รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ตามโครงการที่ 3060-0069

เรื่องการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่โดยใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์

Control of Root Rot and Crown Rot of Strawberry with Antagonistic Microorganisms

คณะผู้วิจัย

หัวหน้างานวิจัย

รศ.ดร. นุชนารถ จงเลขา

ผู้ร่วมงานวิจัย

ดร. สุรีวัลย์ เมฆกมล

นางอรพิน วัชวงษ์

นางสาววิรัชนีย์ เต๋จ๊ะวันดี

นายยอดชาย นิ่มรักษา

สารบาญ

	หน้า
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	3
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ	18
บทที่ 4 ผลการทดลอง	27
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	56
บรรณานุกรม	60

โครงการหลวง

สารบาญตารางประกอบ

ตาราง	หน้า
1. ประสิทธิภาพของเชื้อปฏิปักษ์ จำนวน 15 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ในห้องปฏิบัติการ	37
2 ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่เกิดจากจากเชื้อ binucleate *Rhizoctonia* sp. ในเรือนทดลอง	47
3. ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่เกิดจากเชื้อ *Fusarium oxysporum* ในเรือนทดลอง	49
4. ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่เกิดจากเชื้อ *Colletotrichum fragariae* ในเรือนทดลอง	53
5. ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าซึ่งเกิดกับเชื้อต่าง ๆ ที่มีอยู่ในดินในแปลงปลูกสตรอเบอรี่	55

สารบาญภาพ

ภาพ		หน้า
1	ลักษณะ phialide และ phialospore ของ *Trichoderma harzianum*	14
2	ลักษณะ conidiophore, phialides, phialospores ของ *Trichoderma hamatum*	15
2	ลักษณะ conidiophore, phialides, phialospores ของ *Trichoderma viride*	15
4	ลักษณะ conidiophore, phialides, phialospores ของ *Trichoderma koningii*	16
5	ลักษณะ conidiophore, phialides, phialospores ของ *Trichoderma pseudokoningii*	16
6	ลักษณะการเลี้ยงเชื้อด้วยวิธี Bi-culture	21
7	ลักษณะของโรครากเน่าและโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Rhizoctonia* sp. ภายในโคนต้นสตรอเบอรี่จะเป็นวงเป็นสีน้ำตาลแดง	27
8	ต้นสตรอเบอรี่แสดงอาการเหี่ยวเกิดจากเชื้อ *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* ใบมีเหลืองเมื่ออาการรุนแรงกลายเป็นสีน้ำตาล และแห้งตายทั้งต้น	27
9	อาการของโรคแอนแทรกโนสที่เกิดจากเชื้อ *Colletotrichum fragariae* ทำให้เกิดแผลสีดำลึกเป็นแถบยาวที่บริเวณโคนต้น และลุกลามไปยังส่วนของก้านใบและไหลทำให้ต้นสตรอเบอรี่เหี่ยว	28
10	ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. ที่เจริญบนอาหาร PDA อายุ 5 วัน เส้นใยมีสีเหลืองเจริญเป็นแถบวงซ้อนกัน (zonation)	30
11	ลักษณะเส้นใยของรา *Rhizoctonia* sp. สาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ แต่ละเซลล์มีนิวเคลียส 2 อัน ย้อมติดสีม่วงแดง	30
12	ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน	31

ภาพ		หน้า
13	ลักษณะเส้นใยและสปอร์ของเชื้อ *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* สาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่	31
14	ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Colletotrichum fragariae* บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน	33
15	ลักษณะ conidia รูปร่างเรียวยาว หัวท้วยกลม ของเชื้อ *Colletotrichum fragariae* สาเหตุของโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่	33
16	ประสิทธิภาพของ *Trichoderma* ที่แยกได้ จำนวน 15 ไอโซเลท (T2000-1 ถึง T2000-15) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. สาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่	35
17	ประสิทธิภาพของ *Trichoderma* ที่แยกได้ จำนวน 15 ไอโซเลท (T2000-1 ถึง T2000-15) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา*Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* สาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่	35
18	ประสิทธิภาพของ *Trichoderma* ที่แยกได้ จำนวน 15 ไอโซเลท (T2000-1 ถึง T2000-15) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum fragariae* สาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่	36
19	ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* (ไอโซเลท T2000-6) บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน	39
20	ลักษณะ conidiophore, phialide และ phialospore ของเชื้อรา *Trichoderma harzianum*	39
21	ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Trichoderma hamatum* (ไอโซเลท T2000-2) บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน	40
22	ลักษณะ conidiophore, phialide และ phialospore ของเชื้อรา *Trichoderma hamatum*	40
23	ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma viride* (T2000-5) บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน	41
24	ลักษณะ conidiophore, phialide และ phialospore ของเชื้อรา *Trichoderma viride*	41

ภาพ หน้า

25 ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma koningii* (ไอโซเลท T2000-10) บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน 43

26 ลักษณะ conidiophore, phialide และ phialospore ของเชื้อรา *Trichoderma koningii* 43

27 ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma pseudokoningii* (ไอโซเลท T2000-14) บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน 44

28 ลักษณะ conidiophore, phialide และ phialospore ของเชื้อรา *Trichoderma pseudokoningii* 44

29 ลักษณะการเข้าทำลายของเชื้อรา *Trichoderma* โดยเส้นใยแทงเข้าไปเจริญในเส้นใยของเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. 45

30 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของการใช้ *Trichoderma* 5 ชนิด ในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ที่เกิดจากเชื้อรา binucleate *Rhizoctonia* sp. หลังการปลูกเชื้อ 2 สัปดาห์ 48

31 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของการใช้ *Trichoderma* 5 ชนิด ในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ในเรือนทดลองที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Fusarium oxysporum* หลังการปลูกเชื้อ 2 สัปดาห์ 50

32 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการใช้ *Trichoderma* 5 ชนิด ในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ในเรือนทดลองที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Colletotrichum fragariae* หลังการปลูกเชื้อ 2 สัปดาห์ 52

33 แปลงปลูกสตรอเบอรี่ ที่ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงอินทนนท์ อำเภอจอมทอง จังหวัดเชียงใหม่ โดยทำการรองก้นหลุมด้วยเชื้อ *Trichoderma* 5 ชนิด ก่อนปลูก 54

บทคัดย่อ

นำต้นสตรอเบอรี่ที่แสดงอาการเหี่ยวจากโรครากเน่าและโคนเน่ามาแยกเชื้อสาเหตุ พบเชื้อรา 3 สกุลคือ *Rhizoctonia*, *Fusarium* และ *Colletotrichum* จึงทำการศึกษารูปร่างลักษณะของเชื้อและจัดจำแนกได้เป็น binucleate *Rhizoctonia* sp., *Fusarium oxysporum* และ *Colletotrichum fragariae* จากนั้นทำการแยก และคัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จากดินในแหล่งปลูกสตรอเบอรี่ ของเกษตรกร 5 แห่ง ซึ่งอยู่ภายใต้การดูแลของมูลนิธิโครงการหลวงคือ บ้านบ่อแก้ว, ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่แฮ, สถานีเกษตรหลวงปางคะ อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่, สถานีวิจัยโครงการหลวงอินทนนท์ อำเภอจอมทอง จังหวัดเชียงใหม่ และศูนย์พัฒนาโครงการหลวงห้วยน้ำริน อำเภอเวียงป่าเป้า จังหวัดเชียงราย โดยใช้ Soil Dilution Plate Technique ได้จุลินทรีย์ 76 ไอโซเลท แล้วทำการทดสอบเบื้องต้นถึงจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคพืชดังกล่าว ได้ราปฏิปักษ์ 20 ไอโซเลท และเชื้อแบคทีเรีย 5 ไอโซเลท แต่เมื่อนำมาทดสอบกับเชื้อสาเหตุโดยวิธี Bi-culture พบว่ามีราสกุล *Trichoderma* จำนวน 15 ไอโซเลทเท่านั้น ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุทั้งสาม เมื่อนำ *Trichoderma* มาทดสอบกับ *Rhizoctonia* ผลปรากฏว่าไอโซเลท T2000-6 และ T2000-14 มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งสูงกว่าไอโซเลทอื่น ๆ (71.29%และ70.55%) และเมื่อทดสอบกับ *F. oxysporum* พบว่า *Trichoderma* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีปานกลาง (56.66-63.51%) ส่วนการทดสอบกับเชื้อ *C. fragariae* ได้ผลในการยับยั้ง เป็นเปอร์เซ็นต์ค่อนข้างต่ำถึงปานกลาง (41.66-52.96%) ผลการศึกษาและจำแนกราทั้ง 15 ไอโซเลท ได้ *Trichoderma* แบ่งเป็น 5 กลุ่มตาม ชนิด (species) คือ *Trichoderma harzianum*, *T. hamatum*, *T. viride*, *T. koningii* และ *T. pseudokoningii* จึงนำเอาไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดของแต่ละกลุ่มมาศึกษากลไกในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุพบว่า เส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma* เจริญเข้าไปภายในเส้นใยของเชื้อสาเหตุ เป็นผลทำให้เส้นใยดังกล่าวสลายตัวแฟบลง

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* ทั้ง 5 ชนิด ในการควบคุมโรคในเรือนทดลองผลปรากฏว่า เมื่อปลูกสตรอเบอรี่ในดินที่ผสม*Trichoderma* ร่วมกับการปลูกเชื้อรา *Rhizoctonia* พบว่าสามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรครากเน่าและโคนเน่าได้ ในทุกกรรมวิธีเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยพบว่าการใช้ *T. harzianum* ไอโซเลท T2000-6 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำที่สุด 12.00% เมื่อเทียบกับชุดควบคุมซึ่งตาย 100% ซึ่งไอโซเลทนี้ได้ผลดีที่สุดกับ *Fusarium oxysporum* และ *Colletotrichum fragariae* ด้วย แต่สำหรับ *C. fragariae* ให้ผลการยับยั้งปานกลางอยู่ในระดับ 40% สำหรับ *Trichoderma* ชนิดอื่น ๆ กับ *Rhizoctonia* และ *Fusarium* ก็ให้ผลอยู่ในระดับปานกลางจนถึงระดับสูง

สำหรับการทดลองในแปลงปลูกสตรอเบอรี่ ซึ่งเกิดโรครากเน่าและโคนเน่าตามธรรมชาติที่สถานีวิจัยโครงการหลวงอินทนนท์ พบว่าเมื่อรองก้นหลุมด้วย *Trichoderma* ทั้ง 5 ชนิดก่อนการปลูกต้นสตรเบอรี่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยกว่าชุดควบคุมในทุกกรรมวิธี

โครงการหลวง

Abstract

Wilted strawberry plants caused by root rot and foot rot diseases were isolated for causal organisms. These fungal genera were found; *Rhizoctonia, Fusarium* and *Colletotrichum* which later were identified as binucleate *Rhizoctonia* sp., *Fusarium oxysporum* and *Colletotrichum fragariae.* Antagonistic microorganisms were isolated from soil in 5 strawberry cultuvated farms under the Royal Project Foundation at Ban Borkaw, Mae Hae Royal Project Development Center, Pangda Research Station, Samoeng, and Inthanon Royal Project Research Station in Chiang Mai province and Huey Namrin Royal Project Development Center in Chiang Rai province. Seventy six isolates of antagonistic microorganisms were isolated from the soil and were then preliminary tested on their efficacy of being antagonist. Out of 76 isolates, 20 fungal isolates and 5 bacterial isolates were chosen from their antagonistic capability to inhibit growth of the three plant pathogens. When the *Trichoderma* isolates were tested on binucleate *Rhizoctonia* sp., it was found that isolates T2000-6 and T2001-14 have higher percentages (71.29-70.55%). The tests on *C. fragariae* showed that all Trichoderma species could inhibit this pathogen at rather low level to moderate level (41.66-52.96%). Results from studying and identifying 15 fungal isolates showed that it can be divided into 5 groups following speciesbasis: *Trichoderma harzianum*, *T. harmatum*, *T. viride*, *T. koningii* and *T. pseudokoningii*. The best isolate of each species was studied on its mechanism to parasitize the causal pathogens. Results showed that the Trichoderma hyphae penetrated into the fungal pathogens' hyphae and made the hyphae collapse.

The test on efficacy of 5 Trichoderma species to control wilt disease in the greenhouse indicated that strawberry plants grown in the soil mixed with *Trichoderma* spp. together with Rhizoctonia could reduce percentage of root rot and foot rot of strawberry in every treatment when compared with control treatment. *T. harzianum* has lowest percentage of wilted plant at 12.00% while the control has 100% death. This *T. harzianum* gave best control on the diseases caused by *F. oxysporum* and *C. fragariae* as well but the inhibition rate on *C. fragariae* is at low level (40%) other Trichoderma species also gave good result but the inhibition rates are moderate to high.

The experiment on controlling strawberry root rot and foot rot diseases, naturally infected, at the Royal Project Research Station Inthanon, showed that all 5 Trichoderma species when used for mixing the soil before planting gave lower percentage of diseased plants than the control ones.

โครงการหลวง

บทนำ

สตรอเบอรี่ (*Fragaria fragariae*) เป็นไม้ผลเมืองหนาวที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของภาคเหนือโดยเฉพาะอย่างยิ่งจังหวัดเชียงใหม่ และเชียงราย ในการปลูกสตรอเบอรี่มักประสบปัญหาในเรื่องโรคและแมลงเข้าทำลายหลายชนิดด้วยกัน โรคที่พบว่ามีความสำคัญเช่น โรครากเน่าและโคนเน่า โรคแอนแทรกโนส โรคใบจุดใบไหม้ และโรคผลเน่า เป็นต้น เท่าที่ผ่านมาเกษตรกรมักประสบปัญหาเรื่องโรครากเน่าและโคนเน่า ซึ่งเป็นผลให้ต้นสตรอเบอรี่เหี่ยวตาย โดย Maas (1998) ได้รายงานว่าสาเหตุของโรคนี้อาจเกิดจากเชื้อราหลายชนิด เช่น *Rhizoctonia* spp., *Fusarium* sp., *Colletotrichum* sp., *Phytophthora* sp., *Pythium* sp. *Verticillium* sp. และ *Sclerotium rolfsii* เป็นต้น ในการป้องกันกำจัดโรคที่เกิดกับสตรอเบอรี่ เกษตรกรส่วนใหญ่นิยมใช้สารเคมี ทั้งนี้เพราะสารเคมีมีประสิทธิภาพดี ออกฤทธิ์เร็วและเห็นผลชัดเจน แต่การใช้สารเคมีนั้นนอกจากจะต้องเสียค่าใช้จ่ายสูงแล้ว ยังต้องใช้เป็นประจำและต่อเนื่อง ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาเชื้อโรคพืชต้านสารเคมีทำให้เกษตรกรเพิ่มอัตราการใช้สารเคมีสูงขึ้นโดยเข้าใจว่าจะช่วยให้ได้ผลดีขึ้น แต่ในทางตรงกันข้าม การใช้สารเคมีในปริมาณมาก นอกจากไม่ได้ผลแล้วยังทำให้เกิดมลพิษในดิน ในน้ำ ตลอดจนทำให้สมดุลย์ของจุลินทรีย์และสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ในดินตามสภาพธรรมชาติต้องเสียไปเช่น ทำให้ปริมาณของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่าง ๆ ลดลง จุลินทรีย์ดังกล่าวประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ย่อยสลายเศษซากพืช จุลินทรีย์ที่ช่วยในการย่อยสลายแร่ธาตุในดินให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืช จุลินทรีย์ที่ช่วยตรึงแร่ธาตุจากดิน น้ำ อากาศ รวมทั้งจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ต่อต้าน เป็นปฏิปักษ์กับเชื้อราสาเหตุโรคพืช การลดลงของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทำให้เชื้อราสาเหตุโรคพืชเพิ่มปริมาณและแพร่ระบาดได้มากยิ่งขึ้น (จีระเดช และวรรณวิไล, 2542) ด้วยเหตุดังกล่าวข้างต้น การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (biological control) จึงเป็นวิธีหนึ่งที่ช่วยป้องกันดังกล่าว สำหรับการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี หมายถึง การนำสิ่งมีชีวิตมาควบคุมสิ่งมีชีวิตด้วยกัน เช่น การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonistic microorganism) มาควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อโรคต่าง ๆ เช่น การนำจุลินทรีย์ในกลุ่มของแบคทีเรีย ได้แก่ *Bacillus* spp. และ *Pseudomonas* spp. และในกลุ่มของเชื้อรา ได้แก่ *Chaetomium* sp., *Gliocladium* sp., *Penicillium* sp. และ *Trichoderma* spp. มาใช้ควบคุมโรคต่าง ๆ ในพืช เป็นต้น (Baker และCook, 1974) ในปัจจุบันทั่วโลกตระหนักถึงพิษภัยของสารเคมี ความสนใจในเรื่องเกษตรอินทรีย์จึงมีมากขึ้น การใช้จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในการต่อต้านเชื้อโรค จึงได้รับความสนใจอย่างกว้างขวาง และมีผลงานวิจัยออกมาอย่างต่อเนื่อง

รวมไปถึงการมีชีวภัณฑ์ (bioproduct) ของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ชนิดต่าง ๆ ซึ่งเป็นผลจากงานวิจัยออกมาจำหน่ายด้วย

วัตถุประสงค์ในการวิจัยครั้งนี้ เพื่อศึกษาสาเหตุที่ทำให้เกิดโรครากเน่า และโคนเน่าของสตรอเบอรี่ และค้นหาจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อใช้ในการควบคุมโรค โดยทำการแยกเชื้อราสาเหตุและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ แล้วนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุ จากนั้นจึงคัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพสูงไปใช้ควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ในโรงเรือนทดลอง และในแปลงปลูกของเกษตรกรต่อไป โดยหวังว่าผลงานวิจัยครั้งนี้จะสามารถนำไปใช้เผยแพร่สู่เกษตรกร เพื่อให้เกษตรกรลดการใช้สารเคมีและเป็นการช่วยรักษาสภาพแวดล้อมอีกด้วย

โครงการหลวง

การตรวจเอกสาร

สตรอเบอรี่เป็นพืชเศรษฐกิจของภาคเหนือ เป็นพืชที่ได้รับความสนใจจากเกษตรกรเนื่องจากให้ผลตอบแทนสูงในระยะเวลาอันสั้น ผลสตรอเบอรี่นอกจากใช้รับประทานสดแล้ว ยังสามารถแปรรูปเป็นอุตสาหกรรมในครัวเรือนไว้จำหน่ายได้อีกด้วย เช่น ทำแยม ไวน์ สตรอเบอรี่แห้ง เป็นต้น นอกจากนี้ผลสตรอเบอรี่ยังมีคุณสมบัติเป็นสมุนไพร เพราะอุดมด้วยวิตามินซีและธาตุเหล็กที่มีคุณประโยชน์ต่อระบบเลือดและหัวใจ ผลสีแดงอุดมด้วยซูเปอร์ไฟเบอร์ เพคติน ซึ่งช่วยลดปริมาณคลอเลสเตอรอลได้ระดับหนึ่ง นอกจากนี้ยังช่วยให้ระบบทางเดินอาหารทำงานได้สะดวก มีสรรพคุณเป็นยาระบายอย่างอ่อน ยาขับปัสสาวะและสามารถยับยั้งสารก่อมะเร็งกลุ่มไนโตรซามีนได้เนื่องจากมีโพลีฟีนอลปริมาณสูง (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2541)

การปลูกสตรอเบอรี่มักประสบปัญหาเรื่องโรค และแมลงศัตรูพืช ทำความเสียหายแก่ผลผลิตโรคที่สำคัญได้แก่ โรคใบจุด (leaf spot) โรคขอบใบไหม้ (leaf scorch) โรคแอนแทรกโนส (anthracnose) โรคราแป้ง (powdery mildew) โรคราสีเทา (gray mold) และ โรครากเน่าและโรคโคนเน่า (root rot and crown rot) (ชูพงษ์, 2530) นับเป็นปัญหาที่สำคัญ ก่อให้เกิดความเสียหายแก่เกษตรกรในพื้นที่ปลูกสตรอเบอรี่หลายแห่ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพื้นที่ที่ปลูกพืชนี้ต่อเนื่องกันหลายปี มักจะมีปัญหาโรคทางราก ทำให้เกิดอาการต้นเหี่ยว เหลือง และแคระแกรน ได้แก่ โรครากเน่าซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* spp., *Rhizoctonia* spp., *Fusarium* spp. และ *Colletotrichum* spp. เป็นต้น (Maas, 1998)

โรครากเน่าและโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia* spp.

อาการเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia* spp. โรคนี้จะทำให้ต้นสตรอเบอรี่แสดงอาการเหี่ยวจากใบล่าง ๆ ก่อน พืชแสดงอาการใบเหลืองแล้วเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอย่างรวดเร็ว จนกระทั่งเหี่ยวฟุบไปทั้งต้น เมื่อถอนต้นจากดินและตรวจดูที่รากจะพบว่ารากส่วนใหญ่กลายเป็นสีน้ำตาลปนดำ ที่โคนก้านใบบริเวณโคนต้นจะมีสีดำ รากแขนงและรากฝอยจะเปื่อยและหลุดง่าย เมื่อผ่าส่วนโคนต้นจะพบว่าเนื้อเยื่อภายในเป็นสีน้ำตาลปนดำ (กองพัฒนาเกษตรที่สูง, 2543)

ลักษณะทั่วไปของเชื้อรา *Rhizoctonia* spp.

เชื้อรา *Rhizoctonia* spp. จัดอยู่ใน Sub-division Deuteromycotina Order Agonomycetales Class Agonomyctes มีลักษณะสำคัญคือ ไม่สร้าง asexual spore คงมีแต่เส้นใย และ resistant structure ที่เรียกว่า microsclerotium หรือ sclerotium ซึ่งเกิดจาก การพันกันของเส้นใยอย่างหลวม ๆ (Ainsworth, 1973)

การเข้าทำลายสตรอเบอรี่ของเชื้อรา *Rhizoctonia* spp.

Maas (1998) รายงานว่าเชื้อรา *Rhizoctonia* spp. ที่เข้าทำลายต้นสตรอเบอรี่มีอยู่ 2 species ได้แก่ *Rhizoctonia fragariae* ซึ่งสำคัญที่สุดเป็นเชื้อสาเหตุของโรครากเน่า โดยเชื้อราจะเข้าทำลายในส่วนของท่อน้ำท่ออาหาร ทำให้ต้นเหี่ยวและตายในที่สุด ส่วนที่สำคัญรองลงมาคือ *Rhizoctonia solani* ซึ่งทำให้เกิดโรคผลเน่าทั้งในระยะเก็บเกี่ยวและบรรจุหีบห่อ

การจำแนกเชื้อรา *Rhizoctonia* spp.

ราสกุล *Rhizoctonia* เป็นราที่ยากต่อการจำแนกออกเป็นชนิดต่าง ๆ เนื่องจากไม่มีการสร้างสปอร์หรือโครงสร้างใด ๆ ที่จะนำมาใช้จำแนกได้ อย่างไรก็ดีมีผู้พยายามศึกษาและจำแนกรานี้โดย Sneh และคณะ (1991) กล่าวว่าในสมัยก่อนเชื้อราสกุล *Rhizoctonia* ที่เป็นสาเหตุของโรคที่สำคัญต่อพืชได้ถูกจำแนกว่าเป็น *Rhizoctonia solani* แต่ต่อมาได้มีการศึกษาโดยใช้วิธี anastomosis grouping จึงสามารถแยกออกได้เป็น *R. solani*, *R. fraticola* และ binucleate *Rhizoctonia* spp. และยังศึกษาถึงความสัมพันธ์ของ genotype ซึ่งสามารถจำแนกได้เป็น *R. zeae*, *R. oryzae*, *R. repens* และ binucleate *Rhizoctonia* spp. จนถึงปัจจุบัน การจำแนกเชื้อรา *Rhizoctonia* spp. จะอาศัยจำนวนนิวเคลียสซึ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ binucleate *Rhizoctonia* spp. และ multinucleate *Rhizoctonia* spp. จากนั้นจึงใช้วิธี anastomosis grouping ในการแยกออกเป็นชนิดต่าง ๆ เช่น *R .zeae*, *R .oryzae* และ *R. solani* ต่อไป

โรคเหี่ยวของสตรอเบอรี่ที่เกิดจากเชื้อ *Fusarium* (Maas, 1998)

โรคเหี่ยวในสตรอเบอรี่ที่เกิดจากเชื้อราฟูซาเรียมมีชื่อเรียกว่า *Fusarium* Wilt หรือบางครั้งเรียกว่า *Fusarium* Yellows มีเชื้อสาเหตุ คือ *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* Wink & Williams มีผู้พบโรคนี้ครั้งแรกในแถบตะวันออกของรัฐควีนส์แลนด์ ประเทศออสเตรเลียซึ่งทำให้เกิดความเสียหายแก่พื้นที่ที่ปลูกสตรอเบอรี่อย่างหนักถึง 50 เปอร์เซ็นต์ โรคนี้เจริญได้ดีในสภาพที่มีอากาศร้อน ทำให้ใบเหี่ยวและตายอย่างรวดเร็ว และจะพบอาการเหลืองของใบร่วมด้วย ส่วนลำต้นจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลปนแดง และเมื่อลุกลามมากขึ้นส่วนโคนของลำต้นจะเน่าอย่างรวดเร็ว

การจัดจำแนกเชื้อรา *Fusarium* และลักษณะทั่วไปของเชื้อรา *Fusarium oxysporum*

เชื้อราสกุล *Fusarium* อยู่ใน Class Hyphomycetes Order Moniliales ซึ่ง Booth (1977) รายงานว่าโคโลนีของเชื้อรา *F. oxysporum* มีหลายสีตั้งแต่สีขาว ชมพู จนถึงสีม่วง และเจริญได้ดีในอาหารที่มี pH ระหว่าง 6.5-7.0 โดยปกติเชื้อรานี้จะสร้าง microconidia จำนวนมาก microconidia มี 1 หรือ 2 เซลล์ รูปร่างต่างกันไป ตั้งแต่กลมมน รูปไข่หรือโค้ง และมีขนาด 5-12 x 2.2-3.5 ไมโครเมตร microconidia จะสร้างจาก phialide ซึ่งเจริญจากด้านข้างของเส้นใย หรือ phialide ที่เจริญมาจาก conidiophore สั้น ๆ ที่แตกแขนงมาจากเส้นใย ส่วน macroconidia

เมื่อเจริญเต็มที่พบว่ามี 3-5 septa รูปร่างส่วนใหญ่จะโค้งปลายเรียว มีขนาด 2.7-4.6 x 3-5 ไมโครเมตร

โรคแอนแทรกโนส (antracnose crown rot)

เชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคนี้ คือ *Colletotrichum fragariae* เชื้อรานี้มีผู้พบในเขตทิศตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศสหรัฐอเมริกา ประเทศอาร์เจนตินา บราซิล อินเดีย เมกซิโก และแอฟริกาใต้ นับเป็นโรคที่ทำความเสียหายให้ไหลเป็นอย่างมากทั้งในขณะที่ยังติดกับต้นแม่ และหลังนำไปปลูกซึ่งมีผลกระทบต่อการผลิตไหลมาก (Maas, 1998)

ลักษณะอาการของโรคแอนแทรกโนส โรคนี้พบทำลายพืชในระยะกล้า อาการจะเริ่มจากแผลเล็ก ๆ สีม่วงแดงบนไหล แล้วสามารถลุกลามออกไปตลอดความยาวของเส้นไหลแผล ที่ขยายยาวมากขึ้นต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล รอบนอกของแผลเป็นสีเหลือง แผลที่แห้งเป็นสีน้ำตาลทำให้เกิดรอยคอดของไหลบริเวณที่เป็นแผล ไหลอาจไม่ตายแต่เชื้อจะติดไปกับไหล ทำให้เกิดอาการที่ลำต้นของกล้าซึ่งจะส่งผลทำให้ต้นกล้าตายในที่สุด (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2541)

ลักษณะทั่วไปของเชื้อรา *Colletotrichum fragariae*

เชื้อรา *Colletotrichum* เป็นเชื้อราไม่สมบูรณ์ (Imperfect fungi) จัดอยู่ใน Sub-Division Deuteromycotina Class Coelomyecetes Order Melanconiales Family Melanconiaceae *Colletotrichum* มี conidia รูปยาวรี เซลล์เดียวส่วนปลายโค้งมนทั้งสองด้าน ไม่มีสี และมี setae สีดำภายในโครงสร้างที่มีชื่อว่า acervulus

Wright และคณะ (1960) ได้รายงานถึงลักษณะของเชื้อรา *C. fragariae* ไว้ว่า conidia เกิดบน conidiophore ใน acervulus และมี setae สีดำ conidia มีสีใส รูปไข่ยาว มีขนาด 14 x 4.8 แต่ขนาดของ conidia ที่ Howard (1972) รายงานไว้มีขนาดใหญ่กว่าคือ 16.7-17.5 x 5.1-5.3 ไมโครเมตร

การควบคุมโรคที่เกิดกับรากของสตรอเบอรี่

กองพัฒนาเกษตรที่สูง (2543) ได้แนะนำหลักการใช้วิธีการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของสตรอเบอรี่โดยใช้วิธีผสมผสาน ซึ่งงานอารักขาพืช มูลนิธิโครงการหลวงได้แนะนำให้เกษตรกรถือปฏิบัติคือ ไม่ปลูกสตรอเบอรี่ซ้ำในพื้นที่เดิมหลายปี ขุดดินตากแดดเพื่อฆ่าเชื้อโรคในดินก่อนปลูก ปลูกพืชในดินที่ปรับโครงสร้างให้ดีด้วยการใส่ปุ๋ยคอกและปุ๋ยหมัก กำจัดแหล่งของเชื้อโรคโดยขุดต้นที่เป็นโรคออกทำลาย และแนะนำให้ใช้เชื้อราปฏิปักษ์ เช่น *Trichoderma* spp. และ *Chaetomium* spp. ในการป้องกันกำจัดโรค นอกจากนี้ยังแนะนำสารกำจัดเชื้อราที่ได้ผลในการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อราแต่ละชนิดไว้ดังนี้ โรคเหี่ยวจากอาการรากเน่าที่เกิดจากเชื้อราชั้นต่ำ *Phytophthora* spp. ใช้สารเคมีที่มีชื่อการค้าว่า อาลีเอท เอพรอน-35 ริโดมิล เอ็มแซด เคอร์เซ็ท-

เอ็ม และไดเทนเอ็ม-45 ส่วนโรคที่เกิดจากเชื้อราชั้นสูง เช่น *Rhizoctonia* spp., *Fusarium oxysporum* และ *Sclerotium rolfsii* ใช้สารเคมีชื่อ พรีวิเคอร์-เอ็น พรอนโต-40 เทอร์ราคลอร์ซุป เปอร์เอ็กซ์ ท็อปซิน เบนเลท ไวตาแวกซ์ และออร์โธไซด์ 80 และแนะนำให้ใช้ เบนเลท-โอดี บาวิสติน ซาพรอน ดาโคนิล และไดแทนเอ็ม-45 ในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสที่เกิดกับไหล ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* sp.

การควบคุมโรคโดยชีววิธี

ผลกระทบจากการใช้สารเคมี

การใช้สารเคมีควบคุมโรคแม้จะให้ผลดี แต่อาจมีพิษตกค้างจนก่อให้เกิดมลพิษต่อระบบสิ่งแวดล้อม (pollution) ซึ่งเกิดจากการใช้สารเคมีในปริมาณมากเกินไป สารเคมีอาจจะไปทำลายจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์แก่พืชในดิน (Cook และ Baker, 1983) ปัจจุบันพบว่าการใช้จุลินทรีย์ควบคุมโรคสามารถใช้แทนการใช้สารเคมีในกรณีที่ไม่สามารถใช้สารเคมี หรือมีสภาพแวดล้อมไม่เหมาะกับการใช้สารเคมี เช่น อุณหภูมิสูงหรือต่ำเกินไป หรือไม่สามารถจัดหาซื้อสารเคมีได้ ข้อดีอีกประการคือ จุลินทรีย์ดินสามารถเพิ่มปริมาณและคงทนอยู่ในดินในระยะเวลานานกว่าสารเคมี (Suslow, 1982) ด้วยเหตุดังกล่าว การควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราโดยชีววิธีจึงมีบทบาทมากขึ้น

ความหมายของการควบคุมโรคโดยชีววิธี

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (biological control) ได้มีผู้ให้คำจำกัดความของคำนี้แตกต่างกัน แต่อาจสรุปโดยรวมได้ว่าหมายถึง การลดปริมาณเชื้อก่อโรค หรือการลดกิจกรรมการก่อให้เกิดโรคของเชื้อโรค หรือปรสิตที่อยู่ในระยะที่มีปฏิกิริยาโดยการใช้สิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งหรือมากกว่ามาใช้ในการควบคุม และอาจรวมถึงการใช้สารพันธุกรรม (gene หรือ gene product) จากสิ่งมีชีวิตนั้นด้วย ซึ่งสิ่งมีชีวิตที่ใช้นี้ไม่รวมถึงมนุษย์ (Cook และ Baker, 1983; Cook, 1985)

กลไกในการควบคุมโรคโดยชีววิธี

กลไกในการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชซึ่งอยู่ในดินโดยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั่ว ๆ ไป มี 3 ประการคือ

1. **การสร้างสารปฏิชีวนะ** สารปฏิชีวนะเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำที่สร้างขึ้นโดยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ซึ่งมีผลในการกำจัด เช่น แบคทีเรียปฏิปักษ์ชื่อ *Agrobacterium radiobacter* K 84 สร้างสาร Agrocin 84 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *A. tumefaciens* ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคกับมันฝรั่ง (Cooksey และ Moore, 1982) และ *Pseudomonas fluorescens* รหัส 2-79 สามารถผลิตสารปฏิชีวนะชื่อ phenazine-1-carboxylate ไปยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* เชื้อสาเหตุโรครากเน่าของข้าวสาลี (Brisbane และ Rovira,

1988) ส่วน *P. fluorescens* สร้าง siderophore ซึ่งมีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Fusarium* f.sp. *lini* เชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวในป่าน (Scher และ Baker, 1982)

2. **การแก่งแย่งอาหารและพื้นที่อาศัย** จุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถแย่งอาหารจากเชื้อโรค ทำให้ปริมาณสารอาหารซึ่งจำเป็นสำหรับการเจริญของเชื้อโรคลดลง เนื่องจาก จุลินทรีย์ปฏิปักษ์มีความสามารถในการใช้สารอาหารได้มากชนิด และใช้ได้อย่างรวดเร็วมาก ทำให้เจริญเติบโตได้รวดเร็ว เช่น แบคทีเรียในกลุ่ม fluorescent pseudomonads มีความสามารถในการใช้สารอาหารได้หลายชนิด และเจริญอย่างรวดเร็วเข้าครอบครองพื้นที่บริเวณรากพืชได้ทั้งหมด ซึ่งเป็นการแก่งแย่งที่อยู่อาศัยบริเวณรากพืช ทำให้เชื้อโรคไม่มีโอกาสเข้าทำลายรากได้ (อนุภาพ, 2536)
3. **กระบวนการเป็นปรสิต** จุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถสร้างเอนไซม์ไปย่อยผนังเซลล์ของเชื้อโรคพืชได้ และใช้ส่วนประกอบภายในเซลล์มาเป็นอาหารโดยตรง บางกรณีอาจมีกลไก antibiosis ร่วมด้วย เช่น *Talaromyces flavus* TF1 (anamorph คือ *Penicillium dangeardii*) สามารถควบคุมโรค Verticillium wilt ของมะเขือยาวและมันฝรั่ง โดยการสร้าง glucose oxidase ซึ่งมีคุณสมบัติในการย่อย glucose ได้ดี และจะได้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ออกมาด้วย ซึ่ง H_2O_2 นี้ สามารถทำลาย microsclerotia ของ *V. dahliae* ได้ดี (Fravel, 1988)

การควบคุมโรคพืชโดยใช้เชื้อราปฏิปักษ์

การนำจุลินทรีย์มาใช้เพื่อการป้องกันกำจัดโรคพืชนั้น ได้มีนักวิจัยสนใจทำการศึกษาทดลองเป็นเวลานาน ซึ่งเป็นผลมาจากการพบปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติที่มีความสมดุลย์ของปริมาณสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ โดยมีการควบคุมกันเองอยู่แล้ว การค้นคว้าวิจัยมีเพิ่มขึ้นเมื่อผลของสารเคมีที่ใช้ป้องกันกำจัดโรคพืช มีผลตกค้างในดินและเป็นปัญหาต่อสภาพแวดล้อม ทำให้เชื้อโรคพืชสามารถปรับตัวให้สามารถต้านหรือดื้อต่อสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช กลุ่มของเชื้อราที่นำมาศึกษาประสิทธิภาพในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อโรค ส่วนใหญ่เป็นเชื้อราในดิน (Soil-borne fungi) และโดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มเชื้อราที่เป็นแซพโพรไฟท์ คือเชื้อราที่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้โดยอาศัยเศษซากสิ่งมีชีวิตที่ตายแล้วเป็นอาหาร ตัวอย่างเช่น ราในสกุล *Trichoderma*, *Penicillium*, และ *Chaetomium* เป็นต้น (ศิริพงษ์ และรัศมี, 2539)

มีรายงานการใช้เชื้อราปฏิปักษ์ ที่ควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อราต่างๆ ในดินอย่างได้ผล โดยใช้ในการคลุกเมล็ด และผสมดินก่อนปลูกพืช Harman และคณะ (1981) รายงานว่าเมื่อคลุกเมล็ดถั่วและเมล็ดหัวผักกาดด้วยเชื้อรา *Trichoderma hamatum* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pythium* spp. และ *Rhizoctonia solani* ได้ดีและ Marshall (1982) ได้ทำการทดลองคล้ายกัน

โดยใช้เชื้อ *T. hamatum* ทำการทดลองในเรือนกระจก และพบว่าสามารถลดการเกิดโรคของเมล็ดถั่วแขกที่เกิดจากเชื้อ *R. solani* ได้ร้อยละ 36–65 ซึ่งสอดคล้องกับผลงานของ Elad และคณะ (1980) ซึ่งได้ทำไว้ก่อนโดยพบว่า *T. harzianum* สามารถคุมโรคกล้าเน่า (damping–off) ที่เกิดจากเชื้อ *Sclerotium rolfsii* และ *R. solani* ในถั่ว มะเขือเทศ และฝ้ายได้อย่างมีประสิทธิภาพ และในปี ค.ศ. 1981 ได้มีการทดลองใช้ราปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคลำต้นเน่า (stem rot) ของคาร์เนชั่นที่เกิดจากเชื้อรา *R. solani* พบว่า *T. harzianum* สามารถลดเปอร์เซ็นต์เกิดจากโรคได้ถึง 70 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้เชื้อรา *T. harzianum* 150 กรัม (น้ำหนักแห้ง) ต่อพื้นที่ 1 ตารางเมตรผสมวัสดุรองก้นหลุมก่อนการย้ายปลูก (Elad และคณะ, 1981) ดินที่มีราปฏิปักษ์อยู่แล้วสามารถป้องกันการเกิดโรคได้ดีดังที่ Hader และคณะ (1984) พบว่าในดินที่มีเชื้อรา *T. koningii* และ *T. harzianum* เจริญอยู่สามารถป้องกันโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium* spp. สาเหตุของโรคเมล็ดเน่าได้ (seed rot) โดยเชื้อรา *Trichoderma* ทั้ง 2 ชนิด สามารถเจริญได้อย่างรวดเร็ว และครอบคลุมเมล็ดพันธุ์ที่อุณหภูมิ 10–20 องศาเซลเซียส และดินมี pH 4 นอกจากนี้ Papavizas และคณะ (1982) ยังพบว่าเชื้อรา *T. harzianum* มีความสามารถทนต่อสารเคมี benomyl และยังมีความสามารถในการควบคุมโรคที่เกิดจาก *P. ultimum, R. solani* และ *Sclerotium cepivorum* อีกด้วย

Suslow (1982) พบว่าการแก่งแย่งเพื่อเข้าครอบครองบริเวณที่มีธาตุอาหารสมบูรณ์ และการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช เป็นกลไกสำคัญในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำลายราก โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่บริเวณราก ในขณะเดียวกันถ้าจุลินทรีย์ชนิดใดเพิ่มจำนวนในแหล่งอาหารนั้น ๆ ได้มากกว่าจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่ง จะทำให้สามารถครอบครองบริเวณแหล่งอาหารได้ดีกว่า ความเชื่อในเรื่องดังกล่าวได้รับการสนับสนุนในเวลาต่อมา โดยที่ Lipps และ Deep (1991) รายงานว่า *Trichoderma* sp. เจริญมากกว่าเชื้อ *Fusarium moniliforme* สาเหตุของโรคลำต้นเน่าของข้าวโพด พบว่าจะไม่แสดงอาการหรืออาการของโรคจะไม่รุนแรง นอกจากนี้เชื้อราปฏิปักษ์ยังปลดปล่อยสารออกจากเซลล์และเข้าทำลายเซลล์ของเชื้อโรคโดยตรง เหล่านี้เป็นวิธีการที่เชื้อราปฏิปักษ์ใช้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคต่าง ๆ เช่น เชื้อรา *Penicillium oxalicum* จะสร้างสารปฏิชีวนะออกมายับยั้งการเจริญของ *Aphanomyces* sp., *Fusarium* spp., *Pythium* spp. และ *Rhizoctonia* spp. ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุโรคพืช โดยพบว่าต้นพืชรอดตายจากการทำลายของเชื้อราเหล่านี้ถึง ร้อยละ 77 เมื่อเทียบกับแปลงปลูกที่ไม่ได้ใส่เชื้อปฏิปักษ์ (Windels และ Kommedahl, 1978) มีรายงานการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Gliocladium virens* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pythium ultimum* และ *Rhizoctonia solani* เชื้อสาเหตุโรคเน่าคอดินของฝ้ายและกล่ำปลี ว่า *G. virens* สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อ *P. ultimum* และ *R. solani* ได้ดีในระดับห้องปฏิบัติการ (Lumsden และ Lewis , 1989, Howell , 1991)

กลไกการทำลายเชื้อโรคพืชของ *Trichoderma*

Lui และ Baker (1980) ได้อธิบายไว้ว่า *T. harzianum* ทำลายเชื้อ *Rhizoctonia solani* โดยทำให้ผนังเซลล์ของ *Rhizoctonia* หลุดออกจากกัน และหลังจาก 5–6 สัปดาห์ จะถูกย่อยจนหมด เช่นเดียวกับที่ Elad และคณะ (1980) ได้รายงานไว้ในปีเดียวกันว่า *T. harzianum* ที่เลี้ยงบนอาหารควบคู่กับ *R. solani* ทำให้เส้นใยของ *R. solani* แฟบลงและแตกหัก Elad และคณะ (1983) กล่าวว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. มีคุณสมบัติในการเป็นปรสิตของเชื้อราโรคพืชหลายชนิด สามารถเข้าทำลายเส้นใยโดยการพันรอบเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรค ย่อยผนังเซลล์และเจริญเข้าไปภายในเส้นใยโดยตรง โดยเชื้อสร้างเอนไซม์ β–(1,3)–glucanase และ chitinase ซึ่งสามารถย่อยผนังเซลล์ของเส้นใยของเชื้อราโรคพืชได้ นอกจากเอนไซม์แล้ว Scarselletii และ Faull (1994) ยังพบว่าสารประกอบ 6-pentyl–α–pyrone (6–p–p) ที่ *T. harzianum* ผลิตขึ้น สามารถยับยั้ง *R. solani* และ *Fusarium* oxysporum f. sp. *lycopersici* ได้โดยเติม 6–p–p 0.3 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ลงในอาหารวุ้นผลปรากฏว่าสามารถลดการเจริญเติบ-โตของเชื้อสาเหตุได้ และเมื่อนำสารดังกล่าว ไปทดสอบผลที่มีต่อการงอกของสปอร์โดยใช้ 6–p–p 0.45 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่าสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Fusarium* ได้อย่างสมบูรณ์

ผลการศึกษาวิจัยการใช้ *Trichoderma* ในการควบคุมโรคพืชในประเทศไทย บรรเจิด (2530) ได้รายงานผลการทดลองประสิทธิภาพของ *T. harzianum* ในการควบคุมการเจริญของเชื้อรา *R. solani* เชื้อสาเหตุโรคเน่าคอดินของมะเขือเทศ โดยการเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่นำ *T. harzianum* ไปคลุกดินที่จะใช้ปลูกมะเขือเทศกับวิธีที่คลุกเมล็ดด้วยเชื้อ *T. harzianum* พบว่าวิธีที่คลุกเมล็ดด้วยเชื้อราปฏิปักษ์ได้ผลดีกว่าวิธีที่นำไปคลุกดิน โดยวิธีที่นำไปคลุกเมล็ดสามารถลดการเกิดโรคลงถึงร้อยละ 30–47 เมื่อเทียบกับการปลูกมะเขือเทศ โดยไม่มีเชื้อ *T. harzianum* (บรรเจิด , 2530) ต่อมาวรรณวิไล (2532) ได้ทดลองใช้เชื้อ *T. harzianum* ควบคุมการเจริญของเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* สาเหตุของโรคใบไหม้ของข้าวบาร์เลย์โดยใช้วิธีการคลุกเมล็ดด้วยเชื้อ *T. harzianum* แล้วปลูกในสภาพแปลงทดลอง ผลปรากฏว่าจำนวนเมล็ดข้าวบาร์เลย์รอดตายถึงร้อยละ 76 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้อรา *T. harzianum* สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใย และการสร้างเม็ดสเคลอโรเตียมได้ดีในสภาพแปลงทดลอง การใช้เชื้อราปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคจะได้ผลดีหรือไม่ขึ้นกับปริมาณของเชื้อราปฏิปักษ์ที่ใช้ โดยรัชดา (2536) พบว่าในการควบคุมโรครากเน่าของคาร์เนชั่นและจิ๊บโซฟิลล่า ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Fusarium* sp. และ *Rhizoctonia* sp. นั้นถ้าจะให้ได้ผลดีในการลดความรุนแรงของโรคจะต้องใช้ *Trichoderma* ปริมาณที่เท่ากันหรือมากกว่าปริมาณเชื้อสาเหตุที่ทำการปลูกเชื้อลงไปในดิน เชื้อรา *T. harzianum* สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของสตรอเบอรี่ได้เช่นกัน ตามที่กาญจนา (2539) ได้รายงานทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา

Trichoderma spp. 12 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. และ *Fusarium* sp. สาเหตุโรคเหี่ยวของสตรอเบอรี่ว่า *T. viride* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. ได้สูงสุด โดยทำให้เส้นใยของเชื้อราเหี่ยวแฟบลง และสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* sp. โดยการเข้าไปเจริญภายในเส้นใยของเชื้อรา *Fusarium* ในปีต่อมามีรายงานของพัชรินทร์ (2540) ว่าได้ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรคเหี่ยวของสตรอเบอรี่ที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. ในสตรอเบอรี่ 4 พันธุ์ มีความแตกต่างในประสิทธิภาพของ *Trichoderma* แต่ละชนิด รวมทั้งความอ่อนแอต่อโรคของแต่ละพันธุ์ของสตรอเบอรี่ด้วย โดยพบว่า *T. polysporum* มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมโรคเหี่ยวของสตรอเบอรี่พันธุ์ Nyoho และ *T. viride* มีประสิทธิภาพสูงในพันธุ์พระราชทาน 20 ส่วนพันธุ์พระราชทาน 70 ไม่มีไตรโคเดอร์มาไอโซเลทใดที่สามารถควบคุมโรคเหี่ยวได้

Trichoderma สามารถควบคุมโรครากเน่าของพืชที่เกิดจากเชื้อราชั้นต่ำใน genus *Phythopthora* ดังรายงานการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโดย แสงมณี และคณะ (2540) ซึ่งได้ทำการศึกษาผลของเชื้อรา *T. harzianum* ต่อการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora parasitica* และ *P. palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของพริกไทย และโรคเน่าดำของวนิลา พบว่าการทดลองในจานอาหารเลี้ยง PDA เชื้อรา *T. harzianum* สามารถเจริญปกคลุมเชื้อรา *Phytophthora* ทั้ง 2 ชนิด และผลการศึกษากลไกในการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อรา *T. harzianum* พบว่า เชื้อรา *T. harzianum* สร้างเส้นใยพันเป็นวงรัดรอบเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora* และเจาะเข้าไปแย่งอาหารที่อยู่ภายใน ทำให้เกิดช่องว่างภายในเส้นใยที่ถูกทำลายและผนังเส้นใยถูกย่อยสลาย เป็นผลให้เส้นใยดังกล่าวไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ มณฑาและคณะ (2544) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการใช้เชื้อรา *T. harzianum* ในการควบคุมโรคโคนเน่า ของถั่วเหลืองฝักสดพันธุ์ TVB 7 ผลการทดลองปรากฏว่าเชื้อรา *T. harzianum* สามารถลดความเสียหายของโรคโคนเน่าของถั่วเหลืองฝักสดได้ โดยทำให้จำนวนต้นเป็นโรคหลังปลูก 30 วันหลังปลูกลดลงได้มากที่สุดถึงร้อยละ 62 และทำให้ความสูงตลอดจนน้ำหนักฝักสดของถั่วเหลืองฝักสดเพิ่มขึ้นด้วย

รูปร่างลักษณะของรา *Trichoderma* และการจัดจำแนก

Trichoderma ซึ่งจัดเป็นเชื้อราที่อยู่ใน From-Class Deuteromycetes Order Moniliales เชื้อรานี้สร้าง conidia หรือ phialospore สีเขียวรูปไข่ ไม่มีผนังกั้น เกิดเป็นกลุ่มตรงปลายก้านหรือเกิดบน phialide ส่วน conidiophore มีลักษณะตั้งตรงแตกกิ่งออกเป็นวง (verticilate) ไม่มีสี สร้างสปอร์ทนทาน (clamydospore) ระหว่างเส้นใย และปลายเส้นใย ลักษณะค่อนข้างกลม ไม่มีสี ผิวเรียบ ราสกุลนี้มีหลายชนิด ได้แก่ *T. harzianum*, *T. hamatum*, *T. viride*, *T. koningii*

และ *T. pseudokoningii* เป็นต้น (Bilai, 1963) การจำแนกชนิดของเชื้อรา *Trichoderma* ออกเป็นชนิด (species) ต่าง ๆ โดยใช้ความแตกต่างของโคโลนี ก้านสปอร์ (conidiphose) เซลล์ที่ให้กำเนิดสปอร์ (phialide) และสปอร์ (phialospose) (Rifai, 1969) ดังต่อไปนี้

***Trichoderma harzianum* Rifai**

โคโลนี เจริญได้อย่างรวดเร็ว ผนังเรียบ สีขาว ในระยะแรกเส้นใยเจริญแผ่นบาง ๆ บนอาหารแต่ในไม่ช้าอาจสร้างเส้นใยชูขึ้นเหนืออาหารเลี้ยงเชื้อ บริเวณที่สร้างสปอร์มีสีเขียวปนขาวแล้วเปลี่ยนเป็นสีเขียวสด ในที่สุดเป็นสีเขียวคล้ำ ใต้โคโลนีไม่เปลี่ยนสี

conidiophores เจริญจากเส้นใยที่มีการแตกกิ่งก้านสาขามากมาย ลักษณะเป็นปุยฟูไม่หนาแน่นการสร้าง conidiophore เกิดเป็นบริเวณที่มองเป็นชัดเจน ลักษณะเป็นโดยรอบติดต่อกัน conidiophore แตกกิ่งก้านเล็กน้อยบนผิวหน้าอาหาร บริเวณรอบนอกมีการสร้างสปอร์ แกนกลางของ conidiophore มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4.5 ไมโครเมตร เส้นแกนกลางมีการแตกกิ่งก้านออกไปซึ่งอาจจะเกิดเป็นกิ่งเดี่ยว แต่ส่วนใหญ่แตกเป็น 2 หรือ 3 กิ่ง ซึ่งกิ่งก้านแต่ละกิ่งโดยเฉพาะกิ่งก้านที่อยู่จะแตกกิ่งก้านเล็ก ๆ ออกไปอีก ทำมุมเป็นมุมฉากกับฐาน และกิ่งก้านที่แตกออกมามีความยาวเพิ่มขึ้นตามระยะทางที่ห่างจากปลายของเส้นแกนกลาง ทำให้ลักษณะการแตกกิ่งก้านเป็นรูปกรวยหรือปิรามิด

phialide มักเกิดเป็นกลุ่มและจะมีกลุ่มหนึ่งซึ่งอยู่ปลายสุดของที่ปลายแขนงของ conidiophore กลุ่มหนึ่ง ๆ อาจมีจำนวนถึง 5 อัน conidiophore แต่อย่างไรก็ตาม phialide นี้อาจเกิดเดี่ยว ๆ หรือเกิดไม่เป็นระเบียบ ตามด้านข้างของกิ่งก้านที่แตกออกมาก็ได้ มีขนาดสั้น รูปร่างเป็นรูปกรวย มีขนาด 5-7 x 3-3.5 ไมโครเมตร phialide ที่อยู่ปลายกิ่งของ conidiophore มักจะยาวกว่าปกติ ซึ่งอาจจะมีขนาดถึง 18 x 2.5 ไมโครเมตร

phialospore เกิดเดี่ยว ๆ และอยู่รวมกันที่ปลายของแต่ละ phialide ทำให้ดู เป็นกลุ่มลักษณะเป็นก้อนกลม สปอร์มีรูปร่างค่อนข้างกลม หรือรูปไข่หัวคว่ำและขนาดสั้น มีฐานมนและตัดตรง ผนังเรียบสีของสปอร์เมื่ออยู่เดี่ยว ๆ เป็นสีเขียวอ่อน แต่เมื่ออยู่รวมกันเป็นกลุ่มมีสีเข้มขึ้น ขนาดของสปอร์ 2.8-3.2 x 2.5-2.8 ไมโครเมตร

***Trichoderma hamatum* (Bon.) Bain**

โคโลนี เจริญค่อนข้างช้า สามารถเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาด 9 ซม. ในเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และ 8 วันที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เริ่มแรกผิวหน้าจะเรียบแผ่แบนราบบนอาหาร ส่วนใหญ่ไม่มีสี หรือสีขาวใส โดยมีเส้นใยที่เจริญอยู่เหนือผิวของอาหารน้อย เมื่อเจริญเต็มที่บริเวณที่สร้างสปอร์มีสีขาว หรือสีเขียวปนเทาและสีใต้โคโลนีไม่มีการเปลี่ยนแปลง เส้นใยไม่มีสี ผนังเรียบ แตกกิ่งก้าน เส้นใยมีผนังกั้น ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-9 ไมโครเมตร

conidiophore มีการแตกกิ่งก้านมากมาย เป็นกระจุกหนาแน่นมาก บางครั้งเกิดติดต่อกันทำให้มองเห็นบริเวณที่สร้างโคโลนี เป็นวงแหวนต่อเนื่องกันเป็นชั้น ๆ ส่วนล่างของแกนกลางของ conidiophore ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 ไมโคเมตร ให้กำเนิดกิ่งก้านที่แตกแขนงออกมาด้านข้างมีขนาดสั้นและมีหลายอัน โดยกิ่งก้านอันที่อยู่ไกลจากปลายยอด จะมีขนาดยาวกว่าเล็กน้อย ซึ่งประกอบด้วยเซลล์ที่มีรูปร่างแบบถังเบียร์หรือกลอง จำนวน 2,3 หรือ 4 เซลล์ แล้วให้กำเนิดเซลล์ที่เล็กลงอีก 1 หรือ2 เซลล์ ซึ่งให้กำเนิด phialide ต่อมากิ่งก้านที่สร้างขึ้นเหล่านี้สร้างตั้งฉากกับฐาน โดยอาจจะเกิดเดี่ยว ๆ หรือเกิดเป็นกลุ่ม มีลักษณะเป็นวงซึ่งมีมากถึง 3 อัน และเซลล์ที่ให้กำเนิดกิ่งก้านเหล่านี้มีลักษณะบวมขึ้นเล็กน้อย

phialide เกิดรวมกันเป็นกลุ่มจำนวน 2-5 อัน รอบ ๆ ฐานของ phialide นี้บางครั้งเซลล์ที่ปลายสุดจะสร้างกิ่งก้านออกไปอีก และให้กำเนิด phialide เป็นกลุ่มเพิ่มขึ้น หรืออาจจะเกิดเดี่ยว ๆ แต่อยู่ชิดกันโดยการเกิดที่ไม่สม่ำเสมอผนังของ phialide เรียบ ไม่มีสี ส่วนที่มีสีเขียวอ่อน พบน้อย รูปร่างอ้วนสั้นแบบลูกแพร์ หรือที่พบเป็นส่วนใหญ่มีรูปไข่ ซึ่งมีฐานแคบกว่าตรงส่วนกลางเล็กน้อย และด้านปลายมีลักษณะเหมือนคอขวด บางครั้งเมื่อโคโลนีอายุมากขึ้นจะเห็นบริเวณรูเปิดของ phialide มีส่วนที่หนาขึ้นมา และส่วนปลายโค้งเข้าหาปลายยอด ขนาดของ phialide 4-6.5 x 3-4 ไมโครเมตร

phialospore เกิดเดี่ยว ๆ จำนวนมากแล้วรวมกลุ่มจับกันเป็นก้อนกลมอยู่ที่ปลาย phialide รวมทั้งที่เกิดจาก phialide ข้างเคียงทำให้สปอร์มีกลุ่มใหญ่มากขึ้น โดยทั่วไปสปอร์มีรูปร่างสีเหลี่ยมหรือทรงกระบอกแต่ส่วนใหญ่เป็นรูปเหลี่ยม บางครั้งพบรูปกระสวย ส่วนด้านปลายมีลักษณะกลมมนและฐานเป็นลักษณะตัดตรง เมื่อสปอร์เกิดเดี่ยว ๆ มีสีเขียวอ่อน แต่เมื่อรวมกันจะมีสีเข้มขึ้น กลุ่มของสปอร์มีขนาด 3.8-6 x 2.2-2.8 ไมโครเมตร

Trichoderma viride **Pers. Ex S.F. Gray**

โคโลนี เจริญเติบโตเร็ว สามารถเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซ็นติเมตร ในเวลา 4 วันที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และ 3 วันครึ่งที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เริ่มแรกผิวหน้าเรียบ สีขาวใส แผ่แบนราบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ต่อมาสร้างเส้นใยอยู่เหนืออาหารเลี้ยงเชื้อทำให้โคโลนีมีลักษณะฟูสีขาว เมื่ออายุมากขึ้นมีการสร้างสปอร์จำนวนมากทำให้โคโลนีมีสีเขียวปนดำเข้ม หรือเขียวปนน้ำเงินเข้ม และใต้โคโลนีสีไม่เปลี่ยนแปลง มีลักษณะเฉพาะคือเมื่ออายุมากจะสร้างกลิ่นเป็นกลิ่นมะพร้าว เส้นใยมีการแตกกิ่งก้านมาก ไม่มีสี ผนังเรียบ มีผนังกั้น ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 –12 ไมโครเมตร

conidiophore เส้นใยเจริญสานกันแบบหลวม ๆ จนถึงหนาแน่นเป็นปุย และกระจัดกระจายทั่วไปเป็นวงโดยรอบหรือเป็นวงบางส่วน และมีการสร้าง conidiophore โดยพบทั้งเส้นใยที่เจริญฟูอยู่

เหนืออาหารและเส้นใยที่เจริญแผ่อยู่บนอาหาร ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเส้นแกนกลาง 4.5 ไมโครเมตร และแตกกิ่งก้านด้านข้างเป็นมุมกว้างซึ่งอาจจะเกิดเดี่ยว ๆ หรือเป็นกลุ่ม 2-3 อัน ไม่สม่ำเสมอ และแตกกิ่งก้านออกไปเรื่อย ๆ แต่มีขนาดเล็กลงทำให้มีลักษณะคล้ายต้นสน

phialide เกิดเดี่ยว ๆ หรือ เป็นกลุ่มละไม่เกิน 2-3 อัน แต่ไม่ได้เรียงกันเป็นวงรอบ หรือเกิดเป็นคู่ตรงกันข้ามกันตลอดกิ่งก้านที่แตกออกมา ขนาดไม่แน่นอน ส่วนใหญ่มีขนาด 8-14 x 2.4-3 ไมโครเมตร ทั้งนี้อาจพบสปอร์ที่มีความยาวเพียง 6 ไมโครเมตร ส่วน phialide บนสุดอาจมีความยาวถึง 20 ไมโครเมตร และทำมุมเป็นมุมกว้างกับฐานเช่นเดียวกับการแตกกิ่งก้านของ conidiophore ลักษณะตรง หรือโค้งงอบ้างเล็กน้อย ปลายฐานแคบ ส่วนคอยาว ลักษณะแบบลูกพินโบว์ลิ่ง

phialospore ส่วนใหญ่รูปร่างกลม หรือรูปไข่หัวกลับและสั้น หรือกระสวยป่องตรงกลาง การที่ผนังมีลักษณะขรุขระเล็ก ๆ ทำให้มองดูสปอร์เป็นรูปเหลี่ยม มีสีเขียวขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3.6-4.5 ไมโครเมตร หรือ 4-4.8 x 3.5-4 ไมโครเมตร รวมกลุ่มอยู่ที่ปลายของแต่ละ phialide เพื่อสร้างเป็นกลุ่มสปอร์

***Trichoderma koningii* Oud.**

โคโลนี เจริญเติบโตรวดเร็วที่อุณหภูมิห้อง ผิวหน้าเรียบ ต่อมามีการสร้างเส้นใยอยู่เหนืออาหารในปริมาณมาก เมื่อเส้นใยเจริญเต็มที่จะมองดูโคโลนีคล้ายเส้นเป็นขนฟูขึ้น โคโลนีเริ่มแรกมีสีขาวและมีการสร้างสปอร์ทำให้โคโลนีค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นสีขาวปนเขียว ในที่สุดเป็นสีเขียวหม่นจนถึงเขียวเข้ม ใต้โคโลนีไม่เปลี่ยน เส้นใยมีการแตกกิ่งก้านมากมาย มีผนังกั้นระหว่างเซลล์ ผนังเรียบ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-10 ไมโครเมตร ไม่มีสี

conidiophore มีการแตกกิ่งก้านมากมายมีลักษณะเป็นกระจุกหนาแน่น ค่อนข้างบางในบริเวณที่เกิดเป็นวง ต่อมาลักษณะการเกิดเป็นวงจะเห็นไม่ชัดเนื่องจากการสร้าง conidiophore ของเส้นใยที่อยู่บนผิวอาหารซึ่งขยายออกไปอย่างกว้างขวางและสม่ำเสมอ ทำให้ไม่เห็นเป็นชั้นหรือวงอย่างชัดเจน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเส้นแกนกลางของ conidiophore 4 ไมโครเมตร แตกกิ่งแขนงออกไปเป็นกลุ่ม ๆ ละ 2-3 แขนง ซึ่งจะแตกออกเป็นมุมกว้างมากน้อยต่างกัน โดยเกิดรวมกันเป็นกลุ่มฐานกว้างมีรูปร่างคล้ายกรวยหรือปิรามิด

phialide รูปร่างแบบลูกพินโบว์ลิ่งที่ปลายฐานแคบกว่าส่วนกลาง แล้วแคบลงจนถึงปลายคอรูปกรวยมีขนาด 7.5-12 x 2.5-3.5 ไมโครเมตร แต่ phialide ที่อยู่ปลายสุดอาจยาวถึง 30 ไมโครเมตร ส่วนอันที่อยู่ต่ำลงมาจะแตกกิ่งก้านในแนวมุมกว้างมากกับฐาน มีจำนวนหลายกิ่งอาจจะถึง 5 กิ่ง บางครั้งเกิดเดี่ยว ๆ ในลักษณะการเกิดที่ไม่สม่ำเสมอ

phialospore ส่วนใหญ่รูปไข่ สี่เหลี่ยมหรือเป็นเหลี่ยม ที่ฐานของสปอร์ตัดตรง และอีกด้านกลม ผนังเรียบ สีเขียวอ่อน phialospore มีขนาด 3-4.5 x 1.9-2.8 ไมโครเมตร

***Trichoderma pseudokoningii* Rifai**

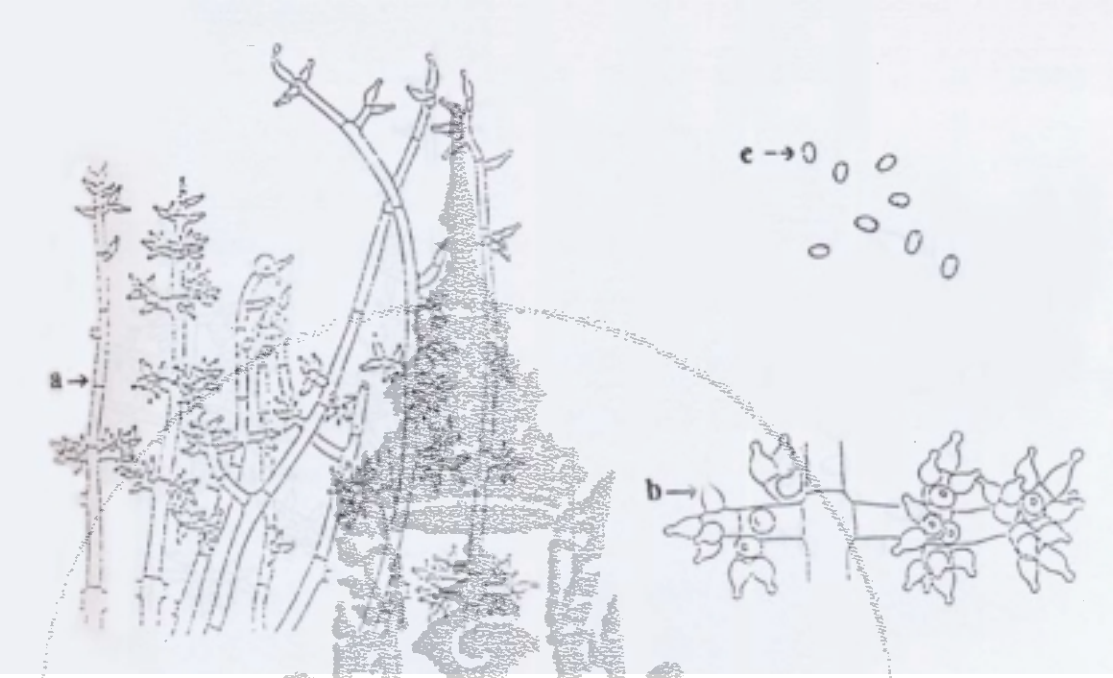
โคโลนี เจริญค่อนข้างเร็วที่อุณหภูมิห้อง ผิวหนังเรียบ ไม่มีสี เส้นใยที่เจริญอยู่เหนืออาหารมีน้อย เมื่อสร้างสปอร์โคโลนีเปลี่ยนจากสีขาวเป็นสีขาวปนเขียว จนถึงสีเขียวสดใส เม็ดสีที่เชื้อ-ราสร้างขึ้นจะถูกปล่อยไปในอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้ใต้โคโลนีเปลี่ยนเป็นสีเหลือง เส้นใยแตกกิ่งก้านประสานกันบาง ๆ บนอาหาร มีผนังกั้นระหว่างเซลล์ และผนังเรียบ ไม่มีสีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1-10 ไมโครเมตร

conidiophore ลักษณะเป็นปุยแบบหลวม ๆ ไม่หนาแน่น เมื่ออายุยังน้อยมีลักษณะเหมือนขนฟูขึ้นมาจากส่วนปลายของ conidiophore ซึ่งเมื่อแก่จะเห็นไม่ชัดเนื่องจากมีลักษณะเป็นฝุ่นผง เริ่มแรกเป็นลักษณะเป็นวงรอบ ต่อมาเมื่ออายุมากขึ้นจะสร้าง conidiophore ใหม่เฉพาะบริเวณรอบนอกของโคโลนี ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเส้นแกนกลางของ conidiophore 4-5 ไมโครเมตร และค่อนข้างยาว การแตกกิ่งก้านค่อนข้างน้อย ไม่สม่ำเสมอ เกิดเดี่ยว ๆ หรือเป็นคู่ตรงกันข้าม หรืออยู่รวมกันเป็นกลุ่ม ๆ ละ 3 อัน แต่พบน้อย ซึ่งจะแตกกิ่งตั้งฉากกับเส้นแกนกลาง

phialide มักจะเกิดเป็นคู่ ไม่เกิดเป็นวงรอบและไม่เป็นกลุ่ม จึงมักพบ phialide ที่เกิดเดี่ยว ๆ เสมอบนกิ่งก้านของ conidiophore ที่แตกออกมา โดยจะเกิดทั่วไปแบบไม่สม่ำเสมอ และส่วนใหญ่พบมากที่บริเวณปลายก้านของเส้นแกนกลาง รูปร่างแบบลูกพินโบว์ลิ่ง หรือรูปไข่ หรือเรียว ขนาด 5.8-8 x 2.7-7.5 ไมโครเมตร ส่วนอันยอดสุดอาจยาวถึง 13 ไมโครเมตร

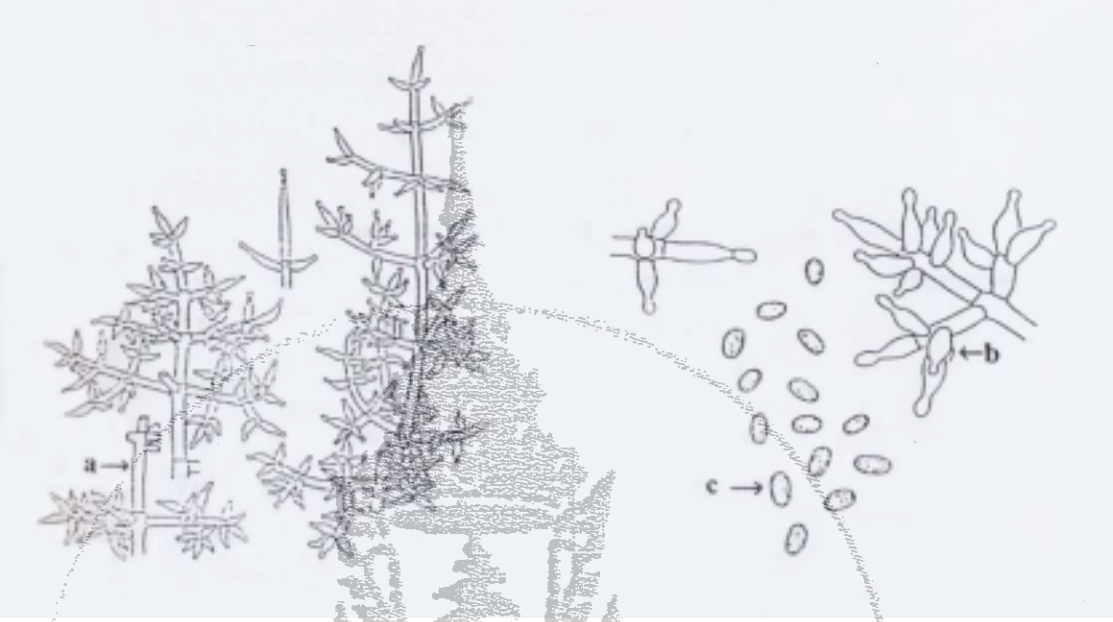
phialospore เกิดเดี่ยว ๆ และรวมกันเป็นก้อนที่ปลาย phialide ของแต่ละอัน phialospore มีขนาดสั้นรูปร่างเกือบ ๆ เป็นทรงกระบอก ส่วนใหญ่รูปร่างสี่เหลี่ยม และบางครั้งเป็นเหลี่ยมหรือรูปกระสวย ตรงปลายแคบลงส่วนฐานตัดตรง สปอร์มีสีเขียวอ่อนแต่เมื่อรวมกลุ่มกันมีสีเขียวผนังเรียบขนาด 3.4-4.6 x 2-2.5 ไมโครเมตร

ภาพที่ 1 ลักษณะ phialide (a) และ phialospore (b) ของ *Trichoderma harzianum* (Rifai, 1969)

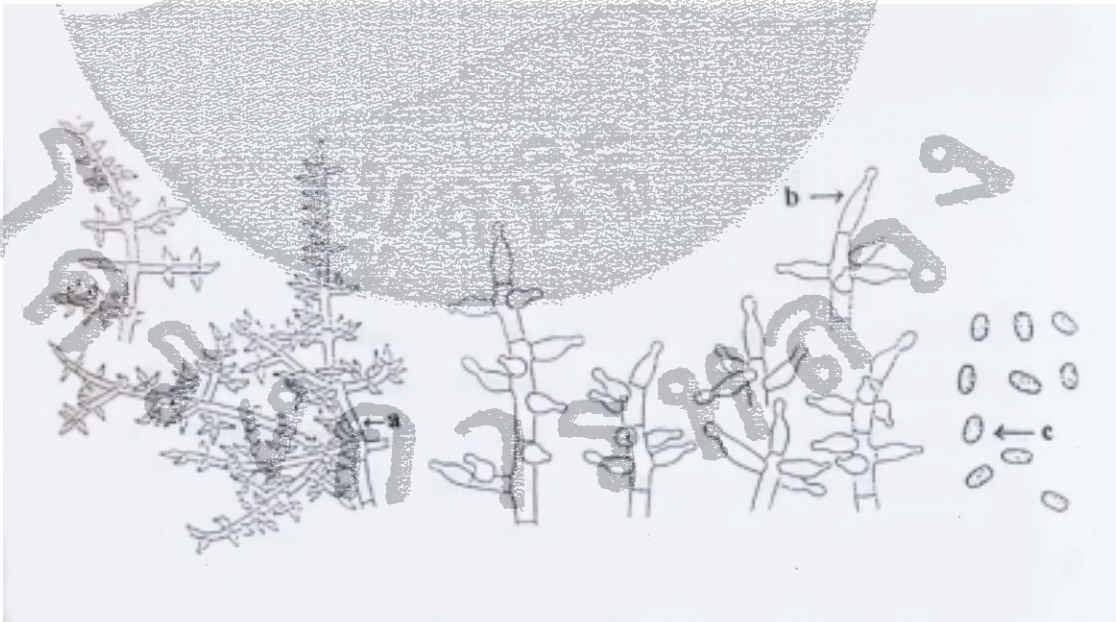


ภาพที่ 2 ลักษณะ conidiophore (a); phialides (b); phialospores (c) ของ *Trichoderma hamatum* (Rifai, 1969)

ภาพที่ 3 ลักษณะ conidiophore (a); phialides (b); phialospores (c) ของ *Trichoderma viride* (Rifai , 1969)



ภาพที่ 4 ลักษณะ conidiophore (a); phialides (b); phialospores (c) ของ *Trichoderma koningii* (Rifai, 1969)



ภาพที่ 5 ลักษณะ conidiophore (a); phialides (b); phialospores (c) ของ Trichoderma pseudokoningii (Rifai, 1969)

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. ศึกษาลักษณะอาการของโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่

ทำการเก็บตัวอย่างต้นสตรอเบอรี่ที่แสดงอาการเหี่ยวจากแหล่งปลูกสตรอเบอรี่ของเกษตรกรภายใต้การดูแลของมูลนิธิโครงการหลวง จำนวน 5 แหล่ง คือ

1. ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่แฮ อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่
2. แปลงปลูกสตรอเบอรี่ของเกษตรกร หมู่บ้านบ่อแก้ว อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่ (ภายใต้การดูแลของศูนย์วิจัยโครงการหลวงแม่แฮ)
3. สถานีเกษตรหลวงหลวงปางดะ อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่
4. สถานีวิจัยโครงการหลวงอินทนนท์ อำเภอจอมทอง จังหวัดเชียงใหม่
5. ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงห้วยน้ำริน อำเภอเวียงป่าเป้า จังหวัดเชียงราย

เริ่มต้นด้วยการสำรวจต้นสตรอเบอรี่ที่แสดงอาการเหี่ยวในแปลงปลูกสตรอเบอรี่บันทึกอาการของโรคที่เห็นพร้อมทั้งถ่ายรูป จากนั้นจึงเก็บตัวอย่างของต้นที่แสดงอาการโดยใช้พลั่วมือขุดต้นสตรอเบอรี่ขึ้นมาโดยให้มีรากและดินติดอยู่ด้วย จึงนำมาล้างรากในน้ำสะอาด ตรวจสอบความผิดปกติของราก บริเวณโคนต้น (crown) และผ่าดูภายในลำต้น บันทึกอาการผิดปกติที่เห็น

2. การแยกและจำแนกเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่

2.1. การแยกเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่

นำต้นสตรอเบอรี่ที่แสดงอาการเหี่ยวซึ่งได้ล้างทำความสะอาดบริเวณราก และโคนต้นแล้วซับให้แห้งด้วยการวางบนกระดาษกรองที่ปลอดเชื้อ ตัดส่วนที่เป็นโคนต้น แลรากจุ่มในอัลกอฮอล์ 70% แล้วซับให้แห้งอีกครั้งหนึ่งด้วยกระดาษกรองที่ปลอดเชื้อแล้ว นำมาตัดเอาส่วนรากและโคนต้นที่แสดงอาการให้ติดกับเนื้อเยื่อส่วนที่ปกติขนาด 2-3 มิลลิเมตร แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย 10% Clorox (sodium hypochorite) นาน 3 นาที แล้วนำไปวางบนอาหาร PDA (Potato Dextrose Agar) จำนวน 4 ชิ้น ต่อ 1 จาน โดยขั้นตอนที่กล่าวมาทำภายในตู้ถ่ายเชื้อ (transfer chamber) บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง (เฉลี่ยกลางวัน 30 องศาเซลเซียส กลางคืนประมาณ 25 องศาเซลเซียส) จากนั้นจึงทำการแยกเชื้อบริสุทธิ์ โดยทำการตัดปลายเส้นใยที่เจริญเร็วกว่า เส้นใยเส้นอื่น ๆ (Hyphal Tip Isolation Technique) เมื่อเชื้อเจริญเต็มที่ จึงทำการเก็บเชื้อราสาเหตุที่แยกได้ไว้ใน

หลอดอาหารเอียง (PDA slant) เพื่อทำการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค และจำแนกเชื้อราสาเหตุของโรคต่อไป

2.2. การจำแนกและศึกษาลักษณะเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่

ศึกษาการเจริญเติบโตของเส้นใย และการสร้างสปอร์โดยเตรียมแผ่นสไลด์แก้ว (glass slide) ที่อยู่ในจานอาหารที่มียางรัดวงเล็กรองแผ่นสไลด์ และมี กระดาษกรองรองที่ก้นจาน 1 แผ่น โดยอุปกรณ์ทั้งหมดผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นตัดชิ้นวุ้นอาหาร PDA ขนาด 0.5 x 0.5 เซนติเมตร ลงบนแผ่นสไลด์แก้ว ปลูกเชื้อราสาเหตุที่แยกได้ ในข้อ 2.1 ลงบนชิ้นวุ้นทั้ง 2 ด้าน ปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์ (cover slide) เติมน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วลงบนกระดาษกรองในจานอาหารพอชุ่ม จาก นั้นปิดฝาจานอาหารบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 3-5 วัน จึงนำมาตรวจดูลักษณะการเจริญของเชื้อโดยย้อมสีด้วย crystal violet เข้มข้น 0.1% ใน lactophenol ตรวจสอบลักษณะของเส้นใย conidiophore และ conidia ภายใต้ กล้องจุลทรรศน์ พร้อมทั้งจำแนกเชื้อสาเหตุ

2.3 การย้อมนิวเคลียสเชื้อราสกุล *Rhizoctonia*

การย้อมนิวเคลียสของเชื้อ *Rhizoctonia* spp. โดยวิธีย้อมด้วยสี Giemsa ทำการเตรียมเชื้อ *Rhizoctonia* spp. บนแผ่นสไลด์แก้วที่เทอาหาร PDAบาง ๆ เป็นเวลา 3 วัน เมื่อเจริญได้ระยะที่ต้องการแล้วทำตามขั้นตอนดังนี้ คือหยด Giemsa บนเชื้อทิ้งไว้นาน 1 นาที ล้างออกด้วย KOH 3% 1 ครั้ง แล้วล้างออกด้วย KOH 3% อีกครั้ง และล้างด้วยน้ำกลั่นหลาย ๆ ครั้ง ปิด cover slide ตรวจดูการติดสีโดยใช้น้ำกลั่นเป็น mounting medium (นิพนธ์, 2544)

3. การแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จากดิน

เก็บตัวอย่างดินจากแหล่งปลูกสตรอเบอรี่จำนวน 5 แหล่ง ดังที่กล่าวมาแล้วในข้อ 1 โดยเก็บจากบริเวณรอบรากพืชที่ความลึกจากผิวหน้าดิน 15-50 เซนติเมตร จำนวน 5 จุด ประมาณ 200 กรัม นำดินที่เก็บมาได้ผสมคลุกเคล้าให้เข้ากันแล้วนำมาแยกเชื้อจุลินทรีย์โดยวิธี Soil Dilution Plate บนอาหาร PDA อย่างเดียว และ PDA ที่เติม Rose Bengal 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยชั่งดินมา 10 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ (Flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีน้ำกลั่นฆ่าเชื้อแล้ว 90 มิลลิลิตร เขย่าดินให้เข้ากับน้ำนาน 15 นาที แล้วทำให้เจือจางความเข้มข้นตั้งแต่ 10^{-1} ถึง 10^{-5} แล้วนำเฉพาะ ความเข้มข้น 10^{-3} และ 10^{-5} มาแยกโดยใช้ปิเปตดูดสารละลายดินแขวนลอย (soil suspension) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหารที่เตรียมไว้ แล้วใช้แท่งรูปตัวแอล (L) เกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหารบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3-5 วัน เมื่อพบ

การเจริญของเชื้อออกเป็นโคโลนีเดี่ยว ๆ จึงย้ายเชื้อจากแต่ละโคโลนีไปเลี้ยงและทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีแยกแบบ Hyphal Tip เพื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อสาเหตุของโรครากเน่าและโคนเน่าที่แยกได้จากข้อ 2.1 ต่อไป

4. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่

นำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่แยกได้ จากข้อ 3 มาทำการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุที่แยกและจำแนกไว้แล้วจาก ข้อ 2.1 และ 2.2 คือ เชื้อ bunucleate *Rhizoctonia* sp., *Fusarium oxysporum* และเชื้อ *Colletotrichum fragariae* โดยนำจาก stock culture มาเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน แล้วใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ตัดบริเวณโคโลนีรอบนอกของในส่วนที่มีการเจริญของเชื้อสม่ำเสมอ แล้วย้ายไปวางบนอาหาร PDA ที่อยู่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (Petri dish) ขนาด 9 เซนติเมตร ทำการทดสอบโดยใช้วิธี Bi-culture (Dual Culture) ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ โดยทำในตู้ transfer chamber จากนั้นใช้ loop ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วย้าย culture disc ของเชื้อราสาเหตุ วางห่างจากขอบจานอาหาร 2.5 เซนติเมตร จากนั้นใช้ loop ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วย้าย culture disc ของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ มาวางห่างจากขอบจานอีกด้านหนึ่ง 2.5 เซนติเมตร วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) โดยทำ 5 ซ้ำ (จาน) ในแต่ละกรรมวิธี บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องสังเกตุและบันทึกผลการเจริญของเชื้อราสาเหตุ โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีของเชื้อราสาเหตุ โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเชื้อราสาเหตุโรคจากชุดควบคุม และการทดสอบ Bi-culture แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคตามสูตร $\frac{(R1 - R2)}{R1} \times 100$ ดังภาพที่ 6

การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง

$$\% \text{ inhibition} = \frac{(R1 - R2)}{R1} \times 100$$

โดย R1 = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราในชุดควบคุม

R2 = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราสาเหตุในจานอาหารเลี้ยงร่วม

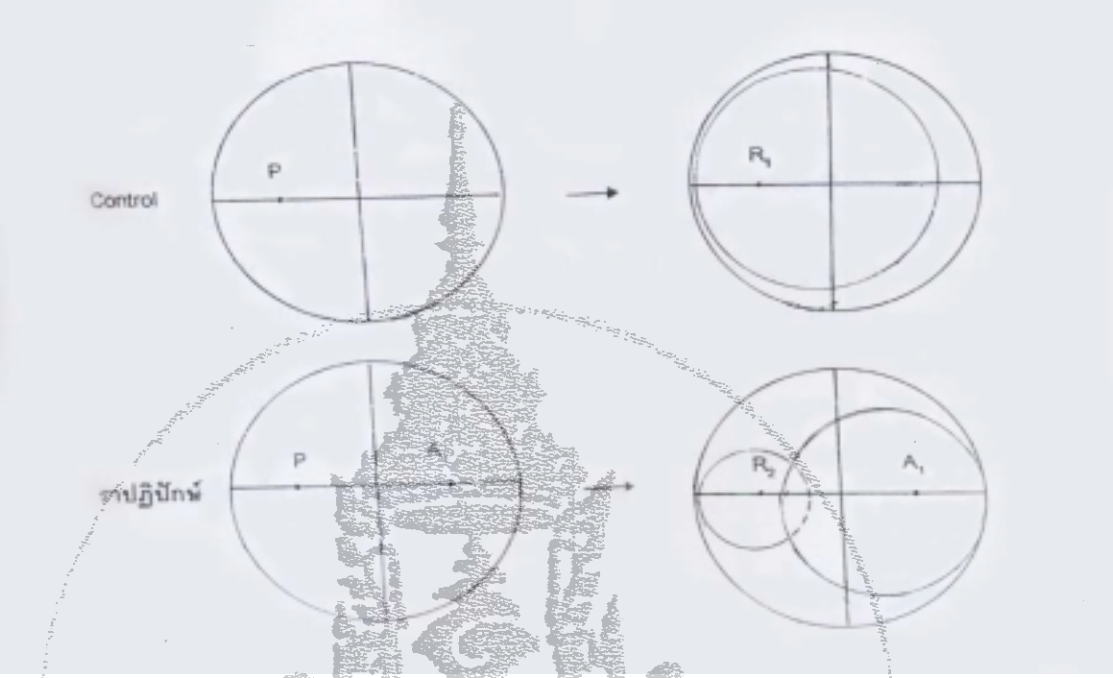
โดยประมาณค่าดังนี้ (เกษม, 2532)

>75% = มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงมาก (very high antagonistic activity)

61-75% = มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูง (high antagonistic activity)

51-60% = มีประสิทธิภาพในการยับยั้งปานกลาง (moderate antagonistic activity)

<50% = มีประสิทธิภาพในการยับยั้งต่ำ (low antagonistic activity)



P = เชื้อราสาเหตุโรคพืช (pathogen)

A = เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonist)

R1 = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราในชุดควบคุม

R2 = เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราสาเหตุในจานอาหารเลี้ยงร่วม

ภาพที่ 6 ลักษณะการเลี้ยงเชื้อด้วยวิธี Bi-culture (Dual Culture)

5. การจำแนกเชื้อ *Trichoderma* ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่

จำแนกเชื้อ *Trichoderma* ที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ binucleate *Rhizoctonia* sp., *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* และ *Colletotrichum fragariae* ตามข้อ 4 พบว่ามีเชื้อ *Trichoderma* spp. 15 ไอโซเลท (isolate) ที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมเชื้อสาเหตุทั้ง 3 ชนิด จึงทำการ จำแนกเชื้อ *Trichoderma* spp. โดยเลี้ยงเชื้อบนอาหาร PDA นาน 7 วัน จึงนำมาตรวจลักษณะของ conidiophore วัดขนาดและบันทึกรูปร่างของ phialide และ phialospore โดยวัดด้วย ocular micrometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (compound microscope) รวมทั้งบันทึกรูปร่าง (shape) และ ผนัง (wall) และบันทึกการเจริญสีของโคโลนีของเชื้อด้วย

6. การศึกษากลไกการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อ *Trichoderma* ต่อเชื้อรา binucleate *Rhizoctonia* sp.

ศึกษาลักษณะการเข้าทำลายของเชื้อ *Trichoderma* ต่อ binucleate *Rhizoctonia* sp. โดยวิธี Dual Slide Culture ดังข้อ 2.2 แต่จะทำการปลูกเชื้อสาเหตุ และเชื้อ *Trichoderma* บนชิ้นวุ้นคนละด้านกัน จากนั้นปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์ บ่มไว้ในจานอาหารที่ให้ความชื้นเพียงพอ ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 3 วัน จากนั้นจึงตรวจดูโดยนำแผ่นสไลด์ที่มีการเจริญของเชื้อ ใช้ loop ที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วยกแผ่นปิดสไลด์ออกพร้อมทั้งตักชิ้นวุ้นออกด้วยย้อมสีด้วย 0.1% crystal violet ใน lactophehol แล้วนำแผ่นสไลด์แผ่นใหม่มาปิดทับลงไป ส่วนแผ่นปิดสไลด์ที่มีเส้นใยของเชื้อราเจริญอยู่ นำแผ่นสไลด์แผ่นใหม่ที่สะอาดมาหยดด้วย หยด 0.1% crystal violet ใน lactophenol ลงไปก่อนปิดทับด้วยแผ่นสไลด์ดังกล่าว นำไปตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ศึกษาถึงลักษณะและปฏิกิริยาของเชื้อ *Trichoderma* ที่มีต่อเชื้อราสาเหตุ

7. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* ในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ในโรงเรือน

7.1 การเพิ่มปริมาณเชื้อสาเหตุ และ *Trichoderma* ในเมล็ดข้าวฟ่าง

การเพิ่มปริมาณของเชื้อสาเหตุ และ *Trichoderma* ใช้วิธีเลี้ยงแบบเดียวกันคือ เลี้ยงบนเมล็ดข้าวฟ่างที่ต้มสุกและนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว โดยเริ่มจากต้มเมล็ดข้าวฟ่างให้สุกโดยสังเกตุจากเมล็ดจะเริ่มปริแตกออกประมาณ 4-5 เมล็ด กรองน้ำทิ้ง ล้างด้วยน้ำสะอาดอีกประมาณ 2-3 ครั้ง ผึ่งให้พอแห้งหมาด ๆ จากนั้นบรรจุลงถุงพลาสติกทนร้อน 250 กรัม/ถุง ปิดปากถุงให้สนิท จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นนำเชื้อที่ต้องการขยายปริมาณ ซึ่งได้ทำการเลี้ยงเชื้อไว้บนอาหาร PDA นาน 7 วัน ใช้เข็มเขี่ยที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้วตัดชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยและสปอร์ของเชื้อเจริญอยู่ ใส่ลงในถุงที่บรรจุเมล็ดข้าวฟ่าง โดยทำภายใต้สภาพปลอดเชื้อ เขย่าถุงเบา ๆ เพื่อให้สปอร์ของเชื้อกระจายลงสู่ข้าวฟ่างในถุง แล้วบ่มเชื้อไว้ในห้องที่ร่มและเย็น อากาศถ่ายเทสะดวก ไม่มีมดและแมลงรบกวน หลังบ่มเชื้อ 2 วัน เขย่าถุงอีกครั้งเพื่อให้เส้นใยกระจายตัว เมื่อเชื้อราเจริญเต็มถุง จึงนำไปใช้ทดลองต่อไป

7.2 การเตรียมดินปลูก

การเตรียมดินปลูกโดยนำดินที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ผสมวัสดุปลูกในสัดส่วนดังนี้ ดิน 5 ส่วน :แกลบ 1 ส่วนและปุ๋ยหมัก 1 ส่วน คลุกเคล้าให้เข้ากัน จากนั้นบรรจุกระถางปลูกขนาด 5x7 นิ้ว ปริมาณ 800 กรัม ต่อกระถาง

7.3 การทดสอบประสิทธิภาพของ *Trichoderma* ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรครากเน่าและและโคนเน่าในโรงเรือน

ทำการปลูกเชื้อโดยการผสมเชื้อราสาเหตุ และเชื้อราปฏิปักษ์ที่เตรียมไว้ในข้อ 7.1 โดยผสมราสาเหตุซึ่งมี 3 ชนิดต่าง กันคือ binucleate *Rhizoctonia* sp., *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* และ *Colletotrichum fragariae* โดยนำเชื้อราสาเหตุอย่างละ 40 กรัม และ *Trichoderma* 40 กรัม เทลงในถุงพลาสติกที่มีดินปลอดเชื้อ (ข้อ 7.2) ปลูกผสมคลุกเคล้าให้เข้ากันอย่างดีแล้วจึงเทลงในกระถางปลูก จากนั้นจึงปลูกกล้าสตรอเบอรี่พันธุ์พระราชทาน 70 ซึ่งได้ต้นกล้าสตรอเบอรี่มาจาก สถานีวิจัยโครงการหลวงอินทนนท์ อำเภอจอมทอง จังหวัดเชียงใหม่ ดังรายละเอียดของแผนงานทดลองดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควมคุม หรือ Control (ไม่ปลูกเชื้อ ไม่ใส่ *Trichoderma*)
กรรมวิธีที่ 2 ปลูกเชื้อสาเหตุเพียงอย่างเดียว
กรรมวิธีที่ 3 ปลูกเชื้อสาเหตุ + *T. hamatum* (T200-2)
กรรมวิธีที่ 4 ปลูกเชื้อสาเหตุ + *T. viride* (T2000-5)
กรรมวิธีที่ 5 ปลูกเชื้อสาเหตุ + *T. harzianum* (T2000-6)
กรรมวิธีที่ 6 ปลูกเชื้อสาเหตุ + *T. koningii* (T2000-10)
กรรมวิธีที่ 7 ปลูกเชื้อสาเหตุ + *T. pseudokoningii* (T2000-14)

วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) โดยทำการทดลองกรรมวิธีละ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ต้น ดูแลรดน้ำเป็นประจำทุกวัน สังเกตุการเกิดอาการของโรคบันทึกผลและประเมินการเกิดโรคของพืชแต่ละต้น โดยให้ระดับต่าง ๆ คือ

ระดับที่ 0 = ไม่แสดงอาการของโรค

ระดับที่ 1 = ใบแสดงอาการเหี่ยว 1 ใบ

ระดับที่ 2 = ใบแสดงอาการเหี่ยว 2-3 ใบ

ระดับที่ 3 = ทุกใบแสดงอาการเหี่ยว ยกเว้นใบที่ส่วนยอด

ระดับที่ 4 = ทุกใบแสดงอาการเหี่ยว

ระดับที่ 5 = พืชเหี่ยวแห้ง ตายทั้งต้น

การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค ดังนี้ (สืบศักดิ์, 2540)

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค} = \frac{\text{ผลรวมของการเป็นโรคแต่ละระดับ}}{\text{จำนวนต้นพืชที่สุ่ม}} \times \frac{100}{\text{ระดับสูงสุดของการเป็นโรค}}$$

8. การทดสอบประสิทธิภาพของ *Trichoderma* ในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ในแปลงปลูก

8.1 การเตรียมเชื้อ *Trichoderma*

ขยาย *Trichoderma* ในเมล็ดข้าวฟ่าง เหมือนกับข้อ 7.1 เมื่อเชื้อรา*Trichoderma* เจริญสร้างสปอร์สีเขียวเต็มถุงแล้ว นำมาขยายเชื้อต่อเพื่อที่จะนำไปรองก้นหลุมก่อนปลูกต้นสตรอเบอรี่ โดยนำหัวเชื้อที่เตรียมไว้มาผสมกับรำและปุ๋ยหมักในอัตราส่วน *Trichoderma* 1 ส่วน: รำ 10 ส่วน และปุ๋ยหมัก 40 ส่วนโดยน้ำหนักนำมาคลุกเคล้าให้ผสมกันโดยรดน้ำขณะผสมให้กองปุ๋ยหมักที่ผสมนี้ชื้นพอดี จึงเกลี่ยกองปุ๋ยหมักเป็นกองสี่เหลี่ยมเตี้ย ๆ แล้วใช้พลาสติกคลุมไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ *Trichoderma* มีเส้นใยเจริญทั่วกองปุ๋ยหมัก จึงพร้อมที่จะไปผสมดินรองก้นหลุมก่อนปลูกสตรอเบอรี่ต่อไป

8.2 การเตรียมแปลงปลูกสตรอเบอรี่

ใช้แปลงปลูกสตรอเบอรี่ที่สถานีวิจัยโครงการหลวงอินทนนท์ อำเภอจอมทอง จังหวัดเชียงใหม่ เป็นสถานีทดลองโดยทำการขุดดินตากแดดไว้ประมาณ 5-7 วัน และทำการวัด pH ของดินได้เท่ากับ 6.5 และเตรียมแปลงโดยผสมปุ๋ยหมักอัตรา 1 กิโลกรัมต่อตารางเมตร และใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 16-16-16 อัตรา 50 กรัมต่อตารางเมตรผสมคลุกเคล้าดินให้ทั่ว จากนั้นขึ้นแปลงปลูกขนาดกว้าง x ยาว x สูง เท่ากับ 0.5 x 4 x 0.3 เมตร ระยะห่างระหว่างแปลง 50 เซนติเมตร จำนวน 12 แปลง และคลุมแปลงด้วยใบตองตึง เจาะหลุมปลูกให้มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 เซนติเมตร จำนวน 30 หลุมต่อแปลง โดยมีระยะห่างระหว่างหลุม 30 x 30 เซนติเมตร แล้วรองก้นหลุมด้วยเชื้อ *Trichoderma* ที่เตรียมไว้ในข้อ 8.2 ผสมกับดินในหลุมปลูกลึกประมาณ 10 เซนติเมตร ในอัตรา 20 กรัม (1 ช้อนแกง) ต่อหลุม ตามกรรมวิธีต่าง ๆ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ชุมควบคุม หรือ Control
กรรมวิธีที่ 2 *T. hamatum* (T2000-2)
กรรมวิธีที่ 3 *T. viride* (T2000-5)
กรรมวิธีที่ 4 *T. harzianum* (T2000-6)
กรรมวิธีที่ 5 *T. koningii* (T2000-10)
กรรมวิธีที่ 6 *T. pseudokoningii* (T2000-14)

ทำการปลูกต้นสตรอเบอรี่พันธุ์พระราชทาน 70 ลงในแปลงทำการวางแผนการทดลองแบบ RCBD (Randomized Complete Block Design) โดยทำ 2 การทดลอง การลดลองละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 10 ต้น ตรวจแปลงปลูกสตรอเบอรี่สังเกตการเกิดโรคบันทึกอาการทุก ๆ 2 สัปดาห์ รวม 8 สัปดาห์ บันทึกอาการและประเมินความรุนแรงของโรคดังที่อธิบายไว้ในข้อ 7.3

ผลการทดลอง

1. ลักษณะอาการของโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่

1.1 อาการของโรครากเน่าและโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia*

ต้นสตรอเบอรี่แสดงอาการเหี่ยว โดยเริ่มจากใบล่างมีสีเหลืองแล้วเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอย่างรวดเร็ว ในที่สุดจะเหี่ยวตายทั้งต้น เมื่อถอนต้นจากดินตรวจสอบลักษณะของรากพบว่า รากส่วนใหญ่จะกลายเป็นสีน้ำตาลปนดำถึงสีดำ ความยาวของรากของต้นที่เป็นโรคจะสั้นกว่าต้นปกติ เมื่อผ่าส่วนโคนต้นจะพบเนื้อเยื่อภายในเป็นสีน้ำตาลปนดำ บริเวณโคนต้นภายในมีสีแดง (ภาพที่ 7) ซึ่งตรงกับลักษณะอาการที่ได้อธิบายไว้ว่ามีเชื้อสาเหตุมาจาก *Rhizoctonia* sp. (Maas, 1998)

1.2 อาการของโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium*

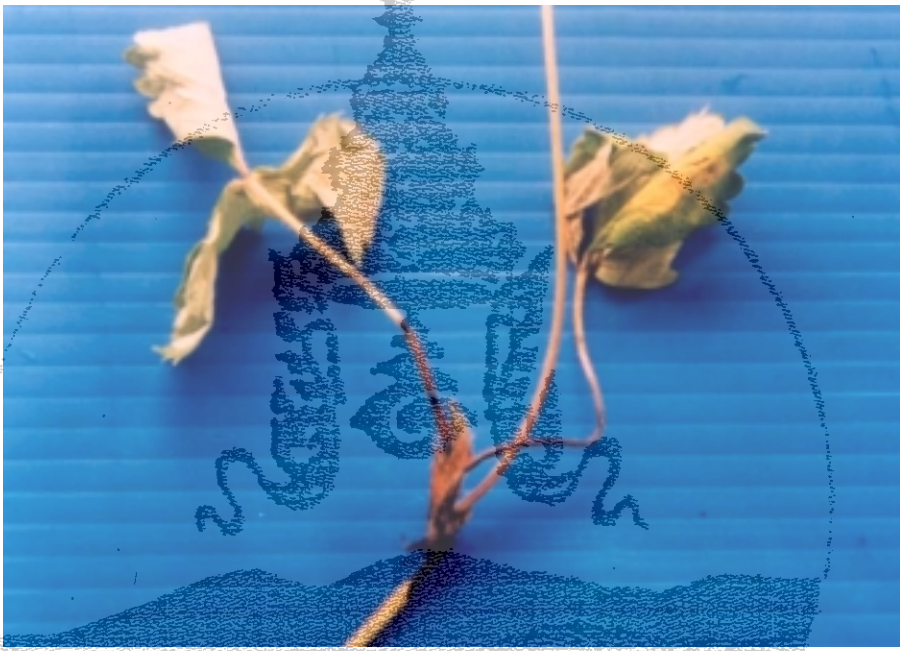
ลักษณะอาการที่พบในแปลงปลูกสตรอเบอรี่ คือ ต้นที่แสดงอาการเหี่ยว ใบล่าง 2-3 ใบจะมีสีเหลือง เมื่ออาการรุนแรงใบจะเหี่ยวและตายอย่างรวดเร็ว (ภาพที่ 8) เมื่อถอนต้นจากดินพบระบบของรากมีสีดำ แต่รากมีจำนวนน้อยกว่าต้นปกติ และลักษณะภายในโคนต้นมีสีเหลืองถึงสีน้ำตาล ซึ่งตรงกับลักษณะอาการที่ Maas (1998) ได้อธิบายไว้ว่าเกิดจากเชื้อ *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*

1.3 ลักษณะอาการของโรคแอนแทรกโนสที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum*

โรคนี้จะพบมากในระยะกล้า (ต้นไหล) โดยจะพบรอยแผลเป็นแถบยาวสีดำเริ่มจากบริเวณโคนต้นลุกลามไปที่ก้านใบ ต้นสตรอเบอรี่ในแปลงปลูกที่เป็นโรคจะพบว่าก้านใบจะมีสีแดงเข้มถึงดำ และลุกลามไปยังก้านใบอื่น ๆ ในต้นเดียวกัน ทำให้ลำต้นเน่า และเหี่ยวตายในที่สุด (ภาพที่ 9) เมื่อผ่าดูภายในของต้นมีสีน้ำตาลถึงสีแดง ซึ่งตรงกับลักษณะอาการของโรคที่เกิดจาก *Colletotrichum fragariae* (Maas, 1998)

ภาพที่ 7 ลักษณะของโรครากเน่าและโคนเน่าในสตรอเบอรี่ที่เกิดจากเชื้อ *Rhizoctonia* sp. ภายในโคนต้นสตรอเบอรี่จะเป็นสีน้ำตาลแดง

ภาพที่ 8 ต้นสตรอเบอรี่แสดงอาการเหี่ยวเกิดจากเชื้อ *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* ใบมีสีเหลือง เมื่ออาการรุนแรงกลายเป็นสีน้ำตาล และแห้งตายทั้งต้น



ภาพที่ 9 อาการของโรคแอนแทรกโนสที่เกิดจากเชื้อ *Colletotrichum fragariae* ทำให้เกิดแผลสีดำ ลึกเป็นแถบยาวที่บริเวณโคนต้น และลุกลามไปยังส่วนของก้านใบและไหล ทำให้ต้นสตรอเบอรี่เหี่ยว

2. ลักษณะของเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ และการจำแนกชนิดของเชื้อรา

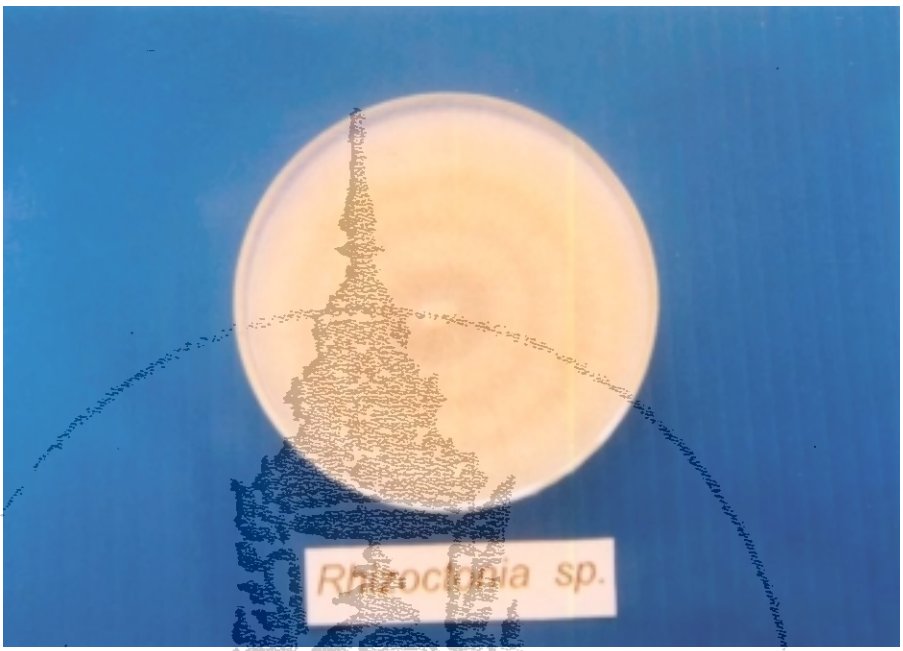
เมื่อนำต้นสตรอเบอรี่ที่แสดงอาการของโรคเหี่ยว มาทำการแยกเชื้อ (isolation) พบเชื้อราสาเหตุ 3 สกุล คือ *Rhizoctonia*, *Fusarium* และ *Colletotrichum* และทำการศึกษาลักษณะของเชื้อราทั้งสาม เพื่อจำแนกชนิด (species) ของเชื้อราแต่ละสกุลได้ผลดังนี้

2.1 ลักษณะของเชื้อรา *Rhizoctonia* และการจัดจำแนกชนิด

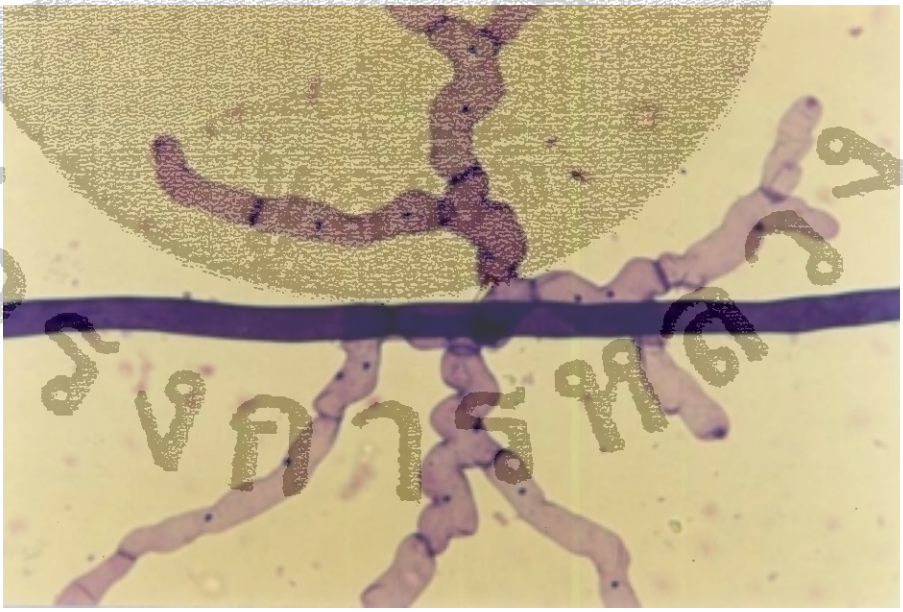
ลักษณะโคโลนีของเชื้อราชนิดนี้ เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA พบว่าเชื้อเจริญเร็วมากประมาณ 5 วัน เชื้อสามารถเจริญเต็มจานอาหาร เริ่มแรกสร้างเส้นใยสีขาว ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อน เมื่อแก่จะมีสีน้ำตาลเข้ม (ภาพที่ 10) เมื่อตรวจดูลักษณะเส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (compound microscope) โดยย้อมเส้นใยด้วย 0.1% crystal-violet ใน lactophenol พบว่าลักษณะของเส้นใยเซลล์ยาว เส้นใยมีผนังกั้น การแตกแขนงของเส้นใยส่วนใหญ่จะแตกแขนงตั้งฉากกับเส้นใยเดิม แต่บางครั้งจะพบมีเส้นใยแตกแขนงทำมุมประมาณ 45 องศาเซลเซียส และตรงส่วนต่อระหว่างเส้นใยที่แตกแขนง เส้นใยมีรอยคอด (constricted hypha) และเมื่อทำการย้อมสีนิวเคลียสของเชื้อรา *Rhizoctonia* พบว่านิวเคลียสของเชื้อราจะติดสีม่วงแดง มีนิวเคลียส 2 อันต่อ 1 เซลล์ (ภาพที่ 11) ซึ่งตรงกับการจัดจำแนกในกลุ่ม binucleate *Rhizoctonia* spp. (Sneh และคณะ, 1991)

2.2 ลักษณะของเชื้อรา *Fusarium* และการจัดจำแนกชนิด

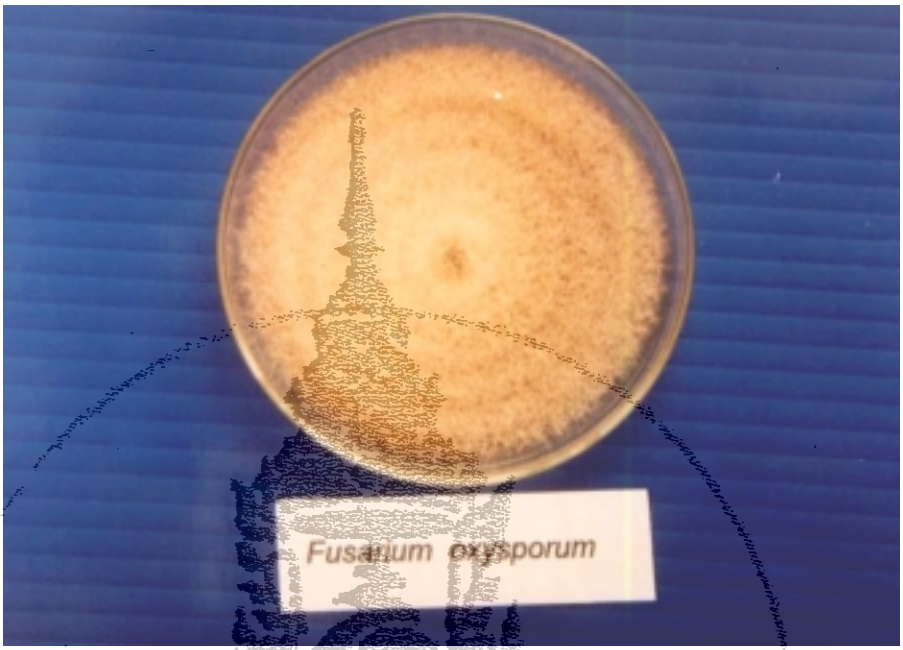
โคโลนีที่แยกได้มีการเจริญอย่างรวดเร็ว เส้นใยเจริญดีแผ่ขยายเป็นวงกลม ลักษณะโคโลนีมีสีขาวถึงสีชมพู เมื่อแก่จะมีสีม่วงและฟูเหมือนสำลี (ภาพที่ 12) เมื่อนำมาตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่าเส้นใยของเชื้อรา สีใส และมีผนังกั้นตามขวางสร้างสปอร์ขนาดเล็กเรียกว่า microconidia มีรูปไข่ถึงทรงรีมี 1-2 เซลล์ สีใส ขนาดเฉลี่ยประมาณ 7.5 x 3 ไมโครเมตร และพบการสร้างสปอร์ขนาดใหญ่เรียกว่า macroconidia รูปโค้งเล็กน้อย ปลายงอคล้ายเสี้ยวพระจันทร์ มีสีใส ส่วนใหญ่มี 3 septa ขนาดเฉลี่ยประมาณ 29.5 x 3 ไมโครเมตร (ภาพที่ 13) ซึ่งใกล้เคียงกับลักษณะของเชื้อ *Fusarium oxysporum* ที่ Booth (1977) ได้อธิบายไว้



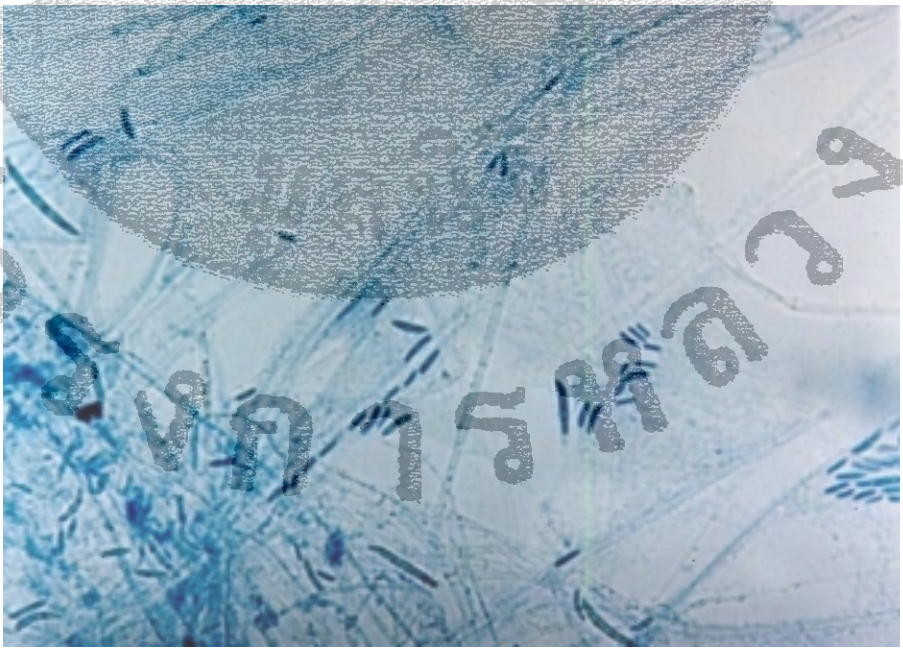
ภาพที่ 10 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. ที่แยกได้จากบริเวณรากของสตรอเบอรี่ เจริญบนอาหาร PDA อายุ 5 วัน เส้นใยมีสีเหลืองเจริญเป็นแถบวงซ้อนกัน (zonation)



ภาพที่ 11 ลักษณะเส้นใยของรา *Rhizoctonia* sp. สาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ แต่ละเซลล์มีนิวเคลียส 2 อัน ย้อมติดสีม่วงแดง ด้วยสี Giemsa จัดอยู่ในกลุ่ม binucleate *Rhizoctonia* spp.



ภาพที่ 12 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน



ภาพที่ 13 ลักษณะเส้นใยและสปอร์ของเชื้อ *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* สาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ mycelium (a), microconidia (b), macroconidia (c) (x 400)

2.3 ลักษณะของเชื้อรา *Colletotrichum* และการจำแนกชนิด

ลักษณะของโคโลนีของเชื้อ *Colletotrichum* เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA เมื่ออายุได้ 7 วัน พบว่ามีเส้นใยฟูสีขาว ต่อมาจะเปลี่ยนเป็นสีเทาถึงสีดำ (ภาพที่ 14) หลังจากนั้น จะพบการสร้างกลุ่มของสปอร์สีส้ม เมื่อนำมาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบลักษณะของ conidia รูปทรงกระบอกตรง หัวท้ายกลม ขนาดเฉลี่ย 13.5 x 4.5 ไมโครเมตร (ภาพที่ 15) ซึ่งลักษณะดังกล่าวใกล้เคียงกับ *Colletotrichum fragariae* ที่ Wright และคณะ (1960) ได้อธิบายอธิบายไว้

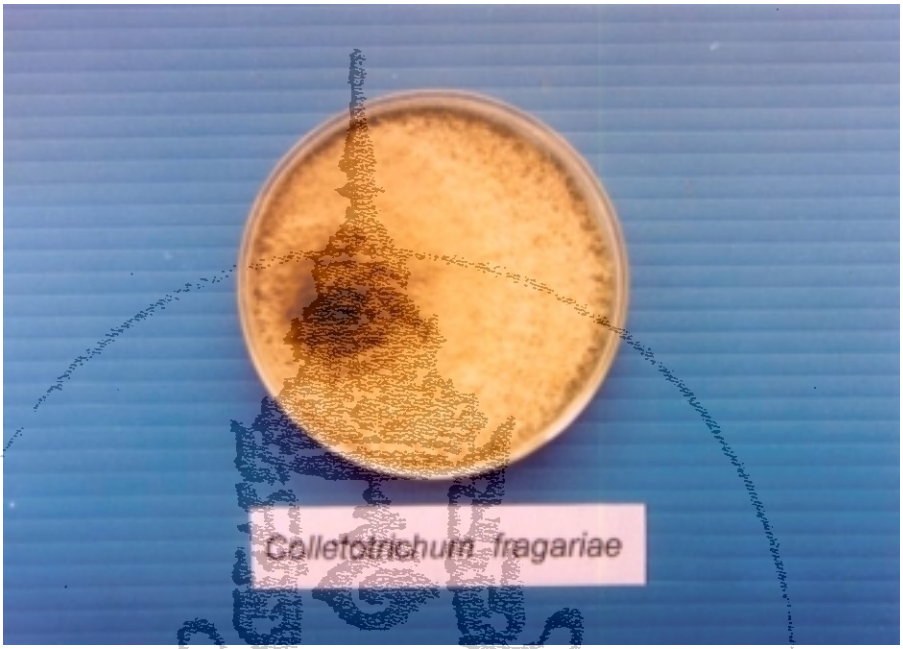
3. การแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จากดิน

ผลการแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์โดยวิธี Soil Dilution Plate จากแปลงปลูกสตรอเบอรี่ของเกษตรกรในแหล่งปลูกต่าง ๆ 5 แห่ง ซึ่งอยู่ภายใต้การดูแลของมูลนิธิโครงการหลวง พบว่าสารละลายดินแขวนลอยที่ความเข้มข้น 10^{-4} และ 10^{-5} บนอาหาร PDA และ PDA ผสม Rose Bengal 50 ไมโครกรัม/ไมโครลิตร ปรากฏโคโลนีเดี่ยว (single colony) ที่สามารถแยกจุลินทรีย์ออกจากกันได้ แยกจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ 76 ไอโซเลท เป็นเชื้อรา 65 ไอโซเลท และแบคทีเรีย 11 ไอโซเลท

4. ประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ในห้องปฏิบัติการ

4.1 การทดสอบเบื้องต้น

เมื่อนำเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้ทั้ง 76 ไอโซเลท มาทดสอบเบื้องต้นเพื่อคัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บนอาหาร PDA โดยใช้ Bi-culture Technique พบว่ามีเชื้อราจำนวน 25 ไอโซเลท และเชื้อแบคทีเรียจำนวน 5 ไอโซเลท ที่แสดงผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราทั้ง 3 สกุล คือ binucleate *Rhizoctonia* sp., *F. oxysporum* f. sp. *fragariae* และ *C. fragariae* จากนั้นจึงนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อสาเหตุดังกล่าวอีกครั้ง เพื่อคัดเลือกเฉพาะไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพดีพบว่ามีเชื้อราปฏิปักษ์ในสกุล *Trichoderma* จำนวน 15 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุทั้ง 3 ชนิดได้ดีกว่าไอโซเลทอื่น ๆ ส่วนแบคทีเรียทุกไอโซเลทพบว่าไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุได้ *Trichoderma* ทั้ง 15 ไอโซเลทได้ตั้งชื่อรหัสไว้คือ T2000-1 ถึง T2000-15



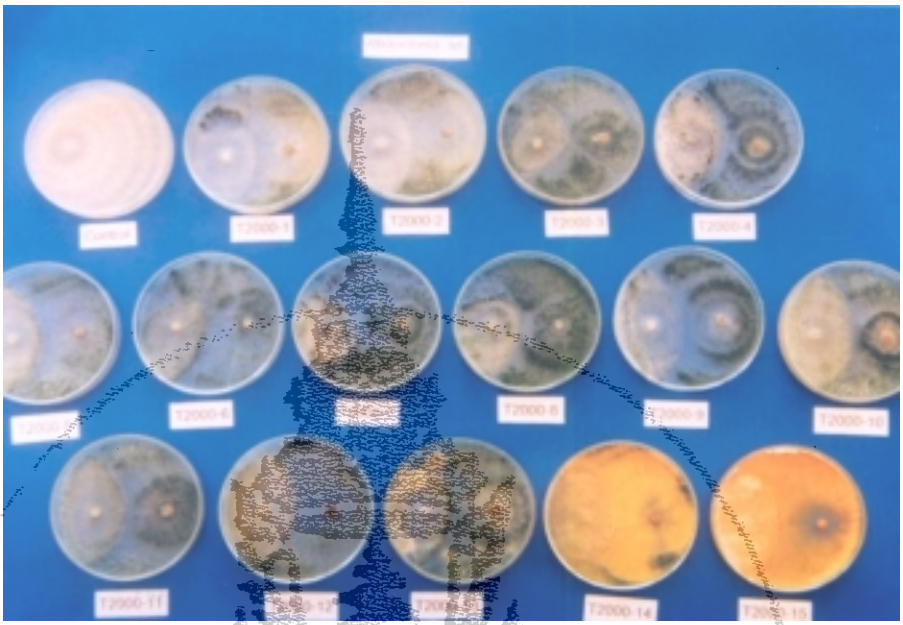
ภาพที่ 14 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Colletotrichum fragariae* บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน

ภาพที่ 15 ลักษณะ conidia รูปร่างเรียวยาว หัวท้วยกลม ของเชื้อ *Colletotrichum fragariae* สาเหตุของโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ (x400)

4.2 ประสิทธิภาพของเชื้อ *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่

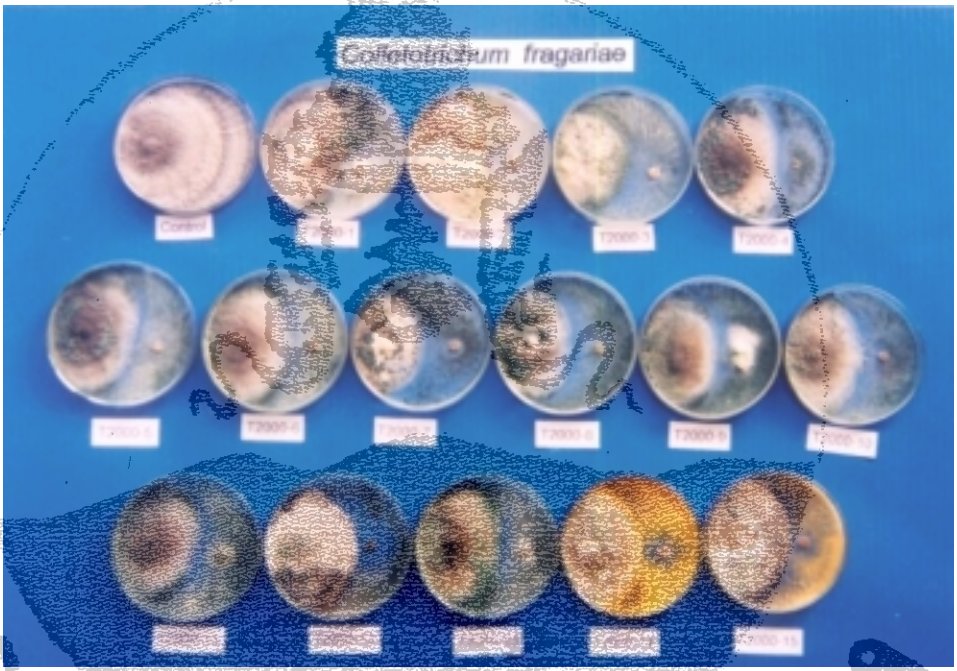
จากการนำเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* 15 ไอโซเลท ที่คัดเลือกไว้ในข้อ 4.1 มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของโรครากเน่า และโคนเน่าของสตรอเบอรี่คือรา *Rhizoctonia* sp., *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* และ *Colletotrichum fragariae* ด้วยวิธี Dual Culture ผลปรากฏว่า เมื่อทดสอบกับ *Rhizoctonia* ทุกไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุได้ดี โดยมีเปอร์เซ็นต์ในการยับยั้งสูงมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด คือ T2000-6 มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งสูงถึง 71.29% แต่เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติให้ผลไม่แตกต่างจากไอโซเลทที่ T2000-1, T2000-4, T2000-7, T2000-8, T2000-11, T2000-13, T2000-14 และ T2000-15 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง 65.37, 63.33, 64.03, 66.66, 62.96, 69.07, 70.55 และ 65.18 (ภาพที่ 16) เมื่อทดสอบกับเชื้อ *F. oxysporum* f. sp. *fragariae* พบว่าทุกไอโซเลทมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญอยู่ในระดับได้ปานกลางคืออยู่ในช่วง 61.44-57.03% ไอโซเลทที่ดีที่สุดคือ T2000-5 ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง 63.88% แต่ให้ผลไม่แตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% จากไอโซเลทที่ T2000-5, T2000-1, T2000-7, T2000-8, T2000-9, T2000-10, T2000-11, T2000-13 และ T2000-15 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ 63.88, 63.51, 61.44, 59.81, 61.66, 60.55, 62.40, 63.51 และ 66.73 ตามลำดับ (ภาพที่ 17) ส่วนผลการทดสอบกับเชื้อ *C. fragariae* ปรากฏว่า *Trichoderma* ทั้ง 15 ไอโซเลท ให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งค่อนข้างต่ำจนถึงปานกลางคืออยู่ในช่วง 43.52-50.18% ไอโซเลทที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งได้ดีที่สุดคือ T2000-7 มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง 52.96% เมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าให้ผลไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% กับไอโซเลท T2000-3, T2000-7 และ T2000-8 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญคือ 49.26, 52.96 และ 50.18 ตามลำดับ (ภาพที่ 18) (ตารางที่ 1)

จากการตรวจสอบลักษณะการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อรา *Trichoderma* บนอาหาร PDA ที่มีเชื้อราสาเหตุเจริญอยู่ร่วมกัน พบว่า เชื้อรา *Trichoderma* เจริญเติบโตเร็ว มีการแข่งขันสูง แย่งพื้นที่และแย่งอาหารจากราสาเหตุ โดยโคโลนีของ *Trichoderma* เจริญรุกเข้าสู่โคโลนีของราสาเหตุ สร้างเส้นใยและสปอร์ปกคลุมและรุกเข้าไปเรื่อย ๆ นอกจากนี้ยังพบการเปลี่ยนแปลงสีของรา *Rhizoctonia* ซึ่งเปลี่ยนจากสีเหลืองอ่อนเป็นสีน้ำตาลเข้ม



ภาพที่ 16 ประสิทธิภาพของ *Trichoderma* ที่แยกได้จำนวน 15 ไอโซเลท (T2000-1 ถึง T2000-15) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. สาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ที่อายุ 7 วัน

ภาพที่ 17 ประสิทธิภาพของ *Trichoderma* ที่แยกได้จำนวน 15 ไอโซเลท (T2000-1 ถึง T2000-15) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* สาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ที่อายุ 7 วัน



ภาพที่ 18 ประสิทธิภาพของ *Trichoderma* ที่แยกได้จำนวน 15 ไอโซเลท(T2000-1 ถึง T2000-15) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum fragariae* สาเหตุโรครากเน่า และโคนเน่าของสตรอเบอรี่ที่อายุ 7 วัน

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพของเชื้อปฏิปักษ์ จำนวน 15 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ในห้องปฏิบัติการ

เชื้อสาเหตุ / ราปฏิปักษ์ (ไอโซเลท)	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ [1]		
	binucleate *Rhizoctonia* sp.	*Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*	*Colletotrichum fragariae*
T2000-1	65.37 abcd [2]	57.40 cd	45.92 bcde
T2000-2	61.85 bcde	57.59 cd	45.92 bcde
T2000-3	61.29 cde	58.51 bcd	49.26 abc
T2000-4	63.33 abcd	56.66 d	41.66 e
T2000-5	55.55 ef	63.88 a	46.29 bcd
T2000-6	71.29 a	63.51 a	45.92 bcde
T2000-7	64.03 abcde	61.44 abc	52.96 a
T2000-8	66.66 abc	59.81 abcd	50.18 ab
T2000-9	56.85 def	61.66 abc	46.48 bcd
T2000-10	50.55 f	60.55 abcd	43.89 de
T2000-11	62.96 abcde	62.40 ab	45.18 cde
T2000-12	55.18 ef	57.03 cd	44.99 cde
T2000-13	69.07 abc	63.51 a	46.29 bcd
T2000-14	70.55 ab	57.96 bcd	47.41 bcd
T2000-15	65.18 abcd	60.73 abcd	43.52 de
CV (%)	8.58	4.67	5.91

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ

[2] ตัวอักษรเหมือนกันใน Column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยวิธี Duncan Multiple Range Test ที่ความเชื่อมั่น 95%

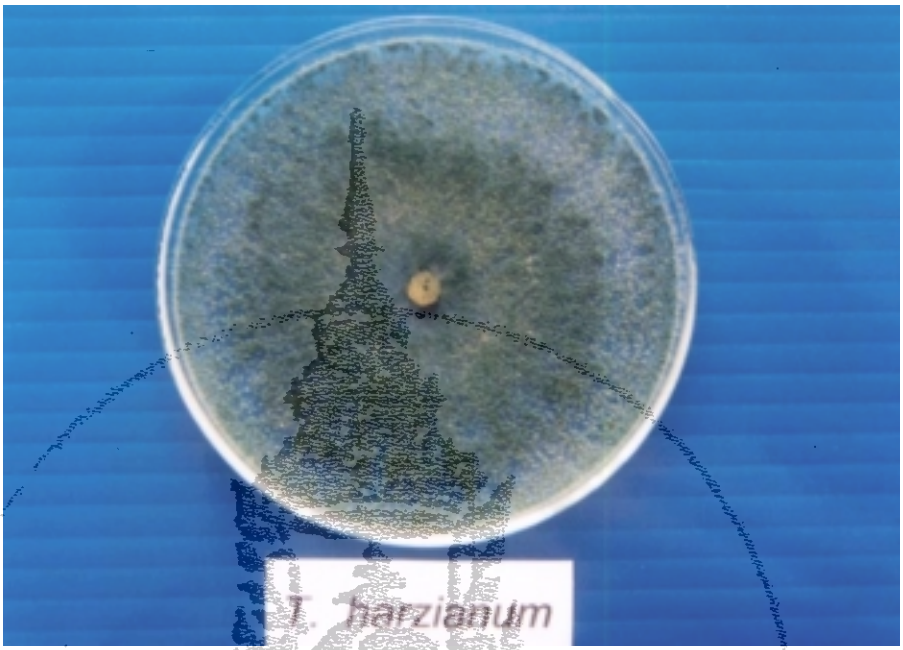
5. ลักษณะของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* และการจำแนกชนิด

การนำ *Trichoderma* 15 ไอโซเลท (T2000-1 ถึง T2000-15) ที่ทดสอบประสิทธิภาพแล้วในข้อ 4.2 มาศึกษาลักษณะการเจริญของโคโลนี การสร้าง conodiophore, phialide และ conidia สามารถจำแนกได้เป็น 5 กลุ่ม 5 species ดังนี้

กลุ่มที่ 1 *Trichoderma* ไอโซเลท T2000-1, T2000-4, T2000-6, T2000-7, T2000-8 และ T2000-11 เส้นใยเจริญอย่างรวดเร็วสามารถเจริญเต็มจานอาหาร PDA ได้ภายในเวลา 3 วัน โคโลนีมีสีเขียว (ภาพที่ 19) เมื่อนำไปตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่าลักษณะของ conidiophore แตกกิ่งก้านมากทางด้านข้างออกมาจากจุดเดียวกัน phialide เกิดเป็นกลุ่ม มีขนาดสั้น รูปร่างเป็นกรวย มีขนาดเฉลี่ย 4.5 ไมโครเมตร และ phialospore รูปร่างค่อนข้างกลม ผิวเรียบ ขนาดเฉลี่ย 2.8-2.5 ไมโครเมตร (ภาพที่ 20) ซึ่งมีลักษณะใกล้เคียงกับเชื้อ *Trichoderma harzianum* Rifai, (1969) ได้อธิบายไว้

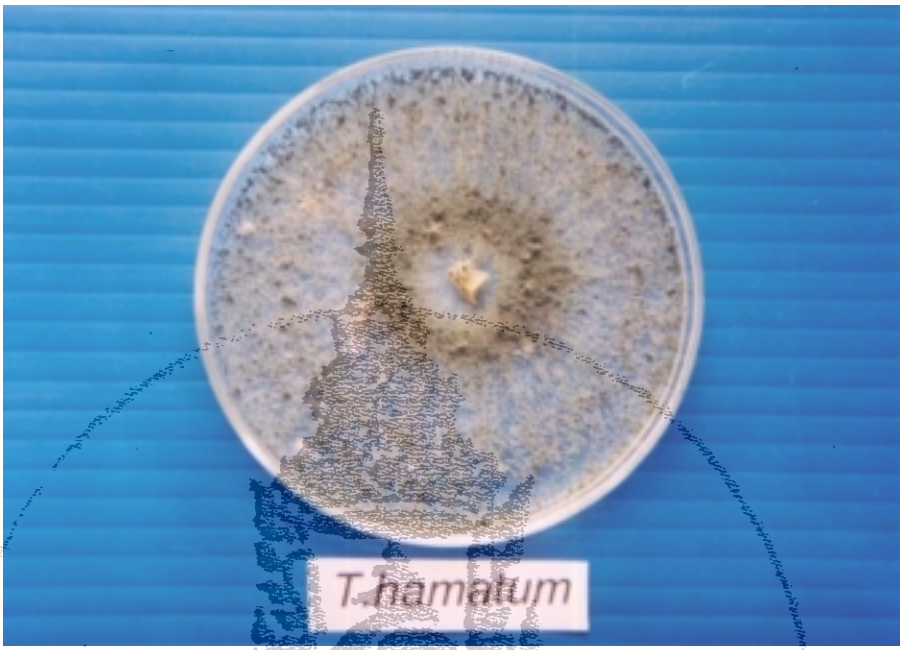
กลุ่มที่ 2 *Trichoderma* ไอโซเลท T2000-2 และT2000-3 มีลักษณะการเจริญของโคโลนีค่อนข้างรวดเร็วจริญเต็มจานอาหาร PDA ประมาณ 5 วัน เมื่อเจริญเต็มที่สปอร์จะมีสีเขียวเข้ม (ภาพที่ 21) เมื่อนำไปดูตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่า conidiophore มีการแตกกิ่งก้านมากมาย phialide รูปร่างอ้วนสั้นแบบลูกแพร์ ขนาดเฉลี่ย 6.5 x 3.0 ไมโครเมตร phialospore เกิดเดี่ยว ๆ จำนวนมาก รูปร่างค่อนข้างเหลี่ยม มีขนาดเฉลี่ย 4.5-2.6 ไมโครเมตร (ภาพที่ 22) ลักษณะใกล้เคียงกับเชื้อ *Trichoderma hamatum* ที่ Rifai (1969) อธิบายไว้

กลุ่มที่ 3 *Trichoderma* ไอโซเลท T2000-5, T2000-9 และ T2000-13 เริ่มแรกการเจริญของโคโลนีมีสีขาวฟู จากนั้นจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้ม เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA มีการเจริญรวดเร็วมาก เต็มจานอาหารในเวลา 3 วัน (ภาพที่ 23) เมื่อตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า conidiophore แตกกิ่งก้านน้อยทางด้านข้างจากจุดเดียวกัน ส่วน phialide มีลักษณะแบบลูกพินโบว์ลิ่งมีขนาดประมาณ 8.6 x 3 ไมโครเมตร และ phialospore ค่อนข้างกลม ขนาดเฉลี่ย 3.8 x 3.2 ไมโครเมตร (ภาพที่ 24) ซึ่งลักษณะดังกล่าวใกล้เคียงกับเชื้อ *Trichoderma viride* ที่ Rifai (1969) ได้อธิบายไว้

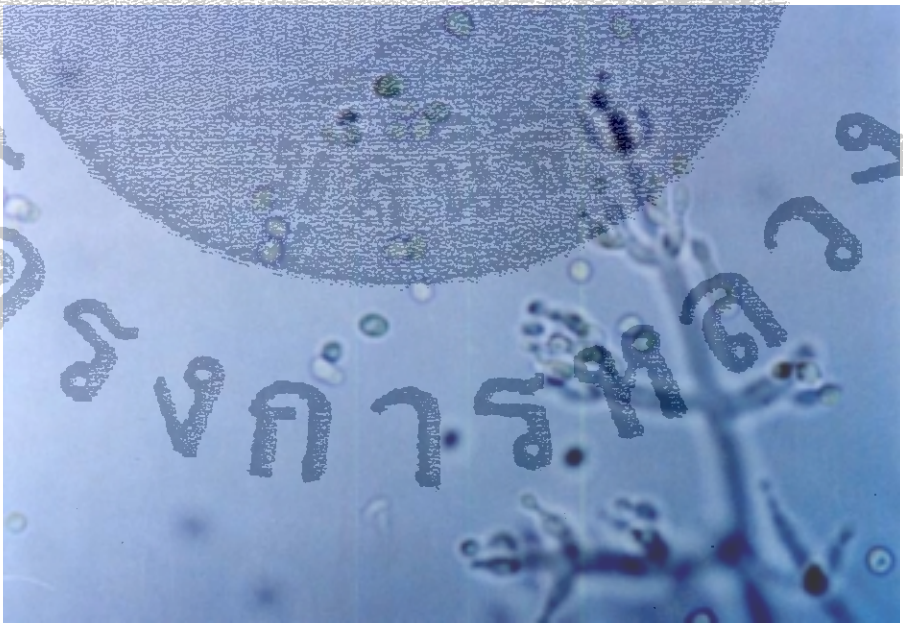


ภาพที่ 19 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* (ไอโซเลท T2000-6) บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน

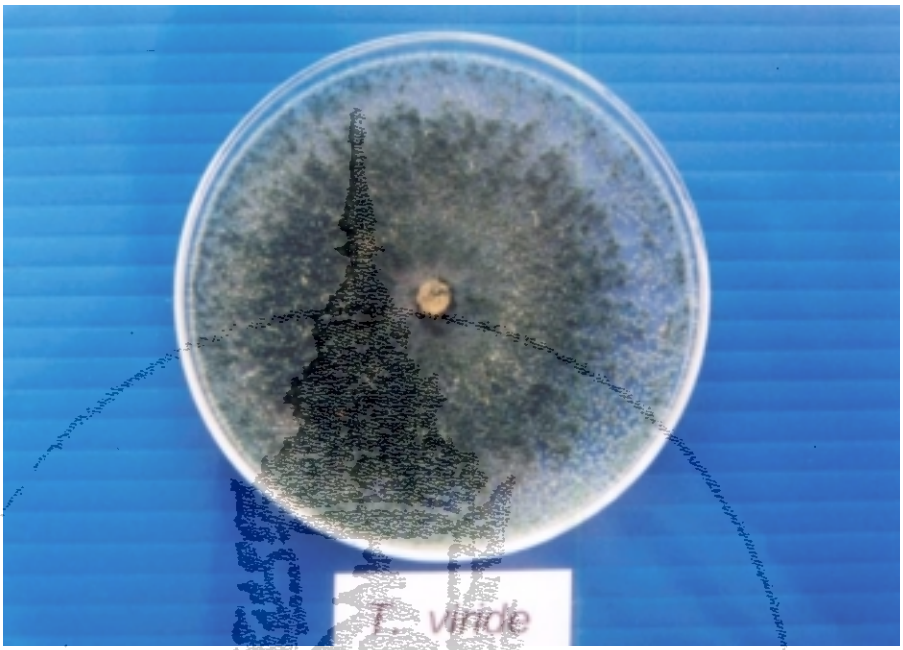
ภาพที่ 20 ลักษณะ conidiophore (a), phialide (b) และ phialospore ของ *Trichoderma harzianum* (x400)



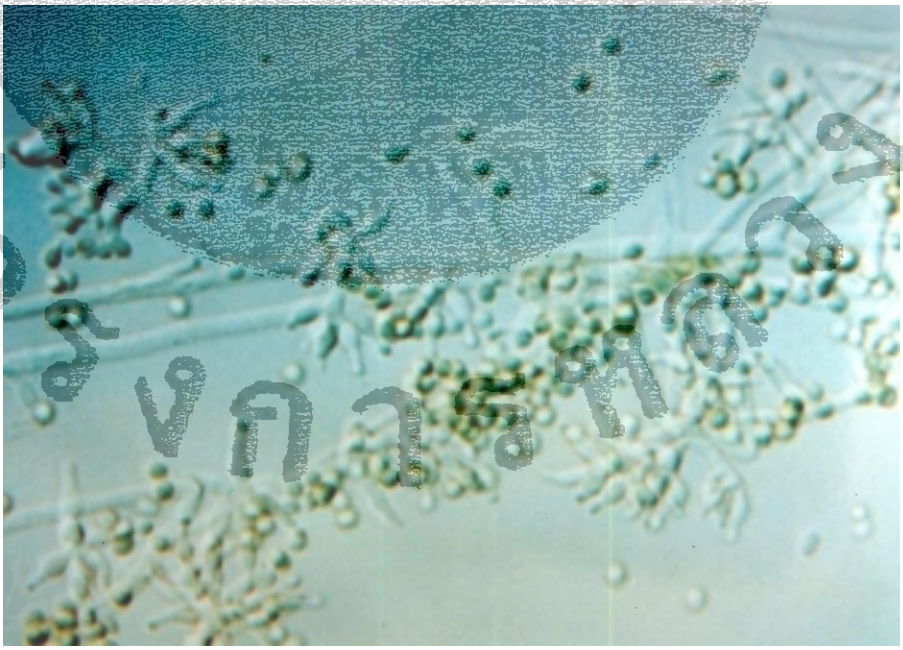
ภาพที่ 21 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Trichoderma hamatum* (ไอโซเลท T2000-2) บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน



ภาพที่ 22 ลักษณะ conidiophore (a), phialide (b) และ phialospore ของ *Trichoderma hamatum* (x400)



ภาพที่ 23 ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma viride* (T2000-5) บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน



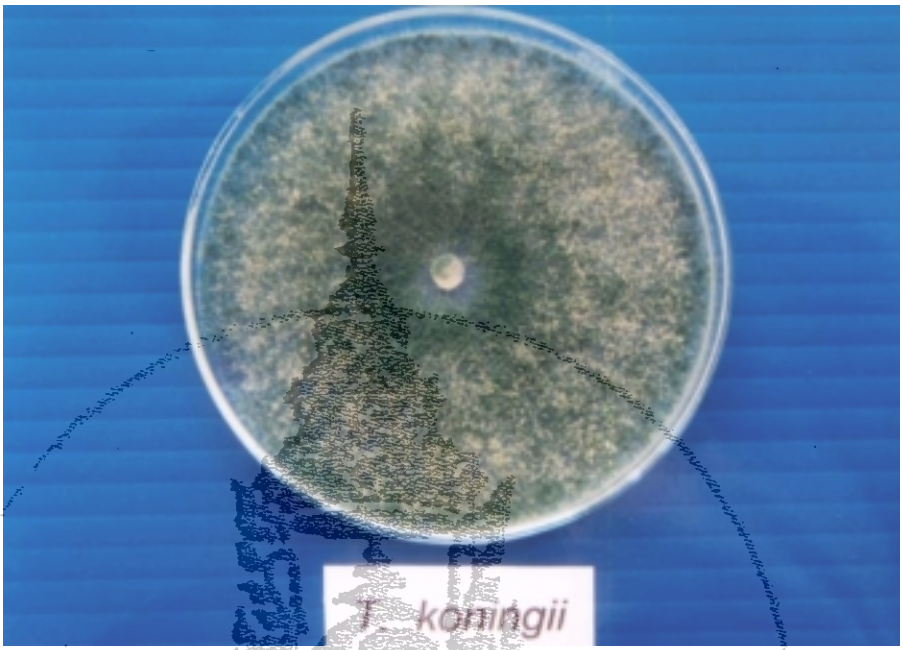
ภาพที่ 24 ลักษณะ conidiophore (a), phialide (b) และ phialospore (c) ของ *Trichoderma viride* (x400)

กลุ่มที่ 4 *Trichoderma* ไอโซเลท T2000-10 และ T2000-12 มีลักษณะการเจริญของเส้นใยอย่างรวดเร็ว โคโลนีมีสีเขียวถึงสีเขียวเข้ม (ภาพที่ 25) และเมื่อทำการตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบ conidiophore แตกกิ่งก้านมากออกจากด้านข้างจากจุดเดียวกัน ส่วน phialide รูปร่างแบบลูกพินโบว์ลิ่ง มีขนาดเฉลี่ย 8.5 x 3.0 ไมโครเมตร และ phialospore ส่วนใหญ่รูปไข่ มีสีเขียวอ่อน ขนาดเฉลี่ย 4.5 x 2.2 ไมโครเมตร (ภาพที่ 26) ซึ่งใกล้เคียงกับลักษณะของเชื้อ *Trichoderma koningii* ที่ Rifai (1969) ได้อธิบายไว้

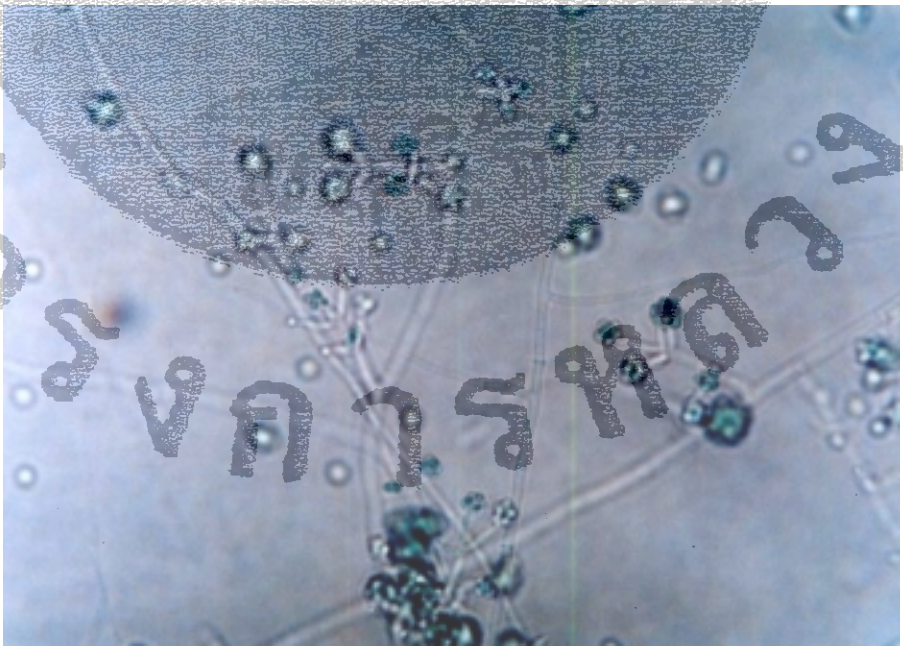
กลุ่มที่ 5 *Trichoderma* ไอโซเลท T2000-14 และ T2000-15 โคโลนีของเชื้อนี้จะเจริญเร็ว สามารถเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อภายใน 3 วัน เริ่มแรกจะมีสีขาวปนเขียว ต่อมาสีของโคโลนีจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง (ภาพที่ 27) เมื่อตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า conidiophore แตกกิ่งก้านน้อย phialide รูปร่างแบบลูกพินโบว์ลิ่ง ลักษณะเรียวยาวมีขนาดเฉลี่ย 7.5 x 3.2 ไมโครเมตร phialospore ขนาดเฉลี่ย 3.5 x 2.0 ไมโครเมตร (ภาพที่ 28) มีลักษณะใกล้เคียงกับ *Trichoderma pseudokonigii* ที่ Rifai(1969) ได้อธิบายไว้

6. ลักษณะการเข้าทำลายเชื้อสาเหตุโดยเชื้อรา *Trichoderma*

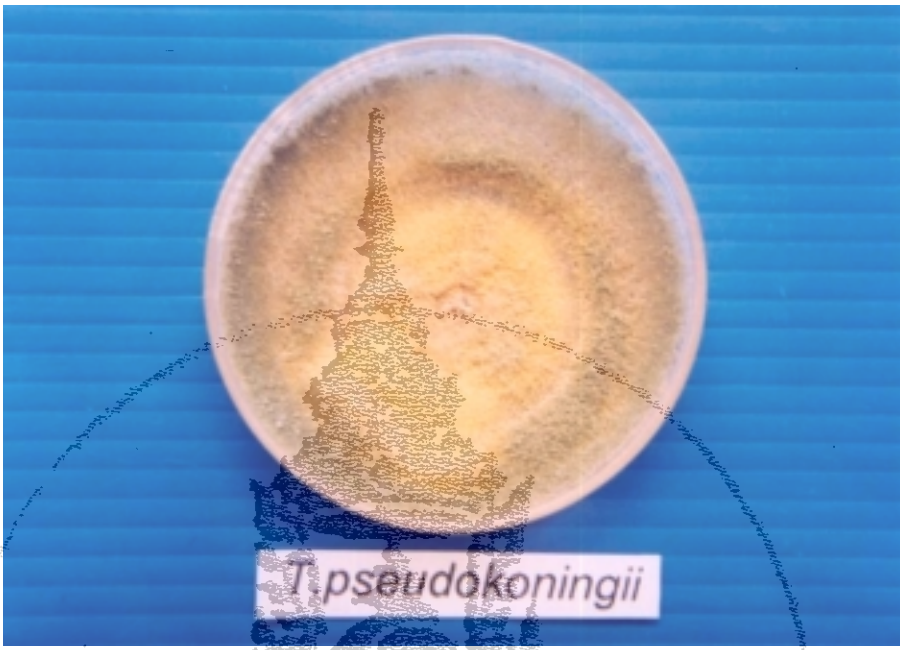
จากการนำเชื้อรา binucleate *Rhizoctonia* sp. ที่ทำให้เกิดโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ มาเลี้ยงร่วมกับ *Trichoderma* ไอโซเลทต่าง ๆ ที่ใช้ทำการศึกษา โดยใช้วิธี Slide Culture และเมื่อนำมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรรศน์ พบว่าเส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma* เจริญเข้าไปภายในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุ มองเห็นเส้นใยขนาดเล็กติดสี Crystal violet เป็นสีม่วงเข้มอยู่ภายในเส้นใยของ *Rhizoctonia* ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่ามากแต่มีสีจาง เส้นใยบางส่วนที่ถูกทำลายจนแฟบลงไม่สามารถเจริญต่อไปได้ (ภาพที่ 29)



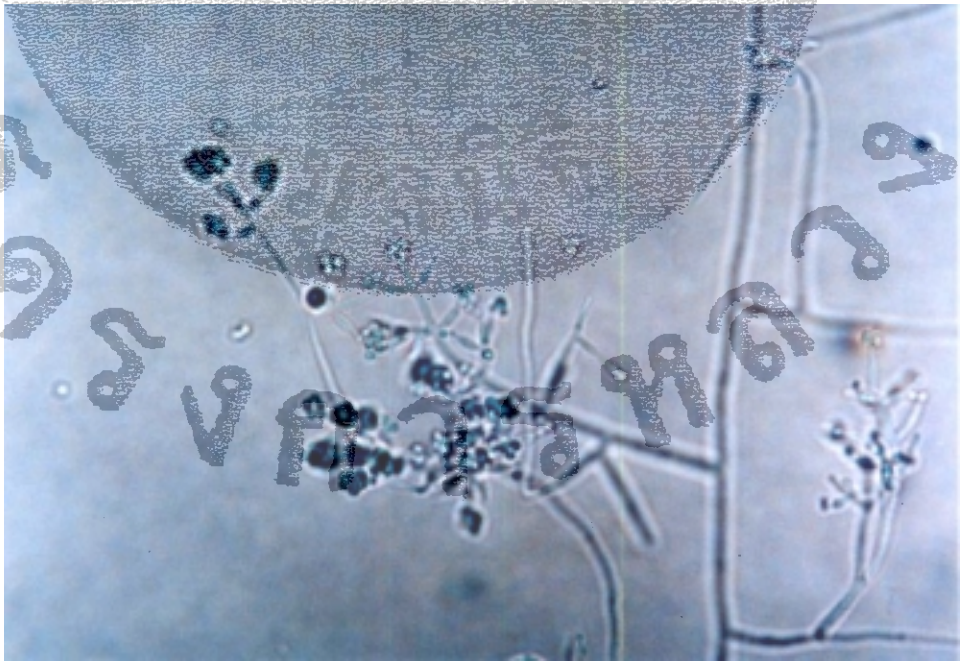
ภาพที่ 25 ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma koningii* (ไอโซเลท T2000-10) บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน



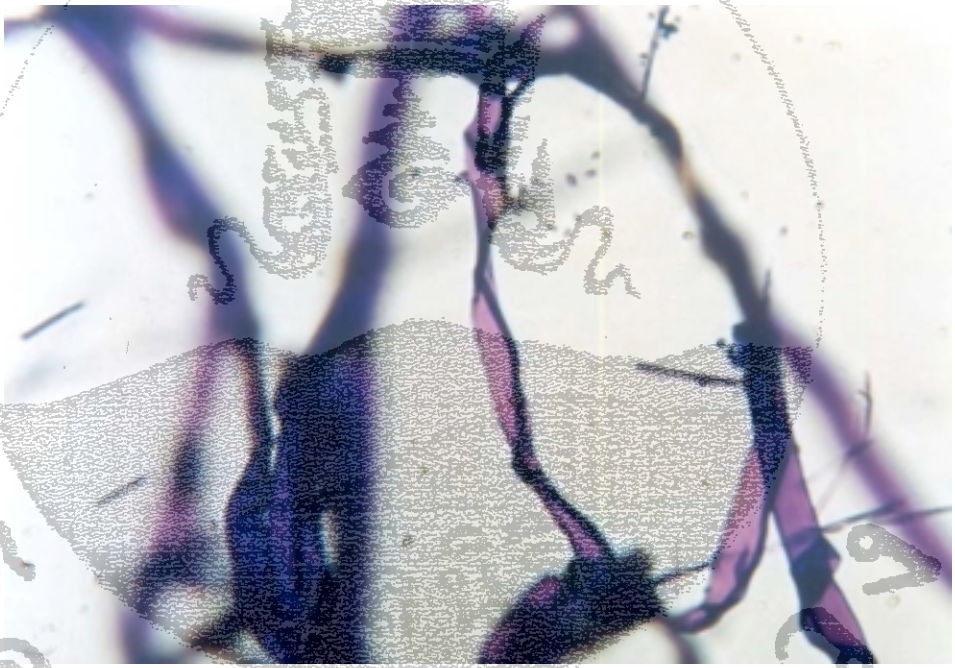
ภาพที่ 26 ลักษณะ conidiophore (a), phialide (b) และ phialospore (c) ของ *Trichoderma koningii* (x400)



ภาพที่ 27 ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma pseudokoningii* (ไอโซเลท T2000-14) บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน



ภาพที่ 28 ลักษณะ conidiophore (a), phialide (b) และ phialospore (c) ของ *Trichoderma pseudokoningii* (x400)



ภาพที่ 29 ลักษณะการเข้าทำลายของเชื้อรา *Trichoderma* มองเห็นเส้นใยขนาดเล็กติดสี crystal violet สีม่วงเข้มอยู่ภายในเส้นใยของ *Rhizoctonia* spp. ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าแต่มีสีจาง (x400)

7. ประสิทธิภาพของเชื้อ *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ในโรงเรือน

7.1 ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ ซึ่งเกิดจากเชื้อรา binucleate *Rhizoctonia* sp.

จากการทดลองปลูกกล้าสตรอเบอรี่ในดินที่มี *Rhizoctonia* และ *Rhizoctonia* ผสม *Trichoderma* ผลปรากฏว่า เมื่อเวลาผ่านไป 1 สัปดาห์ สตรอเบอรี่ที่ปลูกในดินที่มี *Rhizoctonia* อย่างเดียว เริ่มแสดงอาการใบเหลืองจากใบล่างก่อน จากนั้น แสดงอาการเหี่ยวและตายในที่สุด หลังปลูกเชื้อได้ 2 สัปดาห์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่คลุกดินปลูกเชื้อร่วมกับ *Trichoderma* ก่อนปลูกสตรอเบอรี่ สามารถควบคุมการเกิดโรคได้โดยให้ผลแตกต่างจากชุดควบคุมที่ปลูกเชื้อสาเหตุอย่างเดียว กรรมวิธีที่ใส่เชื้อ *T. harzianum* (T2000-6) สามารถควบคุมโรคได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพียง 22.67% แต่ในการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับการคลุกด้วยเชื้อ *Trichoderma* อีก 3 ชนิด คือ *T. hamatum* (T2000-2), *T. koningii* (T2000-10) และ *T. pseudokoningii* (T2000-14) ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 24.00, 29.33 และ 25.33 ตามลำดับ (ตารางที่ 2, ภาพที่ 30)

7.2 ประสิทธิภาพของเชื้อ *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*

จากการทดลองปลูกเชื้อ *F. oxysporum* โดยทำการคลุกเชื้อในดินก่อนปลูกสตรอเบอรี่เปรียบเทียบกับการปลูกเชื้อร่วมกับ *Trichoderma* พบว่าเวลาผ่านไป 1 สัปดาห์ ต้นสตรอเบอรี่ที่ปลูกในดินที่มีเชื้อรา *Fusarium* อย่างเดียวเริ่มแสดงอาการเหี่ยว และอาการจะรุนแรงขึ้นจนตายทั้งหมดเมื่อเวลาผ่านไป 2 สัปดาห์ ส่วนกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยเชื้อรา *Fusarium* ร่วมกับ *Trichoderma* ชนิดต่าง ๆ คือ *T. harzianum*, *T. hamatum*, *T. viride* และ *T. pseudokoningii* ให้ผลในการควบคุมโรคแตกต่างกันไปคือ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคอยู่ในช่วง 20-44% โดยในกรรมวิธีที่คลุกด้วยเชื้อ *T. harzianum* มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำที่สุด คือ 21.33% แต่เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% กับการใช้ *T. hamatum* ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 28.00% (ตารางที่ 3, ภาพที่ 31)

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ที่เกิดจากเชื้อ binucleate *Rhizoctonia* sp. ในเรือนทดลอง

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค [1]	
	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2
ชุดควบคุม	0.00 d[2]	0.00 d
ปลูกเชื้อสาเหตุอย่างเดียว	17.33 a	100.00 a
ปลูกเชื้อสาเหตุ+*T. hamatum* (T2000-2)	9.33 bc	24.00 c
ปลูกเชื้อสาเหตุ+*T. viride* (T2000-5)	12.00 abc	36.00 b
ปลูกเชื้อสาเหตุ+*T. harzianum* (T2000-6)	8.00 c	22.67 c
ปลูกเชื้อสาเหตุ+*T. koningii* (T2000-10)	13.33 abc	29.33 bc
ปลูกเชื้อสาเหตุ+*T. pseudokoningii* (T2000-14)	14.67 ab	25.33 c
CV (%)	**35.66**	**13.37**

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ต้น

[2] ตัวอักษรเหมือนกันใน Column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยวิธี Duncan Multiple Range Test ที่ความเชื่อมั่น 95%

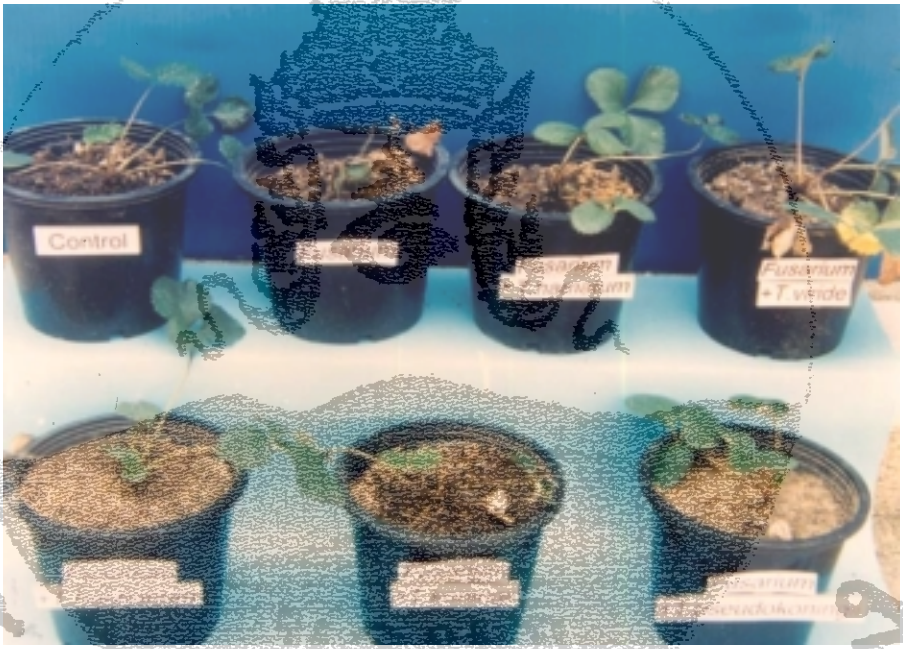
ภาพที่ 30 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของการใช้ *Trichoderma* 5 ชนิด ในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ที่เกิดจาก binucleate *Rhizoctonia* sp. หลังการปลูกเชื้อ 2 สัปดาห์ ในโรงเรือน

ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่เกิดจากเชื้อ *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* ในเรือนทดลอง

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค [1]	
	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2
ชุดควบคุม	0.00 c[2]	0.00 d
ปลูกเชื้อสาเหตุอย่างเดียว	17.33 a	100.00 a
ปลูกเชื้อสาเหตุ+*T. hamatum* (T2000-2)	13.33 ab	28.00 cd
ปลูกเชื้อสาเหตุ+*T. viride* (T2000-5)	9.33 b	33.33 c
ปลูกเชื้อสาเหตุ+*T. harzianum* (T2000-6)	9.33 b	21.33 d
ปลูกเชื้อสาเหตุ+*T. koningii* (T2000-10)	13.33 ab	44.00 b
ปลูกเชื้อสาเหตุ+*T. pseudokoningii* (T2000-14)	16.00 a	30.67 c
CV(%)	**25.75**	**11.63**

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ต้น

[2] ตัวอักษรเหมือนกันใน Column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยวิธี Duncan Multiple Range Test ที่ความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 31 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของการใช้ *Trichoderma* 5 ชนิด ในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่เกิดจาก *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* หลังการปลูกเชื้อ 2 สัปดาห์ ในโรงเรือน

7.3 ประสิทธิภาพของเชื้อ *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum fragariae*

จากการทดลองปลูกสตรอเบอรี่ในดินที่คลุกเชื้อรา *C. fragariae* อย่างเดียวพบว่าในสัปดาห์แรกมีการเกิดโรคเพียงร้อยละ 25.33 ส่วนกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยเชื้อ *Trichoderma* มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคอยู่ในช่วง 12.00-22.67% เมื่อเวลาผ่านไป 2 สัปดาห์ อาการของโรคเริ่มรุนแรงขึ้น ต้นสตรอเบอรี่ที่ปลูกเชื้ออย่างเดียว ไม่ใช้ *Trichoderma* แห้งเหี่ยวตายทั้งหมด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่ใช้ *Trichoderma* พบว่ากรรมวิธีที่คลุกด้วยเชื้อ *T. harzianum* และ *T. viride* ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยมีเปอร์เซ็นต์เกิดโรค 44.00 และ46.67% ตามลำดับ แต่ให้ผลแตกต่างกับกรรมวิธีที่ใช้ *T. hamatum, T.koningii* และ *T. pseudokoningii* มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงถึง 57.33, 60.00 และ 64.00% ตามลำดับ (ตารางที่ 4, ภาพที่ 32)

8. ประสิทธิภาพของเชื้อ *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ในแปลงปลูก

การทดลองประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ในแปลงปลูก ที่สถานีวิจัยโครงการหลวงอินทนนท์ อำเภอจอมทอง จังหวัดเชียงใหม่ โดยรองก้นหลุมด้วยเชื้อ *Trichoderma* ก่อนปลูกสตรอเบอรี่ และตรวจผลในสัปดาห์ที่ 2 พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคอยู่ในระหว่าง 6.10-30.28% โดยพบว่าในกรรมวิธีที่รองก้นหลุมด้วย *T. harzianum* สามารถควบคุมโรคได้ซึ่งให้ผลแตกต่างกับชุดควบคุม โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำสุดคือ 6.10% ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการใช้ *Trichoderma* อีก 4 ชนิดคือ T. *hamatum, T. viride, T. koningii* และ *T. pseudokoningii* มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 13.61, 10.28, 13.05 และ 16.39% ตามลำดับ และในสัปดาห์ที่ 4 ลดลงเมื่อเวลาผ่านไปในทุกกรรมวิธีที่ใช้ *Trichoderma* รองก้นหลุม การเกิดโรคอยู่ในระหว่าง 8.33-20.27% แต่พอถึงสัปดาห์ที่ 6 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคลดลงเรื่อย ๆ จนสัปดาห์ที่ 8 วัดค่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคได้น้อยมาก รวมทั้งชุดควบคุมซึ่งลดลงเหลือ 5.27% ส่วนกรรมวิธีที่คลุก *Trichoderma* ลดลงอยู่ในระดับ 0.83-4.99% (ตารางที่ 5, ภาพที่ 33)

ภาพที่ 32 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการใช้ *Trichoderma* 5 ชนิด ในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Colletotrichum fragariae* หลังการปลูกเชื้อ 2 สัปดาห์ ในโรงเรือน

ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ที่เกิดจากเชื้อ *Colletotrichum fragariae* ในเรือนทดลอง

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค [1]	
	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2
ชุดควบคุม	0.00 c[2]	0.00 d
ปลูกเชื้อสาเหตุอย่างเดียว	25.33 a	100.00 a
ปลูกเชื้อสาเหตุ+*T. hamatum* (T2000-2)	12.00 d	57.33 b
ปลูกเชื้อสาเหตุ+*T. viride* (T2000-5)	12.00 d	44.00 c
ปลูกเชื้อสาเหตุ+*T. harzianum* (T2000-6)	14.67 cd	46.67 c
ปลูกเชื้อสาเหตุ+*T. koningii* (T2000-10)	18.67 bc	60.00 b
ปลูกเชื้อสาเหตุ+*T. pseudokoningii* (T2000-14)	22.67 ab	64.00 b
CV(%)	**25.28**	**8.84**

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ต้น

[2] ตัวอักษรเหมือนกันใน Column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยวิธี Duncan Multiple Range Test ที่ความเชื่อมั่น 95%

ภาพที่ 33 แปลงปลูกสตรอเบอรี่ ที่สถานีวิจัยโครงการหลวงอินทนนท์ อำเภอจอมทอง จังหวัดเชียงใหม่ โดยทำการรองก้นหลุมด้วยเชื้อ *Trichoderma* 5 ชนิด ก่อนปลูกต้นสตรอเบอรี่

ตารางที่ 5 ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่า ซึ่งเกิดกับเชื้อราต่าง ๆ ที่มีอยู่ในดินในแปลงปลูกสตรอเบอรี่ (ไม่ได้ปลูกเชื้อสาเหตุ)

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคหลังการใช้ *Trichoderma*[1]			
	2 สัปดาห์	4 สัปดาห์	6 สัปดาห์	8 สัปดาห์
ชุดควบคุม	30.28 a[2]	20.27 a	7.77 a	5.27 NS
T. hamatum	13.61 b	8.33 bc	3.33 bc	3.60
T. viride	10.28 b	9.71 bc	4.72 bc	4.99
T. harzianum	6.10 b	4.16 c	1.94 c	0.83
T. koningii	13.05 b	11.66 abc	3.33 bc	1.66
T. pseudokoningii	16.39 b	16.11 ab	3.60 ab	3.33
CV (%)	**28.57**	**38.09**	**17.31**	**13.56**

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 2 การทดลอง จำนวนการทดลองละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 10 ต้น

[2] ตัวอักษรเหมือนกันใน Column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยวิธี Duncan Multiple Range Test ที่ความเชื่อมั่น 95%

NS แสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95%

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ศึกษาสาเหตุและอาการเหี่ยวของต้นสตรอเบอรี่ที่เกิดจากโรครากเน่าและโคนเน่า พบว่ามีสาเหตุมาจากเชื้อรา 3 สกุลคือ *Rhizoctonia*, *Fusarium* และ *Colletotrichum* โดยสามารถแยกความแตกต่างได้คือ อาการเหี่ยวที่เกิดจาก *Rhizoctonia* ใบล่างจะเริ่มมีสีเหลือง เมื่ออาการรุนแรงจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และตายอย่างรวดเร็ว เมื่อตรวจดูลักษณะอาการภายในของรากจะพบว่าเนื้อเยื่อกลายเป็นสีน้ำตาลถึงดำ รากฝอยและรากแขนงจะเปื่อยยุ่ยและหลุดง่าย ความยาวของรากจะสั้นกว่าต้นปกติ ส่วนอาการที่เกิดจาก *Fusarium* ใบจะเหลือง เหี่ยวและตายอย่างรวดเร็ว ลำต้นจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลปนแดง เมื่ออาการรุนแรงมากขึ้นส่วนโคนของลำต้นจะเน่าและตายในที่สุด สำหรับอาการที่เกิดจาก *Colletotrichum* มักเกิดในช่วงที่เป็นไหลจากต้นแม่พันธุ์ อาการเริ่มแรกจะเป็นแผลเล็ก ๆ สีม่วงแดงบนไหลและลุกลามไปตามเส้นไหล แผลจะยาวมากขึ้นมากน้อยขึ้นอยู่กับความรุนแรงของโรค ต่อมาแผลจะกลายเป็นสีดำและอาจขยายออกไปบริเวณก้านใบและโคนต้นจึงทำให้ต้นสตรอเบอรี่เหี่ยวตายในที่สุด (Maas,1998) เมื่อนำเชื้อราสาเหตุโรครากเน่า โคนเน่าทั้ง 3 สกุล มาศึกษาลักษณะรูปร่าง ขนาดสปอร์ ตลอดจนโครงสร้างต่าง ๆ ที่ราแต่ละชนิดสร้างขึ้นเพื่อจัดจำแนกชนิด (species) ได้ผลดังนี้ *Rhizoctonia* สร้างเส้นใยมีลักษณะเฉพาะคือ แต่ละเซลล์มีขนาดยาวแตกแขนงตั้งฉากกับเส้นใยเดิม และมีรอยคอดตรงส่วนของโคนของแขนง แต่ไม่สร้างสปอร์หรือโครงสร้างใด ๆ บน PDA เมื่อย้อมสีนิวเคลียสด้วยสี Giemsa พบว่าติดสีม่วงแดงและมีจำนวนนิวเคลียส 2 อัน จึงจัดอยู่ในกลุ่มของ binucleate *Rhizoctonia* sp. ตามที่ Sneh และคณะ (1991) ได้ทำการศึกษาและจำแนกไว้ ส่วนรา *Fusarium* สร้าง microconidia สีใสขนาดประมาณ 7.5 x 3 ไมโครเมตร และ macroconidia รูปเสี้ยวพระจันทร์สีใส ส่วนใหญ่มี 3 septa มีขนาดประมาณ 29.5 x 3 ไมโครเมตร ลักษณะดังกล่าวตรงกับ *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* ที่ Booth (1977) ได้อธิบายไว้ สำหรับ *Colletotrichum* สร้าง conidia เซลล์เดียวรูปทรงกระบอกหัวท้ายมน มีขนาดประมาณ 13.5 x 4.5 ไมโครเมตร ซึ่งมีลักษณะใกล้เคียงกับลักษณะของ *Colltotrichum fragariae* ที่ Wright และคณะ (1960) ได้อธิบายไว้ การคัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ จากดินในแหล่งปลูกสตรอเบอรี่ของเกษตรกร จำนวน 5 แหล่งภายใต้การดูแลของมูลนิธิโครงการหลวง โดยใช้วิธี Soil Dilution Plate ได้เชื้อจุลินทรีย์จำนวน 76 ไอโซเลท และเมื่อทำการทดสอบเบื้องต้นในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่า พบว่ามีเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จำนวน 25 ไอโซเลท แบ่งเป็นเชื้อรา 20 ไอโซเลท และ เชื้อแบคทีเรีย 5 ไอโซเลท เมื่อทำการทดสอบโดยใช้ Bi-culture Technique พบว่ามีราสกุล *Trichoderma* จำนวน 15 ไอโซเลท

เท่านั้นที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าทั้ง 3 ชนิดคือ binucleate *Rhizoctonia* sp., *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* และ *Colletotrichum fragariae* ผลปรากฏว่า *T.harzianum* ให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุทั้งสามได้ดีที่สุด เมื่อเทียบกับรา *Trichoderma* ชนิดอื่น ๆ แต่ความสามารถในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุแต่ละชนิดแตกต่างกันออกไป กล่าวคือกับ binucleate *Rhizoctonia* sp. ยับยั้งได้ระดับสูงคือ 71.29% กับ *F. oxysporum* f. sp. *fragariae* ยับยั้งได้ระดับค่อนข้างสูงคือ 63.88% แต่กับ *C. fragariae* ยับยั้งได้ในระดับต่ำคือ 43.52 % ส่วน *Trichoderma* ชนิดอื่น ๆ ก็ให้ผลในการยับยั้งราสาเหตุโรคพืชทั้งสามชนิดเช่นกัน โดยพบว่า T.viride ให้ผลการยับยั้งในระดับค่อนข้างสูงกับ *F. oxysporum* แต่กับ *Rhizoctonia* อยู่ในระดับปานกลาง ในขณะที่ *T. hamatum* ให้ผลยับยั้งในระดับค่อนข้างสูงกับ *Rhizoctonia* แต่กับ *F. oxysporum* f. sp. *fragariae* อยู่ในระดับปานกลาง สำหรับ *T. koningii* และ *T. pseudokoningii* มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งต่อราทั้งสองในระดับปานกลางเท่านั้น ไม่มี *Trichoderma* ชนิดใดที่ทำการทดสอบสามารถยับยั้งการเจริญของ *C. fragariae* จากการทดลองนี้จะเห็นได้ว่าความสามารถในการเป็นปฏิปักษ์ของรา *Trichoderma* มีความแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของ *Trichoderma* เอง และขึ้นกับราสาเหตุที่ *Trichoderma* จะเข้าทำลายด้วย

จากการศึกษาการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโดยรา *Trichoderma* พบว่าเชื้อราปฏิปักษ์นี้มีความสามารถในการแข่งขันสูง มีการเจริญเติบโตรวดเร็วลุกล้ำเข้าไปยังโคโลนีของเชื้อสาเหตุที่อยู่ตรงข้ามบนอาหาร PDA และเมื่อศึกษาถึงวิธีการเข้าทำลายพบว่า *Trichoderma* เข้าทำลาย *Rhizoctonia* โดยการใช้เส้นใยพันรอบ ๆ เส้นใยของ *Rhizoctonia* แล้วเจริญเข้าไปภายในเส้นใยและสลายส่วนของเส้นใยให้แฟบลง สำหรับสาเหตุที่ทำให้แฟบลงนั้น Hader และคณะ (1979) ได้อธิบายถึงลักษณะการทำลาย *R. solani* โดย T. *harzianum* ว่าราปฏิปักษ์สร้างเอนไซม์ β-(1-3) glucanase และ chitinase ย่อยสลายเส้นใยของราสาเหตุ

การจำแนกชนิดของเชื้อ *Trichoderma* แบ่งออกได้เป็น 5 กลุ่ม 5 ชนิด (spcies) ดังนี้ กลุ่มที่ 1 คือ รา *T. harzianum* มีปริมาณมากที่สุด จำนวน 6 ไอโซเลท คือ T2000-1, T2000-4, T2000-6, T2000-7, T2000-8 และ T2000-11 ซึ่งมีลักษณะดังนี้ conidiophore แตกกิ่งก้านออกมาทางด้านข้างจากจุดเดียวกัน และ phialide มีขนาดสั้นเป็นรูปกรวย และ phialospore รูปร่างค่อนข้างกลม ผิวเรียบ ขนาดเฉลี่ย 2.8 x 2.5 ไมโครเมตร กลุ่มที่ 2 *T. hamatum* มี 2 ไอโซเลท คือ T2000-2 และ T2000-3 มีลักษณะของ phialide รูปร่างสั้นอ้วนแบบลูกแพร์ phialospore เกิดขึ้นเดี่ยว ๆ จำนวนมาก รูปร่างค่อนข้างเหลี่ยมมีขนาดเฉลี่ย 4.5 x 2.6 ไมโครเมตร กลุ่มที่ 3 *T.viride* 3 ไอโซเลทคือ T2000-5, T2000-9 และ T2000-13 มีลักษณะการแตกกิ่งก้านน้อยทางด้านข้างจากจุดเดียวกัน ส่วน phialide มีลักษณะแบบลูกพินโบว์ลิ่ง และ phialospore ค่อนข้าง

กลม ขนาดเฉลี่ย 3.8 x 3.2 ไมโครเมตร กลุ่มที่ 4 *T. koningii* มี 2 ไอโซเลท คือ T2000-10 และ T2000-12 และกลุ่มที่ 5 *T. pseudokoningii* ซึ่ง *Trichoderma* มี 2 ไอโซเลทคือ ไอโซเลท T2000-14 และ T2000-15 ซึ่งมีลักษณะคล้ายกันคือ มีลักษณะ conidiophore แตกกิ่งก้านมากจากด้านข้าง ณ.จุดเดียวกัน phialide รูปร่างแบบลูกพินโบว์ลิ่ง ลักษณะเรียวยาว phialospore รูปร่างค่อนข้างกลม แต่ทั้งสองชนิดนี้จะมีความแตกต่างกันที่ โคโลนีของ *T. pseudokoningii* จะเปลี่ยนสีอาหารเป็นสีเหลือง ส่วน *T. koningii* จะไม่เปลี่ยนสี และลักษณะของ conidiophore ของเชื้อ *T.pseudokoningii* จะแตกกิ่งก้านน้อยกว่า (Rifai, 1969)

การทดสอบประสิทธิภาพของรา *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ซึ่งเกิดจากรา 3 ชนิดในโรงเรือนทดลอง เมื่อใช้ *Trichoderma* คลุกดินรองก้นหลุมในอัตรา 40 กรัมเท่ากัน ต่อดิน 800 กรัม พบว่า รา *T. harzianum* (T2000-6) สามารถควบคุมโรคได้ดีที่สุด ซึ่งผลงานนี้เป็นไปในทำนองเดียวกันกับ รัชดา (2536) ที่ได้รายงานไว้ในการควบคุมโรครากเน่าของคาร์เนชั่นและจิ๊บโซฟิลล่า ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Fusarium* sp. และ *Rhizoctonia* sp. นั้น ถ้าจะให้ได้ผลดีในการลดความรุนแรงของโรคจะต้องใช้ *Trichoderma* ปริมาณที่เท่ากันหรือมากกว่าปริมาณเชื้อสาเหตุที่ทำการปลูกเชื้อลงไปในดิน ในการทอลองนี้พบว่าเมื่อทำการปลูกเชื้อแล้ว 2 สัปดาห์ ในกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยเชื้อราสาเหตุเพียงอย่างเดียวก่อนการปลูกสตรอเบอรี่ พบว่าต้นสตรอเบอรี่แห้งเหี่ยวตายทั้งหมด ส่วนในกรรมวิธีที่ปลูกสตรอเอรี่ในดินที่ผสมเชื้อรา *Trichoderma* สามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคได้ทุกกรรมวิธี โดย *T. harzianum* (T2000-6) ลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคได้ดีที่สุด คือเมื่อทดสอบกับ binucleate *Rhizoctonia* sp. พบการเกิดโรค 22.67% ซึ่งผลที่ได้นั้นสอดคล้องกับการทดลองในห้องปฏิบัติการแบบ Bi-culture Technique ที่พบว่า *T. hazianum* ไอโซเลทที่ T2000-6 มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด ผลงานดังกล่าวยังสนับสนุนผลงานของ Goss และคณะ (1981) พบวา *T. harzianum* สามารถควบคุมโรคที่เกิดจาก *R.solani* ได้ บรรเจิด (2530) ได้รายงานว่า *T. harzianum* สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อรา *R. solani* เชื้อสาเหตุโรคเน่าคอดินของมะเขือเทศ สำหรับการทดลองที่ทำการปลูกต้นสตรอเบอรี่ในดินที่ปลูกเชื้อ *F. oxysporum* f. sp. *fragariae* ร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์ พบว่า *T. harzianum* ให้ผลการยับยั้งการเกิดโรคได้ดีที่สุดมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 21.33% รา ปฏิปักษ์ชนิดนี้ให้ผลดีกว่า *Trichoderma* ชนิดอื่น ๆ ในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าซึ่งเกิดจาก *C. fragariae* เช่นกันแต่ควบคุมได้ต่ำกว่า มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคถึง 44.00%

การทดลองประสิทธิภาพของ *Trichoderma* ทั้ง 5 ชนิดในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ ที่แปลงปลูกสถานีวิจัยโครงการหลวงอินทนนท์ อำเภอจอมทอง จังหวัดเชียงใหม่ พบว่าเมื่อใช้ *Trichoderma* คลุกดินรองก้นหลุม ในทุกกรรมวิธีมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคอยู่ในช่วง 6.10-30.28% แต่ในสัปดาห์ที่ 8 การเกิดโรคลดลงอยู่ในระดับต่ำ (0.83-5.27) ปรากฏการณ์นี้น่าจะเกิดจากปัจจัยสิ่งแวดล้อมเช่น อุณหภูมิและความชื้นไม่เหมาะต่อการเจริญของเชื้อโรค มีการเพิ่มจำนวนประชากรของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในดินขึ้นตามธรรมชาติอันเป็นผลมาจากการจัดการต่อพืช (crop management) ดี และสตรอเบอรี่อยู่ในระยะกำลังเจริญเติบโตแข็งแรงจึงต่อต้านการเกิดโรค ทำให้ความรุนแรงของโรคลดลง

โครงการหลวง

บรรณานุกรม

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2541. สตรอเบอรี่. กองเกษตรสัมพันธ์ กรมส่งเสริมการเกษตร. 36 หน้า.

กองพัฒนาเกษตรที่สูง. 2543. การปลูกสตรอเบอรี่. สำนักงานปลัดกระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 91 หน้า.

กาญจนา วิชิตตระกูลการ. 2539. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* 12 isolate ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช. ปัญหาพิเศษระดับปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 31 หน้า.

เกษม สร้อยทอง. 2532. การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี. คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 326 หน้า.

จีระเดช แจ่มสว่าง และวรรณวิไล อินทนู. 2542. การใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาควบคุมโรคพืช. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 90 หน้า.

ชูพงษ์ สุกุมลนันท์. 2530. สตรอเบอรี. คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 216 หน้า.

นิพนธ์ วิสารทานนท์. 2544 "ย้อมสีนิวเคลียสเชื้อรา", เอกสารประกอบการสอนวิชาพันธุศาสตร์, ภาควิชาโรคพืช. คณะเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บรรเจิด อินหว่าง. 2530. การควบคุมเชื้อรา *Rhizoctonia solani* Kuhn โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดเลือกจากดินเกษตรกรรม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

พัชรินทร์ เก่งกาจ. 2540. การควบคุมโรคเหี่ยวของสตรอเบอรี่ที่เกิดจากเชื้อราไรซอคโทเนียโดยชีววิธี. ปัญหาพิเศษระดับปริญญาตรี. ภาควิชาโรคพืช. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 51 หน้า.

มณฑา นันทพันธ์, ปรีชา สุรินทร์ และสมยศ วิสัยวัตย์. 2541. การใช้ *Trichoderma harzianum* ควบคุมโรคเน่าของถั่วเหลืองผักสด. วารสารโรคพืช 13 (1-2) : 42-47.

รัชดา แทนธานี. 2536. การใช้เชื้อทรัยโคเดอร์มาในการควบคุมโรครากเน่าของคาร์เนชั่นที่เกิดจากเชื้อราฟิวซาเรียมและโรคเน่าของจิ๊บโซฟิล่าที่เกิดจากเชื้อไรซอคโทเนีย. ปัญหาพิเศษระดับปริญญาตรี. ภาควิชาโรคพืช. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 67 หน้า.

วรรณวิไล เกษนรา. 2532. การควบคุมเชื้อ *Sclerotium rolfsii* Sacc. ในข้าวบาร์เล่ย์โดยชีววิธี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพ.

ศิริพงษ์ คุ้มภัยและ รัศมี ฐิติเกียรติพงศ์. 2539. เทคโนโลยีชีวภาพโรคพืชและจุลชีววิทยา. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 183 หน้า.

สืบศักดิ์ สนธิรัตน. 2540. การจัดการโรคพืช. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 141 หน้า.

แสงมณี ชิงดวง, ประเสริฐ เคร่งเปี่ยม และสุชาติ วิจิตรานนท์. 2540. ผลของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ที่มีต่อเชื้อรา *Phytophthora parasitica* และ *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโรคเน่าของพริกไทยและโรคเน่าดำของวนิลา. วารสารโรคพืช ปีที่ 12:13-25.

อนุภาพ ภาสุระ. 2536. การผลิตมวลชีวภาพเชื้อรา *Trichoderma harzianum* โดยกระบวนการหมักอาหารเหลวเพื่อใช้ในงานควบคุมเชื้อราโรคพืชทางชีววิธี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

Ainsworth, G.C., F.K. Sparrow and A.S. Sussman. 1973. The Fungi : An Advanced Treatise. V. IVA. Academic Press, New York. 621 p.

Alexopoulos, J. 1979. Introductory Mycology. John Wiley & Sons, Inc. Canada: 567-569.

Baker, K.F. and R.J. Cook 1974. Biological Control of Plant Pathogen. W.H. Freman, San Francisco. 430 p.

Baruch S., L. Burpee L., and A. Ogshia A. 1991. Identification of *Rhizoctonia* species. APS Press. Minnesota, USA. 133 p.

Bilai, V.E. 1963. Antibiotic produced by species of the genera *Trichoderma*. In antibiotic Producing Microscopic Fungi . 115-121.

Booth, C. 1977. *Fusarium* Laboratory Guide to the Identification of the Major Species. Commonwealth Mycological Institute, England. 58 p.

Brisbane, P.G. and A.D. Rovira. 1988. Mechanisms of inhibitions of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* by fluorescent *pseudomonads*. Plant Phytopathol. 37 : 104-111.

Cook, R.J. 1985. Biological control of plant pathogens : Theory of application. Phytopathol. 75 : 25-29.

Cook, R.J. and K.F. Baker. 1983. The Nature and Practice of Biological of Plant Pathogens. The Amer. Phytopathol. Sco., St. Paul, Minnesota. 539 p.

Cooksey, D.A. and L.W. Moore. 1982. Biological control of crown gall with agrocin mutant of *Agrobacterium radiobacter*. Phytopathol. 8 : 267.

Elad, Y., I. Chet and J. Katan. 1980. *Trichoderma harzianum* : A biological control agent effective against *Sclerotium rolfsii and Rhizoctonia solani*. Phytopathol. 70: 199-121.

Elad, Y., Y. Hander, E. Hander, I. Chet and Y. Henis. 1981. Biological control of *Rhizoctonia* by *Trichoderma harzianum* in carnation. Plant Dis. 65 : 675.

Elad, Y., I. Chet, P. Boyle and Y. Henis. 1983. Parasitism of *Trichoderma* spp. on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* scanning electron microscopy and flurescent microscopy. Phytopathol. 33 : 85-88.

Fravel, D.R. 1988. Role of antibiosis in the biocontrol of plant disease. Ann. Rev. Phytopathol. 26 : 75-91.

Goss, G.R., M.N. Joshi and S.N. Hillebrenner. 1981. Antagonism of *Rhizoctonia solani* by *Trichoderma harzianum* in two soils. Phytopathol. 71 : 877.

Hader, Y., Harman, G.F. and A.G. Taylor. 1984. Evalution of *Trichoderma koningii* and *T.harzianum* from New York soil for biological control of seed rot caused by *Pythium* sp. Phytopathol. 74 : 106-110.

Harman, G.E., I. Chet and R. Baker. 1981. Factor affecting *Trichoderma hamatum* applied to seeds as a biocontrol agent. Phytopathol. 71 : 569-572.

Howard, C.M. 1972. A strawberry fruit rot caused by *Colletotrichum fragariae*. Phytopathol. 62 : 600-602

Howell, C.R. 1991. Biological control of *Pythium* damping-off of cotton with seed-coating preparations of *Gliocladium virens*. Phytopathol. 81 : 738-741.

Lipps. P.E. and I.W. Deep. 1991. Influence of tillage and crop rotation on yield, stalk rot and recovery of *Fusarium* and *Trichoderma* spp. from corn. Plant Dis. 75: 828-833.

Liu, S. and R. Baker, 1980. Mechanism of biological control in soil suppressive to *Rhizoctonia solani*. Phytopathol. 70 : 404-412.

Lumsden, R.D. and J.A. Lewis. 1989. Selection, production formulation and commercial use of plant disease biocontrol fungi : Problem and progress, pp. 361-366. In F.M. Whipps and R.D.. Lumsden. Biotechnology of Fungi for Improving Plant Growth. British Mycological Soc., Cambridge university Press, London.

Maas, J.L. 1998. Compendium of Strawberry Diseases (2nd edition). The American Phytopathological Socitey Press, Minnesota. 98 p.

Marshall, K.S. 1982. Effect of *Trichoderma harzianum* seed treatment and *Rhizoctonia solani* inoculum concentration of damping-off of snap bean in acidic soils. Plant Dis. 66 : 788-789.

Papavizas, G.C., Lewis, J.A. and Abd-El Mority, T.H. 1982. Evalution of new biotype of *T. harzianum* for tolerance to benomyl and enhanced biocontrol capabilities. Phytopathol. 70 : 404-412.

Rifai, M.A. 1969. A revision of the genus *Trichoderma*. Commonw. Mycol. Inst. Mycol. Paper. 116 : 1-56.

Scarselletti, R. and J.L. Faull. 1994. *In vitro* activity of 6-pentyl-α-Pyronl, a metabolite of *Trichoderma harzianum* in the inhibition of *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Mycological Reserve 98(10) : 1207-1209.

Scher, F.M. and R. Baker. 1982. Effect of *Pseudomonas putida* and systematic iron chelator on induction of soil suppressive to *Fusarium* wilt pathogens. Phytopathol. 72 : 1567-1573.

Sneh, B., Buree, L., and Ogosni, A. 1991. Identification of Rhizoctonia species. The American Phytopathological Society, st. Paul, MN.

Suslow, T.U. 1982. Role of root-colonizing bacteria in plant growth, pp. 187-223. *In* M.S. Mount and G.H. Lacy (eds.). Phytopathogenic Prokaryotes. Vol. 1. Academic Press, New York.

Windels, C.E. and T. Kommedahol. 1978. Factors affecting *Penicillium oxalicum* as a seed protectant against seedling blight of pea. Phytopathol. 86 : 165-1661.

Wright. W.R., M.A. Smith, G.B. Ramsey, and L. Behara. 1960. Gloeosporium rot of strawberry fruit. Plant Dis. 44: 212-213.