สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานผลการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2542

เรื่อง

ผลของแคลเซียม ที่มีต่อการสืบพันธุ์โดยไม่ใช้เพศของเชื้อ *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. สาเหตุโรคโคนเน่ารากเน่า ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน

Effect of calcium on asexual reproduction of *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. Caused collar and root rot in hydroponics

โดย

นายพรหมมาศ คูหากาญจน์

RCH
SB
126.5
W293ร

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 37507
วัน, เดือน, ปี 14 ก.ย. 2543

ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กันยายน 2542

ผลของแคลเซียม ที่มีต่อการสืบพันธุ์โดยไม่ใช้เพศของเชื้อ *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. สาเหตุโรคโคนเน่ารากเน่า ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน

Effect of calcium on asexual reproduction of *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. caused collar and root rot in hydroponics

บทคัดย่อ

ทำการศึกษาผลของแคลเซียม ต่อขบวนการสืบพันธุ์โดยไม่ใช้เพศของเชื้อ *Pythium aphanidermatum* ในรูปของสารละลายแคลเซียม และการเพิ่มแคลเซียมลงไปในสารละลายธาตุอาหารที่ใช้ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ตลอดจนผลของแคลเซียมในอาหารเลี้ยงเชื้อ ผลการทดลองพบว่า สารละลายแคลเซียมไนเตรท และสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 1 mM ขึ้นไป มีผลทำให้การสร้าง sporangia การสร้าง vesicles และการปลดปล่อย zoospores ของเชื้อ *P. aphanidermatum* ลดลง เมื่อใช้สารละลายดังกล่าวเป็น release solution, สารละลายแคลเซียมในระดับตั้งแต่ 3 mM ขึ้นไป มีผลในการยับยั้งการสร้าง vesicle ได้สมบูรณ์ ทำให้ไม่มีการปลดปล่อย zoospore ในการเพิ่มแคลเซียมลงไปในสารละลายธาตุอาหาร ก็พบว่าถ้ามีการเพิ่มแคลเซียมลงไปในระดับที่สูงขึ้น จะมีผลต่อขบวนการสร้าง zoospore ของเชื้อ *P. aphanidermatum* เช่นกัน การเพิ่มแคลเซียมไนเตรทลงไปในสารละลายธาตุอาหารในระดับตั้งแต่ 300 ppm ขึ้นไป ไม่พบว่ามีการสร้าง zoospore ภายใน 24 ชั่วโมง การเพิ่มแคลเซียมลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อ ในระดับความเข้มข้น 1 – 3 mM มีผลในการกระตุ้นในเชื้อ *P. aphanidermatum* มีการสร้าง sporangia ได้มากขึ้น แต่พบว่าการปลดปล่อย zoospore จะน้อยลง และไม่พบว่ามีการปลดปล่อย zoospore เลยในระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 4 mM ขึ้นไป แคลเซียมยังมีผลต่อการเคลื่อนที่ (motility) โดยทำให้ zoospore ของเชื้อ *P. aphanidermatum* เข้าสู่ระยะฟักตัว (encysted) เร็วขึ้น จากการทดลองพบว่าสารละลายแคลเซียมในระดับความเข้มข้น ตั้งแต่ 1 mM มีผลทำให้ zoospore ของเชื้อดังกล่าวเข้าสู่ระยะฟักตัว (encysted) ทันที ส่วนในสภาพของสารละลายธาตุอาหาร การเพิ่มแคลเซียมไนเตรทลงไปในระดับ 2000 ppm หรือแคลเซียมคลอไรด์ในระดับ 3000 ppm ขึ้นไป จึงจะมีผลต่อ motility ของ zoospore

การเพิ่มแคลเซียมไนเตรทลงไปในสารละลายธาตุอาหารที่ใช้ในการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ในระดับ 1000 ppm มีผลในการลดความรุนแรงของโรคโคนเน่ารากเน่า ที่เกิดจากเชื้อ *P. aphanidermatum* ได้มากที่สุด โดยแคลเซียมจะมีผลโดยตรงต่อส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อดังกล่าวที่อยู่ในสารละลายธาตุอาหาร อย่างไรก็ตามในระดับความเข้มข้นนี้ อาจมีผลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของพืชได้ในระยะยาว การเพิ่มแคลเซียมไนเตรทลงไปในสารละลายธาตุอาหารในระดับ 500 ppm มีผลในการลดเปอร์เซ็นต์การตายลงประมาณ 50% โดยมีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าในระดับ 1000 ppm แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Abstract

Effect of calcium solution, calcium amendment in the nutrient solution and calcium in the culture media on asexual reproduction (sporangia formation, vesicles formation, zoospore release and zoospore motility) of *Pythium aphanidermatum* were investigated. The results showed that $Ca(NO_3)_2$ and $CaCl_2$ solution at the concentration 1 mM or higher reduced sporangia formation, vesicles formation and zoospore liberation. The concentration since 3 mM completely inhibited vesicle formation. Calcium amendment to the nutrient solution also effect on the process of zoospore production. Amendment of Ca $(NO3)_2$ at the concentration 300 ppm or higher into the nutrient solution, which used for release solution, effect on completely inhibit zoospore release during 24 hours after pour release solution. Addition calcium into the culture media at the concentration 1 – 3 mM seem to stimulate sporangia formation however, it effect did not the same line on vesicle formation and number of zoospores, by contrast at the concentration more than 4 mM of calcium (both $Ca(NO_3)_2$ and $CaCl_2$) presence in the culture media, zoospores cannot observed. For the zoospore motility the result was shown that all of zoospores encysted immediately when exposure to the calcium solution just only concentration 1 mM. However in the nutrient solution this effect can be observe when amendment $Ca(NO_3)_2$ or $CaCl_2$ at the concentration 2000 and 3000 ppm, respectively.

In the field study, amendment of $Ca(NO_3)_2$ into the nutrient solution for growing lettuce at the concentration 1000 ppm get the best result on reduced root rot disease caused by *P. aphanidermatum* however at this concentration may be long term effect to the plants. Amendment $Ca(NO_3)_2$ at the concentration 500 ppm reduced percentage of plant death around 50%, also the plant growth still higher than other inoculated treatments however did not significantly by means of statistic.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	i
สารบัญ	iii
สารบัญตาราง	iv
สารบัญแผนภูมิ	v
สารบัญภาพ	vi
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	5
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	12
เอกสารอ้างอิง	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงจำนวน sporangia ของเชื้อ *P. aphanidermatum* ใน release solution ที่เป็นสารละลายแคลเซียมไนเตรท ในระดับความเข้มข้นต่างๆ	12
2	แสดงจำนวน vesicle ของเชื้อ *P. aphanidermatum* ใน release solution ที่เป็นสารละลายแคลเซียมไนเตรท ในระดับความเข้มข้นต่างๆ	13
3	แสดงจำนวน sporangia ของเชื้อ *P. aphanidermatum* ใน release solution ที่เป็นสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ในระดับความเข้มข้นต่างๆ	15
4	แสดงจำนวน vesicle ของเชื้อ *P. aphanidermatum* ใน release solution ที่เป็นสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้นต่างๆ	16
5	แสดงผลของแคลเซียมไนเตรทในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการสร้าง sporangia, vesicle และ zoospores	22
6	แสดงผลของแคลเซียมคลอไรด์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ต่อการสร้าง sporangia, vesicles และ zoospores	23
7	แสดงผลของแคลเซียมไนเตรทในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการสร้าง sporangia, vesicle และ	24
8	แสดงจำนวนต้นสลัดที่แสดงอาการโรคโคนเน่ารากเน่า หลังจากทำการปลูกเชื้อ *P. aphanidermatum* เป็นเวลา 2 สัปดาห์	28
9	แสดงการเจริญเติบโตของต้นสลัด เมื่ออายุ 8 สัปดาห์	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญแผนภูมิ

แผนภูมิที่		หน้า
1	แสดงจำนวน sporangia ของเชื้อ *P. aphanidermatum* ที่ตรวจนับได้ภายใน 10 ชั่วโมง หลังเติม release solution ที่เป็นสารละลายธาตุอาหาร ที่มีระดับแคลเซียมต่างๆ	17
2	แสดงจำนวน vesicle ที่ตรวจนับได้ภายใน 10 ชั่วโมง หลังเติม release solution ที่เป็นสารละลายธาตุอาหาร ที่มีระดับแคลเซียมต่างๆ	17
3	แสดงจำนวน zoospore ที่ตรวจนับได้ที่ 24 ชั่วโมง หลังเติม release solution ที่เป็นสารละลายธาตุอาหาร ที่มีระดับแคลเซียมต่างๆ	18
4	แสดงจำนวน sporangia ของเชื้อ *P. aphanidermatum* ที่ตรวจนับได้ภายใน 10 ชั่วโมงหลังเติม release solution ที่เป็นสารละลายธาตุอาหาร ที่มีระดับแคลเซียมต่างๆ	20
5	แสดงจำนวน vesicle ที่ตรวจนับได้ภายใน 10 ชั่วโมง หลังเก็บ release solution ที่เป็นสารละลายธาตุอาหาร ที่มีระดับของแคลเซียมต่างๆ	20
6	แสดงจำนวน zoospore ที่ตรวจนับได้ที่ 24 ชั่วโมง หลังเก็บ release solution ที่เป็นสารละลายธาตุอาหาร ที่มีระดับแคลเซียมต่างๆ	21
7	ผลของแคลเซียมไนเตรทในสารละลายธาตุอาหาร ต่อการเคลื่อนที่ของ zoospore ของเชื้อ *P. aphanidermatum*	25
8	ผลของแคลเซียมคลอไรด์ในสารละลายธาตุอาหาร ต่อการเคลื่อนที่ของ zoospore ของเชื้อ *P. aphanidermatum*	26
9	ผลของความเข้มข้นของสารละลายธาตุอาหาร ต่อการเคลื่อนที่ของ zoospore ของเชื้อ *P. aphanidermatum*	26
10	ผลของแคลเซียมคลอไรด์ แคลเซียมไนเตรท และสารละลายธาตุอาหาร ที่ปราศจากแคลเซียมต่อการเคลื่อนที่ของ zoospore	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินที่ใช้ในการทดลอง	11
2	แสดงผลของสารละลายแคลเซียมไนเตรทที่มีต่อขบวนการสืบพันธุ์โดยไม่ใช้เพศของเชื้อ *P. aphanidermatum*	14
3	แสดงผลของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่มีต่อขบวนการสืบพันธุ์โดยไม่ใช้เพศของเชื้อ *P. aphanidermatum*	16
4	ต้นสลัด และรากของต้นสลัด ที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่มีการเพิ่มแคลเซียมไนเตรท ในระดับต่างๆ	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ในปัจจุบันหลายประเทศได้ให้การยอมรับว่าระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน เป็นระบบการปลูกพืชที่สามารถเพิ่มผลผลิตทางการเกษตรได้เป็นอย่างดี ทั้งทางด้านคุณภาพและปริมาณ เป็นระบบการปลูกพืชที่ใช้ปัจจัยการผลิตได้อย่างคุ้มค่า และมีประสิทธิภาพ ไม่ว่าจะเป็นในเรื่องของแรงงาน เนื้อที่เพาะปลูก และแหล่งน้ำ อีกทั้งยังเป็นระบบการปลูกพืชที่ส่งผลกระทบต่อสภาพแวดล้อมค่อนข้างน้อย ทั้งในเรื่องของการลดปริมาณการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช และการปลดปล่อยของเสียออกสู่สภาพแวดล้อม จนกล่าวได้ว่าระบบปลูกพืชแบบนี้ เป็นแนวทางหนึ่งในการพัฒนาการเกษตรให้ยั่งยืน (ถนิมนันต์, 2538; Resh, 1981; Douglas, 1988; Ikeda, 1989; Beniot and Ceustermans, 1986; Raffar, 1994; Takakura, 1994; Vanachter, 1995; Wilson, 1995) อย่างไรก็ตามการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินในประเทศไทย ในทางปฏิบัติยังเป็นเทคโนโลยีค่อนข้างใหม่ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่ต้องทำการศึกษาทดลอง ตลอดจนพัฒนาเทคนิคและวิธีการปฏิบัติต่างๆ ควบคู่กันไปเพื่อนำเทคโนโลยีดังกล่าวมาปรับใช้ให้เหมาะสม อย่างไรก็ตามจากการวิจัยที่ผ่านมาพบว่าปัญหาที่สำคัญประการหนึ่งของการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินก็คือ ปัญหาเรื่องโรคโคนเน่ารากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Pythium aphanidermatum* (พรหมมาศ และคณะ 2540a; 2540b) ซึ่งเชื้อชนิดนี้จะมีการแพร่กระจายได้เป็นอย่างดีในระบบหมุนเวียนสารละลายธาตุอาหาร โดยการสร้างสปอร์ที่เคลื่อนที่ได้เรียกว่า zoospores ซึ่งเกิดจากการสืบพันธุ์โดยไม่ใช้เพศ ดังนั้นในการป้องกันกำจัดเชื้อราในกลุ่มนี้ จึงมุ่งเน้นไปที่ zoospores และขบวนการสืบพันธุ์โดยไม่ใช้เพศเป็นสำคัญ ไม่ว่าจะเป็นการลดปริมาณ zoospores โดยการให้สารละลายธาตุอาหารผ่านเครื่องกรองจุลินทรีย์ (Goldberg *et al.*, 1992) หรือรังสีอุลตร้า-ไวโอเล็ท ก่อนที่จะนำไปให้แก่ต้นพืช (Stanghellini *et al.*, 1984) การทำให้ zoospores เกิดการสลายตัว (Gilbert *et al.*, 1990) ; Stanghellini *et al.*, 1996) ตลอดจนความพยายามในการที่จะทำให้ zoospore เคลื่อนที่เข้าหารากพืช หรือฝังตัวบริเวณรากพืชให้น้อยลง (Zhou and Paulitz, 1993; Morris and Gow, 1993; Donaldson and Deacon, 1993) แต่สิ่งหนึ่งที่น่าสนใจก็คือ ขบวนการหลายอย่างที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์โดยไม่ใช้เพศ ไม่ว่าจะเป็นการสร้างสปอร์ (sporulation) การปลดปล่อยสปอร์ (liberation) การเคลื่อนที่ของ zoospores (motility) ตลอดจนการเข้าสู่ระยะฟักตัว (encystment) จะเกี่ยวข้องกับแร่ธาตุบางตัวโดยเฉพาะอย่างยิ่งแคลเซียม (Riberio, 1983; Schmitthenner and canaday, 1983; Donaldson and Deacon, 1992; Deacon and Donaldson, 1993; Donaldson and Deacon 1993; Von Broembsen and Deacon, 1996; sharon *et al.*, 1997) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าในดินที่มีแคลเซียมสูงจะช่วยลดความรุนแรงของโรคที่เกิดจากเชื้อราในกลุ่มนี้ได้ (Pegg, 1977; Kao and Ko, 1986; Lin *et al.*, 1990) ดังนั้นจึงน่าจะมีการศึกษาทดลองถึงผลแคลเซียมที่มีต่อขบวนการสืบพันธุ์โดยไม่ใช้เพศของเชื้อ *P. aphanidermatum* เพื่อที่จะใช้เป็นแนวทางในการควบคุมเชื้อชนิดนี้ ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของแคลเซียมที่มีต่อขบวนการสืบพันธุ์โดยไม่ใช้เพศของเชื้อ *Pythium aphanidermatum*
2. เพื่อศึกษาผลของแคลเซียม ที่มีต่อการเกิดโรคโคนเน่ารากเน่า ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน
3. ศึกษาความเป็นไปได้ในการนำเอาแคลเซียมมาใช้ในควบคุมโรคโคนเน่ารากเน่า ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

Riberio (1983) ได้กล่าวไว้ว่า ขบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์โดยไม่ใช้เพศของเชื้อ *Phytophthora* เป็นขบวนการที่ซับซ้อนโดยจะเกี่ยวข้องกับ water potential สารอาหาร สเตอร์รอยด์ การระบายอากาศ แสง อุณหภูมิ แคทไอออนบางตัว เช่น Ca^{2+} Fe^{2+} Mg^{2+} K^{+} อายุของเชื้อ root exudates และ soil extract

Kao and Ko (1986) ได้ทดลองให้เห็นว่า conducive soil ที่เติม $CaCO_3$ ลงไป จะลดการเกิดโรคเน่าของคอดิน (damping off) ของต้นกล้าแตงกวาจาก 78 เปอร์เซ็นต์ เป็น 30 เปอร์เซ็นต์ และถ้าใช้ร่วมกับกากอัลฟ่าฟ่าด้วยการเกิดโรคจะลดลงเหลือเพียง 11 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่า $CaSO_4$ ก็ให้ผลในทำนองเดียวกับ $CaCO_3$

Donaldson and Deaeon (1992) ได้ทดลองพบว่าแคลเซียมอิออนจะมีผลต่อการยึดเกาะ (adhesion) และการงอก (germination) ของ encyst zoospores ของเชื้อ *Pythium* ในสองลักษณะด้วยกันคือ ในกรณีแรกจะทำให้ zoospores ที่เพิ่ง encyst อันเนื่องมาจากผลของแคลเซียม มีการงอกที่ห่างจากเป้าหมาย ส่วนอีกกรณีหนึ่ง zoospores ที่ encyst อยู่แล้วจะงอกค่อนข้างยาก ถ้าไม่มีการเติมแคลเซียม ผลดังกล่าวกลุ่มผู้วิจัยได้อธิบายว่าเกิดขึ้นจากระดับของแคลเซียม (Ca^{2+} -mediated cascade) ซึ่งไปกระตุ้นให้เกิดขบวนการดังกล่าว

Donaldson and Deacon (1993) ได้ทดลองถึงผลของแคลเซียมและเวชภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของแคลเซียม พบว่ามีผลต่อการเคลื่อนที่ของ zoospores ของเชื้อ *Pythium* ดังนี้ 1) แคทไอออนที่มีประจุสองบวก (divalent cation) เช่น Ca^{2+} Mg^{2+} และ Sr^{2+} ที่ระดับความเข้มข้น 500 ไมโครโมล จะทำให้ zoospores เคลื่อนที่เป็นวงกลม 2) EGTA (Ca^{2+} + chelator) จะทำให้ zoospores มีการเคลื่อนที่ไปในแนวตรงตลอด 3) A 22187 (Ca^{2+} + inophore) และ Amiloride จะทำให้ zoospores เคลื่อนที่ไม่เป็นปกติขยักไปขยักมา 4) Dibucaine และ Trifluoperazine จะทำให้ zoospores เคลื่อนที่ช้าลง และบิดเป็นเกลียว การเคลื่อนที่ทั้ง 4 แบบที่ได้กล่าวมาพบว่า zoospores ที่เคลื่อนที่เป็นวงกลมกับในแนวตรงตลอด จะไม่มีปรากฏการเคลื่อนเข้าหาสิ่งเร้าทางเคมี (chemotaxis) แต่อย่างใด

Deacon and Donaldson (1993) ได้มีการศึกษาถึงสิ่งที่ไปกระตุ้นให้เชื้อราในกลุ่ม zoosporic fingi มีการเข้าสู่ตำแหน่งที่ถูกต้องบนพืชอาศัย หรือวัสดุเป้าหมายได้สำเร็จ (homing respons) ซึ่งประกอบไปด้วยขบวนการต่างๆ อันได้แก่การเข้าสู่ระยะฟักตัว (encystment) การฝังตัว (cyst) การยึดเกาะ (adhesion) การงอก (germination) และการที่ germ tube งอกไปยังทิศทางที่ถูกต้อง (germtube tropism) ที่รวมเรียกขบวนการทั้งหมดว่า homing sequence กลุ่มผู้วิจัยได้พบว่าระยะที่เป็นกุญแจสำคัญก็คือระยะที่ zoospores จะเข้าสู่ระยะฟักตัว (encystment) ซึ่งจะก่อให้เกิดการยึดเกาะ และการแทงผ่านเข้าสู่พืชอาศัยโดยอัตโนมัติ ขบวนการนี้จะถูกชักนำให้เกิดขึ้นโดยระดับของแคลเซียมที่ไม่เท่ากัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Reid *et al.* (1995) กล่าวว่าการเข้ามารวมกันของ zoospore (autoaggregates) ของเชื้อ *Phytophthora palmivora*, *Pythium catenulatum* และ *Pythium dissotocum* เป็นผลมาจากการเคลื่อนที่เข้าหาสิ่งกระตุ้น ซึ่งเกี่ยวข้องกับสภาพความเป็นกรดด่าง และระดับแคลเซียม จากการศึกษาพบว่าขบวนการ autoaggregates ค่อนข้างที่จะมีลักษณะเฉพาะในแต่ละสปีชีส์ กล่าวคือ zoospores ของ *P. palmivora* จะไม่มารวมกับ *Pythium* ทั้งสองสปีชีส์ และในทำนองเดียวกัน zoospore ของ *P. catenulantum* ก็จะไม่มารวมกับ *P. palmivoua* นอกจากนี้ยังพบว่าที่บริเวณใจกลางที่ zoospores มารวมกันจะมีความต่างศักย์ของแคลเซียมอิออน ซึ่งเป็นผลทำให้ encyst zoospores เหล่านั้นงอก

Hoper and Alabouvette (1996) ได้มีการศึกษาถึงคุณสมบัติของดินในเรื่องทางกายภาพและทางเคมี ที่มีผลในการลดความรุนแรงของโรคที่เกิดจากเชื้อสาเหตุในดินชนิดต่างๆ ได้แก่ *Aphanomyces* sp., *Fusarium oxysporum, F. roseum, F. solani, Craeumannomyces graminis, Phytophthora* spp., *Plasmodiophora brassicae, Pythium* spp., *Rhizoctonia solani, sclerotium* spp., *Steptomyces Scabies, Thielaviopsis basicols* และ *Verticillium* spp. โดยปัจจัยหนึ่งที่ถูกนำมาศึกษาก็คือ ในเรื่องของแคลเซียม

Sharon *et al.* (1997) ได้ทดลองเติมแคลเซียมในรูปของ $CaCl_2$ หรือ $Ca(NO_3)_2$ ลงไปในน้ำและสารละลายธาตุอาหารที่ปราศจากแคลเซียม พบว่ามีผลต่อพฤติกรรมของ zoospores ของเชื้อ *Phytophthora parasitica* ในหลายระยะกล่าวคือ ระดับของแคลเซียมที่สูงขึ้นจาก 10 – 50 meq มีผลในการปลดปล่อย zoospore จาก sporangium (dicharged) และการเคลื่อนที่ของ zoospore ระดับของแคลเซียม 20 meq จะทำให้ zoospores เข้าสู่ระยะฟักตัว (encyst) ภายในเวลา 4 ชั่วโมง ส่วนในสารละลายที่ไม่เติมแคลเซียม zoospores ประมาณ 94 เปอร์เซ็นต์ ยังคงเคลื่อนที่ได้ตามปกติ จากผลดังกล่าว กลุ่มผู้วิจัยวิจารณ์ว่า ที่ระดับความเข้มข้น 10 – 30 meq จะเป็นระดับที่ทำให้ zoospre *ของ P. parasitica* encyst เร็วขึ้น เป็นผลทำให้งอกในขณะที่ยังห่างไกลจากเป้าหมาย และที่ระดับดังกล่าวจะไม่ทำให้เกิดการสร้าง zoospore ขึ้นมาใหม่ (diplanism) ส่งผลให้ลดการติดเชื้อที่บริเวณรากพืชลง และจากการทดสอบในต้นพืชก็พบว่า ในสารละลายธาตุอาหารที่มีการเติม $Ca(NO_3)_2$ 10 – 20 มิลลิกรัม จะช่วยลดการติดเชื้อ (infection) ของเชื้อดังกล่าวที่บริเวณรากลงไปได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 : การเตรียมเชื้อสาเหตุ

เชื้อ *P. aphanidermatum* ที่นำมาทดลอง ได้มาจากการแยกเชื้อจากส่วนของพืชที่เป็นโรค โคนเน่ารากเน่า ที่เกิดในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน จากนั้นจะถูกนำมาเพิ่มจำนวนให้เพียงพอ ในอาหาร PDA และทำการเก็บรักษาเชื้อให้มีชีวิตรอด (maintenance) ตามวิธีการของ Martin (1993)

ขั้นตอนที่ 2 : การศึกษาผลของแคลเซียม ที่มีต่อการสืบพันธุ์โดยไม่ใช้เพศของเชื้อ *P. aphanidermatum*

การทดลองที่ 1: ผลของแคลเซียม และแคลเซียมในสารละลายธาตุอาหารต่อขบวนการสร้าง zoospores

1.1 ผลของแคลเซียมใน release solution

ทำการศึกษาระดับของแคลเซียมใน release solution (น้ำกลั่น, น้ำกลั่น + $Ca(NO_3)_2$ หรือ $CaCl_2$ ระดับต่างๆ : สารละลายธาตุอาหาร, สารละลายธาตุอาหาร + $Ca(NO_3)_2$ หรือ $CaCl_2$ ระดับต่างๆ) ตามขั้นตอนต่างๆ ดังนี้

1) ทำการเตรียมสารละลายทดสอบ (release solution) ชนิดต่างๆ ได้แก่

- น้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว : Sterile distiled water (SDW)
- สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ : $CaCl_2$ ความเข้มข้น 1-5 mM
- สารละลายแคลเซียมไนเตรท : $Ca(NO_3)_2$ ความเข้มข้น 1-5 mM
- สารละลายธาตุอาหาร (S-culture®) ความเข้มข้น EC = 2 mS/cm
- สารละลายธาตุอาหาร + $CaCl_2$ ความเข้มข้น 100 – 500 ppm.
- สารละลายธาตุอาหาร + $Ca(NO_3)_2$ ความเข้มข้น 100 – 500 ppm.

2) ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ตัดโคโลนีของเชื้อ *P. aphanidermatum* ที่มีอายุ 5 วัน ย้ายลงไปในจานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาดเล็ก (เส้นผ่าศูนย์กลาง 6 เซนติเมตร) ที่มีอาหาร V8-broth (modified) จำนวน 3 มิลลิลิตรอยู่ บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 – 20 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดแพของเส้นใย (mycelial mat) รอบๆ ก้อนอาหารเลี้ยงเชื้อ

3) ใช้ dropper ดูดเอาอาหาร V8-broth ออกล้าง mycelial mat อีกครั้งด้วย SDW จากนั้นจึงใส่สารละลายทดสอบ (release solution) ชนิดต่างๆ ลงไปในจานอาหารเลี้ยงเชื้อจานละ 2 มิลลิลิตร บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4) ทำการตรวจนับ sporangia และ vesicle หลังจากใส่สารละลายทดสอบแล้ว เป็นเวลา 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 ชั่วโมง ตามลำดับ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยายต่ำ (100X) สุ่มนับจำนวน sporangia และ vesicle ต่อ field ในการสุ่มแต่ละครั้ง จะทำการสุ่มนับจำนวน 3 fields/1 plate ; จุดแรกที่ทำการสุ่ม จะได้แก่บริเวณขอบของ mycelial mat ขอบใดขอบหนึ่ง จุดที่ 2 จะเป็นขอบ mycelial mat ด้านตรงกันข้ามกับจุดแรก และจุดที่ 3 จะเป็นบริเวณกลาง mycelial mat ในแต่ละจุดที่จะทำการสุ่มนับ ก็จะทำการนับทั้งในส่วนของสารละลายที่อยู่ด้านบน และด้านล่าง จากนั้นจึงนำมาหาค่าเฉลี่ย จำนวน sporangia และจำนวน vesicles/fields

1.2 ศึกษาผลของแคลเซียมในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ทำการศึกษาถึงระดับของแคลเซียมในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการสร้าง sporangia, การสร้าง vesicle และการปลดปล่อย zoospore ตามขั้นตอนต่างๆ ดังนี้

1) ทำการเตรียมอาหารทดสอบชนิดต่างๆ ได้แก่

- V8 - agar (modified)
- 1 – 5 mM $CaCl_2$ ในอาหาร V8 - agar และ V8 - broth
- 1 – 5 mM $Ca(NO_3)_2$ ในอาหาร V8 – agar และ V8 - broth

2) ทำการย้ายเชื้อ *P. aphanidermatum* อายุ 5 วัน ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาดเล็ก ที่มี V8 – agar ผสมกับแคลเซียมระดับต่างๆ ตามที่เตรียมไว้ บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน

3) ทำการย้ายเชื้อจากข้อ 2 ลงในอาหาร V8 – broth (ที่มีระดับของแคลเซียมเท่ากับใน V8 – agar) บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 – 20 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดแพของเส้นใย (mycelial mat)

4) ใช้ dropper ดูด V8 – broth ออก ล้าง mycelial mat อีกครั้งด้วย SDW แล้วใส่น้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วลงไป plate ละ 2 ml. เพื่อกระตุ้นให้มีการปลดปล่อย zoospore บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 ชั่วโมง

5) ทำการตรวจนับจำนวน sporangia และจำนวน vesicles/field ที่เวลา 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 ชั่วโมง หลังใส่ release solution เช่นเดียวกับการทดลอง 1.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 2: ***ผลของสารละลายแคลเซียม และแคลเซียมในสารละลายธาตุอาหาร ต่อ zoospore : zoospore motility และ zoospore encystment)***

2.1 ผลของสารละลายแคลเซียม

ทำการศึกษาในสารละลายต่างๆ ได้แก่

- น้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว
- สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 1 – 5 mM.
- สารละลายแคลเซียมไนเตรท ความเข้มข้น 1 – 5 mM.

1) เตรียม zoospore suspension ของเชื้อ *P. aphanidermatum* โดยการใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ตัดโคโลนีของเชื้อที่มีอายุ 5 วัน ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อขนาดเล็ก ที่มีอาหาร V8 – broth (modified) จำนวน 3 ml. อยู่ (จำนวนที่เตรียมให้เพียงพอกับทรีตเมนต์ที่ต้องการจะศึกษา) บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงใช้ dropper ดูดเอา V8 – broth ออก ล้าง mycelial mat อีกครั้งด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นจึงใส่ release solution โดยใช้น้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วเติมลงไปในจานอาหารเลี้ยงเชื้อๆ ละ 2 ml. บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 – 6 ชั่วโมง เพื่อให้มีการปลดปล่อย zoospore หลังจากมีการปลดปล่อย zoospore แล้ว ให้เอา mycelial mat ออก zoospore suspension ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละจาน จะถูกนำไปทดสอบต่อไป

2) เตรียมสารละลายต่างๆ ดังนี้

- น้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว : (SDW)
- สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ : $CaCl_2$ ความเข้มข้น 3, 6, 9, 12 และ 15 mM
- สารละลายแคลเซียมไนเตรท : $Ca(NO_3)_2$ ความเข้มข้น 3, 6, 9, 12 และ 15 mM.

3) นำ zoospore suspension ที่ได้จากข้อ 1 ในแต่ละจานอาหารเลี้ยงเชื้อมาเติมสารละลายทดสอบที่ได้เตรียมไว้ (SDW, สารละลายแคลเซียนไนเตรท หรือสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 3, 6, 9, 12 และ 15 mM.) จานอาหารเลี้ยงเชื้อละ 1 ml. ซึ่งจะทำให้สารละลายสุดท้าย มีความเข้มข้นของแคลเซียมเท่ากับ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 mM ตามลำดับ จากนั้นจึงนำไปตรวจดูการเคลื่อนที่ของ zoospore ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยายต่ำ (40X) ที่ต่อกับเครื่องบันทึกภาพเคลื่อนไหว (VDO) ทำการสุ่มบันทึกภาพ zoospore ในแต่ละทรีตเมนต์ จำนวน 3 fields/จานอาหารเลี้ยงเชื้อ ทั้งบริเวณส่วนบนของสารละลาย (upper part) และส่วนล่างของสารละลาย (lower part) หลังจากทำการเติมสารละลายทดสอบแล้วในแต่ละชั่วโมง เพื่อนำมาตรวจนับ จำนวน zoospore ที่เคลื่อนที่ และที่เข้าสู่ระยะฟักตัว (encyst) ในภายหลัง ทำการสุ่มบันทึกจนกระทั่ง zoospore ส่วนใหญ่ในแต่ละทรีตเมนต์เข้าสู่ระยะฟักตัวเกือบหมด จึงหยุดบันทึกภาพ

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ห้ามทำซ้ำเพื่อการศึกษาค้นคว้า และอนุญาตให้ใช้ประโยชน์ในการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น โดยไม่ได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจากมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4) ทำการตรวจนับจำนวน zoospore/field, zoospore ที่เคลื่อนที่ และ zoospore ที่ encyst จากจอ moniter โดยการหยุดภาพ (Pause) ทำการนับจำนวน zoospore ทั้งหมด แล้วเล่นภาพทีละ frame เพื่อนับจำนวน zoospore ที่เคลื่อนที่

2.2 ผลของแคลเซียมในสารละลายธาตุอาหาร

ทำการศึกษาในสารละลายต่างๆ ได้แก่

- สารละลายธาตุอาหาร, EC = 2 mS/cm
- สารละลายธาตุอาหาร, EC = 3 mS/cm (ความเข้มข้นของแคลเซียมเท่าเดิม)
- สารละลายธาตุอาหาร, EC = 4 mS/cm (ความเข้มข้นของแคลเซียมเท่าเดิม)
- สารละลายธาตุอาหารที่เพิ่มความเข้มข้นของ $Ca(NO_3)_2$ เป็น 1000, 2000 และ 3000 ppm ตามลำดับ
- สารละลายธาตุอาหารที่เพิ่มความเข้มข้นของ $CaCl_2$ เป็น 1000, 2000 และ 3000 ppm ตามลำดับ

โดยมีวิธีการดังนี้

1) เตรียม zoospore suspension ของเชื้อ *P. aphanidermatum* เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1 แต่ใช้สารละลายธาตุอาหาร (culture-s®) ความเข้มข้น EC = 2 mS/cm เป็น release solution แทนน้ำกลั่น จำนวนที่เตรียมให้เพียงพอกับทรีตเมนต์ที่ต้องการศึกษา

2) เตรียมสารละลายต่างๆ ดังนี้

- สารละลายธาตุอาหาร (Nutrient solution : NS) ความเข้มข้น EC = 2 mS/cm โดยใช้ culture-s®) solution A และ solution B ($Ca(NO_3)_2$ มาอย่างละเท่าๆ กัน ผสมลงในน้ำ จากนั้นจึงปรับความเข้มข้นโดยใช้ EC-meter
- สารละลายธาตุอาหารที่ปราศจากแคลเซียม (NS-free Ca) ความเข้มข้น EC = 5 mS/cm โดยใช้ culture-s® Solution A อย่างเดียวผสมน้ำและปรับความเข้มข้น โดยใช้ EC-meter
- สารละลายธาตุอาหารที่ปราศจากแคลเซียม (NS-free Ca) ความเข้มข้น EC = 8 mS/cm
- สารละลาย $Ca(NO_3)_2$ ความเข้มข้น 3000, 6000 และ 9000 ppm
- สารละลาย $CaCl_2$ ความเข้มข้น 3000, 6000 และ 9000 ppm

3) เมื่อจะทดลองให้นำ zoospore suspension ที่ได้เตรียมไว้แล้วจากข้อ 1 ในแต่ละจานอาหารเลี้ยงเชื้อ มาเติมสารละลายต่างๆ ที่เตรียมไว้แล้วในข้อ 2 (NS-EC 2, NS free Ca-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

EC 5, NS free Ca-EC 8) จำนวน 1 ml. ก็จะทำให้สารละลายสุดท้ายมีค่า EC เท่ากับ 2, 3 และ 4 mS/cm ตามลำดับ ในทำนองเดียวกัน ถ้าจะทดสอบในสารละลายธาตุอาหารที่เพิ่มความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ หรือแคลเซียมไนเตรทเป็น 1000, 2000 และ 3000 ppm ก็ทำได้โดยเติมสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ หรือแคลเซียมไนเตรท ความเข้มข้น 3000, 6000 หรือ 9000 ppm จำนวน 1 ml. ตามลำดับ จากนั้นจึงนำไปตรวจดูการเคลื่อนที่ของ zoospore (zoospore motility) และบันทึกภาพ เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1

4) ทำการตรวจนับจำนวน zoospores/field, zoospore motility และ zoospore encysted เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1

ขั้นตอนที่ 3 : ผลของแคลเซียมต่อการเกิดโรคโคนเน่ารากเน่า ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน

ทำการศึกษาผลของการเติมแคลเซียมไนเตรทลงไปในสารละลายธาตุอาหาร ที่มีต่อการเกิดโรคโคนเน่ารากเน่า ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ดังวิธีการดังต่อไปนี้

1. การเตรียมระบบ ระบบที่ใช้ในการทดลอง เป็นระบบ NFT จำนวน 4 ชุด แต่ละชุด มีระบบการจ่ายสารละลายธาตุอาหารที่เป็นอิสระต่อกัน ใน 1 ระบบ สามารถทำการปลูกพืชได้ 16 ต้น ดังแสดงไว้ในภาพที่ 1

2. สารละลายธาตุอาหาร สารละลายธาตุอาหารที่ใช้ในการทดลอง ใช้สารละลายปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน Hydroponic nutrient : culture-s® (บริษัท Accent hydroponics ประเทศไทย) องค์ประกอบของแร่ธาตุอาหาร แสดงไว้ในภาคผนวก ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 stock solution, stock solution A เป็นสารละลายแคลเซียมไนเตรท stock solution B เป็นแร่ธาตุตัวอื่นๆ ที่เหลือ น้ำที่ใช้ในการทดลองนี้จะใช้น้ำกรองระบบ R.O. ซึ่งจะมีค่า pH = 6.0 ค่า EC = 0.02 mS/cm. การเตรียมสารละลายจำนวน 1 ลิตร จะใช้ stock solution A และ B จำนวนอย่างละ 2 ml. ซึ่งจะทำให้สารละลายสุดท้ายมีค่า EC = 2.0 mS/cm ค่า pH 5.8-6.0 การตรวจเช็คสารละลายจะกระทำสัปดาห์ละ 3 ครั้ง ทุกวัน และทำการปรับสารละลายใหม่เพื่อรักษาสภาพให้มีค่า pH และ EC อยู่ในช่วงดังกล่าว อย่างน้อยสัปดาห์ละ 1 ครั้ง

3. พืชที่ทดลอง ทำการเพาะกล้าต้นสลัด (lettuce) ลงในถาดเพาะที่มีเพอร์ไรท์เป็นวัสดุปลูก ดูแลรดน้ำจนกระทั่งงอก เมื่อต้นกล้ามีอายุได้ประมาณ 10 วัน จึงทำการย้ายลงในระบบปลูกที่ได้เตรียมไว้ ให้สารละลายที่มีค่า EC = 2.0 mS/cm ค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 5.8-6.0 เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จึงเข้าสู่แผนการทดลอง

4. เมื่อต้นสลัดมีอายุได้ 5 สัปดาห์ จึงเข้าสู่แผนการทดลองโดยทำการปรับเปลี่ยนสารละลายดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระบบที่ 1 ให้สารละลายความเข้มข้นปกติ (pH = 5.8 ; EC = 2.0 mS/cm) และจะทำการปลูกเชื้อ

ระบบที่ 2 ให้สารละลายความเข้มข้นปกติที่เพิ่มแคลเซียมไนเตรท 500 ppm และทำการปลูกเชื้อ

ระบบที่ 3 ให้สารละลายความเข้มข้นปกติ ที่เพิ่มแคลเซียมไนเตรท 1000 ppm และทำการปลูกเชื้อ

ระบบที่ 4 ให้สารละลายความเข้มข้นปกติ (pH = 5.8 EC = 2.0 mS/cm) ไม่มีการปลูกเชื้อ

ทำการให้สารละลายธาตุอาหาร ในระดับความเข้มข้นดังกล่าว เป็นเวลา 2 สัปดาห์ จึงทำการปลูกเชื้อ (inoculation)

5. ทำการปลูกเชื้อโดยใช้ mycelia mat 2.0 ของเชื้อ *P. aphanidermatum* สาเหตุโรคโคนเน่ารากเน่าในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ที่เตรียมขึ้นโดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 cm ตัดโคโลนีของเชื้อดังกล่าว ที่มีอายุ 7 วัน วางลงบนอาหาร V8-borth บ่มเชื้อไว้ 24 ชั่วโมง เพื่อให้เกิด mycelia mat ของเชื้อ *P. aphanidermatum* จากนั้นจึงนำเอา mycelia mat ดังกล่าวไปปลูกเชื้อแบบตัดแปะ (patch inoculation) โดยวางไว้บนรากต้นสลัด ต้นที่ 4 (ซึ่งจะเป็นตำแหน่งที่อยู่บริเวณกึ่งกลางรางปลูกพืช)

6. การบันทึกผลและเก็บข้อมูล

6.1 ข้อมูลทางด้านการเจริญเติบโตและองค์ประกอบของพืช

- จำนวนใบแท้ ทำการนับทุกสัปดาห์
- เส้นผ่าศูนย์กลางทรงพุ่ม ทำการวัดเป็นประจำทุกสัปดาห์
- น้ำหนักสด ทำการเก็บเมื่อต้นกล้ามีอายุ 6 สัปดาห์ (ก่อนการปลูกเชื้อ) และ 8 สัปดาห์ (หลังจากการปลูกเชื้อแล้ว 2 สัปดาห์) โดยทำการสุ่มเก็บ จะเก็บมาทีละครึ่ง (8 replications จากจำนวน 16 replication เมื่อนำมาหาน้ำหนักแห้ง และปริมาณแคลเซียมในต้นพืช)

6.2 ข้อมูลทางด้านโรค

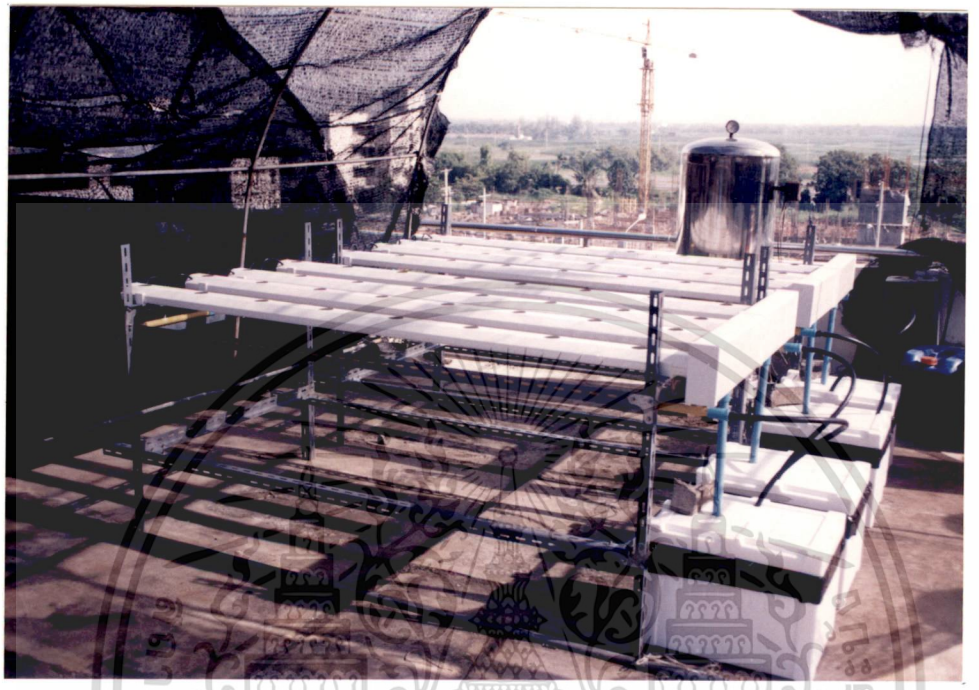
- ทำการบันทึกจำนวนต้นที่เป็นโรคทุกๆ วันหลักจากทำการปลูกเชื้อ
- คำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในแต่ละทรีตเมนต์

6.3 ข้อมูลทางด้านสภาพแวดล้อม

- คุณสมบัติของสารละลาย (pH, EC) ทำการตรวจเช็คเป็นประจำสัปดาห์ละ 3 ครั้ง
- ความเข้มของแสง
- ฯลฯ

7. การวิเคราะห์ผล ข้อมูลที่ได้จะถูกนำมาวิเคราะห์หาความแตกต่างกันทางสถิติ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 แสดงระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินที่ใช้ในการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลของสารละลายแคลเซียม และแคลเซียมในสารละลายธาตุอาหาร ต่อขบวนการสร้าง zoospore

1.1 ผลของสารละลายแคลเซียมไนเตรท

จากการทดลองใช้สารละลายแคลเซียมไนเตรทในระดับความเข้มข้น 0-5 mM เป็น release solution เพื่อให้เชื้อ *P. aphanidermatum* มีการปลดปล่อย zoospore ผลการทดลองได้แสดงไว้ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงจำนวน sporangia ของเชื้อ *P. aphanidermatum* ใน release solution ที่เป็นสารละลายแคลเซียมไนเตรท ในระดับความเข้มข้นต่างๆ

ทรีตเมนต์	จำนวน sporangia ที่ตรวจนับได้ในแต่ละชั่วโมง (propagules/field)[1/]						เฉลี่ย
	ชม.ที่ 5	ชม.ที่ 6	ชม.ที่ 7	ชม.ที่ 8	ชม.ที่ 9	ชม.ที่ 10	
Control (SDW)	10.6	10.2	8.4	15.2	8.8	7.3	10.1
$Ca(NO_3)_2$ 1.0 mM[2/]	2.3	2.6	3.9	16.2	8.8	7.1	6.8
$Ca(NO_3)_2$ 2.0 mM	1.1	3.4	3.7	11.1	6.4	6.3	5.3
$Ca(NO_3)_2$ 3.0 mM	1.7	2.3	3.1	3.2	6.4	2.4	3.2
$Ca(NO_3)_2$ 4.0 mM	1.2	1.3	0.3	2.5	2.4	1.8	1.6
$Ca(NO_3)_2$ 5.0 mM	-	0.2	0.3	1.2	5.7	4.4	2.0

[1/] ที่กำลังขยายรวม 100 เท่า (oc. X obj : 10x10) : พื้นที่จากการคำนวณประมาณ 0.0003 ตารางมิลลิเมตร

[2/] ความเข้มข้นของแคลเซียมอิออน

จากตารางที่ 1 จะเห็นได้ว่า สารละลายแคลเซียมไนเตรท ที่มีระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้น มีแนวโน้มที่จะทำให้การสร้าง sporangia ของเชื้อ *P. aphanidermatum* ลดลง ดังจะเห็นได้จากค่าเฉลี่ยของจำนวน sporangia ที่นับได้ ภายใน 10 ชั่วโมง หลังเติม release solution มีค่าเท่ากับ 6.8, 5.3, 3.2, 1.6 และ 2.0 sporangia/field (ที่กำลังขยาย 100 เท่า) ใน release solution ที่เป็นสารละลายแคลเซียมไนเตรท ในระดับความเข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 mM ตามลำดับ ในขณะที่การทดลองชุดควบคุม (control) ซึ่งใช้น้ำกลั่นเป็น release solution จะมีค่าเฉลี่ยของ sporangia/field เท่ากับ 10.1 ผลจากการที่มีการสร้าง sporangia ในจำนวนที่น้อยลง ใน release solution ที่เป็นสารละลายแคลเซียมไนเตรทในระดับความเข้มข้นที่สูง ส่งผลให้มีการสร้าง vesicle ในปริมาณที่น้อยลงด้วย ดังตารางที่ 2 ซึ่งจะเห็นว่าจำนวน vesicles/field ที่สามารถนับได้ ภายใน 10 ชั่วโมง หลังเติม release solution จะมีค่าลดลงใน release solution ที่เป็นสารละลายแคลเซียมไนเตรท ที่มีความเข้มข้นสูงๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เช่นกันคือ ในที่ระดับความเข้มข้น 0 mM (น้ำกลั่น) จะพบว่ามีจำนวน vesicle 4 vesicles/field ที่ระดับความเข้มข้น 1 mM จะมีจำนวน vesicle เท่ากับ 1.6 และที่ระดับความเข้มข้น 2 mM จะมีจำนวน vesicle เท่ากับ 1 vesicle/field ตามลำดับ และไม่พบว่ามีการสร้าง vesicle เลย ในแคลเซียมไนเตรทที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 3 mM ขึ้นไป

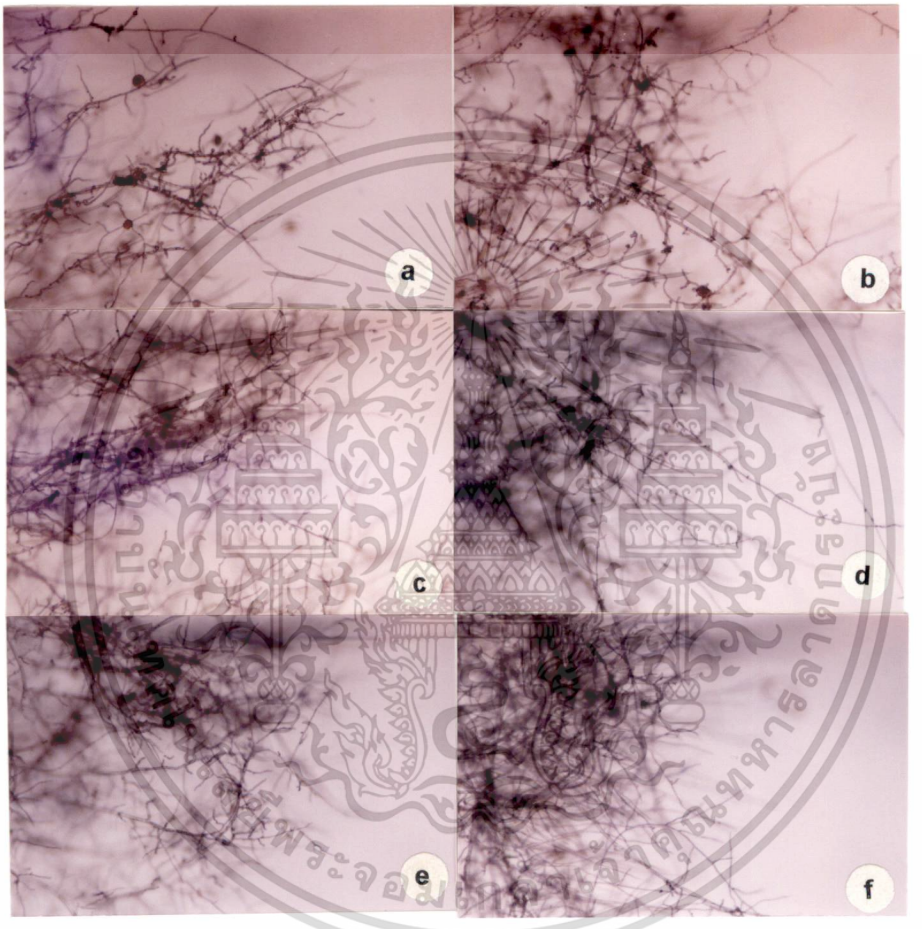
ตารางที่ 2 แสดงจำนวน vesicle ของเชื้อ *P. aphanidermatum* ใน release solution ที่เป็นสารละลายแคลเซียมไนเตรท ในระดับความเข้มข้นต่างๆ

ทรีตเมนต์	จำนวน vesicle ที่ตรวจนับได้ในแต่ละชั่วโมง (propagules/field)[1/]						เฉลี่ย
	ชม.ที่ 5	ชม.ที่ 6	ชม.ที่ 7	ชม.ที่ 8	ชม.ที่ 9	ชม.ที่ 10	
Control (SDW)	0.7	2.5	9.3	7.0	4.9	4.0	4.7
$Ca(NO_3)_2$ 1.0 mM[2/]	-	-	-	0.8	0.5	1.6	0.5
$Ca(NO_3)_2$ 2.0 mM	-	-	-	-	-	1.0	0.2
$Ca(NO_3)_2$ 3.0 mM	-	-	-	-	-	-	-
$Ca(NO_3)_2$ 4.0 mM	-	-	-	-	-	-	-
$Ca(NO_3)_2$ 5.0 mM	-	-	-	-	-	-	-

[1/] ที่กำลังขยาย 100 เท่า (occ. X obj : 10x10)

[2/] ความเข้มข้นของแคลเซียมอิออน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 แสดงผลของสารละลายแคลเซียมไนเตรทที่มีต่อขบวนการสืบพันธุ์โดยไม่ใช้เพศของเชื้อ *P. aphanidermatum*

a. control (SDW) ที่ 6 ชม.
b. 1 mM $Ca(NO_3)_2$ ที่ 6 ชม.
c. 2 mM $Ca(NO_3)_2$ ที่
d. 3 mM $Ca(NO_3)_2$ ที่ 6 ชม.
e. 4 mM $Ca(NO_3)_2$ ที่ 6 ชม.
f. 5 mM $Ca(NO_3)_2$ ที่ 6 ชม.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 ผลของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์

จากการทดลองใช้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็น release solution ผลการทดลองได้แสดงไว้ในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงจำนวน sporangia ของเชื้อ *P. aphanidermatum* ใน release solution ที่เป็นสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ในระดับความเข้มข้นต่างๆ

ทรีตเมนต์	จำนวน sporangia ที่ตรวจนับได้ในแต่ละชั่วโมง (propagules/field)[1/]						เฉลี่ย
	ชม.ที่ 5	ชม.ที่ 6	ชม.ที่ 7	ชม.ที่ 8	ชม.ที่ 9	ชม.ที่ 10	
Control (น้ำกลั่น)	20.4	11.9	12.3	7.8	4.8	6.0	10.5
$CaCl_2$ 1.0 mM[2/]	8.0	12.2	15.3	15.8	12.2	12.2	12.6
$CaCl_2$ 2.0 mM	2.8	4.5	10.8	9.0	8.7	7.1	7.1
$CaCl_2$ 3.0 mM	2.3	7.8	7.6	8.5	9.6	8.2	7.3
$CaCl_2$ 4.0 mM	1.1	2.5	6.6	5.8	6.2	4.0	4.4
$CaCl_2$ 5.0 mM	0.6	4.3	5.8	3.4	5.6	2.3	3.7

[1/] ที่กำลังขยาย 100 เท่า (oc. X obj : 10x10) : พื้นที่จากการคำนวณประมาณ 0.0003 ตารางมิลลิเมตร

[2/] ความเข้มข้นของแคลเซียมอิออน

จากตารางที่ 3 จะเห็นได้ว่าการสร้าง sporangia ของเชื้อ *P. aphanidermatum* มีแนวโน้มที่จะลดลง ใน release solution ที่เป็นสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ในระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้น ดังจะเห็นได้จากค่าเฉลี่ยของจำนวน sporangia ที่นับได้ต่อ field มีค่าเท่ากับ 12.6, 7.1, 7.3, 4.4 และ 3.7 sporangia/field ใน release solution ที่มีสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 mM ตามลำดับ ในการทดลองนี้ ถึงแม้ว่าในการทดองชุดควบคุม (control) ซึ่งใช้น้ำกลั่นเป็น release solution จำนวน sporangia ที่นับได้ต่อ field มีค่าเท่ากับ 10.5 propagul ซึ่งน้อยกว่าใน release solution ที่เป็นแคลเซียมคลอไรด์ 1 mM อยู่เล็กน้อย แต่ถึงอย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาจากค่าเฉลี่ยของจำนวน vesicle ที่สามารถตรวจนับได้ต่อหนึ่ง field ภายใน 10 ชั่วโมง หลังเติม release solution ก็จะพบว่า ในการทดลองชุดควบคุม (control) ที่ใช้น้ำกลั่นเป็น release solution จะให้กำเนิด vesicle ได้มากที่สุด และลดลงตามลำดับ จนไม่สามารถตรวจนับได้เลย ในทรีตเมนต์ที่ใช้แคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้นตั้งแต่ 4 mM ขึ้นไป เป็น release solution ดังตารางที่ 4 ซึ่งผลดังกล่าวนี้เป็นไปในทำนองเดียวกันกับการทดลองที่ใช้แคลเซียมไนเตรทเป็น release solution ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่า release solution ที่มีส่วนประกอบของแคลเซียม ทั้งในรูปของแคลเซียมคลอไรด์ และแคลเซียมไนเตรท มีผลต่อการสร้าง sporangia และการให้กำเนิด vesicle โดยที่ความเข้มข้นของแคลเซียมที่สูงขึ้น มีแนวโน้มที่จะทำให้มีการสร้างส่วนขยายพันธุ์ทั้งสองลดลง อันจะมีผลต่อจำนวน zoospore ซึ่งเป็นส่วนขยายพันธุ์ที่สำคัญ ที่ทำให้เกิดโรคโคนเน่ารากเน่าในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน

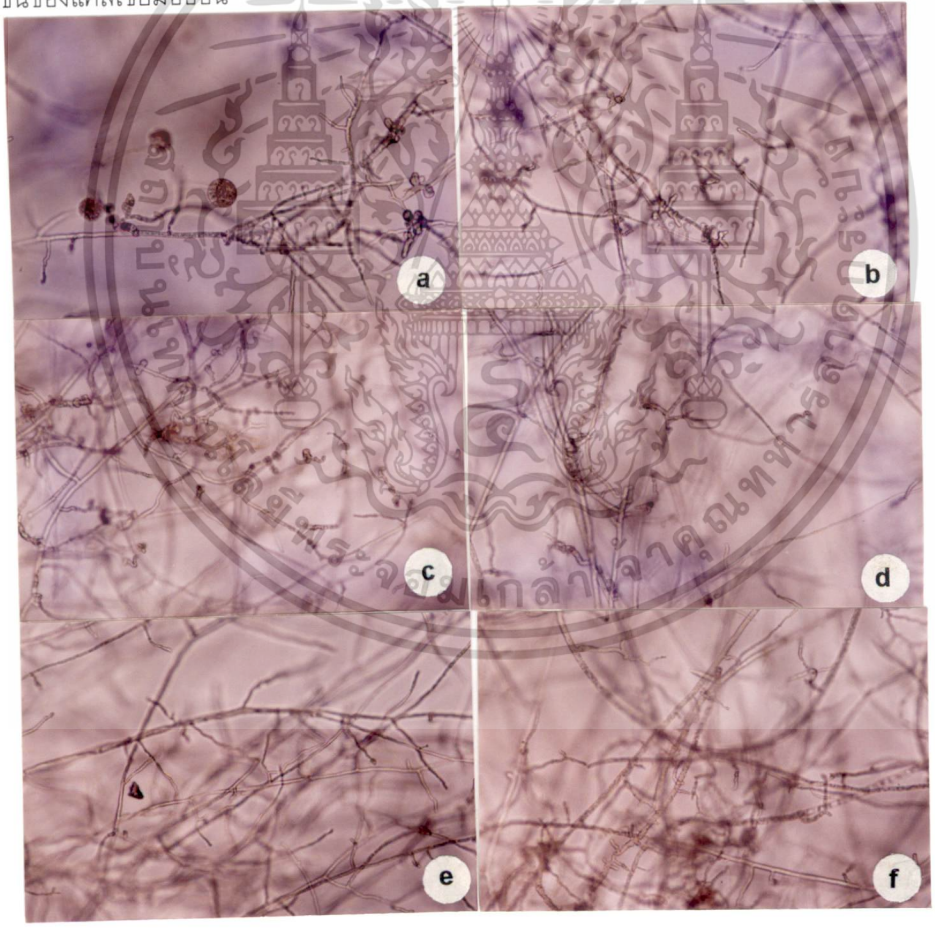
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 แสดงจำนวน vesicle ของเชื้อ *P. aphanidermatum* ใน release solution ที่เป็นสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้นต่างๆ

ทรีตเมนต์	จำนวน vesicle ที่ตรวจนับได้ในแต่ละชั่วโมง (propagules/field)[1/]						เฉลี่ย
	ชม.ที่ 5	ชม.ที่ 6	ชม.ที่ 7	ชม.ที่ 8	ชม.ที่ 9	ชม.ที่ 10	
Control (น้ำกลั่น)	0.2	1.9	9.7	8.3	12.3	10.3	7.1
$CaCl_2$ 1.0 mM[2/]	-	-	0.2	2.6	5.9	5.8	2.4
$CaCl_2$ 2.0 mM	-	-	-	0.7	0.8	0.3	0.3
$CaCl_2$ 3.0 mM	-	-	-	-	-	0.3	0.1
$CaCl_2$ 4.0 mM	-	-	-	-	-	-	-
$CaCl_2$ 5.0 mM	-	-	-	-	-	-	-

[1/] ที่กำลังขยาย 100 เท่า (oc. X obj : 10x10) : พื้นที่จากการคำนวณประมาณ 0.0003 ตารางมิลลิเมตร

[2/] ความเข้มข้นของแคลเซียมอิออน



ภาพที่ 3 แสดงผลของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่มีต่อขบวนการสืบพันธุ์โดยไม่ใช้เพศของเชื้อ *P. aphanidermatum*

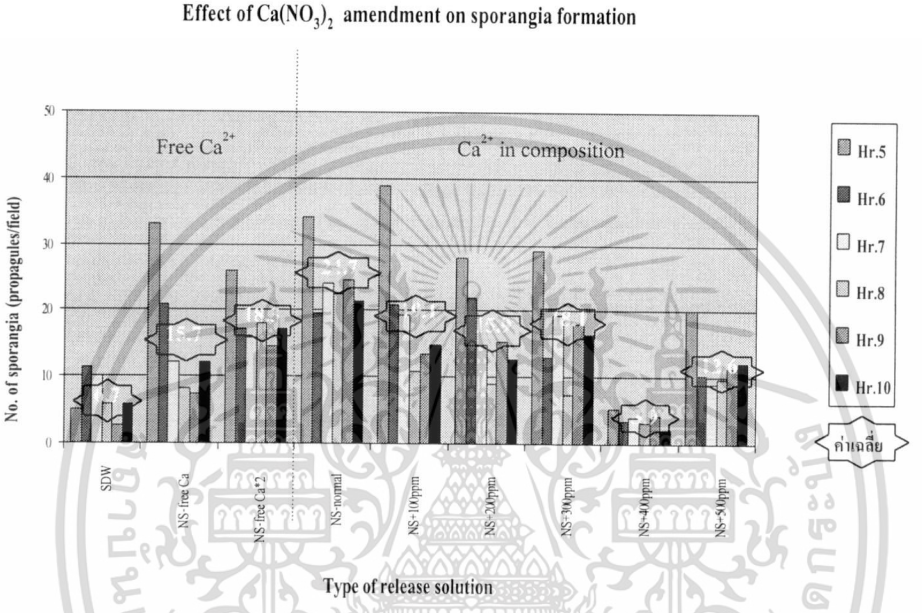
a. control (SDW) ที่ 6 ชม.
b. 1 mM $CaCl_2$ ที่ 6 ชม.
c. 2 mM $CaCl_2$ ที่ 6 ชม.
d. 3 mM $CaCl_2$ ที่ 6 ชม.
e. 4 mM $CaCl_2$ ที่ 6 ชม.
f. 5 mM $CaCl_2$ ที่ 6 ชม.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

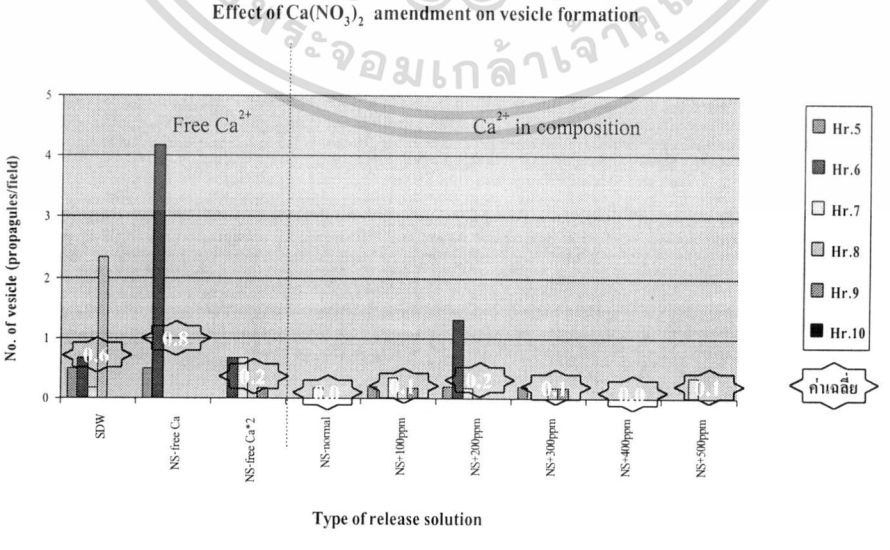
สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

1.3 ผลของการเพิ่มแคลเซียมไนเตรทในสารละลายธาตุอาหาร

จากการทดลองใช้สารละลายธาตุอาหารที่ใช้ในการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินมาเป็น release solution โดยใช้ที่ระดับความเข้มข้นปกติที่ใช้ในการปลูกพืช (ค่า EC = 2 mS/cm) แต่มีการเพิ่มแคลเซียมไนเตรทลงไปในระดับต่างๆ และในระดับที่มีความเข้มข้นสูงกว่าปกติ (ค่า EC = 3 และ 4 mS/cm) แต่ไม่มีแคลเซียมเป็นองค์ประกอบว่ามีผลต่อส่วนขยายพันธุ์ที่เกิดจากการสัมพันธ์โดยไม่ใช้เพศหรือไม่ ผลปรากฏดังแผนภูมิที่ 1, 2 และ 3



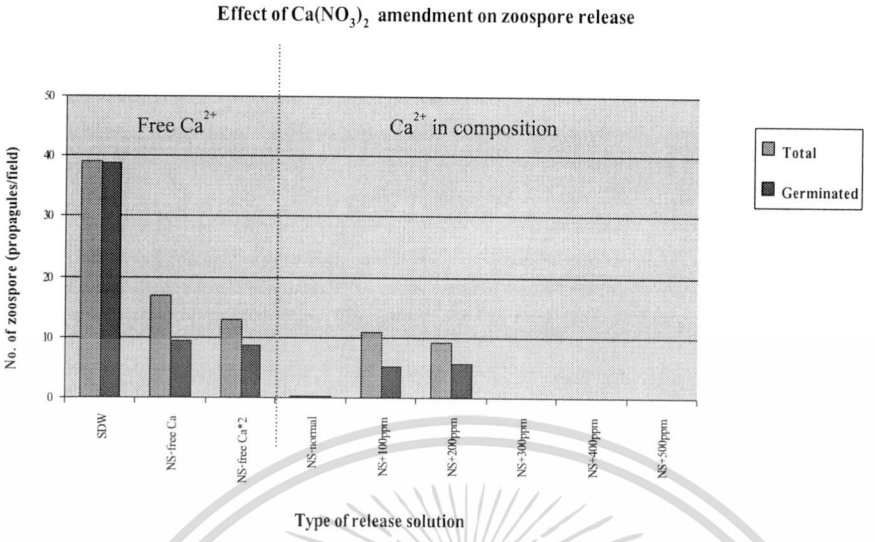
แผนภูมิที่ 1 แสดงจำนวน sporangia ของเชื้อ *P. aphanidermatum* ที่ตรวจนับได้ภายใน 10 ชั่วโมง หลังเติม release solution ที่เป็นสารละลายธาตุอาหาร ที่มีระดับแคลเซียมต่างๆ (ในรูปของแคลเซียมไนเตรท)



แผนภูมิที่ 2 แสดงจำนวน vesicle ที่ตรวจนับได้ภายใน 10 ชั่วโมง หลังเติม release solution ที่เป็นสารละลายธาตุอาหาร ที่มีระดับแคลเซียมต่างๆ (ในรูปของแคลเซียมไนเตรท)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

37507



แผนภูมิที่ 3 แสดงจำนวน zoospore ที่ตรวจนับได้ที่ 24 ชั่วโมง หลังเติม release solution ที่เป็นสารละลายธาตุอาหาร ที่มีระดับแคลเซียมต่างๆ (ในรูปของแคลเซียมไนเตรท)

จากแผนภูมิที่ 1 จะเห็นได้ว่า การสร้าง sporangia ของเชื้อ *P. aphanidermatum* จะมากที่สุดใน release solution ที่เป็นสารละลายธาตุอาหาร ความเข้มข้นปกติ (NS-normal : EC = 2 mS/cm) โดยมีค่าเฉลี่ยของจำนวน sporangia/field ที่สามารถตรวจนับได้ภายใน 10 ชั่วโมง หลังเติม release solution ดังกล่าว เท่ากับ 24.7 propagules/field เมื่อพิจารณาจากแผนภูมิทางด้านขวาที่เป็น release solution ที่เป็นสารละลายธาตุอาหาร โดยมีระดับของแคลเซียมแตกต่างกัน ก็จะเห็นได้ว่า ระดับของแคลเซียม (ในรูปของแคลเซียมไนเตรท) ที่เพิ่มมากขึ้นในสารละลายธาตุอาหาร มีแนวโน้มที่จะทำให้มีการสร้าง sporangia น้อยลง ถึงแม้ว่าผลของการลดลงนั้น จะไม่เป็นรูปแบบที่เรียงตามลำดับได้อย่างชัดเจนเท่ากับการทดลองที่ 1.1 (อิทธิพลของสารละลายแคลเซียมไนเตรท) ก็ตาม ทั้งนี้สืบเนื่องมาจากในสารละลายธาตุอาหารที่ใช้ในการปลูกพืชนั้น จะประกอบไปด้วยแร่ธาตุต่างๆ หลายชนิด ซึ่งแต่ละตัวก็อาจจะมีผลต่อการสร้าง sporangia ในทิศทางที่แตกต่างกัน เมื่อพิจารณาจากแผนภูมิทางด้านซ้าย ซึ่งเป็น release solution ที่ปราศจากแคลเซียมโดยมีค่าความเข้มข้น ซึ่งวัดจากค่าการนำไฟฟ้าของสารละลาย (conductivity : EC) แตกต่างกันคือ น้ำกลั่น (SDW : EC = 0.02 mS/cm) สารละลายธาตุอาหารที่ปราศจากแคลเซียม ค่า EC = 2 (NS-free Ca : EC = 2 mS/cm) และสารละลายธาตุอาหารที่ปราศจากแคลเซียม ค่า EC = 3 (NS-free Ca x 2 : EC = 3 mS/cm) ผลปรากฏว่าในระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้น (ค่า EC สูงขึ้น) จำนวน sporangia จะเพิ่มมากขึ้นด้วย กล่าวคือมีค่าเฉลี่ยของ sporangia ที่สามารถนับได้ภายใน 10 ชั่วโมง เท่ากับ 6.7, 15.7 และ 18.3 propagules/field ใน release solution ที่เป็น SDW (EC = 0.01), NS-free Ca (EC = 2 mS/cm)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ NS-free Ca x 2 (EC = 3) ตามลำดับ ผลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าจำนวน sporangia ที่เพิ่มมากขึ้นนี้เป็นผลมาจาก แร่ธาตุตัวอื่นๆ ที่อยู่ในสารละลายธาตุอาหาร ในทางตรงกันข้ามถ้าพิจารณาทางด้านขวาของแผนภูมิ ซึ่งเป็น release solution ที่เป็นสารละลายธาตุอาหาร ที่มีการเพิ่มความเข้มข้นของแคลเซียม ก็จะเห็นว่าจำนวน sporangia ที่ลดลงนี้ เป็นผลมาจากแคลเซียมที่เพิ่มมากขึ้นในสารละลายธาตุอาหาร นั่นเอง

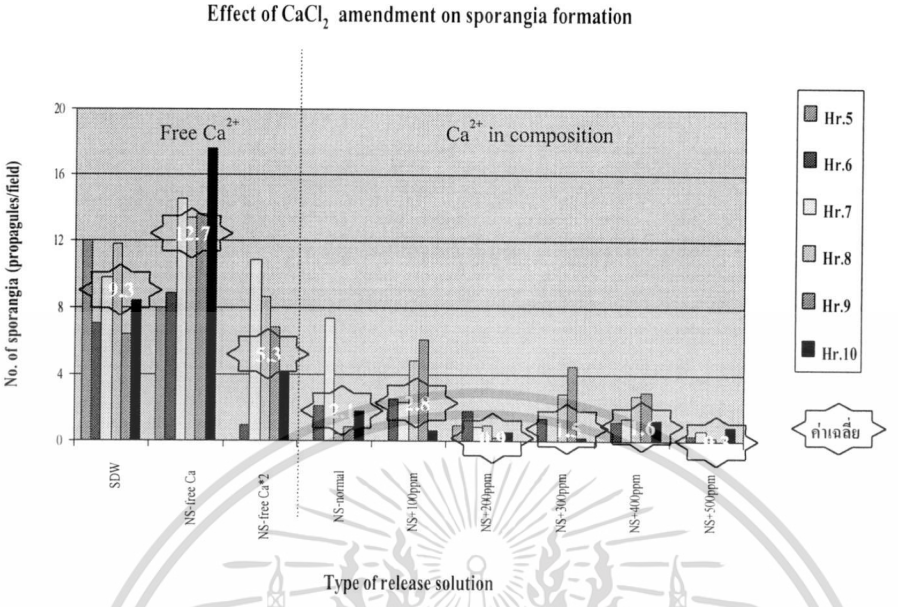
ในแผนภูมิที่ 2 ได้แสดงถึงจำนวน และค่าเฉลี่ยของ vesicles ของเชื้อ *P. aphanidermatum* ที่สามารถตรวจนับได้ภายใน 10 ชั่วโมงหลังเติม release solution ซึ่งก็จะเห็นได้ว่า ใน release solution ที่มีแคลเซียมเป็นองค์ประกอบ (แผนภูมิซีกด้านขวา) จะมีการสร้าง vesicle ได้น้อยกว่าใน release solution ที่ปราศจากแคลเซียม (แผนภูมิซีกด้านซ้าย) ด้วย ซึ่งสอดคล้องกับจำนวน sporangia ที่เชื้อดังกล่าวสร้างขึ้น อย่างไรก็ตามเนื่องจากจำนวน sporangia ที่ตรวจนับได้นี้มีจำนวนน้อยมาก จึงไม่อาจบอกความแตกต่างของผลจากแคลเซียมในแต่ละระดับได้ชัดเจน แต่เป็นที่น่าสังเกตว่า release solution ที่มีความเข้มข้นสูงขึ้น อาจทำให้มีการสร้าง vesicle น้อยลง ถึงแม้ว่าจำนวน sporangia เริ่มต้น จะมีมากก็ตาม ดังจะเห็นได้จากทรีตเมนต์ที่ใช้ NS-free Ca x 2 (EC = 3 mS/cm) เป็น release solution จะมีการสร้าง vesicle น้อยกว่าทรีตเมนต์ที่ใช้น้ำกลั่น (EC = 0.02 mS/cm) เป็น release solution ถึงแม้ว่าจะมีจำนวน sporangia มากกว่าก็ตาม

แผนภูมิที่ 3 แสดงปริมาณของ zoospores/field ที่สามารถตรวจนับได้ภายหลังจาก 24 ชั่วโมงหลังเติม release solution โดยทำการตรวจนับที่กำลังขยาย 40 เท่า จะเห็นได้ว่าจำนวน zoospore จะมีมากที่สุดในทรีตเมนต์ที่ใช้น้ำกลั่นเป็น release solution โดยสามารถตรวจนับได้เท่ากับ 39 zoospores/field ในแผนภูมิที่ 3 นี้ ค่อนข้างที่จะเห็นได้อย่างชัดเจนว่า release solution ที่มีแคลเซียมเป็นองค์ประกอบ (แผนภูมิซีกด้านขวา) มีแนวโน้มที่จะทำให้เชื้อ *P. aphanidermatum* มีการปลดปล่อย zoospore ได้น้อยกว่า release solution ที่ไม่มีแคลเซียมเป็นองค์ประกอบ (แผนภูมิซีกด้านซ้าย) แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของแคลเซียมที่มีต่อขบวนการสืบพันธุ์โดยไม่ใช้เพศของเชื้อดังกล่าวได้อย่างชัดเจน ในการทดลองนี้พบว่า release solution เป็นสารละลายธาตุอาหารที่มีการเพิ่มแคลเซียมไนเตรทลงไปในระดับ 300 ppm ขึ้นไป ไม่พบว่ามีการสร้าง zoospore ภายในเวลา 24 ชั่วโมง

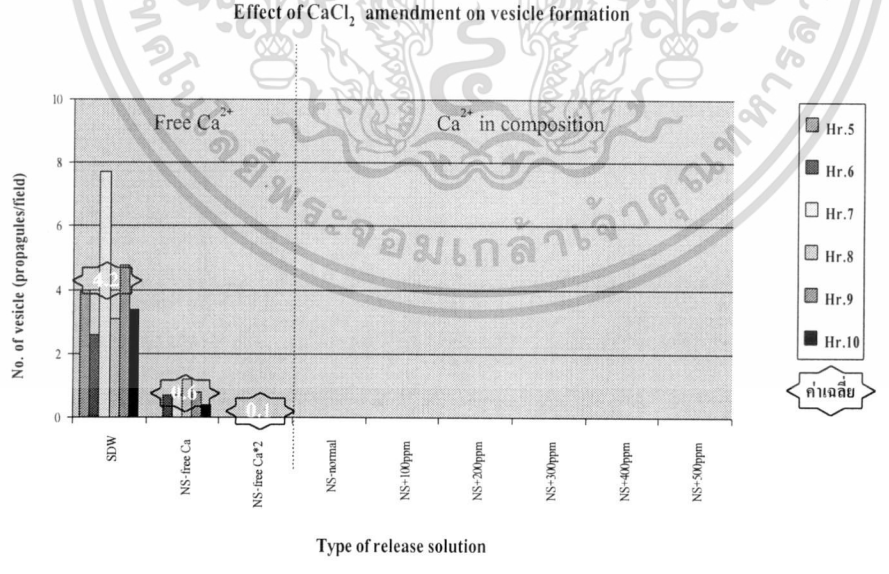
1.4 ผลของการเพิ่มแคลเซียมคลอไรด์ในสารละลายธาตุอาหาร

จากการศึกษาผลของการเพิ่มแคลเซียมคลอไรด์ลงไปในสารละลายธาตุอาหารต่อขบวนการสืบพันธุ์โดยไม่ใช้เพศของเชื้อ *P. aphanidermatum* แสดงไว้ในแผนภูมิที่ 4, 5 และ 6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

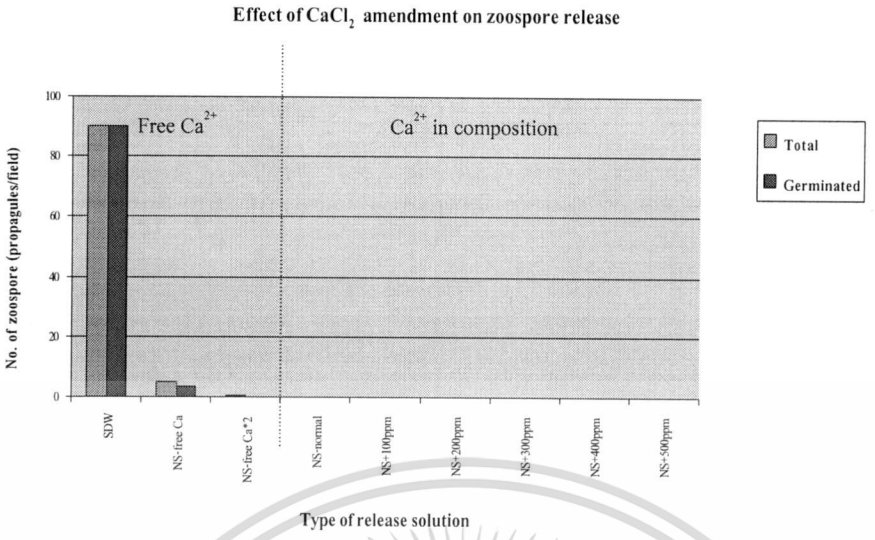


แผนภูมิที่ 4 แสดงจำนวน sporangia ของเชื้อ *P. aphanidermatum* ที่ตรวจนับได้ภายใน 10 ชั่วโมง หลังเติม release solution ที่เป็นสารละลายธาตุอาหาร ที่มีระดับแคลเซียมต่างๆ (ในรูปของแคลเซียมคลอไรด์)



แผนภูมิที่ 5 แสดงจำนวน vesicle ที่ตรวจนับได้ภายใน 10 ชั่วโมง หลังเก็บ release solution ที่เป็นสารละลายธาตุอาหาร ที่มีระดับของแคลเซียมต่างๆ (ในรูปของแคลเซียมคลอไรด์)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



แผนภูมิที่ 6 แสดงจำนวน zoospore ที่ตรวจนับได้ที่ 24 ชั่วโมง หลังเก็บ release solution ที่เป็นสารละลายธาตุอาหาร ที่มีระดับแคลเซียมต่างๆ (ในรูปของแคลเซียมคลอไรด์)

จากแผนภูมิที่ 4 จะเห็นได้ว่า ใน release solution ที่เป็นสารละลายธาตุอาหาร ที่มีแคลเซียมเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย ได้แก่ สารละลายธาตุอาหารปกติ ที่มีค่า EC = 2 mS/cm (NS-normal) และสารละลายธาตุอาหารปกติ ที่มีการเพิ่มแคลเซียมคลอไรด์ลงไปในระดับต่างๆ ตั้งแต่ 100-500 ppm (แผนภูมิซีกด้านขวา) มีแนวโน้มที่จะทำให้การสร้าง sporangia ของเชื้อ *P. aphanidermatum* น้อยกว่าการใช้ release solution ที่ไม่มีแคลเซียมเป็นองค์ประกอบ ซึ่งได้แก่ น้ำกลั่น (SDW), สารละลายธาตุอาหารที่ปราศจากแคลเซียมที่มีค่า EC = 1 (NS-free Ca) และสารละลายธาตุอาหารที่ปราศจากแคลเซียมที่มีต่อ EC = 2 (NS-free Ca x 2) แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของแคลเซียมคลอไรด์ ซึ่งอาจมีผลทำให้เชื้อ *P. aphanidermatum* มีการสร้าง sporangia น้อยกว่าปกติ เมื่อใช้ release solution ที่มีสารดังกล่าวเป็นองค์ประกอบ และเมื่อพิจารณาจากจำนวน vesicle ที่สามารถตรวจนับได้ภายใน 10 ชั่วโมง (แผนภูมิที่ 5) และจำนวน zoospore ที่สามารถตรวจนับได้ภายใน 24 ชั่วโมง (แผนภูมิที่ 6) ผลก็เป็นไปในทำนองเดียวกัน นั่นคือไม่พบว่ามีการสร้าง vesicle และ zoospore เลย ใน release solution ที่มีแคลเซียมเป็นองค์ประกอบ อย่างไรก็ตามในการทดลองที่เชื้อ *P. aphanidermatum* ค่อนข้างที่จะมีการสร้างส่วนขยายพันธุ์ที่เกิดจากการสืบพันธุ์โดยไม่ใช้เพศค่อนข้างน้อย จึงอาจทำให้เห็นความแตกต่างในแต่ละระดับได้ไม่ค่อยชัดเจน

ผลของการเพิ่มแคลเซียมคลอไรด์ที่ได้ทำการทดลองในครั้งนี้ ได้ผลในทำนองเดียวกันกับการเพิ่มแคลเซียมไนเตรท (การทดลองที่ 1.3) จึงอาจใช้เป็นเครื่องยืนยันถึงผลของแคลเซียมใน release solution ที่มีต่อการสืบพันธุ์โดยไม่ใช้เพศของเชื้อ *P. aphanidermatum* ได้

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ผลของแคลเซียมในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อขบวนการสร้าง zoospore

2.1 ผลของแคลเซียมไนเตรท

จากการทดลองเลี้ยงเชื้อ *P. aphanidermatum* ในอาหาร V8-agar ที่มีแคลเซียมไนเตรทในระดับต่างๆ ผลการทดลองแสดงไว้ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงผลของแคลเซียมไนเตรทในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการสร้าง sporangia, vesicle และ zoospores

ทรีตเมนต์	จำนวนส่วนขยายพันธุ์ที่นับได้ (propaguls/field)		
	Sporangia [1/]	Vesicles [1/]	Zoospores [2/]
V8-agar	5.4	-	67.0
1 mM $Ca(NO_3)_2$ in V8	11.5	0.04	63.0
2 mM $Ca(NO_3)_2$ in V8	17.4	0.4	48.4
3 mM $Ca(NO_3)_2$ in V8	21.3	0.2	33.9
4 mM $Ca(NO_3)_2$ in V8	8.9	0.1	7.5
5 mM $Ca(NO_3)_2$ in V8	23.5	0.04	-

[1/] เป็นค่าเฉลี่ยที่ทำการตรวจนับภายใน 10 ชั่วโมงหลังเติม release solution (น้ำกลั่น) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยใช้กำลังขยาย 100 เท่า

[2/] เป็นค่าเฉลี่ยที่ทำการตรวจนับในชั่วโมงที่ 24 หลังเติม release solution (น้ำกลั่น) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยใช้กำลังขยาย 40 เท่า

จากตารางที่ 5 เมื่อพิจารณาจากจำนวน zoospore ที่สามารถตรวจนับได้ในชั่วโมงที่ 24 หลังเติม release solution ก็จะพบว่า จำนวน zoospore ของเชื้อ *P. aphanidermatum* จะมีมากที่สุดในอาหารเลี้ยงเชื้อ V8-agar (67.0 propagules/field) จำนวน zoospore จะลดลงตามลำดับในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีระดับของแคลเซียมไนเตรทที่สูงขึ้น (63.0, 48.7, 33.9, 7.5 และ 0 propagule/field ในระดับ 1, 2, 3, 4 และ 5 mM ในอาหาร V8-agar ตามลำดับ) แสดงให้เห็นว่าระดับของแคลเซียมไนเตรทที่มากขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นผลทำให้การสร้าง zoospore ของเชื้อ *P. aphanidermatum* ลดลง

แต่เมื่อพิจารณาจากจำนวน sporangia และ vesicle ซึ่งเป็นส่วนขยายพันธุ์ที่ให้กำเนิด zoospore ก็จะพบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของแคลเซียมไนเตรทเล็กน้อย (1-3 mM) อาจมีส่วนช่วยกระตุ้นให้มีการสร้างส่วนขยายพันธุ์ดังกล่าวได้มากขึ้น ดังจะเห็นได้จากจำนวน vesicle ที่สามารถตรวจนับได้ภายใน 10 ชั่วโมง จะมีค่าเท่ากับ 0, 0.04 และ 0.4 propagule/field ในระดับของแคลเซียมที่เพิ่มมากขึ้นจาก 0, 1 และ 2 mM ในอาหาร V8-agar ตามลำดับ และจะลดลงเมื่อระดับของแคลเซียมไนเตรท มากกว่า 2 mM ขึ้นไป ในกรณีของ sporangia ผลก็เป็นไปในทำนองเดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แต่จะเริ่มลดลงในระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 3 mM ขึ้นไป (ยกเว้นในทรีตเมนต์ที่มีระดับของแคลเซียม-ไนเตรท 5 mM ซึ่งจำนวน sporangia ได้มากกว่าทรีตเมนต์อื่นๆ ทั้งนี้ก็เพราะว่าในกรรมวิธีนี้ลักษณะของ sporangia จะเกาะตัวกันอย่างหลวมๆ กระจัดกระจาย ได้รวมเป็น lobe ขนาดใหญ่เหมือนกับกรรมวิธีอื่นๆ จึงทำให้นับจำนวนได้มากกว่าปกติ) ซึ่งอาจจะทำให้ดูเหมือนว่าระดับแคลเซียมไนเตรทในระดับความเข้มข้นไม่มากนัก (1-3 mM) อาจมีส่วนช่วยกระตุ้นให้ *P. aphanidermatum* มีการสร้าง sporangia และ vesicle ได้มากขึ้น อย่างไรก็ตามผลดังกล่าวเป็นเพียงในช่วงระยะเวลาต้นๆ เท่านั้น (10 ชั่วโมง หลังเติม release solution) แต่เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง กลับพบว่าในกรรมวิธีที่ไม่มีแคลเซียมเลย จะได้มีการสร้าง zoospore ได้มากที่สุด ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว เพราะฉะนั้นแคลเซียมไนเตรทในอาหารเลี้ยงเชื้อ ความเข้มข้น 1-3 mM น่าจะมีผลเพียงกระตุ้นให้มีการสร้าง sporangia และ vesicle ได้เร็วกว่าปกติเท่านั้น ไม่ได้มีผลทำให้เชื้อมีการสร้างส่วนขยายพันธุ์ที่เกิดจากการสืบพันธุ์โดยไม่ใช้เพศมากกว่าปกติแต่อย่างไร

2.2 ผลของแคลเซียมคลอไรด์

จากการทดลองเลี้ยงเชื้อ *P. aphanidermatum* ในอาหาร V8-agar ที่มีระดับแคลเซียมคลอไรด์ 0-5 mM ได้ผลดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงผลของแคลเซียมคลอไรด์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ต่อการสร้าง sporangia, vesicles และ zoospores

ทรีตเมนต์	จำนวนส่วนขยายพันธุ์ที่นับได้ (propaguls/field)		
	Sporangia [1/]	Vesicle [1/]	Zoospore [2/]
V8-agar (control)	1.0	0.1	42.2
1 mM $CaCl_2$ in V8	4.6	-	7.4
2 mM $CaCl_2$ in V8	3.6	-	2.5
3 mM $CaCl_2$ in V8	2.0	-	5.2
4 mM $CaCl_2$ in V8	3.8	-	10.7
5 mM $CaCl_2$ in V8	3.5	-	-

[1/] เป็นค่าเฉลี่ยที่ทำการตรวจนับภายใน 10 ชั่วโมงหลังเติม release solution (น้ำกลั่น) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยใช้กำลังขยาย 100 เท่า

[2/] เป็นค่าเฉลี่ยที่ทำการตรวจนับในชั่วโมงที่ 24 หลังเติม release solution (น้ำกลั่น) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยใช้กำลังขยาย 40 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 6 จะเห็นได้ว่า ค่าเฉลี่ยของจำนวน sporangia ของเชื้อ *P. aphanidermatum* ที่ตรวจนับได้ภายใน 10 ชั่วโมง จะพบได้มากในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแคลเซียมคลอไรด์ผสมอยู่ เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองชุดควบคุมซึ่งไม่มีการเพิ่มแคลเซียมคลอไรด์ลงไป อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาจากจำนวน vesicle และกลับพบว่า ในทรีตเมนต์ที่มีแคลเซียมคลอไรด์อยู่นั้น มีการสร้าง vesicle น้อยมาก จนไม่สามารถตรวจนับได้ และเมื่อพิจารณาจากจำนวน zoospore ที่สามารถตรวจนับได้ ในชั่วโมงที่ 24 ก็จะพบว่าในทรีตเมนต์ที่มีแคลเซียมคลอไรด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อนั้น จะให้ทำ zoospore ได้น้อยกว่า การทดลองชุดควบคุมเช่นกัน แสดงให้เห็นว่าแคลเซียมคลอไรด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ อาจมีส่วนช่วยกระตุ้นให้เชื้อ *P. aphanidermatum* มีการสร้าง sporangia ได้มากขึ้น อย่างไรก็ตาม sporangia ที่เกิดขึ้นมานั้น อาจมีความไม่สมบูรณ์เพียงพอ ที่จะให้กำเนิด vesicle และ zoospore ได้

3. ผลของสารละลายแคลเซียม และแคลเซียมในสารละลายธาตุอาหารต่อ zoospore : zoospore motility และ zoospore encystment

3.1 ผลของสารละลายแคลเซียม

จากการนำเอา zoospore suspension ของเชื้อ *P. aphanidermatum* มาอยู่ในสภาพที่มีสารละลายแคลเซียมไนเตรท หรือแคลเซียมคลอไรด์ ในระดับความเข้มข้น 0-5 mM ได้ผลดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 แสดงผลของสารละลายแคลเซียมต่อการเคลื่อนที่และการเข้าสู่ระยะพักตัวของ zoospore

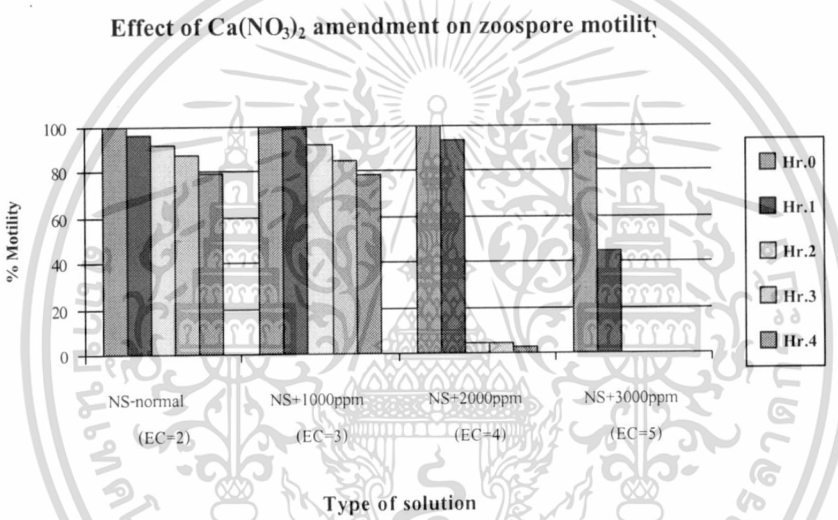
ทรีตเมนต์	zoospore ก่อนปรับสภาพ		zoospore หลังปรับสภาพ	
	% Motility	% Encystment	% Motility	% Encystment
Control (น้ำกลั่น)	96.3	3.7	70.1	29.9
1 mM $Ca(NO_3)_2$	91.4	8.6	10.3	89.7
2 mM $Ca(NO_3)_2$	90.2	9.8	-	100
3 mM $Ca(NO_3)_2$	96.6	3.4	-	100
4 mM $Ca(NO_3)_2$	82.5	10.5	-	100
5 mM $Ca(NO_3)_2$	97.9	2.1	-	100
1 mM $CaCl_2$	83.1	16.9	2.7	97.3
2 mM $CaCl_2$	75.2	24.8	6.2	93.8
3 mM $CaCl_2$	82.8	17.2	9.1	90.9
4 mM $CaCl_2$	97.9	2.1	8.3	91.7
5 mM $CaCl_2$	99	1.0	3.0	97.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 7 จะเห็นได้ว่า การนำเอา zoospore ของเชื้อ *P. aphanidermatum* มาอยู่ในสารละลายที่มีระดับของแคลเซียมไนเตรทหรือแคลเซียมคลอไรด์เพิ่มมากขึ้นเพียงแค่ 1 mM ก็ทำให้ zoospore ของเชื้อดังกล่าวเข้าสู่ระยะฟักตัวเกือบทั้งหมดในทันที

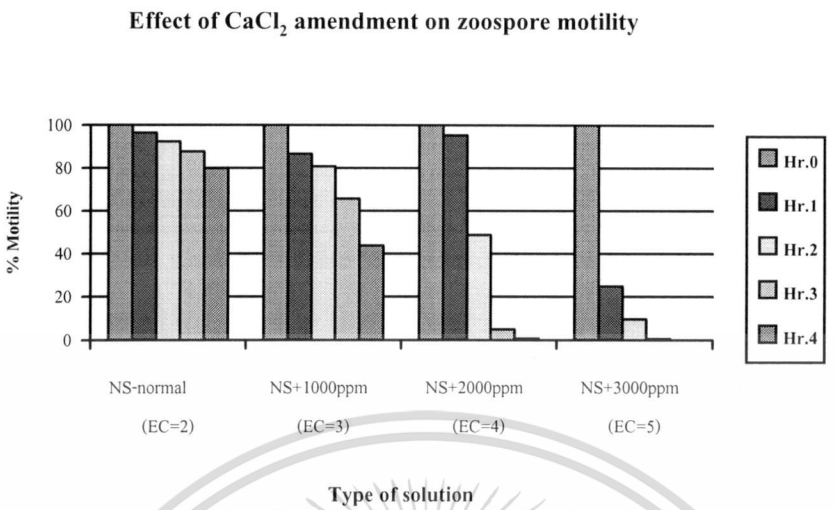
3.2 ผลของแคลเซียมในสารละลายธาตุอาหาร

จากการทดลองเพิ่มแคลเซียมลงไปในสารละลายธาตุอาหาร ทั้งในรูปของแคลเซียมคลอไรด์และแคลเซียมไนเตรท เพื่อดูการเคลื่อนที่ของ zoospore ของเชื้อ *P. aphanidermatum* เปรียบเทียบกับสารละลายธาตุอาหารปกติ และสารละลายธาตุอาหารที่มีความเข้มข้นสูงกว่าปกติ แต่ไม่มีแคลเซียมเป็นองค์ประกอบ ได้ผลดังแผนภูมิที่ 7, 8 และ 9

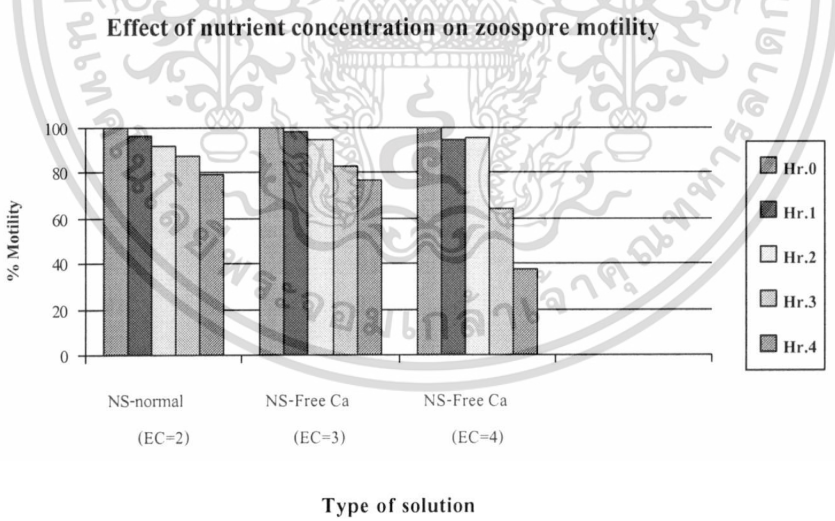


แผนภูมิที่ 7 ผลของแคลเซียมไนเตรทในสารละลายธาตุอาหาร ต่อการเคลื่อนที่ของ zoospore ของเชื้อ *P. aphanidermatum*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



แผนภูมิที่ 8 ผลของแคลเซียมคลอไรด์ในสารละลายธาตุอาหาร ต่อการเคลื่อนที่ของ zoospore ของเชื้อ *P. aphanidermatum*



แผนภูมิที่ 9 ผลของความเข้มข้นของสารละลายธาตุอาหาร ต่อการเคลื่อนที่ของ zoospore ของเชื้อ *P. aphanidermatum*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

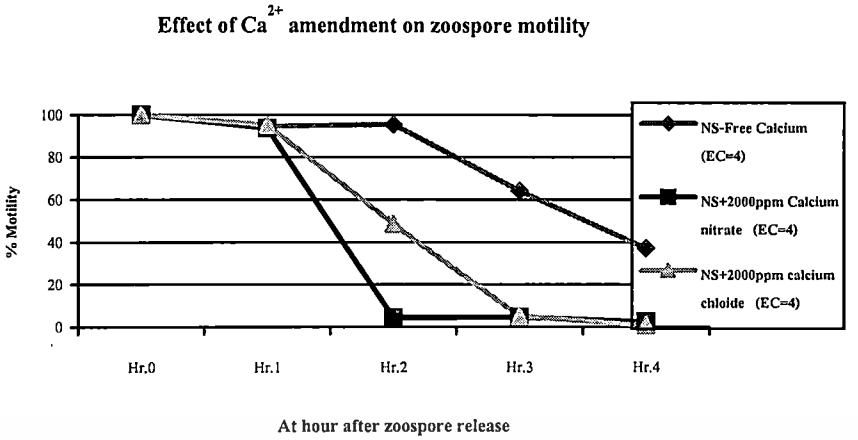
จากแผนภูมิที่ 7 และ 8 จะเห็นได้ว่า การเพิ่มความเข้มข้นของแคลเซียมลงไปในสารละลายธาตุอาหาร ทั้งในรูปของแคลเซียมไนเตรท และแคลเซียมคลอไรด์ ในระดับความเข้มข้นที่มากกว่า 2,000 ppm ขึ้นไป เป็นผลทำให้ % การเคลื่อนที่ของ zoospore ของเชื้อ *P. aphanidermatum* ลดลงอย่างเห็นได้ชัด โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าพิจารณาจากการเพิ่มในระดับ 3,000 ppm ในกรณีของการเพิ่มแคลเซียมไนเตรท (แผนภูมิที่ 7) zoospore ของเชื้อ *P. aphanidermatum* จะมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ลดลงมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 1 ชั่วโมง และภายในเวลา 2 ชั่วโมง จะไม่พบว่ามีการเคลื่อนที่เลย ส่วนในการเพิ่มในระดับ 2,000 ppm เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของ zoospore จะลดลงมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 2 ชั่วโมง และจะลดลงมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ในอีก 1 ชั่วโมงถัดมา ในขณะที่สารละลายธาตุอาหารที่เพิ่มแคลเซียมไนเตรทลงไปในระดับ 1,000 ppm เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของ zoospore จะค่อยๆ ลดลงไม่มากนัก ใกล้เคียงกันกับในสารละลายธาตุอาหารปกติ (control)

ในกรณีของการเพิ่มแคลเซียมคลอไรด์ (แผนภูมิ 8) ผลก็เป็นไปในทำนองเดียวกัน นั่นคือ แคลเซียมคลอไรด์ที่เพิ่มลงไปในระดับ 3,000 ppm เป็นผลทำให้ zoospore มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ลดลงมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 1 ชั่วโมง และจะไม่พบว่าการเคลื่อนที่เลยในอีก 1 ชั่วโมงถัดมา ในระดับความเข้มข้นที่ 2,000 ppm การเคลื่อนที่จะลดลงอย่างรวดเร็วจนกระทั่งไม่พบการเคลื่อนที่เลย ภายในระยะเวลา 3 ชั่วโมง ในการเพิ่มแคลเซียมคลอไรด์ลงไปในระดับ 1,000 ppm เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของ zoospore จะลดลงเร็วกว่าการทดลองชุดควบคุม (สารละลายธาตุอาหารปกติ) เล็กน้อย

ในการทดลองในครั้งนี้ ยังได้มีการทดลองใช้สารละลายธาตุอาหารที่ปราศจากแคลเซียม ในระดับความเข้มข้นที่สูงกว่าสารละลายธาตุอาหารปกติ โดยปรับให้มีค่าการนำไฟฟ้า (EC) = 3 mS/cm และ 4 mS/cm ตามลำดับ เปรียบเทียบกับสารละลายธาตุอาหารปกติที่มีค่าการนำไฟฟ้า (EC) = 2 mS/cm ผลปรากฏว่าในสารละลายที่มีค่า EC = 4 สูงกว่าปกติ ก็มีแนวโน้มที่จะทำให้ zoospore ของเชื้อ *P. aphanidermatum* มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ลดลงเร็วกว่าปกติเช่นกัน

อย่างไรก็ตาม ผลที่ได้นี้ไปเปรียบเทียบกับสารละลายธาตุอาหารที่เพิ่มแคลเซียมไนเตรท หรือแคลเซียมคลอไรด์ลงไปในระดับ 2,000 ppm ซึ่งจะมีค่าการนำไฟฟ้า (EC) เท่ากับ 4 mS/cm เท่ากัน ดังแผนภูมิที่ 10 ก็จะพบว่า ในสารละลายที่เพิ่มแคลเซียม 2,000 ppm เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของ zoospore จะลดลงมากกว่าในสารละลายที่ปราศจากแคลเซียม ถึงแม้ว่าในความเข้มข้นที่เท่ากันก็ตาม แสดงให้เห็นว่าซึ่งผลต่างอันนี้ เป็นอิทธิพลมาจากแคลเซียมนั่นเอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



แผนภูมิที่ 10 ผลของแคลเซียมคลอไรด์ แคลเซียมไนเตรท และสารละลายธาตุอาหารที่ปราศจากแคลเซียมต่อการเคลื่อนที่ของ zoospore

4. *ผลของแคลเซียมที่มีต่อการเกิดโรคโคนเน่ารากเน่า ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน*

ทำการปลูกเชื้อ *P. aphanidermatum* โดยใช้ mycelia mat วางแปะลงบนรากพืชของต้นสลัด (patch inoculum) ผลปรากฏว่าภายในเวลา 2 สัปดาห์ ต้นสลัดแสดงอาการของโรคโคนเน่ารากเน่า ดังแสดงไว้ในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 แสดงจำนวนต้นสลัดที่แสดงอาการโรคโคนเน่ารากเน่า หลังจากทำการปลูกเชื้อ *P. aphanidermatum* เป็นเวลา 2 สัปดาห์

ทรีตเมนต์	จำนวนต้นพืชที่แสดงอาการโรคโคนเน่ารากเน่า (%)				Roof declay[2/]
	ตาย	เหี่ยว	โคนเน่า	รากเน่า[3/]	index (ค่าเฉลี่ย/ต้น)
NS[1/] : ปลูกเชื้อ	25	50	25	100	3.2
NS 500 ppm $CaNO_3$: ปลูกเชื้อ	12.5	37.5	12.5	100	3.0
NS 1000 ppm $CaNO_3$: ปลูกเชื้อ	-	12.5	-	100	2.4
NS : ไม่ปลูกเชื้อ	-	-	-	-	0.3

[1/] Nutrient solution : hydroponics fertilizer, S-culture®

[2/] Roof declay index : ได้จากค่าเฉลี่ยการประเมินสีที่รากพืช/ โดยใช้สายตาจากบุคคล 10 คน
โดยกำหนด ค่าดัชนีดังนี้ 4 = รากพืชทั้งหมดถูกทำลาย เน่าเป็นสีน้ำตาลไหม้ดำ
3= รากพืชส่วนใหญ่ถูกทำลาย เน่าเป็นสีน้ำตาลเกือบหมด
2 = ประมาณ ½ ของรากพืชทั้งหมดถูกทำลาย มีอัตราเน่าเป็นสีน้ำตาล
1 = รากพืชบางส่วนถูกทำลาย เป็นสีน้ำตาลเล็กน้อย
0 = รากมีสีขาวปกติ

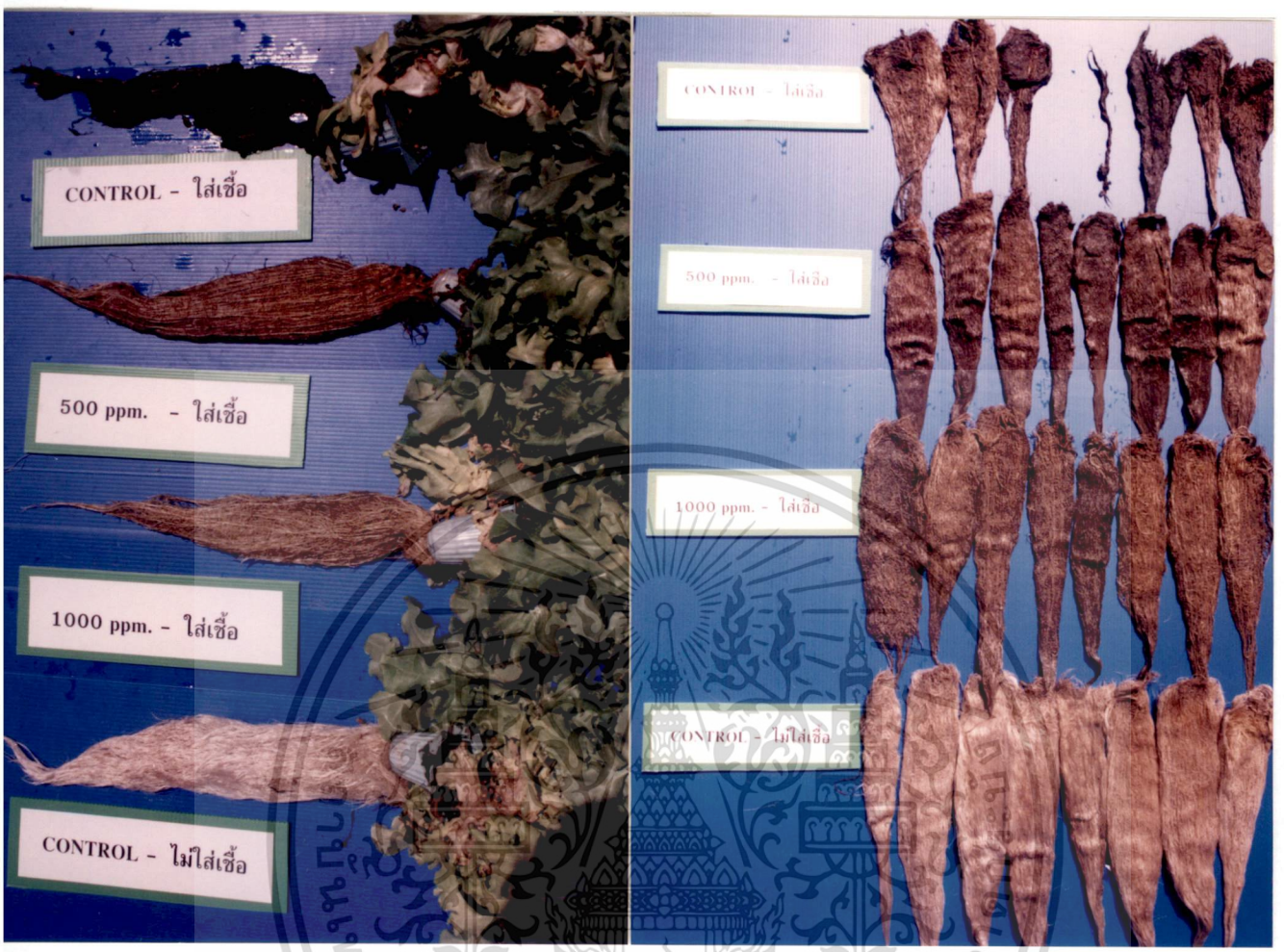
[3/] รากพืชมากกว่า 50% แสดงอาการเน่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางจะเห็นว่า เชื้อ *P. aphanidermatum* มีความสามารถในการทำให้พืชเป็นโรค โดยจะพบอาการรากเน่าในพืชทุกต้น ที่ปลูกในทรีตเมนต์ ที่มีการปลูกเชื้อ (inoculation) อย่างไรก็ตาม ความรุนแรงจะแตกต่างกันไป ในแต่ละทรีตเมนต์ ในทรีตเมนต์ที่ทำการปลูก โดยใช้สารละลายธาตุอาหารในอัตราส่วน และความเข้มข้นปกติ จะพบความรุนแรงของการเกิดโรคมากที่สุด โดยพบว่ามีอัตราการตาย 25 เปอร์เซ็นต์, เหี่ยว 50 เปอร์เซ็นต์ และโคนเน่า 25 เปอร์เซ็นต์ จากจำนวนต้นสลัดทั้งหมด ในทรีตเมนต์ที่มีการเพิ่มแคลเซียมไนเตรท 500 ppm ลงไปในสารละลายธาตุอาหาร จะสามารถลดความสูญเสียลงไปประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ ของทรีตเมนต์ ที่ไม่มีการเพิ่มแคลเซียม โดยพบว่า มีอัตราการตาย 12.5 เปอร์เซ็นต์, เหี่ยว 37.5 เปอร์เซ็นต์ และอาการโคนเน่า 12.3 เปอร์เซ็นต์ จากจำนวนต้นพืชทั้งหมด และในทรีตเมนต์ที่ทำการเพิ่มแคลเซียมไนเตรทลงไปในสารละลายธาตุอาหาร ในระดับ 1000 ppm จะไม่พบอาการตาย และอาการโคนเน่าเลย ภายใน 2 สัปดาห์ที่ทำการปลูกเชื้อ แต่พืชจะแสดงอาการเหี่ยวประมาณ 12.5 เปอร์เซ็นต์ จากจำนวนต้นพืชทั้งหมด ส่วนในทรีตเมนต์ที่ไม่ได้ทำการปลูกเชื้อ ไม่พบจำนวนต้นพืชที่แสดงอาการของโรคโคนเน่ารากเน่าเลย

จากการเก็บตัวอย่างรากพืชมาทำการเปรียบเทียบสี เพื่อประเมินเป็นค่าดัชนีของรากพืชที่ถูกทำลาย (Root declay index) ก็จะพบว่าในระบบที่ทำการปลูกเชื้อทรีตเมนต์ที่มีการให้สารละลายธาตุอาหารความเข้มข้นปกติ รากพืชถูกทำลายมากที่สุด (มีอาการเน่าอย่างรุนแรง) รองลงมาได้แก่ ในทรีตเมนต์ที่มีการเพิ่มแคลเซียมไนเตรท 500 ppm และต่ำสุดในทรีตเมนต์ที่มีการเพิ่มแคลเซียม-ไนเตรท 1000 ppm โดยมีค่าดัชนีของรากพืชที่ถูกทำลาย เท่ากับ 3.2, 3.0 และ 2.4 ตามลำดับ (ตารางที่ 8, ภาพที่ 4)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4 ต้นสลัด และรากของต้นสลัด ที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่มีการเพิ่มแคลเซียมไนเตรทในระดับต่างๆ

ตารางที่ 9 แสดงการเจริญเติบโตของต้นสลัด เมื่ออายุ 8 สัปดาห์[1/]

ทรีทเมนท์	น้ำหนักแห้ง/ต้น (กรัม)			อัตราส่วน	% แคลเซียม
	จำนวนใบ/ต้น	ใบและลำต้น	ราก	ราก/ลำต้น	
NS[1/] : ปลูกเชื้อ	38.8	10.8 B	0.8 B	0.09	1.39 B
NS 500 ppm $Ca(NO_3)_2$: ปลูกเชื้อ	43.9	14.7 B	1.1 B	0.07	1.95 A
NS 1000 ppm $Ca(NO_3)_2$: ปลูกเชื้อ	37.5	13.1 B	0.9 B	0.08	2.17 A
NS : ไม่ปลูกเชื้อ	47.3	17.0 A	1.3 A	0.08	1.71 B
F – test [2/]	NS	*	NS*	NS	**

[1/] หลังจากทำการปลูกเชื้อแล้วเป็นเวลา 2 สัปดาห์

[2/] NS : ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ $P > 0.05$

* : แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $0.01 < P < 0.05$

** : แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ $P < 0.01$

เอกสารนี้ถูกจัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 9 ยังพบว่า การเพิ่มแคลเซียมลงไปในสารละลายธาตุอาหาร ในช่วง 2 สัปดาห์ก่อนการเก็บเกี่ยว เป็นผลทำให้ปริมาณแคลเซียมในต้นพืชเพิ่มมากขึ้นด้วยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งเป็นจุดที่ชี้ให้เห็นว่า ทำไมในทรีตเมนต์ที่มีการเพิ่มแคลเซียมไนเตรทลงไปในระดับที่สูงขึ้น เป็นผลทำให้พบอาการโคนเน่าน้อยลง เนื่องจากแคลเซียมเป็นส่วนประกอบสำคัญของ middle lamella ซึ่งช่วยเพิ่มความแข็งแรงให้แก่เซลพืช อย่างไรก็ตามไม่พบว่าทำให้อัตราส่วนระหว่างราก/ลำต้น ในแต่ละทรีตเมนต์ มีความแตกต่างกันทางสถิติแต่อย่างไร นอกจากนี้รากพืชของต้นสลัดทุกต้นในทุกทรีตเมนต์ที่ทำการปลูกเชื้อจะแสดงอาการเน่า แต่ระดับของความรุนแรงจะแตกต่างกัน ซึ่งเป็นไปได้ว่าบทบาทของแคลเซียมในการลดความรุนแรงของการติดเชื้อที่ราก จากการทดลองในครั้งนี้ เป็นผลโดยตรงกับตัวเชื้อสาเหตุโรคพืช (*P. aphanidermatum*) ที่ปรากฏอยู่ในสารละลายธาตุอาหาร ดังผลการทดลองในระบบ in vitro ที่ได้แสดงให้เห็นแล้ว ในด้านของการเจริญเติบโตและผลผลิต พบว่า จำนวนใบของต้นสลัดในแต่ละทรีตเมนต์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติแต่อย่างไร แต่น้ำหนักแห้ง/ต้น มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยพบว่า ในทรีตเมนต์ที่ทำการปลูกเชื้อ น้ำหนักแห้ง/ต้น จะน้อยกว่า ทรีตเมนต์ที่ไม่ได้ทำการปลูกเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าในต้นพืชที่มีการติดเชื้อ *P. aphanidermatum* จะทำให้มีการเจริญเติบโตน้อยกว่าปกติ เป็นผลให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจได้โดยไม่รู้ตัว

เมื่อพิจารณาเฉพาะในทรีตเมนต์ที่ทำการปลูกเชื้อก็จะพบว่า ในทรีตเมนต์ที่เพิ่มแคลเซียมลงไปในสารละลายธาตุอาหาร ในระดับ 500 ppm จะมีการเจริญเติบโตดีที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ย น้ำหนักแห้ง/ต้น เท่ากับ 14.7 กรัม รองลงมาได้แก่ในทรีตเมนต์ที่เพิ่มแคลเซียม 1000 ppm และต่ำสุดในทรีตเมนต์ที่ไม่ได้ทำการเพิ่มแคลเซียม (13.1 กรัม และ 10.8 กรัม ตามลำดับ) ในทรีตเมนต์ที่มีการเพิ่มแคลเซียม 1000 ppm มีการเจริญเติบโตที่ดีกว่า (น้ำหนักแห้ง/ต้น) ในทรีทเมนท์ที่ไม่มีการเพิ่มแคลเซียมเป็นผลมาจากปริมาณรากพืชที่ถูกทำลาย (พิจารณาจาก Root declay index) น้อยกว่า ดังตารางที่ 10 และภาพที่ 4 อย่างไรก็ตามแคลเซียมในระดับ 1000 ppm ที่เติมลงไปในสารละลายธาตุอาหาร อาจมากเกินไปจนมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช จึงทำให้มีน้ำหนักแห้งเฉลี่ย/ต้นน้อยกว่าในทรีตเมนต์ที่ทำการเพิ่มแคลเซียมไนเตรทลงไปในระดับ 500 ppm ถึงแม้ว่าจากการทดลองในครั้งนี้ ผลดังกล่าวจะไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติก็ตาม แต่ก็เป็นจุดหนึ่งที่ควรคำนึงถึง ดังนั้นในแง่ของการปฏิบัติ การเพิ่มแคลเซียมลงไปในสารละลายธาตุอาหาร ในระดับ 500 ppm จึงค่อนข้างเป็นระดับที่ปลอดภัยกว่า ถึงแม้จะไม่สามารถควบคุมโรคโคนเน่ารากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *P. aphanidermatum* ได้สมบูรณ์ 100% แต่ก็สามารถช่วยลดความรุนแรงในการเกิดโรคลงไปได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องค์ประกอบของสารละลายธาตุอาหารที่ใช้ในการปลูกพืช

Final solution	PPM
Total Nitrogen	208
Phosphorous	62
Potassium	332
Calcium	168
Magnesium	49
Sulphur	65
Iron	5.6
Manganese	2.2
Boron	0.3
Copper	0.06
Zinc	0.06
Molybdenum	0.007

องค์ประกอบ	
Nitrogen as nitrate	14.3%
Phosphorous-water soluble	2.3%
Potassium as nitrate	10.0%
Potassium as phosphate	2.8%
Calcium as nitrate	8.6%
Magnesium as sulphate	2.0%
Sulphur as sulphate	7.8%
Iron as chelate	0.19%
Manganese as sulphate	0.10%
Boron as boric acid	0.01%
Copper as sulphate	0.006%
Zinc as sulphate	0.005%
Molybdenum as ammonium	0.003%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ถนิมนันต์ เจนอักษร. 2538. เทคโนโลยีการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน. วารสารวิจัยและพัฒนาการเกษตร 2 (2) : 61 – 63.

พรหมมาศ คูหากาญจน์, ถนิมนันต์ เจนอักษร และศุภชัย รตโนภาส. 2540a. โรคที่พบบนแตงกวายุโรปที่ปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ในช่วงฤดูหนาว. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 35 ระหว่างวันที่ 3 – 5 กุมภาพันธ์ 2540 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. หน้า 179 – 187.

พรหมมาศ คูหากาญจน์, ศุภชัย รตโนภาส และถนิมนันต์ เจนอักษร. 2540b. การแพร่กระจายของเชื้อราบางชนิดในระบบหมุนเวียนสารละลายธาตุอาหาร. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 14(2) : 26 – 37.

Benoit, F. and N. Ceustermans. 1986. Survey of a decade of reserch (1974-1984) with nutrient flim technique (NFT) on glasshouse vegetables. Soilless Culture. 2(1) : 5 – 17.

Cooper, A. 1988. The ABC of NFT. Grower books. London. 144 pp.

Deacon, J.W. and S.P. Donaldson. 1993. Molecular recogniton in the homing responsed of zoosporic fungi, with special reference to *Pythium* and *Phytophthora*. Mycol. Res. 97 : 115 – 1171.

Donaldson, S.P. and J.W. Deacon. 1992. Role of calcium in adhesion and germination of zoospore cysts of *Pythium* : a model to explain infection of host plants. Jornal of general microbiology. 38(10) : 2051 – 2059.

Donaldson, S.P. and J.W. Deacan. 1993. Change in motility of *Pythium* zoospore induced by calcium and calcium – modulating drugs. Mycol. Res. 97 : 877 – 883.

Douglas, J.S. 1988. Beginner's guide to Hydroponics. Durlet & Tanner ltd., London. 140 pp.

Gilbert, G.S., Handelsman, J. and J.L. Parke. 1990. Role of ammonia and calcium in lysis of zoospores of *Phytophthora cactorum* by *Bacillus cereus* strain UW 85. Exp. Mycol. 14 : 1 – 8.

Goldberg, N.P., Stanghellini, M.E. and S.L. Rasmussen. 1992. Filtration as a method for controlling *Pythium* root rot of hydroponically grown cucumbers. Plant disease. 76 (8) : 777 – 779.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hoper, H. and C. Alabouvette. 1996. Importance of physical and chemical soil properties in the suppressiveness of soil to plant diseases. European Journal of soul biology. 32 (1) : 41 – 58.

Ikeda, H. 1989. Hydroponics or soilless culture. Kenshu-in. 64 : 2 – 4.

Kao, C.W. and W.H. Ko. 1986. The role of calcium and microoganisms in suppression of cucumber damping-off caused by *Pythium splendens* in a Kawiian soil. *Phytopathology*. 76(2) : 221 – 225.

Lin, V.S., Sun, S.K., Hsu, S.T. and W.H. Hsien. 1990. Mechanisms involved in the control of soil berne plant pathogens by S-H mixture. *in* Biological control of Soil-borne plant pathogens. Hornby, D.(ed). C.A.B. International, wallingford, united Kingdom P. 249 - 259.

Martin, F.N. 1993. *Pythium. in* Methods for research on soilborne phythopathogenic fungi. Shsingleton, L.L., Mihail, J.D. and C.M. Rush (eds.). APS Press U.S.A. p. 39 – 49.

Morris, B.M. and N.A.R. Gow. 1992. Mechanism of electrotaxis of zoospore on phytopthogenic fungi Phytopathology. 83(8) : 877 – 882.

Pegg, K.G. 1977. Biological control of *Phytophthora cinamomi* root rot of avocado and pineapple in Queensland. Aust. Nurs. Assoc. Annu. Conf. Semin. Pa. 1997 p. 7 – 12.

Ratfar, K.A. 1994. Soiless culture technology for sustainable horticultural crop production in Malaysia. The International seminar on experiences in sustainable agriculture in southeast council of Thailand. Tokyo University of Agriculture and Khon Kean University.

Reid, B., Morris, B.M. and N.A.R. Gow. 1995. Calcium dependent, genus-specific, autoaggregation of zoospores of phytopathogenic fungi. Experimental mycology. 19 (3) : 202 – 213.

Resh, H.M. 1981. Hydroponics Food Production. Woodbridge Press publishing company. 325 pp.

Ribeiro, O.K. 1983. Physiology of asexual sporulation and spore germination in *Phytophthora. in Phytophthora.* Erwin, D.C., Gracia, S.B. and P.H. Tsao (eds). APS. Press Minisota, U.S.A. p. 55 – 70.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Schmitthenner, A.F. and C.H. Canaday. 1983. Role of chemical factors in development of *Phytophthora* diseases. *in Phytophthora* Erwin, D.C., Gracia, S.B. and P.H. Tsao (eds.) APS. Press Minisota, U.S.A. p. 129 – 196.

Sharon, L., von Broembsen and J.W. Deacm. 1997. Calcium interference with zoospore biology and infectivity of *Phytophthora parasitica* in nutrient irrigation solution. Phytopathology. 87(5) : 522 – 528.

Stanghellini, M.E. stowell, L.J. and M.L.Bates. 1984. Control of root rot of spinach caused by *Pythium aphanidermatum* in a recirculating hydroponic system by ultraviolet iradiation, Plant disease. 68(12) : 1035 – 1076.

Stanghellini, M.E., Rasmussen, S.L., Kin, D.H., and P.A. Rorabaugh. 1996. Efficacy of nonionic surfactants in the control of zoospore spread of *Pythium aphanidermatum* in a recirculating hydroponic system. Plant disease. 80 : 422 – 428.

Takakura, T. 1994. Engineering and technology for sustainable world. The International Seminar on Experience in Sustainable Agriculture in Southeast Asia (ESA '94). The Japan Society for promotion of science. The National Research council of Thailand, Tokyo University of Agriculture and Khon Kean University.

Vanachter, A. 1995. Recent evolutions in culture techniques for greenhouse grown vegetable crops, and consequences for the disease problems. Parasitica. 51 : 99 – 102.

Von Broembsen, S.L. and J.W. Deacon. 1996. Effect of Calcium on germination and further zoospore release from zoospore cysts of *Phytophthora parasitica*, Mycol. Res. 100 : 1498 – 1504.

Wilson, G. 1995. Microfarming is a new food sector. Agricultural science. 8 : 43 – 42.

Zhou, T. and T.C. Paulitz. 1993. In vitro and in vivo effect of *Pseudomonas* spp. on *Pythium aphanidermatum* : Zoospore behavior in exudates and on the rhizoplane of bacteria treated cucumber roots. Phytopathology. 83 : 872 – 876.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้