RMU5080019 รศ.ดร. ถนิมนันต์ เจนอักษร

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
245887

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ
การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพืชในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน และความสามารถในการต่อต้านโรครากเน่าโดยวิธีการทางชีวภาพและเขตกรรม

Hydroponic Crop Improvement Against Root Rot Disease Through Biological and Cultural Measures

โดย

รศ.ดร.ถนิมนันต์ เจนอักษร
ผศ.ดร.พรหมมาศ คูหากาญจน์
รศ.ดร.สุดฤดี ประเทืองวงศ์

มกราคม 2553

b00251901

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
245887

สัญญาเลขที่ RMU5080019

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ
การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพืชในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน และความสามารถในการต่อต้านโรครากเน่าโดยวิธีการทางชีวภาพและเขตกรรม

Hydroponic Crop Improvement Against Root Rot Disease Through Biological and Cultural Measures

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

โดย

รศ.ดร.ถนิมนันต์ เจนอักษร
ผศ.ดร.พรหมมาศ คูหากาญจน์
คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

รศ.ดร.สุดฤดี ประเทืองวงศ์
คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
และสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย (สกว.) และ สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา (สกอ.) ที่สนับสนุนทุนวิจัยในการดำเนินงานโครงการวิจัยนี้

ขอขอบคุณคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่สนับสนุนด้านอุปกรณ์ เครื่องมือและครุภัณฑ์ที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาเขาหินซ้อน โครงการส่วนพระองค์ จ. ฉะเชิงเทรา, โครงการพัฒนาส่วนพระองค์ ตำบลบางแตน อ. บ้านสร้าง จ. ปราจีนบุรี, ศูนย์ศึกษาการพัฒนาเขาหินซ้อนฯ อ. พนมสารคาม จ. ฉะเชิงเทรา, แหล่งปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินตามโครงการพระราชดำริ หลังร้าน Golden place รามคำแหง กรุงเทพฯ, ฟาร์ม Higreen กรุงเทพฯ, สวน ส.ส. อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา, แหล่งปลูกผักไฮโดรโพนิกส์บางปู จ.สมุทรปราการ และ โครงการส่วนพระองค์ลูกพระดาบส จ. สมุทรปราการ แหล่งปลูกผักไฮโดรโพนิกส์ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ในการเก็บตัวอย่างมาทำการวิจัยนี้

สุดท้ายนี้ ขอบคุณนักศึกษาปริญญาเอกและปริญญาโท ห้องปฏิบัติการโรคพืช สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่มีส่วนร่วมในงานวิจัยนี้

คุณค่าและประโยชน์อันพึงได้รับจากโครงการวิจัยเล่มนี้ คณะผู้วิจัยขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

คณะผู้วิจัย

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: RMU5080019

ชื่อโครงการ : การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพืชในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน และความสามารถในการต่อต้านโรครากเน่าโดยวิธีการทางชีวภาพและเขตกรรม

ชื่อนักวิจัย : รศ.ดร.ถนิมนันต์ เจนอักษร และ ผศ.ดร.พรหมมาศ คูหากาญจน์
คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ
รศ.ดร.สุดฤดี ประเทืองวงศ์
คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ

E-mail Address : kjtanimn@kmitl.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : ธันวาคม 2549 – ธันวาคม 2552

245887

เทคโนโลยีการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน จัดเป็นระบบการผลิตพืชแบบหนึ่งที่ยั่งยืน โดยมีการใช้ปัจจัยในการผลิตต่างๆ อย่างคุ้มค่า ทำให้เกิดผลกระทบต่อสภาวะแวดล้อมน้อย อีกทั้งยังสามารถหลีกเลี่ยงเชื้อสาเหตุโรคทางดิน รวมทั้งแก้ไขข้อด้อยบางประการของการปลูกพืชในดินได้ แต่อย่างไรก็ตาม ปัญหาที่สำคัญประการหนึ่งของการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินที่ยังประสบอยู่ในขณะนี้ คือ ปัญหาเรื่องโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* spp. เนื่องจากในกรณีที่มีการปนเปื้อนของเชื้อดังกล่าวลงในระบบนี้ สารละลายธาตุอาหารพืชที่ใช้หมุนเวียนในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินจะกลายเป็นสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการดำรงชีพและแพร่กระจายของเชื้อสาเหตุโรค อีกทั้งเชื้อดังกล่าวจะฉวยโอกาสเข้าทำลายพืชในขณะที่พืชอ่อนแอหรือมีบาดแผล การนำแนวทางการป้องกันกำจัดโรคพืชแบบชีววิธีมาใช้ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน น่าจะเป็นวิธีการที่ให้ผลดีและไม่ส่งผลกระทบในทางลบต่อนิเวศน์วิทยาของระบบการผลิตพืช ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาการผลิตผักสลัด (Lettuce; *Lactuca sativa* L.) ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินให้สอดคล้องกับการเกษตรยั่งยืน โดยมุ่งเน้นการนำชีววิธีและเขตกรรมมาใช้เพื่อควบคุมโรครากเน่าของผักสลัด งานวิจัยแบ่งออกเป็น 4 ส่วน กล่าวคือ ส่วนแรก จะเป็นการประเมินประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์รา 4 รูปแบบที่มีจำหน่ายในท้องตลาดสำหรับควบคุมโรคพืชที่ปลูกในดิน และแบคทีเรียเขตรากพืชที่เป็นประโยชน์ 4 สายพันธุ์ที่ผ่านการเผยแพร่แล้วว่ามีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคที่สำคัญหลายชนิด เพื่อควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน จากการทดลองพบว่าชีวผลิตภัณฑ์ราทั้ง 4 รูปแบบนั้นไม่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคดังกล่าวในระบบ NFT ได้ ซึ่งไม่สอดคล้องกับผลงานวิจัยที่ผ่านมาที่ทดสอบในระบบ DFT น่าจะเป็นผลมาจากระบบ NFT ไม่เหมาะสมในการรักษาระดับปริมาณของเชื้อปฏิปักษ์ให้คงที่และสูงเพียงพอที่จะใช้ควบคุมเชื้อสาเหตุโรคได้ และรูปแบบของชีวผลิตภัณฑ์ที่ไม่เหมาะสมกับการนำมาใช้ในระบบนี้ รวมทั้งตัวคุณภาพของชีวผลิตภัณฑ์ สำหรับการทดลองของเชื้อแบคทีเรียเขตรากพืชที่เป็นประโยชน์นั้น พบว่าจะไม่มี

245887

ประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่าเลยถ้าใช้โดยการใส่ลงลงในสารละลายธาตุอาหารพืชโดยตรง สำหรับการใช้คลุกเมล็ด พบว่าเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* SP007s ให้ผลดีที่สุดในด้านการงอกของเมล็ด ส่งเสริมการเจริญของต้นกล้าผักสลัด green oak ภายใต้สภาพห้องปฏิบัติการ ยิ่งไปกว่านั้นหากนำมาใช้คลุกเมล็ดร่วมกับการใส่ลงไปในสารละลายธาตุอาหารพืชจะให้ผลดีที่สุดในการยับยั้งการเกิดโรคและส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักสลัด

จากข้อจำกัดข้างต้นของการนำชีวผลิตภัณฑ์ที่ใช้ควบคุมโรคพืชที่ปลูกในดินมาใช้ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน จึงดำเนินการทดลองในส่วนที่ 2 และ 3 เพื่อสำรวจ คัดเลือกและประเมินประสิทธิภาพของเชื้อราและแบคทีเรียคุณภาพจากส่วนต่าง ๆ ของพืชและสารละลายธาตุอาหารพืชในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน เพื่อใช้การควบคุมโรครากเน่าดังกล่าวต่อไป จากการทดลองพบว่าสามารถแยกเชื้อราเขตรากพืชได้ 60 ไอโซเลท และมีเพียง 20 ไอโซเลทที่แสดงศักยภาพในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคใน bi-culture test โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อ *Pythium* spp. ที่อายุ 3 วัน ได้ไม่เกิน 40 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจะเห็นว่าค่อนข้างต่ำ เนื่องจากเชื้อปฏิปักษ์ดังกล่าวมีอัตราการเจริญเติบโตช้า ในขณะที่เชื้อสาเหตุโรคเจริญเร็ว ดังนั้นกิจกรรมในการแข่งขัน (competition) ของเชื้อปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุจึงไม่เด่นชัด แต่อย่างไรก็ตามสามารถตรวจพบประสิทธิภาพในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ได้ดีของเชื้อราปฏิปักษ์ 3 ไอโซเลท คือ A003, A018 และ A 019 ในวันที่ 20 หลังจากการบ่มเชื้อ โดยเชื้อราปฏิปักษ์จะเจริญครอบคลุมเชื้อสาเหตุโรคได้เกือบทั้งหมด ซึ่งเป็นกลไกของ exploitation สำหรับการทดสอบในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน พบว่า เชื้อราปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไอโซเลทนั้น แสดงศักยภาพในการลดความรุนแรงของโรคและเพิ่มผลผลิต น้ำหนักสดของผักสลัดเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ใช้เชื้อราปฏิปักษ์แต่มีการปลูกเชื้อสาเหตุโรค (Inoculated control) สำหรับงานวิจัยในส่วนที่สามเป็นการหาสายพันธุ์เชื้อแบคทีเรียชนิดใหม่ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน (Indigenous antagonistic bacteria) ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรครากเน่าในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียจากผิวใบภายในรากพืชและสารละลายธาตุอาหารในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินได้ทั้งหมด 468 ไอโซเลท และพบว่า 9 ไอโซเลทมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของเชื้อ *Pythium* spp. โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในช่วง 65.8-87.9 เปอร์เซ็นต์ โดยแบคทีเรียเขตรากพืช KUKL205 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อสาเหตุโรคได้สูงสุด โดยมีกลไกการยังยั้งใน Bi-culture test เป็นแบบ antibiosis และมีศักยภาพเท่าเทียมกับ *Pseudomonas flurescens* SP007s ซึ่งเป็นสายพันธุ์ทางการค้า สำหรับการทดสอบในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน พบว่า ทุกกรรมวิธีที่มีการคลุกเมล็ดด้วยแบคทีเรียเขตรากพืช รวมทั้ง KUKL205 พืชไม่แสดงอาการรากเน่าเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ได้ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ แต่อย่างไรก็ตามผลของการคลุกเมล็ดด้วยแบคทีเรียเขตรากพืชไม่ได้ดีไปกว่าพืชปกติ สำหรับการสะสมเอนไซม์ ß- 1, 3-glucanase พบว่าผลเป็นไปในทิศทางเดียวกับการเกิดโรค ในกรณีของพืชที่ได้รับการคลุกเมล็ดด้วยแบคทีเรียเขตรากพืชทั้งสองชนิด (KUKL205 และ SP007s) และมีการปลูกเชื้อสาเหตุโรคจะแสดงกิจกรรมของเอนไซม์ดังกล่าวสูงกว่าพืชที่มีการปลูกเชื้อสาเหตุโรคเพียงอย่างเดียว เท่าที่ได้มีการศึกษามา การตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์

245887

ß- 1, 3-glucanase ในการทดลองนี้ เป็นงานวิจัยแรกที่ได้มีการรายงานเกี่ยวกับการชักนำให้เกิดความต้านทานโดยใช้ PGPR ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน

สำหรับการทดลองในส่วนที่ 4 นี้ เป็นการประเมินประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียร่วมกับเชื้อราเขตรากพืชชนิดใหม่จากระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน (new indigenous antagonist) ในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน โดยมุ่งเน้นไปที่ synergistic effect ของเชื้อปฏิปักษ์ทั้ง 2 กลุ่ม โดยใช้แบคทีเรียเขตรากพืช KUKL205 ในรูปแบบของการคลุกเมล็ด (10^6 CFU/ml) และใช้เชื้อราปฏิปักษ์ 3 ไอโซเลท ในรูปแบบของการจุ่มรากและใส่ลงในสารละลายธาตุอาหารพืช (10^8 CFU/ml) พบว่าสำหรับการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ (KUKL205) เพียงอย่างเดียว (T1) ให้ผลในการลดความรุนแรงของโรคได้ดีไม่แตกต่างทางสถิติจากกรรมวิธีที่มีการใช้ร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์อีก 3 ไอโซเลท (T2, T3, T4) ในวันที่ 21 หลังจากปลูกเชื้อสาเหตุโรค แต่ดีกว่ากรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อสาเหตุเพียงอย่างเดียว (T5: Inoculated control) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นแสดงให้เห็นว่า การใช้ร่วมกันของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์และเชื้อราปฏิปักษ์อีก 3 ไอโซเลท ไม่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเพิ่มขึ้น (synergistic effect) แต่อย่างไรก็ตาม synergistic effect กลับตรวจพบได้ในด้านการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในกรรมวิธี T2 (KUKL205 + antagonistic fungus A003) ให้ผลน้ำหนักสดของต้นสูงกว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์เพียงอย่างเดียว (T1)

สำหรับจุลินทรีย์เขตรากพืชชนิดใหม่ที่เป็นประโยชน์ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินที่ได้จากโครงการวิจัยนี้คือ เชื้อแบคทีเรียเขตรากพืช *Bacillus* sp. (จำแนกตามลักษณะทางชีวเคมี และ 16S rRNA-PCR) และเชื้อราปฏิปักษ์เขตรากพืช *Trichoderma harzianum* 2 ไอโซเลท และ *Gliocladium* sp. 1 ไอโซเลท

คำหลัก : โรครากเน่าผักสลัด, *Lactuca sativa* L., ระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน, PGPR, *Trichoderma harzianum*, *Gliocladium* sp.

Abstract

Project Code : RMU5080019

Project Title : Hydroponic crop improvement against root rot disease through biological and cultural measures

Investigator : Assoc. Prof. Dr. Tanimnun Jaenaksorn and
Asst. Prof. Dr. Prommart Koohakan
Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, Thailand
Assoc. Prof. Dr. Sutruedee Prathuangwong
Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok, Thailand

E-mail Address : kjtanimn@kmitl.ac.th

Project Period : December 2006 – December 2009

245887

Hydroponics originally came about to eliminate many of the variables that contribute to disease in the field, but other negative variables may have been created in the process. At present, *Pythium* causing root rot is a real problem in recirculating hydroponic systems as they provide ideal condition for rapid growth and spread of infectious propagules. Besides, it is an opportunistic disease which means that it is looking for weak or injured plants. Biological-based approach to hydroponic cultivation may probably provide a helping hand in managing the root disease and maintaining a more sustainable and hydroponic crop ecosystem. Therefore, the research was conducted to improve the hydroponic crop production against root rot disease of lettuce (*Lactuca sativa* L.) through biological and cultural measures. The research consisted of four parts. First, the evaluation were made on the efficacy of the four formulations of commercial fungal bioproducts presently available for conventional crops and the four reported-beneficial rhizosphere bacteria having high antagonistic potential in suppressing important pathogens for controlling Pythium root rot of lettuce grown in hydroponics. It was found that the four formulations of fungal bioproducts for soil-grown crops were in effective against Pythium root rot disease of lettuce in NFT which are not in line with recent observation with other DFT crops suggesting that the products might be host specific in controlling. Besides, it is possible that NFT might not provide the ideal condition to maintain the population of biocontrol agent in the system sufficient enough to control the disease compared to that in DFT. The unsuited formulation to hydroponics as well as quality of the product would possibly be attributed to the

215887

experiment. For the four reported-beneficial rhizosphere bacteria, directly applying them into the hydroponic nutrient solution gave unsatisfactory result in controlling Pythium root rot of lettuce since their survival in the system were hardly detected. Applying the beneficial rhizosphere bacteria as seed treatment, *Pseudomonas fluorescens* (SP007s) gave the best result in terms of percent seed germination and growth of green oak seedling under laboratory condition. Seed treatment + directly adding into nutrient solution gave the best result in decreasing the disease incidence and increasing the crop growth.

Due to the efficacy limit of the forementioned-bioproducts for conventional crops to be used in hydroponics, therefore, the second and third parts of the research were conducted to find out and determine the new indigenous microorganisms including PGPR from hydroponic systems as biocontrol agents which would be an alternative biological-based approach for sustainable disease management. It was found that 60 indigenous fungal isolates were obtained from hydroponics and some of them showed the *in vitro* antagonistic ability against the mycelial growth of *Pythium* sp. at 3 days less than 40 percent growth inhibition which was rather low. This might due to the slow growth rate of these indigenous fungi. Hence, competition was not responsible for this regard. However, the *in vitro* abilities of fungal antagonists A003, A018 and A019 became quite satisfactory at 20 days since Pythium colony was almost covered by these 3 indigenous fungi and exploitation was observed. Furthermore, the three isolates of fungal antagonists also gave good results in decreasing the Pythium root rot disease severity and increasing shoot fresh weight of lettuce in hydroponics compared to that in inoculated control without tested antagonists. Regarding the new indigenous rhizobacteria, it was found that 468 strains of miscellaneous endophytic and epiphytic bacteria were obtained from recirculating hydroponic systems and some strains were shown to be effective in inhibiting the *in vitro* growth of Pythium about 65.8-87.9 percent. KUKL205 showed the best potential to produce secondary metabolite equivalent to commercial strain *Pseudomonas fluorescens* SP007s for suppressing the target pathogen in bi-culture test. In hydroponic trial, all the bacterial treated plants as seed treatment (KUKL205 included) showed no symptom of root rot compared to the non-treated plants. In line with disease incidence, it was found that the accumulation of ß-1, 3 glucanase, a defense-related enzyme was greater in bacterial antagonists-treated plants compared to that in inoculated control. To our knowledge, this is the first report about induced systemic resistance under hydroponics with plant growth promoting rhizobacteria.

The fourth part was conducted to determine the efficacy of the obtained-beneficial indigenous fungal antagonists (3 isolates) together with the indigenous PGPR (KUKL205)

245887

for controlling Pythium root rot of lettuce grown in the DFT. The emphasis was placed on synergistic effect between antagonistic bacterium and antagonistic fungus. Indigenous KUKL205 was used as seed treatment (10^6 CFU/ml), while the 3 isolates of indigenous fungal antagonists were applied as root-dip solution and added into DFT nutrient solution at the concentration of 10^8 CFU/ml (10 ml per plant). The results showed that the application of the indigenous KUKL205 alone (T1) and with the 3 isolates of indigenous fungal antagonists (T2, T3 and T4) did provide significant control (on 21 dpi) of root rot disease compared to that in the inoculated control. No synergistic effect between the indigenous KUKL205 and the 3 indigenous isolates of fungal antagonists (A003, A018 and A019) was noted on disease control efficacy. However, synergistic effect on plant growth was significantly noted in T2 (KUKL205 and antagonistic fungus A003).

The beneficial indigenous rhizosphere microorganisms obtained from this research are as follow: KUKL205 indentified as *Bacillus* sp. (base on biochemical and 16S rRNA-PCR characterization), antagonistic fungi A003, A018 and A019 indentified as 2 isolates of *Trichoderma harzianum* and 1 isolate of *Gliocladium* sp.

Keywords : Pythium root rot, lettuce, *Lactuca sativa* L., hydroponics, PGPR, *Trichoderma harzianum*, *Gliocladium* sp.

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	i
บทคัดย่อภาษาไทย	ii
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	v
สารบัญ	viii
สารบัญตาราง	x
สารบัญภาพ	xii
คำนำ	1
1. การสำรวจโรครากเน่าของผักสลัด การประเมินประสิทธิภาพในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินของชีวผลิตภัณฑ์ราและแบคทีเรียเขตรากพืชที่ใช้ในดินที่ผ่านการเผยแพร่แล้ว	3
1.1 การทดสอบเบื้องต้น	3
1.1.1 การสำรวจโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* spp. ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน	3
1.1.2 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค (Pathogenicity) ที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* spp. บนผักสลัดในระบบ Deep Flow Technique (DFT)	3
1.2 การประเมินประสิทธิภาพชีวผลิตภัณฑ์รา (biocontrol products) ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด ในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน	13
1.3 การประเมินประสิทธิภาพสายพันธุ์แบคทีเรียเขตรากพืชที่ได้รับการเผยแพร่แล้วในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน	18
1.3.1 การประเมินประสิทธิภาพสายพันธุ์แบคทีเรียเขตรากพืชที่ได้รับการเผยแพร่แล้วในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัด Cos ที่ปลูกใน NFT	18
1.3.2 การประเมินประสิทธิภาพสายพันธุ์แบคทีเรียเขตรากพืชที่ได้รับการเผยแพร่แล้วในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัด Green oak ที่ปลูกใน DRFT	22
2. การหาสายพันธุ์เชื้อราชนิดใหม่ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน (Indigenous antagonistic fungi) ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรครากเน่าในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน	26
2.1 การสำรวจ เก็บรวบรวมสายพันธุ์เชื้อราในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน	26
2.2 การทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ในสภาพห้องปฏิบัติการ	26
2.3 การทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน	31

สารบัญ

เรื่อง **หน้า**

3. การหาสายพันธุ์เชื้อแบคทีเรียชนิดใหม่ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน (Indigenous antagonistic bacteria) ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรครากเน่าในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน 41

3.1 การเก็บรวบรวม แยกเชื้อ และจัดกลุ่มแบคทีเรียที่มีประโยชน์ 41

3.1.1 การแยกเชื้อแบคทีเรียที่มีประโยชน์ 41

3.1.2 จัดกลุ่มแบคทีเรียที่มีประโยชน์ 42

3.2 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียในการยับยั้งเชื้อ *Pythium* spp. สาเหตุโรครากเน่าของผักในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ระดับห้องปฏิบัติการ 44

3.3 การประเมินประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียเขตรากพืช (new indigenous, KUKL205) ในการควบคุมโรค Pythium root rot ของผักสลัดในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน (DRFT) 46

4. การประเมินประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์เขตรากพืชชนิดใหม่จากระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน (new indigenous antagonist) ในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน 50

5. รายละเอียดของเชื้อจุลินทรีย์เขตรากพืชที่เป็นประโยชน์ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินที่ได้จากโครงการวิจัย 57

สรุปและข้อเสนอแนะ 59

บรรณานุกรม 63

Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกว. 66

ภาคผนวก 67

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1.1 ลักษณะอาการผิดปกติของรากที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* spp. ในผักสลัด Cos ที่ปลูกในระบบ DFT 6

1.2 ลักษณะอาการผิดปกติของรากที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* spp. ในผักสลัด Red oak ที่ปลูกในระบบ DFT 7

1.3 การเจริญเติบโตของผักสลัด COS ในสารละลายธาตุอาหารพืชของระบบ DFT ที่มีการปลูกเชื้อ *Pythium* spp. 9

1.4 การเจริญเติบโตของผักสลัด Red oak ในสารละลายธาตุอาหารพืชของระบบ DFT ที่มีการปลูกเชื้อ *Pythium* spp. 10

1.5 แสดงการเข้าครอบครองรากของเชื้อ *Pythium* spp. ในผักสลัด Cos และ Red oak หลังจากทำการปลูกเชื้อไปเป็นเวลา 1 และ 4 สัปดาห์ 12

1.6 ประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์ต่อความรุนแรงของโรครากเน่าของผักสลัด Cos ที่ปลูกในระบบ NFT 15

1.7 การเจริญเติบโตและผลผลิตในวันเก็บเกี่ยวของผักสลัด Cos ที่ปลูกในระบบ NFT ที่มีการใช้ชีวผลิตภัณฑ์เพื่อควบคุมโรครากเน่า 16

1.8 ความรุนแรงของโรครากเน่าของผักสลัด Cos ใน NFT ที่มีการใส่เชื้อแบคทีเรียเขตรากพืชที่ได้รับการเผยแพร่แล้ว 4 สายพันธุ์ และ ชีวผลิตภัณฑ์ 1 ชนิด 19

1.9 การเจริญเติบโตและผลผลิตของผักสลัด Cos ใน NFT ที่มีการใส่เชื้อแบคทีเรียเขตรากพืชที่ได้รับการเผยแพร่แล้ว 4 สายพันธุ์ และ ชีวผลิตภัณฑ์ 1 ชนิด เพื่อควบคุมโรค Pythium root rot 21

1.10 ประสิทธิภาพการคลุกเมล็ดด้วยแบคทีเรียเขตรากพืช 4 สายพันธุ์ (PGPR) ต่อการงอกและการเจริญของกล้าผักสลัด green oak ในสภาพห้องปฏิบัติการ 22

1.11 การทดสอบความเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อแบคทีเรียเขตรากพืชต่อการเจริญทางเส้นใยของ *Pythium* spp. 23

1.12 ความมีชีวิตของ *Pseudomonas fluorescens* (SP007s) ในสารละลายธาตุอาหารพืช 24

1.13 ผลของ *Pseudomonas fluorescens* (SP007s) ต่อการเกิดโรค Pythium root rot ของผักสลัด green oak ที่ปลูกใน DRFT 25

2.1 การสำรวจและเก็บรวบรวมเชื้อราในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน 28

2.2 แหล่งที่มาและจำนวนไอโซเลทของเชื้อราที่แยกได้ 30

2.3 แสดงเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญทางเส้นใยเชื้อ *Pythium* spp. ของการทดสอบ Bi-culture test ของเชื้อราเขตรากพืชของระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ที่อายุ 3 วัน 31

2.4 แสดงการเกิดโรครากเน่าของผักสลัดจากเชื้อ *Pythium* spp. ในระบบ DRFT 35

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

2.5 แสดงปริมาณเชื้อราปฏิปักษ์ และ *Pythium* spp.ที่อยู่รอดที่รากพืชในระบบ DRFT ในวันเก็บเกี่ยว 38
2.6 การเจริญเติบโตและผลผลิตของผักสลัด butterhead ที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารของระบบ DRFT ที่ใส่เชื้อราปฏิปักษ์และเชื้อราสาเหตุโรค 39
3.1 ลักษณะพื้นฐานทางด้านสัณฐานวิทยาของโคโลนี (รูปร่าง ขนาด และสี) ของแบคทีเรียที่เจริญบนผิวหน้าอาหารบนอาหาร NA ที่แยกได้จากส่วนต่างๆ ของพืช (ใบ ต้นและราก) สารละลายธาตุอาหารพืชที่ใช้ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน 43
3.2 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียที่มีคุณภาพจากระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินในการยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของ *Pythium* spp. ด้วยวิธี dual culture ในสภาพห้องปฏิบัติการ 45
4.1 ประสิทธิภาพร่วมของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราเขตรากพืชชนิดใหม่จากระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินต่อความรุนแรงของโรครากเน่าของผักสลัด Cos ที่ปลูกในระบบ mini-DRFT 54
4.2 การเจริญเติบโตและผลผลิตของผักสลัด Cos เมื่อเก็บเกี่ยว (อายุ 42 วัน) 56

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

1.1 แสดงอาการผิดปกติของรากที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* spp. ในผักสลัด Cos ที่ปลูกในระบบ DFT 7

1.2 แสดงอาการผิดปกติของรากที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* spp. ในผักสลัด Red oak ที่ปลูกในระบบ DFT 8

1.3 แสดงอิทธิพลของเชื้อ *Pythium* spp. ต่อการเจริญเติบโต (น้ำหนักสดของต้นและราก) ของผักสลัด Cos ที่ปลูกในระบบ DFT ในวันเก็บเกี่ยว 11

1.4 แสดงอิทธิพลของเชื้อ *Pythium* spp. ต่อการเจริญเติบโต (น้ำหนักสดของต้นและราก) ของผักสลัด Red oak ที่ปลูกในระบบ DFT ในวันเก็บเกี่ยว 11

1.5 ความอยู่รอดของเชื้อสาเหตุโรคและ BCAs ในสารละลายธาตุอาหารพืชในระหว่างการปลูกผักสลัด Cos ในระบบ NFT รวมทั้งปริมาณเชื้อดังกล่าวที่อยู่รอดที่รากพืชในวันเก็บเกี่ยว 16

1.6 การเจริญเติบโตในช่วงสัปดาห์ที่ 1, 2 และ เมื่อเก็บเกี่ยวของผักสลัด Cos ที่ปลูกในระบบ NFT ที่มีการใช้ชีวผลิตภัณฑ์เพื่อควบคุมโรครากเน่า (A); C2, T1, T2, T3 และ T4 แสดงอาการผิดปกติที่รากและเน่า (B) 17

1.7 ความอยู่รอดของ *Pythium* spp. ในสารละลายธาตุอาหารพืชระหว่างการปลูกพืชใน NFT 20

1.8 การตรวจสอบกลับของความเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อ pathogen ของ BCA หลังจากใส่ลงในระบบปลูกพืช โดยวิธี Bi-culture 20

1.9 การเจริญเติบโตในวันเก็บเกี่ยวของผักสลัด Cos ที่ปลูกใน NFT ที่มีการใส่เชื้อแบคทีเรียเขตรากพืชที่ได้รับการเผยแพร่แล้ว 4 สายพันธุ์ และ ชีวผลิตภัณฑ์ 1 ชนิด เพื่อควบคุมโรค Pythium root rot 21

1.10 ผลของ *Pseudomonas fluorescens* (SP007s) ต่อการเจริญเติบโตทางเส้นใยของ *Pythium* spp. ใน Dual culture (A), Control (B) และ Mixed culture (A), Control (B) 23

1.11 ระบบ DRFT สำหรับประเมินประสิทธิภาพของแบคทีเรียเขตรากพืชในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัด green oak 25

1.12 การเจริญเติบโตและผลผลิตของผักสลัด green oak ที่ปลูกใน DRFT และใส่ *Pseudomonas fluorescens* (SP007s) 25

2.1 การทดสอบ Bi-culture test โดยใช้เชื้อราเขตรากพืชต่อต้านเชื้อ *Pythium* spp. สาเหตุโรครากเน่า 30

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

2.2 อาการโรครากเน่าของผักสลัด butterhead ที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารของระบบ DRFT ที่ใส่เชื้อราปฏิปักษ์และเชื้อราสาเหตุโรค ในวันที่ 1, 3, 6 และ 8 หลังจากปลูกเชื้อสาเหตุโรคครั้งที่ 2 36

2.3 อาการโรครากเน่าของผักสลัด butterhead (A และ B) ที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารของระบบ DRFT ที่ใส่เชื้อราปฏิปักษ์และเชื้อราสาเหตุโรค ในวันเก็บเกี่ยวผลผลิต 37

2.4 ระบบ DRFT ที่ใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัด 40

2.5 ผักสลัด butterhead ที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารของระบบ DRFT ที่ใส่เชื้อราปฏิปักษ์และเชื้อราสาเหตุโรค ที่วันเก็บเกี่ยว 40

3.1 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาของโคโลนี (รูปร่าง ขนาด และสี) ของกลุ่มแบคทีเรียที่เจริญบนผิวหน้าอาหารบนอาหาร NA ที่แยกได้จากส่วนต่างๆ ของพืช (ใบ ต้นและราก) สารละลายธาตุอาหารพืชที่ใช้ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน 44

3.2 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียที่มีคุณภาพ (KUKL 205) จากระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ในการยับยั้งการเจริญทางเส้นใยของ *Pythium* spp. ด้วยวิธี dual culture ในสภาพห้องปฏิบัติการ 46

3.3 ระบบ DRFT ที่ใช้ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียเขตรากพืช 47

3.4 ผลของการคลุกและไม่คลุกเมล็ดด้วยแบคทีเรียเขตรากพืช (KUKL205 และ SP007s) และ elicitor (SA) ต่อการควบคุมโรค Pythium root rot ของผักสลัด 48

3.5 กิจกรรมของ β- 1, 3-glucanase ในผักสลัดที่คลุกและไม่คลุกเมล็ดด้วยแบคทีเรียเขตรากพืช (KUKL205 และ SP007s) และ elicitor (SA) เป็นเวลา 6 วัน (เริ่มหลังจากปลูกเชื้อสาเหตุโรค) 49

4.1 ลักษณะโรงเรือนและระบบ DRFT ที่ใช้ทดสอบประสิทธิภาพร่วมของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราปฏิปักษ์เขตรากพืชชนิดใหม่จากระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน (new indigenous antagonist) ในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัด 52

4.2 ผักสลัด Cos แสดงอาการรากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* spp. ในวันที่ 2, 11 และ 21 หลังจากปลูกเชื้อสาเหตุโรค 54

4.3 ความอยู่รอดของเชื้อ *Pythium* (A) และ เชื้อราปฏิปักษ์ (B) ที่รากผักสลัด Cos ในวันเก็บเกี่ยว 55

4.4 แสดงการเจริญเติบโตของผักสลัด Cos ในระบบ DRFT 55

5.1 ลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียเขตรากพืชในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน *Bacillus* sp. KUKL205 บนอาหาร NA 57

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

5.2 ลักษณะโคโลนีและลักษณะโครงสร้างของเชื้อราเขตรากพืชที่ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ที่กำลังขยาย 400 เท่า (A) *Gliocladium* sp. A003 (B และ C) *Trichoderma harzianum* A018 และ 019 ตามลำดับ เลี้ยงบนอาหาร PDA..... 58