บทที่ 3

ผลการทดลอง

1. การเก็บรวบรวมเชื้อสาเหตุโรคราเขียว (*Trichoderma* spp.)

จากการเก็บตัวอย่างถุงเห็ดที่เป็นโรคราเขียวจากฟาร์มเห็ด จำนวน 59 ฟาร์ม จาก 22 จังหวัด ทั่วทุกภาคของประเทศ ถุงเห็ดที่เก็บ ได้แก่ ถุงเห็ดนางฟ้า เห็ดหูหนู เห็ดนางรม เห็ดลม และเห็ดขอนขาว โดยเก็บตัวอย่างโรคฟาร์มละ 1-8 ถุง รวมจำนวนทั้งสิ้น 145 ถุง

ลักษณะอาการของโรคราเขียว (ภาพที่ 1) เชื้อจะเข้าทำลายวัสดุเพาะเห็ดในถุงเพาะที่อยู่ในโรงเรือน ในถุงเห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม เห็ดหูหนู เห็ดลม และเห็ดขอนขาว ภายในถุงก้อนเชื้อเห็ดปรากฏสปอร์เชื้อราสีเขียว สำหรับถุงเห็ดหูหนูเชื้อจะเข้าทำลายตรงบริเวณรอยกรีดของถุง เมื่อเชื้อราเขียวเข้าทำลายทำให้เส้นใยเห็ดมีสีคล้ำ เส้นใยเกิดอาการเน่าเละ และเห็ดจะไม่สร้างดอก ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม เช่น โรงเรือนมีความชื้นสูง มีหนู ไร และแมลงหวี่เป็นพาหะ ทำให้การระบาดของโรคเกิดได้ง่ายและรวดเร็ว

จากการแยกเชื้อ *Trichoderma* spp. จากถุงเห็ดที่เก็บมาได้จาก 59 ฟาร์ม จาก 22 จังหวัด ข้างต้น สามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์ จำนวนทั้งสิ้น 145 ไอโซเลท (ตารางที่ 2)

ภาพที่ 1 ลักษณะถุงก้อนเชื้อเห็ดนางฟ้าเป็นโรคราเขียว (*Trichoderma* spp.)

ตารางที่ 2 จำนวนฟาร์มเห็ดที่เก็บตัวอย่างและจำนวนเชื้อ *Trichoderma* spp. ที่แยกได้

จังหวัด	จำนวนฟาร์มเห็ดที่เก็บตัวอย่าง	จำนวนเชื้อ *Trichoderma* spp. ที่แยกได้	ชนิดเห็ดที่เป็นโรค
ภาคใต้			
กระบี่	1	7	นางฟ้า
ชุมพร	1	4	นางฟ้า
ตรัง	2	5	นางฟ้า
นครศรีธรรมราช	2	15	นางรม นางฟ้า
นราธิวาส	2	2	นางฟ้า
พังงา	1	7	นางฟ้า หูหนู
พัทลุง	3	15	นางฟ้า หูหนู
ระนอง	1	5	นางฟ้า
สงขลา	11	33	นางฟ้า หูหนู นางรม
ภาคกลาง			
กรุงเทพฯ	3	3	นางฟ้า
นครปฐม	4	4	นางฟ้า
นครสวรรค์	1	1	นางฟ้า
เพชรบุรี	2	2	นางฟ้า
ราชบุรี	7	13	นางฟ้า ขอนขาว
อยุธยา	2	2	นางฟ้า
ภาคเหนือ			
เชียงใหม่	1	1	นางฟ้า
เชียงราย	2	4	นางฟ้า
แพร่	2	3	นางฟ้า
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ			
กาฬสินธุ์	3	5	นางฟ้า นางรม ลม
นครราชสีมา	2	2	นางฟ้า
บุรีรัมย์	5	7	นางรม นางฟ้า
อุดรธานี	1	5	นางฟ้า
รวม	59	145	

2. การจำแนกชนิด (species) ของเชื้อ *Trichoderma* spp.

2.1 โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

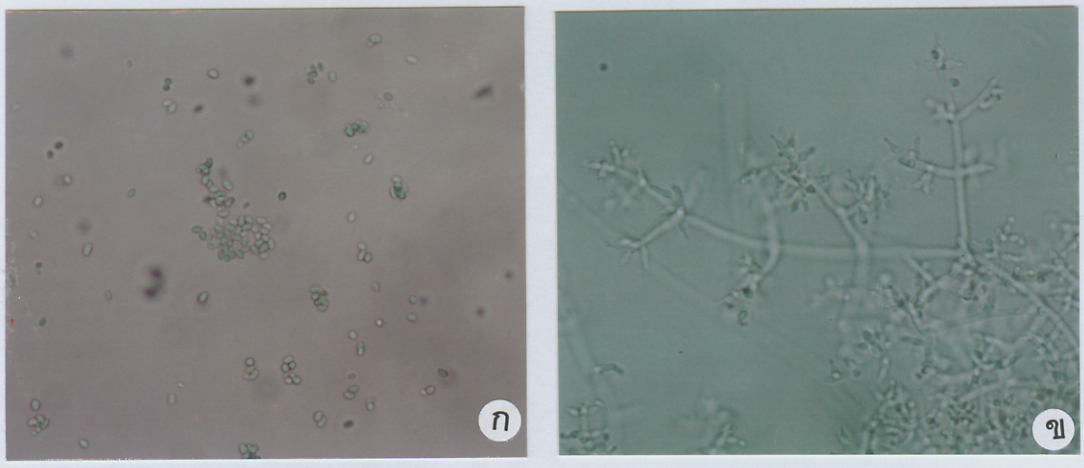
เลี้ยงเชื้อ *Trichoderma* บนอาหาร PDA อายุ 5-7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (26-32 องศาเซลเซียส) นำเชื้อที่เลี้ยงไว้มาส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบ compound ศึกษาลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ผิว และสีของสปอร์ ลักษณะของเส้นใยและไฟอะไลด์ จำแนกชนิดโดยเปรียบเทียบกับคู่มือของ Rifai (1969) และ Gams และ Bissett (1998) สามารถจำแนกเป็นเชื้อ *T. harzianum* จำนวน 82 ไอโซเลท (56.6 เปอร์เซ็นต์) *T. virens* จำนวน 21 ไอโซเลท (14.5 เปอร์เซ็นต์) *T. virens* - like จำนวน 14 ไอโซเลท (9.7 เปอร์เซ็นต์) *T. atroviride* จำนวน 21 ไอโซเลท (14.5 เปอร์เซ็นต์) และ *T. aureoviride* จำนวน 7 ไอโซเลท (4.8 เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่ 3) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราแต่ละชนิด ดังแสดงในตารางที่ 4 และภาพที่ 2-6

ตารางที่ 3 จำนวนไอโซเลทของเชื้อ *Trichoderma* แต่ละชนิดที่แยกได้จากจังหวัดต่าง ๆ และจำนวนไอโซเลทของเชื้อ *Trichoderma* spp. ที่แยกได้

จังหวัด	*T. harzianum*	*T. virens*	*T. virens*-like	*T. atroviride*	*T. aureoviride*	รวม
ภาคใต้						
กระบี่	5	0	0	2	0	7
ชุมพร	2	0	0	2	0	4
ตรัง	2	0	0	2	1	5
นครศรีธรรมราช	5	2	3	4	1	15
นราธิวาส	1	0	1	0	0	2
พังงา	3	0	0	3	1	7
พัทลุง	12	0	0	1	2	15
ระนอง	0	2	3	0	0	5
สงขลา	24	5	4	0	0	33
ภาคกลาง						
กรุงเทพฯ	2	1	0	0	0	3
นครปฐม	3	0	0	1	0	4
นครสวรรค์	0	0	0	1	0	1
เพชรบุรี	1	1	0	0	0	2
ราชบุรี	7	1	1	3	1	13
อยุธยา	0	1	0	0	1	2
ภาคเหนือ						
เชียงใหม่	1	0	0	0	0	1
เชียงราย	3	1	0	0	0	4
แพร่	3	0	0	0	0	3
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ						
กาฬสินธุ์	0	5	0	0	0	5
นครราชสีมา	1	0	0	1	0	2
บุรีรัมย์	5	1	1	0	0	7
อุดรธานี	2	1	1	1	0	5
รวม	82	21	14	21	7	145

ตารางที่ 4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *Trichoderma* spp. ที่แยกได้

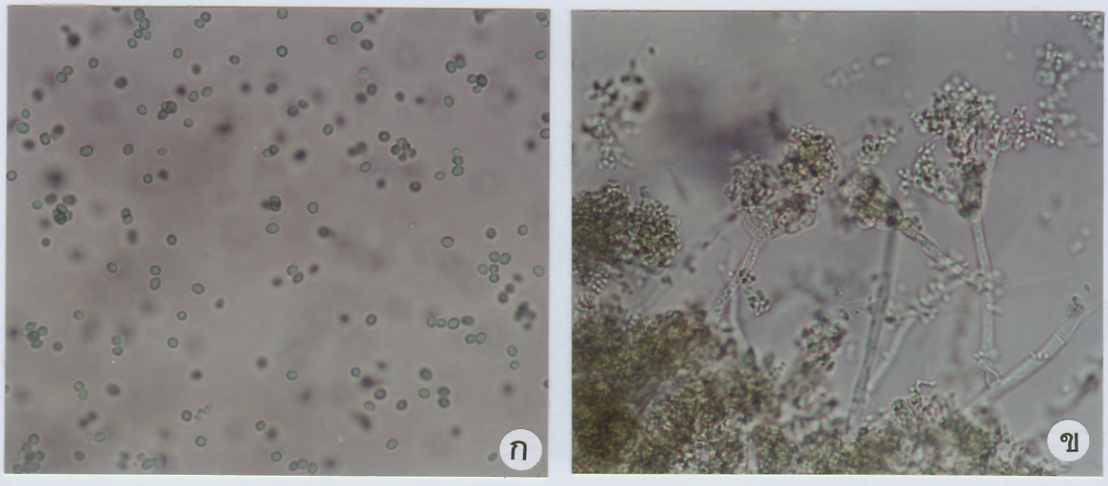
ลักษณะ	เชื้อ				
	T. harzianum	*T. virens*	*T. virens* - like	*T. atroviride*	*T. aureoviride*
สี/ลักษณะโคโลนี	สีเหลืองถึงเขียวเข้ม ฟูนิ่ม	สีเขียวเข้มถึงสีทึบ เส้นใยปกคลุมเรียบ ๆ บนผิวอาหารมีตุ่มเล็ก ๆ ใกล้จุดกำเนิด ทำให้อาหาร PDA เปลี่ยนเป็นสีเหลือง	สีเขียวถึงสีทึบ เส้นใยฟูเจริญคลุมผิวอาหาร	สีเขียวหรือสีค่อนข้างเหลือง ฟูนิ่มสลับสีขาวเป็นเม็ดเล็ก ๆ ถึงหยาบเมื่ออายุมาก	เส้นใยสีขาวเรียบปกคลุมผิวอาหารภายหลังโคโลนีเป็นสีเขียวอยู่เป็นกระจุก ทำให้อาหาร PDA เปลี่ยนเป็นสีเหลือง-เหลืองเข้ม
รูปร่าง/สีสปอร์	กลม หรือรูปไข่สั้น ๆ สีเขียวใส หรือไม่มีสี ขนาด 1.7-3.0 µm x 2.1-3.0 µm ผนังเรียบ	กลม หรือไข่ สีเขียวใส หรือไม่มีสี ขนาด 3.4-4.2 µm x 2.9-4.1 µm ผนังเรียบ	กลมโต สีเขียวใส หรือไม่มีสี ขนาด 2.8 – 5.3 µm x 3.2-6.0 µm ผนังเรียบ	กลม สีเขียวเข้ม ขนาด 2.2-3.3 µm x 2.1-3.2 µm ผนังเรียบ	กลมไข่ หรือรี ผิวเรียบ ขนาด 3.3-4.5 µm x 3.0-5.0 µm
ไฟอะไลด์	สีเขียวแตกเป็นวง 3-4 วง	อยู่รวมกันเป็นกระจุก	ขนาดใหญ่ รูปร่างยาว แยกมาจากคอนิดิโอฟอร์อย่างชัดเจน	แตกเป็นวง 2-3 วง	แตกเป็นวง รูปร่างยาว แคบ



ภาพที่ 2 เชื้อ *T. harzianum*

ก. สปอร์ (400 เท่า)

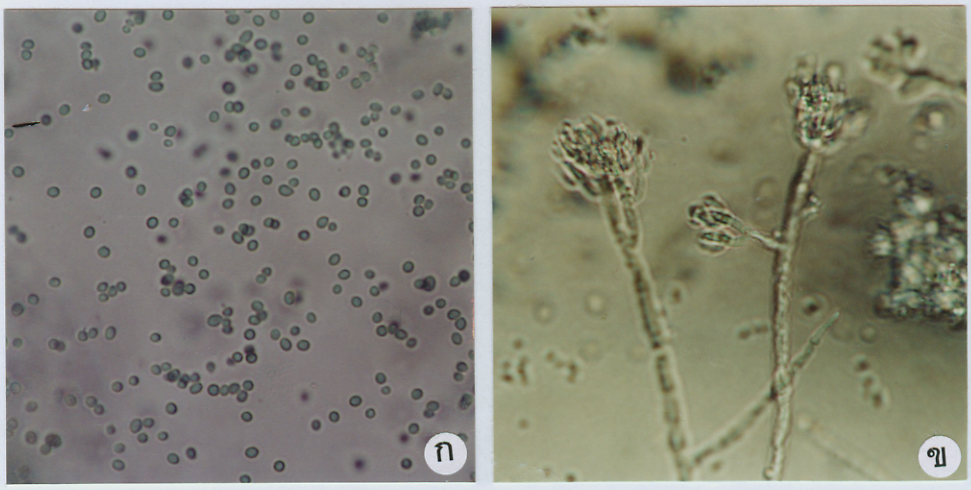
ข. ไฟอะไลด์ (400 เท่า)



ภาพที่ 3 เชื้อ *T. virens*

ก. สปอร์ (400 เท่า)

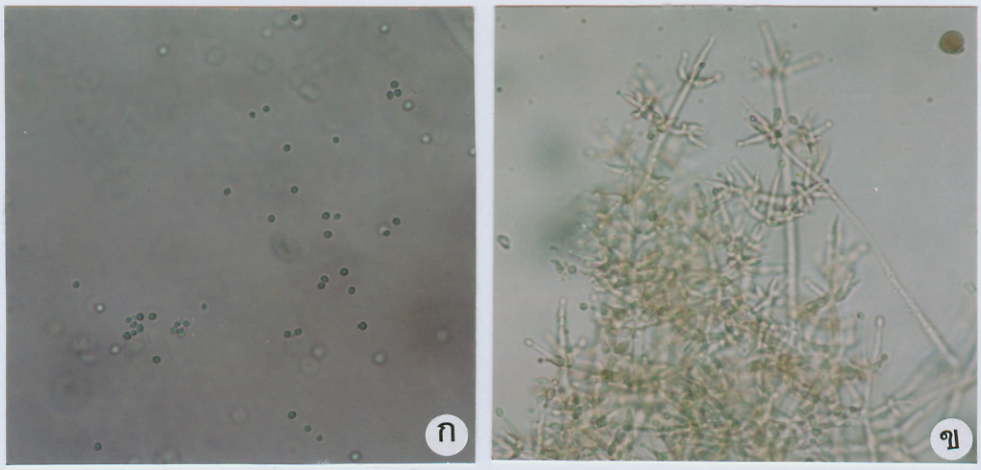
ข. ไฟอะไลด์ (400 เท่า)



ภาพที่ 4 เชื้อ *T. virens* - like

ก. สปอร์ (400 เท่า)

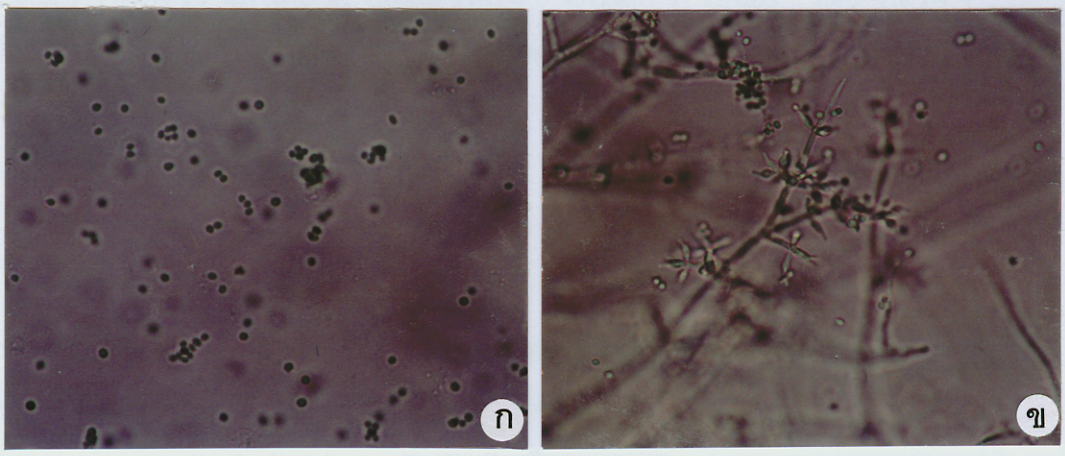
ข. ไฟอะไลด์ (400 เท่า)



ภาพที่ 5 เชื้อ *T. atroviride*

ก. สปอร์ (400 เท่า)

ข. ไฟอะไลด์ (400 เท่า)



ภาพที่ 6 เชื้อ *T. aureoviride*

ก. สปอร์ (400 เท่า)

ข. ไฟอะไลด์ (400 เท่า)

2.2 การจำแนกโดยใช้เทคนิค RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)

จากการจำแนกเชื้อ *Trichoderma* spp. จากแหล่งต่าง ๆ จำนวน 23 ไอโซเลท ซึ่งเป็น *T. harzianum* จำนวน 10 ไอโซเลท *T. virens* จำนวน 3 ไอโซเลท *T. virens* – like จำนวน 4 ไอโซเลท *T. atroviride* จำนวน 4 ไอโซเลท และ *T. aureoviride* จำนวน 2 ไอโซเลท ใช้ไพรเมอร์จำนวน 7 ไพรเมอร์ คือ OPC-04, OPC-08, OPC-14, OPT-01, OPT-02, OPT-05 และ OPT-08 (ตารางที่ 1) พบว่าแต่ละไพรเมอร์ให้แถบดีเอ็นเอตั้งแต่ 2 แถบถึง 12 แถบ ซึ่งมีขนาดตั้งแต่ 100 คู่เบส จนถึง 5,000 คู่เบส (ภาพที่ 7)

เชื้อราหมายเลข 0, 15, 17, 20, 26, 27, 52, 99, 74 และ 116 จากการศึกษาโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่า เป็น *T. harzianum* เมื่อทดสอบโดยใช้เครื่องหมาย RAPD พบว่า ในกลุ่มนี้ให้รูปแบบแถบดีเอ็นเอแตกต่างกันถึง 6 แบบ โดยหมายเลข 74 ให้รูปแบบของแถบดีเอ็นเอเหมือนกับหมายเลข 27 ซึ่งเป็นตัวอย่างจากจังหวัดพัทลุง และจังหวัดนครปฐม หมายเลข 26 ให้รูปแบบของแถบดีเอ็นเอ เหมือนกับหมายเลข 116 ซึ่งเป็นตัวอย่างเชื้อจากจังหวัดแพร่ และจังหวัดชุมพร หมายเลข 20 ซึ่งเป็นตัวอย่างจากกรุงเทพฯ ให้รูปแบบของแถบดีเอ็นเอ เหมือนกับหมายเลข 52 ซึ่งเป็นตัวอย่างจากจังหวัดอุดรธานี หมายเลข 17 ให้รูปแบบของแถบดีเอ็นเอ เหมือนกับหมายเลข 99 ซึ่งเป็นตัวอย่างจากจังหวัดเชียงใหม่และกระบี่ หมายเลข 15 เป็นตัวอย่างเชื้อที่จากจังหวัดสงขลา ให้รูปแบบของแถบดีเอ็นเอแตกต่างออกไป เช่นเดียวกับและหมายเลข 0 ซึ่งเป็นเชื้อ *T. harzianum* จากบริษัทโซตัส ที่สามารถใช้ป้องกันและกำจัดโรคพืชหลายชนิด เช่น โรครากเน่าโคนเน่า (*Phytophthora* sp.) โรคเน่าคอดิน โรคกล้าไหม้ (*Sclerotium rolfsii*) จะให้รูปแบบของแถบดีเอ็นเอแตกต่างจากเชื้อราไอโซเลทอื่น ๆ

เชื้อราหมายเลข 28, 38 และ 113 ถูกจัดเป็น *T. virens* โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา เมื่อทดสอบโดยใช้เครื่องหมาย RAPD พบว่า หมายเลข 28 ซึ่งเป็นตัวอย่างจากจังหวัดเพชรบุรี และหมายเลข 113 ซึ่งเป็นตัวอย่างจากจังหวัดนครศรีธรรมราชเท่านั้น ที่ให้รูปแบบของแถบดีเอ็นเอเหมือนกัน ส่วนหมายเลย 38 ที่เป็นตัวอย่างจากจังหวัดกาฬสินธุ์ ให้แถบดีเอ็นเอต่างไปจากสองตัวอย่างที่กล่าวมาแล้ว

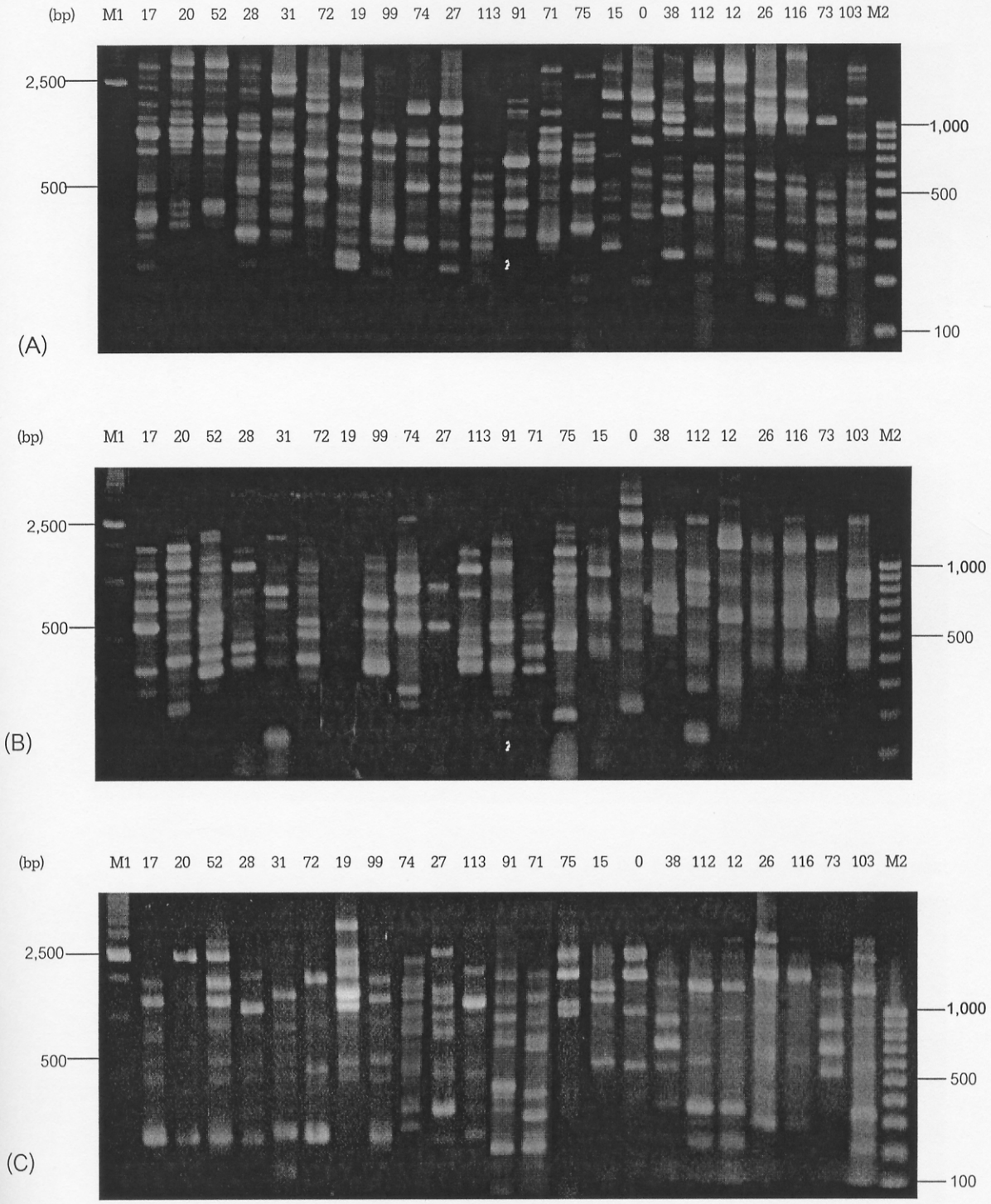
เชื้อราหมายเลข 31, 73, 91 และ 112 จำแนกอยู่ในกลุ่ม *T. virens* – like จากการศึกษาทางลักษณะสัณฐานวิทยา เมื่อทดสอบโดยใช้เครื่องหมาย RAPD พบว่า หมายเลข 31 ให้รูปแบบของแถบดีเอ็นเอเหมือนกับหมายเลข 112 ซึ่งเป็นตัวอย่างจากจังหวัดราชบุรี และจังหวัดระนอง ส่วนหมายเลข 73 และ 91 ที่เก็บตัวอย่างเชื้อจากจังหวัดบุรีรัมย์ และตรัง มีรูปแบบของแถบดีเอ็นเอแตกต่างจากเชื้ออื่น ๆ

หมายเลข 12, 71, 72 และ 103 จัดอยู่ในกลุ่ม *T. atroviride* เมื่อศึกษาทางลักษณะสัณฐานวิทยา ทดสอบโดยใช้เครื่องหมาย RAPD พบว่า เฉพาะหมายเลข 12 ที่เป็นตัวอย่างจากจังหวัดนราธิวาส ให้รูปแบบของแถบดีเอ็นเอ เหมือนกับหมายเลข 103 ซึ่งเป็นตัวอย่างเชื้อ จากจังหวัดพังงา ส่วนหมายเลข 71 และหมายเลข 72 ซึ่งเป็นตัวอย่างเชื้อจากจังหวัดนครราชสีมา และ จังหวัดนครสวรรค์ ให้รูปแบบของแถบดีเอ็นเอแตกต่างกันออกไป

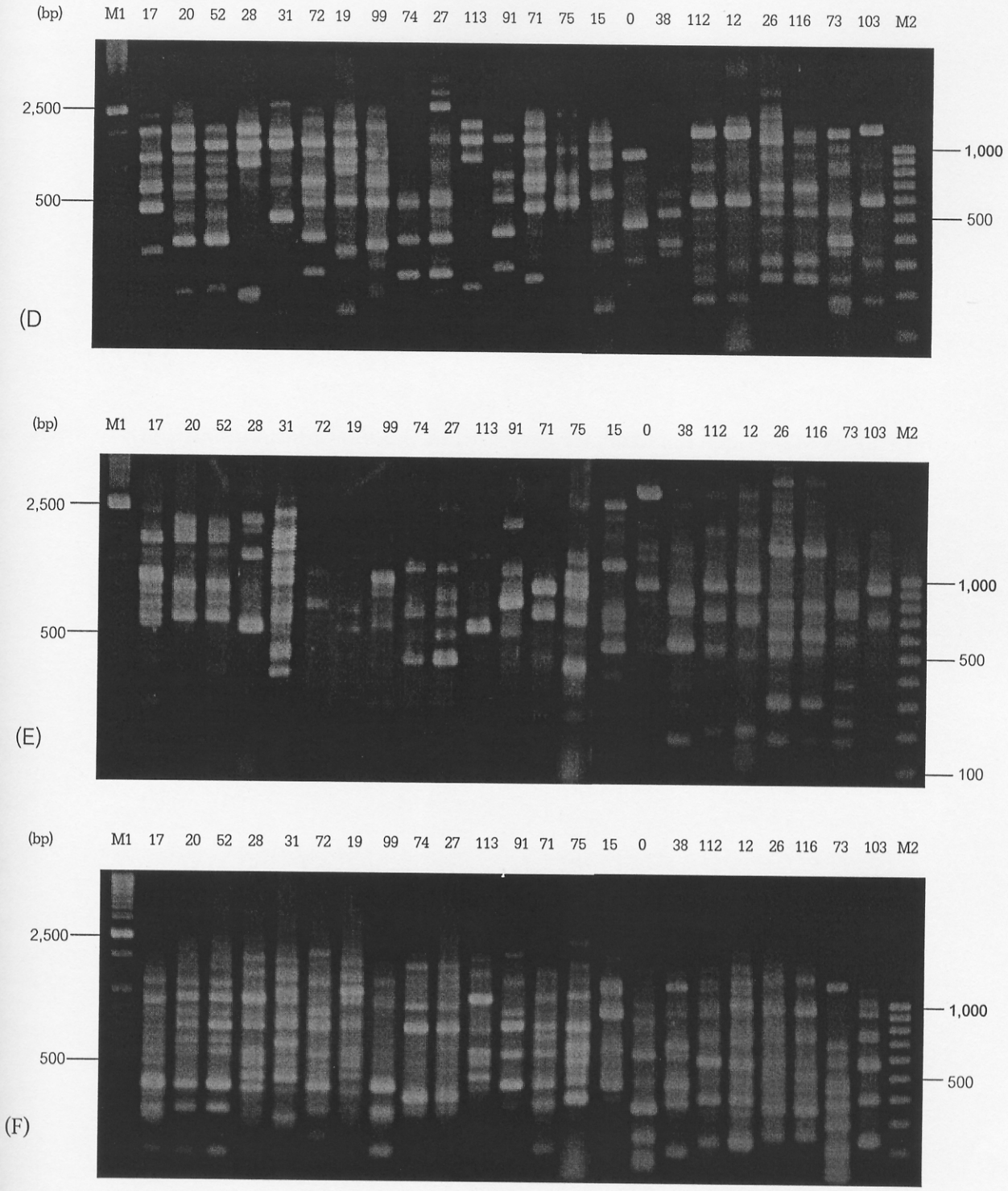
เชื้อราหมายเลข 19 และ 75 เป็นตัวอย่างเชื้อจากจังหวัดเชียงราย และอยุธยา เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา จัดอยู่ในกลุ่ม *T. aureoviride* ทดสอบโดยใช้เครื่องหมาย RAPD พบว่าทั้งสองให้รูปแบบของแถบดีเอ็นเอแตกต่างกันออกไป ซึ่งจากการทดลองให้ผลเหมือนกันในทุกไพรเมอร์

ตารางที่ 5 ชนิด (species) และการจัดกลุ่ม (group) โดยอาศัยความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอ ของเชื้อ *Trichoderma* spp. เมื่อทดสอบโดยเทคนิค RAPD

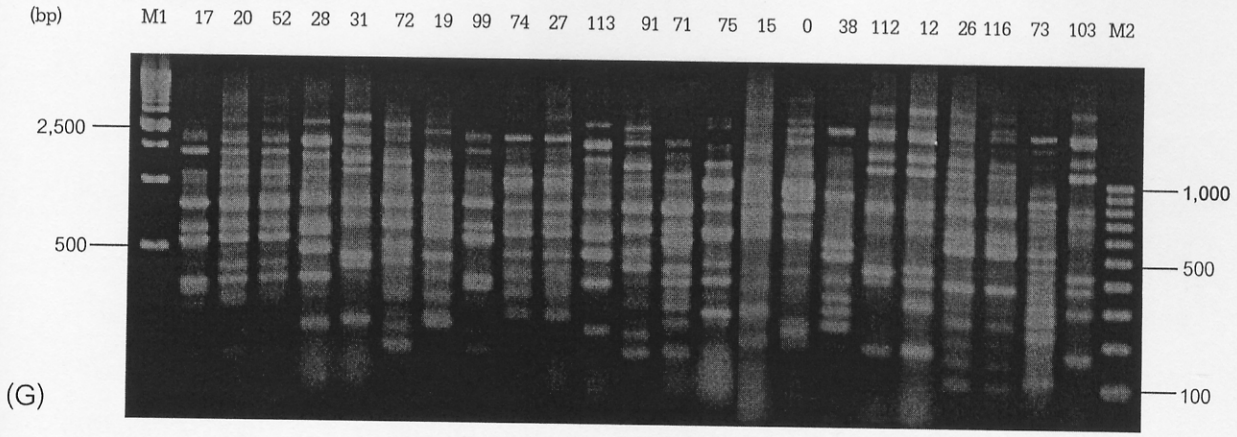
species	แหล่ง	รหัส	กลุ่ม
T. harzianum	นครปฐม	27	*T. harzianum* G1
	พัทลุง	74	
	ชุมพร	116	*T. harzianum* G2
	แพร่	26	
	กรุงเทพมหานคร	20	*T. harzianum* G3
	อุดรธานี	52	
	กระบี่	99	*T. harzianum* G4
	เชียงใหม่	17	
	สงขลา	15	*T. harzianum* G5
	บริษัทโซดัส	0	*T. harzianum* G6
T. virens	นครศรีธรรมราช	113	*T. virens* G1
	เพชรบุรี	28	
	กาฬสินธุ์	38	*T. virens* G2
T. virens - like	ระนอง	112	*T. virens* - like G1
	ราชบุรี	31	
	ตรัง	91	*T. virens* - like G2
	บุรีรัมย์	73	*T. virens* - like G3
T. atroviride	นราธิวาส	12	*T. atroviride* G1
	พังงา	103	
	นครราชสีมา	71	*T. atroviride* G2
	นครสวรรค์	72	*T. atroviride* G3
T. aureoviride	เชียงราย	19	*T. aureoviride* G1
	อยุธยา	75	*T. aureoviride* G2



ภาพที่ 7 รูปแบบของแถบดีเอ็นเอ (RAPD) ของเชื้อ *Trichoderma* spp. จำนวน 23 ไอโซเลท ที่ทำการศึกษาโดยใช้ไพรเมอร์ OPC-04 (A), OPC-08 (B) และ OPC-14 (C) M1 และ M2 คือ DNA ladder ขนาด 500 คู่เบส และ 100 คู่เบส ตามลำดับ



ภาพที่ 7 (ต่อ) รูปแบบของแถบดีเอ็นเอ (RAPD) ของเชื้อ *Trichoderma* spp. จำนวน 23 ไอโซเลท ที่ทำการศึกษาโดยใช้ไพรเมอร์ OPT-01 (D), OPT-02 (E) และ OPT-05 (F)
M1 และ M2 คือ DNA ladder ขนาด 500 คู่เบส และ 100 คู่เบส ตามลำดับ



ภาพที่ 7 (ต่อ) รูปแบบของแถบดีเอ็นเอ (RAPD) ของเชื้อ *Trichoderma* spp. จำนวน 23 ไอโซเลท ที่ทำการศึกษาโดยใช้ไพรเมอร์ OPT-08 (G)

M1 และ M2 คือ DNA ladder ขนาด 500 คู่เบส และ 100 คู่เบส ตามลำดับ

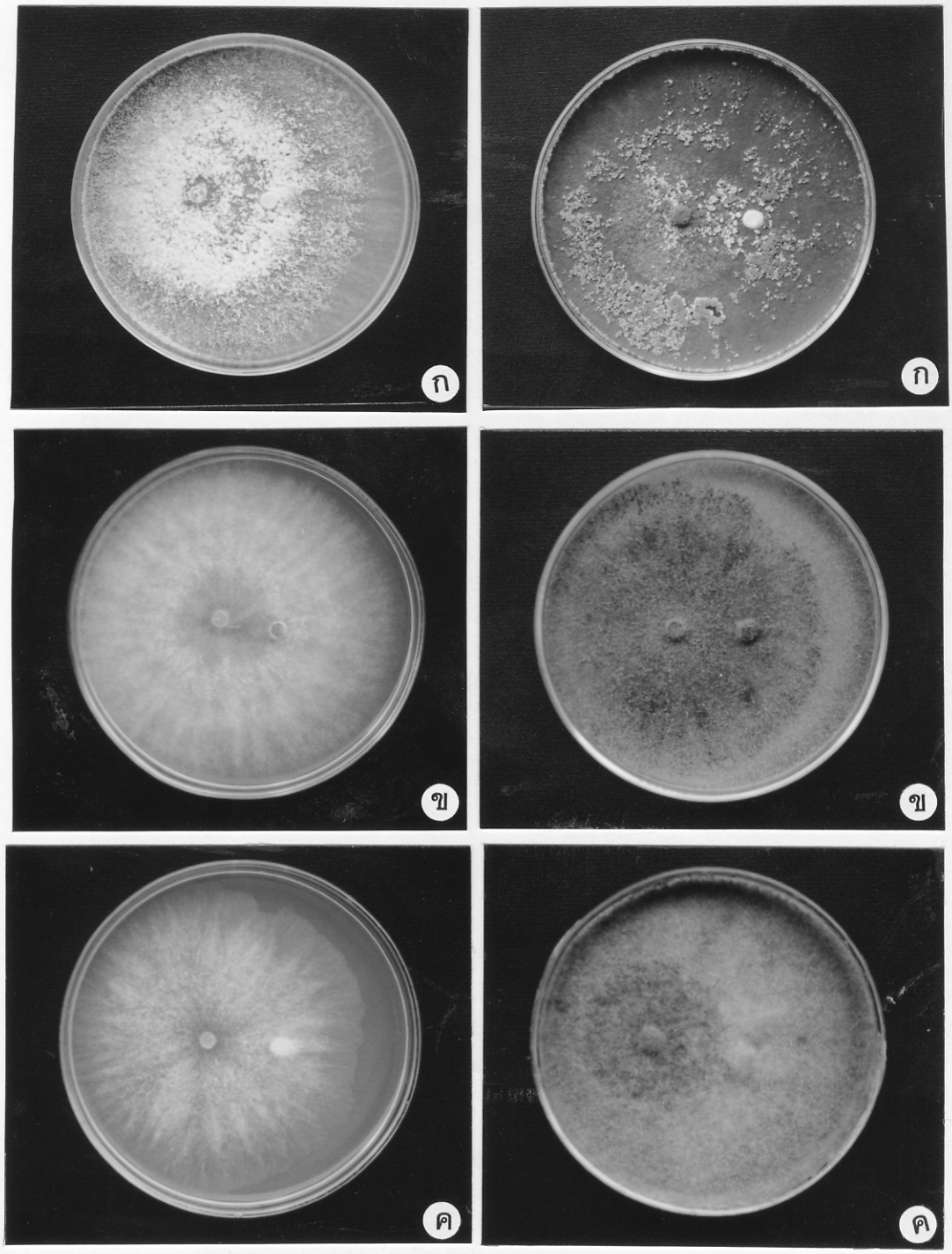
3. ผลของเชื้อ *Trichoderma* spp. ต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้า

จากการทดสอบปฏิกิริยาระหว่างเส้นใยเห็ดกับเชื้อ *T. harzianum*, *T. virens*, *T. virens* - like, *T. atroviride* และ *T. aureoviride* เพื่อดูขนาดโคโลนีของ *Trichoderma* สายพันธุ์ต่าง ๆ กับขนาดโคโลนีเห็ดนางฟ้าบนอาหาร PDA โดยวิธี dual culture technique พบว่าเชื้อ *T. harzianum* เจริญดีที่สุด โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี 9 เซนติเมตร (เจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อ) ภายในระยะเวลา 40 ชั่วโมง ในขณะที่เส้นใยเห็ดนางฟ้ามีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเพียง 0.5 เซนติเมตร แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *T. harzianum* มีความสามารถในการแข่งขันกับเส้นใยเห็ดในด้านการเข้าครอบครองพื้นที่ได้ดีกว่าและแก่งแย่งอาหารจากเส้นใยเห็ดได้อย่างรวดเร็ว ส่งผลให้เส้นใยเห็ดไม่สามารถเจริญได้ ในทำนองเดียวกัน *T. virens*, *T. virens* - like, *T. atroviride* และ *T. aureoviride* ก็สามารถเข้าครอบครองพื้นที่และแก่งแย่งอาหารได้รวดเร็วกว่าเส้นใยเห็ดนางฟ้าเช่นกัน (ภาพที่ 8 และตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีเชื้อ *Trichoderma* spp. และโคโลนีเห็ดนางฟ้าที่อายุ 40 ชั่วโมง

species	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (เซนติเมตร)	
	Trichoderma	เห็ดนางฟ้า
T. harzianum	9.0	0.5
T. atroviride	8.5	0.5
T. virens	8.5	0.5
T. virens - like	7.5	0.5
T. aureoviride	7.5	0.5

จากการทดลองต่อมาได้ทดลองเลี้ยงเส้นใยเห็ดนางฟ้าในจานอาหารเลี้ยงเชื้อก่อนเป็นระยะเวลา 2 วัน แล้วจึงใส่เชื้อ *T. harzianum* ลงไปในจานอาหาร พบว่าภายในระยะเวลา 7 วัน เชื้อ *T. harzianum* จะสร้างเส้นใยและเจริญรุกล้ำเข้าไปยังเส้นใยเห็ด เชื้อจะสร้างสปอร์สีเขียว เส้นใยเห็ดบริเวณที่ถูกครอบครองจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เมื่อทดสอบความสามารถในการพันรัดของเส้นใยเห็ดโดยเชื้อ *T. harzianum* ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบ compound พบว่าเส้นใยเชื้อ *T. harzianum* มีความสามารถในการพันรัดเส้นใยเห็ด โดยเส้นใยเชื้อราจะแตกแขนงเป็นช่วงสั้น ๆ ออกมาพันรัดเส้นใยเห็ดทำให้เส้นใยเห็ดไม่สามารถเจริญได้ (ภาพที่ 9 และ 10)

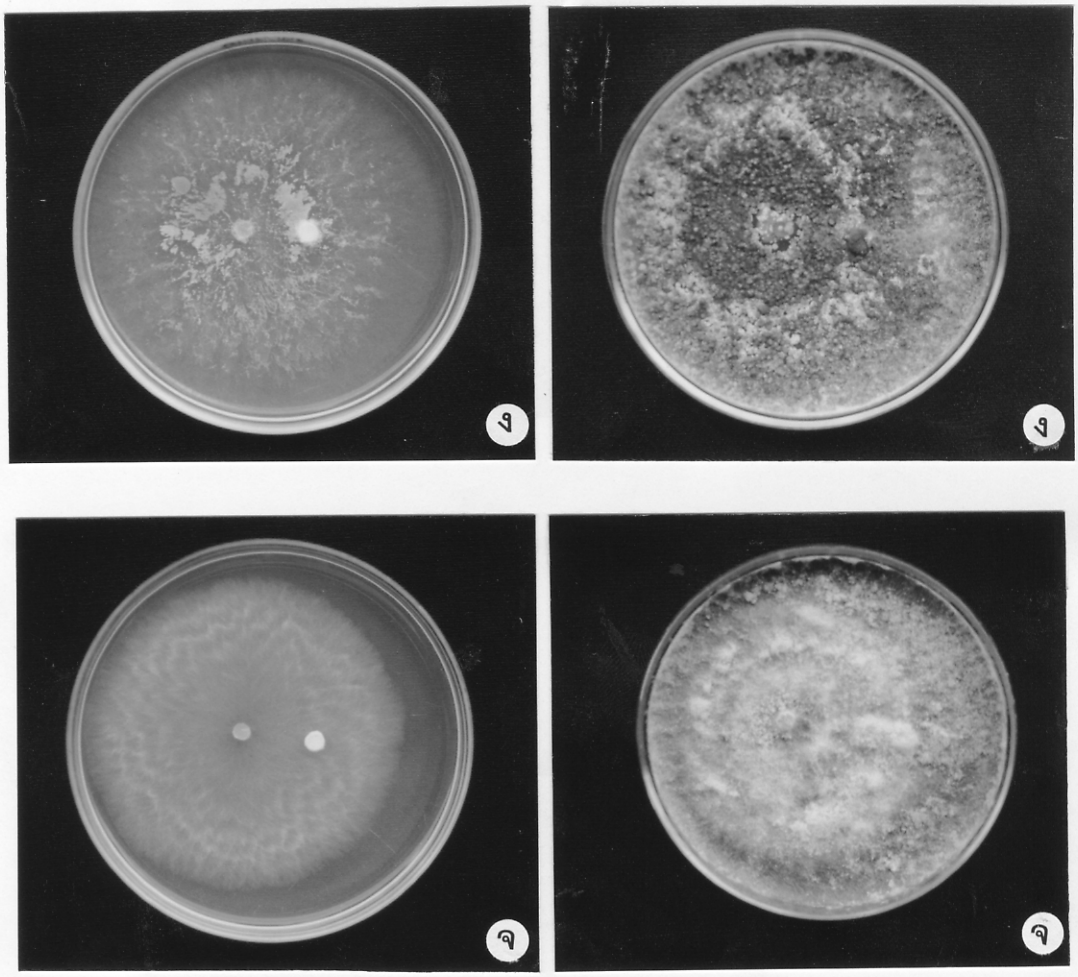


ภาพที่ 8 การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อ *Trichoderm* spp. กับเส้นใยเห็ดนางฟ้าที่อายุ 40 ชั่วโมง (ซ้าย) และ 7 วัน (ขวา)

ก. *T. harzianum* (รหัส 15)

ข. *T. virens* (รหัส 113)

ค. *T. virens* - like (รหัส 112)

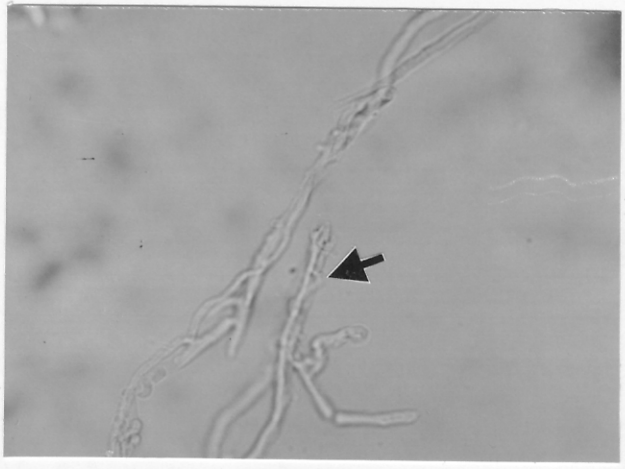


ภาพที่ 8 (ต่อ) การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อ *Trichoderma* spp. กับเส้นใยเห็ดนางฟ้าที่อายุ 40 ชั่วโมง (ซ้าย) และ 7 วัน (ขวา)

ง. *T. atroviride* (รหัส 72)

จ. *T. aureoviride* (รหัส 75)

ภาพที่ 9 การเข้าทำลายเส้นใยเห็ดนางฟ้าของเชื้อ *T. harzianum* เมื่อวางเชื้อเห็ดก่อนเป็นเวลา 2 วัน



ภาพที่ 10 การพันรัด (coiling) ของเส้นใยเชื้อ *T. harzianum* ต่อเส้นใยเห็ดนางฟ้า

4. การแยกและคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่คาดว่าจะเป็นปฏิปักษ์

4.1 แบคทีเรียจากถุงเห็ดเป็นโรค

จากการแยกเชื้อแบคทีเรียจากก้อนเชื้อเห็ดที่เป็นโรคราเขียว โดยวิธี dilution pour plate ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-2} - 10^{-5} นับโคโลนีเฉลี่ยได้ 4 x 10^{2} cfu/g เลือกเก็บเฉพาะแบคทีเรียโคโลนีเดี่ยว ๆ ที่ทำให้เกิดลักษณะวงใส ซึ่งเกิดจากกลไกการสร้างสารปฏิชีวนะของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์บางชนิดที่อาศัยร่วมกันกับวัสดุเพาะเห็ด (ภาพที่ 11) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Trichoderma* spp. ไม่ให้เจริญเข้ามาใกล้บริเวณที่มีเชื้อแบคทีเรียปรากฏอยู่ ทำการนับโคโลนีของแบคทีเรียที่มีวงใสล้อมรอบ พบว่ามีปริมาณ 65.1 เปอร์เซ็นต์ ของจำนวนโคโลนีทั้งหมด ทำการเก็บรวบรวมแบคทีเรียที่เป็นปฏิปักษ์กับเชื้อรา *Trichoderma* ดังกล่าวจำนวน 87 ไอโซเลท สำหรับศึกษาต่อไป (ตารางที่ 7)

4.2 แบคทีเรียจากถุงเห็ดปกติ ดอกเห็ดปกติและดอกเห็ดผิดปกติ

ก. จากถุงเห็ดปกติ

จากการแยกเชื้อแบคทีเรียจากถุงเห็ดปกติ เก็บตัวอย่างจากถุงเห็ดนางฟ้า แยกเชื้อโดยวิธี dilution pour plate ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-2} - 10^{-10} นับโคโลนีเฉลี่ยได้ 8.5 x 10^{4} cfu/g เลือกเก็บเฉพาะแบคทีเรียที่มีลักษณะแตกต่างกันด้วยตาเปล่า จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดที่เก็บได้ 46 ไอโซเลท หลังจากนำไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *T. harzianum* พบว่าแบคทีเรียจำนวน 33 ไอโซเลท เป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์ คิดเป็น 71.7 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 7)

ข. จากดอกเห็ดปกติ

จากการแยกเชื้อแบคทีเรียจากดอกเห็ดปกติจากฟาร์มต่าง ๆ จากดอกเห็ดนางฟ้า และดอกเห็ดนางรม โดยวิธี dilution pour plate ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-2} - 10^{-10} นับจำนวนโคโลนีเฉลี่ยได้ 1.3 x 10^{6} cfu/g แบคทีเรียทั้งหมดที่เก็บได้ 64 ไอโซเลท หลังจากนำไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตกับเชื้อ *T. harzianum* พบว่าเป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์ จำนวน 35 ไอโซเลท คิดเป็น 54.7 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 7)

ค. จากดอกเห็ดผิดปกติ

จากการแยกแบคทีเรียจากดอกเห็ดนางฟ้าที่มีรูปร่างผิดปกติ ได้แก่ ลักษณะดอกบิดเบี้ยว ดอกแคระแกร็น จากฟาร์มเห็ดในจังหวัดสงขลา โดยวิธี dilution pour plate ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-2} - 10^{-10} นับจำนวนโคโลนีเฉลี่ยได้ 2.3 x 10^{6} cfu/g แบคทีเรียทั้งหมดที่เก็บได้ 27 ไอโซเลท หลังจากนำไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตกับเชื้อ *T. harzianum* เป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์ จำนวน 19 ไอโซเลท คิดเป็น 70.4 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด จำนวนแบคทีเรียปฏิปักษ์ และจำนวนไอโซเลทของแบคทีเรียที่นำมาศึกษาที่พบจากแหล่งต่าง ๆ

แหล่ง	จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด (cfu/g)		จำนวนแบคทีเรียปฏิปักษ์ (เปอร์เซ็นต์)		จำนวนไอโซเลทที่นำมาศึกษา
ถุงเห็ดเป็นโรค	4.0×10^2		65.1		87
ถุงเห็ดปกติ	8.5×10^4		71.7		33
ดอกเห็ดปกติ	1.3×10^6		54.7		35
ดอกเห็ดผิดปกติ	2.3×10^6		70.4		19
		เฉลี่ย	65.5	รวม	174

ภาพที่ 11 ลักษณะวงใส (clear zone) ของโคโลนีแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อเชื้อ *Trichoderma* spp. ที่แยกจากถุงเห็ดเป็นโรค หลังจากเพาะเชื้อ 3 วัน

5. การศึกษาคุณสมบัติของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

จากการศึกษาลักษณะเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จำนวนทั้งสิ้น 174 ไอโซเลท พบว่าแบคทีเรียที่แยกได้เป็นแบคทีเรียแกรมลบ จำนวน 71 ไอโซเลท และเป็นแบคทีเรียแกรมบวกจำนวน 103 ไอโซเลท โดย เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่สามารถสร้างสารเรืองแสงในอาหาร KB จำแนกได้ว่าเป็นแบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescens* จำนวน 35 ไอโซเลท ซึ่งแยกได้จากถุงเห็ดเป็นโรคและดอกเห็ดจำนวน 12 ไอโซเลท จากถุงเห็ดปกติจำนวน 8 ไอโซเลท และจากดอกเห็ดผิดปกติจำนวน 3 ไอโซเลท (ตารางที่ 8)

ส่วนแบคทีเรียแกรมลบที่ไม่สร้างสารเรืองแสงมีจำนวน 36 ไอโซเลท เมื่อจำแนกการใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีวิต พบว่า แบคทีเรียที่แยกได้จากถุงเห็ดปกติเป็นพวกใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจน 3 ไอโซเลท ถุงเห็ดเป็นโรคมีแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจน จำนวน 14 ไอโซเลท ไม่ใช้ออกซิเจน จำนวน 2 ไอโซเลท และใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจน จำนวน 5 ไอโซเลท ในดอกเห็ดปกติมีแบคทีเรียไม่เรืองแสงจำนวน 9 ไอโซเลท 8 ไอโซเลทเป็นพวกใช้ออกซิเจน และอีก 1 ไอโซเลท ใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีวิตก็ได้ ส่วนแบคทีเรียที่แยกได้จากดอกเห็ดผิดปกติมีจำนวน 3 ไอโซเลท ซึ่งทั้ง 3 ไอโซเลทจำเป็นต้องใช้ออกซิเจนในการดำรงชีวิต

แบคทีเรียแกรมบวกมีจำนวนทั้งสิ้น 103 ไอโซเลท โดยแยกได้จากถุงเห็ดปกติจำนวน 22 ไอโซเลท ถุงเห็ดเป็นโรคจำนวน 54 ไอโซเลท ดอกเห็ดปกติจำนวน 14 ไอโซเลท และจากดอกเห็ดผิดปกติจำนวน 13 ไอโซเลท โดยที่แบคทีเรียที่แยกได้จากถุงเห็ดปกติทั้งหมดเป็นพวกใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีวิตก็ได้ แบคทีเรียที่แยกจากถุงเห็ดเป็นโรคจำนวน 5 ไอโซเลท ใช้ออกซิเจน 10 ไอโซเลท ไม่ต้องการออกซิเจน และ 39 ไอโซเลท เป็นพวกใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีวิต ในดอกเห็ดปกติ จำนวน 13 ไอโซเลท เป็นพวกใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจน จำนวน 1 ไอโซเลท เป็นพวกใช้ออกซิเจน และในดอกเห็ดผิดปกติ จำนวน 10 ไอโซเลท เป็นพวกใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจน 2 ไอโซเลท ไม่ใช้ออกซิเจน และ 1 ไอโซเลท ใช้ออกซิเจนในการดำรงชีวิต (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 จำนวนแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้จากแหล่งต่าง ๆ และการจำแนกเบื้องต้น

ลักษณะ	จำนวนไอโซเลทของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้จากแหล่งต่าง ๆ				
	ถุงเห็ดปกติ	ถุงเห็ดเป็นโรค	ดอกเห็ดปกติ	ดอกเห็ดผิดปกติ	รวม
Gram negative					
fluorescent	8	12	12	3	35
non-fluorescent					
aerobic	0	14	8	3	25
anaerobic	0	2	0	0	2
facultative	3	5	1	0	9
Gram positive					
non-fluorescent					
aerobic	0	5	1	1	7
anaerobic	0	10	0	2	12
facultative	22	39	13	10	84
รวม	33	87	35	19	174

6. ผลของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการเจริญและการสร้างตุ่มดอกของเห็ดนางฟ้า

จากการทดสอบปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างเส้นใยเห็ดกับแบคทีเรียปฏิปักษ์จำนวน 174 ไอโซเลท (ตารางที่ 9 และ ภาพที่ 12) สามารถแบ่งเป็น 5 แบบ ตามลักษณะการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ด ดังนี้

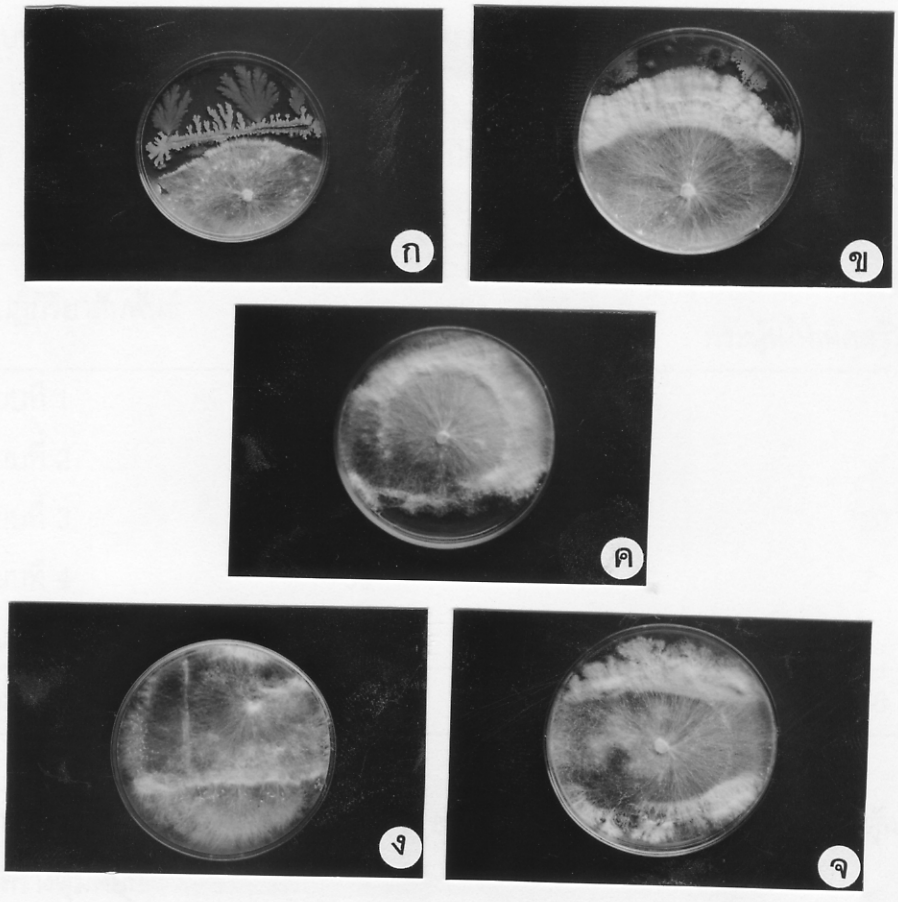
แบบที่ 1 เส้นใยเห็ดชะงักการเจริญเติบโตเมื่อพบกับเชื้อแบคทีเรียที่ขีดไว้ เส้นใยเห็ดจะไม่เจริญเข้าไปใกล้แบคทีเรีย รวมแบคทีเรียปฏิปักษ์ในกลุ่มนี้ จำนวน 12 ไอโซเลท คิดเป็น 6.9 เปอร์เซ็นต์

แบบที่ 2 เส้นใยเห็ดมีสีขาว หนาฟูตรงตำแหน่งที่สัมผัสกับแบคทีเรีย แต่ไม่มีการเจริญข้ามผ่านแบคทีเรียที่ขีดไว้ได้ รวมแบคทีเรียปฏิปักษ์ในกลุ่มนี้เป็นจำนวน 22 ไอโซเลท คิดเป็น 12.5 เปอร์เซ็นต์

แบบที่ 3 เส้นใยเห็ดบริเวณสัมผัสกับแบคทีเรียจะมีสีขาว เส้นใยจะหนาและฟูขึ้น เส้นใยเห็ดเจริญข้ามผ่านแบคทีเรียที่ขีดไว้ เส้นใยเห็ดที่เจริญข้ามผ่านไปได้นั้นจะมีลักษณะหนาและฟูยิ่งขึ้น ลักษณะคล้ายสำลี รวมจำนวนแบคทีเรียปฏิปักษ์ในกลุ่มนี้ 83 ไอโซเลท คิดเป็น 47.7 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่าแบคทีเรียในกลุ่มนี้ จำนวน 20 ไอโซเลท สามารถกระตุ้นให้เห็ดสร้างตุ่มดอกได้ ในระยะเวลา 25-30 วัน (ภาพที่ 13) ได้แก่แบคทีเรียสายพันธุ์ B003-043, B003-052, B004-011, B004-013, B004-015, B004-024, B004-027, B004-0315, B004-043, B004-047, B004-049, B005-013, B006-017, B006-018, B010-041, B010-047, B012-021, B012-022, B012-034 และ B012-054

แบบที่ 4 เส้นใยเห็ดเจริญข้ามแบคทีเรียที่ขีดไว้ได้ เส้นใยเห็ดบริเวณสัมผัสกับแบคทีเรียจะหนาและเข้มขึ้นอย่างชัดเจน เส้นใยส่วนที่เจริญข้ามไปได้ จะเป็นเส้นใยเห็ดธรรมดา ไม่มีลักษณะฟู หรือหนาขึ้น รวมจำนวนแบคทีเรียปฏิปักษ์ในกลุ่มนี้ 30 สายพันธุ์ คิดเป็น 17.2 เปอร์เซ็นต์ แบคทีเรียในกลุ่มนี้ จำนวน 7 ไอโซเลท สามารถกระตุ้นให้เห็ดสร้างตุ่มดอกได้ ได้แก่ แบคทีเรียสายพันธุ์ B003-013, B003-015, B003-034, B004-041, B004-042, B004-0411 และ B012-055

แบบที่ 5 เส้นใยเห็ดเจริญข้ามผ่านแบคทีเรียที่ขีดไว้ได้ เส้นใยเห็ดบริเวณสัมผัสกับแบคทีเรียมีสีเข้มหนา และฟูขึ้น บริเวณเส้นใยที่เจริญข้ามผ่านมีลักษณะสีค่อนข้างเหลือง รวมจำนวนแบคทีเรียปฏิปักษ์ในกลุ่มนี้ 27 ไอโซเลท คิดเป็น 15.5 เปอร์เซ็นต์ มี 1 ไอโซเลท ที่สามารถกระตุ้นให้เห็ดสร้างตุ่มดอกได้ คือแบคทีเรียสายพันธุ์ B004-029



ภาพที่ 12 ปฏิกิริยาสัมพันธ์ 5 แบบ ระหว่างเส้นใยเห็ดนางฟ้ากับแบคทีเรียปฏิปักษ์

ก. แบบที่ 1

ข. แบบที่ 2

ค. แบบที่ 3

ง. แบบที่ 4

จ. แบบที่ 5

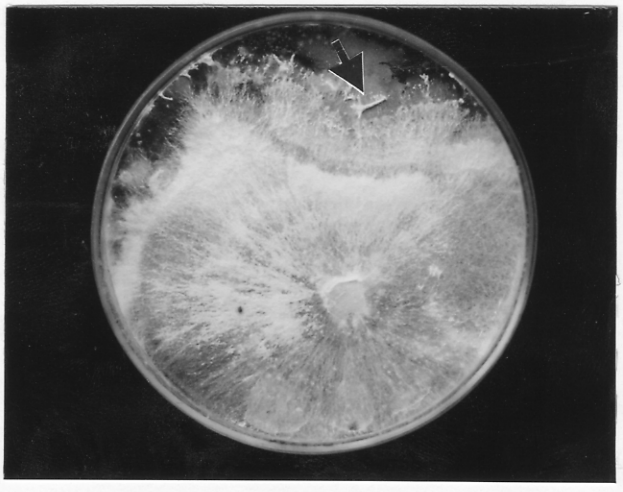
ผลของแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการเจริญและการสร้างตุ่มดอก พบว่าจำนวนแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้งหมด 174 ไอโซเลท มีแบคทีเรียปฏิปักษ์จำนวน 28 ไอโซเลท ที่สามารถกระตุ้นให้เห็ดสร้างตุ่มดอกได้ (คิดเป็น 16.1 เปอร์เซ็นต์) ของแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้งหมด ได้จากแบคทีเรียแบบที่ 3 จำนวน 20 ไอโซเลท แบบที่ 4 จำนวน 7 ไอโซเลท แบบที่ 5 จำนวน 1 ไอโซเลท (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 แบบปฏิกิริยาสัมพันธ์ของแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้า

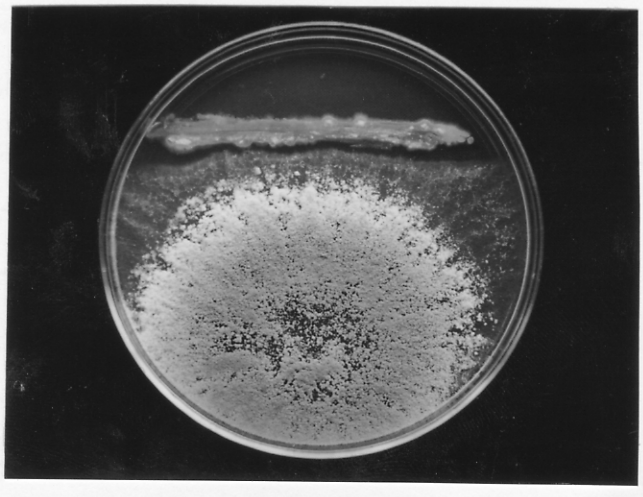
แบบของปฏิกิริยาสัมพันธ์	จำนวนไอโซเลทแบคทีเรีย	เปอร์เซ็นต์	จำนวนไอโซเลทที่กระตุ้นให้เห็ดสร้างตุ่มดอก
แบบที่ 1	12	6.9	-
แบบที่ 2	22	12.6	-
แบบที่ 3	83	47.7	20
แบบที่ 4	30	17.2	7
แบบที่ 5	27	15.5	1
รวม	174	100	28

7. ความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Trichoderma* ของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถกระตุ้นให้เห็ดนางฟ้าสร้างตุ่มดอก

จากการทดสอบแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถกระตุ้นให้เห็ดนางฟ้าสร้างตุ่มดอก จำนวน 28 ไอโซเลท ต่อการเจริญของเชื้อ *T. harzianum* อีกครั้งหนึ่งพบว่า มีจำนวน 22 ไอโซเลท ที่ยังมีความสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *T. harzianum* ได้ดี โดยการสร้างสารปฏิชีวนะ ทำให้ปลายเส้นใยของเชื้อราที่สัมผัสกับแบคทีเรียแสดงอาการผิดปกติไป ส่งผลให้เชื้อราไม่สามารถเจริญต่อไปได้ (ภาพที่ 14) ส่วนอีก 6 ไอโซเลทที่เหลือมีความสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *T. harzianum* ได้น้อยมาก การศึกษาขั้นต่อไปจึงใช้เฉพาะเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ จำนวน 22 ไอโซเลท แหล่งที่มา ลักษณะและคุณสมบัติสำคัญของแบคทีเรียปฏิปักษ์จำนวน 22 ไอโซเลท ได้แสดงไว้ในตารางที่ 10



ภาพที่ 13 การกระตุ้นให้เห็ดนางฟ้าสร้างตุ่มดอก (primordia) โดย *Bacillus* sp. สายพันธุ์ B012-022



ภาพที่ 14 การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *T. harzianum* โดย *Bacillus* sp. สายพันธุ์ B012-022

ตารางที่ 10 แหล่งที่มา คุณสมบัติสำคัญของแบคทีเรียปฏิปักษ์ จำนวน 22 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *T. harzianum* และสามารถกระตุ้นให้เห็ดนางฟ้าสร้างตุ่มดอก

รหัสแบคทีเรีย	แหล่งตัวอย่าง	สถานที่เก็บ	วันที่เก็บตัวอย่าง	ลักษณะรูปร่าง	การใช้ออกซิเจน
B003-013	ดอกเห็ดนางฟ้าปกติ	สงขลา	31/10/1944	แกรมลบ ไม่เรืองแสง	ใช้ออกซิเจน
B003-015	ดอกเห็ดนางฟ้าปกติ	สงขลา	22/11/1944	แกรมลบเรืองแสง	ใช้ออกซิเจน
B003-034	ดอกเห็ดนางรมปกติ	สงขลา	22/11/1944	แกรมลบเรืองแสง	ใช้ออกซิเจน
B003-043	ดอกเห็ดนางรมผิดปกติ	สงขลา	22/11/1944	แกรมลบเรืองแสง	ใช้ออกซิเจน
B004-013	ดอกเห็ดนางฟ้าผิดปกติ	สงขลา	15/12/1944	แกรมบวกแท่งยาว	ใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจน
B004-024	ดอกเห็ดนางฟ้าผิดปกติ	สงขลา	15/12/1944	แกรมบวกแท่งยาว	ใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจน
B004-027	ดอกเห็ดนางฟ้าผิดปกติ	สงขลา	22/11/1944	แกรมบวกแท่งยาว	ใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจน
B004-029	ดอกเห็ดนางฟ้าผิดปกติ	สงขลา	22/11/1944	แกรมลบ ไม่เรืองแสง	ใช้ออกซิเจน
B004-035	ถุงเห็ดนางฟ้าปกติ	สงขลา	22/12/1944	แกรมลบ ไม่เรืองแสง	ใช้ออกซิเจน
B004-041	ถุงเห็ดนางฟ้าเป็นโรค	สงขลา	15/12/1944	แกรมบวกแท่งยาว	ใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจน
B004-042	ถุงเห็ดนางฟ้าเป็นโรค	สงขลา	22/12/1944	แกรมลบ ไม่เรืองแสง	ใช้ออกซิเจน
B004-043	ถุงเห็ดนางฟ้าเป็นโรค	สงขลา	22/12/1944	แกรมบวกทรงกลม	ใช้ออกซิเจน
B004-049	ถุงเห็ดนางฟ้าเป็นโรค	สงขลา	22/12/1944	แกรมบวกทรงกลม	ใช้ออกซิเจน
B006-017	ดอกเห็ดนางฟ้าผิดปกติ	สงขลา	21/12/1944	แกรมบวกแท่งยาว	ใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจน
B006-018	ดอกเห็ดนางฟ้าผิดปกติ	สงขลา	21/12/1944	แกรมบวกทรงกลม	ไม่ใช้ออกซิเจน
B010-041	ถุงเห็ดนางฟ้าเป็นโรค	สงขลา	07/02/1945	แกรมบวกแท่งยาว	ใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจน
B010-047	ถุงเห็ดนางฟ้าเป็นโรค	สงขลา	07/02/1945	แกรมบวกทรงกลม	ใช้ออกซิเจน
B012-021	ถุงเห็ดหูหนูเป็นโรค	สงขลา	07/02/1945	แกรมบวกแท่งยาว	ใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจน
B012-022	ถุงเห็ดหูหนูเป็นโรค	สงขลา	07/02/1945	แกรมบวกแท่งยาว	ใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจน
B012-034	ถุงเห็ดหูหนูเป็นโรค	สงขลา	07/02/1945	แกรมบวกแท่งยาว	ใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจน
B012-054	ถุงเห็ดหูหนูเป็นโรค	สงขลา	07/02/1945	แกรมบวกแท่งยาว	ใช้หรือไม่ใช้ออกซิเจน
B012-055	ถุงเห็ดหูหนูเป็นโรค	สงขลา	07/02/1945	แกรมลบ ไม่เรืองแสง	ใช้ออกซิเจน

8. การทดสอบเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการออกดอกของเห็ดในโรงเรือนเพาะเห็ด

ผลของแบคทีเรียปฏิปักษ์จำนวน 22 สายพันธุ์ ต่อระยะเวลาในการออกดอก จำนวนดอก และน้ำหนักดอกเห็ดนางฟ้า เมื่อทำการทดลองฉีดพ่นแบคทีเรียลงบนก้อนเชื้อเห็ดนางฟ้า เปรียบเทียบกับการไม่ฉีดพ่นแบคทีเรียปฏิปักษ์ (control) ได้ผลการทดลอง (ตารางที่ 11) ดังนี้

8.1 ระยะเวลารดน้ำจนเก็บผลผลิต

ในช่วงเก็บเกี่ยว 30 วัน เห็ดในรุ่นที่ 1 ออกดอกหมดทุกถุง โดยระยะเวลาเฉลี่ยในการออกดอกของเห็ดรุ่นที่ 1 อยู่ระหว่าง 4.8 - 8.4 วัน ในขณะที่ การไม่ฉีดพ่นแบคทีเรียปฏิปักษ์ ระยะเวลาเฉลี่ยในการออกดอก 4.9 วัน รุ่นที่ 2 เห็ดออกดอกหมดทุกถุงยกเว้นถุงที่ฉีดด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B004-035 ออกดอกเพียง 8 ถุง และสายพันธุ์ B003-043 ออกดอกเพียง 9 ถุง ระยะเวลาเฉลี่ยในการออกดอก รุ่นที่ 2 อยู่ในช่วง 13.2 - 20.6 วัน ส่วนการไม่ฉีดพ่นแบคทีเรียปฏิปักษ์ ระยะเวลาเฉลี่ยในการออกดอก 17.0 วัน ส่วนรุ่นที่ 3 การออกดอกของเห็ดไม่ครบทุกถุง จำนวนถุงที่ออกในรุ่นที่ 3 มากที่สุดคือ ออกดอกจำนวน 9 ถุง จาก 10 ถุง เมื่อฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B012-034 รองลงมาคือ 7 ถุง เมื่อฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B012-022 และ B004-035 ระยะเวลาเฉลี่ยในการออกดอกในรุ่นนี้อยู่ในช่วง 23.7 - 29.5 วัน ส่วนการไม่ฉีดพ่นแบคทีเรียปฏิปักษ์ ระยะเวลาเฉลี่ยในการออกดอก 28.3 วัน และรุ่นที่ 3 ออกดอกเพียง 2 ถุง

8.2 จำนวนดอกเห็ด

จำนวนดอกเห็ดเฉลี่ยในรุ่นที่ 1 อยู่ในช่วง 4.7 - 8.1 ดอก/ถุง เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ฉีดพ่นแบคทีเรียปฏิปักษ์ พบว่าออกดอกเฉลี่ย 6.1 ดอก/ถุง รุ่นที่ 2 จำนวนดอกเห็ดเฉลี่ยอยู่ในช่วง 2.5 - 7.4 ดอก/ถุง ในขณะการไม่ฉีดพ่นแบคทีเรียปฏิปักษ์ ออกดอกเฉลี่ยเพียง 2.3 ดอก/ถุง และรุ่นที่ 3 เห็ดออกดอกไม่ครบทุกถุง จำนวนดอกเห็ดเฉลี่ยอยู่ในช่วง 0.1 - 8.1 ดอก/ถุง ส่วนการไม่ฉีดพ่นแบคทีเรียปฏิปักษ์เห็ดออกดอกเฉลี่ย 4.0 ดอก/ถุง

จำนวนดอกเห็ดเฉลี่ยทั้งหมดอยู่ในช่วง 9.5 - 22.7 ดอก/ถุง โดยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ที่ทำให้เห็ดออกดอกเฉลี่ยมากคือ B012-022 ออกดอก 22.7 ดอก/ถุง ส่วนถุงที่ไม่ฉีดพ่นแบคทีเรียปฏิปักษ์เห็ดออกดอกเฉลี่ยเพียง 10.4 ดอก/ถุง ซึ่งพบว่า ถุงที่ฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์จำนวนดอกเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า ของถุงที่ไม่ฉีดพ่นแบคทีเรียปฏิปักษ์

8.3 น้ำหนัก

รุ่นที่ 1 น้ำหนักเห็ดเฉลี่ยอยู่ในช่วง 68.0 - 119.0 กรัม/ถุง ในขณะที่ไม่ฉีดพ่นแบคทีเรียปฏิปักษ์เห็ดมีน้ำหนักเฉลี่ย 106 กรัม/ถุง ในรุ่นที่ 2 น้ำหนักเห็ดเฉลี่ยอยู่ในช่วง 15.5 - 63.0 กรัม/ถุง ในขณะที่ การไม่ฉีดพ่นแบคทีเรียปฏิปักษ์เห็ดมีน้ำหนักเฉลี่ย 30.0 กรัม/ถุง ส่วนรุ่นที่ 3 การออกดอกไม่ครบทุกถุง น้ำหนักเห็ดเฉลี่ยอยู่ในช่วง 0.5 - 39.0 เมื่อฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B012-

034 และ B004-035 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ทำให้เห็ดออกดอกเฉลี่ยมากที่สุดคือ 39.0 กรัม/ถุง ในขณะที่การไม่ฉีดพ่นแบคทีเรียปฏิปักษ์เห็ดมีน้ำหนักเฉลี่ยเพียง 4.0 กรัม/ถุง

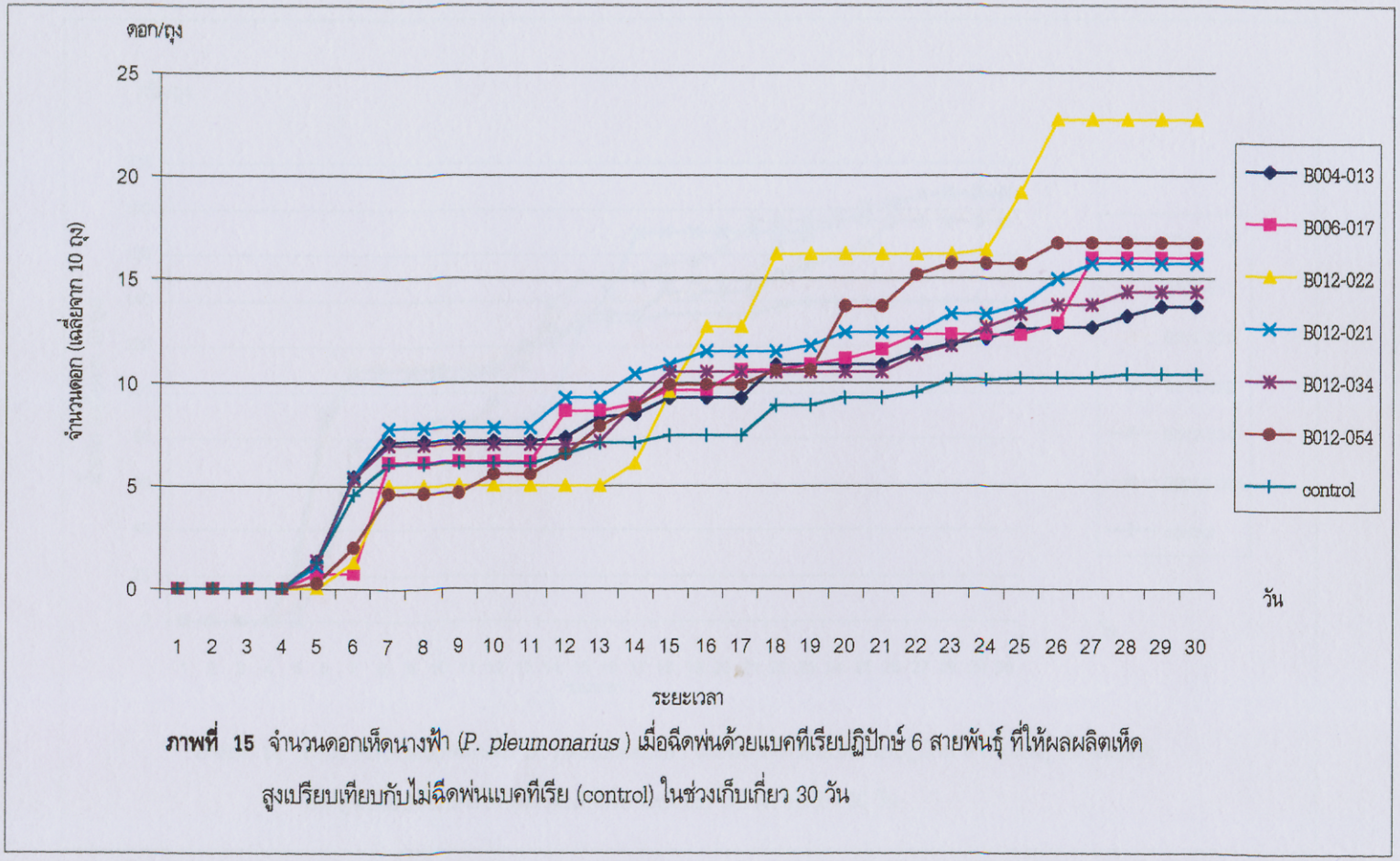
ผลผลิตรวมของเห็ดเมื่อฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์ 15 ไอโซเลท ที่ทำให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตเฉลี่ยเพิ่มขึ้น (1.1 - 34.3 เปอร์เซ็นต์) เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ฉีดพ่นแบคทีเรียปฏิปักษ์ ซึ่งมีน้ำหนักรวม 140 กรัม/ถุง ได้แก่ B003-015, B003-034, B004-013, B004-029, B004-035, B004-041, B004-042, B004-043, B006-017, B006-018, B012-021, B012-022, B012-034, B010-047 และ B012-054 ส่วนแบคทีเรีย 7 ไอโซเลท ทำให้ผลผลิตเห็ดเฉลี่ยลดลง (1.4 - 8.2 เปอร์เซ็นต์) ได้แก่ B003-013, B003-043, B004-024, B004-027, B004-049, B010-041 และ B012-055

ทำการคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์จำนวน 6 สายพันธุ์ เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป โดยพิจารณาจาก สายพันธุ์ที่ให้น้ำหนักสูง ระยะเวลาในการออกดอกเร็ว และจำนวนดอกมาก เพื่อนำไปทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคราเขียวของเห็ดในโรงเรือน แบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 6 สายพันธุ์ ได้แก่ B004-013, B006-017, B012-021, B012-022, B012-034 และ B012-054 จากการจำแนกพบว่า ทั้ง 6 สายพันธุ์เป็น *Bacillus* sp. (ตารางที่ 11) จำนวนดอกเฉลี่ยสะสมและน้ำหนักเฉลี่ยสะสมที่เก็บได้ในช่วงเก็บเกี่ยว 30 วัน ได้แสดงไว้ในภาพที่ 15 และภาพที่ 16 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า การฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์ทำให้เห็ดมีการออกดอกอย่างต่อเนื่องตลอดช่วงเก็บเกี่ยว ส่งผลให้น้ำหนักสะสมของดอกเห็ดสูงกว่าชุดทดลองซึ่งไม่ฉีดพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ โดยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B012-021, B012-022, B012-034 และ B012-054 แยกเชื้อมาจากถุงเห็ดหูหนูเป็นโรค สายพันธุ์ B004-013 และ B006-017 แยกได้จากดอกเห็ดนางฟ้าผิดปกติ

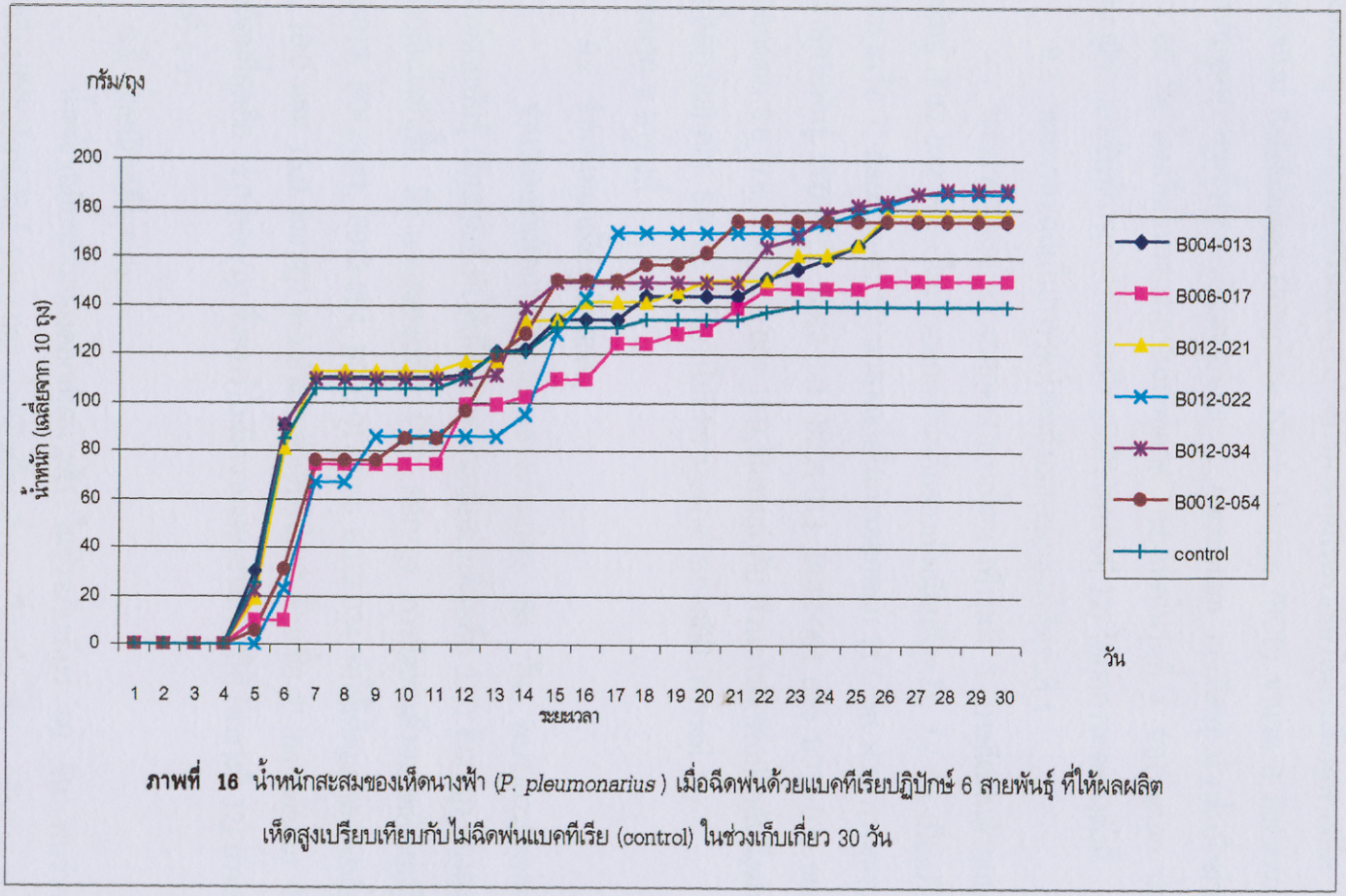
ตารางที่ 11 วันที่เห็ดออกดอก จำนวนดอกเห็ดและน้ำหนักของเห็ดนางฟ้า (*P. pleumonarius*) เมื่อฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์ 22 สายพันธุ์ ในช่วงเก็บเกี่ยว 30 วัน (เฉลี่ยจาก 10 ถุง)

สิ่งทดลอง	รุ่นที่ 1			รุ่นที่ 2			รุ่นที่ 3			รวม			หมายเหตุ
	วันที่เห็ดออกดอก	จำนวนดอก	น้ำหนัก(กรัม)	วันที่เห็ดออกดอก	จำนวนดอก	น้ำหนัก(กรัม)	วันที่เห็ดออกดอก	จำนวนดอก	น้ำหนัก(กรัม)	จำนวนดอก	น้ำหนัก(กรัม)	% เพิ่ม-ลด	จำนวนถุงที่ออกดอกในรุ่นที่ 3
B003-013	6.1	5.8	87.0	18.5	4.1	38.5	28.2	2.3	10.0	12.2	135.5	-3.2	2
B003-015	7.0	5.8	94.0	20.6	4.0	32.0	29.4	6.0	20.0	15.8	146.0	-4.3	2
B003-034	5.5	8.1	106.0	15.1	2.8	31.0	26.6	3.3	12.5	14.2	149.5	6.8	4
B003-043	8.1	7.6	88.0	18.3	3.1	33.0	26.9	3.0	16.5	13.7	137.5	1.8	4
B004-013	**4.9**	**7.2**	**110.0**	**15.6**	**3.3**	**42.0**	**27.3**	**3.2**	**23.0**	**13.7**	**175.0**	**25.0**	**5**
B004-024	6.6	5.5	91.0	20.1	3.9	38.0	29.5	0.1	0.5	9.5	129.5	-7.5	1
B004-027	7.4	6.5	77.0	17.4	3.1	33.5	27.6	6.0	18.0	15.6	128.5	-8.2	3
B004-029	6.6	6.1	93.0	19.7	3.8	42.5	28.5	3.8	11.5	13.7	147.0	5.0	3
B004-035	8.4	6.0	68.0	17.6	3.4	34.5	25.5	4.2	39.0	13.6	141.5	1.1	7
B004-041	5.5	4.7	88.0	17.7	4.9	55.0	28.7	2.5	3.5	12.1	146.5	4.6	3
B004-042	5.8	5.5	74.0	17.1	4.5	63.0	28.5	5.0	13.0	15.0	150.0	7.1	2
B004-043	6.1	6.2	115.0	19.3	2.5	25.0	27.7	4.0	9.5	12.7	149.5	6.8	3
B004-049	6.8	6.3	75.0	18.1	3.4	39.0	27.2	3.7	16.0	13.4	130.0	-7.1	4
B006-017	**6.8**	**7.8**	**89.0**	**17.8**	**4.5**	**55.0**	**28.6**	**3.7**	**6.5**	**16.0**	**150.5**	**7.5**	**3**
B006-018	4.8	6.6	119.0	19.4	2.5	15.5	27.4	2.8	10.5	11.9	145.0	3.6	4
B010-041	6.2	6.9	90.0	19.8	3.9	39.5	28.4	3.0	8.5	13.8	138.0	-1.4	3
B010-047	5.3	7.1	113.0	17.6	2.8	23.5	29.0	1.5	8.0	11.4	144.5	3.2	2
B012-021	**5.1**	**7.8**	**113.0**	**14.9**	**2.9**	**33.0**	**26.0**	**5.1**	**31.5**	**15.8**	**177.5**	**26.8**	**6**
B012-022	**7.0**	**7.2**	**93.0**	**16.5**	**7.4**	**62.0**	**26.3**	**8.1**	**31.5**	**22.7**	**186.5**	**33.2**	**6**
B012-034	**4.9**	**7.0**	**109.0**	**13.2**	**2.7**	**40.0**	**23.7**	**4.7**	**39.0**	**14.4**	**188.0**	**34.3**	**9**
B012-054	**7.0**	**7.2**	**109.0**	**15.8**	**4.3**	**46.5**	**24.5**	**5.3**	**19.0**	**16.8**	**174.5**	**24.6**	**2**
B012-055	6.2	6.4	84.0	18.1	3.4	37.0	27.4	4.5	11.0	14.3	132.0	-5.7	4
Control	4.9	6.1	106.0	17.0	2.3	30.0	28.3	2.0	4.0	10.4	140.0	0.0	2

เครื่องหมาย - หมายถึงผลผลิตลดลง



ภาพที่ 15 จำนวนดอกเห็ดนางฟ้า (*P. pleumonarius*) เมื่อฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์ 6 สายพันธุ์ ที่ให้ผลผลิตเห็ดสูงเปรียบเทียบกับไม่ฉีดพ่นแบคทีเรีย (control) ในช่วงเก็บเกี่ยว 30 วัน



ภาพที่ 16 น้ำหนักสะสมของเห็ดนางฟ้า (*P. pleumonarius*) เมื่อฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์ 6 สายพันธุ์ ที่ให้ผลผลิตเห็ดสูงเปรียบเทียบกับไม่ฉีดพ่นแบคทีเรีย (control) ในช่วงเก็บเกี่ยว 30 วัน

9. การทดสอบความสามารถของแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการควบคุมโรคราเขียวในโรงเรือน

จากการนำแบคทีเรียปฏิปักษ์จำนวน 6 ไอโซเลท ที่คัดเลือกแล้วว่าส่งผลให้เห็ดออกดอกดี และให้ผลผลิตสูง มาทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคราเขียวในโรงเรือนเพาะเห็ด โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCB) จำนวน 8 สิ่งทดลอง 3 ซ้ำ เปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งฉีดพ่นด้วยสปอร์เชื้อ *T. harzianum* และฉีดพ่นน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ในช่วงเก็บเกี่ยว 60 วัน โดยบันทึกระยะเวลาในการออกดอกของเห็ดในรุ่นที่ 1 จำนวนดอก น้ำหนักดอกเฉลี่ยสะสม และเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของเห็ดนางฟ้า (ตารางที่ 12) ได้ผลการทดลองดังนี้

9.1 ระยะเวลาเฉลี่ยในการรดน้ำจนถึงออกดอกของเห็ดรุ่นที่ 1

ระยะเวลาเฉลี่ยในการออกดอกของเห็ดนางฟ้ารุ่นที่ 1 การฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B012-022 ใช้เวลาในการออกดอกเฉลี่ยของเห็ดน้อยที่สุดคือ 7.8 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับฉีดพ่นเฉพาะเชื้อ *T. harzianum* ระยะเวลาเฉลี่ยในการออกดอก 11.5 วัน ส่วนการฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B006-017, B012-021, B004-013, B012-054 และ B012-034 ระยะเวลาเฉลี่ยในการออกดอก 8.6, 9.6, 9.9, 10.6 และ 15.0 วันตามลำดับ ส่วนการฉีดพ่นน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ระยะเวลาเฉลี่ยในการออกดอก 8.8 วัน ซึ่งพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 12)
(ภาคผนวก ข ตารางที่ 1-3)

9.2 จำนวนดอกเห็ดเฉลี่ยสะสม

จำนวนดอกเห็ดนางฟ้าเฉลี่ยในช่วงเก็บเกี่ยว 60 วัน พบว่าการฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B012-022 ทำให้เห็ดออกดอกเฉลี่ยมากที่สุดคือ 21.0 ดอก/ถุง รองลงมาคือ การฉีดพ่นน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ มีจำนวนดอกเฉลี่ย 17.0 ดอก/ถุง การฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B004-013, B012-021, B012-054, B006-017 และ B012-034 ทำให้เห็ดออกดอกเฉลี่ย 16.5, 16.4, 16.0, 16.0 และ 15.0 ดอก/ถุง ตามลำดับ ส่วนการฉีดพ่นด้วยเชื้อ *T. harzianum* จำนวนดอกเห็ดเฉลี่ยน้อยที่สุดคือ 14.0 ดอก/ถุง ซึ่งพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 12) (ภาคผนวก ข ตารางที่ 1-1)

9.3 น้ำหนักเฉลี่ยสะสม

น้ำหนักเฉลี่ยสะสมของดอกเห็ดนางฟ้า ในช่วงเก็บเกี่ยว 60 วัน พบว่าการฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B012-022 น้ำหนักเห็ดเฉลี่ยมากที่สุดคือ 300.0 กรัม/ถุง รองลงมาคือ ฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B006-017 น้ำหนักเฉลี่ย 244.3 กรัม/ดอก ซึ่งมากกว่า การฉีดพ่นด้วยเชื้อ *T. harzianum* ให้น้ำหนักเฉลี่ยสะสมน้อยสุดคือ 175.3 กรัม/ถุง ส่วนการฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B012-034, B012-054, B012-021 และ B004-013 น้ำหนักเฉลี่ย 183.5,

187.5, 190.7 และ 192.0 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการฉีดพ่นน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ มีน้ำหนักเฉลี่ย 191.7 กรัม/ถุง ให้ค่าความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 12) (ภาคผนวก ข ตารางที่ 1-2)

9.4 เปอร์เซ็นต์ถุงเห็ดนางฟ้าที่เป็นโรค

เมื่อทำการฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ต่าง ๆ ก่อน 2 วัน แล้วฉีดพ่นตามด้วยเชื้อ *T. harzianum* เปรียบเทียบกับการฉีดพ่นเฉพาะเชื้อ *T. harzianum* เพียงอย่างเดียว พบว่าภายในระยะเวลา 5 วัน ถุงเห็ดแสดงอาการเกิดโรค ปรากฏสปอร์สีเขียวขึ้นภายในถุงเห็ดนางฟ้าที่ฉีดพ่นเฉพาะเชื้อ *T. harzianum* โดยทำให้ถุงเห็ดเกิดโรคถึง 80.0 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์ผสมกับเชื้อ *T. hazianum* ถุงเห็ดแสดงอาการเกิดโรคในระยะเวลา 10 วันหลังจากฉีดพ่น การฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B012-022 ทำให้ถุงเห็ดนางฟ้าเกิดโรคน้อยที่สุดคือ 6.7 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ การฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B006-017 ทำให้ถุงเห็ดนางฟ้าเกิดโรค 23.3 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B012-021, B004-013, B012-034 และ B012-054 ทำให้ถุงเห็ดนางฟ้าเกิดโรค 63.0, 73.3, 73.3 และ 80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่การฉีดพ่นน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ทำให้ถุงเห็ดเป็นโรค 33.3 เปอร์เซ็นต์ ให้ค่าความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ 12) (ภาคผนวก ข ตารางที่ 1-4)

การเกิดโรคของถุงเห็ดนางฟ้า เมื่อสังเกตภายในถุงเห็ดจะปรากฏสปอร์สีเขียวของเชื้อ *Trichoderma* โรคเริ่มแสดงอาการครั้งแรกกับถุงเห็ดที่ฉีดพ่นด้วยเชื้อ *T. harzianum* หลังจากฉีดพ่นเชื้อ 5 วัน ส่วนถุงเห็ดที่มีการฉีดพ่นแบคทีเรียปฏิปักษ์เห็ดจะแสดงอาการเกิดโรคหลังจากฉีดพ่นเชื้อ 10 วัน ระยะเวลาในการแสดงอาการของโรคประมาณ 30 วัน หลังจากนั้นตรวจสอบการเกิดโรคอีกครั้งในวันที่ 50 พบว่าไม่ปรากฏสปอร์สีเขียวของเชื้อ *T. harzianum* บนถุงเห็ดที่โรค แต่ถุงเห็ดที่เคยถูกเชื้อ *T. harzianum* เข้าทำลายเกิดอาการเน่าเละ เส้นใยเห็ดเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลทำให้เห็ดไม่ออกดอก

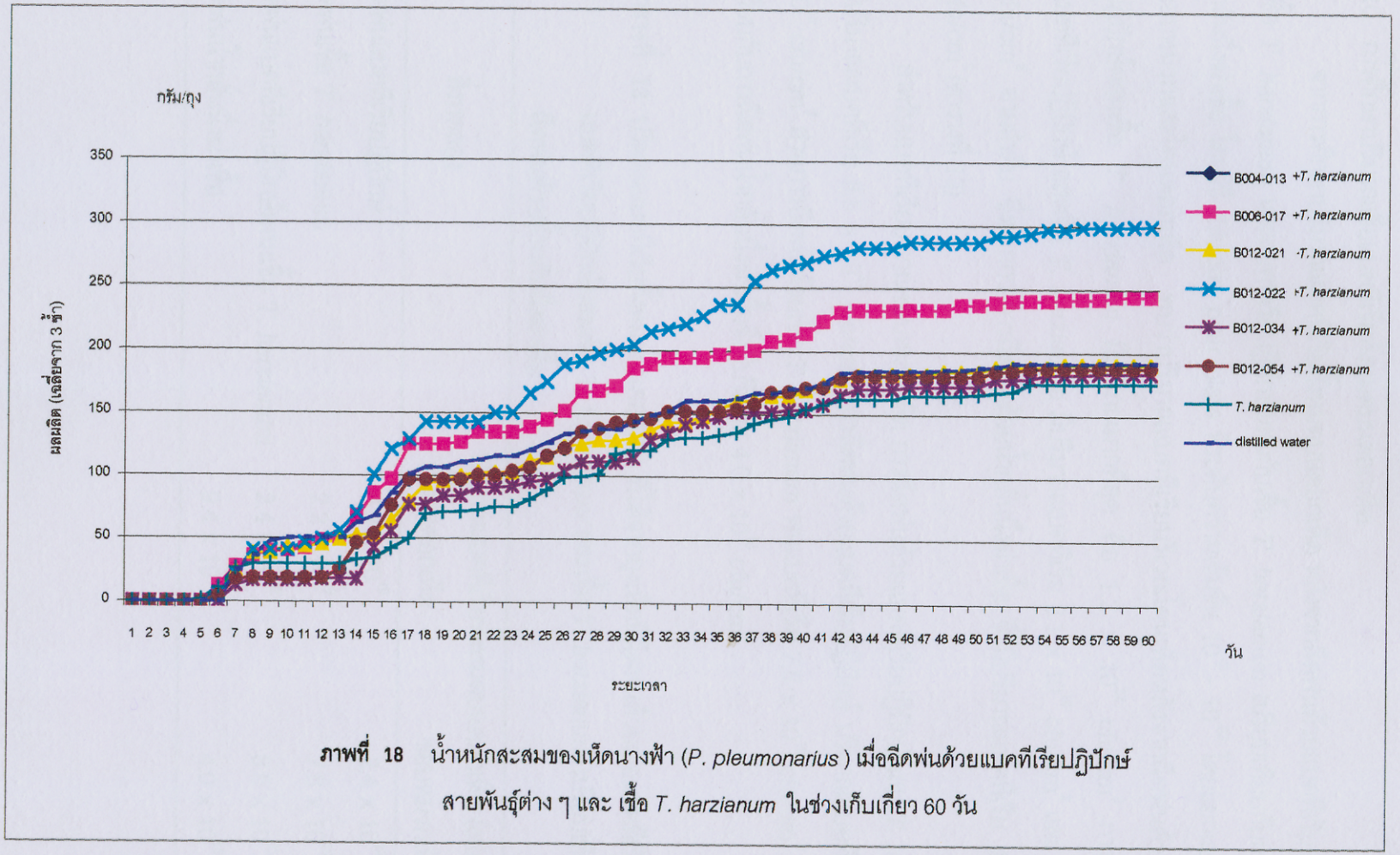
ตารางที่ 12 ค่าเฉลี่ยของระยะเวลารดน้ำจนเห็ดออกดอกรุ่นที่ 1 จำนวนดอก น้ำหนักเฉลี่ยสะสม และจำนวนถุงเห็ดนางฟ้า (*P. pleumonarius*) ที่เป็นโรค เมื่อฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ต่าง ๆ และเชื้อ *T. harzianum* ในช่วงเก็บเกี่ยว 60 วัน

สิ่งทดลอง	ระยะเวลารดน้ำจนเห็ดออกดอกรุ่นที่ 1 วัน	จำนวนดอก (ดอก/ถุง)	น้ำหนัก (กรัม/ถุง)	เพิ่ม (%)	จำนวนถุงเห็ดเกิดโรค (%)
1. แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B004-013 + *T. harzianum*	9.9	16.5	192.0b	9.5	73.3a
2. แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B006-017 + *T. harzianum*	8.6	16.0	244.3ab	39.4	23.3c
3. แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B012-021 + *T. harzianum*	9.6	16.4	190.7b	8.0	63.0ab
4. แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B012-022 + *T. harzianum*	7.8	21.0	300.0a	71.1	6.7c
5. แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B012-034 + *T. harzianum*	15.0	15.0	183.5b	4.7	73.3a
6. แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ B012-054 + *T. harzianum*	10.6	16.0	187.5b	7.0	80.0a
7. *T. harzianum* (control)	11.5	14.0	175.3b	0.0	80.0a
8. น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (check)	8.8	17.0	191.7b	8.8	33.3bc
c.v. (%)	27.1	16.8	14.6		23.9
F-test	ns	ns	*		**

*, ** แตกต่างทางสถิติที่ $p<0.05, 0.01$

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ภาพที่ 17 จำนวนดอกเห็ดนางฟ้า (*P. pleumonarius*) เมื่อฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ต่าง ๆ และเชื้อ *T. harzianum* ในช่วงเก็บเกี่ยว 60 วัน



ภาพที่ 18 น้ำหนักสะสมของเห็ดนางฟ้า (*P. pleumonarius*) เมื่อฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ต่าง ๆ และ เชื้อ *T. harzianum* ในช่วงเก็บเกี่ยว 60 วัน

10. การศึกษาปริมาณเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดบนดอกเห็ด

จากการศึกษาปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดบนดอกเห็ด หลังจากฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์เชื้อ *T. harzianum* และแบคทีเรียปฏิปักษ์ผสมกับเชื้อ *T. harzianum* เปรียบเทียบกับการฉีดพ่นน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ โดยวิธี dilution pour plate ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-2} - 10^{-22} โดยแยกแบคทีเรียจากขอบหมวกและโคนดอกเห็ด พบว่าปริมาณแบคทีเรียบริเวณโคนเห็ดหลังจากฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์ผสมเชื้อ *T. harzianum* มีปริมาณมากที่สุด คือ 1.2×10^{22} cfu/cm^2 การฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์ และเชื้อ *T. harzianum* มีปริมาณแบคทีเรีย 2.1×10^{18} cfu/cm^2 และ 1.1×10^{19} cfu/cm^2 ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าการฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ซึ่งมีปริมาณแบคทีเรีย 4.7×10^{16} cfu/cm^2 (ตารางที่ 13)

สำหรับแบคทีเรียบริเวณขอบหมวกเห็ด การฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์ผสม *T. harziaum* มีปริมาณแบคทีเรีย 8.5×10^{21} cfu/cm^2 การฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์ ปริมาณแบคทีเรีย 2.4×10^{18} cfu/cm^2 ส่วนการฉีดพ่นด้วยเชื้อ *T. harzianum* พบแบคทีเรีย 7.8×10^{16} cfu/cm^2 เมื่อเปรียบเทียบกับการฉีดพ่นน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อซึ่งมีปริมาณ 4.0×10^{16} cfu/cm^2

ตารางที่ 13 ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดบนดอกเห็ด ที่ได้จากถุงเห็ดที่ฉีดพ่นด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ แบคทีเรียปฏิปักษ์ผสมเชื้อ *T. harzianum* และเชื้อ *T. harzianum* เปรียบเทียบกับการฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ

สิ่งทดลอง	ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดบนดอกเห็ด (cfu/cm^2)	
	โคนดอกเห็ด	ขอบหมวกเห็ด
ฉีดพ่นแบคทีเรียปฏิปักษ์	4.2×10^{18}	2.4×10^{18}
ฉีดพ่นเชื้อ *T. harzianum*	2.2×10^{19}	7.8×10^{16}
ฉีดพ่นแบคทีเรียปฏิปักษ์ผสมเชื้อ *T. harzianum*	2.4×10^{22}	8.5×10^{21}
ฉีดพ่นน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ	9.4×10^{16}	4.0×10^{16}