

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การใช้จุลินทรีย์ในการควบคุมโรคโคนเน่ารากเน่า ที่เกิดจากเชื้อ Pythium ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน

Application of Microorganisms for Controlling Pythium Root Rot in Hydroponics

โครงการระยะที่ 1 การศึกษาและสำรวจโรคโคนเน่ารากเน่าที่เกิดจากเชื้อ Pythium ในระบบ
ปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินที่ทำการค้า

โครงการระยะที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์ในการควบคุมโรครากเน่าของ
ผักสลัดที่เกิดจากเชื้อ Pythium ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินแบบ NFT

ผู้วิจัย

ดร.พรหมมาศ คุณหากาญจน์

RCH สังกัด สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

SE

186-5

พ2935

เลขหมู่..... 76403

เลขทะเบียน..... 23 พ.ย. 2550

วันเดือนปี.....

ชุดโครงการ การจัดการศัตรูพืช

b. 11969054
i.

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทสรุปย่อสำหรับผู้บริหาร

ปัจจุบันการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินได้เป็นที่รู้จักและพัฒนาไปสู่การผลิตในเชิงการค้ามากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการผลิตผักที่ใช้ในการบริโภค เช่น ผักสลัดพันธุ์ต่างประเทศชนิดต่างๆ ที่พบได้ทั่วไปในซูเปอร์มาร์เก็ตในขณะนี้ ส่วนหนึ่งของการเติบโตของธุรกิจดังกล่าว เป็นผลมาจากกระแสความต้องการของผู้บริโภคในเรื่องของความปลอดภัย (Food safety) และนโยบายของรัฐในการที่จะผลักดันให้ประเทศไทยเป็นครัวของโลก ผู้ประกอบการส่วนใหญ่จึงมองหาเทคโนโลยีที่จะเข้าถึงมาตรฐานรับรองการผลิตต่างๆ อาทิเช่น ตรารับรองพืชผักอนามัย หรือปลอดภัยจากสารพิษ มาตรฐาน ISO, GMP, HACCP เป็นต้น ซึ่งการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินเป็นเทคโนโลยีหนึ่งในการรองรับการเข้าสู่มาตรฐานดังกล่าวได้ ในปัจจุบันคาดว่ามีเอกชนที่ดำเนินการประกอบธุรกิจทางด้านนี้ในประเทศไทยมากกว่า 40 ราย โดยมีพื้นที่ปลูกมากกว่า 200 ไร่ ถ้าพิจารณาเฉพาะในเขตกรุงเทพมหานครเองก็มีบริษัทชั้นนำจำนวนไม่น้อยที่ได้เข้าสู่มาตรฐานดังกล่าวแล้ว และคาดว่าน่าจะมีมากขึ้น ซึ่งจะเป็นผลดีต่อการยกระดับมาตรฐานของสินค้าเกษตรกรรมของไทยให้สูงขึ้น อย่างไรก็ตามปัญหาที่สำคัญประการหนึ่งของการปลูกพืชในระบบนี้คือ ปัญหาเรื่องโรคโคนเน่ารากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* เนื่องจากระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินนี้จะได้รับสารอาหารจากแหล่งเดียวกัน ดังนั้นหากเกิดการปนเปื้อนของเชื้อสาเหตุโรคพืชบางชนิดลงไปในระบบจ่ายสารละลายธาตุอาหาร จะทำให้การแพร่ระบาดเป็นไปได้อย่างรวดเร็ว และอาจก่อให้เกิดความเสียหายได้มากกว่าพืชที่ปลูกโดยวิธีตามปกติ ในการป้องกันกำจัดโรคก็ควรจะต้องมีมาตรฐานที่เข้มงวดกว่าการปลูกพืชโดยวิธีปกติ เนื่องจากพืชที่ปลูกส่วนใหญ่ เป็นพืชผักที่ใช้ในการบริโภคสด สารเคมีประเภท Pesticides หรือสารอื่นๆ ที่คาดว่ามีแนวโน้มจะส่งผลกระทบต่อผู้บริโภค ในหลายๆ ประเทศจะไม่อนุญาตให้นำมาใช้ ดังนั้นจึงต้องทำการศึกษาค้นคว้า และหาวิธีการจัดการโรคให้เหมาะสม ทั้งในแง่ของประสิทธิภาพและความปลอดภัยต่อผู้บริโภค วิธีการหนึ่งที่เป็นไปได้ก็คือการใช้วิธีทางชีวภาพ (Biological control) เช่น การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ หรือจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์มาควบคุมเชื้อสาเหตุ ซึ่งการใช้จุลินทรีย์ในการควบคุมโรคพืชได้มีการศึกษาไว้มากมายในพืชที่ปลูกในดิน แต่ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ยังมีการศึกษาค่อนข้างน้อย อย่างไรก็ตามมีความเป็นไปได้ว่า การใช้จุลินทรีย์ในการควบคุมโรคโคนเน่ารากเน่าในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินนั้นมีความเป็นไปได้สูง เนื่องจากปริมาณของจุลินทรีย์เริ่มต้นจะมีน้อยกว่าในดิน ทำให้การแข่งขันในการเข้าครอบครองรากพืช (Colonization) มีน้อยกว่า ในปัจจุบันมีชีวผลิตภัณฑ์ที่มีอยู่ในท้องตลาดมากมาย ถูกพัฒนามาเพื่อใช้ในการควบคุมโรคพืชที่ปลูกในดิน แต่ยังไม่มีการทดสอบที่แน่ชัดว่าชีวผลิตภัณฑ์ดังกล่าวนั้นจะมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคที่ปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินด้วยหรือไม่ จากเหตุผลที่กล่าวมาจึงได้ดำเนินการโครงการวิจัยในเรื่องการใช้จุลินทรีย์ในการควบคุมโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน โดยแบ่งโครงการออกเป็น 2 ระยะ

คือ ระยะที่ 1 เป็นการศึกษาและสำรวจโรคโคนเน่ารากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินที่ทำการค้า ซึ่งเป็นโครงการนำร่อง เพื่อยืนยันถึงความเป็นปัญหาสำคัญของโรคดังกล่าว และโครงการระยะ 2 เป็นการทดสอบประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์ในการควบคุมโรคโคนเน่ารากเน่าของผักสลัดที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินแบบ NFT เพื่อเป็นข้อมูลในการนำไปใช้ตลอดจนเผยแพร่ให้แก่ผู้ที่เกี่ยวข้องได้ทราบ ผลการดำเนินงานทั้งสองโครงการบรรลุวัตถุประสงค์หลักตามที่ได้วางไว้ และยังสามารถสรุปประเด็นอื่นๆ ที่สำคัญไว้ดังนี้

1. ข้อสรุปตามวัตถุประสงค์ของโครงการ

วัตถุประสงค์ของโครงการ	ข้อสรุป
1. เพื่อทราบข้อมูลที่เป็นปัจจุบันของโรคโคนเน่ารากเน่าในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินในแง่ของความเสี่ยง อัตราการเกิดโรคและเชื้อสาเหตุของโรค	เชื้อ <i>Pythium</i> spp. ยังคงเป็นปัญหาสำคัญประการหนึ่งของการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน เนื่องจากเชื้อดังกล่าวสามารถตรวจพบได้ทั่วไปในระบบปลูก และอาจเป็นสาเหตุหลักทำให้เกิดโรครากเน่าหรือเป็นปัจจัยเสริมทำให้อาการรุนแรง เป็นผลทำให้พืชเป็นโรคตาย หรือการเจริญเติบโตลดลงประมาณ 40-60%
2. เพื่อให้ได้เชื้อสาเหตุโรคโคนเน่ารากเน่าสายพันธุ์ที่รุนแรง เพื่อนำมาใช้ในการศึกษาทดลอง	จากการจัดจำแนกพบว่า <i>Pythium</i> sp. ที่เป็นสาเหตุโรครากเน่าของผักสลัดพันธุ์ต่างประเทศที่ปลูกในระบบ NFT คือ <i>Pythium myriotylum</i> โดยสายพันธุ์รุนแรงที่ได้จากการทดลองนี้คือ ไอโซเลท RD8
3. เพื่อทราบประสิทธิภาพของสารควบคุมโดยชีววิธี (Biological control agent) ในการควบคุมโรคโคนเน่ารากเน่าในระบบ Nutrient film technique (NFT)	ชีวผลิตภัณฑ์ <i>Trichoderma harzianum</i> และ <i>Bacillus subtilis</i> มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุได้ดีในสภาพ <i>in vitro</i> โดยที่ความเข้มข้นประมาณ 10^5 - 10^6 cfu/ml สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุได้มากกว่า 80% อย่างไรก็ตามการนำไปใช้ในการควบคุมโรคในระบบ NFT มีแนวโน้มว่าอาจช่วยลดความเสียหายของโรคได้เฉพาะในกรณีที่มีการเกิดโรคอย่างไม่รุนแรงเท่านั้น

2. ข้อสรุปตามวัตถุประสงค์ของโครงการ รวมถึงประเด็นอื่นๆ ที่น่าสนใจ

2.1 เชื้อ *Pythium* spp. เป็นเชื้อที่สามารถตรวจพบได้ทั่วไปในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน โดยสามารถตรวจพบได้จากทุกระบบปลูกที่ได้ทำการสำรวจ และทุกส่วนของตัวอย่างที่นำมาตรวจนับเชื้อตลอดระยะเวลา 4 เดือนที่ทำการเก็บตัวอย่าง

2.2 เชื้อ *Pythium* spp. ยังคงเป็นปัญหาสำคัญของการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน เนื่องจากปริมาณเชื้อดังกล่าวมีผลโดยตรงต่อผลผลิต โดยทำให้พืชเป็นโรครากเน่าตาย หรือมีการเจริญเติบโตลดลง ซึ่งผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่า ปริมาณเชื้อที่เพิ่มขึ้นในรากพืชที่มากกว่าระดับปกติประมาณ 10 เท่า จะทำให้น้ำหนักโดยเฉลี่ยต่อต้นสูญเสียไปประมาณ 40-60%

2.3 จากการจัดจำแนกพบว่าเชื้อ *Pythium* spp. ส่วนใหญ่ที่พบในระบบ NFT ที่ปลูกผักสลัดเป็นการค้าคือ *P. myriotylum* และจากการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคก็พบว่า เป็นสาเหตุของโรครากเน่าในพืชดังกล่าว ลักษณะการดำรงชีพของ *P. myriotylum* ยังไม่ได้ทำการศึกษาในครั้งนี้ แต่คาดว่าน่าจะเป็นพวก facultative parasite จากเหตุผลดังกล่าวจึงทำให้เชื้อชนิดนี้สามารถตรวจพบได้ทั้งจากรากสลัดต้นปกติ และต้นที่เป็นโรคได้ในคราวเดียวกัน และการเกิดโรคอาจเกิดขึ้นได้ตลอดเวลาเมื่อใดก็ตามที่เชื้อดังกล่าวได้รับสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมหรือพืชอาศัยมีความอ่อนแอ

2.4 ปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ที่ตรวจพบในรากพืชที่เป็นโรค ค่อนข้างมีความสัมพันธ์กับปริมาณเชื้อที่ตรวจพบในสารละลายธาตุอาหาร จึงสันนิษฐานได้ว่าการเกิดโรครากเน่าในผักสลัดที่ปลูกในระบบ NFT ที่ทำเป็นการค้าน่าจะเริ่มจากปริมาณเชื้อสาเหตุที่มีอยู่แล้ว โดยอยู่ร่วมกับรากพืชต้นปกติ มีการเพิ่มจำนวนขึ้นมาไม่ว่าจากสาเหตุใดก็ตามจนพัฒนาเป็นระยะก่อโรค จากนั้นจึงแพร่กระจายไปทางสารละลายธาตุอาหาร ดังนั้นการจัดการเกี่ยวกับโรครากเน่าน่าจะให้ความสำคัญต่อการควบคุมปริมาณเชื้อสาเหตุในรากให้อยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดโรค ตลอดจนการจัดหาสภาพแวดล้อมต่างๆ มิให้เอื้ออำนวยต่อการเกิดโรค ซึ่งการใช้จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในการควบคุมเชื้อสาเหตุก็เป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถกระทำได้

2.5 การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *T. harzianum* และ *B. subtilis* ในการควบคุมเชื้อ *P. myriotylum* พบว่ามีประสิทธิภาพ เมื่อทำการทดลองในสภาพ *in vitro* โดยพบว่าที่ความเข้มข้นประมาณ 10^5 - 10^6 cfu/ml สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยของเชื้อดังกล่าวได้มากกว่า 80% แต่ในการทดลองในสภาพแปลงปลูก เพื่อควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดในระบบ NFT กลับพบว่า มีความเป็นไปได้อยู่ในระดับหนึ่งเท่านั้น โดยอาจช่วยลดความเสียหายได้ในกรณีที่มีการเกิดโรคไม่รุนแรง ดังนั้นในทางปฏิบัติควรใช้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวในด้านของการป้องกันหรือควบคุมปริมาณเชื้อสาเหตุในระบบ ก่อนที่จะพบอาการของโรค

2.6 ข้อจำกัดประการหนึ่งของการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ที่มีขายในท้องตลาดในการควบคุมโรครากเน่าในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินก็คือ อัตราส่วนและรูปแบบของผลิตภัณฑ์เนื่องจากพบว่า ผลิตภัณฑ์ *T. harzianum* บางผลิตภัณฑ์ หากใช้ความเข้มข้นที่สูงเกินไปอาจเป็นอันตรายต่อรากพืชได้ ซึ่งเป็นผลมาจากบางสายพันธุ์อาจมีความแรงแรง (aggressive strain) ในการเป็นสารควบคุมโดยชีววิธี (biological control agent) ซึ่งหากนำไปใช้ในการควบคุมเชื้อสาเหตุที่อยู่ในดินก็จะเป็นผลดีแต่ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระบบ NFT หรือ DFT ซึ่งรากอยู่ในสภาพเปลือยเปล่า (bare root) ความแรงแรงของสายพันธุ์ดังกล่าวอาจเป็นอันตรายต่อพืชได้ นอกจากนี้ส่วนผสมที่อยู่ในแต่ละผลิตภัณฑ์ อาจก่อให้เกิดความระคายเคืองต่อรากพืชได้เช่นกัน ซึ่งการศึกษาในครั้งนี้พบว่าการใช้ที่ระดับความเข้มข้น 10^8 cfu/l ของสารละลายธาตุอาหาร ไม่ก่อให้เกิดผลเสียแก่พืชอย่างไร

2.7 จุลินทรีย์บริเวณเขตรากพืช (rhizobacteria) ที่แยกได้จากระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน อาจเป็นจุลินทรีย์อีกกลุ่มหนึ่งที่มีศักยภาพในการพัฒนามาเป็นสารควบคุมโดยชีววิธีในระบบปลูกพืชชนิดนี้ เนื่องจากได้ทำการทดสอบแล้วพบว่า มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยของเชื้อ *P. myriotylum* สาเหตุโรครากเน่าในผักสลัดได้ดี ไม่แตกต่างกับชีวผลิตภัณฑ์ที่มีขายในท้องตลาด และจากการทดสอบในสภาพแปลงปลูกก็พบว่า ให้ผลดีถึงขั้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ กับพืชทดสอบที่ไม่ทำการปลูกเชื้อ (healthy control)

3. การเผยแพร่งานวิจัย

ในระหว่างการดำเนินงานของโครงการได้ทำการเผยแพร่งานวิจัยไปบ้างแล้วบางส่วนดังนี้คือ

3.1 พรหมมาศ คุณากาญจน์. 2548. การสำรวจปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ในรากของผักสลัดที่ปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน. รวมบทคัดย่อ ใน การสัมมนาวิชาการเกษตรประจำปี 2548 ระหว่างวันที่ 24 - 25 มกราคม 2548. ณ ห้องประชุมกวีจิตกุล คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จัดโดยคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. หน้า 123.

3.2 พรหมมาศ คุณากาญจน์ และอิทธิสุนทร นันทกิจ. 2548. ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี ในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน. กำหนดการประชุมและบทคัดย่อ ใน การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 5 ระหว่างวันที่ 26-29 เมษายน 2548 ณ โรงแรมเวลด์ม จอมเทียนบีช พัทยา อ.บางละมุง จ.ชลบุรี จัดโดยคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. หน้า 174.

3.3 พรหมมาศ คุณหากาญจน์ และอิทธิสุนทร นันทิกจ. 2548. ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี และจุลินทรีย์บริเวณเขตรากพืชที่แยกได้จากสลัดที่ปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Pythium myriotylum*. กำหนดการประชุมและบทคัดย่อ ใน การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 5 ระหว่างวันที่ 26-29 เมษายน 2548 ณ โรงแรมเวลคัมจอมเทียนบีช พัทยา อ.บางละมุง จ.ชลบุรี จัดโดยคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. หน้า 174.

นอกจากนี้ยังได้มีการเผยแพร่ข้อมูลโดยตรงให้แก่ผู้ที่เกี่ยวข้องผ่านทางวารสารการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินที่จัดเป็นประจำ โดยคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

4. แนวทางในการดำเนินการวิจัยต่อไปในอนาคต

จากข้อสรุปที่กล่าวมาแล้วข้างต้นขอเสนอแนะในการดำเนินการวิจัยต่อไปในอนาคต ในเรื่องของการใช้จุลินทรีย์ในการควบคุมโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ควรจะเป็นประเด็นดังต่อไปนี้

4.1 ศึกษาและพัฒนา rhizobacteria หรือ indigenous microorganisms ที่พบในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินมาเป็นสารควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (biological control agent) เพื่อใช้ในการควบคุมโรคในระบบการปลูกพืชชนิดนี้เป็นการเฉพาะ เนื่องจากจุลินทรีย์ดังกล่าวจะมีความดีเด่นในการปรับตัวและอยู่รอด การเข้าครอบครองรากพืช (colonization) การแข่งขันกับจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช และ/หรือ การสนับสนุนการเจริญเติบโตของพืช

4.2 หากจะมีการศึกษาถึง applications ที่เหมาะสมในการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ที่มีอยู่แล้วในห้องตลาดเพื่อมาใช้ในระบบ NFT น่าจะมีการศึกษาในเรื่องของ bio-filter แทนการใช้จุลินทรีย์ออกฤทธิ์ดังกล่าวใส่เข้าไปในระบบโดยตรง และหากต้องการนำไปใช้โดยตรงก็ควรทำการศึกษาในระบบแบบมีวัสดุปลูกซึ่งในประเทศไทยก็ยังมีการศึกษาค่อนข้างน้อยเช่นกัน

บทคัดย่อ

การศึกษาในครั้งนี้ ประกอบไปด้วย 2 โครงการ โครงการระยะที่ 1 เป็นการสำรวจโรคโคนเน่า รากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินที่ทำเป็นการค้า ซึ่งเป็นโครงการนำร่อง และในโครงการระยะที่ 2 เป็นการทดสอบประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์ ในการควบคุมโรครากเน่า ของผักสลัดที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินแบบ NFT การดำเนินงานในโครงการ ระยะที่ 1 ได้ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างในระบบปลูกพืชแบบ Nutrient film technique (NFT) ที่ใช้ ปลูกผักสลัดพันธุ์ต่างประเศชนิดต่างๆ เป็นการค้า และในระบบ Deep flow technique (DFT) ที่ทำ การปลูกคื่นฉ่าย จำนวนทั้งสิ้น 6 ระบบปลูก จาก 4 ฟาร์ม ที่ตั้งอยู่บริเวณเขตกรุงเทพมหานคร และ ปริมณฑล ในช่วงเดือนพฤษภาคม - สิงหาคม 2547 ตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจนับปริมาณเชื้อได้แก่ ตัวอย่างพืชจากต้นที่สมบูรณ์แข็งแรง ต้นที่แสดงอาการของโรครากเน่าโคนเน่า และสารละลายธาตุอาหารที่ใช้ ผลการศึกษาพบว่าเชื้อ *Pythium* spp. สามารถตรวจพบได้ในทุกตัวอย่างจากทุกฟาร์มตลอดช่วง ระยะเวลา 4 เดือน ที่ทำการสำรวจโดยมีปริมาณเชื้อดังนี้ 1) ในระบบ NFT ปลูกในสภาพโรงเรือนปิด พบปริมาณเชื้อในรากจากต้นที่สมบูรณ์แข็งแรง ต้นที่เป็นโรค และในสารละลายธาตุอาหาร ในปริมาณ โดยเฉลี่ยอยู่ในช่วง 1.8-2.0 log cfu/g, 2.4-2.8 log cfu/g และ 0.7-1.3 log cfu/100 ml, ตามลำดับ 2) ในระบบ NFT ปลูกในสภาพกลางแจ้งพบปริมาณเชื้อโดยเฉลี่ยอยู่ในช่วง 1.8-2.7 log cfu/g, 3.0-3.8 log cfu/g และ 0.6-0.9 log cfu/100 ml, ตามลำดับ และ 3) ในระบบ DFT ปลูกในสภาพกลางแจ้งจะมีค่าเฉลี่ยประมาณ 2.1 log cfu/g, 2.7 log cfu/g และ 1.0 log cfu/100 ml, ตามลำดับ ปริมาณเชื้อดังกล่าวมีผลโดยตรงต่อผลผลิต ปริมาณเชื้อที่ตรวจพบในรากพืชที่แสดงอาการของโรคจะ พบมากกว่าพืชปกติเสมอ และเป็นผลทำให้พืชดังกล่าวมีการเจริญเติบโตที่ลดลงประมาณ 40-60% และหากปริมาณเชื้อเพิ่มมากขึ้นถึงขั้นวิกฤติ ก็จะทำให้พืชเป็นโรคตายได้ จากการจัดจำแนกพบว่าเชื้อ *Pythium* spp. ส่วนใหญ่ที่แยกได้จากระบบ NFT ที่ใช้ปลูกผักสลัดเป็นการค้า ได้แก่ *P. myriotylum* และเมื่อนำเชื้อดังกล่าวมาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคก็พบว่า เป็นสาเหตุของโรครากเน่า ในผักสลัดพันธุ์ต่างประเศได้อย่างรุนแรง ผลการศึกษาในส่วนนี้ชี้ให้เห็นว่า *Pythium* spp. เป็นเชื้อที่ ตรวจพบได้ทั่วไปในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน และยังคงเป็นปัญหาสำคัญของการปลูกพืชในระบบนี้

การดำเนินงานในโครงการระยะที่ 2 ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์ *Trichoderma harzianum* และ *Bacillus subtilis* บางชนิดที่มีขายในท้องตลาด ถึงประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดที่เกิดจากเชื้อ *P. myriotylum* พบว่า ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวที่ความเข้มข้น 10^5 - 10^6 cfu/ml มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุได้มากกว่า 80% ในสภาพ *in vitro* อย่างไรก็ตามเมื่อนำเอาผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมาทดสอบในระบบปลูกแบบ NFT ก็พบว่ามีแนวโน้มที่จะ ควบคุมโรครากดังกล่าวได้ เฉพาะในกรณีที่มิสภาพการเกิดโรคที่ไม่รุนแรงเท่านั้น โดยการใส่ลงไปในสารละลาย

ธาตุอาหารในอัตราประมาณ 10^8 cfu/l ของสารละลายธาตุอาหาร นอกจากนี้ยังมีข้อจำกัดบางประการที่ต้องคำนึงถึงคือ รูปแบบและความเข้มข้นที่ใช้โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้จาก *T. harzianum* บางผลิตภัณฑ์ หากใช้ในอัตราความเข้มข้นที่สูงเกินไป อาจเป็นอันตรายต่อรากพืชได้ อีกทั้งส่วนผสมที่มีอยู่ในแต่ละผลิตภัณฑ์ ก็อาจก่อให้เกิดความระคายเคืองแก่รากพืชได้เช่นกัน ในโครงการระยะที่ 2 นี้ ยังได้ทำการศึกษาถึงศักยภาพของจุลินทรีย์บริเวณเขตรากพืช (rhizobacteria) ในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดที่เกิดจาก *P. myriotylum* ร่วมด้วย ซึ่งผลการศึกษาในสภาพ *in vitro* พบว่า มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุได้ดีเทียบเท่ากับชีวผลิตภัณฑ์ที่มีขายในท้องตลาดและการทดสอบในระบบ NFT ก็พบว่าสามารถช่วยลดความสูญเสียเนื่องจากโรคดังกล่าวได้ ถึงขั้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ กับต้นพืชปกติที่ไม่ทำการปลูกเชื้อ (healthy control) ผลการศึกษาทั้งหมดในส่วนนี้แสดงให้เห็นว่าการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดในระบบ NFT สามารถกระทำได้ในระดับหนึ่ง แต่มีข้อจำกัดบางประการที่ต้องทำการศึกษาค้นคว้าต่อไป และชี้ให้เห็นว่าจุลินทรีย์บริเวณเขตรากพืชก็เป็นจุลินทรีย์อีกกลุ่มหนึ่งที่มีศักยภาพในการพัฒนามาเป็นสารควบคุมโดยชีววิธีเพื่อควบคุมโรครากเน่าในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินได้



สารบัญ

	หน้า
บทสรุปย่อสำหรับผู้บริหาร	i
บทคัดย่อ	vi
สารบัญ	viii
สารบัญภาพ	ix
สารบัญตาราง	x
สารบัญตารางผนวก	xii
บทนำ	1
วัตถุประสงค์ของโครงการ	4
การตรวจเอกสาร	5
โครงการระยะที่ 1 การศึกษาและสำรวจโรคโคนเน่ารากเน่าที่เกิดจากเชื้อ Pythium ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินที่ทำการค้า	10
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	10
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	11
โครงการระยะที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์ในการควบคุมโรครากเน่า ของผักสลัดที่เกิดจากเชื้อ Pythium ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินแบบ NFT	28
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	28
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	36
สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ	53
เอกสารอ้างอิง	55
ภาคผนวก ก : ตารางผนวก	58
ภาคผนวก ข : รายชื่อผลงานวิจัยที่ได้ตีพิมพ์เผยแพร่แล้ว	70

สารบัญญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	การแพร่กระจายของเชื้อ <i>Pythium</i> spp. ในรากสัลดคอส และในสารละลายธาตุอาหารที่ปลูกบนราง NFT ในโรงเรือนปรับอากาศของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตกรุงเทพมหานคร	19
2	การแพร่กระจายของเชื้อ <i>Pythium</i> spp. ในรากสัลดเรดโอ๊คและในสารละลายธาตุอาหารที่ปลูกบนราง NFT ในโรงเรือนตาข่ายและโรงเรือนปรับอากาศ ในช่วงเดือนพฤษภาคม – สิงหาคม 2547 ของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตกรุงเทพมหานคร	20
3	การแพร่กระจายของเชื้อ <i>Pythium</i> spp. ในรากสัลดกรีนโอ๊คและในสารละลายธาตุอาหารที่ปลูกบนราง NFT ในสภาพโรงเรือนเปิด ในช่วงเดือนพฤษภาคม – สิงหาคม 2547 ของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตจังหวัดรอบนอกกรุงเทพมหานคร	21
4	ผักสลัดที่ทำการปลูกเชื้อด้วยเชื้อ <i>P. myriotylum</i> RD8	25
5	ลักษณะ oospore ของเชื้อ <i>P. myriotylum</i>	25
6	ระบบการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินแบบ NFT ที่ใช้ในการทดลอง	29
7	การทดลองใน crop ที่ 1 (ตุลาคม – พฤศจิกายน 2547)	31
8	การทดลองใน crop ที่ 2 (พฤศจิกายน – ธันวาคม 2547)	33
9	การทดลองใน crop ที่ 3 (กุมภาพันธ์ – มีนาคม 2548)	35
10	น้ำหนักแห้งของเส้นใยของเชื้อ <i>P. myriotylum</i> ในอาหาร NS-broth ที่มีส่วนผสมของชีวผลิตภัณฑ์แต่ละชนิดที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	36
11	ความรุนแรงของการเกิดโรครากเน่าในผักสัลดคอส เรดโอ๊ค และบัตเตอร์เฮด ที่ทำการ ทรีต ด้วยชีวผลิตภัณฑ์ <i>T. harzianum</i> และ <i>B. subtilis</i> รูปแบบต่างๆ (crop 1 : ต.ค.- พ.ย. 47)	38
12	ความรุนแรงของการเกิดโรครากเน่าในผักสัลดกรีนโอ๊ค เรดคอรอล และพรีลิช ที่ทำการ ทรีต ด้วยชีวผลิตภัณฑ์ <i>T. harzianum</i> และ <i>B. subtilis</i> รูปแบบต่างๆ (crop 2 : พ.ย.- ธ.ค. 47)	43
13	ความรุนแรงของการเกิดโรครากเน่าในผักสัลดกรีนโอ๊ค เรดโอ๊ค และบัตเตอร์เฮด ที่ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์ และ rhizobacteria บางไอโซเลท (crop 3 : ก.พ.- มี.ค. 48)	49

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ปริมาณเชื้อ <i>Pythium</i> spp. ที่ตรวจพบในสลัดคอกส ปลูกบนราง NFT ในโรงเรือนปรับอากาศของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตกรุงเทพมหานคร	12
2	ปริมาณเชื้อ <i>Pythium</i> ที่ตรวจพบในสลัดเรดโอ๊คปลูกบนราง NFT ในโรงเรือนปรับอากาศ ของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตกรุงเทพมหานคร	13
3	ปริมาณเชื้อ <i>Pythium</i> ที่ตรวจพบในสลัดกรีนโอ๊คปลูกบนราง NFT ในโรงเรือนตาข่ายของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตกรุงเทพมหานคร	14
4	ปริมาณเชื้อ <i>Pythium</i> spp. ที่ตรวจพบในสลัดกรีนโอ๊คปลูกบนราง NFT ในสภาพโรงเรือนเปิดของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตจังหวัดรอบนอกกรุงเทพมหานคร	15
5	ปริมาณเชื้อ <i>Pythium</i> spp. ที่ตรวจพบในสลัดกรีนโอ๊คปลูกบนราง NFT ในสภาพโรงเรือนเปิดของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตกรุงเทพมหานคร	16
6	ปริมาณเชื้อ <i>Pythium</i> ที่ตรวจพบในคื่นฉ่ายปลูกในถาด DFT ในสภาพโรงเรือนเปิด ของฟาร์มเอกชนแห่งในจังหวัดรอบนอกกรุงเทพมหานคร	17
7	สรุปค่าเฉลี่ยของปริมาณเชื้อ <i>Pythium</i> spp. ที่ตรวจพบในรากของพืชผักที่ปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินกับน้ำหมักพืชที่สูญเสียไป	23
8	ผลการจัดจำแนกเบื้องต้นของเชื้อ <i>Pythium</i> spp. บางไอโซเลทที่แยกได้จากระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินที่ทำการเป็นค้า	26
9	น้ำหมักสดของผักสลัดคอกส ในแต่ละกรรมวิธีที่ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์บางชนิด (crop 1 : ต.ค. – พ.ย. 47)	39
10	น้ำหมักสดของผักสลัดเรดโอ๊ค ในแต่ละกรรมวิธีที่ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์บางชนิด (crop 1 : ต.ค. – พ.ย. 47)	40
11	น้ำหมักสดของผักสลัดบัตเตอร์เฮด ในแต่ละกรรมวิธีที่ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์บางชนิด (crop 1 : ต.ค. – พ.ย. 47)	41
12	น้ำหมักสดของผักสลัดกรีนโอ๊ค ในแต่ละกรรมวิธีที่ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์บางชนิด ลงไปในสารละลายธาตุอาหาร (crop 2 : พ.ย. – ธ.ค. 47)	45
13	น้ำหมักสดของผักสลัดเรดคอรอล ในแต่ละกรรมวิธีที่ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์บางชนิดลงในสารละลายธาตุอาหาร (crop 2 : พ.ย. – ธ.ค. 47)	45
14	น้ำหมักสดของผักสลัดฟริลลิส ในแต่ละกรรมวิธีที่ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์บางชนิด ลงไปในสารละลายธาตุอาหาร (crop 2 : พ.ย. – ธ.ค. 47)	46

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
15	น้ำหนักรีดของผักสลัดกรีนโอ๊ค ในแต่ละกรรมวิธีที่ทำการพรีดด้วยชีวผลิตภัณฑ์ <i>T. harzianum</i> , <i>B. subtilis</i> หรือ rhizobacteria ลงในสารละลายธาตุอาหาร (crop 3 : ก.พ. – มี.ค. 48)	50
16	น้ำหนักรีดของผักสลัดเรดโอ๊ค ในแต่ละกรรมวิธีที่ทำการพรีดด้วยชีวผลิตภัณฑ์ <i>T. harzianum</i> , <i>B. subtilis</i> หรือ rhizobacteria ลงในสารละลายธาตุอาหาร (crop 3 : ก.พ. – มี.ค. 48)	51
17	น้ำหนักรีดของผักสลัดบัตเตอร์เฮด ในแต่ละกรรมวิธีที่ทำการพรีดด้วยชีวผลิตภัณฑ์ <i>T. harzianum</i> , <i>B. subtilis</i> หรือ rhizobacteria ลงในสารละลายธาตุอาหาร (crop 3 : ก.พ. – มี.ค. 48)	51



สารบัญตารางผนวก

ตารางผนวกที่		หน้า
1	ชื่อและที่อยู่ของฟาร์มเอกชนที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเข้าไปเก็บตัวอย่าง	58
2	ปริมาณเชื้อ <i>Pythium</i> spp. ที่ตรวจพบในสลัดคอส ปลูกบนราง NFT ในโรงเรือนปรับอากาศของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตกรุงเทพมหานคร (ค่าก่อนการ take log)	58
3	ปริมาณเชื้อ <i>Pythium</i> spp. ที่ตรวจพบในสลัดเรดโอ๊ค ปลูกบนราง NFT ในโรงเรือนตาข่ายและโรงเรือนปรับอากาศ ของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตกรุงเทพมหานคร (ค่าก่อนการ take log)	59
4	ปริมาณเชื้อ <i>Pythium</i> ที่ตรวจพบในสลัดกรีนโอ๊ค ปลูกบนราง NFT ในโรงเรือนตาข่ายของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตกรุงเทพมหานคร (ค่าก่อนการ take log)	60
5	ปริมาณเชื้อ <i>Pythium</i> spp. ที่ตรวจพบในสลัดกรีนโอ๊ค ปลูกบนราง NFT ในสภาพโรงเรือนเปิดของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตจังหวัดระยอง กรุงเทพมหานคร (ค่าก่อนการ take log)	61
6	ปริมาณเชื้อ <i>Pythium</i> spp. ที่ตรวจพบในสลัดกรีนโอ๊ค ปลูกบนราง NFT ในสภาพโรงเรือนเปิด ของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตกรุงเทพมหานคร (ค่าก่อนการ take log)	62
7	ปริมาณเชื้อ <i>Pythium</i> ที่ตรวจพบในคื่นฉ่ายปลูกในถาด DFT ในสภาพโรงเรือนเปิดของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในจังหวัดระยองกรุงเทพมหานคร (ค่าก่อนการ take log)	63
8	น้ำหมักสดของสลัดคอสที่ปลูกบนราง NFT ในโรงเรือนปรับอากาศของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตกรุงเทพมหานคร และเปอร์เซ็นต์ส่วนต่างระหว่างต้นปกติกับต้นที่เป็นโรค	64
9	น้ำหมักสดของสลัดเรดโอ๊ค ปลูกบนราง NFT ในโรงเรือนตาข่าย และโรงเรือนปรับอากาศของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในกรุงเทพมหานคร และเปอร์เซ็นต์ส่วนต่างระหว่างต้นปกติกับต้นที่เป็นโรค	65
10	น้ำหมักสดของสลัดกรีนโอ๊ค ปลูกบนราง NFT ในโรงเรือนตาข่ายของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในกรุงเทพมหานคร และเปอร์เซ็นต์ส่วนต่างระหว่างต้นปกติกับต้นที่เป็นโรค	65

สารบัญตารางผนวก (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
11	น้ำนักสดของสลัดกรีนโอ๊ค ปลูกบนราง NFT ในสภาพโรงเรือนเปิดของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตจังหวัดรอบนอกกรุงเทพมหานคร และเปอร์เซ็นต์ส่วนต่างระหว่างต้นปกติกับต้นที่เป็นโรค	66
12	น้ำนักสดของสลัดกรีนโอ๊ค ปลูกบนราง NFT ในสภาพโรงเรือนเปิดของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตกรุงเทพมหานคร และเปอร์เซ็นต์ส่วนต่างระหว่างต้นปกติกับต้นที่เป็นโรค	67
13	น้ำนักสดของคื่นฉ่ายปลูกในถาด DFT ในสภาพโรงเรือนเปิดของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในจังหวัดรอบนอกกรุงเทพมหานคร และเปอร์เซ็นต์ส่วนต่างระหว่างต้นปกติกับต้นที่เป็นโรค	68
14	รายชื่อสารชีวผลิตภัณฑ์ (Biological control products) ที่ใช้ในการทดลอง	69



บทนำ

ปัจจุบันการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินได้เป็นที่รู้จักและพัฒนาไปสู่การผลิตในเชิงการค้ามากขึ้น ทั้งนี้สืบเนื่องมาจากการศึกษาวิจัย และการถ่ายทอดเทคโนโลยีอย่างต่อเนื่องจากสถาบันการศึกษาต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง นอกจากนี้กระแสความต้องการของผู้บริโภคในเรื่องของอาหารปลอดภัย (Food safety) ก็มีส่วนสำคัญอย่างยิ่งที่ผลักดันให้เกิดการขยายตัวของธุรกิจการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินอย่างต่อเนื่อง โดยในส่วนของความปลอดภัยของอาหาร ไม่เพียงเฉพาะว่าผลผลิตสุดท้ายจะต้องปลอดภัยจากการปนเปื้อนจากสิ่งปนเปื้อนทางเคมีและชีวภาพเท่านั้น แต่ยังรวมถึงกระบวนการผลิตต่างๆ ตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงมือผู้บริโภคจะต้องปลอดภัยด้วย ซึ่งในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินนั้น ชนิดและปริมาณของสารเคมีต่างๆ ที่พืชจะได้รับสามารถควบคุมและตรวจสอบได้ และเนื่องจากกระบวนการปลูกพืชชนิดนี้ ไม่มีการใช้ดินในการปลูกจึงทำให้ลดปัญหาการปนเปื้อนจากสิ่งปนเปื้อนทางชีวภาพลงไปได้ คาดว่าในปัจจุบันมีเอกชนที่ดำเนินการประกอบธุรกิจทางด้านนี้ในประเทศไทย ไม่ต่ำกว่า 40 ราย โดยมีพื้นที่ปลูกไม่น้อยกว่า 200 ไร่ พืชที่ปลูกส่วนใหญ่ได้แก่พืชผักที่ใช้ในการบริโภคสด โดยมีการส่งขายทั้งตลาดภายในและภายนอกประเทศ (ดิเรก, 2546)

มีเหตุผลอีกหลายประการที่ทำให้ระบบปลูกโดยไม่ใช้ดินเป็นที่ยอมรับกันอย่างกว้างขวาง อาทิเช่น สามารถนำเอากระบวนการปลูกพืชนี้ไปใช้ได้กับทุกสภาพพื้นที่ ที่การเพาะปลูกตามปกติไม่สามารถทำได้ เป็นการปลูกพืชที่ใช้น้ำและปุ๋ยได้อย่างมีประสิทธิภาพ สามารถลดปัญหาเรื่องโรคและแมลงศัตรูพืช ผลผลิตต่อหน่วยพื้นที่มากกว่าการปลูกพืชตามปกติ การจัดการในเรื่องผลผลิตมีความแน่นอนกว่า สามารถทำการปลูกได้ตลอดปี และมีการใช้แรงงานน้อย แต่ที่สำคัญที่สุดน่าจะเป็นในเรื่องของขบวนการผลิตที่สามารถควบคุมและตรวจสอบได้ และการใช้ปัจจัยการผลิตอย่างคุ้มค่า ไม่ก่อให้เกิดผลกระทบต่อสภาพแวดล้อม จึงทำให้ผลผลิตที่ได้จากการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน เป็นที่ยอมรับในระดับสากล อย่างไรก็ตามการที่พืชที่ปลูกในระบบนี้ได้รับสารอาหารจากแหล่งเดียวกัน ดังนั้นหากเกิดการปนเปื้อนของเชื้อสาเหตุโรคพืชบางชนิดลงไปในระบบจ่ายสารละลายธาตุอาหาร จะทำให้การแพร่ระบาดเป็นไปได้อย่างรวดเร็ว และอาจก่อให้เกิดความเสียหายได้มากกว่าพืชที่ปลูกโดยวิธีตามปกติ ซึ่งโรคที่เป็นปัญหาสำคัญก็คือโรคโคนเน่ารากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* spp. เนื่องจากเชื้อชนิดนี้มีการสร้างส่วนขยายพันธุ์ที่เรียกว่า zoospore ซึ่งสามารถแพร่ระบาดได้ดีในระบบสารละลายธาตุอาหารของการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน โดยสามารถก่อให้เกิดความเสียหายได้ถึง 100% ภายในระยะเวลา 2-3 วัน (Favrin *et al.*, 1988; Stanghellini and Rasmussen, 1994)

ในการป้องกันกำจัดโรคในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ค่อนข้างมีมาตรฐานที่เข้มงวดกว่าการปลูกพืชโดยวิธีปกติ เนื่องจากพืชที่ปลูกส่วนใหญ่ เป็นพืชผักที่ใช้ในการบริโภคสด สารเคมีประเภท Pesticides หรือสารอื่นๆ ที่คาดว่าจะมีแนวโน้มจะส่งผลกระทบต่อผู้บริโภค ในหลายๆ ประเทศจะไม่อนุญาต

ให้นำมาใช้กับระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ดังนั้นจึงต้องทำการศึกษาค้นคว้า หาวิธีการจัดการโรคให้เหมาะสม ทั้งในแง่ของประสิทธิภาพและความปลอดภัยต่อผู้บริโภค วิธีการต่างๆ ไปที่นิยมใช้ในการป้องกันกำจัด โรคโคนเน่ารากเน่าในขณะนี้คือ การทำให้สารละลายธาตุอาหารปราศจากเชื้อโรค (Sterilizing or Disinfecting methods) เช่น Heat treatment, U-V radiation, Ozonization, Membrane filtration, Iodination, Activated hydrogenperoxide (Runia, 1995) ซึ่งการใช้วิธีการดังกล่าว จะต้องเสียค่าใช้จ่ายเพิ่มเติมในการติดตั้งอุปกรณ์ฆ่าเชื้อ นอกจากนี้วิธีการบางอย่างเช่น U-V radiation และ Ozonization ไม่สามารถทำการฆ่าเชื้อในสารละลายธาตุอาหารในระหว่างการปลูกพืชได้ เนื่องจากจะมีผลกระทบต่อองค์ประกอบของสารละลายธาตุอาหาร การใช้ Heat treatment จะทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น เนื่องจากค่าน้ำมันเชื้อเพลิงและกระแสไฟฟ้า เพราะจะต้องทำให้สารละลายธาตุอาหาร มีอุณหภูมิสูงขึ้นถึงอย่างน้อย 87 องศาเซลเซียส และทำให้เย็นลงก่อนที่จะนำไปใช้งาน การใช้สารเคมีที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ จะก่อให้เกิด Phytotoxic กับพืช ดังนั้นจึงแนะนำให้ใช้เฉพาะในการฆ่าเชื้อในน้ำ ก่อนที่จะนำมาเตรียมเป็นสารละลายธาตุอาหารเท่านั้น การฆ่าเชื้อในสารละลายธาตุอาหารด้วยวิธีการต่างๆ ที่กล่าวมาแล้วข้างต้น นอกจากจะเป็นการฆ่าเชื้อสาเหตุโรคพืชแล้วยังเป็นการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ตัวอื่นๆ ที่อาจจะเป็นประโยชน์ต่อพืชที่ปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินลงไปด้วย ในปัจจุบันพบว่า การทำให้สารละลายธาตุอาหารปราศจากเชื้อโรคนั้นอาจไม่ใช่เป็นวิธีการที่ดีนักในการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่ารากเน่า โดยได้มีการศึกษาพบว่า หากมีการปลูกเชื้อสาเหตุโรสดังกล่าวลงในวัสดุปลูกที่ผ่านการทำให้ปลอดเชื้อ (Autoclave) ความรุนแรงของการเกิดโรคจะมากกว่าในวัสดุปลูกที่ไม่ทำการ Autoclave ทั้งนี้เนื่องจากจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ที่ทำหน้าที่เป็น Biological buffer ให้แก่ต้นพืช จะต้องถูกทำลายลงไปด้วย (Postma *et.al.*, 2000) นอกจากนี้บางรายงานยังพบว่า การเกิดโรคโคนเน่ารากเน่าในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินแบบระบบปิด ที่มีการหมุนเวียนนำเอาสารละลายกลับมาใช้ใหม่ (Recirculated system) จะน้อยกว่าในระบบเปิด ที่ไม่มีการหมุนเวียนนำเอาสารละลายกลับมาใช้ใหม่ (Run off system) ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณของแบคทีเรียที่มีอยู่ในระบบปิดนั้นมีมากกว่าในระบบเปิด และแบคทีเรียเหล่านั้นอาจมีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุ ซึ่งสวนกับกระแสความรู้เดิมที่ว่าในระบบปิดนั้น โอกาสที่จะเกิดโรคโคนเน่ารากเน่านั้นมีมากกว่าระบบเปิด (Tu *et.al.*, 1999) ตัวอย่างผลการศึกษาดังกล่าว ทำให้การใช้จุลินทรีย์ในการควบคุมโรคในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินได้รับความสนใจมากขึ้น ซึ่งเป็นวิธีการทางชีวภาพ (Biological control) ที่ปลอดภัย และประหยัดกว่าการควบคุมโรค โดยวิธีทำให้ปลอดเชื้อที่ใช้กันอยู่โดยทั่วไป

การใช้จุลินทรีย์ในการควบคุมโรคพืชได้มีการศึกษาไว้มากมายในพืชที่ปลูกในดิน แต่ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน มีการศึกษาค่อนข้างน้อย อย่างไรก็ตามมีความเป็นไปได้ว่า การใช้จุลินทรีย์ในการควบคุมโรคโคนเน่ารากเน่าในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินนั้น มีความเป็นไปได้สูงเนื่องจากปริมาณของจุลินทรีย์เริ่มต้น จะมีน้อยกว่าในดิน ทำให้การแข่งขันในการเข้าครอบครองรากพืช (Colonization) มี

น้อยกว่า Weller (1988) กล่าวว่า ผลสำเร็จของการใช้จุลินทรีย์ในการควบคุมโรคพืชนั้น ขึ้นอยู่กับความสามารถในการมีชีวิตรอดของจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่เป็นสารควบคุมโดยชีววิธี (Biological control agents: BCA) ในสภาพแวดล้อมที่นำไปใช้ และจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคในพืชชนิดใดชนิดหนึ่งก็ควรได้มาจาก จุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ร่วมกับรากพืชชนิดนั้น หรือในสภาพแวดล้อมที่ทำการปลูกพืชชนิดนั้น ในปัจจุบันมีสารควบคุมโดยชีววิธีที่มีอยู่ในท้องตลาดมากมาย ถูกพัฒนามาเพื่อใช้ในการควบคุมโรคพืชที่ปลูกในดิน แต่ยังไม่มีการทดสอบที่แน่ชัดว่าสารควบคุมโดยชีววิธีต่างๆ นั้น มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคที่ปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินด้วยหรือไม่ จากเหตุผลที่กล่าวมา จึงน่าจะมีการศึกษาวิจัยในเรื่องต่างๆ ดังนี้ 1) ศึกษาและสำรวจโรคโคนเน่ารากเน่า ตลอดจนการแพร่กระจายของเชื้อ เพื่อเป็นข้อมูลยืนยันถึงความเป็นปัญหาสำคัญของโรคชนิดนี้ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน 2) ทดสอบประสิทธิภาพของสารควบคุมโดยชีววิธีดังกล่าว ในการควบคุมโรคในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน เพื่อเป็นข้อมูลในการนำไปใช้ ตลอดจนเผยแพร่ให้แก่ผู้ที่เกี่ยวข้องได้ทราบ และ 3) ควรมีการศึกษาวิจัยเพื่อคัดแยกสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคโคนเน่ารากเน่าจากระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน และพัฒนาให้เป็นสารควบคุมโดยชีววิธี ที่มีประสิทธิภาพ ในการควบคุมโรคโคนเน่ารากเน่าในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินเป็นการเฉพาะ ซึ่งการศึกษาวิจัยทั้งหมดที่กล่าวมา จะมีส่วนช่วยส่งเสริมและพัฒนาให้การผลิตพืชในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินเป็นพืชผักที่ปลอดภัยจากสารเคมีที่เป็นพิษอย่างแท้จริง อันจะนำไปสู่การเพิ่มมูลค่าและความสามารถในการแข่งขันของสินค้าเกษตรกรรมของประเทศไทยในอนาคต

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อทราบข้อมูลที่เป็นปัจจุบันของโรคโคนเน่ารากเน่าในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินในแง่ของ ความรุนแรง อัตราการเกิดโรค และเชื้อสาเหตุของโรค
2. เพื่อให้ได้เชื้อสาเหตุโรคโคนเน่ารากเน่าสายพันธุ์ที่รุนแรง เพื่อนำมาใช้ในการศึกษาทดลอง
3. เพื่อทราบประสิทธิภาพของสารควบคุมโดยชีววิธี (Biological control agent) ในการ ควบคุมโรคโคนเน่ารากเน่าในระบบ Nutrient film technique (NFT)



การตรวจเอกสาร

เชื้อสาเหตุโรคพืชที่เป็นปัญหาสำคัญในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินก็คือเชื้อ *Pythium* (Zinnen, 1988) ซึ่งตามปกติเชื้อชนิดนี้จะมีความสามารถในการเข้าทำลายพืชอาศัยต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับจุลินทรีย์อื่นๆ ที่อยู่在地 แต่ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินเมื่อเชื้อเข้าสู่ระบบได้แล้วแม้เพียงเล็กน้อยก็มีความสามารถเข้าหาพืชอาศัยและเพิ่มขยายจำนวนได้สูงโดยการสร้าง zoospores ซึ่งเพียงพอที่จะทำให้พืชเป็นโรคได้

สำหรับแตงกวาอังกฤษผลยาว (Long English cucumber) ที่ถูกเชื้อ *Pythium* เข้าทำลาย จะแสดงอาการเหี่ยวอย่างเฉียบพลัน ซึ่งอาจจะส่งผลให้ผลผลิตลดลงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ (Favrin et.al., 1988)

เชื้อ *Pythium* สามารถเข้าสู่ระบบปลูกโดยไม่ใช้ดินได้หลายวิธี เช่น โดยการปะปนมากับน้ำที่จะใช้ และในสารละลายธาตุอาหารพืช (Mohyuddin, 1985; Jenkins and Averre, 1983) โดยการปนเปื้อนอยู่ในดินและติดมากับเครื่องมือเครื่องใช้ โดยมนุษย์หรือปะปนมากับวัสดุปลูกที่เป็นอินทรีย์สารที่เป็นส่วนหนึ่งส่วนใดของพืช เช่น ขุยมะพร้าว ขี้เลื่อย แกลบ เป็นต้น (Favrin et.al., 1988) นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อ *Pythium* สามารถติดต่อโดยทางอากาศ โดยมีริ้นรา (Fungus gnats: *Bradysia impatens*) และ Shore flies (*Scatella stangnalis*) เป็นแมลงพาหะได้อีกด้วย (Gardiner et.al., 1990; Goldberg and Stanghellini, 1990)

Maulin et.al. (1994) ได้ทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค (Pathogenicity) ของเชื้อ *Pythium* จำนวน 39 ไอโซเลทที่แยกได้จากพืชที่ปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินพบว่า ไอโซเลทของ *Pythium aphanidermatum*, *P. irregulare*, *P. salvaticum* และ *P. ultimum* มีความสามารถทำให้เกิดโรคได้สูงในต้นแตงกวาที่ปลูกใน Sand culture ส่วนไอโซเลท ของ *P. aphanidermatum* จะทำให้เกิดอาการรากเน่า และทำให้ต้นพืชตายในสภาพการปลูกแบบ Rockwool culture และ Hydroponics

ในปัจจุบันเชื้อ *Pythium* ยังคงเป็นปัญหาสำคัญของการปลูกพืชในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินในแหล่งต่างๆ ทั่วโลก และได้มีความพยายามในการศึกษาหาแนวทางป้องกันกำจัดโรคนี้อย่างต่อเนื่องจากการรวบรวมของ Ikeda et.al. (2002) ได้รายงานไว้ว่า แนวทางในการป้องกันกำจัดเชื้อ *Pythium* รวมไปถึงเชื้ออื่นๆ ที่อาจปนเปื้อนเข้ามาในสารละลายธาตุอาหารมีอยู่ด้วยกัน 3 แนวทางใหญ่ๆ คือ

1. การใช้วิธีทางกายภาพและหลักการจัดการในการปลูก (Physical methods and cultural technique in daily management) ตัวอย่างของวิธีการนี้ได้แก่ การใช้ความร้อนในการฆ่าเชื้อในสารละลาย (Heat treatment) การฆ่าเชื้อโดยแสงอุลตราไวโอเลต (U-V radiation) การกรองเชื้อโรคในสารละลายธาตุอาหารด้วย Membrane filter (Membrane filtration) การเปลี่ยนแปลง pH, EC และควบคุมปริมาณออกซิเจนในสารละลายธาตุอาหาร และการจัดการสุขาภิบาลโรงเรือนที่ดี

2. วิธีทางเคมี (Chemical methods) เช่นการฆ่าเชื้อด้วยโอโซน (Ozonisation) ด้วยคลอรีน (Chlorination) ด้วยไอโอดีน (Iodination) ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Activated hydrogenperoxide) การใช้แร่ธาตุและไอออนบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ การใช้ Non-ionic surfactant และ การใช้ Chitosan

3. วิธีการทางกายภาพและนิเวศวิทยา (Biological and/or Ecological methods) เช่น การใช้วิธีการกรองผ่านทรายแบบช้า (Slow sand filtration) การใช้แบคทีเรียที่บริเวณเขตรากพืช และ เชื้อราต่อต้าน (Rhizobacteria and antagonistic fungi) การใช้เชื้อราที่เป็นพาราสิต (Mycoparasitic fungi) การใช้วัสดุปลูกที่มีผลในการลดความรุนแรงของการเกิดโรค (Suppressive substrate) และ การใช้ Bio-surfactant

การควบคุมโดยชีววิธี (Biological control) ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน เป็นที่ได้รับความสนใจในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมา Paulitz (1997) กล่าวว่า หากการควบคุมโดยชีววิธีสามารถนำไปใช้ในที่ต่างๆ ได้ผล ก็จะต้องได้ผลในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินด้วยเช่นกัน เนื่องจากปัญหาของการใช้ชีววิธีในการควบคุมโรคในดินก็คือ ความไม่คงที่สม่ำเสมอ (Inconsistence) ของประสิทธิภาพอันเนื่องมาจากสภาพแวดล้อมที่ผันแปร และการแก่งแย่งแข่งขันกันระหว่างสารควบคุมโดยชีววิธีกับจุลินทรีย์อื่นๆ แต่ในระบบการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินนั้น สภาพแวดล้อมต่างๆ ค่อนข้างมีความคงที่ และยังสามารถปรับให้เหมาะสมได้กับสารควบคุมโดยชีววิธีที่จะนำไปใช้ นอกจากนี้การแก่งแย่งแข่งขันกันระหว่างสารควบคุมโดยชีววิธีกับจุลินทรีย์อื่นๆ ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินจะมีน้อยกว่าในระบบการปลูกพืชในดิน เนื่องจากระบบการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินส่วนใหญ่เป็นระบบที่ปลอดเชื้อ ทำให้สารควบคุมโดยชีววิธีสามารถที่จะเจริญเข้าครอบครองและตั้งรกรากถิ่นฐานได้ง่าย

การใช้จุลินทรีย์ในการควบคุมโรคในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน จะเน้นการศึกษาไปที่เชื้อแบคทีเรียบริเวณเขตรากพืช เช่นใน genus *Pseudomonas* และ *Bacillus* เป็นสำคัญ ในส่วนของเชื้อรา มีการศึกษาใน *Trichoderma* spp., *Gliocladium virens*, Non-pathogenic *Fusarium* และ Mycoparasitic *Pythium* ในส่วนของ Actinomycetes ก็มีการศึกษาใน genus *Streptomyces* (Paulitz, 1997)

van Peer *et.al.* (1990) ได้ทดลองใช้ fluorescent *Pseudomonads* ในการควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *Fusarium* (*Fusarium* wilt) ในต้นคาร์เนชั่นที่ปลูกในวัสดุปลูก Rockwool โดยกลไกในการควบคุมโรค เป็นผลมาจาก Siderophore ที่สร้างจากแบคทีเรียชนิดนี้ นอกจากนี้ยังพบว่า *Pseudomonas* spp. ยังมีความสามารถในการกระตุ้นพืชให้เกิดความต้านทาน (Induced resistance) อีกด้วย (Duijff *et.al.*, 1993)

Rankin and Paulitz (1994) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของ Rhizosphere bacteria ที่มีศักยภาพในการเป็น Biological control agents จำนวน 5 ไอโซเลท ได้แก่ *Pseudomonas corrugata* จำนวน 2 ไอโซเลท และ *Pseudomonas fluorescens* จำนวน 3 ไอโซเลท จากจำนวนทั้งหมด 600

ไอโซเลท ที่แยกได้จากบริเวณเขตรากพืชของแตงกวา พบว่าต้นแตงกวาอายุ 5 สัปดาห์ ที่ปลูกวัสดุปลูก rockwool ที่มีการให้แบคทีเรีย suspension ของเชื้อ *Pseudomonas corrugata* ความเข้มข้น 10^6 cells/ml จำนวน 200 ml ลงในวัสดุปลูกเป็นเวลา 1 สัปดาห์ก่อนการปลูกเชื้อ *P. aphanidermatum* จะได้ผลผลิตมากกว่ากรรมวิธีที่ไม่ใช้แบคทีเรียถึง 88 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่าในกรรมวิธีที่ไม่ทำการปลูกเชื้อการใช้แบคทีเรียดังกล่าวจะทำให้ผลผลิตสูงขึ้น 32-44 เปอร์เซ็นต์ ในการทดลองอีก crop หนึ่งที่มีการใช้แบคทีเรียจำนวน 3 ครั้งคือ ก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุ 1 สัปดาห์ พร้อมกับการปลูกเชื้อสาเหตุ และหลังจากทำการปลูกเชื้อสาเหตุ 1 สัปดาห์ ผลปรากฏว่าผลผลิตที่ได้มีมากกว่าการทดลองชุดควบคุมที่ทำการปลูกเชื้ออย่างเดียวถึง 600 เปอร์เซ็นต์

Grosch et. al. (2001) ได้ทดลองใช้แบคทีเรียที่แยกได้จากบริเวณรากของต้นมะเขือเทศที่ปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินสายพันธุ์ E21, E22, E23, E26 และ E28 มาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคโคนเน่ารากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* พบว่าทุก ไอโซเลท ที่แยกได้จากรากมะเขือเทศนั้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aphanidermatum* ในสภาพ *in vitro* ในขณะที่ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ที่แยกได้จากดิน (FZB44) ไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อดังกล่าว อย่างไรก็ตามในการทดสอบในสภาพการปลูกจริงพบว่า *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ FZB44 สามารถลดความเสียหายเนื่องจากโรคได้เมื่อเปรียบเทียบกับ Rhizosphere bacteria สายพันธุ์ที่แยกจากรากมะเขือเทศที่ปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน สันนิษฐานว่าการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชอันเนื่องมาจากเชื้อแบคทีเรีย มีส่วนช่วยในการลดการรุนแรงของโรค

Postma et.al. (2000) ได้ศึกษาบทบาทของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน (Indigenous microorganisms) ในการยับยั้งโรคโคนเน่ารากเน่าของแตงกวาที่เกิดจากเชื้อ *Pythium aphanidermatum* ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน การทดลองทำโดยใช้วัสดุปลูก rockwool ที่ผ่านการใช้งานมาแล้วและยังไม่เคยประสบปัญหาเรื่องโรคโคนเน่ารากเน่ามาก่อนนำมาใช้โดยไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ (Autoclave) เปรียบเทียบกับอันที่ผ่านการฆ่าเชื้อ จากนั้นจึงทำการปลูกเชื้อสาเหตุ (*P. aphanidermatum*) ลงไป ผลปรากฏว่า ในต้นแตงกวาที่ปลูกในวัสดุปลูก rockwool ที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อ อัตราการเกิดโรคจะน้อยกว่าอันที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 52-100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับวัสดุปลูกที่ผ่านการฆ่าเชื้อ และเมื่อนำเอาวัสดุปลูกที่ผ่านการฆ่าเชื้อมาสัมผัสกับวัสดุปลูก rockwool ที่ผ่านการใช้งานมาก่อนเพื่อให้เกิดการ Re-colonization พบว่าความสามารถในการยับยั้งโรคโคนเน่ารากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* กลับมาอีกครั้ง ข้อได้เปรียบของ Indigenous microorganisms ในการยับยั้งความรุนแรงของโรคก็คือ 1) เป็นจุลินทรีย์ที่มีอยู่แล้ว 2) พวกมันมีความสามารถที่จะปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดีและ 3) มีความเป็นชุมชนขนาดใหญ่ (Complex community)

Tu (2002) ได้เสนอแนวทางในการควบคุมโรคโคนเน่ารากเน่าของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* โดยวิธีผสมผสานในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินดังนี้ 1) การใช้ U-V radiation ความเข้มข้น

100 mJ/cm² ในการฆ่าเชื้อสารละลายก่อนการย้ายปลูก 2) จากนั้นปรับ pH ของสารละลายให้เป็น 5 เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นปรับ pH มาเป็น 5.8-6.2 เป็นเวลา 1 สัปดาห์ 3) ให้ BCA เช่น *Pseudomonas fluorescens* แก่รากพืชที่ความเข้มข้น 10⁸ cells/ml หรือให้ในสารละลายธาตุอาหาร โดยให้มีความเข้มข้น 10⁶ cells/ml

Rey et.al. (1999) พบว่าการใช้เชื้อ *Pythium oligandrum* ซึ่งเป็นเชื้อราที่เป็นพาราสิต (Mycoparasite) ร่วมกับการกรองแบบช้า (Slow sand filtration) จะทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อโรคในสารละลายธาตุอาหารดีขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากการกรองผ่าน Slow sand filtration จะช่วยกำจัดเชื้อโรคลงไปได้ส่วนหนึ่ง และ *P. oligandrum* จะมีความสามารถในการเข้าครอบครอง (colonization) ที่รากพืชได้ดี ทำให้เป็นการป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อโรคอีกทางหนึ่ง

Grasso et.al. (2003) ได้ทำการแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่บริเวณเขตรากพืชของต้นเยอบีร่า ที่ปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน พบว่ามีบางไอโซเลทของเชื้อ *Fusarium* และ *Trichoderma* ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการกรองผ่านทรายแบบช้าๆ (Slow sand filtration) ในการลดการเกิดโรคโคนเน่า รากเน่าของเยอบีร่า ที่เกิดจากเชื้อ *Pythium aphanidermatum* ลงไปได้

Neumann et.al. (2002) พบว่า ประสิทธิภาพของ *Trichoderma* ในการควบคุมเชื้อ *Pythium* ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินขึ้นอยู่กับความชื้นในวัสดุปลูกด้วย โดยการควบคุมจะได้ประสิทธิภาพที่ดีที่สุด เมื่อมีการให้น้ำอย่างเหมาะสม ในสภาพที่ความชื้นมากหรือต่ำกว่าปกติอัตราการเกิดโรคจะรุนแรง นอกจากนี้ยังพบว่า *Trichoderma* จะมีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อ *Pythium* ได้ดีในสภาพที่เป็นกรดโดยพบว่าที่ pH 5 จะมีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อ *Pythium* ได้ดีกว่าที่ pH 6 และ 7 ตามลำดับ

สิ่งสำคัญประการหนึ่งของการนำเอาสารควบคุมโดยชีววิธี (BCA) ไปใช้ในการควบคุมโรคให้ประสบผลสำเร็จในระบบการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินก็คือ ความรู้และความเข้าใจเกี่ยวกับลักษณะทางสรีรวิทยา และ นิเวศวิทยาของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในระบบปลูกพืชชนิดนี้

Berkmann et.al. (1992) ได้ศึกษาถึงประชากรแบคทีเรียที่อยู่ในสารละลายธาตุอาหารของมะเขือเทศที่ปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน แบบที่ใช้ rockwool เป็นวัสดุปลูก และมีการหมุนเวียนนำเอาสารละลายกลับมาใช้ใหม่ พบว่า ในสารละลายที่ไม่ได้ทำการปลูกพืช จำนวนประชากรของแบคทีเรียอยู่ในราวๆ 500-900 cfu/ml แต่ในสารละลายที่มีการปลูกมะเขือพบว่า ประชากรของแบคทีเรียจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเป็น 10⁵-10⁶ cfu/ml ภายในเวลา 20 ชั่วโมงหลังจากทำการย้ายปลูก จากการจัดจำแนกพบว่า ประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ ของแบคทีเรียทั้งหมดได้แก่ genus *Pseudomonas* รองลงมาได้แก่ *Agrobacterium*, *Comamonas*, *Enterobacter* และ *Xanthomonas* ซึ่งพบในปริมาณ 3-12 เปอร์เซ็นต์ พวกที่พบต่ำกว่า 2 เปอร์เซ็นต์ได้แก่ *Alcaligenes*, *Aureobacterium*, *Cytophthora*, *Flavobacterium*, *Rhodococcus* และ *Yersinia* และจะมีอยู่ประมาณ 18 เปอร์เซ็นต์ ที่ยังไม่สามารถจัดจำแนกได้

Koohakan et.al. (2004) ได้ศึกษาถึงปริมาณ (Typical population) การเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากร (Population dynamics) และความหนาแน่นสัมพัทธ์ (Relative density) ของจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่กับรากต้นมะเขือเทศที่ปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินแบบต่างๆ 4 แบบได้แก่ระบบปลูกที่ใช้วัสดุปลูกอินทรีย์สาร (ขุยมะพร้าว) ระบบปลูกที่ใช้อินทรีย์สารเป็นวัสดุปลูก (rockwool) ระบบปลูกแบบ Nutrient film technique: NFT และระบบปลูกแบบ Deep flow technique: DFT พบว่าจำนวนประชากรตามปกติ (Typical population) ของแบคทีเรียจะมากกว่าเชื้อรา โดยพบที่ปริมาณ 9.3-10 log cfu/g และ 4.2-5.5 log cfu/g ตามลำดับ ในจำนวนนี้จะเป็นเชื้อ fluorescent pseudomonads ประมาณ 5.4 log cfu/g, *Fusarium* spp. ประมาณ 2.5-3.7 log cfu/g และ *Pythium* spp. ประมาณ 2.3-2.8 log cfu/g นอกจากนี้ยังพบว่าชนิดของระบบปลูก มีส่วนในการกำหนดชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ในรากมะเขือเทศดังนี้ fluorescent pseudomonads จะพบมากในระบบปลูกที่ใช้ rockwool เป็นวัสดุปลูก ในขณะที่ระบบปลูกที่ใช้ขุยมะพร้าวเป็นวัสดุปลูกจะพบปริมาณเชื้อราและ *Fusarium* spp. เป็นปริมาณมาก เมื่อเปรียบเทียบกับระบบอื่นๆ ในระบบ DFT จะพบปริมาณ aerobic bacteria ต่ำที่สุด ในส่วนของเชื้อ *Pythium* spp. จะพบมากในระบบปลูกที่เป็น Solution culture ทั้ง NFT และ DFT ในปริมาณที่มากกว่าระบบปลูกแบบมีวัสดุปลูกตลอดการทดลอง Population dynamics ของ *Fusarium* spp. มีการเพิ่มขึ้นในระบบ NFT ในขณะที่ Population dynamics ของ fluorescent pseudomonads จะลดลงในทุกระบบของระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน

โครงการระยะที่ 1 (โครงการนำร่อง) การศึกษาและสำรวจโรคโคนเน่ารากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ทำการศึกษาและสำรวจโรคโคนเน่ารากเน่าจากฟาร์มเอกชนในเขตภาคกลาง ในแง่ของความเสียหาย และเชื้อสาเหตุ ส่วนที่ใช้ในการแยกเชื้อได้แก่ รากพืช สารละลายธาตุอาหารที่ให้แก่พืช และน้ำที่ใช้ในการเตรียมสารละลายธาตุอาหาร ตามวิธีการดังต่อไปนี้

1. การเก็บตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างจากแต่ละฟาร์มที่เข้าร่วมโครงการ (ตารางผนวกที่ 1) เป็นประจำสัปดาห์เว้นสัปดาห์ เป็นระยะเวลา 4 เดือน โดยทำการเก็บตัวอย่างพืช 1 ชนิดต่อ 1 ฟาร์มเป็นอย่างน้อย ในพืชแต่ละชนิดจะทำการเก็บตัวอย่างทั้งจากต้นที่สมบูรณ์แข็งแรง และต้นที่แสดงอาการของโรคโคนเน่ารากเน่าตัวอย่าง ละ 3-5 ต้น รวมทั้งเก็บตัวอย่างสารละลายธาตุอาหารที่ให้แก่พืชชุดนี้ และน้ำที่ใช้ในการเตรียมสารละลาย มาทำการตรวจนับปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ด้วย ตัวอย่างทั้งหมดจะถูกเก็บรักษาไว้ในกล่องที่มีความเย็น ก่อนที่จะทำการส่งเข้าห้องปฏิบัติการ เพื่อตรวจแยกและนับปริมาณเชื้อ *Pythium* spp.

2. การตรวจนับปริมาณเชื้อ *Pythium* spp.

ก. การแยกเชื้อจากรากพืชปกติ และพืชที่เป็นโรคจะใช้วิธี Surface dilution plate methods โดยการนำเอารากพืชมาทำความสะอาดด้วยน้ำไหล แล้วซับให้แห้ง จากนั้นสับตัวอย่างจำนวน 1 กรัม มาบดในน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 10 มิลลิลิตร suspension ที่ได้จะถูกนำมาทำให้เจือจาง (dilution series) ใน 0.3% water agar ตัวอย่างละ 3-4 ความเข้มข้น จากนั้นจึงนำ suspension ในแต่ละความเข้มข้น จำนวน 1 มิลลิลิตร มาเพาะเชื้อบนอาหาร selective media สำหรับตรวจเชื้อ *Pythium* ซึ่งได้แก่อาหาร CMA+BNPRA-Rb (อาหาร corn meal agar ที่มีส่วนผสมของ benomyl 10 ppm. nystatin 25 ppm., PCNB 25 ppm. rifampicin 10 ppm., ampicillin 500 ppm. และ rose bengal 50 ppm.) โดยในแต่ละความเข้มข้นจะมีจำนวน 3 ซ้ำ การตรวจนับเชื้อจะกระทำในเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากการปมเชื้อ

ข. การตรวจนับเชื้อจากสารละลายธาตุอาหาร และน้ำที่ใช้ในการเตรียมสารละลาย จะใช้วิธี Baiting technique ที่ดัดแปลงมาจาก จิระเดช และคณะ, (2534) โดยนำเมล็ดแตงร้านมาแช่ไว้ใน

ตัวอย่างสารละลาย หรือน้ำที่ใช้ในการเตรียมสารละลาย ที่จะทำการตรวจนับเชื้อ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้ส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อ *Pythium* (zoospore) ว่ายน้ำเข้าหาเหยื่อล่อ จากนั้นจึงทำการย้าย เมล็ดแตงร้านดังกล่าวไปวางบนอาหาร CMA+BNPRA-Rb บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงทำการตรวจนับเมล็ดแตงร้านที่มีโคโลนีของเชื้อ *Pythium* เกิดขึ้น เชื้อ *Pythium* ที่ทำการตรวจนับในแต่ละครั้ง จะถูกนำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ เพื่อใช้ในการจัดจำแนกและทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค เพื่อหาสายพันธุ์รุนแรงสำหรับใช้ในการทดลองต่อไป

3. การประเมินความเสียหายเนื่องจากเชื้อ *Pythium* sp.

ตัวอย่างพืชปกติและพืชเป็นโรค เนื่องจากเชื้อ *Pythium* sp. ถูกนำมาชั่งน้ำหนักสด และเปรียบเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์ น้ำหนักที่สูญเสียไปเนื่องจากเชื้อดังกล่าว

4. การรายงานผล

ปริมาณการแพร่กระจายของเชื้อ *Pythium* spp. ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน จากที่รากและสารละลายธาตุอาหาร ตลอดจนน้ำที่ใช้ในการเตรียมสารละลายจะถูกตรวจนับจากจำนวนโคโลนี (colony forming unit : cfu) ที่เกิดขึ้นบน selective media จากนั้นจึงคำนวณเป็นปริมาณเชื้อ cfu/g หรือ cfu/100 ml. แล้ว transform ให้อยู่ในรูปของ log cfu/g รากพืช หรือ 100 ml. ของสารละลายธาตุอาหาร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินที่ทำการค้า

1.1 สลัดคอส ปลูกบนราง NFT ในโรงเรือนปรับอากาศ¹ ของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตกรุงเทพมหานคร จากการตรวจเชื้อปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ในรากสลัดคอส ต้นปกติพบว่าอยู่ในช่วง 1.6-2.3 log cfu/g ในขณะที่ต้นที่เป็นโรค จะมีปริมาณเชื้อมากกว่า โดยพบอยู่ในช่วง 2.0-3.6 log cfu/g สำหรับปริมาณเชื้อในสารละลายธาตุอาหาร และน้ำที่ใช้ในการเตรียมสารละลายจะอยู่ในช่วง 0.7-1.9 และ 0.5-1.8 log cfu/100 ml. ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

¹ โรงเรือนปิดควบคุมอุณหภูมิด้วยระบบหล่อเย็นจากการระเหยของน้ำ (Evaporative cooling system)

ตารางที่ 1 ปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ที่ตรวจพบในสลัดคอกสปลูกบนราง NFT ในโรงเรือนปรับอากาศของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตกรุงเทพมหานคร

วันที่เก็บตัวอย่าง	ปริมาณเชื้อในราก (log cfu/g)		ปริมาณเชื้อในสารละลายธาตุอาหาร (log cfu/100 ml.)	ปริมาณเชื้อในน้ำที่ใช้เตรียมสารละลาย (log cfu/100 ml.)
	ต้นปกติ	ต้นที่เป็นโรค		
6 พ.ค. 2547	2.0	3.6	1.6	1.8
20 พ.ค. 2547	2.2	2.6	1.5	1.0
3 มิ.ย. 2547	1.7	2.9	1.0	0.5
17 มิ.ย. 2547	1.8	2.7	1.9	1.6
1 ก.ค. 2547	1.8	2.0	1.4	1.5
15 ก.ค. 2547	2.0	2.7	1.5	ต่ำกว่า MDP*
29 ก.ค. 2547	2.3	3.2	0.7	ต่ำกว่า MDP*
11 ส.ค. 2547	1.9	2.9	0.8	ต่ำกว่า MDP*
28 ส.ค. 2547	1.6	2.1	1.2	1.2
ค่าต่ำสุด	1.6	2.0	0.7	ต่ำกว่า MDP*
ค่าสูงสุด	2.3	3.6	1.9	1.8
ค่าเฉลี่ย	1.9	2.7	1.3	0.8

* MDP (Minimal detectable population) หรือค่าประชากรต่ำสุดที่สามารถตรวจเช็คได้ : ของรากพืชมีค่าเท่ากับ 1.1 log cfu/g ; ของสารละลายหรือน้ำที่ใช้เตรียมสารละลาย มีค่าเท่ากับ 0.5 log cfu/100 ml

1.2 สลัดเรดโอ๊ค ปลูกบนราง NFT ในโรงเรือนตาข่าย²และในโรงเรือนปรับอากาศ

จากการตรวจเช็คปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ในรากสลัดเรดโอ๊ค ต้นปกติ พบว่าอยู่ในช่วง 1.1-2.4 log cfu/g ส่วนในรากพืชที่เป็นโรค จะตรวจพบเชื้อได้ในปริมาณที่มากกว่า โดยพบอยู่ในช่วง 2.1-3.6 log cfu/g สำหรับปริมาณเชื้อในสารละลายธาตุอาหาร และน้ำที่ใช้ในการเตรียมสารละลาย จะพบได้ในช่วง 0.5-2.1 และ 0.5-1.8 log cfu/100 ml. ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ที่ตรวจพบในสลัดเรดโอ๊คปลูกบนราง NFT ในโรงเรือนตาข่าย และโรงเรือนปรับอากาศ ของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตกรุงเทพมหานคร

วันที่เก็บตัวอย่าง ^{1/}	ปริมาณเชื้อในราก (log cfu/g)		ปริมาณเชื้อในสาร	ปริมาณเชื้อในน้ำที่
	ต้นปกติ	ต้นที่เป็นโรค	ละลายธาตุอาหาร (log cfu/100 ml.)	ใช้เตรียมสารละลาย (log cfu/100 ml.)
6 พ.ค. 2547	1.7	3.6	1.3	1.8
20 พ.ค. 2547	2.3	3.1	1.6	1.0
3 มิ.ย. 2547	2.4	3.6	1.5	0.5
17 มิ.ย. 2547	1.4	2.3	2.1	1.6
1 ก.ค. 2547	ต่ำกว่า MDP*	2.1	1.3	1.5
15 ก.ค. 2547	2.2	2.4	ต่ำกว่า MDP*	ต่ำกว่า MDP*
29 ก.ค. 2547	1.4	2.9	0.7	ต่ำกว่า MDP*
11 ส.ค. 2547	1.6	3.1	0.5	ต่ำกว่า MDP*
28 ส.ค. 2547	1.7	2.3	1.7	1.2
ค่าต่ำสุด	ต่ำกว่า MDP*	2.1	ต่ำกว่า MDP*	ต่ำกว่า MDP*
ค่าสูงสุด	2.4	3.6	2.1	1.8
ค่าเฉลี่ย	1.8	2.8	1.2	0.8

* MDP (Minimal detectable population) หรือค่าประชากรต่ำสุดที่สามารถตรวจเช็คได้ : ของรากพืชมีค่าเท่ากับ 1.1 log cfu/g ; ของสารละลายหรือน้ำที่ใช้เตรียมสารละลาย มีค่าเท่ากับ 0.5 log cfu/100 ml

^{1/} ตัวอย่างก่อนวันที่ 1 ก.ค. 2547 ปลูกในโรงเรือนตาข่าย

² โรงเรือนปิดคลุมด้วยตาข่าย มีพัดลมช่วยระบายอากาศ

1.3 สลัดกรีนไอศ ปลูกบนราง NFT ในโรงเรือนตาข่ายของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตกรุงเทพมหานคร

จากการตรวจเช็คปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ในรากสลัดกรีนไอศ ต้นปกติ พบว่าอยู่ในช่วง 1.6-2.3 log cfu/g ในต้นที่เป็นโรคปริมาณเชื้อจะตรวจพบได้มากกว่า โดยพบในช่วง 1.6-2.9 log cfu/g สำหรับปริมาณเชื้อในสารละลายธาตุอาหาร และน้ำที่ใช้ในการเตรียมสารละลาย จะตรวจพบเชื้อได้ระหว่าง 0.5-1.4 และ 0.5-1.5 log cfu/100 ml. ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ปริมาณเชื้อ *Pythium* ที่ตรวจพบในสลัดกรีนไอศปลูกบนราง NFT ในโรงเรือนตาข่ายของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตกรุงเทพมหานคร

วันที่เก็บตัวอย่าง	ปริมาณเชื้อในราก (log cfu/g)		ปริมาณเชื้อในสารละลายธาตุอาหาร	ปริมาณเชื้อในน้ำที่ใช้เตรียมสารละลาย
	ต้นปกติ	ต้นที่เป็นโรค	(log cfu/100 ml.)	(log cfu/100 ml.)
1 ก.ค. 2547	1.6	1.6	1.4	1.5
15 ก.ค. 2547	2.0	2.6	ต่ำกว่า MDP*	ต่ำกว่า MDP*
29 ก.ค. 2547	2.2	2.4	0.5	ต่ำกว่า MDP*
11 ส.ค. 2547	2.3	2.4	1.1	ต่ำกว่า MDP*
28 ส.ค. 2547	1.9	2.9	0.5	1.2
ค่าต่ำสุด	1.6	1.6	ต่ำกว่า MDP*	ต่ำกว่า MDP*
ค่าสูงสุด	2.3	2.9	1.4	1.5
ค่าเฉลี่ย	2.0	2.4	0.7	0.5

* MDP (Minimal detectable population) หรือค่าประชากรต่ำสุดที่สามารถตรวจเช็คได้ : ของรากพืชมีค่าเท่ากับ 1.1 log cfu/g ; ของสารละลายหรือน้ำที่ใช้เตรียมสารละลาย มีค่าเท่ากับ 0.5 log cfu/100 ml

1.4 สลัดกรีนไฉ้คปลุกบนรวง NFT ในสภาพโรงเรือนเปิด³ของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตจังหวัดรอบนอกจังหวัดกรุงเทพมหานคร

ปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ในรากสลัดกรีนไฉ้คต้นปกติที่ปลุกในสภาพโรงเรือนเปิด พบว่าอยู่ในช่วง 2.1-3.2 log cfu/g ส่วนที่รากของต้นที่เป็นโรคโคนเน่ารากเน่า พบว่าอยู่ในช่วง 3.3-4.3 log cfu/g สำหรับปริมาณเชื้อในสารละลายธาตุอาหาร และน้ำที่ใช้ในการเตรียมสารละลาย พบว่าอยู่ในช่วง 0.5-1.8 และ 0.5-1.0 log cfu/100 ml. ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ที่ตรวจพบในสลัดกรีนไฉ้คปลุกบนรวง NFT ในสภาพโรงเรือนเปิดของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตจังหวัดรอบนอกกรุงเทพมหานคร

วันที่เก็บตัวอย่าง	ปริมาณเชื้อในราก (log cfu/g)		ปริมาณเชื้อในสารละลายธาตุอาหาร	ปริมาณเชื้อในน้ำที่ใช้เตรียมสารละลาย
	ต้นปกติ	ต้นที่เป็นโรค	(log cfu/100 ml.)	(log cfu/100 ml.)
2 พ.ค. 2547	2.5	4.3	-	-
16 พ.ค. 2547	3.0	4.3	1.8	ต่ำกว่า MDP*
30 พ.ค. 2547	3.2	3.6	0.5	ต่ำกว่า MDP*
13 มิ.ย. 2547	2.7	3.3	1.2	ต่ำกว่า MDP*
27 มิ.ย. 2547	2.1	4.0	0.8	ต่ำกว่า MDP*
11 ก.ค. 2547	2.6	3.8	1.2	1.0
25 ก.ค. 2547	2.5	3.8	ต่ำกว่า MDP*	ต่ำกว่า MDP*
8 ส.ค. 2547	2.9	3.5	ต่ำกว่า MDP*	ต่ำกว่า MDP*
21 ส.ค. 2547	2.5	3.5	ต่ำกว่า MDP*	ต่ำกว่า MDP*
ค่าต่ำสุด	2.1	3.3	ต่ำกว่า MDP*	ต่ำกว่า MDP*
ค่าสูงสุด	3.2	4.3	1.8	1.0
ค่าเฉลี่ย	2.7	3.8	0.6	0.1

* MDP (Minimal detectable population) หรือค่าประชากรต่ำสุดที่สามารถตรวจเช็คได้ : ของรากพืชมีค่าเท่ากับ 1.1 log cfu/g ; ของสารละลายหรือน้ำที่ใช้เตรียมสารละลาย มีค่าเท่ากับ 0.5 log cfu/100 ml

³ เป็นการปลูกสภาพกลางแจ้งภายนอกโรงเรือน (outdoor system or open field) มีหัวพ่นหมอก (fogger) ช่วยลดอุณหภูมิบนโต๊ะปลูก

1.5 สลัดกรีนไฉ้ค ปลุกบนรวง NFT ในสภาพโรงเรีอนเป็ด ของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตกรุงเทพมหานคร

ผลการตรวจเช้คปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ในรากสลัดกรีนไฉ้ค ต้นปกติ พบว่าอยู่ในช่วง 1.1-2.5 log cfu/g ส่วนในรากของต้นที่แสดงอาการโคนเน่ารากเน่า จะพบเชื้อได้ในปริมาณที่มากกว่า โดยอยู่ระหว่างช่วง 1.8-4.1 log cfu/g สำหรับปริมาณเชื้อในสารละลายธาตุอาหาร และน้ำที่ใช้ในการเตรียมสารละลาย สามารถตรวจพบเชื้อได้ในช่วง 0.5-1.9 และ 0.5-0.9 log cfu/100 ml. ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ที่ตรวจพบในสลัดกรีนไฉ้คปลุกบนรวง NFT ในสภาพโรงเรีอนเป็ด ของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตกรุงเทพมหานคร

วันที่เก็บตัวอย่าง	ปริมาณเชื้อในราก (log cfu/g)		ปริมาณเชื้อในสารละลายธาตุอาหาร	ปริมาณเชื้อในน้ำที่ใช้เตรียมสารละลาย
	ต้นปกติ	ต้นที่เป็นโรค	(log cfu/100 ml.)	(log cfu/100 ml.)
6 พ.ค. 2547	2.4	4.1	-	-
20 พ.ค. 2547	2.0	2.6	1.5	ต่ำกว่า MDP*
3 มิ.ย. 2547	2.5	3.3	1.3	ต่ำกว่า MDP*
17 มิ.ย. 2547	1.8	1.8	ต่ำกว่า MDP*	ต่ำกว่า MDP*
1 ก.ค. 2547	1.4	3.2	1.2	0.9
15 ก.ค. 2547	1.6	2.5	ต่ำกว่า MDP*	ต่ำกว่า MDP*
29 ก.ค. 2547	2.5	3.5	1.6	0.5
11 ส.ค. 2547	ต่ำกว่า MDP*	**	ต่ำกว่า MDP*	0.6
28 ส.ค. 2547	1.4	3.2	1.9	ต่ำกว่า MDP*
ค่าต่ำสุด	ต่ำกว่า MDP*	1.8	ต่ำกว่า MDP*	ต่ำกว่า MDP*
ค่าสูงสุด	2.5	4.1	1.9	0.9
ค่าเฉลี่ย	1.8	3.0	0.9	0.1

* MDP (Minimal detectable population) หรือค่าประชากรต่ำสุดที่สามารถตรวจเช้คได้ : ของรากพืชมีค่าเท่ากับ 1.1 log cfu/g ; ของสารละลายหรือน้ำที่ใช้เตรียมสารละลาย มีค่าเท่ากับ 0.5 log cfu/100 ml

** ไม่พบต้นพืชที่เป็นโรค

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

1.6 คื่นช่ายปลูกในถาด DFT ในสภาพโรงเรือนเปิด ของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในจังหวัดรอบนอก กรุงเทพมหานคร

จากการตรวจเช็คปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ในรากคื่นช่าย ในระหว่างเดือนพฤษภาคม - สิงหาคม 2547 พบว่าในต้นปกติ จะมีปริมาณเชื้ออยู่ในช่วง 1.1-2.6 log cfu/g ในขณะที่รากของต้นที่แสดงอาการโรคโคนเน่ารากเน่า จะพบเชื้ออยู่ในช่วง 1.9-3.6 log cfu/g สำหรับปริมาณเชื้อที่ตรวจพบในสารละลายธาตุอาหาร และน้ำที่ใช้ในการเตรียมสารละลาย มีค่าเท่ากับ 0.5 - 2.2 และ 0.5 - 2.2 log cfu/100 ml. ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ปริมาณเชื้อ *Pythium* ที่ตรวจพบในคื่นช่ายปลูกในถาด DFT ในสภาพโรงเรือนเปิดของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในจังหวัดรอบนอกกรุงเทพมหานคร

วันที่เก็บตัวอย่าง	ปริมาณเชื้อในราก (log cfu/g)		ปริมาณเชื้อในสารละลายธาตุอาหาร (log cfu/100 ml.)	ปริมาณเชื้อในน้ำที่ใช้เตรียมสารละลาย (log cfu/100 ml.)
	ต้นปกติ	ต้นที่เป็นโรค		
2 พ.ค. 2547	1.7	3.6	1.4	1.0
16 พ.ค. 2547	ต่ำกว่า MDP*	2.6	-	-
30 พ.ค. 2547	2.0	2.1	2.2	2.2
13 มิ.ย. 2547	2.6	3.1	1.7	ต่ำกว่า MDP*
27 มิ.ย. 2547	2.3	2.9	ต่ำกว่า MDP*	ต่ำกว่า MDP*
11 ก.ค. 2547	1.8	1.9	0.70	ต่ำกว่า MDP*
25 ก.ค. 2547	2.6	2.8	1.3	1.1
8 ส.ค. 2547	2.3	2.9	ต่ำกว่า MDP*	1.0
21 ส.ค. 2547	2.4	2.6	0.7	ต่ำกว่า MDP*
ค่าต่ำสุด	ต่ำกว่า MDP*	1.9	ต่ำกว่า MDP*	ต่ำกว่า MDP*
ค่าสูงสุด	2.6	3.6	2.2	2.2
ค่าเฉลี่ย	2.1	2.7	1.0	0.7

* MDP (Minimal detectable population) หรือค่าประชากรต่ำสุดที่สามารถตรวจเช็คได้ : ของรากพืชมีค่าเท่ากับ 1.1 log cfu/g ; ของสารละลายหรือน้ำที่ใช้เตรียมสารละลาย มีค่าเท่ากับ 0.5 log cfu/100 ml

ผลการศึกษาในส่วนนี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *Pythium* spp. เป็นเชื้อที่ตรวจพบได้ทั่วไปในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินที่ทำเป็นการค้า โดยจะพบได้มากที่สุดในส่วนของรากพืช รองลงมาได้แก่ในสารละลายธาตุอาหาร และน้ำที่ใช้ในการเตรียมสารละลาย ตามลำดับ ในส่วนของรากพืชจะพบว่าราก

76403

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากต้นพืชที่แสดงอาการของโรครากเน่า (มีอาการเหี่ยวเฉา รากมีสีน้ำตาลแดง-เน่า หรือลำต้นแคระแกรนกว่าปกติ) จะมีปริมาณเชื้อมากกว่าในส่วนของรากพืชจากต้นที่สมบูรณ์แข็งแรง ปริมาณเชื้อที่ทำการสำรวจในครั้งนี้มีความผันแปรแตกต่างกันไปในแต่ละฟาร์มที่เข้าไปเก็บตัวอย่าง ทั้งนี้เนื่องจากปัจจัยหลายประการ ไม่ว่าจะเป็นสภาพการปลูก ระบบการปลูก ชนิดของพืช และการจัดการฟาร์มที่แตกต่างกัน ตลอดจนอายุของพืชที่อาจแตกต่างกันบ้างขึ้นอยู่กับช่วงระยะเวลาที่เข้าไปเก็บตัวอย่าง อย่างไรก็ตามตัวอย่างพืชที่นำมาตรวจนับปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ในแต่ละครั้งจะมีอายุอยู่บนโต๊ะปลูกอย่างน้อย 2 สัปดาห์ขึ้นไปเหมือนกัน เพื่อให้แน่ใจว่าปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ที่ได้รายได้ไว้ ณ ที่นี้ เป็นปริมาณเชื้อที่ตรวจพบได้จริงในระบบปลูก นอกจากนี้ตัวอย่างพืชจากต้นปกติ และต้นที่แสดงอาการของโรคก็จะทำการเก็บตัวอย่างจากโต๊ะปลูกเดียวกัน ที่ใช้สารละลายธาตุอาหารและน้ำที่ใช้ในการเตรียมสารละลายชุดเดียวกัน ดังนั้นปริมาณเชื้อที่ได้รายงานไว้ ณ ที่นี้ อาจพอที่จะทำให้มองเห็นสัดส่วนของปริมาณเชื้อในรากพืชจากต้นที่สมบูรณ์แข็งแรง ต้นที่เป็นโรค ตลอดจนในสารละลายธาตุอาหาร หรือน้ำที่ใช้ในการเตรียมสารละลายได้ดังนี้

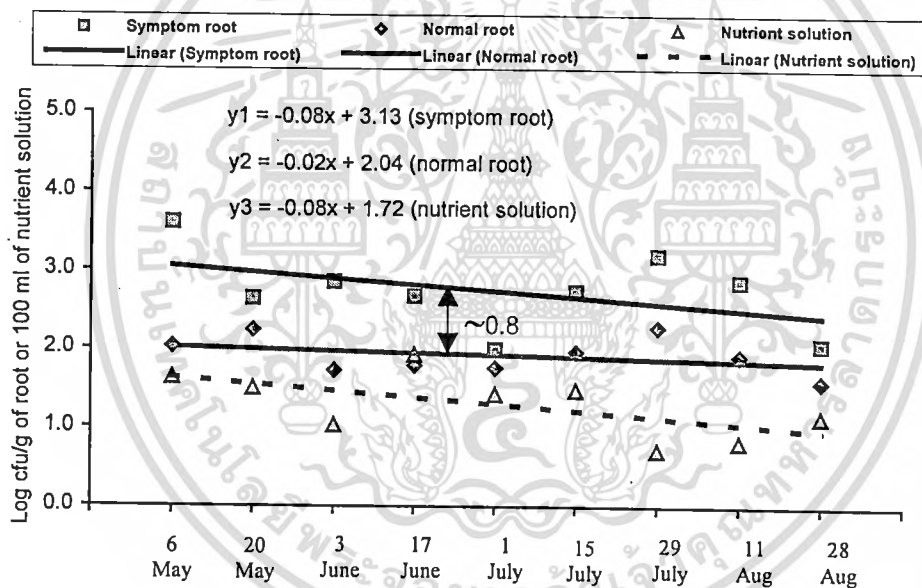
- 1) ปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ที่พบในรากผักสลัด ต้นที่สมบูรณ์แข็งแรง ที่ปลูกในสภาพโรงเรือนปิด มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 1.8-2.0 log cfu/g
- 2) ปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ที่พบในรากผักสลัด ต้นที่เป็นโรค ที่ปลูกในสภาพโรงเรือนปิด มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 2.4-2.8 log cfu/g
- 3) ปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ที่พบในสารละลายธาตุอาหาร ในสภาพโรงเรือนปิด มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 0.7-1.3 log cfu/100 ml
- 4) ปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ที่พบในผักสลัด ต้นที่สมบูรณ์แข็งแรง ที่ปลูกในสภาพโรงเรือนเปิด มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 1.8-2.7 log cfu/g
- 5) ปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ที่พบในผักสลัด ต้นที่เป็นโรค ที่ปลูกในสภาพโรงเรือนเปิด มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 3.0-3.8 log cfu/g
- 6) ปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ที่พบในสารละลายธาตุอาหาร ในสภาพโรงเรือนเปิด มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 0.6-0.9 log cfu/100 ml
- 7) ปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ที่พบในรากคื่นช่าย ต้นที่สมบูรณ์แข็งแรง ปลูกในระบบ DFT สภาพกลางแจ้ง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.1 log cfu/g
- 8) ปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ที่พบในรากคื่นช่าย ต้นที่เป็นโรค ปลูกในระบบ DFT สภาพกลางแจ้ง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.7 log cfu/g
- 9) ปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ที่พบในสารละลายธาตุอาหารที่ใช้ปลูกคื่นช่าย ในระบบ NFT สภาพกลางแจ้ง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.0 log cfu/100 ml

ปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ที่ได้รายงานไว้ดังกล่าวข้างต้น สามารถใช้เป็นเครื่องยืนยันได้ดี ถึงการเป็นปัญหาสำคัญของเชื้อดังกล่าวในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน อีกทั้งยังสามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นที่สำคัญในการศึกษาวิจัยต่อไปได้

2. การแพร่กระจายของเชื้อ *Pythium* spp. ในระบบการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินแบบ NFT

ได้ทำการศึกษาในระบบ NFT ที่ทำการปลูกในสภาพโรงเรือนปิด และสภาพกลางแจ้ง จำนวน 3 กรณีศึกษา จากฟาร์มที่มีการจัดการด้านการผลิตอย่างเป็นระบบ และมีการให้สารละลายธาตุอาหารจากถังจ่ายสารละลายเดียวกันตลอดช่วงระยะเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่าง เพื่อลดความแปรปรวนในเรื่องของตัวอย่างที่นำมาตรวจนับปริมาณเชื้อในแต่ละครั้ง

2.1 การแพร่กระจายของเชื้อ *Pythium* spp. ในรากสลัดคอส และในสารละลายธาตุอาหารที่ปลูกบนราง NFT ในสภาพโรงเรือนปิด

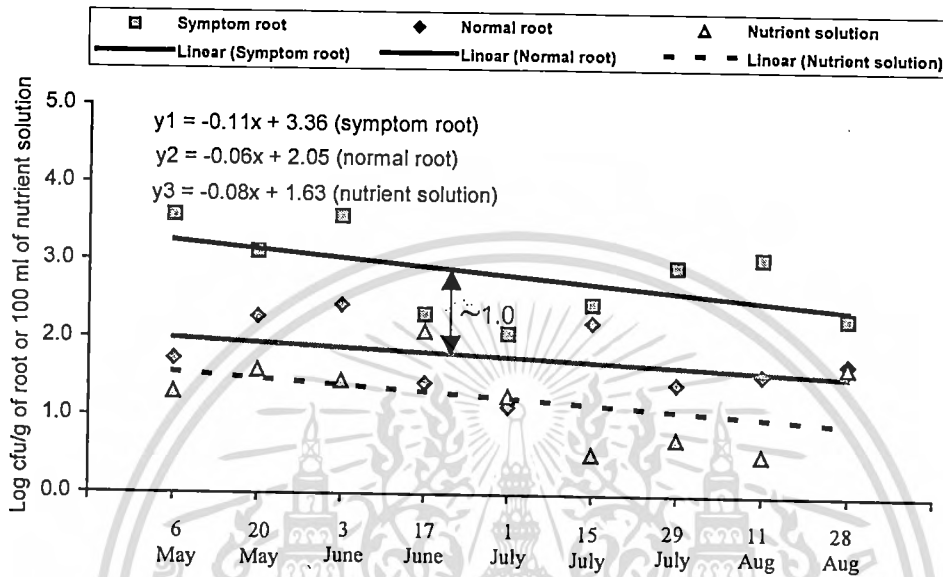


ภาพที่ 1 การแพร่กระจายของเชื้อ *Pythium* spp. ในรากสลัดคอส และในสารละลายธาตุอาหาร ที่ปลูกบนราง NFT ในโรงเรือนปรับอากาศของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตกรุงเทพมหานคร

ปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. จะตรวจพบได้มากที่สุด ในส่วนรากจากพืชที่เป็นโรค ตามด้วยในส่วนของรากจากต้นปกติ และในสารละลายธาตุอาหาร ตามลำดับ โดยมีค่าเฉลี่ยส่วนต่างของปริมาณเชื้อระหว่างรากพืชปกติกับรากพืชที่เป็นโรคเท่ากับ 0.8 log cfu/g เมื่อพิจารณาแนวโน้มการแพร่กระจายของเชื้อ จากกราฟเส้นเส้นตรงที่ลากผ่านจุดต่างๆ ของปริมาณเชื้อ ในแต่ละส่วนก็พบว่า การแพร่กระจายของเชื้อ *Pythium* spp. ที่ตรวจพบในช่วงเดือนพฤษภาคม – สิงหาคม 2547 มีแนวโน้มลดลง ทั้งในส่วนที่พบในรากพืชที่เป็นโรค, รากพืชปกติ และในสารละลายธาตุอาหาร ทั้งนี้การลดลงของ

ปริมาณเชื้อในรากพืชที่เป็นโรค กับในสารละลายธาตุอาหารค่อนข้างมีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกัน เนื่องจากมีค่าความชันของเส้นกราฟ (slope) ที่ใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 1)

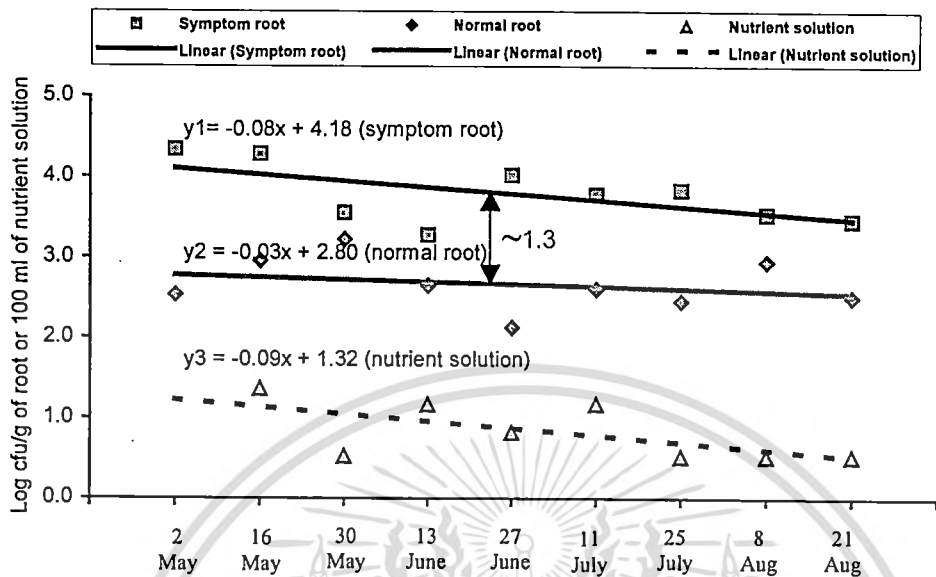
2.2 การแพร่กระจายของเชื้อ *Pythium* spp. ในรากสลัดเรดโอ๊คและในสารละลายธาตุอาหารที่ปลูกบนราง NFT ในสภาพโรงเรือนปิด



ภาพที่ 2 การแพร่กระจายของเชื้อ *Pythium* spp. ในรากสลัดเรดโอ๊ค และในสารละลายธาตุอาหารที่ปลูกบนราง NFT ในโรงเรือนตาข่ายและโรงเรือนปรับอากาศ ในช่วงเดือนพฤษภาคม - สิงหาคม 2547 ของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตกรุงเทพมหานคร

จากภาพที่ 2 จะเห็นได้ว่า ปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ที่ทำการศึกษาในครั้งนี้อย่างคงตรวพบได้มากที่สุด จากรากพืชที่แสดงอาการของโรคตามด้วยรากพืชปกติ และในสารละลายธาตุอาหาร เช่นเดียวกับในกรณีของผักสลัดกรีนโอ๊คที่ได้กล่าวมาแล้ว โดยมีค่าเฉลี่ยส่วนต่างของปริมาณเชื้อระหว่างรากพืชจากต้นปกติกับรากพืชจากต้นที่เป็นโรคเท่ากับ 1.0 log cfu/g การแพร่กระจายของเชื้อ *Pythium* spp. ที่ตรวจนับในระหว่างการทดลอง มีแนวโน้มลดลงและเมื่อพิจารณาจากค่าความชันของกราฟ ยังคงพบว่าการลดลงของปริมาณเชื้อในส่วนของรากพืชที่เป็นโรคร่วมกับในสารละลายธาตุอาหาร น่าจะมีความสัมพันธ์กัน

2.3 การแพร่กระจายของเชื้อ *Pythium* spp. ในรากสลัดกรีนไฉ้คและในสารละลายธาตุอาหารที่ปลูกบนราง NFT ในสภาพโรงเรือนเปิด



ภาพที่ 3 การแพร่กระจายของเชื้อ *Pythium* spp. ในรากสลัดกรีนไฉ้คและในสารละลายธาตุอาหาร ที่ปลูกบนราง NFT ในสภาพโรงเรือนเปิด ในช่วงเดือนพฤษภาคม – สิงหาคม 2547 ของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตจังหวัดรอบนอกกรุงเทพมหานคร

ในระบบ NFT ที่ทำการปลูกในสภาพโรงเรือนเปิด (สภาพกลางแจ้ง) พบว่ารูปแบบของการแพร่กระจายของเชื้อ *Pythium* spp. ยังคงเป็นไปในทำนองเดียวกันกับที่ได้ทำการสำรวจในสภาพโรงเรือนปิด (ทั้งโรงเรือนปรับอากาศและโรงเรือนตาข่าย) นั่นคือ ปริมาณเชื้อที่ตรวจพบในรากพืชที่เป็นโรคจะมากกว่ารากพืชปกติ และในสารละลายธาตุอาหาร ตามลำดับ และการแพร่กระจายของเชื้อจากตัวอย่างทั้ง 3 ส่วน ที่ทำการตรวจนับในช่วงเวลาที่ทำการทดลองในครั้งนี้มีแนวโน้มที่จะลดลง โดยพบว่าอัตราการลดลงของปริมาณเชื้อในรากพืชที่เป็นโรค ค่อนข้างจะมีความสัมพันธ์กับอัตราการลดลงของปริมาณเชื้อในสารละลายธาตุอาหาร มีแนวโน้มว่าปริมาณเชื้อที่ตรวจพบในรากพืชที่ปลูกในสภาพกลางแจ้ง จะมีปริมาณที่มากกว่าที่ปลูกในสภาพโรงเรือนปิด นอกจากนี้ยังพบว่า ค่าเฉลี่ยส่วนต่างของปริมาณเชื้อระหว่างรากพืชปกติกับรากพืชเป็นโรคจะมีค่ามากกว่าด้วย โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.3 log cfu/g (ภาพที่ 3) อย่างไรก็ตาม ยังไม่อาจสรุปได้ลงไปอย่างชัดเจนว่า ความแตกต่างดังกล่าวเป็นผลมาจากสภาพการปลูกที่ต่างกันแต่เพียงอย่างเดียว เนื่องจากตัวอย่างพืชที่ทำการสำรวจนั้นเป็นคนละชนิดกัน

ผลการศึกษาในส่วนนี้แสดงให้เห็นว่า รูปแบบการแพร่กระจายของเชื้อ *Pythium* spp. ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินแบบ NFT ที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ เป็นไปในทำนองเดียวกันทั้ง 3 กรณีศึกษา ปริมาณเชื้อดังกล่าวจะพบมากที่สุดในส่วนของพืชที่เป็นโรค ตามด้วยรากพืชปกติ และในสารละลาย

ธาตุอาหารตามลำดับ โดยที่การแพร่กระจายของเชื้อจากทั้ง 3 ส่วน มีแนวโน้มที่จะลดลงในช่วงที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ (พฤษภาคม – สิงหาคม 2547) ซึ่งส่วนหนึ่งน่าจะเป็นผลมาจากสภาพภูมิอากาศที่อยู่ในช่วงกำลังปรับเปลี่ยนจากฤดูร้อนเป็นฤดูฝน ทำให้อุณหภูมิโดยเฉลี่ยลดลง เป็นผลทำให้เกิดอาการเกิดโรคและความรุนแรงของโรครากเน่าลดลงไปด้วย เนื่องจากเชื้อสาเหตุของโรครากเน่าจะมีการเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิสูง เช่น ในกรณีของ *P. aphanidermatum* จะมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสม (optimum temperature) อยู่ในช่วง 35-40°C, *P. myriotylum* เท่ากับ 37°C และเชื้อทั้งสองชนิดมีความสามารถทนต่ออุณหภูมิสูงได้มากกว่า 40°C (van der Plaats-Niterink, 1981) เมื่อพิจารณาจากความสัมพันธ์ของปริมาณเชื้อที่ตรวจพบในแต่ละส่วน ทั้งจากรากพืชที่เป็นโรค รากพืชปกติ และในสารละลายธาตุอาหาร โดยภาพรวมตลอดช่วงระยะที่เก็บตัวอย่างก็พบว่าน่าจะมีความสัมพันธ์เกี่ยวข้องกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งปริมาณเชื้อในรากพืชที่เป็นโรค กับในสารละลายธาตุอาหาร เนื่องจากจะมีค่าความชันของเส้นกราฟที่ใกล้เคียงกันในทุกกรณีศึกษา การศึกษาในครั้งนี้ยังพบว่าส่วนต่างระหว่างปริมาณเชื้อในรากพืชปกติ กับรากพืชที่เป็นโรคจะอยู่ในช่วงประมาณ 1 หน่วย log cfu/g ผลดังกล่าวทำให้สันนิษฐานได้ว่า การเกิดโรคโคนเน่ารากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* spp. ในระบบ NFT ที่ทำการค้าเป็นผลมาจากปริมาณเชื้อดั้งเดิมที่มีอยู่แล้วในระบบ ซึ่งอาจจะอยู่ร่วมกับรากพืชจากต้นปกติในสภาพที่ไม่ก่อให้เกิดโรค (saprophytic stage) มีการเพิ่มจำนวนขึ้นมา ไม่จากสาเหตุใดๆ ก็ตาม จนมีจำนวนประชากรเพิ่มขึ้นกลายเป็นระยะก่อโรค (pathogenic stage) เป็นผลทำให้พืชแสดงอาการของโรครากเน่าขึ้นมา จากนั้นปริมาณเชื้อที่มีอยู่ค่อนข้างมากมายในรากพืชที่เป็นโรค ก็จะมีการแพร่กระจายไปทางสารละลายธาตุอาหารในระยะเวลาต่อมา ซึ่งจะเห็นได้จากเส้นแนวโน้มการแพร่กระจายของเชื้อในรากพืชที่เป็นโรค ค่อนข้างมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับเส้นแนวโน้มการแพร่กระจายของเชื้อในสารละลายธาตุอาหารดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น นอกจากนี้ส่วนต่างระหว่างปริมาณเชื้อในรากพืชจากต้นปกติกับต้นที่เป็นโรคที่มีค่าโดยเฉลี่ยประมาณ 1 หน่วย log cfu/g หรือประมาณ 10 เท่า อาจใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการจัดการโรคโคนเน่ารากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* spp. และชี้ให้เห็นว่าการควบคุมปริมาณเชื้อสาเหตุที่มีอยู่ในรากพืชให้อยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดโรคจะเป็นวิธีการหนึ่งที่สำคัญในการป้องกันกำจัดโรคนี้ได้

3. การเจริญเติบโตและเปอร์เซ็นต์ความสูญเสีย เนื่องจากเชื้อ *Pythium*

จากการเก็บตัวอย่างพืชปกติและพืชที่แสดงอาการของโรคโคนเน่ารากเน่า เนื่องจากเชื้อ *Pythium* spp. มาทำการชั่งน้ำหนักสด และเปรียบเทียบส่วนต่างระหว่างต้นปกติ กับต้นที่แสดงอาการของโรคพบว่าเชื้อดังกล่าวมีผลทำให้น้ำหนักของพืชสูญเสียไปตั้งแต่ 7-80% (ตารางผนวกที่ 8-13) ขึ้นอยู่กับแต่ละช่วงเวลาและชนิดของพืช โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 40-60 เปอร์เซ็นต์ ดังได้แสดงสรุปละเอียดไว้ในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 สรุปค่าเฉลี่ยของปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ที่ตรวจพบในรากของผักสลัดที่ปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินกับน้ำหนักพืชที่สูญเสียไป

ตัวอย่าง	ต้นปกติ		ต้นที่เป็นโรค		ส่วนต่าง	
	ปริมาณเชื้อ ^{1/} (log cfu/g)	น้ำหนักสด ^{2/} (กรัม/ต้น)	ปริมาณเชื้อ ^{1/} (log cfu/g)	น้ำหนักสด ^{2/} (กรัม/ต้น)	ปริมาณเชื้อ ^{3/} (log cfu/g)	น้ำหนักที่สูญเสีย ^{4/} (%)
1. สลัดคอสปลูกใน NFT สภาพโรงเรือนปิด (กทม)	1.9	89.5	2.7	48.1	0.8	45.4
2. สลัดเรดโอ๊คปลูกใน NFT สภาพโรงเรือนปิด (กทม)	1.8	41.3	2.8	20.0	1.0	49.2
3. สลัดกรีนโอ๊คปลูกใน NFT สภาพโรงเรือนปิด (กทม)	2.0	43.9	2.4	28.0	0.4	39.0
4. สลัดกรีนโอ๊คปลูกใน NFT สภาพกลางแจ้ง (ตจว)	2.7	80.1	3.8	34.8	1.3	55.6
5. สลัดกรีนโอ๊คปลูกใน NFT สภาพกลางแจ้ง (กทม)	1.8	66.0	3.0	28.6	1.2	56.6
6. คีนฉายปลูกใน DFT สภาพกลางแจ้ง (ตจว)	2.1	20.0	2.7	8.1	0.6	58.7

^{1/} ค่าเฉลี่ยจากการตรวจนับจำนวน 9 ครั้ง (ยกเว้นตัวอย่างที่ 3 : จำนวน 5 ครั้ง) ในระหว่างเดือน พ.ค. - ส.ค. 47

^{2/} น้ำหนักสดทั้งต้นและราก ไม่รวมวัสดุปลูก เก็บจากตัวอย่างพืชที่มีอายุ 2-3 สัปดาห์บนโต๊ะปลูก จากแต่ละฟาร์ม

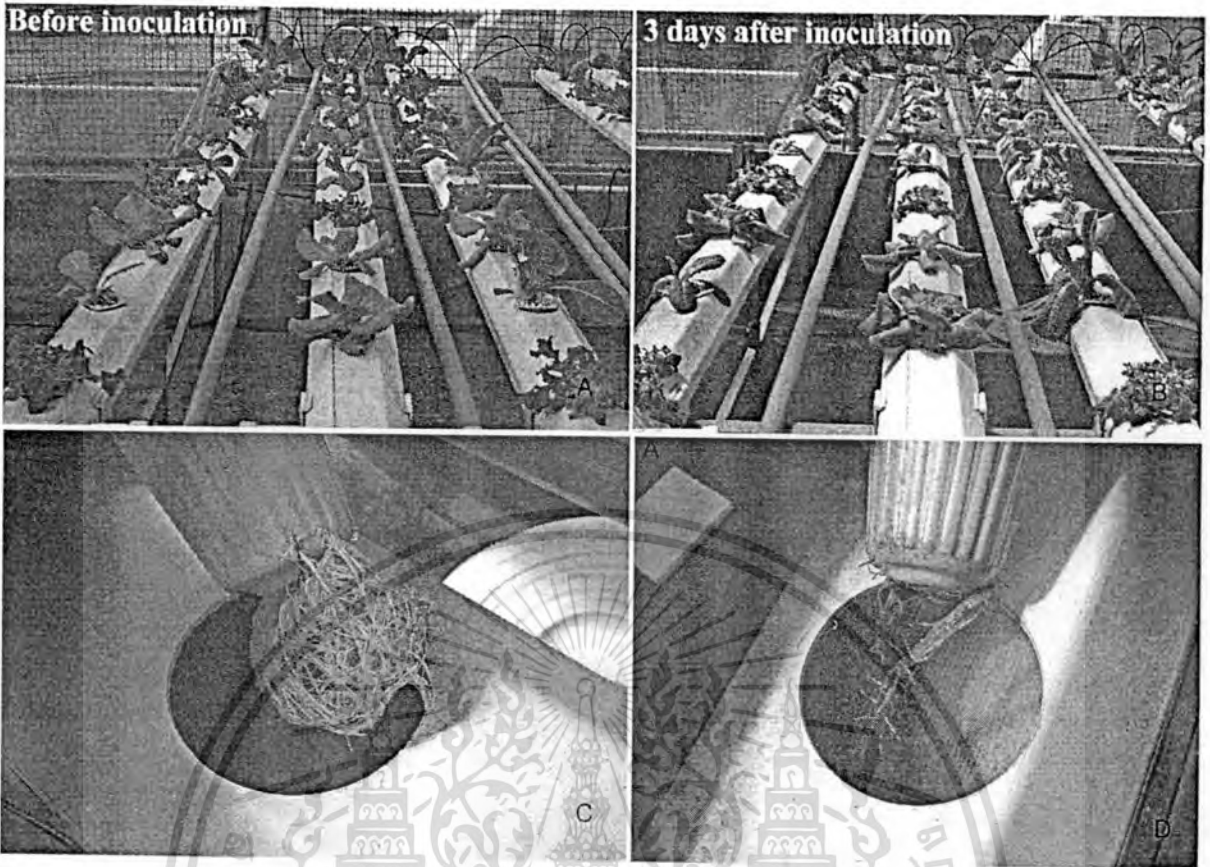
^{3/} ส่วนต่างของปริมาณเชื้อที่ตรวจพบในรากปกติกับรากพืชที่เป็นโรค

^{4/} ค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ส่วนต่างระหว่างน้ำหนักพืชจากต้นปกติ กับต้นที่เป็นโรค จากการเก็บตัวอย่างในระหว่างเดือน พ.ค. - ส.ค. 47

จากตารางจะเห็นว่า ในพีชต้นปกติที่มีการเจริญเติบโตดีกว่าต้นที่เป็นโรค ปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ที่ตรวจพบในรากจะมีน้อยกว่า ในทางกลับกันต้นที่แคระแกรนหรือแสดงอาการของโรคโคนเน่า รากเน่า แต่ไม่ถึงขั้นเป็นโรคตาย เมื่อทำการตรวจนับเชื้อจากรากดังกล่าวจะพบว่ามีปริมาณเชื้อค่อนข้างสูง ในผักสลัดพบว่าส่วนต่างของปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ระหว่างต้นปกติกับต้นที่เป็นโรคที่เพิ่มมากขึ้น 0.4, 0.8, 1.0, 1.2 และ 1.3 log cfu/g เป็นผลทำให้น้ำหนักสดสูญเสียไป 39.0, 45.5, 49.2, 56.6 และ 55.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ผลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่า เชื้อ *Pythium* spp. มีผลโดยตรงต่อผลผลิตของผักสลัดที่ปลูกในระบบนี้ แม้ว่าตัวเลขความเสียหายโดยตรงอันเนื่องมาจากจำนวนต้นที่เป็นโรคตายของแต่ละฟาร์มที่เข้าไปเก็บตัวอย่าง ไม่สามารถประเมินได้อย่างแน่ชัด (เนื่องจากเป็นการไม่สะดวกต่อทางฟาร์ม หรือแม้ทางฟาร์มแจ้งจำนวนต้นพีชที่ตายให้ทราบ ก็ไม่สามารถประเมินได้ว่าเป็นการตายเนื่องจากเชื้อ *Pythium* spp. จำนวนเท่าไร) แต่ก็ทำให้ทราบได้ว่าอย่างน้อยที่สุด เชื้อ *Pythium* spp. ที่มีปริมาณเพิ่มมากกว่าระดับปกติจะทำให้การเจริญเติบโตของพีชลดลงไปประมาณ 40-60 เปอร์เซ็นต์ และถ้าปริมาณเชื้อเพิ่มจำนวนมากขึ้นจนถึงขั้นวิกฤต ก็เป็นผลทำให้ต้นพีชเป็นโรคตายได้ในที่สุด ซึ่งก็จะก่อให้เกิดความเสียหายมากขึ้นตามมา

4. การจัดจำแนกเชื้อสาเหตุ และคัดเลือกสายพันธุ์ที่รุนแรง

เชื้อ *Pythium* spp. ที่แยกได้จากการทดลองนี้ จากการจัดจำแนกเบื้องต้นโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่าส่วนใหญ่ได้แก่เชื้อ *P. myriotylum* (ตารางที่ 8) ในการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่า พบว่าทำให้ต้นผักกาดหอมที่ปลูกในดินแสดงอาการของโรคดังกล่าวได้ภายในระยะเวลา 1 เดือนเมื่อเปรียบเทียบกับ การทดลองชุดควบคุม ในจำนวนนี้มีไอโซเลท RD8 ทำให้พีชเป็นโรคมากที่สุด จึงถูกนำมาทดสอบต่อในระบบ NFT จากการใช้ส่วนของเส้นใย (mycelial segments) ของเชื้อ *P. myriotylum* RD8 ใส่ผ่านรางปลูกพีชที่ปลูกสลัด คอส เรดโอ๊ค และบัตเตอร์เฮด ในอัตรา 10^5 propagules/ml จำนวน 200 ml/ราง พบว่าจะทำให้ต้นสลัดดังกล่าวเป็นโรค 100 เปอร์เซ็นต์ ภายในระยะเวลา 3 วัน (ภาพที่ 4)



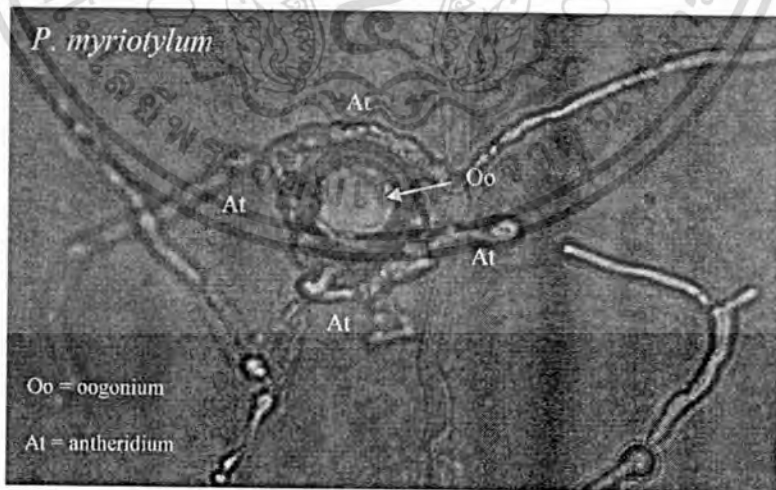
ภาพที่ 4 ผักสลัดที่ทำการปลูกเชื้อด้วย *P. myriotylum* RD8

a ก่อนการปลูกเชื้อ

b สามวันหลังการปลูกเชื้อ

c รากของพืชต้นปกติ

d รากของพืชต้นที่เป็นโรค



ภาพที่ 5 ลักษณะ oospore ของเชื้อ *P. myriotylum*

ตารางที่ 8 ผลการจัดจำแนกเบื้องต้นของเชื้อ *Pythium* spp. บางไอโซเลทที่แยกได้จากระบบปลูกพืช โดยไม่ใช้ดินที่ทำการค้า

ไอโซเลท	Ref. No. ^{1/}	ตัวอย่างที่แยก	สถานที่	ผลการจัดจำแนก ^{2/}
Py1	J1	รากผักโขมต้นที่เป็นโรค	ระบบ DFT (ตจว)	<i>P. aphanidermatum</i> .
RD1	J2	รากสลัดคอสดต้นที่เป็นโรค	ระบบ NFT ในโรงเรือน (กทม)	<i>P. myriotylum</i>
RD3	J3	รากกรีนโอ๊คต้นที่เป็นโรค	ระบบ NFT ในโรงเรือน (กทม)	<i>P. myriotylum</i>
RD4	J4	รากกรีนโอ๊คต้นที่เป็นโรค	ระบบ NFT (กทม)	sterile fungus
RD5	J5	รากกรีนโอ๊คต้นที่เป็นโรค	ระบบ NFT (กทม)	<i>P. myriotylum</i>
RD6	J6	รากกรีนโอ๊คต้นที่เป็นโรค	ระบบ NFT (กทม)	<i>P. group F.</i>
RD7	J7	รากกรีนโอ๊คต้นที่เป็นโรค	ระบบ NFT (กทม)	<i>P. myriotylum</i>
RD8	J8	รากกรีนโอ๊คต้นที่เป็นโรค	ระบบ NFT (ตจว)	<i>P. myriotylum</i>
RD9	J15	รากกรีนโอ๊คต้นที่เป็นโรค	ระบบ NFT (ตจว)	<i>P. myriotylum</i>
RD11	J9	รากกรีนโอ๊คต้นที่เป็นโรค	ระบบ NFT (ตจว)	<i>P. myriotylum</i>
RD12	J10	รากกรีนโอ๊คต้นที่เป็นโรค	ระบบ NFT (ตจว)	<i>P. myriotylum</i>
RD13	J11	รากกรีนโอ๊คต้นที่เป็นโรค	ระบบ NFT (ตจว)	<i>P. group F.</i>
RD14	J12	รากเรดโอ๊คต้นที่เป็นโรค	ระบบ NFT ในโรงเรือน (กทม)	<i>P. group F.</i>
RD15	J13	รากเรดโอ๊คต้นที่เป็นโรค	ระบบ NFT ในโรงเรือน (กทม)	<i>P. myriotylum</i>
RD16	J14	รากเรดโอ๊คต้นที่เป็นโรค	ระบบ NFT ในโรงเรือน (กทม)	<i>P. group F.</i>
RD17	---	รากกรีนโอ๊คต้นที่เป็นโรค	ระบบ NFT (ตจว)	<i>P. myriotylum</i>
RD18	---	รากกรีนโอ๊คต้นที่เป็นโรค	ระบบ NFT (ตจว)	<i>P. myriotylum</i>
RN4	---	รากเรดโอ๊คต้นปกติ	ระบบ NFT ในโรงเรือน (กทม)	ยังไม่จัดจำแนก
RN7	J16	รากกรีนโอ๊คต้นปกติ	ระบบ NFT (ตจว)	<i>P. myriotylum</i>
RN9	---	รากกรีนโอ๊คต้นปกติ	ระบบ NFT (ตจว)	<i>P. myriotylum</i>
RN10	---	รากกรีนโอ๊คต้นปกติ	ระบบ NFT (ตจว)	<i>P. myriotylum</i>
RN11	---	รากกรีนโอ๊คต้นปกติ	ระบบ NFT (ตจว)	<i>P. myriotylum</i>
RN12	---	รากกรีนโอ๊คต้นปกติ	ระบบ NFT (ตจว)	<i>P. myriotylum</i>
NS1	J18	สารละลายธาตุอาหาร	ระบบ NFT (ตจว)	<i>P. myriotylum</i>
NS2	J19	สารละลายธาตุอาหาร	ระบบ NFT (กทม)	<i>P. group F.</i>
NS3	J20	สารละลายธาตุอาหาร	ระบบ DFT (ตจว)	<i>P. group F.</i>

^{1/} หมายเลขอ้างอิงที่ได้ส่งไปให้ Dr. Motoaki Tojo จาก Laboratory of Plant Pathology, Osaka Prefecture University, Japan ทำการจัดจำแนกให้

^{2/} โดยอาศัยลักษณะของ sporangium และ oogonium ที่เกิดขึ้นบน grass blade culture และ V8-agar.

ผลการศึกษาในส่วนนี้แสดงให้เห็นว่า เชื้อ *Pythium* spp ที่ตรวจพบได้ในระบบ NFT ที่ทำการปลูกผักสลัดเป็นการค้า ส่วนใหญ่ได้แก่เชื้อ *P. myriotylum* นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อดังกล่าวเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรครากเน่าในผักสลัด สอดคล้องกับที่ Stanghellini et.al., (1998) ได้รายงานไว้ โดยปกติแล้วเชื้อ *Pythium* sp ที่เป็นสาเหตุโรคโคนเน่ารากเน่าของพืชผักที่ปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินที่ได้มีการศึกษาไว้ก่อนหน้านี้ ส่วนใหญ่จะเป็นเชื้อ *P. aphanidermatum* ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรคโคนเน่ารากเน่าในแตงกวาพันธุ์ยุโรป (พรหมมาศ, 2540) เชื้อทั้งสองชนิดมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่สำคัญที่แตกต่างกันคือ *P. aphanidermatum* ส่วนใหญ่จะมี antheridia (เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้) เป็นแบบ Intercalary (เกิดระหว่างเส้นใย) จำนวน 1-2 อันมาเกาะกับ oogonium (เซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย) ในขณะที่ *P. myriotylum* จะพบ antheridia ส่วนใหญ่แบบ terminal (เกิดที่ปลายเส้นใย) และมีจำนวนตั้งแต่ 3-6 อัน มาเกาะกับ oogonium (van der Plaats-Niterink, 1981) ดังแสดงในภาพที่ 5 สำหรับอาการของโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *P. myriotylum* ที่พบในผักสลัด รากพืชที่เป็นโรคจะมีอาการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดง-เน่า และขาดหลุดออกจากถ้วยปลูก ไม่พบอาการโคนเน่าแต่อย่างใด ในขณะที่อาการของโรคที่มีสาเหตุมาจาก *P. aphanidermatum* จะพบทั้งอาการรากเน่าและโคนเน่า (พรหมมาศ, 2540) และมักจะแยกได้เฉพาะจากต้นที่เป็นโรคเท่านั้น ซึ่งก็จะเป็นข้อแตกต่างอีกข้อหนึ่งจากเชื้อ *P. myriotylum* ที่สามารถแยกได้ทั้งจากรากพืชจากต้นปกติและต้นที่เป็นโรค จึงทำให้สันนิษฐานได้ว่า เชื้อทั้งสองอาจมีลักษณะการดำรงชีพที่แตกต่างกัน *P. aphanidermatum* น่าจะมีการดำรงชีพที่เป็น facultative saprophyte (แซปโฟไฟต์ชั่วคราว) ดังนั้นจึงมักแยกได้จากส่วนของพืชที่เป็นโรค ในขณะที่ *P. myriotylum* น่าจะมีการดำรงชีพแบบ facultative parasite (พาราสิตชั่วคราว) ดังนั้นจึงสามารถแยกได้ทั้งจากพืชที่เป็นโรคและพืชปกติได้ในคราวเดียวกัน ข้อสมมติฐานดังกล่าวสอดคล้องความจริงที่ว่า เมื่อใดก็ตามที่พบเชื้อ *P. aphanidermatum* ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพืชตระกูลแตง หรือพืชผักกินใบต่างๆ ไป ก็มักจะพบอุบัติการณ์ของโรคอย่างรุนแรงเสมอ ในขณะที่กรณีของผักสลัดพันธุ์ต่างประเทศ ซึ่งสามารถพบเชื้อ *P. myriotylum* ได้เป็นประจำอยู่แล้ว อุบัติการณ์ของโรคจะเกิดขึ้นก็ต่อเมื่อมีสภาพแวดล้อมต่างๆ ที่เอื้ออำนวย เช่น ในสภาพที่มีอากาศร้อนจัด ประกอบกับพืชมีความอ่อนแอ อันเนื่องมาจากสาเหตุใดๆ ก็ตามร่วมด้วย ผลการศึกษาในครั้งนี้นำไปสู่การศึกษาหาวิธีการต่างๆ ในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดที่เกิดจากเชื้อ *P. myriotylum* ได้อย่างเหมาะสม นั่นคือ วิธีการใดๆ ก็ตามที่จะสามารถควบคุมปริมาณเชื้อที่มีอยู่แล้วในรากให้อยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดโรค เช่นการใช้จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์มาควบคุมจำนวนประชากรของเชื้อสาเหตุ หรือการจัดการต่างๆ ให้พืชมีความสมบูรณ์แข็งแรง เพื่อมิให้เป็นแหล่งอาหารของเชื้อสาเหตุโรคได้

โครงการระยะที่ 2

การศึกษาประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์ ในการควบคุมโรครากเน่า ของผักสลัดที่เกิดจากเชื้อ *P. myriotylum*

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ทำการทดสอบประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์บางชนิดที่ได้จากเชื้อ *Trichoderma harzianum* และ *Bacillus subtilis* ที่มีจำหน่ายอยู่ในท้องตลาด (ตารางผนวกที่ 14) ในการควบคุมเชื้อ *P. myriotylum* ในสภาพห้องปฏิบัติการ (*in vitro* testing) และในสภาพแปลงทดลอง (ในผักสลัดชนิดต่างๆ ที่ปลูกในระบบ NFT) จำนวน 3 crop ได้แก่

crop ที่ 1 ทำการทดลองในช่วงเดือน ตุลาคม – พฤศจิกายน 2547

crop ที่ 2 ทำการทดลองในช่วงเดือน พฤศจิกายน – ธันวาคม 2547

crop ที่ 3 ทำการทดลองในช่วงเดือน กุมภาพันธ์ – มีนาคม 2548

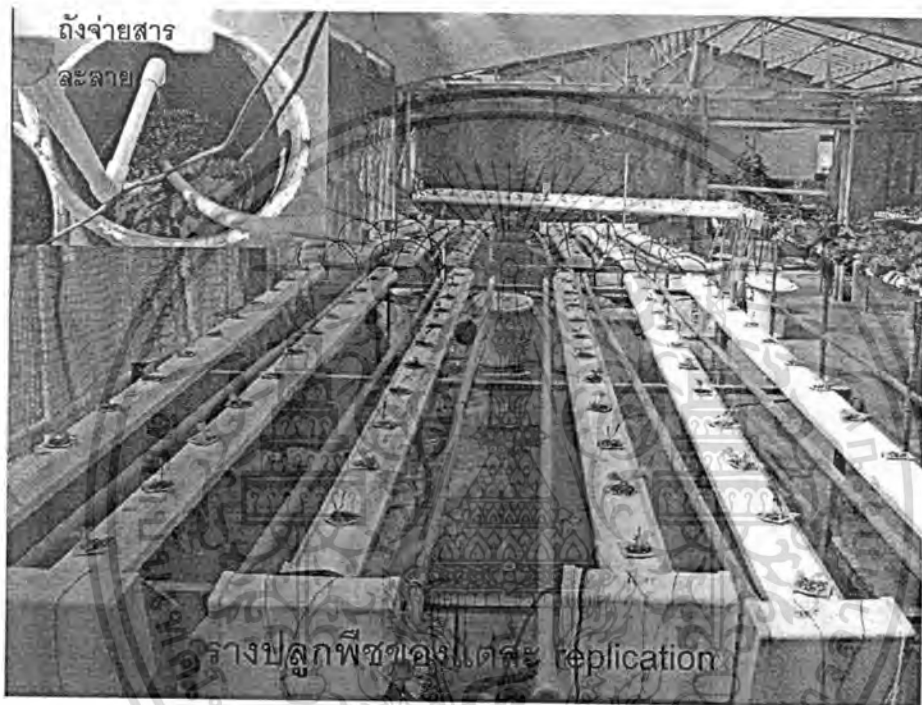
ตั้งวิธีการดังต่อไปนี้

1. การทดสอบประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. myriotylum* ในสภาพ *in vitro*

ทำการทดสอบในอาหารเหลว (nutrient solution broth : NS broth) ซึ่งเตรียมจากสารละลายธาตุอาหารที่ใช้ในการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินที่มีค่าการนำไฟฟ้า EC = 1.5 dS/m ค่า pH ประมาณ 6.0 แล้วเติมน้ำตาล sucrose ลงไป 1% นำ NS broth ดังกล่าว บรรจุใส่ flask 125 ml flask ละ 50 ml แล้วนำไปนิ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นจึงนำมาใส่ชีวผลิตภัณฑ์ประเภทต่างๆ ซึ่งในการทดลองนี้ได้แก่ ชีวผลิตภัณฑ์ของ *T. harzianum* ชนิดผงผลิตภัณฑ์ที่ 1 (ยูนิเซฟ), ชนิดผงผลิตภัณฑ์ที่ 2 (ไตรซาน), ชนิดน้ำ (ยูนิเซฟ) และชีวผลิตภัณฑ์ของ *B. subtilis* ชนิดผง (ลามินาร์) แต่ละผลิตภัณฑ์จะทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 10^3 , 10^4 , 10^5 และ 10^6 cfu/ml ความเข้มข้นละ 4 ซ้ำ วิธีการโดยการนำ agar plug ของเชื้อ *P. myriotylum* (ซึ่งเตรียมจากการเลี้ยงเชื้อดังกล่าวในอาหาร PDA จนอายุได้ 6 วัน และใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 0.5 เซนติเมตร เจาะ) ใส่ลงไปในแต่ละ flask ที่มีส่วนผสมของชีวผลิตภัณฑ์ดังกล่าวข้างต้นแล้ว flask ละ 1 ชิ้น control ได้แก่ อาหาร NS broth ที่ไม่ได้ใส่ชีวผลิตภัณฑ์ประเภทใดๆ บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน จึงกรองเอาเฉพาะส่วนของเส้นใยของเชื้อ *P. myriotylum* ไปอบให้แห้งแล้วชั่งน้ำหนักเปรียบเทียบกับ control

2. การทดลองใช้ชีวผลิตภัณฑ์ในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดที่เกิดจากเชื้อ *P. myriotylum* ในระบบ NFT (crop 1 : ตุลาคม – พฤศจิกายน 2547)

2.1 ทำการเตรียมการและติดตั้งระบบปลูกพืชแบบ NFT จำนวน 3 ชุด แต่ละชุดประกอบด้วยรางปลูกพืชจำนวน 6 ราง แต่ละรางมีความยาว 3 เมตร ซึ่งจะสามารถใช้ปลูกพืชได้ประมาณ 10-12 ต้น/ราง แต่ละรางปลูกพืชจะมีระบบการจ่ายสารละลายที่เป็นอิสระต่อกัน ซึ่งประกอบไปด้วย ถังจ่ายสารละลาย (ถังพลาสติกขนาด 12 แกลลอนทาทับสีขาวด้านนอก) ปั๊มน้ำ (aquatic pump) ท่อ PVC นำสารละลาย ท่อคอปิลารี และท่อนำสารละลายกลับลงสู่ถังจ่ายสารละลาย (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 ระบบการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินแบบ NFT ที่ใช้ในการทดลอง

2.2 ทำการเพาะกล้าผักสลัด ซึ่งในการทดลองนี้ได้แก่ ผักสลัด คอส เรดโอ๊ค และ บัตเตอร์เฮด จำนวนชนิดละ 40 ต้น ลงในถ้วยเพาะที่ใช้ในการปลูกพืชแบบไม่ใช้ดิน วัสดุเพาะที่ใช้ ได้แก่ เพอร์ไลต์ + เวอร์มิคูไลต์ อัตราส่วน 3:1 ดูแลรดน้ำเช้า-เย็น เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จนต้นกล้างอก จากนั้นจึงเปลี่ยนมารดด้วยสารละลายธาตุอาหารที่มีความเข้มข้นครึ่งหนึ่งของที่ใช้ (half strength : EC ~ 0.8-1.0 dS/m) เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จึงย้ายต้นกล้าลงระบบปลูก โดยแต่ละรางจะประกอบไปด้วย ผักสลัดทั้งสามชนิดคละกันไป หลังจากย้ายต้นกล้าแล้วค่อยๆ ปรับการให้สารละลายให้มีความเข้มข้นเพิ่มมากขึ้นจนถึงระดับความเข้มข้นที่ใช้ในการปลูกผักทั่วไป (EC ~ 1.5 dS/m ; pH ~5.8-6.0) ภายในเวลา 1 สัปดาห์ เมื่อต้นพืชมีอายุได้ประมาณ 3 สัปดาห์ หลังจากเพาะเมล็ด จึงเข้าสู่แผนการทดลอง

2.3 กรรมวิธีที่ใช้ในการทดลองในครั้งนี้ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 (Tr1) ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* (ลามินาร์) ทางสารละลายธาตุอาหาร โดยใช้สารละลายความเข้มข้น 10^8 cfu/ml จำนวน 120 ml เทราดผ่านรางปลูกพืชลงไปในการละลายธาตุอาหาร

กรรมวิธีที่ 2 (Tr2) ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์ *T. harzianum* (ไตรซาน) ทางสารละลายธาตุอาหาร โดยใช้สารละลายความเข้มข้น 10^8 cfu/ml จำนวน 120 ml เทราดผ่านรางปลูกพืชลงไปในการละลายธาตุอาหาร

กรรมวิธีที่ 3 (Tr3) ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* (ลามินาร์) ทางรากพืช โดยการเทใส่ลงไปในตัวปลูก โดยใช้สารละลายความเข้มข้น 10^8 cfu/ml จำนวน 10 ml/ต้น

กรรมวิธีที่ 4 (Tr4) ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์ *T. harzianum* (ไตรซาน) ทางรากพืช โดยการเทใส่ลงไปในตัวปลูก โดยใช้สารละลายความเข้มข้น 10^8 cfu/ml จำนวน 10 ml/ต้น

กรรมวิธีที่ 5 (Tr5) เป็น inoculation control ไม่ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์ใดๆ

กรรมวิธีที่ 6 (Tr6) เป็น healthy control ไม่ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์ใดๆ และไม่ทำการปลูกเชื้อ

แต่ละกรรมวิธีจะประกอบไปด้วย 3 รางปลูกพืช (3 ซ้ำ) ซึ่งมีต้นพืชอยู่ทั้งหมดประมาณ 30-36 ต้น (หน่วยทดลอง) การทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์จะกระทำ 2 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 3 วัน

2.4 การปลูกเชื้อจะกระทำเมื่อต้นพืชอายุ 4 สัปดาห์ (1 สัปดาห์หลังจากทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์ในครั้งแรก) โดยใช้ส่วนของเส้นใย (mycelial segment) ของเชื้อ *P. myriotylum* RD8 ซึ่งเตรียมโดยเลี้ยงเชื้อสาเหตุดังกล่าวลงในอาหาร v8-broth เป็นเวลา 7-10 วัน จากนั้นจึงนำเอาเฉพาะส่วนของเส้นใย (mycelial mat) มาปั่นด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้ อัตราที่ใช้ในการปลูกเชื้อในครั้งนี้คือความเข้มข้น 10^5 propagules/ml จำนวน 200 ml ต่อรางปลูกพืช เทราดผ่านรางปลูกพืชลงไปในการละลายธาตุอาหาร

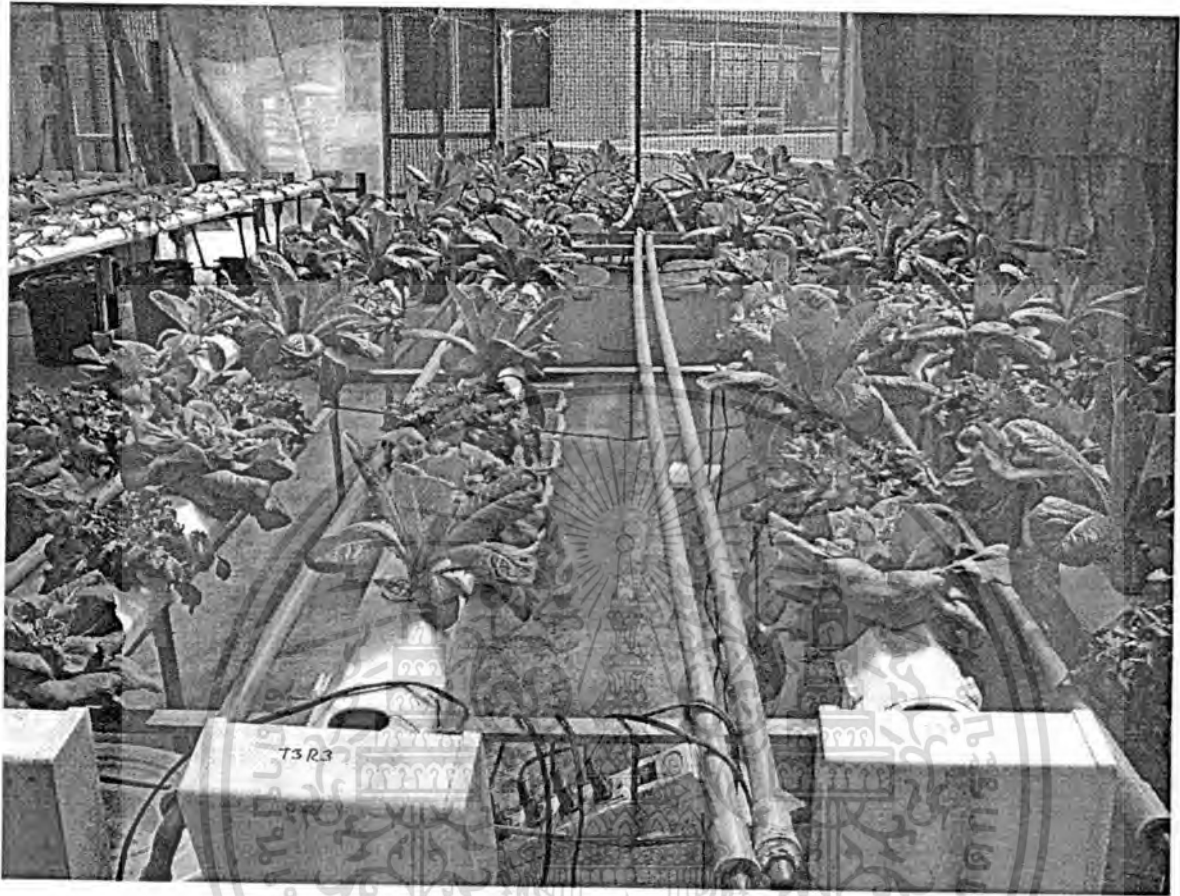
2.5 ทำการประเมินความรุนแรงของการเกิดโรค (disease severity) เป็นเวลา 1-2 สัปดาห์หลังการปลูกเชื้อโดยใช้สูตร

$$\text{ความรุนแรงของการเกิดโรค} = \frac{\text{ผลรวมของ (พืชแต่ละต้น x ค่าระดับของการเกิดโรค)}}{\text{จำนวนต้นพืชทั้งหมด}}$$

โดยที่มีค่าระดับของการเกิดโรสดังนี้

- 0 = ต้นพืชปกติไม่เป็นโรค รากมีสีขาว
- 1 = รากพืชมีสีน้ำตาลแดง
- 2 = รากพืชมีสีน้ำตาลแดงถึงเน่า
- 3 = รากพืชมีอาการเน่า พืชมีอาการเหี่ยวชั่วคราว
- 4 = รากพืชมีอาการเน่า หลุดออกจากถ้วยปลูก พืชมีอาการเหี่ยวอย่างถาวร
- 5 = ต้นพืชตาย

2.6 ทำการเก็บเกี่ยวและชั่งน้ำหนักสดของพืช เมื่อพืชมีอายุได้ 6 สัปดาห์ วิเคราะห์ข้อมูล และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยใช้โปรแกรม JMP[®] (SAS Institute Inc. Cary, NC)



ภาพที่ 7 การทดลองใน crop ที่ 1 (ตุลาคม - พฤศจิกายน 2547)
ในภาพพืชทดลองมีอายุได้ประมาณ 4 สัปดาห์ (ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์แล้วแต่ยังไม่ทำการปลูกเชื้อ)

3. การทดลองใช้ชีวผลิตภัณฑ์ในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดที่เกิดจากเชื้อ *P. myriotylum* ในระบบ NFT (crop 2 : พฤศจิกายน – ธันวาคม 2547)

3.1 ระบบปลูกที่ใช้ ได้แก่ ระบบปลูกพืชแบบ NFT ที่ได้ทำการติดตั้งไว้แล้วตั้งแต่ crop ที่ 1 ก่อนใช้ให้ทำความสะอาดรางปลูกพืชและล้างสารละลายธาตุอาหาร จากนั้นทำการฆ่าเชื้อโดยการใช้น้ำยาละลายคลอรีน ความเข้มข้น 10% ไหลผ่านเข้าไปในระบบเป็นเวลา 1-2 คืน แล้วถ่ายทิ้งใช้น้ำเปล่าไหลผ่านเข้าไปในระบบอีก 1-2 ครั้ง ก่อนใช้งาน

3.2 ทำการเพาะกล้าผักสลัดที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ สลัดกรีนโอ๊ค เรตคอรอล และ ฟรลิตซ์ ทำการเพาะและดูแลอนุบาลต้นกล้าเช่นเดียวกับหัวข้อ 2.2

3.3 กรรมวิธีที่ใช้ในการทดลองประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 (Tr1) ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์ *T. harzianum* (ยูนิเซฟชนิดน้ำ) ลงในสารละลายธาตุอาหารในอัตราประมาณ 10^8 สปอร์ต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 2 (Tr2) ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์ *T. harzianum* (ยูนิเซฟชนิดผง) ลงในสารละลายธาตุอาหารในอัตราประมาณ 10^8 สปอร์ต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 3 (Tr3) ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์ *T. harzianum* (ไตรซานชนิดผง) ลงในสารละลายธาตุอาหารในอัตราประมาณ 10^8 สปอร์ต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 4 (Tr4) ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* (ลามินาร์) ลงในสารละลายธาตุอาหารในอัตราประมาณ 10^8 เซลล์ต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 5 (Tr5) เป็น inoculation control ไม่ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์ใดๆ

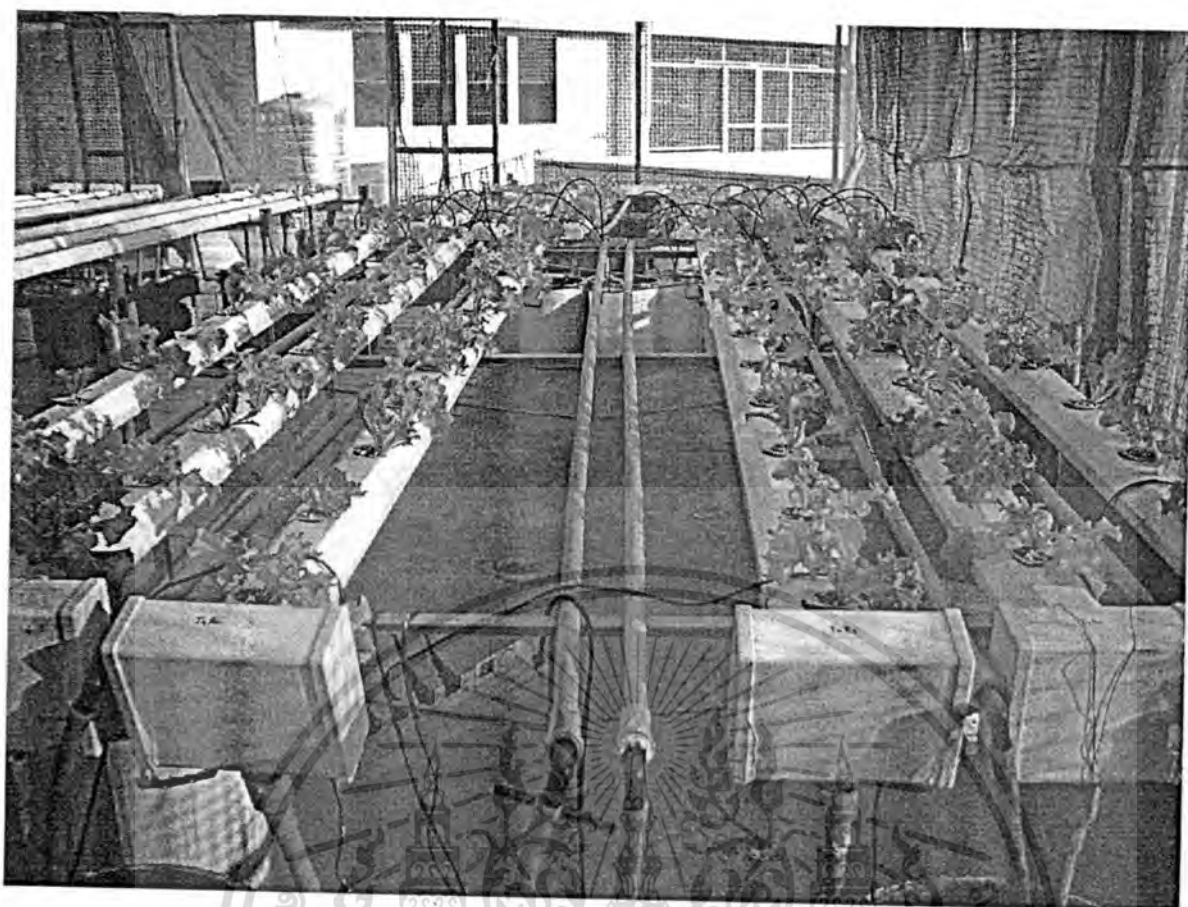
กรรมวิธีที่ 6 (Tr6) เป็น healthy control ไม่ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์ใดๆ และไม่ทำการปลูกเชื้อ

แต่ละกรรมวิธีจะประกอบไปด้วย 3 รางปลูกพืช (3 ซ้ำ) ซึ่งมีต้นพืชอยู่ทั้งหมดประมาณ 30-36 ต้น (หน่วยทดลอง) การทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์จะกระทำทุกครั้งเมื่อมีการเติมสารละลายใหม่เข้าไปในระบบ

3.4 การปลูกเชื้อจะกระทำเมื่อพืชทดสอบมีอายุได้ประมาณ 4-5 สัปดาห์ (หรือ 1 สัปดาห์หลังจากที่ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์) การเตรียมเชื้อสาเหตุโรคพืชเช่นเดียวกับใน crop ที่ 1 แต่การปลูกเชื้อในครั้งนี้นำการลดความเข้มข้นของเชื้อก่อโรคลงเหลือ 10^4 propagules/ml ปริมาณที่ใช้คือจำนวน 200 ml ใส่ลงไปโดยตรงในถังจ่ายสารละลายธาตุอาหาร

3.5 ทำการประเมินความรุนแรงของการเกิดโรค (disease severity) เช่นเดียวกับหัวข้อ 2.5

3.6 ทำการเก็บเกี่ยวน้ำหนักสดของพืช เมื่อพืชมีอายุได้ 6 สัปดาห์ วิเคราะห์ข้อมูลและเปรียบเทียบเฉลี่ย โดยใช้โปรแกรม JMP[®] (SAS Institute Inc. Cary, NC)



ภาพที่ 8 การทดลองใน crop ที่ 2 (พฤศจิกายน - ธันวาคม 2547)
ในภาพพืชทดสอบมีอายุได้ประมาณ 3 สัปดาห์ (ก่อนเข้าสู่แผนการทดลอง)

4. การทดลองใช้ชีวผลิตภัณฑ์และแบคทีเรียบริเวณเขตรากพืชในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดที่เกิดจากเชื้อ *P. myriotylum* ในระบบ NFT (crop 3 : กุมภาพันธ์ - มีนาคม 2548)

4.1 ระบบปลูกที่ใช้ ได้แก่ระบบปลูกพืชแบบ NFT ที่ได้ทำการเตรียมและติดตั้งไว้แล้วตั้งแต่ crop ที่ 1 ก่อนการใช้งานทำความสะอาดและฆ่าเชื้อระบบเช่นเดียวกับหัวข้อ 3.1

4.2 ทำการเพาะกล้าผักสลัดซึ่งในการทดลองนี้ ได้แก่ สลัดกรีนโอ๊ค เรดโอ๊ค และ บัตเตอร์เฮด การเพาะและการอนุบาลต้นกล้า เช่นเดียวกับการทดลองในหัวข้อ 2.2

4.3 กรรมวิธีที่ใช้ในการทดลองประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 (Tr1) ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์ *T. harzianum* (ยูนิเซฟชนิดเชื้อสด) ลงในสารละลายธาตุอาหารในอัตราประมาณ 10^8 สปอร์ต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 2 (Tr2) ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* (ลามินาร์) ลงในสารละลายธาตุอาหารในอัตราประมาณ 10^9 เซลล์ต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 3 (Tr3) ทำการทรีตด้วยแบคทีเรียบริเวณเขตรากพืช (rhizobacteria) ไอโซเลท R9⁴ ลงในสารละลายธาตุอาหารในอัตราประมาณ 10⁹ เซลล์ต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 4 (Tr4) ทำการทรีตด้วยแบคทีเรียบริเวณเขตรากพืช (rhizobacteria) ไอโซเลท R10⁴ ลงในสารละลายธาตุอาหารในอัตราประมาณ 10⁹ เซลล์ต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 5 (Tr5) เป็น inoculation control ไม่ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์หรือ rhizobacteria ไอโซเลทใดๆ

กรรมวิธีที่ 6 (Tr6) เป็น healthy control ไม่ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์หรือ rhizobacteria ไอโซเลทใดๆ และไม่ทำการปลูกเชื้อ

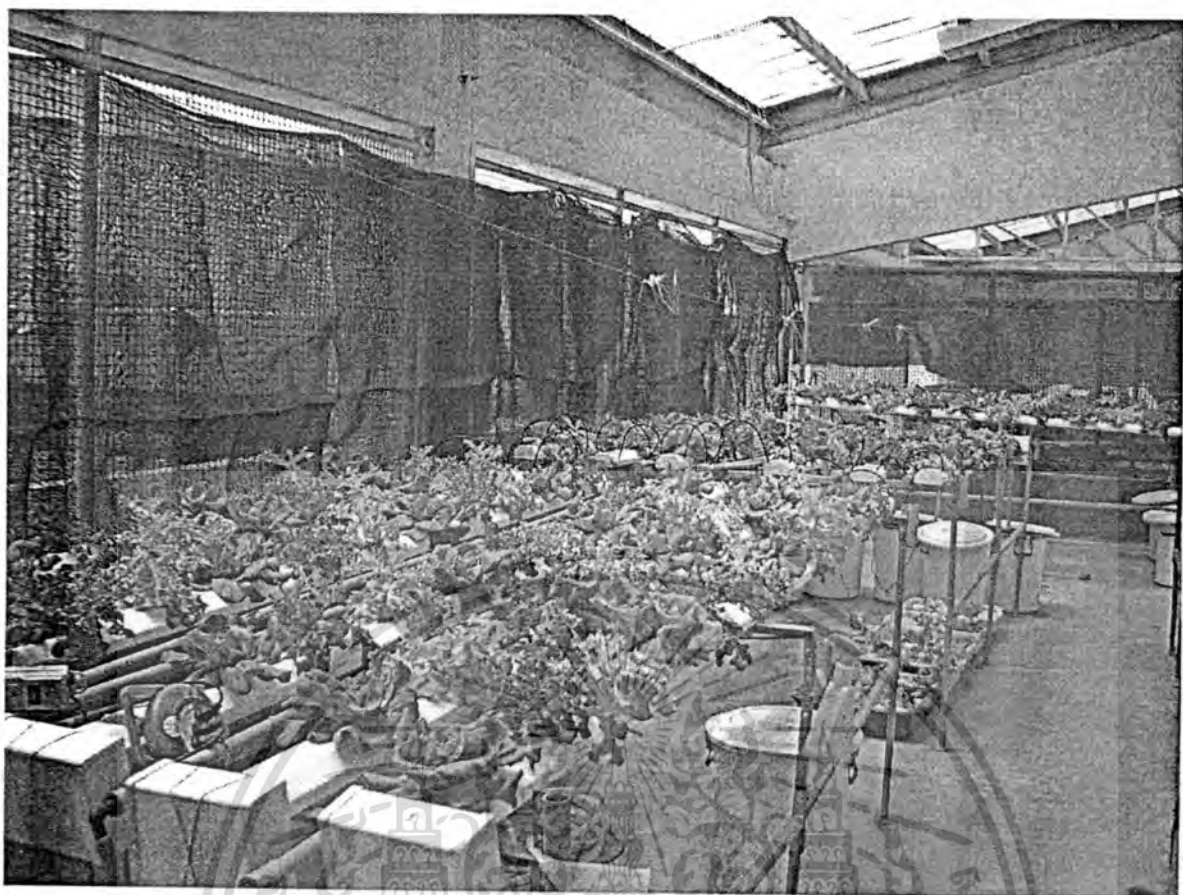
แต่ละกรรมวิธีจะประกอบไปด้วยรางปลูกพืช 3 ราง (3 ซ้ำ) ซึ่งมีต้นพืชอยู่ทั้งหมดประมาณ 30-36 ต้น (หน่วยทดลอง) การทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์และ rhizobacteria จะกระทำ 2 ครั้งแต่ละครั้ง ห่างกัน 3 วัน

4.4 การปลูกเชื้อจะกระทำเมื่อพืชทดสอบมีอายุได้ประมาณ 4-5 สัปดาห์ (หรือประมาณ 1 สัปดาห์ หลังจากการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์หรือ rhizobacteria) การเตรียมเชื้อก่อโรคกระทำเช่นเดียวกับหัวข้อ 2.4 ความเข้มข้นของเชื้อก่อโรคที่ใช้ในครั้งนี่คือ 10⁴ propagules/ml จำนวน 200 ml ใส่ลงไปโดยตรงในถังจ่ายสารละลายธาตุอาหาร

4.5 ทำการประเมินความรุนแรงของการเกิดโรค (disease severity) เช่นเดียวกับหัวข้อ 2.5

4.6 ทำการเก็บเกี่ยวและชั่งน้ำหนักสดของพืช เมื่อพืชมีอายุได้ 6 สัปดาห์ วิเคราะห์ข้อมูลและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยใช้โปรแกรม JMP[®] (SAS Institute Inc. Cary, NC)

⁴ แยกได้จากรากของผักสลัดเรดโอ๊ค ต้นปกติ จากตัวอย่างพืชที่ทำการเก็บตัวอย่างในช่วงโครงการระยะที่ 1 ซึ่งไอโซเลทดังกล่าว ผ่านการทดสอบเบื้องต้นในสภาพ *in vitro* แล้วพบว่า มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. myriotylum* ได้ตามรายละเอียดในเอกสารงานวิจัยที่ได้ตีพิมพ์เผยแพร่แล้วหมายเลข 3 (ภาคผนวก ข)

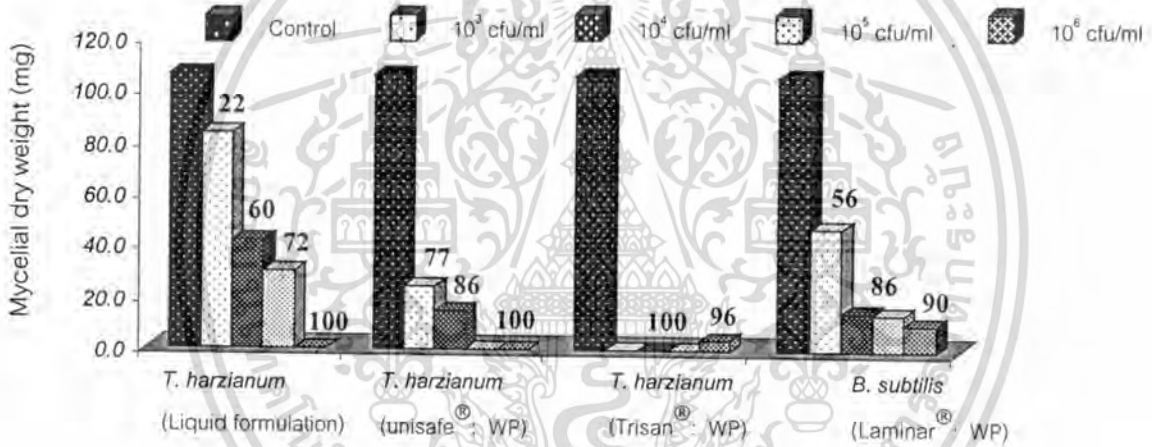


ภาพที่ 9 การทดลองใน crop ที่ 3 (กุมภาพันธ์ - มีนาคม 2548)
ในภาพพืชทดสอบมีอายุได้ประมาณ 4-5 สัปดาห์ (ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์หรือ rhizobacteria แล้ว แต่ยังไม่ได้ทำการปลูกเชื้อ)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. myriotylum* ในสภาพ *in vitro*

ผลการทดสอบพบว่าชีวผลิตภัณฑ์ทุกชนิดที่นำมาทดลองในครั้งนี้ได้แก่ ชีวผลิตภัณฑ์ของ *T. harzianum* 3 ผลิตภัณฑ์ (ยูนิเซฟชนิดน้ำ ยูนิเซฟชนิดผง และไตรซานชนิดผง) และชีวผลิตภัณฑ์ของ *B. subtilis* 1 ผลิตภัณฑ์ (ลามินาร์) สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *P. myriotylum* ได้ เมื่อใช้ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 10^3 - 10^6 cfu/ml โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งดังนี้ *T. harzianum* (ยูนิเซฟชนิดน้ำ) ยับยั้งได้ 22-100 %, *T. harzianum* (ยูนิเซฟชนิดผง) ยับยั้งได้ 77-100 %, *T. harzianum* (ไตรซาน) ยับยั้งได้ 96-100 %, *B. subtilis* (ลามินาร์) สามารถยับยั้งได้ 56-90 % (ภาพที่ 10)



ภาพที่ 10 น้ำหนักแห้งของเส้นใยของเชื้อ *P. myriotylum* ในอาหาร NS-broth ที่มีส่วนผสมของชีวผลิตภัณฑ์แต่ละชนิด ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ตัวเลขที่อยู่เหนือแท่งกราฟ แสดงค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (inhibitory percentage) เมื่อเปรียบเทียบกับ control

ผลการศึกษาในส่วนนี้แสดงให้เห็นว่าชีวผลิตภัณฑ์ที่มีขายในท้องตลาดบางชนิด มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยของเชื้อ *P. myriotylum* สาเหตุโรครากเน่าในผักสลัดได้โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งได้ตั้งแต่ 22-100 % ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นที่ใช้ สายพันธุ์ และการผสมสูตร (formulation) ที่แตกต่างกันของแต่ละชีวผลิตภัณฑ์ แต่โดยส่วนใหญ่แล้วพบว่าที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 10^5 - 10^6 cfu/ml เกือบทุกผลิตภัณฑ์จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุได้มากกว่า 80%

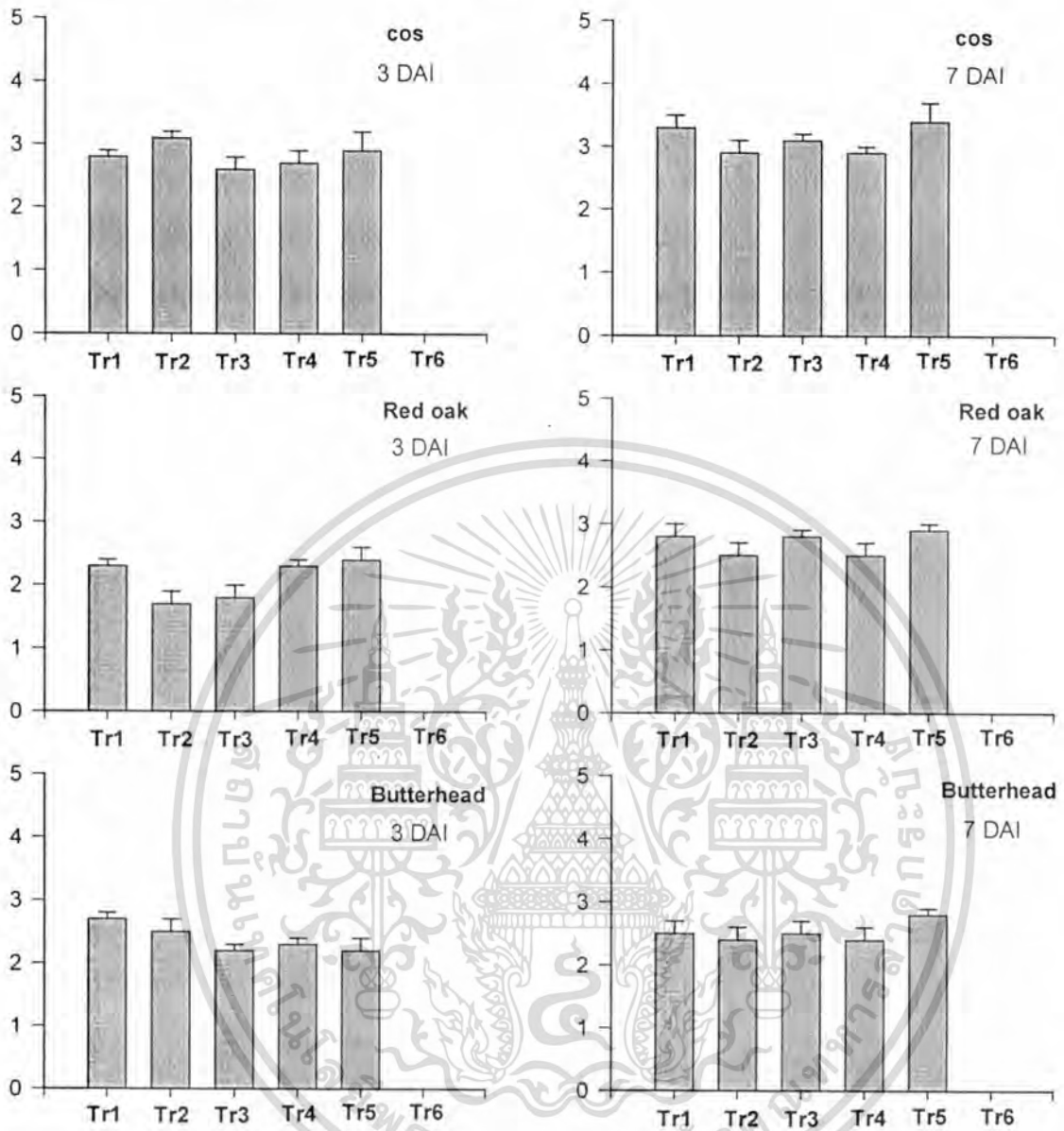
2. การทดลองใช้ชีวผลิตภัณฑ์ในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดที่เกิดจากเชื้อ *P. myriotylum* ในระบบ NFT (crop 1 : ตุลาคม – พฤศจิกายน 2547)

จากการทดลองใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *T. harzianum* (ไตรซาน) และ *B. subtilis* (ลามินาร์) ทريتให้แก่ต้นสลัดที่อายุประมาณ 3 สัปดาห์ จำนวน 2 ครั้ง เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ก่อนการปลูกเชื้อ โดยการทريتในรูปแบบต่างๆ กันคือ ใส่ลงในสารละลายธาตุอาหาร และให้แก่ต้นพืชโดยตรง จากนั้นทำการประเมินความเสียหายเนื่องจากโรคในแง่ของความรุนแรงของการเกิดโรค (disease severity) และการเจริญเติบโตได้ผลดังนี้



2.1 ความรุนแรงของการเกิดโรค

ความรุนแรงของการเกิดโรค (Disease severity)



ภาพที่ 11 ความรุนแรงของการเกิดโรครากเน่าในผักสลัดคอส เรดโอ๊ค และบัตเตอร์เฮด ที่ทำการพรีต ด้วยชีวผลิตภัณฑ์ *T. harzianum* และ *B. subtilis* รูปแบบต่างๆ (crop 1: ต.ค. - พ.ย. 47)

ความรุนแรงของการเกิดโรคในแต่ละกรรมวิธีของพืชทดสอบแต่ละชนิด

= $\frac{\text{ผลรวมของ (พืชแต่ละต้น} \times \text{ค่าระดับของการเกิดโรค)}}{\text{จำนวนต้นพืชทั้งหมด}}$; (n ≥ 10)

จำนวนต้นพืชทั้งหมด

ค่าระดับของการเกิดโรคคือ : 0 = พืชปกติรากมีสีขาว; 1 = รากมีสีน้ำตาลแดง ; 2 = รากพืชมีสีน้ำตาลแดง-เน่า ; 3 = รากเน่า พืชเหี่ยวชั่วคราว ; 4 = รากเน่า พืชเหี่ยวอย่างถาวร ; 5 = ต้นพืชตาย โดยทำการประเมินที่ 3 และ 7 วันหลังการปลูกเชื้อ (day after inoculation : DAI)

Tr1 = *B. subtilis* 10⁸ cfu/ml จำนวน 120 ml เทราดผ่านรางปลูกพืชลงไปในสารละลายธาตุอาหาร ;

Tr2 = *T. harzianum* 10⁸ cfu/ml จำนวน 120 ml เทราดผ่านรางปลูกพืชลงไปในสารละลายธาตุ

อาหาร ; Tr3 = *B. subtilis* 10⁸ cfu/ml ให้แก่ต้นพืชจำนวน 10 ml/ต้น ; Tr4 = *T. harzianum* 10⁸

cfu/ml ให้แก่ต้นพืช จำนวน 10 ml/ต้น ; Tr5 = inoculation control ; Tr6 = healthy control

ความรุนแรงของการเกิดโรคที่แสดงไว้ในภาพที่ 11 ได้ทำการประเมินที่ 3 และ 7 วันหลังการปลูกเชื้อ (3 DAI และ 7 DAI) ด้วย *P. myriotylum* RD8 พบว่า ในกรรมวิธีที่ทำการปลูกเชื้อ (Tr1 - Tr5) ค่าความรุนแรงของการเกิดโรคโดยเฉลี่ยที่พบในผักสลัดคอส เรดฮัค และบัตเตอร์เฮด จะอยู่ในช่วงระดับ 2-3 เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ทำการปลูกเชื้อหรือ healthy control (Tr6) ซึ่งไม่พบอาการของโรคเลย (ค่าความรุนแรงของเป็นศูนย์) แสดงให้เห็นว่า *P. myriotylum* RD8 ที่ได้นำมาทดลองในครั้งนี้ เป็นเชื้อสาเหตุที่ทำให้เกิดโรครากเน่าในผักสลัดได้อย่างรุนแรง อย่างไรก็ตามในการเปรียบเทียบค่าความรุนแรงของการเกิดโรคในผักสลัดทั้ง 3 ชนิด ในกรรมวิธีที่ทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์ ทั้งจาก *B. subtilis* และ *T. harzianum* โดยการใส่ลงในสารละลายธาตุอาหารหรือให้โดยตรงแก่ต้นพืช (Tr1 - Tr4) เปรียบเทียบกับ inoculation control (Tr5) กลับก็พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างเด่นชัด

2.2 การเจริญเติบโต

ตารางที่ 9 น้ำหนักสดของผักสลัดคอส ในแต่ละกรรมวิธีที่ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์บางชนิด (crop 1 : ต.ค. - พ.ย. 47)

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด (กรัม/ต้น) ^{1/}		
	ใบและลำต้น ^{2/}	รากและโคน ^{3/}	ทั้งต้น ^{4/}
Tr1 <i>B. subtilis</i> ทางสารละลายธาตุอาหาร	43.8 b	11.8 ab	55.6 b ^{5/}
Tr2 <i>T. harzianum</i> ทางสารละลายธาตุอาหาร	42.6 b	7.2 b	47.7 b
Tr3 <i>B. subtilis</i> ทางรากพืช	34.2 b	6.5 b	40.7 b
Tr4 <i>T. harzianum</i> ทางรากพืช	44.2 b	7.8 b	51.9 b
Tr5 inoculation control	44.0 b	8.7 ab	52.7 b
Tr6 healthy control	115.0 a	17.6 a	132.6 a

^{1/} ค่าเฉลี่ยจากพืชทดสอบจำนวนไม่น้อยกว่า 10 ต้น จาก 3 replications

^{2/} ส่วนใบและลำต้นที่อยู่เหนือถ้วยปลูก

^{3/} ส่วนของรากที่แผ่ออกมานอกถ้วยปลูกและส่วนของรากกับโคนที่อยู่ใถ้วยปลูกที่ล้างวัสดุปลูกออกแล้ว

^{4/} น้ำหนักสดของทุกส่วนไม่รวมวัสดุปลูก

^{5/} ตัวอักษรที่ต่างกันในกลุ่มเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P < 0.05$)

ตารางที่ 10 น้ำหนักสดของผักสลัดเรดโอ๊ค ในแต่ละกรรมวิธีที่ทำการหรีดด้วยชีวผลิตภัณฑ์บางชนิด (crop 1 : ต.ค. – พ.ย. 47)

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด (กรัม/ต้น) ^{1/}		
	ใบและลำต้น ^{2/}	รากและโคน ^{3/}	ทั้งต้น ^{4/}
Tr1 <i>B. subtilis</i> ในสารละลายธาตุอาหาร	30.4 b	4.4 d	34.8 b ^{5/}
Tr2 <i>T. harzianum</i> ในสารละลายธาตุอาหาร	36.3 b	5.2 cd	41.6 b
Tr3 <i>B. subtilis</i> ทางรากพืช	36.5 b	5.8 c	42.3 b
Tr4 <i>T. harzianum</i> ทางรากพืช	32.6 b	5.7 cd	38.3 b
Tr5 inoculation control	34.1 b	7.2 b	41.4 b
Tr6 healthy control	75.5 a	9.0 a	84.5 a

^{1/} ค่าเฉลี่ยจากพืชทดสอบจำนวนไม่น้อยกว่า 10 ต้น จาก 3 replications

^{2/} ส่วนใบและลำต้นที่อยู่เหนือถ้วยปลูก

^{3/} ส่วนของรากที่แผ่ออกมานอกถ้วยปลูกและส่วนของรากกับโคนที่อยู่ในถ้วยปลูกที่ล้างวัสดุปลูกออกแล้ว

^{4/} น้ำหนักสดของทุกส่วนไม่รวมวัสดุปลูก

^{5/} ตัวอักษรที่ต่างกันในกลุ่มเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P<0.05)

ตารางที่ 11 น้ำหนักสดของผักสลัดบัตเตอร์เฮด ในแต่ละกรรมวิธีที่ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์บางชนิด (crop 1 : ต.ค. – พ.ย. 47)

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด (กรัม/ต้น) ^{1/}		
	ใบและลำต้น ^{2/}	รากและโคน ^{3/}	ทั้งต้น ^{4/}
Tr1 <i>B. subtilis</i> ในสารละลายธาตุอาหาร	60.0 b	8.1 b	68.1 bc ^{5/}
Tr2 <i>T. harzianum</i> ในสารละลายธาตุอาหาร	64.9 b	9.3 ab	74.2 b
Tr3 <i>B. subtilis</i> ทางรากพืช	49.4 b	7.5 b	56.8 c
Tr4 <i>T. harzianum</i> ทางรากพืช	57.5 b	7.7 b	65.2 bc
Tr5 inoculation control	60.7 b	10.5 a	71.3 bc
Tr6 healthy control	91.3 a	11.0 a	102.2 a

^{1/} ค่าเฉลี่ยจากพืชทดสอบจำนวนไม่น้อยกว่า 10 ต้น จาก 3 replications

^{2/} ส่วนใบและลำต้นที่อยู่เหนือถ้วยปลูก

^{3/} ส่วนของรากที่แผ่ออกมานอกถ้วยปลูกและส่วนของรากกับโคนที่อยู่ในถ้วยปลูกที่ล้างวัสดุปลูกออกแล้ว

^{4/} น้ำหนักสดของทุกส่วนไม่รวมวัสดุปลูก

^{5/} ตัวอักษรที่ต่างกันในกลุ่มเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P<0.05)

ในแง่ของการเจริญเติบโต ซึ่งทำการประเมินจากน้ำหนักสดเฉลี่ยต่อต้นของผักสลัดในแต่ละกรรมวิธีที่ทำการศึกษา (ตารางที่ 9 – 11) พบว่าผลการทดลองสอดคล้องกับค่าความรุนแรงของการเกิดโรค ที่ได้รายงานผลไว้ก่อนหน้านี้แล้ว คือ น้ำหนักสดเฉลี่ยต่อต้นของผักสลัดทุกชนิดในทุกกรรมวิธีที่ทำการปลูกเชื้อด้วย *P. myriotylum* RD8 สาเหตุโรครากเน่า (Tr1 – Tr5) จะมีค่าน้อยกว่ากรรมวิธีที่ไม่ทำการปลูกเชื้อ (Tr6) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และในแต่ละกรรมวิธีที่ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์ (Tr1 – Tr4) ก็ไม่ทำให้ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดใบและต้น ของต้นสลัดมีความแตกต่างกันทางสถิติกับ inoculation control (Tr5) แต่อย่างไร ในแง่ของค่าน้ำหนักสดเฉลี่ยทั้งต้นในผักสลัดคอส (ตารางที่ 9) พบว่า ในกรรมวิธีที่ทำการทรีตด้วย *B. subtilis* ลงในสารละลายธาตุอาหาร (Tr1) จะมีค่าน้ำหนักสดเฉลี่ยดีกว่า inoculation control เล็กน้อย (55.6 กับ 52.7 กรัม/ต้น, ตามลำดับ) ในกรณีของผักสลัดบัตเตอร์เฮด (ตารางที่ 11) ก็พบว่าการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์ลงในสารละลายธาตุอาหาร อาจให้ผลดีกว่าการทรีตโดยตรงแก่รากพืช โดยพบว่าในกรรมวิธีที่ทำการทรีตด้วย *T. harzianum* ในสารละลายธาตุอาหาร (Tr2) ให้น้ำหนักสดเฉลี่ยทั้งต้นดีกว่า inoculation control เล็กน้อย (74.2 กับ 71.3 กรัม/ต้น, ตามลำดับ) เช่นกัน

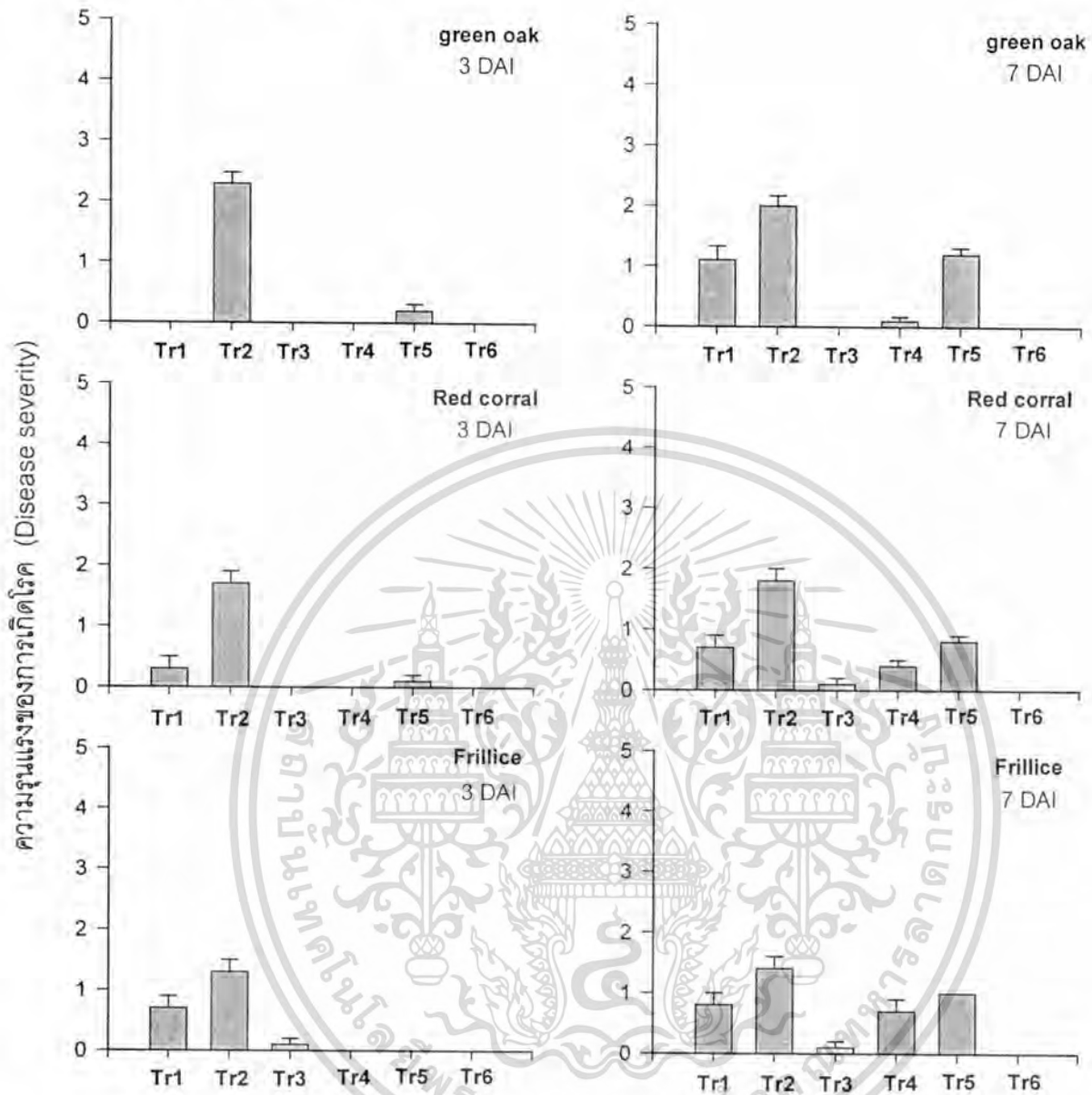
ผลการศึกษาใน crop ที่ 1 แสดงให้เห็นว่าการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* หรือ *T. harzianum* ให้แก่ต้นพืชโดยตรงทางรากในอัตราความเข้มข้น 10^8 cfu/ml จำนวน 10 ml/ต้น หรือทางสารละลาย

ธาตุอาหารในอัตราความเข้มข้น 10^8 cfu/ml จำนวน 120 ml/รางปลูกพืช (โดยมีสารละลายธาตุอาหารหมუნเวียนอยู่ในระบบจำนวนประมาณ 20 ลิตร) นั้นไม่สามารถลดความรุนแรงของการเกิดโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *P. myriotylum* เมื่อทำการปลูกเชื้อสาเหตุดังกล่าวลงในระบบในอัตรา 10^5 propagules/ml จำนวน 200 ml/1 รางปลูกพืช โดยพบว่า การปลูกเชื้อในอัตราดังกล่าวจะทำให้เกิดโรค 100% ภายใน 3 วัน ในทุกกรรมวิธีที่ทำการปลูกเชื้อ โดยมีค่าความรุนแรงอยู่ในระดับประมาณ 3 (พืชส่วนใหญ่มีอาการรากเน่าดำและแสดงอาการเหี่ยว) ผลของการเกิดโรคอย่างรุนแรงและเฉียบพลันในระยะเริ่มต้น จากการปลูกเชื้อสาเหตุที่อาจจะมากเกินไป ทำให้ไม่สามารถเปรียบเทียบประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์ในแต่ละกรรมวิธีได้ และเป็นผลต่อเนื่อง ทำให้การเจริญเติบโตของพืชลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเหมือนกันหมดในทุกกรรมวิธีที่ทำการปลูกเชื้อ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ (healthy control) แต่ก็มีข้อสังเกตว่าการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ใส่ลงในสารละลายธาตุอาหาร อาจมีแนวโน้มที่จะช่วยลดความรุนแรงของการเกิดโรคได้ อาจเป็นไปได้ว่ากลไกหนึ่งที่สำคัญในการพัฒนาชีวผลิตภัณฑ์ก็คือ การเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุ (antagonistic mechanism) ดังนั้นจุลินทรีย์ออกฤทธิ์ที่มีอยู่ในชีวผลิตภัณฑ์ดังกล่าว อาจไปช่วยลดปริมาณเชื้อก่อโรคที่หมუნเวียนอยู่ในระบบให้น้อยลงได้ ในทางกลับกันการที่ชีวผลิตภัณฑ์ให้แก่พืชโดยตรงทางราก แม้จะเป็นวิธีการหนึ่งที่ดีในการควบคุมโดยชีววิธีเพราะจะทำให้เกิดการเกาะตัวที่ราก (colonization) ของจุลินทรีย์ได้โดยตรง แต่เนื่องจากจุลินทรีย์ออกฤทธิ์ที่ได้นำมาทดลองในครั้งนี้ เป็นจุลินทรีย์ที่นำเข้ามา (introduced strain) ดังนั้น การเกาะตัวที่รากอาจทำได้ไม่ดีเท่ากับจุลินทรีย์ท้องถิ่น (indigenous strain) ที่มีอยู่แล้ว (Postma *et al.*, 2000) ซึ่งข้อสังเกตดังกล่าวเป็นข้อสันนิษฐานเบื้องต้นที่อาจเป็นไปได้จากผลการทดลองใน crop นี้

3. การทดลองใช้ชีวผลิตภัณฑ์ในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดที่เกิดจากเชื้อ *P. myriotylum* ในระบบ NFT (crop 2 : พืชจิกายอน – ธันวาคม 2547)

จากการทดลองใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *T. harzianum* 3 รูปแบบ (ยูนิเซฟชนิดน้ำ, ยูนิเซฟชนิดผง และไตรซานชนิดผง) และ *B. subtilis* (ลามินาร์) ใส่ลงในสารละลายธาตุอาหาร ให้มีความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ดังกล่าว ในสารละลายธาตุอาหารประมาณ 10^8 cfu/l เป็นระยะเวลาประมาณ 1 สัปดาห์ก่อนการปลูกเชื้อ จากนั้นจึงประเมินความเสียหายเนื่องจากโรคในแง่ของความรุนแรงของการเกิดโรค (disease severity) และการเจริญเติบโต เช่นเดียวกับการทดลองใน crop ที่ 1 ได้ผลดังนี้

3.1 ความรุนแรงของการเกิดโรค



ภาพที่ 12 ความรุนแรงของการเกิดโรครากเน่าในผักสลัดกรีนโอ๊ค เรดคอรอล และฟริลลิจ ที่ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์ *T. harzianum* และ *B. subtilis* รูปแบบต่างๆ (crop 2 : พ.ย.- ธ.ค. 47)

ความรุนแรงของการเกิดโรคในแต่ละกรรมวิธีของพืชทดสอบแต่ละชนิด

= $\frac{\text{ผลรวมของ (พืชแต่ละต้น} \times \text{ค่าระดับของการเกิดโรค)}}{\text{จำนวนต้นพืชทั้งหมด}}$; (n ≥ 10)

จำนวนต้นพืชทั้งหมด

ค่าระดับของการเกิดโรคคือ : 0 = พืชปกติรากมีสีขาว ; 1 = รากมีสีน้ำตาลแดง ; 2 = รากพืชมีสีน้ำตาลแดง-เน่า ; 3 = รากเน่า พืชเหี่ยวชั่วคราว ; 4 = รากเน่า พืชเหี่ยวอย่างถาวร ; 5 = ต้นพืชตาย โดยทำการประเมินที่ 3 และ 7 วันหลังการปลูกเชื้อ (day after inoculation : DAI)

Tr1 = *T. harzianum* (ยูนีเซฟชนิดน้ำ) ในสารละลายธาตุอาหารอัตรา 10^8 cfu/l ; Tr2 = *T. harzianum* (ยูนีเซฟชนิดผง) ในสารละลายธาตุอาหารอัตรา 10^8 cfu/l ; Tr3 = *T. harzianum* (ไตรซานชนิดผง) ในสารละลายธาตุอาหารอัตรา 10^8 cfu/l ; Tr4 = *B. subtilis* (ลาร์มินาร์) ในสารละลายธาตุอาหารอัตรา 10^8 cfu/l ; Tr5 = inoculation control ; Tr6 = healthy control

ในการประเมินความรุนแรงของการเกิดโรคที่เวลา 7 วันหลังการปลูกเชื้อ (7 DAI) พบว่าการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์ด้วย *T. harzianum* ไตรซานชนิดผง (Tr3) และ *B. subtilis* ลามินาร์ (Tr4) ลงในสารละลายธาตุอาหาร ในอัตราความเข้มข้นประมาณ 10^8 cfu/l ของสารละลายธาตุอาหาร มีแนวโน้มที่จะช่วยลดความเสียหายเนื่องจากโรครากเน่าที่เกิดจาก *P. myriotylum* ได้ โดยที่ระดับความรุนแรงของการเกิดโรคในผักสลัดทั้ง 3 ชนิด (กรีนโอ๊ค เรดคออลบอล และพรีลิช) ที่ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์ดังกล่าวก่อนการปลูกเชื้อ จะต่ำกว่า inoculation control (Tr5) (ภาพที่ 12)

การทดลองใน crop ที่ 2 นี้ ได้ทำการทรีตชีวผลิตภัณฑ์ประเภทต่างๆ 4 ชนิด ลงไปในสารละลายธาตุอาหาร โดยการทรีตในครั้งแรกได้ใช้อัตราส่วนความเข้มข้นที่ค่อนข้างสูง (ประมาณ 10^8 cfu/ml ของสารละลายธาตุอาหาร) ผลปรากฏว่าทำให้รากพืชเกิดความเสียหาย จึงได้ทำการเปลี่ยนถ่ายสารละลายใหม่ทั้งหมด และลดความเข้มข้นลงเหลือประมาณ 10^6 cfu/l ของสารละลายธาตุอาหารที่ใช้ ในการปลูกเชื้อก็ทำการลดความเข้มข้นของเชื้อสาเหตุลง โดยใช้เชื้อสาเหตุที่ความเข้มข้น 10^4 propagules/ml จำนวน 200 ml ซึ่งก็พบว่าค่าความรุนแรงของการเกิดโรคของการทดลองใน crop นี้ อยู่ในระดับที่ต่ำ พอที่จะเห็นความแตกต่างของแต่ละกรรมวิธีที่ศึกษาได้ (ภาพที่ 12) จากภาพที่ 12 พบว่าที่เวลา 3 วันหลังการปลูกเชื้อ (3 DAI) การพัฒนาของโรคยังไม่มากนัก (ค่าเฉลี่ยความรุนแรงของ inoculation control ในผักสลัดทั้ง 3 ชนิดอยู่ในระดับที่ต่ำกว่า 1) ยกเว้นในกรรมวิธีที่ทำการทรีตด้วยผลิตภัณฑ์ *T. harzianum* ยูนิเซฟชนิดผง (Tr2) พบว่ามีค่าความรุนแรงของการเกิดโรคอยู่ในระดับที่ค่อนข้างสูง ซึ่งน่าจะเป็นผลกระทบต่อเนื่องมาจากการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์ดังกล่าวในอัตราความเข้มข้นที่สูงเกินไปในครั้งแรก โดยที่ความอ่อนไหว (sensitive) ต่อผลกระทบของการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *T. harzianum* ในความเข้มข้นที่สูงเกินไปในผักสลัดแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน ซึ่งในผลการทดลองนี้ แสดงให้เห็นว่าในสลัดกรีนโอ๊คจะอ่อนไหวต่อผลิตภัณฑ์ *T. harzianum* ยูนิเซฟชนิดผง (Tr2), ผักสลัดเรดโอ๊คอ่อนไหวต่อผลิตภัณฑ์ *T. harzianum* ยูนิเซฟทั้งชนิดน้ำและชนิดผง (Tr1 และ Tr2) ส่วนผักสลัดพรีลิช จะอ่อนไหวต่อผลิตภัณฑ์ *T. harzianum* ทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ยูนิเซฟชนิดน้ำและชนิดผง และไตรซานชนิดผง (Tr1, Tr2 และ Tr3) โดยพบว่าในกรรมวิธีดังกล่าวจะมีค่าความรุนแรงของการเกิดโรคเฉลี่ยในระดับ 1-2 ข้อสังเกตดังกล่าวเป็นผลการทดลองที่ได้รับโดยบังเอิญ (accidental data) ที่ได้จากการทดลองในครั้งนี้

3.2 การเจริญเติบโต

ตารางที่ 12 น้ำหนักสดของผักสลัดกรีนโอ๊ค ในแต่ละกรรมวิธีที่ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์บางชนิด ลงในสารละลายธาตุอาหาร (crop 2 : พ.ย. — ธ.ค. 47)

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด (กรัม/ต้น) ^{1/}		
	ใบและลำต้น ^{2/}	รากและโคน ^{3/}	ทั้งต้น ^{4/}
Tr1 <i>T. harzianum</i> (ยูนิเซฟชนิดน้ำ)	119.9 ab	15.2 ab	135.1 ab ^{5/}
Tr2 <i>T. harzianum</i> (ยูนิเซฟชนิดผง)	60.2 c	7.0 c	67.2 c
Tr3 <i>T. harzianum</i> (ไตรซานชนิดผง)	140.4 a	18.1 a	158.5 a
Tr4 <i>B. subtilis</i> (ลามินาร์)	95.7 bc	12.1 bc	107.8 bc
Tr5 inoculation control	115.4 ab	16.8 ab	132.2 ab
Tr6 healthy control	127.3 ab	15.8 ab	143.1 ab

^{1/} ค่าเฉลี่ยจากพืชทดสอบจำนวนไม่น้อยกว่า 10 ต้น จาก 3 replications

^{2/} ส่วนใบและลำต้นที่อยู่เหนือถ้วยปลูก

^{3/} ส่วนของรากที่แผ่ออกมานอกถ้วยปลูกและส่วนของรากกับโคนที่อยู่ใต้น้ำในถ้วยปลูกที่ล้างวัสดุปลูกออกแล้ว

^{4/} น้ำหนักสดของทุกส่วนไม่รวมวัสดุปลูก

^{5/} ตัวอักษรที่ต่างกันในกลุ่มเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P<0.05)

ตารางที่ 13 น้ำหนักสดของผักสลัดเรดคอโรล ในแต่ละกรรมวิธีที่ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์บางชนิดลงในสารละลายธาตุอาหาร (crop 2 : พ.ย. — ธ.ค. 47)

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด (กรัม/ต้น) ^{1/}		
	ใบและลำต้น ^{2/}	รากและโคน ^{3/}	ทั้งต้น ^{4/}
Tr1 <i>T. harzianum</i> (ยูนิเซฟชนิดน้ำ)	89.3 a	8.3 ab	97.6 a ^{5/}
Tr2 <i>T. harzianum</i> (ยูนิเซฟชนิดผง)	59.9 b	5.6 c	65.5 b
Tr3 <i>T. harzianum</i> (ไตรซานชนิดผง)	106.3 a	10.5 a	116.8 a
Tr4 <i>B. subtilis</i> (ลามินาร์)	92.0 a	7.0 bc	99.0 a
Tr5 inoculation control	98.9 a	7.7 bc	106.6 a
Tr6 healthy control	100.2 a	7.4 bc	107.7 a

^{1/} ค่าเฉลี่ยจากพืชทดสอบจำนวนไม่น้อยกว่า 10 ต้น จาก 3 replications

^{2/} ส่วนใบและลำต้นที่อยู่เหนือถ้วยปลูก

^{3/} ส่วนของรากที่แผ่ออกมานอกถ้วยปลูกและส่วนของรากกับโคนที่อยู่ใต้น้ำในถ้วยปลูกที่ล้างวัสดุปลูกออกแล้ว

^{4/} น้ำหนักสดของทุกส่วนไม่รวมวัสดุปลูก

^{5/} ตัวอักษรที่ต่างกันในกลุ่มเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P<0.05)

ตารางที่ 14 น้ำหนักสดของผักสลัดพรีลิช ในแต่ละกรรมวิธีที่ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์บางชนิดลงในสารละลายธาตุอาหาร (crop 2 : พ.ย. – ธ.ค. 47)

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด (กรัม/ต้น) ^{1/}		
	ใบและลำต้น ^{2/}	รากและโคน ^{3/}	ทั้งต้น ^{4/}
Tr1 <i>T. harzianum</i> (ยูนิเซฟชนิดน้ำ)	46.7 bc	3.3 bc	49.9 bc ^{5/}
Tr2 <i>T. harzianum</i> (ยูนิเซฟชนิดผง)	37.3 c	2.4 c	39.7 c
Tr3 <i>T. harzianum</i> (ไตรซานชนิดผง)	73.3 a	6.8 a	80.1 a
Tr4 <i>B. subtilis</i> (ลามินาร์)	59.7 abc	5.3 ab	65.0 abc
Tr5 inoculation control	61.9 abc	5.0 ab	66.8 abc
Tr6 healthy control	65.0 ab	4.6 b	69.6 ab

^{1/} ค่าเฉลี่ยจากพืชทดสอบจำนวนไม่น้อยกว่า 10 ต้น จาก 3 replications

^{2/} ส่วนใบและลำต้นที่อยู่เหนือถ้วยปลูก

^{3/} ส่วนของรากที่แผ่ออกมานอกถ้วยปลูกและส่วนของรากกับโคนที่อยู่ในถ้วยปลูกที่ล้างวัสดุปลูกออกแล้ว

^{4/} น้ำหนักสดของทุกส่วนไม่รวมวัสดุปลูก

^{5/} ตัวอักษรที่ต่างกันในกลุ่มเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P<0.05)

การประเมินการเจริญเติบโตของผักสลัดทั้ง 3 ชนิด ที่ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์ประเภทต่างๆ จากน้ำหนักสดเฉลี่ยต่อต้นพบว่า ผลการทดลองในผักสลัดทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ สลัดกรีนโอ๊ค (ตารางที่ 12) สลัดเรดคอลลาร์ด (ตารางที่ 13) และสลัดพรีลิช (ตารางที่ 14) เป็นไปในทำนองเดียวกันคือ ในกรรมวิธีที่ทำการทรีตด้วย ผลิตภัณฑ์ *T. harzianum* ไตรซานชนิดผง (Tr3) จะมีการเจริญเติบโตที่ค่อนข้างดี เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่นๆ รวมถึงกรรมวิธีที่ไม่ทำการปลูกเชื้อสาเหตุ (healthy control) ด้วย แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ดังกล่าว ในการควบคุมโรครากเน่าในระบบ NFT หากมีสภาพการเกิดโรคที่ไม่รุนแรงนัก นอกจากนี้การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ดังกล่าวในอัตราที่เหมาะสม ยังอาจช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชที่ปลูกในระบบ NFT ได้ด้วย อย่างไรก็ตามผลกระทบจากการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *T. harzianum* บางผลิตภัณฑ์ในความเข้มข้นที่สูงเกินไป ซึ่งในการทดลองนี้ได้แก่ชีวผลิตภัณฑ์ *T. harzianum* ยูนิเซฟชนิดผง (Tr2) มีผลต่อเนื่องมาถึงการเจริญเติบโต แม้จะได้ทำการเปลี่ยนถ่ายสารละลาย และปรับลดความเข้มข้นของชีวผลิตภัณฑ์ดังกล่าวให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมแล้วก็ตาม โดยยังคงพบว่า น้ำหนักสดเฉลี่ยในทุกส่วนของพืชทดสอบทั้ง 3 ชนิด ในกรรมวิธีดังกล่าวจะมีค่าน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่นๆ

ผลการทดลองใน crop ที่ 2 แสดงให้เห็นว่าการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ใส่ลงไปในสารละลายธาตุอาหารในอัตราความเข้มข้นประมาณ 10^8 cfu/l ของสารละลายธาตุอาหารมีแนวโน้มที่จะช่วยลด

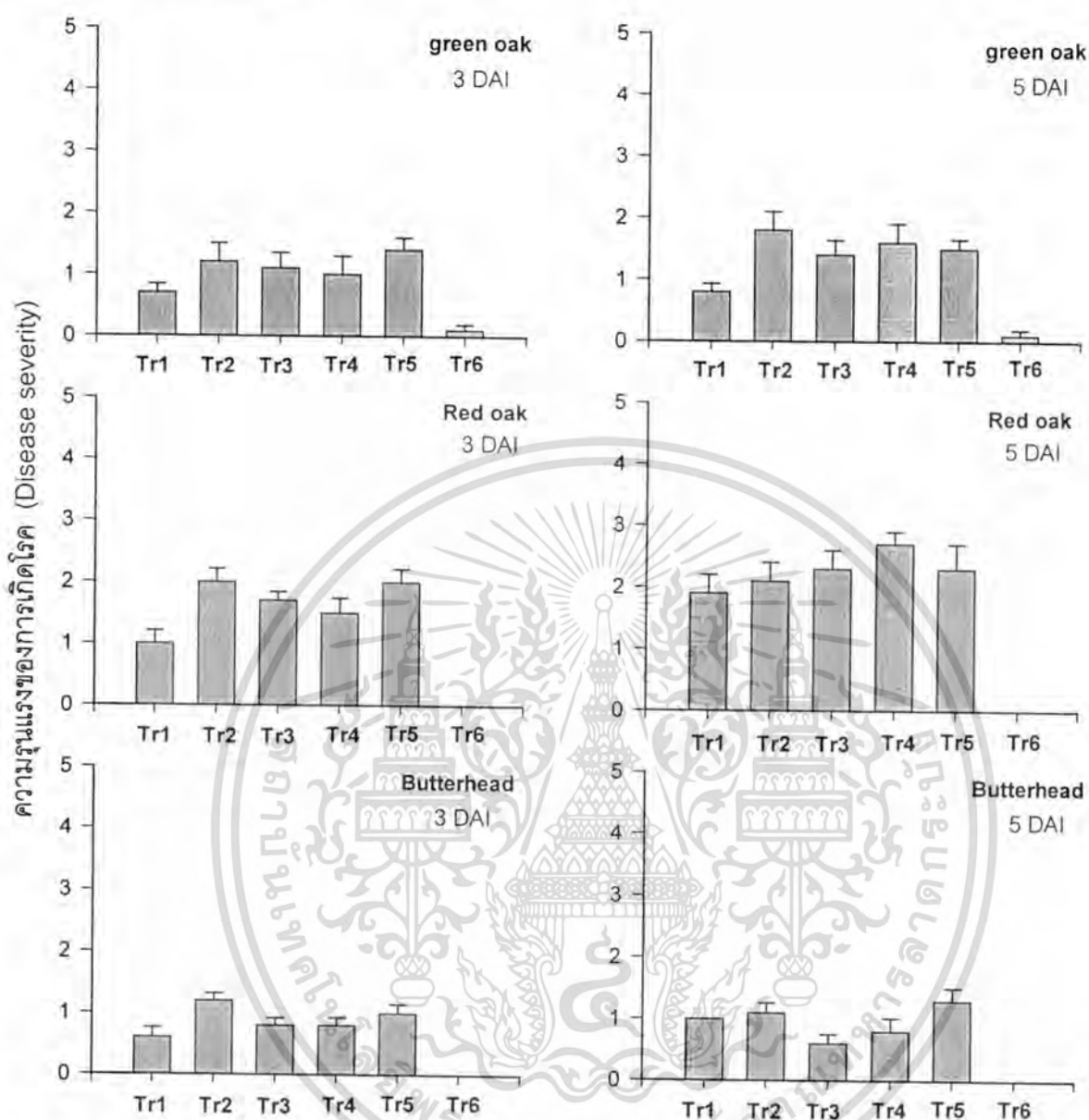
ความเสียหายจากโรคได้ นอกจากนี้ชีวผลิตภัณฑ์ที่ได้จาก *T. harzianum* ซึ่งในการทดลองนี้ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ไตรซานชนิดผง อาจมีส่วนช่วยในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นพืชได้ ทั้งนี้ต้องอยู่ในสภาพที่มีอุณหภูมิจากโรคไม่รุนแรง ซึ่งในการทดลองนี้ได้ทำการปลูกเชื้อ *P. myriotylum* ในระดับความเข้มข้นที่ต่ำกว่าการทดลองใน crop ที่ 1 อีกทั้งการปลูกเชื้อยังเป็นการใส่ลงไปโดยตรงในถังจ่ายสารละลายธาตุอาหาร ไม่ใช่ผ่านรางปลูกพืช เช่นการทดลองใน crop ที่ผ่านมา แต่อย่างไรก็ดีชีวผลิตภัณฑ์ที่ได้จาก *T. harzianum* เช่นกัน แต่ต่างชนิดกัน ซึ่งในการทดลองนี้ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ของยูนิเซฟชนิดผง หากใส่ลงในสารละลายธาตุอาหารในความเข้มข้นที่สูงเกินไป อาจเป็นอันตรายต่อรากพืชได้ ทั้งนี้ อาจเป็นเพราะความแตกต่างกันของสายพันธุ์ *T. harzianum* ที่นำมาเป็นสารออกฤทธิ์ในแต่ละผลิตภัณฑ์ รวมไปถึงการผสมสูตร (formulation) ที่แตกต่างกันด้วย แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าความเข้มข้นที่สูงไปดังกล่าว (10^8 cfu/ml ของสารละลายธาตุอาหาร) หากเป็นกรณีของผลิตภัณฑ์ที่ได้จาก *B. subtilis* ผลกระทบทางลบจะมีน้อยกว่าของผลิตภัณฑ์ *T. harzianum* ในแง่ของผลกระทบจากผลิตภัณฑ์ *T. harzianum* ดังกล่าว พบว่าผักสลัดแต่ละชนิดจะมีความอ่อนไหว (sensitive) ที่แตกต่างกันในแง่ของจำนวนของผลิตภัณฑ์ที่อาจทำให้เกิดความเสียหายได้ตามลำดับดังนี้คือ ผักสลัดพริลลิช > ผักสลัดเรดคอรอล > ผักสลัดกรีนโอ๊ค ตามลำดับ อย่างไรก็ตามหากใช้ในความเข้มข้นที่เหมาะสมก็จะทำให้เกิดผลทางบวกต่อการป้องกันโรครากเน่าหรือการเจริญเติบโตได้ดังกล่าวมาแล้ว ซึ่งอัตราส่วนหรือความเข้มข้นที่เหมาะสมนั้นไม่ได้อยู่ในขอบเขตที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ อย่างไรก็ตามผลการทดลองใน crop ที่ 2 นี้ ยังไม่อาจสรุปผลได้อย่างชัดเจนเท่าที่ควร ถึงประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์ที่ได้ทำการทดลองต่อการควบคุมโรครากเน่า เนื่องจากค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดของ inoculation control กับ healthy control ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ถ้าพิจารณาในแง่ของความรุนแรงของการเกิดโรคร่วมด้วยก็พอจะมองเห็นแนวโน้มของความแตกต่างได้บ้าง [ซึ่งการที่ค่าน้ำหนักสดเฉลี่ยของ inoculation control กับ healthy control ไม่แตกต่างกันเป็นเพราะได้ทำการชั่งน้ำหนักพืชทดสอบที่อายุ 6 สัปดาห์ หรือประมาณ 2 สัปดาห์หลังการปลูกเชื้อ ซึ่งในช่วงเวลาดังกล่าวพืชมีการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว และมีการใช้สารละลายธาตุอาหารอย่างมาก จึงต้องมีการเติมสารละลายใหม่เข้าไป นอกจากนี้การจัดการสารละลายในระหว่างการปลูกซึ่งได้แก่ ค่า pH และ EC ต้องกระทำอยู่เป็นประจำ การปรับ (refresh) สารละลายให้อยู่ในสภาพที่เหมาะสมอยู่เสมอ ประกอบกับการทดลองใน crop นี้ ทำการทดลองในช่วงที่มีอากาศเย็น และการปลูกเชื้อในครั้งนี้ใช้ในอัตราความเข้มข้นที่น้อยลง จึงทำให้พืชทดสอบทั้งสองกรรมวิธีมีการเจริญเติบโตที่ใกล้เคียงกันในช่วงท้ายของการทดลอง] ผลสรุปที่ไม่ชัดเจนดังกล่าวประกอบกับการได้มีโอกาสพูดคุยกับผู้ผลิตบางราย ที่มีการใช้เชื้อรา *Trichoderma* ในระบบปลูกพืชแบบ NFT ได้ให้ข้อมูลว่าได้ใช้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวในรูปของเชื้อสด (fresh culture) จึงได้ทำการทดลองซ้ำอีกครั้งใน crop ที่ 3 ซึ่งในที่นี้จะเป็นการทดสอบประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์ *T. harzianum* ชนิดเชื้อสด ผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* และ rhizobacteria บางไอโซเลท ที่แยกได้จากระบบ NFT ในการควบคุมโรครากเน่าร่วมด้วย

4. การทดลองใช้ชีวผลิตภัณฑ์และแบคทีเรียบริเวณเขตรากพืชในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดที่เกิดจากเชื้อ *P. myriotylum* ในระบบ NFT (crop 3 : กุมภาพันธุ์ – มีนาคม 2548)

ในการทดลองนี้นอกจากจะทำการทดสอบประสิทธิภาพของชีวผลิตภัณฑ์แล้ว ยังได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียบริเวณเขตรากพืช (rhizobacteria) บางไอโซเลทร่วมด้วย ซึ่งแบคทีเรียดังกล่าวแยกได้จากรากของผักสลัด ดินที่สมบูรณ์แข็งแรงที่ปลูกในระบบ NFT โดยก่อนที่จะนำมาทดลองได้มีการทดสอบเบื้องต้นในสภาพ *in vitro* แล้วว่ามีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อ *P. myriotylum* ได้ (ตามเอกสารที่ได้พิมพ์เผยแพร่แล้ว หมายเลข 3 ภาคผนวก ข) จึงได้นำมาทดสอบต่อในระบบ NFT ถึงความเป็นไปได้ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรครากเน่าดังกล่าว แล้วประเมินผลจากความรุนแรงของโรค (disease severity) และการเจริญเติบโตของพืชในแต่ละกรรมวิธีที่ศึกษาดังนี้



4.1 ความรุนแรงของการเกิดโรค



ภาพที่ 13 ความรุนแรงของการเกิดโรครากเน่าในผักสลัดกรีนโอ๊ค เรดโอ๊ค และบัตเตอร์เฮด ที่ทำการพริตด้วยชีวผลิตภัณฑ์ และ rhizobacteria บางไอโซเลท (crop 3 : ก.พ.- มี.ค. 48)

ความรุนแรงของการเกิดโรคในแต่ละกรรมวิธีของพืชทดสอบแต่ละชนิด

= $\frac{\text{ผลรวมของ (พืชแต่ละต้น} \times \text{ค่าระดับของการเกิดโรค)}}{\text{จำนวนต้นพืชทั้งหมด}}$; ($n \geq 10$)

จำนวนต้นพืชทั้งหมด

ระดับของการเกิดโรคคือ : 0 = พืชปกติรากมีสีขาว ; 1 = รากมีสีน้ำตาลแดง ; 2 = รากพืชมีสีน้ำตาลแดง-เน่า ; 3 = รากเน่า พืชเหี่ยวชั่วคราว ; 4 = รากเน่า พืชเหี่ยวอย่างถาวร ; 5 = ต้นพืชตาย โดยทำการประเมินที่ 3 และ 5 วันหลังการปลูกเชื้อ (day after inoculation : DAI)

Tr1 = *T. harzianum* ชนิดเชื้อสด (ยูนีเซฟ) ในสารละลายธาตุอาหารอัตรา 10^8 สปอร์/ลิตร ; Tr2 = *B. subtilis* (ลามินาร์) ในสารละลายธาตุอาหารอัตรา 10^9 เซลล์/ลิตร ; Tr3 = rhizobacteria R9 ในสารละลายธาตุอาหารอัตรา 10^9 เซลล์/ลิตร ; Tr4 = rhizobacteria R10 ในสารละลายธาตุอาหารอัตรา 10^9 เซลล์/ลิตร ; Tr5 = inoculation control ; Tr6 = healthy control

จากการประเมินที่ระยะเวลา 3 และ 5 วัน หลังการปลูกเชื้อ (3 DAI และ 5 DAI) ดังที่ได้แสดงไว้ในภาพที่ 13 พบว่าการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *T. harzianum* ยูนิเซฟสภาพเชื้อสด (Tr1) และ rhizobacteria ไอโซเลท R9 และ R10 (Tr3 และ Tr4) มีแนวโน้มที่จะลดความเสียหายเนื่องจากโรครากเน่าได้ โดยที่ระยะเวลา 3 หลังการปลูกเชื้อ (3 DAI) จะมีค่าความรุนแรงของการเกิดโรคโดยเฉลี่ยต่ำกว่า inoculation control (Tr5) ในทุกข้อมูลที่ได้แสดงไว้ในภาพ ส่วนที่ 5 วันหลังการปลูกเชื้อ (5 DAI) จะสังเกตเห็นได้ชัดในกรณีของผักสลัดบัตเตอร์เฮด

4.2 การเจริญเติบโต

ตารางที่ 15 น้ำหนักสดของผักสลัดกรีนโอ๊ค ในแต่ละกรรมวิธีที่ทำการพรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์ *T. harzianum*, *B. subtilis* หรือ rhizobacteria ลงในสารละลายธาตุอาหาร (crop 3 : ก.พ. - มี.ค. 48)

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด (กรัม/ต้น) ^{1/}		
	ใบและลำต้น ^{2/}	รากและโคน ^{3/}	ทั้งต้น ^{4/}
Tr1 <i>T. harzianum</i> ชนิดเชื้อสด (ยูนิเซฟ)	60.1 b	6.5 ab	67.5 b ^{5/}
Tr2 <i>B. subtilis</i> (ลามินาร์)	68.5 ab	8.2 abc	76.6 ab
Tr3 rhizobacteria R9	61.0 b	7.4 bc	68.4 b
Tr4 rhizobacteria R10	74.1 ab	9.1 ab	83.1 ab
Tr5 inoculation control	57.4 b	6.2 c	63.6 b
Tr6 healthy control	85.7 a	10.7 a	96.4 a

^{1/} ค่าเฉลี่ยจากพืชทดสอบจำนวนไม่น้อยกว่า 10 ต้น จาก 3 replications

^{2/} ส่วนใบและลำต้นที่อยู่เหนือถ้วยปลูก

^{3/} ส่วนของรากที่แผ่ออกมานอกถ้วยปลูกและส่วนของรากกับโคนที่อยู่ภายในถ้วยปลูกที่ล้างวัสดุปลูกออกแล้ว

^{4/} น้ำหนักสดของทุกส่วนไม่รวมวัสดุปลูก

^{5/} ตัวอักษรที่ต่างกันในกลุ่มเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P < 0.05$)

ตารางที่ 16 น้ำหนักสดของผักสลัดเรดโอ๊ค ในแต่ละกรรมวิธีที่ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์ *T. harzianum*, *B. subtilis* หรือ rhizobacteria ลงในสารละลายธาตุอาหาร (crop 3 : ก.พ. - มี.ค. 48)

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด (กรัม/ต้น) ^{1/}		
	ใบและลำต้น ^{2/}	รากและโคน ^{3/}	ทั้งต้น ^{4/}
Tr1 <i>T. harzianum</i> ชนิดเชื้อสด (ยูนิเซฟ)	50.6 ns	5.7 ab	56.3 ns ^{5/}
Tr2 <i>B. subtilis</i> (ลามินาร์)	43.6 ns	4.7 b	48.3 ns
Tr3 rhizobacteria R9	52.7 ns	5.9 ab	58.6 ns
Tr4 rhizobacteria R10	55.5 ns	6.7 a	62.3 ns
Tr5 inoculation control	44.9 ns	4.6 b	49.5 ns
Tr6 healthy control	59.4 ns	7.3 a	66.8 ns

^{1/} ค่าเฉลี่ยจากพืชทดสอบจำนวนไม่น้อยกว่า 10 ต้น จาก 3 replications

^{2/} ส่วนใบและลำต้นที่อยู่เหนือด้วยปลูก

^{3/} ส่วนของรากที่แผ่ออกมานอกด้วยปลูกและส่วนของรากกับโคนที่อยู่ในด้วยปลูกที่ล้างวัสดุปลูกออกแล้ว

^{4/} น้ำหนักสดของทุกส่วนไม่รวมวัสดุปลูก

^{5/} ตัวอักษรที่ต่างกันในกลุ่มเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P < 0.05$) : ns = ไม่มี ความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 17 น้ำหนักสดของผักสลัดบัตเตอร์เฮด ในแต่ละกรรมวิธีที่ทำการทรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์ *T. harzianum*, *B. subtilis* หรือ rhizobacteria ลงในสารละลายธาตุอาหาร (crop 3 : ก.พ. - มี.ค. 48)

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสด (กรัม/ต้น) ^{1/}		
	ใบและลำต้น ^{2/}	รากและโคน ^{3/}	ทั้งต้น ^{4/}
Tr1 <i>T. harzianum</i> ชนิดเชื้อสด (ยูนิเซฟ)	88.9 b	8.7 ab	97.6 b ^{5/}
Tr2 <i>B. subtilis</i> (ลามินาร์)	91.5 b	9.0 ab	100.5 b
Tr3 rhizobacteria R9	99.6 ab	8.5 b	108.1 ab
Tr4 rhizobacteria R10	100.7 ab	9.7 ab	110.4 ab
Tr5 inoculation control	90.2 b	9.0 ab	99.2 b
Tr6 healthy control	111.3 a	10.4 a	121.6 a

^{1/} ค่าเฉลี่ยจากพืชทดสอบจำนวนไม่น้อยกว่า 10 ต้น จาก 3 replications

^{2/} ส่วนใบและลำต้นที่อยู่เหนือด้วยปลูก

^{3/} ส่วนของรากที่แผ่ออกมานอกด้วยปลูกและส่วนของรากกับโคนที่อยู่ในด้วยปลูกที่ล้างวัสดุปลูกออกแล้ว

^{4/} น้ำหนักสดของทุกส่วนไม่รวมวัสดุปลูก

^{5/} ตัวอักษรที่ต่างกันในกลุ่มเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P < 0.05$)

ในแง่ของการเจริญเติบโตที่ทำการประเมินจากน้ำหนักสดเฉลี่ยต่อต้น เมื่อพืชทดสอบมีอายุได้ 6 สัปดาห์ พบว่าในผักสลัดกรีนโอ๊ค (ตารางที่ 15) ที่ทำการพรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* ลามินาร์ (Tr2) และ rhizobacteria R10 (Tr4) มีค่าน้ำหนักสดเฉลี่ยทั้งต้นค่อนข้างดี (76.6 และ 83.1 กรัมต่อต้นตามลำดับ) ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับ healthy control (96.4 กรัมต่อต้น) ในกรณีของผักสลัดเรดโอ๊ค พบว่ากรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 16) ส่วนในผักสลัดบัตเตอร์เฮด (ตารางที่ 17) พบว่า กรรมวิธีที่ทำการพรีตด้วย rhizobacteria R9 และ R10 (Tr3 และ Tr4) มีค่าน้ำหนักสดเฉลี่ยทั้งต้นค่อนข้างดี ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับ healthy control (Tr6) แต่ยังไม่ถึงกับขึ้นดีมากจนเห็นความแตกต่างกันทางสถิติกับ inoculation control (Tr5) แต่ประการใด

ผลการทดลองใน crop ที่ 3 แสดงให้เห็นว่า การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *T. harzianum* ชนิดเชื้อสดพรีตลงไปในการละลายธาตุอาหารในอัตราความเข้มข้น 10^8 สปอร์ต่อลิตรของสารละลายธาตุอาหาร อาจมีส่วนช่วยในการลดการติดเชื้อที่รากผักสลัดที่เกิดจาก *P. myriotylum* ในช่วงสัปดาห์แรกของการปลูกเชื้อได้ โดยพบว่าพืชทดสอบส่วนใหญ่ในกรรมวิธีดังกล่าว มีค่าความรุนแรงของการเกิดโรคต่ำกว่า inoculation control อย่างไรก็ตามเมื่อทำการเก็บเกี่ยวและชั่งน้ำหนักสด พืชทดสอบที่อายุ 6 สัปดาห์ (หรือประมาณสัปดาห์ที่ 2 หลังการปลูกเชื้อ) กลับพบว่ากรรมวิธีดังกล่าวไม่ทำให้น้ำหนักสดของพืชดีกว่า inoculation control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่การพรีตด้วยชีวผลิตภัณฑ์ที่ได้จาก *B. subtilis* หรือ rhizobacteria ไอโซเลท R9 และ R10 อาจให้ผลในการควบคุมโรคได้ยาวนานกว่า เนื่องจากหลังสิ้นสุดการทดลองแล้วพบว่า น้ำหนักสดเฉลี่ยต่อต้นในพืชทดสอบส่วนใหญ่ที่ทำการพรีตด้วยกรรมวิธีดังกล่าวจะดีกว่า inoculation control ถึงแม้จะไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติแต่ก็ตีเด่นเทียบเท่ากับทางสถิติกับ healthy control ซึ่งผลดังกล่าวอาจสันนิษฐานได้ว่าความสามารถในการอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์ออกฤทธิ์ในระบบ NFT ซึ่งในที่นี้ได้แก่ *T. harzianum* ซึ่งเป็นเชื้อราและ *B. subtilis* หรือ rhizobacteria ที่เป็นเชื้อแบคทีเรียมีความแตกต่างกัน ในระบบ NFT ซึ่งเป็นระบบที่ปราศจากวัสดุปลูก การอยู่รอดของจุลินทรีย์ออกฤทธิ์ที่เป็นเชื้อแบคทีเรียน่าจะดีกว่าเชื้อราดังที่ Koochakan *et.al.*, (2004) ได้รายงานไว้ อีกเหตุผลที่เป็นไปได้ก็คือ แบคทีเรียดังกล่าวนอกจากจะมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุได้โดยตรงแล้ว ยังมีความสามารถในการสนับสนุนการเจริญเติบโตของพืชด้วย ซึ่งมักพบได้ทั่วไปในกรณีของ rhizobacteria และ *B. subtilis* ในหลายๆ สายพันธุ์ (Gorch *et.al.*, 2001) ผลการทดลองในส่วนนี้ยังแสดงให้เห็นถึงศักยภาพของ rhizobacteria ที่แยกได้จากรากผักสลัดที่ปลูกในระบบ NFT ว่าอาจสามารถพัฒนามาเป็นสารควบคุมโดยชีววิธี (biological control agent) ที่ใช้ในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดที่ปลูกในระบบนี้ได้

สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

จากการดำเนินโครงการวิจัยในครั้งนี้เป็นระยะเวลา 1 ปี สามารถสรุปประเด็นสำคัญได้ดังต่อไปนี้

1. เชื้อ *Pythium* spp. เป็นเชื้อที่สามารถตรวจพบได้ทั่วไปในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน โดยสามารถตรวจพบได้จากทุกระบบปลูกที่ได้ทำการสำรวจ และทุกส่วนของตัวอย่างที่นำมาตรวจนับเชื้อตลอดระยะเวลา 4 เดือนที่ทำการสำรวจ

2. เชื้อ *Pythium* spp. ยังคงเป็นปัญหาสำคัญของการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน เนื่องจากปริมาณเชื้อดังกล่าวมีผลโดยตรงต่อผลผลิต โดยทำให้พืชเป็นโรครากเน่าตาย หรือมีการเจริญเติบโตลดลง ซึ่งผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่า ปริมาณเชื้อที่เพิ่มขึ้นในรากพืชที่มากกว่าระดับปกติประมาณ 10 เท่า จะทำให้น้ำหนักโดยเฉลี่ยต่อต้นสูญเสียไปประมาณ 40-60%

3. จากการจัดจำแนกพบว่าเชื้อ *Pythium* spp. ส่วนใหญ่ที่พบในระบบ NFT ที่ปลูกผักสลัดเป็นการค้าคือ *P. myriotylum* และจากการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคก็พบว่า เป็นสาเหตุของโรครากเน่าในพืชดังกล่าว ลักษณะการดำรงชีพของ *P. myriotylum* ยังไม่ได้ทำการศึกษาในครั้งนี้ แต่คาดว่าน่าจะเป็นพวก facultative parasite จากเหตุผลดังกล่าวจึงทำให้เชื้อชนิดนี้สามารถตรวจพบได้ทั้งจากรากสลัดต้นปกติและต้นที่เป็นโรค ได้ในคราวเดียวกัน และการเกิดโรคอาจเกิดขึ้นได้ตลอดเวลา เมื่อใดก็ตามที่เชื้อดังกล่าวได้รับสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมหรือพืชอาศัยมีความอ่อนแอ

4. ปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ที่ตรวจพบในรากพืชที่เป็นโรค ค่อนข้างมีความสัมพันธ์กับปริมาณเชื้อที่ตรวจพบในสารละลายธาตุอาหาร จึงสันนิษฐานได้ว่าการเกิดโรครากเน่าในผักสลัดที่ปลูกในระบบ NFT ที่ทำเป็นการค้าน่าจะเริ่มจากปริมาณเชื้อสาเหตุที่มีอยู่แล้วโดยอยู่ร่วมกับรากพืชปกติ มีการเพิ่มจำนวนขึ้นมาไม่ว่าจากสาเหตุใดก็ตามจนพัฒนาเป็นระยะก่อโรค ส่งผลให้พืชดังกล่าวแสดงอาการของโรคขึ้นมา จากนั้นจึงแพร่กระจายไปทางสารละลายธาตุอาหาร ดังนั้นการจัดการเกี่ยวกับโรครากเน่า น่าจะให้ความสำคัญต่อการควบคุมปริมาณเชื้อสาเหตุในราก ให้อยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดโรค ตลอดจนการจัดการสภาพแวดล้อมต่างๆ มิให้เอื้ออำนวยต่อการเกิดโรค ซึ่งการใช้จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในการควบคุมเชื้อสาเหตุก็เป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถกระทำได้

5. การใช้ชีวผลิตภัณฑ์ *T. harzianum* และ *B. subtilis* ในการควบคุมเชื้อ *P. myriotylum* พบว่ามีประสิทธิภาพ เมื่อทำการทดลองในสภาพ *in vitro* โดยพบว่าที่ความเข้มข้นประมาณ 10^5 - 10^6 cfu/ml สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยของเชื้อดังกล่าวได้มากกว่า 80% แต่ในการทดลองในสภาพแปลงปลูก เพื่อควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดในระบบ NFT กลับพบว่า มีความเป็นไปได้อยู่ในระดับหนึ่งเท่านั้น โดยอาจช่วยลดความเสียหายได้ในกรณีที่มีการเกิดโรคไม่รุนแรง ดังนั้นในทางปฏิบัติ

ควรใช้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวในด้านของการป้องกันหรือควบคุมปริมาณเชื้อสาเหตุในระบบ ก่อนที่จะพบอาการของโรค

6. ข้อจำกัดประการหนึ่งของการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ที่มีขายในท้องตลาดในการควบคุมโรครากเน่าในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินก็คือ อัตราส่วนและรูปแบบของผลิตภัณฑ์เนื่องจากพบว่า ผลิตภัณฑ์ *T. harzianum* บางผลิตภัณฑ์ หากใช้ความเข้มข้นที่สูงเกินไปอาจเป็นอันตรายต่อรากพืชได้ ซึ่งเป็นผลมาจากบางสายพันธุ์อาจมีความแรงแรง (aggressive strain) ในการเป็นสารควบคุมโดยชีววิธี (biological control agent) ซึ่งเป็นผลดีหากใช้ในการควบคุมเชื้อสาเหตุที่อยู่ในดิน แต่ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระบบ NFT หรือ DFT ซึ่งรากอยู่ในสภาพเปลือยเปล่า (bare root) ความแรงแรงของสายพันธุ์ดังกล่าวอาจเป็นอันตรายต่อพืชได้ นอกจากนี้ส่วนผสมที่อยู่ในแต่ละผลิตภัณฑ์อาจก่อให้เกิดความระคายเคืองต่อรากพืชได้เช่นกัน ซึ่งการศึกษาในครั้งนี้พบว่าการใช้ที่ระดับความเข้มข้น 10^8 cfu/l ของสารละลายธาตุอาหาร ไม่ก่อให้เกิดผลเสียแก่พืชอย่างไร

7. จุลินทรีย์บริเวณเขตรากพืช (rhizobacteria) ที่แยกได้จากระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน อาจเป็นจุลินทรีย์อีกกลุ่มหนึ่งที่มีศักยภาพในการพัฒนามาเป็นสารควบคุมโดยชีววิธีในระบบปลูกพืชชนิดนี้ เนื่องจากได้ทำการทดสอบแล้วพบว่า มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยของเชื้อ *P. myriotylum* สาเหตุโรครากเน่าในผักสลัดได้ดี ไม่แตกต่างกับชีวผลิตภัณฑ์ที่มีขายในท้องตลาด และจากการทดสอบในสภาพแปลงปลูกก็พบว่า ให้ผลดีถึงขั้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับพืชทดสอบที่ไม่ทำการปลูกเชื้อ (healthy control)

จากข้อสรุปที่กล่าวมาแล้วข้างต้นข้อเสนอแนะในการดำเนินการวิจัยต่อไปในอนาคต ในเรื่องของการใช้จุลินทรีย์ในการควบคุมโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ควรจะเป็นประเด็นดังต่อไปนี้

1) ศึกษาและพัฒนา rhizobacteria หรือ indigenous microorganisms ที่พบในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินมาเป็นสารควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (biological control agent) เพื่อใช้ในการควบคุมโรคในระบบการปลูกพืชชนิดนี้เป็นการเฉพาะ เนื่องจากจุลินทรีย์ดังกล่าวจะมีความดีเด่นในการปรับตัวและอยู่รอด การเข้าครอบครองรากพืช (colonization) การแข่งขันกับจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช และ/หรือ การสนับสนุนการเจริญเติบโตของพืช

2) หากจะมีการศึกษาถึง applications ที่เหมาะสมในการใช้ชีวผลิตภัณฑ์ที่มีอยู่แล้วในท้องตลาด เพื่อนำมาใช้ในระบบ NFT น่าจะมีการศึกษาในเรื่องของ bio-filter แทนการใช้จุลินทรีย์ออกฤทธิ์ดังกล่าว ใส่เข้าไปในระบบโดยตรง และหากต้องการนำไปใช้โดยตรงก็ควรทำการศึกษาในระบบแบบมีวัสดุปลูกซึ่งในประเทศไทยก็ยังมีศึกษาค่อนข้างน้อยเช่นกัน

เอกสารอ้างอิง

- จิระเดช แจ่มสว่าง, วนิดา พงษ์ศักดิ์ชาติ และวรรณวิไล เกษนรา. 2534. การตรวจนับปริมาณเชื้อ *Phthium aphanidermatum* ในดิน โดยวิธีเจือจางดินและการใช้เหยื่อล่อ. วิทยาศาสตร์ 25 : 39-46.
- ดิเรก ทองอร่าม. 2546. การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน : หลักการจัดการการผลิตและเทคโนโลยีการผลิตเชิงธุรกิจในประเทศไทย. ซีเอ็ดยูเครน จำกัด. กรุงเทพฯ
- พรหมมาศ คูหากาญจน์. 2540. การสำรวจโรคของแตงกวายุโรปที่ปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน. วิทยานิพนธ์ มหาวิทยาลัย บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. ISBN 974-621-804-2: 190 หน้า.
- Berkelmann, B., Wohanka, W. and Wolf, G.A. 1992. Characterization of the bacterial flora in circulating nutrient solution of a hydroponic system with rockwool. Acta Horticulturae 361: 372-381.
- Duijff, B.J., Meijer, J.W., Bakker, P.A.H.M. and Schipper, B. 1993. Siderophore-mediation for iron and induced resistance in suppression of Fusarium wilt of carnation by fluorescent *Pseudomonas* spp. Neth. J. Plant Pathol. 99: 277-289.
- Favrin, R.J., Rahe, J.E. and Mouza, B. 1988. *Pythium* spp. associated with crown rot cucumber In British Columbia greenhouse. Plant Disease 72 : 683-687.
- Gardiner, R.B., Jarvis, W.R. and Shipp, L. 1990. Ingestion of *Pythium* spp. By larvae of the Fungus gnat *Bradysia impatiens* (Diptera :Sciridae) Ann. Appt. Biol. 116 : 1-8.
- Goldberg, N.P. and Stanghellini, M.E. 1990. Ingestion-egestion and aerial transmission of *Pythium aphanidermatum* by shore flies (Bphydrinae : *Scatella stagnalis*). Phytopathology 80 (11): 1244-1246.
- Grosch, R., Kofoet, A. and Junge, H. 2001. Biological control of root pathogen in soilless culture using bacteria. Acta Horticulturae 548: 393-400.
- Grasso, V., Minuto, A. and Garbaldi, A. 2003. Selected microbial strain suppress *Phytophthora cryptogea* in gerbera crops produced in open and closed soilless system. Phytopathologia-Mediterranea 42: 55-64.
- Ikedda, H., Koohakan, P. and T. Jaenaksorn. 2002. Problems and countermeasure in the re-use of the nutrient solution in soilless production. Acta Hort. 578: 213-219.
- Jenkins. S.F. and Averre C.W. 1983. Root disease of vegetable in hydroponic culture system in North Carolina greenhouses. Plant disease 67 (9) : 968-970.

- Koohakan, P., Ikeda, H., Jeanaksorn, T., Tojo, M., Kusakari, S-I., Okada, K. and Sato, S. 2004. Evaluation of the indigenous microorganisms in soilless culture : occurrence and quantitative characteristics in the different growing system. *Scientia Horticulturae* 101 : 179-188. 2004.
- Maulin, F., Lemanceau, P. and Alabourette. 1994. Pathogenicity of *Pythium* species on cucumber in peat-sand, rockwool and hydroponics. *European Journal of Plant Pathology* 100: 3-17.
- Mohyuddin, M. 1985. Crop cultivars and disease control in Hydroponics world wide :state of the Art in soilless crop production. Savase, A.T. (ed). International Center Special Studies Honolulu. Hawaii. p. 42-50.
- Neumann, B., Laing, M.D., Elad, Y., Kohl, J. and Shtienberg, D. 2002. Soil moisture and root zone pH as tool for enhancing biocontrol of *Pythium* by *Trichoderma*. IOBC-WPRS Working group "Biological control of fungal and bacterial plant pathogens" Proceeding of the 7th working group meeting, Influence of abiotic and biotic factors on biocontrol agents at Pine Bay, Kusadasi, Turkey. *Bulletin OILB-SROP.2002*, 25: 89-92.
- 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 indigenous microflora on the development of root and crown rot caused by *Pythium aphanidermatum* in cucumber grown on rockwool. *Phytopathology* 90: 125-133.
- Rankin, L. and Paulitz, T.C. 1994. Evaluation of rhizosphere bacteria for biological of *Pythium* root rot of greenhouse cucumber in hydroponic culture. *Plant Disease* 78: 447-451.
- Runia, W.Th. 1995. A review of possibilities for disinfection of recirculation water from soilless cultures. *Acta Horticulturae* 382: 221-229.
- Rey, P, Picard, K., Deniel, F., Benhamou, N., Tirilly, Y. and van Lenteren, J.C. 1999. Development of an IPM system in soilless culture by using slow sand filtration an a biocontrol fungus, *Pythium oligandrum*. IOBC-WPRS Working group "Integrated control in glasshouse" Proceeding of the meeting at Brest, France. *Bulletin-OILB-SROP.1999*, 22: 205-208.

- Stanghellini, M.E. and Rasmussen, S.L. 1994. Hydroponics: A solution for zoosporic pathogens. *Plant Disease* 78: 1129-1138.
- Stanghellini, M.E., D.H. Kim, J. Rakocy, K. Gloger and H. Klinton, 1998. First report of root rot of hydroponically grown lettuce caused by *Pythium myriotylum* in a commercial production facility. *Plant Disease* 82: 831.
- Tu, J.C., Papadopoulos, A.P., Hao, X. and Zhen, J. 1999. The relationship of *Pythium* root rot and rhizosphere microorganisms in a closed recirculating and open system in rockwool culture of tomato. *Acta Horticulturae* 481: 577-583.
- Tu, J.C. 2002. An integrated control of *Pythium* root rot of greenhouse tomato. Proceeding in the 54th International symposium on crop protection, Part 1. Mededeligen-Faculteit-Landbouwkundige-en-Toegepaste-Biologische-Wetenschappen-Universiteit-Gent.2002, 67:209-216
- van der Plaats-Niterink, A.J. 1981. Monograph of the genus *Pythium*. *Studies in Mycology* No21, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn. 242 pp.
- van Peer, R., van Kuik, A.J., Rattink, H. and Schippers, B. 1990. Control of *Fusarium* wilt in carnation grown in rockwool by *Pseudomonas* sp. strain WCS417r and by Fe-EDDHA. *Neth. J. Plant Pathol.* 96: 119-132.
- Weller, D.M. 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Ann. Rev. Phytopathol.* 26: 379-407
- Zinnen, T.M. 1988. Assessment of plant diseases in hydroponic culture. *Plant Disease* 72 (2): 96-99.

ภาคผนวก ก : ตารางผนวก

ตารางผนวกที่ 1 ชื่อและที่อยู่ของฟาร์มเอกชนที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเข้าไปเก็บตัวอย่าง

ชื่อฟาร์มหรือบริษัท	ที่อยู่
บริษัท ACK hydrofarm จำกัด	933 ถนนอ่อนนุช แขวงสวนหลวง เขตสวนหลวง กรุงเทพฯ 10520
บริษัท Bunny Bite จำกัด	เขตสวนหลวง กรุงเทพฯ
ฟาร์มสวนสุขภาพดี	อ.ศรีราชา จ.ชลบุรี
โครงการสวนพระองค์บางแตน (ในนามของบริษัท มงคลชัยพัฒนา จำกัด)	อ.บ้านสร้าง จ.ปราจีนบุรี

ตารางผนวกที่ 2 ปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ที่ตรวจพบในสลัดคอส ปลูกบนราง NFT ในโรงเรือนปรับอากาศของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตกรุงเทพมหานคร (ค่าก่อนการ take log)

วันที่เก็บตัวอย่าง	ปริมาณเชื้อในราก (cfu/g)		ปริมาณเชื้อในสาร ละลายธาตุอาหาร	ปริมาณเชื้อในน้ำที่ ใช้เตรียมสารละลาย
	ต้นปกติ	ต้นที่เป็นโรค	(cfu/100 ml.)	(cfu/100 ml.)
6 พ.ค. 2547	107	4018	43	57
20 พ.ค. 2547	173	431	32	9
3 มิ.ย. 2547	53	710	11	3
17 มิ.ย. 2547	62	465	85	43
1 ก.ค. 2547	58	99	27	35
15 ก.ค. 2547	92	532	30	ต่ำกว่า MDP*
29 ก.ค. 2547	190	1554	5	ต่ำกว่า MDP*
11 ส.ค. 2547	82	727	7	ต่ำกว่า MDP*
28 ส.ค. 2547	39	116	14	
ค่าต่ำสุด ^{1/}	40	100	10	ต่ำกว่า MDP*
ค่าสูงสุด ^{1/}	190	4020	90	60
ค่าเฉลี่ย ^{2/}	100	960	30	20

* MDP (Minimal detectable population) หรือค่าประชากรต่ำสุดที่สามารถตรวจเช็คได้
ของรากพืชมีค่าเท่ากับ 13.3 cfu/g

ของสารละลายหรือน้ำที่ใช้เตรียมสารละลาย มีค่าเท่ากับ 3.3 cfu/100 ml.

^{1/} ปริมาณเชื้อต่ำสุดและสูงสุดในช่วงเวลาที่ทำกรเก็บตัวอย่าง ทำการปิดเศษเป็นจำนวนเต็มสิบ

^{2/} เฉลี่ยจากปริมาณเชื้อที่ตรวจพบในช่วงเวลาที่ทำกรเก็บตัวอย่าง และทำการปิดเศษเป็นจำนวนเต็มสิบ

ตารางผนวกที่ 3 ปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ที่ตรวจพบในสลัดเรดไอศ ปลูกบนราง NFT ในโรงเรือน
ตาข่ายและโรงเรือนปรับอากาศ ของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตกรุงเทพมหานคร
(ค่าก่อนการ take log)

วันที่เก็บตัวอย่าง ^{1/}	ปริมาณเชื้อในราก (cfu/g)		ปริมาณเชื้อในสาร ละลายธาตุอาหาร	ปริมาณเชื้อในน้ำที่ ใช้เตรียมสารละลาย
	ต้นปกติ	ต้นที่เป็นโรค	(cfu/100 ml.)	(cfu/100 ml.)
6 พ.ค. 2547	53	3787	20	57
20 พ.ค. 2547	107	1288	38	9
3 มิ.ย. 2547	265	3723	28	3
17 มิ.ย. 2547	27	203	123	43
1 ก.ค. 2547	ต่ำกว่า MDP*	116	18	35
15 ก.ค. 2547	161	278	ต่ำกว่า MDP*	ต่ำกว่า MDP*
29 ก.ค. 2547	27	853	5	ต่ำกว่า MDP*
11 ส.ค. 2547	35	1121	3	ต่ำกว่า MDP*
28 ส.ค. 2547	50	190	46	
ค่าต่ำสุด ^{2/}	ต่ำกว่า MDP*	110	ต่ำกว่า MDP*	ต่ำกว่า MDP*
ค่าสูงสุด ^{2/}	270	3790	120	60
ค่าเฉลี่ย ^{3/}	90	1290	30	20

* MDP (Minimal detectable population) หรือค่าประชากรต่ำสุดที่สามารถตรวจเช็คได้
ของรากพืชมีค่าเท่ากับ 13.3 cfu/g
ของสารละลายหรือน้ำที่ใช้เตรียมสารละลาย มีค่าเท่ากับ 3.3 cfu/100 ml.

^{1/} ตัวอย่างก่อนวันที่ 1 ก.ค. 2547 ปลูกในโรงเรือนตาข่าย

^{2/} ปริมาณเชื้อต่ำสุดและสูงสุดในช่วงเวลาที่ทำกรเก็บตัวอย่าง ทำการปิดเศษเป็นจำนวนเต็มสิบ

^{3/} เฉลี่ยจากปริมาณเชื้อที่ตรวจพบในช่วงเวลาที่ทำกรเก็บตัวอย่าง และทำการปิดเศษเป็นจำนวนเต็มสิบ

ตารางผนวกที่ 4 ปริมาณเชื้อ *Pythium* ที่ตรวจพบในสลัดกรีนไฮโดร ปลูกบนราง NFT ในโรงเรียน
ตาข่ายของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตกรุงเทพมหานคร (ค่าก่อนการ take log)

วันที่เก็บตัวอย่าง	ปริมาณเชื้อในราก (cfu/g)		ปริมาณเชื้อในสาร ละลายธาตุอาหาร	ปริมาณเชื้อในน้ำที่ ใช้เตรียมสารละลาย
	ต้นปกติ	ต้นที่เป็นโรค	(cfu/100 ml.)	(cfu/100 ml.)
1 ก.ค. 2547	38	42	27	35
15 ก.ค. 2547	103	401	ต่ำกว่า MDP*	ต่ำกว่า MDP*
29 ก.ค. 2547	152	258	3	ต่ำกว่า MDP*
11 ส.ค. 2547	215	253	14	ต่ำกว่า MDP*
28 ส.ค. 2547	83	827	3	16
ค่าต่ำสุด ^{1/}	40	40	ต่ำกว่า MDP*	ต่ำกว่า MDP*
ค่าสูงสุด ^{1/}	220	830	30	40
ค่าเฉลี่ย ^{2/}	120	360	10	10

* MDP (Minimal detectable population) หรือค่าประชากรต่ำสุดที่สามารถตรวจเช็คได้
ของรากพืชมีค่าเท่ากับ 13.3 cfu/g
ของสารละลายหรือน้ำที่ใช้เตรียมสารละลาย มีค่าเท่ากับ 3.3 cfu/100 ml.

^{1/} ปริมาณเชื้อต่ำสุดและสูงสุดในช่วงเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่าง ทำการปิดเศษเป็นจำนวนเต็มสิบ

^{2/} เฉลี่ยจากปริมาณเชื้อที่ตรวจพบในช่วงเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่าง และทำการปิดเศษเป็นจำนวนเต็มสิบ

ตารางผนวกที่ 5 ปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ที่ตรวจพบในสลัดกรีนไฉ้ค ปลุกบนราง NFT ในสภาพโรงเรือนเปิดของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตจังหวัดรอบนอกกรุงเทพมหานคร (ค่าก่อนการ take log)

วันที่เก็บตัวอย่าง	ปริมาณเชื้อในราก (cfu/g)		ปริมาณเชื้อในสารละลายธาตุอาหาร (cfu/100 ml.)	ปริมาณเชื้อในน้ำที่ใช้เตรียมสารละลาย (cfu/100 ml.)
	ต้นปกติ	ต้นที่เป็นโรค		
2 พ.ค. 2547	338	21867	-	-
16 พ.ค. 2547	889	19200	23	ต่ำกว่า MDP*
30 พ.ค. 2547	1653	3174	3	ต่ำกว่า MDP*
13 มิ.ย. 2547	444	1884	15	ต่ำกว่า MDP*
27 มิ.ย. 2547	133	10453	7	ต่ำกว่า MDP*
11 ก.ค. 2547	400	5973	15	10
25 ก.ค. 2547	284	6827	ต่ำกว่า MDP*	ต่ำกว่า MDP*
8 ส.ค. 2547	880	3413	ต่ำกว่า MDP*	ต่ำกว่า MDP*
21 ส.ค. 2547	320	8880	ต่ำกว่า MDP*	ต่ำกว่า MDP*
ค่าต่ำสุด ^{1/}	130	3410	ต่ำกว่า MDP*	ต่ำกว่า MDP*
ค่าสูงสุด ^{1/}	1650	21870	20	10
ค่าเฉลี่ย ^{2/}	590	8450	10	1

* MDP (Minimal detectable population) หรือค่าประชากรต่ำสุดที่สามารถตรวจเช็คได้ของรากพืชมีค่าเท่ากับ 13.3 cfu/g ของสารละลายหรือน้ำที่ใช้เตรียมสารละลาย มีค่าเท่ากับ 3.3 cfu/100 ml.

^{1/} ปริมาณเชื้อต่ำสุดและสูงสุดในช่วงเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่าง ทำการนับเฉพาะเป็นจำนวนเต็มสิบ

^{2/} เฉลี่ยจากปริมาณเชื้อที่ตรวจพบในช่วงเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่าง และทำการนับเฉพาะเป็นจำนวนเต็มสิบ

ตารางผนวกที่ 6 ปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ที่ตรวจพบในสลัดกรีนโอดิ ปลูกลงบาราง NFT ในสภาพ
โรงเรือนเปิด ของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในเขตกรุงเทพมหานคร (ค่าก่อนการ take log)

วันที่เก็บตัวอย่าง	ปริมาณเชื้อในราก (cfu/g)		ปริมาณเชื้อในสาร ละลายธาตุอาหาร	ปริมาณเชื้อในน้ำที่ ใช้เตรียมสารละลาย
	ต้นปกติ	ต้นที่เป็นโรค	(cfu/100 ml.)	(cfu/100 ml.)
6 พ.ค. 2547	249	11947	-	-
20 พ.ค. 2547	100	398	30	ต่ำกว่า MDP*
3 มิ.ย. 2547	298	1770	22	ต่ำกว่า MDP*
17 มิ.ย. 2547	56	69	ต่ำกว่า MDP*	ต่ำกว่า MDP*
1 ก.ค. 2547	23	1410	17	7
15 ก.ค. 2547	41	282	ต่ำกว่า MDP*	ต่ำกว่า MDP*
29 ก.ค. 2547	292	3177	41	3
11 ส.ค. 2547	ต่ำกว่า MDP*	**	ต่ำกว่า MDP*	4
28 ส.ค. 2547	23	1635	76	ต่ำกว่า MDP*
ค่าต่ำสุด ^{1/}	10	60	ต่ำกว่า MDP*	ต่ำกว่า MDP*
ค่าสูงสุด ^{1/}	300	11950	80	10
ค่าเฉลี่ย ^{2/}	120	2580	20	1

* MDP (Minimal detectable population) หรือค่าประชากรต่ำสุดที่สามารถตรวจเช็คได้
ของรากพืชมีค่าเท่ากับ 13.3 cfu/g
ของสารละลายหรือน้ำที่ใช้เตรียมสารละลาย มีค่าเท่ากับ 3.3 cfu/100 ml.

** ไม่พบต้นพืชที่เป็นโรค

^{1/} ปริมาณเชื้อต่ำสุดและสูงสุดในช่วงเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่าง ทำการนับเฉพาะเป็นจำนวนเต็มสิบ

^{2/} เฉลี่ยจากปริมาณเชื้อที่ตรวจพบในช่วงเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่าง และทำการนับเฉพาะเป็นจำนวนเต็มสิบ

ตารางผนวกที่ 7 ปริมาณเชื้อ *Pythium* ที่ตรวจพบในดินถ่ายปลูกในถาด DFT ในสภาพโรงเรือนเปิด
ของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในจังหวัดรอบนอกกรุงเทพมหานคร (ค่าก่อนการ take log)

วันที่เก็บตัวอย่าง	ปริมาณเชื้อในราก (cfu/g)		ปริมาณเชื้อในสาร ละลายธาตุอาหาร	ปริมาณเชื้อในน้ำที่ ใช้เตรียมสารละลาย
	ต้นปกติ	ต้นที่เป็นโรค	(cfu/100 ml.)	(cfu/100 ml.)
2 พ.ค. 2547	53	4142	27	10
16 พ.ค. 2547	ต่ำกว่า MDP*	356	-	-
30 พ.ค. 2547	107	124	143	150
13 มิ.ย. 2547	373	1244	48	ต่ำกว่า MDP*
27 มิ.ย. 2547	187	711	ต่ำกว่า MDP*	ต่ำกว่า MDP*
11 ก.ค. 2547	62	80	5	ต่ำกว่า MDP*
25 ก.ค. 2547	409	693	18	12
8 ส.ค. 2547	191	720	ต่ำกว่า MDP*	10
21 ส.ค. 2547	351	249	5	ต่ำกว่า MDP*
ค่าต่ำสุด ^{1/}	50	80	ต่ำกว่า MDP*	ต่ำกว่า MDP*
ค่าสูงสุด ^{1/}	410	4140	140	150
ค่าเฉลี่ย ^{2/}	200	920	30	20

* MDP (Minimal detectable population) หรือค่าประชากรต่ำสุดที่สามารถตรวจเช็คได้
ของรากพืชมีค่าเท่ากับ 13.3 cfu/g
ของสารละลายหรือน้ำที่ใช้เตรียมสารละลาย มีค่าเท่ากับ 3.3 cfu/100 ml.

^{1/} ปริมาณเชื้อต่ำสุดและสูงสุดในช่วงเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่าง ทำการปิดเศษเป็นจำนวนเต็มสิบ

^{2/} เฉลี่ยจากปริมาณเชื้อที่ตรวจพบในช่วงเวลาที่ทำการเก็บตัวอย่าง และทำการปิดเศษเป็นจำนวนเต็มสิบ

ตารางผนวกที่ 8 น้ำหนักสดของสลัดคอส ที่ปลูกบนราง NFT ในโรงเรือนปรับอากาศของฟาร์มเอกชน
แห่งหนึ่งในเขตกรุงเทพมหานคร และเปอร์เซ็นต์ส่วนต่างระหว่างต้นปกติกับต้นที่
เป็นโรค

วันที่ เก็บตัวอย่าง	ต้นปกติ (กรัม/ต้น) ^{1/}			ต้นที่เป็นโรค (กรัม/ต้น) ^{1/}			ส่วนต่างระหว่างต้น ปกติกับต้นเป็นโรค (%)		
	shoot	root	ทั้งต้น	shoot	root	ทั้งต้น	shoot	root	ทั้งต้น
6 พ.ค. 2547	100.3 ^{2/}	9.1	109.4	64.9	5.0	69.9	35.3	44.7	36.1
20 พ.ค. 2547	107.4	10.0	117.4	53.8	7.1	60.9	49.9	28.4	48.1
3 มิ.ย. 2547	78.7	10.9	89.6	40.8	3.9	44.8	48.1	63.9	50.0
17 มิ.ย. 2547	67.0	6.7	73.7	30.4	6.5	36.9	54.7	2.0	50.0
1 ก.ค. 2547	66.4	8.1	74.5	40.2	6.4	46.6	39.5	21.0	37.5
15 ก.ค. 2547	81.3	10.5	91.8	22.4	4.9	27.3	72.4	52.9	70.2
29 ก.ค. 2547	86.1	13.9	100.0	33.3	5.9	39.2	61.3	57.4	60.8
11 ส.ค. 2547	90.7	8.9	99.6	65.2	6.6	71.8	28.2	25.5	27.9
28 ส.ค. 2547	41.2	8.0	49.2	29.9	5.8	35.7	27.5	27.6	27.5
ค่าเฉลี่ย	79.9	9.6	89.5	42.3	5.8	48.1	46.3	35.9	45.4

^{1/} เก็บตัวอย่างจากโต๊ะปลูกเดียวกัน โดยมีอายุประมาณ 2 สัปดาห์ บนโต๊ะปลูก

^{2/} ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ต้น

ตารางผนวกที่ 9 น้ำหนักสดของสลัดเรดโอ๊ค ปลุกบนราง NFT ในโรงเรือนตาข่าย และโรงเรือนปรับ
อากาศของฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในกรุงเทพมหานคร และเปอร์เซ็นต์ส่วนต่างระหว่าง
ต้นปกติกับต้นที่เป็นโรค

วันที่ เก็บตัวอย่าง	ต้นปกติ (กรัม/ต้น) ^{1/}			ต้นที่เป็นโรค (กรัม/ต้น) ^{1/}			ส่วนต่างระหว่างต้น ปกติกับต้นเป็นโรค (%)		
	shoot	root	ทั้งต้น	shoot	root	ทั้งต้น	shoot	root	ทั้งต้น
6 พ.ค. 2547	43.1 ^{2/}	6.4	49.5	17.6	3.0	20.6	59.1	53.1	58.3
20 พ.ค. 2547	42.6	7.1	49.7	14.3	3.3	17.6	66.4	53.7	64.6
3 มิ.ย. 2547	39.1	5.6	44.7	13.1	2.8	15.9	66.6	50.0	64.5
17 มิ.ย. 2547	33.8	3.5	37.3	12.6	2.3	14.9	62.8	34.3	60.1
1 ก.ค. 2547	47.6	5.5	53.1	17.3	2.0	19.3	63.6	63.3	63.6
15 ก.ค. 2547	30.5	5.0	35.5	13.4	1.8	15.2	56.1	64.0	57.2
29 ก.ค. 2547	23.8	4.0	27.8	20.0	2.8	22.8	16.0	30.8	18.1
11 ส.ค. 2547	32.9	3.7	36.6	19.7	3.3	23.0	40.1	10.7	37.1
28 ส.ค. 2547	33.8	3.8	37.6	26.7	3.7	30.4	21.0	3.5	19.2
ค่าเฉลี่ย	36.4	5.0	41.3	17.2	2.8	20.0	50.2	40.4	49.2

^{1/} เก็บตัวอย่างจากโต๊ะปลูกเดียวกัน โดยมีอายุประมาณ 2 สัปดาห์ บนโต๊ะปลูก

^{2/} ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ต้น

ตารางผนวกที่ 10 น้ำหนักสดของสลัดกรีนโอ๊ค ปลุกบนราง NFT ในโรงเรือนตาข่ายของฟาร์มเอกชน
แห่งหนึ่งในกรุงเทพมหานคร และเปอร์เซ็นต์ส่วนต่างระหว่างต้นปกติกับต้นที่เป็นโรค

วันที่ เก็บตัวอย่าง	ต้นปกติ (กรัม/ต้น) ^{1/}			ต้นที่เป็นโรค (กรัม/ต้น) ^{1/}			ส่วนต่างระหว่างต้น ปกติกับต้นเป็นโรค (%)		
	shoot	root	ทั้งต้น	shoot	root	ทั้งต้น	shoot	root	ทั้งต้น
1 ก.ค. 2547	28.5 ^{2/}	3.5	32.0	16.3	1.9	18.2	42.9	45.3	43.1
15 ก.ค. 2547	31.8	6.5	38.3	9.9	1.3	11.2	68.9	79.6	70.7
29 ก.ค. 2547	47.2	8.2	55.4	42.1	7.0	49.1	10.7	15.0	11.4
11 ส.ค. 2547	41.0	5.4	46.3	19.6	2.3	22.0	52.1	56.5	52.6
28 ส.ค. 2547	41.2	6.4	47.6	33.1	6.4	39.4	19.8	0.0	17.2
ค่าเฉลี่ย	37.9	6.0	43.9	24.2	3.8	28.0	38.9	39.3	39.0

^{1/} เก็บตัวอย่างจากโต๊ะปลูกเดียวกัน โดยมีอายุประมาณ 2 สัปดาห์ บนโต๊ะปลูก

^{2/} ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ต้น

ตารางผนวกที่ 11 น้ำหนักสดของสัลดกรีนไฉ้ค ปลุกบนราง NFT ในสภาพโรงเรือนเปิดของฟาร์มเอกชน
แห่งหนึ่งในเขตจังหวัดรอบนอกกรุงเทพมหานคร และเปอร์เซ็นต์ส่วนต่างระหว่าง
ต้นปกติกับต้นที่เป็นโรค

วันที่ เก็บตัวอย่าง	ต้นปกติ (กรัม/ต้น) ^{1/}			ต้นที่เป็นโรค (กรัม/ต้น) ^{1/}			ส่วนต่างระหว่างต้น ปกติกับต้นเป็นโรค (%)		
	shoot	root	ทั้งต้น	shoot	root	ทั้งต้น	shoot	root	ทั้งต้น
2 พ.ค. 2547	99.9 ^{2/}	19.5	119.4	26.9	7.0	33.8	73.1	64.3	71.7
16 พ.ค. 2547	58.3	11.0	69.3	20.7	4.3	25.0	64.5	60.7	63.9
30 พ.ค. 2547	49.9	11.3	61.2	23.8	4.3	28.1	52.3	61.7	54.1
13 มิ.ย. 2547	55.4	9.4	64.8	26.2	4.0	30.2	52.7	57.3	53.4
27 มิ.ย. 2547	49.5	11.1	60.6	20.9	4.5	25.4	57.7	59.6	58.1
11 ก.ค. 2547	60.4	8.4	68.8	36.6	6.6	43.2	39.5	20.7	37.2
25 ก.ค. 2547	76.3	9.6	85.9	27.0	3.3	30.4	64.6	65.3	64.7
8 ส.ค. 2547	86.4	9.6	96.0	35.5	5.5	41.1	58.9	42.4	57.2
21 ส.ค. 2547	84.3	10.6	94.9	48.1	8.1	56.2	43.0	23.0	40.8
ค่าเฉลี่ย	68.9	11.2	80.1	29.5	5.3	34.8	56.3	50.6	55.6

^{1/} เก็บตัวอย่างจากโต๊ะปลูกเดียวกัน โดยมีอายุประมาณ 2 สัปดาห์ บนโต๊ะปลูก

^{2/} ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ต้น

ตารางผนวกที่ 12 น้ำหนักสดของสัลดกรีนไค้ค ปลูกบนราง NFT ในสภาพโรงเรือนเปิดของฟาร์ม
เอกชนแห่งหนึ่งในเขตกรุงเทพมหานคร และเปอร์เซ็นต์ส่วนต่างระหว่างต้นปกติ
กับต้นที่เป็นโรค

วันที่ เก็บตัวอย่าง	ต้นปกติ (กรัม/ต้น) ^{1/}			ต้นที่เป็นโรค (กรัม/ต้น) ^{1/}			ส่วนต่างระหว่างต้น ปกติกับต้นเป็นโรค (%)		
	shoot	root	ทั้งต้น	shoot	root	ทั้งต้น	shoot	root	ทั้งต้น
6 พ.ค. 2547	23.1 ^{2/}	5.1	28.3	7.9	2.0	9.9	66.0	60.9	65.1
20 พ.ค. 2547	58.3	7.6	65.9	25.1	1.8	26.9	57.0	76.7	59.2
3 มิ.ย. 2547	16.4	4.6	21.0	10.7	3.1	13.8	35.0	32.1	43.3
17 มิ.ย. 2547	62.4	7.8	49.4	30.7	6.6	37.3	50.8	15.0	24.4
1 ก.ค. 2547	84.6	15.3	100.0	39.5	5.1	44.6	53.3	67.0	55.4
15 ก.ค. 2547	52.6	12.9	65.5	7.7	5.3	13.0	85.4	58.8	80.2
29 ก.ค. 2547*	30.3	8.4	38.7	12.3	5.9	18.3	59.3	29.4	52.8
11 ส.ค. 2547	80.4	12.1	92.6	-**	-	-	-	-	-
28 ส.ค. 2547	115.2	17.1	132.3	57.4	7.9	65.4	50.2	53.6	50.6
ค่าเฉลี่ย	58.2	10.1	66.0	23.9	4.7	28.6	57.1	49.2	56.6

^{1/} เก็บตัวอย่างจากโต๊ะปลูกเดียวกัน โดยมีอายุประมาณ 2-3 สัปดาห์ บนโต๊ะปลูก

^{2/} ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ต้น

* ตัวอย่างวันที่ 29 เป็นสัลด Red corral

** ได้พบต้นที่เป็นโรค

ตารางผนวกที่ 13 น้ำหนักสดของคื่นฉ่ายปลูกในถาด DFT ในสภาพโรงเรือนเปิดของฟาร์มเอกชน
แห่งหนึ่งในจังหวัดรอบนอกกรุงเทพมหานคร และเปอร์เซ็นต์ส่วนต่างระหว่างต้น
ปกติกับต้นที่เป็นโรค

วันที่ เก็บตัวอย่าง	ต้นปกติ (กรัม/ต้น) ^{1/}			ต้นที่เป็นโรค (กรัม/ต้น) ^{1/}			ส่วนต่างระหว่างต้น ปกติกับต้นเป็นโรค (%)		
	shoot	root	ทั้งต้น	shoot	root	ทั้งต้น	shoot	root	ทั้งต้น
2 พ.ค. 2547	24.3 ^{2/}	2.0	26.4	6.0	0.5	6.5	75.5	75.4	75.5
16 พ.ค. 2547	16.3	1.4	17.7	3.7	0.3	4.0	77.3	78.0	77.4
30 พ.ค. 2547	12.1	3.3	15.4	3.0	1.3	4.2	75.5	61.6	72.6
13 มิ.ย. 2547	7.5	2.1	9.6	2.8	1.2	4.0	62.7	43.5	58.5
27 มิ.ย. 2547	2.3	0.8	3.2	2.3	0.6	2.9	0.0	28.0	7.4
11 ก.ค. 2547	8.2	1.4	9.6	1.0	0.7	1.7	87.4	52.4	82.3
25 ก.ค. 2547	16.7	5.5	22.2	4.9	2.5	7.4	70.7	54.5	66.7
8 ส.ค. 2547	42.3	4.0	46.3	21.7	2.8	24.5	48.8	29.4	47.1
21 ส.ค. 2547	26.1	3.8	29.9	14.4	3.4	17.8	44.8	11.3	40.5
ค่าเฉลี่ย	17.3	2.7	20.0	6.6	1.5	8.1	60.3	48.3	58.7

^{1/} เก็บตัวอย่างจากโต๊ะปลูกเดียวกัน โดยมีอายุประมาณ 2-5 สัปดาห์ บนโต๊ะปลูก

^{2/} ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 กอ

ตารางผนวกที่ 14 รายชื่อชีวผลิตภัณฑ์ (biological control product) ที่ใช้ในการทดลอง

ชื่อการค้า	ชื่อจุลินทรีย์ออกฤทธิ์	บริษัทผู้ผลิตหรือจัดจำหน่าย
ไตรซาน (ชนิดผงละลายน้ำ)	<i>Trichoderma harzianum</i> 2x10 ⁸ cfu/g	บริษัทแอฟฟลายเค็ม(ประเทศไทย) จำกัด 186 หมู่ 5 ลาดปลาเค้า ถนนรามอินทรา บางเขน กรุงเทพฯ 10220
ยูนิเซฟ (ชนิดผงละลายน้ำ)	<i>Trichoderma harzianum</i> 10 ⁸ cfu/g	บริษัทยูนิซีดีส์ จำกัด 1/87-88 ซอยพหลโยธิน 40 ถนนพหลโยธิน จตุจักร กรุงเทพฯ 10900
ยูนิเซฟ (ชนิดน้ำ)	<i>Trichoderma harzianum</i> 10 ⁹ spore/ml	บริษัทยูนิซีดีส์ จำกัด 1/87-88 ซอยพหลโยธิน 40 ถนนพหลโยธิน จตุจักร กรุงเทพฯ 10900
ยูนิเซฟ (หัวเชื้อสด)	<i>Trichoderma harzianum</i>	บริษัทยูนิซีดีส์ จำกัด 1/87-88 ซอยพหลโยธิน 40 ถนนพหลโยธิน จตุจักร กรุงเทพฯ 10900
ลามินาร์ (ชนิดผงละลายน้ำ)	<i>Bacillus subtilis</i> 1x10 ⁹ cfu/g	บริษัทแอฟฟลายเค็ม(ประเทศไทย) จำกัด 186 หมู่ 5 ลาดปลาเค้า ถนนรามอินทรา บางเขน กรุงเทพฯ 10220

ภาคผนวก ข

รายชื่อผลงานวิจัยที่ได้ตีพิมพ์เผยแพร่แล้ว

เอกสารหมายเลข	ชื่อเรื่อง และการเผยแพร่
1	การสำรวจปริมาณเชื้อ <i>Pythium</i> spp. ในรากของผักสลัดที่ปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน. การสัมมนาวิชาการเกษตรประจำปี 2548 ในระหว่างวันที่ 24-25 มกราคม 2548. ณ ห้องประชุมกวีจตุติกุล คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จัดโดยคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
2	ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี ในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดที่เกิดจากเชื้อ <i>Pythium</i> ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน. การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 5 ในระหว่างวันที่ 26-29 เมษายน 2548 ณ โรงแรมเวลคัมจอมเทียนบีช พัทยา อ.บางละมุง จ.ชลบุรี. จัดโดยคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
3	ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี และจุลินทรีย์บริเวณเขตรากพืชที่แยกได้จากสลัดที่ปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Pythium myriotylum</i> . การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 5 ในระหว่างวันที่ 26-29 เมษายน 2548 ณ โรงแรมเวลคัมจอมเทียนบีช พัทยา อ.บางละมุง จ.ชลบุรี. จัดโดยคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

การสำรวจปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ในรากของผักสลัดที่ปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน
Occurrence and population density of *Pythium* spp. in lettuce root grown in hydroponics

พรหมมาศ กูหากาญจน์
Prommart Koohakan

ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

Department of Plant Pest Management Technology, Faculty of Agricultural Technology,
King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

บทคัดย่อ

ทำการเก็บตัวอย่างรากสลัด คอส เรดโอ๊ค และกรีนโอ๊ค จากต้นที่สมบูรณ์และต้นที่แสดงอาการของโรคโคนเน่ารากเน่า ที่ปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินแบบ nutrient film technique (NFT) ตลอดจนสารละลายธาตุอาหารที่ใช้ มาทำการตรวจนับปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. พบว่าเชื้อดังกล่าวสามารถตรวจพบได้ทั้งในส่วนของรากพืชจากต้นสมบูรณ์ ต้นที่เป็นโรค และในสารละลายธาตุอาหารในปริมาณที่แตกต่างกัน โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 1.9 – 2.7 Log cfu/g, 2.7 – 3.8 Log cfu/g และ 0.7 – 1.3 Log cfu/100 ml. ตามลำดับ ปริมาณเชื้อที่ตรวจพบในระบบปลูก และส่วนต่างของปริมาณเชื้อในรากจากต้นสมบูรณ์กับต้นที่แสดงอาการของโรคโคนเน่ารากเน่า จะมีความผันแปรโดยตรงกับน้ำหนักสดของพืชที่สูญเสียไป จากการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคในบางไอโซเลท พบว่ามีความสามารถในการทำให้เกิดโรคโคนเน่ารากเน่าได้อย่างรุนแรง แสดงว่าปริมาณเชื้อที่ได้รายงานไว้ในการศึกษาทดลองนี้มีสายพันธุ์ที่รุนแรงรวมอยู่ด้วย ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *Pythium* spp. มีความสามารถที่จะเจริญได้ดีในระบบ NFT และอาจจะพัฒนาเป็นระยะก่อโรคได้ตลอดเวลา หากได้รับสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเกิดโรค

Abstract

The amount of *Pythium* spp. in root of lettuces (cos, red oak and green oak) grown in nutrient film technique (NFT) was investigated. The results showed that *Pythium* spp. were generally found in the root of healthy plants and root rot symptom plants (which grown in the same growing bench), also their nutrient solution. The average of population density in healthy root and symptom root was 1.9-2.7 and 2.7-3.8 Log cfu/g, respectively whereas it was 0.7-1.3 Log cfu/100 ml in the nutrient solution. The results also showed that the population of *Pythium* spp. in the growing system affected to plant fresh weight directly. Pathogenicity test in some isolate of *Pythium* sp. showed highly degree of infection indicated that the amount of *Pythium* spp. reported here included pathogenic strain. Therefore, the occurrence of *Pythium* spp. in NFT is risk to root rot disease development whenever they are obtained the favorable conditions for pathogenic growth.

Keywords : *Pythium* spp., population density, lettuce, hydroponics

คำนำ

ปัจจุบันการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินได้เป็นที่รู้จักและพัฒนาไปสู่การผลิตในเชิงการค้ามากขึ้น ทั้งนี้สืบเนื่องมาจากการศึกษาวิจัย และการถ่ายทอดเทคโนโลยีอย่างต่อเนื่องจากสถาบันการศึกษาต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง นอกจากนี้กระแสความต้องการของผู้บริโภคในเรื่องของอาหารปลอดภัย (Food safety) ก็มีส่วนสำคัญอย่างยิ่งที่ผลักดันให้เกิดการขยายตัวของธุรกิจการปลูกพืชในระบบนี้ ในปัจจุบันคาดว่ามีเอกชนที่ดำเนินการประกอบธุรกิจการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินในประเทศไทย ไม่ต่ำกว่า 40 ราย โดยมีพื้นที่ปลูกมากกว่า 200 ไร่ พืชที่ปลูกส่วนใหญ่ได้แก่พืชผักที่ใช้ในการบริโภคสด โดยมีการส่งขายทั้งตลาดภายในและภายนอกประเทศ (ดิเรก, 2546) เหตุผลหลายประการที่ทำให้ระบบปลูกโดยไม่ใช้ดินเป็นที่ยอมรับกันอย่างกว้างขวาง ได้แก่ สามารถนำเอาระบบการปลูกพืชนี้ไปใช้ได้กับทุกสภาพพื้นที่ที่การเพาะปลูกตามปกติไม่สามารถทำได้ เป็นระบบการปลูกพืชที่มีการใช้น้ำและปุ๋ยได้อย่างมีประสิทธิภาพ สามารถลดปัญหาเรื่องโรคและแมลงศัตรูพืช ผลผลิตต่อหน่วยพื้นที่มากกว่าการปลูกพืชตามปกติ การจัดการในเรื่องผลผลิตมีความแน่นอนกว่า สามารถทำการปลูกได้ตลอดปี และมีการใช้แรงงานน้อย (Jensen and Collin, 1985; Resh, 1987) แต่ที่สำคัญที่สุดน่าจะเป็นในเรื่องของกระบวนการผลิตที่สามารถควบคุมและตรวจสอบได้ ตลอดจนการใช้ปัจจัยการผลิตอย่างคุ้มค่า ก่อให้เกิดผลกระทบต่อสภาพแวดล้อมน้อย จึงทำให้ผลผลิตที่ได้จากการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน เป็นที่ยอมรับในระดับสากล อย่างไรก็ตามการที่พืชที่ปลูกในระบบนี้ ได้รับสารละลายธาตุอาหารจากแหล่งเดียวกัน และมีการหมุนเวียนนำกลับมาใช้ใหม่ ดังนั้นหากเกิดการปนเปื้อนของเชื้อสาเหตุโรคพืชบางชนิดลงไปในระบบจ่ายสารละลายธาตุอาหาร จะทำให้การแพร่ระบาดเป็นไปได้อย่างรวดเร็ว และอาจก่อให้เกิดความเสียหายได้มากกว่าพืชที่ปลูกโดยวิธีตามปกติ เชื้อโรคที่เป็นปัญหาสำคัญในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินได้แก่ เชื้อ *Pythium* spp. ซึ่งเป็นสาเหตุของกลุ่มอาการรากเน่า-โคนเน่า เนื่องจากเชื้อชนิดนี้มีการสร้างส่วนขยายพันธุ์ที่เรียกว่า zoospore ซึ่งสามารถแพร่ระบาดได้ดีผ่านทางสารละลายธาตุอาหาร โดยสามารถก่อให้เกิดความเสียหายได้ถึง 100% ภายในระยะเวลา 2-3 วัน (Favrin et.al., 1988; Stanghellini and Rasmussen, 1994)

มีรายงานว่า เชื้อ *Pythium* spp. สามารถปนเปื้อนเข้ามาในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินได้หลายวิธี เช่น มากับน้ำที่ใช้ในการเตรียมสารละลายธาตุอาหาร วัสดุปลูก ต้นกล้าที่อ่อนแอ เศษฝุ่นละอองต่างๆ ที่อาจปลิวตกลงไปในถังจ่ายสารละลายธาตุอาหาร หรือติดมากับแมลงพาหะบางชนิดจำพวกแมลงวันกินเชื้อรา (Stanghellini and Rasmussen, 1994) ถึงแม้ว่าในปัจจุบันจะมีการพัฒนาระบบการฆ่าเชื้อในสารละลายธาตุอาหาร และน้ำที่ใช้ในการเตรียมสารละลาย รวมไปถึงระบบการจัดการฟาร์มที่มีประสิทธิภาพ เช่น การปลูกในสภาพโรงเรือนปิด ที่มีระบบการฆ่าเชื้อและสุขาภิบาลเป็นอย่างดี ปัญหาเรื่องโรคโคนเน่ารากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* spp. ก็ยังไม่สามารถขจัดให้หมดไปได้อย่างสิ้นเชิง (Paulitz and Balenger, 2001) จากเหตุผลดังกล่าว จึงได้ทำการสำรวจปริมาณเชื้อชนิดนี้ในรากสลัดที่ปลูกเป็นการค้าในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินแบบ nutrient film technique (NFT) ที่ทำการปลูกทั้งในสภาพโรงเรือนปิด (closed greenhouse) และสภาพกลางแจ้ง (outdoor system) เพื่อใช้เป็นข้อมูลสำหรับจัดการโรคนี้ได้อย่างเหมาะสมต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. การเก็บตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างจากฟาร์มเอกชนในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล ที่ทำการปลูกผักสลัด ทั้งในสภาพโรงเรือนปิด และสภาพกลางแจ้งเป็นประจำสัปดาห์เว้นสัปดาห์ เป็นระยะเวลา 4 เดือน ส่วนที่ใช้ ได้แก่ รากพืชทั้งจากต้นที่สมบูรณ์ และที่แสดงอาการของโรคโคนเน่ารากเน่า ตลอดจนสารละลายธาตุอาหารจาก โตะปลูกเดียวกัน พืชแต่ละชนิดจะทำการเก็บตัวอย่างๆ ละ 3-5 ต้น ตัวอย่างทั้งหมดจะถูกเก็บรักษาไว้ใน กล่องโฟม ก่อนที่จะทำการส่งเข้าห้องปฏิบัติการ เพื่อตรวจแยกและนับปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ต่อไป

2. การตรวจนับปริมาณเชื้อ *Pythium* spp.

1) การแยกเชื้อจากรากจะใช้วิธี surface dilution plate methods โดยการนำเอารากพืชมาทำความสะอาดด้วยน้ำ แล้วซับให้แห้ง จากนั้นสุมตัวอย่างจำนวน 1 กรัมมาบดในน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 10 มล. suspension ที่ได้จะถูกนำมาเจือจางเป็นลำดับขั้น (dilution series) ใน 0.3% water agar ตัวอย่างละ 3-4 ความเข้มข้น จากนั้นจึงนำ suspension ในแต่ละความเข้มข้น จำนวน 1 มล. มาเพาะเชื้อบนอาหารจำเพาะ (selective media) สำหรับตรวจเชื้อ *Pythium* spp. ซึ่งได้แก่อาหาร CMA+BNPRA-Rb (อาหาร corn meal agar ที่มีส่วนผสมของ benomyl 10 ppm. nystatin 25 ppm., PCNB 25 ppm. rifampicin 10 ppm., ampicillin 500 ppm. และ rose bengal 50 ppm.) (จิระเดช และคณะ, 2534) โดยในแต่ละความเข้มข้นจะมีจำนวน 3 ซ้ำ การตรวจนับเชื้อจะกระทำในเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากการบ่มเชื้อ

2) การตรวจนับเชื้อจากสารละลายธาตุอาหาร จะใช้วิธี baiting technique โดยนำเมล็ดแตงร้าน มาแช่ไว้ในตัวอย่างสารละลายที่จะทำการตรวจนับเชื้อ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้ส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อ (zoospore) ว่ายน้ำเข้าหาเหยื่อล่อ จากนั้นจึงทำการย้ายเมล็ดแตงร้านดังกล่าวไปวางบนอาหาร CMA+BNPRA-Rb บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงทำการตรวจนับเมล็ดแตงร้านที่มีโคโลนีของเชื้อ *Pythium* spp. เกิดขึ้น เชื้อ *Pythium* spp. ที่ทำการตรวจนับในแต่ละครั้ง จะถูกนำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และเก็บรักษาไว้เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

3. การประเมินความเสียหายเนื่องจากเชื้อ *Pythium* spp.

ตัวอย่างพืชต้นสมบูรณ์และพืชต้นเป็นโรค เนื่องจากเชื้อ *Pythium* spp. จะถูกนำมาชั่งน้ำหนักสด และเปรียบเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์ น้ำหนักที่สูญเสียไปเนื่องจากเชื้อดังกล่าว

4. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค

เชื้อ *Pythium* spp. ที่แยกได้จากรากพืชที่เป็นโรค จะถูกนำมาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค ในเบื้องต้นเชื้อแต่ละไอโซเลทที่แยกได้จากผักสลัดที่แสดงอาการของโรคโคนเน่ารากเน่า จะถูกนำมาทดสอบกับผักสลัดไทย (ผักกาดหอม) อายุประมาณ 1 เดือนที่ปลูกในดิน ส่วนของเชื้อก่อโรคที่ใช้ได้แก่ ส่วนเส้นใยของ *Pythium* sp. แต่ละไอโซเลท ที่เลี้ยงในอาหาร V8 broth เป็นเวลา 7 วัน และนำไปบดป็น (Mycelial segments) จากนั้นทำการตรวจนับจำนวนต้นที่แสดงอาการของโรคโคนเน่ารากเน่า ภายในระยะเวลา 1 เดือน หลังจากการปลูกเชื้อ ในขั้นตอนต่อไป ไอโซเลทที่แสดงอาการของโรครุนแรง จะถูกนำไปทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคร่วมกับผักสลัดพันธุ์ต่างประเทศที่ปลูกในระบบ NFT อีกครั้งหนึ่ง

ผลการทดลอง

1. ปริมาณและการแพร่กระจายของเชื้อ *Pythium* spp. ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินแบบ NFT

ปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ในรากสลัดคอสที่ปลูกบนราง NFT ในสภาพโรงเรือนปิดที่มีระบบควบคุมอุณหภูมิ จะพบเชื้อได้ในปริมาณตั้งแต่ 1.6-2.3 Log cfu/g และ 2.0-3.6 Log cfu/g ในรากพืชจากต้นสมบูรณ์ และต้นที่เป็นโรครากดำ ส่วนปริมาณเชื้อในสารละลายธาตุอาหารพบได้ในปริมาณ 0.7-1.9 Log cfu/100 ml. (Figure 1A) ในสลัดเรดโอ๊คที่ปลูกในสภาพโรงเรือนตาข่าย ร่วมกับโรงเรือนปิดที่มีระบบควบคุมอุณหภูมิ พบปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ในรากพืชจากต้นสมบูรณ์ และรากพืชจากต้นที่เป็นโรคเท่ากับ 1.1-2.3 Log cfu/g และ 2.1-3.6 Log cfu/g ตามลำดับ ส่วนปริมาณเชื้อในสารละลายธาตุอาหารพบได้ในปริมาณเท่ากับ 0.5-2.1 Log cfu/100 ml. (Figure 1B) ส่วนปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ในสลัดกรีนโอ๊ค ที่ปลูกในสภาพกลางแจ้ง (outdoor system) พบเชื้อได้ในปริมาณเท่ากับ 2.1-3.2 Log cfu/g และ 3.3-4.3 Log cfu/g ในรากพืชจากต้นสมบูรณ์ และต้นที่เป็นโรครากดำ ส่วนปริมาณเชื้อในสารละลายธาตุอาหารพบได้ในปริมาณเท่ากับ 0.5-1.8 Log cfu/100 ml. (Figure 1C)

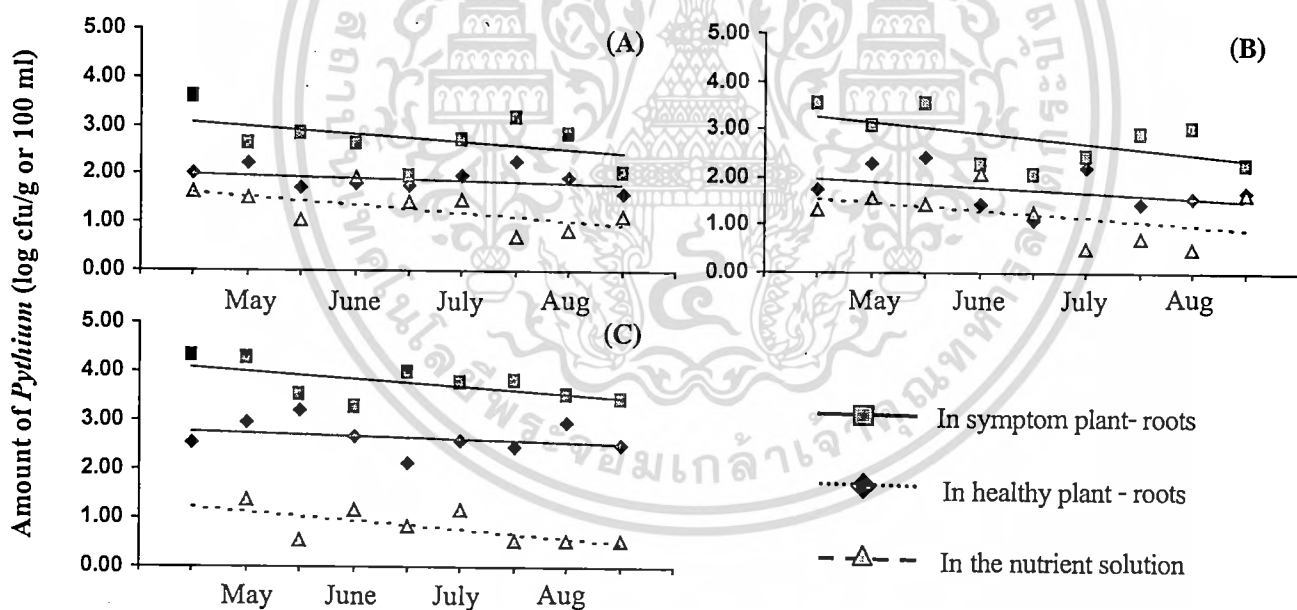


Figure 1 The amount of *Pythium* spp. in lettuces roots and nutrient solution of commercial nutrient film technique facility: lines in the figure show the tendency of population during May-August 2004.

- (A) Cos grown in evaporation greenhouse
- (B) Red oak grown in net greenhouse
- (C) Green oak grown under outdoor system

การแพร่กระจายของเชื้อ *Pythium* spp. ในระบบ NFT ที่ทำการเก็บตัวอย่างจากทั้ง 3 แหล่งปลูก ในระหว่างเดือนพฤษภาคม-สิงหาคม มีแนวโน้มที่จะลดลง ทั้งในส่วนของปริมาณเชื้อในรากจากต้นสมบูรณ์, รากจากต้นพืชที่เป็นโรค และในสารละลายธาตุอาหาร โดยที่การลดลงของปริมาณเชื้อในส่วนของรากพืชที่เป็นโรคร่วมกับในสารละลายธาตุอาหาร ค่อนข้างที่จะมีความสัมพันธ์กัน (tendency lines in Figure 1)

2. ความเสียหายเนื่องจากเชื้อ *Pythium* spp. ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินแบบ NFT

เปอร์เซ็นต์น้ำหนักพืชที่สูญเสียไป เนื่องจากโรคโคนเน่ารากเน่า เมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่สมบูรณ์ ได้แสดงผลไว้ใน Table 1 ร่วมกับสรุปรายงานปริมาณเชื้อต่ำสุด, สูงสุด และค่าเฉลี่ยที่ตรวจพบในแต่ละตัวอย่าง

Table 1 A summary table of *Pythium* population in NFT during May – August 2004 and plant weight loss caused by *Pythium* spp.

Samples	Population in root (Log cfu/g)		Population in the nutrient solution (Log cfu/100 ml.)	Differential ^{1/} population (Log cfu/g)	Plant weight loss (%)
	Healthy plant	Symptom plant			
1. Cos grown in evaporation greenhouse					
Min	1.6	2.0	0.7		
Max	2.3	3.6	1.6		
Average	1.9	2.7	1.3	0.8	45.4
2. Red oak grown in net greenhouse					
Min	Below MDP ^{2/}	2.1	Below MDP		
Max	2.4	3.6	2.1		
Average	1.8	2.8	1.2	1.0	49.2
3. Green oak grown under outdoor system					
Min	2.1	3.3	Below MDP		
Max	3.2	4.3	1.8		
Average	2.7	3.8	0.7	1.3	55.6

^{1/} The difference of *Pythium* population between healthy plant and symptom plant

^{2/} MDP = Minimal detectable population; in root is Log_{1.12} cfu/g (13.3 cfu/g), in nutrient solution is Log_{0.52} cfu/100ml (3.3 cfu/100 ml)

จากตารางจะพบว่า *Pythium* spp. เป็นเชื้อที่สามารถตรวจพบได้ทั้งจากรากพืชของต้นสมบูรณ์ และต้นที่แสดงอาการของโรคเน่ารากเน่า ในรากสลัดจากต้นสมบูรณ์จะพบอยู่ในช่วงค่าเฉลี่ยประมาณ 1.9-2.7 Log cfu/g ส่วนในรากพืชของต้นที่เป็นโรค ปริมาณเชื้อจะพบได้มากกว่า โดยพบได้ในช่วงค่าเฉลี่ย

ประมาณ 2.7-3.8 Log cfu/g ส่วนปริมาณเชื้อในสารละลายธาตุอาหารพบในช่วงค่าเฉลี่ยประมาณ 0.7-1.3 Log cfu/100 ml ส่วนต่างของปริมาณเชื้อที่ตรวจนับได้ในสลัดแต่ละชนิด ที่ได้จากการทดลองนี้มีค่าค่อนข้างผันแปรโดยตรงกับเปอร์เซ็นต์น้ำหนักของพืชที่สูญเสียไป โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์ความสูญเสียเท่ากับ 45.4, 49.2 และ 55.6 ในสลัดคอส, เรดโอ๊ค และกรีนโอ๊ค ตามลำดับด้วย (Table 1)

3. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค

การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อ *Pythium* sp. แต่ละไอโซเลท กับผักกาดหอมที่ปลูกในดิน พบว่า เกือบทุกไอโซเลททำให้ต้นผักกาดหอมแสดงอาการของโรคโคนเน่ารากเน่า ได้ภายในระยะเวลา 1 เดือน เมื่อเปรียบเทียบกับกรทดลองชุดควบคุม ในจำนวนนี้มีไอโซเลท RD8 ทำให้พืชเป็นโรครุนแรงที่สุด (ไม่ได้แสดงผลไว้ ณ ที่นี้) จึงถูกนำมาทดสอบต่อในระบบ NFT จากการใช้ส่วนของเส้นใย (mycelial segments) ของเชื้อ *Pythium* sp. RD8 ความเข้มข้นประมาณ 10^5 propagules/ml จำนวน 200 ml เทราดผ่านลงไปใ้ในราง NFT ที่ปลูกผักสลัดชนิดต่างๆ พบว่า จะทำให้ต้นสลัดดังกล่าวแสดงอาการเป็นโรค 100 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 3 วัน ดังแสดงไว้ใน Figure 2

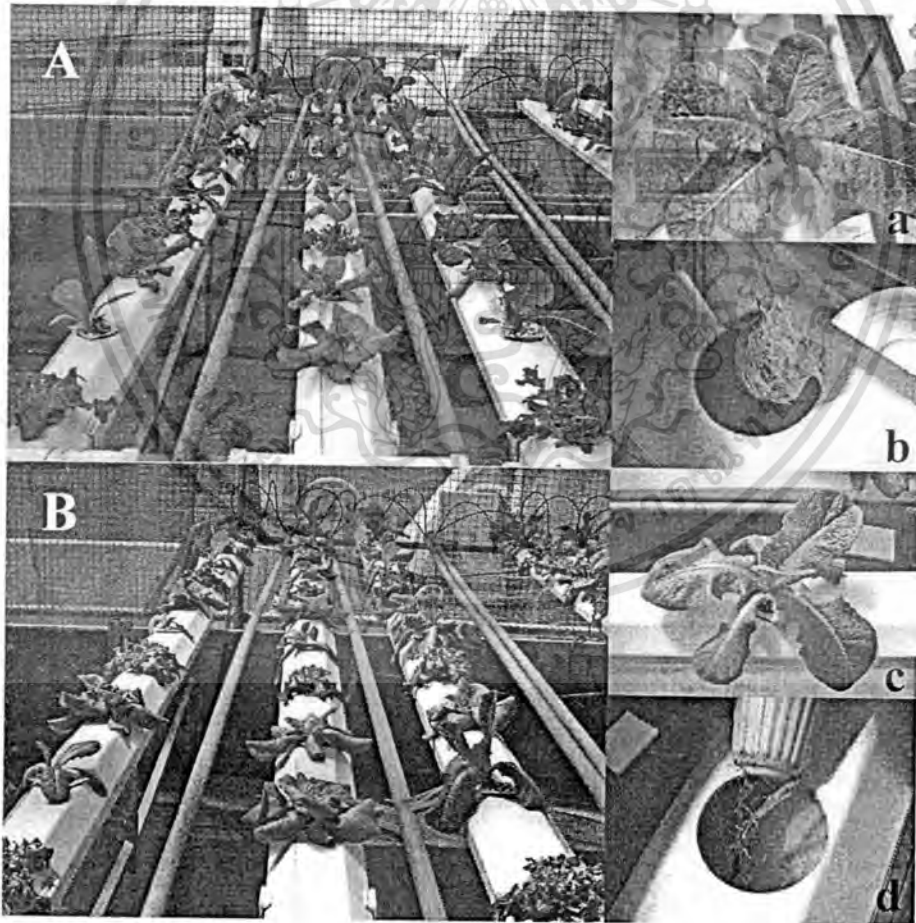


Figure 2 Pathogenicity test of *Pythium* sp. RD8 isolated from lettuce root grown in NFT

- | | | |
|-----------------------------|--------------------|--------------------------|
| A) Before inoculation | a) Healthy lettuce | b) Root of healthy plant |
| B) 3 days after inoculation | c) Symptom lettuce | d) Root of symptom plant |

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *Pythium* spp. เป็นเชื้อที่สามารถตรวจพบได้ทั่วไปในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินแบบ NFT เนื่องจากสามารถตรวจพบได้จากตัวอย่างพืช และสารละลายธาตุอาหารทุกตัวอย่างที่ทำการปลูกในสภาพต่างๆ กัน นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อดังกล่าวสามารถตรวจพบได้ทั้งจากรากพืชจากต้นสมบูรณ์และต้นพืชที่แสดงอาการของโรคโคนเน่ารากเน่า ที่ปลูกอยู่ในโต๊ะปลูกเดียวกัน สันนิษฐานได้ว่า เชื้อดังกล่าวมีความสามารถที่จะเจริญได้ทั้งในระยะที่เป็นระยะก่อโรค (pathogenic growth) และระยะฟักตัว (saprophytic growth) ในระบบ NFT สอดคล้องกับที่ Jensen and Hockenhull (1995) ได้รายงานไว้ใน การทดลองนี้แม้ว่ายังไม่ได้ทำการจัดจำแนกเชื้อ *Pythium* spp. ที่ทำการตรวจนับ แต่จากการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคในบางไอโซเลท พบว่า มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคโคนเน่ารากเน่าได้อย่างรุนแรง จึงทำให้คาดได้ว่าปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ที่ได้รายงานไว้ใน การทดลองนี้ ได้รวมถึงสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรครุนแรง (pathogenic strain) ไว้ด้วย การที่เชื้อ *Pythium* spp. มีการหมุนเวียนแพร่กระจายอยู่ในระบบ NFT ตลอดเวลา ทำให้เสี่ยงต่อการเป็นโรคโคนเน่ารากเน่าได้สูง หากได้รับสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเกิดโรค ด้วยเหตุผลดังกล่าวจึงมักพบเสมอว่า อัตราการเกิดโรคและความรุนแรงของโรคดังกล่าว ในผักสลัดที่ทำการปลูกเป็นการค้าในระบบ NFT จะพบได้มากในช่วงฤดูร้อน หรือในบางฟาร์มที่มีการสุขาภิบาลที่ไม่ดีเท่าที่ควร

โดยปกติเชื้อ *Pythium* ที่เป็นสาเหตุสำคัญของโรค โคนเน่ารากเน่าในพืชผักที่ปลูกในเขตร้อน ได้แก่ เชื้อ *P. aphanidermatum* ซึ่งเชื่อกันว่าจะทำให้เกิดอาการเนื้อเยื่อตาย (Necrosis) ที่บริเวณ โคน หรือบริเวณ ราก เป็นผลทำให้ต้นพืชแสดงอาการเหี่ยวเฉา และตายอย่างเฉียบพลัน (van der Plaats-Niterink, 1981) ในต้นแตงกวาอังกฤษผลยาว (Long English cucumber) ที่ถูกเชื้อนี้เข้าทำลายความเสียหายอาจสูงถึง 100% (Favrin et.al, 1988) จากการทดลองนำเอาแตงกวาอังกฤษผลยาวมาปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินแบบมีวัสดุปลูก (substrate culture) ในสภาพแวดล้อมของเขตลาดกระบัง กทม. พบว่าการระบาดของโรคโคนเน่ารากเน่า จะรุนแรงที่สุดในช่วงฤดูร้อน รองลงมาคือ ฤดูฝน โดยจะทำให้พืชเป็นโรคตาย 100% ภายใน 3 วัน จากการจัดจำแนกเชื้อสาเหตุพบว่า คือเชื้อ *P. aphanidermatum* เช่นกัน (พรหมมาศ, 2540) อย่างไรก็ตามในผักสลัดมีรายงาน ว่า เชื้อสาเหตุที่สำคัญ ได้แก่ *P. myriotylum* และ *P. dissotocum* (Stanghellini and Kronland, 1986; Stanghellini et.al., 1998) สำหรับอาการในผักสลัดที่พบในการทดลองนี้ จะมีอาการรากเป็นสีน้ำตาลแดง-เน่า และอาจขาดหลุดออกจากถ้วยปลูก พืชจะแสดงอาการเหี่ยวเฉา และตายในที่สุด ไม่ค่อยพบอาการเน่าที่บริเวณ โคน ในต้นที่ยังไม่ตาย หรือสามารถฟื้นตัวได้ ก็พบว่าจะทำให้การเจริญเติบโตลดลง ซึ่งจากการทดลองนี้พบว่า น้ำหนักที่สูญเสียไปเนื่องจากอาการของโรคดังกล่าวพบว่าอยู่ในราวๆ 45-55% และค่อนข้างมีความสัมพันธ์กับปริมาณเชื้อที่ตรวจพบในระบบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งส่วนต่างของปริมาณเชื้อในรากพืชจากต้นที่สมบูรณ์ กับ รากพืชจากต้นที่แสดงอาการของโรค

ปริมาณเชื้อ *Pythium* ที่ตรวจพบในแต่ละช่วงเวลาก่อนข้างมีความผันแปรแตกต่างกัน เนื่องจากเป็นตัวอย่างพืชที่ปลูกคนละชุดกัน และอาจมีอายุแตกต่างกันบ้างขึ้นอยู่กับช่วงเวลาที่เข้าไปเก็บตัวอย่าง อย่างไรก็ตาม ตัวอย่างที่นำมาทดลองในครั้งนี้ จะมีระยะเวลาที่ยูบโนโตะปลูกอย่างน้อย 2 สัปดาห์ เพื่อให้แน่ใจว่าปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ที่ได้รายงานไว้ ณ ที่นี้เป็นปริมาณเชื้อที่ตรวจพบได้จริงในระบบปลูก แต่ละค่าที่ปรากฏบนกราฟได้มาจากระบบปลูกเดียวกัน ที่มีการให้สารละลายธาตุอาหารจากแหล่งเดียวกันภายใต้สภาพการปลูกที่เหมือนกัน ดังนั้นปริมาณเชื้อที่ได้รายงานไว้นี้ อาจพอที่จะทำให้มองเห็นภาพรวมของการแพร่กระจายของเชื้อ ในรากพืชจากต้นสมบูรณ รากพืชจากต้นที่เป็นโรค และในสารละลายธาตุอาหารภายในช่วงระยะเวลาหนึ่งได้ ซึ่งจากการทดลองพบว่า ปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ที่ทำการเก็บตัวอย่างในระหว่างเดือน พฤษภาคม – สิงหาคม จากสภาพการปลูกทั้งในโรงเรือนและกลางแจ้ง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.9-2.7 Log cfu/g, 2.7-3.8 Log cfu/g และ 0.7-1.3 Log cfu/100 ml. ตามลำดับ ปริมาณเชื้อในรากที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับสภาพการปลูกและการจัดการฟาร์มเป็นสำคัญ โดยพบว่าการปลูกในสภาพโรงเรือน (Figure 1A and B) จะมีปริมาณเชื้อที่ตรวจพบก่อนข้างน้อยกว่าที่ปลูกในสภาพกลางแจ้ง (Figure 1C) เป็นที่น่าสังเกตว่าปริมาณเชื้อที่ตรวจพบในรากพืชจากต้นสมบูรณก่อนข้างจะมีการเปลี่ยนแปลงน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับส่วนอื่นๆ และมีส่วนต่างกับรากพืชจากต้นที่เป็นโรค โดยเฉลี่ยประมาณ 1 หน่วย Log cfu/g หรือประมาณ 10 เท่า ค่าประมาณดังกล่าวอาจใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการพยากรณ์การเกิดโรคได้ หากมีการพัฒนาวิธีการตรวจหาปริมาณเชื้อในราก ให้มีความรวดเร็วและถูกต้องแม่นยำยิ่งขึ้น

ในการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่ารากเน่าในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินที่กระทำโดยทั่วไป ได้แก่ การกำจัดหรือลดปริมาณเชื้อสาเหตุที่อยู่ในสารละลายธาตุอาหารด้วยวิธีการต่างๆ อาทิเช่น การใช้แสง UV การใช้ความร้อน การกรอง ฯลฯ (Runia, 1995) ในการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า *Pythium* spp. เป็นเชื้อที่ตรวจพบได้ทั่วไปในระบบ NFT ซึ่งเชื่อดังกล่าวอาจเจริญอยู่ในระยะพักตัว โดยยังไม่ทำอันตรายต้นพืช แต่สามารถพัฒนาเป็นระยะก่อโรคได้ หากสภาพแวดล้อมเหมาะสม นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณเชื้อที่ตรวจพบในระบบปลูก ก่อนข้างมีความสัมพันธ์กับน้ำหนักพืชที่สูญเสียไป ปริมาณเชื้อที่ได้รายงานไว้ใน การทดลองนี้ แม้จะมีความผันแปรแตกต่างกันไปในแต่ละฟาร์มที่เข้าไปเก็บตัวอย่าง แต่ก็อาจใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการศึกษาวิจัยต่อไปได้ อย่างไรก็ตามพบว่า ส่วนต่างระหว่างปริมาณเชื้อในรากพืชจากต้นสมบูรณ กับต้นที่เป็นโรคจะมีค่าโดยเฉลี่ยประมาณ 10 เท่า ข้อมูลดังกล่าวอาจใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการจัดการโรคโคนเน่ารากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* และชี้ให้เห็นว่าการควบคุมปริมาณเชื้อสาเหตุที่อยู่ในรากพืชให้อยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดโรค จะเป็นวิธีการหนึ่งที่สำคัญในการป้องกันกำจัดโรคนี้ได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ รศ.ดร.จริยา วิสิทธิ์พานิช และ รศ.ดร.อิทธิสุนทร นันทกิจ ที่ให้คำแนะนำในการดำเนินงานวิจัย, ผศ.ดร.อนิมนันต์ เจนอักษร ที่ให้คำแนะนำทางด้านวิชาการ และขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยครั้งนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- จิระเดช แจ่มสว่าง, วนิตา พงษ์ศักดิ์ชาติ และวรรณวิไล เกษนรา. 2534. การตรวจนับปริมาณเชื้อ *Pythium aphanidermatum* ในดิน โดยวิธีเจือจางดินและการใช้เหยื่อล่อ. วิทยาศาสตร์เกษตร 25 : 39-46.
- ดิเรก ทองอร่าม. 2546. การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน : หลักการจัดการการผลิตและเทคโนโลยีการผลิตเชิงธุรกิจในประเทศไทย. ซีเอ็ดยูเครอน จำกัด. กรุงเทพฯ
- พรหมมาศ คูหากาญจน์. 2540. การสำรวจโรคของแตงกวายุโรปในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.
- Favrin, R.J., Rahe, J.E. and Mouza, B. 1988. *Pythium* spp. associated with crown rot cucumber In British Columbia greenhouse. Plant Disease 72 : 683-687.
- Jensen, M.H. and Collin, W.C. 1985. Hydroponic vegetable production. Horticultural Reviews 7 : 483-558.
- Jensen, D.F. and Hockenhull, J. 1995. Influence of some factors on the severity of *Pythium* root rot of lettuce in soilless (hydroponic) growing system. Acta Horticulturae 33 : 129-136.
- Paulitz, T.C. and Belanger, R.R. 2001. Biological control in greenhouse systems. Annual Reviews of Phytopathology 39: 103-133.
- Resh, H.M. 1987. Hydroponic food production : A definition guidebook of soilless food growing methods 3rd edition. Woodbridge Press Publishing Co. Sanfa Barbage, California.
- Runia, W.T. 1995. A review of possibilities for disinfection of recirculation water from soilless cultures. Acta Horticulturae 382: 221-229.
- Stanghellini, M.E. and Kronland, W.C. 1986. Yield loss in hydroponically grown lettuce attributed to subclinical infection of feeder rootlets by *Pythium dissotocum*. Plant Disease 70 : 1053-1056.
- Stanghellini, M.E. and Rasmussen, S.L. 1994. Hydroponics: A solution for zoospore pathogens. Plant Disease 78: 1129-1138.
- Stanghellini, M.E., Kim, D.H., Rakocy, J., Gloger, K and Klinton, H. 1998. First report of root rot of hydroponically grown lettuce caused by *Pythium myriotylum* in a commercial production facility. Plant disease 82 : 831.
- van der Plaats-Niterink, A.J. 1981. Monograph of genus *Pythium*. Studies in Mycology No 21. Centraalbureau voor Schimmelculture, Baarn.

ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี ในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัด
ที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน

Efficiency of some biological control products for controlling *Pythium* root rot of lettuce grown in hydroponics

พรหมมาศ คูหากาญจน์¹ และ อธิติสุนทร นันทกิจ²
Prommart Koohakan¹ and Itthisuntorn Nantagij²

Abstract

Four commercial products of *Trichoderma harzianum* and *Bacillus subtilis* based biological control agent (BCA) were tested their efficiency for controlling *Pythium* root rot of lettuce grown in hydroponics. The experiment was conducted in the nutrient film technique (NFT) and artificially inoculated with *Pythium* sp., the pathogen of root rot disease. The results of the first crop with highly degree of infection showed that all of the BCA products either applied into the nutrient solution at the concentration of 10^4 cfu/ml or to seedling-root (2-3wk of age) at the concentration of 10^8 cfu/ml (10 ml per plant) could not reduced disease severity. In the second crop with moderately degree of infection, however, one BCA product of *T. harzianum* and *B. subtilis* showed a potential to decrease disease loss. Disease severity of lettuce in the treatment of those BCAs applied into the nutrient solution at the concentration of 10^5 cfu/ml before inoculation was significantly lower than inoculation-control. In addition, the average fresh weight of that *T. harzianum* based BCA treatment was higher than healthy-control. However, some product of *T. harzianum* showed detrimental effects to plant root when it was applied into the nutrient solution at the excess concentration.

บทคัดย่อ

การทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี ที่ได้จากเชื้อรา *Trichoderma harzianum* และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ที่มีขายในท้องตลาดจำนวน 4 ผลิตภัณฑ์ ในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินแบบ nutrient film technique (NFT) พบว่าในการทดลองที่มีสภาพการเกิดโรคอย่างรุนแรง การใช้สารควบคุมโดยชีววิธีใส่ลงไปในสารละลายธาตุอาหาร ในอัตราประมาณ 10^4 cfu/ml หรือให้แก่ต้นพืชในระยะต้นกล้า (อายุประมาณ 2-3 สัปดาห์) ในอัตรา 10^8 cfu/ml จำนวน 10 ml ต่อต้น ก่อนการปลูกเชื้อ ไม่สามารถลดความเสียหายเนื่องจากเชื้อ *Pythium* sp. ได้ แต่ในการทดลองที่มีสภาพการเกิดโรคไม่รุนแรงนัก พบว่าผลิตภัณฑ์ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีที่ได้จาก *T. harzianum* บางผลิตภัณฑ์ และ *B. subtilis* มีแนวโน้มที่จะลดความเสียหายจากเชื้อ *Pythium* sp. ได้ เมื่อทำการใส่ลงไปในสารละลายธาตุอาหาร ในอัตราประมาณ 10^5 cfu/ml ก่อนการปลูกเชื้อ โดยมีความรุนแรงของการเกิดโรคต่ำกว่าการทดลองชุดควบคุม (inoculation control) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำหนักสดเฉลี่ยต่อต้นของผักสลัด ในกรรมวิธีที่มีการใช้ผลิตภัณฑ์ของ *T. harzianum* ดังกล่าว จะมากกว่าการทดลองชุดควบคุมที่ไม่ได้ทำการทรีตด้วยสารควบคุมโดยชีววิธี และไม่ทำการปลูกเชื้อ (healthy control) ด้วย อย่างไรก็ตามพบว่าผลิตภัณฑ์ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีที่ได้จาก *T. harzianum* บางผลิตภัณฑ์ เมื่อใส่ลงไปในสารละลายธาตุอาหารในความเข้มข้นที่สูงเกินไป อาจทำให้รากพืชเน่าได้

¹ ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

Department of Plant Pest Management Technology, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520

² ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

Department of Soil Science, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520

คำนำ

ปัจจุบันการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินได้เป็นที่รู้จักและพัฒนาไปสู่การผลิตในเชิงการค้ามากขึ้น ทั้งนี้สืบเนื่องมาจากการศึกษาวิจัย และการถ่ายทอดเทคโนโลยีอย่างต่อเนื่องจากสถาบันการศึกษาต่างๆ นอกจากนี้กระแสดความต้องการของผู้บริโภค ในเรื่องของอาหารปลอดภัย (Food safety) ก็มีผลสำคัญอย่างยิ่งที่ผลักดันให้เกิดการขยายตัวของธุรกิจการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินอย่างต่อเนื่อง คาดว่าปัจจุบันมีเอกชนที่ดำเนินการประกอบธุรกิจทางด้านนี้ในประเทศไทย ไม่ต่ำกว่า 40 ราย โดยมีพื้นที่ปลูกไม่ต่ำกว่า 200 ไร่ (ดิเรก, 2546) ในการป้องกันกำจัดโรคในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ค่อนข้างมีมาตรฐานที่เข้มงวดกว่าการปลูกพืชโดยวิธีปกติ เนื่องจากพืชที่ปลูกส่วนใหญ่ เป็นพืชผักที่ใช้ในการบริโภคสด สารเคมีประเภท Pesticides หรือสารอื่นๆ ที่คาดว่าจะมีแนวโน้มจะส่งผลกระทบต่อผู้บริโภค ในหลายๆ ประเทศจะไม่อนุญาตให้นำมาใช้กับระบบปลูกพืชชนิดนี้ ดังนั้นจึงต้องทำการศึกษาค้นคว้า หาวิธีการจัดการโรคให้เหมาะสมทั้งในแง่ของประสิทธิภาพและความปลอดภัยต่อผู้บริโภค จากเหตุผลดังกล่าวจึงได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (Biological control products) บางชนิด ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด เพื่อศึกษาความเป็นได้ในการนำมาใช้ควบคุมโรครากเน่าของผักสลัด ที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* ในระบบปลูกพืชดังกล่าว

อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการปลูกผักสลัด (lettuce) ชนิดต่างๆ ในรางปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินแบบ NFT จำนวน 2 crop โดยใช้สารละลายธาตุอาหารที่มีค่าความเข้มข้นประมาณ 1.4-1.6 mS/cm² และปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้อยู่ในช่วง 5.8-6.0 ตลอดการทดลอง เมื่อพืชทดลองมีอายุได้ประมาณ 3 สัปดาห์ จึงเข้าสู่แผนการทดลองดังนี้ : crop ที่ 1 มีจำนวน 6 กรรมวิธี (Tr); Tr1 และ Tr2 ทำการทรีตด้วยผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* และ *T. harzianum* ลงในสารละลายธาตุอาหาร ในอัตรา 10⁴ cfu/ml ตามลำดับ; Tr3 และ Tr4 ทำการทรีตด้วยผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* และ *T. harzianum* แก่ต้นพืชในอัตรา 10⁵ cfu/ml (จำนวน 10 ml ต่อต้น) ตามลำดับ; และ Tr5 และ Tr6 ได้แก่ inoculation control และ healthy control ตามลำดับ : crop ที่ 2 เป็นการทรีต BCA ลงในสารละลายธาตุอาหาร ในอัตรา 10⁵ cfu/ml ดังนี้ Tr1, Tr2 และ Tr3 เป็นผลิตภัณฑ์ของ *T. harzianum* ในรูปแบบต่างๆ คือ ของเหลว (spore suspension); สูตรผงละลายน้ำ (formulated powder) ชนิดที่ 1 และ 2, ตามลำดับ; Tr4 ได้แก่ผลิตภัณฑ์ของ *B. subtilis*; Tr5 และ Tr6 ได้แก่ inoculation control และ healthy control ตามลำดับ การปลูกเชื้อจะกระทำเมื่อพืชทดลองมีอายุได้ประมาณ 4 สัปดาห์ โดยใช้ส่วนของเส้นใย (mycelial segment) ของเชื้อ *Pythium* sp. สาเหตุโรครากเน่าในผักสลัด เทราดผ่านรางปลูกพืช หรือใส่ลงไปในสารละลายธาตุอาหารในอัตราประมาณ 10⁴-10⁵ propagules/ml. จากนั้นจึงทำการประเมินความรุนแรงของการเกิดโรคเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ทำการเก็บเกี่ยวและเปรียบเทียบน้ำหนักสดของพืชทดลองในแต่ละกรรมวิธีเมื่ออายุประมาณ 6 สัปดาห์

ผลการทดลอง

1. ความรุนแรงของการเกิดโรค

ใน crop ที่ 1 ซึ่งมีสภาวะการเกิดโรคอย่างรุนแรงพบว่า กรรมวิธีที่ทำการทรีตด้วยผลิตภัณฑ์ BCA ชนิดต่างๆ (Tr1 – Tr4) ไม่สามารถลดความรุนแรงของโรคได้ เมื่อเปรียบเทียบกับ inoculation control (Tr5) ส่วนใน crop ที่ 2 ที่มีสภาวะการเกิดโรคต่ำพบว่า กรรมวิธีที่ทำการทรีตด้วยผลิตภัณฑ์ *T. harzianum* สูตรผงชนิดที่ 2 (Tr3) และผลิตภัณฑ์ *B. subtilis* (Tr4) มีความรุนแรงของการเกิดโรคต่ำกว่า inoculation control (Tr5) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Fig. 1)

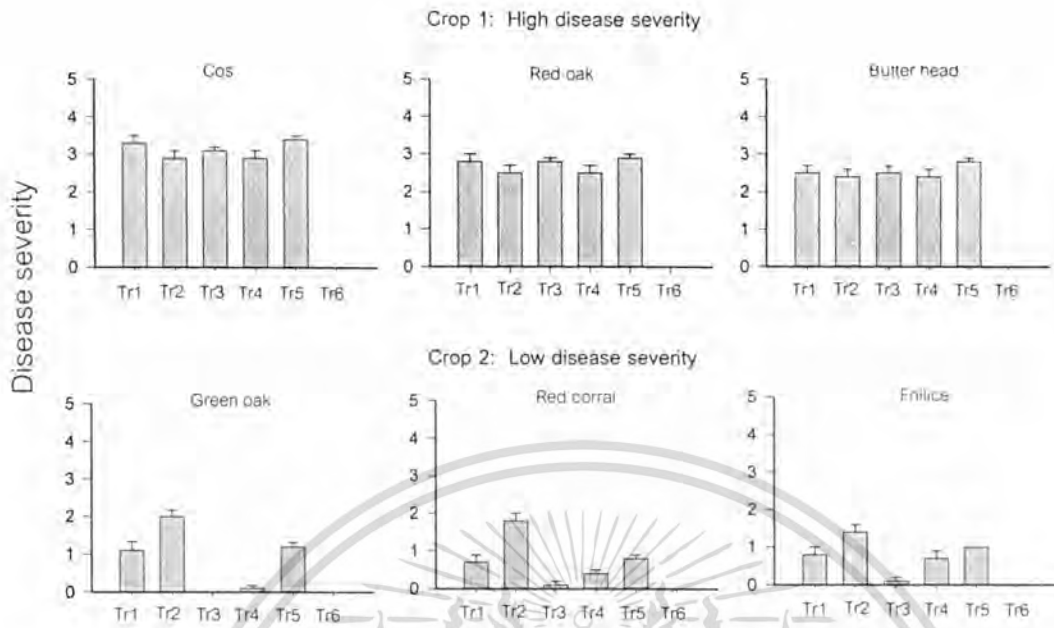


Fig. 1 Disease severity of lettuces grown in NFT treated with each biological control product followed by inoculation with *Pythium* root rot pathogen.

Disease severity was evaluated at 7 day after inoculation by 0=healthy plant; 1=brown root; 2=brown and rot root; 3=rot and temporary wilted; 4=rot and permanent wilted; 5=death plant; Treatment description of each crop was detailed in Table1

2. การเจริญเติบโต

ใน crop ที่ 1 พบว่า น้ำหนักต้นสดของสลัด คอส เรดโอ๊ค และบัตเตอร์เฮด ที่ทำการทรีตด้วยผลิตภัณฑ์ BCA (Tr1-Tr4) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับ inoculation control (Tr5) ใน crop ที่ 2 พบว่า สลัดกรีนโอ๊ค เรดคอร์รอล และฟิเลีย ที่ทำการทรีตด้วยผลิตภัณฑ์ *T. harzianum* สูตรผสมชนิดที่ 2 (Tr3) จะมีน้ำหนักต้นสดดีที่สุด แต่ผลิตภัณฑ์ *T. harzianum* อีกผลิตภัณฑ์หนึ่งคือ สูตรผสมชนิดที่ 1 (Tr2) จะต่ำที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่นๆ (Table 1)

Table 1 Shoot fresh weight of lettuce (g / plant) grown in NFT treated with each biological control product followed by inoculation with *Pythium* root rot pathogen.

Crop 1	Lettuce varieties		
	Cos	Red oak	Butterhead
Applied the BCA products into the nutrient solution or to the root			
Tr1: <i>B. subtilis</i> based BCA applied into nutrient solution	43.8 ^B	30.4 ^B	60.0 ^B
Tr2: <i>T. harzianum</i> based BCA applied into nutrient solution	42.6 ^B	36.3 ^B	64.9 ^B
Tr3: <i>B. subtilis</i> based BCA applied to root	34.2 ^B	36.5 ^B	49.4 ^B
Tr4: <i>T. harzianum</i> based BCA applied to root	44.2 ^B	32.6 ^B	57.7 ^B
Tr5: Inoculation control	44.0 ^B	34.1 ^B	60.7 ^B
Tr6: Healthy control	115.0 ^A	75.5 ^A	91.3 ^A

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Crop 2	Lettuce varieties		
	Green oak	Red oak	Frillice
Applied the BCA products into the nutrient solution			
Tr1: <i>T. harzianum</i> based BCA (spore suspension)	119.9 ^{AB}	89.3 ^A	46.7 ^{BC}
Tr2: <i>T. harzianum</i> based BCA (formulated powder product 1)	60.2 ^C	59.9 ^B	37.3 ^C
Tr3: <i>T. harzianum</i> based BCA (formulated powder product 2)	140.4 ^A	106.3 ^A	73.3 ^A
Tr4: <i>B. subtilis</i> based BCA (formulated powder)	95.7 ^{BC}	92.0 ^A	59.7 ^{ABC}
Tr5: Inoculation control	115.4 ^{AB}	98.9 ^A	61.9 ^{ABC}
Tr6: Healthy control	127.3 ^{AB}	100.2 ^A	65.0 ^{AB}

วิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองนี้พบว่า การนำเอาผลิตภัณฑ์ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีที่มีขายในท้องตลาด ซึ่งในการทดลองนี้ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ของ *T. harzianum* และ *B. subtilis* มาใช้ในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดที่ปลูกในระบบ NFT สามารถกระทำได้ในสภาพการเกิดโรคที่ไม่รุนแรง โดยการใส่ลงไปในการละลายธาตุอาหาร ในอัตราประมาณ 10^5 cfu/ml. ก่อนการปลูกเชื้อ ซึ่งจะช่วยลดความรุนแรงของการเกิดโรคได้ในระดับหนึ่ง อย่างไรก็ตามพบว่าในสภาวะที่มีการเกิดโรคอย่างรุนแรง การใช้ผลิตภัณฑ์ BCA ดังกล่าวไม่สามารถลดความเสียหายจากโรคได้ เนื่องจากกลไกโดยทั่วไปของ BCA ก็คือการแข่งขัน (competition) และการเป็นปฏิปักษ์ (antagonisms) กับเชื้อสาเหตุโรคพืช (Whipp, 2001) ดังนั้น BCA ที่ใส่เข้าไปในระบบจะต้องมีความสามารถในการอยู่รอดด้วยจึงจะทำหน้าที่ได้อย่างมีประสิทธิภาพ มีรายงานว่า การใช้ *T. harzianum* เพื่อควบคุมโรครากดำ (back rot) ของแตงกวาที่เกิดจากเชื้อ *Phomopsis sclerotioides* ที่ปลูกในวัสดุปลูกโยหิน พบว่าจำนวนประชากร *T. harzianum* จะลดลงเรื่อยๆ (Thinggaard, 1989) ดังนั้นวิธีการหนึ่งในการที่จะรักษาระดับประชากรของ BCA คือการใส่ BCA ลงในระบบอย่างต่อเนื่อง ในกรณีของ *Pseudomonas chlororaphis* พบว่าควรจะมีปริมาณขั้นต่ำในรากพืชประมาณ 10^5 cfu/g จึงจะสามารถควบคุมโรครากเน่าของ pepper ที่ปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินได้ (Chatterton et.al., 2004) การใช้ผลิตภัณฑ์ควบคุมโดยชีววิธีที่มีขายในท้องตลาด ในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดที่ปลูกในระบบ NFT ให้ผลทั้งในเชิงบวกและเชิงลบ ผลิตภัณฑ์ของ *T. harzianum* สูตรชนิดที่ 2 ให้ผลทั้งในการควบคุมโรค และส่งเสริมการเจริญของพืช ในขณะที่ผลิตภัณฑ์ของ *T. harzianum* สูตรชนิดที่ 1 อาจเป็นอันตรายต่อพืชหากใช้ในอัตราที่สูงเกินไป (10^8 cfu/ml nutrient solution) ซึ่งอาจเป็นผลมาจากสายพันธุ์และการผสมสูตร (formulation) ที่แตกต่างกันในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินแม้จะมีความเหมาะสมต่อการควบคุมโดยชีววิธี เนื่องจากจุลินทรีย์เริ่มต้นในระบบมีน้อย (Paulitz, 1997) แต่เนื่องจากในระบบ NFT รากพืชอยู่ในสภาพเปลือยเปล่า (bare root) การนำเอาจุลินทรีย์ที่ไม่อ่อนโยนต่อพืช หรือสิ่งแปลกปลอมที่อยู่ในส่วนผสมของแต่ละผลิตภัณฑ์เข้าไปในระบบมากเกินไป อาจมีผลกระทบต่อพืชได้ง่ายเช่นกัน

สรุปผลการทดลอง

การใช้ผลิตภัณฑ์ควบคุมโดยชีววิธีที่มีขายในท้องตลาด ในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดที่ปลูกในระบบ NFT มีความเป็นไปได้ในระดับหนึ่ง แต่มีข้อจำกัดบางประการที่จะต้องทำการศึกษาค้นคว้าทดลองต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ดิเรก ทองอร่าม. 2546. การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน : หลักการจัดการการผลิตและเทคโนโลยีการผลิต เจริญกิจในประเทศไทย. ซี.เอ็ดดูเคชั่น จำกัด. กรุงเทพฯ

Chatterton, S., J.C. Sutton and G.J. Boland. 2004. Timing *Pseudomonas chlororaphis* application to control *Pythium aphanidermatum*, *Pythium dissotocum*, and root rot in hydroponic peppers. *Biological control* 30: 360-373.

Paulitz, T.C. 1997. Biological control of root pathogens in soilless and hydroponic system. *HortScience* 32: 193-196.

Thinggaard, K. 1989. Biological control of root pathogenic fungi by Trichoderma. Interrelationships between microorganisms and plants in soil. *Proceedings of an International Symposium, Liblice, Czechoslovakia, Jun. 22-27, 1987: 395-401*

Whipps, J.M. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *J. Exp. Bot.* 52: 487-511

ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี และจุลินทรีย์บริเวณเขตรากพืชที่แยกได้จากสลัดที่ปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Pythium myriotylum*

Efficiency of some biological control products and rhizobacteria isolated from lettuce root hydroponically grown for inhibition the growth of *Pythium myriotylum*

พรหมมาศ คุหากาญจน์¹ และ อิทธิสุนทร นันทกิจ²
Prommart Koohakan¹ and Itthisuntorn Nantagij²

Abstract

Biological control agents (BCA) from *Trichoderma harzianum* and *Bacillus subtilis* were tested their efficiency to inhibit the growth of *Pythium myriotylum*, the causal agent of root rot disease in lettuce. The BCA products were *in vitro* tested at the concentration of 10^3 - 10^6 cfu/ml. The results showed that all of the BCA products could inhibit the growth of *P. myriotylum*. Three kinds of BCA from *T. harzianum*; the spore suspension, the formulated powder product 1, and the formulated powder product 2 could inhibit the pathogen growth at 22-100%, 77-100% and 100 %, respectively. The product of *B. subtilis* could inhibit the pathogen growth at 56-90%. In the other experiment, some rhizobacteria isolated from lettuce grown in hydroponics initially 16 isolates were tested at the concentration of 10^6 cfu/ml. The results showed that all of the isolates could inhibit the growth of *P. myriotylum* as same as the BCA products. Their percentages of inhibition were in range of 38-96%. The results from this experiment indicated that rhizobacteria isolated from hydroponics grown plant might be the potential BCA for controlling root rot disease in this growing system.

บทคัดย่อ

ผลิตภัณฑ์ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี ที่ได้จากเชื้อ *Trichoderma harzianum* และ *Bicillus subtilis* ได้ถูกนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pythium myriotylum* สาเหตุโรครากเน่าในผักสลัด ในสภาพ *in vitro* โดยใช้ในอัตราตั้งแต่ 10^3 - 10^6 cfu/ml พบว่าทุกผลิตภัณฑ์สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Pythium myriotylum* ได้ ผลิตภัณฑ์ของ *T. harzianum* 3 ชนิด ; ชนิดที่ 1 ซึ่งอยู่ในรูปของสารแขวนลอยสปอร์ (spore suspension), ชนิดที่ 2 ซึ่งอยู่ในรูปของสูตรผงละลายน้ำ (formulated powder), ชนิดที่ 3 ซึ่งอยู่ในรูปของสูตรผงละลายน้ำเช่นกัน สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุได้ 22-100, 77-100 และ 100% ตามลำดับ ส่วนผลิตภัณฑ์ของ *B. subtilis* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคได้ 56-90% ในอีกการทดลองหนึ่ง แบคทีเรียบริเวณเขตรากพืชที่แยกได้จากรากสลัดที่ปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ในเบื้องต้นจำนวน 16 ไอโซเลท ได้ถูกนำมาทดสอบ โดยใช้ในอัตรา 10^6 cfu/ml พบว่าทุกไอโซเลทสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pythium myriotylum* ในสภาพ *in vitro* ได้เช่นกัน โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งตั้งแต่ 38-96 % ผลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าแบคทีเรียบริเวณเขตรากพืชที่แยกได้จากระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน อาจเป็นจุลินทรีย์อีกกลุ่มหนึ่งที่มีศักยภาพในการพัฒนามาเป็นสารควบคุมโดยชีววิธี ในการควบคุมโรครากเน่าของผักสลัดที่ปลูกในระบบปลูกพืชชนิดนี้ได้

¹ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

Department of Plant Pest Management Technology, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520

²ภาควิชาปุ๋ยพืชวิทยา คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

Department of Soil Science, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520

คำนำ

ปัญหาที่สำคัญประการหนึ่งของการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินก็คือ ปัญหาเรื่องโรคโคนเน่ารากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* spp. เนื่องจากเชื้อชนิดนี้มีการสร้างส่วนขยายพันธุ์ที่เรียกว่า zoospore ซึ่งสามารถแพร่ระบาดได้ดีผ่านทางสารละลายธาตุอาหาร และยังคงตรวจพบได้เป็นประจำในระบบปลูกพืชดังกล่าว (พรหมมาศ และ คณะ, 2539; พรหมมาศ, 2548) ในผักสลัดที่ทำการปลูกเป็นการค้าในระบบ Nutrient film technique (NFT) พบว่าปัญหาดังกล่าวจะพบได้มากในช่วงฤดูร้อน การใช้วิธีทางกายภาพเพื่อกำจัดเชื้อสาเหตุในสารละลายธาตุอาหาร เป็นวิธีการหนึ่งที่มีประสิทธิภาพแต่ก็อาจทำให้จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ถูกทำลายลงไปด้วย ส่งผลให้ความรุนแรงของโรคอาจสูงกว่าในระบบปลูกที่มีความหลากหลายของจุลินทรีย์ หากเชื้อ *Pythium* spp. ที่เป็นสาเหตุของโรคพืชมีการทวีจำนวนขึ้นมา ในปัจจุบันจึงเริ่มมีแนวความคิดที่จะนำเอาจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์มาใช้ในการควบคุมเชื้อ *Pythium* spp. ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน Weller (1988) กล่าวว่า ผลสำเร็จของการใช้จุลินทรีย์ในการควบคุมโรคพืชนั้น ขึ้นอยู่กับความสามารถในการมีชีวิตรอดของจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่เป็นสารควบคุมโดยชีววิธี (Biological control agents: BCA) ในสภาพแวดล้อมที่นำไปใช้ และจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคในพืชชนิดใดชนิดหนึ่งก็ควรได้มาจากจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ร่วมกับรากพืชชนิดนั้นๆ หรือในสภาพแวดล้อมที่ทำการปลูกพืชชนิดนั้น จากเหตุผลดังกล่าวจึงได้ทำการแยกเชื้อ *Pythium* sp. ที่เป็นสาเหตุของโรครากเน่าในผักสลัด ทำการจัดจำแนก และทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี ตลอดจน จุลินทรีย์บริเวณเขตรากพืช (rhizobacteria) ที่แยกได้จากสลัดที่ปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Pythium* sp. สายพันธุ์ดังกล่าว

อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการแยกเชื้อ *Pythium* sp. จากรากของผักสลัดต้นที่แสดงอาการของโรครากเน่าที่ปลูกเป็นการค้าในระบบ NFT ทำการจัดจำแนก และทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค ส่วนในรากของผักสลัดต้นที่สมบูรณ์แข็งแรง ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียบริเวณเขตรากพืช (rhizobacteria) ทำการเก็บรักษาเชื้อ ไอโซเลทที่แยกได้จะถูกนำมาทดสอบความเป็นพิษกับพืชโดยทำการเพาะเมล็ดพืชทดสอบบนกระดาดชกรอง แล้วรดด้วย bacterial suspension ของแต่ละไอโซเลท เปรียบเทียบกับ control (น้ำกลั่น) แล้ววัดเปอร์เซ็นต์การงอกและความยาวราก ในการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุในสภาพ *in vitro* กระทำโดยเตรียมอาหาร nutrient solution broth : NS-broth (สารละลายธาตุอาหารที่ใช้ในการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน + 1% sucrose) ที่มีส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ BCA ชนิดต่างๆ ได้แก่ *T. harzianum* จำนวน 3 ผลิตภัณฑ์ และจาก *B. subtilis* จำนวน 1 ผลิตภัณฑ์ ในอัตราความเข้มข้นตั้งแต่ 10^3 - 10^6 cfu/ml และที่มีส่วนผสมของ rhizobacteria บางไอโซเลทที่ผ่านการทดสอบเบื้องต้นกับพืชแล้วในอัตราความเข้มข้น 10^6 cfu/ml control ได้แก่ อาหาร NS-broth ที่ไม่มีส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ BCA หรือ rhizobacteria ไอโซเลทใดๆ จากนั้นนำ agar plug ของ *Pythium* sp. สายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคใส่ลงในอาหารดังกล่าว บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน จึงกรองเอาเฉพาะส่วนของเส้นใย ออบให้แห้ง แล้วชั่งน้ำหนักเปรียบเทียบกับ control

ผลการทดลอง

1. การจัดจำแนกเชื้อ *Pythium* sp. สาเหตุโรครากเน่าของผักสลัด และการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค

จากการจัดจำแนกเชื้อสาเหตุ พบว่าเป็นเชื้อ *Pythium myriotylum* ซึ่งเชื้อดังกล่าวมีความสามารถในการทำให้เกิดโรคในผักสลัดคอส เรดโอ๊ค และบัตเตอร์เฮด ได้อย่างรุนแรง (Fig. 1)



Fig. 1 Disease severity of lettuces inoculated with *P. myriotylum* (A: before inoculation, B: three days after inoculation) ; Oospore of *P. myriotylum* (C).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การแยก rhizobacteria และทดสอบความเป็นพิษต่อพืช

rhizobacteria ที่แยกจากสลัดที่ปลูกในระบบ NFT ประมาณ 100 ไอโซเลท กำลังอยู่ในขั้นตอนการทดสอบความเป็นพิษต่อพืช ในเบื้องต้นมี 16 ไอโซเลท ได้แก่ C2, C3, C4, C5, C7, C10, R1, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9, R10 และ R11 ได้ผ่านการทดสอบแล้ว พบว่าไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การงอกและความยาวราก (ไม่ได้แสดงผลไว้ในที่นี้) จึงถูกนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *P. myriotylum* ในสภาพ *in vitro*

3. การทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. myriotylum*

ผลการทดสอบพบว่า ที่ความเข้มข้น $10^3 - 10^6$ cfu/ml ทุกผลิตภัณฑ์สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *P. myriotylum* ได้ตั้งแต่ 22-100% ดังนี้ *T. harzianum* ชนิดสารแขวนลอยสปอร์ ยับยั้งได้ 22-100, *T. harzianum* สูตรผงชนิดที่ 1 ยับยั้งได้ 77-100, *T. harzianum* สูตรผงชนิดที่ 2 ยับยั้งได้ 96-100 และ *B. subtilis* สูตรผง ยับยั้งได้ 56-90 (Fig. 2)

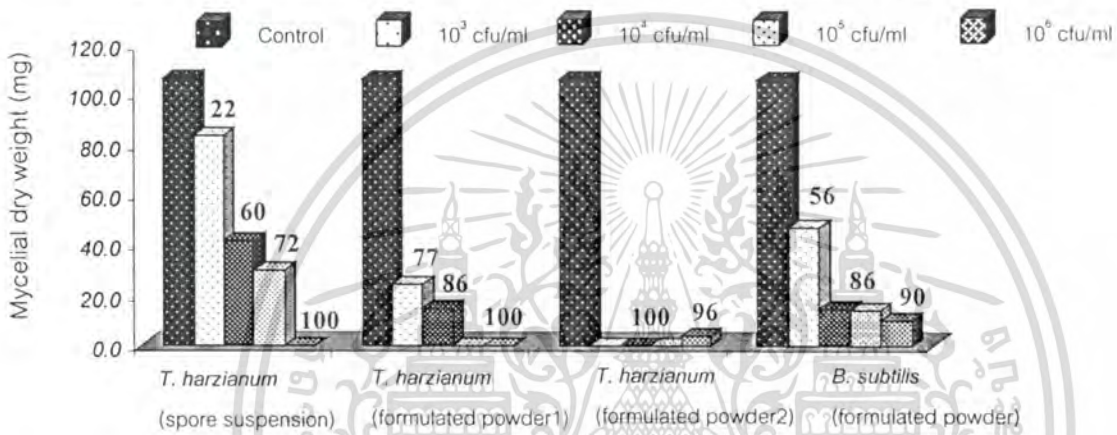


Fig. 2 Mycelial dry weight of *P. myriotylum* in NS-broth contained with some biological control product at various concentrations: Number on each bar indicated the inhibitory percentage.

4. การทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ที่แยกได้ในบริเวณเขตรากพืช ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. myriotylum*

ผลการทดสอบพบว่า ทุกไอโซเลทที่นำมาทดสอบสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *P. myriotylum* ได้ตั้งแต่ 38-96% โดยที่ ไอโซเลทที่สามารถยับยั้งได้มากกว่า 90% ได้แก่ ไอโซเลท C2, C10, R1, R3, R5, R6, R7, R8, R9 และ R10 (Fig. 3)

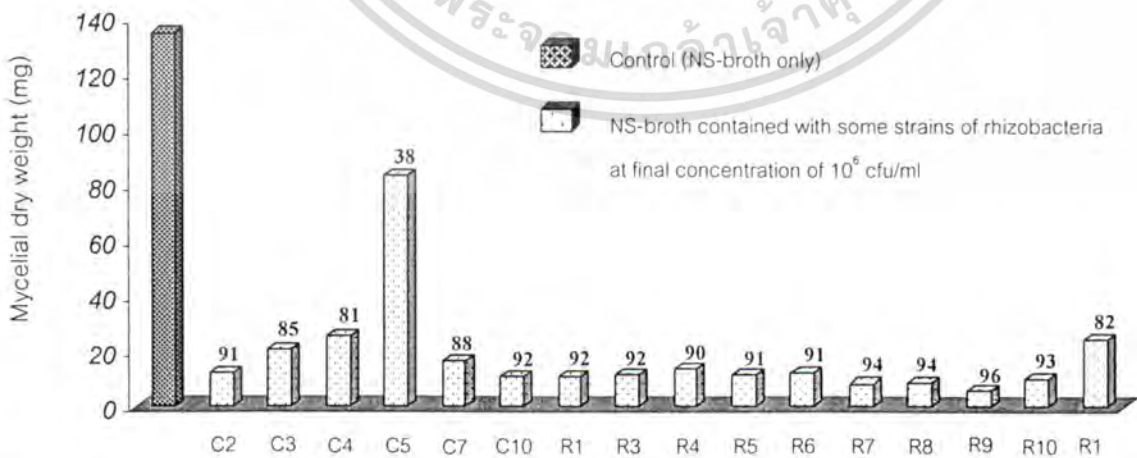


Fig. 3 Mycelial dry weight of *P. myriotylum* in NS-broth contained with some strain of rhizobacteria isolated from lettuce root grown in NFT: Number on each bar indicated the inhibitory percentage.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองนี้พบว่าเชื้อ *Pythium* sp. ที่เป็นสาเหตุของโรครากเน่าของผักสลัดที่ปลูกในระบบ NFT คือเชื้อ *P. myriotylum* สอดคล้องกับที่ Stanghellini *et al.* (1998) ได้รายงานไว้ ซึ่งเชื่อดังกล่าวมีลักษณะที่แตกต่างจาก *P. aphanidermatum* ตรงที่ antheridia (เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้) ส่วนใหญ่จะเป็นแบบ terminal (ปลายเส้นใย) จำนวน 3-6 อันมาเกาะกับ oogonium (เซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย) ในขณะที่ *P. aphanidermatum* ส่วนใหญ่จะเป็นแบบ intercalary (ระหว่างเส้นใย) มากกว่า terminal และมีจำนวนเพียง 1-2 อันมาเกาะกับ oogonium (van der Plaats-Niterink, 1981) ในการทดสอบประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ควบคุมโดยชีววิธีในการยับยั้งการเจริญของ เชื้อ *P. myriotylum* พบว่าทุกผลิตภัณฑ์สามารถยับยั้งได้ตั้งแต่ 22-100% ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นที่ใช้ ซึ่งความแตกต่างดังกล่าวอาจเป็นผลมาจากสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน และการ formulate (ผสมสูตร) ที่แตกต่างกันของแต่ละผลิตภัณฑ์ ทำให้กลไกในการควบคุมและการมีชีวตรอดของ BCA แตกต่างกันไป อย่างไรก็ตามอย่างไรก็ตามพบว่าที่ความเข้มข้น 10^6 cfu/ml ทุกผลิตภัณฑ์จะมีผลในการยับยั้งเกือบสมบูรณ์ ดังนั้น ในการทดสอบประสิทธิภาพของ rhizobacteria จึงใช้ในอัตราความเข้มข้นที่ 10^6 cfu/ml ด้วย ผลการทดสอบพบว่าเกือบทุกไอโซเลทสามารถยับยั้งการเจริญของ *P. myriotylum* ได้มากกว่า 80% และทุกไอโซเลทได้ผ่านการทดสอบความเป็นพิษกับต้นพืชมาแล้ว ซึ่งพบว่าไม่มีผลใดๆ การนำเอา rhizobacteria มาใช้ในการควบคุมเชื้อ *Pythium* spp. ในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินมีการศึกษาค่อนข้างมากพอสมควร โดยพบว่าส่วนใหญ่แล้วจะอยู่ในกลุ่มของ *Bacillus subtilis*, และ fluorescent *Pseudomonads* (Grosch *et al.*, 2001; Paulitz and Belanger, 2001) ผลการศึกษาในครั้งนี้รวมถึงของคณะผู้วิจัยท่านอื่นๆ แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียกลุ่มนี้อาจมีศักยภาพในการพัฒนามาเป็นสารควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินได้

สรุปผลการทดลอง

1. เชื้อ *Pythium* sp. ที่เป็นสาเหตุของโรครากเน่าของผักสลัดที่ปลูกเป็นการค้าในระบบ NFT คือเชื้อ *Pythium myriotylum*
2. ผลิตภัณฑ์ควบคุมโดยชีววิธีที่ได้จาก *T. harzianum* และ *B. subtilis* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. myriotylum* ได้ดีในสภาพ *in vitro* โดยพบว่าที่ความเข้มข้น 10^6 cfu/ml มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญได้เกือบสมบูรณ์
3. มีความเป็นไปได้ว่า rhizobacteria ที่แยกได้จากระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน อาจมีศักยภาพในการพัฒนามาเป็นสารควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี ในการควบคุมโรครากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* ในระบบปลูกพืชชนิดนี้ได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ รศ.ดร.จริยา วิสิทธิ์พานิช ที่ให้คำแนะนำในการดำเนินงานวิจัย, ผศ.ดร.ถนิมนันต์ เจนอักษร ที่ให้คำแนะนำทางด้านวิชาการ และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ที่ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- พรหมมาศ คุณากาญจน์, ศุภชัย รตโนภาส และถนิมนันต์ เจนอักษร. 2539. การแพร่กระจายของเชื้อราบางชนิดในสารละลายหมุ่เน่เยนของระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน. ว. เกษตรพระจอมเกล้า 14: 26-37.
- พรหมมาศ คุณากาญจน์. 2548. การสำรวจปริมาณเชื้อ *Pythium* spp. ในรากของผักสลัดที่ปลูกในระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน. รวมบทคัดย่อ การสัมมนาวิชาการเกษตร ประจำปี 2548. จัดโดยมหาวิทยาลัยขอนแก่น. 24-25 มกราคม 2548: 123.
- Grosch, R., A. Kofoet and H. Junge. 2001. Biological control of root pathogens in soilless culture using bacteria. Acta Hort. 548: 393-400.
- Paulitz, T.C. and R.R. Belanger. 2001. Biological control in greenhouse system. Ann. Rev. Phytopathol. 39: 103-133.
- Stanghellini, M.E., D.H. Kim, J. Rakocy, K. Gloger and H. Kinton, 1998. First report of root rot of hydroponically grown lettuce caused by *Pythium myriotylum* in a commercial production facility. Plant Disease 82: 831.
- Weller, D.M. 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. Ann. Rev. Phytopathol. 26: 379-407
- van der Plaats-Niterink, A.J. 1981. Monograph of the genus *Pythium*. Studies in Mycology No21, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn. 242 pp.