บทความวิจัย

# การเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียในกระบวนการหมักน้ำสกัดชีวภาพ และผลของน้ำสกัดชีวภาพต่อการยับยั้งแบคทีเรียโรคพืช

**วารุณี ขนุนทอง* และทวิช ทำนาเมือง***

*โปรแกรมวิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา 1061 ถนนอิสรภาพ แขวงหิรัญรูจี เขตธนบุรี กรุงเทพฯ 10600

## บทคัดย่อ

จากผลศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียในน้ำสกัดชีวภาพ 4 สูตร พบว่าปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดที่แยกโดยอาหาร NA มีปริมาณเพิ่มขึ้นสูงสุดหลังการหมัก 7 วัน และมีปริมาณลดลงและลดลงต่ำมากหลังการหมัก 28 วันโดยน้ำสกัดชีวภาพที่ใช้วัตถุดิบจากผักและผลไม้ที่หมักในสภาพให้อากาศมีปริมาณแบคทีเรียมากกว่าในสภาพไม่ให้อากาศ และน้ำสกัดชีวภาพที่ใช้วัตถุดิบจากผักมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดมากกว่าในผลไม้ โดยตำหรับน้ำสกัดชีวภาพที่ใช้วัตถุดิบจากผักหมักในสภาพให้อากาศมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดสูงสุด มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเท่ากับ $8.76\times10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร

ส่วนการเปลี่ยนแปลงแบคทีเรียแลกติกที่แยกโดยอาหาร MRS มีปริมาณเพิ่มขึ้นสูงสุดหลังการหมัก 14 วัน และมีปริมาณลดลงและลดลงต่ำมากหลังการหมัก 28 วัน โดยน้ำสกัดชีวภาพที่ใช้วัตถุดิบจากผักและผลไม้ที่หมักในสภาพให้อากาศ มีปริมาณแบคทีเรียแลกติกทั้งหมดมากกว่าในสภาพไม่ให้อากาศเช่นเดียวกับในอาหาร NA โดยน้ำสกัดชีวภาพที่ใช้วัตถุดิบจากผลไม้หมักในสภาพให้อากาศมีปริมาณแบคทีเรียแลกติก สูงสุด มีปริมาณเท่ากับ $26.9\times10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร

จากการแยกแบคทีเรียทั้งหมดและแบคทีเรียแลกติก ได้เชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ที่มีลักษณะแตกต่างกันจำนวน 23 ไอโซเลต เมื่อตรวจสอบสกุล พบว่าเป็นแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* จำนวน 8 ไอโซเลต *Corynebacterium*จำนวน 2 ไอโซเลต *Lactobacillus* จำนวน 4 ไอโซเลต *Micrococcus* จำนวน 4 ไอโซเลต *Pseudomonas* จำนวน 1 ไอโซเลต และ *Neisseria* จำนวน 4 ไอโซเลต เมื่อนำน้ำสกัดชีวภาพทั้ง 4 สูตร ไปทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโรคพืชที่แยกได้จากผักและผลไม้ที่

## บทนำ

สารสกัดชีวภาพ (bioextract) หรือน้ำหมักชีวภาพหรือปุ๋ยอินทรีย์น้ำ หมายถึง สารละลายเข้มข้น เป็นของเหลวที่ได้จากการหมักเศษพืชหรือสัตว์ โดยกระบวนการหมักในสภาพที่มีอากาศหรือไร้อากาศ ซึ่งมีกลุ่มจุลินทรีย์จำพวกแบคทีเรีย ราและยีสต์ ช่วยย่อยสลายและปลดปล่อยสารออกมาในรูปของกรดอะมิโน (amino acid) กรดอินทรีย์ (organic acid) ธาตุอาหารหลัก (primary nutrient element) ธาตุอาหารรอง (secondary nutrient element) ฮอร์โมน (hormone) เอนไซม์ (enzyme) ซึ่งพืชนำไปใช้ประโยชน์เพื่อการเจริญเติบโตได้ (สมบัติ ศรีชูวงศ์ และนิตยา สุวรรณรัตน์, 2527)

แบคทีเรียเป็นเชื้อจุลินทรีย์อยู่ในกลุ่มโพรคาริโอต (prokaryote) ประกอบด้วยเซลล์เดี่ยว ไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส และไม่มีองค์ประกอบในเซลล์ที่มีโครงสร้างซับซ้อนเหมือนกับพวกเซลล์ชั้นสูง ส่วนใหญ่เป็นผู้ย่อยสลายอินทรีย์สาร (saprophyte) (พรทิพย์ วงศ์แก้ว, 2533) แบคทีเรียมีทั้งกลุ่มที่ให้ประโยชน์และโทษต่อพืช แบคทีเรียที่ให้ประโยชน์เป็นกลุ่มที่ช่วยย่อยสลายซากพืชซากสัตว์ปลดปล่อยธาตุอาหาร เป็นการเพิ่มธาตุอาหารให้แก่น้ำสกัดชีวภาพเช่น *Streptomyces*, *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Escherichia* และ *Micrococcus* เป็นต้น (สุริยา สาสนรักกิจ, 2542) ส่วนกลุ่มแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคพืชมีประมาณ 80 ชนิด ในจำนวนดังกล่าวมีบางชนิดถูกจำแนกย่อยเป็นสายพันธุ์ (species) ต่างๆ ตามความสามารถในการก่อให้เกิดโรคที่เฉพาะเจาะจงกับชนิดพืชอาศัยที่ต่างกัน ลักษณะทั่วไปของแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชส่วนใหญ่มีรูปร่างเป็นท่อนตรง (rod-shaped) ยกเว้นสกุล *Streptomyces* spp. มีรูปร่างเป็นเส้นใยคล้ายเชื้อรา ถ้าเจริญอยู่ในสภาพที่มีอุณหภูมิสูงขนาดจะยาวขึ้น เซลล์อาจเชื่อมต่อกันเป็นเส้นหรือเปลี่ยนแปลงจากรูปท่อนมาเป็นรูปร่างคล้ายกระบอก รูปตัววาย (Y) ตัววี (V) หรือแตกแขนง เช่น *Agrobacterium, Corynebacterium*, *Erwinia*, *Xanthomonas*, *Rhizobium* และ *Pseudomonas* เป็นต้น (สกุลศักดิ์ โอฬารสกุล, 2540)

จากอดีตจนถึงปัจจุบันปัญหาโรคพืชที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรียนับว่าเป็นปัญหาหลักที่อยู่คู่กับเกษตรกรมานาน ซึ่งเกษตรกรมีการใช้สารเคมีในการกำจัดโรคพืชกันอย่างแพร่หลาย ซึ่งให้ผลดีพอสมควร แต่เนื่องจากปัจจุบันเป็นที่ทราบกันดีแล้วว่าการใช้สารเคมี ส่งผลเสียในระยะยาวทั้งต่อดินที่มีสารตกค้าง และเป็นอันตรายต่อมนุษย์ เกษตรกรจึงหันมาใช้น้ำสกัดชีวภาพแทนสารเคมี ที่ไม่ก่อให้เกิด

ผู้วิจัยเล็งเห็นความสำคัญในเรื่องนี้จึงทำโครงการวิจัยเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเชื้อแบคทีเรียในระหว่างกระบวนการหมักน้ำสกัดชีวภาพ เพื่อเป็นแนวทางในการป้องกันและกำจัดเชื้อแบคทีเรียและเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุสำคัญของโรคพืช อีกทั้งยังสามารถนำไปใช้ในการทำวิจัยในระดับสูง และข้อมูลที่ได้จะเกิดประโยชน์ต่อเกษตรกรในการเพาะปลูกพืช สามารถใช้น้ำสกัดชีวภาพได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น

## อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

### การเตรียมน้ำสกัดชีวภาพ 4 สูตร

**สูตรที่ 1** ทำโดยนำผัก กะหล่ำปลี ผักกวางตุ้ง แตงกวา ผักบุ้ง ผักคะน้า และผักกาดขาวปลี หั่นให้ได้ขนาดเหลือประมาณ 1 นิ้ว นำผักที่ได้ทั้งหมดมาผสมคลุกเคล้า ให้เข้ากันอย่างสม่ำเสมอ ชั่งผักผสมที่หั่นแล้วจำนวน 1.5 กิโลกรัม ใส่ในโหลแก้ว เติมกากน้ำตาล 500 มิลลิลิตร และน้ำ 5 ลิตร ผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน หมักโดยใช้พลาสติกใสปิดปากโหลแก้วไม่ให้มีอากาศ

**สูตรที่ 2** ทำโดยนำผัก กะหล่ำปลี ผักกวางตุ้ง แตงกวา ผักบุ้ง ผักคะน้า และผักกาดขาวปลี หั่นให้ได้ขนาดเหลือประมาณ 1 นิ้ว นำผักที่ได้ทั้งหมดมาผสมคลุกเคล้าให้เข้ากันอย่างสม่ำเสมอ ชั่งผักผสมที่หั่นแล้วจำนวน 1.5 กิโลกรัม ใส่ในโหลแก้วเติมกากน้ำตาล 500 มิลลิลิตร และน้ำ 5 ลิตร ผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน หมักแบบให้มีอากาศอย่างต่อเนื่องโดยใช้ ปั๊มลมให้อากาศ

**สูตรที่ 3** ทำโดยนำกล้วย สับปะรด ชมพู่ ฝรั่ง และมะละกอ หั่นให้ได้ขนาดเหลือประมาณ 1 นิ้ว นำผลไม้ที่ได้ทั้งหมดมาผสมคลุกเคล้าให้เข้ากันอย่างสม่ำเสมอ ชั่งผลไม้ผสมที่ได้จำนวน 1.5 กิโลกรัม ใส่ในโหลแก้วเติมกากน้ำตาล 500 มิลลิลิตร และน้ำ 5 ลิตร ผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน หมักโดยใช้พลาสติกใสปิดปากโหลแก้วไม่ให้มีอากาศ

**สูตรที่ 4** ทำโดยนำผลไม้ กล้วย สับปะรด ชมพู่ ฝรั่ง และมะละกอ หั่นให้ได้ขนาดเหลือประมาณ 1 นิ้ว นำผลไม้ที่ได้ทั้งหมดมาผสมคลุกเคล้าให้เข้ากันอย่างสม่ำเสมอ ชั่งผลไม้ผสมที่ได้จำนวน 1.5 กิโลกรัมใส่ในโหลแก้วแล้วเติมกากน้ำตาล 500 มิลลิลิตร และน้ำ 5 ลิตร ผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน หมักแบบให้มีอากาศอย่างต่อเนื่องโดยใช้ปั๊มลมให้อากาศ

### การตรวจนับแบคทีเรียทั้งหมดและแบคทีเรียแลกติก

นำตัวอย่างน้ำหมักชีวภาพมาตรวจปริมาณจุลินทรีย์ด้วยวิธี Dilution plate method (Erwin and Ribeiro, 1996) เจือจางตัวอย่างให้มีความเข้มข้นเท่ากับ $10^{-4}$ โดยตรวจนับปริมาณแบคทีเรีย

## การตรวจวัดความเป็นกรดด่างและอุณหภูมิ

วัดความเป็นกรดด่างและอุณหภูมิในโหลหมักทุกวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 28 หลังการหมัก

## การจำแนกเชื้อแบคทีเรียในน้ำสกัดชีวภาพ

คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีจำนวนมากและสามารถเจริญได้ดี นำคอโลนีที่แยกได้จากอาหาร NA แต่ละคอโลนีที่มีลักษณะแตกต่างกันมาเขี่ยบนอาหาร NA อีกครั้ง (1 คอโลนีต่อ 1 จานเพาะเชื้อ) ส่วนในอาหาร MRS นำคอโลนีที่แยกได้แต่ละคอโลนีที่มีลักษณะแตกต่างกันมาเขี่ยลงบน MRS อีกครั้ง (1 คอโลนีต่อ 1 จานเพาะเชื้อ) เช่นกัน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จนเกิดคอโลนีเดี่ยวๆ แล้วทำซ้ำอีกครั้ง เก็บเชื้อที่บริสุทธิ์ในหลอดอาหาร NA และ MRS สำหรับแบคทีเรียแลกติก นำเชื้อที่แยกได้ไปเลี้ยงให้เชื้อมีอายุ 24-48 ชั่วโมง (อภิญญา แสงสุวรรณ, 2546 ) เพื่อนำไปศึกษาทางสัณฐานวิทยาและปฏิกิริยาทางชีวเคมีเพื่อจำแนกแบคทีเรียในระดับสกุล

## ผลของน้ำสกัดชีวภาพต่อการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืช

5.1 แยกเชื้อแบคทีเรียโรคพืชจากมะม่วงและผักบุ้งที่เป็นโรค เพื่อได้เชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่บริสุทธิ์ในอาหาร NA

5.2 เลี้ยงเชื้อที่แยกได้ในขวดรูปชมพู่ที่มีอาหารเหลว NAให้เชื้อมีอายุ 24-48 ชั่วโมง

5.3 กระจายเชื้อบนอาหาร NA บ่มที่อุณหภูมิห้อง 24-48 ชั่วโมง จนเชื้อแบคทีเรียเจริญเต็มผิวหน้าจานเพาะเชื้อ

5.4 นำ paper disk มาแช่ลงในน้ำสกัดชีวภาพที่หมักครบ 0, 7 และ 14 วัน นาน 24 ชั่วโมง

5.5 นำ paper disk ในข้อ 5.4 วางลงบนอาหาร NA ในข้อ 5.3 ให้ห่างกันประมาณ 2.5 เซนติเมตร โดยวางจานเพาะเชื้อละ 2 แผ่น ต่อน้ำสกัดชีวภาพ 1 สูตรทำทดลอง 4 ซ้ำ

5.6 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1-2 วัน สังเกตการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโรคพืช โดยจะเกิดวงใส (clear zone) ของแบคทีเรียจากน้ำสกัดชีวภาพเกิดขึ้น

5.7 วัดขนาดของวงใสที่เกิดขึ้น และคำนวณหาค่าเฉลี่ยการยับยั้งการเจริญของน้ำสกัดชีวภาพที่มีต่อเชื้อสาเหตุโรคพืช

# ผลการศึกษาและอภิปลายผล

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียในน้ำสกัดชีวภาพ 4 สูตร คือ น้ำสกัดชีวภาพที่ได้จากการหมักวัตถุดิบจากผักและผลไม้

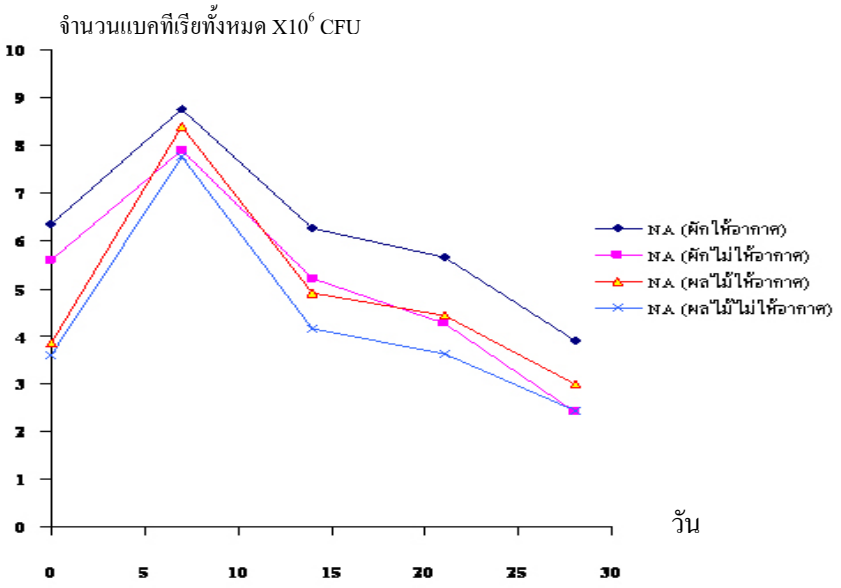
ร่วมกับกากน้ำตาล หมักในสภาพให้อากาศและไม่ให้อากาศระยะเวลา 28 วัน พบว่าปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในอาหาร NA มีปริมาณเพิ่มขึ้นสูงสุด

ตารางที่ 1. จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดที่เจริญในอาหาร NA จากน้ำสกัดชีวภาพทั้ง 4 สูตร

| ระยะเวลา (วัน) | จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดที่เจริญบนอาหาร NA (CFU) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | ผัก | | ผลไม้ | |
| | ให้อากาศ | ไม่ให้อากาศ | ให้อากาศ | ไม่ให้อากาศ |
| 0 | $6.33\times10^6$ | $5.60\times10^6$ | $3.85\times10^6$ | $3.60\times10^6$ |
| 7 | $8.76\times10^6$ | $7.90\times10^6$ | $8.40\times10^6$ | $7.76\times10^6$ |
| 14 | $6.26\times10^6$ | $5.20\times10^6$ | $4.90\times10^6$ | $4.16\times10^6$ |
| 21 | $5.65\times10^6$ | $4.26\times10^6$ | $4.43\times10^6$ | $3.63\times10^6$ |
| 28 | $3.90\times10^6$ | $2.41\times10^6$ | $3.00\times10^6$ | $2.45\times10^6$ |

## การเปลี่ยนแปลงเชื้อแบคทีเรียในน้ำสกัดชีวภาพ 4 สูตร

จากการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในอาหาร NA (ตารางที่ 1 และภาพที่ 1) และแบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติกในอาหาร MRS (ตารางที่ 2 และภาพที่ 2) จากผลการศึกษาปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในอาหาร NA จากกระบวนการหมักน้ำสกัดชีวภาพ ที่ใช้วัตถุดิบจากผักและผลไม้




ภาพที่ 1. การเปลี่ยนแปลงจำนวนของแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำสกัดชีวภาพทั้ง 4 สูตรที่เจริญในอาหาร NA

ตารางที่ 2. จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดที่สร้างกรดแลกติกที่เจริญในอาหาร MRS จากน้ำสกัดชีวภาพ 4 สูตร

| ระยะเวลา (วัน) | จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดที่สร้างกรดแลกติกที่เจริญบนอาหาร MRS (CFU) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | ผัก | | ผลไม้ | |
| | ให้อากาศ | ไม่ให้อากาศ | ให้อากาศ | ไม่ให้อากาศ |
| 0 | - | - | - | - |
| 7 | $8.20\times10^6$ | $6.93\times10^6$ | $25.1\times10^6$ | $23.8\times10^6$ |
| 14 | $14.86\times10^6$ | $8.10\times10^6$ | $26.9\times10^6$ | $25.0\times10^6$ |
| 21 | $13.36\times10^6$ | $8.50\times10^6$ | $22.6\times10^6$ | $15.8\times10^6$ |
| 28 | $2.41\times10^6$ | $1.76\times10^6$ | $5.18\times10^6$ | $3.96\times10^6$ |

หลังการหมัก 7 วัน จากนั้นจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดลดลงอย่างรวดเร็ว และมีปริมาณต่ำกว่าวันที่เริ่มต้นในกระบวนการหมัก โดยมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดแตกต่างกันคือ ในผักที่หมักแบบให้อากาศในวันที่ 0 มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเท่ากับ $6.33\times10^6$ CFU และจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยมีปริมาณสูงสุดหลังจากการหมัก 7 วัน มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเท่ากับ $8.76\times10^6$ CFU จากนั้นปริมาณแบคทีเรียในกระบวนการหมักจะลดลง และมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดต่ำมากหลังจากการหมัก 28 วัน มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเท่ากับ $3.9\times10^6$ CFU ซึ่งเป็นปริมาณแบคทีเรียที่ต่ำกว่าวันที่เริ่มต้นของกระบวนการหมัก

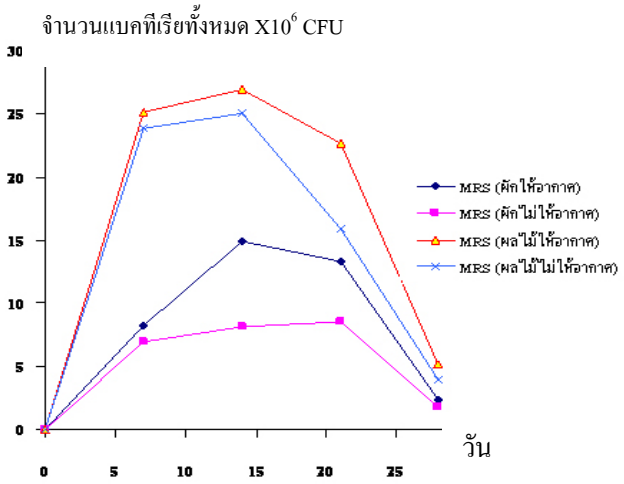
ส่วนการหมักในสภาพไม่ให้อากาศพบว่าปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในวันที่ 0 มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเท่ากับ $5.6\times10^6$ CFU และเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วโดยมีปริมาณสูงสุดหลังจากการหมัก 7 วัน เช่นเดียวกับการหมักแบบให้อากาศโดยมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเท่ากับ $7.90\times10^6$ CFU จากนั้นปริมาณแบคทีเรียในกระบวนการหมักจะลดลง และมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดต่ำมากหลังจากการหมัก 28 วัน มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเท่ากับ $2.41\times10^6$ CFU

การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในอาหาร NA จากน้ำสกัดชีวภาพ ที่ใช้วัตถุดิบจากผลไม้ร่วมกับกากน้ำตาลหมักในสภาพให้อากาศ ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในวันที่ 0 มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเท่ากับ $3.85\times10^6$ CFU และเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วโดยมีปริมาณสูงสุดหลังจากการหมัก 7 วัน มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเท่ากับ $8.40\times10^6$ CFU จากนั้นปริมาณแบคทีเรีย ในกระบวนการหมักจะลดลง และมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดต่ำมากหลังจากการหมัก 28 วัน มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเท่ากับ $3.0\times10^6$ CFU

ส่วนการหมักในสภาพไม่ให้อากาศพบว่า ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในวันที่ 0 มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด เท่ากับ $3.60\times10^{6}$ CFU และเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยมีปริมาณสูงสุดหลังจากการหมัก 7 วัน มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเท่ากับ $7.76\times10^{6}$CFU จากนั้นปริมาณแบคทีเรียในกระบวนการหมักจะลดลง และมีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดต่ำมากหลังจากการหมัก 28 วัน มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดเท่ากับ $2.45\times10^{6}$ CFU

เมื่อเปรียบเทียบแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำสกัดชีวภาพที่ใช้วัตถุดิบจากผักและผลไม้ พบว่าปริมาณแบคทีเรียในน้ำสกัดชีวภาพที่ใช้วัตถุดิบจากผักมีปริมาณสูงกว่า น้ำสกัดชีวภาพที่ใช้วัตถุดิบจากผลไม้ และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำสกัดชีวภาพที่ใช้วัตถุดิบจากผักและผลไม้ที่หมักในสภาพให้อากาศและไม่ให้อากาศ พบว่าทั้งน้ำสกัดชีวภาพที่ใช้ผักและผลไม้เป็นวัตถุดิบที่หมักในสภาพให้อากาศ มีปริมาณแบคทีเรียสูงกว่าในสภาพไม่ให้อากาศ

การเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียแลกติกทั้งหมดในอาหาร MRS จากน้ำสกัดชีวภาพที่ใช้วัตถุดิบจากผัก และผลไม้ร่วมกับกากน้ำตาลหมักในสภาพให้อากาศและไม่ให้อากาศ ระยะเวลา 28 วัน ปริมาณแบคทีเรียแลกติกทั้งหมดในวันที่ 0 ไม่พบการเจริญ และมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยมีปริมาณสูงสุดหลังจากการหมัก 14 วัน จากนั้นจะมีปริมาณลดลง และลดลงต่ำมากหลังการหมัก 28 วัน โดยการหมักที่ใช้วัตถุดิบจากผักในสภาพให้อากาศมีปริมาณแบคทีเรียแลกติกสูงสุดหลังการหมัก 14 วัน มีปริมาณแบคทีเรียแลกติกทั้งหมดเท่ากับ $14.86\times10^{6}$ CFU จากนั้นปริมาณแบคทีเรียแลกติกในกระบวนการหมักจะลดลง และมีปริมาณแบคทีเรียแลกติกทั้งหมดต่ำมากหลังจากการหมัก 28 วัน มีปริมาณแบคทีเรียแลกติกทั้งหมดเท่ากับ $2.41\times10^{6}$ CFU




ภาพที่ 2. จำนวนแบคทีเรียแลกติกทั้งหมดในน้ำสกัดชีวภาพ 4 สูตร ที่เจริญในอาหาร MRS

ส่วนการหมักในสภาพไม่ให้อากาศพบว่าปริมาณแบคทีเรียแลกติกทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นจากวันที่ 0 และมีปริมาณสูงสุดหลังจากการหมัก 21 วัน มีปริมาณแบคทีเรียแลกติกทั้งหมดเท่ากับ $8.50\times10^{6}$ CFU จากนั้นปริมาณแบคทีเรียแลกติกในกระบวนการหมักจะลดลง และมีปริมาณแบคทีเรียแลกติกทั้งหมดต่ำมากหลังจากการหมัก 28 วัน มีปริมาณแบคทีเรียแลกติกทั้งหมดเท่ากับ $1.76\times10^{6}$ CFU

น้ำสกัดชีวภาพที่ใช้วัตถุดิบจากผลไม้ร่วมกับกากน้ำตาล หมักในสภาพให้อากาศพบว่าปริมาณแบคทีเรียแลกติกทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วโดยมีปริมาณสูงสุดหลังจากการหมัก 14 วัน มีปริมาณแบคทีเรียแลกติกทั้งหมดเท่ากับ $26.9\times10^{6}$ CFU จากนั้นปริมาณแบคทีเรียแลกติกในกระบวนการหมักจะลดลงและมีปริมาณแบคทีเรียแลกติกทั้งหมดต่ำมากหลังจากการหมัก 28 วัน มีปริมาณแบคทีเรียแลกติกทั้งหมดเท่ากับ $5.18\times10^{6}$ CFU

ส่วนการหมักในสภาพไม่ให้อากาศพบว่าปริมาณแบคทีเรียแลกติกทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วโดยมีปริมาณสูงสุดหลังจากการหมัก 14 วัน มีปริมาณแบคทีเรียแลกติกทั้งหมดเท่ากับ $25.0\times10^{6}$ CFU จากนั้นปริมาณแบคทีเรียแลกติกในกระบวนการหมักจะลดลง และมีปริมาณแบคทีเรียแลกติกทั้งหมดต่ำมากหลังจากการหมัก 28 วัน มีปริมาณแบคทีเรียแลกติกทั้งหมดเท่ากับ $3.96\times10^{6}$ CFU

เมื่อเปรียบเทียบแบคทีเรียแลกติกทั้งหมดในน้ำสกัดชีวภาพที่ใช้วัตถุดิบจากผักและผลไม้พบว่าปริมาณแบคทีเรียในน้ำสกัดชีวภาพที่ใช้วัตถุดิบจากผลไม้มีปริมาณสูงกว่าน้ำสกัดชีวภาพที่ใช้วัตถุดิบจากผัก และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำสกัดชีวภาพที่ใช้วัตถุดิบจากผักและผลไม้ในสภาพให้อากาศและไม่ให้อากาศ พบว่าทั้งในน้ำสกัดชีวภาพที่ใช้ผักและผลไม้เป็นวัตถุดิบที่หมักในสภาพให้อากาศ มีแนวโน้มว่าปริมาณแบคทีเรียแลกติกสูงกว่าในสภาพไม่ให้อากาศ

## ตรวจวัดความเป็นกรดด่าง

จากการวัดค่าความเป็นกรดด่างและอุณหภูมิของน้ำสกัดชีวภาพทุกวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 28 หลังการหมัก พบว่าการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดด่างในกระบวนการหมักน้ำสกัดชีวภาพทั้ง 4 สูตรระยะเวลาการหมัก 28 วัน ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำสกัดชีวภาพที่หมักจากผักและผลไม้ มีค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 5.0 หลังจากการหมัก ค่าความเป็นกรดด่างจะลดลงต่ำกว่า 5.0 ซึ่งในผักและผลไม้ที่หมักแบบไม่ให้อากาศและแบบให้อากาศมีการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่างแตกต่างกันคือ

การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่างของน้ำสกัดชีวภาพจากผลไม้ที่หมักแบบไม่ให้อากาศมีการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่างค่อนข้างคงที่ และลดลงต่ำสุดหลังจากการหมักแล้ว 7 วัน มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 3.4 ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณแบคทีเรียแลกติกที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นสูงสุด จากนั้นค่าความเป็นกรดด่างมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น

การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่างของน้ำสกัดชีวภาพจากผักที่หมักแบบให้อากาศ มีค่าความเป็นกรดด่างลดลงต่ำสุด และมีค่าค่อนข้างคงที่ ในช่วงหลังการหมัก 7-21 วัน มีค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 3.5-3.6 โดยมีค่าลดลงต่ำสุดหลังการหมัก 14 วัน มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 3.5 และค่าความเป็นกรดด่างจะเพิ่มขึ้นใกล้เคียงกับวันที่ 0 หลังจากการหมัก 28 วัน มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 4.9 ส่วนการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่างของการหมักแบบไม่ให้อากาศ ค่าความเป็นกรดด่างลดลงต่ำสุดหลังจากการหมัก 7 วัน มีค่าเท่ากับ 3.5 จากนั้นค่าความเป็นกรดด่างมีค่าเพิ่มขึ้นจนมีค่าเท่ากับวันที่ 0 หลังการหมัก 28 วัน มีค่าเท่ากับ 5.0 สอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณแบคทีเรียแลกติก

เมื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่างของน้ำสกัดชีวภาพจากผักและผลไม้แบบให้อากาศ และแบบไม่ให้อากาศ พบว่าการหมักน้ำสกัดชีวภาพทั้งจากผักและผลไม้ที่หมักแบบไม่ให้อากาศมีแนวโน้มว่าค่าความเป็นกรดด่างต่ำ (มีการผลิตกรดมากกว่า) การหมักแบบให้อากาศ ดังตารางที่ 3

## การแยกเชื้อแบคทีเรียที่เจริญในอาหาร NA และ MRS

ผลการหมักน้ำสกัดชีวภาพ 4 สูตร และแยกเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดในอาหาร NA และ MRS ได้เชื้อแบคทีเรียที่มีความแตกต่างกันจากการศึกษาลักษณะคอโลนีจำนวน 23 ไอโซเลต ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 3. การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดด่างในกระบวนการหมักน้ำสกัดชีวภาพ

| ระยะเวลา (วัน) | ค่าความเป็นกรดด่าง | | | |
|---|---|---|---|---|
| | ผัก | | ผลไม้ | |
| | ให้อากาศ | ไม่ให้อากาศ | ให้อากาศ | ไม่ให้อากาศ |
| 0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 |
| 7 | 3.6 | 3.5 | 3.6 | 3.4 |
| 14 | 3.5 | 3.7 | 3.5 | 3.9 |
| 21 | 3.6 | 3.9 | 3.5 | 3.8 |
| 28 | 4.9 | 5.0 | 3.6 | 3.7 |

ตารางที่ 4. ลักษณะคอโลนีของแบคทีเรียที่คัดแยกจากน้ำสกัดชีวภาพทั้ง 4 สูตร

| รหัสเชื้อ | สีคอโลนี | ลักษณะคอโลนี | ความนูน | ลักษณะขอบ |
|---|---|---|---|---|
| B1 | ขาวใส | กลม | โค้งนูน | เรียบ |
| B2 | ขาวใส | กลม | โค้งนูน | เรียบ |
| B3 | ขาวใส | กลม | โค้งนูน | เรียบ |
| B4 | ขาวทึบ | ไม่แน่นอน | นูนน้อย | หยักแหลมเป็นจักร |
| B5 | ขาวทึบ | ไม่แน่นอน | นูนน้อย | หยักเป็นลอน |
| B6 | เหลืองทึบ | ไม่แน่นอน | นูนน้อย | หยักยื่น |
| B7 | ขาวทึบ | ไม่แน่นอน | แบนราบ | หยักเป็นคลื่น |
| B8 | เหลืองใส | กลม | โค้งนูน | เรียบ |
| B9 | ขาวทึบ | เส้นใย | นูนน้อย | เส้นใย |
| B10 | ส้มทึบ | กลม | นูนน้อย | เรียบ |
| B11 | เหลืองใส | กลม | โค้งนูน | เรียบ |
| B12 | ขาวทึบ | ไม่แน่นอน | นูนน้อย | หยักเป็นคลื่น |
| B13 | ขาวใส | ไม่แน่นอน | นูนน้อย | หยักเป็นลอน |
| B14 | ขาวทึบ | กลม | โค้งนูน | เรียบ |
| B15 | ใส | กลม | โค้งนูน | เรียบ |
| B16 | เหลืองทึบ | กลม | โค้งนูน | เรียบ |
| B17 | เหลืองใส | กลม | โค้งนูน | เรียบ |
| B18 | ขาวทึบ | ไม่แน่นอน | แบนราบ | หยักยื่น |
| B19 | ใส | กลม | โค้งนูน | เรียบ |
| L1 | ขาวใส | จุดเล็ก ๆ | โค้งนูน | เรียบ |
| L2 | ใส | กลม | นูนน้อย | เรียบ |
| L3 | ใส | ไม่แน่นอน | นูนน้อย | หยักเป็นลอน |
| L4 | ขาวทึบ | กลม | โค้งนูน | เรียบ |

## การจำแนกแบคทีเรียที่เจริญในน้ำสกัดชีวภาพในระดับสกุล

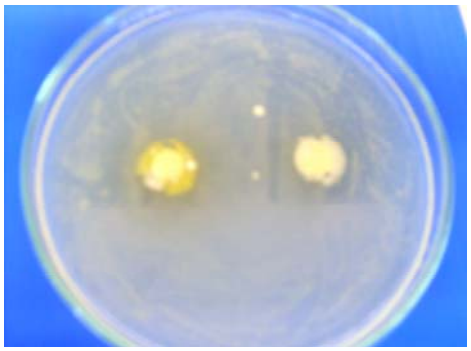
จากการจำแนกแบคทีเรียจำนวน 23 ไอโซเลตที่แยกได้จากน้ำสกัดชีวภาพทั้ง 4 สูตร โดยการศึกษาด้านสัณฐานวิทยาและปฏิกิริยาชีวเคมี สามารถจำแนกแบคทีเรียออกเป็นสกุล *Bacillus* จำนวน 8 ไอโซเลต คือ B5, B6, B7, B9, B12, B13, B18 และ B19 *Corynebacterium* จำนวน 2 ไอโซเลต คือ B3 และ B4 *Lactobacillus* จำนวน 4 ไอโซเลต คือ L1, L2, L3 และ L4 *Micrococcus* จำนวน 4 ไอโซเลต คือ B1, B8, B10 และ B16 *Pseudomonas* จำนวน 1 ไอโซเลต คือ B2 และเชื้อ *Neisseria* จำนวน 4 ไอโซเลต คือ B11, B14, B15 และ B17

## การยับยั้งแบคทีเรียโรคพืชโดยน้ำสกัดชีวภาพทั้ง 4 สูตร

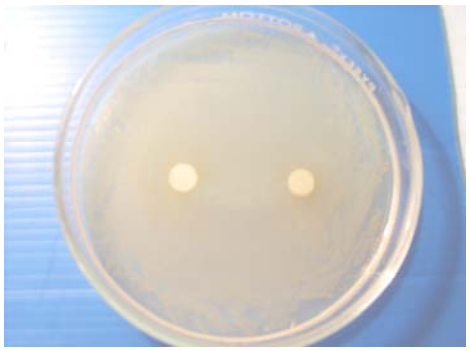
แยกเชื้อแบคทีเรียโรคพืชจากตัวอย่างผักและผลไม้ที่เป็นโรคได้เชื้อที่มีความแตกต่างกันจำนวน 4 ไอโซเลต เมื่อนำไปศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่าเป็นเชื้อในสกุล *Corynebacterium* จำนวน 3 ไอโซเลต คือ R1 R2 R3 *Neisseria* จำนวน 1 ไอโซเลต คือ R4 จากการนำน้ำสกัดชีวภาพทั้ง 4 สูตรไปศึกษาการยับยั้งเชื้อโรคพืชทั้ง 4 ชนิด พบว่าน้ำสกัดชีวภาพ 3 สูตร คือ สูตรจากผักและผลไม้ที่หมักในสภาพให้อากาศและไม่ให้อากาศ และสูตรจากผักหมักในสภาพไม่ให้อากาศ ไม่สามารถสร้างสารปฏิปักษ์ยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชทั้ง 4 ชนิดได้ แต่น้ำสกัดชีวภาพที่ผลิตจากผักหมักในสภาพให้อากาศมีแนวโน้มว่าสามารถสร้างสารปฏิปักษ์ออก เป็นวงใสยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชทั้ง 4 ชนิดได้ (ภาพที่ 3, 4 และ 5)

จากการจำแนกสกุลของเชื้อแบคทีเรียที่แยกจากน้ำสกัดชีวภาพที่สามารถสร้างสารปฏิปักษ์ออกเป็นวงใสมีด้วยกัน 6 ไอโซเลต คือ S1, S2, S3, S4, S5 และ S6 เมื่อนำไปศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยการย้อมแกรมพบว่าเป็นแกรมบวกทั้ง 6 ไอโซเลต และเมื่อนำไปย้อมเอนโดสปอร์พบว่าสามารถสร้างสปอร์ได้ทั้ง 6 ไอโซเลต จากการตรวจสอบเชื้อในระดับสกุล พบว่าเป็นแบคทีเรียในสกุล *Bacillus*

ภาพที่ 3. การเกิดวงใสของน้ำสกัดชีวภาพที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโรคพืช



ภาพที่ 4. น้ำสกัดชีวภาพที่ไม่ยับยั้งเชื้อโรคพืช



ภาพที่ 5. น้ำสกัดชีวภาพที่ไม่ยับยั้งเชื้อโรคพืช ในชุดควบคุม

## อภิปรายผล

จากการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากน้ำสกัดชีวภาพทั้ง 4 สูตร ได้เชื้อที่บริสุทธิ์ จำนวน 23 ไอโซเลต พบว่าส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ดีทั้งในสภาพที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน เป็นแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* spp. และ *Lactobacillus* spp. จำนวนมากในระยะแรกของการหมักและลดลงภายใน 1-2 สัปดาห์ หลังการหมักจากนั้นพบแบคทีเรียในกลุ่ม *Corynebacterium* spp., *Pseudomonas* spp. และ *Neisseria* spp. ปริมาณน้อยส่วนในการหมักแบบให้อากาศทั้งผักและผลไม้แบคทีเรียที่พบส่วนใหญ่เป็นชนิดที่สามารถเจริญได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจน เชื้อที่พบส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มของ *Micrococcus* spp.

ปริมาณของเชื้อแบคทีเรียในการหมักน้ำสกัดชีวภาพทั้ง 4 สูตร พบว่าเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น การเปลี่ยนแปลงปริมาณของเชื้อแบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลงไปในทิศทางเดียวกัน คือ มีปริมาณเพิ่มขึ้นหลังการหมักและจะเพิ่มขึ้นสูงสุดในช่วง7-21 วัน แล้วจึงลดลงอย่างช้าๆ เชื้อแบคทีเรียเหล่านี้อาจติดมากับเศษวัตถุดิบตามธรรมชาติ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มที่เป็นประโยชน์ ช่วยเร่งการย่อยสลายอินทรียวัตถุและเพิ่มปริมาณธาตุอาหารให้กับน้ำสกัดชีวภาพ พบว่าเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* spp. และ *Lactobacillus* spp. ส่วนในกลุ่มของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคพืชตรวจพบ 4 กลุ่มคือ *Pseudomonas* spp. *Corynebacterium* spp. *Micrococcus* spp. และ *Neisseria* spp. แต่ยังไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชจำนวนกี่ไอโซเลต ซึ่งการตรวจสอบต้องนำเชื้อโรคพืชเหล่านี้ไปทดสอบการเกิดโรคกับพืชต่อไป

เมื่อศึกษาการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชโดยใช้น้ำสกัดชีวภาพทั้ง 4 สูตร หลังจากการหมัก 0, 7 และ 14 วัน ผลปรากฏว่าน้ำสกัดชีวภาพจากผักที่หมักในสภาพให้อากาศมีแนวโน้มสามารถยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชทั้ง 4 ไอโซเลตได้ เนื่องจากมีการสร้างสารปฏิปักษ์ออกเป็นวงใส อาจเป็นเพราะในน้ำสกัดชีวภาพจากผักที่หมักในสภาพให้อากาศ มีแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารปฏิปักษ์ได้ดีในสภาพอุณหภูมิและอาหารที่เหมาะสม ดังนั้นเกษตรกรควรใช้น้ำสกัดชีวภาพอย่างระมัดระวัง และควรใช้ในอัตราส่วนที่เหมาะสม จึงจะทำให้ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตทางการเกษตร

## สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงแบคทีเรียและแบคทีเรียแลกติกในน้ำสกัดชีวภาพทั้ง 4 สูตร ในอาหาร NA และ MRS ระยะเวลา 28 วัน พบว่าแบคทีเรียที่เจริญในอาหาร NA ที่แยกจากน้ำสกัดชีวภาพที่ใช้วัตถุดิบจากผักและผลไม้ที่หมักในสภาพให้อากาศและไม่ให้อากาศมีปริมาณเพิ่มขึ้นและมีปริมาณสูงสุดหลังการหมัก 7 วัน จากนั้นปริมาณแบคทีเรียจะลดลงและมีปริมาณต่ำกว่าวันที่ 0 หลังจากการหมัก 28 วัน และปริมาณแบคทีเรียในน้ำสกัดชีวภาพที่ใช้วัตถุดิบจากผักที่หมักในสภาพให้อากาศมีปริมาณสูงกว่าในตำหรับอื่นๆ โดยมีปริมาณสูงสุดหลังการหมัก 7 วัน มีปริมาณแบคทีเรียสูงสุดเท่ากับ $8.76\times10^{6}$ CFU เมื่อเปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียที่หมักในสภาพให้อากาศและไม่ให้อากาศพบว่า ทั้งในน้ำสกัดชีวภาพที่ใช้วัตถุดิบจากผักและผลไม้มีปริมาณแบคทีเรียแลกติกต่างกัน

ส่วนการเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียแลกติกที่เจริญในอาหาร MRS แยกจากน้ำสกัดชีวภาพที่ใช้วัตถุดิบจากผักและผลไม้ ที่หมักในสภาพให้อากาศและไม่ให้อากาศ มีปริมาณแบคทีเรียแลกติกเพิ่มขึ้นจากวันที่ 0 และมีปริมาณเพิ่มขึ้นสูงสุดอยู่ในช่วง 7-21 วันหลังจากการหมัก จากนั้นปริมาณแบคทีเรียแลกติกลดลงอย่างรวดเร็วโดยในตำหรับน้ำสกัดชีวภาพที่ใช้วัตถุดิบจากผลไม้หมักในสภาพให้อากาศและไม่ให้อากาศ มีปริมาณแบคทีเรียแลกติกสูงกว่าตำหรับน้ำสกัดชีวภาพที่ใช้วัตถุดิบจากผักที่หมักในสภาพให้อากาศและไม่ให้อากาศ โดยในตำหรับน้ำสกัดชีวภาพที่ใช้วัตถุดิบจากผลไม้ที่หมักในสภาพให้อากาศมีปริมาณแบคทีเรียแลกติกสูงสุด โดยมีปริมาณสูงสุดหลังการหมัก 14 วัน มีปริมาณแบคทีเรียแลกติกเท่ากับ $26.9\times10^{6}$ CFU

เมื่อวัดค่าความเป็นกรดด่างและอุณหภูมิจากน้ำสกัดชีวภาพทั้ง 4 สูตร พบว่าในวันแรกของการหมัก มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากัน คือ 5.0 และจะเริ่มลดลงหลังการหมัก 7 วัน มีค่าความเป็นกรดด่างอยู่ระหว่าง 3.4-3.6 และเพิ่มขึ้นหลังการหมัก 28 วัน มีค่าความเป็นกรดด่างอยู่ระหว่าง 3.6-5.0 เมื่อเปรียบเทียบน้ำสกัดชีวภาพที่ใช้วัตถุดิบจากผักและผลไม้ที่หมักในสภาพให้อากาศจะมีอุณหภูมิที่ต่ำกว่าน้ำสกัดชีวภาพจากผักและผลไม้ที่หมักในสภาพไม่ให้อากาศ

การแยกเชื้อแบคทีเรียจากน้ำสกัดชีวภาพทั้ง 4 สูตร ได้เชื้อที่บริสุทธิ์จำนวน 23 ไอโซเลต เมื่อทดสอบด้านสัณฐานวิทยาและปฏิกิริยาชีวเคมี พบว่าเป็นเชื้อในสกุล *Bacillus* จำนวน 8 ไอโซเลตสกุล *Corynebacterium* จำนวน 2 ไอโซเลต สกุล *Lactobacillus* จำนวน 4 ไอโซเลต สกุล *Micrococcus* จำนวน 4 ไอโซเลต สกุล *Pseudomonas* จำนวน 1 ไอโซเลต และ *Neisseria* จำนวน 4 ไอโซเลต

จากการใช้น้ำสกัดชีวภาพทั้ง 4 สูตร ในวันที่มีเชื้อเจริญเพิ่มขึ้นสูงสุดหลังจากการหมัก 0, 7 และ 14 วัน ทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชที่คัดแยกได้จากผักและผลไม้จำนวน 4 ไอโซเลต เมื่อทดสอบทางสัณฐานวิทยาพบว่าเป็นเชื้อ *Corynebacterium* จำนวน 2

## เอกสารอ้างอิง


กำเนิด สุภัณวงษ์. (2534). **จุลชีวตสาหกรรม.** เชียงใหม่: โอเดียนสโตร์.

กัญจนา ธีระกุล และคณะ. (2542). **จุลวิทยาปฏิบัติการ.** กรุงเทพฯ: ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เกษตรเคมี,กอง. (2545). **ฮอร์โมนพืชและธาตุอาหารพืชในน้ำสกัดชีวภาพ**. กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร.

เกษตรธรรมชาติแห่งประเทศไทย. (2542). **เกษตรธรรมชาติด้วยเทคนิคจุลินทรีย์**. กรุงเทพฯ: เกษตรธรรมชาติ.

จิราพรณ์ สุวงค์ศักดิ์ศรี. (2543). **การศึกษาลักษณะทางสรีรวิทยาสัณฐานวิทยาและปฏิกิริยาทางชีวเคมีของแบคทีเรียที่ทำลายแมลงศัตรูพืชที่แยกได้จากสารละลาย EM และแหล่งธรรมชาติ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชัยสิทธิ์ ทองจู และสุดประสงค์ สุวรรณเลิศ. (2543). น้ำสกัดชีวภาพ. **วารสาร ส.ก.ว.** 1(3): 48-57.

ดวงพร คันธโชติ. (2537). **อนุกรรมวิธานของแบคทีเรียและปฏิบัติการ.** กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

ทิพวรรณ สิทธิรังสรรค์. (2542). **ปุ๋ยหมัก ดินหมักและปุ๋ยน้ำชีวภาพ**. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ. (2544). **จุลชีววิทยาทั่วไป**. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นฤมล นาคมี. (2545). **การหมักมูลฝอยกะหล่ำปลีเพื่อผลิตปุ๋ยน้ำหมัก.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยมหิดล.

ปฐพีวิทยา,กอง. (2547). ผลงานกองปฐพีวิทยา. **ฐานเกษตรกรรม.** 2(19): 91-98.

พัฒนาที่ดิน,กรม. (2545). **การผลิตและใช้ปุ๋ยอินทรีย์น้ำเพื่อการปรับปรุงบำรุงดิน**. กรุงเทพฯ: กองอนุรักษ์ดินและน้ำ กรมพัฒนาที่ดิน.

พัฒนาที่ดิน,กรม. (2546). **คู่มือการผลิตและใช้ประโยชน์ของปุ๋ยอินทรีย์น้ำ**. กรุงเทพฯ: กระทรวงเกษตร และสหกรณ์.

พัฒนาที่ดิน, กรม. (2543). **คู่มือปฏิบัติการงานหมอดินอาสา**. กรุงเทพฯ: กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ภาควิชาปฐพีวิทยา. (2541). **ปฐพีวิทยาเบื้องต้น**. กรุงเทพฯ: ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

รวมพร มูลจันทร์. (2546). **การผลิตปุ๋ยอินทรีย์น้ำหมัก (ปุ๋ยน้ำชีวภาพ) จากวัสดุเหลือใช้จากการเกษตรชุมชน.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยแม้โจ้.

วิชาการเกษตร, กรม. (2544). **หลักการวิธีการผลิตผักอานามัยโครงการนำร่องการผลิตพืชผักและผลไม้อานามัย** กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.

วิทยา มะเสนา. (2530). **จุลชีววิทยาทางดิน.** ขอนแก่น: ภาควิชาปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ศุภมาศ พนิชศักดิ์พัฒนา. (2529). **จุลชีววิทยาของดินเพื่อผลผลิตทางการเกษตร** (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: ภาควิชาปฐพีศาสตร์ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สกุลศักดิ์ โอฬารสกุล. (2540). **โรคของพืชประเภทผักและการควบคุม.** ภาควิชาเกษตรศาสตร์ คณะเกษตรและอุตสาหกรรมการเกษตร สถาบันราชภัฏลำปาง.

สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 1-8 กรมวิชาการเกษตร. (2546). ปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพ. **เกษตรธรรมชาติ** 11: 61.

สำนักวิจัยและพัฒนาที่ดินเกษตรเขตที่ 6. (2544). **การผลิตและการใช้น้ำสกัดชีวภาพ**. ชัยนาท: กรมวิชาการเกษตร.

สมศรี แสงโชติ. (2529). **โรคพืชเบื้องต้นบทปฏิบัติการ**. กรุงเทพฯ: ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุริยา สาสนรักกิจ. (2542). ปุ๋ยน้ำชีวภาพ. **วารสารดินปุ๋ย**. 2 (3): 152-171.

สุริยา สาสนรักกิจ. (2545). **ปุ๋ยน้ำชีวภาพ.** กรุงเทพฯ: สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.

สุรชัย พัฒนพิบูล. (2546). **ประสิทธิภาพของน้ำสกัดชีวภาพต่อการเจริญเติบโตของผักบางชนิดในระบบการปลูกพืชแบบไม่ใช้ดิน**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อภิญญา แสงสุวรรณ. (2546). **การผลิตปุ๋ยน้ำหมักจากขยะอินทรีย์.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อรรถ บุญนิธิ. (2544). **การผลิตพืชไร้สารพิษโดยเทคนิคจุลินทรีย์**. กองพัฒนาการบริหารการเกษตร, กรมส่งเสริมการเกษตร.

Asaka, O., and Shoda, M. (1996). Biocontrol of Rhizoctonia solani damping off of tomato with *Bacillus subtilis* RB 14. **Applied and Environmental Microbiology** 62: 4081-4085.

Chevanet, C., Besson, F., and Michel, G. (1986). Effect of various growth conditions on spore formation and bacillomycin L production in *Bacillus subtilus*. **Can. J. Microbiol.** 32: 254-258.

Erwin, O., and Ribeiro, L.K. (1996). **Phytophthora Disease Worldwide.** Minnesota, St. Paul: APS PRESS the American Phytopathological Society.

Haavik, H.I. (1974). Studies on the Formation of bacitracin by *Bacillus licheniformis* : effect of Inorganic phosphate. **J. Gen. Microbiol.** 84: 321-326.

Helander, I.M., and Wright, A.T.M. (1997). Mattila-Sandholm. Potential of lacitic acid bacteria and novel antimicrobial against gram-negative bacteria. **Trends Food Sci. Technol**. 8: 146-150.

Martin, J.F. (1977). Control of antibiotic synthesis by phosphate. **Adv. Biochem. Eng**. 6:105-127.

McDonald, P. (1981). **The Biochemistry of Silage**. New York: John

Wiley and Sons, Michael, D., and Kathleen, S. (2001). Biological, chemical and physical processes of comoposting. Pp. 17-50. *In* J.S. Peter and B.A. Kahn, eds. **Compost Utilization in Horticultural Cropping Systems**. London: CRC Press LLC.

Muck, R.E. (1991). Silage fermentation. In J.G. Zeikus and E.A. Johnson (eds.). **Mixed Cultures in Biotechnology**. New York: McGraw-Hill: 171-204 pp.

Ronald, M.A. and James, W.S. (1995). **Handbook of Media for Clinical MicroBiology**. New York: CRC Press.

Stutzenberger, F.J., Kaufman, A.J, and Lossin, R.D. (1970). Cellulolytic acivity in municipal solid Waste composting. **Can. J. Microbiol.** 16: 553-560.

Tuckett, H.M., Nichol, A.W., and Harden, T.J. (1996). Production of plicking vinegar from acid Whey. **Australian J. Dairy Tech**. 51(1): 53-57.

http://microbewiki.kenyon.edu/images/thumb/b/bc/Corynebacterium_glutamicum.jpg/400px-Corynebacterium_glutamicum.jpg

http://www.sanger.ac.uk/Info/News-re leases/gfx040720-erwinia-300.jpg

http://www.cmp.uea.ac.uk/Research/ivis/video/streptomyces.jpg

http://www.agri.pref.hokkaido.jp/dounan/byoutyu/bairs.jpg

http://ayutthaya.doae.go.th/bangban/oter6.htm