รายงานการวิจัย

การคัดเลือกและการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อใช้ควบคุมโรคราดำของเห็ดที่เกิดจากเชื้อรา *Botryodiplodia* spp.

Screening and Using of Antagonistic Bacteria to Control *Botryodiplodia* spp. in Mushroom

พรศิลป์ สีเผือก Pornsil Seephueak
ชัยสิทธิ์ ปรีชา Chaisit Preecha
วุฒิชัย สีเผือก Wuttichai Seephueak

คณะเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

งบประมาณแผ่นดิน ประจำปี พ.ศ. 2561-2562

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย สำหรับการสนับสนุนงบประมาณในการทำวิจัย ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561-2562 ขอขอบคุณเกษตรกรผู้เพาะเห็ดในจังหวัดนครศรีธรรมราช พัทลุง ตรัง สงขลา และสุราษฎร์ธานี สำหรับการอนุเคราะห์ตัวอย่างก้อนเชื้อเห็ดที่เป็นโรคราดำเพื่อใช้ในการทำวิจัย ซึ่งผลจากการวิจัยนี้สามารถใช้เป็นแนวทางเพื่อใช้ประโยชน์ในด้านการควบคุมโรคราดำของเห็ดได้ในอนาคต

ขอขอบคุณผู้เกี่ยวข้องทุกฝ่ายที่ได้ให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ ทั้งความสะดวกในการใช้อุปกรณ์และเครื่องมือวิเคราะห์ ตลอดจนสถานที่ในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ ที่ให้การช่วยเหลือและอำนวยความสะดวก ขอขอบคุณผู้ร่วมวิจัยที่อุทิศกำลังกายและกำลังใจ ช่วยให้การวิจัยครั้งนี้ลุล่วงสำเร็จได้ด้วยดี

พรศิลป์ สีเผือก
ชัยสิทธิ์ ปรีชา
วุฒิชัย สีเผือก

ตุลาคม 2562

การคัดเลือกและการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อใช้ควบคุมโรคราดำของเห็ด ที่เกิดจากเชื้อรา *Botryodiplodia* spp.

พรศิลป์ สีเผือก[1*] ชัยสิทธิ์ ปรีชา[2] และวุฒิชัย สีเผือก[1]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกและใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ เพื่อใช้ควบคุมโรคราดำของเห็ดที่เกิดจากเชื้อรา *Botryodiplodia* spp. ทำการเก็บตัวอย่างก้อนเชื้อเห็ดที่เกิดโรคราดำ *Botryodiplodia* spp. ในพื้นที่ 5 จังหวัดภาคใต้ ได้แก่ จังหวัดนครศรีธรรมราช สงขลา พัทลุง สุราษฎร์ธานี และตรัง แยกเชื้อด้วยวิธี dilution pour plate โดยเชื้อราใช้อาหาร PDA (Potato Dextrose Agar) และแบคทีเรียใช้อาหาร NA (Nutrient Agar) ผลการเก็บตัวอย่างพบฟาร์มเห็ดเป็นโรคราดำ จำนวน 55 ฟาร์ม แบ่งเป็นจังหวัดนครศรีธรรมราช 14 ฟาร์ม จังหวัดสงขลา 12 ฟาร์ม จังหวัดพัทลุงและสุราษฎร์ธานี จังหวัดละ 10 ฟาร์ม และจังหวัดตรัง 9 ฟาร์ม ได้ก้อนเชื้อเห็ดทั้งหมด 126 ก้อน ได้แก่ ก้อนเชื้อเห็ดนางฟ้า 63 ก้อน (50.00 เปอร์เซ็นต์) เห็ดนางรม 39 ก้อน (30.95 เปอร์เซ็นต์) เห็ดหูหนู 16 ก้อน (12.70 เปอร์เซ็นต์) และเห็ดหลินจือ 8 ก้อน (6.35 เปอร์เซ็นต์) และเมื่อนำเชื้อ *Botryodiplodia* spp. ไปจำแนกสายพันธุ์โดยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ ITS rDNA พบว่าเป็น *Botryodiplodia theobromae*

ผลการทดสอบความสามารถในการเป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคราดำ *B. theobromae* พบเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *B. theobromae* ทั้งหมด 14 ไอโซเลต (26.64 เปอร์เซ็นต์) จากแบคทีเรียทั้งหมด 61 ไอโซเลต โดยสามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ จำนวน 3 ไอโซเลต ที่มีระดับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงสุด และสามารถเจริญร่วมกับเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐานได้ คือ ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 และเมื่อจำแนกสายพันธุ์แบคทีเรียโดยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ 16S rDNA พบว่าทั้งหมดเป็นเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas kuykendallii*

การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 เพื่อควบคุมเชื้อรา *B. theobromae* เมื่อครบ 30 วันหลังการฉีดพ่น พบว่าอัตราเกิดโรคเท่ากับ 0 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ชุดการทดลองการใช้เชื้อราดำอย่างเดียว (ชุดตรวจสอบ) มีอัตราการเกิดโรครุนแรง 5 ระดับ คือ ระดับที่ 1 (5 เปอร์เซ็นต์) ระดับที่ 2 (25 เปอร์เซ็นต์) ระดับที่ 3 (50 เปอร์เซ็นต์) ระดับที่ 4 (75 เปอร์เซ็นต์) และระดับที่ 5 (100 เปอร์เซ็นต์) อัตราการเกิดโรค เท่ากับ 2.50, 7.50, 17.50, 30.00 และ 42.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

สูตรผงสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ประกอบด้วย talcum, calcium carbonate, CMC, และน้ำสกัดมันฝรั่ง 20 เปอร์เซ็นต์ ในอาหาร PDA เหมาะสมสำหรับเลี้ยงเชื้อมากที่สุด โดยที่การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 ทั้งในรูปแบบน้ำละลายเชื้อ และสูตรสำเร็จแบคทีเรีย สามารถควบคุมการเกิดโรคราดำ ช่วยส่งเสริมการเจริญของเส้นใยและเพิ่มผลผลิตเห็ด โดยที่ทำให้ก้อนเชื้อเห็ดเกิดโรค 0-7.5 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การไม่ใช้เชื้อ

แบคทีเรียปฏิปักษ์ ก้อนเห็ดเกิดโรค 100 เปอร์เซ็นต์ สำหรับจำนวนดอกของเห็ดนางฟ้าภูฐานที่ใช้น้ำละลายเชื้อและสูตรสำเร็จเชื้อปฏิปักษ์ฉีดพ่น พบว่า เป็นไปในทิศทางเดียวกัน จำนวนดอกเห็ดรวมเท่ากับ 22.75 - 23.88 และ 24.82 - 31.17 ดอก/ถุง ในขณะที่จำนวนดอกเห็ดในชุดการทดลองที่ไม่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ฉีดพ่น (ชุดตรวจสอบ) จำนวนดอกรวม เท่ากับ 10.44 และ 14.29 ดอก/ถุง ตามลำดับ

สำหรับน้ำหนักผลผลิตเห็ดรวมที่ได้จากการใช้น้ำละลายเชื้อ และสูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ฉีดพ่น พบว่า ความสอดคล้องกับจำนวนดอกเห็ด น้ำหนักผลผลิตเห็ดรวม เท่ากับ 248.64 - 252.81 (B.E.= 80.21 - 84.27 เปอร์เซ็นต์) และ 268.97 - 294.20 กรัม/ถุง (B.E. = 113.03 - 123.53 เปอร์เซ็นต์) ส่วนการไม่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ฉีดพ่น (ชุดตรวจสอบ) น้ำหนักเห็ดรวม เท่ากับ 128.21 กรัม/ถุง (B.E. = 39.45 เปอร์เซ็นต์) และ 202.99 กรัม/ถุง (B.E. = 85.28 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ

คำสำคัญ: แบคทีเรียปฏิปักษ์, *Botryodiplodia* spp., ความหลากหลาย

[1]คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อ.ทุ่งใหญ่ จ.นครศรีธรรมราช 80240

[2]คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อ.ทุ่งสง จ.นครศรีธรรมราช 80110

Screening and Using of Antagonistic Bacteria to Control *Botryodiplodia* spp. in Mushroom

Pornsil Seephueak[1*], Chaisit Preecha[2] and Wuttichai Seephueak[1]

Abstract

The objective of this research was to screening and using antagonistic bacteria to control *Botryodiplodia* spp. in mushroom. The samples were collected in five Provinces of southern Thailand, via Nakhon Si Thammarat, Songkhla, Phattalung, Surat Thani and Trang. Isolation of fungi and bacteria from mushroom compost were by dilution pour plate technique on PDA (Potato Dextrose Agar) for fungi and NA (Nutrient Agar) for bacteria. Fifty-five mushroom farms were divided to 14 farms from Nakhon Si Thammarat, 12 farms from Songkhla, 10 farms from Phatthalung and Surat Thani and 9 farms from Trang. A total of 126 mushroom bags were collected. Sixty-three bags (50.00 %) were collected from *Pleurotus sajor-caju,* 39 bags (30.95 %) from *Pleurotus ostreatus*, 16 bags (12.70 %) from *Auricularia polytricha* and 8 bags (6.35 %) from *Ganoderma lucidum.* The identification of *Botryodiplodia* disease by comparing the ITS rDNA nucleotide sequence were *Botryodiplodia theobromae.*

The results showed that a total of 14 antagonistic bacteria (26.64 %) from 61 isolates were inhibiting the mycelium growth of *B. theobromae*. Three isolates of antagonistic bacteria, SR05, PT01 and SR11 were high inhibit and grow together with mycelium of *Pleurotus pulmonarius* and then were selected for control *B. theobromae* in the mushroom house. All antagonistic bacteria were identify by comparing nucleotide sequence 16S rDNA, those were *Pseudomonas kuykendallii*.

The use of the bacterial antagonistic *Ps. kuykendallii* isolate SR05, PT01 and SR11 for control *B. theobromae* after 30 days of spraying found that the percentage of disease were 0 %. While, use of *B. theobromae* (control checked) were divided to 5 levels of disease incidence including, level 1 (5 %), level 2 (25 %), level 3 (50 %), level 4 (75 %) and level 5 (100 %), the percentage of disease were 2.50, 7.50 17.50, 30.00 and 42.50 %, respectively.

The formulations of the bacterial antagonistic *Ps. kuykendallii* isolate SR05, PT01 and SR11 contained of talcum, calcium carbonate, CMC and 20 % of potato extract in PDA were the most suitable for cultivation. Bacterial suspension and formulation of antagonistic bacteria were effective to control mycelium growth of *Botryodiplodia* spp. and stimulating the mycelia growth and yield of *P. pulmonarius*.

Using antagonistic bacteria, the disease occurred 0 - 7.5 %. While, non-used antagonistic bacteria the disease occurred 100 %.

The cumulative numbers of basidiocarp from using antagonistic bacterial suspension were according to using formulation of the bacterial antagonistic. The cumulative numbers of basidiocarp were obtained 22.75 - 23.88 and 24.82 - 31.17 basidiocarp/bag. While, non-used antagonistic bacteria (control checked) the number of basidiocarp were obtained 10.44 and 14.29 basidiocarp/bag, respectively.

For the cumulative yield showed that yields from using bacterial suspension were accordance with used of formulation of bacterial antagonistic, same the number of basidiocarp. The cumulative yield obtained 248.64 - 252.81 g/bag (B.E. = 80.21 - 84.27 %) and 268.97 - 294.20 g/bag (B.E. = 113.03 - 123.53 %). Whereas, non-used antagonistic bacterial suspension and formulation of bacterial antagonistic spraying showed the lowest cumulative yields were obtained 128.21 g/bag (B.E. = 39.45 %) and 202.99 g/bag (B.E. = 85.28 %), respectively.

Keywords: Antagonistic Bacteria, *Botryodiplodia* spp. and Diversity,

[1] Faculty of Agriculture, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Thung-Yai, Nakhon Si Thammarat, 80240.

[2] Faculty of Agriculture, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Thung-Song, Nakhon Si Thammarat, 80110.

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ ก
บทคัดย่อภาษาไทย ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ง
สารบัญ ฉ
สารบัญตาราง ซ
สารบัญภาพ ฎ
ตารางภาคผนวก ฏ
ภาพภาคผนวก ฑ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา 1
1.2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 2
1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 6
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 6
บทที่ 2 วิธีการดำเนินงานวิจัย 7
2.1 การสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคราดำของเห็ด 7
2.2 การแยกและคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่คาดว่าจะเป็นปฏิปักษ์ 7
2.3 การทดสอบความสามารถในการเป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคราดำในห้องปฏิบัติการ 8
2.4 การทดสอบผลของแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด 8
2.5 การทดสอบความสามารถของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคราดำในโรงเรือน 8
2.6 การเตรียมสูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ 9
2.7 การทดสอบการอยู่รอดและประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในสูตรสำเร็จ 10
2.8 การทดสอบความสามารถของแบคทีเรียปฏิปักษ์สูตรสำเร็จในการควบคุมโรค ราดำในโรงเรือน 10
บทที่ 3 ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล 12
3.1 การสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคราดำของเห็ด 12
3.2 การแยกและคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่คาดว่าจะเป็นปฏิปักษ์ 16
3.3 การทดสอบความสามารถในการเป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคราดำ *B. theobromae* 17
3.4 การทดสอบผลของแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด 18

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.5 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียเชื้อปฏิปักษ์ในการควบคุม *B. theobromae* ในสภาพโรงเรือน	19
3.6 การผลิตสูตรผงสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11	30
3.7 การทดสอบความสามารถของแบคทีเรียปฏิปักษ์สูตรสำเร็จในการควบคุมโรคราดำในโรงเรือน	32
บทที่ 4 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	45
เอกสารอ้างอิง	47
ภาคผนวก	52

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 3.1 :	สถานที่เก็บตัวอย่าง จำนวนฟาร์ม จำนวนเชื้อราดำ จำนวนเชื้อแบคทีเรีย และชนิดของก้อนเชื้อเห็ดที่พบราดำ *Botryodiplodia* spp.	13
ตารางที่ 3.2 :	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยรา *B. theobromae* ของแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้จากก้อนเชื้อเห็ด	17
ตารางที่ 3.3 :	ระดับความรุนแรงของโรคราดำ *B. theobromae* และเปอร์เซ็นต์อัตราการเกิดโรคในก้อนเห็ดนางฟ้า	20
ตารางที่ 3.4 :	การเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐาน เมื่อทดสอบด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 เมื่อเปรียบเทียบกับ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)	20
ตารางที่ 3.5 :	จำนวนดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานแต่ละรุ่น เมื่อทดสอบด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 เปรียบเทียบกับ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)	22
ตารางที่ 3.6 :	น้ำหนักดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานแต่ละรุ่น เมื่อทดสอบด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 เปรียบเทียบกับ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)	23
ตารางที่ 3.7 :	ความยาวของก้านดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานแต่ละรุ่น เมื่อทดสอบด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 เปรียบเทียบกับ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)	25
ตารางที่ 3.8 :	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานแต่ละรุ่น เมื่อทดสอบด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 เปรียบเทียบกับ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)	26
ตารางที่ 3.9 :	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานแต่ละรุ่น เมื่อทดสอบด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 เปรียบเทียบกับ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)	28

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 3.10 : จำนวนดอกรวม น้ำหนักรวม ความยาวของก้านดอก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอก และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดนางฟ้าภูฐาน แต่ละรุ่น เมื่อทดสอบด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 เปรียบเทียบกับ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) 29

ตารางที่ 3.11 : สูตรอาหารสำเร็จสำหรับผลิตเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* 30

ตารางที่ 3.12 : ปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 ที่มีชีวิตรอดในผงสำเร็จแบคทีเรียที่เก็บที่อุณหภูมิต่างกันในระยะเวลา 6 เดือน 31

ตารางที่ 3.13 : การเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐาน เมื่อทดสอบด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 เมื่อเปรียบเทียบกับ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) 33

ตารางที่ 3.14 : จำนวนดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานแต่ละรุ่น เมื่อทดสอบด้วยสูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 เปรียบเทียบกับ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) 34

ตารางที่ 3.15 : น้ำหนักดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานแต่ละรุ่น เมื่อทดสอบด้วยสูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 เปรียบเทียบกับ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) 36

ตารางที่ 3.16 : ความยาวของก้านดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานแต่ละรุ่น เมื่อทดสอบด้วยสูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 เปรียบเทียบกับ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) 37

ตารางที่ 3.17 : ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานแต่ละรุ่น เมื่อทดสอบด้วยสูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 เปรียบเทียบกับ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) 39

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตารางที่ 3.18 : ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านเห็ดนางฟ้าภูฐานแต่ละรุ่น เมื่อทดสอบด้วยสูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 เปรียบเทียบกับ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) 41

ตารางที่ 3.19 : จำนวนดอกรวม น้ำหนักรวม ความยาวของก้านดอก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอก และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานเมื่อทดสอบด้วยสูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 เปรียบเทียบกับ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) 42

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 3.1 :	แผนที่เก็บตัวอย่างก้อนเชื้อเห็ดที่เกิดโรคราดำ *Botryodiplodia* spp.	12
ภาพที่ 3.2 :	ตัวอย่างก้อนเชื้อเห็ดชนิดต่างๆที่เกิดโรคราดำ *B. theobromae*	15
ภาพที่ 3.3 :	ลักษณะอาการของก้อนเชื้อเห็ดที่พบโรคราดำ *B. theobromae*	15
ภาพที่ 3.4 :	ลักษณะโคโลนีของราดำ *B. theobromae* บนอาหาร PDA	15
ภาพที่ 3.5 :	ลักษณะของสปอร์เชื้อราดำ *B. theobromae* ที่กำลังขยาย 40X	16
ภาพที่ 3.6 :	ลักษณะโคโลนีแบคทีเรียที่เลือกเก็บเพื่อใช้ทดสอบความสามารถในการเป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อเชื้อ *Botryodiplodia* spp.	16
ภาพที่ 3.7 :	เปรียบเทียบประสิทธิภาพของแบคทีเรียในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *B. theobromae*	18
ภาพที่ 3.8 :	เปรียบเทียบผลของแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการเจริญร่วมกับเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐาน	19

ตารางภาคผนวก

หน้า

ตารางผนวกที่ 1 :	การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดรุ่นที่ 1	55
ตารางผนวกที่ 2 :	การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดรุ่นที่ 2	55
ตารางผนวกที่ 3 :	การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดรุ่นที่ 3	55
ตารางผนวกที่ 4 :	การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดรุ่นที่ 4	55
ตารางผนวกที่ 5 :	การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดรวมทั้ง 4 รุ่น	56
ตารางผนวกที่ 6 :	การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนดอกเห็ดรุ่นที่ 1	56
ตารางผนวกที่ 7 :	การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนดอกเห็ดรุ่นที่ 2	56
ตารางผนวกที่ 8 :	การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนดอกเห็ดรุ่นที่ 3	56
ตารางผนวกที่ 9 :	การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนดอกเห็ดรุ่นที่ 4	57
ตารางผนวกที่ 10 :	การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนดอกเห็ดรวมทั้ง 4 รุ่น	57
ตารางผนวกที่ 11 :	การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวก้านดอกเห็ดรุ่นที่ 1	57
ตารางผนวกที่ 12 :	การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวก้านดอกเห็ดรุ่นที่ 2	57
ตารางผนวกที่ 13 :	การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวก้านดอกเห็ดรุ่นที่ 3	58
ตารางผนวกที่ 14 :	การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวก้านดอกเห็ดรุ่นที่ 4	58
ตารางผนวกที่ 15 :	การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวก้านดอกเห็ดรวมทั้ง 4 รุ่น	58
ตารางผนวกที่ 16 :	การวิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดรุ่นที่ 1	58
ตารางผนวกที่ 17 :	การวิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดรุ่นที่ 2	59
ตารางผนวกที่ 18 :	การวิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดรุ่นที่ 3	59
ตารางผนวกที่ 19 :	การวิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดรุ่นที่ 4	59
ตารางผนวกที่ 20 :	การวิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดรวมทั้ง 4 รุ่น	59
ตารางผนวกที่ 21 :	การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนดอกเห็ดรุ่นที่ 1	60
ตารางผนวกที่ 22 :	การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนดอกเห็ดรุ่นที่ 2	60
ตารางผนวกที่ 23 :	การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนดอกเห็ดรุ่นที่ 3	60
ตารางผนวกที่ 24 :	การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนดอกเห็ดรุ่นที่ 4	60
ตารางผนวกที่ 25 :	การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนดอกเห็ดรวมทั้ง 4 รุ่น	61

ตารางผนวกที่ 26 : การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดรุ่นที่ 1 61
ตารางผนวกที่ 27 : การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดรุ่นที่ 2 61

ตารางภาคผนวก (ต่อ)

หน้า

ตารางผนวกที่ 28 : การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดรุ่นที่ 3 61
ตารางผนวกที่ 29 : การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดรุ่นที่ 4 62
ตารางผนวกที่ 30 : การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดรวมทั้ง 4 รุ่น 62
ตารางผนวกที่ 31 : การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวก้านดอกเห็ดรุ่นที่ 1 62
ตารางผนวกที่ 32 : การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวก้านดอกเห็ดรุ่นที่ 2 62
ตารางผนวกที่ 33 : การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวก้านดอกเห็ดรุ่นที่ 3 63
ตารางผนวกที่ 34 : การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวก้านดอกเห็ดรุ่นที่ 4 63
ตารางผนวกที่ 35 : การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวก้านดอกเห็ดรวมทั้ง 4 รุ่น 63
ตารางผนวกที่ 36 : การวิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดรุ่นที่ 1 63
ตารางผนวกที่ 37 : การวิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดรุ่นที่ 2 64
ตารางผนวกที่ 38 : การวิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดรุ่นที่ 3 64
ตารางผนวกที่ 39 : การวิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดรุ่นที่ 4 64
ตารางผนวกที่ 40 : การวิเคราะห์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดรวมทั้ง 4 รุ่น 64
ตารางผนวกที่ 41 : การวิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดรุ่นที่ 1 65
ตารางผนวกที่ 42 : การวิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดรุ่นที่ 2 65
ตารางผนวกที่ 43 : การวิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดรุ่นที่ 3 65
ตารางผนวกที่ 44 : การวิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดรุ่นที่ 4 65
ตารางผนวกที่ 45 : การวิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดรวมทั้ง 4 รุ่น 66

ภาพภาคผนวก

หน้า

ภาพผนวกที่ 1 : ลักษณะดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานแต่ละชุดการทดลอง 67

ภาพผนวกที่ 2 : ก้อนเชื้อนางฟ้าภูฐานที่ระดับความรุนแรงของโรค 68

ภาพผนวกที่ 3 : ตัวอย่างก้อนเชื้อเห็ดที่พบโรคราดำ *B. theobromae* จากฟาร์มต่างๆ ในจังหวัดนครศรีธรรมราช พัทลุง ตรัง สงขลา และสุราษฎร์ธานี 69

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

อาชีพการเพาะเห็ดเป็นอีกหนึ่งอาชีพที่เกษตรกรทั่วไปนิยมกระทำกัน เนื่องจากผลผลิตของสินค้าเกษตรหลักหลายอย่างมีราคาตกต่ำ ทำให้เกษตรกรหันมาประกอบอาชีพเพาะเห็ดเพื่อเป็นอาชีพเสริมกันมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากสามารถผลิตเห็ดให้ออกดอกได้ตลอดทั้งปี ใช้แรงงานน้อย ต้นทุนการผลิตไม่สูงมากนัก นอกจากนี้เกษตรกรสามารถนำเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร และอุตสาหกรรมจากท้องถิ่นมาประยุกต์ใช้เป็นวัสดุเพาะเห็ดได้เป็นอย่างดี โดยทั่วไปการเพาะเห็ดในถุงพลาสติกสามารถกระทำได้ง่าย และสามารถเพาะเห็ดได้หลายชนิด เช่น เห็ดตระกูล *Pleurotus* (เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม เห็ดเป๋าฮื้อ) เห็ดหูหนู เห็ดแครง เห็ดยานางิ และเห็ดหอม เป็นต้น สำหรับปัญหาสำคัญของการเพาะเห็ดในถุงพลาสติก คือ โรคและแมลงศัตรูเข้าทำลาย โดยเฉพาะในช่วงบ่มเพาะเส้นใยและระยะให้ผลผลิต โรคที่สำคัญได้แก่ โรคราเขียว (*Trichoderma* spp.) และโรคราดำ (*Botryodioplodia* spp.) โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคราดำพบว่ามีการระบาดและเข้าทำลายก้อนเชื้อเห็ดซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น เชื้อโรคเข้าทำลายก้อนเชื้อเห็ดในระยะบ่มเส้นใย ทำให้ขี้เลื่อยในถุงเพาะมีสีน้ำตาลเข้มหรือสีดำ ทำให้เส้นใยเห็ดไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ ระยะแรกของการเข้าทำลาย เส้นใยเชื้อราจะมีสีขาว ต่อมาเชื้อราสีขาวจะขยายกว้างขึ้นเรื่อยๆ หลังจากนั้นจะเกิดเป็นก้อนเล็กๆ สีดำนูนออกมาที่ผิวของถุงพลาสติก ซึ่งก้อนสีดำ คือส่วนขยายพันธุ์ ที่เรียกว่า พิคนิเดียม (pycnidium) ซึ่งภายในประกอบด้วยสปอร์จำนวนมากทำให้เกษตรกรไม่สามารถจำหน่ายก้อนเชื้อเห็ดได้

จากการศึกษาและสำรวจข้อมูลการเกิดโรคของเกษตรกรผู้เพาะเห็ดในจังหวัดนครศรีธรรมราช และจังหวัดใกล้เคียงในภาคใต้ ระหว่างปี 2548 ถึงปัจจุบัน พบว่าเกษตรกรผู้เพาะเห็ดเริ่มประสบปัญหาโรคราดำเพิ่มมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับโรคราเขียว (*Trichoderma* sp.) ซึ่งเป็นโรคที่พบได้ทั่วไปในการเพาะเห็ด บางฟาร์มเชื้อเข้าทำลายทำให้ก้อนเชื้อเห็ดได้รับความเสียหายทั้งรุ่น ชนิดเห็ดที่เชื้อเข้าทำลายส่วนใหญ่เป็นเห็ดที่เพาะในถุงพลาสติก เช่น เห็ดนางฟ้า นางรม เป๋าฮื้อ และหูหนู เป็นต้น

อย่างไรก็ตามปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาโรคราดำ (*Botyopdiplodi*a spp.) ในเห็ดและแนวทางในการป้องกันกำจัดอย่างมีประสิทธิภาพ การป้องกันกำจัดโดยใช้สารเคมีไม่สามารถกระทำได้เนื่องจากเป็นอันตรายต่อเส้นใยเห็ดและทำให้เกิดสารตกค้างในผลผลิต ทำให้เกษตรกรคิดค้นหาวิธีการป้องกันกำจัดโรคด้วยวิธีการเช่นเดียวกับการควบคุมโรคราเขียว เช่น การใช้ปุ๋ยน้ำหมักชีวภาพรดก้อนเชื้อ การใช้ EM ฉีดพ่นก้อนเชื้อเห็ด และการใช้เชื้อแบคทีเรียพลายแก้ว เป็นต้น สำหรับการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถหาได้โดยง่ายจากวัสดุเพาะเห็ด หรือจากแหล่งจุลินทรีย์ในท้องถิ่นที่มีความสามารถในการควบคุมโรค มีความเป็นไปได้สูงที่จะสามารถนำมาใช้ควบคุมโรคและสามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้จริงและก่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด

1.2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1.2.1 ความสำคัญของโรคราดำ

โรคราดำ (*Botryodiplodia* spp.) ของเห็ดเป็นอีกโรคหนึ่งที่มีความสำคัญสร้างความเสียหายต่อเกษตรกรผู้เพาะเห็ดไม่น้อยกว่าโรคราเขียวที่เกิดจากเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในอดีตโรคราดำไม่ได้สร้างความเสียหายต่อก้อนเชื้อเห็ดมากนัก จึงไม่ค่อยมีรายงานเกี่ยวกับความเสียหายของโรค อย่างไรก็ตามในปัจจุบันพบว่า โรคราดำเริ่มมีแนวโน้มของการสร้างความเสียหายต่อระบบการเพาะเห็ดของเกษตรกรมากขึ้น โดยเฉพาะกลุ่มเกษตรกรที่จำหน่ายก้อนเชื้อเห็ด เมื่อก้อนเชื้อเห็ดเป็นโรคราดำจะไม่สามารถจำหน่ายก้อนเชื้อได้ เกษตรกรจึงเลือกวิธีที่จะนำก้อนเชื้อนั้นไปเปิดดอกในโรงเรือน จึงเป็นสาเหตุหลักให้เกิดจากแพร่กระจายของเชื้อและเป็นแหล่งสะสมโรคภายในโรงเรือน อีกทั้งเชื้อราดำ *Botyodiplodia* เป็นเชื้อราสาเหตุโรคของไม้ผลและพืชผักหลายชนิด การจัดการที่ไม่เหมาะสมอาจทำให้เกิดความเสียหายต่อพืชเศรษฐกิจอื่นเพิ่มมากขึ้น

สำหรับปัญหาสำคัญของการเพาะเห็ดในถุงพลาสติก คือ โรคและแมลงศัตรูเข้าทำลาย โดยเฉพาะในช่วงบ่มเพาะเส้นใยและระยะให้ผลผลิต มักพบโรคราเขียว (*Trichoderma* spp.) และโรคราดำ (*Botryodioplodia* spp.) เข้าทำลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคราดำ พบว่ามีการระบาดและเข้าทำลายก้อนเชื้อเห็ดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และส่งผลให้ผลผลิตเห็ดลดลงด้วย (Lutchmeah, 1988; Amusa, Ashave, Oladapo, and Kafaru, 2003; Ploetz and Ploetz, 2003) โดยเชื้อโรคเข้าทำลายก้อนเชื้อเห็ดในระยะบ่มเพาะเส้นใย ทำให้วัสดุในถุงเพาะมีสีน้ำตาลเข้มหรือสีดำ เส้นใยเห็ดไม่สามารถเจริญต่อไปได้ ระยะแรกของการเข้าทำลาย เส้นใยเชื้อราจะเจริญอย่างรวดเร็ว มีสีขาวบางๆ ต่อมาเชื้อราสีขาวจะขยายกว้างขึ้นเรื่อยๆ หลังจากนั้นจะเกิดเป็นก้อนเล็กๆ สีดำนูนออกมาที่ผิวของถุงพลาสติก ซึ่งก้อนสีดำคือส่วนขยายพันธุ์ ซึ่งภายในประกอบด้วยสปอร์จำนวนมาก

แนวทางการศึกษาชนิดแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เป็นประโยชน์ เพื่อนำมาใช้ควบคุมโรคของเห็ดมีค่อนข้างน้อยแต่กำลังได้รับความสนใจอย่างเนื่องจาก เป็นการควบคุมโรคโดยชีววิธี ปลอดภัยต่อผู้ผลิต ผู้บริโภค เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม คุณสมบัติสำคัญของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคพืช ได้แก่ การสร้างปฏิชีวนะสาร (antibiosis) จากการศึกษาพบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์บางชนิดสามารถผลิตเอนไซม์ เพื่อยังยั้งหรือทำลายเชื้อโรคได้ เช่น *Bacillus subtilis* ที่สามารถผลิตเอนไซม์มาย่อยผนังเซลล์ของเชื้อรา *Rhizoctonia solani* นอกจากยังพบว่า แบคทีเรีย *Pseudomonas* spp. สามารถผลิตเอนไซม์และปฏิชีวนะสาร หรือสารพิษที่สามารถใช้ควบคุมโรคพืชได้ นอกจากนี้ยังพบว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์มีคุณสมบัติในการชักนำให้พืชต้านทานต่อเชื้อโรค (induction of resistance in plant) เป็นกลไกที่เชื้อปฏิปักษ์ไปกระตุ้นให้ต้นพืชสร้างกลไกหรือสร้างสารต่าง ๆ ที่มีผลในการต่อต้านหรือยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคพืช

การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถหาได้โดยง่ายจากเศษวัสดุเพาะเห็ดหรือจากแหล่งจุลินทรีย์ในท้องถิ่นที่มีความสามารถในการควบคุมโรค มีความเป็นไปได้สูง ที่จะสามารถนำมาใช้ควบคุมโรคราดำของเห็ด Singh and Singh (2001) พบว่าแบคทีเรียบางชนิด เช่น *Bacillus* สามารถใช้เพื่อควบคุมโรคราเขียวของเห็ดได้ อย่างไรก็ตามในปัจจุบันยังไม่มีการวิธีการควบคุมโรคราดำได้อย่างมีประสิทธิภาพ การใช้สารเคมีไม่สามารถกระทำได้เนื่องจากเป็นพิษต่อเส้นใย

เห็ด และเป็นพิษต่อผู้บริโภค ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Botryodiplodia* spp. เพื่อเป็นแนวทางในการนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์มาใช้ประโยชน์ในการควบคุมโรคราดำของเห็ดโดยชีววิธีต่อไป

1.2.2 สัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Botryodiplodia* spp. (IMA, 2019)

Phylum Ascomycota
Class Dothideomycetes
Order Botryosphaeriales
Family Botryosphaeriaceae
Genus *Lasiodiplodia*
Species *theobromae*

เป็นราที่มีระยะสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (anamorph) คือ *Botryodiplodia* และระยะสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (teloepmorph) คือ *Lasiodiplodia* อยู่ในไฟลัม Ascomycota คลาส Sordariomycetes อันดับ Diaporthales แฟมมิลี Incertaesesis จีนัส *Botryodiplodia* (Sacc.) Sacc *Lasiodiplodia* ดำรงชีวิตแบบแซปโพรไฟท์ เป็นเชื้อราที่ก่อโรคกับพืชโดยทั่วไป ลักษณะทั่วไปของเชื้อราจะสร้างสปอร์ (pycnidia) อยู่ใน pycnidium การเจริญของสปอร์บนอาหารเลี้ยงเชื้อค่อนข้างช้า ต้องใช้ระยะเวลานาน แต่หลังจากที่มีการ generated จะสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ลักษณะเป็นตุ่มเม็ดสีดำ มีขนาดใหญ่เท่าหัวเข็มหมุด

สปอร์มีลักษณะเป็นรูปไข่ (elliptical) มีขนาดค่อนข้างใหญ่ เมื่อเปรียบเทียบกับสปอร์เชื้อราทั่วไป สปอร์ของเชื้อที่เจริญไม่เต็มที่จะมีลักษณะใส ไม่มีสี มีเซลล์เดียว (unicellular) ในขณะที่เซลล์ที่เจริญเติบโตเต็มที่จะมีสปอร์สีน้ำตาล ผนังเซลล์หนาแบ่งเป็น 2 ส่วน ในขณะที่ Haskins and Ekundayo (1969); Uduebo (1974) ได้รายงานว่า พิคนิดิโอสปอร์ (pycnidiospore) ชนิดเซลล์เดียว ไม่มีสี (hyaline) ไม่มี pigment และพิคนิดิโอสปอร์ ชนิดสองเซลล์ มีผนังหนาสองชั้น ผนังชั้นในไม่มีสี ผนังชั้นนอกมี pigment และติดต่อกับ septate

การเจริญของเส้นใยจะเจริญได้อย่างรวดเร็ว มีสีขาว (snow-white) ในระยะแรก หลังจากนั้นเส้นใยจะเปลี่ยนเป็นสีดำภายใน 4 สัปดาห์ จีนัสที่สำคัญ คือ *B. theobromae*

Punithalingam (1976) ได้รวบรวมลักษณะสำคัญของเชื้อรา *B. theobromae* พบว่า มีการสร้างพิคนิเดียม (pycnidium) ฝังอยู่ในอาหาร หรือเกิดบนผิวของอาหาร พิคนิเดียมอาจปกคลุมด้วยขน หรือลักษณะเกลี้ยงไม่มีขนก็ได้ โดยปกติพิคนิเดียม อาจเกิดเดี่ยวๆ หรือเกิดเป็นกลุ่ม กว้าง 5 มิลลิเมตร อาจมีสโตรมา (stroma) หรือไม่มี ในการศึกษาของ สมศิริ และอังสุมา (2526) รายงานว่า *B. theobromae* เจริญได้ดีมากบนอาหาร corn meal agar ลักษณะของพิคนิเดียมบนอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีสีเข้มดำ และมีขนาด 133-220 ไมครอน ส่วนบนของพิคนีเดียม จะมีออสทิโอล (ostiole) ซึ่งในระยะแรกพิคนิเดียมจะมีสีใสเซลล์เดียว รูปไข่ถึงยาวรี เมื่อแก่เซลล์จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม และมีผนังกั้น (septate) เกิดขึ้นแบ่งพิคนิดิโอสปอร์เป็น 2 เซลล์ ผนังสปอร์ค่อนข้างหนา ในขณะที่การเลี้ยงเชื้อบนอาหารพีดีเอจะมีลักษณะเป็นเส้นใยขาวฟู เมื่อเชื้อมีอายุ 1-2 วัน และต่อมา

จะเปลี่ยนเป็นสีดำ และมีสีเข้มเมื่อแก่ (สมพล, 2526) นอกจากนี้ *B. theobromae* ยังสามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อหลายชนิด และยังพบว่า *B. theobromae* จะสร้างพิคนิเดียมได้ดีที่สุดในอาหารสังเคราะห์ (xynthetic medium) รองลงมาคือ corn meal agar, yeast extract peptone agar, potato dextrose agar และ malt extract agar ตามลำดับ และเชื้อชนิดนี้ต้องการรับแสงที่มีความเข้มแสง 15 แรงเทียนต่อเนื่องกันเป็นเวลา 4 วัน ในการกระตุ้นสร้างพิคนิเดียม อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ 30 องศาเซลเซียส (Haskin and Ekundayo, 1969)

1.2.3 การเข้าทำลายและการเกิดโรค

เชื้อ *Botryodiplodia* spp. เป็นเชื้อสาเหตุโรคพืชที่สำคัญมากกว่า 500 ชนิด พบได้ทั้งพืชเขตร้อนและกึ่งร้อน (Burgess et al., 2006) มักเกิดกับผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยวในไม้ผล (Gupta, Tewari, Govindaiah, and Bajpai, 1999; Ploetz, 2003) เช่น น้อยหน่า (Amusa, Ashave, Oladapo, and Kafaru, 2003) ฝรั่ง (Hashem and Alamri, 2009) กล้วย เงาะ แตงโม มะม่วง มะละกอ มังคุด ลำไย ลองกอง และ ทุเรียน เป็นต้น (กรมวิชาการเกษตร, 2558)

Smith, Wingfield, Crous, and Cautinho (1996) รายงานว่า เชื้อราสกุล *Botryosphaeria* Ces. โดยพบแพร่กระจายอยู่ทั่วไป มักพบเป็นสาเหตุโรคแคงเคอร์ของพืชที่เป็นไม้เนื้อแข็ง ราเข้าทำลายพืชทางแผลจากการตัดแต่งกิ่งและทางเนื้อเยื่อที่ถูกทำลาย แต่ราก็สามารถเข้าทำลายพืชโดยตรงทางกลุ่มเซลล์ของพืชและพักตัวอยู่ที่ส่วนของตา บางครั้งมักพบว่ารามีลักษณะเป็นเอ็นโดไฟท์โดยไม่แสดงอาการบนเนื้อเยื่อพืช (Smith et al., 1996) รากลุ่มนี้ก่อให้เกิดโรคพืชที่สำคัญของพืชหลายชนิด ได้แก่ พืชวงศ์แอปเปิ้ล ไม้ผลชนิดเมล็ดแข็งสาเหตุโรคผลเน่า ใบจุดตากบ โรคแคงเคอร์บนลำต้นและกิ่ง เปลือกแตกยางไหล ยืนต้นตาย และบางชนิดทำให้ต้นไม้ตาย (Weaver, 1974; Brown and Britton, 1986; Britton, Hendrik, Pusey, Reilly, and Daniell, 1990; Pusey, 1993; Parker and Sutton, 1993) โดยที่รา *Botryodiplodia* (*Lasiodiplodia* Ellis & Everh) ก็จัดเป็นหนึ่งของสมาชิกรากลุ่มนี้ ในระยะสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual reproduction) ก่อให้เกิดโรคลำต้น เปลือกแตก ผลเน่าของมะม่วง มังคุด ส้ม กล้วยน้ำว้า กล้วยหอม และผลเน่าขององุ่น (พรพิมล, สุณีรัตน์ และชนินทร, 2556)

Okhuaya and Okogbo (1991) ศึกษาชนิดของวัสดุเพาะต่อการเกิดโรคของเห็ด *Pleurotus tuber-regium* พบว่า การใช้เปลือกมันเทศ (yam peelings) เป็นวัสดุเพาะเห็ด จะเกิดโรคราดำ *B. thaeobromae* เข้าทำลายได้ง่าย เช่นเดียวกับการเกิดโรคจากเชื้อรา *Aspergillus, Penicillium* และ *Rhizopus* นอกจากนี้จากการศึกษาของพรศิลป์ (2556) พบว่า เส้นใยเห็ดยานางิและเห็ดเป๋าฮื้อที่เจริญในช่วงบ่มเพาะ มักถูกเชื้อรา *Botryodiplodia* เข้าทำลาย ระดับความเสียหายประมาณ 70 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปัจจุบันเกษตรกรผู้เพาะเห็ดเริ่มประสบปัญหาโรคราดำเพิ่มมากขึ้น (พรศิลป์ และวุฒิชัย, 2550; พิชยา และปุณพิชย์, 2556) เมื่อเปรียบเทียบกับการโรคราเขียว (*Trichoderma* sp.) ซึ่งเป็นโรคที่พบได้ทั่วไปในการเพาะเห็ด บางฟาร์มเชื้อโรคเข้าทำลายทำให้ก้อนเชื้อเห็ดได้รับความเสียหายทั้งรุ่น ชนิดเห็ดที่เชื้อเข้าทำลายส่วนใหญ่เป็นเห็ดที่เพาะในถุงพลาสติก เช่น เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม เห็ดเป๋าฮื้อ และเห็ดหูหนู เป็นต้น

1.2.4 การป้องกันกำจัดโรคราดำ

Haggag and Nofal (2006) ทำการศึกษาเพื่อพัฒนาวิธีการควบคุมโรค *Botryodiplodia* บนพืชตระกูล Annona (น้อยหน่า น้อยโหน่ง) ในประเทศอียิปต์ พบว่าสามารถใช้เชื้อราและแบคทีเรียปฏิปักษ์จำนวน 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *Trichoderma koningii, T. hamatum, Pseudomonas fluorescens, P. putida, Tilletiopsis minor* และ *Tilletiopsis washingtonensis* เพื่อควบคุมเชื้อ *Botryodiplodia* ได้เป็นอย่างดี โดยใช้วิธีการฉีดพ่นทางใบ นอกจากนี้ยังพบอีกว่า การใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ 2 ชนิดร่วมกัน คือการใช้ *Trichoderma* spp. และ *Pseudomonas* spp. จะช่วยให้สามารถควบคุมโรคได้ดียิ่งขึ้นและส่งผลให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นอีกด้วย อย่างไรก็ตามเชื้อรา *Trichoderma* เป็นสาเหตุโรคราเขียวของเห็ด ซึ่งเป็นโรคที่สำคัญ (Staunton, 1987; Chen et al., 1999; Bayer, Wuest, and Kremser, 2000; Bhatt and Singh, 2002) อาจไม่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการควบคุมโรคราดำของเห็ดได้

Hashem and Alamri (2009) ศึกษาการควบคุมโรค diplodia rot (*Botryodiplodia theobromae*) ของฝรั่งโดยชีววิธี พบว่าสามารถใช้ยีสต์ 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Pichia anomala* Moh 93, *P. anomala* Moh 104, *Pichia guilliermo*ndii Moh 10, *Lipomyces tetrasporus* Y-115 และ *Metschnikowia lunata* Y-1209 สามารถควบคุมโรค diplodia rot ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะยีสต์สายพันธุ์ *P. anomala* Moh 93 และ 104 สามารถลดการเกิดโรคได้ระดับ 39.1-50.00 เปอร์เซ็นต์

Fadahunsi, Ayansina, and Okunrotifa (2013) ศึกษาการควบคุมโรค spoilage fungi ของเห็ดที่เกิดจากเชื้อรา *Aspergillus fumigatus, A. niger, B. theobromae* และ *Rhizopus stolonifer* โดยชีววิธี พบว่า สามารถใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis, T. longibrachiatum, Pseudomonas fluorescens* และ *T. asperellum* เพื่อควบคุมโรคราดำ *B. therobromae* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ การยับยั้งเท่ากับ 21.00, 22.00, 29.00 และ 30.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Robert (2007) รายงานว่า สามารถควบคุมโรคราดำ *Botryodiplodia* spp. ของเงาะ และพืชตระกูลน้อยหน่า โดยใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. สามารถควบคุมโรคได้เป็นอย่างมีประสิทธิภาพ

อย่างไรก็ตามปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาโรคราดำ *Botyopdiplodia* ในเห็ด และแนวทางในการป้องกันกำจัดอย่างมีประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดโดยใช้สารเคมีไม่สามารถกระทำได้เนื่องจากเป็นอันตรายต่อเส้นใยเห็ดและทำให้เกิดสารตกค้างในผลผลิตดังนั้นการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถหาได้โดยง่ายจากวัสดุเพาะเห็ดเอง หรือจากแหล่งจุลินทรีย์ในท้องถิ่นที่มีความสามารถในการควบคุมโรค มีความเป็นไปได้สูงที่จะสามารถนำมาใช้ควบคุมโรค และสามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้จริงและก่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด

1.3 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อให้ทราบจำนวนชนิด (species) ของเชื้อ *Botryodiplodia* spp. ที่เป็นสาเหตุโรคราดำของเห็ด

2. เพื่อคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Botryodiplodia* spp. สาเหตุโรคราดำของเห็ด

3. เพื่อพัฒนาสูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์สำหรับควบคุมเชื้อรา *Botryodiplodia* spp. ของเห็ด

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. การเผยแพร่ผลงานวิจัยในระดับชาติและนานาชาติ

2. การเผยแพร่ผลงานในลักษณะเอกสาร แผ่นพับ หรือหนังสือวิชาการ

บทที่ 2
วิธีการดำเนินงานวิจัย

2.1 การสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคราดำของเห็ด

2.1.1 การเก็บรวบรวมเชื้อสาเหตุโรคราดำ *Botryodiplodia* spp.

เก็บตัวอย่างถุงเห็ด ที่เป็นโรคราดำจากฟาร์มเห็ด ในจังหวัดนครศรีธรรมราช ตรัง พัทลุง สงขลา และสุราษฎร์ธานี ฟาร์มละ 3-5 ถุง เลือกลักษณะถุงเห็ดที่มีอาการของโรคราดำจากก้อนเห็ดต่างชนิดกัน ทำการแยกเชื้อ โดยใช้วิธี dilution pour plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (Potato Dextrose Agar) โดยเชื้อที่ได้จากถุงเห็ดเป็นโรค 1 ถุง จะเก็บเชื้อ *Botryodiplodia* ไว้เพียง 1 โคโลนีเท่านั้น เพื่อเป็นตัวแทนสำหรับศึกษาต่อไป

2.1.2 การจำแนกชนิด (species) ของเชื้อ *Botryodiplodia* spp.

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยการเลี้ยงเชื้อ *Botryodiplodia* บนจานอาหาร CMA (Corn Meal Agar) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ที่อุณหภูมิห้อง 28-32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน หรือจนกว่าเชื้อสร้างสปอร์ ทำการตรวจสอบโดยกล้องจุลทรรศน์แบบประกอบ compound เพื่อศึกษาลักษณะรูปร่างโคโลนี ลักษณะผิว สี ของสปอร์ ขนาดเส้นใยไฟอะไลด์ แล้วทำการจำแนกชนิดโดยอาศัยคู่มือของ Punithalingam (1976); Punithalingam, (1980); Mohali et al. (2005); IMA (2019) และส่งตัวอย่างเชื้อ *Botryodiplodia* ที่แยกได้ไปจำแนกระดับสปีชีย์ในระดับโมเลกุล ณ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

2.1.3 ผลของเชื้อ *Botryodiplodia* spp. ต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด

ทดสอบปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างเชื้อ *Botryodiplodia* spp. สายพันธุ์ต่าง ๆ ที่จำแนกได้กับเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐานโดยวิธี dual culture เจาะปลายเส้นใย *Botryodiplodia* spp. อายุ 10 วัน และเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐาน อายุ 7 วัน นำไปวางในตำแหน่งตรงข้ามกันบนอาหาร PDA สังเกตและเปรียบเทียบความเร็วในการเจริญเติบโตของเชื้อทั้งสอง เปรียบเทียบกับการทดลองปลูกเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐานก่อนเป็นเวลา 3 วัน จึงปลูกเชื้อ *Botryodiplodia* ลงไป ในตำแหน่งตรงกันข้าม สังเกตปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างเส้นใยของเชื้อทั้งสอง

2.2 การแยกและคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่คาดว่าจะเป็นปฏิปักษ์

2.2.1 การแยกเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์จากถุงเห็ดเป็นโรคราดำ

ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียจากถุงเห็ดจากฟาร์มต่าง ๆ ที่เก็บรวบรวมได้จาก 2.1.1 แยกเชื้อโดยวิธี dilution pour plate โดยนำวัสดุเพาะเห็ดปริมาณ 1 กรัม ต่อน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 9 มิลลิลิตร เจือจางแบบ serial dilution บ่มที่อุณหภูมิห้อง 28-32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-5 วัน จะปรากฏโคโลนีของ *Botryodiplodia* เชื้อราอื่นๆ แบคทีเรีย และยีสต์ เจริญปะปนกันอยู่ในจานเลี้ยงเชื้อ เลือกเก็บเฉพาะโคโลนีของแบคทีเรียที่มีวงใส (clear zone) ล้อมรอบ ซึ่งเกิดจากที่

แบคทีเรียยับยั้งไม่ให้เชื้อ *Botryodiplodia* เจริญ เก็บแบคทีเรียไปเลี้ยงบนอาหาร NA (ประคอง, 2547) เก็บไว้ในตู้เย็นเพื่อศึกษาต่อไป

2.3 การทดสอบความสามารถในการเป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคราดำในห้องปฏิบัติการ

ทำการเลี้ยงเชื้อราดำ *Botryodipldia* บนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้อง 28-32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน ในขณะที่แบคทีเรียปฏิปักษ์เลี้ยงบนอาหารเอียง NA (Nutrient Agar) อายุ 24 ชั่วโมง ทดสอบการเป็นเชื้อปฏิปักษ์โดยวิธี dual culture ใช้ที่เจาะจุกคอร์ก (cork borer) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะวุ้นบริเวณปลายเส้นใยเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA วางบนอาหาร PDA อีกจาน โดยวางให้ห่างจากขอบจานเลี้ยงเชื้อ 2 เซนติเมตร หลังจากนั้น 3 วัน ทำการขีดเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในตำแหน่งตรงกันข้ามห่างจากขอบจานเพาะเชื้อ 2 เซนติเมตร เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (control) บันทึกผลโดยวัดขนาดของรัศมีโคโลนีเชื้อสาเหตุในชุดควบคุมและชุดทดสอบ นำข้อมูลไปคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (percent inhibition of radial growth: PIRG) ตามสูตร (Tronsma, 1992) ดังนี้

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ = $R1 - R2/R1 \times 100$

เมื่อ R1 = เส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อในชุดควบคุม

R2 = เส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อที่เลี้ยงร่วมกับแบคทีเรียปฏิปักษ์

คัดเลือกเฉพาะแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีระดับเปอร์เซ็นต์ยับยั้งสูงสุดอย่างน้อย 3 สายพันธุ์ เพื่อนำไปใช้ทดสอบต่อไป

2.4 การทดสอบผลของแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด

นำแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราดำ *Botryodiplodia* มาทดสอบปฏิสัมพันธ์การเจริญร่วมกันกับเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐานทดสอบโดยวิธี dual culture บนอาหารพีดีเอ ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐาน วางในอาหาร PDA ให้ห่างจากขอบจาน 2 เซนติเมตร เลี้ยงไว้ 2 วัน จากนั้นขีดเส้นแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เลี้ยงไว้บนอาหาร NA slant อายุ 24 ชั่วโมง เป็นแนวยาว บริเวณตำแหน่งอีกด้านของจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บันทึก และสังเกตการเจริญของเส้นใยเห็ดว่าแบคทีเรียปฏิปักษ์มีผลต่อการเจริญเติบโตของเห็ดอย่างไร

2.5 การทดสอบความสามารถของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคราดำในโรงเรือน

2.5.1 การเตรียมเชื้อรา *Botryodiplodia* โดยเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 28-32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน เตรียมสปอร์แขวนลอย (spore suspension) โดยการเติมน้ำกลั่นฆ่าเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อ ใช้แท่งแก้วสามเหลี่ยมขูดสปอร์บนผิววุ้นเบาๆ ให้สปอร์หลุดออก นำสปอร์แขวนลอยมาใส่รวมกันในบีกเกอร์ปราศจากเชื้อ และกรองผ่านผ้าขาวบางสองชั้นเพื่อแยกเส้นใยออก (วนิดา, 2552) นับสปอร์และปรับสปอร์แขวนลอยให้มีความเข้มข้น 1×10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร นับจำนวนสปอร์โดยใช้ฮีมาไซโตมิเตอร์ (haemacytometer)

2.5.2 การเตรียมสปอร์แขวนลอยของแบคทีเรียปฏิปักษ์โดยนำแบคทีเรียที่ผ่านการคัดเลือกมาเลี้ยงเพิ่มปริมาณ และปรับให้มีความเข้มข้น 1 x 10^8 cfu/ml ก้อนเชื้อเห็ดที่ใช้ทดสอบเป็นเห็ดนางฟ้าภูฐานซึ่งเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารมาตรฐาน ประกอบด้วย ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100 กิโลกรัม รำละเอียด 5 กิโลกรัม ปูนขาว 2.0 กิโลกรัม และ ดีเกลือ 0.2 กิโลกรัม วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Randomized Complete Randomized Design, CRD) จำนวน 5 สิ่งทดลอง กระทำ 4 ซ้ำๆ ละ 10 ก้อน แบ่งชุดการทดลองดังนี้

1. แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ที่ 1 + *Botryodiplodia* spp.
2. แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ที่ 2 + *Botryodiplodia* spp.
3. แบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ที่ 3 + *Botryodiplodia* spp.
4. *Botryodiplodia* spp. (ชุดตรวจสอบ)
5. น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)

ทำการทดลองโดยการฉีดพ่นน้ำละลายเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ บริเวณปากถุงก้อนเชื้อเห็ด ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ต่อ 1 ถุง ทิ้งไว้ 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นฉีดพ่นด้วยน้ำละลายเชื้อสปอร์ *Botryodiplodia* ปริมาตร 3 มิลลิลิตร บันทึกอัตราการเกิดโรคในระยะเวลา 30 วัน หลังปลูกเชื้อ บันทึกระยะเวลาในการออกดอก จำนวนดอก และน้ำหนักผลผลิต เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ฉีดพ่นเฉพาะสปอร์ *Botryodiplodia* และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ในช่วงระยะเวลาเก็บเกี่ยว 4 รุ่น

2.6 การเตรียมสูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์

2.6.1 นำแบคทีเรียปฏิปักษ์จำนวน 3 ไอโซเลต ที่ผ่านการคัดเลือกว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคราดำ *Botryodiplodia* มาเลี้ยงบนอาหาร NA อายุ 24 ชั่วโมง จำนวน 1 ลูป ย้ายลงอาหารเหลว NB (Nutrient Broth) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ลงในฟาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร เลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 120 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้อง 28-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง (กัลทิมา, 2555) จากนั้นไปตกตะกอนเซลล์ด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง 8,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที นำน้ำละลายเชื้อไปวัดความขุ่นโดยปรับค่าการดูดกลืนแสงให้ได้ความเข้มข้น 0.2 ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (จะใช้น้ำละลายเชื้อประมาณ 10^8 cfu/ml) (วราภรณ์และสุดฤดี, 2555)

2.6.2 เตรียมสูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ โดยการนำ talcum, calcium carbonate, CMC และอาหาร PDA ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำสกัดมันฝรั่งแตกต่างกัน นำส่วนผสมฆ่าเชื้อด้วยเครื่องหม้อนึ่งความดันสูง (autoclave) อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที จำนวน 2 ครั้ง โดยแต่ละครั้งห่างกัน 24 ชั่วโมง สูตรผสมในอัตราส่วน 60 : 30 : 8 : น้ำสกัดมันฝรั่งในอัตราต่างกัน โดยสูตรสำเร็จมีดังนี้

สูตรสำเร็จที่ 1 talcum + calcium carbonate + CMC + น้ำสกัดมันฝรั่ง 2 % ในอาหาร PDA

สูตรสำเร็จที่ 2 talcum + calcium carbonate + CMC + น้ำสกัดมันฝรั่ง 5 % ในอาหาร PDA

สูตรสำเร็จที่ 3 talcum + calcium carbonate + CMC + น้ำสกัดมันฝรั่ง 10 % ในอาหาร PDA

สูตรสำเร็จที่ 4 talcum + calcium carbonate + CMC + น้ำสกัดมันฝรั่ง 15 % ในอาหาร PDA

สูตรสำเร็จที่ 5 talcum + calcium carbonate + CMC + น้ำสกัดมันฝรั่ง 20 % ในอาหาร PDA

หลังจากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เตรียมไว้มาผสมลงไปในสูตรสำเร็จ อัตรา 8 มิลลิลิตร/สูตรสำเร็จ 500 กรัม นำไปอบในตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 3 - 4 ชั่วโมง นำมาบรรจุถุง ขนาด 1 กรัม/ถุง เพื่อทดสอบคุณสมบัติการมีชีวิตรอดและประสิทธิภาพของเชื้อต่อไป

2.7 การทดสอบการอยู่รอดและประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในสูตรสำเร็จ

ทำการตรวจสอบการมีชีวิตรอดของแบคทีเรียปฏิปักษ์ ภายหลังเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 เดือน ทำการตรวจนับปริมาณเชื้อครั้งแรกหลังผลิตสูตรสำเร็จ และตรวจนับทุกเดือน ด้วยวิธีการ drop plate บนอาหาร PDA นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการนับจำนวนโคโลนี คำนวณหาค่าเฉลี่ยจำนวนแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้งหมดในสูตรสำเร็จ และทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ในสูตรสำเร็จในการยับยั้งเชื้อราดำ *Botryodiplodia* ด้วยวิธี pour plate ด้วยอาหาร PDA แล้วตัดชิ้นวุ้น PDA ที่มีเชื้อรา *Botryodiplodia* เจริญอยู่ มาวางตรงกลางจานเพาะเชื้อที่ทำการ pour plate ไว้ก่อนแล้ว บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีของชุดทดสอบเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (น้ำกลั่นฆ่าเชื้อ) คำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของเชื้อรา แต่ละการทดสอบทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.8 การทดสอบความสามารถของแบคทีเรียปฏิปักษ์สูตรสำเร็จในการควบคุมโรคราดำในโรงเรือน

กระทำการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.5

2.8.1 การเตรียมก้อนเชื้อเห็ด

2.8.1.1 การเตรียมก้อนเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐาน

การเตรียมหัวเชื้อเห็ด (spawn) เลี้ยงเห็ดนางฟ้าภูฐานบนอาหาร PDA เมื่อเส้นใยเจริญเติบโตเต็มที่ จึงทำการย้ายเส้นใยเห็ดบนเมล็ดข้าวฟ่าง โดยนำเมล็ดข้าวฟ่างแช่น้ำไว้ 1 คืน ต้มให้สุก เทน้ำทิ้ง เกลี่ยและตากไว้ให้หมาด นำเมล็ดข้าวฟ่างกรอกใส่ขวดแบน ประมาณ 2/3 ของขวด ปิดด้วยจุกสำลีและกระดาษ นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที เมื่อเมล็ดข้าวฟ่างเย็นจึงเขี่ยหัวเชื้อเห็ดลงไปเพาะเลี้ยง รอจนเส้นใยเห็ดเจริญเต็มเมล็ดข้าวฟ่าง จึงเพาะลงในถุงพลาสติกต่อไป

2.8.1.2 การเพาะนางฟ้าภูฐานในถุงพลาสติก

สำหรับการเพาะเห็ดนางฟ้าภูฐาน การทดลองจะใช้สูตรอาหาร ซึ่งประกอบด้วย ขี้เลื่อยไม้ยางพารา 100 กิโลกรัม รำละเอียด 5 กิโลกรัม ดีเกลือ 0.2 กิโลกรัม ปูนขาว 2 กิโลกรัม ผสมวัสดุให้มีความชื้น 60 - 65 เปอร์เซ็นต์ บรรจุลงถุงทนร้อนขนาด 6 X 14 นิ้ว ถุงละ 800 กรัม ใส่คอขวดพลาสติก ปิดด้วยจุกแบบประหยัด นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งแบบลูกทุ่ง อุณหภูมิประมาณ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2.5 - 3 ชั่วโมง โดยใช้ไฟแรงอย่างสม่ำเสมอ เมื่อวัสดุเพาะเย็น จึงเทหัวเชื้อที่เตรียมไว้บนเมล็ดข้าวฟ่างลงไป 15 - 20 เมล็ด บ่มไว้ในโรงเรือนที่มีอุณหภูมิ 25 - 28 องศาเซลเซียส ทำการทดสอบการเกิดโรคราดำเมื่อเส้นใยเห็ดเจริญเต็มถุงก้อนเชื้อใช้เวลาประมาณ 15 - 20 วัน

2.8.1.3 การบันทึกผลการทดลอง

ประเมินความเสียหายที่เกิดจากโรค โดยนับจำนวนก้อนเชื้อเห็ดที่เป็นโรคแล้วคำนวณเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในแต่ละกรรมวิธี ประเมินความรุนแรงของโรคด้วยสายตา นับจำนวนดอก และน้ำหนักผลผลิต คำนวณประสิทธิภาพการใช้อาหารของเห็ด (% B.E.) ในระยะเวลาเก็บเกี่ยว 4 รุ่น

2.8.1.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

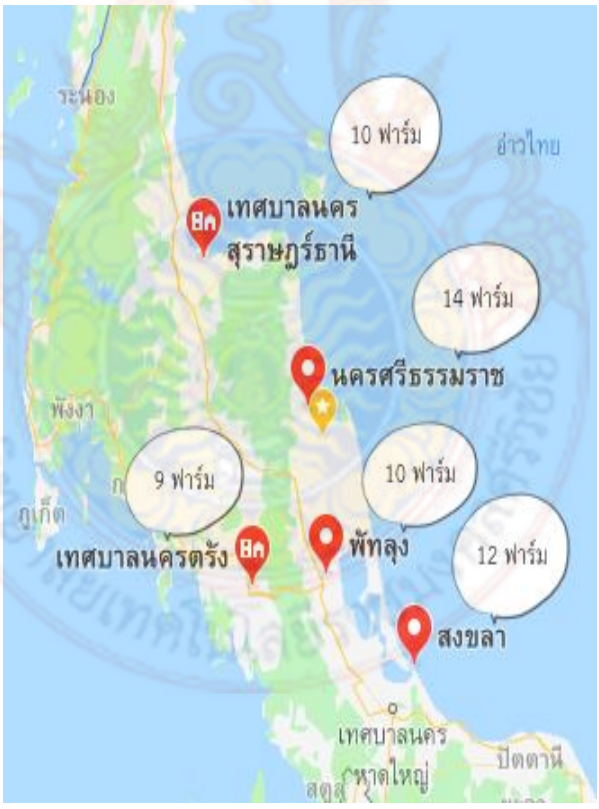
นำข้อมูลผลการทดลองในแต่ละการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติ เพื่อหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan’s Multiple Rang Test (DMRT)

บทที่ 3
ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

3.1 การสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคราดำของเห็ด

3.1.1 การเก็บรวบรวมเชื้อสาเหตุโรคราดำ *Botryodiplodia* spp.

ผลการเก็บตัวอย่างก้อนเชื้อเห็ดที่เกิดโรคราดำ *Botryodiplodia* spp. ในพื้นที่ 5 จังหวัด พบก้อนเชื้อเห็ดที่เกิดโรคราดำ *Botryodiplodia* spp. ทั้งหมด 55 ฟาร์ม แบ่งเป็นจังหวัดนครศรีธรรมราช จำนวน 14 ฟาร์ม (25.45 เปอร์เซ็นต์) รองลงมาคือ จังหวัดสงขลา จำนวน 12 ฟาร์ม (21.82 เปอร์เซ็นต์) จังหวัดพัทลุงและสุราษฎร์ธานี จังหวัดละจำนวน 10 ฟาร์ม (18.18 เปอร์เซ็นต์) ในขณะที่จังหวัดตรังสามารถเก็บรวบรวมก้อนเชื้อเห็ดจากฟาร์มได้น้อยที่สุด จำนวน 9 ฟาร์ม (7.14 เปอร์เซ็นต์) โดยก้อนเชื้อเห็ดที่พบการเกิดโรคราดำ *Botryodiplodia* spp. จำนวนทั้งสิ้น 126 ก้อน พบโรคราดำมากที่สุดบนก้อนเชื้อเห็ดนางฟ้า 63 ก้อน (50.00 เปอร์เซ็นต์) รองลงมาคือเห็ดนางรม 39 ก้อน (30.95 เปอร์เซ็นต์) เห็ดหูหนู 16 ก้อน (12.70 เปอร์เซ็นต์) และ เห็ดหลินจือ 8 ก้อน (6.35 เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่ 3.1 และ ภาพที่ 3.1)



ภาพที่ 3.1 แผนที่เก็บตัวอย่างก้อนเชื้อเห็ดที่เกิดโรคราดำ *Botryodiplodia* spp.

3.1.2 การจำแนกชนิด (species) ของเชื้อ *Botryodiplodia* spp.

ผลการศึกษาความหลากหลายของเชื้อรา *Botryodiplodia* spp. ในก้อนเชื้อเห็ดที่เก็บตัวอย่างในพื้นที่จังหวัดนครศรีธรรมราช ตรัง พัทลุง สุราษฎร์ธานี และสงขลา พบเชื้อรา *Botryodiplodia* spp. ทั้งหมด 125 ไอโซเลต โดยพบในจังหวัดนครศรีธรรมราช ทั้งหมด 18 ไอโซเลต จังหวัดตรัง 19 ไอโซเลต จังหวัดพัทลุง 18 ไอโซเลต จังหวัดสุราษฎร์ธานี 40 ไอโซเลต และจังหวัดสงขลา 30 ไอโซเลต (ตารางที่ 3.1)

ลักษณะอาการของก้อนเชื้อเห็ดที่พบโรคราดำ *Botryodiplodia* spp. ที่เข้าทำลายก้อนเชื้อเห็ด (ภาพที่ 3.2 และ 3.3) เชื้อจะเข้าทำลายวัสดุเพาะเห็ดในระยะการบ่มเชื้อ ทำให้ขี้เลื่อยมีสีน้ำตาลเข้มเกือบดำ โดยเริ่มแรกเชื้อรามีสีขาว ต่อมาเชื้อราจะขยายกว้างขึ้นเรื่อยๆ เมื่อทิ้งไว้เป็นเวลานานจะสังเกตเห็นก้อนเล็กๆ สีดำ นูนออกมาที่ผิวของถุงพลาสติก โคโลนีบนอาหาร PDA และลักษณะสปอร์ของเชื้อรา (ภาพที่ 3.4 และ 3.5) เมื่อนำเชื้อ *Botryodiplodia* spp. ไปจำแนกสายพันธุ์โดยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ ITS rDNA พบว่า เป็น *Botryodiplodia theobromae* (ระยะ anamorph) ซึ่งระยะ Teleomorph คือ *Lasiodiplodia theobromae*

ตารางที่ 3.1 สถานที่เก็บตัวอย่าง จำนวนฟาร์ม จำนวนเชื้อราดำ จำนวนเชื้อแบคทีเรีย และชนิดของก้อนเชื้อเห็ดที่พบราดำ *Botryodiplodia* spp.

สถานที่เก็บตัวอย่าง	จำนวนฟาร์ม	จำนวนเชื้อราดำ (ไอโซเลต)	จำนวนเชื้อแบคทีเรีย (ไอโซเลต)	ชนิดก้อนเชื้อเห็ด
จังหวัดนครศรีธรรมราช	**14**	**18**	**12**	
อ. ทุ่งใหญ่	3	4	2	นางฟ้า,หลินจือ
อ. ถ้ำพรรณรา	1	1	3	นางฟ้า
อ. ทุ่งสง	1	4	1	นางฟ้า
อ. ร่อนพิบูลย์	4	2	2	นางรม
อ. ช้างกลาง	1	4	1	นางฟ้า
อ. ท่าศาลา	1	1	1	นางรม
อ. สิชล	2	1	1	นางฟ้า
อ. ลานสกา	1	1	1	นางฟ้า
จังหวัดตรัง	**9**	**19**	**19**	
อ. รัษฎา	1	2	3	นางฟ้า
อ. วังวิเศษ	1	2	4	นางฟ้า
อ. ห้วยยอด	3	6	2	นางฟ้า

อ. เมือง	2	2	1	นางฟ้า

ตารางที่ 3.1 สถานที่เก็บตัวอย่าง จำนวนฟาร์ม จำนวนเชื้อราดำ จำนวนเชื้อแบคทีเรีย และชนิดของก้อนเชื้อเห็ดเชื้อสาเหตุโรคราดำ *Botryodiplodia* spp. (ต่อ)

สถานที่เก็บตัวอย่าง	จำนวนฟาร์ม	จำนวนเชื้อราดำ (ไอโซเลต)	จำนวนเชื้อแบคทีเรีย (ไอโซเลต)	ชนิดก้อนเชื้อเห็ด
อ. สิเกา	1	4	8	นางฟ้า
อ. ย่านตาขาว	1	3	1	นางฟ้า,หลินจือ
จังหวัดพัทลุง	**10**	**18**	**7**	
อ. ป่าพยอม	1	1	1	นางฟ้า
อ. ควนขนุน	3	6	2	หูหนู
อ. เขาชัยสน	1	3	1	นางฟ้า
อ. ศรีบรรพต	1	2	1	นางฟ้า
อ. ป่าบอน	2	4	1	นางฟ้า
อ. ตะโหมด	2	2	1	นางฟ้า
จ.สุราษฎร์ธานี	**10**	**40**	**13**	
อ. เวียงสระ	1	5	1	นางฟ้า
อ. บ้านนาเดิม	1	4	2	นางฟ้า
อ. เมือง	1	11	3	นางฟ้า
อ. กาญจนดิษฐ์	4	13	4	นางฟ้า
อ. พุนพิน	1	2	1	นางฟ้า
อ. ไชยา	2	5	2	นางฟ้า,นางรม
จ.สงขลา	**12**	**30**	**10**	
อ.ควนเนียง	4	9	3	นางฟ้า
อ.รัตภูมิ	2	6	1	นางฟ้า
อ.บางกล่ำ	1	3	1	นางฟ้า
อ. สิงหนคร	3	7	2	นางฟ้า
อ.หาดใหญ่	1	2	2	นางฟ้า
อ.เมือง	1	3	1	นางฟ้า
รวม	**55**	**125**	**61**	

(ก) (ข) (ค) (ง)

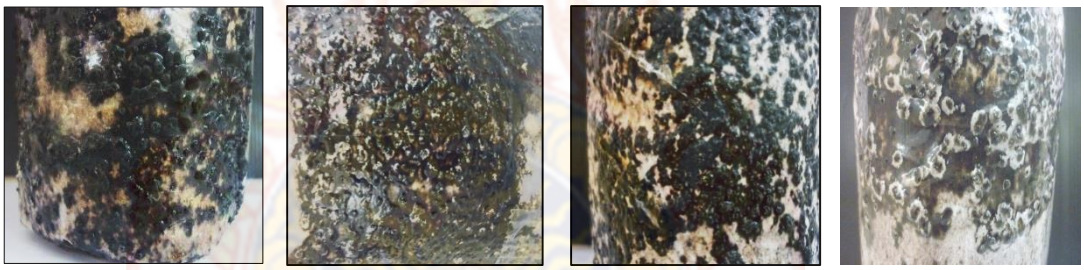
ภาพที่ 3.2 ตัวอย่างก้อนเชื้อเห็ดชนิดต่างๆ ที่เกิดโรคราดำ *B. theobromae*

(ก) ก้อนเชื้อเห็ดหูหนู

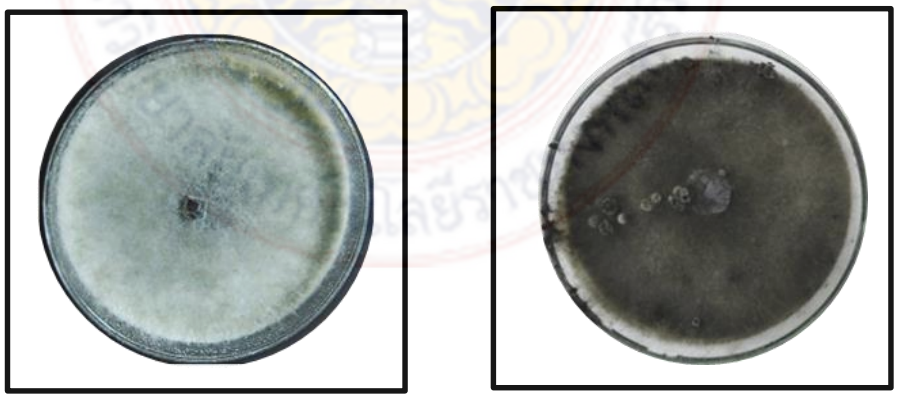
(ข) ก้อนเชื้อเห็ดนางฟ้า

(ค) ก้อนเชื้อเห็ดนางรม

(ง) ก้อนเชื้อเห็ดหลินจือ



ภาพที่ 3.3 ลักษณะอาการของก้อนเชื้อเห็ดที่พบโรคราดำ *B. Theobromae*

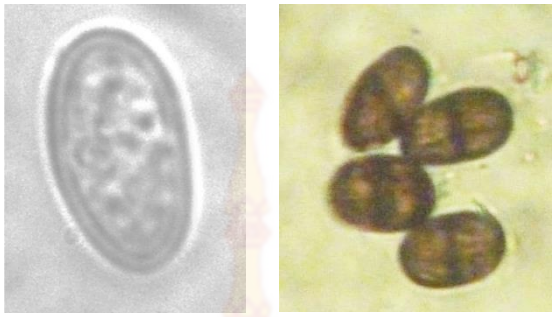


(ก) **(ข)**

ภาพที่ 3.4 ลักษณะโคโลนีของราดำ *B. theobromae* บนอาหาร PDA

(ก) โคโลนีของราดำ *B. theobromae* บนอาหารพีดีเอ เมื่ออายุ 7 วัน

(ข) โคโลนีของราดำ *B. theobromae* บนอาหารพีดีเอ เมื่ออายุ 30 วัน



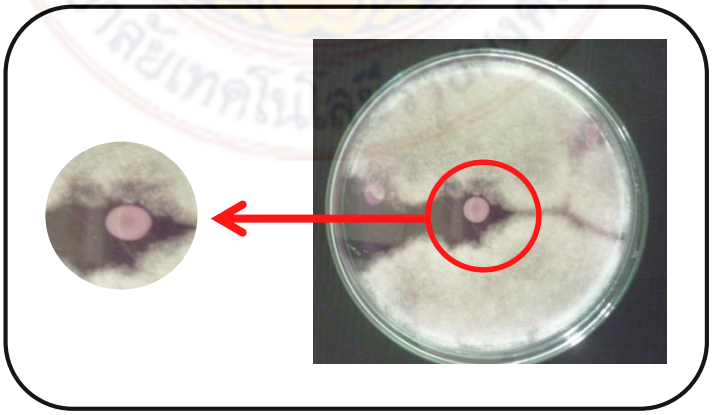
(ก) (ข)

ภาพที่ 3.5 ลักษณะของสปอร์เชื้อราดำ *B. theobromae* ที่กำลังขยาย 40X
(ก) สปอร์อ่อนมี 1 เซลล์ สีใส
(ข) สปอร์แก่มี 2 เซลล์ สีน้ำตาล

3.2 การแยกและคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่คาดว่าเป็นปฏิปักษ์

3.2.1 การแยกเชื้อแบคทีเรียจากถุงเห็ดเป็นโรคราดำ *B. theobromae*

จากการแยกเชื้อแบคทีเรียจากถุงก้อนเชื้อเห็ดที่เป็นโรคราดำ *B. theobromae* โดยใช้วิธี dilution pour plate พบเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด 61 ไอโซเลต โดยพบในพื้นที่จังหวัดนครศรีธรรมราช จำนวน 12 ไอโซเลต จังหวัดตรัง 19 ไอโซเลต จังหวัดสุราษฎร์ธานี 13 ไอโซเลต จังหวัดพัทลุง 7 ไอโซเลต และจังหวัดสงขลา 10 ไอโซเลต การแยกเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี dilution pour plate เป็นวิธีที่ง่ายและสะดวก ซึ่งใช้ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ก็สามารถคัดแยกแบคทีเรียปฏิปักษ์ได้ และแบคทีเรียที่ได้จะมีประสิทธิภาพสูง โดยเลือกเก็บเฉพาะแบคทีเรียที่มีวงใส (clear zone) เกิดขึ้น วงใสที่มีขนาดใหญ่ย่อมแสดงให้เห็นว่า แบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลตนั้นสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราไม่ให้เข้าใกล้บริเวณที่มีแบคทีเรียเจริญอยู่ ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ดีของแบคทีเรียปฏิปักษ์



ภาพที่ 3.6 ลักษณะโคโลนีแบคทีเรียที่เลือกเก็บเพื่อใช้ทดสอบความสามารถในการเป็นแบคทีเรีย

ปฏิปักษ์ต่อเชื้อ *Botryodiplodia* spp.

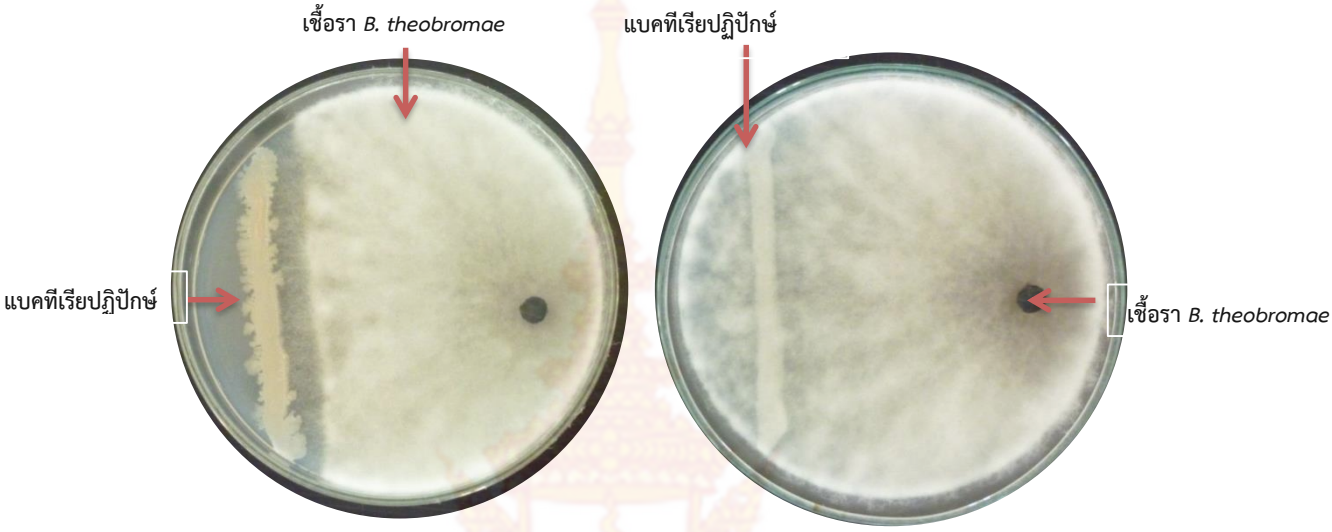
3.3 การทดสอบความสามารถในการเป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคราดำ *B. theobromae*

ผลการทดสอบความสามารถในการเป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์ ต่อเชื้อสาเหตุโรคราดำ *B. theobromae* พบเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *B. theobromae* ทั้งหมด 14 ไอโซเลต (26.64 เปอร์เซ็นต์) จากแบคทีเรียทั้งหมด 61 ไอโซเลต โดยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SR05 มีระดับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงสุดที่ 47.36 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต PT04, PT01, SR12, NK13, SR11, TR13, SK08, TR05, NK08, SR02, NK03, NK05 และ SK07 มีระดับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 46.42, 44.76, 44.44, 44.29, 43.03, 42.50, 41.93, 40.71, 40.36, 40.09, 33.93, 32.86 และ 31.29 ตามลำดับ (ตารางที่ 3.2)

ตารางที่ 3.2 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยรา *B. theobromae* ของแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่แยกได้จากก้อนเชื้อเห็ด

ไอโซเลตของแบคทีเรีย	การยับยั้ง (%)
NK03	33.93
NK05	32.86
NK08	40.36
NK13	44.29
TR05	40.71
TR13	42.50
SK07	31.29
SK08	41.93
PT01	44.76
PT04	46.42
SR02	40.09
SR05	47.36
SR11	43.03
SR12	44.44

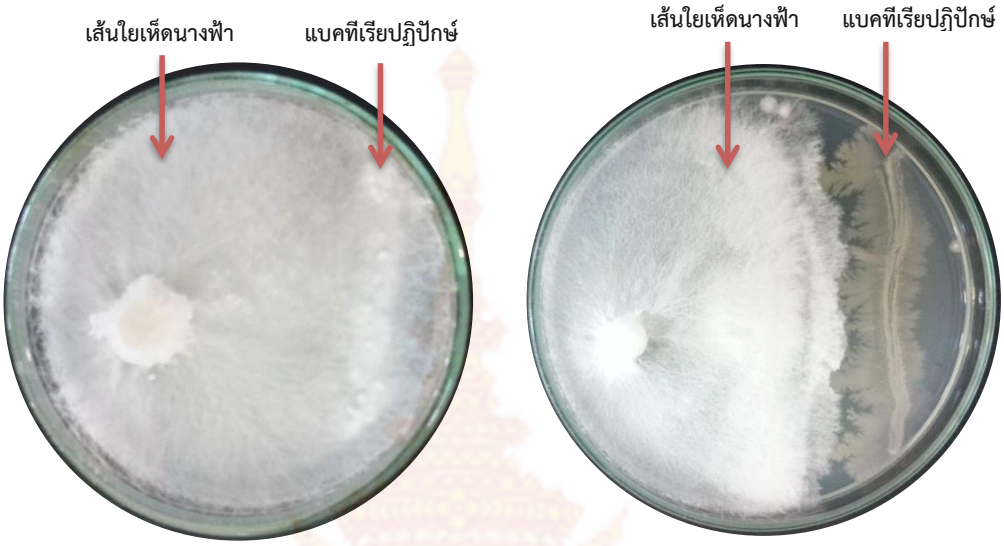
หมายเหตุ: NK= นครศรีธรรมราช, TR =ตรัง, SK = สงขลา, PT = พัทลุง, SR = สุราษฎร์ธานี



ภาพที่ 3.7 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของแบคทีเรียในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *B. theobromae*
(ก) เชื้อแบคทีเรียสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. theobromae*
(ข) เชื้อแบคทีเรียไม่สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อ *B. theobromae*

3.4 การทดสอบผลของแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด

ผลการศึกษาพบว่า แบคทีเรียที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราดำ *B. theobromae* สามารถเจริญร่วมกับเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐาน มีทั้งหมด 5 ไอโซเลต ได้แก่ แบคทีเรียไอโซเลต SR05, PT01, NK08, SK08 และ SR11 ทั้งนี้ทำการคัดเลือกแบคทีเรีย 3 ไอโซเลต ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงสุด และสามารถเจริญร่วมกับเส้นใยเห็ดได้เป็นอย่างดี ได้แก่ SR05, PT01 และ SR11 มีประสิทธิภาพการยับยั้ง เท่ากับ 47.36, 44.76 และ 43.03 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไอโซเลต ไปจำแนกสายพันธุ์โดยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ 16S rDNA พบว่าแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลต คือ *Pseudomonas kuykendallii*



(ก) (ข)

ภาพที่ 3.8 เปรียบเทียบผลของแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อการเจริญร่วมกับเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐาน

(ก) เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ควบคุมเชื้อ *B. theobromae* และสามารถเจริญร่วมกับเส้นใยเห็ด

(ข) เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ควบคุมเชื้อ *B. theobromae* แต่ไม่สามารถเจริญร่วมกับ เส้นใยเห็ด

3.5 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียเชื้อปฏิปักษ์ในการควบคุม *B. theobromae* ในสภาพโรงเรือน

3.5.1 ผลการใช้แบคทีเรียเชื้อปฏิปักษ์ในการควบคุม *B. theobromae* ในสภาพโรงเรือน

การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 เพื่อควบคุมเชื้อรา *B. theobromae* เมื่อครบ 30 วัน พบว่าชุดการทดลองการใช้เชื้อราดำอย่างเดียว (ชุดตรวจสอบ) มีอัตราการเกิดโรครุนแรง 5 ระดับ คือ ระดับที่ 1 อัตราการเกิดโรค 2.5 เปอร์เซ็นต์ ระดับที่ 2 อัตราการเกิดโรค 7.5 เปอร์เซ็นต์ ระดับที่ 3 อัตราการเกิดโรค 17.5 เปอร์เซ็นต์ ระดับที่ 4 อัตราการเกิดโรค 30.0 เปอร์เซ็นต์ และระดับที่ 5 อัตราการเกิดโรค 42.5 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การฉีดพ่นด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05 ไม่ก่อให้เกิดโรคราดำ ส่วนการฉีดพ่นด้วยแบคทีเรีย *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01 และ SR11 ทำให้ก้อนเชื้อเห็ดเกิดโรคความรุนแรงระดับ 5 อัตราการเกิดโรคเท่ากับ 2.5 และ 7.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 3.3)

ตารางที่ 3.3 ระดับความรุนแรงและอัตราการเกิดโรค (%) ของก้อนเชื้อเห็ด เมื่อใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 เปรียบเทียบกับ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ)

ความรุนแรงของโรค (%)	อัตราการเกิดโรค (%)			
	B. theobromae	SR05	PT01	SR11
5	2.5	0	2.5	7.5
25	7.5	0	0	0
50	17.5	0	0	0
75	30.0	0	0	0
100	42.5	0	0	0

3.5.2 การเจริญของเส้นใยเห็ด

ผลการศึกษาการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐาน ระยะเวลาที่เส้นใยเจริญเต็มถุงก้อนเชื้อพบว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) เมื่อทดสอบด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 ทำให้เส้นใยเห็ดเจริญเทียบเท่ากับน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) เส้นใยเห็ดเจริญเต็มถุงก้อนเชื้อใช้ระยะเวลา 28.10, 28.41 และ 28.48 วัน ในขณะที่ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) มีแนวโน้มทำให้เส้นใยเห็ดเจริญช้าลง เจริญเต็มถุงก้อนเชื้อใช้ระยะเวลา 31.50 วัน อย่างไรก็ตาม การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดนางฟ้าในแต่ละวัน มีระยะเวลาการเจริญเต็มถุงไม่พร้อมกัน เนื่องจากก้อนเชื้อเห็ดนางฟ้าที่เกิดโรคราดำ *B. theobromae* เส้นใยเจริญช้าสุด เมื่อเปรียบเทียบกับทุกชุดการทดลอง

ชุดการทดลอง (800 กรัม/ถุง)	การเกิดโรค (%)	เส้นใยเจริญเต็มถุงก้อนเชื้อ (วัน)
1. *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05+ *B. theobromae*	0	28.48b
2. *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01+ *B. theobromae*	2.5	28.10bc
3. *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11+ *B. theobromae*	7.5	28.41b
4. *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ)	100	31.50a
5. น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)	0	28.08bc

C.V. %	2.13
Significant Difference	**

ตารางที่ 3.4 การเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐาน เมื่อทดสอบด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 เมื่อเปรียบเทียบกับ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)

หมายเหตุ: ** ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรต่างกัน มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P<0.01)

3.5.3 จำนวนดอกเห็ด

ผลการศึกษาจำนวนดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 1 พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 เห็ดมีจำนวนดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 8.75 ดอก/ถุง รองลงมาคือ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) จำนวนดอกเห็ดเฉลี่ย 8.15, 8.10 และ 7.78 ดอก/ถุง ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) จำนวนดอกเห็ดน้อยที่สุด 3.78 ดอก/ถุง (ตารางที่ 3.5)

จำนวนดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 2 พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P<0.01) การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 มีจำนวนดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 6.35 ดอก/ถุง รองลงมาคือ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01, SR05 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) จำนวนดอกเห็ดเฉลี่ย 5.95, 5.85 และ 5.15 ดอก/ถุง ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) จำนวนดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 3.38 ดอก/ถุง (ตารางที่ 3.5)

จำนวนดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 3 พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05 และ PT01 จำนวนดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 4.60 ดอก/ถุง รองลงมาคือการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) จำนวนดอกเฉลี่ย 4.35 และ 4.15 ดอก/ถุง ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) จำนวนดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 1.88 ดอก/ถุง (ตารางที่ 3.5)

จำนวนดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 4 พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05 จำนวนดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 4.50 ดอก/ถุง รองลงมาคือ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11, PT01 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) จำนวนดอกเห็ดเฉลี่ย 4.43, 4.10 และ 4.00 ดอก/ถุง ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) จำนวนดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 1.40 ดอก/ถุง (ตารางที่ 3.5)

เมื่อพิจารณาจำนวนดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานรวม ทั้ง 4 รุ่น พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 จำนวนดอกเห็ดรวมมากที่สุดเท่ากับ 23.88 ดอก/ถุง รองลงมาคือ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์

Ps. kuykendallii ไอโซเลต SR05, PT01 จำนวนดอกเห็ดรวมเท่ากับ 23.10 และ 22.75 ดอก/ถุง ตามลำดับ ซึ่งจำนวนดอกรวมมากกว่าชุดน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) มีค่าเท่ากับ 21.08 ดอก/ถุง ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) จำนวนดอกรวมน้อยที่สุดเท่ากับ 10.44 ดอก/ถุง (ตารางที่ 3.5)

ตารางที่ 3.5 จำนวนดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานแต่ละรุ่น เมื่อทดสอบด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 เปรียบเทียบกับ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลอง	จำนวนดอกเห็ด (ดอก/ถุง)				
	รุ่นที่ 1	รุ่นที่ 2	รุ่นที่ 3	รุ่นที่ 4	รวม
1. *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05+ *B. theobromae*	8.15a	5.85ab	4.60a	4.50a	23.10a
2. *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01+ *B. theobromae*	8.10a	5.95ab	4.60a	4.10a	22.75a
3. *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11+ *B. theobromae*	8.75a	6.35a	4.35a	4.43a	23.88a
4. *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ)	3.78b	3.38b	1.88b	1.40b	10.44b
5. น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)	7.78a	5.15ab	4.15ab	4.00a	21.08a
C.V. %	13.78	20.41	6.99	9.01	33.93
Significant Difference	*	**	*	*	*

หมายเหตุ: * ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรต่างกัน มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

** ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$)

3.5.4 น้ำหนักดอกเห็ด

ผลการศึกษาน้ำหนักดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 1 พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) พบว่า การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 น้ำหนักเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 83.45 กรัม/ถุง รองลงมาคือ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) น้ำหนักดอกเห็ดเฉลี่ย 81.65, 80.55 และ 78.20 กรัม/ถุง ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) น้ำหนักดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 40.78 กรัม/ถุง (ตารางที่ 3.6)

น้ำหนักดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 2 พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เช่นเดียวกับน้ำหนักดอกเห็ดรุ่นที่ 1 การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05 น้ำหนักดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 77.33 กรัม/ถุง รองลงมาคือ การใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 และ

PT01 น้ำหนักดอกเห็ดเฉลี่ย 74.85, 74.48 และ 71.03 กรัม/ถุง ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) น้ำหนักดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 37.05 กรัม/ถุง (ตารางที่ 3.6)

น้ำหนักดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 3 พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01 น้ำหนักดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 57.53 กรัม/ถุง รองลงมาคือ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11, SR05 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) น้ำหนักดอกเห็ดเฉลี่ย 56.95, 56.33 และ 53.05 กรัม/ถุง ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) น้ำหนักดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 25.80 กรัม/ถุง (ตารางที่ 3.6)

น้ำหนักดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 4 พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เช่นเดียวกับน้ำหนักดอกเห็ดในรุ่นที่ 1 และ 2 การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01 น้ำหนักดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 39.53 กรัม/ถุง รองลงมาคือ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11, SR05 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) น้ำหนักดอกเห็ดเฉลี่ย 37.83, 37.50 และ 34.93 กรัม/ถุง ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) น้ำหนักดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 24.58 กรัม/ถุง (ตารางที่ 3.6)

เมื่อพิจารณาน้ำหนักเห็ดนางฟ้าภูฐานรวมทั้ง 4 รุ่น พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) โดยการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, SR11, PT01 และชุดควบคุม ทำให้น้ำหนักรวมเท่ากับ 252.81, 252.71, 248.64 และ 241.03 กรัม/ถุง ประสิทธิภาพการใช้อาหารเท่ากับ 84.27, 84.24, 80.21 และ 77.84 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) น้ำหนักดอกเห็ดรวมน้อยที่สุด เท่ากับ 128.21 กรัม/ถุง ประสิทธิภาพการใช้อาหารเท่ากับ 39.45 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3.6)

ตารางที่ 3.6 น้ำหนักดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานแต่ละรุ่น เมื่อทดสอบด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 เปรียบเทียบกับ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลอง	น้ำหนักดอก (กรัม/ถุง)					ประสิทธิภาพการใช้อาหาร (%B.E.)
	รุ่นที่ 1	รุ่นที่ 2	รุ่นที่ 3	รุ่นที่ 4	รวม	
1. *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05+ *B. theobromae*	81.65a	77.33a	56.33	37.50a	252.81a	84.27a
2. *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01+ *B. theobromae*	80.55a	71.03ab	57.53	39.53a	248.64a	80.21a
3. *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11+ *B. theobromae*	83.45a	74.48ab	56.95	37.83a	252.71a	84.24a
4. *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ)	40.78b	37.05b	25.80	24.58b	128.21b	39.45b
5. น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)	78.20ab	74.85ab	53.05	34.93a	241.03a	77.84ab
C.V. %	7.29	7.25	14.60	10.07	31.99	15.99
Significant Difference	*	*	ns	*	*	*

หมายเหตุ: * ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรต่างกัน มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมี

นัยสำคัญ (P<0.05)
ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

3.5.5 ความยาวของก้านดอกเห็ด

ผลการศึกษาความยาวของก้านดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 1 พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ การใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) ความยาวของก้านดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 7.51 เซนติเมตร/ดอก รองลงมาคือ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01, *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) และ SR05 ความยาวของก้านดอกเห็ดเฉลี่ย 7.47, 7.45 และ 7.43 เซนติเมตร/ดอก ตามลำดับ ในขณะที่การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 ความยาวของก้านดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 7.09 เซนติเมตร/ดอก (ตารางที่ 3.7)

ความยาวของก้านดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 2 พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05 ความยาวของก้านดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 7.54 เซนติเมตร/ดอก รองลงมาคือ การใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม), การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01 และ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) ความยาวของก้านดอกเห็ดเฉลี่ย 7.50, 7.45 และ 7.39 เซนติเมตร/ดอก ตามลำดับ ในขณะที่การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 ความยาวของก้านดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 7.25 เซนติเมตร/ดอก (ตารางที่ 3.7)

ความยาวของก้านดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 3 พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05 ความยาวของก้านดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 7.72 เซนติเมตร/ดอก รองลงมาคือ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11, PT01 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) ความยาวของก้านดอกเห็ดเฉลี่ย 7.47, 7.39 และ 7.34 เซนติเมตร/ดอก ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) ก้านดอกเห็ดยาวน้อยที่สุดเฉลี่ย7.24 เซนติเมตร/ดอก (ตารางที่ 3.7)

ความยาวของก้านดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 4 พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01 ความยาวของก้านดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 7.15 เซนติเมตร/ดอก รองลงมาคือ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, SR11 และ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) ความยาวของก้านดอกเห็ดเฉลี่ย 7.14, 7.09 และ 7.09 เซนติเมตร/ดอก ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลองน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) ความยาวของก้านดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 7.07 เซนติเมตร/ดอก (ตารางที่ 3.7)

เมื่อพิจารณาความยาวของก้านดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานเฉลี่ย ทั้ง 4 รุ่น พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05 ก้านดอกเห็ดยาวมากที่สุดเฉลี่ย 7.46 เซนติเมตร/ดอก รองลงมาคือ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01, น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) และ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) ก้านดอกเห็ดยาวเฉลี่ย 7.36, 7.35 และ 7.29 เซนติเมตร/ดอก ตามลำดับ ในขณะที่การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 ความยาวของก้านดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย7.22 เซนติเมตร/ดอก (ตารางที่ 3.7)

ตารางที่ 3.7 ความยาวของก้านดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานแต่ละรุ่น เมื่อทดสอบด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 เปรียบเทียบกับ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลอง	ความยาวของก้านดอกเห็ด (เซนติเมตร/ดอก)				
	รุ่นที่ 1	รุ่นที่ 2	รุ่นที่ 3	รุ่นที่ 4	เฉลี่ย
1. *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05+ *B. theobromae*	7.43	7.54	7.72ab	7.14	7.46
2. *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01+ *B. theobromae*	7.47	7.45	7.39a	7.15	7.36
3. *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11+ *B. theobromae*	7.09	7.25	7.47ab	7.09	7.22
4. *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ)	7.45	7.39	7.24ab	7.09	7.29
5. น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)	7.51	7.50	7.34b	7.07	7.35
C.V. %	3.96	5.71	3.44	5.26	2.59
Significant Difference	ns	ns	*	ns	ns

หมายเหตุ: * ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรต่างกัน มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)
ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

3.5.6 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ด

ผลการศึกษาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 1 พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกมากที่สุดเฉลี่ย 7.57 เซนติเมตร/ดอก รองลงมาคือ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01, SR11 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเฉลี่ย 7.55, 7.47 และ 7.42 เซนติเมตร/ดอก ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกน้อยที่สุดเฉลี่ย 7.37 เซนติเมตร/ดอก (ตารางที่ 3.8)

ผลการศึกษาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 2 พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกมากที่สุดเฉลี่ย 7.55 เซนติเมตร/ดอก รองลงมาคือ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเฉลี่ย 7.49, 7.46 และ 7.25 เซนติเมตร/ดอก ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลอง

B. theobromae (ชุดตรวจสอบ) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกน้อยที่สุดเฉลี่ย 7.22 เซนติเมตร/ดอก (ตารางที่ 3.8)

ผลการศึกษาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 3 พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 7.37 เซนติเมตร/ดอก รองลงมาคือ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01 และ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดเฉลี่ย 7.01 และ 6.94 เซนติเมตร/ดอก ตามลำดับ ในขณะที่การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 6.89 เซนติเมตร/ดอก (ตารางที่ 3.8)

ผลการศึกษาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 4 พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 7.17 เซนติเมตร/ดอก รองลงมาคือ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01, SR11 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดเฉลี่ย 7.13, 7.07 และ 6.94 เซนติเมตร/ดอก ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 6.86 เซนติเมตร/ดอก (ตารางที่ 3.8)

เมื่อพิจารณาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานเฉลี่ย ทั้ง 4 รุ่น พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05 มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 7.40 เซนติเมตร/ดอก รองลงมาคือ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01, SR11 และ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดเฉลี่ย 7.29, 7.25 และ 7.10 เซนติเมตร/ดอก ตามลำดับ ในขณะที่การใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 6.86 เซนติเมตร/ดอก (ตารางที่ 3.8)

ชุดการทดลอง	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ด (เซนติเมตร/ดอก)				
	รุ่นที่ 1	รุ่นที่ 2	รุ่นที่3	รุ่นที่4	เฉลี่ย
1. *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05+ *B. theobromae*	7.57	7.49	7.37	7.17	7.40
2. *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01+ *B. theobromae*	7.55	7.46	7.01	7.13	7.29
3. *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11+ *B. theobromae*	7.47	7.55	6.89	7.07	7.25
4. *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ)	7.37	7.22	6.94	6.86	7.10
5. น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)	7.42	7.25	6.89	6.94	6.86

C.V.%	4.23	4.02	5.84	5.56	3.98
Significant Difference	ns	ns	ns	ns	ns

ตารางที่ 3.8 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานแต่ละรุ่น เมื่อทดสอบด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 เปรียบเทียบกับ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)

หมายเหตุ: ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

3.5.7 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ด

ผลการศึกษาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 1 พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 0.96 มิลลิเมตร/ดอก รองลงมาคือ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, SR11 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดเฉลี่ย 0.94, 0.92 และ 0.91 มิลลิเมตร/ดอก ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 0.89 มิลลิเมตร/ดอก (ตารางที่ 3.9)

ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 2 พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 0.89 มิลลิเมตร/ดอก รองลงมาคือ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) และ SR11 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดเฉลี่ย 0.87, 0.85 และ 0.82 มิลลิเมตร/ดอก ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 0.81 มิลลิเมตร/ดอก (ตารางที่ 3.9)

ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 3 พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 0.84 มิลลิเมตร/ดอก รองลงมาคือ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01, น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) และแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ด เฉลี่ย 0.78, 0.74 และ 0.69 มิลลิเมตร/ดอก ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 0.67 มิลลิเมตร/ดอก (ตารางที่ 3.9)

ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 4 พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 0.77 มิลลิเมตร/ดอก รองลงมาคือ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01, SR05 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดเฉลี่ย 074, 0.73 และ 0.72 มิลลิเมตร/ดอก ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลอง *B.*

theobromae (ชุดตรวจสอบ) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 0.68 มิลลิเมตร/ดอก (ตารางที่ 3.9)

เมื่อพิจารณาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานเฉลี่ยทั้ง 4 รุ่น พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 0.84 มิลลิเมตร/ดอก รองลงมาคือ การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01, SR05 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดเฉลี่ย 0.82, 0.81 และ 0.80 มิลลิเมตร/ดอก ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดเฉลี่ย 0.76 มิลลิเมตร/ดอก (ตารางที่ 3.9)

ตารางที่ 3.9 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานแต่ละรุ่น เมื่อทดสอบด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 เปรียบเทียบกับ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลอง	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ด (มิลลิเมตร/ดอก)				
	รุ่นที่ 1	รุ่นที่ 2	รุ่นที่3	รุ่นที่ 4	เฉลี่ย
1. *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05+ *B. theobromae*	0.94	0.87	0.69b	0.73	0.81
2. *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01+ *B. theobromae*	0.96	0.89	0.78ab	0.74	0.82
3. *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11+ *B. theobromae*	0.92	0.82	0.84a	0.77	0.84
4. *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ)	0.89	0.81	0.67b	0.68	0.76
5. น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)	0.91	0.85	0.74ab	0.72	0.80
C.V.%	7.64	10.14	9.33	7.87	12.01
Significant Difference	ns	ns	**	ns	ns

หมายเหตุ: ** ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรต่างกัน มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$)

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 3.10 จำนวนดอกรวม น้ำหนักรวม ความยาวของก้านดอก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอก และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานแต่ละรุ่น เมื่อทดสอบด้วยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 เปรียบเทียบกับ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลอง	จำนวนดอกรวม (ดอก/ถุง)	น้ำหนักรวม (กรัม/ถุง)	ความยาวก้านดอกเฉลี่ย (เซนติเมตร/ดอก)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดเฉลี่ย (เซนติเมตร/ดอก)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดเฉลี่ย (มิลลิเมตร/ดอก)
1. *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05+ *B. theobromae*	23.10a	252.81a	7.46	7.40	0.81
2. *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01+ *B. theobromae*	22.75a	248.64a	7.36	7.29	0.82
3. *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11+ *B. theobromae*	23.88a	252.71a	7.22	7.25	0.84
4. *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ)	10.44b	128.21b	7.29	7.10	0.76
5. น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)	21.08a	241.03a	7.35	6.86	0.80
C.V. %	33.93	31.99	2.59	3.98	12.01
Significant Difference	*	*	ns	ns	ns

หมายเหตุ: * ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรต่างกัน มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)
ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

3.6 การผลิตสูตรผงสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11

ผลการศึกษาพบว่า สูตรสำเร็จสำหรับเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ที่ประกอบด้วย talcum, calcium carbonate, อาหาร CMC และน้ำสกัดมันฝรั่ง 20 % ในอาหาร PDA ทำให้ได้ปริมาณเชื้อแบคทีเรียสูงที่สุด (ตารางที่ 3.11)

ตารางที่ 3.11 สูตรอาหารสำเร็จสำหรับผลิตเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii*

ชุดการทดลอง	ปริมาณ (โคโลนี/กรัม)		
	SR05	PT01	SR11
1. talcum + calcium carbonate + CMC + น้ำสกัดมันฝรั่ง 2 % ในอาหาร PDA	$1.1x10^8$	$1.1x10^8$	$1.1x10^8$
2. talcum + calcium carbonate + CMC + น้ำสกัดมันฝรั่ง 5 % ในอาหาร PDA	$2.4x10^8$	$1.9x10^8$	$1.5x10^8$
3. talcum + calcium carbonate + CMC + น้ำสกัดมันฝรั่ง 10 % ในอาหาร PDA	$3.2x10^8$	$2.1x10^8$	$2.7x10^8$
4. talcum + calcium carbonate + CMC + น้ำสกัดมันฝรั่ง 15 % ในอาหาร PDA	$5.7x10^8$	$3.3x10^8$	$4.2x10^8$
5. talcum + calcium carbonate + CMC + น้ำสกัดมันฝรั่ง 20 % ในอาหาร PDA	$8.9x10^8$	$6.4x10^8$	$7.9x10^8$

3.6.1 การทดสอบความอยู่รอดของสูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์

นำสูตรสำเร็จของแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เลี้ยงโดยสูตรที่ 5 ซึ่งประกอบด้วย talcum + calcium carbonate + CMC + น้ำสกัดมันฝรั่ง 20 % ในอาหาร PDA เลี้ยงแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR 11 โดยการเก็บรักษาแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ 1. เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (28 - 30 องศาเซลเซียส) และ 2. เก็บรักษาในตู้เย็น (4 - 6 องศาเซลเซียส) ทำการตรวจนับปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ที่มีชีวิตรอดในผงสำเร็จ โดยทำการตรวจเช็คทุกเดือน เป็นเวลา 6 เดือน ผลการทดลองพบว่า ผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องมีชีวิตอยู่รอดได้จนถึง 6 เดือน แต่ปริมาณของแบคทีเรียเริ่มลดลงตั้งแต่เดือนที่ 4 โดยลดลงจาก 8.9×10^8 โคโลนี/กรัม เหลือ 1.1×10^6 โคโลนี/กรัม ในขณะที่ผงสำเร็จแบคทีเรียที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก็ยังคงมีชีวิตอยู่รอดได้ถึง 6 เดือน โดยจำนวนเชื้อลดลงจากเริ่มต้นเพียงเล็กน้อย จากปริมาณเริ่มต้น 8.9×10^8 โคโลนี/กรัม ลดลงเหลือ 2.9×10^7 โคโลนี/กรัม ในเดือนที่ 6 พบว่า ผงสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01 ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องมีชีวิตอยู่รอดได้จนถึง 6 เดือน แต่ปริมาณของแบคทีเรียเริ่มลดลงตั้งแต่เดือนที่ 4 โดยลดลงจาก 9.9×10^8 โคโลนี/กรัม เหลือ 0.8×10^6 โคโลนี/กรัม (ตารางที่ 3.12) ในขณะที่ผงสำเร็จแบคทีเรียที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ยังคงมีชีวิตอยู่รอดได้ถึง 6 เดือน โดยมีจำนวนเชื้อลดลงจากเริ่มต้นเพียง

เล็กน้อย จากปริมาณเริ่มต้น 9.9 x 10^8 โคโลนี/กรัม ลดลงเหลือ 1.6 x 10^7 โคโลนี/กรัม ในเดือนที่ 6 เช่นเดียวกันกับแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 จากปริมาณเริ่มต้น 8.7 x 10^8 โคโลนี/กรัม ลดลงเหลือ 1.1 x 10^7 โคโลนี/กรัม ในเดือนที่ 6 ในอุณหภูมิห้อง (28 - 30 องศาเซลเซียส) อีกส่วนหนึ่งเก็บรักษาในตู้เย็น (4 - 6 องศาเซลเซียส) จากปริมาณเริ่มต้น 9.9 x 10^8 โคโลนี/กรัม ลดลงเหลือ 2.1 x 10^7 โคโลนี/กรัม ในเดือนที่ 6 (ตารางที่ 3.12)

ตารางที่ 3.12 ปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 ที่มีชีวิตรอดในผงสำเร็จแบคทีเรียที่เก็บที่อุณหภูมิต่างกันในระยะเวลา 6 เดือน

ไอโซเลต	ระยะเวลา (เดือน)	จำนวนแบคทีเรียเมื่อเก็บในอุณหภูมิห้อง (28-30 องศาเซลเซียส)	จำนวนแบคทีเรียเมื่อเก็บในตู้เย็น (4-6 องศาเซลเซียส)
Ps. kuykendallii ไอโซเลต SR05	0 (เริ่มต้น)	$8.9x10^8$	$8.9x10^8$
	1	$5.3x10^8$	$4.7x10^8$
	2	$2.5x10^8$	$3.2x10^8$
	3	$3.9x10^8$	$1.9x10^8$
	4	$2.8x10^8$	$4.5x10^7$
	5	$2.3x10^7$	$3.4x10^7$
	6	$1.1x10^6$	$2.9x10^7$
การมีชีวิตรอด		12.36 เปอร์เซ็นต์	32.58 เปอร์เซ็นต์
Ps. kuykendallii ไอโซเลต PT01	0 (เริ่มต้น)	$9.9x10^8$	$9.9x10^8$
	1	$7.1x10^8$	$3.6x10^8$
	2	$2.9x10^8$	$2.7x10^8$
	3	$4.5x10^8$	$1.4x10^8$
	4	$1.7x10^8$	$2.5x10^7$
	5	$2.2x10^7$	$2.9x10^7$
	6	$0.8x10^6$	$1.6x10^7$
การมีชีวิตรอด		8.08 เปอร์เซ็นต์	16.16 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 3.12 ปริมาณแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11

ที่มีชีวิตรอดในผงสำเร็จแบคทีเรียที่เก็บที่อุณหภูมิต่างกันในระยะเวลา 6 เดือน (ต่อ)

ไอโซเลต	ระยะเวลา (เดือน)	จำนวนแบคทีเรียเมื่อเก็บในอุณหภูมิห้อง (28-30 องศาเซลเซียส)	จำนวนแบคทีเรียเมื่อเก็บในตู้เย็น (4-6 องศาเซลเซียส)
Ps. kuykendallii ไอโซเลต SR11	0 (เริ่มต้น)	$8.7x10^8$	$8.7x10^8$
	1	$4.3x10^8$	$4.6x10^8$
	2	$2.3x10^8$	$2.8x10^8$
	3	$4.1x10^8$	$2.6x10^8$
	4	$2.4x10^8$	$4.3x10^7$
	5	$2.1x10^7$	$3.4x10^7$
	6	$1.1x10^6$	$2.1x10^7$
การมีชีวิตรอด		12.64 เปอร์เซ็นต์	24.14 เปอร์เซ็นต์

3.7 การทดสอบความสามารถของแบคทีเรียปฏิปักษ์สูตรสำเร็จในการควบคุมโรคราดำในโรงเรือน

3.7.1 อัตราการเกิดโรคราดำ *B. theobromae* บนก้อนเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐาน

ผลการศึกษาพบว่า การใช้สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 ทั้ง 3 ไอโซเลต เพื่อควบคุมเชื้อ *B. theobromae* มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกับชุดควบคุม กล่าวคือ เมื่อครบ 30 วันหลังการฉีดพ่น ไม่พบการเกิดโรคราดำ (อัตราเกิดโรคเท่ากับ 0 เปอร์เซ็นต์) ในขณะที่ชุดการทดลองที่ไม่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ การเกิดโรครุนแรง (ระดับ 5) อัตราการเกิดโรคเท่ากับ 87.25 เปอร์เซ็นต์

3.7.2 การเจริญของเส้นใยเห็ด

ผลการศึกษาระยะเวลาที่เส้นใยเห็ดเจริญเต็มถุงก้อนเชื้อพบว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01, SR11 และ SR05 ทำให้เส้นใยเห็ดเจริญเต็มถุงก้อนเชื้อเร็ว ใช้ระยะเวลาเฉลี่ย 28.75 วัน ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) เส้นใยเห็ดเจริญเต็มถุงก้อนเชื้อใช้ระยะเวลานานเฉลี่ย 32.00 วัน (ตารางที่ 3.13)

ตารางที่ 3.13 การเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐาน เมื่อทดสอบด้วยสูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 เปรียบเทียบกับ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลอง (800 กรัม/ถุง)	เส้นใยเจริญเต็มถุงก้อนเชื้อ (วัน)
1. *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05+ *B. theobromae*	28.75a
2. *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01+ *B. theobromae*	28.75a
3. *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11+ *B. theobromae*	28.75a
4. *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ)	32.00b
5. น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)	28.75a
C.V. %	0.98
Significant Difference	**

หมายเหตุ: ** ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรต่างกัน มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P<0.01)

3.7.3 จำนวนดอกเห็ด

ผลการศึกษาจำนวนดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 1 พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 จำนวนดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 9.25 ดอก/ถุง รองลงมาคือ การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR01, PT05 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) จำนวนดอกเห็ดเฉลี่ย 8.62, 8.00 และ6.37 ดอก/ถุง ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) จำนวนดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 3.75 ดอก/ถุง (ตารางที่ 3.14)

จำนวนดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 2 พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P<0.01) การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 จำนวนดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 8.85 ดอก/ถุง รองลงมาคือ การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01, SR05 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) จำนวนดอกเห็ดเฉลี่ย 6.97, 6.87 และ 6.10 ดอก/ถุง ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) จำนวนดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 3.75 ดอก/ถุง (ตารางที่ 3.14)

จำนวนดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 3 พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P<0.01) การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 จำนวนดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 7.25 ดอก/ถุง รองลงมาคือ การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01, SR05 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) จำนวนดอกเห็ดเฉลี่ย 5.95, 5.10 และ 5.00 ดอก/ถุง ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) จำนวนดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 3.62 ดอก/ถุง (ตารางที่ 3.14)

จำนวนดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 4 พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P<0.01) การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 จำนวนดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 5.82 ดอก/ถุง รองลงมาคือ การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) และแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01 จำนวนดอกเห็ดเฉลี่ย 4.85, 4.45 และ 4.20 ดอก/ถุง ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลองที่ใช้ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) จำนวนดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 3.17 ดอก/ถุง (ตารางที่ 3.14)

เมื่อพิจารณาจำนวนดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานรวมทั้ง 4 รุ่น พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P<0.01) การใช้เชื้อสูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 จำนวนดอกเห็ดรวมมากที่สุดเฉลี่ย 31.17 ดอก/ถุง รองลงมาคือ การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01, SR05 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) จำนวนดอกเห็ดรวมเฉลี่ย 25.74, 24.82 และ 21.92 ดอก/ถุง ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) จำนวนดอกเห็ดรวมน้อยที่สุดเฉลี่ย 14.29 ดอก/ถุง (ตารางที่ 3.14)

ตารางที่ 3.14 จำนวนดอกเห็ดนางฟ้าภูฐาน แต่ละรุ่นเมื่อทดสอบด้วยสูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 เปรียบเทียบกับ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลอง	จำนวนดอกเห็ด (ดอก/ถุง)				รวม
	รุ่นที่ 1	รุ่นที่ 2	รุ่นที่ 3	รุ่นที่ 4	
1. สูตรสำเร็จ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05+ *B. theobromae*	8.00a	6.87b	5.10b	4.85b	24.82ab
2. สูตรสำเร็จ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01+ *B. theobromae*	8.62a	6.97b	5.95b	4.20c	25.74ab
3. สูตรสำเร็จ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11+ *B. theobromae*	9.25a	8.85a	7.25a	5.82a	31.17a
4. *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ)	3.75b	3.75c	3.62c	3.17d	14.29c
5. น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)	6.37a	6.10b	5.00b	4.45bc	21.92bc
C.V.%	17.40	9.09	11.89	8.46	22.81
Significant Difference	*	**	**	**	**

หมายเหตุ: * ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรต่างกัน มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

** ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรต่างกัน มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P<0.01)

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

3.7.3 น้ำหนักดอกเห็ด

ผลการศึกษาน้ำหนักดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 1 พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 น้ำหนักดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 86.02 กรัม/ถุง รองลงมาคือ การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) น้ำหนักดอกเห็ดเฉลี่ย 82.07, 81.10 และ 78.93 กรัม/ถุง ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) น้ำหนักดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 65.91 กรัม/ถุง (ตารางที่ 3.15)

น้ำหนักดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 2 พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 น้ำหนักดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 78.75 กรัม/ถุง รองลงมาคือ สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) น้ำหนักดอกเห็ดเฉลี่ย 76.97, 73.69 และ 73.46 กรัม/ถุง ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) น้ำหนักดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 60.55 กรัม/ถุง (ตารางที่ 3.15)

น้ำหนักดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 3 พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 น้ำหนักดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 72.28 กรัม/ถุง รองลงมาคือ การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) น้ำหนักดอกเห็ดเฉลี่ย 69.16, 63.37 และ 60.02 กรัม/ถุง ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) น้ำหนักดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 44.10 กรัม/ถุง (ตารางที่ 3.15)

น้ำหนักดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 4 พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 น้ำหนักดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 57.15 กรัม/ถุง รองลงมาคือ สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) น้ำหนักดอกเห็ดเฉลี่ย 54.89, 50.81 และ 48.14 กรัม/ถุง ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) น้ำหนักดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 32.43 กรัม/ถุง (ตารางที่ 3.15)

เมื่อพิจารณาน้ำหนักเห็ดนางฟ้าภูฐานรวมทั้ง 4 รุ่น พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) โดยการใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 น้ำหนักดอกเห็ดรวมมากที่สุดเฉลี่ย 294.20 กรัม/ถุง (B.E. = 123.53 เปอร์เซ็นต์) รองลงมาคือ การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) มีน้ำหนักดอกเห็ดรวมเฉลี่ย 283.09, 268.97 และ 260.55 กรัม/ถุง ตามลำดับ (B.E. = 118.93, 113.03 และ 109.46 เปอร์เซ็นต์) ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) น้ำหนักดอกเห็ดรวมน้อยที่สุดเฉลี่ย 202.99 กรัม/ถุง (B.E.= 85.28 เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่ 3.15)

ตารางที่ 3.15 น้ำหนักดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานแต่ละรุ่นเมื่อทดสอบด้วยสูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 เปรียบเทียบกับ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลอง	น้ำหนักดอก (กรัม/ถุง)					ประสิทธิภาพการใช้อาหาร (% B.E.)
	รุ่นที่ 1	รุ่นที่ 2	รุ่นที่ 3	รุ่นที่ 4	รวม	
1. สูตรสำเร็จ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05+ *B. theobromae*	82.07a	76.97a	69.16ab	54.89ab	283.09ab	118.93a
2. สูตรสำเร็จ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01+ *B. theobromae*	81.10a	73.69a	63.37bc	50.81bc	268.97ab	113.03a
3. สูตรสำเร็จ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11+ *B. theobromae*	86.02a	78.75a	72.28a	57.15a	294.20a	123.53a
4. *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ)	65.91b	60.55b	44.10d	32.43d	202.99b	85.28b
5. น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)	78.93a	73.46a	60.02c	48.14c	260.55ab	109.46ab
C.V.%	6.29	8.60	6.79	7.37	20.38	7.29
Significant Difference	*	*	**	**	*	*

หมายเหตุ: * ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรต่างกัน มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

** ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรต่างกัน มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$)

3.7.4 ความยาวของก้านดอกเห็ด

ผลการศึกษาความยาวของก้านดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 1 พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05 ความยาวของก้านดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 7.47 เซนติเมตร/ดอก รองลงมาคือ น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม), สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 และ PT01 ความยาวของก้านดอกเห็ดเฉลี่ย 7.33, 7.31 และ 7.27 เซนติเมตร/ดอก ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) ความยาวของก้านดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 7.25 เซนติเมตร/ดอก (ตารางที่ 3.16)

ความยาวของก้านดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 2 พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05 ความยาวของก้านดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 7.33 เซนติเมตร/ดอก รองลงมาคือ การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01, น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) และ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) ความยาวของก้านดอกเห็ดเฉลี่ย 7.28, 7.25 และ 7.17 เซนติเมตร/ดอก ตามลำดับ ในขณะที่การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 ความยาวของก้านดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 7.02 เซนติเมตร/ดอก (ตารางที่ 3.16)

ความยาวของก้านดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 3 พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05 ความยาวของก้านดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 7.32 เซนติเมตร/ดอก รองลงมาคือ การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01 และ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) ความยาวของก้านดอกเฉลี่ย 7.28 และ 7.23 เซนติเมตร/ดอก ตามลำดับ ในขณะที่การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) ความยาวของก้านดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 7.22 เซนติเมตร/ดอก (ตารางที่ 3.16)

ความยาวของก้านดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 4 พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ การใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) ความยาวของก้านดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 7.25 เซนติเมตร/ดอก รองลงมาคือ การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11, SR05 และ PT01 ความยาวของก้านดอกเห็ดเฉลี่ย 7.18, 7.17 และ 7.09 เซนติเมตร/ดอก ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) ความยาวของก้านดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 7.08 เซนติเมตร/ดอก (ตารางที่ 3.16)

เมื่อพิจารณาความยาวของก้านดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานเฉลี่ยทั้ง 4 รุ่น พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05 ก้านดอกเห็ดยาวมากที่สุดเฉลี่ย 7.32 เซนติเมตร/ดอก รองลงมาคือ การใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) และสูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01 ความยาวก้านดอกเห็ดเฉลี่ย 7.26 และ 7.23 เซนติเมตร/ดอก ตามลำดับ ในขณะที่การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 และ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) ความยาวก้านดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 7.18 เซนติเมตร/ดอก (ตารางที่ 3.16)

ตารางที่ 3.16 ความยาวของก้านดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานแต่ละรุ่นเมื่อทดสอบด้วยสูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 เปรียบเทียบกับ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลอง	ความยาวของก้านดอกเห็ด (เซนติเมตร/ดอก)				
	รุ่นที่ 1	รุ่นที่ 2	รุ่นที่ 3	รุ่นที่ 4	เฉลี่ย
1. สูตรสำเร็จแบคทีเรีย ไอโซเลต SR05+ *B. theobromae*	7.47	7.33	7.32	7.17	7.32
2. สูตรสำเร็จแบคทีเรีย ไอโซเลต PT01+ *B. theobromae*	7.27	7.28	7.28	7.09	7.23
3. สูตรสำเร็จแบคทีเรีย ไอโซเลต SR11+ *B. theobromae*	7.31	7.02	7.22	7.18	7.18
4. *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ)	7.25	7.17	7.23	7.08	7.18
5. น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)	7.33	7.25	7.22	7.25	7.26
C.V. %	2.83	3.83	2.78	2.43	12.15
Significant Difference	ns	ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ: ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

3.7.5 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ด

ผลการศึกษาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 1 พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 7.51 เซนติเมตร/ดอก รองลงมาคือ การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) และ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดเฉลี่ย 7.47, 7.46 และ 7.30 เซนติเมตร/ดอก ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 7.14 เซนติเมตร/ดอก (ตารางที่ 3.17)

ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 2 พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 7.44 เซนติเมตร/ดอก รองลงมาคือ การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, SR11 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดเฉลี่ย 7.38, 7.33 และ 7.24 เซนติเมตร/ดอก ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 7.07 เซนติเมตร/ดอก (ตารางที่ 3.17)

ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 3 พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 7.40 เซนติเมตร/ดอก รองลงมาคือ การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดเฉลี่ย 7.23, 7.02 และ 6.99 เซนติเมตร/ดอก ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 6.98 เซนติเมตร/ดอก (ตารางที่ 3.17)

ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดในรุ่นที่ 4 พบว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 7.27 เซนติเมตร/ดอก รองลงมาคือ การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) และ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดเฉลี่ย 7.25, 7.17 และ 7.09 เซนติเมตร/ดอก ตามลำดับ ในขณะที่การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 7.06 เซนติเมตร/ดอก (ตารางที่ 3.17)

เมื่อพิจารณาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานเฉลี่ยทั้ง 4 รุ่น พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 7.38 เซนติเมตร/ดอก รองลงมาคือ การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดเฉลี่ย 7.33, 7.21 และ 7.21

เซนติเมตร/ดอก ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดเฉลี่ย 7.07 เซนติเมตร/ดอก (ตารางที่ 3.17)

ตารางที่ 3.17 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานแต่ละรุ่น เมื่อทดสอบด้วยสูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 เปรียบเทียบกับ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลอง	เส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ด (เซนติเมตร/ดอก)				
	รุ่นที่ 1	รุ่นที่ 2	รุ่นที่ 3	รุ่นที่ 4	เฉลี่ย
1. สูตรสำเร็จ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05+ *B. theobromae*	7.47	7.38	7.23a	7.25ab	7.33a
2. สูตรสำเร็จ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01+ *B. theobromae*	7.30	7.44	7.02b	7.06c	7.21ab
3. สูตรสำเร็จ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11+ *B. theobromae*	7.51	7.33	7.40a	7.27a	7.38a
4. *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ)	7.14	7.07	6.98b	7.09bc	7.07b
5. น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)	7.46	7.24	6.99b	7.17bc	7.21ab
C.V.%	3.38	4.06	2.68	1.44	1.45
Significant Difference	ns	ns	*	**	*

หมายเหตุ: * ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรต่างกัน มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

** ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรต่างกัน มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$)

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

3.7.6 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ด

ผลการศึกษาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 1 พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 และ PT01 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 0.99 มิลลิเมตร/ดอก รองลงมาคือ การใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) และการใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดเฉลี่ย 0.95 และ 0.92 มิลลิเมตร/ดอก ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 0.88 มิลลิเมตร/ดอก (ตารางที่ 3.18)

ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 2 พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 0.87 มิลลิเมตร/ดอก รองลงมาคือ การใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม), การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05 และ

SR11 เส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดเฉลี่ย 0.86, 0.86 และ 0.83 มิลลิเมตร/ดอก ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) เส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดมีขนาดน้อยที่สุดเฉลี่ย 0.72 มิลลิเมตร/ดอก (ตารางที่ 3.18)

ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 3 พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 0.79 มิลลิเมตร/ดอก ตามลำดับ รองลงมาคือ การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11, น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) และการใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดเฉลี่ย 0.75, 0.72 และ 0.71 มิลลิเมตร/ดอก ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 0.64 มิลลิเมตร/ดอก (ตารางที่ 3.18)

ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานในรุ่นที่ 4 พบว่า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05 มีเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 0.73 มิลลิเมตร/ดอก รองลงมาคือ การใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม), สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01 และ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดเฉลี่ย 072, 0.71 และ 0.68 มิลลิเมตร/ดอก ตามลำดับ ในขณะที่การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 0.64 มิลลิเมตร/ดอก (ตารางที่ 3.18)

เมื่อพิจารณาเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานเฉลี่ยทั้ง 4 รุ่น พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดมากที่สุดเฉลี่ย 0.82 มิลลิเมตร/ดอก รองลงมาคือ การใช้สูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01, SR11 และการใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดเฉลี่ย 0.80 มิลลิเมตร/ดอก ในขณะที่ชุดการทดลอง *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดน้อยที่สุดเฉลี่ย 0.70 มิลลิเมตร/ดอก (ตารางที่ 3.18)

ตารางที่ 3.18 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานแต่ละรุ่น เมื่อทดสอบด้วยสูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 เปรียบเทียบกับ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลอง	เส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ด (มิลลิเมตร/ดอก)				
	รุ่นที่ 1	รุ่นที่ 2	รุ่นที่3	รุ่นที่ 4	เฉลี่ย
1. สูตรสำเร็จ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05+ *B. theobromae*	0.92	0.86	0.79	0.73	0.82
2. สูตรสำเร็จ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01+ *B. theobromae*	0.99	0.87	0.71	0.71	0.80
3. สูตรสำเร็จ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11+ *B. theobromae*	0.99	0.83	0.75	0.64	0.80
4. *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ)	0.88	0.72	0.64	0.72	0.70
5. น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)	0.95	0.86	0.72	0.68	0.80
C.V.%	12.99	24.38	16.06	11.22	15.12
Significant Difference	ns	ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ: ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 3.19 จำนวนดอกรวม น้ำหนักรวม ความยาวของก้านดอก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอก และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดนางฟ้าภูฐาน เมื่อทดสอบด้วยสูตรสำเร็จเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 เปรียบเทียบกับ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลอง	จำนวนดอกรวม (ดอก/ถุง)	น้ำหนักรวม (กรัม/ถุง)	ความยาวก้านดอกเฉลี่ย (เซนติเมตร/ดอก)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดเฉลี่ย (เซนติเมตร/ดอก)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเฉลี่ย (มิลลิเมตร/ดอก)
1. สูตรสำเร็จ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05+ *B. theobromae*	24.82ab	283.09ab	7.32	7.33a	0.82
2. สูตรสำเร็จ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01+ *B. theobromae*	25.74ab	268.97ab	7.23	7.21ab	0.80
3. สูตรสำเร็จ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11+ *B. theobromae*	31.17a	294.20a	7.18	7.38a	0.80
4. *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ)	14.29c	202.99b	7.18	7.07b	0.70
5. น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)	21.92bc	260.55ab	7.26	7.21ab	0.80
C.V. %	22.81	20.38	12.15	1.45	15.12
Significant Difference	**	*	ns	*	ns

หมายเหตุ: * ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรต่างกัน มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)
** ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรต่างกัน มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$)
ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ผลการศึกษาพบว่า เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* สามารถเจริญร่วมกับเส้นใยเห็ดได้เป็นอย่างดี และสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดให้สามารถเจริญเต็มถุงก้อนเชื้อได้โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากชุดควบคุม แม้ว่าก้อนเชื้อเห็ดถูกเชื้อราดำ *B. theobromae* เข้าทำลาย ทั้งในสภาพการฉีดพ่นด้วยน้ำละลายเชื้อ และการใช้สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ เส้นใยเห็ดเจริญเต็มก้อนเชื้อใช้ระยะเวลาเฉลี่ย 28.10 - 28.48 วัน สำหรับการฉีดพ่นด้วยน้ำละลายเชื้อ และ 28.75 วัน สำหรับการใช้สูตรสำเร็จปฏิปักษ์ ในขณะที่ชุดตรวจสอบ *B. theobromae* เส้นใยเห็ดเจริญเต็มถุงก้อนเชื้อใช้ระยะเวลา 31.50 และ 32.00 วัน ตามลำดับ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า แม้เชื้อราดำจะเข้าทำลายก้อนเชื้อเห็ดนางฟ้า แต่เส้นใยเห็ดนางฟ้าก็จะยังคงสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ แต่จะใช้เวลานานกว่าประมาณ 3 วัน อย่างไรก็ตามผลกระทบโดยตรงที่ส่งผลต่อเกษตรกรผู้เห็ดที่ประสบปัญหาโรคราดำ คือ ไม่สามารถจำหน่ายก้อนเชื้อได้

และเมื่อนำก้อนเชื้อเห็ดไปเปิดดอกในสภาพโรงเรือนพบว่า จำนวนดอกเห็ดที่มีการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมโรคราดำ จำนวนดอกเห็ดที่ได้ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และมีแนวโน้มดีกว่าเล็กน้อย ในขณะที่ก้อนเชื้อเห็ดในชุดการทดลองที่ใช้เชื้อ *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ) พบว่า จำนวนดอกเห็ดน้อยที่สุด จำนวนดอกเห็ดลดลงประมาณ 40-50 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้ผลการศึกษาเป็นไปในทิศทางเดียวกัน เมื่อใช้น้ำละลายเชื้อและสูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ และเมื่อพิจารณาน้ำหนักผลผลิตเห็ดที่ได้ พบว่าเป็นไปในทิศทางเดียวกับจำนวนดอกเห็ด กล่าวคือ ชุดทดลองที่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไอโซเลต สามารถควบคุมโรคราดำ และส่งเสริมการออกดอกของเห็ดได้ โดยน้ำหนักดอกเห็ดที่ได้มีแนวโน้มสูงกว่าชุดควบคุม ในขณะที่ชุดทดลองที่ใช้เชื้อ *B. theobromae* น้ำหนักผลผลิตน้อยที่สุด เฉลี่ย 128.21 กรัม/ถุง (B.E.= 39.45 เปอร์เซ็นต์) เมื่อใช้น้ำละลายเชื้อ และ 202.99 กรัม/ถุง (B.E.= 85.28 เปอร์เซ็นต์) เมื่อใช้สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ ในขณะที่การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์น้ำหนักดอกเห็ดรวมเฉลี่ย 248.64 - 252.71 กรัม/ถุง (B.E. = 80.21 - 84.27 เปอร์เซ็นต์) เมื่อใช้น้ำละลายเชื้อ และ 268.97 - 294.20 กรัม/ถุง (B.E. = 113.03 - 123.53 เปอร์เซ็นต์) เมื่อใช้สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ และผลการศึกษาพบว่าการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* มีผลต่อการส่งเสริมการเจริญของเส้นใยเห็ด และการออกดอกของเห็ดนางฟ้าทั้งในห้องปฏิบัติการและในสภาพโรงเรือน สอดคล้องกับการศึกษาของ Rainey (1991); Cho, Kim, Crewley, and Cho (2003); Kim, Pitts, Stewart, Camper, and Yoon (2008); Colauto, Fermor, Eira, and Linde (2016) รายงานว่าแบคทีเรียบางชนิดสามารถกระตุ้นการเจริญของเส้นใยและการออกดอกของเห็ดได้ โดยเฉพาะเชื้อ *Pseudomonas* spp. และ *Pseudomonas putida* ซึ่งมีรายงานว่าสามารถกระตุ้นการเจริญของเส้นใยเห็ดการออกดอกของเห็ด *A. bitorquis* (Colauto, Fermor, Eira, and Linde, 2016) และ *A. bisporus* (Rainey and Cole, 1987; Egar, 1972; Rainey, Cole, Fermor, and Wood, 1990; Reddy and Patrick, 1990; Zarenjad, Yakhchail, and Rasooli, 2012) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ Kim, Pitts, Stewart, Camper, and Yoon (2008) รายงานว่า *Pseudomanas* sp. P7014 ที่แยกจากวัสดุคลุมผิวหน้าเห็ด *Pleurotus* มาใช้ทดสอบการเจริญของเส้นใยเห็ด *Pleurotus eryngii* ในอาหารเหลว พบว่า เชื้อแบคทีเรียสามารถกระตุ้นให้เห็ดออกดอกเร็วและมีน้ำหนักผลผลิตเพิ่มขึ้น โดยที่เส้นใยเจริญเร็วขึ้น 5 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ใช้เชื้อ

แบคทีเรีย ในขณะที่ Colauto, Fermor, Eira, and Linde (2016) ทดสอบใช้เชื้อ *P. putida* ที่แยกได้จากวัสดุคลุมผิวหน้าเห็ด *A. bisporus* มาใช้เพื่อกระตุ้นการออกดอกของเห็ด *A. bitorquis* พบว่าทำให้เห็ดมีผลผลิตเพิ่มขึ้น 12 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ Cho, Kim, Crewley, and Cho (2003) รายงานว่า แบคทีเรียกลุ่ม *fluorescent pseudomonads* สามารถกระตุ้นการเจริญของเห็ด *Pleurotus ostreatus* ได้เมื่อทดสอบโดยการใส่เชื้อ *Pseudomonas* ในอาหารที่มีสารอาหารต่ำแล้วใช้เลี้ยงเชื้อเห็ด พบว่า เส้นใยเห็ดเจริญได้ดีขึ้น เห็ดมีเส้นใยหนา และสามารถพัฒนาเป็นตุ่มดอกได้อีกด้วย ในขณะที่ Colauto, Fermor, Eira, and Linde (2016) กล่าวว่า ในการเจริญของเส้นใยเห็ดหากมีจุลินทรีย์ในปริมาณเล็กน้อยจะเป็นผลดีต่อการสร้างดอกเห็ด อย่างไรก็ตาม Young, Chu, Hameed, and Young (2013) รายงานว่า ผลผลิตเห็ดกระดุมรุ่นที่ 1 ในชุดทดลองที่ใช้แบคทีเรียผสมดินเพื่อคลุมวัสดุเพาะ มีผลทำให้ปริมาณผลผลิตเพิ่มขึ้นจาก 170 เป็น 215 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ใช้เชื้อแบคทีเรียกระตุ้น อย่างไรก็ตามยังไม่สามารถอธิบายได้อย่างชัดเจนถึงกลไกหรือสารประกอบที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ด ทั้งนี้อาจเกิดจากสารประกอบที่จุลินทรีย์ผลิตออกมาเนื่องจากอยู่ในภาวะเครียดหรือสภาวะที่กดดัน (Colauto, Fermor, Eira, and Linde, 2016)

สำหรับเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ที่แยกได้ในครั้งนี้ พบว่า ยังไม่มีรายงานว่ามีคุณสมบัติเป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์ ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่า เป็นรายงานการศึกษาครั้งแรก Hunter and Manter (2012) รายงานว่า เชื้อ *Ps. kuykendallii* เป็นแบคทีเรียที่แยกได้จากถังหมักมีคุณสมบัติในการย่อยสลายสาร hexazinone ที่อยู่ในสารกำจัดวัชพืช แบคทีเรียจีนัสนี้จัดอยู่ในกลุ่ม γ-Proteobacteria ออร์เดอร์ Pseudomonadales แฟมิลี่ Pseudomonadaceae, เป็น Gram-negative, heterotrophic, ไม่มีสปอร์, ลักษณะ rod-shape เป็น aerobic bacteria โดยที่ Spires, Buckling, and Rainey (2000) พบว่า แบคทีเรียในกลุ่มนี้บางจีนัสมีโอกาสนำมาส่งเสริมและพัฒนาได้ เนื่องจากแบคทีเรียจีนัสนี้มีคุณสมบัติในการใช้ประโยชน์ด้านการบำบัดทางชีวภาพ (bioremediation) ของน้ำที่ปนเปื้อนในใต้ดิน และพบว่าสามารถย่อยสลายสารพิษในสารกำจัดวัชพืชได้ เช่น hexazinone (Jensen and Kimball, 1987; Zhu and Li, 2002; William and Manter, 2012)

บทที่ 4
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

1. ผลการเก็บตัวอย่างก้อนเชื้อเห็ดที่เกิดโรคราดำ *Botryodiplodia* spp. ในพื้นที่ 5 จังหวัดภาคใต้ ได้แก่ จังหวัดนครศรีธรรมราช จำนวน 14 ฟาร์ม จังหวัดสงขลา จำนวน 12 ฟาร์ม จังหวัดพัทลุง และสุราษฎร์ธานี จังหวัดละ 10 ฟาร์ม และจังหวัดตรัง จำนวน 9 ฟาร์ม รวมทั้งสิ้น 55 ฟาร์ม ได้ก้อนเชื้อเห็ดจำนวน 126 ก้อน แบ่งเป็นก้อนเชื้อเห็ดนางฟ้า 63 ก้อน (50.00 เปอร์เซ็นต์) เห็ดนางรม 39 ก้อน (30.95 เปอร์เซ็นต์) เห็ดหูหนู 16 ก้อน (12.70 เปอร์เซ็นต์) และเห็ดหลินจือ 8 ก้อน (6.35 เปอร์เซ็นต์) เมื่อนำเชื้อราดำที่ได้ ไปจำแนกสายพันธุ์โดยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ ITS DNA พบว่าเป็น *Botryodiplodia theobromae (Lasiodiplodia theobromae*; teleomorph)

2. พบแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อการเจริญขอเชื้อ *B. theobromae* จำนวน 14 ไอโซเลต (22.95 เปอร์เซ็นต์) จากแบคทีเรียทั้งหมด 61 ไอโซเลต โดยสามารถคัดเลือกเชื้อแบคทีเรีย 3 ไอโซเลต ที่มีระดับเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงสุด และสามารถเจริญร่วมกับเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐานได้ คือ SR05, PT01 และ SR11 และเมื่อจำแนกสายพันธุ์โดยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ 16S rDNA พบว่าทั้งสามไอโซเลตเป็นเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas kuykendallii*

3. การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 เพื่อควบคุมเชื้อรา *B. theobromae* พบว่า เมื่อครบ 30 วันหลังฉีดพ่น อัตราเกิดโรคเท่ากับ 0 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ชุดการทดลองการใช้เชื้อราดำอย่างเดียว (ชุดตรวจสอบ) มีอัตราการเกิดโรค 5 ระดับ คือ ระดับที่ 1 (5 เปอร์เซ็นต์) อัตราการเกิดโรค 2.5 เปอร์เซ็นต์ ระดับที่ 2 (25 เปอร์เซ็นต์) อัตราการเกิดโรค 7.5 เปอร์เซ็นต์ ระดับที่ 3 (50 เปอร์เซ็นต์) อัตราการเกิดโรค 17.5 เปอร์เซ็นต์ ระดับที่ 4 (75 เปอร์เซ็นต์) อัตราการเกิดโรค 30 เปอร์เซ็นต์ และระดับที่ 5 (100 เปอร์เซ็นต์) อัตราการเกิดโรค 42.5 เปอร์เซ็นต์

4. สูตรผงสำเร็จที่ประกอบด้วย talcum, calcium carbonate, CMC และน้ำสกัดมันฝรั่ง 20 เปอร์เซ็นต์ในอาหาร PDA เหมาะสำหรับเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* มากที่สุด

5. การใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ทั้ง 3 ไอโซเลต SR05, PT01 และ SR11 ในรูปแบบน้ำละลายเชื้อ สามารถควบคุมการเกิดโรคราดำและช่วยส่งเสริมการเจริญของเส้นใยเห็ด ก้อนเชื้อเห็ดเกิดโรค 0 - 7.5 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การไม่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ก้อนเห็ดเกิดโรคราดำ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการใช้สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ฉีดพ่น พบว่าก้อนเชื้อเกิดโรค 0 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการไม่ใช้สูตรสำเร็จแบคทีเรียปฏิปักษ์ฉีดพ่น พบก้อนเชื้อเกิดโรค 100 เปอร์เซ็นต์

6. จำนวนดอกของเห็ดนางฟ้าภูฐานเมื่อฉีดพ่นด้วยน้ำละลายเชื้อ และสูตรสำเร็จเชื้อปฏิปักษ์ พบว่า เป็นไปในทิศทางเดียวกัน และไม่แตกต่างจากชุดควบคุม จำนวนดอกรวม เท่ากับ 22.75 - 23.88 ดอก/ถุง และ 24.82 - 31.17 ดอก/ถุง มากกว่าการไม่ใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ฉีดพ่น จำนวนดอกรวม เท่ากับ 10.44 ดอก/ถุง และ 14.29 ดอก/ถุง ตามลำดับ

7. น้ำหนักผลผลิตเห็ดที่ได้จากการใช้น้ำละลายเชื้อและสูตรสำเร็จปฏิปักษ์ฉีดพ่น พบว่า มีความสอดคล้องกับจำนวนดอก กล่าวคือ น้ำหนักผลผลิตรวมไม่แตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม น้ำหนักผลผลิตรวมเท่ากับ 248.64 - 252.81 กรัม/ถุง (B.E. = 80.21 - 84.27 เปอร์เซ็นต์) และ 268.97 - 294.20 กรัม/ถุง (B.E. = 113.03 - 123.53 เปอร์เซ็นต์) มากกว่าการไม่ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ฉีดพ่น น้ำหนักเห็ดรวม เท่ากับ 128.21 กรัม/ถุง (B.E. = 39.45 เปอร์เซ็นต์) และ 202.99 กรัม/ถุง (B.E. = 85.28 เปอร์เซ็นต์)

ข้อเสนอแนะ

แบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ได้จากการศึกษา คือ *Ps. kuykendallii* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ยังไม่มีการศึกษามากนัก จึงควรมีการศึกษาต่อยอดในการนำเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ไปใช้ในด้านต่างๆ เพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด

เอกสารอ้างอิง

กัลทิมา พิชัย. 2555. การพัฒนาการเพาะเลี้ยงเซลล์ความหนาแน่นสูงของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* เพื่อควบคุมเชื้อรา *Alternaria solani* สาเหตุโรคใบไหม้ในมะเขือเทศ. รายงานการวิจัยประจำปี 2555. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่.

กรมวิชาการเกษตร. 2558. **โรคพืชหลังการเก็บเกี่ยว.** แหล่งที่มา: http://www.doa.go.th/ pprdo /download/text2.pdf, 8 กุมภาพันธ์ 2558.

ประคอง เย็นจิตต์. 2547. การคัดเลือกและการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ในระยะก่อนและหลังเก็บเกี่ยว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พรพิมล อธิปัญญาคม, สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ และ ชนินทร ดวงสะอาด. 2556. การจำแนกชนิดของราสกุล *Botryosphaeria* สาเหตุโรคพืช โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางพันธุกรรม. รายงานผลงานวิจัย, สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

พรศิลป์ สีเผือก. 2556. **เอกสารประกอบการสอนวิชาการเพาะเห็**ด. สาขาวิชาพืชศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ทุ่งใหญ่.

พรศิลป์ สีเผือก และ วุฒิชัย สีเผือก. 2550. การคัดเลือกแบคทีเรียปฏิปักษ์เพาะใช้ควบคุมโรคราเขียวของเห็ดหูหนู (*Auricularia polytricha* (Mont.) Sacc.) และเห็ดเป๋าฮื้อ (*Pleurotus cystidiosus* O.K. Miller) โดยชีววิธี. รายงานการวิจัย, คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตนครศรีธรรมราช ทุ่งใหญ่.

พิชยา แก้วมโน และ ปุณพิชย์ ผดุงมาศ. 2556. การใช้กากสลัดจ์ปาล์มน้ำมันเป็นอาหารเสริมสำหรับเพาะเห็ดนางฟ้าภูฐาน. ปัญหาพิเศษระดับปริญญาตรี. สาขาพืชศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตนครศรีธรรมราช ทุ่งใหญ่.

วราภรณ์ ภู่ภักดีพันธ์ และ สุดฤดี ประเทืองวงศ์. 2552. เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์สายพันธุ์ใหม่กระตุ้นให้ข้าวพันธุ์ต้านทานผลิตเอนไซม์ปกป้องการติดเชื้อจาก *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ได้เพิ่มขึ้นมากกว่าข้าวพันธุ์อ่อนแอ. ใน **รายงานการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์**, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมพล ธุวโชติ. 2526. การทดสอบการเป็นโรคของเชื้อสาเหตุโรคผลเน่าของเงาะ 4 ชนิด. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สมศิริ แสงโชติ และ อังสุมา ชยสมบัติ. 2526. โรคของไม้ผล, น 408-415. ใน **รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 21,** สาขาพืชศาสตร์ ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วนิดา รอดเนียม. 2552. การคัดเลือกและการเตรียมสูตรสำเร็จ *Bacillus subtilis* เพื่อควบคุม

โรคใบจุดที่เกิดจาก *Alternaria longipes* ในผักสลัดที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการทรัพยากรดิน มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

Amusa, N., Ashaye, O., Oladapo, M. and Kafaru, O. 2003. Pre-harvest deterioration Of soursop (*Annona muricata*) at Ibadan Southewstern Nigeria and its effect on nutrient composition. **African Journal of Biotechnology** 2: 125-131.

Bayer, D.M., Wuest, P.J. and Kremser, J.J. 2000. Evaluation of epidemiological factors and mushroom substrate characteristics influencing the occurrence and development of *Trichoderma* green mold. pp. 633–640. *In* Van Griensven, ed. **Science and Cultivation of Edible Fungi.** Balkema, Rotterdam.

Bhatt, N. and Singh, R.P. 2002. **Chemical and biological management of major fungal pathogens of *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach.** Available Source: http//www.agro.nl/pc/isms/abstracts/sees61-121.htm, 8 February 2015.

Britton, K.O., Hendrik, F.F., Pusey, P.L., Reilly, W.R. and Daniell, J.W. 1990. Evaluating the reaction of peach cultivars to infection by three *Botrysphaeria* species. **HortScience** 25: 468-470.

Brown, E.A. and Britton, K.O. 1986. *Botryosphaeria* diseases of apple and peach in the Southeastern United State. **Plant Disease** 70: 480-484.

Burgess, T.I., Barber, P.A., Mohali, S., Pegg, G., de Beer, W. and Wingfield, M.J. 2006. Three new *Lasiodiplodia* spp. from the tropics, recognized based on DNA sequence comparisons and morphology. **Mycologia** 98: 423-435.

Chen, X., Romaine, C.P., Tan, Q., Schlagnhaufer, B., Ospina-Giraldo, M.D. Royse, D.J. and Huff, D. R. 1999. A polymerase chain reaction based test for the identification of *Trichoderma harzianum* biotype 2 and 4 responsible for the worldwide green mold epidermic cultivated *Agaricus bisporus*. **Applied Microbiology and Biotechnology** 52: 246-250.

Cho, Y.S., Kim, J.S., Crowley, D.E. and Cho, B.G. 2003. Growth promotion of the edible fungus *Pleurotus ostreatus* by *fluorescent pseudomonads*. **FEMS Microbiology Letters** 218: 271-276.

Colauto, N.B., Fermor, T.R., Eira, A.F. and Linde, G.A. 2016. *Pseudomonas putida* stimulates primordia on *Agaricus bitorquis*. **Current Microbiology** 72: 482-488.

Eger, G. 1972. Experiments and comments on the action of bacteria on sporophore initiation in *A. bisporus*. **Mushroom Science** 8: 719-725.

Fadahunsi, I., Ayansina, D. and Okunrotifa, A. 2013. Biocontrol of mushroom

spoilage fungi and alfatoxin evaluation during storage. **Journal of Nature and Science** 11: 7-13.

Farrow, W.M. 1954. Tropical soil fungi. **Mycologia** 46: 632-646.

Gupta, V.P., Tewari, S.K., Govindaiah, P. and Bajpai, A.K. 1999. Ultrastructure of mycoparasitism of *Trichoderma Gliocladium* and *Laetisaria* species on *Botryodiplodia theobromae*. **Journal of Phytopathology** 147: 19-24.

Haggag, W.M. and Nofal, M.A. 2006. Improving the biological control of *Botryodiplodia* disease on some *Annona cultivars* using single or multi-bioagents in Egypt. **Biological Control of Plant Pathogens** 38: 341-349.

Hashem, M. and Alamri, S. 2009. The biocontrol of postharvest disease (*Botryodiplodia theobromae*) of guava (*Psidium guajava* L.) by the application of yeast strains. **Postharvest Biology and Technology** 53: 123-130.

Haskin, R.H. and Ekundayo, J.A. 1969. Pycnidia production by *Botryodiplodia theobromae*, the relation of light to the introduction of pycnidia. **Canadian Journal of Botany** 47: 1153-1156.

International Mycological Association (IMA). 2015. Available Source: http://www.mycobank.org/Biolomics.aspx?Table=Mycobank&MycoBankNr_=157658, 12 February 2015.

Jensen, K.I.N and Kimball, E.R. 1987. Persistence and degradation of the herbicide hexazinone in soils of lowbush blueberry fields in Nova Scotia, Canada. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology** 38: 232-239.

Kim J., Pitts B., Stewart P.S., Camper, A. and Yoon, J. 2008. Comparison of the antimicrobial effect of chlorine, silver ion, and tobramycin on biofilm. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy** 52: 1446-1456.

Lutchmeah, R.S. 1988. *Botryodiplodia theobromae* causing fruit rot of *Annona squamosa* in Mauritius. **The Plant Pathology Journal** 37: 152-152.

Mohali, S., Burgess, T.I. and Wingfield, M.J. 2005. Diversity and host association of the tropical tree Endophyte *Lasiodiplodia theobromae* revealed using SSR markers. **Path of Science** 35: 385-396.

Okhuoya, J.A. and Okogbo, F.O. 1991. Cultivation of *Pleurotus tuber-regium* (Fr.) Sing on Various FarmWastes. Proc. Okla. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 71: 1-3.

Parker, K.C. and Sutton, T.B. 1993. Susceptibility of apple fruit to *Botryosphaeria dothidea* and isolate variation. **Plant Disease** 77: 385-389.

Ploetz, R.C. 2003. Disease of atemoya, cherimoya, soursop, sugar apple and

related fruit crops. pp. 21-34. *In* R.C. Ploetz, ed. **Disease of Tropical Fruit Crops.** CAP International.

Ploetz, R. and Ploetz, R. 2003. **Disease of Atemoya, Cherimoya, Soursop, Sugar Apple and Related Fruit Crops.** Disease of Tropical Friut Crops CABI, Wallingford, UK.

Punithalingam, E. 1976. ***Botryodiplodia theobromae*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria No. 519**. Kew, Surrey, England: Common wealth Mycological Institute.

Punithalingam, E. 1980. **Plant Disease Attributed to *Botryodiplodia theobromae* Pat.** Vadus, Germamy.

Pusey, P.L. 1993. Role of *Botryosphaeria* species in peach tree gummosis on the basis of differential isolation from outer and inner bark. **Plant Disease Journal** 77: 170-174.

Rainey, P.B. and Cole, A.L.J. 1987. Evidence for the involvement of plasmids in sporophore initiation and development in *Agaricus bisporus*. *In* P.J. Wuest, D.J. Royse and R.B. Beelman, eds. Developments in Crop Science Vol. 10, pp. 235-248. **Proceedings of the International Symposium on Scientific and Technical Aspects of Cultivating Edible Fungi.** Elsevier, Amsterdam, The Netherlands.

Rainey, P.B., Cole, A.L.J., Fermor, T.R. and Wood, D.A. 1990. A model system for examining involvement of bacteria in basidiome initiation of *Agaricus bisporus*. **Mycological Research** 94: 191-195.

Rainey, P.B. 1991. Effect of *Pseudomonas putida* on hyphal growth of *Agaricus bisporus*. **Mycological Research** 95: 699-704.

Reddy, M.S. and Patrick, Z.A. 1990. Effect of bacteria associated with mushroom compost and casing materials on basidiomata formation in *Agaricus bisporus*. **Canadian Journal of Plant Pathology** 12: 236-242.

Robert, K. 2007. **Control of Post -Harvest Disease (Stem End Rot) of Rambutan and *Annona* Species by Using a Bio-Control Agent (*Trichoderma* spp.)** International Centre for Underutilised Crops. Sri Lanka.

Singh, R.S. 2001. **Diseases of Fruit Crops.** 1st Edition. New Delhi. Science Publishers, Inc. p. 308.

Smith, H., Wingfield, M.J., Crous, P.W. and Cautinho, T.A. 1996. *Sphaeropsis sapinea* and *Botryosphaeria dothidea* endophytic in *Pinus* spp. and *Eucalyptus* spp. in South Africa. **South African Journal of Botany** 62: 86-88.

Spiers, A.J., Buckling, A. and Rainey, P.B. 2000. The causes of *Pseudomonas*

diversity. **Microbiology** 146: 2345-2350.

Staunton, L. 1987. *Trichoderma* green mold in mushroom compost. **Journal of Mushroom** 179: 362-363.

Tronsma, A. 1992. Leaf and blossom epiphytes and endophytes as biological agents of plant diseases. *In* Tjamos, E.C., Papavizas G.C. and Cook, R.J., eds. **Biological control of plant disease; progress and challenges for the future.** NATO ASI series. A life sciences vol 230, plenum Press, New York. 43-54.

Udebo, A.E. 1974**.** Efficiency of high temperature on growth, sporulation and pigment production of *Botryodiplodia theobromae.* **Canadian Journal of Botany** 52: 2631-2634.

Weaver, D.J. 1974. A gummosis disease of peach trees caused by *Botryosphaeria dothidea.* **Phytopathology** 64: 1429-1432.

William} J. and Manter, K.D. 2012. *Pseudomonas kuykendallii* sp. nov.: A novel γ-proteobacteria isolated from a hexazinone degrading bioreactor. **Current Microbiology** 65: 170-175.

Young, L.S., Chu, J.N., Hameed, A. and Young, C.C. 2013. Cultivable mushroom growth-promoting bacteria and their impact on *Agaricus blazei* productivity. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 48: 636-644.

Zarenejad, F., Yakhchail, B. and Rasooli, I. 2012. Evaluation of indigenous potent mushroom growth promoting bacteria (MGPB) on *Agaricus bisporus* production. **Journal of Microbiology and Biotechnology** 28: 99-104.

Zhu, Y. and Li, Q.X. 2002. Movement of bromacil and hexazinone in soils of Hawaiian pineapple fields. **Chemosphere** 49: 669-6743.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

1. Potato Dextrose Agar (PDA)

Potato	200.0	กรัม
Dextrose	20 .0	กรัม
Agar	15 .0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

แบ่งน้ำเป็น 2 ส่วนๆ ละ 500 มิลลิลิตร ส่วนแรกเติมวุ้นลงไปหลอมให้ละลาย อีกส่วนหนึ่งนำไปต้มกับมันฝรั่งที่หั่นเป็นสี่เหลี่ยมรูปเต๋า จนกระทั่งเดือด กรองเอาเฉพาะน้ำมาผสมกับน้ำอีกส่วนหนึ่งตั้งไฟจนวุ้นผงละลาย เติมน้ำตาล dextrose เติมน้ำให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร แบ่งใส่ขวดหรือหลอดนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15-20 นาที

2. Czapek's Agar

$NaNO_3$	3.0	กรัม
K_2HPO_4	1.0	กรัม
$MgSO_4 .7H_2O$	0.05	กรัม
KCl	0.50	กรัม
$FeSO_4. 7H_2O$	0.01	กรัม
Sucrose	30.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

แบ่งน้ำเป็น 2 ส่วนๆ ละ 500 มิลลิลิตร ส่วนแรกเติมวุ้นผงนำไปหลอมให้ละลายอีกส่วนหนึ่งต้มให้อุ่นจากนั้นเติมสารเคมีครั้งละ 1 ชนิด กวนให้ละลายแล้ว นำ 2 ส่วนมาผสมกันตั้งไฟให้เดือดอีกครั้ง เติมน้ำให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร แบ่งใส่ขวดหรือหลอดและนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลานาน 15-20 นาที

3. Nutrient Agar (NA)

Beef extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

แบ่งน้ำเป็น 2 ส่วนๆ ละ 500 มิลลิลิตร ส่วนแรกเติมวุ้นผงนำไปหลอมให้ละลายอีกส่วนหนึ่งต้มให้อุ่นจากนั้นเติมสารเคมีครั้งละ 1 ชนิด กวนให้ละลายแล้ว นำ 2 ส่วนมาผสมกันตั้งไฟให้เดือดอีก

ครั้ง เติมน้ำให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร แบ่งใส่ขวดหรือหลอดและนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เวลานาน 15-20 นาที

ภาคผนวก ข

ตารางผนวกที่ 1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดรุ่นที่ 1

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	942.729	235.682	9.55
Error	15	370.285	124.686	
Total	19	1313.015		

C.V. = 6.299 %

ตารางผนวกที่ 2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดรุ่นที่ 2

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	254.367	63.592	2.20
Error	15	419.223	27.948	
Total	19	673.589		

C.V. = 7.247 %

ตารางผนวกที่ 3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดรุ่นที่ 3

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	378.607	94.625	1.53
Error	15	929.155	61.944	
Total	19	1307.762		

C.V. = 14.594 %

ตารางผนวกที่ 4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดรุ่นที่ 4

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	573.232	143.308	11.63
Error	15	184.810	12.321	
Total	19	758.042		

C.V. = 10.066 %

ตารางผนวกที่ 5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดรวมทั้ง 4 รุ่น

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	352.411	88.103	0.22
Error	15	6015.948	401.063	
Total	19	6368.360		

C.V. = 33.283 %

ตารางผนวกที่ 6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนดอกเห็ดรุ่นที่ 1

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	39.383	9.846	9.20
Error	15	16.055	1.070	
Total	19	55.348		

C.V. = 13.775 %

ตารางผนวกที่ 7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนดอกเห็ดรุ่นที่ 2

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	9.718	2.479	1.90
Error	15	19.147	1.276	
Total	19	28.265		

C.V. = 20.412 %

ตารางผนวกที่ 8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนดอกเห็ดรุ่นที่ 3

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	1.538	0.384	4.22
Error	15	1.367	0.091	
Total	19	2.905		

C.V. = 6.997 %

ตารางผนวกที่ 9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนดอกเห็ดรุ่นที่ 4

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	3.058	0.764	5.66
Error	15	2.027	0.135	
Total	19	5.085		

C.V. = 9.011 %

ตารางผนวกที่ 10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนดอกเห็ดรวมทั้ง 4 รุ่น

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	8.889	2.222	0.001
Error	15	41.374	2.758	
Total	19	50.626		

C.V. = 30.971 %

ตารางผนวกที่ 11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวก้านดอกเห็ดรุ่นที่ 1

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	0.460	0.115	1.34
Error	15	1.287	0.086	
Total	19	1.748		

C.V. = 3.964 %

ตารางผนวกที่ 12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวก้านดอกเห็ดรุ่นที่ 2

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	0.203	0.051	0.28
Error	15	3.417	0.180	
Total	19	3.620		

C.V. = 5.711 %

ตารางผนวกที่ 13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวก้านดอกเห็ดรุ่นที่ 3

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	0.513	0.128	1.97
Error	15	1.239	0.065	
Total	19	1.753		

C.V. = 3.437 %

ตารางผนวกที่ 14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวก้านดอกเห็ดรุ่นที่ 4

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	0.105	0.026	0.119
Error	15	2.703	0.142	
Total	19	2.809		

C.V. = 5.266 %

ตารางผนวกที่ 15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวก้านดอกเห็ดรวมทั้ง 4 รุ่น

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	0.121	0.030	0.83
Error	15	0.544	0.036	
Total	19	0.664		

C.V. =2.595 %

ตารางผนวกที่ 16 การวิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดรุ่นที่ 1

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	0.013	0.003	0.59
Error	15	0.075	0.005	
Total	19	0.087		

C.V. = 7.640 %

ตารางผนวกที่ 17 การวิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดรุ่นที่ 2

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	0.023	0.006	0.77
Error	15	0.111	0.007	
Total	19	0.134		

C.V. = 10.137 %

ตารางผนวกที่ 18 การวิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดรุ่นที่ 3

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	0.074	0.018	3.82
Error	15	0.073	0.005	
Total	19	0.147		

C.V. = 9.326 %

ตารางผนวกที่ 19 การวิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดรุ่นที่ 4

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	0.019	0.005	1.46
Error	15	0.049	0.003	
Total	19	0.069		

C.V. = 7.873 %

ตารางผนวกที่ 20 การวิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดรวมทั้ง 4 รุ่น

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	0.016	0.004	0.43
Error	15	0.142	0.009	
Total	19	0.159		

C.V. =12.012 %

ตารางผนวกที่ 21 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนดอกเห็ดรุ่นที่ 1

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	74.425	18.606	11.22
Error	15	24.875	1.658	
Total	19	99.300		

C.V. = 17.402 %

ตารางผนวกที่ 22 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนดอกเห็ดรุ่นที่ 2

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	54.443	13.611	38.85
Error	15	5.255	0.350	
Total	19	59.698		

C.V. = 9.902 %

ตารางผนวกที่ 23 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนดอกเห็ดรุ่นที่ 3

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	28.498	7.124	17.38
Error	15	6.147	0.410	
Total	19	34.645		

C.V. = 11.888 %

ตารางผนวกที่ 24 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนดอกเห็ดรุ่นที่ 4

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	14.965	3.726	25.70
Error	15	2.175	0.145	
Total	19	17.080		

C.V. = 8.462 %

ตารางผนวกที่ 25 การวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนดอกเห็ดรวมทั้ง 4 รุ่น

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	38.218	9.554	5.28
Error	15	27.135	1.809	
Total	19	65.353		

C.V. = 22.808 %

ตารางผนวกที่ 26 การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดรุ่นที่ 1

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	942.729	235.682	9.55
Error	15	370.285	124.686	
Total	19	1313.015		

C.V. = 6.299 %

ตารางผนวกที่ 27 การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดรุ่นที่ 2

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	805.985	201.496	5.08
Error	15	594.694	39.464	
Total	19	1400.679		

C.V. = 8.600 %

ตารางผนวกที่ 28 การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดรุ่นที่ 3

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	1932.267	483.067	27.49
Error	15	264.224	17.615	
Total	19	2196.491		

C.V. = 6.793 %

ตารางผนวกที่ 29 การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดรุ่นที่ 4

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	1537.208	384.302	30.35
Error	15	189.921	12.661	
Total	19	1727.129		

C.V. = 7.368 %

ตารางผนวกที่ 30 การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักดอกเห็ดรวมทั้ง 4 รุ่น

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	1253.621	313.405	1.76
Error	15	2672.946	178.196	
Total	19	3926.566		

C.V. = 20.383 %

ตารางผนวกที่ 31 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวก้านดอกเห็ดรุ่นที่ 1

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	0.120	0.030	0.607
Error	15	0.647	0.431	
Total	19	0.768		

C.V. = 2.835 %

ตารางผนวกที่ 32 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวก้านดอกเห็ดรุ่นที่ 2

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	0.231	0.057	0.568
Error	15	1.144	0.076	
Total	19	1.376		

C.V.= 3.830 %

ตารางผนวกที่ 33 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวก้านดอกเห็ดรุ่นที่ 3

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	0.031	0.007	0.939
Error	15	0.609	0.401	
Total	19	0.639		

C.V. = 2.780 %

ตารางผนวกที่ 34 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวก้านดอกเห็ดรุ่นที่ 4

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	0.082	0.201	0.651
Error	15	0.451	0.030	
Total	19	0.534		

C.V. = 2.431 %

ตารางผนวกที่ 35 การวิเคราะห์ความแปรปรวนความยาวก้านดอกเห็ดรวมทั้ง 4 รุ่น

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	2.563	0.641	0.501
Error	15	10.959	0.731	
Total	19	13.523		

C.V. = 12.143 %

ตารางผนวกที่ 36 การวิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดรุ่นที่ 1

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	0.3830	0.096	0.241
Error	15	0.9324	0.062	
Total	19	1.315		

C.V. = 3.380 %

ตารางผนวกที่ 37 การวิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดรุ่นที่ 2

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	0.3374	0.084	0.455
Error	15	1.3117	0.087	
Total	19	1.649		

C.V. = 4.056 %

ตารางผนวกที่ 38 การวิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดรุ่นที่ 3

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	0.5517	0.1392	0.025
Error	15	0.5473	0.0364	
Total	19	1.1043		

C.V. = 2.680 %

ตารางผนวกที่ 39 การวิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดรุ่นที่ 4

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	0.1317	0.0329	0.047
Error	15	0.1587	0.011	
Total	19	0.290		

C.V. = 1.435 %

ตารางผนวกที่ 40 การวิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางดอกเห็ดรวมทั้ง 4 รุ่น

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	0.1393	0.035	0.125
Error	15	0.057	0.011	
Total	19	0.196		

C.V. = 1.452 %

ตารางผนวกที่ 41 การวิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดรุ่นที่ 1

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	0.032	0.009	0.670
Error	15	0.228	0.015	
Total	19	0.264		

C.V. = 12.995 %

ตารางผนวกที่ 42 การวิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดรุ่นที่ 2

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	0.061	0.015	0.825
Error	15	0.614	0.409	
Total	19	0.675		

C.V. = 24.876 %

ตารางผนวกที่ 43 การวิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดรุ่นที่ 3

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	0.054	0.013	0.445
Error	15	0.203	0.014	
Total	19	0.257		

C.V. = 16.062 %

ตารางผนวกที่ 44 การวิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดรุ่นที่ 4

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	0.016	0.005	0.567
Error	15	0.091	0.006	
Total	19	0.110		

C.V. = 11.222 %

ตารางผนวกที่ 45 การวิเคราะห์ความแปรปรวนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางก้านดอกเห็ดรวมทั้ง 4 รุ่น

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	4	0.018	0.005	0.862
Error	15	0.218	0.015	
Total	19	0.237		

C.V. = 15.122 %

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ภาคผนวก ค

(ก)

(ข)

(ค)

(ง)

(จ)

ภาพผนวกที่ 1 ลักษณะดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานแต่ละชุดการทดลอง

(ก) เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR05 + *B. theobromae*

(ข) เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต PT01 + *B. theobromae*

(ค) เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Ps. kuykendallii* ไอโซเลต SR11 + *B. theobromae*

(ง) *B. theobromae* (ชุดตรวจสอบ)

(จ) น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุม)

(ก)

(ข)

(ค)

(ง)

(จ)

ภาพผนวกที่ 2 ก้อนเชื้อนางฟ้าที่ระดับความรุนแรงของโรค

(ก) ระดับที่ 1 (5 เปอร์เซ็นต์)

(ข) ระดับที่ 2 (25 เปอร์เซ็นต์)

(ค) ระดับที่ 3 (50 เปอร์เซ็นต์)

(ง) ระดับที่ 4 (75 เปอร์เซ็นต์)

(จ) ระดับที่ 5 (100 เปอร์เซ็นต์)

ภาพผนวกที่ 3 ตัวอย่างก้อนเชื้อเห็ดที่พบโรคราดำ *B. theobromae* จากฟาร์มต่างๆ ในจังหวัดนครศรีธรรมราช พัทลุง ตรัง สงขลา และสุราษฎร์ธานี

Thailand Bioresource Research Center (TBRC)
National Center for Genetic Engineering and Biotechnology
Innovation Cluster 2 (Tower B, 8th Floor, Room 817)
143 Thailand Science Park, Phahonyothin Road
Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120, Thailand
Tel: +66-2-1178000-1, Fax: +66-2-1178003

ลำดับนิวคลีโอไทด์ (Nucleotide sequence)
2018ID0924-138

No. Code	Method of identification	Closely related with	% similarity
B1	Single strand 16S rDNA sequencing	*Pseudomonas kuykendallii*	99.72
B2	Single strand 16S rDNA sequencing	*Pseudomonas kuykendallii*	99.72
B3	Single strand 16S rDNA sequencing	*Pseudomonas kuykendallii*	99.56

No. Sample No. Nucleotide region of Nucleotide sequence (5' -> 3')

B1 16S rDNA >B1

TCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGCGGATGAAGAGAGCTTGCTCTCTGATTCAGCGGCGGACG

GGTGAGTAATGCCTAGGAATCTGCCTGATAGTGGGGGACAACGTTTCGAAAGGAACGCTAATACCGCATACGTCCTACGGGA

GAAAGTGGGGGATCTTCGGACCTCACGCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAATGGCCCACCAAG

GCGACGATCCGTAACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAG

TGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAGCACTTT

AAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAATTAATACTTTGCTGTTTTGACGTTACCGACAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAG

CAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTTGTTAAGTTGAAT

GTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATCCAAAACTGGCAAGCTAGAGTACGGTAGAGGGTGGTGGAATTTCCTGTG

TAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAA

AGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGAATCCTTGAGATT

TTAGTGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCC

CGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGCCTTGACATCCAATGAACTTTCCAG

AGATGGATTGGTGCCTTCGGGAGCATTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGT

CCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTACCAGCACGTTAAGGTGGGCACTCTAAGGAGACTGCCGGTGACAAACCGGA

GGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAGAGGGTTG

CCAAGCCGCGAGGTGGAGCTAATCCCAGAAAACCGATCGTACTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAA

TCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCCGTCACACCATGGGGAGT

GGGTTGCTCCAGAAGTAGCTAGTCTAACCTTCGGGGGGGACGGTTACCAC

B2 16S rDNA >B2

TCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGCGGATGAAGAGAGCTTGCTCTCTGATTCAGCGGCGGACG

GGTGAGTAATGCCTAGGAATCTGCCTGATAGTGGGGGACAACGTTTCGAAAGGAACGCTAATACCGCATACGTCCTACGGGA

GAAAGTGGGGGATCTTCGGACCTCACGCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAATGGCCCACCAAG

GCGACGATCCGTAACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAG

TGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAGCACTTT

AAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAATTAATACTTTGCTGTTTTGACGTTACCGACAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAG

CAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTTGTTAAGTTGAAT

GTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATCCAAAACTGGCAAGCTAGAGTACGGTAGAGGGTGGTGGAATTTCCTGTG

TAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAA

AGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGAATCCTTGAGATT

TTAGTGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCC

CGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGCCTTGACATCCAATGAACTTTCCAG

AGATGGATTGGTGCCTTCGGGAGCATTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGT

CCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTACCAGCACGTTAAGGTGGGCACTCTAAGGAGACTGCCGGTGACAAACCGGA

GGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAGAGGGTTG

CCAAGCCGCGAGGTGGAGCTAATCCCAGAAAACCGATCGTACTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAA

TCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGGAGTG

GGTTGCTCCAGAAGTAGCTAGTCTAACCTTCGGGGGGACGGTTACCACGGAGTGATTCATGACTG

B3 16S rDNA >B3

TCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCCTAACACATGCAAGTCGAGCGGATGAAGAGAGCTTGCTCTCTGATTCAGCGGCGGACG

GGTGAGTAATGCCTAGGAATCTGCCTGATAGTGGGGGACAACGTTTCGAAAGGAACGCTAATACCGCATACGTCCTACGGGA

GAAAGTGGGGGATCTTCGGACCTCACGCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAATGGCCCACCAAG

GCGACGATCCGTAACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAG

TGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAGCACTTT

AAGTTGGGAGGAAGGGCAGTAAATTAATACTTTGCTGTTTTGACGTTACCGACAGAATAAGCACCGGCTAACTCTGTGCCAG

CAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTTGTTAAGTTGAAT

GTGAAAGCCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATCCAAAACTGGCAAGCTAGAGTACGGTAGAGGGTGGTGGAATTTCCTGTG

TAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAA

AGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGAATCCTTGAGATT

TTAGTGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCC

CGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGCCTTGACATCCAATGAACTTTCCAG

AGATGGATTGGTGCCTTCGGGAGCATTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCATCAGCTCGTGTCATGAGATGTTGGGTTAAGT

CCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTACCAGCACGTTAAGGTGGGCACTCTAAGGAGACTGCCGGTGACAAACCGGA

GGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTCGGTACAGAGGGTTG

CCAAGCCGCGAGGTGGAGCTAATCCCAGAAAACCGATCGTACTCCGGATCGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAA

TCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCCGTC