บทที่ 5
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการตรวจหาเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองทั้ง 4 พันธุ์ คือ เชียงใหม่ 2, เชียงใหม่ 60, สจ. 4 และ สจ. 5 โดยวิธี Blotter method สามารถตรวจพบเชื้อ *Phomopsis longicolla* ซึ่งให้ค่าความถี่ของการตรวจพบที่ใกล้เคียงกัน และพบในปริมาณค่อนข้างต่ำ เมื่อนำเชื้อ *P. longicolla* ที่เกิดบนเมล็ดถั่วเหลืองนำไปเลี้ยงบนอาหาร PDA ลักษณะเส้นใยของเชื้อรามีสีขาวค่อนข้างหยาบ ซึ่งลักษณะที่ได้ตรงกับรายงานของ Hobbs *et al.* (1985) และ Sinclair (1991) ที่รายงานว่า เชื้อ *P. longicolla* ที่แยกได้จากเมล็ดถั่วเหลือง เมื่อเจริญบนอาหาร PDA เส้นใยจะมีลักษณะค่อนข้างแน่นเส้นใยสีขาวเมื่อเจริญประมาณ 2 สัปดาห์ เส้นใยมีสีเข้มขึ้น บางส่วนของเส้นใยเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเขียวในเวลาต่อมา มีการสร้าง stroma สีดำเข้ม conidiomata สีดำ การกระตุ้นการสร้างสปอร์ จากการทดลองพบว่า เชื้อ *P. longicolla* สามารถสร้าง pycnidia ได้ดีที่สุดบนอาหาร PDA ผสมกรด lactic บนอาหาร PDA ปกติเชื้อราสามารถสร้าง pycnidia ได้เช่นกัน แต่ใช้เวลาในการเกิด pycnidia นานกว่าและสร้างในปริมาณที่น้อยกว่าบนอาหาร PDA ผสม lactic acid นอกจากบนอาหาร PDA แล้ว บนอาหาร VA ก็พบการสร้างโครงสร้างสีดำคล้าย pycnidia ฝังอยู่ในอาหาร อาจเป็นไปได้ว่าเนื่องจากในส่วนผสมของอาหาร VA มีส่วนผสมของน้ำผักซึ่งอาจจะมีส่วนประกอบของกรดรวมอยู่ด้วย อาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้การเจริญบนอาหาร VA ให้ผลคล้ายกับการเจริญบนอาหาร PDA ผสมกรด lactic บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอื่น ๆ ไม่พบการสร้าง pycnidia แม้กระทั่งอาหาร SSDA ซึ่งใช้เมล็ดถั่วเหลืองเป็นส่วนผสมในอาหารด้วย ซึ่งผลที่ได้มีส่วนคล้ายกับรายงานของ Kunwar *et al.* (1985) และ Sinclair (1988) ที่รายงานว่า *Phomopsis* spp.ไม่สามารถสร้างสปอร์ได้บนชิ้นส่วนของถั่วเหลืองที่แก่หรือตายแล้วจากสภาพแปลง หรือต้นถั่วเหลืองในระยะสุดท้ายของการปลูก และเชื้อสามารถสร้างสปอร์ได้บนอาหารผสมกรดลงไป เช่น กรด ferulic, coniferol และ vanillin

การศึกษาสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *P. longicolla* พบว่าในสภาพการให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซ้นต์ 12 ชั่วโมงสลับมืดและสภาพมืดตลอดเวลาให้การเจริญของโคโลนีของเชื้อ *P. longicolla* เร็วที่สุด ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับรายงานของ Sinclair (1988) ว่า *Phomopsis* spp. เจริญได้ดีในอุณหภูมิ 15 – 30 องศาเซลเซียส แต่เหมาะสม

ที่สุดคือ ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส และในสภาพที่ได้รับแสงสลับมืด 12 ชั่วโมง หรือสภาพมืดตลอดเวลาก็สามารถกระตุ้นการเจริญของเชื้อได้ นอกจากสภาพแสงทั้ง 2 แล้ว จากกรรมวิธีที่ให้แสง Near Ultraviolet (NUV) แก่เชื้อรา 12 ชั่วโมงสลับแสงจากหลอดฟลูออเรสเซ้นต์ ก็ให้ผลใกล้เคียงกับการเจริญในสภาพมืดตลอดเวลา สอดคล้องกับรายงานของ Leach (1971) ว่าแสง Ultraviolet (UV) และ NUV ที่มีความยาวคลื่นระหว่าง 300-380 นาโนเมตร สามารถกระตุ้นการสร้างสปอร์ของเชื้อราในกลุ่มของ *Diaporthe phaseolorum* และกลุ่มใกล้เคียงได้ จากการทดลองพบว่าการกระตุ้นการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *P. longicolla* ค่อนข้างยาก ใช้ระยะเวลานานในการสร้างสปอร์และสร้างสปอร์ในปริมาณที่น้อย ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่านอกจากปัจจัยของอาหารและสภาพแสงแล้ว อาจมีปัจจัยอื่น ๆ ที่เข้ามามีส่วนเกี่ยวข้องด้วย เช่น ระยะเวลาที่เหมาะสมที่จะให้แสงแก่เชื้อรา ,อุณหภูมิ, วัสดุที่ใช้ทำจานอาหาร (Petri dish) หรือแม้กระทั่งระยะห่างระหว่างแหล่งกำเนิดแสงกับเชื้อราและความเข้มแสงก็อาจมีส่วนเช่นกัน

การศึกษาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อราต่อความงอกและความแข็งแรงของต้นกล้า พบว่าในถั่วเหลืองทั้ง 4 พันธุ์ พบว่าเชื้อรา *P. longicolla* มีผลต่อความงอกและความแข็งแรงของต้นกล้า ซึ่งทำให้ความงอก,อัตราการเจริญของต้นกล้าลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Pathan *et al.* (1989) ,Zimmerman and Harry (1993) และ TeKrony *et al.* (1996) ที่รายงานว่า เชื้อ *P. longicolla* เป็นสาเหตุหลักอีกประการหนึ่งที่ทำให้ความงอกของเมล็ดถั่วเหลืองลดลง และนอกจากความงอกลดลงแล้ว Hepperly and Sinclair (1988) และ Anderson *et al.* (1995) รายงานว่า คุณภาพของเมล็ดถั่วเหลืองก็ลดลงด้วย ตัวอย่างเช่น เมล็ดมีขนาดเล็กกว่าปกติ ปริมาตรของเมล็ดลดลง ความหนาแน่นต่ำกว่าปกติ ให้น้ำมันและแป้ง คุณภาพต่ำ ความแข็งแรงและความมีชีวิตของต้นกล้าต่ำกว่าเมล็ดปกติ และสอดคล้องกับรายงานของ Kmetz *et al.* (1979) และ Zorrilla *et al.* (1994) ว่าเมล็ดถั่วเหลืองที่ถูกเชื้อ *P. longicolla* เข้าทำลาย เมื่อทดสอบทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและในสภาพแปลง พบว่าความงอกของเมล็ดและความมีชีวิตของต้นกล้าลดลง แม้กระทั้งการนำไปปลูกในแปลงก็ให้ผลเช่นเดียวกัน

จากการทดสอบการป้องกันกำจัดเชื้อรา *P. longicolla* โดยสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา ในส่วนของการทดสอบความสามารถในการควบคุมเชื้อรา *P. longicolla* ในห้องปฏิบัติการ โดยเลี้ยงเชื้อ *P. longicolla* บนอาหาร PDA ผสมสารเคมี 4 ชนิด คือ Benlate OD (benomyl), Daconil (chlorothalonil), Facine F (carbendazim) และ Orthocide (captan)

ที่ 3 ความเข้มข้น คือต่ำกว่าอัตราแนะนำ 0.5 เท่า, อัตราแนะนำ ตามฉลากและสูงกว่าอัตราแนะนำ 0.5 เท่า จากการทดสอบสามารถแบ่งสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่เชื้อรา *P. longicolla* ไม่สามารถเจริญได้เลยคือ Benlate OD และ Facine F ทุกความเข้มข้นแม้แต่ความเข้มข้นที่ต่ำกว่าอัตราแนะนำ 0.5 เท่า และสารเคมีอีกกลุ่มคือ กลุ่มที่สามารถยับยั้งการเจริญได้ เชื้อรา *P. longicolla* สามารถเจริญได้แต่ให้โคโลนีของ *P. longicolla* ที่ผิดปกติ

เมื่อนำสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา 4 ชนิด และทุกความเข้มข้นฉีดพ่นถั่วเหลืองในแปลงปลูก ที่ระยะ R3 และ R5 นำเมล็ดถั่วเหลืองที่เก็บเกี่ยวได้มาเพาะโดยวิธี Blotter method พบว่าในถั่วเหลืองทั้ง 4 พันธุ์ และการฉีดพ่นสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราทั้ง 2 ระยะ พบปริมาณ *P. longicolla* น้อยกว่าชุดที่ปลูกเชื้อและไม่ฉีดพ่นสารเคมี ซึ่งถือได้ว่าสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราทั้ง 4 ชนิด ในทุกระดับความเข้มข้น สามารถควบคุมการเข้าทำลายของ *P. longicolla* ได้ ให้ผลสอดคล้องกับรายงานของ Ellis *et al.* (1975) ที่คลุกเมล็ดด้วยสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา 3 ชนิด คือ captan, thiram และ benomyl พบว่าสามารถระงับการเข้าทำลายเมล็ดโดยเชื้อ *P. longicolla* ได้ และสามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดชุดที่มีความงอกต่ำและติดเชื้อในระดับสูงได้ และรายงานของ TeKrony *et al.* (1985) และ TeKrony *et al.* (1996) ที่รายงานว่าฉีดพ่น benomyl ที่การเจริญเติบโต ระยะ R3 และ R5 สามารถลดการเกิดเชื้อรา *P. longicolla* บนเมล็ดถั่วเหลืองได้

การทดสอบเบื้องต้นการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. และ *Gliocladium* sp. ต่อเชื้อ *P. longicolla* พบว่าเชื้อราปฏิปักษ์ทั้ง 4 ชนิด คือ *Trichoderma hamatum*, *T. hazianum*, *T. viride* และ *Gliocladium virens* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อบนอาหาร PDA ได้ แต่เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอยู่ในระดับต่ำ เชื้อราปฏิปักษ์ทั้ง 4 ชนิด ทำให้เส้นใยของเชื้อรา *P. longicolla* ที่เจริญเข้าหาเชื้อราปฏิปักษ์จะหยุดการเจริญ ขอบโคโลนีเป็นเส้นตรง เมื่อผ่านไประยะหนึ่งปลายเส้นใยของเชื้อ *P. longicolla* ที่เจริญชนกับเชื้อราปฏิปักษ์จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม ซึ่งคล้ายกับการรายงานของจีระเดช และวรรณวิไล (2542) ที่กล่าวว่า เชื้อรา *Trichoderma* มีกลไกต่อสู้กับเชื้อโรค 3 แบบ คือ การแข่งขันกับเชื้อโรค การเป็นปรสิตและการสร้างสารปฏิชีวนะ เพื่อหยุดยั้งหรือทำลายเส้นใยของเชื้อโรคได้ สาเหตุของการที่ปลายเส้นใยของเชื้อ *P. longicolla* ที่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอาจจะเนื่องจากการสูญเสียของเหลวในเซลล์ จากการที่เชื้อราปฏิปักษ์ดูดกินของเหลวภายในเส้นใย หรือเกิดสารบางอย่างที่เชื้อราปฏิปักษ์สร้างขึ้นเพื่อทำลายเชื้อราสาเหตุก็ได้ การศึกษาการเข้าทำลายเชื้อราสาเหตุโดยเชื้อรา

ปฏิปักษ์โดยวิธี Dual Slide Culture พบว่าเส้นใยของเชื้อราปฏิปักษ์สามารถแทงทะลุเส้นใยของเชื้อ *P. longicolla* เข้าไปเจริญภายในได้ ซึ่งคล้ายกับรายงานของ Lewis and Papavias (1991) และ Bertagnolli *et al.* (1995) ที่กล่าวว่า เชื้อราปฏิปักษ์สามารถเข้าไปเจริญในเชื้อราสาเหตุ และเกิดปฏิกิริยาของการดูดซับของเหลวของเชื้อราสาเหตุ และมีการปล่อยเอนไซม์บางชนิดออกมา เช่น protease, pectinase หรือ lipase เป็นต้น

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University