



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (โรคพืช)

ปริญญา

โรคพืช	โรคพืช
สาขา	ภาควิชา
เรื่อง	ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp. ในการควบคุมโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา <i>Pythium aphanidermatum</i> ของผักกาดหอม ซึ่งปลูกด้วยระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ NFT
	Efficacy of <i>Bacillus</i> spp. Bioproducts for the Control of Root Rot Caused by <i>Pythium aphanidermatum</i> on NFT-Hydroponically Grown Lettuce
نامผู้วิจัย	นางสาวจรรุวรรณ บัวสุวรรณ
ได้พิจารณาเห็นชอบโดย	
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	(รongศาสตราจารย์จระเดช แจ่มสว่าง, Ph.D.)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วรรณวิไล อินทนู, วท.ด.)
หัวหน้าภาควิชา	(ผู้ช่วยศาสตราจารย์รัชนี้ สงประบูร, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา วีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา

Pythium aphanidermatum ของผักกาดหอม ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ NFT

Efficacy of *Bacillus* spp. Bioproducts for the Control of Root Rot Caused by

Pythium aphanidermatum on NFT- Hydroponically Grown Lettuce

โดย

นางสาวจรรวณ บัวสุวรรณ

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช)

พ.ศ. 2556

จาวรณ บัวสุวรรณ 2556: ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ของผักกาดหอม ซึ่งปลูกด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์แบบ NFT ปรินญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (โรคพืช) สาขาโรคพืช ภาควิชาโรคพืช อาจารย์ที่ปรึกษา
วิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์ระเดช แจ่มสว่าง, Ph.D. 116 หน้า

จากการทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* spp. 3 สูตร เพื่อควบคุมโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ของผักกาดหอมชนิดปัตเตอร์เฮด ซึ่งปลูกด้วยระบบไฮโดรโปนิคส์แบบ NFT พบว่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus mycoides* FL17 เกล็ดแป้งสูตร 3 (3.7×10^{14} โคโลนี/กรัม) มีดัชนีการเกิดโรคต่ำที่สุด (25.17 เปอร์เซ็นต์) ขณะที่กรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* เกิดโรคสูงสุด (91.67 เปอร์เซ็นต์) และการใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus* sp. RO15 เกล็ดแป้งสูตร 3 (3.2×10^{14} โคโลนี/กรัม) มีดัชนีการเกิดโรค 35.41 เปอร์เซ็นต์ จากผลการทดลองอัตราการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้งสูตร 3 20 กรัม (ไม่บ่มเชื้อ) ต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนรากลดลงมากที่สุด (82.29 เปอร์เซ็นต์) เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม การใช้ชีวภัณฑ์ทุกครั้งที่มีการเปลี่ยนสารละลาย (ทุก 7 วัน) ช่วยลดการเกิดโรครากเน่าของผักกาดหอมได้ 61.39 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม อีกทั้งยังสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดหอมได้ด้วยโดยมีน้ำหนักสดของต้นผักกาดหอมเพิ่มขึ้น 84.61 เปอร์เซ็นต์

ในช่วงเดือนมีนาคม-เมษายน สภาพอุณหภูมิสูง (42 องศาเซลเซียส) พบว่าโรคมีความรุนแรงมาก (73.61 เปอร์เซ็นต์) ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้งสูตร 3 ที่พัฒนามีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคโดยช่วยลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 82.29 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมในช่วงที่สภาพอุณหภูมิสูง การใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้งสูตร 3 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่าและส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดหอมได้สูงกว่าการใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* ชนิดสดและสูงกว่าการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้งสูตร 3 ร่วมกับเชื้อรา *T. harzianum* ชนิดสด การใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้งสูตร 3 แบบเดี่ยว ช่วยเพิ่มธาตุฟอสฟอรัสและแคลเซียม (20, 10.64 เปอร์เซ็นต์) ในใบผักกาดหอม ช่วยลดการเกิดโรครากเน่าได้มากที่สุด (40.67 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งดีกว่าการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้งสูตร 3 ร่วมกับมูลไส้เดือนดิน (อัตรา 20 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร) ที่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคลดลง 23.73 เปอร์เซ็นต์ การใช้ชีวภัณฑ์ร่วมกับมูลไส้เดือนดินมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของต้นผักกาดหอมสูงที่สุด (149.19 กรัมต่อต้น) แสดงให้เห็นว่าการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียร่วมกับมูลไส้เดือนดินแม้ไม่ช่วยให้ประสิทธิภาพในการลดการเกิดโรคเพิ่มขึ้น แต่มีผลดีในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดหอม

ลายมือชื่อนิพนธ์

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

Jaruwan Buasuwan 2013: Efficacy of *Bacillus* spp. Bioproducts for the Control of Root Rot Caused by *Pythium aphanidermatum* on NFT- Hydroponically Grown Lettuce Master of Science (Plant Pathology), Major Field: Plant Pathology, Department of Plant Pathology. Thesis Advisor: Associate Professor Chiradej Chamswarnng, Ph.D. 116 pages.

Efficacy of the three granule bioproduct formulations of *Bacillus* spp. was evaluated for the control of root rot caused by *Pythium aphanidermatum* on NFT- hydroponically grown lettuce (Butterhead). Application of granule formulation No.3 of *B. mycoides* FL17 (3.7×10^{14} CFU/g) provided the lowest disease incidence (25.17 %) whereas, the highest disease incidence (91.67 %) was found in the *P. aphanidermatum* inoculated control. The *Bacillus* sp. RO15 granule formulation No.3 (3.2×10^{14} CFU/g) provided 35.41 % of disease incidence. The application rate (20 g/50 L nutrient solution, without incubation) of *B. mycoides* FL17 granule formulation No.3 significantly reduced disease incidence on lettuce roots by 82.29 % as compared to the control. The use of granule bioproduct every week after the nutrient solution change effectively reduced the root rot incidence of lettuce by 61.39 % and enhanced growth promotion of lettuce by increasing plant fresh weight (84.61%).

In trial periods March-April were observed during the periods of high temperature (42 C). The disease severities high disease incidences (73.61 %) Granule bioproduct No.3 of *B. mycoides* FL17 effectively reduced disease incidences by 37.5- 82.29 % as compared to the control under high temperature conditions. Moreover, this formulation also provided better root rot suppression and the promotion of lettuce growth than the uses of *Trichoderma harzianum* fresh culture singly and as the combination with *B. mycoides* FL17 bioproduct. Application of *B. mycoides* FL17 granule formulation No.3 alone increased phosphorus and calcium (20, 10.64 %) in lettuce leaf and also provided significant reduction of root rot incidence (40.67 %). This efficacy was better than the use of *B. mycoides* FL17 granule bioproduct No.3 in combination with vermicompost (20 g/50 L nutrient solution) which gave 23.73 % of disease reduction. Eventhough, this bacterial bioproduct-vermicompost combination could not provide promising disease reduction, it could promote plant growth by giving the highest fresh weight of lettuce plants (149.19 g/plant).

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร. จิระเดช แจ่มสว่าง ประธานกรรมการที่ปรึกษา
วิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.วรรณวิไล อินทนู กรรมการวิชาเอก ที่กรุณาให้ความรู้ ทั้งในเรื่องงานวิจัยเรื่อง
หลักในการใช้ชีวิต คำปรึกษาและกำลังใจที่มีให้เสมอมา คุณเพ็ญภัก เสาวภาคย์ ที่คอยให้คำแนะนำ
เสนอแนะแนวทางในการทดลองครั้งนี้

ขอขอบคุณทุกคนในครอบครัวบัวสุวรรณ คุณพ่อวิโรจน์ คุณแม่จิรพร พี่จ๊อบ น้องโจ๊ก และ
คุณอรรถพล แก่นสาร ที่คอยเป็นกำลังใจให้ข้าพเจ้าเสมอมา ทั้งในยามที่เจอปัญหาและท้อแท้
ขอบคุณความอบอุ่น ความรู้สึกดีดี กำลังใจของพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ในห้องปฏิบัติการควบคุมโรค
พืชโดยชีวภาพ ตลอดจนเจ้าหน้าที่แลป ทุกท่านที่หยิบนับประสบการณ์และสิ่งดีๆ ให้ข้าพเจ้าตลอด
ระยะเวลาที่ได้ใช้ชีวิตอยู่ในมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์แห่งนี้

ผลงานวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนคุณภาพงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา ประจำปี 2555
จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอมอบแด่ครอบครัว ครูอาจารย์ผู้
ประสทาวิชา ความรู้ ตลอดจนผู้มีพระคุณทุกท่านที่ได้สนับสนุน เป็นกำลังใจตลอดมาจนสำเร็จ
การศึกษา

จารวรรณ บัวสุวรรณ

มีนาคม 2556

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(6)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	26
ผลและวิจารณ์	41
สรุป	101
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	103
ภาคผนวก	110
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	114

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus mycoides</i> FL17 และ <i>Bacillus</i> sp. RO15 จากชีวภัณฑ์สูตรต่างๆ ที่เก็บรักษาไว้ เป็นระยะเวลา 12 เดือนที่อุณหภูมิห้อง (28 - 32 องศาเซลเซียส)	45
2 อิทธิพลของชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp. สูตรต่างๆ ต่อน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของผักกาดหอมเมื่อผักกาดหอมชนิด บัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์แบบ NFT และได้รับการปลูกเชื้อรา <i>Pythium aphanidermatum</i> (+ Pa)	48
3 ค่าดัชนีการเกิดโรคและความยาวรากของผักกาดหอมชนิด บัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์แบบ NFT และได้รับการปลูกเชื้อรา <i>Pythium aphanidermatum</i> (+ Pa)	50
4 ปริมาณเชื้อรา <i>Pythium aphanidermatum</i> และเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp. ในสารละลายธาตุอาหาร และบนรากผักกาดหอม (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์ NFT	52
5 ปริมาณเชื้อรา <i>Pythium aphanidermatum</i> และเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp. บนวัสดุปลูกในถ้วยเพาะกล้าและบนรากผักกาดหอม (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์แบบ NFT	54
6 อิทธิพลของอัตราการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp. ต่อการเจริญเติบโตของ ผักกาดหอมด้านจำนวนใบต่อต้านความกว้างทรงพุ่ม และเส้นรอบวงลำต้นของ ผักกาดหอมชนิดบัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์แบบ NFT และได้รับการปลูกเชื้อรา <i>Pythium aphanidermatum</i> (+ Pa)	59
7 ค่าดัชนีการเกิดโรคของผักกาดหอมชนิดบัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบ ไฮโดรโปนิคส์แบบ NFT และได้รับการปลูกเชื้อรา <i>Pythium aphanidermatum</i> (+ Pa)	62

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า	
8	อิทธิพลของอัตราการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp. ต่อน้ำหนักสดของผักกาดหอมชนิดปัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ NFT และได้รับการปลูกเชื้อรา <i>Pythium aphanidermatum</i> (+ Pa)	64
9	อิทธิพลของอัตราการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp. ต่อน้ำหนักแห้งของผักกาดหอมชนิดปัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ NFT และได้รับการปลูกเชื้อรา <i>Pythium aphanidermatum</i> (+ Pa)	65
10	ปริมาณเชื้อรา <i>Pythium aphanidermatum</i> และเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp. ในวัสดุปลูก (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ NFT ปริมาณเชื้อรา <i>Pythium aphanidermatum</i> และเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp.	67
11	บนวัสดุปลูกในถ้วยเพาะกล้าและบนรากผักกาดหอมชนิด ปัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ NFT	68
12	ความยาวราก และปริมาณเชื้อรา <i>Pythium aphanidermatum</i> และเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp. บนรากผักกาดหอมชนิด ปัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ NFT	70
13	อิทธิพลของการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย <i>Bacillus mycoides</i> ร่วมกับสารเสริมต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอม ในด้านจำนวนใบต่อต้นความกว้างทรงพุ่ม และเส้นรอบวงโคนต้นของผักกาดหอมชนิด ปัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ แบบ NFT และได้รับการปลูกเชื้อรา <i>Pythium aphanidermatum</i> (+ Pa)	74
14	อิทธิพลของการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย <i>Bacillus mycoides</i> สายพันธุ์ FL17 ร่วมกับสารเสริมต่างๆ ต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของผักกาดหอมชนิด ปัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ NFT และได้รับการปลูกเชื้อรา	76

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า	
15	ค่าดัชนีการเกิดโรคของผักกาดหอมชนิด บัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ NFT และได้รับการปลูกเชื้อรา <i>Pythium aphanidermatum</i> (+ Pa)	77
16	ปริมาณเชื้อรา <i>Pythium aphanidermatum</i> และเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp. ในสารละลายธาตุอาหาร ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ NFT	79
17	ปริมาณเชื้อรา <i>Pythium aphanidermatum</i> และเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp. ในสารละลายธาตุอาหาร และบนรากผักกาดหอม (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ NFT	80
18	อิทธิพลของการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย <i>Bacillus mycoides</i> สายพันธุ์ FL17 ร่วมกับสารเสริมต่อความยาวราก และปริมาณจุลินทรีย์บนรากผักกาดหอมชนิด บัตเตอร์เฮด(อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ NFT	82
19	อิทธิพลของการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย <i>Bacillus mycoides</i> สายพันธุ์ FL17 ร่วมกับสารเสริมต่อปริมาณธาตุอาหารในผักกาดหอมชนิด บัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ NFT	83
20	อิทธิพลของจำนวนครั้งในการใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย <i>Bacillus mycoides</i> ต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอม ในด้านจำนวนใบต่อต้นความกว้างทรงพุ่ม และเส้นรอบวงลำต้นของผักกาดหอมชนิด บัตเตอร์เฮด(อายุ 42 วัน) และได้รับการปลูกเชื้อรา <i>Pythium aphanidermatum</i> (+ Pa)	88
21	อิทธิพลของจำนวนครั้งในการใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย <i>Bacillus mycoides</i> ต่อ น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของผักกาดหอมชนิด บัตเตอร์เฮด(อายุ 42 วัน) และได้รับการปลูกเชื้อรา <i>Pythium aphanidermatum</i> (+ Pa)	90
22	ค่าดัชนีการเกิดโรคของผักกาดหอมชนิด บัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ NFT และได้รับการปลูกเชื้อรา <i>Pythium aphanidermatum</i> (+ Pa)	93

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
23	ปริมาณเชื้อรา <i>Pythium aphanidermatum</i> และเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus mycoides</i> สายพันธุ์ FL17 บนวัสดุปลูกในถ้วยเพาะกล้าและรากของผักกาดหอม ชนิด บัตเตอร์เฮด(อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ NFT	94
24	ปริมาณเชื้อรา <i>Pythium aphanidermatum</i> และเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus mycoides</i> สายพันธุ์ FL17 ในสารละลายธาตุอาหาร ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ NFT	95
25	ความยาวราก และปริมาณเชื้อรา <i>Pythium aphanidermatum</i> และเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus mycoides</i> บนรากผักกาดหอมชนิด บัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ NFT	97

สารบัญภาพ

ตารางที่	หน้า
1	ชุดรางปลูกระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ NFT ซึ่งดัดแปลงโดย คุณอรรถพร สุนทรสันต์ 31
2	รากผักกาดหอมที่แสดงอาการเน่าโดยปลายรากจะมีสีน้ำตาลเข้มจนถึงดำและอาการเกิดเชื้อรา <i>Pythium aphanidermatum</i> ที่เจริญบนอาหาร PDA เป็นเวลา 2 วันที่อุณหภูมิห้อง 41
3	เชื้อ <i>Bacillus mycoides</i> สายพันธุ์ FL17 streak บนอาหาร NGA ผสม rifampicin 100 ppm อายุ 48 ชั่วโมง 43
4	โคโลนีเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp. ในชีวภัณฑ์ จากการทำ dilution plate บนอาหาร nutrient glucose agar (NGA) 44
5	ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย <i>B. mycoides</i> สายพันธุ์ FL17 เกล็ดสูตร 1 2 3 46
6	อิทธิพลของชีวภัณฑ์แบคทีเรีย <i>Bacillus mycoides</i> ต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของผักกาดหอม (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ NFT และได้รับการปลูกเชื้อรา <i>Pythium aphanidermatum</i> (+ Pa) 55
7	อิทธิพลของอัตราการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp. ต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของผักกาดหอม ชนิด บัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ NFT และได้รับการปลูกเชื้อรา <i>Pythium aphanidermatum</i> (+ Pa) 77
8	อิทธิพลของการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย <i>Bacillus mycoides</i> สายพันธุ์ FL17 ร่วมกับสารเสริมต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของผักกาดหอม ชนิดบัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ NFT และได้รับการปลูกเชื้อรา <i>Pythium aphanidermatum</i> (+ Pa) 84
9	อิทธิพลของจำนวนครั้งในการใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย <i>Bacillus mycoides</i> ต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของผักกาดหอมชนิด บัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ NFT และได้รับการปลูกเชื้อรา <i>Pythium aphanidermatum</i> (+ Pa) 99

สารบัญภาพ (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
10	การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เมื่อนำวัสดุปลูกในถ้วยเพาะกล้า รากของผักกาดหอม และสารละลายธาตุอาหารมาตรวจบนอาหารจำเพาะ โดยตรวจเชื้อรา <i>P. aphanidermatum</i> บนอาหาร BNPR และ แบคทีเรียปฏิบัฏบนอาหาร NGAผสม rifampicin 50 ppm
	101

ประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา
Pythium aphanidermatum ของผักกาดหอม ซึ่งปลูกด้วยระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ NFT

Efficacy of *Bacillus* spp. Bioproducts for the Control of Root Rot Caused by

Pythium aphanidermatum on NFT- Hydroponically Grown Lettuce

คำนำ

ปัจจุบันผู้บริโภคได้หันมาให้ความสนใจในเรื่องของสุขภาพ ทำให้มีการบริโภคผักกันมากขึ้น แต่เนื่องจากความไม่แน่ใจในเรื่องของสิ่งตกค้างจากสารเคมีที่ใช้ในการกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ ผักไฮโดรโปนิกส์จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ผู้บริโภคได้หันมาให้ความสนใจมากกว่าผักที่ปลูกในดิน เนื่องจากการปลูกพืชในระบบไฮโดรโปนิกส์ไม่มีการใช้สารเคมีในการกำจัดศัตรูพืชแต่อย่างใด สามารถเพิ่มคุณภาพและปริมาณของผลผลิตได้ ทั้งยังช่วยลดปัญหาสภาพแวดล้อม (Furlani *et al.* 1999) การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินหรือไฮโดรโปนิกส์ (Hydroponics) สามารถปลูกได้ทุกพื้นที่แม้ว่าจะไม่มีที่ดินสำหรับปลูกพืช แต่อย่างไรก็ตามแม้ว่าจะไม่ใช้ดินที่เป็นที่อยู่ของโรคพืชชนิดต่างๆ แต่ในระบบไฮโดรโปนิกส์ก็ยังประสบปัญหาทางด้านโรคพืชเช่นกัน เพราะเชื้อสาเหตุโรคสามารถเข้าสู่ระบบการผลิตได้ง่าย โดยปนเปื้อนมากับวัสดุอุปกรณ์ทางการเกษตรที่ใช้ ตลอดจนฝุ่นละอองต่างๆ ในบริเวณปลูกที่ติดมากับวัสดุปลูก และผู้ปฏิบัติงานภายในโรงเรือน เมื่อเกิดโรคขึ้นในระบบเชื้อโรคก็สามารถแพร่ไปยังต้นปกติและก่อให้เกิดความเสียหายได้ โดยเฉพาะเชื้อราในกลุ่ม *Pythium* spp. ซึ่งจัดเป็นเชื้อราสาเหตุโรคพืชสำคัญที่พบมากในระบบไฮโดรโปนิกส์ ทำให้เกิดโรครากและลำต้นเน่า เพราะเชื้อราเจริญได้อย่างรวดเร็ว สร้าง zoospore ที่ว่ายน้ำได้ ทำให้เชื้อสามารถแพร่กระจายไปกับน้ำและสารละลายธาตุอาหารในระบบได้อย่างรวดเร็ว เมื่อเชื้อราชนิดนี้เข้าทำลายพืชจะส่งผลกระทบต่อปริมาณ และคุณภาพของผลผลิตที่จะได้รับ (จิระเดช, 2552) การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีกำลังเป็นที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก เนื่องจากเป็นวิธีที่ประหยัด ไม่ต้องเสี่ยงต่อการตกค้างจากสารเคมี โดยเน้นการควบคุมไปที่การใช้แบคทีเรียปฏิชีวนะป้องกันกำจัดเชื้อสาเหตุโรคในบริเวณราก วัสดุปลูก และเชื้อสาเหตุโรคในสารละลายธาตุอาหาร (เพ็ญภัก, 2552) เพราะเชื้อแบคทีเรียมีข้อได้เปรียบกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ คือ สามารถเพิ่มปริมาณได้รวดเร็ว ชักนำให้พืชเกิดความต้านทาน

สามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้หลายชนิดรวมทั้งการใช้แบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus subtilis* และ *Pseudomonas fluorescens* เพื่อความสะอาด และเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมโรคจึงได้พัฒนาชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิชีวนะที่มีความสามารถในการควบคุมโรคได้ดีให้อยู่ในรูปแบบชีวภัณฑ์ ที่มีอายุการเก็บรักษาได้นานขึ้น มีการลดลงของเชื้อในปริมาณที่ต่ำลง และยังช่วยคงประสิทธิภาพในการควบคุมโรค ดังนั้นการศึกษาค้นคว้าจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาสูตรสำเร็จหรือรูปแบบของชีวภัณฑ์ที่มีความสามารถในการควบคุมโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อราสาเหตุ *Pythium aphanidermatum* ของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์แบบ NFT (Nutrient Film Technique)

วัตถุประสงค์

1. เพื่อหาสูตรที่เหมาะสมในการผลิตชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* spp. สำหรับใช้ควบคุมโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ของผักกาดหอมชนิดบัตเตอร์เฮดที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ NFT (Nutrient Film Technique)
2. เพื่อศึกษาความมีชีวิตรอดของชีวภัณฑ์และทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรครากเน่า
3. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ของผักกาดหอมชนิดบัตเตอร์เฮดที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ NFT (Nutrient Film Technique)

การตรวจเอกสาร

การปลูกพืชแบบไม่ใช้ดินมาจากรากศัพท์ภาษาอังกฤษว่า soilless culture หมายถึง การปลูกพืชในวัสดุปลูกที่ไม่มีดินเป็นส่วนผสม อาจจะปลูกในวัสดุปลูกอินทรีย์หรืออนินทรีย์ที่ไม่มีการปนเปื้อนของดิน เช่น การใช้กรวด ทราย โยหิน (rockwool) พีท (peat) เพอร์ไลต์ (perlite) เวอร์มิคูไลต์ (vermiculite) แกลบดิบ แกลบเผา ขุยมะพร้าว หรือวิธีการปลูกพืชเพื่อให้พืชได้รับสารอาหารหรือสารละลายธาตุอาหารพืชจากน้ำที่ผสมกับธาตุอาหารจากทางราก โดยพืชที่ปลูกนั้นจะปลูกอยู่บนวัสดุหรือไม่มีวัสดุปลูกก็ได้ (ดิเรก, 2546)

ในที่นี้จะกล่าวถึงรายละเอียดเฉพาะการปลูกพืชในสารละลายธาตุอาหาร ระบบไฮโดรโปนิคส์ (Hydroponics) ซึ่งเป็นการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ด้วยการปลูกพืชให้รากได้สัมผัสกับสารละลายธาตุอาหารพืชโดยตรง จำแนกออกได้เป็น 5 ระบบ ดังนี้

1. การปลูกแบบระบบให้สารละลายธาตุอาหารพืชไหลผ่านรากพืชเป็นแผ่นบางบนรางปลูกอย่างต่อเนื่อง (Nutrient Film Technique, NFT) เป็นการให้สารอาหารไหลไปอย่างช้าๆ แบบแผ่นฟิล์มบางๆ ประมาณ 1-3 มิลลิเมตร ไปตามทางลาดชันของรางปลูก (ประมาณ 2 เปอร์เซ็นต์) และมีการหมุนเวียนของสารละลายกลับมาอีกอย่างต่อเนื่องผ่านรากพืชที่อยู่ในรางปลูก

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

3. การปลูกแบบระบบให้สารละลายธาตุอาหารพืชไหลผ่านรากพืชในรางปลูกหรือท่อปลูกหรือถาดปลูกในระดับลึก (Deep Flow Technique, DFT) เป็นการปลูกพืชในระบบปลูกที่ให้รากพืชอยู่ในสารละลายธาตุอาหารพืชลึกกว่า 2 แบบที่กล่าวมา

4. การปลูกแบบระบบให้สารละลายธาตุอาหารพืชและอากาศไหลวนผ่านรากพืชในระดับลึกอย่างต่อเนื่องในถาดปลูก (Dynamic Root Floating Technique, DRFT) เป็นระบบที่พัฒนามาจาก

ระบบ DFT แต่เพิ่มความไหลเวียนของอากาศและธาตุอาหารโดยการให้พืชได้รับทั้งอากาศและสารละลายธาตุอาหารที่มีการหมุนเวียนผ่านรากพืชอย่างต่อเนื่อง

5. การปลูกแบบระบบให้สารละลายธาตุอาหารพืชท่วมสลับระบายออกอย่างต่อเนื่อง (Flood and Drain, FAD) ระบบนี้สามารถให้สารละลายท่วมภาชนะปลูกและรากพืชอยู่ระยะเวลาหนึ่งแล้วค่อยๆ ระบายออก และเมื่อระบายออกได้ระยะเวลาหนึ่งแล้วจึงให้สารละลายใหม่อีกครั้ง

ข้อดีของการปลูกพืชในระบบไฮโดรโพนิกส์

1. สามารถปลูกพืชได้ต่อเนื่องตลอดปี เมื่อเก็บผลผลิตผักแล้วสามารถปลูกพืชผักรุ่นต่อไปได้ทันที เนื่องจากไม่ได้ปลูกพืชลงดินจึงไม่ต้องทิ้งระยะเวลาเพื่อพักดิน ตากดิน กำจัดวัชพืช และเตรียมแปลงปลูกใหม่ การปลูกพืชในดินต่อเนื่องเป็นเวลานานยังทำให้เกิดปัญหาดินเสื่อมสภาพ แต่การปลูกพืชในระบบไฮโดรโพนิกส์สามารถปลูกพืชต่อเนื่องได้โดยไม่ต้องกลัวปัญหานี้ เนื่องจากแหล่งอาหารของพืชไม่ได้มาจากดิน แต่มาจากธาตุอาหารต่างๆ ที่ให้ทางสารละลายธาตุอาหาร นอกจากนี้การปลูกพืชด้วยเทคนิคนี้ไม่ขึ้นกับฤดูกาล เพราะมีการควบคุมสภาพแวดล้อม จึงเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ปลูกได้ต่อเนื่องตลอดปี

2. สามารถปลูกพืชได้แม้ในที่ที่ไม่มีพื้นที่สำหรับปลูกพืช การอาศัยอยู่ในชุมชนเมืองซึ่งที่ดินมีราคาแพง ผู้อยู่อาศัยในที่ที่มีพื้นที่จำกัด เช่น ตึกแถว ทาวน์เฮาส์ อาคารชุด และหอพัก ไม่มีพื้นที่สำหรับปลูกพืช ก็สามารถปลูกพืชผักสวนครัว สมุนไพร หรือไม้ดอกไม้ประดับ ได้โดยใช้ระบบไฮโดรโพนิกส์ขนาดเล็กวางบริเวณพื้นที่ว่างที่มีอยู่เล็กน้อย เช่น ริมหน้าต่าง ทางเดิน ดาดฟ้า พื้นที่เล็กๆ หลังบ้าน

3. สามารถปลูกพืชในที่ที่ดินไม่เหมาะสม ในบางพื้นที่มีพื้นที่อยู่มากมาย แต่เพาะปลูกพืชไม่ได้ เนื่องจากดินขาดความอุดมสมบูรณ์ เช่น ดินทะเลทราย พื้นที่ที่เป็นหิน พื้นที่ภูเขา ดินเค็ม ดินกรด ดินด่าง พื้นที่อยู่ในเขตแห้งแล้ง หรือขาดแคลนน้ำชลประทาน การแก้ปัญหาเหล่านี้ทำได้ยาก ต้องใช้เวลานาน และใช้งบประมาณมาก สามารถใช้พื้นที่ที่มีอยู่ปลูกพืชได้ในระบบไฮโดรโพนิกส์ เพราะนอกจากไม่ต้องใช้ดินเป็นแหล่งอาหารสำหรับพืชแล้ว ยังเป็นวิธีที่ใช้น้ำน้อยและใช้อย่างมี

ประสิทธิภาพ พืชไม่มีปัญหาขาดน้ำ ไม่มีการสูญเสียน้ำจากการซึมลึก การไหลทิ้ง หรือการแข่งน้ำจากวัชพืช ไม่มีปัญหาการให้น้ำมากเกินไป

4. พืชเจริญเติบโตได้เร็วและให้ผลผลิตสูง การปลูกพืชด้วยวิธีดั้งเดิม ไม่สามารถกำหนดปริมาณธาตุอาหารให้พอดีกับความต้องการของพืชได้ นอกจากนั้นยังมีการสูญเสียธาตุอาหารจากกระบวนการต่างๆ ที่เกิดขึ้นในดินและในอากาศ ตลอดจนการแย่งธาตุอาหารจากวัชพืช แต่การปลูกพืชในระบบไฮโดรโปนิกส์ สามารถควบคุมปริมาณสารอาหารได้ดีกว่าการปลูกในดิน สามารถกำหนดปริมาณธาตุอาหารให้ตรงกับความต้องการของพืช พืชได้รับสารอาหารในรูปอนินทรีย์โดยตรง ทำให้การใช้ปุ๋ยเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ยังไม่มีปัญหาการแย่งธาตุอาหารโดยวัชพืช จึงทำให้พืชเจริญเติบโตเร็วและได้ผลผลิตสูง ในอีกแง่หนึ่งถ้าคำนึงถึงผลผลิตต่อปี ผลผลิตจากการผลิตในระบบไฮโดรโปนิกส์ก็จะสูงกว่าการปลูกด้วยวิธีดั้งเดิม เนื่องจากการเก็บเกี่ยวได้เร็วขึ้นและปลูกต่อเนื่องได้ตลอดปีไม่ขึ้นกับฤดูกาล ทำให้สามารถปลูกพืชได้มากกว่าในเวลาเท่ากัน

5. ผลผลิตมีความสม่ำเสมอ สะอาดและคุณภาพดี เนื่องจากการควบคุมปริมาณธาตุอาหารตามที่พืชต้องการตลอดจนควบคุมปัจจัยทางด้านสภาพแวดล้อมได้ทั่วถึง ทำให้ได้ผลผลิตที่มีความสม่ำเสมอ มีรูปร่าง สี ขนาด ใกล้เคียงกัน ผลผลิตไม่ได้สัมผัสกับดิน จึงสะอาดและน่ารับประทาน การปลูกพืชด้วยวิธีนี้จึงเป็นวิธีที่เหมาะสมต่อการผลิตพืชผักที่มีคุณภาพและความสม่ำเสมอ เช่น ผักสลัด ผักทอดแทนการนำเข้า และผักส่งขาย

6. ใช้แรงงานน้อยลง การปลูกพืชในระบบไฮโดรโปนิกส์ใช้แรงงานน้อยกว่าการปลูกพืชด้วยวิธีดั้งเดิม เนื่องจากไม่ต้องมีการเตรียมดิน ไม่ต้องทำการเขตกรรม เช่น ให้น้ำ ใส่ปุ๋ย กำจัดวัชพืช มีศัตรูพืชน้อยกว่า จึงใช้แรงงานในการกำจัดน้อยกว่า การเพาะเมล็ด การย้ายปลูก การเตรียมแปลงปลูก และการเก็บเกี่ยว ทำได้ง่ายกว่า จึงใช้แรงงานน้อยกว่า

7. ลดการใช้สารเคมี เนื่องจากการควบคุมสภาพแวดล้อม ควบคุมศัตรูพืชได้ง่าย เพราะไม่ใช้ดินในการปลูกพืช ทำให้ไม่มีปัญหาโรคแมลงที่อยู่ในดินตลอดจนไม่มีปัญหาวัชพืช ส่วนโรคแมลงที่ระบาดทางอากาศก็สามารถลดการใช้สารเคมีได้โดยการใช้โรงเรือนตาข่าย

8. ปลุกพีชได้ทุกฤดูกาลและทุกสภาพอากาศ เนื่องจากการควบคุมปริมาณธาตุอาหารให้พอดีกับความต้องการของพีชและมีการควบคุมสภาพแวดล้อมอื่นๆ ให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพีช การที่สามารถปลุกพีชได้ตลอด ไม่ขึ้นกับฤดูกาล ทำให้สามารถควบคุมราคาได้โดยไม่ขึ้นลงตามฤดูกาล

9. ลดค่าใช้จ่ายด้านแรงงาน เพราะไม่ต้องเตรียมดิน กำจัดวัชพีชและแมลง

ข้อเสียของการปลุกพีชในระบบไฮโดรโปนิกส์

1. ค่าใช้จ่ายในการลงทุนครั้งแรกค่อนข้างสูง ทำให้ผลผลิตที่ได้มีราคาแพง ต้องเลือกปลุกพีชที่มีราคา ค่าใช้จ่ายที่ทำให้ต้นทุนสูงคือ ค่าก่อสร้างโรงเรือน ค่าสารเคมี ค่าอุปกรณ์และค่าดูแลรักษา การลงทุนระยะแรกอาจไม่คุ้ม แต่จะให้ผลคุ้มค่าในระยะยาว และต้องดำเนินการในพื้นที่มากจะคุ้มกว่าพื้นที่น้อย

2. ต้องใช้เทคนิคขั้นสูง ผู้ปลูกต้องมีความรู้ความเข้าใจในเทคนิคที่เลือกใช้เป็นอย่างดี นอกจากนี้ยังต้องมีความรู้ในเรื่องธาตุอาหารพีช น้ำ สรีรวิทยาของพีช สารละลาย และเครื่องมือควบคุมระบบต่างๆ อีกด้วย

3. มีโอกาสเกิดโรคที่มาจากน้ำได้ง่ายและยากต่อการควบคุม โดยเฉพาะอย่างยิ่งการปลูกในสารละลาย ไม่ว่าจะเป็นระบบหมุนเวียนหรือไม่หมุนเวียน ถ้ามีโรคเกี่ยวกับระบบราก จะแพร่กระจายอย่างรวดเร็วและยากต่อการป้องกันกำจัด เพราะพีชแต่ละต้นใช้สารละลายในแหล่งเดียวกันเชื้อจะระบาดไปทั่วระบบในเวลาอันสั้นโดยติดไปในสารละลาย

4. สาเหตุอื่นทำให้เกิดความเสียหาย เช่น กระแสไฟฟ้าขัดข้อง อุปกรณ์ชำรุด

5. การทำเชิงพาณิชย์จะต้องเลือกแหล่งผลิตที่มีคุณภาพน้ำที่ดี และมีช่างมีประสบการณ์ด้านวิศวกรรม

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของผักกาดหอม (ศรานนท์, ม.ป.ป.)

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

ราก เป็นระบบรากแก้ว มีรากแก้วที่แข็งแรงอวบอ้วน และเจริญอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะเมื่อปลูกในดินร่วนปนทรายที่มีความชื้นเพียงพอ รากแก้วสามารถหยั่งลึกลงไปดินได้ถึง 5 ฟุต หรือมากกว่าแต่รากแก้วจะเสียหายในขณะที่ย้ายปลูก ดังนั้นรากที่เหลือจะเป็นรากแขนง ซึ่งแผ่กระจายอยู่ใต้ผิวดินประมาณ 1-2 ฟุต รากมักจะอยู่รวมกันเป็นกลุ่มหนาแน่น ไม่ค่อยแพร่กว้างออกไปมากนัก อย่างไรก็ตามการย้ายปลูกนั้นมีผลดีในการช่วยให้ผักกาดหอมประเภทหัว (Head type) ห่อหัวได้ดีขึ้น ลำต้นในระยะแรกมักจะมองไม่ค่อยเห็น เนื่องจากมีใบปกคลุมไว้ จะเห็นชัดก็ต่อเมื่อระยะแทงช่อดอก ลักษณะลำต้นผักกาดหอมจะตั้งตรง สูงชะลูดขึ้นจนสามารถมองเห็นได้อย่างชัดเจน ลำต้นมีลักษณะอวบอ้วน ถ้าปลูกในที่ที่มีความอุดมสมบูรณ์มากๆ จะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางถึง 2 นิ้ว ลำต้นมีลักษณะเป็นข้อสั้น แต่ละข้อจะเป็นที่เกิดของใบ ใบแตกออกมาจากลำต้นโดยรอบ สีใบมีตั้งแต่เขียวอ่อน เขียวปนเหลือง จนถึงสีเขียวแก่ บางพันธุ์มีสีแดงหรือน้ำตาลปนอยู่ ทำให้มีสีแดง บรอนซ์ หรือน้ำตาลปนเขียว พันธุ์ที่ห่อเป็นหัวจะมีใบหนา เนื้อใบอ่อนนุ่ม ใบห่อหัวอัดกันแน่นคล้ายกะหล่ำปลี ใบที่ห่ออยู่ข้างในเป็นมัน บางชนิดมีใบม้วนงอเปราะ มีเส้นใบเห็นได้ชัด ขอบใบมีลักษณะเป็นหยัก ขนาดและรูปร่างของใบผักกาดหอมจะแตกต่างกันตามชนิดและสายพันธุ์ดอกและช่อดอก มีลักษณะเป็นช่อแบบที่เรียกว่า Panicle ประกอบด้วยกลุ่มของดอกที่อยู่เป็นกระจุกตรงยอด แต่ละกระจุกประกอบด้วยดอกย่อย 15-25 ดอกหรือมากกว่า ก้านช่อดอกยาวประมาณ 2 ฟุต ช่อดอกอันแรกเกิดที่ยอดอ่อน จากนั้นจะเกิดช่อดอกข้างตรงมุมใบขึ้นภายหลัง ช่อดอกที่เกิดจากส่วนยอดโดยตรงจะมีอายุมากที่สุด ส่วนช่อดอกอื่นๆ มีอายุรองลงมา กลีบดอกสีเหลือง เป็นดอกสมบูรณ์เพศ ตรงโคนเชื่อมติดกัน รังไข่มี 1 ห้อง เกสรตัวเมียมี 1 อัน มีลักษณะเป็น 2 แฉก เกสรตัวผู้ 5 อัน รวมกันเป็นยอดยาวห่อหุ้มก้านและยอดเกสรตัวเมียไว้ เมล็ดเป็นชนิดเมล็ดเดี่ยว (achene) ซึ่งเจริญมาจากรังไข่คนเดียว มีเปลือกหุ้มเมล็ดบาง เปลือกเมล็ดจะไม่แตกเมื่อเมล็ดแห้ง มีลักษณะแบนยาว หัว

ท้ายแหลมเป็นรูปหอก มีเส้นเล็กๆ ลาดยาวไปตามด้านยาวของเมล็ดที่ผิวเปลือกหุ้มเมล็ด เมล็ดมีสีเทาปนครีมความยาวของเมล็ดประมาณ 4 มิลลิเมตร และกว้างประมาณ 1 มิลลิเมตร

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

แบ่งได้เป็น 3 ประเภทใหญ่ๆ ตามลักษณะคือ

1. ผักกาดหอมหัว (Head type) เป็นผักกาดหอมที่ใบห่อเป็นหัว เกิดจากการที่ใบเรียงซ้อนกันหนา แบ่งได้ 3 ชนิด คือ

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

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

- ชนิดห่อหัวหลวมค่อนข้างยาว (Romaine or Cos) เป็นผักกาดหอมที่มีลักษณะใบยาวแคบและแข็ง ใบห่อเป็นรูปกลมยาวหรือกรวย ได้แก่ ชนิดปารีส ไวท์ (Paris White) ไวท์ ฮาร์ท (White Heart) และลิทเติล เจม (Little Gem)

2. ผักกาดหอมใบ (Leaf type) เป็นผักกาดหอมที่มีลักษณะไม่ห่อหัว ใบจะกว้างใหญ่และหยิกเจริญเติบโตออกไปทางด้านข้าง ทนอากาศร้อนได้ดีกว่าประเภทอื่น แบ่งเป็นชนิดที่มีสีเขียวทั้งต้น และมีสีน้ำตาลทั้งต้น ได้แก่ ชนิด เรด โอ๊ค (Red Oak) กรีน โอ๊ค (Green Oak) และแกรนด์ แรพิด (Grand Rapid)

3. ผักกาดหอมต้น (Stem type) เป็นผักกาดหอมที่ปลูกเพื่อใช้ลำต้นรับประทานเท่านั้น ลำต้นอวบ สูง ใบจะเกิดขึ้นต่อๆ กันไปจนถึงยอดหรือช่อดอก ลักษณะใบคล้ายผักกาดหอมใบ แต่เล็กหนาและสีเข้มกว่า มีทั้งชนิดกลมและยาว ไม่ห่อหัว ได้แก่ พันธุ์ celtuce แต่ไม่เป็นที่นิยมปลูก

การจำแนกอนุกรมวิธานของเชื้อรา *Pythium* spp.

Kingdom Chromalveolata

Phylum Heterokontophyta

Class Oomycetes

Order Peronosporales

Family Pythiaceae

Genus *Pythium*

ความสำคัญและลักษณะการเข้าทำลายของเชื้อรา *Pythium* spp.

Pythium spp. จัดเป็นรากลุ่มใหญ่ที่สุดใน family Pythiaceae ซึ่งประกอบด้วยรา 92 species บาง species เป็น saprobe และอาศัยอยู่ในน้ำ ขณะที่บางพวกเป็น parasite แบบชั่วคราวของพืชและสัตว์ตัวเล็กๆที่อยู่ในน้ำ แต่ส่วนใหญ่เป็นพวกที่อาศัยอยู่ในดิน (soil inhabitant) ในดินที่ชื้นและเป็นสาเหตุของโรครากเน่าระดับดิน (damping off) ของกล้าพืช โรครากเน่าของพืชตระกูลหญ้า และโรครากเน่า (root rot) ซึ่งเป็นสาเหตุโรคพืชที่สำคัญในระบบการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน โดยโรคที่พบส่วนมากจะเป็นโรครากและลำต้นเน่า ก่อให้เกิดความเสียหายแก่พืชผักเป็นอย่างมาก มีส่วนน้อยที่อาศัยร่วมกับรากพืชในลักษณะ mycorrhiza (วิจิัย, 2551) เชื้อรา *Pythium* spp. มีการสืบพันธุ์ 2 แบบ คือ

การสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ: somatic hypha ของเชื้อรา *Pythium* spp. มีลักษณะบอบบาง มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 5 ไมโครเมตร หรือสูงสุดเพียง 10 ไมโครเมตร เส้นใยที่เจริญในเนื้อเยื่อพืช หรือใน culture มีการสร้าง sporangium ซึ่งมีรูปร่างแตกต่างกันไป ตามแต่ species ของเชื้อรา และอาจแบ่งได้เป็น 3 แบบ คือ

1. Filamentous sporangium เป็น sporangium ที่มีลักษณะเป็นท่อยาวคล้ายกับเส้นใยมาก อาจมีการแตกกิ่งก้านหรือไม่แตกกิ่งก้านก็ได้ แยกออกจาก somatic hypha โดยมี septum กัน แต่บางครั้งอาจไม่พบ septum เลย

2. Lobate inflated sporangium (toruloid sporangium) sporangium ชนิดนี้ มีลักษณะโป่ง เป็น lobe ไม่สม่ำเสมอและมีขนาดใหญ่กว่าเส้นใยปกติพบใน *P. aphanidermatum* และ *P. torulosum*

3. Spherical sporangium เป็น sporangium ที่มีรูปร่างกลม ส่วนใหญ่ไม่สร้าง papilla อาจเกิดอยู่ที่ปลายหรือระหว่างเส้นใยก็ได้ โดยเกิดการพองตัวของส่วนเส้นใยเป็นรูปกลม และมี septum กันแบ่งแยกออกจากเส้นใยเจริญเป็น sporangium

การสืบพันธุ์แบบใช้เพศ: ใน culture ที่มีกำเนิดจากการแยกเชื้อแบบ single zoospore จะพบการสร้าง sexual spore ได้เสมอ ทั้งนี้ *Pythium* ส่วนใหญ่เป็น homothallic, oogonium มีกำเนิดจากการโป่งของส่วนหนึ่งส่วนใดภายในเส้นใยหรือที่ปลายเส้นใย แล้วมี septum แบ่งแยกผนังของ oogonium อาจเรียบ เช่น ใน *P. ultimum* หรือมีรอยพับย่นสร้างเป็นส่วนยื่นยาวอยู่โดยรอบ antheridium ที่มาผสมอาจมีรูปร่างเป็นรูปกระบอก (club-shaped) โป่ง เกิดที่ปลายเส้นใย ซึ่งอาจเป็นแขนงแตกออกจากก้านเดียวกับที่ให้กำเนิด oogonium หรือบางครั้งอาจเกิดเส้นใยอื่นก็ได้มาเกาะอยู่ทางด้านข้างของ oogonium หรืออาจเกาะอยู่ที่ฐานของ oogonium จากก้านเดียวกับที่ให้กำเนิด oogonium จำนวน antheridium ที่มาเกาะติดแต่ละ oogonium อาจมีเพียง 1 อัน หรือหลายอัน

การเข้าทำลายของเชื้อรา *Pythium* spp. มักไม่มีความจำเพาะเจาะจงกับพืชอาศัย เส้นใยที่เจริญในพืชพบทั้งในลักษณะ intercellular และ intracellular เส้นใยของเชื้อมีสีขาว เจริญแตกกิ่งก้านได้ดี เกิด sporangia ที่ปลายหรือกลางเส้นใย (terminal or intercalary) มีลักษณะ กลมรี sporangia งอกเป็น germ tube หนึ่งหรือหลายอัน sporangia งอกเป็นเส้นใยสั้นแล้วเกิด vesicle ที่ปลาย ซึ่งให้กำเนิด zoospores ภายใน เมื่อ zoospores ถูกปล่อยออกมาจะว่ายน้ำระยะหนึ่ง ประมาณ 2-3 นาที ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมจากนั้นก็เปลี่ยนเป็น encysted zoospores ที่ไม่มี flagella สปอร์นี้จะเข้าทำลายพืชอาศัย โดยการงอกเป็น germ tube แทะผ่านเข้าสู่เนื้อเยื่อ เชื้อเจริญเป็นเส้นใยใหม่ ทำให้เกิดโรค สปอร์ที่งอกและยังเข้าทำลายพืชไม่ได้อาจสร้าง vesicle ขึ้นใหม่ แล้วเกิด secondary

zoospores ใหม่อีกได้ และ sporangia ที่งอกเป็น germ tube สามารถเข้าทำลายพืชได้เช่นกัน เส้นใยสร้าง oogonia และ antheridia มาผสมกันในการขยายพันธุ์แบบใช้เพศ อาจเป็นเส้นใยในชุดเดียวกัน (homothallic) หรือต่างชุดกัน (heterothallic) ได้เป็น oospores (2n) และพักตัวอยู่ระยะหนึ่ง หรืออยู่ข้ามฤดู oospores งอกเป็นเส้นใยเจริญต่อไป หรือเจริญเป็น vesicle เพื่อให้กำเนิด zoospores ว่ายน้ำเข้าทำลายพืชต่อไป การงอกของ oospores เป็นเส้นใยนั้นก็สามารถเข้าทำลายพืชโดยตรงได้ อุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญที่ควบคุมการงอกของ sporangia และของ oospores ถ้าอุณหภูมิสูงกว่า 18 องศาเซลเซียส สปอร์จะงอกเป็น germ tube หากต่ำกว่า 10-18 องศาเซลเซียส จะสร้าง zoospores และเส้นใยที่งอกจากสปอร์มีโอกาสไปสัมผัสพืชได้โดยบังเอิญหรือทาง chemotaxis เชื้อเข้าทำลายเมล็ดโดยทางเปลือกเมล็ดที่โป่งหรือแตกเมื่อได้รับความชื้น เข้าทำลายคัพภะหรือต้นกล้าด้วยการแทงผ่าน ไข่แรงดันกล หรือทางเคมี เชื้อสามารถสร้าง pectinolytic, proteolytic และ cellulolytic enzyme ไปย่อยผนังเซลล์ และ protoplast ทำให้เซลล์ของ host แยกออกจากกัน เนื่องจากการสลายตัวของ middle lamella เอนไซม์ดังกล่าวนี้สามารถแพร่ไปได้ไกล ทำให้เนื้อเยื่อพืชอ่อนตัวและตายก่อนที่จะตรวจพบเส้นใยของราในเนื้อเยื่อพืช เส้นใยที่เจริญอยู่ในเนื้อเยื่อพืชมีลักษณะหยาบภายในมีก้อน granule กระจายอยู่ทั่วไปอาจพบว่าการสร้าง chlamydospore ที่มีผนังหนาแต่ไม่พบ haustorium ในพืช (ไพโรจน์, 2525; จิระเดช, 2549; ศักดิ์, 2537)

โรคเน่าระดับดินที่เกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* แบ่งออกเป็น 2 ลักษณะตามอายุและระยะการเจริญเติบโตของพืช คือ

1. Pre- emergence damping- off หรือ seed rot อาการของโรคเกิดเนื่องจากเชื้อสาเหตุเข้าทำลายเมล็ดหรือกล้าพืชส่วนที่อยู่เหนือดินหรือระดับดิน หากดินนั้นมีเชื้อสาเหตุอยู่และสภาพแวดล้อมเหมาะสม เมล็ดที่เพาะไว้จะถูกทำลายโดยเมล็ดจะเริ่มนิ่ม เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เหี่ยวช่นและเน่าในที่สุด ถ้าเป็นต้นอ่อนที่งอกจากส่วนของเมล็ดเซลล์พืชมีการเจริญเติบโตที่รวดเร็วผนังเซลล์บางและอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อโรค เมื่อเชื้อราเข้าทำลายที่ส่วน hypocotyl และยอดจุดที่ถูกทำลายจะเป็นจุดช้ำน้ำสีค่อนข้างดำและขยายใหญ่ขึ้นทำให้ต้นอ่อนเน่าตายอย่างรวดเร็วจึงไม่มีต้นกล้าโผล่เหนือดินให้เห็น

2. Post- emergence damping-off หรือ seedling damping-off เกิดจากต้นอ่อนที่โผล่พ้นดิน แล้วถูกเชื้อเข้าทำลาย ปกติจะทำลายที่ราก (radicle) และลำต้นที่อวบน้ำซึ่งอาการจะปรากฏให้เห็น ตรงโคนต้นที่อยู่ระดับดินหรือใต้ดิน ระยะแรกเกิดเป็นแผลจุดน้ำขนาดเล็กเนื่องจากเซลล์ตาย อย่างรวดเร็วแล้วขยายโตขึ้นเป็นรอยช้ำสีน้ำตาลรอบต้นกล้าพืช ทำให้ต้นกล้าหักพับในขณะที่ลำต้น และใบยังเขียวอยู่ ต่อมาส่วนยอดจะเฉาและแห้งตายคล้ายถูกน้ำร้อนลวก ต้นกล้าในแปลงเพาะจะแห้งตายเป็นหย่อมๆ โรคจะระบาดได้รวดเร็วขึ้นหากเพาะต้นกล้าแน่นจนเกินไป และเมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม โดยเฉพาะดินที่มีความชื้นสูงประกอบกับอุณหภูมิสูง โรคจะมีการระบาด ที่รุนแรงมากยิ่งขึ้น และพบเส้นใยของเชื้อสีขาวละเอียด ปกคลุมบริเวณเนื้อเยื่อส่วนของพืชที่เป็น โรค (สมศิริ, 2529; นิตยา, 2534; ศักดิ์, 2537)

Stanghellini and Kronland (1986) ได้รายงานว่าพบเชื้อ *Pythium dissotocum* เป็นครั้งแรกที่ บริเวณรากของผักสลัด (lettuce) ซึ่งจะส่งผลทำให้ความสามารถในการดูดสารละลายธาตุอาหารของ ผักสลัดลดลง และทำให้ผลผลิตลดลง 18 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ใส่เชื้อโรค

Menzies et al. (1996) ได้ศึกษาถึงผลของปริมาณเชื้อเริ่มต้นของเชื้อ *Pythium aphanidermatum* ในระบบการปลูกแบบ NFT ต่อการพัฒนาของโรครากเน่าของแตงกวาในระบบ โดยใช้ปริมาณเชื้อตั้งแต่ 0.22×10^6 - 2×10^6 โคโลนี/100 ลิตรของสารละลายธาตุอาหาร พบว่าทุก ระดับที่ปลูกเชื้อ *P. aphanidermatum* ทำให้รากของแตงกวาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และที่ระดับ 2×10^6 โคโลนี/100 ลิตร ทำให้ต้นแตงกวาตายภายใน 7-28 วันหลังจากการปลูกเชื้อ และแตงกวาที่ปลูกเชื้อ ในปริมาณต่ำ แม้จะไม่ทำให้ต้นแตงกวาตายแต่ก็ทำให้การเจริญเติบโตและผลผลิตลดลง

Fortnum et al. (2000) รายงานว่าสภาพแวดล้อมมีผลต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา เช่น เชื้อรา *P. myriotylum* เข้าทำลายต้นกล้ายาสูบทำให้น้ำหนักใบลดลง และมีอาการเหี่ยวเหลืองเป็น หย่อมๆ อีกทั้งเมื่อนำต้นยาสูบไปปลูกในแปลงก็พบว่า ใบยาสูบแสดงอาการใบหงิกอย่างชัดเจน สร้างความเสียหายอย่างมากในการผลิตต้นกล้ายาสูบในโรงเรือน ซึ่งจากการทดลองเห็นได้ว่าใน สภาพที่มีอุณหภูมิสูงจะพบเชื้อรา *Pythium* spp. ได้ง่าย เพิ่มปริมาณได้มากและมีการเข้าทำลายพืช อาศัยรุนแรงกว่าสภาพที่มีอากาศเย็น และหารากพืชเริ่มตาย และต้นพืชมีอาการแคระแกร็น พืชเกิด

ความเครียด จึงสร้างฮอร์โมนขึ้นมาหรือมีการสะสมก๊าซเอทิลีนที่รากพืช ทำให้เซลล์รากยุบตัวลงจึงเป็นการง่ายต่อการเข้าทำลายของเชื้อโรค

Labuschagne *et al.* (2002) พบว่าเชื้อรา *Pythium* F. group เข้าทำลายพืชผักตระกูลขึ้นฉ่าย (*Apium graveolens*) ซึ่งส่วนใหญ่ปลูกในระบบการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินในแอฟริกาใต้ โดยในช่วงเดือนที่มีสภาพอากาศอบอุ่น พืชมักจะแสดงอาการแคระแกร็นและมีการตายสูงถึง 70 เปอร์เซ็นต์ ในบางระบบปลูกพืช อาการที่พบได้ในพืชที่เป็นโรค คือ รากเน่าอย่างรุนแรง และมีใบสีเหลืองอย่างเห็นได้ชัด เมื่อนำรากพืชที่เป็นโรคมาคัดเป็นชิ้น ล้างให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น วางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PARP พบว่ามีเชื้อรา *Pythium* เกิดขึ้นบนจานอาหาร เมื่อพิสูจน์โรคตามวิธีการของ Koch โดยการปลูกเชื้อ *Pythium* F. group ในรูปของ zoospore suspension (10^5 zoospore/ml) ในอัตรา 3 มิลลิลิตร/ลิตร ลงในสารละลายธาตุอาหาร ที่ปลูกต้นกล้าขึ้นฉ่ายอายุ 4 สัปดาห์ ในระบบการปลูกพืชโดยไม่ให้รากพืชลอยอยู่ในอากาศ (aeroponics) โดยให้สารละลายธาตุอาหารแบบพ่นฝอยในสภาพโรงเรือน สังเกตอาการ แยกเชื้อบนอาหาร PARP และปลูกเชื้อซ้ำ พบว่าหลังจากที่พืชได้รับเชื้อ 4 สัปดาห์ พืชทั้งหมดแสดงอาการรากเน่า แคระแกร็น และสีดเหลือง ในขณะที่พืชกลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อมีอาการปกติ สามารถแยกเชื้อรา *Pythium* F. group ได้จากรากพืชที่ปลูกเชื้อลงไปและแสดงอาการของโรค ซึ่งรายงานนี้นับเป็นรายงานครั้งแรกในแอฟริกาใต้ที่พบโรครากเน่าในผักขึ้นฉ่ายสาเหตุจากเชื้อรา *Pythium*

Labuschagne *et al.* (2003) ได้รายงานเพิ่มอีกว่า นอกจากเชื้อรา *Pythium* จะเข้าทำลายขึ้นฉ่ายแล้ว *Pythium* F. group ยังทำลายผักอื่นๆ ที่ปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน โดยเฉพาะผักที่เป็นส่วนประกอบในการทำสลัดผัก เช่น endive (*Cichorium endiva*) Pennel (*Foeniculum vulgare*) และ Sorrel (*Rumex* spp.)

การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีหลักการควบคุมโรคพืชในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินและในสภาพโรงเรือน (จิระเดช, 2547)

1. การหลีกเลี่ยงและการกีดกัน

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

2. การกำจัดเชื้อสาเหตุโรคพืช

เป็นการลดปริมาณของเชื้อในโรงเรือนหรือในระบบ ทั้งนี้อาจใช้วิธีทางกายภาพ ทางเคมี และชีวภาพ หรือใช้ทุกวิธีร่วมกัน

3. การป้องกันการเกิดโรค

ควบคุมดูแลระบบการปลูกอย่างสม่ำเสมอ โดยเฉพาะค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และความเค็ม (EC) เพื่อป้องกันไม่ให้พืชเกิดสภาวะเครียดซึ่งจะทำให้พืชอ่อนแอ เกิดโรคได้ง่าย ในฤดูฝนควรปรับ pH ให้อยู่ระหว่าง 6.0-6.5 ส่วนฤดูหนาวควรปรับ pH ให้อยู่ระหว่าง 5.5-6.0 (อรรถพร, 2549) ใช้สารสกัดจากจุลินทรีย์หรือใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อโรคอย่างต่อเนื่อง โดยวิธีคลุกเมล็ด ผสมลงไปกับวัสดุปลูก ใส่ลงในสารละลายแร่ธาตุ รดหรือพ่นลงบนต้นกล้าพืช และต้นพืชที่กำลังเจริญเติบโต การแช่วัสดุปลูก (เกลบเผา:ขุยมะพร้าว อัตรา 1:1 โดยปริมาตรผสมปุ๋ยหมัก 10 เปอร์เซ็นต์) เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 ชนิดสด อัตรา 100 กรัม/น้ำ 100 ลิตร มีผลทำให้ผักกาดหอมมีพื้นที่เกิดโรคบนรากน้อยที่สุด และมีการเจริญเติบโตในระดับที่ดี เช่นเดียวกับการใช้เพอร์ไลต์ผสมกับเวอร์มิคูไลต์ ในอัตรา 2:1 โดยปริมาตร (วาสนา, 2549)

การป้องกันกำจัดเชื้อรา *Pythium spp.* สาเหตุโรครากและลำต้นเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์

การใช้วิธีทางกายภาพ

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

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

การใช้วิธีทางเคมี

การใช้คลอรีนในรูปแบบ sodium hypochlorite, chlorinedioxide, chlorobromination, calcium hypochlorite (1-2 ppm) ไอโอดีน (0.7 ppm) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (100 ppm) ซิลเวอร์ออกไซด์ (Ag_2O 40 ppb) แคลเซียมไนเตรท (10-20 mM) โพแทสเซียมซลิเคต (100-200 ppm) ทองแดง (0.28 ppm) ร่วมกับเหล็ก (FeSO_4) สารกำจัดโรคเน่า floccoulation, chriration (มัญญ, 2544)

การใช้วิธีการทางชีวภาพ

การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้งที่เป็นเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อรา เช่น *Bacillus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Trichoderma spp.* นอกจากนี้ยังมีการใช้โคโคซาน (100-400 ppm) เพื่อกระตุ้นให้พืชเกิดความต้านทานโรค ตลอดจนเลือกใช้วัสดุปลูกที่สามารถยับยั้งเชื้อโรคได้ เช่น เปลือกไม้บางชนิดในต่างประเทศได้มีการนำแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* มาใช้ร่วมกับ *T. harzianum* เพื่อควบคุมโรค Damping-off ของยาสูบที่เกิดจาก *Pythium sp.* และ *Rhizoctonia solani* ในระบบการปลูกแบบ Float tray system พบว่าสามารถลดการเกิดโรคได้ถึง 98.5-100 เปอร์เซ็นต์ และมีการใช้แบคทีเรีย

Bacillus subtilis สายพันธุ์ GB03 มาควบคุมโรคใบจุดของมะเขือเทศที่เกิดจากแบคทีเรียในระบบไฮโดรโพนิกส์ นอกจากนี้การใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 โดยการแช่เมล็ดผักกาดหอมด้วยสปอร์แขวนลอยและ,หรือร่วมกับการเติมสปอร์แขวนลอยเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 ที่ได้จากเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 ชนิดสดอัตรา 100 กรัม/น้ำ 200 ลิตรลงในสารละลายธาตุอาหารทุกสัปดาห์ตั้งแต่ผักกาดหอมมีอายุ 14 วัน จนถึงอายุการเก็บเกี่ยว (42 วัน) ร่วมกับการปรับค่า EC และ pH ของสารละลายธาตุอาหารให้อยู่ระหว่าง 1.5-1.8 mS/cm และ 5.5- 6.0 ตามลำดับตลอดการทดลอง สามารถควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมปลูกในระบบ NFT ที่เกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้ และในกรณีที่ไม่มีเชื้อรา *P. aphanidermatum* พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดหอมได้เป็นอย่างดี (จิระเดช, 2554)

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

พรหมมาศ (2554) ใช้แบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescens* สายพันธุ์ ECO008 ในการส่งเสริมการเจริญเติบโต และควบคุมโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* ของผักสลัดในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน โดยนำสารแขวนลอยแบคทีเรีย 10^6 cfu ml⁻¹ มาใส่ในกรรมวิธีต่างๆ คือ 1) ใส่แบคทีเรีย 1 ครั้ง ในช่วงเพาะเมล็ด 2) ใส่แบคทีเรียลงในสารละลายธาตุอาหาร 1 ครั้งในระยะอนุบาล 3) ใส่แบคทีเรียลงในสารละลายธาตุอาหาร 1 ครั้ง หลังย้ายปลูกลงราง NFT 4) ใส่แบคทีเรียลงในสารละลายธาตุอาหาร 2 ครั้ง หลังย้ายลงราง NFT และ 5) ใส่แบคทีเรีย 4 ครั้ง ตามที่กล่าวมาข้างต้น โดยจะทำการปลูก 2 ถาด ถาดปลูกแรกจะไม่ทำการปลูกเชื้อสาเหตุโรค ถาดปลูกที่สองจะทำการปลูกเชื้อ *Pythium sp.* สาเหตุโรครากเน่า การทดลองในถาดปลูกแรกพบว่าในผักสลัด บัตเตอร์เฮด กรีนโอ๊ค และคอสที่ได้รับสารแขวนลอยแบคทีเรีย ในอัตรา 10^6 cfu ml⁻¹ เป็นจำนวน 4 ครั้ง จะมีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด โดยสามารถทำให้มีมวลลำต้น เพิ่มขึ้น 99.4, 63.7 และ 91.8 เปอร์เซ็นต์

ตามลำดับ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ในฤดูปลูกที่สองผลเป็นไปในทางเดียวกัน คือ การใส่สารแขวนลอยแบคทีเรีย เป็นจำนวน 4 ครั้ง จะทำให้พืชเจริญเติบโตดีที่สุด โดยทำให้มีมวลเพิ่มขึ้น 182.2, 118.4 และ 49.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

เพ็ญภัค (2552) แยกแบคทีเรียจากรากผักกาดหอม 5 ชนิดที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์แบบ Nutrient Film Technique (NFT) ด้วยวิธี tissue transplanting ได้แบคทีเรียทั้งหมด 98 ไอโซเลท ทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* สาเหตุโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์คัดเลือกแบคทีเรีย 5 ไอโซเลท ที่สามารถสร้างเอนโดสปอร์ พัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ 100 ppm โดยยังคงประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. aphanidermatum* และสามารถลดการเข้าครอบครองรากของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในระยะกล้าได้ นำแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ไปทดสอบกับผักกาดหอมในระบบไฮโดรโปนิคส์แบบ NFT พบว่าทุกไอโซเลทสามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรครากเน่าของผักกาดหอมชนิด กรีนคอส (Green Cos) ในระดับโรงเรือน เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน โดยไอโซเลท RO15 และ BH15 สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดหอมซึ่งปลูกในระบบที่ไม่มีเชื้อโรคได้

แบคทีเรียปฏิปักษ์

กลไกการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีของแบคทีเรียปฏิปักษ์

ในธรรมชาติทั่วไปจะมีเชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการนำมาใช้ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี มักนิยมเรียกแบคทีเรียชนิดนี้ว่า แบคทีเรียปฏิปักษ์ (antagonistic bacteria) หรือเชื้อปฏิปักษ์ (antagonist) เชื้อปฏิปักษ์นี้จะมีกลไกควบคุมเชื้อสาเหตุโรคได้ 4 ลักษณะ (นิพนธ์, 2553) ดังนี้

1. การแข่งขันกับเชื้อโรคพืช (Competition) แบคทีเรียปฏิปักษ์มีความสามารถในการแข่งขันกับเชื้อโรคพืชในด้านต่างๆ เช่น การใช้ธาตุอาหาร อากาศ และสามารถครอบครองพื้นที่ได้ดีกว่า ทำให้เชื้อโรคพืชไม่สามารถเจริญเติบโต หรืออาศัยอยู่ในบริเวณที่มีเชื้อปฏิปักษ์ได้ ส่งผลให้พืชเจริญเติบโตแข็งแรง มีผลผลิตสูงขึ้น สำหรับในแง่ของการแข่งขันที่พบมากคือแบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถนำเอาธาตุอาหารหรือสารต่างๆ ที่มีอยู่ในดินหรือในสภาพแวดล้อมนั้นมาใช้ประโยชน์ในการเจริญเติบโต ทำให้เชื้อโรคขาดสารอาหาร ไม่สามารถเจริญเติบโตเข้าทำลายพืชตัวอย่างเช่น

แบคทีเรียปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* จะผลิตสาร siderophore ที่ช่วยในการจับยึดธาตุเหล็ก (Iron, Fe^{+3}) ในธรรมชาติมาใช้ได้ดีกว่าเชื้อ *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* สาเหตุโรค Take-all ของข้าวสาลี (Schippers *et al.*, 1987) ทำให้เชื้อราไม่สามารถทำลายรากข้าวสาลี ช่วยให้ข้าวสาลีเจริญเป็นปกติ และให้ผลผลิตดีขึ้น ซึ่งนิยมเรียกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีลักษณะแบบนี้ว่า แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR) โดยแบคทีเรียนี้ชอบอาศัยอยู่ในดินบริเวณผิวราก (rhizoplane) หรือบริเวณรอบราก (rhizobacteria)

2. การทำลายชีวิต (Antibiosis) เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ได้รับความสนใจคําดำเนินการในการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีนั้นจะเน้นคุณสมบัติการทำลายชีวิตของเชื้อโรคเป็นส่วนใหญ่ และนับว่าเป็นกลไกชนิดแรกที่ถูกศึกษานำมาใช้โดยเชื้อปฏิปักษ์นี้มีความสามารถผลิตสารที่มีคุณสมบัติยับยั้งหรือทำลายเชื้อโรค หรือจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ เช่น สารพิษ (toxin) หรือสารปฏิชีวนะ (antibiosis) ที่นำมาผลิตเป็นใช้เป็นยารักษาโรคกับมนุษย์ สัตว์ และพืชมากมายในปัจจุบัน นอกจากนี้การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีที่สำเร็จเป็นครั้งแรก อาศัยกลไกชนิดนี้ คือ การควบคุมโรคของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Agrobacterium radiobacter* สายพันธุ์ K84 ซึ่งจะผลิตสาร bacteriocin ที่มีชื่อว่า agrocin 84 ไปยับยั้งหรือทำลายเชื้อแบคทีเรีย *Agrobacterium tumefaciens* biotype 1 และ 2 สาเหตุโรค crown gall ของพืช ช่วยป้องกันการเกิดโรคกับต้นพืชได้ และเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สำหรับควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีที่มีการผลิต จำหน่ายเป็นการค้าครั้งแรก โดยควบคุมโรค crown gall ในหลายประเทศทั่วโลก (Thomson, 1987) หรืออย่างในกรณีของการใช้ *P. fluorescens* สายพันธุ์ 2-79 ที่ผลิตสารปฏิชีวนะ phenazine-1-carboxylate สามารถยับยั้งการเกิดโรค Take-all ของข้าวสาลีได้ถึง 50-90 เปอร์เซ็นต์ (Cook *et al.*, 1995)

3. การเป็นปรสิต (Parasitism) เชื้อแบคทีเรียมีคุณสมบัติเป็นปรสิต (parasite) เข้าไปเจริญอาศัยทำลายสิ่งมีชีวิตอื่นนั้นพบไม่มากนักจนถึงปัจจุบัน การใช้เพื่อควบคุมโรคพืชยังไม่ประสบความสำเร็จเหมือนปฏิกิริยาการทำลายชีวิต ได้แก่ *Erwinia uredinolytica* เข้าทำลาย pedicel ของสปอร์เชื้อราสนิม (rust) *Bdellovibrio bacteriovorus* เป็นปรสิตของเชื้อแบคทีเรีย *P. syringae* pv. *Glycinea* สาเหตุโรคใบไหม้ของถั่วเหลือง หรือเชื้อแบคทีเรีย *Pasteuria penetrans* (syn. *Bacillus penetrans*) ที่เป็นปรสิตของไส้เดือนฝอย *Meloidogyne incognita* สาเหตุโรครากปม (Cook and

Baker, 1983) แบคทีเรียเหล่านี้ยังไม่ได้ได้รับความสนใจศึกษาปรับปรุงให้เกิดประโยชน์อย่างจริงจัง จึงนับว่าเป็นสิ่งหนึ่งที่นักศึกษานำมาใช้ในการควบคุมโรคต่อไป

4. การชักนำให้เกิดความต้านทานโรค (Induce disease resistance) เป็นกลไกที่ปัจจุบันกำลังมีผู้ให้ความสนใจศึกษากันอย่างแพร่หลาย ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ได้แก่ เชื้อรา หรือแบคทีเรีย โดยเฉพาะอย่างยิ่งพวกที่เคยเป็นเชื้อโรค เมื่อนำมาทำให้เสียความสามารถในการทำให้เกิดโรค (avirulent) ไปแล้วสามารถจะชักนำหรือกระตุ้นให้พืชสร้างความต้านทานต่อการทำลายของเชื้อโรคได้ เช่น การเกิดการกลายพันธุ์ในยีนเดียวของเชื้อรา *Colletotrichum magna* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพืชตระกูลแตง (cucurbit) จะไม่ทำให้เกิดโรคแต่จะเจริญอยู่ในพืช ช่วยให้พืชทนต่อการเข้าทำลายของเชื้อโรคดั้งเดิม (wild type) ได้ หรือในกรณีของเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* สายพันธุ์ไม่รุนแรง (avirulent) สามารถชักนำให้พืชสร้าง tomatine ปลดปล่อยออกมาบริเวณรากทำให้มะเขือเทศต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อ *P. solanacearum* สายพันธุ์ดั้งเดิมได้ (Arwiyanto et al., 1994)

วิธีใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ (นิพนธ์, 2553)

การศึกษานำเอาแบคทีเรียปฏิปักษ์ไปใช้ประโยชน์ควบคุมโรคพืช นิยมนำไปใช้กับโรคพืชที่เกิดบริเวณผิวยาก (rhizoplane) หรือบริเวณผิวพืชที่อยู่เหนือดิน (phylloplane) ซึ่งการใช้เชื้อปฏิปักษ์ควบคุมโรคจะมีกรรมวิธีการใช้แตกต่างกัน และมีข้อต้องพิจารณาให้เหมาะสมหลายประการ

1. บริเวณผิวยาก (Rhizoplane) จะมีกรรมวิธีการใช้เชื้อปฏิปักษ์เพื่อควบคุมโรคได้หลายแบบแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับความสะดวกในการปฏิบัติของผู้ใช้ โดยแต่ละวิธีอาจให้ประสิทธิภาพการควบคุมโรคได้ไม่เท่ากันซึ่งขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง ตั้งแต่คุณสมบัติของพืชเอง ตลอดจนลักษณะของผลิตภัณฑ์เชื้อปฏิปักษ์ (formulation) ที่มีหลายรูปแบบ ดังนี้

1.1 การคลุกเมล็ด (Seed treatment) นิยมใช้กับพืชที่ใช้เมล็ดเพาะปลูกโดยเมล็ดจะต้องมีขนาดไม่โตมากนักช่วยให้ปฏิบัติได้ง่ายและไม่สิ้นเปลืองผงเชื้อ หรือสารแขวนลอยเชื้อ มักนิยมคลุกเมล็ดก่อนปลูก ซึ่งจะช่วยควบคุมโรคพืชทั้งที่ติดมากับเมล็ดและเชื้อโรคพืชในดินด้วยและ

อาจช่วยป้องกันเชื้อโรคที่เกิดกับใบพืช ตลอดจนเพิ่มผลผลิตและกระตุ้นให้พืชต้านทานโรคได้ (จิระเดช, 2549)

1.2 การราดดิน (Soil drench) เป็นวิธีการหนึ่งที่นิยมใช้ปฏิบัติกันมาก แต่จะไม่ค่อยสะดวกหากจะนำไปใช้ในสภาพไร่ของเกษตรกรที่อาจจะมียาสะอาดไม่เพียงพอ หรือขาดแคลนน้ำ และถ้าหากปลูกพืชเป็นปริมาณมากจะทำให้เกิดปัญหาความไม่สะดวกในการปฏิบัติยิ่งขึ้น

1.3 การคลุกดิน (Soil amendment) เป็นวิธีการนำเอาผงเชื้อหรือสารละลายเชื้อไปปฏิบัติใส่ไปในดินและคลุกเคล้าผสมกันให้ทั่วก่อนปลูกพืช การใส่ในรูปของผงเชื้อ (powder) ก่อนข้างจะสะดวกกว่าในรูปของเซลล์แขวนลอย (suspension)

1.4 การจุ่มราก (Root dipping) เป็นอีกวิธีหนึ่งที่นิยมใช้กับพืชที่ต้องเพาะเมล็ดแล้วย้ายปลูก (transplanting) เช่น มะเขือเทศ พริก หรือ พืชที่มีเมล็ดพันธุ์ราคาแพง โดยจะต้องทำให้ดินบริเวณรากหลุดออกไปให้หมดก่อนนำไปจุ่มในเซลล์แขวนลอยเชื้อที่เข้มข้น 10^8 โคโลนี/มิลลิลิตร แล้วจึงนำไปปลูกในแปลงต่อไป วิธีนี้จะทำให้เชื้อปฏิบัติควบคุมโรคได้ดี เพราะรากจะสัมผัสกับเชื้อได้หมดทุกส่วน ไม่ก่อให้เกิดช่องว่างให้เชื้อโรคเข้าทำลาย

2. บริเวณผิวพืชอยู่เหนือดิน มีวิธีใช้ที่นิยม 2 วิธีคือ

2.1 การทา (Paste painting) เป็นวิธีที่นิยมใช้กับพืชยืนต้นที่ถูกทำลาย มีแผลปรากฏให้เห็นชัดเจนบนส่วนของต้นหรือกิ่ง บริเวณที่สามารถนำเอาเชื้อปฏิบัติที่เตรียมให้มีความเข้มข้นและเหนียวไปทา เพื่อให้ยึดติดกับผิวพืชได้คงทน สามารถป้องกันและรักษาพืชให้พืชเป็นปกติ ถ้าหากเป็นพืชยืนต้นที่มีลำต้นสูงมาก หรือพืชล้มลุกจะไม่สะดวกในการปฏิบัติ

2.2 การพ่น (Spraying) เป็นวิธีที่นิยมใช้กับพืชที่ปลูกเป็นปริมาณมาก หรือมีลำต้นสูง ซึ่งใช้หลักการปฏิบัติเช่นเดียวกับการพ่นสารเคมีกำจัดโรคพืช โดยมากแล้วนิยมใช้เชื้อที่เลี้ยงบนอาหารมาเตรียมเป็นเซลล์แขวนลอยแล้วจึงนำไปพ่นลงบนพืช เพื่อป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อโรคที่แพร่ระบาดโดยปลิวไปกับลม ฝน เป็นต้น

3. เชื้อที่อยู่บนอาหารธรรมชาติ (Colonized natural substrate) การใส่เชื้อลงดินในรูปของเชื้อที่เลี้ยงอยู่บนอาหารธรรมชาติ ผลที่ได้จะขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อว่าสามารถให้การเจริญเติบโตของเชื้อเป็นอย่างไร หรือทำให้เชื้อแสดงคุณสมบัติในการควบคุมโรคได้อย่างมี

ประสิทธิภาพเพียงใด เพราะบางครั้งอาหารบางชนิดถึงแม้เชื้อจะเจริญดีแต่จะควบคุมโรคได้ไม่ดี เพราะอาหารที่ใช้อาจเป็นอาหารที่ดีของเชื้อโรค หรือเชื้ออื่นด้วยก็ได้ จึงจำเป็นต้องทดสอบก่อนว่า ชนิดใดเหมาะสม และมีประสิทธิภาพมากที่สุด

4. เชื้อที่อยู่บนอาหารสังเคราะห์ (Colonized synthetic substrate) ได้มีการผลิตให้อยู่บนอาหารสังเคราะห์ที่ห่อหุ้มด้วย sodium alginate หรือดินเหนียว เพื่อใช้ใส่ลงดินในการควบคุมโรคซึ่งใช้ได้ผลดีกับโรคที่เกิดจากเชื้อรา แต่ใช้ไม่ได้ผลกับเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas cepacia* ดังนั้นการใช้อาหารสังเคราะห์มาผลิตเพื่อใส่ลงดินจึงต้องหาวัสดุที่จะใช้ได้ดี โดยเฉพาะอาหารที่จะใส่เพื่อเลี้ยงเชื้อ เช่น ข้าว หรือวัสดุอื่น

5. ช่วงเวลาที่ให้เชื้อปฏิปักษ์ (Timing of delivery) ช่วงจังหวะการให้เชื้อเป็นปัจจัยที่สำคัญประการหนึ่ง ซึ่งจำเป็นต้องให้ในช่วงเวลาที่ถูกต้อง และมีความถี่ในการให้ที่เหมาะสมด้วย โดยต้องมีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตของต้นพืชทั้งราก และใบ ความอ่อนแอของพืช หรือแม้แต่วะเวลาการดำรงชีพและการแพร่ระบาดของเชื้อโรค หากใช้ได้อย่างถูกต้องและเหมาะสมจะเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมโรคมากยิ่งขึ้น

6. ประชากรของเชื้อปฏิปักษ์ (Antagonistic population) จำนวนประชากรหรือความเข้มข้นของเชื้อปฏิปักษ์เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่จะต้องให้ให้เหมาะสมถ้ามากเกินไปจะสิ้นเปลืองแต่ถ้าน้อยไปจะไม่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรค และต้องรักษาปริมาณให้คงที่อยู่ในธรรมชาติได้นานเพื่อป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อโรค (นิพนธ์, 2553)

การใช้แบคทีเรียในการควบคุมโรคพืช

มีรายงานต่าง ๆ มากมายกล่าวถึงประสิทธิภาพในการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรค โดยนอกจากจะสามารถควบคุมโรคได้แล้ว ยังช่วยกระตุ้นให้พืชเกิดความต้านทานต่อเชื้อโรคทำให้พืชเป็นโรคน้อยลงได้อีกด้วย เช่น

Collins and Jacobsen (2003) ใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* ในการควบคุมโรคใบจุดเชอร์โคสโปรา (Cercospora leaf spot) ใน sugar beet ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *C. beticola* Sacc. โดยพบว่าเชื้อแบคทีเรียมีความเข้มข้น 1×10^6 โคโลนี/มิลลิลิตร หรือสูงกว่าที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มี β -glucanase เป็นส่วนผสม สามารถลดอาการของโรคลงได้มากที่สุด และยังพบว่าการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ก่อน

ปลูกเชื้อสาเหตุโรค 1-5 วัน จะสามารถลดอาการของโรคลงได้มาก นอกจากนี้การใช้ vegetative cell กับ endospore ของแบคทีเรียไม่มีความแตกต่างกันในการลดอาการโรคเมื่อใช้ในสภาพแปลง

Rose *et al.* (2004) รายงานว่า มีการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพที่มีจำหน่ายเป็นการค้ามาควบคุมเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าของแตง ที่เกิดจากเชื้อราสาเหตุ 2 ชนิด คือ เชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *radiciscucumerinum* และ *P. aphanidermatum* ทดแทนการใช้สารเคมีที่มีพิษต่อสภาพแวดล้อม และสุขภาพอนามัยของมนุษย์ โดยผลิตภัณฑ์ชีวภาพที่นำมาทดสอบได้แก่ Mycostop (*Streptomyces griseoviridis* strain K61) RootShield Drench (*Trichoderma harzianum* strain T-22) SoilGard (*Gladiolus virens* strain GI-21) และ Prestop WP and Mix (*G. catenulatum* strain J1446)

จุฑารัตน์ (2554) ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย *Greenieria uvicola* สาเหตุโรคผลเน่า (bitter rot) ขององุ่น ด้วยวิธี dual culture บนอาหาร PDA พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิบัณ 5 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *G. uvicola* 60.26-62.67 เปอร์เซ็นต์ (ความกว้างของบริเวณยับยั้ง 0.53-1.00 ซม.) โดย *Bacillus* sp. ไอโซเลท Endo 2(2) มีประสิทธิภาพการยับยั้งได้สูงสุด 62.67 เปอร์เซ็นต์ การทดลองในสภาพแปลงปลูกที่จังหวัดราชบุรี โดยการพ่นเซลล์แขวนลอยของเชื้อ รวม 3 ครั้ง คือ 32, 18 และ 4 วัน ก่อนการเก็บเกี่ยวผลผลิต ในช่วงเดือนมีนาคม-เมษายน พ.ศ.2553 พบว่าเชื้อ *Bacillus* sp. ไอโซเลท Endo 2(2) ป้องกันการเกิดโรคผลเน่าขององุ่นได้ดี โดยไม่พบอาการโรคผลเน่าในแต่ละข้อผล (ผลประเมินอยู่ในระดับ 0 จาก 4 ระดับ) โดยเชื้อ *Bacillus* sp. ไอโซเลท BB 165 และไอโซเลท Endo 2(2) สามารถมีชีวิตรอดได้ดีในสภาพแปลง โดยตรวจพบเชื้อ 10^3 - 10^5 โคโลนี/กรัม ของใบและพืงุ่น

สูตรสำเร็จของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อใช้ควบคุมโรคพืช (จิระเดช, 2549)

สูตรสำเร็จ (Formulation) หรือรูปแบบของชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ มีความสำคัญต่อความสำเร็จของการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคพืชเป็นอย่างยิ่ง Lisansky (1985) กล่าวว่า สูตรสำเร็จมีอิทธิพลช่วยให้ชีวภัณฑ์เกิดความเสถียรหรือความคงตัว (stability) ในระหว่างการเก็บรักษา (storage) โดยที่ยังคงมีชีวิตจนกว่าจะนำไปใช้ ช่วยให้เกิดความสะดวกทั้งในด้านการใช้ และด้านความปลอดภัย แบ่งเป็น

ชีวภัณฑ์เชื้อราปฏิปักษ์

นับว่าเป็นเชื้อที่มีการนำมาพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์มากเป็นอันดับแรกๆ มีอยู่ด้วยกันหลายชนิด เช่น เชื้อรา *Trichoderma* spp. เป็นเชื้อราที่ได้นำมาใช้ผลิตชีวภัณฑ์ควบคุมโรคพืชมากที่สุด มีอย่างน้อย 12 ผลิตภัณฑ์ (Bio-Fungus, Binab-T, RootShield, Supresivit, T-22G, T-22HB, Tricodex, Trichopel, Trichoject, Trichodowels, Trichoderma 2000) ใช้ควบคุมเชื้อราหลายๆ ชนิด เช่น *Botrytis* *Fusarium* *Rhizoctonia* *Sclerotinia* *Sclerotium* *Verticillium*

ชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียและแอคติโนไมซีทปฏิปักษ์

เชื้อแบคทีเรียและแอคติโนไมซีทปฏิปักษ์เพื่อใช้ควบคุมโรคพืช มีอยู่หลายรูปแบบ เช่นเดียวกับสูตรสำเร็จของเชื้อราปฏิปักษ์ เชื้อแบคทีเรียที่ไม่ใช่เชื้อโรค (non pathogenic) คือ *Agrobacterium radionacter* ภายใต้ชื่อทางการค้าคือ Galltrol-A Nogall Norbac และ Diegall จำหน่ายในรูปเชื้อสดและเชื้อแห้งที่อยู่ในจานเลี้ยงเชื้อ เชื้อแอคติโนไมซีทปฏิปักษ์ *Streptomyces griseoviridis* มีการผลิตเป็นสูตรสำเร็จในรูปผงแห้ง (powder) ชื่อ Mycostop ใช้สดหรือพ่น หรือเติมไปในระบบการให้น้ำ เพื่อควบคุมเชื้อรา *Fusarium* spp. *Pythium* spp. สาเหตุโรคต่างๆ ของพืชผัก ผักกาดหอม ไม้ดอกและไม้ประดับ

ชนิดของสูตรสำเร็จ (Types of Formulations)

1. สูตรสำเร็จสำหรับคลุกเมล็ด (Seed treatment formulation) สูตรสำเร็จของชีวภัณฑ์ สำหรับใช้ในการคลุกเมล็ดพืช อาจอยู่ในรูปของผงแห้ง หรือรูปของเหลว สูตรสำเร็จสำหรับคลุกเมล็ดโดยทั่วไปมักมีการเติมสารจับติด เพื่อให้ส่วนขยายพันธุ์ของจุลินทรีย์ปฏิบัติสามารถเกาะติดกับเมล็ดได้ดี

2. สูตรสำเร็จชนิดผงเปียกน้ำและชนิดเหลว (Wettable powder and liquid formulation) การใช้จุลินทรีย์ปฏิบัติ เช่น *Pseudomonas putida* *Bacillus subtilis* และ *Trichoderma* spp. สำหรับควบคุมโรคผลัดผลหลังเก็บเกี่ยว มักใช้วิธีการพ่น จุ่ม หรือรดลงบนผลไม้หลังเก็บเกี่ยว จึงนิยมใช้สูตรสำเร็จชนิดผงเปียกน้ำผสมน้ำ และเชื้อสูตรสำเร็จชนิดเหลวเป็นหลัก

3. สูตรสำเร็จชนิดเม็ด (Granular formulation) มักจะมีวัตถุประสงค์สำหรับใช้ผสมเพื่อผลิตเม็ดเชื้อแบบ Granule เช่น Lignite-silage

El-Hassan *et al.* (2006) ได้พัฒนาสูตรสำเร็จของชีวภัณฑ์จากแบคทีเรียปฏิบัติ *Bacillus subtilis* เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของถั่วที่เกิดจากเชื้อ *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lentis* และเปรียบเทียบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์บนถั่วพาด คือ แป้ง, กลูโคส, ฟิต ต่ออายุการเก็บรักษาชีวภัณฑ์ และการควบคุมโรคเหี่ยว ผลที่ได้คือ ชีวภัณฑ์ที่ผลิตร่วมกับน้ำตาล สามารถที่จะควบคุมโรคเหี่ยว มีอายุการเก็บรักษาได้นานที่สุดและมีการลดลงของปริมาณประชากร *B. subtilis* น้อยที่สุด เมื่อเก็บรักษาไว้ประมาณ 360 วัน

Ardakani *et al.* (2010) พัฒนาชีวภัณฑ์ของ *Pseudomonas fluorescens* และศึกษาประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ที่ยับยั้งการเกิดโรคน้ำระดับดินของต้นกล้าฝ้ายที่ผลิตร่วมกับตัวพาชนิดต่างๆ ได้ผลว่าชีวภัณฑ์ของ *Pseudomonas fluorescens* ที่ผลิตร่วมกับดินเบนโทไนต์สามารถเพิ่มการงอกของเมล็ดฝ้าย เพิ่มความแข็งแรง และลดโรคได้ดีกว่าใช้ตัวพาอื่นๆ คือ แป้ง รำข้าว ฟิต

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การแยกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* สาเหตุโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์

แยกเชื้อรา *P. aphanidermatum* จากรากของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ ที่แสดงอาการของโรครากเน่า ด้วยวิธี tissue transplanting technique โดยตัดส่วนของรากเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาด 1.0 เซนติเมตร แช่ในสารละลาย 0.525 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมไฮโปคลอไรด์ นาน 5 นาที นำไปล้างด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง แล้วซับให้แห้งด้วยกระดาษซับน้ำ จากนั้นนำไปวางบนอาหาร Modified BNPR (Chamswang *et al.*, 1985) ซึ่งเป็นอาหารจำเพาะของเชื้อรา *P. aphanidermatum* บ่มเชื้อไว้ในที่อุณหภูมิห้อง จนกระทั่งมีเส้นใยของเชื้อราเจริญออกมาจากเนื้อเยื่อพืช ย้ายเส้นใยของเชื้อลงบนหลอดอาหารเลี้ยง หรือย้ายลงดินที่บรรจุอยู่ในขวดแก้วที่มีฝาปิดสนิท เก็บไว้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

2. การพิสูจน์โรคตามวิธีของ Koch (Koch's postulation)

เลี้ยงเชื้อรา *P. aphanidermatum* บนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) เป็นเวลา 2 วัน ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่ในน้ำนิ่งฆ่าเชื้ออัตรา 1 งาน / 100 มิลลิลิตร นำไปปั่นด้วยเครื่อง homogenizer เป็นเวลา 15 วินาที หยดเส้นใยแขวนลอยของเชื้อรา *P. aphanidermatum* บนกล้าผักกาดหอมที่ปลูกอยู่ในวัสดุปลูก (ถั่วเพาะกล้า) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ จากนั้นตรวจสอบอาการโรคที่เกิดขึ้นและแยกเชื้อซ้ำอีกครั้งเพื่อพิสูจน์ว่าเป็นเชื้อโรคชนิดเดียวกัน

ศึกษาการเจริญของเชื้อรา *P. aphanidermatum* บนอาหาร และการเจริญของเส้นใยที่อายุ 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ จำแนกเชื้อรา *P. aphanidermatum* โดยวิธี water culture ด้วยการตัดชิ้นวัสดุอาหาร ที่มีเส้นใยเชื้อราเจริญอยู่ขนาด 1x1 เซนติเมตร วางในจานเลี้ยงเชื้อเปล่าจานละ 3 จาน ใส่ น้ำนิ่งฆ่าเชื้อให้ท่วมชิ้นวัสดุ เปลี่ยนน้ำทุกๆ 24 ชั่วโมง เก็บไว้ที่มีดประมาณ 3 วัน นำมาตรวจดูลักษณะของเชื้อราใต้กล้องจุลทรรศน์ แล้วจำแนกชนิดของเชื้อรา *P. aphanidermatum* โดยใช้ monograph ของ Plaats-Niterink (1981)

3. การทดสอบเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากรากของผักกาดหอมในระบบไฮโดรโปนิคส์

ได้นำแบคทีเรียที่ได้รับความอนุเคราะห์จากคุณเพ็ญกัศ เสาวกาศย์ ที่ได้แยกแบคทีเรียจากรากของผักกาดหอมในระบบไฮโดรโปนิคส์เพื่อใช้ในวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท เรื่องประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่เจริญรอบครองรากในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* มาทดสอบความเป็นปฏิกิริยาซ้ำอีกครั้งโดยการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. aphanidermatum* สาเหตุโรครากเน่าของผักกาดหอมด้วยวิธี dual culture test บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นเวลา 4 วัน

นำแบคทีเรียปฏิกิริยาที่มีประสิทธิภาพ มาพัฒนาให้ได้สายพันธุ์ที่ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ เพื่อง่ายต่อการติดตามตรวจสอบปริมาณประชากรของแบคทีเรีย โดยเตรียมเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียปฏิกิริยา (ตามวิธีการในข้อ 4.1) ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร นำไปหยดและเกลี่ยบนอาหาร NGA ที่ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ppm) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 24-48 ชั่วโมง นำเชื้อที่เจริญได้บนอาหารดังกล่าว มาเพิ่มปริมาณบนอาหาร NGA ที่ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin 1 มิลลิกรัมต่อลิตร (ppm) ก่อน 2-3 ครั้ง แล้วจึงนำไปเตรียมเป็นเซลล์แขวนลอย เพื่อนำไปเกลี่ยบนอาหาร NGA ที่ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin 5, 10 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร (ppm) (จิรัชสา, 2546) คัดเลือกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพดีมาจำนวน 5 สายพันธุ์และนำมาพัฒนาให้ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร (ppm) โดยแบคทีเรียในแต่สายพันธุ์ก็จะมี การคัดเลือกโคโลนีที่ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะมาสายพันธุ์ละ 10 โคโลนี แล้วนำมาทดสอบการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. aphanidermatum* เปรียบเทียบกับโคโลนีที่เป็น wild type อีกครั้ง และเลือกโคโลนีที่ยังคงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา และนำไปทดสอบการยับยั้งการเข้าครองรากของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในระยะกล้าของผักกาดหอมอีกครั้ง

ในการทดลองนี้ได้คัดเลือกแบคทีเรียปฏิกิริยาที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่าได้ดี มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา *P. aphanidermatum* คือ *Bacillus mycoides* (FL17), *Bacillus* sp. (RO15) ไม่สามารถจำแนกได้แต่มีลักษณะการสร้างคาร์บอนไกล์เคียงกับ *Bacillus mycoides*

4. การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์เพื่อใช้ในการทดสอบ

4.1 การเตรียมเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรีย

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหาร Nutrient Glucose Broth (NGB) แล้วนำไปเขย่าบนเครื่อง rotary shaker ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปรับให้มีความเข้มข้น 10^8 หน่วยโคโลนี /มิลลิลิตร (CFU/ml) โดยการนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้มีค่าเท่ากับ 0.2 ($OD_{600\text{ nm}} = 0.2$)

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนถั่วเหลือง โดยนำถั่วเหลือง 450 กรัม ไปแช่น้ำปริมาตร 1.5 ลิตร ที่เพิ่มโปรตีน แช่เป็นเวลา 3-6 ชั่วโมง จากนั้นตัดถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่ต่างๆละ 100 กรัม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

4.2 การเตรียมเส้นใยแขวนลอยของเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*

เลี้ยงเชื้อรา *P. aphanidermatum* บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่ในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 100 มิลลิลิตร/ 1 จาน นำไปปั่นด้วยเครื่อง homogenizer เป็นเวลา 15 วินาที (สุขุมวัฒน์, 2531)

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

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

5. การเตรียมชีวภัณฑ์เพื่อใช้ในการทดลอง

การเตรียมแบคทีเรียสูตรผงแป้ง

สูตรที่ 1

นำเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่เลี้ยงในอาหาร nutrient glucose broth (NGB) ผสมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethyl cellulose) 1 เปอร์เซ็นต์ ที่ละลายอยู่ในน้ำ อัตรา (1:1) แล้วผสมกับแป้งจากพืชอัตรา 1 กิโลกรัมต่อเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. 600 มิลลิลิตร คลุกเคล้ากันให้ทั่ว จากนั้นเกลี่ยลงบนถาดพลาสติกเพื่อทำเป็นชีวภัณฑ์แบบเกล็ด เก็บแป้งเมื่อความชื้นในเกล็ดแป้งลดลงจนมีค่าไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำไปบรรจุลงในซองชาตามปริมาณที่ต้องการ

สูตรที่ 2

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนถั่วเหลือง โดยนำถั่วเหลือง 450 กรัม ไปแช่น้ำปริมาตร 1.5 ลิตร เติมโปรตีน 100 กรัม แช่เป็นเวลา 3-6 ชั่วโมง จากนั้นตัดถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำใส่ถุงๆ ละ 100 กรัม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที นำเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. 3 มิลลิลิตร ใส่ในถั่วเหลืองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว (ใส่เชื้อแบคทีเรียในขณะที่ถั่วเหลืองไม่ร้อนหรือเย็นจนเกินไป) เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียเป็นเวลา 2-3 วัน จากนั้นล้างแบคทีเรียที่เลี้ยงบนถั่วเหลือง 300 กรัม ด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 300 มิลลิลิตร ผสมกับคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethyl cellulose) 1 เปอร์เซ็นต์ ที่ละลายอยู่ในน้ำ อัตราเซลล์แขวนลอยต่อคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethyl cellulose) (1:1) ผสมเข้าด้วยกัน จากนั้นนำไปผสมกับแป้งจากพืชอัตรา 1 กิโลกรัม คลุกเคล้ากันให้ทั่ว จากนั้นเกลี่ยลงบนถาดพลาสติกผึ่งให้แห้ง เก็บแป้งเมื่อความชื้นในแป้งลดลงจนมีค่าไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำไปบรรจุลงในซองชาตามปริมาณที่ต้องการ

สูตรที่ 3

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 บนเมล็ดถั่วเหลือง โดยนำเมล็ดถั่วเหลือง 450 กรัม ไปแช่น้ำปริมาตร 1.5 ลิตร ที่เติมโปรตีน 100 กรัม แช่เป็นเวลา 3-6 ชั่วโมง จากนั้นตัดเมล็ดถั่วเหลืองใส่ถุงๆ ละ 100 กรัม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที นำเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย *B. mycoides* 3 มิลลิลิตร ใส่ในเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียเป็นเวลา 2-3 วัน จากนั้นล้างแบคทีเรียที่เจริญบนเมล็ดถั่วเหลือง 300 กรัม ด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 300 มิลลิลิตร ผสมกับคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethyl cellulose) 1 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำไปผสมกับผงแป้งจากพืชหนัก 1 กิโลกรัม เติมน้ำตาลทราย 4 ลูกเต๋าสวนผสมให้เข้ากัน จากนั้นเกลี่ยลงบนพลาสติก เตรียมแบคทีเรีย *Bacillus* sp. RO15 ชนิดเกลือ ด้วยวิธีการดังกล่าวข้างต้นไว้ใช้ในกรรมวิธีเปรียบเทียบประสิทธิภาพควบคุมโรควัดความชื้นให้ได้ 35 เปอร์เซ็นต์ (El-Hassan and Gowen, 2006) นำไปบรรจุของชาในปริมาณที่ต้องการ

6. การตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. จากชีวภัณฑ์สูตรต่างๆ เป็นระยะเวลา 12 เดือน

ตรวจปริมาณเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี Dilution plate count โดยใส่ชีวภัณฑ์ 10 กรัม ในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 90 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้ววางทิ้งไว้ 30 นาที จากนั้นดูดเซลล์แขวนลอยของ *Bacillus* spp. ที่ได้จากการแช่ชีวภัณฑ์ในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อข้างต้น ทำการเจือจางในระดับความเข้มข้นต่างๆ ดูดเซลล์แขวนลอยมาหยดลงบนผิวหน้าอาหาร NGA ที่ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin 50 ppm จำนวน 0.1 มิลลิลิตรต่อจาน บ่มไว้ 2-3 วัน ตรวจนับโคโลนีของแบคทีเรียที่เจริญบนผิวหน้าอาหาร บันทึกค่าปริมาณเชื้อเป็นหน่วยโคโลนี (Colony forming unit) ต่อชีวภัณฑ์ 1 กรัม (CFU/g)

7. การเตรียมระบบปลูกและต้นพืช

7.1 การเตรียมต้นพืช

ใส่วัสดุปลูก เพอร์ไลต์:เวอร์มิคูไลท์ ในอัตราส่วน 2 : 1 โดยปริมาตร ลงในถ้วยปลูกจนเกือบเต็มปากถ้วย หยอดเมล็ดบัตเตอร์เฮด (Butter Head) ที่จัดจำหน่ายโดยบริษัทคัทซ์ กรีนเนอรี่ สายพันธุ์ (Tiberius RZ[®]) ลงในถ้วยปลูกถ้วยละ 1 เมล็ด ก่อนนำไปวางในกระบะอนุบาลที่มีน้ำ

ไหลเวียนเป็นเวลา 14 วัน เลือกต้นกล้าที่มีความสม่ำเสมอและสมบูรณ์ ย้ายลงในชุดรางปลูก ระบบไฮโดรโปนิกส์ แบบ Nutrient Film Technique (NFT)

7.2 การเตรียมระบบปลูก

เตรียมชุดรางปลูกระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ Nutrient Film Technique (NFT) ซึ่งดัดแปลงโดย คุณอรรถพร สุนทรสันต์ (บริษัทแม่บัวหลวงไฮโดรโปนิกส์) โดยปริมาตรน้ำที่ไหลในระบบเท่ากับ 21.6 ลิตร/นาที่ ความสูงของน้ำเหนือพื้นรางมีความหนาเท่ากับ 5 มิลลิเมตร สำหรับสารละลายธาตุอาหารที่ใช้ตลอดการทดลองเป็นสูตรที่ได้รับการดัดแปลงจากสูตรของ Cooper (1979) โดยผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ขงยุทธ เจียมไชยศรี (2546) (ข้อมูลในภาคผนวก)



ภาพที่ 1 ชุดรางปลูกระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ NFT ซึ่งดัดแปลงโดย คุณอรรถพร สุนทรสันต์

7.3 การปรับค่าสารละลายธาตุอาหาร

ในระหว่างการทดลองมีการปรับค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายธาตุอาหาร (EC) ให้อยู่ระหว่าง 1.5 – 1.8 mS/cm และปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ให้อยู่ระหว่าง 5.5 – 6.0 ทุกวันในตอนเช้า และเขียนตลอดการทดลอง แต่ละการทดลองปรับค่าการนำไฟฟ้า (EC) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของสารละลายธาตุอาหารให้ทุกกรรมวิธีมีค่าเท่ากัน โดยหากค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายธาตุอาหาร (EC) ต่ำกว่าที่ต้องการ จะเติมสารละลายธาตุอาหารเข้มข้น (stock solution) แต่ถ้าค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายธาตุอาหาร (EC) สูงกว่าที่ต้องการ เติมน้ำลงไปเจือจาง สำหรับค่าความเป็น

กรด-ด่าง (pH) ในสารละลายมักจะสูงขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป ต้องปรับลงด้วยการเติมกรดไนตริก (HNO_3) 50 เปอร์เซ็นต์ ในการปรับค่าการนำไฟฟ้าหรือค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของสารละลาย ราชอาณาจักร (แพรทอง, 2549)

7.4 การปลูกเชื้อโรคในระบบปลูกพืช

ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ด้วยเส้นใยแขวนลอย (เตรียมตามวิธีการข้อ 4) อัตรา 200 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร เมื่อผักกาดหอมอายุ 14 21 28 และ 35 วัน

7.5 การใส่เชื้อแบคทีเรียปฏิชีวนะในระบบปลูกพืช

เตรียมเซลล์แขวนลอยจากชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่บรรจุในซองชา อัตรา 10, 20 กรัม/ซอง นำซองชาที่เตรียมใส่น้ำปริมาตร 250 และ 500 มิลลิลิตร เขย่า จากนั้นกรองเอาเฉพาะส่วนที่เป็นน้ำของเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย ไปใส่ในสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร ตั้งแต่ระยะเพาะกล้าและใส่เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ทุกครั้งเมื่อมีการเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหาร

8. การทดลองที่ 1 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ (20 มีนาคม - 1 พฤษภาคม 2554)

มีทั้งหมด 8 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 6 ต้น

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

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

ชุดรางปลูกที่ 3 = แบคทีเรีย *Bacillus mycoides* FL17 เกล็ดแป้งสูตร 3 ผสมน้ำ 250 มิลลิลิตร บ่มไว้ 48 ชั่วโมง อัตรา 10 กรัมต่อสารละลาย 50 ลิตร และปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (FL17 Powder 1 +Pa)

ชุดรางปลูกที่ 4 = แบคทีเรีย *Bacillus* sp. RO15 เกล็ดแป้งสูตร 3 ผสมน้ำ 250 มิลลิลิตร บ่มไว้ 48 ชั่วโมง อัตรา 10 กรัมต่อสารละลาย 50 ลิตร และปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (RO15 Powder 1+Pa)

ชุดรางปลูกที่ 5 = แบคทีเรีย *Bacillus mycoides* FL17 เกล็ดแป้งสูตร 1 ผสมน้ำ 250 มิลลิลิตร บ่มไว้ 48 ชั่วโมง อัตรา 10 กรัมต่อสารละลาย 50 ลิตร และปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (FL17 Powder 2 +Pa)

ชุดรางปลูกที่ 6 = แบคทีเรีย *Bacillus* sp. RO15 เกล็ดแป้งสูตร 1 ผสมน้ำ 250 มิลลิลิตร บ่มไว้ 48 ชั่วโมง อัตรา 10 กรัมต่อสารละลาย 50 ลิตร และปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (RO15 Powder 2 +Pa)

ชุดรางปลูกที่ 7 = แบคทีเรีย *Bacillus mycoides* FL17 เกล็ดแป้งสูตร 2 ผสมน้ำ 250 มิลลิลิตร บ่มไว้ 48 ชั่วโมง อัตรา 10 กรัมต่อสารละลาย 50 ลิตร และปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (FL17 Powder 3 +Pa)

ชุดรางปลูกที่ 8 = แบคทีเรีย *Bacillus* sp. RO15 เกล็ดแป้งสูตร 2 ผสมน้ำ 250 มิลลิลิตร บ่มไว้ 48 ชั่วโมง อัตรา 10 กรัมต่อสารละลาย 50 ลิตร และปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (RO15 Powder 3 +Pa)

ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (เตรียมตามวิธีการในข้อ 4.2) อัตรา 200 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร ในทุกชุดรางปลูกยกเว้นชุดที่ 1 เมื่อพักภาควัสดุอายุ 14 21 28 และ 35 วัน เป็นจำนวน 4 ครั้ง

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

การทดลองที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพอัตราการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ (ฤดูร้อน 21 กุมภาพันธ์- 2 เมษายน 2555)

มีทั้งหมด 8 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 6 ต้น

ชุดรางปลูกที่ 1 = กรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใย
แขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร

ชุดรางปลูกที่ 2 = กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum*

ชุดรางปลูกที่ 3 = กรรมวิธีที่ใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 อัตรา 10 กรัม (แบบบ่มไว้ 48 ชั่วโมง) ต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตรและปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร

ชุดรางปลูกที่ 4 = กรรมวิธีที่ใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 อัตรา 20 กรัม (แบบไม่บ่ม) ต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตรและปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร

ชุดรางปลูกที่ 5 = กรรมวิธีที่ใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 อัตรา 10 กรัม (แบบไม่บ่ม) ต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตรและปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร

ชุดรางปลูกที่ 6 = กรรมวิธีที่ใส่สปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ในอัตรา 25 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร และปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร

ชุดรางปลูกที่ 7 = กรรมวิธีที่ใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* sp. RO15 สูตร 3 อัตรา 20 กรัม (แบบไม่บ่ม) ต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตรและปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร

ชุดรางปลูกที่ 8 = กรรมวิธีที่ใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 อัตรา 20 กรัม (แบบไม่บ่ม) ต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตรร่วมกับสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ในอัตรา 25 และปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตร ต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร

Trichoderma harzianum สายพันธุ์ CB-Pin-01 ได้จากการเลี้ยงเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 ชนิดสด (ตามวิธีการในข้อ 4.3) นำไปเติมในระบบและมีการใส่เซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียในระหว่างการทดลอง

ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (เตรียมตามวิธีการในข้อ 4.2) อัตรา 200 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร ในทุกชุดรางปลูกยกเว้นชุดที่ 1 เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14, 21, 28 และ 35 วัน เป็นจำนวน 4 ครั้ง

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

10. การทดลองที่ 3 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus mycoides* ร่วมกับสารเสริมต่างๆในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ (ฤดูฝน 23 มิถุนายน- 3 สิงหาคม 2555)

มีทั้งหมด 8 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 6 ต้น

ชุดรางปลูกที่ 1 = กรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร

ชุดรางปลูกที่ 2 = กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum*

ชุดรางปลูกที่ 3 = กรรมวิธีที่ใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 อัตรา 20 กรัม (แบบไม่บ่ม) ต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตรและปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร

ชุดรางปลูกที่ 4 = กรรมวิธีที่ใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 อัตรา 20 กรัม (แบบไม่บ่ม) และมูลไส้เดือนดินอัตรา 10 กรัม ต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum*

ชุดรางปลูกที่ 5 = กรรมวิธีที่ใส่สปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ในอัตรา 25 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร และปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอย อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร

ชุดรางปลูกที่ 6 = กรรมวิธีที่ใส่สปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ในอัตรา 25 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร และปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร

ชุดรางปลูกที่ 7 = กรรมวิธีที่ใส่มูลไส้เดือนดินอัตรา 10 กรัม ต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร และไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum*

ชุดรางปลูกที่ 8 = กรรมวิธีที่ใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 อัตรา 20 กรัม (แบบไม่บ่ม) และมูลไส้เดือนดินอัตรา 10 กรัม ต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร การปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร

Trichoderma harzianum สายพันธุ์ CB-Pin-01 ได้จากการเลี้ยงเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 ชนิดสด (ตามวิธีการในข้อ 4.3) นำไปเติมในระบบและมีการใส่เซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียปฏิชีวนะในระหว่างการทดลอง

เชื้อรา *Trichoderma harzianum* สายพันธุ์ 01-52 ชนิดอัดเม็ด ได้รับความอนุเคราะห์จากรศ.ดร.จิระเดช แจ่มสว่าง

ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (เตรียมตามวิธีการในข้อ 4.2) อัตรา 200 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร ในทุกชุดรางปลูกยกเว้นชุดที่ 1 เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14, 21, 28 และ 35 วัน เป็นจำนวน 4 ครั้ง

11. การทดลองที่ 4 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของความถี่ในการใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย

B. mycoides ต่อการเจริญเติบโตและการเกิดโรคของผักกาดหอม (Butter Head) (ฤดูหนาว 10 ตุลาคม -20 พฤศจิกายน 2555)

มีทั้งหมด 8 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 6 ต้น

ชุดรางปลูกที่ 1 = กรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใย
แขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร

ชุดรางปลูกที่ 2 = กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum*

ชุดรางปลูกที่ 3 = ใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL สูตร 3 อัตรา 20 กรัม ต่อสารละลาย
50 ลิตร ใส่เชื้อรา *P. aphanidermatum* ชีวภัณฑ์ และเปลี่ยนสารละลายทุก ๆ 7 วัน

ชุดรางปลูกที่ 4 = ใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL สูตร 3 อัตรา 20 กรัม ต่อสารละลาย
50 ลิตร ใส่ชีว ภัณฑ์ และเปลี่ยนสารละลายทุก ๆ 7 วัน ไม่ใส่เชื้อรา *P. aphanidermatum*

ชุดรางปลูกที่ 5 = ใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL สูตร 3 อัตรา 20 กรัม ต่อสารละลาย
50 ลิตร ใส่ชีว ภัณฑ์และเชื้อรา *P. aphanidermatum* ทุก ๆ 7 วัน ไม่เปลี่ยนสารละลาย

ชุดรางปลูกที่ 6 = ไม่นุบาลต้นกล้า และใส่เชื้อ *P. aphanidermatum* เปลี่ยนสารละลายทุก ๆ
7 วัน (control +)

ชุดรางปลูกที่ 7 = ใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL สูตร 3 อัตรา 20 กรัม ต่อ
สารละลาย 50 ลิตร สัปดาห์เว้นสัปดาห์ (ใส่ 7 เว้น 7) ใส่เชื้อรา *P. aphanidermatum* และไม่เปลี่ยน
สารละลาย

ชุดรางปลูกที่ 8 = อนุบาลต้นกล้า (อายุ 1-14 วัน) ด้วยชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL
สูตร 3 อัตรา 10 กรัม ต่อสารละลาย 50 ลิตร ครั้งเดียว เปลี่ยนสารละลายใส่เชื้อรา *P.*
aphanidermatum ทุก ๆ 7 วัน

การวางแผนและวิเคราะห์ผลทางสถิติ

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

12. การบันทึกผลการทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรียปฏิชีวนะในระบบไฮโดรโปนิคส์

12.1 บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของผักกาดหอม

- บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตของต้นผักกาดหอมชนิดบัตเตอร์เฮด (Butterhead) เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน หลังจากเพาะเมล็ด ด้วยการวัดความยาวราก โดยวัดจากรากส่วนของรากที่โผล่พ้นจากกันด้วยเพาะกล้าถึงปลายราก น้ำหนักสดต้นน้ำหนักสดราก น้ำหนักแห้งต้นน้ำหนักแห้งราก ความกว้างทรงพุ่ม โดยดูจากความกว้างของทรงพุ่มที่กว้างที่สุดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น โดยวัดจากโคนต้นเหนือวัสดุปลูก และเส้นรอบวงโคนต้น วัดจากโคนต้นเหนือวัสดุปลูก 0.5 เซนติเมตร

12.2 ประเมินพื้นที่การเกิดโรครากเน่าของผักกาดหอม

โดยวิธีการให้คะแนน 5 ระดับ ก่อนนำไปคำนวณเป็นค่าดัชนีการเกิดโรคดังนี้

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

12.3 ประเมินความหนาแน่นของรากผักกาดหอม

12.4 คำนวณดัชนีการเกิดโรค (Disease index)

ตามวิธีการของ Cirulii and Alexander (1966)

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

12.5 ตรวจปริมาณเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ในสารละลายธาตุอาหาร

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

12.6 ตรวจปริมาณเชื้อแบคทีเรียในสารละลายธาตุอาหาร

ตรวจปริมาณเชื้อแบคทีเรียโดยการดูดสารละลายธาตุอาหารจากแต่ละกรรมวิธีมาหยดลงบนผิวหน้าอาหาร NGA ที่ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin 50 ppm จำนวน 0.1 มิลลิลิตรต่อจาน บ่มไว้ 2-3 วัน ตรวจนับโคโลนีของแบคทีเรียที่เจริญบนผิวหน้าอาหาร บันทึกค่าปริมาณเชื้อเป็นหน่วยโคโลนี (Colony forming unit) ต่อสารละลายธาตุอาหาร 1 มิลลิลิตร (CFU/ml)

12.7 ตรวจการเจริญครอบครองรากของเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* และแบคทีเรีย

เมื่อผักกาดหอมอายุ 42 วัน นำตัวอย่างรากมาล้างด้วยสารละลาย sodium hypochlorite เข้มข้น 0.525 เปอร์เซ็นต์ ก่อนที่จะนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งมาเชื้อ 3 ครั้ง ซับด้วยกระดาษซับน้ำมาเชื้อ แล้วตัดรากให้มีขนาดความยาว 1.0 เซนติเมตร วางบนอาหาร modified BNPR และ NGA ที่ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin จำนวน 5 ชิ้นต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

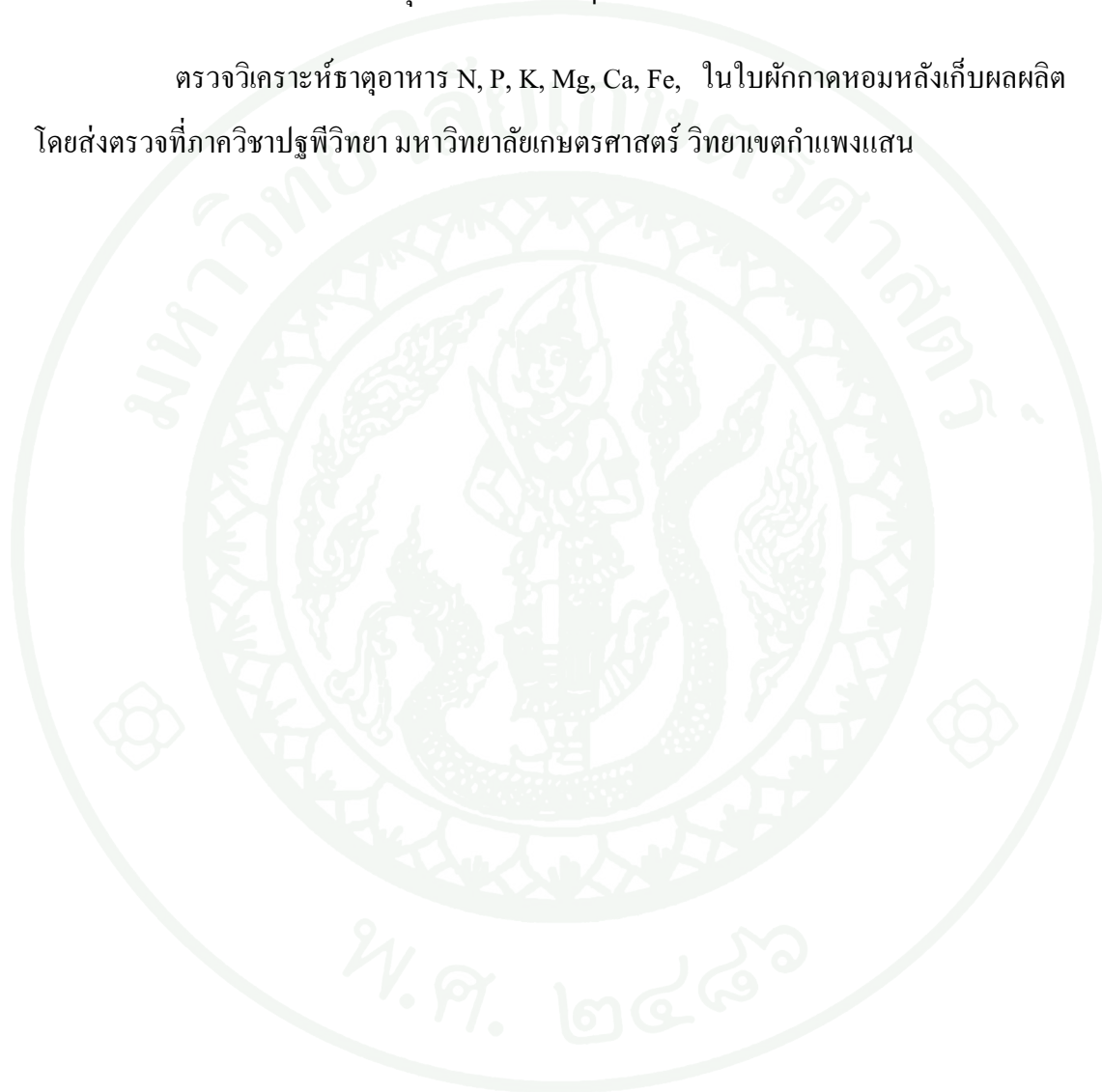
12.8 ตรวจการเจริญครอบครองวัสดุปลูก (เวอร์มิคูไลท์, เพอร์ไลท์) ของเชื้อรา

Pythium aphanidermatum และแบคทีเรีย

ภายหลังการเก็บผลผลิตของผักกาดหอมที่มีอายุ 42 วัน นำส่วนของ เวอร์มิคูไลท์, เพอร์ไลต์ ที่อยู่ในถ้วยปลูกมาล้างด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ซับด้วยกระดาษซับน้ำฆ่าเชื้อ แล้ววางบนอาหารจำเพาะ modified BNPR และ NGA ที่ผสมสารปฏิชีวนะ rifampicin จำนวน 5 ชั้นต่อจาน

12.9 ประเมินการตรวจธาตุอาหารชนิดต่างๆ

ตรวจวิเคราะห์ธาตุอาหาร N, P, K, Mg, Ca, Fe, ในใบผักกาดหอมหลังเก็บผลผลิต โดยส่งตรวจที่ภาควิชาปฐพีวิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน



ผลและวิจารณ์

1. การแยกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* สาเหตุโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์

แยกเชื้อรา *P. aphanidermatum* จากรากของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ ที่แสดงอาการของโรครากเน่า โดยเลือกรากที่มีลักษณะอาการปลายรากมีสีน้ำตาลจนถึงสีดำ ด้วยวิธี tissue transplanting technique บนอาหาร Modified BNPRa พบว่ามีเส้นใยสีขาวเจริญออกมาจากรากที่แสดงอาการเน่า โดยเส้นใยที่เจริญออกมามีลักษณะสีขาว พู คล้ายสำลี เจริญอย่างรวดเร็วเต็มจานอาหารอาหารเลี้ยงเชื้อภายในเวลา 48 ชั่วโมง เชื้อรา *P. aphanidermatum* เข้าทำลายจากปลายรากของผักกาดหอม ทำให้รากเปลี่ยนจากสีขาวเป็นสีน้ำตาล โดยเริ่มเห็นจากรากที่มีจุดสีน้ำตาลจนถึงสีดำ ดังภาพที่ 2 ถ้าสภาพแวดล้อมมีความชื้นสูง อุณหภูมิของสารละลายและอุณหภูมิของอากาศสูงขึ้น รวมทั้งสภาพความเป็นกรดด่างที่ไม่เหมาะสมของสารละลายธาตุอาหาร รากก็จะแสดงอาการเน่าได้อย่างรวดเร็วและอาจจะพบเส้นใยสีขาวเจริญอยู่ที่โคนต้นบริเวณที่ติดกับวัสดุปลูก และรากมีอาการหลุดร่วง จากการตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเส้นใยมีลักษณะใส แฉกแขนงได้ดี ไม่มีผนังกันตามขวางภายในของเส้นใยสร้าง sporangium แบบ lobate และสร้าง oospore แบบ pleortic เมื่อใช้ใบผักกาดหอมและหนุ่ยแพรงที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อเป็นเชื้อสื่อในการสร้าง zoospore พบว่าในใบผักกาดหอมมีการสร้าง zoospore มากกว่าในหนุ่ยแพรง จากลักษณะดังกล่าวข้างต้นเปรียบเทียบกับลักษณะในคู่มือของ Plaats-Niterink (1981) เชื้อราที่แยกได้จึงเป็นเชื้อรา *P. aphanidermatum*



ภาพที่ 2 ก. รากผักกาดหอมที่แสดงอาการเน่าโดยปลายรากจะมีสีน้ำตาลเข้มจนถึงดำและอาการหลุด ข. เชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ที่เจริญบนอาหาร PDA เป็นเวลา 2 วันที่อุณหภูมิห้อง

2. การพิสูจน์โรคตามวิธีของ Koch (Koch's postulation)

จากการนำเชื้อรา *P. aphanidermatum* ที่แยกได้จากรากผักกาดหอมในรูปของเส้นใยแขวนลอย (mycelial suspension) ไปปลูกเชื้อให้กับต้นกล้าของผักกาดหอมอายุ 14 วัน ที่ปลูกในเพอร์ไลต์:เวอร์มิคูไลต์ อัตราส่วน 2:1 ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ในระบบน้ำวนที่ปราศจากโรค เพื่อพิสูจน์โรคตามวิธีการของ Koch (Koch's postulation) พบว่าหลังจากปลูกเชื้อแล้ว ประมาณ 3-5 วัน ต้นกล้าเริ่มแสดงอาการเหี่ยว บริเวณปลายรากเริ่มเปลี่ยนเป็นจุดสีน้ำตาล ถึงสีดำและเน่าเปื่อย นำรากที่แสดงอาการของโรคมานำเชื้อซ้ำอีกครั้งบนอาหาร BNPR และ PDA พบว่ามีเส้นใยของเชื้อรา *P. aphanidermatum* เจริญออกมาจากรากที่แสดงอาการและมีลักษณะสีขาว ฟู เหมือนกับเชื้อราที่ได้ปลูกเชื้อลงไปบนต้นกล้าของผักกาดหอม

3. ทดสอบเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากรากของผักกาดหอมในระบบไฮโดรโปนิคส์

ได้นำแบคทีเรีย *Bacillus mycoides* สายพันธุ์ FL17 และ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ RO15 ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากคุณเพ็ญภักดิ์ เสาวภาคย์ ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่แยกได้จากจากรากของผักกาดหอมในระบบไฮโดรโปนิคส์ (เพ็ญภักดิ์, 2552) มาทดสอบความเป็นปฏิกิริยาซ้ำอีกครั้งโดยการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. aphanidermatum* สาเหตุโรครากเน่าของผักกาดหอมด้วยวิธี dual culture test บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นเวลา 4 วัน จากการทดลองพบว่าแบคทีเรียที่ได้คัดเลือกมายังมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา และเจริญได้ดีบนอาหารที่มีส่วนผสมของ rifampicin เพราะแบคทีเรียที่ได้คัดเลือกมาเป็นแบคทีเรียที่ได้ถูกพัฒนาให้ต้านทานสารปฏิชีวนะ rifampicin

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

แบคทีเรียสายพันธุ์ FL17 = *Bacillus mycoides* (% similarity = 72)

แบคทีเรียสายพันธุ์ RO15 = *Bacillus* spp. (unidentified species)

ข้อความจากนี้ไป ขอใช้คำว่า *Bacillus mycoides* สายพันธุ์ FL17 และ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ RO15



ภาพที่ 3 เชื้อ *Bacillus mycoides* สายพันธุ์ FL17 streak บนอาหาร NGA ผสม rifampicin 100 ppm อายุ 48 ชั่วโมง

4. การตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. จากชีวภัณฑ์สูตรต่างๆ เป็นระยะเวลา 12 เดือน

การพัฒนาแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในควบคุมเชื้อรา *P. aphanidermatum* จากการทดลองก่อนหน้านี้ให้อยู่ในรูปสูตรสำเร็จ 3 สูตร คือ เกล็ดแป้งสูตร 1 เลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเหลว เกล็ดแป้งสูตร 2 เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนถั่วเหลือง และเกล็ดแป้งสูตร 3 เลี้ยงแบคทีเรียบนถั่วเหลืองและเพิ่มสารพา (น้ำตาล) โดยทั้งสามสูตรมีความแตกต่างกันที่อาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียและสารพา (carrier) จากนั้นนำมาทดสอบประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จทั้ง 3 สูตร ด้วยการบรรจุเกล็ดแป้งลงในซองเยื่อกระดาษ (ซองชา) แบ่งเก็บไว้ 2 ส่วนหนึ่งที่อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส) และในห้องเย็น (10 องศาเซลเซียส) เมื่อตรวจนับปริมาณแบคทีเรียจากชีวภัณฑ์ทั้ง 3 สูตรทุกเดือน จากการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 12 เดือน เพื่อศึกษาอิทธิพลของสูตรสำเร็จและปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. จากชีวภัณฑ์สูตรต่างๆ ว่าสามารถมีชีวิตรอด (shelf-life) อยู่ภายใต้ อุณหภูมิห้องได้นานเพียงใด เพราะส่วนประกอบของสูตรสำเร็จ (formulation) หรือรูปแบบของชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ประยุกต์มีความสำคัญต่อความสำเร็จของการใช้จุลินทรีย์ประยุกต์ในการควบคุมโรคพืชเป็นอย่างยิ่ง สูตรสำเร็จมีอิทธิพลช่วยให้จุลินทรีย์ประยุกต์มีความเสถียรหรือความคงตัว (stability) ในระหว่างการเก็บรักษา (storage) โดยที่ยังคงมีชีวิตจนกว่าจะนำไปใช้ ช่วยให้เกิดความสะดวกทั้งในการใช้และด้านความปลอดภัย ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า สูตรสำเร็จของชีวภัณฑ์ *B. mycoides* สายพันธุ์ FL17 สูตร 3 มีปริมาณของเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้นมากที่สุดถึง 3.7×10^{14} โคโลนี/กรัม ในขณะที่สูตรสำเร็จของชีวภัณฑ์สูตร 2 และสูตร 1 มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้นเพียง 6.3×10^9

4.2×10^9 โคโลนี/กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 1) นอกจากนั้นปริมาณเชื้อแบคทีเรียจากชีวภัณฑ์สูตร 3 ซึ่งมีความชื้นมากกว่า (35 เปอร์เซ็นต์) ยังลดลงอย่างช้าๆ จนถึงเดือนที่ 9 ยังมีชีวิตรอดอยู่ถึง 2.1×10^{12} โคโลนี/กรัม ซึ่งยังมากกว่าปริมาณเริ่มต้นของสูตร 1 และ 2 (35 เปอร์เซ็นต์) เหตุที่ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus mycoides* มีชีวิตรอดอยู่ในชีวภัณฑ์ที่เก็บภายใต้สภาพอุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส) ได้เป็นเวลานาน เพราะชีวภัณฑ์ในสูตร 3 มีความชื้นของชีวภัณฑ์สูงกว่าและแบคทีเรียชนิดนี้มีการสร้างสปอร์ที่สามารถทนต่อความร้อนและดูดความชื้นได้ดี นอกจากนั้นทั้งสูตร 1 และ 2 มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียลดลงอย่างรวดเร็ว เมื่อเก็บรักษานานกว่า 6 เดือน พบว่าทั้งสองสูตรเหลือปริมาณแบคทีเรียน้อยกว่าปริมาณที่กำหนดไว้ของชีวภัณฑ์ทางการค้าที่วางขายอยู่ในท้องตลาด สำหรับชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* sp. RO15 ได้ผลเช่นเดียวกับ *B. mycoides* FL17 โดยชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* sp. RO15 สูตร 3 มีปริมาณของเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้นมากที่สุดถึง 3.2×10^{14} โคโลนี/กรัม แสดงให้เห็นว่าสูตรสำเร็จของชีวภัณฑ์สูตร 3 มีอิทธิพลต่อความมีชีวิตรอดของเชื้อแบคทีเรียและช่วยทำให้ชีวภัณฑ์เกิดความเสถียรหรือความคงตัวในระหว่างการเก็บรักษา สอดคล้องกับงานของ El-Hassan *et al.* (2006) ที่ทดลองพบว่าสารพาที่เป็นน้ำตาลมีผลดีที่สุดต่ออายุการเก็บรักษาชีวภัณฑ์และการควบคุมโรคเหี่ยวเมื่อเปรียบเทียบกับสารพาชนิดอื่น และรายงานของ J.Jayaraj *et al.* (2005) ซึ่งทดลองพบว่าชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. subtilis* ที่พัฒนาขึ้นเพื่อควบคุมโรค damping-off ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* มีความมีชีวิตรอดได้นานถึง 24 เดือนโดยมีปริมาณแบคทีเรียลดลงเพียงเล็กน้อย ซึ่งชีวภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้นมีสารพาที่เดิมในสูตร 3 มีส่วนสำคัญในการช่วยเพิ่มปริมาณของเชื้อแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ เพราะในขั้นตอนการผลิตได้ใช้ปริมาณเซลล์แบคทีเรียเริ่มต้นเท่ากันในทุกสูตร แต่หลังจากผลิตเป็นชีวภัณฑ์แล้วพบว่าปริมาณของเซลล์แบคทีเรียที่ตรวจนับได้จากชีวภัณฑ์ไม่เท่ากัน และอีกสาเหตุที่สำคัญคือเปอร์เซ็นต์ความชื้นที่วัดได้จากชีวภัณฑ์ เป็นไปได้ว่าชีวภัณฑ์สูตร 3 ที่มีความชื้นสูงกว่าช่วยให้มีปริมาณแบคทีเรียเพิ่มขึ้น และเหลือรอดมากกว่าในสูตร 1 และ 2 เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น



ภาพที่ 4 โคโลนีเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ในชีวภัณฑ์ จากการทำ dilution plate บนอาหาร nutrient glucose agar (NGA)

ตารางที่ 1 ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus mycoides* FL17 และ *Bacillus* sp. RO15 จากชีวภัณฑ์สูตรต่างๆ ที่เก็บรักษาไว้ เป็นระยะเวลา 12 เดือนที่ อุณหภูมิห้อง (25 - 30 องศาเซลเซียส)

ลำดับ	เดือน / ปี	หน่วยโคโลนี/กรัม ^{1/}					
		FL17 No.1	RO15 No.1	FL17 No.2	RO15 No.2	FL17 No.3	RO15 No.3
1.	มีนาคม /2554	4.2×10^9	3.3×10^9	6.3×10^9	5.8×10^9	3.7×10^{14}	3.2×10^{14}
2.	เมษายน /2554	3.4×10^9	2.9×10^9	1.8×10^9	2.1×10^9	2.2×10^{14}	1.9×10^{14}
3.	พฤษภาคม /2554	2.9×10^8	1.8×10^8	6.7×10^8	5.7×10^8	4.3×10^{13}	3.8×10^{13}
4.	มิถุนายน /2554	1.6×10^8	1.4×10^8	5.7×10^8	4.4×10^8	2.6×10^{13}	2.4×10^{13}
5.	กรกฎาคม /2554	2.7×10^7	2.3×10^7	2.7×10^8	2.6×10^8	1.7×10^{13}	1.2×10^{13}
6.	สิงหาคม /2554	5.2×10^6	4.6×10^6	1.3×10^8	1.6×10^8	1.1×10^{13}	1.2×10^{13}
7.	กันยายน /2554	1.9×10^6	1.6×10^6	5.6×10^7	5.1×10^7	6.3×10^{12}	5.7×10^{12}
8.	ตุลาคม /2554	1.1×10^6	1.1×10^6	4.7×10^7	3.9×10^7	2.8×10^{12}	2.6×10^{12}
9.	พฤศจิกายน /2554	5.9×10^5	4.7×10^5	3.2×10^7	3.3×10^7	2.1×10^{12}	1.9×10^{12}
10.	ธันวาคม /2554	3.4×10^5	3.0×10^5	5.5×10^6	5.5×10^6	2.2×10^{11}	2.1×10^{11}
11.	มกราคม /2555	2.2×10^5	1.8×10^5	3.1×10^6	3.5×10^6	1.5×10^{11}	1.1×10^{11}
12.	กุมภาพันธ์ /2555	1.5×10^5	1.5×10^5	1.7×10^6	1.4×10^6	1.3×10^{10}	1.1×10^{10}



ภาพที่ 5 ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus mycoides* สายพันธุ์ FL17 ชนิดเกล็ดสูตร 1 2 3

สูตรที่ 1 = เกล็ดแป้งสูตร 1 เลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเหลว NGB เกล็ดแป้ง

สูตรที่ 2 = เกล็ดแป้งสูตร 2 เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนถั่วเหลือง

สูตรที่ 3 = เกล็ดแป้งสูตร 3 เลี้ยงแบคทีเรียบนถั่วเหลืองและเพิ่มสารพา

5. การทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus spp.* สูตรต่างๆ ในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์ (18 กันยายน - 30 ตุลาคม 2554)

จากการนำชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิบัติที่พัฒนาได้ทั้ง 3 สูตร ซึ่งผ่านการตรวจสอบปริมาณแบคทีเรียและทราบถึงปริมาณเริ่มต้นที่พัฒนาขึ้นทั้ง 3 สูตร โดยทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่าของต้นผักกาดหอมชนิด บัตเตอร์เฮด (Butter Head) ที่เกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในระบบไฮโดรโปนิคส์ แบบ NFT โดยเตรียมเซลล์แขวนลอยจากชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus spp.* ทั้ง 3 สูตร ที่บรรจุในซองชาอัสตรา 10 กรัม/ซอง นำซองชาที่เตรียมใส่ในน้ำปริมาตร 250 มิลลิลิตร เขย่าและวางทิ้งไว้ 30 นาทีที่อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส) จากนั้นกรองเอาเฉพาะส่วนที่เป็นน้ำของเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียใส่ในสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร ตั้งแต่ระยะเพาะกล้าและใส่เซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus spp.* ทุกครั้งเมื่อมีการเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหาร โดยประชากรของเชื้อแบคทีเรียก่อนนำไปใส่ในระบบเท่ากับ

ผงแป้งสูตร 1 = 4.2×10^9 โคโลนี/กรัม

ผงแป้งสูตร 2 = 6.3×10^9 โคโลนี/กรัม

ผงแป้งสูตร 3 = 3.7×10^{14} โคโลนี/กรัม

เมื่อนำผักกาดหอมในแต่ละกรรมวิธีซึ่งน้ำหนัก พบว่าค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดต้น และน้ำหนักสดรากผักกาดหอมในกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้งสูตร 1 2 และ 3 มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดต้นและน้ำหนักสดรากสูงกว่าในกรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อโรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนในกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* sp. RO15 เกล็ดแป้งสูตร 2 และสูตร 3 มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดต้นและน้ำหนักสดรากสูงกว่าในกรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อโรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* sp. RO15 เกล็ดแป้งสูตร 1 โดยเฉพาะในกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้งสูตร 3 และกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* sp. RO15 เกล็ดแป้งสูตร 3 มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดต้นและน้ำหนักสดรากเป็น 297.92 26.49 และ 272.5 22.51 กรัมต่อต้น ตามลำดับ และน้ำหนักแห้งเป็นไปในทิศทางเดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบระหว่างชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้งสองสายพันธุ์ พบว่าชีวภัณฑ์ *B. mycoides* FL17 มีประสิทธิภาพดีกว่าสายพันธุ์ RO15 ส่วนค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดรวมทั้งต้นและรากในกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ทั้งสามสูตรในทั้งสองสายพันธุ์มีค่าสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อโรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเฉพาะ *B. mycoides* สายพันธุ์ FL17 สูตร 3 2 และ 1 คือ 324.4 297.08 และ 252.74 กรัมต่อต้น ตามลำดับ ส่วนในกรรมวิธีที่ปลูกเชื้อโรคมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 214 กรัมต่อต้น (ตารางที่ 2) ผลจากการแสดงได้ว่าอิทธิพลสูตรสำเร็จของชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์สูตรที่ 3 จากทั้งสองสายพันธุ์มีอิทธิพลต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของผักกาดหอมเมื่อผักกาดหอมมีอายุ 42 วัน

ในสภาพที่มีเชื้อโรคอยู่ในระบบของสารละลายธาตุอาหาร เชื้อโรคจะไปมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมทำให้น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งหรือผลผลิตลดลงได้ แต่ผักกาดหอมในกรรมวิธีที่ไม่ปลูกเชื้อโรคจะมีการเจริญเติบโตในด้านน้ำหนักสดต้น น้ำหนักสดราก น้ำหนักแห้งต้น น้ำหนักแห้งราก ดีกว่าในกรรมวิธีที่ปลูกเชื้อโรค แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรรมวิธีที่ไม่ปลูกเชื้อโรคกับกรรมวิธีที่ปลูกเชื้อโรคและใช้ชีวภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้นทั้งสามสูตร พบว่ากรรมวิธีที่ปลูกเชื้อโรคใช้ชีวภัณฑ์ร่วมด้วยสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตทั้งน้ำหนักสดต้น ราก และน้ำหนักแห้ง แสดงให้เห็นว่าแม้ในสภาพที่มีการปลูกเชื้อโรคชีวภัณฑ์ก็ยังมีประสิทธิภาพดีรวมทั้งมีอิทธิพลในการช่วย

รักษาและส่งเสริมการเจริญเติบโต จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าอิทธิพลจากสูตรสำเร็จของชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิบัณช์มีผลต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมแม้ในสภาพที่มีการปลูกเชื้อโรค

ตารางที่ 2 อิทธิพลของชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. สูตรต่างๆ ต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของผักกาดหอมเมื่อผักกาดหอมชนิด บัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์แบบ NFT และได้รับการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa)

กรรมวิธี	น้ำหนักสด (กรัม/ต้น)			น้ำหนักแห้ง (กรัม/ต้น)		
	น.น.ต้น	น.น.ราก	น.น.รวม	น.น.ต้น	น.น.ราก	น.น.รวม
Control (+ Pa)^{1/}	194.17 e ^{2/}	20.08 d	214.04 e	2.65 c	0.40 c	3.17 d
Control (- Pa)^{3/}	215.42de	21.29 cd	224.2d e	3.03 c	0.50 bc	3.43 d
FL17 สูตร 3+ Pa	297.92a	26.49 a	324.4 a	5.44 a	1.08 a	6.42 a
RO15 สูตร 3+ Pa	272.5 ab	22.51b cd	279.18 bc	4.02 b	0.62 b	4.64 c
FL17 สูตร 1+ Pa	228.75cd	23.99 abc	252.74 cd	4.06 b	0.54 bc	4.59 c
RO15สูตร 1+ Pa	203.13de	21.49b cd	236.71de	3.77 b	0.41 c	4.18 c
RO15 สูตร 2+ Pa	256.67bc	22.02b cd	275.35 bc	3.93 b	0.52 bc	4.44 c
FL17 สูตร 2+ Pa	252.5 bc	24.58ab	297.08ab	5.12a	0.67b	5.79b
C.V. (%)	7.67	8.45	7.44	8.94	21.22	8.87

^{1/}กรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตร ต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 21 28 และ 35 วัน

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

^{3/}กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (- Pa)

เมื่อพิจารณาพื้นที่การเกิดโรคบนรากของผักกาดหอมที่มีอายุ 42 วัน พบว่าในกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อโรคมิเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนรากสูงกว่ากรรมวิธีอื่น และเมื่อนำไปคำนวณดัชนีการเกิดโรคตามสูตรพบว่าให้ผลไปในทิศทางเดียวกันคือ ในกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อโรคมิดัชนีการเกิดโรครุนแรงที่สุด คือ 91.67 เปอร์เซนต์ ส่วนกรรมวิธีที่มีดัชนีการเกิดโรคต่ำที่สุด คือ กรรมวิธีที่มีการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* สายพันธุ์ FL17 เกล็ดแป้งสูตร 3 รองลงมาคือ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ RO15 เกล็ดแป้งสูตร 3 และ FL17 เกล็ดแป้งสูตร 2 เท่ากับ 25.17 35.41 และ 41.67 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) เมื่อเปรียบเทียบกรรมวิธีที่มีการปลูกโรคร่วมกับการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียพบว่าสามารถลดความรุนแรงของโรคที่เกิดขึ้นได้ดีและยังสามารถลดความเสียหายของผลผลิตได้อีกด้วย โดยเฉพาะกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* spp. สูตร 3 ของแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ จากผลการทดลองชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* spp. สูตร 3 มีเปอร์เซ็นต์ลดการเกิดโรคสูงกว่าในสูตร 1 และ 2 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ลดการเกิดโรคเท่ากับ 72.54 61.37 เปอร์เซนต์ (ตารางที่ 3) แสดงให้เห็นว่าชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* spp. สูตรต่างๆ ที่ใส่ลงไปในระบบ สามารถควบคุมโรคหรือลดความเสียหายที่จะเกิดกับผลผลิตได้ดีแตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ใส่ลงไปในระบบมีปริมาณแตกต่างกัน ทำให้ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคของชีวภัณฑ์มีความแตกต่างกัน เมื่อนำรากของผักกาดหอมมาตรวจวัดความยาวรากเปรียบเทียบกัน พบว่าในกรรมวิธีที่ปลูกเชื้อโรคมีความยาวรากสั้นที่สุดแตกต่างจากกรรมวิธีที่มีการใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus* spp. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* spp. สูตร 3 ของแบคทีเรียสายพันธุ์ FL17 และ RO15 มีความยาวรากสูงที่สุด เท่ากับ 45.38 44.26 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) แม้ว่าจะอยู่ในสภาพปลูกเชื้อโรคร่วมด้วยก็ตาม เช่นเดียวกับงานของ Ardakani *et al.* (2010) พัฒนาชีวภัณฑ์ของ *Pseudomonas fluorescens* และศึกษาประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ที่ยับยั้งการเกิดโรคเน่าระดับดินของต้นกล้าฝ้ายที่ผลิตร่วมกับตัวพาชนิดต่างๆ ได้ผลว่าชีวภัณฑ์ของ *Pseudomonas fluorescens* ที่ผลิตร่วมกับดินเบนโทไนต์สามารถเพิ่มการงอกของเมล็ดฝ้าย เพิ่มความแข็งแรง และลดโรคได้ดีกว่าใช้สารพาอื่นๆ คือ แป้ง รำข้าว ฟิท

ตารางที่ 3 ค่าดัชนีการเกิดโรคและความยาวรากของผักกาดหอมชนิด บัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์แบบ NFT และได้รับการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa)

กรรมวิธี	ดัชนีการเกิดโรค (%) ^{1/}	ดัชนีการเกิดโรคลดลง (%)	ความยาวราก (ซม.)
Control (+ Pa) ^{2/}	91.67 a ^{3/}	-	29.69 d
Control (- Pa) ^{4/}	nd ^{5/}	-	39.43 ab
FL17 สูตร 3+ Pa	25.17 d	72.54	45.38 a
RO15 สูตร 3+ Pa	35.41 cd	61.37	44.26 ab
FL17 สูตร 1+ Pa	54.17 bc	40.9	40.91 abc
RO15 สูตร 1+ Pa	66.67 b	27.27	35.99 c
RO15 สูตร 2+ Pa	55.54 bc	39.41	40.17 bc
FL17 สูตร 2+ Pa	41.67 c	54.54	40.41 abc
C.V. (%)	15.51	-	8.44

^{1/} ดัชนีการเกิดโรค (%) = $\frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนต้นที่แสดงอาการ} \times \text{ระดับอาการ)}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด} \times \text{ระดับอาการสูงสุด}} \times 100$

จำนวนต้นทั้งหมด × ระดับอาการสูงสุด

^{2/} กรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตร ต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 21 28 และ 35 วัน

^{3/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดังนี้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

^{4/} กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (- Pa)

^{5/} nd = non-determined (ไม่ได้ตรวจสอบ)

เมื่อนำสารละลายธาตุอาหารของระบบปลูก ในสัปดาห์สุดท้ายของการทดลองมาตรวจนับปริมาณเชื้อรา *P. aphanidermatum* บนอาหาร BNPRA และแบคทีเรียปฏิสัมพันธ์บนอาหาร NGA ผสมสารปฏิชีวนะ Rifampicin 50 ppm พบว่าในกรรมวิธีที่ปลูกเชื้อโรคเพียงอย่างเดียว พบเชื้อโรคในปริมาณที่สูงกว่ากรรมวิธีอื่น คือ 16.7 โคโลนีต่อสารละลายธาตุอาหาร 1 มิลลิลิตร (CFU/ml) กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียสายพันธุ์ FL17 RO15 สูตร 3 พบในปริมาณเท่ากันคือ 3.3 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ซึ่งต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมที่มีเชื้อโรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4) ส่วนในกรรมวิธีอื่นๆ พบว่าเชื้อโรคมีปริมาณน้อยกว่าในกรรมวิธีที่ปลูกเชื้อโรคเช่นเดียวกัน แสดงว่าแบคทีเรีย *Bacillus* spp. อาจไปลดปริมาณเชื้อโรคหรือยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อโรคทำให้สามารถลดความรุนแรงของโรคที่จะเกิดขึ้นที่บริเวณรากได้ ส่วนปริมาณแบคทีเรียในสารละลายพบว่ากรรมวิธีที่มีปริมาณแบคทีเรียมากที่สุดคือ FL17 สูตร 3 พบในปริมาณ 3.4×10^4 โคโลนีต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือ RO15 สูตรที่ 3 พบในปริมาณ 1.4×10^4 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ส่วนกรรมวิธีอื่นๆก็พบในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 4) เมื่อตรวจเปอร์เซ็นต์การเจริญครอบครองของจุลินทรีย์บริเวณรากของผักกาดหอม พบว่าในส่วนของรากของผักกาดหอมกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อโรคพบเชื้อรา *P. aphanidermatum* ปริมาณสูง เท่ากับ 83.33 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่พบน้อยที่สุดคือ กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* spp. สูตรที่ 3 ของแบคทีเรีย FL17 และ RO15 พบเชื้อรา *P. aphanidermatum* ปริมาณ 6.67 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อตรวจเปอร์เซ็นต์การครอบครองรากของแบคทีเรียพบว่าแบคทีเรีย *Bacillus* spp. สามารถครอบครองบริเวณรากผักกาดหอม โดยกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* spp. สูตรที่ 3 ของสายพันธุ์ FL17 และ RO15 พบแบคทีเรียในปริมาณมากที่สุดเท่ากับ 100 และ 83.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4) พบว่าในชีวภัณฑ์ทุกสูตรมีเปอร์เซ็นต์การครอบครองรากได้ดี แสดงว่าสูตรสำเร็จของชีวภัณฑ์มีอิทธิพลต่อการเจริญเพิ่มปริมาณเชื้อแบคทีเรียบนรากพืชและในสารละลายธาตุอาหารตลอดจนบนวัสดุปลูก (ในถ้วยเพาะกล้า) ด้วย

เชื้อรา *P. aphanidermatum* สามารถอาศัยอยู่กับวัสดุปลูก Perlite และ Vermiculite (ในถ้วยเพาะกล้า) ได้ โดยในกรรมวิธีที่ปลูกเชื้อโรค พบเปอร์เซ็นต์การเจริญครอบครอง Perlite และ Vermiculite อยู่ในปริมาณสูงเท่ากับ 83.33 และ 90 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* spp. สูตร 1 ของสายพันธุ์ RO15 เปอร์เซ็นต์การครอบครอง Perlite และ Vermiculite ที่ 60 และ 70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนปริมาณแบคทีเรีย *Bacillus* spp. สูตร 3 ในวัสดุปลูก Perlite และ Vermiculite ของสายพันธุ์ FL17 (100, 95 เปอร์เซ็นต์) RO15 (96.67, 90 เปอร์เซ็นต์) พบว่าปริมาณของแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์สามารถเจริญครอบครองวัสดุปลูกได้ดีที่สุดและไม่แตกต่างกันในทางสถิติ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 4 ปริมาณเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ในสารละลายธาตุอาหาร และบนรากผักกาดหอม (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ NFT

กรรมวิธี	สารละลายธาตุอาหาร (CFU/ml) ^{1/}		ราก (%)	
	เชื้อรา	เชื้อแบคทีเรีย	เชื้อรา <i>Pythium</i>	เชื้อแบคทีเรีย
	<i>Pythium</i>			
Control (+ Pa) ^{2/}	16.7 a ^{3/}	nd	83.33 a	nd
Control (-Pa) ^{4/}	nd ^{5/}	nd	nd	nd
FL17 สูตร 3+ Pa	3.3 b	3.4×10 ⁴	6.67 d	100 a
RO15 สูตร 3+ Pa	3.3 b	1.4×10 ⁴	10.00 d	83.33 bc
FL17 สูตร 1+ Pa	6.7 ab	1.16×10 ²	46.67 bc	63.33 d
RO15 สูตร 1+ Pa	10.0 ab	4.7×10 ²	60.00 ab	63.33 d
RO15 สูตร 2+ Pa	6.7 ab	6.1×10 ²	36.67 bc	76.67 cd
FL17 สูตร 2+ Pa	3.3 b	2.6×10 ³	23.33 cd	96.67 ab
C.V. (%)	91.65	-	52.32	21.04

^{1/} ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ตรวจนับโดยนำสารละลายธาตุอาหารในสัปดาห์สุดท้ายของการทดลองมาทำ dilution plate อาหาร NGA ผสม rifampicin 50 ppm สำหรับแบคทีเรียปฏิชีวนะ และ อาหาร BNPRa สำหรับเชื้อรา *P. aphanidermatum*

^{2/} กรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตร ต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 21 28 และ 35 วัน

^{3/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดังนี้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

^{4/} กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (- Pa)

^{5/} nd = non-determined (ไม่ได้ตรวจสอบ)

ตารางที่ 5 ปริมาณเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. บนวัสดุปลูกในถ้วยเพาะกล้าและบนรากผักกาดหอม (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ NFT

กรรมวิธี	ปริมาณเชื้อรา <i>Pythium</i>		ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย	
	วัสดุปลูก (%)		วัสดุปลูก (%)	
	Perlite	Vermiculite	Perlite	Vermiculite
Control (+ Pa) ^{1/}	83.33 a ^{2/}	90.00 a	nd	nd
Control (- Pa) ^{3/}	nd ^{4/}	Nd	nd	nd
FL17 สูตร 3+ Pa	6.67 d	10.00 cd	100.00 a	95.00 a
RO15 สูตร 3+ Pa	23.33 cd	10.00 cd	96.67 ab	90.00 a
FL17 สูตร 1+ Pa	46.67 bc	55.00 b	63.33 d	75.00 ab
RO15 สูตร 1+ Pa	60.00 ab	70.00 ab	63.33 d	60.00 b
RO15 สูตร 2+ Pa	36.67 bc	30.00 c	76.67 cd	80.00 a
FL17 สูตร 2+ Pa	10.00 d	20.00 cd	83.33 bc	90.00 a
C.V. (%)	52.32	42.49	21.04	20.54

^{1/} กรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตรเมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

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

^{3/} กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (- Pa)

^{4/} nd = non-determined (ไม่ได้ตรวจสอบ)

จากผลการทดลองทั้งหมด พบว่าในสภาพที่ระบบปลูกมีเชื้อโรคเหมือนกัน ผักกาดหอมในกรรมวิธีที่มีการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ยังมีการเจริญเติบโตได้ดีเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกแต่เชื้อโรคเพียงอย่างเดียว และถ้าใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ลงไปในระบบสารละลายตั้งแต่ระยะอนุบาลกล้า เท่ากับว่าเป็นการป้องกันโรคตั้งแต่ระยะที่เมล็ดเริ่มงอก และแบคทีเรียสามารถเจริญอยู่ได้ในวัสดุปลูกตั้งแต่แรก อยู่ในสารละลายธาตุอาหาร เจริญครอบครองรากไปได้ในทุกระยะการเจริญเติบโตของผักกาดหอม และเมื่อมีเชื้อโรคเข้าทำลายราก แบคทีเรียก็สามารถป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อโรคได้และนอกจากจะเป็นการป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อโรค แล้วแบคทีเรียบางกลุ่มโดยเฉพาะในกลุ่ม *Bacillus* ยังสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช และชักนำให้พืชเกิดความต้านทานได้อีกด้วย และถึงแม้จะเป็นชีวภัณฑ์แบคทีเรียชนิดเดียวกัน แต่เมื่อได้พัฒนาให้เป็นสูตรชีวภัณฑ์ที่แตกต่างกันประสิทธิภาพในการควบคุมโรค การส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดหอม ปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งในชีวภัณฑ์ ปริมาณประชากรของชีวภัณฑ์แบคทีเรียเมื่อใส่ลงในสารละลายแล้ว การเจริญครอบครองราก และครอบครองวัสดุปลูกจะมีปริมาณที่แตกต่างกันและมีประสิทธิภาพที่แตกต่างกันในแต่ละสูตร แสดงให้เห็นว่าสูตรของชีวภัณฑ์ที่ดีจะช่วยให้เกิดประสิทธิภาพในการควบคุมโรคสอดคล้องกับงานทดลองของ El-Hassan *et al.* (2006) พัฒนาชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ร่วมกับสารพารานิคต่างๆ พบว่าสารพารานิคมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวได้ไม่เท่ากัน และการพัฒนาชีวภัณฑ์ที่มีความเข้ากันได้ของแบคทีเรียและสารพา ยังสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นถั่ว และของรุ่นนา (2549) ที่ทดสอบประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์ของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus amyloliquefaciens* ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริก ทั้งแบบชีวภัณฑ์แขวนลอย แบบน้ำและแบบผง พบว่าชีวภัณฑ์สามารถควบคุมโรคได้ตลอดระยะเวลา 3 เดือน ในชีวภัณฑ์รูปผงแป้ง ผงดินและผงดินบ่มสามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลพริกด้วยวิธี Detached fruit ได้เทียบเท่ากับสารเคมีแมนโคเซ็บ โดยไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ



FL17 สูตร 3+ Pa

RO15 สูตร 3+ Pa

FL17 สูตร 1+ Pa

Con (+)



Con (-)

RO15 สูตร 1+ Pa

RO15 สูตร 2+ Pa

FL17 สูตร 2+ Pa

ภาพที่ 6 อิทธิพลของชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus mycoides* ต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของ ผักกาดหอม (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ NFT และได้รับการปลูก เชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa)

Control (+Pa) = กรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอย อัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร

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

FL17 สูตร 3+ Pa = กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย FL17 อัตรา 10 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตรและปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร และเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารทุก 7 วัน

RO15 สูตร 3+ Pa = กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย RO15 อัตรา 10 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตรและปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร และเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารทุก 7 วัน

FL17 สูตร 1+ Pa = กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย FL17 อัตรา 10 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตรและปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร และเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารทุก 7 วัน

RO15 สูตร 1+ Pa = กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย RO15 อัตรา 10 กรัม ต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตรและปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร และเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารทุก 7 วัน

RO15 สูตร 2+ Pa = กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย RO15 อัตรา 10 กรัม ต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตรและปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร และเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารทุก 7 วัน

FL17 สูตร 2 + Pa = กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย FL17 อัตรา 10 กรัม ต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตรและปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร และเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารทุก 7 วัน

6. การทดสอบประสิทธิภาพอัตราการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ (ฤดูร้อน 21 กุมภาพันธ์- 2 เมษายน 2555)

นำชีวภัณฑ์แบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพสูงสุดจากการทดลองที่ 5 คือ ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย

B. mycoides FL17 ชนิดเกล็ดแป้งสูตร 3 และชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* sp. RO15 ชนิดเกล็ดแป้งสูตร 3 ทดสอบเปรียบเทียบอัตราการใช้กับเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ NFT สาเหตุจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* ทั้งแบบร่วมกันและแบบเดี่ยว

เมื่อผักกาดหอมมีอายุครบ 42 วัน พบว่าในด้านจำนวนใบในกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้ง 20 กรัม (ไม่บ่ม) ส่งผลให้มีจำนวนใบต่อต้นสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อโรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ยของจำนวนใบเท่ากับ 42.54 และ 31.67 ใบต่อต้นตามลำดับ (ตารางที่ 6) ซึ่งมีค่าเฉลี่ยมากกว่าในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01-52 ชนิดสด และกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* ร่วมกับชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้ง 20 กรัม ดังนั้นแม้ในสภาพที่มีเชื้อโรคแต่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียปลูกอยู่ในระบบผักกาดหอมก็ยังสามารถเจริญเติบโตได้ไม่แตกต่างกับสภาพที่ไม่มีเชื้อโรค ส่วนในด้านเส้นรอบวงลำต้นกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้ง 20 กรัม (ไม่บ่ม) กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้ง 10 กรัม (บ่ม) มีค่าเฉลี่ยเส้นรอบวงลำต้นเท่ากันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.34 เซนติเมตรเท่ากัน แต่มากกว่าในกรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อโรคอย่างเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 6) ด้านความกว้างทรงพุ่มกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้ง 20 กรัม (ไม่บ่ม) และกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้ง 10 กรัม (บ่ม) มีค่าเฉลี่ยความกว้างทรงพุ่มสูงกว่ากรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (31.54 เซนติเมตร) (ตารางที่ 6) ซึ่งมีค่าเฉลี่ยมากกว่าในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01-52 ชนิดสด และกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* ร่วมกับชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้ง 20 กรัม (ไม่บ่ม) เห็นได้ว่าการทดลองครั้งนี้ กรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ไม่ได้มีเปอร์เซ็นต์ลดการเกิดโรคสูงที่สุด แต่เชื้อรา *T. harzianum* สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตและลดความเสียหายที่เกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้ดีกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อโรคเพียงอย่างเดียว ทั้งนี้อาจจะเนื่องจากกลไกของเชื้อราไตรโคเดอร์มาที่สามารถเจริญพันธุ์ แบนซิดแล้วทำลายเส้นใยของเชื้อโรคได้โดยตรง มีประสิทธิภาพในการ

ส่งเสริมการเจริญเติบโตและช่วยละลายธาตุอาหารที่มีประโยชน์กับพืชมาใช้ได้ จึงสามารถลดการเข้าทำลาย และลดความเสียหายที่เกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้ดีสอดคล้องกับงานทดลองของ (แพรทอง, 2549)

ตารางที่ 6 อิทธิพลของอัตราการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมในด้านจำนวนใบต่อต้านความกว้างทรงพุ่ม และเส้นรอบวงลำต้นของผักกาดหอมชนิด บัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ NFT และได้รับการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa)

กรรมวิธี	จำนวนใบ (ใบ/ต้น)	ความกว้างทรง พุ่ม (ซม.)	เส้นรอบวง ลำต้น (ซม.)
Control (+ Pa)^{1/}	31.67 d ^{2/}	27.5 b	4.82 b
Control (- Pa)^{3/}	38.83 bc	28.00 b	4.97 ab
FL17 สูตร 3 10 g (ป๋ม)+ Pa	42.33 a	31.54 a	5.34 a
FL17 สูตร 3 20 g (ไม่ป๋ม)+ Pa	42.54 a	31.54 a	5.34 a
FL17 สูตร 3 10 g (ไม่ป๋ม)+ Pa	41.29 ab	30.37 ab	5.16 ab
<i>T. harzianum</i> CB-Pin-01 + Pa	36.42 c	29.79 ab	5.13 ab
RO15 สูตร 3 20 g (ไม่ป๋ม)+ Pa	38.83 bc	28.62 b	5.10 ab
FL17 สูตร 3 10 g (ไม่ป๋ม) + <i>T. harzianum</i> CB-Pin-01 + Pa	36.54c	28.46 b	5.29 a
C.V. (%)	5.15	6.09	4.49

^{1/} กรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตร ต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 21 28 และ 35 วัน

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

^{3/} กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (- Pa)

จากผลการทดลองดัชนีลดการเกิดโรคบนราก และดัชนีการเกิดโรค เห็นได้ว่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้ง 20 กรัม (ไม่บ่ม) มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนรากของผักกาดหอมลดลง 82.29 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งลดการเกิดโรคมกกว่าในกรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* รองลงมาคือ ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้ง 10 กรัม (บ่มเชื้อ) มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนรากของผักกาดหอมลดลง 76.59 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งลดโรคได้มากกว่าในกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* sp. RO15 เกล็ดแป้ง 20 กรัม (ตารางที่ 7) เมื่อตรวจดัชนีการเกิดโรคพบว่ามิผลไปในทิศทางเดียวกันคือ กรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อโรคเพียงอย่างเดียวมีเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรคสูงที่สุด คือ 73.61 เปอร์เซ็นต์ สำหรับกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้ง 20 กรัม (ไม่บ่ม) มีดัชนีการเกิดโรคน้อยที่สุดเพียง 37.5 เปอร์เซ็นต์ และชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้ง 10 กรัม (บ่มเชื้อ) มีดัชนีการเกิดโรค 43.75 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 7) ซึ่งประสิทธิภาพการลดการเกิดโรคของชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์อาจมีผลมาจากกลไกในการควบคุมโรคทั้งการแข่งขันในด้านที่อยู่อาศัย สร้างสารปฏิชีวนะ สารพิษภูมิ ต่อดจนชักนำให้พืชสร้างเอนไซม์และกระตุ้นให้พืชเกิดความต้านทานโรค เช่นเดียวกับงานทดลองของ (Karen, 2009) ที่ตรวจวิเคราะห์รากและดิน บริเวณผิวรากของแตงกวาที่ทำการปลูกเชื้อ *B. subtilis* QST 713 พบว่าแบคทีเรียสามารถสร้างสารพวก surfactin , iturin ภายใต้สภาวะที่มีการแข่งขันกันกับจุลินทรีย์ชนิดอื่นบริเวณรากของแตงกวาโดยตรวจด้วยวิธี chromatography (HPLC) and mass spectroscopy (MS) หรือแม้แต่ไปการเจริญครอบครองพื้นที่ของวัสดุปลูก บริเวณผิวรากของผักกาดหอม ทำให้สามารถยับยั้งการเข้าทำลายและลดระดับความรุนแรงของโรคที่เกิดขึ้นได้ หรือแม้แต่การชักนำให้พืชเกิดความต้านทานโรคพืชโดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ โดยที่แบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* มีการสร้างสารปฏิชีวนะ เอนไซม์ protease, cellulase, chitinase, β -1,3 glucanase และ β -1,4 endoglucanase (Marten *et al.*, 2000; Wen *et al.*, 2003; Andre *et al.*, 2005) และกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 ยังลดการเกิดโรคได้ดีกว่าในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* (67.47เปอร์เซ็นต์) และกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* ร่วมกับชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้ง 20 กรัม (27.29 เปอร์เซ็นต์) อาจจะเป็นได้ว่าการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้งเชื้อราและแบคทีเรียร่วมกันอาจจะส่งผลให้เกิดการยับยั้งซึ่งกันและกัน ทำให้ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้ไม่เท่าที่ควร ซึ่งสอดคล้องกับงานของกรพินธุ์ (2551) ที่พบว่าประสิทธิภาพของการใช้เชื้อรา *T. harzianum*

ร่วมกับการใช้ *Bacillus* spp. เพื่อควบคุมโรคใบปื้นเหลืองของกล้วยไม้ในช่วงฤดูร้อนไม่แตกต่างกัน ในทางสถิติกับการใช้เชื้อรา *T. harzianum* หรือการใช้ *Bacillus* spp. แบบเดี่ยว อาจเนื่องจากการ ทำงานร่วมกันของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์สองชนิดหรือมากกว่า 2 ชนิดขึ้นไป อาจจะต้องการสภาวะที่มีความเหมาะสม หรือส่งเสริมกันและกัน โดยจะต้องมีคุณสมบัติที่ดีต่างกัน และไม่มีการยับยั้งหรือ แก่งแย่งกัน ซึ่งอาจเป็นเหตุให้ไปลดศักยภาพในการควบคุมโรคหรือส่งเสริมการเจริญของพืช ตลอดจนไปมีผลต่อการสร้างปฏิชีวนะสาร เอนไซม์ต่างๆ อีกด้วย แต่ทั้งนี้หากมีการใช้จุลินทรีย์ ปฏิปักษ์สองชนิด หรือมากกว่า หรือแม้กระทั่งชนิดเดียวกันแต่หลากหลายสายพันธุ์ หากมีความ เหมาะสมกันก็อาจจะทำให้มีการส่งเสริมกันในด้านต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นด้านการเจริญเติบโต ควบคุม โรคได้กว้างขึ้น ทนต่อสภาพแวดล้อมได้กว้างขึ้น ทั้งนี้อาจเป็นแนวทางที่นำไปสู่การควบคุมโรคที่ดี และมีความยั่งยืนในอนาคต เช่นการทดลองของ Domenech *et al.*, 2006 ที่มีการนำผลิตภัณฑ์ LS213 ซึ่งมีการผสมกันระหว่างไคโตซาน และแบคทีเรีย PGPR 2 ชนิด คือ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ GB03 ซึ่งมีคุณสมบัติในการกระตุ้นการเจริญเติบโต และ *B. amyloliquefaciens* สายพันธุ์ IN937a ซึ่งมีคุณสมบัติในการกระตุ้นให้เกิดความต้านทานโรคในพืช และนำมาใช้ร่วมกับแบคทีเรียอีก 3 สายพันธุ์ คือ *B. licheniformis* CECT 5106, *Pseudomonas fluorescens* CECT 5398 และแบคทีเรีย *Chryseobacterium balustinum* CECT 5399 พบว่าการใช้ LS213 ร่วมกับแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์ ส่งผลให้มะเขือเทศและพริกมีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้นและสามารถควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium* และโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia* ได้

ตารางที่ 7 ค่าดัชนีการเกิดโรคของผักกาดหอมชนิดบัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์แบบ NFT และได้รับการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa)

กรรมวิธี	ดัชนีการเกิดโรค (%) ^{1/}	ดัชนีการเกิดโรคลดลง (%)
Control (+ Pa) ^{2/}	73.61 a ^{3/}	-
Control (- Pa) ^{4/}	0	0
FL17 สูตร 3 10 g (ป๋ม)+ Pa	40.62 de	76.59
FL17 สูตร 3 20 g (ไม่ป๋ม)+ Pa	37.5 e	82.29
FL17 สูตร 3 10 g (ไม่ป๋ม)+ Pa	48.96 cd	34.93
<i>T. harzianum</i> CB-Pin-01 + Pa	43.75 d	67.47
RO15 สูตร 3 20g (ไม่ป๋ม) + Pa	57.29 ab	13.33
FL17 สูตร 3 10g (ไม่ป๋ม) + <i>T. harzianum</i> CB-Pin-01 + Pa	50 c	27.79
C.V. (%)	5.31	-

^{1/} ดัชนีการเกิดโรค (%) = $\frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนต้นที่แสดงอาการ} \times \text{ระดับอาการ)}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด} \times \text{ระดับอาการสูงสุด}} \times 100$

^{2/} กรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 21 28 และ 35 วัน

^{3/} กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (- Pa)

^{4/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดังนี้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

เนื่องจากการทดลองในครั้งนี้เป็นช่วงที่อากาศร้อนทั้งในตอนกลางวันและตอนกลางคืน อุณหภูมิของสารละลายจะเปลี่ยนแปลงระหว่าง 29 -31 องศาเซลเซียส ขณะที่อุณหภูมิภายใน โรงเรือนสูง 35 - 42 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิภายนอกโรงเรือนช่วงเดือนมีนาคมมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 35.8 องศาเซลเซียส และเดือนเมษายนค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 36.7 องศาเซลเซียส (ข้อมูลจากสถานีอุตุนิยมวิทยา ซึ่งตั้งอยู่ภายในมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน) โดยเฉพาะช่วง 2 สัปดาห์ ก่อนการเก็บเกี่ยวมีอุณหภูมิสูงอย่างต่อเนื่องทำให้ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอม และมีส่วนช่วยให้ผักกาดหอมมีความอ่อนแอต่อโรครากเน่าเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตกับ เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแล้ว พบว่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียยังสามารถให้ผลผลิตได้ดีกว่า กรรมวิธีที่ไม่ได้ใช้ชีวภัณฑ์ โดยน้ำหนักสดของต้น ราก และน้ำหนักแห้งของต้น ราก ในกรรมวิธี ควบคุมที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* มีน้ำหนักสดต้น 90.28 กรัม และราก 4.86 กรัม ซึ่ง ต่ำกว่าในกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้ง 10 และ 20 กรัม (ไม่บ่ม) อย่างมีนัยสำคัญ โดยมีน้ำหนักสดของต้น 114.17 และ 116.67 กรัม น้ำหนักราก 7.60 และ 8.95 กรัม ตามลำดับ น้ำหนักแห้งของต้นและรากในกรรมวิธีดังกล่าวก็ได้ผลในทำนองเดียวกัน (ตารางที่ 9) เมื่อดูน้ำหนักรวมต้นและน้ำหนักรวมรากก็มีผลไปในทิศทางเดียวกัน โดยมีน้ำหนักเฉลี่ยดังนี้ 124.23 3.96 ตามลำดับ ซึ่งจากผลการทดลองเห็นได้ว่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย มีน้ำหนักสด ต้น น้ำหนักแห้งต้น และน้ำหนักรวมมากกว่าในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01-52 ชนิดสด และกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* ร่วมกับการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้ง 20 กรัม (ไม่บ่ม) ถึงแม้กรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. RO15 และเชื้อรา *T. harzianum* จะได้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดและแห้งต่อต้นของต้นผักกาดหอมต่ำกว่ากรรมวิธีการใช้ *B. mycoides* FL17 10 หรือ 20 กรัม (ไม่บ่ม) แต่พบว่าค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างทางสถิติ ขณะที่ น้ำหนักสดและแห้งของรากส่วนใหญ่แตกต่างกัน

จากการทดลองเห็นได้ว่าการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียในระบบไฮโดรโปนิคส์มีอัตราการใช้ที่เหมาะสมคือ แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้ง 20 กรัม (ไม่บ่ม) ต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นผักกาดหอมในด้านน้ำหนักต้นและราก ได้ดีกว่าการใช้ชีวภัณฑ์ *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้งอัตรา 10 กรัม (บ่ม) และสายพันธุ์ FL17 เกล็ดแป้ง 10 กรัม (ไม่บ่ม) ทั้งนี้เนื่องจากว่าชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้ง 20 กรัม (ไม่บ่ม) ที่ใช้เริ่มต้นมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียอยู่มากกว่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย 10 กรัม แบบ บ่มและไม่บ่ม และเมื่อแบคทีเรียอยู่ในระบบปลูกแล้วเชื้อแบคทีเรียสามารถเพิ่มปริมาณได้อีก เนื่องจากความอุดมสมบูรณ์ของธาตุอาหาร สภาพความเป็นกรดด่างที่เหมาะสม ปริมาณออกซิเจนที่

เพียงพอ และเชื้อแบคทีเรียไหลเวียนร่วมกับสารละลายธาตุอาหารผ่านรากพืชอยู่ตลอดเวลาในรากปลูก โดยไม่ต้องมีการบ่มเชื้อก่อนเติมลงในสารละลายธาตุอาหาร

ตารางที่ 8 อิทธิพลของอัตราการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ต่อน้ำหนักสดของผักกาดหอม ชนิด บัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ แบบ NFT และได้รับการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa)

กรรมวิธี	น้ำหนักสด (กรัม/ต้น)		
	นน.ต้น	นน.ราก	นน.รวม
Control (+ Pa)^{1/}	90.28b ^{2/}	7.16 c	97.37 c
Control (- Pa)^{3/}	107.92 a	8.29 ab	116.21ab
FL17 สูตร 3 10g (บ่ม) + Pa	109.44 a	7.60 bc	116.45ab
FL17 สูตร 3 20 g (ไม่บ่ม)+ Pa	116.67 a	7.56 bc	124.23 a
FL17 สูตร 3 10g (ไม่บ่ม) + Pa	114.17 a	8.95 a	123.12 a
<i>T. harzianum</i> CB-Pin-01 + Pa	107.08 a	6.03 d	113.12 b
RO15 สูตร 3 20 g (ไม่บ่ม)+ Pa	93.33 b	4.86 d	98.44 c
FL17 สูตร 3 10 g (ไม่บ่ม) + <i>T. harzianum</i> CB-Pin-01 + Pa	93.75 b	6.43 d	100.18 c
C.V. (%)	5.95	7.00	5.68

^{1/} กรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตร ต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 21 28 และ 35 วัน

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดิ่ง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

^{3/} กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (- Pa)

ตารางที่ 9 อิทธิพลของอัตราการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ต่อน้ำหนักแห้งของ
ผักกาดหอม ชนิด บัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ NFT
และได้รับการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa)

กรรมวิธี	น้ำหนักแห้ง (กรัม/ต้น)		
	น.น.ต้น	น.น.ราก	น.น.รวม
Control (+ Pa)^{1/}	2.57 d ^{2/}	0.26 d	2.83 d
Control (- Pa)^{3/}	3.33 a	0.39 a	3.73 ab
FL17 สูตร 3 10g (ป๋ม) + Pa	2.76 bc	0.31 c	3.08
FL17 สูตร 3 20 g (ไม่ป๋ม)+ Pa	3.57 a	0.38 ab	3.96 a
FL17 สูตร 3 10g (ไม่ป๋ม)+ Pa	3.50 a	0.35abc	3.85 ab
<i>T. harzianum</i> CB-Pin-01+ Pa	3.07 ab	0.31 ab	3.38 ba
RO15 สูตร 3 20 g(ไม่ป๋ม)+ Pa	3.49 a	0.34 bc	3.80 ab
FL17 สูตร 3 10 g (ไม่ป๋ม) +<i>T. harzianum</i> CB- Pin-01 + Pa	3.13ab	0.36 ab	3.50abc
C.V. (%)	10.05	8.09	9.30

^{1/} กรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิกรัม ต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 21 28 และ 35 วัน

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

^{3/} กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (- Pa)

จากการนำตัวอย่างวัสดุปลูกของการทดลองในครั้งนี้มาตรวจปริมาณของเชื้อโรค และประชากรของแบคทีเรีย พบว่าถึงแม้ปริมาณของเชื้อโรคที่ตรวจจากกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* มีความแตกต่างกันในทางสถิติ แต่ในกรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อโรคเพียงอย่างเดียวพบเชื้อโรค 100 เปอร์เซ็นต์ มากกว่าในกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ *B. mycoides* สำหรับปริมาณแบคทีเรียที่ตรวจพบในวัสดุปลูกเพอร์ไลต์ เวอร์มิคูไลต์ จากกรรมวิธีที่ใช้แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้ง 20 กรัม (ไม่บ่ม) มีประชากรของแบคทีเรียอยู่ถึง 96.67 และ 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 10)

เมื่อนำสารละลายธาตุอาหารในระบบปลูกของผักกาดหอมมาตรวจปริมาณและเปอร์เซ็นต์เชื้อรา *P. aphanidermatum* พบปริมาณเชื้อในสารละลายจากกรรมวิธีควบคุมมากที่สุดคือ 8.2 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย FL17 เกล็ดแป้งสูตร 3 10 กรัม (ไม่บ่ม) ร่วมกับ *T. harzianum* CB-Pin-01 เท่ากับ 7.5 โคโลนีต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 11) และพบน้อยที่สุดในกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย FL17 เกล็ดแป้งสูตร 3 20 กรัม (ไม่บ่ม) ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยที่ต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 ตรวจพบเชื้อรา *P. aphanidermatum* 4.4 โคโลนีต่อมิลลิลิตร น้อยกว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ร่วมกับชีวภัณฑ์แบคทีเรีย FL17 เกล็ดแป้งสูตร 3 10 กรัม (ไม่บ่ม) สำหรับปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจพบในสารละลายธาตุอาหาร พบว่าในกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย FL17 เกล็ดแป้งสูตร 3 20 กรัม (ไม่บ่ม) มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียสูงที่สุด พบถึง 8×10^4 โคโลนีต่อมิลลิลิตร อาจเนื่องมาจากปริมาณเชื้อแบคทีเรียในชีวภัณฑ์เมื่อเริ่มต้นมีมากกว่ากรรมวิธีที่ใช้ 10 กรัม แบบบ่มและไม่บ่ม เมื่อนำสารละลายมาตรวจปริมาณเชื้อแบคทีเรียหลังสิ้นสุดการทดลองจึงพบเชื้อแบคทีเรียจากกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย FL17 เกล็ดแป้งสูตร 3 20 กรัม (ไม่บ่ม) ได้มากที่สุด รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย FL17 เกล็ดแป้งสูตร 3 10 กรัม (ไม่บ่ม) ร่วมกับ *T. harzianum* CB-Pin-01 เท่ากับ 6.4×10^3 โคโลนีต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 10 ปริมาณเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ในวัสดุปลูก (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ NFT

กรรมวิธี	ปริมาณเชื้อรา <i>Pythium</i>		ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย	
	วัสดุปลูก (%)		วัสดุปลูก (%)	
	Perlite	Vermiculite	Perlite	Vermiculite
Control (+ Pa) ^{1/}	100 a ^{2/}	46.67 a	nd ^{3/}	nd
Control (- Pa) ^{4/}	nd	nd	nd	nd
FL17 สูตร 3 10 g (ป่ม)+ Pa	20.0 e	0	93.33 b	86.67 b
FL17 สูตร 3 20 g (ไม่ป่ม)+ Pa	16.7 f	0	96.67 a	100 a
FL17 สูตร 3 10 g (ไม่ป่ม)+ Pa	56.7 c	6.67 d	93.33 b	86.67 b
<i>T. harzianum</i> CB-Pin-01 + Pa	26.7 d	40 b	nd	nd
RO15 สูตร 3 20 g (ไม่ป่ม)+ Pa	100 a	46.67 a	86.67 d	53.33 d
FL17 สูตร 3 10g (ไม่ป่ม) + <i>T. harzianum</i> CB-Pin-01 + Pa	66.7 b	0	90.00 c	73.33 c
C.V. (%)	0	2.66	0	2.69

^{1/} กรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิกรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อพักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

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

^{3/} nd = non-determined (ไม่ได้ตรวจสอบ)

^{4/} กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (- Pa)

ตารางที่ 11 ปริมาณเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. บนวัสดุปลูกในถ้วยเพาะกล้าและบนรากผักกาดหอม ชนิด บัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ NFT

กรรมวิธี	สารละลายธาตุอาหาร (CFU/ml) ^{1/}		
	เชื้อรา <i>Pythium</i>	เชื้อ แบคทีเรีย	เชื้อรา <i>T.harzianum</i>
Control (+ Pa) ^{2/}	8.2 a ^{3/}	nd ^{4/}	nd
Control (- Pa) ^{5/}	Nd	nd	nd
FL17 สูตร 3 10 g (ป๋ม)+ Pa	5.1 bc	4×10 ³ d	nd
FL17 สูตร 3 20 g (ไม่ป๋ม)+ Pa	1.4 d	8×10 ⁴ a	nd
FL17 สูตร 3 10 g (ไม่ป๋ม)+ Pa	2.8 cd	5.5×10 ⁴ ab	Nd
<i>T. harzianum</i> CB-Pin-01 + Pa	4.4 c	nd	91.11 a
RO15 สูตร 3 20 g (ไม่ป๋ม)+ Pa	4.6 bc	4.4×10 ³ cd	Nd
FL17 สูตร 3 10g (ไม่ป๋ม) + <i>T. harzianum</i> CB-Pin-01 + Pa	7.5 ab	6.4×10 ³ ab	93.33 a
C.V. (%)	36.77	20.86	18.66

^{1/} ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ตรวจนับโดยนำสารละลายธาตุอาหารในสัปดาห์สุดท้ายของการทดลองมา ทำ dilution plate อาหาร NGA ผสม rifampicin 50 ppm สำหรับแบคทีเรียปฏิบัณ และ อาหาร BNPRa สำหรับเชื้อรา *P. aphanidermatum*

^{2/} กรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตร ต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 21 28 และ 35 วัน

^{3/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดังนี้ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

^{4/} nd = non-determined (ไม่ได้ตรวจสอบ)

^{5/} กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (- Pa)

ความยาวรากของผักกาดหอมเมื่ออายุ 42 วัน ในกรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อโรคพบว่าค่าเฉลี่ยที่ได้จากทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ยกเว้นในกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* สายพันธุ์ FL17 เกล็ดแป้งสูตร 3 20 กรัม (ไม่บ่ม) พบว่าค่าเฉลี่ยที่ได้ 71.91 เซนติเมตร รองลงมาคือ FL17 เกล็ดแป้งสูตร 3 10 กรัม + Pa (บ่ม) 46.12 เซนติเมตร ส่วนในกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* ชนิดสด มีค่าเฉลี่ยความยาวรากไม่แตกต่างกันในทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย RO15 เกล็ดแป้งสูตร 3 20 กรัม + Pa (ไม่บ่ม) และ FL17 เกล็ดแป้งสูตร 3 10 กรัม + Pa (ไม่บ่ม) (ตารางที่ 12)

เมื่อตรวจเปอร์เซ็นต์การเจริญครอบครองของเชื้อ *P. aphanidermatum* บริเวณรากของผักกาดหอม พบว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อ *P. aphanidermatum* พบเชื้อรา *P. aphanidermatum* ปริมาณสูงสุด รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* sp. RO15 โดยมีปริมาณเชื้อเท่ากับ 88.22 51.11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้งสูตร 3 20 กรัม ไม่พบการครอบครองรากของเชื้อ *P. aphanidermatum* ในส่วนของการเจริญครอบครองรากของเชื้อแบคทีเรีย พบว่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้ง 20 และ 10 กรัม (ไม่บ่มเชื้อ) พบเชื้อแบคทีเรียเข้าครอบครองรากมากที่สุดเท่ากับ 91.11, 77.78 ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* ร่วมกับชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้ง สูตร 3 20 กรัม โดยมีเปอร์เซ็นต์การครอบครองราก เท่ากับ 71.11 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียร่วมกับเชื้อรา *T. harzianum* ไม่ได้ทำให้ปริมาณเชื้อปฏิปักษ์แต่ละชนิดลดลง แสดงให้เห็นถึงความเข้ากันได้ และมีโอกาสที่จะใช้ร่วมกันได้ต่อไปในอนาคต สำหรับปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ตรวจพบจากรากผักกาดหอม พบว่าในกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย FL17 เกล็ดแป้งสูตร 3 20 กรัม (ไม่บ่ม) มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียสูงที่สุด อาจเนื่องมาจากปริมาณเชื้อแบคทีเรียในชีวภัณฑ์เมื่อเริ่มต้นที่ใช้ตั้งแต่ระยะอนุบาลต้นกล้ามีมากกว่ากรรมวิธีที่ใช้ 10 กรัม แบบบ่มและไม่บ่ม เมื่อตรวจปริมาณเชื้อแบคทีเรียจากรากหลังสิ้นสุดการทดลองจึงพบเชื้อแบคทีเรียเจริญครอบครองรากในกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย FL17 เกล็ดแป้งสูตร 3 20 กรัม (ไม่บ่ม) ได้มากที่สุด เมื่อเชื้อแบคทีเรียเจริญครอบครองรากได้ดี จึงมีผลทำให้เชื้อโรคไม่สามารถเข้าทำลายรากผักกาดหอมได้ ดังนั้นการเกิดโรคและความยาวรากของผักกาดหอมจากกรรมวิธีนี้มีความยาวรากและปริมาณเชื้อแบคทีเรียจากรากมากกว่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียอัตราอื่นๆ และในช่วงที่ทำการทดลองเป็นช่วงเดือนมีนาคม-เมษายน ซึ่งมีอากาศร้อนมากที่สุดของปี แต่แบคทีเรียยังสามารถเจริญภายในระบบได้ดี เนื่องจากสปอร์ของแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus*

สามารถทนต่อความร้อนได้ดี โดยอาจอยู่ในรูปเอนโดสปอร์ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ดีที่จำเป็นต่อการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์หรือชีวภัณฑ์ได้ (Marc, 2007) (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 12 ความยาวราก และปริมาณเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. บนรากผักกาดหอม ชนิด บัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์ NFT

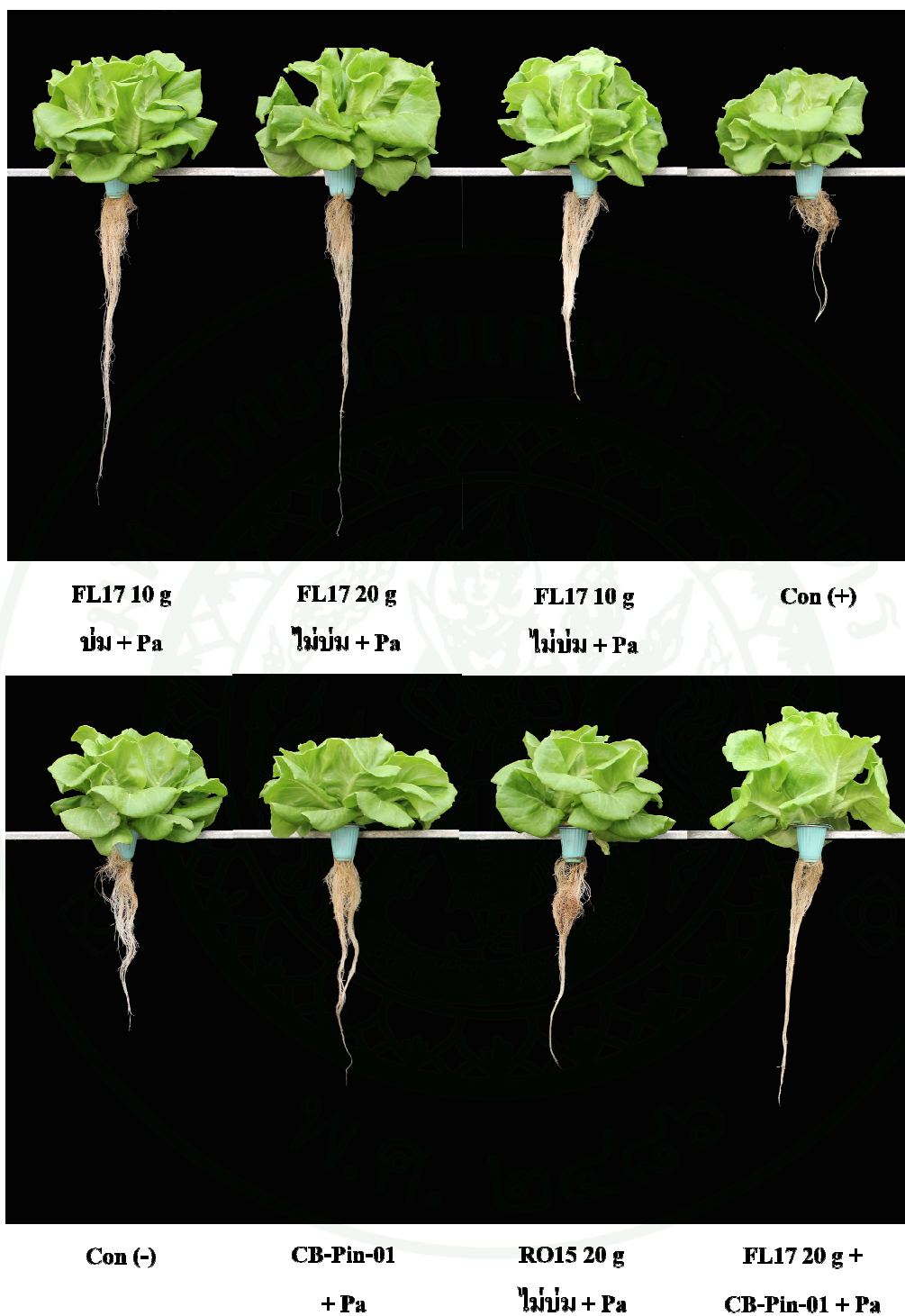
กรรมวิธี	ความยาวราก (ซม.)	ราก (%)		
		เชื้อรา <i>Pythium</i>	เชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i>	เชื้อรา <i>T.harzianum</i>
Control (+ Pa)^{1/}	28.87 b ^{2/}	82.22 a	nd ^{3/}	nd
Control (- Pa)^{4/}	29.73 b	nd	nd	nd
FL17 สูตร 3 10 g (ป่ม)+ Pa	46.12 b	51.11 abc	37.77 d	nd
FL17 สูตร 3 20 g (ไม่ป่ม)+ Pa	71.91 a	4.44 d	91.11 a	nd
FL17 สูตร 3 10 g (ไม่ป่ม)+ Pa	32.16 b	11.11 d	77.78 b	nd
<i>T. harzianum</i> CB-Pin-01 + Pa	33.28 b	28.89 cd	nd	100 a
RO15 สูตร 3 20 g (ไม่ป่ม)+ Pa	31.35 b	44.44 bc	54.44 c	Nd
FL17 สูตร 3 10g (ไม่ป่ม) + <i>T. harzianum</i> CB-Pin-01 + Pa	35.45 b	28.89 cd	71.11 b	100 a
C.V. (%)	33.85	39.43	30.94	18.66

^{1/} กรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตร ต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 21 28 และ 35 วัน

^{2/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดังนี้ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

^{3/} nd = non-determined (ไม่ได้ตรวจสอบ)

^{4/} กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (- Pa)



ภาพที่ 7 อิทธิพลของอัตราการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของผักกาดหอม ชนิด บัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ NFT และได้รับการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa)

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

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

FL17 10 g บ่ม + Pa = กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย FL17 อัตรา 10 กรัม (แบบบ่มทิ้งไว้ 48 ชั่วโมง) ต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตรและปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร

FL17 20 g ไม่บ่ม + Pa = กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย FL17 อัตรา 20 กรัม (แบบไม่บ่ม) ต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตรและปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร

FL17 10 g ไม่บ่ม + Pa = กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย FL17 อัตรา 10 กรัม (แบบไม่บ่ม) ต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตรและปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร

CB-Pin-01 (+Pa) = กรรมวิธีที่ได้สปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ในอัตรา 25 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร และปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร

RO15 20 g ไม่บ่ม + Pa = กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย RO15 อัตรา 20 กรัม (แบบไม่บ่ม) ต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตรและปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร

FL17 20 g ไม่บ่ม + CB-Pin-01 + Pa = กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย FL17 อัตรา 20 กรัม (แบบไม่บ่ม) ต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตรร่วมกับสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ในอัตรา 25 และปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร

7. เปรียบเทียบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus mycoides* ร่วมกับสารเสริมต่างๆในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ (ฤดูฝน 23 มิถุนายน- 3 สิงหาคม 2555)

เมื่อผักกาดหอมอายุ 42 วัน จึงนำมาตรวจวัดความเจริญเติบโตของต้นผักกาดหอมจากความกว้างทรงพุ่ม เมื่อเปรียบเทียบกันในการวิธีที่ปลูกโดยไม่มีการปลูกเชื้อโรค พบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนใบต่อต้นที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 และชีวภัณฑ์ *T. harzianum* 01-52 1 ชนิดเมื่อดูขณะที่กรรมวิธีที่ปลูกเชื้อโรค กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 แบบใช้เดี่ยวส่งผลให้ค่าเฉลี่ยจำนวนใบต่อต้น (38.92 ใบต่อต้น) มีค่าสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อโรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ต่ำกว่ากรรมวิธีใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียสายพันธุ์ FL17 สูตร 3 ร่วมกับมูลไส้เดือนดินซึ่งมีค่าเฉลี่ยจำนวนใบต่อต้น เท่ากับ 39.40 ใบต่อต้น (ตารางที่ 13) ในด้านความกว้างทรงพุ่มเมื่อเปรียบเทียบกันในการวิธีที่ปลูกโดยไม่มีการปลูกเชื้อโรค พบว่าความกว้างทรงพุ่มที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ซึ่งกรรมวิธีที่มีความกว้างทรงพุ่มสูงที่สุด คือ กรรมวิธีที่ไม่ปลูกเชื้อโรคและใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 ร่วมกับมูลไส้เดือนดิน โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างทรงพุ่มเท่ากับ 46.21 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบเส้นรอบวงลำต้นพบว่าในการวิธีที่มีการปลูกเชื้อโรค ค่าที่เฉลี่ยที่ได้ในการวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียสายพันธุ์ FL17 สูตร 3 ร่วมกับมูลไส้เดือนดินมีค่าเฉลี่ยเส้นรอบวงลำต้น (3.82 เซนติเมตร) สูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อโรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 13) และกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 มีค่าเฉลี่ย (3.50 เซนติเมตร) สูงกว่ากรรมวิธีควบคุม (1.62 เซนติเมตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่กรรมวิธีที่ใช้มูลไส้เดือนดินและไม่มีการปลูกเชื้อโรคค่าเฉลี่ยที่ได้ต่ำกว่ากรรมวิธีอื่นๆ

ตารางที่ 13 อิทธิพลของการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus mycoides* ร่วมกับสารเสริมต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอม ในด้านจำนวนใบต่อต้น ความกว้างทรงพุ่ม และเส้นรอบวงโคนต้นของผักกาดหอม ชนิด บัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ NFT และได้รับการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa)

กรรมวิธี	จำนวนใบ (ต้น)	ความกว้างทรงพุ่ม (ซม.)	เส้นรอบวง โคนต้น(ซม.)
Control (+ Pa)^{1/}	30.04 d ^{2/}	26.91 b	1.62 e
Control (- Pa)^{3/}	34.29 bc	27.75 b	2.54 d
FL17 สูตร 3 + Pa	38.92 a	29.21 b	3.67 ab
FL17 สูตร 3 +VC - Pa	39.40 a	46.21 a	3.88 a
<i>T. harzianum</i> 01-52+ Pa	36.25 ab	29.00 b	3.17 bc
<i>T. harzianum</i> CB-Pin-01+ Pa	36.37 ab	29.16 b	3.50 abc
VC - Pa	31.50 cd	28.46 b	3.12 c
FL17 สูตร 3+VC + Pa	37.62 a	30.67 b	3.82 a
C.V. (%)	5.50	28.31	10.75

^{1/} กรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตร ต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 21 28 และ 35 วัน

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

^{3/} กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (- Pa)

พบว่าค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดรวมของผักกาดหอมในกรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อโรคมีความแตกต่างกันในทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่นๆ ขณะที่ถ้าเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อโรค พบว่าทุกกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดรวมมีค่ามากกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 ร่วมกับมูลไส้เดือนดิน มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักเท่ากับ 149.19 กรัมต่อต้น มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุดเมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อโรค สำหรับกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 ร่วมกับมูลไส้เดือนดินและไม่ปลูกเชื้อโรคมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักเท่ากับ 175.11 กรัมต่อต้น มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุดเมื่อเทียบกับทุกกรรมวิธี (ตารางที่ 14) ในส่วนของน้ำหนักแห้งรวมมีทิศทางไปในทางเดียวกันกับน้ำหนักสดรวม

ทุกกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* มีเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรคต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ พบว่าเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับเปอร์เซ็นต์ลดการเกิดโรค ซึ่งพบว่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 แบบเดี่ยวมีดัชนีการเกิดโรคต่ำที่สุดเท่ากับ 47.22 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 ร่วมกับมูลไส้เดือนดินและปลูกเชื้อโรคมีดัชนีการเกิดโรคเท่ากับ 52 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่าการใช้เชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 ในขณะที่กรรมวิธีที่ใช้มูลไส้เดือนดินแบบเดี่ยวและไม่ปลูกเชื้อโรคมีดัชนีการเกิดโรคสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ คือ 61.11 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 15) เมื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคที่ลดลงพบว่า กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 แบบเดี่ยวที่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคที่ลดลงดีที่สุดเท่ากับ 40.67 เปอร์เซ็นต์ โดยกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 ร่วมกับมูลไส้เดือนดินและปลูกเชื้อโรคมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคที่ลดลงเท่ากับ 23.73 เปอร์เซ็นต์ สำหรับกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 และชีวภัณฑ์ *T. harzianum* 01-52 1 ชนิดเมล็ดมีดัชนีการเกิดโรคน้อยกว่าและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคที่ลดลงมากกว่ากรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อโรค แสดงให้เห็นถึงการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียร่วมกัมูลไส้เดือนดินแม้ไม่ช่วยลดการเกิดโรค แต่มีประสิทธิภาพดีในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดหอม

ตารางที่ 14 อิทธิพลของการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus mycoides* สายพันธุ์ FL17 ร่วมกับสารเสริมต่างๆ ต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของผักกาดหอมชนิด บัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ NFT และได้รับการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa)

กรรมวิธี	น้ำหนักสด (กรัม/ต้น)			น้ำหนักแห้ง (กรัม/ต้น)		
	นน.ต้น	นน.ราก	นน.รวม	นน.ต้น	นน.ราก	นน.รวม
Control (+ Pa)^{1/}	76.67 f ^{2/}	9.87 d	86.54 e	2.83 c	0.39 c	3.22 c
Control (- Pa)^{3/}	116.25 d	11.58 bc	127.83 c	3.92 b	0.45 bc	4.37 b
FL17 สูตร3 + Pa	143.33 b	12.22abc	155.55 b	4.64 ab	0.56 b	5.10 ab
FL17 สูตร3+VC- Pa	161.66 a	13.57 a	175.11 a	4.69 a	0.76 a	5.45 a
<i>T. harzianum</i> 01-52+ Pa	122.5 cd	12.95 ab	135.4 abc	3.98 ab	0.46 bc	4.52 b
<i>T. harzianum</i> CB-Pin-01 + Pa	132.92bcd	12.27abc	144.59bc	4.36 ab	0.54 b	4.92 ab
VC- Pa	97.50 e	10.80 cd	108.30 d	3.14 c	0.41 c	3.55 c
FL17 สูตร3+VC+ Pa	135.62 bc	13.43 a	149.19 b	4.53 ab	0.54 b	5.07 ab
C.V. (%)	9.03	7.83	8.85	11.62	13.45	11.06

^{1/} กรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตร ต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 21 28 และ 35 วัน

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

^{3/} กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (- Pa)

ตารางที่ 15 ค่าดัชนีการเกิดโรคของผักกาดหอมชนิด บัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ NFT และได้รับการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa)

กรรมวิธี	ดัชนีการเกิดโรค (%) ^{1/}	ดัชนีการเกิดโรคลดลง (%)
Control (+ Pa) ^{2/}	62.5 a ^{3/}	-
Control (- Pa) ^{4/}	0	0
FL17 สูตร 3 + Pa	47.22 cde	40.67
FL17 สูตร 3 + VC - Pa	42.71 ef	47.47
<i>T. harzianum</i> 01-52 + Pa	58.33 b	32.21
<i>T. harzianum</i> CB-Pin-01 + Pa	51.04 cd	38.99
VC - Pa	61.11 ab	27.13
FL17 สูตร 3 + VC + Pa	52 c	23.73
CV.%	5.12	-

^{1/} ดัชนีการเกิดโรค (%) = $\frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนต้นที่แสดงอาการ} \times \text{ระดับอาการ)}}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด} \times \text{ระดับอาการสูงสุด}} \times 100$

จำนวนต้นทั้งหมด × ระดับอาการสูงสุด

^{2/} กรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิกรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 21 28 และ 35 วัน

^{3/} กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (- Pa)

^{4/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดังนี้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

เมื่อนำสารละลายธาตุอาหารในระบบปลูก วัสดุปลูก (ในถ้วยเพาะกล้า) และรากของ ผักกาดหอมมาตรวจปริมาณและเปอร์เซ็นต์การเข้าครอบครองรากของจุลินทรีย์ พบปริมาณเชื้อ *P. aphanidermatum* ที่พบในสารละลายในกรรมวิธีควบคุมมากที่สุดคือ 2.9×10^1 โคโลนีต่อ มิลลิลิตร รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ใช้มูลไส้เดือนดินแบบเดี่ยว (2.4×10^1 โคโลนีต่อมิลลิลิตร) และพบน้อยที่สุดในกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 ร่วมกับมูลไส้เดือน ดินและไม่ปลูกเชื้อโรค (1.1×10^1 โคโลนีต่อมิลลิลิตร) ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยที่ต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติ เปอร์เซ็นต์ในการครอบครองวัสดุปลูก (ในถ้วยเพาะกล้า) ของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในกรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อโรคมียค่าสูงสุด พบในเพอร์ไลต์ เวอร์มิ คูไลท์ (90.60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) รองมาคือกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 พบใน เพอร์ไลต์ เวอร์มิคูไลท์ (66.67 46.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) ขณะที่กรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 มีเปอร์เซ็นต์การครอบครองวัสดุปลูกของเชื้อรา *P. aphanidermatum* (20 13.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) ต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 16) และพบน้อยที่สุดในกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 ร่วมกับมูลไส้เดือน ดินและปลูกเชื้อโรค (20.67 20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยที่ต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จะเห็นได้ว่าแม้จะใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิบัตย์ในการป้องกันโรคตั้งแต่ ระยะเริ่มแรกของการเตรียมต้นกล้าก็ยังสามารถพบเชื้อรา *P. aphanidermatum* ไม่ว่าทั้งในวัสดุปลูก บริเวณรากและในสารละลายธาตุอาหาร และถึงแม้ปริมาณของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ใน กรรมวิธีต่างๆ ไม่แตกต่างกันมากนัก แต่เมื่อเปรียบเทียบกับผลผลิตกับเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแล้ว พบว่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิบัตย์ทุกอาทิตย์ยังสามารถให้ผลผลิตได้ดีกว่ากรรมวิธี ที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิบัตย์อาทิตย์เว้นอาทิตย์ และกรรมวิธีที่อนุบาลต้นกล้าเพียงอย่างเดียว

ในกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียสายพันธุ์เดียวกัน เมื่อมีการปลูกเชื้อโรคจะพบปริมาณ แบคทีเรียปฏิบัตย์ในปริมาณที่มากกว่ากรณีที่ไม่ได้ปลูกเชื้อโรคเล็กน้อย โดยปริมาณแบคทีเรียที่ ตรวจพบในสารละลายธาตุอาหารจากกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร3 ร่วมกับมูลไส้เดือนดินและปลูกเชื้อโรคมายมากที่สุด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทำกับ 6.3×10^3 โคโลนี ต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 16) รองมาคือกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร3 ร่วมกับมูลไส้เดือนดินและไม่ปลูกเชื้อโรค (5.9×10^3 โคโลนีต่อมิลลิลิตร) ซึ่งมากกว่ากรรมวิธีที่ใช้ ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 แบบเดี่ยวปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ปฏิบัตย์ในวัสดุปลูก เพอร์ไลต์ที่อยู่ในช่วง 90 - 86.67 เปอร์เซ็นต์ พบในเวอร์มิคูไลท์ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 17)

ตารางที่ 16 ปริมาณเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ในสารละลายธาตุอาหาร ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ NFT

กรรมวิธี	สารละลายธาตุอาหาร (CFU/ml) ^{1/}	
	เชื้อรา <i>Pythium</i>	เชื้อจุลินทรีย์
Control (+ Pa) ^{2/}	2.9×10^1 a ^{3/}	nd ^{4/}
Control (- Pa) ^{5/}	nd	nd
FL17 สูตร 3 + Pa	1.6×10^1 bc	4.5×10^3 ab
FL17 สูตร 3 + VC- Pa	1.1×10^1 b	5.9×10^3 ab
<i>T. harzianum</i> 01-52 + Pa	2.2×10^1 ab	2×10^1 d
<i>T. harzianum</i> CB-Pin-01+ Pa	2.4×10^1 a	2.6×10^1 cd
VC - Pa	nd	2.3×10^2 cd
FL17 สูตร 3+VC + Pa	1.4×10^1 bc	6.3×10^3 a
C.V. (%)	34.22	39.91

^{1/} ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ตรวจนับ โดยนำสารละลายธาตุอาหารในสัปดาห์สุดท้ายของการทดลองมา ทำ dilution plate อาหาร NGA ผสม rifampicin 50 ppm สำหรับแบคทีเรียปฏิชีวนะ และ อาหาร BNPRa สำหรับเชื้อรา *P. aphanidermatum*

^{2/} กรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตร ต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 21 28 และ 35 วัน

^{3/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)⁴

^{4/} nd = non-determined (ไม่ได้ตรวจสอบ)

^{5/} กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (- Pa)

ตารางที่ 17 ปริมาณเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ในสารละลายธาตุอาหาร และบนรากผักกาดหอม (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ NFT

กรรมวิธี	ปริมาณเชื้อรา <i>Pythium</i>		ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย	
	วัสดุปลูก (%)		วัสดุปลูก (%)	
	Perlite	Vermiculite	Perlite	Vermiculite
Control (+ Pa)^{1/}	90 a ^{2/}	60 a	nd ^{3/}	nd
Control (- Pa)^{4/}	nd	nd	nd	nd
FL17 สูตร 3 + Pa	53.33 b	40 abc	90 a	80 a
FL17 สูตร 3 + VC - Pa	nd	nd	86.67 a	80 a
<i>T. harzianum</i> 01-52+ Pa	66.67 b	46.67 ab	nd	nd
<i>T. harzianum</i> CB-Pin-01+ Pa	20 cd	13.33 bc	nd	nd
VC - Pa	nd	nd	nd	nd
FL17 สูตร 3+VC + Pa	20.67 c	20 bc	86.67 a	80 a
C.V. (%)	20.51	62	44.33	79.79

^{1/} กรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิกรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

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

^{3/} nd = non-determined (ไม่ได้ตรวจสอบ)

^{4/} กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (- Pa)

เมื่อตรวจความยาวรากของผักกาดหอมที่อายุ 42 วัน พบว่าสำหรับกรรมวิธีกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียร่วมกับมูลไส้เดือนดินมีค่าเฉลี่ยความยาวรากไม่แตกต่างกันในทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียแบบเดี่ยว ซึ่งมีค่าเท่ากับ 47.35 และ 42.57 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามูลไส้เดือนดินไม่มีผลต่อความยาวรากของผักกาดหอม อาจเป็นเพราะมูลไส้เดือนดินไม่สามารถลดการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. aphanidermatum* บริเวณรากได้ สำหรับกรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 และการใช้เชื้อรา *T. harzianum* 01-52 มีค่าเฉลี่ยความยาวราก (37.38 และ 37.19 เซนติเมตร ตามลำดับ) สูงกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (32.44 เซนติเมตร) แต่ต่ำกว่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* แบบเดี่ยว และต่ำกว่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* ร่วมกับมูลไส้เดือนดิน (ตารางที่ 18) ขณะที่กรรมวิธีที่ใช้มูลไส้เดือนดินและไม่มีการปลูกเชื้อโรคค่าเฉลี่ยความยาวรากของผักกาดหอมที่วัดได้มีความยาวรากสั้นกว่าในกรรมวิธีที่มีการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* และเชื้อรา *T. harzianum*

จากการตรวจเปอร์เซ็นต์การครอบครองรากผักกาดหอมโดยเชื้อรา *P. aphanidermatum* พบว่าในกรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อ พบเปอร์เซ็นต์การเข้าครอบครองรากของเชื้อรา *P. aphanidermatum* สูงที่สุด 88.89 เปอร์เซ็นต์ โดยสูงกว่าทุกกรรมวิธีที่มีการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ใช้มูลไส้เดือนดินและไม่มีการปลูกเชื้อโรคพบเปอร์เซ็นต์การครอบครองรากเท่ากับ 86.66 เปอร์เซ็นต์ อาจเป็นไปได้ว่าเกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ที่มีอยู่ในธรรมชาติเพราะผักกาดหอมอาจจะเกิดการอ่อนแอทำให้เชื้อโรคเข้าทำลายได้ง่าย เมื่อตรวจปริมาณแบคทีเรีย *B. mycoides* ที่เจริญเข้าครอบครองรากของผักกาดหอมจากกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 แบบเดี่ยวปลูกเชื้อโรคพบเชื้อแบคทีเรีย *B. mycoides* เข้าครอบครองมากที่สุด คือ 93.22 เปอร์เซ็นต์ ที่พบรองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 ร่วมกับมูลไส้เดือนดินปลูกเชื้อโรคพบที่ 83.34 เปอร์เซ็นต์ สำหรับเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ CB-Pin-01 และสายพันธุ์ 01-52 มีเปอร์เซ็นต์การครอบครองรากของเชื้อรา *T. harzianum* ในปริมาณที่สูงเท่ากับ 93.33 และ 91.11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ถึงแม้กรรมวิธีที่ใช้เชื้อรา *T. harzianum* จะมีปริมาณเชื้อรา *T. harzianum* สูงแต่รากผักกาดหอมที่วัดได้มีความยาวสั้นกว่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* เห็นได้ว่าการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียช่วยป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อโรคได้มากกว่า รากผักกาดหอมที่วัดได้จึงมีความยาวมากกว่า

ตารางที่ 18 อิทธิพลของการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus mycoides* สายพันธุ์ FL17 ร่วมกับสารเสริมต่อความยาวราก และปริมาณจุลินทรีย์บนรากผักกาดหอม ชนิด บัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ NFT

กรรมวิธี	ความยาวราก (ซม.)	ราก (%)	
		เชื้อรา <i>Pythium</i>	เชื้อแบคทีเรีย
Control (+ Pa) ^{1/}	32.44 c ^{2/}	88.89 a	nd ^{3/}
Control (- Pa) ^{4/}	32.77 c	nd	nd
FL17 สูตร 3 + Pa	42.57 ab	26.67 c	93.22 a
FL17 สูตร 3 + VC - Pa	49.02 a	42.22 bc	80 a
<i>T. harzianum</i> 01-52+ Pa	37.19 bc	56.66 b	91.11 a
<i>T. harzianum</i> CB-Pin-01+ Pa	37.38 bc	53.33 b	93.33 a
VC - Pa	36.45 bc	86.66 a	nd
FL17 สูตร 3+VC + Pa	47.35 a	31.11 c	83.34 a
C.V. (%)	13.07	36.05	30.16

^{1/} กรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตร ต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 21 28 และ 35 วัน

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

^{3/} nd = non-determined (ไม่ได้ตรวจสอบ)

^{4/} กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (- Pa)

จากการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในใบผักกาดหอม พบว่ากรรมวิธีที่มีการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียสายพันธุ์ FL17 สูตร 3 ร่วมกับการปลูกเชื้อโรค มีปริมาณของฟอสฟอรัส (P) แคลเซียม (Ca) สังกะสี (Zn) สูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อโรคอยู่เล็กน้อยดังนี้ คือ 0.48 1.04 และ 0.0007 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 19) แสดงให้เห็นว่าการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียสายพันธุ์ FL17 สูตร 3 มีผลต่อการดูดซับปริมาณธาตุอาหารในพืชโดยเฉพาะสังกะสี (Zn) ซึ่งสังกะสีมีการสะสมมากกว่ากรรมวิธีที่ไม่ได้ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียสายพันธุ์ FL17 สูตร 3 ถึง 7 เท่า และยังพบว่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียสายพันธุ์ FL17 สูตร 3 ร่วมกับการใช้มูลไส้เดือนดินและปลูกเชื้อรา

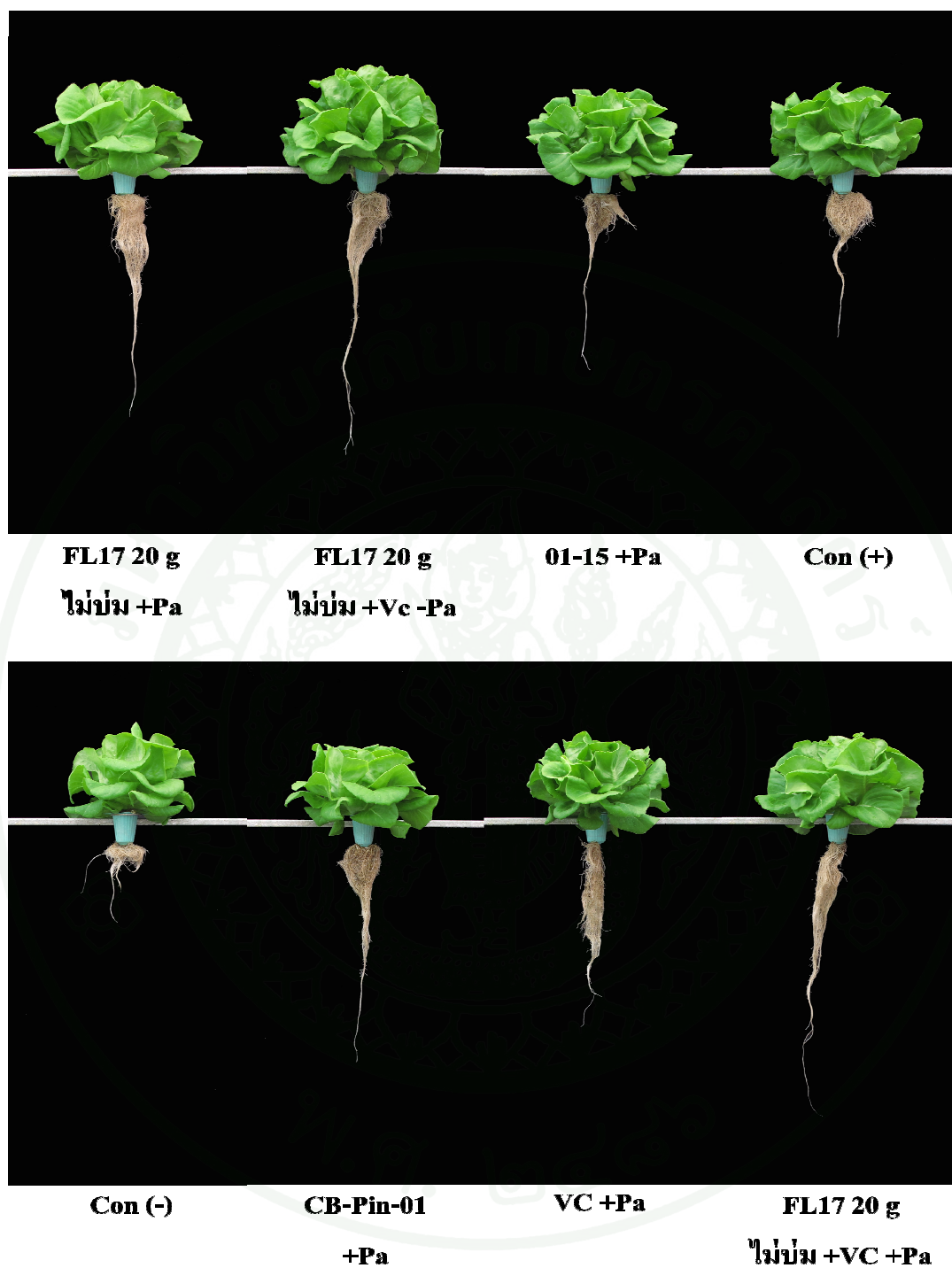
P. aphanidermatum มีปริมาณของเหล็ก (Fe) สังกะสี (Zn) (0.0024 และ 0.0012 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ) สูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อโรค และสูงกว่ากรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ร่วมกับการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียสายพันธุ์ FL17 สูตร 3 อีกด้วย แสดงให้เห็นว่าการใช้มูลไส้เดือนช่วยส่งเสริมให้รากผักกาดหอมดูดซับธาตุสังกะสีได้เพิ่มมากขึ้น

ตารางที่ 19 อิทธิพลของการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus mycoides* สายพันธุ์ FL17 ร่วมกับการเสริมต่อปริมาณธาตุอาหารในผักกาดหอมชนิด บัตเตอร์เฮด(อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์ NFT

กรรมวิธี	รายการ/ค่าวิเคราะห์ (Total/%)							
	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn
Control (+ Pa)^{1/}	3.51	0.40	7.26	0.94	0.57	0.0012	0.0003	0.0001
Control (- Pa)^{2/}	-	-	-	-	-	-	-	-
FL17 สูตร 3 + Pa	2.94	0.48	5.88	1.04	0.56	0.0008	0.0003	0.0007
FL17 สูตร 3 +VC - Pa	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>T. harzianum</i> 01-52+ Pa	2.65	0.31	5.04	0.93	0.53	0.0009	0.0002	0
<i>T. harzianum</i> CB-Pin-01 + Pa	-	-	-	-	-	-	-	-
Vermicompost - Pa	-	-	-	-	-	-	-	-
FL17 สูตร 3+VC+ Pa	3.33	0.38	5.79	1.02	0.63	0.0024	0.0001	0.0012

^{1/} กรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตร ต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 21 28 และ 35 วัน

^{2/} กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (- Pa)



ภาพที่ 8 อิทธิพลของการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus mycoides* สายพันธุ์ FL17 ร่วมกับสารเสริมต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของผักกาดหอมชนิด บัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ NFT และได้รับการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa)

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

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

FL17 20 g ไม่บ่ม + Pa = กรรมวิธีที่ใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย FL17 อัตรา 20 กรัม (แบบไม่บ่ม) ต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตรและปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร

FL17 20 g ไม่บ่ม+VC -Pa = กรรมวิธีที่ใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย FL17 อัตรา 20 กรัม (แบบไม่บ่ม) และมูลไส้เดือนดินอัตรา 10 กรัม ต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร ไม่ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum*

01-52 (+Pa) = กรรมวิธีที่ใส่สปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* 01-52 ในอัตรา 25 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร และปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร

CB-Pin-01(+Pa) = กรรมวิธีที่ใส่สปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* CB-Pin-01 ในอัตรา 25 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร และปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร

VC - Pa = กรรมวิธีที่ใส่มูลไส้เดือนดินอัตรา 10 กรัม ต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร และไม่ปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum*

FL17 20 g ไม่บ่ม+VC +Pa = กรรมวิธีที่ใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย FL17 อัตรา 20 กรัม (แบบไม่บ่ม)และมูลไส้เดือนดินอัตรา 10 กรัม ต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร การปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร

8. อิทธิพลของจำนวนครั้งในการใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* ลงในสารละลายธาตุอาหารต่อการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ (ฤดูหนาว 10 ตุลาคม - 20 พฤศจิกายน 2555)

จากการศึกษาเปรียบเทียบจำนวนครั้งที่เหมาะสมในการใช้เซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียจากชีวภัณฑ์แบคทีเรียที่พัฒนาขึ้น อัตรา 20 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร เพื่อควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมชนิดปัตเตอร์เฮด โดยปรับสารละลายธาตุอาหารให้ EC และ pH อยู่ที่ 1.8 mS/cm และ 6-6.5 ตลอดจนการทดลอง พบว่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 อัตรา 20 กรัม เปลี่ยนสารละลายและใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรียทุก 7 วันและไม่ปลูกเชื้อโรค (ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย อัตรา 10 กรัม สำหรับอนุบาลต้นกล้า อายุ 1-14 วัน) ส่งผลให้ผักกาดหอมมีลักษณะการเจริญเติบโตสูงสุด โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างทรงพุ่ม จำนวนใบ เส้นรอบวงลำต้น เท่ากับ 32.96 35.67 และ 3.85 เซนติเมตร ตามลำดับ รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 อัตรา 20 กรัม เปลี่ยนสารละลายและใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรียทุก 7 วันร่วมกับการปลูกเชื้อโรค (ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย อัตรา 10 กรัม สำหรับอนุบาลต้นกล้า อายุ 1-14 วัน) มีค่าเฉลี่ยความกว้างทรงพุ่ม จำนวนใบ เส้นรอบวงลำต้น เท่ากับ 32 32.29 และ 3.51 เซนติเมตรตามลำดับ ซึ่งทั้งสองกรรมวิธีมีค่าเฉลี่ยไม่ต่างกันทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าแม้ในสภาพที่มีเชื้อโรคก็ไม่มีผลกระทบด้านการเจริญเติบโตของผักกาดหอมถ้าใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิบัติกร่วมด้วย

ส่วนกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 อัตรา 20 กรัม ไม่เปลี่ยนสารละลายและใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรียสัปดาห์เว้นสัปดาห์ (7 เว้น 7) ร่วมกับการปลูกเชื้อโรค (ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย อัตรา 10 กรัม สำหรับอนุบาลต้นกล้า อายุ 1-14 วัน) ส่งผลให้ผักกาดหอมมีลักษณะการเจริญเติบโตดี โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างทรงพุ่ม จำนวนใบ เท่ากับ 30.37 29.5 เซนติเมตรตามลำดับ (ตารางที่ 19) ซึ่งแตกต่างกับกรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อโรคอย่างเดียวยังมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่มีค่าเฉลี่ยเส้นรอบวงลำต้นไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อโรค ซึ่งมีค่าเท่ากับ 3.04 เซนติเมตร

จะเห็นได้ว่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* สายพันธุ์ FL17 สูตร 3 อัตรา 10 กรัม สำหรับอนุบาลต้นกล้า อายุ 1-14 วันร่วมกับการปลูกเชื้อโรคและเปลี่ยนสารละลายทุกสัปดาห์ ส่งผลให้ผักกาดหอมมีลักษณะการเจริญเติบโตดีกว่ากรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อโรค โดยมีค่าเฉลี่ยความกว้างทรงพุ่ม จำนวนใบ เท่ากับ 31.13 29.79 เซนติเมตรตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกับกรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อโรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นค่าเฉลี่ยเส้นรอบวงลำต้น (2.77 เซนติเมตร) ที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (ตารางที่ 20) แต่กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 อัตรา 20 กรัม ใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรียและเปลี่ยนสารละลายทุก 7 วัน (ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย อัตรา 10 กรัม สำหรับอนุบาลต้นกล้า อายุ 1-14 วัน) พบว่ามีการเจริญเติบโตทั้งทางด้านความกว้างทรงพุ่ม (32.29 เซนติเมตร) จำนวนใบ (32 ใบ) และเส้นรอบวง (3.51 เซนติเมตร) มากกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 อัตรา 20 กรัม ใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรียทุก 7 วัน และไม่เปลี่ยนสารละลายธาตุอาหาร ที่พบว่ามีการเจริญเติบโตทั้งทางด้านความกว้างทรงพุ่ม (30.21 เซนติเมตร) จำนวนใบ (31.21 ใบ) และเส้นรอบวง (3.19 เซนติเมตร) (ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย อัตรา 10 กรัม สำหรับอนุบาลต้นกล้า อายุ 1-14 วัน) แต่มีงานวิจัยที่กล่าวไว้ว่าการเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารทุกสัปดาห์เป็นการรักษาสมดุลของธาตุอาหาร ทำให้พืชเจริญเติบโตเพราะดึงธาตุอาหารไปใช้ได้มากขึ้นสอดคล้องกับผลการทดลองในครั้งนี้ แต่การเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารทุกสัปดาห์อาจทำให้ค่าใช้จ่ายสูงและเสียเวลาเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 20 อิทธิพลของจำนวนครั้งในการใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus mycoides* ต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอม ในด้านจำนวนใบต่อดัน ความกว้างทรงพุ่ม และเส้นรอบวงลำต้นของผักกาดหอมชนิด บัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) และได้รับการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa)

กรรมวิธี	จำนวนใบ (ชม.)	ความกว้างทรงพุ่ม (ชม.)	เส้นรอบวง ลำต้น (ชม.)
Control (+ Pa) ^{1/}	24.42 d ^{2/}	27.99 d	2.58 d
Control (- Pa) ^{3/}	28.25 c	28.88 cd	2.72 cd
FL17 สูตร 3 + Pa เปลี่ยนสารละลายทุก 7 วัน	32.29 b	32 ab	3.51 ab
FL17 สูตร 3 - Pa เปลี่ยนสารละลายทุก 7 วัน	35.67 a	32.96 a	3.85 a
FL17 สูตร 3 + Pa ไม่เปลี่ยนสารละลาย	30.21 bc	31.21 b	3.19 bc
FL17 สูตร 3 - Pa ไม่เปลี่ยนสารละลาย	32.25 b	31.66 ab	3.48 ab
FL17 สูตร 3 (7 เว้น 7) + Pa ไม่เปลี่ยนสารละลาย	29.5 bc	30.37 bc	3.04 bcd
FL17 สูตร 3 (อนุบาลต้นกล้า) + Pa เปลี่ยนสารละลายทุก 7 วัน	29.79 bc	31.13 b	2.77 cd
C.V. (%)	6.65	3.59	9.71

^{1/} กรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตร ต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 21 28 และ 35 วัน

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

^{3/} กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (- Pa)

เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักสดของผักกาดหอม พบว่าค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดรวมทั้งต้นและรากของกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ส่วนใหญ่มีค่าสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อโรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเฉพาะในกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 อัตรา 20 กรัม เปลี่ยนสารละลายและใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรียทุก 7 วันและไม่ปลูกเชื้อโรค รองลงมาคือชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 อัตรา 20 กรัม เปลี่ยนสารละลายและใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรียทุก 7 วันและปลูกเชื้อโรคร่วม โดยมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดรวมทั้งต้นและรากเท่ากับ 191.37 และ 161.01 กรัมต่อต้นตามลำดับ (ตารางที่ 21) ส่วนกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ทุกสัปดาห์แต่ไม่มีการเปลี่ยนสารละลายทั้งที่ไม่ปลูกเชื้อโรคและมีการปลูกเชื้อโรคมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักรวมสดต่ำกว่าในกรรมวิธีที่มีการเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารทุกสัปดาห์ โดยมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดรวมทั้งต้นและราก เท่ากับ 153.81 และ 135.19 กรัมต่อต้นตามลำดับ (ตารางที่ 21) ในส่วนของน้ำหนักแห้งมีแนวโน้มในทิศทางเดียวกันกับน้ำหนักสดรวม โดยเมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักแห้งของผักกาดหอม พบว่าค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งรวมทั้งต้นและรากของกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ส่วนใหญ่มีค่าสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อโรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเฉพาะในกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 อัตรา 20 กรัม เปลี่ยนสารละลายและใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรียทุก 7 วันและไม่ปลูกเชื้อ รองลงมาคือชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 อัตรา 20 กรัม เปลี่ยนสารละลายและใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรียทุก 7 วัน ร่วมกับการปลูกเชื้อโรค) โดยมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งรวมทั้งต้นและราก เท่ากับ 5.70 และ 4.83 กรัมต่อต้นตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ทุกสัปดาห์แต่ไม่มีการเปลี่ยนสารละลายทั้งที่ไม่ปลูกเชื้อโรคและมีการปลูกเชื้อโรคมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งต่ำกว่าในกรรมวิธีที่มีการเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารทุกสัปดาห์ โดยมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งรวมทั้งต้นและราก เท่ากับ 4.40 และ 4.10 กรัมต่อต้นตามลำดับ

ส่วนกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 อัตรา 10 กรัม สำหรับอนุบาลต้นกล้า อายุ 1-14 วันร่วมกับการปลูกเชื้อโรคและเปลี่ยนสารละลายทุกสัปดาห์ ส่งผลให้ผักกาดหอมมีลักษณะการเจริญเติบโตดีกว่ากรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อโรคเพียงอย่างเดียว โดยมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดรวมทั้งต้นและรากน้ำหนักแห้งรวม เท่ากับ 122.64 และ 3.98 กรัมต่อต้นตามลำดับ (ตารางที่ 21) ซึ่งสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อโรคอย่างเดียวย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 21 อิทธิพลของจำนวนครั้งในการใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus mycoides* ต่อน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของผักกาดหอมชนิด บัตเตอร์เฮด(อายุ 42 วัน) และได้รับการปลูก เชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa)

กรรมวิธี	น้ำหนักสด (กรัม/ต้น)			น้ำหนักแห้ง (กรัม/ต้น)		
	นน.ต้น	นน.ราก	นน.รวม	นน.ต้น	นน.ราก	นน.รวม
Control (+ Pa) ^{1/}	80.50 f ^{2/}	8.34 e	90.84 f	2.61 e	0.38 c	2.99 d
Control (- Pa) ^{3/}	97.50 ef	9.78 d	107.29ef	3.17 de	0.40 bc	3.57 cd
FL17 สูตร 3 + Pa เปลี่ยนสารละลายทุก 7 วัน	149.17 b	13.04ab	161.01 b	4.31 b	0.52 a	4.83 b
FL17 สูตร 3 - Pa เปลี่ยนสารละลายทุก 7 วัน	177.92 a	13.45 a	191.37 a	5.29 a	0.49abc	5.70 a
FL17 สูตร 3 + Pa ไม่เปลี่ยนสารละลาย	124.17 cd	11.02cd	135.19cd	3.40 cd	0.50 ab	4.10 bc
FL17 สูตร 3 - Pa ไม่เปลี่ยนสารละลาย	141.67bc	12.17bc	153.81bc	3.99 bc	0.43abc	4.40 b
FL17 สูตร 3 (7วัน7)+ Pa ไม่เปลี่ยนสารละลาย	122 cd	11.84bc	133.84 cd	3.60 cd	0.48abc	4.10 bc
FL17 สูตร 3 (อนุบาลต้น กล้า)+Pa เปลี่ยนสารละลาย ทุก 7 วัน	112.5 de	10.14 d	122.64 de	3.57 cd	0.41 bc	3.98 bc
C.V. (%)	11.43	7.32	10.92	11.39	14.32	11.85

^{1/} กรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิกรัม ต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 21 28 และ 35 วัน

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

^{3/} กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (- Pa)

เมื่อพิจารณาดัชนีการเกิดโรคนบนรากของผักกาดหอมพบว่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ส่วนใหญ่มีค่าต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อโรค โดยเฉพาะในกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* สายพันธุ์ FL17 สูตร 3 อัตรา 20 กรัม เปลี่ยนสารละลายและใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรียทุก 7 วัน ร่วมกับปลูกเชื้อโรค รองลงมาคือชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* สายพันธุ์ FL17 สูตร 3 อัตรา 20 กรัม ใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรียทุก 7 วัน และไม่เปลี่ยนสารละลายร่วมด้วยการปลูกเชื้อโรค โดยมีดัชนีการเกิดโรคเท่ากับ 37.5 47.22 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 22)

ส่วนกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 อัตรา 20 กรัม ไม่เปลี่ยนสารละลายและใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรียสัปดาห์เว้นสัปดาห์ (7 วัน 7) ร่วมกับการปลูกเชื้อ ส่งผลให้ดัชนีการเกิดโรคสูงกว่ากรรมวิธีใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 อัตรา 20 กรัม เปลี่ยนสารละลายและใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรียทุก 7 วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยดัชนีการเกิดโรคเท่ากับ 59.71 เปอร์เซ็นต์ ในส่วนของเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคที่ลดลงมีแนวโน้มในทิศทางเดียวกันกับดัชนีการเกิดโรค ซึ่งพบว่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์ส่วนใหญ่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคที่ลดลงสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อโรค โดยเฉพาะในกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 อัตรา 20 กรัม เปลี่ยนสารละลายและใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรียทุก 7 วันและไม่ปลูกเชื้อโรค รองลงมาคือชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 อัตรา 20 กรัม ใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรียทุก 7 วัน และไม่เปลี่ยนสารละลายร่วมด้วยการปลูกเชื้อ โดยมีดัชนีการเกิดโรคเท่ากับ 73.99 61.79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ตารางที่ 22 ค่าดัชนีการเกิดโรคของผักกาดหอมชนิด บัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ NFT และได้รับการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa)

กรรมวิธี	ดัชนีการเกิดโรค (%) ^{1/}	ดัชนีการเกิดโรค ลดลง (%)
Control (+ Pa) ^{2/}	71.87 a ^{3/}	-
Control (- Pa) ^{4/}	0	-
FL17 สูตร3 + Pa เปลี่ยนสารละลายทุก 7 วัน	37.5 c	61.38
FL17 สูตร3 - Pa เปลี่ยนสารละลายทุก 7 วัน	22.22 d	73.99
FL17 สูตร3 + Pa ไม่เปลี่ยนสารละลาย	47.22 bc	37.40
FL17 สูตร3 - Pa ไม่เปลี่ยนสารละลาย	35.42 cd	61.79
FL17 สูตร3 (7 เว้น 7)+ Pa ไม่เปลี่ยนสารละลาย	59.71 b	32.58
FL17 สูตร 3 (อนุบาลต้นกล้า) + Pa เปลี่ยนสารละลายทุก 7 วัน	62.5 ab	25.62
CV. (%)	7.49	-

^{1/} ดัชนีการเกิดโรค (%) = $\frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนต้นที่แสดงอาการ} \times \text{ระดับอาการ)} \times 100}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด} \times \text{ระดับอาการสูงสุด}}$

^{2/} กรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตร ต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 21 28 และ 35 วัน

^{3/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดิ่ง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (P = 0.05)

^{4/} กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (- Pa)

เมื่อนำสารละลายธาตุอาหาร วัสดุปลูก (ในถ้วยเพาะกล้า) ของผักกาดหอมมาตรวจปริมาณและเปอร์เซ็นต์การเข้าครอบครองของจุลินทรีย์ พบปริมาณเชื้อ *P. aphanidermatum* ที่พบในสารละลายของกรรมวิธีควบคุมมากที่สุดคือ 4.8×10^1 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิตร และปริมาณเชื้อ *P. aphanidermatum* ที่พบในวัสดุปลูกในกรรมวิธีควบคุมมากที่สุดคือ 80 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 23) เทากับกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 อัตรา 10 กรัม สำหรับอนุบาลต้นกล้า อายุ 1-14 วัน ร่วมกับการปลูกเชื้อโรคและเปลี่ยนสารละลายทุกสัปดาห์ พบรองลงมาคือ กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 อัตรา 20 กรัม ไม่เปลี่ยนสารละลายและใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรียสัปดาห์เว้นสัปดาห์ (7 เว้น 7) ร่วมกับการปลูกเชื้อ 66.67 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบเลยในกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 อัตรา 20 กรัม เปลี่ยนสารละลายและใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรียทุก 7 วัน และไม่ปลูกเชื้อโรค ซึ่งเป็นค่าเฉลี่ยที่ต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในด้านปริมาณแบคทีเรียที่ตรวจพบในสารละลายธาตุอาหาร วัสดุปลูก พบว่าปริมาณเชื้อแบคทีเรียในกรรมวิธีที่ใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรียทุก 7 วันทั้งที่เปลี่ยนสารละลายและไม่เปลี่ยนมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียสูงที่สุด อยู่ระหว่าง 6.3×10^4 - 4.4×10^4 หน่วยโคโลนีต่อมิลลิตร (ตารางที่ 24) พบว่าปริมาณของแบคทีเรียในกรรมวิธีที่ใช้ส่วนกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 อัตรา 10 กรัม สำหรับอนุบาลต้นกล้า อายุ 1-14 วัน ร่วมกับการปลูกเชื้อโรคและเปลี่ยนสารละลายทุกสัปดาห์ สามารถครอบครองพื้นที่ของวัสดุปลูกได้น้อยกว่าในกรรมวิธีอื่นๆ อาจเนื่องมาจากแบคทีเรียที่ไปครอบครองตั้งแต่ระยะอนุบาลต้นกล้า ค่อยๆ ลดปริมาณลงไปและไม่ได้มีใส่เพิ่มลงไปเหมือนกรรมวิธีอื่นๆ

ตารางที่ 23 ปริมาณเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus mycoides* สายพันธุ์ FL17 บนวัสดุปลูกในถ้วยเพาะกล้าและรากของผักกาดหอมชนิด บัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์แบบ NFT

กรรมวิธี	ปริมาณเชื้อรา <i>Pythium</i>		ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย	
	วัสดุปลูก (%)		วัสดุปลูก (%)	
	Perlite	Vermiculite	Perlite	Vermiculite
Control (+ Pa)^{1/}	80 a ^{2/}	60 a	nd ^{3/}	nd
Control (- Pa)^{4/}	Nd	nd	nd	nd
FL17 สูตร 3 + Pa เปลี่ยนสารละลายทุก 7 วัน	0 e	20 bc	80.67 a	66.67 b
FL17 สูตร 3 - Pa เปลี่ยนสารละลายทุก 7 วัน	0 e	6.67 bc	80.67 a	90 a
FL17 สูตร 3 + Pa ไม่เปลี่ยนสารละลาย	36.67 c	23.33 bc	80.67 a	53.33 b
FL17 สูตร 3 - Pa ไม่เปลี่ยนสารละลาย	26.67 d	6.67 bc	63.33 b	20 cd
FL17 สูตร 3 (7 เว้น 7) + Pa ไม่เปลี่ยนสารละลาย	66.67 b	40 ab	36.67 c	26.67 c
FL17 สูตร 3 (อนุบาลต้นกล้า) + Pa เปลี่ยนสารละลายทุก 7 วัน	80 a	40 ab	0 d	16.67 cd
C.V. (%)	13.79	81.08	12.83	30.05

^{1/} กรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 28 และ 35 วัน

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

^{3/} nd = non-determined (ไม่ได้ตรวจสอบ)

^{4/} กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (- Pa)

ตารางที่ 24 ปริมาณเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus mycoides* สายพันธุ์ FL17 ในสารละลายธาตุอาหาร ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ แบบ NFT

กรรมวิธี	สารละลายธาตุอาหาร (CFU/ml) ^{1/}	
	เชื้อรา <i>Pythium</i>	เชื้อแบคทีเรีย
Control (+ Pa) ^{2/}	4.8×10^1 a ^{3/}	nd ^{4/}
Control (- Pa) ^{5/}	nd	nd
FL17 สูตร 3 + Pa เปลี่ยนสารละลายทุก 7 วัน	1.2×10^1 c	5.9×10^4 a
FL17 สูตร 3 - Pa เปลี่ยนสารละลายทุก 7 วัน	nd	6.3×10^4 a
FL17 สูตร 3 + Pa ไม่เปลี่ยนสารละลาย	1.4×10^1 c	4.4×10^4 ab
FL17 สูตร 3 - Pa ไม่เปลี่ยนสารละลาย	nd	5.4×10^3 a
FL17 สูตร 3 (7 วัน 7) + Pa ไม่เปลี่ยนสารละลาย	3.9×10^1 ab	4.5×10^3 ab
FL17 สูตร 3 (อนุบาลต้นกล้า) + Pa เปลี่ยนสารละลายทุก 7 วัน	3.9×10^1 ab	3.9×10^3 c
C.V. (%)	36.62	34.76

^{1/} ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ตรวจนับ โดยนำสารละลายธาตุอาหารในสัปดาห์สุดท้ายของการทดลองมา ทำ dilution plate อาหาร NGA ผสม rifampicin 50 ppm สำหรับแบคทีเรียปฏิปักษ์ และอาหาร BNPRa สำหรับเชื้อรา *P. aphanidermatum*

^{2/} กรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตร ต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 21 28 และ 35 วัน

^{3/} ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดังนี้ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test ($P = 0.05$)

^{4/} nd = non-determined (ไม่ได้ตรวจสอบ)

^{5/} กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (- Pa)

เมื่อนำรากของผักกาดหอมมาตรวจวัดความยาวรากเปรียบเทียบกัน พบว่าในกรรมวิธีที่ควบคุมมีความยาวรากสั้นที่สุดแตกต่างจากกรรมวิธีที่มีการใช้ชีวภัณฑ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 อัตรา 20 กรัม เปลี่ยนสารละลายและใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรียทุก 7 วันและไม่ปลูกเชื้อโรค รองลงมาคือ ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 อัตรา 20 กรัม เปลี่ยนสารละลายและใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรียทุก 7 วัน ร่วมด้วยการปลูกเชื้อโรค โดยมีค่าเฉลี่ยความยาวรากเท่ากับ 53.18 และ 52.87 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 25) ซึ่งมีความยาวรากมากกว่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แต่ไม่เปลี่ยนสารละลายทั้งที่ปลูกเชื้อโรคและไม่ปลูกเชื้อโรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ส่วนกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 อัตรา 10 กรัม สำหรับอนุบาลต้นกล้า อายุ 1-14 วัน ร่วมกับการปลูกเชื้อโรคและเปลี่ยนสารละลายทุกสัปดาห์ ส่งผลให้มีความยาวรากน้อยกว่าในกรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อโรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาจเนื่องมาจากกรรมวิธีควบคุมไม่มีเชื้อรา *P. aphanidermatum* มารบกวนระบบราก แต่ในกรรมวิธีที่อนุบาลต้นกล้าเพียงอย่างเดียวมีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ร่วมด้วยและถึงแม้จะมีการอนุบาลต้นกล้าด้วยชีวภัณฑ์แบคทีเรียก็ตาม เมื่อผักกาดหอมมีอายุเพิ่มขึ้นอาจจะมีปริมาณไม่เพียงพอต่อการป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อราโรค แต่ถึงอย่างไรการอนุบาลต้นกล้าด้วยชีวภัณฑ์แบคทีเรียยังมีความยาวรากมากกว่าในกรรมวิธีควบคุมที่มีการปลูกเชื้อโรค

เมื่อตรวจเปอร์เซ็นต์การครอบครองของจุลินทรีย์บริเวณรากของผักกาดหอมพบว่าในส่วนของรากของผักกาดหอม กรรมวิธีควบคุมที่ปลูกเชื้อโรคพบเชื้อรา *P. aphanidermatum* ปริมาณสูงเท่ากับ 82.22 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 25) รองลงมาคือกรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 อัตรา 10 กรัม สำหรับอนุบาลต้นกล้า อายุ 1-14 วันร่วมกับการปลูกเชื้อโรคและเปลี่ยนสารละลายทุกสัปดาห์พบเชื้อโรคมามากถึง 73 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 อัตรา 20 กรัม เปลี่ยนสารละลายและใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรียทุก 7 วัน และไม่ปลูกเชื้อโรค ไม่พบเชื้อโรคเข้าทำลาย อาจเป็นผลมาจากการไม่ปลูกเชื้อโรคด้วยส่วนหนึ่ง และจากการที่แบคทีเรียที่ใส่ลงไปช่วยป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อโรคตลอดระยะเวลาจนมีการเก็บเกี่ยว เมื่อตรวจเปอร์เซ็นต์การครอบครองรากของแบคทีเรียปฏิปักษ์ พบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์สามารถครอบครองบริเวณผิวราก โดยกรรมวิธีที่สามารถครอบครองรากได้ดีคือ กรรมวิธีที่ใช้

ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 สูตร 3 อัตรา 20 กรัม เปลี่ยนสารละลายและใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรียทุก 7 วันและปลูกเชื้อโรค เท่ากับ 71.11 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 25) มากกว่ากรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียกรรมวิธีอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งประสิทธิภาพในการควบคุมโรคโดยชีววิธีที่จะได้ผลดีขึ้นอยู่กับความสามารถและระดับในการครอบครองส่วนต่างๆของพืช (Wulff *et al.* 2002)

จากการเปรียบเทียบความรุนแรงของโรคและน้ำหนักสดของผลผลิตผักกาดหอมทั้ง 4 ช่วงการทดลอง คือในช่วงเดือน กันยายน-ตุลาคม มีนาคม-เมษายน มิถุนายน-สิงหาคม และตุลาคม-พฤศจิกายน พบว่ามีความรุนแรงของโรคต่างกัน โดยจะมีความรุนแรงมากในช่วงที่มีสภาพอากาศร้อน (อุณหภูมิสูง 33.5-42 องศาเซลเซียส) และรุนแรงน้อยในช่วงที่มีสภาพอากาศเย็น เห็นได้ว่าช่วงเดือนกันยายน- ตุลาคม พ.ศ. 2555 และตุลาคม- พฤศจิกายน พ.ศ. 2556 ซึ่งมีสภาพอากาศเย็นมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคบนรากผักกาดหอมต่ำกว่าทุกการทดลอง และส่งผลให้ผักกาดหอมมีน้ำหนักสดสูงกว่าการทดลองในช่วงที่มีสภาพอุณหภูมิสูง ทั้งนี้เนื่องจากสภาพอากาศเย็นเหมาะสมกับการเจริญเติบโตของผักกาดหอม ทำให้ผักกาดหอมเจริญเติบโตได้เต็มที่และสภาพอากาศดังกล่าวไม่เหมาะสมกับการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. aphanidermatum* เห็นได้ว่าชีวภัณฑ์แบคทีเรียที่พัฒนาขึ้น ร่วมกับการเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารทุกสัปดาห์มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรค โดยสามารถช่วยลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคให้ต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุม

ตารางที่ 25 ความยาวราก และปริมาณเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus mycoides* บนรากผักกาดหอมชนิด บัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโพนิคส์ NFT

กรรมวิธี	ความยาวราก (ซม.)	ราก (%)	
		เชื้อรา <i>Pythium</i>	เชื้อ แบคทีเรีย
Control (+ Pa) ^{1/}	36.13 c ^{2/}	82.22 a	nd ^{3/}
Control (- Pa) ^{4/}	42.02 b	nd	Nd
FL17 สูตร 3 + Pa เปลี่ยนสารละลายทุก 7 วัน	52.87 a	17.78 c	71.11 a
FL17 สูตร 3 - Pa เปลี่ยนสารละลายทุก 7 วัน	53.18 a	nd	64.44 ab
FL17 สูตร 3 + Pa ไม่เปลี่ยนสารละลาย	42.48 b	40 b	53.33 bc
FL17 สูตร 3 - Pa ไม่เปลี่ยนสารละลาย	44.66 b	nd	47.78 c
FL17 สูตร 3 (7 วัน 7) + Pa ไม่เปลี่ยนสารละลาย	41.79 b	47.78 b	41.11 c
FL17 สูตร 3 (อนุบาลต้นกล้า) + Pa เปลี่ยนสารละลาย ทุก 7 วัน	37.95 c	73 a	17.78 b
C.V. (%)	5.71	18.64	19.58

^{1/} กรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (+Pa) ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตร ต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร เมื่อผักกาดหอมมีอายุ 14 21 28 และ 35 วัน

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

^{3/} nd = non-determined (ไม่ได้ตรวจสอบ)

^{4/} กรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* (- Pa)



FL17 + Pa
เปลี่ยนทุก 7 วัน

FL17+ Pa
เปลี่ยนทุก 7 วัน

FL17 + Pa
ไม่เปลี่ยน

Con (+)



Con (-)

FL17 - Pa
ไม่เปลี่ยน

FL17 (อนุบาลต้นกล้า)
+ Pa เปลี่ยนทุก 7 วัน

FL17 + Pa
(อนุบาลต้นกล้า)

ภาพที่ 9 อิทธิพลของจำนวนครั้งในการใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus mycoides* ต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของผักกาดหอมชนิด บัตเตอร์เฮด (อายุ 42 วัน) ซึ่งปลูกในระบบไฮโดรโปนิิกส์แบบ NFT และได้รับการปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (+ Pa)

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

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

FL17 + Pa เปลี่ยนทุก 7 วัน = กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย FL17 อัตรา 20 กรัม (แบบไม่บ่ม) ทุก 7 วัน ต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตรและปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร และเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารทุก 7 วัน

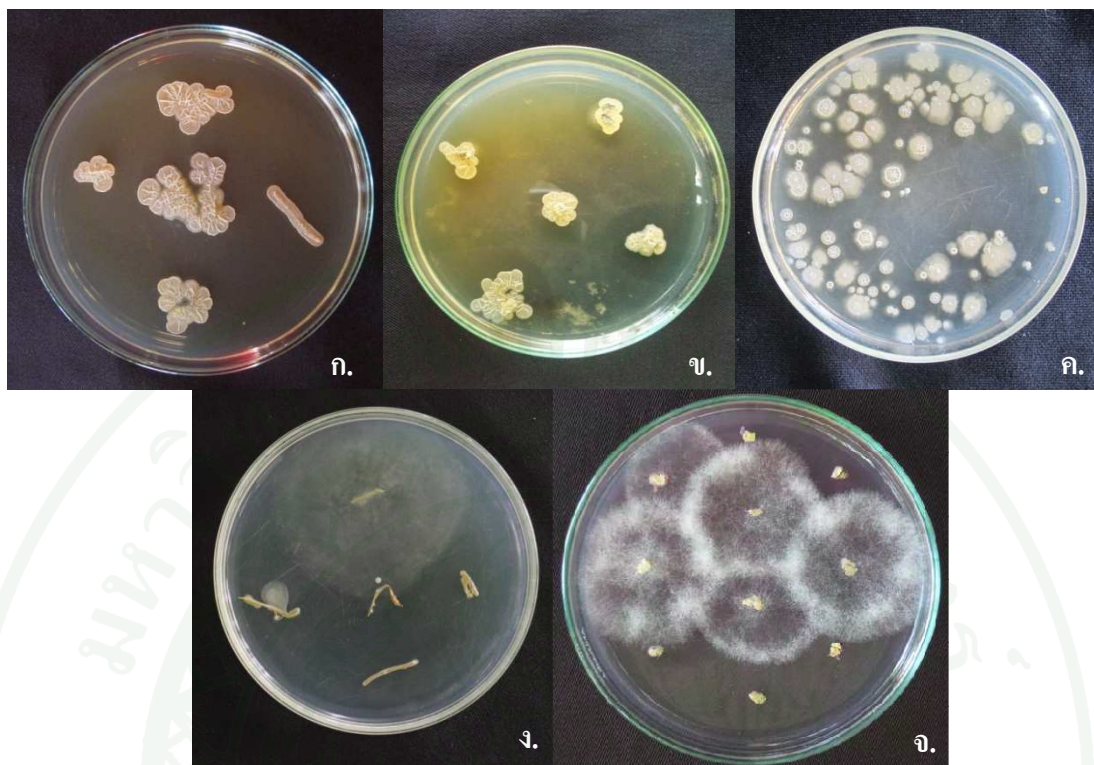
FL17 - Pa เปลี่ยนทุก 7 วัน = กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย FL17 อัตรา 20 กรัม (แบบไม่บ่ม) ทุก 7 วัน ต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร และเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารทุก 7 วัน ไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum*

FL17 + Pa ไม่เปลี่ยน = กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย FL17 อัตรา 20 กรัม (แบบไม่บ่ม) ทุก 7 วัน ต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตรและปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร และไม่เปลี่ยนสารละลายธาตุอาหาร

FL17 - Pa ไม่เปลี่ยน = กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย FL17 อัตรา 20 กรัม (แบบไม่บ่ม) ทุก 7 วัน ต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร ไม่เปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารและไม่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum*

FL17 + Pa เปลี่ยน 7 วัน 7 = กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย FL17 อัตรา 20 กรัม (แบบไม่บ่ม) ต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตรและปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร และเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหาร 7 วัน เว้น 7 วัน

FL17 + Pa (อนุบาลต้นกล้า) = กรรมวิธีที่ใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย FL17 อัตรา 20 กรัม (แบบไม่บ่ม) ต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร เฉพาะช่วงอนุบาลต้นกล้า และปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในรูปเส้นใยแขวนลอยอัตรา 100 มิลลิลิตรต่อสารละลายธาตุอาหาร 25 ลิตร และเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารทุกสัปดาห์



ภาพที่ 10 การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เมื่อนำวัสดุปลูกในถ้วยเพาะกล้า รากของผักกาดหอมและสารละลายธาตุอาหารมาตรวจบนอาหารจำเพาะ โดยตรวจเชื้อรา *P. aphanidermatum* บนอาหาร BNPRA และ แบคทีเรียปฏิปักษ์บนอาหาร NGA ผสม rifampicin 50 ppm

- ก. เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์บนรากของผักกาดหอม
- ข. เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์บนวัสดุปลูกเวอร์มิคูไลท์
- ค. เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากสารละลายธาตุอาหาร เมื่อนำมาทำ dilution plate
- ง. เชื้อรา *P. aphanidermatum* บนรากของผักกาดหอม
- จ. เชื้อรา *P. aphanidermatum* บนวัสดุปลูกเพอร์ไลต์

สรุป

จากการศึกษาประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *Bacillus* spp. สูตรต่างๆ ในการควบคุมโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* ของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิคส์แบบ NFT พบว่าชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้งสูตร 3 มีประสิทธิภาพสามารถลดระดับการเกิดโรครากเน่า ลดปริมาณเชื้อรา *P. aphanidermatum* ในวัสดุปลูก (ในถ้วยเพาะกล้า) ในสารละลายธาตุอาหารและเพิ่มน้ำหนักสดของผักกาดหอมได้ในสภาพที่มีการปลูกเชื้อรา *P. aphanidermatum* ลงในสารละลายธาตุอาหาร

อัตราการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้งสูตร 3 ที่เหมาะสมเพื่อควบคุมโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* ของผักกาดหอมคือ อัตรา 20 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร นำมาผสมน้ำ เขย่าและนำไปเติมในสารละลายธาตุอาหารได้ทันทีโดยไม่ต้องบ่ม นอกจากช่วยในการควบคุมระดับความรุนแรงของโรคให้น้อยลงแล้วยังสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดหอมได้อีกด้วย

จากการศึกษาประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้งสูตร 3 ที่ใช้แบบเดี่ยวใช้ร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์ หรือใช้ร่วมกับสารเสริมต่างๆ พบว่าประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้งสูตร 3 ที่ใช้แบบเดี่ยวมีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้ร่วมกับสารเสริมและดีกว่าการใช้ร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์ และยังช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดหอมได้ดีกว่าการใช้ร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์ และการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียสายพันธุ์ FL17 สูตร 3 มีผลต่อการดูดซับปริมาณธาตุอาหารในพืชโดยเฉพาะสังกะสี (Zn) ฟอสฟอรัส (P) แคลเซียม (Ca) และยังพบว่าการใช้ชีวภัณฑ์ร่วมกับการใช้มูลไส้เดือนดินและปลูกเชื้อโรคมีปริมาณของเหล็ก (Fe) สังกะสี (Zn) สูงที่สุด

จากการเปรียบเทียบจำนวนครั้งในการใส่ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้งสูตร 3 นำมาผสมน้ำแล้วเขย่า อัตรา 40 กรัม ต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร พบว่าการเติมในสารละลายธาตุอาหารได้ทันทีโดยไม่ต้องบ่ม ทั้งในระยะเพาะเมล็ด และใส่ไปในระบบทุกครั้งเมื่อมีการเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารจนถึงอายุเก็บเกี่ยว ได้ผลดีกว่าการใส่แบบอาทิตย์เว้นอาทิตย์ และดีกว่าการอนุบาลต้นกล้าเพียงอย่างเดียว อีกทั้งยังช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดหอมและควบคุมโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้ดีกว่าด้วย

ในทุกการทดลอง (ฤดูกาลต่างกัน) ที่มีการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* เปรียบเทียบกับการใช้เชื้อรา *T. harzianum* ผลการทดลองพบว่าการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* ดีกว่าการใช้เชื้อรา *T. harzianum* รวมถึงดีกว่าการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* ร่วมกับเชื้อรา *T. harzianum* ทั้งด้านการควบคุมโรครากเน่าและการส่งเสริมการเจริญเติบโตโดยเฉพาะในสภาพอุณหภูมิสูง

จากผลการทดลองทั้งหมดสามารถสรุปได้ว่าการพัฒนาชีวภัณฑ์แบคทีเรีย *B. mycoides* FL17 เกล็ดแป้งสูตร 3 เพื่อควบคุมโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* ของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์สามารถลดระดับการเกิดโรครากเน่า โดยใช้อัตรา 20 กรัมต่อสารละลายธาตุอาหาร 50 ลิตร ทั้งในระยะเพาะเมล็ด และใส่ไปในระบบทุกครั้งเมื่อมีการเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารจนถึงอายุเก็บเกี่ยวหรือใส่เพิ่มทุกสัปดาห์หากไม่มีการเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหาร ชีวภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้นยังสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกาดหอมอีกด้วย และการใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียแบบเดี่ยวมีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้ร่วมกับสารเสริมและดีกว่าการใช้ร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์โดยเฉพาะในสภาพอุณหภูมิสูง และการใช้ชีวภัณฑ์ยังช่วยเพิ่มธาตุอาหารสังกะสี (Zn) ฟอสฟอรัส (P) แคลเซียม (Ca) ในผักกาดหอมอีกด้วย

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

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

จิระเดช แจ่มสว่าง และวรรณวิไล อินทนู. 2545. การผลิตเชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสดด้วยเทคนิค
อย่างง่ายเพื่อใช้ควบคุมโรครากเน่าระดับดินของถั่วฝักยาวที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii*
ในการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 40 4-7 กุมภาพันธ์ 2545.
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ

_____. 2547. การควบคุมโรคผักโดยชีววิธี. ใน เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตร
“การควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีในการปลูกผักระบบไม่ใช้ดิน และภายในโรงเรือน”.
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ

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

_____. 2554. เชื้อราไตรโคเดอร์มาแก้ไขปัญหาโรครากเน่าในผักไฮโดรโปนิกส์ได้ผลจริง.
วารสารเกษตร 3: 149-154 น.

ดิเรก ทองอร่าม. 2547. การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน “หลักการจัดการการผลิตและเทคโนโลยีการผลิตเชิง
ธุรกิจในประเทศไทย”. ธรรมรักษ์การพิมพ์, ราชบุรี. 724 น.

ธรรมศักดิ์ ทองเกตุ. 2550. เอกสารประกอบการบรรยายวิชา เทคโนโลยีการผลิตผัก (037421) เรื่อง
การจำแนกพืชผักตามหลักพฤกษศาสตร์. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นิตยา สุวรรณรัตน์. 2534. โรคพืชที่เกิดจากเชื้อราขึ้นต่ำ. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

- นิพนธ์ ทวีชัย. 2553. การควบคุมโรคแบคทีเรียของพืชโดยชีววิธี. สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 271 น.
- เพ็ญกัศ เสงวภาคย์. 2552. ประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่เจริญรอบครองรากในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 41: 470 - 475 น.
- พรหมมาศ อุหากาญจน์. 2548. ศักยภาพของแบคทีเรียบริเวณเขตรากพืชในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดที่เกิดจากเชื้อ *Pythium myriotylum* ในระบบ NFT, ใน รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 7: อารักขาพืชเพื่อคุณภาพชีวิตและสิ่งแวดล้อม. โรงแรมโดคัส ปางสวนแก้ว, เชียงใหม่.
- แพรทอง ละมุล. 2549. การใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* ในการควบคุมโรครากเน่าของผักกาดหอมที่ปลูกในระบบไฮโดรโปนิกส์ สาเหตุจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum*. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ไพโรจน์ จัวงพานิช. 2525. หลักวิชาโรคพืช. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- มนูญ ศิริनुพงศ์. 2544. การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินสู่การปฏิบัติในประเทศไทย. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี วิทยาเขตปัตตานี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- เมฆ จันทน์ประยูร. 2541. ผักสวนครัว. โรงพิมพ์แอล ที เพรส, กรุงเทพฯ. 144 น.
- รุ่งนภา ไชยมาลี. 2549. ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสบนผลพริก สาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

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

วิชัย รักวิทยาศาสตร์. 2546. ราวิทยาเบื้องต้น. จามจุรีโปรดักท์, กรุงเทพฯ. 351 น.

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

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

ศรานนท์ เจริญสุข. มปป. ผักสวนครัว. ส่งเสริมอาชีพธุรกิจ เพชรกระรัต, กรุงเทพฯ.

สุขุมวัฒน์ พิระพันธุ์. 2531. โรครากและโคนเน่าของถั่วเขียวที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* (edson) fitzp และ *P. deliens* meurs และการป้องกันกำจัด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

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

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

อรรถพร สุนทรรัตน์. 2549. การป้องกันโรครากเน่าในระบบไฮโดรโปนิคส์โดยใช้ pH ที่แตกต่างกันในแต่ละฤดู. วารสารเคหการเกษตร 30: 184-186.

Ardakani, S. S., A., Heydari, N. Khorasani. 2010. Development of new bioformulations of *Pseudomonas fluorescens* and evaluation of these products against damping-off of cotton seedlings. **Plant Pathology** 92(1): 83-88.

- Arwiyonto, T., Sakata, K., Goto, M., Tsuyamu, S. and Takikama, Y. 1994. Induction of tomatine in tomato plant by an avirulent strain of *Pseudomonas solanacearum*. **Ann. Phytopath. Soc. Japan** 60: 288-294
- Bargabus, R.L., N.K. Zidack, J.E. Sherwood, and B.J. Jacobsen. 2002. Characterization of systemic resistance in sugar beet elicited by a nonpathogenic, phyllosphere-colonizing *Bacillus mycoides*, biological control agent. **Physiol. Molec. Plant Pathol.** 61: 289-298.
- Chamswarn, C., P. Leeprasert, and S. Chantanatan. 1985. Population assessments of soilborne plant pathogens, *Sclerotium rolfsii*, *Pythium* spp., *Phytophthora* spp. in soil and their correlation to disease incidence on intercropping system. *In* **Cropping Programmes KU- ACNARP**. Fact. of Agri., Kasetsart Univ., Bangkok, Thailand. 80 P. 97
- Cirulii, M. and L.J. Alexander. 1966. A comparison of pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* and different sources of resistance in tomato. **Phytopathology** 56: 1301-1304.
- Collins, D.P. and B.J. Jacobsen. 2003. Optimizing a *Bacillus subtilis* isolate of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* and different source of resistance in tomato. **Phytopathology** 56: 1301-1304.
- Cook, R.J. 1993. The role of biological control in pest management in the 21st century. pp. 10-20 *In* R.D. Lumadon and J.L. Vaughn, eds. **ASC Conference proceedings Series. Pest Management: Biological Based Technologies**. and K.F. Baker. 1983. **The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens**. The Amer. Phytopathol. Soc., Minnesota.
- Cooper, A.J. 1979. **The ABC of NFT: Nutrient Film Technique**. GrowerBooks, London, UK. 170 P.

- El-Hassan, S.A. and S.R. Gowen. 2006 Formulation and Delivery of the Bacterial Antagonist *Bacillus subtilis* for Management of Lentil Vascular Wilt Caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lentil*. **Phytopathology** 154: 148-155.
- Domenech, J.M., S.J. Reddy, W. Kloepper, B. Ramos, and J. Gutierrez-manero. 2006. Combined application of the biological product LS213 with *Bacillus*, *Pseudomonas* or *Chryseobacterium* for growth promotion and biological control of soil-borne diseases in pepper and tomato. **Biol. Control** 51: 245–258.
- Fortnum, B.A., J. Rideout, S.B. Martin, and D. Gooden 2000. Nutrient solution temperature affects *Pythium* root rots of tobacco in Greenhouse Float systems. **Plant Dis.** 24(3): 289-294
- Furlani, P.R. 1999. Hydroponic vegetable production in Brazil. **Acta Hort.** 481: 777-778
- Garibaldi, A., A. Minuto, V. Grasso, and M.L. Gullino. 2003. Application of selected antagonistic strains against *Phytophthora cryptogea* on gerbera in closed soilless systems with disinfection by slow sand filtration. **Crop Prot.** 22: 1053-1061.
- Garibaldi, A., A. Minuto, V. Grasso, and M.L. Gullino. 2003. Application of selected antagonistic strains against *Phytophthora cryptogea* on gerbera in closed soilless systems with disinfection by slow sand filtration. **Crop Prot.** 22: 1053-1061.
- Koohakan, P., H. Ikeda, T. Jeanaksorn, M. Tojo, S.I. Kusakari, K. Okada, and S. Sato. 2004. Evaluation of the indigenous microorganisms in soilless culture: occurrence and quantitative characteristics in the different growing systems. **Scientia. Hort.** 101: 179-188.
- Labuschangne, N., C. Gull, and F.C. Wehner. 2002. Report of root rot caused by *Pythium* F-Group on hydroponically grown celery in South Africa. **Plant Dis.** 86(4): 441.

- Linsansky, S.G. 1985. Production and commercialization of pathogens. pp. 210-218. In Hussey, N.W. and Scopes, N. eds. **Biological Pest Control**. Blanford Press, Poole.
- _____. 2003. Root rot and stunning of hydroponically grown endive, Fennel, and Sorrel caused by *Pythium* F-group in South Africa. **Plant Dis.** 87(7): 875
- Marc, O. and J. Philippe. 2007. Bacillus lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. **Trends in Microbiology** 16: 115-125.
- Menzies, J.G., D.L. Ehret, and S. Stan. 1996. Effect of inoculum density of *Pythium aphanidermatum* on the growth and yield of cucumber plants grown in recirculating nutrient film culture. **Can. J. Plant Pathol.** 18: 50-54.
- Paulitz, T. 1997. Biological control of root pathogens in soilless and hydroponic systems. **Hort. Sci.** 32: 193-196.
- Penyalver, R., Vicedo, B. and M.M. Lopez, 2000. Use of the genetically engineered *Agrobacterium* strain K1026 for biological control of crown gall. **Eur. J. Plant Pathol.** 106: 801-810
- Plaats-Niterink, A.J. vander. 1981. **Monograph of the genus Pythium**. **Stud. Mycol.** 21: 242 P.
- Rose, S.,R. Yip, and Z.K. Punja. 2004. Biological control of *Fusarium* and *Pythium* root rots on greenhouse cucumber grown in rockwool. **Acta Hort.** 635: 73-78
- Schippers, B., B. Lutenberg and P.J. Weisbeek. 1987. Plant growth control by fluorescent pseudomonads, pp. 19-40. In L. Chet, ed. **Inovative Approaches to Plant Disease Control**. John Wiley& Sons, New york.
- Shoemaker, J.J. 1947. **Salad Crop Vegetable**. New York, John wiley and sons, Inc.

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

Thomson, J. 1987. The use of agrocin- producing bacteria in hydroponically grown lettuce attributed to subclinical infection of feeder rootlets by *Pythium dissotocum*. **Plant Dis.** 70: 1053-1056.

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



สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

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

1. Potato dextrose agar (PDA)

มันฝรั่ง (ปอกเปลือกแล้ว) 200 กรัม

Dextrose 20 กรัม

Agar 15 กรัม

Distilled water 1 ลิตร

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

Beef extract 5 กรัม

Peptone 3 กรัม

Glucose 2.5 กรัม

Agar 15 กรัม

Distilled water 1 ลิตร

3. Nutrient glucose agar (NGB)

Beef extract 5 กรัม

Peptone 3 กรัม

Glucose 2.5 กรัม

Distilled water 1 ลิตร

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

KH₂PO₄ 1 กรัม
 MgSO₄.7H₂O 0.5 กรัม
 Bacto Peptone 5 กรัม
 Dextrose 10 กรัม
 Agar 15 กรัม
 Distilled water 1 ลิตร
 Rose Bengal red (1%) 0.032 กรัม
 Streptomycin 1 กรัม

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

5. Modified BNPR (Chamswarn et al., 1985)

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

ละลายสารทั้งหมดลงในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 100 มิลลิลิตร ผสมสาร 40 มิลลิลิตร เติมน้ำในอาหาร

PDA ขณะอุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส 360 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันทั่วก่อนเทในงานเลี้ยงเชื้อ

สูตรสารละลายธาตุอาหาร

ดัดแปลงจากสูตรของ Cooper (1979) โดย ผศ.ดร. ขงยุทธ เจริญไชยศรี (2546)

Stock A

Calcium nitrate 1,120 กรัม
FeEDDHA 70 กรัม
ผสมน้ำให้ได้ปริมาตรรวม 5 ลิตร

Stock B

Potassium nitrate 590 กรัม
Magnesium sulfate 590 กรัม
Potassium phosphate (mono) 270 กรัม
Nic-spray ® 30 กรัม
ผสมน้ำให้ได้ปริมาตรรวม 5 ลิตร

(Nic-spray) : ประกอบด้วยธาตุอาหาร 8 ชนิด ดังต่อไปนี้

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

การเตรียมเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ชนิดสดตามวิธีการของจิระเดชและวรรณวิไล (2545)

ขั้นตอนการผลิตเชื้อสดด้วยหม้อหุงข้าวไฟฟ้า

1. ใช้ปลายข้าวหรือข้าวสาร 3 แก้ว (1 แก้ว มีความจุประมาณ 250 ซีซี) ประมาณ 600 กรัม ใส่น้ำเปล่าสะอาด 2 แก้ว หรือประมาณ 0.5 ลิตร หุงด้วยหม้อหุงข้าวไฟฟ้า เมื่อสุกแล้วจะได้ข้าวสุกประมาณ 1 กิโลกรัม
2. เมื่อสวิตช์ของหม้อหุงข้าวตัดไฟ ใช้ทัพพีชวยข้าวในหม้อก่อนตักข้าวที่หุงสุกใหม่ ๆ ใส่ถุงพลาสติกทนร้อนขนาด 8 x 12 นิ้ว ถุงละ 2 ทัพพี หรือ 3 ทัพพี (ประมาณ 250-300 กรัม) วางถุงข้าวตามแนวราบ ริดอากาศออกจากถุง แล้วพับปากถุงไว้ รอให้ข้าวอุ่นหรือเกือบเย็น
3. เทหรือเหยาะหัวเชื้อราไตรโคเดอร์มาใส่ลงบนข้าวในถุงพลาสติกเพียงเล็กน้อย (หัวเชื้อราไตรโคเดอร์มา 1 ขวด บรรจุ 20 กรัม ใส่ในข้าวสุกได้ จำนวน 40-60 ถุง หรือประมาณ 10-15 กิโลกรัม)
4. หลังใส่หัวเชื้อราไตรโคเดอร์มาแล้ว มัดปากถุงด้วยหนังยางให้แน่น (มัดให้สุดปลายถุง) เขย่าหรือขยำเบา ๆ ให้หัวเชื้อคลุกเคล้ากับข้าวสุกทั่วทั้งถุง รวบถุงให้มีลมพองตรงบริเวณปากถุงที่รัดยางไว้ แล้วใช้ปลายเข็มเจาะถุงพลาสติกได้หนังยางที่มัดไว้เล็กน้อย ประมาณ 15-20 จุดต่อถุง (เพื่อให้มีอากาศถ่ายเทเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อราไตรโคเดอร์มา) แล้วแผ่ถุงข้าวสุกให้แบนราบ ดึงตรงส่วนกลางของถุงให้พองขึ้น เพื่อให้ภายในถุงมีอากาศพอเพียง ในกรณีที่ใช้ลวดเย็บกระดาษสำหรับเย็บปิดปากถุงแทนการใช้ยางรัด ให้พับปากถุงทบ 2-3 ชั้น ก่อนเย็บด้วยลวดเย็บ 3 จุด เจาะรูบริเวณปากถุงประมาณ 20 รู แล้วทำตามขั้นตอนดังกล่าวข้างต้น
5. บ่มเชื้อไว้ในที่มีอากาศถ่ายเท มีแสงสว่างส่องถึง ไม่ตากแดด ปลอดภัยจาก มด ไร และสัตว์อื่นๆ เมื่อครบ 2 วัน ขยำถุงเบาๆ เพื่อให้เส้นใยของเชื้อกระจายทั่วทั้งถุง บ่มถุงเชื้อต่ออีก 4-5 วัน ก่อนนำไปใช้ รวมระยะเวลาของการบ่มเชื้อคือ 6-7 วัน

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวจรรวณ บัวสุวรรณ
วัน เดือน ปี ที่เกิด	13 กันยายน 2530
สถานที่เกิด	ระนอง
ประวัติการศึกษา	ปี 2552 ระดับปริญญาตรี วท.บ.(เกษตรศาสตร์) ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนสนับสนุนงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา ประจำปี 2555