

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาถึงความสัมพันธ์ของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในสารละลายธาตุอาหาร ต่อการเกิดโรครากเน่า และผลต่อการเจริญเติบโตของพืชที่ปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน โดย ทำการศึกษาในกลุ่มของแบคทีเรียเขตรากพืชที่มีประโยชน์ (beneficial rhizobacteria) และจุลินทรีย์ที่เป็นชีวผลิตภัณฑ์ (biocontrol product) บางชนิด สำหรับแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ที่นำมาศึกษาในครั้งนี้ได้แก่ แบคทีเรีย *Pseudomonas* ECO008 สายพันธุ์ท้องถิ่นที่แยกจากบริเวณเขตรากพืช (rhizosphere) ของพืชที่ปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ซึ่งได้ผ่านการคัดเลือกแล้วว่ามีคุณสมบัติในการลดความรุนแรงของโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* และมีแนวโน้มว่าจะสนับสนุนการเจริญเติบโตของพืชด้วย อย่างไรก็ตามได้นำมาทดสอบประสิทธิภาพซ้ำอีกครั้งในงานวิจัยนี้ พบว่า ยังคงมีคุณสมบัติที่ดีเหมือนเดิม ส่วนจุลินทรีย์ที่เป็นชีวผลิตภัณฑ์ (biocontrol product) ได้เลือกเอาแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* สายพันธุ์การค้าโดยแยกเชื้อบริสุทธิ์จากชีวผลิตภัณฑ์ยี่ห้อหนึ่งที่มีขายอยู่ในท้องตลาด

การศึกษาแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน ขั้นตอนแรกเป็นการศึกษาใน lab scale hydroponics ทดลองในผักสลัด 2 ชนิด คือ ผักสลัดบัตเตอร์เฮด และผักสลัดเรดโครอล ในสภาพที่มีการปลูกเชื้อ *Pythium* sp. สาเหตุโรครากเน่าในปริมาณที่แตกต่างกัน เหตุที่เลือกผักสลัดสองชนิดข้างต้นก็เนื่องจาก ผักสลัดบัตเตอร์เฮด และผักสลัดเรดโครอล จะมีความอ่อนแอต่อโรครากเน่าแตกต่างกัน โดยที่ผักสลัดบัตเตอร์เฮดจะมีความทนทานมากกว่าผักสลัดเรดโครอล จึงถูกเลือกเพื่อให้เป็นตัวแทนของชนิดพืชที่มีความทนทาน ส่วนผักสลัดเรดโครอลถูกเลือกเพื่อให้เป็นตัวแทนของชนิดพืชที่มีความอ่อนแอ การทดลองนี้วางแผนการทดลองแบบ 4x3 factorials in CRD ปัจจัยที่ศึกษามี 2 ปัจจัยได้แก่ ปริมาณจุลินทรีย์ในสารละลายธาตุอาหาร (ปัจจัย A) ประกอบด้วย พืชทดสอบที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อ แล้วใส่ *Pseudomonas* ECO008 ลงไปในอัตรา 10^6 cfu/ml (A1), พืชทดสอบที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อ แล้วใส่ *Bacillus subtilis* ลงไปในอัตรา 10^6 cfu/ml (A2), พืชทดสอบที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (A3), และพืชทดสอบที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารปกติที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ (A4) สำหรับปัจจัยที่สองได้แก่ ปริมาณเชื้อ *Pythium* sp. สาเหตุโรค (ปัจจัย B) ประกอบด้วย ไม่ปลูกเชื้อสาเหตุ (B1), ปลูกเชื้อสาเหตุในปริมาณ 10^6 propagules/ml (B2), และปลูกเชื้อสาเหตุในปริมาณ 10^3 propagules/ml (B3) ผลการทดลองพบว่า ปริมาณจุลินทรีย์ในสารละลายธาตุอาหาร มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของผักสลัดทั้งสองชนิดไม่ว่าจะเป็นสายพันธุ์ที่มีความทนทาน หรืออ่อนแอ ส่วนปริมาณเชื้อก่อโรคนั้นพบว่าจะมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของผักสลัดเรดโครอลมาก กว่าผักสลัดบัตเตอร์เฮด ในเรื่องของปริมาณจุลินทรีย์ในสารละลายธาตุอาหารที่มีต่อการเจริญเติบโตของพืชนั้น พบว่าการเพิ่มแบคทีเรียสายพันธุ์ที่มีประโยชน์ลงในสารละลายธาตุ

อาหาร สามารถทำให้พืชทดสอบมีการเจริญเติบโตที่ดีกว่ากลุ่มทดลองที่ไม่มีการเพิ่มแบคทีเรีย ทั้งนี้ การใส่ *Pseudomonas* ECO008 หรือ *Bacillus subtilis* เพิ่มลงไปในสารละลายธาตุอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ในอัตรา 10^5 cfu/ml จะทำให้กล้าผักสลัดบัตเตอร์เฮด และเรดโครอล มีการเจริญเติบโตโดยเฉลี่ยดีที่สุด รองลงมาได้แก่ กล้าผักสลัดที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อแต่ไม่เพิ่มแบคทีเรียสายพันธุ์ที่เป็นประโยชน์ลงไป และพืชทดสอบจะมีการเจริญเติบโตโดยเฉลี่ยต่ำที่สุดในสารละลายธาตุอาหารปกติที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ ในเรื่องของปริมาณจุลินทรีย์ในสารละลายธาตุอาหารที่มีต่อการเกิดโรครากเน่าพบว่า การเพิ่มแบคทีเรียสายพันธุ์ที่มีประโยชน์ลงในสารละลายธาตุอาหารมีแนวโน้มที่ช่วยลดการเกิดโรคได้ โดยพบว่าการใส่ *Pseudomonas* ECO008 เพิ่มลงไปในสารละลายธาตุอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จะสามารถลดความรุนแรงของโรครากเน่าได้มากที่สุดทั้งการทดลองในผักสลัดบัตเตอร์เฮด และเรดโครอล นอกจากนี้ในกลุ่มทดลองที่ไม่มีการปลูกเชื้อสาเหตุโรค ก็มีแนวโน้มว่าจะช่วยลดการเกิดโรคที่อาจจะเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติได้ด้วย ส่วนในกรณีของ *B. subtilis* นั้นพบว่าสามารถช่วยลดการเกิดโรคได้ในระดับหนึ่ง โดยพบเฉพาะในการทดลองกับผักสลัดบัตเตอร์เฮด กลุ่มทดลองที่มีการปลูกเชื้อ *Pythium* ในปริมาณที่น้อย และกลุ่มทดลองที่ไม่ปลูกเชื้อสาเหตุโรคเท่านั้น จากการตรวจสอบปริมาณแบคทีเรียรวม (total bacteria) ในรากของกล้าผักสลัดบัตเตอร์เฮด และเรดโครอลพบว่า มีอยู่ในระดับประมาณ 4-6 log cfu/g สำหรับกลุ่มทดลองที่มีการเพิ่มแบคทีเรียที่มีประโยชน์ลงในสารละลายธาตุอาหาร มีแนวโน้มทำให้ปริมาณแบคทีเรียรวมในรากพืชมีปริมาณเพิ่มขึ้น ซึ่งน่าเป็นผลมาจากแบคทีเรียที่ใส่เพิ่มลงไปในสารละลายธาตุอาหารนั้นสามารถที่จะเข้าครอบครองรากพืชได้ ทั้งนี้จากการตรวจสอบปริมาณของ *Pseudomonas* ECO008 ในรากพืชของกลุ่มทดลองที่เพิ่มสายพันธุ์นี้ลงไป พบว่าสามารถตรวจพบได้ในรากพืชของกลุ่มทดลองดังกล่าวในปริมาณโดยเฉลี่ย $5.5 \log$ cfu/g ในรากของกล้าผักสลัดบัตเตอร์เฮด และ $4.5 \log$ cfu/g ในรากของกล้าผักสลัดเรดโครอล และจากการตรวจนับปริมาณเชื้อ *Pythium* sp. สาเหตุโรค ในรากพืชของกลุ่มทดลองนี้จะพบว่ามีความเข้มข้นที่น้อยกว่า และเมื่อเวลาผ่านไปปริมาณเชื้อดังกล่าวจะลดลงเร็วกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลองอื่น จึงทำให้กล้าผักสลัดที่ปลูกในกลุ่มทดลองนี้ มีระดับความรุนแรงของโรคต่ำกว่า กลุ่มทดลองอื่นๆ และส่งผลให้มีค่าการเจริญเติบโตที่ดีกว่าตามมาด้วย

การศึกษาในขั้นตอนที่สองเป็นการศึกษาในระบบ nutrient film technique (NFT) ทดสอบในผักสลัด 3 ชนิด คือ ผักสลัดบัตเตอร์เฮด ผักสลัดกรีนโอ๊ก และสลัดคออส ซึ่งเป็นตัวแทนของกลุ่มสลัดหัว (head lettuce) กลุ่มสลัดใบ (leaf lettuce) และกลุ่มสลัดต้น (romaine lettuce) ตามลำดับ ทำการทดลองในสภาพที่ไม่ปลูกเชื้อสาเหตุโรค ทั้งนี้เพื่อดูผลของการเพิ่มจุลินทรีย์ลงในสารละลายธาตุอาหาร ในการสนับสนุนการเจริญเติบโตของพืชที่ปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองได้แก่แบคทีเรีย *Pseudomonas* ECO008 สายพันธุ์ท้องถิ่น โดยให้กับพืชทดสอบในช่วงระยะเวลาต่างๆ กัน ในอัตรา 10^5 cfu/ml ดังนี้คือ 1) ให้แบคทีเรีย 1 ครั้งในตอนเพาะเมล็ด 2) ใส่

แบคทีเรียลงในสารละลายธาตุอาหาร 1 ครั้งในระยะอนุบาล 3) ใส่แบคทีเรียลงในสารละลายธาตุอาหาร 1 ครั้งหลังย้ายปลูกลงราง NFT 4) ใส่แบคทีเรียลงในสารละลายธาตุอาหาร 2 ครั้งหลังย้ายปลูกลงราง NFT 5) ให้แบคทีเรีย 4 ครั้งคือ ตอนเพาะกล้า ตอนอนุบาล และ อีก 2 ครั้งตอนย้ายลงราง NFT 6) ไม่ใส่แบคทีเรีย (control) ผลการทดลองพบว่า การให้แบคทีเรียแก่พืชทดสอบไม่ว่าจะวิธีการใดก็ตาม จะทำให้พืชทดสอบมีการเจริญเติบโตในด้านต่างๆ ดีกว่ากลุ่มทดลองชุดควบคุม (control) โดยพบว่าปริมาณมวลลำต้นเพิ่มขึ้น 20-99%, 24-64% และ 14-92% ในผักสลัดบัตเตอร์เฮด ผักสลัดกรีนโอ๊ก และผักสลัดคอสมอสตามลำดับ ทั้งนี้เป็นผลมาจากแบคทีเรีย *Pseudomonas* ECO008 ที่พืชได้รับนั่นเอง อย่างไรก็ตามพบว่า การให้แบคทีเรียในช่วงระยะเวลาแตกต่างกัน มีผลในการสนับสนุนการเจริญของพืชได้ต่างกัน ซึ่งในการทดลองนี้พบว่า การให้แบคทีเรียเป็นจำนวน 4 ครั้ง (คือตั้งแต่เพาะกล้า ระยะอนุบาล และย้ายปลูกลงราง 2 ครั้ง) และการให้แบคทีเรียในระยะอนุบาลเป็นจำนวน 1 ครั้ง จะทำให้พืชทดสอบมีการเจริญเติบโตในด้านต่างๆ อยู่ในกลุ่มที่ดีที่สุด กล่าวคือในสลัดบัตเตอร์เฮดที่ได้รับแบคทีเรีย 4 ครั้งจะมีมวลลำต้นเพิ่มขึ้น 99% ที่ได้รับแบคทีเรีย 1 ครั้งในระยะอนุบาล จะมีมวลเพิ่มขึ้น 61% สลัดกรีนโอ๊กที่ได้รับแบคทีเรีย 4 ครั้งจะมีมวลลำต้นเพิ่มขึ้น 64% ที่ได้รับแบคทีเรีย 1 ครั้งในระยะอนุบาล จะมีมวลเพิ่มขึ้น 64% และในสลัดคอสมอสที่ได้รับแบคทีเรีย 4 ครั้งจะมีมวลลำต้นเพิ่มขึ้น 92% ที่ได้รับแบคทีเรีย 1 ครั้งในระยะอนุบาล จะมีมวลเพิ่มขึ้น 82% จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางด้านปริมาณของ *Pseudomonas* ECO008 ที่ตรวจพบในรากพืชของกลุ่มทดลองต่างๆ สามารถประมวลได้ว่า การสนับสนุนการเจริญเติบโตของพืชโดยแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์นั้นจะมีประสิทธิภาพดีเพียงใดขึ้นอยู่กับปัจจัยร่วมอย่างน้อย 3 ประการด้วยกันคือ 1) ปริมาณแบคทีเรียที่เข้าครอบครองรากพืช 2) ระยะเวลาที่เข้าครอบครองรากพืช และ 3) การคงรักษาระดับปริมาณที่ครอบครองรากพืช ซึ่งจากการตรวจสอบปริมาณ *Pseudomonas* ECO008 ในรากพืชของกลุ่มทดลองทั้งสองที่กล่าวมาแล้วข้างต้นพบว่าเข้าอยู่ในเกณฑ์ทั้ง 3 ประการ ซึ่งได้วิจารณ์ไว้แล้วในรายงานฉบับนี้ ทั้งนี้ในส่วนของ การคงรักษาระดับปริมาณที่ครอบครองรากพืช พบว่าการให้แบคทีเรียเป็นจำนวน 4 ครั้ง (คือตั้งแต่เพาะกล้า ระยะอนุบาล และย้ายปลูกลงราง 2 ครั้ง) และการให้แบคทีเรียในระยะอนุบาลเป็นจำนวน 1 ครั้ง โดยให้แต่ละครั้งในอัตรา 10^6 cfu/ml จะสามารถรักษาระดับปริมาณอยู่ได้เป็นระยะเวลาประมาณ 4 สัปดาห์ของอายุพืช ในระดับค่าเฉลี่ยไม่ต่ำกว่า 5.5 และ 4.5 log cfu/g ตามลำดับ และส่งผลพืชให้มีการเจริญเติบโตที่ดีที่สุด