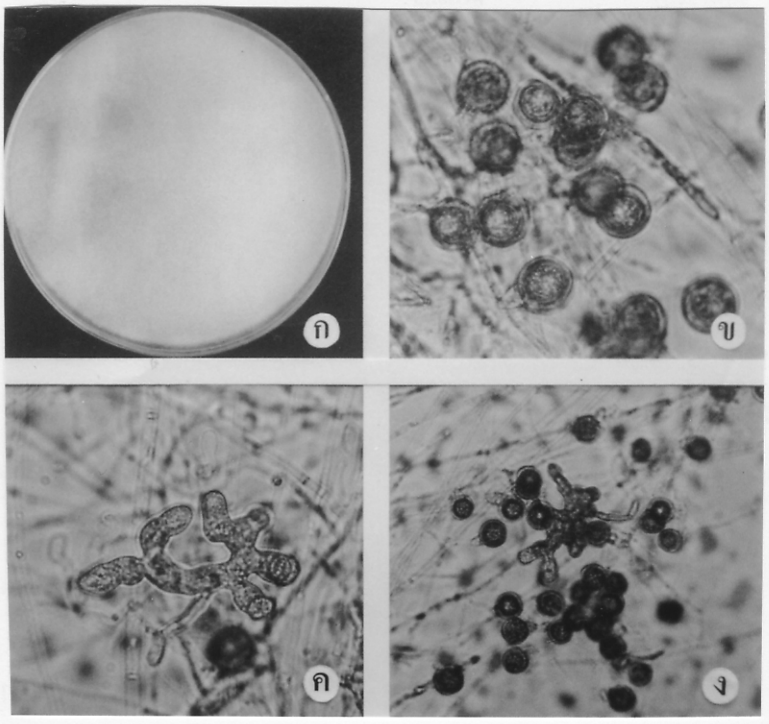
บทที่ 3

ผลการทดลอง

1. เชื้อ *P. aphanidermatum* สาเหตุโรคเน่าคอดิน

สามารถแยกได้เชื้อบริสุทธิ์ ที่มีลักษณะเส้นใย (mycelia) บนอาหาร PDA เมื่อดูด้วยตาเปล่ามีสีขาว และสีใส (hyaline) เมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ขนาดความกว้าง 5-10 ไมครอน ไม่มีผนังกั้นตามขวาง (non-septae) sporangium มีลักษณะเป็น inflated filamentous (ภาพที่ 4) เมื่อชักนำให้เกิด zoospore โดยวิธีการของ Quimio (1978) พบว่าเชื้อสามารถปลดปล่อยสปอร์จำนวนมากและมีการเคลื่อนไหวอย่างรวดเร็ว ส่วน oospore ที่พบมีลักษณะกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโดยเฉลี่ย 25 ไมครอน ผนังสปอร์เรียบ เป็นแบบ aplerotic คือมีช่องว่างตรงผนังของสปอร์ ลักษณะการเกิดของ antheridium เป็นแบบ monoclinous มีอัตราการเจริญเฉลี่ย 30 มิลลิเมตรต่อวัน บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 2)และเมื่อเปรียบเทียบกับ key ของ ประไพพร ศิริคติธรรม (2537) และ Plaats-Niterink (1981) สามารถจำแนกได้เป็น เชื้อ *P. aphanidermatum*



ภาพที่ 4 เชื้อ *P. aphanidermatum* ที่แยกได้จากดินจากแปลงผัก

ก. โคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

ข. oospore แบบ aplerotic (300x)

ค. sporangium แบบ inflated filamentous (300x)

ง. oospore และ sporangium แบบ inflated filamentous (150x)

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *Pythium aphanidermatum* ที่แยกได้จากการทดลอง กับ key ของ ประไพพร ศิริคติธรรม (2537)

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา	*P. aphanidermatum* ที่แยกได้	*P. aphanidermatum* (ประไพพร ศิริคติธรรม,2537)
Sporangium		
- รูปร่าง	inflated filamentous	inflated filamentous
Oospore		
- ขนาด	25 ไมครอน*	26.90-29.59ไมครอน
- รูปร่าง	กลม, aplerotic	กลม, aplerotic
Mycelium ขนาด	1.00-5.00 ไมครอน	1.34-4.04 ไมครอน
อัตราการเจริญ	30 มิลลิเมตร/วัน บน PDA	30 มิลลิเมตร/วัน บน CMA
ลักษณะการเกาะติดของ antheridium	monoclinous	monoclinous เป็นส่วนใหญ่

หมายเหตุ *: ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวัดสปอร์จำนวน 20 สปอร์

2. เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

จุลินทรีย์ที่แยกได้จากดินเพื่อนำไปทดสอบความมีศักยภาพการเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อเชื้อ *Pythium aphanidermatum* จากดิน 4 แหล่ง แหล่งละ 5 แปลง พบว่าสามารถแยกเชื้อรา *Trtichoderma* spp. ได้จำนวน 137 สายพันธุ์ แหล่งที่พบสายพันธุ์เชื้อรา *Trtichoderma* spp มาก คือ ดินจาก อ. ท่าแพ จ. สตูล ส่วนดินจาก อ. ควนกาหลง จ.สตูล และ อ. ควนเนียง จ. สงขลา พบเชื้อราที่คาดว่าจะเป็นเชื้อราปฏิปักษ์จำนวนน้อย (ตารางที่ 3) ส่วนเชื้อแบคทีเรียสามารถแยกได้จำนวน 549 สายพันธุ์ โดยแหล่งที่พบปริมาณเชื้อแบคทีเรียมาก คือ ดินจาก อ. ควนเนียง จ. สงขลา (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 3 จำนวนสายพันธุ์เชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้จากดินแหล่งต่าง ๆ

แหล่งดิน	จำนวนสายพันธุ์	Code No.
อ.ท่าแพ จ.สตูล		
-แปลงที่ 1	29	(T01-1→T01-29)
-แปลงที่ 2	26	(T02-1→T02-26)
-แปลงที่ 3	4	(T03-1→T03-4)
-แปลงที่ 4	22	(T04-1→T04-22)
-แปลงที่ 5	12	(T05-1→T05-12)
รวม	**93**	
อ.ควนเนียง จ.สงขลา		
-แปลงที่ 1	0	-
-แปลงที่ 2	0	-
-แปลงที่ 3	0	-
-แปลงที่ 4	0	-
-แปลงที่ 5	9	(T10-1→T10-9)
รวม	**9**	
อ.เมือง จ.สตูล		
-แปลงที่ 1	15	(T11-1→T11-15)
-แปลงที่ 2	2	(T12-1→T12-2)
-แปลงที่ 3	10	(T13-1→T13-10)
-แปลงที่ 4	0	-
-แปลงที่ 5	2	(T15-1→T15-2)
รวม	**29**	
อ.ควนกาหลง จ.สตูล		
-แปลงที่ 1	1	(T16-1)
-แปลงที่ 2	-	-
-แปลงที่ 3	1	(T18-1)
-แปลงที่ 4	-	-
-แปลงที่ 5	4	(T20-1→T20-4)
รวม	**6**	
รวมทั้งสิ้น	**137**	

ตารางที่ 4 จำนวนสายพันธุ์เชื้อแบคทีเรีย ที่แยกได้จากดินแหล่งต่าง ๆ

แหล่งดิน	จำนวนสายพันธุ์	Code No.
อ.ท่าแพ จ.สตูล		
-แปลงที่ 1	33	(B01-1→B01-33)
-แปลงที่ 2	24	(B02-1→B02-24)
-แปลงที่ 3	24	(B03-1→B03-24)
-แปลงที่ 4	33	(B04-1→B04-33)
-แปลงที่ 5	29	(B05-1→B05-29)
รวม	**143**	
อ.ควนเนียง จ.สงขลา		
-แปลงที่ 1	34	(B06-1→B06-34)
-แปลงที่ 2	36	(B07-1→B07-36)
-แปลงที่ 3	33	(B08-1→B08-33)
-แปลงที่ 4	32	(B09-1→B09-32)
-แปลงที่ 5	36	(B10-1→B10-36)
รวม	**171**	
อ.เมือง จ.สตูล		
-แปลงที่ 1	30	(B11-1→B11-30)
-แปลงที่ 2	23	(B12-1→B12-23)
-แปลงที่ 3	21	(B13-1→B13-21)
-แปลงที่ 4	16	(B14-1→B14-16)
-แปลงที่ 5	18	(B15-1→B15-18)
รวม	**108**	
อ.ควนกาหลงจ.สตูล		
-แปลงที่ 1	28	(B16-1→B16-28)
-แปลงที่ 2	31	(B17-1→B17-31)
-แปลงที่ 3	25	(B18-1→B18-25)
-แปลงที่ 4	16	(B19-1→B19-16)
-แปลงที่ 5	27	(B20-1→B20-27)
รวม	**127**	
รวมทั้งสิ้น	**549**	

3. การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อเชื้อ *P. aphanidermatum*

3.1 การคัดเลือกเชื้อราปฏิปักษ์

เชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้จากดิน 4 แหล่ง ๆ ละ 5 แปลง จำนวนทั้งหมด 137 สายพันธุ์ เมื่อนำมาคัดเลือก โดยวิธี dual culture technique บนอาหาร PDA โดยใช้มาตรฐานที่ดัดแปลงจากมาตรฐานของ Bell และคณะ (1982) ผลดังตารางที่ 5 โดยพบว่ามี เชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. จำนวน 11 สายพันธุ์ ที่แสดงปฏิกิริยาแบบที่ 1 คือ *Trichoderma* spp. สามารถเจริญคลุม *P. aphanidermatum* ทั้งหมด ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่แยกได้จากดินทั้ง 4 แหล่ง คือ อ.ท่าแพ จ.สตูล จำนวน 6 สายพันธุ์ จากดิน อ.ควนเนียง จ.สงขลา จำนวน 3 สายพันธุ์ จากดิน อ.เมือง จ.สตูล จำนวน 1 สายพันธุ์ และจากดิน อ.ควนกาหลง จ.สตูล จำนวน 1 สายพันธุ์ ส่วนสายพันธุ์เชื้อรา *Trichoderma* spp. 4 สายพันธุ์ จาก 11 สายพันธุ์ ที่แสดงปฏิกิริยาแบบที่ 1 และทำให้เส้นใยของเชื้อ *P. aphanidermatum* ยุบลง ซึ่งน่าจะเป็นสายพันธุ์ที่ดีนั้น เป็นเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แยกได้จาก อ.ท่าแพ จ.สตูล และ อ.ควนเนียง จ.สงขลา แหล่งละ 2 สายพันธุ์

เมื่อนำเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แสดงปฏิกิริยาแบบที่ 1 ต่อเชื้อ *P. aphanidermatum* จากการคัดเลือกข้างต้น จำนวน 4 สายพันธุ์ (สายพันธุ์ T01-22, T04-16, T10-2 และT10-6) ที่มีศักยภาพทำให้เส้นใยของเชื้อ *P. aphanidermatum* ยุบลงหลังการทดลอง 6 วัน และสามารถสร้างสปอร์จำนวนมากบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA หลังการทดลอง 8 วัน มาทำการคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีอัตราการเจริญของเส้นใยดีที่สุดเพียงสายพันธุ์เดียว เพื่อนำไปผลิตในรูปมวลชีวภาพและทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าคอดินของกล้าคะน้าต่อไป ผลการทดลองการเปรียบเทียบอัตราการเจริญบนอาหาร PDA หลังเลี้ยงบนอาหาร 2 วันพบว่า เชื้อรา *Trichoderma* sp. สายพันธุ์ T01-22 มีอัตราการเจริญของเส้นใยดีที่สุด (ตารางที่ 6) จึงคัดเลือกสายพันธุ์ T01-22 เพื่อนำไปทดสอบต่อไป ลักษณะเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. สายพันธุ์ T01-22 ดังแสดงในภาพที่ 5

ตารางที่ 5 จำนวนสายพันธุ์เชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่แสดงปฏิกิริยาแบบต่างๆ ต่อเชื้อ *P. aphanidermatum* หลังการทดลอง 6 วัน

ปฏิกิริยา	จำนวนสายพันธุ์	จำนวนสายพันธุ์ที่แสดงปฏิกิริยาต่อเส้นใย เชื้อ *P.aphanidermatum*	
		เส้นใยยุบ	เส้นใยฟู
ปฏิกิริยา 1	11	4	7
ปฏิกิริยา 2	64	53	11
ปฏิกิริยา 3	41	33	8
ปฏิกิริยา 4	19	1	18
ปฏิกิริยา 5	2	0	2
รวม	137	91	46

หมายเหตุ: ดัดแปลงจากมาตรฐานของ Bell และคณะ (1982) ดังนี้

ปฏิกิริยา 1 หมายถึง *Trichoderma* spp. เจริญครอบคลุม *P. aphanidermatum* ทั้งหมด

ปฏิกิริยา 2 หมายถึง *Trichoderma* spp เจริญคลุมเชื้อ *P. aphanidermatum* ตรงบริเวณ 2/3 ของจานอาหาร

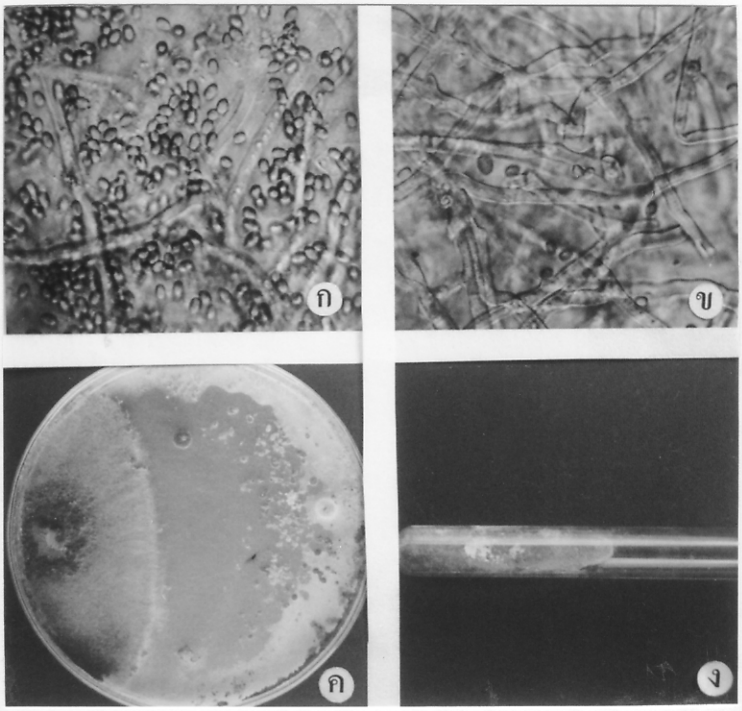
ปฏิกิริยา 3 หมายถึง *P. aphanidermatum* เจริญพบกับเชื้อ *Trichoderma* spp. ตรงกึ่งกลางของจานอาหาร

ปฏิกิริยา 4 หมายถึง *P. aphanidermatum* เจริญคลุมเชื้อ *Trichoderma* spp. ตรงบริเวณ 2/3 ของจานอาหาร

ปฏิกิริยา 5 หมายถึง *P. aphanidermatum* เจริญครอบคลุมเชื้อ *Trichoderma* spp. ทั้งหมด

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบอัตราการเจริญของ *Trichoderma spp.* บนอาหาร PDA หลังการเพาะเลี้ยง 2 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส)

สายพันธุ์	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ(มิลลิเมตร)
T01-22	90.0
T04-16	86.9
T10-2	72.1
T10-6	73.3



ภาพที่ 5 เชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. สายพันธุ์ T01-22

ก. สปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (600x)

ข. เส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (600x)

ค. โคโลนีที่เจริญหลังการทดลอง 8 วันเมื่อทำการทดสอบโดยวิธี dual culture technique เชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. สายพันธุ์ T01-22 เจริญคลุมเชื้อ *P. aphanidermatum* และทำให้เส้นใยยุบลง

ง. โคโลนีสีเขียวเข้มที่เจริญบนอาหาร PDA slant

3.2 การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

แบคทีเรียที่แยกได้จากดินทั้งหมด 549 สายพันธุ์และนำมาทดสอบจำนวน 418 สายพันธุ์ โดยวิธี dual culture technique บันทึกผลหลังการทดลอง 3 วัน ปรากฏว่า พบปฏิกิริยาที่เส้นใยเชื้อ *P. aphanidermatum* สามารถเจริญถึงแนวบริเวณแบคทีเรียเท่านั้น จำนวน 85 สายพันธุ์ แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อบันทึกผลหลังการทดลอง 7 วัน พบปฏิกิริยาที่เส้นใย *P. aphanidermatum* สามารถเจริญคลุมแนวแบคทีเรียและสร้างเส้นใยเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อทุกสายพันธุ์ (ตารางที่ 7)

เมื่อทำการทดสอบการสร้างสารยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aphanidermatum* โดยแบคทีเรีย สายพันธุ์ B05-16, B07-2, B07-3, B10-1, B10-2, B10-18, B11-26, B16-8, B17-23 และ B20-21 พบว่า supernatant ของแบคทีเรียสายพันธุ์ B07-2 และ B10-2 แสดงผลการยับยั้งการเจริญของเส้นใย *P. aphanidermatum* ได้ดีกว่าสายพันธุ์อื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (19 %) (ตารางที่ 8) จึงคัดเลือกแบคทีเรียสายพันธุ์ B07-2 และ B10-2 นำไปทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการป้องกันโรคบนเมล็ดพันธุ์คะน้าในห้องปฏิบัติการด้วยเซลล์แบคทีเรียในอาหารเหลว และสารที่แบคทีเรียผลิตขึ้น ซึ่งจากการทดสอบพบว่าเมล็ดคะน้าที่ผ่านการจุ่มแช่ด้วยเซลล์แบคทีเรียในอาหารเหลว สายพันธุ์ B10-2 แล้วนำไปจุ่มใน zoospore suspension ของ *P. aphanidermatum* ให้ปริมาณต้นกล้าคะน้าที่สมบูรณ์มากที่สุด (14.8) รองลงมา คือ คะน้าที่ผ่านการจุ่มแช่เมล็ดด้วย supernatant ของแบคทีเรียสายพันธุ์ B07-2 (13.6) และพบว่าเมล็ดคะน้าที่ผ่านการจุ่มแช่ด้วยแบคทีเรียสายพันธุ์ B10-2 และ B07-2 ช่วยให้เมล็ดคะน้าที่นำไปปลูกมีปริมาณต้นคะน้าที่สามารถเจริญได้มากกว่า ตัวควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 9) จากผลดังกล่าว จึงคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ B10-2 ที่ให้ปริมาณต้นกล้าคะน้าที่สมบูรณ์มากที่สุดไปจำแนกชนิดของแบคทีเรีย และสามารถระบุได้ว่าเป็นแบคทีเรียสกุล *Bacillus* sp. ซึ่งสอดคล้องกับคู่มือการจำแนกเชื้อแบคทีเรียของ Mac Faddin (1980) เพื่อนำไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

ตารางที่ 7 จำนวนสายพันธุ์เชื้อแบคทีเรียที่แสดงปฏิกริยาการเจริญแบบต่างๆ ต่อเชื้อ *Pythium aphanidermatum* โดยการทดสอบด้วยวิธี dual culture technique หลังการทดลอง 3 วัน และ 7 วัน

ปฏิกิริยา	จำนวนสายพันธุ์	
	3 วันหลังการทดลอง	7 วันหลังการทดลอง
เส้นใย *P. aphanidermatum* เจริญถึงแนวบริเวณแบคทีเรีย	85	0
เส้นใย *P. aphanidermatum* เจริญผ่านเข้าไปในแนวของแบคทีเรียแต่ไม่ฟูคลุมเต็มจานอาหาร	292	0
เส้นใย *P. aphanidermatum* เจริญคลุมแนวแบคทีเรียและเส้นใยอยู่เต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ	41	418
รวม	418	418

ตารางที่ 8 เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีและการยับยั้งการเจริญเติบโต ของเชื้อ *P. aphanidermatum* โดย แบคทีเรียสายพันธุ์ต่างๆ บนอาหาร PDA หลังการทดลอง 3 วัน

สายพันธุ์แบคทีเรีย	เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี(มม.) ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญต่อเชื้อ *P. aphanidermatum*
B10-1	86[ab]	8.7
B10-2	81[b]	19.0
B05-16	90[a]	0
B07-2	80[b]	19.0
B07-3	90[a]	0
B10-18	90[a]	0
B11-26	87[ab]	6.6
B16-8	90[a]	0
B17-23	85[ab]	10.8
B20-6	87[ab]	6.6
Control	90[a]	0
F-test	*	
C.V.(เปอร์เซ็นต์)	61.20	

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

สูตรคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. aphanidermatum* (Gamliel *et.al.*, 1989)

$$\% \text{ inhibition} = 100 - [\ R^2/r^2 \times 100]$$

โดยที่ R = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *P. aphanidermatum* ที่เจริญบนอาหาร PDA ที่ มีส่วนผสมของ supernatant ของแบคทีเรีย

r = ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อ *P. aphanidermatum* ที่เจริญบนอาหาร PDA

ตารางที่ 9 ปริมาณต้นกล้าคะน้าที่เจริญสมบูรณ์ หลังการจุ่มแช่ด้วย เซลล์แบคทีเรียในอาหารเหลว และ supernatant แบคทีเรียสายพันธุ์ B07-2 และ B10-2 แล้วนำไปแช่ด้วย zoospore suspension ของ เชื้อ *P. aphanidermatum* หลังการทดลอง 7 วัน

สิ่งทดลอง	จำนวนต้นคะน้าที่เจริญสมบูรณ์ (ต้น)
B07-2 (เซลล์แบคทีเรียในอาหารเหลว)	8.0[ab]
B07-2 (supernatant)	13.6[a]
B10-2 (เซลล์แบคทีเรียในอาหารเหลว)	14.8[a]
B10-2 (supernatant)	4.8[b]
PDB (ชุดควบคุม)	5.2[b]
Sterile water (ชุดตรวจสอบ)	3.2[b]
F – test	*
C.V. (เปอร์เซ็นต์)	61.2

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยจำนวนต้นคะน้าที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

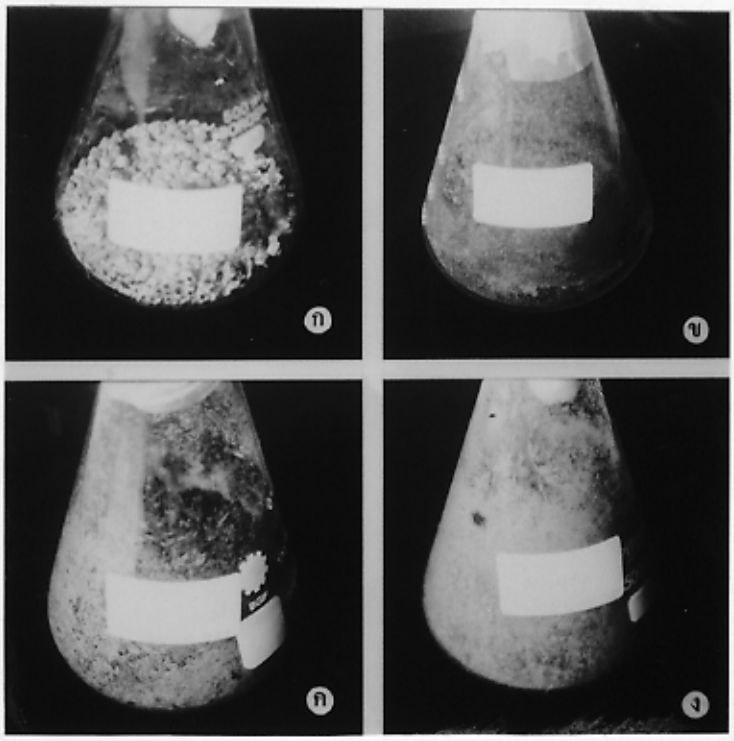
4. การเพิ่มปริมาณเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. สายพันธุ์ T01-22 เพื่อนำไปใช้ในการควบคุมโรคเน่าคอดินของกล้าคะน้า

เชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp.สายพันธุ์ T01-22 ที่เลี้ยงบนวัสดุที่ต่างกัน สามารถเจริญได้ดีบนวัสดุเพาะเลี้ยงทุกชนิด (ภาพที่ 6) มีการสร้างสปอร์สีเขียวคลุมวัสดุตั้งแต่วันที่ 7 หลังการทดลอง และเจริญคลุมได้ทั่วทั้งผิวหน้าและด้านข้างของวัสดุในขวดรูปชมพู่ โดยใช้เวลา 15-20 วัน มีปริมาณประชากรเชื้ออยู่ในช่วง 10^{17}-10^{20} cfu/g และสามารถเจริญและคงปริมาณเชื้อได้ดี (ตารางที่ 12)

5. การทดสอบประสิทธิภาพมวลชีวภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในสภาพเรือนทดลอง (greenhouse)

5.1 การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพมวลชีวภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ และสารฆ่าเชื้อราเบนเลท ต่อปริมาณการรอดตายของต้นกล้าคะน้า

การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพมวลชีวภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. สายพันธุ์ T01-22 และสารฆ่าเชื้อราเบนเลทต่อปริมาณการรอดของต้นกล้าคะน้าที่เกิดจากเชื้อ *P. aphanidermatum* ในสภาพเรือนทดลอง (26-33 องศาเซลเซียส) หลังการปลูก 7 วัน พบว่าการคลุกเมล็ดคะน้าด้วยสารฆ่าเชื้อราเบนเลท ให้จำนวนต้นกล้าคะน้าที่เจริญสมบูรณ์มากที่สุด รองลงมา คือ เมล็ดคะน้าที่คลุกด้วยมวลชีวภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp สายพันธุ์ T01-22 ที่ผลิตโดยใช้เมล็ดข้าวฟ่าง, เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ B10-2, มวลชีวภาพเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp สายพันธุ์ T01-22 ที่ผลิตโดยใช้กากใยปาล์มบดผสมยูเรีย 1 %, มวลชีวภาพเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp สายพันธุ์ T01-22 ที่ผลิตโดยกากใยปาล์มบดและกะลาปาล์มบดผสมยูเรีย 1 % โดยให้ปริมาณต้นกล้าคะน้าที่เจริญสมบูรณ์ 6.0, 3.6, 3.4, 3.4 และ 2.0 ต้น ตามลำดับ และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ส่วนผลการทดลอง 14 วัน พบว่าชุดทดลองที่ให้จำนวนต้นกล้าคะน้าที่เจริญสมบูรณ์มากที่สุดสามอันดับแรก คือ เมล็ดคะน้าที่คลุกเมล็ดด้วยสารฆ่าเชื้อราเบนเลท, มวลชีวภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp สายพันธุ์ T01-22 ที่ผลิตโดยใช้เมล็ดข้าวฟ่าง และมวลชีวภาพเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp สายพันธุ์ T01-22 ที่ผลิตโดยใช้กากใยปาล์มบดผสมยูเรีย 1 % คือมีปริมาณต้นกล้าคะน้าที่เจริญสมบูรณ์ 4.6, 3.8 และ 3.2 ต้น ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ตารางที่ 10)



ภาพที่ 6 มวลชีวภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. สายพันธุ์ T01-22 บนวัสดุต่างๆ หลังการเลี้ยงเชื้อ 45 วัน

ก. เมล็ดข้าวฟ่าง

ข. กะลาปาล์มบดผสมยูเรีย 1 %

ค. กากใยปาล์มบดผสมยูเรีย 1%

ง. กะลาปาล์มบดผสมกากใยปาล์มบดผสมยูเรีย 1%

ตารางที่ 10 จำนวนต้นกล้าคะน้าที่เจริญสมบูรณ์จากการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพมวลชีวภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และสารฆ่าเชื้อราเบนเลท ภายใต้สภาพเรือนทดลอง 7 วัน และ 10 วัน

สิ่งทดลอง	จำนวนต้นกล้าคะน้าที่เจริญสมบูรณ์(ต้น)	
	7 วัน	10 วัน
T01-22+กะลาปาล์มบด+ยูเรีย 1 %	2.0^{cd}	2.0^{de}
T01-22+กากใยปาล์มบด+ยูเรีย 1 %	3.4^{c}	2.8^{cd}
T01-22+กะลาปาล์มบด+กากใยปาล์บด+ยูเรีย 1 %	2.6^{c}	2.4^{cd}
T01-22+เมล็ดข้าวฟ่าง	3.6^{c}	3.8^{bc}
B10-2+methyl cellulose	3.4^{c}	3.2^{bcd}
สารฆ่าเชื้อราเบนเลท	6.0^{b}	4.6^{b}
ชุดควบคุม	0.6^{d}	0.6^{e}
ชุดตรวจสอบ	9.4^{a}	9.2^{a}
F – test	*	*
C.V. (เปอร์เซ็นต์)	36.8	35.2

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยจำนวนต้นคะน้าที่งอกเป็นต้นสมบูรณ์ที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างทางสถิติ โดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

โดย T01-22 หมายถึง เชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. สายพันธุ์ T01-22

B10-2 หมายถึง เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ B10-2

ชุดตรวจสอบ หมายถึงไม่คลุกเมล็ดด้วยจุลินทรีย์หรือสารใดๆปลูกในดินอบฆ่า เชื้อ และไม่ปลูกเชื้อลงในดิน

5.2 การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. สายพันธุ์ T01-22 และสารฆ่าเชื้อราในการควบคุมโรคเน่าคอดินของกล้าคะน้าที่เกิดจากเชื้อ *P. aphanidermatum*

การศึกษาการทดสอบประสิทธิภาพมวลชีวภาพเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. สายพันธุ์ T01-22 ในการควบคุมโรคเน่าคอดินของต้นกล้าคะน้าที่เกิดจากเชื้อ *P. aphanidermatum* โดยการคลุกเมล็ดด้วยสารฆ่าเชื้อรา และมวลชีวภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. สายพันธุ์ T01-22 ที่เพาะเลี้ยงด้วยกากใยปาล์มบดผสมยูเรีย 1 % ปรากฏว่าสารฆ่าเชื้อราโอฟาแทน ให้ผลในการควบคุมโรคเน่าคอดินของกล้าคะน้าได้ดีกว่า มวลชีวภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. สายพันธุ์ T01-22 และมวลชีวภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. สายพันธุ์ T01-22 ให้ผลในการควบคุมโรคเน่าคอดินดีกว่าสารฆ่าเชื้อราออโธไซด์ และสารฆ่าเชื้อราเบนเลท โดยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 11 ค่าเฉลี่ยจำนวนต้นกล้าคะน้าที่เจริญสมบูรณ์จากการทดสอบประสิทธิภาพมวลชีวภาพ เชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. สายพันธุ์ T01-22 และสารฆ่าเชื้อราในการควบคุมโรคเน่าคอดินของต้นกล้าคะน้าที่เกิดจากเชื้อ *Pythium. aphanidermatum* ในสภาพเรือนทดลอง หลังการทดลอง 14 วัน

สิ่งทดลอง	จำนวนต้นกล้าคะน้าที่เจริญสมบูรณ์(ต้น)
สารฆ่าเชื้อราโอฟาแทน	258.6[a]
เชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* สายพันธุ์ T01-22	162.8[b]
สารฆ่าเชื้อราออโธไซด์	127.4[c]
สารฆ่าเชื้อราเบนเลท	120.4[c]
ชุดควบคุม	42.6[d]
F -test	*
C.V.(เปอร์เซนต์)	11.5

หมายเหตุ: จำนวนเมล็ดคะน้า 400 เมล็ด/ชุดการทดลอง ค่าเฉลี่ยจำนวนต้นกล้าคะน้าที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่แตกต่างกันทางสถิติโดย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

6. ตรวจสอบปริมาณเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. สายพันธุ์ T01-22 ในรูปมวลชีวภาพที่ผลิตต่างกันภายใต้การเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส)

มวลชีวภาพเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. สายพันธุ์ T01-22 ที่ผลิตโดยใช้วัสดุต่างกัน เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องนาน 7 เดือน ตรวจนับปริมาณเชื้อทุกๆ เดือน รวม 7 ครั้ง ผลการทดลองปรากฏว่าปริมาณเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. สายพันธุ์ T01-22 ที่เลี้ยงบนวัสดุเพาะทุกชนิดมีปริมาณลดลงจากปริมาณเริ่มต้น โดยพบว่าปริมาณเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. สายพันธุ์ T01-22 ที่เลี้ยงด้วยเมล็ดข้าวฟ่าง มีปริมาณการลดลงของเชื้อภายในระยะเวลา 7 เดือน มากที่สุด คือ 10^9 cfu/g. และมีการปนเปื้อนเนื่องจากเชื้ออื่น ในเดือนที่ 6 และ 7 หลังการผลิต ส่วนเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. สายพันธุ์ T01-22 ที่เลี้ยงด้วยกะลาปาล์มบดผสมยูเรีย 1 % มีปริมาณเชื้อลดลงภายในระยะเวลา 6 เดือน น้อยที่สุด คือ 10^4 cfu/g. ดังแสดงในตารางที่ 12

ตารางที่ 12 ปริมาณประชากรเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. สายพันธุ์ T01-22 ที่เพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณบนวัสดุต่างๆ หลังการผลิต 7 เดือน

วัสดุเพาะเลี้ยงเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* สายพันธุ์ T01-22	ปริมาณประชากรเชื้อรา T01-22หลังการผลิต (cfu/g.)						
	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	4 เดือน	5 เดือน	6 เดือน	7 เดือน
กากใยปาล์มบด+ยูเรีย 1 %	10^{17}	10^{16}	10^{16}	10^{15}	10^{12}	10^{12}	10^{11}
กะลาปาล์มบด+ยูเรีย 1 %	10^{18}	10^{16}	10^{15}	10^{15}	10^{14}	10^{14}	10^{14}
กากใยปาล์มบด+กะลาปาล์มบด+ยูเรีย 1 %	10^{18}	10^{16}	10^{16}	10^{15}	10^{12}	10^{12}	10^{10}
เมล็ดข้าวฟ่าง*	10^{20}	10^{19}	10^{16}	10^{15}	10^{13}	10^{13}	10^{11}

หมายเหตุ*: มีการปนเปื้อนเนื่องจากเชื้อราอื่นๆ ในเดือนที่ 6 และ 7