

บทที่ 5

สรุป

1. การแยกและจำแนกเชื้อสาเหตุโรคราเขียว (*Trichoderma* spp.)

การแยกเชื้อ *Trichoderma* spp. จากถุงเห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม เห็ดลม และเห็ดขอนขาว จาก 22 จังหวัดทั่วประเทศ จำนวน 145 ไอโซเลท จำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ 5 ชนิด (species) คือ *T. harzianum* จำนวน 82 ไอโซเลท *T. virens* จำนวน 21 ไอโซเลท *T. virens* - like จำนวน 14 ไอโซเลท *T. atroviride* จำนวน 21 ไอโซเลท และ *T. aureoviride* จำนวน 7 ไอโซเลท

การจำแนกเชื้อ *Trichoderma* sp. โดยใช้เทคนิค RAPD ตัวอย่างเชื้อรา จำนวน 23 ไอโซเลท ทดสอบโดยใช้ไพรเมอร์ 7 ชนิด คือ OPC-04, OPC-08, OPC-14, OPT-01, OPT-02, OPT-05 และ OPT-08 จากเชื้อ *T. harzianum* จำนวน 10 ไอโซเลท สามารถให้รูปแบบของแถบดีเอ็นเอ แบ่งออกได้เป็น 6 กลุ่ม *T. virens* จำนวน 3 ไอโซเลท ให้รูปแบบของแถบดีเอ็นเอ เป็น 2 กลุ่ม *T. virens* - like จำนวน 4 ไอโซเลท ให้รูปแบบของแถบดีเอ็นเอ เป็น 3 กลุ่ม *T. atroviride* จำนวน 3 ไอโซเลท ให้รูปแบบของแถบดีเอ็นเอ เป็น 2 กลุ่ม และ *T. aureoviride* จำนวน 2 ไอโซเลท ให้รูปแบบของแถบดีเอ็นเอ แตกต่างกันทั้ง 2 ไอโซเลท

2. การทดสอบเชื้อ *Trichoderma* spp. ต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้า

T. harzianum เจริญเต็มจานอาหาร (เส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร) ภายในระยะเวลา 40 ชั่วโมง ในขณะที่เส้นผ่านศูนย์กลางเห็ดนางฟ้ามีขนาดโคโลนี 0.5 เซนติเมตร (ไม่เจริญ) *T. atroviride* และ *T. virens* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8.5 เซนติเมตร ส่วน *T. virens*-like และ *T. aureoviride* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7.5 เซนติเมตร การเจริญเติบโตของเชื้อ *Trichoderma* ทั้ง 5 ชนิด เป็นไปอย่างรวดเร็ว โดยเชื้อ *Trichoderma* spp. เจริญอย่างรวดเร็วเข้าครอบคลุมเส้นใยเห็ด เข้าพันรัดแล้ว แหงส่วนของเส้นใยเข้าไปภายในเส้นใยเห็ด ทำให้เส้นใยเห็ดไม่สามารถเจริญต่อไปได้

3. การแยกและคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

การแยกและคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ได้จำนวนทั้งสิ้น 174 ไอโซเลท โดยแยกจาก เห็ดเห็ด เป็นโรค จำนวน 87 ไอโซเลท เห็ดเห็ดปกติ จำนวน 33 ไอโซเลท ดอกเห็ดปกติ จำนวน 35 ไอโซเลท และดอกเห็ดผิดปกติ จำนวน 19 ไอโซเลท ซึ่งแบคทีเรียที่แยกได้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *T. harzianum* โดยการเกิดเป็นวงใส

4. การศึกษาคุณสมบัติของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

แบคทีเรียปฏิปักษ์ จำนวน 174 ไอโซเลท เป็นแบคทีเรียแกรมลบ 71 ไอโซเลท มี 35 ไอโซเลท สามารถสร้างสารเรืองแสงในอาหาร KB จัดเป็น *Pseudomonas fluorescense* และเป็นแบคทีเรียแกรมบวก จำนวน 103 ไอโซเลท

5. ผลของแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้า

แบคทีเรียปฏิปักษ์จำนวน 174 ไอโซเลท มีปฏิกริยาสัมพันธ์กับเส้นใยเห็ดนางฟ้า แบ่งได้เป็น 5 กลุ่ม คือ แบบที่ 1 เส้นใยเห็ดชะงักการเจริญเติบโตเมื่อพบกับเชื้อแบคทีเรีย แบบที่ 2 เส้นใยเห็ดมีสีขาว หนาฟูตรงตำแหน่งที่สัมผัสกับแบคทีเรีย แต่ไม่มีการเจริญข้ามผ่าน แบบที่ 3 เส้นใยเห็ดบริเวณสัมผัสกับแบคทีเรียจะมีสีขาว เส้นใยจะหนาและฟูขึ้น เส้นใยเห็ดเจริญข้ามผ่านแบคทีเรีย แบบที่ 4 เส้นใยเห็ดเจริญข้ามแบคทีเรียที่ขีดไว้ได้ เส้นใยเห็ดบริเวณสัมผัสกับแบคทีเรียจะหนาและเข้มขึ้นอย่างชัดเจน เส้นใยส่วนที่เจริญข้ามไปได้ จะเป็นเส้นใยเห็ดธรรมดา แบบที่ 5 เส้นใยเห็ดเจริญข้ามผ่านแบคทีเรียที่ขีดไว้ได้ เส้นใยเห็ดบริเวณสัมผัสกับแบคทีเรียมีสีเข้มหนาและฟูขึ้น บริเวณเส้นใยที่เจริญข้ามผ่านมีลักษณะสีค่อนข้างเหลือง

แบคทีเรียจำนวน 28 ไอโซเลท สามารถกระตุ้นให้เส้นใยเห็ดนางฟ้าสร้างตุ่มดอก โดย 20 ไอโซเลทได้จากปฏิกริยาสัมพันธ์แบบที่ 3 จำนวน 7 ไอโซเลท ได้จากปฏิกริยาสัมพันธ์แบบที่ 4 และอีก 1 ไอโซเลทได้จากปฏิกริยาสัมพันธ์แบบที่ 5

6. ความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Trichoderma* ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถกระตุ้นให้เห็ดนางฟ้าสร้างตุ่มดอก ในห้องปฏิบัติการ

แบคทีเรียปฏิปักษ์จำนวน 22 ไอโซเลท จาก 28 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *T. harzianum* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ได้แก่ แบคทีเรียสายพันธุ์ B003-013, B003-015, B003-034, B003-043, B004-013, B004-024, B004-027, B004-029, B004-035, B004-041, B004-042, B004-043, B004-049, B006-017, B006-018, B010-041, B010-047, B012-021, B012-022, B012-034, B012-054 และ B012-055

7. การทดสอบเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการออกดอกของเห็ดนางฟ้าในโรงเรือนเพาะเห็ด

แบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพดีในการกระตุ้นให้ระยะเวลาในการออกดอกของเห็ดนางฟ้าเร็วขึ้น จำนวนดอกมาก และให้น้ำหนักสูง ในช่วงเก็บเกี่ยว 30 วัน จำนวน 6 ไอโซเลท คือ สายพันธุ์

B004-013, B006-017, B012-021, B012-022, B012-034 และ B012-054 ทำให้ผลผลิตเห็ดสูงขึ้น 7.5 - 34.3 เปอร์เซ็นต์ แบคทีเรียทั้ง 6 ไอโซเลท เป็นแบคทีเรียสกุล *Bacillus* spp.

8. การทดสอบเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการควบคุมโรคราเขียวในโรงเรือนเพาะเห็ด

แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B012-022 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคราเขียว และให้ผลผลิตเห็ดเฉลี่ยดีที่สุด คือ เห็ดเห็ดเป็นโรคมะเพียง 6.7 เปอร์เซ็นต์ ผลผลิตเห็ดเฉลี่ย 300.0 กรัม/ถุง ซึ่งสูงกว่าชุดควบคุมที่ฉีดพ่นเฉพาะเชื้อ *T. harzianum* ถึง 71.1 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ การฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B006-017 เห็ดเห็ดเกิดโรค 23.3 เปอร์เซ็นต์ เห็ดให้ผลผลิตเฉลี่ย 244.3 กรัม/ถุง สูงกว่าชุดควบคุมที่ฉีดพ่นเฉพาะเชื้อ *T. harzianum* 39.4 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการฉีดพ่นเฉพาะเชื้อ *T. harzianum* ทำให้เห็ดเกิดโรคมะมากที่สุด คือ 80.0 เปอร์เซ็นต์ เห็ดให้ผลผลิตเฉลี่ยเพียง 175.3 กรัม/ถุง ส่วนถุงเห็ดที่ฉีดพ่นน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ เกิดโรค 33.3 เปอร์เซ็นต์ เห็ดให้ผลผลิต 191.7 กรัม/ถุง (8.8 เปอร์เซ็นต์) สาเหตุที่เกิดโรคมะกับถุงที่ไม่ได้ฉีดพ่น *T. harzianum* เนื่องจากมีการระบาดของโรคเกิดขึ้นภายในโรงเรือน

9. การศึกษาปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดบนดอกเห็ด

ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดหลังฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์ แบคทีเรียปฏิปักษ์ผสม *T. harzianum* และ *T. harzianum* อย่างเดียว เมื่อเปรียบเทียบกับ การฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ พบว่ามีปริมาณแบคทีเรียสูงกว่าประมาณ $10^2 - 10^6$ cfu/cm²