

## บทที่ 5

### วิจารณ์ผลการทดลอง

#### คุณภาพเบื้องต้นของเมล็ดพันธุ์

ในการทดสอบคุณภาพเบื้องต้นของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและผิวดำนี้ พบว่าหลังจากปลูกเพื่อเก็บเกี่ยวเมล็ดพันธุ์ แล้วนำมาลดความชื้นให้ได้ 11 เปอร์เซ็นต์เท่า ๆ กัน แล้วเก็บเมล็ดใส่ถุงพลาสติกปิดสนิทเก็บไว้ในถังพลาสติกสีดำ จากนั้นนำมาหว่านน้ำหนัก 100 เมล็ดในแต่ละสายพันธุ์ ทำให้ทราบว่า เมล็ดถั่วเขียวผิวมันทุกพันธุ์ มีน้ำหนักมากกว่าเมล็ดถั่วเขียวผิวดำ โดยเฉพาะถั่วเขียวผิวมันพันธุ์ CN 72 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ปรับปรุงใหม่ จึงมีน้ำหนักมากกว่าพันธุ์อื่น ๆ ดังตารางที่ 2 และตารางภาคผนวกที่ 1

เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ ในถั่วเขียวผิวมันและผิวดำทั้ง 8 สายพันธุ์ มีความงอกในปริมาณที่สูง โดยเฉพาะในถั่วเขียวผิวดำ มีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงกว่าถั่วเขียวผิวมัน ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า เมล็ดถั่วเขียวผิวดำเป็นพันธุ์ที่มีความแข็งแรงสูงกว่าถั่วเขียวผิวมัน

ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ ทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและผิวดำทั้ง 3 วิธี คือ การเร่งอายุ วิธีเตตราโซเลียมและวิธีวัดค่าการนำไฟฟ้า พบว่า ให้ผลสอดคล้องกันกับวิธีการหาเปอร์เซ็นต์ความงอก นั่นคือ ถั่วเขียวผิวดำ มีความแข็งแรงมากกว่าถั่วเขียวผิวมัน ซึ่งวิธีการเร่งอายุนั้น สมชาย (2543) กล่าวว่า เป็นวิธีการทดสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม โดยจำลองสภาพแวดล้อมให้เมล็ดพันธุ์ได้รับอุณหภูมิสูงถึง  $\pm 42$  องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เมล็ดพันธุ์ที่มีความแข็งแรงสูงย่อมงอกได้ต้นกล้าที่แข็งแรงสมบูรณ์กว่า โดยที่วิธีการนี้จะทำให้เซลล์เมมเบรน หรือออการ์แนลอื่น ๆ ซึ่งมีโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมันที่เป็นองค์ประกอบ มีการคูลน้ำอย่างรวดเร็ว มีผลให้เกิดการแตกหักขององค์ประกอบเหล่านี้ ไปจัดขบวนการจัดเรียงตัวกันใหม่ของเซลล์เมมเบรนหรือออการ์แนล ในขณะที่คูลน้ำมีผลทำให้เมมเบรนหรือออการ์แนล เหล่านี้สูญเสียสภาพและหน้าที่ (Parrish and Leopold, 1978) ส่วนวิธีเตตราโซเลียม นอกจากสามารถทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์แล้วยังสามารถบ่งบอกถึง ความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ เพราะเนื้อเยื่อที่มีชีวิตติดสีของ formazan เป็นสีชมพูถึงแดง วิธีการนี้ผู้ตรวจสอบ ต้องมีความรู้และความชำนาญพอสมควร การตรวจสอบจึงได้ผลแม่นยำ เนื่องจากสารเคมีที่ใช้ตรวจสอบมีราคาแพง แต่สามารถทราบผลได้ในเวลาอันสั้น และวิธีการวัดค่าการนำไฟฟ้าของเมล็ดถั่วเขียว โดยบ่งบอกได้ทั้งการเสื่อมสภาพของ

เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว กล่าวคือ เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมัน เสื่อมสภาพมากกว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวดำ เพราะเมื่อนำเมล็ดแช่น้ำจะปลดสารพวกกรดอะมิโน น้ำตาล และอิเลคโตรไลต์อื่น ๆ ที่นำไปฟาร์ว ไหลออกมามากกว่าถั่วเขียวผิวดำ มีผลให้ค่าการนำไฟฟ้าของเมล็ดถั่วเขียวผิวมันเพิ่มมากขึ้น ดังตารางที่ 2 และตารางภาคผนวกที่ 6 ส่วนอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยที่ถั่วเขียวผิวดำพันธุ์ PT 2 มีอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าสูงที่สุด ซึ่งอาจเกิดจากเมล็ดถั่วเขียวผิวมันและผิวดำ นั้นผ่านการเก็บเกี่ยวเมล็ดพันธุ์มาใหม่

การทดสอบเชื้อโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ โดยทดสอบ 2 วิธี คือเพาะบนกระดาษขึ้น (blotter method) และวิธีวางบนอาหาร PDA (agar method) พบว่า ถั่วเขียวผิวมันและผิวดำสายพันธุ์ต่างกันย่อมพบเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้แตกต่างกัน ซึ่งวิธีการทดสอบทั้ง 2 วิธีนี้มีความสอดคล้องกัน กล่าวคือ ถั่วเขียวผิวมันพันธุ์ KPS 1 ตรวจพบเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้มากที่สุด ในขณะที่เดียวกันถั่วเขียวผิวดำพันธุ์ UT 2 พบเชื้อราสาเหตุโรคพืชมากที่สุด โดยที่วิธีเพาะบนกระดาษขึ้นจะมีปริมาณเชื้อราสาเหตุโรคพืชมากกว่าวิธีวางบนอาหาร PDA เนื่องจากวิธีวางบนอาหาร PDA นี้เชื้อบางชนิดถูกฆ่าเชื้อที่ผิวเมล็ด (seed coat) โดยคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำไปวางบนอาหาร PDA ทำให้ไม่สามารถตรวจพบเชื้อภายนอกได้ นอกจากนี้แล้วยังพบเชื้อ ต่าง ๆ มากมาย เช่นเชื้อ *Aspergillus flavus* ในปริมาณมากที่สุด รองลงมาคือ *Macrophomina phaseolina* ซึ่งเชื้อ *Aspergillus flavus* นี้ ไม่มีผลทำให้ความงอกของเมล็ดถั่วเขียวผิวมันและผิวดำลดลง แต่สร้างสารพิษอะฟลาทอกซิน (aflatoxin) ที่อาจเกิดอันตรายแก่ผู้บริโภคถั่วงอก และเช่นเดียวกันกับเชื้อ *Macrophomina phaseolina* เข้าทำลายเมล็ดถั่วเขียวผิวมันและผิวดำ ทำให้ความงอกลดลง เกิดอาการเมล็ดเน่า (seed rot) เน่าคอดิน (damping off) ต้นกล้าเหี่ยวเฉาแห้งตายแต่ไม่เน่า (seedling blight) ถั่วงอกเน่า เกิดการตายของเนื้อเยื่อและสปีบริเวณที่ถูกทำลายผิดไปจากเดิม (necrosis) (Shamsur, 2001) ทำให้ไม่เป็นที่ต้องการของตลาดผู้บริโภค และนอกจากนี้แล้วยังสอดคล้องกับ Singh and Singh(1982) ที่ได้ศึกษาการถ่ายทอดเชื้อ *Macrophomina phaseolina* ในเมล็ดงาโดยเพาะบนกระดาษขึ้น (blotter method) และวางบนอาหาร PDA พบว่า มี pycnidia เป็นจำนวนมาก ทำให้เมล็ดไม่งอกและมีอาการเน่าดำของต้นกล้า

## การทดลองที่ 1 ประสิทธิภาพของผงพืชสมุนไพรต่อการเจริญของเชื้อรา *Macrophomina phaseolina*

จากการศึกษาผลของผงพืชสมุนไพร 10 ชนิด ได้แก่ กระเทียม กระชาย กระเพรา ขิง ข่า ขมิ้น คีปรี ตะไคร้ สะเดา และหอมหัวใหญ่ ต่อการเจริญของเชื้อ *Macrophomina phaseolina* โดยนำผงพืชสมุนไพรเหล่านี้ผสมในอาหาร PDA ที่ความเข้มข้น 10, 20, 30 และ 40 กรัม แล้วเปรียบเทียบกับชุดทดลองควบคุม พบว่าไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Macrophomina phaseolina* ได้เลยและมีความแตกต่างกันทางสถิติ สำหรับความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อของผงพืชสมุนไพรแต่ละชนิดแตกต่างกันไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับ ชนิดและปริมาณของสารเคมีที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในผงพืชสมุนไพรนั้น ๆ (ชัยวัฒน์, 2528) ซึ่งความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Macrophomina phaseolina* ของผงพืชสมุนไพรชนิดนี้

ผงกระเทียมและกระชายที่มีความเข้มข้นต่ำและสูงมากเกินไป ส่งผลต่อการเจริญของเชื้อ และในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 30 กรัม เพราะว่าในกระเทียมมีน้ำมันหอมระเหย ซึ่งประกอบด้วยสารที่มีกัมมะถันเป็นองค์ประกอบหลายชนิด เช่น อัลลิซิน เป็นสารที่ไม่คงตัวสามารถเปลี่ยนไปเป็น ไดอัลลิล ไดซัลไฟด์ (diallyl disulphide) และซัลไฟด์อื่น ๆ ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Fusarium solani*, *Aspergillus flavus* ที่เป็น Imperfect fungi เช่นเดียวกับกับ *Macrophomina phaseolina* ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของบัญญัติ(2523) ส่วนกระชายมีน้ำมันหอมระเหยเช่นเดียวกับกระเทียมโดยที่รากกระชาย มีสาร  $\alpha$ -thujene,  $\alpha$ -pinene, camphene, myrcene, limonene, 1,8-cineol, trans-ocimene, p-cymene, linalool, neral,  $\alpha$ -terpineol, borneol, geraneol, Benzyl acetone, methyl cinnamate, geranial และ camphor ซึ่งตรงกับรายงานของเกษม (2528)

ผงขิงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นมากเกินไป ไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ แต่ในทางตรงกันข้าม ขิงเป็นเครื่องเทศที่ส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ (ชัยวัฒน์, 2528) ในงานทดลองนี้ผงขิงที่ระดับความเข้มข้น 10 กรัม สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Macrophomina phaseolina* ได้ดีที่สุดใน เนื่องจากขิงนั้นมีน้ำมันหอมระเหยและประกอบด้วยสารองค์ประกอบมากมาย เช่น สารพวกโมโนเทอร์ปีน (monoterpene) ได้แก่  $\beta$ -phellandrene, camphor, cineole, citral และ borneol สารพวกเสสควิเทอร์ปีน (sesquiterpenes) ได้แก่ zingiberene และ bisabolene ซึ่งน้ำมันหอมระเหย มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* ได้ และสามารถลดการสร้างสารพิษของเชื้อรานี้ได้เช่นกัน สาเหตุที่ขิงสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้นั้น เพราะน้ำมันหอมระเหยของขิงมีสาร  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene, camphene และ limonene แต่

อย่างไรก็ดี ผลการทดลองนี้ได้ขัดแย้งกับรายงานของ Llewellyn *et al.*, (1982) : อ้างโดยชัชวพันธ์ (2528) ที่ว่าขิงจะส่งเสริมการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus parasiticus* ได้ การที่เป็นไปได้เช่นนี้อาจเป็นเพราะขึ้นอยู่กับพันธุ์ของขิง ฤดูกาลเก็บเกี่ยว ตลอดจนอายุการเก็บเกี่ยว ซึ่งไปมีผลต่อปริมาณสารสำคัญในขิง เป็นผลให้ขิงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ลดน้อยลงกว่าที่ควร โดยสอดคล้องกับรายงานของบัญญัติ (2518) ที่กล่าวไว้ว่า ขิงแก่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียและเราได้ดีกว่าในขิงอ่อนและอาจสืบเนื่องมาจากเมื่อเพิ่มความเข้มข้นยังมีผลส่งเสริมและกระตุ้นการเจริญของเส้นใย (ชัชวพันธ์, 2528) ส่วนผงกระเพรา ขมิ้น ดีปลี ตะไคร้ สะเคา และหอมหัวใหญ่ ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากันคือ 40 กรัม มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด โดยที่กระเพรามีน้ำมันหอมระเหยพวก camphor, eugenol, cineol, pinene, apigeni, limone, sabinene, terpineol, ocimol, linalool และกรดอินทรีย์หลายชนิด และสอดคล้องกันกับรายงานของบัญญัติ (2518) ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Cunninghamella* sp. และ *Aspergillus* sp. ได้ ในผงขำนั้นความเข้มข้น 20 กรัมมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุดและมีน้ำมันหอมระเหยหลายชนิด เช่น eugenol, methylcinnamate, cineol, camphor และ pinenes ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Curvularia* sp., *Fusarium* sp. และ *Penicillium* sp. ที่เป็นราชั้นสูงเช่นเดียวกับ *Macrophomina phaseolina* (บัญญัติ, 2518) ในผงขมิ้นมีสารให้สีเรียกว่า สารเคอร์คูมินอยด์ (curcuminoids) ซึ่งเป็นสารพวก diaryl heptanoid ที่สำคัญคือ เคอร์คูมิน (curcumin) เป็นสาร diferuloylmethane อยู่ร่วมกับ dicaffeoyl methane และ caffeoylferuloyl methane มีน้ำมันหอมระเหยพวก sesquiterpene ได้แก่ turmerone, zingiberene, phellandrene, sabinene, bormeol และ cineol ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Rhizopus* sp. และ *Alternaria* sp. ที่เป็น Imperfect fungi เช่นเดียวกับ *Macrophomina phaseolina* (บัญญัติ, 2518) ผงดีปลีมีอัลคาลอยด์ ชื่อ piperine, pipartine, chavicine และ อัลคาลอยด์เหลว (liquid alkaloid) นอกจากนี้ยังมีน้ำมันหอมระเหย (นิงศิริ, 2534) สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Macrophomina phaseolina* และยังสอดคล้องกับรายงานของเฉลิม (2534); ขจรศักดิ์ (2539) และชัชวพันธ์ (2528) ที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp., *Colletotrichum* sp., *Alternaria* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp. และ *Trichoderma* sp. ในตะไคร้ มีน้ำมันหอมระเหยที่เป็นพวก aldehyde, citronellal, terpens, citral, linalool, geraniol, methylheptenone ที่สามารถยับยั้งเชื้อได้ เนื่องจากมีสารสำคัญที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อรา ได้แก่ rhodinic acid, camphene, limone และ linalool เป็นต้น ในสะเคา มีสารที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *Macrophomina phaseolina* และเชื้อราอื่น ๆ โดยเฉพาะ Imperfect fungi เช่น *Curvularis lunata* (Bhowmick and Vardhan, 1981) เชื้อ *Sclerotium rodfsii*, *Rhizoctonia solani*,

*Drechaslera maydis*, *Pythium* spp., *Fusarium* sp., *Colletotrichum* sp., *Alternaria* sp., *Penicillium* sp. (รังสี และคณะ, 2538) ส่วนในหอมหัวใหญ่นั้น มีสารประกอบของ catechol, กรด protocatechuic, สารประกอบอินทรีย์ของกำมะถันหลายชนิด คือ trans-S-1 propenyl cysteine sulfoxide, S-methylcysteine sulfoxide, S-propylcysteine sulfoxide และ cycloalliin ที่สามารถต่อต้านเชื้อ *Colletotrichum circinas*, *Diplodia natalensis* และ *Botrytis* spp. (Pegg and Ayres, 1987) นอกจากนี้แล้ว ในการทดลองครั้งนี้ สารสำคัญในหอมหัวใหญ่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Macrophomina phaseolina* ที่ให้ผลสอดคล้องกับ Singhan *et al.*, (1999) ได้ และสอดคล้องกับเกษม(2528) ที่กล่าวว่า ถ้าใช้พืชสมุนไพรในระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้น จะทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสูงขึ้นด้วย

ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Macrophomina phaseolina* อายุ 3 วันนี้ ผงพืชสมุนไพรที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Macrophomina phaseolina* ได้ดีที่สุดคือ ผงขมิ้น รองลงมาได้แก่ ผงคัสปติ กระชาย ขิง กระเทียม สะเดา ตะไคร้ หอมหัวใหญ่ ข่า และกระเพรา ตามลำดับ โดยที่ผงพืชสมุนไพรที่มีสาร eugenol เป็นองค์ประกอบจะมีคุณสมบัติเข้าไปขัดขวางขบวนการละลายของชั้นไขมันในไซโตพลาสซึมเมมเบรน เป็นผลให้ยับยั้งการดำเนินการด้านของออกซิโมคิโนเซลล์เมมเบรนลดลงและจะขัดขวางการทำงานของ enzyme ทำให้ enzyme และโปรตีนอื่น ๆ ในเซลล์ของเชื้อรวมกัน จึงทำให้เซลล์นั้น ๆ ถูกทำลาย(ชัยวัฒน์, 2528) แต่ทั้งนี้ทั้งนั้น กลับพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อลดลง อาจเนื่องมาจากสารที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Macrophomina phaseolina* ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ถูกทำลายด้วยความร้อนในระหว่างที่เตรียมอาหาร PDA ผสมผงพืชสมุนไพรหรือระยะเวลาที่มีผลต่อสารสำคัญเกิดการสลายตัวเปลี่ยนแปลงเป็นสารที่ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Macrophomina phaseolina* และในพืชสมุนไพรเหล่านี้เตรียมได้จากการนำไปอบลดความชื้นด้วยซิลิกาเจล จึงอาจทำให้ได้สารองค์ประกอบสำคัญทางเคมีน้อยกว่าวิธีการสกัดสารอื่น ๆ

การทดลองที่ 2 ทดสอบประสิทธิภาพของผงพืชสมุนไพรกับคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวที่ผ่านการคลุกเชื้อรา *Macrophomina phaseolina*

นำผลการทดลองจากการทดสอบการยับยั้งของผงพืชสมุนไพรที่มีระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมมาคลุกกับเมล็ดถั่วเขียวผิวมันและผิวดำพันธุ์ต่าง ๆ ที่ผ่านการคลุกเชื้อ *Macrophomina phaseolina* แล้วทดสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ ดังนี้

ความงอกของเมล็ดพันธุ์ โดยทดสอบทั้ง 2 วิธี คือ วิธีเพาะระหว่างกระดาษและเพาะลงดิน แล้วเปรียบเทียบกับชุดทดลองควบคุมพบว่า มีความงอกที่แตกต่างกันทางสถิติ โดยที่วิธีเพาะระหว่างกระดาษเพาะ มีเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำกว่าวิธีเพาะลงดิน ถึงแม้ว่าผงพืชสมุนไพรต่าง ๆ มีระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Macrophomina phaseolina* ได้ดีที่สุด นั่นคือ ผงขมิ้น รองลงมาคือ ผงคิปลี กระจ่าง ขิง กระจ่าง ขมิ้น สะเดา ตะไคร้ หอมหัวใหญ่ ข่าและกระเพรา แต่เมื่อนำมาคลุกเมล็ดแล้วกลับพบว่า มีผลส่งเสริมความงอก วิธีเพาะในกระดาษเพาะเมื่อคลุกด้วยขมิ้นมีเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารประกอบสำคัญในขมิ้นมีผลต่อความงอกของต้นกล้าถั่วเขียวผิวมันและผิวดำ ในขณะที่เมล็ดคลุกด้วยผงกระจ่างและผงกระจ่างที่ระดับความเข้มข้น 30 กรัม ซึ่งมีสารที่คล้าย ๆ กัน สามารถส่งเสริมให้เมล็ดงอกได้ต้นกล้าปกติสูงสุด ในขณะที่ผงพืชสมุนไพรอื่น ๆ มีผลต่อความงอกของเมล็ด โดยเฉพาะ ผงหอมหัวใหญ่มีผลต่อความงอกได้เพียงแค่ 29.75 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 9) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าสารสกัดมีการสลายตัวเปลี่ยนแปลงเป็นสารที่ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราเมื่ออยู่บนต้นกล้า(เกษม, 2528) และพบว่าเมล็ดถั่วเขียวผิวดำพันธุ์ PT 2 มีเปอร์เซ็นต์ความงอกหลังจากคลุกด้วยผงพืชสมุนไพรสูงสุด นั่นแสดงให้เห็นว่า ถั่วเขียวผิวดำ แข็งแรงกว่าถั่วเขียวผิวมัน ทั้งนี้ในระหว่างที่เมล็ดงอก เชื้อ *Macrophomina phaseolina* สามารถถ่ายทอดจากเปลือกหุ้มเมล็ด (seed coat) ไปยังเมล็ดที่กำลังงอกและต้นกล้าที่อยู่ติดกันมีผลทำให้ความงอกลดลงและเป็นการนำไปสู่อาการเน่าและ เป็นแหล่งในการสร้างมีด sclerotia และ pycnidia ของเชื้อเป็นจำนวนมาก ส่วนความงอกของเมล็ดถั่วเขียวที่เพาะลงดินโดยเพาะในกระบะเพาะเมล็ดช่องละ 1 เมล็ด โดยเปรียบเสมือนการจำลองการเพาะความงอกในแปลงปลูก มีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงกว่าวิธีเพาะบนกระดาษ ซึ่งวิธีเพาะระหว่างกระดาษนี้ ถูกจำกัดด้วยความชื้นที่สูง และเมื่อเมล็ดงอกออกมาจะทำให้เชื้อ *Macrophomina phaseolina* ที่ติดอยู่อยู่กับ seed coat เข้าทำลายทันที แต่ในการเพาะลงดินนั้นกลับ

พบว่า ผงขมที่ความเข้มข้น 40 กรัม มีผลส่งเสริมความงอกสูงที่สุด ทั้งนี้เนื่องมาจาก ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมภายนอกไม่ถูกจำกัด ทำให้เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวดำพันธุ์ PT 2 มีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงสุดและจัดว่าเป็นพันธุ์ที่แข็งแรงที่สุด นอกจากนี้แล้วอาจขึ้นอยู่กับลักษณะทางพันธุกรรมของถั่วเขียวในแต่ละสายพันธุ์ที่มีผลต่อการเข้าทำลายของเชื้อและสารในผงพืชสมุนไพร ซึ่งจะสอดคล้องกับสมชาย(2543) ที่กล่าวไว้ว่า เมล็ดพันธุ์ใดที่มีความแข็งแรงมากกว่าย่อมสามารถงอกให้ได้ต้นกล้าที่แข็งแรงสมบูรณ์กว่า

ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ ได้ทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ 3 วิธี คือ ทดสอบด้วยการเร่งอายุ การหาอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าและการวัดความสูงของต้นกล้า ซึ่งในด้านการเร่งอายุ เป็นการจำลองให้เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและผิวดำที่ผ่านการคลุกด้วยเชื้อ *Macrophomina phaseolina* และผงพืชสมุนไพรต่าง ๆ ให้ได้รับอุณหภูมิสูง และมีความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ ย่อมเป็นการเปิดโอกาสให้เชื้อ *Macrophomina phaseolina* ได้รับปัจจัยที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตโดยที่ผงพืชสมุนไพรต่าง ๆ ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Macrophomina phaseolina* นี้ได้ เมื่อนำมาเพาะทดสอบความงอกพบว่า เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและผิวดำพันธุ์ต่าง ๆ มีเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำมาก เกิดการติดเชื้อทำให้เมล็ดเน่าดำ (seed coat) มีการสร้างเม็ด sclerotia และ pycnidia เป็นจำนวนมาก (Shamsur, 2001) แต่ในขณะที่เกี่ยวกับการหาอัตราการเจริญเติบโตและความสูงของต้นกล้า มีผลที่แตกต่างกันทางสถิติ ถึงแม้ว่าสามารถงอกเป็นต้นกล้าปกติได้ แต่มีจำนวนน้อยและมีอัตราการเจริญเติบโตและความสูงของต้นกล้าลดลง ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า สารสำคัญในผงพืชสมุนไพรมีการสลายตัวและเปลี่ยนแปลงเป็นสารที่ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อเมื่ออยู่บนต้นกล้าดังที่ได้กล่าวมาแล้ว และสอดคล้องกับ Nayak and Behera (1994) ที่กล่าวว่า เชื้อ *Macrophomina phaseolina* เข้าไปจับขบวนการเจริญภายในเซลล์ มีผลทำให้ลดความสูงของต้นกล้า ลดความแข็งแรง ความมีชีวิตของถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ และส่งผลต่อการลดระดับคุณภาพของถั่วงอกอีกด้วย

ลักษณะต้นกล้า เมื่อคลุกเมล็ดด้วยผงพืชสมุนไพรแล้วเปรียบเทียบกับชุดการทดลองควบคุมจะส่งเสริมความงอกให้ได้ต้นกล้าปกติเพิ่มมากขึ้น และยังมีผลต่อต้นกล้าผิดปกติ เมล็ดตาย ที่แตกต่างกันทางสถิติ โดยที่มีผลต่อปริมาณของต้นกล้าผิดปกติและเมล็ดตายได้น้อยลง และพบปริมาณของเมล็ดแข็งและเมล็ดคุดน้ำแต่ไม่งอกในปริมาณที่น้อยลงเช่นกัน ในกรณีที่ได้ต้นกล้าผิดปกติ และเมล็ดตายนี้อาจเกิดจากเชื้อ *Macrophomina phaseolina* เข้าทำลายเมล็ดทันทีที่เมล็ดเริ่มคุดน้ำเพื่อเข้าสู่ขบวนการงอกต่อไป โดยที่เชื้อ *Macrophomina phaseolina* ถ่ายทอดจากเปลือกหุ้มเมล็ด (seed coat) เข้าไปที่ราก ใบเลี้ยง ภายใน 2-4 วัน แล้วติดเชื้อจากใบเลี้ยงไปสู่ลำต้น และใบ ทำให้ได้ต้นกล้าที่มีสีน้ำตาล เน่าและ และหักล้มตายในที่สุด ซึ่งเชื้อ *Macrophomina phaseolina* สร้างเม็ด

sclerotium และ pycnidial อยู่บนเนื้อเยื่อที่ตายและเมื่อต้นถั่วเขียวได้สัมผัสกับดิน เชื้อนี้สามารถเจริญได้ในดินเพื่อเป็นแหล่งของเชื้อในการเข้าสู่วงจรของการเกิดโรคได้เป็นอย่างดี (Gangopadhyay.S. et al., 1970) โดยเฉพาะในถั่วเขียวฝีดำนั้นเป็นพืชที่มีการเจริญเติบโตแบบทอดยอด (indeterminate plant) และเมื่อผลผลิตแก่แล้วสามารถหักกลับในระยะที่เมล็ดสุกแก่ทางสรีรวิทยา ย่อมเป็นโอกาสให้เกิดการติดเชื้อ *Macrophomina phaseolina* ได้ เมื่อนำไปเพาะเป็นถั่วงอกหรือปลูกในแปลงจะส่งผลให้ต้นที่โตเต็มที่ตายได้เนื่องจากเกิดการติดเชื้อในชั้นทุติยภูมิ (secondary infection) แล้วเมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม เชื้อ *Macrophomina phaseolina* จะทำลายต้นพืชอื่น ๆ ที่ปลูกในแปลงนั้น ๆ ต่อไปได้