ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

ปริญญา

โรคพืช	โรคพืช
สาขา	**ภาควิชา**

เรื่อง ประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่เจริญครอบครองรากในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*

Efficacy of Root Colonizing Bacteria for the Control of Root Rot on Hydroponically Grown Lettuce Caused by *Pythium aphanidermatum*

นามผู้วิจัย นางสาวเพ็ญภัค เสาวภาคย์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

(รองศาสตราจารย์จิระเดช แจ่มสว่าง, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วรรณวิไล อินทนู, วท.ด.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธรรมศักดิ์ ทองเกตุ, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์พิสสวรรณ เจียมสมบัติ, Dr.Agr.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่..... **เดือน**..... **พ.ศ.**.....

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่เจริญครอบครองรากในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*

Efficacy of Root Colonizing Bacteria for the Control of Root Rot on Hydroponically Grown Lettuce Caused by *Pythium aphanidermatum*

โดย

นางสาวเพ็ญภัค เสาวภาคย์

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)
พ.ศ. 2552

เพ็ญภัค เสาวภาคย์ 2552: ประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่เจริญครอบครองรากในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาโรคพืช ภาควิชาโรคพืช
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์จิระเดช แจ่มสว่าง, Ph.D. 122 หน้า

แยกแบคทีเรียจากรากผักกาดหอม 5 ชนิดที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ Nutrient Film Technique (NFT) ด้วยวิธี tissue transplanting บนอาหาร 3 ชนิด คือ Nutrient Glucose Agar (NGA) King's Medium B (KB) และ Thornton's Standardized Agar (TSA) ได้แบคทีเรียทั้งหมด 98 ไอโซเลท เป็นแบคทีเรียแกรมบวก 46 ไอโซเลท เมื่อนำไปทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* สาเหตุโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ ด้วยวิธี Dual culture พบว่าแบคทีเรีย 11 ไอโซเลท ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในช่วง 13.0 – 64.7 เปอร์เซ็นต์ คัดเลือกแบคทีเรีย 5 ไอโซเลท ที่สามารถสร้างเอนโดสปอร์ พัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ 100 ppm โดยยังคงประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. aphanidermatum* และสามารถลดการเข้าครอบครองรากของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในระยะกล้าได้ นำแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ไปทดสอบกับผักกาดหอมในระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT พบว่าทุกไอโซเลทสามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรครากเน่าของผักกาดหอมชนิดกรีนคอส (Green Cos) ในระดับโรงเรือน เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน โดยไอโซเลท RO15 และ BH15 สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดหอมซึ่งปลูกในระบบที่ไม่มีเชื้อโรคได้

การทดสอบประสิทธิภาพของเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์และสปอร์แขวนลอยเชื้อรา *Trichoderma harzianum* (CB-Pin-01) เพื่อควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมชนิดกรีนคอสที่ปลูกแบบ NFT ทั้งแบบใช้ร่วมกันและแบบเดี่ยว อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร พบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถควบคุมโรครากเน่าได้แต่มีประสิทธิภาพต่ำกว่าเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 นำแบคทีเรียซึ่งได้พัฒนาเป็นรูปแบบผงแป้ง และผงดินไปใช้ควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมชนิดกรีนคอสที่ปลูกแบบ NFT อัตรา 30 กรัม ต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร พบว่ากรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียไอโซเลท FL17 รูปผงแป้งสูตรที่ 1 และ ไอโซเลท BH15 รูปผงดินสูตรที่ 2 สามารถช่วยให้ผักกาดหอมมีค่าน้ำหนักสดเฉลี่ยเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่มีการใส่เชื้อโรค เมื่อตรวจสอบการมีชีวิตรอดของแบคทีเรียปฏิปักษ์พบเชื้อทั้งในสารละลายธาตุอาหาร วัสดุปลูกในถ้วยเพาะกล้าและบริเวณรากของผักกาดหอมทั้งบนผิวและภายในราก จากผลการทดลองสรุปได้ว่าแบคทีเรียที่แยกได้จากรากผักกาดหอมสามารถควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมชนิดกรีนคอสที่เกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* และช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดหอมในระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT

_____ / _____ / _____

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

Penpak Saowapak 2009: Efficacy of Root Colonizing Bacteria for the Control of Root Rot on Hydroponically Grown Lettuce Caused by *Pythium aphanidermatum*. Master of Science (Agriculture), Major Field: Plant Pathology, Department of Plant Pathology. Thesis Advisor: Associate Professor Chiradej Chamswarng, Ph.D. 122 pages.

Ninety-eight isolates of root colonizing bacteria (RCB) were isolated from roots of five lettuce varieties grown in hydroponic system with Nutrient Film Technique (NFT) by using tissue transplanting technique on Nutrient Glucose Agar (NGA), King's Medium B (KB) and Thornton's Standardized Agar (TSA). Fourty-six RCB isolates were gram positive and were tested for the inhibition of mycelial growth of *Pythium aphanidermatum*, a causal agent of root rot on hydroponically grown lettuce. The result showed that 11 RCB isolates effectively inhibited mycelial growth of a pathogen by 13.0 – 64.7 %. Five selected RCB isolates with ability of endospores producing were developed for resistance to 100 ppm rifampicin antibiotic without loosing mycelial growth inhibition efficacy and ability to reduce *P. aphanidermatum* colonized seedling roots. They were tested in hydroponic culture using NFT grown. It was found that all five isolates could reduce percentage of root rot on NFT grown Green Cos lettuce at 42 days after planting. Isolates RO15 and BH15 of RCB promoted growth of lettuce grown in pathogen-non inoculated control.

Efficacy test for the control of root rot on NFT grown Green Cos lettuce by using cell suspension of antagonistic bacteria and spore suspension of *Trichoderma harzianum* (CB-Pin-01) both individually or in combination at the rate 100 ml culture/200 L nutrient solution. The results revealed that antagonistic bacteria effectively control lettuce root rot but the efficacy was lesser when compared to *T. harzianum* (CB-Pin-01). The antagonistic bacteria were developed as starch and soil powder formulations and then were tested for the control of root rot on NFT grown lettuce at the rate 30 g /200 L nutrient solution. The starch powder formulation of isolate FL17 no. 1 and soil powder formulation of isolate BH15 no. 2 promoted growth of lettuce by which they significantly increased fresh weight when compared with the pathogen inoculated control. Surviving populations of antagonistic bacteria were recovered from nutrient solution, seedling substrate, root surface and under epidermal layer of lettuce root. The study results suggested that RCB effectively controlled lettuce root rot caused by *P. aphanidermatum* and promoted growth of NFT grown Green Cos lettuce.

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร. จิระเดช แจ่มสว่าง ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร. วรรณวิไล อินทนู กรรมการวิชาเอก ที่กรุณาให้ความรู้ ทั้งในเรื่องงานวิจัย เรื่องหลักในการใช้ชีวิต คำปรึกษาและกำลังใจที่มีให้เสมอมา กราบขอบพระคุณ ผศ.ดร. ธรรมศักดิ์ ทองเกตุ กรรมการวิชารอง ดร. รัศมี ฐิติเกียรติพงศ์ และ ดร.จินตนา อันอาตม์งาม เป็นอย่างสูงที่กรุณาให้คำแนะนำ ตรวจทาน ตลอดจนแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ คุณอรรถพร สุบุญสันต์ ผู้จัดการบริษัทแม่บัวหลวงไฮโดรโพนิกส์ในความกรุณา ช่วยเหลือ แนะนำเกี่ยวกับการปลูกพืชในระบบไฮโดรโพนิกส์ ขอบพระคุณอาจารย์ยงยุทธ เจียมไชยศรี ที่เอื้อเฟื้อสูตรสารละลายธาตุอาหารพืช คุณแพรทอง ละมุล ที่คอยให้คำแนะนำ เสนอแนะแนวทางในการทดลองครั้งนี้

ขอขอบคุณทุกคนในครอบครัวเสาวภาคย์ ที่คอยเป็นกำลังใจให้ข้าพเจ้าเสมอมา ความอบอุ่น ความรู้สึกดีดี กำลังใจของพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ในห้องปฏิบัติการควบคุมโรคพืชโดยชีวภาพ ตลอดจน เจ้าหน้าที่ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสนทุกท่านที่หยิบยื่นประสบการณ์และสิ่งดีๆ ให้ข้าพเจ้าตลอดระยะเวลาที่ได้ใช้ชีวิตอยู่ในมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์แห่งนี้

ผลงานวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนคุณภาพงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา ประจำปี 2550 จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอมอบแด่ครอบครัว ครูอาจารย์ผู้ประสาทวิชา ความรู้ ตลอดจนผู้มีพระคุณทุกท่านที่ได้สนับสนุน เป็นกำลังใจตลอดมาจนสำเร็จการศึกษา

เพ็ญภัค เสาวภาคย์

เมษายน 2552

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(5)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	19
ผลและวิจารณ์	34
สรุป	91
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	93
ภาคผนวก	102
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	122

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ไอโซเลทของแบคทีเรียทั้งหมดที่แยกได้จากรากของผักกาดหอมชนิดต่าง ๆ ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ ด้วยอาหารแยกเชื้อ 3 ชนิด	36
2	ไอโซเลทของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่แยกได้จากรากของผักกาดหอมในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ด้วยวิธี Dual culture บนอาหาร Potato Dextrose Agar เป็นเวลา 3 วัน	38
3	รัศมีโคโลนีและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ของแบคทีเรียปฏิปักษ์บนอาหาร Potato Dextrose Agar	39
4	อิทธิพลของแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดผักกาดหอมในวัสดุปลูก เมื่อต้นกล้าผักกาดหอมมีอายุ 5 วัน	42
5	ประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ที่ต้านทาน rifampicin ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* บนอาหาร PDA และเปอร์เซ็นต์การเข้าครอบครองรากของแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ต้านทาน rifampicin และเชื้อรา *P.aphanidermatum* ในต้นกล้าผักกาดหอม	45
6	อิทธิพลของแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของผักกาดหอมชนิดกรีนคอสที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT ในด้านความสูงลำต้น เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน	48
7	อิทธิพลของแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมชนิดกรีนคอสที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT ในด้านจำนวนใบต่อต้น ความกว้างใบ ความยาวใบ และความสูงลำต้น เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน	50
8	อิทธิพลของแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมชนิดกรีนคอสที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT ในด้านเส้นรอบวงลำต้น ความกว้างทรงพุ่ม และความยาวราก เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน	51

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่

9 อิทธิพลของแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของผักกาดหอมชนิดกรีนคอสที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน 53

10 ปริมาณเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* และแบคทีเรียปฏิปักษ์ในสารละลายธาตุอาหาร เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนราก และดัชนีการเกิดโรค เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน 60

11 ปริมาณเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* และแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่บริเวณราก และบนวัสดุปลูกในถ้วยเพาะกล้าของผักกาดหอมชนิดกรีนคอสที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน 61

12 อิทธิพลของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมชนิดกรีนคอสที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT ในด้านจำนวนใบต่อต้น ความกว้างใบ ความยาวใบ และความสูงลำต้น เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน 66

13 อิทธิพลของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมชนิดกรีนคอสที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT ในด้านเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น ความกว้างทรงพุ่ม และความยาวราก เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน 67

14 อิทธิพลของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของผักกาดหอมชนิดกรีนคอสที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน 68

15 อิทธิพลของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนราก และดัชนีการเกิดโรค เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน 72

16 ปริมาณเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* และเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในสารละลายธาตุอาหาร บนวัสดุปลูกในถ้วยเพาะกล้า และรากของผักกาดหอมชนิดกรีนคอสที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน 75

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
17	อิทธิพลของแบคทีเรียปฏิปักษ์รูปแบบต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมชนิดกรีนคอสที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFTในด้านจำนวนใบต่อต้น ความกว้างใบ ความยาวใบ และความสูงลำต้น เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน	78
18	อิทธิพลของแบคทีเรียปฏิปักษ์รูปแบบต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมชนิดกรีนคอสที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT ในด้านเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น ความกว้างทรงพุ่ม และความยาวราก เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน	79
19	อิทธิพลของแบคทีเรียปฏิปักษ์รูปแบบต่างๆ ต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของผักกาดหอมชนิดกรีนคอสที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน	82
20	ปริมาณเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์บนวัสดุปลูกในถ้วยเพาะกล้าและรากของผักกาดหอม เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน	83
21	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนราก ดัชนีการเกิดโรค ปริมาณเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน	85

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ชุดรางปลูกระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT ซึ่งดัดแปลงโดย คุณอรรถพร สุบุญสันต์	25
2	รากของผักกาดหอมที่แสดงอาการโรครากเน่าและเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ที่เจริญบนอาหาร PDA เป็นเวลา 2 วัน	34
3	เชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่แยกได้จากรากของผักกาดหอมชนิด Butter Head	37
4	ประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* บนอาหาร PDA เป็นเวลา 4 วัน โดยวิธี Dual culture	40
5	การทดสอบแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ที่ต้านทาน rifampicin ในการยับยั้งการเข้าทำลายและครอบครองรากของเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ของผักกาดหอมในระยะกล้าใน แก้วพลาสติกขนาด 6 ออนซ์	44
6	ลักษณะเอนโดสปอร์ของแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ย้อมด้วย malachite green เมื่อแบคทีเรียปฏิปักษ์มีอายุ 48 ชั่วโมง	44
7	การเจริญเติบโตด้านความสูงของต้นกล้าผักกาดหอมชนิดกรีนคอสอายุ 14 วัน หลังเพาะเมล็ด	46
8	อิทธิพลของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ต่าง ๆ ที่เติมลงในสารละลายธาตุอาหารซึ่งมีการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa) ลงไป ต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมชนิดกรีนคอสอายุ 42 วันโดยนำผักกาดหอมในแต่ละกรรมวิธีมาถ่ายรูปเปรียบเทียบกันบนรางปลูก	54
9	อิทธิพลของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ต่าง ๆ ที่เติมลงในสารละลายธาตุอาหารซึ่งมีการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa) ลงไปต่อการพัฒนาระบบรากของผักกาดหอมชนิดกรีนคอส เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน	56
10	อิทธิพลของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่เติมลงในสารละลายธาตุอาหารซึ่งมีการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa) ลงไป ต่อการพัฒนาระบบราก ผักกาดหอมชนิดกรีนคอส เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน	73

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
11	อิทธิพลของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์รูปแบบหรือสูตรสำเร็จต่างๆต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมชนิดกรีนคอส เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน ในสารละลายธาตุอาหารเมื่อมีการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa) และ ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (- Pa)	89
12	การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เมื่อนำวัสดุปลูกในถ้วยเพาะกล้า รากของผักกาดหอมและสารละลายธาตุอาหารมาตรวจบนอาหารจำเพาะ โดยตรวจเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* บนอาหาร BNPRA และ แบคทีเรียปฏิปักษ์บนอาหาร NGA ผสม rifampicin 60 ppm	90

ประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่เจริญครอบครองรากในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*

Efficacy of Root Colonizing Bacteria for the Control of Root Rot on Hydroponically Grown Lettuce Caused by *Pythium aphanidermatum*

คำนำ

การปลูกพืชแบบไม่ใช้ดินแบบระบบไฮโดรโพนิกส์ถือว่าเป็นทางเลือกหนึ่งของเกษตรกรปลูกผักในปัจจุบัน เนื่องจากมีข้อดีคือ สามารถผลิตพืชได้ต่อเนื่องตลอดทั้งปี พืชสามารถเจริญเติบโตได้เร็ว ให้ผลผลิตสูง ไม่มีปัญหาเรื่องวัชพืช ปลูกได้ในทุกสภาพพื้นที่ ลดแรงงานในกระบวนการผลิต สามารถควบคุมสภาพแวดล้อมภายในโรงเรือนและปรับธาตุอาหารให้เหมาะสมกับพืชแต่ละชนิดได้ ลดการปนเปื้อนจากสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชในผลผลิต แต่ทั้งนี้ไม่ว่าจะมีเทคโนโลยีที่มาช่วยในการผลิตได้ดีเพียงใด ก็ยังสามารถพบกับปัญหาในการผลิต ปัญหาทางด้านโรคพืชถือว่าเป็นปัญหาที่สำคัญและมักจะพบได้บ่อย เพราะเชื้อสาเหตุโรคสามารถเข้าสู่ระบบการผลิตได้ง่าย โดยอาจจะมีการปนเปื้อนมากับวัสดุอุปกรณ์ทางการเกษตรที่ใช้ ตลอดจนการปนเปื้อนมากับฝุ่นละอองต่างๆ ในบริเวณปลูก ติดมากับวัสดุปลูก ตลอดจนติดมากับผู้ปฏิบัติงานภายในโรงเรือน เมื่อเกิดโรคขึ้นในระบบเชื้อโรคก็จะสามารถแพร่ไปยังต้นปกติและก่อให้เกิดความเสียหายได้ โดยเฉพาะเชื้อราในกลุ่ม *Pythium* spp. ซึ่งจัดเป็นเชื้อราสาเหตุโรคพืชสำคัญที่พบมากในระบบไฮโดรโพนิกส์ เพราะสามารถเจริญได้อย่างรวดเร็ว สามารถสร้าง zoospore ที่ว่ายน้ำได้ ทำให้เชื้อสามารถแพร่กระจายไปกับน้ำและสารละลายธาตุอาหารในระบบได้อย่างรวดเร็ว เมื่อเชื้อราชนิดนี้เข้าทำลายพืชจะส่งผลกระทบต่อปริมาณ และคุณภาพของผลผลิตที่จะได้รับ (Paulitz, 1997; แพรทอง, 2549; ดิเรก, 2547) จึงจำเป็นต้องมีการป้องกันและกำจัดโรคที่เกิดขึ้นในระบบการปลูก การใช้สารเคมีในระบบไฮโดรโพนิกส์เป็นสิ่งที่ควรระมัดระวังเป็นอย่างมาก เนื่องจากอาจจะมีสารตกค้างในผลผลิตได้ ดังนั้นในกระบวนการผลิตจึงต้องมีความระมัดระวังในการใช้สารเคมี

การควบคุมโรคในสภาพโรงเรือนจึงมุ่งเน้นไปที่การหลีกเลี่ยง การป้องกัน และการกำจัดเชื้อสาเหตุโรคที่ติดมาในระบบปลูก การควบคุมโรคพืชโดยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มี 3 แนวทางคือ ควบคุมปริมาณเชื้อโรคโดยชีววิธี ป้องกันพื้นผิวของพืชโดยชีววิธี และการสร้างภูมิคุ้มกันโรค

รวมถึงการชักนำให้พืชต้านทานโรค (จิระเดช, 2549) นอกเหนือจากการใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* ในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดที่เกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* แล้ว (แพรทอง, 2549) แบคทีเรียปฏิปักษ์เป็นจุลินทรีย์อีกกลุ่มหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ควบคุมโรครากเน่าได้ดี (พรหมมาศ, 2548) แบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้รวดเร็ว สร้างปฏิชีวนสารได้ดี ปรับตัวได้ง่ายในสภาพแวดล้อม แบคทีเรียปฏิปักษ์ที่นิยมนำไปใช้ในการควบคุมโรคในระบบปลูกพืชแบบไม่ใช้ดินได้แก่ แบคทีเรียในกลุ่มของ *Pseudomonas* spp. และ *Bacillus* spp. ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกหาแบคทีเรียที่สามารถเจริญครอบครองรากพืชในธรรมชาติและมีความสามารถในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ เพื่อนำไปใช้ในการป้องกันและกำจัดเชื้อสาเหตุโรคในระบบปลูก และยังเป็นการหลีก เลี่ยงการใช้สารเคมีในระบบการปลูกพืชแบบไฮโดรโพนิกส์ได้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อแยกและคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถเจริญครอบครองรากของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์

2. เพื่อทดสอบความสามารถของแบคทีเรียที่แยกได้จากรากของผักกาดหอมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* สาเหตุโรครากเน่าของผักกาดหอมบนอาหารเลี้ยงเชื้อในระดับห้องปฏิบัติการ

3. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่คัดเลือกแล้ว มาใช้ในการควบคุมเชื้อรา *P. aphanidermatum* เพื่อลดโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT (Nutrient Film Technique)

การตรวจเอกสาร

การปลูกพืชแบบไม่ใช้ดินมาจากรากศัพท์ภาษาอังกฤษว่า soilless culture หมายถึงการปลูกพืชในวัสดุปลูกที่ไม่ใช้ดินเป็นส่วนผสม อาจจะเป็นการปลูกในวัสดุปลูกอินทรีย์หรืออนินทรีย์ที่ไม่มีการปนเปื้อนของดิน เช่น การใช้กรวด ทราย ใยหิน (rockwool) พีท (peat) เพอร์ไลท์ (perlite) เวอร์มิคูไลท์ (vermiculite) แกลบดิบ แกลบเผา ขุยมะพร้าว หรือปลูกในสารละลายซึ่งตรงกับคำในภาษาอังกฤษว่า hydroponics ที่มาจากภาษากรีก 2 คำ คือคำว่า hydro หมายถึง น้ำ และ ponos หมายถึง แรงงานหรือการทำงาน นอกจากคำนี้แล้วยังมีคำอื่นที่นำมาใช้เรียกการปลูกพืชแบบไม่ใช้ดิน ได้แก่ water culture, true hydroponics, hydro culture, nutriculture และ chemiculture คำว่า hydroponics ได้ถูกนำมาใช้ในครั้งแรกในปี ค.ศ. 1929 โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวอเมริกันชื่อ Pro. Dr. William F. Gericke แห่งมหาวิทยาลัยแคลิฟอร์เนีย ที่ได้ทำการทดลองปลูกมะเขือเทศในสารละลายแล้วได้ต้นพืชที่สูงถึง 25 ฟุต ต่อมาจึงมีการพัฒนาเทคโนโลยีการปลูกพืชแบบไม่ใช้ดินจากในห้องทดลอง มาผลิตเป็นรูปแบบในเชิงการค้าโดย ในปี ค.ศ. 1936 เริ่มมีการผลิตพืชเชิงธุรกิจโดยใช้กรวดเป็นวัสดุในสหรัฐอเมริกา ในปี ค.ศ. 1939 – 1945 โฮกแลนด์และอาร์นอน (Hoagland and Arnon) ได้พัฒนาสูตรละลายธาตุอาหารพืชขึ้นซึ่งเป็นสูตรพื้นฐานที่นักวิทยาศาสตร์รุ่นหลังได้ใช้ในการศึกษาต่อมาและรู้จักกันในนามว่า “สูตรสารอาหารเพื่อการปลูกพืชของโฮกแลนด์ (Hoagland’s solution)” ในปี ค.ศ. 1946 – 1948 ดักลาส (J. Sholto Douglas) ทำการทดลองปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินที่สถานีค้นคว้าวิจัยเบงกอล เมืองดาร์จิลิงซึ่งเป็นพื้นที่ที่ตั้งอยู่ในเขตมรสุมในประเทศอินเดีย ได้มีการพัฒนาระบบปลูกที่ใช้วัสดุเป็นอนินทรียสาร เช่น ทราย และ กรวดเรียกว่าระบบเบงกอล (The Bengal System) โดยการปลูกที่ให้สารอาหารพืชจากทางใต้วัสดุปลูก จากนั้นการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ได้มีการพัฒนาต่อมาจนถึงขั้นดำเนินการในรูปแบบบริษัท บริษัทแรกที่ดำเนินธุรกิจเกี่ยวกับระบบการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินก่อตั้งขึ้นเมื่อปี ค.ศ. 1963 ที่มลรัฐโอไฮโอ (Ohio) และที่เกาะเวกในมหาสมุทรแปซิฟิก นอกจากจะผลิตผัก ผู้ผลิตในสหรัฐอเมริกา ยังนิยมปลูกไม้ดอกด้วย เช่น คาร์เนชั่น แกลดิโอลัส และเบญจมาศ (มนูญ, 2544; โสระยา, 2544; ดิเรก, 2547; Douglas, 1947; Hoagland and Arnon, 1950)

ระบบการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินแบ่งตามวิธีการปลูก (ดิเรก, 2547; มนูญ, 2544 ; โสระยา, 2544)

1. การปลูกพืชโดยให้รากลอยอยู่ในอากาศ (Aeroponics)

2. การปลูกพืชในวัสดุปลูก (Substrate culture)

2.1 วัสดุปลูกที่เป็นอนินทรียสาร

- วัสดุที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ เช่น ทราย (sand) ก้อนกรวด (gravel) หินเกล็ด หินภูเขาไฟหรือภูไมซ์ (pumice) หินซีสท์ (schiste)

- วัสดุที่ผ่านกระบวนการโดยใช้ความร้อน เช่น ดินเผา (ceramic) เม็ดดินเผา (expanded clay) ใยหินหรือร็อควูล (rockwool) เพอร์ไลท์ (perlite) เวอร์มิคูไลท์ (vermiculite) ไฮโดรตรอน (hydrotron) และถ่านแกลบหยาบที่ได้จากการเผาแกลบสด

- วัสดุสังเคราะห์ เช่น เม็ดโฟม แผ่นฟองน้ำ สารดูดความชื้นและเส้นใยพลาสติก

- วัสดุเหลือใช้จากโรงงาน/โรงสี เช่นเศษอิฐจากการทำอิฐมอญ เศษดินเผาจากโรงงานเครื่องปั้นดินเผา ขี้เถ้าแกลบ (charcoal husk)

2.2 วัสดุปลูกที่เป็นอินทรียสาร

- วัสดุที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ เช่น ฟางข้าว ขี้เลื่อย (sawdusts) เปลือกถั่ว เปลือกไม้ เปลือกข้าวหรือแกลบ (rice-hulls) พีท (peat)

- วัสดุเหลือใช้จากโรงงาน/โรงสี เช่น ขุยมะพร้าว (coconut coir) แกลบสด กากชานอ้อยจากโรงงานน้ำตาล

3. การปลูกพืชในสารละลายธาตุอาหารพืช (Water Culture หรือ Hydroponics)

3.1 การปลูกแบบระบบให้สารละลายธาตุอาหารพืชไหลผ่านรากพืชเป็นแผ่นบางบนรางปลูกอย่างต่อเนื่อง (Nutrient Film Technique, NFT)

3.2 การปลูกแบบระบบให้สารละลายธาตุอาหารพืชไหลผ่านรากพืชแบบแผ่นหนาบนรางปลูกอย่างต่อเนื่อง (Nutrient Flow Technique, NFLT)

3.3 การปลูกแบบระบบให้สารละลายธาตุอาหารพืชไหลผ่านรากพืชในรางปลูกหรือท่อปลูกหรือถาดปลูกในระดับลึก (Deep Flow Technique, DFT)

3.4 การปลูกแบบระบบให้สารละลายธาตุอาหารพืชและอากาศไหลวนผ่านรากพืชในระดับลึกอย่างต่อเนื่องในถาดปลูก (Dynamic Root Floating Technique, DRFT)

3.5 การปลูกแบบระบบให้สารละลายธาตุอาหารพืชท่วมสลับระบายออกอย่างต่อเนื่อง (Flood and Drain, FAD)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของผักกาดหอม (ศรานนท์, ม.ป.ป.)

ผักกาดหอมจัดอยู่ในตระกูล Asteraceae (Compositae) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Lactuca sativa* L. มีชื่อเรียกอื่น ๆ ได้หลายชื่อ เช่น ภาคเหนือ เรียกว่า ผักกาดยี ภาคกลางเรียกว่าผักสลัด มีถิ่นกำเนิดในทวีปเอเชียและยุโรป เป็นผักที่ใช้บริโภคส่วนของใบ มีคุณค่าทางอาหารสูง นิยมบริโภคกันแพร่หลาย เป็นผักที่เจริญมาจาก *Lactuca serriola* ซึ่งเป็นวัชพืชที่สำคัญในอเมริกาเหนือ ผักกาดหอมได้รับสมญานามว่าเป็น The king of salad plant (Shoemaker, 1947) มีสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) หลายชนิด เช่น เบต้า-แคโรทีน (beta-carotene), กรดโฟลิค (folic acid), ลูทีน (lutene) (เมฆ, 2541) และเป็นผักที่นิยมปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์

ราก เป็นระบบรากแก้ว มีรากแก้วที่แข็งแรงอวบอ้วน และเจริญอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะเมื่อปลูกในดินร่วนปนทรายที่มีความชื้นเพียงพอ รากแก้วสามารถหยั่งลึกลงไปในดินได้ถึง 5 ฟุต หรือมากกว่าแต่รากแก้วจะเสียหายในขณะที่ย้ายปลูก ดังนั้นรากที่เหลือจะเป็นรากแขนง ซึ่งแผ่กระจาย

อยู่ใต้ผิวดินประมาณ 1-2 ฟุต รากมักจะอยู่รวมกันเป็นกลุ่มหนาแน่น ไม่ค่อยแพร่กว้างออกไปมากนัก อย่างไรก็ตามการย้ายปลูกนั้นมีผลดีในการช่วยให้ผักกาดหอมประเภทหัว (Head type) ห่อหัวได้ดีขึ้น

ลำต้น ในระยะแรกมักจะมองไม่ค่อยเห็น เนื่องจากมีใบปกคลุมไว้ จะเห็นชัดก็ต่อเมื่อระยะแทงช่อดอก ลักษณะลำต้นผักกาดหอมจะตั้งตรง สูงชะลูดขึ้นจนสามารถมองเห็นได้อย่างชัดเจน ลำต้นมีลักษณะอวบอ้วน ถ้าปลูกในที่ที่มีความอุดมสมบูรณ์มากๆ จะมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางถึง 2 นิ้ว ลำต้นมีลักษณะเป็นข้อสั้น แต่ละข้อจะเป็นที่เกิดของใบ

ใบ แตกออกมาจากลำต้นโดยรอบ สีใบมีตั้งแต่เขียวอ่อน เขียวปนเหลือง จนถึงสีเขียวแก่ บางพันธุ์มีสีแดงหรือน้ำตาลปนอยู่ ทำให้มีสีแดง บรอนซ์ หรือน้ำตาลปนเขียว พันธุ์ที่ห่อเป็นหัวจะมีใบหนา เนื้อใบอ่อนนุ่ม ใบจะห่อหัวอัดกันแน่นคล้ายกะหล่ำปลี ใบที่ห่ออยู่ข้างในจะเป็นมัน บางชนิดมีใบม้วนงอเปราะ มีเส้นใบเห็นได้ชัด ขอบใบมีลักษณะเป็นหยัก ขนาดและรูปร่างของใบผักกาดหอมจะแตกต่างกันตามชนิดและสายพันธุ์

ดอกและช่อดอก มีลักษณะเป็นช่อแบบที่เรียกว่า Panicle ประกอบด้วยกลุ่มของดอกที่อยู่เป็นกระจุกตรงยอด แต่ละกระจุกประกอบด้วยดอกย่อย 15-25 ดอกหรือมากกว่า ก้านช่อดอกยาวประมาณ 2 ฟุต ช่อดอกอันแรกจะเกิดที่ยอดอ่อน จากนั้นจะเกิดช่อดอกข้างตรงมุมใบขึ้นภายหลัง ช่อดอกที่เกิดจากส่วนยอดโดยตรงจะมีอายุมากที่สุด ส่วนช่อดอกอื่นๆ จะมีอายุรองลงมา กลีบดอกสีเหลือง เป็นดอกสมบูรณ์เพศ ตรงโคนเชื่อมติดกัน รังไข่มี 1 ห้อง เกสรตัวเมียมี 1 อัน มีลักษณะเป็น 2 แฉก เกสรตัวผู้ 5 อัน รวมกันเป็นยอดยาวห่อหุ้มก้านและยอดเกสรตัวเมียไว้

เมล็ด เป็นชนิดเมล็ดเดียว (achene) ซึ่งเจริญมาจากรังไข่อันเดียว มีเปลือกหุ้มเมล็ดบาง เปลือกเมล็ดจะไม่แตกเมื่อเมล็ดแห้ง มีลักษณะแบนยาว หัวท้ายแหลมเป็นรูปหอก มีเส้นเล็กๆ ลาดยาวไปตามด้านยาวของเมล็ดที่ผิวเปลือกหุ้มเมล็ด เมล็ดมีสีเทาปนครีมความยาวของเมล็ดประมาณ 4 มิลลิเมตร และกว้างประมาณ 1 มิลลิเมตร

ชนิดและพันธุ์ของผักกาดหอม (ธรรมศักดิ์, 2550; ศรานนท์, ม.ป.ป.)

แบ่งได้เป็น 3 ประเภทใหญ่ๆ ตามลักษณะคือ

1. ผักกาดหอมห่อ (Head type)

เป็นผักกาดหอมที่ใบห่อเป็นหัว เกิดจากการที่ใบเรียงซ้อนกันหนา แบ่งได้ 3 ชนิด คือ

- ชนิดห่อหัวแน่น (Crisp head) ลักษณะใบบาง กรอบ เปราะง่าย เห็นเส้นกลางใบชัดเจน ใบห่อหัวแน่นแข็งคล้ายกะหล่ำปลี ได้แก่ ชนิดเกรทเลค (Great Lake) นิวยอร์ค (New York) อิมพีเรียล (Imperial) โปรเกรสส์ (Progress)

- ชนิดห่อหัวไม่แน่น (Butter head) ลักษณะห่อเป็นหัวหลวม ใบอ่อนนุ่ม ผิวใบเป็นมัน ใบไม่กรอบเหมือนชนิดห่อหัวแน่น ชอบอากาศหนาวเย็น ไม่ทนทานต่ออากาศร้อน ได้แก่ชนิดบิ๊ก บอสตัน (Big Boston) ไวท์ บอสตัน(White Boston)

- ชนิดห่อหัวหลวมค่อนข้างยาว (Romaine or Cos) เป็นผักกาดหอมที่มีลักษณะใบยาวแคบและแข็ง ใบจะห่อเป็นรูปกลมยาวหรือกรวย ได้แก่ชนิดปารีส ไวท์ (Paris White) ไวท์ ฮาร์ท (White Heart) ลิทเติ้ล เจม (Little Gem)

2. ผักกาดหอมใบ (Leaf type)

เป็นผักกาดหอมที่มีลักษณะไม่ห่อหัว ใบจะกว้างใหญ่และหยิกเจริญเติบโตออกไปทางด้านข้าง ทนอากาศร้อนได้ดีกว่าประเภทอื่น แบ่งเป็นชนิดที่มีสีเขียวทั้งต้น และมีสีน้ำตาลทั้งต้น ได้แก่ชนิด เรดโอ๊ค (Red Oak) กรีนโอ๊ค (Green Oak) แกรนด์ แรพิด (Grand Rapid)

3. ผักกาดหอมต้น (Stem type)

เป็นผักกาดหอมที่ปลูกเพื่อใช้ลำต้นรับประทานเท่านั้น ลำต้นอวบ สูง ใบจะเกิดขึ้นต่อๆ กันไปจนถึงยอดหรือช่อดอก ลักษณะใบคล้ายผักกาดหอมใบ แต่เล็ก หนาและสีเข้มกว่า มีทั้งชนิดกลมและยาว ไม่ห่อหัว ได้แก่พันธุ์ celtuce แต่ไม่เป็นที่นิยมปลูก

สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอม (ศรานนท์, ม.ป.ป.)

สามารถเจริญเติบโตได้ดีในดินทุกชนิด ทั้งดินเหนียว ดินร่วน หรือดินร่วนปนทราย แต่สามารถปลูกผักกาดหอมได้ผลดีที่สุดในดินร่วน ซึ่งมีการระบายน้ำและระบายอากาศดี ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของดินอยู่ระหว่าง 6.0-6.8 มีความชื้นในดินพอสมควร ควรให้ได้รับแสงเต็มที่ตลอดวัน ผักกาดหอมเป็นพืชฤดูเดียว เจริญเติบโตได้ดีในสภาพอากาศเย็น ระดับอุณหภูมิที่เหมาะสมนั้น ถ้าเป็นผักกาดหอมใบจะอยู่ระหว่าง 21-26 องศาเซลเซียส แต่ถ้าผักกาดหอมห่อหัวจะอยู่ระหว่าง 15.5 -21 องศาเซลเซียส อายุการเก็บเกี่ยวขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ หากปลูกผักกาดหอมในสภาพอุณหภูมิที่สูงเกินไปจะทำให้ผักกาดหอมมีรสขมและแทงช่อดอกเร็ว แต่อย่างไรก็ตาม ผักกาดหอมสามารถปลูกได้ตลอดทั้งปี

เชื้อรา *Pythium* spp.

เชื้อรา *Pythium* มีพืชอาศัยกว้างมาก และสามารถก่อให้เกิดความเสียหายกับพืชเศรษฐกิจที่สำคัญได้หลายชนิด ทั้งพืชผักพวกตระกูลกะหล่ำ แตง บวบเหลี่ยม กระเจี๊ยบ ผักบุ้ง มะเขือเทศ ถั่วฝักยาว หน่อไม้ฝรั่ง โรครากเน่าโคนเน่าของ ยาสูบ หม่อน ถั่วเขียว ฝรั่ง สตรอเบอร์รี่ มะละกอ ในกล้าผัก *Pythium* sp. นับว่าเป็นเชื้อสาเหตุที่สำคัญและพบบ่อยที่สุด โดยเฉพาะโรคเน่าคอดิน ในระยะ pre และ post emergence เช่น *P. ultimum*, *P. debaryanum*, *P. arrhenomanes* และ *P. aphanidermatum* (ไพโรจน์, 2525; วิจัย, 2546; จิระเดช, 2549; ศักดิ์, 2537)

การจำแนกอนุกรมวิธานของเชื้อรา *Pythium* spp.

Kingdom Fungi
Division Eumycota
Subdivision Mastigomycotina
Class Oomycetes
Order Peronosporales
Family Pythiaceae
Genus *Pythium*

การเข้าทำลายพืชของเชื้อรา *Pythium* spp.

Pythium spp. เป็นจีนัสที่ใหญ่ที่สุดของเชื้อราใน Pythiaceae ประกอบด้วย 92 สปีชีส์ บางสปีชีส์เป็น saprobe และอาศัยอยู่ในน้ำขณะที่บางพวกเป็น parasite แบบชั่วคราวของพืช เส้นใยของเชื้อมีสีขาว เจริญแตกกิ่งก้านได้ดี เกิด sporangia ที่ปลายหรือกลางเส้นใย (terminal or intercalary) มีลักษณะ กลมรี sporangia งอกเป็น germ tube หนึ่งหรือหลายอัน sporangia งอกเป็นเส้นใย สั้นแล้วเกิด vesicle ที่ปลาย ซึ่งให้กำเนิด zoospores ภายใน เมื่อ zoospores ถูกปล่อยออกมาแล้ว จะว่ายน้ำระยะหนึ่ง ประมาณ 2-3 นาที แล้วแต่สภาพแวดล้อมจากนั้นก็เปลี่ยนเป็น encysted zoospores ที่ไม่มี flagella สปอร์นี้จะเข้าทำลายพืชอาศัย โดยการงอกเป็น germ tube แทงผ่านเข้าสู่เนื้อเยื่อ เชื้อเจริญเป็นเส้นใยใหม่ ทำให้เกิดโรค สปอร์ที่งอกและยังเข้าทำลายพืชไม่ได้อาจสร้าง vesicle ขึ้นใหม่ แล้วเกิด secondary zoospores ใหม่อีกได้ และ sporangia ที่งอกเป็น germ tube ก็สามารถเข้าทำลายพืชได้เช่นกัน เส้นใยสร้าง oogonia และ antheridia มาผสมกันในการขยายพันธุ์แบบใช้เพศ อาจเป็นเส้นใยในชุดเดียวกัน (homothallic) หรือต่างชุดกัน(heterothallic) ได้เป็น oospores (2n) และพักตัวอยู่ระยะหนึ่ง หรืออยู่ข้ามฤดู oospores งอกเป็นเส้นใยเจริญต่อไป หรือเจริญเป็น vesicle เพื่อให้กำเนิด zoospores ว่ายน้ำเข้าทำลายพืชต่อไป การงอกของ oospores เป็นเส้นใยนั้นก็สามารถเข้าทำลายพืชโดยตรงได้ อุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญที่ควบคุมการงอกของ sporangia และของ oospores ถ้าอุณหภูมิสูงกว่า 18 องศาเซลเซียส สปอร์จะงอกเป็น germ tube หากต่ำกว่า 10 – 18 องศาเซลเซียส จะสร้าง zoospores และเส้นใยที่งอกจากสปอร์มีโอกาสไปสัมผัสพืชได้โดยบังเอิญหรือทาง chemotaxis เชื้อเข้าทำลายเมล็ดโดยทางเปลือกเมล็ดที่โป่งหรือแตกเมื่อ

ได้รับความชื้น เข้าทำลายคัพภะหรือต้นกล้าด้วยการแทงผ่าน ใช้ความดันกล หรือทางเคมี เชื้อสามารถสร้าง pectinolytic, proteolytic และ cellulolytic enzyme ไปย่อยผนังเซลล์ และ protoplast ทำให้เซลล์ของ host จะแยกออกจากกัน เนื่องจากการสลายตัวของ middle lamella เอนไซม์ดังกล่าวนี้สามารถแพร่ไปได้ไกล ทำให้เนื้อเยื่อพืชอ่อนตัวและตายก่อนที่จะตรวจพบเส้นใยของราในเนื้อเยื่อพืช เส้นใยที่เจริญอยู่ในเนื้อเยื่อพืชมีลักษณะหยาบ ภายในมีก้อน granule กระจายอยู่ทั่วไป อาจพบว่ามีการสร้าง chlamydospore ที่มีผนังหนาแต่ไม่พบ haustorium ในพืช (ไพโรจน์, 2525; วิจัย, 2546; จิระเดช, 2549; ศักดิ์, 2537)

โรคเน่าระดับดินที่เกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* แบ่งออกเป็น 2 ลักษณะตามอายุและระยะการเจริญเติบโตของพืช คือ

1. Pre- emergence damping- off หรือ seed rot อาการของโรคเกิดเนื่องจากเชื้อสาเหตุเข้าทำลายเมล็ดหรือกล้าพืชส่วนที่อยู่เหนือดินหรือระดับดิน หากดินนั้นมีเชื้อสาเหตุอยู่และสภาพแวดล้อมเหมาะสม เมล็ดที่เพาะไว้จะถูกทำลายโดยเมล็ดจะเริ่มนิ่ม เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เหี่ยวย่นและเน่าในที่สุด ถ้าเป็นต้นอ่อนที่งอกจากส่วนของเมล็ดเซลล์พืชมีการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว ผนังเซลล์บางและอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อโรค เมื่อเชื้อราเข้าทำลายที่ส่วน hypocotyl และยอด จุดที่ถูกทำลายจะเป็นจุดช้ำน้ำสีค่อนข้างดำและขยายใหญ่ขึ้นทำให้ต้นอ่อนเน่าตายอย่างรวดเร็ว จึงไม่มีต้นกล้าโผล่เหนือดินให้เห็น

2. Post- emergence damping- off หรือ seedling damping-off เกิดจากต้นอ่อนที่โผล่พ้นดินแล้วถูกเชื้อเข้าทำลาย ปกติจะทำลายที่ราก(radicle) และลำต้นที่อวบน้ำซึ่งอาการจะปรากฏให้เห็นตรงโคนต้นที่อยู่ระดับดินหรือใต้ดิน ระยะแรกเกิดเป็นแผลจุดฉ่ำน้ำขนาดเล็กเนื่องจากเซลล์ตายอย่างรวดเร็วแล้วขยายโตขึ้นเป็นรอยช้ำสีน้ำตาลรอบต้นกล้าพืช ทำให้ต้นกล้าหักพับในขณะที่ลำต้นและใบยังเขียวอยู่ ต่อมาส่วนยอดจะเฉาและแห้งตายคล้ายถูกน้ำร้อนลวก ต้นกล้าในแปลงเพาะจะแห้งตายเป็นหย่อมๆ โรคจะระบาดได้รวดเร็วขึ้นหากเพาะต้นกล้าแน่นจนเกินไป และเมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม โดยเฉพาะดินที่มีความชื้นสูงประกอบกับอุณหภูมิสูง โรคจะมีการระบาดที่รุนแรงมากยิ่งขึ้น และพบเส้นใยของเชื้อสีขาวละเอียด ปกคลุมบริเวณเนื้อเยื่อส่วนของพืชที่เป็นโรค (สมศิริ, 2529; นิตยา, 2534; ศักดิ์, 2537)

Stanghellini and Kronland (1986) ได้รายงานว่าพบเชื้อ *Pythium dissotocum* เป็นครั้งแรกที่บริเวณรากของผักสลัด (lettuce) ซึ่งจะส่งผลทำให้ความสามารถในการดูดสารละลายธาตุอาหารของผักสลัดลดลง และทำให้ผลผลิตลดลง 18 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ใส่เชื้อโรค

Menzies *et al.* (1996) ได้ศึกษาถึงผลของปริมาณเชื้อเริ่มต้นของเชื้อ *Pythium aphanidermatum* ในระบบการปลูกแบบ NFT ต่อการพัฒนาของโรครากเน่าของแตงกวาในระบบ โดยใช้ปริมาณเชื้อตั้งแต่ 0.22 x 10^6- 2 x 10^6 CFU / 100 ลิตรของสารละลายธาตุอาหาร พบว่าทุกระดับที่ปลูกเชื้อ *P. aphanidermatum* ทำให้รากของแตงกวาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และที่ระดับ 2 x 10^6 CFU/100 ลิตร ทำให้ต้นแตงกวาตาย ภายใน 7 – 28 วัน หลังจากการปลูกเชื้อ และแตงกวาที่ปลูกเชื้อในปริมาณต่ำ แม้จะไม่ทำให้ต้นแตงกวาตายแต่ก็ทำให้การเจริญเติบโตและผลผลิตลดลง

หลักการควบคุมโรคพืชในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินและในสภาพโรงเรือน (จิระเดช, 2547)

1. การหลีกเลี่ยงและการกีดกัน

เป็นการพยายามหลีกหนีให้ไกลจากแหล่งหรือบริเวณที่มีโรคพืชระบาดอยู่ หลีกเลี่ยงจากการใช้น้ำหรือวัสดุปลูกที่อาจมีการปนเปื้อนของเชื้อโรคพืช ถ้าไม่สามารถเลี่ยงได้ก็ควรมีมาตรการกีดกันเชื้อโรคไม่ให้เข้ามาสู่โรงเรือนที่ปลูกพืชได้ การใช้เมล็ดพันธุ์หรือต้นกล้าพืชจากแหล่งผลิตจำหน่ายที่เชื่อถือได้ เพื่อป้องกันไม่ให้มีเชื้อติดมากับเมล็ดพันธุ์และต้นกล้าพืช รวมถึงวัสดุปลูก ตลอดจนการรักษาความสะอาดเครื่องมือ เครื่องใช้ อุปกรณ์ รองเท้าของผู้ที่ปฏิบัติงานภายในโรงเรือน (Paulitz, 1997)

2. การกำจัดเชื้อสาเหตุโรคพืช

เป็นการลดปริมาณของเชื้อในโรงเรือนหรือในระบบ ทั้งนี้อาจใช้วิธีทางกายภาพ ทางเคมีและชีวภาพ หรือใช้ทุกวิธีร่วมกัน

- วิธีทางกายภาพ

การใช้ความร้อนมากกว่า 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที การใช้แสงอัลตราไวโอเลท 28-84วัตต์ ผ่านลงในสารละลาย การใช้ก๊าซโอโซน 60-75 นาที การกรองผ่านเยื่อกรองขนาดช่องเปิด 7 ไมครอน การกรองผ่านทรายอย่างช้าๆ การปรับอุณหภูมิสารละลายให้ต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส สำหรับการฆ่าเชื้อที่ติดมากับวัสดุปลูกอาจใช้วิธีตากแดดให้แห้งนานกว่า 1 สัปดาห์หรือการใช้ไอน้ำร้อนนึ่งฆ่าเชื้อ และการกรองด้วยทรายร่วมกับการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์สามารถลดการเกิดโรคของเยอบีร่าในระบบปลูกพืชแบบไม่ใช้ดินได้อย่างดี (Garibaldi *et al*, 2003)

- วิธีทางเคมี

การใช้คลอรีนในรูป sodium hypochlorite, chlorinedioxide, chrorobromination, calcium hypochlorite (1-2 ppm) ไอโอดีน (0.7ppm) ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (100 ppm) ซิลเวอร์ออกไซด์ (Ag_2o 40 ppb) แคลเซียมไนเตรท (10-20 mM) โพแทสเซียม ซิลิเคท (100-200 ppm) ทองแดง (0.28 ppm) ร่วมกับเหล็ก ($FeSO_4$) สารกำจัดโรคเน่า floccoulation, chriration (มนูญ, 2544)

- วิธีการทางชีวภาพ

การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้งที่เป็นเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อรา เช่น *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Trichoderma* spp. นอกจากนี้ยังมีการใช้ไคโตซาน (100-400 ppm) เพื่อกระตุ้นให้พืชเกิดความต้านทานโรค ตลอดจนเลือกใช้วัสดุปลูกที่สามารถยับยั้งเชื้อโรคได้ เช่น เปลือกไม้บางชนิด ในต่างประเทศได้มีการนำแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* มาใช้ร่วมกับ *T. harzianum* เพื่อควบคุมโรค Damping-off ของยาสูบที่เกิดจาก *Pythium* sp. และ *Rhizoctonia solani* ในระบบการปลูกแบบ Float tray system พบว่าสามารถลดการเกิดโรคได้ถึง 98.5 –100% และมีการใช้แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ GB03 มาควบคุมโรคใบจุดของมะเขือเทศที่เกิดจากแบคทีเรียในระบบไฮโดรโพนิกส์ นอกจากนี้การใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 โดยการแช่เมล็ดผักกาดหอมด้วยสปอร์แขวนลอยและ/หรือร่วมกับการเติมสปอร์แขวนลอยเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 ที่ได้จากเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ 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 ตามลำดับตลอดการทดลอง สามารถควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมปลูกในระบบ NFT ที่เกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้และในกรณีที่ไม่มีเชื้อรา *P. aphanidermatum* พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดหอมได้เป็นอย่างดี (แพรทอง, 2549) มีการนำน้ำสกัดชีวภาพจากพืชมาใช้ร่วมกับสารละลายธาตุอาหารในระบบการปลูกแบบไม่ใช้ดินพบว่าช่วยให้ผักกาดกวางตุ้ง ผักกาดหอม และพริกยักษ์เจริญเติบโตได้เป็นอย่างดี (สุรชัยและคณะ, 2547)

เชื้อราและแบคทีเรียที่เป็นศัตรูต่อเชื้อรา *Pythium* spp. สาเหตุโรคพืช (จิระเดช, 2549)

จุลินทรีย์ปฏิปักษ์	ชนิดของเชื้อโรคพืช	กลไกการควบคุมเชื้อโรค
เชื้อรา		
Trichoderma harzianum	*Pythium* spp.	ปรสิตของเส้นใย
T. koningii		
Gliocladium virens	*P. aphanidermatum*	ปรสิตของเส้นใย
Pythium oligandrum	*P. ultimum*	การแข่งขัน, แก่งแย่ง
P. nunn		
เชื้อแบคทีเรีย		
Arthrobacter	*P. debaryanum*	สร้าง lytic enzyme ย่อยสลายเส้นใย
Enterobacter cloacae	*Pythium* spp.	สร้างสารปฏิชีวนะยับยั้งเส้นใย
Pseudomonas fluorescens	*P. ultimum*	สร้างสารปฏิชีวนะ และ siderophore
Bacillus subtilis	*Pythium* spp.	สร้างสารปฏิชีวนะ

แบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ถูกนำมาใช้ควบคุมโรคในระบบการปลูกพืชแบบไม่ใช้ดินอย่างแพร่หลาย โดยกลุ่มของแบคทีเรียที่นำมาใช้มักจะเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม *Pseudomonas* และ *Bacillus* แบคทีเรียมีข้อได้เปรียบคือ สามารถเพิ่มปริมาณได้รวดเร็ว สร้างสารปฏิชีวนะได้หลายชนิด ส่วนใหญ่มักเป็นสารพวกเปปไทด์และโพลีเปปไทด์ ซึ่งมีรายงานว่า แบคทีเรีย *Pseudomonas* ผลิต siderophore pyoluteorin and 2,4-diacetylphluoroglucinol (DAPG) (Schnider *et al*., 1995) pyrrolnitrin phenazine-1-carboxylic acid (PCA) (Bakker *et al.*, 2002) และ phenazine-1-carboxamide (PCN) (Chin-A-Woeng *et al.,* 2001) แบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus subtilis* สามารถ

ผลิตสารปฏิชีวนะได้ถึง 65 – 70 ชนิด (Lee *et al.,* 1985) พบว่า *Bacillus subtilis* ME488 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ถึง 39 - 42 ชนิด โดยเฉพาะ *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* ในแตง และ *Phytophthora capsici* ในพริก (Soohee *et al.,* 2008) โดยสารที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อราได้แก่ Iturin A (Besson, 1987) Bacilomycin (Chevanet, 1986) Mycosubtilin (Mukhopadhyay *et. al*, 1986) Albolutin, Bacillin, Surfactin, Fungistatin (Katz and Demain, 1977) นอกจากนี้ยังสามารถผลิตเอนไซม์ β - glucanase (Fergus and Richard, 1990) Cellulase, Chitinase และ β-1,3 glucanase ได้ (Marten *et al*., 2000) และปัจจุบันแบคทีเรียในกลุ่ม Bacillus ที่มีรายงานว่าสามารถชักนำให้พืชเกิดความต้านทานได้ (De Weert *et al*., 2002) ดังนี้

Species, strain	Pathosystem
B. subtilis sp.	Cotton/Meloidogyne
GBO3	Cucumber/Erwinia, beetle; Arabidopsis/Erwinia
IN937b	Tomato/Cucumber mosaic cucumovirus (CMV), Tomato mottle virus(TMV)
S499	Cucumber/Colletotrichum; Tomato/Pythium; Bean/Botrytis
FZB-G	Tomato/Fusarium
BacB	Sugar beet/Cercospora
B. pumilus SE34	Tobacco/Peronospora; Arabidopsis/Pseudomonas; Cucumber/beetle; Tomato/Fusarium, Phytophthora, CMV, TMV
T4	Tobacco/Pseudomonas; Arabidopsis/Pseudomonas
INR-7	Loblolly pine/ Cronartium; Cucumber/ beetle
203–6	Sugar beet/Cercospora
B. amyloliquefaciens	
IN937	Tomato/CMV, TMV; Cucumber/beetle; Arabidopsis/Erwinia
EXTN-1	Tobacco/Pepper mild mottle virus (PMV); Cucumber/Colletotrichum; Arabidopsis/ PMV
B. thuringiensis Berliner	Coffee/Hemileia
B. mycoides BacJ	Sugar beet/Cercospora
B. pasteurii C-9	Tobacco/Peronospora
B. sphaericus B43	Potato/nematode
B. cereus B1	White clover/nematode

McCullagh *et al.* (1996) แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรีย *Pseudomonas* spp. สามารถไปเพิ่มผลผลิตของแตงกวาได้ทั้งในสภาพที่มีและไม่มีเชื้อรา *P. aphanidermatum* โดยศึกษาผลของ plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) ในการควบคุมโรครากเน่าที่เกิดจาก *P. aphanidermatum* และปริมาณผลผลิตของแตงกวาที่ปลูกในใยหิน (rockwool) ด้วยการทดสอบแบคทีเรียจำนวน 5 สายพันธุ์ คือ *Pseudomonas fluorescens* (สายพันธุ์ 63-49, 63-28 และ 15) *Pseudomonas corrugate* (สายพันธุ์ 13) และ *Serratia plymuthica* (สายพันธุ์ R1GC4) ที่คัดเลือกมาจากแบคทีเรียมากกว่า 4,000 isolates ทำการทดลองทั้งแบบที่ปลูกเชื้อและไม่ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ผลการทดลองพบว่าในชุดที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ ใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ 63-49, 13, 15 และ R1GC4 สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของแตงกวา สามารถเพิ่มจำนวนผลและน้ำหนักของผลผลิตได้ และในชุดที่ปลูกเชื้อ *P. aphanidermatum* ร่วมกับแบคทีเรียสายพันธุ์ 63-49 และ 63-28 ก็สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของแตงกวาได้เช่นกัน

Hongzhong *et al.* (1999) ได้ศึกษาพฤติกรรมของ zoospores เชื้อรา *Pythium torulosum* ต่อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus cereus* 2 สายพันธุ์ คือ UW 85 และ UW 030 ที่เป็นสายพันธุ์กลายจากสายพันธุ์ UW 85 แต่ไม่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้ ผลการทดลองพบว่าสายพันธุ์ UW 030 ไม่สามารถยับยั้งกิจกรรมและชะลอการงอกของ zoospores ของเชื้อรา *P. torulosum* แต่สารปฏิชีวนะ zwittermicin A และ kanosamine ที่สายพันธุ์ UW 85 สร้างขึ้นจะสามารถยับยั้งกิจกรรมและชะลอการงอกของ zoospores ของ เชื้อรา *P. torulosum* สาเหตุโรค damping–off ของต้นกล้ายาสูบได้

Chatterton *et al.* (2004) ได้ศึกษาถึงช่วงเวลาในการใส่แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Pseudomonas chlororaphis* สายพันธุ์ Tx-1 ลงในระบบไฮโดรโพนิกส์เพื่อควบคุมโรครากเน่าของพริกหวานที่เกิดจาก *Pythium aphanidermatum* และ *P. dissotocum* โดยใส่ *P. chlororaphis* ปริมาณ 10^7 CFU/mlลงในสารละลายธาตุอาหารเมื่อ 0 , 3, 7, และ 14 วัน ก่อนจะปลูกเชื้อรา *Pythium* ให้กับระบบรากของพริกหวาน ด้วยการจุ่มรากลงไปใน zoospores suspension ที่ความเข้มข้น 10^4 zoospores/ml เป็นเวลา 30 นาที ผลการทดลองพบว่าการใส่แบคทีเรีย *P. chlororaphis* ลงไปในสารละลายธาตุอาหารที่ 0 , 3 และ7 วันก่อนปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* และ *P. dissotocum* ในระบบไฮโดรโพนิกส์ช่วยชะลออาการและลดความรุนแรงของโรคได้เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม และพบว่าช่วงเวลาที่เหมาะสมที่สุดในการใส่แบคทีเรียลงไปในระบบแล้วสามารถควบคุมโรคได้อย่างมี

ประสิทธิภาพในการทดลองครั้งนี้คือใส่แบคทีเรียลงไปในระบบเป็นเวลา 3 วันก่อนที่พืชถูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* และ *P. dissotocum* เข้าทำลาย

Koohakan *et al.* (2004) แสดงให้เห็นถึงความหนาแน่นประชากร และการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของประชากรของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ในระบบการผลิตมะเขือเทศแบบไม่ใช้ดิน 4 ชนิด ได้แก่ แบคทีเรียชนิด aerobic และเชื้อราในรากของมะเขือเทศ จุลินทรีย์ชนิดที่พบมากคือ Fluorescent pseudomonads รองลงมาคือ *Fusarium* spp. และ *Pythium* spp. โดยประชากรในแต่ระบบปลูกจะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ คือ วัสดุปลูกที่เป็นใยมะพร้าวพบเชื้อรา *Fusarium* สูงที่สุด ส่วนวัสดุปลูกที่เป็น rock wool พบ *Pseudomonas* สูงที่สุด สารละลายในระบบ NFT, DFT พบ *Pythium* สูงที่สุด นอกจากนี้ในระบบการปลูกแบบ DFT ยังพบ *Fusarium* ในปริมาณสูง

พรหมมาศ (2548) ได้คัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์บริเวณรากพืช (rhizobacteria) โดยแยกแบคทีเรียบริเวณเขตรากพืช (rhizosphere) ของผักสลัดที่ปลูกในระบบ NFT มาจำนวน 77 ไอโซเลท แล้วทำการคัดเลือกไอโซเลทที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Pythium myriotylum* ได้มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดที่อายุ 3 สัปดาห์ โดยมีแบคทีเรียจำนวน 2 ไอโซเลท (อัตรา 10^9 เซลล์/ลิตร) เปรียบเทียบกับการใช้เชื้อรา *T. harzianum* ชนิดสด (อัตรา 10^8 สปอร์/ลิตร) ชีวภัณฑ์ *B. subtilis* ชนิดผงละลายน้ำ (อัตรา 10^9 เซลล์/ลิตร) ปลูกเชื้อโรค *P. myriotylum* หลังใส่จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ 1 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่าชีวภัณฑ์ทดสอบและแบคทีเรียปฏิปักษ์มีแนวโน้มลดความรุนแรงของการเกิดโรคได้ โดยแบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถควบคุมโรคได้เป็นระยะเวลายาวนานกว่า และเพิ่มน้ำหนักสดของผักสลัดได้มากกว่าชีวภัณฑ์ทดสอบ

3. การป้องกันการเกิดโรค

ควบคุมดูแลระบบการปลูกอย่างสม่ำเสมอ โดยเฉพาะค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และความเค็ม (EC) เพื่อป้องกันไม่ให้พืชเกิดสภาวะเครียดซึ่งจะทำให้พืชอ่อนแอ เกิดโรคได้ง่าย ในฤดูฝนควรปรับ pH ให้อยู่ที่ 6.0-6.5 ส่วนฤดูหนาวควรปรับ pHให้อยู่ที่ 5.5-6.0 (อรรถพร, 2549) ใช้สารสกัดจากจุลินทรีย์หรือใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อโรคอย่างต่อเนื่อง โดยวิธีคลุกเมล็ด ผสมลงไปกับวัสดุปลูก ใส่ลงในสารละลายแร่ธาตุ รดหรือฉีดพ่นลงบนต้นกล้าพืชและต้นพืชที่กำลังเจริญเติบโต การแช่วัสดุปลูก (แกลบเผา: ขุยมะพร้าว อัตรา 1:1 โดยปริมาตรผสมปุ๋ย

หมัก 10 เปอร์เซ็นต์) เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 ชนิดสด อัตรา 100 กรัม/น้ำ 100 ลิตร มีผลทำให้ผักกาดหอมมีพื้นที่เกิดโรคบนรากน้อยที่สุด และมีการเจริญเติบโตในระดับที่ดี เช่นเดียวกับการใช้เพอร์ไลท์ผสมกับเวอร์มิคูไลท์ ในอัตรา 2 :1 โดยปริมาตร (วาสนา, 2549)

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การแยกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* สาเหตุโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์

แยกเชื้อรา *P. aphanidermatum* จากรากของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ ที่แสดงอาการของโรครากเน่า ด้วยวิธี tissue transplanting technique โดยตัดส่วนของรากเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาด 1.0 เซนติเมตร แช่ในสารละลาย 0.525 % sodium hypochlorite นาน 5 นาที นำไปล้างด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง แล้วนำไปซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองนึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นนำไปวางบนอาหาร Modified BNPRA (Chamswarng *et al*., 1985) ซึ่งเป็นอาหารจำเพาะของเชื้อรา *P. aphanidermatum* บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง จนกระทั่งมีเส้นใยของเชื้อราเจริญออกมาจากเนื้อเยื่อพืช ย้ายเส้นใยของเชื้อลงบนหลอดอาหารเอียง เก็บไว้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

2. การพิสูจน์โรคตามวิธีของ Koch (Koch's postulation)

เลี้ยงเชื้อรา *P. aphanidermatum* บนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) เป็นเวลา 2 วัน ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่ในน้ำนึ่งฆ่าเชื้ออัตรา 1 จาน/ 100 มิลลิลิตร นำไปปั่นด้วยเครื่อง homogenizer จนละเอียด หยดเส้นใยแขวนลอยของเชื้อรา *P. aphanidermatum* บนกล้าผักกาดหอมที่ปลูกอยู่ในวัสดุปลูก (ถ้วยเพาะกล้า) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ จากนั้นตรวจดูอาการโรคที่เกิดขึ้นและแยกเชื้อซ้ำอีกครั้งเพื่อพิสูจน์ว่าเป็นเชื้อโรคชนิดเดียวกัน ศึกษาการเจริญของเชื้อรา *P. aphanidermatum* บนอาหาร และการเจริญของเส้นใยที่อายุ 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ จำแนกเชื้อรา *P. aphanidermatum* โดยวิธี water culture ด้วยการตัดชิ้นวุ้นอาหาร ที่มีเส้นใยเชื้อราเจริญอยู่ขนาด 1 x 1 เซนติเมตร วางในจานเลี้ยงเชื้อเปล่าจานละ 3 ชิ้น ใส่น้ำนึ่งฆ่าเชื้อให้ท่วมชิ้นวุ้น เปลี่ยนน้ำทุกๆ 24 ชั่วโมง เก็บไว้ที่มืดประมาณ 3 วัน นำมาตรวจดูลักษณะของเชื้อราใต้กล้องจุลทรรศน์ แล้วจำแนกชนิดของเชื้อรา *P. aphanidermatum* โดยใช้ monograph ของ Plaats-Niterink (1981)

3. การแยกแบคทีเรียจากรากของผักกาดหอมในระบบไฮโดรโพนิกส์

แยกเชื้อแบคทีเรียจากบริเวณรากของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT (ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทแม่บัวหลวงไฮโดรโปนิกส์) จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ Butter Head, Frillice, Green Oak, Green Cos และ Red Oak ด้วยการตัดรากของผักกาดหอมให้มีขนาด 1.0 เซนติเมตร แช่ใน 0.525 % sodium hypochlorite นาน 3 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษนึ่งฆ่าเชื้อ และอีกส่วนล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นนำรากผักกาดหอมไปวางบนอาหาร Nutrient Glucose Agar (NGA), King's Medium B (KB) (Schaad, 1980), Thornton's Standardized Agar (TSA) (Johnson and Curl, 1972) บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24-72 ชั่วโมง แยกเชื้อให้ได้โคโลนีเดี่ยวหรือเชื้อบริสุทธิ์ ก่อนนำไปคัดเลือกเบื้องต้น เก็บรักษาแบคทีเรียที่แยกได้ไว้เลี้ยงบนอาหาร NGA ย้ายลงในหลอดอาหารเอียง และเก็บไว้ที่ 10 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปทดสอบ

ศึกษาดูลักษณะและรูปร่างของเชื้อ ทดสอบแกรมของแบคทีเรียด้วย 3 % KOH (potassium hydroxide) การสร้างสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ย้อมแกรมและจัดจำแนกชนิด โดยใช้ระบบการจำแนกเชื้อแบคทีเรียอย่างรวดเร็ว (Biolog Microlog System, Hayward, CA, USA)

4. การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์เพื่อใช้ในการทดสอบ

4.1 การเตรียมเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียปฏิปักษ์

เตรียมเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์โดยเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์บนอาหาร Nutrient Glucose Broth (NGB) นำไปเขย่าบนเครื่อง rotary shaker ความเร็ว 200 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปรับให้มีความเข้มข้น 10^8 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร (CFU/ml) ด้วยการนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้มีค่าเท่ากับ 0.2 ($OD_{600\ nm} = 0.2$)

4.2 การเตรียมแบคทีเรียสูตรผงดิน

สูตรที่ 1 เตรียมโดยนำดินร่วน 20 กิโลกรัมผสมกับสารอาหาร ประกอบด้วยเมล็ดพืช A บด 3 กิโลกรัม ธัญญพืชผง 2.5 กิโลกรัม โปรตีนผง 700 กรัม คลุกเคล้าให้เข้ากัน ใส่น้ำลงไปเล็กน้อยให้ความชื้น แล้วนำดินไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที 2 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เลี้ยงในอาหาร NGB เป็นเวลา 48 ชั่วโมง มาใส่ในดินผสมสารอาหารที่เตรียมไว้ โดยใช้อัตราเชื้อ 10 มิลลิลิตรต่อดินผสมสารอาหาร 300 กรัม คลุกเคล้าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ ณ อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำไปผึ่งลมให้แห้ง เพื่อให้ความชื้นในผงดินลดลงจนมีค่าไม่เกิน 10% (Moisture meter จำหน่ายโดยบริษัท Sartorius) ในส่วนของผงดินสูตรที่ 2 ก็เตรียมโดยวิธีเดียวกัน แต่จะมีการเพิ่มนมผงไปในผงดิน โดยใส่ลงไปในอัตราส่วนผงดินต่อนมผง 2:1 โดยปริมาตร จากนั้นก็นำไปบรรจุลงในซองเยื่อกระดาษตามปริมาตรที่ต้องการ

วิธีการเตรียมเซลล์แขวนลอยก่อนจะนำไปใช้คือ เตรียมแบคทีเรียสูตรผงดินในแต่ละสูตรบรรจุในซองเยื่อกระดาษน้ำหนัก 3.75 กรัม/ซอง (สำหรับอนุบาลกล้า) และน้ำหนัก 7.5 กรัม/ซอง (สำหรับรางปลูก) นำซองเยื่อกระดาษใส่ลงไปในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 150 และ 250 ml เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ 48 ชั่วโมง จากนั้นกรองเอาเฉพาะส่วนที่เป็นน้ำของเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์ไปใช้

4.3 การเตรียมแบคทีเรียสูตรผงแป้ง

สูตรที่ 1 เตรียมโดยนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เลี้ยงในอาหาร NGB เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ผสมกับผงแป้งจากพืช (แป้ง A + แป้ง B อัตราส่วน 3: 7 โดยน้ำหนัก) อัตราแป้งที่ผสมกันแล้ว (แป้ง A + แป้ง B) 1 กิโลกรัม ต่อเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์ 1 ลิตร กวนให้เข้ากัน นำน้ำแป้งไปเกลี่ยบนถาดรอง ผึ่งลมให้แห้งในที่สะอาด เก็บผงแป้งเมื่อความชื้นในผงแป้งลดลงจนมีค่าไม่เกิน 10% ในส่วนของผงแป้ง สูตรที่ 2 ก็เตรียมโดยวิธีเดียวกัน แต่จะมีการเพิ่มนมผงไปในผงแป้ง โดยใส่ลงไปในอัตราส่วนผงแป้งต่อนมผง 2:1 โดยปริมาตรจากนั้นก็นำไปบรรจุลงในซองเยื่อกระดาษตามปริมาตรที่ต้องการ

วิธีการเตรียมเซลล์แขวนลอยก่อนจะนำไปใช้คือ เตรียมแบคทีเรียสูตรผงแป้งในแต่ละสูตร บรรจุในซองเยื่อกระดาษน้ำหนัก 3.75 กรัม/ซอง (สำหรับอนุบาลกล้า) และน้ำหนัก 7.5 กรัม/ซอง (สำหรับรางปลูก) นำซองเยื่อกระดาษใส่ลงไปในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 150 และ 250 ml เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ 48 ชั่วโมง จากนั้นก็กรองเอาเฉพาะส่วนที่เป็นน้ำของเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์ไปใช้

4.4 การเตรียมสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01

นำเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 ที่เลี้ยงบนข้าวสุกตามวิธีการของจิระเดช และวรรณวิไล (2545) ในอัตรา 100 กรัม ต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร โดยแบ่งสารละลายมา 1-2 ลิตร สำหรับการล้างสปอร์ออกจากผิวเมล็ดข้าวจนได้น้ำสปอร์เชื้อสีเขียวเข้ม แล้วกรองเอาน้ำสปอร์ด้วยกระชอนหรือมุ้งไนลอนตาถี่ นำสปอร์แขวนลอยที่ได้ไปเติมลงในสารละลายธาตุอาหารตามอัตราส่วน

4.5 การเตรียมเส้นใยแขวนลอยของเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*

เลี้ยงเชื้อรา *P. aphanidermatum* บนอาหาร PDA เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่ในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 100 มิลลิลิตร/ 1 จาน นำไปปั่นด้วยเครื่อง homogenizer จนละเอียด (สุขุมวัฒน์, 2531) เพื่อเตรียมเป็นเส้นใยแขวนลอย (mycelial suspension) สำหรับใช้เป็น inoculum ในการทดลอง

5. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียต่อการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ในระดับห้องปฏิบัติการ

นำแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ต้องการทดสอบมาขีดบนอาหาร PDA ในจานเลี้ยงเชื้อ 2 แนวห่างกัน 4 เซนติเมตร ในทิศทางขนานกัน เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ก่อนย้ายชิ้นวุ้นของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ที่เลี้ยงไว้บนอาหาร PDA เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วเจาะบริเวณขอบโคโลนีด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร นำไปวางไว้ที่จุดศูนย์กลางของจานเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง วัดรัศมีของเส้นใยเชื้อราที่เจริญออกมาจากจุดศูนย์กลางและความกว้างของบริเวณใส (clear zone, inhibition zone) รอบโคโลนีของแบคทีเรีย

ทดสอบทุกวัน วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ

บันทึกการเจริญของเส้นใยเชื้อราแล้วนำไปคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อโรค ซึ่งหาได้จากสูตร (ดัดแปลงจาก Royse and Ries, 1978)

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใย} = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100$$

R1 คือ รัศมีการเจริญของเส้นใย *P. aphanidermatum* ในกรรมวิธีควบคุม

R2 คือ รัศมีการเจริญของเส้นใย *P. aphanidermatum* ในกรรมวิธีทดสอบ

6. การศึกษาอิทธิพลของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการงอกของเมล็ดผักกาดหอม

เตรียมวัสดุปลูกที่ประกอบด้วย ขุยมะพร้าว : แกลบเผา ในอัตราส่วน 1: 1 โดยปริมาตร คลุกเคล้าให้เข้ากัน ก่อนนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที 2 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 24 ชั่วโมง ปล่อยไว้ให้เย็นบรรจุลงในถาดเพาะกล้า เพาะเมล็ดผักกาดหอมลงในถาดเพาะกล้า จำนวน 12 หลุมต่อกรรมวิธี จากนั้นหยดเซลล์แขวนลอยของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (เตรียมตามวิธีการข้อ 4.1) ลงไปในวัสดุปลูก ปริมาตร 1 มิลลิลิตรต่อหลุม ตรวจดูเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดผักกาดหอม วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแต่ละกรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ

7. การพัฒนาแบคทีเรียให้ต้านทานสารปฏิชีวนะ

นำแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพ มาพัฒนาให้ได้สายพันธุ์ที่ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ เพื่อง่ายต่อการติดตามตรวจสอบปริมาณประชากรของแบคทีเรีย โดยเตรียมเซลล์แขวน ลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ (ตามวิธีการในข้อ 4.1) ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร นำไปหยดและเกลี่ยบนอาหาร NGA ที่ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ppm) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 24-48 ชั่วโมง นำเชื้อที่เจริญได้บนอาหารดังกล่าว มาเพิ่มปริมาณบนอาหาร NGA ที่ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ppm) ก่อน 2-3 ครั้ง แล้วจึงนำไปเตรียมเป็นเซลล์แขวนลอย เพื่อนำไปเกลี่ยบนอาหาร NGA ที่ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin 5, 10 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร (ppm)

(จิรัสสา, 2546) คัดเลือกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพดีมาจำนวน 5 สายพันธุ์และนำมาพัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร (ppm) โดยแบคทีเรียในแต่สายพันธุ์ก็จะมีการคัดเลือกโคโลนีที่ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะมาสายพันธุ์ละ 10 โคโลนี แล้วนำมาทดสอบการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. aphanidermatum* เปรียบเทียบกับโคโลนีที่เป็น wild type อีกครั้งและเลือกโคโลนีที่ยังคงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา และนำไปทดสอบการยับยั้งการเข้าครอบครองรากของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในระยะกล้าของผักกาดหอมอีกครั้ง โดยนำเมล็ดผักกาดหอมที่ผ่านการแช่น้ำเป็นเวลา 1 คืน (มีเปอร์เซ็นต์ความงอก เท่ากับ 100 %) ใส่ลงในฟองน้ำที่ตัดเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร นำไปวางบนแก้วขนาด 6 ออนซ์ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ใส่เซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ($OD._{600\ nm}$ = 0.2) ลงในแต่ละแก้ว แก้วละ 2 มิลลิลิตร เปลี่ยนน้ำทุก 48 ชั่วโมง ปลูกเชื้อ *P. aphanidermatum* ด้วยเส้นใยแขวนลอยเมื่อ 2 สัปดาห์หลังปลูก ตรวจผลหลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 1 สัปดาห์โดยจะตรวจการลดการเข้าครอบครองรากของเชื้อรา *P. aphanidermatum* และตรวจการเข้าครอบครองรากของแบคทีเรียปฏิปักษ์บนรากของผักกาดหอม เนื่องจากในการทดลองครั้งนี้มีแบคทีเรียทดสอบที่ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin เป็นจำนวนมาก จึงคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์โดยดูจากการยับยั้งการเข้าครอบครองรากของเชื้อรา *P. aphanidermatum* แล้วจึงคัดเลือกอีกครั้งโดยเลือกเอาสายพันธุ์ที่ยับยั้งการเข้าครอบครองรากของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้ดีมา 2 สายพันธุ์และสายพันธุ์ที่ไม่สามารถยับยั้งการเข้าครอบครองรากของเชื้อรา *P. aphanidermatum* มา 1 สายพันธุ์ ภายในสายพันธุ์เดียวกันของเชื้อ ตรวจการครอบครองรากของแบคทีเรียปฏิปักษ์บนรากของผักกาดหอม แต่ไม่ได้เปรียบเทียบกับสายพันธุ์ wild type และเลือกเอาสายพันธุ์ที่สามารถยับยั้งการเข้าครอบครองรากของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้และครอบครองรากของผักกาดหอมได้ดีไปใช้ในการทดลองต่อไป

8. การเตรียมระบบปลูกและต้นพืช

8.1 การเตรียมต้นพืช

ใส่วัสดุปลูก เพอร์ไลท์ : เวอร์มิคูไลท์ ในอัตราส่วน 2 : 1 โดยปริมาตร ลงในถ้วยปลูกจนเกือบเต็มปากถ้วย หยอดเมล็ดผักกาดหอมชนิดกรีนคอส (Green Cos) ที่จัดจำหน่ายโดยบริษัทดัทช์ กรีนเนอรี่ สายพันธุ์ (Tiberius RZ ®) ลงในถ้วยปลูกถ้วยละ 1 เมล็ด ก่อนนำไปวางใน

กระบะอนุบาลที่มีน้ำไหลเวียนเป็นเวลา 14 วัน เลือกต้นกล้าที่มีความสม่ำเสมอและสมบูรณ์ ย้ายลงในชุดรางปลูก ระบบไฮโดรโพนิกส์ แบบ Nutrient Film Technique (NFT)

8.2 การเตรียมระบบปลูก

เตรียมชุดรางปลูกระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ Nutrient Film Technique (NFT) ซึ่งดัดแปลงโดย คุณอรรถพร สุบุญสันต์ (บริษัทแม่บัวหลวงไฮโดรโปนิกส์) โดยปริมาตรน้ำที่ไหลในระบบเท่ากับ 21.6 ลิตร/นาที ความสูงของน้ำเหนือพื้นรางมีความหนาเท่ากับ 5 มิลลิเมตร สำหรับสารละลายธาตุอาหารที่ใช้ตลอดการทดลองเป็นสูตรที่ได้รับการดัดแปลงจากสูตรของ Cooper (1979) โดย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ยงยุทธ เจียมไชยศรี (2546) (ข้อมูลในภาคผนวก)

ภาพที่ 1 ชุดรางปลูกระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT ซึ่งดัดแปลงโดย คุณอรรถพร สุบุญสันต์

8.3 การปรับค่าสารละลายธาตุอาหาร

ในระหว่างการทดลองมีการปรับค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายธาตุอาหาร (EC) ให้อยู่ระหว่าง 1.5 – 1.8 mS/cm และปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ให้อยู่ในช่วง 5.5 – 6.0 ทุกวันในตอนเช้าและตอนเย็นตลอดการทดลอง แต่ละการทดลองจะปรับค่าการนำไฟฟ้า (EC) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของสารละลายธาตุอาหารให้ทุกกรรมวิธีมีค่าเท่ากัน โดยหากค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายธาตุอาหาร (EC) ต่ำกว่าที่ต้องการ จะเติมสารละลายธาตุอาหารเข้มข้น (stock solution) แต่ถ้าค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายธาตุอาหาร (EC) สูงกว่าที่ต้องการ เติมน้ำลงไปเจือจาง สำหรับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในสารละลายมักจะสูงขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป ต้องปรับลงด้วยการเติมกรด

ไนตริก (HNO_3) 68 เปอร์เซ็นต์ ในการปรับค่าการนำไฟฟ้าหรือค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของสารละลายธาตุอาหาร ใช้วิธีหยดสารทีละน้อยจนกว่าจะได้ค่าที่ต้องการ และเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารในระบบปลูกทุกสัปดาห์ (แพรทอง, 2549)

8.4 การปลูกเชื้อโรคในระบบปลูกพืช

ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ด้วยเส้นใยแขวนลอย (เตรียมตามวิธีการข้อ 4.5) อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมอายุ 14 28 และ 35 วัน

8.5 การใส่เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในระบบปลูกพืช

เตรียมเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ (เตรียมตามวิธีการข้อ 4.1) และนำไปใส่ในระบบปลูกอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร ตั้งแต่ระยะเพาะกล้า และใส่เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทุกครั้งเมื่อมีการเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหาร

9. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์

มีทั้งหมด 8 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 6 ต้น

ชุดรางปลูกที่ 1 = กรรมวิธีควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (Control -Pa)
ชุดรางปลูกที่ 2 = กรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (Control +Pa)
ชุดรางปลูกที่ 3 = ใส่เซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ FL17 (FL17 +Pa)
ชุดรางปลูกที่ 4 = ใส่เซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ GC14 (GC14 +Pa)
ชุดรางปลูกที่ 5 = ใส่เซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ RO14 (RO14 +Pa)
ชุดรางปลูกที่ 6 = ใส่เซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ RO15 (RO15 +Pa)
ชุดรางปลูกที่ 7 = ใส่เซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ BH15 (BH15 +Pa)
ชุดรางปลูกที่ 8 = ใส่เซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ที่เป็นการค้า (ลามินาร์) (Lar® +Pa)

อนุบาลต้นกล้าด้วยเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลทที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร Nutrient Glucose Broth แล้วนำไปปรับให้มีความเข้มข้น 10^8 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร (CFU/ml) ($OD_{600\ nm}$= 0.2) (ตามวิธีการในข้อ 4.1) เป็นเวลา 14 วัน ก่อนนำไปปลูกในระบบและมีการใส่เซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในระหว่างการทดลอง โดยใช้เซลล์แขวนลอยของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ใช้ในการทดลอง 2 อัตราคือในระยะกล้าใช้เซลล์แขวนลอยของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ 25 มิลลิลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรและในชุดรางปลูกใช้เซลล์แขวนลอยของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร

ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (เตรียมตามวิธีการ 4.5) อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร ในทุกชุดรางปลูกยกเว้นชุดที่1 เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน เป็นจำนวน 3 ครั้ง

ในระหว่างการทดลองมีการปรับค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายธาตุอาหาร (EC) ให้อยู่ระหว่าง 1.5 – 1.8 mS/cm ปรับค่าความเป็นกรด- ด่าง (pH) ให้อยู่ที่ 6.0 ทุกวันตลอดการทดลองและเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารในระบบปลูกทุกสัปดาห์

10. การทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์

มีทั้งหมด 8 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 6 ต้น

ชุดรางปลูกที่ 1 = กรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (Control +Pa)

ชุดรางปลูกที่ 2 = กรรมวิธีควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (Control -Pa)

ชุดรางปลูกที่ 3 = ใส่เซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ RO15 ในอัตรา 100 ml ต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตรและไม่ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (RO15 -Pa)

ชุดรางปลูกที่ 4 = ใส่เซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ RO15 ในอัตรา 100 ml ต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตรและปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (RO15 +Pa)

ชุดรางปลูกที่ 5 = ใส่เซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ BH15 ในอัตรา 100 ml ต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตรและไม่ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (BH15 -Pa)

ชุดรางปลูกที่ 6 = ใส่เซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ BH15 ในอัตรา 100 ml ต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตรและปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (BH15 +Pa)

ชุดรางปลูกที่ 7 = ใส่เซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ RO15 ในอัตรา 50 ml ร่วมกับสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 ในอัตรา 50 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร และปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (RO15 + CB-Pin-01 +Pa)

ชุดรางปลูกที่ 8 = ใส่สปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 ในอัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร และปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (CB-Pin-01 +Pa)

อนุบาลต้นกล้าด้วยเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลทที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร Nutrient Glucose Broth แล้วนำไปปรับให้มีความเข้มข้น 10^8 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร(CFU/ml) ($OD_{600\ nm}$= 0.2) (ตามวิธีการในข้อ 4.1) ในส่วนของสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา

Trichoderma harzianum สายพันธุ์ CB-Pin-01 ได้จากการล้างเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 ชนิดสด (ตามวิธีการในข้อ 4.4) เป็นเวลา 14 วัน ก่อนนำไปปลูกในระบบและมีการใส่เซลล์แขวนลอยของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในระหว่างการทดลอง โดยใช้เซลล์แขวนลอยของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ใช้ในการทดลอง 2 อัตราคือในระยะกล้าใช้เซลล์แขวนลอยของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ 25 มิลลิลิตรต่อน้ำ 50 ลิตรและในชุดรางปลูกใช้เซลล์แขวนลอยของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร ยกเว้นในกรรมวิธีที่ 7 ซึ่งจะใช้เซลล์แขวนลอยของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้งสองชนิดในอัตรา 50 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร

ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (เตรียมตามวิธีการ 4.5) อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร ในทุกชุดรางปลูกยกเว้นชุดที่ 1 เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน เป็นจำนวน 3 ครั้ง

11. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์รูปแบบต่างๆ ในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์

มีทั้งหมด 8 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 6 ต้น

ชุดรางปลูกที่ 1 = กรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (Control +Pa)

ชุดรางปลูกที่ 2 = กรรมวิธีควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (Control-Pa)

ชุดรางปลูกที่ 3 = ใส่แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ FL17 ชนิดผงแป้งสูตร 1 ผสมน้ำแล้วเขย่า บ่มไว้ 48 ชั่วโมงและปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (FL17 Powder 1 +Pa)

ชุดรางปลูกที่ 4 = ใส่แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ FL17 ชนิดผงแป้งสูตร 2 ผสมน้ำแล้วเขย่า บ่มไว้ 48 ชั่วโมงและปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (FL17 Powder 2 +Pa)

ชุดรางปลูกที่ 5 = ใส่แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ BH15 ชนิดผงแป้งสูตร 1 ผสมน้ำแล้วเขย่า บ่มไว้ 48 ชั่วโมงและปลูกชื้อรา *P. aphanidermatum* (BH15 Powder 1 +Pa)

ชุดรางปลูกที่ 6 = ใส่แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ BH15 ชนิดผงแป้งสูตร 2 ผสมน้ำแล้วเขย่า บ่มไว้ 48 ชั่วโมงและปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (BH15 Powder 2 +Pa)

ชุดรางปลูกที่ 7 = ใส่แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ BH15 ชนิดผงดินสูตร 1 ผสมน้ำแล้วเขย่า บ่มไว้ 48 ชั่วโมงและปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (BH15 Soil 1 +Pa)

ชุดรางปลูกที่ 8 = ใส่แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ BH15 ชนิดผงดินสูตร 2 ผสมน้ำแล้วเขย่า บ่มไว้ 48 ชั่วโมงและปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (BH15 Soil 2 +Pa)

โดยแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ใช้ในกรรมวิธีที่ 3-8 นำมาจากแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพจากการทดลองที่ 1 และ 2 แล้วนำมาเตรียมในรูปแบบต่างๆ กัน (เตรียมตามวิธีการ 4.2 และ 4.3) คือ สูตรผงดิน และสูตรผงแป้งแล้วนำไปใช้ในอัตรา 30 กรัม ต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร โดยเตรียมแบคทีเรียสูตรผงดิน และสูตรผงแป้งแต่ในละสูตรในรูปซองเยื่อกระดาษใส่ลงไปในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 250 ml เขย่าแล้วบ่มไว้ 48 ชั่วโมง จากนั้นก็กรองเอาเฉพาะส่วนที่เป็นน้ำของเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์ไปใช้

ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (เตรียมตามวิธีการ 4.5) อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร ในทุกชุดรางปลูกยกเว้นชุดที่1 เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน เป็นจำนวน 3 ครั้ง

การวางแผนและวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลต่างๆ โดยการวิเคราะห์ Duncan’s New Multiple Range Test (DMRT) มีกรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 6 ต้น

12. การบันทึกผลการทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรียปฏิปักษ์ในระบบไฮโดรโพนิกส์

12.1 บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของผักกาดหอม

บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของต้นผักกาดหอมชนิดกรีนคอส (Green Cos) เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน หลังจากเพาะเมล็ด

ความสูงลำต้น โดยวัดจากโคนต้น (เหนือวัสดุปลูก) ถึงปลายใบที่ยาวที่สุด
ความกว้างทรงพุ่ม โดยดูความกว้างของทรงพุ่มที่กว้างที่สุด
จำนวนใบ โดยนับใบที่มีขนาดตั้งแต่ 2 เซนติเมตรขึ้นไป (จำนวนใบต่อต้น)
ความกว้างใบ โดยวัดจากใบที่มีช่วงที่กว้างที่สุด
ความยาวใบ โดยวัดจากโคนใบถึงปลายใบของใบที่ยาวที่สุด
ความยาวราก โดยวัดจากรากส่วนของรากที่โผล่พ้นจากก้นถ้วยเพาะกล้าถึงปลายราก
เส้นรอบวงโคนต้น โดยวัดจากโคนต้นเหนือวัสดุปลูก 0.5 เซนติเมตร
เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น โดยวัดจากลำต้นเหนือวัสดุปลูก 0.5 เซนติเมตร
น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งเมื่อผักกาดหอมมีอายุครบ 42 วันหลังจากเพาะเมล็ด

12.2 ประเมินพื้นที่การเกิดโรครากเน่าของผักกาดหอม

โดยวิธีการให้คะแนน 5 ระดับ ก่อนนำไปคำนวณเป็นค่าดัชนีการเกิดโรคดังนี้

ระดับ 0 รากผักกาดหอมมีสีขาว ไม่แสดงอาการของโรค
ระดับ 1 แสดงอาการของโรค 1-25 % มีระดับการเปลี่ยนสีของรากผักกาดหอมเป็นสีน้ำตาลอ่อนมาก (very light brown color)
ระดับ 2 แสดงอาการของโรค 26-50 % มีระดับการเปลี่ยนสีของรากผักกาดหอมเป็นสีน้ำตาลอ่อน (light brown color)
ระดับ 3 แสดงอาการของโรค 51-75 % มีระดับการเปลี่ยนสีของรากผักกาดหอมเป็นสีน้ำตาลปกติ (normal brown color)
ระดับ 4 แสดงอาการของโรค 76-100 % มีระดับการเปลี่ยนสีของรากผักกาดหอมเป็นสีน้ำตาลเข้ม (dark brown color)

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

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค (\%)} = \frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนต้นที่แสดงอาการ x ระดับอาการ) x 100}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด x ระดับอาการสูงสุด}}$$

12.3 ตรวจปริมาณเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ในสารละลายธาตุอาหาร

ตรวจปริมาณเชื้อรา *P. aphanidermatum* โดยการดูดสารละลายธาตุอาหารจากแต่ละกรรมวิธีมาหยดลงบนผิวหน้าอาหาร modified BNPRA จำนวน 0.1 มิลลิลิตรต่อจาน บ่มไว้ 2-3 วัน ตรวจนับโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนผิวหน้าอาหาร บันทึกค่าปริมาณเชื้อเป็นหน่วยโคโลนี (Colony forming unit) ต่อสารละลายธาตุอาหาร 1 มิลลิลิตร (CFU/ml)

12.4 ตรวจปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในสารละลายธาตุอาหาร

ตรวจปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์โดยการดูดสารละลายธาตุอาหารจากแต่ละกรรมวิธีมาหยดลงบนผิวหน้าอาหาร NGA ที่ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin 60 ppm จำนวน 0.1 มิลลิลิตรต่อจาน บ่มไว้ 2-3 วัน ตรวจนับโคโลนีของแบคทีเรียที่เจริญบนผิวหน้าอาหาร บันทึกค่าปริมาณเชื้อเป็นหน่วยโคโลนี (Colony forming unit) ต่อสารละลายธาตุอาหาร 1 มิลลิลิตร (CFU/ml)

12.5 ตรวจการเข้าครอบครองรากและวัสดุปลูกของเชื้อรา *P. aphanidermatum* และแบคทีเรียปฏิปักษ์

เมื่อผักกาดหอมอายุ 42 วัน นำตัวอย่างรากมาแบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนหนึ่งล้างรากด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ และอีกส่วนล้างด้วยสารละลาย sodium hypochlorite เข้มข้น 0.525 เปอร์เซ็นต์ ก่อนที่จะนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ซับด้วยกระดาษนึ่งฆ่าเชื้อ แล้วตัดรากให้มีขนาดความยาว 1.0 เซนติเมตร วางบนอาหาร modified BNPRA และ บน NGA ที่ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin จำนวน 5 ชิ้นต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ส่วนวัสดุปลูก นำมาล้างด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง แล้ววางบนอาหารจำเพาะ จำนวน 10 ชิ้นต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

สถานที่ทำการทดลอง

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

ระยะเวลาที่ทำการทดลอง

ดำเนินการทดลองระหว่างเดือน กุมภาพันธ์ 2549 – ธันวาคม 2551

ผลและวิจารณ์

1. การแยกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* สาเหตุโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์

จากการแยกเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าของผักกาดหอมชนิดกรีนคอส ที่ลักษณะของปลายรากมีสีน้ำตาล โดยวิธี tissue transplanting technique บนอาหาร Modified BNPRA พบว่ามีเชื้อเจริญออกมาจากรากที่แสดงอาการเน่า เส้นใยมีลักษณะสีขาว ฟู เจริญได้รวดเร็วเต็มจานเลี้ยงเชื้อภายใน 48 ชั่วโมง เชื้อรา *P. aphanidermatum* เข้าทำลายจากปลายรากของผักกาดหอม ทำให้รากเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ดังภาพที่ 1 ถ้าสภาพแวดล้อมมีความชื้นสูงรากก็จะแสดงอาการเน่าได้อย่างรวดเร็วและอาจจะพบเส้นใยสีขาวเจริญอยู่ที่โคนต้นบริเวณที่ติดกับวัสดุปลูก จากการตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเส้นใยมีลักษณะใส แตกแขนงได้ดี ไม่มีผนังกั้นตามขวางภายในของเส้นใย สร้าง sporangium แบบ lobate และสร้าง oospore แบบ pleortic เมื่อใช้ใบผักกาดหอมและหญ้าแพรกที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อเป็นเหยื่อล่อในการสร้าง zoospore พบว่าในใบผักกาดหอมมีการสร้าง zoospore มากกว่าในหญ้าแพรก จากลักษณะดังกล่าวข้างต้นเปรียบเทียบกับลักษณะในคู่มือของ Plaats-Niterink (1981) เชื้อราที่แยกได้จึงเป็น *P. aphanidermatum*

ภาพที่ 2 ก. รากของผักกาดหอมที่แสดงอาการโรครากเน่าโดยปลายรากจะมีสีน้ำตาลเข้ม
ข. เชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ที่เจริญบนอาหาร PDA เป็นเวลา 2 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

2. การพิสูจน์โรคตามวิธีของ Koch (Koch's postulation)

จากการนำเชื้อรา *P. aphanidermatum* ที่แยกได้ไปปลูกเชื้อให้กับต้นกล้าของผักกาดหอม อายุ 14 วันที่ปลูกในวัสดุที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เพอร์ไลท์ : เวอร์มิคูไลท์ อัตราส่วน 2 : 1 ในระบบน้ำวนที่ปราศจากโรค เพื่อพิสูจน์โรคตามวิธีการของ Koch (Koch's postulation) พบว่าหลังจากปลูกเชื้อแล้ว ประมาณ 5 วัน ต้นกล้าเริ่มแสดงอาการเหี่ยว บริเวณปลายรากเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และเริ่มเน่าเปื่อย เมื่อนำรากที่แสดงอาการของโรคมาแยกเชื้อซ้ำอีกครั้งบนอาหาร BNPRA พบว่ามีเส้นใยของเชื้อรา *P. aphanidermatum* เจริญออกมาจากรากที่แสดงอาการและ มีลักษณะเหมือนกับเชื้อราที่ได้ปลูกเชื้อลงไปในต้นกล้าของผักกาดหอม

3. การแยกเชื้อแบคทีเรียจากรากของผักกาดหอม

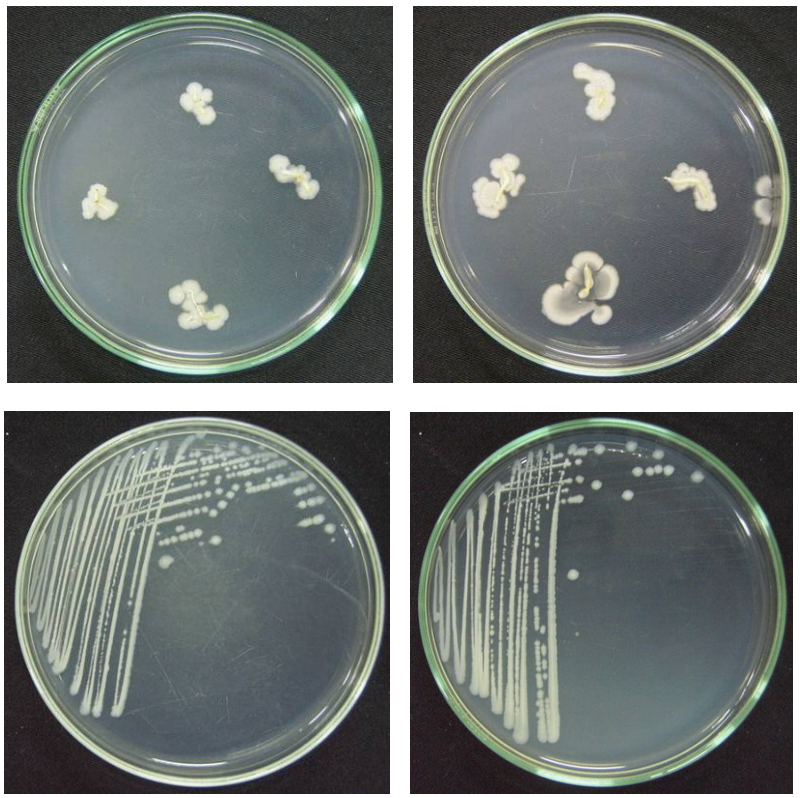
จากการแยกเชื้อแบคทีเรียที่อยู่บริเวณรอบผิวรากของผักกาดหอม 5 ชนิดที่ปลูกในระบบ NFT ได้แก่ Butter Head, Frillice, Green Cos, Green Oakและ Red Oak ด้วยวิธีการล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ล้างด้วย 0.525 % sodium hypochlorite โดยแยกบนอาหาร 3 ชนิด คือ Nutrient Glucose Agar (NGA), King's Medium B (KB), Thornton's Standardized Agar (TSA) พบว่าสามารถแยกแบคทีเรียได้ทั้งหมด 98 ไอโซเลท (รายละเอียดในภาคผนวก) โดยได้จากอาหาร Nutrient Glucose Agar (NGA) ด้วยวิธีการล้างด้วย 0.525 % sodium hypochlorite 31 ไอโซเลท ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 13 ไอโซเลท ได้จากอาหาร King's Medium B (KB) ด้วยวิธีการล้างด้วย 0.525 % sodium hypochlorite 22 ไอโซเลท ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 15 ไอโซเลท ได้จากอาหาร Thornton's Standardized Agar (TSA) ด้วยวิธีการล้างด้วย 0.525 % sodium hypochlorite 7 ไอโซเลท ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 10 ไอโซเลท (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ไอโซเลทของแบคทีเรียทั้งหมดที่แยกได้จากรากของผักกาดหอมชนิดต่างๆ ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ ด้วยการใช้อาหารแยกเชื้อ 3 ชนิด [1/]

ชนิดผักกาดหอม	จำนวนไอโซเลท	แกรมบวก	แกรมลบ
Butter Head	18	8	10
Frillice	21	13	8
Green Cos	20	12	8
Green Oak	20	5	15
Red Oak	19	8	11
Total	98	46	52

[1/] อาหารที่ใช้ในการแยกเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ Nutrient Glucose Agar (NGA), King's Medium B (KB), Thornton's Standardized Agar (TSA)

จากตารางที่ 1 แบคทีเรียทั้งหมดที่แยกได้จากผิวรากของผักกาดหอมชนิดต่างๆ ที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ 98 ไอโซเลท เมื่อทดสอบแกรมด้วยสารละลายด่าง 3% KOH โดยแบคทีเรียแกรมลบมีปฏิกิริยาเป็นบวก และแกรมบวกมีปฏิกิริยาเป็นลบ เมื่อทดสอบด้วยสารละลายด่าง (Schaad *et al*, 1980) พบว่าเป็นแบคทีเรียแกรมบวก 46 ไอโซเลท และแกรมลบ 52 ไอโซเลท โดยผักกาดหอมชนิด Frillice พบแบคทีเรียแกรมบวกมากที่สุด จำนวน13 ไอโซเลท รองลงมาคือชนิด Green Cos 12 ไอโซเลท ชนิด Red Oak 8 ไอโซเลท ชนิด Butter Head 8 ไอโซเลท และ ชนิด Green Oak 5 ไอโซเลท ตามลำดับ แบคทีเรียที่แยกได้ครั้งนี้ มีความหลากหลายของลักษณะโคโลนี เช่น กลุ่มที่มีสีครีม ขนาดเล็ก กลม นูนจากผิวหน้าอาหาร ผิวโคโลนีเรียบ กลุ่มที่มีสีขาว ขนาดเล็ก ลักษณะกลม ผิวขรุขระ ขอบไม่เรียบ กลุ่มที่มีสีขาว รูปร่างไม่แน่นอน (รายละเอียดในภาคผนวก) และเนื่องจาก Fluorescent pseudomonads เป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์แกรมลบที่สามารถเรืองแสงได้บนอาหาร KB แต่ทั้งนี้แบคทีเรียแกรมลบทั้งหมดที่แยกได้ไม่มีไอโซเลทใดที่มีการเรืองแสงบนอาหาร KB จึงไม่นำแบคทีเรียแกรมลบไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป เนื่องจากแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุโรคพืชส่วนใหญ่มักเป็นแบคทีเรียแกรมลบ (วิชัย, 2549) และพบว่าแบคทีเรียที่เป็นแกรมบวกทั้งหมด ได้มาจากกรรมวิธีที่ล้างด้วย sodium hypochlorite (clorox) เนื่องจากการล้างรากด้วย clorox เป็นการฆ่าเชื้อที่อยู่บริเวณผิวรากด้านนอกแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียแกรมบวกที่แยกได้ สามารถเจริญครอบครองผิวรากของผักกาดหอมด้านในได้



ภาพที่ 3 เชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่แยกได้จากรากของผักกาดหอมชนิด Butter Head โดยวิธีการล้างด้วย 0.525 % sodium hypochlorite แล้ววางบนอาหาร NGA (ภาพบน) และเชื้อแบคทีเรียที่ streak บนอาหาร NGA อายุ 48 ชั่วโมง (ภาพล่าง)

4. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในระดับห้องปฏิบัติการ

นำแบคทีเรียแกรมบวกที่แยกได้ทั้ง 46 ไอโซเลท ไปทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. aphanidermatum* ด้วยวิธี dual culture test พบว่าแบคทีเรียแกรมบวกแต่ละไอโซเลทมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้แตกต่างกันโดยสามารถแบ่งกลุ่มออกเป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่มที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา ในช่วง 0-30 31-60 และมากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 38 3 และ 5 ไอโซเลท ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ไอโซเลทของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกที่แยกได้จากรากของผักกาดหอมในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ด้วยวิธี Dual culture บนอาหาร Potato Dextrose Agar เป็นเวลา 3 วัน

เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง [1/]	ไอโซเลท (จำนวนไอโซเลท)
0-30	BH07, BH08, BH09, BH10, BH12, BH13, BH14, FL02, FL03, FL06, FL07, FL08, FL12, FL13, FL18, FL20, FL21, GC05, GC06, GC07, GC08, GC09, GC11, GC13, GC15, GC16, GC18, GC19, GO02, GO06, GO08, GO09, GO10, RO02, RO04, RO06, RO08, RO13 Total = 38
31-60	FL09, FL11, RO07 Total = 3
61-100	BH15, FL17, GC14, RO14, RO15 Total = 5

[1/] เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใย *P. aphanidermatum* เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

คำนวณจาก เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใย $= \frac{R1 - R2}{R1} \times 100$

R1 คือ รัศมีการเจริญของเส้นใย *P. aphanidermatum* ในกรรมวิธีควบคุม

R2 คือ รัศมีการเจริญของเส้นใย *P. aphanidermatum* ในกรรมวิธีทดสอบ

จากการทดสอบความเป็นปฏิปักษ์โดยการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. aphanidermatum* สาเหตุโรครากเน่าของผักกาดหอมด้วยวิธี dual culture test บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นเวลา 4 วัน พบว่าแบคทีเรีย 10 ไอโซเลทสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 13.0 – 64.7 เปอร์เซ็นต์ แบคทีเรียไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ดีที่สุด คือไอโซเลท FL17 (64.7 เปอร์เซ็นต์) แต่ก็ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติกับไอโซเลท RO15 BH15 GC14 RO14 ที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 63.0 62.5 61.5 และ 61.5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 3) โดยเส้นใยของเชื้อราได้หยุดการเจริญเมื่อมาพบกับโคโลนีของเชื้อแบคทีเรีย (ภาพที่ 3)

ตารางที่ 3 รัศมีโคโลนีและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ของแบคทีเรียปฏิปักษ์บนอาหาร Potato Dextrose Agar

ไอโซเลท	รัศมีโคโลนีของเชื้อรา *P. aphanidermatum* [1/] (ซม.)	การยับยั้งการเจริญของเส้นใย [2/] (%)
BH07	3.9	13.0 e [3/]
BH09	3.6	19.2 e
BH15	1.7	62.5 a-c
GC14	1.7	61.5 a-c
FL09	2.0	54.5 c
FL11	2.5	45.0 d
FL17	1.6	64.7 a
RO07	2.0	55.2 bc
RO14	1.7	61.5 a-c
RO15	1.6	63.0 ab
Control	4.5	
C.V. (%)		38.42

[1/] รัศมีของเส้นใยเชื้อรา *P. aphanidermatum* วัดจากกึ่งกลางของโคโลนีถึงปลายเส้นใย (เซนติเมตร) ค่าเฉลี่ยคิดจาก 4 ซ้ำ หลังจากวางเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA 2 วัน

[2/] เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใย *P. aphanidermatum* เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม คำนวณจาก เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใย $= \frac{R1 - R2}{R1} \times 100$

R1 คือ รัศมีการเจริญของเส้นใย *P. aphanidermatum* ในกรรมวิธีควบคุม

R2 คือ รัศมีการเจริญของเส้นใย *P. aphanidermatum* ในกรรมวิธีทดสอบ

[3/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

ภาพที่ 4 ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ของแบคทีเรียปฏิปักษ์บนอาหาร PDA เป็นเวลา 4 วัน โดยวิธี Dual culture

5. อิทธิพลของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการงอกของเมล็ดผักกาดหอม

เมื่อนำแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ไปทดสอบอิทธิพลต่อเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดผักกาดหอม โดยเพาะเมล็ดผักกาดหอมลงในวัสดุปลูกที่นึ่งฆ่าเชื้อ ประกอบด้วย ขุยมะพร้าว : แกลบเผา หยดเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียปฏิปักษ์ลงไปในวัสดุปลูก แล้วตรวจเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดผักกาดหอมพบว่า แบคทีเรียที่นำมาทดสอบ 10 ไอโซเลทมี 3 ไอโซเลท ที่ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดสูงกว่ากรรมวิธีการควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติคือ ไอโซเลท FL17 RO15 GC14 โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกเท่ากับ 88.9 83.3 และ 80.6 ตามลำดับและ 3 ไอโซเลทที่ให้ผลไม่แตกต่างกับกรรมวิธีการควบคุมคือ BH15 FL09 RO14 โดยเปอร์เซ็นต์การงอกเท่ากับ 77.8 เปอร์เซ็นต์ จึงอาจเป็นไปได้ว่าแบคทีเรียบางไอโซเลท ส่งผลต่อกระบวนการงอกของเมล็ด หรือผลิตสารบางอย่างที่มีผลต่อการงอกของเมล็ดผักกาดหอมได้

ตารางที่ 4 อิทธิพลของแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดผักกาดหอมในวัสดุปลูกเมื่อต้นกล้าผักกาดหอมมีอายุ 5 วัน

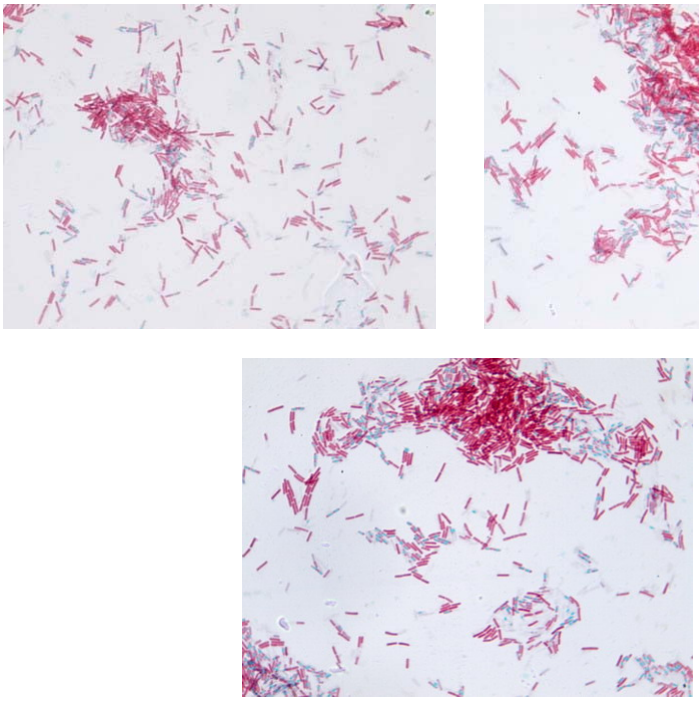
ไอโซเลท	เปอร์เซ็นต์การงอก (%)
BH07	63.9 f [1/]
BH09	63.9 f
BH15	77.8 d
GC14	80.6 c
FL09	77.8 d
FL11	66.7 e
FL17	88.9 a
RO07	58.3 g
RO14	77.8 d
RO15	83.3 b
Control	77.8 d
C.V. (%)	25.36

[1/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

6. การพัฒนาแบคทีเรียให้ต้านทานสารปฏิชีวนะ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. aphanidermatum* และอิทธิพลต่อการงอกของเมล็ดผักกาดหอม จึงได้คัดเลือกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพดีมา 5 ไอโซเลทและพัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร (ppm) ก่อนนำไปทดสอบการยับยั้งการเจริญของเส้นใย *P. aphanidermatum* พบว่าเมื่อนำแบคทีเรียไปพัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะแล้ว ทุกไอโซเลทสามารถพัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะได้ และไอโซเลท GC14 FL17 และ RO14 เมื่อนำไปพัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะแล้วยังคงความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ไม่แตกต่างจาก wild type ในขณะเดียวกันในไอโซเลท BH15 และ RO15 กลับทำให้ประสิทธิภาพของแบคทีเรียในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. aphanidermatum* ลดลงเมื่อเทียบกับ wild type เมื่อดูเปอร์เซ็นต์การครอบครองรากของแบคทีเรีย พบว่าไอโซเลท FL17/2 และ RO15/6 สามารถครอบครองรากได้ดีที่สุด 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ BH15/4 และ RO14/2 เท่ากับ 56.3 เปอร์เซ็นต์ และ GC14/6 (43.8 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ ส่วนการครอบครองรากของเชื้อรา *P. aphanidermatum* พบว่าไอโซเลท GC14/6 FL17/2 และ RO15/6 สามารถยับยั้งการเข้าครอบครองรากของเชื้อโรคได้เช่นเดียวกับ wild type แต่ไอโซเลท BH15/4 และ RO14/2 สามารถยับยั้งการเข้าครอบครองของเชื้อโรคได้ดีขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ wild type (ตารางที่5) (ข้อมูลจากภาคผนวก) จึงเห็นได้ว่าการนำแบคทีเรียมาพัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะนั้น บางโคโลนีอาจสูญเสียความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราไป หรืออาจทำให้คุณลักษณะบางประการของแบคทีเรียเปลี่ยนแปลงไป เช่น เจริญช้ากว่าเดิม ลักษณะโคโลนีเล็กกว่าเดิม ดังนั้นเมื่อพัฒนาแบคทีเรียจนต้านทานต่อสารปฏิชีวนะแล้ว ก็ควรทดสอบความสามารถของแบคทีเรียสายพันธุ์ต้านทานเปรียบเทียบกับ wild type อีกครั้งเพื่อยืนยันประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่พัฒนามาได้อีกครั้ง ในงานทดลองนี้มีไอโซเลทที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อโรคได้ดีในระดับห้องปฏิบัติการแต่เมื่อนำไปใช้ในระดับโรงเรือนกลับมีประสิทธิภาพลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องจากแบคทีเรียปรับตัวได้ดีต่างกันในสภาพแวดล้อม จึงควรพิจารณาคุณสมบัติหลายๆ ประการประกอบกันในการคัดเลือกไอโซเลทที่จะนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป เมื่อมีการพัฒนาแบคทีเรียให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะหรือการปรับปรุงสายพันธุ์ของแบคทีเรียให้มีคุณสมบัติบางอย่างที่แตกต่างไปจาก wild type เมื่อนำแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ผ่านการคัดเลือกเบื้องต้น ไปย้อมสีเพื่อตรวจดูการสร้างเอนโดสปอร์ พบว่าทุกสายพันธุ์ของแบคทีเรียทดสอบมีการสร้างเอนโดสปอร์ เนื่องจากเอนโดสปอร์ของแบคทีเรียย้อมติดสีเขียวของ malachite (ภาพที่ 5)

ภาพที่ 5 การทดสอบแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ที่ต้านทาน rifampicin ในการยับยั้งการเข้าทำลายและครอบครองเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ในระยะกล้าของผักกาดหอมในแก้วพลาสติกขนาด 6 ออนซ์



ภาพที่ 6 ลักษณะเอนโดสปอร์ของแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ย้อมด้วย malachite green เมื่อแบคทีเรียปฏิปักษ์มีอายุ 48 ชั่วโมง

ตารางที่ 5 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ที่ต้านทาน rifampicin ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* บนอาหาร PDA และเปอร์เซ็นต์การเข้าครอบครองรากของแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ต้านทาน rifampicin และเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในต้นกล้าผักกาดหอม

ไอโซเลท	การยับยั้งการเจริญของเส้นใย *Pythium* (%)[1/]	การครอบครองรากของแบคทีเรีย (%)[2/]	การครอบครองรากของ *Pythium* (%)
BH15/4	57.6	56.2	0
BH15 wild type	65.0	nd [3/]	18.7
GC14/6	63.6	43.7	0
GC14 wild type	62.7	nd	0
FL17/2	57.0	100.0	0
FL17 wild type	63.6	nd	0
RO14/2	63.6	56.2	6.2
RO14 wild type	60.7	nd	18.7
RO15/6	52.8	100.0	0
RO15 wild type	61.6	nd	0

[1/] เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใย *P. aphanidermatum* เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

คำนวณจาก เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใย $= \frac{R1 - R2}{R1} \times 100$

R1 คือ รัศมีการเจริญของเส้นใย *P. aphanidermatum* ในกรรมวิธีควบคุม

R2 คือ รัศมีการเจริญของเส้นใย *P. aphanidermatum* ในกรรมวิธีทดสอบ

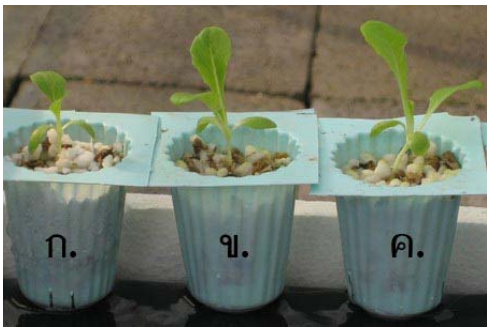
โดยที่ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ นำมาเปรียบเทียบภายในไอโซเลทเดียวกัน (มีรายละเอียดในภาคผนวก)

[2/] เปอร์เซ็นต์การครอบครองรากของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ต้านทานสารปฏิชีวนะ rifampicin คิดค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ โดยไม่ได้เปรียบเทียบกับโคโลนีที่เป็น wild type โดยนำรากของผักกาดหอม ล้างด้วย 0.525 % sodium hypochlorite ไปวางบนอาหาร NGA ที่ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin 100 ppm

[3/] nd = non-determined (ไม่ได้ตรวจสอบ)

7. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์

จากการเพาะเมล็ดผักกาดหอมชนิดกรีนคอสแล้วอนุบาลด้วยน้ำซึ่งมีเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ทดสอบเป็นเวลา 14 วัน เมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การงอกพบว่า ในกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ทุกกรรมวิธี ส่งผลให้เมล็ดผักกาดหอมมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ไม่ใช้แบคทีเรีย อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยแบคทีเรียสายพันธุ์ FL17 RO14 RO15 ส่งผลให้ผักกาดหอมมีเปอร์เซ็นต์การงอกไม่แตกต่างกัน คือ 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาเป็น GC14 BH15 และ ชีวภัณฑ์ลาร์มินา (Larmina ®) โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกเท่ากับ 98.4 98.4 96.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมมีเปอร์เซ็นต์การงอกเท่ากับ 93.8 จึงเห็นได้ว่าในกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียทดสอบช่วยส่งเสริมการงอกของเมล็ดผักกาดหอมได้ และเมื่ออนุบาลกล้าไว้เป็นเวลา 14 วัน พบว่า กรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ GC14 RO15 และ FL17 ส่งผลให้ต้นกล้าของผักกาดหอมมีค่าเฉลี่ยความสูง สูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ไม่ใส่เชื้อแบคทีเรีย (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 7 การเจริญเติบโตด้านความสูงของต้นกล้าผักกาดหอมอายุ 14 วันหลังเพาะเมล็ด

ก. กรรมวิธีการควบคุม

ข. กรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ GC14

ค. กรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ FL17

นอกจากกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ช่วยส่งผลให้ต้นกล้าผักกาดหอมเจริญเติบโตได้เร็วในระยะแรกแล้ว ยังพบว่ารากของต้นกล้าผักกาดหอมโผล่พ้นก้นถ้วยปลูกได้เร็วกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์อีกด้วย

เมื่อนำข้อมูลด้านความสูงของผักกาดหอม ที่อายุ 14 28 และ 35 วัน ในแต่ละกรรมวิธีมาเปรียบเทียบกัน พบว่ากรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์เกือบทุกสายพันธุ์ ส่งผลให้การเจริญเติบโตด้านความสูงของต้นผักกาดหอม สูงกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเฉพาะแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ FL17 และ GC14 ซึ่งมีความสูงที่ 14 28 และ 35 วัน เท่ากับ 5.7 12.2 18.2 และ 5.5 12.0 17.8 เซนติเมตร เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อโรค *P. aphanidermatum* เท่ากับ 3.8 10.7 16.3 เซนติเมตร (ตารางที่ 6) จึงจะเห็นได้ว่าแบคทีเรียทดสอบเกือบทุกสายพันธุ์สามารถไปส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดหอมได้ แม้ในสภาวะที่ระบบการปลูกจะมีเชื้อโรคก็ตาม ดังนั้นถ้ามีการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ตั้งแต่ในระยะแรกของการปลูก รวมถึงในช่วงอนุบาลต้นกล้า จะช่วยส่งผลให้ต้นกล้าของผักกาดหอมมีการเจริญเติบโตได้ดีขึ้น ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจากแบคทีเรียปฏิปักษ์มีการผลิตฮอร์โมน IAA – indole-3-acetic acid (Steenhoudt and Vanderleyden, 2000) หรือสร้าง Phytohormone แล้วส่งผลไปกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นกล้าตั้งแต่ในระยะแรกได้ เช่นเดียวกับแบคทีเรียในกลุ่ม plant growth promoting rhizobacteria 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *Pseudomonas putida,* 21/1K: *Enterobacter cloacae*, 62: *Serratia marcescens*, 70: *Pseudomonas fluorescens*, 66/3: *Bacillus* spp., 180: *Pseudomonas putida*) และเปรียบเทียบกับแบคทีเรียที่เป็นการค้า 2 สายพันธุ์ (*Bacillus amyloliquefaciens* FZB24, *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42) แบคทีเรียดังกล่าวสามารถผลิตฮอร์โมน IAA และละลาย phosphate ได้ในห้องปฏิบัติการ โดยผลิตฮอร์โมนอยู่ระหว่าง 0.700 ถึง 0.065 $\mu g\ ml^{-1}$ และพบว่าสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นกล้าแตงกวา มะเขือเทศและพริกได้ (Kidoglu *et al*., 2007)

ตารางที่ 6 อิทธิพลของแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของผักกาดหอมชนิดกรีนคอสที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT ในด้านความสูงลำต้น เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การงอก	ความสูงของลำต้นผักกาดหอมที่อายุต่างๆ กัน (ซม.)		
	(%)	14 วัน	28 วัน	35 วัน
Control (- Pa) [1/]	93.7 d [2/]	3.8 cd	10.7 bcd	16.3 c
Control (+ Pa) [3/]	93.7 d	3.8 cd	10.6 bcd	15.4 d
FL17 (+ Pa)	100.0 a	5.7 a	12.2 a	18.2 a
GC14 (+ Pa)	98.4 b	5.5 a	12.0 a	17.9 ab
RO14 (+ Pa)	100 a	3.8 cd	10.7 bcd	15.3 d
RO15 (+ Pa)	100 a	5.1 b	11.8 a	17.3 b
BH15 (+ Pa)	96.9 c	4.2 c	11.1 b	17.6 ab
Larmina ® (+ Pa)[4/]	98.4 b	4.0 cd	10.3 d	15.8 cd
C.V. (%)	7.68	5.14	2.29	2.83

[1/] กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (- Pa)

[2/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

[3/] กรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+ Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

[4/] กรรมวิธีทดสอบที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีจำหน่ายเป็นชีวภัณฑ์การค้าชื่อลาร์มินา ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัส ซับทิลิส (*Bacillus subtilis)* มีปริมาณเชื้อ 10^9 CFU/ กรัม ใช้อัตรา 25 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร

เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของผักกาดหอมที่อายุเก็บเกี่ยว 42 วันพบว่าในด้านจำนวนใบ กรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ BH15 และ RO15 ส่งผลให้มีจำนวนใบต่อต้นสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อโรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ยของจำนวนใบเท่ากับ 16.1 และ 14.2 ใบต่อต้นตามลำดับ ในส่วนของความกว้างใบพบว่าเมื่อเปรียบเทียบกันในกรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อโรค แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ BH15 ให้ความกว้างใบของผักกาดหอมมีค่าเฉลี่ยความกว้างใบสูงที่สุด (10.9 เซนติเมตร) โดยสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อโรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อโรค (11.10 เซนติเมตร) ดังนั้นแม้ในสภาพที่มีเชื้อโรคแต่มีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์อยู่ในระบบ ผักกาดหอมก็ยังสามารถเจริญเติบโตได้ไม่แตกต่างกับสภาพที่ไม่มีเชื้อโรค ส่วนในด้านความยาวใบ พบว่าทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ด้านความสูงของลำต้น พบว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ทำให้ต้นผักกาดหอมมีค่าเฉลี่ยความสูง สูงกว่ากรรมวิธีควบคุมทั้งในสภาพที่มีเชื้อโรคและไม่มีเชื้อโรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ BH15 ส่งผลให้ลำต้นผักกาดหอมมีค่าเฉลี่ยความสูงลำต้น สูงกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เท่ากับ 29.2 เซนติเมตร (ตารางที่ 7) ส่วนในด้านเส้นรอบวงลำต้น ความกว้างทรงพุ่มและความยาวราก กรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ BH15 มีค่าเฉลี่ยเส้นรอบวงลำต้นสูงกว่ากรรมวิธีอื่น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (15.2 มิลลิเมตร) ความกว้างทรงพุ่มกรรมวิธีใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ BH15 และแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ RO15 มีค่าเฉลี่ยความกว้างทรงพุ่มสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (44.0 เซนติเมตร) ความยาวรากค่าเฉลี่ยความยาวรากของผักกาดหอมที่อายุ 42 วัน ในกรรมวิธีใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ BH15 มีค่าเฉลี่ยความยาวรากสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อโรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ไม่ปลูกเชื้อโรค (ตารางที่ 8) (ภาพที่ 7 และ 8)

ตารางที่ 7 อิทธิพลของแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมชนิดกรีนคอสที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT ในด้านจำนวนใบต่อต้น ความกว้างใบ ความยาวใบ และความสูงลำต้น เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

กรรมวิธี	จำนวนใบ (ใบ/ต้น)	ความกว้างใบ (ซม.)	ความยาวใบ (ซม.)	ความสูงลำต้น (ซม.)
Control (- Pa) [1/]	14.0 b [2/]	11.1 a	20.5 a-d	23.8 c
Control (+ Pa) [3/]	12.7 c	9.8 cd	20.6 a-d	23.3 c
FL17 (+ Pa)	13.7 bc	10.0 cd	20.7 a-d	26.7 b
GC14 (+ Pa)	13.5 bc	10.3 bc	21.0 ab	26.8 b
RO14 (+ Pa)	11.5 d	9.5 d	19.8 d	26.0 b
RO15 (+ Pa)	14.2 b	10.3 bc	21.5 a	26.3 b
BH15 (+ Pa)	16.1 a	10.9 ab	21.5 a	29.2 a
Larmina ® (+ Pa) [4/]	13.2 bc	10.0 cd	20.4 a-d	26.0 b
C.V. (%)	5.20	3.91	2.84	2.86

[1/] กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (- Pa)

[2/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

[3/] กรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+ Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

[4/] กรรมวิธีทดสอบที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีจำหน่ายเป็นชีวภัณฑ์การค้าชื่อลาร์มินา ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัส ซับทิลิส (*Bacillus subtilis)* มีปริมาณเชื้อ 10^9 CFU/ กรัม ใช้อัตรา 25 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร

ตารางที่ 8 อิทธิพลของแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมชนิดกรีนคอสที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT ในด้านเส้นรอบวงลำต้น ความกว้างทรงพุ่ม และความยาวราก เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

กรรมวิธี	เส้นรอบวงลำต้น (มม.)	ความกว้างทรงพุ่ม (ซม.)	ความยาวราก (ซม.)
Control (- Pa) [1/]	11.1 b [2/]	40.5 b	40.7 a
Control (+ Pa) [3/]	9.8 b	39.0 b	29.7 cd
FL17 (+ Pa)	11.2 ab	39.3 b	30.7 bcd
GC14 (+ Pa)	11.5 ab	38.3 b	32.1 bc
RO14 (+ Pa)	10.9 b	38.0 b	29.0 d
RO15 (+ Pa)	12.0 ab	44.0 a	30.6 bcd
BH15 (+ Pa)	15.2 a	44.0 a	33.2 b
Larmina ® (+ Pa) [4/]	12.0 ab	38.7 b	31.5 bcd
C.V. (%)	21.19	5.32	5.13

[1/] กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (- Pa)

[2/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

[3/] กรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+ Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

[4/] กรรมวิธีทดสอบที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีจำหน่ายเป็นชีวภัณฑ์การค้าชื่อลาร์มินา ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัส ซับทิลิส (*Bacillus subtilis)* มีปริมาณเชื้อ 10^{9} CFU/ กรัม ใช้อัตรา 25 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร

เมื่อนำผักกาดหอมในแต่ละกรรมวิธีไปชั่งน้ำหนัก พบว่าค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดต้น และน้ำหนักสดรากของผักกาดหอม ในกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ BH15 RO15 และ Lar ® มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักต้นและรากสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อโรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเฉพาะในสายพันธุ์ BH15 มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดต้น และน้ำหนักสดรากเป็น 115.4 18.5 กรัม/ต้น ตามลำดับ และในส่วนน้ำหนักแห้งก็เป็นไปในทิศทางเดียวกัน ส่วนค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดรวมทั้งต้นและรากในกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียมีค่าสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อโรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ กรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ BH15 RO15 และ Lar ® มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักรวมเท่ากับ 133.9 105.5 103.4 กรัมต่อต้น ตามลำดับ ส่วนในกรรมวิธีที่ปลูกเชื้อโรคมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 80.30 กรัมต่อต้น (ตารางที่ 9)

จึงเห็นได้ว่าในสภาพที่มีเชื้อโรคอยู่ในระบบของสารละลายธาตุอาหาร เชื้อโรคจะไปมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมทำให้น้ำหนักสด หรือผลผลิตลดลงได้ สอดคล้องกับงานของ Menzies *et al.* (1996) ที่พบว่าการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ส่งผลให้รากของแตงกวาที่ปลูกในระบบ NFT เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และที่ระดับ 2 x 10^6 CFU/100 ลิตร ทำให้ต้นแตงกวาตาย ในระหว่าง 7 – 28 วัน หลังจากการปลูกเชื้อ และแตงกวาที่ปลูกเชื้อในปริมาณที่ต่ำแม้จะไม่ทำให้ต้นแตงกวาตายแต่ก็ทำให้การเจริญเติบโตและผลผลิตลดลง

ตารางที่ 9 อิทธิพลของแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของผักกาดหอม ชนิดกรีนคอสที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

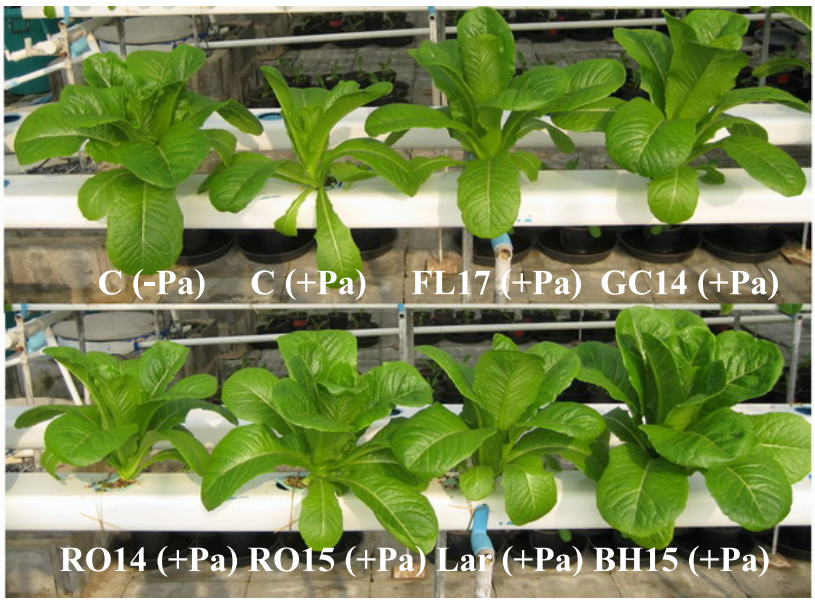
กรรมวิธี	น้ำหนักสด (กรัม/ต้น)			น้ำหนักแห้ง (กรัม/ต้น)		
	นน.ต้น	นน.ราก	นน.รวม	นน.ต้น	นน.ราก	นน.รวม
Control (-Pa) [1/]	90.0 b [2/]	14.4 bc	104.4 b	3.6 b	0.4 ab	4.0 b
Control (+ Pa) [3/]	68.8 d	11.5 c	80.0 cd	2.8 cd	0.3 b	3.2 cd
FL17 (+ Pa)	83.2 bc	12.5 bc	95.7 bc	3.4 bc	0.4 ab	3.8 bc
GC14 (+ Pa)	73.7 cd	11.2 c	85.0 cd	3.0 bcd	0.3 b	3.3 bcd
RO14 (+ Pa)	67.5 d	11.7 c	79.2 d	2.6 d	0.4 ab	2.9 d
RO15 (+ Pa)	90.6 b	14.9 b	105.5 b	3.6 b	0.4 ab	4.0 b
BH15 (+ Pa)	115.4 a	18.5 a	133.9 a	5.2 a	0.6 a	5.8 a
Larmina ® (+ Pa) [4/]	85.8 bc	13.3 bc	103.4 b	3.6 bc	0.4 ab	4.0 b
C.V. (%)	10.51	14.23	6.29	13.84	11.91	12.25

[1/] กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (- Pa)

[2/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

[3/] กรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+ Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

[4/] กรรมวิธีทดสอบที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีจำหน่ายเป็นชีวภัณฑ์การค้าชื่อลาร์มินา ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัส ซับทิลิส (*Bacillus subtilis)* มีปริมาณเชื้อ 10^9 CFU/ กรัม ใช้อัตรา 25 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร



ภาพที่ 8 อิทธิพลของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ต่างๆ ที่เติมลงในสารละลายธาตุอาหารซึ่งมีการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa) ลงไป ต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมอายุ 42 วัน โดยนำผักกาดหอมในแต่ละกรรมวิธีมาเปรียบเทียบกันบนรางปลูก

C (-Pa) = กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum*

C (+Pa) = กรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

FL17 (+Pa) = กรรมวิธีที่ใส่แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ FL17 อัตรา 100 มิลลิลิตร ต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร และมีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

GC14 (+Pa) = กรรมวิธีที่ใส่แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ GC14 อัตรา 100 มิลลิลิตร ต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตรและมีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

RO14 (+Pa) = กรรมวิธีที่ใส่แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ RO14 อัตรา 100 มิลลิลิตร ต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตรและมีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

RO15 (+Pa) = กรรมวิธีที่ใส่แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ RO15 อัตรา 100 มิลลิลิตร ต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตรและมีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

Lar (+Pa) = กรรมวิธีที่ใส่ชีวภัณฑ์การค้า(ลามินาร์) อัตรา100 กรัม ต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตรและมีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

BH15 (+Pa) = กรรมวิธีที่ใส่แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ BH15 อัตรา100 มิลลิลิตร ต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตรและมีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

C (-Pa) C (+Pa) FL17 (+Pa) GC14 (+Pa) RO14 (+Pa) RO15 (+Pa) Lar (+Pa) BH15 (+Pa)

ภาพที่ 9 อิทธิพลของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ต่างๆ ที่เติมลงในสารละลายธาตุอาหารซึ่งมีการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa) ลงไปต่อการพัฒนาระบบรากของผักกาดหอม เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

C (-Pa) = กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum*

C (+Pa) = กรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

FL17 (+Pa) = กรรมวิธีที่ใส่แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ FL17 อัตรา 100 มิลลิลิตร ต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร และมีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

GC14 (+Pa) = กรรมวิธีที่ใส่แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ GC14 อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตรและมีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

RO14 (+Pa) = กรรมวิธีที่ใส่แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ RO14 อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตรและมีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

RO15 (+Pa) = กรรมวิธีที่ใส่แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ RO15 อัตรา 100 มิลลิลิตร ต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตรและมีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

Lar (+Pa) = กรรมวิธีที่ใส่ชีวภัณฑ์การค้า(ลามินาร์) อัตรา 100 กรัม ต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตรและมีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

BH15 (+Pa) = กรรมวิธีที่ใส่แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ BH15 อัตรา 100 มิลลิลิตร ต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตรและมีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

เมื่อพิจารณาพื้นที่การเกิดโรคบนรากของผักกาดหอมที่มีอายุ 42 วัน พบว่าในกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อโรค มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนรากสูงกว่ากรรมวิธีอื่น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เท่ากับ 74.6 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีอื่นๆ ที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนรากไม่แตกต่างกันในทางสถิติยกเว้นในกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ RO14 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 50.8 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำไปคำนวณค่าดัชนีการเกิดโรคตามสูตร ก็พบว่าให้ผลไปในทิศทางเดียวกันคือ ในกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อโรค แต่ไม่มีการใส่แบคทีเรียปฏิปักษ์ ดัชนีการเกิดโรครุนแรงมีเปอร์เซ็นต์สูงที่สุดเท่ากับ 81.3 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีที่มีดัชนีการเกิดโรคต่ำสุดคือกรรมวิธีที่มีการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ FL17 GC14 และ BH15 เท่ากับ 63.9 66.7 และ 66.7 ตามลำดับ (ตารางที่ 10) ดังที่ได้กล่าวข้างต้นแล้วว่าแม้ในกรรมวิธีที่มีการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ จะไม่สามารถป้องการเกิดโรคได้ดี แต่ในสภาพที่มีเชื้อโรค แบคทีเรียปฏิปักษ์ก็ยังสามารถลดความรุนแรงของโรคที่เกิดขึ้นได้และยังสามารถลดความเสียหายของผลผลิตได้เช่นกัน ดังจะเห็นได้จากบางกรรมวิธี ถึงแม้น้ำหนักสดจะไม่ได้สูงเท่ากรรมวิธีที่ไม่มีเชื้อโรคแต่น้ำหนักสด หรือผลผลิตก็ยังมีค่าสูงกว่ากรรมวิธีที่ปลูกเชื้อโรคเพียงอย่างเดียว แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ใส่ลงไปในระบบ สามารถไปควบคุมโรคหรือลดความเสียหายที่จะเกิดกับผลผลิตได้ เช่นเดียวกับงานของ Liu *et al.* (2007) ที่แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ 5 สายพันธุ์ คือ *Pseudomonas chlororaphis* สายพันธุ์ 63-28, *Bacillus cereus* สายพันธุ์ HY06, *Pseudomonas chlororaphis* สายพันธุ์ Tx- 1, *B. gladioli* สายพันธุ์ C-2-74 และ *C. acidovorans* สายพันธุ์ OCR-7-8-38 มีศักยภาพในการควบคุมโรครากเน่าของเบญจมาศที่เกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* และ *P. dissotocum* ที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์

เมื่อนำสารละลายธาตุอาหารของระบบปลูก ในสัปดาห์สุดท้ายของการทดลองมาตรวจนับปริมาณเชื้อรา *P. aphanidermatum* บนอาหาร BNPRA และแบคทีเรียปฏิปักษ์ บนอาหาร NGA ผสมกับสารปฏิชีวนะ Rifampicin 60 ppm พบว่าในกรรมวิธีที่ปลูกเชื้อโรคเพียงอย่างเดียวและกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ RO14 พบเชื้อโรคในปริมาณที่สูงกว่ากรรมวิธีอื่น คือ 20 โคโลนีต่อสารละลายธาตุอาหาร 1 มิลลิลิตร (CFU/ml) กรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ FL17 GC14 BH15 พบในปริมาณเท่ากันคือ 3.3 CFU/ml ซึ่งต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมที่มีเชื้อโรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 10) จึงเป็นที่น่าสังเกตว่า การที่ผักกาดหอมในกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ RO14 มีการเจริญในด้านต่าง ๆ และน้ำหนักสด ไม่แตกต่างจากกรรมวิธีที่ใส่เชื้อโรคเพียงอย่างเดียว อาจเนื่องมาจากแบคทีเรียสายพันธุ์นี้ ปรับตัวในสภาพแวดล้อมได้ไม่ดีนัก ไม่สามารถป้องกัน หรือยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อโรคได้ ทำให้การเจริญเติบโตของผักกาดหอมในกรรมวิธี

นี้ ไม่แตกต่างจากกรรมวิธีควบคุมที่ใส่เชื้อโรคเพียงอย่างเดียว ส่วนในกรรมวิธีอื่นๆ พบว่าเชื้อโรคมีปริมาณน้อยกว่า แสดงว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์อาจไปลดปริมาณเชื้อโรคลงหรือยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อโรคทำให้สามารถลดความรุนแรงของโรคที่จะเกิดขึ้นที่บริเวณรากได้ ส่วนปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่พบในสารละลายก็พบว่ากรรมวิธีที่มีปริมาณแบคทีเรียมากที่สุดคือ RO15 พบในปริมาณ 1.1×10^4 CFU/ml ส่วนกรรมวิธีอื่นๆ ก็พบในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 10) แต่ในกรรมวิธีที่ใช้ ชีวภัณฑ์ลาร์มินา ไม่สามารถตรวจนับได้ ทั้งนี้เนื่องจากในระบบรางปลูกตามธรรมชาติเอง อาจมีแบคทีเรียอาศัยอยู่ในปริมาณมากและมีลักษณะโคโลนีที่หลากหลายต่างกันออกไป จึงไม่สามารถทำการตรวจสอบได้ว่าแบคทีเรียที่นำมาใช้ มีลักษณะโคโลนีแบบใด

เมื่อตรวจเปอร์เซ็นต์การครอบครองของจุลินทรีย์บริเวณรากของผักกาดหอมและวัสดุปลูก (ในถ้วยเพาะกล้า) พบว่าในส่วนของรากของผักกาดหอม กรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อโรคพบเชื้อรา *P. aphanidermatum* ปริมาณสูง เท่ากับ 73.3 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ RO14 50.84 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ กรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ BH15 ไม่พบเชื้อโรคเลย เมื่อตรวจเปอร์เซ็นต์การครอบครองรากของแบคทีเรียปฏิปักษ์ พบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถครอบครองบริเวณผิวรากด้านนอกและภายในรากผักกาดหอม โดยสายพันธุ์ที่สามารถครอบครองผิวรากบริเวณด้านนอกได้ดีคือ GC14 RO15 BH15 และFL17 มีเปอร์เซ็นต์การครอบครองเท่ากับ 93.3 93.3 86.7 และ 80 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ยกเว้นกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ RO14 มีค่าเปอร์เซ็นต์การครอบครองต่ำกว่ากรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ 53.3 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ในราก พบว่าทุกสายพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์การครอบครองรากได้ดีไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ยกเว้นสายพันธุ์ RO14 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ครอบครองรากต่ำกว่าสายพันธุ์อื่น (ตารางที่ 11)

เชื้อรา *P. aphanidermatum* สามารถอาศัยอยู่กับวัสดุปลูก (ในถ้วยเพาะกล้า) ได้ โดยในกรรมวิธีที่ปลูกเชื้อโรค พบเปอร์เซ็นต์การครอบครองอยู่ในปริมาณสูงเท่ากับ 80 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ RO14 เท่ากับ 73.33 เปอร์เซ็นต์ ส่วนปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ในวัสดุปลูก พบว่าแบคทีเรียทุกสายพันธุ์สามารถครอบครองวัสดุปลูกได้ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 10 ปริมาณเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* และแบคทีเรียปฏิปักษ์ในสารละลายธาตุอาหารเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนราก และดัชนีการเกิดโรค เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

กรรมวิธี	การเกิดโรคบนราก (%)[1/]	ดัชนีการเกิดโรค (%)[2/]	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ (CFU/ml)[3/]	
			เชื้อรา *Pythium*	เชื้อแบคทีเรีย
Control (-Pa)[4/]	12.3 e[5/]	16.7	nd	nd
Control (+ Pa)[6/]	74.6 a	81.2	20 a	nd
FL17 (+ Pa)	37.9 cd	63.9	3.3 b	1.4×10^3
GC14 (+ Pa)	35.8 d	66.7	3.3 b	1.7×10^3
RO14 (+ Pa)	50.8 b	80.6	20 a	5.7×10^3
RO15 (+ Pa)	34.2 d	76.4	6.7 ab	1.1×10^4
BH15 (+ Pa)	34.6 d	66.7	3.3 b	1.4×10^3
Lar ® (+ Pa)[7/]	40.5 c	69.4	13 ab	nd
C.V. (%)	6.29		13.12	

[1/] เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนราก ประเมินจากเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายของเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ต่อระบบรากทั้งหมด โดยเทียบระบบรากทั้งหมดเป็น 100 %

[2/] ดัชนีการเกิดโรค คำนวณหาค่าดัชนีการเกิดโรค (%) (Disease index) ดังสูตร

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค (\%)} = \frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนต้นที่แสดงอาการ} \times \text{ระดับอาการ)} \times 100}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด} \times \text{ระดับอาการสูงสุด}}$$

[3/] ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ตรวจนับเมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน โดยนำสารละลายธาตุอาหารในสัปดาห์สุดท้ายของการทดลองมาทำ dilution plate บนอาหาร NGA ผสม rifampicin 60 ppm สำหรับตรวจนับแบคทีเรียปฏิปักษ์ และ อาหาร BNPRA สำหรับเชื้อรา *P. aphanidermatum*

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

[5/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

[6/] กรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+ Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

[7/] กรรมวิธีทดสอบที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีจำหน่ายเป็นชีวภัณฑ์การค้าชื่อลาร์มินา ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัส ซับทิลิส (*Bacillus subtilis)* มีปริมาณเชื้อ 10^9 CFU/ กรัม ใช้อัตรา 25 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร

ตารางที่ 11 ปริมาณเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* และแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่บริเวณรากและบนวัสดุปลูกในถ้วยเพาะกล้าของผักกาดหอมชนิดกรีนคอสที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

กรรมวิธี	เชื้อรา *Pythium* [1/]		เชื้อแบคทีเรีย		
	ราก (%)	วัสดุปลูก (%)	ผิวราก ด้านนอก (%)	ในราก (%)	วัสดุปลูก (%)
Control (-Pa) [2/]	nd[3/]	nd	nd	nd	nd
Control (+ Pa) [4/]	73.3 a [5/]	80.0 a	nd	nd	nd
FL17 (+ Pa)	13.3 d	60.0 ab	80.0 a	73.3 a	100.0
GC14 (+ Pa)	13.3 d	40.0 b	93.3 a	80.0 a	100.0
RO14 (+ Pa)	53.3 b	73.3 ab	53.3 b	46.7 b	93.3
RO15 (+ Pa)	20.0 cd	60.0 ab	93.3 a	86.7 a	100.0
BH15 (+ Pa)	0 e	40.0 b	86.7 a	86.7 a	100.0
Lar ® (+ Pa) [6/]	40.0 bc	60.0 ab	nd	nd	nd
					ns
C.V. (%)	47.4	30.97	12.69	13.83	5.23

[1/] ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ตรวจนับเมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน โดยนำสารละลายธาตุอาหารในสัปดาห์สุดท้ายของการทดลองมาทำ dilution plate อาหาร NGA ผสม rifampicin 60 ppm สำหรับตรวจนับแบคทีเรียปฏิปักษ์ และ อาหาร BNPRA สำหรับเชื้อรา *P. aphanidermatum*

[2/] กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (- Pa)

[3/] nd = non-determined (ไม่ได้ตรวจสอบ)

[4/] กรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+ Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

[5/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

[6/] กรรมวิธีทดสอบที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีจำหน่ายเป็นชีวภัณฑ์การค้าชื่อลาร์มินา ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัส ซับทิลิส (*Bacillus subtilis)* มีปริมาณเชื้อ 10^9 CFU/ กรัม ใช้อัตรา 25 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร

จากผลการทดลองทั้งหมด พบว่าในสภาพที่ระบบปลูกมีเชื้อโรคเหมือนกัน ผักกาดหอมในกรรมวิธีที่มีการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ก็ยังมีการเจริญเติบโตได้ดีเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกแต่เชื้อโรคเพียงอย่างเดียว ถึงแม้ตามธรรมชาติในระบบการพืชปลูกแบบไฮโดรโพนิกส์จะมีแบคทีเรียที่เป็นปฏิปักษ์อาศัยอยู่แล้ว ไม่ว่าทั้งในบริเวณวัสดุปลูกทั้งที่เป็นวัสดุปลูกแบบอินทรีย์และแบบอนินทรีย์ เช่น เพอร์ไลท์ เวอร์มิคูไลท์ บริเวณผิวรากของพืชทั้งด้านนอกและด้านในในสารละลายธาตุอาหาร แบคทีเรียเหล่านั้นอาจไม่สามารถปกป้องรากจากเชื้อสาเหตุโรคที่จะเข้าทำลาย หรือไปครอบครองพื้นที่ผิวรากของผักกาดหอมทั้งหมดได้ ถ้าไม่ได้มีคุณสมบัติในการควบคุมโรค หรือมีปริมาณไม่มากพอ เนื่องจากในธรรมชาติจุลินทรีย์ด้วยกันเองก็มีการแก่งแย่งพื้นที่และอาหารกันอยู่แล้ว แต่ถ้าใส่แบคทีเรียปฏิปักษ์ลงไปในระบบสารละลายตั้งแต่ระยะอนุบาลกล้า เท่ากับว่าเป็นการป้องกันโรคตั้งแต่ระยะที่เมล็ดเริ่มงอก และแบคทีเรียสามารถเจริญอยู่ได้ในวัสดุปลูกตั้งแต่แรก อยู่ในสารละลายธาตุอาหาร เจริญครอบครองรากไปได้ในทุกระยะการเจริญเติบโตของผักกาดหอม เมื่อมีเชื้อโรคเข้าทำลายราก แบคทีเรียก็สามารถป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อโรคได้และนอกจากจะเป็นการป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อโรค แล้วแบคทีเรียบางกลุ่มโดยเฉพาะในกลุ่ม *Bacillus* ยังสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและชักนำให้พืชเกิดความต้านทานได้อีกด้วย (De Weert *et al*., 2002) จึงทำให้ผักกาดหอมมีการเจริญเติบโตได้ดีขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ (พรหมมาศ, 2548) ที่ทำการคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์บริเวณรากพืช (rhizobacteria) ของผักสลัดที่ปลูกในระบบ NFT มาจำนวน 77 ไอโซเลท แล้วคัดเลือกไอโซเลทที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Pythium myriotylum* ได้มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดที่อายุ 3 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์มีแนวโน้มลดความรุนแรงของการเกิดโรคได้ และเพิ่มน้ำหนักสดของผักสลัดได้

8. การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์

เมื่อนำแบคทีเรียที่ผ่านการคัดเลือกจากการทดลองในข้อ 7 ไปทำการจัดจำแนกโดยใช้ระบบการจำแนกเชื้อแบคทีเรียอย่างรวดเร็ว (Biolog Microlog System, Hayward, CA, USA) ได้ผลดังนี้

แบคทีเรียสายพันธุ์ BH15 = *Bacillus cereus* (*thuringiensis*) (% similarity = 79)
แบคทีเรียสายพันธุ์ FL17 = *Bacillus mycoides* (% similarity = 72)
แบคทีเรียสายพันธุ์ RO15 = *Bacillus* sp. (unidentified species)
แบคทีเรียสายพันธุ์ GC14 = *Bacillus* sp. (unidentified species)

ข้อความจากนี้ไป ขอใช้คำว่า *Bacillus cereus* BH15 แทนแบคทีเรีย *B. cereus* (*thuringiensis*) BH15 นำแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพจากการทดลองที่ 7 คือแบคทีเรีย *B. cereus* BH15 และ แบคทีเรีย *Bacillus* sp. RO15 มาทดสอบเปรียบเทียบกับการใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 ในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT สาเหตุจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* ทั้งแบบร่วมกัน หรือแบบเดี่ยว

เมื่อผักกาดหอมอายุ 42 วัน ในด้านจำนวนใบต่อต้น เมื่อเปรียบเทียบกันในกรรมวิธีที่ปลูกโดยไม่มีการปลูกเชื้อโรค พบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนใบต่อต้นที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ขณะที่กรรมวิธีที่ปลูกเชื้อโรค กรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 และ กรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. RO15 ร่วมกับเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 ส่งผลให้ค่าเฉลี่ยจำนวนใบต่อต้น (17.6 และ16.4 ใบ/ต้น ตามลำดับ) มีค่าสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อโรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในด้านของความกว้างใบ ความยาวใบ และความสูงลำต้น เมื่อเปรียบเทียบเฉพาะกรรมวิธีที่ไม่มีการปลูกเชื้อโรค กรรมวิธีที่มีค่าเฉลี่ยสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรีย *Bacillus cereus* BH15 (11.6 23.8 32.1 เซนติเมตร ตามลำดับ) ในขณะที่กรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อโรคพบว่ากรรมวิธีที่ใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ค่าเฉลี่ยของความกว้างใบ ความยาวใบ และความสูงลำต้นสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 มีค่าเฉลี่ยความกว้างใบ ความยาวใบ และความสูงลำต้นสูงที่สุด (11.3 22.9 30.4 เซนติเมตร ตามลำดับ) (ตารางที่ 12) เมื่อเปรียบเทียบเส้น

ผ่านศูนย์กลางลำต้นพบว่าในกรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อโรค ค่าที่เฉลี่ยที่ได้ในกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรีย *B. cereus* BH15 ให้ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุม และกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 มีค่าเฉลี่ย (12.6 มิลลิเมตร) สูงกว่ากรรมวิธีควบคุม (11.5 มิลลิเมตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่กรรมวิธีอื่นค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ค่าเฉลี่ยความกว้างทรงพุ่ม เมื่อเปรียบเทียบกันในกรรมวิธีที่ไม่มีการปลูกเชื้อโรค กรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรีย *B. cereus* BH15 มีค่าเฉลี่ยความกว้างทรงพุ่มเท่ากับ 40.7 เซนติเมตร สูงกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ในกรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อโรค ทุกกรรมวิธีที่ใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ให้ค่าเฉลี่ยความกว้างทรงพุ่มสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยค่าเฉลี่ยความกว้างทรงพุ่มของกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรีย *Bacillus* sp. RO15 ร่วมกับ เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 (39.2 เซนติเมตร) และกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 (39.0 เซนติเมตร) สูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อโรค (34.8 เซนติเมตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 13)

ความยาวรากของผักกาดหอมเมื่ออายุ 42 วัน ในกรรมวิธีที่ไม่มีการปลูกเชื้อโรคพบว่าค่าเฉลี่ยที่ได้จากทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ส่วนในกรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อโรคพบว่าในกรรมวิธีใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์แบบเดี่ยว มีค่าเฉลี่ยความยาวรากไม่แตกต่างกันในทางสถิติ สำหรับกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรีย *Bacillus* sp. RO15 ร่วมกับ เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 และกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 แบบเดี่ยว มีค่าเฉลี่ยความยาวราก(32.7 และ 40.2 เซนติเมตร ตามลำดับ) สูงกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (26.3 เซนติเมตร) (ตารางที่ 13)

เมื่อนำผักกาดหอมไปชั่งน้ำหนักสดและแห้ง พบว่าค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของต้นผักกาดหอมในกรรมวิธีที่ไม่มีการปลูกเชื้อโรค ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ในขณะที่ถ้าเมื่อเปรียบเทียบกันในกรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อโรค พบว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของต้นมีค่ามากกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักเท่ากับ 113.3 กรัม/ต้น ขณะที่กรรมวิธีควบคุม ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของต้นผักกาดหอมเป็น 61.04 กรัม/ต้นในส่วนของน้ำหนักรากพบว่ากรรมวิธีที่ไม่มีการปลูกเชื้อโรค ค่าเฉลี่ยที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ขณะที่กรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อโรค ค่าเฉลี่ยที่ได้ก็ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติเช่นกัน ยกเว้นในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 ค่าเฉลี่ยที่ได้ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีอื่นๆ (15.42 กรัม/ต้น)

(ตารางที่ 14) จากข้อมูลถึงแม้น้ำหนักรากของกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียจะมีค่าน้อยกว่ากรรมวิธีควบคุมแต่เมื่อเทียบน้ำหนักสดแล้วผักกาดหอมก็ยังมีน้ำหนักสดสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมอาจจะเป็นไปได้ว่าแม้รากของผักกาดหอมจะมีปริมาณมากกว่า แต่ถ้ารากของผักกาดหอม มีพื้นที่ในการเกิดโรคที่สูงกว่า ประสิทธิภาพในการดูดซับธาตุอาหารของรากย่อมลดน้อยลง จนอาจส่งผลกระทบต่อผลผลิตได้

น้ำหนักสดรวมทั้งต้นของผักกาดหอม ในกรรมวิธีที่มีเชื้อโรค พบว่าในกรรมวิธีที่ใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดรวมแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีควบคุม ยกเว้นในกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. RO15 โดยค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดรวมทั้งต้นของกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 กรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรีย *Bacillus* sp. RO15 ร่วมกับเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 และ แบคทีเรีย *B. cereus* BH15 เท่ากับ 113.3 90.8 และ 80.0 กรัม/ต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 14)

เมื่อเปรียบเทียบ น้ำหนักแห้งของต้น น้ำหนักแห้งของราก และน้ำหนักแห้งรวมของผักกาดหอมพบว่า ในกรรมวิธีที่ไม่มีเชื้อโรคค่าเฉลี่ยของทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ และในกรรมวิธีที่มีเชื้อโรค กรรมวิธีที่มีค่าน้ำหนักแห้งสูงกว่ากรรมวิธีอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 โดยมีค่าเท่ากับ 12.6 13.4 0.5 กรัม/ต้น ตามลำดับ ซึ่งค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของต้น และน้ำหนักแห้งรวมของผักกาดหอมมีค่าเฉลี่ยแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันกับน้ำหนักสดของต้น และน้ำหนักสดรวมของผักกาดหอม ในขณะที่ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของรากไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (ตารางที่ 14)

ตารางที่ 12 อิทธิพลของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมชนิดกรีนคอส ที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT ในด้านจำนวนใบต่อต้น ความกว้างใบ ความยาวใบ และความสูงลำต้น เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

กรรมวิธี	จำนวนใบ (ใบ/ต้น)	ความกว้างใบ (ซม.)	ความยาวใบ (ซม.)	ความสูงลำต้น (ซม.)
Control (+ Pa) [1/]	15.2 d [2/]	9.1 e	19.8 d	24.8 d
Control (- Pa) [3/]	15.9 bcd	10.9 bc	22.9 b	30.3 bc
RO15 (- Pa)	16.7 ab	10.7 c	21.8 c	31.4 ab
RO15 (+ Pa)	15.7 cd	9.7 d	21.8 c	29.8 c
BH15 (- Pa)	16.3 bc	11.6 a	23.8 a	32.1 a
BH15 (+ Pa)	15.8 bcd	10.4 c	22.2 bc	29.8 c
RO15 + CB-Pin 01 (+ Pa)	16.4 bc	10.8 bc	22.5 bc	29.1 c
CB-Pin 01 (+ Pa)	17.5 a	11.3 ab	22.9 b	30.4 bc
C.V. (%)	3.55	3.16	2.29	3.01

[1/] กรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอย อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

[2/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

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

ตารางที่ 13 อิทธิพลของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมชนิดกรีนคอส ที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT ในด้านเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น ความกว้างทรงพุ่ม และความยาวราก เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

กรรมวิธี	เส้นผ่าน ศก. ลำต้น (มม.)	ความกว้างทรงพุ่ม (ซม.)	ความยาวราก (ซม.)
Control (+ Pa) [1/]	11.5 cd[2/]	34.8 d	26.3 d
Control (- Pa) [3/]	12.3 ab	39.3 b	49.1 a
RO15 (- Pa)	11.9 bc	38.5 b	48.0 a
RO15 (+ Pa)	11.3 cd	37.5 c	28.9 d
BH15 (- Pa)	11.4 cd	40.7 a	45.6 a
BH15 (+ Pa)	10.4 e	37.7 c	28.5 d
RO15 + CB-Pin 01 (+ Pa)	11.1 d	39.2 b	32.7 c
CB-Pin 01 (+ Pa)	12.6 a	39.0 b	40.2 b
C.V. (%)	3.54	1.30	6.45

[1/] กรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

[2/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

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

ตารางที่ 14 อิทธิพลของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของผักกาดหอม ชนิดกรีนคอสที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

กรรมวิธี	น้ำหนักสด (กรัม/ต้น)			น้ำหนักแห้ง (กรัม/ต้น)		
	นน.ต้น	นน.ราก	นน.รวม	นน.ต้น	นน.ราก	นน.รวม
Control (+Pa) [1/]	45.6 f [2/]	8.7 bcd	61.0 f	6.2 d	0.4 ab	6.6 d
Control (- Pa) [3/]	86.9 abc	10.8 bc	98.1 bc	12.1 a	0.5 a	12.3 a
RO15 (- Pa)	75.6 cd	11.8 b	86.7 cd	12.4 a	0.4 ab	12.5 a
RO15 (+ Pa)	62.0 e	7.2 d	69.2 ef	7.1 cd	0.3 b	7.4 cd
BH15 (- Pa)	90.5 ab	7.8 bcd	99.2 b	13.2 a	0.4 ab	12.6 a
BH15 (+ Pa)	72.5 de	7.5 cd	80.0 de	9.1 b	0.3 b	9.4 b
RO15 + CB-Pin (+ Pa)	80.2 bcd	10.2 bcd	90.8 bcd	8.2 bc	0.4 ab	8.7 bc
CB-Pin 01 (+ Pa)	97.9 a	15.4 a	113.3 a	13.4 a	0.5 a	12.6 a
C.V. (%)	10.68	22.39	8.68	9.86	10.60	12.59

[1/] กรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

[2/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

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

ในกรรมวิธีที่ไม่มีการปลูกเชื้อโรค พบอาการของโรคบนรากเล็กน้อย (0 - 19.6 เปอร์เซ็นต์) ทั้งนี้อาจเนื่องจากการปนเปื้อนของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ตามธรรมชาติได้ กรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อโรค กรรมวิธีควบคุมมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงสุดคือ 76.0 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่กรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนรากต่ำที่สุด (35.8 เปอร์เซ็นต์) ทุกกรรมวิธีที่ใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การคำนวณดัชนีการเกิดโรค พบว่าเป็นไปในทิศทางเดียวกัน (ตารางที่ 15)

เมื่อนำสารละลายธาตุอาหารในระบบปลูก วัสดุปลูก (ในถ้วยเพาะกล้า) และรากของผักกาดหอมมาตรวจปริมาณและเปอร์เซ็นต์การเข้าครอบครองรากของจุลินทรีย์ พบปริมาณเชื้อ *P. aphanidermatum* ที่พบในสารละลายในกรรมวิธีควบคุมมากที่สุดคือ 43.3 CFU/ml รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 (26.7 CFU/ml) และพบน้อยที่สุดในกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรีย *Bacillus* sp. RO15 (20.0 CFU/ml) ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยที่ต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปอร์เซ็นต์ในการครอบครองวัสดุปลูก (ในถ้วยเพาะกล้า) ของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในกรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อโรคมีค่าสูงสุด (46.7 เปอร์เซ็นต์) ขณะที่กรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 มีเปอร์เซ็นต์การครอบครองวัสดุปลูกของเชื้อรา *P. aphanidermatum* (13.3 เปอร์เซ็นต์) ต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 16) เปอร์เซ็นต์การครอบครองรากของผักกาดหอมของโดยเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในกรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อ พบเปอร์เซ็นต์การครอบครองรากสูงที่สุด (86.7 เปอร์เซ็นต์) โดยมีค่าสูงกว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 ตรวจพบ เชื้อรา *P. aphanidermatum* น้อยที่สุด (6.7 เปอร์เซ็นต์) ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในสารละลายธาตุอาหารอยู่ในช่วง 3.8×10^{2} ถึง 2.0×10^{3} CFU/ml ในกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียสายพันธุ์เดียวกัน เมื่อมีการปลูกเชื้อโรคจะพบปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ในปริมาณที่มากกว่ากรณีที่ไม่ได้ปลูกเชื้อโรคเล็กน้อย การใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. RO15 ร่วมกับเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 ไม่ได้ทำให้ปริมาณเชื้อปฏิปักษ์แต่ละชนิดลดลง แสดงให้เห็นถึงความเข้ากันได้ และมีโอกาสที่จะใช้ร่วมกันได้ต่อไปในอนาคต การครอบครองวัสดุปลูก (ในถ้วยเพาะกล้า) ของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ พบว่าค่าที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ยกเว้นในกรรมวิธีที่มีการใช้แบคทีเรีย *Bacillus* sp. RO15 ร่วมกับเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 พบว่าปริมาณของแบคทีเรีย *Bacillus* sp. RO15 สามารถครอบครองพื้นที่ของวัสดุปลูกได้น้อยกว่าในกรรมวิธีอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาจจะ

เนื่องมาจากมีการแข่งขันครอบครองพื้นที่กันเองระหว่างแบคทีเรีย *Bacillus* sp. RO15 และเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 อย่างไรก็ตามพบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทุกไอโซเลทมีเปอร์เซ็นต์การครอบครองบริเวณผิวรากด้านนอกไม่แตกต่างกันในทางสถิติ แม้จะพบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 ครอบครองรากผักกาดหอมทั้งผิวด้านนอกและในรากได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะเดียวกันแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์สามารถเจริญครอบครองบริเวณในรากได้ และมีค่าเปอร์เซ็นต์การครอบครองรากได้ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ (ตารางที่ 16)

จะเห็นได้ว่าในการทดลองครั้งนี้ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตและลดความเสียหายที่เกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้ดีกว่าแบคทีเรียที่คัดเลือกมา ทั้งนี้อาจจะเนื่องจากว่านอกเหนือจากกลไกอื่น ๆที่มีเหมือนกันแล้ว เชื้อราไตรโคเดอร์มายังสามารถเจริญพันรัด แนบชิดแล้วทำลายเส้นใยของเชื้อโรคได้โดยตรง มีประสิทธิภาพการครอบครองวัสดุปลูกในถ้วยเพาะกล้า บริเวณรากของผักกาดหอมได้ดีกว่าแบคทีเรีย และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณกันแล้ว พบว่าเชื้อราไตรโคเดอร์มามีปริมาณสูงกว่าแบคทีเรียทั้งในสารละลายธาตุอาหาร วัสดุปลูกในถ้วยเพาะกล้า จึงสามารถลดการเข้าทำลาย และลดความเสียหายที่เกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้ดี สอดคล้องกับงานทดลองของ (แพรทอง, 2549) ที่แสดงให้เห็นว่า เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 ชนิดสดมีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมชนิดกรีนคอส ที่เกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* ทั้งการคลุกเมล็ดและการผสมลงไปในสารละลายธาตุอาหาร นอกจากจะช่วยควบคุมระดับความรุนแรงของโรคแล้วยังช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดหอมได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้ เชื้อรา *T. harzianum* ยังสามารถครอบครองรากพืชได้ดีและช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและ เพิ่มผลผลิต ความสมบูรณ์ของรากพืช อีกทั้งยังช่วยให้พืชต้านทานต่อสภาวะเครียดที่เกิดจากสภาพแวดล้อมได้ดีขึ้น (Harman *et al*., 2004)

ในการทดลองครั้งนี้ มีการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ร่วมกันคือ แบคทีเรีย *Bacillus* sp. RO15 ร่วมกับเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนราก และดัชนีการเกิดโรคไม่แตกต่างกันมากนัก ทั้งในกรรมวิธีที่ใช้แบบเดี่ยวหรือแบบร่วมกัน แต่ในขณะที่น้ำหนักสดของผักกาดหอมในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 กลับมีน้ำหนักสูงกว่าการใช้ร่วมกันทั้งนี้สอดคล้องกับการทดลองของ วราภรณ์ (2550) ที่พบว่าการใช้เชื้อรา *T. harzianum* ร่วมกับการใช้ *Bacillus* sp. 165 มีประสิทธิภาพในการลดการเกิดโรคแอนแทรคโนสของพริก ไม่สูงกว่าการใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. 165 แบบเดี่ยว และการทดลองของกรพินธุ์

(2551) ที่พบว่าประสิทธิภาพของการใช้เชื้อรา *T. harzianum* ร่วมกับการใช้ *Bacillus* sp. เพื่อควบคุมโรคใบปื้นเหลืองของกล้วยไม้ในช่วงฤดูร้อน ไม่แตกต่างกันในทางสถิติกับการใช้เชื้อรา *T. harzianum* หรือการใช้ *Bacillus* sp. แบบเดี่ยว อาจเนื่องจากการทำงานร่วมกันของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สองชนิด หรือมากกว่าสองชนิดขึ้นไป อาจจะต้องการสภาวะที่มีความเหมาะสม หรือส่งเสริมกันและกัน โดยอาจจะต้องมีคุณสมบัติที่ดีต่างกัน และไม่มีการยับยั้ง หรือแก่งแย่งกันเอง ซึ่งอาจเป็นเหตุให้ไปลดศักยภาพในการควบคุมโรคหรือการส่งเสริมการเจริญของพืช ตลอดจนไปมีผลต่อการสร้างปฏิชีวนะสาร เอนไซม์ต่าง ๆ อีกด้วย แต่ทั้งนี้ถ้าหากมีการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์สองชนิด หรือมากกว่า หรือแม้กระทั่งชนิดเดียวกันแต่หลากหลายสายพันธุ์ หากมีความเหมาะสมกันก็อาจจะทำให้มีการส่งเสริมกันในด้านต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นด้านการเจริญเติบโต ควบคุมโรคได้กว้างขึ้น ทนต่อสภาพแวดล้อมได้กว้างขึ้น ทั้งนี้อาจเป็นแนวทางที่นำไปสู่การควบคุมโรคที่ดีและมีความยั่งยืนในอนาคตได้ เช่นการทดลองของ (Domenech *et al*., 2006) ที่มีการนำผลิตภัณฑ์ LS213 ซึ่งมีการผสมกันระหว่างไคโตซาน และแบคทีเรีย PGPR 2 ชนิด คือ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ GB03 ซึ่งมีคุณสมบัติในการกระตุ้นการเจริญเติบโต และ *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ IN937a ซึ่งมีคุณสมบัติในการกระตุ้นให้เกิดความต้านทานโรคในพืช และนำมาใช้ร่วมกับแบคทีเรียอีก 3 สายพันธุ์ คือ *B. licheniformis* CECT 5106, *Pseudomonas fluorescens* CECT 5398 และแบคทีเรีย *Chryseobacterium balustinum* CECT 5399 พบว่าการใช้ LS213 ร่วมกับแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์ส่งผลให้มะเขือเทศและพริกมีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้นและสามารถควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium* และโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia* ได้

ตารางที่ 15 อิทธิพลของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนราก และดัชนีการเกิดโรค เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

กรรมวิธี	การเกิดโรคบนราก (%) [1/]	ดัชนีการเกิดโรค(%) [2/]
Control (+ Pa) [3/]	76.0 a [4/]	79.2
Control (- Pa) [5/]	0 g	0
RO15 (- Pa)	19.6 e	54.2
RO15 (+ Pa)	49.6 b	75.0
BH15 (- Pa)	5.8 f	20.8
BH15 (+ Pa)	47.6 b	77.8
RO15 + CB-Pin 01 (+ Pa)	39.2 c	68.0
CB-Pin 01 (+ Pa)	35.8 d	69.4
C.V. (%)	5.54	

[1/] เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนราก ประเมินจากเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายของเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ต่อระบบรากทั้งหมด โดยเทียบระบบรากทั้งหมดเป็น 100 %

[2/] ดัชนีการเกิดโรค คำนวณหาค่าดัชนีการเกิดโรค (%) (Disease index) ดังสูตร

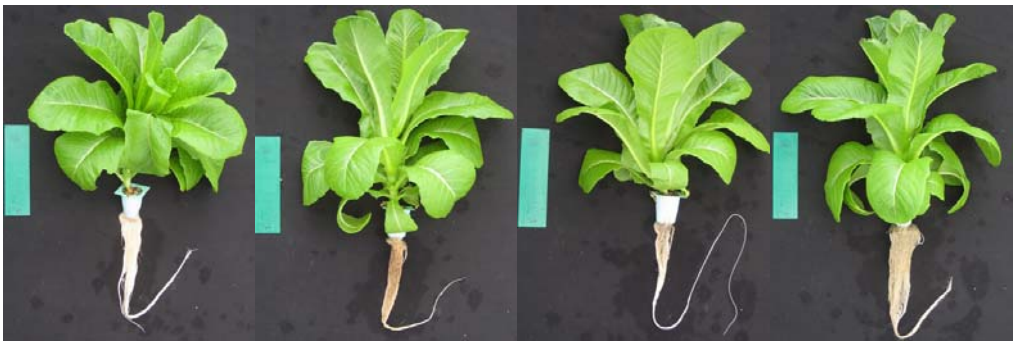
$$\text{ดัชนีการเกิดโรค (\%)} = \frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนต้นที่แสดงอาการ} \times \text{ระดับอาการ)} \times 100}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด} \times \text{ระดับอาการสูงสุด}}$$

[3/] กรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

[4/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

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

Con(-Pa) Con(+Pa) RO15(-Pa) RO15(+Pa)



BH15(-Pa) BH15(+Pa) RO15+CB-Pin-01(+Pa) CB-Pin-01(+Pa)

ภาพที่ 10 อิทธิพลของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ปฏิปักษ์ ที่เติมลงในสารละลายธาตุอาหารซึ่งมีการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa) ลงไป ต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอม เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

C (-Pa) = กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum*

C (+Pa) = กรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร

RO15(-Pa) = กรรมวิธีที่ใส่เซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์ RO15 อัตรา 100 ml ต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตรและไม่มีการปลูกเชื้อรา *P.aphanidermatum*

RO15(+Pa) = กรรมวิธีที่ใส่เซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์ RO15 อัตรา 100 ml ต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตรและปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร

BH15(-Pa) = กรรมวิธีที่ใส่เซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์ BH15 อัตรา 100 ml ต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร และไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum*

BH15(+Pa) = กรรมวิธีที่ใส่เซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์ BH15 อัตรา 100 ml ต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตรและปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร

RO15+ CB-Pin-01(+Pa) = กรรมวิธีที่ใส่เซลล์แขวนลอยแบคทีเรียปฏิปักษ์ RO15 อัตรา 50 ml ร่วมกับสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 อัตรา 50 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร และปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร

CB-Pin-01(+Pa) = กรรมวิธีที่ใส่สปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ในอัตรา 100 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร และปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร

ตารางที่ 16 ปริมาณเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* และเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในสารละลายธาตุอาหารบนวัสดุปลูกในถ้วยเพาะกล้า และรากของผักกาดหอมชนิดกรีนคอสที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

กรรมวิธี	ปริมาณเชื้อรา *Pythium*			ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์			
	สารละลาย (CFU/ml)	วัสดุปลูก (%)	ราก (%)	สารละลาย (CFU/ml)	วัสดุปลูก (%)	ผิวราก ด้านนอก (%)	ในราก (%)
Control (+Pa) [1/]	43.3 a [2/]	46.7 a	86.7 a	nd [3/]	nd	nd	nd
Control (- Pa) [4/]	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
RO15 (- Pa)	nd	nd	nd	3.8×10^2	93.3 a [3/]	86.7	46.7 b
RO15 (+ Pa)	20.0 b	46.7 a	26.7 b	8.1×10^2	93.3 a	86.7	53.3 b
BH15 (- Pa)	nd	-	-	8.0×10^2	100.0 a	86.7	53.3 b
BH15 (+ Pa)	23.3 ab	40.0 ab	40.0 b	1.0×10^3	93.3 a	86.7	53.3 b
RO15+CB (+Pa)	23.3 ab	20.0 ab	33.3 b				
RO15				6.5×10^2	73.3 b	86.7	46.7 b
CB-Pin 01				2.0×10^3	100.0 a	100.0	100.0 a
CB-Pin 01 (+ Pa)	26.7 ab	13.3 b	6.7 c	1.6×10^3	100.0 a	100.0	100.0 a
						ns [5/]	
C.V. (%)	37.79	46.48	26.71		9.35	10.79	15.07

[1/] กรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

[2/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

[3/] nd = non-determined (ไม่ได้ตรวจสอบ)

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

[5/] ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

9. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์รูปแบบต่างๆ ในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์

นำแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการทดลองก่อนหน้า ไปพัฒนาให้อยู่ในรูปสูตรสำเร็จสองชนิดคือผงดิน และผงแป้งและทดสอบประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จทั้งสองชนิด ผลการทดลองการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์รูปแบบต่างๆในการการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมชนิดกรีนคอสที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ แบบ NFT โดยให้แบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้งในระยะอนุบาลกล้า และทุกครั้งที่มีการเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารตลอดการทดลอง แบคทีเรียปฏิปักษ์รูปแบบต่างๆ ที่นำมาใช้ในการทดลองจะเตรียมเป็นรูปผงแป้ง (starch powder) 2 สูตร และรูปผงดิน (soil powder) อีก 2 สูตร บรรจุผงแป้งหรือผงดินลงในซองเยื่อกระดาษ(ซองเยื่อกระดาษ) อัตรา 30 กรัม/ซอง ต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร นำซองเยื่อกระดาษที่เตรียมตามอัตราที่ต้องการ ใส่ลงในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 250 ml จากนั้นเขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ให้แบคทีเรียปฏิปักษ์เพิ่มปริมาณเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นก็กรองเอาส่วนที่เป็นน้ำไปใช้ในระบบ โดยประชากรของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ก่อนนำไปใส่ในระบบเท่ากับ

FL17 Powder 1 = 1.3×10^8 CFU/ml
FL17 Powder 2 = 5.7×10^8 CFU/ml
BH15 Powder 1 = 2.7×10^8 CFU/ml
BH15 Powder2 = 6.7×10^8 CFU/ml
BH15 Soil 1 = 1.8×10^9 CFU/ml
BH15 Soil 2 = 3.4×10^9 CFU/ml

ในด้านความกว้างใบ ค่าเฉลี่ยของกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ทุกรูปแบบและมีการปลูกเชื้อโรค ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม ยกเว้นในกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรีย *B. cereus* BH15 ผงดินสูตร 2 และในกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 ผงแป้งสูตร 1 มีค่าเฉลี่ยความกว้างใบสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ค่าเฉลี่ยของจำนวนใบต่อต้น ความยาวใบ และความสูงลำต้น ในกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ มีค่าสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเฉพาะในกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรีย *B. cereus* BH15 ผงดินสูตร 2 และ ซึ่งมีค่าเฉลี่ยจำนวนใบ/ต้น ความยาวใบ และความสูงลำต้นเท่ากับ15.5 ใบ/ต้น 27.7 เซนติเมตรและ 32.0 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 17)

และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น ความกว้างทรงพุ่ม และและความยาวราก พบว่าค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นในทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ค่าเฉลี่ยความกว้างทรงพุ่มในกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรีย *B. cereus* BH15 ผงดินสูตร 2 (45.1 เซนติเมตร) และกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรีย *B. cereus* BH15 ผงแป้งสูตร 2 (43.9 เซนติเมตร) มีค่ามากกว่ากรรมวิธีควบคุม (41.9 เซนติเมตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ความยาวรากของทุกกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์สูตรต่างๆ มีค่าเฉลี่ยสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 18)

ตารางที่ 17 อิทธิพลของแบคทีเรียปฏิปักษ์รูปแบบต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมชนิดกรีนคอสที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT ในด้านจำนวนใบต่อต้น ความกว้างใบ ความยาวใบ และความสูงลำต้น เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

กรรมวิธี	จำนวนใบ (ใบ/ต้น)	ความกว้างใบ (ซม.)	ความยาวใบ (ซม.)	ความสูงลำต้น (ซม.)
Control (+ Pa) [1/]	13.7 d [2/]	12.7 de	24.9 c	29.0 b
Control (- Pa) [3/]	15.5 a	14.3 a	28.1 a	32.4 a
FL17 ผงแป้งสูตร 1 (+ Pa)	14.7 b	13.5 bc	27.6 a	32.5 a
FL17 ผงแป้งสูตร 2 (+ Pa)	14.6 b	13.0 cde	27.9 a	32.4 a
BH15 ผงแป้งสูตร 1 (+ Pa)	14.4 bc	13.0 cde	27.9 a	31.7 a
BH15 ผงแป้งสูตร 2 (+ Pa)	14.5 b	13.3 cd	27.6 a	31.8 a
BH15 ผงดินสูตร 1 (+ Pa)	14.1 c	12.5 e	26.0 b	29.7 b
BH15 ผงดินสูตร 2 (+ Pa)	15.5 a	13.9 ab	27.7 a	32.0 a
C.V. (%)	1.74	2.65	2.23	1.87

[1/] กรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

[2/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

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

ตารางที่ 18 อิทธิพลของแบคทีเรียปฏิปักษ์รูปแบบต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมชนิดกรีนคอสที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT ในด้านเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น ความกว้างทรงพุ่ม และความยาวรากเมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

กรรมวิธี	เส้นผ่าน ศก. ลำต้น (มม.)	ความกว้างทรงพุ่ม (ซม.)	ความยาวราก (ซม.)
Control (+ Pa) [1/]	14.1 a-d [2/]	41.9 de	27.7 d
Control (- Pa) [3/]	16.5 a	47.7 a	38.9 a
FL17 ผงแป้งสูตร 1 (+ Pa)	14.5 a-d	43.4 b-e	30.8 c
FL17 ผงแป้งสูตร 2 (+ Pa)	12.6 d	43.5 bcd	30.9 c
BH15 ผงแป้งสูตร 1 (+ Pa)	13.0 cd	43.1 cde	31.2 c
BH15 ผงแป้งสูตร 2 (+ Pa)	13.8 bcd	43.9 bc	35.0 b
BH15 ผงดินสูตร 1 (+ Pa)	15.3 abc	41.6 e	32.0 c
BH15 ผงดินสูตร 2 (+ Pa)	15.5 ab	45.1 b	33.1 bc
C.V. (%)	10.68	2.63	5.60

[1/] กรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

[2/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

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

เนื่องจากการทดลองในครั้งนี้เป็นช่วงที่อากาศในตอนกลางวันและตอนกลางคืนค่อนข้างจะเย็น (19 – 23 องศาเซลเซียส) โดยเฉพาะช่วงท้ายของการทดลอง ทำให้เหมาะกับการเจริญเติบโตของผักกาดหอม ซึ่งอาจช่วยให้มีความต้านทานโรคเพิ่มขึ้น ประกอบกับการเกิดโรคในการทดลองครั้งนี้ ไม่รุนแรงเท่ากับการทดลองในครั้งที่ผ่านมา โดยสังเกตพบว่าค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดรวมทั้งต้นและรากของผักกาดหอม ในกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์และมีการปลูกเชื้อโรคไม่มีความแตกต่างในทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม ยกเว้นกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรีย *B. cereus* BH15 ผงดินสูตร 2 และกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 ผงแป้งสูตร 1 ซึ่งมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด 146.7 และ 138.7 กรัมต่อต้นตามลำดับ ซึ่งสูงกว่ากรรมวิธีควบคุม (121.1 กรัม/ต้น) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับน้ำหนักต้นพบว่าแนวโน้มเป็นไปในทิศทางเดียวกัน ในขณะที่ค่าเฉลี่ยน้ำหนักรากพบว่าในกรรมวิธีที่ใช้ แบคทีเรีย *B. cereus* BH15 ผงดินสูตร 2 มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักรากสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยค่าเฉลี่ยน้ำหนักรากในกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรีย *B. cereus* BH15 ผงดินสูตร 2 เท่ากับ 20.8 กรัม/ต้น ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อโรคคือ 14.8 กรัม/ต้น และค่าเฉลี่ยในกรรมวิธีนี้ สูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อโรค แต่ก็ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (ตารางที่ 19)

เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักแห้งของผักกาดหอม พบว่าค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งรวมทั้งต้นและรากของกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ส่วนใหญ่มีค่าสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อโรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเฉพาะในกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรีย *B. cereus* BH15 ผงดินสูตร 2 และกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรีย *B. cereus* BH15 ผงแป้งสูตร 2 มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งรากเทียบเท่ากรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อโรค (ตารางที่ 19)

ในการทดลองครั้งนี้ได้มีการแยกตรวจเปอร์เซ็นต์การครอบครองวัสดุปลูก (ในถ้วยเพาะกล้า) โดยแยกระหว่าง เวอร์มิคูไลท์และเพอร์ไลท์ พบว่าถ้าเป็นเชื้อรา *P. aphanidermatum* มีแนวโน้มตรวจพบเชื้อโรคใน เพอร์ไลท์ ได้ในเปอร์เซ็นต์สูงกว่า ในทางกลับกันถ้าเป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์จะพบใน เวอร์มิคูไลท์ ได้ในเปอร์เซ็นต์สูงกว่าเล็กน้อย โดยในการทดลองครั้งนี้ในวัสดุปลูกทั้ง เวอร์มิคูไลท์และเพอร์ไลท์ กรรมวิธีที่ควบคุมที่มีการปลูกเชื้อโรค พบปริมาณเชื้อรา *P. aphanidermatum* สูงสุดเท่ากับ 60 และ 70 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในรากของผักกาดหอม เปอร์เซ็นต์ในการครอบครองรากของเชื้อรา *P. aphanidermatum* พบว่าในกรรมวิธีควบคุมที่ทำการปลูกเชื้อมีเปอร์เซ็นต์ในการครอบครองราก เท่ากับ 86.67 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งค่าที่ได้ไม่มีความแตกต่างในทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 ขณะที่กรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรีย *B. cereus* BH15 ผงแป้ง

สูตร 1,2 และผงดินสูตร 1 พบเปอร์เซ็นต์การครอบรองรากของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นในกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรีย *B. cereus* BH15 ผงดินสูตร 2 (ตารางที่ 20) และเมื่อตรวจปริมาณของแบคทีเรียปฏิปักษ์ จะเห็นได้ว่าปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ในวัสดุปลูกเวอร์มิคูไลท์ ขณะที่เพอร์ไลท์ก็ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ยกเว้นกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 ผงแป้งสูตร 1 เมื่อตรวจเปอร์เซ็นต์การครอบครองรากของแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้งบนผิว และใต้ผิวราก พบว่าในกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรีย *B. cereus* BH15 ผงดินสูตร 1 และ 2 ช่วยให้เปอร์เซ็นต์การครอบครองบนผิวรากเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ เปอร์เซ็นต์การครอบครองใต้ผิวรากก็พบ 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าสูงกว่าในกรรมวิธีอื่น ๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แตกต่างจากกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรีย *B. cereus* BH15 ในรูปผงแป้ง (Powder) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ใส่ลงไปในระบบมีปริมาณแตกต่างกันเลยทำให้เปอร์เซ็นต์การครอบครองรากแตกต่างกัน (ตารางที่ 20) จะเห็นได้ว่าเมื่อเราพัฒนาแบคทีเรียให้อยู่ในรูปสูตรสำเร็จ แบคทีเรียก็ยังคงมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้ดีอยู่เมื่อเทียบกับการใช้ใช้แบคทีเรียแบบชนิดสด (NGB) สอดคล้องกับงานทดลองของ รุ่งนภา (2549) ที่ทดสอบประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์ของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus amyloliquefaciens* ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริก ทั้งแบบชีวภัณฑ์แขวนลอย แบบน้ำ และแบบผง พบว่าชีวภัณฑ์สามารถควบคุมโรคได้ตลอดระยะเวลา 3 เดือน ในชีวภัณฑ์รูปผงแป้ง ผงดิน และผงดินบ่มสามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกด้วยวิธี Detached fruit ได้เทียบเท่ากับสารเคมีแมน-โคเซ็บโดยไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ

ทั้งนี้การพัฒนาสูตรสำเร็จก็เพื่อความสะดวกต่อการนำไปใช้จริงในแปลงปลูก หรือถ่ายทอดให้เกษตรกร แต่ทั้งนี้ควรคำนึงถึงปริมาณเชื้อหรือรูปแบบที่เหมาะสมต่อเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ความอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในสูตรสำเร็จชนิดต่าง ๆ ความรู้ความเข้าใจก่อนมีการนำไปใช้จริงในแปลกปลูกว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต้องมีปริมาณมากเพียงพอต่อการควบคุมโรค

ตารางที่ 19 อิทธิพลของแบคทีเรียปฏิปักษ์รูปแบบต่างๆ ต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของผักกาดหอมเมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

กรรมวิธี	น้ำหนักสด (กรัม/ต้น)			น้ำหนักแห้ง (กรัม/ต้น)		
	นน.ต้น	นน.ราก	นน.รวม	นน.ต้น	นน.ราก	นน.รวม
Control (+ Pa) [1/]	106.5 c [2/]	14.8 b	121.2 c	7.4 d	0.6 ab	8.0 d
Control (- Pa) [3/]	148.7 a	17.1 ab	165.8 a	14.3 a	0.7 a	15.0 a
FL17 ผงแป้งสูตร 1 (+ Pa)	123.7 b	15.0 b	138.7 b	9.0 cd	0.5 bc	9.6 cd
FL17 ผงแป้งสูตร 2 (+ Pa)	106.2 c	13.3 b	119.6 c	11.5 b	0.5 bc	12.0 b
BH15 ผงแป้งสูตร 1 (+ Pa)	105.8 c	12.5 b	118.3 c	10.9 bc	0.4 c	11.3 bc
BH15 ผงแป้งสูตร 2 (+ Pa)	110.8 c	12.9 b	123.7 c	13.6 a	0.5 bc	14.1 a
BH15 ผงดินสูตร 1 (+ Pa)	87.7 d	14.4 b	102.1 d	9.6 bc	0.5 bc	10.0 bcd
BH15 ผงดินสูตร 2 (+ Pa)	125.8 b	20.8 a	146.7 b	14.5 a	0.6 ab	15.0 a
C.V. (%)	6.79	19.22	9.46	11.21	8.39	10.88

[1/] กรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

[2/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

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

ตารางที่ 20 ปริมาณเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์บนวัสดุปลูกในถ้วยเพาะกล้าและรากของผักกาดหอมเมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

กรรมวิธี	ปริมาณเชื้อรา *Pythium*			ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย			
	วัสดุปลูก (%)		ราก (%)	วัสดุปลูก (%)		ผิวราก	ในราก
	Vermiculite	Perlite		Vermiculite	Perlite	ด้านนอก(%)	(%)
Control (+ Pa) [1/]	60.0 a [2/]	70.0 a	86.7 a	nd [3/]	nd	nd	nd
Control (- Pa)[4/]	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
FL17ผงแป้งสูตร 1(+Pa)	40.0 ab	30.0 c	53.3 abc	95.0	65.0 b	60.0 b	33.3 b
FL17ผงแป้งสูตร 2(+Pa)	35.0 ab	60.0 a	73.3 ab	100.0	80.0 ab	66.7 ab	40.0 b
BH15ผงแป้งสูตร 1(+Pa)	35.0 ab	25.0 c	33.3 c	100.0	100.0 a	66.7 ab	53.3 b
BH15ผงแป้งสูตร 2(+Pa)	25.0 b	35.0 bc	26.7 c	100.0	100.0 a	53.3 b	53.3 b
BH15ผงดินสูตร 1(+Pa)	35.0 ab	70.0 a	46.7 bc	100.0	100.0 a	100.0 a	86.7 a
BH15ผงดินสูตร 2(+Pa)	45.0 ab	55.0 ab	60.0 abc	100.0	100.0 a	100.0 a	93.3 a
				ns [5/]			
C.V. (%)	46.80	28.95	34.11	4.12	13.48	24.53	22.22

[1/] กรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

[2/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

[3/] nd = non-determined (ไม่ได้ตรวจสอบ)

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

[5/] ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

การทดลองในครั้งนี้ พบว่า แบคทีเรียสามารถเจริญครอบครองพื้นที่วัสดุปลูก (ในถ้วยเพาะกล้า) ได้ค่อนข้างดี ทั้งนี้เนื่องจากในสภาพธรรมชาติของระบบปลูกแบบ NFT มีปัจจัยต่างๆ เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย เช่นวัสดุปลูก (ในถ้วยเพาะกล้า) ทั้งเวอร์มิคูไลท์ และเพอร์ไลท์ มีความโปร่งและมีความชื้นอยู่ตลอดเวลา ประกอบกับบริเวณรากผักกาดหอมมีการปล่อย root exudates ออกมาอย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้ยังมีการไหลเวียนของน้ำต่อเนื่องตลอดเวลาในระบบ เชื้อแบคทีเรียสามารถเจริญครอบครองทั้งด้านบนผิวและในราก แต่มักตรวจพบแบคทีเรียบริเวณภายนอกผิวรากได้มากกว่า อาจเนื่องจากบริเวณผิวรากด้านนอกมีการหลั่ง root exudates ซึ่งเป็นอาหารของแบคทีเรีย จึงส่งเสริมการเจริญและเพิ่มปริมาณของแบคทีเรียที่มีอยู่ในบริเวณรอบผิวรากพืช ในธรรมชาติจุลินทรีย์ต่างๆ รวมทั้งแบคทีเรียมักมีการเคลื่อนที่เข้ามาหารากพืชหรือที่เรียกว่า chemotaxis ซึ่งเป็นคุณสมบัติทั่วไปของจุลินทรีย์ (De Weert. *et al*, 2002; Zheng, 1996)

เมื่อเก็บตัวอย่างสารละลายธาตุอาหารของการทดลองในครั้งนี้มาตรวจสอบ ถึงแม้ปริมาณของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ที่ตรวจพบจากกรรมวิธีที่ใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์จะไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ แต่ในกรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* พบปริมาณเชื้อโรคได้มากกว่ากรรมวิธีอื่นๆ (16.7 CFU/ ml สารละลายธาตุอาหาร) ทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (31.9 เปอร์เซ็นต์) และดัชนีการเกิดโรค (75 เปอร์เซ็นต์) ในครั้งหลังนี้น้อยกว่าในการทดลองครั้งที่ผ่านมา (ตารางที่ 21) พบเชื้อรา *P. aphanidermatum* ปริมาณต่ำกว่าการทดลองในสองครั้งที่ผ่านมา อาจเกิดจากสภาพอากาศที่ไม่เหมาะสมต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. aphanidermatum* และการเจริญของเชื้อในสารละลายธาตุอาหาร และเมื่อนำสารละลายธาตุอาหารมาตรวจบนอาหาร NGA ผสม rifampicin 60 ppm พบว่าปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ในสูตรผงแป้งจะพบในปริมาณ $1.2 – 2.2 \times 10^2$ (CFU/ml สารละลายธาตุอาหาร) ในขณะที่ปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ในสูตรผงดินจะอยู่ที่ 10^3 (CFU/ml สารละลายธาตุอาหาร) (ตารางที่ 21) และพบว่าสูตรที่เตรียมเป็นผงดินจะตรวจพบแบคทีเรียในปริมาณที่สูงกว่าไม่ว่าทั้งใน วัสดุปลูก (ในถ้วยเพาะกล้า) บริเวณผิวรากหรือแม้แต่ในสารละลายธาตุอาหาร แสดงว่าสูตรสำเร็จของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์มีอิทธิพลต่อการเจริญเพิ่มปริมาณบนรากพืชและในสารละลายธาตุอาหาร ตลอดจนบนวัสดุปลูก (ในถ้วยเพาะกล้า) ด้วย

ตารางที่ 21 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนราก ดัชนีการเกิดโรค ปริมาณเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* และเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

กรรมวิธี	การเกิดโรคบนราก (%) [1/]	ดัชนีการเกิดโรค(%) [2/]	สารละลายธาตุอาหาร(CFU/ml) [3/]	
			เชื้อรา *Pythium*	เชื้อแบคทีเรีย
Control (+ Pa) [4/]	31.9 a [5/]	75	16.7 a	nd [6/]
Control (- Pa) [7/]	0 c	0	nd	nd
FL17 ผงแป้งสูตร 1 (+ Pa)	17.9 b	54.2	3.3 b	1.25×10^2
FL17 ผงแป้งสูตร 2 (+ Pa)	19.2 b	52.1	3.3 b	1.16×10^2
BH15 ผงแป้งสูตร 1 (+ Pa)	18.5 b	54.2	6.7 ab	1.23×10^2
BH15 ผงแป้งสูตร 2 (+ Pa)	19.8 b	54.2	10.0 ab	2.2×10^2
BH15 ผงดินสูตร 1 (+ Pa)	19.0 b	52.1	6.7 ab	6.1×10^3
BH15 ผงดินสูตร 2 (+ Pa)	18.1 b	54.2	3.3 b	4.6×10^3
C.V. (%)	9.46		91.65	

[1/] เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนราก ประเมินจากเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายของเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ต่อระบบรากทั้งหมด โดยเทียบระบบรากทั้งหมดเป็น 100 %

[2/] ดัชนีการเกิดโรค คำนวณหาค่าดัชนีการเกิดโรค (%) (Disease index) ดังสูตร

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค (\%)} = \frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนต้นที่แสดงอาการ} \times \text{ระดับอาการ)} \times 100}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด} \times \text{ระดับอาการสูงสุด}}$$

[3/] ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ตรวจนับ โดยนำสารละลายธาตุอาหารในสัปดาห์สุดท้ายของการทดลองมาทำ dilution plate อาหาร NGA ผสม rifampicin 60 ppm สำหรับแบคทีเรียปฏิปักษ์ และ อาหาร BNPRA สำหรับเชื้อรา *P. aphanidermatum*

[4/] กรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+ Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

[5/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

[6/] nd = non-determined (ไม่ได้ตรวจสอบ)

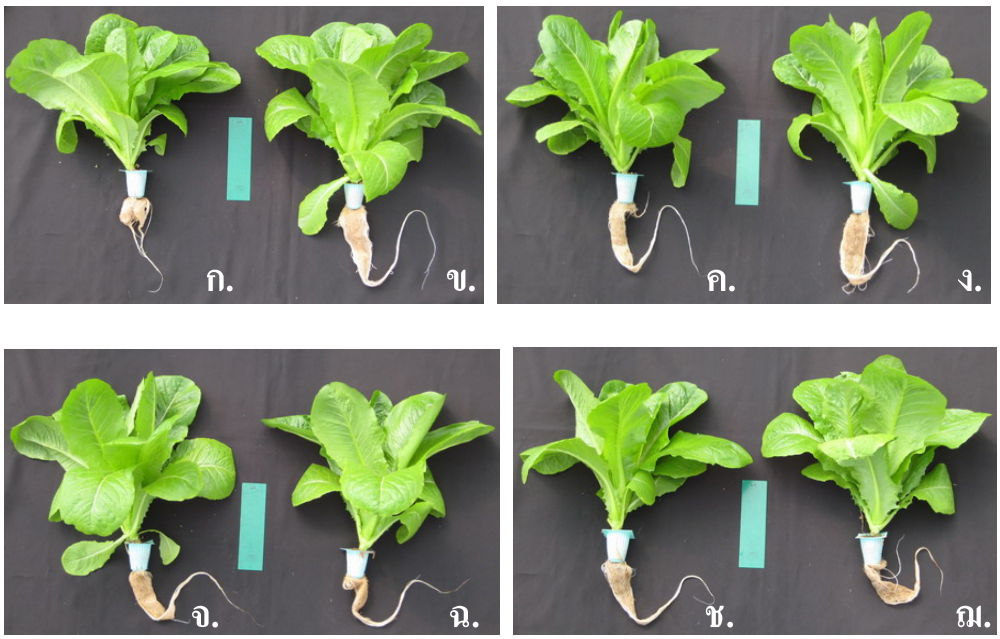
[7/] กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (- Pa)

จะเห็นได้ว่าแม้จะใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ในการป้องกันโรคตั้งแต่ระยะเริ่มแรกของการเตรียมต้นกล้าก็ยังสามารถพบเชื้อรา *P. aphanidermatum* ไม่ว่าทั้งในวัสดุปลูก บริเวณรากและในสารละลายธาตุอาหาร และถึงแม้ปริมาณของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในกรรมวิธีต่างๆ ไม่แตกต่างกันมากนัก แต่เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตกับเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแล้ว พบว่ากรรมวิธีที่ใส่เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ยังสามารถให้ผลผลิตได้ดีกว่ากรรมวิธีที่ไม่ได้ใส่แบคทีเรียปฏิปักษ์ กลไกในการควบคุมโรคของแบคทีเรียปฏิปักษ์มีทั้งการแข่งขันในด้านที่อยู่อาศัย สร้างสารปฏิชีวนะ สร้างสารทุติยภูมิ ตลอดจนชักนำให้พืชสร้างเอนไซม์และกระตุ้นให้พืชเกิดความต้านทานโรค การทดลองในครั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ใส่ไปในระบบ ไม่ได้ไปมีผลโดยตรงกับการลดปริมาณเชื้อโรค แต่อาจไปมีผลต่อการยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในระบบปลูกโดย *Bacillus cereus* สามารถสร้างสาร surfactins, iturins, fengycins, kanosamine, zwittermycin A และสร้างเอนไซม์ protease มายับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ (Marc, 2007; Chang *et al.,* 2009) *B. mycoides* สายพันธุ์ BacJ สามารถผลิตเอนไซม์ chitinase, β-1,3 glucanase และ peroxidase (Bargabus *et al*., 2002) เช่นเดียวกับงานทดลองของ (Karen, 2009) ที่ตรวจวิเคราะห์รากและดิน บริเวณผิวรากของแตงกวาที่ทำการปลูกเชื้อ *B. subtilis* QST 713 พบว่าแบคทีเรียสามารถสร้างสารพวก surfactin , iturin ภายใต้สภาวะที่มีการแข่งขันกันกับจุลินทรีย์ชนิดอื่นบริเวณรากของแตงกวาโดยตรวจด้วยวิธี chromatography (HPLC) and mass spectroscopy (MS) หรือแม้แต่ไปการครอบครองพื้นที่ของวัสดุปลูก บริเวณผิวรากของผักกาดหอม ทำให้สามารถยับยั้งการเข้าทำลายและลดระดับความรุนแรงของโรคที่เกิดขึ้นได้ หรือแม้แต่การชักนำให้พืชเกิดความต้านทานโรคพืชโดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ โดยที่แบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* มีการสร้างสารปฏิชีวนะ เอนไซม์ protease, cellulase, chitinase, β-1,3 glucanase และβ-1,4-endoglucanase (Marten *et al*., 2000) (Wen *et al*., 2003) (Andre *et al*., 2005) และปัจจุบันมีรายงานว่า *Bacillus thuringiensis* สามารถชักนำให้เกิดกระบวนการ quorum-sensing และสามารถ ผลิตปฏิชีวนะสารขึ้นมายับยั้งเชื้อราในกลุ่ม Oomycetes และยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบบางชนิดได้ (Zhou *et al*., 2008)

นอกจากนี้ยังพบว่าในการทดลองครั้งนี้ ระดับความเป็นกรด – ด่าง (pH) และค่าการนำไฟฟ้า (EC) ของสารละลายธาตุอาหาร มีการเปลี่ยนแปลงต่ำในแต่ละวันซึ่งแตกต่างกับในการทดลองทั้งสองครั้งที่ผ่านมา ดังนั้นเมื่อค่า pH ค่อนข้างคงที่ และสภาพอากาศเหมาะสมต่อการเจริญทำให้รากของผักกาดหอมมีประสิทธิภาพในการดูดแร่ธาตุและอาหาร ไม่มีสภาวะเครียดและโดยปกติผักกาดหอมจะเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 15 - 25 องศาเซลเซียส และ 5 - 10 องศาเซลเซียส ในตอนกลางคืน และ 18 - 22 องศาเซลเซียส สำหรับสารละลายธาตุอาหาร (Shinohara, 1999) แต่ทั้งนี้

ความเข้มข้นของสารละลายธาตุอาหาร (EC) และระดับความเป็นกรด – ด่าง (pH) ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืชขึ้นอยู่กับชนิดพืช ช่วงอายุ และสภาพแวดล้อม (Morgan, 1999) เนื่องจากสภาพอากาศในการทดลองครั้งมีความเหมาะสมส่งผลให้ผักกาดหอมนี้จึงเจริญเติบโตดีกว่ารุ่นก่อน ซึ่งอากาศในช่วงระหว่างการทดลองค่อนข้างจะร้อน แต่ทั้งนี้แบคทีเรียก็ยังสามารถเจริญภายในระบบได้ เนื่องจากสปอร์ของแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* สามารถทนต่อความแห้งได้ดี โดยอาจอยู่ในรูปเอนโดสปอร์ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ดีที่จำเป็นต่อการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์หรือชีวภัณฑ์ได้ (Marc, 2007) เมื่อสภาพในระบบค่อนข้างร้อนส่งผลให้อุณหภูมิบริเวณรากค่อนข้างสูงซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการระบาดของโรครากเน่าของพืชในหลายชนิดที่เกิดเชื้อรา *P. aphanidermatum* อยู่ที่ประมาณ 27 – 35 องศาเซลเซียส (Sutton *et al.* 2006) และที่อุณหภูมิสูงกว่า 25 องศาเซลเซียส รากพืชมักจะถูกทำลายด้วยเชื้อรา *Pythium* spp. ได้ง่ายกว่าที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (ดิเรก, 2546) ประกอบกับบริเวณโรงเรือน ในตอนกลางวัน ลมค่อนข้างจะแรงดังนั้นจึงทำให้พืชคายน้ำเยอะกว่าปกติ มีอัตราการหายใจเพิ่มขึ้น และเมื่อพืชมีอายุมาก ส่งผลให้มีการดูดน้ำและสารละลายธาตุอาหารมากขึ้นตามไปด้วย เมื่ออุณหภูมิสูงจึงทำให้ออกซิเจนละลายได้น้อยลง (ดิเรก, 2546; สมบุญ, 2548) และทำให้ค่า pH ของสารละลายเปลี่ยนแปลงได้ง่ายกว่าในช่วงอากาศหนาวประกอบกับโรงเรือนที่ใช้ในการทดลองเป็นโรงเรือนแบบมุ้งตาข่าย การระบายอากาศภายในโรงเรือนจึงค่อนข้างน้อย ทำให้อุณหภูมิภายในโรงเรือน ค่อนข้างสูงเมื่อสภาพอากาศร้อน ในการทดลองช่วงอากาศร้อนก็ได้มีการระบายความร้อน โดยการรดน้ำบริเวณรอบถังของสารละลายธาตุอาหารในตอนเช้า และบริเวณพื้นของโรงเรือน เพื่อลดความร้อนของโรงเรือน อย่างไรก็ตามสภาพอากาศภายนอกและภายในโรงเรือนยังคงร้อนอยู่ ทำให้การเจริญเติบโตของพืชไม่ดีเท่าช่วงอากาศในฤดูหนาว แต่อย่างไรก็ดีหากต้องมีการปลูกพืชภายใต้สภาพอากาศที่แตกต่างกันก็สามารถปรับระดับของค่าการนำไฟฟ้า (EC) และระดับ pH ให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของผักได้เช่นกัน โดยในงานทดลองของปริชาติและคณะ (2551) ได้ศึกษาผลของค่าการนำไฟฟ้า (EC) และระดับ pH ต่อการเจริญเติบโตและการดูดใช้อาหารของผักกาดหอมคอส 2 ที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารสูตร Resh's Tropical Dry Summer ดัดแปลงทั้งในช่วงที่มีสภาพอากาศร้อน (ก.พ.-เม.ย. 47) และอากาศเย็น (ต.ค.-ธ.ค. 47) พบว่าในสภาพอากาศร้อน ผักกาดหอมช่วงหลังย้ายปลูกจนถึง 2 สัปดาห์มีการเจริญเติบโตดีที่สุดเมื่อค่า EC = 1.75 mS/cm ร่วมกับ pH ที่ 6.0 และช่วงตั้งแต่ 2 – 4 สัปดาห์ มีการเจริญของผักกาดหอมดีที่สุด และมีการใช้ไนโตรเจนสูงที่สุด เมื่อค่า EC ลดลงมาเป็น 1.00 mS/cm ส่วนในสภาพที่มีอากาศเย็น ผักกาดหอมช่วงหลังย้ายปลูกจนถึง 2 สัปดาห์มีการเจริญเติบโตดีที่สุด เมื่อค่า EC = 1.50 mS/cm ร่วมกับ pH ที่ 6.0 และช่วงตั้งแต่ 2 – 4 สัปดาห์ มีการเจริญของผักกาดหอมดีที่สุด และมีการใช้ไนโตรเจนสูงที่สุด เมื่อค่า EC เพิ่มขึ้นเป็น 1.75 mS/cm ซึ่งตลอด 3 การทดลองที่ผ่าน

มาในการควบคุมเชื้อรา *P. aphanidermatum* สาเหตุโรครากเน่าของผักกาดหอมกรีนคอสที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT มีการปรับค่า EC และ pH ของสารละลายธาตุอาหารให้อยู่ที่ 1.5 – 1.8 mS/cm และ 5.5 – 6.0 ตามลำดับ ทุกวัน และจากการเปรียบเทียบความรุนแรงของโรคและน้ำหนักสดของผลผลิตผักกาดหอมทั้ง 3 ช่วงการทดลอง คือในช่วงเดือน มกราคม – มีนาคม พฤษภาคม – มิถุนายน และ พฤศจิกายน – ธันวาคม พบว่ามีความรุนแรงของโรคต่างกัน คือจะมีความรุนแรงมากในช่วงที่มีสภาพอากาศร้อน และรุนแรงน้อยในช่วงที่มีสภาพอากาศเย็น เห็นได้ว่าช่วงเดือนพฤศจิกายน – ธันวาคม ซึ่งมีสภาพอากาศเย็น เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนรากผักกาดหอมต่ำกว่าทั้งสองการทดลอง และส่งผลให้ผักกาดหอมมีน้ำหนักสดสูงกว่าการทดลองในช่วงที่มีสภาพอากาศร้อน ทั้งนี้เนื่องจากสภาพอากาศเย็นเหมาะสมกับการเจริญเติบโตของผักกาดหอม ทำให้ผักกาดหอมเจริญเติบโตได้เต็มที่และสภาพอากาศดังกล่าว ไม่เหมาะกับการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. aphanidermatum* แบคทีเรียปฏิปักษ์จึงมีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรค ทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำกว่าในช่วงที่สภาพอากาศร้อน ดังนั้นหากปลูกผักกาดหอมในช่วงที่สภาพอากาศร้อน โอกาสที่จะเกิดโรคหรือความรุนแรงของโรคจะสูงกว่าในช่วงที่สภาพอากาศเย็น จึงน่าจะเพิ่มอัตราการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดโรค และส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดหอมในช่วงที่สภาพอากาศร้อนได้ดียิ่งขึ้น



ภาพที่ 11 อิทธิพลของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์รูปแบบหรือสูตรสำเร็จต่างๆต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอม เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วันในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อ มีการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa) และไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (- Pa)

ก. = Control (+ Pa) กรรมวิธีควบคุม

ข. = Control (- Pa) กรรมวิธีควบคุม

ค. = FL17 ผงแป้งสูตร 1(+ Pa) แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus mycoides* FL17 ผงแป้งสูตรที่ 1

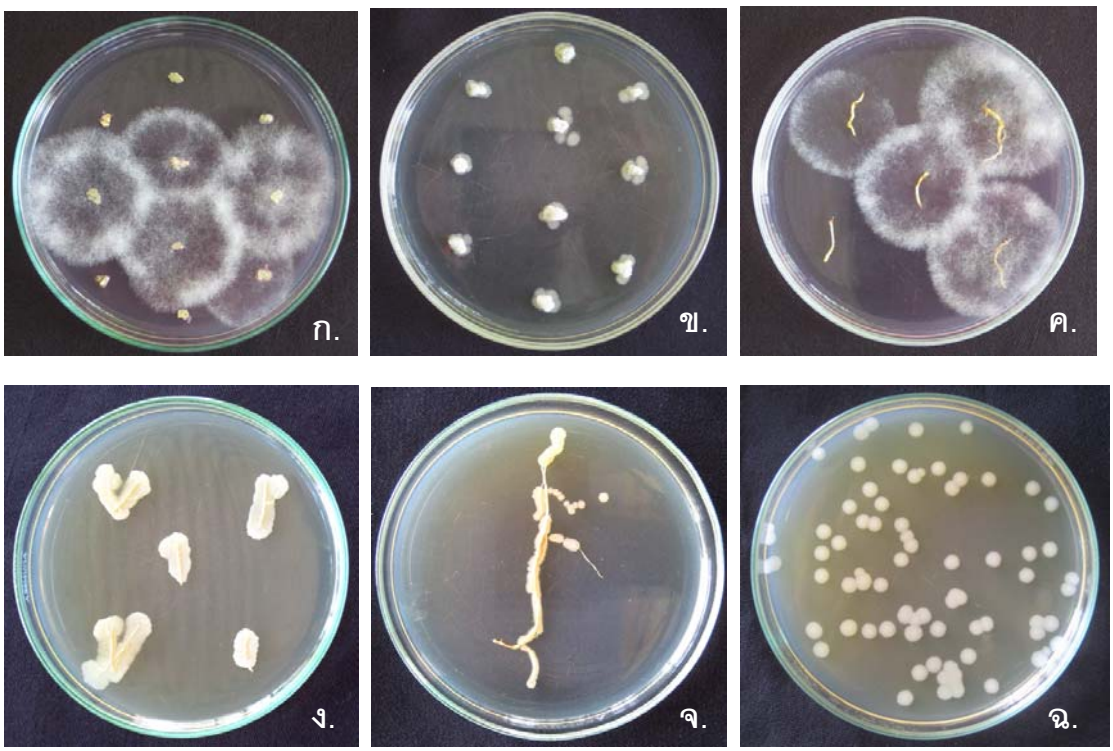
ง. = FL17 ผงแป้งสูตร2 (+ Pa) แบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. mycoides* FL17 ผงแป้งสูตรที่ 2

จ. = BH15 ผงแป้งสูตร1 (+Pa) แบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. cereus* BH15 ผงแป้งสูตรที่ 1

ฉ. = BH15 ผงแป้งสูตร2 (+ Pa) แบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. cereus* BH15 ผงแป้งสูตรที่ 2

ช. = BH15 ผงดินสูตร1 (+ Pa) แบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. cereus* BH15 ผงดินสูตรที่ 1

ฌ. = BH15 ผงดินสูตร2 (+ Pa) แบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. cereus* BH15 ผงดินสูตรที่ 2



ภาพที่ 12 การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เมื่อนำวัสดุปลูกในถ้วยเพาะกล้า รากของผักกาดหอมและสารละลายธาตุอาหารมาตรวจบนอาหารจำเพาะ โดยตรวจเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* บนอาหาร BNPRA และ แบคทีเรียปฏิปักษ์บนอาหาร NGA ผสม rifampicin 60 ppm

ก. เชื้อรา *P. aphanidermatum* บนวัสดุปลูกเวอร์มิคูไลท์
ข. เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์บนวัสดุปลูกเพอร์ไลท์
ค. เชื้อรา *P. aphanidermatum* บนรากของผักกาดหอม
ง. เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์บนรากของผักกาดหอม
จ. เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เจริญครอบครองรากของผักกาดหอม
ฉ. เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากสารละลายธาตุอาหาร เมื่อนำมาทำ dilution plate

สรุป

จากการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียที่สามารถเจริญครอบครองรากของผักกาดหอมในการควบคุมโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ในระบบไฮโดรโพนิกส์ แบบ NFT สามารถแยกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เจริญครอบครองรากผักกาดหอม 5 ชนิด ที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในระดับห้องปฏิบัติการได้ จำนวน 10 ไอโซเลท โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 13.0 – 64.7 เปอร์เซ็นต์ คัดเลือกเชื้อ 5 ไอโซเลทเพื่อนำไปพัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ 100 ppm โดยไม่สูญเสียประสิทธิภาพใน การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. aphanidermatum* และการครอบครองรากผักกาดหอม ใช้เชื้อแบคทีเรียที่พัฒนาแล้วในการตรวจสอบและติดตามเชื้อในการทดลอง และจากการจัดจำแนกโดยใช้ระบบการจำแนกเชื้อแบคทีเรียอย่างรวดเร็ว (Biolog Microlog System, Hayward, CA, USA) พบว่า

แบคทีเรียสายพันธุ์ BH15 คือ *Bacillus cereus* (*thuringiensis*?)
แบคทีเรียสายพันธุ์ FL17 คือ *Bacillus mycoides*
แบคทีเรียสายพันธุ์ RO15 คือ *Bacillus* sp. (unidentified species)
แบคทีเรียสายพันธุ์ GC 14 คือ *Bacillus* sp. (unidentified species)

เมื่อนำแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่คัดเลือกแล้ว 5 สายพันธุ์ คือ FL17 GC14 RO14 RO15 และ BH15 มาทดสอบการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมชนิดกรีนคอส (Green Cos) ที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์แบบ NFT โดยใช้เชื้อที่เลี้ยงในอาหาร NGB ในอัตรา 100 มิลลิลิตร ต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตรเปรียบเทียบกับชีวภัณฑ์การค้า พบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ทุกสายพันธุ์มีศักยภาพที่จะลดความรุนแรงของโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* โดยแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ใส่ไปในระบบสามารถเจริญอยู่ได้ทั้งบนวัสดุปลูก (ในถ้วยเพาะกล้า) บริเวณบนผิวและในรากของผักกาดหอมตลอดจนในสารละลายธาตุอาหารในระบบได้ และสามารถไปลดปริมาณของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้ นอกจากประสิทธิภาพในการลดระดับความรุนแรงของการเกิดโรครากเน่าแล้ว แบคทีเรียปฏิปักษ์ยังสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดหอมได้ ตั้งแต่ในระยะกล้าของผักกาดหอมไปจนถึงระยะการเก็บเกี่ยวที่อายุ 42 วัน

จากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมชนิดกรีนคอส สาเหตุจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* กับการใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 พบว่าการใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 แบบเดี่ยวให้ผลดีกว่าการใช้แบบร่วมกันกับแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. RO15 สำหรับสภาพที่มีเชื้อโรคอยู่ในระบบสารละลายธาตุอาหาร แบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถช่วยลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนรากได้

จากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์รูปแบบหรือสูตรสำเร็จต่างๆ ในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมสาเหตุจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* พบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. cereus* BH15 ผงดินสูตร 2 และแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. mycoides* FL17 ผงแป้งสูตร 1 นำมาผสมน้ำแล้วเขย่าตั้งทิ้งไว้ 48 ชั่วโมง อัตรา 30 กรัม ต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร ก่อนนำไปใช้ทั้งในระยะเพาะเมล็ด และใส่ไปในระบบทุกครั้งเมื่อมีการเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหาร ตลอดการทดลองพบว่าสามารถลดระดับการเกิดโรค ลดปริมาณเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในวัสดุปลูก (ในถ้วยเพาะกล้า) และในสารละลายธาตุอาหารและเพิ่มน้ำหนักสดของผักกาดหอมได้ในสภาพที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ลงในสารละลายธาตุอาหาร

จากผลการทดลองทั้งหมดสามารถสรุปได้ว่าแบคทีเรียที่สามารถเจริญครอบครองรากผักกาดหอม สามารถนำมาพัฒนาใช้ในการควบคุมเชื้อรา *P. aphanidermatum* สาเหตุโรครากเน่าของผักกาดหอม ไม่ว่าจะเป็นรูปของอาหารเหลว (NGB) ในอัตรา 100 ml ต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตรหรือนำมาเตรียมในรูปแบบผงแป้ง หรือผงดิน ในอัตรา 30 กรัม ต่อสารละลายธาตุอาหาร 200 ลิตร โดยใช้เชื้อตั้งแต่ระยะเพาะเมล็ดและทุกครั้งที่มีการเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหาร ร่วมกับการปรับค่า EC และ pH ของสารละลายธาตุอาหารให้อยู่ที่ 1.5 – 1.8 mS/cm และ 5.5 – 6.0 ตามลำดับทุกวัน โดยแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ใส่ลงไปในระบบสารละลายธาตุอาหารจะไปเจริญครอบครองวัสดุปลูกทั้งเพอร์ไลท์ เวอร์มิคูไลท์ เจริญครอบครองบนและในรากผักกาดหอมและเจริญในสารละลายธาตุอาหาร โดยสามารถยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ช่วยให้ระดับการเกิดโรคลดลงได้ และสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดหอมได้แม้ในสภาพที่ระบบปลูกมีเชื้อรา *P. aphanidermatum*

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรพินธุ์ ทนกล้า. 2551. **การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบปื้นเหลืองของกล้วยไม้สกุลหวาย สาเหตุจากเชื้อรา *Pseudocercospora dendrobii*.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

จิระเดช แจ่มสว่าง และวรรณวิไล อินทนู. 2545. การผลิตเชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสดด้วยเทคนิคอย่างง่ายเพื่อใช้ควบคุมโรครากเน่าระดับดินของถั่วฝักยาวที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* *ใน* **การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 40 4-7 กุมภาพันธ์ 2545.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ

_____. 2547. การควบคุมโรคผักโดยชีววิธี. *ใน* **เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตร "การควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีในการปลูกผักระบบไม่ใช้ดิน และภายในโรงเรือน"**. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ

_____. 2549. **การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี**. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม. 323 น.

จิรัสสา มีกลิ่นหอม. 2546. **การคัดเลือกและการใช้จุลินทรีย์ที่แยกได้จากผิวพืชในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ดิเรก ทองอร่าม. 2547. **การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน "หลักการจัดการการผลิตและเทคโนโลยีการผลิตเชิงธุรกิจในประเทศไทย".** ธรรมรักษ์การพิมพ์, ราชบุรี. 724 น.

ธรรมศักดิ์ ทองเกตุ. 2550. **เอกสารประกอบการบรรยายวิชา เทคโนโลยีการผลิตผัก (037421) เรื่องการจำแนกพืชผักตามหลักพฤกษศาสตร์.** ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นิตยา สุวรรณรัตน์. 2534. **โรคพืชที่เกิดจากเชื้อราชั้นต่ำ**. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ปริชาติ ดิษฐกิจ, ลภ ภวภูตานนท์, ยงยุทธ โอสถสภา และธรรมศักดิ์ ทองเกตุ. 2551. ผลของค่าการนำไฟฟ้า และระดับ pH ของสารละลายธาตุอาหารต่อการเจริญเติบโตและการใช้ธาตุอาหารของผักกาดหอมคอส (*Lactuca sativa* L. var. *romana*). **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร** 39: 361 – 372.

พรหมมาศ คูหากาญจน์. 2548. ศักยภาพของแบคทีเรียบริเวณเขตรากพืชในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดที่เกิดจากเชื้อ *Pythium myriotylum* ในระบบ NFT, *ใน* **รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 7: อารักขาพืชเพื่อคุณภาพชีวิตและสิ่งแวดล้อม.** โรงแรมโลตัสปางสวนแก้ว, เชียงใหม่.

แพรทอง ละมุล. 2549. **การใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* ในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ สาเหตุจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum***. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ไพโรจน์ จ๋วงพานิช. 2525. **หลักวิชาโรคพืช**. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

มนูญ ศิรินุพงศ์. 2544. **การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินสู่การปฏิบัติในประเทศไทย.** คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี วิทยาเขตปัตตานี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

เมฆ จันทน์ประยูร. 2541. **ผักสวนครัว**. โรงพิมพ์แอล ที เพรส, กรุงเทพฯ. 144 น.

รุ่งนภา ไชยมาลี. 2549. **ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลพริก สาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*.** ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วราภรณ์ บุญเกิด. 2550. **การใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* ร่วมกับเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วาสนา เพลินจิต. 2549. **การใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* ร่วมกับวัสดุปลูก เพื่อควบคุมเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* สาเหตุโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์.** ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. ภาควิชาโรคพืช, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

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

วิชัย โฆสิตรัตน. 2549. **แบคทีเรียโรคพืช.** ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม. 392 น.

ศักดิ์ สุนทรสิงห์. 2537. **โรคของผักและการป้องกันกำจัด.** ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ศรานนท์ เจริญสุข. มปป. **ผักสวนครัว.** ส่งเสริมอาชีพธุรกิจ เพชรกะรัต, กรุงเทพฯ.

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

สุรชัย พัฒนพิบูลย์, สุเทพ ทองแพ, จงรักษ์ จันทร์เจริญสุข และ จารนัย พนิชยกุล. 2547. ประสิทธิภาพของน้ำสกัดชีวภาพพืชต่อการเจริญเติบโตของผักกาดกวางตุ้ง, ผักกาดหอม และพริกยักษ์ในระบบการปลูกพืชแบบไม่ใช้ดิน. **วารสารดินและปุ๋ย** 26 : 107-116.

สมบุญ เตชะปภิญญาวัฒน์. 2548. **สรีรวิทยาของพืช.** สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สมศิริ แสงโชติ. 2529. **โรคพืชเบื้องต้นและบทปฏิบัติการ**. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

โสระยา ร่วมรังสี. 2544. **การผลิตพืชสวนแบบไม่ใช้ดิน.** โอเดียนสโตร์. 88 น.

อรรถพร สุบุญสันต์. 2549. การป้องกันโรครากเน่าในระบบไฮโดรโพนิกส์โดยใช้ pH ที่แตกต่างกันในแต่ละฤดู. **วารสารเคหการเกษตร** 30 : 184-186.

Andre, O.S.L., M.C. Quecine, M.H.P. Fungaro, F.D. Andreote, W.M. Jr , W.L. Araújo, M.C. Silva-Filho, A.A. Pizzirani-Kleiner, and J.L. Azevedo. 2005. Molecular characterization of a β-1,4-endoglucanase from an endophytic *Bacillus pumilus* strain. **Appl**. **Microbiol**. **Biotechnol**. 68: 57–65.

Bargabus, R.L., N.K. Zidack, J.E. Sherwood, and B.J. Jacobsen. 2002. Characterization of systemic resistance in sugar beet elicited by a nonpathogenic, phyllosphere – colonizing *Bacillus mycoides*, biological control agent. **Physiol. Molec. Plant Pathol**. 6l: 289-298.

Bakker, P.A., D.C. Glandorf, M. Viebahn, T.W. Ouwens, E. Smit, P. Leeflang, K. Wernars, L.S. Thomashow, J.E. Thomas-Oates, and L.C. van Loon. 2002. Effects of *Pseudomonas putida* modified to produce phenazine-1-carboxylic acid and 2,4- diacetylphloro – glucinol on the microflora of field grown wheat. **Anton. Van Leeuw**. 81: 617–624.

Besson, F., C. Chevenet, and G. Michel. 1987. Influence of the Culture Medium on the Production of Iturin A by *Bacillus subtilis*. **J. Gen. Microbiol**. 133: 767-772.

Chamswarng, C., P. Leeprasert, and S. Chantana - o - tan. 1985. Population assesments of soil borne plant pathogens, *Sclerotium rolfsii*, *Pythium* spp., *Phytophthora* 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.

Chang, W.T., C.H. Hsieh, H.S. Hsieh, and C. Chen. 2009. Conversion of crude chitosan to an anti-fungal protease by *Bacillus cereus*. **World J. Microbiol. Biotechnol.** 25: 375–382.

Chatterton, S., J.C. Sutton, and G.J. Boland. 2004. Timing *Pseudomonas chlororaphis* applications to control *Pythium aphanidermatum, Pythium dissotocum*, and root rot in hydroponic peppers. **Biol. Control** 30: 360-373.

Chevanet, C., F. Besson, and G. Michel. 1986. Effect of various growth conditions on spore formation and bacillomycin L production in *Bacillus subtilis*. **Can. J. Microbiol.** 32: 254-258.

Chin-A-Woeng T.F., J.E. Thomas-Oates, B.J. Lugtenberg, and G.V. Bloemberg. 2001. Introduction of the phzH gene of *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 extends the range of biocontrol ability of phenazine-1-carboxylic acid-producing *Pseudomonas* spp. strains. **Mol. Plant–Microbe Interact.** 14: 1006–1015.

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**. GrowerBooks, London, UK. 170 P.

De Weert, S.H. Vermeiren, H.M. Mulders, I. Kuiper, N. Hendrickx, G.V. Bloemberg, J. Vanderleyden, R.D. Mot, and B.J.J. Lugtenberg. 2002. Flagella-driven chemotaxis towards exudates components is an important trait for tomato root colonization by *Pseudomonas fluorescens*. **Mol. Plant-Microbe Interact**. 15: 1173–1180.

Domenech, J.M., S.J. Reddy, W. Kloepper, B. Ramos, and J. Gutierrez-manero. 2006. Combined application of the biological product LS213 with *Bacillus, Pseudomonas* or *Chryseobacterium* for growth promotion and biological control of soil-borne diseases in pepper and tomato. **Biol. Control** 51: 245–258.

Douglas, J.S. 1947. **Hydroponics: The Bengal System. England**. Oxford University Press.

Fergus, G.P. and J.S. Richard. 1990. Fermentation of Bacilli. *In* **O.J. Neway. (ed). Fermentation process development of industrial organisms**. Dekker, NewYork. 73 P.

Garibaldi, A., A. Minuto, V. Grasso, and M.L. Gullino. 2003. Application of selected antagonistic strains against *Phytophthora cryptogea* on gerbera in closed soilless systems with disinfection by slow sand filtration. **Crop Prot.** 22: 1053-1061.

Harman, G.E., C.R. Howell, A. Viterbo, I. Chet, and M. Lorito. 2004. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature Rev. Microbiol.** 2: 43-56.

Hoagland, D.R. and D.I. Arnon. 1950. **"The water culture method for growing plants without soil".** Curcular 347. Agricultural Experiment Station. University of California, Berkley. CA.

Hongzhong, S., J. Chen, J. Handerman, and R.M. Goodman. 1999. Behavior of *Pythium torulosum* zoospores during their interaction with tobacco roots and *Bacillus cereus*. **Curr. Microbiol.** 38: 199-204.

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

Katz, E. and A.L. Demain. 1977. The peptide antibiotics of *Bacillus* : chemistry biogenesis, and possible functions. **Bacteriological Rev.** 41: 449-474.

Kidoglu, F.A., G.H. Ozaktan, and Y. Tüzel. 2007. Effect of rhizobacteria on plant growth of different vegetables. **Acta Hort.** 801. 1471 – 1477.

Kinsella, K., C.P. Schulthess, T.F. Morris, and J.D. Stuart. 2009. Rapid quantification of *Bacillus subtilis* antibiotics in the rhizosphere. **Soil Biol. Biochem.** 41: 374–379.

Koohakan, P., H. Ikeda, T. Jeanaksorn, M. Tojo, S.I. Kusakari, K. Okada, and S. Sato. 2004. Evaluation of the indigenous microorganisms in soilless culture: occurrence and quantitative characteristics in the different growing systems. **Scientia. Hort.** 101:179-188.

Lee, A.B., Jr. Jame, and A. Hoch. 1985. Biology of The Bacilli. 57-78. P. *In.* **A.L. Demain and N.A.Solomon**. Biology of Industrial Microorganism : Biotech series. The Bejamin/Cummings Publishing company INC, Murlo Park, California.

Liu, W., J.C. Sutton, B. Grodzinski, J.W. Kloepper, and M.S. Reddy. 2007. Biological Control of Pythium Root Rot of Chrysanthemum in Small-scale Hydroponic Units. **Phytoparasitica** 35: 159-178.

Marc, O. and J. Philippe. 2007. Bacillus lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. **Trends in Microbiology** 16: 115-125.

Marten P., K. Smalla, and G. Berg. 2000. Genotypic and phenotypic differentiation of an antifungal biocontrol strain belonging to *Bacillus subtilis*. **J. Appl. Microbiol.** 89: 463-471.

McCullagh, M.R. Utkhede, J.G. Menzies, Z.K. Punja, and T.C. Paulitz. 1996. Evaluation of plant growth- promoting rhizobacteria for biological control of Pythium root rot of cucumbers grown in rockwool and effects on yield. **Eur. J. Plant Pathol**. 102: 747-755.

Menzies, J.G., D.L. Ehret, and S. Stan. 1996. Effect of inoculum density of *Pythium aphanidermatum* on the growth and yield of cucumber plants grown in recirculating nutrient film culture. **Can. J. Plant Pathol**. 18: 50-54.

Morgan, L. 1999. **Hydroponic Lettuce Production : A Comprehensive, Practical and Scientific Guide to Commercial Hydroponic Lettuce Production**. Casper Publication, Australia

Mukhopadhyay, N.K., S. Majumder, S.K. Ghosh, and S.K. Bose. 1986. Characteristic of three-fraction Mycobacillin synthetase. **Biochem. J**. 235: 639-643.

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

Plaats-Niterink, A.J. vander. 1981. **Monograph of the genus Pythium. Stud. Mycol.** 21:242 P.

Royse, D.J. and S.M. Ries. 1978. The influence of fungi isolated from peach twigs on the pathogenicity of *Cytospora cinota*. **Phytopathology** 68: 603-607.

Schaad, N.W. 1980. **Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria**. American Phytopathological Society. 72 P.

Schnider, U., C. Keel, C. Blumer, J. Troxler, G. Défago, and D. Haas. 1995. Amplification of the housekeeping sigma factor in *Pseudomonas fluorescens* CHA0 enhances antibiotic production and improves biocontrol abilities. **J. Bacteriol.** 177: 5387–5392.

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.

Shoemaker, J.J. 1947. **Salad Crop Vegetable.** New York, John wiley and sons, Inc.

Soohee C., H. Kong, J.S. Buyer, D.K. Lakshman, J. Lydon, S.D. Kim, and D.P. Roberts. 2008. Isolation and partial characterization of *Bacillus subtilis* ME488 for suppression of soilborne pathogens of cucumber and pepper. **Appl. Microbiol. Biotechnol**. 80: 115–123.

Stanghellini, 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.

Steenhoudt, O. and J. Vanderleyden. 2000. Azospirillum, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. **FEMS Microbiol. Rev.** 24: 487-506.

Sutton, J.C., C.R. Sopher, T.N. Owen-Going, W. Liu, B. Grodzinski, and J.C. Hall. 2006. Etiology and epidemiology of Pythium root rot in hydroponic crops: current knowledge and perspectives. **Summa Phytopathol**. 32: 307-321.

Wen, T.C., C.S. Chen and S.L. Wang. 2003. An Antifungal Chitinase Produced by *Bacillus cereus* with Shrimp and Crab Shell Powder as a Carbon Source. **Curr. Microbiol.** 47: 102–108.

Zheng X.Y., and J.B. Sinclair. 1996. Chemotactic response of *Bacillus megaterium* strain B153-2-2 to soybean root and seed exudates. **Physiol. Mol. Plant Pathol**. 48: 21–35.

Zhou, Y., Y.L. Choi, M. Sun, and Y. Ziniu. 2008. Novel roles of *Bacillus thuringiensis* to control plant diseases. **Appl. Microbiol. Biotechnol**. 80: 563–572.

ภาคผนวก

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

สูตรอาหารเหล่านี้หลังจากเตรียมเสร็จให้นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ (autoclave) ที่ความดันไอน้ำเท่ากับ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

1. Potato dextrose agar (PDA)

มันฝรั่ง (ปอกเปลือกแล้ว)	200	กรัม
Dextrose	20	กรัม
Agar	15	กรัม
Distilled water	1	ลิตร

2. Nutrient glucose agar (NGA) (Schaad, 1980)

Beef extract	5	กรัม
Peptone	3	กรัม
Glucose	2.5	กรัม
Agar	15	กรัม
Distilled water	1	ลิตร

3. Nutrient glucose agar (NGB)

Beef extract	5	กรัม
Peptone	3	กรัม
Glucose	2.5	กรัม
Distilled water	1	ลิตร

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

KH_2PO_4	1	กรัม
$MgSO_4.7H_2O$	0.5	กรัม
Bacto Peptone	5	กรัม
Dextrose	10	กรัม
Agar	15	กรัม
Distilled water	1	ลิตร
Rose Bengal red (1%)	0.032	กรัม
Streptomycin	1	กรัม

* ละลาย Rose Bengal ในน้ำก่อนผสมกับสารอื่น จากนั้นค่อยนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ส่วน Streptomycin เติมก่อนเทอาหาร ในขณะที่มีอุณหภูมิประมาณ 40-45 องศาเซลเซียส

5. Modified BNPRA (Chamswarng *et al*., 1985)

Mycostatin	0.5	มิลลิลิตร
Ampicillin	500	มิลลิกรัม
Benomyl (Benlate 50%WP)	0.02	กรัม
PCNB (75%WP)	0.025	กรัม
Rifampicin	0.01	มิลลิกรัม
Rose Bengal	0.005	กรัม
Distilled water	100	มิลลิลิตร

ละลายสารทั้งหมดลงน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 100 มิลลิลิตร ดูดสาร 40 มิลลิลิตร เติมในอาหาร PDA ขณะอุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส 360 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันทั่วก่อนเทในจานเลี้ยงเชื้อ

สีและน้ำยาที่ใช้ย้อมเซลล์แบคทีเรีย

1. Gram's stain

<u>Crystal violet</u>		
สารละลาย A		
Crystal violet (85% dye)	2	กรัม
Ethyl alcohol 95 %	20	มิลลิลิตร
สารละลาย B		
Ammonium oxalate	0.8	กรัม
น้ำกลั่น	80	มิลลิลิตร
<u>Safranin O</u>		
Safranin O	2.5	กรัม
Ethyl alcohol 95 %	100	มิลลิลิตร
<u>Gram's iodine solution</u>		
Iodine (crystal)	1	กรัม
Potassium iodide (KI)	2	กรัม
น้ำกลั่น	300	มิลลิลิตร
<u>Alcohol-acetone (decolorizer)</u>		
Ethyl alcohol 95 %	250	มิลลิลิตร
Acetone	250	มิลลิลิตร

2. Endospore stain

<u>Malachite green</u>		
Malachite green	5	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร
<u>Safranin O</u>		
Safranin O	2.5	กรัม
Ethyl alcohol 95 %	100	มิลลิลิตร

สูตรสารละลายธาตุอาหาร

ดัดแปลงจากสูตรของ Cooper (1979) โดย ผศ.ดร. ยงยุทธ เจียมไชยศรี (2546)

Stock A

Calcium nitrate	1,120 กรัม
FeEDDHA	70 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

(Nic-spray) : ประกอบด้วยธาตุอาหาร 8 ชนิด ดังต่อไปนี้

(MgO)	7.50 เปอร์เซ็นต์
(Fe)	1.80 เปอร์เซ็นต์
(Cu)	1.90 เปอร์เซ็นต์
(Mn)	2.00 เปอร์เซ็นต์
(Zn)	2.00 เปอร์เซ็นต์
(B)	0.023 เปอร์เซ็นต์
(Mo)	0.050 เปอร์เซ็นต์
(Ni)	0.050 เปอร์เซ็นต์

Nic-spray Ⓡ จำหน่ายโดย: บริษัท เวสโก้เคมี ประเทศไทย จำกัด

การเตรียมเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ชนิดสดตามวิธีการของจิระเดชและวรรณวิไล (2545)

ขั้นตอนการผลิตเชื้อสดด้วยหม้อหุงข้าวไฟฟ้า

1. ใช้ปลายข้าวหรือข้าวสาร 3 แก้ว (1 แก้ว มีความจุประมาณ 250 ซีซี) ประมาณ 600 กรัม ใส่น้ำเปล่าสะอาด 2 แก้ว หรือประมาณ 0.5 ลิตร หุงด้วยหม้อข้าวไฟฟ้า เมื่อสุกแล้วจะได้ข้าวสุกประมาณ 1 กิโลกรัม

2. เมื่อสวิทช์ของหม้อหุงข้าวตัดไฟ ใช้ทัพพีซุยข้าวในหม้อก่อนตักข้าวที่หุงสุกใหม่ ๆใส่ถุงพลาสติกทนร้อนขนาด 8 x 12 นิ้ว ถุงละ 2 ทัพพี หรือ 3 ทัพพี (ประมาณ 250-300 กรัม) วางถุงข้าวตามแนวราบ รีดอากาศออกจากถุง แล้วพับปากถุงไว้ รอให้ข้าวอุ่นหรือเกือบเย็น

3. เทหรือเหยาะหัวเชื้อราไตรโคเดอร์มาใส่ลงบนข้าวในถุงพลาสติกเพียงเล็กน้อย (หัวเชื้อราไตรโคเดอร์มา 1 ขวด บรรจุ 20 กรัม ใส่ในข้าวสุกได้ จำนวน 40-60 ถุง หรือประมาณ 10-15 กิโลกรัม)

4. หลังใส่หัวเชื้อราไตรโคเดอร์มาแล้ว มัดปากถุงด้วยหนังยางให้แน่น (มัดให้สุดปลายถุง) เขย่าหรือขยำเบา ๆ ให้หัวเชื้อคลุกเคล้ากับข้าวสุกทั่วทั้งถุง รวบถุงให้มีลมพองตรงบริเวณปากถุงที่รัดยางไว้ แล้วใช้ปลายเข็มเจาะถุงพลาสติกใต้หนังยางที่มัดไว้เล็กน้อย ประมาณ 15-20 จุดต่อถุง (เพื่อให้มีอากาศถ่ายเทเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อราไตรโคเดอร์มา) แล้วแผ่ถุงข้าวสุกให้แบนราบ ดึงตรงส่วนกลางของถุงให้พองขึ้น เพื่อให้ภายในถุงมีอากาศพอเพียง ในกรณีที่ใช้ลวดเย็บกระดาษสำหรับเย็บปิดปากถุงแทนการใช้ยางรัด ให้พับปากถุงทบ 2-3 ชั้น ก่อนเย็บด้วยลวดเย็บ 3 จุด เจาะรูบริเวณปากถุงประมาณ 20 รู แล้วทำตามขั้นตอนดังกล่าวข้างต้น

5. บ่มเชื้อไว้ในที่มีอากาศถ่ายเท มีแสงสว่างส่องถึง ไม่ตากแดด ปลอดภัยจาก มด ไร และสัตว์อื่นๆ เมื่อครบ 2 วัน ขยำถุงเบาๆ เพื่อให้เส้นใยของเชื้อกระจายทั่วทั้งถุง บ่มถุงเชื้อต่ออีก 4-5 วัน ก่อนนำไปใช้ รวมระยะเวลาของการบ่มเชื้อคือ 6-7 วัน

ตารางผนวกที่ 1 ลักษณะของแบคทีเรียที่แยกได้จากผิวรากของผักกาดหอมชนิด Butter Head

สายพันธุ์	แยกจากอาหาร [1/] / [2/]	แกรม	ลักษณะโคโลนี [3/] [4/] [5/] [6/] [7/] [8/] [9/]
BH01	TSA / NCL	negative	2 มม. ครีม C C S En Ts
BH02	TSA / NCL	negative	1 มม. ครีม C C S En O
BH03	TSA / NCL	negative	1 มม. ครีม C C S En O
BH04	TSA / NCL	negative	1 มม. ครีม C C S En O
BH05	NGA/ NCL	negative	1 มม. ครีม C R R En Tp
BH06	NGA/ NCL	negative	1 มม. ครีม C C S En O
BH07	NGA/ CL	positive	4 มม. ขาว C F R U O
BH08	NGA/ CL	positive	1 มม. ครีม C C R U O
BH09	NGA/ CL	positive	2 มม. ขาว C F R U O
BH10	NGA/ CL	positive	2-4 มม. ขาว C F R L Ts
BH11	KB/ NCL	negative	< 1 มม. ครีม P C S En Tp
BH12	KB/ CL	positive	1-2 มม. ขาว I F R U O
BH13	KB/ CL	positive	2 มม. ขาว I R R L Ts
BH14	KB/ CL	positive	3-4 มม. ขาว C Un R U O
BH15	KB/ CL	positive	3-4 มม. ขาว C F R U O
BH16	T/ CL	negative	1 มม. ครีม C C S En O
BH17	KB/NCL	negative	< 1 มม. ครีม C C S En Tp
BH18	KB/ NCL	negative	1 มม. ครีม C R R En Tp *Yellow

ตารางผนวกที่ 2 ลักษณะของแบคทีเรียที่แยกได้จากผิวรากของผักกาดหอมชนิด Frillice

สายพันธุ์	แยกจากอาหาร [1/] / [2/]	แกรม	ลักษณะโคโลนี [3/] [4/] [5/] [6/] [7/] [8/] [9/]
FL01	TSA / NCL	negative	1 มม. ครีม C R R En Tp
FL02	TSA / CL	positive	1 มม. ครีม C C S En Ts
FL03	TSA / CL	positive	< 1 มม. ขาว P F R L Tp
FL04	NGA/ NCL	negative	1 มม. ครีม C Un R U Tp
FL05	NGA/ NCL	negative	1 มม. ครีม C C S En Ts
FL06	NGA/ CL	positive	1-2 มม. ครีม C C S En O
FL07	NGA/ CL	positive	2 มม. ขาว C F R U O
FL08	NGA/ CL	positive	4-7 มม. ขาว I F R U O
FL09	NGA/ CL	positive	2-3 มม. ขาว C F R U O
FL10	NGA/ CL	negative	1-2 มม. ครีม C R R En O
FL11	NGA/ CL	positive	2-3 มม. ขาว C F R En O
FL12	NGA/ CL	positive	1 มม. ขาว C F R U O
FL13	KB/ NCL	positive	1 มม. ขาว C C S En Ts
FL14	KB/ NCL	negative	1 มม. ครีม C R R Un Tp
FL15	KB/ NCL	negative	1 มม. ขาว C R R En Tp
FL16	KB/ NCL	negative	1 มม. ขาว C C S En Tp
FL17	KB/ CL	positive	2-4 มม. ขาว I F R U O
FL18	KB/ CL	positive	2-5 มม. ขาว I F R U O
FL19	KB/ CL	negative	4 มม. ขาว C C S En Ts
FL20	KB/ CL	positive	2 มม. ขาว C F R U O
FL21	KB/ CL	positive	1 มม. ขาว C C R En O

ตารางผนวกที่ 3 ลักษณะของแบคทีเรียที่แยกได้จากผิวรากของผักกาดหอมชนิด Green Cos

สายพันธุ์	แยกจากอาหาร [1/] / [2/]	แกรม	ลักษณะโคโลนี [3/] [4/] [5/] [6/] [7/] [8/] [9/]
GC01	TSA / NCL	negative	1-2 มม. ครีม C R R En Ts
GC02	TSA / NCL	negative	1 มม. ครีม C C S En Ts
GC03	TSA / NCL	negative	1 มม. ครีม C C S En Ts
GC04	NGA/ NCL	negative	1 มม. ครีม C C S En Tp
GC05	NGA/ CL	positive	1-2 มม. ขาว C F R U O
GC06	NGA/ CL	positive	2 มม. ขาว C R R En O
GC07	NGA/ CL	positive	2-4 มม. ขาว I Un R U O
GC08	NGA/ CL	positive	1-2 มม. ขาว I R R U Ts
GC09	NGA/ CL	positive	1-2 มม. ครีม C R R En O
GC10	NGA/ CL	negative	2-4 มม. ขาว C C S En Ts
GC11	NGA/ CL	positive	1 มม. ขาว I Un R U O
GC12	KB/ NCL	negative	1-2 มม. ครีม C R R En Tp *Yellow
GC 13	KB/ CL	positive	1 มม. ขาว I F R U O
GC14	KB/ CL	positive	2-3 มม. ขาว C F R U O
GC15	KB/ CL	positive	2-3 มม. ขาว C F R U O
GC16	KB/ CL	positive	2 มม. ขาว C F R U O
GC17	KB/ CL	negative	2-3 มม. ครีม C C S En O
GC18	KB/ CL	positive	1 มม. ขาว C C S U O
GC19	KB/ CL	positive	3 มม. ขาว C F R U O
GC20	KB/ CL	negative	2 มม. ขาว C C S En Ts

ตารางผนวกที่ 4 ลักษณะของแบคทีเรียที่แยกได้จากผิวรากของผักกาดหอมชนิด Green Oak

สายพันธุ์	แยกจากอาหาร [1/] / [2/]	แกรม	ลักษณะโคโลนี [3/] [4/] [5/] [6/] [7/] [8/] [9/]
GO01	TSA / NCL	negative	1 มม. ครีม C C S En Tp
GO02	NGA/ NCL	positive	2-4 มม. ขาว S F R Un O
GO03	NGA/ NCL	negative	1 มม. ครีม C C S En Tp
GO04	NGA/ NCL	negative	< 1 มม. ครีม P C S En Tp *Yellow
GO05	NGA/ NCL	negative	1 มม. ครีม C C S En Tp
GO06	NGA/ CL	positive	2-3 มม. ขาว C F R Un O
GO07	NGA/ CL	negative	1 มม. ขาว C C R Un O
GO08	NGA/ CL	positive	1 มม. ขาว C C R Un O
GO09	NGA/ CL	positive	1-2 มม. ครีม C C S En Ts
GO10	NGA/ CL	positive	1 มม. ขาว C C R En O
GO11	KB/ NCL	negative	< 1 มม. ครีม P C S En Tp *Yellow
GO12	KB/ NCL	negative	< 1 มม. ครีม P C S En Tp *Yellow
GO13	T/ CL	negative	< 1 มม. ครีม P C S En Tp *Yellow
GO14	T/ CL	negative	2 มม. ขาว C C S En Ts
GO15	KB/ NCL	negative	2-3 มม. ครีม C C S En O
GO16	KB/ CL	negative	2 มม. ขาว C C S En Ts
GO17	NGA/ NCL	negative	2 มม. ขาว C C S En Ts
GO18	NGA/ NCL	negative	2-3 มม. ครีม C C S En O
GO19	NGA/ CL	negative	1 มม. ครีม C C S En Tp
GO20	NGA/ CL	negative	1 มม. ขาว C C R Un O

ตารางผนวกที่ 5 ลักษณะของแบคทีเรียที่แยกได้จากผิวรากของผักกาดหอมชนิด Red Oak

สายพันธุ์	แยกจากอาหาร [1/] / [2/]	แกรม	ลักษณะโคโลนี [3/] [4/] [5/] [6/] [7/] [8/] [9/]
RO01	TSA / NCL	negative	1 มม. ครีม C R R En Tp *Yellow
RO02	NGA/ NCL	positive	< 1 มม. ครีม P C R En O
RO03	NGA/ NCL	negative	2 มม. ครีม C Un R En Tp
RO04	NGA/ CL	positive	< 1 มม. ขาว C C S En Tp
RO05	NGA/ CL	negative	2-3 มม. ขาว C C S En Ts
RO06	NGA/ CL	positive	1-2 มม. ขาว C F R U O
RO07	NGA/ CL	positive	1 มม. ขาว C F R U O
RO08	NGA/ CL	positive	1-2 มม. ครีม C C S En O
RO09	NGA/ CL	negative	< 1 มม. ครีม C C S En Tp
RO10	KB/ NCL	negative	1 มม. ครีม C C S En O
RO11	KB/ NCL	negative	1 มม. ครีม C C S En Ts
RO12	KB/ CL	negative	2-3 มม. ขาว C C S En Ts
RO13	KB/ CL	positive	< 1 มม. ครีม C C S En Tp
RO14	KB/ CL	positive	2-3 มม. ขาว C F R U O
RO15	KB/ CL	positive	1-2 มม. ขาว C F R U O
RO16	TSA / CL	negative	1 มม. ครีม C R R En Tp *Yellow
RO17	TSA / CL	negative	2-3 มม. ขาว C C S En Ts
RO18	KB/ NCL	negative	2-3 มม. ขาว C C S En Ts
RO19	KB/ NCL	negative	1 มม. ครีม C R R En Tp *Yellow

[1/] อาหารที่ใช้แยกเชื้อ King's Medium B (KB), Nutrient Glucose Agar (NGA), Thornton's Standardized Agar (TSA)

[2/] วิธีการแยกเชื้อ NCL = ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

CL = ล้างด้วย 0.525 % sodium hypochlorite

[3/] ขนาดของโคโลนี (มิลลิเมตร)

[4/] สีของโคโลนี

[5/] รูปร่างของโคโลนี (form)

Punciform (P) : โคโลนีขนาดเล็ก เส้นผ่านศูนย์กลางไม่เกิน1 มิลลิเมตร

Circular (C) : โคโลนีรูปร่างกลม

Filamentous (F) : โคโลนีเป็นเส้นสาย ลักษณะคล้ายเส้นใยรา รูปร่างไม่แน่นอน

Irrigular (I) : โคโลนีมีรูปร่างไม่แน่นอน

Rhizoid (R) : โคโลนีเป็นเส้นหยาบกว่า filamentous แผ่ขยายคล้ายราก

Spindle (S) : โคโลนีบุ๋มตรงกลาง

6/ ความนูนของโคโลนี (elevation)

Flat (F) : โคโลนีแบนราบไปตามผิวหน้าอาหาร

Raised (R) : โคโลนีเจริญสูงจากผิวหน้าของอาหาร แต่ส่วนบนของโคโลนีจะเรียบ

Convex(C) : โคโลนีกลมและนูน โค้งสูงจากผิวหน้าอาหาร

Pulvinate (P) : โคโลนีกลมนูนโค้งจากผิวหน้าอาหารมากกว่า convex

Umbonate (Un) : โคโลนีโค้งนูนมีปุ่มตรงกลาง

Umbilicate (Ul) : โคโลนีบุ๋มตรงกลาง

7/ ลักษณะผิวโคโลนี (surface)

Smooth (S) : ผิวโคโลนีเรียบ

Routh (R) : ผิวโคโลนีขรุขระ

Concentrically (Cc) : มีลักษณะเป็นวงแหวน ซ้อนกันหลายชั้น

Contoured (Ct) : ผิวโคโลนีเกลี้ยงแต่เป็นคลื่น ลักษณะของคลื่นไม่แน่นอน

Rugose (Ru) : ผิวโคโลนีเป็นรอยย่น

Granular(G) : ผิวโคโลนีเป็นเม็ด ๆ

8/ ริมหรือขอบโคโลนี (margin)

Entire (E) : ขอบเรียบ

Undulate (U) : ขอบไม่เรียบ โค้งเว้าเพียงเล็กน้อย

Lobate (L) : ขอบเป็นคลื่นที่เว้ามาก ลักษณะเป็นช่อ

Erose (E) : ขอบหยักเป็นฟันสม่ำเสมอ

Filamentous (F) : ขอบเป็นเส้นสาย แบบเส้นใยของรา

Curled (C) : ขอบโค้ง เป็นเส้นซ้อน ๆ กันและหยักไปมา

9/ ความสามารถในการให้แสงผ่าน

Transparent (Tp) : แสงผ่านได้ตลอด

Translucent (Ts) : แสงผ่านได้บ้าง โปร่งแสงเล็กน้อย

Opaque (O) : แสงผ่านไม่ได้เลย

ตารางผนวกที่ 6 การยับยั้งการเจริญของเส้นใย เปอร์เซ็นต์การครอบครองรากของแบคทีเรียปฏิปักษ์และเชื้อรา *Pythium* เปรียบเทียบระหว่าง wild type และสายพันธุ์ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin 60 ppm ในรากของต้นกล้าผักกาดหอม

กรรมวิธี	การยับยั้งการเจริญของเส้นใย *Pythium* (%)	การครอบครองรากของแบคทีเรีย (%)	การครอบครองรากของ *Pythium* (%)
BH15/1	48.25	-	12.50
BH15/2	45.25	-	18.75
BH15/3	37.50	-	12.50
BH15/4	57.50	56.25	0
BH15/5	53.50	25.00	43.74
BH15/6	61.50	-	6.25
BH15/7	46.50	-	12.50
BH15/8	59.00	-	6.25
BH15/9	51.25	-	0
BH15/10	47.00	50.00	0
BH15 wild type	65.00	-	18.75
GC14/1	44.00	-	12.50
GC14/2	56.00	6.25	43.75
GC14/3	20.00	-	6.25
GC14/4	48.75	-	18.75
GC14/5	47.50	-	37.50
GC14/6	63.50	43.75	0
GC14/7	22.00	-	18.75
GC14/8	45.50	-	25.00
GC14/9	17.00	-	0
GC14/10	62.25	37.50	0
GC14 wild type	62.75	-	0

ตารางผนวกที่ 6 (ต่อ)

กรรมวิธี	การยับยั้งการเจริญของเส้นใย *Pythium* (%)	การครอบครองรากของแบคทีเรีย (%)	การครอบครองรากของ *Pythium* (%)
FL17/4	44.50	-	6.25
FL17/5	54.25	-	12.50
FL17/6	51.50	-	0
FL17/7	60.75	75	0
FL17 wild type	63.50	-	0
RO14/1	63.25	-	25.00
RO14/2	63.50	56.25	6.25
RO14/3	19.75	-	18.75
RO14/4	65.50	18.75	6.25
RO14/5	46.75	12.50	56.25
RO14/6	19.75	-	18.75
RO14/7	15.50	-	31.25
RO14/8	61.50	-	6.25
RO14/9	20.75	-	25.00
RO1410	41.50	-	18.75
RO14 wild type	60.75	-	18.75
RO15/1	41.50	-	0
RO15/2	39.50	-	6.25
RO15/3	49.00	62.50	25.00
RO15/4	49.75	-	0
RO15/5	54.25	-	6.25
RO15/6	52.75	100.00	0
RO15/7	66.75	100.00	0
RO15/8	42.00	-	0
RO15/9	43.00	-	0
RO1510	43.50	-	0
RO15 wild type	61.50	-	0
Metalaxyl	100	-	0
Control (+Py)	-	-	56.25
Control (-Py)	-	-	0

ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร กำแพงแสน จังหวัดนครปฐม 73140
โทร 034282494-7 โทรสาร 034282498

ใบรายงานผลการวิเคราะห์

7 มี.ค. 2551

การวิเคราะห์จำแนกเชื้อแบคทีเรียด้วยเครื่อง BioLog® system

ชื่อลูกค้า รศ. ดร. จิรเดช แจ่มสว่าง
ที่อยู่ ภาควิชาโรคพืช ม.เกษตรศาสตร์ กำแพงแสน
วันที่รับตัวอย่าง 12 มี.ค. 2551
จำนวนตัวอย่าง 3 ตัวอย่าง
ชื่อตัวอย่าง 1. BH15
2. GC14
3. FL17

ผลการวิเคราะห์

ชื่อตัวอย่าง BH15
แบคทีเรียแกรม แกรมบวก
รูปร่าง rod
ลักษณะเพิ่มเติม สร้างสปอร์
ผลการจำแนก สามารถจำแนกเป็น *Bacillus cereus/thuringiensis*
รายละเอียดการใช้แหล่งคาร์บอนดังรายละเอียดในเอกสารแนบ

ชื่อตัวอย่าง GC14
แบคทีเรียแกรม แกรมบวก
รูปร่าง rod
ลักษณะเพิ่มเติม สร้างสปอร์
ผลการจำแนก ไม่สามารถจำแนกได้

ชื่อตัวอย่าง FL17
แบคทีเรียแกรม แกรมบวก
รูปร่าง rod
ลักษณะเพิ่มเติม สร้างสปอร์
ผลการจำแนก สามารถจำแนกเป็น *Bacillus mycoides*
รายละเอียดการใช้แหล่งคาร์บอนดังรายละเอียดในเอกสารแนบ

ผู้ตรวจ .....

(นางสาวกษมา ชูสังข์)

ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร กำแพงแสน จังหวัดนครปฐม 73140
โทร 034282494-7 โทรสาร 034282498

ใบรายงานผลการวิเคราะห์

20 มี.ค. 2550

การวิเคราะห์จำแนกเชื้อแบคทีเรียด้วยเครื่อง BioLog® system

ชื่อลูกค้า รศ. ดร. จิรเดช แจ่มสว่าง
ที่อยู่ ภาควิชาโรคพืช ม.เกษตรศาสตร์ กำแพงแสน
วันที่รับตัวอย่าง 17 มี.ค. 2550
จำนวนตัวอย่าง 1 ตัวอย่าง
ชื่อตัวอย่าง RO15

ผลการวิเคราะห์

ชื่อตัวอย่าง RO15
แบคทีเรียแกรม แกรมบวก
รูปร่าง rod
ลักษณะเพิ่มเติม สร้างสปอร์

ผลการจำแนก ไม่สามารถจำแนกได้ แต่มีการใช้แหล่งคาร์บอนใกล้เคียง *Bacillus mycoides*
รายละเอียดการใช้แหล่งคาร์บอนดังรายละเอียดในเอกสารแนบ

ผู้ตรวจ กชมา ศรีสังข์
(น.ส. กชมา ศรีสังข์)

Program : Biolog MicroLog3 4.20
Read From File : D:\labwork\บี-12-3-08.D4C
Save To File : D:\labwork\บี-12-3-08.D4C
Unrestricted Access? : Yes
Read Time : มี.ค. 12 2008 10:10
Parent File : Original Data Record
Plate Number : 1
Incubation Time : 4-6
Sample Number : 15 BW15 Plate Type: GP2
Strain Type : GP-ROD SB
Strain Number :
Strain Name :
Other : 45 นาที
Data Input Mode : File
590/750 Filters Used : 6 / 5
Threshold Mode : Manual: Color: 9/42
Number +/b/- Reactions : 11 / 25 / 60
Database To Search : MicroLog
Data Base(s) Searched : C:\Biolog420\Databases\GP602.KID

Key : <X>: positive; <X-: mismatched positive; X: negative; X+: mismatched negative
{X}: borderline; -X: less than A1 well

Color	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0	-24	-42	< 56>	-31	-40	-41	{ 15}	< 44>	-30	-57	-69
B	< 71>	-23	-35	8	{ 17}	-30	-12	-16	-43	-42	{ 33}	-35
C	{ 13}	-6	{ 34}	{ 17}	-24	-10	-9	-34	-32	-39	-12	-46
D	{ 27}	{ 16}	{ 27}	{ 20}	-20	-20	{ 38}	-23	-11	-27	-41	-21
E	{ 11}	< 79>	{ 36}	-9	< 49>	{ 27}	0	-5	-26	-45	-15	{ 25}
F	-38	-30	{ 9}	-25	0	-53	-24	-21	{ 32}	-59	-40	-43
G	-33	-2	{ 23}	< 57>	1	5	{ 18}	-20	< 50>	-47	-41	{ 14}
H	{ 28}	{ 20}	< 64>	{ 34}	< 67>	{ 28}	< 42>	< 50>	{ 14}	-32	-33	-16

=> Species ID: Bacillus cereus/thuringiensis <=

Species	PROB	SIM	DIST	TYPE
=>1) Bacillus cereus/thuringiensis	100	0.79	3.07	GP-ROD SB
2) Bacillus anthracis subgroup B	0	0.00	5.58	GP-ROD SB
3) Bacillus anthracis subgroup C	0	0.00	5.78	GP-ROD SB
4) Bacillus mycoides	0	0.00	5.80	GP-ROD SB
5) Bacillus anthracis subgroup D	0	0.00	5.84	GP-ROD SB
6) Bacillus anthracis subgroup A	0	0.00	5.90	GP-ROD SB
7) Bacillus badius	0	0.00	9.43	GP-ROD SB
8) Bacillus amyloliquefaciens	0	0.00	9.75	GP-ROD SB
9) Paenibacillus larvae ss larvae	0	0.00	10.24	GP-ROD SB
10) Paenibacillus popilliae	0	0.00	10.51	GP-ROD SB
Other)	---	---	96.00	---

Print Time = มี.ค. 12 2008 12:51 Page 1 of 1 pages

Program	: Biolog MicroLog3 4.20
Read From File	: D:\labwork\เม็-12-3-08.D4C
Save To File	: D:\labwork\เม็-12-3-08.D4C
Unrestricted Access?	: Yes
Read Time	: มี.ค. 12 2008 11:15
Parent File	: Original Data Record
Plate Number	: 1
Incubation Time	: 4-6
Sample Number	: 14 GC14 Plate Type: GP2
Strain Type	: GP-ROD SB
Strain Number	:
Strain Name	:
Other	: 90 นาที
Data Input Mode	: File
590/750 Filters Used	: 6 / 5
Threshold Mode	: Manual: Color: 45/68
Number +/b/- Reactions	: 19 / 14 / 63
Database To Search	: MicroLog
Data Base(s) Searched	: C:\Biolog420\Databases\GP602.KID

Key : <X>: positive; <X-: mismatched positive; X: negative; X+: mismatched negative
{X}: borderline; -X: less than A1 well

Color	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0	-4	-23	< 120>	10	12	-10	-7	< 69>	{ 54}	20	-22
B	{ 60}	-8	-13	{ 65}	< 72>	-17	21	37	-4	8	< 123>	-5
C	10	4	< 80>	{ 48}	-1	20	14	-2	6	6	{ 62}	-6
D	{ 61}	21	< 85>	{ 52}	34	39	< 93>	21	{ 47}	13	-11	24
E	3	< 91>	< 83>	9	< 78>	{ 54}	24	20	43	-10	10	< 111>
F	-27	-12	39	3	17	-64	-9	44	< 127>	-14	6	-5
G	-25	32	{ 59}	< 92>	{ 56}	14	41	10	{ 66}	-1	22	32
H	< 87>	{ 48}	< 101>	< 89>	< 113>	{ 53}	< 94>	< 75>	31	5	15	19

=> No ID <=

Species	PROB	SIM	DIST	TYPE
=>1) Bacillus cereus/thuringiensis	---	0.59	6.01	GP-ROD SB
2) Bacillus mycoides	---	0.01	7.26	GP-ROD SB
3) Bacillus anthracis subgroup B	---	0.00	7.67	GP-ROD SB
4) Bacillus anthracis subgroup A	---	0.00	8.32	GP-ROD SB
5) Bacillus anthracis subgroup D	---	0.00	8.99	GP-ROD SB
6) Bacillus anthracis subgroup C	---	0.00	11.16	GP-ROD SB
7) Bacillus amyloliquefaciens	---	0.00	12.47	GP-ROD SB
8) Bacillus megaterium	---	0.00	12.80	GP-ROD SB
9) Virgibacillus pantothenticus	---	0.00	13.58	GP-ROD SB
10) Paenibacillus larvae ss larvae	---	0.00	13.61	GP-ROD SB
Other)	---	---	96.00	---

Print Time = มี.ค. 12 2008 13:01 Page 1 of 1 pages

Program : Biolog MicroLog3 4.20
Read From File : D:\labwork\pae-18-03-08.D4C
Save To File :
Unrestricted Access? : Yes
Read Time : มี.ค. 18 2008 13:24
Parent File : Original Data Record
Plate Number : 1
Incubation Time : 4-6
Sample Number : R15 Plate Type: GP2
Strain Type : GP-ROD SB
Strain Number :
Strain Name :
Other : 4.30hr
Data Input Mode : File
590/750 Filters Used : 6 / 5
Threshold Mode : Manual: Color: 51/110
Number +/b/- Reactions : 28 / 25 / 43
Database To Search : MicroLog
Data Base(s) Searched : C:\Biolog420\Databases\GP602.KID

Key : <X>: positive; <X-: mismatched positive; X: negative; X+: mismatched negative
{X}: borderline; -X: less than A1 well

Color	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0	42	{ 63}	< 133>	31	19	19	< 112>	< 215>	39	38	19
B	< 139>	29	10	{ 97}	< 118>	14	{ 73}	44	39	30	< 183>	39
C	26	46	< 115>	{ 105}	32	{ 68}	{ 62}	50	37	21	< 116>	25
D	< 110>	43	{ 91}	{ 76}	{ 64}	29	< 149>	38	{ 60}	37	39	{ 86}
E	28	< 172>	< 110>	39	< 114>	{ 82}	{ 54}	{ 58}	43	-2	{ 61}	< 162>
F	12	43	{ 58}	9	< 150>	{ 65}	27	{ 70}	< 258>	19	32	27
G	7	{ 85}	< 155>	< 195>	< 154>	{ 89}	< 157>	{ 64}	< 164>	10	{ 54}	< 154>
H	< 153>	{ 89}	< 142>	< 168>	< 156>	{ 75}	< 153>	< 132>	46	21	25	{ 57}

=> No ID <=

Species	PROB	SIM	DIST	TYPE
=>1) Bacillus mycoides	---	0.72	4.25	GP-ROD SB
2) Bacillus cereus/thuringiensis	---	0.00	7.36	GP-ROD SB
3) Bacillus anthracis subgroup D	---	0.00	8.06	GP-ROD SB
4) Bacillus anthracis subgroup B	---	0.00	9.27	GP-ROD SB
5) Bacillus anthracis subgroup A	---	0.00	10.49	GP-ROD SB
6) Bacillus megaterium	---	0.00	11.20	GP-ROD SB
7) Bacillus anthracis subgroup C	---	0.00	11.47	GP-ROD SB
8) Bacillus amyloliquefaciens	---	0.00	11.92	GP-ROD SB
9) Bacillus maroccanus	---	0.00	13.14	GP-ROD SB
10) Bacillus badius	---	0.00	15.00	GP-ROD SB
Other)				

Print Time = มี.ค. 21 2008 10:56 Page 1 of 1 pages

BIOLOG **Gram Positive Identification Test Panel**

GP2 MicroPlate™

A1 Water	A2 α-Cyclodextrin	A3 β-Cyclodextrin	A4 Dextrin	A5 Glycogen	A6 Inulin	A7 Mannan	A8 Tween 40	A9 Tween 80	A10 N-Acetyl-D-Glucosamine	A11 N-Acetyl-β-D-Mannosamine	A12 Amygdalin
B1 L-Arabinose	B2 D-Arabitol	B3 Arbutin	B4 D-Cellobiose	B5 D-Fructose	B6 L-Fucose	B7 D-Galactose	B8 D-Galacturonic Acid	B9 Gentiobiose	B10 D-Gluconic Acid	B11 α-D-Glucose	B12 m-Inositol
C1 α-D-Lactose	C2 Lactulose	C3 Maltose	C4 Maltotriose	C5 D-Mannitol	C6 D-Mannose	C7 D-Melezitose	C8 D-Melibiose	C9 α-Methyl-D-Galactoside	C10 β-Methyl-D-Galactoside	C11 3-Methyl Glucose	C12 α-Methyl-D-Glucoside
D1 β-Methyl-D-Glucoside	D2 α-Methyl-D-Mannoside	D3 Palatinose	D4 D-Psicose	D5 D-Raffinose	D6 L-Rhamnose	D7 D-Ribose	D8 Salicin	D9 Sedoheptulosan	D10 D-Sorbitol	D11 Stachyose	D12 Sucrose
E1 D-Tagatose	E2 D-Trehalose	E3 Turanose	E4 Xylitol	E5 D-Xylose	E6 Acetic Acid	E7 α-Hydroxybutyric Acid	E8 β-Hydroxybutyric Acid	E9 γ-Hydroxybutyric Acid	E10 p-Hydroxy-Phenylacetic Acid	E11 α-Ketoglutaric Acid	E12 α-Ketovaleric Acid
F1 Lactamide	F2 D-Lactic Acid Methyl Ester	F3 L-Lactic Acid	F4 D-Malic Acid	F5 L-Malic Acid	F6 Pyruvatic Acid Methyl Ester	F7 Succinic Acid Mono-methyl Ester	F8 Propionic Acid	F9 Pyruvic Acid	F10 Succinamic Acid	F11 Succinic Acid	F12 N-Acetyl-L-Glutamic Acid
G1 L-Alaninamide	G2 D-Alanine	G3 L-Alanine	G4 L-Alanyl-Glycine	G5 L-Asparagine	G6 L-Glutamic Acid	G7 Glycyl-L-Glutamic Acid	G8 L-Pyroglutamic Acid	G9 L-Serine	G10 Putrescine	G11 2,3-Butanediol	G12 Glycerol
H1 Adenosine	H2 2'-Deoxy Adenosine	H3 Inosine	H4 Thymidine	H5 Uridine	H6 Adenosine-5'-Monophosphate	H7 Thymidine-5' Monophosphate	H8 Uridine-5'-Monophosphate	H9 D-Fructose-6-Phosphate	H10 α-D-Glucose-1-Phosphate	H11 D-Glucose-6-Phosphate	H12 D-L-α-Glycerol Phosphate

FIGURE 1. Carbon Sources in GP2 MicroPlate

BIOLOG **Gram Negative Identification Test Panel**

GN2 MicroPlate™

A1 Water	A2 α-Cyclodextrin	A3 Dextrin	A4 Glycogen	A5 Tween 40	A6 Tween 80	A7 N-Acetyl-D-Galactosamine	A8 N-Acetyl-D-Glucosamine	A9 Adonitol	A10 L-Arabinose	A11 D-Arabitol	A12 D-Cellobiose
B1 i-Erythritol	B2 D-Fructose	B3 L-Fucose	B4 D-Galactose	B5 Gentiobiose	B6 α-D-Glucose	B7 m-Inositol	B8 α-D-Lactose	B9 Lactulose	B10 Maltose	B11 D-Mannitol	B12 D-Mannose
C1 D-Melibiose	C2 β-Methyl-D-Glucoside	C3 D-Psicose	C4 D-Raffinose	C5 L-Rhamnose	C6 D-Sorbitol	C7 Sucrose	C8 D-Trehalose	C9 Turanose	C10 Xylitol	C11 Pyruvic Acid Methyl Ester	C12 Succinic Acid Mono-Methyl-Ester
D1 Acetic Acid	D2 Cis-Aconitic Acid	D3 Citric Acid	D4 Formic Acid	D5 D-Galactonic Acid Lactone	D6 D-Galacturonic Acid	D7 D-Gluconic Acid	D8 D-Glucosaminic Acid	D9 D-Glucuronic Acid	D10 α-Hydroxybutyric Acid	D11 β-Hydroxybutyric Acid	D12 γ-Hydroxybutyric Acid
E1 p-Hydroxy Phenylacetic Acid	E2 Itaconic Acid	E3 α-Keto Butyric Acid	E4 α-Keto Glutaric Acid	E5 α-Keto Valeric Acid	E6 D,L-Lactic Acid	E7 Malonic Acid	E8 Propionic Acid	E9 Quinic Acid	E10 D-Saccharic Acid	E11 Sebacic Acid	E12 Succinic Acid
F1 Bromosuccinic Acid	F2 Succinamic Acid	F3 Glucuronamide	F4 L-Alaninamide	F5 D-Alanine	F6 L-Alanine	F7 L-Alanyl-glycine	F8 L-Asparagine	F9 L-Aspartic Acid	F10 L-Glutamic Acid	F11 Glycyl-L-Aspartic Acid	F12 Glycyl-L-Glutamic Acid
G1 L-Histidine	G2 Hydroxy-L-Proline	G3 L-Leucine	G4 L-Ornithine	G5 L-Phenylalanine	G6 L-Proline	G7 L-Pyroglutamic Acid	G8 D-Serine	G9 L-Serine	G10 L-Threonine	G11 D,L-Carnitine	G12 γ-Amino Butyric Acid
H1 Urocanic Acid	H2 Inosine	H3 Uridine	H4 Thymidine	H5 Phenyethyl-amine	H6 Putrescine	H7 2-Aminoethanol	H8 2,3-Butanediol	H9 Glycerol	H10 D,L-α-Glycerol Phosphate	H11 α-D-Glucose-1-Phosphate	H12 D-Glucose-6-Phosphate

FIGURE 1. Carbon Sources in GN2 MicroPlate

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวเพ็ญภัค เสาวภาคย์
วัน เดือน ปี ที่เกิด	18 ตุลาคม 2526
สถานที่เกิด	ตรัง
ประวัติการศึกษา	ปี 2548 ระดับปริญญาตรี วท.บ.(เกษตรศาสตร์) เกียรตินิยมอันดับ 2 ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนสนับสนุนงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา ประจำปี 2550