

การผลิตและการทดสอบคุณภาพของผงเชื้อรา *Trichoderma harzianum*

Production and Qualitative Test of Powder Formulation of *Trichoderma harzianum*

จิระเดช แจ่มสว่าง และ วรณวิไล เกษนรา¹
Chiradej Chamswarn and Wanwilai Gesnara

ABSTRACT

Powder formulation of *Trichoderma harzianum* was prepared by mixing the fungal colonized sorghum seed blend with carrier at 1 : 3 (by weight). Prior mixing, the sorghum seeds were added with appropriate amount of water and then blended by using waring blender. The mixture was then spread to a thin layer and air-dried at room temperature in laboratory. Dried preparation was ground, passed through a sieve No. 35 with 500 μ m opening, and packed in the plastic bags. Quality assesment indicated that diatomite 1 was the most promising carrier which did not affect growth and sporulation of *T. harzianum* when mixed with natural soil. This formulation when stored at normal room temperature for 334 days provided 4.7×10^6 cfu/gram-powder or approximately 1.1×10^4 fold reduction from the 0-day-population. Barley plants grown from seeds coated with *T. harzianum* - diatomite 1-powder preparation were significantly protected from Sclerotium seedling blight. Surviving plants were 60% over the control and similar result was obtained by using seeds coated with *T. harzianum* - bionic compost-powder preparation.

บทคัดย่อ

ได้ผลิตเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ในรูปผงโดยการนำเมล็ดข้าวฟ่างที่มีเชื้อราเจริญอยู่ผสมกับผงสารพาในอัตราส่วน 1 : 3 โดยน้ำหนัก ก่อนผสมได้เติมน้ำปริมาณพอเหมาะในเมล็ดข้าวฟ่างแล้วปั่นจนละเอียดด้วยเครื่องปั่น ต่อจากนั้นนำส่วนผสมไปแผ่เป็นแผ่นบาง ๆ และผึ่งลมให้แห้งในห้องปฏิบัติการแล้วบรรจุผ่านตะแกรงเบอร์ 35 (ขนาดช่องเปิด 500 ไมครอน) ก่อนเก็บไว้ในถุงพลาสติก การศึกษาคุณภาพของสารพา 8 ชนิดที่ใช้ในการผลิตผงเชื้อ *T. harzianum* พบว่าผงไดอะตอมไมท์ 1 เป็นสารพาที่ดีที่สุด โดยพบว่า

ไม่มีผลกระทบต่อการเจริญและการสร้างสปอร์ของเชื้อ *T. harzianum* เมื่อผสมกับดินธรรมชาติ ผงเชื้อนี้สามารถเก็บรักษาได้นาน ณ อุณหภูมิห้อง 25-30 องศาเซลเซียส โดยมีปริมาณเชื้อ 4.7×10^6 cfu/ผงเชื้อ 1 กรัม เมื่อเก็บรักษารวม 334 วัน ปริมาณเชื้อได้ลดลงจากจำนวนเมื่อเริ่มต้น 1.1×10^4 เท่า การใช้ผงเชื้อที่ผสมด้วยสารพาไดอะตอมไมท์ 1 คลุกเมล็ดข้าวบาร์เลย์พบว่า สามารถควบคุมโรคกล้าไหม้สเคลอโรเทียมได้ดียิ่งโดยมีจำนวนต้นรอดตายสูงกว่า control ร้อยละ 60 การคลุกเมล็ดด้วยผงเชื้อซึ่งใช้ปุ๋ยหมักไบโอเนคเป็นสารพาให้ผลคล้ายคลึงกัน

¹ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
Dept. of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand.

คำนำ

เชื้อรา *Trichoderma harzianum* เป็นจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติในการเป็นศัตรูต่อต้านหรือทำลาย (แอนทาโกนิสต์ ; antagonist) เชื้อสาเหตุโรครากเน่าหลายชนิด (จิระเดช, 2531) โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ซึ่งทำความเสียหายให้กับพืชหลายชนิด โดยเส้นใยเชื้อ *T. harzianum* สามารถพันรอบเส้นใยของเชื้อ *S. rolfsii* ย่อยสลายผนังเซลล์ และเจริญเข้าไปภายในเส้นใยโดยตรง (Elad *et al.*, 1983) การนำเชื้อ *T. harzianum* ไปใช้ควบคุมโรครากเน่านั้นสามารถใช้วิธีคลุกเมล็ดก่อนปลูกหรือใส่ลงดินขึ้นอยู่กัับวัตถุประสงค์ ชนิดของพืช และลักษณะการเกิดโรค *T. harzianum* ในรูปผงแห้งเป็นรูปแบบหนึ่งที่เหมาะสมต่อการใช้ และสามารถเก็บรักษาไว้ได้นานกว่าในรูปสปอร์แขวนลอย (spore suspension) หรือในรูปเชื้อสดบนอินทรีย์วัตถุ (organic substrate) สารพา (carrier) ที่ใช้ในการผลิตผงเชื่อนั้นว่ามีบทบาทต่อประสิทธิภาพในการควบคุมโรค ระยะเวลาที่เก็บได้นานโดยเชื้อยังคงความมีชีวิต และค่าใช้จ่ายในการผลิต Backman and Rodriguez-Kabana (1975) ได้เลี้ยงเชื้อ *T. harzianum* บน diatomaceous-earth ซึ่งทำให้ชุ่มด้วยสารละลายโมลาส (molasses solution) เข้มข้น 10% ที่ระดับ pH 5 บ่มให้เชื้อเจริญก่อนนำไปผึ่งให้แห้งและบด เก็บไว้ในอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำไปใช้ พบว่าเมื่อใส่เชื้อ *T. harzianum* ในรูปแห้งนี้อัตรา 140 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ สามารถควบคุมโรครากเน่าและฝักเน่าของถั่วลิสงได้เทียบเท่ากับการใช้สารเคมีพีซีเอ็นบี (PCNB ; pentachloro nitrobenzene) ที่มีสารออกฤทธิ์ 10% ในอัตรา 112 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่ามีการใช้ลิกไนท์ (lignite) ขนาดอนุภาค 425-2,000 ไมครอน เป็นสารพาในการเตรียมเชื้อ *T. harzianum* และ *Gliocladium virens* โดยผสมกับ thin liquid stillage (TLS) ซึ่ง

เป็นส่วนเหลือทิ้งจากขบวนการผลิต ethanol ในอัตราร้อยละ 50 โดยปริมาตร ปลูกเชื้อและบ่มไว้เป็นเวลา 7 วันก่อนนำไปผึ่งให้แห้ง เชื้อราสามารถมีชีวิตอยู่ได้ร้อยละ 90 หลังจากเก็บไว้นาน 4 เดือนที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส (Jones *et al.*, 1984) การผลิตเชื้อดังกล่าวข้างต้นมักนำไปใช้โดยวิธีหว่านลงดินในแปลงปลูก สำหรับการผลิตเชื้อเพื่อใช้คลุกเมล็ดนั้นเชื้อในรูปผงแห้งต้องมีลักษณะเป็นผงละเอียดมากเพื่อประสิทธิภาพในการจับติดเมล็ด ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารพาที่เหมาะสมต่อการผลิตเชื้อ *T. harzianum* ในรูปผงแห้งและทดสอบคุณภาพของผงแห้งโดยการคลุกเมล็ดข้าวบาร์เลย์เพื่อควบคุมโรคต้นแห้งหรือโรคกล้าไหม้ (*Sclerotium blight* or seedling blight) ซึ่งเกิดจากเชื้อ *S. rolfsii*

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมเชื้อ *Trichoderma harzianum*

เลี้ยงเชื้อ *T. harzianum* (Cb-Pin-01) บนเมล็ดข้าวฟ่างนึ่งฆ่าเชื้อเป็นเวลา 10 วัน นำเมล็ดข้าวฟ่างที่มีสปอร์ขึ้นปกคลุมอยู่ผสมกับผงสารพาที่ร่อนผ่านตะแกรงเบอร์ 35 (ขนาดช่องเปิด 500 ไมครอน) ในอัตราส่วน 1 : 3 โดยน้ำหนัก ก่อนผสมเติมน้ำปริมาณพอเหมาะในเมล็ดข้าวฟ่าง แล้วปั่นจนละเอียดด้วยเครื่องปั่น นำส่วนผสมไปแผ่เป็นแผ่นบาง ๆ (5-7 มิลลิเมตร) ในถาดอะลูมิเนียม ผึ่งจนแห้งในที่ร่มแล้วปั่นให้เป็นผงละเอียดด้วยเครื่องปั่นแห้ง (model MX-31 GN, Matsushita Electric LND. Co., LTD.) ร่อนผ่านตะแกรงเบอร์ 35 อีกครั้งหนึ่ง เก็บผงเชื้อไว้ในถุงพลาสติกที่อุณหภูมิห้องเพื่อศึกษาต่อไป ผลิตเชื้อตามวิธีการข้างต้นโดยใช้สารพาที่ทำได้ง่ายและมีราคาถูกจำนวน 8 ชนิด คือไดอะตอมไมท์ 2 (*Diatom-*

maceous earth ; Kieselguhr purified and calcined) จากบริษัท MERCK สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมันนี้ ไดอะตอมไมท์ 1 (Diatomite ; SiO_2 65% 240 mesh, pH 4.6) ทัลคัม (Talcum ; $\text{Mg}_3\text{Si}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2$ 325 mesh pH. 8.9) หินฟอสเฟต (Rock Phosphate ; P_2O_5 30%, 200 mesh pH 8.6) ดินดำ (Black ball clay ; Al_2O_3 30% 300 mesh pH 7.2) และโดโลไมท์ (Dolomite ; MgO 20%, 325 mesh, pH 9.3) จากบริษัท ไทยสินพัฒนา จำกัด อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ปุ๋ยหมักไบโอนิค (Bionic compost ; ปุ๋ยอินทรีย์สลายตัวแล้ว, 35 mesh, pH 7.0) จากบริษัท ปุ๋ยไบโอนิค จำกัด และปุ๋ยหมักวงศ์สว่าง (Wongswang compost ; กากน้ำตาลหมัก ผสมมูลค่างาว, 35 mesh pH 8.0) จากบริษัท วงศ์สว่างการเกษตร

ตรวจสอบการสร้างสปอร์ของเชื้อ *T. harzianum* ในดินธรรมชาติ โดยผสมผงเชื้อของ *T. harzianum* 20 กรัม กับดินธรรมชาติ (กำแพงแสน) ซึ่งร้อนผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร จำนวน 80 กรัม คลุกเคล้าให้เข้ากัน แล้วเติมน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ 20 มิลลิลิตร เพื่อให้ความชื้น บ่มไว้เป็นเวลา 7 วัน จึงทำการตรวจผลนับปริมาณเชื้อในดินผสมผงเชื้อ โดยวิธีเจือจางดิน (Soil dilution) บนอาหาร peptone dextrose rose bengal agar (Martin's medium)

ตรวจความมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อ *T. harzianum* ในผงเชื้อที่ผลิตได้แล้วเก็บไว้ในถุงพลาสติก ณ อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ (25-30 องศาเซลเซียส) โดยวิธีการสุมผงเชื้อออกมาตรวจนับปริมาณเชื้อทุก 30 วัน ด้วยวิธีเจือจางผงเชื้อบนอาหาร Martin's medium

การเตรียมดินผสมเชื้อ *Sclerotium rolfsii*

เลี้ยงเชื้อ *S. rolfsii* บนเมล็ดข้าวฟ่างที่นึ่งฆ่าเชื้อ ณ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 1 ชั่วโมง เป็นเวลา

20 วัน. จึงนำมาผึ่งให้แห้งแล้วบดด้วย blender จนเป็นชิ้นเล็ก ๆ เตรียมดินผสมทรายและขุยมะพร้าว (ร้อนด้วยตะแกรงช่องเปิด 2 มิลลิเมตร) อัตรา 4 : 4 : 1 โดยปริมาตร และเติมน้ำลงในดินผสมดังกล่าวในอัตรา 6% โดยปริมาตร ก่อนนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 1 ชั่วโมง ผสมผงเชื้อกับดินผสมในอัตรา 15 กรัม/ดิน 2.5 ลิตร คลุกเคล้าให้ทั่วก่อนบรรจุในกระบอกพลาสติก ขนาด 225 มิลลิลิตร กระบอกละ 170 กรัม เพื่อใช้ทดสอบต่อไป

การตรวจประสิทธิภาพในการควบคุมโรคของผงเชื้อที่ผลิตได้

ในการทดสอบครั้งนี้ใช้ผงเชื้อ *Trichoderma* คลุกเมล็ดข้าวบาร์เลย์เพื่อตรวจประสิทธิภาพในการควบคุมโรคกล้าไหม้สาเหตุจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* โดยการแช่เมล็ดข้าวบาร์เลย์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย clorox 10% นาน 3 นาทีและล้างด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว ในน้ำแป้งมันสำปะหลังสุกเข้มข้น 1% เป็นเวลานาน 3 ชั่วโมง เทน้ำแป้งมันสำปะหลังส่วนเกินทิ้งแล้วผสมคลุกเคล้าด้วยผงเชื้อ *T. harzianum* ซึ่งเตรียมโดยใช้ผงสารพาชนิดต่าง ๆ ด้วยอัตรา 2% โดยน้ำหนัก ผึ่งเมล็ดให้แห้งก่อนนำไปปลูกในดินมีเชื้อ *S. rolfsii* กระบอกละ 10 เมล็ด ตรวจนับจำนวนต้นข้าวบาร์เลย์ที่รอดตายหลังการปลูก

ผล

จากการตรวจนับปริมาณเชื้อ *T. harzianum* ในผงเชื้อที่ผสมกับสารพาชนิดต่าง ๆ บนอาหาร Peptone dextrose rose-bengal agar ทุก 30 วัน หลังจากผลิตและเก็บรักษาผงเชื้อไว้ ณ อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส) ผลปรากฏว่าสารพาที่ช่วยให้ *T. harzianum* มีชีวิตรอดอยู่ได้ในปริมาณ

สูงที่สุดคือ ไคอะตอมไมท์ 1 โดยยังคงมีปริมาณเชื้อถึง 4.7×10^6 cfu/ผงเชื้อ 1 กรัม แม้จะเก็บไว้นานถึง 334 วัน และสารพาที่ช่วยให้ *T. harzianum* ยังมีปริมาณสูงถึง 10^6 - 10^7 cfu/ผงเชื้อ 1 กรัมแม้ว่าจะเก็บไว้นานถึง 185 วัน ได้แก่ ดินดำ ไคอะตอมไมท์ 1 หินฟอสเฟต ปุ๋ยหมักกวงศ์สว่าง และโดโลไมท์โดยที่ปริมาณเชื้อลดลงจากเมื่อเริ่มผลิต 6.6×10^1 , 7.1×10^2 , 1.1×10^4 และ 2.6×10^4 เท่าตามลำดับ ในขณะที่การใช้ปุ๋ยหมักไบโอเนก ทัลคัม และไคอะตอมไมท์ 2 ทำให้ปริมาณเชื้อลดต่ำลงเหลือเพียง 10^3 cfu/กรัม หรือไม่มีเหลือรอดอยู่เลย (Table 1)

ปริมาณเชื้อ *T. harzianum* ในสารพาจะลดลงมากในระยะ 60 วันหลังจากเก็บรักษาผงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง แล้วค่อย ๆ คงที่หรือลดลงอีกเล็กน้อยหลังจากเก็บนาน 90 วัน เป็นต้นไป ผงสารพาที่ตรวจพบปริมาณเชื้อ *T. harzianum* น้อยลงมักพบเชื้อ *Aspergillus* และ *Penicillium* ปนเปื้อนมากขึ้น เช่น กรณีที่ใช้ ทัลคัม ปุ๋ยหมักไบโอเนก และไคอะตอมไมท์ 2 เป็นสารพา

หลังจากผสมสารพาชนิดต่าง ๆ ที่มีเชื้อ *T. harzianum* ผสมอยู่ด้วยลงในดินธรรมชาติ (20% โดยน้ำหนัก) แล้วปรับความชื้นประมาณ 20-25% เพื่อศึกษาการเจริญของเชื้อ *T. harzianum* พบว่าช่วงระยะ 2 วันแรก ปุ๋ยหมักไบโอเนกเป็นสารพาที่ช่วยให้เชื้อเจริญและสร้างสปอร์ได้เร็วและมากกว่าสารพาชนิดอื่น ๆ โดยที่ดินดำ ไคอะตอมไมท์ 1 โดโลไมท์และทัลคัม มีประสิทธิภาพพรองลงมา แต่อีก 2 วันต่อมาเชื้อ *T. harzianum* ในสารพาทั้ง 5 ชนิดดังกล่าว สามารถสร้างสปอร์บนดินธรรมชาติในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน ในขณะที่ไม่พบการเจริญของเส้นใยและสปอร์เมื่อผสมดินด้วยปุ๋ยหมักกวงศ์สว่าง อย่างไรก็ตามเมื่อนับปริมาณเชื้อ *T. harzianum* บนอาหาร Peptone dextrose rose-bengal agar หลังจากเก็บไว้ในสภาพชื้นเป็นเวลา 7 วัน ปริมาณเชื้อในผงสารพาทุกชนิดมีประมาณ 5×10^9 cfu/กรัม ซึ่งนับว่าไม่มีความแตกต่างกันมากนัก ยกเว้นการใช้ปุ๋ยหมักกวงศ์สว่างเป็นสารพาที่มีปริมาณเชื้อ *T. harzianum* ต่ำเพียง 9.0×10^7 cfu/กรัม (Table 2)

Table 1 Populations of *Trichoderma harzianum* in powder formulations prepared by using various kinds of carriers and stored at room temperature for 334 days.

Carrier	Population of <i>T. harzianum</i> (cfu/g) ¹					
	0 day ²	60 days	90 days	150 days	185 days	334 days
Bionic compost	2.0×10^9	6.0×10^5	5.3×10^4	4.7×10^3	3.0×10^3	0
Black ball clay	3.0×10^9	2.4×10^8	1.4×10^8	1.2×10^8	4.5×10^7	0
Diatomite 1	5.3×10^{10}	9.0×10^8	1.3×10^8	1.2×10^8	7.5×10^7	4.7×10^6
Dolomite	3.7×10^{11}	2.6×10^8	7.0×10^7	2.2×10^7	1.4×10^7	2.3×10^4
Talcum	1.3×10^{10}	6.6×10^5	1.0×10^3	3.9×10^2	0	0
Rock phosphate	2.0×10^{10}	3.3×10^8	8.0×10^7	5.0×10^6	2.1×10^6	0
Wongswang compost	2.6×10^{11}	8.0×10^7	7.0×10^7	6.4×10^7	2.3×10^7	5.1×10^5
Diatomite 2	1.6×10^{10}	3.3×10^5	1.0×10^3	2.3×10^2	2.0×10^1	0

¹ Populations of *T. harzianum* were counted by soil dilution on Peptone dextrose rose-bengal agar

² Population of *T. harzianum* at the beginning of storage.

Table 2 Growth and population of *Trichoderma harzianum* in a natural soil amended with power preparations at the rate of 20 % by weight .

Carrier	Growth ¹		Population ² (cfu/g)
	2 days	4 days	
Bionic compost	+++	+++	1.0×10^{10}
Black ball clay	++	+++	1.0×10^{10}
Diatomite 1	++	+++	6.3×10^9
Dolomite	++	+++	5.9×10^9
Talcum	++	+++	9.0×10^9
Rock phosphate	+	++	5.0×10^9
Wongswang compost	-	-	9.0×10^7
Diatomite 2	-	-	9.0×10^9

¹ Growth of *T. harzianum* was evaluated from the presence of mycelial density and spore proliferation on the surface of natural soil-powder mixture (20 % moisture content) at 2 and 4 days after incubation.

- No production of mycelium and spore on surface of the mixture.

+ Production of thin layer of mycelium covered surface of the mixture.

++ Mycelia and spores were produced on scattering soil clumps.

+++ Whole surface of the mixture was completely covered with spores.

² Populations of *T. harzianum* in natural soil-powder mixture at 7 days after incubation.

ได้คัดเลือกผงเชื้อที่เตรียมจากสารพา 5 ชนิด ที่ช่วยให้เชื้อ *T. harzianum* สร้างสปอร์ได้เร็ว นำมาทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคกล้าไหม้ของข้าวบาร์เลย์ โดยการคลุกเมล็ดข้าวบาร์เลย์ก่อนปลูกในดินที่มีเชื้อ *S. rolfii* เพื่อตรวจนับจำนวนต้นที่งอกในช่วง 14 วันหลังจากปลูก พบว่าผงเชื้อที่มีปุ๋ยหมักไบโอนิก ไคอะตอมไมท์ 1 และดินค้ำเป็นสารพา ช่วยให้มีจำนวนต้นข้าวบาร์เลย์งอกมากกว่ากรรมวิธีควบคุม (control) ซึ่งไม่ได้คลุกเมล็ดถึงร้อยละ 65 62.5 และ 60 ตามลำดับ ในขณะที่ โคลโลไมท์ และทัลคัมเป็นสารพามีจำนวนต้นที่งอกมากกว่ากรรมวิธีควบคุมเพียงร้อยละ 37.5 และ 20 ตามลำดับ (Table 3) การใช้ผงเชื้อที่มีสารพาบางชนิด เช่นดินค้ำ ไคอะตอมไมท์ 1 และทัลคัมคลุกเมล็ดโดยไม่มีเชื้อ *T. harzianum* สามารถลดการเกิดโรคก่อนงอกได้เช่นกัน โดยลดได้ร้อยละ

35, 32.5 และ 42.5 ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม สารพาเหล่านี้ไม่สามารถป้องกันการเกิดโรคได้นานกว่า 14 วัน ดังนั้นเมื่อตรวจนับจำนวนต้นรอดตาย 21 วันหลังจากปลูก จึงพบว่ามีจำนวนต้นรอดตายใกล้เคียงกับกรรมวิธีควบคุม แต่สำหรับกรรมวิธีที่ใช้ผงเชื้อซึ่งมีสารพาดังกล่าวผสมอยู่นั้นจะทำให้มีจำนวนต้นรอดตายเหลืออยู่สูงมากกว่ากรรมวิธีควบคุม 25-60% โดยปุ๋ยหมักไบโอนิกและไคอะตอมไมท์เป็นสารพาที่ช่วยให้มีจำนวนต้นรอดตายสูงที่สุด คือ 60% ในขณะที่การใช้ดินค้ำเป็นสารพาที่สามารถควบคุมโรคกล้าไหม้และทำให้มีจำนวนต้นรอดตายไม่แตกต่างจากสารพา 2 ชนิดแรกในทางสถิติ ส่วนผงเชื้อที่ใช้โคลโลไมท์และทัลคัมเป็นสารพา ควบคุมโรคได้สูงกว่า กรรมวิธีควบคุม 32.5% และ 25% ตามลำดับ (Table 3)

Table 3 Efficacy of various carriers contained with *Trichoderma harzianum* used as seed treatment for the control of seedling blight of barley caused by *Sclerotium rolfsii*.

Carrier	<i>T. harzianum</i> ¹	Germination ²	Surviving plant ³
Bionic compost	+	72.5	60.0 ^{ad}
	-	20.0	0.0 ^{ad}
Black ball clay	+	67.5	42.5 ^{ab}
	-	42.5	0.0
Diatomite 1	+	70.0	60.0 ^a
	-	40.0	2.5
Dolomite	+	45.0	32.5 ^{bc}
	-	7.5	0.0
Talcum	+	27.5	25.0 ^c
	-	50.0	5.0
Control	-	7.5	0.0

¹ + Seeds were treated with carriers contained with *T. harzianum*

- Seeds were treated with carriers (without *T. harzianum*)

² Germinated seedlings were averaged from four replications at 14 days after planting.

³ Surviving seedlings were averaged from four replications at 21 days after planting.

⁴ Means followed by the same letter are not significantly different ($P = 0.05$) according to Least significant difference test. Data were analysed through the use of Abbott's formula followed by arcsin $\sqrt{\text{percentage}}$ transformation.

วิจารณ์

ในการคัดเลือกสารพาที่เหมาะสมเพื่อใช้ผลิตผงเชื้อ *T. harzianum* (CB-Pin-01) นั้น ผงไคอะดอมไมท์ 1 และดินดำ เป็นสารพาที่สมควรจะนำมาใช้เพื่อการผลิตผงเชื้อ เพราะสารพาดังกล่าวไม่ลดหรือทำลายคุณสมบัติของเชื้อ *T. harzianum* และไม่กระทบกระเทือนต่อความมีชีวิตของสปอร์ของเชื้อเมื่อเก็บไว้เป็นเวลานานที่อุณหภูมิห้อง สปอร์ของเชื้องอกได้ในเวลาอันรวดเร็วเมื่อได้รับความชื้นพอเหมาะ (Table 1, 2) ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่เหมาะสมสำหรับการผลิตผงเชื้อราควบคุมศัตรูพืช (Soper and Ward, 1981) นอกจากนี้สารพาดังกล่าวไม่ได้ทำให้ประสิทธิภาพของเชื้อ *T. harzianum* ในการควบคุมโรคกล้าไหม้ของข้าวบาร์เลย์เปลี่ยนแปลง จากการทดลองพบว่าผงเชื้อที่ผลิตโดยใช้สารพาสองชนิดลดการเกิดโรคได้ร้อยละ 60 และ 42.5 ตามลำดับ (Table 3) สอดคล้องกับ

ผลการทดลองที่ Backman and Rodriguez-Kabana (1975) ได้รายงานไว้เกี่ยวกับการใช้ไคอะดอมมาเซียส เอทซ์ หรือไคอะดอมไมท์ (กษณาจารย์ ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2530) เป็นสารพาเชื้อ *T. harzianum* เพื่อควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อ *S. rolfsii* ในถั่ว (peanut) อย่างได้ผลดีทั้งในสภาพเรือนทดลองและแปลงทดลอง กลไกสำคัญที่ไคอะดอมไมท์ช่วยลดการเกิดโรคเมื่อใช้เป็นสารพาเชื้อ *T. harzianum* นั้น อาจเนื่องจากไคอะดอมไมท์ทำให้ดินบริเวณใกล้เคียงมีระดับ pH ลดต่ำลงเล็กน้อย เกิดสภาพที่เหมาะสมช่วยส่งเสริมให้เชื้อ *T. harzianum* สามารถเจริญได้ดี (Chet and Baker, 1980)

ความเข้ากันได้ระหว่างสารพาและเชื้อ *T. harzianum* อาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีอิทธิพลต่อความมีชีวิตของเชื้อ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระหว่างขบวนการผลิตเชื้อ เช่นกรณีของปริมาณเชื้อ *T. harzia-*

num ในสารพษนิตต่าง ๆ เมื่อเริ่มต้นการเก็บรักษา (0 วัน) มีความแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด แม้ว่า จะเตรียมมาจากวิธีการและใช้ปริมาณสาร ตลอดจน ความเข้มข้นของเชื้อที่เท่ากัน ทั้งนี้อาจเป็นผล เนื่องมาจากการเกิดปฏิกิริยากันระหว่างสารพษ ซึ่ง มีองค์ประกอบที่แตกต่างกันทั้งในด้านเคมีและ ฟิสิกส์กับเชื้อ *T. harzianum* ในระหว่างขั้นตอน ต่าง ๆ ของการผลิตผงเชื้อเช่นการปั่นเชื้อ การผสม ในรูปของเหลว การลดความชื้น (ตากในที่ร่ม) เพื่อให้ได้ผงเชื้อแห้ง นอกจากนี้สารพษชนิดเดียวกัน ถ้าได้มาจากแหล่งผลิตที่ต่างกันก็อาจมีองค์ ประกอบหรือความบริสุทธิ์ที่แตกต่างกันในรายละเอียด จึงอาจมีความแตกต่างกันมากทั้งในด้าน การช่วยคงความมีชีวิตของเชื้อ และการงอกของ สปอร์เมื่อได้รับความชื้น เช่นกรณีของการใช้ผง ไคอะดอมไมท์ 1 และ 2 ที่ผลิตในประเทศไทย และสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมันนี้ตามลำดับ เป็น สารพษ ความแตกต่างของประสิทธิภาพของสารพษ ดังกล่าว อาจเป็นผลเนื่องมาจากความแตกต่างของ หินตะกอนอินทรีย์ ที่นำมาทำเป็นผงไคอะดอมไมท์ ในด้านปริมาณของซากสิ่งมีชีวิตที่สะสมอยู่ภายใน หินนั้น หรือการมีแร่และสารประกอบอื่น ๆ เข้า มาปะปน (ธงชัย, 2531) ไคอะดอมไมท์ 1 ที่ใช้ ในการทดลองนี้มีองค์ประกอบของ aluminium dioxide (Al_2O_3) และ silicon dioxide (SiO_2) คล้าย คลึงกับ Pyrax^R (Pyrophyllite) ที่มี anhydrous aluminum silicate เป็นองค์ประกอบ และจากผล การทดลองที่ Papavizas *et al.* (1984) ได้ใช้ Pyrax^R ผสมร่วมกับเชื้อ *Trichoderma* spp. และ *Gliocladium* เพื่อช่วยแพร่กระจายและเชื้อจากเชื้อ พบว่าเชื้อที่เตรียมโดยวิธีนี้ มีชีวิตอยู่รอดได้นาน เช่นเดียวกันกับการใช้ diatomite 1 สำหรับการ ทดลองในครั้งนี้เช่นกัน องค์ประกอบและคุณสมบัติ ทางเคมีและฟิสิกส์ที่มีอิทธิพลต่อเชื้อ *T. harzia- num* จึงควรได้รับความสนใจพิจารณาเป็นอย่างยิ่ง

การใช้ปุ๋ยหมักไบโอเนคเป็นสารพษเชื้อ *T. harzianum* ช่วยให้สปอร์งอกได้รวดเร็วและเจริญ หนาแน่น ตลอดจนสามารถควบคุมโรคกล้าไหม้ ของข้าวบาร์เลย์สาเหตุจากเชื้อ *S. rolfssii* ได้ดีมาก เมื่อเตรียมผงเชื้อแล้วใช้ทันที ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก ในปุ๋ยหมักไบโอเนคมีสารประกอบอินทรีย์วัตถุหรือ ธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *T. har- zianum* ได้เมื่อมีสภาพชื้น ดังนั้น การผสมผงเชื้อ *T. harzianum* ที่มีปริมาณสูงลงในปุ๋ยหมักไบโอเนค แล้วนำไปใช้ในสภาพแปลงทันที มีแนวโน้มที่จะ ควบคุมเชื้อ *S. rolfssii* ในดินหรือลดการเกิดโรค เนื่องจากเชื้อดังกล่าวได้อย่างมีประสิทธิภาพ

สรุป

การผลิตผงเชื้อ *T. harzianum* เพื่อการคลุก เมล็ด โดยการผสมผงสารพษร่วมกับเชื้อที่เจริญ อยู่บนเมล็ดข้าวฟ่างนั้น พบว่าผงไคอะดอมไมท์ 1 เป็นสารพษที่มีประสิทธิภาพสูงกว่าสารพษชนิดอื่น เมื่อผสมผงเชื้อที่มีไคอะดอมไมท์ลงในดินธรรมชาติ แล้ว *T. harzianum* สามารถสร้างเส้นใยและสปอร์ ได้รวดเร็ว สปอร์ในผงเชื้อยังคงความมีชีวิตอยู่ ได้นานกว่า 334 วัน และลดการเกิดโรคกล้าไหม้ ของข้าวบาร์เลย์ได้สูงกว่ากรรมวิธีควบคุมถึงร้อยละ 60

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่ง ชาติ และโครงการความร่วมมือทางวิชาการมหา วิทยาลัยเกษตรศาสตร์-ญี่ปุ่นระยะที่ 2 (KU-JICA Phase II) ที่ได้สนับสนุนด้านทุนอุดหนุนการวิจัย และขอขอบคุณบริษัทวงศ์สว่างการเกษตรที่ได้เอื้อ เพื่อปุ๋ยหมักวงศ์สว่างสำหรับการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

- คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2530. ปฐพีวิทยาเบื้องต้น. คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 673 น.
- จิระเดช แจ่มสว่าง. 2531. นิเวศน์วิทยาและการควบคุมเชื้อโรคพืชในดินโดยชีววิธี. รายงานการวิจัยเสนอต่อสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพฯ. 235 น.
- ธงชัย พึ่งรัมย์. 2531. ธรณีวิทยาทั่วไป. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ. 530 น.
- Backman, P.A. and R. Rodriguez-Kabana. 1975. A system for the growth and delivery of biological control agents to the soil. *Phytopathology* 65 : 819-821.
- Chet, I., and R. Baker. 1980. Induction of suppressiveness to *Rhizoctonia* in soil. *Phytopathology* 70 : 994-998.
- Elad, Y., I. Chet, P. Boyle and Y. Henis. 1983. Parasitism of *Trichoderma* spp. on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii*-scanning electron microscopy and fluorescent microscopy. *Phytopathology* 73 : 85-88.
- Henis, Y., P.B. Adams, J.A. Lewis and G.C. Papavizas. 1983. Penetration of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 73 : 1043-1046.
- Jones, R.W., R.E. Pettit, and R.A. Taber. 1984. Lignite and stillage : Carrier and substrate for application of fungal biocontrol agents to the soil. *Phytopathology* 74 : 1167-1170.
- Papavizas, G.C., M.T. Dunn, J.A. Lewis and J. Beagle-Ristaino. 1984. Liquid fermentation technology for experimental production of biocontrol fungi. *Phytopathology* 74 : 1171-1175.
- Soper, R.S. and M.G. Ward. 1981. Production, formulation and application of fungi for insect control, pp. 161-180. In G.C. Papavizas (ed.). *Biological Control in Crop Production*. BARC Symposium No. 5. Allanheld, Osmun Co., London. 461 p.
- Wells, H.D., D.K. Bell and C.A. Jaworski. 1972. Efficacy of *Trichoderma* as a biocontrol for *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology* 62 : 442-447.