. *Ecological complexity*, 49, 100978. <https://doi.org/10.1016/j.ecocom.2021.100978>
- Ayyandurai, M., Akila, R., Manonmani, K., Harish, S., Mini, M. L., & Vellaikumar, S. (2023). Deciphering the mechanism of *Trichoderma* spp. Consortia possessing volatile organic compounds and antifungal metabolites in the suppression of *Sclerotium rolfsii* in groundnut. *Physiological and molecular plant pathology*, 125, 102005. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2023.102005>
- Baiyee, B., Ito, S.-I., & Sunpapao, A. (2019). *Trichoderma asperellum* T1 mediated antifungal activity and induced defense response against leaf spot fungi in lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Physiological and molecular plant pathology*, 106, 96–101. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2018.12.009>
- Boukaew, S., Petlamui, W., Srinuanpan, S., Nooprom, K., & Zhang, Z. (2024). Heat stability of *Trichoderma asperelloides* SKRU-01 culture filtrates: Potential applications for controlling fungal spoilage and AFB1 production in peanuts. *International Journal of Food Microbiology*, 409, 110477. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110477>
- Chairin, T., & Petcharat, V. (2017). Induction of defense responses in longkong fruit (*Aglaia dookkoo* Griff.) against fruit rot fungi by *Metarhizium guizhouense*. *Biological control*, 111, 40–44. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.05.012>
- Chong, P. K., Rossall, S., & Atong, M. (2009). *In Vitro* Antimicrobial activity and fungitoxicity of syringic acid, caffeic acid and 4-hydroxybenzoic acid against *Ganoderma Boninense*. *Journal of agricultural science*, 1(2). <https://www.researchgate.net/publication/41940813>

- Erazo, J.G., Palacios, S.A., Pastor, N., Giordano, F.D., Rovera, M., Reynoso, M.M., Venisse, J.S., & Torres, A.M. (2021). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma harzianum* ITEM 3636 against peanut brown root rot caused by *Fusarium solani* RC 386. *Biological control*, 164, 104774. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104774>
- Kaewsalong, N., Songkumarn, P., Duangmal, K., & Dethoup, T. (2019). Synergistic effects of combinations of novel strains of *Trichoderma* species and *Coscinium fenestratum* extract in controlling rice dirty panicle. *Journal of plant pathology*, 101, 367–372. <https://doi.org/10.1007/s42161-018-0191-y>
- Miller, G. L. (1959). Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical chemistry*, 31, 426–428. <http://dx.doi.org/10.1021/ac60147a030>
- Muniroh, M.S., Nusaibah, S.A., Vadamalai, G., & Siddique, Y. (2019). Proficiency of biocontrol agents as plant growth promoters and hydrolytic enzyme producers in *Ganoderma boninense* infected oil palm seedlings. *Current plant biology*, 20, 100116. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2019.100116>
- Onufrak, A. J., Gazis, R., Gwinn, K., Klingeman, W., Sima, K., Oñat, L. I. P., Finnell, A., Givens, S., Chen, C., Holdridge, D. R., & Hadziabdic D. (2024) Potential biological control agents of *Geosmithia morbida* restrict fungal pathogen growth via mycoparasitism and antibiosis. *Biocontrol*, 69, 661-674. <https://doi.org/10.1007/s10526-024-10277-y>
- Pascale, A., Vinale, F., Manganiello, G., Nigro, M., Lanzuise, S., Ruocco, M., Marra, R., Lombardi, N., Woo, S.L., & Lorito, M. (2017). *Trichoderma* and its secondary metabolites improve yield and quality of grapes. *Crop protection*, 92, 176–181. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2016.11.010>
- Petrisor, C., Paica, A., & Constantinescu, F. (2016). Influence of abiotic factors on *in vitro* growth of *Trichoderma* strains. *The publishing house of the romanian academy*, 18(1), 11–14. <https://www.researchgate.net/publication/313846729>
- Ruangwong, O.-U., Wonglon, P., Phoka, N., Suwannarach, N., Lumyong, S., Ito, S., & Sunpapao, A. (2021). Biological control activity of *Trichoderma asperelloides* PSU-P1 against gummy stem blight in muskmelon (*Cucumis melo*). *Physiological and molecular plant pathology*, 115, 101663. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2021.101663>
- Samlikamnoed, P., Anothai, J., & Chairin, T. (2023). Defense-related enzyme production in oil palm seedlings against basal stem rot pathogen *Ganoderma boninense* and its biological control by *Trichoderma asperellum*. *Physiological and molecular plant pathology*, 128, 102154. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2023.102154>
- Santiago, K. A. A., Wong, W. C., Goh, Y. K., Tey, S. H., & Ting A. S. Y. (2023). Metabolomics approach in identifying biomarkers from pathogenic *Ganoderma boninense* involved in early interactions with oil palm host. *Physiological and molecular plant pathology*, 125, 101980. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2023.101980>
- Tomah, A. A., Alamer, I. S. A., Li, B., & Zhang, J.-Z. (2020). A new species of *Trichoderma* and gliotoxin role: A new observation in enhancing biocontrol potential of *T. virens* against *Phytophthora capsici* on chili pepper. *Biological control*, 145, 104261. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104261>