ประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ สาเหตุจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*

Efficacy of *Trichoderma harzianum* for the Control of Root Rot of Hydroponically Grown Lettuce Caused by *Pythium aphanidermatum*

คำนำ

ปัจจุบันทั่วโลกนิยมนำระบบการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินมาใช้ในการผลิตไม้ดอก ไม้ประดับและพืชผักชนิดต่าง ๆ กันเป็นจำนวนมาก และมีการขยายตัวอย่างกว้างขวางโดยเฉพาะในสหรัฐอเมริกา ยุโรปตะวันตก บราซิล สวีเดน และญี่ปุ่น เนื่องจากสามารถเพิ่มคุณภาพและปริมาณของผลผลิตได้เป็นอย่างดี เป็นการประหยัดพื้นที่ในการเพาะปลูก ทั้งยังช่วยลดปัญหาสภาพแวดล้อม (Furlani, 1999; Waechter-Kristensen and Gertsson, 1994) ตลอดจนเพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาเรื่องโรคในระบบรากที่เกิดจากเชื้อโรคในดิน โดยเฉพาะเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สามารถสร้างส่วนขยายพันธุ์ในดินได้ อย่างไรก็ตามหากมีการจัดการที่ไม่ดีพอ โรคพืชก็นับเป็นปัญหาสำคัญยิ่งที่พบในระบบการปลูกพืชในสารละลายธาตุอาหารซึ่งเชื้อโรคสามารถเข้าสู่ระบบได้โดยการปนเปื้อนมากับดินที่ติดรองเท้าผู้ปฏิบัติงาน เมล็ดพันธุ์/ท่อนพันธุ์ วัสดุปลูก น้ำที่ใช้ในระบบ สารละลายธาตุอาหารพืช ตลอดจนเครื่องมือ อุปกรณ์ที่ใช้ในการเกษตร และฝุ่นละอองต่าง ๆ โดยเฉพาะเชื้อรา *Pythium* spp. ซึ่งจัดเป็นเชื้อราสาเหตุโรคที่สำคัญมาก ทำให้เกิดโรครากและลำต้นเน่า โรคใบและลำต้นไหม้ต่าง ๆ เมื่อเชื้อเข้าสู่ระบบการผลิตพืชภายใต้สภาวะแวดล้อมที่มีการควบคุม หรือในโรงเรือน สภาพแวดล้อมภายใน เช่น อุณหภูมิ และความชื้นอาจมีความเหมาะสมต่อการเข้าทำลายพืชอาศัยของเชื้อโรค อีกทั้งหากเป็นระบบที่มีการไหลเวียนของสารละลายธาตุอาหารพืชด้วยแล้ว ยิ่งจะเป็นการช่วยทำให้เชื้อโรคแพร่กระจายได้อย่างรวดเร็ว ส่งผลให้เชื้อโรคสามารถเข้าทำลายพืชได้มากขึ้น กระทบต่อปริมาณ และคุณภาพของผลผลิตที่จะได้รับ ส่วนการป้องกันกำจัดนั้น การใช้สารเคมีกับพืชที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ต้องระมัดระวังเป็นอย่างมาก เนื่องจากความเป็นพิษของสารเคมีต่อพืช สภาพแวดล้อมและสวัสดิภาพความปลอดภัยของผู้ผลิต และผู้บริโภค อีกทั้งการใช้สารเคมียังทำให้เชื้อรา *Pythium* spp. เกิดการดื้อยาได้อีกด้วย (Stanghellini and Russmussen, 1994)

ดังนั้นเพื่อหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีจึงควรนำการควบคุมโดยชีววิธีมาใช้ในการจัดการโรคพืชในระบบไฮโดรโพนิกส์ โดยเน้นการป้องกันกำจัดเชื้อโรคในวัสดุปลูก สารละลายธาตุอาหารพืช และบริเวณรอบรากพืชด้วยการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่สามารถเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อโรคพืช ควบคู่ไปกับความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช และสามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ที่สะสมอยู่ไม่ให้เป็นอันตรายต่อพืชได้ เชื้อรา *Trichoderma harzianum* เป็นเชื้อราปฏิปักษ์อีกชนิดหนึ่งที่สามารถป้องกันและควบคุมเชื้อราในดินได้หลายชนิด นอกจากนี้ยังช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ดีอีกด้วย จึงจัดเป็นเชื้อราที่น่าสนใจในการนำมาใช้ในการป้องกันและควบคุมโรครากและลำต้นเน่าสาเหตุจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ของพืชที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับเรื่องนี้โดยละเอียดมาก่อนเลยในประเทศไทย

<u>วัตถุประสงค์</u>

1. เพื่อศึกษาเชื้อสาเหตุโรครากเน่าของผักกาดหอมและพิสูจน์ความสามารถในการทำให้พืชเกิดโรคของเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*

2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* (CB-Pin-01) ในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมในระบบไฮโดรโพนิกส์ สาเหตุจากเชื้อรา *P. aphanidermatum*

3. เพื่อศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการใช้เชื้อรา *T. harzianum* (CB-Pin-01) ในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมในระบบไฮโดรโพนิกส์

การตรวจเอกสาร

ความหมายและรูปแบบของการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน

"การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน" หมายถึง วิธีการปลูกพืชเพื่อให้พืชได้รับสารอาหารหรือสารละลายธาตุอาหารพืชจากน้ำที่ผสมกับธาตุอาหารซึ่งพืชต้องการจากทางราก โดยพืชที่ปลูกนั้นจะปลูกอยู่บนวัสดุหรือไม่มีวัสดุปลูกก็ได้ (ดิเรก, 2546)

ระบบการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน จัดแบ่งตามวิธีการใช้สารละลายธาตุอาหารบริเวณรอบรากพืช ดังนี้ (อารักษ์, 2544)

1. แบบปลูกพืชในสารละลายธาตุอาหาร (Hydroponics)
2. แบบปลูกให้รากพืชลอยอยู่กลางอากาศ (Aeroponics)
3. แบบปลูกในวัสดุปลูก (Substrate culture)

ในที่นี้จะกล่าวถึงรายละเอียดเฉพาะการปลูกพืชในสารละลายธาตุอาหาร (Hydroponics) เท่านั้น

"ไฮโดรโพนิกส์ (Hydroponics)" เป็นการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ด้วยการปลูกพืชให้รากได้สัมผัสกับสารละลายธาตุอาหารพืชโดยตรง จำแนกออกได้เป็น 5 ระบบ ดังนี้ (ดิเรก, 2547)

1. ระบบการปลูกแบบให้สารละลายธาตุอาหารพืชไหลผ่านรากพืชเป็นแผ่นบาง ๆ ในรางปลูกอย่างต่อเนื่อง (Nutrient Film Technique, NFT) เป็นการให้สารอาหารไหลไปอย่างช้า ๆ แบบแผ่นฟิล์มบาง ๆ ประมาณ 1-3 มิลลิเมตร ไปตามความลาดชันของรางปลูก (ประมาณ 2 เปอร์เซ็นต์) และมีการหมุนเวียนของสารละลายกลับมาอีกอย่างต่อเนื่องผ่านรากพืชที่อยู่ในรางปลูก

2. ระบบการปลูกแบบให้สารละลายธาตุอาหารพืชไหลผ่านรากพืชเป็นแผ่นหนาในรางปลูกอย่างต่อเนื่อง (Nutrient Flow Technique, NFLT) เป็นการปลูกพืชในรางปลูกที่มีระดับสารละลายธาตุอาหารลึกกว่าระบบ NFT คือลึกประมาณ 10-15 มิลลิเมตร และไหลผ่านรากพืชอย่างต่อเนื่อง

3. ระบบการปลูกแบบให้สารละลายธาตุอาหารพืชไหลผ่านรากในราง/ท่อ/ถาดปลูกในระดับลึก (Deep Flow Technique, DFT) เป็นการปลูกพืชในระบบปลูกที่ให้รากพืชอยู่ในสารละลายธาตุอาหารพืชลึกกว่า 2 แบบที่กล่าวมา

4. ระบบการปลูกแบบให้สารละลายธาตุอาหารพืช และอากาศไหลวนผ่านรากพืชในระดับลึกอย่างต่อเนื่องในถาดปลูก (Dynamic Root Floating Technique, DRFT) เป็นระบบที่พัฒนามาจากระบบ DFT แต่เพิ่มความไหลเวียนของอากาศและธาตุอาหาร โดยต้องการให้พืชได้รับทั้งอากาศและสารละลายธาตุอาหารที่มีการหมุนเวียนผ่านรากพืชอย่างต่อเนื่อง

5. ระบบการปลูกแบบให้สารละลายธาตุอาหารพืชท่วมสลับระบายออกอย่างต่อเนื่องหรือการปลูกแบบระบบฟรัชแอนเดรน (Flood and Drain, FAD) ระบบนี้สามารถให้สารละลายท่วมภาชนะปลูกและรากพืชอยู่ระยะเวลาหนึ่งแล้วค่อย ๆ ระบายออก และเมื่อระบายออกได้ระยะเวลาหนึ่งแล้วจึงให้สารละลายใหม่อีกครั้ง

<u>ข้อดีและข้อเสียของระบบไฮโดรโพนิกส์</u> (ดิเรก, 2546; มนูญ, 2544; อาณัฐ, 2547; อารักษ์, 2544)

ข้อดี

1. ควบคุมการใช้ธาตุอาหารของพืชได้ง่ายกว่าการปลูกพืชในดิน
2. ลดค่าใช้จ่ายในเรื่องของแรงงาน เพราะไม่ต้องมีการไถพรวนในการเตรียมพื้นที่ปลูก
3. พืชที่ปลูกได้รับน้ำอย่างสม่ำเสมอ
4. เป็นการประหยัดน้ำ ประหยัดปุ๋ย และประหยัดพื้นที่ในการเพาะปลูก
5. สามารถควบคุมโรคในดินได้ง่ายกว่า อีกทั้งไม่มีปัญหาในการกำจัดวัชพืช
6. สามารถปลูกพืชได้ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ในสภาพดินเป็นกรดหรือด่างจัด

7. เป็นวิธีการที่สะดวกและง่าย สามารถทำได้ทุกเพศทุกวัย
8. สามารถปลูกพืชได้อย่างต่อเนื่องตลอดทั้งปีในพื้นที่เดียวกัน

ข้อเสีย

1. ต้องใช้เงินลงทุนครั้งแรกค่อนข้างสูงเพราะต้องการอุปกรณ์หลายอย่างซึ่งมีราคาแพง และต้องมีอุปกรณ์ไว้สำรอง

2. ต้องมีความรู้ด้านการจัดการ และเทคโนโลยีสูงกว่าการปลูกพืชในดินธรรมดา

3. ตลาดยังไม่กว้างเนื่องจากเป็นการปลูกผักต่างประเทศเป็นส่วนใหญ่ และในปัจจุบันกลุ่มผู้บริโภคยังจำกัดอยู่

4. ต้องการการควบคุมดูแลอย่างสม่ำเสมอ

5. วัสดุปลูกบางชนิดเน่าเปื่อยหรือสลายตัวยาก อาจเกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อมได้หากไม่มีการควบคุมดูแลที่ดีพอ

6. กรณีปลูกพืชด้วยระบบน้ำหมุนเวียน การเกิดโรคที่ระดับรากพืช จะระบาดสู่ต้นอื่นได้ง่าย ควบคุมได้ยาก

7. ต้องพึ่งพาพลังงาน (ไฟฟ้า) ตลอดเวลา หากไฟดับจะทำให้เกิดความเสียหายต่อพืชที่ปลูกได้ง่ายกว่าการปลูกในดิน

ความสำคัญและลักษณะการเข้าทำลายของเชื้อรา *Pythium* spp.

เชื้อรา *Pythium* spp. เป็นสาเหตุโรคพืชที่สำคัญในระบบการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน โรคที่พบส่วนมากจะเป็นโรครากและลำต้นเน่า ซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายแก่พืชเป็นอย่างมาก (Paulitz, 2001)

เชื้อรา *Pythium* spp. เป็นเชื้อราที่จัดอยู่ใน sub-division Mastigomycotina class Oomycetes order Peronosporales family Pythiaceae genus *Pythium* (Hawksworth, *et al*., 1983)

ลักษณะเส้นใยของเชื้อไม่มีสี เจริญแตกแขนงได้ดี ไม่มีผนังกั้นตามขวางภายในเส้นใย มีการสร้าง sporangia ที่ปลายหรือกลางเส้นใย มีลักษณะกลมรี sporangia งอก germ tube เป็นเส้นใยสั้น ๆ และเกิด vesicle ที่ปลายให้กำเนิด zoospore ซึ่งมี flagella ช่วยในการเคลื่อนที่ในน้ำได้อย่างรวดเร็ว และเคลื่อนที่เข้าหารากโดยอาศัย chemotaxis และ root exudates เมื่อเชื้อสัมผัสกับรากพืชแล้วก็จะเข้าทำลายรากพืชโดยการเปลี่ยนเป็น encysted zoospore ที่ไม่มี flagella แล้วงอก germ tube แทงผ่านเข้าสู่เนื้อเยื่อทำให้พืชเกิดโรคได้ รากเน่าตาย ในกรณีที่เชื้อเข้าทำลายโคนต้น เชื้อจะแทงผ่าน epidermis และ cortex ของลำต้นโดยตรง และเจริญอยู่ภายในจนกระทั่งแผลลุกลามมากขึ้น ต้นกล้าล้มพับ และตายในที่สุด (ไพโรจน์, 2525; ประสาทพร, 2534; Paulitz, 1997)

Fortnum *et al.* (2000) รายงานว่าสภาพอุณหภูมิมีผลต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา เช่น เชื้อรา *P. myriotylum* เข้าทำลายต้นกล้ายาสูบทำให้น้ำหนักใบลดลง และมีอาการเหี่ยวเหลืองเป็นหย่อม ๆ อีกทั้งเมื่อนำต้นยาสูบไปปลูกในแปลงก็พบว่าใบยาสูบแสดงอาการใบหงิกงออย่างชัดเจน สร้างความเสียหายอย่างมากในการผลิตต้นกล้ายาสูบในโรงเรือน ซึ่งจากการทดลองเห็นได้ว่าในสภาพที่มีอุณหภูมิสูงจะพบเชื้อรา *Pythium* spp. ได้ง่าย เพิ่มปริมาณได้มากและมีการเข้าทำลายพืชอาศัยรุนแรงกว่าสภาพที่มีอากาศเย็น และหากรากพืชขาดออกซิเจนต่อเนื่องกันเป็นเวลานาน จะทำให้พืชเริ่มแสดงอาการขาดธาตุอาหาร รากพืชเริ่มตาย และต้นพืชมีอาการแคระแกร็น พืชเกิดความเครียด จึงสร้างฮอร์โมนขึ้นมาหรือมีการสะสมก๊าซเอทิลีนที่รากพืช ทำให้เซลล์รากยุบตัวลงจึงเป็นการง่ายต่อการเข้าทำลายของเชื้อโรค

Jenkins and Averre (1983) รายงานว่าพบเชื้อรา *Pythium aphanidermatum P. myriotylum P. debaryanum* และ *P. ultimum* ในระบบรากมะเขือเทศ แตง และผักกาดหอม ที่เป็นโรคซึ่งปลูกในระบบ NFT ใน North Carolina นอกจากนี้ยังพบ *Colletotrichum coccodes* ในรากมะเขือเทศ *Pseudomonas solanacearum Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* และ *Erwinia* spp. ในบริเวณโคนต้นมะเขือเทศ และยังพบ *F. oxysporum* f.sp. *cucumerinum* ในลำต้นของแตงอีกด้วย *Pythium* ทั้ง 4 species ดังกล่าวข้างต้น *C. coccodes P. solanacearum* และ *F. oxysporum* f.sp. *cucumerinum* สามารถแพร่กระจายไปพร้อม ๆ กับสารละลายธาตุอาหารทำให้พืชเป็นโรคทั้งระบบได้ ในขณะที่เชื้อแบคทีเรีย *Erwinia* spp. และเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* ไม่สามารถถ่ายทอดเชื้อให้พืชต้นอื่นได้ทางระบบการไหลเวียนของธาตุอาหาร ตรงกับ Shew (1991) ที่พบว่าเชื้อรา *Pythium* spp. เป็นสาเหตุของโรครากเน่าของพืชที่ปลูกโดยไม่ใช้ดิน เชื้อรา *Pythium* spp. สามารถจะแพร่กระจายหรือเคลื่อนที่ไปในสารละลายธาตุอาหารได้โดยอาศัยเส้นใย หรือ zoospore

Fernandez and Valenzuela (1999) พบว่าเชื้อรา *P. paroecandrum* เข้าทำลาย *Lupinus havardii* (Big Bend Bluebonnet) ซึ่งเป็นพืชพื้นเมืองของ Texas ที่ปัจจุบันมีการนำมาปลูกเป็นไม้ตัดดอกในโรงเรือนกันอย่างแพร่หลาย โดยพืชที่เป็นโรคจะแสดงอาการเหลืองและเหี่ยวตาย บริเวณรากและลำต้นมีอาการเน่า และพบว่าพืชอายุ 6 สัปดาห์ สามารถแสดงอาการของโรคให้เห็นได้เด่นชัดกว่าพืชที่มีอายุ 10 สัปดาห์

ส่วน Labuschagne *et al.* (2002) พบว่าเชื้อรา *Pythium* F. group เข้าทำลายพืชผักตระกูลขึ้นฉ่าย (*Apium graveolens*) ซึ่งส่วนใหญ่ปลูกในระบบการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินในแอฟริกาใต้ โดยในช่วงเดือนที่มีสภาพอากาศอบอุ่น พืชมักจะแสดงอาการแคระแกร็นและมีการตายสูงถึง 70 เปอร์เซ็นต์ ในบางระบบปลูกพืช อาการที่พบได้ในพืชที่เป็นโรคคือรากพืชเน่าอย่างรุนแรง และใบมีสีเหลืองอย่างเห็นได้ชัด เมื่อนำรากพืชที่เป็นโรคมาตัดเป็นชิ้น ล้างให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น วางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PARP พบว่ามีเชื้อรา *Pythium* เกิดขึ้นบนจานอาหาร เมื่อพิสูจน์โรคตามวิธีการของ Koch โดยการปลูกเชื้อ *Pythium* F. group ในรูปของ zoospore suspension (10^5 zoospore/mL) ลงในสารละลายธาตุอาหารอัตรา 3 mL/L ที่ปลูกต้นกล้าขึ้นฉ่ายอายุ 4 สัปดาห์ ในระบบการปลูกพืชโดยให้รากพืชลอยอยู่ในอากาศ (aeroponics) โดยให้สารละลายธาตุอาหารแบบพ่นฝอยในสภาพโรงเรือน สังเกตอาการ แยกเชื้อบนอาหาร PARP และปลูกเชื้อซ้ำ พบว่าหลังจากที่พืชได้รับเชื้อ 4 สัปดาห์ พืชทั้งหมดแสดงอาการรากเน่า

แคระแกร็นและเหลืองซีด ในขณะที่พืชกลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อมีอาการปกติ สามารถแยกเชื้อรา *Pythium* F. group ได้จากรากพืชที่ปลูกเชื้อลงไปและแสดงอาการของโรค ซึ่งรายงานนี้นับเป็นรายงานครั้งแรกในแอฟริกาใต้ที่พบโรครากเน่าในผักขึ้นฉ่ายสาเหตุจากเชื้อรา *Pythium*

Labuschagne *et al.* (2003) ได้รายงานอีกว่า นอกจากเชื้อรา *Pythium* จะเข้าทำลายขึ้นฉ่ายแล้ว เชื้อ *Pythium* F. group ยังทำลายผักอื่น ๆ ที่ปลูกในระบบการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน โดยเฉพาะผักที่เป็นส่วนประกอบในการทำสลัดผัก เช่น endive (*Cichorium endiva*) Pennel (*Foeniculum vulgare*) และ Sorrel (*Rumex* spp.) อาการของพืชที่ถูกเชื้อเข้าทำลายจะมีลักษณะแคระแกร็น บริเวณปลายรากมีสีน้ำตาลและเน่า ก่อให้เกิดความเสียหายอย่างมากในการผลิตผักออกสู่ตลาด เชื้อรา *Pythium* spp. นั้นมีหลาย species ที่สามารถเข้าทำลายพืชอาศัยได้ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 เชื้อรา *Pythium* spp. สาเหตุโรครากและลำต้นเน่าของพืชที่พบในระบบไฮโดรโพนิกส์

เชื้อสาเหตุ	โรคพืช	พืช	เอกสารอ้างอิง
1. *Pythium aphanidermatum*	root and stem rot	แตง ยาสูบ มะเขือเทศ ผักกาดหอม ผักโขม	1,2,3,4,5
2. *P. myriotytum*	root rot	แตง ยาสูบ	1
3. *P. debaryanum*	root rot	มะเขือเทศ แตง	2
4. *P. ultimum*	root rot	มะเขือเทศ แตง	2
5. *P. dissotocum*	root rot	ผักกาดหอม	4
6. *P. uncinulatum*	root rot	ผักกาดหอม	4
7. *P. irregulare*	root rot	ผักกาดหอม	4
8. *P. sylvaticum*	root rot	ผักกาดหอม	4
9. *P. viole*	root rot	ผักกาดหอม	4
10. *P. catenulatum*	root rot	ผักกาดหอม	4
11. *P. paraecandrum*	root and stem rot	*Lupinus harvardii*	6
12. *P. rostratum*	root rot	ผักกาดหอม	4
13. *Pythium* F- group	root and stem rot	ผักกาดหอม ขึ้นฉ่าย Endive (*Cichorium endiva*) Pennel (*Foeniculum vugare*) Sorrel (*Rumex* spp.)	7,8

หมายเหตุ

1 Nesmith, n. d.

2 Jenkin and Averre, 1983.

3 Bates and Stanghellini, 1984.

4 Stanghellini and Kronland, 1986.

5 Stanghellini and Russmussen, 1994.

6 Fernandez and Valenzuela, 1999.

7 Labuschagne *et al*., 2002.

8 Labuschagne *et al*., 2003.

ลักษณะและความสำคัญของเชื้อรา *Trichoderma* spp.

เชื้อรา *Trichoderma* spp. เป็นเชื้อราที่จัดอยู่ใน sub-division Deuteromycotina (Fungi imperfect) form-class Hyphomycetes form-family Moniliaceae อยู่ใน genus *Trichoderma* แต่มี teliomorphs อยู่ใน sub-division Ascomycotina คือ *Hypocrea* spp. เป็นเชื้อราที่พบทั่วไปในดินและเศษซากอินทรีย์วัตถุธรรมชาติ (Samuels, 1996; Papavizas, 1989; วิจัย, 2546) เส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma* มีผนังกั้น สีจางหรือไม่มีสี ผนังเรียบ แตกแขนง มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5-1.2 ไมโครเมตร สร้าง chlamydospore ระหว่างเส้นใย มีลักษณะกลมผนังเรียบ ไม่มีสี มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 6-12 ไมโครเมตร conidiophore มีลักษณะตรง แตกแขนงมาก แต่ไม่เป็นแบบ verticillate รวมกันเป็นกลุ่มหลวม ๆ พบ phialide เกิดเดี่ยว ๆ หรือเป็นกลุ่มที่ปลายแขนงของ conidiophore มีลักษณะเรียวยาว ขนาด 18 x 2.5 ไมโครเมตร และสร้างส่วนขยายพันธุ์ที่เรียกว่า phialospore (conidia) รวมกันเป็นกลุ่มมีสีเขียว เป็นแบบเซลล์เดียว ลักษณะค่อนข้างกลม หรือรูปไข่สั้น บริเวณฐานกว้าง ผนังเรียบ มีขนาด 2.8-3.2 x 2.5-2.8 ไมโครเมตร สามารถมีชีวิตรอดในสภาพธรรมชาติได้ดี โดยอาศัยอาหารจากอินทรีย์วัตถุ เศษซากพืช และเชื้อโรค โคโลนีที่เจริญบนอาหารเริ่มแรกไม่มีสี (translucent) หรือสีขาวใส (watery white) เจริญติดผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ ต่อมาโคโลนีมีลักษณะเป็นปุยฝ้าย (loosely floccose) หรือเป็นกระจุกแน่น (compactly tult) มีสีเขียว (green) หรือสีขาวล้วน (pure white) หรือปรากฏลักษณะต่าง ๆ ในโคโลนีเดียวกัน เส้นใย (mycelium) ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. มีผนังกั้นเซลล์ (septate hyphae) ผนังเส้นใยเรียบมีการแตกกิ่งก้านมากมาย (Barnett and Hunter, 1972; Rifal, 1969) สามารถสร้างรงควัตถุ ในอาหารเลี้ยงเชื้ออาจเกิดขึ้น ทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนสี (ลาวัลย์ และคณะ, 2540) บางสายพันธุ์มีการสร้างรงควัตถุสีเหลือง เช่น *T. aureoviride* กับ *T. pseudokonigii* (Rifal, 1969) การบอกถึงระดับความแตกต่างของสีใต้โคโลนีทำได้ยาก นอกจากนี้ชนิดและค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อก็มีผลต่อสีใต้โคโลนีด้วย โดยหากเลี้ยงเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไว้บนอาหาร PDA จะสร้างรงควัตถุ และแพร่กระจายในอาหารได้ดีกว่าการเลี้ยงเชื้อไว้บนอาหาร cornmeal agar หรือ oatmeal agar (Samuels, 1996) และพบว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. บางสายพันธุ์เมื่อมีการเจริญเต็มที่จะสร้างกลิ่นคล้ายกลิ่นมะพร้าว เช่น *T. viride* และ *T. harzianum* บางสายพันธุ์ (Rifal, 1969; Samuels, 1996)

จิระเดช และวรรณวิไล (2542) รายงานว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. มีคุณสมบัติและศักยภาพการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์สูง สามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชใน 3 ลักษณะคือ การแข่งขันด้านปัจจัยในการดำรงชีวิตกับเชื้อราสาเหตุโรคพืช (competition) การเป็นปรสิต (parasitism) และการสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiosis) กลไกในการเข้าทำลายเชื้อราสาเหตุโรคพืชของเชื้อรา *Trichoderma* spp. คือการเจริญสร้างเส้นใยเข้าพันรัดรอบเส้นใยของเชื้อโรค แล้วผลิตเอนไซม์หลายชนิด เช่น ไคติเนส เซลลูเลส กลูคาเนส และสารปฏิชีวนะต่าง ๆ ออกมาย่อยสลายหรือทำลายผนังเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ทำให้เกิดการสลายตัวของผนังเส้นใย เชื้อรา *Trichoderma* spp. สามารถใช้เส้นใยแทงผ่านเข้าสู่เส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ และเจริญอย่างรวดเร็ว โดยใช้ส่วนของเหลวในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคเป็นอาหาร ทำให้เกิดการฉีกขาดของผนังเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ส่งผลให้เกิดการรั่วไหลของของเหลวภายในเส้นใย หรือเกิดการตกตะกอนของ organelles และ cytoplasm ทำให้กิจกรรมการเจริญของเส้นใยลดลงเป็นอย่างมาก ส่งผลต่อการขยายพันธุ์ของเชื้อโรคและตายในที่สุด

กลไกการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช

1. การแก่งแย่งแข่งขัน (competition)

เป็นการแข่งขันกันของจุลินทรีย์สองหรือมากกว่าสองชนิดในด้านที่อาศัย แหล่งอาหาร หรือปัจจัยอื่นที่จำเป็นในการดำรงชีวิต ซึ่งส่งผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์เอง จุลินทรีย์ชนิดที่มีการเจริญเติบโตได้รวดเร็ว จะได้เปรียบในการแข่งขันปัจจัยในการเจริญกับจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ได้ดี

2. การเป็นปรสิต (mycoparasitism)

คือการที่เชื้อรา *Trichoderma* spp. ไปเจริญอยู่ใกล้หรืออยู่บนส่วนของเชื้อสาเหตุโรคพืช เพื่อใช้สารอาหารต่าง ๆ ของเชื้อสาเหตุโรคพืช ซึ่งเชื้อรา *T. harzianum* สามารถเป็นปรสิตกับเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้หลายชนิด เช่น *Pythium* spp. *Phythophthora* sp. *Rhizoctonia* sp. *Sclerotium* sp. *Fusarium* sp. *Macrophomina* sp. *Cylindocladium* sp. *Sclerotinia* sp. *Thielaviopsis* sp. *Verticillium* sp. *Botrytis cinerea* *Botryodiplodia* sp. *Pseudoperonospora cubensis* และ *Sphaerotheca fusca* (syn. *S. fuliginea*) (จิระเดช และวรรณวิไล, 2542; *Lo et al*., 1996; Migheli *et al.*, 1998; Elad, 2000) โดย

กลไกในการเป็นปรสิตของเชื้อรา *T. harzianum* คือการใช้เส้นใยเข้าพันรัดเส้นใยสาเหตุโรคพืช และมีการสร้างเอนไซม์ที่ย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อรา เช่น ไคติเนส เซลลูเลส และเบตากลูคาเนส เป็นต้น ทำให้เกิดการสลายตัวของผนังเส้นใย แล้วใช้เส้นใยแทงผ่านเข้าไปภายในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช เพื่อใช้ส่วนของเหลวภายในเส้นใยเป็นอาหาร ทำให้เกิดการฉีกขาด และสลายในส่วนของผนังเซลล์ ส่งผลให้เกิดการรั่วไหลของของเหลวภายในเซลล์ ตลอดจนเกิดการตกตะกอนของ organelles และ cytoplasm ทำให้เชื้อสาเหตุโรคพืชตายในที่สุด (Loito *et al*., 1994; Benhamou and Chet, 1993)

3. การสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiosis)

เป็นผลิตผลที่เกิดจากกระบวนการเมตาบอลิซึมภายในของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ซึ่งสารนี้มีผลในการยับยั้งหรือต่อต้านการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชหรือจุลินทรีย์อื่น ๆ ซึ่งเชื้อรา *Trichoderma* spp. สามารถผลิตสารปฏิชีวนะได้หลายชนิด เช่น alkylpyrones isonitriles polyketides peptaibols steroids diketopiperazines sesquiterpenes gliotoxin (glioviri n) b-n-pentyl pyrone trichodermin alamithicine และ thichotyiridin เป็นต้น โดยเชื้อรา *T. harzianum* 10 สายพันธุ์ มีความสามารถในการผลิตสารปฏิชีวนะควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้หลายชนิด เช่น *Aphanomyces cochlioides R. solani Phoma betae Acremonium cucurbitacearum* และ *F. oxysporum* f. sp. *radicis - lycopersici* เชื้อรา *Trichoderma* spp. หลายสายพันธุ์สามารถผลิตสารปฏิชีวนะที่มีความแตกต่างกันได้ถึง 100 ชนิด (Grondona *et al*., 1997; Harman, 2000; Howell, 2003; Harman, 2004)

4. การชักนำให้พืชเกิดความต้านทาน (Induced resistance in plant)

ในปัจจุบันได้เริ่มมีการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ฝังหรือฉีดเข้าสู่ลำต้นหรือระบบรากพืช เพื่อจุดประสงค์ในการป้องกันโรคและรักษาพืชที่เป็นโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่งในไม้ผลยืนต้น จากการสังเกตพบว่าพืชที่ได้รับเชื้อโดยชีววิธี จะมีความแข็งแรงและต้านทานต่อการเกิดโรคได้คล้ายกับการฉีดวัคซีนในมนุษย์หรือสัตว์ (จิระเดช และวรรณวิไล, 2546)

Howell (2003) รายงานว่าเชื้อรา *T. harzianum* สามารถชักนำให้พืชสร้าง fungitoxin และมี chitinase และ callose เพิ่มมากขึ้นในชั้นผิวด้านในของผนังเซลล์ ทำให้พืชมีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคได้มากขึ้น ส่วน Intana (2003) พบว่าสารกรองของเชื้อรา *T. harzianum* สามารถกระตุ้นให้ต้นแตงกวามีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. irregulare* ได้

Yedidia *et al*. (1998) พบว่าเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* สามารถเข้าไปในรากพืชได้โดยไม่ทำความเสียหายแก่รากพืชทั้งยังพบว่าพืชที่ได้รับเชื้อ *T. harzianum* จะมีกิจกรรมของเอนไซม์ peroxidase และ chitinase สูงเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจกล่าวได้ว่า *T. harzianum* อาจจะสามารถชักนำให้พืชทดสอบ (แตง) เกิดความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคพืชได้

การใช้เชื้อรา *Trichoderma* ชนิดสดในการควบคุมโรคพืช สามารถใช้ได้หลายวิธีดังนี้ (วันทนีย์, 2547)

1. การคลุกเมล็ด

เมล็ดผัก พืชไร่ ที่นำมาปลูกอาจมีเชื้อโรคติดมากับเมล็ด ดังนั้นควรกำจัดเชื้อโรค (เชื้อรา) โดยการใช้เชื้อรา *Trichoderma* คลุกเมล็ด อัตราการใช้ เมล็ดผักหรือพืชไร่ 1 กิโลกรัมต่อเชื้อสด 10 กรัม หรือ 1 ช้อนแกง (ไม่ควรเกินอัตราที่กำหนด)

2. การรองก้นหลุม

การปลูกพืชชนิดเดิมหรือชนิดใหม่ลงไปในแปลงเดิม หากพืชที่ปลูกเดิมหรือพืชที่ปลูกใหม่อ่อนแอต่อเชื้อโรคชนิดเดียวกัน ตัวอย่างเช่น ทุเรียน ส้ม พริกไทย ลำไย เป็นพืชที่มีเชื้อโรคชนิดเดียวกัน คือ *Phytophthora* sp. ควรรองก้นหลุมด้วยเชื้อรา *Trichoderma* ชนิดสดก่อนปลูกเพื่อป้องกันการเข้าทำลายพืชของเชื้อรา *Phytophthora* sp. โดยมีอัตราการใช้ดังนี้คือ ต้นเล็ก (หลุมปลูกเล็ก) 30-60 กรัมต่อหลุม (เชื้อสด 1 ถุง 2 ขีดครึ่งใช้ได้ 4-8 ต้น) ส่วนต้นใหญ่ (หลุมปลูกใหญ่) 150-300 กรัมต่อหลุม (เชื้อสด 1 ถุง 2 ขีดครึ่ง ใช้ได้ 1-2 ต้น)

3. การผสมกับวัสดุปลูก

ใช้สำหรับการเพาะกล้าในกระบะเพาะเมล็ดหรือถุงเพาะชำ มีอัตราการใช้ดังนี้ เชื้อสดที่ผสมปุ๋ยหมักหรือปุ๋ยคอก (1 : 100โดยน้ำหนัก) มา 1 ส่วน ผสมกับวัสดุปลูก 4 ส่วน โดยปริมาตร

4. การหว่านลงดิน

ผสมเชื้อสด 1 ส่วน ต่อรำข้าวละเอียด 4 ส่วน ต่อปุ๋ยหมักหรือปุ๋ยคอก 100 ส่วน โดยน้ำหนัก (เชื้อสด 1 กิโลกรัม (4 ถุง) ต่อรำ 4 กิโลกรัม ต่อปุ๋ยหมักหรือปุ๋ยคอก 100 กิโลกรัม) โดยเติมรำข้าวละเอียดลงไปผสมกับเชื้อรา *Trichoderma* ชนิดสด (กรณีหารำข้าวไม่ได้หรือรำข้าวมีราคาแพง ไม่จำเป็นต้องใช้รำข้าวก็ได้) ผสมคลุกเคล้ากันให้ทั่วแล้วนำส่วนผสมใส่ลงบนกองปุ๋ยหมักหรือปุ๋ยคอก แล้วจึงคลุกเคล้าให้เข้ากัน นำส่วนผสมที่ได้ใช้ในอัตรา 30-60 กรัมต่อต้น (กรณีหว่านโคนต้น) และ 150-300 กรัมต่อตารางเมตร (กรณีหว่านใต้ทรงพุ่ม)

5. การฉีดพ่น

การฉีดพ่นน้ำสปอร์เชื้อรา *Trichoderma* ชนิดสด เป็นวิธีที่สะดวก ง่ายต่อการปฏิบัติ เนื่องจากเกษตรกรทำการฉีดพ่นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยใช้เครื่องพ่นยากันตามปกติอยู่แล้ว โดยฉีดพ่นลงดิน (บริเวณราก) หรือฉีดพ่นส่วนบนของพืช ใช้กับการเพาะกล้าโดยฉีดลงบนกระบะเพาะกล้า หรือกับพืชผักที่กำลังเจริญเติบโต โดยฉีดที่โคนต้น และส่วนบนของต้นพืช ในกรณีของไม้ผลให้ฉีดใต้ทรงพุ่มและส่วนบนของต้นพืช การใช้เชื้อรา *Trichoderma* ชนิดสดผสมน้ำจำเป็นต้องกรองเอาเฉพาะน้ำสปอร์เชื้อเท่านั้นเพื่อป้องกันไม่ให้ข้าวสุกอุดตันหัวฉีด อัตราการใช้ เชื้อสด 4 ถุง (ถุงละ 2 ขีดครึ่ง หรือ 1 กิโลกรัม) ต่อน้ำ 200 ลิตร กรณีฉีดพ่นลงดินหรือบริเวณรากพืช และเชื้อสด 8 ถุง (ถุงละ 2 ขีดครึ่ง หรือ 2 กิโลกรัม) ต่อน้ำ 200 ลิตร กรณีฉีดพ่นส่วนบนต้นพืช

6. การให้ไปกับระบบน้ำ

เกษตรกรที่ให้ปุ๋ยไปกับระบบน้ำ สามารถให้เชื้อรา *Trichoderma* ชนิดสดไปทางระบบน้ำเช่นเดียวกับปุ๋ยที่ให้ไปกับน้ำ โดยใช้น้ำสปอร์เชื้อรา *Trichoderma* ที่ได้จากการล้าง และกรองเชื้อรา *Trichoderma* ชนิดสดเรียบร้อยแล้วและใช้อัตราเดียวกับการฉีดพ่นที่รากพืช เชื้อจะไปทางท่อน้ำออกไปสู่บริเวณรากพืชทางหัวเหวี่ยง วิธีนี้เหมาะสำหรับการป้องกันเชื้อโรค (พืชที่ยังไม่แสดงอาการของโรค) เนื่องจากเชื้อรา *Trichoderma* จะลงไปอาศัยอยู่ในดิน และช่วยปกป้องรากพืช และลดปริมาณเชื้อราสาเหตุโรคพืชในดิน แต่ก็สามารถใช้ในการรักษาโรคได้เช่นกัน

7. การทาแผล

ในไม้ผลบางชนิด เช่น ทุเรียน เชื้อรา *Phytophthora* sp. มักเข้าทำลายบริเวณลำต้น ทำให้ลำต้นเป็นโรค ให้ใช้เชื้อรา *Trichoderma* ชนิดสด ทาแผลในอัตรา เชื้อสด 1 ถุง (2 ขีดครึ่ง หรือ 250 กรัม) ผสมกับฝุ่นแดง (ชนิดเดียวกับที่ใช้ทาหน้ายาง) ผสมน้ำ 1 ลิตร

<u>การป้องกันกำจัดเชื้อรา *Pythium* spp. สาเหตุโรครากและลำต้นเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์</u>

การใช้วิธีทางกายภาพ

การใช้การสั่นสะเทือนของเสียง (sonication) สามารถทำลาย zoospore และ cyst ของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้ทั้งหมด ภายในเวลา 1.5 นาที หลังจากได้รับการสั่นสะเทือน (Tu and Zhang, 2000)

Bates and Stanghellini (1984) พบว่าการควบคุมอุณหภูมิของสารละลายธาตุอาหารให้อยู่ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 21 องศาเซลเซียส ทำให้เชื้อรา *P. dissotocum* และ *P. aphanidermatum* เจริญและเข้าทำลายพืชได้น้อยมาก

การใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 55 50 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 6 และ 8 นาที ตามลำดับ ก่อนนำสารละลายธาตุอาหารพืชไปใช้สามารถทำลาย zoospore ของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้ (Tu and Zhang, 2000) ในขณะที่ Runia and Amsing (2001) รายงานว่าการป้องกันกำจัดเชื้อรา *F. oxysporum P. aphanidermatum P. cryptogea* และ *Radophorus similis* ที่พบในสารละลายธาตุอาหารสามารถทำได้โดยใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 54 51 44 และ 53 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วินาที ตามลำดับ ส่วนเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia chrysanthemi* ใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 54 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 105 วินาที หากต้องการป้องกันกำจัดทั้งเชื้อรา แบคทีเรียและไส้เดือนฝอยให้เพิ่มอุณหภูมิสารละลายธาตุอาหารเป็น 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที ซึ่งสามารถลดการเกิดโรคได้ถึง 42 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้อุณหภูมิที่สูงกว่า 95 องศาเซลเซียส (203 °F) เป็นเวลา 30 วินาที

รังสีอัลตราไวโอเลต และโอโซนมีผลต่อการเจริญ และการเข้าทำลายของเชื้อรา *Pythium* spp. โดยรังสีอัลตราไวโอเลตสามารถผ่านผนังเซลล์ของเชื้อแล้วทำให้สารพันธุกรรมเกิดปฏิกิริยาต่าง ๆ ขึ้น ทำลายพันธะคาร์บอนภายในสารพันธุกรรม ทำให้เซลล์ตาย ส่วนโอโซนจะเข้าไปทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับผนังเซลล์ โปรตีน และเอนไซม์ต่าง ๆ รวมทั้ง DNA และ RNA ด้วย ได้มีการพัฒนานำรังสีอัลตราไวโอเลต และโอโซนมาใช้ในการป้องกันกำจัดเชื้อรา *Pythium* spp. โดยพบว่า เมื่อนำสารละลายธาตุอาหารไปผ่านรังสีอัลตราไวโอเลตก่อนนำไปใช้กับพืชที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ ทำให้พืชได้รับความเสียหายจากเชื้อรา *Pythium* spp. น้อยลงถึง 95-99.9 เปอร์เซ็นต์ (Runia, 1995; Rey *et al*., 2001) ต่อมาพบว่าการใช้รังสีอัลตราไวโอเลตปริมาณ 100 mJ/cm^2 สามารถกำจัดเชื้อรา และแบคทีเรียได้ นอกจากนี้ยังมีการใช้รังสีอัลตราไวโอเลตความดันต่ำ (UV-C : 100-280 nm) 90 mJ/cm^2 ในการควบคุมปริมาณของเชื้อรา *Pythium* spp. ซึ่งพบว่าสามารถควบคุมปริมาณประชากรของเชื้อรา *Pythium* spp. ได้ และการใช้โอโซนในปริมาณ 10 $g/hour/m^3$ water สามารถฆ่าเชื้อโรคได้เช่นกัน

van Os (1999) รายงานว่าการใช้ membrane filtration (micro-filtration, ultra-filtration, nano-filtration and reverse osmosis) สามารถกำจัดเชื้อโรคในน้ำที่ใช้ในการผลิตพืชในระบบไฮโดรโพนิกส์ได้ แต่ต่อมานิยมใช้วิธี Slow Sand Filtration ซึ่งสามารถกำจัดเชื้อรา *Phytophthora* และ *Pythium* ได้ แต่เชื้อราชนิดอื่น เช่น *Fusarium* และเชื้อไวรัสนั้นสามารถกำจัดได้เพียงบางส่วนเท่านั้น (80-95 เปอร์เซ็นต์)

นอกจากนี้การปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) และอุณหภูมิของสารละลายธาตุอาหารร่วมกับการปรับธาตุอาหารที่ใช้ เช่น แมงกานีส (Mn) สังกะสี (Zn) และทองแดง (Cu)ให้เหมาะสมมีแนวโน้มว่าจะสามารถป้องกันการเกิดโรคต่าง ๆ จากเชื้อรา *Pythium* spp. ได้ (ดิเรก, 2546)

การใช้วิธีทางชีวภาพ

การป้องกันและควบคุมโรคในระบบรากของพืชที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์โดยชีววิธีนั้นมีการนำจุลินทรีย์หลายชนิดมาใช้ เช่น เชื้อแบคทีเรีย *P. fluorescens P. cepacia P. putida Bacillus subtilis Streptomyces griseoviridis* เชื้อรา *Trichoderma* spp. *P. oligandrum* non-pathogenic *Fusarium* และ VA-mycorrhiza (Schnitzler, 2004; Elad and Chet, 1987; Posma *et al*., 2001)

พรหมมาศ และอิทธิสุนทร (2548) ใช้ผลิตภัณฑ์ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีที่ได้จากเชื้อรา *T. harzianum* และ *B. subtilis* อัตรา 10^3-10^6 CFU/mL ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. myriotylum* สาเหตุโรครากเน่าของผักสลัดในสภาพ *in vitro* พบว่าทุกผลิตภัณฑ์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. myriotylum* ได้ โดยผลิตภัณฑ์ของเชื้อรา *T. harzianum* 3 ชนิด ชนิดที่ 1 อยู่ในรูปของสปอร์แขวนลอย (spore suspension) ชนิดที่ 2 และ 3 อยู่ในรูปสูตรผงละลายน้ำ (formulated powder) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. myriotylum* ได้ 22-100 77-100 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนผลิตภัณฑ์ของ *B. subtilis* สามารถยับยั้งการเจริญของ *P. myriotylum* ได้ 56-90 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้การใช้แบคทีเรียบริเวณเขตรอบรากพืชที่แยกได้จำนวน 16 ไอโซเลท ในอัตรา 10^6 CFU/mL ก็สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. myriotylum* ในสภาพ *in vitro* ได้ตั้งแต่ 38-96 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียบริเวณเขตรอบรากพืชที่แยกได้จากระบบการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน อาจเป็นจุลินทรีย์อีกกลุ่มหนึ่งที่มีประสิทธิภาพและศักยภาพในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดที่ปลูกในระบบการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินได้

Rankin and Paulitz (1994) ทดสอบเชื้อแบคทีเรีย 5 สายพันธุ์ ในการลดการเกิดโรครากเน่าสาเหตุจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* ของแตงที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ และใช้ใยหินเป็นวัสดุปลูก แบคทีเรียที่ใช้ได้แก่ *P. corrugate* (Pc13 และ Pc15) และ *P. fluorescens* (Pf15 Pf16 และ Pf27) โดยทดสอบทั้งฤดูใบไม้ผลิ และฤดูใบไม้ร่วง ด้วยการใส่เชื้อแบคทีเรียแขวนลอย 200 มิลลิลิตร (10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร) เมื่อแตงมีอายุ 5 สัปดาห์ หลังจากนั้น 6 วัน ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* 10^5 zoospore ผลการทดลองพบว่าแบคทีเรีย สายพันธุ์ Pc13 และ Pc15 ส่งผลให้แตงมีปริมาณผลผลิต 88 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมากกว่ากรรมวิธีควบคุม และในกรณีที่ไม่มีการปลูกเชื้อโรค แบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์สามารถเพิ่มปริมาณผลผลิตเป็น 32 และ 41 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ได้ใช้เชื้อแบคทีเรีย การใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ Pf 15 อย่างเดียวส่งผลให้แตงมีผลผลิตสูงกว่ากรรมวิธีที่ไม่ได้ใช้เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* อย่างเห็นได้ชัด

Galina *et al*. (1998) ศึกษาการใช้ชีววิธีในการควบคุมโรคโคนเน่าของต้นกล้ายาสูบที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Pythium* sp. *Rhizoctonia solani* และ *Sclerotinia sclerotiorum* โดยการใช้เชื้อรา *T. viride T. harzianum* และเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* แต่ละชนิด หรือใช้ร่วมกันในการควบคุมโรครากเน่าในระยะต้นกล้าของยาสูบที่ปลูกแบบธรรมดา และปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมี Rovral ร่วมกับ Ridomil โดยวางแผนการทดลองแบบ Fully randomized block มี 4 ซ้ำ พบว่าโรคโคนเน่าในระยะต้นกล้าเพิ่มขึ้นถึง 64.4 เปอร์เซ็นต์ ใน control plots ที่มีเชื้อโรคในขณะที่กรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *Trichoderma* และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* แต่ละชนิดหรือร่วมกันสามารถลดการเป็นโรคโคนเน่าระยะต้นกล้าที่มีเชื้อรา *Pythium* และ *Rhizoctonia* เป็นเชื้อสาเหตุได้ 98.5-100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเชื้อรา *Trichoderma* และแบคทีเรีย *Bacillus* แต่ละชนิดสามารถการเกิดโรคที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Sclerotinia* ลงได้ในช่วง 95.7-97.9 เปอร์เซ็นต์ และ 53.7-96.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การใช้เชื้อรา *Trichoderma* และแบคทีเรีย *Bacillus* ร่วมกัน สามารถลดการเกิดโรคในระยะต้นกล้า ได้ 99-99.6 เปอร์เซ็นต์ จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่า จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Trichoderma* มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคโคนเน่าในระยะต้นกล้าของยาสูบได้และสามารถนำมาใช้ทดแทนสารเคมีในการควบคุมโรคนี้ได้ต่อไปในอนาคต

Mirza *et al*. (2001) ได้ศึกษาเกี่ยวกับโรครากเน่าและใบไหม้ในระยะต้นกล้าของแตงที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Pythium* spp. โรคนี้เป็นโรคที่สำคัญต่อการผลิตแตงในโรงเรือนที่ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจเป็นอย่างมากทุกปี โดยการนำแบคทีเรีย *Paenibacillus polymyxa* PKB_1 มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อโรค ทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและเรือนทดลอง ผลในสภาพห้องปฏิบัติการแสดงให้เห็นว่า PKB_1 มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Pythium* spp. ที่แยกได้จากรากแตง ถึง 9 สายพันธุ์บนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) และ Nutrient agar (NA) นอกจากนี้ยังพบว่าเมล็ดแตงที่เคลือบด้วย PKB_1 มีเปอร์เซ็นต์การงอกและอัตราการรอดชีวิตของต้นกล้าสูงกว่าเมล็ดแตงที่ไม่ได้เคลือบด้วย PKB_1 เมื่อทดสอบในจานอาหาร Water agar (WA) ส่วนการทดสอบในสภาพเรือนทดลอง ด้วยการใส่แบคทีเรียอัตรา 1 $x10^6$ spore/mL ลงในสารละลายธาตุอาหารของระบบการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ทั้งแบบไหลเวียนและไม่ไหลเวียน พบว่าแบคทีเรียสามารถมีชีวิตอยู่และลดความรุนแรงของโรคได้อย่างมีนัยสำคัญทั้ง 2 ระบบ อีกทั้งผลผลิตของแตงที่ใส่ PKB_1 ยังสูงกว่าแตงที่ไม่ได้ใส่ PKB_1 จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า PKB_1 สามารถป้องกันโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium* spp. ได้และสามารถใช้เป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในอุตสาหกรรมการผลิตแตงในระบบการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินได้

Kharbanda *et al*. (2003) ได้นำแบคทีเรีย *P. polymyxa* $PKPB_1$ มาใช้ในการป้องกันการเข้าทำลายรากแตงของเชื้อรา *P. ultimum* ในระบบไฮโดรโพนิกส์ โดยนำแบคทีเรีย $PKPB_1$ มาผสมในสารละลายธาตุอาหาร หลังจากนั้น 1 สัปดาห์ จึงปลูกเชื้อรา *P. ultimum* ลงไป บันทึกความสูงต้น จำนวนข้อ ระดับความรุนแรงของโรคในระบบราก น้ำหนักแห้งของต้น น้ำหนักแห้งของราก และผลผลิตของแตง ผลทดสอบพบว่า การใช้ $PKPB_1$ สามารถลดความรุนแรงของโรครากเน่าในแตงได้ นอกจากนี้ยังพบว่ากรรมวิธีที่มี $PKPB_1$ แต่ไม่มีเชื้อรา *P. ultimum* ทำให้น้ำหนักแห้งและผลผลิตของแตงสูงกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่มีและไม่มีเชื้อรา *P. ultimum* แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรีย *P. polymyxa* $PKPB_1$ มีความสามารถในการป้องกันและต่อต้านเชื้อรา *P. ultimum* เชื้อราสาเหตุโรครากเน่าในแตงที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ได้

Rose *et al*. (2004) รายงานว่ามีการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพที่มีจำหน่ายเป็นการค้ามาควบคุมเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าของแตงที่เกิดจากเชื้อราสาเหตุ 2 ชนิด คือ เชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* และ *P. Aphanidermatum* ทดแทนการใช้สารเคมีที่มีพิษต่อสภาพแวดล้อม และสุขภาพอนามัยของมนุษย์ โดยผลิตภัณฑ์ชีวภาพที่นำมาใช้ทดสอบ ได้แก่ Mycostop (*Streptomyces*

griseoviridis strain K61) RootShield Drench (*T. harzianum* strain T-22) SoilGard (*Gliocladium virens* strain GL-21) และ Prestop WP and Mix (*G. catenulatum* strain J1446) โดยการนำผลิตภัณฑ์ชีวภาพเหล่านี้ผสมลงในวัสดุปลูกเพื่อเพาะกล้า และปลูกเชื้อโรคหลังจากเพาะกล้าแล้วเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ประเมินการเกิดโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* เมื่อแตงมีอายุได้ 37 วัน หลังการเพาะเมล็ด ส่วนการควบคุมโรคเน่าระดับดินสาเหตุจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* ใช้ผลิตภัณฑ์เมื่อต้นกล้าแตงมีอายุ 11 วันหลังจากเพาะเมล็ด ก่อนปลูกเชื้อโรคเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ประเมินการเกิดโรคหลังจากนั้นเป็นเวลา 19 วัน ผลการทดสอบในสภาพห้องทดลองพบว่า ผลิตภัณฑ์ชีวภาพที่สามารถลดการตายของต้นกล้าแตงจากโรครากเน่าสาเหตุจากเชื้อราทั้งสองชนิดดังกล่าวข้างต้นได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ Prestop WP ส่วน Prestop Mix นั้นสามารถลดการเกิดโรครากและโคนต้นเน่าสาเหตุจากเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ Mycostop สามารถลดการเกิดโรครากและโคนต้นเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* ได้เพียงบางส่วน ในขณะที่ RootShield Drench และ SoilGard ไม่สามารถลดการเกิดโรครากและโคนต้นเน่า สาเหตุจากเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* และโรคเน่าระดับดินสาเหตุจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้ในสภาพห้องทดลอง ส่วนการทดสอบในสภาพโรงเรือนพบว่า Prestop WP Mycostop และ RootShield Drench สามารถลดการเกิดโรครากและโคนต้นเน่าสาเหตุจากเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* ได้ดีในขณะที่ Mycostop และ Prestop WP and Mix สามารถลดการเกิดโรคโคนเน่าระดับดินสาเหตุจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้

นอกจากนี้ยังพบว่า Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) และแบคทีเรียอื่นที่นำมาทดสอบการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ของเชื้อรา *P. aphamidermatum* สาเหตุโรครากและลำต้นเน่าของพืชที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์หลายชนิด เช่น แบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ FZB 44 สามารถเพิ่มผลผลิตของมะเขือเทศ และลดความเสียหายของผลผลิตลงได้โดยการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ซึ่ง PGPR ส่วนใหญ่จะสร้างสารปฏิชีวนะ siderophores และยังสามารถแก่งแย่งอาหารไปจากเชื้อรา *P. aphamidermatum* ได้ และยังพบว่า PGPR สามารถชักนำให้พืชเกิดความต้านทาน (induce systemic resistance) ต่อเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคเหี่ยวและโรคทางใบได้อีกด้วย (Grosch and Kofoet, 2001; Paulitz and Chen, n.d.)

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การแยกเชื้อรา *Pythium* species สาเหตุโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

แยกเชื้อรา *Pythium* จากรากหรือลำต้นของผักกาดหอมที่เป็นโรครากเน่าโดยการนำส่วนราก หรือลำต้นมาแยกเชื้อโดยวิธี tissue transplanting ด้วยการตัดส่วนของรากให้มีขนาด 0.5 เซนติเมตร หรือลำต้นที่แสดงอาการของโรคให้เป็นชิ้นขนาด 0.5x0.5 ตารางเซนติเมตร แช่ในสารละลาย sodium hypochlorite เข้มข้น 0.525 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที เพื่อฆ่าเชื้อที่ติดอยู่ที่ผิวชั้นนอก ล้างชิ้นส่วนพืชด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ แล้วนำไปวางบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) ที่ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin (100 มิลลิลิตรต่อลิตร) ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อจำนวน 4 ชิ้นต่อจานโดยวางแต่ละชิ้นให้ห่างกันพอสมควร นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง หลังจากพบเส้นใยงอกออกมาจากเนื้อเยื่อพืช แล้วจึงย้ายเส้นใยของเชื้อลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อีกครั้ง เมื่อเชื้อราเจริญดีแล้ว ย้ายเส้นใยลงใน slant PDA เก็บไว้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ (pure culture) เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

2. การจำแนกชนิดของเชื้อรา *Pythium* species

ศึกษาการเจริญของเชื้อรา *Pythium* species บนอาหาร PDA โดยนำเชื้อรา *Pythium* species แต่ละไอโซเลท มาเลี้ยงบนอาหาร แล้ววัดขนาดของโคโลนีเมื่อครบ 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ จากนั้นจำแนกชนิดของเชื้อรา *Pythium* species โดยวิธี water culture ด้วยการตัดชิ้นวุ้นอาหาร PDA ที่มีเชื้อราเจริญอยู่ขนาดประมาณ 1x1 ตารางเซนติเมตร วางในจานเลี้ยงเชื้อเปล่าจานละ 2 ชิ้น โดยวางให้ห่างกัน นำหญ้าแพรก (*Cynodon dactylon*) และใบผักกาดหอม (*Lactuca sativa* L.) ที่ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ และผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วมาวางบนชิ้นวุ้น 1-2 ชิ้น ใส่น้ำนึ่งฆ่าเชื้อให้ท่วมชิ้นวุ้น เปลี่ยนน้ำทุก 24 ชั่วโมง เก็บไว้ในที่มืดประมาณ 3 วัน นำมาตรวจดูลักษณะของเชื้อใต้กล้องจุลทรรศน์ แล้วจำแนกชนิดของเชื้อรา *Pythium* species โดยใช้ monograph ของ Plaatf -Niterink (1981)

3. <u>การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค (Pathogenicity test)</u>

เตรียมวัสดุปลูกที่ประกอบด้วยเพอร์ไลท์ (perlite) และเวอร์มิคูไลท์ (vermiculite) ในอัตราส่วน 2 : 1 โดยปริมาตร คลุกเคล้าให้เข้ากัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 2 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 24 ชั่วโมง ปล่อยไว้ให้เย็น เพาะเมล็ดผักกาดหอมลงในวัสดุปลูก นำไปอนุบาลในน้ำไหลเวียนที่มีเส้นใยแขวนลอยของเชื้อรา *Pythium* sp. (mycerial suspension) ตรวจดูการงอกของเมล็ดและการเกิดโรคของเมล็ดทั้งก่อน และหลังการงอก

4. <u>การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pythium* species ในสภาพห้องปฏิบัติการ</u>

เลี้ยงเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* และเชื้อรา *P. aphanidermatum* บนอาหาร PDA เป็นเวลา 2 วัน แล้วเจาะบริเวณขอบโคโลนี ด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร ย้ายไปวางบนอาหาร PDA โดยให้เชื้อราทั้งสองชนิดห่างกันประมาณ 6 เซนติเมตร ในแนวเส้นผ่านศูนย์กลางของจานอาหาร บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง ตรวจบันทึกผลการเจริญของเส้นใยเชื้อราทุกวัน

5. <u>การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์เพื่อทดสอบในสภาพโรงเรือน</u>

5.1 การเตรียมน้ำสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Trichoderma* spp.

นำเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 *T. harzianum* สายพันธุ์ T50 หรือ *T. virens* สายพันธุ์ TV16 ที่เลี้ยงบนข้าวสุกตามวิธีการของ จิระเดช และวรรณวิไล (2545) (ภาคผนวก ค) ในอัตรา 100 กรัม ต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร โดยการขยำเนื้อข้าวให้แตกออกจนได้น้ำสปอร์เชื้อสีเขียวเข้ม แล้วกรองน้ำสปอร์เชื้อด้วยผ้าหรือกระชอนตาถี่ ล้างกากที่เหลือบนกระชอนด้วยน้ำอีกจำนวนหนึ่งจนเชื้อหลุดจากเมล็ดข้าวหมด นำสารละลายน้ำสปอร์เชื้อที่ได้ไปใช้ตามอัตราส่วนทั้งในการคลุกเมล็ดและการผสมลงในสารละลายธาตุอาหาร

5.2 การเตรียมเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย

โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* สายพันธุ์ B03 บนอาหาร Nutrient Glucose Agar (NGA) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จนได้โคโลนีเดี่ยว นำโคโลนีเดี่ยวดังกล่าวไปเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเหลว Nutrient Broth (NB) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องบน rotary shaker ด้วยความเร็ว 200 รอบ/นาที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

5.3 การเตรียมเส้นใยแขวนลอยของเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*

เลี้ยงเชื้อ *P. aphanidermatum* บนอาหาร PDA เป็นเวลา 48 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ใส่ในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 100 มิลลิลิตร/ 1 จาน นำไปปั่นด้วยเครื่อง homogenizer จนละเอียด (สุขุมวัฒน์, 2531) เพื่อใช้เส้นใยปั่นแขวนลอย (mycelial suspension) เป็น inoculum ในการผสมลงในสารละลายธาตุอาหาร

6. <u>การเตรียมระบบปลูก และต้นพืช</u>

การเตรียมต้นพืช

ใส่วัสดุปลูก (เพอร์ไลท์ ผสมเวอร์มิคูไลท์ อัตราส่วน 2 :1) ลงในถ้วยปลูกจนเกือบเต็มปากถ้วย หยอดเมล็ดผักกาดหอมพันธุ์กรีนคอสลงในถ้วยปลูกถ้วยละ 1 เมล็ด ก่อนนำไปวางในกระบะอนุบาลที่มีน้ำไหลเวียนเป็นเวลา 14 วัน เลือกต้นกล้าที่มีความสม่ำเสมอ และสมบูรณ์ ย้ายลงในชุดรางปลูก ระบบไฮโดรโพนิกส์ แบบ Nutrient Film Technique (NFT)

การเตรียมระบบปลูก

เตรียมชุดรางปลูกระบบไฮโดรโพนิกส์ แบบ Nutrient Film Technique (NFT) ซึ่งพัฒนาโดย คุณอรรถพร สุบุญสันต์ (บริษัทแม่บัวหลวงไฮโดรโปนิกส์) สำหรับสารละลายธาตุอาหารที่ใช้ตลอดการทดลอง เป็นสูตรที่ได้รับการดัดแปลงจากสูตรของ Cooper (1979) โดย ดร. ยงยุทธ เจียมไชยศรี (ภาคผนวก ข)

การปรับค่าสารละลายธาตุอาหาร

ในระหว่างการทดลองมีการปรับค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายธาตุอาหาร (EC) ให้อยู่ที่ 1.5-1.8 mS/cm และปรับค่าความเป็นกรด - ด่าง ให้อยู่ในช่วง 5.5-6.0 ทุกวันในตอนเช้าตลอดการทดลอง แต่ละการทดลองจะปรับค่าการนำไฟฟ้า (EC) และค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) ของสารละลายธาตุอาหารให้ทุกกรรมวิธีมีค่าเท่ากัน โดยหากค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายธาตุอาหาร (EC) ต่ำกว่าที่ต้องการ จะต้องมีการเติมสารละลายธาตุอาหารเข้มข้น (stock solution) แต่ถ้าค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายธาตุอาหาร (EC) สูงกว่าที่ต้องการจะต้องเติมน้ำลงไปเจือจาง สำหรับค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) ในสารละลายมักจะสูงขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป ต้องปรับลงด้วยการเติมกรดไนตริก (HNO_3) 68 เปอร์เซ็นต์ ไม่ว่าการปรับค่าการนำไฟฟ้าหรือค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) ของสารละลายธาตุอาหารจะต้องค่อย ๆ หยดสารละลายทีละน้อยจนกว่าจะได้ค่าที่ต้องการ และเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารในระบบปลูกทุกสัปดาห์ ยกเว้นกรณีที่กำหนดเฉพาะในบางการทดลอง

7. <u>แผนการทดลองและการตรวจผล</u>

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลต่าง ๆ โดยการวิเคราะห์ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) มีกรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 7 ต้น

ตรวจบันทึกผลการทดลอง

1. บันทึกจำนวนต้นที่เป็นโรคก่อนงอก หลังงอก และจำนวนต้นที่เป็นโรค เมื่อผักกาดหอมมีอายุครบ 42 วันหลังจากเพาะเมล็ด เก็บข้อมูลการเจริญเติบโตของต้นผักกาดหอมพันธุ์ Green cos ด้านความสูง ความกว้างทรงพุ่ม จำนวนใบ ความกว้างใบ ความยาวใบ ความยาวราก เส้นรอบวงโคนต้น น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง

2. ประเมินพื้นที่การเกิดโรครากเน่าของผักกาดหอมโดยวิธีการให้คะแนน 5 ระดับ (0-4) ก่อนนำไปคำนวณเป็นค่าดัชนีการเกิดโรค ดังนี้

ระดับ 0 รากผักกาดหอมมีสีขาว ไม่แสดงอาการของโรค

ระดับ 1 แสดงอาการของโรค 1-25 เปอร์เซ็นต์ มีระดับการเปลี่ยนสีของรากผักกาดหอมเป็นสีน้ำตาลอ่อนมาก (very light brown color)

ระดับ 2 แสดงอาการของโรค 26-50 เปอร์เซ็นต์ มีระดับการเปลี่ยนสีของรากผักกาดหอมเป็นสีน้ำตาลอ่อน (light brown color)

ระดับ 3 แสดงอาการของโรค 51-75 เปอร์เซ็นต์ มีระดับการเปลี่ยนสีของรากผักกาดหอมเป็นสีน้ำตาลปกติ (normal brown color)

ระดับ 4 แสดงอาการของโรค 76-100 เปอร์เซ็นต์ มีระดับการเปลี่ยนสีของรากผักกาดหอมเป็นสีน้ำตาลเข้ม (dark brown color)

คำนวณดัชนีการเกิดโรค (Disease index) ตามวิธีการของ Cirulii and Alexander (1966)

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค (\%)} = \frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนต้นที่แสดงอาการ x ระดับอาการ) x100}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด x ระดับอาการสูงสุด}}$$

3. ตรวจปริมาณเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ในสารละลายธาตุอาหาร

ตรวจปริมาณเชื้อรา *P. aphanidermatum* โดยการดูดสารละลายธาตุอาหารในแต่ละกรรมวิธีมาหยดลงบนผิวหน้าอาหาร modified BNPRA (Chamswarng *et al*., 1985) จำนวน 0.1 มิลลิลิตรต่อจาน บ่มไว้ 2-3 วัน ตรวจนับโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนผิวหน้าของอาหาร บันทึกค่าปริมาณเชื้อเป็นหน่วยโคโลนี (Colony forming unit , CFU)/สารละลาย 1 มิลลิลิตร

4. ตรวจปริมาณของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ในสารละลายธาตุอาหาร

การตรวจปริมาณเชื้อ *T. harzianum* ทำได้เช่นเดียวกันกับการตรวจปริมาณของเชื้อรา *P. aphanidermatum* โดยการดูดสารละลายธาตุอาหารพืชในแต่ละกรรมวิธี หยดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Martin's medium (Johnson and Curl, 1972) (ภาคผนวก ก) บ่มไว้ 2-3 วัน ตรวจนับโคโลนี บันทึกค่าปริมาณเชื้อเป็นหน่วยโคโลนี (Colony forming unit , CFU)/สารละลาย 1 มิลลิลิตร

5. ตรวจการเข้าครอบครองรากของเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* และ *Trichoderma harzianum*

เมื่อผักกาดหอมอายุ 42 วัน นำตัวอย่างรากมาแบ่งเป็นสองส่วน ส่วนที่หนึ่งล้างรากด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ และรากอีกส่วนหนึ่งล้างด้วยสารละลาย sodium hypochlorite เข้มข้น 0.525 เปอร์เซ็นต์ ก่อนที่จะนำรากทั้งสองส่วนมาล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ซับรากให้หมาด แล้วตัดรากให้มีขนาดความยาวประมาณ 0.5 เซนติเมตร โดยแบ่งเป็นส่วนของโคน กลาง และปลายราก วางบนอาหาร modified BNPRA สำหรับตรวจสอบเชื้อรา *P. aphanidermatum* และวางบนอาหาร Martin's medium ในการตรวจสอบเชื้อรา *T. harzianum* จำนวน 5 ชิ้นต่อ 1 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ

<u>การทดลองที่ 1</u> : การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* (CB-Pin-01) ในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอม

มีทั้งหมด 4 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 7 ต้น ดังนี้

ชุดรางปลูกที่ 1 คลุกเมล็ดด้วยเชื้อรา *T. harzianum* อัตราเชื้อสด 4 กรัม ผสมน้ำ 100 มิลลิลิตร ดูดน้ำสปอร์เชื้อให้พอท่วมเมล็ด ก่อนเพาะในวัสดุปลูก (คลุกเมล็ดด้วย T+Pa)

ชุดรางปลูกที่ 2 คลุกวัสดุปลูกด้วยเชื้อรา *T. harzianum* อัตรา 200 กรัมต่อวัสดุปลูก 2 ลิตร (คลุกวัสดุปลูกด้วย T+Pa)

ชุดรางปลูกที่ 3 กรรมวิธีควบคุมที่ใส่เชื้อรา *P. aphanidermatum* (Control+Pa)

ชุดรางปลูกที่ 4 กรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ใส่เชื้อรา *P. aphanidermatum* (Control-Pa)

ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ด้วยเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร ในชุดรางปลูกที่ 1 2 และ 3 เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 0 14 และ 31 วัน รวมเป็นจำนวน 3 ครั้ง

ตรวจบันทึกจำนวนต้นที่เป็นโรค การเจริญของพืช และประเมินพื้นที่การเกิดโรค (ตามรายละเอียดในข้อ 7) เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

ในระหว่างการทดลองมีการปรับค่าการนำไฟฟ้า (EC) ของสารละลายธาตุอาหารให้อยู่ที่ 1.5 mS/cm และปรับค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) ให้อยู่ที่ 5.5 ตลอดการทดลอง เปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารในระบบปลูกทุกสัปดาห์

<u>การทดลองที่ 2</u> : การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* (CB-Pin-01) กับจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอม สาเหตุจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*

มีทั้งหมด 5 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 7 ต้น ดังนี้

ชุดรางปลูกที่ 1 ใส่น้ำสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 ชนิดสด อัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร ทุกสัปดาห์ รวมเป็นจำนวน 4 ครั้ง (CB-Pin-01+Pa)

ชุดรางปลูกที่ 2 ใส่น้ำสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ T50 ชนิดสดอัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร ทุกสัปดาห์ รวมเป็นจำนวน 4 ครั้ง (T 50+Pa)

ชุดรางปลูกที่ 3 ใส่น้ำสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. virense* ที่ได้จากการล้างเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ TV 16 ชนิดสดอัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร ทุกสัปดาห์ รวมเป็นจำนวน 4 ครั้ง (TV 16+Pa)

ชุดรางปลูกที่ 4 ใช้แบคทีเรีย *Bacillus cereus* สายพันธุ์ B03 อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร ทุกสัปดาห์ รวมเป็นจำนวน 4 ครั้ง (B03+Pa)

ชุดรางปลูกที่ 5 กรรมวิธีควบคุม ไม่มีการใส่จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ชนิดใด ๆ (control+Pa)

ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ด้วยเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตรในทุกชุดรางปลูก เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 วัน รวมเป็นจำนวน 1 ครั้ง

ตรวจบันทึกจำนวนต้นที่เป็นโรค การเจริญของพืช และประเมินพื้นที่การเกิดโรค (ตามรายละเอียดในข้อ 7) เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

ในระหว่างการทดลองมีการปรับค่าการนำไฟฟ้า (EC) ของสารละลายธาตุอาหารให้อยู่ที่ 1.7 mS/cm และปรับค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) ให้อยู่ที่ 6.0 ตลอดการทดลอง เปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารในระบบปลูกทุกสัปดาห์

<u>การทดลองที่ 3</u> : การทดสอบอัตราการใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (CB-Pin-01) ผสมลงในสารละลายธาตุอาหารเพื่อควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอม

มีทั้งหมด 5 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 7 ต้น ดังนี้

ชุดรางปลูกที่ 1 ใส่น้ำสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด อัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร ทุกสัปดาห์ รวมเป็นจำนวน 4 ครั้ง และใส่เชื้อรา *P. aphanidermatum* (T 100g/200L+Pa)

ชุดรางปลูกที่ 2 ใส่น้ำสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด อัตรา 200 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร ทุกสัปดาห์ รวมเป็นจำนวน 4 ครั้ง และใส่เชื้อรา *P. aphanidermatum* (T 200g/200L+Pa)

ชุดรางปลูกที่ 3 ใส่น้ำสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด อัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร ทุกสัปดาห์ รวมเป็นจำนวน 4 ครั้ง แต่ไม่ใส่เชื้อรา *P. aphanidermatum* (T 100g/200L-Pa)

ชุดรางปลูกที่ 4 กรรมวิธีควบคุมที่ใส่เชื้อรา *P. aphanidermatum* (Control+Pa)

ชุดรางปลูกที่ 5 กรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ใส่เชื้อรา *P. aphanidermatum* (Control-Pa)

ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ด้วยเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตรในชุดรางปลูกที่ 1 2 และ 4 เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 21 และ 28 วัน รวมเป็นจำนวน 3 ครั้ง

ตรวจบันทึกการเจริญของพืช และประเมินพื้นที่การเกิดโรค (ตามรายละเอียดในข้อ 7) เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

ในระหว่างการทดลองมีการปรับค่าการนำไฟฟ้า (EC) ของสารละลายธาตุอาหารให้อยู่ที่ 1.6 mS/cm และปรับค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) ให้อยู่ที่ 6.0 ตลอดการทดลอง เปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารในระบบปลูกทุกสัปดาห์

<u>การทดลองที่ 4</u> : อิทธิพลของจำนวนครั้งในการใส่เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (CB-Pin-01) ลงในสารละลายธาตุอาหารต่อการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมสาเหตุจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*

มีทั้งหมด 5 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 7 ต้น ดังนี้

ชุดรางปลูกที่ 1 ใส่น้ำสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด อัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 21 วัน และใส่เชื้อรา *P. aphanidermatum* (T 100g/200L 1 ครั้ง +Pa)

ชุดรางปลูกที่ 2 ใส่น้ำสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด อัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 21 และ 28 วัน และใส่เชื้อรา *P. aphanidermatum* (T 100g/200L 2 ครั้ง +Pa)

ชุดรางปลูกที่ 3 ใส่น้ำสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด อัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 21 28 และ 35 วัน และใส่เชื้อรา *P. aphanidermatum* (T 100g/200L 3 ครั้ง +Pa)

ชุดรางปลูกที่ 4 ใส่น้ำสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด อัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 21 28 และ 35 วัน และใส่เชื้อรา *P. aphanidermatum* (T 100g/200L 4 ครั้ง +Pa)

ชุดรางปลูกที่ 5 กรรมวิธีควบคุม ไม่ใส่เชื้อรา *T. harzianum* แต่ใส่เชื้อรา *P. aphanidermatum* (Control+Pa)

ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ด้วยเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตรในทุกชุดรางปลูก เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 วัน จำนวน 1 ครั้ง

ทุกกรรมวิธีที่ใช้ *T. harzianum* เริ่มใช้ตั้งแต่ในระยะเพาะเมล็ด

ตรวจบันทึกการเจริญของพืช และประเมินพื้นที่การเกิดโรค (ตามรายละเอียดในข้อ 7) เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

ในระหว่างการทดลองมีการปรับค่าการนำไฟฟ้า (EC) ของสารละลายธาตุอาหารให้อยู่ที่ 1.8 mS/cm และปรับค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) ให้อยู่ที่ 5.8 ตลอดการทดลอง เปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารในระบบปลูกทุกสัปดาห์

<u>การทดลองที่ 5</u> : อิทธิพลของการปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ของสารละลายธาตุอาหารต่อประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* (CB-Pin-01)ในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมสาเหตุจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*

มีทั้งหมด 8 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 7 ต้น ดังนี้

ชุดรางปลูกที่ 1 ใส่น้ำสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด อัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร ร่วมกับการปรับค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) ของสารละลายธาตุอาหารที่มีเชื้อรา *P. aphanidermatum* และเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารทุกสัปดาห์ (+ T + Change + Adj. + Pa)

ชุดรางปลูกที่ 2 ใส่น้ำสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด อัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร แต่ไม่ปรับค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) ของสารละลายธาตุอาหารที่มีเชื้อรา *P. aphanidermatum* และเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารทุกสัปดาห์ (+ T + Change - Adj. + Pa)

ชุดรางปลูกที่ 3 ไม่ใส่เชื้อรา *T. harzianum* แต่ปรับค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) ของสารละลายธาตุอาหารที่มีเชื้อรา *P. aphanidermatum* และเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารทุกสัปดาห์ (- T + Change + Adj. + Pa)

ชุดรางปลูกที่ 4 ไม่ใส่เชื้อรา *T. harzianum* และไม่ปรับค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) ของสารละลายธาตุอาหารที่มีเชื้อรา *P. aphanidermatum* และเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารทุกสัปดาห์ (- T + Change - Adj. + Pa)

ชุดรางปลูกที่ 5 กรรมวิธีควบคุมที่ไม่ใส่ทั้งเชื้อรา *T. harzianum* และ *P. aphanidermatum* ร่วมกับการปรับค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) ของสารละลายธาตุอาหารทุกวันและเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารทุกสัปดาห์ (- T + Change + Adj. - Pa)

ชุดรางปลูกที่ 6 ใส่น้ำสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด อัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร ร่วมกับการปรับค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) ของสารละลายธาตุอาหารที่มีเชื้อรา *P. aphanidermatum* ทุกวัน แต่ไม่เปลี่ยนสารละลายธาตุอาหาร (+ T – Change + Adj. + Pa)

ชุดรางปลูกที่ 7 ใส่น้ำสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด อัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร ร่วมกับการปรับค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) ของสารละลายธาตุอาหารทุกวัน ไม่เปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารและไม่ใส่เชื้อรา *P. aphanidermatum* (+ T – Change + Adj. – Pa)

ชุดรางปลูกที่ 8 ไม่ใส่เชื้อรา *T. harzianum* แต่ใส่เชื้อรา *P. aphanidermatum* ปรับค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) ของสารละลายธาตุอาหารทุกวัน ไม่เปลี่ยนสารละลายธาตุอาหาร (- T – Change + Adj. + Pa)

ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ด้วยเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตรในชุดรางปลูกที่ 1 2 3 4 6 และ 8 เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 วัน รวมเป็นจำนวน 1 ครั้ง

ทุกกรรมวิธีที่ใช้ *T. harzianum* เริ่มใช้ตั้งแต่ในระยะเพาะเมล็ด

ตรวจบันทึกการเจริญของพืช และประเมินพื้นที่การเกิดโรค (ตามรายละเอียดในข้อ 7) เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

ในระหว่างการทดลองมีการปรับค่าการนำไฟฟ้า (EC) ของสารละลายธาตุอาหารให้อยู่ที่ 1.6 mS/cm และปรับค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) ให้อยู่ที่ 6.0 ในชุดรางปลูกที่ 1 3 5 6 7 และ 8 ตลอดการทดลอง และเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารในระบบปลูกทุกสัปดาห์ เฉพาะชุดรางปลูกที่ 1 2 3 4 และ 5

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการควบคุมโรคพืชโดยชีวภาพ และเรือนปลูกพืชไฮโดรโพนิกส์ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ. กำแพงแสน จ. นครปฐม

ระยะเวลาที่ทำการทดลอง

ดำเนินการทดลองระหว่างเดือน ธันวาคม 2546 – ธันวาคม 2548

ผลและวิจารณ์

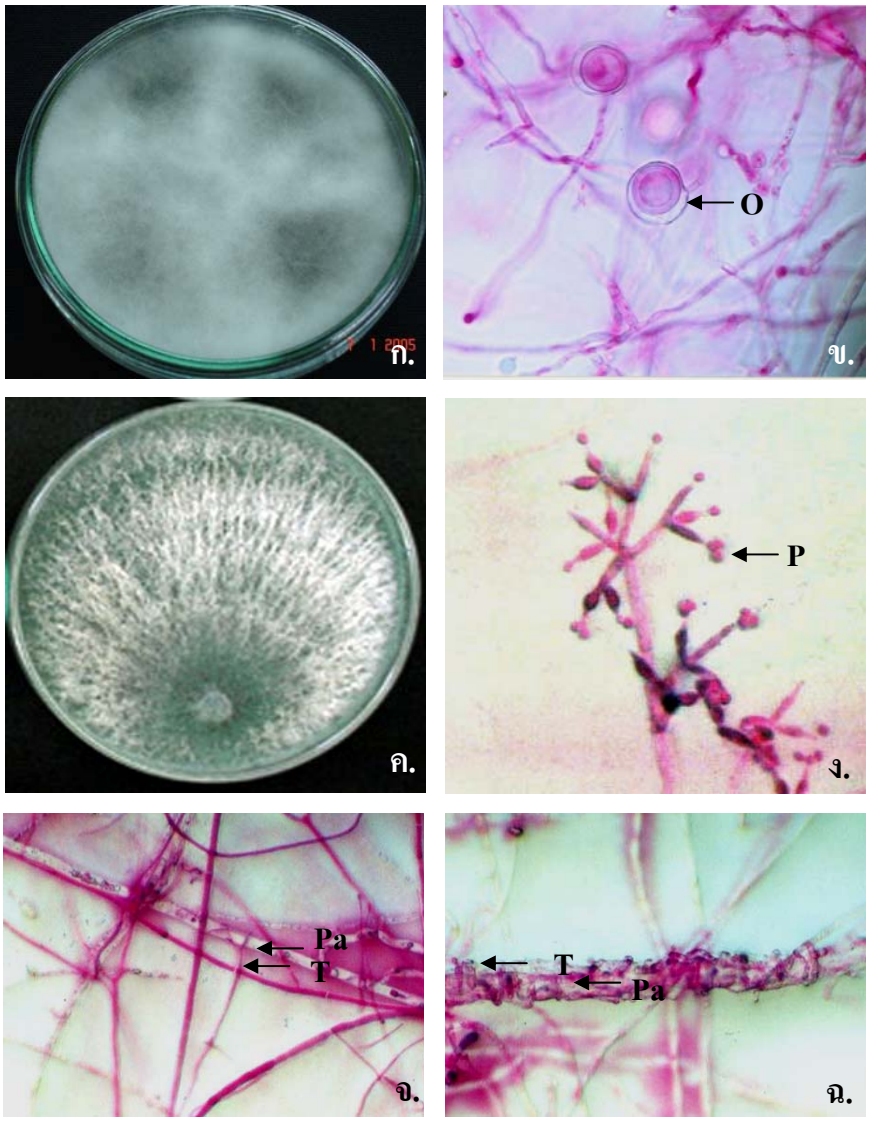
1. การแยกเชื้อรา *Pythium* species สาเหตุโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหาร

จากการพิจารณาส่วนของรากหรือลำต้นของผักกาดหอมพันธุ์กรีนคอสที่เป็นโรคพบว่าเชื้อรา *Pythium* species สามารถเข้าทำลายผักกาดหอมได้ทั้งส่วนของรากที่อยู่ในสารละลายและโคนต้นที่อยู่ในหรือเหนือวัสดุขึ้นมา โดยอาการของผักกาดหอมที่เป็นโรครากและลำต้นเน่านี้ เริ่มแรกรากจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ต่อมารากเริ่มแสดงอาการเน่า ในส่วนของโคนต้นจะมีลักษณะคอดกิ่ว หักพับได้ง่าย ในสภาพที่มีความชื้นเหมาะสม อาจสังเกตเห็นเส้นใยสีขาวของเชื้อรา *Pythium* species ฟูรอบโคนต้นหรือบริเวณที่เกิดบาดแผล

เมื่อนำส่วนของรากหรือลำต้นผักกาดหอมที่แสดงอาการดังกล่าวมาแยกเชื้อ โดยเลี้ยงบนอาหาร PDA สามารถแยกได้เชื้อราที่มีการสร้างเส้นใยใสไม่มีสี ฟู แผ่กระจายเป็นวงเต็มจานอาหาร (ภาพที่ 1ก.)

2. การจำแนกชนิดของเชื้อรา *Pythium* species

จากการตรวจดูลักษณะของเชื้อใต้กล้องจุลทรรศน์ แล้วจำแนกชนิดของเชื้อรา *Pythium* sp. พบว่าเส้นใยของเชื้อมีลักษณะใส เจริญแตกแขนงได้ดี ไม่มีผนังกั้นตามขวางภายใน พบเชื้อราสร้าง sporangium แบบ lobate และสร้าง oospore แบบ pleortic (ภาพที่ 1ข.) โดยพบว่าการใช้ใบผักกาดหอมที่ตัดเป็นชิ้นเล็ก และผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว วางบนชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้อรา *Pythium* sp. เจริญอยู่ เก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 3 วัน เป็นเหยื่อล่อทำให้เชื้อรา *Pythium* sp. มีการสร้าง oospore มากกว่าการใช้หญ้าแพรกเป็นเหยื่อล่อ จากลักษณะรวมทั้งหมดเชื้อรา *Pythium* sp. ที่แยกได้จัดเป็นเชื้อรา *P. aphanidermatum*



<u>ภาพที่ 1</u> ภาพเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (Pa) เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T) และปฏิสัมพันธ์ระหว่างกัน (ก; เส้นใยเชื้อรา *P. aphanidermatum*, ข; oospore (O), ค; เส้นใยเชื้อรา *T. harzianum*, ง; Phailospore (P), จ และ ฉ; เส้นใยเชื้อรา *T. harzianum* (T) เจริญพันรัดเส้นใยเชื้อรา *P. aphanidermatum* (Pa)

3. <u>การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค (Pathogenicity test)</u>

จากการนำเชื้อราที่แยกได้ไปปลูกเชื้อลงในต้นผักกาดหอมที่ปราศจากโรค เพื่อพิสูจน์การเกิดโรค ตามวิธีการของ Koch's postulation โดยการเพาะเมล็ดผักกาดหอมลงในวัสดุปลูกที่ประกอบด้วย เพอร์ไลท์ และเวอร์มิคูไลท์ อัตราส่วน 2 : 1 โดยปริมาตร แล้วอนุบาลในน้ำไหลเวียน เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 วัน ปลูกเชื้อรา *Pythium* sp. ในรูปของเส้นใยปั่น (mycelial suspension) ลงไปในน้ำไหลเวียน พบว่า หลังจากปลูกเชื้อโรคเป็นเวลา 3-5 วัน ผักกาดหอมเริ่มแสดงอาการเหี่ยว เมื่อสังเกตที่รากพบเป็นจุดสีน้ำตาล จากนั้นแผลขยายขนาดใหญ่ขึ้น และรากเริ่มกลายเป็นสีดำ เน่าเปื่อย เชื้อโรคเข้าทำลายทั้งในส่วนของรากและโคนต้น และเมื่อนำผักกาดหอมที่แสดงอาการของโรคมาแยกเชื้อบนจานอาหาร PDA และ BNPRA อีกครั้ง พบว่าเป็นเชื้อราชนิดเดียวกันกับเชื้อราที่ได้ปลูกเชื้อลงไป

4. <u>การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pythium* species ในสภาพห้องปฏิบัติการ</u>

เลี้ยงเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* (CB-Pin-01) และเชื้อรา *P. aphanidermatum* บนอาหาร PDA เป็นเวลา 2 วัน แล้วเจาะบริเวณขอบโคโลนี ด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร ย้ายไปวางบนอาหาร PDA โดยให้เชื้อราทั้งสองชนิดห่างกันประมาณ 6 เซนติเมตร ในแนวเส้นผ่านศูนย์กลางของจานอาหาร บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง ตรวจบันทึกผลการเจริญของเส้นใยเชื้อราทุกวัน พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* (CB-Pin-01) สามารถเจริญคลุมทับ โดยสร้างเส้นใย และสปอร์บนเส้นใยของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้

5. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* (CB-Pin-01) ในการควบคุมเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ในสภาพโรงเรือน

การทดลองที่ 1 : การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* (CB-Pin-01) ในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอม

ผลการทดสอบการใช้เชื้อรา *T. harzianum* (CB-Pin-01) คลุกเมล็ดหรือคลุกวัสดุปลูกในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอม สาเหตุจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* มีดังนี้

จากการเพาะเมล็ดผักกาดหอมตามกรรมวิธีต่าง ๆ แล้วนำมาวางบนกระบะอนุบาลหล่อน้ำที่มีเชื้อรา *P. aphanidermatum* ผสมอยู่ ยกเว้นกรรมวิธีควบคุม ไม่มีเชื้อ *P. aphanidermatum* หล่อไว้ในน้ำสะอาด (ภาพที่ 2) พบว่ากรรมวิธีที่มีการคลุกเมล็ดหรือคลุกวัสดุปลูกด้วยเชื้อรา *T. harzianum* มีเปอร์เซ็นต์การงอกและการรอดตายสูงเทียบเท่ากับกรรมวิธีควบคุมที่เพาะเมล็ดผักกาดหอมโดยไม่มีการปลูกเชื้อ *P. aphanidermatum* (control - Pa) โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกและการรอดตายเป็น 96.88 และ 96.88 93.75 และ 93.75 และ 100 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งทั้งสามกรรมวิธีนี้ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้คลุกเมล็ดและวัสดุด้วยเชื้อรา *T. harzianum* แล้วปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่เติมด้วยเส้นใยแขวนลอยของเชื้อรา *P. aphanidermatum* (control + Pa) มีเปอร์เซ็นต์การงอกและการรอดตายต่ำที่สุดเป็น 78.13 และ 3.13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

แสดงให้เห็นว่าเมื่อใช้เชื้อรา *T. harzianum* ในการคลุกเมล็ดหรือคลุกวัสดุปลูกก่อนการเพาะเมล็ดจะช่วยให้เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกและการรอดตายของต้นกล้าสูงขึ้น สอดคล้องกับงานทดลองของ Yedidia *et al*. (2001) ซึ่งได้ศึกษาทดลองใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ T-203 ใส่ลงในดินและในระบบ axenic hydroponic พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* สามารถเพิ่มการงอกของแตงได้ถึง 30 เปอร์เซ็นต์ ส่วนต้นกล้าผักกาดหอมในกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* มีเปอร์เซ็นต์การรอดตายต่ำที่สุดเนื่องจากรากที่งอกออกมาจากเมล็ดถูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* เข้าทำลายตั้งแต่ระยะต้นกล้า ทำให้ต้นกล้าชะงักการเจริญเติบโตจนมีลักษณะแคระแกร็น และแสดงอาการของโรครากและโคนเน่า โดยต้นกล้าจะมีแผลบริเวณโคนต้นและเนื้อเยื่อบริเวณโคนต้นยุบลง ต้นกล้าล้มฟุบลงกับวัสดุปลูก ทำให้ต้นกล้าส่วนมากตายไป ส่วนต้นกล้าที่รอดตายมีการเจริญได้น้อยมากเมื่อเทียบกับ

กรรมวิธีอื่น ๆ จากการทดลองในครั้งนี้ พบว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ให้จำนวนต้นกล้าที่ต่ำมาก คิดเป็น 3.13 เปอร์เซ็นต์ เมื่อต้นกล้ามีอายุ 21 วัน (ตารางที่ 2) เนื่องจากต้นกล้าผักกาดหอมในกรรมวิธีนี้ไม่สามารถเจริญเติบโตจนถึงอายุเก็บเกี่ยวได้ จึงได้มีการนำต้นกล้าผักกาดหอมที่เป็นพันธุ์เดียวกัน อายุเท่ากัน แต่เป็นต้นพืชปกติมาปลูกเชื้อ *P. aphanidermatum* เมื่อต้นกล้ามีอายุ 14 วัน และจัดเป็นกรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum*

นอกจากเชื้อรา *T. harzianum* จะสามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดได้แล้ว ยังพบว่าในกรรมวิธีที่มีการใช้เชื้อรา *T. harzianum* คลุกเมล็ดก่อนเพาะนั้นทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในระยะต้นกล้ามีน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่คลุกวัสดุปลูกด้วยเชื้อรา *T. harzianum* และกรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในระยะต้นกล้าเป็นดังนี้ 15.63 71.88 และ 78.13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 2) สำหรับกรรมวิธีที่คลุกวัสดุปลูกด้วยเชื้อรา *T. harzianum* มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงอาจเนื่องจากเชื้อรา *T. harzianum* ไม่อาจเจริญอยู่ได้ในวัสดุปลูก ซึ่งในการทดลองนี้คือเพอร์ไลท์และเวอร์มิคูไลท์ หรืออาจเจริญรวมกันอยู่จุดใดจุดหนึ่งของวัสดุปลูก ทำให้ไม่สามารถป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. aphanidermatum* หรืออาจเกิดจากเชื้อรา *T. harzianum* เจริญอยู่ในวัสดุแต่ไม่ได้เจริญอยู่รอบ ๆ หรือสัมผัสกับเมล็ดผักกาดหอม ตั้งแต่ก่อนเมล็ดงอกจนถึงระยะการงอกรากของต้นกล้า ทำให้ไม่สามารถที่จะป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้ทันท่วงที ส่งผลให้ต้นกล้าผักกาดหอมในกรรมวิธีนี้มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูง ซึ่งแตกต่างจากกรรมวิธีที่มีการคลุกเมล็ดด้วยเชื้อรา *T. harzianum* ก่อนการเพาะเมล็ดอย่างเห็นได้ชัด เนื่องจากการคลุกเมล็ดด้วยเชื้อรา *T. harzianum* สามารถป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในช่วงก่อนและหลังการงอกของเมล็ด โดยเชื้อรา *T. harzianum* มีโอกาสเจริญอยู่รอบผิวของเมล็ด และเมื่อรากงอกออกมาจากเมล็ด เชื้อรา *T. harzianum* จะเจริญไปพร้อม ๆ กับราก โดยจะเจริญไปบนผิวรากของผักกาดหอม ทำหน้าที่ป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้ หรืออาจเข้าทำลายได้บ้างเล็กน้อย ส่งผลให้ต้นกล้าผักกาดหอมในกรรมวิธีที่มีการคลุกเมล็ดด้วยเชื้อรา *T. harzianum* มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในระยะต้นกล้าต่ำกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ ที่มีเชื้อรา *P. aphanidermatum*

ตารางที่ 2 อิทธิพลของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T) ในการคลุกเมล็ด และวัสดุปลูกผักกาดหอม ต่อเปอร์เซ็นต์การงอก การเกิดโรคในระยะต้นกล้า และเปอร์เซ็นต์การรอดตาย เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 21 วัน

กรรมวิธี	การงอก ของเมล็ด (%)	การเกิดโรค ในระยะต้นกล้า (%)	การรอดตายของ ต้นกล้าเมื่ออายุ 21 วัน (%)
คลุกเมล็ดด้วย T+Pa[1/]	96.88 a[5/]	15.63 b	96.88 a
คลุกวัสดุปลูกด้วย T+Pa[2/]	93.75 a	71.88 a	93.75 a
Control+Pa[3/]	78.13 b	78.13 a	3.13 b
Control-Pa[4/]	100.00 a	0.00 c	100.00 a
CV. (%)	8.3	17.97	10.42

หมายเหตุ [1/] คลุกเมล็ดผักกาดหอมพันธุ์กรีนคอส (green cos) ด้วยเชื้อรา *T. harzianum* ก่อนเพาะเมล็ด และปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+Pa) ในรูปของเส้นใยแขวนลอย อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 0 14 และ 31วัน

[2/] ผสมเพอร์ไลท์กับเวอร์มิคูไลท์ ในอัตราส่วน 2 : 1 แล้วนำมาคลุกเคล้ากับเชื้อรา *T. harzianum* โดยใช้เชื้อรา *T. harzianum* ปริมาณ 200 กรัมต่อวัสดุปลูก 2 ลิตร และปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+Pa) ในรูปของเส้นใยแขวนลอยลงในสารละลายธาตุอาหารเมื่อผักกาดหอมมีอายุ 0 14 และ 31 วัน

[3/] กรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+Pa) ในรูปของเส้นใยแขวนลอยลงในสารละลายธาตุอาหารเมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 และ 31 วัน

[4/] กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (-Pa)

[5/] ตัวเลขที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (p=0.05)

เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของผักกาดหอมที่อายุเก็บเกี่ยว 42 วัน พบว่าต้นผักกาดหอมในกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ซึ่งเหลือรอดอยู่ได้ มีการเจริญเติบโตน้อยมาก เมื่อเทียบกับกรรมวิธีอื่น ๆ นั่นแสดงให้เห็นว่าเมื่อเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้เข้าทำลายเมล็ดผักกาดหอมทั้งระยะก่อนและหลังจากงอกเป็นต้นกล้าทำให้ผักกาดหอมเจริญเติบโตผิดปกติ แสดงอาการแคระแกร็น มีการเจริญเติบโตน้อย ให้ผลผลิตต่ำ เมื่อเทียบกับผักกาดหอมในกรรมวิธีอื่น ๆ และพบว่ากรรมวิธีที่คลุกเมล็ดด้วยเชื้อรา *T. harzianum* ก่อนเพาะ และกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* เมื่ออายุ 14 วัน มีความกว้างทรงพุ่ม ความกว้างใบ ความยาวใบ ความสูงต้น และความยาวราก เป็น 34.07 และ 34.69 9.95 และ 8.82 19.99 และ 19.31 24.44 และ 21.93 และ 40.53 และ 42.22 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 3 ภาพที่ 3) ซึ่งทั้งสองกรรมวิธีนี้ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าเมื่อใช้เชื้อรา *T. harzianum* คลุกเมล็ดก่อนเพาะกล้า ทำให้ต้นกล้าสามารถเจริญเติบโตได้อย่างปกติ แม้ว่าจะอยู่ในสภาพที่มีเชื้อรา *P. aphanidermatum* ทั้งตั้งแต่เมล็ดยังไม่งอก และในสภาพที่มีเชื้อรา *P. aphanidermatum* เข้าทำลายอีกในช่วงอายุ 14 และ 31 วัน เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* เข้าทำลายเมื่ออายุ 14 และ 31 วัน จะเห็นว่าการเจริญเติบโตทางด้านความกว้างใบ ความยาวใบ ความสูงต้น ของกรรมวิธีที่คลุกเมล็ดด้วยเชื้อรา *T. harzianum* ก่อนเพาะมีค่าสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum*

ส่วนกรรมวิธีที่คลุกวัสดุปลูกด้วยเชื้อรา *T. harzianum* และกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* มีความกว้างทรงพุ่ม ความกว้างใบ ความยาวใบ ความสูงต้น และความยาวราก เป็น 29.00 และ 41.16 8.03 และ 11.26 11.59 และ 23.18 17.66 และ 27.94 และ 34.95 และ 57.83 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 3 และภาพที่ 3) ซึ่งจะเห็นว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* คลุกวัสดุปลูกก่อนการเพาะเมล็ดมีค่าการเจริญในด้านความกว้างทรงพุ่ม ความกว้าง ความยาวใบ ความสูงต้น และความยาวรากต่ำที่สุด อาจสืบเนื่องมาจากผักกาดหอมในกรรมวิธีนี้ถูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* เข้าทำลายตั้งแต่ระยะก่อนงอกเป็นต้นกล้า ทำให้ต้นกล้าที่ได้มีสภาพอ่อนแอ มีการเจริญเติบโตน้อย และเมื่อถูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* เข้าทำลายอีกเมื่อมีอายุ 14 และ 31 วัน ยิ่งทำให้ผักกาดหอมชะงักการเจริญเติบโต และตั้งแต่อายุ 14 วันเป็นต้นมา หลังจากย้ายกล้าลงระบบปลูกจะเห็นความแตกต่างจากกรรมวิธีอื่น ๆ อย่างชัดเจน หลังจากนั้นก็มีการเจริญเติบโตได้อีกแต่น้อยมากเมื่อเทียบกับกรรมวิธีอื่น ๆ ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* มีการเจริญเติบโตที่สูงกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ อย่างเห็นได้ชัด และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 3 อิทธิพลของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T) ในการคลุกเมล็ด และวัสดุปลูกผักกาดหอมต่อการเจริญของผักกาดหอมในด้านความกว้างทรงพุ่ม ความกว้างใบ ความยาวใบ ความสูงต้น และความยาวราก (ซม.) เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

กรรมวิธี	ความกว้างทรงพุ่ม	ความกว้างใบ	ความยาวใบ	ความสูงต้น	ความยาวราก
			(ซม.)		
คลุกเมล็ดด้วย T+Pa[1/]	34.07 b[5/]	9.95 b	19.99 b	24.44 b	40.53 b
คลุกวัสดุปลูกด้วย T+Pa[2/]	29.01 b	8.03 c	15.60 c	17.66 c	34.95 b
Control+Pa[3/]	34.69 b	8.82 bc	19.31 b	21.93 b	42.22 b
Control-Pa[4/]	41.16 a	11.26 a	23.19 a	27.94 a	57.83 a
CV. (%)	10.21	7.92	9.51	9.16	11.14

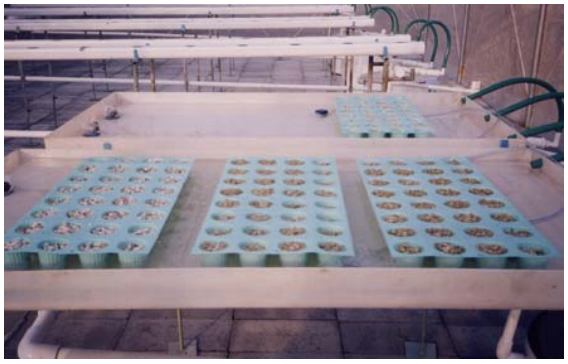
หมายเหตุ [1/] คลุกเมล็ดผักกาดหอมพันธุ์กรีนคอส (green cos) ด้วยเชื้อรา *T. harzianum* ก่อนเพาะเมล็ด และปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+Pa) ในรูปของเส้นใยแขวนลอย อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 0 14 และ 31วัน

[2/] ผสมเพอร์ไลท์กับเวอร์มิคูไลท์ ในอัตราส่วน 2 : 1 แล้วนำมาคลุกเคล้ากับเชื้อรา *T. harzianum* โดยใช้เชื้อรา *T. harzianum* ปริมาณ 200 กรัมต่อวัสดุปลูก 2 ลิตร และปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+Pa) ในรูปของเส้นใยแขวนลอยลงในสารละลายธาตุอาหารเมื่อผักกาดหอมมีอายุ 0 14 และ 31 วัน

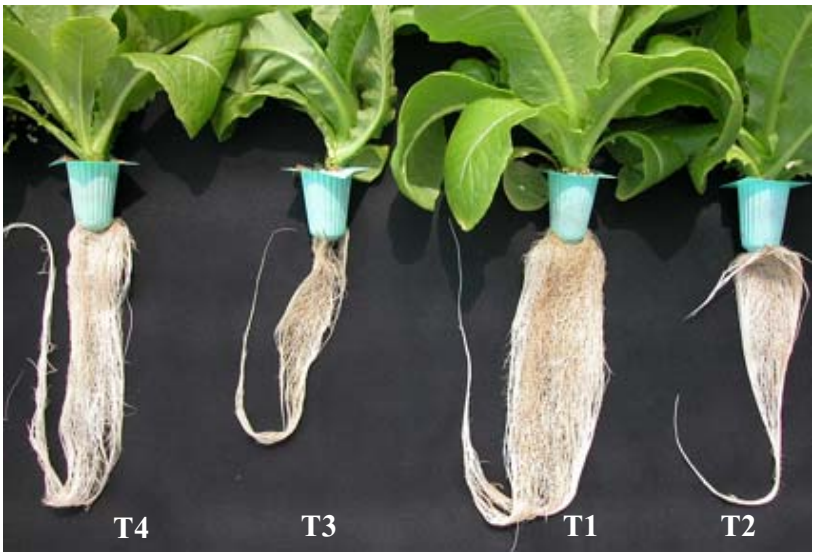
[3/] กรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+Pa) ในรูปของเส้นใยแขวนลอยลงในสารละลายธาตุอาหารเมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 และ 31 วัน

[4/] กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (-Pa)

[5/] ตัวเลขที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (p=0.05)



ภาพที่ 2 กระบะอนุบาลสำหรับอนุบาลต้นกล้าอายุ 0 - 14 วัน



ภาพที่ 3 การเจริญเติบโต และระบบรากของผักกาดหอมอายุ 42 วัน

T 1 = คลุกเมล็ดผักกาดหอมพันธุ์กรีนคอส (green cos) ด้วยเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ก่อนเพาะเมล็ด

T 2 = คลุกเพอร์ไลท์กับเวอร์มิคูไลท์ ในอัตราส่วน 2 : 1 แล้วนำมาผสมคลุกเคล้ากับเชื้อรา *T. harzianum* โดยใช้เชื้อรา *T. harzianum* ปริมาณ 200 กรัมต่อวัสดุปลูก 2 ลิตร

T 3 = control + *Pythium aphanidermatum* เมื่อผักกาดหอมอายุ 14 วัน

T 4 = control – *P. aphanidermatum*

สำหรับการเจริญของผักกาดหอมทางด้านจำนวนใบ และเส้นรอบวงโคนต้น (ตารางที่ 4) พบว่ากรรมวิธีที่คลุกเมล็ดด้วยเชื้อรา *T. harzianum* ก่อนการเพาะเมล็ดมีจำนวนใบมากที่สุด และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีอื่น ๆ แต่เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติเช่นเดียวกับเส้นรอบวงโคนต้นของกรรมวิธีที่คลุกเมล็ดด้วยเชื้อรา *T. harzianum* ก่อนการเพาะเมล็ดที่ไม่แตกต่างจากกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* แสดงให้เห็นว่ากรรมวิธีที่คลุกเมล็ดด้วยเชื้อรา *T. harzianum* ก่อนการเพาะเมล็ด มีแนวโน้มทำให้ผักกาดหอมที่แม้จะปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่มีเชื้อโรคอยู่ด้วยก็ยังคงมีการเจริญใกล้เคียงหรือเทียบเท่ากับพืชปกติ (Control-Pa)

ตารางที่ 4 อิทธิพลของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T) ในการคลุกเมล็ด และวัสดุปลูกผักกาดหอม ต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมในด้านจำนวนใบ และเส้นรอบวงโคนต้น เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

กรรมวิธี	จำนวนใบ (ใบ)	เส้นรอบวงโคนต้น (ซม.)
คลุกเมล็ดด้วย T+Pa[1/]	19.07 a [5/]	5.22 ab
คลุกวัสดุปลูกด้วย T+Pa[2/]	13.22 b	4.22 c
Control+Pa[3/]	15.25 b	4.69 bc
Control-Pa[4/]	18.75 a	5.72 a
CV. (%)	8.18	11.14

หมายเหตุ [1/] คลุกเมล็ดผักกาดหอมพันธุ์กรีนคอส (green cos) ด้วยเชื้อรา *T. harzianum* ก่อนเพาะเมล็ด และปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+Pa) ในรูปของเส้นใยแขวนลอย อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 0 14 และ 31วัน

[2/] ผสมเพอร์ไลท์กับเวอร์มิคูไลท์ ในอัตราส่วน 2 : 1 แล้วนำมาคลุกเคล้ากับเชื้อรา *T. harzianum* โดยใช้เชื้อรา *T. harzianum* ปริมาณ 200 กรัมต่อวัสดุปลูก 2 ลิตร และปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+Pa) ในรูปของเส้นใยแขวนลอยลงในสารละลายธาตุอาหารเมื่อผักกาดหอมมีอายุ 0 14 และ 31 วัน

[3/] กรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+Pa) ในรูปของเส้นใยแขวนลอยลงในสารละลายธาตุอาหารเมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 และ 31 วัน

[4/] กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (-Pa)

[5/] ตัวเลขที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (p=0.05)

เมื่อนำผักกาดหอมแต่ละกรรมวิธีมาชั่งน้ำหนัก พบว่ากรรมวิธีที่คลุกเมล็ดด้วยเชื้อรา *T. harzianum* ก่อนเพาะเมล็ด และกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* มีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเป็น 115.63 และ 121.21 และ 7.24 และ 7.84 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 5) ซึ่งน้ำหนักที่ได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และมีค่าสูงกว่ากรรมวิธีอื่นที่มีเชื้อรา *P. aphanidermatum* ทั้งยังแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าการใช้เชื้อรา *T. harzianum* ในการคลุกเมล็ดก่อนการเพาะกล้าสามารถทำให้ผักกาดหอมมีการเจริญเติบโตได้เทียบเท่ากับพืชปกติ แม้ว่าจะอยู่ในสภาพที่มีเชื้อรา *P. aphanidermatum* ตั้งแต่ระยะเพาะเมล็ด และเมื่อเชื้อเข้าทำลายอีกเมื่อผักกาดหอมอายุ 14 และ 31 วัน ซึ่งอาจอธิบายได้ว่าเชื้อรา *T. harzianum* นอกจากจะสามารถป้องกันและควบคุมการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้แล้ว ยังสามารถที่จะส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดหอมได้อีกด้วย สำหรับกรรมวิธีที่คลุกวัสดุปลูกด้วยเชื้อรา *T. harzianum* ก่อนการเพาะเมล็ด และกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* นั้นมีน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งเป็น 51.57 และ 75.31 และ 2.68 และ 4.28 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

เห็นได้ว่ากรรมวิธีที่คลุกวัสดุปลูกด้วยเชื้อรา *T. harzianum* ก่อนการเพาะเมล็ดมีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งน้อยที่สุด อาจเนื่องจากผักกาดหอมชะงักการเจริญเติบโตมาแล้วตั้งแต่ระยะต้นกล้าหลังจากถูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* เข้าทำลาย ทำให้ผักกาดหอมในกรรมวิธีนี้เจริญเติบโตน้อยกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* เมื่ออายุ 14 วัน เจริญเติบโตสูงกว่า มีน้ำหนักสด น้ำหนักแห้งสูงกว่า เนื่องจากว่าผักกาดหอมในกรรมวิธีนี้เจริญเติบโตมาอย่างพืชปกติตั้งแต่ระยะก่อน และหลังเมล็ดงอกจนเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์มีอายุได้ 14 วัน จึงถูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* เข้าทำลายส่งผลให้ผักกาดหอมในกรรมวิธีนี้มีการเจริญเติบโตดีกว่าผักกาดหอมในกรรมวิธีที่คลุกวัสดุปลูกด้วยเชื้อรา *T. harzianum* ก่อนเพาะเมล็ด เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักแห้งของรากและต้น พบว่ากรรมวิธีที่คลุกเมล็ดด้วยเชื้อรา *T. harzianum* ก่อนเพาะ และกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* มีน้ำหนักแห้งราก และน้ำหนักแห้งของต้น เป็นดังนี้ 2.60 และ 1.43 และ 4.65 และ 6.42 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 5) ซึ่งค่าที่ได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 5 อิทธิพลของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T) ในการคลุกเมล็ด และวัสดุปลูกผักกาดหอม ต่อน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ของผักกาดหอม เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

กรรมวิธี	น้ำหนักสด (กรัม/ต้น)	น้ำหนักแห้ง (กรัม/ต้น)		
		ทั้งต้น	ต้น	ราก
คลุกเมล็ดด้วย T+Pa[1/]	115.63 a[5/]	7.24 a	4.65 b	2.60 a
คลุกวัสดุปลูกด้วย T+Pa[2/]	51.57 c	2.68 c	2.05 d	0.63 c
Control+Pa[3/]	75.31 b	4.28 b	3.65 c	0.65 c
Control-Pa[4/]	121.21 a	7.84 a	6.43 a	1.43 b
CV. (%)	12.30	12.33	12.27	29.75

หมายเหตุ [1/] คลุกเมล็ดผักกาดหอมพันธุ์กรีนคอส (green cos) ด้วยเชื้อรา *T. harzianum* ก่อนเพาะเมล็ด และปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+Pa) ในรูปของเส้นใยแขวนลอย อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 0 14 และ 31วัน

[2/] ผสมเพอร์ไลท์กับเวอร์มิคูไลท์ ในอัตราส่วน 2 : 1 แล้วนำมาคลุกเคล้ากับเชื้อรา *T. harzianum* โดยใช้เชื้อรา *T. harzianum* ปริมาณ 200 กรัมต่อวัสดุปลูก 2 ลิตร และปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+Pa) ในรูปของเส้นใยแขวนลอยลงในสารละลายธาตุอาหารเมื่อผักกาดหอมมีอายุ 0 14 และ 31 วัน

[3/] กรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+Pa) ในรูปของเส้นใยแขวนลอยลงในสารละลายธาตุอาหารเมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 และ 31 วัน

[4/] กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (-Pa)

[5/] ตัวเลขที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (p=0.05)

ส่วนกรรมวิธีที่คลุกเมล็ดด้วยเชื้อรา *T. harzianum* มีน้ำหนักแห้งของรากมากกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ซึ่งหากสังเกตจากความยาวรากจะเห็นว่ากรรมวิธีควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* มีความยาวรากมากกว่ากรรมวิธีที่คลุกเมล็ดด้วยเชื้อรา *T. harzianum* ก่อนเพาะ นั่นย่อมแสดงว่าเชื้อรา *T. harzianum* มีส่วนในการช่วยเพิ่มปริมาณรากฝอยของผักกาดหอม กล่าวคือเชื้อรา *T. harzianum* มีความสามารถในการครอบครองรากพืช ซึ่งจะส่งเสริมการเจริญของรากพืช ทำให้พืชมีระบบรากที่ดีส่งผลให้ผลผลิตของพืชดีด้วย (Harman, 2000)

ส่วนน้ำหนักแห้งของต้นในกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* มีค่าสูงกว่ากรรมวิธีที่คลุกเมล็ดด้วยเชื้อรา *T. harzianum* ก่อนการเพาะ เนื่องจากต้นกล้าผักกาดหอมในกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* เป็นต้นผักกาดหอมที่เจริญเติบโตมาในสภาพปกติ คือมีปัจจัยต่าง ๆ ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต แม้ว่าน้ำหนักรากจะน้อยกว่าแต่ก็มีความยาวรากมากกว่า อีกทั้งไม่มีการรบกวนหรือการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. aphanidermatum* เลยส่งผลให้ผักกาดหอมในกรรมวิธีนี้มีน้ำหนักแห้งของต้นสูงกว่าผักกาดหอมในกรรมวิธีอื่น ๆ ส่วนกรรมวิธีที่คลุกวัสดุปลูกด้วยเชื้อรา *T. harzianum* ก่อนการเพาะเมล็ด และกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* มีน้ำหนักแห้งของรากและต้นเป็น 0.63 และ 0.65 และ 2.05 และ 3.65 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 5) เห็นได้ว่ากรรมวิธีที่คลุกวัสดุปลูกด้วยเชื้อรา *T. harzianum* มีน้ำหนักแห้งของรากและต้นต่ำที่สุด เนื่องจากมีการเจริญเติบโตน้อยกว่ากรรมวิธีอื่นตั้งแต่ในระยะต้นกล้าแล้ว รองลงมาเป็นกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* เมื่ออายุ 14 วัน

เมื่อเปรียบเทียบพื้นที่การเกิดโรคในรากผักกาดหอม พบว่ากรรมวิธีที่คลุกเมล็ดด้วยเชื้อรา *T. harzianum* ก่อนเพาะ กรรมวิธีที่คลุกวัสดุปลูกด้วยเชื้อรา *T. harzianum* ก่อนเพาะเมล็ด กรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* และกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* มีพื้นที่การเกิดโรค 81.75 90.25 78.25 และ 0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 6 และภาพที่ 4)

ตารางที่ 6 อิทธิพลของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T) ในการคลุกเมล็ด และวัสดุปลูกผักกาดหอม ต่อการเกิดโรครากเน่าของผักกาดหอมและปริมาณเชื้อรา *T. harzianum* และเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (Pa) ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

กรรมวิธี	ดัชนีการเกิดโรครากเน่า (%)[5/]	การเกิดโรครากเน่าบนราก (%)	ปริมาณเชื้อรา (x10^3 CFU/mL)[6/]	
			T. harzianum	*P. aphanidermatum*
คลุกเมล็ดด้วย T+Pa[1/]	100.00	81.75 b[7/]	7.75 a	6.00 b
คลุกวัสดุปลูกด้วย T+Pa[2/]	100.00	90.25 a	0.50 b	7.25 a
Control+Pa[3/]	100.00	78.25 c	-	6.50 b
Control-Pa[4/]	0.00	0.00 d	-	-
CV. (%)		2.70	18.51	7.73

หมายเหตุ [1/] คลุกเมล็ดผักกาดหอมพันธุ์กรีนคอส (green cos) ด้วยเชื้อรา *T. harzianum* ก่อนเพาะเมล็ดและปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+Pa) ในรูปของเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 0 14 และ 31 วัน

[2/] ผสมเพอร์ไลท์กับเวอร์มิคูไลท์ ในอัตราส่วน 2 : 1 แล้วนำมาคลุกเคล้ากับเชื้อรา *T. harzianum* โดยใช้เชื้อรา *T. harzianum* ปริมาณ 200 กรัมต่อวัสดุปลูก 2 ลิตร และปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+Pa) ในรูปของเส้นใยแขวนลอยลงในสารละลายธาตุอาหารเมื่อผักกาดหอมมีอายุ 0 14 และ 31 วัน

[3/] กรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *P. Aphanidermatum* (+Pa) ในรูปของเส้นใยแขวนลอยลงในสารละลายธาตุอาหารเมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 และ 31 วัน

[4/] กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (-Pa)

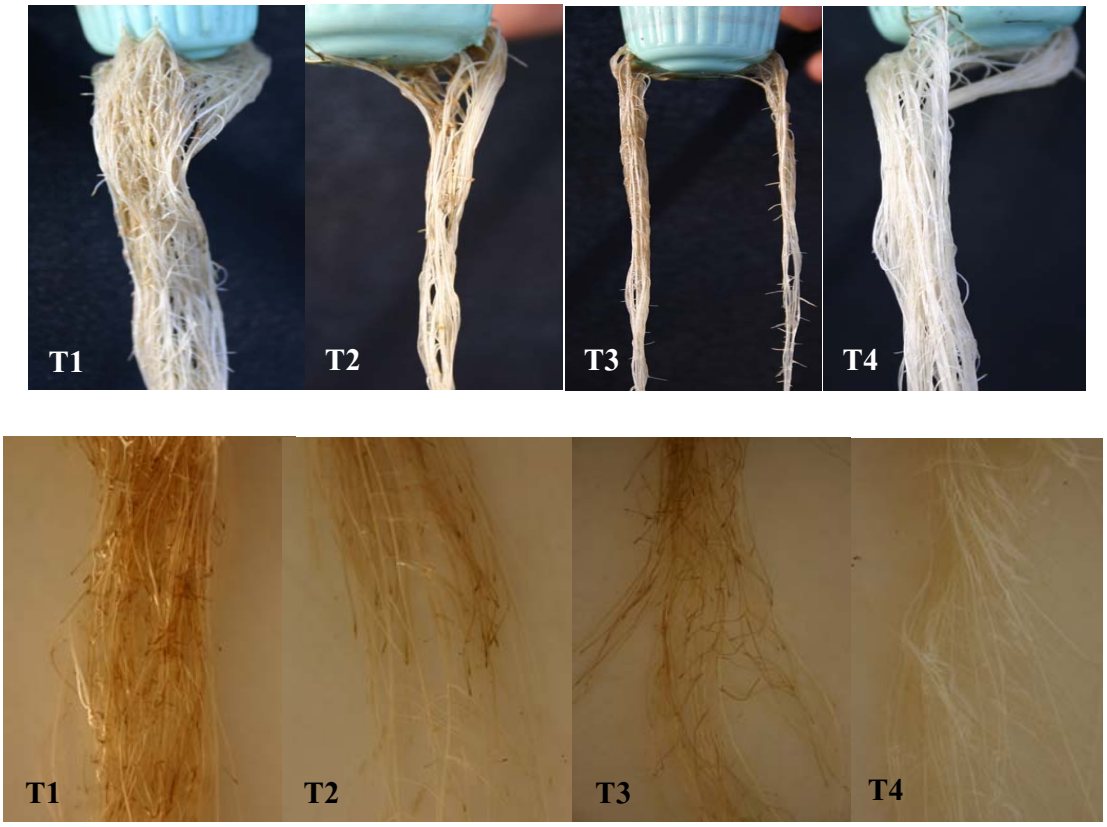
[5/] ดัชนีการเกิดโรค (4 ซ้ำ ซ้ำละ 7 ต้น) โดยแบ่งระดับอาการเป็น 5 ระดับ (ตามรายละเอียดในอุปกรณ์และวิธีการข้อ 7)

คำนวณหาค่าดัชนีการเกิดโรค (Disease index) ดังสูตร

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค (\%)} = \frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนต้นที่แสดงอาการ x ระดับอาการ) x100}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด x ระดับอาการสูงสุด}}$$

[6/] ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ จาก 4 ซ้ำ ตรวจนับเมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน โดยนำสารละลายธาตุอาหารมาทำ dilution plate บนอาหาร BNPRA สำหรับตรวจนับเชื้อรา *P. aphanidermatum* และบนอาหาร Martin's medium สำหรับตรวจนับเชื้อรา *T. harzianum*

[7/] ตัวเลขที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (p=0.05)



ภาพที่ 4 อิทธิพลของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T) เมื่อใช้คลุกเมล็ดหรือวัสดุปลูกต่อการเกิดโรคบนรากผักกาดหอมซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ (NFT)

T 1 = คลุกเมล็ดผักกาดหอมพันธุ์กรีนคอส (green cos) ด้วยเชื้อรา *T. harzianum* ก่อนเพาะเมล็ด

T 2 = ผสมเพอร์ไลท์กับเวอร์มิคูไลท์ ในอัตราส่วน 2 : 1 แล้วนำมาผสมคลุกเคล้ากับเชื้อรา *T. harzianum* โดยใช้เชื้อรา *T. harzianum* ปริมาณ 200 กรัมต่อวัสดุปลูก 2 ลิตร

T 3 = control + *Pythium aphanidermatum* เมื่อผักกาดหอมอายุ 14 วัน

T 4 = control – *P. aphanidermatum*

จากพื้นที่การเกิดโรคบนรากผักกาดหอม เห็นได้ชัดว่ากรรมวิธีที่คลุกเมล็ดด้วยเชื้อรา *T. harzianum* ก่อนการปลูกมีเปอร์เซ็นต์สูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* แต่เมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตแล้ว ไม่แตกต่างกันในด้านน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าแม้ผักกาดหอมในกรรมวิธีที่คลุกเมล็ดด้วยเชื้อรา *T. harzianum* ก่อนการเพาะเมล็ดจะมีพื้นที่การเข้าทำลายของเชื้อรา *P. aphanidermatum* มาก แต่ต้นผักกาดหอมยังสามารถเจริญเติบโตได้อย่างปกติ และให้ผลผลิตมากกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ซึ่งมีพื้นที่การเกิดโรคในรากน้อยกว่า อีกทั้งให้ผลผลิตเทียบเท่ากับผักกาดหอมในกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ซึ่งเป็นพืชปกติ ไม่มีพื้นที่การเกิดโรคในรากเลย จากผลการทดลองนี้สามารถอธิบายได้ด้วยงานทดลองของ Harman (2000) ซึ่งรายงานไว้ว่านอกจากเชื้อรา *T. harzianum* จะป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้โดยการเข้าครอบครองบนผิวรากพืชโดยไม่ทำความเสียหายต่อรากพืชแล้วยังช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช โดยเชื้อรา *T. harzianum* สามารถที่จะเพิ่มประสิทธิภาพในการทำให้ไนโตรเจน และธาตุอาหารอื่น ๆ ให้อยู่ในสภาพที่พืชนำไปใช้ได้ ส่งผลให้พืชมีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น นอกจากนี้ Yedidia *et al*. (1998) ยังรายงานว่าพืชที่ได้รับเชื้อรา *T. harzianum* จะมีกิจกรรมของเอนไซม์ peroxidase และ chitinase เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าเชื้อรา *T. harzianum* สามารถชักนำให้พืชเกิดความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคพืชได้

ส่วนในกรรมวิธีที่คลุกเชื้อรา *T. harzianum* ในวัสดุปลูกมีพื้นที่การเกิดโรคในรากสูงนั้นได้อธิบายไว้แล้วตั้งแต่ช่วงระยะต้นกล้าว่า เนื่องจากการคลุกเชื้อรา *T. harzianum* ในวัสดุปลูกเชื้อราอาจไม่มีการเจริญในวัสดุปลูก หรืออาจมีการเจริญแต่เพียงบริเวณใดบริเวณหนึ่งของวัสดุปลูก ไม่ได้เจริญรอบ ๆ เมล็ด เมื่อเมล็ดงอกรากออกมาเชื้อรา *T. harzianum* ไม่ได้เจริญไปพร้อม ๆ กับรากจึงถูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* เข้าทำลายรากได้ง่าย เพราะไม่ได้รับการปกป้องจากเชื้อรา *T. harzianum* เลย เมื่อเชื้อเข้าทำลายในระยะต้นกล้าทำให้ผักกาดหอมมีการชะงักการเจริญเติบโต ต่อมาการเจริญเป็นไปอย่างช้า ๆ พื้นที่การเกิดโรคในรากมีมากที่สุด ส่งผลให้ผลผลิตที่ได้ต่ำกว่าผลผลิตในกรรมวิธีอื่น ๆ ตามจริงแล้วการคลุกวัสดุปลูกด้วยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ให้ผลดีในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี แต่จากการศึกษาในครั้งนี้กลับพบว่าการใช้เชื้อรา *T. harzianum* คลุกวัสดุปลูกก่อนการเพาะเมล็ดไม่สามารถที่จะควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่เกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้ ทั้งยังให้ผลผลิตที่ต่ำมาก ทั้งนี้อาจเนื่องจากว่าจุลินทรีย์สามารถเพิ่มปริมาณ และอาศัยอยู่ในวัสดุปลูกที่เป็นอินทรีย์วัตถุ แต่ในการทดลองครั้งนี้วัสดุปลูกที่ใช้มีเพียงเพอร์ไลท์ และเวอร์มิคูไลท์ซึ่งอาจไม่เหมาะต่อ

การอาศัยเพื่อเพิ่มปริมาณของเชื้อรา *T. harzianum* จึงควรมีการศึกษา ทดลองในเรื่องของอัตรา และวิธีการที่เหมาะสมในการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการคลุกวัสดุปลูกให้ละเอียดเพิ่มเติมต่อไป

จากการนำสารละลายธาตุอาหารในสัปดาห์สุดท้ายที่เก็บผลผลิตของแต่ละกรรมวิธีมาตรวจหาปริมาณเชื้อรา *T. harzianum* และเชื้อรา *P. aphanidermatum* บนอาหารจำเพาะพบว่าในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* คลุกเมล็ดก่อนเพาะกล้า มีปริมาณมากกว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* ในการคลุกวัสดุปลูก (ตารางที่ 6) ซึ่งอาจด้วยเหตุนี้เองจึงทำให้ผักกาดหอมในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* คลุกวัสดุปลูกมีการเจริญเติบโตได้ไม่ดีเท่าที่ควร

<u>การทดลองที่ 2</u> : การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* CB-Pin-01 กับจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมสาเหตุจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*

เป็นการทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ โดยจุลินทรีย์ที่ใช้ได้แก่ เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 *T. harzianum* สายพันธุ์ T50 *T. virens* สายพันธุ์ TV16 และเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* สายพันธุ์ B03 ผลปรากฏดังนี้

เมื่อมีการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการคลุกเมล็ดผักกาดหอมก่อนเพาะ พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 และ *T. virens* TV16 มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการงอกของเมล็ดผักกาดหอมโดยผักกาดหอมมีการงอกคิดเป็น 95.31 และ 90.63 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 7) ซึ่งค่าที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ขณะที่ผักกาดหอมในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* T50 และ *B. cereus* B03 มีเปอร์เซ็นต์การงอกเท่ากับ 68.75 และ 62.50 ซึ่งทั้งสองกรรมวิธีนี้ค่าที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเช่นเดียวกัน ส่วนกรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ชนิดใด ๆ พบว่าเมล็ดผักกาดหอมมีเปอร์เซ็นต์การงอกเท่ากับ 64.06 ซึ่งเห็นได้ว่าเมล็ดผักกาดหอมในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* B03 มีค่าต่ำกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ รวมทั้งกรรมวิธีควบคุม ทั้งนี้อาจเนื่องจากอัตราการใช้ยังไม่เหมาะสม ทั้งนี้ควรมีการศึกษาถึงอัตรา และปริมาณที่ใช้ให้ละเอียดยิ่งขึ้นต่อไป

จากการสังเกตพื้นที่การเกิดโรคในระยะต้นกล้าพบว่าผักกาดหอมในกรรมวิธีที่ใส่น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด อัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร มีอัตราการเกิดโรคน้อยที่สุด และแตกต่างจากกรรมวิธีอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* T50 *T. virens* TV16 *B. cereus* B03 และกรรมวิธีควบคุมมีการเกิดโรคในระยะต้นกล้าเป็น 68.22 54.24 75.63 และ 77.87 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 อิทธิพลของเชื้อรา *Trichoderma* spp. และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* B03 ที่เติมลงในสารละลายธาตุอาหารที่มีเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (Pa) ต่อเปอร์เซ็นต์การงอก การเกิดโรครากเน่าในระยะต้นกล้า และต้นผักกาดหอมที่รอดตายในสัปดาห์ที่ 1 5 และ 6

กรรมวิธี	การงอกของเมล็ด (%)	การเกิดโรคในระยะต้นกล้า (%)	ผักกาดหอมที่รอดตาย (%)		
			สัปดาห์ที่		
			1	5	6
Trichoderma spp.					
CB-Pin-01+Pa	95.31 a[2/]	39.67 c	90.30	85.71	74.99 a
T50 +Pa	68.75 b	68.22 ab	85.84	67.86	67.86 a
TV16+Pa	90.63 a	54.24 bc	89.73	57.14	57.14 a
Bacillus cereus					
B03+Pa	62.50 b	75.63 a	80.34	80.34	80.34 a
Control+Pa	64.06 b	77.87 a	77.52	67.86	10.72 b
			ns[1/]	ns	
CV.(%)	12.07	19.22	12.00	22.56	33.14

หมายเหตุ [1/] ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[2/] ตัวเลขที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (p=0.05)

เมื่อตรวจสอบต้นรอดตายของผักกาดหอมในสัปดาห์ที่ 1 5 และ 6 พบว่าในกรรมวิธีที่ใส่น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด อัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร มีต้นผักกาดหอมรอดตายสูงที่สุดเป็น 90.30 เปอร์เซ็นต์ และลดลงในช่วงสัปดาห์ที่ 5 และ 6 คงเหลือต้นที่รอดตายเป็น 85.71 และ 74.99 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องจากในระหว่างการทดลองมีสภาพอุณหภูมิสูงประมาณ 34-39 องศาเซลเซียส ทำให้ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคของเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 น้อยลง เนื่องจากอุณหภูมิมีผลต่อการผลิตและกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ รวมทั้งการสร้างสารปฏิชีวนะต่าง ๆ อีกด้วย (Howell, 2003) กรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ T50 มีต้นผักกาดหอมรอดตาย 85.84 เปอร์เซ็นต์ ในสัปดาห์แรก จากนั้นในสัปดาห์ที่ 5 และ 6 เหลือผักกาดหอมรอดตายเพียง 67.86 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีที่ใช้ *T. virens* TV16 มีต้นรอดตาย 89.73 เปอร์เซ็นต์ ในสัปดาห์ที่ 5 และ 6 ลดลงเหลือ 57.14 เปอร์เซ็นต์ ส่วนผักกาดหอมในกรรมวิธีที่ใช้ *Bacillus cereus* B03 มีต้นผักกาดหอมรอดตาย คิดเป็น 80.34 และเมื่อสัปดาห์ที่ 5 และ 6 เหลือต้นรอดตาย 80.34 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมากกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ อาจเนื่องจากแบคทีเรียมีการเพิ่มปริมาณได้อย่างรวดเร็ว เช่นเดียวกันกับเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่สามารถเจริญและเพิ่มปริมาณได้ทั้งบนผิวราก และในสารละลายธาตุอาหารพืช (Waechter-Kristensen *et al.,*1997)

เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน พบว่ากรรมวิธีที่ใส่น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด อัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร ใส่ลงในสารละลายธาตุอาหารมีลักษณะการเจริญเติบโตในด้านความกว้างทรงพุ่ม ความกว้างใบ ความยาวใบ ความสูงต้น ความยาวราก พื้นที่หน้าตัดโคนต้น และน้ำหนักสดทั้งต้นสูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 20.54 6.47 13.11 16.78 12.99 เซนติเมตร 0.71 ตารางเซนติเมตรและ 21.45 กรัม/ต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 8 9 10 และภาพที่ 4) ส่วนกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* B03 มีน้ำหนักสดทั้งต้นรองลงมาเป็น 17.97 กรัมต่อต้นซึ่งค่าที่ได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 อาจเนื่องจากว่าแบคทีเรีย *B. cereus* B03 สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้เช่นเดียวกันกับเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ FZB 44 ที่สามารถเพิ่มผลผลิตและลดความเสียหายของผลผลิตซึ่งเกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้โดยเชื้อแบคทีเรียช่วยในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ (Grosh *et al*., 2001) อีกทั้งแบคทีเรียยังสามารถละลายสารประกอบพวก p-hydroxybenzoic vanillic และ cafferic acid สามารถลดระดับความเข้มข้นของ phenolic acid ได้ ซึ่งนับเป็นการดีเนื่องจากไม่ทำ

ให้เกิดการสะสมมากจนก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อพืช (Waechter-Kristensen *et al.*, 1994) จึงทำให้ผักกาดหอมมีการเจริญเติบโตค่อนข้างดี เมื่อเทียบกับกรรมวิธีอื่น ๆ

เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน ตรวจสอบการเกิดโรคบนราก และตรวจการครอบครองรากของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ พบว่าผักกาดหอมในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 มีการเกิดโรคในรากน้อยที่สุดเป็น 61.25 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาเป็นผักกาดหอมในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* B03 เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ T50 เชื้อรา *T. virens* TV16 และกรรมวิธีควบคุม โดยมีการเกิดโรคบนรากคิดเป็น 71.25 76.25 76.25 และ 93.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 8 อิทธิพลของเชื้อรา *Trichoderma* spp. และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* B03 ที่เติมลงในสารละลายธาตุอาหารที่มีเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (Pa) ต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมทางด้านความกว้างทรงพุ่ม ความกว้างใบ ความยาวใบ และ ความยาวราก เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

กรรมวิธี	ความกว้างทรงพุ่ม	ความกว้างใบ	ความยาวใบ	ความยาวราก
	(ซม.)			
Trichoderma spp.				
CB-Pin-01+Pa	20.54	6.47 a[2/]	13.11	12.99 a
T50 +Pa	19.64	6.11 ab	12.50	11.37 ab
TV16+Pa	19.21	5.78 b	12.35	8.82 b
Bacillus cereus				
B03+Pa	20.01	6.10 ab	12.48	10.66 ab
Control+Pa	18.21	5.16 c	11.98	8.18 b
	ns[1/]		ns	
CV.(%)	8.11	5.75	7.76	21.26

หมายเหตุ [1/] ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[2/] ตัวเลขที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (p=0.05)

ตารางที่ 9 อิทธิพลของเชื้อรา *Trichoderma* spp. และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* B03 ที่เติมลงในสารละลายธาตุอาหารที่มีเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (Pa) ต่อการเกิดโรครากเน่าและการเจริญเติบโตของผักกาดหอมทางด้านความสูงต้น พื้นหน้าที่หน้าตัดโคนต้น และจำนวนใบ เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

กรรมวิธี	ความสูงต้น (ซม.)	พื้นที่หน้าตัดโคนต้น (ตร.ซม.)	จำนวนใบ (ใบ)	ดัชนีการเกิดโรครากเน่า (%)[2/]	การเกิดโรครากเน่าบนราก (%)
Trichoderma spp.					
CB-Pin-01+Pa	16.78	0.71 a[3/]	12.64 a	75.00	61.25 c
T50+Pa	15.51	0.46 b	11.25 bc	91.96	76.25 b
TV16+Pa	14.95	0.44 b	11.04 c	91.96	76.25 b
Bacillus cereus					
B03+Pa	15.47	0.65 a	12.00 ab	75.00	71.25 b
Control+Pa	13.70 ns[1/]	0.41 b	9.79 d	100.00	93.25 a
CV.(%)	7.76	20.85	4.93		4.73

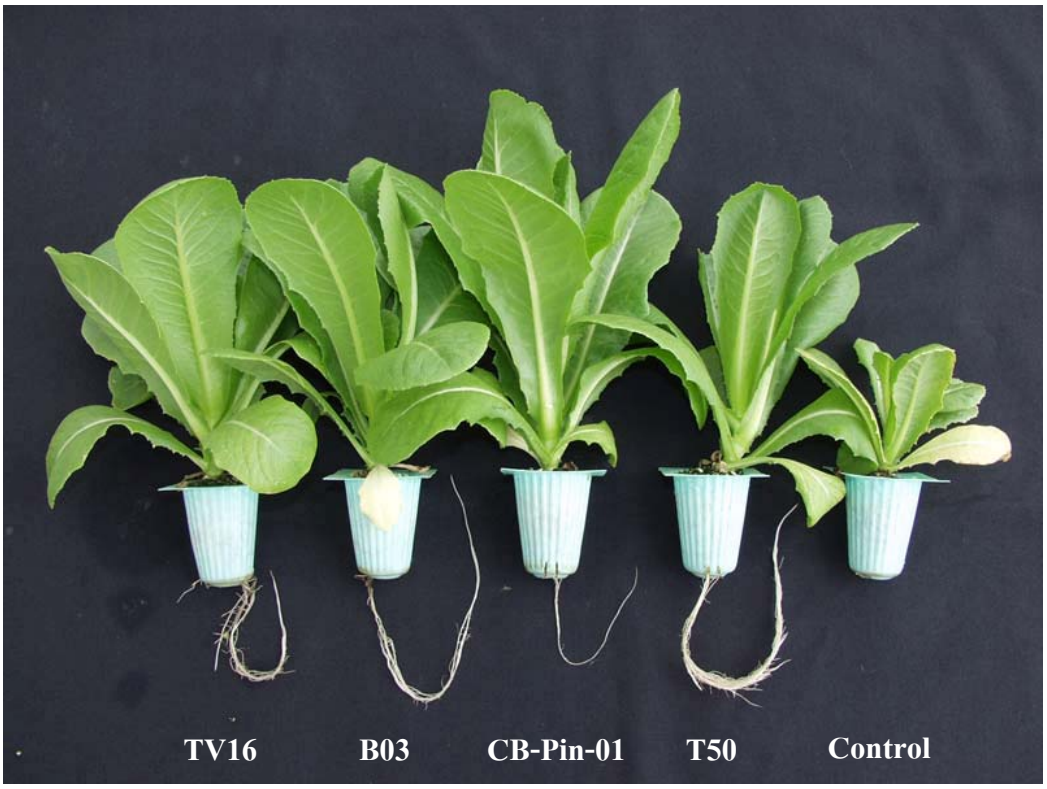
หมายเหตุ [1/] ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

[2/] ดัชนีการเกิดโรค (4 ซ้ำ ซ้ำละ 7 ต้น) โดยแบ่งระดับอาการเป็น 5 ระดับ (ตามรายละเอียดในอุปกรณ์และวิธีการข้อ 7)

คำนวณหาค่าดัชนีการเกิดโรค (Disease index) ดังสูตร

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค (\%)} = \frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนต้นที่แสดงอาการ x ระดับอาการ) x100}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด x ระดับอาการสูงสุด}}$$

[3/] ตัวเลขที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (p=0.05)



ภาพที่ 5 อิทธิพลของเชื้อรา *Trichoderma* spp. และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* B03 ที่เติมลงในสารละลายธาตุอาหารซึ่งมีเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (Pa) เจริญอยู่ต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมอายุ 42 วัน

TV16 = *T. virens* สายพันธุ์ TV16

B03 = *B. cereus* สายพันธุ์ B03

CB-Pin-01 = *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01

T50 = *T. harzianum* สายพันธุ์ T50

Control = กรรมวิธีที่ไม่ได้ใส่จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในสารละลายธาตุอาหาร

ตารางที่ 10 อิทธิพลของเชื้อรา *Trichoderma* spp. และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus cereus* B03 ที่เติมลงในสารละลายธาตุอาหารที่มีเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (Pa) ต่อน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของผักกาดหอม เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

กรรมวิธี	น้ำหนักสด (กรัม/ต้น)			น้ำหนักแห้ง (กรัม/ต้น)		
	ทั้งต้น	ต้น	ราก	ทั้งต้น	ต้น	ราก
Trichoderma spp.						
CB-Pin-01+Pa	21.45 a[1/]	19.30 a	2.15 ab	1.47 a	1.26 a	0.21 b
T50+Pa	13.89 bc	12.34 bc	1.53 bc	0.82 c	0.70 d	0.12 cd
TV16+Pa	14.03 bc	12.73 bc	1.45 c	0.89 c	0.80 c	0.09 d
Bacillus cereus						
B03+Pa	17.97 ab	15.65 ab	2.33 a	1.26 b	0.95 b	0.31 a
Control+Pa	11.60 c	9.72 c	1.90 abc	0.61 d	0.46 e	0.15 c
CV.(%)	17.7	17.52	22.92	5.50	5.25	20.79

หมายเหตุ [1/] ตัวเลขที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (p=0.05)

จากผลการทดลองพบว่าผักกาดหอมมีน้ำหนักสดน้อย (ตารางที่ 10) เมื่อเทียบกับผักกาดหอมในการทดลองที่ผ่านมา ทั้งนี้เนื่องจากการทดลองนี้ทำในช่วงเดือนมีนาคม-พฤษภาคม ซึ่งสภาพอากาศร้อนมาก การที่อุณหภูมิสูงทำให้ผักกาดหอมมีการเจริญเติบโตน้อยกว่าที่ปลูกในระหว่างเดือนธันวาคม-กุมภาพันธ์ ซึ่งมีสภาพอากาศเย็นกว่า ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของรากพืช และความสามารถในการดูดน้ำและธาตุอาหาร โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมในการปลูกผักสลัด (Lettuce) โดยทั่วไปจะเท่ากับ 15-25 องศาเซลเซียส ในตอนกลางวัน 5-10 องศาเซลเซียส ในตอนกลางคืน ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสมของสารละลายธาตุอาหารพืชอยู่ในช่วง 18-22 องศาเซลเซียส (Shinohara, 1999)

สภาพอุณหภูมิในโรงเรือนปลูกพืชไฮโดรโพนิกส์มีอุณหภูมิเฉลี่ยเท่ากับ 34-39 องศาเซลเซียส และสภาพถังสารละลายธาตุอาหารไม่ได้ฝังไว้ใต้ดินเพื่อเป็นการช่วยลดอุณหภูมิ อุณหภูมิของสารละลายธาตุอาหารจึงค่อนข้างสูงตามไปด้วย เมื่อเป็นเช่นนี้แล้วย่อมทำให้รากผักกาดหอมทำหน้าที่ได้ไม่เต็มที่ อีกทั้งการที่อุณหภูมิสูงมีอิทธิพลต่อปริมาณออกซิเจนในเขตรากพืช ในสภาพอุณหภูมิสูงขึ้นรากพืชมีความต้องการออกซิเจนในปริมาณมากขึ้นด้วย แต่ออกซิเจนจะละลายตัวได้น้อยลง ทำให้ไม่เพียงพอต่อความต้องการของพืช (ดิเรก, 2546)

นอกจากนี้ในสภาพอุณหภูมิสูงยังเป็นอีกสาเหตุที่ช่วยให้เชื้อรา *P. aphanidermtum* ที่ปลูกลงในสารละลายธาตุอาหาร สามารถแพร่กระจาย เข้าทำลายรากพืชได้อย่างรวดเร็วและรุนแรง ผักกาดหอมที่ปลูกในรุ่นนี้จึงมีค่าการเจริญเติบโตน้อยกว่าผักกาดหอมที่ปลูกในสภาพอุณหภูมิที่ต่ำกว่าในรุ่นต่อ ๆ มา ทั้งนี้เนื่องจากสภาพแวดล้อมเป็นตัวกำหนด ซึ่งสภาพแวดล้อมเหล่านี้ เช่น ปริมาณออกซิเจน สภาพความเป็นกรด – ด่าง ของสารละลายธาตุอาหาร และอุณหภูมิ ล้วนมีผลต่อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ และการแพร่กระจายของเชื้อโรค (Waechter-Kristensen *et al*., 1999) อีกประการที่เห็นได้ชัดคือต้นผักกาดหอมมีลักษณะยืดยาวกว่าปกติ สาเหตุเป็นเพราะว่าสภาพโรงเรือนปลูกพืชทดลองใช้ซาแรน (Saran) ช่วยในการพรางแสงตลอดเวลา เนื่องจากในตอนกลางวันมีอุณหภูมิสูงมาก ความเข้มแสงมาก ผักกาดหอมมีการคายน้ำสูงตามไปด้วย ทำให้ต้นเหี่ยวฟุบไปบนรางปลูก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* อาการเหี่ยวยิ่งรุนแรงมากยิ่งขึ้นจึงต้องมีการพรางแสงช่วยอยู่ตลอดเวลา

<u>การทดลองที่ 3</u> : การทดสอบอัตราการใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (CB-Pin-01) ผสมลงในสารละลายธาตุอาหารเพื่อควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*

จากการทดลองใช้เชื้อรา *T. harzianum* โดยการผสมลงในสารละลายธาตุอาหารเพื่อควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่เกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* พบว่าการใส่น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ที่ได้จากการล้างสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด อัตรา 50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ไม่เหมาะสมกับผักกาดหอมในช่วงเพาะกล้าเนื่องจากต้นกล้าที่ได้มีลักษณะผิดปกติ การเจริญเติบโตไม่ดีเท่าที่ควร ซึ่งอาจเกิดจากอิทธิพลของสารที่เชื้อราผลิตออกมา จากการทดลองเพิ่มเติมในระยะต่อมา พบว่าการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ในช่วงเพาะเมล็ด อัตราที่เหมาะสมคือการใส่น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด 100 กรัมต่อน้ำ 200 ลิตร ในกรรมวิธีที่มีการใช้เชื้อรา *T. harzianum* และมีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อผักกาดหอมมีอายุได้ 14 วัน จากการบันทึกข้อมูลเมื่อผักกาดหอมอายุครบ 42 วัน พบว่าการใส่น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด อัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร มีลักษณะการเจริญทางด้านความกว้างทรงพุ่ม ความกว้างใบ ความยาวใบ และจำนวนใบ เท่ากับ 37.43 9.71 23.25 เซนติเมตร และ 16.96 ใบ ตามลำดับ (ตารางที่ 11) ส่วนผักกาดหอมในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* อัตรา 200 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร มีการเจริญเติบโตใกล้เคียงกันคือ 36.68 9.65 22.23 เซนติเมตร และ 16.68 ใบ ตามลำดับ

กรรมวิธีที่ไม่ได้ใช้เชื้อรา *T. harzianum* (CB-Pin-01) และมีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* มีการเจริญทางด้านความกว้างทรงพุ่ม ความกว้างใบ และจำนวนใบ เท่ากับ 27.15 8.66 เซนติเมตร และ 15.43 ใบ ตามลำดับ พบว่าผักกาดหอมมีการเจริญเติบโตต่ำกว่ากรรมวิธีที่มีการใช้เชื้อรา *T. harzianum* ทั้งอัตรา 100 และ 200 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนผักกาดหอมในกรรมวิธีที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่มีการใช้ และไม่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* เห็นได้ว่ากรรมวิธีที่มีการใช้เชื้อรา *T. harzianum* ร่วมด้วย ให้ค่าการเจริญเติบโตทางด้านความกว้างทรงพุ่ม ความกว้างใบ ความยาวใบ และจำนวนใบ เท่ากับ 37.18 10.80 21.68 เซนติเมตร และ 18.39 ใบ ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงกว่าค่าการเจริญเติบโตของ

ผักกาดหอมในกรรมวิธีที่ไม่ได้ใช้เชื้อรา *T. harzianum* ซึ่งมีลักษณะการเจริญเท่ากับ 34.29 9.22 23.24 เซนติเมตร และ 14.79 ใบ ตามลำดับ (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 11 เปรียบเทียบอิทธิพลของอัตราการใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* CB-Pin-01 (T) ใส่ลงในสารละลายธาตุอาหารต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมในด้านความกว้างทรงพุ่ม ความกว้างใบ ความยาวใบ และจำนวนใบ เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

กรรมวิธี	ความกว้างทรงพุ่ม	ความกว้างใบ	ความยาวใบ	จำนวนใบ
	(ซม.)			
T 100g/200L (+Pa)[1/]	37.43 a[2/]	9.71 b	23.25	16.96 b
T 200g/200L (+Pa)	36.68 a	9.65 b	22.23	16.68 b
T 100g/200L (-Pa)	37.18 a	10.80 a	21.68	18.39 a
Control (+Pa)	27.15 b	8.66 c	22.38	15.43 c
Control (-Pa)	34.29 a	9.22 bc	23.24	14.79 c
			ns[3/]	
CV.(%)	9.06	5.22	3.99	4.84

หมายเหตุ [1/] ปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+Pa) ในรูปของเส้นใยแขวนลอยลงในสารละลายธาตุอาหารอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อ 25 ลิตร

[2/] ตัวเลขที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (p=0.05)

[3/] ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ส่วนการเจริญเติบโตของผักกาดหอมในด้านความสูงต้น เส้นรอบวงโคนต้น และความยาวราก ปรากฏว่ากรรมวิธีที่ใส่น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ชนิดสด อัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร ลงในสารละลายธาตุอาหาร แต่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* มีค่าสูงสุดเท่ากับ 25.72 8.89 และ 46.89 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีที่ใส่น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด อัตรา 100 และ 200 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร และมีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีค่าเส้นรอบวงโคนต้น และความยาวรากสูงกว่าในกรรมวิธีที่ไม่ได้ใส่เชื้อรา *T. harzianum* และได้รับการปลูกเชื้อโรค อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 12 เปรียบเทียบอิทธิพลของอัตราการใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* CB-Pin-01 (T) ใส่ลงในสารละลายธาตุอาหารต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมในด้านความสูงต้น เส้นรอบวงโคนต้น และความยาวราก เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

กรรมวิธี	ความกว้างทรงพุ่ม	เส้นรอบวงโคนต้น	ความยาวราก
		(ซม.)	
T 100g/200L (+Pa)[1/]	25.46	6.77 b[2/]	40.61 b
T 200g/200L (+Pa)	25.43	6.04 b	37.14 b
T 100g/200L (-Pa)	25.72	8.89 a	46.89 a
Control (+Pa)	25.61	4.12 c	31.93 c
Control (-Pa)	25.43	4.51 c	36.65 bc
	ns[3/]		
CV.(%)	2.81	11.34	8.11

หมายเหตุ [1/] ปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+Pa) ในรูปของเส้นใยแขวนลอยลงในสารละลายธาตุอาหารอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อ 25 ลิตร

[2/] ตัวเลขที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (p=0.05)

[3/] ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เมื่อชั่งน้ำหนักผักกาดหอมในทุกกรรมวิธี พบว่าผักกาดหอมในกรรมวิธีที่ใส่น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด อัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร ซึ่งมีเชื้อรา *P. aphanidermatum* มีน้ำหนักทั้งต้นสูงกว่าการใส่น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด อัตรา 200 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร เพียงเล็กน้อย (ตารางที่ 13) และการใส่น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ทั้งสองอัตราทำให้ผักกาดหอมมีน้ำหนักมากกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ไม่ใส่เชื้อรา *T. harzianum* ในสภาพที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* คิดเป็น 24.55 และ 23.51 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนในกรรมวิธีที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* พบว่าผักกาดหอมในกรรมวิธีที่มีการใส่น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด อัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร ลงในสารละลายธาตุอาหารพืชมีน้ำหนักสดทั้งต้นมากที่สุดเท่ากับ 96.87 กรัมต่อต้น ซึ่งสูงกว่ากรรมวิธีที่ไม่ได้ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* และไม่มีการใช้เชื้อรา *T. harzianum* อยู่ถึง 38.42 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 13 เปรียบเทียบอิทธิพลของอัตราการใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* CB-Pin-01 (T) ใส่ลงในสารละลายธาตุอาหารต่อน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของผักกาดหอม เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

กรรมวิธี	น้ำหนักสด (กรัม/ต้น)			น้ำหนักแห้ง (กรัม/ต้น)		
	ทั้งต้น	ต้น	ราก	ทั้งต้น	ต้น	ราก
T 100g/200L (+Pa)[1/]	69.77 b[2/]	63.60 b	6.39 b	2.81 b	2.57 b	0.24 b
T 200g/200L (+Pa)	68.82 b	62.42 b	6.17 bc	2.78 b	2.56 b	0.23 b
T 100g/200L (-Pa)	96.87 a	87.82 a	9.05 a	4.02 a	3.71 a	0.31 a
Control (+Pa)	52.64 c	48.02 c	4.63 c	2.43 b	2.42 b	0.21 b
Control (-Pa)	59.65 bc	54.39 bc	5.25 bc	2.63 b	2.42 b	0.21 b
CV.(%)	11.09	10.93	17.48	11.87	11.97	11.59

หมายเหตุ [1/] ปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ในรูปของเส้นใยแขวนลอยลงในสารละลายธาตุอาหาร อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อ 25 ลิตร

[2/] ตัวเลขที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (p=0.05)

ส่วนกรณีที่มีการใช้เชื้อรา *T. harzianum* แต่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ลงในสารละลายพบว่าการใส่น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 อัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร ลงในสารละลายธาตุอาหาร ส่งผลให้ต้นผักกาดหอมมีลักษณะการเจริญเติบโตทางด้าน ความกว้างใบ ความสูงต้น จำนวนใบ ความยาวราก เส้นรอบวงโคนต้น น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งรวมทั้งต้นและรากสูงที่สุด แตกต่างจากกรรมวิธีอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* ต้นผักกาดหอมมีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งรวมทั้งต้นและรากต่ำกว่าการใส่น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 อัตรา 100 และ 200 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร ร่วมกับการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (ภาพที่ 6) แสดงให้เห็นว่าเชื้อรา *T. harzianum* สามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดหอมได้ โดยอาจช่วยละลายธาตุอาหารให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ได้มากขึ้นผักกาดหอมจึงเจริญเติบโตได้ดีขึ้น (Harman, 2000) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าเชื้อรา *T. harzianum* สร้างสารทุติยภูมิ pentyl pyrone ซึ่งสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของแตงกวา ช่วยให้น้ำหนักสดของรากและต้นแตงกวาเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนนอกจากนี้สารดังกล่าวยังสามารถควบคุมโรครากเน่าระดับดินของแตงกวาที่เกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้อีกด้วย (Intana, 2003)

จากการทดลองเห็นได้ว่าการใช้เชื้อรา *T. harzianum* ในระบบไฮโดรโพนิกส์นั้นมีอัตราการใช้ที่เหมาะสมคือน้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ชนิดสด อัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร ขณะที่อัตราการใช้กับพืชทั่วไปที่ปลูกในดินคือ 1,000 กรัมต่อน้ำ 200 ลิตร (วันทนีย์, 2547) ซึ่งแตกต่างกันถึง 10 เท่า ทั้งนี้อาจเนื่องจากว่าเมื่อเชื้อรา *T. harzianum* เข้าไปอยู่ในระบบปลูกแล้วเชื้อราสามารถเพิ่มปริมาณได้มากเนื่องจากความอุดมสมบูรณ์ของธาตุอาหาร สภาพความเป็นกรด – ด่าง ที่เหมาะสม ปริมาณออกซิเจนที่เพียงพอ และเชื้อราไหลเวียนร่วมกับสารละลายธาตุอาหารผ่านรากพืชอยู่ตลอดเวลาในรางปลูกซึ่งแตกต่างจากการใช้กับพืชที่ปลูกในดินซึ่งมีสภาพแวดล้อมหลายปัจจัยเข้ามาเกี่ยวข้อง เช่น แสง อุณหภูมิ ตลอดจนจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ

ภาพที่ 6 อิทธิพลของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T) ที่เติมลงในสารละลายธาตุอาหารซึ่งมีเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (Pa) เจริญอยู่ต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมอายุ 42 วัน

T100g/200L (+Pa) = กรรมวิธีที่ใส่น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ชนิดสด อัตรา 100 กรัม ลงในสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร ซึ่งปลูกด้วยเส้นใยแขวนลอยของเชื้อรา *P. aphanidermatum*

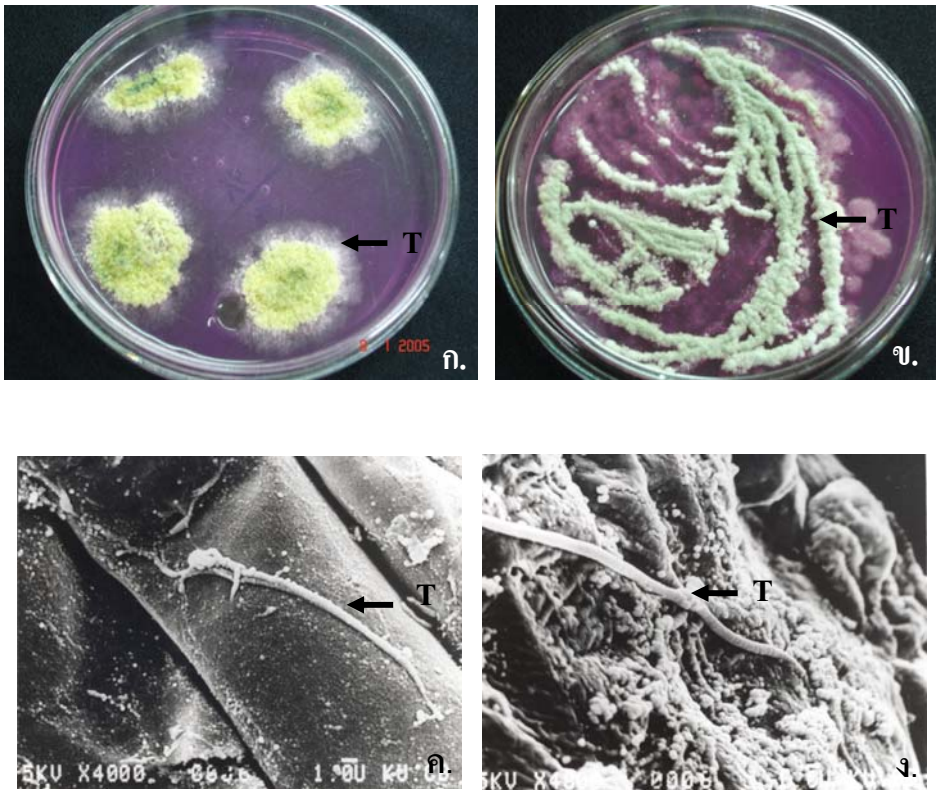
T200g/200L (+Pa) = กรรมวิธีที่ใส่น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ชนิดสด อัตรา 200 กรัม ลงในสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร ซึ่งปลูกด้วยเส้นใยแขวนลอยของเชื้อรา *P. aphanidermatum*

T100g/200L (-Pa) = กรรมวิธีที่ใส่น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ชนิดสด อัตรา 100 กรัม ลงในสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร ไม่ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum*

Control (+Pa) = กรรมวิธีควบคุมที่ปลูกด้วยเส้นใยแขวนลอยของเชื้อรา *P. aphanidermatum*

Control (-Pa) = กรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ปลูกด้วยเส้นใยแขวนลอยของเชื้อรา *P. aphanidermatum*

จากการสังเกตพื้นที่การเกิดโรคในรากผักกาดหอมในกรณีที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* พบว่าในกรรมวิธีที่ใส่น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด อัตรา 100 กรัม และ 200 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร ลงในสารละลายธาตุอาหารมีพื้นที่การเกิดโรคน้อยกว่าการไม่ได้ใส่เชื้อรา *T. harzianum* แม้ค่าที่ได้จะไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 15) และอย่างไรก็ตามเมื่อนำรากผักกาดหอมในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* มาล้างด้วย sodium hypochlorite เข้มข้น 0.525 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที เพื่อฆ่าเชื้อบริเวณผิวราก มาแยกเชื้อบนอาหาร Matin's medium พบว่ามีเชื้อรา *T. harzianum* กระจายอยู่ตามรากผักกาดหอมมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 7) แสดงให้เห็นว่าเชื้อรา *T. harzianum* สามารถเข้าครอบครองและเจริญอยู่ใต้ผิวรากพืชได้ (Mathre *et al*., 1999; Harman, 2004)



<u>ภาพที่ 7</u> เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T) ที่เข้าครอบครองรากผักกาดหอมเจริญออกมารอบ ๆ ราก บนอาหาร potato dextrose agar (ก. และ ข.) และภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแสดงเส้นใยของเชื้อรา *T. harzianum* (T) บนผิวรากผักกาดหอม (ค. และ ง.)

จากการนำสารละลายธาตุอาหารในสัปดาห์สุดท้ายที่เก็บผลผลิตของแต่ละกรรมวิธีมาตรวจปริมาณเชื้อรา *T. harzianum* และเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในจานอาหารพบว่าในกรรมวิธีที่ใส่น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด อัตรา 200 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร ลงในสารละลายธาตุอาหารที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* มีปริมาณเชื้อรา *T. harzianum* มากที่สุด (ตารางที่ 14) ทั้งนี้เนื่องจากกรรมวิธีดังกล่าวใช้เชื้อรา *T. harzianum* ปริมาณมากกว่ากรรมวิธีอื่น อย่างไรก็ตามกรรมวิธีนี้ก็มีการเกิดโรคในรากสูงกว่า และมีน้ำหนักสดเฉลี่ยน้อยกว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* อัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร ทั้งนี้อาจเนื่องจากว่าเมื่อเชื้อรา *P. aphanidermatum* เข้าทำลายรากพืชแล้วเชื้อรา *T. harzianum* ได้เข้าครอบครองราก และเกาะตามรากเป็นปริมาณมาก จนมองเห็นรากเป็นสีเขียวด้วยสปอร์ของเชื้อรา *T. harzianum* เมื่อเชื้อรามีการเกาะรากในปริมาณมากเกินไป ย่อมทำให้การทำงานของรากในด้านการดูดน้ำ และธาตุอาหารผิดปกติไปบ้าง เลยทำให้ผักกาดหอมในกรรมวิธีนี้มีการเจริญเติบโตน้อยกว่าเพียงเล็กน้อย

ตารางที่ 14 เปรียบเทียบอิทธิพลของอัตราการใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* CB-Pin-01 (T) ใส่ลงในสารละลายธาตุอาหารต่อการเกิดโรครากเน่าของผักกาดหอมและปริมาณเชื้อรา *T. harzianum* และเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (Pa) ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

กรรมวิธี	ดัชนีการเกิดโรครากเน่า (%)[2/]	การเกิดโรครากเน่าบนราก (%)	ปริมาณเชื้อรา ($x10^4$ CFU/mL)[3/]	
			T. harzianum	*P. aphanidermatum*
T 100g/200L (+Pa)[1/]	81.32	74.75 b[4/]	1.3 c	1.5 b
T 200g/200L (+Pa)	90.18	76.25 ab	1.7 a	1.4 c
T 100g/200L (-Pa)	0.00	0.00 c	1.4 b	-
Control (+Pa)	93.75	77.50 a	-	1.7 a
Control (-Pa)	0.00	0.00 c	-	-
CV.(%)		2.68	7.19	6.87

หมายเหตุ [1/] ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปของเส้นใยแขวนลอยลงในสารละลายธาตุอาหารอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อ 25 ลิตร

[2/] ดัชนีการเกิดโรค (4 ซ้ำ ซ้ำละ 7 ต้น) โดยแบ่งระดับอาการเป็น 5 ระดับ (ตามรายละเอียดในอุปกรณ์และวิธีการข้อ 7)

คำนวณหาค่าดัชนีการเกิดโรค (Disease index) ดังสูตร

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค (\%)} = \frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนต้นที่แสดงอาการ x ระดับอาการ) x100}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด x ระดับอาการสูงสุด}}$$

[3/] ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ จาก 4 ซ้ำ ตรวจนับเมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน โดยนำสารละลายธาตุอาหารมาทำ dilution plate บนอาหาร BNPRA สำหรับตรวจนับเชื้อรา *P. aphanidermatum* และบนอาหาร Martin's medium สำหรับตรวจนับเชื้อรา *T. harzianum*

[4/] ตัวเลขที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (p=0.05)

กรรมวิธีที่ใส่น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด อัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร ลงในสารละลายธาตุอาหาร มีปริมาณเชื้อราน้อยกว่า แต่ถ้าพิจารณาในแง่ประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่า แล้วพบว่าการเกิดโรคในรากมีค่าต่ำกว่าเล็กน้อย และผักกาดหอมมีการเจริญเติบโตดีกว่า จึงไม่มีความจำเป็นที่จะต้องใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ในปริมาณมากถึง 200 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร

ส่วนปริมาณของเชื้อรา *P. aphanidermatum* สังเกตเห็นว่ามีปริมาณมากกว่าในการทดลองที่ผ่าน ๆ มา ทั้งนี้อาจเนื่องจากว่ามีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* รวม 3 ครั้ง เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 21 และ 28 วัน ตามลำดับ ในกรรมวิธีควบคุมมีปริมาณเชื้อรา *P. aphanidermatum* สูงที่สุด รองลงมาเป็นกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* อัตรา 100 และ 200 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 15)

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในใบผักกาดหอม พบว่ากรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ร่วมกับการใช้เชื้อรา *T. harzianum* อัตรา 100 กรัม ผสมลงในสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร มีปริมาณของไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) โพแทสเซียม (K) แคลเซียม (Ca) และเหล็ก (Fe) สูงกว่าการใช้เชื้อรา *T. harzianum* อัตรา 200 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร อยู่เล็กน้อย และยังพบว่าการใช้เชื้อรา *T. harzianum* อัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร มีแนวโน้มทำให้ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม สูงกว่ากรรมวิธีที่ไม่ได้ใช้เชื้อรา *T. harzianum* อีกด้วย แสดงให้เห็นว่าเชื้อรา *T. harzianum* มีผลต่อการส่งเสริมการดูดซับปริมาณธาตุอาหารในพืชโดยเฉพาะฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ซึ่งฟอสฟอรัสมีการสะสมมากกว่ากรรมวิธีที่ไม่ได้ใช้เชื้อรา *T. harzianum* ถึง 3 เท่า (ตารางที่ 15)

ตารางที่ 15 เปอร์เซ็นต์ธาตุอาหารต่าง ๆ ในใบผักกาดหอมอายุ 42 วัน ซึ่งปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่มีการใส่เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T) และปลูกเส้นใยแขวนลอยของเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (Pa)

กรรมวิธี	N[2/]	P	K	Ca	Fe
			(%)		
T 100g/200L (+Pa)[1/]	3.47	0.99	13.38	1.30	0.019
T 200g/200L (+Pa)	3.21	0.93	12.86	1.27	0.018
T 100g/200L (-Pa)	3.13	0.98	13.07	1.43	0.018
Control (+Pa)	3.25	0.29	11.01	1.31	0.019
Control (-Pa)	3.52	0.31	12.55	1.29	0.016

หมายเหตุ [1/] ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปของเส้นใยแขวนลอยลงในสารละลายธาตุอาหารอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อ 25 ลิตร

[2/] การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในพืชโดยวิธีเคลดาล (Kjeldanl method)
การวิเคราะห์ปริมาณปริมาณโพแทสเซียม (K) แคลเซียม (Ca) เหล็ก (Fe) โดยการวัดการดูดกลืนแสงของอะตอม (atomic absorbtion spectrophotometry)
การวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสโดยใช้วิธี (Vanadomolybdate yellow color) (ทัศนีย์ และจงรักษ์, 2542)

<u>การทดลองที่ 4</u> : อิทธิพลของจำนวนครั้งในการใส่เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (CB-Pin-01) ลงในสารละลายธาตุอาหารต่อการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมสาเหตุจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*

จากการศึกษาเปรียบเทียบจำนวนครั้งที่เหมาะสมในการใช้น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ที่ได้จากการล้างเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด อัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร เพื่อควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมพันธุ์กรีนคอส (green cos) โดยปรับค่าสารละลายธาตุอาหารให้ EC และ pH อยู่ที่ 1.8 mS/cm และ 5.8 ตลอดการทดลอง พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 เพียงครั้งเดียวตั้งแต่ระยะเพาะเมล็ด และใส่เพิ่มเมื่อผักกาดหอมมีอายุ 21 วัน ส่งผลให้ผักกาดหอมมีลักษณะการเจริญเติบโตสูงที่สุด โดยมีค่าความกว้างทรงพุ่ม ความกว้างใบ ความยาวใบ ความสูงต้น เส้นรอบวงโคนต้น ความยาวราก จำนวนใบ และน้ำหนักสดทั้งต้นและราก เท่ากับ 31.50 7.87 18.70 21.91 3.84 21.07 เซนติเมตร 17 ใบ และ 58.95 กรัมต่อต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 16 17 และ 18) ซึ่งน้ำหนักสดและแห้งทั้งต้น และรากของผักกาดหอมเพิ่มขึ้นจากกรรมวิธีควบคุมคิดเป็น 64.61 และ 59.89 เปอร์เซ็นต์รองลงมาเป็นกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* จำนวน 3 ครั้ง

ส่วนกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 2 และ 4 ครั้ง ส่งผลให้ผักกาดหอมมีค่าความกว้างทรงพุ่ม ความกว้างใบ ความยาวใบ ความสูงต้น เส้นรอบวงโคนต้น ความยาวราก จำนวนใบ และน้ำหนักสด เท่ากับ 27.04 และ 26.28 6.61 และ 6.72 16.32 และ 16.10 19.70 และ 18.29 2.66 และ 3.04 16.71 และ 14.54 เซนติเมตร 15.22 และ 14.25 ใบ และ 29.97 และ 30.34 กรัมต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งน้ำหนักทั้งต้นและรากของผักกาดหอมเพิ่มขึ้นจากกรรมวิธีควบคุมคิดเป็น 30.40 และ 31.25 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 16)

จะเห็นว่าการใช้เชื้อรา *T. harzianum* เพียงครั้งเดียวตั้งแต่ระยะเพาะเมล็ดและมีการใส่น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 อัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร เพิ่มอีกเมื่อผักกาดหอมมีอายุ 21 วัน สามารถทำให้ผักกาดหอมมีการเจริญเติบโตได้สูงกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ (ภาพที่ 7) ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อรา *T. harzianum* สามารถเข้าครอบครองรากผักกาดหอม ทำให้ผักกาดหอมถูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* เข้าทำลายได้น้อย มีการเจริญเติบโตได้ดี

ตารางที่ 16 อิทธิพลของจำนวนครั้งในการใส่เชื้อรา *Trichoderma harzianum* CB-Pin-01 (T) ลงในสารละลายธาตุอาหารที่มีเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (Pa) ต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอม เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

กรรมวิธี	ความกว้างทรงพุ่ม (ซม.)	ความกว้างใบ (ซม.)	ความยาวใบ (ซม.)	จำนวนใบ (ใบ)
T 100g/200L 1 ครั้ง+Pa[1/]	31.50 a [2/]	7.87 a	18.70 a	17.00 a
T 100g/200L 2 ครั้ง+Pa	27.04 b	6.61 b	16.35 c	15.22 b
T 100g/200L 3 ครั้ง+Pa	28.54 b	6.91 b	17.93 b	17.29 a
T 100g/200L 4 ครั้ง+Pa	26.28 c	6.72 b	16.10 c	14.25 b
Control+Pa	22.82 c	6.16 c	15.98 c	14.39 b
CV.(%)	5.54	7.22	1.95	4.73

หมายเหตุ [1/] ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปของเส้นใยแขวนลอยลงในสารละลายธาตุอาหารอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อ 25 ลิตร

[2/] ตัวเลขที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (p=0.05)

ตารางที่ 17 อิทธิพลของจำนวนครั้งในการใส่เชื้อรา *Trichoderma harzianum* CB-Pin-01 (T) ลงในสารละลายธาตุอาหารที่มีเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (Pa) ต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมในด้านความสูงต้น เส้นรอบวงโคนต้น และความยาวราก เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

กรรมวิธี	ความสูงต้น (ซม.)	เส้นรอบวงโคนต้น (ซม.)	ความยาวราก (ซม.)
T 100g/200L 1 ครั้ง+Pa[1/]	21.91 a[2/]	3.84 a	21.07 a
T 100g/200L 2 ครั้ง+Pa	19.70 bc	2.66 cd	16.71 ab
T 100g/200L 3 ครั้ง+Pa	20.43 ab	3.36 b	14.68 b
T 100g/200L 4 ครั้ง+Pa	18.29 b	3.04 bc	14.54 b
Control+Pa	17.32 d	2.31 d	15.93 b
CV.(%)	5.53	9.06	19.33

หมายเหตุ [1/] ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปของเส้นใยแขวนลอยลงในสารละลายธาตุอาหารอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร

[2/] ตัวเลขที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (p=0.05)

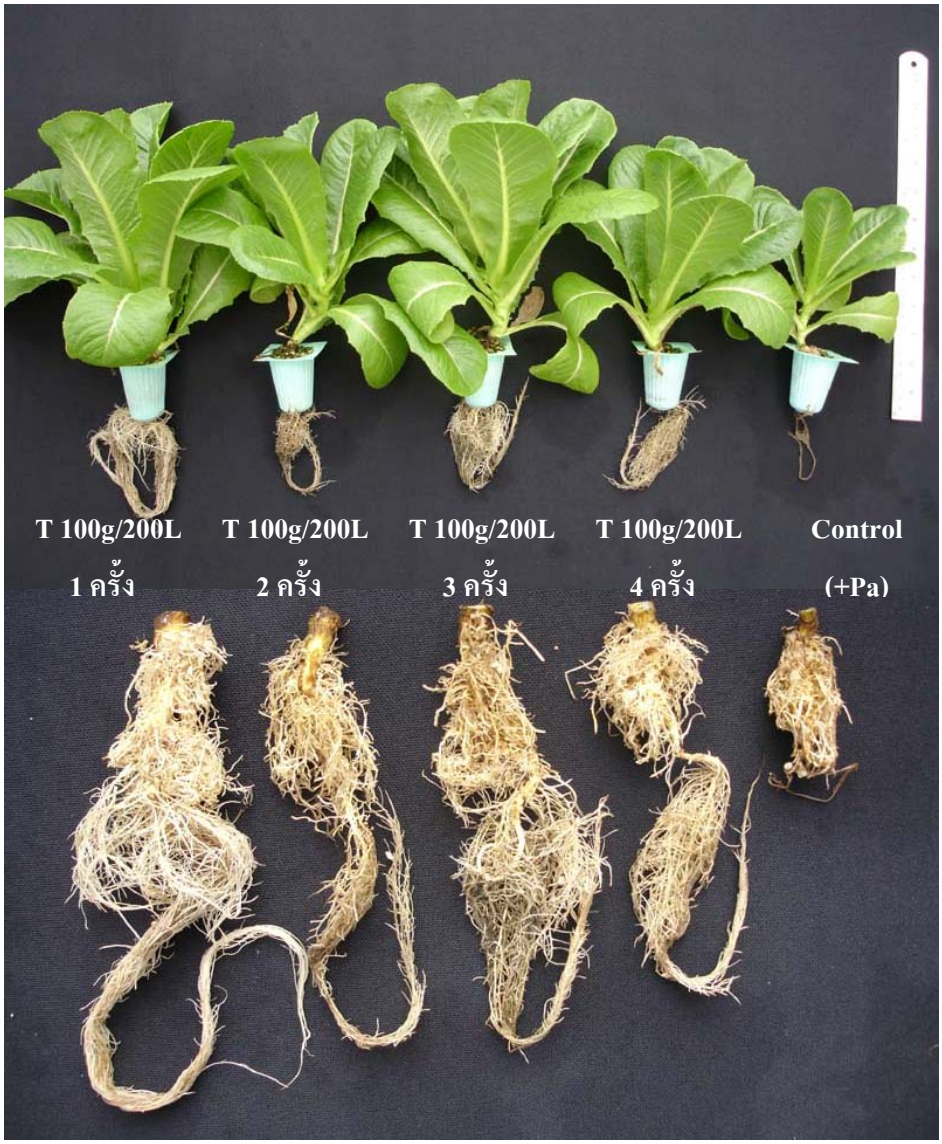
ตารางที่ 18 อิทธิพลของจำนวนครั้งในการใส่เชื้อรา *Trichoderma harzianum* CB-Pin-01 (T) ลงในสารละลายธาตุอาหารที่มีเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (Pa) ต่อน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของผักกาดหอม เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

กรรมวิธี	น้ำหนักสด (กรัม/ต้น)			น้ำหนักแห้ง (กรัม/ต้น)		
	ทั้งต้น	ต้น	ราก	ทั้งต้น	ต้น	ราก
T 100g/200L 1 ครั้ง+Pa[1/]	58.95 a[2/]	51.50 a	7.45 a	3.54 a	3.13 a	0.42 a
T 100g/200L 2 ครั้ง+Pa	29.97 c	26.50 c	3.47 c	1.90 bc	1.68 bc	0.22 b
T 100g/200L 3 ครั้ง+Pa	43.73 b	67.70 b	6.03 b	3.05 a	2.67 a	0.38 a
T 100g/200L 4 ครั้ง+Pa	30.34 c	26.87 d	3.46 c	2.01 a	1.77 b	0.23 b
Control+Pa	20.86 d	18.73 d	2.13 d	1.42 c	1.20 c	0.22 b
CV.(%)	12.46	12.62	14.86	15.19	17.24	15.42

หมายเหตุ [1/] ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปของเส้นใยแขวนลอยลงในสารละลายธาตุอาหารอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อ 25 ลิตร

[2/] ตัวเลขที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (p=0.05)

สามารถสังเกตได้ว่าในสภาพอุณหภูมิต่ำเชื้อรา *T. harzianum* จะมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่า และส่งเสริมการเจริญของผักกาดหอมได้ดีกว่าในสภาพอุณหภูมิสูง เนื่องจากสภาพอุณหภูมิมีผลต่อการผลิต และกิจกรรมของเอนไซม์ รวมทั้งการสร้างสารปฏิชีวนะของเชื้อรา *Trichoderma* spp. นั่นเอง (Howell, 2003) ส่วนการจัดการกับเชื้อรา *P. aphanidermatum* นั้นต้องมีการควบคุมสภาพอุณหภูมิไม่ให้สูงเกินไปร่วมด้วยจึงจะให้ผลการควบคุมได้ดีเนื่องจากว่าพืชจะเจริญเติบได้ดีในสภาพอุณหภูมิที่พอเหมาะ และเชื้อรา *P. aphanidermatum* สามารถแพร่กระจายและก่อให้เกิดโรคได้อย่างรุนแรงในสภาพอุณหภูมิสูง (Zinnen, 1988) นอกจากนี้สารที่รากขับออกมา (root exudates) ในขณะที่พืชกำลังเจริญเติบโต และสารละลายธาตุอาหารมีบทบาทมากในการกระตุ้นการงอก zoospore ของเชื้อรา *P. aphanidermatum* (Zhou and Paulitz, 1993) ทำให้เชื้อรา *P. aphanidermatum* เข้าทำลายพืชได้อย่างรุนแรง



ภาพที่ 8 อิทธิพลของจำนวนครั้งในการใส่เชื้อรา *Trichoderma harzianum* CB-Pin-01 (T) ลงในสารละลายธาตุอาหารที่มีเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (Pa) ต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมอายุ 42 วัน

จากการนำสารละลายธาตุอาหารในสัปดาห์สุดท้ายที่ทำการเก็บผลผลิตของแต่ละกรรมวิธีมาตรวจหาปริมาณเชื้อรา *T. harzianum* และ *P. aphanidermatum* ในจานอาหารพบว่าในกรรมวิธีที่ใส่น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* อัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร จำนวน 1 - 4 ครั้ง มีปริมาณเชื้อ *T. harzianum* ใกล้เคียงกันคือมีค่าระหว่าง 6.50 - 7.75 $x10^3$ CFU/mL ส่วนเชื้อรา *P. aphanidermatum* มีปริมาณมากในกรรมวิธีควบคุม ($1.25x10^4$ CFU/mL) (ตารางที่ 19) ซึ่งทำให้ผักกาดหอมเกิดโรคในรากมากที่สุด และมีผลผลิตต่ำสุดอีกด้วย จากผลการทดลองนี้แสดงว่าเชื้อรา *T. harzianum* ช่วยให้ปริมาณของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ลดลง 22.0 - 40.0 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 19 อิทธิพลของจำนวนครั้งในการใส่เชื้อรา *Trichoderma harzianum* CB-Pin-01 (T) ลงในสารละลายธาตุอาหารที่มีเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (Pa) ต่อการเกิดโรครากเน่าของผักกาดหอมและปริมาณเชื้อรา *T. harzianum* และเชื้อรา *P. aphanidermatum* (Pa) ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

กรรมวิธี	ดัชนีการเกิดโรครากเน่า (%)[2/]	การเกิดโรครากเน่าบนราก (%)	ปริมาณเชื้อรา (x10^3 CFU/mL)[3/]	
			T. harzianum	*P. aphanidermatum*
T 100g/200L 1 ครั้ง+Pa[1/]	100.00	81.25 b[4/]	6.50 c	7.75 c
T 100g/200L 2 ครั้ง+Pa	100.00	83.75 b	7.75 a	7.50 c
T 100g/200L 3 ครั้ง+Pa	100.00	82.50 b	7.00 bc	7.50 c
T 100g/200L 4 ครั้ง+Pa	100.00	85.00 b	7.50 ab	9.75 b
Control+Pa	100.00	94.25 a	-	12.50 a
CV.(%)		2.86	7.45	7.31

หมายเหตุ [1/] ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปของเส้นใยแขวนลอยลงในสารละลายธาตุอาหารอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อ 25 ลิตร

[2/] ดัชนีการเกิดโรค (4 ซ้ำ ซ้ำละ 7 ต้น) โดยแบ่งระดับอาการเป็น 5 ระดับ (ตามรายละเอียดในอุปกรณ์และวิธีการข้อ 7)

คำนวณหาค่าดัชนีการเกิดโรค (Disease index) ดังสูตร

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค (\%)} = \frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนต้นที่แสดงอาการ x ระดับอาการ) x100}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด x ระดับอาการสูงสุด}}$$

[3/] ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ จาก 4 ซ้ำ ตรวจนับเมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน โดยนำสารละลายธาตุอาหารมาทำ dilution plate บนอาหาร BNPRA สำหรับตรวจนับเชื้อรา *P. aphanidermatum* และบนอาหาร Martin's medium สำหรับตรวจนับเชื้อรา *T. harzianum*

[4/] ตัวเลขที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (p=0.05)

<u>การทดลองที่ 5</u> : อิทธิพลของการปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ของสารละลายธาตุอาหารต่อประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* CB-Pin-01 ในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์สาเหตุจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*

การปลูกผักกาดหอมพันธุ์กรีนคอส (green cos) ในระบบไฮโดรโพนิกส์ แบบ NFT ในกรรมวิธีปกติที่ไม่มีการปลูกเส้นใยแขวนลอยของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ลงในสารละลายธาตุอาหาร มีการปรับค่า EC และ pH ของสารละลายธาตุอาหารทุกวันให้มีค่าเป็น 1.6 mS/cm และ 6.0 ตามลำดับ ร่วมกับการเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารทุกสัปดาห์ ผักกาดหอมมีการเจริญเติบโตได้ตามปกติ มีค่าน้ำหนักสดของผักกาดหอมทั้งต้น 56.30 กรัมต่อต้น ในขณะที่กรรมวิธีซึ่งมีการปฏิบัติตามปกติเช่นเดียวกัน แต่ได้รับการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ลงในสารละลายธาตุอาหาร มีน้ำหนักสดของผักกาดหอมทั้งต้น ลดลงเหลือเพียง 28.91 กรัมต่อต้น (ลดลง 48.65 เปอร์เซ็นต์) สอดคล้องกับ Johnstone *et al*. (2004) ที่รายงานว่าเชื้อรา *P. dissotocum* เข้าทำลาย และก่อให้เกิดความเสียหายกับผักกาดหอมพันธุ์ Bella Green ส่งผลให้กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชลดลง ทำให้ผักกาดหอมมีการเจริญเติบโตน้อยจนผลผลิตลดลงประมาณ 35-40 เปอร์เซ็นต์ การทดลองนี้ตรวจพบรากของผักกาดหอมได้รับความเสียหายจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ซึ่งจัดเป็นเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าที่มีความรุนแรงมาก อย่างไรก็ตามการปลูกผักกาดหอมตามวิธีการปกติและได้รับการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* แต่ขณะเดียวกันมีการใส่น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด อัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร ลงในสารละลายธาตุอาหารด้วย พบว่าผักกาดหอมมีน้ำหนักสดทั้งต้นสูงถึง 54.25 กรัมต่อต้น เพิ่มขึ้นจากกรรมวิธีที่ไม่ได้ใช้เชื้อรา *T. harzianum* ถึง 25.34 กรัมต่อต้น (46.71 เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่ 20) Harman (2004) รายงานว่าเชื้อรา *T. harzianum* สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้โดยการละลายธาตุอาหารให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถดูดไปใช้ได้ง่ายขึ้น และช่วยในการปกป้องรากพืชจากการเข้าทำลายของเชื้อโรค ส่งเสริมการเจริญและพัฒนาการของรากให้ดีขึ้นด้วย ทำให้ผักกาดหอมมีการเจริญเติบโตได้มากขึ้น

เมื่อมีการใส่ทั้งเชื้อรา *P. aphanidermatum* และเชื้อรา *T. harzianum* ลงในสารละลายธาตุอาหารพร้อมทั้งมีการเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารทุกสัปดาห์ตามปกติ แต่ไม่มีการปรับค่า EC และ pH ของสารละลาย พบว่าผักกาดหอมเกิดโรครากเน่าอย่างรุนแรง ทำให้น้ำหนักสดของผักกาดหอมลดลงเหลือเพียง 20.18 กรัมต่อต้น ต่ำกว่ากรณีที่มีการปรับค่า EC และ pH ของสารละลายธาตุอาหารทุกวันถึง 34.07 กรัมต่อต้น (62.80 เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่ 20) แสดงให้เห็นว่าการปรับค่า EC และ pH ของสารละลายธาตุอาหารมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งต่อประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. harzianum* ในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอม ประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. harzianum* จะดีขึ้นเมื่อมีการปรับค่า EC และ pH ของสารละลายธาตุอาหารพืช เนื่องจากเชื้อรา *T. harzianum* สามารถเจริญได้ดีในสภาพที่เป็นกรดอ่อน ๆ ถึงเป็นกลาง อีกทั้งการปรับค่า pH ของสารละลายให้มีค่าเพิ่มขึ้น ให้อยู่ในช่วง 5.2-6.5 ถือเป็นช่วงที่สามารถควบคุมโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium* ได้ดีมีประสิทธิภาพที่สุด แม้ว่าธาตุเหล็กที่ใช้ในการทดลองนี้จะเป็น FeEDDHA ซึ่งทนต่อสภาพ pH กว้าง แต่ FeEDDHA ก็มีความเสถียรที่สุดในสภาพที่เป็นกรดอ่อน ๆ หรือเป็นกลาง (Jordà *et al*., 2004) โดย pH ในช่วงดังกล่าวทำให้พืชมีการเจริญเติบโตดี รากพืชมีความแข็งแรง และมีผลต่อความสามารถในการเข้าทำลายรากพืชของเชื้อรา *Pythium* โดยเชื้อราจะเข้าทำลายรากพืชได้น้อยลง (Tu, 2004)

นอกจากนี้ในกรณีที่ไม่มีการปรับค่า EC และ pH และไม่ใส่เชื้อรา *T. harzianum* ลงในสารละลายธาตุอาหาร ปรากฏว่าค่าน้ำหนักสดของผักกาดหอมยิ่งลดลงไปอีกเหลือเพียง 16.89 กรัมต่อต้น ซึ่งต่ำกว่ากรณีที่มีการปรับค่า EC และ pH แต่ไม่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* (28.91 กรัมต่อต้น) หรือไม่ปรับค่า EC และ pH แต่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* (20.18 กรัมต่อต้น) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 20) ค่า pH ที่สูงจะลดการส่งผลของธาตุเหล็ก (Iron) ธาตุแมงกานีส (Manganese) ธาตุทองแดง (Copper) และธาตุสังกะสี (Zinc) ขณะที่ค่า pH ต่ำจะลดการส่งผลของธาตุกำมะถัน (Sulphur) ธาตุแคลเซียม (Calcium) ธาตุแมกนีเซียม (Magnesium) และธาตุฟอสฟอรัส (Phosphorus) ในสภาวะที่ค่า pH ต่ำมาก ๆ ธาตุแมงกานีสจะก่อให้ระดับความเป็นพิษเพิ่มขึ้น (พายัพ และทีมงานเฉพาะกิจ, 2543) การไม่ปรับค่า EC และ pH ของสารละลายธาตุอาหารนั้นส่งผลให้ผักกาดหอมไม่สามารถดูดน้ำ และธาตุอาหารได้อย่างปกติ ผักกาดหอมจึงเจริญเติบโตช้า ต้นแคระแกร็น ในขณะที่หากเติมเชื้อรา *T. harzianum* ลงไป จะช่วยในการละลายธาตุอาหารให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ง่ายขึ้น (Harman, 2004)

ในกรณีที่ปลูกผักกาดหอมในสารละลายธาตุอาหารที่มีการปรับค่า EC และ pH ทุกวัน เปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารทุกสัปดาห์ และปลูกเชื้อโรคคือ *P. aphanidermatum* ลงไปในสารละลายธาตุอาหาร ผักกาดหอมเกิดโรครากเน่า มีการเจริญเติบโตน้อยมาก ทำให้น้ำหนักสดของผักกาดหอมลดลงอย่างมาก (28.91 กรัมต่อต้น) แต่ถ้าใช้เชื้อรา *T. harzianum* ร่วมด้วย น้ำหนักสดของผักกาดหอมยังคงสูงตามปกติ (54.25 กรัมต่อต้น) ถ้าปฏิบัติตามวิธีเดียวกันนี้ทุกประการ ยกเว้นการไม่เปลี่ยนสารละลาย พบว่าค่าน้ำหนักสดของผักกาดหอมยังคงสูงอยู่อย่างเดิม (53.85 กรัมต่อต้น) แต่ถ้าไม่เปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารและไม่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* ปรากฏว่าน้ำหนักผักกาดหอมลดลงเหลือเพียง 28.85 กรัมต่อต้น (ตารางที่ 20) เนื่องจากว่าแม้มีการควบคุมค่า EC ให้อยู่ในระดับที่ต้องการอยู่เสมอ แต่ทว่าในสารละลายธาตุอาหารนั้น มีปริมาณธาตุอาหารที่พืชต้องการลดลง แต่ปริมาณธาตุอาหารที่พืชไม่ต้องการ เช่น โซเดียม (Na^+) และคลอรีน (Cl^-) กลับมีการสะสมมากขึ้นเรื่อย ๆ รวมทั้งสารอินทรีย์อื่น ๆ ที่รากปลดปล่อยออกมาสะสมอยู่ในสารละลายซึ่งจะเป็นพิษต่อพืช หรือพืชได้รับธาตุอาหารไม่เพียงพอ (ธรรมศักดิ์, 2544) ผักกาดหอมในกรรมวิธีนี้จึงมีน้ำหนักน้อยที่สุด

แสดงให้เห็นว่าการใช้เชื้อรา *T. harzianum* ใส่ลงในสารละลายธาตุอาหาร นอกจากจะช่วยในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมแล้วยังสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดหอมได้ โดยอาจช่วยละลายแร่ธาตุอาหารให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ดีขึ้น ช่วยประหยัดค่าใช้จ่ายทั้งในด้านสารละลายธาตุอาหารที่ไม่ต้องเปลี่ยนทิ้งบ่อย ๆ และประหยัดแรงงานในการดูแลได้ด้วย (Harman, 2000) สารละลายธาตุอาหารที่ถูกเปลี่ยนถ่ายออกจากระบบปลูกในทุก ๆ สัปดาห์ สามารถนำไปใช้กับพืชผัก ไม้ดอกไม้ประดับ ตลอดจนไม้ผลที่ปลูกในวัสดุ หรือในดินทั่วไปได้ เนื่องจากวัสดุปลูกหรืออนุภาคของดินสามารถดูดซับโซเดียมและคลอไรด์ไว้ได้จึงไม่เป็นอันตรายต่อพืช (ดิเรก, 2546) สารละลายธาตุอาหารที่ถูกเปลี่ยนยังคงมีธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์เหลืออยู่ในปริมาณมากเพียงพอต่อการเจริญเติบโตของพืช เป็นการใช้ทรัพยากรให้เกิดประโยชน์สูงสุด และจากการทดสอบเพิ่มเติม (แพรทอง, ไม่ได้ตีพิมพ์) โดยการนำสารละลายธาตุอาหารที่เปลี่ยนออกมารดให้ต้นแตงกวา พบว่าแตงกวาสามารถเจริญเติบโตได้เป็นปกติ โดยไม่ต้องให้ปุ๋ยใด ๆ เพิ่มเติมอีก ในกรณีที่สารละลายธาตุอาหารมีการปนเปื้อนของเชื้อโรค (เช่นในกรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermtum*) หากมีการพักสารละลายธาตุอาหารทิ้งไว้อย่างน้อย 1 สัปดาห์ เชื้อโรคบางส่วนจะถูกทำลายไปโดยอุณหภูมิที่สูงขึ้น และยังคงหลงเหลืออยู่ในปริมาณน้อยไม่เพียงพอที่จะสามารถทำให้พืชเกิดโรคได้ แต่ถ้ามีความจำเป็นต้องใช้สารละลายธาตุอาหารทันทีที่มีการเปลี่ยนถ่าย อาจเนื่องจากไม่

สะดวกในเรื่องของภาชนะ และสถานที่ในการจัดเก็บ เพียงแต่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* เติมลงในสารละลายธาตุอาหารก่อนนำไปรดน้ำต้นไม้ ก็สามารถช่วยป้องกัน และลดการเกิดโรครากเน่าของพืชได้ นอกจากนี้ยังเป็นการดี เนื่องจากเชื้อรา *T. harzianum* สามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้อีกด้วย

ในทุกกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* พบว่าผักกาดหอมมีการเจริญเติบโตดีจนมีน้ำหนักสดสูงมาก และยังมีความกว้างของทรงพุ่ม ความกว้างของใบ ความยาวของใบ ความสูงของต้น และจำนวนใบต่อต้นมีค่าสูงด้วยเช่นกัน คือมีค่าอยู่ระหว่าง 32.29-33.47 7.84-8.33 17.54-17.78 22.58-23.51 เซนติเมตร และ 16.93-17.79 ใบต่อต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 21 ภาพที่ 9)

ตารางที่ 20 อิทธิพลของการใส่น้ำสปอร์เชื้อรา *Trichoderma harzianum* CB-Pin-01 (T) ลงในสารละลายธาตุอาหารที่ได้รับการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (Pa) ร่วมกับการปรับค่า EC และ pH และการเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารต่อน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของผักกาดหอมเมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

กรรมวิธี[1/]	น้ำหนักสดทั้งต้น (กรัม/ต้น)	น้ำหนักสดที่ลดลง[2/] (%)	น้ำหนักแห้งทั้งต้น (กรัม/ต้น)
+ T + Change + Adj. + Pa	54.25 ab[3/]	3.64	3.27 a
+ T + Change - Adj. + Pa	20.18 d	64.16	1.62 c
- T + Change + Adj. + Pa	28.91 c	48.65	2.37 b
- T + Change - Adj. + Pa	16.89 e	70.00	1.27 d
- T + Change + Adj. - Pa	56.30 a	-	3.32 a
+ T – Change + Adj. + Pa	51.83 b	8.74	3.26 a
+ T – Change + Adj. - Pa	53.85 ab	4.35	3.49 a
- T – Change + Adj. + Pa	28.85 c	48.76	2.57 b
CV.(%)	5.27		6.61

หมายเหตุ [1/] + T = ใช้น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ที่ได้จากเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด ใส่ลงในสารละลายธาตุอาหาร อัตรา 100 กรัมต่อ 200 ลิตร

- T = ไม่ใช้เชื้อรา *T. harzianum*

+ Change = เปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารทุกสัปดาห์

- Change = ไม่เปลี่ยนสารละลายธาตุอาหาร

+ Adj. = ปรับค่าสารละลายธาตุอาหารให้ EC และ pH อยู่ที่ 1.6 mS/cm และ 6.0 ทุกวัน

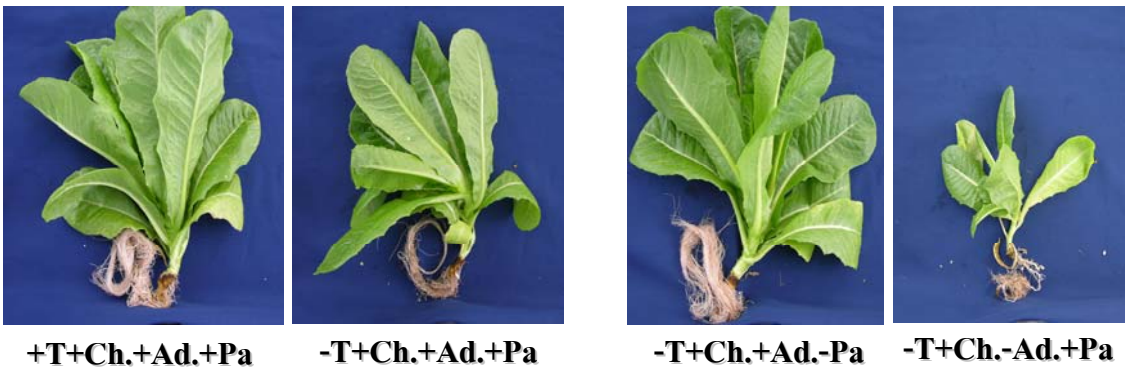
- Adj. = ไม่ปรับค่าสารละลายธาตุอาหาร

+ Pa = ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermtum* ลงในสารละลายธาตุอาหาร

- Pa = ไม่ได้ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermtum* ลงในสารละลายธาตุอาหาร

[2/] น้ำหนักสดของผักกาดหอมที่ลดลงเมื่อเปรียบเทียบทุกกรรมวิธีกับกรรมวิธีที่มีการเปลี่ยน และปรับสารละลายธาตุอาหารตามปกติ และไม่มีการใส่ทั้งเชื้อรา *T. harzianum* และ *P. aphanidermtum*

[3/] ตัวเลขที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (p=0.05)



ภาพที่ 9 การเจริญเติบโตของผักกาดหอมเมื่ออายุ 42 วัน ในสารละลายธาตุอาหารที่มีการใส่/ไม่ใส่น้ำสปอร์เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T) ปรับ/ไม่ปรับ EC/pH เปลี่ยน/ไม่เปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารทุกสัปดาห์ และได้รับการปลูก/ไม่ปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (Pa) (+ = ใส่ ปรับ เปลี่ยน; - = ไม่ใส่ ไม่ปรับ ไม่เปลี่ยน)

ตารางที่ 21 อิทธิพลของการใส่น้ำสปอร์เชื้อรา *Trichoderma harzianum* CB-Pin-01 (T) ลงในสารละลายธาตุอาหารที่ได้รับการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (Pa) ร่วมกับการปรับค่า EC และ pH และการเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมทางด้านความกว้างทรงพุ่ม ความกว้างใบ ความยาวใบ ความสูงต้น และจำนวนใบ เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

กรรมวิธี[1/]	ความกว้างทรงพุ่ม (ซม.)	ความกว้างใบ (ซม.)	ความยาวใบ (ซม.)	ความสูงต้น (ซม.)	จำนวนใบ (ใบ)
+ T + Change + Adj. + Pa	32.97 b[2/]	8.33 a	17.78 ab	23.51 b	17.79 ab
+ T + Change - Adj. + Pa	24.36 d	5.97 d	17.08 bc	19.13 c	17.04 bc
- T + Change + Adj. + Pa	23.23 d	6.82 c	15.87 d	19.21 c	15.29 d
- T + Change - Adj. + Pa	18.29 e	5.04 e	12.18 e	15.86 e	12.29 e
- T + Change + Adj. - Pa	36.68 a	8.66 a	18.56 a	24.43 a	18.18 a
+ T – Change + Adj. + Pa	32.29 bc	7.89 b	16.72 bcd	23.44 b	16.93 bc
+ T – Change + Adj. - Pa	33.47 b	7.84 b	17.54 ab	22.82 b	17.61 ab
- T - Change + Adj. + Pa	30.86 c	6.89 c	16.41 cd	18.42 c	16.54 c
CV.(%)	3.56	3.2	4.08	2.97	3.81

หมายเหตุ [1/] + T = ใช้น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ที่ได้จากการล้างเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด ใส่ลงในสารละลายธาตุอาหาร อัตรา 100 กรัมต่อ 200 ลิตร

- T = ไม่ใช้เชื้อรา *T. harzianum*

+ Change = เปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารทุกสัปดาห์

- Change = ไม่เปลี่ยนสารละลายธาตุอาหาร

+ Adj. = ปรับค่าสารละลายธาตุอาหารให้ EC และ pH อยู่ที่ 1.6 mS/cm และ 6.0 ทุกวัน

- Adj. = ไม่ปรับค่าสารละลายธาตุอาหาร

+ Pa = ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermtum* ลงในสารละลายธาตุอาหาร

- Pa = ไม่ได้ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermtum* ลงในสารละลายธาตุอาหาร

[2/] ตัวเลขที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (p=0.05)

จากการนำสารละลายธาตุอาหารในสัปดาห์สุดท้ายที่เก็บผลผลิตของแต่ละกรรมวิธีมาตรวจหาปริมาณเชื้อรา *T. harzianum* และ *P. aphanidermatum* ในจานอาหารพบว่าในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* ไม่เปลี่ยนสารละลายร่วมกับการปรับค่า EC และ pH ของสารละลายธาตุอาหาร (ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum*) มีปริมาณเชื้อรา *T. harzianum* สูงในช่วง 1.05-1.17 $x10^4$ CFU/mL ในขณะที่มีการเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหาร และกรรมวิธีที่ไม่มีการปรับสารละลายธาตุอาหารจะมีปริมาณเชื้อราต่ำที่สุดคือ 7.75 $x10^3$ CFU/mL ส่วนปริมาณของเชื้อรา *P. aphanidermatum* นั้น ในกรรมวิธีที่ไม่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* มีการเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหาร แต่ไม่มีการปรับค่าสารละลายธาตุอาหาร มีปริมาณมากที่สุด คือ 1.02 $x10^3$ CFU/mL (ตารางที่ 22)

ตารางที่ 22 อิทธิพลของการใส่เชื้อรา *Trichoderma harzianum* CB-Pin-01 (T) ลงในสารละลายธาตุอาหารที่ได้รับการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (Pa) ร่วมกับการปรับค่า EC และ pH และการเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารต่อการเกิดโรคบนรากผักกาดหอม และปริมาณเชื้อรา *T. harzianum* และเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

กรรมวิธี[1/]	ดัชนีการเกิดโรครากเน่า (%)[2/]	การเกิดโรครากเน่าบนราก (%)	ปริมาณเชื้อรา ($x10^3$ CFU/mL)[3/]	
			T. harzianum	*P. aphanidermatum*
+ T + Change + Adj. + Pa	100.00	82.50 c[4/]	9.25 c	7.75 cd
+ T + Change - Adj. + Pa	100.00	86.75 b	7.75 d	7.25 d
- T + Change + Adj. + Pa	100.00	93.75 a	-	8.50 bc
- T + Change - Adj. + Pa	100.00	94.75 a	-	10.25 a
- T + Change + Adj. - Pa	0.00	0.00 d	-	-
+ T – Change + Adj. + Pa	100.00	85.00 bc	10.50 b	9.25 b
+ T – Change + Adj. - Pa	0.00	0.00 d	11.75 a	-
- T – Change + Adj. + Pa	100.00	86.75 b	-	8.50 bc
CV.(%)		2.86	9.53	8.39

หมายเหตุ [1/] + T = ใช้น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ที่ได้จากการล้างเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด ใส่ลงในสารละลายธาตุอาหาร อัตรา 100 กรัมต่อ 200 ลิตร

- T = ไม่ใช้เชื้อรา *T. harzianum*

+ Change = เปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารทุกสัปดาห์

- Change = ไม่เปลี่ยนสารละลายธาตุอาหาร

+ Adj. = ปรับค่าสารละลายธาตุอาหารให้ EC และ pH อยู่ที่ 1.6 mS/cm และ 6.0 ทุกวัน

- Adj. = ไม่ปรับค่าสารละลายธาตุอาหาร

+ Pa = ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermtum* ลงในสารละลายธาตุอาหาร

- Pa = ไม่ได้ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermtum* ลงในสารละลายธาตุอาหาร

[2/] ดัชนีการเกิดโรค (4 ซ้ำ ซ้ำละ 7 ต้น) โดยแบ่งระดับอาการเป็น 5 ระดับ (ตามรายละเอียดในอุปกรณ์และวิธีการข้อ 7)

คำนวณหาค่าดัชนีการเกิดโรค (Disease index) ดังสูตร

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค (\%)} = \frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนต้นที่แสดงอาการ x ระดับอาการ) x100}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด x ระดับอาการสูงสุด}}$$

[3/] ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ จาก 4 ซ้ำ ตรวจนับเมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน โดยนำสารละลายธาตุอาหารมาทำ dilution plate บนอาหาร BNPRA สำหรับตรวจนับเชื้อรา *P. aphanidermatum* และบนอาหาร Martin's medium สำหรับตรวจนับเชื้อรา *T. harzianum*

[4/] ตัวเลขที่กำกับด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (p=0.05)

<u>ภาพที่ 10</u> ระบบรากของผักกาดหอมที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่มีการใส่/ไม่ใส่เชื้อรา *Trichoderma harzianum* (T) ปรับ/ไม่ปรับ EC/pH เปลี่ยน/ไม่เปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารทุกสัปดาห์ และได้รับการปลูก/ไม่ปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (Pa) (+ = ใส่, ปรับ, เปลี่ยน; - = ไม่ใส่, ไม่ปรับ, ไม่เปลี่ยน)

การใช้เชื้อรา *T. harzianum* ในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมควรใส่น้ำสปอร์เชื้อราที่ได้จากการล้างสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ชนิดสด อัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร เพิ่มทุกครั้งที่มีการเปลี่ยนสารละลาย ซึ่งนอกจากจะเป็นการป้องกันและควบคุมการเกิดโรครากเน่าของผักกาดหอมแล้วยังช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดหอมได้อีกด้วย โดยเห็นได้จากผลการทดลองที่ 3 ที่ได้ศึกษาอัตราที่เหมาะสมในการใช้เชื้อรา *T. harzianum* ส่วนการทดลองที่ 4 ที่มีการศึกษาถึงจำนวนครั้งที่เหมาะสมในการใช้เชื้อรา *T. harzianum* หลังจากที่ได้อัตราที่เหมาะสมแล้ว พบว่าการใช้น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ชนิดสด อัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร เพียงครั้งเดียวก็ส่งผลให้ผักกาดหอมมีการเจริญเติบโตได้ดี ไม่จำเป็นต้องใส่น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* เพิ่มในทุก ๆ สัปดาห์ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองที่ 1 ที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* คลุกเมล็ดผักกาดหอมเพียงครั้งเดียวก็สามารถควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมได้ และผักกาดหอมยังมีการเจริญเติบโตดีอีกด้วย แต่การใส่น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* เพิ่มเป็น 2 3 และ 4 ครั้ง ก็สามารถทำให้ผักกาดหอมมีการเจริญเติบโตได้ดีเช่นกันเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ได้ใช้เชื้อรา *T. harzianum*

ในการทดลองที่ 5 ศึกษาเรื่องอิทธิพลของการปรับค่าความเป็นกรด – ด่าง ของสารละลายธาตุอาหารต่อประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. harzianum* ในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอม การทดลองนี้มีการเติมน้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ลงในสารละลายธาตุอาหารทุกสัปดาห์ แม้ว่าการใช้เชื้อรา *T. harzianum* เพียงครั้งเดียวก็เพียงพอแล้วดังผลการทดลองที่ 1 และ 4 แต่เนื่องจากว่าในทางปฏิบัติ เกษตรกรที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* ต้องเติมน้ำสปอร์เชื้อราทุกครั้งที่มีการเปลี่ยนถ่ายสารละลายธาตุอาหาร เพื่อเพิ่มความมั่นใจในการใช้ และนับเป็นการป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สามารถปนเปื้อนเข้ามาในระบบปลูกได้ทุกเมื่อ หากสภาพแวดล้อมมีความเหมาะสม การทดลองนี้จึงเติมน้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ลงในสารละลายธาตุอาหารทุกสัปดาห์ เพื่อให้เหมาะสมกับสภาพการปฏิบัติจริง ซึ่งผลการทดลองก็แสดงให้เห็นว่าการใช้น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 อัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร ลงในสารละลายธาตุอาหารทุกสัปดาห์ ร่วมกับการปรับค่า EC และ pH ของสารละลายให้อยู่ที่ 1.6 mS/cm และ 6.0 ส่งผลให้ผักกาดหอมมีการเจริญเติบโตดีที่สุดแม้ว่าจะมีการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ก็ตาม

เห็นได้ว่าวัสดุปลูกที่ใช้ในการทดลองในครั้งนี้คือเพอร์ไลท์ และเวอร์มิคูไลท์ ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่ามีราคาแพง และมีปัญหาในเรื่องของการย่อยสลาย ทั้งนี้สามารถลดต้นทุนการผลิตได้โดยการใช้วัสดุธรรมชาติที่มีอยู่ภายในประเทศมาใช้ให้เกิดประโยชน์ เช่นการใช้ขุยมะพร้าว และแกลบเผา (ชนิดคงรูปร่างเดิม) ผสมกันในอัตราส่วนที่เหมาะสมก็สามารถทดแทนเพอร์ไลท์ และเวอร์มิคูไลท์ได้เป็นอย่างดีทีเดียว จากการทดลองเพิ่มเติม (แพรทอง, ไม่ได้ตีพิมพ์) พบว่าการใช้ขุยมะพร้าวผสมกับแกลบเผา ในอัตราส่วน 1:1 เป็นวัสดุปลูก ส่งผลให้ต้นผักกาดหอมมีการเจริญเติบโตสูงกว่าผักกาดหอมที่ปลูกในเพอร์ไลท์ผสมเวอร์มิคูไลท์อัตราส่วน 2:1 ซึ่งจะเห็นว่าเป็นการทดแทนเพอร์ไลท์ และเวอร์มิคูไลท์ได้อย่างสมบูรณ์ โดยแกลบเผาจะมีความพรุน ทำหน้าที่ระบายน้ำ และอากาศแทนเพอร์ไลท์ ส่วนขุยมะพร้าวนั้นทำหน้าที่ดูดซับความชื้นแทนเวอร์มิคูไลท์

หากมีการศึกษาทดลองอย่างจริงจัง จะพบว่าวัสดุธรรมชาติที่มีอยู่แล้วอีกหลายชนิดในประเทศไทย สามารถนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์ทดแทนวัสดุนำเข้าจากต่างประเทศได้เป็นอย่างดี สามารถลดต้นทุนการผลิต ไม่สูญเสียเงินตราออกนอกประเทศ อีกทั้งสามารถผสมจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ลงไปในวัสดุปลูกร่วมด้วย เพื่อการลดการเกิดโรค แต่ในการทดลองที่ 1 การคลุกวัสดุปลูก (เพอร์ไลท์ผสมเวอร์มิคูไลท์อัตราส่วน 2:1) ด้วยเชื้อรา *T. harzianum* ให้ผลในการควบคุมโรคได้ไม่ดีนัก อาจเนื่องจากว่าจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความต้องการอุณหภูมิ ความเป็นกรดด่างแตกต่างกันออกไป จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่นิยมนำมาใช้มีหลายชนิด เช่น เชื้อรา *Trichoderma* และเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas* (Vannacci *et al*., 2000) ซึ่งหากใช้ขุยมะพร้าว และแกลบเผาเป็นวัสดุปลูกในการทดลองที่ 1 มีแนวโน้มว่าผักกาดหอมจะเจริญเติบโตได้มากกว่านี้ และเชื้อรา *T. harzianum* อาจจะมีประสิทธิภาพในการควบโรคได้ดีกว่านี้ ทั้งยังสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดหอมได้ด้วย เนื่องจากว่าจุลินทรีย์ปฏิปักษ์จะเจริญอยู่ตามอินทรีย์วัตถุเป็นส่วนใหญ่ สามารถอาศัยอยู่และเพิ่มจำนวนประชากรได้มาก ส่งผลให้ประสิทธิภาพการควบคุมโรค และการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้เป็นอย่างดี อีกทั้งสามารถนำวัสดุปลูกที่ใช้แล้วกลับมาใช้ใหม่ในระบบการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน (soilless culture)ได้อีก เป็นการประหยัดต้นทุนการผลิต แม้ว่าเชื้อโรคที่พบว่ามีการปนเปื้อนมากในวัสดุปลูกที่ใช้แล้ว เช่น เชื้อรา *Pythium Phytophthora* และ *Olpidium* เชื้อไวรัส แบคทีเรีย และไส้เดือนฝอย ก็สามารถป้องกันกำจัดได้โดยการผึ่งแดดฆ่าเชื้อในวัสดุปลูก และการผสมจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ลงไปในวัสดุปลูกที่ใช้แล้วก่อนการนำกลับไปใช้ใหม่ แทนที่จะมีการป้องกันกำจัดเชื้อโรคโดยใช้สารเคมี methyl bromide ในการอบฆ่าเชื้อโรคที่มากับวัสดุปลูก ซึ่งเป็นอันตรายอย่างมากต่อสิ่งแวดล้อม และสุขภาพของมนุษย์เอง (Schnitzler, 2004; van Os *et al*., 2004)

จากการทดลองสังเกตพบว่าในช่วงหน้าร้อนปัญหาที่พบมากที่สุดคือปัญหาที่เกี่ยวกับอุณหภูมิ เนื่องจากอุณหภูมิในเวลากลางวันบางวันสูงถึง 39 องศาเซลเซียส และถังพักสารละลายธาตุอาหารไม่ได้ฝังอยู่ใต้ดินเพื่อป้องกันความร้อนทำให้สารละลายมีอุณหภูมิสูงขึ้นมาก ส่งผลให้การละลายตัวของออกซิเจนลดต่ำลงการหายใจของรากพืชมีปัญหา รากอ่อนแอ ดูดธาตุอาหารและน้ำได้น้อย เชื้อโรคเข้าทำลายได้ง่ายและรุนแรง ได้ทดลองใช้วิธีพ่นละอองน้ำเหนือต้นพืชเพื่อลดอุณหภูมิ แต่ปัญหาที่ตามมาก็คือการเกิดโรคทางใบ เนื่องจากมีความชื้นในอากาศสูง ด้วยเหตุนี้ และจากงานทดลองของ Elad (2000) ซึ่งพบว่าเชื้อรา *T. harzianum* สามารถควบคุมโรคทางใบได้หลายชนิด จึงเห็นว่าหากมีการศึกษาถึงประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. harzianum* ในการป้องกันและควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคทางใบอย่างจริงจังเพื่อใช้กับพืชในระบบไฮโดรโพนิกส์จะเป็นประโยชน์อย่างมากต่อเกษตรกรผู้ปลูกพืช ซึ่งอาจใช้โดยการฉีดพ่น หรือให้ไปกับระบบน้ำแบบพ่นฝอยก็ได้ตามความเหมาะสม

เมื่อมีการผลิตผักต่อเนื่องกันหลายรุ่น ย่อมมีปัญหาในเรื่องการสะสมโรคและแมลง จึงควรมีการพักโรงเรือนเพื่อเป็นการตัดวงจรชีวิตของเชื้อโรคและแมลงบ้าง การทดลองในครั้งนี้ทำให้ทราบว่าเชื้อโรคสามารถปนเปื้อนอยู่ตามพื้นโรงเรือนและระบบปลูก ตลอดจนตามมุ้งตาข่ายได้ เนื่องจากเชื้อโรคมีขนาดเล็กมาก สามารถปนเปื้อนอยู่กับฝุ่นละอองต่าง ๆ และกลับเข้ามาทำลายพืชได้อีกเมื่อสภาพแวดล้อมมีความเหมาะสม ก่อนพักโรงเรือนควรมีการทำความสะอาดโรงเรือน ระบบปลูก ตลอดจนอุปกรณ์เครื่องมือต่าง ๆ เช่น ปั๊มน้ำ ถังพักสารละลายธาตุอาหาร ให้เรียบร้อย โดยใช้น้ำผสมกับน้ำยาคลอรอกซ์ (Chlorox) ล้างด้านในของรางปลูก รางปลูกที่ไม่สามารถเปิดฝาได้ให้ใช้แปรงลวดผูกติดกับไม้ยาว เพื่อสอดเข้าไปขัดล้างทำความสะอาดด้านในของราง ส่วนรางปลูกที่สามารถเปิดฝาครอบด้านบนได้จะสามารถทำความสะอาดได้ทั่วถึงกว่า ล้างรางให้สะอาดอีกครั้งด้วยน้ำเปล่าแล้วปล่อยให้แห้งพร้อมกับรอให้คลอรีนที่อาจตกค้างระเหยไปให้หมดกลิ่นด้วย จึงประกอบฝาครอบหัวท้ายราง พร้อมปลูกในรุ่นต่อไป (ธรรมศักดิ์, 2544) หรือหลังจากนั้นอาจฉีดพ่นด้วยเชื้อรา *T. harzianum* รอบ ๆ โรงเรือนและ/หรือแม้กระทั่งในระบบปลูก และฉีดพ่นอีกรอบก่อนลงมือปลูกพืชผักรุ่นต่อไป หรืออาจฉีดพ่นได้ทุกสัปดาห์ นอกจากจะเป็นการป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าแล้ว เชื้อรา *T. harzianum* ยังสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้อีกด้วย

นอกจากนี้การปล่อยรางปลูกให้แห้งด้วยแสงแดดนาน 1 เดือน หรือการแช่รางปลูกด้วย Calcium hypochlorite 2000 ppm เป็นเวลา 24 ชั่วโมงก่อนปลูก ก็สามารถป้องกันการเกิดโรครากเน่าสาเหตุจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* และ *P. ultimum* ได้ (Lin *et al*., 2002)

ก่อนนำถ้วยปลูกไปใช้ควรมีการฆ่าเชื้อโรค ซึ่งโดยทั่วไปจะแช่ถ้วยปลูกด้วยผงปูนคลอรีนเพื่อฆ่าเชื้อก่อน หากจะใช้น้ำสปอร์ของเชื้อรา *T. harzianum* ในการแช่ถ้วยปลูกก่อนนำไปใช้ก็เป็นการป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อโรครากเน่าได้อีกทางหนึ่ง

เครื่องมือวัดค่า EC และ pH มีความจำเป็นอย่างมากในการประกอบการผลิตผักไฮโดรโพนิกส์ ควรตรวจสอบความเที่ยงตรงของเครื่องมือวัดอย่างสม่ำเสมอ เพื่อป้องกันความผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้นได้ เนื่องจากหากค่าที่อ่านได้ผิดเพี้ยนไปจากความเป็นจริง ปริมาณกรดหรือธาตุอาหารที่เติมลงไปก็จะผิดพลาดไปด้วย นั่นย่อมก่อให้เกิดความเสียหายทั้งต่อพืชและตัวผู้ประกอบการเอง ทั้งนี้ควรอาศัยการสังเกตการเจริญเติบโตของพืชร่วมด้วย หากพืชแสดงอาการผิดปกติให้เห็น ต้องรีบหาสาเหตุ และจัดการแก้ไขให้เรียบร้อยอย่างรวดเร็ว

สรุป

จากผลการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด ในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่เกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในระบบไฮโดรโพนิกส์ แบบ NFT พบว่าการคลุกเมล็ดด้วยเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมได้ เมื่ออายุเก็บเกี่ยว 42 วัน พบว่าผักกาดหอมมีการเจริญเติบโตดีเทียบเท่ากับผักกาดหอมต้นปกติในกรรมวิธีควบคุมไม่ปลูกเชื้อ *P. aphanidermatum*

เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 มีประสิทธิภาพในการป้องกันและควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่เกิดจากเชื้อ *P. aphanidermatum* เชื้อราสาเหตุโรครากเน่าของผักกาดหอมได้ดีที่สุด รองลงมาเป็นเชื้อแบคทีเรีย *B. cereus* สายพันธุ์ B03 เชื้อรา *T. virens* สายพันธุ์ TV16 และเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ T50 ตามลำดับ

เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ สาเหตุจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* และอัตราที่เหมาะสมในการใช้คือการใช้น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ที่ได้จากการล้างเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร ทั้งในระยะเพาะเมล็ด และหลังย้ายลงชุดรางปลูกโดยการผสมลงในสารละลายธาตุอาหารทุกสัปดาห์จนถึงอายุการเก็บเกี่ยว เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 นอกจากจะช่วยในการควบคุมระดับความรุนแรงของโรคให้น้อยลงแล้วยังสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดหอมได้อีกด้วย

จากการเปรียบเทียบจำนวนครั้งในการที่ใช้น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* ที่ได้จากการล้างสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด ในอัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร พบว่าการใส่เชื้อรา *T. harzianum* เพิ่มอีกเพียงครั้งเดียวหลังจากหลังย้ายลงชุดรางปลูก 1 สัปดาห์ ให้ผลการควบคุมโรครากเน่าได้ดี และทำให้ผักกาดหอมมีการเจริญเติบโตสูงที่สุดอีกด้วย รองลงมาได้แก่การใช้เชื้อรา *T. harzianum* จำนวน 3 4 และ 2 ครั้ง ตามลำดับ

การปรับค่า EC และ pH ของสารละลายธาตุอาหารมีผลต่อประสิทธิภาพการควบคุมโรคของ เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 โดยพบว่าในกรณีที่มีเชื้อรา *P. aphanidermatum* ต้นผักกาดหอมจะแสดงอาการโรครากเน่าน้อยเมื่อมีการใส่น้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ที่ได้จากเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด อัตรา 100 กรัมต่อ 200 ลิตร ลงในสารละลายธาตุอาหารร่วมกับการปรับค่า EC และ pH ของสารละลายให้อยู่ที่ 1.6 mS/cm และ 6.0 ไม่ว่าจะมีการเปลี่ยนหรือไม่เปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารเลยก็ตาม แต่ถ้าไม่มีการเปลี่ยนสารละลายแล้วไม่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ร่วมด้วย เชื้อรา *P. aphanidermatum* จะเข้าทำลายรากของผักกาดหอมได้อย่างรุนแรงจนทำให้น้ำหนักทั้งต้นของผักกาดหอมลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนในกรณีที่ไม่มีเชื้อรา *P. aphanidermatum* พบว่าถ้ามีการปรับค่า EC และ pH ของสารละลาย แล้วเปลี่ยนหรือไม่เปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารก็ได้หากมีการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ร่วมด้วย ผักกาดหอมจะมีการเจริญเติบโตดีอย่างเห็นได้ชัด

จากผลการทดลองทั้งหมดที่ผ่านมาสามารถสรุปรวมได้ว่าการใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสด ในการควบคุมโรครากเน่าสาเหตุจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* ของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์สามารถทำได้โดยการแช่เมล็ดผักกาดหอมด้วยน้ำสปอร์เชื้อไหลเวียนในระยะเพาะกล้าเพียงครั้งเดียว และ/หรือร่วมกับการเติมน้ำสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ที่ได้จากเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ชนิดสดอัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 200 ลิตร ลงในสารละลายธาตุอาหารทุกสัปดาห์ตั้งแต่ผักกาดหอมมีอายุ 14 วัน จนถึงอายุการเก็บเกี่ยว (42 วัน) ร่วมกับการปรับค่า EC และ pH ของสารละลายธาตุอาหารให้อยู่ในช่วง 1.5-1.8 mS/cm และ 5.5- 6.0 ตลอดการทดลอง สามารถควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมได้ ส่วนในกรณีที่ไม่มีเชื้อรา *P. aphanidermatum* พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดหอมได้เป็นอย่างดี

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

จิระเดช แจ่มสว่าง และ วรรณวิไล อินทนู. 2542. **การใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาควบคุมโรคพืช โครงการเกษตรกู้ชาติ.** ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม. 90 น.

_____. 2545. การผลิตเชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสดด้วยเทคนิคอย่างง่ายเพื่อใช้ควบคุมโรคเน่าระดับดินของถั่วฝักยาวที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii*. *ใน* **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 40 4-7 กุมภาพันธ์ 2545.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

_____. 2546. การควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มา, น. 11-53. *ใน* จิระเดช แจ่มสว่าง, บรรณาธิการ. **การควบคุมโรคพืชและแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี.** ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.

ดิเรก ทองอร่าม. 2546. **การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน หลักการจัดการการผลิตและเทคโนโลยีการผลิตเชิงธุรกิจในประเทศไทย.** ธรรมรักษ์การพิมพ์. ราชบุรี.

_____. 2547. **การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน หลักการจัดการการผลิตและเทคโนโลยีการผลิตเชิงธุรกิจในประเทศไทย.** พิมพ์ครั้งที่ 2. ธรรมรักษ์การพิมพ์. ราชบุรี.

ทัศนีย์ อัตตะนันท์ และ จงรักษ์ จันทร์เจริญสุข. 2542. **แบบฝึกหัดและคู่มือปฏิบัติการ การวิเคราะห์ดินและพืช.** ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ธรรมศักดิ์ ทองเกตุ. 2544. **การปลูกผักกาดหอมโดยไม่ใช้ดินด้วยเทคนิค NFT.** สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

ประสาทพร สมิตะมาน. 2534. **โรคพืชวิทยา.** พิมพ์ครั้งที่ 2. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

พรหมมาศ คูหากาญจน์ และ อิทธิสุนทร นันทกิจ. 2548. ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี และจุลินทรีย์บริเวณเขตรากพืชที่แยกได้จากสลัดที่ปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Pythium myriotylum*. *ใน* **การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 5.** ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, โรงแรมเวลคัมจอมเทียนบีช พัทยา ชลบุรี.

พายัพ ยังปักษี และทีมงานเฉพาะกิจ. 2543. **คู่มือการปลูกพืชไร้ดินเชิงพาณิชย์ ไฮโดรโปนิกส์.** ไฟว์ อีดิเตอร์, สมุทรปราการ.

ไพโรจน์ จ๋วงพานิช. 2525. **หลักวิชาโรคพืช.** พิมพ์ครั้งที่ 2 . สารมวลชน, กรุงเทพฯ.

มนูญ ศิริพงศ์. 2544. **การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินสู่การปฏิบัติการในประเทศไทย.** คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี.

ลาวัลย์ จีระพงษ์, แสงมณี ชิงดวง และ สุอาภา ดิสถาพร. 2540. **เอกสารวิชาการเชื้อราไตรโคเดอร์-มา.** กรมส่งเสริมการเกษตร และกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. 37 น.

วันทนีย์ ชุ่มจิตต์. 2547. **การใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาเพื่อควบคุมโรคพืช.** สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 6 จันทบุรี กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 64 น.

วิจัย รักวิทยาศาสตร์. 2546. **ราวิทยาเบื้องต้น.** จามจุรีโปรดักท์, กรุงเทพฯ. 351 น.

สุขุมวัฒน์ พีระพันธุ์. 2531. **โรครากและโคนเน่าของถั่วเขียวที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (edson) fitzp และ *P. deliens* meurs และการป้องกันกำจัด.** วิทยานิพนธ์ ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อาณัฐ ตันโช. 2547. **ไฮโดรโพนิกส์ เทคนิคการปลูกพืชไร้ดิน.** เกษตรกรรมธรรมชาติ 12 : 55-63.

อารักษ์ ธีรอำพน. 2544. **เอกสารประกอบการฝึกอบรมการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน.** สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ร่วมกับสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ.

Bates, M.L. and M.E. Stanghellini. 1984. Root rot of hydroponically grown spinach caused by *Pythium aphanidermatum* and *Pythium dissotocum*. **Plant Dis.** 68 : 989-991.

Barnett, H.L. and B.B. Hunter. 1972. **Illustrated Genera of Imperfect Fungi.** Burgess Publishing Company, Minnesota. 88 p.

Benhamou, N. and I. Chet. 1993. Hyphal interactions between *Trichoderma harzianum* and *Rhizoctonia solani*: Ultrastructure and gold cytochemistry of the mycoparasitic process. **Phytopathology** 83: 1062-1071.

Chamswarng, C., P. Leeprasert, and S. Chantana- o- tan. 1985. Population assessments of soil-borne plant pathogens, *Sclerotium rolfsii*, *Pythium* spp., *Phythopthora* spp. In soil and their correlation to disease incidence on intercropping system. *In* **Cropping Programmes KU-ACNARP**. Fact. of Agri., Kasetsart Univ., Bangkok, Thailand. 80 p.

Cirulii, M. and L.J. Alexander. 1966. A comparison of pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* and different sources of resistance in tomato. **Phytopathology** 56: 1301-1304.

Cooper, A.J. 1979. **The ABC of NFT: Nutrient Film Technique.** Grower Books, London, UK. 170 p.

Eikemo, H., A. Stensvand, and A.M. Tronsmo. 2003. Induced resistance as a possible means to control diseases of strawberry caused by *Phytophthora* spp. **Plant Dis.** 87: 345-350.

Elad, Y. 2000. Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. **Crop Protect.** 19: 709-714.

_____. and I. Chet. 1987. Possible Role of nutrients in biocontrol of *Pythium* damping-off by bacteria. **Phytopathology** 77: 190-195.

Fernandez, S.P. and M. Valenzuela. 1999. First report of *Pythium paroecandrum* on *Lupinus havardii*. **Plant Dis.** 83(9): 880.

Fortnum, B.A., J. Rideout, S.B. Martin, and D. Gooden. 2000. Nutrient solution temperature affects Pythium root rot of tobacco in Greenhouse float systems. **Plant Dis.** 24(3): 289-294.

Furlani, P.R. 1999. Hydroponic vegetable production in Brazil. **Acta Hort.** 481: 777-778.

Galina, E., S. Sudo, and D.J. Siliva. 1998. **Biological control of tobacco seeding damping-off.** Brighton congress.p. 127.abstr.p13.

Grondona, I., R. Hermosa, M. Tejada, M.D. Gomis, P.F. Mateos, P.D. Bridge, E. Monte, and I. Garcia-Acha. 1997. Physiological and biochemical characterization of *Trichoderma harzianum*, a biocontrol agent soilborne fungal plant pathogens. **Appl. Environ. Microbiol.** 63: 3189-3198.

Grosh, R., A. Kofoet, and H. Junge. 2001. Biological control of root pathogens in soilless culture using bacteria. **Acta Hort.** 548: 393-400.

Harman, G.E. 2000. Myths and dogmas of biocontrol: changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Dis.** 84: 377-393.

_____., C.R. Howell, A. Viterbo, I. Chet, and M. Lorito. 2004. *Trichoderma* species-opportunitic, avirulent plant symbionts. **Nature reviews/Microbiology** 2: 43-56.

Hawksworth, D.L., B.C. Sutton, and G.C. Ainsworth. 1983. **Ainsworth and Bidty's dictionary of fungi.** 7th ed., Common-wealth Myco. Inst., Kew. Surrey.

Howell, C.R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. **Plant Dis.** 87(1): 4-10.

Intana, W., C. Chamswarng, W. Intanoo, C. Hongprayoon, and K. Sivasitheparam. 2003. Potential of *Trichoderma harzianum* isolates for growth promotion and biocontrol of damping-off of cucumber. **Thai J. Agric. Sci.** 36(3): 305-318.

Jenkins, S.F. and C.W. Averre. 1983. Root diseases of vegetables in hydroponic culture systems in North Carolina greenhouses. **Plant Dis.** 67: 468-970.

Johnson, L.F. and E.A. Curl. 1972. **Methods of research on the soil borne plant pathogens.** Burgess Publishing Company, Minnesota. 241p.

Johnstone, M., H. Yu, W. Lio, E. Leonardo, J. Sutton, and B. Grodzinski. 2004. Physiological changes associated with Pythium Root rot in hydroponic lettuce. **Acta Hort.** 635: 67-71.

Jordà, J.D., M.D. Bermúdez, M. Juárez, M. Cerdán and J. Sánchez-Andréu. 2004. Behaviour of FeEDDHA-isomers in nutrient solutions. **Acta Hort.** 644: 463-468.

Kharbanda. P.D., J. Yang, M. Mirza, and W. Eriksen. 2003. Protection from Pythium root rot in cucumber using *Paenibacillus polymyxa* in hydroponic system. **Phytopathology** 93(6): 545(supplement).

Labuschagne, N., C. Gull, and F.C. Wehner. 2002. Report of root rot caused by *Pythium* F-Group on hydroponically grown celery in South Africa. **Plant Dis.** 86(4): 441.

_____. 2003. Root rot and stunting of hydroponically grown endive, Fennel, and Sorrel caused by *Pythium* F-group in South Africa. **Plant Dis.** 87(7): 875.

Lo, C.-T, E.B. Nelson, and G.E. Harman. 1996. Biological control of turfgrass diseases with a rhizosphere completent strain of *Trichoderma harzianum*. **Plant Dis.** 80(7): 736-741.

Lorito, M., C.K. Hayes., C. Peterbaver, and G.E. Harman. 1994. Synergistic interaction between cell wall degrading enzymes and different antifungal compounds enhances inhibition of spore germination. **Microbiol.** 140: 623-629.

Lin, Y.S., Y.H. Gung, and J.H. Huang. 2002. Control of Pythium root rot of vegetable pea seedlings in soilless cultural system. **Acta Hort.** 578: 221-229.

Mathre, D.E., R.J. Cook, and N.W. Callan. 1999. From discovery to use: Traversing the world of commercializing biocontrol agents for plant disease control. **Plant Dis.** 83(11): 972-983.

Migheli, Q., G.-C. Luis, D. Laura, and R.-V. Daniel. 1998. Transformants of *Trichoderma longibrachiatum* overexpressing the β-1,4-endoglucanase gene egall show enhanced biocontrol of *Pythium ultimum* on cucumber. **Phytopathology** 88(7): 673-677.

Mirza, M., W. Chen, J. Yang, and P.D. Kharbanda. 2001. **Evaluation of *Paenibacillus polymyxa* PKB_1 For control Pythium disease of cucumber in hydroponic systems.** Abstracts, The canadian Phytopathological Society annual meeting. London, Ontario.

Nesmith,W. n.d. **Disease potential in Float-Transplant production system.** Available Source: http://www.ca.ukg.edu/agcollege/Plantpathology/PPAExten/PPFShtml, November 15, 2003.

Papavizas, G.E. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium* : Biology, ecology and potential for biocontrol. **Ann. Rev. Phytopathol.** 23: 23-54.

Paulitz, T.C. 1997. Biological control of root pathogens in soilless and hydroponic systems. **HortSci.** 32: 193-196.

_____. 2001. Biological Control in Greenhouse Systems. **Annu. Rev. Phytopathol**. 39: 103-133.

_____. and C. Chen. n.d. **Evidence for induced systemic resistance as a machanism for disease suppression in hydroponic systems.** Available Source: http:// freetrafficblitz.com/pop ? 7525&Ticket = dMzX, August 26, 2003.

Plaats-Niterink, A.J. van der. 1981. **Monograph of the genus *Pythium*. Stud. Mycol.** 21: 242 p.

Postma, J., M.J.E.I.M. Willemsen-deklien, H. Rattink, and E.A. van Os. 2001. Disease suppressive soilless culture system; characterization of its microflora. **Acta Hort.** 554: 323-331.

Rankin, L. and T.C. Paulitz. 1994. Evaluation of rhizosphere bacteria for biological control of *Pythium* root rot of greenhouse cucumbers in hydroponic culture. **Plant Dis.** 78: 447-451.

Rey, P., F. Déniel, V. Vasseur, Y. Tirilly, and N. Benhamou. 2001. Evolution of *Pythium* spp. populations in soilless cultures and their control by active disinfecting methods. **Acta Hort.** 554: 341-347.

Rifai, M.A. 1969. A Revision of the genus *Trichoderma*. **Mycol. Papers. C.M.I.** 116:1-56.

Riker, A.J. and R.S. Riker. 1936. **Introduction to Research on Plant Disease.** John S. Swift C0., St. Louis. Mo. 117p.

Rose, S., R. Yip, and Z.K. Punja. 2004. Biological control of *Fusarium* and *Pythium* root rots on greenhouse cucumbers grown in rockwool. **Acta Hort.** 635: 73-78.

Runia, W.T. 1995. A review of possibilities for disinfection of recirculation water from soilless cultures. **Acta Hort.** 382: 221-229.

_____. and J.J. Amsing. 2001. Lethal temperatures of soilborne pathogens in recirculation water from closed cultivation systems. **Acta Hort.** 554: 333-339.

Samuels, G.J. 1996. *Trichoderma*: a review of biology and systematics of the genus. **Mycol. Res.** 100: 923-935.

Schaad, N.W. 1980. **Laboratory Guide for Identification of Plant Pathologenic Bacteria.** The Amer. Phytopathol, Soc., St. Paul, Minnesota. 72p.

Schnitzler, W.H. 2004. Pest and disease management of soilless culture. **Acta Hort.** 648: 191-203.

Shew, H.D. 1991. **Compendium of tobacco diseases.** APS. Press, St. Paul, MN.

Shinohara, Y. 1999. **Proceeding of Possibility of Hydroponics Application in Thailand.** 21-23 September 1999. Department of Agro-Industrial Technology, Faculty of Applied Science, King Mongkut's Institute of Technology North Bangkok in cooperation with University Department.

Stanghellini, M.E., J.E, Adaskareg, and S.L. Rasmussen. 1990. Pathogenesis of *Plasmopara lactucae-radicis*, a systematic root pathogen of cultivated lettuce. **Plant Dis.** 74 : 173-178.

_____., M.E. and S.L. Rasmussen. 1994. Hydroponics a solution for zoosporic pathogens. **Plant Dis.** 78: 1129-1138.

_____., M.E. and W.C. Kronland. 1986. Yield loss in hydroponically grown lettuce attributed to subclinical infection of feeder rootlets by *Pythium dissotocum*. **Plant Dis.** 70 : 1053-1056.

Tu, J.C. 2004. An integrated control measure for *Pythium* root rot of hydroponically grown cucumbers. **Acta Hort.** 644: 571-574.

_____. and W. Zhang. 2000. Comparison of heat, sonication and ultraviolet irradiation in eliminating *Pythium aphanidermatum* zoospores in recirculating nutrient solution. **Acta Hort.** 532: 137-142.

Vannacci, G. and M.L. Gullino. 2000. Use of biocontrol agents soil-borne pathogens: results and limitations. **Acta Hort.** 532: 79-87.

Van Os, E.A. 1999. State of the art of Dutch and Belgian greenhouse horticulture and hydroponics. **Acta Hort.** 481: 765-767.

_____. 2001. Design of sustainable hydroponic systems in reaction of relation to environment-friendly disinfection method. **Acta Hort.** 548:197-205.

_____., T. Pettitt, J. Postma, and W. Wohank. 2004. Microbial optimization in soilless cultivation, a replacement for methyl bromide. **Acta Hort.** 635: 47-58.

Waechter-Kristensen, B., P. Sundin, and P. Jensén. 1994. Degradation of phenolic acids by bacteria isolated from hydroponic tomato culture with circulating nutrient solution. **Acta Hort.** 381: 611-614.

_____., P. Sundin, U.E. Gertsson, M. Hultberg, S. Khalil, P. Jensén, B. Berkelmann-Loehnertz, and W. Wohanka. 1997. Management of microbial factors in the rhizosphere and nutrient solution of hydroponically grown tomato. **Acta Hort.** 450: 335-339.

_____., S. Caspersen, S. Adalsteinsson, P. Sundin, and P. Jensén. 1999. Organic compounds and micro-organisms in closed, hydroponic culture: occurrence and effects on plant growth and mineral nutrition. **Acta Hort.** 481: 197-204.

_____. and U.E. Gertsson. 1994. Prospects for microbial stabilization in the hydroponic culture of tomato using circulating nutrient solution. **Acta Hort**. 361: 382-387.

Yedidia, I., A.K. Srivastva, Y. Kapunik, and I. Chet. 2001. Effect of *Trichoderma harzi*anum on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. **Plant and Soil** 235(2): 235-242.

_____., N. Benhamou, and I. Chet. 1998. **Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativas* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*.** Available Source: http://aem.asm.org/cgi/content/full/65/3/1061, August 26, 2003.

Zinnen, T.M. 1988. Assessment of plant diseases in hydroponic culture. **Plant Dis.** 72(2): 96-99.

Zhou, T. and T.C. Paulitz. 1993. *In vitro* and *in vivo* effects of *Pseudomonas* spp. on *Pythium aphanidermatum*: zoospore behavior in exudates and on the rhizoplane of bacteria-treated cucumber roots. **Phytopathology** 83: 872-876.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

สูตรอาหารเหล่านี้ผสมกับน้ำกลั่น 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

1. Potato Dextrose Agar (PDA) (Riker and Riker, 1936)

มันฝรั่ง	200	กรัม
Dextrose	20	กรัม
ผงวุ้น	12	กรัม

2. สูตรอาหาร Modified BNPRA สำหรับแยกเชื้อรา *Pythium* spp. (Chamswarng *et al*., 1985)

เตรียมโดยนำ stock solution ของ Modified BNPRA ดังส่วนผสมข้างล่างมาผสมกับอาหาร PDA ที่อุณหภูมิประมาณ 40-50 องศาเซลเซียส ในอัตรา 1 : 9 โดยปริมาตร ก่อนเทอาหารเลี้ยงเชื้อ

สูตร stock solution ของ Modified BNPRA

Distilled water	100	มิลลิลิตร
Mycostatin	0.5	มิลลิลิตร
Ampicillin	0.5	มิลลิลิตร
Benomyl	0.02	กรัม
PCNB	0.025	กรัม
Rifampicin	0.01	กรัม
Rose Bengal	0.005	กรัม

3. Nutrient Glucose Agar (NGA) (Schaad, 1980)

Beef extract	3.0	กรัม
Bacto peptone	5.0	กรัม
Glucose	2.5	กรัม
ผงวุ้น	15	กรัม

4. Martin's Medium (Johnson and Curl, 1972)

Agar	15	กรัม
KH_2PO_4	1.0	กรัม
$MgSO_4 7H_2O$	0.5	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Dextrose	10	กรัม
*Rose bengal red (1%)	0.032	กรัม
Distilled water	1.0	ลิตร
**Streptomycin	100	มิลลิกรัม

*ใส่หลังจากอาหารเดือดยกลงจากเตาคนให้เข้ากันได้อาหารสีชมพูเข้มจึงบรรจุใส่ภาชนะก่อนนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

**ใส่หลังการนึ่งฆ่าเชื้อก่อนเท Plate

ภาคผนวก ข

สูตรสารละลายธาตุอาหาร

ดัดแปลงจาก Cooper (1979) โดยอาจารย์ยงยุทธ เจียมไชยศรี (2546)

Stock A

Calcium nitrate	1,120	กรัม
FeEDDHA	100	กรัม

ผสมน้ำให้ได้ปริมาตรรวม 5 ลิตร

Stock B

Potassium nitrate	590	กรัม
Magnesium sulfate	590	กรัม
Potassium phosphate (mono)	270	กรัม
Nic-spray®	30	กรัม

ผสมน้ำให้ได้ปริมาตรรวม 5 ลิตร

นิค-สเปรย์ (Nic-spray) : ประกอบด้วยธาตุอาหาร 8 ชนิด ดังต่อไปนี้

แมกนีเซียม(MgO)	7.50	เปอร์เซ็นต์
เหล็ก(Fe)	1.80	เปอร์เซ็นต์
ทองแดง(Cu)	1.90	เปอร์เซ็นต์
แมงกานีส(Mn)	2.00	เปอร์เซ็นต์
สังกะสี(Zn)	2.00	เปอร์เซ็นต์
โบรอน(B)	0.023	เปอร์เซ็นต์
โมลิบดินัม(Mo)	0.050	เปอร์เซ็นต์
นิเกิล(Ni)	0.050	เปอร์เซ็นต์

จำหน่ายโดย: บริษัท เวสโก้เคมี ประเทศไทย จำกัด

ภาคผนวก ค

วิธีการผลิตเชื้อรา *Trichoderma* ชนิดสด (จิระเดช และวรรณวิไล, 2545)

1. ใช้ปลายข้าวหรือข้าวสาร 3 แก้ว (1 แก้ว มีความจุประมาณ 250 ซีซี) ประมาณ 600 กรัม ใส่น้ำสะอาด 2 แก้ว หรือประมาณ 0.5 ลิตร หุงด้วยหม้อหุงข้าวไฟฟ้า เมื่อสุกแล้วจะได้ข้าวสุก ประมาณ 1 กิโลกรัม

2. เมื่อสวิตช์ของหม้อหุงข้าวตัดไฟ ใช้ทัพพีซุยข้าวในหม้อก่อนตักข้าวที่หุงสุกใหม่ ๆ ใส่ถุงพลาสติกทนร้อนขนาด 8 x 12 นิ้ว ถุงละ 2 แก้ว (ประมาณ 250-300 กรัม) วางถุงข้าวตามแนวราบ รีดอากาศออกจากถุง แล้วพับปากถุงไว้ รอให้ข้าวอุ่นหรือเกือบเย็น จึงเท (เหยาะ) หัวเชื้อรา *Trichoderma* ใส่ลงในถุงพลาสติกเพียงเล็กน้อย (หัวเชื้อรา *Trichoderma* 1 ขวด บรรจุ 50 กรัม ใส่ในข้าวสุกได้จำนวน 80 ถุง หรือประมาณ 20 กิโลกรัม)

3. หลังใส่หัวเชื้อรา *Trichoderma* แล้ว มัดปากถุงด้วยหนังยางให้แน่น (มัดให้สุดปลายถุง) เขย่าหรือขยำเบา ๆ ให้หัวเชื้อคลุกเคล้ากับข้าวสุกทั่วทั้งถุง รวบถุงให้มีลมพองตรงบริเวณปากถุงที่รัดยางไว้ แล้วใช้ปลายเข็มเจาะถุงพลาสติกใต้หนังยางที่รัดไว้เล็กน้อย ประมาณ 15-20 จุดต่อถุง (เพื่อให้มีอากาศถ่ายเทเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Trichoderma*) แล้วแผ่ถุงข้าวสุกให้แบนราบ ดึงตรงส่วนกลางของถุงให้พองขึ้น เพื่อให้ภายในถุงมีอากาศพอเพียง

4. บ่มเชื้อไว้ในที่ที่มีอากาศถ่ายเท มีแสงสว่างส่องถึง ไม่ตากแดด ปลอดภัยจากมด ไร และสัตว์อื่น ๆ เมื่อครบ 2 วัน ขยำถุงเบา ๆ เพื่อให้เส้นใยของเชื้อกระจายทั่วทั้งถุง บ่มเชื้อต่ออีก 5 วัน ก่อนนำไปใช้ รวมระยะเวลาของการบ่มเชื้อคือ 7 วัน

คำแนะนำ : ในการบ่มเชื้อ ควรวางถุงเชื้อในบริเวณที่ได้รับแสงสว่างจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ (หลอดนีออน) โดยให้แสงสว่างนาน 10-12 ชั่วโมงต่อวัน เพื่อกระตุ้นการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Trichoderma* เชื้อที่ขึ้นดีจะมีสีเขียวเข้ม

ข้อควรระวังในการผลิตเชื้อรา *Trichoderma* ชนิดสด

1. ควรหุงปลายข้าวด้วยหม้อหุงข้าวไฟฟ้าอัตโนมัติเท่านั้น เพราะการใช้หม้อหุงข้าวชนิดที่ใช้แก๊ส อาจทำให้ข้าวไหม้ หรือการหุงข้าวแบบเช็ดน้ำ มักได้ข้าวที่แฉะเกินไป ปลายข้าวที่หุงจนสุกด้วยหม้อหุงข้าวไฟฟ้าจะมีลักษณะเป็นไตขาวอยู่บ้างจัดเป็นลักษณะที่ดี

2. ต้องตักปลายข้าวที่หุงสุกแล้วใส่ถุงพลาสติก ขณะที่ข้าวกำลังร้อน เพื่อให้ความร้อนในถุงข้าวทำลายจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนอยู่ในถุงข้าว

3. การใช้เข็มแทงรอบบริเวณปากถุงที่รัดยางไว้มีความสำคัญอย่างยิ่ง ควรแทงไม่น้อยกว่า 15-20 จุดต่อถุง เพราะถ้าอากาศไม่สามารถระบายถ่ายเทได้ดี เชื้อจะเจริญไม่ทั่วทั้งถุง (ก้นถุงยังเห็นข้าวเป็นสีขาว) และห้ามใช้ไม้แหลมหรือตะปูหรือวัตถุแหลมคมอื่นแทงถุง เพราะอาจทำให้เกิดรูขนาดใหญ่เกินไปทำให้มด ไร หรือจุลินทรีย์ชนิดอื่นเข้าไปปนเปื้อนในถุงได้

4. ควรบ่มเชื้อไว้ในบริเวณที่ร่มและเย็น (ประมาณ 25-30 องศาเซลเซียส) ไม่ให้ถูกแสงแดด และให้เชื้อได้รับแสงสว่างจากหลอดนีออนอย่างเพียงพอ อย่างน้อย 10-12 ชั่วโมง

5. อย่าลืมขยำข้าวเมื่อบ่มเชื้อครบ 2 วัน (หลังใส่เชื้อ) และกดข้าวให้แผ่แบนราบมากที่สุด หลังขยำข้าวแล้วดึงถุงให้โป่งขึ้นเพื่อให้มีอากาศในถุง ห้ามวางถุงทับซ้อนกัน

6. ป้องกันอย่าให้มด แมลง หรือสัตว์มากัดแทะถุงข้าว

7. ถ้าพบเชื้อสีชมพู สีส้ม สีเหลือง หรือสีดำ ในถุงเชื้อใด ให้นำถุงเชื้อนั้นไปทิ้งขยะหรือทิ้งใส่หลุมชนิดฝังกลบ โดยไม่ต้องเปิดปากถุง

8. ไม่ควรใช้เชื้อสดที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อบนข้าวสุก เป็นหัวเชื้อเพื่อการผลิต ขยายเชื้อต่อไป เพราะจะเกิดการปนเปื้อน และเชื้อจะเสื่อมคุณภาพ และประสิทธิภาพ