บทที่ 4
ผลการทดลอง

1. ลักษณะอาการของโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่

1.1 อาการของโรครากเน่าและโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia*

ต้นสตรอเบอรี่แสดงอาการเหี่ยว โดยเริ่มจากใบล่างมีสีเหลืองแล้วเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอย่างรวดเร็ว ในที่สุดจะเหี่ยวตายทั้งต้น เมื่อถอนต้นจากดินตรวจสอบลักษณะของรากพบว่า รากส่วนใหญ่จะกลายเป็นสีน้ำตาลปนดำถึงสีดำ ความยาวของรากของต้นที่เป็นโรคจะสั้นกว่าต้นปกติ (ภาพที่ 7) เมื่อผ่าส่วนโคนต้นจะพบเนื้อเยื่อภายในเป็นสีน้ำตาลปนดำ บริเวณโคนต้นภายในมีสีแดง (ภาพที่ 8) ซึ่งตรงกับลักษณะอาการที่ได้อธิบายไว้ว่ามีเชื้อสาเหตุมาจาก *Rhizoctonia* sp. (Maas, 1998)

1.2 อาการของโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium*

ลักษณะอาการที่พบในแปลงปลูกสตรอเบอรี่ คือ ต้นที่แสดงอาการเหี่ยว ใบล่าง 2-3 ใบ จะมีสีเหลือง เมื่ออาการรุนแรงใบจะเหี่ยวและตายอย่างรวดเร็ว (ภาพที่ 9) เมื่อถอนต้นจากดินพบระบบของรากมีสีดำ แต่รากมีจำนวนน้อยกว่าต้นปกติ และลักษณะภายในโคนต้นมีสีเหลืองถึงสีน้ำตาล ซึ่งตรงกับลักษณะอาการที่ Maas (1998) ได้อธิบายไว้ว่าเกิดจากเชื้อ *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae*

1.3 ลักษณะอาการของโรคแอนแทรกโนสที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum*

โรคนี้จะพบมากในระยะกล้า (ต้นไหล) โดยจะพบรอยแผลเป็นแถบยาวสีดำเริ่มจากบริเวณโคนต้นลุกลามไปที่ก้านใบ ต้นสตรอเบอรี่ในแปลงปลูกที่เป็นโรคจะพบว่าก้านใบจะมีสีแดงเข้มถึงดำ และลุกลามไปยังก้านใบอื่น ๆ ในต้นเดียวกัน ทำให้ลำต้นเน่า และเหี่ยวตายในที่สุด (ภาพที่10) เมื่อผ่าดูภายในของต้นมีสีน้ำตาลถึงสีแดง ซึ่งตรงกับลักษณะอาการของโรคที่เกิดจาก *Colletotrichum fragariae* (Maas, 1998)

ภาพที่ 7 ลักษณะอาการของโรคเหี่ยวในสตรอเบอรี่ที่เกิดจากเชื้อ *Rhizoctonia* sp. (ขวา) รากจะสั้นกว่าต้นปกติและมีสีดำ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นปกติ (ซ้าย)

ภาพที่ 8 ลักษณะของโรครากเน่าและโคนเน่าในสตรอเบอรี่ที่ เกิดจากเชื้อ *Rhizoctonia* sp. ภายในโคนต้นสตรอเบอรี่จะเป็นสีน้ำตาลแดง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ภาพที่ 9 ต้นสตรอเบอรี่แสดงอาการเหี่ยวเกิดจากเชื้อ *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* ใบมีสีเหลือง เมื่ออาการรุนแรงกลายเป็นสีน้ำตาล และแห้งตายทั้งต้น

ภาพที่ 10 อาการของโรคแอนแทรกโนสที่เกิดจากเชื้อ *Colletotrichum fragariae* ทำให้เกิดแผลสีดำลึกเป็นแถบยาวที่บริเวณโคนต้น และลุกลามไปยังส่วนของก้านใบและไหล ทำให้ต้นสตรอเบอรี่เหี่ยว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

2. ลักษณะของเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ และการจำแนกชนิดของเชื้อรา

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

2.1 ลักษณะของเชื้อรา *Rhizoctonia* และการจัดจำแนกชนิด

ลักษณะโคโลนีของเชื้อราชนิดนี้ เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA พบว่าเชื้อเจริญเร็วมากประมาณ 5 วัน เชื้อสามารถเจริญเต็มจานอาหาร เริ่มแรกสร้างเส้นใยสีขาว ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อน เมื่อแก่จะมีสีน้ำตาลเข้ม (ภาพที่ 11) เมื่อตรวจดูลักษณะเส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (compound microscope) โดยย้อมเส้นใยด้วย 0.1% crystal-violet ใน lactophenol พบว่าลักษณะของเส้นใยเซลล์ยาว เส้นใยมีผนังกั้น การแตกแขนงของเส้นใยส่วนใหญ่จะแตกแขนงตั้งฉากกับเส้นใยเดิม แต่บางครั้งจะพบมีเส้นใยแตกแขนงทำมุมประมาณ 45 องศาเซลเซียส และตรงส่วนต่อระหว่างเส้นใยที่แตกแขนง เส้นใยมีรอยคอด (constricted hypha) (ภาพที่ 12) และเมื่อทำการย้อมสีนิวเคลียสของเชื้อรา *Rhizoctonia* พบว่านิวเคลียสของเชื้อราจะติดสีม่วงแดง มีนิวเคลียส 2 อันต่อ 1 เซลล์ (ภาพที่ 13) ซึ่งตรงกับการจัดจำแนกในกลุ่ม binucleate *Rhizoctonia* spp. (Sneh และคณะ, 1991)

2.2 ลักษณะของเชื้อรา *Fusarium* และการจัดจำแนกชนิด

โคโลนีที่แยกได้มีการเจริญอย่างรวดเร็ว เส้นใยเจริญดีแผ่ขยายเป็นวงกลม ลักษณะโคโลนีมีสีขาวถึงสีชมพู เมื่อแก่จะมีสีม่วงและฟูเหมือนสำลี (ภาพที่ 14) เมื่อนำมาตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่าเส้นใยของเชื้อรา สีใส และมีผนังกั้นตามขวางสร้างสปอร์ขนาดเล็กเรียกว่า microconidia มีรูปไข่ถึงทรงรีมี 1-2 เซลล์ สีใส ขนาดเฉลี่ยประมาณ 7.5 x 3 ไมโครเมตร และพบการสร้างสปอร์ขนาดใหญ่เรียกว่า macroconidia รูปโค้งเล็กน้อย ปลายงอคล้ายเสี้ยวพระจันทร์ มีสีใส ส่วนใหญ่มี 3 septa ขนาดเฉลี่ยประมาณ 29.5 x 3 ไมโครเมตร (ภาพที่ 15) ซึ่งใกล้เคียงกับลักษณะของเชื้อ *Fusarium oxysporum* ที่ Booth (1977) ได้อธิบายไว้

ภาพที่ 11 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. ที่แยกได้จากบริเวณรากของสตรอเบอรี่ เจริญบนอาหาร PDA อายุ 5 วัน เส้นใยมีสีเหลืองเจริญเป็นแถบวงซ้อนกัน (zonation)

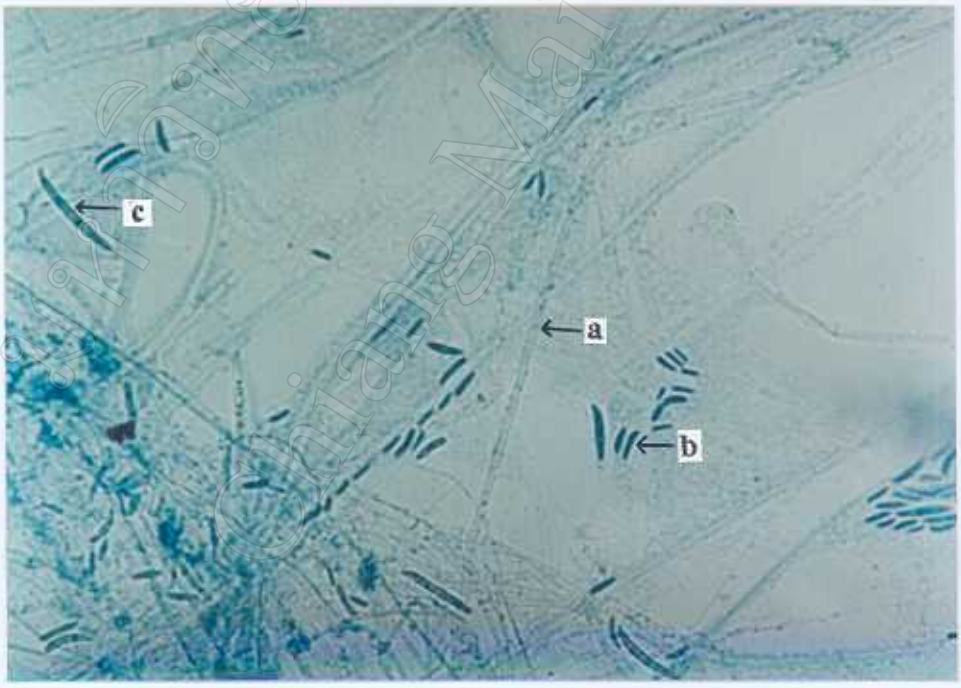
ภาพที่ 12 ลักษณะเส้นใยของเชื้อ *Rhizoctonia* sp. สาเหตุของโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ มีผนังกั้นตามยาว และแตกแขนงทำมุมฉากกับเส้นใยเดิม (x 400)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ภาพที่ 13 ลักษณะเส้นใยของรา *Rhizoctonia* sp. สาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ แต่ละเซลล์มี 2 อัน ย้อมติดสีม่วงแดง ด้วยสี Giemsa จัดอยู่ในกลุ่ม binucleate *Rhizoctonia* spp.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ภาพที่ 14 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน



ภาพที่ 15 ลักษณะเส้นใยและสปอร์ของเชื้อ *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* สาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ mycelium (a), microconidia (b), macroconidia (c) (x 400)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University

2.3 ลักษณะของเชื้อรา *Colletotrichum* และการจำแนกชนิด

ลักษณะของโคโลนีของเชื้อ *Colletotrichum* เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA เมื่ออายุได้ 7 วัน พบว่ามีเส้นใยฟูสีขาว ต่อมาจะเปลี่ยนเป็นสีเทาถึงสีดำ (ภาพที่ 16) หลังจากนั้น จะพบการสร้างกลุ่มของสปอร์สีส้ม เมื่อนำมาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบลักษณะของ conidia รูปทรงกระบอกตรง หัวท้ายกลม ขนาดเฉลี่ย 13.5 x 4.5 ไมโครเมตร (ภาพที่ 17) ซึ่งลักษณะดังกล่าวใกล้เคียงกับ *Colletotrichum fragariae* ที่ Wright และคณะ (1960) ได้อธิบายอธิบายไว้

3. การแยกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จากดิน

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

4. ประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ในห้องปฏิบัติการ

4.1 การทดสอบเบื้องต้น

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

ภาพที่ 16 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Colletotrichum fragariae* บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน

ภาพที่ 17 ลักษณะ conidia รูปร่างเรียวยาว หัวท้ายกลม ของเชื้อ *Colletotrichum fragariae* สาเหตุของโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ (x400)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University

4.2 ประสิทธิภาพของเชื้อ *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่

จากการนำเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* 15 ไอโซเลท ที่คัดเลือกไว้ในข้อ 4.1 มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของโรครากเน่า และโคนเน่าของสตรอเบอรี่คือรา *Rhizoctonia* sp., *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* และ *Colletotrichum fragariae* ด้วยวิธี Dual Culture ผลปรากฏว่า เมื่อทดสอบกับ *Rhizoctonia* ทุกไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุได้ดี โดยมีเปอร์เซ็นต์ในการยับยั้งสูงมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด คือ T2000-6 มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งสูงถึง 71.29% แต่เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติให้ผลไม่แตกต่างจากไอโซเลทที่ T2000-1, T2000-4, T2000-7, T2000-8, T2000-11, T2000-13, T2000-14 และ T2000-15 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง 65.37, 63.33, 64.03, 66.66, 62.96, 69.07, 70.55 และ 65.18 (ภาพที่ 18) เมื่อทดสอบกับเชื้อ *F. oxysporum* f. sp. *fragariae* พบว่าทุกไอโซเลทมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญอยู่ในระดับได้ปานกลางคืออยู่ในช่วง 61.44-57.03% ไอโซเลทที่ดีที่สุดคือ T2000-5 ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง 63.88% แต่ให้ผลไม่แตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% จากไอโซเลทที่ T2000-5, T2000-1, T2000-7, T2000-8, T2000-9, T2000-10, T2000-11, T2000-13 และ T2000-15 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ 63.88, 63.51, 61.44, 59.81, 61.66, 60.55, 62.40, 63.51 และ 66.73 ตามลำดับ (ภาพที่ 19) ส่วนผลการทดสอบกับเชื้อ *C. fragariae* ปรากฏว่า *Trichoderma* ทั้ง 15 ไอโซเลท ให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งค่อนข้างต่ำจนถึงปานกลางคืออยู่ในช่วง 43.52-50.18% ไอโซเลทที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งได้ดีที่สุดคือ T2000-7 มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง 52.96% เมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าให้ผลไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% กับไอโซเลท T2000-3, T2000-7 และ T2000-8 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญคือ 49.26, 52.96 และ 50.18 ตามลำดับ (ภาพที่ 20) (ตารางที่ 1)

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

ภาพที่ 18 ประสิทธิภาพของ *Trichoderma* ที่แยกได้จำนวน 15 ไอโซเลท (T2000-1 ถึง T2000-15) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. สาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ที่อายุ 7 วัน

ภาพที่ 19 ประสิทธิภาพของ *Trichoderma* ที่แยกได้จำนวน 15 ไอโซเลท (T2000-1 ถึง T2000-15) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* สาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ที่อายุ 7 วัน

ภาพที่ 20 ประสิทธิภาพของ *Trichoderma* ที่แยกได้จำนวน 15 ไอโซเลท(T2000-1 ถึง T2000-15) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum fragariae* สาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ที่อายุ 7 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพของเชื้อปฏิปักษ์ จำนวน 15 ไอโซเลท ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ในห้องปฏิบัติการ

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

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ

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

5. ลักษณะของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* และการจำแนกชนิด

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

กลุ่มที่ 1 *Trichoderma* ไอโซเลท T2000-1, T2000-4, T2000-6, T2000-7, T2000-8 และ T2000-11 เส้นใยเจริญอย่างรวดเร็วสามารถเจริญเต็มจานอาหาร PDA ได้ภายในเวลา 3 วัน โคโลนีมีสีเขียว (ภาพที่ 21) เมื่อนำไปตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่าลักษณะของ conidiophore แตกกิ่งก้านมากทางด้านข้างออกมาจากจุดเดียวกัน phialide เกิดเป็นกลุ่ม มีขนาดสั้น รูปร่างเป็นกรวย มีขนาดเฉลี่ย 4.5 ไมโครเมตร และ phialospore รูปร่างค่อนข้างกลม ผิวเรียบ ขนาดเฉลี่ย 2.8-2.5 ไมโครเมตร (ภาพที่ 22) ซึ่งมีลักษณะใกล้เคียงกับเชื้อ *Trichoderma harzianum* Rifai, (1969) ได้อธิบายไว้

กลุ่มที่ 2 *Trichoderma* ไอโซเลท T2000-2 และT2000-3 มีลักษณะการเจริญของโคโลนีค่อนข้างรวดเร็วจริญเต็มจานอาหาร PDA ประมาณ 5 วัน เมื่อเจริญเต็มที่สปอร์จะมีสีเขียวเข้ม (ภาพที่ 23) เมื่อนำไปดูตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่า conidiophore มีการแตกกิ่งก้านมากมาย phialide รูปร่างอ้วนสั้นแบบลูกแพร์ ขนาดเฉลี่ย 6.5 x 3.0 ไมโครเมตร phialospore เกิดเดี่ยว ๆ จำนวนมาก รูปร่างค่อนข้างเหลี่ยม มีขนาดเฉลี่ย 4.5-2.6 ไมโครเมตร (ภาพที่ 24) ลักษณะใกล้เคียงกับเชื้อ *Trichoderma hamatum* ที่ Rifai (1969) อธิบายไว้

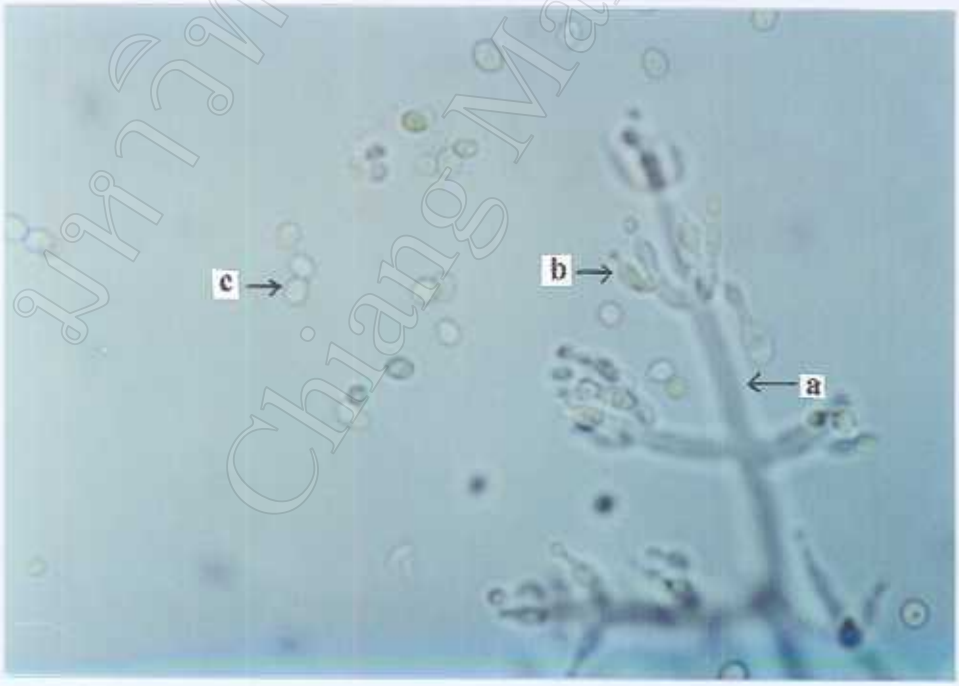
กลุ่มที่ 3 *Trichoderma* ไอโซเลท T2000-5, T2000-9 และ T2000-13 เริ่มแรกการเจริญของโคโลนีมีสีขาวฟู จากนั้นจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวเข้ม เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA มีการเจริญรวดเร็วมาก เต็มจานอาหารในเวลา 3 วัน (ภาพที่ 25) เมื่อตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า conidiophore แตกกิ่งก้านน้อยทางด้านข้างจากจุดเดียวกัน ส่วน phialide มีลักษณะแบบลูกพินโบว์ลิ่งมีขนาดประมาณ 8.6 x 3 ไมโครเมตร และ phialospore ค่อนข้างกลม ขนาดเฉลี่ย 3.8 x 3.2 ไมโครเมตร (ภาพที่ 26) ซึ่งลักษณะดังกล่าวใกล้เคียงกับเชื้อ *Trichoderma viride* ที่ Rifai (1969) ได้อธิบายไว้

ภาพที่ 21 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* (ไอโซเลท T2000-6) บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน

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

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ภาพที่ 23 ลักษณะโคโลนีของเชื้อรา *Trichoderma hamatum* (ไอโซเลท T2000-2) บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน



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

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ภาพที่ 25 ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma viride* (T2000-5) บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน

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

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

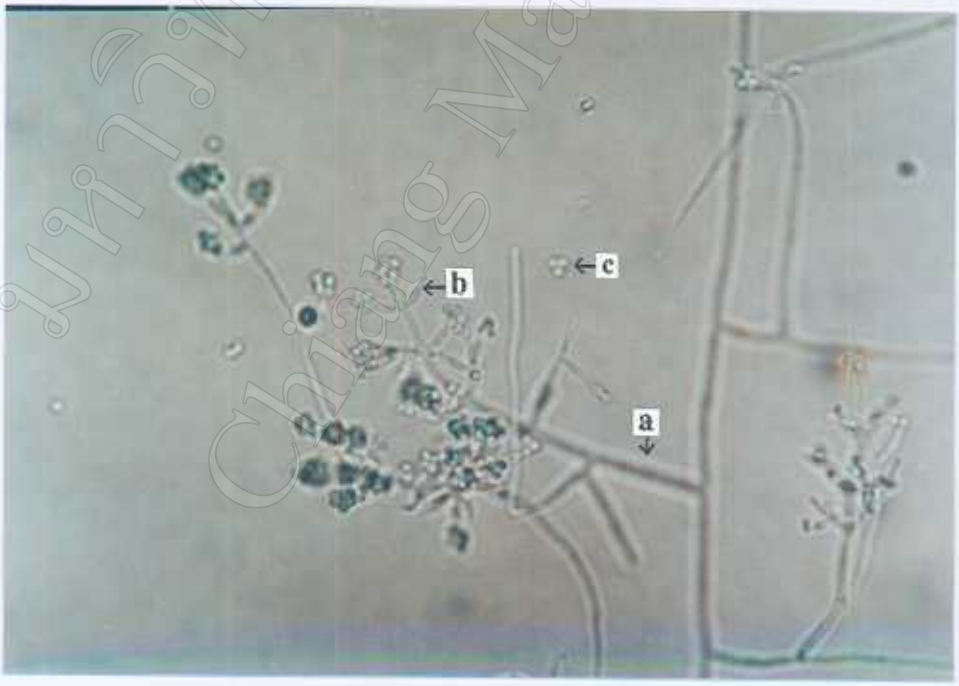
กลุ่มที่ 4 *Trichoderma* ไอโซเลท T2000-10 และ T2000-12 มีลักษณะการเจริญของเส้นใยอย่างรวดเร็ว โคโลนีมีสีเขียวถึงสีเขียวเข้ม (ภาพที่ 27) และเมื่อทำการตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบ conidiophore แตกกิ่งก้านมากออกจากด้านข้างจากจุดเดียวกัน ส่วน phialide รูปร่างแบบลูกพินโบว์ลิ่ง มีขนาดเฉลี่ย 8.5 x 3.0 ไมโครเมตร และ phialospore ส่วนใหญ่รูปไข่ มีสีเขียวอ่อน ขนาดเฉลี่ย 4.5 x 2.2 ไมโครเมตร (ภาพที่ 28) ซึ่งใกล้เคียงกับลักษณะของเชื้อ *Trichoderma koningii* ที่ Rifai (1969) ได้อธิบายไว้

กลุ่มที่ 5 *Trichoderma* ไอโซเลท T2000-14 และ T2000-15 โคโลนีของเชื้อนี้จะเจริญเร็ว สามารถเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อภายใน 3 วัน เริ่มแรกจะมีสีขาวปนเขียว ต่อมาสีของโคโลนีจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง (ภาพที่ 29) เมื่อตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า conidiophore แตกกิ่งก้านน้อย phialide รูปร่างแบบลูกพินโบว์ลิ่ง ลักษณะเรียวยาวมีขนาดเฉลี่ย 7.5 x 3.2 ไมโครเมตร phialospore ขนาดเฉลี่ย 3.5 x 2.0 ไมโครเมตร (ภาพที่ 30) มีลักษณะใกล้เคียงกับ *Trichoderma pseudokonigii* ที่ Rifai(1969) ได้อธิบายไว้

6. ลักษณะการเข้าทำลายเชื้อสาเหตุโดยเชื้อรา *Trichoderma*

จากการนำเชื้อรา binucleate *Rhizoctonia* sp. ที่ทำให้เกิดโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ มาเลี้ยงร่วมกับ *Trichoderma* ไอโซเลทต่าง ๆ ที่ใช้ทำการศึกษา โดยใช้วิธี Slide Culture และเมื่อนำมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรรศน์ พบว่าเส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma* เจริญเข้าไปภายในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุ มองเห็นเส้นใยขนาดเล็กติดสี Crystal violet เป็นสีม่วงเข้มอยู่ภายในเส้นใยของ *Rhizoctonia* ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่ามากแต่มีสีจาง เส้นใยบางส่วนที่ถูกทำลายจนแฟบลงไม่สามารถเจริญต่อไปได้ (ภาพที่ 31)

ภาพที่ 27 ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma koningii* (ไอโซเลท T2000-10) บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน



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

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ภาพที่ 29 ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma pseudokoningii* (ไอโซเลท T2000-14) บนอาหาร PDA อายุ 7 วัน

ภาพที่ 30 ลักษณะ conidiophore (a), phialide (b) และ phialospore (c) ของ *Trichoderma pseudokoningii* (x400)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ภาพที่ 31 ลักษณะการเข้าทำลายของเชื้อรา *Trichoderma* มองเห็นเส้นใยขนาดเล็กติดสี crystal violet สีม่วงเข้มอยู่ภายในเส้นใยของ *Rhizoctonia* spp. ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าแต่มีสีจาง (x400)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

7. ประสิทธิภาพของเชื้อ *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ในโรงเรือน

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

จากการทดลองปลูกกล้าสตรอเบอรี่ในดินที่มี *Rhizoctonia* และ *Rhizoctonia* ผสม *Trichoderma* ผลปรากฏว่า เมื่อเวลาผ่านไป 1 สัปดาห์ สตรอเบอรี่ที่ปลูกในดินที่มี *Rhizoctonia* อย่างเดียว เริ่มแสดงอาการใบเหลืองจากใบล่างก่อน จากนั้น แสดงอาการเหี่ยวและตายในที่สุด หลังปลูกเชื้อได้ 2 สัปดาห์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่คลุกดินปลูกเชื้อร่วมกับ *Trichoderma* ก่อนปลูกสตรอเบอรี่ สามารถควบคุมการเกิดโรคได้โดยให้ผลแตกต่างจากชุดควบคุมที่ปลูกเชื้อสาเหตุอย่างเดียว กรรมวิธีที่ใส่เชื้อ *T. harzianum* (T2000-6) สามารถควบคุมโรคได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพียง 22.67% แต่ในการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับการคลุกด้วยเชื้อ *Trichoderma* อีก 3 ชนิด คือ *T. hamatum* (T2000-2), *T. koningii* (T2000-10) และ *T. pseudokoningii* (T2000-14) ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 24.00, 29.33 และ 25.33 ตามลำดับ (ตารางที่ 2, ภาพที่ 32)

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

จากการทดลองปลูกเชื้อ *F. oxysporum* โดยทำการคลุกเชื้อในดินก่อนปลูกสตรอเบอรี่เปรียบเทียบกับการปลูกเชื้อร่วมกับ *Trichoderma* พบว่าเวลาผ่านไป 1 สัปดาห์ ต้นสตรอเบอรี่ที่ปลูกในดินที่มีเชื้อรา *Fusarium* อย่างเดียวเริ่มแสดงอาการเหี่ยว และอาการจะรุนแรงขึ้นจนตายทั้งหมดเมื่อเวลาผ่านไป 2 สัปดาห์ ส่วนกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยเชื้อรา *Fusarium* ร่วมกับ *Trichoderma* ชนิดต่าง ๆ คือ *T. harzianum*, *T. hamatum*, *T. viride* และ *T. pseudokoningii* ให้ผลในการควบคุมโรคแตกต่างกันไปคือ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคอยู่ในช่วง 20-44% โดยในกรรมวิธีที่คลุกด้วยเชื้อ *T. harzianum* มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำที่สุด คือ 21.33% แต่เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% กับการใช้ *T. hamatum* ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 28.00% (ตารางที่ 3, ภาพที่ 33)

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

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

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ต้น

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

ภาพที่ 32 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของการใช้ *Trichoderma* 5 ชนิด ในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ที่เกิดจาก binucleate *Rhizoctonia* sp. หลังการปลูกเชื้อ 2 สัปดาห์ ในโรงเรือน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

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

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

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ต้น

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

ภาพที่ 33 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของการใช้ *Trichoderma* 5 ชนิด ในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่เกิดจาก *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* หลังการปลูกเชื้อ 2 สัปดาห์ ในโรงเรือน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

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

จากการทดลองปลูกสตรอเบอรี่ในดินที่คลุกเชื้อรา *C. fragariae* อย่างเดียวพบว่าในสัปดาห์แรกมีการเกิดโรคเพียงร้อยละ 25.33 ส่วนกรรมวิธีที่คลุกดินด้วยเชื้อ *Trichoderma* มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคอยู่ในช่วง 12.00-22.67% เมื่อเวลาผ่านไป 2 สัปดาห์ อาการของโรคเริ่มรุนแรงขึ้น ต้นสตรอเบอรี่ที่ปลูกเชื้ออย่างเดียว ไม่ใช้ *Trichoderma* แห้งเหี่ยวตายทั้งหมด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่ใช้ *Trichoderma* พบว่ากรรมวิธีที่คลุกด้วยเชื้อ *T. harzianum* และ *T. viride* ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยมีเปอร์เซ็นต์เกิดโรค 44.00 และ46.67% ตามลำดับ แต่ให้ผลแตกต่างกับกรรมวิธีที่ใช้ *T. hamatum*, *T.koningii* และ *T. pseudokoningii* มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงถึง 57.33, 60.00 และ 64.00% ตามลำดับ (ตารางที่ 4, ภาพที่ 34)

8. ประสิทธิภาพของเชื้อ *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ในแปลงปลูก

การทดลองประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. .ในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ในแปลงปลูก ที่สถานีวิจัยโครงการหลวงอินทนนท์ อำเภอจอมทอง จังหวัดเชียงใหม่ โดยรองก้นหลุมด้วยเชื้อ *Trichoderma* ก่อนปลูกสตรอเบอรี่ และตรวจผลในสัปดาห์ที่ 2 พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคอยู่ในระหว่าง 6.10-30.28% โดยพบว่าในกรรมวิธีที่รองก้นหลุมด้วย *T. harzianum* สามารถควบคุมโรคได้ซึ่งให้ผลแตกต่างกับชุดควบคุม โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำสุดคือ 6.10% ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการใช้ *Trichoderma* อีก 4 ชนิดคือ T. *hamatum, T. viride, T. koningii* และ *T. pseudokoningii* มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 13.61, 10.28, 13.05 และ 16.39% ตามลำดับ และในสัปดาห์ที่ 4 ลดลงเมื่อเวลาผ่านไปในทุกกรรมวิธีที่ใช้ *Trichoderma* รองก้นหลุม การเกิดโรคอยู่ในระหว่าง 8.33-20.27% แต่พอถึงสัปดาห์ที่ 6 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคลดลงเรื่อย ๆ จนสัปดาห์ที่ 8 วัดค่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคได้น้อยมาก รวมทั้งชุดควบคุมซึ่งลดลงเหลือ 5.27% ส่วนกรรมวิธีที่คลุก *Trichoderma* ลดลงอยู่ในระดับ 0.83-4.99% (ตารางที่ 5, ภาพที่ 35)

ภาพที่ 34 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการใช้ *Trichoderma* 5 ชนิด ในการควบคุมโรครากเน่าและโคนเน่าของสตรอเบอรี่ที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *Colletotrichum fragariae* หลังการปลูกเชื้อ 2 สัปดาห์ ในโรงเรือน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

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

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

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ต้น

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

ภาพที่ 35 แปลงปลูกสตรอเบอรี่ ที่สถานีวิจัยโครงการหลวงอินทนนท์ อำเภอจอมทอง จังหวัดเชียงใหม่ โดยทำการรองก้นหลุมด้วยเชื้อ *Trichoderma* 5 ชนิด ก่อนปลูกต้นสตรอเบอรี่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

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

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

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

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

NS แสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95%