



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (โรคพืช)

ปริญญญา

โรคพืช

สาขา

โรคพืช

ภาควิชา

เรื่อง ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากใบและดินปลูกแตงกวาในการควบคุม
โรคราน้ำค้างสาเหตุจากเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis*

Efficacy of Bacteria Isolated from Cucumber Leaf and Planting Soil for the Control of
Downy Mildew Caused by *Pseudoperonospora cubensis*

นามผู้วิจัย นายวสันต์ ชูชาติ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วรรณวิไล อินทนู, วท.ด.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์จิระเดช แจ่มสว่าง, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์รัชณี สงประยูร, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากใบและดินปลูกแตงกวาในการควบคุมโรคน้ำค้าง
สาเหตุจากเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis*

Efficacy of Bacteria Isolated from Cucumber Leaf and Planting Soil for the Control of
Downy Mildew Caused by *Pseudoperonospora cubensis*

โดย

นายวสันต์ ชูชาติ

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อขอความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช)

พ.ศ. 2557

วสันต์ ชูชาติ 2557: ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากใบและดินปลูกแตงกวาในการควบคุมโรคน้ำค้างสาเหตุจากเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis* ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช) สาขาโรคพืช ภาควิชาโรคพืช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ วรรณวิไล อินทนู, วท.ค. 72 หน้า

แยกเชื้อแบคทีเรียจากดินบริเวณรากแตงกวาได้ 58 ไอโซเลต และจากใบแตงกวา 50 ไอโซเลต รวมทั้งหมด 108 ไอโซเลต เมื่อนำมาเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้มาทดสอบการยับยั้งการปล่อย zoospore ของเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis* สาเหตุโรคน้ำค้างของแตงกวา โดยผสมเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย (10^8 เซลล์/มิลลิลิตร) กับสปอร์แรงเจียแขวนลอยของเชื้อรา *P. cubensis* (10^4 สปอร์แรงเจีย/มิลลิลิตร) บนสไลด์หลุม พบว่ามีเชื้อแบคทีเรีย 6 ไอโซเลต คือ SDN-1, SDN-44, SDN-51, SDN-62, LBN1-2 และ LBN1-7 สามารถยับยั้งการปล่อย zoospore ของเชื้อราสาเหตุโรคได้ 43.33-66.67 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ที่ 48 ชั่วโมง หลังผสมเชื้อ เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียที่ผ่านการคัดเลือก (10^8 เซลล์/มิลลิลิตร) เชื้อรา *Trichoderma harzianum* CB-Pin-01 (10^7 สปอร์/มิลลิลิตร) และสารเคมี metalaxyl (125 ppm) มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคน้ำค้าง ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง โดยพ่นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิบัติการบนต้นแตงกวาก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุโรค (10^4 สปอร์แรงเจีย/มิลลิลิตร) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากพ่นเชื้อครั้งที่ 3 เป็นเวลา 7 วัน พบว่า กรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-51, SDN-62, LBN1-7 และเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นด้วยสารเคมี metalaxyl และกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้ปลูกเชื้อสาเหตุโรค

การทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคน้ำค้างของแตงกวาในสภาพแปลงปลูก พบว่ากรรมวิธีที่พ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 มีประสิทธิภาพดีที่สุด รองลงมาคือกรรมวิธีที่พ่นด้วยเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย ไอโซเลต LBN1-7 และ SDN-51 โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 62.02, 65.09 และ 68.79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 3 กรรมวิธีนี้เกิดโรคน้อยกว่ากรรมวิธีที่พ่นด้วยสารเคมี metalaxyl (85.19 เปอร์เซ็นต์) อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้การพ่นด้วยสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 และเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-1 สามารถเพิ่มน้ำหนักผลผลิตต่อต้นได้ 64.29 และ 47.14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

Wasan Choochart 2014: Efficacy of Bacteria Isolated from Cucumber Leaf and Planting Soil for the Control of Downy Mildew Caused by *Pseudoperonospora cubensis*. Master of Science (Plant Pathology), Major Field: Plant Pathology, Department of Plant Pathology. Thesis Advisor: Assistant Professor Wanwilai Intanoo, Ph.D. 72 pages.

Total of 108 isolates of bacteria were isolated from root zone soil (58 isolates) and leaves (50 isolates) of cucumber. *In vitro* test of all isolates for the inhibition of zoospore releasing of *Pseudoperonospora cubensis*, a causal agent of cucumber downy mildew was conducted by mixing cell suspension of bacteria (10^8 cell/ml) with sporangium suspension of *P. cubensis* (10^4 sporangia/ml) on depression slide. The result showed that six isolates (SDN-1, SDN-44, SDN-51, SDN-62, LBN1-2 and LBN1-7) provided inhibition of zoospore releasing in the range of 43.33-66.67% when compared with control at 48 hours after mixing. Under screenhouse condition, bacterial cell suspension (10^8 cell/ml), spore suspension of *Trichoderma harzianum* CB-Pin-01 (10^7 spore/ml) and metalxyl (125 ppm) were sprayed at 24 hours prior to the inoculation of *P. cubensis* (10^4 sporangia/ml) on cucumber plants. The disease incidences assessed at 7 days after the 3rd spraying indicated that the percentages of disease incidences of the treatments which sprayed with bacterial isolates SDN-51, SDN-62, LBN1-7 and *T. harzianum* CB-Pin-01 were non-significant different when compared with a chemical (metalxyl 125 ppm) treatment and non-pathogen inoculated control.

Under field condition, the results showed that the cucumber plants sprayed with *T. harzianum* CB-Pin-01, bacterial isolates LBN1-7 and SDN-51 had the lowest percentages of disease incidences (62.02%, 65.09% and 68.79%, respectively) which were significantly lower than chemical (metalaxyl) spraying (85.19 %). In addition, spraying cucumber plants with *T. harzianum* CB-Pin-01 and SDN-1 increased yield weight per plant by 64.29% and 47.14%, respectively when compared with the control.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.วรรณวิไล อินทนู ประธานกรรมการที่ปรึกษาที่มอบความรู้ ความเอาใจใส่ข้าพเจ้าเป็นอย่างดี คอยแนะนำแนวทางและการวางแผนการวิจัยจนสำเร็จ ล่วงไปได้ด้วยดี รวมถึงประสบการณ์ที่ดีในการเรียนตลอดจนการดำเนินชีวิต รศ.ดร. จิระเดช แจ่มสว่าง กรรมการที่ปรึกษาวิชาเอก ที่ให้คำแนะนำและคำปรึกษาในการทำวิจัย

ขอขอบคุณ พี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ เจ้าหน้าที่ทุกคนในห้องปฏิบัติการควบคุมโรคพืชโดยชีวภาพ ทุกท่านที่ให้อภัยให้กำลังใจ ความช่วยเหลือ และมอบประสบการณ์ดีๆ ให้ข้าพเจ้าตลอดระยะเวลาที่เรียนและทำการทดลอง

ขอกราบขอบพระคุณ พ่อเอกสิทธิ์ แม่วรรณ ชูชาติ ตลอดจนญาติพี่น้อง อันเป็นที่รักของข้าพเจ้า และคุณป้ามา เหมือนสมัย ที่คอยให้กำลังใจในยามที่ข้าพเจ้าท้อแท้กับปัญหา รวมถึงการสนับสนุนในด้านต่างๆ ด้วย

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอมอบแด่ครอบครัว อาจารย์ผู้ประสพวิชาความรู้ ตลอดจนผู้มีพระคุณทุกท่านที่ได้ให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจตลอดมาจนสำเร็จการศึกษา

วสันต์ ชูชาติ
มิถุนายน 2557

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	19
ผลและวิจารณ์	27
สรุปและข้อเสนอแนะ	58
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	60
ภาคผนวก	68
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	72

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	สารเคมีกำจัดเชื้อราชนิดต่างๆ ที่ใช้กำจัดเชื้อรา <i>Pseudoperonospora cubensis</i> และเชื้อราใน class oomycetes	11
2	การปรากฏของเชื้อรา <i>Pseuperonospora cubensis</i> สายพันธุ์ที่ต้านทาน/ทนทานต่อสารเคมีกำจัดเชื้อรา	15
3	ไอโซเลตของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากดินและใบของแตงกวา ที่เก็บจาก ต.ห้วยขวางและต.สระสี่มุม อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม	29
4	ระดับการปล่อย zoospore ของเชื้อรา <i>Pseuperonospora cubensis</i> หลังจากบ่มร่วมกับเชื้อแบคทีเรีย เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	33
5	ระดับการปล่อย zoospore ของเชื้อรา <i>Pseuperonospora cubensis</i> หลังจากบ่มร่วมกับเชื้อแบคทีเรีย เป็นเวลา 48 ชั่วโมง	34
6	ผลของเชื้อแบคทีเรียต่อการปล่อย zoospore (%) ของเชื้อรา <i>Pseuperonospora cubensis</i> ที่ 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง	35
7	การเกิดโรคราน้ำค้างบนใบแตงกวาที่พ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลตต่างๆ เชื้อรา <i>Trichoderma harzianum</i> CB-Pin-01 และสารเคมี metalaxyl ทุกๆ 7 วัน ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง	42
8	การประเมินการเกิดโรคราน้ำค้างบนแตงกวาในสภาพแปลงปลูกครั้งที่ 1 หลังจากพ่นกรรมวิธีต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน (ต้นแตงกวามีอายุ 30 วัน)	48
9	การประเมินการเกิดโรคราน้ำค้างบนแตงกวาในสภาพแปลงปลูกครั้งที่ 2 หลังจากพ่นกรรมวิธีต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน (ต้นแตงกวามีอายุ 44 วัน)	49
10	การประเมินการเกิดโรคราน้ำค้างบนแตงกวาในสภาพแปลงปลูกครั้งที่ 3 หลังจากพ่นกรรมวิธีต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน (ต้นแตงกวามีอายุ 58 วัน)	50
11	น้ำหนักผลผลิตแตงกวาเฉลี่ยต่อต้นที่พ่นด้วยกรรมวิธีต่างๆ	54
12	จำนวนประชากรของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลตต่างๆ และเชื้อรา <i>Trichoderma harzianum</i> CB-Pin-01 และจำนวน sporangium ของเชื้อรา <i>Pseudoperonospora cubensis</i>	57

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะของเชื้อรา <i>Pseudoperonospora cubensis</i>	6
2	ลักษณะ zoospore ของเชื้อรา <i>Pseudoperonospora cubensis</i>	8
3	ลักษณะของ sporangium ของเชื้อรา <i>Pseudoperonospora cubensis</i>	39
4	การเกิดโรคน้ำค้างบนใบแตงกวาหลังจากพ่นด้วยกรรมวิธีต่างๆ ครั้งที่ 2 เป็นเวลา 7 วัน ในสภาพโรงเรือนปลูกพืชทดลอง	43
5	ต้นแตงกวาอายุ 30 วัน หลังจากการพ่นด้วยกรรมวิธีต่างๆ ครั้งที่ 1 เป็นเวลา 7 วัน	51
6	ต้นแตงกวาอายุ 44 วัน หลังจากการพ่นด้วยกรรมวิธีต่างๆ ครั้งที่ 2 เป็นเวลา 7 วัน	52
7	ลักษณะของผลแตงกวา	55
8	จำนวนประชากรของเชื้อจุลินทรีย์บนผิวใบแตงกวาในกรรมวิธีต่างๆ	58

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

CFU	=	จำนวนโคโลนีต่อหนึ่งหน่วย (colony forming unit)
ml	=	มิลลิลิตร (milliliter)
NGA	=	อาหารแข็งเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย (nutrient glucose agar)
NGB	=	อาหารเหลวเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย (nutrient glucose broth)
KB	=	อาหารแข็งเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย (King's medium B)
PDA	=	อาหารแข็งเลี้ยงเชื้อรา (potato dextrose agar)
ppm	=	ส่วนในล้านส่วน (part per million)
μg	=	ไมโครกรัม (microgram)
%	=	เปอร์เซ็นต์ (percentage)
ng	=	นาโนกรัม (nanogram)
μm	=	ไมโครเมตร (micrometer)
O.D.	=	ค่าคงที่ของการดูดกลืนแสง (optical density)
SDN	=	การทำตัวอย่างดินที่เก็บจากจังหวัดนครปฐม ให้เจือจาง (soil dilution Nakhonpathom)
LWN	=	การล้างตัวอย่างใบเตยกวาที่เก็บจากจังหวัดนครปฐม (leaf washing Nakhonpathom)
LGN	=	การบดตัวอย่างใบเตยกวาที่เก็บจากจังหวัดนครปฐม (leaf grinding Nakhonpathom)

ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากใบและดินปลูกแตงกวาในการควบคุม
โรคราน้ำค้างสาเหตุจากเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis*

**Efficacy of Bacteria Isolated from Cucumber Leaf and Planting Soil for
the Control of Downy Mildew Caused by *Pseudoperonospora cubensis***

คำนำ

พืชตระกูลแตงเป็นพืชกลุ่มใหญ่ที่มีการเพาะปลูกอย่างกว้างขวางและมีอยู่ด้วยกันหลายชนิดในประเทศไทย เช่น แตงโม แตงกวา แคนตาลูป แตงร้าน มะระ ฟักทอง แตงไท บวบ ฟัก และน้ำเต้า เป็นต้น นิยมบริโภคทั้งในรูปผลสดและแปรรูป พืชตระกูลแตงจึงจัดว่าเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย นอกจากนี้พืชตระกูลแตงยังมีคุณค่าทางโภชนาการสูง เป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภค แต่เกษตรกรมักประสบปัญหาและอุปสรรคต่างๆ ในการเพาะปลูก เช่น โรคและแมลง ก๊วยพิบัติต่างๆ ส่งผลให้ผลผลิตด้อยคุณภาพและไม่เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภค

จากอุปสรรคข้างต้นที่กล่าวมา โรคที่สำคัญของพืชตระกูลแตง ที่สร้างความเสียหายอย่างรุนแรง คือโรคราน้ำค้าง สาเหตุมาจากเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis* ซึ่งสามารถเข้าทำลายได้ตลอดระยะเวลาการเจริญเติบโต ถ้ามีการระบาดอย่างรุนแรง อาจทำให้ต้นพืชตายได้ ซึ่งทำให้ปริมาณผลผลิตลดลง 50-100 เปอร์เซ็นต์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงฤดูฝนถึงฤดูหนาว เนื่องจากมีอากาศที่สภาพอุณหภูมิค่อนข้างต่ำและมีความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศสูง เชื้อราสาเหตุโรคสามารถแพร่ระบาดได้โดย sporangium จะปลิวไปตามลม กระเด็นไปกับหยดน้ำ เมื่อตกลงบนใบพืชแล้วจึงปล่อย zoospore เพื่อเข้าทำลายพืช ทำให้ใบพืชไหม้แห้ง จากนั้นเมื่อต้นพืชตาย เชื้อราสาเหตุโรคก็จะสร้าง oospore อาศัยอยู่ในเศษซากพืช และสามารถมีชีวิตอยู่ได้ในดินหลายปี เพื่อแพร่กระจายในฤดูปลูกต่อไป

การควบคุมโรคราน้ำค้างในปัจจุบันนิยมใช้สารเคมี ทำให้มีการตกค้างของสารพิษทั้งในผลผลิตและในสภาพแวดล้อม ซึ่งเป็นผลเสียต่อเกษตรกรและผู้บริโภค นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดปัญหาการต้านทานต่อสารเคมีของเชื้อราสาเหตุโรค ทำให้การควบคุมโรคไม่ประสบความสำเร็จ จากปัญหาดังกล่าวจึงมีการศึกษาการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีมากขึ้น โดยส่วนใหญ่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonistic microorganism) ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรค เพื่อลดหรือทดแทน

การใช้สารเคมี งานวิจัยในครั้งนี้จึงมุ่งเน้นการคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์
ปฏิกิริยาในการควบคุมโรคราน้ำค้างของแตงกวา เพื่อเป็นแนวทางในการนำไปประยุกต์ใช้และ
พัฒนาเป็นชีวภัณฑ์ต่อไป



วัตถุประสงค์

1. เพื่อคัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่อาศัยอยู่ในดินบริเวณรากและใบของแตงกวา ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการปล่อย zoospore ของเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis* ในห้องปฏิบัติการ
2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่คัดเลือกได้ในการควบคุมโรคราน้ำค้างบนใบแตงกวา ที่เกิดจากเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis* ในโรงเรือนและแปลงปลูก



การตรวจเอกสาร

1. ความสำคัญของเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis*

เชื้อสาเหตุโรคราน้ำค้างมีชื่อเดิมคือ *Peronospora cubensis* พบครั้งแรกในประเทศคิวบา (Berkeley and Curtis, 1868) ต่อมา ได้มีการจัดจำแนกใหม่เป็น *Pseudoperonospora cubensis* หลังจากการสังเกตพบการปล่อย zoospore จากสปอร์แรงเจียม (sporangium) (Rostozev, 1903) โรคราน้ำค้างที่เกิดจากเชื้อรา *P. cubensis* เป็นโรคที่มีความสำคัญมากของพืชตระกูลแตง เป็นสาเหตุให้ผลผลิตลดลงอย่างมากทั้งในประเทศสหรัฐอเมริกา, ประเทศในทวีปยุโรป, จีนและอิสราเอล (Thomas, 1996) ส่วนในประเทศไทยสามารถพบโรคราน้ำค้างนี้ได้ในพื้นที่ปลูกพืชตระกูลแตงทั่วประเทศ (อมรรัตน์, 2551) เชื้อราสาเหตุโรคมีการแพร่กระจายอย่างกว้างขวางและมีการรายงานในมากกว่า 70 ประเทศทั้งในสภาพแวดล้อมกึ่งแห้งแล้งถึงร้อนชื้น เชื้อรา *P. cubensis* เข้าทำลายพืชตระกูลแตงประมาณ 20 สกุล (Palti and Cohen, 1980; Lebeda and Urban, 2007) ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจได้แก่ แตงกวา (*Cucumis sativas*), แคนตาลูป (*C. melo*), ฟักทอง (*Cucurbita pepo*), สควอช (*C. maxima*) และแตงโม (*Citrullus lanatus*) (Lebeda and Cohen, 2011) ความเสียหายจากการเข้าทำลายอาจมีความแตกต่างกันไปตามสภาพแวดล้อมและชนิดของพืช

2. ลักษณะของเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis*

การจัดจำแนกเชื้อรา *P. cubensis* (Agrios, 2005)

Kingdom Chromista

Phylum Oomycota

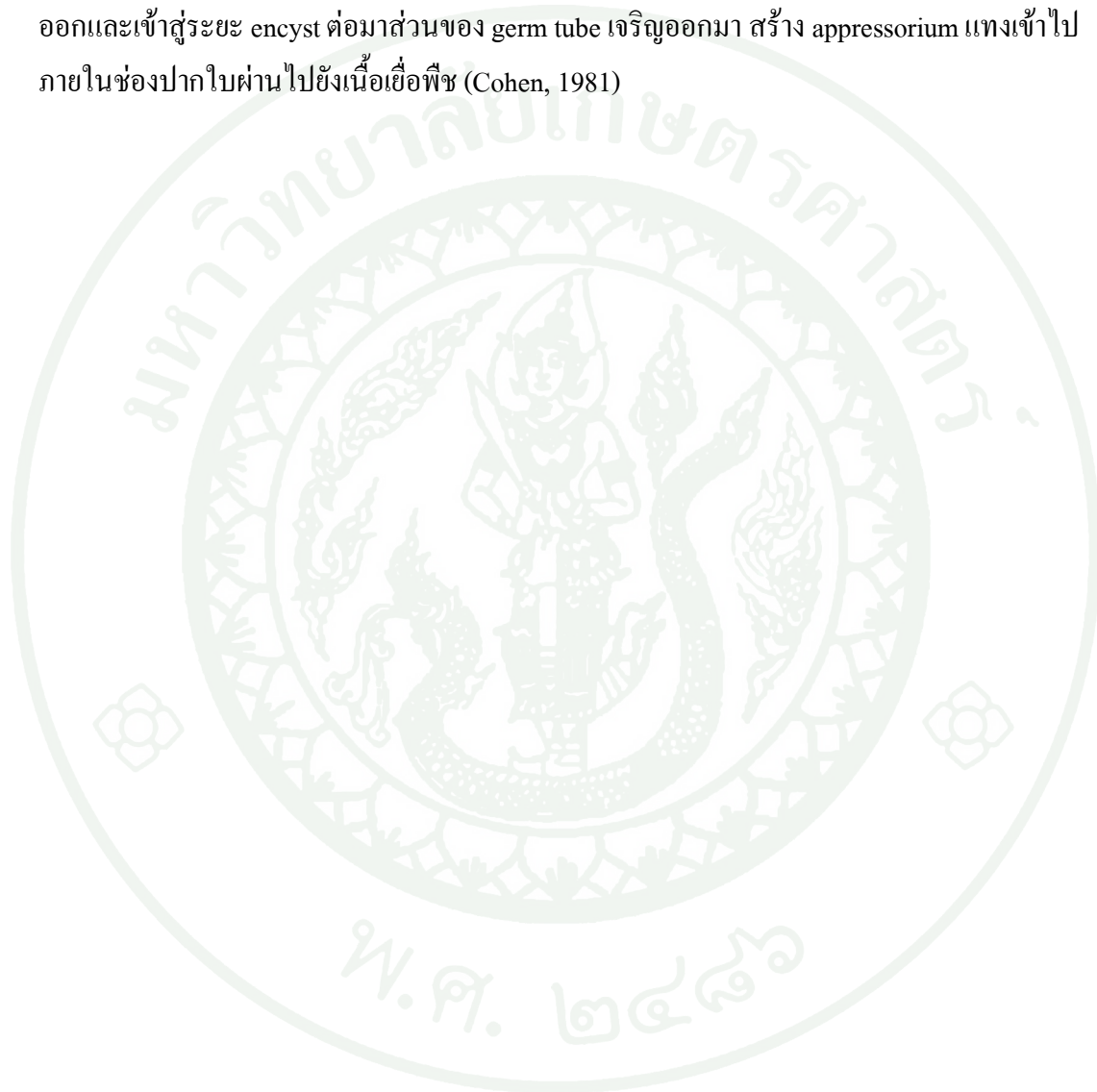
Class Oomycetes

Order Peronosporales

Family Peronosporaceae

เชื้อรา *P. cubensis* จัดเป็นราชั้นต่ำ เชื้อราชนิดนี้เข้าทำลายเฉพาะส่วนเหนือดิน โดยเฉพาะใบของพืชตระกูลแตง ระยะสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศสร้าง oospore พบได้ยาก จะพบในช่วงปลายฤดูปลูก เมื่อเนื้อเยื่อที่ถูกทำลายกลายเป็นแผลแห้ง (Bedlan, 1989; Lebeda, 1990) มีรายงานการพบ oospore ในประเทศอิสราเอล, อินเดีย, อิหร่านและจีน (Mahrissi and Sirahana, 1984; Singh and Sokhi, 1989; Zaker and Ommati, 1991; Cohen *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2006) ส่วนระยะสืบพันธุ์

แบบไม่อาศัยเพศสร้าง sporangium รูปไข่ ขนาด $15-20 \times 20-35 \mu\text{m}$ เมื่อแก่จะมีสีเทาอ่อนถึงสีม่วงเข้ม (Thomas, 1996) บนก้าน sporangiophore ไม่มีสี มีการแตกกิ่งแบบ dichotomous โดยที่ sporangium อยู่ปลายของ sterigma (Voglmyr, 2003; Choi *et al.*, 2005)(ภาพที่ 1) ภายใน sporangium มี zoospore ขนาด $8-12 \mu\text{m}$ มีหางแบบ biflagellate ปลดปล่อยออกจาก sporangium ผ่าน papilla (Palti and Cohen, 1980) เมื่อ zoospore เคลื่อนที่ไปยังบริเวณช่องปากใบจะปลดหางออกและเข้าสู่ระยะ encyst ต่อมาส่วนของ germ tube เจริญออกมา สร้าง appressorium แทะเข้าไปภายในช่องปากใบผ่านไปยังเนื้อเยื่อพืช (Cohen, 1981)





ภาพที่ 1 ลักษณะของเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis* แบบไม่อาศัยเพศ

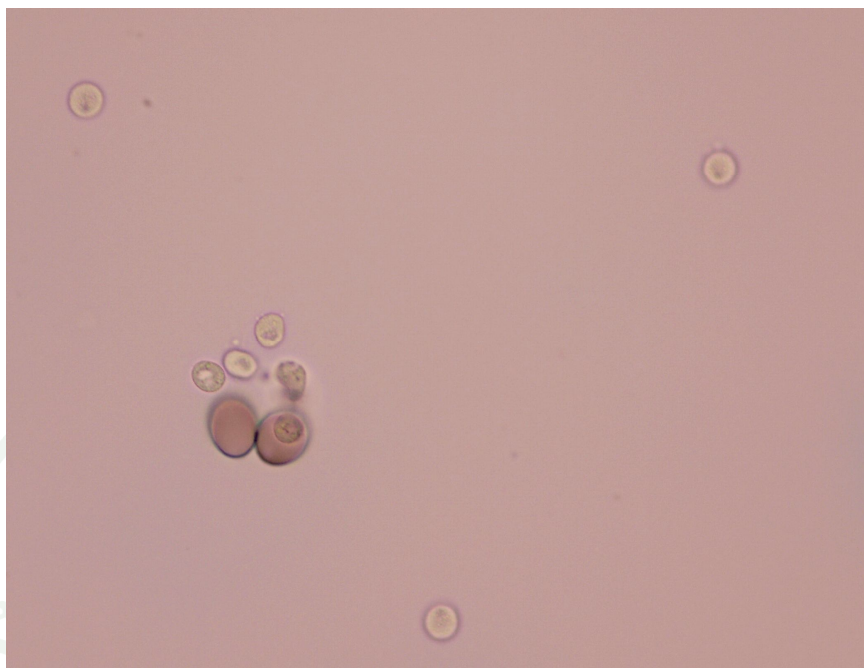
ก. ลักษณะ sporangium ในระยะที่สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ มีลักษณะวงรี อยู่บนปลายของ sterigma

ข. ลักษณะของก้านชูสปอร์ (sporangiophore) มีการแตกกิ่งแบบ dichotomous

3. การเข้าทำลายพืชอาศัยของเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis*

เชื้อรา *P. cubensis* เป็นเชื้อสาเหตุโรคพืชแบบ obligate parasite ไม่สามารถมีชีวิตอยู่นอกพืชอาศัย ยกเว้น oospore โดยเชื้อราชนิดนี้เข้าทำลายเนื้อเยื่อของพืชอาศัยที่มีชีวิต เพื่อยู่อุดและสืบพันธุ์ (Palti and Cohen, 1980) เชื้อรา *P. cubensis* ไม่สร้างสารพิษ แต่มีการสร้างเอนไซม์ที่จำเป็นในการแทงผนังเซลล์ของพืช (Lebeda *et al.*, 2001) การปล่อยและการแพร่กระจายของ sporangium เกิดขึ้นภายใต้สภาพแวดล้อมที่อุณหภูมิที่ใบต่ำ sporangium งอกและเข้าทำลายพืชที่อุณหภูมิระหว่าง 5-28 องศาเซลเซียส แต่ต้องการความชื้นบนใบสูงเพื่อการงอกและเข้าทำลายพืชอาศัย (Cohen, 1981) ช่วงระยะเวลาการบ่มเชื้อประมาณ 4-12 วัน ขึ้นอยู่กับ อุณหภูมิ ช่วงเวลา กลางวัน/กลางคืน ปริมาณเชื้อและช่วงเวลาความชื้นบนใบ (Thomas, 1996)

sporangium ปล่อย zoospore ที่มีหาง (flagella) 2 หาง 2-15 zoospore ผ่าน papilla จากนั้น zoospore เคลื่อนที่ไปยังปากใบและสลัดหางทิ้ง (encyst) ต่อมา germ tube จะงอกออกมาจากสปอร์ และสร้าง appressorium ต่อมาสร้างเส้นใยสีไม่มีสี พัฒนามาจาก appressorium ไม่มีผนังกันแทงผ่านช่องของปากใบเข้าสู่เนื้อเยื่อใบ (Voglmayr *et al.*, 2004) แล้วจากนั้นจะสร้าง haustorium ซึ่งโครงสร้างนี้ของเชื้อราเป็นส่วนใหญ่ที่ใช้ดูดธาตุอาหารและเคลื่อนย้ายโปรตีนที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงกระบวนการ metabolism และยับยั้งการป้องกันตัวของพืชอาศัย (Hahn and Mendgen, 2001; Whisson *et al.*, 2007)



ภาพที่ 2 ลักษณะ zoospore ของเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis*

4. ลักษณะอาการโรคราน้ำค้าง (downy mildew) ของแตงสกุลต่างๆ

เมื่อเชื้อราสาเหตุโรคแทงเข้าสู่เนื้อเยื่อพืช และแสดงอาการ โรคจะใช้เวลาบ่มเชือนาน 4-12 วัน ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม ปริมาณเชื้อ และความต้านทานหรืออ่อนแอของพืชอาศัย (Lebeda and Widrlechner, 2003) อาการโรคเริ่มแรกในพืชตระกูลแตง จะมีแผลสีเหลืองอ่อนบนผิวด้านบน บางครั้งแผลถูกจำกัดด้วยเส้นใบคล้ายกับอาการใบจุดเหลี่ยม แผลเริ่มแรกมีขนาด 3-10 มิลลิเมตร ในช่วงการพัฒนาของอาการโรค แผลจะเชื่อมต่อกันเป็นแผลใหญ่ และสุดท้ายจะเชื่อมต่อกันทั้งใบพืช (Lebeda, 1986) ในช่วงระยะการสืบพันธุ์ของเชื้อ พบ sporangiophore ที่สร้างสปอร์แรงเจียมสีน้ำตาลเข้ม, สีเทาหรือสีม่วงดำปรากฏอยู่บนผิวใบด้านล่าง ถ้ามีการเข้าทำลายอย่างรุนแรง ใบพืชจะแห้งตายทั่วทั้งต้น (Lebeda, 1990) เมื่อเชื้อราสาเหตุโรคเข้าทำลาย ใบพืชจะแห้งตาย ทำให้เกิดการลดลงของร่มใบ จึงนำไปสู่การหยุดการพัฒนาของผลและได้รับแสงอาทิตย์มากขึ้น เกิดแผลไหม้ และอาการเน่าจากการเข้าทำลายซ้ำของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ มีผลต่อคุณภาพและปริมาณของผลผลิต (Keinath *et al.*, 2007)

อาการของโรคมีความแตกต่างกัน ระหว่างชนิดของพืชตระกูลแตง เช่น ลักษณะแผลในแตงกวามีรูปร่างไม่แน่นอน เป็นจุดสีเหลือง ถูกจำกัดขนาดแผลด้วยเส้นใบ ส่วนในแคนตาลูปและแตงโม แผลไม่ถูกจำกัดโดยเส้นใบ จึงมีลักษณะค่อนข้างกลม (Lebeda and Schwinn, 1994)

5. สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมในการแพร่ระบาดของเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis*

อุณหภูมิที่เหมาะสมในการสร้าง sporangium ของเชื้อราสาเหตุโรคคือ 15-20 องศาเซลเซียส แต่ sporangium อาจสร้างที่อุณหภูมิระหว่าง 5-30 องศาเซลเซียส (Thomas, 1996) และมีความชื้นสัมพัทธ์ 90% หรือมากกว่า การสร้างส่วนขยายพันธุ์จะเกิดที่ผิวใบด้านล่าง บริเวณที่มีน้ำค้างปรากฏ sporangiophore ไม่มีสี สร้าง sporangium รูปไข่ สีเทาอมม่วง มี papilla บน sterigma ที่งอกเป็นกลุ่มมี sporangium 1-6 อัน ผ่านทางปากใบบนผิวใบด้านล่าง (Palti, 1975; Choi *et al.*, 2005) นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลต่อการสร้างสปอร์ เช่น ชนิดของพืชอาศัย พันธุ์พืช ธาตุอาหารในพืชอาศัยและอายุของพืช (Cohen, 1981)

เมื่อมีความชื้นและผิวใบแห้งเป็นจุดที่เหมาะสมสำหรับการแพร่กระจายของ sporangium ส่วนอุณหภูมิและแสงมีอิทธิพลน้อยมากในการแพร่กระจาย (Cohen, 1981) การแพร่กระจาย sporangium ของเชื้อรา *P. cubensis* สามารถแพร่ไปกับลม และสามารถทำให้ sporangium ของเชื้อราสาเหตุโรคไปได้ไกลเป็นระยะทางหลายร้อยกิโลเมตร (Lebeda, 1990) อย่างเช่นในประเทศสหรัฐอเมริกา มีการแพร่กระจายของเชื้อจากทางตอนใต้ไปยังทางเหนือของภาคตะวันออกของสหรัฐอเมริกา (Holmes *et al.*, 2004 ; Ojiambo *et al.*, 2009) นอกจากนี้น้ำฝนและเครื่องมือทางการเกษตรยังช่วยในการแพร่กระจายของเชื้อราสาเหตุโรคได้อีกด้วย (Thomas, 1996)

sporangium สามารถมีชีวิตอยู่ได้จำกัดประมาณ 1-16 วันระหว่างการแพร่กระจาย ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ, ความชื้นสัมพัทธ์และแสงอาทิตย์ (Thomas, 1996 ; Kanetis *et al.*, 2009) เมื่อ sporangium ตกลงบนพืชอาศัย sporangium ต้องมีชีวิต จนกระทั่งสภาพแวดล้อมเหมาะสมแก่การเข้าทำลาย สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการมีชีวิตของ sporangium คือ ความชื้นสูง, อุณหภูมิต่ำและปริมาณแสงน้อย (Cohen and Rotem, 1971; Kanetis *et al.*, 2009)

6. การควบคุมโรคราน้ำค้าง (ศศิธร, 2545)

1. กำจัดเศษซากพืช และวัชพืชในแปลง ซึ่งอาจเป็นที่อาศัยอยู่ข้ามฤดูของเชื้อ
2. เว้นระยะปลูกให้เหมาะสม ไม่ควรปลูกแน่นเกินไป การปลูกเต่งบางชนิดอาจทำค้างช่วยยกให้เถาและผลอ่อนสูงขึ้นจากพื้นดิน เพื่อให้สามารถถ่ายเทอากาศและระบายความชื้นในแปลงได้ดี
3. ในช่วงที่สภาพแวดล้อมเหมาะต่อการเกิดโรค ควรพ่นสารเคมีควบคุมเชื้อรา เช่น triforine, mancozeb หรือ mancozeb ผสม benalaxyl เพื่อป้องกันโรคไว้ก่อน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะที่เถาเต่งยังอ่อนและระยะเริ่มติดดอก ออกผล เพราะถ้าเถาเป็นโรคใน 2 ระยะนี้จะเสียหายมาก
4. หลีกเลี่ยงการปลูกเต่ง ชนิดและพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรค ในบริเวณที่มีสภาพอากาศค่อนข้างเย็นและความชื้นสูง

6.1 การควบคุมโรคราน้ำค้างโดยใช้สารเคมี

การใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดเชื้อรา *P. cubensis* สาเหตุโรคราน้ำค้างของพืชตระกูลแตง ได้มีการใช้อย่างกว้างขวางมาเป็นระยะเวลานาน โดยเริ่มแรกใช้สารเคมีกำจัดเชื้อราแบบสัมผัส เช่น สารประกอบทองแดง (copper) และสาร dithiocarbamates (Palti and Cohen, 1980 ; Cohen, 1981) สารเคมีกำจัดเชื้อราแบบสัมผัส สามารถป้องกันการปลดปล่อยและการออกของ zoospore การใช้สารเคมีประเภทนี้ให้มีประสิทธิภาพ ต้องใช้ก่อนที่เชื้อสาเหตุโรคจะเข้าทำลายพืช (Urban and Lebeda, 2006) ต่อมาได้มีการพัฒนาสารเคมีกำจัดเชื้อราแบบดูดซึม ได้แก่ cymoxanil, phosetyl-Al, phenylamides, promocarb, dimethomorph, cyazofamid, zoxamide, manidipropamid และ fluopicolide สารเคมีกำจัดเชื้อราประเภทนี้มีกลไกที่จำเพาะเจาะจงต่อเชื้อสาเหตุโรค การนำสารเคมีกำจัดเชื้อราแบบดูดซึมมาใช้สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันพืชจากโรคราน้ำค้าง เนื่องจากสามารถเคลื่อนย้ายอย่างรวดเร็วในส่วนต่างๆ ของพืช (Gisi, 2002; Urban and Lebeda, 2006) ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สารเคมีกำจัดเชื้อราชนิดต่างๆ ที่ใช้กำจัดเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis* และเชื้อราใน class Oomycetes

ระดับของการดูดซึม	กลุ่มของสารเคมี	ชื่อสามัญของสารประกอบ	คุณสมบัติ/การเคลื่อนย้ายภายในพืช	กลไกการออกฤทธิ์ทางชีวเคมีและสรีรวิทยา
ดูดซึมทั้งหมด	Phenylamides	metalaxyl mefenoxam ofurace	ป้องกัน, รักษา, กำจัด / เคลื่อนย้ายผ่านช่องว่างระหว่างเซลล์, เคลื่อนย้ายผ่านทางพลาสโมเดสมาตา (plasmodesmata), ซึมผ่านผิวพืช	ยับยั้งการสังเคราะห์ rRNA
	Phosphonates	fosetyl-Al	ป้องกัน, รักษา / เคลื่อนย้ายผ่านช่องว่างระหว่างเซลล์, เคลื่อนย้ายผ่านทางพลาสโมเดสมาตา	ยับยั้งการงอกของสปอร์, ยับยั้งการพัฒนาของเส้นใย และการสร้างสปอร์, ชักนำให้พืชเกิดความต้านทาน
	Carbamates	propamocarb prothiocarb	ป้องกัน, กำจัด / เคลื่อนย้ายผ่านช่องว่างระหว่างเซลล์	ยับยั้งหลายตำแหน่ง, มีผลต่อความยืดหยุ่นของผนังเซลล์
ดูดซึมทั้งหมด	Cyano-acetamide oximes	cymoxanil	ป้องกัน, รักษา, / เคลื่อนย้ายผ่านช่องว่างระหว่างเซลล์, เคลื่อนย้ายผ่านทางพลาสโมเดสมาตา, ซึมผ่านผิวพืช	(?)

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ระดับของการดูดซึม	กลุ่มของสารเคมี	ชื่อสามัญของสารประกอบ	คุณสมบัติ/การเคลื่อนย้ายภายในพืช	กลไกการออกฤทธิ์ทางชีวเคมีและสรีรวิทยา
ดูดซึมทั้งหมด	Benzamide	fluopicolide	ป้องกัน, รักษา, / เคลื่อนย้ายผ่านช่องว่างระหว่างเซลล์, เคลื่อนย้ายผ่านทางพลาสโมเดสมาตา, ซึมผ่านผิวพืช	เกี่ยวข้องกับการแลกเปลี่ยนประจุของโปรตีน spectrin
ดูดซึมบางส่วน	Cinnamic acids	dimethomorph	ป้องกัน, รักษา, กำจัด/ ซึมผ่านผิวพืชเป็นหลัก	ยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์
	Complex III respiration inhibit. (QoI)	azoxystrobin	ป้องกัน/ซึมผ่านผิวพืช, เคลื่อนย้ายผ่านช่องว่างระหว่างเซลล์ (azoxystrobin,	ยับยั้งการหายใจของ mitochondrial ที่บริเวณ enzyme complex III (Qo
		fenamidone	trifloxystrobin	site)
		kresoxim-methyl	pyraclostrobin	
		cyazofamid	ป้องกัน, รักษา, กำจัด /ซึมผ่านผิวพืช	ยับยั้งการหายใจของ mitochondrial ที่บริเวณ enzyme complex III (Qi site)

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ระดับของการดูดซึม	กลุ่มของสารเคมี	ชื่อสามัญของสารประกอบ	คุณสมบัติ/การเคลื่อนย้ายภายในพืช	กลไกการออกฤทธิ์ทางชีวเคมีและสรีรวิทยา
ดูดซึมบางส่วน	Amino acids amide carbamates	iprovalicarb	ป้องกัน, รักษา, กำจัด/เคลื่อนย้ายผ่านช่องว่างระหว่างเซลล์, เคลื่อนย้ายผ่านทางพลาสโมเดสมาตา	ยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ (?)
ไม่ดูดซึม (สัมผัส)	Dinitroanilines	fluazinam	ป้องกัน /-	ยับยั้งกระบวนการสร้างพลังงาน (ATP)
	Miscellaneous	zoxamide	ป้องกัน /-	(?)
	Multisite inhibitors	inorganic copper fungicides	ป้องกัน /-	ทำลายหลายตำแหน่ง
		organic dithiocarbamate fungicides (e.g. mancozeb)	ป้องกัน /-	ทำลายหลายตำแหน่ง
		chlorothalonil	ป้องกัน /-	ทำลายหลายตำแหน่ง
	Folpet Other multisites		ป้องกัน /-	ทำลายหลายตำแหน่ง

(?) ยังไม่ทราบกลไกเป็นที่แน่ชัด

ที่มา: Lebeda and Cohen, 2011

มีการรายงานการทดสอบใช้สารเคมีกำจัดเชื้อราในการควบคุมโรคราน้ำค้างในแตงกวาที่เกิดจากเชื้อรา *P. cubensis* โดยพัชรา และคณะ (2537) ได้ศึกษาการใช้สารเคมีกำจัดเชื้อราต่างๆ 7 ชนิด ในการป้องกันกำจัดโรคราน้ำค้างของแตงกวา ได้แก่ cymoxanil 8% + mancozeb 64% อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตร, chlorothalonil 75% WP อัตรา 60 กรัม/น้ำ 20 ลิตร, procymidone 50% WP อัตรา 15 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และ Nutraphos ZMC อัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตร พ่นทุกๆ 5 วัน ส่วนสารเคมีอีก 3 ชนิด คือ ofurace 12.5% WP อัตรา 60 กรัม/น้ำ 20 ลิตร, metalaxyl 25% WP อัตรา 20 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และ fosetyl-AI 80% WP อัตรา 50 กรัม/น้ำ 20 ลิตร พ่นทุกๆ 10 วัน นับตั้งแต่พืชแสดงอาการโรค พบว่า cymoxanil 8% + mancozeb 64% อัตรา 30 กรัม/น้ำ 20 ลิตรให้ผลในการป้องกันกำจัดโรคได้ดีที่สุด รองลงมาคือ chlorothalonil 75%

Mitani *et al.* (2001) ได้ใช้สารเคมี cyazofamid ในการป้องกันเชื้อรา *Phytophthora infestans* ในมะเขือเทศและเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis* ในแตงกวา พบว่าสารเคมี cyazofamid ที่ความเข้มข้น 0.4-1.6 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถยับยั้งกิจกรรมของเชื้อราทั้ง 2 ชนิดนี้ได้ และที่ความเข้มข้น 6.3 มิลลิกรัม/ลิตร ลดการสร้างสปอร์แรงเจียมของเชื้อรา *P. infestans* และ *P. cubensis* บนพืชอาศัยได้ 100% และ 94% ตามลำดับ

Anand *et al.* (2008) ทดสอบการใช้สารเคมี azoxystrobin (Amistar 25 SC) ในการป้องกันกำจัดเชื้อรา *P. cubensis* สาเหตุโรคราน้ำค้างและเชื้อรา *Erysiphe cichoracearum* สาเหตุโรคราแป้งในแตงกวา ที่ความเข้มข้น 31.25, 62.50 และ 125 กรัม a.s./แอ็กเตอร์ พบว่าที่ความเข้มข้น 125 กรัม a.s./แอ็กเตอร์ (500 มิลลิลิตร/แอ็กเตอร์) เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมโรคทั้งสองโรคนี้

Wang *et al.* (2009) ได้ศึกษาการใช้สารเคมีชนิดดูดซึม คือ dimethomorph ในการควบคุมโรคราน้ำค้างของแตงกวา ซึ่งสารเคมีชนิดนี้ไม่มีผลต่อการปล่อย zoospore แต่มีผลยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการสร้างสปอร์แรงเจียม ในการทดลองได้ใช้ dimethomorph อัตรา 300 มิลลิกรัมต่อน้ำ 1 ลิตร พ่นทุกๆ 2 วัน เป็นเวลา 7 วัน ก่อนการปลูกเชื้อโรค สามารถควบคุมโรคได้ 100 %

แต่การใช้สารเคมีกำจัดเชื้อราแบบดูดซึม ก่อให้เกิดสายพันธุ์ของเชื้อราสาเหตุโรคที่ต้านทานต่อสารเคมีได้ง่าย มีรายงานการต้านทานของเชื้อราใน class Oomycetes ต่อสารเคมีในกลุ่ม phenylamides ที่ประเทศอิสราเอลครั้งแรกในปี 1979 และในช่วง 20 กว่าปีที่ผ่านมา ได้มีการรายงานการต้านทานของเชื้อรา *P. cubensis* ต่อสารเคมีกำจัดเชื้อราชนิดต่างๆ (Lebeda and Cohen, 2011) ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การปรากฏของเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis* สายพันธุ์ที่ต้านทาน/ทนทานต่อสารเคมีกำจัดเชื้อรา

กลุ่มสารเคมี/ชนิดของสารเคมี	ชื่อสามัญ	ประเทศที่พบสายพันธุ์ของเชื้อโรคที่ต้านทานหรือทนทานต่อสารเคมี
Phenylamides	metalaxyl	Israel (1980)* Greece (1981) Italy (1985) USA (1987) USSR (1992) Australia (1995) Czech Republic (1990/2004)
Strobilurins	azoxystrobin, kresoxim-methyl, pyraclostrobin	Japan (1999) Taiwan (2001) USA (2004)
Phosphonates	fosetyl-Al	Israel (1984) Czech Republic (2004)
Carbamates	propamocarb	Israel (1984)
Phthalimides	folpet	Israel (1984)
Dithiocarbamates	mancozeb	Israel (1984)

ตารางที่ 2 (ต่อ)

กลุ่มสารเคมี/ชนิดของสารเคมี	ชื่อสามัญ	ประเทศที่พบสายพันธุ์ของเชื้อโรคที่ต้านทานหรือทนทานต่อสารเคมี
Carboxylic acid amides	dimethomorph	Israel (2006)
	mandipropamid	USA (2007)
	iprovalicarb	
	benthiavalicarb	

* = ปีที่พบการต้านทานหรือทนทานของเชื้อสาเหตุโรค

ที่มา: Lebeda and Cohen (2011)

6.2 การควบคุมโรคราน้ำค้างโดยชีววิธี

Korbel (1990) ได้ศึกษาการใช้เชื้อรา *Pythium oligandrum* ซึ่งเป็นเชื้อราปรสิตกับเชื้อราสาเหตุโรค คลุกเมล็ดก่อนปลูกและพ่นบนใบ สามารถชะลอการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. cubensis* ได้

Elad (2000) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *Trichoderma harzianum* สายพันธุ์ T39 ที่ผลิตเป็นการค้าในรูปแบบผงแป้งละลายน้ำ (TRICHODEX 20SP) ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคต่างๆ บนใบของแตงกวา ในสภาพโรงเรือนที่ปลูกเป็นการค้า ด้วยอัตราความเข้มข้น 0.2, 0.4 และ 0.8 กรัม/ลิตร พบว่าทั้งสามความเข้มข้นสามารถลดอัตราการเกิดโรคราน้ำค้างบนใบ ที่เกิดจากเชื้อรา *P. cubensis* ได้ 48-78% และไม่แตกต่างจากกรรมวิธีควบคุมที่ใช้สารเคมี mancozeb

Martinez et al. (2011) ได้ศึกษาการใช้เชื้อรา *Trichoderma asperellum* สายพันธุ์ T.13 ในการควบคุมเชื้อรา *Cladosporium fulvum* สาเหตุโรครากเน่าเหี่ยวบนใบในมะเขือเทศและเชื้อรา *P. cubensis* สาเหตุโรคราน้ำค้างในแตงกวา พบว่ามีประสิทธิภาพในการลดพื้นที่การเกิดโรคและเป็นปรสิตรต่อ sporangiophores ของเชื้อรา *P. cubensis*

Anand *et al.* (2009) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของ *Pseudomonas fluorescens* สายพันธุ์ Pfl ที่ทนทานต่อสารเคมี azoxystrobin ในการควบคุมโรคราน้ำค้างและโรคราแป้งของแตงกวา พบว่าการใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ Pfl ปริมาณ 2.5 กิโลกรัม/เฮกตาร์ ร่วมกับสารเคมี azoxystrobin ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัม/เฮกตาร์ สามารถลดความรุนแรงของโรคราน้ำค้างและโรคราแป้งได้ดีกว่าการใช้สารเคมี azoxystrobin เพียงอย่างเดียว

Abdel-Kader *et al.* (2012) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ที่ปฏิบัติได้แก่ *Trichoderma harzianum*, *T. viride*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* และ *Saccharomyces cerevisiae* ในสภาพโรงเรือนเปิด โดยการฉีดพ่นเพื่อควบคุมโรคบนใบในผักบางชนิด ส่วนโรคราน้ำค้างแตงกวาและแคนตาหลูป พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* และ *B. subtilis* สามารถลดดัชนีการเกิดโรคได้ดีกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

6.3 การควบคุมโรคราน้ำค้างโดยวิธีอื่นๆ

Reuveni and Raviv (1997) ได้จัดการสภาพโรงเรือนปลูกพืชร่วมกับการใช้สารเคมี โดยใช้แผ่น polyethylene ที่มีรังควัตถุสีน้ำเงินคลุมโรงเรือนปลูกพืชร่วมกับการใช้สารเคมี fosetyl-AI มีผลในการลดดัชนีการเกิดโรคราน้ำค้างในแตงกวาได้ เมื่อเทียบกับการใช้แผ่น polyethylene ปกติที่ใช้กันทั่วไป โดยที่รังควัตถุสีน้ำเงินมีผลในการยับยั้งการครอบครองและการสร้างสปอร์แรงเจียมของเชื้อรา *P. cubensis* เช่นเดียวกับ Shitenberg *et al.* (2010) ที่ดัดแปลงใช้แผ่น polyethylene มาคลุมดิน พบว่าสามารถยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. cubensis* ได้ เนื่องจากการคลุมดินช่วยลดระยะเวลาที่ใบเปียกน้ำ ซึ่งส่งผลให้ความชื้นสัมพัทธ์ได้ทรงพุ่มลดลง อันมีผลต่อการสร้างสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรค

Wang *et al.* (2004) ใช้สารสกัดจากใบแห้งของ *Inula viscosa* ที่สกัดด้วยสารเคมี acetone ผสมกับ n-hexane ซึ่งได้ส่วนที่เป็นน้ำมันที่ไม่ละลายน้ำ สามารถควบคุมโรคบนใบได้หลายชนิด รวมถึงโรคราน้ำค้างของแตงกวา

Portz *et al.* (2008) ได้ใช้น้ำกระเทียม (*Allium sativum*) ซึ่งมีสาร allicin (diallylthiosulphonate) ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้น้ำกระเทียมที่ความเข้มข้น 50-1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สาร allicin ในน้ำกระเทียม สามารถลดความรุนแรงของโรคราน้ำค้างในแตงกวาที่เกิดจากเชื้อรา *P. cubensis* ได้ประมาณ 50-100%

นอกจากนี้ Sherf *et al.* (2012) ใช้สารสกัดจากโสม (Glycyrrhiza glabra L.) ที่สกัดด้วยสารเคมี ethanol จากนั้นนำมาแบ่งสารออกเป็นแต่ละส่วนย่อยๆ พบว่าส่วน F6 ซึ่งมีสารประกอบของ acidic มีประสิทธิภาพสูงสุดสามารถควบคุมโรคได้ถึง 97.6%

Yu *et al.* (2011) ให้ธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อพืช ด้วยการใส่ธาตุซิลิกอน (silicon) ซึ่งอยู่ในรูป sodium metasilicate (Na_2SiO_3) ความเข้มข้น 3.6 mM สามารถลดดัชนีการเกิดโรคราน้ำค้างของแตงกวาได้มากกว่า 60% เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ไม่ได้รับธาตุซิลิกอน ธาตุซิลิกอนมีความเกี่ยวข้องกับกลไกการป้องกันตัวของพืช เมื่อพืชได้รับธาตุอาหารนี้ พืชจะมีการสะสมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันตัวเอง เมื่อมีเชื้อรา *P. cubensis* เข้าทำลาย ได้แก่ β -1,3-glucanase, guaiacol-peroxidase และ phenylalanine ammonia-lyase เป็นต้น

Ovadia *et al.* (2000) ได้ใช้สารชักนำให้พืชเกิดความต้านทาน คือสาร BABA (DL-3-aminobutyric acid) ซึ่งเป็นสารประเภท non-protein amino acid ความเข้มข้น 20 mM พบที่ใบของต้นแตงกวาที่ได้รับการปลูกเชื้อรา *P. cubensis* สาเหตุโรคราน้ำค้าง สามารถลดความรุนแรงของโรคได้ 95% และการใช้สาร BABA ผสมกับสารเคมี mancozeb ทำให้มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคราน้ำค้างของแตงกวาดีกว่าการใช้สาร BABA หรือสารเคมี mancozeb เพียงอย่างเดียว (Baider and Cohen, 2003)

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การแยกเชื้อจุลินทรีย์จากดินและใบของต้นแตงกวา

1.1 การแยกเชื้อจุลินทรีย์จากดิน

นำดินบริเวณรากที่เก็บจากแปลงปลูกแตงกวาของเกษตรกร ตำบลห้วยขวาง อ.เมือง จังหวัดนครปฐม จำนวน 1 กรัมใส่ลงในน้ำนิ่งฆ่าเชื้อที่มีปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่อง vortex ตั้งไว้ 30 นาที แล้วทำให้เจือจาง (Serial dilution plate technique) จากนั้นดูดสารแขวนลอยดินที่ได้ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหารต่างๆ ดังนี้ peptone dextrose rose bengal agar (Martin's medium) และ potato dextrose agar (PDA) สำหรับเชื้อรา ส่วนแบคทีเรียใช้อาหาร Nutrient Glucose Agar (NGA), King's medium B (KB) และ Thornton's standardized agar แล้วเกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหาร (spread plate method) บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3-7 วัน สำหรับเชื้อรา และ 1-2 วัน สำหรับเชื้อแบคทีเรีย แยกเชื้อโคโลนีเดี่ยวหรือเชื้อบริสุทธิ์ ย้ายลงในอาหารเอียง เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปใช้

1.2 การแยกเชื้อจุลินทรีย์จากผิวใบพืช

การล้างใบ โดยการนำใบแตงกวาที่ต้องการแยกเชื้อซึ่งเก็บมาจากแปลงปลูกของเกษตรกร ตำบลสระสี่มุม อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐมที่ไม่ได้ใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชและไม่พบอาการของโรคหรือพบอาการของโรคน้อย มาตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ปริมาณ 1 กรัม ใส่ลงในน้ำนิ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่อง vortex เพื่อให้ผิวใบสัมผัสกับน้ำ แล้วทำให้เจือจาง จากนั้นดูดสารแขวนลอยปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร หยดและเกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหาร ดังข้อ 1.1 แล้วบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3-7 วัน สำหรับเชื้อรา และ 1-2 วัน สำหรับเชื้อแบคทีเรีย แยกเชื้อโคโลนีเดี่ยวหรือเชื้อบริสุทธิ์ ย้ายลงในอาหารเอียง เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปใช้

การบดใบ นำใบแตงกวาที่ต้องการแยกเชื้อ มาตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ปริมาณ 1 กรัม แล้วบดในโถร่อนหนึ่งฆ่าเชื้อให้ละเอียด เติมน้ำนิ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 9 มิลลิลิตร ทำให้เจือจาง แล้วดูดสารแขวนลอย 0.1 มิลลิลิตร หยดและเกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหาร ดังข้อ 1.1 แล้วบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง

เป็นเวลา 3-7 วัน สำหรับเชื้อรา และ 1-2 วัน สำหรับเชื้อแบคทีเรีย แยกเชื้อให้ได้โคโลนีเดี่ยวหรือเชื้อบริสุทธิ์ แล้วย้ายลงอาหารเลี้ยง เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปใช้

2. การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการปล่อย zoospore ของเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis* ในห้องปฏิบัติการ

2.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อทดสอบ

เลี้ยงแบคทีเรียทดสอบที่แยกได้จากข้อ 1 บนอาหาร Nutrient Glucose Agar (NGA) เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง และเชื้อจุลินทรีย์ 1 loop ใส่ลงในหลอดทดลอง ที่มีอาหารเหลว Nutrient Glucose Broth (NGB) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที นาน 48 ชั่วโมง ปรับความเข้มข้นแต่ละไอโซเลตเท่ากับ 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยปรับความขุ่นของเซลล์แขวนลอยของเชื้อทดสอบให้มีค่า OD เท่ากับ 0.2 ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

2.2 การเตรียมเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis* เพื่อทดสอบ

นำใบแตงกวาที่แสดงอาการโรคน้ำค้าง มาล้างด้วยน้ำไหลผ่าน ลูบที่บริเวณแผลเบาๆ จากนั้นนำมาผึ่งให้แห้ง และบ่มในถุงพลาสติกที่มีความชื้น 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส ในที่มืด จากนั้นนำฟุ้งกันจุ่มแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ซับให้แห้ง ปิดสปอร์แรงเจียม (sporangium) ของเชื้อรา *P. cubensis* บริเวณใต้ใบลงในน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ เพื่อเตรียมเป็นสปอร์แรงเจียมแขวนลอย ปรับความเข้มข้นเท่ากับ 10^4 สปอร์แรงเจียมต่อมิลลิลิตร ด้วย haemocytometer

2.3 การทดสอบการยับยั้งการปล่อย zoospore ของเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis*

นำเซลล์แขวนลอยของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอด microtube ผสมกับ สปอร์แรงเจียมแขวนลอยของเชื้อ *P. cubensis* 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มในกล่องพลาสติกขึ้นในตู้บ่มเชื้อ ที่อุณหภูมิ 21 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง จากนั้นใช้ไมโครปิเปต ดูดส่วนผสม มา 50 ไมโครลิตร หยดลงในสไลด์หลุม (depression slide) ทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ นำแผ่นสไลด์มาข้อมสีด้วย lactophenol นำไปตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ ตั้งเกตุการปล่อย zoospore โดยนับ 10 สปอร์แรงเจียมต่อสไลด์หลุม ในกรรมวิธีควบคุมใช้น้ำนิ่งฆ่าเชื้อแทนจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ นำข้อมูลการปล่อย zoospore ของเชื้อรา *P. cubensis* ที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติโดย Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ด้วยโปรแกรม SAS (Statistical Analysis System)

3. การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคราน้ำค้าง ในสภาพโรงเรือนปลูกพืชทดลอง

3.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อทดสอบ

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือกได้จากข้อ 2 บนอาหาร Nutrient Glucose Agar (NGA) เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง และเชื้อจุลินทรีย์ 1 loop ใส่ลงในหลอดทดลอง ที่มีอาหารเหลว Nutrient Glucose Broth (NGB) นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที นาน 48 ชั่วโมง ปรับความเข้มข้นแต่ละไอโซเลทเท่ากับ 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยปรับความขุ่นของเซลล์แขวนลอยของเชื้อทดสอบให้มีค่า OD เท่ากับ 0.2 ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

3.2 การเตรียมดินแตงกวา

นำเมล็ดแตงกวาพันธุ์ไมโครเวฟ 49 เพาะในถาดหลุมที่ใส่วัสดุเพาะกล้า ปลูกหลุมละ 1 ต้น รดน้ำทุกวัน จากนั้นเมื่อครบ 14 วัน จึงย้ายต้นกล้าลงในกระถางพลาสติกขนาด 8 นิ้ว ที่ใส่ดินอบฆ่าเชื้อ รดน้ำทุกวัน เวลาเช้า-เย็น และพ่นสารเคมีไดโนทีฟูเรน (dinotefuran) เพื่อกำจัดแมลงหวั่นขาวและเพลี้ยอ่อนซึ่งเป็นพาหะนำโรคไวรัส เมื่อต้นแตงกวามีใบจริง 5 ใบ จึงนำไปทดสอบ

3.3 การทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการป้องกันการเกิดโรคราน้ำค้าง

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) โดยพ่นเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียทดสอบแต่ละไอโซเลต พ่นเมื่อต้นแตงกวามีใบจริง 5 ใบ เปรียบเทียบกับการมวิธีที่พ่นด้วยสารเคมี metalaxyl อัตรา 10 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (ความเข้มข้น 125 ppm) และกรรมวิธีที่พ่นด้วยสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 (ชนิดน้ำ) อัตรา 1 ลิตรต่อน้ำ 200 ลิตร ส่วนกรรมวิธีควบคุมพ่นน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ โดยที่ทุกกรรมวิธีนั้นพ่นลงบนใบของแตงกวาทั่วทั้งต้น ก่อนที่จะปลูกเชื้อราสาเหตุโรคเป็นเวลา 24 ชั่วโมงและหลังจากนั้นพ่นกรรมวิธีต่างๆ ทุก 7 วัน มีทั้งหมด 10 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ใบ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นน้ำนิ่งฆ่าเชื้อและไม่ปลูกเชื้อรา *P. cubensis* (control -)

กรรมวิธีที่ 2 พ่นน้ำนิ่งฆ่าเชื้อและปลูกเชื้อรา *P. cubensis* (control +)

กรรมวิธีที่ 3 พ่นด้วยสารเคมี metalaxyl

กรรมวิธีที่ 4 พ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01

กรรมวิธีที่ 5 พ่นเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย ไอโซเลต SDN-1

กรรมวิธีที่ 6 พ่นเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย ไอโซเลต SDN-44

กรรมวิธีที่ 7 พ่นเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย ไอโซเลต SDN-51

กรรมวิธีที่ 8 พ่นเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย ไอโซเลต SDN-62

กรรมวิธีที่ 9 พ่นเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย ไอโซเลต LGN1-2

กรรมวิธีที่ 10 พ่นเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย ไอโซเลต LGN1-7

3.4 การเตรียมและการปลูกเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis* เพื่อทดสอบ

เตรียมเชื้อราสาเหตุโรคตามวิธีในข้อ 2.2 แต่ใช้น้ำนิ่งฆ่าเชื้อแช่เย็นและผสมสารจับใบ จากนั้นนำไปพ่นบนต้นแตงกวาให้ทั่วต้น นำถุงพลาสติกมาคลุม แล้วย้ายไปไว้ในห้องขึ้นที่มิด เป็นเวลา 21 ชั่วโมง แล้วจึงย้ายไปไว้ในโรงเรือน คัดแปลงจากวิธีการของ ปิยะวดี และจานุลักษณ์ (2552)

3.5 การประเมินการเกิดโรค

ประเมินการเกิดโรคหลังการปนกรรมวิธีต่างๆ ทุกๆ 7 วัน โดยให้คะแนนการเป็นโรค ดังนี้ 0 = พืชเป็นปกติไม่แสดงอาการโรค 1 = พืชแสดงอาการโรค 1-25% ของพื้นที่ใบ 2 = พืชแสดงอาการโรค 26-50% ของพื้นที่ใบ 3 = พืชแสดงอาการโรค 51-75% ของพื้นที่ใบ 4 = พืชแสดงอาการโรคมากกว่า 75% ของพื้นที่ใบ (พัชรา และคณะ, 2537) และนำข้อมูลการเกิดโรคราน้ำค้างที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติโดย Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ด้วยโปรแกรม SAS (Statistical Analysis System)

4. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อการควบคุมโรคราน้ำค้างในสภาพแปลงปลูก

4.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อทดสอบ

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่คัดเลือกได้จากข้อที่ 2 และที่ผ่านการทดสอบประสิทธิภาพในข้อที่ 3 บนอาหาร Nutrient Glucose Agar (NGA) เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง และเชื้อจุลินทรีย์ 1 loop ใส่ลงในหลอดทดลอง ที่มีอาหารเหลว Nutrient Glucose Broth (NGB) นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 160 รอบต่อนาที นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อจุลินทรีย์ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ในผงดินที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ เพื่อเตรียมเป็นชีวภัณฑ์นำไปทดสอบ

4.2 การเตรียมดินแตงกวา

นำเมล็ดแตงกวาพันธุ์ seedline ปลูกในแปลง โดยปลูกหลุมละ 2 เมล็ด ใน 1 แปลงมี 2 แถว ปลูกแถวละ 5 ต้น ระยะห่างระหว่างแถว 70 เซนติเมตร และระยะห่างระหว่างต้น 100 เซนติเมตร เมื่อดินแตงกวาออกพ้นดินแล้ว ให้ถอนเหลือหลุมละ 1 ต้น

4.3 การดูแลรักษา

รดน้ำโดยปล่อยน้ำเข้าแปลงทุกวัน ในตอนเย็น เมื่อต้นแตงกวาเริ่มปรากฏใบจริง จึงพ่นสารเคมีไดโนทีฟูเรน (dinotefuran) และสารเคมีคาร์บาริล (carbaryl) ทุก 7-10 วัน เพื่อป้องกันเพื่อกำจัดแมลงหวี่ขาว, เพลี้ยอ่อนและด้วงเต่าแตง และเมื่อต้นแตงกวามีอายุครบ 14 วัน ใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 และหลังจากนั้นใส่ปุ๋ยสูตร 16-16-16 ทุกๆ 7 วัน เมื่อต้นแตงกวามีอายุ 30 วัน จึงทำค้างเพื่อให้ต้นแตงกวายึดเกาะ

4.4 การทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการป้องกันการเกิดโรคน้ำค้างของแตงกวา

วางแผนการทดลองแบบ randomized complete block design (RCBD) โดยใช้ชีวภัณฑ์ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลตที่เตรียมไว้ในข้อ 4.1 พ่นต้นแตงกวา ในอัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร เปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่พ่นด้วยสารเคมี metalaxyl อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร (ความเข้มข้น 250 ppm) และกรรมวิธีที่พ่นด้วยสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* CB-Pin-01 (ชนิดน้ำ) อัตรา 1 ลิตรต่อน้ำ 200 ลิตร ส่วนกรรมวิธีควบคุมพ่นด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ ทุกๆ 14 วัน ในการพ่นครั้งแรก พ่นต้นละ 10 มิลลิลิตร และการพ่นครั้งที่ 2 และ 3 พ่นต้นละ 15 มิลลิลิตร

มีทั้งหมด 6 กรรมวิธีกรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ต้น ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ (control)

กรรมวิธีที่ 2 พ่นสารเคมี metalaxyl

กรรมวิธีที่ 3 พ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* CB-Pin-01

กรรมวิธีที่ 4 พ่นเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต LGN1-7

กรรมวิธีที่ 5 พ่นเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-1

กรรมวิธีที่ 6 พ่นเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-51

ไม่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคในแปลงโดยอาศัยเชื้อในธรรมชาติ

4.5 การประเมินการเกิดโรค

ประเมินการเกิดโรคหลังการพ่นสารเคมีและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ทุกๆ 7 วัน โดยให้คะแนนการเป็นโรคเช่นเดียวกับข้อ 3.5 ในแต่ละกรรมวิธีเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม และนำข้อมูลการเกิดโรคน้ำค้างที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติโดย Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ด้วยโปรแกรม SAS (Statistical Analysis System)

4.6 การเก็บผลผลิต

เก็บผลแตงกวาทุกวันในแต่ละต้น ทุกกรรมวิธี แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก บันทึกผลน้ำหนักผลผลิตเป็นเวลา 20 วัน นำข้อมูลน้ำหนักผลแตงกวาที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติโดย Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ด้วยโปรแกรม SAS (Statistical Analysis System)

4.7 การตรวจนับปริมาณสปอร์แรงเจียมของเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis* และปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

สุ่มเก็บใบแตงกวาในแต่ละซ้ำ ซ้ำละ 4 ใบ ทุกกรรมวิธี ในช่วงเช้า จากนั้นนำใบแตงกวาแต่ละใบมาตัดให้มีขนาด 1 ตารางเซนติเมตร แล้วนำส่วนของใบแตงกวาทั้ง 4 ชิ้น ไปใส่ในหลอดที่บรรจุน้ำนิ่งมาเชื้อ 9 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่อง vortex นับปริมาณสปอร์แรงเจียม ด้วย haemocytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ตรวจนับทั้งหมด 5 ครั้งในแต่ละซ้ำ

ส่วนการตรวจปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ นำหลอดทดลองที่มีชิ้นส่วนของใบแตงกวา นำมาทำการเจือจางให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 10^{-4} แล้วดูดสารแขวนลอยปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนอาหาร NGA สำหรับเชื้อแบคทีเรีย และอาหาร Martin's medium สำหรับเชื้อรา *T. harzianum* แล้วเกลี่ยให้ทั่วหน้าอาหาร แล้วนำไปบ่ม สำหรับเชื้อแบคทีเรียบ่มไว้ 48 ชั่วโมง ส่วนเชื้อรา *T. harzianum* บ่มไว้ 3-5 วัน

นำข้อมูลปริมาณสปอร์แรงเจียมและเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติโดย Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ด้วยโปรแกรม SAS (Statistical Analysis System)

สถานที่ทำการทดลอง

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

ระยะเวลาทำการทดลอง

ดำเนินการทดลองระหว่างเดือน พฤศจิกายน 2555-กุมภาพันธ์ 2557



ผลและวิจารณ์

1. การแยกเชื้อจุลินทรีย์จากดินและใบของต้นแตงกวา

จากการสุ่มเก็บตัวอย่างดินบริเวณรากและใบแตงกวาจากแปลงเกษตรกร ในจังหวัด นครปฐม นำมาแยกเชื้อจุลินทรีย์บนอาหาร Martin's medium และ PDA สำหรับเชื้อรา ส่วน แบคทีเรียใช้อาหาร NGA, KB และ Thornton's standardized agar ซึ่งสามารถแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่มี ลักษณะแตกต่างกันทั้งชนิดและปริมาณ ขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารที่ใช้ในการแยก

ในการแยกเชื้อจุลินทรีย์ครั้งนี้สามารถแยกเชื้อได้ทั้งหมด 108 ไอโซเลต ซึ่งเป็นเชื้อ แบคทีเรียทั้งหมด โดยแยกได้จากดิน 58 ไอโซเลต และแยกได้จากใบแตงกวาได้ 50 ไอโซเลต แบ่งเป็นแยกได้จากวิธีการล้างใบ 26 ไอโซเลต ส่วนวิธีการบดใบแยกได้ 24 ไอโซเลต (ตารางที่ 3) คัดเลือกโคโลนีที่มีลักษณะแตกต่างกันจากแหล่งของจุลินทรีย์ วิธีการแยกเชื้อ และอาหารเลี้ยงเชื้อที่ ใช้ในการแยก จากนั้นมาแยกเลี้ยงจนได้โคโลนีเดี่ยว แล้วเก็บลงบนอาหารเลี้ยง NGA เพื่อใช้ในการ ทดลองต่อไป

ส่วนที่แยกเชื้อจุลินทรีย์ได้ปริมาณมากที่สุดคือ ดิน รองลงมาคือใบ ที่แยกโดยวิธีการล้างใบ และวิธีการบดใบ ตามลำดับ เนื่องจากในดินมีความชื้นและความสมบูรณ์ของธาตุอาหารมากกว่า บนผิวใบและในใบพืช นอกจากนี้บนใบยังมีปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์ทั้งใน ด้านคุณภาพและปริมาณ ได้แก่ อายุของใบพืชที่นำมาแยกเชื้อ ลักษณะโครงสร้างของพืช และการ ใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช มีรายงานที่เกี่ยวข้องกับอายุของใบพืช พบว่าใบที่มีอายุน้อยมี ปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์อาศัยมากกว่าใบที่มีอายุมาก (Andrew, 1992) และยังมีปัจจัยของ สภาพแวดล้อมอื่นๆ มาเกี่ยวข้องอีก เช่น อุณหภูมิ ความชื้น แสงแดด ซึ่งปัจจัยเหล่านี้มีผลต่อ ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะในการนำไปใช้ควบคุมโรคพืชในสภาพแปลงปลูก (Blakeman, 1981; Fokkema and Heuvel, 1986)

ในการแยกเชื้อจุลินทรีย์จากส่วนต่างๆ ของพืชนั้น ถ้าเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้นั้นมีคุณสมบัติ เป็นปฏิชีวนะต่อเชื้อสาเหตุโรคแล้ว เมื่อนำมาใช้ควบคุมโรคที่เกิดบนพืชชนิดนั้น เชื้อจุลินทรีย์มี โอกาสที่จะมีชีวิตรอดอยู่บนพืชชนิดนั้นมากกว่าจุลินทรีย์ที่แยกได้จากพืชชนิดอื่นๆ และมีประสิทธิภาพ ในการควบคุมโรคพืช ดังเช่นการทดลองของ เพ็ญภัก (2552) ได้แยกเชื้อแบคทีเรียจากรากของ ผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ พบว่ามีเชื้อแบคทีเรีย 5 ไอโซเลต ที่มีประสิทธิภาพใน

การควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* และเชื้อแบคทีเรียนั้นสามารถเจริญครอบครองรากของผักกาดหอมได้ และการทดลองของทัศนพร (2545) ที่แยกเชื้อแบคทีเรียจากส่วนต่างๆ ของกล้วยไม้ ได้ทั้งหมด 108 ไอโซเลต พบเชื้อแบคทีเรีย 5 ไอโซเลต ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าดำของกล้วยไม้ที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora palmivora* ในสภาพแปลงปลูก และยังพบว่าเชื้อแบคทีเรียสามารถมีชีวิตรอดอยู่บนใบกล้วยไม้ได้อีกด้วย



ตารางที่ 3 ไอโซเลตของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากดินบริเวณรากที่เก็บจาก ต. ห้วยขวาง และใบ
แดงกวาที่เก็บจาก ต. สระสีมูม อ. กำแพงแสน จ. นครปฐม

ส่วนที่แยก	วิธีการแยก	จำนวนไอโซเลต	ไอโซเลต ^{1/}
ดิน	ทำให้เจือจาง	58	SDN-1, SDN-2, SDN-3, SDN-4, SDN-5, SDN-6, SDN-7, SDN-9, SDN-10, SDN-11, SDN-15, SDN- 16, SDN-17, SDN-18, SDN-20, SDN-22, SDN- 23, SDN-24, SDN-25, SDN-26, SDN-27, SDN- 28, SDN-29, SDN-30, SDN-31, SDN-32, SDN- 33, SDN-34 SDN-35, SDN-36, SDN-37, SDN- 38, SDN-39, SDN-40, SDN-41, SDN-42, SDN- 43, SDN-44, SDN-48, SDN-49, SDN-50, SDN- 51, SDN-52, SDN-53, SDN-54, SDN-55, SDN- 56, SDN-57, SDN-58, SDN-59, SDN-60, SDN- 61, SDN-62, SDN-63, SDN-64, SDN-65, SDN- 66, SDN-67

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ส่วนที่แยก	วิธีการแยก	จำนวนไอโซเลต	ไอโซเลต
ใบ	ล้างใบ	26	LWN1-1, LWN1-2, LWN1-3, LWN1-4, LWN1-5, LWN1-7, LWN1-8, LWN1-9, LWN1-10, LWN1-11, LWN1-12, LWN1-13, LWN1-14, LWN1-15 LWN2-1, LWN2-2, LWN2-3, LWN2-4, LWN2-5, LWN2-6, LWN2-7, LWN2-8, LWN2-9, LWN2-10, LWN2-11, LWN2-12
ใบ	บดใบ	24	LGN1-2, LGN1-3, LGN1-4, LGN1-5, LGN1-7, LGN1-10, LGN1-12, LGN1-13, LGN1-14, LGN1-15, LGN1-16, LGN1-17, LGN1-18, LGN1-19, LGN2-1, LGN2-2, LGN2-3, LGN2-4, LGN2-6, LGN2-7, LGN2-8, LGN2-9, LGN2-10, LGN2-11

^{1/} ชื่อไอโซเลตของเชื้อแบคทีเรียที่แยกและคัดเลือกเพื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพทั้งหมด

2. การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการปล่อย zoospore ของเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis* ในห้องปฏิบัติการ

จากการทดสอบการยับยั้งการปล่อย zoospore ของเชื้อรา *P. cubensis* ในห้องปฏิบัติการ ด้วยเชื้อแบคทีเรียที่แยกมาได้จากข้อ 1 ทั้งหมด 108 ไอโซเลต พบว่ามีเชื้อแบคทีเรีย 11 ไอโซเลตที่มีผลทำให้การปล่อย zoospore ของเชื้อรา *P. cubensis* อยู่ในช่วง 21-50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อครบ 24 ชั่วโมง ได้แก่ เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-1, SDN-5, SDN-24, SDN-44, SDN-50, SDN-51, SDN-62, LGN1-2, LGN1-7, LGN2-3 และ LGN2-4 (ตารางที่ 4) โดยที่เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-44 มีผลทำให้การปล่อย zoospore น้อยที่สุดคือ 30 เปอร์เซ็นต์ (ยับยั้งการปล่อย zoospore ได้ 68.97 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม) รองลงมาคือเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-1, SDN-51, SDN-62 และ LGN2-4 ซึ่งมีผลทำให้การปล่อย zoospore เท่ากับ 36.67 เปอร์เซ็นต์ (ยับยั้งการปล่อย zoospore ได้ 62.07 เปอร์เซ็นต์) ขณะที่ในกรรมวิธีควบคุมที่ใช้น้ำนิ่งมาเชื้อแทนเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย เชื้อราสาเหตุโรคสามารถปล่อย zoospore ได้ 96.67 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 6) และเมื่อครบ 48 ชั่วโมงพบว่ามีเชื้อแบคทีเรีย 9 ไอโซเลตที่มีผลทำให้การปล่อย zoospore ของเชื้อรา *P. cubensis* อยู่ในช่วง 21-50 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-1, SDN-7, SDN-44, SDN-51, SDN-59, SDN-62, LGN1-1, LGN1-2, LGN2-2 และ LGN2-8 (ตารางที่ 5) โดยที่เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-51 มีผลทำให้การปล่อย zoospore น้อยที่สุดคือ 33.33 เปอร์เซ็นต์ (ยับยั้งการปล่อย zoospore ได้ 66.67 เปอร์เซ็นต์) รองลงมาคือเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-1, SDN-44 และ SDN-62 ซึ่งมีผลทำให้เชื้อราสาเหตุโรคสามารถปล่อย zoospore ได้ 40.00 เปอร์เซ็นต์ (ยับยั้งการปล่อย zoospore ได้ 60.00 เปอร์เซ็นต์) ขณะที่กรรมวิธีควบคุมที่ใช้น้ำนิ่งมาเชื้อแทนเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย เชื้อราสาเหตุโรคสามารถปล่อย zoospore ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 6)

เนื่องจากเชื้อรา *P. cubensis* เป็นเชื้อราสาเหตุโรคแบบ obligate parasite จึงไม่สามารถเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ แต่เชื้อรา *P. cubensis* เข้าทำลายพืชให้เป็นโรคโดยการปล่อย zoospore ออกจาก sporangia (ภาพที่ 2) เมื่ออยู่บนใบพืชและมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมคือ อุณหภูมิอยู่ในช่วง 9-30 องศาเซลเซียสและมีความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ zoospore ที่ถูกปล่อยออกจาก sporangium มีหาง (flagella) สามารถเคลื่อนที่ไปยังปากใบพืช และสัดหางทิ้งเป็นสปอร์กลม (encyst) แล้วงอก germ tube แทงผ่านเข้าไปในใบพืช zoospore จึงเป็นสาเหตุที่ทำให้พืชเป็นโรค และเกิดการแพร่กระจายของโรค (Lebeda and Cohen, 2011) ดังนั้นการยับยั้งการปล่อย zoospore ของเชื้อรา *P. cubensis* จึงเป็นวิธีการหนึ่งในการคัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ซึ่งกลไกนี้อาจเป็น

วิธีทางหนึ่งที่สามารถจะลดการเกิดโรคได้ เช่นเดียวกับที่ จีระเดช และคณะ (2552) ได้ทดสอบความสามารถของแบคทีเรียปฏิปักษ์ 6 สายพันธุ์ ยีสต์ปฏิปักษ์ 4 สายพันธุ์ และเชื้อรา *Trichoderma* 5 สายพันธุ์ ในระดับห้องปฏิบัติการ ในการยับยั้งการสร้าง zoospore และการปล่อย zoospore จาก sporangia ของเชื้อรา *Plasmopara viticola* สาเหตุโรคน้ำค้างขององุ่นในสไลด์หลุม โดยใช้เซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียและยีสต์ หรือสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Trichoderma* ผลการทดลองพบว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต No 2(2) และ No 2(3) มีประสิทธิภาพยับยั้งได้ดีที่สุดคือ 96.88 เปอร์เซ็นต์ และ 97.92 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากผลการทดสอบการยับยั้งการปล่อย zoospore ของเชื้อรา *P. cubensis* ในห้องปฏิบัติการ จึงได้คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีผลทำให้การปล่อย zoospore ของเชื้อราสาเหตุโรคเกิดขึ้นน้อย เพียง 33.33-56.67 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 6 ไอโซเลต ได้แก่ SDN-1 SDN-44 SDN-51 SDN-62 LGN1-2 และ LGN1-7 ไปทดสอบการควบคุมโรคน้ำค้างของแตงกวา ในโรงเรือนปลูกพืชทดลองต่อไป

ตารางที่ 4 ระดับการปล่อย zoospore ของเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis* หลังจากบ่มร่วมกับเชื้อแบคทีเรียเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ระดับการปล่อย zoospore (%) ที่ 24 ชั่วโมง	จำนวนไอโซเลต	ไอโซเลต ^{1/}
21-30	1	SDN-44
31-40	6	SDN-1, 50, 51, 62, LGN1-7 ,LGN2-4
41-50	4	SDN-5, 24, LGN1-2, LGN2-3
51-60	5	SDN-38, 58, 59,64, LGN1-41
61-70	31	SDN-7, 11, 16, 23, 26, 27, 30, 34, 35, 40, 43, 49, 52, 53, 54, 56, 61, 65, 66, LWN1-2, 5, LGN1-5, 15, 17, 19, LWN2-1, 3, 9,LGN2-7, 8, 11
71-80	32	SDN-2, 3, 4, 10, 15, 17, 25, 29, 31, 36, 39, 42, 48, 55, 63, 67, LWN1-1, 4, 10, 15, LGN1-1, 3, 4, 10, 16, LWN2-2, 5, 10, LGN2-2, 6, 9, 10
81-90	20	SDN-6, 18, 22, 28, 33, 37, 41, 57, 60, LWN1-3, 11,13, 14, LGN1-12, 13, LWN2-4, 6, 8 11, 12
91-100	10	SDN-9, 20, 32, LWN1-7, 8, 9, 12, LGN1-18, LWN2-7, LGN2-1

^{1/} เชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากข้อ 1

ตารางที่ 5 ระดับการปล่อย zoospore ของเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis* หลังจากบ่มร่วมกับเชื้อแบคทีเรียเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

ระดับการปล่อย zoospore (%) ที่ 48 ชั่วโมง	จำนวนไอโซเลต	ไอโซเลต ¹
31-40	4	SDN-1, 44, 51, 62
41-50	5	SDN-7, 59, LGN1-1, 2, LGN2-8
51-60	17	SDN-5, 24, 33, 40, 60, 61, LWN1-1, 5, 4, LGN1-5, 7, 3, LGN2-2, 3, 4, 7, 11
61-70	16	SDN-16, 26, 30, 35, 38, 41, 49, 50, 54, 56, 58, LGN1-4, 17, LWN2-2, 9, LGN2-6
71-80	29	SDN-2, 4, 9, 11, 20, 22, 27, 29, 32, 39, 43, 52, 55, 56, 57, 65, LWN1-10, 14, 15, 19, LGN1-14, 15, 16, LWN2-1, 3, 4, 10, 12, LGN2-9
81-90	23	SDN-3, 10, 15, 17, 18, 23, 25, 31, 34, 37, 42, 53, 64, 67, LWN1-3, 13, LGN1-10, 12, LWN2-5, 7, 8, 11, LGN2-1
91-100	14	SDN-6, 28, 36, 48, LWN1-2, 7, 8, 9, 11, 12, LGN1-13, 18, LWN2-6, LGN2-10

¹ เชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากข้อ 1

ตารางที่ 6 ผลของเชื้อแบคทีเรียต่อการปล่อย zoospore (%) ของเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis* หลังบ่ม 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง

ไอโซเลต ^{1/}	การปล่อย zoospore (%) ที่ 24 ชั่วโมง ^{3/}	การปล่อย zoospore (%) ที่ 48 ชั่วโมง ^{3/}
SDN-1	36.67 kl ^{2/} (-62.07) ^{4/}	40.00 lm ^{2/} (-60.00) ^{4/}
SDN-2	76.67 a-f (-20.69)	80.00 a-g (-20.00)
SDN-3	73.33 a-f (-24.14)	90.00 a-d (-10.00)
SDN-4	76.67 a-f (-20.69)	80.00 a-g (-20.00)
SDN-5	46.67 h-l (-51.72)	60.00 f-l (-40.00)
SDN-6	86.67 a-d (-10.35)	100.00 a (-0.00)
SDN-7	66.67 c-h (-31.03)	46.67 j-m (-53.33)
SDN-9	93.33 ab (-3.45)	80.00 a-g (-20.00)
SDN-10	76.67 a-f (-20.69)	86.67 a-e (-13.33)
SDN-11	66.67 c-h (-31.03)	80.00 a-g (-20.00)
SDN-15	76.67 a-f (-20.69)	90.00 a-d (-10.00)
SDN-16	70.00 b-g (-27.59)	70.00 c-j (-30.00)
SDN-17	73.33 a-f (-24.14)	83.33 a-f (-16.67)
SDN-18	90.00 abc (-6.90)	83.33 a-f (-16.67)
SDN-20	93.33 ab (-3.45)	80.00 a-g (-20.00)
SDN-22	83.33 a-e (-13.79)	76.67 a-h (-23.33)
SDN-23	70.00 b-g (-27.59)	86.67 a-e (-13.33)
SDN-24	50.00 g-l (-48.28)	56.67 g-l (-43.33)
SDN-25	76.67 a-f (-20.69)	83.33 a-f (-16.67)
SDN-26	66.67 c-h (-31.03)	66.67 d-k (-33.33)
SDN-27	66.67 c-h (-31.03)	76.67 a-h (-23.33)
SDN-28	86.67 a-d (-10.35)	96.67 ab (-3.33)
SDN-29	73.33 a-f (-24.14)	73.33 b-i (-26.67)
SDN-30	63.33 d-i (-34.48)	66.67 d-k (-33.33)
SDN-31	76.67 a-f (-20.69)	83.33 a-f (-16.67)
SDN-32	96.67 a (0.00)	73.33 b-i (-26.67)
SDN-33	90.00 abc (-6.90)	60.00 f-l (-40.00)
SDN-34	66.67 c-h (-31.03)	83.33 a-f (-16.67)
SDN-35	63.33 d-i (-34.48)	63.33 e-l (-36.67)
SDN-36	80.00 a-e (-17.24)	100.00 a (0.00)
SDN-37	83.33 a-e (-13.79)	90.00 a-d (-10.00)
SDN-38	60.00 e-j (-37.93)	63.33 e-l (-36.67)

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ไอโซเลต ^{1/}	การปล่อย zoospore (%) ที่ 24 ชั่วโมง ^{2/}		การปล่อย zoospore (%) ที่ 48 ชั่วโมง ^{3/}	
SDN-39	73.33	a-f (-24.13)	76.67	a-h (-23.33)
SDN-40	66.67	c-h (-31.03)	60.00	f-l (-40.00)
SDN-41	83.33	a-e (-13.79)	70.00	c-j (-30.00)
SDN-42	76.67	a-f (-20.69)	83.33	a-f (-16.67)
SDN-43	63.33	d-i (-34.48)	73.33	b-i (-26.67)
SDN-44	30.00	l (-68.97)	40.00	lm (-60.00)
SDN-48	80.00	a-e (-17.24)	96.67	ab (-3.33)
SDN-49	66.67	c-h (-31.03)	66.67	d-k (-33.33)
SDN-50	36.67	kl (-62.07)	63.33	e-l (-36.67)
SDN-51	36.67	kl (-62.07)	33.33	m (-66.67)
SDN-52	66.67	c-h (-31.03)	73.33	b-i (-26.67)
SDN-54	66.67	c-h (-31.03)	66.67	d-k (-33.33)
SDN-53	66.67	c-h (-31.03)	83.33	a-f (-16.67)
SDN-55	76.67	a-f (-20.69)	76.67	a-h (-23.33)
SDN-56	63.33	d-i (-34.48)	76.67	a-h (-23.33)
SDN-57	90.00	abc (-6.90)	80.00	a-g (-20.00)
SDN-58	53.33	f-k (-44.83)	63.33	e-l (-36.67)
SDN-59	60.00	e-j (-37.93)	43.33	klm (-56.67)
SDN-60	83.33	a-d (-13.79)	56.67	g-l (-43.33)
SDN-61	63.33	d-i (-34.48)	53.33	h-m (-46.67)
SDN-62	36.67	kl (-62.07)	40.00	lm (-60.00)
SDN-63	73.33	a-f (-24.14)	76.67	a-h (-23.33)
SDN-64	53.33	f-k (-44.83)	86.67	a-e (-13.33)
SDN-65	66.67	c-h (-31.03)	80.00	a-g (-20.00)
SDN-66	63.33	d-i (-34.83)	63.33	e-l (-36.67)
SDN-67	76.67	a-f (-20.69)	90.00	a-d (-10.00)
LWN1-1	73.33	a-f (-24.14)	60.00	f-l (-40.00)
LWN1-2	70.00	b-g (-27.59)	100.00	a (0.00)
LWN1-3	86.67	a-d (-10.35)	83.33	a-f (-16.67)
LWN1-4	73.33	a-f (-24.14)	53.33	h-m (-46.67)
LWN1-5	63.33	d-i (-34.48)	53.33	h-m (-46.67)
LWN1-7	96.67	a (0.00)	100.00	a (0.00)
LWN1-8	93.33	ab (-3.45)	100.00	a (0.00)
LWN1-9	93.33	ab (-3.45)	100.00	a (0.00)

ตารางที่ 6 (ต่อ)

ไอโซเลต ^{1/}	การปล่อย zoospore (%) ที่ 24 ชั่วโมง ^{2/}		การปล่อย zoospore (%) ที่ 48 ชั่วโมง ^{3/}	
LWN1-10	76.67	a-f (-20.69)	80.00	a-g (-20.00)
LWN1-11	83.33	a-e (-13.79)	93.33	abc (-6.67)
LWN1-12	93.33	ab (-3.45)	93.33	abc (-6.67)
LWN1-13	83.33	a-e (-13.79)	86.67	a-e (-13.33)
LWN1-14	83.33	a-e (-13.79)	80.00	a-g (-20.00)
LWN1-15	80.00	a-e (-17.24)	80.00	a-g (-20.00)
LGN1-2	43.33	i-l (-55.17)	50.00	i-m (-50.00)
LGN1-3	76.67	a-f (-20.69)	60.00	f-l (-40.00)
LBN1-4	73.33	a-f (-24.14)	63.33	e-l (-37.67)
LGN1-5	70.00	b-g (-27.59)	56.67	g-l (-43.33)
LGN1-7	40.00	i-l (-58.62)	56.67	g-l (-43.33)
LGN1-10	73.33	a-f (-24.14)	83.33	a-f (-16.67)
LGN1-12	86.67	a-d (-10.35)	86.67	a-e (-16.67)
LGN1-13	90.00	abc (-6.90)	96.67	ab (-3.33)
LGN1-14	60.00	e-j (-37.93)	76.67	a-h (-23.33)
LGN1-15	66.67	c-h (-31.03)	80.00	a-g (-20.00)
LGN1-16	76.67	a-f (-20.69)	76.67	a-h (-23.33)
LGN1-17	70.00	b-g (-27.59)	66.67	d-k (-33.33)
LGN1-18	93.33	ab (-3.45)	96.67	ab (-3.33)
LGN1-19	70.00	b-g (-27.59)	73.33	b-i (-26.67)
LWN2-1	70.00	b-g (-27.59)	76.67	a-h (-23.33)
LWN2-2	80.00	a-e (-17.24)	63.33	e-l (-36.67)
LWN2-3	63.33	d-i (-34.48)	73.33	b-i (-26.67)
LWN2-4	86.67	a-d (-10.35)	80.00	a-g (-20.00)
LWN2-5	76.67	a-f (-20.69)	90.00	a-d (-10.00)
LWN2-6	83.33	a-e (-13.79)	100.00	a (0.00)
LWN2-7	93.33	ab (-3.45)	86.67	a-e (-13.33)
LWN2-8	90.00	abc (-6.90)	86.67	a-e (-13.33)
LWN2-9	70.00	b-g (-27.59)	70.00	c-j (-30.00)
LWN2-10	80.00	a-e (-17.24)	80.00	a-g (-20.00)
LWN2-11	83.33	a-e (-13.79)	90.00	a-d (-10.00)
LWN2-12	83.33	a-e (-13.79)	73.33	b-i (-26.67)
LGN2-1	96.67	a (0.00)	86.67	a-e (-13.33)
LGN2-2	76.67	a-f (-20.69)	56.67	g-l (-43.33)

ตารางที่ 6 (ต่อ)

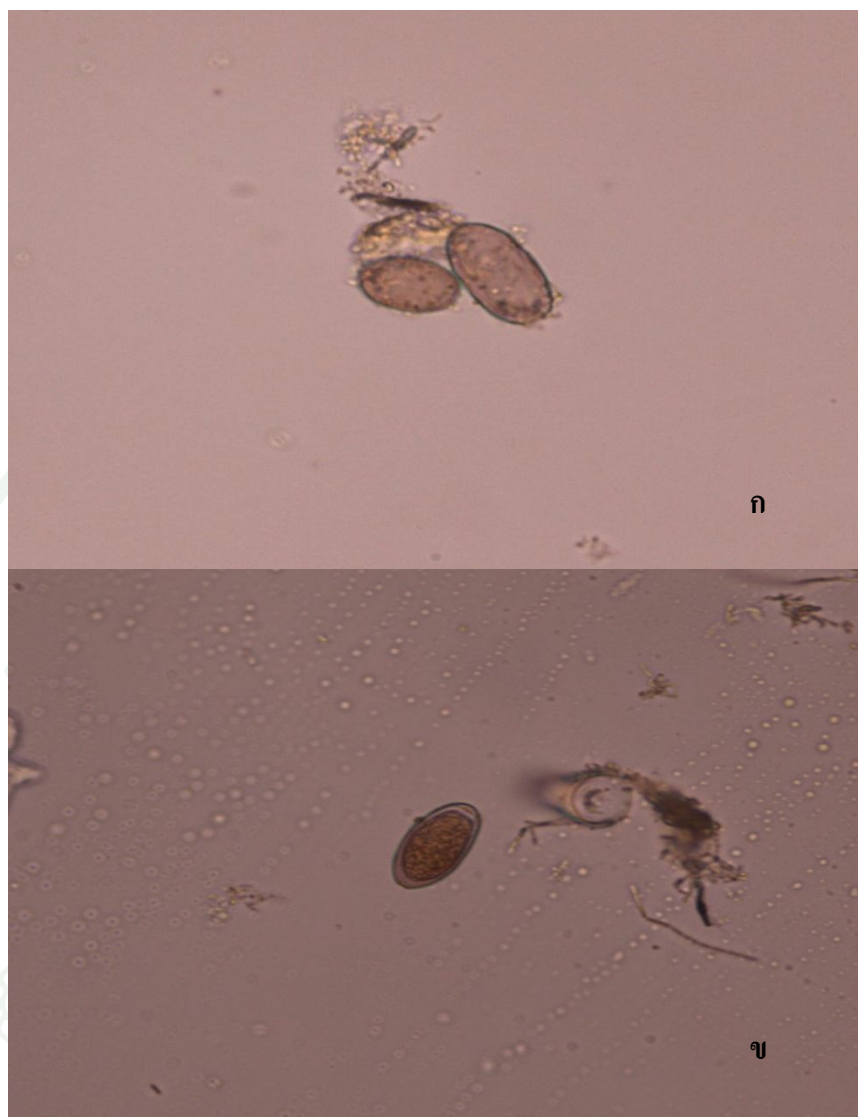
ไอโซเลต ^{1/}	การปล่อย zoospore (%) ที่ 24 ชั่วโมง ^{3/}		การปล่อย zoospore (%) ที่ 48 ชั่วโมง ^{3/}	
LGN2-3	43.33	i-l (-55.17)	53.33	h-m (-46.67)
LGN2-4	36.67	kl (-62.07)	53.33	h-m (-46.67)
LGN2-6	73.33	a-f (-24.14)	70.00	c-j (-30.00)
LGN2-7	70.00	b-h (-27.59)	60.00	f-l (-40.00)
LGN2-8	70.00	b-g (-27.59)	50.00	i-m (-50.00)
LGN2-9	73.33	a-f (-24.14)	73.33	b-i (-26.67)
LGN2-10	73.33	a-f (-24.14)	100.00	a (0.00)
LGN2-11	66.67	c-h (-31.03)	56.67	g-l (-43.33)
Control	96.67	a	100.00	a

^{1/} เชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากข้อ 1

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันในแนวดิ่งของตารางไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติวิเคราะห์โดย Duncan's Multiple Range Test (P=0.05)

^{3/} เปอร์เซ็นต์การปล่อย zoospore คิดค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำคือ 10 สปอร์/จาน/ซ้ำ

^{4/} เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการปล่อย zoospore = $\frac{\text{กรรมวิธีควบคุม} - \text{กรรมวิธีทดลอง}}{\text{กรรมวิธีควบคุม}} \times 100$



ภาพที่ 3 ลักษณะของ sporangium ของเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis*

ก. sporangium ที่มีการปล่อย zoospore ไปแล้วทำให้ sporangium มีสีใส

ข. sporangium ที่ไม่มีการปล่อย zoospore ทำให้มีวงสีเข้มซ้อนอยู่ภายใน

3. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อการควบคุมโรคน้ำค้างในสภาพโรงเรือนปลูกพืชทดลอง

จากการประเมินการเกิดโรคน้ำค้างบนใบของแตงกวา หลังจากการพ่นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ 7 วัน พบว่ากรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-51 และไอโซเลต LBN1-7 มีเปอร์เซ็นต์เกิดโรคน้อยที่สุด คือ 8 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีที่พ่นด้วยสารเคมี metalaxyl และเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคที่ 12 เปอร์เซ็นต์ และ 16 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยกรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียแต่ละไอโซเลต, สารเคมี metalaxyl และเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีเชื้อโรค (control -) (ตารางที่ 7)

หลังจากการพ่นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ครั้งที่ 2 พบว่า กรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-1 และไอโซเลต LBN1-7 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยที่สุดคือ 16 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ กรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-51 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 20 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีที่พ่นด้วยสารเคมี metalaxyl และกรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-62 พบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 28 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 32 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-1, SDN-51, SDN-62, LBN1-7 และเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่พ่นด้วยสารเคมี metalaxyl ในทางสถิติ ส่วนกรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-44 และ LBN1-2 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 48 เปอร์เซ็นต์ และ 52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งเท่าเทียมกับกรรมวิธีควบคุมที่มีเชื้อโรค (control +) ที่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงที่สุดคือ 56 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 7)(ภาพที่ 2)

และหลังจากพ่นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ครั้งที่ 3 พบว่ากรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-51 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยที่สุดคือ 20 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-62 และ ไอโซเลต LBN1-7 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 24 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 36 เปอร์เซ็นต์ และกรรมวิธีที่พ่นด้วยสารเคมี metalaxyl มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 28 เปอร์เซ็นต์ โดยกรรมวิธีเหล่านี้ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีเชื้อโรค (control -) ในขณะที่กรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-1, 44, และ LBN1-2, เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 และสารเคมี metalaxyl ก็มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไม่แตกต่างกันทางสถิติเช่นเดียวกัน (ตารางที่ 7)

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถควบคุมโรคราน้ำค้างของแตงกวาในโรงเรือนปลูกพืชทดลองได้ดีเทียบเท่ากับสารเคมี metalxyl คือ เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-51, SDN-62 และ LBN1-7 ซึ่งสามารถยับยั้งการปล่อย zoospore ของเชื้อรา *P. cubensis* ในห้องปฏิบัติการได้สูงเช่นกัน โดยมีผลทำให้การปล่อย zoospore ของเชื้อราสาเหตุโรคเกิดขึ้น เพียง 33.33-56.67 เปอร์เซ็นต์แต่อย่างไรก็ตามควรนำเชื้อแบคทีเรียไอโซเลตดังกล่าว ไปทดสอบในสภาพแปลงปลูกพืช เพื่อยืนยันผลว่าเป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพและสามารถนำไปใช้ควบคุมโรคได้จริง เนื่องจากในสภาพโรงปลูกพืชทดลองและสภาพแปลงมีความแตกต่างกัน ทั้งระดับความชื้นและอุณหภูมิ ซึ่งส่งผลต่อความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุโรคในการเข้าทำลายพืช รวมถึงอายุของพืชในแปลงปลูกที่พบว่าเริ่มมีโรคราน้ำค้าง ซึ่งจะเหมาะต่อการประเมินการเกิดโรคในแปลงปลูกที่ไม่ต้องมีการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคให้ เมื่อแตงกวามีอายุ 35-41 วัน (ปิยะวดี และ จารุลักษณ์, 2552)

การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ป้องกันพืชก่อนที่เชื้อสาเหตุโรคจะเข้าทำลาย นอกจากลดการงอกหรือการสร้างส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อสาเหตุโรคที่ช่วยลดการเกิดโรคได้ดีแล้ว ก็ยังมีกลไกอื่นๆ เข้ามาเกี่ยวข้องได้แก่ กระบวนการแข่งขัน กระบวนการสร้างสารพิษและสารปฏิชีวนะ กระบวนการเป็นปรสิตและกระบวนการชักนำให้พืชเกิดความต้านทาน (จิระเดช, 2549) โดยที่เชื้อรา *Trichoderma* ซึ่งเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคหลายชนิด มีกลไกดังกล่าวในการควบคุมโรคและยังสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้อีกด้วย (จิระเดช, 2553) ส่วนกรณีเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ Anand และคณะ (2009) ได้ใช้แบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescens* ที่ทนทานต่อสารเคมี azoxystrobin ร่วมกับสารเคมี azoxystrobin ป่นก่อนปลูกเชื้อราสาเหตุโรค พบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคราน้ำค้างของแตงกวาได้ดี โดยอาศัยกระบวนการชักนำให้พืชเกิดความต้านทาน เนื่องจากพบการสะสมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันตัวเองของพืชคือ peroxidase, polyphenol oxidase, phenylalanine ammonia lyase, β -1,3 glucanase, chitinase และ phenolic เพิ่มขึ้น หลังจากปลูกเชื้อสาเหตุโรค 1 วัน และ มีปริมาณสูงสุดที่ 3-5 วัน หลังจากปลูกเชื้อสาเหตุโรค เช่นเดียวกับ El-Gremi และคณะ (2013) พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus pumilus* มีกลไกการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *P. cubensis* โดยตรง คือ ทำให้สปอร์แรงเจียมและเส้นใย สูญเสียความเต่งและน้ำภายใน เมื่อนำสาร metabolite ที่เชื้อแบคทีเรีย *B. pumilus* สร้าง มาวิเคราะห์ด้วย Gas-Chromatography พบว่ามีสารปฏิชีวนะและสารออกฤทธิ์หลายชนิด ส่วนผลทางอ้อมคือช่วยเพิ่มปริมาณเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันตัวเองของพืช คือ peroxidase และ polyphenoloxidase ในใบที่เจริญขึ้นมาใหม่

ตารางที่ 7 การเกิดโรคน้ำค้างบนใบแตงกวา ที่พ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียโอโซเลตต่างๆ เชื้อรา

Trichoderma harzianum CB-Pin-01 และสารเคมี metalaxyl ทุกๆ 7 วัน ในสภาพเรือน
ปลูกพืชทดลอง เมื่อต้นแตงกวามีใบจริง 5 ใบ

กรรมวิธี	การเกิดโรค ^{5/} (%)		
	ครั้งที่ 1 ^{2/}	ครั้งที่ 2 ^{3/}	ครั้งที่ 3 ^{4/}
ไม่ปลูกเชื้อสาเหตุโรค (control -)	0.00 b ^{1/}	8.00 c	12.00 d
ปลูกเชื้อสาเหตุโรคอย่างเดียว (control +)	36.00 a	56.00 a	76.00 a
พ่นสารเคมี metalaxyl	12.00 b	28.00 b	28.00 b-d
พ่นเชื้อรา <i>T. harzianum</i> CB-Pin-01	16.00 ab	32.00 b	36.00 b-d
พ่นเชื้อแบคทีเรียโอโซเลต SDN-1	16.00 ab	16.00 bc	32.00 b-d
พ่นเชื้อแบคทีเรียโอโซเลต SDN-44	20.00 b	48.00 bc	48.00 cd
พ่นเชื้อแบคทีเรียโอโซเลต SDN-51	8.00 b	20.00 b	20.00 b-d
พ่นเชื้อแบคทีเรียโอโซเลต SDN-62	12.00 ab	28.00 a	24.00 b
พ่นเชื้อแบคทีเรียโอโซเลต LBN1-2	8.00 b	52.00 a	44.00 bc
พ่นเชื้อแบคทีเรียโอโซเลต LBN1-7	8.00 b	16.00 cb	24.00 b-d

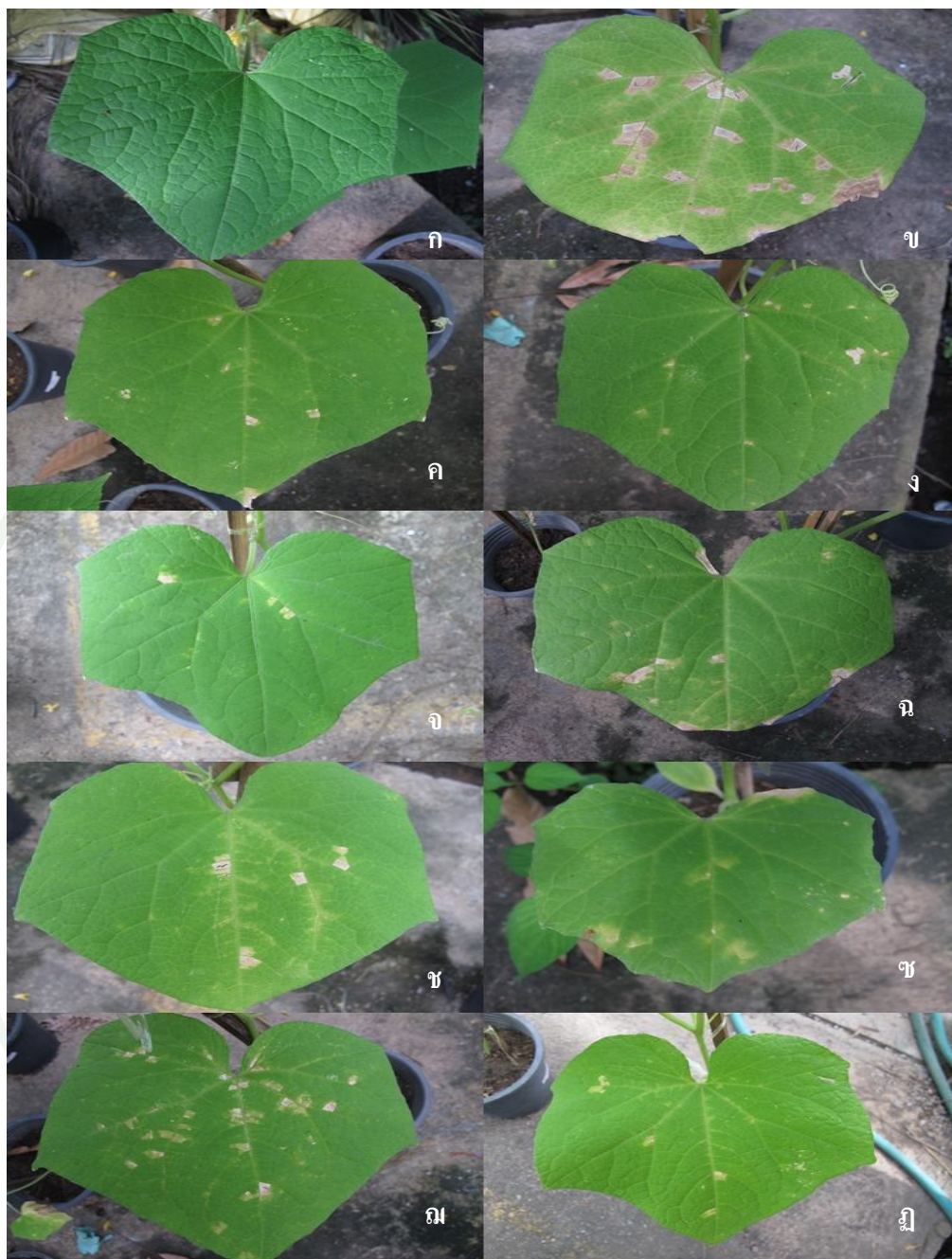
^{1/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันในแนวตั้งของตารางไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติวิเคราะห์โดย Duncan's Multiple Range Test (P=0.05)

^{2/} การเก็บผลครั้งที่ 1 หลังจากพ่นเชื้อแบคทีเรียโอโซเลตต่างๆ, เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 และสารเคมี metalaxyl ครั้งที่ 1 เป็นเวลา 7 วัน

^{3/} การเก็บผลครั้งที่ 2 หลังจากพ่นเชื้อแบคทีเรียโอโซเลตต่างๆ, เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 และสารเคมี metalaxyl ครั้งที่ 2 เป็นเวลา 7 วัน

^{4/} การเก็บผลครั้งที่ 3 หลังจากพ่นเชื้อแบคทีเรียโอโซเลตต่างๆ, เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 และสารเคมี metalaxyl ครั้งที่ 3 เป็นเวลา 7 วัน

^{5/} เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนใบแตงกวาคิดค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ แต่ละซ้ำคือ 5 ใบต่อต้น ประเมินโรคโดยการวัดพื้นที่ใบที่เป็นโรค ในพื้นที่ 100 ตารางเซนติเมตร



ภาพที่ 4 การเกิดโรคน้ำค้างบนใบแตงกวาหลังจากพ่นเชื้อ ครั้งที่ 2 ด้วยกรรมวิธีต่างๆ 7 วัน

- | | |
|-------------------------------------|---|
| ก. ไม่ปลูกเชื้อสาเหตุโรค (control-) | ข. ปลูกเชื้อสาเหตุโรคอย่างเดียว (control+) |
| ค. สารเคมี metalaxyl | ง. เชื้อรา <i>Trichoderma harzianum</i> CB-Pin-01 |
| จ. เชื้อแบคทีเรีย ไอโซเลต SDN-1 | ฉ. เชื้อแบคทีเรีย ไอโซเลต SDN-51 |
| ช. เชื้อแบคทีเรีย ไอโซเลต SDN-62 | ซ. เชื้อแบคทีเรีย ไอโซเลต SDN-44 |
| ฅ. เชื้อแบคทีเรีย ไอโซเลต LBN1-2 | ฎ. เชื้อแบคทีเรีย ไอโซเลต LBN1-7 |

4. การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคน้ำค้ำในสภาพแปลงปลูก

4.1 การทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการป้องกันการเกิดโรคน้ำค้ำของแตงกวา

จากการประเมินการเกิดโรคน้ำค้ำบนใบแตงกวาครั้งที่ 1 (เมื่อต้นแตงกวามีอายุ 30 วัน) หลังจากพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลตต่างๆ เชื้อรา *Trichoderma harzianum* CB-Pin-01 และสารเคมี metalaxyl เป็นเวลา 7 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคไม่มีความแตกต่างกัน ทั้งการเกิดโรคที่ระดับใบล่าง ใบกลาง และการเกิดโรคโดยรวมทั้งต้น โดยกรรมวิธีที่พ่นด้วยสารเคมี metalaxyl มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคระดับใบล่างและการเกิดโรคโดยรวมทั้งต้นน้อยที่สุดคือ 0.62 เปอร์เซ็นต์ และ 0.29 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนระดับใบกลางยังไม่พบการเกิดโรค เนื่องจากต้นแตงกวายังมีจำนวนใบน้อย (ตารางที่ 8)(ภาพที่ 3)

หลังจากการประเมินการเกิดโรคครั้งที่ 2 (เมื่อต้นแตงกวามีอายุ 44 วัน) หลังจากพ่นกรรมวิธีต่างๆ ครั้งที่ 2 เป็นเวลา 7 วัน พบว่ากรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคที่ระดับใบล่างน้อยที่สุดคือ 48.15 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างกับกรรมวิธีควบคุมที่พ่นด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้อที่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 76.29 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รองลงมาคือกรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-51 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 52.10 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการเกิดโรคที่ระดับใบกลาง กรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-51 และ LGN1-7 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยที่สุดเท่ากับ 19.5 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีอื่นๆ ทางสถิติ และการเกิดโรคโดยรวมทั้งต้น พบว่ากรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-51 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยที่สุดคือ 37.90 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 39.65 เปอร์เซ็นต์ มีการลดลงของโรคน้ำค้ำ 32.79 เปอร์เซ็นต์และ 29.69 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ซึ่งกรรมวิธีควบคุมที่พ่นด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้อมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 56.39 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 9)(ภาพที่ 4)

และหลังจากการประเมินการเกิดโรคครั้งที่ 3 (เมื่อต้นแตงกวามีอายุ 58 วัน) หลังจากพ่นกรรมวิธีต่างๆ ครั้งที่ 3 เป็นเวลา 7 วัน พบว่า กรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคโดยรวมทั้งต้นน้อยที่สุดเท่ากับ 62.06 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต LGN1-7 และไอโซเลต SDN-51 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ

65.09 และ 68.79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่ง 3 กรรมวิธีที่กล่าวมาข้างต้นมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำกว่ากรรมวิธีที่พ่นด้วยสารเคมี metalaxyl ที่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 85.19 เปอร์เซ็นต์ และกรรมวิธีควบคุมที่พ่นน้ำนิ่งฆ่าเชื้อมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 87.79 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งกรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต LGN1-7 และ SDN-51 มีการเกิดโรคราน้ำค้างลดลง 29.34, 25.86 และ 21.64 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ส่วนการเกิดโรคที่ระดับใบล่างพบว่า กรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต LGN1-7 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยที่สุดเท่ากับ 81.00 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 81.71 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างกับกรรมวิธีควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงที่สุดเท่ากับ 97.47 เปอร์เซ็นต์ และการเกิดโรคที่ระดับใบกลางพบว่า กรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยที่สุดคือ 29.10 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต LGN1-7 และ SDN-51 ที่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 42.00 และ 44.68 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 3 กรรมวิธีมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแตกต่างกับกรรมวิธีที่พ่นด้วยสารเคมี metalaxyl และกรรมวิธีควบคุม ที่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 75.63 และ 76.04 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 10)

จากการประเมินผลการเกิดโรคราน้ำค้างบนใบแดงกวาในระดับใบล่างและใบกลางของต้นซึ่งอยู่ไม่ห่างจากพื้นดินและมีจำนวนใบหนาแน่น พบว่าบริเวณใต้ทรงพุ่มของต้นแดงกวามีความชื้นสัมพัทธ์สูง ประกอบกับการทดลองครั้งนี้อยู่ในช่วงระหว่างเดือนธันวาคม 2556 – กุมภาพันธ์ 2557 ซึ่งมีอุณหภูมิต่ำเป็นระยะเวลาติดต่อกันนานหลายวัน ซึ่งนับว่ามีความเหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณและการเข้าทำลายพืชของเชื้อราสาเหตุโรค แม้ในช่วงกลางวันเชื้อราสาเหตุโรคซึ่งเจริญอยู่ใต้ใบพืชก็ไม่โดนความร้อนจากแสงอาทิตย์ ทำให้สามารถมีชีวิตอยู่รอด จึงพบว่าการเกิดโรคมกในบริเวณช่วงใบล่างและช่วงใบกลาง ส่วนบริเวณช่วงใบส่วนบนพบการเกิดโรคน้อยหรือไม่พบเลย เนื่องจากใบในช่วงบนยังเป็นใบอ่อนหรือใบที่เพิ่งออกมาใหม่ มีจำนวนน้อย ไม่หนาแน่น และในช่วงกลางวันได้รับความร้อนจากแสงอาทิตย์มากกว่าช่วงใบล่าง หลังจากทีสปรaying เจ็มนของเชื้อราสาเหตุโรคตกลงบนใบพืชแล้ว ไม่สามารถปล่อย zoospore เพื่อเข้าทำลายพืชได้ เนื่องจากความชื้นสัมพัทธ์ไม่เพียงพอและได้รับความร้อนจากแสงอาทิตย์ จึงไม่พบการเกิดโรคหรือพบน้อยมาก

จากผลการทดลองพบว่ากรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 มีการเกิดโรคราน้ำค้างทั้งบริเวณช่วงใบล่าง ใบกลางและโดยรวมทั้งต้น ต่ำที่สุด รองลงมาคือกรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต LGN1-7 และ SDN-51 ในกรณีของเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 นี้

อาจมีกลไกต่างๆ ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช ได้แก่ กระบวนการแข่งขันการใช้ธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญ กระบวนการสร้างสารพิษและสารปฏิชีวนะ กระบวนการเป็นปรสิตและกระบวนการชักนำให้พืชเกิดความต้านทาน รวมถึงการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชอีกด้วย (จิระเดช, 2553) ส่วนในกรณีของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต LGN1-7 และ SDN-51 ที่คัดเลือกเบื้องต้นในห้องปฏิบัติการโดยการทดสอบการยับยั้งการปล่อย zoospore ซึ่งอาจจะเป็นเพียงกลไกหนึ่งในการควบคุมโรค หรืออาจจะมีกลไกอื่นร่วมอยู่ด้วย เช่น การยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา การออกของก้านชูสปอร์ (sporangiophore) ออกจากปากใบ และการสร้างสปอร์แรงเจียมของเชื้อราสาเหตุโรค เป็นต้น (Sun *et al.*, 2013) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Sun *et al.* (2013) ที่ได้คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่อาศัยอยู่ในพืช (endophytic bacteria) จากแตงกวาเพื่อควบคุมโรคน้ำค้างในการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในห้องปฏิบัติการ โดยใช้ 3 วิธี คือ วิธี leaf discs method วิธี separate leaves method และวิธีการยับยั้งการปล่อย zoospore ซึ่งได้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้งหมด 6 ไอโซเลต แล้วนำไปทดสอบในสภาพแปลงปลูก พบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลต CE8 ซึ่งจำแนกได้เป็นเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus asahii* มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้ดีที่สุด โดยมีการเกิดโรคต่ำกว่าการพ่นด้วยสารเคมี 69% metalaxyl-mancozeb และในส่วนกรณีของสารเคมี metalaxyl ที่มีการเกิดโรคสูงนั้น อาจเป็นไปได้ว่าเชื้อราสาเหตุโรคมีการพัฒนาความต้านทานต่อสารเคมี จึงทำให้สารเคมีไม่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรค ซึ่งสารเคมี metalaxyl ซึ่งเป็นสารเคมีประเภทดูดซึม มีกลไกการยับยั้งการสังเคราะห์ rRNA ของเชื้อราสาเหตุโรค เพียงกลไกเดียว (ตารางที่ 1) และเป็นสารเคมีที่มีการใช้กันมานานหลายสิบปี ในต่างประเทศมีรายงานการต้านทานของเชื้อรา *P. cubensis* ต่อสารเคมีชนิดต่างๆ (ตารางที่ 2)

นอกจากนี้เมื่อทดสอบแกรมของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลตด้วยสารละลายด่าง 3% KOH (Schaad *et al.*, 1981) พบว่าแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลตเป็นแบคทีเรียแกรมบวก และเมื่อนำไปย้อมสีเพื่อตรวจการสร้าง endospore พบว่าแบคทีเรียไอโซเลต LGN1-7 มีการสร้าง endospore เมื่อเชื้อแบคทีเรียมีอายุ 72 ชั่วโมง (3 วัน) โดย endospore ติดสีเขียวของ malachite green ส่วนแบคทีเรียอีก 2 ไอโซเลตคือ SDN-1 และ SDN-51 ไม่พบการสร้าง endospore เมื่อมีอายุ 72 ชั่วโมง (3 วัน) และ 120 ชั่วโมง (5 วัน)

จากผลการทดลองครั้งนี้ เมื่อต้นกล้าแตงกวาในแปลงปลูกเริ่มปรากฏใบจริง เห็นควรให้พ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต LGN1-7 หรือเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ป้อนกันไว้ก่อน เพื่อเป็นการลดการงอกหรือการสร้างส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อสาเหตุโรคโดยอาศัยกลไก การป้องกันบริเวณที่เชื้อราสาเหตุโรคเข้าทำลาย (infection sites) นอกจากนี้เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต LGN1-7

เป็นเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากใบแตงกวา ซึ่งเมื่อพ่นลงบนต้นพืชแล้ว เชื้อแบคทีเรียยังสามารถมีชีวิตอยู่รอดได้ และควรพ่นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทุกๆ 7-10 วัน เพื่อให้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์มีปริมาณและประสิทธิภาพเพียงพอในการควบคุมโรค อีกทั้งจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ยังสามารถช่วยเพิ่มผลผลิตได้อีกด้วย (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 8 การประเมินการเกิดโรคราน้ำค้างบนแตงกวาในสภาพแปลงปลูกครั้งที่ 1 หลังจากพ่นกรรมวิธีต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน (ต้นแตงกวามีอายุ 30 วัน)

กรรมวิธี	การเกิดโรค (%) ^{2/}		
	ระดับใบล่าง	ระดับใบกลาง	โดยรวมทั้งต้น
พ่นน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ (control)	0.58 a ^{1/}	0.00 a ^{1/}	0.33 a ^{1/}
พ่นสารเคมี metalaxyl (250 ppm)	0.44 a	0.00 a	0.29 a
พ่นเชื้อรา <i>T. harzianum</i> CB-Pin-01	1.34 a	0.01 a	0.84 a
พ่นเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต LGN1-7	1.78 a	0.00 a	1.20 a
พ่นเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-1	0.62 a	0.00 a	0.41 a
พ่นเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-51	1.33 a	0.00 a	0.68 a

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันในแนวตั้งของตารางไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติวิเคราะห์โดย Duncan's Multiple Range Test (P=0.05)

^{2/} เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนใบแตงกวาคิดค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ แต่ละซ้ำคือ 10 ต้นต่อซ้ำ แต่ละต้นคือ 5 ใบ ที่ระดับใบล่าง 3 ใบ และที่ระดับใบกลาง 2 ใบ ประเมินโรคโดยการวัดพื้นที่ใบที่เป็นโรค ในพื้นที่ 100 ตารางเซนติเมตร

ตารางที่ 9 การประเมินการเกิดโรคราน้ำค้างบนแตงกวาในสภาพแปลงปลูกครั้งที่ 2 หลังจากพ่น
กรรมวิธีต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน (ต้นแตงกวามีอายุ 44 วัน)

กรรมวิธี	การเกิดโรค (%) ^{2/}		
	ระดับใบล่าง	ระดับใบกลาง	โดยรวมทั้งต้น
พ่นน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ (control)	76.29 a ^{1/}	26.75 a ^{1/}	56.39 a ^{1/}
พ่นสารเคมี metalaxyl (250 ppm)	67.77 ab (-44.17) ^{3/}	23.53 a (-12.04)	51.87 ab (-8.02)
พ่นเชื้อรา <i>T. harzianum</i> CB-Pin-01	48.15 b (-36.89)	22.50 a (-15.89)	39.65 ab (-29.69)
พ่นเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต LGN1-7	61.35 ab (-19.58)	19.50 a (-27.10)	45.39 ab (-19.51)
พ่นเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-1	63.43 ab (-16.86)	19.95 a (-25.42)	46.49 ab (-17.56)
พ่นเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-51	52.10 ab (-31.71)	19.50 a (-27.10)	37.90 b (-32.79)
% C.V.	24.42	33.64	23.23

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันในแนวตั้งของตารางไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติวิเคราะห์โดย Duncan's Multiple Range Test (P=0.05)

^{2/} เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคราน้ำค้างบนใบแตงกวาคิดค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ แต่ละซ้ำคือ 10 ต้นต่อซ้ำ แต่ละต้นคือ 5 ใบ ที่ระดับใบล่าง 3 ใบ และที่ระดับใบกลาง 2 ใบ ประเมินโรคโดยการวัดพื้นที่ใบที่เป็นโรค ในพื้นที่ 100 ตารางเซนติเมตร

^{3/} การลดลงของโรคราน้ำค้าง = $\frac{\text{การเกิดโรคในกรรมวิธีทดลอง} - \text{การเกิดโรคในกรรมวิธีควบคุม}}{\text{การเกิดโรคในกรรมวิธีควบคุม}} \times 100$

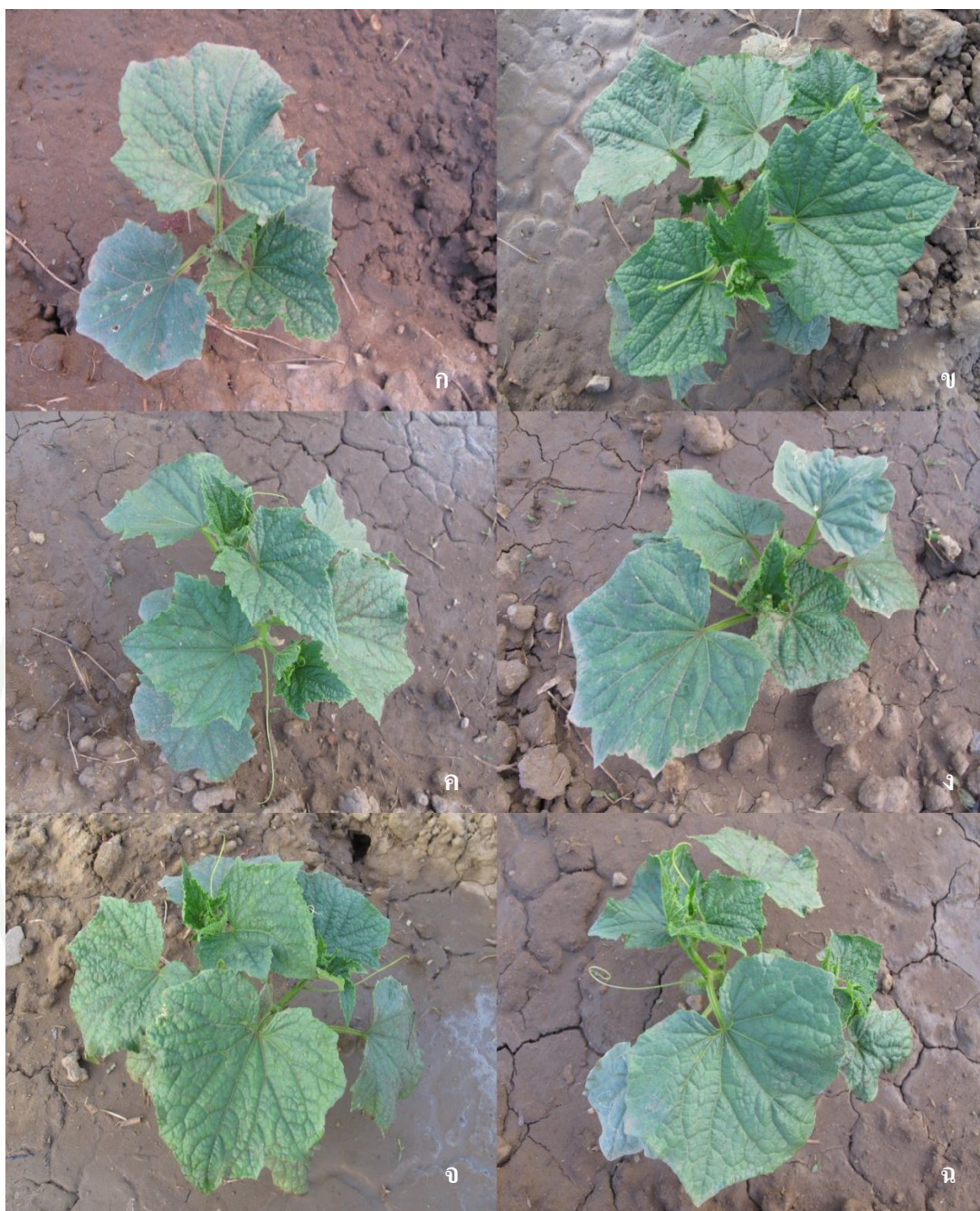
ตารางที่ 10 การประเมินการเกิดโรคน้ำค้ำบนแตงกวาในสภาพแปลงปลูกครั้งที่ 3 หลังจากพ่นกรรมวิธีต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน (ต้นแตงกวามีอายุ 58 วัน)

กรรมวิธี	การเกิดโรค (%) ^{2/}		
	ระดับใบล่าง	ระดับใบกลาง	โดยรวมทั้งต้น
พ่นน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ (control)	97.47 a ^{1/}	76.04 a ^{1/}	87.79 a ^{1/}
พ่นสารเคมี metalaxyl (250 ppm)	91.42 ab (-6.21) ^{3/}	75.63 a (-0.54)	85.19 ab (-2.96)
พ่นเชื้อรา <i>T. harzianum</i> CB-Pin-01	81.71 b (-16.17)	29.10 c (-61.73)	62.06 c (-29.31)
พ่นเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต LBN1-7	81.00 b (-16.90)	42.00 bc (-44.77)	65.09 c (-25.86)
พ่นเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-1	84.48 b (-13.33)	56.03 ab (-26.32)	73.30 bc (-16.51)
พ่นเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-51	84.37 b (-13.44)	44.68 bc (-41.24)	68.79 c (-21.64)
% C.V.	9.02	34.52	20.95

^{1/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันในแนวตั้งของตารางไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติวิเคราะห์โดย Duncan's Multiple Range Test (P=0.05)

^{2/} เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนใบแตงกวาคิดค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ แต่ละซ้ำคือ 10 ต้นต่อซ้ำ แต่ละต้นคือ 5 ใบ ที่ระดับใบล่าง 3 ใบ และที่ระดับใบกลาง 2 ใบ ประเมินโรคโดยการวัดพื้นที่ใบที่เป็นโรคในพื้นที่ 100 ตารางเซนติเมตร

^{3/} การลดลงของโรคน้ำค้ำ = $\frac{\text{การเกิดโรคในกรรมวิธีทดลอง} - \text{การเกิดโรคในกรรมวิธีควบคุม}}{\text{การเกิดโรคในกรรมวิธีควบคุม}} \times 100$



ภาพที่ 5 ต้นแตงกวาอายุ 30 วัน หลังจากพ่นด้วยกรรมวิธีต่างๆ ครั้งที่ 1 เป็นเวลา 7 วัน

ก. น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ (control -)

ข. สารเคมี metalaxyl

ค. เชื้อรา *Trichoderma harzianum* CB-Pin-01 (ชนิดน้ำ)

ง. เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต LBN1-7

จ. เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-1

ฉ. เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-51



ภาพที่ 6 ต้นแตงกวาอายุ 44 วัน หลังจากพ่นด้วยกรรมวิธีต่างๆ ครั้งที่ 2 เป็นเวลา 7 วัน

ก. น้ำนิ่งฆ่าเชื้อ (control -)

ข. สารเคมี metalaxyl

ค. เชื้อรา *Trichoderma harzianum* CB-Pin-01 (ชนิดน้ำ)

ง. เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต LGN1-7

จ. เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-1

ฉ. เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-51

4.2 ผลของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีต่อน้ำหนักผลผลิตของแตงกวา

จากการเก็บผลผลิตแตงกวาทุกวันหลังจากที่ต้นแตงกวาเริ่มให้ผลผลิต แล้วนำมาชั่งน้ำหนักพบว่า กรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 มีน้ำหนักผลผลิตเฉลี่ยต่อต้นสูงที่สุดคือ 1,150 กรัม รองลงมาคือกรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-1 มีน้ำหนักผลผลิตเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 1,030 กรัม เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่พ่นด้วยน้ำนิ่งมาเชื้อซึ่งมีน้ำหนักผลผลิตต่อต้นคือ 700 กรัม พบว่ากรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 และกรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-1 มีน้ำหนักผลผลิตต่อต้นมากกว่ากรรมวิธีควบคุม 64.29 และ 47.14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 11)

การเพิ่มขึ้นของน้ำหนักผลผลิตสอดคล้องกับการเกิดโรคในข้อ 4.1 (ตารางที่ 8,9,10) ซึ่งกรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 และกรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-1 มีการเกิดโรคบนใบน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม จึงทำให้มีผลผลิตสูงกว่าเนื่องจากโรคน้ำค้ำงเข้าทำลายที่ใบพืช แล้วใบค่อยๆ เหี่ยวตาย ส่งผลให้พื้นที่ใบที่จะสังเคราะห์แสงลดลง และเมื่อใบพืชเหี่ยวตาย ทำให้เกิดการลดลงของร่มใบ ซึ่งนำไปสู่การหยุดการพัฒนาของผลทำให้ผลมีลักษณะไม่สมบูรณ์ แคระแกร็น และโดนแสงอาทิตย์มากขึ้น เกิดแผลไหม้ ต่อมาเกิดอาการเน่าจากการเข้าทำลายซ้ำของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ มีผลต่อคุณภาพและปริมาณของผลผลิต (Keinath *et al.*, 2007)

ตารางที่ 11 น้ำหนักผลผลิตแตงกวาเฉลี่ยต่อต้นที่พ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลตต่างๆ, เชื้อรา *Trichoderma harzianum* CB-Pin-01 และสารเคมี metalaxyl

กรรมวิธี	น้ำหนักเฉลี่ย/ต้น (กรัม)	การเพิ่มขึ้นของผลผลิต (%)
พ่นน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ (control)	700 b ^L	-
พ่นสารเคมี metalaxyl (250 ppm)	800 ab	14.29
พ่นเชื้อรา <i>T. harzianum</i> CB-Pin-01	1,150 a	64.29
พ่นเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต LGN1-7	950 ab	35.71
พ่นเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-1	1,030 a	47.14
พ่นเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-51	990 ab	41.29

^L ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเดียวกันในแนวดิ่งของตารางไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติวิเคราะห์โดย Duncan's Multiple Range Test (P=0.05)



ภาพที่ 7 ลักษณะของผลแตงกวา

ก. ผลแตงกวาปกติ ผลยาว รี จากกรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อรา *Trichoderma harzianum*

CB- Pin-01

ข. ผลแตงกวาผิดปกติ ผลสั้น รูปร่างผิดปกติจากกรรมวิธีควบคุม

4.3 การศึกษาปริมาณประชากรเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และเชื้อรา *Pseudoperonosppra cubensis* บนใบแตงกวา เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

เมื่อตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลทและเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ที่ได้นำมาทดสอบประสิทธิภาพในแปลง โดยการพ่นลงบนใบแตงกวา พบว่าประชากรของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SDN-1 มีจำนวนเชื้อมากที่สุดเท่ากับ 8.5×10^6 cfu/cm² รองลงมาคือไอโซเลท SDN-51 มีจำนวนเชื้อเท่ากับ 8.33×10^6 cfu/cm² ส่วนเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 มีจำนวนเชื้อเท่ากับ 1.67×10^3 cfu/cm² (ตารางที่ 12) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีระยะเวลาของการมีชีวิตอยู่รอดได้แตกต่างกันขึ้นอยู่กับลักษณะของเชื้อและสภาพแวดล้อมในแปลงด้วย ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ ขวัญเนตร (2550) ที่ตรวจนับปริมาณของเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ที่พ่นบนต้นมะเขือเทศเพื่อลดโรคราใบดำและรดลงในวัสดุปลูก พบประชากรของเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 บนผิวใบพืชจำนวน $3.0 - 5.9 \times 10^2$ cfu/cm² ซึ่งมีปริมาณน้อยกว่าที่พบในวัสดุปลูกที่มีจำนวนประชากรเชื้อ $9.0 \times 10^3 - 3.1 \times 10^4$ cfu/cm² ในส่วนปริมาณของเชื้อแบคทีเรียในกรรมวิธีควบคุมและกรรมวิธีที่พ่นด้วยสารเคมี metalxyl นั้นอาจเป็นเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆ อาศัยอยู่ในธรรมชาติ ทั้งในอากาศและบนผิวใบ แต่ไม่มีคุณสมบัติในการควบคุมโรคหรือมีปริมาณไม่มากพอ ควรทำการพัฒนาให้ด้านทานต่อสารปฏิชีวนะ เพื่อเป็นเครื่องหมาย (marker) ในการตรวจปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่พ่นบนต้นพืช ว่าเป็นเชื้อแบคทีเรียไอโซเลทที่พ่นไปจริงและมีผลช่วยให้การเกิดโรคลดลง

ส่วนจำนวน sporangium ของเชื้อรา *P. cubensis* สาเหตุโรคราน้ำค้าง หลังจากการตรวจนับปริมาณด้วย haemocytometer พบว่า กรรมวิธีที่พ่นเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 พบจำนวน sporangium น้อยที่สุดเท่ากับ 1.74×10^4 sporangium/cm² รองลงมาคือกรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท LGN1-7 พบจำนวน sporangium เท่ากับ 1.8×10^4 sporangium/cm² ขณะที่กรรมวิธีควบคุม (control) พบจำนวน sporangium สูงที่สุดเท่ากับ 3.94×10^4 sporangium/cm² ส่วนกรรมวิธีที่พ่นด้วยสารเคมี metalaxyl พบจำนวน sporangium เท่ากับ 2.17×10^4 sporangium/cm² (ตารางที่ 12) ซึ่งสอดคล้องกับการเกิดโรคในข้อ 4.1 ซึ่ง กรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 และกรรมวิธีที่พ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท LGN1-7 มีการเกิดโรคน้อยกว่า เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม จึงทำให้พบจำนวน sporangium น้อยกว่าด้วยเช่นกัน

ตารางที่ 12 จำนวนประชากรของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา *Trichoderma harzianum* CB-Pin-01 และปริมาณ sporangium ของเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis*

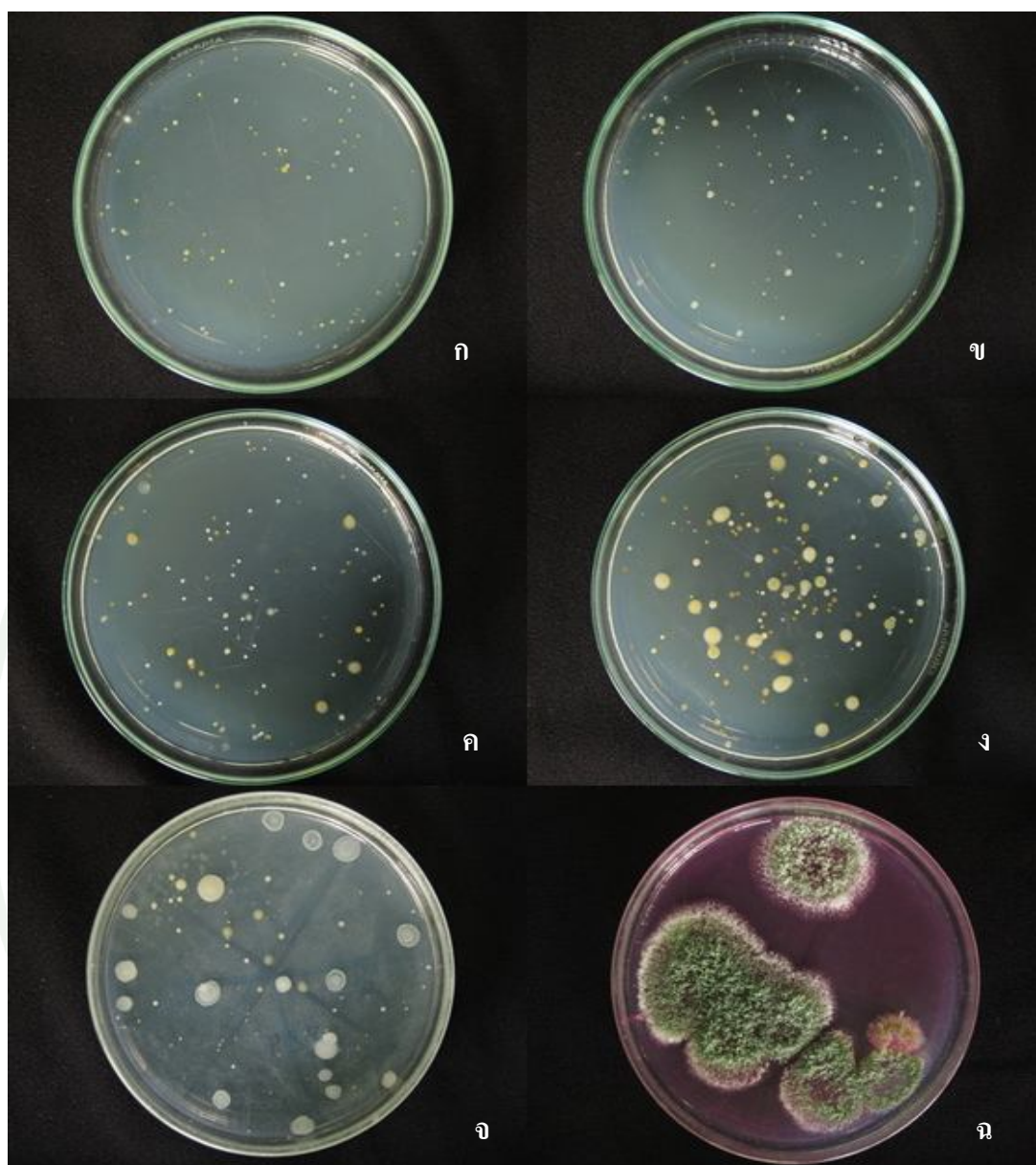
กรรมวิธี	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ ^{1/} (CFU/cm ²)	จำนวน sporangium ^{2/} (sporangium/cm ²)
พ่นน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ (control) ^{4/}	6.05x10 ⁶	3.94x10 ⁴
พ่นสารเคมี metalaxyl (250 ppm)	6.02x10 ⁶	2.17x10 ⁴
พ่นเชื้อรา <i>T. harzianum</i> CB-Pin-01 ^{3/}	1.67x10 ³	1.47x10 ⁴
พ่นเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต LGN1-7	5.63x10 ⁶	1.80 x10 ⁴
พ่นเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-1	8.5x10 ⁶	3.12 x10 ⁴
พ่นเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-51	8.33x10 ⁶	3.00x10 ⁴

^{1/} ประชากรของเชื้อจุลินทรีย์บนใบแตงกวา

^{2/} sporangium ของเชื้อรา *P. cubensis* บนใบแตงกวา

^{3/} ตรวจนับปริมาณของเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ peptone dextrose rose bengal agar (Martin's medium)

^{4/} ตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient glucose agar (NGA)



ภาพที่ 8 จำนวนประชากรเชื้อจุลินทรีย์บนผิวใบแตงกวาในกรรมวิธีต่างๆ

ก. น้ำนิ่งฆ่าเชื้อ (control)

ข. สารเคมี metalaxyl

ค. เชื้อแบคทีเรีย ไอโซเลต LGN1-7

ง. เชื้อแบคทีเรีย ไอโซเลต SDN-51

จ. เชื้อแบคทีเรีย ไอโซเลต SDN-1

ฉ. เชื้อรา *Trichoderma harzianum* CB-Pin-01

สรุปและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากดินบริเวณรากและใบของแตงกวาทั้งหมด 108 ไอโซเลตและมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการปล่อย zoospore ของเชื้อรา *Pseudoperonospora cubensis* ในระดับห้องปฏิบัติการได้จำนวน 6 ไอโซเลต โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 48.33-66.67 เปอร์เซ็นต์ หลังจากบ่มไว้เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

เมื่อนำแบคทีเรียที่คัดเลือกแล้ว 6 ไอโซเลตคือ SDN-1, SDN-44, SDN-62, SDN-51, LGN1-2 และ LGN1-7 โดยใช้เซลล์แขวนลอย (10^8 เซลล์/มิลลิลิตร) รวมถึงสปอร์แขวนลอยเชื้อรา *Trichoderma harzianum* CB-Pin-01 (10^7 สปอร์/มิลลิลิตร) มาทดสอบการควบคุมโรคราน้ำค้างในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง เปรียบเทียบกับสารเคมี metalaxyl โดยพ่นก่อนปลูกเชื้อสาเหตุโรค พบว่าการพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 สามารถช่วยลดการเกิดโรคราน้ำค้างได้เทียบเท่ากับการใช้สารเคมี metalaxyl จึงคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-1, SDN-51 และ LGN1-7 ซึ่งมีการเกิดโรคต่ำกว่าไอโซเลตอื่นๆ ไปทดสอบประสิทธิภาพในสภาพแปลงปลูกต่อไป

ในการทดสอบประสิทธิภาพในสภาพแปลงปลูก โดยนำเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลต มาเปรียบเทียบกับเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 และสารเคมี metalaxyl พบว่า *T. harzianum* CB-Pin-01, เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต LGN1-7 และ SDN-51 มีการเกิดโรคราน้ำค้างต่ำกว่าการใช้สารเคมี metalaxyl และสามารถลดการเกิดโรคลงได้ 29.30%, 25.66% และ 21.64% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (control)

นอกจากนี้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 และเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-1 สามารถช่วยเพิ่มน้ำหนักผลผลิตแตงกวาต่อต้นได้ 64.29% และ 47.14% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่มีน้ำหนักผลผลิตต่อต้นเท่ากับ 700 กรัม ขณะที่การใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 มีน้ำหนักผลผลิตต่อต้นเท่ากับ 1,150 กรัม และเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SDN-1 มีน้ำหนักผลผลิตต่อต้นเท่ากับ 1,030 กรัม

จากผลการทดลองทั้งหมดสรุปได้ว่า เชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลต คือ SDN-1, SDN-51 และ LGN1-7 รวมถึงเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 สามารถช่วยลดการเกิดโรคราน้ำค้างบนใบแตงกวาได้ โดยพ่นเชื้อจุลินทรีย์ป้องกันใบพืชไว้ก่อนที่จะเชื้อราสาเหตุโรคจะเข้าทำลาย และสามารถช่วยเพิ่มน้ำหนักผลผลิตของแตงกวาได้อีกด้วย

นอกจากนี้ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในด้านกลไกที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และคุณสมบัติอื่นๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อพืช เช่น การส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช เป็นต้น และการจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ รวมถึงการพัฒนากำนำไปใช้ในอนาคตต่อไป



เอกสารและสิ่งอ้างอิง

ขวัญเนตร หินอ่อน. 2550. ศักยภาพของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ในการชักนำให้ต้นมะเขือเทศต้านทานต่อโรคราใบดำสาเหตุจากเชื้อรา *Pseudocercospora fuligena*. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จิระเดช แจ่มสว่าง. 2549. การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.

_____. 2553. ไตรโคเดอร์มา: เชื้อราปฏิปักษ์ควบคุมโรคพืช. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.

_____, วรรณวิไล อินทนู และ กิตติพงษ์ ตรีตรุยานนท์. 2552. การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคขององุ่น. น. 5-34. ใน รายงานความก้าวหน้าโครงการวิจัยทุนอุดหนุนวิจัย มก. ปีงบประมาณ 2552. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

_____. และ วรรณวิไล อินทนู. 2545. การผลิตเชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสดด้วยเทคนิคอย่างง่ายเพื่อใช้ควบคุมโรคเน่าระดับดินของถั่วฝักยาวที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rofsii*, น. 114-122. ใน รายงานการประชุมวิชาการ ครั้งที่ 20 (สาขาพืช). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ทัศนาวร ทศกร. 2545. การควบคุมโรคเน่าดำของกล้วยไม้โดยชีววิธีด้วยการใช้จุลินทรีย์จากผิวพืช. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปิยะวดี เจริญวัฒนะ และ จารุลักษณ์ ขนบดี. 2552. การคัดเลือกสายพันธุ์แตงกวาที่ต้านทานต่อโรคราน้ำค้างในสภาพโรงเรือนและแปลงทดลอง. ว. วิทย. กษ. 40(3) (พิเศษ): 16-19.

พัชรา ปัจฉมานวงศ์, นวลจันทร์ ยอดเมือง, ปัญญา ษยามานนท์, ประณีต ศิริวิไลภ และ ชำนาญ ทองกลัด. 2537. ประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อราบางชนิดในการป้องกันกำจัด โรคราน้ำค้างของแตงกวา, น. 511-518. ใน รายงานการประชุมทาง วิชาการของ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 32 (สาขาพืช). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เพ็ญรัก เสาวภาคย์. 2552. ประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่เจริญรอบครองรากในการควบคุมโรค รากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ศรีสุข พูนผลกุล. 2554. สารป้องกันกำจัดโรคพืช Fungicide. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์ชุมนุม สหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.

ศศิธร วุฒินิชย์. 2545. โรคของผักและการควบคุม. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สมาคมอารักขาพืชไทย. 2543. คู่มือการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช. พิมพ์ครั้งที่ 1. บริษัทฮั่วน้ำ พรินต์ติ้ง จำกัด, กรุงเทพฯ.

อมรรัตน์ ภูไพบูลย์. 2551. โรคราน้ำค้างและราแป้ง. เลหการเกษตร 32(11): 202-206.

อรพรรณ วิเศษสังข์. 2552. คู่มือการเลือกใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืช. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์ ชุมชนสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.

Abdel-Kader, M.M., N.S. El-Mougy, M.D.E. Aly, S.M. Lashin and F. Abdel-Kareem. 2012. Greenhouse Biological Approach for Controlling Foliar Diseases of Some Vegetable. *Advances in Life Sciences* 2(4): 98-103.

Agrios, G.N. 2005. *Plant Pathology*. 5th ed. Academic Press, London.

- Anand, T., A. Chandrasekaran, S.P. Kuttalam, G. Senthilraja, T. Raguchander and R. Samiyappan. 2008. Effectiveness of azoxystrobin in the control of *Erysiphe cichoracearum* and *Pseudoperonospora cubensis* on cucumber. **Journal of Plant Protection Research** 48(2): 147-159.
- Anand, T., A. Chandrasekaran, S. Kuttalam, T. Raguchander and R. Samiyappan. 2009. Management of cucumber (*Cucumis Sativus* L.) mildews through azoxystrobin-tolerant *Pseudomonas fluorescens*. **J. Agric. Sci. Technol.** 11: 211-226.
- Andrew, J.H. 1992. Biological control in the phyllosphere. **Annu. Rev. Phytopathol.** 30: 603-635.
- Baider, A. and Y. Cohen. 2003. Synergistic interaction between BABA and mancozeb in controlling *Phytophthora infestans* in potato and Tomato and *Pseudoperonospora cubensis* in cucumber. **Phytoparasitica** 31(4): 399-409.
- Bedlan, G. 1989. Erstmaliger Nachweis von Oosporen von *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. Et. Curt.) Rost. an Gewächshausgurken in Österreich. **Pflanzenschutzberichte** 3: 119-120.
- Berkeley, M.S. and A. Curtis. 1868. *Peronospora cubensis*. **Bot. J. Linn. Soc.** 10: 363.
- Blakeman, J.P. 1981. **Microbial Ecology of the Phylloplane**. Academic Press, London.
- Choi, Y.J., S.B. Hong and H.D. Shin. 2005. A re-consideration of *Pseudoperonospora cubensis* and *P. humuli* based on molecular and morphological data. **Mycological Research** 109: 841-848.
- Cohen, Y. and J. Rotem. 1971. Dispersal and viability of sporangia of *Pseudoperonospora cubensis*. **Trans. Br. Mycol. Soc.** 57: 67-74.

- Cohen, Y. 1981. Downy mildew of cucurbits, pp. 341-354. In D.M. Spencer., ed. **The downy mildew**. Academic, London.
- Cohen, Y., I. Meron, N. Mor and S. Zuriel. 2003. A new pathotype of *Pseudoperonospora cubensis* causing downy mildew in cucurbits in Israel. **Phytoparasitica** 31: 458-466.
- Elad, Y. 2000. Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. **Crop Prot.** 19: 709-714.
- El-Gremi, Sh.M.A., K.E. Ghoniem, H.A. Mohamed and S.M.H. Kamel. 2013. Mode of Action of *Bacillus pumilus* in Suppressing *Pseudoperonospora cubensis* (Berk and Curt) Rostow, the Pathogen of Downy Mildew of Cucumber. **Egyptian Journal of Biological Pest Control** 23(1): 71-77.
- Fokkema, N.J. and J.V. Heuvel. 1986. **Microbiology of the phyllosphere**. Cambridge University Press, Cambridge.
- Gisi, U. 2002. Chemical control of downy mildew, pp. 119-159. In P.T.N. Spencer- Phillips, U. Gisi and A. Lebedeva., eds. **Advances in downy mildew research**. Vol.1. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Hahn, M. and K. Mendgen. 2001. Signal and nutrient exchange at biotrophic plant-fungus interfaces. **Curr. Opin. Plant Biol.** 4: 322-327.
- Holmes, G.J., C.E. Main and T.Z. Keever III. 2004. Cucurbits downy mildew: a unique pathosystem for disease forecasting, pp. 69-80. In P. Spencer-Phillips and M. Jeger., eds. **Advances in downy mildew research**. Vol. 2. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Kanetis, L., G.J. Holmes and P.S. Ojiambo. 2009. Survival of *Pseudoperonospora cubensis* sporangia exposed to solar radiation. **Plant Pathol.** 59: 313-323.

- Keinath, A.P., G.J. Holmes, K.L. Everts, D.S. Egel and D.B. Langston. 2007. Evaluation of combinations of chlorothalonil with azoxystrobin, harpin, and disease forecasting for control of downy mildew and gummy stem blight on melon. **Crop Prot.** 26: 83-88.
- Korbel, E. 1990. Possibility of biological control utilization against cucurbit downy mildew, pp. 62-64. In A. Lebeda., ed. **Cucurbit downy mildew**. Czechoslovak Scientific Society for Mycology by Czechoslovak Academy of Sciences, Praha, Czechoslovakia.
- Lebeda, A. 1986. *Pseudoperonospora cubensis*, pp. 81-85. In A. Lebeda., ed. **Methods of vegetable resistance screening against pathogens**. VHJ Sempra, Research and Breeding Institute for Vegetable Crops, Olomouc, Czechoslovakia.
- Lebeda, A. 1990. Biology and ecology of cucurbit downy mildew, pp. 13-45. In A. Lebeda., ed. **Cucurbit downy mildew**. Czechoslovak Scientific Society for Mycology by Czechoslovak Academy of Sciences, Praha, Czechoslovakia.
- Lebeda, A. and Y. Cohen. 2011. Cucurbit downy mildew (*Pseudoperonospora cubensis*) – biology, ecology, epidemiology, host-pathogen interaction and control. **Eur. J. Plant Pathol.** 129: 157-192.
- Lebeda, A. and F.J. Schwinn. 1994. The downy mildews - an overview of recent research progress. **J. Plant Dis. Prot.** 101: 225-254.
- Lebeda, A. and M.P. Widrlechner. 2003. A set of Cucurbitaceae taxa for differentiation of *P. cubensis* pathotypes. **J. Plant Dis. Prot.** 101: 337-349.
- Lebeda, A. and J. Urban. 2007. Temporal changes in pathogenicity and fungicide resistance in *Pseudoperonospora cubensis* populations. **Acta Hort.** 731: 327-336.
- Lebeda, A., L. Luhová, M. Sedlářová, and D. Jancová. 2001. The role of enzymes in plant fungal pathogens interactions. **J. Plant Dis. Prot.** 108: 89-111.

- Mahrisi, R.P. and B.S. Siradhana. 1984. On the occurrence of oospores of *Pseudoperonospora cubensis* in Rajasthan, India. **Indian Phytopathology** 37: 323-325.
- Martinez, B., E. Gonzalez and D. Infante. 2011. New evidences of antagonistic action of *Trichoderma asperellum* SAMUELS. **Rev. Proteccion Veg.** 26(2): 131-132.
- Mitani, S., S. Araki, T. Yamaguchi, Y. Takii, T. Ohshima and N. Matsuo. 2001. Biological properties of the novel fungicide cyazofamid against *Phytophthora infestans* on tomato and *Pseudoperonospora cubensis* on cucumber. **Pest Manag. Sci.** 58: 139-145.
- Ojiambo, P., L. Kanetis and G. Holmes. 2009. Forecasting long distance movement of *Pseudoperonospora cubensis* and the Cucurbit impPIPE. **Phytopathology** 99: S171.
- Ovadia, A., R. Biton and Y. Cohen. 2000. Induced resistance to downy mildew and Fusarium wilt in cucurbits, pp. 55-59. In N. Katzir and H. S. Paris eds. **Proceedings of 7th EUCARPIA Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding**. Acta Horticulture.
- Palti, J. 1975. *Pseudoperonospora cubensis* (Berk & M.A. Curtis) Rost. **CMI Description of Pathogenic Fungi and Bacteria** 457: 1-2.
- Palti, J. and Y. Cohen. 1980. Downy mildew of cucurbits (*Pseudoperonospora cubensis*): The fungus and its hosts, distribution, epidemiology and control. **Phytoparasitica** 8: 109-147.
- Portz, D., E. Koch and A. J. Slusarenko. 2008. Effects of garlic (*Allium sativum*) juice containing allicin on *Phytophthora infestans* and downy mildew of cucumber caused by *Pseudoperonospora cubensis*. **Eur. J. Plant Pathol.** 122: 197-206.
- Reuveni, R. and M. Raviv. 1997. Control of downy mildew in greenhouse-grown cucumbers using blue photoselective polyethylene sheets. **Plant Dis.** 81(9): 999-1004.

- Rostozev, S.I. 1903. Beitrage zur Kenntnis der Peronosporeen. **Flora** 92: 405-430.
- Savory, E.A., L.L. Granke, L.M. Quesada-ocampo, M. Varbanova, M.K. Hausbeck and B. Day. 2011. The cucurbit downy mildew pathogen *Pseudoperonospora cubensis*. **Mol. Plant Pathol.** 12(3): 217- 226.
- Schaad, N.W. 1980. **Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria.** American Phytopathological Socieity. 72 P.
- Scherf, A., J. Treutwein, H. Kleeberg and A. Schmitt. 2012. Efficacy of leaf extract fraction of *Glycyrrhiza glabra* L. against downy mildew of cucumber (*Pseudoperonospora cubensis*). **Eur. J. Plant Pathol.** 134: 755-762.
- Shitenberg, D., Y. Elad, M. Bornstein, G. Ziv, A. Grava and S. Cohen. 2010. Polyethylene Mulch Modifies Greenhouse Microclimate and Reduces Infection of *Phytophthora infestans* in Tomato and *Pseudoperonospora cubensis* in Cucumber. **Phytopathology** 100(1): 97-104.
- Singh, P.P and S.S Sokhi. 1989. 1st report of occurrence of oospores of *Pseudoperonospora cubensis* on 2 cucurbitaceous hosts. **Current Science** 58: 1330-1331.
- Sun, Z.B., X.F. Yuan, H. Zhang, L.F. Wu, C. Liang and Y.J. Feng. 2013. Isolation, screening and identification of antagonistic downy mildew endophytic bacteria from cucumber. **Eur. J. Plant Pathol.** 137: 847-857.
- Thomas, C.E. 1996. Downy mildew, pp. 25-27. In T.A. Zitter, D.L. Hopkins, and C.E. Thomas., eds. **Compedium of cucurbit diseases.** American Phytopathological Society Press, St. Paul.
- Urban, J. and A. Lebeda. 2006. Fungicide resistance in cucurbit downy mildew – methodological, biological and population aspects. **Ann. Appl. Biol.** 149: 63-75.

- Voglmayr, H. 2003. Phylogenetic study of *Peronospora* and related genera based on nuclear ribosomal ITS sequences. **Mycol. Res.** 107: 1132-1142.
- Voglmayr, H., A. Riethmüller, M. Göker, M. Weiß and F. Oberwinkler. 2004. Phylogenetic relationships of *Plasmopara*, *Bremia* and other genera of downy mildews with pyriform haustoria based on Bayesian analysis of partial LSU rDNA sequence data. **Mycol. Res.** 108: 1011-1024.
- Wang, H.C., M.G Zhou, J.X. Wang, C.J. Chen, H.X. Li and H.Y. Sun. 2009. Biological Mode of Action of Dimethomorph on *Pseudoperonospora cubensis* and Its Systemic Activity in Cucumber. **Agricultural Science in China** 8(2): 172-181.
- Wang, W., B.H. Ben-Daniel and Y. Cohen. 2004. Control of plant diseases by extracts of *Inula viscosa*. **Phytopathology** 94(10): 1042-1047.
- Whisson, S.C., P.C. Boevink, L. Moleleki, A.O. Avrova, J.G. Morales, E.M. Gilroy, M.R. Armstrong, S. Grouffard, P. van West, S. Chapman, I. Hein, I.K. Toth, L. Prtichard and P.R.J. Birch. 2007. A translocation signal for delivery of oomycete effector protein into host plant cells. **Nature** 450: 115-118.
- Yu, Y., J.K. Schjoerring and X. Du. 2010. Effect of silicon on the activities of defense-related enzymes in cucumber inoculated with *Pseudoperonospora cubensis*. **Journal of Plant Nutrition** 34(2): 243-257.
- Zaker, V. and F. Ommati. 1991. Observation of oospores of *Pseudoperonospora cubensis* on cucumber leaves in Iran. **Iran Journal of Plant Pathology** 27: 62-63.
- Zhang, Y.J., Z.W. Qin, and X.Y. Zhou. 2006. Study on the over-wintering of cucumber downy mildew in Heilongjiang province of China, Abstracts, p. 376. **In 27th International Horticultural Congress & Exhibition**, August 13–19 2006, COEX (Convention & Exhibition), Seoul, Korea.



สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

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

1. Potato dextrose agar (PDA)

มันฝรั่ง (ปอกเปลือกแล้ว)	200.0	กรัม
Dextrose	20.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled water	1.0	ลิตร

2. Nutrient glucose agar (NGA)

Beef extract	5.0	กรัม
Peptone	3.0	กรัม
Glucose	2.5	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled water	1.0	ลิตร

3. Nutrient glucose agar (NGB)

Beef extract	5.0	กรัม
Peptone	3.0	กรัม
Glucose	2.5	กรัม
Distilled water	1.0	ลิตร

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

KH_2PO_4	1.0	กรัม
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.5	กรัม
Bacto Peptone	5.0	กรัม
Dextrose	10.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled water	1.0	ลิตร
Rose Bengal red (1%)	0.036	กรัม
Streptomycin	1.0	กรัม

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

5. King's medium B

Proteose Peptone	20.0	กรัม
KH_2PO_4	1.5	กรัม
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1.5	กรัม
Glycerol	15.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled water	1.0	ลิตร

6. Thornton's medium

KH_2PO_4	1.5	กรัม
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1.5	กรัม
CaCl_2	0.1	กรัม
NaCl	0.1	กรัม
KNO_3	0.5	กรัม
Asparagine	0.5	กรัม
Manital	1.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled water	1.0	ลิตร

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	นายวันต์ ชูชาติ
วัน เดือน ปี ที่เกิด	26 ตุลาคม 2530
สถานที่เกิด	ภูเก็ต
ประวัติการศึกษา	ปี 2552 ระดับปริญญาตรี วท.บ. (เกษตรศาสตร์) เกียรตินิยมอันดับ 1 ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนส่วนตัวและความอนุเคราะห์วัสดุ อุปกรณ์ ห้องปฏิบัติการควบคุมโรคพืชโดยชีวภาพ
ประชุมวิชาการ/ผลงาน	ประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 11 เรื่อง การคัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคราน้ำค้าง ของแตงกวาที่เกิดจากเชื้อรา <i>Pseudoperonospora cubensis</i>