สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

รายงานการวิจัย

เรื่อง

การคัดเลือกและการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ร่วมกับน้ำสกัดชีวภาพที่ผลิตได้จากภูมิปัญญาท้องถิ่นตามแนวปรัชญาเศรษฐกิจพอเพียงของพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว ในการแก้ปัญหาโรครากเน่าของพืชที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์

(Screening and use of antagonistic microorganisms combined with bio-extract produced from a local wisdom following King Bhumipol's philosophy of economic sufficiency in controlling root rot diseases of plants grown in hydroponics system)

โดย

อนุเทพ ภาสุระ

เยาวลักษณ์ ไชยรัตน์

QK977680
25 ส.ย. 2558 A00104929
354870
เริ่มบริการ
19 เม.ย. 2559

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยภายใต้โครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษา
สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา

ประจำปีงบประมาณ ๒๕๕๔

บทคัดย่อ

ปัญหาโรครากเน่าในพืชที่ปลูกแบบไฮโดรโพนิกส์มีความสำคัญอย่างมากเนื่องจากเชื้อก่อโรคสามารถแพร่ระบาดไปได้ในระบบปลูกอย่างรวดเร็ว การศึกษานี้ได้ทำการแยกเชื้อราก่อโรครากเน่าจากรากสลัดที่ปลูกแบบไฮโดรโพนิกส์สามารถแยกได้จำนวน 11 ไฮโซเลตและทุกไอโซเลตสามารถทำให้ผักสลัดกรีนโอ๊ดเกิดโรคได้ โดยเชื้อราก่อโรคไอโซเลต GS-4 มีความสามารถก่อให้เกิดโรคมากที่สุด เมื่อจัดจำแนกเบื้องต้นโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา สามารถจำแนกได้เป็นเชื้อรา *Pythium* sp. จากการศึกษาหาปริมาณเริ่มต้นเชื้อราก่อโรครากเน่า *Pythium* sp. ไอโซเลต GS-4 ที่ก่อให้เกิดโรครากเน่าในผักสลัดกรีนโอ๊ต พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 10^4 propagule/มิลลิลิตรขึ้นไปสามารถก่อให้เกิดความเสียหายต่อการเจริญของพืชในด้านของน้ำหนักสดของส่วนต้น ส่วนความเสียหายต่อระบบรากพืชพบว่าปริมาณของเชื้อเริ่มต้นที่ 10^3 propagule/มิลลิลิตร เป็นระดับเริ่มต้นที่ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของรากผักสลัดกรีนโอ๊ด การศึกษานี้สรุปได้ว่า ระดับความเข้มข้นของเชื้อราก่อโรคมีความสัมพันธ์โดยตรงต่อการเจริญเติบโตของพืช ดังนั้น การจัดการโรครากเน่าจึงควรมุ่งเน้นที่การควบคุมไม่ให้เชื้อราก่อโรคอยู่ในระดับที่ก่อให้เกิดความเสียหายแก่พืชที่ปลูก ส่วนการนำการควบคุมทางชีวภาพโดยใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลต GE-1 ที่แยกได้จากส่วนด้านในของรากผักกาด พบว่า มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราก่อโรค *Pythium* sp. ไอโซเลต GS-4 มากที่สุดโดยสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราก่อโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ได้สูงสุดถึงร้อยละ 47.5 และมีความเป็นไปได้ในการใช้น้ำหมักชีวภาพจากพืชในอัตราส่วน 1:3000 ในสารละลายธาตุอาหาร Hoagland 's solution (half strength) ทั้งในด้านส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและการทดสอบการเกิดโรครากเน่า พบว่า น้ำหมักชีวภาพจากพืชไม่มีผลเสียต่อการเจริญของผักสลัดกรีนโอ๊ด และน่าจะมีความเป็นไปได้ในการนำเอาแบคทีเรียปฏิปักษ์มาใช้ในระบบการปลูกผักสลัดกรีนโอ๊ดที่ใช้น้ำหมักชีวภาพจากพืชมาร่วมด้วย แบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลต GE-1 สามารถลดการเกิดโรคและระดับความรุนแรงของโรครากเน่าได้ แต่ในด้านของการเจริญเติบโตของผักสลัดกรีนโอ๊ดยังไม่ชัดเจน ดังนั้น การใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดกรีนโอ๊ดจึงอาจจะเป็นทางเลือกในการลดการใช้สารเคมีกำจัดโรคพืชในการปลูกพืชแบบไฮโดรโพนิกส์

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณการวิจัยภายใต้โครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษา จากสำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา ประจำปีงบประมาณ 2554 งานวิจัยนี้ได้รับความร่วมมือจากหลายฝ่ายจึงทำให้งานวิจัยประสบความสำเร็จตามวัตถุประสงค์ คณะผู้วิจัยจึงขอขอบคุณทุก ๆ ฝ่ายที่มีส่วนร่วมในการดำเนินการวิจัยนี้ทั้งโดยตรงและโดยอ้อมอันได้แก่ เจ้าหน้าที่ภาควิชาจุลชีววิทยาและภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา เกษตรกรที่ให้คณะผู้วิจัยเข้าไปเก็บตัวอย่างและสอบถามรายละเอียดหลายประการ คณะผู้วิจัยจึงขอขอบคุณทุกท่านมา ณ ที่นี้และหวังเป็นอย่างยิ่งว่าผลการวิจัยนี้อาจจะมีประโยชน์ต่อการพัฒนาประเทศไทยในโอกาสต่อไป

คณะผู้วิจัย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
สารบัญ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญภาพ	จ
บทนำ	1
การตรวจเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	5
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	6
ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง	10
สรุปผลการทดลอง	18
เอกสารอ้างอิง	19
ภาคผนวก	22

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ร้อยละการเกิดโรครากเน่าในผักสลัดกรีนโอ๊ดที่ปลูกและแบบไฮโดรโพรนิกส์ ระบบ DFT จากการปลูกเชื้อราก่อโรคไอโซเลตต่างๆในอัตรา 10^8 propagule/ml จำนวน 200 มิลลิลิตร/ราก	11
2	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของส่วนลำต้นและรากของผักสลัดกรีนโอ๊ดที่ปลูกในแบบไฮโดรโพรนิกส์ระบบ DFT ที่มีการปลูกเชื้อราก่อโรคไอโซเลตต่างๆในอัตรา 10^8 propagule/ml จำนวน 200 มิลลิลิตร/ราก ปลูกพืชเป็นเวลา 21 วัน	12
3	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของส่วนลำต้นและรากของสลัดกรีนโอ๊ดที่ปลูแบบไฮโดรโพนิกส์ระบบ DFT ที่มีการเติมเชื้อรา *Pythium* ไอโซเลต G5-4 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เมื่อพืชมีอายุ 21 วัน	14
4	ประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่แยกได้ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราก่อโรค *Pythium* ไอโซเลต Gs-4 โดยวิธี dual culture บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA	15
5	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดในแต่ละชุดการทดลองที่มีการเติมน้ำหมักชีวภาพจากผักในการปลูกผักสลัดกรีนโอ๊ดที่ปลูกแบบไฮโดรโพนิกส์ระบบ NFT เมื่อพืชมีอายุ 35 วัน	16
6	ร้อยละการเกิดโรคและระดับความรุนแรงของโรครากเน่าในผักสลัดกรีนโอ๊ดในกรรมวิธีต่างๆ ที่ปลูกแบบไฮโดรโพนิกส์ระบบ DFT เก็บเกี่ยวเมื่อพืชมีอายุ 21 วัน	17

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ไดอะแกรมการทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pythium* ด้วยวิธี Dual culture test	23
2	เชื้อรา *Pythium* spp. ที่คัดแยกได้จากระบบการปลูกพืชแบบไฮโดรโพรนิคส์	10
3	การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรค *Pythium* ด้วยวิธี Dual culture test	11

ภาพผนวกที่		หน้า
1	ถังปลูกพืชแบบไฮโดรโพรนิกส์ชนิด Deep flow technique และลักษณะรากพืชปกติและรากพืชที่เกิดโรครากเน่า	23

บทนำ

ภูมิปัญญาท้องถิ่น (local wisdom) เป็นองค์ความรู้ที่แสดงถึงประสบการณ์ ความรู้ ความสามารถของชาวบ้านในการดำรงชีวิตที่สอดคล้องกับธรรมชาติ โดยใช้ศักยภาพของตนเองรังสรรค์และถ่ายทอดคุณค่าแห่งภูมิปัญญา ซึ่งพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวทรงพระราชทานแนวทางให้เกษตรกรไทยหันกลับมาใช้ภูมิปัญญาท้องถิ่น และกลับเข้าสู่ระบบเศรษฐกิจพอเพียงทั้งในการดำรงชีวิต การประกอบอาชีพ การจัดการทรัพยากร ซึ่งสิ่งต่าง ๆ เหล่านี้จะเป็นหนทางไปสู่การพึ่งพาตนเองได้อย่างยั่งยืน แนวทางหนึ่งที่จะนำไปสู่ระบบเศรษฐกิจพอเพียง คือ การเพาะปลูกระบบเกษตรอินทรีย์ (organic agriculture) ซึ่งเป็นระบบการเกษตรที่กำลังได้รับความสนใจทั้งในปัจจุบันและอนาคต เนื่องจากเป็นระบบการเกษตรที่นำไปสู่การพัฒนาอย่างยั่งยืน ผลผลิตจากระบบการเกษตรอินทรีย์เป็นที่ต้องการอย่างมากทั้งในประเทศและต่างประเทศ อีกทั้งยังเป็นการรักษาสภาพแวดล้อมและลดปริมาณการใช้สารเคมีอันส่งผลเสียต่อระบบนิเวศวิทยาและสุขภาพของผู้บริโภค (อาณัฐ ตันโช, 2549)

น้ำสกัดชีวภาพ (bio-extract) จัดเป็นปุ๋ยอินทรีย์ในรูปของของเหลวที่ได้จากการหมักและย่อยสลายวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร โดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ธรรมชาติหรือจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้ โดยน้ำสกัดชีวภาพเกิดจากการนำเอาเศษวัสดุอินทรีย์ เช่น พืช สัตว์ ที่มีลักษณะสดหรืออวบน้ำ เศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร และวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมการเกษตร ไปหมักกับน้ำตาลหรือกากน้ำตาลเข้มข้น ซึ่งเป็นตัวการทำให้น้ำและสารประกอบอินทรีย์ที่อยู่ในเซลล์พืช (cell sap) หรือเซลล์สัตว์แตกออกมาจากเซลล์ด้วยแรงดันออสโมติก (osmotic pressure) ซึ่งจุลินทรีย์ธรรมชาติที่ติดมากับวัสดุที่นำมาหมักจะเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนโดยใช้น้ำตาลเป็นแหล่งอาหารและพลังงาน จุลินทรีย์เหล่านี้จะย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ให้มีโมเลกุลเล็กลง อยู่ในรูปสารประกอบฮิวมิก กรดอะมิโน ธาตุอาหารในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ นอกจากนี้ในน้ำสกัดชีวภาพยังมีสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชหรือฮอร์โมนพืชหลายชนิด น้ำสกัดชีวภาพจึงเป็นที่นิยมนำมาใช้ในการเร่งการเจริญเติบโตของพืชอย่างกว้างขวาง (อาณัฐ ตันโช, 2549) ความนิยมดังกล่าว เป็นอีกแนวทางหนึ่งในการแปรรูปเศษวัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตรให้กลับมาใช้ประโยชน์และลดปัญหาสิ่งแวดล้อมได้อีกทางหนึ่ง ปัจจุบันเกษตรกรได้พัฒนาภูมิปัญญาชาวบ้านในการผลิตน้ำสกัดชีวภาพเพื่อนำมาใช้ในการเกษตรอย่างแพร่หลายและในรูปแบบต่าง ๆ กัน

ในปัจจุบันการปลูกพืชชนิดต่าง ๆ โดยไม่ใช้ดิน (soilless culture) หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งคือ การปลูกพืชในระบบไฮโดรโพนิกส์ (hydroponic culture) ได้รับความนิยมสูงเนื่องจากสามารถปลูกได้ทุกพื้นที่ถึงแม้พื้นที่นั้นจะมีการปนเปื้อนสารพิษ ผลผลิตที่ได้จากการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินนั้นมีความปลอดภัย สะอาดและมีคุณค่าทางโชนาการสูง (Johnson, 2000) ถึงแม้การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินเป็นหนึ่งในวิธีการหลีกเลี่ยงสารพิษและโรคที่เกิดจากดิน แต่ก็ยังมีโรคที่เกิดขึ้นกับรากพืชในระบบซึ่งเมื่อเกิดโรคแล้วจะก่อให้เกิดการระบาดอย่างรวดเร็วและรุนแรง จากการศึกษาวิจัยพบโรคที่เกิดขึ้นในระบบการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน คือ โรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* spp. (Bates, 1984) เนื่องสภาพจากการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินมีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและแพร่กระจายของเชื้อชนิดนี้ ในประเทศไทยพบว่ามีการระบาดของโรคในระบบรากพืชในสารละลายธาตุอาหารและรากพืช ซึ่งมีลักษณะเช่นเดียวกันกับที่มีรายงานในต่างประเทศ (Rafin and Tirilly, 1995) การควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคดังกล่าวอาจทำได้โดยการใช้สารเคมีกำจัดโรคพืช แต่อาจมีสารตกค้างในพืชที่ปลูกได้ ส่วนการควบคุมโดยชีววิธี เป็นวิธีที่นำเอาจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonistic microorganisms) มาใช้ในการช่วยควบคุมโรคพืช ซึ่งเป็นวิธีที่ปลอดภัย ไม่มีสารพิษตกค้างและมีความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมด้วย จุลินทรีย์บางสายพันธุ์จะมีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและสามารถควบคุมโรคพืชได้

เรียกว่า Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) โดย PGPR เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่อยู่ในสกุล *Pseudomonas*, *Azospirillum* และ *Bacillus* เป็นต้น

อย่างไรก็ตาม การปลูกพืชแบบไฮโดรโพนิกส์นี้มีการใช้สารเคมีเป็นสารอาหารของพืชโดยตรง ผู้บริโภคบางกลุ่มจึงไม่ค่อยนิยมรับประทาน เนื่องจากความวิตกกังวลในเรื่องของสารเคมีที่ใช้ในการปลูกพืช เนื่องจากมีการใช้สารเคมีในการเตรียมสารละลายธาตุอาหารในปริมาณมากเพื่อปลูกพืชแบบไร้ดิน ดังนั้น เพื่อเป็นการลดปริมาณการใช้สารเคมีในระบบการปลูกพืชแบบไฮโดรโพนิกส์ จึงเป็นที่น่าสนใจในการศึกษาความเป็นไปได้ในการนำน้ำสกัดชีวภาพมาใช้ร่วมหรือทดแทนสารเคมีที่ใช้ปลูกพืชในระบบไฮโดรโพนิกส์ ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับเรื่องนี้โดยละเอียดมาก่อนในประเทศไทย และมีความเป็นไปได้ที่จะนำจุลินทรีย์ปฏิปักษ์มาใช้ในการควบคุมโรคพืชและส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในระบบการปลูกพืชแบบไฮโดรโพนิกส์ด้วย ซึ่งน่าจะทำให้ผลผลิตเพิ่มมากขึ้น คณะผู้วิจัยได้ตระหนักถึงความสำคัญของภูมิปัญญาท้องถิ่นในการที่จะนำมาต่อยอดเพื่อเป็นฐานการพัฒนาท้องถิ่นตามแนวปรัชญาเศรษฐกิจพอเพียง จึงได้ทำการศึกษาในครั้งนี้ เพื่อเป็นการสืบค้น สืบสานให้ทราบถึงศักยภาพภูมิปัญญาของชุมชน อันจะนำไปสู่การพัฒนาศักยภาพภูมิปัญญาด้วยกระบวนการเรียนรู้และผสมผสานแบบบูรณาการระหว่างภูมิปัญญาท้องถิ่น (การผลิตน้ำสกัดชีวภาพภูมิปัญญาชาวบ้าน) กับภูมิปัญญาสากล (เทคโนโลยีการใช้จุลินทรีย์ปฏิกษ์ในระบบการเกษตร) อันจะเป็นการเสริมศักยภาพของเกษตรกรไทยในการปลูกพืชที่มุ่งลดการใช้สารเคมีและรักษาสิ่งแวดล้อมบนพื้นฐานของแนวปรัชญาเศรษฐกิจพอเพียงเพื่อนำไปสู่การพัฒนาที่มั่นคงและยั่งยืนต่อไป

การตรวจเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ไฮโดรโพนิกส์ (hydroponics) คือ ระบบการปลูกพืชในสารละลายธาตุอาหาร โดยที่รากพืชไม่ได้สัมผัสกับผิวดิน ระบบการปลูกพืชแบบนี้ได้รับความนิยมเพิ่มขึ้นเป็นอย่างมาก เนื่องจากพืชมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วจากธาตุอาหารที่รากพืชได้สัมผัสโดยตรง และสามารถหลีกเลี่ยงสภาพของดินที่มีปัญหาทางกายภาพที่ไม่เหมาะสม เช่น ดินที่มีความเป็นกรด-ด่าง สูงเกินไป หรือสภาพของดินที่แห้งแล้ง วิธีการปลูกพืชในระบบแบบไฮโดรโพนิกส์ที่ค่อนข้างนิยมมากที่สุด คือ การให้สารละลายธาตุอาหารพืช ไหลผ่านรากในลักษณะเป็นแผ่นฟิล์มบาง ๆ (nutrient film technique) ในรางปลูกอย่างต่อเนื่อง โดยมีการเติมอากาศเพื่อให้รากพืชได้รับออกซิเจนอย่างเพียงพอ (สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์, 2548)

เกษตรอินทรีย์ (organic farming) เป็นระบบการผลิตทางการเกษตรที่มุ่งเน้นถึงการรักษาสิ่งแวดล้อมและความหลากหลายทางชีวภาพ หลีกเลี่ยงและลดการใช้สารเคมีสังเคราะห์ ที่จะก่อให้เกิดปัญหามลภาวะทางสิ่งแวดล้อม โดยการใช้วัสดุที่มีอยู่ตามธรรมชาติหรือวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร มาผลิตเป็นปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ ทดแทนปุ๋ยเคมีสังเคราะห์ เพื่อใช้ในระบบการผลิตพืช (อาณัฐ ตันโช, 2549)

น้ำสกัดชีวภาพ (bio-extract) หรือที่เรียกอีกชื่อว่า ปุ๋ยอินทรีย์น้ำ หรือปุ๋ยน้ำชีวภาพ คือ น้ำที่ได้จากการหมักวัสดุทางการเกษตร จำพวกพืช ผัก ผลไม้ สัตว์ขนาดเล็ก หรือเศษอาหาร โดยนำมาหมักกับกากน้ำตาลและน้ำ ในปริมาณที่เหมาะสมและในระยะเวลาที่พอเหมาะ การหมักจะดำเนินไปโดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ธรรมชาติ ซึ่งจะทำหน้าที่ย่อยสลายเศษพืชหรือเศษสัตว์ดังกล่าว ให้กลายเป็นสารละลายที่เรียกว่า น้ำสกัดชีวภาพ ซึ่งมีลักษณะเป็นของเหลวสีน้ำตาล มีองค์ประกอบของสารอาหารพืชอย่างอุดมสมบูรณ์ เช่น กรดอะมิโน กรดอินทรีย์ ฮอร์โมนพืชหรือสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช เอนไซม์ และวิตามินที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช (อาณัฐ ตันโช, 2549) ในระหว่างการหมักน้ำสกัดชีวภาพนั้น จุลินทรีย์ธรรมชาติที่เป็นตัวการทำให้เกิดการหมักนั้น จะได้รับแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานจากน้ำตาลที่เติมลงไป จุลินทรีย์ที่พบนั้น มักจะอยู่ในรูปของจุลินทรีย์ผสม (mixed culture) ดังนั้นกระบวนการหมักน้ำสกัดชีวภาพ จึงเกิดจากการ

ทำงานของจุลินทรีย์หลายกลุ่มรวมกัน จากการทดลองของชมรมอนุรักษ์ภูมิปัญญาไทย พบว่า พืชทุกชนิดสามารถนำมาผลิตเป็นน้ำสกัดชีวภาพได้ โดยเฉพาะการใช้พืชผักในการผลิตน้ำสกัดชีวภาพนั้น ยีสต์จะเป็นตัวย่อยสลายส่วนที่เป็นน้ำตาลและสารละลายของพืช แบคทีเรียและราจะย่อยสลายส่วนที่เป็นส่วนประกอบของพืชจำพวกเซลลูโลส ลิกนินและโพลีแซคคาไรด์อื่น ๆ (คิม ซากัสส์, 2542) ซึ่งในระหว่างการหมักน้ำสกัดชีวภาพนั้น พบว่ามีจุลินทรีย์ทั้งกลุ่มที่ต้องการอากาศ (aerobic microorganisms) จุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการอากาศ (anaerobic microorganisms) และกลุ่มจุลินทรีย์ที่เจริญได้ดีในสภาพที่เป็นกรด (acidophilic microorganisms) ในปริมาณที่แตกต่างกัน (อาณัฐ ตันโช, 2549)

วรรณลดา สุนันทพงศ์ศักดิ์ และคณะ (2544) รายงานถึงการใช้ประโยชน์จากน้ำสกัดชีวภาพ โดยพบว่าน้ำสกัดชีวภาพมีผลช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช โดยสันนิษฐานว่า การที่พืชเจริญเติบโตได้ดีนั้นเกิดจากการที่พืชได้รับการรดด้วยน้ำสกัดชีวภาพ ซึ่งอาจจะมีสารประเภทฮอร์โมนพืช หรือเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของพืชที่มีอยู่ในน้ำสกัดชีวภาพ

สมพร แซ่ลี้ และคณะ (2547) รายงานการศึกษาผลกระทบของปุ๋ยน้ำชีวภาพต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพดหวานพันธุ์ขาวคู่ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อแสวงหาข้อมูลเบื้อต้นเกี่ยวกับผลกระทบของปุ๋ยน้ำชีวภาพ ที่มีจำหน่ายในท้องตลาดต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพดหวานพันธุ์ขาวคู่ โดยดำเนินการทดลองในระดับเรือนทดลอง ใช้ดินชุดยโสธร (Fine-loamy) ในการทดลองครั้งนี้ได้นำปุ๋ยน้ำชีวภาพ 10 ชนิดมาทำการทดสอบในอัตราที่แนะนำข้างบรรจุภัณฑ์ และ 2 เท่าของอัตราแนะนำ โดยเปรียบเทียบกับตำรับควบคุม ตำรับที่ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 อัตรา 50 กิโลเมตรต่อไร่ และตำรับใส่ปุ๋ยอินทรีย์จากมูลไก่ อัตรา 150 กิโลกรัมต่อไร่ โดยใช้แผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ ผลการทดลองพบว่า ที่อัตราแนะนำ มีปุ๋ยน้ำชีวภาพเพียงอย่างเดียวที่มีผลทำให้น้ำหนักสดต้นและน้ำหนักแห้งต้นข้าวโพดหวานสูงกว่าและแตกต่างจากตำรับควบคุม ตำรับที่ใส่ปุ๋ยอินทรีย์ไม่แตกต่างจากตำรับที่ใส่ปุ๋ยเคมี และที่ระดับ 2 เท่าของอัตราแนะนำ ผลการทดลองพบว่าปุ๋ยน้ำชีวภาพ 4 ชนิด มีผลทำให้ข้าวโพดเจริญเติบโตดีกว่ากรรมวิธีควบคุม แต่ไม่แตกต่างจากกรรมวิธีทดลองที่ใส่ปุ๋ยเคมี นอกจากนี้ยังพบว่าพืชที่ได้รับปุ๋ยทุกประเภทมีแนวโน้มที่จะทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ ความกว้างของใบ น้ำหนักสดของรากและน้ำหนักแห้งรากสูงกว่าตำรับที่ไม่ใส่ปุ๋ย แต่ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ

สุรีรัตน์ แซ่ลิ้ม (2547) ได้ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณคลอโรฟิลล์ในผักบุ้งจีนที่รดด้วยน้ำปุ๋ยชีวภาพและน้ำปุ๋ยยูเรีย จากผลการทดลองพบว่า การเจริญเติบโตในผักบุ้งจีนที่รดด้วยน้ำปุ๋ยยูเรีย มีขนาดและความสูงมากกว่าผักบุ้งจีนที่รดด้วยน้ำปุ๋ยชีวภาพและน้ำ ตามลำดับ และเมื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ในผักบุ้งจีน โดยการนำใบของผักบุ้งจีนมาวัดค่าความเขียวของใบโดยใช้คลอโรฟิลล์มิเตอร์ (Chlorophyll meter) แล้วนำมาสกัดด้วยสารละลายไดเมทิลฟอร์มาไมด์ แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-visible spectrophotometer) แล้วคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ออกมา จากนั้นนำไปหาความสัมพันธ์ระหว่างความเขียวของใบและปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบ ได้ความสัมพันธ์ $y = 0.0755x - 0.6628$ เพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ในการทดลอง พบว่า กระถางที่รดด้วยน้ำ น้ำปุ๋ยชีวภาพ และน้ำปุ๋ยยูเรีย มีปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบทั้งหมด (total chlorophyll) เท่ากับ 2.03 2.09 และ 2.20 มิลลิกรัมต่อตารางเดซิเมตร ตามลำดับ

ชลธิชา วิเชียรและธัญพิสิษฐ์ พวงจิก (2548) ได้ศึกษาผลของสารละลายธาตุอาหารร่วมกับน้ำสกัดชีวภาพต่อการเจริญเติบโตของดอกดาวเรืองฝรั่งเศสในระบบการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน โดยใช้สารละลายธาตุอาหารร่วมกับน้ำสกัดชีวภาพ 1 : 1000 ในอัตราส่วนที่ต่างกัน 5 ระดับ คือ รดด้วยสารละลายธาตุอาหาร : น้ำสกัดชีวภาพ 1 : 0, ¾ : ¼, ½ : ½, ¼ : ¾ และ 1 : 1 โดยปริมาตร พบว่าอัตราส่วน 1 : 1 มีความสูงเฉลี่ยและความกว้างทรงพุ่มมากที่สุด และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับต้นดาวเรืองฝรั่งเศสที่รดด้วยอัตราส่วน 1

: 0 โดยปริมาตร ต้นดาวเรืองฝรั่งเศสที่รดด้วยสารละลายธาตุอาหารร่วมกับน้ำสกัดชีวภาพในทุกอัตราส่วน มีระยะเวลาออกดอกและระยะเวลาออกดอกถึงดอกบาน ที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนจำนวนดอกเฉลี่ยต่อต้น พบว่า ดาวเรืองฝรั่งเศสที่รดด้วยอัตราส่วน 1 : 0 โดยปริมาตร มีจำนวนดอกเฉลี่ยต่อต้นมากที่สุด เท่ากับ 59.50 ดอก แต่ต้นดาวเรืองฝรั่งเศสที่รดด้วยอัตราส่วน ½ : ½ โดยปริมาตร พบว่า ดอกมีขนาดใหญ่ที่สุด เท่ากับ 4.85 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับต้นดาวเรืองฝรั่งเศสที่รดด้วยอัตราส่วน 1 : 0 โดยปริมาตร

ปรากรม ประยูรรัตน์และยุพา แดงหนองแปน (2549) ได้รายงานถึงระดับความเข้มข้นของน้ำสกัดชีวภาพที่มีต่อการเจริญเติบโตของผักกาดขาว (*Brassica pekinensis*) พบว่า น้ำสกัดชีวภาพทุกระดับ ความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลอง ตั้งแต่ 1 : 50 จนถึง 1 : 5000 สามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของผักกาดขาวได้ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้รับน้ำสกัดชีวภาพ ซึ่งน้ำสกัดชีวภาพที่มีระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุด คือ 1 : 500 และการฉีดพ่นน้ำสกัดชีวภาพให้แก่พืชทุกวัน จะทำให้การเจริญเติบโตของพืชเพิ่มขึ้นด้วย

Sena และคณะ (2005) ได้รายงานถึงประโยชน์ของการใช้น้ำสกัดชีวภาพ ในการปลูกพืช เช่น ช่วยปรับสภาพความเป็นกรด-ด่างในดินและน้ำ ช่วยปรับโครงสร้างของดิน และพืชสามารถดูดซึมไปใช้ได้ทันที ทำให้พืชมีการเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว และดีกว่าการปลูกพืชโดยใช้ปุ๋ยวิทยาศาสตร์หรือปุ๋ยเคมี

Abdul และคณะ (2005) ได้ศึกษาการใช้น้ำสกัดชีวภาพ จากจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ (effective microorganisms) ที่มีต่อการเจริญเติบโตของต้นฝ้ายที่ปลูกในสภาพแปลงทดลองที่ประเทศปากีสถาน พบว่า น้ำสกัดชีวภาพเพียงอย่างเดียวไม่ได้มีผลต่อการเพิ่มการเจริญเติบโตของต้นฝ้าย แต่หากใช้น้ำสกัดชีวภาพร่วมกับปุ๋ยเคมีสังเคราะห์ จะทำให้ต้นฝ้ายเจริญเติบโตได้เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Kamla และคณะ (2008) ได้ทดลองใช้น้ำสกัดชีวภาพจากกระบวนการผลิตตามภูมิปัญญาชาวบ้านในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย โดยฉีดพ่นถั่วค้างพู (*Vigna unguiculata* L.) ที่ปลูกในสภาพแปลงทดลอง เพื่อศึกษาถึงผลของน้ำสกัดชีวภาพที่มีต่อการเจริญเติบโตของถั่วค้างพู ในระบบการเกษตรอินทรีย์ พบว่า การใช้น้ำสกัดชีวภาพร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ ช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วค้างพูได้ ในขณะที่การเจริญเติบโตของถั่วค้างพูไม่ตอบสนองต่อการใช้น้ำสกัดชีวภาพที่ใช้ทดแทนปุ๋ยอินทรีย์ แต่รายงานนี้ไม่สามารถสรุปได้ว่า การเพิ่มผลผลิตจากการใช้น้ำสกัดชีวภาพ เกิดจากสารอาหารที่มีอยู่ในน้ำสกัดชีวภาพ (carbon และ nitrogen soluble nutrient) หรือเกิดจากจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำสกัดชีวภาพ

Utkhede, Levesque and Dinh. (2000) ศึกษาปริมาณเชื้อ *Pythium aphanidermatum* ในสารละลายธาตุอาหาร ในการปลูกพืชแบบไร้ดิน พบปริมาณเชื้อดังกล่าวเท่ากับ 1×10^3 ถึง 13×10^3 CFU/100 L และทำให้การศึกษาชีวผลิตภัณฑ์ในการควบคุมโรคพืชดังกล่าวทั้งหมด 11 ชนิด พบว่า ชีวผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนประกอบของเชื้อ *Bacillus subtilis* ไอโซเลท BACT-O ที่มีความเข้มข้น 1×10^9 ถึง 13×10^{11} CFU/L สามารถเพิ่มน้ำหนักรากแห้ง-สดของผักสลัดและลดการเกิดโรคที่เกิดจากเชื้อ *P. aphanidermatum* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Utkhede, Kock and Menzies. (1999) ทำการแยกแบคทีเรียเขตรากพืชของต้นแตงกวา พบแบคทีเรีย *Pseudomonas putila* 10 ไอโซเลท, *Bacillus subtilis* 24 ไอโซเลท, *Enterobacteria aerogenes* 4 ไอโซเลท, *Bacillus cereus* 1 ไอโซเลท และแบคทีเรียที่ไม่ทราบชนิด 1 ไอโซเลท นำแบคทีเรียที่แยกได้มาทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นแตงกวาและควบคุมเชื้อ *Pythium aphanidermatum* พบว่า ทุกไอโซเลทสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นแตงกวา ส่วนการควบคุมเชื้อ *P. aphanidermatum* พบ 16 ไอโซเลทที่ควบคุมได้ และ *B. subtilis* ไอโซเลท BACT-O สามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของยอดร้อยละ 9 น้ำหนักสดร้อยละ 29 และเพิ่มผลผลิตร้อยละ 14

Gul et al. (2008) ศึกษาผลของสารอาหารและ *Bacillus amyloliquefaciens* ต่อการเจริญเติบโตของมะเขือเทศที่ปลูกด้วยเฟอร์ไลท์ ผลการศึกษาพบว่า สารอาหารแบบครึ่งพอเพียงสำหรับการเจริญเติบโตของพืชในระบบเปิดทั้งในฤดูใบไม้ผลิและฤดูใบไม้ร่วง แต่สารอาหารแบบครึ่งลดผลผลิตในระบบปิดในฤดูใบไม้ร่วง การประยุกต์ใช้ *B. amyloliquefaciens* ชนิด FZB24 and FZB42 สามารถเพิ่มผลผลิตของมะเขือเทศร้อยละ 8-9 ในระบบเปิดในฤดูใบไม้ผลิ

Lucy, Reed and Glick. (2004) ศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับ plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) พบว่า มีการนำ PGPR ไปประยุกต์ใช้ในการเกษตร ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในระบบ Hydroponics ได้แก่ การทดลองของ Sarig et al., (1990) ทำการศึกษาเชื้อ *Azospirillum brasilense* ในการส่งเสริมข้าวฟ่างให้สามารถเพิ่มผลผลิต น้ำหนักแห้ง พื้นที่ใบ และลดการตายของใบ และการศึกษาของ Vedder-Weiss et al., (1999) ทำการศึกษาเชื้อ *A. brasilense* ในการส่งเสริมต้นถั่วให้มีน้ำหนักยอดและรากเพิ่มขึ้น และการศึกษาของ Van Peer and Schippers, (1998) ทำการศึกษาเชื้อ *Pseudomonas* ในการส่งเสริมผักกาดหอม มะเขือเทศและแตงกวาให้มีน้ำหนักของรากและยอดเพิ่มขึ้น

อย่างไรก็ตามงานวิจัยทางด้านการใช้ประโยชน์จากน้ำสกัดชีวภาพในระบบเกษตรอินทรีย์เพื่อลดปริมาณการใช้สารเคมีมีงานวิจัยค่อนข้างน้อย และส่วนใหญ่เป็นการทดลองในระดับภูมิปัญญาชาวบ้าน อีกทั้งยังไม่เคยมีรายงานการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการใช้น้ำสกัดชีวภาพร่วมกับการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคพืชในการปลูกพืชในระบบไฮโดรโพนิกส์ ซึ่งเป็นระบบการปลูกพืชที่รากพืชได้สัมผัสกับสารละลายธาตุอาหารโดยตรง จึงเป็นที่น่าสนใจที่จะศึกษารูปแบบการนำเอาน้ำสกัดชีวภาพมาใช้ทดแทนหรือร่วมกับการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการปลูกพืชแบบนี้ เพื่อเป็นการลดปัญหามลพิษจากการใช้สารเคมีในทางการเกษตรได้อีกแนวทางหนึ่ง

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษากระบวนการผลิตน้ำสกัดชีวภาพจากวัสดุเหลือใช้ในทางการเกษตรชนิดต่าง ๆ จากภูมิปัญญาชาวบ้านในเขตภาคตะวันออกของประเทศ
2. เพื่อศึกษาความเป็นไปได้และหาอัตราส่วนที่เหมาะสมในการใช้น้ำสกัดชีวภาพที่ผลิตจากภูมิปัญญาชาวบ้าน เพื่อใช้ในการปลูกพืชในระบบไฮโดรโพนิกส์
3. เพื่อแยกและคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์จากเขตรากพืชจากระบบการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินและใช้ดินที่มีศักยภาพในการควบคุมโรครากเน่าจากเชื้อ *Pythium* และส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช
4. เพื่อศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่คัดเลือกได้จากเขตรากพืช อัตราส่วนความเข้มข้นของสารละลายธาตุอาหารและน้ำหมักชีวภาพในการควบคุมโรครากเน่าจากเชื้อ *Pythium* และส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในการปลูกพืชในระบบไฮโดรโพนิกส์

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

งานวิจัยนี้เป็นโครงการริเริ่มนวัตกรรมงานวิจัยและพัฒนาต่อยอดภูมิปัญญาชาวบ้านเชิงบูรณาการเพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการนำน้ำสกัดชีวภาพจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรชนิดต่าง ๆ มาใช้ทดแทนหรือใช้ร่วมกับสารละลายธาตุอาหารที่ใช้ในการปลูกพืชในระบบไฮโดรโพนิกส์ โดยการผลิตน้ำสกัดชีวภาพสูตรต่าง ๆ ตามภูมิปัญญาชาวบ้านและนำไปหาอัตราส่วนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืชผักซึ่งนิยมปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ร่วมกับการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรครากเน่า ซึ่งในการวิจัยครั้งนี้จะใช้ผักกาดหอมเป็นพืชในการทดลอง

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. การแยกและคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียปฏิปักษ์จากระบบการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินและใช้ดินที่มีศักยภาพในการควบคุมโรครากเน่าจากเชื้อ *Pythium* และส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักสลัด

ทำการเก็บตัวอย่างรากของต้นสลัดที่ไม่เป็นโรค ต้นที่เป็นโรค สารละลายธาตุอาหารและน้ำเตรียม สารละลายธาตุจากฟาร์มปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินในเขตจังหวัดชลบุรี, ระยอง, สมุทรปราการ, ฉะเชิงเทรา, ปราจีนบุรีและกรุงเทพฯ จากระบบปลูกแบบ Nutrient film technique (NFT), Deep flow technique (DET), Dynamics root floating technique (DRFT) รวมทั้งสิ้นอย่างน้อย 3 แห่ง โดยเก็บตัวอย่างผักสลัดที่เป็นโรคและไม่เป็นโรคที่ปลูกในฟาร์ม ได้แก่ กรีนโอ๊ค, เรดโอ๊ค, บัตเตอร์เฮดและคอส เก็บตัวอย่างรากผักสลัดสด 3-5 ต้นต่อชนิด นำใส่ถุงพลาสติกพร้อมรัดปากถุง เก็บตัวอย่างไว้ในกล่องที่มีอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียภายใน 24 ชั่วโมง โดยวิธี tissue transplanting technique และ dilution plating technique

ทำการแยกเชื้อรา *Pythium* และแบคทีเรียปฏิปักษ์จากบริเวณเขตรากพืชโดยวิธี Tissue transplanting โดยตัดส่วนรากให้มีขนาด 0.5 เซนติเมตร นำรากที่ได้ล้างด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ นำรากไปวางบนอาหาร Water agar จำนวน 1 ชิ้นต่อจาน บ่มที่อุณหภูมิห้อง จนพบเส้นใยงอกออกมาจากเนื้อเยื่อพืช หลังจากนั้นย้ายเส้นใยของเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อีกครั้งเมื่อเชื้อเจริญดีแล้ว ย้ายเส้นใยลงใน PDA slant เก็บไว้เป็นเชื้อบริสุทธิ์เพื่อจัดจำแนกชนิดของเชื้อรา *Pythium* ต่อไป

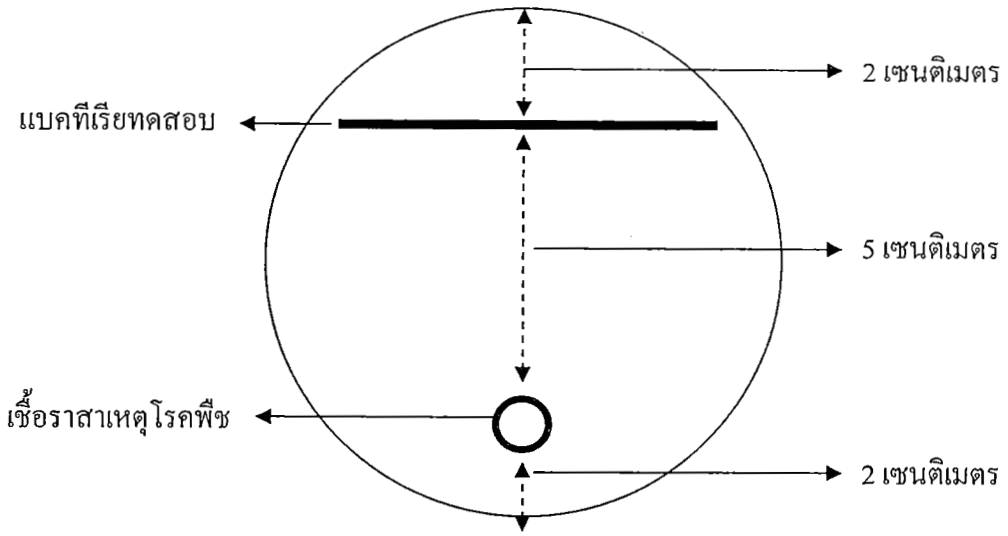
ขั้นตอนการศึกษาการก่อโรคกับพืชทดสอบของแบคทีเรียปฏิปักษ์

1) การคัดแยกเบื้องต้น โดยนำ loop มาเขี่ยแบคทีเรียให้เต็ม loop โดยแต่ละไอโซเลทจะนำไปเจือจางในน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 10 มิลลิลิตร ใส่สารละลายแบคทีเรียลงในกระดาษกรองจนการะดาษกรองมีความชื้นแล้วนำเมล็ดผักสลัดมาใส่ 10 เมล็ด ทำชนิดละ 3 ซ้ำ เปรียบเทียบกับน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเป็น Control บ่มทิ้งไว้ 1 สัปดาห์ และต้องหมั่นเตอมสารละลายแบคทีเรียเพื่อไม่ให้น้ำแห้ง บันทึกอัตราการงอกของเมล็ดและวัดความยาวของรากผักสลัด

2) การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Pythium* ในสภาพ *in vitro* นำไอโซเลทที่ผ่านการคัดแยกเบื้องต้นแล้ว มาทดสอบโยเตรียมเชื้อรา *Pythium* โดยการเลี้ยงเชื้อบนอาหาร PDA บ่มทิ้งไว้ แล้วนำ loop มาเขี่ยเชื้อในแต่ละไอโซเลท ที่มีอายุ 24 ชั่วโมง มาทำการทดสอบโดยการ Streak ลงบนอาหาร PDA ในแนวตรง แล้วใช้ Cock borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.2 เซนติเมตร ที่ลนฆ่าเชื้อแล้วเจาะชิ้นวุ้นที่มีเชื้อรา *Pythium* ที่เตรียมไว้ แล้วย้ายชิ้นวุ้นมาวางด้านตรงกันข้ามกับแนว Streak ของเชื้อแบคทีเรียที่นำมาทดสอบให้มีระยะห่างกัน 5 เซนติเมตร โดยแยกแบคทีเรียแต่ละไอโซลเลทต่างหาก บนอาหาร PDA เป็นตัวเปรียบเทียบ (Control) บ่มจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม ที่อุณหภูมิเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วสังเกตผลการทดลองโดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีและนำมาคำนวณเปอร์เซ็นยับยั้งการเจริญเติบโต (Growth Inhibition; GI) โดยใช้สูตร

$$GI = \frac{(R_1 - R_2)}{R_1} \times 100$$

R_1 คือ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคในจานอาหารเปรียบเทียบ (Control)
R_2 คือ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราสาเหตุโรคในจานอาหารเลี้ยงเชื้อร่วม (Bi-culture plate)



ภาพที่ 1 ไดอะแกรมการทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์
ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Pythium* ด้วยวิธี Dual culture test

2. สำรวจและรวบรวมสูตรการเตรียมน้ำสกัดชีวภาพตามภูมิปัญญาชาวบ้านในเขตภาคตะวันออกของประเทศไทย ทำการเตรียมน้ำสกัดชีวภาพ จำนวน 4 สูตร โดยให้มีอัตราส่วนของวัตถุดิบหลักดังต่อไปนี้

- สูตร 1 น้ำสกัดจากเศษพืชผัก
- สูตร 2 น้ำสกัดจากเศษผลไม้
- สูตร 3 น้ำสกัดจากปลา กุ้ง หอย
- สูตร 4 น้ำสกัดจากเศษอาหาร

นำวัสดุใช้ในการเตรียมน้ำสกัดชีวภาพแต่ละสูตร มาสับให้ละเอียดโดยชั่งแต่ละชนิดตามอัตราส่วยที่กำหนดในแต่ละสูตร และบรรจุในถังขนาด 20 ลิตร ใส่กากน้ำตาลและน้ำสะอาดในอัตราส่วยโดยน้ำหนัก (เศษวัสดุ : กากน้ำตาล : น้ำ ในอัตราส่วน 3 : 1 : 10) ผสมและคนให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นคลุมด้วยผ้าขาวบางและมัดเชือกให้แน่น แล้วปิดฝาถังให้สนิท เพื่อป้องกันการวางไข่ของแมลงวัน วางถังหมักไว้ในที่ร่มและทำการหมักเป็นเวลา 2 เดือน ระหว่างที่เกิดกระบวนการหมักเปิดฝาเพื่อกวนส่วนผสมให้เข้ากัน และวัดอุณหภูมิวันละ 1 ครั้ง และเก็บตัวอย่างน้ำสกัดชีวภาพเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะและคุณสมบัติน้ำสกัดทุกวัน โดยการวัดปริมาณคาร์บอน (C) และไนโตรเจน (N) เพื่อหาค่า C/N ratio ทำการหมักน้ำสกัดชีวภาพจนกระทั่งค่า C/N ratio คงที่ จึงยุติการหมัก กรองเอาน้ำสกัดชีวภาพใส่ขวดเก็บไว้เพื่อนำไปใช้ต่อไป นำกากวัสดุที่เหลือไปอบและชั่งหาน้ำหนักแห้ง

3. การเตรียมต้นกล้าของพืช และระบบปลูกพืชแบบไฮโดรโพนิกส์

พืชผักที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ คือ ผักสลัดกรีนโอ๊ค โดยเพาะเมล็ดในแผ่นฟองน้ำที่มีน้ำหล่ออยู่ในกระบะพลาสติก เมื่อเมล็ดงอกเป็นต้นกล้าที่มีอายุประมาณ 14 วัน คัดเลือกต้นกล้าที่มีความสม่ำเสมอมาย้ายลงปลูกในระบบไอโดโฟนิกส์แบบ Deep flow technique (DFT) หรือการปลูกเลี้ยงโดยให้รากพืชแช่ในสารละลายที่อยู่ในภาชนะ โดยเตรียมชุดถังปลูกแบบ DFT และให้มีการไหลเวียนของสารละลายธาตุอาหารอย่างทั่วถึง และใช้เครื่องเติมอากาศ (air pump) เพื่อให้รากได้รับออกซิเจนอย่างเพียงพอ ชั่งสูตรสารละลายธาตุอาหารที่ใช้

คือ สูตรของ Hoagland's solution (ใช้ half strength) โดยเตรียมจากวิธีการของนันทนา อังคินันท์ (2526) และควบคุม pH ของสารละลายที่ 6.5 และในระหว่างที่ปลูกพืช ทำการวัดค่าการนำไฟฟ้าของสารละลาย (Electric Conductivity ; EC) ทุกๆ 3 วัน เพื่อวิเคราะห์ความเข้มข้นของสารละลายธาตุอาหารพืชและแรงดันออสโมติค (osmotic pressure) และควบคุมค่า EC ให้อยู่ระหว่าง 1.5-3.0 mS/cm เปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารที่ใช้ปลูกพืชทุกสัปดาห์

4. ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างแบคทีเรียปฏิปักษ์, สารละลายมาตรฐานกับน้ำสกัดชีวภาพ

การทดลองนี้ดำเนินการในสภาพโรงเรือนสำหรับการปลูกพืชในระบบไฮโดรโพนิกส์ระดับกึ่งอุตสาหกรรมในโรงเรือนของภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบรูณ์ในบล็อก (Randomized Complete Block Design ; RCBD) แบ่งการทดลองแต่ละการทดลองออกเป็น 2 ชุดการปลูกพืช (บล็อก) ในแต่ละชุดมีจำนวน 3 ซ้ำ ๆ ละ 8 ต้น โดยแบ่งชุดการทดลองออกเป็นดังนี้

- ชุดควบคุม ปลูกพืชโดยใช้สารละลาย Hoagland's solution ในสูตรปกติ
- ชุดทดลอง ผสมน้ำสกัดชีวภาพ 4 สูตร ลงในสารละลาย Hoagland's solution ในอัตราส่วน 1:100, 1:500, 1:1000, 1:5000 และปุ๋ย NuGreen Black ของบริษัท นูกรีน จำกัด ตามอัตราที่แนะนำ ข้างฉลาก รวม 5 ชุดการทดลอง โดยแต่ละชุดการทดลอง โดยแต่ละชุดการทดลองทำการเติมสารละลายจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ระดับต่าง ๆ เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์ที่มีการปลูกเชื้อรา *Pythium*

5. การเก็บข้อมูลการทดลอง

5.1 การวิเคราะห์การเจริญเติบโต

5.1.1 ความสูงของต้น วัดความสูงของต้น ตั้งแต่บริเวณลำต้น ตั้งแต่บริเวณลำต้นด้านล่างเหนือรากขึ้นมา จนถึงยอดในช่วงเวลาทุก 3 วัน

5.1.2 จำนวนใบต่อต้น ตรวจนับจำนวนใบทุกใบต่อต้น ในช่วงเวลาทุก 7 วัน

5.1.3 น้ำหนักสด โดยถอนต้นพืชจากชุดรางปลูก และซับรากให้แห้ง นำไปชั่งหาน้ำหนักสด ด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้า ชนิดหยาบ ทศนิยม 2 ตำแหน่ง ในช่วงเวลาทุก 3 วัน

5.1.4 น้ำหนักแห้งต้น น้ำหนักแห้งราก และอัตราส่วนรากต่อต้น (root/shoot dry weight) โดยเก็บตัวอย่างพืชทั้งต้นแล้วแยกออกเป็นส่วนราก ลำต้น และใบ โดยนำต้นพืชที่ชั่งน้ำหนักสดมาแยกออกเป็นส่วนต่างๆ แล้วนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นนำออกมาชั่งหาน้ำหนักแห้งด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดหยาบ ทศนิยม 2 ตำแหน่ง ในช่วงเวลาทุก 3 วัน

5.2 ข้อมูลทางด้านการเกิดโรครากเน่าของพืช ได้แก่

- อาการโรคหรือความผิดปกติต่างๆ
- อัตราการเกิดโรคหรือเปอร์เซ็นการเกิดโรค โดยนับจำนวนต้นที่เป็นโรค ต้นที่แสดงอาการผิดปกติมาเปรียบเทียบเป็นเปอร์เซ็นกับจำนวนต้นทั้งหมด ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค} = \frac{\text{จำนวนต้นที่เป็นโรค} \times 100}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}}$$

-ความรุนแรงของการเกิดโรค เก็บทุก 3, 5, 7 วันหลังการปลูกเชื้อ การประเมินความรุนแรงของการเกิดโรค คำนวณจาก

$$\text{ความรุนแรงของการเกิดโรค} = \frac{\text{ผลรวมของ(จำนวนต้นที่เป็นโรค} \times \text{ค่าระดับการเกิดโรค)}}{\text{จำนวนต้นพืชทั้งหมดที่ประเมิน}}$$

โดยที่ ค่าระดับการเกิดโรค มีดังนี้ 0 = พืชปกติ ไม่เป็นโรค รากพืชมีสีขาว

1 = รากพืชมีสีน้ำตาลแดง

2 = รากพืชมีสีน้ำตาลแดงถึงเน่า

3 = รากพืชมีอาการเน่า พืชแสดงอาการเหี่ยวชั่วคราว

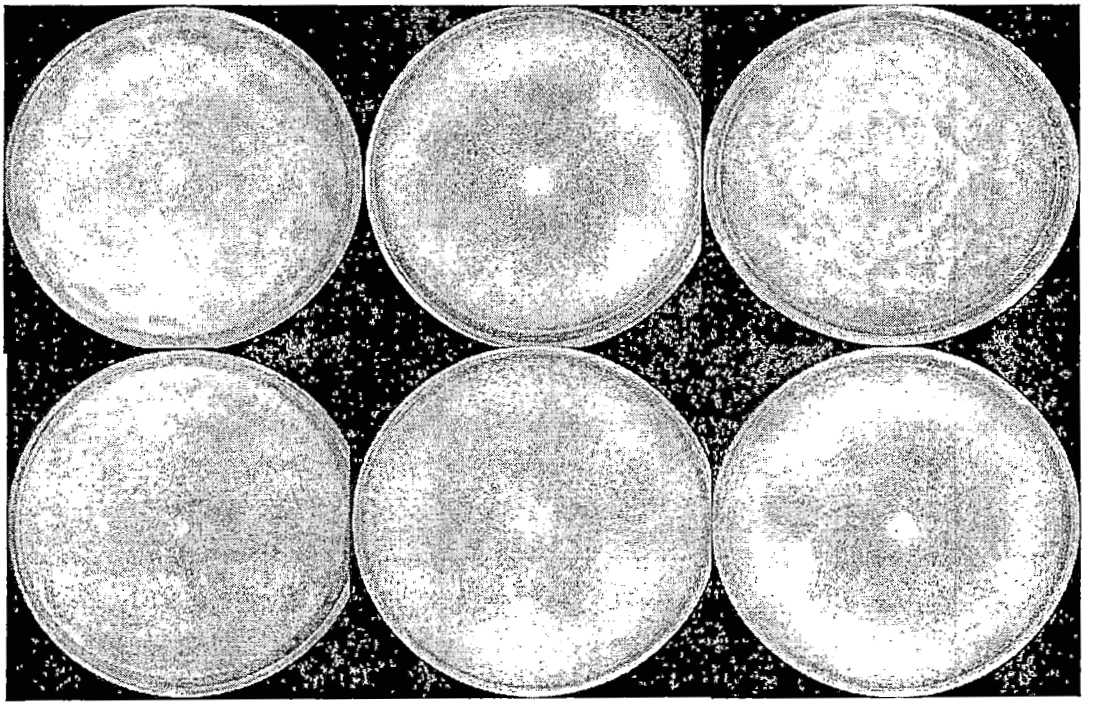
4 = รากพืชมีอาการเน่า หลุดออกจากถ้วยปลูก พืชแสดงอาการเหี่ยวถาวร

5 = พืชตาย

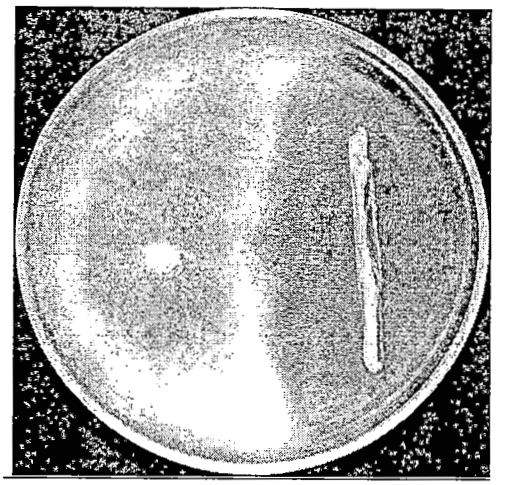
ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

1.1 การแยกเชื้อก่อโรครากเน่าในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินและการก่อโรคในสลัดกรีนโอ๊ด

จากการแยกเชื้อราสาเหตุโรคเกิดจากรากพืชที่มีอาการรากเน่าจากตัวอย่างที่เก็บจากฟอร์มไฮโดรโพรนิคส์แห่งหนึ่งในเขตกรุงเทพฯจำนวน 11 ตัวอย่าง แล้วทำการแยกเชื้อราก่อโรคโดยวิธีการแยกเชื้อจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค (tissue transplanting) สามารถแยกเชื้อได้จำนวน 11 ไอโซเลต เมื่อนำมาทดสอบการเกิดโรคของเชื้อราดังกล่าวกับผักสลัดกรีนโอ๊ด ในระบบปลูกพืชแบบไฮ่อโดโพรนิกส์ระบบ DFT และสูตรสารละลาย Hoasland 's Solutium (half strength) พบว่า เชื้อราก่อโรคทุกไอโซเลตทำให้สลัดกรีนโอ๊ตที่ปลูกในระบบปลูก DFT เกิดโรคได้ในเวลา 2 สัปดาห์ หลังการปลูกเชื้อในอัตรา 10^8 proplasule/มิลลิลิตร จำนวน 200 มิลลิลิตร/ราก เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้ปลูกเชื้อก่อโรคลงในระบบปลูก โดยพบว่าก่อโรคไอโซเลต GS-4 ทำให้เกิดโรครากเน่าในผักสลัดกรีนโอ๊ดสูงสุดๆถึงร้อยละ 100 ส่วนเชื้อราไอโซเลตอื่นสามารถก่อโรคได้ระหว่างร้อยละ 6.7 ถึง ร้อยละ 92.2 ในระดับความเข้มข้นของเชื้อราก่อโรคที่เท่ากัน ดังแสดงผลในตารางที่ 1 โดยจะสังเกตเห็นรากพืชที่ป่วนโรคจะเปลี่ยนจากสีขาวเป็นสีน้ำตาลหรือดำ ผิวรากลอกออกมาได้ง่าย และรากขาดหรือหลุดออกมาได้ง่าย และบางต้นที่เป็นโรคพบว่ามีอาการเน่าที่โคนต้นด้วย



ภาพที่ 2 เชื้อรา *Pythium* spp. ที่คัดแยกได้จากระบบการปลูกพืชแบบไฮโดรโพรนิคส์



ภาพที่ 3 การทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรค *Pythium* ด้วยวิธี Dual culture test

ตารางที่ 1 ร้อยละการเกิดโรครากเน่าในผักสลัดกรีนโอ๊ดที่ปลูกและแบบไฮโดรโพรนิกส์ระบบ DFT จากการปลูกเชื้อราก่อโรคไอโซเลตต่างๆในอัตรา 10^8 propagule/ml จำนวน 200 มิลลิลิตร/ราก

เชื้อราก่อโรค	ค่าเฉลี่ยร้อยละการเกิดโรค*
RA-1	20.0 f
RA-1	33.3 e
RA-1	6.7 g
RA-1	33.3 e
RA-1	86.7 bc
GS-1	80.0 d
GS-2	81.1 cd
GS-1	80.0 d
GS-1	100.0 a
RA-1	75.6 d
RN-2	92.2 b
ชุดควบคุม (ไม่ปลูกเชื้อ)	0 h

*ค่าเฉลี่ยร้อยละการเกิดโรคที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P \leq 0.05$

เมื่อทำการวัดการเจริญเติบโตของผักสลัดกรีนโอ๊ค พบว่า เชื้อราก่อโรคเกือบทุกไอโซเลตที่แยกได้ทำให้มวลชีวภาพของผักกาดกรีนโอ๊คลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับการปลูกผักสลัดกรีนโอ๊คที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อก่อโรคไอโซเลต G5-4 ทำให้การเจริญของผักสลัดกรีนโอ๊คลดลงมากที่สุดทั้งในส่วนของลำต้นและส่วนของราก ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของส่วนลำต้น และรากของผักสลัดกรีนโอ๊คที่ปลูก ในแบบไฮโดรโพรนิกส์ระบบ DFT ที่มีการปลูกเชื้อราก่อโรคไอโซเลตต่างๆในอัตรา 10^8 propagule/ml จำนวน 200 มิลลิลิตร/ราก ปลูกพืชเป็นเวลา 21 วัน

เชื้อราก่อโรค	น้ำหนักสด ส่วนลำต้น (กรัม/ต้น)	น้ำหนักสด ส่วนราก (กรัม/ต้น)	น้ำหนักแห้ง ส่วนลำต้น (กรัม/ต้น)	น้ำหนักแห้ง ส่วนราก (กรัม/ต้น)
RA-1	70.3±4.0g[x]	10.8±0.3g	6.4±0.3f	1.10±0.05e
RA-2	68.2±3.2f	10.5±0.5f	6.2±0.3e	1.05±0.04d
RA-2	74.9±2.4h	11.5±0.3h	6.9±0.4g	1.15±0.04f
RA-4	59.0±3.2e	8.7±0.3e	5.8±0.4d	1.00±0.04c
RA-5	48.3±2.8b	8.0±0.2b	5.7±0.6b	0.95±0.05b
GS-1	57.9±3.7e	8.7±0.3e	5.8±0.3d	0.99±0.05c
GS-1	51.3±2.9c	8.1±0.3c	5.7±0.3c	0.96±0.06b
GS-3	54.2±5.4d	8.7±0.3c	5.7±0.3c	0.96±0.06b
GS-4	43.3±2.6a	7.8±0.4a	5.6±0.4a	0.91±0.06a
RN-1	58.7±1.8e	8.7±0.3e	5.8±0.3d	1.00±0.04c
RN-1	44.3±2.4a	7.8±0.2a	5.6±0.3a	0.92±0.03a
ชุดควบคุม (ไม่ปลูกเชื้อ)	75.2±3.4h	11.5±0.4	7.0±0.3g	1.15±0.06f

*ค่าเฉลี่ยที่ความดันตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P \leq 0.05$

จากผลการทดลองที่แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของผักสลัดกรีนโอ๊คที่ปลูกในแบบไฮโดรโพรนิกส์ในระบบ NFT จะเห็นได้ว่าในกรรมวิธีที่ไม่ได้ปลูกเชื้อมีต้นพืชปกติที่มีการเจริญเติบโตดีกว่าต้นที่เป็นโรค ต้นที่เป็นโรครากเน่าแสดงอาการแคระแกร็นอย่างเห็นได้ชัด และมีอาการรากเน่าดังกล่าวยังไม่ทำให้ผักสลัดกรีนโอ๊คถึงขั้นตาย แสดงให้เห็นว่าอาการรากเน่ามีผลโดยตรงต่อมวลชีวภาพของผักสลัดกรีนโอ๊ค ดังนั้นการควบคุมไม่ให้เชื้อราก่อโรคแพร่ระบาดเข้ามาในโรงเรือนปลูกพืชจึงมีความสำคัญต่อกระบวนการปลูกพืช โดยเฉพาะระบบการปลูกพืชแบบไฮดรโพรนิกส์มีการจำสารส่งสารอาหารจากแหล่งเดียวกัน หากมีการปนเปื้อนของเชื้อก่อโรคในระบบจะทำให้เกิดการแพร่กระบาดของโรคได้อย่างรุนแรงและรวดเร็ว อีกทั้งการปลูกพืชแบบไฮโดรโพรนิกส์นั้น รากพืชจะสัมผัสโดยตรงกับสารละลายอาหาร ทำให้โอกาสที่เชื้อก่อโรคเข้าไปทำลายระบบรากของพืชได้ง่ายขึ้นอีกด้วย

2. การหาปริมาเชื้อราก่อโรคที่ทำให้เกิดโรคเน่าในผักสลัดกรีนโอ๊ด

การจำแนกเชื้อราก่อโรค

จากผลการทดลองในตารางที่ 1 และตารางที่ 2 แสดงให้เห็นว่า เชื้อราก่อโรคไอโซเลต G5-4 สามารถทำให้เกิดโรคได้มากและรุนแรงที่สุด ในผักสลัดกรีนโอ๊ด เมื่อเทียบกับเชื้อราก่อโรคไอโซเลตอื่น เมื่อนำเชื้อราก่อโรคไอโซเลต G5-4 มาทำการจัดจำแนกเบื้องต้นโดยอาศัยลักษณะทางสัญฐานวิทยา พบว่า เป็นเชื้อราสกุล *Pythium* มีลักษณะเส้นใยแบบไม่มีผนังกั้น เส้นใยขาวฟูซ้อนกันคล้ายกลีบกุหลาบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ลักษณะจากการจัดจำแนกเบื้องต้นนี้ยังไม่สามารถระบุชนิด (species) ของเชื้อราก่อโรคไอโซเลตนี้ได้ เนื่องจากยังไม่พบการสร้างโครงสร้างสืบพันธ์ แบบอาศัยเพศ ดังนั้นควรมีการศึกษาอย่างละเอียดมากยิ่งขึ้น โดยอาจใช้เทคนิคทางดีเอ็นเอมาใช้ในการจัดจำแนกในโอกาสต่อไปแต่อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าเชื้อรา *Pythium* หลายชนิดสามารถก่อโรครากเน่าในพืชตระกูลผักที่ปลูกในระบบไฮโดรโพรนิกส์ ได้แก่ *P. aqhanidermatum*, *P. myriotylum* และ *P. ultimum* โดยเชื้อราก่อโรคดังกล่าวอาจจะมีการดำรงชีพแบบ facultative parasite ซึ่งปกติแล้วอาจจะมีการปนเปื้อนอยู่ในระบบปลูกแต่ไม่ก่อโรคกับพืช แต่สามารถก่อให้เกิดโรคในพืชได้หากสภาวะเหมาะสม ดังนั้นจึงได้มีการหาปริมาณเชื้อเริ่มต้นของเชื้อราก่อโรค *Pythium* ไอโซเลต G5-4 ที่จะมีผลต่อการเจริญของผักกาดกรีนโอ๊ด เพื่อเป็นแนวทางในการควบคุมโรคไม่ให้มีการแพร่ระบาดในระบบปลูกและทำความเสียหายแก่พืช

จากการทดลองปลูกพืชผักสลัดกรีนโอ๊ดในการปลูกไฮดดรโพรนิกส์ระบบ DFT โดยใช้สารละลายธาตุอาหาร Hoaglandes solution (half strength) แล้วปลูกเชื้อจากส่วนของเส้นใย (mycelium segments) ของเชื้อรา *Pythium* ไอโซเลต G5-4 ใส่ผ่านการปลูกพืชผักสลัดกรีนโอ๊ด และอัตราตั้งแต่ 10-10^9 propagule/มิลลิลิตร จำนวน 200 มิลลิลิตร/ราก พบว่า ระดับความหนาแน่นของเชื้อก่อโรคที่ 10^3 และ 10^4 propagule/มิลลิลิตร ขึ้นไปทำให้มวลชีวภาพทั้งในส่วนของน้ำหนักสดของรากและลำต้นของผักกาดกรีนโอ๊ดลดน้อยลงตามลำดับเมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของส่วนลำต้นและรากของสลัดกรีนโอ๊ดที่ปลูกแบบไฮโดรโพนิกส์ระบบ DFT ที่มีการเติมเชื้อรา *Pythium* ไอโซเลต G5-4 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เมื่อพืชมีอายุ 21 วัน

ความเข้มข้น (proplasule/มิลลิลิตร)	น้ำหนักสด ส่วนลำต้น (กรัม/ต้น)	น้ำหนักสด ส่วนราก (กรัม/ต้น)	น้ำหนักแห้ง ส่วนลำต้น (กรัม/ต้น)	น้ำหนักแห้ง ส่วนราก (กรัม/ต้น)
10^9	4.9±1.09[x]	1.7±0.4a	3.9±0.5a	0.66±0.06a
10^8	17.7±6.3b	3.5±0.9b	4.5±0.7b	0.83±0.08b
10^7	29.7±6.5c	6.7±1.2c	5.5±0.7c	1.00±0.08c
10^6	53.7±8.6d	8.1±1.2d	6.0±0.6d	1.07±0.10c
10^5	59.6±13.2e	10.1±1.9e	6.6±0.7e	1.07±0.13c
10^4	62.4±10.0e	10.5±1.3e	6.6±0.7e	1.15±0.22d
10^3	76.4±8.4f	10.8±1.1e	6.8±0.5ef	1.16±0.10d
10^2	78.1±7.9f	11.9±1.4f	6.8±0.5ef	1.19±0.10de
10	80.5±7.0f	12.0±1.6f	7.1±0.7f	1.25±0.10ef
ไม่ใส่เชื้อ	81.7±7.3f	12.2±0.9f	7.8±1.0g	1.29±0.12f

*ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P \leq 0.05$

จากการทดลองในตารางที่ 4 แสดงให้เห็นว่าเชื้อราก่อโรค *Pythium* ไอโซเลต G5-4 ที่ระดับความเข้มข้นต่ำมากกว่า (10^3 propagule/มิลลิลิตร) ไม่ได้ก่อให้เกิดความเสียหายต่อมวลชีวภาพในส่วนของน้ำหนักสดของลำต้นและรากของผักสลัดกรีนโอ๊ดเมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ได้ปลูกเชื้อลงไปในระบบ แสดงให้เห็นว่าการควบคุมปริมาณเชื้อก่อโรคในระบบปลูกให้อยู่ในปริมาณต่ำๆหรือไม่มีเลยจะทำให้พืชไม่เกิดโรค ดังนั้นการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์มาควบคุมให้ประชากรของเชื้อสาเหตุโรคพืชในระบบปลูก จึงน่าจะมีส่วนทำให้ผักสลัดกรีนโอ๊ดไม่เกิดโรคหรือแม้แต่เกิดโรคก็ไม่ได้ทำให้ผลผลิตเสียหายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3. การคัดเลือกและการศึกษาประสิทธิภาพสายพันธ์แบคทีเรียปฏิปักษ์จากระบบการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Pythium*

จากการแยกเชื้อแบคทีเรียจากรากพืชที่ปลูกในแบบไฮโดรโพรนิกส์ระบบ NFT โดยแยกจาก 3 บริเวณ คือ จากบริเวณรากทั้งหมดผิวราก (rhizoplane) และด้านในของราก โดยคัดเลือกมาอย่างละ 50 โคโลนีแล้วทำการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญขของเส้นใยเชื้อราก่อโรค *Pythium* ไอโซเลต G5-4 ได้มากกว่าร้อยละ 30 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ด้วยวิธี dual culture พบว่ามีแบคทีเรียที่แยกได้จากบริเวณรากทั้งหมด สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราก่อโรคได้มากที่สุดจำนวน 13 ไอโซเลต (ร้อยละ 26) ส่วนแบคทีเรียที่แยกจากบริเวณผิวรากและด้านในของรากมีจำนวนอย่างละ 3 ไอโซเลต (ร้อยละ 6) ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ โดยแบคทีเรียไอโซเลต GE-1 ที่แยกได้จากส่วนด้านในของราก สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราก่อโรคได้สูงสุดที่ร้อยละ 47.5 ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่แยกได้ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราก่อโรค *Pythium* ไอโซเลต Gs-4 โดยวิธี dual culture บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

แบคทีเรีย	บริเวณที่แยกได้	การยับยั้งการเจริญของเส้นใย* (%)
BR-1	รากทั้งหมด	43.3±1.4be
BR-1	รากทั้งหมด	36.7±1.4efg
BR-1	รากทั้งหมด	43.3±1.4bc
BR-19	รากทั้งหมด	40.0±2.5cde
CR-1	รากทั้งหมด	35.8±2.9fg
CR-1	รากทั้งหมด	46.7±1.4ab
CR-10	รากทั้งหมด	30.8±1.4h
GR-8	รากทั้งหมด	39.2±1.4def
CR-10	รากทั้งหมด	38.3±2.9ef
GR-17	รากทั้งหมด	42.5±2.5cd
RR-9	รากทั้งหมด	33.3±1.4gh
RR-11	ราก	40.0±2.5cde
RR-11	ราก	44.2±3.8abc
BRH-11	ผิวราก	34.2±1.4gh
BRH-16	ผิวราก	33.3±3.8gh
CRH-3	ผิวราก	30.8±1.4h
CE-1	ในราก	44.2±1.4abc
CE-1	ในราก	47.5±2.5a
GE-3	ในราก	30.8±1.4h

*ค่าเฉลี่ยที่ความตามด้วยตัวอักษรเดียวกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P \leq 0.05$

4. การทดสอบใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ร่วมกับน้ำหมักชีวภาพในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดกรีนโอ๊ดที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* ไอโซเลต Gs-4 ในรูปแบบไฮโดรโพรนิกส์ระบบ DFT

จากการทลองใช้แบคทีเรียไอโซเลต GE-1 ที่แยกได้จากด้านในของรากพืชประเภทผักกาดใส่ลงไปในสารละลายธาตุอาหาร Hoagland 's solution (half strength) ที่มีการเติมน้ำหมักชีวภาพจากผักในอัตราส่วน 1:3000 ตามกรรมวิธีชุดการทดลองก่อนการปลูกเชื้อราก่อโรคลงไปเป็นระยะเวลา 7 วัน (เมื่อพืชมีอายุ 2 สัปดาห์) จากนั้นทำการประเมินการเจริญเติบโตของผักสลัดกรีนโอ๊ด และระดับความรุนแรงของโรค (disease severity) เมื่อปลูกพืชครบ 35 วัน (5 สัปดาห์) พบว่าผักสลัดกรีนโอ๊ดที่ปลูกโดยเติมน้ำหมักชีวภาพหรือมีการเติมแบคทีเรียปฏิปักษ์ในสภาวะที่ไม่มีเชื้อก่อโรคจะมีการเจริญเติบโตในรูปของน้ำหนักสดมากกว่าชุด

การทดลองที่มีการเติบเชื้อราก่อโรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 6 นอกจากนี้ยัง พบว่าการเติมน้ำหมักชีวภาพจากผักในอัตรา 1 : 3000 ลงในสารละลายธาตุอาหารทำให้การเจริญเติบโตในรูปน้ำหนักสดของผักสลัดกรีนโอ๊ดไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสารละลายธาตุอาหารที่ไม่เติบน้ำหมักชีวภาพ

ตารางที่ 6 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดในแต่ละชุดการทดลองที่มีการเติมน้ำหมักชีวภาพจากผักในการปลูกผักสลัดกรีนโอ๊ดที่ปลูกแบบไฮโดรโพนิกส์ระบบ NFT เมื่อพืชมีอายุ 35 วัน

กรรมวิธี	แบคทีเรีย GE-1[w]	*Pythium* GS-4[x]	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด[z](กรัม/ต้น)
ชุดควบคุม Hoaglandis	ไม่ใส่	ไม่ใส่	80.7±8.8a
น้ำหมักผัก 1:3000	ไม่ใส่	ไม่ใส่	78.4±6.7a
น้ำหมักผัก 1:3000	ไม่ใส่	ใส่	49.2±7.4b
น้ำหมักผัก 1:3000	ใส่	ไม่ใส่	76.2±10.2a
น้ำหมักผัก 1:3000	ใส่	ใส่	66.2±16.4ab

*อัตราการเติม 10^8 cfu/มิลลิลิตร จำนวน 200 มิลลิลิตร/ราก

y อัตราการเติม 10^6 propagule/มิลลิลิตร จำนวน 200 มิลลิลิตร/ราก

z ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเดียวกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P \leq 0.05$

จากการประเมินการเกิดโรคและความรุนแรงของโรคเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (เมื่อพืชมีอายุครบ 35 วัน) พบว่าผักสลัดกรีนโอ๊ดในทุกกรรมวิธีที่ไม่มีเชื้อรา *Pythium* ก่อโรคไม่มีอาการต้นเหี่ยวจากโรครากเน่า ส่วนในกรรมวิธีที่มีเชื้อราก่อโรค พบว่ามีการเกิดโรคแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกรรมวิธีที่มีการเติมแบคทีเรียปฏิปักษ์ลงในสารละลายธาตุอาหาร (เกิดโรคร้อยละ 24.42) และกรรมวิธีที่ไม่มีการเติมแบคทีเรียปฏิปักษ์ในสารละลายธาตุอาหาร (เกิดโรคร้อยละ 46.32) ส่วนการประเมินความรุนแรงของการเกิดโรคโดยการประเมินจากลักษณะสีของราก พบว่า ระดับความรุนแรงของโรคมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างการเติมหรือไม่เติมเชื้อราก่อโรค *Pythium* GS-4 ลงในสารละลายธาตุอาหาร และยังพบว่าการเติมแบคทีเรียปฏิปักษ์ GE-1 ในสภาวะที่มีเชื้อราก่อโรคในระบบปลูกสามารถลดระดับความรุนแรงของโรคได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ได้เติมแบคทีเรียปฏิปักษ์ ดังแสดงผลการทดลองในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ร้อยละการเกิดโรคและระดับความรุนแรงของโรครากเน่าในผักสลัดกรีนโอ๊ดในกรรมวิธีต่างๆ ที่ปลูกแบบไฮโดรโพนิกส์ระบบ DFT เก็บเกี่ยวเมื่อพืชมีอายุ 21 วัน

กรรมวิธี	แบคทีเรีย GE-1[w]	*Pythium* GS-4[x]	การเกิดโรค[y] (%)	ความแรงของโรค (ระดับ 0-5)
ชุดควบคุม	ไม่ใส่	ไม่ใส่	0 c[z]	0.3±0.1c
น้ำหมักผัก 1:3000	ไม่ใส่	ไม่ใส่	0 c	0.4±0.1c
น้ำหมักผัก 1:3000	ไม่ใส่	ใส่	46.2±8.1a	3.8±0.8a
น้ำหมักผัก 1:3000	ใส่	ไม่ใส่	0 c	0.4±0.1c
น้ำหมักผัก 1:3000	ใส่	ใส่	24.5±4.2b	2.4±0.9b

[w] อัตราการเติม 10^8 cfu/มิลลิลิตร จำนวน 200 มิลลิลิตร/ราก

[x] อัตราการเติม 10^6 propagule/มิลลิลิตร จำนวน 200 มิลลิลิตร/ราก

[y] ความรุนแรงโดยประเมินจากความรุนแรงดังนี้ 0 = พืชปกติมีรากขาว ; 1 = รากพืชมีสีน้ำตาลแดง ; 2 = รากพืชมีสีน้ำตาลแดงและเน่า ; 3 = รากมีสีน้ำตาลเข้ม รากเน่า ต้นเหี่ยว ชั่วคราว ; 4 = รากพืชมีสีน้ำตาลเข้มมาก รากเน่า ต้นเหี่ยวถาวร ; 5 = พืชตาย

[z] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเดียวกันในแต่ละคอลัมน์ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $P \leq 0.05$

จากการประเมินการเกิดโรคและระดับความรุนแรงของโรค พบว่า มีความเป็นไปในทิศทางเดียวกัน คือ เชื้อราก่อโรค *Pythium* ไอโซเลต GS-4 ให้เกิดโรคกับผักสลัดกรีนโอ๊ด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และการเติมแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลต GE-1 มีแน้วโน้มว่าสามารถลดการเกิดโรค และลดความรุนแรงของโรค ได้ แสดงให้เห็นว่า น่าจะมีความเป็นไปได้ ในการนำเอาแบคทีเรียปฏิปักษ์มาใช้ในการควบคุมโรครากเน่า ในการปลูกพืชแบบไฮโดรโพนิกส์ระบบ NFT แต่อย่างไรก็ตาม ควรจะมีการศึกษาถึงปริมาณที่เหมาะสม ของแบคทีเรียปฏิปักษ์ ที่เติมเข้าไปในระบบปลูก เนื่องจาก หากมีการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์มากเกินไป อาจจะก่อให้เกิดผลเสียต้องการเจริญของพืชได้ ซึ่งได้เคยมีรายงานไว้ในงานวิจัยหลายงานที่ได้ระบุถึง ผลกระทบของการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพ เช่น การใช้ *Trichoderma harzianum* ในในปริมาณความเข้มข้นสูงเกินไป อาจจะทำให้เกิดความระคายเคืองต่อระบบรากของพืชได้ เนื่องจากการปลูกพืชแบบไฮโดรโพนิกส์นั้น รากพืชอยู่ในสภาพไม่มีสิ่งปกคลุม (bare root) จึงทำให้รากพืชสัมผัสกับสารละลายธาตุอาหารและตัวเซลล์ของแบคทีเรียปฏิปักษ์โดยตรง

สรุปผลการทดลอง

1. จากการแยกเชื้อราก่อโรครากเน่าจากรากสลัดที่ปลูกแบบไฮโดรโพนิกส์ สามารถแยกได้ 11 ไฮโซเลต และทุกไอโซเลตสามารถทำให้ผักสลัดกรีนโอ๊ดเกิดโรคได้ โดยเชื้อราก่อโรคไอโซเลต GS-4 มีความสามารถก่อให้เกิดโรคมากที่สุด เมื่อจัดจำแนกเบื้องต้นโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา สามารถจำแนกได้เป็นเชื้อรา *Pythium* sp.

2. การศึกษาหาปริมาณเริ่มต้นเชื้อราก่อโรครากเน่า *Pythium* sp. ไอโซเลต GS-4 ที่ก่อให้เกิดโรครากเน่าในผักสลัดกรีนโอ๊ต พบว่า เชื้อราก่อโรค *Pythium* sp. ไอโซเลต GS-4 ที่ระดับความเข้มข้น 10^4 propagule/มิลลิลิตร ขึ้นไปสามารถก่อให้เกิดความเสียหายต่อการเจริญของพืชในด้านของน้ำหนักสดของส่วนต้น ส่วนความเสียหายต่อระบบรากพืชพบว่าปริมาณของเชื้อที่ 10^3 propagule/มิลลิลิตรเป็นระดับเริ่มต้นที่ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของรากผักสลัดกรีนโอ๊ด ระดับความเข้มข้นของเชื้อราก่อโรคมีความสัมพันธ์โดยตรงต่อการเจริยเติบโตของพืช ดังนั้น การจัดการโรครากเน่าจึงควรมุ่งเน้นที่การควบคุมไม่ให้เชื้อราก่อโรคอยู่ในระดับที่ก่อให้เกิดความเสียหายแก่พืชที่ปลูก

3. แบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลต GE-1 ที่แยกได้จากส่วนด้านในของรากผักกาดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราก่อโรค *Pythium* sp. ไอโซเลต GS-4 มากที่สุดโดยสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราก่อโรคบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ได้สูงสุดถึงร้อยละ 47.5

4. มีความเป็นไปได้ในการใช้น้ำหมักชีวภาพจากพืชในอัตราส่วน 1:3000 ในสารละลายธาตุอาหาร Hoagland ‘s solution (half strength) ทั้งในด้านส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและการทดสอบการเกิดโรครากเน่า พบว่า น้ำหมักชีวภาพจากพืชไม่มีผลเสียต่อการเจริญของผักสลัดกรีนโอ๊ด และน่าจะมีความป็นไปได้ในการนำเอาแบคทีเรียปฏิปักษ์มาใช้ในระบบการปลูกผักสลัดกรีนโอ๊ดที่ใช้น้ำหมักชีวภาพจากพืชมาร่วมด้วย แบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลต GE-1 สามารถลดการเกิดโรคและระดับความรุนแรงของโรครากเน่าได้ แต่ในด้านของการเจริญเติบโตของผักสลัดกรีนโอ๊ดยังไม่ชัดเจน ดังนั้นการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดกรีนโอ๊ดจึงน่าจะเป็นทางเลือกในการลดการใช้สารเคมีกำจัดโรคพืชในการปลูกพืชแบบไฮโดรโพนิกส์

เอกสารอ้างอิง

คิม ซากัสส์. 2542. ปุ๋ยชีวภาพ : ธรรมชาติที่แสนบริสุทธิ์. เกษตรใหม่สีสันชีวิตไทย. 21 : 46-49.

ชลธิชา วิเชียรและธัญพิสิษฐ์ พวงจิก. 2548. ผลของสารละลายธาตุอาหารร่วมกับน้ำสกัดชีวภาพต่อการเจริญเติบโตของดาวเรืองฝรั่งเศสในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 13(3) : 53-62.

นันทนา อังคินันท์. 2526. ปฏิบัติการสรีรวิทยาของพืช. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ปรากรม ประยูรรัตน์และยุพา แดงหนองแปน. 2549. ผลความเข้มข้นของน้ำสกัดชีวภาพต่อการเจริญเติบโตของผักกาดขาว (*Brassica pekinensis*). วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา. 11(1) : 78-85.

วรรณลดา สุนันทพงศ์ศักดิ์. 2543. น้ำสกัดชีวภาพในความเห็นนักวิชาการ. วันที่สืบค้นข้อมูล 11 มกราคม 2553. เข้าถึงใน http;//www.kasetcity.com/data/articledetails.asp?GiD=238.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2548. สรีรวิทยาของพืช. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สมพร แซ่ลี้, จักรกฤษณ์ หอมจันทร์, เทพฤทธิ์ ตุลาพิทักษ์, นิวัติ เหลืองชัยศรี. 2547. การประชุมทางวิชาการเสนอผล งานวิทยานิพนธ์ ครั้งที่ 6 (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ). คณะศึกษาศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 87-88.

สุรีรัตน์ แซ่ลิ้ม. 2547. การศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตและปริมาณคลอโรฟิลล์ในผักบุ้งจีนที่รดด้วยน้ำน้ำปุ๋ยชีวภาพ และน้ำปุ๋ยยูเรีย. วันที่สืบค้นข้อมูลบทคัดย่อ 9 มกราคม 2553. เข้าถึงได้จาก http://dcms.thailis.or.th/dcms/basic.php/option=show&institute_code=3&bib=144&doc

อาณัฐ ตันโช. 2549. เกษตรธรรมชาติประยุกต์. กรุงเทพฯ: สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ.

Abdul Khalif, M., Abbai, K., and Hussain, T. 2005. Effect of integrated use of organic and inorganic nutrient sources with effective microorganisms (E.M.) on seed cotton yield on Pakistan. Bioresource Technology. 97: 967-972.

Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes isolated chloroplasts polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology. 24: 1-15.

Bates, M.L. 1984. Root Rot of Hydroponically Grown Spanich Caused by *Pythium aphanidermatum* and *P. dissotocum*. Plant Disease. 86(4): 989-991.

Berkelmann, B., Wohanka, W. and Wolf, G.A. 1992. Characterization of the bacterial flora in circulating nutrient solutions of a hydroponic system with rockwool. Acta Horticulturae. 361:372-389.

Grosch, R., Kofoet, A. and Junge, H. 2001. Biological control of root pathogens in soilless culture. Acta Horticulture. 548: 393-400.

Gul, A., Kdoglu, F., Tuzel, Y. and Tuzel, I.H. 2008. Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on nodulation of *Phaseolus vulgaris* L. are dependent on plant P nutrition. Spanish Journal of Agriculture Research. 6(3): 422-429.

Kamla, N., Limpinuntana, V., Ruaysoongnern, S., and Bell, R.W. 2008 Role of fermented bioextracts produced by farmers on growth, yield and nutrient contents in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) in Northeast Thailand. Biological Agriculture & Horticulture. 25(4): 353-368.

Lucy, M., Reed, E. and Glick, B.R. 2004. Application of free living plant growth-promoting rhizobacteria. Antonie van Leeuwenhoek. 86: 1-25.

Paulitz, T.C. 1997. Biological Control of Root Pathogens in Soilless and Hydroponic system. Hortscience. 32: 193-196.

Postma, J., Willemsen-de Klein, M.J.E.I.M. and van Elsas, J.D. 2000. Effect of the indigenous microflora on the development of root and crown rot caused by *Pythium aphanidermatum* in cucumber grown on rockwool. Phytopathology. 90: 125-133.

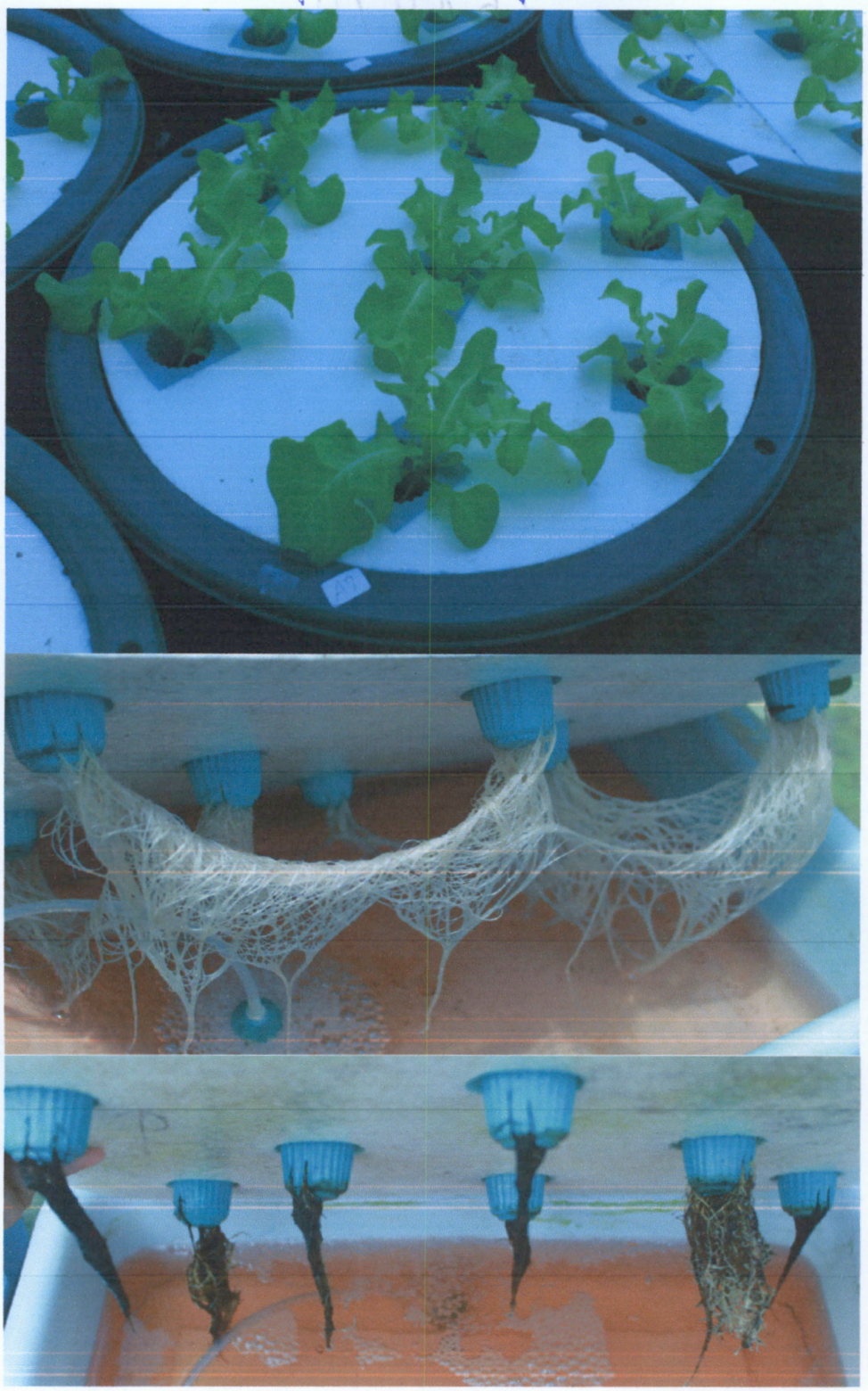
Rafin, C. and Tirilly, Y. 1995. Characteristics and pathogenicity of *Pythium* spp. Associated with root rot of tomatoes in soilless culture in Brittany, France. Plant Pathology. 44: 779-785.

Rankin, L. and Paulitz, T. C. 1994. Evaluation of rhizosphere bacteria for biological control of Pythium root rot of greenhouse cucumbers in hydroponic culture. Plant Disease. 78: 447-451.

Sena, M.M., Frighetto, S.T.S., Valarni, P.J., Tokeshi, H., and Poppi, R.J. 2002. Discrimination of management effects on soil parameters by using principle component analysis, a multivariate analysis case study. Soil and Tillage Research. 67: 171-181.

Utkhede, R.S., Kock, C.A. and Menzies, J.G. 1999. Rhizobacterial growth and yield promotion of cucumber plants inoculated with *Pythium aphanidermatum*. Canadian Journal of Plant Pathology, 21: 265-271.

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131



ภาพผนวก ถังปลูกพืชแบบไฮโดรโพรนิกส์ชนิด Deep flow technique (บน)
ลักษณะรากพืชปกติ (กลาง) และรากพืชที่เกิดโรครากเน่า (ล่าง)

632.4
ก191ก
ฉ.3

354870