มูลนิธิโครงการหลวง

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ตามโครงการวิจัยที่ 30603506 งบประมาณปี 2547

การคัดเลือกเชื้อราผิวใบสตรอเบอรี่เพื่อใช้ควบคุมโรคใบจุดของสตรอเบอรี่ที่เกิดจากเชื้อ *Colletotrichum* sp. และ *Phomopsis obscurans*

Selection of Epiphytic Fungi from Strawberry Leaf for Control of Strawberry Leaf Spot Diseases Caused by *Colletotrichum* sp. and *Phomopsis obscurans*

โดย

ดร. ชวนพิศ บุญชิตสิริกุล

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาของมูลนิธิโครงการหลวงที่ได้ให้เงินมาสนับสนุนในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ นุชนารถ จงเรขา ที่ได้สนับสนุน และให้คำปรึกษาในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณคุณพรอุษา แพรวัฒนะสุข นักศึกษาปริญญาโทที่ได้ช่วยงานวิจัยครั้งนี้ให้ประสบความสำเร็จและลุล่วงไปได้ดี

สุดท้ายขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกคนของภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ รวมทั้งครอบครัวที่ได้ให้กำลังใจเมื่อมีอุปสรรคและปัญหาตลอดมา

ชวนพิศ บุญชิตสิริกุล

มีนาคม 2549

โครงการหลวง

บทคัดย่อ

ทำการเก็บตัวอย่างใบของสตรอเบอรี่ที่ไม่เป็นโรคจากแปลงเกษตรกรในอำเภอสะเมิง และจากแปลงปลูกพืชของภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ สามารถแยกเชื้อราจากผิวใบพืชได้ 236 ไอโซเลท เมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรค คือ *Colletotrichum* sp. และ *Phomopsis obscurans* โดย Dual Culture Technique สามารถแบ่งเชื้อราตามลักษณะการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคได้ 4 กลุ่ม คือ 1. เจริญเท่ากับเชื้อโรค พบว่า 45 ไอโซเลทเจริญแข่งขันกับ *Colletotrichum* sp. และ 50 ไอโซเลทแข่งขันกับ *P. obscurans* 2. ยับยั้งการเจริญของเชื้อโรค (ปรากฏบริเวณที่เชื้อไม่เจริญ) พบ 19 ไอโซเลทและ 10 ไอโซเลท กับเชื้อ *Colletotrichum* sp. และ *P. obscurans* ตามลำดับ 3. เจริญเร็วกว่าเชื้อโรคและคลุมโคโลนีของเชื้อโรค พบ 5 ไอโซเลทกับเชื้อ *Colletotrichum* sp. และ 3 ไอโซเลทกับเชื้อ *P. obscurans* 4. เจริญช้ากว่าเชื้อโรค 167 ไอโซเลท และ 173 ไอโซเลทเจริญช้ากว่า *Colletotrichum* sp. และ *P. obscurans* ตามลำดับนำเชื้อราในกลุ่มที่ 2 และ 3 มาศึกษาต่อในเรื่องประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกและการสร้างของสปอร์ พบว่าเชื้อราในกลุ่มที่ 2 ที่จำแนกได้ในสกุล Penicillium ไอโซเลท 408 และ ไอโซเลท 713 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกและการสร้างสปอร์ของรา *Colletotrichum* sp. ได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกลดลงจากชุดควบคุม 41.86 และ 40.84 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และมีเปอร์เซ็นต์การสร้างสปอร์ลดลงจากชุดควบคุม 27.13 และ 27.07 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ Penicillium ทั้ง 2 ไอโซเลท ให้ผลยับยั้งในทำนองเดียวกันเมื่อทดสอบกับ *P. obscurans* โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ลดลงจากชุดควบคุม 32.05 และ 29.91 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และมีการสร้างสปอร์ลดลงจากชุดควบคุม 26.70 และ 26.06 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ขณะที่เชื้อราในกลุ่มที่ 3 พบว่า *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 923 และ *Mucor* sp. ไอโซเลท 532 มีอัตราการเจริญดีที่สุด สามารถเจริญปกคลุมเชื้อราสาเหตุโรคได้ในระยะเวลาอันสั้น

ทำการทดสอบราปฏิปักษ์ทั้ง 4 ไอโซเลทในโรงเรือน เพื่อควบคุมรา *Colletotrichum* sp. สาเหตุของโรคแอนแทรคโนสของสตรอเบอรี่ ผลการทดลอง แสดงว่าเมื่อพ่น *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 923 ก่อนการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคให้เปอร์เซ็นต์ใบที่เป็นโรคและเปอร์เซ็นต์ดัชนีการทำลายของโรคต่ำที่สุด คือ 22.22 และ 25.62 ตามลำดับ แต่เมื่อฉีดพ่นเชื้อราปฏิปักษ์หลังปลูกเชื้อราสาเหตุโรคให้ผลแตกต่าง โดย *Penicillium* sp. ไอโซเลท 408 ให้เปอร์เซ็นต์ต่ำกว่า *Trichoderma* sp. กล่าวคือใบที่เป็นโรคและเปอร์เซ็นต์ดัชนีการทำลายของโรคเป็น 23.53 และ 40.10 ต่ำกว่า 23.73 และ 39.37 ตามลำดับ

ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Abstract

Samples of healthy strawberry leaves were collected from the farmers' fields in Samoeng district, and the planting plot of Hort. Department, Fac. Agri., CMU, Chiang Mai. Isolations were made and 236 isolates of epiphytic fungi were obtained. The fungi were tested on their efficacy for growth inhibition of two pathogenic fungi *Colletotrichum* sp. and *Phomopsis obscurans* using Dual Culture Technique. Results showed that the isolates can be divided into 4 antagonistic groups: 1) Grew at equal rate to pathogen; 45 isolates could compete with *Colletotrichum* sp. and 50 isolates with *P. obscurans*. 2) Inhibited growth of the pathogens (showing clear zone); 19 isolates and 10 isolates inhibited growth of *Colletotrichum* sp. and *P. obscurans* respectively. 3) Grew faster than, and covered the pathogen; 5 isolates with *Colletotrichum* sp. and 3 isolates with *P. obscurans*. 4) Grew slowlier than the pathogens; 167 isolates and 173 isolates grew slowlier than *Colletotrichum* sp. and *P. obscurans* respectively. The isolates from group 2 and 3 were used to study further on their efficacy for inhibition of spore germination and spore production. It was found that the fungi identified as genus Penicillium isolate 408 and isolate 713 showed highest inhibition on spore germination and spore production of *Colletotrichum* sp. with 40.86%, 40.84% and 27.13%, 27.07% reduction when compared with control treatment respectively. Similar results were obtained from testing with *P. obscurans*, both isolates showed reduction of spore germination and spore production as 32.05%, 29.91% and 26.70%, 26.06% respectively. The isolates from group 3 identified as *Trichoderma* sp. isolate 923 and *Mucor* sp. isolate 532 showed highest growth, could cover the pathogens in a short time.

The four antagonistic isolates were tested in the greenhouse for control of *Colletotrichum* sp. causing anthracnose of strawberry. Results showed that spraying *Trichoderma* sp. isolate 923 prior to inoculation gave lowest percentages of diseased leaves and disease index as 22.22 and 25.62 respectively. However, when spraying antagonists after inoculation showed different results; *Penicillium* sp. isolate 408 gave better control than *Trichoderma* sp. isolate 923 i.e. percentages of diseased leaves and disease index were 23.53 and 40.10 lower than 23.73 and 39.37 respectively.

Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University

สารบาญ

	หน้า
คำนิยม	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบาญตาราง	จ
สารบาญภาพ	ช
บทนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	10
ผลการทดลอง	14
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	44
เอกสารอ้างอิง	51
ภาคผนวก	54

ลิขสิทธิ์ โครงการหลวง

สารบาญตาราง

ตาราง		หน้า
1	จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีรายงานว่าใช้ในการควบคุมโรคพืชทางชีวภาพ	6
2	ชนิดและจำนวนของเชื้อราที่แยกได้จากผิวใบสตรอเบอรี่ที่ไม่แสดงอาการ	17
3	ชนิดของเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp.	20
4	ชนิดของเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phomopsis obscurans*	23
5	ชนิดของเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการเจริญได้ดีกว่าและเจริญปกคลุมโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum* sp.	25
6	ชนิดของเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการเจริญได้ดีกว่าและเจริญปกคลุมโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum* sp .	26
7	เปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ใน culture filtrate ของเชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ ที่ 1, 3, 5 และ 7 วัน	32
8	เปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* ใน culture filtrate ของเชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ ที่ 1, 3, 5 และ 7 วัน	33
9	จำนวนสปอร์เฉลี่ยของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ใน culture filtrate ของเชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ ที่ 1, 3, 5 และ 7 วัน	34
10	จำนวนสปอร์เฉลี่ยของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* ใน culture filtrate ของเชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ ที่ 1, 3, 5 และ 7 วัน	35
11	อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการเจริญปกคลุมโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. และ *Phomopsis obscurans* โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีที่ 1, 3, 5, 7, 9 และ 14 วัน	36
12	เปอร์เซ็นต์จำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายเมื่อพ่น spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ ก่อนพ่นเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่เวลา 3, 5 และ 7 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม	39

ตาราง หน้า

13 เปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายเมื่อพ่น spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ ก่อนพ่นเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่เวลา 3, 5 และ 7 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม 40

14 เปอร์เซ็นต์จำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายเมื่อพ่น spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ หลังพ่นเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่เวลา 3, 5 และ 7 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม 41

15 เปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายเมื่อพ่น spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ หลังพ่นเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่เวลา 3, 5 และ 7 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม 42

โครงการหลวง

สารบาญภาพ

ภาพ		หน้า
1	การทดสอบวิธี Dual Culture Technique	11
2	ใบสตรอเบอรี่ที่แสดงอาการของโรคแอนแทรคโนส	14
3	ลักษณะโคโลนีและสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส	15
4	ลักษณะใบสตรอเบอรี่ที่แสดงอาการของโรคใบไหม้โฟมอพซีสที่เกิดจากเชื้อรา *Phomopsis obscurans*	16
5	ลักษณะโคโลนีและลักษณะโครงสร้าง pycnidium ของเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้โฟมอพซิส	16
6	เชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ ที่มีความสามารถในการเจริญแข่งขันกับเชื้อรา *Colletotrichum* sp.	18
7	เชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการเจริญแข่งขันกับเชื้อรา *Phomopsis obscurans*	19
8	เชื้อรา *Aspergillus* sp. ไอโซเลทต่างๆ ที่มีความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp.	20
9	เชื้อรา *Penicillium* sp. ไอโซเลทต่างๆ ที่มีความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp.	21
10	เชื้อรา Unknown ไอโซเลทต่างๆ ที่มีความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp.	22
11	ชื้อรา *Aspergillus* sp. ไอโซเลท 003 ที่มีความสามารถในการสร้างสารยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phomopsis obscurans*	23
12	ชื้อรา *Penicillium* sp. ไอโซเลทต่างๆ ที่มีความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phomopsis obscurans*	24
13	เชื้อรา *Aspergillus* sp. ไอโซเลทต่างๆ ที่มีความสามารถในการเจริญได้ดีกว่าและเจริญปกคลุมเชื้อรา *Colletotrichum* sp.	25
14	เชื้อรา *Mucor* sp. ไอโซเลทต่างๆ ที่มีความสามารถในการเจริญได้ดีกว่าและเจริญปกคลุมเชื้อรา *Colletotrichum* sp.	25
15	ชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 923 ที่มีความสามารถในการเจริญได้ดีกว่าและเจริญปกคลุมเชื้อรา *Colletotrichum* sp.	26

ภาพ		หน้า
16	เชื้อรา *Mucor* sp. ไอโซเลทต่างๆ ที่มีความสามารถในการเจริญได้ดีกว่าและเจริญปกคลุมเชื้อรา *Phomopsis obscurans*	27
17	ชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 923 ที่มีความสามารถในการเจริญได้ดีกว่าและเจริญปกคลุมเชื้อรา *Phomopsis obscurans*	27
18	เชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ ที่มีการเจริญเติบโตได้ช้ากว่าเชื้อรา *Colletotrichum* sp.	28
19	เชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ ที่มีการเจริญเติบโตได้ช้ากว่าเชื้อรา *Phomopsis obscurans*	28
20	ผลการปลูกเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสและเชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ	43

บทนำ

สตรอเบอรี่ (*Fragaria fragariae*) (ชูพงษ์, 2530) สตรอเบอรี่เป็นพืชไม้ผลที่มีสำคัญทางเศรษฐกิจของภาคเหนือและได้รับความสนใจจากเกษตรกรอย่างต่อเนื่องเพราะให้ผลตอบแทนสูงในระยะเวลาอันสั้น ผลสตรอเบอรี่นอกจากจะใช้รับประทานสดแล้วยังสามารถแปรรูปเป็นอุตสาหกรรมในครัวเรือนไว้จำหน่าย เช่น ทำเป็นแยม ไวน์ สตรอเบอรี่แห้ง เป็นต้น ผลของสตรอเบอรี่ยังมีคุณสมบัติในการเป็นสมุนไพร เพราะอุดมไปด้วยวิตามินซีและธาตุเหล็กที่มีคุณประโยชน์ต่อระบบเลือดและหัวใจ ผลสีแดงอุดมไปด้วยซูเปอร์ไฟเบอร์ เพคติน ซึ่งช่วยลดปริมาณคลอเลสเตอรอลได้ระดับหนึ่ง นอกจากนี้ยังช่วยให้ระบบทางเดินอาหารทำงานได้สะดวก มีสรรพคุณเป็นยาระบายอย่างอ่อน ยาขับปัสสาวะและสามารถยับยั้งสารก่อมะเร็งกลุ่มไนโตรซามีนได้เนื่องจากมีโพลีฟีนอลปริมาณสูง (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2541)

สตรอเบอรี่เป็นพืชหนึ่งที่มีศัตรูพืชเข้ารบกวนมาก โดยจะเข้าทำลายตั้งแต่ระยะต้นกล้าไปจนถึงระยะเก็บเกี่ยว โรคเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อกระทบต่อปริมาณและคุณภาพของผลผลิต โดยเฉพาะโรคที่เกิดจากเชื้อราเป็นโรคที่พบได้อย่างกว้างขวางสามารถเข้าทำลายได้ทุกส่วนของต้นสตรอเบอรี่ ได้แก่ โรครากเน่าโคนเน่า โรคใบจุด ใบไหม้ โรคราสีเทา โรคผลเน่า และโรคที่สำคัญโรคหนึ่งที่เข้าทำลายและทำความเสียหายให้สตรอเบอรี่ได้ทั้งส่วน ใบ ก้านใบ ก้านดอก ผล และไหล โดยเฉพาะส่วนไหลของสตรอเบอรี่ซึ่งเป็นส่วนที่ใช้ในการขยายพันธุ์ ได้แก่ โรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อ *Colletotrichum* spp. (ชูพงษ์, 2530) และโรคใบไหม้โฟมอพซิส ที่เกิดจากเชื้อ *Phomopsis obscurans* (Mass, 1998) มีรายงานว่ามีการระบาดทั่วไปในแปลงปลูกสตรอเบอรี่ทั่วโลก ในบางพื้นที่โรคนี้จัดได้ว่าเป็นโรคที่มีความสำคัญมาก เนื่องจากมีการระบาดที่รุนแรง ทำให้เกิดความเสียหายกับผลผลิตสูง เชื้อนี้สามารถมีชีวิตอยู่ข้ามฤดูปลูกได้โดยจะเข้าทำลายใบแก่ในฤดูร้อน ทำให้พืชอ่อนแอ และทำให้ผลผลิตลดลงในปีต่อไป

ในการป้องกันกำจัดโรคที่เกิดกับสตรอเบอรี่นั้น เกษตรกรส่วนใหญ่นิยมใช้สารเคมี เพราะมีประสิทธิภาพดี ออกฤทธิ์เร็วและเห็นผลชัดเจน แต่การใช้สารเคมีในการควบคุมโรคพืชอย่างต่อเนื่องนั้นได้สร้างปัญหาและก่อให้เกิดผลกระทบต่างๆ มากมาย ได้แก่ ปัญหาทางเศรษฐกิจ ทำให้มีต้นทุนการผลิตที่สูงขึ้น โรคและแมลงศัตรูพืชเกิดการต้านทานต่อสารเคมี ปัญหาสุขภาพของเกษตรกรผู้ใช้ รวมถึงปัญหาสารพิษตกค้างที่ปนเปื้อนไปกับผลผลิตทางการเกษตรที่มีผลกระทบต่อผู้บริโภค และปัญหาสารพิษตกค้างในสภาพแวดล้อม ซึ่งหลายประเทศที่พัฒนาแล้ว เช่น สหรัฐอเมริกา แคนาดา และกลุ่มประเทศยุโรปได้เริ่มกำหนดนโยบายการลดปริมาณการใช้สารเคมีควบคุมศัตรูพืชลง ขณะเดียวกันได้พยายามแสวงหาวิธีการควบคุมศัตรูพืชโดยไม่ใช้สารเคมีหรือหาสิ่งทดแทน เพื่อให้มีการใช้สารเคมีให้ลดลง (จิระเดช, 2534)

ดังนั้นจุดประสงค์ของการวิจัยเพื่อหาวิธีการที่จะป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสและโรคใบไหม้โฟมอพซิส ที่เกิดขึ้นในสตรอเบอรี่ด้วยวิธีชีววิธี โดยการใช้จุลินทรีย์ซึ่งไม่ก่อให้เกิดให้เกิดโรคพืชหรืออันตรายต่อมนุษย์ ซึ่งเป็นเชื้อที่มีอยู่แล้วบนส่วนใบของสตรอเบอรี่ จึงได้ทำการคัดแยกและนำมาทำการศึกษาและเพิ่มปริมาณให้มากขึ้น เพื่อนำมาใช้ทดแทนสารเคมีเพื่อควบคุมและป้องกันกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสและใบไหม้โฟมอพซีสของสตรอเบอรี่

รายงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สตรอเบอรี่ (*Fragaria fragariae*) เป็นพืชที่อยู่ใน Order Rosales, Family Rosaceae, Genus Fragaria (สังคม, 2532) สตรอเบอรี่จัดเป็นผลไม้เศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งที่มีการปลูกกระจายกันอยู่ทั่วโลก สามารถพบได้เกือบทุกประเทศ ซึ่งมีการปลูกตั้งแต่แถบขั้วโลกลงมาถึงพื้นที่ในเขตร้อนที่มีความแตกต่างกันทั้งสภาพภูมิอากาศและดินที่ใช้ปลูก เนื่องจากสตรอเบอรี่เป็นผลไม้ที่มีความอร่อยและเป็นที่รู้จักกันทั่วไป มีการปรับปรุงพันธุ์ใหม่ที่ให้ผลผลิตได้ยาวนานขึ้น รวมทั้งมีการจัดการระบบการปลูกที่ดีขึ้น การเลือกพื้นที่ปลูกที่เหมาะสม ทำให้การปลูกสตรอเบอรี่ง่ายขึ้นและสามารถทำรายได้ตอบแทนที่สูงขึ้นให้แก่เกษตรกร สำหรับในประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกสตรอเบอรี่ส่วนใหญ่อยู่ทางภาคเหนือ บางอำเภอในจังหวัดเชียงใหม่และเชียงราย และในพื้นที่สูงของบางจังหวัดทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น จังหวัดเพชรบูรณ์ จังหวัด เลย (ณรงค์ชัย, 2543) และจังหวัดอุบลราชธานี (ประสาทพรและคนัย, 2546) และยังมีแนวโน้มที่สามารถปลูกได้ผลในพื้นที่สูงของภาคกลาง เช่น แถบบนภูเขาของจังหวัดกาญจนบุรี เนื่องจากความต้องการของตลาดทั้งในและต่างประเทศที่มากขึ้น สตรอเบอรี่จึงจัดว่าเป็นพืชเศรษฐกิจชนิดใหม่ นอกจากนี้ยังได้มีการผลิตสตรอเบอรี่เพื่อจุดประสงค์ในการขยายช่วงการเก็บเกี่ยวหรือผลิตให้ผลออกนอกฤดูกาลบนพื้นที่สูงของประเทศไทย ซึ่งมีสภาพอากาศหนาวเย็นพอเหมาะตลอดทั้งปี และมีอนาคตสำหรับส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศซึ่งไม่สามารผลิตได้ในช่วงดังกล่าว (ณรงค์ชัย, 2543)

สตรอเบอรี่ เป็นพืชหนึ่งที่มีศัตรูพืชรบกวนมาก นับตั้งแต่ระยะกล้าไปจนถึงระยะเก็บเกี่ยว โรคที่เกิดจากเชื้อราเป็นโรคที่พบอย่างกว้างขวางและสามารถเข้าทำลายได้ในทุกส่วนของลำต้น คือ ใบ ดอก ผล และราก ได้แก่ โรครากเน่าและโคนเน่า สาเหตุเกิดจากเชื้อรา เช่น *Phytophthora fragariae*, *Fusarium* sp. และ *Rhizoctonia* spp. โรคแอนแทรคโนสของไหล ที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. และโรคใบจุดตากบ เกิดจากเชื้อรา *Ramularia tulasnei* โรคใบไหม้ เกิดจากเชื้อ *Phomopsis obscurans* โรคขอบใบไหม้ เกิดจากเชื้อรา *Diplocarpon earlianum* โรคราสีเทา เกิดจากเชื้อรา *Botrytis cinerea* โรคผลเน่า เกิดจากเชื้อรา *Rhizopus* sp. และเชื้อรา *Colletotrichum* spp. (ชูพงษ์, 2530) โรคทางใบที่สำคัญของสตรอเบอรี่ที่พบว่ามีการแพร่ระบาดเป็นประจำในพื้นที่การปลูกสตรอเบอรี่ ได้แก่ โรคแอนแทรคโนสและโรคใบไหม้โฟมอพซิส (Mass, 1998)

โรคแอนแทรคโนส (Anthracnose) เชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสของสตรอเบอรี่คือเชื้อรา *Colletotrichum sp.* ซึ่งมีอยู่ 3 species คือ เชื้อรา *Colletotrichum fragaria*, *C. acutatum* และ *C. gloeosporioides* โรคแอนแทรคโนสที่มีลักษณะเป็น black leaf spot มีเชื้อสาเหตุมาจาก เชื้อรา *Colletotrichum fragaria* และ *C. gloeosporioides* สำหรับลักษณะอาการของโรคแบบ irregular leaf spot เกิดจากเชื้อรา *C. acutatum* เชื้อทั้ง 3 species นี้สามารถทำให้เกิดอาการที่เป็นแอนแทรคโนสได้หลายแบบ (ณรงค์ชัย, 2543)

ลักษณะอาการของโรค อาการขั้นแรกที่ปรากฏบนไหลและก้านใบคือเป็นจุดเล็ก กลมดำและรอยแผลฝังลึก ต่อมารอยแผลขยายบริเวณใหญ่ไปรอบๆ ไหลหรือก้านใบซึ่งเป็นผลทำให้เนื้อเยื่อถูกทำลายในตอนสุดท้ายที่บริเวณใบ ก้านดอก และผลที่ถูกโรคเข้าทำลาย บริเวณที่พบลักษณะอาการของโรคมากที่สุดและเห็นได้ชัดเจนที่สุดคือบริเวณไหลของสตรอเบอรี่ เชื้อสาเหตุสามารถเข้าทำลายทั้งที่ลำต้นและผล ถ้าเชื้อสาเหตุเข้าทำลายที่ผลจะทำให้เกิดผลเน่า จะมีลักษณะเป็นสีน้ำตาล แผลกลม เนื้อผลยุบลง เป็นรอยแผลเน่าและและกลายเป็นสีดำภายในสองถึงสามวัน สำหรับรอยแผลนี้ปรากฏทั่วไปในผลที่สุกและอาจมีสองแห่งหรือมากกว่า โดยมีส่วนที่เป็นสปอร์ปกคลุมอยู่ ถ้าหากโรคนี้เข้าทำลายที่ลำต้นจะทำให้เกิดการเหี่ยวของต้นในทันที และอาจเป็นสาเหตุทำให้เกิดรอยแผลสีดำบริเวณก้านดอก ไหล ก้านใบ และใบ เชื้อจะผลิตสปอร์ขึ้นมาปกคลุมเป็นจำนวนมาก สปอร์เหล่านี้สามารถแพร่กระจายไปได้โดยฝนหรือแมลง (ณรงค์ชัย, 2543)

ลักษณะของเชื้อราสาเหตุ เชื้อรา *Colletotrichum fragaria* conidia ของเชื้อรา *C. fragaria* จะรวมตัวกันเป็นกลุ่มของสปอร์ (mass) สีชมพูไปจนถึงออกสีส้ม ลักษณะของ conidia เป็นรูปทรงกระบอกส่วนหัวและท้ายมน conidia มีหลายขนาด ซึ่งขนาดจะอยู่ประมาณที่ 12.5-16.5 x 4.5-5 ไมโครเมตร conidia จะสร้างขึ้นบน aerial hyphae หรืออยู่ใน acervuli ที่เต็มไปด้วย setae โดยปกติ setae มีขนาดประมาณ 50-200 x 3.5-4.5 ไมโครเมตร จะมี 3-5 septate และสร้างออกมาเป็นกลุ่มเซลล์ที่อยู่ตรงส่วนปลายสุดของ setae จะค่อยๆ เรียวเล็กลงและเป็นที่สร้าง conidia สีของโคโลนีเมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA จะมีสีเขียวขี้ม้า สีเทาดำ หรือเป็นสีดำ และด้านล่างของโคโลนีจะเป็นสีเทาดำหรือสีดำเขียวขี้ม้า

C. acutatum จะสร้าง conidia ลักษณะรูปทรงกระบอกขนาดประมาณ 8.5-16.5 x 2.5-4 ไมโครเมตร ส่วนหัวและท้ายแหลม สร้าง mass สีชมพูส้มหรือสีส้ม conidia สร้างใน acervuli และ acervuli ที่พบอยู่ในพืชอาศัยจะไม่ค่อยพบ setae แต่จะพบเมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ มีสีดำน้ำตาล ผนังหนา และเป็น aseptate setae มาก ส่วนใหญ่ setae จะมีขนาดประมาณ 5.2 x 3.2 ไมโครเมตร มีขนาดสั้นกว่า setae ของเชื้อรา *C. fragaria* และสร้างโคโลนีสีขาว ชมพู ส้มหรือม่วงอ่อน และจะกลายเป็นสีเทาตามช่วงอายุบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ด้านหลังของโคโลนีจะเป็นสีชมพู ส้มหรือสีม่วงอ่อน *C .acutatum* สามารถจำแนกตามความแตกต่างออกจากเชื้อรา *C.*

fragaria และ *C. gloeosporioides* ได้จากลักษณะของ conidia และอัตราการเจริญของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ 27 °C โดยที่ *C. acutatum* มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยประมาณ 8-9 มิลลิเมตรต่อวัน ซึ่งเจริญได้ช้ากว่า *C. fragaria* และ *C. gloeosporioides* ที่มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ย 13-14 มิลลิเมตรต่อวัน*C. gloeosporioides* จะมีการสร้าง conidia รูปทรงกระบอก ด้านหนึ่งมนและอีกด้านหนึ่งแหลม สีของโคโลนีที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นสีชมพูอ่อนค่อนข้างขาว *(Mass, 1998)* สปอร์มีลักษณะเป็นเซลล์เดียวขนาดประมาณ 7-20 x 2.5-5 ไมโครเมตร ใสไม่มีสี (Ploetz *et al*, 1994)

โรคใบไหม้โฟมอพซิส (Phomopsis leaf bilght) เชื้อสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Phomopsis obscurans* (Eills & Everh) (Mass, 1998) พบว่ามีรายงานการระบาดทั่วไปในแปลงปลูกสตรอเบอรี่ทั่วโลก ในบางพื้นที่จัดว่าเป็นโรคที่มีความสำคัญมาก เนื่องจากมีการระบาดที่รุนแรง ทำให้เกิดความสูญเสียต่อผลผลิตสูง เชื้อนี้สามารถมีชีวิตอยู่ข้ามฤดูปลูก โดยจะทำลายใบแก่ในฤดูร้อนทำให้พืชอ่อนแอ ซึ่งทำให้ผลผลิตลดลงในปีต่อมา

ลักษณะอาการของโรค อาการโดยทั่วไป เริ่มจากลักษณะแผลเป็นจุดกลมสีแดงจนถึงสีม่วง 1-5 จุด บนใบย่อย หลังจากนั้นแผลจะพัฒนาขยายใหญ่ขึ้น มีขอบแผลสีม่วงแดงหรือสีเหลือง บริเวณกลางแผลมีสีน้ำตาล และพบโครงสร้างของเชื้อราชื่อ pycnidium (พหูพจน์ pycnidia) เป็นจุดกลมสีดำเป็นจำนวนมากบริเวณกลางแผล เมื่อแผลมีอายุมากขึ้นจะเข้าทำลายเส้นกลางใบและพัฒนาใหญ่ขึ้นกลายเป็นแผลรูปตัววี (V-shaped) เชื้อราสาเหตุสามารถเข้าทำลายไหล ก้านใบ กลีบเลี้ยง และผลได้

ลักษณะเชื้อราสาเหตุโรค เกิดจากเชื้อรา *Phomopsis obscurans* เชื้อรานี้จะสร้าง conidia จำนวนมากอยู่ใน pycnidia โดยฝังอยู่ในเนื้อเยื่อบริเวณผิวใบพืช รูปร่างกลม สีดำขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 140-210 ไมครอน มีช่องเปิด (ostiole) สั้นๆ โผล่พ้นผิวพืชออกมา conidiophore ใส มีความยาวได้ถึง 85 ไมครอน conidia เซลล์เดียวลักษณะบางใส รูปร่างทรงกระบอกสั้น หัวท้ายมน ขนาด 5.5-7.5 x 1.5-2 ไมครอน ภายใต้สภาพความชื้นที่เหมาะสม conidia จำนวนมากจะถูกปลดปล่อยออกมาจาก pycnidia เป็นสายคล้ายๆ วุ้นใสหรือเป็นกลุ่มของ conidia ที่เป็นก้อนกลมๆ จำนวนมาก (mass of conidia) ส่วนลักษณะโคโลนีของเชื้อบนอาหาร PDA จะเป็นเส้นใยสีขาว บางแผ่ขยายไปบนผิวหน้าอาหาร มี pycnidia กระจายอยู่บนโคโลนี โดยจะพบมากที่สุดบริเวณใกล้ๆ กับจุดที่ปลูกเชื้อลงไป pycnidium มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 300 ไมครอน ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่า pycnidium ที่เกิดขึ้นบนแผลตามธรรมชาติ (Mass, 1998)

สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* Eshenaur and Milholland (1989) ได้รายงานการศึกษาว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* และการทำให้เกิดโรคอยู่ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 26-32 °C แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อ

การเกิดโรค คือ 30 °C สำหรับการปลูกเชื้อที่ความเข้มข้นของสปอร์แขวนลอยที่ 10^7 conidia / ml ทำให้พืชแสดงอาการของโรคได้สูงที่สุด โดยจะเริ่มปรากฏอาการให้เห็นภายหลังจากการปลูกเชื้อราลงไปแล้ว 72 ชั่วโมง โดยจะปรากฏอาการของแผลบริเวณใบอ่อนและไหลได้ดีกว่าใบแก่

การป้องกันกำจัดการป้องกันและกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคของสตรอเบอรี่นั้น มีด้วยกันหลายวิธี ไม่ว่าจะเป็นการจัดการทางด้านเกษตร การนำต้นไหลสตรอเบอรี่พันธุ์ที่ต้านทานมาปลูก การใช้สารเคมีและการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มาใช้ในการป้องกันกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคของสตรอเบอรี่ แต่เกษตรกรส่วนใหญ่จะนิยมใช้สารเคมี เนื่องจากใช้ง่ายและหาได้ทั่วไปตามท้องตลาดผลกระทบจากการใช้สารเคมี

สตรอเบอรี่เป็นพืชที่มีศัตรูรบกวนมากจึงมีการใช้สารเคมีที่มีปริมาณมากและต่อเนื่องตลอดฤดูกาลปลูก ถึงแม้ว่าการใช้สารเคมีจะสามารถทำการควบคุมโรคได้ผลเป็นอย่างดี แต่การใช้สารเคมีอย่างต่อเนื่อง มีผลกระทบโดยตรงต่อสุขภาพของเกษตรกร และผลทางอ้อมคือ อาจทำให้เชื้อโรคและแมลงเกิดการต้านทานต่อสารเคมี เนื่องจากสตรอเบอรี่เป็นผลไม้ที่รับประทานสดอาจทำให้เกิดปัญหาสารพิษตกค้างที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค รวมไปถึงผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ปัจจุบันได้มีการวิจัยหาวิธีการอื่นๆ มาใช้ทดแทนวิธีการใช้สารเคมีมากขึ้น วิธีการหนึ่งที่นิยมและเป็นที่สนใจของนักวิจัยในปัจจุบันคือการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ในการควบคุมโรคพืชทางชีวภาพ

ความหมายของการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (Baker and Cook, 1974)

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี หมายถึง การลดปริมาณของเชื้อก่อโรค (inoculum) หรือลดกิจกรรมการเกิดโรคของเชื้อหรือปรสิตที่อยู่ในระยะที่มีปฏิกิริยา (active) หรือระยะพักตัว โดยการใช้สิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งหรือมากกว่าเข้ามาทำการป้องกันกำจัด เพื่อให้บรรลุผลสำเร็จโดยวิธีธรรมชาติ หรือโดยการจัดการสิ่งแวดล้อม สิ่งอาศัย จุลินทรีย์ต่อต้าน หรือการนำจุลินทรีย์ต่อต้าน (antagonist) ชนิดหนึ่งหรือมากกว่ามาใช้ในการควบคุมโรค

เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการป้องกันกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคพืชนั้นสามารถพบได้ทั่วไป เช่น จากดิน จากดินบริเวณ rhizosphere จากดินบริเวณ root tissue รวมทั้งจากในเนื้อเยื่อพืช (endophyte) และบนส่วนต่างๆ ของพืช ไม่ว่าจะเป็น เชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่บนกิ่ง ดอก ผล และใบของพืช ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่บนผิวใบพืชนี้จะมีอยู่มากมายหลายชนิดและสามารถที่จะนำมาใช้ในการเป็นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการป้องกันกำจัดเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ เชื้อจุลินทรีย์ที่พบมากบริเวณผิวใบพืชประกอบไปด้วย เชื้อรา แบคทีเรีย และยีสต์ เชื้อรา เช่น *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp., *Curvularia* sp., *Drechslera* sp., *Fusarium* sp. และ *Penicillium* sp. เป็นต้น แบคทีเรีย เช่น *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* และ Flavobacterium เป็นต้น สำหรับยีสต์ซึ่งเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่พบมากที่สุดบนผิวใบ ตัวอย่างยีสต์ที่พบ เช่น Aureobasidium, Rhodotorula, Saccharomyces และ Candida เป็นต้น (Blakeman, 1985)

ตารางที่ 1 จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีรายงานว่าใช้ในการควบคุมโรคพืชทางชีวภาพ (อ้างโดยยอดชาย, 2544)

Antagonist	Pathogen	Host	References
Actinomycetes			
Streptomyces sp.	*Macrophomina phaseolina*	Sunflower and Mungbean	Hussain และคณะ,1990
	Pythium debaryanum	Sugarbeet	Tahvonen, 1982
	P. splendens	Geranium	Bolton, 1978
	P. ultimum	Pepper	Turhan และ Turhan,1989
	Rhizoctonia solani	Pepper	Turhan และ Turhan,1989
Bacteria			
Arthobacter sp.	*P. debaryanum*	Tomato	Mitchell และ Hurwitz, 1965
Bacillus sp.	*P. ultimum*	Snapdragon	Broadbent และคณะ, 1971
	Sclerotium cepivorum	Onion	Utkhede และ Rahe, 1980, 1983
Erwinia herbicola	*P. ultimum*	Cotton	Nelson, 1988
Pseudomonas spp.	*Aphanomyces euteiches*	Pea	Parke และคณะ, 1991
	F. oxysporum f.sp. *dianthi*	Carnation	Van Peer และ Schippers, 1991
	P. aphanidermatum	Cucumber	Elad และ Chet, 1987
Fungi			
Chaetomium globosum	*P. debaryanum*	Squash	Harman และคณะ, 1978
Gliocladium virens	*P. ultimum*	Cotton	Howell, 1982, 1991
Penicillium oxalicum	*Pythium* spp.	Chickpea	Trapero-Casas และคณะ , 1990
Trichoderma hamatum	*Pythium* spp.	Pea, Radish	Harman และคณะ, 1980
T. harzianum	*Pythium* spp.	Cucumber	Taylor และคณะ, 1991
	Botrytis cinerea	Strawberry	Tronsmo และ Dennis, 1977
	Mucor mucedo	Strawberry	Tronsmo และ Dennis, 1977
T. koningii	*Pythium* spp.	Pea	Lifschitz และคณะ, 1986
T. pseudokoningii	*B. cinerea*	Strawberry	Tronsmo และ Dennis, 1977
T. viride	*P. ultimum*	Pea	Papavizas และ Lewis, 1983
	B. cinerea	Strawberry	Sutton และ Peng, 1993
Verticillium biquttatum	*R. solani*	Potato	Jarger และ Velvis,1985

ตัวอย่างการใช้ประโยชน์จากเชื้อบนผิวของพืชในการควบคุมโรคพืช

บนผิวหน้าของพืชจะมีสารต่างๆ ที่พืชปล่อยออกมาแล้วมีประโยชน์ต่อจุลินทรีย์ต่างๆ ทั้งพวกที่ทำให้เกิดโรคและที่ไม่ทำให้เกิดโรค จุลินทรีย์ที่เจริญอยู่บนผิวพืชจะมีการแก่งแย่งแข่งขันกันเจริญเข้าครอบครองพื้นที่อย่างรวดเร็ว สร้างสารต่างๆ เพื่อไล่หรือฆ่าเชื้ออื่น ซึ่งลักษณะดังกล่าวก็คือกิจกรรมอย่างหนึ่งของเชื้อปฏิปักษ์ที่สามารถคัดเลือกเอาจุลินทรีย์ดังกล่าวมาใช้ในการควบคุมโรคพืชได้

Bankole and Adebanjo (1996) ได้แยกเชื้อจากผิวของถั่วพุ่มที่ไม่เป็นโรคพบเชื้อรา *Trichoderma viridae* และเมื่อนำเมล็ดของถั่วพุ่มมาทดสอบจุ่มลงใน spore suspension ของ *Trichoderma viridae* ที่ความเข้มข้น 10^8 conidia/ml พบว่าสามารถลดการเข้าทำลายจากเชื้อรา *Colletotrichum trumcatum* เชื้อสาเหตุของโรค brown blotch และเมื่อปลูกเชื้อรา *Colletotrichum trumcatum* บนต้นถั่วพุ่มและพ่น spore suspension ของ *Trichoderma viridae* ลงไปพบว่าสามารถลดการเกิดโรคในแปลงปลูกได้

Vinas *et al.* (1997) ได้ทำการศึกษาเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญบนผิวของแอปเปิ้ลและแพร์เพื่อดูความเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Penicillium expansum* สาเหตุโรคราสีน้ำเงิน (blue mold) และเชื้อรา *Botrytis cinerea* สาเหตุโรคราสีเทา (gray mold) และเชื้อรา *Rhizopus nigrican* สาเหตุโรคเน่าไรโซพัส (Rhizopus rot) พบว่าเชื้อทั้งหมดที่แยกได้ 92 ไอโซเลท สามารถลดขนาดของแผลบนผลแอปเปิ้ลได้มากกว่า 50% ต่อมาได้คัดเลือกเอา 31 ไอโซเลท ที่แยกได้จากผลแอปเปิ้ลมาทำการทดสอบความเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *P. expansum* พบว่า ไอโซเลท CPA-1 ให้ผลดีที่สุด หลังจากทำการจำแนกชนิดพบว่าเป็นยีสต์ *Candida sate* จึงนำไปทดสอบต่อไปในสภาพแปลงปลูกโดยใช้เซลล์แขวนลอยของยีสต์ (yeast suspension) ที่ความเข้มข้น 2.6 x 10^6 cfu/ml แล้วทำการฉีดพ่นก่อนทำการปลูกเชื้อ (inoculate) สาเหตุโรค *B. cinerea* ที่ความเข้มข้น 10^6 cfu/ml และ *R. nigrican* ที่ความเข้มข้น 10^4 cfu/ml พบว่า ไม่ปรากฏอาการของโรค ความสามารถในการควบคุม *P. expansum* ได้อย่างสมบูรณ์เมื่อใช้ความเข้มข้นของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์แบบเดิมและใช้ pathogen inoculum ความเข้มข้น 10^3 cfu/ml

Motoo *et al.* (2001) ได้คัดแยกเชื้อราจำนวน 408 isolate จากผิวใบของข้าวสาลี พบเชื้อราที่ผิวใบจำนวน 10 isolate ที่สามารถยับยั้งโรคราแป้งของข้าวสาลีได้ เชื้อรากลุ่มนี้ได้ให้ชื่อว่า Kyu-W63 ซึ่งสร้างโคโลนีสีขาวโดยไม่สร้างสปอร์ เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA Kyu-W63 จะสร้างสารที่มีกลิ่นแรง ซึ่งสารที่เชื้อราสร้างขึ้นมานี้มีน้ำหนักโมเลกุล 164-166

Kawamata *et al.* (2003) ได้นำเชื้อราที่ผิวใบของข้าวมาใช้ในการควบคุมโรคใบไหม้ของข้าวที่เกิดจากเชื้อรา *Magnaporthe grisea* สามารถแยกเชื้อราได้ทั้งหมด 1,923 isolate จากข้าวที่อยู่ในแปลงที่ Ishigaki และ Iwama และจากกระถางที่ใช้ปลูกข้าวโดยมีไม้สนเป็นเหยื่อล่อพบว่า 82.9% ของเชื้อราที่ได้ไม่สามารถบอกชนิดของเชื้อราได้ และสำหรับเชื้อราที่สามารถบอกชนิดของ

เชื้อราได้ ส่วนมากเป็น Epicoccum ได้สุ่มเลือกมา 967 isolate เพื่อทดสอบความสามารถในการยับยั้งโรค ใบไหม้ของข้าวพบว่ามีเพียง 9 ไอโซเลทที่สามารถยับยั้งโรคได้ คือ MKP5111B, MKP5112, J2JMR3-2, K2J131-2, I5R3-1, NOP541, K1KM134-1, NOP5112 และ MKP33222 เมื่อใช้สารละลายแขวนลอยสปอร์หรือสารละลายแขวนลอยเส้นใยของเชื้อราที่ผิวใบและเชื้อรา สาเหตุโรค มาทำการปลูกเชื้อพร้อมๆ กัน ในต้นกล้าข้าวที่ปลูกไว้ใน growth chamber และพบว่ามีเพียง 5 ไอโซเลทที่สามารถยับยั้งการงอกของ conidia ของ *M. grisea* ได้ดี คือ MKP5111B, MKP5112, NOP541, NOP5112 และ MKP33222 ($\geq$0.7%) จากการทดสอบโดยวิธี dual culture กับเชื้อสาเหตุพบว่าทั้ง 5 isolate สามารถทำให้เกิด clear zone ขนาด 3-5 มิลลิเมตร คือสามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้ เมื่อทำการทดสอบในสภาพแปลงปลูกซึ่งทำ 3 กรรมวิธี พบว่า J2JMR3-2 สามารถลดอาการใบไหม้ของข้าว ได้ทั้งใน 3 กรรมวิธี และ MKP5111B, K1KM134-1 และ K2J131-2 สามารถลดอาการใบไหม้ของข้าว ได้ในกรรมวิธีที่ 2 ดีที่สุด

Perello *et al.* (2003) ได้แยกเชื้อจากผิวของเมล็ดข้าวสาลีพบเชื้อรา *Trichoderma* spp. isolate Th2, Th5, Th11, Th13, Th81,Tk1 และ Tk6 ซึ่งเมื่อนำมาใช้เป็นสารควบคุมโรคพบว่าสามารถลดความรุนแรงของโรค tan spot ของข้าวสาลีได้อย่างมีนัยสำคัญ

เชิดชาย (2547) ได้ทำการแยกเชื้อราผิวใบของพืชตระกูลผักกาด 5 ชนิด ได้แก่ กะหล่ำปลี ผักกาดขาว ผักกาดเขียวปลี บร็อคโคลี่ และคะน้า จากสถานที่เก็บ 4 แหล่ง ได้เชื้อราผิวใบทั้งหมด 212 isolate เพื่อนำมาศึกษาถึงประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Alternaria brassicicola* สาเหตุโรคใบจุดของคะน้า พบว่าสามารถแบ่งเชื้อราตามลักษณะการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ได้ 3 กลุ่ม คือ 1. สามารถเจริญคลุมเชื้อราสาเหตุโรค จำนวน 17 isolate 2. สามารถทำให้เกิด clear zone บนอาหาร PDA จำนวน 13 isolate และ 3. เชื้อราทั้งสองมีความสามารถในการเจริญมาชนกัน จำนวน 180 isolate และได้คัดเลือกเชื้อราในกลุ่ม 1 และ 2 มาศึกษาต่อ โดยพบว่าในกลุ่ม 1 เชื้อรา *Fusarium* sp. (isolate 011) และ Unknown (isolate 049) มีอัตราการเจริญที่ดีที่สุด 3 วันแรก เชื้อรา *Penicillium* sp. (isolate 075) และ *Curvularia* sp. (isolate 101) สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ *A. brassicicola* ได้ดีที่สุด และพบว่าเชื้อรา *Fusarium* sp. (isolate 170) และ *Penicillium* sp. (isolate 173) สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ของ *A. brassicicola* ได้ดีที่สุด และนำเชื้อราปฏิปักษ์ทั้ง 6 isolate มาทดสอบความสามารถในสภาพโรงเรือน พบว่า เชื้อราปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดก่อนการฉีดพ่นเชื้อราสาเหตุ คือ Unknown (isolate 049) สามารถป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุได้มากกว่าชุดควบคุม และเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดหลังจากที่มีการฉีดพ่นเชื้อราสาเหตุ คือ *Fusarium* sp. (isolate 170) และ *Curvularia* sp. (isolate 101) สามารถลดการเกิดแผลที่ใบได้มากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

สำหรับการควบคุมโรคที่สำคัญของสตรอเบอรี่นั้นได้มีรายงานว่ามีการใช้เชื้อราปฏิปักษ์มาใช้ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคดังนี้

Freeman *et al.* (2004) ได้ศึกษาถึงการใช้ *Trichoderma* sp.ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของสตรอเบอรี่ในสภาพโรงเรือน โดยเลือก *Trichoderma* sp. 3 ไอโซเลท คือ T-39, T-161 และ T-166 ในการใช้ จะใช้ในช่วงเวลาและอัตราที่แตกต่างกัน มาทำการควบคุมโรคแอนแทรคโนสที่เกิดกับสตรอเบอรี่ โดยเลือกใช้เชื้อครั้งละ 1 ไอโซเลท คือ T-39, T-161, T-166 ครั้งละ 2 ไอโซเลท คือ T-39+T-161, T-39+T-166, T-161+T-166 และใช้ทั้ง 3 ไอโซเลทมาผสมกัน คือ T-39+T-161+T-166 ในอัตราความเข้มข้นที่ 0.4 และ 0.8 % ในช่วงระยะเวลา 7 วัน พบว่าสามารถลดอาการของโรคแอนแทรคโนสได้แตกต่างกัน ในความเข้มข้นที่สูงที่สุดคือ 0.8 % ของทุกกรรมวิธีสามารถควบคุมอาการของโรคแอนแทรคโนสได้ดีที่สุด และที่ความเข้มข้น 0.4 % ของกรรมวิธีที่ใช้ T-39 ไอโซเลทเดียว สามารถควบคุมอาการของโรคแอนแทรคโนสได้ดีที่ช่วงระยะเวลา 2 วัน และในกรรมวิธีที่ใช้ T-166 หรือ T-161 ผสมกับ T-39 ที่ความเข้มข้น 0.4 % สามารถลดอาการของโรคแอนแทรคโนสได้เหมือนกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา fenhexamide

กาญจนา (2539) ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. 12 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. และ *Fusarium* sp. สาเหตุโรคเหี่ยวของสตรอเบอรี่ พบว่า *T. viridae* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. ได้สูงสุดโดยทำให้เส้นใยของเชื้อราเหี่ยวแฟบลง และสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* sp. ได้โดยเข้าไปเจริญในเส้นใยของเชื้อรา *Fusarium* sp.

ผลงานวิจัยที่คาดว่าจะได้รับ

จะได้เชื้อผิวใบที่มีประโยชน์ที่สามารถควบคุมโรคใบจุดที่สำคัญของสตรอเบอรี่ได้เช่น โรคโรคแอนแทรคโนส และ โรคใบไหม้โฟมอพซิส ซึ่งจะนำมาซึ่งการลดการใช้สารเคมีในแปลงเกษตรกร โดยเฉพาะในช่วงก่อนการเก็บเกี่ยว ซึ่งเกษตรกรมีการใช้สารเคมีในปริมาณมาก ซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ต่อผู้ผลิต และสภาพแวดล้อม อย่างไรก็ตามการที่นำเชื้อมาใช้ในการควบคุมโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพจะต้องมีการพัฒนา เพื่อให้สามารถนำรูปแบบที่เหมาะสมที่เกษตรสามารถนำมาใช้ได้จริง

กรรมวิธีการวิจัย

1. การแยกเชื้อราสาเหตุของโรค

ศึกษาลักษณะอาการของแผลจากตัวอย่างที่เก็บมาจาก ตำบลบ่อแก้ว อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่ และบันทึกผลจากลักษณะอาการ ทำการแยกเชื้อโดยตรงจากส่วนที่เป็นโรคแอนแทรคโนสและใบไหม้โฟมอฟซิส โดยการตัดชิ้นส่วนของสตรอเบอรี่บริเวณรอยต่อระหว่างเนื้อเยื่อที่เป็นโรคและเนื้อเยื่อปกติขนาด 3x3 มิลลิเมตร ฆ่าเชื้อด้วย 1% sodium hyprochloride นาน 3-5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ทิ้งให้แห้ง นำมาวางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25-28°C) เมื่อเชื้อเจริญจึงตัดปลายเส้นใยไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์

2. การแยกเชื้อราปฏิปักษ์จากใบสตรอเบอรี่

นำใบสตรอเบอรี่ที่เป็นใบปกติแข็งแรงและสมบูรณ์ ไม่มีรอยการเข้าทำลายโดยศัตรูพืชจากอำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่ และแปลงพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ มาแช่ในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อเป็นเวลา 1 นาที เพื่อให้สปอร์และเส้นใยของเชื้อราชนิดต่างๆ ที่อยู่บนใบสตรอเบอรี่ตกลงในน้ำกลั่นที่แช่ เพื่อใช้เป็น spore suspension นำ spore suspension ที่ได้มา spread plate บนอาหาร PDA ที่ผสมกับ rose bengal เพื่อป้องกันแบคทีเรีย แล้วนำจานอาหารไปบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน เพื่อให้เชื้อราสร้างสปอร์และเส้นใย เก็บเชื้อราทุกตัวที่เจริญลงบนอาหาร PDA อีกครั้ง แล้วเก็บไว้ทดสอบในขั้นตอนต่อไป

3. การทดสอบคุณสมบัติการเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อรา *Colletotrichum* sp. และ *Phomopsis obscurans* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสและใบไหม้โฟมอฟซิสของสตรอเบอรี่

นำเชื้อราปฏิปักษ์ที่แยกได้จากงานทดลองที่ 2 มาทำการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส และเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้โฟมอพซิสของสตรอเบอรี่ โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เจาะบริเวณรอบนอกโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคทั้งสอง และของเชื้อราปฏิปักษ์ที่แยกได้ แล้วย้ายไปวางบนอาหาร PDA ที่อยู่ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยใช้มีระยะห่างกันประมาณ 4 เซนติเมตร แล้วนำจานอาหารดังกล่าวไปบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อราที่อยู่ในจานอาหารเป็นระยะเวลา 14 วัน แล้วทำการจัดแบ่งกลุ่มของเชื้อราที่แยกได้ตามปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นกับเชื้อราสาเหตุโรคทั้งสอง(ภาพที่ 1)

ภาพ 1 การทดสอบวิธี dual culture technique (biculture technique)
P = เชื้อราสาเหตุโรค, A = เชื้อราปฏิปักษ์

4. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ที่แยกได้จากผิวใบสตรอเบอรี่กับเชื้อ *Colletotrichum* sp. และ *Phomopsis obscurans* ในห้องปฏิบัติการ

คัดเลือกเชื้อราที่ได้ทดสอบคุณสมบัติการเป็นปฏิปักษ์ที่มีคุณสมบัติดีที่สุดมา 2 กลุ่ม คือ เชื้อรากลุ่มที่ทำให้เกิด clear zone กับ *Colletotrichum* sp. และ *Phomopsis obscurans* และเชื้อรากลุ่มที่สามารถเจริญปกคลุมโคโลนีของ *Colletotrichum* sp. และ *Phomopsis obscurans* มาศึกษาต่อดังนี้

4.1 ศึกษาผลกระทบของสาร antibiotic หรือ toxin ใน culture filtrate ของเชื้อราปฏิปักษ์ต่อการงอกและสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. และ *Phomopsis obscurans*

4.1.1 ทดสอบประสิทธิภาพการงอกของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. และ *Phomopsis obscurans* ใน culture filtrate ของเชื้อราปฏิปักษ์ โดยนำเชื้อราปฏิปักษ์ที่เกิดปฏิกิริยา clear zone กับเชื้อรา *Colletotrichum* sp. และ *Phomopsis obscurans* มาเลี้ยงในอาหารเหลว (potato dextrose

broth : PDB) เป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นกรองเอาเส้นใยและสปอร์ของเชื้อราปฏิปักษ์ออกโดยใช้กระดาษกรอง (Whatman No. 1) นับจำนวนสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคด้วย haemacytometer ใช้สปอร์ที่ความเข้มข้น 10^6 สปอร์/มิลลิลิตรปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองที่มี culture filtrate ปริมาตร 5 มิลลิลิตร โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ย เป็นเวลาทุกๆ 1, 3, 5 และ 7 วัน

4.1.2 ทดสอบประสิทธิภาพการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. และ *Phomopsis obscurans* ใน culture filtrate ของเชื้อราปฏิปักษ์ โดยนำเชื้อราปฏิปักษ์ที่เกิดปฏิกิริยา clear zone กับเชื้อรา *Colletotrichum* sp. และ *Phomopsis obscurans* มาเลี้ยงในอาหารเหลว (potato dextrose broth : PDB) เป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นกรองเอาเส้นใยและสปอร์ของเชื้อราปฏิปักษ์ออกโดยใช้กระดาษกรอง (Whatman No. 1) นับจำนวนสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคด้วย haemacytometer ใช้สปอร์ที่ความเข้มข้น 10^6 สปอร์/มิลลิลิตรปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองที่มี culture filtrate ปริมาตร 5 มิลลิลิตร โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ย เป็นเวลาทุกๆ 1, 3, 5 และ 7 วัน เพื่อคัดเลือกเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถยับยั้งการงอกและสร้างสปอร์ได้ดีที่สุด เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใส่เฉพาะ spore suspension ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. และ *Phomopsis obscurans* ในอาหารเหลว (PDB)

4.2 ศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อของเชื้อราปฏิปักษ์เจริญคลุมโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. และ *Phomopsis obscurans*

นำเชื้อราปฏิปักษ์ที่แสดงปฏิกิริยาเจริญคลุมโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. และ *Phomopsis obscurans* มาเลี้ยงบนอาหาร PDA วัดอัตราการเจริญเติบโต โดยทำการวัดขนาดโคโลนีของเชื้อราทุกๆ 1, 3, 5, 7, 9 และ 14 วัน เพื่อคัดเลือกเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการเจริญเติบโตดีที่สุด

5. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ที่แยกได้จากผิวใบพืชกับเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสในสภาพโรงเรือน

5.1 ทดสอบประสิทธิภาพโดยทำการฉีดพ่น spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ บนใบสตรอเบอรี่ก่อนทำการฉีดพ่น spore suspension ของ *Colletotrichum* sp. เตรียม spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ โดยใช้เชื้อราปฏิปักษ์ที่มีอายุ 14 วันจำนวน 1 plate/น้ำ 50 มิลลิลิตร ฉีดพ่นบนใบสตรอเบอรี่ที่มีอายุ ประมาณ 60 วัน จากนั้นจึงฉีดพ่นด้วย spore suspension ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ความเข้มข้น 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตรตามลงไปหลังจากมีการฉีดพ่น spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ แล้วเป็นเวลา 3, 5 และ 7 วัน ทำการบันทึกผลทุกๆ 7,

10 และ 14 วัน โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ฉีดพ่นเฉพาะเชื้อราปฏิปักษ์และ *Colletotrichum* sp. เพียงอย่างเดียว

5.2 ทดสอบประสิทธิภาพโดยทำการฉีดพ่น spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ บนใบสตรอเบอรี่หลังทำการฉีดพ่น spore suspension ของ *Colletotrichum* sp. เตรียม spore suspension ของ *Colletotrichum* sp. ที่ความเข้มข้น 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร ฉีดพ่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร บนใบสตรอเบอรี่ที่มีอายุ ประมาณ 60 วัน จากนั้นจึงฉีดพ่นด้วย spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตรตามลงไปหลังจากมีการฉีดพ่น spore suspension ของ *Colletotrichum* sp. แล้วเป็นเวลา 3, 5 และ 7 วัน ทำการบันทึกผลทุกๆ 7, 10 และ 14 วัน โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ฉีดพ่นเฉพาะเชื้อราปฏิปักษ์และ *Colletotrichum* sp. เพียงอย่างเดียว

5.3 บันทึกผลและประเมินผล

ประเมินความเสียหายที่เกิดจากโรค โดยแบ่งออกเป็น 2 ค่า คือ

1. การหาปริมาณของโรค (disease intensity) โดยการนับจำนวนใบที่เป็นโรคต่อต้นแล้วนำมาคำนวนเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคจากจำนวนใบทั้งหมดในแต่ละกรรมวิธี
2. ประเมินพื้นที่ใบที่ถูกเชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลายต่อต้น คิดเป็นเปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย โดยแบ่งใบพืชออกเป็น 10 ส่วน โดยแต่ละส่วนมีระดับการเข้าทำลายเป็น 10 เปอร์เซ็นต์ (สืบศักดิ์, 2540)
3. ทำการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม SXW (Statistic for Windows)

ผลการทดลอง

1. การแยกเชื้อราสาเหตุของโรค

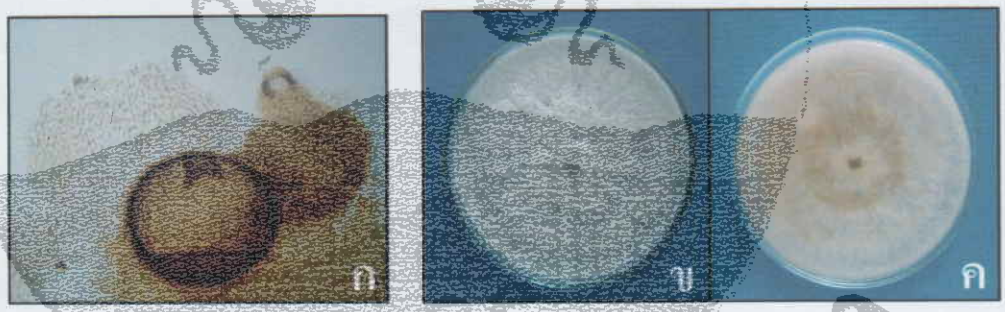
จากการเก็บตัวอย่างใบของสตรอเบอรี่ที่แสดงลักษณะอาการของโรคแอนแทรคโนสมาศึกษา พบว่าใบของสตรอเบอรี่ที่เก็บมามีลักษณะเป็นจุดสีดำเข้ม แผลมีรูปร่างไม่แน่นอน (ภาพ 2, ก) เมื่อนำมาทำการ moist chamber ไว้จะพบลักษณะกลุ่มของสปอร์เกิดขึ้น (mass) มีลักษณะเป็นสีส้ม (ภาพ 2, ข) เมื่อทำการเขี่ยตรงบริเวณกลุ่มของสปอร์มาส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าลักษณะของสปอร์จะเป็นสีใส สะท้อนแสง มีรูปร่างเป็นแท่ง หัว-ท้ายของสปอร์ค่อนข้างแหลม (ภาพ 3, ก) และเมื่อนำชิ้นส่วนของพืชที่เป็นโรคมาเลี้ยงในอาหาร PDA พบลักษณะของโคโลนีที่เจริญอยู่บนอาหารเลี้ยงเชื้อมีลักษณะของเส้นใยเป็นสีขาวออกชมพู ลักษณะสีเมื่อดูที่ด้านใต้จานอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่ามีสีส้มอ่อนๆ (ภาพ 3, กข) เมื่อเขี่ยเส้นใยสีขาวออกมาดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบลักษณะของสปอร์ที่ใสไม่มีสี มีรูปร่างเป็นแท่ง หัว-ท้าย ค่อนข้างแหลม สปอร์มีลักษณะเดียวกันกับที่เขี่ยมาจากกลุ่มของสปอร์สีส้ม (ภาพ 3, ก)

ภาพ 2 ใบสตรอเบอรี่ที่แสดงอาการของโรคแอนแทรคโนส ก : ลักษณะใบสตรอเบอรี่ที่แสดงอาการของโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* sp. (ศรชี้)
ข : ลักษณะกลุ่มสปอร์ (mass) ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. (ศรชี้) (40 x)

ภาพ 3 ลักษณะโคโลนีและสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส ก : แสดงลักษณะสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. (40 x) ข : ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. บนอาหาร PDA ด้านหน้าและ ค: ด้านหลังจานอาหาร PDA

และจากการเก็บตัวอย่างใบของสตรอเบอรี่ที่แสดงอาการของโรคใบไหม้โฟมอพซีส มาศึกษาดู พบว่าลักษณะอาการของโรคในระยะแรกมีลักษณะเป็นจุดกลมสีม่วงแดง เมื่อแผลขยายใหญ่ขึ้นจะพบว่าขอบแผลเป็นสีแดงหรือสีเหลือง กลางแผลเป็นสีน้ำตาลและพบโครงสร้าง pycnidia สีดำ เป็นจำนวนมาก เมื่อแผลมีอายุมากขึ้นพบว่าแผลมีลักษณะเป็นรูปตัววี (V-shaped) (ภาพ 4) เมื่อทำการตรวจดูเชื้อราสาเหตุโรคด้วยวิธี free hand section แล้วนำไปตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบโครงสร้าง pycnidia ฝังอยู่ในเนื้อเยื่อของพืชบริเวณแผล พบสปอร์ลักษณะเซลล์เดี่ยว ไม่มีสี (ภาพ 5, ก) เมื่อทำการแยกเชื้อราสาเหตุโรคจากส่วนที่เป็นแผล นำมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อพบเส้นใยสีขาวเจริญออกมาจากชิ้นพืช แยกเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี hyphal tip isolation พบว่าลักษณะของโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ มีลักษณะเส้นใยเป็นสีขาวและต่อมาเส้นใยมีสีเปลี่ยนเป็นสีครีม พบโครงสร้าง pycnidia สีดำปรากฏบนอาหาร มีรูปร่างและขนาดไม่แน่นอน (ภาพ 5, กข)

ภาพ 4 ลักษณะใบสตรอเบอรี่ที่แสดงอาการของโรคใบไหม้ไฟมอพซิสที่เกิดจากเชื้อรา *Phomopsis obscurans* (ศรชี้)



ภาพ 5 ลักษณะโคโลนีและลักษณะโครงสร้าง pycnidia ของเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้ไฟมอพซิส

ก : แสดงโครงสร้าง pycnidia ของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* กำลังขยาย 40 เท่า

ข : แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* บนอาหาร PDA ด้านหน้าและ

ค : ด้านหลังจานอาหาร PDA

2. การแยกเชื้อราปฏิปักษ์จากใบสตรอเบอรี่

จากการแยกเชื้อราจากผิวใบของสตรอเบอรี่ที่ปกติแข็งแรงสมบูรณ์และไม่มีร่องรอยการเข้าทำลายโดยโรคและแมลง พบว่าสามารถแยกได้เชื้อราทั้งหมด 236 ไอโซเลท ได้แก่ เชื้อรา *Aspergillus* sp. 14 ไอโซเลท *Cladosporium* sp. 48 ไอโซเลท *Corynespora* sp. 1 ไอโซเลท *Curvularia* sp. 17 ไอโซเลท *Diplocarpon* sp. 1 ไอโซเลท *Fusarium* sp. 12 ไอโซเลท *Mucor* sp. 2 ไอโซเลท *Penicillium* sp. 36 ไอโซเลท *Pleospora* sp. 1 ไอโซเลท *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท และ Unknown 103 ไอโซเลท ดังตาราง 2.

ตาราง 2 ชนิดและจำนวนของเชื้อราที่แยกได้จากผิวใบสตรอเบอรี่ที่ไม่แสดงอาการ

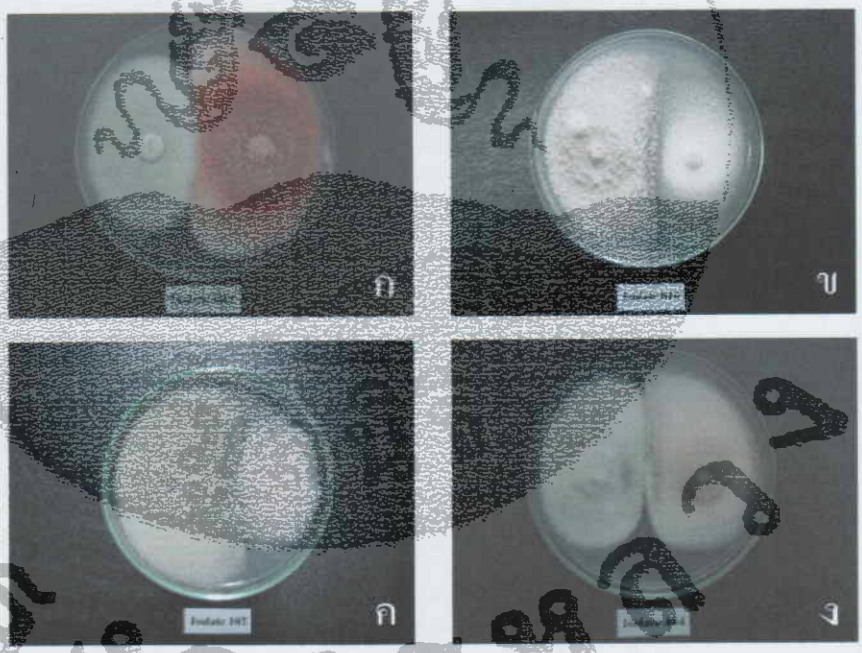
ชนิดเชื้อรา	จำนวน (ไอโซเลท)
Aspergillus sp.	14
Cladosporium sp.	48
Corynespora sp.	1
Curvularia sp.	17
Diplocarpon sp.	1
Fusarium sp.	12
Mucor sp.	2
Penicillium sp.	36
Pleospora sp.	1
Trichoderma sp.	1
Unknown	103
$\overline{x}$ ± S.D.	21.45 ± 11.62

3. การทดสอบคุณสมบัติการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อราที่แยกได้กับเชื้อรา *Colletotrichum* sp. และ *Phomopsis obscurans* สาเหตุของโรคใบจุดของสตรอเบอรี่

เมื่อนำเชื้อราจากผิวใบที่แยกได้มาทดสอบการเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อรา *Colletotrichum* sp. และ *Phomopsis obscurans* สาเหตุโรคใบจุดและใบไหม้ของสตรอเบอรี่ด้วยวิธี dual culture technique พบปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นมี 4 แบบด้วยกันคือ

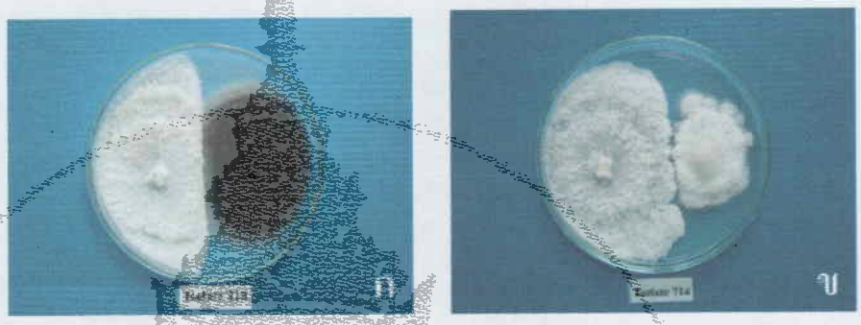
1. กลุ่มเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการเจริญแข่งขันกับเชื้อรา *Colletotrichum* sp. และ *Phomopsis obscurans*

- เชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการเจริญแข่งขันกับ *Colletotrichum* sp. พบทั้งหมด 45 ไอโซเลท



ภาพ 6 เชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ ที่มีความสามารถในการเจริญแข่งขันกับเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ก : Unknown ไอโซเลท 005 ข : Unknown ไอโซเลท 016 ค : *Fusarium* sp. ไอโซเลท 102 ง : Unknown ไอโซเลท 404 (ด้านซ้าย = โคโลนีของเชื้อราสาเหตุ, ด้านขวา = โคโลนีของเชื้อราปฏิปักษ์)

- เชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการเจริญแข่งขันกับ *Phomopsis obscurans* พบทั้งหมด 50 ไอโซเลท



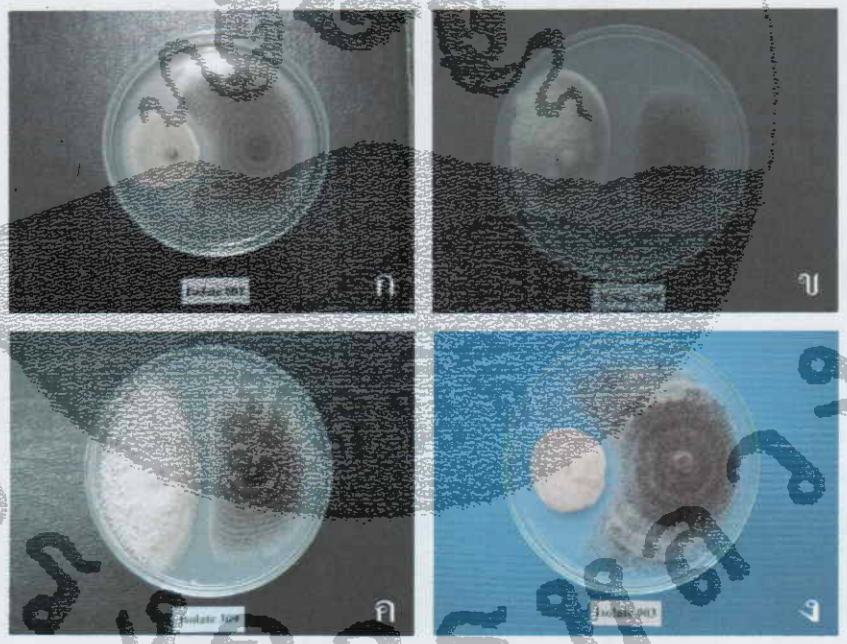
ภาพ 7 เชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการเจริญแข่งขันกับเชื้อรา *Phomopsis obscurans*
ก : *Aspergillus* sp. ไอโซเลท 218 ข : Unknown ไอโซเลท 714
(ด้านซ้าย = โคโลนีของเชื้อราสาเหตุ, ด้านขวา = โคโลนีของเชื้อราปฏิปักษ์)

2. กลุ่มเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะออกมายับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. และ *Phomopsis obscurans*

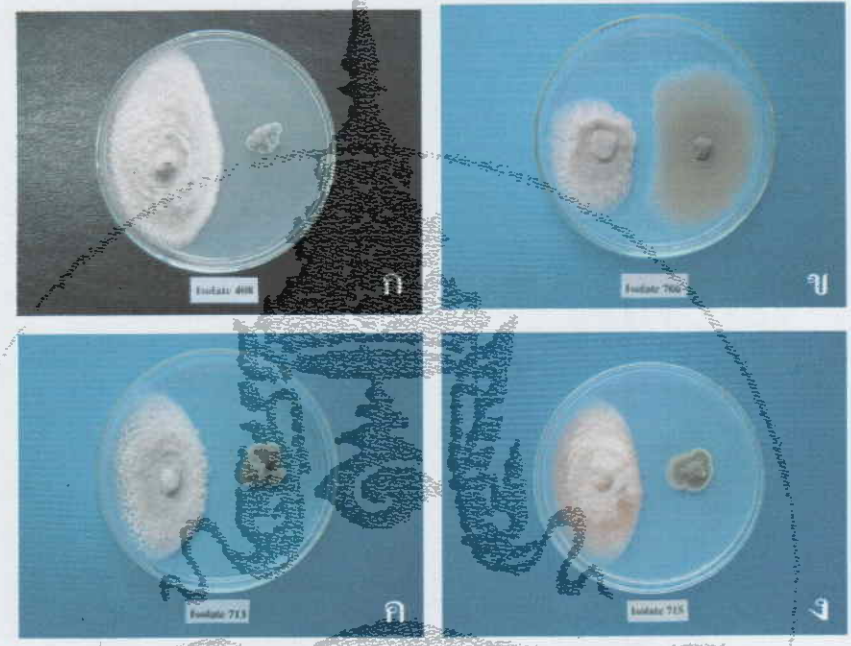
- เชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะออกมายับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. พบทั้งหมด 19 ไอโซเลท ได้แก่ *Aspergillus* sp. 4 ไอโซเลท คือ 003, 109, 309, 903 *Penicillium* sp. 10 ไอโซเลท คือ 408, 421, 510, 701, 702, 706, 710, 712, 713, 715 และ Unknown 5 ไอโซเลท คือ 107, 302, 406, 618, 714 (ตาราง 3) (ภาพ 8-10)

ตาราง 3 ชนิดของเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. พบทั้งหมด 19 ไอโซเลท

เชื้อรา	ไอโซเลท No.	จำนวน (ไอโซเลท)
Aspergillus sp.	003, 109, 309, 903	4
Penicillium sp.	408, 421, 510, 701, 702, 706, 710, 712, 713, 715	10
Unknown	107, 302, 406, 618, 714	5
รวม	19	19

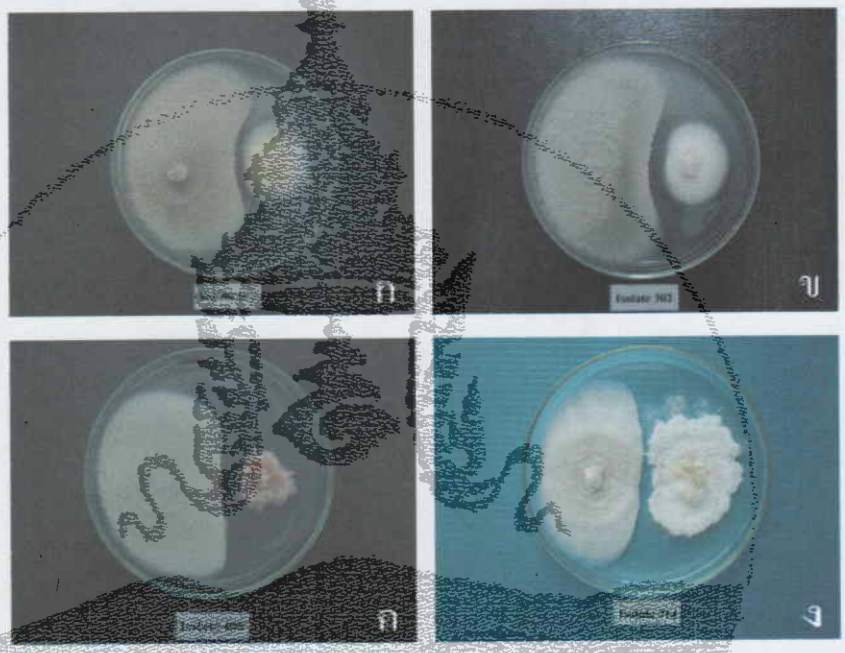


ภาพ 8 เชื้อรา *Aspergillus* sp. ไอโซเลทต่างๆ ที่มีความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ก : *Aspergillus* sp. ไอโซเลท 003
ข : *Aspergillus* sp. ไอโซเลท 109 ค : *Aspergillus* sp. ไอโซเลท 309
ง : *Aspergillus* sp. ไอโซเลท 903
(ด้านซ้าย = โคโลนีของเชื้อราสาเหตุ, ด้านขวา = โคโลนีของเชื้อราปฏิปักษ์)



ภาพ 9 เชื้อรา *Penicillium* sp. ไอโซเลทต่างๆ ที่มีความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ก : *Penicillium* sp. ไอโซเลท 408 ข : *Penicillium* sp. ไอโซเลท 706 ค : *Penicillium* sp. ไอโซเลท 713 ง : *Penicillium* sp. ไอโซเลท 715 (ด้านซ้าย = โคโลนีของเชื้อราสาเหตุ, ด้านขวา = โคโลนีของเชื้อราปฏิปักษ์)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



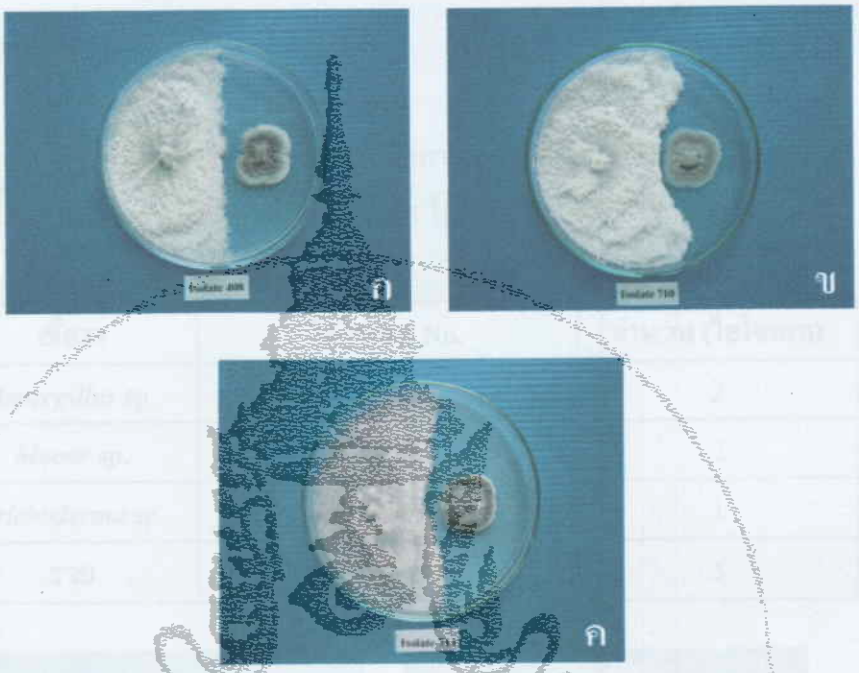
ภาพ 10 เชื้อรา Unknown ไอโซเลทต่างๆ ที่มีความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ก : Unknown ไอโซเลท 107 ข : Unknown ไอโซเลท 302 ค : Unknown ไอโซเลท 406 ง : Unknown ไอโซเลท 714 (ด้านซ้าย = โคโลนีของเชื้อราสาเหตุ, ด้านขวา = โคโลนีของเชื้อราปฏิปักษ์)

- เชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะออกมายับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* พบทั้งหมด 10 ไอโซเลท ได้แก่ *Aspergillus* sp. 3 ไอโซเลท คือ 003, 109, 309 *Penicillium* sp. 7 ไอโซเลท คือ 408, 701, 702, 710, 712, 713, 715 (ตาราง 4.) (ภาพ 11-12)

ตาราง 4 ชนิดของเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* พบทั้งหมด 10 ไอโซเลท

เชื้อรา	ไอโซเลท No.	จำนวน (ไอโซเลท)
Aspergillus sp.	003, 109, 309	3
Penicillium sp.	408, 701, 702, 710, 712, 713, 715	7
รวม	10	10

ภาพ 11 เชื้อรา *Aspergillus* sp. ไอโซเลท 003 ที่มีความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phomopsis obscurans*
(ด้านซ้าย = โคโลนีของเชื้อราสาเหตุ, ด้านขวา = โคโลนีของเชื้อราปฏิปักษ์)



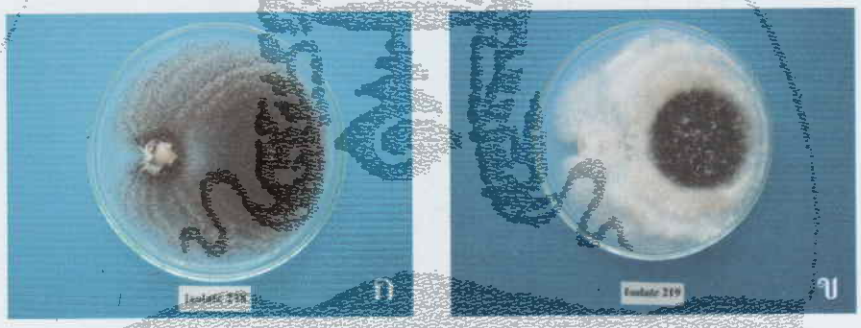
ภาพ 12 เชื้อรา *Penicillium* sp. ไอโซเลทต่างๆ ที่มีความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* ก : *Penicillium* sp. ไอโซเลท 408 ข : *Penicillium* sp. ไอโซเลท 710 ค : *Penicillium* sp. ไอโซเลท 713 (ด้านซ้าย = โคโลนีของเชื้อราสาเหตุ, ด้านขวา = โคโลนีของเชื้อราปฏิปักษ์)

3. กลุ่มเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการเจริญได้ดีกว่าและเจริญปกคลุมโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. และ *Phomopsis obscurans*

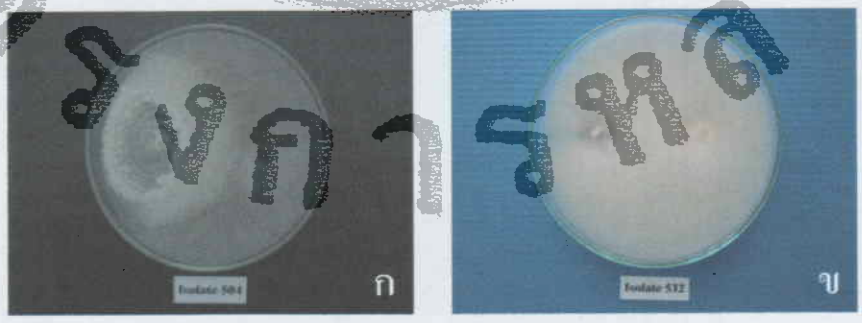
- เชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการเจริญได้ดีกว่าและเจริญปกคลุมโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. พบทั้งหมด 5 ไอโซเลท ได้แก่ *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท คือ 218, 219 *Mucor* sp. 2 ไอโซเลท คือ 504, 532 *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท คือ 923 (ตาราง 5) (ภาพ 13-15)

ตาราง 5 ชนิดของเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการเจริญได้ดีกว่าและเจริญปกคลุมโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. พบทั้งหมด 5 ไอโซเลท

เชื้อรา	ไอโซเลท No.	จำนวน (ไอโซเลท)
Aspergillus sp.	218, 219	2
Mucor sp.	504, 532	2
Trichoderma sp.	923	1
รวม	5	5



ภาพ 13 เชื้อรา *Aspergillus* sp. ไอโซเลทต่างๆ ที่มีความสามารถในการเจริญได้ดีกว่าและเจริญปกคลุมเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ก : *Aspergillus* sp. ไอโซเลท 218 ข : *Aspergillus* sp. ไอโซเลท 219
(ด้านซ้าย = โคโลนีของเชื้อราสาเหตุ, ด้านขวา = โคโลนีของเชื้อราปฏิปักษ์)



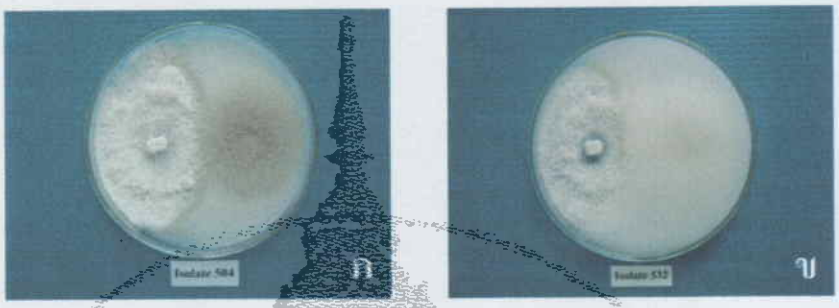
ภาพ 14 เชื้อรา *Mucor* sp. ไอโซเลทต่างๆ ที่มีความสามารถในการเจริญได้ดีกว่าและเจริญปกคลุมเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ก : *Mucor* sp. ไอโซเลท 504 ข : *Mucor* sp. ไอโซเลท532
(ด้านซ้าย = โคโลนีของเชื้อราสาเหตุ, ด้านขวา = โคโลนีของเชื้อราปฏิปักษ์)

ภาพ 15 เชื้อ *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 923 ที่มีความสามารถในการเจริญได้ดีกว่าและเจริญปกคลุมเชื้อรา *Colletotrichum* sp.
(ด้านซ้าย = โคโลนีของเชื้อราสาเหตุ, ด้านขวา = โคโลนีของเชื้อราปฏิปักษ์)

- เชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการเจริญได้ดีกว่าและเจริญปกคลุมเชื้อรา *Phomopsis obscurans* พบทั้งหมด 3 ไอโซเลท ได้แก่ *Mucor* sp. 2 ไอโซเลท คือ 504, 532 *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท คือ 923 (ตาราง 6) (ภาพ 16-17)

ตาราง 6. ชนิดของเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการเจริญได้ดีกว่าและเจริญปกคลุมโคโลนีของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* พบทั้งหมด 3 ไอโซเลท

เชื้อรา	ไอโซเลท No.	จำนวน (ไอโซเลท)
Mucor sp.	504, 532	2
Trichoderma sp.	923	1
รวม	3	3

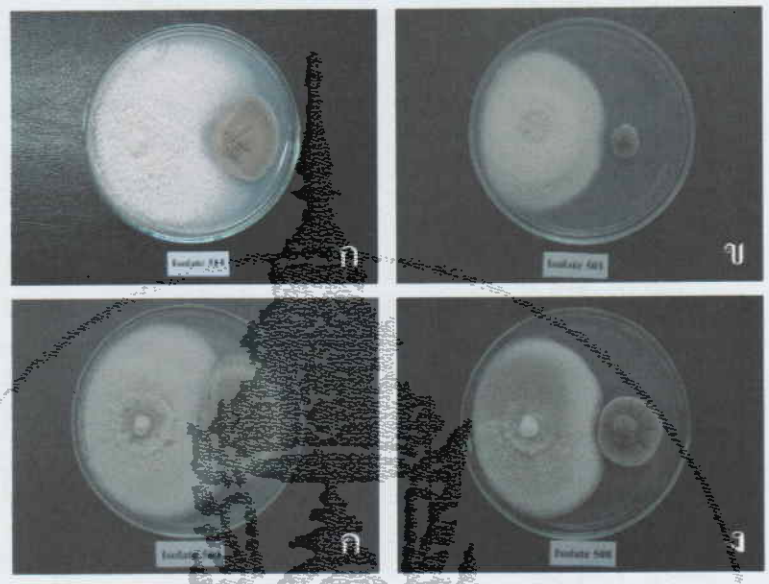


ภาพ 16 เชื้อ *Mucor* sp. ไอโซเลทต่างๆ ที่มีความสามารถในการเจริญได้ดีกว่าและเจริญปกคลุมเชื้อรา *Phomopsis obscurans* ก : *Mucor* sp. ไอโซเลท 504 ข : *Mucor* sp. ไอโซเลท 532 (ด้านซ้าย = โคโลนีของเชื้อราสาเหตุ, ด้านขวา = โคโลนีของเชื้อราปฏิปักษ์)

ภาพ 17 เชื้อ *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 923 ที่มีความสามารถในการเจริญได้ดีกว่าและเจริญปกคลุมเชื้อรา *Phomopsis obscurans*
(ด้านซ้าย = โคโลนีของเชื้อราสาเหตุ, ด้านขวา = โคโลนีของเชื้อราปฏิปักษ์)

4. กลุ่มเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีการเจริญเติบโตได้ช้ากว่าเชื้อรา *Colletotrichum* sp. และ *Phomopsis obscurans*

   - เชื้อราปฏิปักษ์ที่มีการเจริญเติบโตได้ช้ากว่าเชื้อรา *Colletotrichum* sp. พบทั้งหมด 167 ไอโซเลท



ภาพ 18 เชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ ที่มีการเจริญเติบโตได้ช้ากว่าเชื้อรา *Colletotrichum* sp.

ก : Unknown ไอโซเลท 313 ข : *Cladosporium* sp. ไอโซเลท 501

ค : Unknown ไอโซเลท 503 ง : *Penicillium* sp. ไอโซเลท 508

(ด้านซ้าย = โคโลนีของเชื้อราสาเหตุ, ด้านขวา = โคโลนีของเชื้อราปฏิปักษ์)

- เชื้อราปฏิปักษ์ที่มีการเจริญเติบโตได้ช้ากว่าเชื้อรา *Phomopsis obscurans* พบทั้งหมด 173 ไอโซเลท

ภาพ 19 เชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ ที่มีการเจริญเติบโตได้ช้ากว่าเชื้อรา *Phomopsis obscurans*

ก : *Penicillium* sp. ไอโซเลท 421 ข : *Penicillium* sp. ไอโซเลท 510

(ด้านซ้าย = โคโลนีของเชื้อราสาเหตุ, ด้านขวา = โคโลนีของเชื้อราปฏิปักษ์)

4. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ที่แยกได้จากผิวใบสตรอเบอรี่กับเชื้อ *Colletotrichum* sp. และ *Phomopsis obscurans* ในห้องปฏิบัติการ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ ได้คัดเลือกเชื้อราปฏิปักษ์สองกลุ่ม คือ กลุ่มที่ 2 ที่สร้างสารปฏิชีวนะและกลุ่มที่ 3 ที่เจริญปกคลุมโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. และ *Phomopsis obscurans*

กลุ่มของเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum* sp. ได้แก่ เชื้อ *Aspergillus* sp. จำนวน 4 ไอโซเลท คือ 003, 109, 309 และ 903 , *Penicillium* sp. จำนวน 10 ไอโซเลท คือ 408, 421, 510, 701, 702, 706, 710, 712, 713 และ 715 และ Unknown จำนวน 5 ไอโซเลท คือ 107, 302, 406, 618 และ 714 และสำหรับกลุ่มของเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะออกมายับยั้งการเจริญของเชื้อ *Phomopsis obscurans* ได้แก่ เชื้อรา *Aspergillus* sp. จำนวน 3 ไอโซเลท คือ 003, 109 และ 309 และเชื้อ *Penicillium* sp. จำนวน 7 ไอโซเลท คือ 408, 701, 702, 710, 712, 713 และ 715

กลุ่มของเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการเจริญปกคลุมโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. และ *Phomopsis obscurans* กลุ่มของเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการเจริญปกคลุมโคโลนีของเชื้อ *Colletotrichum* sp. ได้แก่ เชื้อ *Aspergillus* sp. จำนวน 2 ไอโซเลท คือ 219 และ 913, *Mucor* sp. จำนวน 2 ไอโซเลท คือ 504 และ 532 และ *Trichoderma* sp. จำนวน 1 ไอโซเลท คือ 923 สำหรับกลุ่มของเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการเจริญปกคลุมโคโลนีของเชื้อ *Phomopsis obscurans* ได้แก่ เชื้อ *Mucor* sp. จำนวน 2 ไอโซเลท คือ 504 และ 532 และเชื้อ *Trichoderma* sp. จำนวน 1 ไอโซเลท คือ 923 โดยทำการทดสอบประสิทธิภาพของสาร antibiotic หรือ toxin ของเชื้อราปฏิปักษ์ในกลุ่ม 2 ต่อการงอกและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. และ *Phomopsis obscurans* และทำการศึกษาถึงอัตราการเจริญของเชื้อราปฏิปักษ์ในกลุ่ม 3 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ (PDA)

4.1 ศึกษาผลกระทบของสาร antibiotic หรือ toxin ใน culture filtrate ของเชื้อราปฏิปักษ์ต่อการงอกและสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. และ *Phomopsis obscurans*

4.1.1 จากการทดสอบประสิทธิภาพของสาร antibiotic หรือ toxin ของเชื้อราปฏิปักษ์ใน culture filtrate ต่อการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. โดยการนำ spore suspension ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ความเข้มข้น 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงใน culture filtrate 5 มิลลิลิตร จากการตรวจสอบความงอกของสปอร์ โดย haemacytometer พบว่าเชื้อรา *Penicillium* sp. ไอโซเลท 408 มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ ในวันที่ 1 14.25% วันที่ 3 18.00% วันที่ 5 20.51% และในวันที่ 7 24.52% ซึ่งลดลงจากชุดควบคุม 41.86% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ 66.38% รองลงมาคือเชื้อรา *Penicillium* sp. ไอโซเลท 713 โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ ในวันที่ 1 15.06% วันที่ 3 19.42% วันที่ 5 21.34% และในวันที่ 7 25.54% ซึ่งลดลงจากชุดควบคุม 40.84% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ 66.38% ซึ่งประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อราทั้งสองไอโซเลทไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่เวลา 7 วัน (ตาราง 7)

การทดสอบประสิทธิภาพของสาร antibiotic หรือ toxin ของเชื้อราปฏิปักษ์ใน culture filtrate ต่อการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* โดยการนำ spore suspension ของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* ความเข้มข้น 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงใน culture filtrate 5 มิลลิลิตร จากการตรวจสอบความงอกของสปอร์ โดย haemacytometer พบว่าเชื้อรา *Penicillium* sp. ไอโซเลท 408 มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ ในวันที่ 1 16.23% วันที่ 3 24.12% วันที่ 5 31.76% และในวันที่ 7 37.42% ซึ่งลดลงจากชุดควบคุม 32.05% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ 69.47% รองลงมาคือเชื้อรา *Penicillium* sp. ไอโซเลท 713 โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ ในวันที่ 1 18.74% วันที่ 3 25.65% วันที่ 5 32.43% และในวันที่ 7 39.56% ซึ่งลดลงจากชุดควบคุม 29.91% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีความงอกของสปอร์ 69.47% (ตาราง 8)

4.1.2 จากการทดสอบประสิทธิภาพของการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ใน culture filtrate โดยการตรวจนับด้วย haemacytometer พบว่า เชื้อรา *Penicillium* sp. ไอโซเลท408 มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. โดยมีเปอร์เซ็นต์จำนวนสปอร์ที่เวลา 1 วัน 1.44×10^6 สปอร์/มิลลิลิตร วันที่ 3 1.64×10^6 สปอร์/มิลลิลิตร วันที่ 5 2.84×10^6 สปอร์/มิลลิลิตร และวันที่ 7 3.04×10^6 สปอร์/มิลลิลิตร ซึ่งลดลงจากชุดควบคุม 27.13%

เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์จำนวนสปอร์ 30.17 x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร รองลงมาคือเชื้อรา *Penicillium* sp. ไอโซเลท 713 โดยมีเปอร์เซ็นต์จำนวนสปอร์ของเชื้อที่เวลา 1 วันได้ 1.44 x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร วันที่ 3 1.65 x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร วันที่ 5 2.84 x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร และวันที่ 7 3.10 x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร ซึ่งลดลงจากชุดควบคุม 27.07% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์จำนวนสปอร์ 30.17 x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร ซึ่งประสิทธิภาพในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อราทั้งสองไอโซเลทนี้ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่เวลา 7 วัน (ตาราง 9)

การทดสอบประสิทธิภาพของการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* ใน culture filtrate โดยการตรวจนับด้วย haemacytometer พบว่า เชื้อรา *Penicillium* sp. ไอโซเลท 408 มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* โดยมีเปอร์เซ็นต์จำนวนสปอร์ที่เวลา 1 วัน 1.43 x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร วันที่ 3 1.96 x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร วันที่ 5 2.23x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร และวันที่ 7 2.50 x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร ซึ่งลดลงจากชุดควบคุม 26.70% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์จำนวนสปอร์ 29.20 x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร รองลงมาคือเชื้อรา *Penicillium* sp. ไอโซเลท 713 โดยมีเปอร์เซ็นต์จำนวนสปอร์ที่เวลา 1 วันได้ 1.42 x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร วันที่ 3 2.06 x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร วันที่ 5 2.54 x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร และวันที่ 7 3.14 x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร ซึ่งลดลงจากชุดควบคุม 26.06% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์จำนวนสปอร์ 29.20 x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร (ตาราง 10)

ตาราง 7 เปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ใน culture filtrate ของเชื้อรา ปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ ที่ 1, 3, 5 และ 7 วัน

ไอโซเลท No.	เปอร์เซ็นต์การงอก[1]			
	1 วัน	3 วัน	5 วัน	7 วัน
H_2O (control)	32.14[2]	39.43	48.59	57.24
PDB (control)	34.95	45.12	56.34	66.38
Aspergillus 003	17.73	21.94	29.10	33.31
Aspergillus 109	20.00	28.60	30.00	35.35
Aspergillus 309	23.60	34.44	39.38	42.19
Aspergillus 903	23.88	30.27	34.16	39.16
Penicillium 408	**14.25**	**18.00**	**20.51**	**24.52**
Penicillium 421	19.60	28.75	36.12	42.34
Penicillium 510	20.21	27.73	30.32	33.34
Penicillium 701	16.05	24.16	30.06	32.20
Penicillium 702	15.00	22.50	28.42	34.50
Penicillium 706	21.14	25.64	31.65	36.50
Penicillium 710	16.72	28.45	32.14	35.78
Penicillium 712	18.12	29.63	35.60	39.12
Penicillium 713	**15.06**	**19.42**	**21.34**	**25.54**
Penicillium 715	17.65	20.49	24.39	26.61
Unknown 107	24.43	32.23	42.06	47.47
Unknown 302	23.65	29.13	35.14	41.55
Unknown 406	24.06	28.00	33.34	36.45
Unknown 618	18.60	24.16	27.21	29.80
Unknown 714	22.34	28.75	32.54	41.20

$LSD_{(0.05)} = 0.36$ CV (%) = 0.76 %

$LSD_{(0.01)} = 0.48$

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ

[2] ค่าเฉลี่ยจากการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยวิธี LSD

ตาราง 8 เปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* ใน culture filtrate ของเชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ ที่ 1, 3, 5 และ 7 วัน

ไอโซเลท No.	เปอร์เซ็นต์การงอก[1]			
	1 วัน	3 วัน	5 วัน	7 วัน
H_2O (control)	35.21[2]	45.42	53.34	60.35
PDB (control)	36.69	47.23	58.12	69.47
Aspergillus 003	19.72	28.56	37.73	41.36
Aspergillus 109	22.23	29.12	38.64	45.30
Aspergillus 309	20.43	27.65	36.12	43.27
Penicillium 408	**16.23**	**24.12**	**31.76**	**37.42**
Penicillium 701	21.43	27.04	34.41	42.31
Penicillium 702	22.96	28.64	34.62	42.70
Penicillium 710	23.42	29.12	35.04	40.53
Penicillium 712	22.84	27.96	33.12	39.74
Penicillium 713	**18.74**	**25.65**	**32.43**	**39.56**
Penicillium 715	19.56	27.24	35.26	39.65

$LSD_{(0.05)} = 0.45$ CV (%) = 0.81%

$LSD_{(0.01)} = 0.59$

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ

[2] ค่าเฉลี่ยจากการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยวิธี LSD

ตาราง 9 จำนวนสปอร์เฉลี่ยของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ใน culture filtrate ของเชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ ที่ 1, 3, 5 และ 7 วัน

ไอโซเลท No.	จำนวนสปอร์เฉลี่ย ($x10^6$ spore/ml)[1]			
	1 วัน	3 วัน	5 วัน	7 วัน
H_2O (control)	1.32[2]	3.51	6.23	12.15
PDB (control)	1.97	7.54	24.03	30.17
Aspergillus 003	1.44	2.74	4.21	5.70
Aspergillus 109	1.41	2.23	4.90	6.40
Aspergillus 309	1.45	2.96	3.84	5.22
Aspergillus 903	1.43	3.87	5.75	6.37
Penicillium 408	**1.44**	**1.64**	**2.84**	**3.04**
Penicillium 421	1.44	2.95	4.43	5.24
Penicillium 510	1.50	2.01	3.56	4.28
Penicillium 701	1.44	2.87	4.26	6.53
Penicillium 702	1.45	2.73	3.14	5.35
Penicillium 706	1.45	2.06	3.85	4.08
Penicillium 710	1.44	1.65	2.97	3.16
Penicillium 712	1.43	1.95	2.01	3.22
Penicillium 713	**1.44**	**1.65**	**2.84**	**3.10**
Penicillium 715	1.43	1.75	2.84	3.12
Unknown 107	1.52	2.22	3.87	5.51
Unknown 302	1.46	2.14	3.65	5.68
Unknown 406	1.52	2.23	3.42	5.16
Unknown 618	1.43	2.64	4.94	5.18
Unknown 714	1.51	2.16	4.51	6.55

$LSD_{(0.05)} = 0.17$ CV (%) = 2.82%

$LSD_{(0.01)} = 0.23$

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ

[2] ค่าเฉลี่ยจากการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยวิธี LSD

ตาราง 10 จำนวนสปอร์เฉลี่ยของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* ใน culture filtrate ของเชื้อรา ปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ ที่ 1, 3, 5 และ 7 วัน

ไอโซเลท No.	จำนวนสปอร์เฉลี่ย ($x10^6$ spore/ml)[1]			
	1 วัน	3 วัน	5 วัน	7 วัน
H_2O (control)	1.45[2]	2.96	3.42	5.30
PDB (control)	1.40	6.18	23.42	29.20
Aspergillus 003	1.46	2.57	3.54	4.27
Aspergillus 109	1.42	3.01	3.96	4.45
Aspergillus 309	1.44	2.84	3.75	4.33
Penicillium 408	**1.43**	**1.96**	**2.23**	**2.50**
Penicillium 701	1.41	2.12	2.65	3.23
Penicillium 702	1.45	2.25	2.87	3.42
Penicillium 710	1.42	2.21	2.86	3.44
Penicillium 712	1.44	2.23	2.82	3.36
Penicillium 713	**1.42**	**2.06**	**2.54**	**3.14**
Penicillium 715	1.43	2.12	2.62	3.17

$LSD_{(0.05)} = 0.12$ CV (%) = 2.07%

$LSD_{(0.01)} = 0.16$

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ

[2] ค่าเฉลี่ยจากการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยวิธี LSD

4.2 ศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อราปฏิปักษ์กลุ่มที่ 3 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

จากการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถเจริญปกคลุมโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. และ *Phomopsis obscurans* โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราทุกๆ 1, 3, 5, 7, 9 และ 14 วันบนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 923 มีอัตราการเจริญเติบโตดีที่สุด โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีในวันที่ 1 ได้ 1.5 เซนติเมตรและเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อในวันที่ 7 วัดขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีได้เท่ากันคือ 9.0 เซนติเมตร และเชื้อราที่มีอัตราการเจริญเติบโตดีที่สุดรองลงมา คือ เชื้อรา *Mucor* sp. ไอโซเลท 532 โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีในวันที่ 1 ได้ 1.37 เซนติเมตรและเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อในวันที่ 7 วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีได้เท่ากัน คือ 9.0 เซนติเมตร สำหรับเชื้อรา *Aspergillus* sp. ไอโซเลท 219 และ 913 เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อในวันที่ 14 และเชื้อรา *Mucor* sp. ไอโซเลท 504 เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อในวันที่ 9 (ตาราง 11) จึงได้ทำการคัดเลือกเชื้อราทั้งสองไอโซเลท คือเชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 923 และ *Mucor* sp. ไอโซเลท 532 เพื่อนำไปทดลองในสภาพเรือนทดลอง

ตาราง 11 อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการเจริญปกคลุมโคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. และ *Phomopsis obscurans* โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีที่ 1, 3, 5, 7, 9 และ 14 วัน

ไอโซเลท	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (เซนติเมตร)[1]					
	1 วัน	3 วัน	5 วัน	7 วัน	9 วัน	14 วัน
Colletotrichum sp.	0.00[2]	2.57	4.33	5.47	6.20	7.57
Phomopsis obscurans	1.23	4.67	7.59	9.0	9.0	9.0
Aspergillus 219	0.73	5.0	5.93	6.50	7.93	9.0
Aspergillus 913	0.53	5.0	6.60	7.37	8.57	9.0
Mucor 504	1.10	7.26	8.33	8.73	9.0	9.0
Mucor 532	**1.37**	**7.33**	**8.47**	**9.0**	**9.0**	**9.0**
Trichoderma 923	**1.50**	**8.26**	**8.70**	**9.0**	**9.0**	**9.0**

$LSD_{(0.05)} = 0.30$ CV (%) = 2.86%

$LSD_{(0.01)} = 0.40$

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ

[2] ค่าเฉลี่ยจากการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยวิธี LSD

5. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ที่แยกได้จากผิวใบพืชกับเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสในสภาพโรงเรือน

ได้คัดเลือกเชื้อราที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดของกลุ่มที่ 2 คือเชื้อรา *Penicillium* sp. ไอโซเลท 408, *Penicillium* sp. ไอโซเลท 713 และกลุ่มที่ 3 คือเชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 923 และ *Mucor* sp. ไอโซเลท 532 มาทำการทดสอบในสภาพเรือนทดลอง

5.1 จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ก่อนการฉีดพ่น spore suspension ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่ 3, 5 และ 7 วัน โดยการนับจำนวนใบและพื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย พบว่า จำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายเมื่อฉีดพ่นเชื้อราปฏิปักษ์ไปแล้วเป็นเวลา 3 วันให้ผลดีที่สุดและมีประสิทธิภาพดีที่สุดหลังจากปลูกเชื้อสาเหตุแล้วเป็นเวลา 7 วัน พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 923 มีเปอร์เซ็นต์จำนวนใบที่ถูกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. เข้าทำลายเพียง 22.22% แต่หลังจาก 14 วัน ประสิทธิภาพการควบคุมโรคลดลง โดยในวันที่ 14 พบเปอร์เซ็นต์จำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายเพิ่มขึ้นเป็น 25.00% รองลงมาคือเชื้อรา *Penicillium* sp. ไอโซเลท 408 มีเปอร์เซ็นต์จำนวนใบที่ถูกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. เข้าทำลาย 23.74% หลังจาก 7 วัน ประสิทธิภาพของการควบคุมโรคลดลง โดยในวันที่ 10 พบเปอร์เซ็นต์จำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย 25.00% และวันที่ 14 พบ 33.32% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์จำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายที่ 7, 10 และ 14 วัน เป็น 38.60%, 38.82% และ 44.44% ตามลำดับ จากนั้นทำการวัดพื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. เข้าทำลาย พบว่าเมื่อฉีดพ่น spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ไปแล้วเป็นเวลา 3 วัน ให้ผลดีที่สุดและมีประสิทธิภาพดีที่สุดหลังจากทำการปลูกเชื้อสาเหตุโรคแล้วเป็นเวลา 7 วัน พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 923 มีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายน้อยที่สุด คือ 25.62% แต่หลังจาก 7 วันประสิทธิภาพการควบคุมโรคลดลง โดยในวันที่ 10 พบเปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย 34.32% และในวันที่ 14 พบเปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย 42.65% รองลงมาคือเชื้อรา *Penicillium* sp. ไอโซเลท 408 มีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย คือ 29.63% และหลังจาก 7 วันพบว่าประสิทธิภาพการควบคุมโรคลดลง โดยในวันที่ 10 พบเปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย 35.67% และในวันที่ 14 พบเปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย 45.66% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายที่ 7, 10 และ 14 วัน เป็น 67.68%, 75.45% และ 87.31% ตามลำดับ (ตาราง 12-13)

5.2 จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์หลังการฉีดพ่น spore suspension ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่ 3, 5 และ 7 วัน โดยการนับจำนวนใบและพื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย จำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายเมื่อฉีดพ่น spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ไปแล้วเป็นเวลา 3 และ 5 วัน ให้ผลดีที่สุด และมีประสิทธิภาพดีที่สุดหลังจากปลูกเชื้อสาเหตุโรคแล้วเป็นเวลา 7 วัน พบว่า

เชื้อรา *Penicillium* sp. ไอโซเลท 408 ที่ 3 วัน มีเปอร์เซ็นต์จำนวนใบที่ถูกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. เข้าทำลาย 23.53% แต่หลังจาก 7 วันประสิทธิภาพของการควบคุมโรคลดลง โดยในวันที่ 10 พบเปอร์เซ็นต์จำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย 27.78% และวันที่ 14 28.57% รองลงมาคือเชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 923 ที่ 3 วันและ *Penicillium* sp. ไอโซเลท 408 ที่ 5 วัน มีเปอร์เซ็นต์จำนวนใบที่ถูกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. เข้าทำลายเป็นจำนวนที่เท่ากัน คือ 23.73% ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับเชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 923 แต่หลังจาก 7 วัน ประสิทธิภาพการควบคุมโรคลดลง โดยในวันที่ 10 พบเปอร์เซ็นต์จำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย 27.78% และ 28.57% และในวันที่ 14 มีเปอร์เซ็นต์จำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายในจำนวนที่เท่ากันคือ 33.32% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์จำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายที่ 7, 10 และ 14 วัน เป็น 38.71%, 38.89% และ 44.44% ตามลำดับ จากนั้นทำการวัดพื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. เข้าทำลาย พบว่าเมื่อฉีดพ่น spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ไปแล้วเป็นเวลา 3 วัน ให้ผลดีที่สุดและมีประสิทธิภาพดีที่สุดหลังจากปลูกเชื้อสาเหตุโรคแล้วเป็นเวลา 7 วัน พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 923 มีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายน้อยที่สุด คือ 39.37% แต่หลังจาก 7 วัน ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคลดลงโดยในวันที่ 10 มีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย 43.42% และในวันที่ 14 มีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย 47.76% รองลงมาคือเชื้อรา *Penicillium* sp. ไอโซเลท 408 มีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. เข้าทำลาย 40.10% หลังจาก 7 วันประสิทธิภาพในการควบคุมโรคลดลงโดยในวันที่ 10 มีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย 49.36% และในวันที่ 14 มีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย 55.56% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายที่ 7, 10 และ 14 วัน เป็น 63.70%, 74.16% และ 85.49% ตามลำดับ (ตาราง 14-15) (ภาพ 21.)

ตาราง 12 เปอร์เซ็นต์จำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายเมื่อพ่น spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ ก่อนพ่นเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่เวลา 3, 5 และ 7 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

เวลาฉีดพ่น pathogen	ไอโซเลท No.	จำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย (%)[1]		
		7 วัน	10 วัน	14 วัน
3 วัน	*Colletotrichum* sp. (control)	38.60 [2]	38.82	44.44
	Trichoderma 923+ Colleto	**22.22**	22.22	25.00
	Mucor 532+Colleto	28.30	28.57	28.57
	Penicillium 408+ Colleto	**23.74**	25.00	33.32
	Penicillium 713+ Colleto	33.32	33.32	33.32
5 วัน	*Colletotrichum*sp. (control)	38.60	38.82	44.44
	Trichoderma 923+ Colleto	27.62	28.57	28.57
	Mucor 532+ Colleto	28.30	33.32	33.32
	Penicillium 408+ Colleto	28.30	33.32	33.32
	Penicillium 713+ Colleto	33.32	33.32	33.32
7 วัน	*Colletotrichum* sp. (control)	38.60	38.82	44.44
	Trichoderma 923+ Colleto	33.32	33.32	38.89
	Mucor 532+ Colleto	33.32	38.10	44.44
	Penicillium 408+ Colleto	28.30	28.57	38.89
	Penicillium 713+ Colleto	33.32	38.10	38.82

$LSD_{(0.05)} = 1.00$ CV (%) = 1.84%

$LSD_{(0.01)} = 1.33$

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ ในแต่ละกรรมวิธี

[2] ค่าเฉลี่ยจากการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยวิธี LSD

ตาราง 13 เปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายเมื่อพ่น spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ ก่อนพ่นเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่เวลา 3, 5 และ 7 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

เวลาฉีดพ่น pathogen	ไอโซเลท No.	พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย (%)[1]		
		7 วัน	10 วัน	14 วัน
3 วัน	*Colletotrichum* sp. (control)	67.68 [2]	75.45	87.31
	Trichoderma 923+ Colleto	**25.62**	34.32	42.65
	Mucor 532+ Colleto	38.69	46.43	59.76
	Penicillium 408+ Colleto	**29.63**	35.67	45.66
	Penicillium 713+ Colleto	36.55	49.82	62.64
5 วัน	*Colletotrichum* sp. (control)	67.68	75.45	87.31
	Trichoderma 923+ Colleto	37.19	45.76	54.34
	Mucor 532+ Colleto	43.45	51.65	62.84
	Penicillium 408+ Colleto	39.51	46.74	58.50
	Penicillium 713 +Colleto	45.47	55.32	67.73
7 วัน	*Colletotrichum* sp. (control)	67.68	75.45	87.31
	Trichoderma 923+ Colleto	44.48	53.60	63.15
	Mucor 532+ Colleto	55.44	61.76	76.34
	Penicillium 408+ Colleto	46.54	56.64	65.30
	Penicillium 713+ Colleto	53.88	62.98	75.56

$LSD_{(0.05)} = 0.53$ CV (%) = 0.58%

$LSD_{(0.01)} = 0.71$

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ ในแต่ละกรรมวิธี

[2] ค่าเฉลี่ยจากการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยวิธี LSD

ตาราง 14 เปอร์เซ็นต์จำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายเมื่อพ่น spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ หลังพ่นเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่เวลา 3, 5 และ 7 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

เวลาฉีดพ่น antagonist	ไอโซเลท No.	จำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย (%)[1]		
		7 วัน	10 วัน	14 วัน
3 วัน	*Coletotrichum* sp. (control)	38.71 [2]	38.89	44.44
	Colleto+Trichoderma 923	**23.73**	27.78	33.32
	Colleto +Mucor 532	28.30	28.57	28.57
	Colleto+Penicillium 408	**23.53**	27.78	28.57
	Colleto +Penicillium 713	25.17	28.57	38.89
5 วัน	*Coletotrichum* sp. (control)	38.71	38.89	44.44
	Colleto +Trichoderma 923	27.54	27.65	27.78
	Colleto +Mucor 532	25.17	33.32	33.32
	Colleto+Penicillium 408	**23.73**	28.57	33.32
	Colleto +Penicillium 713	33.32	33.32	38.89
7 วัน	*Coletotrichum* sp. (control)	38.71	38.89	44.44
	Colleto +Trichoderma 923	28.30	28.57	33.32
	Colleto +Mucor 532	33.32	38.89	38.89
	Colleto +Penicillium 408	25.17	28.57	28.57
	Colleto +Penicillium 713	38.09	38.10	38.89

$LSD_{(0.05)} = 0.70$ CV (%) = 1.31%

$LSD_{(0.01)} = 0.93$

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ ในแต่ละกรรมวิธี

[2] ค่าเฉลี่ยจากการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยวิธี LSD

ตาราง 15 เปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายเมื่อพ่น spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ หลังพ่นเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่เวลา 3, 5 และ 7 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

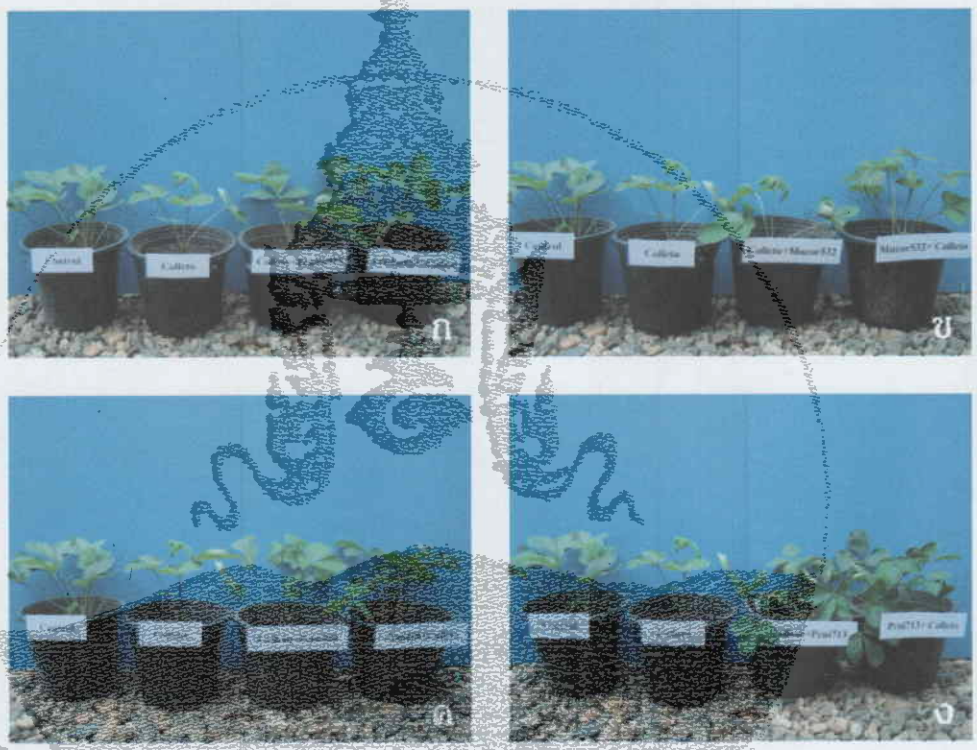
เวลาฉีดพ่น antagonist	ไอโซเลท No.	พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย (%)[1]		
		7 วัน	10 วัน	14 วัน
3 วัน	*Colletotrichum* sp. (control)	63.70 [2]	74.16	85.49
	Colleto+Trichoderma 923	**39.37**	43.42	47.76
	Colleto +Mucor 532	45.47	58.71	62.63
	Colleto+Penicillium 408	**40.10**	49.36	55.56
	Colleto +Penicillium 713	47.63	60.45	63.43
5 วัน	*Coletotrichum* sp. (control)	63.70	74.16	85.49
	Colleto +Trichoderma 923	45.40	54.16	59.32
	Colleto +Mucor 532	50.22	63.32	66.15
	Colleto+Penicillium 408	47.34	55.43	61.43
	Colleto +Penicillium 713	51.38	62.16	67.75
7 วัน	*Coletotrichum* sp. (control)	63.70	74.16	85.49
	Colleto +Trichoderma 923	49.45	58.41	66.16
	Colleto +Mucor 532	53.42	64.53	73.43
	Colleto +Penicillium 408	49.42	59.25	68.42
	Colleto +Penicillium 713	53.63	64.42	74.54

$LSD_{(0.05)} = 1.41$ CV (%) = 1.44 %

$LSD_{(0.01)} = 1.88$

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ ในแต่ละกรรมวิธี

[2] ค่าเฉลี่ยจากการเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยวิธี LSD



ภาพ 20 ผลการปลูกเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสและเชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ

ก : ปลูกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. และ *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 923

ข : ปลูกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. และ *Mucor* sp. ไอโซเลท 532

ค : ปลูกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. และ *Penicillium* sp. ไอโซเลท 408

ง : ปลูกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. และ *Penicillium* sp. ไอโซเลท 713

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการเก็บใบสตรอเบอรี่ที่เป็นโรคมาทำการศึกษา พบว่าเกิดโรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากเชื้อ *Colletotrichum* sp. และโรคใบไหม้โฟมอพซีสที่เกิดจากเชื้อรา *Phomopsis obscurans* ใบที่แสดงอาการของโรคแอนแทรคโนสมีลักษณะอาการของใบเป็นจุดสีดำเข้ม แผลมีรูปร่างไม่แน่นอน เมื่อนำใบมา moist chamber จะพบกลุ่มสปอร์สีส้มเกิดขึ้น เขี่ยกลุ่มสปอร์มาดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบสปอร์สีใส สะท้อนแสง มีรูปร่างเป็นแท่ง หัว-ท้าย ค่อนข้างแหลม เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อจะเกิดโคโลนีที่มีลักษณะเส้นใยเป็นสีขาวออกชมพู เมื่อดูด้านใต้ของจานอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่ามีสีส้มอ่อนๆ ตามที่ Mass (1998) ได้รายงานไว้ และใบของสตรอเบอรี่ที่แสดงลักษณะอาการของโรคใบไหม้โฟมอพซิสมีลักษณะของแผลในระยะเริ่มแรกเป็นจุดกลมสีม่วงแดง เมื่อแผลขยายใหญ่ขึ้นจะพบขอบแผลเป็นสีแดงหรือเหลือง กลางแผลสีน้ำตาล มีโครงสร้าง pycnidia สีดำเป็นจำนวนมาก เมื่อแผลมีอายุมากขึ้นจะมีลักษณะเป็นรูปตัววี เมื่อตรวจดูด้วยวิธี free hand section ตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบโครงสร้าง pycnidia ฝังอยู่ในเนื้อเยื่อพืช สปอร์มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว ไม่มีสี เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ จะเกิดโคโลนีที่มีลักษณะเส้นใยเป็นสีขาวและต่อมาเส้นใยจะเปลี่ยนเป็นสีครีม พบโครงสร้าง pycnidia สีดำปรากฏบนอาหาร ตามที่ Mass (1998) ได้รายงานไว้ ได้แยกเชื้อและเก็บเชื้อทั้งสองไว้สำหรับการทดลองต่อไป

จากการแยกเชื้อราปฏิปักษ์ที่อยู่ที่ผิวใบของสตรอเบอรี่ที่มีลักษณะปกติ แข็งแรง ไม่มีร่องรอยการเข้าทำลายโดยโรคและแมลง พบว่าสามารถแยกเชื้อราปฏิปักษ์ได้ทั้งหมด 236 ไอโซเลท สำหรับเชื้อราที่พบมากที่สุดคือกลุ่มของเชื้อราที่ไม่สามารถสร้างสปอร์ พบทั้งหมด 103 ไอโซเลท รองลงมาคือ เชื้อรา *Cladosporium* sp. 48 ไอโซเลท, *Penicillium* sp. 36 ไอโซเลท, *Curvularia* sp. 17 ไอโซเลท, *Aspergillus* sp. 14 ไอโซเลท, *Fusarium* sp. 12 ไอโซเลท, *Mucor* sp. 2 ไอโซเลท และที่พบน้อยที่สุดอย่างละคือ 1 ไอโซเลท ได้แก่ *Corynespora* sp., *Diplocarpon* sp. และ *Trichoderma* sp.

ในการทดสอบคุณสมบัติการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ของเชื้อราที่แยกได้จากผิวใบสตรอเบอรี่กับเชื้อรา *Colletotrichum* sp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสและเชื้อรา *Phomopsis obscurans* สาเหตุโรคใบไหม้ของสตรอเบอรี่ ด้วยวิธี dual culture technique พบว่าทำให้เกิดปฏิกิริยาแบ่งออกได้เป็น 4 แบบ คือ 1. กลุ่มของเชื้อราที่มีความสามารถในการเจริญแข่งขันกับเชื้อราสาเหตุโรค คือ เชื้อราที่มีความสามารถในการเจริญได้เท่ากันกับเชื้อราสาเหตุโรค ทำให้เชื้อราทั้งสองเจริญมาชนกัน กลุ่มของเชื้อราที่มีความสามารถในการเจริญแข่งขันกับเชื้อรา *Colletotrichum* sp. พบทั้งหมด 45 ไอโซเลท และกลุ่มของเชื้อราที่มีความสามารถในการเจริญแข่งขันกับเชื้อรา *Phomopsis obscurans*

พบทั้งหมด 50 ไอโซเลท 2. กลุ่มของเชื้อราที่มีความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะออกมายับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค ทำให้เกิดลักษณะ clear zone เกิดขึ้นระหว่างเชื้อราปฏิปักษ์กับเชื้อราสาเหตุโรค สำหรับกลุ่มของเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. พบทั้งหมด 19 ไอโซเลท เป็นเชื้อรา *Penicillium* sp. 10 ไอโซเลท ได้แก่ 408, 421, 510, 701, 702, 706, 710, 712, 713 และ 715, *Aspergillus* sp. 4 ไอโซเลท ได้แก่ 003, 109, 309, 903 และ Unknown 5 ไอโซเลท ได้แก่ 107, 302, 406, 618 และ 714 กลุ่มของเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะออกมายับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* พบทั้งหมด 10 ไอโซเลท เป็นเชื้อรา *Penicillium* sp. 7 ไอโซเลท ได้แก่ 408, 701, 702, 710, 712, 713 และ 715 และเชื้อรา *Aspergillus* sp. 3 ไอโซเลท ได้แก่ 003, 109 และ 309 3. กลุ่มของเชื้อราที่สามารถในการเจริญได้ดีกว่าและเจริญปกคลุมโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรค สำหรับกลุ่มของเชื้อราปฏิปักษ์ที่เจริญปกคลุมเชื้อรา *Colletotrichum* sp. พบทั้งหมด 5 ไอโซเลท เป็นเชื้อรา *Aspergillus* sp. 2 ไอโซเลท ได้แก่ 218 และ 219, *Mucor* sp. 2 ไอโซเลท ได้แก่ 504 และ 532 และเชื้อรา *Trichoderma* sp. พบ 1 ไอโซเลท คือ 923 กลุ่มของเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการเจริญปกคลุมเชื้อรา *Phomopsis obscurans* พบทั้งหมด 3 ไอโซเลท คือเชื้อรา *Mucor* sp. 2 ไอโซเลท ได้แก่ 504 และ 532 และเชื้อรา *Trichoderma* sp. 1 ไอโซเลท คือ 923 4. กลุ่มของเชื้อราที่มีการเจริญเติบโตได้ช้ากว่าเชื้อราสาเหตุโรค คือกลุ่มของเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการเจริญเติบโตได้ช้ากว่าเชื้อราสาเหตุโรค ซึ่งกลุ่มของเชื้อราปฏิปักษ์ที่เจริญได้ช้ากว่าเชื้อรา *Colletotrichum* sp. พบทั้งหมด 167 ไอโซเลท และกลุ่มของเชื้อราที่เจริญได้ช้ากว่าเชื้อรา *Phomopsis obscurans* พบทั้งหมด 173 ไอโซเลท และได้คัดเลือกกลุ่มของเชื้อราปฏิปักษ์ในกลุ่มที่ 2. คือ กลุ่มที่มีความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะมายับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคและกลุ่มที่ 3. คือกลุ่มที่มีความสามารถในการเจริญได้รวดเร็วและเจริญปกคลุมโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรค มาทำการศึกษาถึงประสิทธิภาพของการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ในสภาพห้องปฏิบัติการ

เมื่อนำเชื้อราปฏิปักษ์ในกลุ่มที่ 2 คือ กลุ่มของเชื้อราปฏิปักษ์ที่สร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค และกลุ่มที่ 3 คือ กลุ่มของเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีความสามารถในการเจริญได้ดีกว่าเชื้อราสาเหตุโรค มาทดสอบประสิทธิภาพของการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ในห้องปฏิบัติการ เชื้อราปฏิปักษ์ที่อยู่ในกลุ่มที่ 2 นำมาทดสอบประสิทธิภาพของ culture filtrate ต่อการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. โดยการนำ spore suspension ของเชื้อ ใส่ลงใน culture filtrate จากนั้นจึงตรวจดูความงอกของสปอร์ พบว่าเชื้อรา *Penicillium* sp. ไอโซเลท 408 มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการงอกของสปอร์ โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ ในวันที่ 1 14.25% วันที่ 3 18.00% วันที่ 5 20.51% และในวันที่ 7 24.52% ซึ่งในวันที่ 7 เปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ต่ำกว่าชุด

ควบคุม 41.86% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ 66.38% รองลงมา คือ *Penicillium* sp. ไอโซเลท 713 โดยเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ ในวันที่ 1 15.06% วันที่ 3 19.42% วันที่ 5 21.34% และในวันที่ 7 25.54% ซึ่งในวันที่ 7 เปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ต่ำกว่าชุดควบคุม 40.84% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ 66.38% ดังนั้นเชื้อราทั้งสองไอโซเลท คือ *Penicillium* sp. ไอโซเลท 408 และ *Penicillium* sp. ไอโซเลท 713 มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อราอื่นที่สร้างสารปฏิชีวนะ เชื้อราทั้งสองมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการงอกของสปอร์ ซึ่งควรมีการวิเคราะห์ให้ได้ผลที่ชัดเจนในระดับต่อไป

เมื่อนำมาทดสอบผลของ culture filtrate ของเชื้อราปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Phomopsis obscurans* พบว่าเชื้อรา *Penicillium* sp. ไอโซเลท 408 มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อ โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ของเชื้อ ในวันที่ 1 16.23% วันที่ 3 24.12% วันที่ 5 31.76% และในวันที่ 7 37.42% ซึ่งในวันที่ 7 เปอร์เซ็นต์การงอกต่ำกว่าชุดควบคุม 32.05% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ 69.47% รองลงมาคือ *Penicillium* sp. ไอโซเลท 713 โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ของเชื้อ ในวันที่ 1 18.74% วันที่ 3 25.65% วันที่ 5 32.43% และในวันที่ 7 39.56% ซึ่งในวันที่ 7 เปอร์เซ็นต์การงอกต่ำกว่าชุดควบคุม 29.91% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ 69.47% ดังนั้นเชื้อราทั้งสองไอโซเลท คือ *Penicillium* sp. ไอโซเลท 408 และ *Penicillium* sp. ไอโซเลท 713 มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อราอื่นที่สร้างสารปฏิชีวนะ เชื้อราทั้งสองมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการงอกของสปอร์ ซึ่งควรมีการวิเคราะห์ให้ได้ผลที่ชัดเจนในระดับต่อไป

สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของสาร antibiotic หรือ toxin ของเชื้อราปฏิปักษ์ใน culture filtrate ต่อการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. โดยการนำ spore suspension ของเชื้อใส่ลงใน culture filtrate ทำการตรวจดูการสร้างสปอร์ของ พบว่าเชื้อรา *Penicillium* sp. ไอโซเลท 408 มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อ โดยมีเปอร์เซ็นต์จำนวนสปอร์ที่เวลา 1 วัน 1.44×10^6 สปอร์/มิลลิลิตร วันที่ 3 1.64×10^6 สปอร์/มิลลิลิตร วันที่ 5 2.84×10^6 สปอร์/มิลลิลิตร และวันที่ 7 3.04×10^6 สปอร์/มิลลิลิตร ซึ่งในวันที่ 7 มีเปอร์เซ็นต์จำนวนสปอร์ต่ำลงกว่าชุดควบคุม 27.13% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์จำนวนสปอร์ 30.17×10^6 สปอร์/มิลลิลิตร รองลงมาคือเชื้อรา *Penicillium* sp. ไอโซเลท 713 โดยมีเปอร์เซ็นต์จำนวนสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่เวลา 1 วันได้ 1.44×10^6 สปอร์/มิลลิลิตร วันที่ 3 1.65×10^6 สปอร์/มิลลิลิตร วันที่ 5 2.84×10^6 สปอร์/มิลลิลิตร และวันที่ 7 3.10×10^6 สปอร์/มิลลิลิตร ซึ่งในวันที่ 7 มี

เปอร์เซ็นต์จำนวนสปอร์ต่ำกว่าชุดควบคุม 27.07% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์จำนวนสปอร์ 30.17 x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร และเชื้อราทั้งสองไอโซเลทไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการทดสอบ พบว่าเชื้อราปฏิปักษ์ *Penicillium* sp. ไอโซเลท 408 และ *Penicillium* sp. ไอโซเลท 713 มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการงอกและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จึงได้ทำการคัดเลือกเชื้อราทั้งสองไอโซเลทไว้ทำการทดลองในเรือนทดลอง

ในการตรวจนับจำนวนสปอร์ของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* ใน culture filtrate พบว่าเชื้อรา *Penicillium* sp. ไอโซเลท 408 มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* โดยมีเปอร์เซ็นต์จำนวนสปอร์ที่เวลา 1 วัน 1.43 x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร วันที่ 3 1.96 x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร วันที่ 5 2.23 x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร และวันที่ 7 2.50 x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร ซึ่งในวันที่ 7 มีเปอร์เซ็นต์จำนวนสปอร์ต่ำกว่าชุดควบคุม 26.70% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์จำนวนสปอร์ 29.20 x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร รองลงมาคือเชื้อรา *Penicillium* sp. ไอโซเลท 713 โดยนับจำนวนสปอร์ของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* ที่เวลา 1 วันได้ 1.42 x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร วันที่ 3 2.06 x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร วันที่ 5 2.54 x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร และวันที่ 7 3.14 x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร ซึ่งในวันที่ 7 มีเปอร์เซ็นต์จำนวนสปอร์ต่ำกว่าชุดควบคุม 26.06% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์จำนวนสปอร์ 29.20 x 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร ดังนั้นเชื้อราทั้งสอง ไอโซเลท คือ *Penicillium* sp. ไอโซเลท 408 และ *Penicillium* sp. ไอโซเลท 713 มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* และเชื้อราทั้งสองไอโซเลทไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการทดสอบ พบว่าเชื้อราปฏิปักษ์ *Penicillium* sp. ไอโซเลท 408 และ *Penicillium* sp. ไอโซเลท 713 มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการงอกและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จึงได้ทำการคัดเลือกเชื้อราทั้งสองไอโซเลทไว้ทำการทดลองในเรือนทดลอง

ในการวัดอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อราปฏิปักษ์ในกลุ่มที่ 3 บนอาหาร PDA โดยการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราทุกๆ 1, 3, 5, 7, 9 และ 14 วัน พบว่า *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 923 มีอัตราการเจริญเติบโตดีที่สุด โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีในวันที่ 1 ได้ 1.5 เซนติเมตรและโคโลนีเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อในวันที่ 7 โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีได้ 9.0 เซนติเมตร และเชื้อราที่มีอัตราการเจริญเติบโตดีที่สุดรองลงมา คือ เชื้อรา *Mucor* sp. ไอโซเลท 532 โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีในวันที่ 1 ได้ 1.37 เซนติเมตรและโคโลนีเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อในวันที่ 7 โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีได้ 9.0 เซนติเมตร ซึ่งอัตราการเจริญของเชื้อราปฏิปักษ์ทั้งสองไอโซเลทไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ สามารถเจริญได้ดีกว่าเชื้อ

ราปฏิปักษ์ไอโซเลทอื่นๆ จึงได้คัดเลือกเชื้อราทั้งสองไอโซเลทและทำการศึกษาต่อกับพืชในเรือนทดลอง ซึ่งเมื่อทำการคัดเลือกเชื้อราปฏิปักษ์ทั้งสองไอโซเลทนี้ไปใช้เป็นเชื้อราปฏิปักษ์ น่าจะมีประสิทธิภาพดีเพราะมีอัตราการเจริญได้ดีและรวดเร็ว สามารถทำให้แข่งขันกับเชื้ออื่นได้ ซึ่งสอดคล้องกับ ดนัย (2543) ได้กล่าวไว้ว่า การใช้ประโยชน์จากเชื้อจุลินทรีย์ที่อาศัยบนผิวพืช และการใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านเชื้อสาเหตุโรคปลูกลงบนพืช จุลินทรีย์ที่ดีจะต้องมีความสามารถในการเจริญได้ดี รวดเร็ว และสามารถแข่งขันกับเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่อาศัยอยู่ในธรรมชาติในระดับที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรค

จากผลการทดลองข้างต้น จึงได้คัดเลือกเชื้อราที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการเจริญปกคลุมเชื้อราสาเหตุโรคจำนวนสองไอโซเลท ได้แก่ *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 923 และ *Mucor* sp. ไอโซเลท 532 และเชื้อราที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการสร้างสารมายับยั้งการงอกและการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรค คือ *Penicillium* sp. ไอโซเลท 408 และ *Penicillium* sp. ไอโซเลท 713 มาทดสอบในสภาพเรือนทดลอง ต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนส โดยแบ่งออกเป็น 2 กรรมวิธี คือ กรรมวิธีแรก การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ก่อนการฉีดพ่น spore suspension ของ *Colletotrichum* sp. ที่ 3, 5 และ 7 วัน โดยการนับจำนวนใบและพื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายพบว่าจำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายเมื่อฉีดพ่นเชื้อราปฏิปักษ์ไปแล้วเป็นเวลา 3 วันให้ผลดีที่สุดและมีประสิทธิภาพดีที่สุดหลังจากปลูกเชื้อสาเหตุแล้วเป็นเวลา 7 วัน พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 923 มีเปอร์เซ็นต์จำนวนใบที่ถูกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. เข้าทำลายเพียง 22.22% แต่หลังจาก 14 วัน ประสิทธิภาพการควบคุมโรคลดลง โดยในวันที่ 14 พบเปอร์เซ็นต์จำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายเพิ่มขึ้นเป็น 25.00% รองลงมาคือ *Penicillium* sp. ไอโซเลท 408 มีเปอร์เซ็นต์จำนวนใบที่ถูกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. เข้าทำลาย 23.74% หลังจาก 7 วัน ประสิทธิภาพของการควบคุมโรคลดลง โดยในวันที่ 10 พบเปอร์เซ็นต์จำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย 25.00% และวันที่ 14 พบ 33.32% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์จำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายที่ 7, 10 และ 14 วัน เป็น 38.60%, 38.82% และ 44.44% ตามลำดับ จากนั้นทำการวัดพื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. เข้าทำลาย พบว่าเมื่อฉีดพ่น spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ไปแล้วเป็นเวลา 3 วัน ให้ผลดีที่สุดและมีประสิทธิภาพดีที่สุดหลังจากทำการปลูกเชื้อสาเหตุโรคแล้วเป็นเวลา 7 วัน พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 923 มีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายน้อยที่สุด คือ 25.62% แต่หลังจาก 7 วันประสิทธิภาพการควบคุมโรคลดลง โดยในวันที่ 10 พบเปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย 34.32% และในวันที่ 14 พบเปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย 42.65% รองลงมาคือเชื้อรา *Penicillium* sp. ไอโซเลท 408 มีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย คือ 29.63% และหลังจาก 7 วันพบว่าประสิทธิภาพการควบคุมโรคลดลง โดยในวันที่ 10 พบ

เปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย 35.67% และในวันที่ 14 พบเปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย 45.66% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายที่ 7, 10 และ 14 วัน เป็น 67.68%, 75.45% และ 87.31% ตามลำดับ

เมื่อทำการทดสอบกรรมวิธีที่สอง คือ การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์หลังการฉีดพ่น spore suspension ของ *Colletotrichum* sp. ที่ 3, 5 และ 7 วัน โดยการนับจำนวนใบและพื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย จำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายเมื่อฉีดพ่น spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ไปแล้วเป็นเวลา 3 และ 5 วัน ให้ผลดีที่สุด และมีประสิทธิภาพดีที่สุดหลังจากปลูกเชื้อสาเหตุโรคแล้วเป็นเวลา 7 วัน พบว่าเชื้อรา *Penicillium* sp. ไอโซเลท 408 ที่ 3 วัน มีเปอร์เซ็นต์จำนวนใบที่ถูกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. เข้าทำลาย 23.53% แต่หลังจาก 7 วันประสิทธิภาพของการควบคุมโรคลดลง โดยในวันที่ 10 พบเปอร์เซ็นต์จำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย 27.78% และวันที่ 14 28.57% รองลงมาคือเชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 923 ที่ 3 วันและ *Penicillium* sp. ไอโซเลท 408 ที่ 5 วัน มีเปอร์เซ็นต์จำนวนใบที่ถูกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. เข้าทำลายเป็นจำนวนที่เท่ากัน คือ 23.73% ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับเชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 923 แต่หลังจาก 7 วัน ประสิทธิภาพการควบคุมโรคลดลง โดยในวันที่ 10 พบเปอร์เซ็นต์จำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย 27.78% และ 28.57% และในวันที่ 14 มีเปอร์เซ็นต์จำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายในจำนวนที่เท่ากัน คือ 33.32% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์จำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายที่ 7, 10 และ 14 วัน เป็น 38.71%, 38.89% และ 44.44% ตามลำดับ จากนั้นทำการวัดพื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. เข้าทำลาย พบว่าเมื่อฉีดพ่น spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ไปแล้วเป็นเวลา 3 วัน ให้ผลดีที่สุดและมีประสิทธิภาพดีที่สุดหลังจากปลูกเชื้อสาเหตุโรคแล้วเป็นเวลา 7 วัน พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 923 มีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายน้อยที่สุด คือ 39.37% แต่หลังจาก 7 วัน ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคลดลงโดยในวันที่ 10 มีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย 43.42% และในวันที่ 14 มีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย 47.76% รองลงมาคือเชื้อรา *Penicillium* sp. ไอโซเลท 408 มีพื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. เข้าทำลาย 40.10% หลังจาก 7 วันประสิทธิภาพในการควบคุมโรคลดลงโดยในวันที่ 10 มีพื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย 49.36% และในวันที่ 14 มีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย 55.56% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายที่ 7, 10 และ 14 วัน เป็น 63.70%, 74.16% และ 85.49% ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Sutton และ Peng (1993) ได้รายงานไว้ว่า ในการควบคุมโรคทางใบของสตรอเบอรี่ที่เกิดจากเชื้อรา *Botrytis cinerea* ในสภาพโรงเรือน พบว่า *T. viride*, *Gliocladium roseum* และ *Penicillium* sp. สามารถลดปริมาณการสร้าง conidiophore ของเชื้อรา *Botrytis cinerea* ได้ 97-100 เปอร์เซ็นต์

จากการทดสอบประสิทธิภาพในการฉีดพ่นเชื้อราปฏิปักษ์ทั้ง 4 ไอโซเลท ทั้งฉีดพ่นก่อนและหลังจากมีการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคแล้ว พบว่า เชื้อราที่มีประสิทธิภาพและให้ผลดีที่สุด ในกลุ่มของเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีการเจริญปกคลุมเชื้อราสาเหตุโรค คือ *Trichoderma* sp. ไอโซเลท 923 สามารถนำมาใช้ในการควบคุมโรคในสภาพเรือนทดลองได้ดีที่สุด และในกลุ่มของเชื้อราปฏิปักษ์ที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะมายับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค คือ *Penicillium* sp. ไอโซเลท 408 โดยเชื้อราทั้งสองไอโซเลทนี้สามารถควบคุมการทำให้เกิดโรคได้ในระยะเวลา 7 วัน หลังจากนั้นประสิทธิภาพในการควบคุมโรคจะลดลง จึงต้องมีการฉีดพ่นเชื้อราปฏิปักษ์ซ้ำ อย่างไรก็ตาม ในการนำเชื้อปฏิปักษ์ไปใช้จริงในสภาพแปลงปลูกนั้น ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงผลกระทบกับพืชชนิดอื่น การปรับตัวของเชื้อปฏิปักษ์ในสภาพแวดล้อมต่างๆ ในการป้องกันกำจัดเชื้อราสาเหตุโรค ควรใช้เชื้อราปฏิปักษ์ทั้งสองไอโซเลทนี้หลังจากเริ่มมีการระบาดของโรคในช่วงระยะเวลาประมาณ 10 วันและทำการฉีดพ่นเชื้อราปฏิปักษ์นี้ทุกๆ 7 วัน จะสามารถควบคุมการแพร่ระบาดของโรคได้ และในการนำไปประยุกต์ใช้กับพืชชนิดอื่นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องมีการศึกษาถึงผลกระทบในด้านต่างๆ ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2541. สตรอเบอรี่. เอกสารแนะนำที่ 106 ฝ่ายเอกสารแนะนำ กองเกษตรสัมพันธ์ กรมส่งเสริมการเกษตร. กรุงเทพฯ. 36 หน้า.

กาญจนา วิชิตตระกูล. 2539. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา Trichoderma 12 ไอโซเลท ในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช. การค้นคว้าอิสระตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 31 หน้า.

กาญจนา วิชิตตระกูล. 2542. การควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศจากเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas solanacearum* โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 97 หน้า.

เกษม สร้อยทอง. 2532. การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี. คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 362 หน้า.

จิระเดช แจ่มสว่าง. 2534. การควบคุมโรคพืชและแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี. ภาควิชาโรคพืชคณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 185 หน้า.

ชูพงษ์ สุกุมลนันท์. 2530. สตรอเบอรี่. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 216 หน้า.

เชิดชาย ปันจัยสีห์. 2547. การคัดเลือกเชื้อราบนผิวใบพืชตระกูลผักกาดเพื่อใช้ควบคุมโรคใบจุดของคะน้าที่เกิดจากเชื้อ *Alternaria brassicicola* โดยชีววิธี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท . ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 119 หน้า.

ณรงค์ชัย พิพัฒน์ธนวงศ์. 2543. สตรอเบอรี่: พืชเศรษฐกิจใหม่. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร. 158 หน้า.

คนัย บุญยเกียรติ. 2543. โรคหลังการเก็บเกี่ยวของพืชสวน. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.156 หน้า.

ประสาทพร สมิตะมาน และคนัย บุญยเกียรติ. 2546. สตรอเบอรี่. โครงการการถ่ายทอดเทคโนโลยีเพื่อการผลิตส่วนขยายพันธุ์พืชคุณภาพดี. สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. กรุงเทพมหานคร. 84 หน้า.

ยอดชาย นิ่มรักษา. 2544. การควบคุมโรคใบจุดและใบไหม้ของสตรอเบอรี่โดยใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 63 หน้า.

สังคม เตชะวงค์เสถียร. 2532. สตรอเบอรี่. เอกสารประกอบการสอนวิชา 113422 การผลิตไม้ผลเขต

กึ่งร้อน. วิทยาลัยอุบลราชธานี มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 33 หน้า.

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

Baker, K.F. and Cook, R.J. 1974. Biological Control of Plant Pathogens. W.H. Freeman and Company, USA. 433 p.

Bankole, S.A. and Adebanjo, A. 1996. Biological control of brown blotch of cowpea caused by *Colletotrichum trumcatum* with *Trichoderma viridae*. Crop Protection5 :633-636.

Blakeman, J.P. 1985. Ecological Succession of Leaf Surface Microorganisms in Relation to Biological Control. Pp. 6-30. *In*: Carol E. Windels and Steven E. Lindow. Biological Control on the Phylloplane. American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA.

Eshenaur, B.C. and Milholland, R.D. 1989. Factors influencing the growth of *Phomopsis obscurans* and disease development on strawberry leaf and runner tissue. Phytopathology 73: 814-819.

Freeman, S., Minz, O., Kolesnik, I., Barbul, O., Zveibil, A., Maymon, M., Nitzani, Y., Kirshner, B., Rav-David, D., Bilu, A., Dag, A., Shafir, S. and Elad, Y. 2004. Trichoderma biocontrol of *Colletotrichum acutatum* and *Botrytis cinerea* and survival in strawberry. European Journal of Plant Pathology. 110(4): 361-370.

Kawamata, H., Narisawa, W. and Hashiba, T. 2003. Suppression of rice blast by phylloplane fungi isolated from rice plants. Plant Pathology 70:131-138.

Mass, J.L. 1998. A Compendium of Strawberry Diseases. The American Pythopathological Society. St. Pual, Minnesota 5521-2097, USA. 98 p.

Motoo, K. 2001. Biological Control on Phylloplane.(online). Available: http:/www.ppsj.ac.affrc.go.jp/journal/jgpp-abstract/68-2abs.html.

Perello, A., Monaco, C., Simon, M.R. and Dal Bello, G. 2003. Biocontrol efficacy of Trichoderma isolate for tan spot of wheat in Argentina. Crop Protection 22 :1099-1106.

Ploetz, R.C., Zentmyer, G.A., Nishijima, W.T., Rohrbach, K.G. and Ohr, H.D. 1994. A Compendium of Tropical Fruit Diseases. The American Pythopathological Society. USA. pp. 33-34.

Sotton, J. C. and Peng, G. 1993. Biocontrol of *Botrytis cinerea* in strawberry leaves. Phytopathology 83: 615-621.

Vinas, I., Usall, J., Teixido, N. and Sanchis, V. 1997. Biological control of major postharvest pathogens on apple with *Candida sake*. International Journal of Food Microbiology. 40:9-16.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

การเตรียมอาหาร PDA ผสม Rose Bengal

เตรียมโดยการชั่ง Rose Bengal มา 0.05 กรัม ผสมในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 10 มิลลิลิตร แล้วใช้ micro pipette ดูดสารละลายมาจำนวน 2 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหาร PDA ที่หลอมเหลวแล้วจำนวน 200 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน อาหาร PDA ที่ผสม Rose Bengal จะมีสีเป็นสีแดงเข้มหรือสีแดงเลือดหมู

การเตรียม inoculum ของเชื้อราสาเหตุ

การเตรียม spore suspension ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. โดยนำเชื้อรามาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (PDA) ที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อราเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นจึงทำการชักนำให้เชื้อราสร้างสปอร์ (spore induction) โดยใช้วิธีการขูดเส้นใย เทน้ำที่สะอาดลงไปในจานอาหาร จากนั้นใช้แผ่นสไลด์ขูดเส้นใยเชื้อราออกจากผิวหน้าอาหารแล้วล้างอีกครั้งด้วยน้ำสะอาด นำจานอาหารไปคว้ำบนตะกร้าโดยวางให้อยู่ในสภาพที่มีการระบายอากาศหรือมีอากาศผ่านได้ ทำการตรวจวัดสปอร์ ในอีก 3 วันถัดมา นับปริมาณและปรับความเข้มข้นของ inoculum ให้ได้ประมาณ 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร ด้วย Haemacytometer

การเตรียม spore suspension ของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* โดยทำการเลี้ยงเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (PDA) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 21 วัน จากนั้นจึงใช้สไลด์แก้วขูดผิวหน้าของอาหารที่มี pycnidia อยู่ แล้วใส่ลงในโกร่งบดยาที่สะอาดใช้ที่บดของโกร่งบด pycnidia เบาๆ เพื่อให้ pycnidia แตกออกและ conidia ทะลักออกมา จากนั้นจึงเตรียมสปอร์แขวนลอยโดยการนำสปอร์แขวนลอยจากทุกจานมาเทรวมกันในบีกเกอร์ แล้วกรองผ่านผ้าขาวบาง 2 ชั้น เพื่อแยกเอาเส้นใยออก จากนั้นจึงนำมานับปริมาณและปรับความเข้มข้นของ inoculum ให้ได้ปริมาณ 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร ด้วย Haemacytometer

การประเมินความเสียหายที่เกิดจากโรค

การหาปริมาณของโรค (disease intensity) โดยการนับจำนวนใบที่เป็นโรคต่อต้น แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคจากจำนวนใบทั้งหมดในแต่ละกรรมวิธี

การประเมินผล ประเมินพื้นที่ใบที่เป็นโรคต่อต้น ในแต่ละการทดลอง โดยแบ่งปริมาณของโรคเป็น 11 ระดับ คือ 0-10 โดยที่ 0 = ใบที่ไม่มีอาการของโรค และ 10 = พื้นที่ใบที่เป็นโรค 100% รวมถึงอาการใบร่วงที่เกิดจากโรคด้วย นำค่าที่ได้จากการประเมินของโรคมาแปลงเป็นค่าความ

เสียหายของพืช (crop loss) การประเมินความเสียหาย กระทำโดยนำผลที่ได้จากการหาปริมาณของโรคมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การถูกทำลาย หรือดัชนีการเข้าทำลายโดยมีสูตรดังนี้

$$\% \text{ ดัชนีการเข้าทำลาย} = \frac{\text{ผลรวมของการเป็นโรคแต่ละระดับ}}{\text{จำนวนต้นพืชที่สุ่มวัด}} \times \frac{100}{\text{ระดับสูงสุดของระดับความรุนแรง}}$$

ตาราง 1 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ของเชื้อ *Colletotrichum* sp. ใน culture filtrate ของเชื้อราปฏิปักษ์ ที่ 1, 3, 5 และ 7 วัน

Source	DF	MS
Rep (A)	2	0.20459
Day (B)	3	3430.73
Isolate (C)	20	649.354
Day x Isolate (B x C)	60	21.1022
Error	166	0.05229
Total	251	
Grand Mean	30.058	

$LSD_{(0.01)} = 0.48$ CV (%) = 0.76%

ตาราง 2 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ของเชื้อ *Phomopsis obscurans* ใน culture filtrate ของเชื้อราปฏิปักษ์ ที่ 1, 3, 5 และ 7 วัน

Source	DF	MS
Rep (A)	2	0.06638
Day (B)	3	3222.10
Isolate (C)	11	741.503
Day x Isolate (B x C)	33	11.3890
Error	94	0.07772
Total	143	
Grand Mean	34.362	

$LSD_{(0.01)} = 0.59$ CV (%) = 0.81%

ตาราง 3 ผลการวิเคราะห์จำนวนสปอร์เฉลี่ยของเชื้อ *Colletotrichum* sp. ใน culture filtrate ของเชื้อราปฏิปักษ์ ที่ 1, 3, 5 และ 7 วัน

Source	DF	MS
Rep (A)	2	0.02451
Day (B)	3	311.430
Isolate (C)	20	100.261
Day x Isolate (B x C)	60	22.0475
Error	166	0.01189
Total	251	
Grand Mean	3.8553	

$LSD_{(0.01)} = 0.23$ CV (%) = 2.82%

ตาราง 4 ผลการวิเคราะห์จำนวนสปอร์เฉลี่ยของเชื้อ *Phomopsis obscurans* ใน culture filtrate ของเชื้อราปฏิปักษ์ ที่ 1, 3, 5 และ 7 วัน

Source	DF	MS
Rep (A)	2	0.04040
Day (B)	3	139.922
Isolate (C)	11	156.093
Day x Isolate (B x C)	33	39.0369
Error	94	0.00578
Total	143	
Grand Mean	3.6710	

$LSD_{(0.01)} = 0.16$ CV (%) = 2.07%

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ห้ามการหลาย

ตาราง 5 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์จำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายเมื่อพ่น spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ ก่อนพ่นเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่เวลา 3, 5 และ 7 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

Source	DF	MS
Rep (A)	2	3.11648
Day (B)	2	415.212
Isolate (C)	4	559.140
Day count (D)	2	287.423
Day x Isolate (B x C)	8	63.0435
Day x Day count (B x D)	4	30.6490
Isolate x Day count (C x D)	8	22.4681
Day x Isolate x Day count (B x C x D)	16	8.21257
Error	88	0.37934
Total	134	
Grand Mean	33.413	

$LSD_{(0.01)} = 1.33$ CV (%) = 1.84%

ตาราง 6 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายเมื่อพ่น spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ ก่อนพ่นเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่เวลา 3, 5 และ 7 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

Source	DF	MS
Rep (A)	2	1.14224
Day (B)	2	2168.72
Isolate (C)	4	4346.13
Day count (D)	2	4435.86
Day x Isolate (B x C)	8	160.723
Day x Day count (B x D)	4	0.33192
Isolate x Day count (C x D)	8	15.3648
Day x Isolate x Day count (B x C x D)	16	3.19491
Error	88	0.10736
Total	134	
Grand Mean	56.063	

$LSD_{(0.01)} = 0.71$ CV (%) = 0.58%

ตาราง 7 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์จำนวนใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายเมื่อพ่น spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ หลังพ่นเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่เวลา 3, 5 และ 7 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

Source	DF	MS
Rep (A)	2	4.15505
Day (B)	2	154.217
Isolate (C)	4	747.770
Day count (D)	2	352.220
Day x Isolate (B x C)	8	42.9895
Day x Day count (B x D)	4	7.94340
Isolate x Day count (C x D)	8	15.2210
Day x Isolate x Day count (B x C x D)	16	17.3851
Error	88	0.18683
Total	134	
Grand Mean	32.760	

$LSD_{(0.01)} = 0.93$ CV (%) = 1.31%

ตาราง 8 ผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์พื้นที่ผิวใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายเมื่อพ่น spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ไอโซเลทต่างๆ หลังพ่นเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ที่เวลา 3, 5 และ 7 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

Source	DF	MS
Rep (A)	2	3.34563
Day (B)	2	703.099
Isolate (C)	4	2138.71
Day count (D)	2	3311.05
Day x Isolate (B x C)	8	68.6175
Day x Day count (B x D)	4	14.3187
Isolate x Day count (C x D)	8	31.5468
Day x Isolate x Day count (B x C x D)	16	4.09628
Error	88	0.74986
Total	134	
Grand Mean	59.995	

$LSD_{(0.01)} = 1.88$ CV (%) = 1.44%