บทที่ 4
ผลการทดลอง

4.1 ลักษณะอาการของโรคใบจุดตานกและใบไหม้โฟมอพซีสและการรแยกเชื้อราสาเหตุ

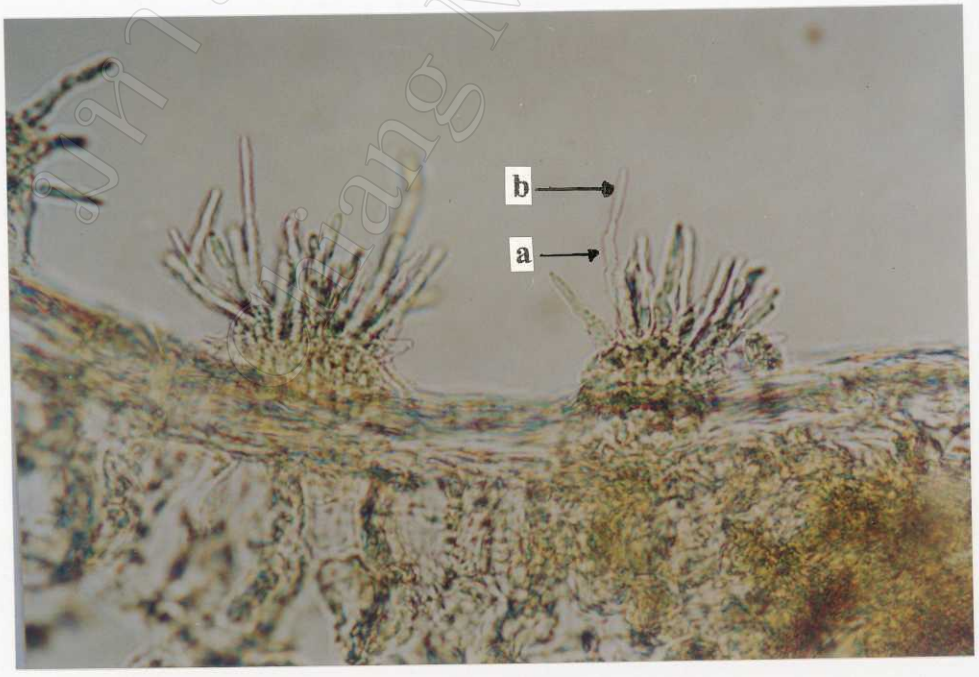
ลักษณะอาการของโรคใบจุดตานก (Bird-eye leaf spot)

จากการเก็บตัวอย่างใบสตรอเบอรี่ที่แสดงอาการของโรคใบจุดจากแปลงปลูกของเกษตรกรในจังหวัดเชียงใหม่และเชียงราย มาศึกษาและบันทึกอาการของโรค พบอาการลักษณะเป็นจุดกลมบริเวณกลางแผลมีสีน้ำตาล หรือสีเทาขอบแผลมีสีม่วงแดง ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผล 4 – 6 มิลลิเมตร (ภาพที่ 4) การตรวจหาเชื้อสาเหตุโดยวิธี Free Hand Section แล้วนำส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าลักษณะของ conidia รูปทรงกระบอกไม่มีสีมี septate 0 – 3 อัน conidia เจริญอยู่บน conidiophore ขนาดสั้น ไม่มีสี ไม่แตกกิ่งก้าน และพบรอยที่เกิดจากการหลุดร่วงของสปอร์ (scar) ชัดเจน (ภาพที่ 5) เชื้อราดังกล่าวคือ *Ramularia tulasnei* ตามที่ Maas (1998) ได้บรรยายไว้

ผลการแยกเชื้อสาเหตุ

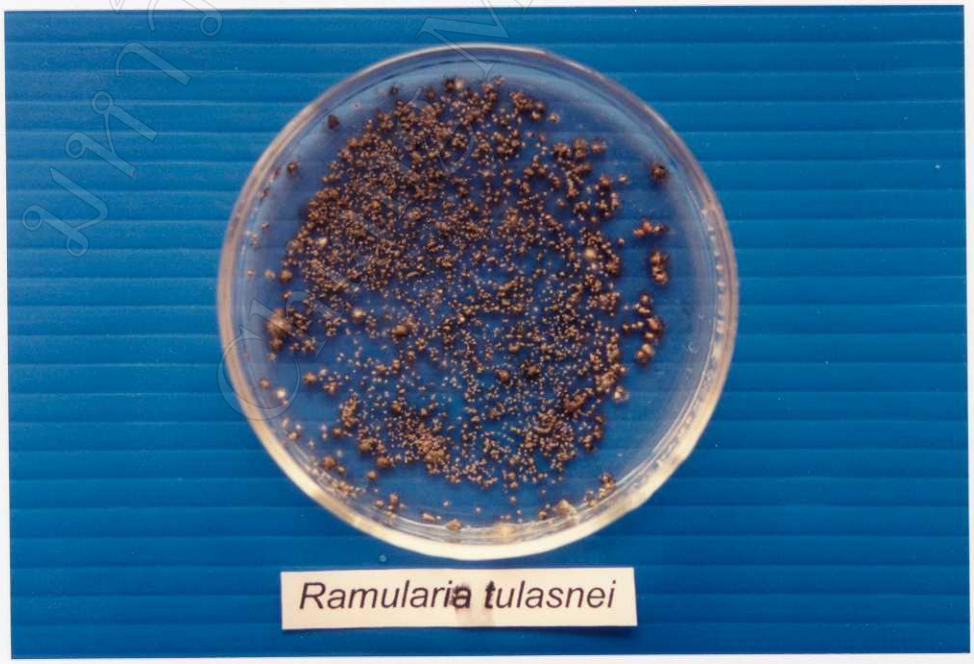
เมื่อแยกเชื้อราสาเหตุบริเวณแผลที่ใบ โดยเลี้ยงบนอาหาร PDA ด้วยวิธี tissue culture พบว่าเส้นใยเจริญออกมาจากชิ้นพืชช้ามาก ใช้เวลา 10 – 12 วัน จึงจะเจริญออกมาจากชิ้นพืช หลังจากแยกเชื้อบริสุทธิ์โดยแยกปลายเส้นใย (Hyphal Tip Isolation Technique) ไปเลี้ยงบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิห้องพบว่าเชื้อรามีการเจริญช้ามาก โคโลนีลักษณะกลมเจริญแผ่ออกมาในแนวรัศมี สร้าง pigment สีแดง และไม่มีการสร้างสปอร์ (ภาพที่ 6) แต่เมื่อนำไปเลี้ยงในสภาพที่ควบคุมอุณหภูมิ 18 $^{\circ}$C $\pm$ 2 $^{\circ}$C และอยู่ในที่มืดตลอดเวลา พบว่าเชื้อราสามารถสร้างสปอร์จำนวนมาก (ภาพที่ 7)

ภาพที่ 4 ลักษณะอาการของโรคใบจุดตานกของสตรอเบอรี่ที่พบในแปลงปลูก ที่เกิดจากเชื้อรา *Ramularia tulasnei*



ภาพที่ 5 ลักษณะ conidiophore (a) และ conidia (b) ของเชื้อรา *Ramularia tulasnei* (x 400)

ภาพที่ 6 ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Ramularia tulasnei* บนอาหาร PDA อายุ 14 วัน ปลูกเชื้อโดยวิธี Culture Disc Technique



ภาพที่ 7 เชื้อรา *Ramularia tulasnei* ที่ได้จากการเลี้ยงแบบ Spread Plate Technique บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

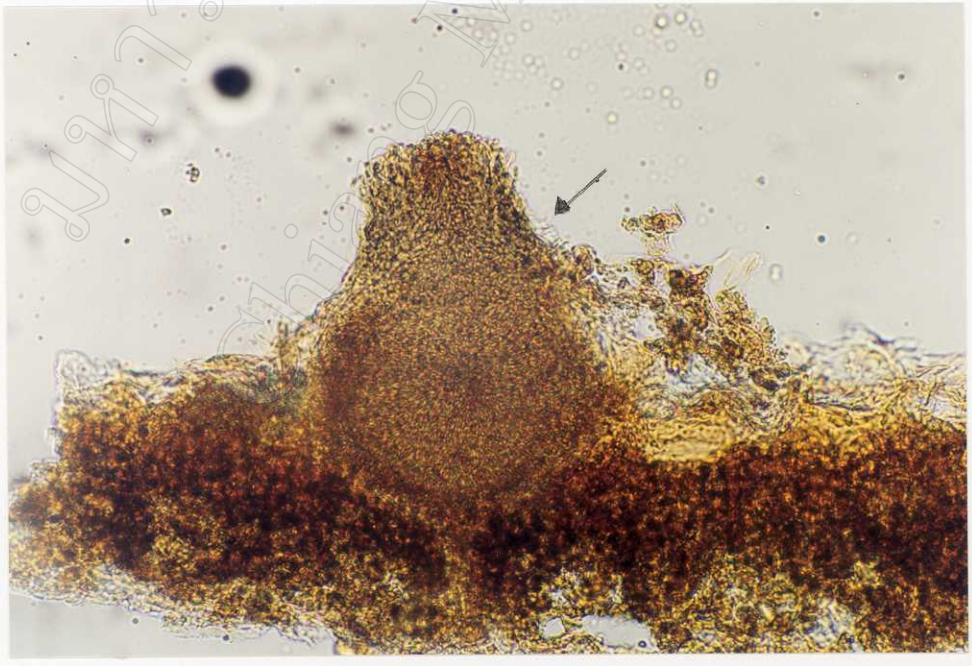
ลักษณะอาการของโรคใบไหม้โฟมอพซิส (Phomopsis leaf blight)

จากการเก็บตัวอย่างใบสตรอเบอรี่ที่แสดงอาการของโรคใบไหม้โฟมอพซิส จากแปลงปลูกของเกษตรกรในจังหวัดเชียงใหม่ และเชียงรายมาศึกษาและบันทึกอาการของโรค พบอาการในระยะแรกลักษณะเป็นจุดกลมสีม่วงแดง เมื่อแผลขยายใหญ่ขึ้น มีขอบแผลสีแดง หรือสีเหลือง กลางแผลมีสีน้ำตาลและพบโครงสร้างรูปคณโฑ คือ pycnidia เป็นจำนวนมาก เมื่อแผลมีอายุมากขึ้น จะพัฒนาเป็นรูปตัววี (V-shaped) (ภาพที่ 8) การตรวจหาเชื้อสาเหตุโดยวิธี Free Hand Section แล้วนำไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบ pycnidia ฝังอยู่ในเนื้อเยื่อบริเวณผิวใบพืช รูปร่างกลม ส่วนคอด้านบน (ostiole) โผล่พ้นผิวพืชออกมา (ภาพที่ 9) เชื้อราดังกล่าวคือ *Phomopsis obscurans* ตามที่ Maas (1998) ได้บรรยายไว้

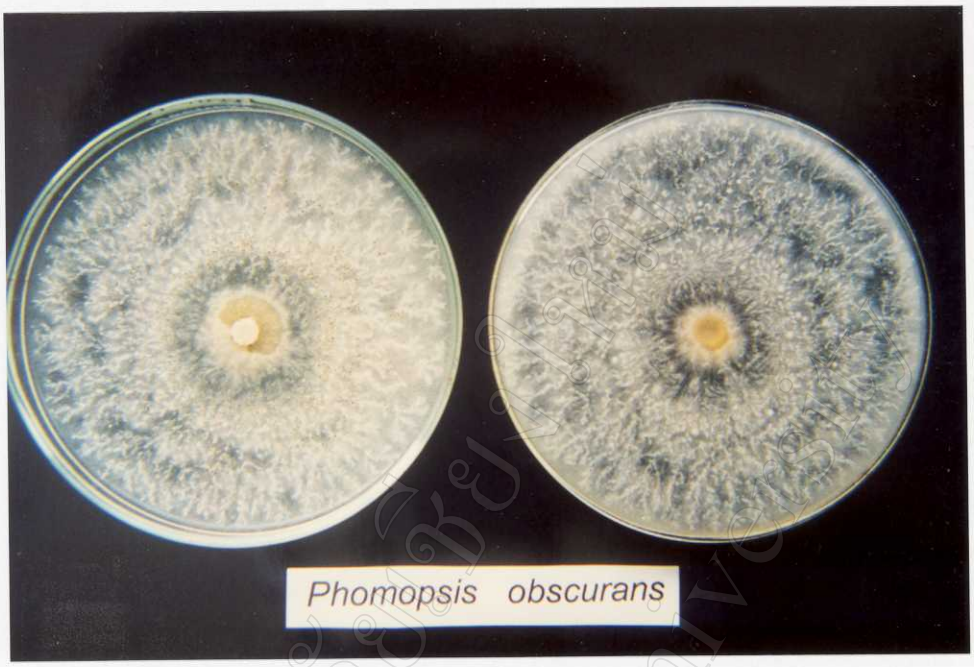
ผลการแยกเชื้อสาเหตุ

เชื้อราสาเหตุที่แยกได้จากบริเวณแผลที่ใบ เลี้ยงลงบนอาหาร PDA ปรากฏเป็นเส้นใยสีขาวเจริญออกมาจากชิ้นพืชภายใน 4 – 5 วัน เมื่อทำการแยกเชื้อโดยวิธี Hyphal Tip Isolation ไปเลี้ยงบนอาหาร PDA พบว่า เชื้อรามีลักษณะโคโลนีกลมเจริญออกมาในแนวรัศมี สีของโคโลนีเริ่มแรกเป็นเส้นใยสีขาวต่อมาเปลี่ยนเป็นสีครีม เมื่อมีอายุ 21 วัน (ภาพที่ 10) จะเริ่มพบโครงสร้าง pyenidia ปรากฏบนอาหาร รูปร่างและขนาดไม่แน่นอน (ภาพที่ 11)

ภาพที่ 8 ลักษณะอาการของโรคใบไหม้โฟมอพซิสของสตรอเบอรี่ในแปลงปลูก ที่เกิดจากเชื้อรา *Phomopsis obscurans*



ภาพที่ 9 โครงสร้าง pycnidia ของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* (x 200)



ภาพที่ 10 ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน

ภาพที่ 11 โครงสร้าง pycnidia ของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 21 วัน (X100)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

4.2 การแยกราปฏิปักษ์จากดิน และจุลินทรีย์จากใบสตรอเบอรี่

4.2.1 การแยกราปฏิปักษ์จากดิน

จากการนำเอาเชื้อราปฏิปักษ์ที่แยกได้จากดินบริเวณแปลงปลูกสตรอเบอรี่ของเกษตรกรในอำเภอสะเมิง และอำเภอจอมทอง จังหวัดเชียงใหม่ โดยวิธี Soil Dilution ได้เชื้อรา 38 ไอโซเลท มาทำการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 8 ชนิด พบว่ามีรา 3 ไอโซเลท ซึ่งอยู่ในสกุล Trichoderma ที่มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ทดสอบทั้ง 8 ชนิด จึงได้ทำการจำแนกชนิดโดยการวัดขนาดของสปอร์ phialide ตำแหน่งของ phialide สีของโคโลนี และสปอร์ ใช้วิธีการจำแนก (key) ของ Domsch และ Game (1980) ใน Compendium of Soil Fungi พบว่ามีลักษณะต่างๆ ดังนี้

Trichoderma viride (ไอโซเลท CMU2000–9) มีลักษณะการเจริญบนอาหาร PDA อย่างรวดเร็ว โคโลนีระยะแรกสีขาวใส ต่อมาโคโลนีมีสีเขียว (ภาพที่ 12) phialide เกิดเป็นกลุ่ม 2 – 3 อัน แต่ไม่ได้เรียงกันเป็นวงรอบก้าน และไม่ได้เกิดเป็นคู่ตรงข้ามกันตลอดกิ่งก้านที่แตกออกมา มีสีขาวใส ขนาด 10 x 2.5 ไมครอน phialospore ส่วนใหญ่รูปร่างกลม มีสีเขียว ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4.2 ไมครอน และรวมกลุ่มที่ปลายของแต่ละ phialide เพื่อสร้างเป็นกลุ่มสปอร์ (ภาพที่ 13)

Trichoderma harzianum (ไอโซเลท CMU2000–14) มีการเจริญบนอาหาร PDA อย่างรวดเร็ว ระยะแรกบริเวณที่สร้างสปอร์มีสีเขียวปนขาว ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีเขียวสด (ภาพที่ 14) phialide เกิดขึ้นเป็นกลุ่มมีจำนวนถึง 5 อัน อาจเกิดเดี่ยว ๆ ตามด้านข้างของกิ่งก้านที่แตกออกมา phialide สีใส มีขนาด 5 x 3 ไมครอน รูปร่างสั้น ส่วนฐานแคบกว่าตรงกลาง ส่วนบนเรียวจนถึงคอเป็นรูปกระสวยปลายแหลม phialospore มีสีเขียวอ่อน รูปร่างกลม ขนาด 3 ไมครอน (ภาพที่ 15)

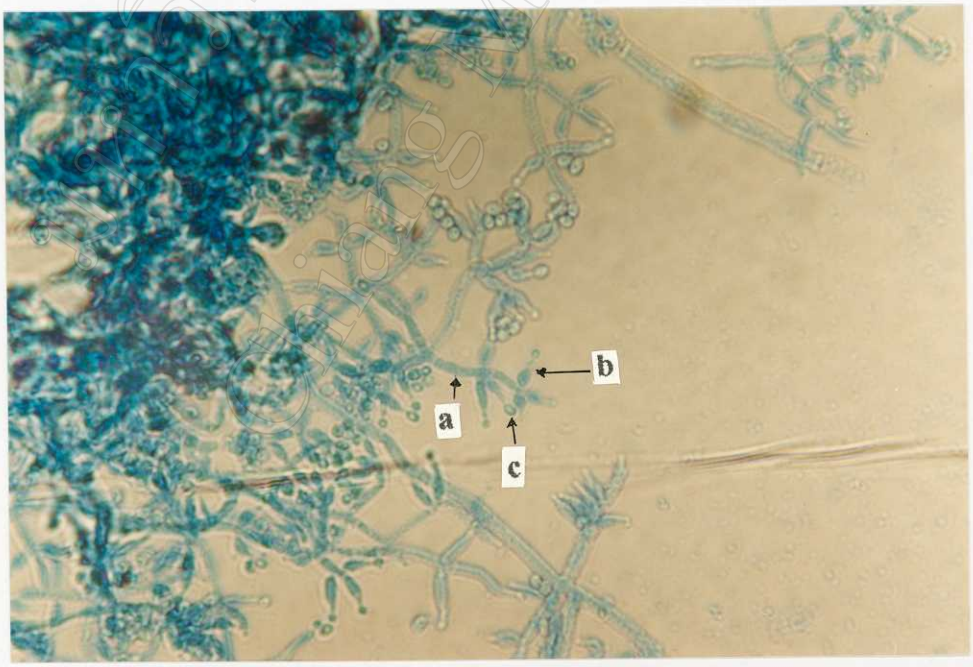
Trichoderma hamatum (ไอโซเลท CMU2000–16) มีการเจริญบนอาหาร PDA อย่างรวดเร็ว โคโลนีมีสีขาวใส เมื่อเจริญเต็มที่บริเวณที่สร้างสปอร์มีสีขาว หรือสีเขียวอ่อน (ภาพที่ 16) phialide มีการรวมกลุ่มกันจำนวน 2 – 5 อัน เซลล์ที่อยู่ปลายสุดจะสร้างกิ่งก้านออกไปอีก phialide รูปร่างอ้วนสั้นไม่มีสี ขนาด 4.3 x 3.5 ไมครอน phialospore มีสีเขียวอ่อน รูปร่างคล้ายกระสวย หรือบางครั้งมีรูปร่างทรงกระบอก ขนาด 4.2 x 2.5 ไมครอน (ภาพที่ 17)

ภาพที่ 12 ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma viride* (ไอโซเลท CMU 2000-9) บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน

ภาพที่ 13 ลักษณะ conidiophore (a), phialide (b) และ conidia (c) ของเชื้อรา *Trichoderma viride* (ไอโซเลท CMU 2000-9) (x400)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

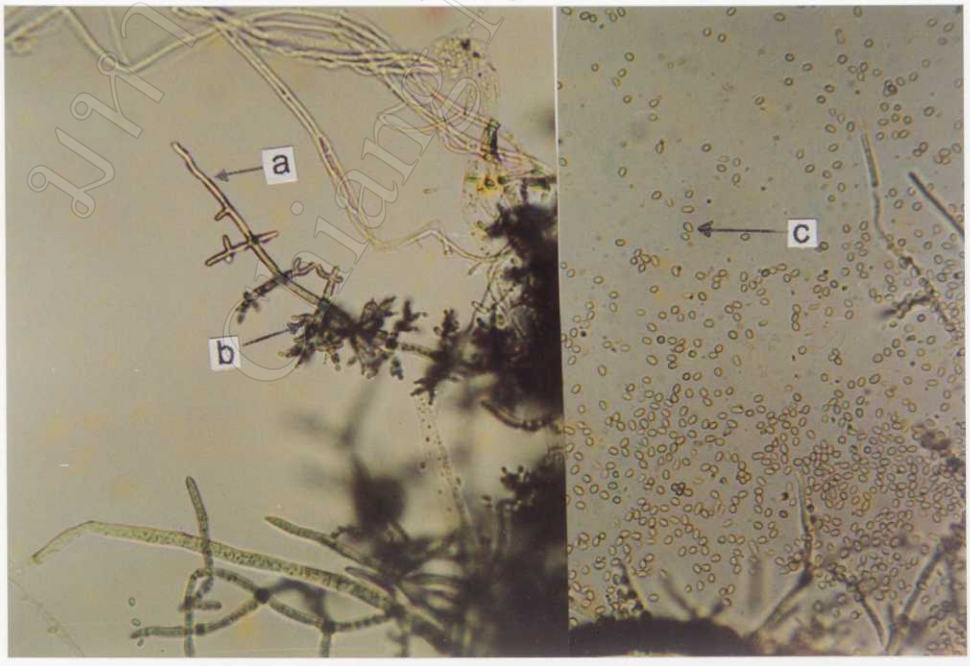
ภาพที่ 14 ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* (ไอโซเลท CMU 2000-14) บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน



ภาพที่ 15 ลักษณะ conidiophore (a), phialide (b) และ conidia (c) ของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* (ไอโซเลท CMU 2000-14) (x400)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ภาพที่ 16 ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma hamatum* (ไอโซเลท CMU 2000-16) บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน



ภาพที่ 17 ลักษณะ conidiophore (a), phialide (b) และ conidia (c) ของเชื้อรา *Trichoderma hamutum* (ไอโซเลท CMU2000-16) (x400)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University

4.2.2 การแยกจุลินทรีย์จากใบสตรอเบอรี่

จากการแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากผิวใบของสตรอเบอรี่ที่นำมาจากแปลงเกษตรกรในอำเภอสะเมิงและอำเภอจอมทอง จังหวัดเชียงใหม่ โดยวิธี Dilution Plate บนอาหาร NA พบว่าที่ความเข้มข้นของสารละลายน้ำล้างใบสตรอเบอรี่ 10^{-5}, 10^{-6} และ 10^{-7} เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมในการแยกเป็นโคโลนีเดี่ยว (single colony) โดยพบว่ามีเพียงแบคทีเรียเท่านั้นที่เจริญจากการย้ายเลี้ยงโคโลนีเดี่ยวของเชื้อที่มีรูปร่างและขนาดแตกต่างกัน ได้เชื้อแบคทีเรียจำนวน 18 ไอโซเลท

การเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้และเชื้อราสาเหตุโรคพืช 4 ชนิดร่วมกันบนอาหาร NA โดยวิธี Dual Culture Technique พบว่าเชื้อแบคทีเรียทั้ง 18 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชทั้ง 4 ชนิดได้ดีแตกต่างกัน คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุ (ตารางที่ 2) โดยพบว่าไอโซเลทที่สามารถยังยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ดี 2 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท CMU b2000–1 และไอโซเลท CMU b2000–6 ซึ่งมีลักษณะดังนี้

แบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท CMU b2000–1 และ CMU b2000–6 เมื่อเลี้ยงบนอาหาร NA เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ปรากฏโคโลนีสีครีม รูปร่างไม่แน่นอนขอบของโคโลนีมีลักษณะหยัก (ภาพที่ 18 และภาพที่ 20) เมื่อตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบเซลล์ลักษณะเป็นท่อน (rod shape) ขนาดประมาณ 1.0 – 1.2 x 3.0 – 3.5 ไมครอนหัวท้ายลักษณะเป็นเหลี่ยมเรียงต่อกัน เมื่อย้อมสีด้วยวิธีแกรม พบว่าเป็นแกรมบวก (ภาพที่ 19 และภาพที่ 21)

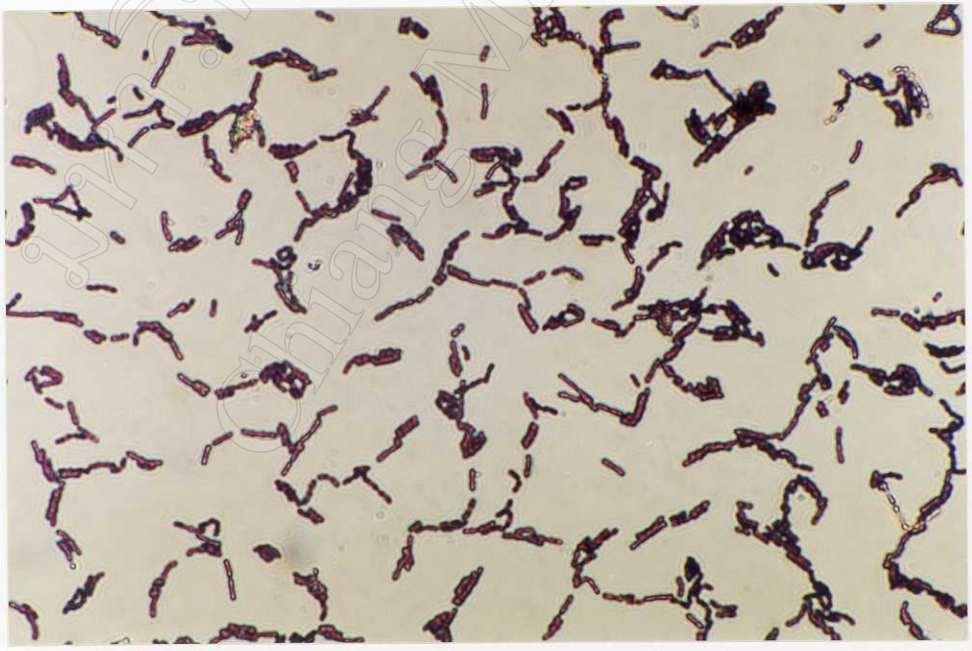
ตารางที่ 2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลทต่าง ๆ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 4 ชนิด บนอาหาร PDA โดยวิธี Dual Culture Technique

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ[1]			
	Rhizoctonia sp.	*Fusarium* sp.	*Colletotrichum* sp.	*Phomopsis obscurans*
ไอโซเลท CMU b2000-6	25.28de[2]	40.50a	42.10a	48.71a
ไอโซเลท CMU b2000-1	38.46a	37.97b	40.78a	44.78a
ไอโซเลท CMU b2000-17	26.66cd	17.72h	34.21bc	33.33fghi
ไอโซเลท CMU b2000-14	31.53b	35.44b	32.89bc	38.46cd
ไอโซเลท CMU b2000-18	29.12bc	28.13d	30.15d	27.53klm
ไอโซเลท CMU b2000-3	21.80ef	35.44b	19.73f	37.17de
ไอโซเลท CMU b2000-10	20.15fghi	21.52g	35.52b	32.05ghij
ไอโซเลท CMU b2000-12	20.15fghi	26.58de	23.15ef	35.85def
ไอโซเลท CMU b2000-15	20.51fgh	24.14f	27.63d	33.65fgh
ไอโซเลท CMU b2000-5	14.10k	30.37c	14.47hi	37.17de
ไอโซเลท CMU b2000-9	18.34fghij	25.31ef	13.15ij	37.17de
ไอโซเลท CMU b2000-2	10.25l	26.58de	25.00c	25.64m
ไอโซเลท CMU b2000-8	17.94fghij	14.92i	14.47hi	41.02b
ไอโซเลท CMU b2000-4	20.51fgh	20.25g	22.36ef	21.79n
ไอโซเลท CMU b2000-16	14.10k	15.18i	22.36ef	30.76hijk
ไอโซเลท CMU b2000-7	21.79efg	10.12j	17.10g	34.61efg
ไอโซเลท CMU b2000-11	14.10k	17.72h	11.84ijk	29.48jkl
ไอโซเลท CMU b2000-13	7.00m	10.12j	10.52k	25.64m
CV %	13.44	9.38	10.96	7.52

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ

[2] ตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ภาพที่ 18 ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียไอโซเลท CMU b2000–1 บนอาหาร NA อายุ 2 วัน



ภาพที่ 19 ลักษณะเซลล์ของแบคทีเรียไอโซเลท CMU b2000–1 (x400)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ภาพที่ 20 ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียไอโซเลท CMU b2000–6 บนอาหาร NA อายุ 2 วัน

ภาพที่ 21 ลักษณะเซลล์ของแบคทีเรียไอโซเลท CMU b2000-6 (x400)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

4.3 ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดตานกและโรคใบไหม้โฟมอพซิสของสตรอเบอรี่

4.3.1 ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดตานก

จากการทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดตานก พบว่าราปฏิปักษ์ *Trichoderma viride* (ไอโซเลท CMU2000–9) ให้ผลการยับยั้งสูงสุดคือ 39.15% แตกต่างจากจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รองลงมาได้แก่ *T. harzianum* (ไอโซเลท CMU2000–14) (35.99 %), *T. hamatum* (ไอโซเลท CMU 2000–16) (32.48 %), แบคทีเรียไอโซเลท CMU b2000–6 (27.14 %) และไอโซเลท CMU b2000–1 (22.57 %) ตามลำดับ (ตารางที่ 3 ภาพที่ 22 และภาพที่ 23)

4.3.2 ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้โฟมอพซิส

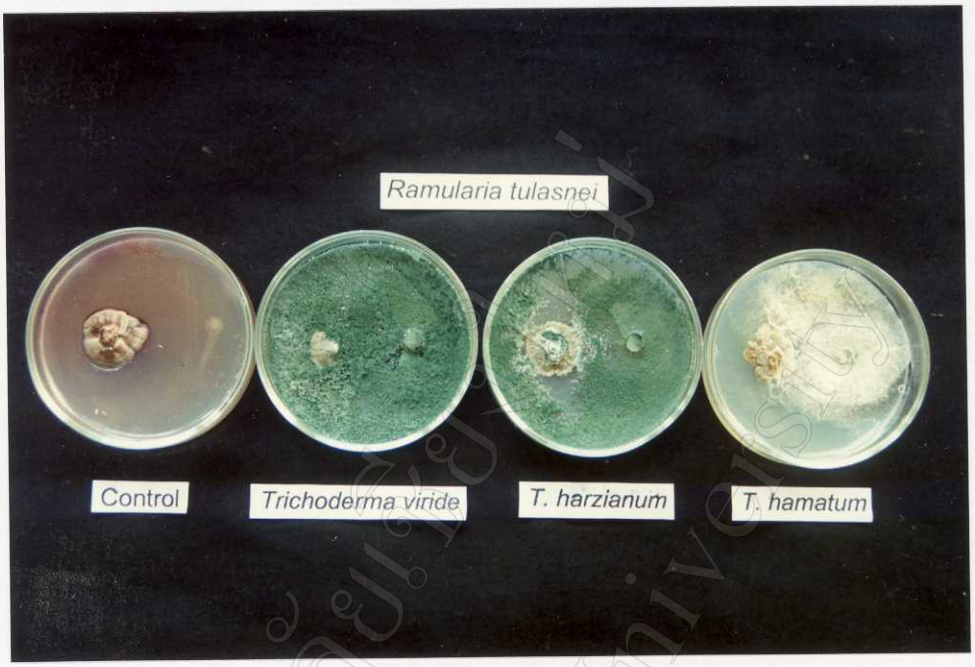
จากการทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้โฟมอพซิส พบว่าราปฏิปักษ์ *Trichoderma viride* (ไอโซเลท CMU2000–9) ให้ผลการยับยั้งสูงสุดคือ 54.84% แตกต่างจากจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รองลงมาได้แก่ *T. harzianum* (ไอโซเลท CMU2000–14) (51.94 %), *T. hamatum* (49.59 %), แบคทีเรียไอโซเลท CMU b2000–6 (46.29%) และไอโซเลท CMU b2000–1 (39.41 %) ตามลำดับ (ตารางที่ 3 ภาพที่ 24 และภาพที่ 25)

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Ramularia tulasnei* และเชื้อรา *Phomopsis obscurans* สาเหตุโรคใบจุดตานกและโรคใบไหม้โฟมอพซิสของสตรอเบอรี่ โดยเรียงลำดับจากเปอร์เซ็นต์ยับยั้งสูงสุด

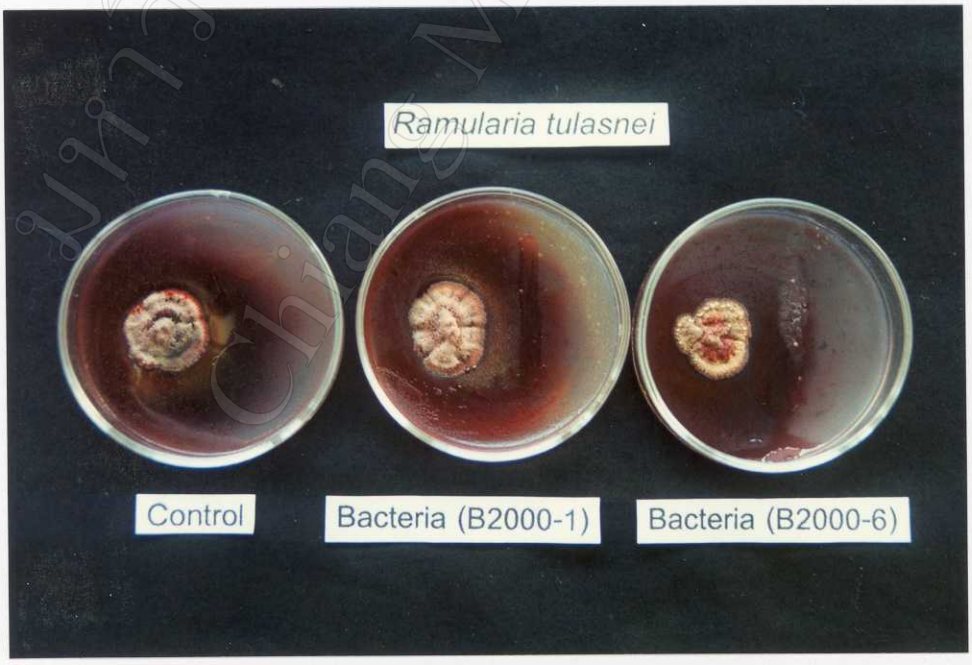
กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ[1]	
	Ramularia tulasnei	*Phomopsis obscurans*
Trichoderma viride (ไอโซเลท CMU2000-9)	39.15a[2]	54.84a
T. harzianum (ไอโซเลท CMU2000-14)	35.99ab	51.94ab
T. hamatum (ไอโซเลท CMU2000-16)	32.48b	49.59b
แบคทีเรีย (ไอโซเลท CMU b2000-6)	27.14c	46.29c
แบคทีเรีย (ไอโซเลท CMU b2000-1)	22.57d	39.41c
CV %	13.33	5.78

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ต้น ในแต่ละกรรมวิธี

[2] ตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

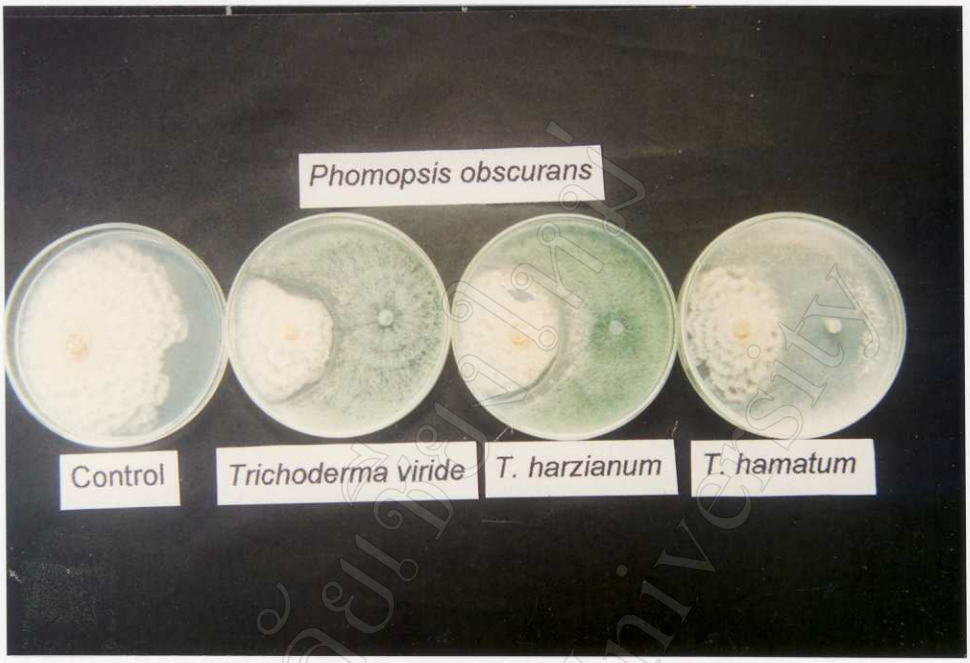


ภาพที่ 22 ประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา
Ramularia tulasnei สาเหตุโรคใบจุดตานกของสตรอเบอรี่ บนอาหาร PDA อายุ 14 วัน

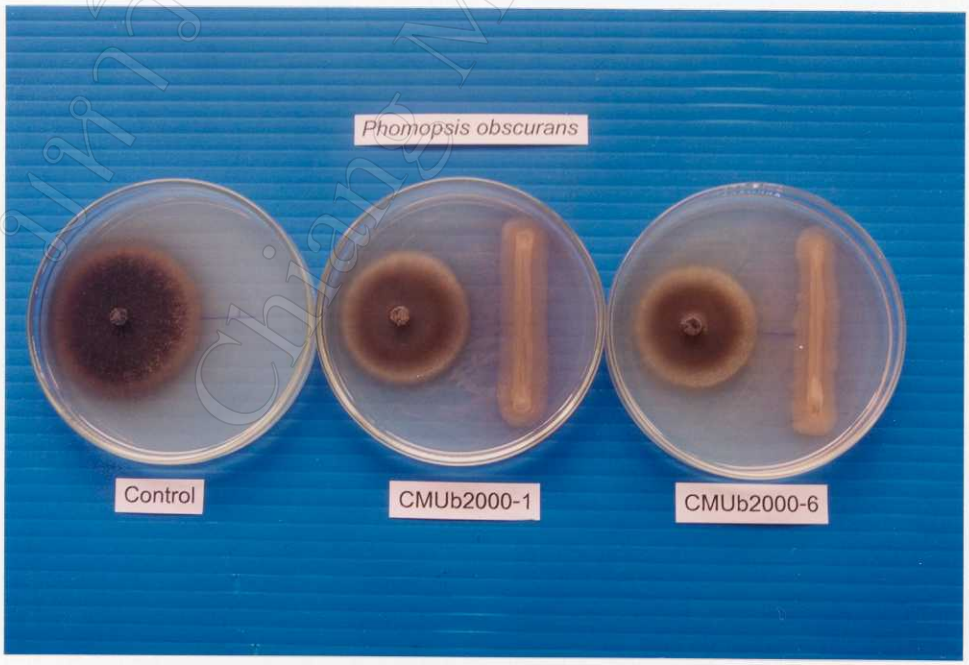


ภาพที่ 23 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา
Rumularia tulasnei สาเหตุโรคใบจุดตานกของสตรอเบอรี่ บนอาหาร PDA อายุ 14 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University



ภาพที่ 24 ประสิทธิภาพของราปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* สาเหตุโรคใบไหม้โฟมอพซิสของสตรอเบอรี่ บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน

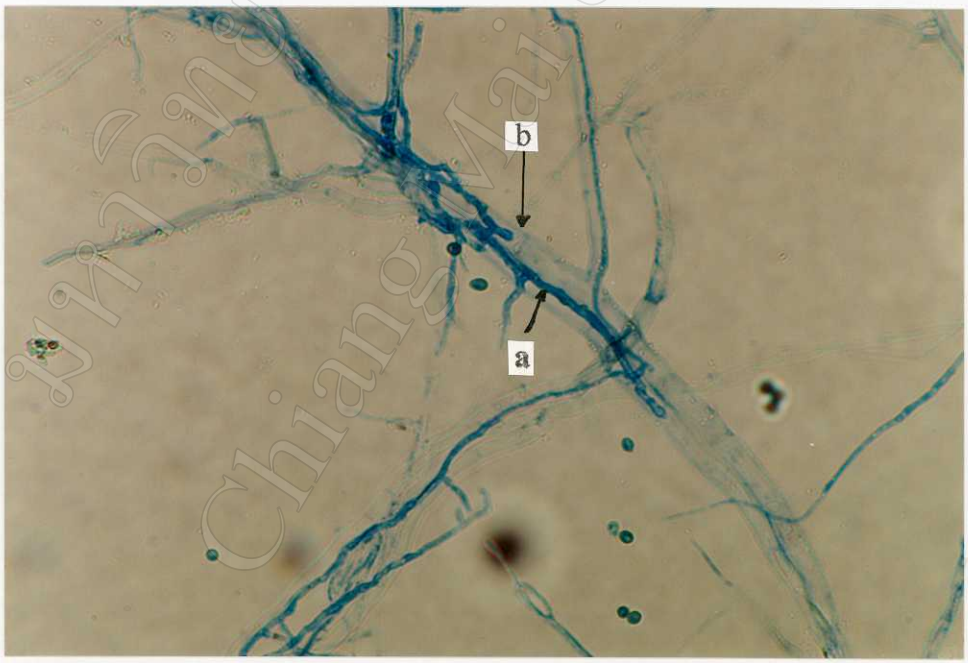


ภาพที่ 25 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* สาเหตุโรคใบไหม้โฟมอพซิสของสตรอเบอรี่ บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน

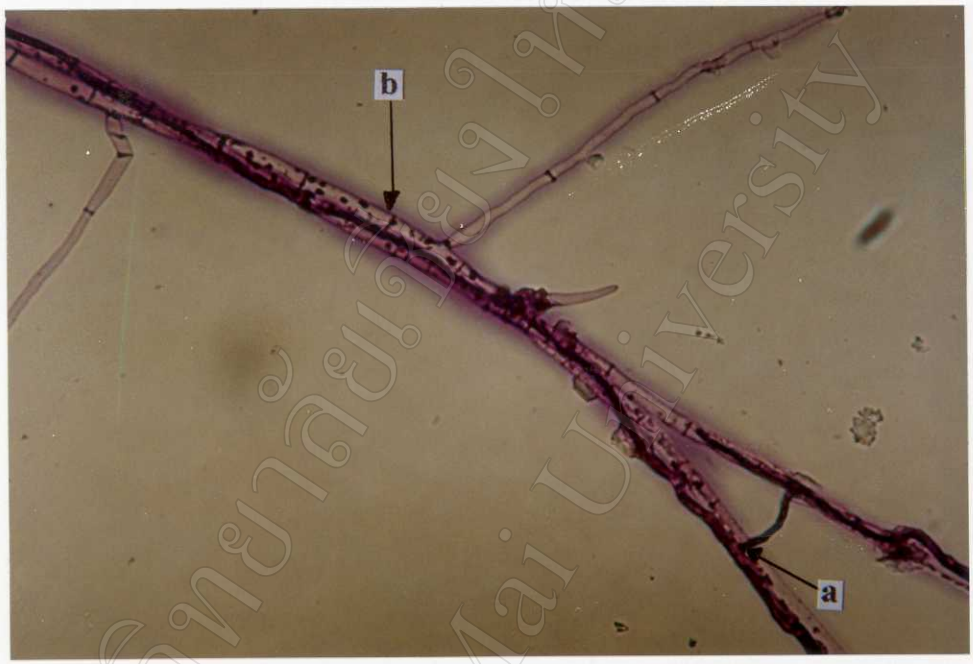
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

4.4 การศึกษาการเป็นปรสิตของเชื้อราปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืช

จากการเลี้ยงเชื้อราปฏิปักษ์และเชื้อราสาเหตุร่วมกันบนอาหาร PDA โดยวิธี Dual Slide Culture และ Vernal Slide Culture ระยะเวลา 7 วัน แล้วนำไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า เชื้อรา *Trichoderma viride* (ไอโซเลท CMU2000–9) เส้นใยขนาดเล็กสีเข้ม มีการเจริญและแทงทะลุเข้าไปภายในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุ *Ramularia tulasnei* ซึ่งเส้นใยขนาดใหญ่สีจางกว่า ทำให้เส้นใยของราสาเหตุแฟบลง (ภาพที่ 26) และพบว่า เชื้อรา *Trichoderma viride* (ไอโซเลท CMU2000-9) เส้นใยขนาดเล็กสีเข้ม มีการเจริญและแทงทะลุเข้าไปภายในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุ *Phomopsis obscurans* ซึ่งเส้นใยขนาดใหญ่สีจาง ทำให้เส้นใยของราสาเหตุแฟบลง (ภาพที่ 27)



ภาพที่ 26 ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma viride* (ไอโซเลท CMU2000-9) ขนาดเล็กและสีเข้ม (ศรชี้ a) เจริญอยู่ภายในเส้นใยของเชื้อรา *Ramularia tulasnei* ขนาดใหญ่สีจาง (ศรชี้ b) ที่ย้อมสีด้วย cotton blue ใน lactophenol (x400)



ภาพที่ 27 ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma viride* (ไอโซเลท CMU2000-9) ขนาดเล็กสีเข้ม (ศรชี้ a) เจริญอยู่ภายในเส้นใยของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* ขนาดใหญ่สีจาง (ศรชี้ b) ที่ย้อมสีด้วย crystal violet 0.3 % (x400)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

4.5 ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบจุดตานก และโรคใบไหม้โฟมอพซิส ในสภาพเรือนทดลอง

4.5.1 ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบจุดตานก

จากการฉีดพ่นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ สารชีวภัณฑ์ Larminar และสารเคมี Antracol โดยทำการพ่นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ก่อนการปลูกเชื้อราสาเหตุ 1 วัน และพ่นซ้ำอีกทุก 5 วันหลังฉีดพ่นครั้งแรก ผลปรากฏว่าภายหลังการฉีดพ่น 25 วัน จุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถลดระดับการเกิดโรคได้ในทุกกรรมวิธีที่ทดสอบ เมื่อเปรียบเทียบกับการปลูกเชื้อราสาเหตุเพียงอย่างเดียว โดยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่สามารถควบคุมได้ดี ได้แก่ *Trichoderma viride* (ไอโซเลท CMU2000–9) และ *T. harzianum* (ไอโซเลท CMU2000–14) ซึ่งสามารถลดระดับการเกิดโรคได้ 29.93 เปอร์เซ็นต์ และ 27.52 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วน Larminar สามารถลดระดับการเกิดโรคได้เพียง 10.01 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ Antracol สามารถลดระดับการเกิดโรคได้ถึง 91.26 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4) เมื่อพิจารณาถึงเปอร์เซ็นต์ดัชนีการทำลาย ก็เป็นไปในทำนองเดียวกันกล่าวคือ จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่สามารถลดเปอร์เซ็นต์ดัชนีการทำลายได้ดี ได้แก่ *Trichoderma viride* (ไอโซเลท CMU 2000-9) และ *T. harzianum* (ไอโซเลท CMU 2000-14) โดยสามารถลดเปอร์เซ็นต์ดัชนีการทำลายลงได้ 53.23 เปอร์เซ็นต์ และ 52.11 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วน Larminar สามารถลดระดับได้เพียง 22.27 เปอร์เซ็นต์ และ ในขณะที่ Antracol สามารถลดเปอร์เซ็นต์ดัชนีการทำลายได้สูงถึง 88.88 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 5 ภาพที่ 28)

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ สารชีวภัณฑ์ Larminar และสารเคมี Antracol ในการควบคุมโรคใบจุดตานกของสตรอเบอรี่ โดยวัดผลเป็นเปอร์เซ็นต์ใบที่เป็นโรคต่อต้น หลังการปลูกเชื้อ 10 15 20 และ 25 วัน เรียงลำดับจากกรรมวิธีที่ควบคุมได้ดีที่สุด

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์ใบที่เป็นโรค/ต้น[1]				
	10 วัน	15 วัน	20 วัน	25 วัน	% ลดลง หลังพ่น 25 วัน
ปลูกเชื้อ + Antracol	0.00g[2]	0.00g	2.70g	3.75g	91.26a
ปลูกเชื้อ + *Trichoderma viride* (ไอโซเลท CMU 2000-9)	12.58cdef	18.14ef	25.20cdef	28.12def	29.93b
ปลูกเชื้อ + *T. harzianum* (CMU 2000-14)	10.15f	17.27ef	25.48cdef	28.83cdef	27.52bc
ปลูกเชื้อ + *T. hamatum* (ไอโซเลท CMU 2000-16)	17.70bcde	22.90de	28.66bcd	29.20cde	27.04bcd
ปลูกเชื้อ + แบคทีเรีย CMU b2000-6	20.01abc	27.63bcd	28.36bcde	31.20bcd	22.25bcde
ปลูกเชื้อ + แบคทีเรีย CMU b2000-1	18.04bcd	29.75bc	31.76abc	34.46bc	14.57bcdef
ปลูกเชื้อ + Larminar	25.00ab	31.66ab	33.39ab	35.88ab	10.01ef
ปลูกเชื้อ	26.37a	36.45a	38.36a	40.34a	
CV %	28.93	16.47	16.69	12.37	31.90

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ต้น ในแต่ละกรรมวิธี

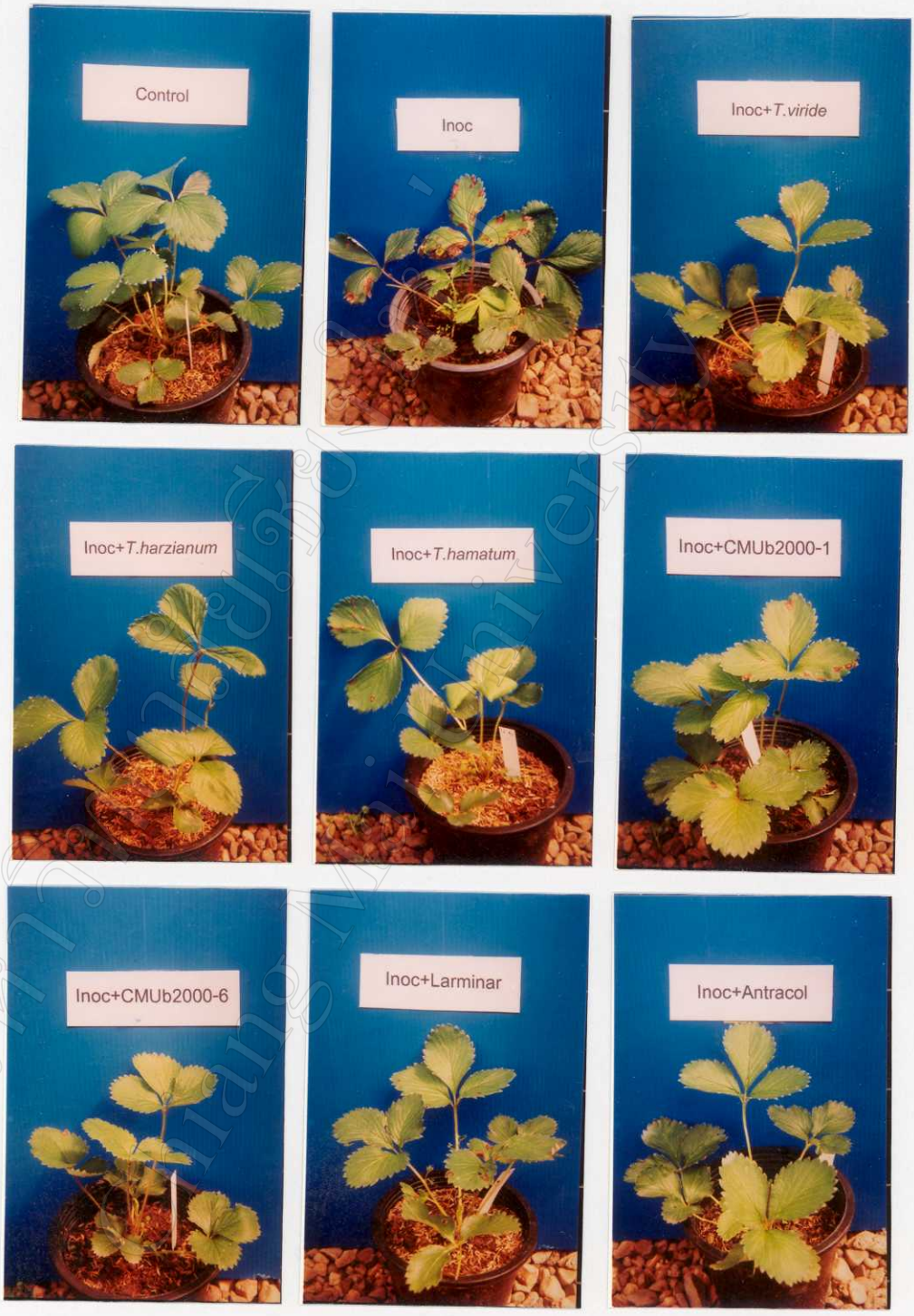
[2] ตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ สารชีวภัณฑ์ Larminar และสารเคมี Antracol ในการควบคุมโรคใบจุดตานกของสตรอเบอรี่ โดยวัดผลเป็นเปอร์เซ็นต์ดัชนีการทำลาย หลังการปลูกเชื้อ 10 15 20 และ 25 วัน เรียงลำดับจากกรรมวิธีที่ควบคุมได้ดีที่สุด

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์ดัชนีการทำลาย[1]				
	10 วัน	15 วัน	20 วัน	25 วัน	% ลดลงหลังพ่น 25 วัน
ปลูกเชื้อ + Antracol	0.00g[2]	0.00g	2.50g	5.00g	88.88a
ปลูกเชื้อ + *Trichoderma viride* (ไอโซเลท CMU 2000-9)	16.25bcdef	16.88def	18.13ef	21.88ef	53.23b
ปลูกเชื้อ + *T. harzianum* (ไอโซเลท CMU 2000-14)	15.00bcdef	15.63ef	16.88f	22.50f	52.11bc
ปลูกเชื้อ + *T. hamatum* (ไอโซเลท CMU 2000-16)	18.13bcdef	20.63bcde	21.88de	28.13cde	40.03bcd
ปลูกเชื้อ + แบคทีเรีย CMU b2000-6	18.75bcd	24.38bcd	27.50bcd	31.25bcd	33.38bc
ปลูกเชื้อ + แบคทีเรีย CMU b2000-1	19.38bc	26.88bc	29.38bc	33.75bc	27.96def
ปลูกเชื้อ + Larminar	20.63b	28.13b	30.63b	36.25b	22.27ef
ปลูกเชื้อ	30.63a	40.63a	45.63a	46.88a	
CV %	35.22	25.75	18.03	15.94	20.91

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ต้น ในแต่ละกรรมวิธี

[2] ตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 28 ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ สารชีวภัณฑ์ Larminar (*Bacillus subtilis*) และสารเคมี Antracol (propineb) ในการควบคุมโรคใบจุดตานกของสตรอเบอรี่

Inoc = Inoculation (ปลูกเชื้อ)

4.5.2 ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบไหม้โฟมอพซิส

จากการฉีดพ่นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ สารชีวภัณฑ์ Larminar และสารเคมี Antracol โดยทำการฉีดพ่นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ก่อนการปลูกเชื้อราสาเหตุ 1 วัน และพ่นซ้ำอีกทุก 5 วันหลังฉีดพ่นครั้งแรก จำนวน 4 ครั้ง ผลปรากฏว่าภายหลังการฉีดพ่น 20 วันจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถลดระดับการเกิดโรคได้ในทุกกรรมวิธีที่ทดสอบ เมื่อเปรียบเทียบกับการปลูกเชื้อราสาเหตุเพียงอย่างเดียว โดยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่สามารถควบคุมได้ดี ได้แก่ *Trichoderma viride* (ไอโซเลท CMU2000–9) และแบคทีเรีย CMU b 2000-6 ซึ่งสามารถลดระดับการเกิดโรคได้ถึง 67.03 เปอร์เซ็นต์และ 63.23 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนสารชีวภัณฑ์ Larminar สามารถลดระดับการเกิดโรคได้ 51.20 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่สารเคมี Antracol สามารถลดระดับการเกิดโรคได้สูงสุดถึง 81.31 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 6) เมื่อพิจารณาถึงเปอร์เซ็นต์ดัชนีการทำลายพบว่า จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่สามารถลดเปอร์เซ็นต์ดัชนีการทำลายได้ดีได้แก่ *Trichoderma harzianum* (ไอโซเลท CMU 2000-14) และ *T. viride* (ไอโซเลท CMU 2000-9) โดยสามารถลดเปอร์เซ็นต์ดัชนีการทำลายลงได้ 59.72 เปอร์เซ็นต์ และ 57.98 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนสารชีวภัณฑ์ Larminar สามารถลดเปอร์เซ็นต์ดัชนีการทำลายได้เพียง 27.26 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่สารเคมี Antracol สามารถลดเปอร์เซ็นต์ดัชนีการทำลายได้สูงถึง 71.59 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 7 ภาพที่ 29)

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ สารชีวภัณฑ์ Larminar และสารเคมี Antracol ในการควบคุมโรคใบไหม้โฟมอพซิสของสตรอเบอรี่ โดยวัดผลเป็นเปอร์เซ็นต์ใบที่เป็นโรคต่อต้น หลังการปลูกเชื้อ 5 10 15 และ 20 วัน เรียงลำดับจากกรรมวิธีที่ควบคุมได้ดีที่สุด

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์ใบที่เป็นโรค/ต้น[1]				
	5 วัน	10 วัน	15 วัน	20 วัน	% ลดลง หลังพ่น 25 วัน
ปลูกเชื้อ + Antracol	9.13g[2]	8.45g	10.04f	9.68g	81.31a
ปลูกเชื้อ + *Trichoderma viride* (ไอโซเลท CMU 2000-9)	11.36f	14.92f	13.64def	16.73def	67.03b
ปลูกเชื้อ + แบคทีเรีย CMU b2000-6	17.89cde	23.29bcd	21.38c	18.57cdef	63.23bc
ปลูกเชื้อ + *T. harzianum* (ไอโซเลท CMU 2000-14)	16.47cdef	19.97de	16.87d	20.00bcd	60.92bcd
ปลูกเชื้อ + *T. hamatum* (ไอโซเลท CMU 2000-16)	18.27cd	19.09e	16.57de	22.29bcd	55.98cde
ปลูกเชื้อ + แบคทีเรีย CMU b2000-1	20.31bc	24.21bc	23.35bc	23.71bc	53.95def
ปลูกเชื้อ + Larminar	23.10b	27.43b	26.09b	24.87b	51.20ef
ปลูกเชื้อ	39.00a	49.76a	42.99a	51.49a	
CV %	15.88	11.36	13.82	15.29	8.67

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ต้น ในแต่ละกรรมวิธี

[2] ตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ สารชีวภัณฑ์ Larminar และสารเคมี Antracol ในการควบคุมโรคใบไหม้โฟมอพซิสของสตรอเบอรี่ โดยวัดผลเป็นเปอร์เซ็นต์ดัชนีการทำลาย หลังการปลูกเชื้อ 5 10 15 และ 20 วัน เรียงลำดับจากกรรมวิธีที่ควบคุมได้ดีที่สุด

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์ดัชนีการทำลาย[1]				
	5 วัน	10 วัน	15 วัน	20 วัน	% ลดลงหลังพ่น 25 วัน
ปลูกเชื้อ + Antracol	16.25defg[2]	22.50bcdefg	22.50bcdefg	15.00cdefg	71.59a
ปลูกเชื้อ + *T. harzianum* (ไอโซเลท CMU 2000-14)	20.00bcd	26.25bcde	18.75cdefg	21.25cdefg	59.72b
ปลูกเชื้อ + *T. viride* (ไอโซเลท CMU 2000-9)	12.50defg	17.50cdefg	23.75bcdef	22.50cdef	57.98bc
ปลูกเชื้อ + *T. hamatum* (ไอโซเลท CMU 2000-16)	19.38bcde	26.25bcd	25.00bcde	24.38bcde	52.37bcd
ปลูกเชื้อ + แบคทีเรีย CMU b2000-1	26.25bc	28.75bc	27.50bc	25.00bcd	51.23bcde
ปลูกเชื้อ + แบคทีเรีย CMU b2000-6	18.13bcdef	22.50bcdef	26.25bcd	27.50bc	47.90de
ปลูกเชื้อ + Larminar	26.88b	33.75b	35.00ab	37.50b	27.26f
ปลูกเชื้อ	45.00a	59.38a	47.50a	53.13a	
CV %	25.72	26.34	31.44	30.70	32.22

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ต้น ในแต่ละกรรมวิธี

[2] ตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ภาพที่ 29 ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ สารชีวภัณฑ์ Larminar (*Bacillus subtilis*) และสารเคมี Antracol (propineb) ในการควบคุมโรคใบไหม้โฟมอพซิสของสตรอเบอรี่

Inoc = Inoculation (ปลูกเชื้อ)

4.6 ผลของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบไหม้โฟมอพซิสในสภาพแปลงทดลอง

จากการฉีดพ่นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และสารชีวภัณฑ์ Larminar (*Bacillus subtilis*) ทำการฉีดพ่นหลังจากสตรอเบอรี่ที่ปลูกในแปลงทดลองมีอายุได้ 1 เดือน โดยมิได้ทำการปลูกเชื้อราสาเหตุ ทำการฉีดพ่นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และสารชีวภัณฑ์ชื่อการค้า Larminar ทุกสัปดาห์จำนวน 8 ครั้ง พบว่าทุกกรรมวิธีที่ทดสอบมีเปอร์เซ็นต์ของใบที่เป็นโรคต่อต้น และเปอร์เซ็นต์ดัชนีการทำลายค่อนข้างต่ำ เมื่อนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์พบว่าทุกกรรมวิธีที่ทดสอบให้ผลไม่แตกต่างจากชุดควบคุมไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 8 , ตารางที่ 9 และภาพที่ 30)

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ และสารชีวภัณฑ์ Larminar ในการควบคุมโรคใบไหม้โฟมอพซิสของสตรอเบอรี่ที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ วัดผลเป็นเปอร์เซ็นต์ใบที่เป็นโรคต่อต้น หลังการฉีดพ่น 2 4 6 และ 8 สัปดาห์ เรียงลำดับจากกรรมวิธีที่ควบคุมได้ดีที่สุด

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์ใบที่เป็นโรค/ต้น[1]			
	2 สัปดาห์	4 สัปดาห์	6 สัปดาห์	8 สัปดาห์
สารชีวภัณฑ์ชื่อการค้า Larminar	3.44NS	2.29NS	4.12NS	2.15NS
Trichoderma harzianum (ไอโซเลท CMU 2000-14)	3.44	3.03	3.27	2.34
T. viride (ไอโซเลท CMU 2000-9)	3.86	4.39	3.58	2.62
แบคทีเรีย ไอโซเลท CMU b2000-1	3.70	3.52	3.34	2.76
แบคทีเรีย ไอโซเลท CMU b2000-6	2.92	3.06	3.25	2.85
T. hamatum (ไอโซเลท CMU 2000-16)	2.84	3.59	2.18	3.77
ชุดควบคุม (Control)	4.53	5.75	4.16	4.35
CV %	35.57	37.03	34.53	40.11

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ต้น ในแต่ละกรรมวิธี

ตารางที่ 9 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ สารชีวภัณฑ์ Larminar ในการควบคุมโรคใบไหม้โฟมอพซิสของสตรอเบอรี่ที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ วัดผลเป็นเปอร์เซ็นต์ดัชนีการทำลายหลังการปลูกเชื้อ 2 4 6 และ 8 สัปดาห์ เรียงลำดับจากกรรมวิธีที่ควบคุมได้ดีที่สุด

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์ดัชนีการทำลาย[1]			
	2 สัปดาห์	4 สัปดาห์	6 สัปดาห์	8 สัปดาห์
สารชีวภัณฑ์ชื่อการค้า Larminar	9.00NS	9.00NS	10.50NS	7.58NS
Trichoderma viride (ไอโซเลท CMU 2000-9)	8.17	8.75	8.25	8.50
แบคทีเรีย ไอโซเลท CMU b 2000-1	7.58	9.08	9.58	8.50
T. hamatum (ไอโซเลท CMU 2000-16)	7.42	8.58	7.50	9.00
แบคทีเรีย ไอโซเลท CMU b 2000-6	7.58	10.58	11.25	9.00
T. harzianum (ไอโซเลท CMU 2000-14)	8.08	8.83	7.50	9.50
ชุดควบคุม (Control)	7.33	11.25	8.00	10.25
CV %	15.67	19.04	17.35	15.50

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ต้น ในแต่ละกรรมวิธี

ภาพที่ 30 แปลงทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ และสารชีวภัณฑ์ Larminar (*Bacillus subtilis*) ในการ ควบคุมโรคใบไหม้โฟมอพซิส บริเวณศูนย์พัฒนาโครงการ หลวงอินทนนท์ อ. จอมทอง จ. เชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University