รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษผสมไซเดอโรฟอร์ต้านเชื้อราก่อโรคของหอมแดงและกระเทียมสู่ชุมชน

Technological transformation of organic fertilizer with siderophore as anti-fungal diseases in onion and garlic to community

สมหมาย ปะติตังโข และคณะ

ได้รับทุนอุดทุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา (สกอ.)

ปีงบประมาณ 2553

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษผสมไซเดอโรฟอร์ต้านเชื้อราก่อโรคของหอมแดงและกระเทียมสู่ชุมชน

Technological transformation of organic fertilizer with siderophore as anti-fungal diseases in onion and garlic to community

สมหมาย ปะติตังโข

สมศักดิ์ จีวัฒนา

อารยา มุสิกา

กิ่งแก้ว ปะติตังโข

ชูเกียรติ จารัตน์

มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

ได้รับทุนอุดทุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา (สกอ.)

ปีงบประมาณ 2553

หัวข้อโครงการ การถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษผสมไซเดอโรฟอร์ ต้านเชื้อราก่อโรคของหอมแดงและกระเทียมสู่ชุมชน

ผู้วิจัย สมหมาย ปะติตังโข และคณะ

ปีที่ทำวิจัย 2553

บทคัดย่อ

ไซเดอโรฟอร์หมายถึงสารชีวภาพ (ทำหน้าที่เป็นตัวพาเหล็ก) ที่ได้จากแบคทีเรีย รา และพืชบางชนิด แล้วนำไปใช้ประโยชน์ในการเป็นยารักษาโรค ด้านการเกษตร และอื่นๆ การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกแบคทีเรียจากดินปากปล่องและดินจอมปลวกภูเขาไฟวนอุทยานเขากระโดงที่สามารถผลิตไซเดอโรฟอร์ได้ มาเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีปริมาณของเหล็กต่ำ SA แล้วแยกชนิดของไซเดอโรฟอร์ด้วยเทคนิค CAS ทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของไซเดอโรฟอร์ต้านเชื้อราก่อโรคของหอมแดง และกระเทียม ผลิตปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษผสมไซเดอโรฟอร์ ถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษผสมไซเดอโรฟอร์ให้กับชุมชน เพื่อลดต้นทุนการผลิตหอมแดงและกระเทียม ผลการวิจัยพบว่า เมื่อนำดินปากปล่อง และดินจอมปลวกบนภูเขาไฟมาลงในอาหาร 4 ชนิด คือ Plate Count Agar, Brain Heart Infusion Agar (BHIA), Nutrient Agar (NA) และ Soil Extract Agar (SEA) มีแบคทีเรียมากมายหลายลักษณะ แต่คัดแยกมาศึกษา 96 ไอโซเลต เพื่อทดสอบความสามารถในการผลิตไซเดอโรฟอร์ด้วยเทคนิค CAS พบว่า มีแบคทีเรีย 81 ไอโซเลต ที่ผลิตไซเดอโรฟอร์ได้ โดยสังเกตจากการเปลี่ยนสีของตัวชี้วัดจากสีน้ำเงินเป็นสีส้ม แล้วเลือกอย่างเจาะจงมา 5 ไอโซเลต คือ MHB12, MHB13, MHB14, VMBH17 และVMBH18 เพื่อผลิตไซเดอโรฟอร์เพิ่มขึ้นในอาหารเหลว SA ส่วนชนิดของไซเดอโรฟอร์จากแบคทีเรีย MHB12, MHB13 และ MHB14 เป็นชนิดแคทีคอล สำหรับไซเดอโรฟอร์ที่ผลิตจาก VMBH17 และ VMBH18 เป็นชนิดไฮดรอกซาเมท ไซเดอโรฟอร์ทั้งสองชนิดสามารถออกฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Aspergillus niger*, *Aspergillus porri*, *Botryotinia squamosa*, *Colletotrichum circinans* และ *Sclerotinia sclerotiorum* ได้ดีที่สัดส่วนความเข้มข้น 0.25 กรัม/มิลลิลิตร เมื่อนำไปผสมปุ๋ยอินทรีย์แล้วทดสอบกับแปลงทดลอง พบว่า นอกจากไซเดอโรฟอร์เหล่านี้จะต้านเชื้อราก่อโรคได้แล้ว ยังส่งเสริมการเจริญเติบโตของหอมแดง และกระเทียมได้ดีอีกด้วย จากนั้นคณะผู้วิจัยได้ถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษผสมไซเดอโรฟอร์ให้กับชุมชน เพื่อลดต้นทุนการผลิตหอมแดง และกระเทียมให้กับเกษตรกรปลูกหอมแดง และกระเทียม บ้านโคกเพ็ก ตำบลชุมเห็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ แบคทีเรียทั้ง 81 ไอโซเลต ที่แยกได้จากงานวิจัยนี้ ควรนำไปผลิตไซเดอโรฟอร์ เพื่อทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพใน

การต้านเชื้อราหรือแบคทีเรียก่อโรคของพืชเศรษฐกิจชนิดอื่นๆ สัตว์ ตลอดจนโรคต่างๆ ที่เกิดกับมนุษย์อีกด้วย

Title: Technological transformation of organic fertilizer with siderophore as anti-fungal diseases in onion and garlic to community

Author: Sommai Patitungkho et al.

Academic year: 2009

Abstract

Siderophores are bionatural compounds (iron carrier) extracted from certain bacteria, fungi, and some plants then utilized as medicine, in agriculture etc. This study aimed to 1) isolate bacteria from the soil and molehills at the dead volcano mouth in area of Khaokradong National Park, Buriram Province. The selected bacteria could produce Siderophores, and incubated in SA medium broth, then classified using CAS technique. 2) test bionatural effects of Siderophores in stopping fungi growth, the cause of diseases in onion and garlic leaves. 3) produce bionatural fertilizers, a special formula which was mixed with Siderophores. 4) transfer technology of producing special formula fertilizers to residents in communities, and 5) reduce capital for growing onions and garlic.

The results revealed that when the soil and molehills were seeded into 4 culture media, viz. Plate Count Agar, Brain Heart Infusion Agar (BHIA), Nutrient Agar (NA), and Soil Extract Agar (SEA), several bacteria were existed. Only 96 bacteria were isolated to test the ability in producing Siderophores by using CAS technique. It was found that there were only 81 bacteria that could produce Siderophores observed by the changes from blue colour to orange one from indicators. The five bacteria namely, MHB12, MHB13, MHB14, VMBH17 and VMBH18 were purposive selected to produce Siderophores in SA medium broth. The Siderophores from bacteria MHB12, MHB13, and MHB14 belong to Catecholate, but another two Siderophores belong to Hydroxamate. Both Siderophores could well stop growth of fungi, *A.niger*, *A.porri*, *B.squamosa*, *C.circinans* and *S.sclerotiorum* at the concentration of 0.25 g/ml. When they were mixed with biochemical fertilizers and tested in experimental plot of land, it was found that not only the Siderophores could stop fungal growth, but also well promoted the growth of onions and garlic. The researchers then transferred technology of producing special formula fertilizers – the mixture of Siderophores to residents of Khokphet Village, Chumhed Subdistrict, Muang

District, Buriram Province to reduce capital in investment. All these 81 bacteria should be brought to produce Siderophores to test bionatural effects in stopping fungi or bacteria, causing diseases in other plants, animals and human beings.

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รศ.โกวิท เชื่อมกลาง อธิการบดีมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ ขอขอบคุณ ผศ.สมเกียรติ กัลยพฤกษ์ รองอธิการบดี ฝ่ายวิจัยและประกันคุณภาพการศึกษา
ขอขอบคุณ อาจารย์พิสมัย ประชานันท์ ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนา และบุคลากรของสถาบันวิจัยและพัฒนา ที่ให้การสนับสนุน และอำนวยความสะดวกต่อกิจกรรมในการดำเนินงานการวิจัย

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา (สกอ.) ตลอดจน ประธานและคณะอนุกรรมการเครือข่ายอุดมศึกษาภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง ที่ให้การสนับสนุน และกระตุ้นให้เกิดโครงการวิจัยที่ดี และมีประโยชน์ต่อประชาชนในการวิจัยและถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ชุมชนฐานราก อันนำไปปรับใช้ในการดำรงชีวิตต่อไป

สมหมาย ปะติตังโข และคณะผู้วิจัย

18 พฤษภาคม 2554

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	**ก**
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	**ค**
กิตติกรรมประกาศ	**จ**
สารบัญ	**ฉ**
สารบัญตาราง	**ซ**
สารบัญภาพ	**ญ**
บทที่ 1 บทนำ	**1**
หลักการ เหตุผล และผลงานที่มีมาก่อน	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
เป้าหมายของการวิจัย	3
กรอบแนวคิดหรือทฤษฎีของการวิจัย	3
ขอบเขตของการวิจัย	5
ระยะเวลาและสถานที่ทำการวิจัย	6
กลุ่มเป้าหมายของการวิจัย	6
ผลที่จะได้รับและผู้รับประโยชน์จากการวิจัย	6
วิธีดำเนินการวิจัย หรือระเบียบวิธีการวิจัย	6
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	**8**
บริบทหมู่บ้านโคกเพ็ก อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์	8
โรคพืช	11
โรคของหอม และกระเทียม	22
เชื้อรา	32
สารไซเดอโรฟอร์ และกลไกการผลิตสารไซเดอโรฟอร์ของเชื้อแบคทีเรีย	35
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	45
บทที่ 3 การทดลอง	**52**
อุปกรณ์และสารเคมี	52
การเตรียมสารและอาหาร	55
การแยกเชื้อแบคทีเรียจากดินปากปล่อง และดินจอมปลวกภูเขาไฟ	56

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 3 (ต่อ)

การย้อมสีแกรม 57
การทดสอบความสามารถในการผลิตไซเดอโรฟอร์ของแบคทีเรีย 58
การผลิตไซเดอโรฟอร์ 59
การทดสอบชนิดของไซเดอโรฟอร์ 60
การทดสอบฤทธิ์ของไซเดอโรฟอร์ต่อเชื้อโรคของหอมแดง และกระเทียม 61
ผลของไซเดอโรฟอร์ต่ออัตราการเจริญเติบโตของหอมแดง และกระเทียม 63
การผลิตปุ๋ยอินทรีย์สูตรผสมไซเดอโรฟอร์ 63
การถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยอินทรีย์สูตรผสมไซเดอโรฟอร์สู่ชุมชน 64

บทที่ 4 ผลการศึกษา อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ 65

บทนำ 65
แบคทีเรียที่ได้จากดินปากปล่องภูเขาไฟ 65
แบคทีเรียที่ได้จากดินจอมปลวกภูเขาไฟ 72
ประสิทธิภาพของแบคทีเรียจากดินปากปล่องแต่ละชนิดในการผลิตไซเดอโรฟอร์ 80
ประสิทธิภาพของแบคทีเรียจากดินจอมปลวกแต่ละชนิดในการผลิตไซเดอโรฟอร์ 84
ผลการทดสอบชนิดของไซเดอโรฟอร์ 88
ผลของการต้านการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรคในต้นหอม และกระเทียม 90
ผลของการต้านการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรคในต้นหอม และกระเทียม ในแปลงทดลอง 92
การถ่ายทอดปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษผสมไซเดอโรฟอร์สู่ชุมชน 101

บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง 106

สรุปและวิจารณ์ 106
ข้อเสนอแนะ 108

บรรณานุกรม 109

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง

2.1 การควบคุมของเหล็กในจุลินทรีย์ 36
2.2 ค่าคงที่ความเสถียรของสารไซเดอโรฟอร์กับเหล็ก 37
3.1 ชนิดของเชื้อราที่ใส่ลงในแปลงทดลอง 62
3.2 ปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษผสมไซเดอโรฟอร์จากแบคทีเรียชนิดต่างๆ ที่ใส่ลงในแปลงทดลอง 62
3.3 ปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษผสมไซเดอโรฟอร์จากแบคทีเรียชนิดต่างๆ ที่ใส่ลงในแปลงทดลองของเกษตรกรทั้งสองหมู่บ้าน 63
4.1 ลักษณะของโคโลนี รูปร่าง สี และแกรมของแบคทีเรีย 66
4.2 ดินปากปล่องภูเขาไฟในอาหาร Brain Heart Infusion Agar 67
4.3 การย้อมสีแบคทีเรียอนุกรม VMBH 69
4.4 ผลการคัดแยกแบคทีเรียด้วยอาหาร Nutrient Agar 70
4.5 การย้อมสีแกรมของแบคทีเรียอนุกรม VMNA 70
4.6 ผลการคัดแยกแบคทีเรียด้วยอาหาร Soil Extract Agar จากดินปากปล่องภูเขาไฟ 71
4.7 การย้อมสีแกรมของแบคทีเรียอนุกรม VMSEA 71
4.8 ลักษณะของแบคทีเรียจากดินปากปล่องภูเขาไฟลงใน SA medium 72
4.9 ลักษณะของแบคทีเรียจากจอมปลวกในอาหาร PCA 73
4.10 ผลการย้อมสีแกรมแบคทีเรียอนุกรม MHP ที่กำลังขยาย 10x 74
4.11 จอมปลวกในอาหาร BHIA 75
4.12 ผลการย้อมสีแกรมแบคทีเรียใน BHIA ที่กำลังขยาย 10x 76
4.13 จอมปลวกในอาหาร NA 77
4.14 ผลการย้อมสีแกรมแบคทีเรียจากอาหาร NA ที่กำลังขยาย 10x 78
4.15 จอมปลวกในอาหาร Soil Extract Agar 79
4.16 การย้อมสีแบคทีเรียของดินจากจอมปลวกในอาหาร Soil Extract Agar 79
4.17 การสร้างวงสีบน CAS agar ของอนุกรม VMP 80
4.18 การสร้างวงสีบน CAS Agar ของอนุกรม VMB 81
4.19 การสร้างวงสีบน CAS Agar ของอนุกรม VMN**A** 83
4.20 การสร้างวงสีบน CAS Agar ของอนุกรม VMSEA 84
4.21 การสร้างวงสีบน CAS Agar ของอนุกรม MHP 85

สารบัญตาราง (ต่อ)

หน้า

ตาราง (ต่อ)

4.22 ผลการเกิดวงสีใน CAS Agar ของอนุกรม MHB 86
4.23 การเกิดวงสีใน CAS Agar ของอนุกรม MHN 87
4.24 การทดลองจากการลงเชื้อใน CAS Agar ของอนุกรม MHSEA 87
4.25 ผลของการทดสอบไซเดอโรฟอร์ชนิดไฮดรอกซาเมทด้วยวิธี Csaky 88
4.26 ผลที่ได้จากการทดสอบไซเดอโรฟอร์ชนิดไฮดรอกซาเมทด้วยวิธี Berg & Becker 89
4.27 ผลที่ได้จากการทดสอบไซเดอโรฟอร์ชนิดแคทีคอลด้วยวิธี Arnow ของตัวอย่างแต่ละชนิด 89
4.28 ผลการทดสอบการต้านเชื้อราก่อโรคของหอมแดงและกระเทียมของไซเดอโรฟอร์จากแบคทีเรียแต่ละไอโซเลต 90
4.29 ผลของปุ๋ยอินทรีย์สูตรผสมไซเดอโรฟอร์ต่อต้านโรคของหอมแดงในแปลงทดลอง 93
4.30 ความสูงเฉลี่ยของหอมจำนวน 50 ต้น รอบที่ 1 98
4.31 จำนวนใบเฉลี่ยของหอมจำนวน 50 ต้น รอบที่ 1 98
4.32 ความสูงเฉลี่ยของหอมจำนวน 50 ต้น รอบที่ 2 92
4.33 จำนวนใบเฉลี่ยของหอมจำนวน 50 ต้น รอบที่ 2 92
4.34 ความสูงเฉลี่ยของหอมจำนวน 50 ต้น บ้านโคกเพ็ก โดยภาพรวม 92
4.35 จำนวนใบเฉลี่ยของหอมจำนวน 50 ต้น บ้านโคกเพ็ก โดยภาพรวม 100
4.36 น้ำหนักของต้นหอม รอบ 1 100
4.37 น้ำหนักของต้นหอม รอบ 2 100
4.38 น้ำหนักของต้นหอม บ้านโคกเพ็ก 101
4.39 น้ำหนักของกระเทียม 101
4.40 ต้นทุนการผลิตปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษผสมไซเดอโรฟอร์ 105

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพ

2.1 กลไกการดึงเหล็กมาใช้ของแบคทีเรียของสารไซเดอโรฟอร์ 38

2.2 กลไกการใช้ธาตุเหล็กของแบคทีเรียภายในเซลล์ 40

2.3 แสดงโครงสร้างของไซเดอโรฟอร์ชนิด hydroxamate และ catecholate 41

2.4 แสดงโครงสร้างของไซเดอโรฟอร์ชนิดคาร์บอกซิเลต (carboxylate) 42

2.5 ไซเดอโรฟอร์ผสม 42

4.1 ตัวอย่างการสร้างวงสีบน CAS Agar ของแบคทีเรียบางชนิด (VMBH2, VMBH5, VMBH7 และ VMBH13) 82

4.2 ตัวอย่างการเรืองแสงของไซเดอโรฟอร์จากแบคทีเรียบางชนิด (VMBH2, VMBH5 และ VMBH6) ภายใต้แสงยูวี 83

4.3 ผลการต้านเชื้อรา *A. porri*, *A. niger*, *C. circinans* ของไซเดอโรฟอร์จากเชื้อแบคทีเรีย MHB12, MHB13 และ MHB14 (หมายเลข 1= 12.5 %, 2= 50 % และ 3 = 25 % ของไซเดอโรฟอร์) 91

4.4 ผลการต้านเชื้อรา *B.squamosa*, *S.sclerotiorum* ของไซเดอโรฟอร์จากเชื้อแบคทีเรีย VMHB17 และ VMBH18 (หมายเลข 1= 12.5 %, 2= 50 % และ 3= 25% ของไซเดอโรฟอร์) 92

4.5 ลักษณะของสารละลายไซเดอโรฟอร์ที่ได้จากแบคทีเรีย (หมายเลข 1= MBH12, 2=MBH13, 3= MBH14, 4=VMB17 และ 5=VMB18) ที่เข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ 92

4.6 แปลงกระเทียมที่ใช้ปุ๋ยสูตรผสมไซเดอโรฟอร์ 94

4.7 แปลงทดลองของมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ 95

4.8 แปลงทดลองบ้านโคกสะอาด ตำบลสะแกซำ อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ 96

4.9 แปลงทดลองของเกษตรกรบ้านโคกเพ็ก ตำบลชุมเห็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ 97

4.10 บรรยายการผลิตไซเดอโรฟอร์ ณ ห้องปฏิบัติการ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ 102

4.11 ทีมวิจัยพากลุ่มเกษตรกรไปศึกษาดูงานการผลิตปุ๋ยอินทรีย์ ณ บ้านโคกสะอาด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ 103

4.12 การถ่ายทอดการผลิตปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษผสมไซเดอโรฟอร์ ณ บ้านโคกเพ็ก หมู่ 12 ตำบลชุมเห็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ 104

บทที่ 1

บทนำ

1.1 หลักการ เหตุผล และผลงานที่มีมาก่อน

จากผลิตภัณฑ์มวลรวม (GDP) ของประเทศไทยในปัจจุบันอยู่ที่ประมาณ 6 ล้านล้านบาท ในจำนวนนี้เป็นส่วนของภาคการเกษตร 13 % โดยแยกเป็นส่วนของพืช 68 % ปศุสัตว์ 11 % ประมง 8 % แปรรูปอย่างง่าย 9 % บริการทางการเกษตร 3 % ป่าไม้และผลิตภัณฑ์ 1 % ดังนั้นส่วนของพืชจึงเป็นสัดส่วนที่มีความสำคัญที่สุด (เนื่องพณิช สินชัยศรี และสาทร สิริสิงห์. 2548) จากสภาวะการแข่งขันในตลาดโลกที่สูงขึ้นโดยเฉพาะสินค้าเกษตรและอาหาร ซึ่งเป็นสินค้าหลักของประเทศไทยที่มีมูลค่าการส่งออกสูง ประกอบกับปัจจุบันประเทศคู่ค้าที่สำคัญของไทย ได้มีการกำหนดมาตรการนำเข้าด้านสุขอนามัยพืช (SPS Agreement) ดังนั้น กระทรวงเกษตรและสหกรณ์จึงได้มีการส่งเสริมให้ทำการเกษตรให้ได้ผลิตผลที่ปลอดภัยจากสารพิษและทำการเกษตรอินทรีย์เพิ่มมากขึ้น โดยกำหนดการปฏิบัติทางการเกษตรตามระบบเกษตรดีที่เหมาะสม (GAP; Good Agricultural Practice) ซึ่งมีวิธีการควบคุมศัตรูพืชแบบพึ่งพาสารเคมีให้น้อยที่สุด (จิระระเดช แจ่มสว่าง. 2550) ใช้วิธีการควบคุมโรคพืชทางชีวภาพด้วย การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์มาทดแทนสารเคมีให้มากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชเป็นสารพิษ ส่วนมากมีสมบัติในการทำลายล้างสิ่งมีชีวิตไม่ว่าจะเป็นพืช สัตว์และจุลินทรีย์แทบทุกชนิด ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชนั้นๆ แนวความคิดที่จะเลิกใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชและเปลี่ยนมาใช้สารสกัดจากธรรมชาติที่ไม่ส่งผลเสียต่อมนุษย์ สัตว์ สิ่งแวดล้อม ตลอดจนเศรษฐกิจโดยรวมของประเทศเป็นสิ่งที่ทุกคนปรารถนา จากการศึกษา การสูญเสียของผลผลิตทางการเกษตรจากการทำลายของสัตรูพืชและวัชพืชเฉลี่ยของโลก พบว่าสูญเสียกว่า 40 % โดยเฉพาะสภาพภูมิอากาศร้อนชื้น เช่น ประเทศไทยที่สามารถปลูกพืชได้ตลอดทั้งปี ศัตรูพืชสามารถแพร่พันธุ์และระบาดได้ทั้งปีเช่นกัน จึงสร้างความเสียหายอย่างมาก ดังนั้น การควบคุมเชื้อโรคพืชโดยชีววิธี (biocontrol) ซึ่งเป็นการลดปริมาณประชากรและลดกิจกรรมของเชื้อโรคพืชที่จะก่อให้เกิดโรคจนอยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจกับพืชโดยอาศัยสิ่งมีชีวิต (organism) ทั้งนี้หมายรวมถึงพืชชั้นสูงและจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonistic microorganism) ตลอดจนสารพันธุกรรมหรือผลิตผลจากสารพันธุกรรม (genes or gene products) ของสิ่งมีชีวิต แต่ยกเว้นผลจากการกระทำต่อเชื้อโรคโดยตรงจากมนุษย์ในธรรมชาติมีสิ่งมีชีวิตหรือจุลินทรีย์หลายชนิดที่มีคุณสมบัติในการเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุโรคพืชและแต่ละชนิดมีคุณสมบัติแตกต่างกันไปในการเป็นปฏิปักษ์ (เยาวพา สุวัตถิ. ม.ป.ป : ไม่มีเลขหน้า)

ปัจจุบันได้มีการค้นคว้าหาวิธีการควบคุมโรคพืชใหม่ๆ ทางชีวภาพเพื่อลดอันตรายจากการใช้สารเคมีทางการเกษตร โดยให้เกษตรกรหันมาใช้การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี ซึ่งถือเป็นวิธีที่ยอมรับว่าใช้ได้ผลดี ได้มีการศึกษาถึงกลไกการควบคุมโรคและระบบการควบคุมโรคโดยวิธีต่างๆ โดยเฉพาะการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonist) ที่เป็นเชื้อ

แบคทีเรียและเชื้อรา เชื้อแบคทีเรียมักเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อโรคพืชโดยการแก่งแย่งอาหาร การยับยั้ง ทำลายและการเป็นปรสิต

จากเหตุผลดังกล่าวข้างต้นทำให้คณะผู้วิจัยสนใจที่จะนำแบคทีเรียจากปากปล่องและจอมปลวกบนภูเขาไฟ (ซึ่งเป็นแหล่งทรัพยากรธรรมชาติที่มีความโดดเด่นของจังหวัดบุรีรัมย์) มาเลี้ยงและสกัดสารไซเดอโรฟอร์ ทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อราโรคพืชของหอมแดง และกระเทียม ซึ่งถือเป็นพืชเศรษฐกิจที่ทำรายได้ให้กับเกษตรกรจังหวัดบุรีรัมย์ สุรินทร์ และศรีสะเกษ ได้มากเป็นอันต้นๆ แต่การปลูกหอมและกระเทียมยังมีปัญหาเนื่องจากเชื้อรา เช่น โรคราดำเกิดจาก เชื้อรา *Aspergillus niger Van tiegh.,* โรคเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Botrytis allii, B. byssoidea ,B. squamosa,* โรคแอนแทรนโนสและโรคสมัดจ์ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum circinans* หรือ *Colletotrichum gloeosporioides,* โรคใบจุดสีม่วงที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria porri (Ell.)Cif.,* โรคหัวและรากเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii Sacc.* หรือ *Sclerotium cepivorum Berk.,* โรคราน้ำค้างที่เกิดจากเชื้อ *Peronospora destructor (*Berk) Casp., โรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อรา *Cercospora duddiae* ,โรคปลายใบไหม้ที่เกิดจากเชื้อ *Stemphylium botryosum.* เป็นต้น จนทำให้ต้นหอมและกระเทียมที่ได้มีคุณภาพต่ำลงและส่งผลให้เกษตรกรต้องใช้ต้นทุนในการผลิตสูงขึ้นเพื่อที่จะคงระดับคุณภาพของผลผลิตทางการเกษตรให้อยู่ในเกณฑ์ที่ดี เกษตรกรก็จะใช้สารเคมีในการกำจัดโรคต่างๆ ที่เกิดขึ้นในพืช ทำให้เกิดการตกค้างในผลผลิตที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคและเกษตรกรผู้ทำการเพาะปลูกเอง อีกทั้งส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อมด้วย จากการศึกษารวบรวมข้อมูล คณะผู้วิจัยพบว่า สารที่เป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติชนิดหนึ่งที่เกิดจากความต้องการธาตุเหล็กของจุลินทรีย์ที่ปลดปล่อยออกมาเพื่อการเจริญเติบโต ขณะที่อยู่ในสภาวะมีธาตุเหล็กจำกัด เนื่องจากธาตุเหล็กเป็นสารที่มีความสำคัญที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมหลายกระบวนการ และยังเป็นส่วนประกอบของเซลล์ มีผลต่อผลผลิตต่างๆ ที่ได้จากกระบวนการเมแทบอลิซึม (Neiland, D. W. 1967) ไม่ว่าจะเป็นของแบคทีเรียหรือรา ดังนั้นหากจุลินทรีย์เหล่านี้ขาดธาตุเหล็กหรือมีธาตุเหล็กน้อยมาก จุลินทรีย์เหล่านี้จะสร้างกลไกพิเศษขึ้นมาเพื่อจับธาตุเหล็กและนำมาใช้ โดยจุลินทรีย์จำเป็นต้องผลิตสารเคมีขึ้นชนิดหนึ่งขึ้นมามีชื่อว่า ไซเดอโรฟอร์ (Siderophore) (Barnum, J. B. 1977) สารนี้มีสมบัติทางเคมีแตกต่างกันไปทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของจุลินทรีย์ปล่อยไซเดอโรฟอร์ออกมาสู่สิ่งแวดล้อมที่อยู่ภายนอกเพื่อจับกับธาตุเหล็กแล้วเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กไซเดอโรฟอร์ สารนี้จะถูกส่งผ่านเข้าสู่เซลล์จุลินทรีย์เหล่านั้นและนำธาตุเหล็กไปใช้ประโยชน์ต่อไป นอกจากนั้น เรายังสามารถนำสารดังกล่าวมาพัฒนาผ่านกระบวนการทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีได้ โดยเฉพาะในสาขาเทคโนโลยีชีวภาพเนื่องจากเทคโนโลยีในด้านนี้ปัจจุบันกำลังเป็นที่น่าสนใจและมีการนำไปประยุกต์ใช้อย่างกว้างขวาง ด้วยเหตุผลที่ว่าผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่ได้นั้นส่วนใหญ่จะไม่ก่อมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม สามารถเพิ่มผลผลิตได้อย่างรวดเร็ว ถ้าหากมีการศึกษาและพัฒนาอย่างจริงจัง และมีประสิทธิภาพ จากการศึกษาวิจัยพบว่าไซเดอโรฟอร์มีความสามารถในการจับเหล็กได้เป็นอย่างดี แต่ขึ้นอยู่กับชนิดของไซเดอโรฟอร์ เช่น กลุ่มไฮดรอกซาเมท (Hydroxamate) หรือกลุ่มแคทีโคเลต (Catecholate) ซึ่งสารประกอบเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นนี้มี ความเสถียรภาพสูงและละลายน้ำได้ดีด้วยคุณสมบัติของไซเดอโรฟอร์ดังกล่าวคณะผู้ศึกษา จึงสนใจที่จะนำสารไซเดอโรฟอร์มากำจัดเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคของหอมแดงและกระเทียม โดยการเพิ่มปริมาณให้เพียงพอแล้วนำไปใช้เป็นส่วนประกอบของปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษพร้อมทั้งถ่ายทอดเทคโนโลยีนี้สู่ชุมชนเพื่อนำไปใช้แก้ปัญหาเชื้อราของหอมแดง และกระเทียมต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาหาไซเดอโรฟอร์ที่มีความสามารถในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคพืช

1.2.2 เพื่อผลิตปุ๋ยชีวภาพสูตรผสมไซเดอโรฟอร์จากธรรมชาติ

1.2.3 เพื่อหาแนวทางลดต้นทุนในการผลิตพืชเศรษฐกิจ

1.2.4 เพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยีชีวภาพด้านชีววิธีสู่ชุมชน

1.3 เป้าหมายของการวิจัย

1.3.1 ทราบแหล่งและชนิดของไซเดอโรฟอร์ที่มีความสามารถในการต้านเชื้อราก่อโรคของหอมแดง และกระเทียม

1.3.2 ได้ปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษผสมสารไซเดอโรฟอร์กำจัดเชื้อราก่อโรคหอมแดง และกระเทียม

1.3.3 ได้แนวทางลดต้นทุนการผลิตพืชเศรษฐกิจ เช่น หอมแดง และกระเทียม

1.3.4 ชุมชนได้รับและนำความรู้ด้านชีววิธี (biocontrol) ไปใช้ในการปลูกพืชปลอดสารเคมีที่เป็นพิษต่อมนุษย์ และสิ่งแวดล้อม

1.4 กรอบแนวคิดหรือทฤษฎีของการวิจัย

1.4.1 เก็บตัวอย่างแบคทีเรียจากบริเวณปากปล่องภูเขาไฟจังหวัดบุรีรัมย์

1.4.2 เลี้ยงแบคทีเรียในอาหาร SA medium

1.4.3 ทดสอบความสามารถในการผลิตและชนิดของไซเดอโรฟอร์

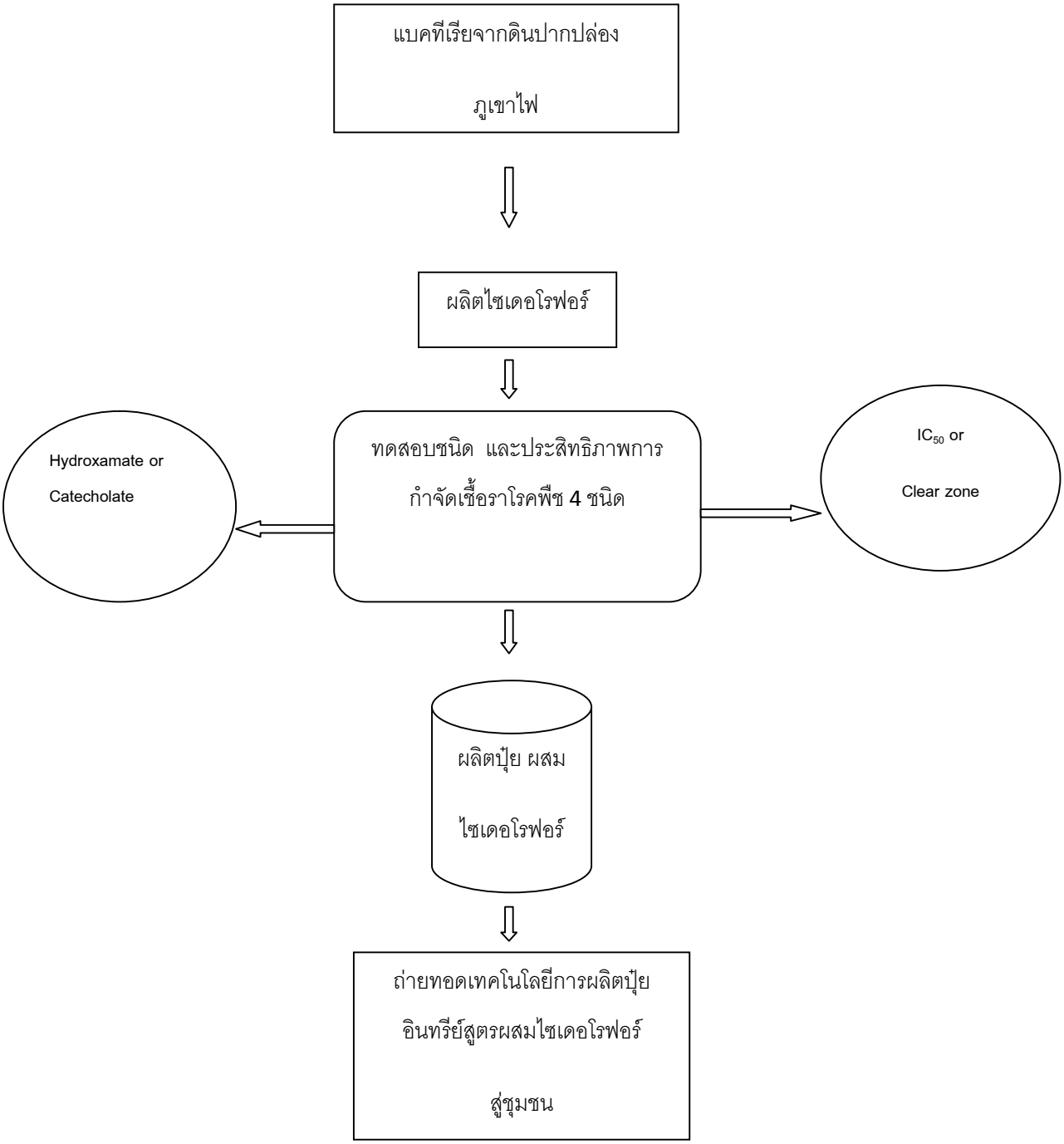
1.4.4 ทดสอบความสามารถในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคของพืชเศรษฐกิจ เช่น หอมแดง และกระเทียม

1.4.5 เพิ่มปริมาณไซเดอโรฟอร์ที่มีเปอร์เซ็นต์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคของพืชได้ดี

1.4.6 ผลิตปุ๋ยอินทรีย์สูตรผสมไซเดอโรฟอร์

1.4.7 ทดสอบปุ๋ยอินทรีย์สูตรผสมไซเดอโรฟอร์กับแปลงปลูกหอม และกระเทียมของเกษตรกรบ้านโคกเพ็ก

1.4.8 ถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยอินทรีย์สูตรผสมไซเดอโรฟอร์ให้กับชุมชนบ้านโคกเพ็ก ตำบลชุมเห็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ ตลอดจนชุมชนใกล้เคียง ซึ่งสรุปเป็นแผนภูมิได้ดังนี้


แบคทีเรียจากดินปากปล่อง
ภูเขาไฟ
ผลิตไซเดอโรฟอร์
ทดสอบชนิด และประสิทธิภาพการ
กำจัดเชื้อราโรคพืช 4 ชนิด
Hydroxamate or
Catecholate
IC50 or
Clear zone
ผลิตปุ๋ย ผสม
ไซเดอโรฟอร์
ถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ย
อินทรีย์สูตรผสมไซเดอโรฟอร์
สู่ชุมชน

1.5 ขอบเขตของการวิจัย

1.5.1 ทำการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่นำมาจากปาปล่องและจอมปลวกบนภูเขาไฟของอุทยานเขากระโดง ในจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร CAS agar อยู่ แล้วนำไปบ่มในอุณหภูมิ 35 ^{0}C เวลา 48 ชั่งโมง

1.5.2 การทำเชื้อให้บริสุทธิ์ โดยนำเชื้อแบคทีเรียที่ได้จากการเลี้ยงตามข้อที่ 1 มาทำให้บริสุทธิ์โดยเทคนิค Streak plate แล้วนำเอาไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ^{0}C

1.5.3 การผลิตสารไซเดอโรฟอร์ โดยนำแบคทีเรียแต่ละชนิด (ประมาณ 4 ชนิด) มาเลี้ยงในอาหาร SA medium

1.5.4 การแยกสารไซเดอโรฟอร์ นำสารละลายที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อไปตกตะกอนโปรตีนและเซลล์ ด้วยปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง Refrigerator centrifuge เป็นเวลา 15 นาที ด้วยความเร็ว 10,000 rpm ที่อุณหภูมิ 4 ^{0}C หลังจากนั้นนำสารไซเดอโรฟอร์ไปทำการระเหย ให้มีปริมาตรน้อยลงแล้วปล่อยให้แห้งจะสารไซเดอโรฟอร์

1.5.5 ตรวจสอบไฮดรอกซาเมทไซเดอโรฟอร์ ด้วยวิธี 1) Csaky test 2) Berg และ Becker test 3) Triphenyltetrazolium chloride test (Rioux,C., Jordan, D.C., and Rattray, J.B.M., 163-169)

1.5.6 การวิเคราะห์แคทีโคเลท ไซเดอโรฟอร์ (catecholate siderophore, phenolate) โดยใช้วิธีของ Arnow (Arnow, L.E., 1937531-537)

1.5.7 ทดสอบประสิทธิภาพในการต้านเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคของหอมแดง และกระเทียม 4 ชนิดคือ โรครากเน่า โรคต้นเน่า โรคปลายใบแห้ง และโรคใบจุดสีม่วง

1.5.8 ทำการเพิ่มปริมาณสารไซเดอโรฟอร์ที่ออกฤทธิ์ต้านเชื้อรา เพื่อนำไปเป็นส่วนผสมของปุ๋ยอินทรีย์

1.5.9 ทำการผลิตปุ๋ยอินทรีย์สูตรผสมไซเดอโรฟอร์ ซึ่งจะได้ปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษ

อย่างน้อย 2 สูตร ตามประสิทธิภาพในการต้านเชื้อราที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคของหอมแดง

และกระเทียม

1.5.10 ทดสอบประสิทธิภาพของปุ๋ยในแปลงทดลองร่วมกับเกษตรกรในพื้นที่จริง

1.5.11 จัดอบรมเพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษ two in one ให้กับกลุ่มเกษตรกรปลูกหอมแดง และกระเทียมบ้านโคกเพ็ก ตำบลซุมเห็ด อำเภอเมือง จังหวัด บุรีรัมย์ และกลุ่มเกษตรกรของหมู่อื่นๆ ที่สนใจ

1.6 ระยะเวลาและสถานที่ทำการวิจัย

ระบุระยะเวลาของแผนงานวิจัย 1 ปี และสถานที่ที่จะดำเนินการวิจัยของโครงการคือห้องปฏิบัติการศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ และแปลงปลูกหอมแดง และกระเทียมบ้านโคกเพ็ก ตำบลชุมเห็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์

1.7 กลุ่มเป้าหมายของการวิจัย

กลุ่มเป้าหมายของโครงการวิจัยคือ กลุ่มเกษตรกรปลูกหอมแดง และกระเทียม บ้านโคกเพ็ก ตำบลชุมเห็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ จำนวน 30 ครัวเรือน

1.8 ผลที่จะได้รับและผู้รับประโยชน์จากการวิจัย

1.8.1 ผลที่จะได้รับ

ผลของการวิจัยนี้ จะเป็นการแก้ปัญหาอันเนื่องมาจากการเกิดเชื้อราของหอมแดงและกระเทียม โดยจะได้สารกำจัดเชื้อราที่ได้จากผลิตภัณฑ์ในธรรมชาติ ซึ่งเป็นสารที่สลายตัว ได้ง่าย ไม่ส่งผลเสียต่อมนุษย์ และระบบนิเวศ และยังเป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อราได้ดี มีในท้องถิ่น ราคาถูก และลดต้นทุนในการผลิต ได้หอมแดง และกระเทียมที่มีคุณภาพดี ไม่มีสารพิษตกค้าง นอกจากนี้ยังเป็นการสนับสนุนการดำรงชีวิตด้วยระบบเศรษฐกิจพอเพียง จึงส่งผลดีต่อกลุ่มเกษตรกรที่ปลูกหอมแดง และกระเทียม

1.8.2 ผู้รับประโยชน์

1.8.2.1 บ้านโคกเพ็ก ตำบลชุมเห็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ และกลุ่มเกษตรกรอื่นๆ ตลอดจนผู้บริโภคทั่วไป

1.8.2.2 มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ มีนักวิจัยใหม่เพิ่มขึ้นจำนวน 1 ท่าน

1.9 วิธีดำเนินการวิจัย หรือระเบียบวิธีการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง โดยเป็นการทดลองทั้งในห้องปฏิบัติการ และที่แปลงปลูกหอมแดง และกระเทียม การถ่ายทอด ฝึกอบรม ให้กับกลุ่มเกษตรกรปลูกหอมแดง และกระเทียม ทั้งนี้จะเน้นการใช้อุปกรณ์หรือเครื่องมือที่สะดวกหาได้ไม่ยาก มีขั้นตอนการใช้งาน ไม่ซับซ้อน เช่น เครื่องกวนสาร หม้อนึ่งความดัน ตู้ถ่ายเชื้อในส่วนของห้องทดลอง จะดำเนิน

การเก็บแบคทีเรียจากปากปล่องภูเขาไฟ แยกให้บริสุทธิ์ เพิ่มจำนวน ผลิตสารไซเดอโรฟอร์ ทดสอบชนิดของไซเดอโรฟอร์และฤทธิ์การต้านเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคของหอม และกระเทียม

วัดค่า IC_{50} หรือ วัด clear zone โดยเน้นการมีส่วนร่วมของกลุ่มเกษตรกรในพื้นที่ของกลุ่มเกษตรกร จะดำเนินการผลิตปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษผสมสารไซเดอโรฟอร์ที่ได้จากแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ แล้วนำไปใช้กับแปลงเพาะปลูก

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการวิจัยเรื่อง “การถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษผสมไซเดอโรฟอร์ต้านเชื้อราก่อโรคของหอมแดงและกระเทียมสู่ชุมชน” คณะผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง โดยเสนอตามลำดับดังนี้

2.1 บริบทหมู่บ้านโคกเพ็ก อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์

2.2 โรคพืช

2.2.1 ความหมายของโรคพืช

2.2.2 ความเป็นมาของโรคพืช

2.2.3 ความสำคัญของโรคพืช

2.3 โรคของหอม และกระเทียม

2.4 เชื้อรา

2.5 ไซเดอโรฟอร์

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 บริบทหมู่บ้านโคกเพ็ก อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์

หมู่บ้านโคกเพ็กดำเนินการตามหลักเศรษฐกิจพอเพียง ซึ่งคณะผู้วิจัยจะใช้เป็นพื้นที่ถ่ายทอดเทคโนโลยีทางการเกษตร โดยมีบริบทของหมู่บ้าน (แผนชุมชนบ้านโคกเพ็ก หมู่ที่ 12, 2550) ดังนี้

2.1.1 ประวัติหมู่บ้าน

ในอดีตบ้านโคกเพ็ก หมู่ที่ 12 ต.ชุมเห็ด อ.เมือง จ.บุรีรัมย์ เป็นคุ้มหนึ่งของบ้านหนองไผ่ใหญ่ อยู่ห่างกันประมาณ 1 กิโลเมตร ในขณะนี้มีเพียง 27 หลังคาเรือน คนบ้านโคกเพ็กส่วนใหญ่ได้อพยพมาจากจังหวัดศรีษะเกษ ซึ่งในสมัยนั้นการเดินทางไปประชุมหรือทำกิจกรรมใดๆของหมู่บ้าน ใช้การเดินเท้าเป็นหลักถนนหนทางค่อนข้างลำบากและเสียเวลาชาวมากชาวบ้านมีความเห็นตรงกันว่าควรแยกออกเป็นหมู่บ้านหนึ่งเพื่อความสะดวกจึงขอไปทางอำเภอเพื่อแยกเป็นหมู่บ้านโคกเพ็กในวันที่ 12 กรกฎาคม พ.ศ. 2528

2.1.2 ด้านศักยภาพของหมู่บ้าน (ภูมิประเทศ)

ลักษณะที่ตั้งของบ้านโคกเพ็ก เป็นเนินสูง มีต้นไม้ชนิดหนึ่งคล้ายต้นไผ่ เป็นพุ่มเตี้ย ชาวบ้านเรียกว่า “ต้นเพ็ก” ชาวบ้านก็เอาชื่อของต้นไม้มาตั้งชื่อหมู่บ้าน และเอาต้นเพ็กเป็นสัญลักษณ์ประจำหมู่บ้านด้วย

2.1.3 อาณาเขตติดต่อ

ทิศเหนือติดกับบ้านหนองปรือ ตำบลกลันทา

ทิศตะวันออกติดกับบ้านโกรกขี้หนู ตำบลชุมเห็ด

ทิศตะวันตกติดกับหนองจอก ตำบลหนองตาด

ทิศใต้ติดกับบ้านหนองไผ่ใหญ่ ตำบลชุมเห็ด

2.1.4 ด้านประชากรของหมู่บ้าน

ประชากรส่วนใหญ่ประกอบอาชีพเกษตรกรรม มีทั้งหมด 53 ครัวเรือน มีประชากรทั้งหมด 263 คน แบ่งเป็น ชาย 132 หญิง 131 คน

2.1.5 ด้านภาษา

ประชาชนบ้านโคกเพ็กส่วนใหญ่ใช้ภาษาอีสาน (ภาษาลาว) ในการติดต่อสื่อสาร

ค่านิยมและความเชื่อ

2.1.6 โครงสร้างอำนาจและการปกครอง

เดิม ขึ้นกับบ้านหนองไผ่ใหญ่ หมู่ที่ 14 ตำบล อีสาน ต่อมาปี 2528 จึงได้แยกออกมา ตั้งเป็นหมู่บ้านโคกเพ็ก หมู่ที่ 12

2.1.7 ด้านการบริหารการปกครองส่วนท้องถิ่นอยู่ใต้การปกครองขององค์การบริหารส่วนตำบลชุมเห็ด โดยมีนายกองค์การบริหารส่วนตำบลชุมเห็ดคือ นายเสงี่ยม อาจทวีกุลวงค์ และมีสมาชิกองค์การบริหารส่วนตำบล 2 คน

2.1.8 การประกอบอาชีพ

ทำนา	45	ครัวเรือน
รับราชการ	1	ครัวเรือน
รับจ้างทั่วไป	3	ครัวเรือน
อาชีพอื่นๆ	5	ครัวเรือน
เลี้ยงสัตว์	40	ครัวเรือน
มีโค	90	ตัว
กระบือ	3	ตัว
มีสระน้ำสาธารณะ	2	แห่ง
พื้นที่ในการเกษตร	728	ไร่
ที่อยู่อาศัย	50	ไร่
ผลผลิตในการทำนา	3,000	กระสอบ
ใช้ปุ๋ยเคมี	400	กระสอบ
ใช้ปุ๋ยชีวภาพ	500	กระสอบ

ไปขายแรงงานต่างประเทศ 3 ราย มีรายได้เข้าครอบครัวๆ ละ 40,000 บาท/เดือน/คน

รายได้ของประชากรในแต่ละปีแต่ละครัวเรือน 24,000 บาท/ปี ซึ่งรายได้ส่วนหนึ่งได้จากการปลูกหอม และกระเทียม แต่ปัญหาที่พบในการปลูกหอม และกระเทียม คือ เชื้อรา

2.2 โรคพืช

2.2.1 ความหมายของโรคพืช

คำว่าโรคพืชหรือพืชเป็นโรค (สืบศักดิ์ สนธิรัตน. 2540 : 1-2) หมายถึง ลักษณะอาการผิดปกติของส่วนต่างๆ ของพืชอาการดังกล่าวอาจเกิดกับส่วนต่างๆของพืชได้หลายส่วนหรือ ทั้งต้นได้ในเวลาเดียวกัน สาเหตุที่ทำให้เกิดโรคอาจเป็นสิ่งที่มีชีวิตหรือไม่มีชีวิต หรือเกิดจาก การผิดปกติของสภาพแวดล้อมก็ได้ สิ่งที่มีชีวิตที่จัดว่าเป็นสาเหตุสำคัญทำให้เกิดโรคกับพืชก็เป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มที่สามารถทำให้เกิดโรคได้กับคนและสัตว์ทุกชนิดคือ รา แบคทีเรีย ไส้เดือนฝอย ไวรัส ไวรอยด์ และมายโคพลาสมา ในธรรมชาติเกษตรกร นักวิชาการหรือบุคคลธรรมดามักพบเห็นพืชมีอาการผิดปกติอยู่ทั่วไปในแปลงหรือที่มีการปลูกพืชหรือแม้แต่พืชที่ขึ้นเจริญงอกงามตามไร่-นาหรือข้างถนน ทางเดินเท้าทุกแห่ง เช่น อาการใบจุดสีน้ำตาล ใบไหม้ อาการเหี่ยว ใบด่าง ต้นหักพับบริเวณโคนต้น ผลมีขนาด สีและรูปร่างผิดปกติ เมล็ดลีบหรือพองบวมผิดปกติอาการนี้อาจพบอยู่ประปราย หรือบางแห่งอาจเกิดมากน้อยตามความเปลี่ยนแปลงของฤดูกาล บางชนิดเกิดขั้นระยะหนึ่งแล้วก็หายไป โรคหรืออาการผิดปกติเหล่านี้ถ้าเกิดไม่มากจนทำ ความเสียหายให้กับพืชแล้วมนุษย์เราก็ไม่จัดว่าเป็นปัญหากับการเกษตร แต่ถ้าท้องถิ่นที่ใดที่มีโรคเหล่านี้เกิดขึ้นมาก ทำความเสียหายให้กับผลผลิตทั้งทางตรงและทางอ้อมแล้วมนุษย์ก็จัดว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกอดโรคนั้นเป็นศัตรูของมนุษย์ทันที ขณะเดียวกันถ้าอาการที่พบรุนแรงมากขึ้น เนื่องจากสภาพแวดล้อมเช่นอุณหภูมิ ความชื้นในดิน ความชื้นในอากาศและปัจจัยอื่นๆ อำนวยทำให้ความเสียหายเกิดที่ขึ้น กับพืชย่อมมีมากขึ้นไปด้วย มนุษย์จึงจัดว่าโรคหรือจุลินทรีย์สาเหตุของโรคนั้นๆ เป็นศัตรูพืชที่สำคัญหรือศัตรูของมนุษย์ได้

การให้คำจำกัดความหรือคำนิยามของคำเป็นสิ่งที่หลายคนกระทำอยู่ทั่วไปเพื่อเป็น การอธิบายหรือบอกถึงความหมายของคำหรือวลีที่เป็นชื่อของทฤษฎีหรือสมมุติฐานที่เกี่ยวข้อง เช่นเดียวกับคำจำกัดคำว่า “การจัดการโรคพืช” ไว้หลายคนซึ่งแตกต่างกันออกไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับพื้นฐานการศึกษา ความรู้ความเข้าใจและประสบการณ์ของแต่ละคนซึ่งไม่เหมือนกัน โดยทั่วไปการจัดการโรคหมายถึง “การเลือกและใช้วิธีการที่เหมาะสมใดๆ ก็ตามที่สามารถลดความเสียหายของโรคพืชลงได้จนถึงระดับที่พืชสามารถทนอยู่ได้ในทางปฏิบัติอาจใช้วิธีการใดวิธี การหนึ่งหรือหลายวิธีร่วมกันโดยคำนึงถึงประสิทธิภาพที่สูงสุด การมีผลต่อสภาพแวดล้อมน้อยและเสียค่าใช้จ่ายน้อยที่สุด”

จากคำจำกัดความดังกล่าวมาแล้วข้างต้น ทำให้เห็นว่าในการจัดการโรคพืชตามหลักการหรือทฤษฎีแล้วเกษตรกรอาจใช้วิธีการต่างๆ ที่จะนำไปสู่การลดปริมาณเชื้อโรคในดิน ในอากาศ การป้องกันการป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อที่ติดมากับเมล็ดหรือส่วนที่ใช้ในการขยายพันธุ์พืช เช่น ท่อนพันธุ์ กิ่งตอน การลดปริมาณเชื้อโรคที่มีอยู่แล้วใช้วิธีการทางฟิสิกส์ทางเคมี การเกษตรกรรม การใช้พันธุ์ต้านทานเหล่านี้ร่วมกันในเวลาเดียวกันหรือต่อเนื่องกันก็ได้แต่ขณะที่ใช้วิธีการเหล่านี้ ความเสียหายที่เกิดขึ้นจากโรคต้องน้อยที่สุดจนพืชสามารถทนอยู่ได้และให้ผลผลิตตามปกติประกอบกับวิธีการทั้งหมดที่ต้องทำให้เกษตรกรเสียค่าใช้จ่ายต่ำและมีผลเสียต่อสุขภาพแวดล้อมน้อย ซึ่งหมายถึงว่าเกษตรกรต้องมีความรู้เกี่ยวกับเชื้อโรค เกี่ยวกับความสัมพันธ์ของเชื้อโรคกับสภาพแวดล้อม มีข้อมูลเกี่ยวกับพืชที่ปลูกที่ละเอียดพอรู้จักวิธี การประเมินความเสียหายที่เกิดจากโรคพืชชนิดต่างๆ วิธีการตรวจวินิจฉัยโรคพืช รวมทั้งวิธีการหรือขั้นตอนในการพยากรณ์โรคอยู่บ้าง

ถ้าจะเปรียบเทียบความหมายของคำว่า การควบคุมโรค (disease control) หรือที่บางคนเรียกว่าการป้องกันจำกัด กับคำว่า การจัดการโรค (disease management) แล้วจะเห็นว่ามีความหมายต่างกัน การควบคุมโรคบ่งบอกถึงการกระทำที่ เมื่อกระทำแล้วหยุดทันที แล้วคอยดูผลการกระทำว่าเป็นอย่างไร ได้ผลหรือไม่ ส่วนการจัดการโรคหมายถึงกระบวนการที่กระทำติดต่อกันเป็นระยะเวลาหนึ่งซึ่งอาจจะใช้เวลามากหรือน้อย ใช้วิธีการหลายอย่างก็ได้แล้วจึงค่อยติดตามผลที่จะได้รับการดูแลและให้ความสนใจกับโรคต่างๆ ของพืชจำเป็นต้องกระทำติดต่อกันตลอดฤดูปลูกพืชจึงเป็นหลักการสำคัญของการจัดการโรคพืชที่ดี

ในปัจจุบันนักโรคพืชวิทยาหลายคนมีความเห็นพ้องกันว่า โดยแท้จริงแล้วนักวิชาการโรคพืชทั่วไปมีวิธีการจัดการโรคพืชมานานแล้วเพียงแต่ขาดการปฏิบัติหรือปฏิบัติมากบ้างน้อยบ้างหรือบางครั้งก็ละเลยไม่ปฏิบัติให้ครบถ้วน เช่น เกษตรกรรู้จักการลดปริมาณเชื้อโรคในดิน ในอากาศ มีการตัดแต่งกิ่งต้นหรือต้นที่เป็นโรคออกทิ้งเสียการดูแลความสะอาดของแปลง

การไม่นำเมล็ดหรือท่อนพันธุ์ที่เป็นโรคไปปลูกกำจัดวัชพืชที่เป็นพืชอาศัยของเชื้อโรค การเว้นระยะปลูกให้ห่างพอสมควรการให้น้ำที่พอเหมาะเพื่อไม่ให้ดินมีความชื้นสูงเกินต้องการ การใช้พันธุ์ต้านทานการเผาทำลายเศษซากพืชมิให้เป็นแหล่งเพาะหรือขยายพันธุ์ของเชื้อโรคร่วมกันกับการใช้สารเคมี หรือร่วมกับวิธีการเขตกรรมอื่นๆ เป็นต้น ในสถานการณ์ปัจจุบัน การควบคุมโรคพืชโดยอาศัยสารเคมีเพียงอย่างเดียวไม่พอ เนื่องจากพิษตกค้างของสารเคมีที่ใช้กันมานาน โดยเฉพาะชนิดที่ไม่ได้ใช้ในการควบคุมโรคพืชชนิดต่างๆ การต้านสารเคมี (ดื้อยา) ของเชื้อโรคหลายชนิดเกษตรกรควร

หันมาใช้วิธีการลดการใช้สารเคมี และใช้วิธีการอื่นร่วมกันหรือควบคู่กับการใช้สารเคมีในการลดความเสียหายหรือลดปริมาณของเชื้อโรค เป็นการผสมผสานวิธีการควบคุมโรคเข้าด้วยกันเป็นอย่างดี

เนื่องจากวิชาการจัดการโรคพืชมีพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์สาขาชีววิทยา และสาขาเกษตรศาสตร์ ซึ่งจัดเป็นสาขาวิทยาศาสตร์ประยุกต์หลายรูปแบบผสมกับวิชาระบบนิเวศน์การเกษตร (agro-ecosystem) อย่างแน่นแฟ้น จึงมีนักวิชาการบางคนจัดวิชาการจัดการโรคพืชเป็นวิชาวิทยาศาสตร์ระบบหรือ system science เพราะวิชาดังกล่าวเกี่ยวข้องกับศาสตร์ที่มีรูปแบบการทำงานหลายรูปแบบ เช่น มีการวางแผน มีการออกแบบ การประเมินผล และการใช้ประโยชน์สูงสุดของระบบการทำงาน การจัดระบบของวิชาการจัดการทำนองนี้ทำให้เห็นว่าวิชาการจัดการโรคพืชเป็นวิชาที่ค่อนข้างมีระเบียบและระบบการทำงานอย่างแท้จริง

ในทางตรงกันข้าม มีนักวิชาการโรคพืชบางคนกล่าวว่า การจัดการโรคพืชเป็นเรื่องธรรมดาที่ปฏิบัติกันอยู่แล้วตลอดเวลาที่ผ่านมามากกว่า 100 ปี เกษตรกรหลายคนรู้จักใช้หรือ มีแนวความคิดใช้วิธีการต่างๆ ในการควบคุมการระบาดของโรค หรือลดปริมาณของเชื้อโรคหรือผสมผสานเข้าด้วยกัน อย่างไรก็ตามถ้ามองจากคำจำกัดความหรือหลักการจัดการโรคพืชแล้วจะเห็นว่า คำคำพูดของนักวิชาการโรคพืชบางคนที่กล่าวไว้ก็ยังไม่ถูกต้องนักเพราะเป็นเพียง การเริ่มต้นใช้วิชาการต่างๆ หลายวิธีเท่านั้นแต่ยังไม่มีการประเมินความเสียหายการสำรวจปริมาณของเชื้อโรค การวัดการระบาดของโรค รวมทั้งการพยากรณ์การเกิดโรคอย่างจริงจัง อาจจัดเป็นเพียงการเริ่มต้นวิชาการจัดการโรคพืชก็เป็นได้ หรือถ้าจะจัดเป็นการจัดการโรคพืช ก็ควรเป็นการจัดการโรคพืชที่ไม่สมบูรณ์แบบตามทฤษฎีหรือหลักการจัดการโรคพืชสมัยใหม่

2.2.2 ความเป็นมาของโรคพืช

ในปัจจุบันแม้ว่าการจัดการโรคพืชถูกจัดเป็นสาขาวิชาหนึ่งของการจัดการศัตรูพืชก็ตามแต่ในทางปฏิบัติแล้วอาจกล่าวได้ว่า การจัดการโรคพืชมีส่วนร่วมและเป็นที่ยอมรับกันในหมู่นักวิชาการด้วยกันหลังที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับการจัดการศัตรูพืชสาขาอื่น การจัดการแมลงศัตรูพืชมีการยอมรับและเริ่มใช้ก่อนสาขาการจัดการวัชพืชและการจัดการโรคพืชตามลำดับ โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าดูจากประวัติของการจัดการศัตรูพืชทุกสาขา

ประวัติของวิชาการจัดการโรคพืช เริ่มต้นมาจากการมีวิชาการสาขาการจัดการแมลงศัตรูพืชแล้วประมาณ 20-30 ปีดังข้อมูลโดยย่อ (สืบศักดิ์ สนธิรัตน. 2540 : 4-8) ดังนี้

เมื่อประมาณ 50 ปีมาแล้วหรือเมื่อสงครามโลกครั้งที่ 2 สิ้นสุดลง วิชาการต่างๆ ที่เกี่ยวกับสารเคมี (chemo-technology) โดยเฉพาะความรู้เรื่องการใช้สารเคมีควบคุมศัตรูพืช โรคพืชชนิดต่างๆ ได้ก้าวหน้าและดำเนินไปอย่างรวดเร็วจนเกิดปัญหาที่สำคัญหลายประเด็นโดยเฉพาะกับสภาพแวดล้อมและระบบนิเวศน์การเกษตร การมีพิษตกค้างของสารเคมีและการต้านสารเคมี (การดื้อยา) เป็นต้น โดยแท้จริงแล้วการเริ่มต้นสาขาวิชาการจัดการศัตรูพืชมาจากความคิดของนักกีฏวิทยาในสมัยก่อนที่พยายามค้นหาวิธีการควบคุมแมลงศัตรูพืชหลายชนิดที่เป็นปัญหาอยู่ในขณะนั้นนอกจากปัญหาต่างๆ ที่ได้กล่าวมาแล้ว หนังสือและบทความซึ่งโดยสตรีชาวอเมริกันชื่อ Rachel Carson โดยเฉพาะอย่างยิ่งหนังสืออ่านภาษาอังกฤษเรื่อง Silent Spring พิมพ์ออกในปี 1962 เน้นเรื่องพิษตกค้างของสาร DDT ในโลกซึ่งใช้กันอย่างกว้างขวางว่าทำให้สิ่งมีชีวิตบนโลกนี้หลายชนิดผิดปกติและล้มตายเป็นอันมาก เป็นเรื่องที่กระตุ้นและปลุกให้คนส่วนใหญ่เห็นพิษภัยที่เกิดขึ้นแล้วและกำลังจะเกิดขึ้นอีกในอนาคต เกิดความคิดในการหยุดหรือลดการใช้สารเคมีแล้วหันมาใช้วิธีการควบคุมวิธีอื่นแทน ต่อมาจึงเกิดการควบคุมศัตรูพืชแบบผสมผสาน (integrated pest control หรือ IPC) ก่อน แล้วกลายเป็นการศัตรูพืชแบบผสมผสาน (integrated pest management หรือ IPM) ซึ่งเป็นที่ยอมรับกันอย่างกว้างขวางในปัจจุบัน

ตามความจริงแล้วนักกีฏวิทยาในสมัยก่อนมีความคิดว่า การกำจัดแมลงให้สิ้นซากทำได้วิธีเดียวคือการใช้สารเคมีโดยเฉพาะสาร DDT ซึ่งมีราคาค่อนข้างถูกมากและหาได้ทั่วไป นักกีฏวิทยาเหล่านี้ลืมนึกถึงผลกระทบต่างๆที่จะเกิดตามมาประจวบกับในเวลานั้นการค้นคว้าเกี่ยวกับแมลงศัตรูป่าไม้ก็กำลังมีความสำคัญมากขึ้นเรื่อยๆ นักกีฏวิทยาในประเทศสหรัฐอเมริกาจึงแบ่งแยกความคิดออกเป็น 2 กลุ่มตามแนวความคิดในการควบคุมแมลง กลุ่มหนึ่งความคิดว่าควรใช้วิธีการทางชีววิธีร่วมกับการใช้สารเคมีที่ปฏิบัติกันอยู่แล้ว ส่วนอีกกลุ่มหนึ่งต้องการรักษาจำนวนประชากรของแมลงของแมลงให้คงที่ในระดับที่ต่ำที่สุด เนื่องจากพบว่า การทำลายแมลงศัตรูป่าไม้ให้หมดสิ้นไหเลยมีผลต่อตัวห้ำและตัวเบียนของแมลงที่พบอยู่มากโดยทั่วไปในธรรมชาติประมาณปี ค.ศ. 1950 นักกีฏวิทยาทั้งหมดจึงได้มีการประชุมปรึกษากันและมีแนวความคิดร่วมกันว่าควรมีวิธีควบคุมแมลงชนิดชนิดต่างๆทุกวิธีเข้าด้วยกันเรียกเป็น การควบคุมแบบผสมผสาน (integrated control) ต่อมาองค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) ในปี 1968 ซึ่งเล็งเห็นความสำคัญของวิธีการควบคุมแมลงศัตรูพืชวิธีนี้ จึงได้ประกาศให้คำจำกัดความหมายของ integrated control ว่าเป็น “การนำเอาวิธีการควบคุมแมลงศัตรูพืชวิธีต่างๆ มาผสมผสานกันหลายวิธีเพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืชในสภาพแวดล้อมทางการเกษตรหรือป่าไม้ทั่วไป มิใช่เป็นเพียงการรวบรวมวิธีการควบคุมแมลงศัตรูพืชทั้ง 2 วิธี ที่เคยใช้ควบคู่กันมาหรือเน้นวิธี

ใดวิธีหนึ่งเท่านั้น” ตัวอย่างเช่นการควบคุมแมลงชนิดต่าง ๆ โดยวิธีใช้สารเคมีและวิธีทาง ชีววิธีเท่านั้น แต่โดยทั่วไปเป็นการใช้วิธีควบคุมแมลงด้วยวิธีการต่าง ๆ หลายวิธีร่วมกันซึ่งอาจจะเป็นระยะเวลาใกล้เคียงกันหรือดำเนินการพร้อมกันเลยก็ได้ และต่อมาก็กลายเป็นชื่อ integrated pest control และ integrated pest management ทั้งนี้หลักการดังกล่าวเน้นเรื่องการลดการใช้สารเคมี ระมัดระวังสภาพแวดล้อมมากขึ้น ไม่เป็นการทำลายสิ่งมีชีวิตอื่น ๆให้สูญไปด้วยและควบคุมปริมาณศัตรูให้ลดลงจนถึงขีดที่ไม่สามารถทำความเสียหายทางเศรษฐกิจให้กับพืชได้เท่านั้น

ไม่เป็นที่ทราบแน่นอนว่าวิชาหรือสาขาการจัดการโรคพืชเกิดขึ้นเมื่อใดแต่จากหลักฐานที่ค้นหาได้พบว่า เป็นการแตกสาขาออกมาจากการจัดการศัตรูพืชเนื่องจากสาขาการจัดการศัตรูพืชมีพื้นฐานที่แน่นอนและมีการปฏิบัติกันอย่างจริงจังมาก่อนกล่าวคือประมาณปี ค.ศ. 1975 รัฐบาลกลางของสหรัฐอเมริกาได้เสนอโครงการ วิจัยที่เรียกว่า integrated pest control หลายโครงการซึ่งมาเรียกเป็น integrated pest management และให้การสนับสนุนด้านการเงินเป็นอย่างดี โครงการประเภทนี้ต่อมาได้รับเงินสนับสนุนเป็นโครงการขนาดใหญ่หลายโครงการ เช่นโครงการ Huffaker ซึ่งใช้เงินจำนวนมหาศาลและมีมหาวิทยาลัยขนาดใหญ่ของรัฐต่าง ๆ สนใจเข้าร่วมโครงการอีก 15 แห่ง ในช่วงเวลาเดียวกันนี้มีโครงการที่มีลักษณะคล้ายคลึงกันและสนับสนุนโดยรัฐบาลกลางโดยตรงหรือผ่านทางองค์การวิเทศสัมพันธ์ระหว่างประเทศ (US-AID) ไปยังประเทศต่าง ๆ อีกหลายประเทศ ในปี ค.ศ. 1977 กระทรวงเกษตรของสหรัฐอเมริกาได้เริ่มจัดสรรเงินอุดหนุนโครงการวิจัยผ่านทางฝ่ายส่งเสริมการเกษตรไปยังรัฐต่าง ๆทั่วประเทศและหลังจากนั้นอีก 2 ปีต่อมาคือปี ค.ศ. 1979 จึงเริ่มมีผลงานวิจัยเกี่ยวกับการจัดการศัตรูพืชออกเผยแพร่สู่เกษตรกรและประเทศต่าง ๆภายนอก พร้อมทั้งจัดโครงการดังกล่าวเป็นโครงการประจำภาคทั่วประเทศอีก4ภาค ในปี 1984 จึงมีโครงการวิจัยที่เกี่ยวกับ integrated pest management ทั่วประเทศ รัฐที่มีผลงานวิจัยมากและสำคัญมีอยู่5รัฐได้แก่ รัฐ California, New York, Florida, Wisconsin และ Kansas และต่อมาวิชานี้จึงมีการเริ่มเปิดสอนกันตามมหาวิทยาลัย รวมทั้งงานวิจัยและงานส่งเสริมเผยแพร่เพิ่มมากขึ้นตามลำดับ ปัจจุบันงานวิจัยประเภทนี้มีรายงานอยู่บ้างในประเทศที่มีวิชาการเกษตรก้าวหน้าหลายประเทศ เช่น ออสเตรเลีย อิสราเอล เยอรมันนี เนเธอร์แลนด์ และอังกฤษ เป็นต้น

ในอดีตที่ผ่านมามีการเกิดโรคพืชที่สำคัญหลายโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่งในทวีปยุโรปและอเมริกาเหนือ การตรวจเอกสารเกี่ยวกับการควบคุมโรคพืชหลายโรคพบว่ามีการใช้สารเคมีและวิธีการต่าง ๆ หลายรูปแบบเพื่อควบคุมโรคมานานแล้ว เช่นมีการใช้กำมะถันผงพ่นลงบนต้นพืช มีการใช้สารคาร์บอนไดซัลไฟด์ (carbon disulfide) ซึ่งเป็นสารเคมีองค์ประกอบแบบง่าย ๆ ร่วมกับการควบคุมโรคด้วยวิธีอื่น

เช่น การตัดหรือขุดทำลายต้นพืชที่เป็นโรค การปลูกพืชหมุนเวียน การเผาหรือการฝังตอซังใบหรือกิ่งของต้นพืชที่ตกค้างอยู่ในไร่-นา วิธีการปฏิบัติทั้งหมดนี้อาจมองดูว่าเป็นเรื่องหรือวิธีการที่ค่อนข้างล้าสมัย ไม่ค่อยมีประสิทธิภาพ หรือเป็นขั้นตอนของการจัดการโรคพืชหรือการจัดการโรคพืชแต่โบราณ แต่เป็นสิ่งที่เกษตรกรในบางประเทศที่ได้ถือปฏิบัติกันมาแล้วกว่า 100 ปี ตัวอย่างโรคพืชที่สำคัญในอดีตที่มีรายงานว่าเกษตรกรใช้หลายวิธีร่วมกันแล้วประสบความสำเร็จบ้างตามสมควรเมื่อเปรียบเทียบกับการควบคุมโดยใช้สารเคมีเพียงอย่างเดียวเช่นในปัจจุบันได้แก่

2.2.2.1 โรค late blight ของมันฝรั่ง โรคนี้เกิดจากเชื้อรา Phytopthora infestans ซึ่งเกิดปัญหาที่สำคัญมากของโรค เนื่องจากเกิดกับมันฝรั่งซึ่งเป็นอาหารหลักของคนยุโรป โรคนี้ระบาดในทวีปยุโรปตอนเหนือโดยเฉพาะไอร์แลนด์ทำให้เกิดการขาดแคลนมันฝรั่งเป็นอย่างมาก ประชากรในหลายประเทศจำเป็นต้องย้ายและอพยพไปอยู่ประเทศอื่น ชาวไอริชซึ่งขณะนั้นมีประชากรประมาณ 8.5 ล้านคน ส่วนหนึ่งคือมากกว่า 1.5 ล้านคน ได้ย้ายไปรกรากอยู่ในประเทศนี้โดยเฉพาะสหรัฐอเมริกาและออสเตรเลีย อีกส่วนหนึ่งซึ่งมากกว่า 1 ล้านคน ต้องอดอยากล้มตายเนื่องจากขาดแคลนอาหารเป็นเวลานาน เหตุการณ์นี้เกิดขึ้นเป็นระยะเวลานานเกือบ 10 ปี แต่รุนแรงมากที่สุดในช่วงระหว่างปี ค.ศ. 1845-1849 ตัวอย่างนี้จัดเป็นตัวอย่างแสดงถึงความสำคัญของโรคพืชต่อผลผลิตและต่ออาหารของพลโลกที่จัดว่า classic ตัวอย่างหนึ่ง ปัจจุบันโรคนี้ยังมีความสำคัญอยู่ไม่น้อย เพียงแต่ไม่ระบาดทำความเสียหายให้กับมันฝรั่งมากเหมือนในอดีตที่ผ่านมาเท่านั้น

การควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อรานี้ ในอดีตเกษตรกรในทวีปยุโรปใช้วิธีการควบคุมหลายวิธการ เช่นการใช้พันธุ์ต้านทาน การใช้สารเคมีซึ่งปัจจุบันจัดว่าเป็นสารเคมีที่ ไม่ค่อยมีผู้นิยมใช้กันมากนัก ได้แก่ Bordeaux mixture หรือ copper lime ส่วนสารเคมีที่นิยมใช้กันมาจนทุกวันนี้ ได้แก่ Ziram และ zinc disthiocarbamate นอกจากใช้สารเคมีดังกล่าวแล้วยังมีการเลื่อนเวลาปลูกมันฝรั่ง การเลือกเอาหัวที่มีบาดแผลหรือมีรอยช้ำทิ้งไปก่อนนำไปเป็นท่อนพันธุ์ เกษตรกรหลายรายใช้ใช้วิธีการทำลายเศษซากพืชที่เหลือจากการใช้ในแปลงและการดูแลรักษาความสะอาดภายในโรงเรือนเก็บหัวหรือท่อนพันธุ์และภายในแปลง

2.2.2.2 โรคแคระแกร็น (Stunt) ของผักกาดหวาน (sugar beet) เกิดจากไส้เดือนฝอย Heterodera schachtii จัดเป็นไส้เดือนฝอยที่สำคัญมากโดยเฉพาะอย่างยิ่งกับพืชชนิดนี้ ทำความเสียหายให้กับอุตสาหกรรมน้ำตาลในทวีปยุโรปตอนกลางได้กว้างขวางในราวปี ค.ศ. 1850-1855 ไส้เดือนฝอยชนิดนี้ระบาดทั่วไปโดยเฉพาะในประเทศเยอรมันนี ทำให้เกิดปัญหาขาดแคลนน้ำตาล

บริโภคทั้งในประเทศเยอรมันนีและหลายประเทศในยุโรป ปัจจุบันไส้เดือนฝอยชนิดนี้ก็ยังพบระบาดและทำความเสียหายอยู่บ้างในหลายประเทศในเขตหนาวและเขตอบอุ่นของโลกการควบคุมโรคนี้ในอดีต เกษตรกรชาวเยอรมันใช้วิธีการต่างๆ เช่นการอบดินด้วย แกสคาร์บอนไดซัลไฟด์ การปลูกพืชล่อ (trap crup) ให้ไส้เดือนฝอยเข้าทำลาย แล้วจึงทำลายพืชนั้น การเลื่อนเวลาปลูกและการปลูกพืชหมุนเวียน ซึ่งในอดีตจัดว่าเป็นวิธีการที่ได้ผลและประหยัดที่สุด ปัจจุบันวิธีการนี้ก็ยังคงใช้กันอยู่อย่างกว้างขวางทั่วไป วิธีหนึ่งในหลายประเทศ

ถ้ามองจากประวัติศาสตร์ของวิชาโรคพืช หรือจากประวัติของนักวิชาการโรคพืชในอดีต อาจกล่าวได้ว่าการควบคุมโรคพืชหลายโรคในอดีตใช้วิธีการต่างๆหลายวิธีร่วมกันหรือเสริมกันมานานกว่า 100 ปีแล้ว เพียงแต่ยังไม่มีผู้ใดนำความคิดนี้มาประมวลเข้าด้วยกันเพื่อให้เกิดเป็นสาขาใหม่ในปัจจุบันเรียกว่า “การจัดการโรคพืช” ซึ่งกลายเป็นของใหม่สำหรับนักโรคพืชบางคนจนบางครั้งดูเหมือนว่าการแนะนำหรือทำให้เกษตรกรปัจจุบันมั่นใจในผลสำเร็จของการใช้วิธีการต่างๆ ร่วมกันที่เรียกกันเป็น “การจัดการโรคพืช” แทบไม่มีอะไรใหม่ขึ้นมาเลย Dr. Chiarappa แห่งองค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติกล่าวไว้ในปี ค.ศ. 1974 ในหนังสือเรื่อง “การประเมินความเสียหายของพืชที่เกิดจากโรค-แมลงและศัตรูพืช” ขององค์กรอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติว่าการจัดการโรคพืชในปัจจุบันเหมือนกับความคิดดั้งเดิมของหลักการจัดการแมลงศัตรูพืชซึ่งแตกต่างกันที่วิธีการเริ่มต้น การใช้สารเคมีกำจัดเชื้อรานั้น นักโรคพืชและเกษตรกรในหลายประเทศใช้กันมานานแล้ว แต่ใช้กันในปริมาณค่อนข้างน้อย เมื่อเปรียบเทียบที่นักกีฏวิทยาใช้สารเคมีในการควบคุมแมลงจึงมีผลเปลี่ยนแปลงตามสภาพแวดล้อมโดยส่วนรวมน้อยกว่าสารเคมีที่นักกีฏวิทยาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชชนิดต่างๆ ในอดีตที่ผ่านมา

เป็นที่ยอมรับกันทั่วไปว่าประสิทธิภาพของการจัดการโรคพืช ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง วิธีการควบคุมโรคบางวิธีก็เป็นวิธีเก่า บางวิธีก็เป็นวิธีการซึ่งดัดแปลงหรือปรับปรุงมาจากวิธีการเก่าเพื่อความเหมาะสม นอกจากนี้ยังยอมรับกันว่าวิธีการจัดการแต่ละโรคแต่ละพืชก็ไม่เหมือนกัน เช่น บางโรคอาจจัดการโดยการลดปริมาณเชื้อโรค (Inoculums) บางโรคจำเป็นต้องเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมเพื่อไม่ให้เหมาะกับการเจริญเติบโตของเชื้อ หรือบางโรคอาจจำเป็นต้องมีการป้องกันไว้ก่อนมีการระบาดเป็นต้น

2.2.3 ความสำคัญของโรคพืช

ปัจจุบันการจัดการโรคพืชเริ่มเป็นที่นิยม และมีการยอมรับมากขึ้นด้วยเหตุผลและความจำเป็นหลายประการ ส่วนใหญ่เนื่องจากปัญหาที่เกษตรกรหรือนักวิชาการได้ก่อไว้ในอดีตในหลายประเทศ เหตุผลที่สำคัญที่พอสรุปได้ (สืบศักดิ์ สนธิรัตน. 2540 : 8-12) ดังนี้

2.2.3.1 การเพิ่มขึ้นของประชากรโลก

มนุษย์ทุกคนมีชีวิตอยู่ด้วยปัจจัย 4 ซึ่งเป็นผลมาจากการทำการเกษตรเป็นส่วนใหญ่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเรื่องอาหารควบคุมศัตรูพืชคือการควบคุมสิ่งมีชีวิตที่คอยแย่งอาหารหรือทำลายผลผลิตทางการเกษตรที่มนุษย์ที่พยายามปลูกขึ้นมา การคาดคะเนของนักวิชาการหลายคนพบว่าทุกปีผลผลิตทางการเกษตรถูกศัตรูพืชทำลายไปทั่วโลกรวมกันเกือบเท่ากับ 50 เปอร์เซ็นต์ แม้ว่ามนุษย์จะได้พยายามใช้วิธีการที่ทันสมัยและวิธีการควบคุมทุกวิธีเพื่อควบคุมศัตรูพืชอยู่แล้ว อาจกล่าวได้ว่าว่าการเกษตรไม่ถูกศัตรูพืชเข้าทำลายเสียหายผลผลิตส่วนรวมต้องมากกว่าที่เป็นอยู่ในปัจจุบันเกือบเท่าตัว การควบคุมศัตรูพืชทุกชนิดจึงเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่งสำหรับการชีวิตอยู่มนุษย์

เป็นที่ทราบกันทั่วไปว่าประชากรของโลกเพิ่มมากขึ้นทุกวัน จนคาดคะเนว่าอีกไม่ถึง 30 ปี ประชากรของโลกอาจเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าของที่มีอยู่ในปัจจุบันหรือ 8,000 ล้านคนส่วนใหญ่อยู่ในทวีปเอเชีย โดยมีประเทศจีนเป็นประเทศที่มีประชากรสูงสุดคือ 1,200 ล้านคน ประมาณ 400 ล้านคน การมีอาหารพอเพียงสำหรับเลี้ยงพลโลกจึงนับว่าเป็นปัญหาเป็นปัญหาใหญ่ในอนาคต

วิธีการเพิ่มผลผลิตเรื่องอาหารจัดเป็นเรื่องสำคัญเรื่องหนึ่ง ของการจัดการโรคพืชโดยตรง ทั้งนี้เพราะการเพิ่มของประชากรโลกมีส่วนทำให้สภาพแวดล้อมของโลกและระบบนิเวศน์เปลี่ยนแปลงไปด้วยตามที่เห็นกันอยู่ทั่วไป การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวทำให้การจัดการโรคพืชกระทำได้ยากขึ้นทุกวัน เพราะทุกวันนี้มนุษย์ทำให้สภาพแวดล้อมเปลี่ยนแปลงและทรุดโทรมมากอยู่แล้ว ทรัพยากรธรรมชาติถูกใช้ไปอย่างไม่ถูกวิธีบ้างหรือถูกวิธีบ้างจนเกิดมลภาวะและมลพิษอยู่ทั่วไป สิ่งเหล่านี้ทำให้การจัดการโรคพืชกระทำได้ลำบาก และมักมีผลทางเศรษฐกิจหรือสังคมตามมาอีกมากมาย

2.2.3.2 การใช้สารเคมีมากเกินไป

โดยทั่วไปการใช้สารเคมีควบคุมโรคพืช แมลงหรือศัตรูพืชชนิดอื่นจัดเป็นวิธีการหลักในการควบคุมโรคแมลงหรือศัตรูพืชทั่วไป เป็นวิธีการให้ผลดีมีประสิทธิภาพรวดเร็วประหยัดเวลาและแรงงาน แต่โดยแท้จริงก็มีผลเสียต่อส่วยรวมทั้งในระบบนิเวศน์การเกษตรต่อมนุษย์และสัตว์ทั่วไป ต่อแมลงหรือสิ่งมีชีวิตอื่นที่เป็นประโยชน์ การใช้สารเคมีมากเกินจากความรู้เท่าไม่ถึงการณ์หรือการปล่อยปะละเลยของเกษตรกรหรือการใช้สารเคมีมากเกินกำหนด ผลเสีย ฤทธิ์ตกค้าง ฤทธิ์ข้างเคียง ย่อมมีอยู่เป็นธรรมดา ผลของการใช้สารเคมีมากเกินไป มีดังนี้

1) พิษโดยตรง เป็นพิษของสารเคมีซึ่งเกิดขึ้นโดยตรง เมื่อมีการฉีด-พ่นสารเคมีแม้ว่าสารเคมีหลายชนิดสามรถสลายตัวหรือมีพิษเจือจางลงเมื่อใช้แล้วแล้วทิ้งไว้เป็นเวลานานเหลือเมื่อถูกแสงแดด เกิดเป็นปฏิกิริยาเคมีที่เรียกว่า Oxidation หรือ Reduction แต่การใช้ปริมาณมากหรือใช้ปริมาณน้อยแต่ใช้ติดต่อกันเป็นเวลานานๆ ก็ทำให้เกิดเป็นพิษกับพืช คน และสัตว์ หรือพืชนั้นตายหรือมีผลต่อระบบประสาทได้ทุกชนิด

2) พิษตกค้าง สารเคมีทั่วไปมักมีพิษตกค้างมากบ้างน้อยบ้าง ในพืชหรือสัตว์ โดยเฉพาะถ้าพิษตกค้างได้รับการสะสมมาเป็นเวลานาน หรือมีการสะสมแบบเพิ่มปริมาณ (Bio-magnification) โดยสิ่งมีชีวิตที่กินกันเป็นทอดๆ เช่น กุ้ง (หรือปลา) นกและสัตว์อื่นๆ ที่กินนกเป็นอาหารในห่วงโซ่อาหาร (Food chain) ผลของพิษตกค้างจะมีความรุนแรงเท่ากับหรือ น้อยกว่าพิษจากสารเคมีโดยตรงขึ้นอยู่กับระยะเวลา สภาพแวดล้อม ชนิดของสารเคมี และ ชนิดของพืชและสัตว์ที่ได้รับสารเคมีนั้น

3) การต้านฤทธิ์สารเคมี การต้านฤทธิ์สารเคมีหรือการดื้อยาเป็นปรากฏการณ์ที่พบเห็นบ่อย ปัจจุบันมีรายงานว่ามีเชื้อโรคหลายชนิด โดยเฉพาะเชื้อราต้านทานต่อฤทธิ์ของสารเคมี การต้านทานนี้ทำให้เกษตรกรต้องใช้สารเคมีในปริมาณสูงขึ้น สารเคมีที่ออกฤทธิ์แรงขึ้น เป็นการเพิ่มค่าใช้จ่าย เพิ่มอัตราเสี่ยงต่ออันตรายจากสารเคมีเพิ่มขึ้นจนบางครั้งการใช้สารเคมีแทบจะไม่ได้ผลหรือมีผลต่อเชื้อโรคน้อย เหตุการณ์เช่นนี้พบเห็นได้ในไร่-นาทั่วไป

4) การทำลายสิ่งที่มีชีวิตอื่นๆ ที่เป็นประโยชน์ การใช้สารเคมีเป็นการทำลายเชื้อโรคหรือศัตรูพืชที่มนุษย์ต้องการแต่ในขณะเดียวกันสารเคมีนั้นๆ ย่อมมีฤทธิ์ฆ่าแมลงหรือสัตว์อื่นที่มีประโยชน์หลายชนิด รวมทั้งสัตว์หรือสิ่งมีชีวิตอื่นๆที่ไม่เป็นอันตรายต่อพืชเลย แต่มีประโยชน์ในทาง

ระบบนิเวศน์หรือสภาพแวดล้อมในดินบริเวณรอบ ๆรากพืชได้ ผลที่ตามมา คือการทำให้เสียสมดุลของสิ่งมีชีวิตในธรรมชาติ (Natural equilibrium) เกิดมีแมลงหรือโรคสายพันธุ์ใหม่เนื่องจากแมลงหรือโรคนั้น ๆ มีอยู่แล้วในธรรมชาติเกิดระบาดรุนแรงมากขึ้น

5) การเพิ่มค่าใช้จ่ายในการควบคุมโรคเป็นที่แน่นอนว่าการใช้สารเคมีมากทำให้เสียค่าใช้จ่ายในการควบคุมโรคหรือศัตรูพืชมากขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสาเหตุหลายประการ เช่น การใช้สารเคมีชนิดใหม่ที่ออกฤทธิ์รุนแรงซึ่งมักมีราคาแพง การต้านทานฤทธิ์ต่อสารเคมีทำให้ใช้สารเคมีในปริมาณที่มากขึ้น จนบางครั้งไม่คุ้มค่าการลงทุนของเกษตรกรเป็นการเพิ่มค่าใช้จ่ายโดยไม่จำเป็นอย่างไม่รู้ตัว

2.2.3.3 การเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม

โดยทั่วไประบบนิเวศน์การเกษตร (Agro-ecosystem) จัดเป็นส่วนหนึ่งของระบบนิเวศน์ทั่วไป การทำไร่ การทำนาหรือการปลูกพืชพันธุ์ที่มนุษย์ต้องการเนื่องจากให้ผลผลิตสูง มีคุณภาพดีตามที่ต้องการก็จัดว่าเป็นการทำให้ระบบนิเวศน์เปลี่ยนไปในการปรับปรุงพันธุ์พืชหรือการผสมพันธุ์เพื่อให้ได้พันธุ์พืชใหม่ก็จัดว่าการเปลี่ยนแปลงระบบนิเวศน์ได้อีกรูปแบบหนึ่งยิ่งเมื่อมีการใช้สารเคมีมากขึ้นการเปลี่ยนแปลงสภาพแปลง วิธีการปฏิบัติต่อดิน ต่อพืช เพื่อให้เหมาะสมกับพืชเพื่อให้พืชเจริญเติบโตมากที่สุด ยิ่งทำให้ระบบนิเวศน์ทางการเกษตรและสภาพแวดล้อมเปลี่ยนไปมากขึ้นเท่านั้น การเปลี่ยนแปลงที่มากเกินไปอาจทำให้เกิดโรคหรือแมลงศัตรูพืชที่มากขึ้นจนกลายเป็นการระบาดได้ บางครั้งทำความเสียหายให้มนุษย์จนแก้ปัญหาไม่ได้ ก็มีปรากฏมาหลายครั้งในอดีต แม้ว่าการเกิดโรคหรือการระบาดของแมลงจะเป็นส่วนหนึ่งของความสมดุลในธรรมชาติและเป็นการรักษาสมดุลของสิ่งมีชีวิตในสภาพแวดล้อมหรือระบบนิเวศน์นั้น ๆ ไว้ก็ตาม

2.2.3.4 วิธีการทำการเกษตรสมัยใหม่

การทำการเกษตรแบบโบราณหรือที่ชาวเขาเผ่าต่าง ๆ ทางตอนเหนือของประเทศไทยยังคงถือปฏิบัติอยู่บ้างแม้ทุกวันนี้ก็คือ การเก็บรวบรวมอาหารจากต้นพืชที่ขึ้นอยู่ทั่วไปในป่า การทำการเกษตรแบบนี้ไม่มีการปลูกพืชชนิดใหม่ ไม่มีการเคลื่อนย้ายพืชไปปลูกในที่ต่าง ๆ ต้นพืชที่มนุษย์นำมาเป็นอาหารมีกระจัดกระจายอยู่ทั่วไป ในแต่ละแห่งมีไม่มากและกินเนื้อที่บริเวณแคบวิธีการทำการเกษตรแบบนี้แม้มีโรคพืชชนิดต่าง ๆรวมทั้งศัตรูพืชอื่น ๆ อยู่บ้าง แต่ความรุนแรงมักมีไม่มาก เนื่องจากได้ความสมดุลตามธรรมชาติของสิ่งมีชีวิตและไม่มีชีวิตในระบบนิเวศน์นั้น

ต่อมาเมื่อมนุษย์มีจำนวนประชากรมากขึ้น รู้จักการทำการเกษตร เพื่อให้มีอาหารพอเพียงกับการเพิ่มของประชากร พื้นที่ปลูกพืชแต่ละชนิดต้องขยายกว้างกินเนื้อที่มากขึ้น โดยเฉพาะในประเทศที่มีวิทยากรการเกษตรเจริญก้าวหน้าหลายประเทศ ปัจจุบันจึงมีการกปลูกพืชชนิดเดียวเป็นแปลงใหญ่ (Monoculture หรือ Monocropping) ตามวิธีการเกษตรสมัยใหม่มากขึ้นมีการผสมพันธุ์ คัดพันธุ์เพื่อให้ได้พันธุ์ใหม่ หรือพันธุ์ที่ดีกว่าเดิมที่มีอยู่แล้วเพื่อตอบสนองความต้องการของมนุษย์เรื่องรสชาติ เรื่องปริมาณผลผลิต เรื่องความสูง-เตี้ย

การเก็บเกี่ยวง่ายและเร็ว เป็นต้น ซึ่งการกระทำดังกล่าวถ้ามองในระบบนิเวศการเกษตรหรือนิเวศวิทยาแล้วจะเห็นว่ามีผลต่อระบบนิเวศเป็นอย่างมาก ปัจจุบันการเกิดโรคระบาดทำความเสียหายให้มากเกิดมาจากเหตุผล 2 ประการ คือ

1) การคัดพันธุ์พืชหรือผสมพันธุ์พืชใหม่ที่ให้ผลผลิตสูงและมีคุณสมบัติอื่นๆ ตรงตามความต้องการของมนุษย์หรือตลาดทั่วไป การคัดพันธุ์หรือผสมพันธุ์ดังกล่าวทำให้พืชมีสภาวะของยีน (Genotype) ที่เหมือนกันหมด ปัจจุบันพบว่าการปลูกพืชชนิดนี้หลายประเทศมีโรคระบาดเกิดขึ้นอย่างมากมาย เนื่องจากบริเวณนั้นหรือท้องที่นั้นมีเชื้อโรคอยู่บ้างแล้วและเชื้อโรคสามารถปรับตัวให้เข้ากับพันธุ์พืชใหม่ได้ดี พืชจึงตกเป็นพืชอาศัยที่ดีไปโดยปริยาย ยิ่งปลูกเป็นเวลานานการระบาดของโรคก็ย่อมมีรุนแรงขึ้นตมไปด้วย

2) การผสมพันธุ์หรือการคัดพันธุ์เพื่อให้ได้พันธุ์ใหม่ อาจมีพืชหลายชนิดที่มียีน (Gene) ที่มีความอ่อนแอต่อโรคแฝงอยู่ในสภาวะของยีน (genotype) แล้วในโดยนักผสมพันธุ์ไม่ทราบถึงความอ่อนแอต่อโรคบางชนิด ซึ่งยีนประเภทนี้มักไม่แสดงออกในระยะแรกหรือบางครั้งยังไม่มีการทดสอบยีนชนิดนี้ดีพอหลังจากผสมพันธุ์พืชนั้นแล้วเมื่อนำไปปลูกในที่ต่างๆ พืชจึงแสดงอาการของโรคออกมาให้เห็นอย่างเด่นชัดเช่นปัญหาของโรคข้าวบางโรคในประเทศไทย เป็นต้น

เพื่อให้มีอาหารพอเพียงกับความต้องการของมนุษย์ที่เพิ่มมากขึ้นทุกปีรวมทั้งด้านการเกษตรในปัจจุบันจะผลิตเพื่อกิน-ใช้ภายในประเทศแล้ว ยังต้องมีเพียงพอสำหรับส่งไปขายต่างประเทศ เพื่อมีเงินตราต่างประเทศเข้ามาหมุนเวียนภายในประเทศ มนุษย์จึงจำเป็นต้องใช้วิธีการเกษตรสมัยใหม่เกือบทุกประเทศ แต่การกระทำดังกล่าวเป็นการจัดการให้มีพืชชนิดเดียวกันมาอยู่รวมกันในที่เดียวกัน พร้อมกันในเวลาเดียวกัน สิ่งเหล่านี้จึงเหมาะแก่การแพร่ระบาดของเชื้อโรคที่สำคัญหลายโรคดังที่ทราบกันอยู่ ระยะนี้จึงน่าจะเป็นเวลาที่เหมาะสม ถ้าการจัดการโรคพืชจะได้เข้ามามีบทบาทในการขจัดหรือลดความเสียหายที่จะเกิดขึ้นจากโรคพืชได้เป็นอย่างดี

จากที่ได้กล่าวมาแล้วแสดงให้เห็นว่า การทำการเกษตรสมัยใหม่มีส่วนทำในการทำให้สภาพแวดล้อมหรือระบบนิเวศการเกษตรเปลี่ยนแปลงทางที่ไม่ค่อยอำนวยต่อการเป็นอยู่ของมนุษย์มาก โดยที่มนุษย์รู้เท่าไม่ถึงการณ์เสียเป็นเวลาส่วนใหญ่เพียงต้องการสนองความต้อง การของมนุษย์เท่านั้น แต่อาจอาจจะยังไม่สายเกินไปถ้าเราจะมาช่วยกันแก้ไขให้ทุกอย่างอยู่ในสภาพเช่นนี้หรือดีกว่าที่เป็นอยู่ได้ถ้ามีความร่วมมือกันอย่างดีและพร้อมใจช่วยกันแก้ไขในอนาคต

สรุป การเปลี่ยนแปลงวิธีการทำเกษตรจากวิธีการโบราณ มาเป็นวิธีการเกษตรสมัยใหม่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้สารเคมีกำจัดแมลงศัตรูพืชเป็นเวลานานและในปริมาณมากในอดีตที่ผ่านมา จัดเป็นบทเรียนเรื่องผลเสียต่อสมดุลของธรรมชาติและสภาพแวดล้อมเป็นอย่างดี อาจยังไม่เป็นการสายเกินไปที่มนุษย์โลกเริ่มยอมรับ และหันมาแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นหลายอย่าง ซึ่งเป็นสิ่งที่ไม่มีใครคาดคิดมาก่อน การจัดการโรคพืชเป็นเพียงวิธีการหนึ่งในหลายวิธีที่มีส่วนช่วยให้ปัญหาสิ่งแวดล้อมลดลงอย่างน้อยที่สุดก็เป็นการลดการใช้สารเคมีลงได้บ้างแต่ต้องกระทำพร้อมกับการใช้วิธีการควบคุมโรควิธีการอื่นทุกวิธีที่มนุษย์กระทำได้ มิฉะนั้นปัญหาต่างๆ ที่เกิดขึ้นในอนาคตอาจไม่มีทางแก้ไขเลยก็ได้ การเริ่มต้นใช้วิธีการจัดการโรคพืชขณะนี้จึงเป็นทางเลือกสุดท้ายที่เหลือเพียงทางเดียวและเป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมที่สุด

2.3 โรคของหอม และกระเทียม (Diseases of *Alliums* sp.)

หอมและกระเทียมเป็นพืชผักในวงศ์ Amarylliaceae ที่มีคุณค่าทางอาหาร และทางยาสูง ใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารไทยและต่างประเทศเป็นที่นิยมบริโภคแทบทุกครัวเรือน ผลผลิตในประเทศยังไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด บางส่วนต้องการนำเข้าจากต่างประเทศ จึงเป็นพืชที่เกษตรกรนิยมปลูกเนื่องจากผลผลิตได้ราคาดี พืชในวงศ์นี้ที่อยู่ในประเทศไทย ได้แก่ หอมหัวใหญ่ (onion : *Allium cepa*) หอมแดงหรือหอม (multiplier onion : *Allium eepa* var. aggregatum) หอมต้นหรือหอมแบ่ง (shallot : *Allumum ascalonicaum*) กระเทียม (garlic : *Allium sativum*) กระเทียมใบ (leek : *Allium porrum*) และกุ๊ยฉ่าย (Chiver : *Allium schorenoprasum*) อุปสรรคสำคัญในการเพิ่มผลผลิตพืชเหล่านี้ คือ มีโรคหลายชนิดเข้าทำลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงฤดูฝน เมื่อเป็นโรคแล้วทั้งหอมและกระเทียมจะเน่าอย่างรวดเร็ว ทำให้ต้องสูญเสียผลผลิตไปปีละมาก ๆ โรคที่สำคัญ (ศศิธร วุฒิวณิชย์. 2545 : 114-119) ได้แก่

2.3.1 โรคเน่าและที่เกิดจากแบคทีเรีย (Bacterial soft rot)

เป็นโรคที่สร้างความเสียหายมากแก่หัวหอมใหญ่ ตั้งแต่เริ่มลงหัวจนถึงระยะใกล้ เก็บเกี่ยว โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสภาพอากาศร้อนอบอ้าวและมีฝนตกชุก ถ้าในการปลูกขาดการดูแลอย่างใกล้ชิด และไม่มีแผนการป้องกันโรคที่ดี โอกาสที่จะเกิดโรคและแพร่ระบาดมีค่อนข้างสูง ถ้าโรคระบาดในระยะหอมแก่ใกล้เก็บเกี่ยว ผู้ปลูกจะรีบเก็บหอมที่ยังไม่แสดงอาการของโรคไปขายก่อนกำหนด เพื่อหลีกเลี่ยงการเน่าเสียในแปลง หอมหัวใหญ่ที่ไม่แสดงอาการเน่าบางส่วนอาจมีเชื้อโรคติดไปด้วย ถ้าหลังการเก็บเกี่ยวแล้ว เก็บรักษาผลผลิตไว้ในห้องที่แห้ง และเย็นถึงซึ่งไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ หัวหอมอาจไม่แสดงอาการผิดปกติให้เห็น แต่ในขณะที่นำออกมาจำหน่ายในตลาดหรือระหว่างการขนส่งระยะไกล เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นเชื้อโรคจะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ก่อให้เกิดอาการเน่า และเป็นเหตุให้ผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยวเสียหายมาก

2.3.1.1 ลักษณะอาการ

เชื้อจะเข้าสู่พืชทางบาดแผลที่บริเวณคอหรือโคนต้น แล้วไปเจริญเพิ่มจำนวนอยู่ในช่วงว่างระหว่างเซลล์ บริเวณกาบใบ สร้างเอ็นไซน์เพคโตไลติก (Peclytic enzyme) ย่อยสารเชื่อมระหว่างพืชทำให้เซลล์แยกหลุดจากกัน เกิดรอยช้ำสีน้ำตาลอ่อนแผ่ขยายออกอย่างรวดเร็ว มีเมือกแย้มแฉะ ส่งกลิ่นเหม็นมาก ต้นหอมที่เป็นโรคจะเน่ายุบตายอยู่ในแปลง

2.3.1.2 สาเหตุโรค เกิดจากแบคทีเรีย *Erwinia carovora* sub sp. Carotovora

เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อนสั้นและอ้วน เคลื่อนที่ได้ด้วย peritrichous flagella 1-9 เส้น ก่อให้เกิดโรคเน่าและในพืชผักต่างๆ มากมายหลายชนิด การอยู่ข้ามฤดูและการแพร่ระบาดของโรค ต้นหอมหัวใหญ่ที่เป็นโรคซึ่งเต็มไปด้วยเซลล์แบคทีเรียมากมายจะเน่ายุบอยู่ในแปลง เชื้อจะแพร่กระจายได้ดีโดยน้ำ และเข้าสู่พืชทางบาดแผล เชื้อสาเหตุ ทีเป็นโรคนี้สามารถมีชีวิตอยู่ข้ามฤดูในดินได้นาน

2.3.1.3 สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเกิดโรค

เชื้อแบคทีเรียเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วในสภาพอากาศร้อน อุณหภูมิประมาณ 30-37 ^{0}C และ เข้าทำลายพืชได้ในสภาพความชื้นแปลงสูง พืชมีบาดแผลมาก โรคจะรุนแรงมากขึ้นถ้ามีพืชที่อ่อนแอต่อโรคปลูกซ้ำลงในแปลงเดิมอย่างต่อเนื่อง ความเสียหายก็จะมากขึ้นตามลำดับ

2.3.1.4 การควบคุมโรค

1) กำหนดเวลาการปลูกหอมให้แก่และเก็บเกี่ยวก่อนที่จะถึงช่วงฤดูฝน ซึ่งเป็นช่วงที่เสี่ยงต่อการเกิดโรค

2) ก่อนปลูกควรทำความสะอาดแปลง เก็บเศษซากพืชรุ่นที่แล้วออกให้หมด เตรียมดินให้ระบายน้ำได้เร็ว อย่าให้มีบริเวณน้ำขังแฉะในแปลง

3) ในระหว่างที่หอมหัวใหญ่กำลังเจริญเติบโต ควรควบคุมปริมาณหนอนหรือแมลงที่จะทำให้พืชเกิดบาดแผลการปฏิบัติการใดๆ ในแปลง ควรทำด้วยความระมัดระวังอย่าให้พืชเกิดบาดแผล

4) หมั่นสำรวจแปลง เมื่อต้นพบเป็นโรคแม้เพียง 1 ต้น ควรรีบขุดล้อมไปเผาทำลาย แล้วราดดินบริเวณนั้น ด้วยสารเคมีควบคุมโรคพืช ที่มีทองแดงเป็นองค์ประกอบ และงดให้น้ำสัก 2 -3 วัน เพื่อป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อ

5) การให้น้ำควรให้เป็นครั้งคราว ถ้าเป็นการให้น้ำแบบพ่นฝอย (Sprinkler) ขนาดและความแรงของน้ำ ควรพอเหมาะ ไม่แรงเกินไปจนทำให้พืชเกิดรอยซ้ำ

6) ควรลดความชื้นของผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยว โดยการผึ่งลม และเก็บในโรงเรือนที่สภาพอากาศแห้งและเย็น

7) การบรรจุและขนส่งผลผลิต ควรมีการจัดการที่ดี เลือกใช้บรรจุภัณฑ์ที่มีขนาดเหมาะสม สะอาด สามารถระบายความร้อนได้และวัสดุรองรับเพื่อลดความบอบช้ำของผลผลิตในระหว่างการขนส่ง

2.3.2 โรคแอนแทรคโนส (Anttracnose) หรือ หอมเลื้อย

เป็นกับหอมหัวใหญ่โดยเฉพาะอย่างยิ่งพันธุ์เปลือกหุ้มหัวสีขาว ซึ่งค่อนข้าง

อ่อนแอต่อโรคมากกว่าพันธุ์เปลือกหุ้มหัวสีน้ำตาล เชื้อสาเหตุโรคสามารถเข้าทำลายพืชตั้งแต่ ต้นยังเล็ก ทำให้ใบหอมบิดเบี้ยวและเลื้อย จึงเรียกโรคหอมเลื้อย หรืออาจเข้าทำลายในระยะหอมลงหัว แต่ยังไม่ปรากฏอาการให้เห็น เพิ่งจะแสดงอาการเกิดแผลที่หัวอย่างชัดเจนเมื่อหอมแก่ หรือหลังจากเก็บผลผลิตมาแล้ว

2.3.2.1 ลักษณะอาการ

ถ้าเชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลายต้นหอมหัวใหญ่ในระยะก่อนแล้ว จะพบอาการหอมเลื้อย โดยใบของหอมหัวใหญ่จะแบน บิดและยืดยาวออก ต่อมาอาจพบแผลสีเขียวหม่นขยายกว้างอย่างรวดเร็ว เนื้อเยื่อบริเวณแผลยุบตัวมีจุดสีดำเล็กๆ (acevulus) เรียงซ้อนเป็นวงอยู่ในบริเวณแผล ในสภาพอากาศชื้นจัดอาจพบเมือกของเชื้อรา (slime mass) สีชมพูอมส้มอยู่ในบริเวณนี้ด้วย เมื่อแผลจำนวนแผลขยายใหญ่จะทำให้ใบหักพับต้นทรุดโทรมแห้งตาย ถ้าเชื้อโรคเข้าทำลายในระยะลงหัว จะพบแผลลักษณะดังกล่าวขนาดใหญ่ และเห็น acervurus ได้ชัดเจนที่กาบไปนอกสุดของหัว เชื้อจะลุกลามสู่กาบใบชั้นในทำให้หัวเน่า

2.3.2.2 สาเหตุโรค เกิดจากเชื้อรา *Colletorichum circinnans*

เป็นราใน KINGDOM FUNGI Phylum Ascomycota ระยะสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศสร้าง conidia รูปร่างทรงกระบอกที่ตรงกลางป่อง หัวท้ายมน ขนาดประมาณ 3-4 x18-28 ไมโครเมตร เซลล์เดียว ค่อนข้างใสเมื่อรวมอยู่กันมากๆ จะเห็นเป็นสีครีมอ่อนๆ อยู่ในโครงสร้างที่ทำให้เกิดสปอร์แบบ acevulus ที่มี setae แซมอยู่ทั่วไป

2.3.2.3 การกำเนิดและการแพร่ระบาดของโรค

เมื่อ conidia ของเชื้อสาเหตุโรคเจริญเต็มที่จะถูกดีดออกมา ปลิวไปตามลม กระเด็นไปกับหยดน้ำฝนที่ตกกระทบหรือติดไปกับปีก – ขาของแมลง เมื่อตกลงบนพืชในสภาพแวดล้อมเหมาะสมจะเข้าสู่พืชได้โดยตรงแบบ direct penetration โดยการงอก germ tube แล้วสร้าง appressorium เพื่อยึดเกาะกับผิวพืช จากนั้นสร้าง infertion peg ดันผ่านผิวเข้าไปโดยไม่จำเป็นต้องมีบาดแผลหรือช่องเปิดธรรมชาติ ด้วยวิธีเชื้อราสามารถเข้าสู่พืชที่บริเวณใดก็ได้ แต่ถ้าเป็นบริเวณที่อวบน้ำผิวเซลล์อ่อนบางเชื้อราจะเข้าสู่พืชได้ง่ายขึ้น บางครั้งเชื้อสาเหตุโรคแทงผ่านเข้าสู่หอมหัวใหญ่ตั้งแต่ระยะลงหัว แต่ยังไม่แสดงอาการผิดปกติให้เห็น อาจเนื่องจากสภาพแวดล้อมช่วงนั้นไม่เหมาะสมต่อการพัฒนาของโรค

จะแสดงอาการของโรค อย่างชัดเจน เมื่อหัวหอมแก่หรือหลังจากเก็บผลผลิตมาแล้ว ทำให้หัวหอมเน่าเสียหายมาก ขณะเก็บในโรงเก็บหรือรอจำหน่าย

2.3.2.4 สภาพแวดล้อมที่เหมาะต่อการเกิดโรค

Conidia จะงอก germ tube ได้ตั้งแต่อุณหภูมิ 13-25 ^{0}C แต่จะงอกดีที่สุดที่ 20 ^{0}C ส่วนการเข้าทำลายพืชเกิดขึ้นได้ตั้งแต่อุณหภูมิ 10-32 ^{0}C แต่จะเกิดโรคที่ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 26 ^{0}C ในสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ของอากาศสูงๆ โรคนี้มักระบาดในช่วงที่หมอกและน้ำค้างจัด

2.3.2.5 การควบคุมโรค

1) เลือกปลูกหอมหัวใหญ่พันธุ์ข้างต้านทานโรค โดยทั่วไปพันธุ์ที่มีเปลือกหุ้มหัวสีน้ำตาล จะเป็นโรคน้อยกว่าพันธุ์เปลือกหัวสีขาว

2) ในช่วงที่ความชื้นในแปลงสูง ถ้าพบต้นที่แสดงอาการของโรค ควรรีบถอนนำไปเผาทิ้ง แล้วฉีดพ่นต้นที่เหลือด้วยสารเคมีควบคุมเชื้อรา เช่น mancozed, Prochloraz หรือ mancozed ผสม carbendazim อย่างใดอย่างหนึ่ง เพื่อป้องกันการแพร่ระบาด

3) การเก็บเกี่ยวผลผลิตหอมหัวใหญ่และกระเทียม ควรทำเมื่อแก่พอเหมาะ หลังจากเก็บแล้ว ควรนำมาผึ่งลมให้กาบเปลือกนอกสุดแห้งโดยเร็ว ส่วนการเก็บรักษาเพื่อรอจำหน่าย ควรเก็บในโรงเรือนที่แห้งและเย็น

2.3.3 โรคใบจุดสีม่วง (Purple blotch)

เป็นโรคที่ระบาดสร้างความเสียหายมากแก่หอม-กระเทียม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงปลายฤดูฝนต่อฤดูหนาวซึ่งเป็นระยะที่มีหมอกและน้ำค้างจัด

2.3.3.1 ลักษณะอาการ

เกิดแผลรูปร่างคล้ายกระสวย หัวท้ายเรียว ตรงกลางป่อง เป็นแผลสีม่วงซีดๆ และมีบริเวณสีเหลืองซีด ล้อมรอบแผล มักพบเชื้อราสาเหตุโรคสร้าง Conidia สีน้ำตาลดำอยู่มากมายในบริเวณแผลทำให้แผลมีสีคล้ำแผลจะขยายตัวอย่างรวดเร็ว ไปตามความยาวของใบหอม ทำให้ใบไหม้ ต้นทรุดโทรม ในต้นที่เป็นโรคอย่างรุนแรงเชื้ออาจลุกลามเข้าทำลาย ทำให้หัวเน่าด้วย

2.3.3.2 สาเหตุโรค เกิดจากเชื้อรา *Alternaria porri* เป็นราที่จัดอยู่ใน KINGDOM FUNGI กลุ่มย่อย Loculoascomycetes ระยะสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศสร้าง Conidia ขนาดใหญ่ ผนังหนา สีน้ำตาลเข้ม ฐานอ้วนมน ส่วนปลายเรียวคล้ายกับฟินโบว์ลิ่ง (รูปร่างแบบ muriform) มีผนังกั้นทั้งตามยาวและตามขวาง แต่ละ conidia มีหลายเซลล์เกิดอยู่บนก้าน conidia phonre เชื้อราชนิดนี้สร้าง Conidia ได้ครั้งละมากๆ

2.3.3.3 การเกิดและการแพร่ระบาดของโรค

เมื่อ Conidia เจริญเต็มที่ จะปลิวไปตามลม กระเด็นไปกับหยดน้ำฝน ที่ตกกระทบ ติดไปกับปีก-ขาของแมลงหรือสิ่งที่มาสัมผัส เมื่อตกลงบนพืชอาศัยที่อ่อนแอต่อโรค ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม จะงอก germ tube แทงผ่านเข้าสู่พืชได้โดยตรง หรือเข้าทางปากใบ ก่อให้เกิดการติดเชื้อขึ้นและหลังจากนั้นเพียง 4-5 วัน พืชจะแสดงอาการของโรคให้เห็นและสร้าง conidia ชุดใหม่อยู่ในบริเวณแผล พร้อมที่จะแพร่ระบาดต่อไป เมื่อพืชตายลง conidia ของเชื้อราจะติดอยู่เศษซากพืชที่ตกค้างอยู่ในแปลง สามารถมีชีวิตอยู่ข้ามฤดูได้ประมาณ 1 ปี ดังนั้น ในแปลงที่เคยมีโรคระบาดมากมาก่อน ถ้ามีการปลูกพืชพวกหอม–กระเทียม ซ้ำลงไป โอกาสที่พืชจะเป็นโรคอีกมีค่อนข้างสูง นอกจากนี้เชื้อราสาเหตุโรคสามารถติดไปกับเมล็ดพันธุ์และมีชีวิตอยู่ในเมล็ดพันธุ์ได้นาน 2-3 เดือน

2.3.3.4 สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเกิดโรค

เชื้อรา *A. porri* ต้องการสภาพความชื้นสัมพัทธ์ ของอากาศค่อนข้างสูงในการก่อให้เกิดโรคนี้จึงระบาดสร้างความเสียหายมากในช่วงปลายฤดูต่อฤดูหนาว ระยะที่มีหมอกและน้ำค้างจัด อุณหภูมิที่เหมาะต่อการเกิดโรคอยู่ในช่วง 25 - 28 ^{0}C

2.3.3.5 การควบคุมโรค

1) หลังเก็บเกี่ยวผลผลิตพืชแต่ละรุ่นควรกำจัดเศษซากพืชและวัชพืชออกจากแปลงให้ทั้งหมด เพื่อลดการสะสมของเชื้อโรคในแปลง

2) กำหนดระยะเวลาปลูกหอม หลีกเลี่ยงช่วงที่สภาพอากาศเหมาะสมต่อการเกิดโรค

3) การปลูกหอม-กระเทียมในช่วงฤดูฝน ควรเว้นระยะปลูก

ให้ห่างกว่าปกติ เพื่อให้มีช่องว่างระหว่างต้น ระหว่างแถว สามารถระบายความชื้นออกจากแปลงได้เร็ว

4) เมื่อเริ่มพบต้นเป็นโรค ควรรีบถอนนำไปเผาทำลาย ระยะนี้ควรลดความชื้นในแปลงลง แล้วใช้สารเคมีพวก Mancozeb, Difenoconazole หรือ Iprodione อย่างใดอย่างหนึ่ง ฉีดพ่นเพื่อลดปริมาณเชื้อโรคในแปลงและป้องกันการแพร่ระบาดของโรค

5) ควรปลูกพืชชนิดอื่นหมุนเวียนสลับกันไป เพื่อตัดวงจรโรคโรคน้ำค้าง (Downy mildew) เป็นโรคที่พบปะปรายในแปลงปลูกหอม- กระเทียม ที่จังหวัดราชบุรี กาญจนบุรี และเชียงใหม่ ในฤดูที่อากาศเย็นและมีหมอก น้ำค้างจัด หรือความชื้นในแปลงสูง

2.3.3.6 ลักษณะอาการ

ต้นหอม-กระเทียม มักจะแคระแกรน ใบสีซีดจาง หรือเหี่ยว

เมื่อสังเกตดีๆ จะพบแผลกลมรีเล็กๆ สีเหลืองซีดเป็นจำนวนมาก แผลจะขยายออกไปตามความยาวของใบ เมื่ออากาศชื้นจัดๆ จะพบเชื้อราเจริญปกคลุมเป็นฟิล์มบางๆ ฉาบอยู่ในบริเวณที่เหลืองซีด ต่อมาในบริเวณนี้ก็จะแห้งตาย

2.3.3.7 สาเหตุโรค เกิดจากเชื้อรา *Peronosporn destructor* เป็นราชั้นต่ำใน KINGDOM CHROMISTA Class Order Pernosporales Family Peronosporaceae เส้นใยเป็นแบบไม่มีผนังกั้นตามขวาง ระยะสืบพันธุ์ แบบไม่อาศัยเพศ สร้าง aporangium รูปไข่ หรือรูปร่างคล้ายมะนาวฝรั่ง (lemon-shaped) ขนาดประมาณ 18-29 x 40-72 ไมโครเมตร เกิดที่ปลายก้าน sporangiophore ที่เรียวยาว ส่วนปลายแตกกิ่งเป็นมุมแหลม ส่วนระยะสืบพันธุ์ แบบอาศัยเพศ สร้าง oospore

2.3.3.8 การเกิดและการแพร่ระบาดของโรค

เมื่อมีพืชอาศัยที่อ่อนแอต่อโรคปลูกลงในแปลง ประกอบกับสภาพแวดล้อมในขณะนั้นเหมาะสมต่อการเกิดโรค oospore ที่ตกค้างอยู่ในแปลง จะงอก germ tube เข้าทำลายพืชได้โดยตรง หรืออาจสร้าง sporangium 1-2 อัน แล้วใช้ sporangium เป็น inoculum ในการลายเข้าพืช เมื่อเข้าสู่พืชได้แล้ว จะสร้างเส้นใยแบบไม่มีผนังกั้นเจริญอยู่ในช่องว่างระหว่างเซลล์พืช แล้วส่ง haustoria ดูดน้ำเลี้ยงจากเซลล์พืช เมื่อเส้นใยเจริญเต็มที่ก็จะสร้าง sporangium ชุดใหม่ขึ้นมาและใช้เป็น inoculum

ในการเข้าทำลายพืชทีปลูกอยู่ในแปลงตลอดฤดูกาล เมื่อถึงระยะเก็บเกี่ยวหรือพืชใกล้ตาย เชื้อราสาเหตุโรคเริ่มขาดแคลนอาหาร จึงมีการสร้าง oospore ซึ่งเป็นสปอร์ที่มีผนังหนาหลายชั้น สามารถทนต่อ

สภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดี ใช้เป็นโครงสร้างในการอยู่ข้ามฤดูต่อไป โดย oospore จะติดอยู่ในเศษซากพืชที่เป็นโรคที่ตกค้างอยู่ในแปลง

2.3.3.9 สภาพแวดล้อมที่เหมาะต่อการเกิดโรค

เชื้อสาเหตุโรคเจริญเติบโตและเข้าทำลายพืชได้ดี ที่อุณหภูมิประมาณ 13- 19 ^{0}C ในสภาพความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศสูงกว่า 95 % ติดต่อกันอย่างน้อย 4 -5 ชั่วโมง

2.3.3.10 การควบคุมโรค

1) หลังจากเก็บเกี่ยวผลผลิตพืชแต่ละรุ่น ควรกำจัดเศษซากพืชและวัชพืชออกจากแปลงให้หมด

2) กำหนดเวลาปลูกพืช หลีกเลี่ยงช่วงที่สภาพแวดล้อมเหมาะสมต่อการเกิดโรค

3) เลือกปลูก หอม- กระเทียม พันธุ์ที่ค่อนข้างต้านทานโรค

4) เมื่อพบต้นเป็นโรค ควรลดความชื่นในแปลงลง และใช้สารเคมีควบคุมเชื้อรา เช่น Mancozeb, Metalazyl หรือ Benalaxy ผสมกับ Mancozeb ฉีดพ่นเพื่อลดปริมาณเชื้อโรคและป้องกันการแพร่ระบาด

5) ควรปลูกพืชชนิดอื่น หมุนเวียน เพื่อลดการสะสมของเชื้อสาเหตุโรคใดโรคหนึ่ง

2.3.4 โรคราแป้ง (Powdery mildew)

มีรายงานพบโรคราแป้งของหอมหัวใหญ่ ระบาดในอิสราเอลเมื่อปี พ.ศ. 1958 (Palti, 1959) พบในรัฐแคลิฟอเนียร์ สหรัฐอเมริกา เมื่อปี ค.ศ. 1985 สำหรับในประเทศไทยพบเมื่อปี พ.ศ. 2533 ที่แปลงทดลองของคณะเกษตร มหาวิทยาลัยขอนแก่น โดยเป็นกับหอมพันธุ์เปลือกหุ้มหัวสีแดงส้ม อาการของโรคอยู่ในระดับปานกลางรุนแรงมาก ส่วนหอมพันธุ์เปลือกหุ้มหัวสีเหลืองที่ปลูกในแปลงเดียวกันไม่แสดงอาการของโรค (ศุภลักษณ์, 2538)

2.3.4.1 ลักษณะอาการ

เห็นได้ชัดที่ใบแก่ โดยเกิดแผลรูปไข่ ขนาดประมาณ 0.3-0.5 ซม. สีขาวอมเทาอ่อน ต่อมาแผลจะขยายออกตามความยาวของใบ อาจมีขนาดใหญ่ถึง 2 ซม. บริเวณแผลเป็นสีเหลืองซีด มีเชื้อราสีขาวอมเทาอ่อนปกคลุมอยู่ตันที่เป็นโรคอย่างรุนแรงอาจพบเชื้อราปกคลุมทั้งใบ ทำให้ใบแห้งหรือเน่า

2.3.4.2 สาเหตุโรค เกิดจากเชื้อรา *Oidiopsis sicula*

เป็นราใน KINGDOM FUNGI phylum Ascomycota Order Erysphales ระยะสืบพันธุ์ แบบไม่อาศัยเพศ สร้าง conidia รูปทรงกระบอกหรือรูปคล้ายปลายหอกขนาด 25 -95 x 14-20 ไมครอน เกิดเดี่ยว ๆ บนก้าน conidiophore ที่แตกแขนงได้และยื่นออกมาจากปากใบ ส่วนระยะสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศร้าง ascospore ขนาด 12-22 x 25-40 ไมครอน สำหรับในประเทศไทยยังไม่มีรายงานพบระยะพันธุ์แบนบอาศัยเพศของเชื้อนี้

2.3.4.3 สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเกิดโรค

โรคนี้มักระบาดในช่วงฤดูหนาว ซึ่งสภาพอากาศค่อนข้างแห้งและเย็น ในระยะที่หมอกและน้ำค้างจัด

2.3.4.4 การอยู่ข้ามฤดูของเชื้อโรค

โรคนี้มักระบาดในช่วงฤดูหนาว ซึ่งสภาพอากาศค่อนข้างแห้งและเย็น ในระยะหมอกและน้ำค้างจัด

2.3.4.5 การอยู่ข้ามฤดูของเชื้อโรค

ในเขตที่อากาศไม่หนาวจัด เชื้อสาเหตุโรคราแป้งสามารถอยู่ข้ามฤดูในรูปของเส้นใยที่พักตัว ติดอยู่ในเศษซากพืช ที่เป็นโรคที่ตกค้างอยู่ในแปลง หรือติดไปกับส่วนขยายพันธุ์พืช นอกจากนี้เชื้อยังสามารถอยู่ข้ามฤดูได้ใน volunteer plant และวัชพืชหลายชนิด

2.3.4.6 การควบคุมโรค

1) กำจัดเศษซากพืช วัชพืช และอย่าให้มี volunteer plant หลงเหลืออยู่ในแปลง

2) เลือกปลูกหอมหรือกระเทียมพันธุ์ที่มีความต้านทานโรค
เมื่อเริ่มพบต้นเป็นโรค ประกอบกับสภาพอากาศเหมาะสมต่อการเกิดโรค ควรฉีดพ่นด้วยสารเคมีควบคุมเชื้อรา เช่น Dinoccap, Rifforie หรือ Benonyl) เพื่อป้องกันการแพร่ระบาด

2.3.5 โรคน้ำค้าง (Downy mildew)

เป็นโรคที่พบประปรายในแปลงปลูกหอม-กระเทียม ที่จังหวัดราชบุรี กาญจนบุรี และเชียงใหม่ ในฤดูที่อากาศเย็นและมีหมอก น้ำค้างจัด หรือความชื้นในแปลงสูง

2.3.5.1 สาเหตุโรค เกิดจากเชื้อรา *Peronospora destructor*

เป็นราชั้นต่ำใน KINGDOM CHROMISTA Class Oomyces Order Peronosporales Family Peronosporaceae เส้นใยเป็นแบบไม่มีผนังกั้นตามขวาง ระยะสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ สร้าง sporangium รูปไข่ หรือรูปร่างคล้ายมะนาวฝรั่ง (lemon-shaped) ขนาดประมาณ 18-19 x 40-72 ไมโครเมตร เกิดที่ปลายก้าน sporangiophore ที่เรียวยาว ส่วนปลายแตกกิ่งเป็นมุมแหลม ส่วนระยะสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ oospore

2.3.5.2 การเกิดและการแพร่ระบาดของโรค

เมื่อมีพืชอาศัยที่อ่อนแอต่อโรคปลูกลงในแปลง ประกอบกับสภาพแวดล้อมในขณะนั้นเหมาะต่อการเกิดโรค oospore ที่ตกค้างอยู่ในแปลง จะงอก germ tube เข้าทำลายพืชได้โดยตรง หรืออาจสร้าง sporangium เป็น inoculum ในการเข้าทำลายพืช เมื่อเข้าสู่พืชได้แล้ว จะสร้างเส้นใยแบบไม่มีผนังกั้นเจริญอยู่ในช่องว่างระหว่างเซลล์พืช แล้วส่ง haustoria ดูดน้ำเลี้ยงจากเซลล์พืช เมื่อเส้นใยเจริญเต็มที่ก็จะสร้าง sporangium ชุดใหม่ขึ้นมาและใช้เป็น inoculum ในการเข้าทำลายพืชที่ปลูกอยู่ในแปลงตลอดฤดูปลูก เมื่อถึระยะเก็บเกี่ยวหรือพืชใกล้ตาย เชื้อราสาเหตุโรคเริ่มขาดแคลนอาหาร จึงมีการสร้าง oospore ซึ่งเป็นสปอร์ที่มีผนังหนาหลายชั้น สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมได้ดี ใช้เป็นโครงสร้างในการอยู่ข้ามฤดูต่อไปโดย oospore จะติดอยู่ในเศษซากพืชที่เป็นโรคที่ตกค้างอยู่ในแปลง

2.3.5.3 สภาพแวดล้อมที่เหมาะต่อการเกิดโรค

เชื้อสาเหตุโรคเจริญเติบโตและเข้าทำลายพืชได้ดี ที่อุณหภูมิประมาณ 13-19 ^{0}C ในสภาพความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศสูงกว่า 95 % ติดต่อกันอย่างน้อย 4-5 ชั่วโมง

2.3.5.4 การควบคุมโรค

1) หลังจากเก็บเกี่ยวผลผลิตพืชแต่ละรุ่น ควรกำจัดเศษซากพืชและวัชพืชออกจากแปลงให้หมด

2) กำหนดเวลาปลูกพืช หลีกเลี่ยงช่วงที่สภาพแวดล้อมเหมาะต่อการเกิดโรค

3) เลือกปลูกหอม-กระเทียม พันธุ์ที่ค่อนข้างต้านทานโรค

4) เมื่อเริ่มพบต้นเป็นโรค ควรลดความชื้นในแปลงลง และใช้สารเคมีควบคุมเชื้อรา เช่น mancozeb, metalaxyl ผสมกับ mancozeb ฉีดพ่นเพื่อลดปริมาณเชื้อโรคและป้องกันการแพร่ระบาด

5) ควรปลูกพืชชนิดอื่น หมุนเวียน เพื่อลดการสะสมของเชื้อสาเหตุโรคใด โรคหนึ่ง

2.4 เชื้อรา (Fungi)

เป็นอินทรีย์ที่มีนิวเคลียสเป็นแบบมีผนังท่อหุ้ม (eucaryotic nucleus) ส่วนใหญ่มีโครงสร้างเป็นเส้นใย (hyphae) ซึ่งสามารถแตกแขนงกลายเป็นกลุ่มเส้นใย (mycelium) เส้นใยของเชื้อราแบ่งเป็น 2 แบบคือ แบบที่ไม่มีผนังกั้น (coenocytic or non-septate hyphae) ภายในมีนิวเคลียสกระจัดกระจาย และแบบที่มีผนังกั้น (non-ciebicytic or septate hyphae) แบ่งเน้นใยออกเป็นช่องๆ ตามขวาง แต่ละช่องปกติมี 1 นิวเคลียส การขยายพันธุ์และแพร่ระบาดส่วนใหญ่โดยการสร้างสปอร์ ซึ่งมีทั้งสปอร์ที่เกิดแบบอาศัยเพศ (sexual spore) และ เกิดแบบ ไม่อาศัยเพศ (asexual spore) ภายในโครงสร้างที่ให้กำเนิดสปอร์ (fruiting body) แบบต่างๆ

การจำแนกหมวดหมู่ของเชื้อราสาเหตุโรคพืช (Classification of Plant Pathogenic fungi)

เชื้อราเป็นสาเหตุโรคพืชกลุ่มใหญ่ ที่มีความหลากหลายเป็นสาเหตุโรคต่างๆ ของพืชหลายชนิด (Agrios, G.N. 1997) ได้มีการจัดจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคพืชเป็น 3 Kingdom คือ

2.4.1 Kingdom Protozoa ได้แก่ myxomycetes และ plasmodiophoromycetes

2.4.2 Kingdom Chromista ได้แก่ oomycetes

2.4.3 Kingdom Fungi (เดิมเรียก Eumycota หรือ Mycetae) เป็น true fungi ได้แก่ chytridiomycetes, zygomycetes, ascomycetes, basidiomycetes และ deuteromycetes อาการผิดปกติที่เกิดจากเชื้อรา ได้แก่

1) อาการแผลจุด (spots) เป็นอาการเซล,ตาม ที่มีรูปร่างและขอบเขตของแผลที่แน่นอน ลักษณะแผลจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของพืชและเชื้อราที่เข้าทำลาย เช่น อาการโรคใบจุด (leaf spot) ของพริกที่เกิดจากเชื้อรา *Cercospora capsici* อาการโรคใบจุดและต้นไหม้แห้งของกะหล่ำและผักกาดต่าง ๆ ที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria brassecae* หรือ *A. brassicecola*

2) อาการไหม้ (bilght) เป็นอาการเซลล์ตายลุกลามเป็นบริเวณกว้างไม่มีขอบเขตที่แน่นอน อาการเกิดกับใบ กิ่งก้าน และลำต้นของพืช ถ้าเป็นที่ใบจะเรียกว่าอาการ ใบไหม้ (leaf spot) เช่น โรคใบไหม้ (southern leaf blight) ของข้าวโพด ที่เกิดจากเชื้อรา *Bipolaris* (*Helminthosporium maydis*) ถ้าเป็นกับส่วนของลำต้น จะเรียกลำต้นไหม้ (stem blight) เช่น อาการโรคต้นไหม้แห้งของหน่อไม้ฝรั่ง ที่เกิดจากเชื้อรา *Phomhpsis asparagi*

3) อาการเน่า (rot) เป็นอาการเซลล์ตาย เนื้อเยื่อเน่า เกิดได้กับทุกส่วนของพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งส่วนของผลและราก เช่น อาการโรครากเน่า (root rot) ของมะละกอ

ที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium* spp. อาการโรค รากและโคนเน่า (root and stem rot) ของมะนาว ที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica*

4) อาการเหี่ยว (wilt or vascular disease) เป็นอาการที่ใบและกิ่งก้านเหี่ยวลู่ลงมา เหลืองและแห้งตายในที่สุด อาการเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อรามักเกิดทีละส่วนอาจเริ่มเหี่ยวเหลืองแห้งจากใบตอนล่าง หรือซีกใดซีกหนึ่งของลำต้นก่อนแล้วค่อยลุกลามทั้งต้น เกิดเนื่องจากเชื้อราเข้าไปเจริญเพิ่มจำนวนอยู่ในท่อน้ำ (xylem) ของพืชทำให้เกิดการอุดตันไม่สามารถลำเลียงน้ำไปสู่ส่วนต่าง ๆ ได้ เชื้อราบางชนิดอาจสร้างเอนไซน์ (enzyme) ทำลายเนื้อเยื่อบางส่วนในระบบท่อลำเลียง หรือสร้างสารพิษทำให้เซลล์สูญเสียคุณสมบัติในการเก็บกักและลำเลียงน้ำ เช่น อาการโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici

5) อาการราน้ำค้าง (dorwny mildew) จะเห็นได้ชัดที่ใบ โดยใบพืชที่เป็นโรคจะมีลักษณะเหลืองซีด (chlorosis) ในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว เช่น ข้าวโพด ข้าวฟ่าง อ้อย มักจะเหลืองซีดเป็นแถบไปตามความยาวของใบ ส่วนพืชใบเลี้ยงคู่ เช่น กะหล่ำ แตง องุ่น และถั่วเหลือง ใบพืชมักเหลืองซีดเป็น

หย่อมๆ เมื่ออากาศชื้นจัด เช่น ในช่วงเช้าตรู่หรือหลังฝนตกใหม่ๆ จะพบเส้นใยและสปอร์ของเชื้อรา สาเหตุโรคเจริญปกคลุมบริเวณที่เหลืองซีดนั้นเป็นฟิล์มบางๆ ลักษณะเป็นปุ้ยสีขาวหรือสีเทาอ่อน เห็นได้ชัดทางด้านท้องใบ เมื่ออากาศแห้งจะพบแต่อาการเหลืองซีดเท่านั้น ต่อมาเนื้อเยื่อบริเวณนี้จะแห้งตาย เช่น อาการโรคราน้ำค้างของกะหล่ำและผักกาดต่างๆ ที่เกิดจากเชื้อรา *Peronospora parasitica*

6) อาการราแป้ง (powdery mildew) พบลักษณะคล้ายผงแป้งสีขาวหรือ

สีเทาอ่อน ปกคลุมอยู่บนใบและส่วนต่างๆ ของพืชเป็นหย่อมๆ เมื่อเป็นนานๆ ส่วนของพืชบริเวณนั้นจะพอง บิดเบี้ยว เสียรูปทรงและแห้งตาย เช่น อาการโรคราแป้งของแตงที่เกิดจาก เชื้อรา *Oidium* sp.

7) อาการแอนแทรคโนส (anthracnose) เป็นแผลสีน้ำตาลรูปร่างกลม หรือ รี ขนาดค่อนข้างใหญ่เนื้อเยื่อบริเวณกลางแผลยุบตัวลงเล็กน้อย มัดพบจุดสีดำเล็กๆ เรียงเป็นวงซ้อนกันอยู่ในบริเวณแผล จุดสีดำ คือโครงสร้างที่ให้กำเนิดสปอร์ แบบ acervulus เช่น อาการโรคแอนแทรคโนสของพริก ที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp.

8) อาการราสนิม (rust) เป็นตุ่มนูนเล็กๆ สีน้ำตาลแดงหรือสีสนิม ภายในเต็มไปด้วยผงสปอร์ของเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรค เมื่อสปอร์ถูกสร้างมากๆ และเจริญเต็มที่จะดันให้ผิวพืชปริออกเห็นกลุ่มสปอร์เป็นขุยสีสนิม เช่น อาการโรคราสนิมของถั่วฝักยาว ที่เกิดจากเชื้อรา *Uromyces phaseoli* var. uignae

9) อาการราเขม่าดำ (smut) ส่วนของพืชจะเป็นโรคจะบวมโตกว่าปกติ ภายในเต็มไปด้วยผงสปอร์สีน้ำตาลเข้มของเชื้อราสาเหตุโรค (gall forming smut) เช่น อาการโรคราเขม่าดำของข้าวโพดที่เกิดจาก *Ustilago maydis* บางครั้งส่วนของพืชที่เป็นโรคจะมีขนาดปกติ ไม่บวมโต แต่ทั้งภายในและภายนอกเต็มไปด้วยผงสปอร์ของเชื้อราเช่นกัน (non-gall forming smut) เช่น อาการโรคราเขม่าดำหรือแส้ดำของอ้อย ที่เกิดจากเชื้อรา *Ustilago scitaminae*

10) อาการเน่าคอดิน (damping-off) มักเกิดกับพืชในระยะกล้า โดยจะเกิดรอยช้ำฉ่ำน้ำตรงบริเวณรอบโคนต้นที่อยู่ใกล้กับผิวดิน ต่อมารอยช้ำจะแผ่ขยายกลายเป็นสำน้ำตาลและบริเวณนี้จะคอดลง ทำให้ลำต้นหักพับที่ส่วนโคน มักจะพบต้นกล้ามีลักษณะใบเหลืองซีดและฟุบตายเป็นหย่อมๆ เช่น อาการโรคเน่าคอดินของกล้าผักเกิดจากเชื้อรา *Pythium* spp.

11) อาการรากบวม (club root) รากจะบวมโตกว่าปกติ เนื่องจากเชื้อสาเหตุสร้างสารกระตุ้นให้เซลล์พืชบริเวณราก แบ่งตัวและมีการเจริญเติบโตมากกว่าปกติ เช่น อาการของโรครากบวมของกะหล่ำและผักกาดต่างๆ ที่เกิดจากเชื้อรา *Plasmodiophora brassicae*

12) อาการยอดแห้งตาย (die-back) เป็นอาการแห้งตายจากปลายยอดหรือส่วนบนลามลงมาด้านล่างมักเป็นอาการประกอบของโรคที่เกิดจากเชื้อราเข้าทำลาย เช่น เชื้อรา *Calletotrichum* sp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสสามารถทำลายทุกส่วนของต้นพืช ทำให้เกิดอาการ die-back ได้

13) อาการสแคป (scab) เป็นแผลสะเก็ดตื้นๆ เกิดขึ้นที่บริเวณผิว มักเกิดกับส่วนผลของพืช เช่น อาการ scab ของแอปเปิ้ล เกิดจากเชื้อรา *Venturia* sp.

14) อาการแคงเกอร์ (canker) ที่เกิดจากเชื้อรา มักพบในไม้ผลเมืองหนาว โดยเกิดแผลสีน้ำตาลรอบตาหรือกิ่งเล็กๆ บริเวณกลางแผลจะยุบตัวลงและสีคล้ำ ในขณะที่ขอบแผลยกนูนขึ้นเป็นชั้นๆ ฟูคล้ายฟองน้ำและแตกออก เช่น อาการแคงเกอร์ของแอปเปิ้ลและแพร์

ที่เกิดจากเชื้อรา *Nectria* sp.

นอกจากอาการดังกล่าวข้างต้น เชื้อรายังอาจก่อให้เกิดอาการผิดปกติอื่นๆ ได้อีก แต่เนื่องจากพบไม่บ่อยนักจึงไม่ได้นำมากล่าวในที่นี้

2.5 สารไซเดอโรฟอร์ และกลไกการผลิดสารไซเดอโรฟอร์ของเชื้อแบคทีเรีย

ในการดำรงชีพของจุลินทรีย์จำเป็นต้องอาศัยกระบวนการทางเมแทบอลิซึมซึ่งเป็นกระบวนการทางชีวเคมีที่สำคัญมีเหล็กเป็นธาตุอาหารที่มีความสำคัญยิ่ง แต่จุลินทรีย์ต้องการปริมาณต่ำ (Micronutrient) ซึ่งในธรรมชาติเหล็กจะอยู่ในรูปของอกซิเดชั่น 2 ตัว คือ Fe^{2+} (ferrous) และ Fe^{3+}(ferric) โดยจะเป็นตัวขนส่งอิเล็กตรอน ดังนั้นจึงพบเหล็กใน Cytochron และ Non-iron electron carrier ของสายโซ่ขนส่งอิเล็กตรอนนกจากนี้ยังพบว่าเหล็กมีความสำคัญที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมหลายกระบวนการ และยังเป็นส่วนประกอบของเซลล์ เป็นตัวกลางในกระบวนการเมแทบอลิซึม มีผลต่อผลผลิตต่างๆ ที่ได้จากกระบวนการเมแทบอลิซึม

ตารางที่ 2.1 การควบคุมของเหล็กในจุลินทีย์

หน้าที่	ผลกระทบ
องค์ประกอบของเซลล์	ถ้าขาด: ยับยั้งการเจริญ ลดการสังเคราะห์ DNA หรือ RNA ยับยั้งการเกิดสเปอร์และเซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง
เป็นตัวกลางในเมแทบอลิซึม	กระบวนการที่ต้องการธาตุเหล็ก : Tricarboxylic acid cycle, electron transport, oxidative phosphorylation, nitrogen fixation, biosynthesis, photosynthesis
เป็นผลผลิตของเมแทบอลิซึม	Porphyrin, toxin, vitamin, hydroxamate, cytocrome, pigment, siderophore, aromatic compound, DNA, RNA
โปรตีนและเอนไซน์	Peroxidase, nitrogenase, hydrogenase, ferritin iron sulfur protein, rib nucleotide

ภายใต้สภาวะทางกายภาพอออนของเหล็กโดยเฉพาะอออนของเฟอร์ริกไม่สามารถละลายอกมาในตัวกลางได้ ณ ค่าความเป็นกรด-เบสที่เป็นกลาง ส่วนใหญ่เหล็กที่ละลายยากนั้น มักจะอยู่ในรูปของสารเชิงซ้อนโพลีนิวเคลียร์เฟอร์ริกออกซิโดไฮดรอกไซด์ (poly nuclear ferric oxidohydroxide . $Fe(OH)_3$) ซึ่งเป็นสารเชิงซ้อนที่จุลิทรีย์ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้เนื่องจากสารเชิงซ้อนนี้มีความสามารถในการละลายเพียง 10^{-38} โมลาร์ ซึ่งถือว่าน้อยมากในการละลายของเหล็ก ณ ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เป็นกลาง ในขณะที่ค่าความสามารถในการละลาย อิออนเหล็กอิสระสูงมากถึง 10^{-17} โมลาร์ดังนั้นเมื่อเกิดสภาวะดังกล่าวข้างต้นจุลิทรีย์บางชนิดจึงมีความจำเป็นต้องสร้างกลไกบางอย่างภายในเซลล์ เพื่อช่วยในการขนส่งเข้าไปภายในเซลล์ให้เพียงพอต่อความต้องการของกระบวนการเมแทบอลิซึม เมื่อนำจุลิทรีย์มาเลี้ยงในอาหารที่มีธาตุเหล็กอย่างจำกัด จุลินทรีย์หลายชนิดสร้างสารที่มีคุณสมบัติในการที่จะดึงเอาธาตุเหล็กที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมเพื่อนำไปใช้ในกระบวนการ เมแทบอลิซึม สารดังกล่าวนี้คือ ไซเดอโรฟอร์ (siderophore) ซึ่งมีรากศัพท์มาจากภาษากรีก แปลว่าผู้ขนส่งเหล็ก (iron carrier) หรือที่เคยเรียกกันมาก่อน คือ sideramine และ siderochrome

ไซเดอโรฟอร์ ถูกผลิตขึ้นมาเป็น ligand อิสระ และกลายเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับเหล็กในอาหาร เพื่อฟอรมเป็น ferric complex ซึ่งสารประกอบนี้จะถูกนำไปใช้ในการนำเหล็กเข้าสู่เซลล์ ไซเดอโรฟอร์จะมีจำเพาะต่อ ferric ion (Fe^{3+}) สูง ($K_f > 10^{30}$) ซึ่งความเสถียรของ ferric complex ปกติคงที่ ที่ 10^{25}-10^{30} ดังในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ค่าคงที่ความเสถียรของสารไซเดอโรฟอร์กับเหล็ก

ligand	Producing organism	logKs
Ferrioxamine B (Desferal	*Streptomyes pilosus*	30.6
Ferricchrome	*Ustilago sphaerogena*	29.1
Ferricchrome A	*Ustilago sphaerogena*	29.6
Aerobactin	*Klebsiella pilimanice*	22.9
Rhodotorulic acid (dimeric)	*Rhodotorula pilimanice*	31.2
Mycobactic	*Mycobacterium smegmatis*	>30.6
Enterochelin	*Escherichia coli*	52, less at neutral pH
Agrobactin	*Agrobacterium tumefaciens*	Enterochelin at neutral pH
Parabactin	*Paracoccus denitrificans*	Enterochelin at neutral pH

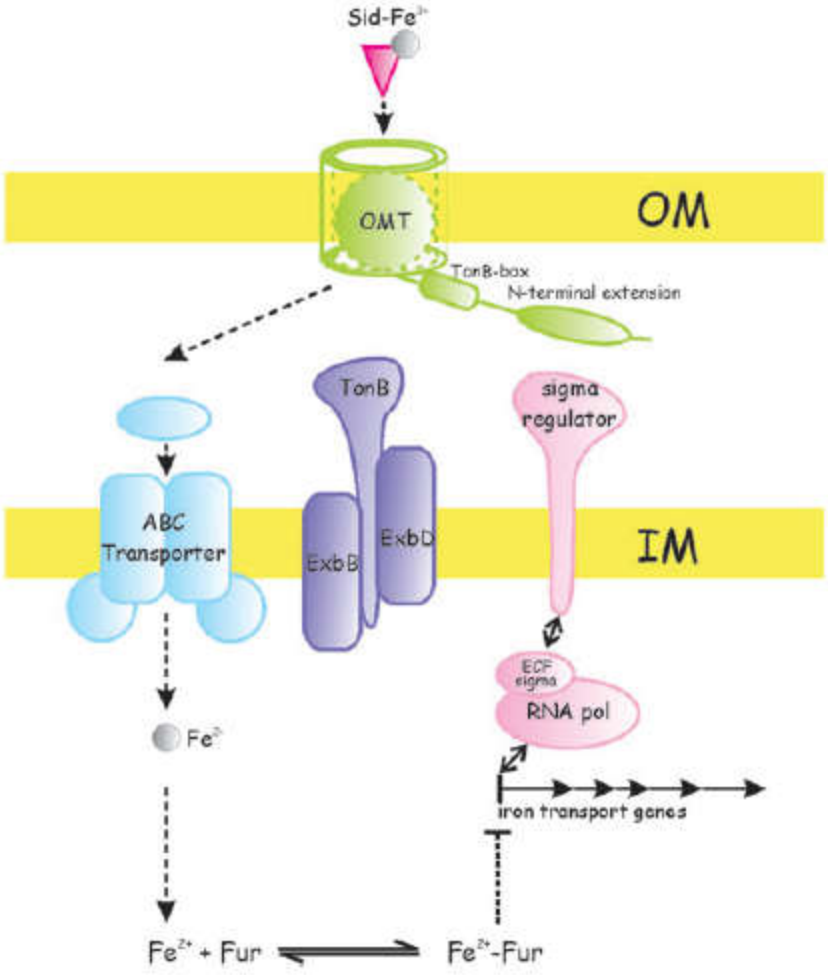
(ที่มา : Persmark, Magnus, Expert, Dominque and Neilands, J.B., 1989 : 3192)

มีการศึกษากลไกการขนส่งไซเดอโรฟอร์ที่อยู่ในแบคที่เรียและรา จากการทดลองไซเดอโรฟอร์หลายชนิด จนได้มีการเสนอกลไกที่อาจจะเกิดขึ้นภายนอกและภายในเซลล์ ซึ่งสรุปสั้นๆได้ 3 ขั้นตอน

1. Diffusion เป็นขั้นตอนการซึมผ่านชั้นเนื้อเยื่อ cytoplasmic membrane ของไซเดอโรฟอร์ เพื่อออกสู่ภายนอกเซลล์

2. Active transport เป็นการใช้พลังงานภายในเซลล์ที่ช่วยในการขับดันไซเดอโรฟอร์ซึ่งเป็นกลไกในการขนส่ง

3. กระบวนการขนส่งสารเชิงซ้อนของเหล็ก-ไซเดอโรฟอร์ (Fe -siderophore complex) เข้าสู่ภายในเซลล์



ภาพที่ 2.1 กลไกการดึงเหล็กมาใช้ของแบคทีเรียของสารไซเดอโรฟอร์

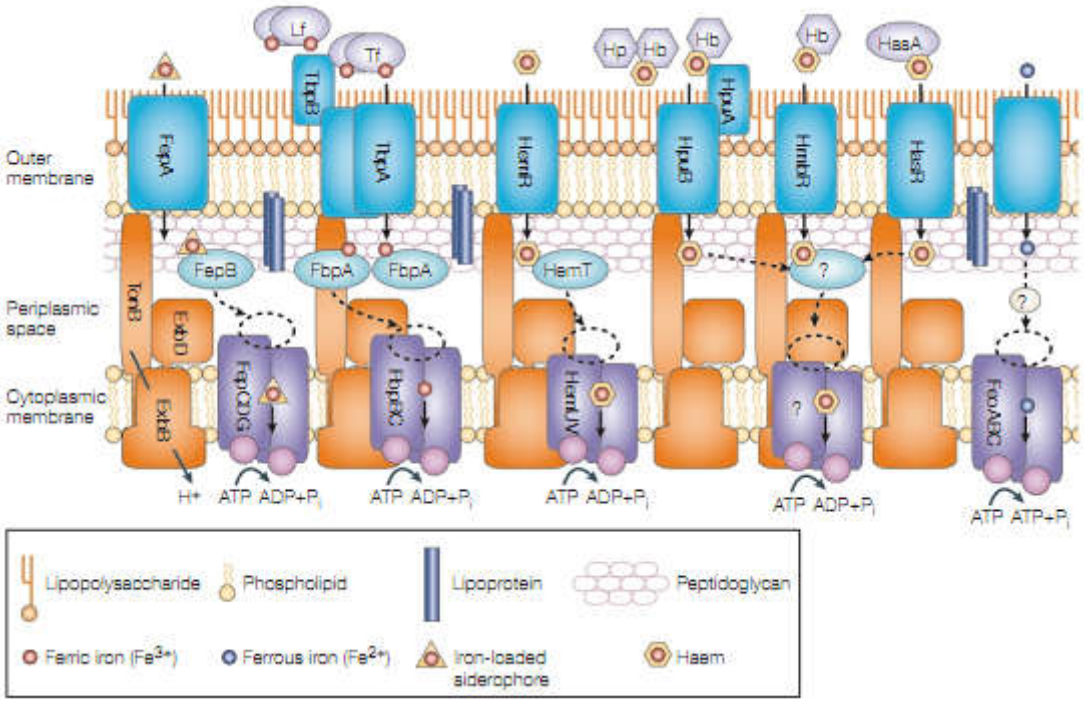
(ที่มา : Schalk, Isabelle J., Yue, Wyatt W., and Buchanan, Susan K., 2004 : 14-22)

จากภาพที่ 2.1 สามารถกล่าวสรุปโดยย่อดังนี้ ถ้าในสิ่งแวดล้อมภายนกเซลล์ของแบคที่เรียที่มีเหล็กอยู่ปริมาณมาก โดยทั่วไปเซลล์แบคทีเรียสามารถดึงเหล็กที่อยู่ภายนอกเซล์เข้าสู่เซลล์โดยตรงด้วยกระบวนการซึมผ่านตามปกติ แต่ถ้าเมื่อใด สิ่งแวดล้อมนั้นแปรเปลี่ยนไปโดยมีปริมาณเหล็กอยู่ภายนอกน้อยน้อยลงมากๆหรืออยู่ในรูปที่ใช้ไม่ได้ยีนที่อยู่ในส่วน extrachromosomal DNA ของแบคทีเรียจะจำลองและสร้างและสร้างสารเคมีชนิดหนึ่งขึ้นตามที่ได้กล่าวไปคือไซเดอโรฟอร์โดยอยู่ในรูป

ของลิแกนด์อิสระที่มีความสามารถในการจับกับเหล็กได้ดีปลอยออกมาสู่สิ่งแวดล้อม ไซเดอโรฟอร์นั้นจะมีการแพร่ซึมออกมาโดยผ่านทางผนังเซลล์และในขณะเดี่ยวกันจะมีการสร้างตัวรับ (receptor) สำหรับไซเดอโรฟอร์ชนิดนั้นๆ ขึ้นมาพร้อมกันโดยจะไปแทรกตัวอยู่ตามพนังเซลล์ของแบคทีเรียเพื่อรอรับสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก ไซเดอโรฟอร์ที่จะผ่านเข้ามาในเซลล์ภายหลังจากไซเดอโรฟอร์ในรูปของลิแกนด์อิสระไปจับกับเหล็กจนได้สารเชิงซ้อนนั้นมา เซลล์แบคทีเรียจะดึงสารเชิงซ้อนนี้กลับเข้าสู่เซลล์โดยการาผ่าน ปริเวณที่มีตัวรับซึ่งมีความเหมาะสมกันพอดีแล้วระบบภายในจะทำการแยกและดึงเหล็กเพื่อนำเหล็กไปใช้ส่วนไซเดอโรฟอร์อิสระที่แยกออกจากกันนั้นจะถูกส่งผ่านโดยการแพร่ซึมออกไปนอกเซลล์อีกครั้งเพื่ทอไปจับกับเหล็กตัวใหม่และกลไกเหล่นี้จะดำเนินต่อไปเรื่อยๆอย่างต่อเนื่องกันจนกว่าเซลล์แบคที่เรียได้รับเหล็กจากภายนอกเซลล์อย่างเพียงพอ

จะเห็นได้ว่าไซเดอโรฟอร์เป็นสารที่มีความสำคัญอย่างยิ่งในการดึงเหล็กจากภายนอกไปใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึมภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ นอกจากนี้แล้วยังสามารถจับกับโลหะทรานซิชั่นอื่นได้ เช่น นิเกิล สังกะสี ทองแดง อะลูมิเนียม โครเมียม แกลเลียม แมงกานีสวาเนเดียม โมลิปดินั่มเป็นต้น และไซเดอร์โรฟอร์บางชนิด เช่น ไมโคแบคติน (mycobactin) บางครั้งยังสามารถเก็บสะสมเหล็กไว้มากกว่าที่จะขนส่งเหล็กเพื่อนำไปใช้

การนำธาตุเหล็กมาใช้เป็นพลังงานของสารไซเดอโรฟอร์ภายในเซลล์ของแบคทีเรียซึ่งมีกลไกดังภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 กลไกการใช้ธาตุเหล็กของแบคทีเรียภายในเซลล์

(ที่มา : Farald-Gomez, Jose D. and Sansom, Mark S.P., 2003 : 105-116)

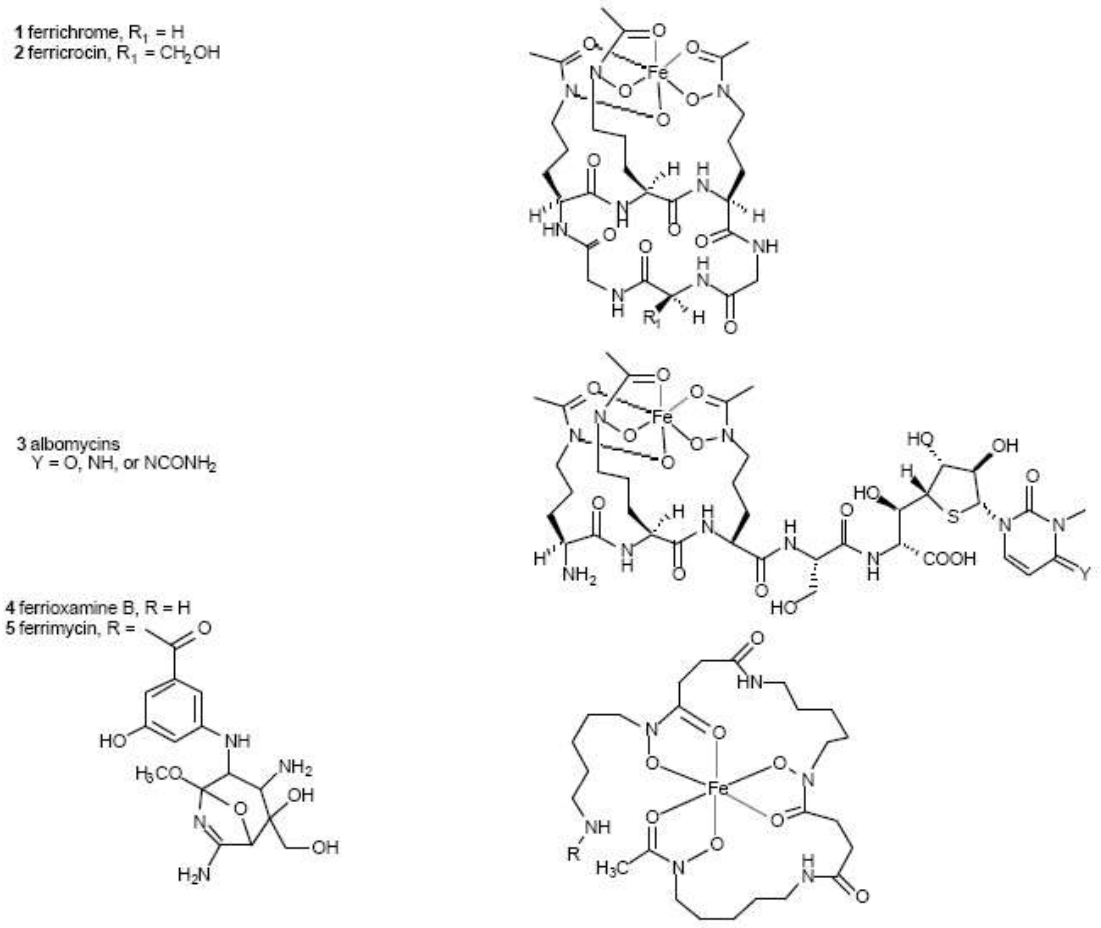
2.5.1 ลักษณะโครงสร้างของสาไซเดอโรฟอร์

ถึงแม้ว่าไซเดอโรฟอร์จะมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำแต่ลักษณะโครงสร้างทางเคมีค่อนข้างสลับซับซ้อนและมีหลายรูปแบบขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์และภาวะในการเพาะเลี้ยงเชื้อนั้นๆซึ่งสามารถจำแนกไซเดอโรฟอร์ได้ดังนี้

2.5.1 Hydroxamate (thiohydroxamate) siderophore

2.5.2 Catecholate (phenol) siderophore

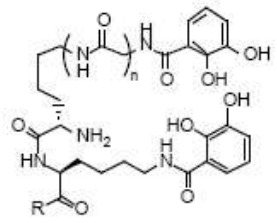
2.5.3 อนุพันธ์ของ Carboxylic acid ที่จับกับอนุพันธ์ของออกซิเจนหรือไนโตรเจนตรงตำแหน่งโคออดิเนชั่นที่ 2 (second coordination)



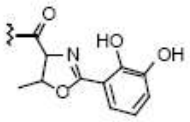
ภาพที่ 2.3 โครงสร้างของไซเดอโรฟอร์ชนิด hydroxamate และ catecholate

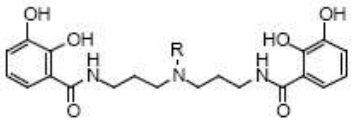
(ที่มา : Rosenberg, John M., Lin, Yun-Ming, Lu, Yong and Miller, Marvin J., 2000 : 159-197)

21 amonabactin T 789, R = (*R*)-Trp, n = 1
22 amonabactin T 732, R = (*R*)-Trp, n = 0
23 amonabactin P 750, R = (*R*)-Phe, n = 1
24 amonabactin P 693, R = (*R*)-Phe, n = 0



25 fluvibactin, R =



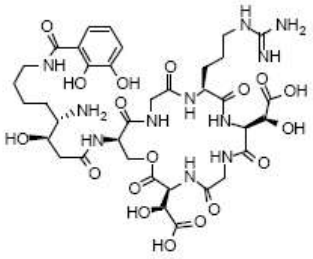


26 ruvibactin II, R = H

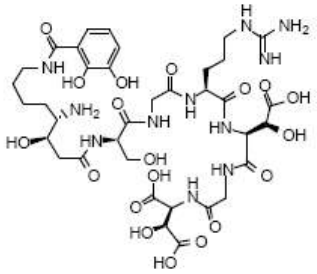
ภาพที่ 2.4 โครงสร้างของไซเดอโรฟอร์ชนิดคาร์บอกซิเลต (carboxylate)

(ที่มา : Rosenberg, John M., Lin, Yun-Ming, Lu, Yong and Miller, Marvin J., 2000 : 159-197)

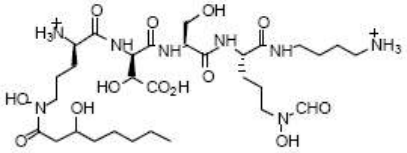
28 alterobactin A



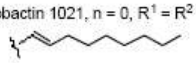
29 alterobactin B



30 ornibactin F



31 rhizobactin 1021, n = 0, $R^1 = R^2 = H$, $R^3 = CH_3$,
$R^4 =$



ภาพที่ 2.5 ไซเดอโรฟอรัผสม (ที่มา : Rosenberg, John M., Lin, Yun-Ming, Lu, Yong and Miller, Marvin J., 2000 : 159-197)

1) Hydroxamate siderophore โดยปกติแล้วไซเดอโรฟอร์ชนิดนี้ สามารถผลิตได้จากพวกเชื้อราและแบคทีเรียขณะที่ไซเดอโรฟอร์ชนิด catecholate นั้นส่วนใหญ่ผลิตได้จากกลุ่มของแบคทีเรียเท่านั้น ลักษณะทั่วๆไปของไซเดอโรฟอร์ hydroxamate คือ มีความเสถียรค่อนข้างสูงมีความเฉพาะเจาะจงในการจับเหล็กแล้ว เกิดเป็นสารเชิงซ้อนแบบออกตะฮีดรัส (octahedral complex) ลักษณะเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นอาจจะเป็นแบบ di-tetra-หรือhexa-dentate โดยเป็นสารเชิงซ้อนที่มีอัตราส่วน 1:1 1:2 1:3 ตามลำดับสารเชิงซ้อนของไซเดอโรฟอร์แบบนี้มักประกอบด้วยลิแกนด์ของ hydroxamate 3 คู่ ที่มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน (pKa=9) แต่อย่างไรก็ตามขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วย และค่าของการดูดกลืนแสงของสารเชิงซ้อน มักอยู่ระหว่าง 425-500 นาโนเมตร

2) Catecholatesiderore ความแตกต่างของอนุพันธ์ที่สำคัญระหว่างไซเดอโรฟอร์ชนิด hydroxamate กับชนิด carechloate นั้น คือ มีความสัมพันธ์กับเข้มข้นของเหล็กที่มีอยู่ในสิ่งแวดล้อมซึ่ง hydroxamate มักเกิดจากจุลินทรีย์ที่อยู่ในสภาพที่มีเหล็กปริมาณน้อยมากๆ ไซเดอโรฟอร์ชนิด catecholate มีความสามารถในการจับกับเหล็กได้แน่นกว่าชนิด hydroxamate ซึ่งอาจจะเป็นเพราะความแตกต่างกันของสเตอริโอไอโซเมอร์ที่มีอยู่ในสารเชิงซ้อนนั้นๆ

ค่าคงที่ของความเสถียร (Stability constant) ของสารเชิงซ้อนไซเดอโรฟอร์อยู่ในช่วงระหว่าง 10^{-22}-10^{-52}

นอกเหนือไปจากนั้นยังมีความแต่กต่างระหว่างการรวมตัวของกลุ่มโคออดิเนตทีอาจจะมีทั้ง hydroxamante หนึ่งกลุ่ม และ catechclate อีกหนึ่งกลุ่มรวมทั้งอาจจะมีการเพิ่ม hydroxamate หรือ กลุ่มของกรด α-hydroxy อีกกลุ่มหนึ่งก็ได้

2.5.2 การทดสอบและการตรวจหาไซเดอโรฟอร์

การตรวจหาไซเดอโรฟอร์ในสารละลายส่วนใส (Supernatant) ได้จากการแยกเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์และโปรตีนที่ตกตะกอนออกจากสารละลายอาหารเลี้ยงเชื้อโดยการเหวี่ยงด้วยความเร็วสูง (high centrifugation) อาศัยสมบัติทางเคมีหรือทางกายภาพ ก่อนนำไปแยก และ ทำให้บริสุทธิ์ต่อไป ได้แก่

2.5.2.1 ส่องดูภายใต้แสง UV : หากพบการเรืองแสงภายใต้แสง UV ไม่ว่าเป็นสีขาว สีเหลือง สีเขียว หรือสีฟ้าแสดงว่าเป็นไซเดอโรฟอร์

2.5.2.2 การเติมสารละลายเหล็ก : การเกิดสีของสารประกอบเชิงซ้อนซึ่งมีสีน้ำตาลที่เกิดขึ้นเมื่อเติมเกลือเฟอร์ริก (ferric salt) เป็นวิธีที่ให้รายละเอียดน้อย และให้ความแม่นยำต่ำ

2.5.2.3 วิธี Ferric perchlorate : สารประกอบไฮดรอกซาเมตไซเดอโรฟอร์สามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับเฟอร์ริกเปอร์คลอเรตในสารละลายเปอร์คลอริกในสภาวะที่มีพีเอชต่ำ ให้สารละลายที่เป็นกรดมีสีม่วง หรือสารละลาย สีส้มที่มีพีเอชเป็นกลาง ในอัตราส่วนต่างกัน เป็นต้น

2.5.2.4 วิธี Csaky : เป็นการตรวจวัดกลุ่มไฮดรอกซาเมตที่มีความไวมากกว่าวิธี Ferrricperchlorate โดยการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเปลี่ยนไปเป็นไนไตรท์ แล้วเกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีชมพูต่อมา

2.5.2.5 วิธี Arnow : เป็นการตรวจวัดคาเทโคเลต โดยการเปลี่ยนสีเขียว-เหลืองของสารละลายส่วนใส ไปเป็นสีแดงเมื่อเติมกรดไฮโดรคลอริก และไนไตรท์โมลิบเดต เป็นต้น

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการศึกษามีงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ดังนี้

2.6.1 งานวิจัยในประเทศ

สุขทัย พงศ์พัฒนศิริ (2550 **:** บทคัดย่อ) ศึกษาและเปรียบเทียบผลของการใช้ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ดที่มีต่อคุณสมบัติดินและโครงสร้างดิน โดยควบคุมมีวิธีการผลิตคะน้า ที่แตกต่างกัน คือ ระยะเวลาการเตรียมดินและการคลุมหน้าดินเพื่อต้องการเปรียบแปลงทาง ด้านกายภาพและเคมีของดิน เช่น โครงสร้างดิน อินทรียวัตถุ ค่าการนำไฟฟ้า การทรุดตัวของดิน สภาพนำน้ำของดิน ปริมาณการสูญเสียน้ำจากการระเหย ปริมาณตะกอนและคุณภาพของน้ำที่ถูกการชะล้างไหลซึมผ่านลงไปใต้ดิน จากผลการทดลองพบว่าปัจจัยการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ และปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ด และปัจจัยการคุมหน้าดินนั้นมีผลต่อโครงสร้างดินหลังการเก็บเกี่ยวผลผลิต ดังเช่น 1) ความหนาแน่นดินนั้นในแบบทดลองที่มีการคลุมดินดินมีความหนาแน่นดินน้อยกว่าในแบบทดลองที่ไม่มีการคลุมดิน (1.21 g/cubic and 1.29 g/cubic cm ตามลำดับ) และความพรุนรวมของดินพบว่าในแบบทดลองใช้ปุ๋ยอินทรีย์ (33.4 เปอร์เซ็นต์) และมีการคลุมดิน (34.0เปอร์เซ็นต์) มีค่าความพรุนรวมของดินมากกว่าแบบทดลองใช้ปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ด (30.8 เปอร์เซ็นต์) และไม่มีการคลุมดิน (30.5เปอร์เซ็นต์) อย่างไรก็ตามการใส่ปุ๋ยอินทรีย์นั้นพบว่า ช่วยเพิ่มค่าอัตราการไหลซึมผ่านของดินนั้นเพิ่มมากขึ้นด้วย

สุนทร มั่นคง (2551 : บทคัดย่อ) ศึกษาคุณสมบัติของปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพบางชนิดที่มีผลต่อการปรับปรุงโครงสร้างของดิน ได้แก่ ปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพของกรมพัฒนาที่ดิน ปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพมูลค้างคาวผสมจุลินทรีย์บางชนิด ขยะกทม. เศษเหลือจากกากอ้อย และมูลค้าวคาว พบว่าปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพของกรมพัฒนาที่ดินร่วมกับดินมีความสามารถในการยึดเกาะดินดีที่สุดเมื่อได้รับแรงกระแทก ปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพจากขยะกทม.ร่วมกับดินมีความสามารถในการซึมผ่านของน้ำได้ดีที่สุด ปุ๋ยอินทรีญ์ชีวภาพจากเศษเหลือจากกากอ้อยร่วมกับดินมีความสามารถใน การแตกตัวของเม็ดปุ๋ยได้ดีที่สุด ปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพขยะกทม.ร่วมกับดินมีความเจริญเติบของผักกาดหัวเท้า ทางด้านความยาวของหัวได้ดีที่สุด ส่วนปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพมูลค้างคาวร่วมกับดินให้ผลผลิตทางด้านน้ำหนักได้ดีที่สุด

ธิติมา เขียงถุ่ง (2551 : บทคัดย่อ)การทดลองปลูกข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในฤดูนาปี 2549 บริเวณบ้านโคกสี อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น วางแผนการทดลองแบบ RCBD

10 ตำหรับการทดลอง 3 ซ้ำ ในแปลงนาย่อยขนาด 4x4 เมตร มีวัตถุประสงค์เพื่อการศึกษาอิทธิพลของปุ๋ยอินทรีย์ และระยะปลูกต่อผลผลิตและคุณภาพของข้าวขาวดอกมะลิ 105 และอิทธิพลของปุ๋ยอินทรีย์และระยะปลูกต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของดิน ปุ๋ยอินทรีย์ที่ใช้มี 2 ชนิด คือ ปุ๋ยคอกมูลโค (อัตรา1/ไร่ และ 1.5 ตัน/ไร่) และถั่วเขียวน้ำหนักสดที่ระยะออกดอก (อัตรา 1 ตัน/ไร่ และ 2 ตัน/ไร่) ร่วมกับระยะปลูก 2 ระยะคือ 25x25 เซนติเมตรและ 12.5x50 เซนติเมตร จากการทดลองพบว่าการใช้ปุ๋ยคอก 1 ตัน/ไร่ ร่วมกับถั่วเขียว 1 ตัน/ไร่ ผลผลิตข้าวเพิ่มขึ้น 29% ปุ๋ยคอก 1 ตัน/ไร่ ร่วมกับถั่วเขียว 2 ตัน/ไร่ ผลผลิตข้าวเพิ่มขึ้น 26% ปุ๋ยคอก 1.5 ตัน/ไร่ ร่วมกับถั่วเขียว 1 ตัน/ไร่ ผลผลิตข้าวเพิ่มขึ้น 25% และปุ๋ยคอก 1.5 ตัน/ไร่ ร่วมกับถั่วเขียว 2 ตัน/ไร่ ผลผลิตข้าวเพิ่มขึ้น 40% จากแปลงที่ไม่ใส่ปุ๋ย สำหรับระยะปลูกทั้งสองระยะ ไม่ทำให้ผลผลิตข้าวแตกต่างกันทางสถิติ แต่พบว่าระยะปลูก 25x25 เซนติเมตร มีแนวโน้มให้ผลผลิตข้าวสูงกว่า ทุกตำรับการทดลองเป็นข้าวขาวดอกมะลิ 105 คุณภาพดีที่มีความหอม รูปร่างเมล็ดเรียวยาว ลักษณะท้องไข่น้อย ข้าวสารใสและมีปริมาณ อมิโลสต่ำ

สำหรับอิทธิผลของปุ๋ยอินทรีย์และระยะปลูกต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของดิน พบว่าความหนาแน่นรวมของดินหลังการทดลองลดลง ความเป็นประโยชน์ของน้ำในดินเพิ่มขึ้นเล็กน้อยและคุณสมบัติทางเคมีของดิน คือ อินทรียวัตถุ ความจุในการแลกเปลี่ยนประจุบวกของดิน และฟอสฟอรัสหลังการทดลองมีค่าสูงขึ้น ส่วนโพแทสเซียมของดินหลังการทดลองมีค่าต่ำลง

สมศักดิ์ วังใน และธงชัย มาลา (2541 : บทคัดย่อ) ศึกษาอิทธิพลของปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยเคมีที่มีต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 1 ที่ปลูกบนชุดดินกำแพงแสนที่แปลงทดลองของภาควิชาพืชไร่นามหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน

อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม ก่อนการทดลองได้วิเคราะห์สมบัติทางฟิสิกส์และเคมีรวมทั้งได้ประเมินถึงความจำเป็นที่จะต้องคลุกเชื้อไรโซเบียมหรือไม่เมื่อปลูกถั่วเขียว ทั้งนี้เพื่อประโยชน์ในการวางแผนการปรับปรุงดินแผนการทดลองใช้แบบ 6 x 4 factorial in RCB ประกอบด้วย ปุ๋ยอินทรีย์ 0.0 ตัน/ไร่ ปุ๋ยหมักฟางข้าว 1.5 และ 3.0 ตัน/ไร่ ปุ๋ยคอก (มูลโคแห้ง) 1.5 และ 3.0 ตัน/ไร่ และตอซังข้าว 2.0 ตัน/ไร่ และปุ๋ยเคมีสูตร 3-6-6 อัตรา 0.0, 3.0, 6.0, 12.0 กก./ไร่ ทุกตำหรับได้รับการคลุกเมล็ดด้วยไรโซเบียมผลการศึกษาพบว่า ปุ๋ยคอก 1.5 ตัน/ไร่ + ปุ๋ยเคมี 6.0 กก./ไร่ ปุ๋ยหมัก 1.5 ตัน/ไร่ + ปุ๋ยเคมี 6.0 กก./ไร่ และปุ๋ยหมัก 3 ตัน/ไร่ + ปุ๋ยเคมี 12.0 กก./ไร่ ให้น้ำหนักแห้งของส่วนเหนือดิน (การเจริญเติบโต) สูงตามลำดับดังนั้น 809.15, 794.71 และ 783.62 กก./ไร่ ปุ๋ยหมัก 3 ตัน/ไร่ + ปุ๋ยเคมี 12.0 กก./ไร่ ให้น้ำหนักเมล็ดแห้ง (ผลผลิต) สูงสุด 345.55 กก./ไร่ การเจริญเติบโตและผลผลิตสูงควรเป็นผลมาจากการคลุกเมล็ดด้วยไรโซเบียมและการปรับปรุงสมบัติทางฟิสิกส์และเคมีของดินโดยปุ๋ยอินทรีย์ จากผลการศึกษานี้มีข้อเสนอแนะว่า ควรจะมีการทดลองหาผลตกค้างของปุ๋ยอินทรีย์ในปีต่อๆ ไป

สมศักดิ์ จีรัตน์ (ม.ป.ป. : บทคัดย่อ) ปุ๋ยอินทรีย์-ชีวภาพเป็นปุ๋ยที่ผลิตจากการนำปุ๋ยหมักที่ย่อยสลายตัวดีแล้วมาผสมกับหินฟอสเฟตและแร่เฟลด์สปาร์ร่วมด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ดินที่มีประสิทธิภาพ คือ แบคทีเรียตรึงไนโตรเจน 3 สายพันธุ์ได้แก่ *Azotobacter* sp., *Azospirillum* sp. และ *Beijerinckia* sp. เชื้อราย่อยสลายสินฟอสเฟต 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Aspergillus* sp. และ *Penicillium* sp. และแบคทีเรียละลายโพแทสเซียม 1 สายพันธุ์ ได้แก่ *Bacillus* sp. แล้วบ่มทิ้งไว้เป็นเวลา 30 วัน ก่อนนำมาทดสอบกับพืช ใน 2 ฤดู คือ ฤดูฝน ได้แก่ คะน้า, ถั่วฝักยาว, ข้าวโพดหวาน และฤดูหนาว ได้แก่ คะน้ และข้าวโพดหวาน เพื่อหาอัตราการใช้ปุ๋ยอินทรีย์-ชีวภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ผลผลิตพืช และการเปลี่ยนแปลงสมบัติบางประการของดิน โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB ทำ 3 ซ้ำ และมีตำรับการให้ปุ๋ยอินทรีย์ ชีวภาพกับผักคะน้าและข้าวโพดหวาน ดังนี้คือ 1) ไม่ใส่ปุ๋ย 2) ใส่ปุ๋ยรองพื้นอัตรา 1.0 ตันต่อไร่ 3) ใส่ปุ๋ยรองพื้นอัตรา 1.5 ตันต่อไร 4) ใส่ปุ๋ยรองพื้นอัตรา 2.0 ตันต่อไร่ 5) ใส่ปุ๋ยรองพื้นอัตรา 2.5 ตันต่อไร่ 6) ใส่ปุ๋ยรองพื้นอัตรา 3.0 ตันต่อไร่ โดยเพิ่มการใส่ปุ๋ยแต่งหน้าหลังปลูก 30 วัน ในอัตรา 0.50, 0.75, 1.00, 1.25 และ 1.50 ตันต่อไร่ในตำรับที่ 2, 3, 4, 5 และ 6 ตามลำดับ ส่วนการปลูกถั่วฝักยาวใส่ปุ๋ยในอัตราในอัตราเดียวกับคะน้าและข้าวโพดหวานแต่ไม่ใส่ปุ๋ยแต่งหน้า

ผลการทดลองพบว่า คะน้าที่ปลูกในในดูฝนที่ใส่ปุ๋ยในอัตารองพื้น 2.0 ตันต่อไร่ร่วมกับใส่ปุ๋ยแต่งหน้า 1.0 ตันต่อไร่ให้ผลผลิตมากที่สุด ส่วนในฤดูหนาวการใส่ปุ๋ยในอัตารองพื้น 1.5 ตันต่อไร่ร่วมกับการใส่ปุ๋ยแต่งหน้า 0.75 ตันต่อไร่ขึ้นไปให้ผลผลิตมากที่สุด โดยมีน้ำหนักต้นแห้งเมื่อเก็บเกี่ยวผลผลิตเพิ่มขึ้น 178 % ในฤดูฝน และ 108 % ในฤดูหนาวเมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ใส่ปุ๋ยทางด้านถั่วฝักยาวมีการเจริญเติบโตด้านน้ำหนักสดต้น น้ำหนักแห้งต้นสูงสุดเมื่อใส่ปุ๋ยอัตรา 2.5 และ 3.0 ตันต่อไร่โดยเพิ่มขึ้น 149 และ 186% ตามลำดับ และผลผลิตรวมของการใส่ปุ๋ยทั้งสองอัตราดังกล่าวให้ค่าสูงสุดโดยเพิ่มขึ้น 76.8 และ77.6 % ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากตำรับที่ใส่ปุ๋ยอัตรา 1.5 และ 2.0 ตันต่อไร่ สำหรับข้าวโพดหวานที่ปลูกในฤดูฝนให้ผลผลิตในด้านน้ำหนักสดฝัก น้ำหนักแห้งฝัก น้ำหนักสดต้น และน้ำหนักแห้งต้นสูงสุดเมื่อใส่ปุ๋ยรองพื้นอัตรา 2.5 ตันต่อไร่ร่วมกับการใส่ปุ๋ยแต่งหน้า 1.25 ตันต่อไร่ โดยเพิ่มขึ้น 46.3, 39.3, 32.6 และ 11.2% ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับการใส่ปุ๋ยรองพื้นอัตรา 3.0 ตันต่อไร่ร่วมกับการใส่ปุ๋ยแต่งหน้าอัตรา 1.5 ตันต่อไร่ ส่วนข้าวโพดหวานที่ปลูกในฤดูหนาวให้ผลผลิตในด้านน้ำหนักสดฝัก น้ำหนักแห้งฝักสูงสุดเมื่อใส่ปุ๋ยรองพื้นอัตรา 2.5 ตันต่อไร่ร่วมกับการใส่ปุ๋ยแต่งหน้าอัตรา 1.25 ตันต่อไร่ โดยเพิ่มขึ้น 23.0 และ 31.1% ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ใส่ปุ๋ยแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากการใส่ปุ๋ยรองพื้นอัตรา 2.0 และ 3.0 ตันต่อไร่ร่วมกับการใส่ปุ๋ยแต่งหน้าอัตรา 1.5, 1.25 และ 1.5 ตันต่อไร่ขณะที่การใส่ปุ๋ยรองพื้นอัตรา 2.0, 2.5 และ 3.0 ตันต่อไร่ร่วมกับการใส่ปุ๋ยแต่งหน้าอัตรา 1.0, 1.25 และ 1.5 ตันต่อไร่ทำให้น้ำหนักแห้งต้นสูงกว่าการใส่ปุ๋ยอัตราอื่นๆ นอกจากนี้พบว่าการใส่ปุ๋ยให้พืชทดสอบ ทั้งในฤดูฝนและฤดูหนาวในอัตราที่มากขึ้น ทำให้ความอุดมสมบูรณ์ของดินดีขึ้นโดยดูได้จากการเพิ่มขึ้นของธาตุอาหารพืช อินทรียวัตถุ ปฏิกิริยาดิน มวลชีวภาพจุลินทรีย์ดิน และการลดลงของความหนาแน่นรวมของดิน

สรุปปุ๋ยอินทรีย์-ชีวภาพเป็นปุ๋ยที่ผลิตจากการนำปุ๋ยหมักที่ย่อยสลายตัวดีแล้วมาผสมกับหินฟอสเฟตและแร่เฟลด์สปาร์ร่วมด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ดินที่มีประสิทธิภาพ การเจริญเติบโตและผลผลิตสูงควรเป็นผลมาจากการคลุกเมล็ดด้วยไรโซเบียม

เมื่อจุลินทรีย์เจริญภายใต้สภาวะที่แตกต่างกันจะมีการสร้างไซเดอโรฟอร์ในปริมาณและโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงต้องหาสภาวะที่เหมาะสม แล้วใช้กระบวนการทางเคมีเข้าช่วยดำเนินการเพิ่มปริมาณ เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

2.6.2 งานวิจัยในต่างประเทศ

จากการศึกษาเกี่ยวกับโรคพืช และไซเดอโรฟอร์ มีงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ดังนี้

Henry, M. B. et al. (1990) ศึกษาถึงการคัดเลือกแบคทีเรียที่สามารถผลิตไซเดอโรฟอร์ที่มีผลไปยับยั้งการเจริญของ *Pseudomonas tolaasii* ซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อโรคเน่าเสียในเห็ดได้ โดยทำการเลี้ยงในอาหารที่ไม่มีเหล็กเป็นส่วนประกอบ พบว่า มีการสร้างไซเดอโรฟอร์ที่มี การดูดกลืนแสงช่วง 400 nm และเพื่อให้ได้ผลดีจะต้องเติม EDTA และ bipyridyl ร่วมด้วย

Kissalita, W. S. et al. (1993) ได้ดัดแปลงอาหารให้เหมาะสมสำหรับเลี้ยงแบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescens* 2-79 เพื่อผลิต pyoverdin โดยใช้ casamino acid เลี้ยงจุลินทรีย์ 25 ^{0}C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เขย่าที่ความเร็ว 200 rpm

Suneja, D.A., Sharma, P.K., and Lakshminarayana, K. (1992) ได้ศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างการสร้างไซเดอโรฟอร์ชนิด hydroxamate และ catechol พบว่า เมื่อมี การเติม ammonium acetate ลงในอาหารที่ประกอบด้วย manitol 1 % หรือ sucrose 2 % จะมีการสร้างไซเดอโรฟอร์ชนิด catechol แต่จะยับยั้งการสร้างไซเดอโรฟอร์ชนิด hydroxamate

Cody, Y. S. and Gross, D. C. (1987) พบว่า ไซเดอโรฟอร์ชนิด pyoverdin ซึ่งผลิตจากแบคทีเรีย *Ps.syringae pv. Syringae* B301D ที่เจริญเติบโตในสภาวะที่มีเหล็กจำกัด มีลักษณะสีเขียงเหลือง เรืองแสง และยังได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของเหล็ก (Fe^{3+}) ต่อการสังเคราะห์ pyoverdin พบว่า มีการสร้าง pyoverdin เพิ่มขึ้นเมื่อมีปริมาณเหล็กเพิ่มขึ้น แต่เมื่อมีปริมาณของเหล็กเท่ากับ 10 μM หรือมากกว่าจะหยุดการผลิต pyoverdin

Derylo, M. et al. (1994) พบว่า Rhizobium ที่แยกได้จากปมรากถั่วชนิดต่างๆ ที่เป็นตัวส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชนั้นมีบางสายพันธุ์ที่สามารถผลิตไซเดอโรฟอร์ได้ โดยสังเกตจากวงสีส้มบนอาหาร CAS agar และพบว่าเป็นไซเดอโรฟอร์ hydroxamate และ phenolate ที่เป็นสารที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตให้กับแบคทีเรียแกรมลบ

Schwyn, B. และ Neilands, J. B. (1987) ได้ค้นคว้าหาวิธีการตรวจหาชนิดและตรวจวัดการผลิตไซเดอโรฟอร์โดยอาศัยหลักการเกิดสี ดังสมการต่อไปนี้

$$FeDye^{3-} + L^{k} \longrightarrow FeL^{3-k} + Dye$$

สีน้ำเงิน สีส้ม/ชมพู

สารที่ใช้ในการทดสอบประกอบด้วย Chrome Azurol S, HDTMA (Hexadecyl trimethyl ammonium bromide), Iron (Fe^{3+}) ที่สามารถรวมตัวกันเป็นเชิงซ้อนสีน้ำเงิน เมื่อไซเดอโรฟอร์ (L^{k}) เข้าไปดึง Fe^{3+} ออกจากสารประกอบเชิงซ้อนของ CAS-Fe^{3+}-HDTMA ทำให้สีเปลี่ยนจาก น้ำเงินเป็นส้มของ Fe-Siderophore complex

Arnow, L.E. (1937) ทำการวิเคราะห์ catechloate siderophore โดยใช้ 3,4-Dihydroxyphenylalanine เป็นสารละลายมาตรฐาน โดยสารนี้จะทำปฏิกิริยากับกรดไนตรัส ให้สารละลายสีเหลือง แล้วสีเหลืองจะเปลี่ยนเป็นสีส้มแดงเข้มกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ มากเกินพอ แสดงให้เห็นว่า สารประกอบที่มี phenolic OH groups จะเกิดสีเมื่อทำปฏิกิริยากันรวมกับโซเดียมไนไตรต์ โดยไฮโดรเจนไอออนจาก phenolic OH groups รวมกับไนไตรต์-ไอออนที่มาจากโซเดียมไนไตรต์ เกิดผลผลิตเป็นสารประกอบ NO กับ phenols ส่วนโซเดียมโมลิบเดตจะทำหน้าที่ป้องกันกรดไนตรัสไม่ให้สลายตัวอย่างรวดเร็ว และกรดไฮโดรคลอริกจะป้องกันไม่ให้ผลผลิตที่เกิดขึ้นสลายตัวและเกิดการตกตะกอนของ melanin นอกจากนั้นยังพบว่า ถ้าสารประกอบมี phenolic OH group เพียง 1 หมู่ จะไม่เกิดหรือเกิดปฏิกิริยากับรีเอเจนต์นี้ได้ไม่ดี (React weakly) แต่ถ้ามี 2 หรือ 3 หมู่ จะเกิดปฏิกิริยาได้ดี (React strongly) และจะเสถียรอย่างน้อย 1 ชั่วโมง ถ้าปล่อยไว้ค้างคืนสีจะซีดลง

Gillam, A.H., Lewis, A.G., and Andersen, R.J. (1981) ได้อธิบายถึงวิธีการวิเคราะห์ hydroxamic acid 4 วิธี คือ

1) Csaky test ใช้สำหรับ bound hydroxylamine มีสภาพไวที่สุด มีโมลาร์แอบ-ซอร์พติวิตีเป็น 0.394 $Lmol^{-1}cm^{-1}$ โดยระบบจะเกิดการออกซิเดชันของ hydroxylamine และ hydroxamic acid ด้วยไอโอดีน สามารถเขียนสมการทั่วไปได้ดังนี้

$$NH_2OH + 2I_2 + H_2O \longrightarrow HNO_2 + 4HI$$

โดยเกิด Nitroxyl radical ($RCONHO^{\cdot}$) ขึ้นในระหว่างการออกซิไดซ์ แต่ถ้าเป็น Secondary hydroxamic acid จะไม่ถูกออกซิไดซ์ด้วย I_2 โดยตรง ต้อง Hydrolysis ก่อนที่จะใช้วิธี Csaky test นี้

2) Berg & Becker test (Indooxine method) เนื่องจากปฏิกิริยานี้ให้ผลผลิตเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของ Green indooxine เพราะ hydroxylamine ทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ จะเกิดสาร indooxine และมีค่าโมลาร์แอบซอร์พติวิตีเป็น 0.107 $Lmol^{-1}cm^{-1}$ โดย 1 mol ของ NH_2OH ให้ indooxine 1 mol ด้วย ปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ในเวลา 4 ชั่วโมง

3) Triphenyltetrazolium chloride test (TTC) อาศัยหลักการไฮโดรลิซีสของ hydroxamic acid ให้สารละลายสีแดงกับ TTC รีเอเจนต์ โดย hydroxylamine จะไม่เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 25 ^0C แต่ถ้าอุณหภูมิเกิน 90 ^0C จะเกิด autoreduction ของ TTC รีเอเจนต์แทน ดังนั้นอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 80 ^0C เวลา 5 min และ TTC รีเอเจนต์ทำปฏิกิริยาพอดีกับ NH_2OH 1:1 โดยโมล ค่าโมลาร์แอบซอร์พติวิตีเป็น 0.03 $Lmol^{-1}$ cm^{-1}

4) Periodic acid test โดยการออกซิเดชันของ –CON(OH) group เกิดเป็น Nitroso dimer ถ้าปฏิกิริยานี้เกิดกับ desteral มีค่าโมลาร์แอบซอร์พติวิตีเป็น 0.03 $Lmol^{-1}cm^{-1}$ ถ้าเกิดกับ feerichrome มีค่าโมลาร์แอบซอร์พติวิตีเป็น 0.002 $Lmol^{-1}cm^{-1}$ วิธีนี้มีสภาพไวที่เหมาะสมกับการวิเคราะห์ hydroxamic acid ใน Unknown siderophores โดยตรง

ในวิธีที่กล่าวมา Csaky test มีสภาพไวที่สุดสำหรับวิเคราะห์ hydroxamic acid และมีข้อดีอื่นๆ อีกดังนี้ 1) ปลดปล่อย hydroxylamine จาก hydroxamic acid ที่ 120 ^0C เวลา 4 ชั่วโมง

2) การออกซิเดชันของ hydroxamic acid กับ I_2 จะได้ผลดีที่ pH 3.1 $\pm$ 0.1 3) ใช้ N-(1-naphthyl)ethylenediamine เป็นรีเอเจนต์คู่ (Coupling reagent) ในการเกิด Azodye

บทที่ 3

การทดลอง

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 สารเคมี

3.1.1.1 Brain heart infusion gar, Himedia Laboratories, India.

3.1.1.2 Potato dextrose agar, Himedia Laboratories, India.

3.1.1.3 Plate count agar, Himedia Laboratories, India.

3.1.1.4 Nutrient Agar, Himedia Laboratories, India.

3.1.1.5 Soil Extract Agar, Himedia Laboratories, India.

3.1.1.6 Agar powder, Himedia Laboratories, India.

3.1.1.7 Ammonium sulphate, iron (II) sulfate-6-hydrate, Merck, Germany.

3.1.1.8 L-Asparagine anhydrous, AR grade, Fluka Biochemica, Switzerland.

3.1.1.9 Magnesium sulfate heptahydrate, Fluka Biochemica, Switzerland.

3.1.1.10 Potassium dihydrogen phosphate, Fluka Chemica, Switzerland.

3.1.1.11 Potassium iodide, Ajax Chemicals, Australia.

3.1.1.12 Sucrose, Merck, Germany.

3.1.1.13 Sodium carbonate, Merck, Germany.

3.1.1.14 Sodium nitrite, Riedel-deHaen, Germany.

3.1.1.15 Sodium molybdate, Merck, Germany.

3.1.1.16 Sodium arsenite, Carlo Erba, France.

3.1.1.17 N-(1-naphthyl)-ethylenediamine, Serva Fein Bio Chemica GmbH and Co.KG, Germany.

3.1.1.18 Sodium hydroxide, Ajax Chemicals, Australia.

3.1.1.19 Sodium carbonate, Merck, Germany.

3.1.1.20 Sodium acetate, Carlo Erba, USA.

3.1.1.21 N,N-Dimethylformamide, Ajax Finechem, New Zealand.

3.1.1.22 Methanol, BDH Laboratory Supplies Pools, England.

3.1.1.23 Dimethyl sulphoxide, Sigma-Aldrich Laborchemikakien GmbH,

Germany.

3.1.1.24 Potassium chloride, Ajax Finechem, New Zealand.

3.1.1.25 Chrom azurol S, Aldrich, Germany.

3.1.1.26 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride, Fluka Chemica, Switzerland.

3.1.1.27 Pyridine, Merck, Germany.

3.1.1.28 Silica gel for TLC (Al plate), Merck, Germany.

3.1.1.29 Silica gel for column, Merck, Germany.

3.1.1.30 Ferrous chloride tetrahydrate, Fluka, Germany.

3.1.1.31 Ferric chloride anhydrous, Fluka Chemica, Germany.

3.1.1.32 Crystal violet, QRëC, New Zealand.

3.1.1.33 สารละลายไอโอดีน

3.1.1.34 Ethyl alcohol, Carlo Erba, France.

3.1.1.35 Safranin, Gammaco, Thailand.

3.1.1.36 Sulfuric acid, Mallinckrodt, USA.

3.1.1.37 Sulphanilamide, BDH Laboratory Supplies Pools, England.

3.1.1.38 Iodine, Merck, Germany.

3.1.1.39 Hydrochloric acid, Carlo Erba, USA.

3.1.1.40 Di-sodium hydrogenphosphate dihydrate, Fluka Garantie, Switzerland.

3.1.1.41 Citric acid, Ajax Chemicals, Australia.

3.1.1.42 Acetic acid, Carlo Erba, USA.

3.1.1.43 Amberite XAD-4 resin, Sigma Chemical Co., USA.

3.1.1.44 1,10-Phenanthroline, Merck, Germany.

3.1.1.45 น้ำกลั่น

3.1.2 อุปกรณ์

3.1.2.1 Rotary evaporator, Buchi Rotovapor R-124

3.1.2.2 UV spectrophotometer, Parmacia Biotech

3.1.2.3 Autoclave. Hirayama, Scientific promotion Co.,LTD.

3.1.2.4 Lamina air flow, Jafelab

3.1.2.5 Hot air oven. Memmert, Scientific promotion Co., LTD.

3.1.2.6 Biological Incubator, Hotpack, Philadelphia, USA.

3.1.2.7 Boekel Scientific Dricycler, Philadelphia, USA.

3.1.2.8 UV lamp, Gamag, Switzerland.

3.1.2.9 Hotplate & stirrer, Jenway Ltd., Essex, United Kingdom.

3.1.2.10 Volumetric Flask, Herka intercolor, Germany.

3.1.2.11 Beaker ขนาด 50, 100, 250, 500 และ 1000 mL, Pyrex, Germany.

3.1.2.12 Pipetman, Gilson Medical Electronics, France.

3.1.2.13 Spectronic 20 genesis, Spectronic Instruments, USA.

3.1.2.14 Crest Ultrasonic Cleaner, ETL Testing Laboratories Inc., NJ. USA.

3.1.2.15 Microscope, Nikon, Japan.

3.1.2.16 Test tube screw cap, Pyrex, Germany.

3.1.2.17 Plate for bacterium growth, Pyrex, Germany.

3.1.2.18 Graduated Cylinder, Pyrex, Germany.

3.1.2.19 ขวดสีชา

3.1.2.20 ช้อนตักสาร

3.1.2.21 Micro Test Tubes with caps, Pyrex, Germany.

3.1.2.22 Microhaematocrit tubes, Herlev, Denmark.

3.1.2.23 Magnet Retriever, PTFE Labware.

3.1.2.24 Erlenmeyer flask 2000 and 3000 ml, Pyrex, Germany.

3.1.3 เชื้อราก่อโรคพืช 5 ชนิด

3.1.3.1 *Aspergillus niger*

3.1.3.2 *Aspergillus porri*

3.1.3.3 *Colletotrichum circinans*

3.1.3.4 *Botryotinia squamosa*

3.1.3.5 *Sclerotinia sclerotiorum*

3.2 การเตรียมสารและอาหาร

3.2.1 การเตรียมอาหาร Plate Count Agar

3.2.1.1 นำสาร Plate Count Agar (Standard Methods Agar) ชั่งสารในปริมาณ 23.5 กรัม ต่อน้ำ 1,000 มิลลิลิตร

3.2.1.2 นำสารที่เตรียมไว้จำนวน 23.5 กรัม ใส่ลงไปในหม้อสแตนเลส แล้วเทน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อลงไปในปริมาณ 1,000 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วคนสารให้ละลายจนหมด นำไปตั้งบนเตา Hot Plate โดยใช้ความร้อนในระดับ 2 (80-100 องศาเซลเซียส) คนสารไปเรื่อยๆ จนสารสุกและสารละลายจะใส ยกลงจากเตาแล้วพักไว้สักครู่

3.2.1.3 นำขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร จุกสำหรับปิดขวด อะลูมิเนียมฟอยล์ที่เตรียมไว้ แล้วเทอาหารลงในขวดรูปชมพู่ในปริมาณ 200 มิลลิลิตร จนอาหารหมด ปิดขวดให้สนิท แล้วใช้อะลูมิเนียมฟอยล์ปิดทับด้านบน

3.2.1.4 นำอาหารที่เตรียมไว้ไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

3.2.1.5 นำอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อมาเทลงในเพลต (Plate) โดยการเทอาหาร ต้องเทในตู้ฆ่าเชื้อ (UV) เท่านั้น เพื่อป้องกันการปนเปื้อน

3.2.1.6 เมื่อเทอาหารลงในเพลตเสร็จแล้วทิ้งไว้ให้อาหารเย็นและแข็งตัว แล้วนำเพลตอาหารใส่ลงในถุงพลาสติก มัดถุงให้แน่นแล้วนำไปแช่ไว้ในตู้เย็น ป้องกันไม่ให้อาหารเน่าเสีย เพื่อนำไปใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

การเตรียมอาหารแข็งอื่นๆ เช่น Brain Heart Infusion Agar, Nutrient Agar และ Soil Extract Agar ตามลำดับก็ดำเนินการคล้ายคลึงกัน แตกต่างกันเพียงปริมาณเป็นกรัมของอาหารเท่านั้น

3.2.2 การเตรียม SA medium (250 มิลลิลิตร)

3.2.2.1 ซูโครส 5.00 กรัม/ลิตร

3.2.2.2 L (-) เอสพาราจีน 0.5 กรัม/ลิตร

3.2.2.3 โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.25 กรัม/ลิตร

3.2.2.4 นำส่วนผสมทั้ง 3 มาผสมกันและละลายด้วยน้ำ DI ปริมาณ 250 มิลลิลิตร

3.2.2.5 ปรับ pH เป็น 6.80 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

3.2.2.6 นำทั้งสองขวดไป auto clave เพื่อฆ่าเชื้อ 15 นาที เมื่อนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว จึงนำแมกนีเซียมซัลเฟสมาผสมกับ SA medium

3.2.2.7 ชั่งแมกนีเซียมซัลเฟส 10.00 กรัม ละลายในน้ำ 100 มิลลิลิตร แล้วนำ 100 มิลลิลิตรมา 2.5 มิลลิลิตรใน SA medium 250 มิลลิลิตร

การเตรียม CAS agar

1) นำอาหาร SA medium 900 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย CAS agar 100 มิลลิลิตร ผสมกับวุ้น 15 กรัม ต้มก่อนแล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2) สารละลาย CAS assay solution สำหรับทดสอบความสามารถในการผลิตสารไซเดอร์โรฟอร์ของแบคทีเรีย

2.1) สาร A : ละลายโครมอะซูรอลเอส 0.121 กรัม ในนำกลั่น 100 มิลลิลิตร ดูดสารละลายที่ได้ 7.5 มิลลิลิตร เติมลงใน (สารละลายเฟอรริกอิออน 10 มิลลิโมลาร์กับ เฟอริกคลอไรด์ ($FeCl_3$ .6 H_2O) 10 มิลลิโมลาร์) กรดไฮโดรครอริก 1.5 มิลลิลิตร

2.2) สาร B : ละลายสารเฮกซาเดซิลไตเมธิลแอมโมเนียมโบรไมล์ 0.3645 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร อย่างช้าๆ จากนั้นดูดสารละลายที่ได้ 6 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น 94 มิลลิลิตร

3.3 การแยกเชื้อแบคทีเรียจากดินปากปล่องและดินจอมปลวกภูเขาไฟ

3.3.1 การแยกเชื้อแบคทีเรียจากปากปล่องด้วยอาหาร PCA

วิธีการทดลอง

1) นำดินจากปากปล่องภูเขาไฟ 10 g ละลายในน้ำกลั่น 95 ml

2) นำน้ำที่ได้มาเจือจางความเข้มข้น 10^{-1} ปริมาตร 2 ml ลงในน้ำกลั่น 18 ml 10^{-2} ทำเช่นกันนี้จนถึง 10^{-8}

3) จากนั้นนำดินที่เจือจางแล้วมาเพาะเลี้ยงในอาหาร PCA โดยใช่ปริมาตรทุกค่าความเจือจาง 0.1 ml นำไปบ่มในอุณหภูมิ 35 ^{0}C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สังเกตดูลักษณะเชื้อนับจำนวนโคโลนีแบคทีเรียทั้งหมดที่เจริญบนอาหาร PCA

4) จากนั้นนำแบคทีเรียแต่ละไอโซเลตที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์โดยวิธี Streak plate บนอาหาร PCA แล้วเก็บรักษาไว้ศึกษาต่อไป

5) ดำเนินการเช่นเดียวกับขั้นที่ 1 ถึง 4 แต่เปลี่ยนอาหารในขั้นที่ 3 เป็น Brain Heart Infusion Agar, Nutrient Agar และ Soil Extract Agar ตามลำดับ ดังหัวข้อถัดไป

3.3.2 การแยกแบคทีเรียจากปากปล่องด้วย Brain Heart Infusion Agar

3.3.2.1 นำอาหาร BHA มาเทลงใน Plate จำนวน 8 Plate

3.3.2.2 เมื่ออาหารแข็งตัวแล้วนำดินที่เตรียมจากจอมปลวกจำนวน 8 ขวดเกลี่ยลงในแต่ละ Plate

3.3.2.3 นำไปใส่ในตู้เพาะเชื้อแบคทีเรีย

3.3.2.4 สังเกตและบันทึกผลเมื่อเวลาผ่านไป 1 วัน

3.3.3 การแยกเชื้อแบคทีเรียจากปากปล่องด้วยอาหาร Nutrient Agar

3.3.3.1 นำอาหาร NA มาเทลงใน Plate จำนวน 8 Plate

3.3.3.2 เมื่ออาหารแข็งตัวแล้วนำดินที่เตรียมจากจอมปลวกจำนวน 8 ขวดเกลี่ยลงในแต่ละ Plate

3.3.3.3 นำไปใส่ในตู้เพาะเชื้อแบคทีเรีย

3.3.3.4 สังเกตและบันทึกผลเมื่อเวลาผ่านไป 1 วัน

3.3.4 การแยกเชื้อแบคทีเรียจากปากปล่องด้วยอาหาร Soil Extract Agar

ดำเนินการเป็นขั้นๆ ดังนี้

3.3.4.1 ใช้ปิเปตดูดสารละลายของดินจอมปลวกปริมาตร 0.1 ml ค่อยๆ ปล่อยลงบนอาหารวุ้นแข็ง โดยเริ่มจากขวดที่ 1 ลงใน Plate ที่ 1

3.3.4.2 นำแท่งแก้วรูปไม้ฮอกกี้ ซึ่งได้แช่ในแอลกอฮอล์มาผ่านเปลวไฟ เกลี่ยเชื้อในอาหารให้ทั่วผิวหลายๆ ครั้งเพื่อให้เชื้อกระจายได้ทั่ว plate

3.3.4.3 ทำเช่นนี้จนครบ 8 plate

3.3.4.4 นำไปเก็บไว้ที่ตู้บ่มเชื้อ หรือที่อุณหภูมิห้อง คือ 25°C

3.3.4.5 บันทึกผล

3.3.5 การแยกเชื้อแบคทีเรียจากดินจอมปลวก

การแยกเชื้อแบคทีเรียจากดินจอมปลวกภูเขาไฟ ได้ดำเนินการศึกษาเช่นเดียวกับกรณีของดินปากปล่องภูเขาไฟ โดยใช้อาหาร PCA, Brain Heart Infusion Agar, Nutrient Agar และ Soil Extract Agar ตามลำดับ เป็นเกณฑ์ในการคัดเลือก วิธีการทดลองเป็นไปตามข้อ 3.3.1 ถึง 3.3.5 (ทำนองเดียวกับดินปากปล่องภูเขาไฟ)

3.4 การย้อมสีแกรม

3.4.1 สีและสารละลายที่ใช้

ในการทดลองนี้ใช้**สีและสารละลาย** ดังนี้

3.4.1.1 Crystal violet

3.4.1.2 สารละลายไอโอดีน

3.4.1.3 เอทธิลแอลกอฮอล์ 95 %

3.4.1.4 Safranin

3.4.1.5 น้ำกลั่น

3.4.2 วิธีการย้อมแกรม

3.4.2.1 ใช้ลูปที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เขี่ยเชื้อที่ต้องการย้อมลงบนแผ่นกระจกสไลด์ที่สะอาด แล้วหยดน้ำกลั่นลง 1 หยด ทิ้งให้แห้งจากนั้นตรึงเซลล์ด้วยการผ่านเปลวไฟ (ระวังเซลล์จะแตกตาย) การตรึงเซลล์จะช่วยให้เซลล์แห้งติดกับแผ่นกระจกสไลด์

3.4.2.2 หยด Ammonium oxalate crystal violet บนเชื้อที่ smear นานประมาณ 1-2 นาที แล้วเทสีทิ้งโดยให้น้ำไหลผ่าน

3.4.2.3 หยดสารละลายไอโอดีนตามลงไปนานประมาณ 2 นาที แล้วเททิ้งโดยให้น้ำไหลผ่านสารละลายไอโอดีนจะช่วยให้เซลล์ย้อมสีติดได้ดีขึ้น

3.4.2.4 ขั้นตอนนี้เรียกว่า Decolorized โดยการล้างสีด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 95% นาน 30 วินาที แล้วจึงตามด้วยน้ำกลั่น

3.4.2.5 หยดสี Safranin บนเชื้อนานประมาณ 15-30 วินาที ล้างสีด้วยน้ำแล้วจึงมองเซลล์ผ่านทางกล้องจุลทรรศน์ บันทึกผล

3.5 การทดสอบความสามารถในการผลิตไซเดอโรฟอร์ของแบคทีเรีย

นำ SA medium 1 ลิตร ผสมกับ $MgSO_4$ 10 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ นำแบคทีเรีย แต่ละ Isolate ลงไปเลี้ยงในอาหาร SA medium ที่เตรียมไว้ให้ครบทั้งหมด ปิดจุกแล้วปิดทับด้วยกระดาษอะลูมิเนียมฟอยล์ แล้วนำไปเขย่าเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ณ อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำสารละลายในขวดรูปชมพู่ไปถ่ายลงในอาหาร CAS agar แล้วนำไปเลี้ยงไว้ในตู้บ่ม

3.5.1 การเพิ่มจำนวนแบคทีเรียใน SA medium

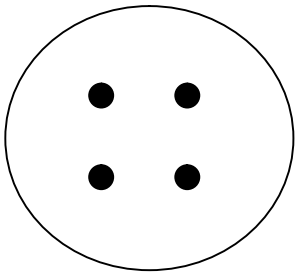
3.5.1.1 นำอาหาร SA medium ปริมาณ 250 มิลลิลิตร ที่เตรียมไว้หลังจากนำไปนึ่งแล้ว นำไปไว้ในตู้ลามินาร์โฟร์

3.5.1.2 ตวงอาหาร SA medium ลงในกระบอกตวง 10.00 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่

3.5.1.3 นำแต่ละ Isolate ลงในขวดที่มีอาหารเหลว SA แต่ละใบจนกระทั่งครบทั้งหมด ปิดจุกและปิดทับด้วยกระดาษฟอยล์ แล้วนำไปสเตอร์ทิ้งไว้ประมาณ 24 ชั่วโมง บันทึกผล

3.5.2 การทดสอบความสามารถในการผลิตไซเดอโรฟอร์ด้วยเทคนิค CAS

3.5.2.1 หลังจากเท CAS agar ลงใน Plate แล้วรอให้แข็งตัว จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้ในอาหารเหลว SA medium มาหยดลงใน Plate ของอาหาร CAS



3.5.2.2 ปิดเชื้อและนำไปเลี้ยงไว้ในตู้บ่มเชื้อ สังเกต บันทึกผล

3.6 การผลิตไซเดอโรฟอร์

3.6.1 การเตรียมอาหาร SA medium เพื่อผลิตไซเดอโรฟอร์

3.6.1.1 ซูโครส 20.00 กรัม/ลิตร

3.6.1.2 L (-) เอสพาราจีน 2.0 กรัม/ลิตร

3.6.1.3 โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 1 กรัม/ลิตร

3.6.1.4 นำส่วนผสมทั้ง 3 มาผสมกันและละลายด้วยน้ำปราศจากไอออน (DI) ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

3.6.1.5 ปรับ pH เป็น 6.80 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

3.6.1.6 ชั่งแมกนีเซียมซัลเฟส 10.00 กรัม ละลายในน้ำ 100 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่

3.6.1.7 นำทั้ง 2 ขวดไปนึ่งฆ่าเชื้อ ที่ 121 ^{0}C นาน 15 นาที

3.6.1.8 เมื่อนึ่งเสร็จแล้วจึงเติมสารละลายของแมกนีเซียมซัลเฟตรวมกับ SA medium

หมายเหตุ: 10 % แมกนีเซียมซัลเฟส (แยกกำจัดเชื้อ) โดยใช้ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ต่อ SA medium 100 มิลลิลิตร เทผสมกันหลังจากกำจัดเชื้อและสารละลายเย็นแล้ว

3.6.2 การผลิตไซเดอโรฟอร์

3.6.2.1 นำแบคทีเรียที่ทราบประสิทธิภาพในการผลิตไซเดอโรฟอร์แต่ละ ไอโซเลตลงในอาหารเหลว SA

3.6.2.2 ทำการกวนแบคทีเรียอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 18 ถึง 24 ชั่วโมง

3.6.2.3 จะได้ไซเดอโรฟอร์ในรูปของเหลว (Supernatant)

3.7 การทดสอบชนิดของไซเดอโรฟอร์

3.7.1 วิธีการตรวจสอบไฮดรอกซาเมทไซเดอโรฟอร์

นำสารละลายของไซเดอโรฟอร์ที่ได้จากเชื้อแบคทีเรียมาทำการตรวจสอบไฮดรอกซาเมท-ไซเดอโรฟอร์ ด้วยวิธีการต่างๆ ดังต่อไปนี้

ก. Csaky test

วิธีทดลอง

ปิเปตสารตัวอย่าง จำนวน 2.00 mL ลงในหลอดทดลองขนาด 15.00 mL เติมสารละลายกรดซัลฟิ วริก 3.00 M จำนวน 2.00 mL แล้ว hydrolyzed ในตู้อบเป็นเวลา 4 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 120 ^{0}C ปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วเทลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50.00 mL และเติมสารละลาย 2.00Mของโซเดียมอะซีเตต จำนวน 7.00 mL จากนั้นเติมสารละลายซัลฟานิลามีน จำนวน 2.00 mL ละลายไอโอดีน จำนวน 2.00 mL เขย่าให้ผสมกัน และปล่อยให้ทำปฏิกิริยากันอย่างสมบูรณ์เป็นเวลา 5นาที ไอโอดีนที่มีมากเกินพอกำจัดโดยเติมสารละลายโซเดียมอาร์ซีไนต์ 2.00 mL เติมสารละลายแนพธิลเอธิลลีนไดเอมีน จำนวน 2.00 mL ปล่อยไว้ 30 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์

จะได้สารละลายสีคราม วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 543 nm ซึ่งได้ผลดังตารางที่ 4.25

ข. Berg และ Becker test

วิธีทดลอง

เติมสารตัวอย่าง จำนวน 2.00 mL ลงในบีกเกอร์ขนาด 50.00 mL เติม 8-hydroxy quinoline จำนวน 2.00 mL และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 1.00 M จำนวน 2.00 mL เขย่า 30 วินาที ตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ แล้วเติม โซเดียมไฮดรอกไซด์ 14.00 mL ของ 1.00M และ 2.00 mL ของ 1.00 M โซเดียมคาร์บอเนต เพื่อไฮโดรไลซีส สารผสมปรับ pH ให้คงที่ ที่ 11.00±0.50 จะได้สารละลายสีน้ำเงินอมเขียว (Green indooxine) วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 700 nm ได้ผลดังตารางที่ 4.26

การเตรียมสารละลายสำหรับตรวจสอบแคทีโคเลท

ก. สารละลายไนไตรต์-โมลิบเดท รีเอเจนต์

ชั่งโซเดียมไนไตรต์ 10.00 g และโซเดียมโมลิบเดท 10.00 g ละลายใน 100.00 mL ของน้ำปราศจากไอออน

ข. สารละลายโซเดียมไนไตรต์ 250.00 ppm ชั่งโซเดียมไนไตรต์ 0.25 g ละลายในน้ำปราศจากไอออน และปรับปริมาตร ในขวดวัดปริมาตรจนครบ 1.00 L

ค. สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 0.50 M ปิเปตกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1.00 M มาจำนวน 50.00 mL ปรับปริมาตร ในขวดวัดปริมาตรเป็น 100.00 mL ง. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.00 M ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4.00 g ละลายน้ำ แล้วปรับปริมาตรในขวดวัดปริมาตรเป็น 100.00 mL

3.7.2 การทดสอบไซเดอโรฟอร์ชนิดแคทีโคเลท ไซเดอโรฟอร์ (catecholate siderophore, phenolate) โดยใช้

วิธีของ Arnow

วิธีทดลอง

เติมสารละลายตัวอย่างของไซเดอโรฟอร์ ลงในหลอดทดลองขนาด 5.00 mL เติมสารละลาย กรดไฮโดรคลอริก 1.00 mL และเติมสารละลายไนไตรต์-โมลิบเดท 1.00 mL เขย่าให้ผสมกัน จากนั้นเติมสารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.00 mL เขย่าให้เกิดปฏิกิริยาสมบูรณ์ วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 510 nm ซึ่งได้ผลดังตารางที่ 4.27

3.8 การทดสอบฤทธิ์ของไซเดอร์ฟอร์ต่อเชื้อโรคของหอมแดงและกระเทียม

3.8.1 การทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อราก่อโรคในห้องทดลอง (*in vitro* technique)

เตรียมอาหาร Potato sucrose agar (PSA) ซึ่งมีส่วนประกอบดังนี้

3.8.1.1 ผสม Potato 200 g น้ำตาล 10 g ผงวุ้น 15 g และน้ำ 1.0 ลิตร ต้มและปรับ pH ประมาณ 5.4-5.6 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์

3.8.1.2 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ แล้วเทลงบนจานเลี้ยงเชื้อในตู้ถ่ายเชื้อ

3.8.1.3 นำเชื้อราก่อโรคหอมแดงชนิดต่างๆ ทั้ง 5 ชนิด ลงในแต่ละจานของข้อ 2)

3.8.1.4 เตรียมความเข้มข้นของไซเดอโรฟอร์ให้มีความเข้มข้นเป็นเปอร์เซ็นต์ ดังตารางที่ 4.28

3.8.1.5 ทดสอบการต้านเชื้อราของไซเดอโรฟอร์ด้วยเทคนิค paper disc diffusion method

3.8.1.6 สังเกตและบันทึกผล

3.8.2 การสอบในแปลงทดลอง

3.8.2.1 แปลงทดลองของมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

1) เตรียมแปลงปลูกหอมแดงและกระเทียม

2) หลังจากปลูกหอมแดงและกระเทียมได้ 4 วัน ทำให้หอมแดงและกระเทียมติดเชื้อราชนิดต่างๆ โดยการนำเชื้อที่บริสุทธิ์เหล่านี้ทาลงบนต้นหอม ดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ชนิดของเชื้อราที่ใส่ลงในแปลงทดลอง

แปลงทดลอง	เชื้อรา
แปลงควบคุม	-
Treatment 1	*A.niger*
Treatment 2	*A.porri*
Treatment 3	*B.squamosa*
Treatment 4	*C.circinans*
Treatment 5	*S.sclerotiorum*

จากนั้นตามด้วยการใส่ปุ๋ยสูตรต่างๆ ตามลงไปทันทีดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 ปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษผสมไซเดอโรฟอร์จากแบคทีเรียชนิดต่างๆ ที่ใส่ลงในแปลงทดลอง

แปลงทดลอง	ปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษผสมไซเดอโรฟอร์จากแบคทีเรีย
แปลงควบคุม	-
Treatment 1	MHB12
Treatment 2	MHB14
Treatment 3	VMB17
Treatment 4	MHB13
Treatment 5	VMB18

3.8.2.2 แปลงทดลองของเกษตรกร

สำหรับแปลงทดลองของเกษตรกรทั้งของบ้านโคกสะอาด ตำบลสะแกซำ อำเภอเมือง และบ้านโคกเพ็ก ตำบลชุมเห็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ จะไม่เติมเชื้อราลงในแปลงผัก เพื่อป้องกันการระบาดที่อาจจะควบคุมไม่ได้ แต่ได้ใส่ปุ๋ยอินทรีย์สูตรผสมไซเดอโรฟอร์จากแบคทีเรียชนิดต่างๆ ดังตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 ปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษผสมไซเดอโรฟอร์จากแบคทีเรียชนิดต่างๆ ที่ใส่ลงในแปลงทดลองของเกษตรกรทั้งสองหมู่บ้าน

แปลงทดลอง	**ปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษผสมไซเดอโรฟอร์จากแบคทีเรีย**
แปลงควบคุม	-
Treatment 1	MHB12
Treatment 2	MHB14
Treatment 3	VMB17
Treatment 4	MHB13
Treatment 5	VMB18

3.9 ผลของไซเดอโรฟอร์ต่ออัตราการเจริญติบโตของหอมแดง และกระเทียม

นอกจากจะได้ศึกษาผลของปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษต่อต้านเชื้อราก่อโรคของหอมแดงและกระเทียมแล้วคณะผู้วิจัยยังได้ทำการศึกษาผลของปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษนี้ที่มีต่อการเจริญเติมโตเพิ่มเติมโตของทั้งหอมแดงและกระเทียมอีกด้วย โดยได้ทำการนับจำนวนใบ วัดส่วนสูง และชั่งน้ำของทั้งหอมแดงและกระเทียมที่ผลิตได้ ดังผลในตารางที่ 4.30-4.31

3.10 การผลิตปุ๋ยอินทรีย์สูตรผสมไซเดอโรฟอร์

หลังจากทำการทดสอบในห้องปฏิบัติการและในแปลงทดลองจนทราบสัดส่วนที่แน่นอนแล้วจึงนำมาผสมกับปุ๋ยอินทรีย์ (จาก หมู่ 12 บ้านโคกสะอาด ตำบลหนองตราด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์) โดยใช้สัดส่วนเช่นเดียวกับสัดส่วนที่ออกฤทธิ์สูงสุด จากผลการทดลองในห้องปฏิบัติการ

3.11 การถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยอินทรีย์สูตรผสมไซเดอโรฟอร์สู่ชุมชน

หลังจากทราบผลจากห้องปฏิบัติการ และที่ได้จากแปลงทดลองแล้ว คณะผู้วิจัยได้ถ่ายทอดการผสมปุ๋ยสูตรพิเศษผสมไซเดอโรฟอร์ให้กับชาวบ้านโคกเพ็ก ตำบลชุมเห็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ เพื่อนำไปใช้ในแปลงผักของตนเองต่อไป ดังรายละเอียด

บทที่ 4
ผลการทดลอง

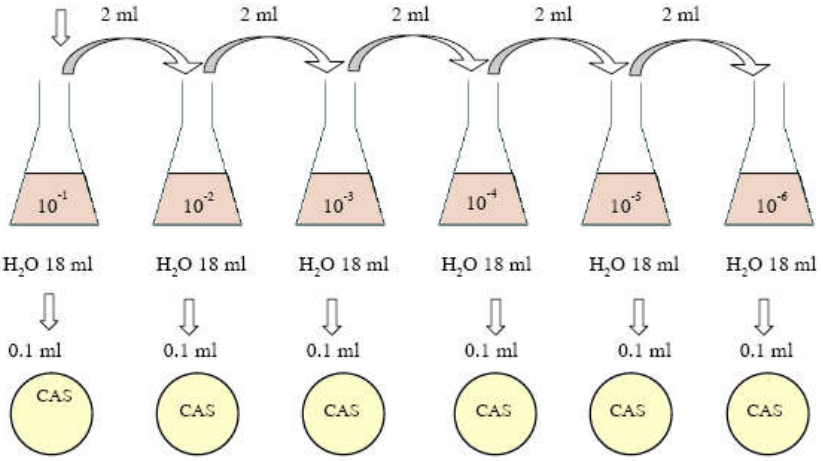
4.1 บทนำ

ในบทนี้คณะผู้วิจัยได้นำเสนอผลการทดลอง โดยแสดงให้เห็นถึงแบคทีเรียไอโซเลตต่างๆ ที่ได้จากการคัดแยกโดยใช้อาหารเป็นเกณฑ์ คือ Plate Count Agar (PCA), Brain Heart Infusion Agar (BHIA), Nutrient agar (NA) และ Soil Extract Agar (SEA) การย้อมสีแกรม ความสามารถในการสร้างไซเดอโรฟอร์ของแบคทีเรีย

4.2 แบคทีเรียที่ได้จากดินปากปล่องภูเขาไฟ

4.2.1 ลักษณะและจำนวนไอโซเลตของแบคทีจากดินปากปล่องภูเขาไฟที่ได้ เมื่อเลี้ยงในอาหาร Plate Count Agar

หลังจากนำดินจากปากปล่องภูเขาไฟมาทำแยกแบคทีเรียด้วยเทคนิคเจือแบบสองเท่า (Double dilution method) ในอาหาร PCA ได้ผลดังตารางที่ 4.1



ตารางที่ 4.1 ลักษณะของโคโลนี รูปร่าง สี และแกรมของแบคทีเรีย

แบคทีเรีย	ขนาดของโคโลนี (mm)	รูปร่างของโคโลนี	สีของแต่ละไอโซเลต	แกรม
VMP1	11.0	วงกลมซ้อนทับกัน	เหลืองขุ่น	ลบ
VMP2	15.0	วงกลม	ขาวขุ่น	ลบ
VMP3	8.0	วงกลม	ขาวใส	บวก
VMP4	3.5	วงกลมขอบหยัก	เหลืองขุ่นๆ	บวก
VMP5	2.0	วงกลม	เหลืองส้ม	บวก
VMP6	3.0	วงกลม	เหลืองขุ่น	ลบ
VMP7	0.5	วงกลมเล็กๆ เกาะกันเป็นกลุ่ม	เหลืองใส	ลบ
VMP8	4.5	วงกลม	ขาวขุ่น	ลบ
VMP9	5.5	วงกลม	เหลืองขุ่น	บวก
VMP10	3.0	วงกลมขอบหยัก	เหลืองขุ่น	ลบ
VMP11	5.0	ขอบหยัก	ขาวขุ่น	ลบ
VMP12	2.0	วงกลม	ขาวใส	ลบ
VMP13	6.5	วงกลม	ขาวขุ่น	บวก
VMP14	0.5	วงกลมเกาะกันเป็นกลุ่ม	เหลืองเข้มใส	ลบ
VMP15	2.5	วงกลม	เหลืองขุ่น	บวก

แบคทีเรียที่ขึ้นในอาหาร PCA มีเป็นจำนวนมาก แต่คณะผู้วิจัยได้ทำการเลือกโคโลนีที่เด่นชัดมาทั้งหมด 15 ไอโซเลต (VMP1-VMP15)

4.2.2 ลักษณะและจำนวนไอโซเลตของแบคทีจากดินปากปล่องภูเขาไฟที่แยกได้เมื่อเลี้ยงในอาหาร Brain Heart Infusin Agar

นำดินจากปากปล่องภูเขาไฟมาทำแยกแบคทีเรียด้วยเทคนิคเจือแบบสองเท่า (Double dilution method) ในอาหาร BHIA ได้ผลดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ดินปากปล่องภูเขาไฟในอาหาร Brain Heart Infusion Agar

แบคทีเรีย	ขนาดโคโลนี (mm)	รูปร่าง	สี
VMBH1	0.7	เป็นจุดวงกลมเล็กๆกระจายอยู่ทั่ว plate มีสีเหลืองและสีน้ำตาลบริเวณกลาง plate อยู่อย่างหนาทึบมีสีเขียว	เหลืองและน้ำตาล
VMBH2	0.4	เป็นวงกลมเกาะกลุ่มกันอยู่ มีสีขาวใสและขาวขุ่นเหมือนไข่ปลา	ขาวใส
VMBH3	0.8	เหมือนไข่ปลาและคล้ายดอกไม้ มีเส้นใยขึ้นปลายขอบจะแฉก มีทั้งสีขาวใสและขาวขุ่น	ขาวใส
VMBH4	1.0	มีลักษณะเหมือนไข่ปลา และใบของผักแว่นและเหมือนดอกไม้ อยู่กันกระจัดกระจาย	ขาวขุ่น
VMBH5	0.5	เป็นจุดวงกลมสีส้มมีทั้งสีขาวใสและขาวขุ่นและมีเกาะกันอยู่เหมือนตีนตุ๊กแกขอบหยักมน	ส้ม
VMBH6	1.2	มีขอบหยักเป็นลอนรูปวงรีใหญ่และเป็นจุดวงกลมเกาะกันอยู่มากเหมือนไข่ปลา	ขาวขุ่น
VMBH7	0.2	มีจุดวงกลมสีเหลืองเข้มและวงกลมเรียบเกิดไม่มาก	เหลืองเข้ม
VMBH8	0.9	เหมือนรากไม้ เป็นจุดวงกลมสีเหลือง ขาวขุ่นและขาวใส เป็นเส้นใย	ขาวขุ่นและขาวใส

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

แบคทีเรีย	ขนาดโคโลนี(mm)	รูปร่าง	สี
VMBH9	0.3	เป็นวงกลมขอบขรุขะ	สีน้ำตาล
VMBH10	2.3	วงกลมขอบหยัก	ขาวขุ่น
VMBH11	0.6	วงกลมขอบไม่เรียบ	สีน้ำตาล
VMBH12	4.1	วงกลมขอบหยัก	ขาวขุ่น
VMBH13	3.2	จุดเล็กๆ	ขาวขุ่น
VMBH14	1.1	วงกลม	ขาวใส
VMBH15	1.4	วงกลมขอบไม่เรียบ	สีเขียว
VMBH16	0.5	จุดเล็กๆ	ขาวขุ่น
VMBH17	2.0	วงกลม	เหลือง
VMBH18	3.2	วงกลม	ขาวขุ่น

อาหาร Infusion นี้มีความจำเพาะเจาะจงต่อชนิดแบคทีเรียมาก ดังนั้นจำนวนไอโซเลตของแบคทีเรียที่เจริญเติบโตในอาหารชนิดนี้จึงมีจำนวนน้อยลง แต่ก็สามารถแยกได้ถึง 18 ไอโซเลต จากนั้นนำไปทำแกรมจำแนกโดยย้อมสีแกรม

ตารางที่ 4.3 การย้อมสีแบคทีเรียอนุกรม VMBH

แบคทีเรีย	การทำปฏิกิริยาการย้อมสี	แกรม
VMBH1	ติดสีแดง	ลบ (-)
VMBH2	ติดสีแดง	ลบ (-)
VMBH3	ติดสีแดง	ลบ (-)
VMBH4	ติดสีแดง	ลบ (-)
VMBH5	ติดสีแดง	ลบ (-)
VMBH6	ติดสีม่วง	บวก (+)
VMBH7	ติดสีแดง	ลบ (-)
VMBH8	ติดสีแดง	ลบ (-)
VMBH9	ติดสีแดง	ลบ (-)
VMBH10	ติดสีม่วง	บวก (+)
VMBH11	ติดสีม่วง	บวก (+)
VMBH12	ติดสีแดง	ลบ (-)
VMBH13	ติดสีแดง	ลบ (-)
VMBH14	ติดสีแดง	ลบ (-)
VMBH15	ติดสีแดง	ลบ (-)
VMBH16	ติดสีม่วง	บวก (+)
VMBH17	ติดสีม่วง	บวก (+)
VMBH18	ติดสีม่วง	บวก (+)

แบคทีเรียส่วนมากจะเป็นแกรมบวกพียง 6 ไฮโซเลตที่เหลือเป็นแกรมลบ

4.2.3 ลักษณะและจำนวนไอโซเลตของแบคทีจากดินปากปล่องภูเขาไฟที่แยกได้จากอาหาร Nutrient Agar

นำดินจากปากปล่องภูเขาไฟมาทำแยกแบคทีเรียด้วยเทคนิคเจือแบบสองเท่า (Double dilution method) ในอาหาร NA ได้ผลดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ผลการคัดแยกแบคทีเรียด้วยอาหาร Nutrient Agar

แบคทีเรีย	ขนาดโคโลนี (mm)	รูปร่าง	สี
VMNA1	1.0	ขอบหยัก	ขาวขุ่น
VMNA2	5.0	วงกลม เป็นจุดไข่ปลา	ขาวขุ่น
VMNA3	7.0	เป็นวงขอบหยัก	ขาวขุ่น
VMNA4	1.0	เป็นจุดขอบหยัก	ขาวขุ่น
VMNA5	1.0	ข้างในใส ขอบหยัก	ขาวขุ่น
VMNA6	5.0	เป็นวง ขอบหยัก	สีส้ม

ตารางที่ 4.5 การย้อมสีแกรมของแบคทีเรียอนุกรม VMNA

แบคทีเรีย	แกรม
VMNA1	ลบ (-)
VMNA2	บวก (+)
VMNA3	บวก (+)
VMNA4	ลบ (-)
VMNA5	บวก (+)
VMNA6	บวก (+)

แบคทีเรียจากปากปล่องภูเขาไฟเจริญเติบโตในอาหารชนิดนี้ได้ไม่มาก

4.2.4 ลักษณะและจำนวนไอโซเลตของแบคทีจากดินปากปล่องภูเขาไฟที่ได้ เมื่อเลี้ยงในอาหาร Soil Extract Agar

นำดินจากปากปล่องภูเขาไฟมาทำแยกแบคทีเรียด้วยเทคนิคเจือแบบสองเท่า (Double dilution method) ในอาหาร SEA ได้ผลดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ผลการคัดแยกแบคทีเรียด้วยอาหาร Soil Extract Agar จากดินปากปล่องภูเขาไฟ

แบคทีเรีย	ขนาดของโคโลนี (mm)	รูปร่าง	สี
VMSEA1	0.4	มีสีขาวขุ่น เป็นจุดวงงกลมเล็กๆเหมือนไข่ปลา	ขาวขุ่น
VMSEA2	1.0	วงกลมเล็ก	เหลือง
VMSEA3	2.0	วงกลม	เหลืองอ่อน
VMSEA4	0.5	มีจุดวงกลมเล็กๆ 1 จุด ขอบเรียบ และขอบหยัก	ขาวใส
VMSEA5	1.0	วงกลมเล็กๆ	ขาว
VMSEA6	2.0	เป็นวงกลมขนาดใหญ่ ขอบเป็นรูปวงกลมเล็กๆ ขอบหยัก ตรงกลางมีจุดวงกลมอยู่ 1 จุด	ขาวขุ่น
VMSEA7	1.7	มีสีขาวใส ขอบหยัก	ขาวใส

ตารางที่ 4.7 การย้อมสีแกรมของแบคทีเรียอนุกรม VMSEA

แบคทีเรีย	การทำปฏิกิริยาการย้อมสี	แกรม
VMSEA1	ติดสีแดง	ลบ (-)
VMSEA2	ติดสีม่วง	บวก (+)
VMSEA3	ติดสีม่วง	บวก (+)
VMSEA4	ติดสีแดง	ลบ (-)
VMSEA5	ติดสีแดง	ลบ (-)
VMSEA6	ติดสีแดง	ลบ (-)
VMSEA7	ติดสีม่วง	บวก (+)

แบคทีเรียจากปากปล่องภูเขาไฟจะเจริญเติบในอาหาร Soil Extract Agar ได้น้อยมากกว่าอาหารชนิดอื่นที่ใช้ศึกษาในครั้งนี้

ตารางที่ 4.8 ลักษณะของแบคทีเรียจากดินปากปล่องภูเขาไฟลงใน SA medium

แบคทีเรีย	**ลักษณะของโคโลนี**	**ลักษณะต่าง ๆ ภายใต้แสง UV**
VMSEA1	มีสีขาวอมเหลืองใส	มีสีฟ้าใส
VMSEA2	มีสีเหลืองอมเขียว	มีสีเขียวอ่อนอมฟ้าใส
VMSEA3	มีสีขาวขุ่น	มีสีฟ้าใส
VMSEA4	มีสีขาวขุ่น	มีสีม่วงใส
VMSEA5	มีสีขาวขุ่นอมเหลืองเล็กน้อย	มีสีฟ้าทึบ
VMSEA6	มีสีเหลืองเข้มใส	มีสีน้ำเงินใส
VMSEA7	มีสีเหลืองขุ่น	มีสีฟ้าใส

จำนวนแบคทีเรียที่แยกได้จากดินปากปล่องในอาหารทั้งสี่ชนิด มีจำนวนทั้งหมดเท่ากับ 46 ไอโซเลต

4.3 แบคทีเรียที่ได้จากดินจอมปลวกภูเขาไฟ

4.3.1 ลักษณะและจำนวนไอโซเลตของแบคทีจากดินจอมปลวกภูเขาไฟที่ได้ เมื่อเลี้ยงในอาหาร Plate Count Agar

นำดินจากจอมปลวกภูเขาไฟมาทำแยกแบคทีเรียด้วยเทคนิคเจือแบบสองเท่า (Double dilution method) ในอาหาร PCA ได้ผลดังตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 ลักษณะของแบคทีเรียจากจอมปลวกในอาหาร PCA

แบคทีเรีย	**ขนาดของโคโลนี (mm)**	**รูปร่าง ลักษณะของโคโลนี**	**สี**
MHP1	9	ขอบหยักรูปคล้ายใบเฟิร์น	ขาวใส
MHP2	6.5	ขอบหยักผิวขรุขระ	ขาวขุ่น
MHP3	4.5	วงกลมขอบบางตรงกลางเล็กๆสีดำ	ขาวขุ่น
MHP4	4.5	วงกลมขอบใสตรงกลางผิวเรียบ	ขาวขุ่น
MHP5	2.5	วงกลมขอบหยักใสมีจุดตรงกลางขุ่น	ขาวขุ่น
MHP6	3	วงกลมซ้อนกันขอบใสตรงกลางขุ่น	ขาว
MHP7	25	เยื่อบางๆแผ่	ขาวใส
MHP8	5.5	โค้งขอบหยักข้างในผิวเรียบ	ขาวขุ่น
MHP9	1.5	วงรีขอบหยักตรงกลางผิวเรียบขุ่น	ขาวขุ่น
MHP10	3.5	วงรีขอบหยักตรงกลางมีจุดสีแดงเล็ก	ขาวขุ่นสีแดงตรงกลาง
MHP11	0.5	วงกลมสีเหลืองเล็กๆ	สีเหลืองเข้ม
MHP12	2	วงกลมขอบหยักใสผิวขรุขระ	สีขาว
MHP13	2.5	วงกลมขอบหยักขุ่นมีวงกลมชั้นในสองชั้น ชั้นในสุดขุ่น	ขาวใส
MHP14	1.5	วงกลมใสขอบเข้ม	ขาวใส
MHP15	12	รอบนอกบางข้างในหนาผิวขรุขระ	ขาวใส
MHP16	9	รูปร่างยาวขอบเข้ม	ขาว
MHP17	3.5	วงรีใสผิวขรุขระ	ขาวใส

ตารางที่ 4.10 ผลการย้อมสีแกรมแบคทีเรียอนุกรม MHP ที่กำลังขยาย 10x

แบคทีเรีย	การย้อมแกรม
MHP1	สีแดง (แกรมลบ)
MHP2	สีแดง (แกรมลบ)
MHP3	สีแดง (แกรมลบ)
MHP4	สีแดง (แกรมลบ)
MHP5	สีแดง (แกรมลบ)
MHP6	สีแดง (แกรมลบ)
MHP7	สีแดง (แกรมลบ)
MHP8	สีแดง (แกรมลบ)
MHP9	สีแดง (แกรมลบ)
MHP10	สีแดง (แกรมลบ)
MHP11	สีแดง (แกรมลบ)
MHP12	สีแดง(แกรมลบ)
MHP13	สีแดง (แกรมลบ)
MHP14	สีแดง (แกรมลบ)
MHP15	สีแดง (แกรมลบ)
MHP16	สีม่วง (แกรมบวก)
MHP17	สีแดง (แกรมลบ)

อนุกรมนี้มีไอโซเลตที่น่าสนใจ 17 ไอโซเลต เป็นแกรมลบเกือบทั้งหมด มีเพียง MHP16 ที่เป็นแกรมบวก

4.3.2 ลักษณะและจำนวนไอโซเลตของแบคทีจากดินจอมปลวกภูเขาไฟที่ได้เมื่อเลี้ยงในอาหาร Brain Heart Infusin Agar

นำดินจากจอมปลวกภูเขาไฟมาทำแยกแบคทีเรียด้วยเทคนิคเจือแบบสองเท่า (double dilution method) ในอาหาร BHIA ได้ผลดังตารางที่ 4.11

ตารางที่ 4.11 จอมปลวกในอาหาร BHIA

แบคทีเรีย	ขนาด(mm)	รูปร่าง ลักษณะของโคโลนี	สี
MHB1	7.0	วงกลมขอบหยักตรงกลางบุ๋ม	ขาวขุ่น
MHB2	8.0	วงกลมขอบหยักตรงกลางกลมใส	ขาวขุ่น
MHB3	5.0	วงกลมขอบหยักตรงกลางเป็นวงรีใส	ขาวขุ่น
MHB4	10.0	วงกลมขอบหยัก	ขาวขุ่น
MHB5	3.0	วงกลมมีลายหยัก	ขาวขุ่น
MHB6	10.0	วงกลมขอบกลม	ขาวขุ่น
MHB7	0.1	วงกลมอยู่กันเป็นกลุ่มเล็กๆ	ขาวขุ่น
MHB8	4.0	วงกลมติดกัน 3 อัน	ขาวขุ่น
MHB9	4.0	วงกลมขอบหยัก	ขาว
MHB10	9.0	วงกลมขอบหยักเล็กน้อย	ขาว
MHB11	10.0	ขอบหยักเป็นแฉก	ขาวจางๆ
MHB12	11.0	วงกลม	เหลือง
MHB13	10.0	วงกลม	ขาวขุ่น
MHB14	12.0	วงกลม	เหลืองอ่อน

ตารางที่ 4.12 ผลการย้อมสีแกรมแบคทีเรียใน BHIA ที่กำลังขยาย 10x

แบคทีเรีย	การย้อมแกรม
MHB1	สีแดง (แกรมลบ)
MHB2	สีแดง (แกรมลบ)
MHB3	สีแดง(แกรมลบ)
MHB4	สีม่วง (แกรมบวก)
MHB5	สีแดง (แกรมลบ)
MHB6	สีม่วง (แกรมบวก)
MHB7	สีม่วง (แกรมบวก)
MHB8	สีม่วง (แกรมบวก)
MHB9	สีแดง (แกรมลบ)
MHB10	สีม่วง (แกรมบวก)
MHB11	สีม่วง (แกรมบวก)
MHB12	สีม่วง (แกรมบวก)
MHB13	สีม่วง (แกรมบวก)
MHB14	สีแดง (แกรมลบ)

อนุกรมนี้มีจำนวนไอโซเลตที่คัดแยกมาศึกษา 14 ไอโซเลต

4.3.3 ลักษณะและจำนวนไอโซเลตของแบคทีจากดินจอมปลวกภูเขาไฟที่ได้เมื่อเลี้ยงในอาหาร Nutrient Agar

นำดินจากจอมปลวกภูเขาไฟมาทำแยกแบคทีเรียด้วยเทคนิคเจือแบบสองเท่า (Double dilution method) ในอาหาร NA ได้ผลดังตารางที่ 4.13

ตารางที่ 4.13 จอมปลวกในอาหาร NA

แบคทีเรีย	ขนาดโคโลนี (mm)	รูปร่างลักษณะของโคโลนี	สี
MHN1	13	ขอบแฉกใสตรงกลางขุ่น	ขาวขุ่น
MHN2	16	ขอบหกแฉกตรงกลางเป็นเส้นแฉก	ขาวขุ่น
MHN3	7	วงกลมขอบหยักตรงกลาง	ขาวขุ่น
MHN4	5	ขอบหยักใสตรงกลางขุ่น	ขาวขุ่น
MHN5	3	ขอบหยักตรงกลางมีจุดเล็กๆ	ขาว
MHN6	2	วงกลมขอบขุ่นตรงกลางใส	เหลืองใส
MHN7	3.5	คล้ายเลขแปดหัวโต	เหลือง
MHN8	3.5	วงกลมขอบใสตรงกลางขุ่นมีจุดเล็กๆ	ขาวขุ่น
MHN9	3	วงกลมขอบหยักมีจุดตรงกลาง	สีเหลืองอ่อน
MHN10	2.5	วงกลมใส	ขาวใส
MHN11	2.5	วงกลมเล็กๆบุ๋มตรงกลาง	สีขาว
MHN12	5	วงกลมขอบหยักตรงกลางใส	สีขุ่น
MHN13	7	วงกลมขอบหยักใสตรงกลางมีจุดสีดำเล็ก	เหลืองใส
MHN14	6	ขอบหยักใสตรงกลางเป็นวงรี	ขาวขุ่น
MHN15	1	วงกลมเล็กๆ	เหลืองใส

ตารางที่ 4.14 ผลการย้อมสีแกรมแบคทีเรียจากอาหาร NA ที่กำลังขยาย 10x

แบคทีเรีย	การย้อมแกรม
MHN1	สีม่วง (แกรมบวก)
MHN2	สีม่วง (แกรมบวก)
MHN3	สีม่วง (แกรมบวก)
MHN4	สีม่วง (แกรมบวก)
MHN5	สีม่วง (แกรมบวก)
MHN6	สีม่วง (แกรมบวก)
MHN7	สีม่วง (แกรมบวก)
MHN8	สีม่วง (แกรมบวก)
MHN9	สีแดง (แกรมลบ)
MHN10	สีแดง (แกรมลบ)
MHN11	สีแดง (แกรมลบ)
MHN12	สีแดง(แกรมลบ)
MHN13	สีแดง (แกรมลบ)
MHN14	สีแดง (แกรมลบ)
MHN15	สีแดง (แกรมลบ)

อนุกรมนี้มี 15 ไอโซเลตที่แยกมาศึกษา

4.3.4 ลักษณะและจำนวนไอโซเลตของแบคทีจากดินจอมปลวกภูเขาไฟที่ได้เมื่อเลี้ยงในอาหาร Soil Extract Agar

นำดินจากจอมปลวกภูเขาไฟมาทำแยกแบคทีเรียด้วยเทคนิคเจือแบบสองเท่า (Double dilution method) ในอาหาร SEA ได้ผลดังตารางที่ 4.15

ตารางที่ 4.15 จอมปลวกในอาหาร Soil Extract Agar

แบคทีเรีย	ขนาดของโคโลนี (mm)	รูปร่างlักษณะของโคโลนี	สี
MHSEA1	0.3	มีสีขาวขุ่น เป็นจุดวงกลมเล็กขึ้นทั่ว plate	สีขาวขุ่น
MHSEA2	3.4	มีสีขาวขุ่น เป็นวงกลมขอบหยัก	สีขาวขุ่น
MHSEA3	2.6	มีสีขาวใส เป็นจุดเล็กๆเหมือนไข่ปลา	สีขาวใส
MHSEA4	1.7	มีสีขาวขุ่น วงกลมขนาดปานกลาง ขอนหยัก	สีขาวขุ่น

ตารางที่ 4.16 การย้อมสีแบคทีเรียของดินจากจอมปลวกในอาหาร Soil Extract Agar

แบคทีเรีย	การทำปฏิกิริยาการย้อมสี	แกรม
MHSEA1	ติดสีแดง	ลบ (-)
MHSEA2	ติดสีแดง	ลบ (-)
MHSEA3	ติดสีม่วง	บวก (+)
MHSEA4	ติดสีม่วง	บวก (+)

อนุกรมนี้มีจำนวนไอโซเลตที่ขึ้นได้ในอาหารชนิดนี้น้อยมาก ที่สามารถคัดแยกมาได้มีเพียง 4 ไอโซเลต

แบคทีเรียที่แยกได้จากดินจอมปลวกภูเขาไฟรวม 50 ไอโซเลต

ดังนั้นแบคทีเรียที่ได้จากดินทั้งปากปล่องและจอมปลวกภูเขาไฟเขากระโดงรวมทั้งสิ้น 96 ไอโซเลต จากนั้นนำไอโซเลตเหล่านี้ไปทดสอบความสามารถในการผลิตไซเดอโรฟอร์ด้วย CAS method ดังรายละเอียดในหัวข้อถัดไป

4.4 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียจากดินปากปล่อง แต่ละชนิดในการผลิตไซเดอโรฟอร์

หลังจากคัดแยกได้แล้ว นำไอโซเลตแต่ละอนุกรมมาทดสอบความสามารถในการผลิต ไซเดอโรฟอร์ด้วย CAS technique ได้ผลดังต่อไปนี้

4.4.1 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียอนุกรม VMP ในการผลิตไซเดอโรฟอร์

ตารางที่ 4.17 การสร้างวงสีบน CAS agar ของอนุกรม VMP

ชนิดแบคทีเรีย	การเกิดวงสีใน CAS agar	ขนาดของวงสี (mm)
VMP1	เกิดวงสีส้มขนาดใหญ่ ตรงกลางเป็นจุดสีขาว ขอบเป็นสีส้ม	4.3
VMP2	เกิดวงสีส้มขนาดใหญ่ ตรงกลางเป็นจุดสีส้ม	2.5
VMP3	เกิดวงสีน้ำตาล	3.0
VMP4	ไม่เกิดวงสี	-
VMP5	ไม่เกิดวงสี	-
VMP6	ไม่เกิดวงสี	-
VMP7	ไม่เกิดวงสี	-
VMP8	ไม่เกิดวงสี	-
VMP9	ไม่เกิดวงสี	-
VMP10	ไม่เกิดวงสี	-
VMP11	เกิดวงสีส้มขนาดใหญ่ ตรงกลางเป็นจุดสีส้ม	3.7
VMP12	เกิดวงสีส้มขนากใหญ่ ตรงกลางเป็นจุดสีส้ม 3 จุด	4.5
VMP13	ไม่เกิดวงสี	-
VMP14	ไม่เกิดวงสี	-
VMP15	ไม่เกิดวงสี	-

อนุกรมนี้ผลิตไซเดอโรฟอร์ได้ไม่ดี และมีเพียง 5 ไอโซเลตที่ปรากฏวงสีบน CAS

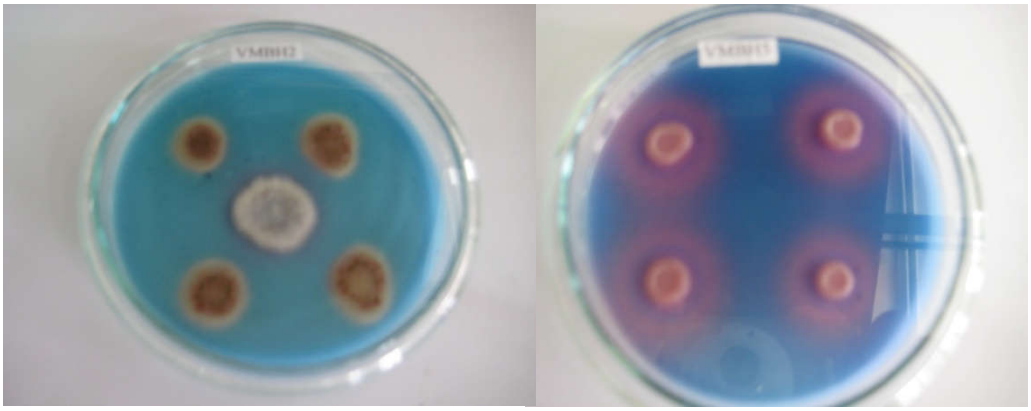
4.4.2 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียอนุกรม VMB ในการผลิตไซเดอโรฟอร์

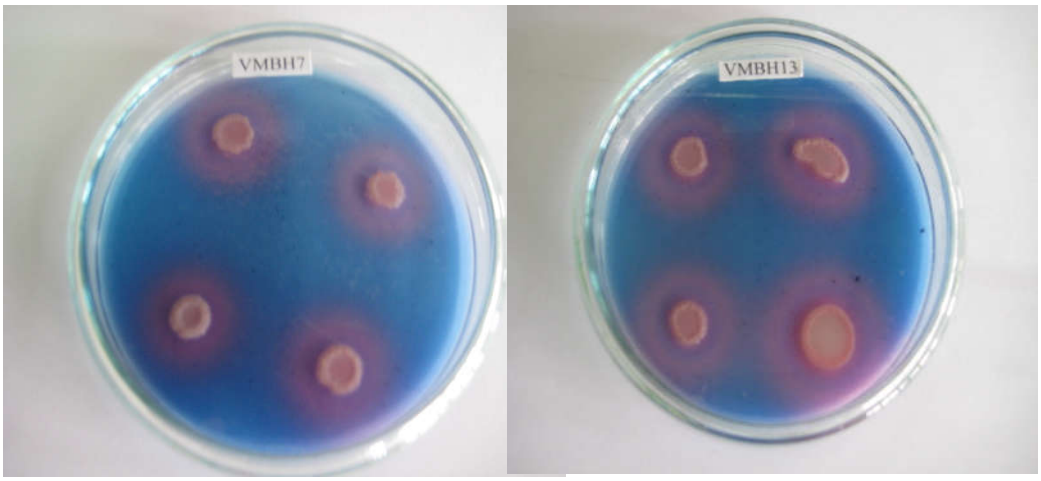
ตารางที่ 4.18 การสร้างวงสีบน CAS Agar ของอนุกรม VMB

แบคทีเรีย	วงสีของ CAS Agar	เส้นผ่านศูนย์กลางของวงสี (mm)
VMBH1	เกิดวงสีส้ม	10.0
VMBH2	เกิดวงสีเหลืองใส ตรงกลางเป็นสีส้ม	15.0
VMBH3	เกิดวงสีขาวขุ่น	16.0
VMBH4	เกิดวงสีขาว ขอบใส ตรงกลางขุ่น	10.0
VMBH5	กิดวงสีส้ม	16.0
VMBH6	เกิดวงสีส้ม	19.0
VMBH7	เกิดวงสีส้ม	17.5
VMBH8	เกิดวงสีขาวขุ่น แกมชมพูอ่อนๆ	22.0
VMBH9	เกิดวงสีขาวขุ่น	13.0
VMBH10	เกิดวงสีขาวขุ่น	14.0
VMBH11	เกิดวงสีขาวขุ่น	12.0
VMBH12	เกิดวงสีส้ม	23.0
VMBH13	เกิดวงสีส้มขนาดใหญ่	25.0
VMBH14	เกิดวงสีส้ม	22.0
VMBH15	เกิดวงสีส้มขนาดใหญ่	30.0
VMBH16	เกิดวงสีส้ม	22.0
VMBH17	เกิดวงสีส้ม	35.0
VMBH18	เกิดวงสีส้ม	34.0

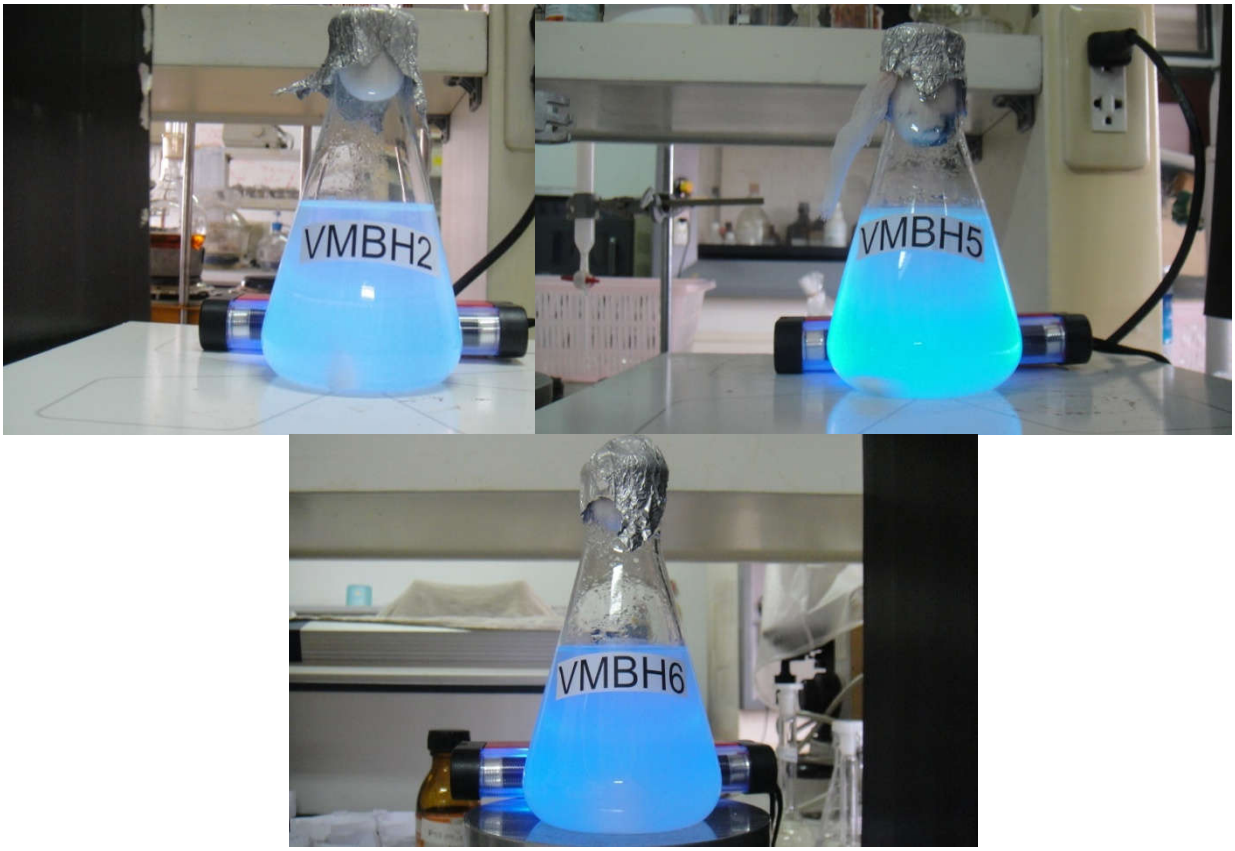
แบคทีเรียอนุกรม VMBH สร้างวงสีบน CAS ได้ดีทุกตัว โดยเฉพาะ VMBH17 และ VMBH18 สร้างวงสีขนาดใหญ่ที่สุด

ลักษณะของวงสีเป็นดังภาพข้างล่าง





ภาพที่ 4.1 ตัวอย่างการสร้างวงสีบน CAS Agar ของแบคทีเรียบางชนิด (VMBH2, VMBH5, VMBH7 และ VMBH13)



ภาพที่ 4.2 ตัวอย่างการเรืองแสงของไซเดอโรฟอร์จากแบคทีเรียบางชนิด (VMBH2, VMBH5 และ VMBH6) ภายใต้แสงยูวี

4.4.3 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียอนุกรม VMN ในการผลิตไซเดอโรฟอร์

ตารางที่ 4.19 การสร้างวงสีบน CAS Agar ของอนุกรม VMN**A**

แบคทีเรีย	การเกิดวงสี	เส้นผ่าศูนย์กลางของสี (mm)
VMNA1	ไม่เกิดวงสี	-
VMNA2	ไม่เกิดวงสี	-
VMNA3	เกิดวงสีน้ำตาล	27.5
VMNA4	เกิดวงสีน้ำตาล	25.0
VMNA5	ไม่เกิดวงสี	-
VMNA6	เกิดวงสีส้ม	22.5

4.4.4 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียอนุกรม VMSEA ในการผลิตไซเดอโรฟอร์

ตารางที่ 4.20 การสร้างวงสีบน CAS Agar ของอนุกรม VMSEA

แบคทีเรีย	วงสีของ CAS Agar	เส้นผ่านศูนย์กลางของวงสี (mm)
VMSEA1	เกิดวงสีส้ม	12.5
VMSEA2	เกิดวงสีขาว ตรงกลางเป็นสีส้ม	19.5
VMSEA3	เกิดวงสีขาว ตรงกลางเป็นสีส้ม	18.5
VMSEA4	เกิดวงสีส้มอ่อน	13.5
VMSEA5	เกิดวงสีส้มและสีขาว	14.3
VMSEA6	เกิดวงสีส้มอ่อน	28.5
VMSEA7	เกิดวงสีขาวแกมส้ม	17.5

4.5 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียจากดินจอมปลวก แต่ละชนิดในการผลิตไซเดอโรฟอร์

4.5.1 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียอนุกรม MHP ในการผลิตไซเดอโรฟอร์

1) ตวง SA medium 10 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขวดที่ 1 คือ MHP1-MHP17

2) ใช้ลูปเขี่ยเชื้อ MHP1 แล้วแตะลงในขวดรูปชมพู่ขวดที่ 1 คือ MHP1 จนกระทั่งถึง MHP17 ปิดจุกให้สนิท แล้วปิดทับด้วยกระดาษฟอยล์ แล้วนำไปสเตอร์ ทิ้งไว้ประมาณ 24 ชั่วโมง

3) สังเกตผลเมื่อเวลาผ่านไป 1 วัน

ตารางที่ 4.21 การสร้างวงสีบน CAS Agar ของอนุกรม MHP

ชนิดแบคทีเรีย	การเกิดวงสีใน CAS Agar	ขนาดของวงสี (mm)
MHP1	เกิดวงสีขาวขุ่น	15.5
MHP2	เกิดวงสีขาว ตรงกลางใส	14.0
MHP3	เกิดวงสีขาว	15.3
MHP4	เกิดวงสีเหลือง	12.5
MHP5	เกิดวงสีขาว	11.5
MHP6	เกิดวงสีเหลือง ตรงกลางสีส้ม	14.8
MHP7	เกิดวงสีขาว ตรงกลางขาวขุ่นขอบสีชมพู	13.8
MHP8	เกิดวงสีขาวขุ่น	6.3
MHP9	เกิดวงสีขาว ตรงกลางใส	15.8
MHP10	เกิดวงสีขาวขุ่น	11.0
MHP11	เกิดวงสีขาว ตรงกลางเป็นสีส้ม	13.3
MHP12	เกิดวงสีชมพู	15.0
MHP13	เกิดวงสีขาว ตรงกลางสีส้ม	16.8
MHP14	เกิดวงสีขาวขุ่น ตรงกลางใส	17.0
MHP15	เกิดวงสีขาว	5.0
MHP16	ไม่เกิด	-
MHP17	เกิดวงสีขาว	15.5

4.5.2 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียอนุกรม MHB ในการผลิตไซเดอโรฟอร์

ตารางที่ 4.22 ผลการเกิดวงสีใน CAS Agar ของอนุกรม MHB

แบคทีเรีย	ลักษณะของแบคทีเรีย	ขนาดของวงสี (mm)
MHB1	ไม่เกิด	-
MHB2	วงสีส้มอมชมพู	17.50
MHB3	ไม่เกิด	-
MHB4	วงสีส้มอมชมพู	13.50
MHB5	วงสีส้มอมชมพูขุ่น	17.50
MHB6	วงสีส้มอมชมพูขอบสีส้มใสตรงกลางขุ่น	19.00
MHB7	วงสีขาวขุ่นตรงกลาง ขอบขาวใส	17.00
MHB8	วงสีส้มอ่อนๆ	16.25
MHB9	วงสีส้มอมชมพูขุ่น	11.25
MHB10	วงสีส้มอมชมพู	11.25
MHB11	วงสีส้มอมชมพู	14.50
MHB12	เกิดวงสีส้มอมชมพู	23.0
MHB13	เกิดวงสีส้มอมชมพู	25.0
MHB14	เกิดวงสีส้มอมชมพู	27.0

4.5.3 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียอนุกรม MHN ในการผลิตไซเดอโรฟอร์

ตารางที่ 4.23 การเกิดวงสีใน CAS Agar ของอนุกรม MHN

แบคทีเรีย	ลักษณะแบคทีเรีย	ขนาดของวงสี (mm)
MHN1	วงสีส้มอมชมพู	15.66
MHN2	วงสีส้มอมชมพูอ่อนขอบขาวขุ่น	24.75
MHN3	วงสีส้มอมชมพูขอบขาวขุ่น	15.00
MHN4	วงสีส้มอมชมพูอ่อนๆ	14.75
MHN5	เกิดจุดเล็กๆเป็นกลุ่มสีขาวขุ่น	15.00
MHN6	วงยาวสีส้มอมชมพูขอบขาวขุ่น	17.00
MHN7	วงยาวสีส้มอมชมพู	16.00
MHN8	วงสีส้มอมชมพูเข้ม	20.00
MHN9	วงสีขาวตรงกลางขาวใสขอบขาวขุ่น	27.50
MHN10	วงยาวสีส้มอมชมพู	16.50
MHN11	วงสีขาวตรงกลางขาวใสขอบขาวขุ่น	19.75
MHN12	วงสีส้มตรงกลางขอบสีขาวขุ่น	15.33
MHN13	วงสีส้มอมชมพู	14.00
MHN14	วงสีส้มอมชมพูขอบขาวขุ่น	16.00
MHN15	วงสีส้มอมชมพูอ่อนๆ	20.00

อนุกรม MHN ผลิต siderophore ได้ทุกตัวและสร้างวงสีได้กว้างกว่าแบคทีเรียอนุกรมอื่นของดินจอมปลวก

4.5.4 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียอนุกรม MHSEA ในการผลิตไซเดอโรฟอร์

ตารางที่ 4.24 การทดลองจากการลงเชื้อใน CAS Agar ของอนุกรม MHSEA

แบคทีเรีย	**วงสีของ CAS Agar**	**เส้นผ่าศูนย์กลางของวงสี (mm)**
MHSEA1	เกิดวงสีส้มอ่อน	12.0
MHSEA2	เกิดวงสีส้มอ่อน	6.0
MHSEA3	เกิดวงสีส้มอ่อน	9.0
MHSEA4	เกิดวงสีส้มอ่อน	12.0
MHSEA5	เกิดวงสีขาวขุ่นแกมส้มอ่อน	10.0

การศึกษาในครั้งนี้คณะผู้วิจัยได้คัดแยกแบคทีเรียได้ไม่น้อยกว่า 89 ไอโซเลตเฉพาะที่น่าสนใจจากอาหารที่แตกต่างกัน ผลจากการทดลองด้วยเทคนิค CAS พบว่า แบคทีเรียส่วนมากทั้งแกรมบวกและแกรมลบสามารถผลิตไซเดอโรฟอร์ได้ จากนั้นคณะผู้วิจัยได้เลือกแบบเจาะจงเอามาทดสอบในขั้นตอนต่อไปจำนวน 5 ไอโซเลต คือ MHB12, MHB13, MHB14, VMB17และ VMB18

4.6 ผลการทดสอบชนิดของไซเดอโรฟอร์

4.6.1 ผลที่ได้จากการทดสอบชนิดของไซเดอโรฟอร์ชนิดไฮดรอกซาเมท

4.6.1.1 ผลที่ได้จากการทดสอบด้วยวิธี Csaky

ตารางที่ 4.25 ผลของการทดสอบไซเดอโรฟอร์ชนิดไฮดรอกซาเมทด้วยวิธี Csaky

Siderophore จาก	**สีของสารละลาย**	**λ_{max} (nm)**
MHB12	เหลืองอ่อน	360
MHB13	ใส	370
MHB14	ใส	355
VMB17	ใส	364
VMB18	ใส	360

จากตารางที่ 4.25 พบว่าสารตัวอย่างทุกตัวที่ได้นำมาทดสอบไซเดอโรฟอร์ชนิดไฮดรอกซาเมทด้วยวิธี Csaky มีผลเป็นลบ คือไม่ปรากฏสีคราม หลักจากที่เติมรีเอเจนต์ครบและปล่อยให้ทำปฏิกิริยาสมบูรณ์

4.6.1.2 ผลที่ได้จากการทดสอบวิธี Berg & Becker

ตารางที่ 4.26 ผลที่ได้จากการทดสอบไซเดอโรฟอร์ชนิดไฮดรอกซาเมทด้วยวิธี Berg & Becker

Siderophore จาก	**สีของสารละลาย**	**λ_{max} (nm)**	**Abs (700nm)**
MHB12	เหลือง	405	0.014
MHB13	เหลือง	405	0.004
MBH14	เหลือง	405	0.007
VMB17	เขียว	405	0.212
VMB18	เขียว	405	0.126

จากตารางที่ 4.26 พบว่าไซเดอโรฟอร์ที่ได้จากเชื้อแบคทีเรียปากปล่องภูเขาไฟทำให้สารละลายที่ได้มีสีเป็นเขียว แสดงว่าสารทั้งสองสารนี้เป็นไซเดอโรฟอร์ชนิดไฮดรอกซาเมทไซเดอโรฟอร์

4.6.2 ผลที่ได้จากการทดสอบสารไซเดอโรฟอร์ชนิดแคทีโคเลท

นำสารตัวอย่างจากตารางที่ 6 มาทำการทดสอบเพื่อวิเคราะห์สารไซเดอโรฟอร์ชนิดแคทีคอลซึ่งได้ผลดังแสดงใน**ตาราง**ที่ 4.27

ตารางที่ 4.27 ผลที่ได้จากการทดสอบไซเดอโรฟอร์ชนิดแคทีคอลด้วยวิธี Arnow ของตัวอย่างแต่ละชนิด

Siderophore จาก	**สีของสารละลาย**	**λ_{max} (nm)**	**Abs (510 nm)**
MHB12	สีส้ม	420	0.089
MHB13	สีแดง	500	0.059
MHB14	สีส้ม	425	0.090
VMB17	ใส	460	0.020
VMB18	สีชมพูอ่อน	425	0.022

จากตารางที่ 4.27 พบว่า หลังจากสารตัวอย่างทุกตัวทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์สมบูรณ์ มีสารละลายที่ได้จากแบคทีเรีย MHB12, MHB13 และ MHB14 เปลี่ยนเป็นสีส้มและสีแดงตามลำดับ

แสดงว่าไซเดอโรฟอร์จากแบคที่เรีย 3 ไอโซเลตนี้เป็นไซเดอโรฟอร์ชนิดแคทีคอล (Catecol siderophore)

4.7 ผลของการต้านการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรคในต้นหอม และกระเทียม

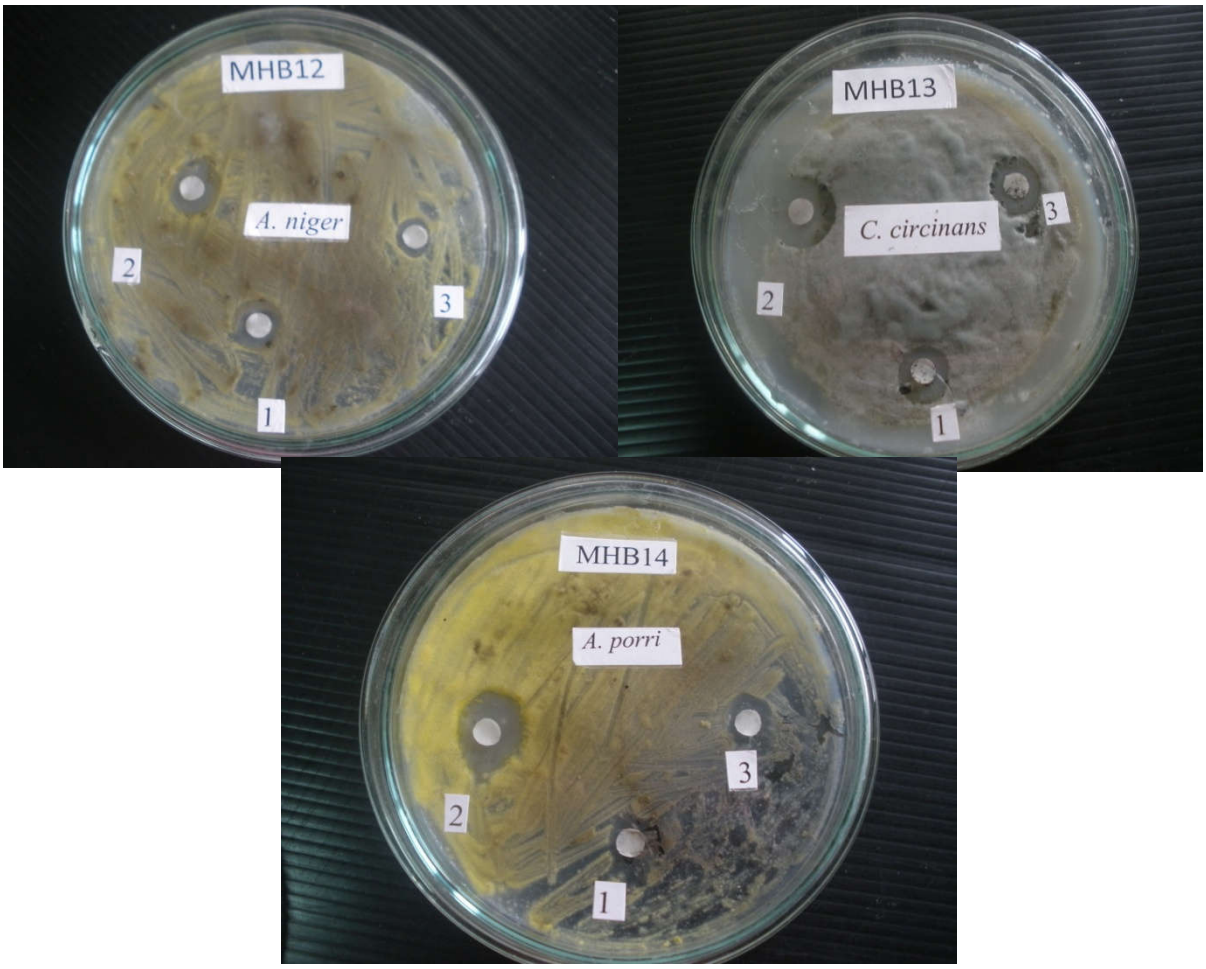
(*In Vitro* technique)

คณะผู้วิจัยได้เลือกแบคทีเรียแบบเจาะจงเพื่อนำมาทำการผลิตไซเดอโรฟอร์ในปริมาณที่มากขึ้น เพื่อนำไปใช้ในการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านเชื้อราของหอมแดงและกระเทียม

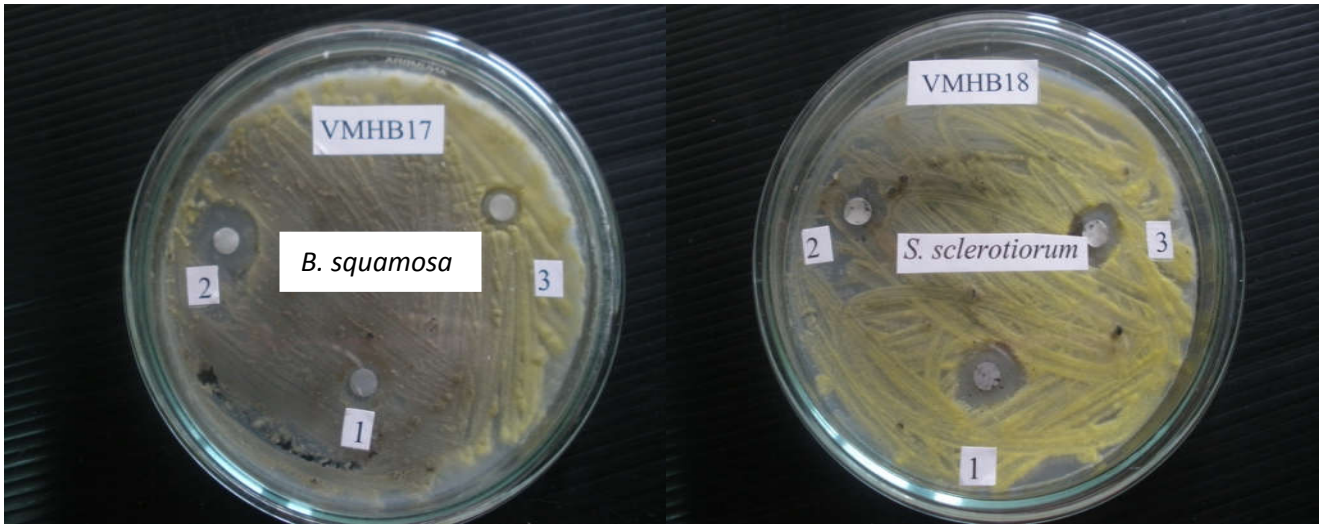
ตารางที่ 4.28 ผลการทดสอบการต้านเชื้อราก่อโรคของหอมแดงและกระเทียมของไซเดอโรฟอร์จากแบคทีเรียแต่ละไอโซเลต

ไอโซเลต	ความเข้มข้นที่ใช้ (%)	การออกฤทธิ์ต่อ เชื้อรา	ขนาดของ Clear zone ($\overline{X}$, mm)
MHB12	25	*A.niger*	9.0
MHB13	3	*A.niger*	10.0
	25	*A.porri*	12.0
	25	*B.squamosa*	10.0
	25	*C.circinans*	9.0
MHB14	3	*A.niger*	20.0
	25	*A.porri*	11.0
	25	*B.squamosa*	10.0
	25	*C.circinans*	9.0
VMB17	50	*A.niger*	10.0
		A.porri	9.0
		B.squamosa	10.0
VMB18	100	*S.sclerotiorum*	8.0
		B.squamosa	10.0
		C.circinans	10.0

จากตารางที่ 4.28 พบว่า ไซเดอโรฟอร์ที่ได้จากเชื่อแบคทีเรียทั้ง 5 ไอโซเลต สามารถต้านเชื้อราก่อโรคของหอมแดง และกระเทียมได้ด้วยความเข้มข้นในช่วง 3-100 % และนอกจากนี้แต่ละไอโซเลตยังสามารถต้านเชื้อราหลายหลายชนิดอีกด้วย ยกเว้น MHB12 เท่านั้นที่ต้านได้เพียงเชื้อรา *A. niger*



ภาพที่ 4.3 ผลการต้านเชื้อรา *A. porri*, *A. niger*, *C. circinans* ของไซเดอโรฟอร์จากเชื้อแบคทีเรีย MHB12, MHB13 และ MHB14 (หมายเลข 1 = 12.5 %, 2 = 50 % และ 3 = 25 % ของไซเดอโรฟอร์)



ภาพที่ 4.4 ผลการต้านเชื้อรา *B.squamosa*, *S.sclerotiorum* ของไซเดอโรฟอร์จากเชื้อแบคทีเรีย VMHB17 และ VMBH18 (หมายเลข 1= 12.5 %, 2= 50 % และ 3= 25% ของไซเดอโรฟอร์)

4.8 ผลของการต้านการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรคในต้นหอม และกระเทียมในแปลงทดลอง

หลังจากทราบผลการทดสอบในห้องปฏิบัติการแล้ว คณะผู้วิจัยได้ผลิตไซเดอโรฟอร์ให้ได้ปริมาณมากขึ้นแล้วนำไปทดสอบในแปลงทดลองของมหาวิทยาลัยและแปลงของเกษตรกรได้ผลดังนี้ คือ ทั้งแปลงของมหาวิทยาลัยและแปลงของเกษตรกรจะมีแปลงควบคุม (Control), Treatment 1, Treatment 2, Treatment 3, Treatment 4 และ Treatment 5 ดังตารางที่ 4.29

ภาพที่ 4.5 ลักษณะของสารละลายไซเดอโรฟอร์ที่ได้จากแบคทีเรีย (หมายเลข 1= MBH12, 2=MBH13, 3= MBH14, 4=VMB17 และ 5=VMB18) ที่เข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ นำสารละลายของไซเดอโรฟอร์ที่ความเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ผสมกับปุ๋ยอินทรีย์ในสัดส่วน 3

กิโลกรัมต่อสารละลายของไซเดอโรฟอร์ 1 ลิตร ซึ่งเป็นสัดส่วนที่สารละลายออกฤทธิ์ได้ดีที่สุด แล้วนำไปหว่านลงในแปลงทดลองที่ต้นหอมและกระเทียมทาด้วยเชื้อราก่อโรค

ตารางที่ 4.29 ผลของปุ๋ยอินทรีย์สูตรผสมไซเดอโรฟอร์ต่อต้านโรคของหอมแดงในแปลงทดลอง

Treatment	**ปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษผสมไซเดอโรฟอร์**	**ผลที่สังเกตได้**
แปลงควบคุม (Control)	มีเฉพาะปุ๋ยอินทรีย์	ต้นหอมไม่แข็งแรง และต้นหอมเกิดโรคเนื่องจากเชื้อรา
Treatment 1	ปุ๋ยอินทรีย์ผสมไซเดอโรฟอร์จาก MHB12	ต้นหอมเจริญได้ดีไม่มีโรค
Treatment 2	ปุ๋ยอินทรีย์ผสมไซเดอโรฟอร์จาก MHB14	ต้นหอมเจริญได้ดีไม่มีโรค
Treatment 3	ปุ๋ยอินทรีย์ผสมไซเดอโรฟอร์จาก VMBH17	ต้นหอมเจริญได้ดีไม่มีโรค
Treatment 4	ปุ๋ยอินทรีย์ผสมไซเดอโรฟอร์จาก MHB13	ต้นหอมเจริญได้ดีไม่มีโรค
Treatment 5	ปุ๋ยอินทรีย์ผสม ไซเดอโรฟอร์จาก VMBH18	ต้นหอมเจริญได้ดีไม่มีโรค

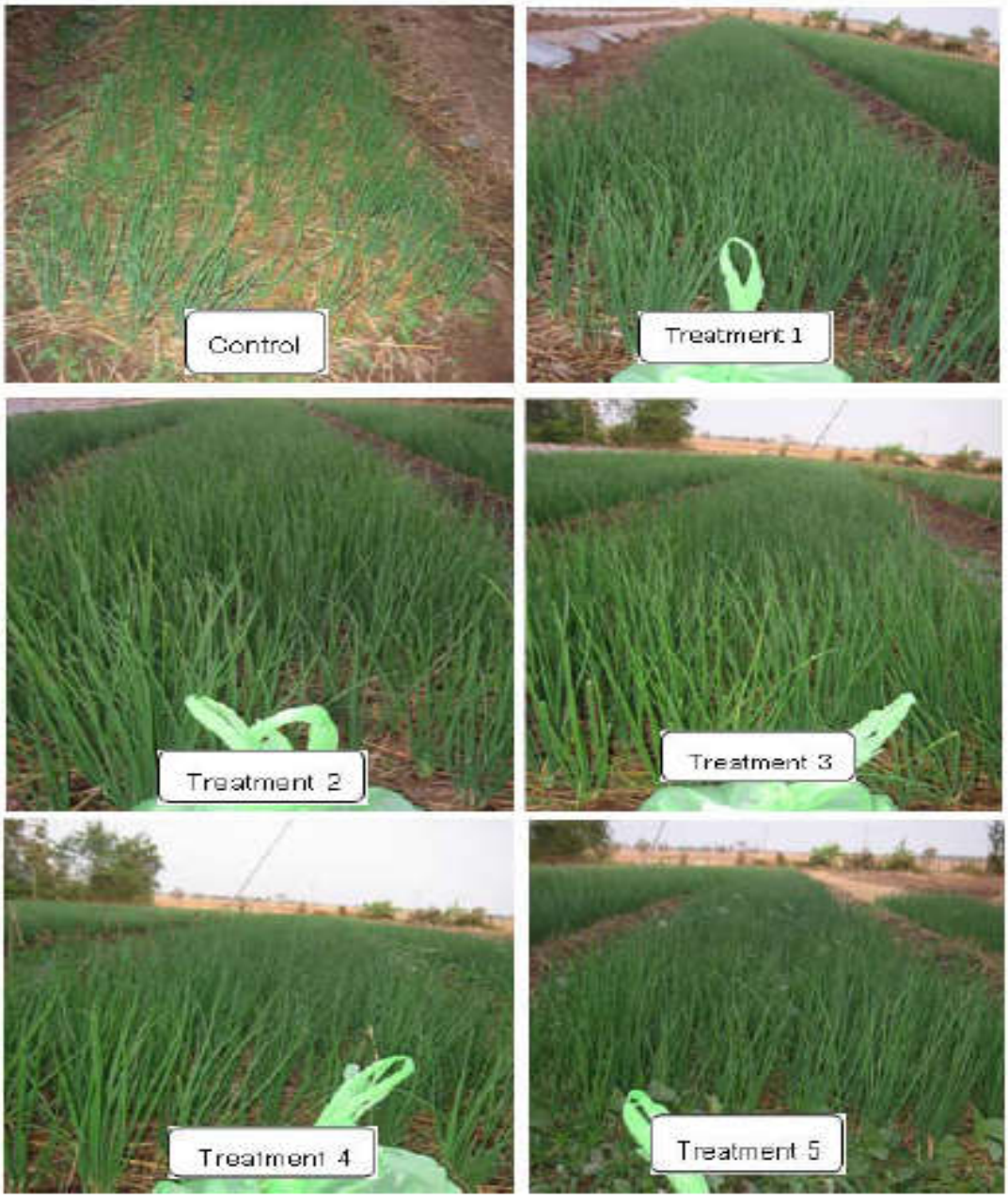
จากตารางที่ 4.29 จะเห็นว่าทุก Treatment เจริญเติบโตได้ดี และเชื้อราที่ฉาบทาอยู่ไม่สามารถเจริญเติบโตได้

ภาพที่ 4.6 แปลงกระเทียมที่ใช้ปุ๋ยสูตรผสมไซเดอโรฟอร์

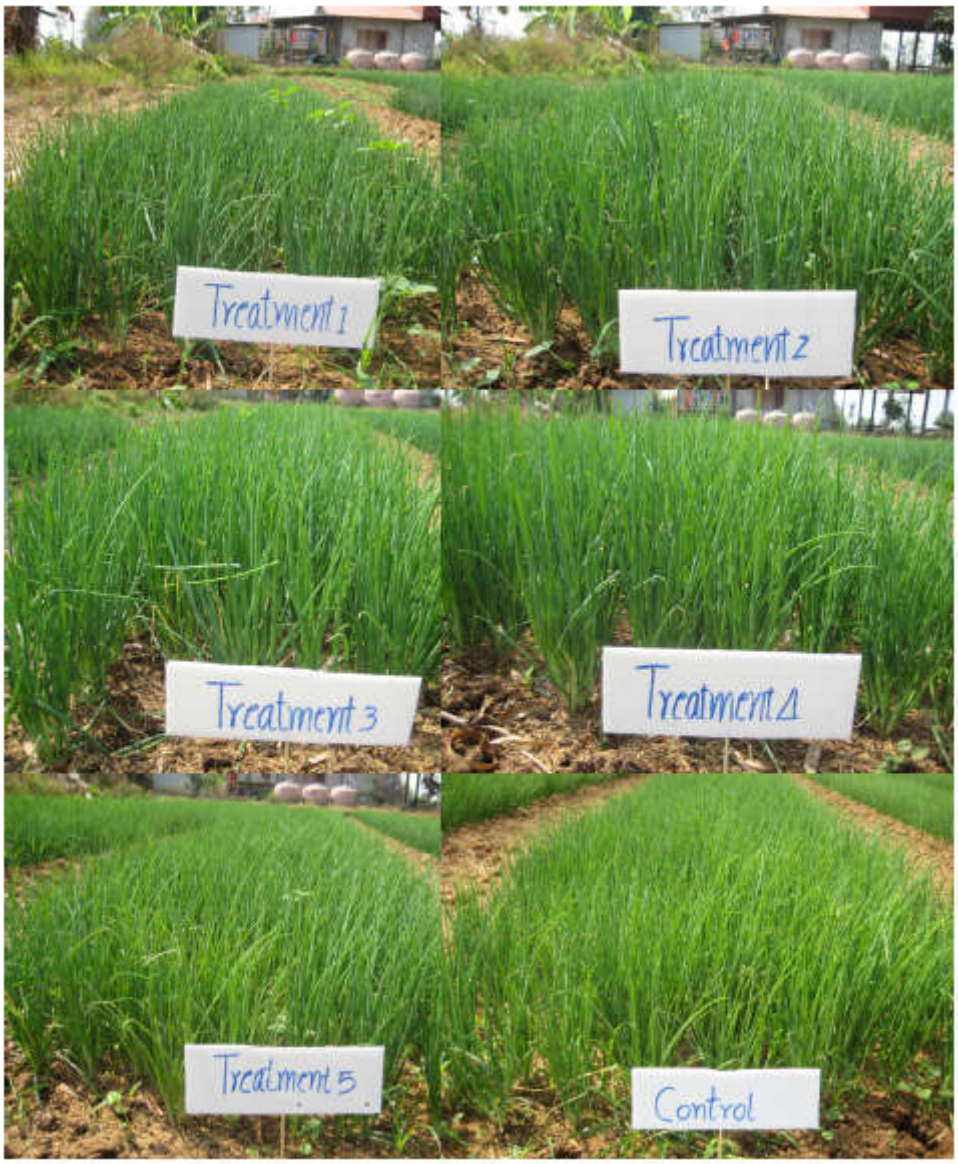
ผลการทดลองพบว่า กระเทียมเจริญเติบโตได้ดี ไม่พบการเกิดเชื้อรา แต่อาจมีต้นกระเทียมล้มบ้าง เพราะช่วงเวลาที่ปลูกมีลมแรง อากาศแปรปรวนมาก

ภาพที่ 4.7 แปลงทดลองของมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

พบว่า เฉพาะแปลงควบคุมเท่านั้นที่เมื่อเวลาผ่านไป ต้นหอมจะไม่แข็งแรง และเกิดโรค ส่วนแปลงที่ใช้ปุ๋ยอินทรีย์ผสมไซเดอโรฟอร์ยังเจริญเติบโตต่อไปได้ดี



ภาพที่ 4.8 แปลงทดลองบ้านโคกสะอาด ตำบลสะแกซำ อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์



ภาพที่ 4.9 แปลงทดลองของเกษตรกรบ้านโคกเพ็ก ตำบลชุมเห็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์

ผลที่ได้พบว่า หอมแดงเจริญเติบโตได้ดีไม่มีราก่อโรค

นอกจากนี้คณะผู้วิจัยยังได้ศึกษาผลของไซเดอโรฟอร์ต่อการเจริญเติบโตของหอมแดงและกระเทียมได้ผลดังตารางต่อไปนี้

ผลต่อการเจริญเติบโตของหอมแดงและกระเทียมเป็นดังนี้

ตารางที่ 4.30 ความสูงเฉลี่ยของหอมจำนวน 50 ต้น รอบที่ 1

Treatment	จำนวนวัน				ผลรวม	ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4		
Control	18.316	29.800	35.500	38.945	122.561	30.640
T1 (MHB12)	17.606	30.970	35.270	37.223	121.069	30.267
T2 (MHB14)	17.102	30.970	32.820	32.755	113.647	28.411
T3 (VMBH17)	16.650	27.180	28.620	30.551	103.001	25.750
T4 (MHB13)	17.792	30.428	35.630	33.970	117.820	29.455
T5 (VMBH18)	18.502	31.960	38.810	40.594	129.866	32.466

ตารางที่ 4.31 จำนวนใบเฉลี่ยของหอมจำนวน 50 ต้น รอบที่ 1

Treatment	จำนวนวัน				ผลรวม	ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4		
Control	7.000	8.500	8.580	9.675	33.755	8.439
T1 (MHB12)	7.140	9.440	10.720	12.688	39.988	9.997
T2 (MHB14)	5.960	3.080	9.180	10.265	28.485	7.121
T3 (VMBH17)	5.900	8.800	8.620	12.591	35.911	8.978
T4 (MHB13)	7.440	9.163	10.080	8.500	35.183	8.796
T5 (VMBH18)	6.340	9.500	10.640	10.400	36.880	9.220

ตารางที่ 4.32 ความสูงเฉลี่ยของหอมจำนวน 50 ต้น รอบที่ 2

Treatment	จำนวนวัน				ผลรวม	ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4		
Control	14.638	23.19	28.044	35.130	101.002	25.251
T1 (MHB12)	6.130	17.275	23.200	32.708	79.314	19.828
T2 (MHB14)	6.450	14.760	22.360	32.09	75.660	18.915
T3 (VMBH17)	7.724	17.930	27.160	35.656	88.470	22.118
T4 (MHB13)	7.584	19.360	28.308	37.680	92.932	23.233
T5 (VMBH18)	15.826	24.890	28.134	35.824	104.676	26.169

ตารางที่ 4.33 จำนวนใบเฉลี่ยของหอมจำนวน 50 ต้น รอบที่ 2

Treatment	จำนวนวัน				ผลรวม	ค่าเฉลี่ย
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4		
Control	3.140	4.080	4.640	4.918	16.778	4.195
T1 (MHB12)	2.000	3.081	3.940	5.000	14.022	3.505
T2 (MHB14)	2.040	3.060	3.960	4.900	13.960	3.490
T3 (VMBH17)	2.240	3.060	4.080	4.920	14.300	3.575
T4 (MHB13)	2.180	3.160	4.020	4.800	14.160	3.540
T5 (VMBH18)	3.160	4.120	5.040	5.740	18.060	4.515

ตารางที่ 4.34 ความสูงเฉลี่ยของหอมจำนวน 50 ต้น บ้านโคกเพ็ก โดยภาพรวม

Treatment	จำนวน		ผลรวม	ค่าเฉลี่ย
	รอบ1	รอบ 2		
Control	18.540	32.234	50.774	25.387
T1 (MHB12)	18.330	28.246	46.576	23.288
T2 (MHB14)	18.152	30.566	48.718	24.359
T3 (VMBH17)	18.674	31.480	50.154	25.077
T4 (MHB13)	18.810	33.906	52.716	26.358
T5 (VMBH18)	19.220	32.682	51.902	25.951

ตารางที่ 4.35 จำนวนใบเฉลี่ยของหอมจำนวน 50 ต้น บ้านโคกเพ็ก โดยภาพรวม

Treatment	จำนวน		ผลรวม	ค่าเฉลี่ย
	รอบ 1	รอบ 2		
Control	19.800	33.408	53.208	26.604
T1 (MHB12)	22.260	36.540	58.800	29.400
T2 (MHB14)	20.740	34.220	54.960	27.480
T3 (VMBH17)	19.720	33.260	52.980	26.490
T4 (MHB13)	20.840	37.340	58.180	29.090
T5 (VMBH18)	19.680	33.780	53.460	26.730

ตารางที่ 4.36 น้ำหนักของต้นหอม รอบ 1

ชนิดของแปลง	**น้ำหนักสด (กรัม)**	**หลังอบแห้ง (กรัม)**
แปลงควบคุม	650	150
T1 (MHB12)	800	205
T2 (MHB14)	600	120
T3 (VMBH17)	620	130
T4 (MHB13)	720	145
T5 (VMBH18)	850	205

ตารางที่ 4.37 น้ำหนักของต้นหอม รอบ 2

ชนิดของแปลง	**น้ำหนักสด(กรัม)**	**หลังอบแห้ง (กรัม)**
แปลงควบคุม	800	30
T1 (MHB12)	720	35
T2 (MHB14)	630	30
T3 (VMBH17)	730	35
T4 (MHB13)	850	35
T5 (VMBH18)	790	40

ตารางที่ 4.38 น้ำหนักของต้นหอม บ้านโคกเพ็ก

ชนิดของแปลง	น้ำหนักสด(กรัม)	หลังอบแห้ง (กรัม)
แปลงควบคุม	1,800	50
T1 (MHB12)	1,430	60
T2 (MHB14)	1,470	65
T3 (VMBH17)	1,710	65
T4 (MHB13)	1,790	65
T5 (VMBH18)	1,580	70

ตารางที่ 4.39 น้ำหนักของกระเทียม

ชนิดของแปลง	น้ำหนักสด(กรัม)	หลังอบแห้ง (กรัม)
แปลงควบคุม	360	152
T1 (MHB12)	700	300
T2 (MHB14)	370	175
T3 (VMBH17)	670	275
T4 (MHB13)	350	155
T5 (VMBH18)	400	180

จากตารางที่ 4.30 ถึง 4.39 นอกจากไซเดอโรฟอร์จากแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิดจะสามารถต้านการเจริญเติบโตของเชื้อราก่อโรคหอมแดงและกระเทียมแล้ว ไซเดอโรฟอร์บางชนิดยังสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของหอมแดงและกระเทียมได้อีกด้วย โดยเฉพาะไซเดอโรฟอร์จากแบคทีเรีย VMBH18

4.9 การถ่ายทอดปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษผสมไซเดอโรฟอร์สู่ชุมชน

หลังจากผ่านการศึกษาทดสอบในห้องปฏิบัติการและในแปลงทั้งของมหาวิทยาลัยและแปลงทดลองของเกษตรกรแล้วขณะผู้วิจัยได้จัดเตรียมข้อมูล ผลิตไซเดอโรฟอร์ให้ได้ปริมาณมากขึ้น กำหนดนัดหมายวันเวลาที่เกษตรกรที่ปลูกหอมส่วนมากว่างตรงกัน โดยกำหนดเป็นวันที่ 7 มีนาคม 2554 ณ ศูนย์เรียนรู้ชุ่มชน บ้านโคกเพ็ก

4.9.1 บรรยายภาพรวมขั้นตอนการผลิตไซเดอโรฟอร์

คณะผู้วิจัยได้พากลุ่มเกษตรกรปลูกหอมแดงและกระเทียมบ้านโคกเพ็กเข้าร่วมสังเกตการทดลองในห้องปฏิบัติการ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

ภาพที่ 4.10 บรรยายการผลิตไซเดอโรฟอร์ ณ ห้องปฏิบัติการ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

4.9.2 ขั้นตอนการพาไปศึกษาดูงานการผลิตปุ๋ยอินทรีย์

ภาพที่ 4.11 ทีมวิจัยพากลุ่มเกษตรกรไปศึกษาดูงานการผลิตปุ๋ยอินทรีย์
ณ บ้านโคกสะอาด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์

4.9.3 ขั้นตอนการถ่ายทอดการผลิตปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษผสมไซเดอโรฟอร์

ภาพที่ 4.12 การถ่ายทอดการผลิตปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษผสมไซเดอโรฟอร์ ณ บ้านโคกเพ็ก หมู่ 12 ตำบลชุมเห็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์

ผู้ใหญ่ถนอม มีกุล กล่าวตอนรับคณะนักวิจัย จากนั้นหัวหน้าโครงการกล่าวถึงวัตถุประสงค์ของกิจกรรมในวันนี้ วิธีดำเนินงาน และสาธิตการผสมปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษผสม ไซเดอโรฟอร์

เมื่อเกษตรกรผู้ปลูกหอมแดงและกระเทียมหันมาใช้ปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษผสมไซเดอโรฟอร์จะไม่ต้องใช้ปุ๋ยเคมีและยาฆ่าเชื้อราชนิดต่างๆ เช่น Mancozeb, Matalazyl, Dinoccap หรือยากำจัดศัตรูหอมแดงและกระเทียมชนิดอื่นๆ เพียงแต่นำปุ๋ยอินทรีย์ผสมกับไซเดอโรฟอร์ในอัตราส่วน 1:2 หรือ 1:1 (กรัมต่อมิลลิลิตรของน้ำ) หว่านในแปลงหลังจากปลูก 3-4 วัน

ตารางที่ 4.40 ต้นทุนการผลิตปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษผสมไซเดอโรฟอร์

องค์ประกอบ	ราคาต่อหน่วย (บาท)
ปุ๋ยอินทรีย์ 50 kg	350
น้ำตาลซูโครส 500 g	380
แอสพาราจีน 50 g	2,950
โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 500 g	500

ไซเดอโรฟอร์ 1 ลิตร หรือ 125 g เตรียมได้จากการใช้น้ำตาลซูโครส 10 g แอสพาราจีน 1 g โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.5 g ใช้กับแปลงหอมแดงหรือกระเทียม 1 ไร่ เกษตรกรสามารถผลิตได้ภายใน 2 วัน สำหรับแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิด เกษตรกรหรือผู้สนใจสามารถติดต่อหัวหน้าโครงการ ดร. สมหมาย ปะติตังโข มือถือ 089 720 1597, Email: dr.sommai@gmail.com มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ อำเภอเมือ จังหวัดบุรีรัมย์

บทที่ 5
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 สรุปและวิจารณ์

คณะผู้วิจัยนำดินจากปากปล่องและดินจอมปลวกของภูเขาไฟวนอุทยานเขากระโดง อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ มาทำการคัดแยกเอาเชื้อแบคทีเรียด้วยเทคนิคเจือจางสองเท่า (Double dilution method) โดยอาศัยชนิดของอาหารต่างๆ คือ Plate Count Agar (PCA), Brain Heart Infusion Agar (BHIA), Nutrient Agar (NA) และ Soil Extract Agar (SEA) เป็นเกณฑ์ในการจำแนก พบว่า มีแบคทีเรียมากมายหลากหลายลักษณะ แต่คณะผู้วิจัยได้คัดแยกแบบเจาะจงเอาเฉพาะไอโซเลต (Isolate) โดยในอาหาร PCA แยกได้ 15 ไอโซเลต เป็นแกรมบวก 6 ไอโซเลต แกรมลบ 9 ไอโซเลต อาหาร BHIA แยกได้ 18 ไอโซเลต เป็นแกรมบวก 6 ไอโซเลต แกรมลบ 12 ไอโซเลต อาหาร NA แยกได้ 6 ไอโซเลต แกรมบวก 4 ไอโซเลต แกรมลบ 2 ไอโซเลต และจากอาหาร SEA แยกได้ 7 ไอโซเลต แกรมบวก 3 ไอโซเลต รวมแบคทีเรียจากดินปากปล่องภูเขาไฟที่แยกได้ 46 ไอโซเลต

สำหรับดินจากจอมปลวกเมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารทั้ง 4 ชนิด พบว่า ในอาหาร PCA แยกได้ 17 ไอโซเลต แกรมบวก 1 ไอโซเลต แกรมลบ 16 ไอโซเลต อาหาร BHIA 14 ไอโซเลต แกรมบวก 8 ไอโซเลต แกรมลบ 6 ไอโซเลต อาหาร NA 15 ไอโซเลต แกรมบวก 8 ไอโซเลต แกรมลบ 7 ไอโซเลต และอาหาร SEA แยกได้ 4 ไอโซเลต แกรมบวก 2 ไอโซเลต แกรมลบ 2 ไอโซเลต และแบคทีเรียจากดินจอมปลวกแยกได้เท่ากับ 50 ไอโซเลต เมื่อรวมจำนวนไอโซเลตทั้งดินปากปล่องและดินจอมปลวกเป็น 96 ไอโซเลต เมื่อนำเอาทั้ง 96 ไอโซเลต มาศึกษาความสามารถในการผลิตไซเดอโรฟอร์โดยใช้อาศัย CAS technique เป็นเกณฑ์ พบว่า มีจำนวน 81 ไอโซเลตที่สามารถผลิตไซเดอโรฟอร์ได้ มีแบคทีเรียของอนุกรม VMP (คือ แบคทีเรียจาก ปากปล่องภูเขาไฟ คัดแยกด้วยอาหาร Plate Count Agar) เท่านั้นที่ผลิตไซเดอโรฟอร์ได้เพียงบางไอโซเลต

โดยวิธีการตรวจวัดการเกิดไซเดอโรฟอร์อาศัยหลักการเกิดสี (Schwyn and Neilands : 1987) ดังสมการต่อไปนี้

$$\underset{\text{สีน้ำเงิน}}{FeDye^{3-}} + \underset{\text{ไซเดอโรฟอร์}}{L^{k}} \longrightarrow FeL^{3-k} + \underset{\text{สีส้ม/ส้มอมชมพู}}{Dye}$$

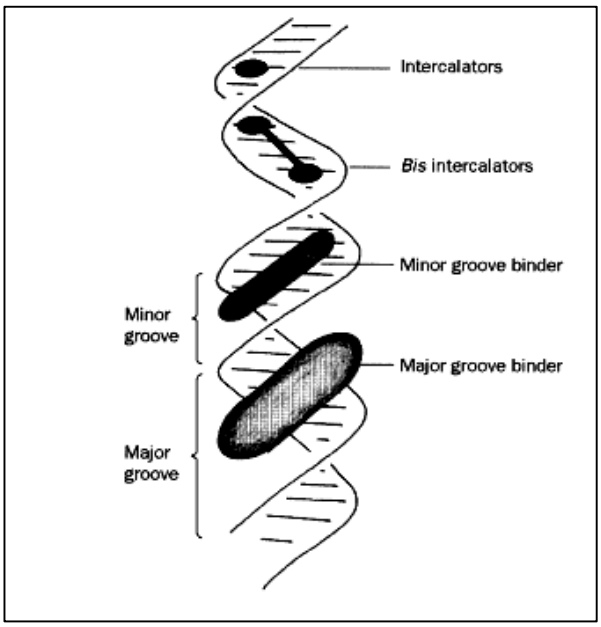
ซึ่งสารที่ใช้ในการตรวจสอบประกอบด้วย Crome Azural S (CAS), Hexadecyl trimethyl ammonium bromide (HDTMA) และ Iron (Fe^{3+}) สารเหล่านี้จะรวมกันเป็นสีน้ำเงิน เมื่อมีการปลดปล่อย

ไซเดอโรฟอร์ออกมาจากเซลล์ของแบคทีเรีย ไซเดอโรฟอร์จะดึงเฟอริกไอออน (Fe^{3+}) ออกจากสารประกอบเชิงซ้อนของ CAS-Fe^{3+}-HDTMA ทำให้สีของตัวบ่งชี้นี้เปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นสีส้มหรือส้มอมชมพู

เมื่อคัดเลือกแบบเจาะจงจากแบคทีเรียทั้ง 81 ไอโซเลตที่สามารถผลิตไซเดอโรฟอร์ ได้นี้

มาศึกษาในขั้นตอนต่อไป 5 ไอโซเลต คือ MHB12, MHB13, MHB14, VMBH17 และ VMBH18 มาเลี้ยงในอาหารเหลว SA โดยทดสอบชนิดของไซเดอโรฟอร์ พบว่า ไซเดอโรฟอร์ที่ผลิตได้จากแบคทีเรีย MHB12, MHB13 และ MHB14 เป็นชนิดแคทีคอล (Catecol siderophore) เพราะหลังจากสารละลายของไซเดอโรฟอร์ทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์อย่างสมบูรณ์สีของสารละลายเปลี่ยนเป็นสีส้มหรือสีแดง (Arnow test) ส่วนไซเดอโรฟอร์ที่ผลิตได้จากแบคทีเรีย VMBH17 และ VMBH18 เป็นชนิดไฮดรอกซาเมท (Hydroxamate siderophore) เพราะเมื่อปฏิกิริยาเกิดขึ้นสมบูรณ์ให้ผลเป็นบวกตามวิธีของ Berg & Becker test คือสารละลายมีสีเขียว จากนั้นนำไซเดอโรฟอร์ที่ได้จากแบคทีเรีย MHB12, MHB13, MHB14, VMBH17 และ VMBH18 มาทดสอบฤทธิ์การต้านเชื้อราก่อโรคพืช โดยเฉพาะหอมแดงและกระเทียม คือเชื้อรา *A.niger*, *A.*porri, *B.squamosa*, *C.circinans* และ *S.sclerotiorum* พบว่า ไซเดอโรฟอร์ทั้งหมดสามารถต้านการเจริญเติบโตของเชื้อราเหล่านี้ได้ทั้งหมดด้วยสัดส่วนของความเข้มข้นเพียง 25 % และเมื่อนำไปผสมกับปุ๋ยอินทรย์ใช้ในแปลงทดลองนอกจากจะต้านเชื้อราได้แล้วยังสามารถทำให้ต้นหอมแดงและกระเทียมเจริญได้ดี

ส่วนกลไกการออกฤทธิ์ของสารไซเดอโรฟอร์อาจเกิดจากการที่สารเข้าไปรบกวนการทำงานของ DNA ของราก่อโรคพืชดังภาพที่ 5.1



ภาพที่ 5.1 Mode ของ NA acting drug (Kaur, P. and Russell, J. 1998 : 17933-17939)

โดยสารอาจเข้ารบกวนการทำงานของ DNA ที่ตำแหน่ง Minor groove หรือ Major groove ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับขนาดโมเลกุลของไซเดอโรฟอร์

หลังจากนั้นคณะผู้วิจัยได้ถ่ายทอดเทคโนโลยีปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษผสมไซเดอโรฟอร์ สู่ชุมบ้านโคกเพ็ก ตำบลชุมเห็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ เทคโนโลยีปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษผสมไซเดอโรฟอร์เป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับเกษตรกรที่ปลูกหอมแดงและกระเทียม ซึ่งถือว่า เป็นปุ๋ยสูตร 3 in 1 เมื่อ

เกษตรกรใช้ปุ๋ยสูตรนี้พืชจะได้รับทั้งแร่ธาตุที่จำเป็น คือ N P K สารต้านเชื้อรา และไซเดอโรฟอร์ (Siderophore หรือ Iron carrier) ยังทำหน้าที่ช่วยพืชใน การดึงแร่ธาตุมาเสริมความแข็งแรง เพิ่มความต้านทานและเสริมความเจริญเติบโตให้กับพืชได้อีกด้วย

การใช้ปุ๋ยอินทรีย์สูตรพิเศษผสมไซเดอโรฟอร์จะทำให้เกษตรกรที่ปลูกหอมแดง และกระเทียมไม่มีความจำเป็นต้องใช้สารเคมีที่เป็นพิษกำจัดเชื้อราก่อโรคของหอมแดง และกระเทียม ลดต้นทุนในการผลิตลงได้ ผู้บริโภคมีความมั่นใจ ลดผลกระทบที่จะมีต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 การวิจัยครั้งต่อไปควรนำแบคทีเรียไอโซเลตอื่นๆ ที่สามารถผลิตไซเดอโรฟอร์ได้ มาทดสอบการต้านทั้งโรคมนุษย์ สัตว์ และพืชเศรษฐกิจอื่นๆ เช่น ผักต่างๆ โดยเฉพาะผักที่กำลังมีปัญหาทั้ง 16 ชนิด ที่ไม่สามารถส่งออกไปขายยังตลาดอียูได้ ตลอดจนโรคของมันสำปะหลัง ข้าว อ้อย และยางพาราเป็นต้น

5.2.2 ควรนำแบคทีเรียทั้งห้าชนิดที่ผลิตไซเดอโรฟอร์ต้านเชื้อราก่อโรคของหอมแดง และเทียม คือ MHB12, MHB13, MHB14, VMBH17 และ VMBH18 ไปทดสอบกับพืชอื่นๆ ต่อไป

5.2.3 ควรได้รับการสนับสนุนแหล่งทุนให้ผลิตไซเดอโรฟอร์ในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

จิระเดช แจ่มสว่าง. (2550). **การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี บนเส้นทางของการเกษตรยุคใหม่**. ค้นเมื่อ 20 มกราคม 2554, จาก http://www.thaigreenagro.com/Aticle.

ธิติมา เขียงถุ่ง. (2551). **อิทธิพลของปุ๋ยอินทรีและระยะปลูกต่อผลผลิตและคุณภาพของข้าวดอกมะละ 105**. วิทยานิพนธ์ วท.ม. (ปฐพีศาสตร์). ขอนแก่น : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

เนื่องพณิช สินชัยศรี และสาทร สิริสิงห์. (2548). **ข้อเท็จจริง การใช้สารเคมีกับการพัฒนาเกษตรไทย**. กรุงเทพฯ : มูลนิธิมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

แผนชุมชนบ้านโคกเพ็ก หมู่ที่ 12. (2550). บุรีรัมย์ : บ้านโคกพ็ก ตำบลชุมเห็ด อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์.

เยาวพา สุวัตถิ. (ม.ป.ป.) **การใช้เชื้อจุลินทรีย์ในการควบคุมศัตรูพืช.** ค้นเมื่อ 28 มกราคม 2554, ค้นจาก http://www.gpo.or.th/rdi/html/microbe.html 2009.

ศศิธร วุฒิวณิชย์. (2545). **โรคของผัก และการควบคุมโรค**. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมศักดิ์ จีรัตน์. (ม.ป.ป.). **ผลของปุ๋ยอินทรีย์- ชีวภาพต่อการเติบโตของพืชและการเปลี่ยนแปลงสมบัติบางประการของดิน.** กรุงเทพฯ : ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมศักดิ์ วังใน และธงชัย มาลา. (2541). **อิทธิพลของปุ๋ยเคมีที่ต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 1**. กรุงเทพฯ : ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สืบศักดิ์ สนธิรัตน. (2540). **การจัดการโรคพืช = Plant disease management**. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุขทัย พงศ์พัฒนศิริ. (2550). **อิทธิพลของปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ดต่อการฟื้นฟูคุณสมบัติของดิน.** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุนทร มั่นคง. (2551). **การศึกษาคุณสมบัติของปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพบางชนิดที่มีผลต่อการปรับปรุงโครงสร้างของดิน**. นครปฐม : มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม.

Arnow, L.E. (1937). Colorimetric determination of the component of 3,4-Dihydroxyphenylalnine-tyrosine mixture. ***Journal of Biological Chemistry***. 118 : 531-537.

Barnum, D. W. (1977). Spectrophotometric determination of the component of catechol, epinephrine, dopa, dopamine and other aromatic vic-diols. ***Analytica Chimica Acta***. 89 : 157-166.

Cody, Y.S., and Gross, D.C. (1987). Characterization of Pyoverdin pss. The Fluorescent siderophore produced by Pseudomonas syringae pv. syringae. ***Applied Environment Microbiology***. 53 : 9284-9288.

Derylo, M. et al. (1994). Siderophore activity in Rhizobium species isolate from different legumes. ***Acta Biochem Pol***. 1 : 7-11.

Farald-Gomez, Jose D. and Sansom, Mark S.P., Acquisition of siderophores in gram-negative bacteria. (2003). ***Nature reviews : Molecular Cell Biology***. 4 : 105-116.

Gillam, A.H., Lewis, A.G., and Andersen, R.J. 1981. Quantitative determination of hydroxamic acids. ***Analytical Chemistry***. 53 : 841-844.

Henry, M.B. et al. (1991). Role of siderophore in the biocontrol of Ps. Tolaasii by fluorescent pseudomonad antagonists. ***Journal of Applied Bacteriology***. 70 : 2153-2162.

Kaur, P. and Russell, J. (1998, Jul). Biochemical coupling between the DrrA and DrrB proteins of the doxorubicin efflux pump of Streptomyces peucetius. ***J. Biol Chem***. 10; 273 (28) :17933-17939.

Kissalita, W.S. et al. (1993). Define media for optimal pyoverdin production by Ps. Fluorescens. 2-79. ***Applied Microbiology and Biotechnology***. 39 : 750-755.

Neilands, J. B. (1967). Hydroxamic acids in nature. ***Science***. 156 (3781) : 1443-1447.

Persmark, Magnus, Expert, Dominique and Neilands, J.B., (1989) Isolation, characterization, and synthesis of chrysobactin, a compound with siderophore activity from *Erwinia chrysanthemi*. ***Journal of Biological Chemistry***. 264 (6) : 3187-3193.

Roosenberg, John M., Lin, Yun-Ming, Lu, Yong and Miller, Marvin J., Studies and syntheses of siderophores, microbial iron chelators, and analogs as potential drug delivery agents. (2000). ***Current Medicinal Chemistry***. 7 : 159-197

Schalk, Isabelle J., Yue, Wyatt W., and Buchanan, Susan K., Recognition of iron-free siderophores by TonB-dependent iron transporters. (2004). ***Molecular Biology***. 54(1) : 14-22.

Schwyn, B., and Neilands, J.B. (1987). Universal chemical assay for the detection And determination of siderophores. ***Analytical Biochemistry***. 160 : 47-56.

Suneja, D.A., Sharma, P.K., and Lakshminarayana, K. (1992). Production of hydroxamate type of siderophore by *Rhizobium* sp. (cicer). ***Indian Journal of Microbiology***. 32(2) : 181-183.