สรุปและข้อเสนอแนะ

จากการทดลองในส่วนแรก เป็นการสำรวจโรครากเน่าของผักสลัด การประเมินประสิทธิภาพในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินของชีวผลิตภัณฑ์ราและแบคทีเรียเขตรากพืชที่ใช้ในดินที่ผ่านการเผยแพร่แล้ว พบว่าเชื้อสาเหตุโรค *Pythium* spp. สามารถทำให้เกิดโรครากเน่ากับผักสลัดได้ทุกสายพันธุ์ แต่ผักสลัด Cos จะแสดงอาการโรคได้รุนแรงที่สุด จากการทดลองในส่วนนี้ได้มีการสรุประดับความรุนแรงของโรคไว้เพื่อใช้เป็นมาตรฐานในการวัดระดับของโรคนี้ในการทดลองอื่นๆ ต่อไป ดังนี้ 0 = รากมีสีขาวปกติ (0%), 1 = รากพืชถูกทำลายบางส่วน เป็นสีน้ำตาลเล็กน้อยบริเวณปลายราก (25%), 2 = ประมาณครึ่งหนึ่งของรากถูกทำลาย รากกุดและเน่าเป็นสีน้ำตาล (50%), 3 = รากพืชส่วนใหญ่ถูกทำลาย กุดและเน่าเป็นสีน้ำตาลายเกือบหมด (75%) และ 4 = รากพืชทั้งหมดถูกทำลาย รากกุดสั้นและเน่าเป็นสีน้ำตาลเกือบหมด (100%) สำหรับการประเมินประสิทธิภาพชีวผลิตภัณฑ์รา (biocontrol products) ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด ในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน พบว่าชีวผลิตภัณฑ์ราที่จำหน่ายในท้องตลาดทั้ง 4 ชนิด ไม่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* spp. อีกทั้งไม่ส่งผลดีต่อการเจริญเติบโตของพืชดังกล่าว ซึ่งขัดแย้งกับงานวิจัยที่ผ่านมาที่ทดสอบกับพืชผักชนิดอื่นและปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินที่ต่างกัน ทั้งนี้อาจมีสาเหตุจาก 1) ความเฉพาะเจาะจงระหว่างเชื้อ BCA กับ พืช 2) ระบบ NFT ไม่สามารถรักษาระดับของ BCA ให้คงที่และสูงเพียงพอที่จะควบคุมโรคเมื่อเทียบกับระบบ DFT 3) รูปแบบของชีวผลิตภัณฑ์ดังกล่าวไม่เอื้อหรือเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในระบบ NFT โดยเฉพาะชีวผลิตภัณฑ์รูปแบบผง (WP) จะไปเกาะติดที่ผิวรากพืช ทำให้ขัดขวางการดูดซึมธาตุอาหารของรากพืช 4) คุณภาพของชีวผลิตภัณฑ์ ก็น่าจะมีผลต่อการทดสอบประสิทธิภาพในครั้งนี้ เพราะผลจากการตรวจสอบ (monitoring) ความอยู่รอด (survival) ของเชื้อจากชีวผลิตภัณฑ์เริ่มแรกเมื่อใส่ลงในระบบปลูก พบว่าความมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อแทบจะไม่มีอยู่เลยหรือค่อนข้างต่ำมากเมื่อเทียบกับข้อมูลที่ระบุไว้บนฉลากของชีวผลิตภัณฑ์นั้นๆ แต่อย่างไรก็ตาม ในระหว่างการปลูกพืชกลับตรวจพบปริมาณความมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อในระบบ (ในสารละลายธาตุอาหารพืช) สูงขึ้น อีกทั้งยังตรวจพบว่าเชื้อดังกล่าวสามารถเจริญเข้าครอบครองรากพืชได้ด้วยแม้ว่าไม่ได้มีการใส่ชีวผลิตภัณฑ์ที่รากโดยตรง เพียงแต่ใส่ชีวผลิตภัณฑ์ลงในสารละลายธาตุอาหารพืชเท่านั้น ส่วนสายพันธุ์แบคทีเรียเขตรากพืชที่ได้รับการเผยแพร่แล้ว เมื่อนำมาประเมินประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน พบว่าการใช้แบคทีเรียเขตรากพืช (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน มีบทบาทที่สำคัญต่อประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ การใช้ PGPR โดยใส่ลงในสารละลายธาตุอาหารพืชโดยตรง พบว่า ไม่ให้ผลเป็นที่น่าพอใจในการควบคุมโรค Pythium root rot ของผักสลัด อีกทั้งแทบจะไม่พบปริมาณความอยู่รอดของ PGPR ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ส่วนการคลุกเมล็ดด้วย PGPR ก่อนปลูก พบว่า ให้ผลดีต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของกล้าผักสลัด green oak ในสภาพห้องปฏิบัติการ อีกทั้งการใช้ PGPR คลุกเมล็ดควบคู่กับการใส่ลงในสารละลายธาตุอาหารพืชโดยตรงจะให้ผลดีที่สุดในการลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (disease incidence) และเพิ่มการเจริญเติบโตของพืชด้วย

จากการทดลองในส่วนที่ 2 และ 3 ซึ่งเป็นการหาสายพันธุ์เชื้อจุลินทรีย์เขตรากพืชชนิดใหม่ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน (Indigenous antagonistic microorganisms) ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรครากเน่าในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินนั้น พบว่า เชื้อราเขตรากพืช 3 ไอโซเลท (A003, A018 และ A019) จากจำนวน 60 ไอโซเลทที่แยกได้จากแหล่งต่างๆ ของระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคในสภาพห้องปฏิบัติการได้ดี และลดความรุนแรงของโรค Pythium root rot ของผักสลัดได้ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน อีกทั้งยังสนับสนุนการเจริญเติบโตของพืชได้ดีไม่แตกต่างกับพืชปกติ สำหรับการสำรวจ รวบรวมและคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียเขตรากพืช ซึ่งได้มาเป็นจำนวน 468 ไอโซเลท จากแหล่งต่างๆ ของระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน พบว่า เชื้อแบคทีเรีย จำนวน 9 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรค โดยมีไอโซเลท KUKL205 ที่แยกได้จากใบสะระแหน่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงสุดถึง 87.9 เปอร์เซ็นต์ สำหรับประสิทธิภาพในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน โดยประเมินเปรียบเทียบกับเชื้อแบคทีเรียที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตที่ได้รับการเผยแพร่แล้ว (SP007s) พบว่าการคลุกเมล็ดด้วย KUKL205 สามารถลดความรุนแรงของโรค (disease severity) ได้ เมื่อเปรียบเทียบกับพืชที่ไม่ได้มีการคลุกเมล็ดและมีการปลูกเชื้อ (Inoculated control) แต่อย่างไรก็ตามผลของการคลุกเมล็ดด้วยแบคทีเรียเขตรากพืชไม่ได้ดีไปกว่าพืชปกติ ในการทดลองส่วนนี้ ได้มีการตรวจสอบการชักนำให้เกิดความต้านทานโดยใช้ PGPR (KUKL205) พบว่า การสะสมเอนไซม์ ß- 1, 3-glucanase พบว่าผลเป็นไปในทิศทางเดียวกับการเกิดโรค ในกรณีของพืชที่ได้รับการคลุกเมล็ดด้วยแบคทีเรียเขตรากพืชทั้งสองชนิด (KUKL205 และ SP007s) และมีการปลูกเชื้อสาเหตุโรคจะแสดงกิจกรรมของเอนไซม์ดังกล่าวสูงกว่าพืชที่มีการปลูกเชื้อสาเหตุโรคเพียงอย่างเดียว

สำหรับการทดลองในส่วนที่ 4 จากวัตถุประสงค์ของการทดลองในส่วนนี้ เพื่อพัฒนาประสิทธิภาพการควบคุมโรค Pythium root rot โดยชีววิธีให้สูงขึ้น จึงได้นำเชื้อแบคทีเรีย และเชื้อราเขตรากพืชชนิดใหม่ (new obtained indigenous antagonists) ที่ได้รับผลดีจากการทดลองที่ 2 และ 3 ได้แก่ KUKL205 และเชื้อราปฏิปักษ์เขตรากพืช 3 ไอโซเลท มาใช้ร่วมกันเพื่อประเมินประสิทธิภาพร่วม (synergistic effect) ของจุลินทรีย์เขตรากพืชดังกล่าว ในระบบ DRFT พบว่า ผลไม่เป็นไปตามสมมุติฐานที่ตั้งไว้ กล่าวคือ การใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ (KUKL205) คลุกเมล็ดเพียงอย่างเดียว (T1) ให้ผลในการลดความรุนแรงของโรคได้ดีแต่ไม่แตกต่างทางสถิติจากกรรมวิธีที่มีการใช้ร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์อีก 3 ไอโซเลท (T2, T3, T4) ดังนั้น แสดงให้เห็นว่า 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

โดยภาพรวมมีข้อสรุปและเสนอแนะเพิ่มเติมดังนี้ การทำงานวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ในการพัฒนาผลผลิตของผักในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน โดยมุ่งเน้นไปที่การควบคุมโรค Pythium root rot ของผักสลัด (*Lactuca sativa* L.) ซึ่งในแต่ละการทดลองย่อยได้ทดสอบกับผักสลัดหลายสายพันธุ์ ได้แก่ Cos, Green oak, Red oak, Butterhead ตามความเหมาะสมของแต่ละการทดลองในช่วงนั้น ผลการทดลองที่ได้ในแต่ละส่วนของงานวิจัยนี้ ได้มีการทดลองซ้ำหลายครั้ง เนื่องจากพบความแปรปรวนของผลการทดลองอันได้แก่ พืชในกรรมวิธีที่มีการปลูกเชื้อสาเหตุโรคอย่างเดียว ไม่แสดงอาการเป็นโรคอย่างสมบูรณ์และความรุนแรงของโรคไม่สม่ำเสมอในทุกการทดลอง ซึ่งเป็นปัญหาในการประเมินประสิทธิภาพเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการควบคุมโรค จากการสังเกตุพบว่า สาเหตุที่ทำให้ความรุนแรงของโรคไม่สม่ำเสมอเป็นผลมาจากสภาพแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งอุณหภูมิในสารละลายธาตุอาหาร ถ้าอุณหภูมิในสารละลายสูงกว่า 30 องศาเซลเซียส ความรุนแรงของโรคจะสูง ในขณะที่ถ้าอุณหภูมิในสารละลายอยู่ในช่วง 25-28 องศาเซลเซียส (ได้แก่ การปลูกในโรงเรือนที่มี evaporative cooling system, หรือปลูกกลางแจ้งในช่วงฤดูหนาว) ความรุนแรงของโรคจะลดลงจะอยู่ในระดับต่ำ ดังนั้นจะเห็นได้ว่า การนำวิธีควบคุมโรคโดยชีววิธีมาใช้เพื่อควบคุมโรค Pythium root rot ของผักสลัดนี้ ควรคำนึงถึงวิธีการจัดการกับสภาพแวดล้อมต่างๆ ให้ไม่เหมาะสมหรือสนับสนุนต่อการเกิดโรค อันได้แก่ อุณหภูมิของสารละลายธาตุอาหารปลูก ดังที่กล่าวมาข้างต้น ซึ่งน่าจะส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้ดียิ่งขึ้น จากงานวิจัยนี้ เชื้อจุลินทรีย์เขตรากพืชที่เป็นผลลัพธ์มาจากการทดลอง ได้แก่ เชื้อแบคทีเรียเขตรากพืชที่เป็นประโยชน์ *Bacillus* sp. KUKL205 และเชื้อราปฏิปักษ์เขตรากพืช 3 ไอโซเลท (*Trichoderma harzianum* 2 ไอโซเลท และ *Gliocladium* sp. 1 ไอโซเลท) แสดงประสิทธิภาพในการควบคุมโรค Pythium root rot เป็นที่น่าพอใจระดับหนึ่ง ในด้านการพัฒนารูปแบบของเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าว เพื่อนำไปใช้ในทางการค้าต่อไปนั้น ยังมีข้อจำกัดอยู่ที่ประสิทธิภาพไม่โดดเด่นมากนัก อีกทั้งจากการทดลองพอสรุปได้ว่า การใช้เชื้อราปฏิปักษ์ในรูปผงละลายน้ำ พบว่ามีข้อด้อยหลายประการ โดยเฉพาะสาร adjuvant ในชีวผลิตภัณฑ์จะไปเกาะติดที่รากพืชมากจนทำให้พืชขาดออกซิเจนและเน่าในที่สุด จากการทดลองหลายการทดลองชี้ให้เห็นว่าการใช้เชื้อราปฏิปักษ์ในรูป spore suspension ใส่ลงในสารละลายธาตุอาหารจะส่งผลดี สำหรับกรณีเชื้อแบคทีเรียเขตรากพืชนั้น วิธีที่เหมาะสมที่สุดคือ การคลุกเมล็ดด้วยเชื้อสดก่อนปลูกจะให้ผลดี และสิ่งสำคัญอีกประการหนึ่งในการใช้จุลินทรีย์ดังกล่าวคือ ปริมาณและช่วงชีวิตอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวในระบบต้องสูงและเพียงพอในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรค ดังนั้นจึงควรใส่เชื้อจุลินทรีย์เพิ่มเป็นช่วงๆ ในระหว่างการปลูกผักสลัด

นอกจากนี้เป็นที่น่าสังเกตุว่า นอกจากจุลินทรีย์เขตรากพืชที่ตรวจพบและได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแล้วดังกล่าวข้างต้น ยังมีการตรวจพบ non-pathogenic Pythium เป็นประจำในระบบปลูกพืชผักโดยไม่ใช้ดินที่ใช้สารละลายธาตุอาหารพืชหมุนเวียน ซึ่งน่าจะมีการนำ

เชื้อ non-pathogenic Pythium เหล่านี้มาศึกษาเพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาและใช้ประโยชน์ควบคู่กับเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เขตรากพืชตัวอื่นๆ ต่อไป