

## บทที่ 2

### การตรวจเอกสาร

สตรอเบอร์รี่ เป็นพืชที่อยู่ใน Order Rosales Family Rosaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Fragaria fragariae* (ซูพงษ์, 2530) ในปัจจุบันจัดเป็นพืชเศรษฐกิจพืชหนึ่งที่ทำรายได้ค่อนข้างดี โดยมีพื้นที่การผลิตส่วนใหญ่อยู่ในท้องที่จังหวัดเชียงใหม่และเชียงราย เพราะมีสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสม ที่สตรอเบอร์รี่สามารถให้ผลผลิตได้ระหว่างเดือนธันวาคมถึงมีนาคม รวมพื้นที่การผลิตทั้งประเทศประมาณ 2,600 – 3,000 ไร่ต่อปี (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2541)

สตรอเบอร์รี่ เป็นพืชหนึ่งที่มีศัตรูพืชรบกวนมาก นับตั้งแต่ระยะกล้าไปจนถึงระยะเก็บเกี่ยว โรคที่เกิดจากเชื้อราเป็นโรคที่พบบ่อยกว้างขวาง และสามารถเข้าทำลายได้ในทุกส่วนของลำต้น คือ ใบ ดอก ผล และราก ได้แก่ โรครากเน่าและโคนเน่า สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora fragariae*, *Fusarium* sp และ *Rhizoctonia* spp. โรคแอนแทรคโนสของไหล สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. โรคใบจุดตาดก สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Ramularia tulasnei* โรคใบไหม้ สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Phomopsis obscurans* โรคขอบใบไหม้ สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Diplocarpon earlianum* โรคราสีเทา สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Botrytis cinerea* โรคผลเน่า สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Rhizopus* sp. และเชื้อรา *Colletotrichum* spp. (ซูพงษ์, 2530) โรคทางใบที่สำคัญของสตรอเบอร์รี่ ที่พบว่ามีการแพร่ระบาดเป็นประจำในพื้นที่การปลูกสตรอเบอร์รี่ ได้แก่ โรคใบจุดตาดก และโรคใบไหม้ไฟมอฟซิส (Maas, 1998)

โรคใบจุดตาดก (Bird's eye leaf spot) สาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Ramularia tulasnei* Sacc (telemorph : *Mycosphaerella fragariae* (Tul.) Lindae) มีรายงานการพบโรคนี้ทั่วโลก ทั้งในสตรอเบอร์รี่พันธุ์ปลูก และสตรอเบอร์รี่พันธุ์ป่า เป็นโรคที่มีความสำคัญมากที่สุด (Maas, 1998)

ลักษณะอาการของโรคใบจุดตาดก อาการที่เกิดบนใบในระยะแรกจะมีลักษณะเป็นจุดกลมขนาดเล็ก สีม่วง ต่อมาแผลขยายใหญ่ขึ้น บริเวณกลางแผลมีสีน้ำตาล ต่อมาจะเปลี่ยนเป็นสีเทา ขอบแผลมีสีม่วงแดง หรือสีน้ำตาลเข้มชัดเจน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของแผล 3-6 มิลลิเมตร กรณีที่เกิดจุดจำนวนมากแผลอาจจะรวมกัน ทำให้เกิดอาการใบไหม้ และแห้งตายในที่สุด (Maas, 1998) นอกจากนี้โรคนี้จะทำให้เกิดอาการบนใบแล้ว ยังทำให้เกิดอาการบนผล กลีบเลี้ยง ก้านใบ และไหลด้วย

ลักษณะเชื้อราสาเหตุ *Ramularia tulasnei* Sacc. ราชนิดนี้สร้างสปอร์ขยายพันธุ์ (asexual spore) ชื่อว่า conidium (พหูพจน์ conidia) รูปไข่ (elliptic) หรือรูปทรงกระบอก (cylindric)

ไม่มีสี (hyaline) อาจไม่มีผนังกัน (septum) หรือมีผนังกัน 1-4 อัน conidia มีขนาด 20 - 40 x 3 - 5 ไมครอน conidia เจริญอยู่บนก้านที่เรียกว่า conidiophore ซึ่งไม่แตกกิ่งก้าน ขนาดสั้นไม่มีสี ลักษณะโค้งงอและมีรอยที่เกิดจากการหลุดร่วงของสปอร์ (scar) ชัดเจน โดยทั่วไปมักพบเชื้อราใน ระยะที่ไม่ผสมพันธุ์ (imperfect stage) มากกว่าระยะที่มีการผสมพันธุ์ (perfect stage) โดยในช่วงฤดูใบไม้ร่วง จะพบเชื้อราระยะ teleomorph มีชื่อว่า *Mycosphaerella fragariae* ซึ่งมีโครงสร้างสืบพันธุ์ มีชื่อว่า ascocarp แบบ perithecium ซึ่งมีรูปร่างคล้ายคนโท ลักษณะกลมสีดำ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโดยเฉลี่ย 100 - 150 ไมครอน มีช่องเปิด (ostiole) เล็กมาก ภายใน perithecium มีการสร้าง ascus (ถุงใส่สปอร์ผสมพันธุ์) ลักษณะคล้ายกระบอง (clavate) หรือรูปทรงกระบอก ขนาดประมาณ 30 - 40 x 10 - 15 ไมครอน ภายในแต่ละ ascus จะมีจำนวน ascospore (สปอร์ผสมพันธุ์ หรือ sexual spore) 8 อัน ขนาดประมาณ 12 - 15 x 3 - 4 ไมครอน ascospore สีไม่มีสี มี 2 เซลล์ (Maas, 1998)

#### สภาวะที่เหมาะสมต่อการงอกของสปอร์และการสร้างสปอร์ และการแพร่ระบาดของโรค

Elliott (1985) ได้ศึกษาการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Ramularia tulasnei* บนอาหาร WA (Water Agar) ที่ช่วงอุณหภูมิ 5 - 30°C พบว่าอัตราการงอกของสปอร์เพิ่มขึ้นในอุณหภูมิช่วง 5 - 20°C และลดลงถึงศูนย์เมื่ออุณหภูมิเข้าใกล้ 35°C นอกจากนี้ยังได้ศึกษาการงอกของ สปอร์ โดยใช้ Detached Leaf Technique (DLT) กับสตรอเบอร์รี่พันธุ์ Candler บนอาหาร Czapek Dox Agar ในช่วงอุณหภูมิ 5 - 35°C โดยการรวบรวมสปอร์และนับจำนวนสปอร์ที่งอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์เป็นระยะ ๆ พบว่าอุณหภูมิที่เชื้อนี้สามารถสร้างสปอร์ คือ 8, 18 และ 30°C ทั้งสองวิธีคือ DLT และบน Czapek Dox Agar สำหรับช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสร้างสปอร์ได้จำนวนมากบนอาหารเลี้ยงเชื้อคือ 18 - 24°C เมื่อโคโลนีของเชื้อนี้มีอายุตั้งแต่ 6 วันขึ้นไป Nemeč (1972) ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อการเกิดอาการของโรคใบจุดตานกของสตรอเบอร์รี่ พบว่าอาการของโรคนี้อันตรายเกิดขึ้นเมื่ออากาศในช่วงกลางวันอบอุ่น และกลางคืนหนาว หรืออากาศอบอุ่นตลอดทั้งวัน และพบว่าช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อ คือ 65 - 75°F ซึ่งเป็นช่วงอุณหภูมิที่เชื้อสามารถทำให้เกิดลักษณะอาการของ โรคได้ดี และที่อุณหภูมิ 65°F เชื้อราสามารถเจริญได้ดีที่สุดให้โคโลนีขนาดใหญ่ที่สุดบนอาหาร PDA ในระยะเวลา 23 วัน

โรคใบไหม้โฟมอพซิส (Phomopsis Leaf Blight) โรคนี้เกิดจากเชื้อรา *Phomopsis obscurans* (Eills & Everh) (Maas, 1998) มีรายงานการระบาดทั่วไปในแปลงปลูกสตรอเบอร์รี่ทั่วโลกในบางพื้นที่โรคนี้จัดว่าเป็น โรคที่มีความสำคัญมาก เนื่องจากมีการระบาดรุนแรง ทำให้เกิด

ความสูญเสียผลผลิตสูง เชื้อนี้สามารถมีชีวิตอยู่ข้ามฤดูปลูก โดยจะทำลายใบแก่ในฤดูร้อนทำให้พืชอ่อนแอ ซึ่งทำให้ผลผลิตลดลงในปีต่อมา

ลักษณะอาการของโรคใบไหม้โฟมอพซิส อาการ โดยทั่วไป เริ่มจากลักษณะแผลเป็นจุดกลม สีแดงจนถึงสีม่วง 1-5 จุดบนใบย่อย หลังจากนั้นแผลจะพัฒนาขยายใหญ่ขึ้น มีขอบแผลสีม่วงแดง หรือสีเหลือง บริเวณกลางแผลมีสีน้ำตาล และพบโครงสร้างของเชื้อราชื่อ pycnidium (พหูพจน์ pycnidia) เป็นจุดกลมสีดำเป็นจำนวนมากบริเวณกลางแผล เมื่อแผลมีอายุมากขึ้น จะเข้าทำลายเส้นกลางใบ และพัฒนาใหญ่ขึ้นกลายเป็นแผลรูปตัววี (V-shaped) เชื้อราสาเหตุสามารถเข้าทำลายไหล ก้านใบ กลีบเลี้ยง และผลได้

ลักษณะเชื้อราสาเหตุ *Phomopsis obscurans* เชื้อรานี้จะสร้าง conidia จำนวนมากอยู่ใน pycnidia โดยฝังอยู่ในเนื้อเยื่อบริเวณผิวใบพืช รูปร่างกลม สีดำขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 140-210 ไมครอน มีช่องเปิด (ostiole) สั้น ๆ โผล่พ้นผิวพืชออกมา conidiophore โส มีความยาวได้ถึง 85 ไมครอน conidia เซลล์เดี่ยวลักษณะบางใส รูปร่างทรงกระบอกสั้นหัวทำมน ขนาด 5.5 – 7.5 x 1.5 – 2 ไมครอน ภายใต้สภาพความชื้นที่เหมาะสม conidia จำนวนมากจะถูกปลดปล่อยออกมาจาก pycnidia เป็นสายคล้าย ๆ ฝุ่นใส หรือเป็นกลุ่มของ conidia จำนวนมาก (mass of conidia) เป็นก้อนกลม ๆ ส่วนลักษณะโคโลนีของเชื้อบนอาหาร PDA จะเป็นเส้นใยสีขาว บางแผ่ขยายไปบนผิวหน้าอาหาร มี pycnidia กระจายอยู่บนโคโลนี โดยจะพบมากที่สุดบริเวณใกล้ ๆ กับจุดที่ปลูกเชื้อลงไป pycnidium มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 300 ไมครอน ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่า pycnidium ที่เกิดขึ้นบนแผลตามธรรมชาติ.(Maas, 1998)

#### สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา *Phomopsis obscurans*

Eshenaur และคณะ (1989) ได้รายงานการศึกษาว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อรา *Phomopsis obscurans* และการทำให้เกิดโรค อยู่ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 26 - 32 °C สำหรับอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเกิดโรคคือ 30 °C การปลูกเชื้อที่ความเข้มข้นของ suspension ที่  $10^7$  conidia / ml. ทำให้พืชแสดงอาการเป็นโรคได้สูงที่สุด โดยจะเริ่มปรากฏอาการให้เห็นภายหลังจากการปลูก เชื้อราลงไปแล้ว 72 ชั่วโมง โดยจะปรากฏอาการของแผลบริเวณใบอ่อนและไหลได้ดีกว่าใบแก่

#### การป้องกันกำจัด

การป้องกันกำจัดโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อรา *Ramularia tulasnei* และโรคใบไหม้ของสตรอเบอรี่ที่เกิดจากเชื้อรา *Phomopsis obscurans* ทำได้หลายวิธีได้แก่ การใช้พันธุ์ที่ปลอดโรค และต้านทานโรค ใช้ดินไหลที่แข็งแรงจากดินแม่พันธุ์ที่ปลอดโรคและต้านทานโรค การทำลายเศษซากพืชทันทีหลังเก็บเกี่ยว และการใช้สารเคมี วรณวิภา (2532) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสาร

เคมีในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Ramularia tulasnei* บนอาหาร SLDA (Strawberry Leaf Dextrose Agar) โดยใช้สารเคมีประเภทดูดซึมผสมกับสารเคมีประเภทสัมผัส สัดส่วน 1 : 1 ของอัตรากลางที่ผลากระบุไว้ โดยใช้สารกำจัดเชื้อราประเภทดูดซึมได้แก่ Derosal 60 และ Benlate 75 C ผสมกับสารประเภทสัมผัส ได้แก่ Antracol Captan 50 WP และ Dithane M-45 โดยผสมระหว่างสารดูดซึมกับสารสัมผัส เลี้ยงเชื้อโดยวิธี SPT (Spread Plate Technique) พบว่าเชื้อราไม่สามารถเจริญบนอาหารที่ผสมสารกำจัดเชื้อราได้เลยในทุกกรรมวิธี ส่วนชุดควบคุม (control) การเจริญของเชื้อราเป็นไปตามปกติ การทดสอบสารเคมีในการควบคุมโรคในแปลงปลูก พบว่าสารเคมีที่ให้ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้ดีที่สุดคือ Benlate 75 C ผสมกับ Antracol รองลงมาคือ Benlate 75 C ผสม Captan 50 WP และ Derosal 60 ผสมกับ Antracol ตามลำดับ โดยสารเคมีทุกชนิดที่ใช้สามารถลดความเสียหายจากโรคได้ดีเมื่อเทียบกับชุดควบคุม

ถึงแม้ว่าการป้องกันกำจัดโรคโดยการใช้สารเคมี จะเป็นวิธีที่สะดวกรวดเร็ว สามารถลดการระบาดของโรคที่เกิดอย่างรุนแรงขึ้นมาเป็นครั้งคราวได้ แต่การใช้สารเคมีในการควบคุมโรคพืชอย่างต่อเนื่องได้สร้างปัญหาและก่อให้เกิดผลกระทบต่างๆ มากมาย ได้แก่ ปัญหาทางเศรษฐกิจ ทำให้ต้นทุนการผลิตสูง โรคและแมลงศัตรูพืชด้านทานต่อสารเคมี ปัญหาสุขภาพอนามัยของเกษตรกรผู้ใช้ รวมถึงปัญหาสารพิษตกค้างที่ปนเปื้อนไปกับผลผลิตทางการเกษตรที่มีผลกระทบต่อผู้บริโภค และปัญหาสารพิษตกค้างในสภาพแวดล้อม ซึ่งหลายประเทศที่พัฒนาแล้ว เช่น สหรัฐอเมริกา แคนาดา และกลุ่มประเทศในยุโรปได้เริ่มกำหนดนโยบายการลดปริมาณการใช้สารเคมีควบคุมศัตรูพืชลง ขณะเดียวกันได้พยายามแสวงหาวิธีการควบคุมศัตรูพืชโดยไม่ใช้สารเคมีหรือหาสิ่งทดแทน เพื่อให้มีการใช้สารเคมีลดลง (จิระเดช, 2534) วิธีการหนึ่งที่สามารถแก้ไขหรือลดปัญหาต่างๆ จากการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชคือการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonistic microorganisms) ในการควบคุมโรคพืชทางชีวภาพ (biological control)

การควบคุมโรคพืชทางชีวภาพ หมายถึง การลดปริมาณของ inoculum หรือการลดปฏิกิริยาการเกิดโรคของเชื้อสาเหตุที่อยู่ในระยะที่ไม่มีปฏิกิริยาหรือระยะพักตัว ด้วยการใช้อินทรีย์ชนิดหนึ่ง หรือมากกว่า 1 ชนิด ให้บรรลุผลสำเร็จในสภาพธรรมชาติ หรือด้วยการจัดการสภาพแวดล้อมของพืชอาศัย หรือเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (Baker และ Cook, 1974) สิ่งมีชีวิตที่ใช้สำหรับควบคุมโรคพืชทางชีวภาพ (biocontrol agents) ที่รายงานไว้ในเอกสารต่างๆ ดังได้รวบรวมไว้มีอยู่หลายชนิดในตารางต่อไปนี้

ตารางที่ 1 จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ที่มีรายงานในการควบคุมโรคพืชทางชีวภาพ

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

จุลินทรีย์ปฏิปักษ์และเชื้อโรคพืช (plant pathogen) มีอยู่ทั่วไปในธรรมชาติ แต่ชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ดังกล่าว อาจผันแปรไปตามแหล่งและสถานที่ซึ่งต่างกันออกไป และสภาวะอากาศที่แตกต่างกันในแต่ละปี โดยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และเชื้อโรคสามารถหาได้จากบริเวณซึ่งเคยมีโรคระบาด จากโรคใดโรคหนึ่ง แต่ต่อมาไม่พบการระบาดของโรคนั้น หรือพบว่ามีการระบาดลดลงทั้งๆ ที่มีการปลูกพืชอาศัยที่อ่อนแอ (susceptible host plants) ก็ไม่พบการเกิดโรค (เกษม, 2532 ก.) จากข้อสังเกตดังกล่าวนี้ จึงนับว่ามีความสำคัญอย่างยิ่งต่อความผันแปรของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และเชื้อโรคในแหล่งปลูกพืชแต่ละแห่ง การคัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เริ่มจากการรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์จากแหล่งที่มีโรคระบาด จากพืชที่เป็นโรคหรือจากดินที่มีคุณสมบัติคือทำให้พืชเจริญเติบโตได้ดี และมีความต้านทานโรค จากนั้นนำมาเพาะเลี้ยงเพื่อตรวจสอบคุณสมบัติของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่สามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว และมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อม จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ได้รับการศึกษาและพบว่ามีความสามารถในการควบคุมโรคพืชได้อย่างกว้างขวาง คือเชื้อรา มีรายงานการศึกษาโดย Tronsmo และ Rao (1977) ว่า เชื้อรา *Trichoderma pseudokoningii* สามารถยับยั้งการเจริญและเป็นปรสิตกับเชื้อรา *Botrytis cinerea* สาเหตุโรคน้ำแห้งของต้นแอปเปิล โดยเส้นใยของเชื้อรา *T. pseudokoningii* พันรัดรอบเส้นใยและแทงเข้าไปในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุ นอกจากนั้นยังมีการทดสอบในโรงเรือน ที่ควบคุมสภาพแวดล้อม โดยการปลูกเชื้อราสาเหตุ ร่วมกับ spore suspension ของ *T. pseudokoningii* พบว่าสามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ดี แต่เมื่อนำไปทดสอบในสวนผลไม้ พบว่าราปฏิปักษ์นี้ไม่สามารถลดความรุนแรงของโรคได้ และยังได้รายงานถึงวิธีการควบคุมโรคเน่าก่อนการเก็บเกี่ยวของสตรอเบอร์รี่ที่เกิดจากเชื้อรา *Botrytis cinerea* และ *Mucor mucedo* ในแปลงปลูก โดยการพ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. viride* และ *T. harzianum* พบว่าสามารถลดระดับของการเกิดโรคได้ใกล้เคียงกับการใช้สารเคมี dichlorofluanid Elad และคณะ (1980) รายงานว่า *T. harzianum* สามารถควบคุมโรคกล้าเน่า (damping – off) ที่เกิดจากเชื้อ *Sclerotium rolfsii* และ *Rhizoctonia solani* ในถั่ว มะเขือเทศ และฝ้าย ได้อย่างมีประสิทธิภาพ Ahmad และ Baker (1987) ได้ศึกษาถึงการควบคุมโรคพืชทางชีวภาพในพืชต่างๆ ได้แก่ ถั่ว, แตงกวา, ข้าวโพด, มะเขือเทศ และแรดิช พบว่าการใช้ mutants ของ *T. harzianum* มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชได้สูงกว่า *T. harzianum* ที่เป็น wild type นอกจากนี้ยังพบว่า mutants ของรานี้ยังสามารถผลิตเอนไซม์ cellulase ได้มากกว่า โดยปริมาณของเอนไซม์ที่ผลิตได้จะมีความสัมพันธ์โดยตรงกับความสามารถในการแข่งขันกับราที่เป็น saprophyte และจุลินทรีย์อื่น ๆ ที่อยู่รอบ ๆ รากพืช เชื้อรา *Trichoderma* นอกจากจะมีคุณสมบัติเป็นเชื้อราปฏิปักษ์แล้ว ยังมีผลในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช จึงมีการใช้เชื้อราชนิดนี้เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชสวน (Whipp และ Lumsden, 1991) ต่อมา Sutton และ Peng (1993)

ได้รายงานผลการควบคุมโรคทางใบของสตรอเบอรี่ที่เกิดจากเชื้อรา *Botrytis cinerea* โดยทำการปลูกเชื้อราลงบนใบสตรอเบอรี่ หลังจากนั้น 2-5 สัปดาห์ ทำการพ่นสปอร์ของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์คือ *Rhodotorula glutinis*, *Fusarium* sp., *Myothenecium verrucaria*, *Trichoderma viride*, *Penicillium* sp., *Gliocladium roseum* เทียบกับการใช้สารกำจัดเชื้อราชื่อ chlorothalonil ผลปรากฏว่าจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *G. roseum*, *Penicillium* sp. และ *T. viride* สามารถลดปริมาณการสร้าง conidiophore ของเชื้อได้ 97 – 100% ในสภาพเรือนทดลอง สองปีต่อมา Belanger และคณะ (1995) ได้รายงานถึงความสำเร็จในการใช้ *T. harzianum* ในการควบคุมโรคผลเน่าของสตรอเบอรี่ที่เกิดจากเชื้อรา *Botrytis cinerea* และ โรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *Fusarium* sp. ซึ่งเป็น โรคที่สำคัญของการปลูกสตรอเบอรี่

นอกจากเชื้อราแล้วยังพบว่าแบคทีเรียบางชนิดที่มีคุณสมบัติในการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ โดย Fravel และ Spurr (1971) ทำการแยกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จากใบยาสูบ พบแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria alternata* ที่เป็นสาเหตุของโรคใบจุดสีน้ำตาล 1 ชนิดคือเชื้อ *Bacillus cereus* subsp. *mycoides* ที่สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ถึง 88% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม Broadbent และคณะ (1977) รายงานว่ามี *Bacillus* spp. หลาย strain ที่มีคุณสมบัติเป็นจุลินทรีย์ต่อต้านโรค เนื่องจากแบคทีเรียชนิดนี้ สามารถผลิต endospore ที่ทนต่อความร้อนและความแห้งแล้งได้ เช่น *B. subtilis* A<sub>13</sub> ซึ่งแยกได้จากเส้นใยของเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุ โรคหลายชนิดและมีความสามารถในการเจริญครอบคลุมบริเวณรากพืชทั้งในสภาพแปลงปลูกและสภาพห้องปฏิบัติการ

ในประเทศไทย มีผู้ศึกษาถึงประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคพืช เช่น บรรเจิด (2530) ทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ต่าง ๆ ได้แก่ *Penicillium* spp., *Trichoderma* spp., *Bacillus* spp. และ *Pseudomonas fluorescens* ที่แยกได้จากดินที่ใช้ในการเพาะปลูกในการควบคุมโรคพืช พบว่า *T. harzianum* และ *T. viride* สามารถยับยั้งการเจริญของ *Sclerotium rolfsii* ได้ทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและเรือนทดลอง โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคลดลงถึง 99.4 และ 98.8 เปอร์เซ็นต์ กาญจนา (2539) ทำการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. 12 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. และ *Fusarium* sp. สาเหตุโรคเหี่ยวของสตรอเบอรี่ พบว่า *T. viride* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. ได้สูงสุดโดยทำให้เส้นใยของเชื้อราเหี่ยวแฟบลง และสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* sp. โดยการเข้าไปเจริญในเส้นใยของเชื้อรา *Fusarium* sp. พชรินทร์ (2540) ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma* 9 ไอโซเลท ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizoctonia* sp. บนอาหาร PDA วัสดุเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตได้ไอโซเลทที่ให้ผลในการยับยั้ง 4 ไอโซเลทด้วยกันคือ CMU-

TI( *Trichoderma harzianum*), CMU-T3 (*T. polysporum*), CMU-T6 (*T. viride*) และ CMU-T8 (*T. viride*) และได้ศึกษาประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของสตรอเบอร์รี่ที่ปลูกไว้ในถุงปลูก โดยการคลุกเชื้อสาเหตุของโรคและเชื้อราปฏิปักษ์ลงไปบนดินที่ผสมเป็นวัสดุปลูกกับสตรอเบอร์รี่ 4 พันธุ์ คือ พันธุ์ Nyoho, พันธุ์พระราชทาน 20, พันธุ์พระราชทาน 50 และพันธุ์พระราชทาน 70 ที่อยู่ในโรงเรือน ผลปรากฏว่า CMU-T3 มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรคเฉพาะพันธุ์พระราชทาน 20 ส่วนพันธุ์พระราชทาน 50 และพันธุ์พระราชทาน 70 ไม่มี *Trichoderma* ไอโซเลทใดที่สามารถควบคุมโรคเหี่ยวได้เลย กาญจนา (2542) ได้ทำการแยกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จากดิน 5 แห่งในจังหวัดเชียงใหม่ ได้แบคทีเรียและรา จำนวน 165 ไอโซเลท นำจุลินทรีย์ที่ได้ มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Pseudomonas solanacerum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ พบแบคทีเรียจำนวน 40 ไอโซเลทที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวได้ ในจำนวนนี้มี 3 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงสุด คือ RH<sub>14</sub> (*Bacillus cereus*) RH<sub>19</sub> (*Pseudomonas aeruginosa*) และ RH<sub>39</sub> (*Ps. putida*) จากนั้นนำแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด มาทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศพันธุ์ Pep. T. K. ในสภาพเรือนทดลอง พบว่าแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด สามารถชะลอการเกิดโรคและลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวลงได้ในทุกกรรมวิธี เมื่อเปรียบเทียบกับการปลูกเชื้อสาเหตุเพียงอย่างเดียว ในขณะที่การทดสอบในสภาพแปลงปลูก พบว่าแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด สามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวลงได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับชุดควบคุม มานะ และคณะ (2543) ทำการแยกราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. จากดินป่าและดินเกษตรกรรมในภาคใต้ของประเทศไทย จำนวน 183 สายพันธุ์ ทำการคัดเลือกทุกสายพันธุ์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สำคัญทางภาคใต้ 3 ชนิดคือ เชื้อรา *Phytophthora palmivora*, *Rhizoctonia solani* และ *Sclerotium rolfsii* โดยใช้ Dual Culture Technique ในห้องปฏิบัติการ พบว่าสายพันธุ์ต่างๆ ของราปฏิปักษ์ในดินเกษตรกรรมมีประสิทธิภาพดีกว่า *Trichoderma* ในดินป่า โดยสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพดี ได้แก่ *T. harzianum*, *T. viride* และ *Gliocladium virens* ในปีเดียวกัน ยอดชาย (2543) ได้รายงานผลการแยกราปฏิปักษ์จากดินบริเวณแปลงปลูกสตรอเบอร์รี่ในจังหวัดเชียงใหม่ พบเชื้อราจำนวน 38 ไอโซเลท นำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 8 ชนิด คือ *Rhizoctonia* sp., *Fusarium* sp., *Colletotrichum* sp., *Phomopsis obscurans.*, *Phaeoisariopsis griseola*, *Septoria* sp., *Alternaria solani* และ *A. brassicicola* ในสภาพห้องปฏิบัติการบนอาหาร PDA โดยใช้ Dual Culture Technique พบราปฏิปักษ์ที่มีแนวโน้มในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ดีจำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท CMU2000-9, CMU2000-14 และ CMU2000-16 เมื่อทำการจัดจำแนกชนิดของเชื้อราปฏิปักษ์ที่แยกได้พบว่า ไอโซเลท CMU



2000-9 คือ *Trichoderma viride*, ไอโซเลท CMU2000 -14 คือ *T. harzianum* และ ไอโซเลท CMU2000 -16 คือ *T. hamatum*

**ปัจจัยที่เกี่ยวกับการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี**

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีมี 4 ปัจจัยด้วยกัน คือ พืชอาศัย (host plant) เชื้อโรค (pathogen) สิ่งแวดล้อมทางกายภาพ (physical environment) และจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (Baker และ Cook, 1974 อ้างโดย กาญจนนา, 2542) ดังมีรายละเอียดต่อไปนี้

**พืชอาศัย** ในสภาพธรรมชาติพืชอาศัยมีความสำคัญต่อการควบคุมโรค โดยมีส่วนช่วยควบคุมปริมาณเชื้อโรค โดยสารที่พืชปลดปล่อยออกมาจากราก (plant exudate) มีคุณสมบัติเป็นสิ่งกระตุ้น และเป็นอาหารสำหรับจุลินทรีย์ต่อต้านโรค รวมทั้งเชื้อโรคด้วยเช่นกัน ดังนั้นพืชอาศัยที่อ่อนแอต่อโรค เมื่อมีเชื้อโรคเข้าทำลายจะเกิดอาการของโรคอย่างรุนแรง เว้นแต่ว่าในสภาพแวดล้อมนั้นจะมีจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่เหมาะสมต่อการจำกัดโรคอยู่ เมื่อพืชอาศัยมีความต้านทานโรค ถึงแม้ว่าจะมีเชื้อโรคเข้าทำลายก็อาจจะเกิดโรคบ้างแต่เกิดเพียงเล็กน้อย หรืออาจจะไม่เกิดเลย ไม่ว่าสภาพแวดล้อมจะเหมาะสมหรือไม่

**เชื้อโรค หรือปรสิต (pathogen or parasite)** ปรสิต หมายถึง สิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งที่อาศัยอยู่ในหรือบนสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่ง และได้รับอาหารพวกสารอินทรีย์จากสิ่งมีชีวิตนั้น ซึ่งอาจเป็นเชื้อโรคหรือไม่เป็นเชื้อโรคก็ได้ เชื้อโรคพืช (plant pathogen) หมายถึง สิ่งมีชีวิตที่เข้าทำลายพืชอาศัยแล้วมีผลต่อการแสดงอาการผิดปกติต่าง ๆ ที่เกิดกับพืชได้

**สิ่งแวดล้อมทางกายภาพ (physical environment)** ระดับน้ำในดิน การระบายอากาศในดิน และระดับความเข้มข้นของก๊าซที่แตกต่างกัน รวมทั้งสิ่งต่าง ๆ ที่ละลายอยู่ในดิน สภาพแวดล้อมเหล่านี้มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ดังนั้น ดินจึงจัดเป็นสิ่งแวดล้อมที่สำคัญอย่างยิ่งสำหรับพืช โดยเฉพาะเมื่อจุลินทรีย์ต่าง ๆ อาศัยอยู่โดยเข้าไปมีบทบาทและช่วยในการจัดการเกี่ยวกับกิจกรรมและปฏิกิริยาต่าง ๆ ในดิน

**จุลินทรีย์ปฏิปักษ์** กิจกรรมของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่เกี่ยวข้องมี 3 อย่างคือ (เกษม, 2532 ข.)

1. **ขบวนการสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiosis)** หมายถึงการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดหนึ่ง ที่เกิดขึ้นจากสารที่สร้างขึ้นโดยสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่ง สารดังกล่าวนี้จะมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโต หรืออาจจะทำให้ตายได้

2. **การแข่งขันซึ่งกันและกัน (competition)** การที่สิ่งมีชีวิตสองชนิดหรือมากกว่าเจริญอยู่ด้วยกัน และมีความต้องการอาหารและที่อยู่อาศัยซึ่งสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดต้องการ และเมื่ออาหาร

ที่มีอยู่ไม่เพียงพอจึงทำให้เกิดการแข่งขันกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้ธาตุอาหาร และปัจจัยอื่น ๆ สำหรับการเจริญเติบโต

3. การเป็นปรสิตของเชื้อราปฏิปักษ์ (parasitism) การที่เชื้อราปฏิปักษ์สร้างเส้นใยแทงทะลุเข้าไปในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุ แล้วดูดของเหลวจากราทำให้เส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชเหี่ยวแฟบลงหรือการที่เชื้อราปฏิปักษ์สร้างเส้นใยพันรัดเส้นใยของเชื้อราสาเหตุก่อนการเข้าทำลายเส้นใย ดังเช่นเชื้อรา *Trichoderma harzianum* เป็นปรสิตกับเชื้อรา *Rhizoctonia solani* โดยการสร้างเส้นใยพันรัดแล้วจึงแทงเข้าไปในเส้นใย (Elad และคณะ 1987) ส่วนราปฏิปักษ์ *T. hamatum* เป็นปรสิตกับเชื้อรา *Pythium* sp., *Rhizoctonia* sp., และ *Sclerotium* sp. โดยการสร้างเอนไซม์  $\beta$ -1, 3 – glucanase, chitinase และ cellulase ทำลายเส้นใยเชื้อราดังกล่าวเหี่ยวและแฟบลง (Bruckner และ Przybylski, 1984)