การคัดเลือกและทดสอบเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพในการควบคุมฟิวซาเรียม โซลานาย

Selection and Testing of Potential Antagonistic Molds for Control of *Fusarium solani*

วนิดา ชื่นชัน[1] ศิริพร พุ่มไสว[2] สมศักดิ์ อยู่บริบูรณ์[3] วรรณกร กิจจะ[4]
สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา
Wanida Chuenchan[1] Siriporn Poomsawai[2] Somsak Yooboriboon[3] Wannakorn Kitcha[4]
Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Bansomdejchaopraya Rajabhat University
E-mail: wanida.ch@bsru.ac.th

Received: November *15, 2019*
Revised: December *18, 2019*
Accepted: *December 20, 2019*

บทคัดย่อ

การยับยั้ง *Fusarium solani* ด้วยเชื้อราปฏิปักษ์ที่แยกได้จากดิน ในเขตพื้นที่ ตำบลดอนกำยาน อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี โดยสุ่มเก็บตัวอย่าง จำนวน 6 จุด ของพื้นที่ปลูกเมล่อนและนำมาคัดแยกด้วยวิธี serial dilution spread plate สามารถคัดแยกเชื้อราได้ทั้งหมด 21 ไอโซเลท จัดจำแนกเชื้อราโดยอาศัยสัณฐานวิทยาด้วยเทคนิค slide culture ได้ 7 สกุล คือ สกุล *Fusarium* จำนวน 3 ไอโซเลท สกุล *Penicillium* จำนวน 10 ไอโซเลท สกุล *Aspergillus* จำนวน 3 ไอโซเลท สกุล *Aphanoascus* จำนวน 2 ไอโซเลท สกุล *Scopulariopsis* จำนวน 1 ไอโซเลท สกุล *Cylindrocarpon* จำนวน 1 ไอโซเลท และไม่สามารถจัดจำแนกได้ จำนวน 1 ไอโซเลท เมื่อนำเชื้อราทั้งหมดที่คัดแยกได้มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้ง *F. solani* สาเหตุโรคเหี่ยวของเมล่อนด้วยวิธี dual culture พบว่าเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีศักยภาพในการควบคุม *F. solani* มีจำนวน 2 ไอโซเลท ได้แก่ *Scopulariopsis* sp. MSPB 09 (59.52 เปอร์เซ็นต์) รองลงมาคือ *Penicillium* sp. MSPB 18 (51.19 เปอร์เซ็นต์)
คำสำคัญ: เมล่อน เชื้อราปฏิปักษ์ ฟิวซาเรียม โซลานาย โรคเหี่ยว

Abstract

The inhibition of *Fusarium solani* by Antagonistic molds from soil's Donkumyan subdistrict, Muang district, Suphanburi province. We conducted them by random sampling in 6 positions of melon planting area by using serial dilution spread plate technique and sorted out the antagonistic molds into 21 isolates, could identify them by morphology characteristic with slide culture technique and could be identified into 7 generas including 3 isolates of *Fusarium*, 10 isolates of *Penicillium*, 3 isolates of *Aspergillus*, 2 isolates of *Aphanoascus*, 1 isolate of *Scopulariopsis*, 1 isolate of *Cylindrocarpon*, and 1 isolate of unknown. When we

sorted all the molds to test the effectiveness in inhibiting *F. solani*, the cause of Fasarium wilt in melon with dual culture, it could be found that there are two isolates of antagonistic mold that can inhibit *F. solani* : *Scopulariopsis* sp. MSPB 09 (59.52%) followed by *Penicillium* sp. MSPB 18 (51.19%).
Keywords: Melon, Antagonistic fungi, *Fusarium solani*, Fasarium wilt

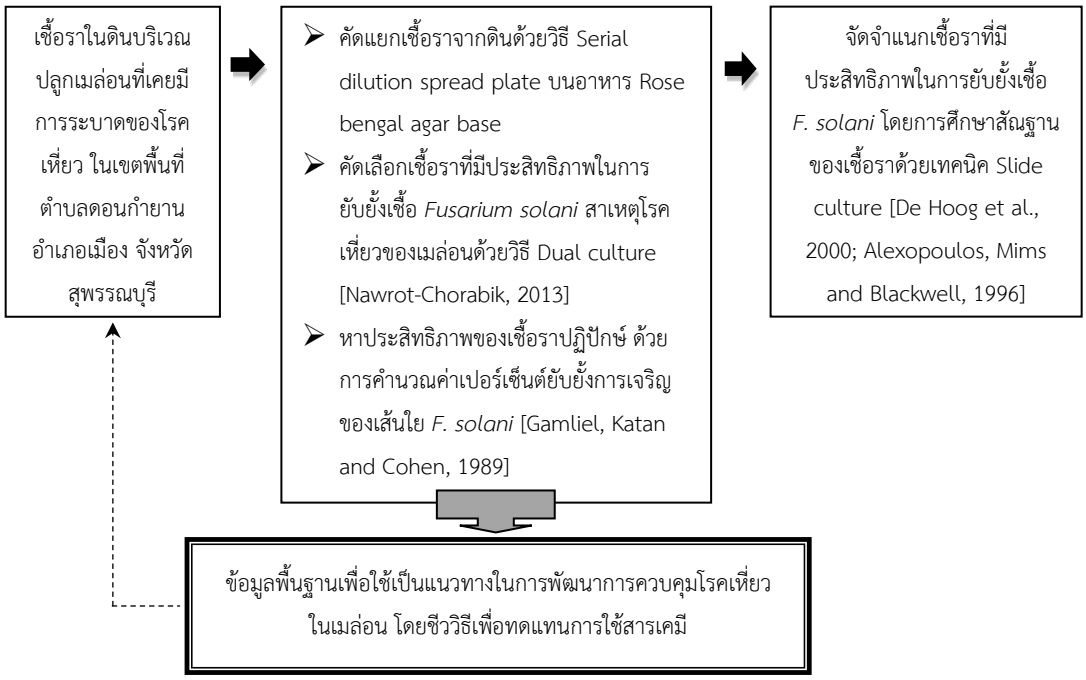
บทนำ

เมล่อน หรือที่นิยมเรียกว่าแคนตาลูป (*Cucumis melo*) เป็นพืชตระกูลแตงลักษณะเป็นเถาเลื้อยตามดิน มีต้นกำเนิดมาจากทวีปแอฟริกา ต่อมาได้แพร่กระจายไปยังแหล่งต่างๆ รวมทั้งประเทศไทย เมล่อนเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ แหล่งปลูกที่สำคัญ ได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี สุพรรณบุรี สระแก้ว และพะเยา ปัจจุบันมีการขยายพื้นที่ปลูกออกไปยังจังหวัดอื่นๆ มากขึ้น และที่เกษตรกรนิยมปลูกเมล่อนกันมากในพื้นที่นี้เพราะเมล่อนเป็นพืชที่มีอายุสั้น ต้องการน้ำน้อย ปลูกได้ตลอดทั้งปี สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้เร็ว ประกอบกับสภาพอากาศและสิ่งแวดล้อมเอื้ออำนวย ทำให้ผลผลิตที่ได้มีคุณภาพสม่ำเสมอ และมีรสชาติหอมหวาน [ทัศนาพร ทัศคร และพีระวรรณ พัฒนวิภาส, 2552] ในเขตพื้นที่ตำบลดอนกำยาน อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี มีสภาพดินเป็นลักษณะดินร่วนปนทราย ระบายน้ำได้ดี และดินเหนียวบางแห่ง ซึ่งทำให้สภาพดินเหมาะสำหรับการปลูกเมล่อน และจากการลงพื้นที่สำรวจข้อมูลเบื้องต้นพบว่าปัญหาที่พบจากการปลูกเมล่อนในพื้นที่ตำบลดอนกำยาน อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี คือการเข้าทำลายของโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium* spp. อยู่เสมอ โรคที่มักจะเกิดจากเชื้อราสกุล *Fusarium* คือโรคเหี่ยว (Fusarium wilt) และโรคยางไหล (Gummy stem blight) ที่เกิดกับเมล่อนในระหว่างการปลูกในแปลงปลูก และโรคผลเน่าทั้งที่เกิดขึ้นกับเมล่อนในระยะการปลูก และมักจะพบในระยะที่เก็บเกี่ยวเมล่อนมาแล้วและรอการขนส่งเพื่อจำหน่าย [อภิรัชต์ สมฤทธิ์ ธารทิพย์ ภาสบุตร และทัศนาพร ทัศคร, 2557] ในต่างประเทศพบว่า โรคผลเน่าเป็นปัญหาสำคัญที่สร้างความเสียหายให้กับการปลูกเมล่อนเพื่อการค้าเป็นอย่างมาก โดยมีรายงานการพบเชื้อราสกุล *Fusarium* หลายชนิด ที่ทำให้เกิดโรคเหี่ยว ได้แก่ *Fusarium graminum*, *Fusarium acuminatum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium scirpi* และ *Fusarium solani* ซึ่งลักษณะอาการที่เกิดบนเมล่อนจะแตกต่างกันไปตามชนิดของเชื้อรา *Fusarium* โดยส่วนใหญ่มีสาเหตุมาจากเชื้อราดังกล่าว 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Fusarium oxysporum* และ *Fusarium solani* โดยเชื้อรา *F. solani* มีแนวโน้มว่าจะพบทำให้เกิดโรคเหี่ยวมากขึ้น โดยเฉพาะกับเมล่อนที่ปลูกเป็นการค้า อาการของโรคจะพบเห็นชัดเจน เมื่อใบและลำต้นของเมล่อนเหี่ยวเฉา เป็นสีเหลือง และแห้งเป็นสีน้ำตาล ซึ่งอาการเริ่มแรกนั้นมาจากโคนต้นของเมล่อนที่มีแผลแห้งตายสีน้ำตาลเนื่องจากเชื้อสาเหตุเข้าทำลายทางราก จนทำให้เนื้อเยื่อท่อลำเลียงเน่าจึงไม่สามารถลำเลี้ยงน้ำ และแห้งตายในที่สุด [อภิรัชต์ สมฤทธิ์ บุษราคัม อุดมศักดิ์ และณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล, 2556] จากปัญหาที่เกิดขึ้น แม้ว่าจะมีการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืชในการป้องกันกำจัดหรือควบคุมการระบาดของเชื้อราสาเหตุโรคแล้วก็ตาม แต่ก็ยังไม่ได้ผลดีเท่าที่ควร เนื่องจากเชื้อราในสกุล *Fusarium* เป็นเชื้อราที่อาศัยในดิน และอยู่รอดในเศษซากพืชข้ามฤดูได้ ทำให้การใช้สารเคมียังไม่ได้ผลดีคุ้มค่ากับค่าใช้จ่ายที่เสียไป แต่กลับทำให้เสียเงินลงทุนทำการเกษตรมากขึ้น ในขณะที่ราคาผลผลิตเกษตรยังคงตกต่ำเช่นปัจจุบัน จากปัญหาที่กล่าวมา การระบาดของเชื้อรากลุ่มนี้ที่เพิ่มมากขึ้นจำเป็นต้องหาวิธีการป้องกันกำจัดเชื้อรา *F. solani* สาเหตุโรคเหี่ยวของเมล่อนที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น ใช้ต้นทุนต่ำ และไม่ก่อให้เกิดปัญหาต่อเนื่องหลังการใช้ เพื่อทดแทนการใช้สารเคมี ซึ่งปัจจุบันวิธีการป้องกันการกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคพืชโดยการใช้เชื้อราปฏิปักษ์ เริ่มเข้ามามีบทบาทมากขึ้น [Imran et al., 2000]

ดังนั้นงานวิจัยนี้ จึงมุ่งเน้นที่จะคัดเลือกเชื้อราปฏิปักษ์ที่คัดเลือกได้จากดิน ในเขตพื้นที่ตำบลดอนกำยาน อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *F. solani* ที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคเหี่ยวของเมล่อน เพื่อให้ได้

เชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์เพื่อเป็นทางเลือกใหม่ที่มีประสิทธิภาพมากขึ้นในการป้องกันกำจัดเชื้อรา *F. solani* ซึ่งคาดว่าผลการศึกษาและข้อมูล รวมถึงผลสรุปที่ได้จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อเกษตรกรในการป้องกันและกำจัดเชื้อราชนิดนี้อย่างมีประสิทธิภาพ และเป็นการลดการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดโรคพืช อีกทั้งเป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์การเกษตรในอนาคตและสร้างระบบกสิกรรมของประเทศไทยให้ยั่งยืนต่อไป

กรอบแนวคิด



วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพเชื้อราปฏิปักษ์จากดินในเขตพื้นที่ตำบลดอนกำยาน อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *F. solani* ที่ก่อโรคเหี่ยวของเมล่อนในระดับห้องปฏิบัติการ

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมเชื้อที่ใช้ในการทดสอบ

เชื้อรา *F. solani* แยกจากเมล่อนที่เป็นโรคเหี่ยว ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตรทำการเลี้ยงเชื้อในจานอาหาร Potato dextrose agar (PDA) บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 - 5 วัน เก็บเชื้อบริสุทธิ์ในอาหารเอียง (PDA slant) ศึกษารูปร่างสัณฐานของเชื้อรา *F. solani* โดยทำ slide culture และย้อมด้วยสี Lactophenol cotton blue นำมาตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของโครงสร้างที่ใช้สืบพันธุ์ ภายใต้กล้องสเตอริโอและกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40 เท่า

2. การเก็บตัวอย่างดินและการคัดแยกเชื้อราปฏิปักษ์

สุ่มเก็บตัวอย่างดินในพื้นที่ปลูกเมล่อน ตำบลดอนกำยาน อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี โดยเลือกแปลงปลูกที่เคยมีการระบาดของโรคเหี่ยว แต่ยังสามารถปลูกเมล่อนได้ ทำการแยกเชื้อราในดินด้วยวิธีปลอดเชื้อ ใช้เทคนิค Serial dilution spread plate โดยชั่งดิน 10 กรัม ทำการเจือจางตัวอย่างที่ระดับ 10^{-1} ถึง 10^{-4} และนำมาเลี้ยงบนอาหาร Rose bengal agar base เพื่อ

ใช้ในการแยกเชื้อราออกจากดิน นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 - 5 วัน แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ เก็บเชื้อที่บริสุทธิ์ในอาหารเอียงเพื่อใช้ในการจัดจำแนกชนิด และทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *F. solani*

3. จัดจำแนกชนิดของเชื้อรา

3.1 ศึกษาลักษณะโคโลนี เส้นใย สปอร์ และอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อรา ภายใต้กล้องสเตอริโอและกล้องจุลทรรศน์ พร้อมบันทึกภาพถ่าย

3.2 ศึกษารูปร่างสัณฐานวิทยาด้วยเทคนิค Slide culture และนำไปศึกษารูปร่างสัณฐานวิทยา โครงสร้างที่ใช้ในการสืบพันธุ์ ได้แก่เส้นใย ก้านสปอร์ ถุงหุ้มสปอร์ สี ขนาด และลักษณะของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แล้วทำการจัดจำแนกตาม Atlas of Clinical fungi [De Hoog et al., 2000] และ Classification of fungi [Alexopoulos, Mims and Blackwell, 1996]

4. ทดสอบเชื้อราในดินที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Fusarium solani* สาเหตุโรคเหี่ยวของเมล่อนด้วยวิธี Dual culture

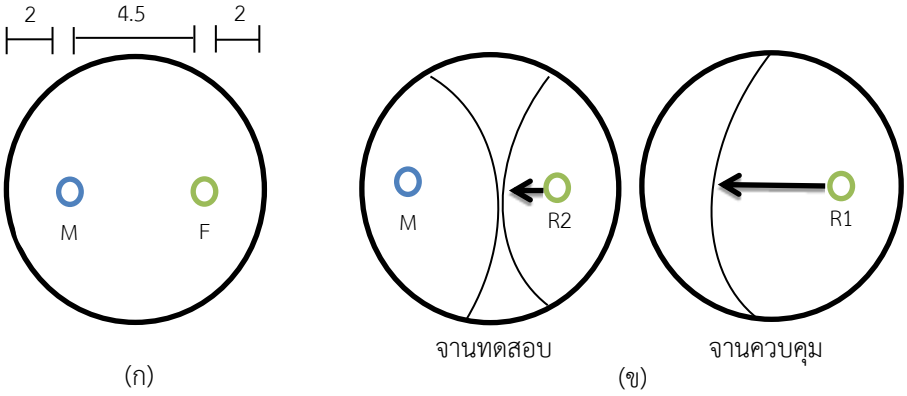
4.1 ทดสอบเชื้อรา *F. solani* สาเหตุโรคเหี่ยวของเมล่อน โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเชื้อรา *F. solani* จากโคโลนีอายุ 7 วัน วางลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose ager (PDA) โดยวางห่างจากขอบจาน 2 เซนติเมตร และด้านตรงข้ามในแนวเส้นผ่านศูนย์กลางนั้นวางชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้อราที่จะทดสอบประสิทธิภาพ (รูปที่ 1 ก) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และบ่มจานเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (± 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7 วัน [วนิดา ชื่นชัน และคณะ, 2562]

4.2 วัดรัศมีของเชื้อรา *F. solani* ในจานทดสอบและจานควบคุมซึ่งไม่ปลูกเชื้อราปฏิปักษ์ (รูปที่ 1 ข) นำค่าที่ได้มาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *F. solani* (Percent inhibition of radial growth = PIRG) โดยมีสูตรคำนวณ ดังนี้ [Gamliel, Katan and Cohen, 1989]

PIRG = [(R1 - R2)/R1] x 100

R1 = ความยาวรัศมีโคโลนีของเชื้อรา *F. solani* ในจานควบคุม

R2 = ความยาวรัศมีโคโลนีของเชื้อรา *F. solani* ในจานทดสอบ



รูปที่ 1 (ก) การวางตำแหน่งการวางชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้อรา *F. solani* สาเหตุโรคเหี่ยวของเมล่อนและตำแหน่งของเชื้อราปฏิปักษ์ในการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญบนอาหาร PDA

(ข) การวัดขนาดรัศมีโคโลนีของเชื้อรา *F. solani* สาเหตุโรคเหี่ยวของเมล่อน ในจานทดสอบและจานควบคุมซึ่งนำไปคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเส้นใย [วนิดา ชื่นชัน และคณะ, 2562]

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

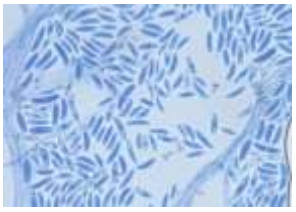
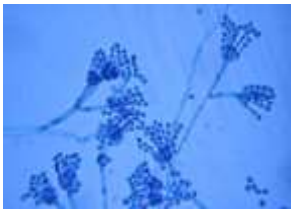
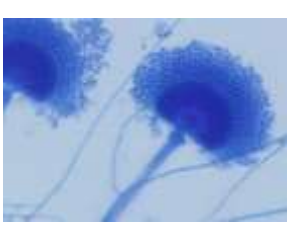
วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ CRD (completely random design) ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง วิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี One – way ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$

ผลการวิจัย

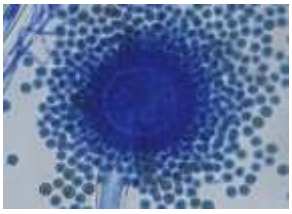
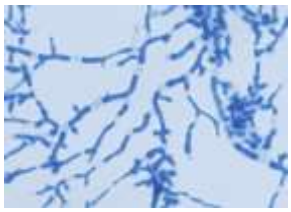
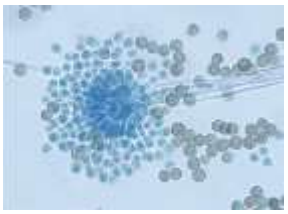
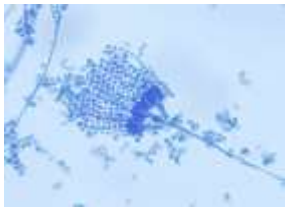
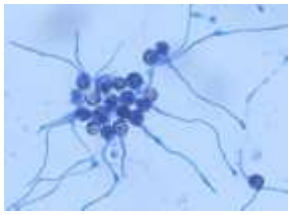
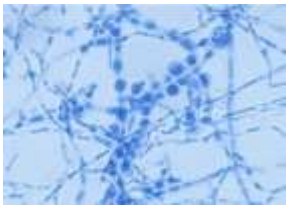
1. **ผลของการจัดจำแนกชนิดของเชื้อราในดิน**

จากผลการคัดแยกเชื้อราในดินที่แยกได้ทั้งหมด 21 ไอโซเลท นำมาจัดจำแนกชนิด โดยการทำ Slide culture เพื่อตรวจดูรูปร่างสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และจัดจำแนกตาม Atlas of Clinical fungi [De Hoog et al., 2000] และ Classification of fungi [Alexopoulos, Mims and Blackwell, 1996] ได้ดังนี้ (ตารางที่ 1 และ ตารางที่ 2)

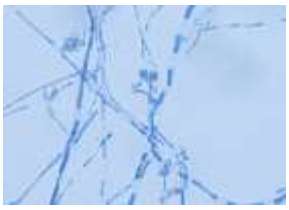
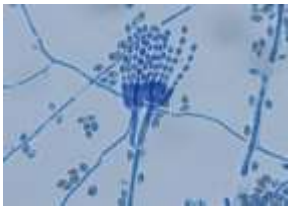
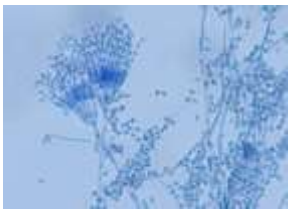
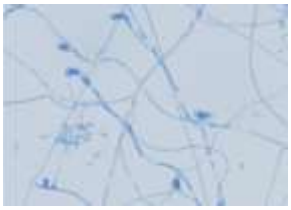
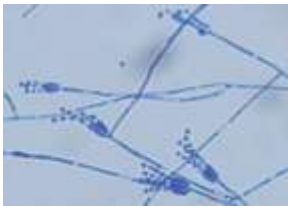
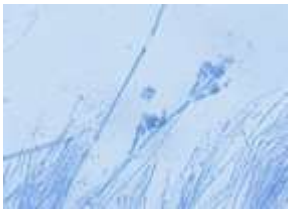
ตารางที่ 1 ลักษณะของเชื้อราในดินที่คัดแยกได้ ในเขตพื้นที่ปลูกเมล่อน ตำบลดอนกำยาน อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนี	ภาพสัณฐานวิทยา
MSPB 01	เส้นใยเจริญเติบโตเร็ว โคโลนีสีขาว มีลักษณะเป็นเมือก เส้นใยคล้ายกำมะหยี่ conidiophores มีลักษณะสั้น แตกกิ่งก้าน ขนาด 10-18 x 4-5 ไมโครเมตร phialides รูปร่างบวมพอง macroconidia โค้งงอและบริเวณปลายแหลม ขนาด 5-25 x 1.5-4.2 ไมโครเมตร ไม่มี microconidia มี chlamydospores อยู่ที่ส่วนปลาย รูปร่างกลมหรือรี ขนาด 6-12 ไมโครเมตร ผนังเรียบ	
MSPB 02	เส้นใยเจริญเติบโต โคโลนีสีขาวเป็นกระจุกค่อนข้างยาว conidiophores เจริญจากด้านข้างของเส้นใย มีลักษณะแตกกิ่งก้านสาขาค่อนข้างมาก macroconidia มีจำนวนมาก ขนาด 14 - 55 x 2-3.5 ไมโครเมตร มีลักษณะโค้งงอ ส่วนเซลล์ apical มีลักษณะคล้ายตะขอเกี่ยวและเซลล์ต้นกำเนิด (basal cell) นั้นไม่มีส่วน padicellate ไม่มี microconidia และ chlamydospores	
MSPB 03	เส้นใยเจริญเติบโตช้า คอโลนีสีเขียว เส้นใยสีขาว ผิวหน้านูนอยู่รวมกันเป็นกระจุกอย่างหนาแน่น ขอบของโคโลนีมีสีขาว conidiophore มีลักษณะคล้ายรูปสามเหลี่ยมคว่ำ ยาวประมาณ 40-50 ไมโครเมตร conida ต่อกันเป็นสายยาว รูปร่างค่อนข้างกลม ผิวเรียบ ไม่มีสี ขนาด 4-5 ไมโครเมตร	
MSPB 04	เส้นใยเจริญเติบโตช้า โคโลนีสีค่อนข้างเหลืองอ่อน ๆ หรือน้ำตาลอมเหลือง เส้นใยขาวอยู่กันเป็นกระจุกอย่างหนาแน่น conidiophore สีเหลือง หรือสีน้ำตาลอ่อน รูปร่างค่อนข้างกลม ผนังเรียบ ยาว 2.4-3.2 ไมโครเมตร vesicle ค่อนข้างกลม conidial head กระจายเป็นอิสระ ลักษณะเป็นแผ่นบาง สีขาว conidia รูปร่างกลม ไม่มีสี ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.3 ไมโครเมตร	

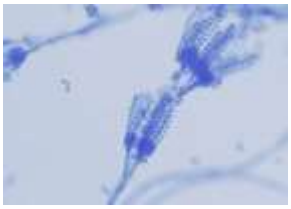
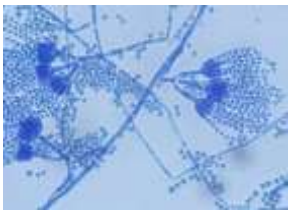
ตารางที่ 1 (ต่อ) ลักษณะของเชื้อราในดินที่คัดแยกได้ ในเขตพื้นที่ปลูกเมล่อน ตำบลดอนกำยาน อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนี	ภาพสัณฐานวิทยา
MSPB 05	เส้นใยเจริญเติบโตช้า โคโลนีสีดำ ขอบหยักสีขาว รวมกันเป็นกระจุกหนาแน่น ขอบของโคโลนีสีขาว บริเวณหัวของ conidial มีลักษณะเป็น columnar และค่อนข้างหยิก ก้านของ conidiophores ยาว 50-100 ไมโครเมตร ผนังเรียบและ hyaline สีเขียวเล็กน้อย vesicles มีขนาดเล็กประมาณ 5-12 ไมโครเมตร บริเวณส่วนปลายหนาแน่นกว่าช่วงโคนฐาน conidiogenous มีลักษณะที่จัดเรียงเป็นแถวเดียว conidia ลักษณะค่อนข้างหยาบ	
MSPB 06, 15	เส้นใยเติบโตได้ปานกลาง โคโลนีสีน้ำตาลหรือสีโทนคล้ำ ผิวหน้ามีลักษณะแบนบาง ascomata มีรูปร่างทรงกลม เส้นผ่านศูนย์กลาง 290-500 ไมโครเมตร ไม่มีรูพรุน ผนังสีน้ำตาลอ่อน ผิวด้านนอกเป็น pseudoparenchymatous	
MSPB 07	เส้นใยเติบโตได้ปานกลาง โคโลนีมีการแพร่กระจายอย่างกว้างขวาง ผิวหน้ามีลักษณะแบนบางสีเขียวจนเขียวน้ำตาล ขอบโคโลนีสีขาว ส่วนหัวของ conidial กระจัดกระจาย สีน้ำเงินเขียว เส้นผ่านศูนย์กลางขนาดประมาณ 500-1000 ไมโครเมตร vesicle ต่าง ๆ เป็นทรงกลม conidiophores มีขนาด 700-800 x 2-3 ไมโครเมตร ผนังเรียบ	
MSPB 08, 12	เส้นใยเจริญเติบโตค่อนข้างช้า โคโลนีสีน้ำตาลปนเขียวคล้ำ ผิวหน้านูนขอบสีขาว ก้านของ conidiophore ทอดยาวมาจากส่วนย่อยของ hyphae มีความยาว 50-75 ไมโครเมตร และมีผนังเรียบ แต่มีส่วนที่ขรุขระเล็กน้อยบริเวณ vesicle เซลล์ conidiogenous จัดเรียงเป็นแถวเดียว conidia ค่อนข้างขรุขระ มีขนาด 3.5-4 ไมโครเมตร	
MSPB 09	เส้นใยเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว โคโลนีมีสีน้ำตาลจนถึงสีดำ เส้นใยสีดำฟูเล็กน้อย อยู่รวมกันเป็นกระจุกหนาแน่น conidiophores เจริญจากบริเวณด้านข้างของเส้นใย อาจแตกกิ่งก้านสาขาเป็นส่วนเดี่ยวหรือเป็นกลุ่ม ยาวประมาณ 8-27 x 2.5-4 ไมโครเมตร มีรูปร่างทรงกระบอกและอาจบวมพอง บริเวณ annellated มีมักลักษณะแหลม conidia เป็นทรงกลม ผนังเรียบ และมีขนาด 5-8 x 5-7 ไมโครเมตร	
MSPB 10	เส้นใยเจริญเติบโตค่อนข้างเร็ว โคโลนีขรุขระเล็กน้อย สีขาว ครีม จนถึงสีเทาเข้ม บริเวณกลางโคโลนี ขอบโคโลนีมีสีขาวหยัก thallus ประกอบด้วย chlamydospores เป็นกระจุกและมีผนังบาง phialides มีลักษณะที่กระจัดกระจาย ทรงกระบอก และเรียวลงเรื่อยๆ จนถึงบริเวณปลาย ยาวประมาณ 10-40 ไมโครเมตร	

ตารางที่ 1 (ต่อ) ลักษณะของเชื้อราในดินที่คัดแยกได้ ในเขตพื้นที่ปลูกเมล่อน ตำบลดอนกำยาน อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนี	ภาพสัณฐานวิทยา
MSPB 11	เส้นใยเจริญเติบโตเร็ว โคโลนีมีสีขาว ครีม จนถึงสีเหลืองอ่อน เส้นใยสีขาว อยู่รวมกันเป็นกระจุกอย่างหลวม ๆ macroconidia รูปร่างคล้ายกระสวย หัวท้ายแหลม เมื่อโคโลนีอายุมากพบแต่ chlamydospore	
MSPB 13	เส้นใยเจริญเติบโตเร็ว โคโลนีมีสีขาวเทาจนถึงอมเขียว เส้นใยฟู สีขาว โคโลนีมีลักษณะเป็นขนกำมะหยี่หรือมีขนปุย ก้าน conidiophore ยาวประมาณ 100-300 ไมโครเมตร ผนังมีทั้งส่วนที่บางและขรุขระ conidia มีรูปร่างทรงกลม เส้นผ่านศูนย์กลาง 3-3.5 ไมโครเมตร มีหนามเล็กน้อย และมีผนังขรุขระ	
MSPB 14	เส้นใยเจริญเติบโตช้า โคโลนีมีสีเหลืองจนถึงสีเหลืองอ่อน ผิวหน้านูน อยู่รวมกันเป็นกระจุกอย่างหนาแน่น และมีลักษณะเป็นขนกำมะหยี่หรือมีขนปุย ก้าน conidiophore มีผนังเรียบ ยาวประมาณ 100-300 ไมโครเมตร metulae ยาวประมาณ 12-15 ไมโครเมตร phialides มีรูปร่างคล้ายขวด ยาวประมาณ 7-12 ไมโครเมตร conidia มีรูปร่างทรงกลม ผนังเรียบ หรือขรุขระเล็กน้อย เส้นผ่านศูนย์กลาง 2.2-3 ไมโครเมตร	
MSPB 16	เส้นใยเจริญค่อนข้างช้า โคโลนีสีขาวอมเทา อยู่รวมกันเป็นกระจุกอย่างหลวม ๆ ผิวหน้านูน conipiophores เจริญจากกิ่งของ hyphae พบ macroconidia เป็นจำนวนมาก มีลักษณะงอหรืออาจตรง พบ septate 3-5 อัน microconidia ถูกผลิตขึ้นจาก polyphialides และ aggregating ในส่วนหัว มีเซลล์เดียว รูปร่างทรงไข่ ขนาด 4-20 x 1.5-4.5 ไมโครเมตร	
MSPB 17	เส้นใยเจริญเติบโตเร็ว โคโลนีมีสีขาวครีม เส้นใยสีขาว อยู่รวมกันเป็นกระจุกอย่างหนาแน่น ด้านล่างโคโลนีมีน้ำตาลเข้มจนถึงดำ ก้าน conidiophore มีผนังเรียบ ยาวประมาณ 100-300 ไมโครเมตร metulae ยาว 12-15 ไมโครเมตร phialides มีรูปร่างคล้ายขวด ยาว 7-12 ไมโครเมตร conidia มีรูปร่างทรงกลม ผนังเรียบ หรือขรุขระเล็กน้อย เส้นผ่านศูนย์กลาง 2.2-3 ไมโครเมตร	
MSPB 18	เส้นใยเจริญเติบโตเร็ว โคโลนีมีสีเหลือง จนถึงเหลืองเขียว ก้าน conidiophores ยาวประมาณ 70-100 ไมโครเมตร ผนังเรียบ metulae ยาว 10-15 ไมโครเมตร phialides มีลักษณะเป็นรูปใบสน ยาว 8-10 ไมโครเมตร conidia มีรูปทรงรี ผนังอาจเรียบหรือขรุขระ ยาว 3-3.5 x 2.5-3 ไมโครเมตร	

ตารางที่ 1 (ต่อ) ลักษณะของเชื้อราในดินที่คัดแยกได้ ในเขตพื้นที่ปลูกเมล่อน ตำบลดอนกำยาน อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนี	ภาพสัณฐานวิทยา
MSPB 19	เส้นใยเจริญเติบโตค่อนข้างช้า โคโลนีมีสีเหลืองจนถึงสีเหลืองอ่อน ผิวหน้านูน อยู่รวมกันเป็นกระจุกอย่างหนาแน่นขอบมีสีเขียวเล็กน้อย conidiophores มีส่วนหัวสีเขียว ผนังเรียบ ยาว 300-400 ไมโครเมตร conidia มีรูปร่างทรงกลม ขนาด 2.5-3.5 ไมโครเมตร มีสีเขียวทึบ และมีหนามเล็ก ๆ conidiophores มีส่วนหัวสีขาว ผนังเรียบ ขนาด 2-2.5 ไมโครเมตร ก้าน hyaline มีสีเหลืองเล็กน้อย เส้นผ่านศูนย์กลาง 2 - 2.5 ไมโครเมตร	
MSPB 20	เส้นใยเจริญเติบโตค่อนข้างช้า โคโลนีมีสีเขียว ผิวหน้านูน ขอบมีสีขาวเล็กน้อย ก้าน conidiophores มีผนังเรียบ ยาว 200-300 ไมโครเมตร metulae ยาวประมาณ 8-12 ไมโครเมตร phialides มีรูปร่างทรงขวด ยาวประมาณ 7-10 ไมโครเมตร conidia มีรูปร่างทรงรี มีผนังเรียบ ยาวประมาณ 2.5-4 ไมโครเมตร สีน้ำเงินหรือเงินปนเขียว	
MSPB 21	เส้นใยเจริญเติบโตค่อนข้างเร็ว โคโลนีมีสีเขียวคล้ำ ขอบมีสีขาว ก้าน conidiophores มีผนังเรียบ ยาวประมาณ 200-500 ไมโครเมตร metulae ยาว 12-18 ไมโครเมตร phialides รูปทรงขวด ช่องคอแคบ ยาว 8-11 ไมโครเมตร และ มีการจัดเรียงตัวแบบปิดสนิท conidia รูปทรงรี ผนังเรียบ ยาว 3-3.5 ไมโครเมตร	

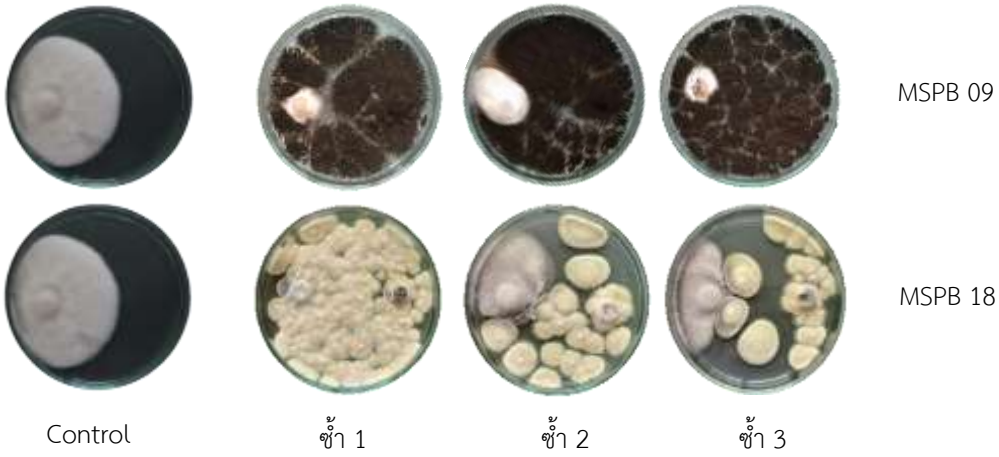
ที่มา: วนิดา ชื่นชัน และคณะ (2562)

ตารางที่ 2 ชนิดของเชื้อราในดินที่คัดแยกได้ จำนวน 21 ไอโซเลท [วนิดา ชื่นชัน และคณะ, 2562]

ไอโซเลท	ผลการจัดจำแนก
MSPB 01 MSPB 02 MSPB 16	*Fusarium* sp.
MSPB 03 MSPB 08 MSPB 12 MSPB 13 MSPB 14 MSPB 17 MSPB 18 MSPB 19 MSPB 20 MSPB 21	*Penicillium* sp.
MSPB 04 MSPB 05 MSPB 07	*Aspergillus* sp.
MSPB 06 MSPB 15	*Aphanoascus* sp.
MSPB 09	*Scopulariopsis* sp.
MSPB 10	*Cylindrocarpon* sp.
MSPB 11	Unknown

2. ผลการทดสอบเชื้อราในดิน ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Fusarium solani* สาเหตุโรคเหี่ยวของเมล่อน ด้วยวิธี Dual culture technique

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราในดินที่แยกได้ทั้งหมด 21 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. solani* บนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) ด้วยวิธี dual culture technique โดยการวัดขนาดความยาวของรัศมีโคโลนีของเชื้อรา *F. solani* และนำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *F. solani* (รูปที่ 2 และ ตารางที่ 3)



รูปที่ 2 ความสามารถของเชื้อ MSPB 09 และ MSPB 18 ต่อการยับยั้งเชื้อรา *F. solani* เมื่อเทียบกับชุดควบคุม [วนิดา ชื่นชัน และคณะ, 2561]

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. solani* สาเหตุโรคเหี่ยวของเมล่อน

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง *F. solani* จานควบคุม	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง *F. Solani* จานทดสอบ	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง *F. solani*
MSPB 01	2.80	2.12 ± 0.16	24.40% ±3.31^{abc}
MSPB 02	2.80	2.40 ± 0.17	14.28% ±3.57^{ab}
MSPB 03	2.80	2.43 ± 0.08	13.09% ±1.58^{ab}
MSPB 04	2.80	2.17 ± 0.37	22.62% ±7.5^{abc}
MSPB 05	2.80	2.08 ± .076	25.59% ±1.57^{abc}
MSPB 06	2.80	1.43 ± 0.58	48.81% ±12.04^{de}
MSPB 07	2.80	2.12 ± 0.03	24.40% ±0.59^{abc}
MSPB 08	2.80	2.37 ± 0.03	15.48% ±0.59^{ab}
MSPB 09 *	2.80	1.13 ± 0.24	59.52%±4.87^{e}
MSPB 10	2.80	1.92 ± 0.06	31.55% ±1.19^{bcd}
MSPB 11	2.80	2.23 ± 0.03	20.24% ±0.59^{ab}
MSPB 12	2.80	1.57± 0.60	44.05% ±12.43^{cde}

ตารางที่ 3 (ต่อ) เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. solani* สาเหตุโรคเหี่ยวของเมล่อน

ไอโซเลท	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง *F. solani* จานควบคุม	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลาง *F. Solani* จานทดสอบ	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง *F. solani*
MSPB 13	2.80	1.97 ± 0.03	29.76%±0.59^{bcd}
MSPB 14	2.80	2.68 ± 0.03	4.17% ±0.59^{a}
MSPB 15	2.80	1.83 ± 0.34	34.52% ±7.02^{bcd}
MSPB 16	2.80	2.68 ± 0.10	4.17% ±2.15^{a}
MSPB 17	2.80	2.07 ± 0.03	26.19% ±0.59^{abc}
MSPB 18 *	2.80	1.37 ± 1.02	51.19% ±21.04^{de}
MSPB 19	2.80	2.35 ± 0.13	16.07% ±2.73^{ab}
MSPB 20	2.80	2.65 ± 0.13	5.35% ±2.73^{a}
MSPB 21	2.80	2.33 ± 0.19	16.67% ±3.90^{ab}

ที่มา: วนิดา ชื่นชัน และคณะ (2562)

จากตารางที่ 3 พบว่ามีเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคได้จำนวน 2 ไอโซเลท คือ MSPB 09 และ MSPB 18 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเฉลี่ยที่ 59.52 เปอร์เซ็นต์ และ 51.19 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยของการยับยั้งเชื้อรา *F. solani* ของเชื้อราปฏิปักษ์ MSPB 09 และ MSPB 18 พบว่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$)

สรุปผลการวิจัยและอภิปรายผล

คัดแยกเชื้อราในเขตพื้นที่ปลูกเมล่อน ตำบลดอนกำยาน อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี ได้ 21 ไอโซเลท เมื่อนำมาจัดจำแนกตามสัณฐานวิทยาพบว่าเป็น 19 ชนิด 7 สกุล คือ *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Aphanoascus* spp., *Scopulariopsis* sp. *Cylindrocarpon* sp., และ *Microsporum* sp. เมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยังยั้งเชื้อ *F. solani* พบว่า *S. fusca* (MSPB 09) มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 59.52 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ *P. rugulosum* (MSPB 18) มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 51.19 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่าเชื้อราปฏิปักษ์ MSPB 09 แตกต่างจาก MKB 18 อย่างไม่มีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$) และเมื่อพิจารณาประสิทธิภาพของเชื้อราทั้ง 2 ชนิด ในการยับยั้งของเชื้อ *F. solani* มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งค่อนข้างต่ำ แต่เนื่องจากเป็นเชื้อที่คัดแยกได้จากบริเวณแปลงปลูกเมล่อนที่เคยมีการระบาดของโรคเหี่ยว แต่ยังสามารถปลูกเมล่อนได้ จึงมีความเป็นไปได้ที่จะสามารถอยู่รอดได้ในสภาพธรรมชาติ และแข่งขันกับเชื้อก่อโรคได้

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเชื้อราปฏิปักษ์ทั้ง 2 ไอโซเลท นี้มีลักษณะโคโลนีที่มีการสร้างเส้นใยเจริญเติบโตเร็วกว่าเชื้อราก่อโรค จึงมีศักยภาพในการยับยั้งเป็นไปในลักษณะการแข่งขันครอบครองพื้นที่และอาหาร ซึ่งส่งผลให้มีประสิทธิในการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ต่อเชื้อ *F. solani* ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของวิพรพรรณ์ และคณะ ที่พบว่าการใส่เชื้อ *Trichoderma* sp. รองก้นหลุมก่อนปลูกจะไม่พบการเกิดโรคราน้ำค้างและโรคเหี่ยว ซึ่งเป็นผลจากการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วจนสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้เช่นกัน [วิพรพรรณ์ เนื่องเม็ก ประสิทธิ์ ผาผ่อง และมนัส ทิตย์วรรณ, 2557] นอกจากนี้ยังพบว่า *Trichoderma* spp. มี

ประสิทธิภาพในการชักนำให้แตงเทศมีความต้านทานต่อโรคต้นแตกยางไหล (gummy stem blight disease) ที่เกิดจากเชื้อรา *F. solani* (Auersw) Rehm. แสดงว่าเชื้อราปฏิปักษ์ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ก็น่าจะสามารถนำไปพัฒนาเพื่อยังยั้งการก่อโรคต้นแตกยางไหลในพืชตระกูลแตงได้เช่นกัน [สุมิสา อรุณโน และวีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์, 2556; Wu et al., 2009] อีกทั้งเมื่อพิจารณาวิธีการทดลองด้วยวิธี dual culture ที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้เป็นวิธีที่น่าสนใจ เนื่องจากเห็นผลการทดลองได้อย่างชัดเจน และมีความแม่นยำสูงในการทดสอบ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของวิไลลักษณ์ และสมเกียรติ ที่ศึกษาผลของแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกจากดินบริเวณรอบรากพริกต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืช *Colletotrichum capsici*, *Curvularia lunata* และ *F. solani* ด้วยวิธี dual culture [วิไลลักษณ์ โคมพันธุ์ และสมเกียรติ ทับทิม, 2559] และยังสามารถใช้วิธี dual culture ในการคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคราสีเทาของผลองุ่นที่เกิดจาก *Botrytis cinerea* ที่แยกได้จากผิวของผลองุ่นสุกพันธุ์คาร์ดินัล ได้อีกด้วย [อนุเทพ ภาสุระ และศศิภาส์ นุตวงษ์, 2560]

ข้อเสนอแนะการวิจัย

การศึกษานี้ใช้วิธีศึกษาสัณฐานวิทยาในการจัดจำแนกชนิดเชื้อราปฏิปักษ์ จึงควรใช้วิธีการตรวจสอบในระดับโมเลกุลเพื่อเป็นการยืนยันผลการศึกษา และควรมีการศึกษาเชิงลึกถึงกลไกของ *S. fusca* (MSPB 09) และ *P. rugulosum* (MSPB 18) ในการยับยั้งเชื้อรา *F. solani* ควบคู่กับการใช้สารเคมีที่เกษตรกรใช้ในการควบคุมโรคเหี่ยวในเมล่อนเป็นชุดควบคุมเชิงบวกเพิ่มเติม เพื่อเป็นข้อมูลเปรียบเทียบในการหาแนวทางการพัฒนาสู่การประยุกต์ใช้งานในจริงสภาพธรรมชาติ นอกจากนี้การศึกษานี้เลือกศึกษาเฉพาะเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวของเมล่อนเพียง 1 ชนิด คือ *F. solani* จึงควรมีการนำเชื้อที่แยกได้จากพื้นที่ปลูกเมล่อนตำบลดอนกำยาน อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี ไปศึกษาความสามารถในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคชนิดอื่น อย่างไรก็ดีการศึกษาครั้งนี้เป็นการทดสอบในห้องปฏิบัติการ จึงควรมีการทดสอบในระดับเรือนทดลอง และสภาพไร่ เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาต้นแบบเชื้อราปฏิปักษ์ในการลดปริมาณเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวของเมล่อนและมีส่วนช่วยส่งเสริมในการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ให้แก่พื้นที่ที่ทำการเพาะปลูกเมล่อนและเกษตรกรที่ทำการเพาะปลูกเมล่อนต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา ที่สนับสนุนทุนวิจัย

เอกสารอ้างอิง

[1] ทัศนาพร ทัศคร, และพีระวรรณ พัฒนวิภาส. (2552). โรคเหี่ยวในแคนตาลูป. *วารสารจดหมายข่าวผลิใบ*, *12*(3), 2-3.

[2] อภิรัชต์ สมฤทธิ์, ธารทิพย์ ภาสบุตร, และทัศนาพร ทัศคร. (2557). *การศึกษาวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเชื้อรา Fusarium* spp. *สาเหตุโรคในกล้วยไม้ที่ปลูกเป็นการค้า*. (รายงานการวิจัย). กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร.

[3] อภิรัชต์ สมฤทธิ์, บุษราคัม อุดมศักดิ์, และณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล. (2556). *การทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรีย Bacillus subtilis ในการควบคุมโรคเหี่ยวพืชตระกูลแตงที่มีสาเหตุจากเชื้อรา Fusarium solani*. (รายงานการวิจัย). กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร.

[4] วนิดา ชื่นชัน, สุกันยา รักษาสระน้อย, สมศักดิ์ อยู่บริบูรณ์, และวรรณกร กิจจะ. (2562). การยับยั้งเชื้อรา *Phytophthora parasitica* ด้วยเชื้อราปฏิปักษ์ที่แยกได้จากดินในเขตพื้นที่ ตำบลกุยบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์. *วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง*, *28*(1), 52-64.

[5] วิพรพรรณ์ เนื่องเม็ก, ประสิทธิ์ ผาผ่อง, และมนัส ทิตย์วรรณ. (2557). ผลของเชื้อราไตรโคเดอร์มาต่อการเจริญเติบโตและควบคุมโรคของแคนตาลูปในแปลงปลูก. *วารสารแก่นเกษตร*, 42, 680-685.

[6] สุมิสา อรุณโน, และวีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์. (2556). การใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการกระตุ้นความต้านทานโรคต้นแตกยางไหลในแตงเทศ. *วารสารแก่นเกษตร*, 41, 135-142.

[7] วิไลลักษณ์ โคมพันธุ์, และสมเกียรติ ทับทิม. (2559). ผลของแอคติโนมัยซีทที่คัดแยกจากดินรอบรากพริกต่อการยับยั้งการเจริญของ *Colletotrichum capsici*, *Curvularia lunata* และ *Fusarium solani*. *วารสารแก่นเกษตร*, 44, 942-947.

[8] อนุเทพ ภาสุระ, และศศิภาส์ นุตวงษ์. (2560). ประสิทธิภาพของยีสต์ปฏิปักษ์ในการควบคุมทางชีววิธีต่อโรคผลอุ่นเน่าหลังการเก็บเกี่ยวที่เกิดจากเชื้อราสีเทา *Botrytis cinereal*. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*, 22, 258-268.

[9] Imran, A. Siddiqui., Shamin, A. Qureshi., V. Sultana, S. Ehteshamul-Haque, and Abdul Ghaffar. (2000). Biological Control of Root Rot - Root Knot Disease Complex of Tomato. *Plant and Soil*, *227*(1), 163-169.

[10] Nawrot-Chorabik, K. (2013). The Use of Interactions in Dual Cultures in vitro to Evaluate the Pathogenicity of Fungi and Susceptibility of Host Plant Genotypes. *Environmental Biotechnology – New Approaches and Prospective Applications*. Retrieved December 25, 2019, from http://dx.doi.org/10.50772/53214

[11] Gamliel, A., Katan, J., and Cohen, E. (1989). Toxicity of Chloronitrobenzenes to *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani* as Related to Their Structure. *Phytoparasitica*, *17*(2), 101-106.

[12] De Hoog, G.S., Guarro, J., Gene, J., and Figueras, M.J. (2000). *Atlas of Clinical Fungi* (2nd ed.). Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures.

[13] Alexopoulos, C.J., Mims, C.W., and Blackwell, M. (1996). *Introductory Mycology* (4th ed.). New York: John Wiley & Sons, Inc.

[14] Wu, H.S., Yang, X.N., Fan, J., Miao, W., Ling, N., Xu, Y.C., Huang, Q.W., and Shen, Q. (2009). Suppression of Fusarium Wilt of Watermelon by Bio-organic Fertilizer Containing Combinations of Antagonistic Microorganisms. *BioControl, 54*(2), 287-300.