KKU Res.j. 2014; 19(3) : 371-384
http://resjournal.kku.ac.th

โรคแอนแทรกโนสสตรอว์เบอร์รีและการใช้เชื้อปฏิปักษ์เพื่อการป้องกันการเกิดโรค

Anthracnose Disease of Strawberry and Use of Antagonistic Microorganism for Disease Prevention

สมพงษ์ สิงห์บ้านหาด[1] ณัฐาโพธาภรณ์[2] และ ประสาทพร สมิตะมาน[1]*
Somphong Singbanha[1], Nuttha Potapohn[2] and Prasartporn Smitamana[1]*

[1] *สาขาเทคโนโลยีชีวภาพทางด้านพืช บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โทร. 053-944080*
[2] *สาขาวิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่*
**Corresponding author : E – mail : psporn@gmail.com*

บทคัดย่อ

การศึกษาลักษณะสัณฐานของเชื้อ *Colletotrichum* spp. สาเหตุของโรคแอนแทรกในสตรอว์เบอร์รีและการควบคุมโรคโดยใช้เชื้อปฏิปักษ์ ศึกษาโดยการสำรวจและเก็บตัวอย่างสตรอว์เบอร์รี จากแหล่งปลูกในจังหวัดเชียงใหม่ที่แสดงอาการของโรคแอนแทรกโนสจากส่วนใบ ดอก ผล และไหล นำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ ได้เชื้อจากแหล่งต่างๆ คือ อำเภอแม่แจ่ม 22 ไอโซเลต แม่วาง 44ไอโซเลต สะเมิง 72 ไอโซเลต และจอมทอง 19 ไอโซเลต ได้นำเชื้อดังกล่าวมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าเชื้อที่แยกได้แต่ละส่วนของพืชเป็นเชื้อรา *C. gloeosporioides* เมื่อนำเชื้อที่แยกได้มาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับใบสตรอว์เบอร์รีในเรือนทดลอง พบว่าเชื้อทั้ง 5 ไอโซเลต TB018, TC023, SB024, MA006 และ SB032 แสดงอาการของโรคแอนแทรกโนส ได้รุนแรงที่สุดมีค่าดัชนีการก่อโรคเท่ากับ 4.66 4.33 3.77 3.66 และ 3.21 ตามลำดับ การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อปฏิปักษ์ 2 ชนิด เพื่อการป้องกันและยับยั้งการเกิดโรคแอนแทรกโนส ผลปรากฏว่าเชื้อแบคทีเรีย *Serratia plymuthica* AIC1 มีเปอร์เซ็นต์การป้องกันการเกิดโรคสูงกว่าการใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum*

คำสำคัญ: โรคแอนแทรกโนส, สตรอว์เบอร์รี, การควบคุมโรค

Abstract

Morphological character and controlling of *Colletotrichum* spp., a causal agent of strawberry anthracnose were studied. The anthracnose disease samples were collected from the major strawberry production areas of Chiang Mai Province. Pure cultures were isolated from leaf, flower, fruit and stolon parts, and used for the morphological study of the pathogen. Numbers of collected isolates were: 22 from Mae Jam, 44 from Mae Wang, 72 from Sa Moeng, and 19 from Chom Thong. From their morphological characters of all isolates, it could be concluded that they were C. *gloeosporioides.* Screening of the virulent isolates for the further studies was performed in the nursery and 5 isolates; TB01, TC023, SB024, MA006 and SB032 were showed high virulence with disease indices of 4.66, 4.33, 3.77, 3.66 and 3.21, respectively. Two biocontrol agents were tested for their disease inhibition and prevention efficacies, results revealed that the bacterium, *Serratia plymuthica* AIC1 has a higher percentage in prevention of the disease than use of antagonistic fungus, *Trichodrerma harzianum.*

Keywords: strawberry, anthracnose, control

บทนำ

สตรอว์เบอร์รี ไม้ผลขนาดเล็กที่อยู่ในวงศ์ Rosaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Fragaria x ananassa*Duch เจริญได้ดีในเขตอบอุ่น (1) ให้ผลผลิตได้ในหนึ่งฤดู ผลสุกสีแดง มีกลิ่นหอม มีรสหวานอมเปรี้ยว จึงเป็นที่นิยมของผู้บริโภค ปัจจุบันยังมีความต้องการของตลาดทั้งภายในและภายนอกประเทศอีกมาก ใช้เป็นวัตถุดิบในเชิงอุตสาหกรรม และรับประทานผลสด และมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ตามจำนวนประชากร สตรอว์เบอร์รีจึงจัดเป็นไม้ผลเศรษฐกิจ ที่ช่วยสามารถยกฐานะความเป็นอยู่ของเกษตรกรผู้ปลูกสตรอว์เบอร์รี ซึ่งมีอยู่นับพันครัวเรือนให้ดีขึ้น สำหรับประเทศไทยนั้นสตรอว์เบอร์รีมีการนำเข้ามาจากแหล่งอื่นเพื่อทำการทดลองผลิตเป็นการค้า และพบว่าสามารถปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมของประเทศไทยได้ค่อนข้างดี โดยเฉพาะพื้นที่ของภาคเหนือตอนบน ที่สภาพแวดล้อมและภูมิอากาศเหมาะสมกับการปลูกสตรอว์เบอร์รีจนกลายเป็นแหล่งปลูกสตรอว์เบอร์รีแหล่งใหญ่ที่สุดทั้งเพื่อส่งออกและบริโภคภายในประเทศ โดยเฉพาะที่อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่ เพียงแห่งเดียว เกษตรกรมีรายได้จากการปลูกสตรอว์เบอร์รีในปี 2552/2553 ประมาณ 225 ล้านบาท จากพื้นที่ผลิต 2,863 ไร่ (2) แต่ยังพบว่ามีโรคหลายชนิดที่เป็นอุปสรรคในการผลิต โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคแอนแทรกโนสที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ซึ่งปีนโรคที่มีความสำคัญมากเนื่องจากเชื้อราสาเหตุของโรคสามารถเข้าทำลายได้ทุกส่วนของสตรอว์เบอร์รี เริ่มจากใบ ก้านใบ ไหล ช่อดอก และผล ซึ่งโรคดังกล่าวเป็นสาเหตุทำให้ผลผลิตสตรอว์เบอร์รีเสียหายเป็นจำนวนมาก ดังนั้นจึงมีความพยายามในการแก้ปัญหา เช่น การพัฒนาพันธุ์ให้ต้านทานต่อเชื้อแอนแทรกโนส การพ่นสารเคมีกำจัดโรคพืชและการควบคุมโรคโดยชีววิธี โดยเฉพาะการใช้จุลินทรีย์ที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคพืช โดยที่เชื้อปฏิปักษ์มีความสามารถในการแก่งแย่งอาหาร ยับยั้งการเข้าทำลาย และการเป็นปรสิตต่อเชื้อสาเหตุโรค นอกจากนี้การควบคุมโดยชีววิธียังช่วยลดอันตรายจากการใช้สารเคมีกำจัดโรคพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งพื้นที่ปลูกสตรอว์เบอร์รีที่เป็นพื้นที่สูงและยังเป็นแหล่งต้นน้ำของประเทศ ทำให้การใช้สารเคมีส่งผลกระทบโดยต่อสิ่งแวดล้อม และสุขอนามัยของประชากรที่อยู่ในพื้นที่ราบได้อย่างมาก ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ชนิดของเชื้อสาเหตุของโรคและทดสอบเชื้อปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเพื่อทดแทนการใช้สารเคมี

อุปกรณ์และวิธีการ

สำรวจและศึกษาลักษณะอาการของโรคแอนแทรกโนสในแปลงปลูกสตรอว์เบอร์รี

เก็บตัวอย่างสตรอว์เบอร์รีจาก ไหล ดอก ผล ก้านใบ ที่แสดงอาการของโรคแอนแทรกโนส โดยสุ่มเก็บตัวอย่างที่อาการของโรคแอนแทรกโนสจากแหล่งที่ผลิตสตรอว์เบอร์รีจังหวัดเชียงใหม่ ได้แก่ อำเภอจอมทอง แม่วาง แม่แจ่ม และสะเมิง บันทึกภาพลักษณะอาการที่พบในส่วนต่างๆ ของต้น

การแยกเชื้อบริสุทธิ์จากตัวอย่างพืชและศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนส

นำชิ้นส่วนของต้นสตรอว์เบอร์รีที่แสดงอาการของโรคแอนแทรกโนสมาล้างทำความสะอาด จากนั้นนำเนื้อเยื่อมาตัดโดยให้มีส่วนที่แสดงอาการของโรคติดมากับเนื้อเยื่อส่วนปกติขนาด 2 – 3 มิลลิเมตรนำชิ้นเนื้อเยื่อจุ่มในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ประมาณ 40 วินาที แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย 10 เปอร์เซ็นต์ แคลเซียมไฮโปรคลอไรท์ นาน 5 นาที แล้วจึงล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ซับชิ้นส่วนบนกระดาษซับที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นนำไปวางบน (potato dextrose agar) PDA บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส หลังจากที่แยกได้เชื้อบริสุทธิ์แล้วสุ่มเชื้อมา 10 สายพันธุ์ เพื่อศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของเส้นใย สีโคโลนีและขนาดสปอร์ด้วยวิธีเลี้ยงเชื้อบนสไลด์ (slide culture method)

การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนส

นำเชื้อราสาเหตุโรคที่แยกได้จากส่วนก้านใบ ไหล ช่อดอก และผล เพิ่มปริมาณบนอาหาร PDA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลาประมาณ 7 วัน ให้เชื้อเจริญเต็มจานเลี้ยง เตรียม inoculums ในรูปสปอร์แขวนลอย (spore suspension) โดยนำน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อเทลงในจานอาหารที่มีเชื้อเจริญเต็มจาน ใช้แท่งแก้วขูดแล้วกรองเส้นใย ผ่านผ้า

ขาวบางที่ฆ่าเชื้อ ปรับปริมาณสปอร์ให้มีความเข้มข้น 2 x 10^6 spore/ml นำเชื้อราสาเหตุโรคหยดลงบนใบสตรอว์เบอร์รีไอโซเลตละ 3 ใบ โดยแต่ละใบย่อยหยดเชื้อ 3 จุด จุดละ 5 10 และ 15 ไมโครลิตรตามลำดับ หลังจากปลูกเชื้อนำชิ้นพืชไปบ่มเชื้อในกล่องที่มีกระดาษซับฉีดซับน้ำกลั่นฆ่าเชื้อจนชื้น แล้วนำไปเก็บในห้องที่มีอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 3 วัน บันทึกผล การให้คะแนนระดับความรุนแรงของโรคให้ค่าดัชนีตั้งแต่ 0 – 5 ดูจากพื้นที่ใบที่ถูกเชื้อสาเหตุเข้าทำลาย โดยดัดแปลงจากเอกสารของ Plapung ในปี พ.ศ. 2549 (5) โดยมีรายละเอียดของแต่ละระดับดังนี้

ระดับที่ 0 = ไม่แสดงอาการของโรค

ระดับที่ 1 = แสดงอาการของโรค 1 - 10 เปอร์เซ็นต์

ระดับที่ 2 = แสดงอาการของโรค 11 - 25 เปอร์เซ็นต์

ระดับที่ 3 = แสดงอาการของโรค 26 - 40 เปอร์เซ็นต์

ระดับที่ 4 = แสดงอาการของโรค 41 - 50 เปอร์เซ็นต์

ระดับที่ 5 = พืชแสดงอาการของโรคมากกว่า 51 เปอร์เซ็นต์ จนตายทั้งต้น

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อปฏิปักษ์ที่มีผลในการควบคุมการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคต่อต้นสตรอว์เบอร์รี

การเตรียมแปลง การทดลองครั้งนี้ใช้แปลงบนพื้นที่สูง 750 เมตรเหนือระดับน้ำทะเล ซึ่งเป็นพื้นที่ปลูกสตรอว์เบอร์รีทั่วไปของเกษตรกรที่ผลิตสตรอว์เบอร์รีเป็นการค้า เริ่มจากการทำความสะอาดแปลงโดยกำจัดวัชพืชและเศษวัสดุต่างๆ ก่อนที่จะไถพรวน และตากดิน จากนั้นเตรียมแปลงปลูกจำนวน 84 แปลง แต่ละแปลงมีขนาดกว้าง 0.5 เมตร ยาว 5 เมตร ระยะห่างระหว่างแปลง 1 เมตร ปลูกต้นกล้าแปลงละ 12 ต้น โดยให้ระยะห่างระหว่างต้นสตรอว์เบอร์รีอยู่ที่ 50 เซ็นติเมตร ปลูกต้นกล้าสตรอว์เบอร์รีลึก 10 เซนติเมตร

การเตรียมต้นสตรอว์เบอร์รี นำไหลสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ 329 จากแปลงปลูกที่ปราศจากโรคโดยใช้ต้นแม่พันธุ์จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มาผลิตต้นไหลในสภาพโรงเรือนปลอดโรค หลังจากนั้นย้ายปลูกต้นไหลอายุ 1 เดือนลงในแปลงทดลอง ให้น้ำด้วยระบบน้ำหยด รอจนต้นสตรอว์เบอร์รีอายุ 1 เดือนหลังปลูกในแปลง ซึ่งต้นจะอยู่ในสภาพสมบูรณ์เต็มที่ จึงเริ่มการทดลอง

การเตรียมเชื้อราสาเหตุโรคพืช *Colletotrichum gloeosporioides* นำเชื้อราสาเหตุโรคมาเพิ่มปริมาณบนอาหาร PDA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง จนกระทั่งเชื้อเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อ เตรียม inoculums ในรูปสปอร์แขวนลอย (spore suspension) โดยนำน้ำกลั่นที่ฆ่าเทลงในจานอาหารที่มีเชื้อสาเหตุเจริญเต็มจาน ใช้แท่งแก้วขูดแล้วกรองเส้นใยผ่านผ้าขาวบางที่ฆ่าเชื้อ ปรับปริมาณสปอร์โดยใช้ Heamacytometer ให้มีความเข้มข้น 2 x 10^6 spore/ml

การเตรียมเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma harzianum* นำเชื้อราปฏิปักษ์มาเพิ่มปริมาณบนอาหาร PDA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง จนกระทั่งเชื้อเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อโดยใช้เวลาประมาณ 5 วัน เตรียม inoculums ในรูปสปอร์แขวนลอย โดยนำน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อเทลงในจานอาหารที่มีเชื้อสาเหตุเจริญเต็มจาน ใช้แท่งแก้วขูดแล้วกรองเส้นใย ผ่านผ้าขาวบางที่ฆ่าเชื้อ ปรับปริมาณสปอร์โดยใช้ Heamacytometer ให้มีความเข้มข้น 10^6 spore/ml และ 10^8 spore/ml

การเตรียมเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Serratia plymuthica* AIC1 เลี้ยงเชื้อในอาหาร Nutrient Broth(NB) บนเครื่องเขย่า 240 รอบต่อนาที นาน 48 ชั่วโมงนำไปวัดค่า O.D. โดยใช้ ที่ความยาวคลื่น 460 นาโนเมตร โดยเลือกใช้ค่าความเข้มข้นของสารแขวนลอยที่มีค่า O.D. อยู่ที่ 0.048 และ 0.1 ซึ่งเชื้อมีความเข้มข้น 5 x 10^5 cell/ml และ 5 x 10^6 cell/ml ตามลำดับ

กรรมวิธีการทดสอบที่ 1 เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารเคมีและเชื้อปฏิปักษ์ในการป้องกันโรคแอนแทรกโนส โดยการพ่นสารเคมีกำจัดเชื้อรา mancozeb ความเข้มข้น 800 ppm และพ่นสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ที่ระดับความเข้มข้น 10^6 และ 10^8 spore/ml และ cell suspension เชื้อแบคทีเรีย *S. plymuthica* AIC1 ที่ความเข้มข้น 5 x 10^5 cell/ml และ 5 x 10^6 cell/ml ผสม Tween 20 ตามลำดับ ก่อนปลูกเชื้อราสาเหตุของโรคแอนแทรกโนสที่เวลา 3 และ 7 วันตามลำดับ การปลูกเชื้อสาเหตุของโรคโดยพ่นสารแขวนลอยของเชื้อ *C. gloeosporioides* ความเข้มข้น 2 x 10^6 spore/ml ผสม Tween 20 ให้ทั่วต้นสตรอว์เบอร์รี การปลูกเชื้อกระทำในช่วงเวลาประมาณ 16.00 น. และเพื่อให้เชื้อสาเหตุของโรคสามารถเข้าทำลายต้นสตรอว์เบอร์รีได้ดี จะให้น้ำกับต้นสตรอว์เบอร์รีโดยการพ่นฝอยก่อนปลูกเชื้อประมาณ 30 นาที

กรรมวิธีการทดสอบที่ 2 เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการใช้สารเคมีและเชื้อปฏิปักษ์ในการ

ควบคุมโรคแอนแทรกโนส การทดสอบจะทำเช่นเดียวกับกรรมวิธีที่ 1 เว้นแต่จะพ่นสารเคมีและเชื้อปฏิปักษ์ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันทั้งหมดหลังจากที่ปลูกเชื้อสาเหตุของโรคแล้ว 3 และ 7 วัน

ประเมินการเกิดโรคและการยับยั้งเมื่อพ่นสารเคมีและเชื้อปฏิปักษ์ของทั้งสองกรรมวิธี บันทึกผลที่เวลา 14 และ 21 วัน โดยประเมินจากการที่ราเชื้อสาเหตุของโรคเข้าทำลายพื้นที่ก้าน และใบของสตรอว์เบอร์รี เปรียบเทียบกับชุดควบคุม ที่พ่นน้ำกลั่นฆ่าเชื้อกับชุดเปรียบเทียบที่พ่นด้วยสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคเพียงชนิดเดียวที่เวลา 3 และ 7 วันทั้งก่อนและหลังการใช้สารเคมีและเชื้อปฏิปักษ์ นำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดโรคตามกรรมวิธีของ Sontirat ในปี ค.ศ.1997 (3) แผนการทดลองแบบ Split Plot in Randomized Complete Block Design ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ DMRT โดยมีปัจจัยหลักเรื่องระยะเวลาในการทดลองแบ่งออกเป็น 4 ปัจจัยหลัก ได้แก่

ปัจจัย 1 (M_1) พ่นเชื้อปฏิปักษ์ 3 วัน ก่อนทำการปลูกเชื้อ *C.gloeosporioides*

ปัจจัย 2 (M_2) พ่นเชื้อปฏิปักษ์ 7 วัน ก่อนทำการปลูกเชื้อ *C.gloeosporioides*

ปัจจัย 3 (M_3) พ่นเชื้อปฏิปักษ์ 3 วัน หลังทำการปลูกเชื้อ *C.gloeosporioides*

ปัจจัย 4 (M_4) พ่นเชื้อปฏิปักษ์ 7 วัน หลังทำการปลูกเชื้อ *C.gloeosporioides*

และในขณะที่ปัจจัยรองในการทดลอง คือเชื้อปฏิปักษ์และสารเคมีกำจัดเชื้อรามีทั้งหมด 6 ปัจจัยรอง ซึ่งได้แก่

ปัจจัย 1 (S_1) ชุดควบคุมเชื้อ

ปัจจัย 2 (S_2) พ่นสารเคมีกำจัดเชื้อรา mancozeb 800 ppm

ปัจจัย 3 (S_3) พ่น spore suspension ของเชื้อรา *T. harzianum* 10^6 spore/ml

ปัจจัย 4 (S_4) พ่น spore suspension ของเชื้อรา *T. harzianum* 10^8 spore/ml

ปัจจัย 5 (S_5) พ่น cell suspension ของเชื้อแบคทีเรีย *S. plymuthica* 5 x 10^5 cfu/ml

ปัจจัย 6 (S_6) พ่น cell suspension ของเชื้อแบคทีเรีย *S. plymuthica* 5 x 10^6 cfu/ml

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลการศึกษาลักษณะอาการของโรคแอนแทรกโนสและการสำรวจเก็บตัวอย่างพืชที่เป็นโรค

จากการสำรวจโรคแอนแทรกโนสในแปลงปลูกสตรอว์เบอร์รี พบว่าเชื้อราสาเหตุของโรคสามารถเข้าทำลายสตรอว์เบอร์รีในส่วนของ ดอก ผล ก้านใบ และไหล ลักษณะอาการของโรคที่พบในส่วนของผลคือ เกิดแผลฉ่ำน้ำสีขาว มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร ต่อมาเปลี่ยนเป็นแผลสีน้ำตาล - น้ำตาลเข้มในที่สุดเนื้อเยื่อจะบุ๋มและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลดำภายใน 2- 3 วันและมีกลุ่มสปอร์สีชมพูหรือสีส้มปกคลุมแผล ในส่วนไหลและก้านใบพบว่าในระยะแรกของการเข้าทำลายของเชื้อเกิดจุดขนาดเล็กสีดำ ต่อมาแผลขยายยาวและเนื้อเยื่อแห้ง ต้นที่แสดงอาการรุนแรงจะมีอาการเหี่ยวได้ทั้งกอ (ดังรูปที่ 1 ก) และส่วนผลจะมีอาการช้ำน้ำสีน้ำตาลดำและอาจขยายได้ทั้งผล (ดังรูปที่ 1 ข) ส่วนของดอกพบว่าดอกที่บานเต็มที่จะอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อ โดยดอกจะแห้งและตายอย่างรวดเร็ว โดยแผลที่ดอกมีสีดำ ความยาวหลายมิลลิเมตรจากกลีบเลี้ยงลงสู่ก้านดอกและทำให้ดอกตาย ผลจากการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างชิ้นส่วนต่างๆ ของต้นสตรอว์เบอร์รีที่แสดงอาการของโรคแอนแทรกโนสในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ (ดังตารางที่ 1)

การเลี้ยงเชื้อและจำแนกชนิดเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนส

จากการนำเชื้อราบริสุทธิ์ที่แยกได้จากส่วนของผล ดอก ก้านใบและไหล มาศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของเส้นใย สีของโคโลนี ขนาด appressorium และขนาดของสปอร์ โดยใช้วิธีเพาะเลี้ยงเชื้อราบนสไลด์ บนอาหาร PDA พบว่าเชื้อที่ราที่แยกได้แต่ละส่วนสร้างโคโลนีมีสีที่แตกต่างกันเช่น ขาวเทา เทา และเทาเข้ม (ดังรูปที่ 1 ค) สร้างสปอร์รูปร่างทรงกระบอก (ดังรูปที่ 1 ง) ขนาดสปอร์กว้างเท่ากับ 2.74 - 3.99±0.33 ไมโครเมตร ยาวเท่ากับ 8.30-12.56±1.50 ไมโครเมตร มีการสร้าง appressoria (ดังรูปที่ 1 จ) มีขนาดกว้างเท่ากับ 4.89-6.03± 0.24 ไมโครเมตร ยาว 9.31 - 13.89± 0.68 ไมโครเมตร จากลักษณะของสปอร์และ appressoria ลักษณะการสร้างโคโลนี สีโคโลนี การสร้าง sclerotia บนอาหารเลี้ยงเชื้อ นำลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราดังกล่าวมาจำแนกสปีชีส์โดยเปรียบเทียบกับเชื้อมาตรฐาน

ตารางที่ 1 จำนวนไอโซเลตของเชื้อราที่เก็บรวบรวมได้ในจังหวัดเชียงใหม่

แหล่งที่มา	จำนวนตัวไอโซเลตที่เก็บ			
	ดอก	ผล	ก้านใบ	ไหล
อำเภอจอมทอง	6	6	4	3
อำเภอสะเมิง	13	29	20	10
อำเแม่วาง	13	13	10	8
อำเภอแม่แจ่ม	6	6	6	4
รวม	38	54	40	25

ที่ได้รับการอนุเคราะห์จาก (U.S. Department of Agriculture) USDA 3 ชนิด คือ *C. acutatum, C. fragariae* และ *C. gloeosporiodes* ใช้หลักเกณฑ์ของ Sutton ในปี ค.ศ. 1992 (4) พบว่าเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ได้จาก ผล ดอก ก้านใบ และไหล เป็นชนิด *C. gloeosporioides* ตรงกับรายงานของ Plapung ในปี ค.ศ. 2004 (5) ว่าเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรกโนสของสตรอว์เบอร์รีที่เกิดขึ้นมีสาเหตุมาจากเชื้อราเดียวกันทั้งหมดคือเชื้อรา *C. gloeosporioides* และสอดคล้องกับรายงานของ Bill and Heidenreich ในปี ค.ศ. 2003 (6) รายงานว่าโรคแอนแทรกโนสในสตรอว์เบอร์รีเกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อ *Colletotrichum* spp. โดยเชื้อสาเหตุของโรคสามารถเข้าทำลายทุกส่วนของสตรอว์เบอร์รีและพบอาการของโรคมีลักษณะที่คล้ายกันกับการศึกษาครั้งนี้

ความสามารถในการก่อโรคของเชื้อราแต่ละไอโซเลต

จากการนำเชื้อราสาเหตุโรคที่แยกได้แต่ละไอโซเลตมาปลูกเชื้อลงบนใบย่อยแต่ละใบในปริมาตร 5 10 และ 15 ไมโครลิตรตามลำดับ และบ่มเชื้อในกล่องเชื้อเป็นเวลา 3 วัน ได้ผล (ดังที่ตาราง 2) พบว่าเมื่อใช้เชื้อปริมาตร 5 ไมโครลิตรต่อใบย่อย เชื้อไอโซเลต TB018, SB005, SD005, MA006 และ SB032 แสดงอาการของโรคแอนแทรกโนสรุนแรงโดยมีดัชนีการเกิดโรคเท่ากับ 5.00, 4.60, 4.60, 4.60, 4.60 และ 4.30 ตามลำดับ ส่วนการปลูกเชื้อที่ปริมาตร 10 ไมโครลิตรต่อใบย่อย พบว่าเชื้อไอโซเลต TB018, SA006, ID003, SB003 และ TC023 แสดงอาการของโรคแแทรกโนสรุนแรง โดยมีค่าดัชนีเท่ากับ 5.00, 5.00, 5.00, 4.33 และ 4.00 การปลูกเชื้อที่ปริมาตร 15 ไมโครลิตรต่อใบย่อย พบว่าเชื้อไอโซเลต TC023, TC021, TB018, TD001 และ MA002 แสดงอาการของโรคแอนแทรกโนสรุนแรงมีค่าดัชนีการเกิดโรคเท่ากับ 5.00, 5.00, 4.00, 4.00 และ 4.00 ตามลำดับ สำหรับสาเหตุที่เชื้อแต่ละไอโซเลตเข้าทำลายพืชและสร้างความเสียหายได้ไม่เท่ากัน อาจเนื่องจากเชื้อสาเหตุของโรคมีความจำเพาะเจาะในการเข้าทำลายพันธุ์พืชใดพันธุ์หนึ่ง โดยพืชนั้นเคยเป็นพืชอาศัยของเชื้อดังกล่าวมาก่อนหรืออาจเกิดจากความสัมพันธ์ของยีนระหว่างเชื้อกับพืช หากพืชที่มียีนต้านทานต่อเชื้อนั้นๆ พืชจะไม่แสดงอาการเป็นโรคเมื่อถูกเชื้อสาเหตุของโรคเข้าทำลาย (7) หรือขึ้นกับ race - cultivar specificity ระหว่างพืชและเชื้อสาเหตุของโรค (8) ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ทำให้เชื้อสามารถเข้าทำลายชิ้นส่วนของสตรอว์เบอร์รีในแต่ละพันธุ์แตกต่างกันได้ด้วย โดยเฉพาะเชื้อที่นำมาศึกษาได้เก็บจากแหล่งปลูกที่มีสภาพแวดล้อมแตกต่างกัน รวมทั้งเกษตรกรในแต่ละพื้นที่ ที่ทำการปลูกสตรอว์เบอร์รีต่างพันธุ์กันด้วย จึงทำให้เชื้อแต่ละไอโซเลตสามารถพัฒนาตัวเองให้มีความหลากหลายทางชีวภาพและระดับความรุนแรงของการเข้าทำลายสตรอว์เบอร์รีแต่ละพันธุ์จำเพาะมากขึ้นได้ โดยพบว่าอาการของโรคแอนแทรกโนสที่พบในแต่ละพื้นที่ปลูกมีความแตกต่างกันทั้งในระดับความรุนแรงของโรคและลักษณะที่พบในแต่ละช่วงการเจริญได้ (5)

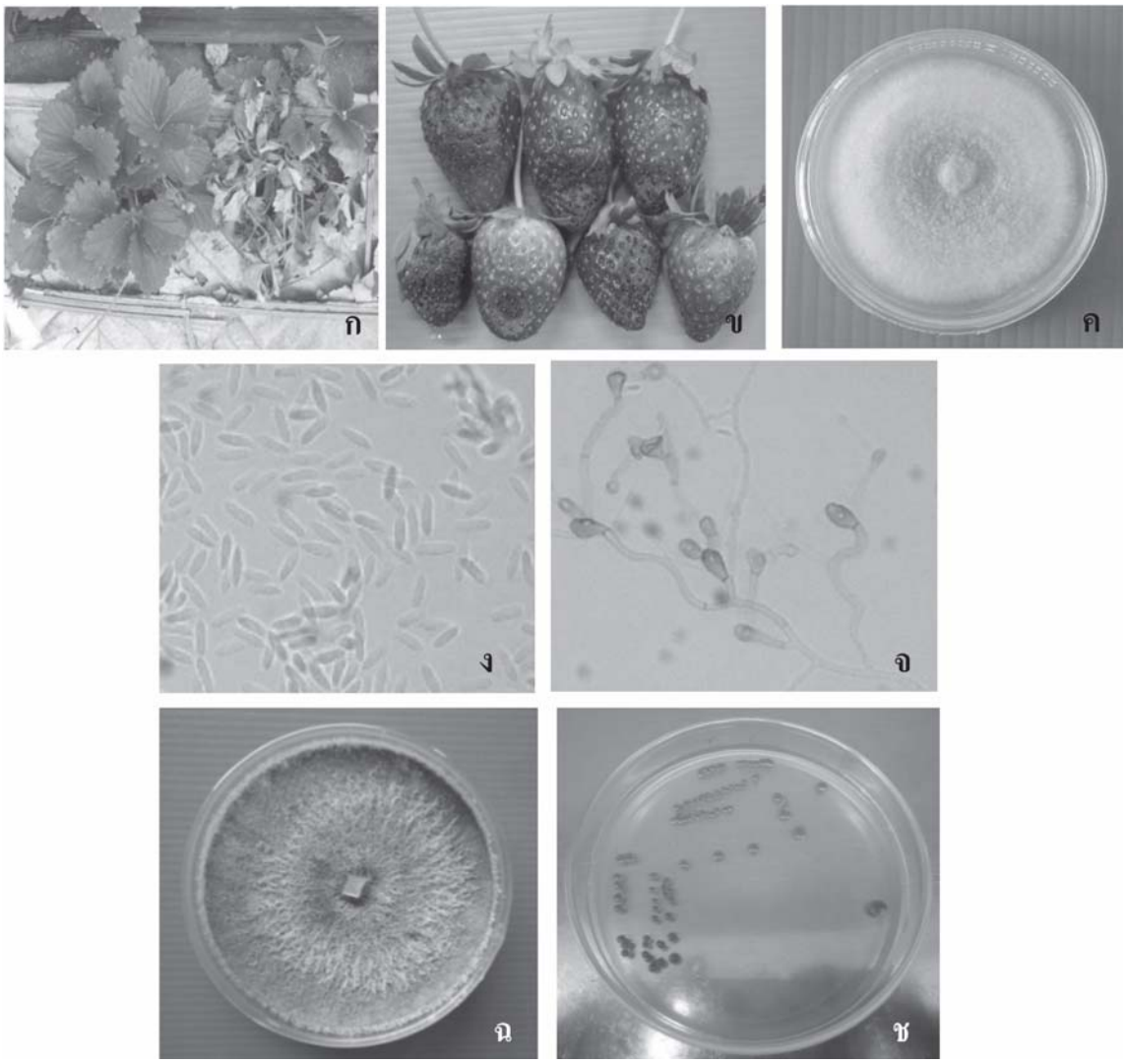
ตารางที่ 2 ความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อราไอโซเลตต่างๆ ที่ทดสอบโดยการปลูกเชื้อบนใบสตรอว์เบอร์รี

ไอโซเลต	ระดับความรุนแรงของโรคแอนแทรกโนสเมื่อปลูกเชื้อที่ความเข้มข้น 2 x 10^6 spore/ml ในปริมาตรต่างๆ		
	5 ไมโครลิตร	10 ไมโครลิตร	15 ไมโครลิตร
IA006	3.66	1.66^{ef}	2.66^{bcdef}
IB001	2.66	3.00^{bcde}	2.66^{bcdef}
IC001	2.66	1.00^{f}	1.33^{efg}
IC005	4	2.66^{cde}	1.66^{defg}
IC006	5	1.66^{ef}	1.66^{defg}
ID001	1	1.66^{ef}	1.66^{defg}
ID003	2.33	5.00^{a}	1.33^{efg}
SA006	2.66	5.00^{a}	2.66^{bcdef}
SA025	1.66	2.00^{ef}	3.33^{abcd}
SB003	1.66	4.33^{ab}	3.00^{bcde}
SB005	4.66	2.33^{def}	1.00^{fg}
SB024	5	2.33^{def}	4.00^{ab}
SB032	4.33	3.66^{abcd}	1.66^{defg}
SD022	4.66	2.00^{ef}	1.00^{fg}
SD037	3.33	2.66^{cde}	1.66^{defg}
TA002	1.66	2.66^{cde}	3.33^{abcd}
TA004	2.66	2.33^{def}	2.00^{cdefg}
TB010	2	2.33^{def}	4.00^{ab}
TB018	**5**	**5.00^{a}**	**4.00^{ab}**
TB021	1.66	1.00^{f}	5.00^{a}
TC023	4	4.00^{abc}	5.00^{a}
TC026	1.33	1.00^{f}	2.33^{bcdef}
TD001	4	3.66^{abcd}	4.00^{ab}
MA002	4	2.00^{ef}	4.00^{ab}
MA006	4.66	4.00^{abc}	2.33^{bcdef}
MB001	2.33	3.00^{bcde}	2.33^{bcdef}
MB005	2.33	2.00^{ef}	0.33^{g}
MC001	2	2.66^{cde}	1.66^{defg}
MC006	3	3.00^{bcde}	2.33^{bcdef}
F-test	n.s.	*	*
c.v.%	48.53	29.98	34.56

ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$, DMRT)

n.s. ไม่มีความแตกต่างกันทางถิติ, * แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์,

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 1 ลักษณะอาการของโรคแอนแทรกโนสต้นสตรอเบอรี่ที่แสดงอาการเหี่ยวและตายทั้งกอ (ก) แสดงอาการแผลช้ำสีดำแผ่ลามได้ทั้งผล (ข) โคโลนีของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporiodes* ที่แยกได้จากต้นที่เป็นโรค (ค) สปอร์ (ง) appressoria (จ) โคโลนีของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* (ฉ) และ เชื้อแบคทีเรีย *Serratia plymuthica* AIC1(ช)

ประสิทธิภาพของเชื้อปฏิปักษ์ที่มีผลในการควบคุมการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคของสตรอว์เบอร์รี

จากการทดลองในสภาพโรงเรือนที่บันทึกผลการประเมินการเกิดโรคที่เวลา 14 และ 21 วัน หลังจากการปลูกเชื้อราสาเหตุโรค เมื่อนำค่าการเกิดโรคและการยับยั้งการเกิดโรคในส่วนของก้านและใบ มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสามารถสรุปได้ดังนี้

การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *S. plymuthica* AIC1 (ดังรูปที่ 1 ฉ) ที่ 5 x 10^5 cell/ml เพื่อการป้องกันโรคแอนแทรกโนสของสตรอว์เบอร์รีในส่วนของใบได้ผลดีที่สุด เมื่อพืชได้รับเชื้อปฏิปักษ์ก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุของโรคเป็นเวลา 7 วัน โดยได้ค่าดัชนีการเกิดโรคต่ำสุด 4.68 ซึ่งต่ำกว่าการใช้สารเคมี mancozeb 800 ppm ที่มีค่าดัชนีการเกิดโรคอยู่ที่ 8.73 และให้ผลการยับยั้งการเกิดโรคที่ใบได้ดีที่สุด ซึ่งมีค่าดัชนีการเกิดโรค 5.06 โดยเปรียบเทียบกับการพ่นด้วย mancozeb 800 ppm ที่มีค่าดัชนีการเกิดโรคอยู่ที่ 6.78 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อนำค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งโรคมาพิจารณาประกอบ พบว่าการใช้เชื้อ *S. plymuthica* AIC1 ที่ 5 x 10^5 cell/ml ก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุโรค 7 วัน ให้ผลในแง่เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดโรคที่ถึง 73.19 เปอร์เซ็นต์ซึ่งสูงสุดในทุกกลุ่มทดลอง เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าแตกต่างกันที่ระดับ ($p > 0.01$) (ดังตารางที่ 3) ผลจากการตรวจสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการก่อโรคและการระงับการแพร่ของโรคครั้งที่ 2 เมื่อ 21 วันหลังการปลูกเชื้อการใช้เชื้อปฏิปักษ์ทุกกลุ่มทดลองฉีดพ่นพบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคที่ใบไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ในแง่ของเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดโรค พบว่าการใช้เชื้อ *T. hazianum* (ดังรูปที่ 1 ช) ที่ 10^8 spore/ml ก่อนปลูกเชื้อสาเหตุโรค 7 วัน ให้ผลดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดโรค 41.40 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) (ดังตารางที่ 4)

การป้องกันโรคที่เกิดกับส่วนก้านใบ พบว่า การใช้สารเคมี mancozeb 800 ppm 3 วันก่อนปลูกเชื้อ ให้ผลในแง่การป้องกันโรคได้ดีกว่าทุกกลุ่ม โดยมีค่าดัชนีการเกิดโรคเป็น 4.02 และมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งโรค 57.55 เปอร์เซ็นต์ มีค่าแตกต่างกันทางสถิติทั้งในส่วนของดัชนีการก่อโรคและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งโรคที่ระดับ ($p > 0.05$) ซึ่งให้ผลเท่ากับการใช้เชื้อ *S. plymuthica* AIC1 ที่ 5 x 10^5 cell/ml หลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรค 3 วัน สำหรับการใช้เชื้อปฏิปักษ์ 7 วันหลังการปลูกเชื้อ จะให้ผลทั้งในด้านการป้องกันโรคและการยับยั้งโรคน้อยกว่าการใช้เชื้อ 3 วัน หลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรค (ดังตารางที่ 4) โดยแสดงผลอย่างชัดเจนตรวจผลครั้งที่ 2 เมื่อ 21วันหลังการปลูกเชื้อ ที่พบว่าการใช้ mancozeb 800 ppm 7 วันทั้งก่อนและหลังการปลูกเชื้อจะให้ผลดีที่สุดโดยมีค่าดัชนีการเกิดโรคเป็น 14.24 และ 15.11 ตามลำดับซึ่งแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่ในด้านเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดโรค พบว่าการใช้เชื้อ *S. plymuthica* AIC1 ที่ 5 x 10^6 cell/ml 3 วันก่อนปลูกเชื้อให้ผลดีที่สุดโดยมีค่าดัชนีการเกิดโรคเป็น 12.29 และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งโรค 46.26 เปอร์เซ็นต์ มีค่าแตกต่างกันทางสถิติทั้งในส่วนของดัชนีการก่อโรคและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งโรคที่ระดับ ($p > 0.05$) อย่างไรก็ตาม การใช้เชื้อรา *T. hazianum* ที่ 10^8 spore/ml 7 วัน หลังปลูกเชื้อ mancozeb 800 ppm 7 วันหลังปลูกเชื้อ และ *S. plymuthica* AIC1 ที่ 5 x 10^5 cell/ml 3 วันหลังปลูกเชื้อ โดยมีค่าดัชนีการเกิดโรคเป็น 14.66, 13.67 และ 16.88 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) กับค่าเปอร์เซ็นต์การเกิดยับยั้งโรคเป็น 35.89, 40.22 และ 26.19 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) กับชุดควบคุม สำหรับการใช้ เชื้อรา *T. hazianum* ที่ 10^6 spore/ml ทั้ง 3 และ 7 วัน หลังปลูกเชื้อไม่ให้ผลในด้านการยับยั้งการเกิดโรคแต่อย่างใด (ดังตารางที่ 4)

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและการยับยั้งพัฒนาการของโรคในโรงเรือนประเมินผลหลังปลูกเชื้อ 14 วัน

กรรมวิธี	ดัชนีการเกิดโรคที่เวลา 14 วัน								การยับยั้งการเกิดโรคที่เวลา 14 วัน (%)							
	พ่นสารเคมีกำจัดเชื้อราและเชื้อปฏิปักษ์ ก่อนปลูกเชื้อสาเหตุโรค				พ่นสารเคมีกำจัดเชื้อราและเชื้อปฏิปักษ์ หลังปลูกเชื้อสาเหตุโรค				พ่นสารเคมีกำจัดเชื้อราและเชื้อปฏิปักษ์ ก่อนปลูกเชื้อสาเหตุโรค				พ่นสารเคมีกำจัดเชื้อราและเชื้อปฏิปักษ์ หลังปลูกเชื้อสาเหตุโรค			
	3 วัน		7 วัน		3 วัน		7 วัน		3 วัน		7 วัน		3 วัน		7 วัน	
	ใบ	ก้าน	ใบ	ก้าน	ใบ	ก้าน	ใบ	ก้าน	ใบ	ก้าน	ใบ	ก้าน	ใบ	ก้าน	ใบ	ก้าน
1.ชุดควบคุมเชื้อสาเหตุโรค	15.47	16.48^{bc}	17.46	15.78^{bc}	13.42	9.47^{c}	19.48	29.45^{a}	0^{bc}	0^{bc}	0^{bc}	0^{bc}	0^{bc}	0^{bc}	0^{bc}	0^{bc}
2.พ่น mancozeb 800 ppm	6.78	6.93^{c}	8.37	**7.02^{c}**	**6.23**	**4.02^{c}**	**12.96**	17.32^{bc}	**56.17^{a}**	57.94^{a}	52.06^{a}	**55.51^{a}**	**53.57^{a}**	57.55^{a}	**33.47^{ab}**	41.18^{ab}
3.พ่น spore suspension *T.harzianum* 10^6 spore/ml	7.93	6.69^{c}	14.82	14.12^{bc}	11.52	6.63^{c}	14.58	**20.61^{ab}**	48.73^{ab}	59.40^{a}	15.12^{b}	10.51^{bc}	14.15^{a}	29.98^{b}	25.15^{b}	**30.01^{b}**
4.พ่น spore suspension *T. harzianum* 10^8 spore/ml	14.58	12.71^{bc}	10.23	9.83^{c}	12.54	10.19^{c}	15.46	19.23^{b}	5.75^{bc}	22.87^{b}	41.40^{a}	37.70^{ab}	6.55^{bc}	-7.60^{c}	20.63^{b}	34.70^{b}
5.พ่น cell suspension *S. plymuthica* AIC1 5 x 10^5 cfu/ml	**5.06**	**5.69^{c}**	**4.68**	4.56^{c}	9.18	4.98^{c}	13.16	19.81^{b}	67.29^{a}	**65.47^{a}**	**73.19^{a}**	71.10^{a}	31.59^{ab}	**47.41^{ab}**	31.93^{ab}	32.73^{b}
6.พ่น cell suspension *S. plymuthica* AIC1 5 x 10^6 cfu/ml	6.98	7.62^{c}	18.13	16.13^{bc}	12.48	7.81^{c}	12.93	21.65^{b}	54.88^{a}	53.76^{a}	-38.37^{c}	-22.17^{c}	7.00^{bc}	17.52^{b}	33.62^{ab}	26.48^{b}
F-test	(ใบ) n.s.				(ก้าน) *				(ใบ) * *				(ก้าน) *			
c.v.%	22.73				44.47				70.07				85.69			

ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$, DMRT)

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและการยับยั้งพัฒนาการของโรคในโรงเรือนประเมินผลหลังปลูกเชื้อ 21 วัน

กรรมวิธี	ดัชนีการเกิดโรคที่เวลา 21 วัน								การยับยั้งการเกิดโรคที่เวลา 21 วัน (%)							
	พ่นสารเคมีกำจัดเชื้อราและเชื้อปฏิปักษ์ก่อนปลูกเชื้อสาเหตุโรค				พ่นสารเคมีกำจัดเชื้อราและเชื้อปฏิปักษ์หลังปลูกเชื้อสาเหตุโรค				พ่นสารเคมีกำจัดเชื้อราและเชื้อปฏิปักษ์ก่อนปลูกเชื้อสาเหตุโรค				พ่นสารเคมีกำจัดเชื้อราและเชื้อปฏิปักษ์ หลังปลูกเชื้อสาเหตุโรค			
	3 วัน		7 วัน		3 วัน		7 วัน		3 วัน		7 วัน		3 วัน		7 วัน	
	ใบ	ก้าน	ใบ	ก้าน	ใบ	ก้าน	ใบ	ก้าน	ใบ	ก้าน	ใบ	ก้าน	ใบ	ก้าน	ใบ	ก้าน
1.ชุดควบคุมเชื้อสาเหตุโรค	26.64^{ab}	22.08^{b}	32.54^{a}	23.87^{b}	27.56^{ab}	22.87^{b}	35.67^{a}	28.54^{a}	0^{c}	0^{c}	0^{c}	0^{c}	0^{c}	0^{c}	0^{c}	0^{c}
2.พ่น mancozeb 800 ppm	15.19^{bc}	16.06^{bc}	**15.11^{bc}**	**14.24^{c}**	16.38^{bc}	13.67^{c}	27.34^{ab}	**18.50^{bc}**	**42.98^{ab}**	27.26^{b}	**53.56^{a}**	**40.34^{ab}**	40.56^{ab}	40.22^{ab}	23.35^{b}	**35.17^{ab}**
3.พ่น spore suspension *T.harzianum* 10^6 spore/ml	20.02^{b}	24.58^{ab}	15.05^{bc}	11.43^{c}	29.09^{ab}	22.42^{b}	**20.48^{bc}**	28.02^{a}	24.84^{b}	-11.32^{c}	52.36^{a}	52.11^{a}	-5.55^{c}	1.96^{bc}	**42.58^{ab}**	1.82^{bc}
4.พ่น spore suspension *T. harzianum* 10^8 spore/ml	28.56^{ab}	23.82^{b}	17.03^{bc}	18.69^{bc}	**14.57^{c}**	14.66^{c}	26.72^{ab}	23.54^{b}	-7.20^{c}	-7.88^{c}	47.66^{a}	21.70^{b}	**47.13^{a}**	35.89^{ab}	25.09^{b}	17.51^{b}
5.พ่น cell suspension *S. plymuthica* AIC1 5 x 10^5cfu/ml	**21.64^{b}**	16.74^{bc}	23.57^{b}	22.97^{b}	19.57^{bc}	16.88^{bc}	26.54^{ab}	21.23^{b}	18.76^{bc}	24.00^{b}	27.56^{b}	37.70^{ab}	28.99^{b}	26.19^{b}	25.59^{b}	25.61^{b}
6.พ่น cell suspension *S. plymuthica* AIC1 5 x 10^6 cfu/ml	20.35^{b}	**12.45^{c}**	24.04^{b}	24.16^{ab}	18.26^{bc}	**12.29^{c}**	25.42^{ab}	24.04^{ab}	23.61^{b}	**43.61^{ab}**	26.12^{b}	-12.14^{c}	33.74^{ab}	**46.26^{a}**	28.73^{b}	15.76^{b}
F-test	(ใบ) *				(ก้าน) *				(ใบ) *				(ก้าน) *			
c.v.%	32.43				51.33				50.70				44.57			

ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$, DMRT)

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าระยะเวลาในการพ่นสารเคมีกำจัดเชื้อราและเชื้อปฏิปักษ์ที่ 3 และ 7 วันในโรงเรือน มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและการยับยั้งการเกิดโรคที่แตกต่าง ทดลองที่ดีที่สุดคือฉีดพ่นด้วย *S. plymuthica* AIC1 ที่ 5 x 10^5 cell/ml ก่อนปลูกเชื้อสาเหตุโรค 7 วันเนื่องจากสารเคมีกำจัดเชื้อราและเชื้อปฏิปักษ์ สามารถเคลือบหรือเจริญครอบครองพื้นที่ของใบ เพื่อป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรค นอกจากนี้เชื้อปฏิปักษ์บางชนิดสร้างสารที่ทำให้พืชมีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น เช่น ฮอร์โมนพืช หรือสารที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ส่งผลให้พืชแข็งแรง ต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรค (9) และสอดคล้องกับรายงานของ Kirdsari ในปี พ.ศ. 2553 ที่พบว่าการเจริญของเชื้อรา *Exserohilum turcicum* โดยวิธี dual culture กับเชื้อปฏิปักษ์ 2 ชนิด ได้แก่เชื้อรา *T. harzianum* และเชื้อแบคทีเรีย *S. plymuthica* AIC1 พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* ยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค 17 - 38 เปอร์เซ็นต์ และในส่วนเชื้อแบคทีเรีย *S. plymuthica* AIC1 ยับยั้งการเจริญเติบโต 14 – 31 เปอร์เซ็นต์จากการทดสอบประสิทธิภาพสารเคมีกำจัดเชื้อราทั้ง 3 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 3 ระดับ และเชื้อปฏิปักษ์ 2 ชนิด พ่นลงบนใบข้าวโพด ก่อนและหลังปลูกเชื้อราสาเหตุ *E. turcicum* ทั้ง 5 ไอโซเลต ที่เวลา 0 3 และ 7 วัน ในสภาพโรงเรือนทดลอง พบว่า การพ่นสารเคมีกำจัดเชื้อราและเชื้อปฏิปักษ์ก่อนปลูกเชื้อสาเหตุโรค มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดโรคดีกว่าพ่นสารเคมีกำจัดเชื้อราและเชื้อปฏิปักษ์หลังปลูกเชื้อสาเหตุโรคอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ So-Yeon และ Kyung - Suk ในปี ค.ศ 2009 (10) รายงานว่าแบคทีเรีย *Serratia* sp. เป็นแบคทีเรียที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของพืชชนิดหนึ่ง ((Plant Growth - Promoting Rhizobacteria (PGPR)) โดยสร้าง indole acetic acid (IAA)หรือฮอร์โมนออกซิน ($C_{10}H_9O_2N$) ที่มีบทบาทต่อการเจริญเติบโตของพืช และสร้าง siderophores ส่งผลให้พืชมีการเจริญเติบโต พืชแข็งแรงและต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรค ตรงกับรายงานของ Kalbe และคณะในปี ค.ศ. 1996 (11) พบว่าเชื้อ *Serratia plymuthica* ผลิตสารกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช (plant growth hormone) คือ Indole – 3 - acetic acid (IAA) สามารถกระตุ้นการเจริญของพืชโดยตรง สอดคล้องกับรายงานของ Shen และคณะในปี ค.ศ. 2007 (12) รายงานว่าเชื้อ *S. plymuthica* ยังสร้างเอนไซม์ chitinase β - (1-3)–glucanases, siderophores และ plant growth hormone (IAA) เพื่อควบคุมเชื้อรา *Phytophthora* sp. ในพริกไทย ส่งเสริมการเจริญเติบโตให้กับต้นพืช และยังสร้างสารปฏิชีวนะ chlorinated macrolide compounds ซึ่งยับยั้งการแบ่งเซลล์ของเชื้อราหลายชนิด คล้ายกันกับรายงานของ Kurze และคณะ ในปี ค.ศ. 2001 (13) รายงานว่า *S. plymuthica* strain HRO-C48 สามารถสร้างสาร chitinolytic เพื่อใช้ในการควบคุมโรค phytophthora root rot ของสตรอว์เบอร์รีและยังพบอีกว่า chitinolytic มีบทบทบาทต่อการเจริญเติบโตของพืช

เชื้อรา *T. harzianum* มีกลไกต่อสู้กับเชื้อสาเหตุโรคได้ 3 แบบคือ การแข่งขันกับเชื้อสาเหตุโรคเพื่อหยุดยั้งการเพิ่มปริมาณ ขยายพันธุ์ การเป็นปรสิต และการสร้างสารปฏิชีวะ เพื่อยับยั้งหรือทำลายเชื้อสาเหตุโรคได้ (14) Kuntajun ในปี ค.ศ. 2006 (15) ได้ทำการเปรียบเทียบการใช้เชื้อ *Trichoderma* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Macrophomina phaseolina* เชื้อราสาเหตุโรคเน่าดำของถั่วเขียว พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* ใช้เส้นใยแทงเข้าไปในเส้นใยของเชื้อรา *M. phaseolina* ส่งผลให้เส้นใยเชื้อรา *M. phaseolina* เหี่ยวและแฟบลง ซึ่งเชื้อรา *Trichoderma* spp. ชนิดอื่นๆ ใช้เส้นใยพันรอบเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคและเข้าไปภายในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคในเวลาต่อมา ทำให้เส้นใยของเชื้อราสาเหตุของโรคเกิดการเหี่ยวและแฟบลง สอดคล้องกับรายงานของ Elad และคณะ ในปี ค.ศ. 1983 (16) รายงานว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. เป็นเชื้อราปฏิปักษ์ (antagonistic fungi) ที่มีประสิทธิภาพสูงในการเข้าทำลายเชื้อสาเหตุโรคพืช โดยมีคุณสมบัติการเป็นปรสิตในลักษณะการเจริญเข้าหาเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรค จะพันและรัดเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรค จากนั้นจะปลดปล่อยเอนไซม์มาย่อยผนังเซลล์ของเชื้อราสาเหตุได้แก่ β - (1 - 3) – glucanase และ chitinase ต่อมาจึงใช้เส้นใยแทงเข้าสู่ภายในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคส่งผลให้เส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคเสื่อมและถูกย่อย (lysis) และตายในที่สุด

กรณีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ Merav และคณะ ในปี ค.ศ. 2003 (17) ได้ทำการทดสอบแบคทีเรียแกรมลบ *S. plymuthica* strain IC14 ที่แยกมาจากดินรอบๆ รากของแตงนำมาทดสอบการป้องการเกิดโรคและยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค gray mold ของแตง ที่เกิดจากเชื้อรา

Botrytis cinerea และโรค white mold ที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotinia sclerotiorun* พบว่าเชื้อ *S. plymuthica* strain IC14 สามารถป้องกันการเกิดโรคและยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคได้ และเมื่อนำมาทดสอบคุณสมบัติของแบคทีเรียในการสร้างและผลิตเอนไซม์ พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *S. plymuthica* strain IC14 สามารถที่จะย่อย colloidalchitin ซึ่งพบ clear zone เกิดขึ้น แสดงว่าเชื้อ *S. plymuthica* strain IC14 สามารถสร้างเอนไซม์ chitinase ที่มีคุณสมบัติในการทำลายเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคเนื่องจากเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคมี chitin เป็นส่วนประกอบ Ferreira และคณะในปี ค.ศ. 1991 (18) รายงานว่าสารที่แบคทีเรียบางชนิดสร้างขึ้นนั้น มีผลต่อเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรค เมื่อนำแบคทีเรียปฏิปักษ์มาเลี้ยงร่วมกันกับเชื้อราสาเหตุโรค พบว่ามีความผิดปกติ คือปลายเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคบวม มีผนังหนาขึ้น แวคิวโอลใหญ่ขึ้น บางเซลล์มีลักษณะคล้ายถุงและเกิดช่องว่างในเซลล์ คล้ายกับรายงานของ Keawboonruang และ Boonlong ในปี ค.ศ. 2010 (19) ที่รายงานว่า เชื้อราและเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชหลายชนิดนั้น สร้างสารพิษที่เรียกว่า phytotoxin ได้แตกต่างกัน แต่มีเชื้อราบางชนิดสร้าง phytotoxin ชนิดเดียวกัน เช่น เชื้อรา *Alternaria solani* และเชื้อ *Ascochy tarabiei* โดยเชื้อราทั้งสองสร้าง phytotoxin ชื่อ solanapyrone ซึ่งสารพิษชนิดนี้ทำลายเซลล์พืชให้ตาย เมื่อนำไปตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์จะเห็นเซลล์เป็นสีน้ำตาล ซึ่งสารพิษที่เชื้อสร้างอาจจะส่งผลต่อเชื้อปฏิปักษ์ที่นำมาทดสอบยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุ และส่งผลให้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ทดลองมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคได้แตกต่างกัน แต่ละไอโลเลทสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคบางชนิดได้ดี แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคอีกชนิดหนึ่งได้ สอดคล้องกับรายงานของ Dharmsthit ในปี ค.ศ. 2004 (20) กล่าวว่า เชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดมีขบวนการทางสรีรวิทยาและบทบาทหน้าที่แตกต่างกัน โดยทดสอบการใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* ช่วยในการชักนำให้ต้นยาสูบต้านทานต่อไวรัส pepper mild mottle virus (PPMOV) โดยเกี่ยวข้องกับการสร้างกรด salicylic และ jasmonic ที่เกี่ยวข้องกับกลไกการชักนำให้เกิดการต้านทานโรคของพืช (21) ซึ่งสามารถป้องกันการเกิดโรคให้กับพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าแนวทางการควบคุมโรค โดยการพ่นสารเคมีกำจัดเชื้อราและเชื้อปฏิปักษ์ให้กับพืชหลังจากที่พืชเกิดโรคแล้ว ซึ่งอาจจะสามารถควบคุมการแพร่ระบาดของโรคได้ในระดับหนึ่ง ในช่วงระยะเวลาหนึ่ง ในขณะที่สารเคมีกำจัดเชื้อราหรือเชื้อปฏิปักษ์ยังมีการออกฤทธิ์ของสาร แต่สามารถช่วยลดการเข้าทำลายพืชของเชื้อสาเหตุโรคชั่วคราว หากสารเคมีดังกล่าวหมดฤทธิ์ เชื้อสาเหตุโรคพืชจะสามารถเจริญเพิ่มปริมาณและเข้าทำลายพืชได้เช่นเดิม ดังนั้นจึงควรที่จะเพิ่มการพ่นสารเคมีกำจัดเชื้อราและเชื้อปฏิปักษ์ให้กับพืชอย่างสม่ำเสมออย่างน้อยสัปดาห์ละครั้ง เพื่อเป็นการป้องกันการเกิดโรคในพืช

สรุป

การศึกษาลักษณะของเชื้อ *Colletotrichum* spp. ในสตรอว์เบอร์รีและการควบคุมเชื้อราสาเหตุของโรคแอนแทรกโนสโดยใช้เชื้อปฏิปักษ์ โดยสำรวจและเก็บตัวอย่างส่วนของใบ ดอก ผลและไหลของสตรอว์เบอร์รีในจังหวัดเชียงใหม่ ที่แสดงอาการของโรคแอนแทรกโนสที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. แล้วนำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และได้จำนวนเชื้อจำนวน 157 ไอโซเลต จาก 4 พื้นที่ ได้แก่ จอมทอง 19 ไอโซเลต แม่แจ่มจำนวน 22 ไอโซเลต แม่วางจำนวน 44 ไอโซเลต และสะเมิงจำนวน 72 ไอโซเลต และนำเชื้อที่ได้มาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าเป็นเชื้อ *C. gloeosporioides* เมื่อนำเชื้อที่แยกได้มาทดสอบความสามารถในการทำให้ก่อโรคกับใบสตรอว์เบอร์รี พบว่ามีเชื้อไอโซเลตที่แสดงการอาการรุนแรงของโรคมากที่สุด คือ TB018 มีค่าเท่ากับ 4.66

สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อปฏิปักษ์ในการป้องกันและยับยั้งโรคแอนแทรกโนสในสภาพโรงเรือนเปิด โดยการพ่นเชื้อปฏิปักษ์และสารเคมีที่ช่วงเวลาแตกต่างกัน เก็บข้อมูลระดับความรุนแรงของโรค โดยดูจากพื้นที่ ก้านและใบของสตรอว์เบอร์รีที่ถูกเชื้อราสาเหตุของโรคเข้าทำลายที่เวลา 14 และ 21วัน นำข้อมูลมาวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิดโรคพบว่า การพ่นเชื้อปฏิปักษ์และสารเคมีก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุโรคช่วยป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อ *C. gloeosporioides* ได้ โดยแนวโน้มในภาพของการใช้เชื้อ *S. plymuthica* AIC1 ซึ่งเป็นแบคทีเรีย

ที่ความเข้มข้น 5 x 10^5 cell/ml จะให้ผลดีกว่าการใช้เชื้อ *T. harzianum* และสาร mancozeb ทั้งในส่วนของใบและก้านใบ ทั้งนี้น่าจะเป็นผลจากการที่เชื้อแบคทีเรียสามารถเจริญและคลุมพื้นที่ได้เร็วกว่าเชื้อรา ส่วนในการยับยั้งการพัฒนาของอาการโรคโดยการใช้สารเคมีและเชื้อปฏิปักษ์หลังจากการปลูกเชื้อสาเหตุของโรคนั้น การใช้สารเคมี mancozeb 800 ppm มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการขยายตัวของอาการได้ดี ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เชื้อ *S. plymuthica* AIC1 ที่ความเข้มข้น 5 x 10^5cell/ml การทดสอบครั้งนี้เป็นการทดสอบแบบใช้สารเคมีและเชื้อปฏิปักษ์เพียงครั้งเดียวเท่านั้น ในการใช้งานจริงของเกษตรกรควรที่จะเป็นการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทุก 7-10 วัน เพื่อให้เชื้อสามารถแพร่คลุมพื้นที่ใบและสวนของพืชที่พัฒนาขึ้นมาใหม่ได้ จึงจะให้ผลในการป้องกันและยับยั้งพัฒนาการของโรคได้ดียิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

(1) Smitamana P, Boonyakiat D. Strwawberry. National Center for Genetic Engineering and Biotechnology. Bangkok; 2002. p. 48. Thai

(2) Bank for Agriculture and Agricultural Cooperatives. Problem Solving Report on Strawberry Production in SaMoeng, Chiang Mai. 2010. [Internet]. 2013 [updated 2013 Dec 28; cited 2013 Dec 28] Available from: Online E - book. http://ag - ebook.lib.ku.ac.th/ebooks/2013/20130072/index.html#/1/

(3) Sontirat S. Plant Disease management. Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University : Bangkok; 1997. Thai

(4) Sutton BC. The Genus *Glomerella* and its Anamorph *Colletotrichum*. Colletotrichum biology, pathology and control. C.A.B International, Wallingford. 1992. p.1 - 28.

(5) Plapung P. Improvement of Anthracnose Resistant Strawberry. [MSc thesis]. Chiang Mai : Chiang Mai University ; 2004. Thai

(6) Bill, T and C. Heidenreich. 2003. Strawberry anthracnose. Berry notes. [Internet] 2014 Mar 1] [updated 2014 Mar 1] Online available [http://extension.umass.edu/fruitadvisor/publications/berry - notes] p. 1 – 15.

(7) Cervone F, Andebrhan T, Coutts RHA, Woods RKS. Effects of French bean tissue and leaf protoplasts on *Colletotrichum lindemuthianum* polygalacturonase. Phytopathologische Zeitschrift. 1981; 102 : 238 - 246.

(8) Agrios GN. Plant pathology. Elsevier Academic Press, London. 2004. p.165 - 169.

(9) Kirdsari K. Controlling of Northern Corn Leaf Blight Caused by *Exserohilum turcicum* Using Chemicals and Antagonists. [MSc thesis]. Chiang Mai : Chiang Mai University; 2009. Thai

(10) So - Yeon K, Kyung - Suk C. Isolation and characterization of a plant growth promoting rhizobacterium, *Serratia* sp. SY5. Journal Microbiol. Biotechnol. 2009 ; 19 (11) : 1431 - 1438.

(11) Kalbe D, Marten P, Berg G. Strains of the genus *Serratia* as beneficial rhizobacteria of oilseed rape with antifungal properties. Microbiol 1996 ; 151: 433 - 9.

(12) Shun-Shan Shen, Feng-ZhiPiao, Byong - Won Lee and Chang - Seuk Park. Characterization of antibiotic substance produced by *Serratia plymuthica* A21 - 4 and the biological control activity against pepper Phytophthora blight. Plant Patho. J23 2007; (3) : 180 - 186.

(13) Kurze, S., Bahl, H., Dahl, R., and Berg, G. 2001. Biological control of fungal strawberry diseases by Serratia plymuthica HRO-C48. Plant Dis. 2001 ; 85: 529 - 534.

(14) Intanoo W. Chamsawrang C, Walter JH. Control of soil borne diseases of tomato caused by Pythium with antagonistic fungi and soil management. National Research of Thailand : Bangkok ; 2004. Thai

(15) Kuntajun U. 2006. Controlling Charcoal Rot of Black Gram Seed cv. Pitsanuloke 2 by Antagonistic Fungi and Fungicide. [MScthesis]. Chiang Mai : Chiang Mai University; 2006. Thai

(16) Elad Y, Boyle P, Henis Y. Parasitisim of *Trichoderma* spp. on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* scaning electronmicroscope and fluorescence microscopy. Phytopathology. 1983 ; 73 : 85 - 88.

(17) Merav KL, Hunt J, Stewart A. Compatibility of the biocontrol agent *Trichoderma harzianum* C52 with selected fungicides. New Zealand Plant Protection ; 2002. 53 : 84 - 88.

(18) Ferreira JHS, Mathee FN, Thomas AC. Biological control of *Fusarium oxysporum* on grapevine by an antagonist strain of *Bacillus subtilis*. Phytopathology. 1991 ; 81 : 283 - 287.

(19) Keawboonruang S, Boonlong T. Test of Pytotoxin from *Alternaria solani* and *Ascochyta rabiei*. Plant disease Journal ; 2010 (1 - 2) : 36 - 38. Thai

(20) Dharmsthit S. Bacteria Biotechnology Cells and Cell Products. Science and Technology Institute: Mahidol University; Bangkok. 2004. Thai

(21) Ahn IP, Park K, Kim CH. Rhizobacteria - induced resistance perturbs viral disease progress and triggers defense-related gene expression. Molecular Cells. 2002 ; 13 : 302 - 308.