

การควบคุมเชื้อราขี้หมสีในไม้ยางพาราด้วยเชื้อ *Trichoderma* sp.

BIOLOGICAL CONTROL OF STAIN FUNGUS IN RUBBERWOOD (*Hevea Brasiliensis* Muell. Arg.) BY *Trichoderma* sp.

ธีระ เวณิน^{1/}

Teera Veenin^{1/}

อรุณี เวณิน^{2/}

Arune Veenin^{2/}

พรรณี เด่นรุ่งเรือง^{2/}

Panee Denrungruang^{2/}

บทคัดย่อ

การทดลองประสิทธิภาพของสารจากเชื้อ *Trichoderma harzianum* Rifai. 2 สายพันธุ์ คือ Th1 และ CB-PIN-01 ในการป้องกันเชื้อราขี้หมสี *Botryodiplodia theobromae* Pat. โดยเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร 2 สูตร ในระยะเวลาต่างๆ กัน พบว่าสารจากเชื้อ *T. harzianum* ทั้ง 2 สายพันธุ์ที่เจริญบนอาหารสูตร B ใช้ระยะเวลาบ่มเชื้อ 3 สัปดาห์ ให้ผลในการชะลอการเจริญเติบโตของเชื้อราขี้หมสีบนอาหารเทียมได้ดีที่สุดในระยะเวลาไม่เกิน 3 วัน และเมื่อทดสอบกับไม้ยางพารา พบว่าสารจากเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์ที่เจริญบนอาหารสูตร A ใช้ระยะเวลาบ่มเชื้อ 4 สัปดาห์ สามารถชะลอการเจริญเติบโตของเชื้อราขี้หมสีบนไม้ยางพาราได้ดีที่สุดในระยะเวลาไม่เกิน 5 วัน การเปรียบเทียบจำนวน สปอร์ของเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อที่เจริญบนอาหารทั้ง 2 สูตร ใช้ระยะเวลาบ่มเชื้อ 3 สัปดาห์ สามารถผลิตสปอร์ได้จำนวนมากที่สุด

ABSTRACT

Two strains of *Trichoderma harzianum* Rifai. were tested as biological control agents against blue stain fungus (*Botryodiplodia theobromae* Pat.) under laboratory condition. Agar method was conducted to measure the growth of stain fungus. Steriled spore suspension was prepared by washing off the surface of *Trichoderma* plate with distilled water. The result showed that soluble metabolites in the suspension of each strain of *T. harzianum* which was incubated for 3 weeks in agariculture B did indeed slow the growth of stain fungus for 3 days.

Rubber wood samples were dipped in the suspension of each strain which was incubated for 4 weeks in agar culture A. It showed that the test samples were less stained than control

^{1/} ภาควิชาวนผลิตภัณฑ์ คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Department of Forest Products, Faculty of Forestry, Kasetsart University

^{2/} ส่วนวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้ กรุงเทพฯ 10900

Forest Products Research Division, Forest Research Office, Royal Forest Department, Bangkok 10900

samples for 5 days. It also showed that aerial mycelia of both strains of *T. harzianum* produced high amount of spore when they were incubated on each agar culture for 3 weeks at room temperature.

Keywords : *Trichoderma harzianum*, *Botryodiplodia theobromae*, *Hevea brasiliensis*, soluble metabolites

คำนำ

ปัจจุบันยางพาราจัดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญและนำรายได้เข้าสู่ประเทศไทยเป็นจำนวนมาก ข้อมูลจากสถิติการป่าไม้ของประเทศไทยในปี พ.ศ. 2541 (ส่วนศูนย์ข้อมูลกลาง, 2541) รายงานว่าไม้ยางพาราแปรรูปมีมูลค่าการส่งออกเป็นอันดับ 1 ของประเทศ คือมีมูลค่าถึง 1,018.16 ล้านบาท ในขณะที่ไม้สักมีมูลค่าการส่งออกเป็นอันดับ 2 ซึ่งสามารถนำเงินเข้าสู่ประเทศได้เพียง 474.5 ล้านบาท เหตุที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากเนื้อไม้ยางพารามีคุณสมบัติและสีซึ่งเป็นที่ยอมรับของตลาดต่างประเทศ และสามารถแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ได้หลายชนิด ไวกูญฐ์และสุรศักดิ์, 2538 รายงานว่าเนื้อไม้ยางพาราสามารถนำไปแปรรูปได้ร้อยละ 50 ของปริมาณเนื้อไม้ ส่วนที่เหลือจะถูกนำไปใช้ทำฟืนและเผาในสัดส่วนร้อยละ 38 และ 12 ตามลำดับ สำหรับผลิตภัณฑ์แปรรูปไม้ที่นิยม ได้แก่ เครื่องใช้เครื่องเรือนต่างๆ เครื่องใช้ในครัวและผลิตภัณฑ์ของเล่นเด็ก ปัญหาอย่างหนึ่งที่มักพบกับไม้ยางพารา คือ ไม้มีความทนทานตามธรรมชาติต่อการทำลายของเชื้อราและแมลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อราขี้มอดสี ซึ่งสามารถเข้าทำลายไม้ได้ทันทีภายหลังการตัดฟัน หากไม้มีความชื้นสูง ซึ่งผลที่ได้รับคือไม้มีสีเทาเข้ม ไม้สลายงา ไม้เป็นที่ยอมรับของตลาด แนวทางการแก้ไขในปัจจุบัน ได้แก่ การผึ่งหรืออบไม้ให้แห้งโดยเร็ว แล้วรีบทำ

การแปรรูปหรือการนำสารเคมีบางชนิดเข้ามาใช้ป้องกันเชื้อรา (ธีระและคณะ, 2532; สุรชาติพย์และคณะ, 2531; สุรางค์, 2531) ปัจจุบันเริ่มมีการค้นคว้าในการรักษาสิ่งแวดล้อม โดยการหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช การป้องกันโดยชีววิธีก็เป็นวิธีหนึ่งที่มีการศึกษาอย่างแพร่หลายในแวดวงการเกษตร (สุภาพรและคณะ, 2538) สำหรับด้านป่าไม้นั้นได้มีการวิจัยใช้เชื้อ *Trichoderma* sp. ในการป้องกันเชื้อราทำลายไม้ ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1963 (Burgel et al, 1994) โดยพบว่าเชื้อ *Trichoderma* ที่ยังมีชีวิตหรือที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วยังมีประสิทธิภาพในการป้องกันเชื้อราได้หลายชนิด เช่น เชื้อราทำลายไม้ (decay fungi) และเชื้อราที่ผิวไม้ (mold) เนื่องจาก *Trichoderma* สร้างสารยับยั้งทั้งชนิด volatile compounds และ soluble metabolites ชนิดต่างๆ การวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งศึกษาศักยภาพของเชื้อ *T. harzianum* สายพันธุ์ Th1 และ CB-PIN-01 ในการลดความรุนแรงในการทำลายของเชื้อราขี้มอดสี *Botryodiplodia theobromae*

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. หม้อนึ่งแรงดัน (autoclave)
2. เตาอบ (oven)
3. เครื่องสกัดสาร
4. โถปั่น (blender)

5. หม้ออังไอน้ำ (water bath)
6. เครื่องระเหยสูญญากาศ
7. เครื่องแก้ว
8. อาหารเลี้ยงเชื้อ
9. ไม้ยางพารา (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) ขนาด 0.3 X 2 X 5 ซม.
10. เชื้อรา *Trichoderma harzianum* Rifai. สายพันธุ์ Th1
11. เชื้อรา *Trichoderma harzianum* Rifai. สายพันธุ์ CB-PIN-01
12. เชื้อรา *Botryodiplodia theobromae* Pat.

วิธีการ

1. การทดสอบประสิทธิภาพของสารจากเชื้อ *T. harzianum* ในการป้องกันเชื้อราข่มสีบนอาหารเทียม

1.1 เพาะเลี้ยงเชื้อ *T. harzianum* ทั้ง 2 สายพันธุ์ ในอาหาร 2 สูตร (สูตร A, B) โดยใช้ระยะเวลาในการบ่มเชื้อต่างๆ กัน คือ 1, 2, 3 และ 4 สัปดาห์ตามลำดับ

1.2 นำเส้นใยและสปอร์จากผิวหน้าเชื้อรามาละลายน้ำกลั่น ใส่โถปั่นให้เส้นใยและสปอร์กระจายตัวสม่ำเสมอ

1.3 นำน้ำที่มีเส้นใยและสปอร์ของเชื้อผสมลงในอาหารเทียม (malt extract agar) แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

1.4 เพาะเลี้ยงเชื้อราข่มสี *B. theobromae* บนอาหารเทียมนั้น

1.5 ตรวจสอบผลการเจริญเติบโตของเชื้อราข่มสีในระยะเวลา 3 และ 5 วัน

2. การทดสอบประสิทธิภาพของสารจากเชื้อ *T. harzianum* ในการควบคุมเชื้อราข่มสีในไม้ยางพารา

2.1 นำน้ำที่มีเส้นใยและสปอร์ของเชื้อ *T. harzianum* ไปนึ่งฆ่าเชื้อเพื่อหยุดการเจริญเติบโตของเชื้อ

2.2 เตรียมไม้ยางพาราขนาด 0.3 x 2 x 5 ซม. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

2.3 จุ่มไม้ลงในน้ำที่มีสารจากเชื้อ *T. harzianum* แล้วผึ่งให้แห้ง

2.4 เรียงไม้ทดลองในงานเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อราข่มสีเจริญอยู่

2.5 ตรวจสอบผลการทดสอบเมื่อครบกำหนด 5 และ 7 วัน โดยจัดคะแนนการเกิดสีของเชื้อราข่มสีในเนื้อไม้ ดังนี้

0 คะแนน หมายถึง ไม่ปรากฏการเกิดสีในเนื้อไม้

1 คะแนน หมายถึง เกิดสีในเนื้อไม้ไม่เกิน 20% ของพื้นที่ผิวหน้าไม้

2 คะแนน หมายถึง เกิดสีในเนื้อไม้ไม่เกิน 40% ของพื้นที่ผิวหน้าไม้

3 คะแนน หมายถึง เกิดสีในเนื้อไม้ไม่เกิน 60% ของพื้นที่ผิวหน้าไม้

4 คะแนน หมายถึง เกิดสีในเนื้อไม้ไม่เกิน 80% ของพื้นที่ผิวหน้าไม้

5 คะแนน หมายถึง เกิดสีในเนื้อไม้มากกว่า 80% ของพื้นที่ผิวหน้าไม้

3. การเปรียบเทียบปริมาณสปอร์ของเชื้อ *T. harzianum*

3.1 เตรียมอาหารเทียมสูตร A และ B นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

3.2 เพาะเลี้ยง *T. harzianum* บนอาหารเทียมแต่ละสูตร

3.3 บ่มเชื้อเป็นเวลา 1, 2, 3' และ 4 สัปดาห์ ณ ที่อุณหภูมิห้อง

3.4 นับจำนวนสปอร์ของเชื้อบนอาหารเทียมทั้ง 2 สูตร

4. การสกัดสารจาก *T. harzianum*

ดำเนินวิธีการสกัด 3 วิธี ดังนี้

4.1 นำน้ำที่มีเส้นใยและสปอร์ของเชื้อ *T. harzianum* ไปกรอง แล้วนำของเหลวที่ได้มาสกัดด้วยคลอโรฟอร์มโดยใช้กรวยแยก เก็บส่วนของชั้นคลอโรฟอร์มมาระเหยให้แห้งโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศ

4.2 นำน้ำที่มีเชื้อ *T. harzianum* มาสกัดด้วยคลอโรฟอร์มโดยใช้กรวยแยก เก็บส่วนของชั้นคลอโรฟอร์มมาระเหยให้แห้งด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ

4.3 นำน้ำที่มีเชื้อ *T. harzianum* ระเหยให้แห้งบนหม้ออังไอน้ำ แล้วสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม กรอง แล้วนำส่วนที่กรองได้มาระเหยให้แห้งโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศ

ผลและวิจารณ์

1. การทดสอบประสิทธิภาพของสารจากเชื้อ *T. harzianum* ในการป้องกันเชื้อราข่มสีบนอาหารเทียม (ตารางที่ 1-3)

การเจริญของเชื้อราข่มสีบนอาหารเทียมผสมสารจาก *T. harzianum* มีลักษณะแตกต่างจากเชื้อราข่มสีในชุดเปรียบเทียบ (control)

กล่าวคือ เส้นใยมีสีเทาอ่อน มีลักษณะฟูพอง การกระจายตัวของโคโลนีไม่สม่ำเสมอ และมีอัตราการเจริญที่ช้ากว่า ในขณะที่เชื้อราข่มสีในชุดเปรียบเทียบมีสีเทาเข้ม เส้นใยฟูหนาแน่น การกระจายตัวของโคโลนีค่อนข้างสม่ำเสมอและมีอัตราการเจริญเติบโตที่เร็วกว่า

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลทางสถิติ (ตารางที่ 2, 3) พบว่าสารยับยั้งที่เกิดจากการเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ ในระยะเวลาต่างๆ ระยะเวลาในการทดสอบเชื้อราข่มสีและปฏิสัมพันธ์ระหว่างทั้ง 2 ปัจจัยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

1.1 เชื้อ *T. harzianum* สายพันธุ์ Th1 และ CB-PIN-01 ที่เจริญบนอาหารเทียมสูตร B ในระยะเวลาการบ่มเชื้อ 3 และ 4 สัปดาห์ ให้ผลในการยับยั้งเชื้อราข่มสีได้ดีกว่าวิธีการอื่นๆ โดยระยะเวลาการบ่มเชื้อ 3 สัปดาห์ ให้ผลในการยับยั้งได้สูงสุด

1.2 ระยะเวลาในการทดสอบเชื้อราข่มสี เมื่อครบ 3 วัน ให้ผลในการชะลอการเจริญของเชื้อราข่มสีได้ดีกว่าระยะเวลา 5 วัน

2. การทดสอบประสิทธิภาพของสารจากเชื้อ *T. harzianum* ในการควบคุมเชื้อราข่มสีในไม้ยางพารา (ตารางที่ 4-6)

พบการเกิดสีเทาเข้มของเชื้อราข่มสีในไม้ยางพาราที่ผ่านการจุ่มในน้ำที่มีสารจากเชื้อ *T. harzianum* มีปรากฏน้อยกว่าชุดเปรียบเทียบ อัตราการเกิดสีในไม้ทดลองเมื่อระยะเวลา 5 วัน มีอัตราต่ำกว่าเมื่อระยะเวลา 7 วัน สำหรับไม้ใน

Table 1. Average inhibition percentage of soluble metabolites of *T. harzianum* to stain fungus (*B. theobromae*) tested on agar media.

No	Soluble metabolites	Inhibition	
		3 days	5 days
1	Control	0	0
2	Th1 ¹ - a ² (1w) ³	39.11	4.82
3	Th1-a (2w)	35.56	6.44
4	Th1-a (3w)	20.44	4.67
5	Th1-a (4w)	42.22	11.0
6	Th1-b (1w)	3.11	0
7	Th1-b (2w)	36.89	11.56
8	Th1-b (3w)	69.78	46.0
9	Th1-b (4w)	59.0	42.66
10	Cb-a (1w)	10.0	0
11	Cb-a (2w)	34.56	14.89
12	Cb-a (3w)	41.33	13.11
13	Cb-a (4w)	31.89	8.22
14	Cb-b (1w)	37.56	18.0
15	Cb-b (2w)	29.78	3.33
16	Cb-b (3w)	66.33	48.3
17	Cb-b (4w)	61.22	38.11

Note : 1 Th1 = *T. harzianum* strain Th1
 Cb = *T. harzianum* strain CB-PIN-01
 2 a = culture A
 b = culture B
 3 1w = incubation period of *T. harzianum* = 1 week
 2w = incubation period of *T. harzianum* = 2 weeks
 3w = incubation period of *T. harzianum* = 3 weeks
 4w = incubation period of *T. harzianum* = 4 weeks

Table 2. Analysis of variance of inhibition percentage of soluble metabolites of *T. harzianum* to stain fungus on agar media.

Source of variation	Sum of Squares	df	Mean Square	F
Metabolites	52458.628	16	3278.664	53.353**
Day	17771.561	1	17771.561	289.195**
Metabolites × Day	3513.510	16	219.594	3.573**
Residual	8357.455	136	61.452	
Total	82101.154	169	485.806	

** = Highly significant at a 99% level of confidence

Table 3. Duncan's new multiple range test on mean of inhibition percentage of soluble metabolites of *T. harzianum*.

Metabolites	Subset for alpha = 0.05				
	1	2	3	4	5
Control	.0000				
Th1 ¹ -b ² (1w)	1.5560				
Cb-a(1w)	5.0000	5.0000			
Th1-a(3w)	12.5550	12.5550	12.5550		
Cb-b(2w)		16.5560	16.5560	16.5560	
Cb-a(4w)			20.0550	20.0550	
Th1-a(2w)			21.0000	21.0000	
Th1-a(1w)			21.9660	21.9660	
Th1-b(2w)			24.2230	24.2230	
Cb-a(2w)			24.7230	24.7230	
Th1-a(4w)			26.6120	26.6120	
Cb-a(3w)				27.2220	
Cb-b(1w)				27.7770	
Cb-b(4w)					49.6670
Th1-b(4w)					50.8320
Cb-b(3w)					57.3330
Th1-b(3w)					57.8900

Note :

1	Th1	=	<i>T. harzianum</i> strain Th1
	Cb	=	<i>T. harzianum</i> strain CB-PIN-01
2	a	=	culture A
	b	=	culture B
3	1w	=	incubation period of <i>T. harzianum</i> = 1 week
	2w	=	incubation period of <i>T. harzianum</i> = 2 weeks
	3w	=	incubation period of <i>T. harzianum</i> = 3 weeks
	4w	=	incubation period of <i>T. harzianum</i> = 4 weeks

Table 4. Rate of Discoloration of Rubber woods treated with soluble metabolites of *T. harzianum* caused by *B. theobromae*.

No	Soluble metabolites	Average rate of discoloration	
		5 days	7 days
1	Control	2.2	5
2	Th1 ¹ -a ² (1w) ³	0.2	1.4
3	Th1-a (2w)	0.2	0.9
4	Th1-a (3w)	0.3	1.5
5	Th1-a (4w)	0.2	0.8
6	Th1-b (1w)	0.4	1.4
7	Th1-b (2w)	0.4	1.0
8	Th1-b (3w)	0.3	1.4
9	Th1-b (4w)	0.2	1.0
10	Cb-a (1w)	0.5	1.6
11	Cb-a (2w)	0.3	0.9
12	Cb-a (3w)	0.3	0.8
13	Cb-a (4w)	0.2	0.6
14	Cb-b (1w)	0.6	2.1
15	Cb-b (2w)	1.0	1.5
16	Cb-b (3w)	0.6	1.4
17	Cb-b (4w)	0.8	1.5

Note :

1	Th1	=	<i>T. harzianum</i> strain Th1
	Cb	=	<i>T. harzianum</i> strain CB-PIN-01
2	a	=	Agar culture A
	b	=	Agar culture B
3	1w	=	Incubation period of <i>T. harzianum</i> = 1 week
	2w	=	Incubation period of <i>T. harzianum</i> = 2 weeks
	3w	=	Incubation period of <i>T. harzianum</i> = 3 weeks
	4w	=	Incubation period of <i>T. harzianum</i> = 4 weeks

ชุดเปรียบเทียบมีอัตราการเกิดสีเทาเข้มในเนื้อไม้
ค่อนข้างรุนแรงกว่า

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (ตาราง
ที่ 5, 6 และรูปที่ 1-4) พบว่าสารยับยั้งที่ได้จากการ
เลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ ในระยะเวลาต่างๆ ระยะ
เวลาในการทดสอบและปฏิสัมพันธ์ระหว่างทั้ง 2
ปัจจัย มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

2.1 สารจากเชื้อ *T. harzianum* ทั้ง 2
สายพันธุ์ที่เจริญบนอาหารสูตร A ใช้ระยะเวลาใน
การบ่มเชื้อ 4 สัปดาห์ สามารถยับยั้งเชื้อราข่มสี
ในไม้ยางพาราได้ดีที่สุด

2.2 ระยะเวลาในการทดสอบ 5 วัน ให้
ผลในการยับยั้งเชื้อราข่มสีได้ดีกว่าระยะเวลา 7
วัน

Table 5. Analysis of variance of discoloration rate of stain fungus on rubber wood blocks when treated with soluble metabolites of *T. harzianum*.

Source of Variation	Sum of Squares	df	Mean Square	F
Metabolites	186.153	16	11.635	41.397**
Day	71.576	1	71.576	254.679**
Metabolites × Day	20.224	16	1.264	4.497**
Residual	86.000	306	.281	
Total	363.953	339	1.074	

** = Highly significant at a 99% level of confidence

Table 6. Duncan's new multiple range test on mean of discoloration rate of stain fungus on rubber wood blocks when treated with soluble metabolites of *T. harzianum*.

Metabolites	Subset for alpha = 0.05					
	1	2	3	4	5	6
Cb ¹ -a ² (4w) ³	.4000					
Th1-a(4w)	.5000	.5000				
Th1-a(2w)	.5500	.5500				
Cb-a(3w)	.5500	.5500				
Th1-b(4w)	.6000	.6000				
Cb-a(2w)	.6000	.6000				
Th1-b(2w)	.7000	.7000	.7000			
Th1-a(1w)	.8000	.8000	.8000	.8000		
Th1-a(3w)	.8000	.8000	.8000	.8000		
Th1-b(3w)	.8500	.8500	.8500	.8500	.8500	
Th1-b(1w)	.9000	.9000	.9000	.9000	.9000	
Cb-b(3w)		1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	
Cb-a(1w)		1.0500	1.0500	1.0500	1.0500	
Cb-b(4w)			1.1500	1.1500	1.1500	
Cb-b(2w)				1.2500	1.2500	
Cb-b(1w)					1.3500	
Control						3.75

Note :

1	Th1	=	<i>T. harzianum</i> strain Th1
	Cb	=	<i>T. harzianum</i> strain CB-PIN-01
2	a	=	culture A
	b	=	culture B
3	1w	=	incubation period of <i>T. harzianum</i> = 1 week
	2w	=	incubation period of <i>T. harzianum</i> = 2 weeks
	3w	=	incubation period of <i>T. harzianum</i> = 3 weeks
	4w	=	incubation period of <i>T. harzianum</i> = 4 weeks

ผลจากการทดลองดังกล่าวแสดงว่า สารจากเชื้อ *T. harzianum* ทั้ง 2 สายพันธุ์ยังไม่สามารถยับยั้งเชื้อราข่มสีได้โดยสมบูรณ์ แต่สามารถชะลอการเจริญเติบโตและลดความรุนแรงในการทำลายไม้ได้ในระยะเวลาหนึ่ง โดยจะพบว่าอัตราการเกิดสีเทาเข้มในไม้ยางพาราที่ผ่านการจุ่มด้วยสารจากเชื้อ *T. harzianum* ทั้ง 2 สายพันธุ์มีค่าต่ำกว่าไม้ยางพาราในชุดเปรียบเทียบ เช่นเดียวกับ การทดลองของ Benko (1989) ที่ได้ทดลองใช้เชื้อ *Pseudomonas cepacia* สายพันธุ์ 6253 ในการยับยั้งเชื้อราข่มสี *Aureobasidium pullulans*, *Ceratoeystis coerulescens* และ *Ceratoeystis* spp. ผลปรากฏว่าไม่สามารถยับยั้งเชื้อราข่มสีได้ แต่สามารถลดอัตราการเกิดสีในเนื้อไม้ได้ 1/3 ถึง 1/2 ของพื้นที่ผิวหน้าไม้ทดลอง

3. การเปรียบเทียบปริมาณสปอร์ของเชื้อ *T. harzianum* (ตารางที่ 7-9)

การเจริญของเชื้อราทั้ง 2 สายพันธุ์บนอาหารเทียมทั้ง 2 สูตร พบว่ามีลักษณะใกล้เคียงกัน เชื้อราที่ใช้ระยะเวลาการบ่ม 1 สัปดาห์ จะมีเส้นใยค่อนข้างขาวและผลิตสปอร์เป็นจำนวนน้อย ในขณะที่เชื้อราที่ใช้ระยะเวลาการบ่มเขื่อนานขึ้นจะพบสปอร์สีเขียวเข้มจำนวนมากกระจายตัวเต็มผิวหน้าอาหารเทียม

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ (ตารางที่ 8, 9) แสดงว่าระยะเวลาการบ่มเชื้อมีผลให้จำนวนสปอร์ที่เชื้อราผลิตได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง กล่าวคือ การเพาะเลี้ยงเชื้อราทั้ง 2 สายพันธุ์บนอาหารทั้ง 2 สูตร โดยใช้ระยะเวลาในการ

บ่มเชื้อ 3 สัปดาห์ ให้ผลในการผลิตสปอร์ได้จำนวนมากที่สุด

ผลจากการเปรียบเทียบในตารางที่ 2 และ 4 แสดงว่า ประสิทธิภาพของสารยับยั้งที่มีในเชื้อ *T. harzianum* มีความสัมพันธ์โดยตรงกับจำนวนสปอร์ที่ผลิตได้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Burgel และคณะ (1994) ซึ่งพบว่าเชื้อ *T. harzianum* สามารถผลิตสารยับยั้งเชื้อราอื่นๆ ได้จากส่วนของ conidiospore และการสร้าง conidiospore จะเกิดขึ้นได้เฉพาะเมื่อเจริญอยู่บนผิวหน้าอาหารแข็งเท่านั้น การทดลองโดยใช้สารจากเชื้อ *T. harzianum* ที่เจริญในอาหารเหลว ซึ่งสร้าง chlamydospore จะไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อราอื่นๆ แต่อย่างใด

4. การสกัดสารจากเชื้อ *T. harzianum*

การสกัดสารจากเชื้อราทั้ง 2 สายพันธุ์ด้วยคลอโรฟอร์มโดยใช้กรวยแยกแล้วระเหยให้แห้งโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศเป็นวิธีที่ทำให้ได้สารสกัดมากกว่าวิธีอื่นๆ อย่างไรก็ตาม ปริมาณสารสกัดที่ได้ยังมีจำนวนน้อยมาก กล่าวคือสามารถสกัดสารจาก *T. harzianum* สายพันธุ์ Th1 และ CB-PIN-01 ได้ปริมาณเฉลี่ยร้อยละ 0.058 และ 0.050 ตามลำดับ สารสกัดที่ได้มีปริมาณค่อนข้างน้อย ซึ่งหากจะดำเนินการเพื่อการค้าอาจไม่คุ้มกับค่าใช้จ่าย อนึ่ง จากผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่าการใช้น้ำที่มีเส้นใยและ สปอร์ของเชื้อ *T. harzianum* ละลายอยู่สามารถชะลอการเจริญเติบโตของเชื้อราข่มสีได้ในระยะเวลาหนึ่งจึงไม่มีความจำเป็นที่จะต้องทำการสกัดเพื่อให้ได้สารบริสุทธิ์

Table 7. Average amount of spore production of 2 strains of *T. harzianum* in spore suspension.

Incubation period (weeks)	(spore/cc)			
	Th1		CB-PIN-01	
	Agar culture		Agar culture	
	A	B	A	B
1	31,533	18,387	36,720	19,447
2	68,370	85,993	70,257	79,240
3	67,440	128,063	86,413	85,927
4	83,540	81,127	83,977	93,260

Table 8. Analysis of variance of amount of spore production of *T. harzianum*.

Source of variation	Sum of square	df	Mean square	F
Fungal type	15.92×10^6	1	15.92×10^6	0.011
Media	7.49×10^8	1	7.49×10^8	0.500
Week	317.73×10^8	3	105.91×10^8	7.066**
2 Way Interactions				
Fungal type $\times$ Media	7.25×10^8	1	7.25×10^8	0.484
Fungal type $\times$ Week	5.25×10^8	3	1.84×10^8	0.123
Media $\times$ Week	32.24×10^8	3	10.75×10^8	0.717
3 Way Interactions				
Fungal type $\times$ Media $\times$ Week	22.47×10^8	3	7.49×10^8	0.500
Residual	479.64×10^8	32	14.99×10^8	
Total	872.50×10^8	47	18.56×10^8	

** = Highly significant at a 99% level of confidence

Table 9. Effect of incubation period on amount of spore production according to Duncon's new multiple range test.

week	Subset for alpha = 0.05	
	1	2
1 week		26521.7500
2 weeks	75965.0000	
4 weeks	85475.8333	
3 weeks	91960.8333	

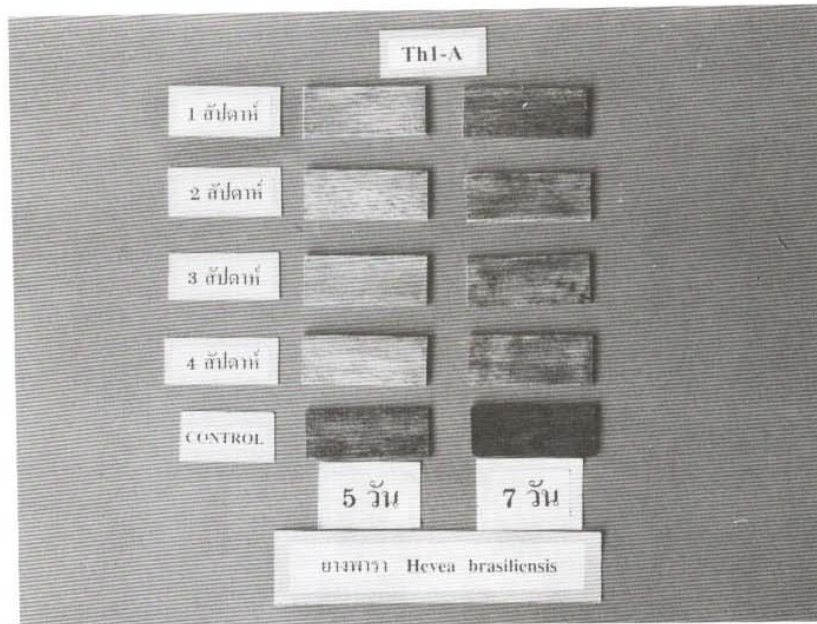


Figure 1. Discoloration from stain fungus (*Botryodiplodia theobromae*) on rubber woods treated with soluble metabolites of *Trichoderma harzianum* strain Th1 which were incubated in culture A.

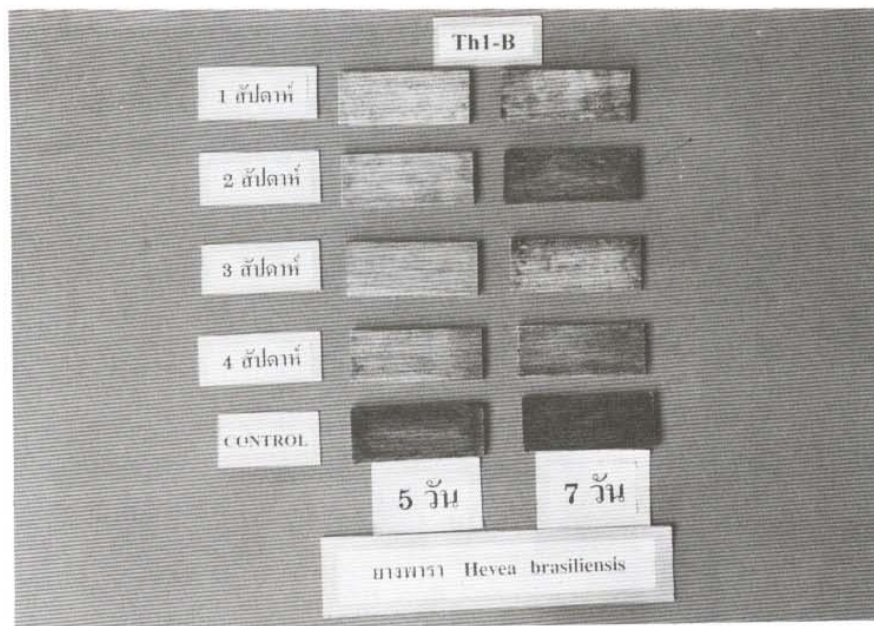


Figure 2. Discoloration from stain fungus (*Botryodiplodia theobromae*) on rubber woods treated with soluble metabolites of *Trichoderma harzianum* strain Th1 which were incubated in culture B.

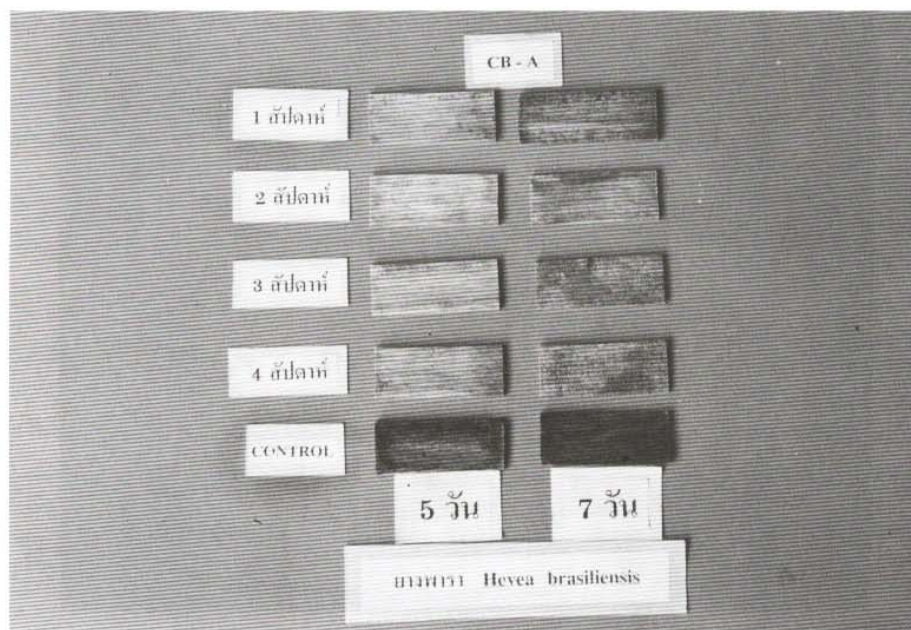


Figure 3. Discoloration from stain fungus (*Botryodiplodia theobromae*) on rubber woods treated with soluble metabolites of *Trichoderma harzianum* strain CB-PIN-01 which were incubated in culture A.

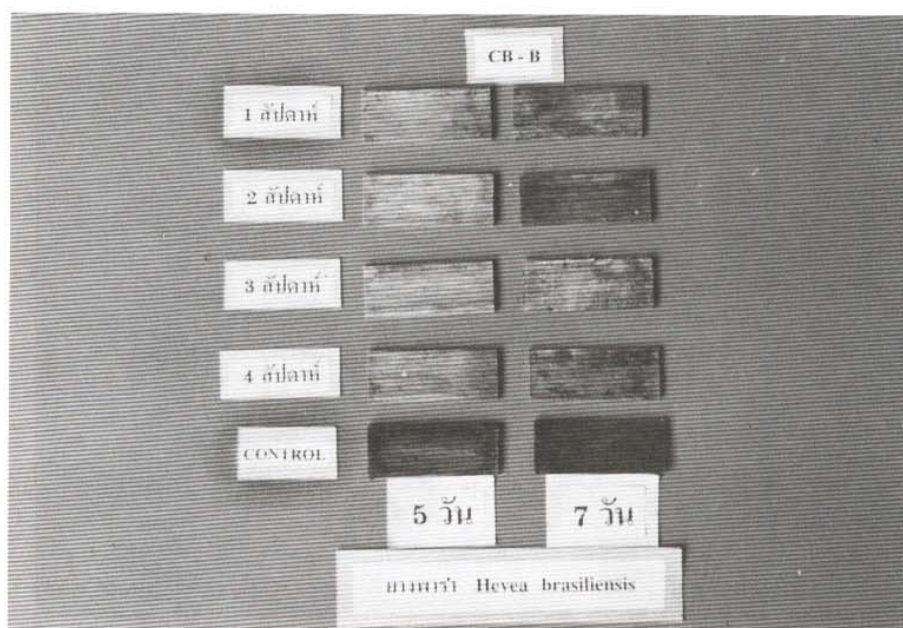


Figure 4. Discoloration from stain fungus (*Botryodiplodia theobromae*) on rubber woods Treated with soluble metabolites of *Trichoderma harzianum* strain CB-PIN-01 which were incubated in culture B.

สรุป

1. การควบคุมเชื้อราขี้มด *Botryodiplodia theobromae* โดยใช้สารจากเชื้อ *T. harzianum* สายพันธุ์ Th1 และ CB-PIN-01 ที่ได้รับการบ่มเชื้อเป็นเวลา 3 สัปดาห์ บนอาหารเทียมสูตร B ให้ผลในการชะลอการเจริญเติบโตของเชื้อราขี้มดได้ภายในระยะเวลาไม่เกิน 3 วัน

2. การใช้สารจากเชื้อ *T. harzianum* ทั้ง 2 สายพันธุ์ ที่ได้รับการบ่มเชื้อเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บนอาหารเทียมสูตร A สามารถชะลอการเกิดสีเทาเข้มในไม้ยางพาราได้ในระยะเวลาไม่เกิน 5 วัน

3. การเพาะเลี้ยงเชื้อ *T. harzianum* บนอาหารเทียมสูตร A และ B โดยใช้ระยะเวลาบ่มเชื้อ 3 สัปดาห์ สามารถผลิต conidiospore ได้จำนวนมากที่สุด

4. การสกัดสารจากเชื้อ *T. harzianum* ด้วยคลอโรฟอร์ม โดยใช้กรวยแยกแล้วระเหยให้แห้ง โดยใช้เครื่องระเหยสูญญากาศเป็นวิธีที่ทำให้ได้สารสกัดมากกว่าวิธีอื่นๆ แต่ปริมาณสารที่ได้ยังอยู่ในปริมาณค่อนข้างต่ำไม่เหมาะที่จะดำเนินการเพื่อการค้า

คำขอขอบคุณ

ผู้ทำการวิจัยขอขอบคุณ ดร.จิระเดช แจ่มสว่าง ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ได้อนุเคราะห์เชื้อราในการทดลอง และขอขอบคุณ คุณยศนันท์ พรหมโชติกุล ที่ได้ให้คำแนะนำบางประการในการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

ธีระ วิณิน, สุรางค์ เขียวหิรัญ และ อรุณทัย วงศ์ศิริ. 2532. การป้องกันเชื้อรารอยด่างสีน้ำตาลเงินบนไม้ยางพาราแปรรูป. เอกสารทางวิชาการการประชุมการป่าไม้ประจำปี 2532. การพัฒนาป่าไม้เพื่อการอนุรักษ์ สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีทางไม้. กรมป่าไม้. น.201-206.

ไวภูณัฐ ภูริทัต และ สุรศักดิ์ หล่อจิตต์เสียง. 2538. การประเมินผลผลิตไม้ยางพารา. เอกสารเลขที่ ร. 450. กลุ่มเศรษฐกิจป่าไม้ ส่วนวิจัยเศรษฐกิจและพัฒนากิจการป่าไม้. กรมป่าไม้. 7. น.

ส่วนศูนย์ข้อมูลกลาง. 2541. สถิติการป่าไม้ของประเทศไทย 2541. สำนักสารนิเทศ. กรมป่าไม้. 144 หน้า.

สุทธาทิพย์ แสงกุล, สุรางค์ เขียวหิรัญ และ อรุณจิรจักรกุล. 2531. ประสิทธิภาพของสารเคมีรักษาเนื้อไม้ต่อไม้ยางพารา. เอกสารทางวิชาการประชุมการป่าไม้ ประจำปี 2531. การป่าไม้เพื่อการพัฒนาชนบท สาขาวนผลิตภัณฑ์. กรมป่าไม้. น. 83-88.

สุภาพร อวรัญ, จิระเดช แจ่มสว่าง, อำไพพรรณ ภราดรานุวัฒน์ และ รวี เสธภูภักดี. 2538. การใช้ส่วนผสมของผงเชื้อราไตรโคเดอร์มา ร่วมกับสารเคมีควบคุมเชื้อราในการควบคุมโรครากและโคนเน่าของกล้าทุเรียนซึ่งเกิดจากเชื้อราฟิโอฟthora พัลมิอรา. สายใย

โรคพืช. คณะเกษตร มหาวิทยาลัย
เกษตรศาสตร์ ปีที่ 2 ฉบับที่ 1. 23 หน้า.

Benko, R. 1989. Biological Control of Blue Stain on Wood with *Pseudomonas cepacia* 6253 Laboratory and Field Test. The International Research Group on Wood Preservation. Doc. No: IRG/WP/1380. 5 pp.

Burgel, J., E.M. Horvath, J. Haschka and K. Messner. 1994. Biological control with *Trichoderma harzianum* in relation to The Formation of Spores and The Production of Soluble Metabolites. The Internaitonal Research Group on Wood Preservation. Doc. No. IRG/WP/94-10073. 14 pp.

ภาคผนวก

อาหารสูตร A (Potato Dextrose Agar)

potato	200	gm
dextrose	20	gm
agar	20	gm
water	1	litre

อาหารสูตร B

agar	20	gm	peptone	2	gm
glucose	10	gm	asparagine	1	gm
malt extract	2	gm	MgSO ₄	1	gm
yeast extract	2	gm	thiamine	1	gm
KH ₂ PO ₄	2	gm	water	1	litre

THAI JOURNAL OF FORESTRY
Volume 18 Number 1, January - June 1999

ISSN 0857 - 1724

Insect Pest Inventory and Monitoring of Exotic Plants at Doi Angkhang, Chiang Mai Province	Dacha Wiwatwitaya	1
Biodiversity Dynamics of Ectomycorrhizal and Wood-Rotting Fungi in Forested Watershed Areas of Western Thailand	Aniwat Chalermpongse	9
An Application of Used Plastic Bottle for Rainfall Measurement	Vanchai Viranant	30
Observed and Hypothetical Effect Over Time of the Terraced Forest Plantation on Soil and Water Losses at Doi Angkhang Highland Project, Chiang Mai	Nipon Tangtham	39
Production and Marketing of Plywood in Thailand	Santi Suksard, Wuthipol Hoamuangkaew, Apichat Pattaratuma and Patsi Prasomsin	48
Species Diversity of Trees in Dry Dipterocarp Forest at Sakaerat Nakornratchasima III. Tree Species Diversity Variations and Soil Fertility	Pongsak Sahunalu	56
Milk Package (U.H.T.) Relycle for Composite Board	Songklod Jarusombati, Woratham Oonjittichai	64
Biological Control of Stain Fungus in Rubberwood (<i>Hevea Brasilinsis</i> Muell. Arg.) by <i>Trichoderma</i> sp.	Teera Veenin, Arunee Veenin and Pannee Denrungruang	73