บทที่ 4
ผลการวิจัย

4.1 การวิจัยและพัฒนาต้นแบบชีวภัณฑ์เกษตรและสารเคลือบผลสำหรับควบคุมโรคผลเน่าของสตรอเบอรี่

4.1.1) ทดสอบความสามารถของไอโซเลทจุลินทรีย์ที่คัดเลือกจาก วิจัยปีงบประมาณ พ.ศ. 2558

4.1.1.1 ทดสอบความสามารถของไอโซเลทจุลินทรีย์ที่คัดเลือกต่อการงอกของเมล็ดกะหล่ำปลี

จากการทดสอบความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ 8 ไอโซเลท ได้แก่ K1, K18, K27, S15, S16, S17, N7 และ N23 ต่อการงอกของเมล็ดกะหล่ำปลีบนกระดาษชื้น จากนั้นอ่านผลเมื่อมีรากและใบเลี้ยงที่สมบูรณ์ พบว่า จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท K27 มีเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดกะหล่ำปลีที่มีรากและใบเลี้ยงสมบูรณ์ที่สุดคือ 77.00 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท S16, S17,และ N7 โดยมีเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดกะหล่ำปลีที่มีรากและใบเลี้ยงสมบูรณ์ที่สุดคือ 70.00, 70.00, และ 72.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางค่าทางสถิติ ต่อมาคือจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท S15, K18, K1 และ N7 มีเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดกะหล่ำปลีที่มีรากและใบเลี้ยงสมบูรณ์ที่สุดคือ 67.00, 56.00, 23.00 และ 7.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์การงอกเมื่อมีรากและใบเลี้ยงที่สมบูรณ์เพียง 27 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลองในแต่ละกรรมวิธี 100 เมล็ด (ตารางที่ 4.1) ดังจะเห็นได้ว่า เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ 4 ไอโซเลท ได้แก่ K27, S16, S17 และ N7 ไม่ทำให้เมล็ดกะหล่ำปลีเกิดความเสียหายและยังสามารถงอกของบนกระดาษชื้นได้ดีตามปกติ

Royal Project Research and Development Institute (Public Organization)

ตารางที่ 4.1 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดกะหล่ำปลีหลังจากเพาะบนกระดาษชื้นเป็นเวลา 6 วัน

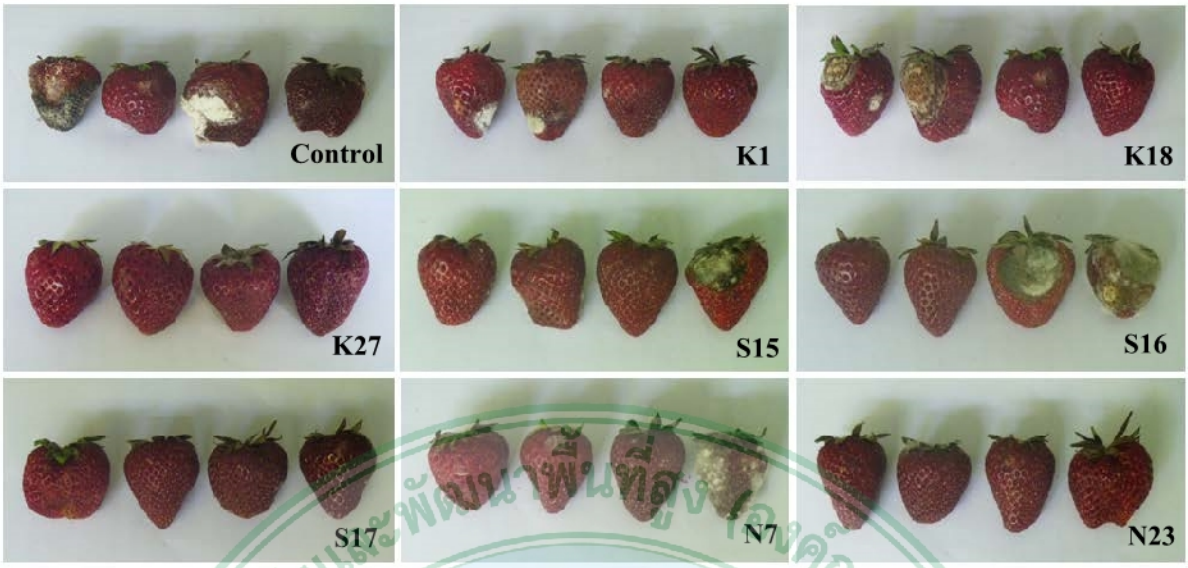
กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์ความงอกเมื่อมีรากและใบเลี้ยงที่สมบูรณ์ (%)
	6 วัน
ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)	27.00 d[2]
เชื้อยีสต์ปฏิปักษ์ไอโซเลท K1	23.00 d
เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท K18	56.00 c
เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท K27	77.00 a
เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท S15	67.00 b
เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท S16	70.00 ab
เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท S17	70.00 ab
เชื้อยีสต์ปฏิปักษ์ไอโซเลท N7	72.00 ab
เชื้อยีสต์ปฏิปักษ์ไอโซเลท N23	7.00 e
LSD (0.05)	7.39
CV (%)	9.77

[1] ค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

4.1.1.2 ทดสอบความสามารถของไอโซเลทจุลินทรีย์ที่คัดเลือกต่อผลสตรอเบอรี่

จากการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Botrytis* sp. ไอโซเลท BK2 และเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท CK21 โดยได้คัดเลือกและทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ได้แก่ K1, K18, K27, S15, S16, S17, N7 และ N23 กับผลสตรอเบอรี่ โดยบันทึกผลการแสดงอาการเน่า หรือผิดปกติอื่นๆที่พบ ผลปรากฏว่า จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27, S17 และ N23 ไม่ทำให้ผลสตรอเบอรี่เน่า หรือผิดปกติใดๆ และยังพบว่า จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไอโซเลทนี้ ยังมีประสิทธิภาพในการลดหรือยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับผลสตรอเบอรี่ได้อีกด้วย เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (ภาพที่ 4.1) แต่จากการทดสอบความสามารถของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อการงอกของเมล็ดกะหล่ำปลี พบว่าจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ N23 ทำให้เนื้อเยื่ออ่อนของเมล็ดกะหล่ำปลีเน่าได้ ทั้งนี้จึงได้เลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ N7 มาศึกษาการควบคุมโรคต่อไป เนื่องจากไอโซเลท N7 ไม่ทำให้ผลสตรอเบอรี่ผิดปกติ และยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราที่ติดมากับผล รองจากไอโซเลท N23



ภาพที่ 4.1 การทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K1, K18, K27, S15, S16, S17, N7 และ N23 บนผลสตรอเบอรี่

4.1.1.3 ทดสอบความสามารถของไอโซเลทจุลินทรีย์ที่คัดเลือกต่อใบและไหลของสตรอเบอรี่

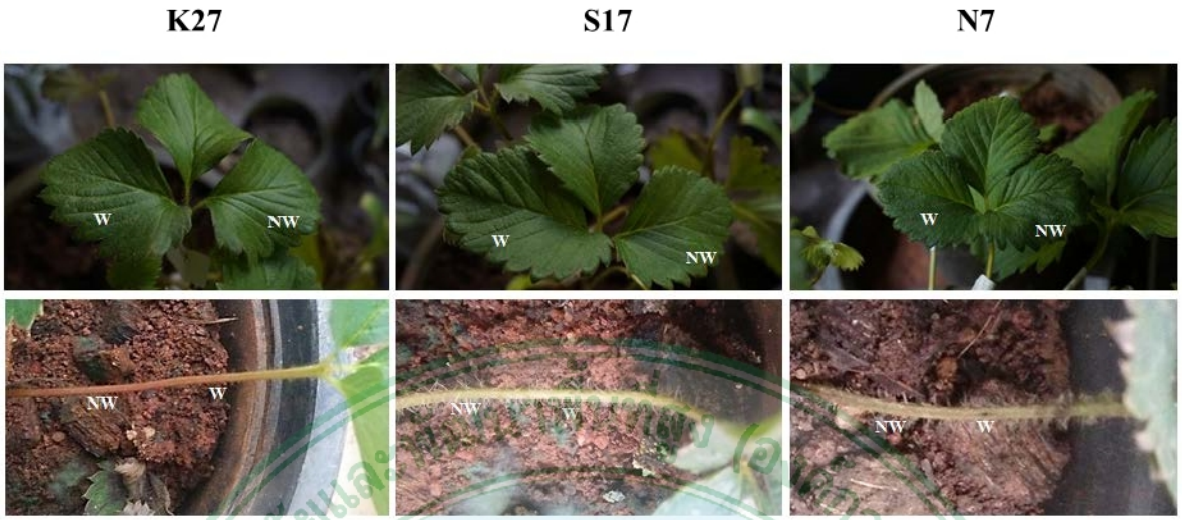
จากการทดสอบความสามารถของไอโซเลทจุลินทรีย์ที่คัดเลือกต่อเมล็ดกะหล่ำปลีและผลสตรอเบอรี่ ได้คัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท K27, S17, และ N7 ซึ่งมีประสิทธิภาพในการลดหรือยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับผลได้ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม และมีเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดกะหล่ำปลีที่มีรากและใบเลี้ยงสมบูรณ์สูง มาทดสอบผลกระทบต่อใบและไหลของสตรอเบอรี่ พบว่าจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไอโซเลท เมื่อหยดสารแขวนลอยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บนใบและไหลของต้นสตรอเบอรี่ มีลักษณะปกติ ไม่พบการเกิดโรค (ตารางที่ 4.2, ภาพที่ 4.2) จึงได้คัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไอโซเลท ไปพัฒนาเป็นชีวภัณฑ์เพื่อศึกษาต่อไป

ตารางที่ 4.2 การทดสอบผลกระทบของจุลินทรีย์ 3 ไอโซเลท ที่มีต่อใบและไหลของสตรอเบอรี่

ไอโซเลท	การเกิดแผลหรือความผิดปกติ เมื่อหยดเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์			
	ที่ไหลสตรอเบอรี่		ที่ใบสตรอเบอรี่	
	ไม่ทำแผล	ทำแผล	ไม่ทำแผล	ทำแผล
K27	-	-	-	-
S17	-	-	-	-
N7	-	-	-	-

- = ไม่เกิดแผลหรือความผิดปกติใดๆ

+ = เกิดแผล หรือความผิดปกติใดๆ



ภาพที่ 4.2 การทดสอบผลกระทบของจุลินทรีย์ 3 ไอโซเลท ที่มีต่อใบและไหลของสตรอเบอรี่

W = ทำแผล

NW = ไม่ทำแผล

4.1.2) ทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ กับผลสตรอเบอรี่ (เชื้อราที่ติดมากับผล)

จากการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท K27, S17 และ N7 ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Botrytis* sp. และเชื้อรา *Colletotrichum* sp. มาทดสอบกับผลสตรอเบอรี่ โดยทำการชุบผลสตรอเบอรี่กับเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ความเข้มข้นประมาณ 10^7 cfu/ml เมื่อเวลาผ่านไป 5 วัน พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท S17 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับผลสตรอเบอรี่ดีที่สุด โดยไม่พบการเจริญของเชื้อราที่ติดมากับผลถึง 43.33 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างกับเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27 และ N7 ในทางสถิติ โดยไม่พบการเจริญของเชื้อราที่ติดมากับผล 33.33 และ 28.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนชุดควบคุมชุบน้ำกลั่นฆ่าเชื้อไม่พบการเจริญของเชื้อราที่ติดมากับผล 19.17 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.3, ภาพที่ 4.3)

ตารางที่ 4.3 ทดสอบการชุบเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อผลสตรอเบอรี่ เมื่อเวลาผ่านไป 5 วัน

การทดลอง	เปอร์เซ็นต์ของผลที่ไม่พบการเข้าทำลายของเชื้อรา (%)[1]	ลักษณะของผลสตรอเบอรี่หลังจากทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์
ชุดควบคุมน้ำกลั่น	19.17b[2]	ปกติ
แบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลท K27	33.33ab	ปกติ
แบคทีเรียปฏิปักษ์ ไอโซเลท S17	43.33a	ปกติ
ยีตส์ปฏิปักษ์ ไอโซเลท N7	28.33ab	ปกติ
LSD (0.05)	23.43	
CV (%)	48.99	

[1] ค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ (ซ้ำละ 5 ผล)

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ภาพที่ 4.3 ลักษณะผลสตรอเบอรี่ที่ทดสอบชุบด้วยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ เมื่อเวลาผ่านไป 5 วัน

4.1.3) การทดสอบประสิทธิภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์และอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการงอกของเชื้อรา

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27, S17 และ N7 ในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Colletrotrichum* sp. ไอโซเลท CK21 โดยผสมเชื้อรากับเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ จากนั้นหยดลงบน Water ager (WA) โดยอ่านผลการงอกของสปอร์ที่ 6 9 และ 24 ชั่วโมง พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27, S17 และ อาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ S17 มีผลต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ดี โดย อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27 พบการงอกของสปอร์เล็กน้อย สปอร์เปลี่ยนรูปร่างเป็นทรงกลม เมื่อผ่านไป 24 ชั่วโมง ยังไม่พบการสร้างสปอร์ใหม่ แต่ชุดควบคุมมีการสร้างสปอร์ใหม่ ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27 เมื่อผ่านไป 9 ชั่วโมง สปอร์ยังมีการงอกปกติแต่งอกช้ากว่าชุดควบคุม เมื่อผ่านไป 24 ชั่วโมงก็เริ่มสร้างสปอร์ ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ S17 และอาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ S17 มีผลต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ใกล้เคียงกัน พบการงอกของสปอร์เล็กน้อย เมื่อผ่านไป 24 ชั่วโมง ยังไม่พบการสร้างของสปอร์ใหม่ ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ N7 และอาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ N7 พบการงอกของสปอร์คล้ายกับชุดควบคุม แต่เมื่อผ่านไป 24 ชั่วโมง พบลักษณะเส้นใยบวมพอง หงิกงอผิดปกติ ไม่พบการสร้างของสปอร์ใหม่ แต่ชุดควบคุมมีการสร้างสปอร์ (ตารางที่ 4.4, ภาพที่ 4.4) เมื่อชุดทดลองดังกล่าวตั้งทิ้งไว้ 6 ชั่วโมง ก่อนหยดลงบน Water ager (WA) โดยอ่านผลการงอกของสปอร์ที่ 6 9 และ 24 ชั่วโมง พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27, S17 และอาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ S17 มีผลต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ดี ซึ่งไม่พบการงอกของสปอร์หรือพบการงอกของสปอร์น้อยมาก อีกทั้งพบผนังของสปอร์บางส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27 เมื่อผ่านไป 9 ชั่วโมง สปอร์ยังมีการงอกปกติแต่งอกช้ากว่าชุดควบคุม เมื่อผ่านไป 24 ชั่วโมงก็เริ่มมีการสร้างสปอร์ใหม่ ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ N7 พบลักษณะของเส้นใยบิดเบี้ยว บวมพอง เมื่อผ่านไป 24 ชั่วโมง ไม่พบการสร้างของสปอร์ใหม่ ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ N7 พบการงอกของสปอร์และเมื่อผ่านไป 24 ชั่วโมง มีการสร้างของสปอร์ใหม่ แต่สร้างสปอร์ช้ากว่าชุดควบคุม (ตารางที่ 4.5, ภาพที่ 4.5)

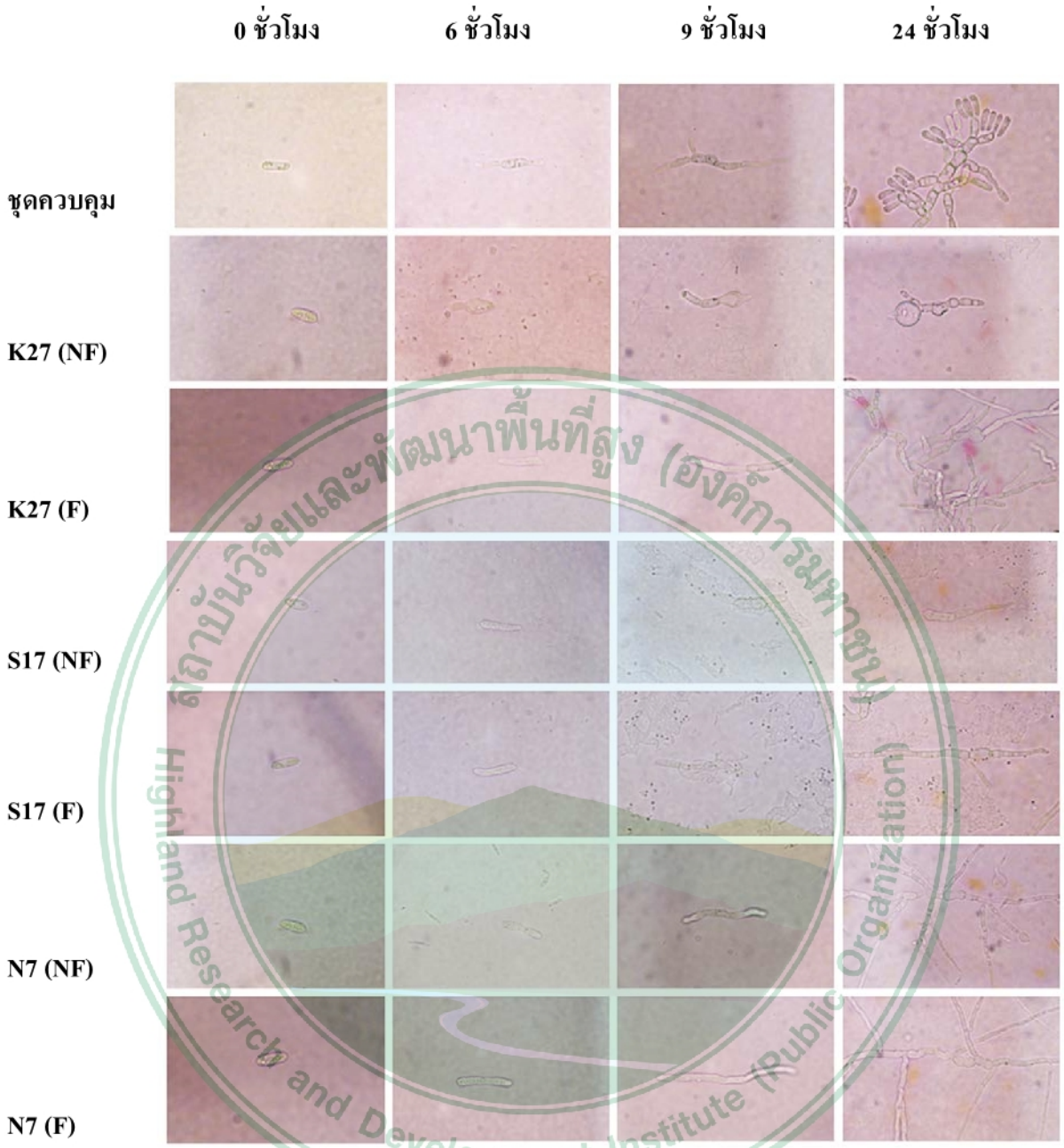
ตารางที่ 4.4 การทดสอบประสิทธิภาพของอาหารเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27, S17 และ N7 ในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Colletrotrichum* sp. ไอโซเลท CK21 หลังทดสอบทันที

อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการงอกของสปอร์			ลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่ 24 ชั่วโมง
	6 ชั่วโมง	9 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง	
ชุดควบคุม (อาหาร NB)	5.66	0	0	- มีการสร้างสปอร์ใหม่
อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27 (NF)	31.67	1.00	0	- สปอร์เดิมเปลี่ยนรูปร่างค่อนข้างกลม - ไม่พบการสร้างสปอร์ใหม่
อาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27 (F)	21.66	0	0	- สร้างสปอร์ใหม่น้อยกว่าชุดควบคุม
อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ S17 (NF)	46.67	9.66	0	- สปอร์เดิมงอกเล็กน้อย - ไม่พบการสร้างสปอร์ใหม่
อาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ S17 (F)	38.33	3.66	0	- สปอร์เดิมงอกเล็กน้อย - ไม่พบการสร้างสปอร์ใหม่
อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ N7 (NF)	11.00	0	0	- เส้นใยที่งอกจากสปอร์เดิมบวมพอง - ไม่พบการสร้างสปอร์ใหม่
อาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ N7 (F)	10.34	0	0	- เส้นใยที่งอกจากสปอร์เดิมบวมพอง - ไม่พบการสร้างสปอร์ใหม่

*จากการนับ 300 สปอร์แบบสุ่ม เทียบ 100%

NF = non–culture filtrate (อาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์)

F = culture filtrate (อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์)



สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) Highland Research and Development Institute (Public Organization)

ภาพที่ 4.4 การทดสอบประสิทธิภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27, S17 และ N7 ในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Colletrotrichum* sp. ไอโซเลท CK21

NF = non–culture filtrate (อาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์)

F = culture filtrate (อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์)

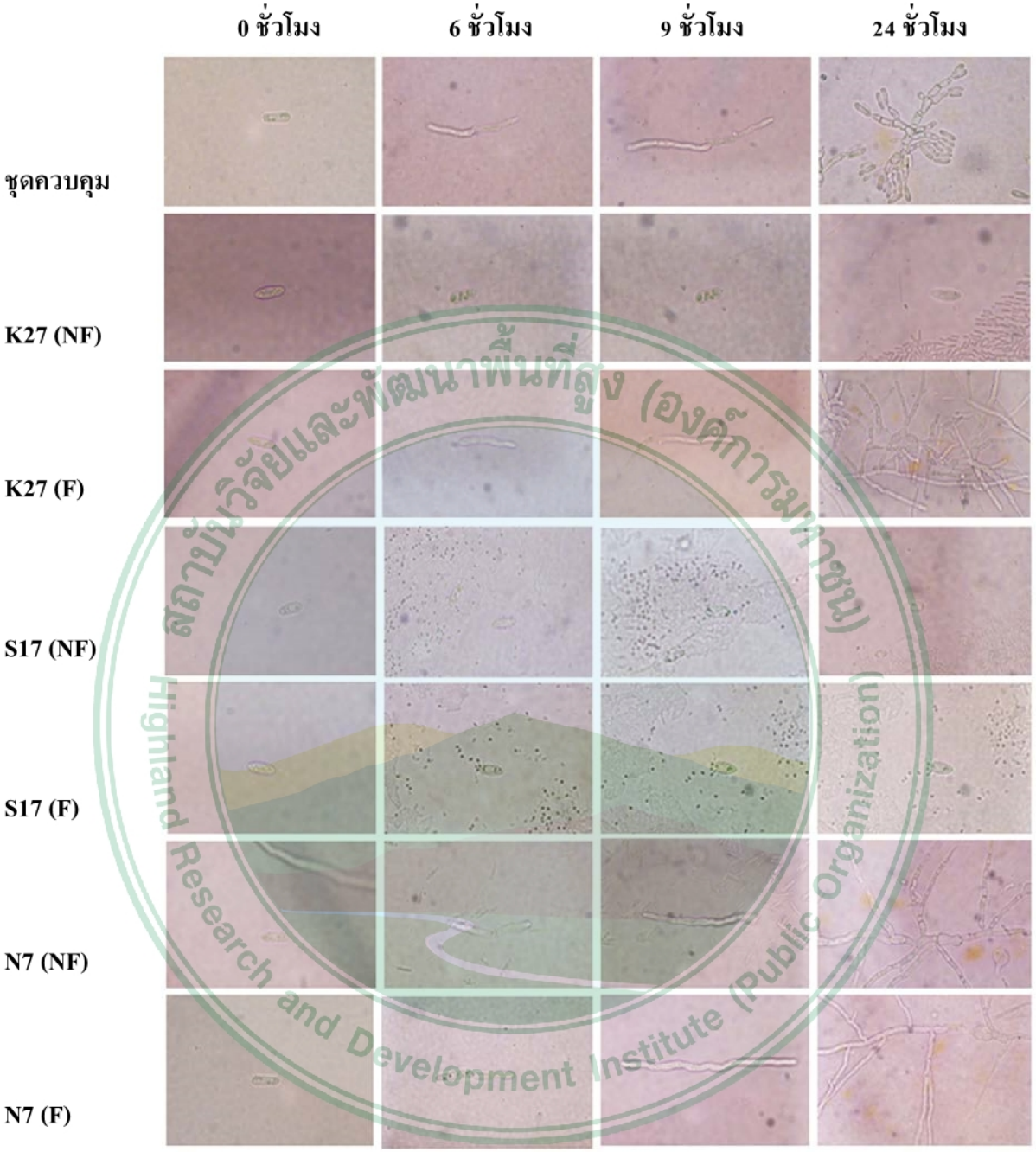
ตารางที่ 4.5 การทดสอบประสิทธิภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27, S17 และ N7 ในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท CK21 เมื่อแช่ทิ้งไว้ที่ 6 ชั่วโมง

อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการงอกของสปอร์			ลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่ 24 ชั่วโมง
	6 ชั่วโมง	9 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง	
ชุดควบคุม (อาหาร NB)	1.36	0	0	- มีการสร้างสปอร์ใหม่
อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27 (NF)	100.00	100.00	100.00	- สปอร์เดิมผนังของสปอร์บางลง - ไม่พบการสร้างสปอร์ใหม่
อาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27 (F)	25.33	24.00	0	- มีการสร้างสปอร์ใหม่แต่น้อยกว่าชุดควบคุม
อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ S17 (NF)	99.33	98.33	97.00	- สปอร์เดิมไม่งอก ผนังสปอร์บาง - ไม่พบการสร้างสปอร์ใหม่
อาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ S17 (F)	98.00	94.33	94.00	- สปอร์เดิมไม่งอก ผนังสปอร์บาง - ไม่พบการสร้างสปอร์ใหม่
อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ N7 (NF)	8.33	0	0	- เส้นใยที่งอกจากสปอร์เดิมบวมพอง - ไม่พบการสร้างสปอร์ใหม่
อาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ N7 (F)	11.67	0	0	- เส้นใยที่งอกจากสปอร์เดิมบวมพอง - ไม่พบการสร้างสปอร์ใหม่

*จากการนับ 300 สปอร์แบบสุ่ม เทียบ 100%

NF = non–culture filtrate (อาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์)

F = culture filtrate (อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์)



สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) Highland Research and Development Institute (Public Organization)

ภาพที่ 4.5 การทดสอบประสิทธิภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27, S17 และ N7 ในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Colletrotrichum* sp. ไอโซเลท CK21 เมื่อแช่ทิ้งไว้ 6 ชั่วโมง

NF = non–culture filtrate (อาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์)

F = culture filtrate (อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์)

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27, S17 และ N7 ในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Botrytis* sp. ไอโซเลท BK2 โดยผสมเชื้อรากับเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ จากนั้นหยดลงบน Water ager (WA) อ่านผลการงอกของสปอร์ที่ 6 9 และ 24 ชั่วโมง พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27, S17, N7 และอาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27, S17, N7 มีผลต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์ โดยจะงอก germ tube ช้ากว่าชุดควบคุม แต่ยังพบการงอกปกติ (ตารางที่ 4.6, ภาพที่ 4.6) เมื่อชุดทดลองดังกล่าวตั้งทิ้งไว้ 6 ชั่วโมง ก่อนหยดลงบน Water ager (WA) โดยอ่านผลการงอกของสปอร์ที่ 6 9 และ 24 ชั่วโมง พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27 และ S17 มีผลต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ดี ซึ่งไม่พบการงอกของสปอร์หรือพบการงอกของสปอร์น้อยมาก ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งที่กรองและไม่กรองเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ N7 พบการงอกของสปอร์ แต่งอกช้ากว่าชุดควบคุม (ตารางที่ 4.7, ภาพที่ 4.7)

ทั้งนี้จะเห็นได้ว่า การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27 และ S17 สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ ในเชื้อ *Colletrotrichum* sp. และ *Botrytis* sp. และควรจะเป็นแบบเซลล์ที่ยังคงมีชีวิตด้วย

สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) Highland Research and Development Institute (Public Organization)

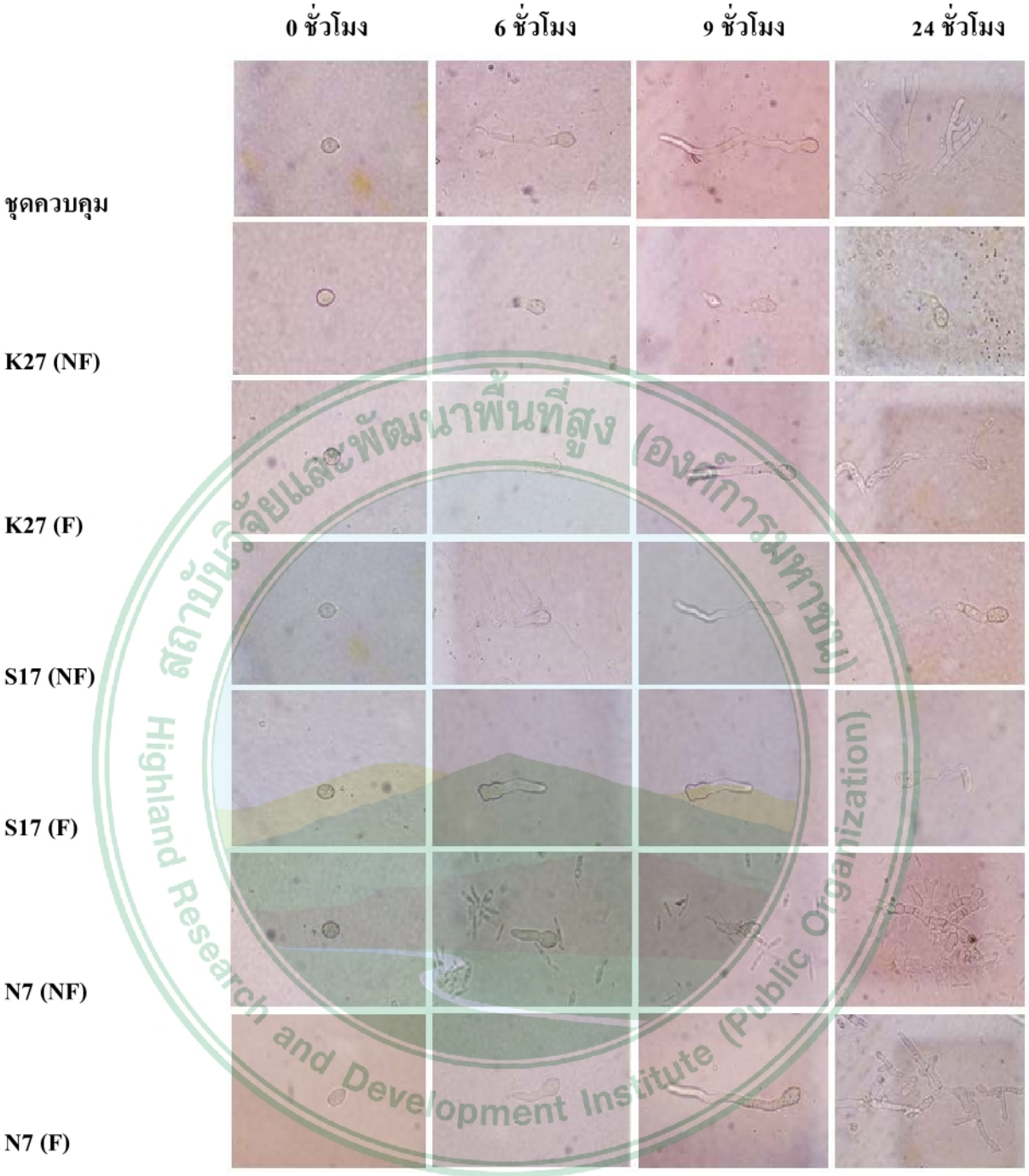
ตารางที่ 4.6 การทดสอบประสิทธิภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27, S17 และ N7 ในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Botrytis* sp. ไอโซเลท BK2 หลังทดสอบทันที

อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการงอกของสปอร์			ลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่ 24 ชั่วโมง
	6 ชั่วโมง	9 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง	
ชุดควบคุม (อาหาร NB)	0	0	0	- สร้างเส้นใย แตกกิ่งก้านปกติ
อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27 (NF)	4.00	1.33	0	- สปอร์งอกช้ากว่าชุดควบคุม
อาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27 (F)	2.66	1.66	0	- สปอร์งอกช้ากว่าชุดควบคุม - แต่สปอร์งอกเร็วกว่าในชุดอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27
อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ S17 (NF)	2.33	1.66	0	- สปอร์งอกช้ากว่าชุดควบคุม
อาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ S17 (F)	1.66	0	0	- สปอร์งอกช้ากว่าชุดควบคุม
อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ N7 (NF)	2.33	1.66	0	- สร้างเส้นใย แตกกิ่งก้านปกติ - สปอร์งอกช้ากว่าชุดควบคุม
อาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ N7 (F)	1.33	1.00	0	- สร้างเส้นใย แตกกิ่งก้านปกติ - สปอร์งอกช้ากว่าชุดควบคุม

*จากการนับ 300 สปอร์แบบสุ่ม เทียบ 100%

NF = non–culture filtrate (อาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์)

F = culture filtrate (อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์)



สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) Highland Research and Development Institute (Public Organization)

ภาพที่ 4.6 การทดสอบประสิทธิภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27, S17 และ N7 ในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Botrytis* sp. ไอโซเลท BK2

NF = non–culture filtrate (อาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์)

F = culture filtrate (อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์)

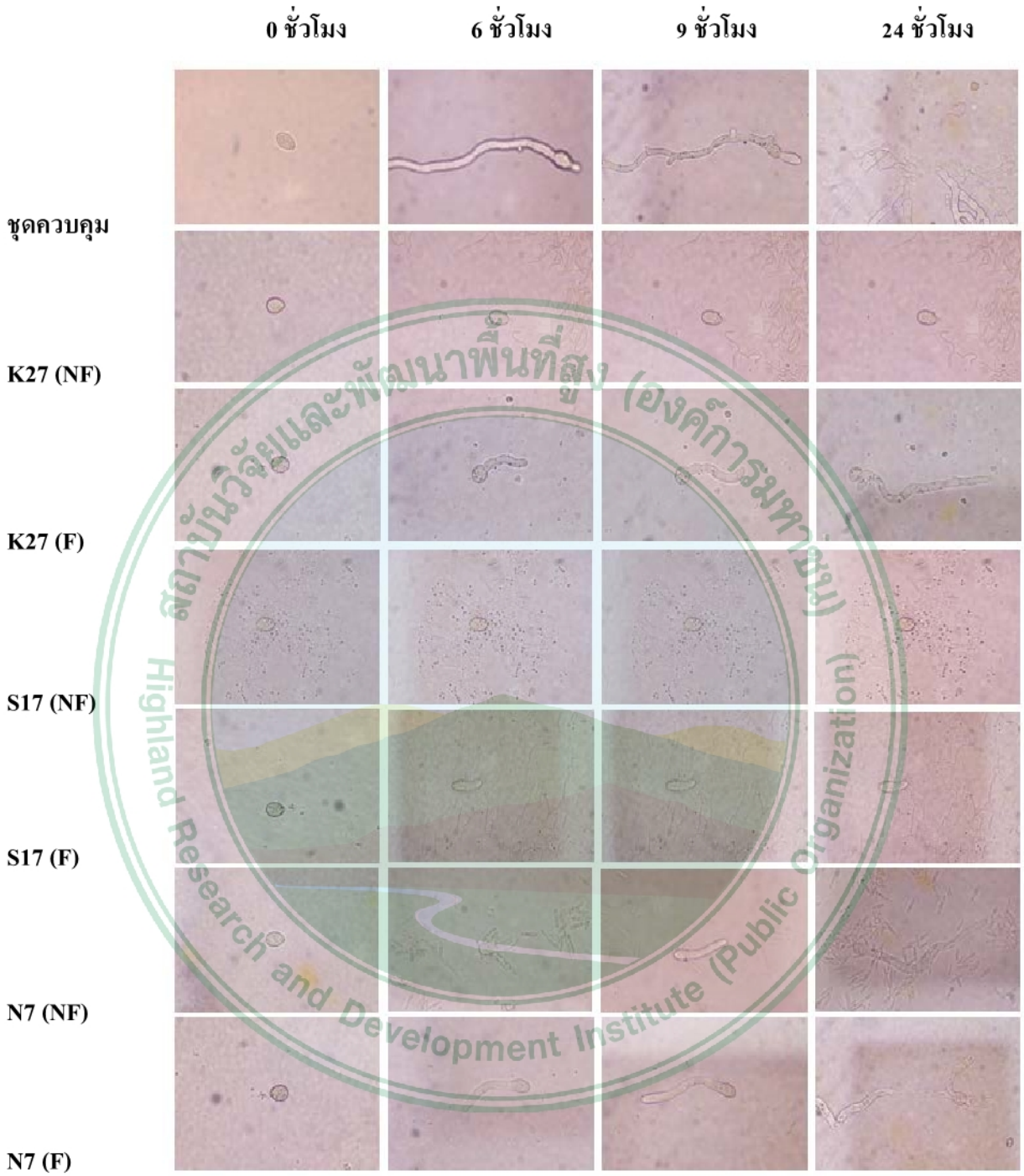
ตารางที่ 4.7 การทดสอบประสิทธิภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27, S17 และ N7 ในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Botrytis* sp. ไอโซเลท BK2 เมื่อแช่ทิ้งไว้ที่ 6 ชั่วโมง

อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการงอกของสปอร์			ลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่ 24 ชั่วโมง
	6 ชั่วโมง	9 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง	
ชุดควบคุม (อาหาร NB)	0	0	0	- สร้างเส้นใย แตกกิ่งก้านปกติ
อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27 (NF)	100.00	99.00	97.00	- ส่วนใหญ่ไม่พบการงอกของสปอร์
อาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27 (F)	6.00	1.66	0	- สปอร์งอกช้ากว่าชุดควบคุม
อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ S17 (NF)	100.00	100.00	100.00	- ส่วนใหญ่ไม่พบการงอกของสปอร์
อาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ S17 (F)	39.67	37.00	0	- สปอร์งอกช้ากว่าชุดควบคุม และหยุดงอก
อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ N7 (NF)	6.33	2.67	0	- สปอร์งอกช้ากว่าชุดควบคุม
อาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ N7 (F)	7.67	5.00	0	- สปอร์งอกช้ากว่าชุดควบคุม

*จากการนับ 300 สปอร์แบบสุ่ม เทียบ 100%

NF = non–culture filtrate (อาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์)

F = culture filtrate (อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์)



สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) Highland Research and Development Institute (Public Organization)

ภาพที่ 4.7 การทดสอบประสิทธิภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27, S17 และ N7 ในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Botrytis* sp. ไอโซเลท BK2 เมื่อแช่ทิ้งไว้ที่ 6 ชั่วโมง

NF = non–culture filtrate (อาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์)

F = culture filtrate (อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์)

4.1.4) การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคลือบผิวในการยับยั้งการงอกของเชื้อรา

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคลือบผิว 2% ascorbic, 1% citric และ 10% glycerol ในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Colletrotrichum* sp. ไอโซเลท CK21 โดยผสมเชื้อรากับสารเคลือบผิวดังกล่าว จากนั้นหยดลงบน Water ager (WA) โดยอ่านผลการงอกของสปอร์ที่ 6 9 และ 24 ชั่วโมง พบว่า 2% ascorbic และ 1% citric มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุได้ โดย 2% ascorbic ยังพบการงอกของสปอร์อยู่ แต่ช้ากว่าชุดควบคุม ส่วนใหญ่สปอร์ที่ไม่พบการงอกจะแบ่งเป็นสองเซลล์ เมื่อผ่านไป 24 ชั่วโมงยังมีการสร้างสปอร์ใหม่เล็กน้อย ส่วน 1% citric ยังพบการงอกของสปอร์ แต่ช้ากว่าชุดควบคุม ส่วนใหญ่สปอร์ที่ไม่พบการงอกจะมีขนาดเล็กลงและเปลี่ยนรูปร่างเล็กน้อย เมื่อผ่านไป 24 ชั่วโมงก็ยังไม่พบการสร้างสปอร์ใหม่ ส่วน 10% glycerol พบการสร้างเส้นใยแตกกิ่งก้านตามปกติ แต่งอกช้ากว่าชุดควบคุม (ตารางที่ 4.8, ภาพที่ 4.8) เมื่อชุดทดลองดังกล่าวแช่ทิ้งไว้ 6 ชั่วโมง ก่อนหยดลงบน Water ager (WA) โดยอ่านผลการงอกของสปอร์ที่ 6 9 และ 24 ชั่วโมง พบว่า 2% ascorbic และ 1% citric มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุได้ โดย 2% ascorbic พบการงอกของสปอร์ แต่งอกช้ากว่าชุดควบคุม เมื่อผ่านไป 9 ชั่วโมง พบการงอกของสปอร์มากขึ้น ส่วนใหญ่สปอร์ที่ไม่พบการงอกจะแบ่งเป็นสองเซลล์ บิดเบี้ยว งอกผิดปกติ เมื่อผ่านไป 24 ชั่วโมง ไม่พบการสร้างสปอร์ใหม่ ส่วน 1% citric พบการงอกของสปอร์แต่งอกช้ากว่าชุดควบคุม ส่วนใหญ่สปอร์ที่ไม่พบการงอกจะมีขนาดเล็กลง เมื่อผ่านไป 24 ชั่วโมงไม่พบการสร้างสปอร์ใหม่ ส่วน 10% glycerol พบการสร้างเส้นใยแตกกิ่งก้านตามปกติ แต่งอกช้ากว่าชุดควบคุม อีกทั้งพบการสร้าง appressorium (ตารางที่ 4.9, ภาพที่ 4.9)

ตารางที่ 4.8 การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคลือบผิว 2% ascorbic acid, 1% citric acid และ 10% glycerol ในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Colletrotrichum* sp. ไอโซเลท CK21 หลังทดสอบทันที

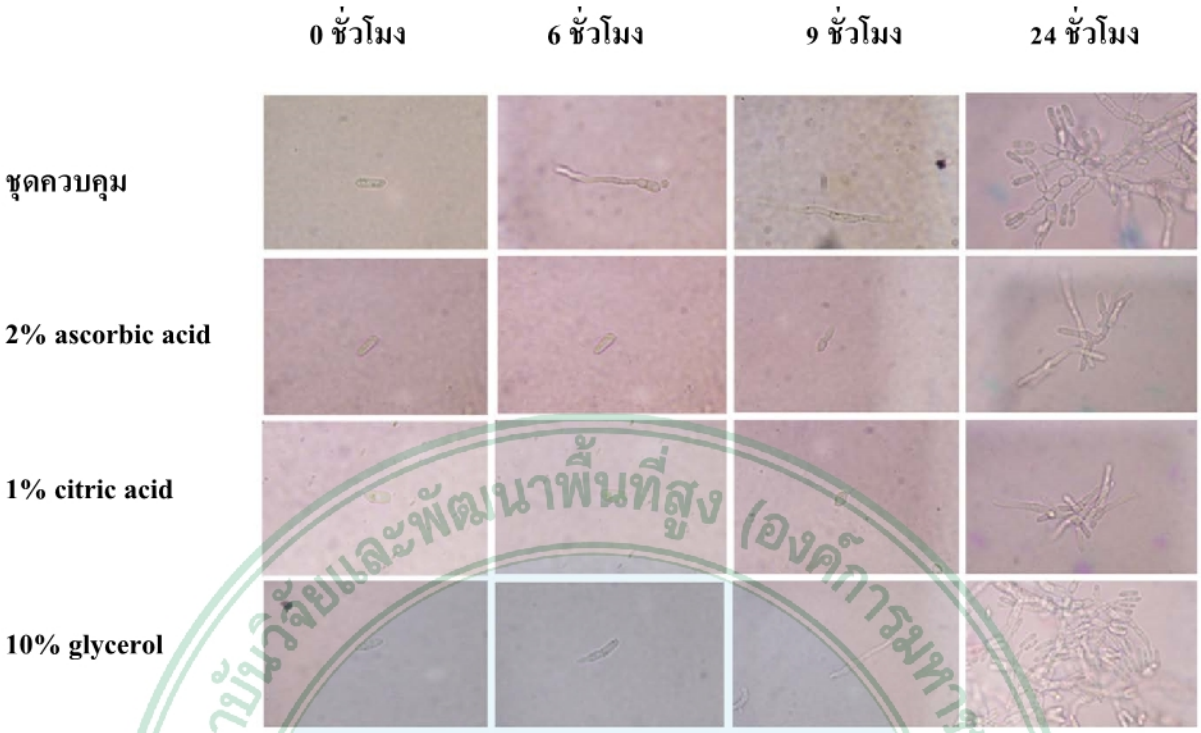
สารเคลือบ	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการงอกของสปอร์			ลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่ 24 ชั่วโมง
	6 ชั่วโมง	9 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง	
ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)	4.00	0	0	- สร้างสปอร์ใหม่
2% ascorbic acid	96.00	82.00	0	- สร้างสปอร์ใหม่
1% citric acid	100.00	59.34	0	**- ไม่พบการสร้างสปอร์ใหม่**
10% glycerol	19.00	0	0	- สร้างสปอร์ใหม่

*จากการนับ 300 สปอร์แบบสุ่ม เทียบ 100%

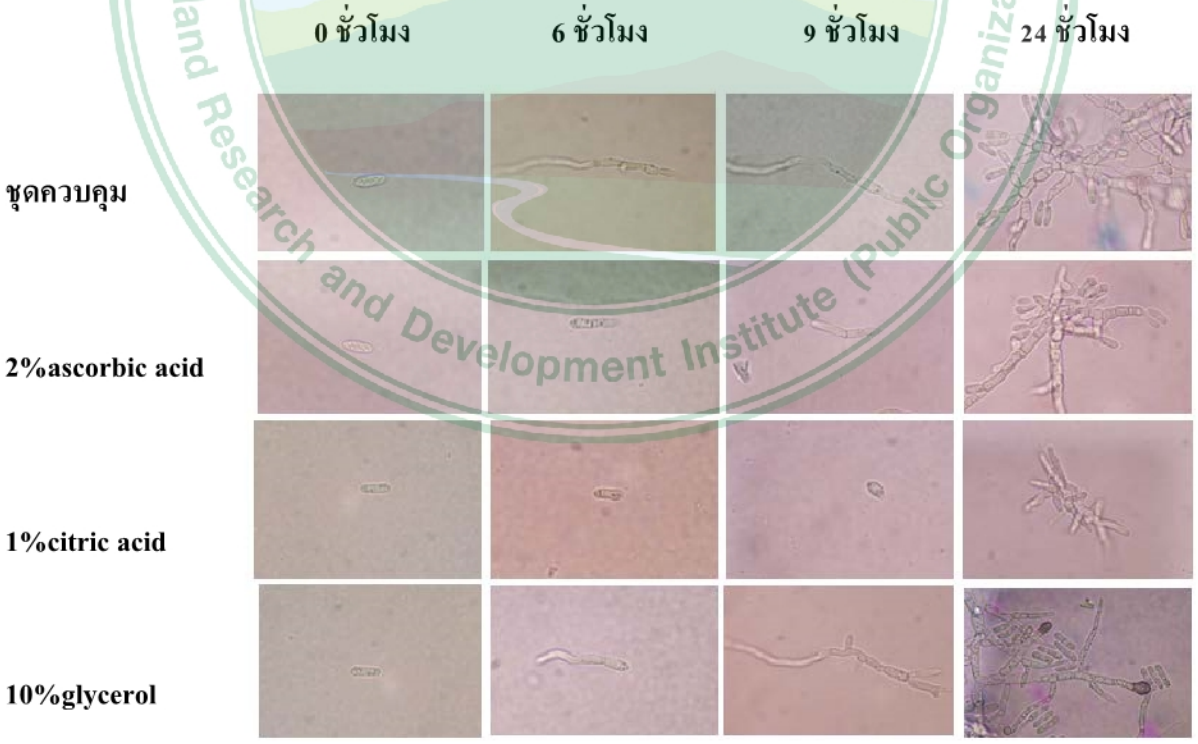
ตารางที่ 4.9 การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคลือบผิว 2% ascorbic acid, 1% citric acid และ 10% glycerol ในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Colletrotrichum* sp. ไอโซเลท CK21 เมื่อแช่ทิ้งไว้ 6ชั่วโมง

สารเคลือบ	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการงอกของสปอร์			ลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่ 24 ชั่วโมง
	6 ชั่วโมง	9 ชั่วโมง	24ชั่วโมง	
ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)	0	0	0	- สร้างสปอร์ใหม่
2% ascorbic acid	98.33	23.33	0	- เริ่มสร้างสปอร์ใหม่
1% citric acid	100.00	37.33	0	**-ไม่พบสร้างสปอร์ใหม่**
10% glycerol	7.33	0	0	- สร้างสปอร์ใหม่ พบการสร้าง appressorium

*จากการนับ 300 สปอร์แบบสุ่ม เทียบ 100%



ภาพที่ 4.8 การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคลือบผิว 2% ascorbic acid, 1% citric acid และ 10% glycerol ในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท CK21 หลังทดสอบทันที



ภาพที่ 4.9 การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคลือบผิว 2% ascorbic acid, 1% citric acid และ 10% glycerol ในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท CK21 เมื่อแช่ทิ้งไว้ 6 ชั่วโมง

สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) Highland Research and Development Institute (Public Organization)

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคลือบผิว 2% ascorbic, 1% citric และ 10% glycerol ในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Botrytis* sp. ไอโซเลท BK2 โดยผสมเชื้อรากับสารเคลือบผิวดังกล่าว จากนั้นหยดลงบน Water ager (WA) อ่านผลการงอกของสปอร์ที่ 6 9 และ 24 ชั่วโมง พบว่า 2% ascorbic และ 1% citric ส่วนมากไม่พบการงอกของสปอร์ ส่วน 10% glycerol พบการสร้างเส้นใยแตกกิ่งก้านตามปกติ แต่งอกช้ากว่าชุดควบคุม (ตารางที่ 4.10, ภาพที่ 4.10) เมื่อชุดทดลองดังกล่าวตั้งทิ้งไว้ 6 ชั่วโมง ก่อนหยดลงบน Water ager (WA) อ่านผลการงอกของสปอร์ที่ 6 9 และ 24 ชั่วโมง พบว่า 2% ascorbic และ 1% citric ส่วนมากไม่พบการงอกของสปอร์ ส่วน 10%glycerol พบการสร้างเส้นใยแตกกิ่งก้านตามปกติ แต่งอกช้ากว่าชุดควบคุม (ตารางที่ 4.11, ภาพที่ 4.11)

ตารางที่ 4.10 การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคลือบผิว 2% ascorbic acid, 1% citric acid และ 10% glycerol ในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Botrytis* sp. ไอโซเลท BK2 หลังทดสอบทันที

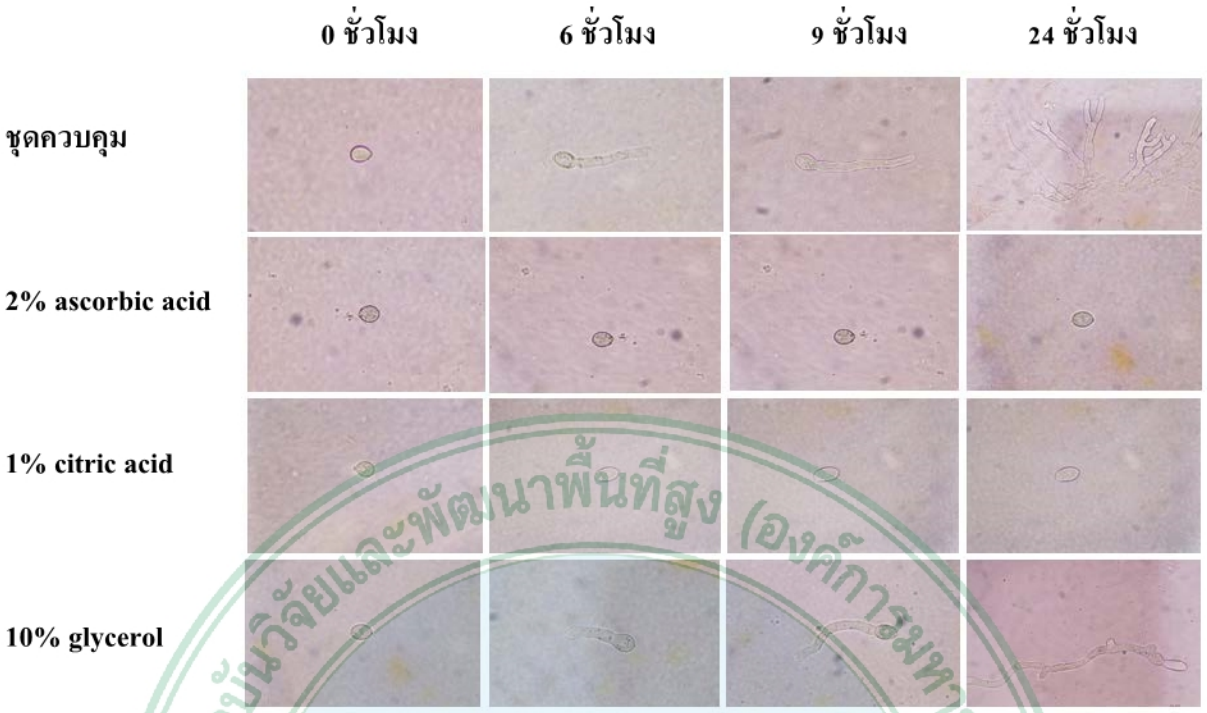
สารเคลือบ	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการงอกของสปอร์			ลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่ 24 ชั่วโมง
	6 ชั่วโมง	9 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง	
ชุดควบคุม	0	0	0	- สร้างเส้นใย แตกกิ่งก้านปกติ
2% ascorbic acid	98.66	97.33	95.00	- ส่วนมาก**ไม่พบการงอกของสปอร์**
1% citric acid	98.00	97.33	95.00	- ส่วนมาก**ไม่พบการงอกของสปอร์**
10% glycerol	0	0	0	- สร้างเส้นใย แตกกิ่งก้านปกติ

*จากการนับ 300 สปอร์แบบสุ่ม เทียบ 100%

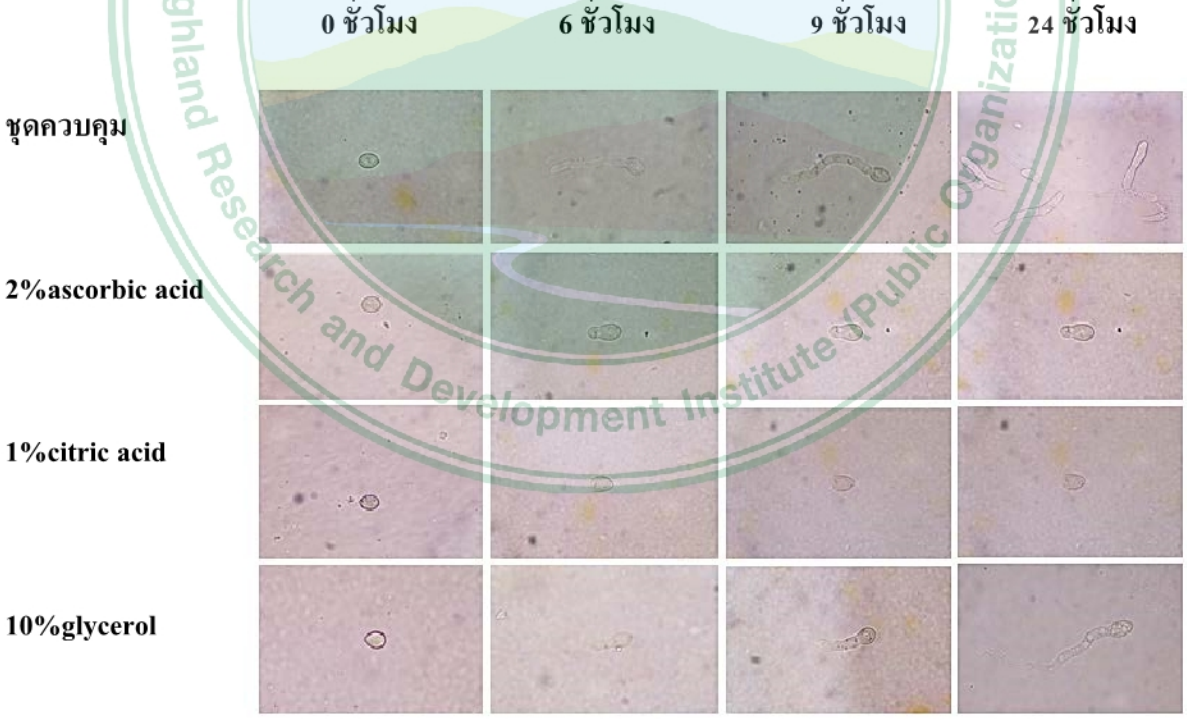
ตารางที่ 4.11 การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคลือบผิว 2% ascorbic acid, 1% citric acid และ 10% glycerol ในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Botrytis* sp. ไอโซเลท BK2 เมื่อแช่ทิ้งไว้ 6 ชั่วโมง

สารเคลือบ	เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการงอกของสปอร์			ลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่ 24 ชั่วโมง
	6 ชั่วโมง	9 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง	
ชุดควบคุม	0	0	0	- สร้างเส้นใย แตกกิ่งก้านปกติ
2% ascorbic acid	93.33	92.00	90.00	- ส่วนมาก**ไม่พบการงอกของสปอร์**
1% citric acid	99.33	99.00	98.00	- ส่วนมาก**ไม่พบการงอกของสปอร์**
10% glycerol	0	0	0	- สร้างเส้นใย แตกกิ่งก้านปกติ

*จากการนับ 300 สปอร์แบบสุ่ม เทียบ 100%



ภาพที่ 4.10 การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคลือบผิว 2% ascorbic acid, 1% citric acid และ 10% glycerol ในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Botrytis* sp. ไอโซเลท BK2 หลังทดสอบทันที



ภาพที่ 4.11 การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคลือบผิว 2% ascorbic acid, 1% citric acid และ 10% glycerol ในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Botrytis sp.* ไอโซเลท BK2 เมื่อแช่ทิ้งไว้ 6 ชั่วโมง

สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) Highland Research and Development Institute (Public Organization)

4.1.5) คัดเลือกชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อเพิ่มปริมาณให้มีความเข้มข้นไม่น้อยกว่า 10^9 cfu/ml เพื่อพัฒนาเป็นต้นแบบชีวภัณฑ์

จากการคัดเลือกชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ NB ซึ่งใช้น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลทรายในปริมาณที่แตกต่างกัน ได้แก่ 0, 10, 20 และ 40 กรัมต่ออาหาร NB 1 ลิตร เมื่อนำไปชั่งน้ำหนักตะกอน เนื่องด้วยแต่ละช่วงมีอุณหภูมิห้องที่แตกต่างกัน (30±2ºC) พบว่า จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท K27 เมื่อใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำตาลกลูโคสปริมาณ 20 กรัม พบจำนวนเซลล์มากที่สุด แต่เมื่อควบคุมอุณหภูมิโดยเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 ºC อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำตาลกลูโคสปริมาณ 10 กรัม พบจำนวนเซลล์มากที่สุด เมื่อใช้น้ำตาลทรายในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า การเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้องอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำตาลทรายปริมาณ 10 กรัม พบจำนวนเซลล์มากที่สุด แต่เมื่อควบคุมอุณหภูมิโดยเลี้ยงที่ 30 ºC อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่น้ำตาลทรายปริมาณ 20 กรัม พบจำนวนเซลล์มากที่สุด ส่วนจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท S17 เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 30 ºC พบว่า อาหารที่ใช้น้ำตาลกลูโคสปริมาณ 20 กรัม มีตะกอนและจำนวนเซลล์มากที่สุด และอาหารที่ใช้น้ำตาลทรายปริมาณ 20 กรัม มีตะกอนของจุลินทรีย์และจำนวนเซลล์มากที่สุด ส่วนจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท N7 เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 28 ºC พบว่าอาหารที่ใช้น้ำตาลกลูโคสปริมาณ 20 กรัม มีตะกอนและจำนวนเซลล์มากที่สุด และอาหารที่ใช้น้ำตาลทรายปริมาณ 20 กรัม มีตะกอนของจุลินทรีย์และจำนวนเซลล์มากที่สุด (ตารางที่ 4.12 และ 4.13)

ตารางที่ 4.12 น้ำหนักตะกอนและจำนวนเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ เลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน โดยชนิดและปริมาณของน้ำตาลแตกต่างกัน

ชนิดน้ำตาล	จุลินทรีย์ปฏิปักษ์	น้ำตาล 0 กรัม ต่ออาหาร 1 ลิตร		น้ำตาล 10 กรัม ต่ออาหาร 1 ลิตร		น้ำตาล 20 กรัม ต่ออาหาร 1 ลิตร		น้ำตาล 40 กรัม ต่ออาหาร 1 ลิตร	
		ตะกอน (กรัม)	เซลล์ cfu/ml	ตะกอน (กรัม)	เซลล์ cfu/ml	ตะกอน (กรัม)	เซลล์ cfu/ml	ตะกอน (กรัม)	เซลล์ cfu/ml
กลูโคส	K27	2.50	2.22×10^7	2.20	1.05×10^7	3.20	4.39×10^7	2.40	1.74×10^7
	S17	2.50	4.55×10^6	4.80	1.94×10^7	6.30	2.44×10^7	3.30	2.83×10^7
	N7	6.20	7.78×10^3	17.10	3.28×10^8	12.40	1.39×10^9	10.90	3.28×10^9
น้ำตาลทราย (ซูโคส)	K27	10.10	6.66×10^5	7.70	1.67×10^7	8.50	1.46×10^7	8.80	7.78×10^6
	S17	10.60	9.44×10^6	12.00	7.22×10^6	12.00	2.06×10^8	12.70	1.28×10^7
	N7	7.10	2.22×10^8	14.20	1.33×10^9	14.30	3.33×10^9	13.20	1.94×10^9

ต้นทุนการผลิตต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร

สูตร กลูโคส 0 กรัม = 30.29 บาท, 10 กรัม = 30.89 บาท, 20 กรัม = 31.49 บาท, 40 กรัม = 32.69 บาท

สูตร น้ำตาลทราย 0 กรัม = 30.29 บาท, 10 กรัม = 30.57 บาท, 20 กรัม = 30.85 บาท, 40 กรัม = 31.41 บาท

ตารางที่ 4.13 น้ำหนักตะกอนและจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27 และ S17 เลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 ºC ส่วนเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ N7 เลี้ยงที่อุณหภูมิ 28 ºC เป็นเวลา 4 วันโดยชนิดและปริมาณของน้ำตาลแตกต่างกัน

ชนิดน้ำตาล	จุลินทรีย์ปฏิปักษ์	น้ำตาล 0 กรัมต่ออาหาร 1 ลิตร		น้ำตาล 10 กรัมต่ออาหาร 1 ลิตร		น้ำตาล 20 กรัมต่ออาหาร 1 ลิตร		น้ำตาล 40 กรัมต่ออาหาร 1 ลิตร	
		ตะกอน (กรัม)	เซลล์ cfu/ml	ตะกอน (กรัม)	เซลล์ cfu/ml	ตะกอน (กรัม)	เซลล์ cfu/ml	ตะกอน (กรัม)	เซลล์ cfu/ml
กลูโคส	K27	3.50	1.10×10^{8}	6.30	9.99×10^{8}	6.10	5.49×10^{8}	5.67	3.00×10^{8}
	S17	5.30	7.50×10^{7}	7.80	7.50×10^{7}	7.17	6.50×10^{9}	6.60	8.50×10^{8}
	N7	4.87	4.50×10^{5}	26.10	1.35×10^{7}	22.90	6.99×10^{7}	22.27	5.01×10^{7}
น้ำตาลทราย (ซูโคส)	K27	5.07	1.17×10^{6}	5.33	6.66×10^{6}	5.33	1.83×10^{7}	6.37	5.00×10^{7}
	S17	8.63	3.00×10^{7}	10.53	3.50×10^{7}	10.50	1.17×10^{8}	10.83	3.17×10^{8}
	N7	6.66	2.50×10^{8}	25.87	4.50×10^{9}	34.63	7.50×10^{10}	26.37	1.10×10^{10}

4.1.6) คัดเลือกชนิดวัสดุรองรับหัวเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อพัฒนาเป็นต้นแบบชีวภัณฑ์สูตรผง และสูตรผงละลายน้ำ

จากการคัดเลือกวัสดุรองรับเชื้อจุลินทรีย์ ได้สารชีวภัณฑ์สูตรผง 3 สูตร ได้แก่ สูตรที่ 1 คือแป้งข้าวจ้าว ซึ่งประกอบด้วย แป้งข้าวจ้าว (นึ่งฆ่าเชื้อ) 43.5 กรัม น้ำมันรำข้าว 1.5 มิลลิลิตร และน้ำตาลทราย 5 กรัม สูตรที่ 2 คือ Lactose ซึ่งประกอบด้วย lactose 48 กรัม sodium alginate 1 กรัม และ polyvinyl pyrroidone 1 กรัม และ สูตรที่ 3 คือ MCC ซึ่งประกอบด้วย microcystaline cellulose (นึ่งฆ่าเชื้อ) 21 กรัม talcum (นึ่งฆ่าเชื้อ) 18 กรัม lactose 10 กรัม และ sodium carboxymethyl (นึ่งฆ่าเชื้อ) 1 กรัม แล้วนำมานับปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตหลังการผลิตทุกๆครึ่งเดือน เป็นเวลา 3 เดือน และนับครั้งสุดท้ายเมื่อเก็บรักษาไว้ 6 เดือนที่อุณหภูมิห้อง พบว่า ได้แก่ สูตรที่ 1 แป้งข้าวจ้าว สูตรที่ 2 Lactose และ สูตรที่ 3 MCC สามารถเป็นวัสดุรองรับได้ดีกับเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27 และ S17 ซึ่งสามารถมีชีวิตรอดเมื่ออยู่ในวัสดุรองรับมากกว่า 6 เดือน โดยมีการลดลงของเซลล์เล็กน้อย คือ เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27 สูตรที่ 1 แป้งข้าวจ้าว เริ่มผลิตมีจำนวนเซลล์ 1.33×10^{10} cfu/กรัม หลังจากเก็บรักษา 6 เดือน มีจำนวนเซลล์ 1.50×10^{7} cfu/กรัม สูตรที่ 2 Lactose เริ่มผลิตมีจำนวนเซลล์ 1.50×10^{8} cfu/กรัม หลังจากเก็บรักษา 6 เดือน มีจำนวนเซลล์ 1.33×10^{7} cfu/กรัม สูตรที่ 3 MCC เริ่มผลิตมีจำนวนเซลล์ 3.00×10^{8} cfu/กรัม หลังจากเก็บรักษา 6 เดือน มีจำนวนเซลล์ 6.67×10^{7}cfu/กรัม ส่วนเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ S17 สูตรที่ 1 แป้งข้าวจ้าว เริ่มผลิตมีจำนวนเซลล์ 1.00×10^{10} cfu/กรัม หลังจากเก็บรักษา 6 เดือน มีจำนวนเซลล์ 3.00×10^{8} cfu/กรัม สูตรที่ 2 Lactose เริ่มผลิตมีจำนวนเซลล์ 3.83×10^{8} cfu/กรัม หลังจากเก็บรักษา 6 เดือน มีจำนวนเซลล์ 1.17×10^{8} cfu/กรัม

สูตรที่ 3 MCC เริ่มผลิตมีจำนวนเซลล์ 3.50×10^{9} cfu/กรัม หลังจากเก็บรักษา 6 เดือน มีจำนวนเซลล์ 4.00×10^{8} cfu/กรัม ส่วนเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ N7 สูตรที่ 1 แป้งข้าวจ้าว และสูตรที่ 2 Lactose สามารถเก็บรักษาในวัสดุรองรับได้ครึ่งเดือน โดยสูตรที่ 1 แป้งข้าวจ้าว เริ่มผลิตมีจำนวนเซลล์ 8.33×10^{6} cfu/กรัม หลังจากเก็บรักษาครึ่งเดือน มีจำนวนเซลล์ 3.33×10^{4} cfu/กรัม สูตรที่ 2 Lactose เริ่มผลิตมีจำนวนเซลล์ 1.33×10^{8} cfu/กรัม หลังจากเก็บรักษาครึ่งเดือน มีจำนวนเซลล์ 2.17×10^{5} cfu/กรัม ส่วนสูตรที่ 3 MCC สามารถเก็บรักษาในวัสดุรองรับได้ 1 เดือนครึ่ง โดยเริ่มผลิตมีจำนวนเซลล์ 1.00×10^{8} cfu/กรัม หลังจากเก็บรักษา 1 เดือนครึ่ง มีจำนวนเซลล์ 4.67×10^{5} cfu/กรัม (ตารางที่ 4.14)

สูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงจุลินทรีย์เหล่านี้ ได้ใช้ปริมาณน้ำตาลที่แตกต่างกันเพื่อหาอัตราที่เหมาะสม พบว่าปริมาณน้ำตาลที่มีผลต่อการมีชีวิตรอดของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ซึ่งสูตรที่ 2 Lactose เป็นวัสดุรองรับได้ดีกับเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27 และ S17 ซึ่งสามารถมีชีวิตรอดเมื่ออยู่ในวัสดุรองรับมากกว่า 3 เดือน โดยมีการลดลงของเซลล์เล็กน้อย คือ เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27 จากการใช้น้ำตาลในปริมาณต่างๆ พบว่าเมื่อใช้น้ำตาลกลูโคสปริมาณ 20 กรัม มีจำนวนเซลล์มากที่สุด โดยเริ่มผลิตมีจำนวนเซลล์ 1.33×10^{7} cfu/กรัม หลังจากเก็บรักษา 3 เดือน มีจำนวนเซลล์ 2.67×10^{6} cfu/กรัม ส่วนเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ S17 พบว่าเมื่อใช้น้ำตาลกลูโคสปริมาณ 20 กรัม มีจำนวนเซลล์มากที่สุด โดยเริ่มผลิตมีจำนวนเซลล์ 1.67×10^{9} cfu/กรัม หลังจากเก็บรักษา 3 เดือน มีจำนวนเซลล์ 2.67×10^{8} cfu/กรัม และเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ N7 พบว่าเมื่อใช้น้ำตาลกลูโคสปริมาณ 40 กรัม มีจำนวนเซลล์มากที่สุด โดยเริ่มผลิตมีจำนวนเซลล์ 2.33×10^{10} cfu/กรัม แต่สามารถเก็บรักษาได้เพียง 1 เดือน ซึ่งมีจำนวนเซลล์ 8.33×10^{6} cfu/กรัม (ตารางที่ 4.15)

ตารางที่ 4.14 ปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 3 สูตร ในสารชีวภัณฑ์สูตรผง ภายใต้การเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

สูตร	ไอโซเลท	จำนวนเซลล์ที่มีชีวิต ต่อชีวภัณฑ์ 1 กรัม							
		0 เดือน	½ เดือน	1 เดือน	1½ เดือน	2 เดือน	2½ เดือน	3 เดือน	6 เดือน
แป้งข้าวจ้าว	K27	1.33×10^{10}	1.00×10^{9}	3.00×10^{8}	1.33×10^{8}	1.67×10^{8}	1.50×10^{8}	3.00×10^{7}	1.50×10^{7}
	S17	1.00×10^{10}	1.00×10^{10}	3.17×10^{9}	5.50×10^{9}	2.16×10^{9}	2.50×10^{9}	1.67×10^{9}	3.00×10^{8}
	N7	8.33×10^{6}	3.33×10^{4}	ตาย	ตาย	ตาย	ตาย	ตาย	ตาย
Lactose	K27	1.50×10^{8}	2.17×10^{8}	3.83×10^{8}	2.00×10^{8}	1.67×10^{8}	1.67×10^{8}	1.50×10^{7}	1.33×10^{7}
	S17	3.83×10^{8}	2.33×10^{8}	3.83×10^{8}	1.67×10^{8}	1.17×10^{8}	1.00×10^{8}	1.67×10^{8}	1.17×10^{8}
	N7	1.33×10^{9}	2.17×10^{5}	ตาย	ตาย	ตาย	ตาย	ตาย	ตาย
MCC	K27	3.00×10^{8}	1.67×10^{8}	1.17×10^{8}	1.00×10^{8}	1.00×10^{8}	8.33×10^{7}	6.67×10^{7}	6.67×10^{7}
	S17	3.50×10^{9}	2.17×10^{9}	2.17×10^{9}	1.50×10^{9}	1.33×10^{9}	3.83×10^{8}	4.17×10^{8}	4.00×10^{8}
	N7	1.00×10^{8}	2.17×10^{7}	1.00×10^{7}	4.67×10^{5}	ตาย	ตาย	ตาย	ตาย

*จากอาหารเลี้ยงเชื้อ NGB ปริมาตร 900 มิลลิลิตร (ส่วนต้นทุนการผลิตสูตรวัสดุรองรับ แป้งข้าวเจ้า = 43.84 บาทต่อกิโลกรัม สูตร Lactose = 397.6 บาทต่อกิโลกรัม และ สูตร MCC = 164.44 บาทต่อกิโลกรัม)

ตารางที่ 4.15 ปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในสารชีวภัณฑ์สูตร Lactose ภายใต้การเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

ไอโซเลท	ชนิดน้ำตาลในอาหารเลี้ยงเชื้อ	ปริมาณน้ำตาลต่อลิตร	จำนวนเซลล์ที่มีชีวิต ต่อชีวภัณฑ์ 1 กรัม					
			ตะกอน (กรัม)	0 เดือน	1 เดือน	2 เดือน	3 เดือน	6 เดือน
K27	กลูโคส	0 กรัม	0.75	1.00×10^{7}	1.17×10^{6}	1.00×10^{6}	1.33×10^{6}	1.00×10^{6}
		10 กรัม	1.89	1.50×10^{7}	2.50×10^{6}	2.00×10^{6}	2.33×10^{6}	1.33×10^{6}
		20 กรัม	1.83	1.33×10^{7}	2.83×10^{6}	2.67×10^{6}	2.67×10^{6}	2.33×10^{6}
		40 กรัม	1.70	1.67×10^{7}	2.50×10^{6}	2.33×10^{6}	2.33×10^{6}	1.33×10^{6}
	น้ำตาลทราย	0 กรัม	1.52	1.00×10^{5}	1.00×10^{5}	1.67×10^{5}	1.67×10^{5}	1.00×10^{5}
		10 กรัม	1.60	1.83×10^{5}	1.17×10^{5}	2.00×10^{5}	1.67×10^{5}	1.33×10^{5}
		20 กรัม	1.60	1.50×10^{6}	1.50×10^{6}	8.33×10^{5}	8.33×10^{5}	2.83×10^{5}
		40 กรัม	1.91	1.00×10^{6}	1.00×10^{6}	1.33×10^{5}	1.00×10^{5}	1.00×10^{5}
S17	กลูโคส	0 กรัม	1.59	1.67×10^{7}	1.50×10^{7}	6.67×10^{6}	6.67×10^{6}	6.67×10^{6}
		10 กรัม	2.34	3.67×10^{9}	1.50×10^{8}	2.00×10^{8}	1.67×10^{8}	1.17×10^{7}
		20 กรัม	2.15	1.67×10^{9}	2.17×10^{8}	3.50×10^{8}	2.67×10^{8}	2.00×10^{7}
		40 กรัม	1.98	1.50×10^{9}	1.67×10^{8}	2.67×10^{8}	2.17×10^{8}	1.67×10^{7}
	น้ำตาลทราย	0 กรัม	2.59	2.16×10^{7}	1.17×10^{7}	1.00×10^{7}	8.33×10^{6}	1.33×10^{6}
		10 กรัม	3.16	3.50×10^{7}	2.00×10^{7}	1.50×10^{7}	1.17×10^{7}	3.50×10^{6}
		20 กรัม	3.15	6.67×10^{7}	2.67×10^{7}	1.50×10^{7}	1.33×10^{7}	8.33×10^{6}
		40 กรัม	3.25	6.67×10^{7}	3.33×10^{7}	1.67×10^{7}	1.67×10^{7}	8.33×10^{6}
N7	กลูโคส	0 กรัม	1.46	1.67×10^{8}	ตาย	ตาย	ตาย	ตาย
		10 กรัม	7.83	1.00×10^{10}	5.00×10^{4}	ตาย	ตาย	ตาย
		20 กรัม	6.87	1.50×10^{10}	8.33×10^{5}	ตาย	ตาย	ตาย
		40 กรัม	6.68	2.33×10^{10}	8.33×10^{6}	ตาย	ตาย	ตาย
	น้ำตาลทราย	0 กรัม	2.00	1.33×10^{4}	ตาย	ตาย	ตาย	ตาย
		10 กรัม	7.77	2.33×10^{5}	1.33×10^{1}	ตาย	ตาย	ตาย
		20 กรัม	10.4	2.50×10^{6}	1.17×10^{2}	ตาย	ตาย	ตาย
		40 กรัม	7.92	3.00×10^{5}	2.50×10^{1}	ตาย	ตาย	ตาย

*เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27 และ S17 เลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 ºC

เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ N7 เลี้ยงที่อุณหภูมิ 28 ºC

*จากอาหารเลี้ยงเชื้อ 300 มิลลิลิตร

4.1.7) ทดสอบประสิทธิภาพต้นแบบชีวภัณฑ์เกษตรและสารเคลือบผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรคในสภาพห้องปฏิบัติการ

4.1.7.1 ทดสอบประสิทธิภาพต้นแบบชีวภัณฑ์เกษตรในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรคในสภาพห้องปฏิบัติการ

จากการทดสอบสารชีวภัณฑ์เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 3 สูตร (สูตรแป้งข้าวจ้าว, Lactose และ MCC) แล้วนำมาผลิตเป็นวัสดุรองรับเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่คัดเลือก 3 ไอโซเลท ได้แก่ K27, S17 และ N7 นำมาทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ในการควบคุมเชื้อรา *Botrytis* sp. และ *Colletotrichum* sp. สาเหตุโรคผลเน่าของสตรอเบอรี่ โดยวิธีการ dual culture technique พบว่า การทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ดังกล่าว กับเชื้อรา *Botrytis* sp. เมื่อเวลาผ่านไป 3 วัน พบว่าจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท K27 เซลล์สด สูตรแป้งข้าวจ้าว สูตร Lactose และสูตร MCC มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุ 57.00, 56.50, 51.50 และ 47.50 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ รองลงมาคือ เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท S17 เซลล์สด สูตรแป้งข้าวจ้าว สูตร Lactose และสูตร MCC โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุที่ 21.00, 13.00, 13.00 และ 14.50 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ตามด้วยกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท N7 มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุ 9.00, 9.00, 11.00 และ 6.50 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยพบว่าเชื้อจุลินทรีย์แต่ละไอโซเลท เมื่อผลิตเป็นสารชีวภัณฑ์ที่แตกต่างกันทั้ง 3 สูตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคได้ไม่แตกต่างกันมาก (ตารางที่ 4.16 ภาพที่ 4.12)

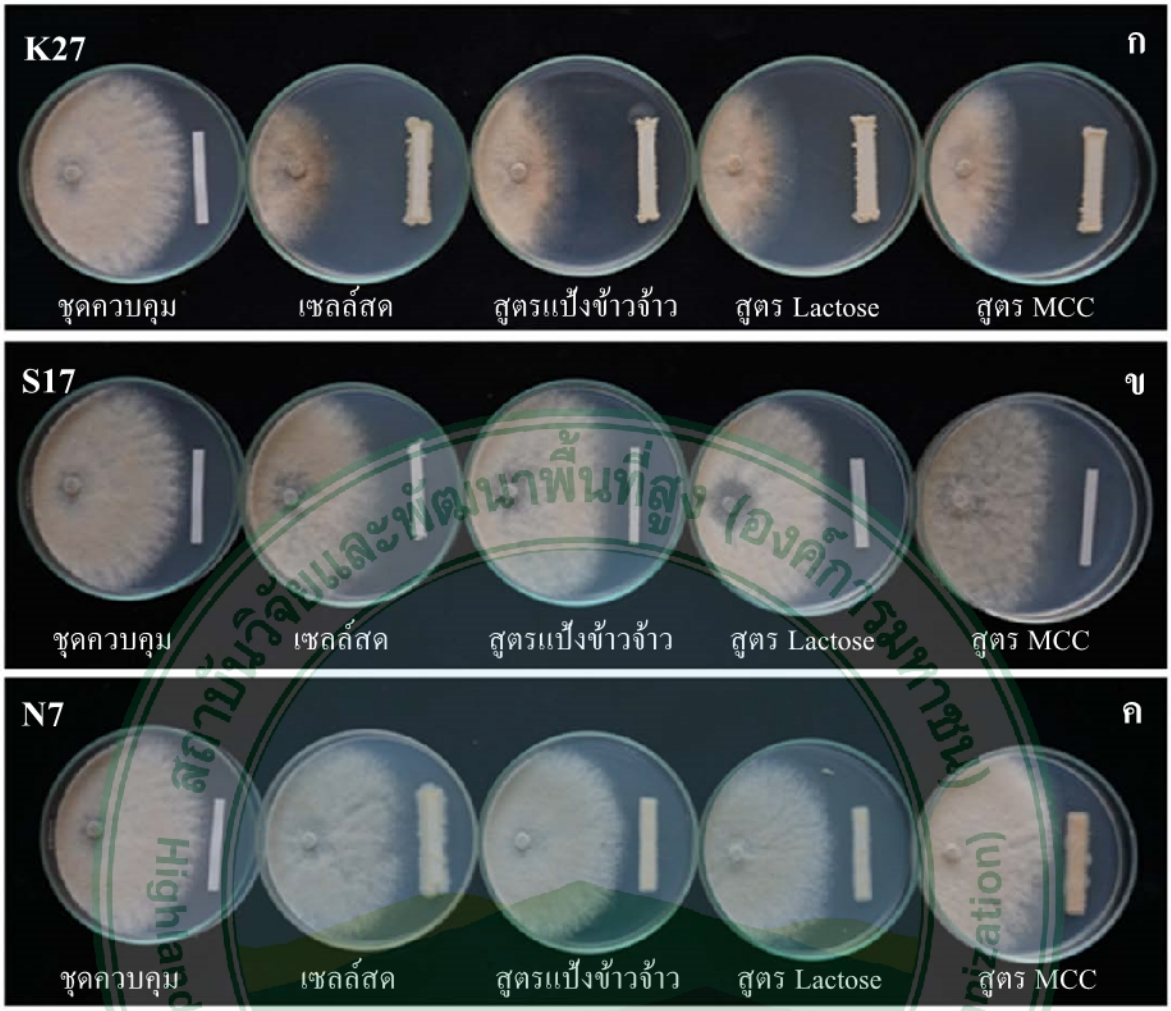
ส่วนเชื้อรา *Colletotrichum* sp. เมื่อเวลาผ่านไป 8 วัน พบว่าจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท K27 เซลล์สด สูตรแป้งข้าวจ้าว สูตร Lactose และสูตร MCC มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุ 50.50, 52.50, 51.00 และ 49.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ รองลงมาคือ เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท S17 เซลล์สด สูตรแป้งข้าวจ้าว สูตร Lactose และสูตร MCC โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุที่ 26.00, 18.50, 19.00 และ 23.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ตามด้วยกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท N7 มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุ 12.00, 16.50, 11.00 และ 17.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยพบว่าเชื้อจุลินทรีย์แต่ละไอโซเลท เมื่อผลิตเป็นสารชีวภัณฑ์ที่แตกต่างกันทั้ง 3 สูตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคได้ไม่แตกต่างกันมาก (ตารางที่ 4.17 ภาพที่ 4.13) สรุปโดยภาพรวม จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท K27 ให้ประสิทธิภาพดีที่สุด ส่วนสูตรของผลิตภัณฑ์นั้น ไม่มีความแตกต่างกันมากนัก ทั้งนี้ต้องศึกษาการละลายและคราบที่จะตกค้างบนพืชทดสอบประกอบกัน

ตารางที่ 4.16 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Botrytis* sp. เป็นเวลา 3 วัน โดยวิธี dual culture

เชื้อปฏิปักษ์	**เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุ**[1]
ชุดควบคุม	0.00
K27 เซลล์สด	57.00 a[2]
ชีวภัณฑ์ K27 สูตร แป้งข้าวจ้าว	56.50 a
ชีวภัณฑ์ K27 สูตร Lactose	51.50 b
ชีวภัณฑ์ K27 สูตร MCC	47.50 c
S17 เซลล์สด	21.00 d
ชีวภัณฑ์ S17 สูตร แป้งข้าวจ้าว	13.00 e
ชีวภัณฑ์ S17 สูตร Lactose	13.00 e
ชีวภัณฑ์ S17 สูตร MCC	14.50 e
N7 เซลล์สด	9.00 fg
ชีวภัณฑ์ N7 สูตร แป้งข้าวจ้าว	9.00 fg
ชีวภัณฑ์ N7 สูตร Lactose	11.00 ef
ชีวภัณฑ์ N7 สูตร MCC	6.50 g
LSD (0.05)	3.60
CV (%)	9.74

[1] ค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



ภาพ 4.12 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Botrytis* sp. เป็นเวลา 3 วัน

ก เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27

ข เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ S17

ค เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ N7

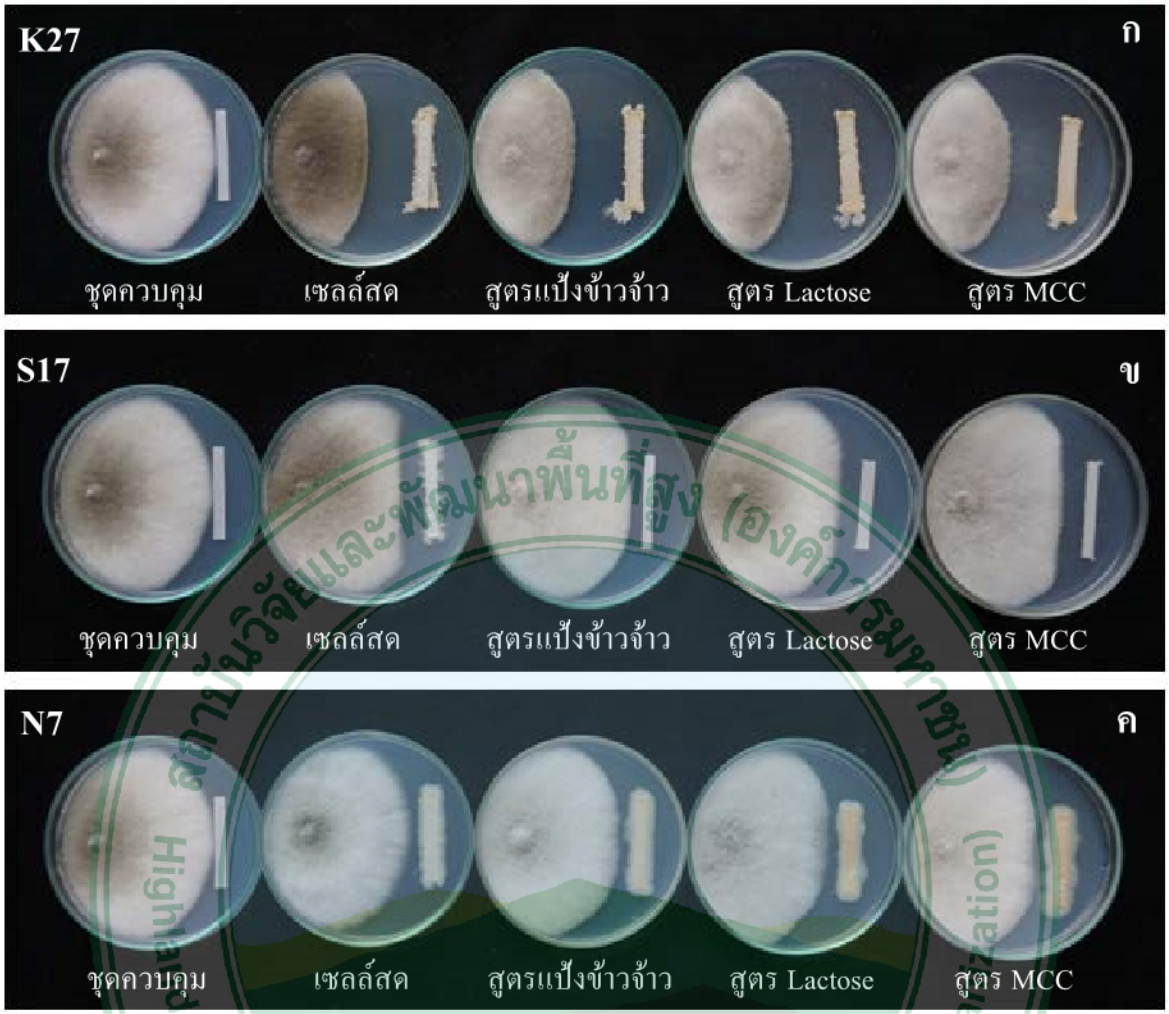
สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) Highland Research and Development Institute (Public Organization)

ตารางที่ 4.17 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. เป็นเวลา 8 วัน โดยวิธี dual culture

เชื้อปฏิปักษ์	**เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุ**[1]
ชุดควบคุม	0.00
K27 เซลล์สด	50.50 ab[2]
ชีวภัณฑ์ K27 สูตร แป้งข้าวจ้าว	52.50 a
ชีวภัณฑ์ K27 สูตร Lactose	51.00 ab
ชีวภัณฑ์ K27 สูตร MCC	49.00 b
S17 เซลล์สด	26.00 c
ชีวภัณฑ์ S17 สูตร แป้งข้าวจ้าว	18.50 d
ชีวภัณฑ์ S17 สูตร Lactose	19.00 d
ชีวภัณฑ์ S17 สูตร MCC	23.00 c
N7 เซลล์สด	12.00 e
ชีวภัณฑ์ N7 สูตร แป้งข้าวจ้าว	16.50 d
ชีวภัณฑ์ N7 สูตร Lactose	11.00 e
ชีวภัณฑ์ N7 สูตร MCC	17.00 d
LSD (0.05)	3.28
CV (%)	7.93

[1] ค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



ภาพ 4.13 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. เป็นเวลา 8 วัน

ก เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27

ข เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ S17

ค เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ N7

สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) Highland Research and Development Institute (Public Organization)

4.1.7.2 ทดสอบประสิทธิภาพสารเคลือบผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อสาเหตุโรคในสภาพห้องปฏิบัติการ

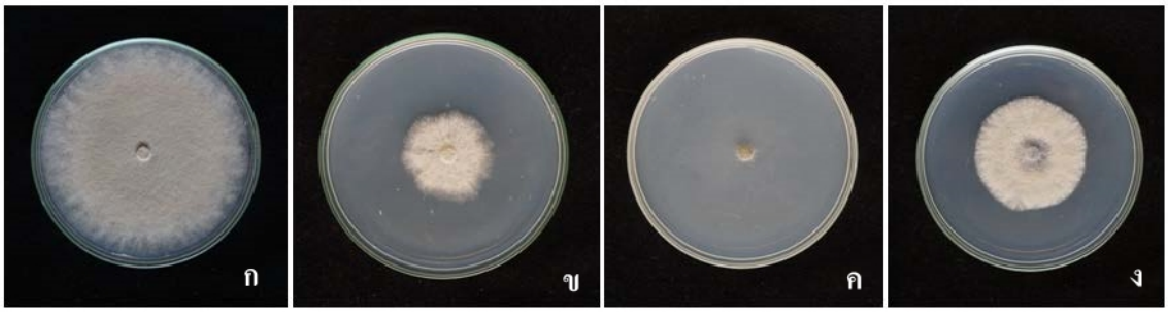
จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคลือบผลที่คัดเลือก ได้แก่ 2% ascorbic acid, 1% citric acid, และ 10% glycerol ในการควบคุมเชื้อรา *Botrytis* sp. และ *Colletotrichum* sp. สาเหตุโรคผลเน่าของสตรอเบอรี่ พบว่าในการควบคุมเชื้อรา *Botrytis* sp. เมื่อเวลาผ่านไป 4 วัน สารเคลือบผล 1% citric acid มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุได้สูงที่สุด 85.56 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือสารเคลือบผล 2% ascorbic acid ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง 65.28 เปอร์เซ็นต์ และสารเคลือบผล 10% glycerol โดยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุ 51.95 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 4.18 ภาพที่ 4.14) ส่วนเชื้อรา *Colletotrichum* sp. เมื่อเวลาผ่านไป 9 วัน สารเคลือบผล 1% citric acid มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุได้สูงที่สุด 92.22 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือสารเคลือบผล 2% ascorbic acid ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้ง 73.89 เปอร์เซ็นต์ และสารเคลือบผล 10% glycerol โดยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุ 61.11 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 4.19 ภาพที่ 4.15) สรุปในเบื้องต้น 1% citric acid ให้ผลเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุได้ผลดี

ตารางที่ 4.18 ประสิทธิภาพของสารเคลือบผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Botrytis* sp. เป็นเวลา 4 วัน โดยการผสมสารเคลือบผลในอาหารเลี้ยงเชื้อ

สารเคลือบผล	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุ[1]
2% ascorbic acid	65.28 b[2]
1% citric acid	85.56 a
10% glycerol	51.95 c
LSD (0.05)	4.87
CV (%)	4.50

[1] ค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



ภาพ 4.14 ประสิทธิภาพของสารเคลือบผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Botrytis* sp. เป็นเวลา 4 วัน

ก ชุดควบคุม

ข 2% ascorbic acid

ค 1% citric acid

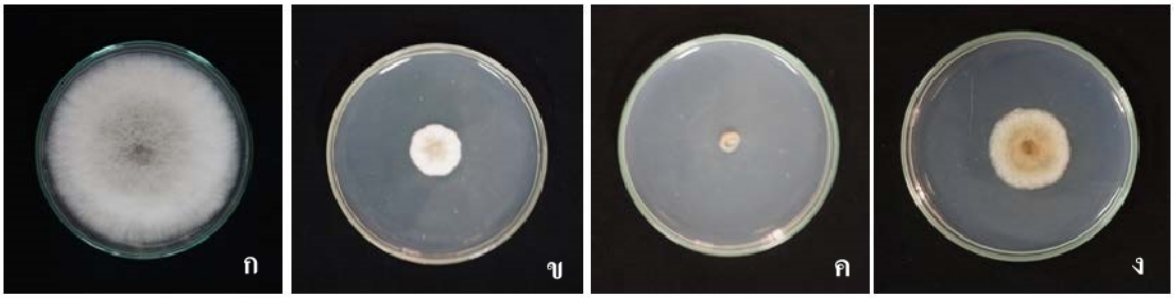
ง 10% glycerol

ตารางที่ 4.19 ประสิทธิภาพของสารเคลือบผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. เป็นเวลา 9 วัน โดยผสมสารเคลือบผลในอาหารเลี้ยงเชื้อ

สารเคลือบผล	**เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุ**[1]
2% ascorbic acid	73.89 b[2]
1% citric acid	92.22 a
10% glycerol	61.11 c
LSD (0.05)	2.30
CV (%)	1.89

[1] ค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



ภาพ 4.15 ประสิทธิภาพของสารเคลือบผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. เป็นเวลา 9 วัน

ก ชุดควบคุม

ข 2% ascorbic acid

ค 1% citric acid

ง 10% glycerol

4.1.8) ศึกษาวิธีการเคลือบผลสตรอเบอรี่ด้วยสารเคลือบผิวที่คัดเลือกได้ ได้แก่ ascorbic acid, citric acid และ glycerol

จากการทดสอบสารเคลือบผลที่คัดเลือก ได้แก่ 2% ascorbic acid, 1% citric acid, และ 10% glycerol โดยการนำผลสตรอเบอรี่ชุบสารเคลือบผิวที่เตรียมไว้ข้างต้น พบว่าสารเคลือบผล 2% ascorbic acid และ 1% citric acid เมื่อวางทิ้งไว้ 3 วัน พบว่าไม่มีการเจริญของเชื้อราที่ติดมากับผล โดยมีเปอร์เซ็นต์ผลปกติเท่ากับ 77.78 และ 100.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เนื้อผลปกติ ในขณะที่สารเคลือบผล 10% glycerol ไม่พบการเจริญของเชื้อราที่ปนเปื้อนที่ติดมากับผล 44.44 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับชุดควบคุม แต่ลักษณะของเนื้อเยื่อผลเละ จึงไม่คัดเลือกสารเคลือบผล glycerol ไปทำการทดลองต่อ โดยจะคัดเลือกสารเคลือบผล ascorbic acid และ citric acid ไปทำการศึกษาทดลองต่อไป (ตารางที่ 4.20)

ตารางที่ 4.20 การทดสอบสารเคลือบผิวบนผลสตรอเบอรี่ เมื่อเวลาผ่านไป 3 วัน โดยการชุบผล

ชุดการทดลอง	ผลที่ไม่มีการเจริญของเชื้อรา (%)[1]	ลักษณะผลที่ไม่มีการเจริญของเชื้อรา
ชุดควบคุมปกติ	44.44	ปกติ
2% ascorbic acid	77.78	ปกติ
1% citric acid	100.00	ปกติ
10% glycerol	44.44	เละ

(กรรมวิธีละ 9 ผล)

4.2 ทดสอบประสิทธิภาพการใช้ต้นแบบชีวภัณฑ์เกษตรเปรียบเทียบกับเซลล์สดและสารเคลือบผลในการควบคุมโรคผลเน่าของสตรอเบอรี่

4.2.1) ทดสอบประสิทธิภาพสารเคลือบผล จุลินทรีย์เซลล์สดและต้นแบบชีวภัณฑ์กับผลสตรอเบอรี่

4.2.1.1 ทดสอบประสิทธิภาพสารเคลือบผลกับผลสตรอเบอรี่

จากการทดสอบสารเคลือบผลที่มีประสิทธิภาพในการลดการเจริญของเชื้อราที่มีการปนเปื้อนมากับผลสตรอเบอรี่ เนื่องจากผลการทดลอง 4.1.8 สารเคลือบผล glycerol ทำให้เนื้อผลสตรอเบอรี่เละ จึงได้นำเฉพาะสารเคลือบผล ascorbic acid และ citric acid มาทำการทดลองต่อ ซึ่งทดลองที่ความเข้มข้น 1%, 2% และ 4% โดยชุบสารเคลือบผิวที่เตรียมไว้ข้างต้น เมื่อเปรียบเทียบสารเคลือบผลที่ความเข้มข้นต่างๆ เมื่อวางไว้ 3 และ 5 วัน พบว่า 2% ascorbic พบการเกิดโรค 20.00 และ 57.50 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ลักษณะของเนื้อผลปกติ รสชาติปกติ และยังพบว่า 4% ascorbic acid ทำให้เนื้อผลสตรอเบอรี่เละ (ภาพที่ 4.16) อีกทั้งสารเคลือบผล 2% citric acid เมื่อวางไว้ 3 และ 5 วัน พบการเกิดโรค 7.50 และ 42.50 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ลักษณะของเนื้อผลปกติ รสชาติปกติ ส่วน 4% citric acid ทำให้เนื้อผลสตรอเบอรี่เละเช่นเดียวกับ 4% ascorbic acid (ภาพที่ 4.17) ด้วยเหตุนี้จึงได้เลือกสารเคลือบผลที่ความเข้มข้น 2% ascorbic acid และ 2% citric acid ไปทำการทดสอบการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคผลเน่าต่อไป (ตารางที่ 4.21)

ตารางที่ 4.21 การทดสอบสารเคลือบผิวบนผลสตรอเบอรี่ เมื่อเวลาผ่านไป 5 วัน โดยการชุบผล

ชุดการทดลอง	การเกิดโรค (%)[1]		ลักษณะผลที่ไม่มีการเจริญของเชื้อรา	รสชาติ
	3 วัน	5 วัน		
ชุดควบคุมปกติ	35.00 a[2]	80.00 a[2]	ปกติ	ปกติ
1% ascorbic acid	22.00 ab	72.50 ab	ปกติ	ปกติ
2% ascorbic acid	20.00 ab	57.50 bc	ปกติ	ปกติ
4% ascorbic acid	40.00 a	82.50 a	เละ	-
1% citric acid	25.00 ab	52.50 c	ปกติ	ปกติ
2% citric acid	7.50 ab	42.50 c	ปกติ	ปกติ
4% citric acid	32.50 a	87.50 a	เละ	-
LSD (0.05)	21.34	19.91		
CV (%)	55.68	19.95		

[1] ค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ (ซ้ำละ 10 ผล)

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ภาพ 4.16 การทดสอบสารเคลือบผิว 1% ascorbic acid, 2% ascorbic acid และ 4% ascorbic acid บนผลสตรอเบอรี่ เมื่อเวลาผ่านไป 5 วัน

ภาพ 4.17 การทดสอบสารเคลือบผิว 1% citric acid, 2% citric acid และ 4% citric acid บนผลสตรอเบอรี่ เมื่อเวลาผ่านไป 5 วัน

4.2.1.2 ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เซลล์สดกับผลสตรอเบอรี่

จากการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ได้คัดเลือก ที่มีประสิทธิภาพในการลดการเจริญของเชื้อราที่ติดมากับผลสตรอเบอรี่ได้แก่ เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27, S17 และ N7 เมื่อนำไปชุบผลสตรอเบอรี่ แล้วตั้งทิ้งไว้นาน 5 วัน พบว่า จุลินทรีย์ทั้ง 3 ไอโซเลท สามารถลดเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับผลสตรอเบอรี่ได้ โดยไม่พบการเจริญของเชื้อราที่ติดมากับผล 33.33, 46.67 และ 26.67 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันตามค่าทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95% ส่วนลักษณะของเนื้อผลสตรอเบอรี่ปกติ แสดงให้เห็นว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไม่ส่งผลกระทบต่อผลสตรอเบอรี่ (ตารางที่ 4.22, ภาพที่ 4.18)

ตารางที่ 4.22 การทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เซลล์สดบนผลสตรอเบอรี่ เมื่อเวลาผ่านไป 5 วัน โดยการชุบผล

เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์	ผลที่ไม่มีการเจริญของเชื้อรา (%)[1]	ลักษณะผลที่ไม่มีการเจริญของเชื้อรา
ชุดควบคุมปกติ	20.00 a[2]	ปกติ
K27	33.33 a	ปกติ
S17	46.67 a	ปกติ
N7	26.67 a	ปกติ
LSD (0.05)	33.94	
CV (%)	56.93	

[1] ค่าเฉลี่ย 3 ซ้ำ (ซ้ำละ 10 ผล)

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ภาพ 4.18 การทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เซลล์สดบนผลสตรอเบอรี่ เมื่อเวลาผ่านไป 5 วัน

4.2.1.3 ทดสอบประสิทธิภาพสารเคลือบผลและเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์กับการควบคุมโรคผลเน่าของสตรอเบอรี่

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคลือบผลและเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บนผลสตรอเบอรี่ โดยชุบสารเคลือบผิวเซลล์สดเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ลงบนผลสตรอเบอรี่ เมื่อปลูกเชื้อรา *Botrytis* sp. บนผลสตรอเบอรี่ก่อนการควบคุม 2 ชั่วโมง พบว่าทั้ง 2% ascorbic acid และ 2% citric acid ที่เลือกจากผลการทดลอง 4.2.1.1 เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท K27, S17 และ N7 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา 71.43, 52.38, 76.19, 57.15 และ 52.38 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางค่าสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 4.23) ส่วนการปลูกด้วยเชื้อรา *Colletotrichum* sp. บนผลสตรอเบอรี่ก่อนการควบคุม 2 ชั่วโมง พบว่าทั้ง 2% ascorbic acid, 2% citric acid, เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท K27, S17 และ N7 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา 69.56, 73.91, 73.91, 69.56 และ 60.87 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางค่าสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 4.24)

ตารางที่ 4.23 ประสิทธิภาพของสารเคลือบผลและเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Botrytis* sp. บนผลสตรอเบอรี่ เป็นเวลา 5 วัน โดยการพ่นหลังปลูกเชื้อ 2 ชั่วโมง

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุ[1]
ชุดควบคุม	0.00
สารเคลือบผล 2% ascorbic acid	71.43 a[2]
สารเคลือบผล 2% citric acid	52.38 a
จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27	76.19 a
จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ S17	57.15 a
จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ N7	52.38 a
LSD (0.05)	24.49
CV (%)	33.28

[1] ค่าเฉลี่ย 6 ซ้ำ

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.24 ประสิทธิภาพของสารเคลือบผลและเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. บนผลสตรอเบอรี่ เป็นเวลา 5 วัน โดยฉีดพ่นหลังปลูกเชื้อ 2 ชั่วโมง

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุ[1]
ชุดควบคุม	0.00
สารเคลือบผล 2% ascorbic acid	69.56 a[2]
สารเคลือบผล 2% citric acid	73.91 a
จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27	73.91 a
จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ S17	69.56 a
จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ N7	60.87 a
LSD (0.05)	25.71
CV (%)	31.08

[1] ค่าเฉลี่ย 6 ซ้ำ

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

4.2.1.4 ทดสอบประสิทธิภาพการละลายและการเกิดคราบของสารชีวภัณฑ์สูตรต่างๆ

เมื่อนำสารชีวภัณฑ์เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 3 สูตร (สูตรแป้งข้าวจ้าว, Lactose และ MCC) มาทดสอบประสิทธิภาพในการละลาย โดยชั่งสารชีวภัณฑ์ในอัตราส่วน 1 กรัมต่อน้ำ 100 มิลลิลิตร ในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร (ภาพที่ 4.19ก) เมื่อเทน้ำลงในสารชีวภัณฑ์พบว่า สูตรแป้งข้าวจ้าวและ สูตร Lactose จมน้ำทั้งหมด ส่วนสูตร MCC ยังมีสารชีวภัณฑ์บางส่วนลอยอยู่บนผิวน้ำ (ภาพที่ 4.19ข) เมื่อคนสารชีวภัณฑ์กับน้ำดังกล่าว 15 นาที พบว่า สูตรแป้งข้าวจ้าวและสูตร MCC ได้สารละลายที่มีสีขาวขุ่น ส่วนสูตร Lactose สารละลายที่ได้ใส มีตะกอนพียงเล็กน้อย (ภาพที่ 4.19ค) หลังจากคนสารละลายดังกล่าวแล้วตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง พบว่า สูตรแป้งข้าวจ้าว สารชีวภัณฑ์ตกตะกอนอยู่ก้นบีกเกอร์ สารละลายด้านบนตะกอนใส ส่วนสูตร Lactose สารชีวภัณฑ์ละลายหมด สารละลายที่ได้ใส และสูตร MCC สารชีวภัณฑ์ตกตะกอนอยู่ก้นบีกเกอร์ สารละลายที่ได้มีสีขาวขุ่น (ภาพที่ 4.19ง)

เมื่อนำสารชีวภัณฑ์ทั้ง 3 สูตร ไปพ่นบนใบและผลของสตรอเบอรี่ พบว่า สูตรที่ 1 คือแป้งข้าวเจ้าเป็นสูตรผงไม่ละลายน้ำ เวลาฉีดพ่นต้องมีการกวนสารชีวภัณฑ์อยู่ตลอดเวลา เมื่อพ่นลงบนพืช เกิดคราบสีขาวบนส่วนของพืช (ภาพที่ 4.20ข) ส่วนสูตรที่ 2 คือ Lactose เป็นสูตรผลละลายน้ำ เมื่อพ่นบนพืชไม่เกิดคราบบนส่วนของพืช (ภาพที่ 4.20ค) ส่วนสูตรที่ 3 คือ MCC เป็นสูตรผงไม่ละลายน้ำ เวลาฉีดพ่นต้องมีการกวนสารชีวภัณฑ์อยู่ตลอดเวลา แต่ละลายน้ำและฉีดพ่นง่ายกว่าสูตรที่ 1 เมื่อพ่นลงบนพืช เกิดคราบสีขาวบนส่วนของพืช (ภาพที่ 4.20ง) สำหรับการแนะนำการใช้งานสารชีวภัณฑ์ ในระยะก่อนติดผล แนะนำให้ใช้สารชีวภัณฑ์สูตรแป้งข้าวจ้าวหรือสูตร MCC ก็ได้ ส่วนในระยะติดผล แนะนำให้ใช้สูตร Lactose เพื่อผลผลิตจะไม่มีคราบชีวภัณฑ์ติดที่ผลได้ ดังนั้นจึงเลือกสูตร Lastose ฉีดพ่น เพื่อป้องกันการเกิดโรคที่ผล

ภาพที่ 4.19 การทดสอบประสิทธิภาพการละลายของสารชีวภัณฑ์ 3 สูตร คือ สูตรแป้งข้าวจ้าว, Lactose และ MCC

ก. สารชีวภัณฑ์ทั้ง 3 สูตร

ข. สารชีวภัณฑ์ อัตราส่วน (1 กรัมต่อน้ำ 100 มิลลิลิตร)

ค. สารชีวภัณฑ์ อัตราส่วน (1 กรัมต่อน้ำ 100 มิลลิลิตร) ผสมให้ละลาย 15 นาที

ง. สารชีวภัณฑ์ อัตราส่วน (1 กรัมต่อน้ำ 100 มิลลิลิตร) หลังจากผสมให้ละลายแล้วตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง

สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) Highland Research and Development Institute (Public Organization)

ภาพที่ 4.20 การเกิดคราบของสารชีวภัณฑ์ทั้ง 3 สูตรบนใบและผลของสตรอเบอรี่
ก. ชุดควบคุมพ่นน้ำกลั่น ข. พ่นสารชีวภัณฑ์สูตรแป้งข้าวจ้าว
ค. พ่นสารชีวภัณฑ์สูตร Lactose ง. พ่นสารชีวภัณฑ์สูตร MCC

4.2.1.5 ทดสอบประสิทธิภาพสารชีวภัณฑ์สูตรผง Lactose กับการควบคุมโรคผลเน่าของสตรอเบอรี่

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ สูตร Lactose บนผลสตรอเบอรี่ โดยพ่นสารชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ลงบนผลสตรอเบอรี่ เมื่อปลูกเชื้อรา *Botrytis* sp. บนผลสตรอเบอรี่ก่อนการควบคุมด้วยสารชีวภัณฑ์ 2 ชั่วโมง พบว่าสารชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27, S17 และ N7 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา 62.50, 62.50 และ 58.33 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางค่าสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 4.25) ส่วนการปลูกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. บนผลสตรอเบอรี่ก่อนการด้วยสารชีวภัณฑ์ 2 ชั่วโมง พบว่าสารชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27, S17 และ N7 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา 87.50, 83.33 และ 70.50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางค่าสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 4.26)

ตารางที่ 4.25 ประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์สูตร Lactose ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Botrytis* sp. บนผลสตรอเบอรี่ เป็นเวลา 5 วัน โดยฉีดพ่นหลังปลูกเชื้อ 2 ชั่วโมง

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุ[1]
ชุดควบคุม	0.00
สารชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27	62.50 a[2]
สารชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ S17	62.50 a
สารชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ N7	58.33 a
LSD (0.05)	16.54
CV (%)	21.99

[1] ค่าเฉลี่ย 6 ซ้ำ

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.26 ประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์สูตร Lactose ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum* sp. บนผลสตรอเบอรี่ เป็นเวลา 5 วัน โดยฉีดพ่นหลังปลูกเชื้อ 2 ชั่วโมง

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุ[1]
ชุดควบคุม	0.00
สารชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27	87.50 a[2]
สารชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ S17	83.33 a
สารชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ N7	70.50 a
LSD (0.05)	19.14
CV (%)	19.33

[1] ค่าเฉลี่ย 6 ซ้ำ

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

4.2.2) ทดสอบประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดโรคผลเน่าของต้นแบบชีวภัณฑ์กับต้นสตรอเบอรี่

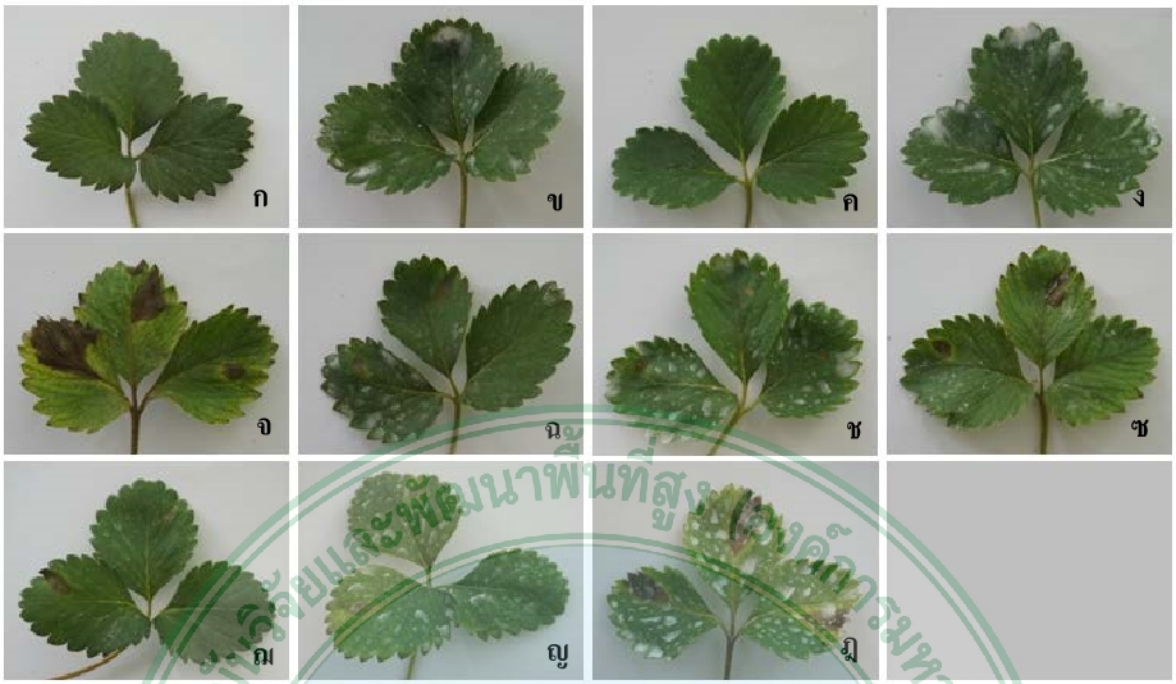
จากการนำสารชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท K27 และ S17 มาทดสอบในสภาพโรงเรือน เนื่องจากจุลินทรีย์ N7 สามารถมีชีวิตรอดอยู่ในวัสดุรองรับเพียง 1 เดือน และเชื้อสาเหตุ *Botrytis* sp. ไม่สามารถทำให้เกิดโรคบนใบ จึงไม่เลือกมาทำการทดลองดังกล่าว เมื่อนำสารชีวภัณฑ์มาทดสอบในการลดการเกิดโรค โดยพ่นสารชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ก่อนและหลังปลูกเชื้อรา *C. acutatum* โดยทำการทดสอบบนต้น สตรอเบอรี่อายุประมาณ 4-5 เดือน แล้วนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยวิธี CRD (Completely Randomized Design) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD (Least significant difference) และประเมินการเกิดโรคโดยดูจากพื้นที่ ที่แสดงอาการของโรค โดยใช้ค่าเฉลี่ยของแผลที่เกิดขึ้นในแต่ละกรรมวิธี พบว่า เมื่อพ่นชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27 กรรมวิธีที่ 6, 7, 8 และ 9 คือ กรรมวิธีที่ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ K27 สูตร แป้งข้าวจ้าว ก่อนและกรรมวิธีที่ฉีดพ่นหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วัน, กรรมวิธีที่ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ K27 สูตร Lactose ก่อนและกรรมวิธีที่ฉีดพ่นหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วัน และกรรมวิธีที่ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ K27 สูตร Lactose หลังปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วัน สามารถลดการเกิดโรคได้ดีที่สุด ซึ่งมีขนาดแผล 111.14, 65.40, 97.40 และ 156.27 ตารางมิลลิเมตร ซึ่งไม่แตกต่างกันทางค่าสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ปลูกเชื้ออย่างเดียว ซึ่งมีขนาดแผล 878.61 ตารางมิลลิเมตร (ตารางที่ 4.27 และภาพที่ 4.21) ส่วนการทดลองเมื่อพ่น ชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ S17 พบว่ากรรมวิธีที่ 6, 7, 8, 9, 10 และ 11 คือ กรรมวิธีที่ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ S17 สูตร แป้งข้าวจ้าวก่อนและกรรมวิธีที่ฉีดพ่นหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วัน, กรรมวิธีที่ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ S17 สูตร Lactose ก่อนและกรรมวิธีที่ฉีดพ่นหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วัน และกรรมวิธีที่ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ S17 สูตร MCC ก่อนและกรรมวิธีที่ฉีดพ่นหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วันปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วัน สามารถลดการเกิดโรคได้ดีเท่ากันทุกกรรมวิธี ซึ่งมีขนาดแผล 18.94, 46.33, 32.13, 76.89, 60.07 และ 71.04 ตารางมิลลิเมตร ซึ่งไม่แตกต่างกันทางค่าสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ปลูกเชื้ออย่างเดียว ซึ่งมีขนาดแผล 773.07 ตารางมิลลิเมตร (ตารางที่ 4.28 และภาพที่ 4.22) โดยภาพรวมแล้วการใช้สารชีวภัณฑ์ K27 ฉีดพ่นก่อนการปลูกเชื้อราสาเหตุโรค จะได้ผลดีกว่า ซึ่งสามารถลดการเกิดโรคลงได้มากกว่าฉีดพ่นหลังการปลูกเชื้อ ส่วนสารชีวภัณฑ์ S17 ไม่แตกต่างกันทั้งค่าสถิติในการฉีดพ่นก่อนและหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุ แต่ขนาดแผลที่ฉีดพ่นก่อนการปลูกเชื้อจะมีขนาดเล็กกว่าเมื่อฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์หลังการปลูกเชื้อ

ตารางที่ 4.27 ประสิทธิภาพการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum* sp. โดยสารชีวภัณฑ์ 3 สูตร ของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท K27 ในการลดการเกิดโรคบนใบสตรอเบอรี่ หลังจากปลูกเชื้อ 10 วัน

กรรมวิธี	**ขนาดแผล (ตารางมิลลิเมตร)**[1]
1. ฉีดพ่นน้ำกลั่นฆ่าเชื้อเพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม)	0.00 e[2]
2. ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ K27 สูตร แป้งข้าวจ้าว เพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม)	0.00 e
3. ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ K27 สูตร Lactose เพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม)	0.00 e
4. ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ K27 สูตร MCC เพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม)	0.00 e
5. ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคเพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม)	878.61 a
6. ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ K27 สูตร แป้งข้าวจ้าว ก่อนปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วัน	111.14 d
7. ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ K27 สูตร แป้งข้าวจ้าว หลังปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วัน	65.40 d
8. ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ K27 สูตร Lactose ก่อนปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วัน	97.48 d
9. ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ K27 สูตร Lactose หลังปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วัน	156.27 cd
10. ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ K27 สูตร MCC ก่อนปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วัน	236.68 c
11. ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ K27 สูตร MCC หลังปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วัน	396.70 b
LSD (0.05)	94.61
CV (%)	23.19

[1] ค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ (ซ้ำละ 10 แผล)

[2] ค่าเฉลี่ยที่ตามตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



ภาพ 4.21 ประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ 3 สูตร ของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท K27 ในการลดการเกิดโรคบนใบสตรอเบอรี่ หลังจากปลูกเชื้อ 10 วัน

ก ฉีดพ่นน้ำกลั่นฆ่าเชื้อเพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม)

ข ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ K27 สูตร แป้งข้าวจ้าว เพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม)

ค ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ K27 สูตร Lactose เพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม)

ง ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ K27 สูตร MCC เพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม)

จ ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคเพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม)

ฉ ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ K27 สูตร แป้งข้าวจ้าว ก่อนปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วัน

ช ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ K27 สูตร แป้งข้าวจ้าว หลังปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วัน

ซ ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ K27 สูตร Lactose ก่อนปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วัน

ฌ ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ K27 สูตร Lactose หลังปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วัน

ญ ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ K27 สูตร MCC ก่อนปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วัน

ฎ ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ K27 สูตร MCC หลังปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วัน

ตารางที่ 4.28 ประสิทธิภาพการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum* sp. โดยสารชีวภัณฑ์ 3 สูตร ของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท S17 ในการลดการเกิดโรคบนใบสตรอเบอรี่ หลังจากปลูกเชื้อ 10 วัน

กรรมวิธี	**ขนาดแผล (ตารางมิลลิมตร)**[1]
1. ฉีดพ่นน้ำกลั่นฆ่าเชื้อเพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม)	0.00 d[2]
2. ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ S17 สูตร แป้งข้าวจ้าว เพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม)	0.00 d
3. ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ S17 สูตร Lactose เพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม)	0.00 d
4. ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ S17 สูตร MCC เพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม)	0.00 d
5. ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคเพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม)	773.07 a
6. ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ S17 สูตร แป้งข้าวจ้าว ก่อนปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วัน	18.94 c
7. ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ S17 สูตร แป้งข้าวจ้าว หลังปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วัน	46.33 b
8. ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ S17 สูตร Lactose ก่อนปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วัน	32.13 b
9. ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ S17 สูตร Lactose หลังปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วัน	76.89 b
10. ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ S17 สูตร MCC ก่อนปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วัน	60.07 b
11. ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ S17 สูตร MCC หลังปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วัน	71.04 b
LSD (0.05)	37.24
CV (%)	84.37

[1] ค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ (ซ้ำละ 10 แผล)

[2]ค่าเฉลี่ยที่ตามตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี Least Significant Difference ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ภาพ 4.22 ประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ 3 สูตร ของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท S17 ในการลดการเกิดโรคบนใบสตรอเบอรี่ หลังจากปลูกเชื้อ 10 วัน

ก ฉีดพ่นน้ำกลั่นฆ่าเชื้อเพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม)

ข ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ S17 สูตร แป้งข้าวจ้าว เพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม)

ค ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ S17 สูตร Lactose เพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม)

ง ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ S17 สูตร MCC เพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม)

จ ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคเพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม)

ฉ ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ S17 สูตร แป้งข้าวจ้าว ก่อนปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วัน

ช ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ S17 สูตร แป้งข้าวจ้าว หลังปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วัน

ซ ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ S17 สูตร Lactose ก่อนปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วัน

ฌ ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ S17 สูตร Lactose หลังปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วัน

ญ ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ S17 สูตร MCC ก่อนปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วัน

ฎ ฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์ S17 สูตร MCC หลังปลูกเชื้อราสาเหตุโรค 1 วัน

4.2.3 การผลิตและต้นทุนการผลิต

การผลิตและเพิ่มปริมาณเชื้อ โดยเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากอาหารเลี้ยงเชื้อ จำนวน 4 จาน หลังจากนั้นนำน้ำกลั่นฆ่าเชื้อปริมาตร 15 มิลลิลิตร ใส่ลงผิวหน้าอาหารที่เลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไว้ แล้วดูดเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ 3 มิลลิลิตรต่อ 1 flask ของอาหารเลี้ยงเชื้อ NGB (Nutrient Glucose Broth) 300 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ จำนวน 3 flask (ประกอบด้วย beef extract 3 กรัม, peptone 5 กรัม, glucose 20 กรัม และน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร) แล้วนำไปเขย่าด้วยความเร็ว 180 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (30±2 C) เป็นเวลา 4 วัน จากนั้นนำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไปปั่นเหวี่ยงให้เซลล์ตกตะกอนที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วล้างตะกอนด้วย 0.85% NaCl ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นนำสารแขวนลอยของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลท มาผสมกับวัสดุรองรับเพื่อให้ได้ชีวภัณฑ์

การผสมสารแขวนลอยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์กับวัสดุรองรับทั้ง 3 สูตร (ปริมาณ 1,000 กรัม)

สูตรที่ 1 สูตรแป้งข้าวจ้าว ประกอบด้วย สารแขวนลอยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ 400 มิลลิลิตร แป้งข้าวจ้าว (นึ่งฆ่าเชื้อ) 870 กรัม น้ำมันรำข้าว 30 มิลลิลิตร และน้ำตาลทราย 100 กรัม (ต้นทุนการผลิตวัสดุรองรับ = 43.84 บาทต่อกิโลกรัม) (ภาพที่ 4.23ก ตารางที่ 4.29)

สูตรที่ 2 สูตร Lactose ประกอบด้วย สารแขวนลอยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ 200 มิลลิลิตร lactose 960 กรัม sodium alginate 20 กรัม และ polyvinyl pyrroidone 20 กรัม (ต้นทุนการผลิตวัสดุรองรับ = 397.6 บาทต่อกิโลกรัม) (ภาพที่ 4.23ข ตารางที่ 4.29)

สูตรที่ 3 สูตร MCC ประกอบด้วย สารแขวนลอยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ 400 มิลลิลิตร microcystaline cellulose (นึ่งฆ่าเชื้อ) 420 กรัม talcum (นึ่งฆ่าเชื้อ) 360 กรัม lactose 200 กรัม และ sodium carboxymethyl (นึ่งฆ่าเชื้อ) 20 กรัม (ต้นทุนการผลิตวัสดุรองรับ = 164.44 บาทต่อกิโลกรัม) (ภาพที่ 4.23ค ตารางที่ 4.29)

ภาพที่ 4.23 ลักษณะของชีวภัณฑ์ทั้ง 3 สูตร

ก. ชีวภัณฑ์สูตรแป้งข้าวจ้าว ข. ชีวภัณฑ์สูตร Lactose ค. ชีวภัณฑ์สูตร MCC

ตารางที่ 4.29 ต้นทุนการผลิตชีวภัณฑ์ทั้ง 3 สูตร ได้แก่ สูตรแป้งข้าวจ้าว สูตร Lactose และสูตร MCC

สูตรชีวภัณฑ์	ส่วนประกอบ	ราคาต่อ กิโลกรัม/ลิตร	ปริมาณที่ใช้ต่อ กิโลกรัม	ต้นทุนการผลิตต่อ กิโลกรัม
แป้งข้าวจ้าว	แป้งข้าวจ้าว	45	870 กรัม	39.15
	น้ำมันรำข้าว	63	30 มิลลิลิตร	1.89
	น้ำตาลทราย	28	100 กรัม	2.80
			รวม	43.84 บาท
Lactose	lactose	380	960 กรัม	364.80
	sodium alginate	940	20 กรัม	18.80
	polyvinyl pyrroidone	700	20 กรัม	14.00
			รวม	397.6 บาท
MCC	micro cystaline cellulose	162	420 กรัม	68.04
	talcum	40	360 กรัม	14.40
	lactose	380	200 กรัม	76.00
	sodium carboxymethyl	300	20 กรัม	6.00
			รวม	164.44 บาท

สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) Highland Research and Development Institute (Public Organization)

บทที่ 5
วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Botrytis* sp. ไอโซเลท BK2 และเชื้อรา *Colletotrichum* sp. ไอโซเลท CK21 ที่คัดเลือกจากผลงานวิจัยปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 โดยได้ทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ได้แก่ K1, K18, K27, S15, S16, S17, N7 และ N23 กับผลสตรอเบอรี่ พบว่า แบคทีเรียปฏิปักษ์ไอโซเลท K27, S17 และยีสต์ปฏิปักษ์ไอโซเลท N23 มีประสิทธิภาพในการลดหรือยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับผลได้ดีที่สุด แต่เนื่องด้วยยีสต์ปฏิปักษ์ไอโซเลท N23 มีผลทำให้เมล็ดกะหล่ำที่แช่ด้วยจุลินทรีย์เกิดการเน่าเสียหายได้ เมื่อทำการทดสอบความงอกของเมล็ดพืชบนกระดาษชื้น จึงได้เลือกยีสต์ปฏิปักษ์ไอโซเลท N7 มาทดแทน เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป โดยเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไอโซเลท เมื่อทดสอบบนใบ ไหล และผลของสตรอเบอรี่ ไม่เกิดผลกระทบต่อใบ ไหลและผลของสตรอเบอรี่ และไม่ทำให้เกิดอาการของโรค จากการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท K27, S17 และ N7 กับผลสตรอเบอรี่ โดยทำการชุบผลสตรอเบอรี่กับเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ความเข้มข้นประมาณ 10^7 cfu/ml เมื่อเวลาผ่านไป 5 วันพบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท S17 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับผลสตรอเบอรี่ได้ดีที่สุด โดยไม่พบการเจริญของเชื้อที่ปนเปื้อนมากับผลถึง 43.33 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างทางนัยสำคัญทางสถิติกับเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27 และ N7 โดยไม่พบการเจริญของเชื้อที่ปนเปื้อนที่ติดมากับผล 33.33 และ 28.33 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ หลังทำการทดสอบ 5 วัน

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27, S17 และ N7 ในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Colletrotrichum* sp. พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27, S17 และ อาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ S17 มีผลต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ดี เมื่อผ่านไป 24 ชั่วโมง ซึ่งไม่พบการสร้างสปอร์ใหม่ เมื่อชุดทดลองดังกล่าวแช่ทิ้งไว้ 6 ชั่วโมง ก่อนหยดลงบน Water ager (WA) พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27, S17 และ อาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ S17 มีผลต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ดี ซึ่งไม่พบการงอกของสปอร์หรือพบการงอกของสปอร์น้อยมาก เมื่อผ่านไป 24 ชั่วโมง ไม่พบการสร้างของสปอร์ใหม่ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Svetlana *et al*. (2010) ที่คัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ 5 ชนิด ได้แก่ *Trichoderma harzianum, Gliocladium roseum, Bacillus subtilis, Streptomyces noursei* และ *Streptomyces natalensis* ในการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์ พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Colletrotrichum acutatum* และ *Colletrotrichum gloeosporioides* เชื้อสาเหตุโรคที่แยกจากแพร์ แอปเปิ้ล เชอร์รี่ และมะเขือเทศ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27, S17 และ N7 ในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Botrytis* sp. พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27, S17, N7 และ อาหารเลี้ยงเชื้อ

กรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27, S17, N7 มีผลต่อการยับยั้งการงอก โดยจะงอก germ tube ช้ากว่าชุดควบคุม แต่มีการงอกปกติ อย่างไรก็ตามชุดทดลองดังกล่าวเมื่อแช่ทิ้งไว้ 6 ชั่วโมง พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27 และ S17 มีผลต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ดี ซึ่งไม่พบการงอกของสปอร์หรือพบการงอกของสปอร์น้อยมาก อีกทั้งอาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ S17 พบการงอกของสปอร์เล็กน้อยและหยุดงอก สปอร์มีรูปร่างผิดปกติไปจากเดิม จากการศึกษาของ Hanna *et al.* (1998) ได้ศึกษาเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia herbicola* มีผลในการยับยั้งการงอกของสปอร์ *B. cinerea* พบว่าสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ โดยหลังทดสอบ 6 ชั่วโมง พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *E. Herbicola* ได้ย่อย germ tube ของเชื้อรา ทำให้ผนังเซลล์แตก อีกทั้งยังยับยั้งการงอกของสปอร์ ทำให้สปอร์งอกช้าลง เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมปกติ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคลือบผิว 2% ascorbic, 1% citric และ 10% glycerol ในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Colletrotrichum* sp. ไอโซเลท CK21 พบว่า 2% ascorbic และ 1% citric มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุได้ดี เมื่อผ่านไป 24 ชั่วโมง 1% citric ไม่พบการสร้างสปอร์ใหม่ เมื่อชุดทดลองดังกล่าวแช่ทิ้งไว้ 6 ชั่วโมง พบว่า 2% ascorbic และ 1% citric มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุได้ และเมื่อผ่านไป 24 ชั่วโมง ไม่พบการสร้างสปอร์ใหม่ ซึ่งจากรายงานของ Khan *et al.* (2001) ได้ใช้สาร antioxidant ได้แก่ ascorbic acid, benzoic acid, butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene, dimethyl sulphoxide, propionic acid, propyl gallate (PG), propyl paraben (PP) และ thiourea ในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อรา *Colletrotrichum musae* ซึ่งแยกจากกล้วย พบว่า butylated hydroxyanisole (BHA) สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราได้ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อผ่านไป 72 ชั่วโมง

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคลือบผิว 2% ascorbic, 1% citric และ 10% glycerol ในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Botrytis* sp. ไอโซเลท BK2 พบว่า 2% ascorbic และ 1% citric ส่วนใหญ่ไม่พบการงอกของสปอร์ เมื่อชุดทดลองดังกล่าวตั้งทิ้งไว้ 6 ชั่วโมง พบว่า 2% ascorbic และ 1% citric ก็ไม่พบการงอกของสปอร์ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Korany and Mohamed (2008) ได้ใช้สาร antioxidant ได้แก่ citric acid, ascorbic acid และ benzoic acid ในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Botrytis cinerea* สาเหตุของโรคในสตรอเบอรี่ พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราดังกล่าวถึง 2.87–21.17 เปอร์เซ็นต์ ยับยั้งการสร้างสปอร์ได้ 17.60–42.93 เปอร์เซ็นต์ และสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ถึง 9.26–64.89 เปอร์เซ็นต์

จากการคัดเลือกชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ NB ซึ่งใช้น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลทรายในปริมาณที่แตกต่างกัน ได้แก่ 0, 10, 20 และ 40 กรัมต่ออาหาร NB 1 ลิตร หากใช้น้ำตาลทรายแทนน้ำตาลกลูโคสได้ ก็จะสามารถลดต้นทุนการผลิตลงได้ อีกทั้งพบว่า เมื่อควบคุมอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ คือแบคทีเรียปฏิปักษ์เลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 °C ส่วนยีสต์ปฏิปักษ์เลี้ยงที่

อุณหภูมิ 28 ºC พบว่า จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท K27 สามารถใช้น้ำตาลทรายเลี้ยงแทนได้ โดยใช้น้ำตาลทรายในอาหารเลี้ยงเพียง 10 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร จะพบจำนวนเซลล์มากที่สุด ส่วนจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท S17 สามารถใช้น้ำตาลทรายเลี้ยงได้ โดยใช้น้ำตาลทรายในอาหารเลี้ยง 20 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร ส่วนจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท N7 สามารถใช้น้ำตาลทรายเลี้ยงได้ โดยใช้น้ำตาลทรายในอาหารเลี้ยง 10 กรัม ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร จะพบจำนวนเซลล์มากที่สุด

จากการคัดเลือกวัสดุรองรับเชื้อจุลินทรีย์ ได้สารชีวภัณฑ์สูตรผง 3 สูตร ได้แก่ สูตรที่ 1 คือแป้งข้าวจ้าว ซึ่งประกอบด้วย สารแขวนลอยเชื้อจุลินทรีย์ 20 มิลลิลิตร แป้งข้าวจ้าว (นึ่งฆ่าเชื้อ) 43.5 กรัม น้ำมันรำข้าว 1.5 มิลลิลิตร และน้ำตาลทราย 5 กรัม สูตรที่ 2 คือ Lactose ซึ่งประกอบด้วย สารแขวนลอยเชื้อจุลินทรีย์ 10 มิลลิลิตร lactose 48 กรัม sodium alginate 1 กรัม และ polyvinyl pyrroidone 1 กรัม และสูตรที่ 3 คือ MCC ซึ่งประกอบด้วย สารแขวนลอยเชื้อจุลินทรีย์ 20 มิลลิลิตร microcystaline cellulose (นึ่งฆ่าเชื้อ) 21 กรัม talcum (นึ่งฆ่าเชื้อ) 18 กรัม lactose 10 กรัม และ sodium carboxymethyl (นึ่งฆ่าเชื้อ) 1 กรัม แล้วนำมานับปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตหลังการผลิตทุกๆครึ่งเดือน เป็นเวลา 3 เดือน และนับครั้งสุดท้ายเมื่อเก็บรักษาไว้ 6 เดือนที่อุณหภูมิห้อง พบว่า สูตรที่ 1 แป้งข้าวจ้าว สูตรที่ 2 Lactose และ สูตรที่ 3 MCC สามารถเป็นวัสดุรองรับได้ดีกับเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27 และ S17 ซึ่งสามารถมีชีวิตรอดเมื่ออยู่ในวัสดุรองรับมากกว่า 6 เดือน ส่วนเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ N7 สูตรที่ 1 แป้งข้าวจ้าว และสูตรที่ 2 Lactose สามารถเก็บรักษาในวัสดุรองรับได้เพียงครึ่งเดือน ส่วนสูตรที่ 3 MCC สามารถเก็บรักษาในวัสดุรองรับได้ 1 เดือนครึ่ง สอดคล้องกับการรายงานของ Sirinunta and Akarapisan (2015) ได้ใช้วัสดุรองรับเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus megaterium* (A74) และ *Bacillus badius* (A75) ประกอบด้วย สารแขวนลอยเชื้อจุลินทรีย์ 20 มิลลิลิตร แป้งข้าวจ้าว (นึ่งฆ่าเชื้อ) 43.5 กรัม น้ำมันรำข้าว 1.5 มิลลิลิตร และน้ำตาลทราย 5 กรัม สามารถมีชีวิตรอดเมื่ออยู่ในวัสดุรองรับมากกว่า 3 เดือน โดยเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ A74 พบจำนวนเซลล์หลังผลิต 1.8×10^{12} cfu/g หลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 เดือน พบจำนวนเซลล์ 2.5×10^{8} cfu/g ส่วนเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ A75 พบจำนวนเซลล์หลังผลิต 1.4×10^{9} cfu/g และหลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 เดือน พบจำนวนเซลล์ 2.6×10^{8} cfu/g อีกทั้งการรายงานของ Srimai and Akarapisan (2014) ได้ใช้วัสดุรองรับเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* (LBF02) ประกอบด้วย สารแขวนลอยเชื้อจุลินทรีย์ 40 มิลลิลิตร แป้งข้าวจ้าว (นึ่งฆ่าเชื้อ) 89 กรัม น้ำมันพืช 1 มิลลิลิตร และน้ำตาลทราย 10 กรัม สามารถมีชีวิตรอดเมื่ออยู่ในวัสดุรองรับมากกว่า 6 เดือน

จากการทดสอบสารชีวภัณฑ์เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 3 สูตร (สูตรแป้งข้าวจ้าว, Lactose และ MCC) ที่ผลิตเป็นวัสดุรองรับเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่คัดเลือกมา 3 ไอโซเลท ได้แก่ K27, S17 และ N7 เมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ ในการควบคุมเชื้อรา *Botrytis* sp. พบว่าจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ ไอโซเลท K27 เซลล์สด สูตรแป้งข้าวจ้าว สูตร Lactose และสูตร MCC มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุได้ดีที่สุดคือ 57.00, 56.50, 51.50 และ 47.50 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนการควบคุมเชื้อรา

Colletotrichum sp. พบว่าจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท K27 เซลล์สด สูตรแป้งข้าวจ้าว สูตร Lactose และสูตร MCC มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุได้ดีที่สุดคือ 50.50, 52.50, 51.00 และ 49.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 3 สูตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคได้ไม่แตกต่างกันมาก ดังการรายงานของ Lee *et al.* (2006) ได้ผลิตสารชีวภัณฑ์ของเชื้อ *Bacillus licheniformis* สูตรผงไม่ละลายน้ำ (WP) สูตรสารแขวนลอยเข้มข้น (SC) และสูตรสารละลายน้ำมัน (EC) ในการควบคุมโรคราสีเทาที่เกิดจากเชื้อรา *Botrytis cinerea* ในมะเขือเทศ พบว่าสูตรผงไม่ละลายน้ำ N1E มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุได้สูงที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 92.0 เปอร์เซ็นต์

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคลือบผลที่คัดเลือก ได้แก่ 2% ascorbic acid, 1% citric acid, และ 10% glycerol พบว่าในการควบคุมเชื้อรา *Botrytis* sp. สารเคลือบผล 1% citric acid มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุได้สูงที่สุด 85.56 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเชื้อรา *Colletotrichum* sp. พบว่าสารเคลือบผล 1% citric acid มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุได้สูงที่สุด 92.22 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นทำการทดสอบโดยนำผลสตรอเบอรี่ มาชุบสารเคลือบผิวที่ได้คัดเลือก คือสารเคลือบผล 2% ascorbic acid และ 1% citric acid โดยไม่พบการเจริญของเชื้อราที่ติดมากับผล 77.78 และ 100.00 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และลักษณะเนื้อผลปกติ ในขณะที่สารเคลือบผล 10% glycerol ลักษณะของเนื้อเยื่อผลเละ จึงไม่คัดเลือกสารเคลือบผล glycerol ไปทำการศึกษาทดลองต่อ จากนั้นจึงได้ทดสอบสารเคลือบผล ascorbic acid และ citric acid ที่ความเข้มข้น 1%, 2% และ 4% พบว่า 2% พบการเกิดโรคน้อยที่สุด 20.00 และ 57.50 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ลักษณะของเนื้อผลปกติ รสชาติปกติ และยังพบว่า 4% ascorbic acid ทำให้เนื้อผลสตรอเบอรี่เละ อีกทั้งสารเคลือบผล 2% citric acid เมื่อวางไว้ 3 และ 5 วัน พบการเกิดโรค 7.50 และ 42.50 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ลักษณะของเนื้อผลปกติ รสชาติปกติ ส่วน 4% citric acid ทำให้เนื้อผลสตรอเบอรี่เละเช่นเดียวกับ 4% ascorbic acid

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคลือบผลและเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บนผลสตรอเบอรี่ โดยปลูกเชื้อรา *Botrytis* sp. บนผลสตรอเบอรี่ก่อนการควบคุมด้วยสารเคลือบผิวและเซลล์สดของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ พบว่าทั้ง 2% ascorbic acid, 2% citric acid เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท K27, S17 และ N7 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา 71.43, 52.38, 76.19, 57.15 และ 52.38 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางค่าสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% ลักษณะของเนื้อผลสตรอเบอรี่ปกติ จากการรายงานของ Jurgen (2002) ได้ใช้ยีสต์ปฏิปักษ์ *Cryptococcus albidus* ในการควบคุมเชื้อรา *Botrytis cinerea* บนผลสตรอเบอร์รี่ พบว่ายีสต์ปฏิปักษ์มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อสาเหตุของโรคได้ โดยจะไปยับยั้งการงอกของสปอร์ เมื่อทดลองโดยใช้ยีสต์ปฏิปักษ์ดังกล่าวในสภาพแปลงต่อเนื่องเป็นเวลา 3 ปี สามารถลดการเกิดโรคได้ 33, 24 และ 21 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนการปลูกด้วยเชื้อรา *Colletotrichum* sp. บนผลสตรอเบอรี่ก่อนการควบคุม พบว่าทั้ง 2% ascorbic acid, 2% citric acid, เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท K27, S17 และ N7 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา 69.56, 73.91, 73.91, 69.56 และ 60.87 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางค่าสถิติที่ความเชื่อมั่น

95% จากการรายงานของ วิชชาและคณะ (2546) ได้ใช้ ascorbic acid และ citric acid ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของส้มสายน้ำผึ้งที่เกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum* sp. พบว่าเมื่อใช้ 1% ascorbic acid, 3% ascorbic acid และ 5% ascorbic acid สามารถลดการเจริญของเชื้อราได้ เมื่อเวลาผ่านไป 7 วัน โคโลนีของเชื้อรามีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.48, 0 และ 0 เซนติเมตรตามลำดับ ส่วน1% citric acid, 3% citric acid และ 5% citric acid โคโลนีของเชื้อรามีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.48, 0.64 และ 0 เซนติเมตรตามลำดับ ในขนาดที่ชุดควบคุมเชื้อราโคโลนีมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7.20 เซนติเมตร

เมื่อนำสารชีวภัณฑ์เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 3 สูตร มาทดสอบประสิทธิภาพในการละลาย หลังจากคนสารละลายดังกล่าวแล้วตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง พบว่า สูตรแป้งข้าวจ้าว มีสารชีวภัณฑ์ตกตะกอนอยู่ก้นบีกเกอร์ สารละลายด้านบนมีสีใส สูตร Lactose สารชีวภัณฑ์ละลายจนหมด สารละลายที่ได้มีสีใส และสูตร MCC สารชีวภัณฑ์ตกตะกอนอยู่ก้นบีกเกอร์ สารละลายที่ได้มีสีขาวขุ่น เมื่อนำสารชีวภัณฑ์ทั้ง 3 สูตร ไปพ่นบนใบและผลของสตรอเบอรี่ พบว่า สูตรแป้งข้าวเจ้าและสูตร MCC เวลาฉีดพ่นต้องมีการกวนสารชีวภัณฑ์อยู่ตลอดเวลา เกิดคราบสีขาวบนส่วนของพืช สูตร Lactose เป็นสูตรผงละลายน้ำ เมื่อพ่นบนพืชไม่เกิดคราบบนส่วนของพืช สำหรับการแนะนำการใช้งานของสารชีวภัณฑ์ ในระยะก่อนติดผล ให้ใช้สูตรแป้งข้าวจ้าวและสูตร MCC ส่วนในระยะติดผลให้ใช้สูตร Lactose เพื่อลดการเกิดคราบของชีวภัณฑ์บนผล

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ สูตร Lactose บนผลสตรอเบอรี่ เมื่อปลูกเชื้อรา *Botrytis* sp. บนผลสตรอเบอรี่ก่อนการควบคุมด้วยสารชีวภัณฑ์ พบว่าสารชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27, S17 และ N7 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา 62.50, 62.50 และ 58.33 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการปลูกเชื้อรา *Colletotrichum* sp. บนผลสตรอเบอรี่ก่อนการควบคุมด้วยสารชีวภัณฑ์สูตร Lactose พบว่าสารชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27, S17 และ N7 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา 87.50, 83.33 และ 70.50

จากการทดสอบสารชีวภัณฑ์ K27 และ S17 ทั้ง 3 สูตรในสภาพโรงเรือน โดยพ่นสารชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ก่อนและหลังปลูกเชื้อรา *C. acutatum* 1 วัน พบว่า เมื่อพ่นชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27 ก่อนการปลูกเชื้อราสาเหตุโรค จะได้ผลดีกว่าพ่นหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุ ซึ่งสามารถลดการเกิดโรคลงได้มากกว่าฉีดพ่นหลังการปลูกเชื้อ ส่วนการทดลองเมื่อพ่นชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ S17 ไม่มีแตกต่างกันทางค่าสถิติในการฉีดพ่นก่อนและหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุ แต่ขนาดแผลที่ฉีดพ่นก่อนการปลูกเชื้อจะมีขนาดเล็กกว่าเมื่อฉีดพ่นสารชีวภัณฑ์หลังการปลูกเชื้อ และการใช้สารชีวภัณฑ์ปฏิปักษ์ K27 และ S17 ทั้งพ่นก่อนและหลังปลูกเชื้อราสาเหตุ สามารถลดการเกิดโรค ลดขนาดแผลได้ดี เมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยผลการทดลองสอดคล้องกับการรายงานของ Klein *et al.* (2011) ได้พัฒนาชีวภัณฑ์จากเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* 9 สูตร พบว่าสูตรที่มีทัลก์เป็นตัวพา ผสมกับยูเรีย 0.02 เปอร์เซ็นต์ สามารถใช้ควบคุมโรคได้ดีที่สุด โดยไม่พบการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุ 72.7 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้ควบคุมโรค Postbloom Fruit Drop ในระยะติดดอกของส้ม ซึ่งสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum acutatum* Simmonds. หลังจากฉีดพ่นทุกอาทิตย์ เป็นระยะเวลา 3 เดือน

บทที่ 6
สรุปผลการวิจัย

จากการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท K27, S17 และ N7 กับใบ ไหล และผลสตรอเบอรี่ พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท K27 S17และ N7 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับผลสตรอเบอรี่ได้ดีที่สุด โดยไม่พบการเจริญของเชื้อราที่ติดมากับผลในเปอร์เซ็นต์ ที่สูงกว่าชุดควบคุม อีกทั้งยังไม่มีผลการทบต่อใบ ไหลและผลของสตรอเบอรี่ โดยไม่แสดงอาการเกิดโรค จากนั้นจึงนำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไอโซเลท มาทดสอบการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Colletrotrichum* sp. ไอโซเลท CK21 พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27, S17 และ อาหารเลี้ยงเชื้อกรองปราศจากเซลล์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ S17 มีผลต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ดี ซึ่งไม่พบการงอกของสปอร์หรือพบการงอกของสปอร์ก็น้อยมาก เมื่อผ่านไป 24 ชั่วโมง ไม่พบการสร้างของสปอร์ใหม่ ส่วนการทดสอบการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Botrytis* sp. ไอโซเลท BK2 พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27 และ S17 มีผลต่อการยับยั้งการงอก โดยจะงอก germ tube ช้ากว่าชุดควบคุม อย่างไรก็ตามชุดทดลองดังกล่าวเมื่อแช่ทิ้งไว้ 6 ชั่วโมง พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27 และ S17 มีผลต่อการยับยั้งการงอกของสปอร์ได้ดี ซึ่งไม่พบการสร้างสปอร์ใหม่ จากนั้นจึงได้ทดสอบประสิทธิภาพของสารเคลือบผิว 2% ascorbic, 1% citric และ 10% glycerol ในการยับยั้งการงอกสปอร์ของเชื้อรา *Colletrotrichum* sp. ไอโซเลท CK21 พบว่า 2% ascorbic และ 1% citric มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราสาเหตุได้ดี เมื่อผ่านไป 24 ชั่วโมง ไม่พบการสร้างสปอร์ใหม่ ส่วนเชื้อรา *Botrytis* sp. ไอโซเลท BK2 พบว่า 2% ascorbic และ 1% citric ส่วนใหญ่ไม่พบการงอกของสปอร์

จากการคัดเลือกชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ พบว่า จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 3 ไอโซเลท สามารถใช้น้ำตาลทรายเลี้ยงแทนน้ำตาลกลูโคสได้ จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท K27 ใช้น้ำตาลทรายในอาหารเลี้ยง 10 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร ซึ่งจะพบจำนวนเซลล์มากที่สุด ส่วนจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท S17 และ N7 ใช้น้ำตาลทรายในอาหารเลี้ยง 20 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร จะพบจำนวนเซลล์มากที่สุด จากนั้นได้คัดเลือกวัสดุรองรับเชื้อจุลินทรีย์ ได้สารชีวภัณฑ์สูตรผง 3 สูตร ได้แก่ สูตรที่ 1 คือแป้งข้าวจ้าว สูตรที่ 2 คือ Lactose และสูตรที่ 3 คือ MCC แล้วนำมานับปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตหลังการผลิตทุกๆครึ่งเดือน เป็นเวลา 3 เดือน และนับครั้งสุดท้ายเมื่อเก็บรักษาไว้ 6 เดือนที่อุณหภูมิห้อง พบว่าสูตรที่ 1 แป้งข้าวจ้าว สูตรที่ 2 Lactose และ สูตรที่ 3 MCC สามารถเป็นวัสดุรองรับได้ดีกับเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27 และ S17 ซึ่งสามารถมีชีวิตรอดเมื่ออยู่ในวัสดุรองรับมากกว่า 6 เดือน ส่วนเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ N7 สูตรที่ 1 แป้งข้าวจ้าว และสูตรที่ 2 Lactose สามารถเก็บรักษาในวัสดุรองรับได้ครึ่งเดือน ส่วนสูตรที่ 3 MCC สามารถเก็บรักษาในวัสดุรองรับได้ 1 เดือนครึ่ง

จากการทดสอบสารชีวภัณฑ์เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27, S17 และ N7 โดยได้ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Botrytis* sp. และ*Colletotrichum* sp. ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท K27 ทั้งเซลล์สด สูตรแป้งข้าวจ้าว สูตร Lactose และสูตร MCC มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุได้ดีที่สุดคือ ซึ่งทั้ง 3 สูตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคได้ไม่แตกต่างกันมาก ส่วนการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคลือบผลที่คัดเลือกจากการทดลอง พบว่าในการควบคุมเชื้อรา *Botrytis* sp. และ*Colletotrichum* sp. สารเคลือบผล 1% citric acid มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุได้สูงที่สุด เมื่อนำเคลือบผิวที่ได้คัดเลือกชุบผลสตรอเบอรี่ พบว่าสารเคลือบผล 2% ascorbic acid และ 1% citric acid ไม่พบการเจริญของเชื้อราที่ติดมากับผลได้ดีที่สุด และลักษณะเนื้อผลสตรอเบอรี่ปกติ ในขณะที่สารเคลือบผล 10% glycerol ให้ลักษณะของเนื้อเยื่อผลเละ จึงได้ทดสอบสารเคลือบผล ascorbic acid และ citric acid ที่ความเข้มข้น 1%, 2% และ 4% อีกทั้งพบว่า 2% ascorbic และ 2% citric acid สามารถลดการเจริญของเชื้อราที่ติดมากับผลได้ดีที่สุด ส่วนการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคลือบผลและเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บนผลสตรอเบอรี่ โดยปลูกเชื้อรา *Botrytis* sp. และ *Colletotrichum* sp. บนผลสตรอเบอรี่ก่อนการควบคุมด้วยสารเคลือบผิวและเซลล์สดของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ พบว่าทั้ง 2% ascorbic acid, 2% citric acid เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท K27, S17 และ N7 สามารถยับยั้งเชื้อราสาเหตุได้ดี ไม่แตกต่างกันทางค่าสถิติ

เมื่อนำสารชีวภัณฑ์เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ทั้ง 3 สูตร (สูตรแป้งข้าวจ้าว, Lactose และ MCC) มาทดสอบประสิทธิภาพในการละลาย หลังจากคนสารละลายดังกล่าวแล้วตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง พบว่า สูตรแป้งข้าวจ้าว มีสารชีวภัณฑ์ตกตะกอนอยู่ก้นบีกเกอร์ สารละลายด้านบนใส สูตร Lactose สารชีวภัณฑ์ละลายจนหมด สารละลายที่ได้ใส และสูตร MCC สารชีวภัณฑ์ตกตะกอนอยู่ก้นบีกเกอร์ สารละลายที่ได้ด้านบนมีสีขาวขุ่น เมื่อนำสารชีวภัณฑ์ทั้ง 3 สูตร ไปพ่นบนใบและผลของสตรอเบอรี่ พบว่า สูตรแป้งข้าวเจ้าและสูตร MCC เวลาฉีดพ่นต้องมีการกวนสารชีวภัณฑ์อยู่ตลอดเวลา เกิดคราบสีขาวบนส่วนของพืช ส่วนสูตร Lactose เป็นสูตรผงละลายน้ำ เมื่อพ่นบนพืชไม่เกิดคราบบนส่วนของพืช

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ สูตร Lactose บนผลสตรอเบอรี่ เมื่อปลูกเชื้อรา *Botrytis* sp. และ*Colletotrichum* sp. บนผลสตรอเบอรี่ก่อนการควบคุมด้วยสารชีวภัณฑ์ พบว่าสารชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ K27, S17 และ N7 สามารถควบคุมและลดการเกิดโรคได้ดีเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ส่วนการทดสอบสารชีวภัณฑ์ K27 และ S17 ทั้ง 3 สูตรในสภาพโรงเรือน โดยพ่นสารชีวภัณฑ์จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ก่อนและหลังปลูกเชื้อรา *C. acutatum* 1 วัน พบว่าการใช้สารชีวภัณฑ์ปฏิปักษ์ K27 และ S17 ทั้งพ่นก่อนและหลังปลูกเชื้อราสาเหตุ สามารถลดการเกิดโรค ลดขนาดแผลของการเกิดโรคได้ดี เมื่อเทียบกับชุดควบคุม

สรุปผลโดยการทดลองนี้จะเลือกใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไอโซเลท K27 ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคได้ดีที่สุด โดยในระยะก่อนติดผลจะใช้ชีวภัณฑ์สูตรแป้งข้าวจ้าวเนื่องจากมีต้นทุน

การผลิตต่ำ ส่วนในระยะติดผลจะใช้ชีวภัณฑ์สูตร Lactose เนื่องจากลดการเกิดคราบในผลผลิต แต่ก็ไม่ได้เป็นปัญหาในการเกิดคราบบนต้น เนื่องจากเมื่อใช้น้ำล้างคราบชีวภัณฑ์ ก็สามารถชะคราบของชีวภัณฑ์ได้ง่าย ซึ่งจะผลิตโดยเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในอาหาร NB เป็นเวลา 4 วัน จากนั้นนำตะกอนมาผลิตเป็นสาร ชีวภัณฑ์ตามสูตรต่างๆ ส่วนการใช้สารเคลือบผลเลือกใช้ 2%ascorbic acid หรือ 2%citric acid จะใช้หลังการเก็บเกี่ยวโดยการชุบผล ซึ่งสามารถลดการเกิดโรคได้ อีกทั้งยังยืดอายุการเก็บของผลสตรอเบอรี่ได้อีกด้วย

โดยขั้นตอนการผลิตชีวภัณฑ์ สรุปได้ดังนี้

1. การเพิ่มปริมาณเชื้อ

1.1) เลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA เป็นเวลา 48 ชั่วโมงจำนวน 4 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลังจากนั้นนำน้ำกลั่นฆ่าเชื้อปริมาตร 15 มิลลิลิตร ใส่ลงผิวหน้าอาหารที่เลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไว้ แล้วดูดเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ 3 มิลลิลิตรต่อ 1 flask ของอาหารเลี้ยงเชื้อ NGB (Nutrient Glucose Broth) 300 มิลลิลิตร

1.2) อาหาร NGB (Nutrient Glucose Broth) (ประกอบด้วย beef extract 3 กรัม, peptone 5 กรัม, glucose 20 กรัม และน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร) ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่จำนวน 3 flask แล้วนำไปเขย่าด้วยความเร็ว 180 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง (30$\pm$2 C) เป็นเวลา 4 วัน

1.3) นำเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไปปั่นเหวี่ยงให้เซลล์ตกตะกอนที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วล้างตะกอนด้วย 0.85% NaCl ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นนำสารแขวนลอยของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์แต่ละไอโซเลท มาผสมกับวัสดุรองรับเพื่อให้ได้ชีวภัณฑ์

2. การผสมสารแขวนลอยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์กับวัสดุรองรับทั้ง 3 สูตร (ปริมาณ 50 กรัม)

2.1) สูตรที่ 1 สูตรแป้งข้าวจ้าว ประกอบด้วย สารแขวนลอยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ 20 มิลลิลิตร แป้งข้าวจ้าว (นึ่งฆ่าเชื้อ) 43.5 กรัม น้ำมันรำข้าว 1.5 มิลลิลิตร และน้ำตาลทราย 5 กรัม (ต้นทุนการผลิตวัสดุรองรับ = 43.84 บาทต่อกิโลกรัม)

2.2) สูตรที่ 2 สูตร Lactose ประกอบด้วย สารแขวนลอยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ 10 มิลลิลิตร lactose 48 กรัม sodium alginate 1 กรัม และ polyvinyl pyrroidone 1 กรัม (ต้นทุนการผลิตวัสดุรองรับ = 397.6 บาทต่อกิโลกรัม)

2.3) สูตรที่ 3 สูตร MCC ประกอบด้วย สารแขวนลอยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ 20 มิลลิลิตร microcystaline cellulose (นึ่งฆ่าเชื้อ) 21 กรัม talcum (นึ่งฆ่าเชื้อ) 18 กรัม lactose 10 กรัม และ sodium carboxymethyl (นึ่งฆ่าเชื้อ) 1 กรัม (ต้นทุนการผลิตวัสดุรองรับ = 164.44 บาทต่อกิโลกรัม) ทั้ง 3 สูตรนำไปอบที่ 35°C นาน 24 ชั่วโมง จนแห้งสนิท