

#### บทที่ 4

##### ผลการทดลอง

#### 1. การตรวจหาชนิดและปริมาณของเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

จากการตรวจหาชนิดและปริมาณของเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ทั้ง 6 พันธุ์ ด้วยวิธี Blotter method พบว่ามีเชื้อราติดมากับเมล็ดทั้งหมด 12 genus 20 species ได้แก่ *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium* sp., *Colletotrichum truncatum*, *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Fusarium* spp. (5 Isolate), *Macrophomina phaseolina*, *Penicillium* sp., *Phomopsis* sp., *Chaetomium* sp., *Cercospora* sp., *Myrothecium* sp. และ *Trichoderma* sp. ในถั่วเหลืองแต่ละพันธุ์พบทั้งชนิดและปริมาณของเชื้อราแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2 เมื่อเปรียบเทียบเชื้อรา *Colletotrichum truncatum* ในถั่วเหลืองแต่ละพันธุ์พบว่าปริมาณ 0-2.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในพันธุ์ ชม.2 มีปริมาณเชื้อรา *Colletotrichum truncatum* มากที่สุด คือ 2.00 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างจากถั่วเหลืองอีก 5 พันธุ์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเปรียบเทียบเชื้อราแต่ละชนิดพบว่าในพันธุ์ ชม.1 มีปริมาณเชื้อรา *Cladosporium* sp. (38.25 เปอร์เซ็นต์) มากที่สุด พันธุ์ ชม.2 พบเชื้อรา *Cercospora* sp. (8.75 เปอร์เซ็นต์) มากที่สุด พันธุ์ ชม.60 พบเชื้อรา *Penicillium* sp. (40.00 เปอร์เซ็นต์) มากที่สุดในพันธุ์ สจ.4 พบ เชื้อรา *Aspergillus niger* (4.50 เปอร์เซ็นต์), *Cladosporium* sp. (3.50 เปอร์เซ็นต์), *Penicillium* sp. (3.25 เปอร์เซ็นต์) และ *Curvularia* sp. (2.75 เปอร์เซ็นต์) มากที่สุด แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ พันธุ์ สจ.5 พบเชื้อรา *Macrophomina phaseolina* (9.00 เปอร์เซ็นต์) มากที่สุด และ พันธุ์คอกคำ พบเชื้อรา *Cladosporium* sp. (10.25 เปอร์เซ็นต์) มากที่สุด ส่วนความงอกของเมล็ดถั่วเหลือง พบว่า พันธุ์ ชม.2 และ สจ.5 มีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงที่สุด (97 เปอร์เซ็นต์) และพันธุ์ ชม.1 มีเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำสุด (68 เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่ 2)

#### 2. ผลการศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อราบางชนิดที่แยกได้จากเมล็ดถั่วเหลือง

จากการศึกษาเชื้อราหลายชนิดที่ตรวจพบบนเมล็ดถั่วเหลือง รวมทั้งลักษณะการเจริญบนอาหาร PDA ของเชื้อราแต่ละชนิดที่แยกได้ และลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์แตกต่างกันดังนี้

ตารางที่ 2 ชนิดและปริมาณของเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวกล้องและเปอร์เซ็นต์ความงอกของถั่วเหลือง 6 พันธุ์ ที่ตรวจโดยวิธีเพาะบนกระดาษขึ้น

เชื้อรา	ปริมาณเชื้อราบนเมล็ดถั่วเหลืองแต่ละพันธุ์ (%) <sup>1</sup>							LSD (p=0.05)
	ทม.1	ทม.2	ทม.60	ตจ.4	ตจ.5	คยค่า		
<i>Aspergillus flavus</i>	16.25 a (B) 2	2.25 c (BCD)	3.00 bc (BC)	2.25 c (BC)	5.25 b (B)	4.50 bc (BC)	2.71	
<i>Aspergillus niger</i>	1.50 bc (D)	3.50 ab (BC)	1.25 bc (C)	4.50 a (A)	3.50 ab (BCD)	1.00 c (DE)	2.49	
<i>Cladosporium</i> sp.	38.25 a (A)	1.25 b (BCD)	1.00 b (C)	3.50 b (AB)	1.50 b (CDE)	10.50 b (A)	11.58	
<i>Colletotrichum truncatum</i>	0 c (D)	2.00 a (BCD)	0.50 bc (C)	0.25 bc (CD)	0 c (E)	1.00 b (DE)	0.97	
<i>Curvularia</i> sp.	12.00 a (BC)	4.00 b (B)	0.50 b (C)	2.75 b (AB)	4.00 b (BC)	2.00 b (CDE)	7.96	
<i>Fusarium</i> sp.	4.75 ab (CD)	2.00 bc (BCD)	3.25 ab (BC)	0 c (D)	2.25 bc (BCDE)	6.00 a (B)	3.21	
<i>Fusarium</i> spp. (5 isolate)	6.00 c (CD)	0.50 b (CD)	1.00 b (C)	0.25 b (CD)	2.00 b (BCDE)	2.50 b (CDE)	2.94	
<i>Macrophomina phaseolina</i>	0 c (D)	3.75 bc (BC)	6.00 ab (BC)	0 c (D)	9.00 a (A)	3.50 bc (BCD)	4.8	
<i>Penicillium</i> sp.	2.25 b (D)	1.00 b (BCD)	40.00 a (A)	3.25 b (AB)	1.75 b (CDE)	0.50 b (E)	9.34	
<i>Phomopsis</i> sp.	0.75 ab (D)	2.75 a (BCD)	3.25 a (BC)	0 c (D)	2.25 ab (BCDE)	1.75 ab (DE)	2.71	
<i>Chaetomium</i> sp.	0 c (D)	4.00 ab (B)	4.50 a (BC)	0.50 c (CD)	1.00 c (CDE)	1.25 bc (DE)	2.77	
<i>Cercospora</i> sp.	11.25 a (BC)	8.75 ab (A)	7.75 ab (B)	0 c (D)	1.25 c (CDE)	4.50 bc (BC)	5.88	
<i>Myrothecium</i> sp.	0.25 a (D)	1.00 a (BCD)	0.50 a (C)	0 a (D)	0.50 a (DE)	0 a (E)	1.25	
<i>Trichoderma</i> sp.	0 a (D)	1.00 a (D)	0.25 a (C)	0 a (D)	0.25 a (DE)	0 a (E)	0.43	
LSD (p=0.05)	8.2	3.42	6.18	2	3.36	2.71		
ความงอก (%)	68	97	94	95	97	92		

1 ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ๆ ละ 100 เมล็ด  
 2 ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี LSD ที่ความเชื่อมั่น 95% (ตัวอักษรนอกวงเล็บเปรียบเทียบกับจำนวนคน ในวงเล็บเปรียบเทียบกับแบบวงตั้ง)

### 2.1 *Aspergillus flavus*

บนเมล็ดถั่วเหลืองพบกลุ่มของ conidiophore และ conidia เจริญขึ้นบนเมล็ดอย่างบาง ๆ หรือปกคลุมเมล็ดอย่างหนาแน่นจนทำให้เมล็ดไม่งอก โดยเชื้อราสร้าง conidiophore และ conidia ที่เขียวปนเหลือง กลุ่ม conidia เกิดส่วนปลายของ conidiophore ที่เจริญโป่งออกเป็นโครงสร้างที่เรียกว่า vesicle กลุ่ม conidia ที่เจริญบนส่วนปลายของ conidiophore มีรูปร่างหลายแบบ แต่ละกลุ่มเรียกว่า conidial head ซึ่งมีทั้งรูปร่างกลมเป็นแท่งหลวม ๆ หรือแตกออกเป็นแฉกเมื่อเลี้ยงเชื้อราบนอาหาร PDA ประมาณ 1-2 วัน พบเส้นใยสีเขียวเจริญราบริบไปบนอาหาร ต่อมาพบว่าเชื้อเริ่มสร้าง conidia มีสีเหลืองอมเขียว ซึ่งมีการเจริญเป็นวงซ้อนกันออกไปโดยมีขอบโคโลนีสีขาว ส่วนด้านใต้จานอาหารมีสีเทาออกเขียว โดยเชื้อใช้เวลา 7 วัน จึงเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ conidiophore มีลักษณะตรง เกิดเดี่ยว ๆ ไม่มีสี ผนังหนา vesicle รูปร่างกลม มี phialide ที่ปลายโคจรอบผิวของ vesicle และ conidia รูปร่างกลมมีสีเขียวอ่อนปนเหลืองมีเซลล์เดี่ยว ผนังขรุขระ (ภาพที่ 2)

### 2.2 *Aspergillus niger*

บนเมล็ดมีลักษณะการเจริญคล้าย ๆ กับ *A. flavus* แต่กลุ่มของ conidial head มีสีน้ำตาลเข้มหรือสีดำ อาจมีรูปร่างกลมหรือแตกเป็นแฉก ๆ และส่วนใหญ่ขนาดของ conidial head ใหญ่กว่า *A. flavus* สำหรับการเจริญบนอาหารมีลักษณะการเจริญคล้ายกับ *A. flavus* โดยพบเส้นใยสีเขียวเจริญราบริบไปบนอาหาร ในช่วง 1-2 วัน หลังเลี้ยงเชื้อบนอาหาร PDA และต่อมาเชื้อเริ่มสร้าง conidia มีสีดำ เจริญเป็นวงซ้อนกันและมีขอบ โคโลนีสีขาวและด้านใต้จานอาหารมีสีขาวเทา โดยใช้เวลาประมาณ 7 วัน เจริญเต็มจานอาหาร ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์คล้าย ๆ กับ *A. flavus* แต่กลุ่มของ conidial head มีสีดำ vesicle รูปร่างกลม conidiophore ใสไม่มีสี ส่วน sterigma เป็นแบบสองชั้น conidia รูปร่างกลมสีน้ำตาลเข้ม มีเซลล์เดี่ยว (ภาพที่ 3)



A

B



C

ภาพที่ 2 ลักษณะการเจริญบนเมล็ดถั่วเหลือง ลักษณะโคโลนีและลักษณะของเชื้อรา *Aspergillus flavus* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

A= ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* บนเมล็ดถั่วเหลือง

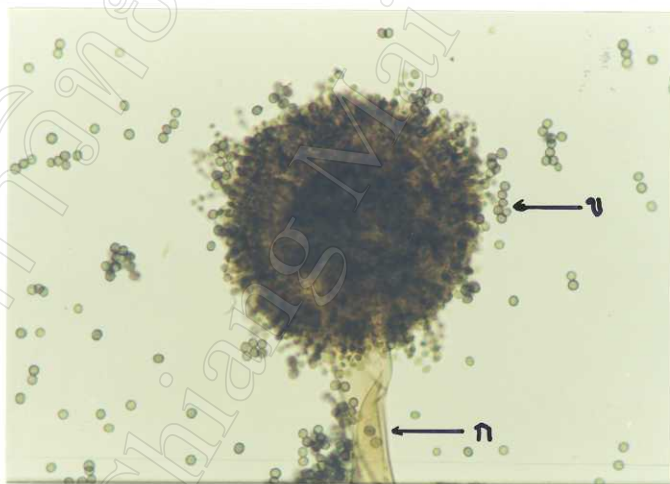
B= ลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อายุ 7 วัน

C= ลักษณะ conidiophore (ก) และ conidia (ข) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (x400)



A

B



C

ภาพที่ 3 ลักษณะการเจริญบนเมล็ดถั่วเหลือง ลักษณะ โคลินีและลักษณะของเชื้อรา

*Aspergillus niger* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

A= ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus niger* บนเมล็ดถั่วเหลือง

B= ลักษณะ โคลินีของเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อายุ 7 วัน

C= ลักษณะ conidiophore (ก) และ conidia (ข) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (x400)

### 2.3 *Cladosporium* sp.

บนเมล็ดคั่วเหลืองเชื้อราสร้าง mycelium, conidiophore และ conidia ขึ้นปกคลุมผิวของเมล็ดเห็นเป็นสีน้ำตาลอ่อนถึงน้ำตาล conidiophore ขาวเป็นก้อนเดี่ยว ๆ หรือแตกกิ่งก้านก็ได้ ซึ่งตรงส่วนปลายเป็น conidia ที่เจริญเป็นกลุ่ม ๆ ลักษณะการเจริญบนอาหาร PDA มีการเจริญที่ช้ามาก พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อได้ประมาณ 3-4 วัน เชื้อราเริ่มสร้างเส้นใย สีขาวเรียบเจริญออกมา หลังจากนั้นเปลี่ยนเป็นสีเขียวมะกอกเข้มถึงดำ ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ conidia มีสีใสถึงสีน้ำตาล ผงเรียบ เชลล์เดี่ยว มีรูปร่างทรงกระบอก หัวท้ายมนแต่อาจมีลักษณะรูปร่างได้หลายแบบ เช่น cylindrical, ellipsoidal, sphaerical, ovoid และ subsphaerical ส่วน conidiophore มีสีเข้มและมีผนังกันตรงและมี nodose คือ จะโป่งพอง (swelling) ที่ปลาย (terminal) และระหว่างข้อ (intercalary) (ภาพที่ 4)

### 2.4 *Colletotrichum truncatum*

เชื้อราสร้าง acervulus บนผิวเมล็ดคั่วเหลือง ซึ่งเป็นโครงสร้างพิเศษของเชื้อราที่สร้างขึ้นเพื่อให้กำเนิดสปอร์ acervulus นี้อาจเกิดเดี่ยว ๆ หรือเกิดรวมเป็นกลุ่ม บน acervulus แต่ละอันจะมี setae สีน้ำตาลดำมีลักษณะคล้ายหนามแหลมรูปร่างแบบโคนใหญ่ปลายแหลม (trichiform) ขึ้นปะปนอยู่และมีขนาดยาวกว่ากลุ่ม conidia (slime mass) ซึ่งมีสี ขาวขุ่นหรือสีเหลืองอ่อนอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งโดยทั่วไปแล้วเชื้อราชนิดนี้ไม่ค่อยพบเส้นใยเจริญบนเมล็ด พบแต่โครงสร้าง acervulus เท่านั้น เมื่อเลี้ยงเชื้อราบนอาหาร PDA ประมาณ 2 วัน เชื้อราสร้างเส้นใยสีขาวเจริญราบเรียบไปบนอาหาร ต่อมาเส้นใยเปลี่ยนเป็นสีเทาเข้มถึงดำและขอบโคโลนีมีสีขาว มีลักษณะการเจริญของเส้นใยซ้อนกันเป็นวง เชื้อรามีการเจริญที่ค่อนข้างช้า โดยใช้เวลาประมาณ 8-9 วัน จึงเจริญเต็มจานอาหาร และสร้าง conidia mass สีขาวขุ่นในเวลาต่อมา และเมื่อนำ mass ไปตรวจดูลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบ conidium รูปร่างจันทร์ครึ่งเสี้ยวคล้ายเคียว (fusoid) สีใสเชลล์เดี่ยวหัวท้ายเรียวเล็ก (ภาพที่ 5)



A

B



C

ภาพที่ 4 ลักษณะการเจริญบนเมล็ดถั่วเหลือง ลักษณะโคโลนีและลักษณะของเชื้อรา

*Cladosporium* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

A= ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Cladosporium* sp. บนเมล็ดถั่วเหลือง

B= ลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อายุ 14 วัน

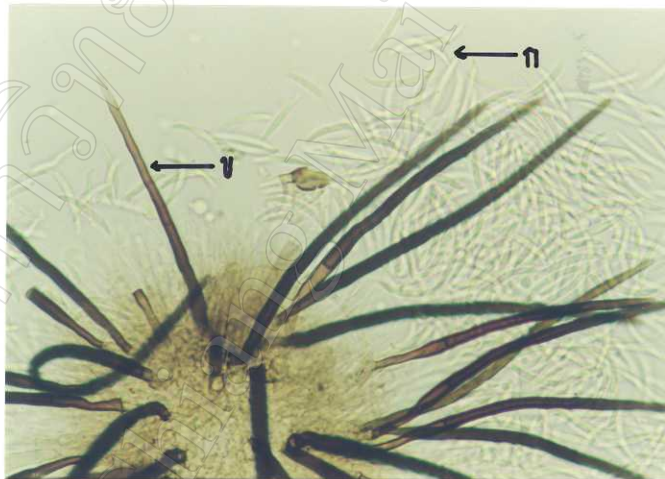
C= ลักษณะ conidiophore (ก) และ conidia (ข) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (x400)





A

B



C

ภาพที่ 5 ลักษณะการเจริญบนเมล็ดถั่วเหลือง ลักษณะโคโลนีและลักษณะของเชื้อรา

*Colletotrichum truncatum* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

A= ลักษณะการเจริญของ acervulus ของเชื้อรา *C. truncatum* บนเมล็ดถั่วเหลือง

B= ลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อายุ 12 วัน

C= ลักษณะ conidia (ก) และ seta (ข) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (x400)



### 2.5 *Curvularia* sp.

บนเมล็ดเชื้อสร้าง conidiophore และ conidia สีน้ำตาลเข้มถึงดำชั้นคลุมเมล็ดเห็นเป็นมัน conidiophore เกิดเดี่ยว ๆ รูปร่างเรียวยาวสี่เหลี่ยม หรือเกิดเป็นกลุ่ม และ conidia มี สีน้ำตาลเข้มถึงดำเป็นกลุ่มบนส่วนปลายหรือด้านข้างของ conidiophore และรูปร่างของ conidia มีได้หลายแบบ เช่น clavate, ellipsoidal หรือ geniculate, barnel shape และ fusiform เป็นต้น ภายหลังจากเลี้ยงบนอาหาร PDA ได้ 1-2 วัน พบเส้นใยสีขาวฟูเล็กน้อย ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีเทาเข้ม และขอบโคโลนีมีสีขาวโดยเส้นใยเจริญเป็นวงซ้อนกันออกไป และเจริญเต็มจานอาหารใช้เวลาประมาณ 6-7 วัน ลักษณะของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบ conidiophore สีน้ำตาลเข้ม มี 4 เซลล์ ผนังเรียบ รูปร่าง clavate เซลล์ตรงกลางใหญ่และมีสีเข้ม (ภาพที่ 6)

### 2.6 *Fusarium semitectum* (*Fusarium* sp. Isolate 5 )

บนเมล็ดถั่วเหลืองเชื้อราสร้างเส้นใย กลุ่มของ conidiophore และ conidia เป็นกลุ่มบาง ๆ สีขาวฟูคลุมผิวเมล็ด ซึ่งอาจเป็นสีขาวปนเทาหรือเหลืองอ่อนและพบว่าเมล็ดถั่วเหลืองที่ถูกเชื้อราขึ้นปกคลุมผิวเมล็ดหนาแน่นทำให้เมล็ดไม่งอก เมื่อนำเส้นใยของเชื้อรามาเลี้ยงบนอาหาร PDA ประมาณ 1 วัน จะปรากฏเส้นใยสีขาวฟูเล็กน้อยและขอบโคโลนีสีขาวเจริญแผ่รัศมี และเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่อน เมื่ออายุได้ประมาณ 5 วัน และเจริญเต็มจานอาหารเมื่ออายุประมาณได้ 6-7 วัน ส่วนลักษณะของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบ macroconidia รูปร่างโค้งเล็กน้อย ขาวเรียบหรือเป็นแบบ clavate ไม่มีสีและมีหลายเซลล์ (ภาพที่ 7) และได้จำแนกชนิดของเชื้อราโดยกรอกข้อมูลลงในแบบฟอร์ม *Fusarium* Interactive Key ผลปรากฏว่าเป็นเชื้อรา *Fusarium semitectum* (Percent matches 73.7%) (ภาคผนวก ก)

### 2.7 *Fusarium* spp.

พบเส้นใยบนเมล็ดมีลักษณะฟูสีขาว (มากกว่า *Fusarium semitectum*) และเปลี่ยนเป็นสีขาวเทาหรือขาวปนชมพู (ภาพที่ 8) และเมล็ดที่มีเชื้อราชนิดนี้ขึ้นปกคลุมเมล็ดหนาแน่นมักทำให้เมล็ดไม่งอกเช่นเดียวกับ *Fusarium semitectum* และเมื่อเก็บเส้นใยของเชื้อราไปเลี้ยงบนอาหารพบลักษณะ colony ของเชื้อราบนอาหาร PDA แตกต่างกัน 5 ลักษณะดังนี้



A

B



C

ภาพที่ 6 ลักษณะการเจริญบนเมล็ดข้าวเหลือง ลักษณะ โคลินีและลักษณะของเชื้อรา

*Curvularia* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

A= ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Curvularia* sp. บนเมล็ดข้าวเหลือง

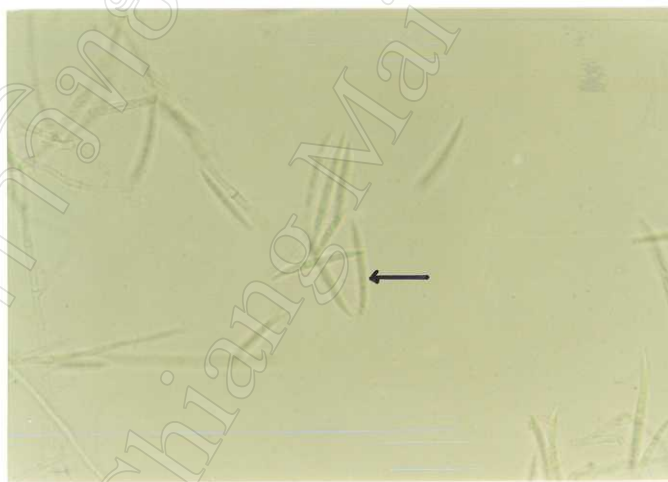
B= ลักษณะ โคลินีของเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อายุ 7 วัน

C= ลักษณะ conidiophore (ก) และ conidia (ข) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (x400)



A

B



C

ภาพที่ 7 ลักษณะการเจริญบนเมล็ดข้าวเหลือง ลักษณะโคโลนีและลักษณะของเชื้อรา

*Fusarium semitectum* (*Fusarium* sp. Isolate 5) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

A= ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Fusarium semitectum* บนเมล็ดข้าวเหลือง

B= ลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อายุ 8 วัน

C= ลักษณะ macroconidia ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (x400)



ภาพที่ 8 ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* sp. บนเมล็ดถั่วเหลือง

1. *Fusarium* sp. Isolate 1

เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA ประมาณ 1 วัน เชื้อเริ่มสร้างเส้นใยสีขาวฟูเล็กน้อย มีการเจริญค่อนข้างเร็ว และใช้เวลาประมาณ 5 วัน เชื้อเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และเมื่อตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบ conidia แบบ fusiform หรือ clavate ใส ไม่มีสี macroconidia มี 2-6 เซลล์ รูปเคียวมีสีใส microconidia มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว ใส ไม่มีสี (ภาพที่ 9)

2. *Fusarium* sp. Isolate 2

เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA ได้ 1-2 วัน เชื้อราสร้างเส้นใยสีขาวราบเรียบเจริญออกมาหลังจากนั้นประมาณวันที่ 4-5 เส้นใยฟูเล็กน้อยและมีสีชมพูเข้ม และเจริญเต็มจานอาหารโดยใช้เวลาประมาณ 6-7 วัน และเมื่อตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบ macroconidia แบบ fusiform และคันแปรได้ ไม่แน่นอน (ภาพที่ 10)

3. *Fusarium* sp. Isolate 3

หลังเชื้อเชื้อมาเลี้ยงบนอาหาร PDA พบว่าเชื้อมีการเจริญที่ช้ามากโดยหลังวางเชื้อได้ 2 วัน เริ่มเห็นเส้นใยเจริญออกมามีสีขาวอมเหลือง เส้นใยรวมตัวกันแน่น ฟู ด้านใต้จานอาหารมีสีเหลืองอ่อน และเมื่อดูลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบ macroconidia แบบ fusiform โค้งเล็กน้อย microconidia รูปไข่ยาวรี (ภาพที่ 11)



A

B

ภาพที่ 9 ลักษณะโคโลนีและลักษณะ conidia ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของเชื้อรา

*Fusarium sp. Isolate 1*

A = ลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อายุ 8 วัน

B = ลักษณะ macroconidia (ก) และ microconidia (ข) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (x400)



A

B

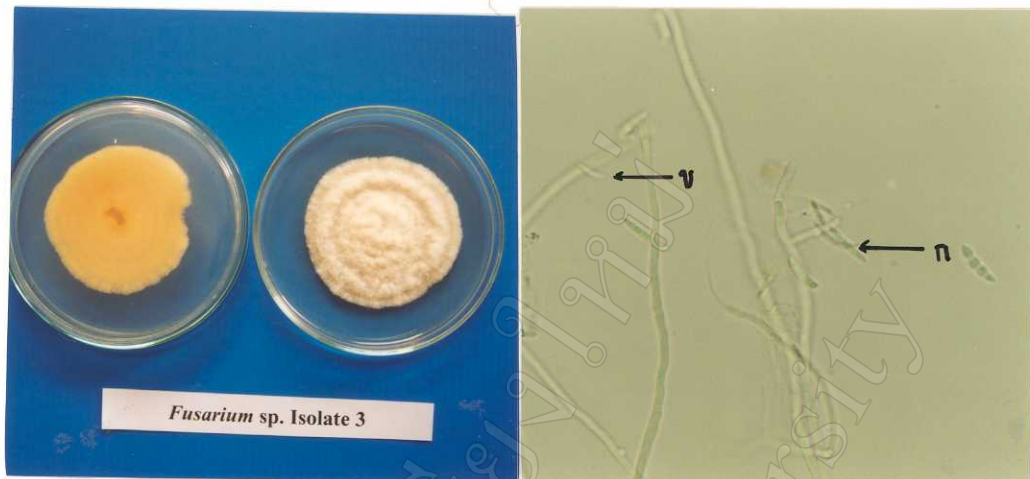
ภาพที่ 10 ลักษณะโคโลนีและลักษณะ conidia ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของเชื้อรา

*Fusarium sp. Isolate 2*

A = ลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อายุ 8 วัน

B = ลักษณะ macroconidia ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (x400) (ลูกศรชี้)





A

B

ภาพที่ 11 ลักษณะโคโลนีและลักษณะ conidia ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของเชื้อรา

*Fusarium* sp. Isolate 3

A = ลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อายุ 8 วัน

B = ลักษณะ macroconidia (ก) และ microconidia (ข) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์(x400)

#### 4. *Fusarium* sp. Isolate 4

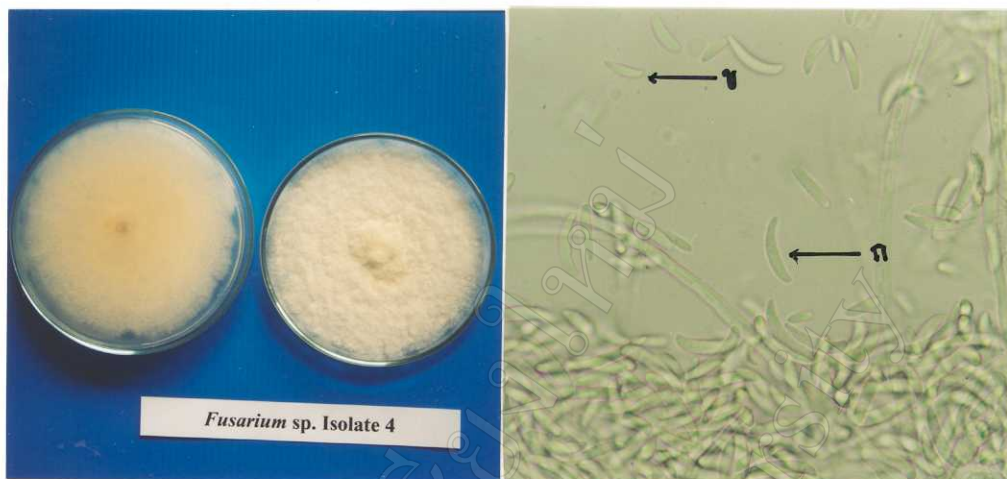
เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA ได้ประมาณ 1 วัน เชื้อเริ่มสร้างเส้นใยสีขาว เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ และใช้เวลาประมาณ 9 วัน จึงเจริญเต็มจานอาหาร ลักษณะเส้นใยมีสีขาวอัดตัวกันแน่น ด้านใต้จานอาหารเป็นสีขาวถึงสีครีมและลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบ conidia แบบ fusiform หรือ clavate โค้งเล็กน้อย ส่วนปลายและฐานมนหรือทู่ microconidia เป็นรูปไข่ (ภาพที่ 12)

#### 5. *Fusarium* sp. Isolate 6

เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA ได้ 1 วัน เชื้อราเริ่มสร้างเส้นใยสีขาวเจริญออกมาราบเรียบไปกับอาหารและเจริญเต็มจานอาหารโดยใช้เวลา 6 วัน เมื่อตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบ macroconidia สั้นแบบ fusiform และไม่พบ microconidia (ภาพที่ 13)

ได้จำแนกชนิดของเชื้อรา *Fusarium* sp. Isolate 1-4 โดยทำการกรอกข้อมูลลงในแบบฟอร์ม Fusarium Interactive Key ผลปรากฏดังนี้ *Fusarium* sp. Isolate 1 เป็นเชื้อรา *F. moniliforme* (Percent matches 88.2%), *Fusarium* sp. Isolate 4 เป็นเชื้อรา *F. solani* (Percent matches 77.8%), *Fusarium* sp. Isolate 3 เป็นเชื้อรา *F. oxysporum* (Percent matches 90.0%) และ *Fusarium* sp. Isolate 2 เป็นเชื้อรา *F. equiseti* (Percent matches 77.8%) (ภาคผนวก ก)





A

B

ภาพที่ 12 ลักษณะโคโลนีและลักษณะ conidia ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของเชื้อรา

*Fusarium* sp. Isolate 4

A= ลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อายุ 8 วัน

B=ลักษณะ conidia (ค) และ microconidia (ข) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (x400)



A

B

ภาพที่ 13 ลักษณะโคโลนีและลักษณะ conidia ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของเชื้อรา

*Fusarium* sp. Isolate 6

A = ลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อายุ 8 วัน

B = ลักษณะ macroconidia ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (x400) (ลูกศรชี้)

### 2.8 *Macrophomina phaseolina*

บนเมล็ดหรือฝักตัวอยู่ใต้ epidermis ของเมล็ดถั่วเหลือง pycnidium มีลักษณะรูปร่างคล้ายคนโท มีปากเปิดตรงส่วนหัวเรียกว่า ostiole และถ้าเมล็ดมี pycnidium เจริญอยู่มากและขึ้นปกคลุมเมล็ดหนาแน่น พบว่าเมล็ดนั้นไม่สามารถงอกได้ ภายใน pycnidium พบ conidia รูปไข่ เซลล์เดี่ยวสีใสและผนังเรียบ และพบว่าการเจริญบนอาหาร PDA ได้เร็วมากใช้เวลาเพียง 3 วัน ก็สามารถเจริญได้เต็มจานอาหาร โดยพบว่า ในวันที่ 1 เชื้อราสร้างเส้นใยสีขาวเทาฟูเล็กน้อย ซึ่งต่อมาเส้นใยจะเปลี่ยนเป็นสีเทาดำ (ภาพที่ 14) หลังจากนั้นจะเริ่มสร้างเม็ด sclerotium เล็ก ๆ สีดำ

### 2.9 *Phomopsis* sp.

พบ pycnidium เจริญอยู่บนผิวหรือฝักตัวอยู่ในเนื้อเยื่อเมล็ด และ pycnidium มีลักษณะใหญ่กว่า *Macrophomina phaseolina* และส่วนคอ (ostiole) ยาวกว่า และพบว่าการสร้างเส้นใยสีขาวขึ้นปะปนอย่างหนาแน่นบนเมล็ด ทำให้เมล็ดเน่าหรือไม่สามารถงอกได้เมื่อเลี้ยงเชื้อราบนอาหาร PDA ได้ประมาณ 1 วัน พบว่าเชื้อราจะสร้างเส้นใยสีขาวราบเรียบไปบนอาหารและมีการเจริญที่เร็ว ใช้เวลาประมาณ 4-5 วัน เจริญเต็มจานอาหาร และเมื่อเชื้อรามีอายุมากขึ้นประมาณ 7-8 วัน เกิดจุดสีดำเล็ก ๆ และอายุประมาณ 20-21 วัน จึงสร้าง สปอร์ลักษณะ conidia มีสีใส (hyaline) เป็นรูปไข่หรือ fusoid (alpha conidia) (ภาพที่ 15)

### 2.10 *Penicillium* sp.

พบเชื้อรานี้เจริญอยู่เดี่ยว ๆ หรือรวมเป็นกลุ่มบนผิวของเมล็ดถั่วเหลือง เห็นเป็นสีเทาอ่อนถึงสีเขียวอ่อน ซึ่ง conidia เจริญอยู่บนส่วนปลายของ phialide ที่เจริญมาจาก conidiophore ของแต่ละเส้นใยที่เจริญตามผิวเมล็ดถั่วเหลือง เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA พบว่าเชื้อเจริญได้ช้ามาก เหมือนกับ *Cladosporium* sp. ซึ่งเชื้อราจะสร้างโคโคโคนี สีเขียวปนเหลืองขอบโคโคโคนีสีขาว และเมื่อเขี่ยเชื้อดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบกลุ่มของ conidia ที่เจริญต่อกันเป็นลูกโซ่ มีลักษณะคล้ายแปรงทาสีหรือไม้กวาด มีสีเขียวอ่อน (ภาพที่ 16) ซึ่ง conidia มีผิวขรุขระเล็กน้อย



A

B



C

ภาพที่ 14 ลักษณะการเจริญบนเมล็ดถั่วเหลือง ลักษณะโคโคโคนีและลักษณะของเชื้อรา

*Macrophomina phaseolina* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

A= ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Macrophomina phaseolina* บนเมล็ดถั่วเหลือง

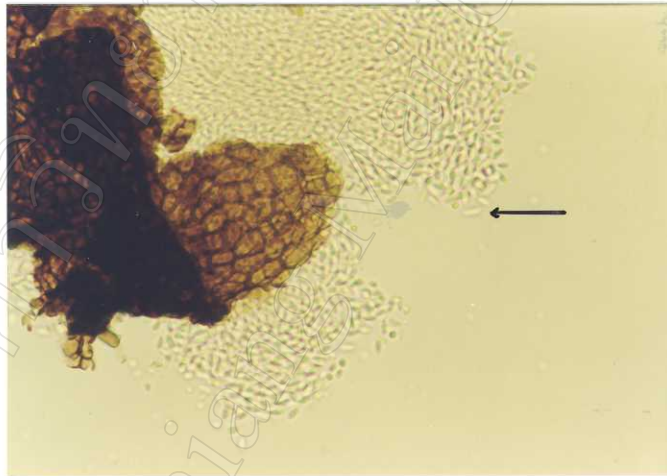
B= ลักษณะโคโคโคนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อายุ 8 วัน

C= ลักษณะ conidia ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (x400)



A

B



C

ภาพที่ 15 ลักษณะการเจริญบนเมล็ดกล้วยเหลือง ลักษณะโคโลนีและลักษณะของเชื้อรา

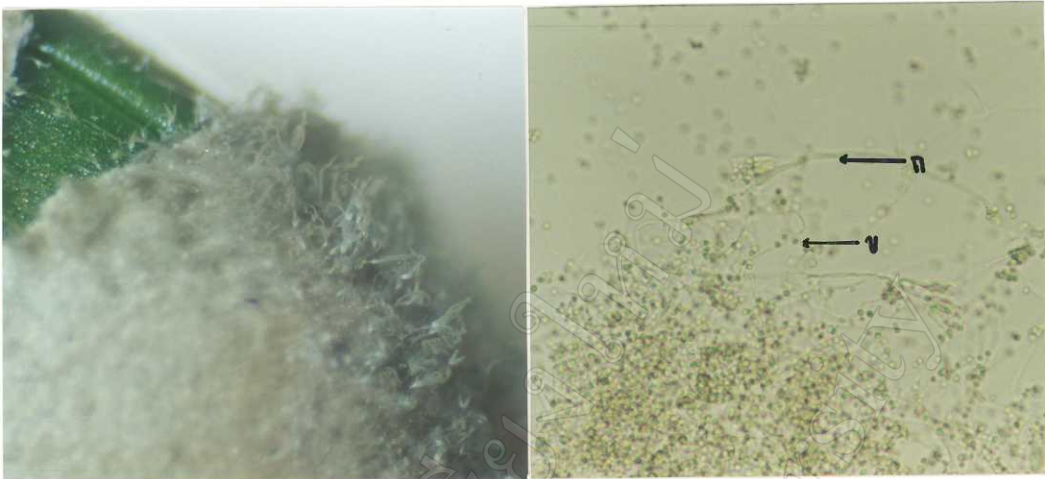
*Phomopsis* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

A= ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Phomopsis* sp. บนเมล็ดกล้วยเหลือง

B= ลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อายุ 12 วัน

C= ลักษณะ conidia ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (x400) (ลูกศรชี้)





A

B

ภาพที่ 16 ลักษณะการเจริญบนเมล็ดกล้วยเหี่ยว ลักษณะโค โคโนนีและลักษณะของเชื้อรา

*Penicillium* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

A= ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Penicillium* sp. บนเมล็ดกล้วยเหี่ยว

B= ลักษณะ conidiophore (ก) และ conidia (ข) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (x400)

### 2.11 *Chaetomium* spp.

บนเมล็ดกล้วยเหี่ยวเชื้อราสร้าง perithecium ขนาดเล็กถึงใหญ่ เกิดเดี่ยว ๆ สีดำหรือสีเทา แต่ละอันมีระยางค์หรือ hair ลักษณะเป็นขนตรงหรือม้วนงอเป็นเกลียวอยู่รอบ ๆ หรือส่วนบนของ perithecium และเมื่อนำเส้นใยของเชื้อรา *Chaetomium* sp. มาเลี้ยงบนอาหาร PDA เพื่อให้ได้เชื้อราที่บริสุทธิ์ สามารถจำแนกเชื้อรา *Chaetomium* spp. ได้ 3 Isolate ดังนี้

#### 1. *Chaetomium globosum*

เมื่อเลี้ยงเชื้อราบนอาหาร PDA ได้ประมาณ 2 วัน เส้นใยสีขาวเจริญออกมา หลังจากนั้นเปลี่ยนเป็นสีเทาอ่อน ฟุ่เล็กน้อย โดยเจริญเป็นวงซ้อนกันออกไป ด้านใต้จานอาหารพบเป็นสีเหลืองอ่อน ขอบโค โคโนนีเป็นสีเทาอ่อน และใช้เวลาประมาณ 8 วัน จึงเจริญเต็มจานอาหาร (ภาพที่ 17)

#### 2. *Chaetomium tortile*

เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA พบว่าเชื้อเจริญได้ช้ามาก โดยใช้เวลาประมาณ 15-16 วัน จึงเจริญเต็มจานอาหาร ซึ่งในช่วงวันที่ 2-3 เชื้อราสร้างเส้นใยสีเหลืองเจริญออกมาและขอบโค โคโนนีมีลักษณะการเจริญไม่แน่นอน (ภาพที่ 18)

### 3. *Chaetomium cupreum*

เชื้อรามีการเจริญบนอาหาร PDA ค่อนข้างช้าโดยใช้เวลาประมาณ 6-7 วัน จึงเจริญเต็มจานอาหาร ในช่วงแรกเชื้อสร้างเส้นใยเรียบสีขาว ต่อมาจึงเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่อน โดยขอบโคโลนีมีการเจริญไม่แน่นอนและขอบโคโลนีมีสีขาว (ภาพที่ 19)

#### 2.12 *Myrothecium* sp.

เชื้อราสร้างโครงสร้างที่เรียกว่า sporodochium ลักษณะแบบ shallow cup ซึ่ง conidia สร้างขึ้นเป็นกลุ่มอย่างหนาแน่น และมีรูปร่างไม่แน่นอนโดยกลุ่มของ conidia นี้ถูกล้อมรอบด้วยเส้นใยสีขาว (contorted hyphae) ซึ่ง sporodochium อาจเกิดเดี่ยว ๆ หรือรวมกันเป็นกระจุก และพบว่ามีการเจริญที่ช้ามาก เมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA โดยใช้เวลาประมาณ 14-15 วัน จึงเจริญเต็มจานอาหาร ในช่วงเวลา 1-2 วันแรก เชื้อราเริ่มสร้างเส้นใยสีขาวขุ่น โดยเส้นใยรวมตัวกันแน่นและต่อมาเมื่อเชื้อราอายุมากขึ้นจะพบว่าตรงกลางโคโลนีเปลี่ยนเป็นสีดำและด้านใต้ของจานอาหารพบว่ามีสีเหลืองอ่อน เมื่อดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่า conidia มี 1 เซลล์ ใสไม่มีสีถึงสีเขียวอ่อน หัวท้ายมน (cylindrical) โดย conidia เกิดบน phialide มี 4-5 เซลล์ (ภาพที่ 20)

#### 2.13 *Trichoderma* sp.

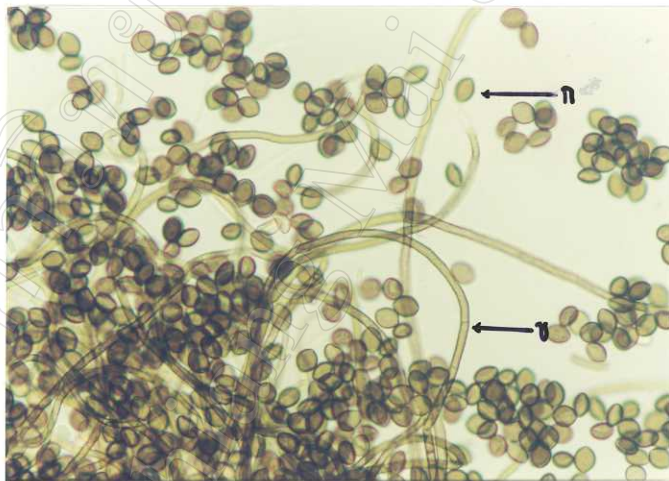
บนเมล็ดเชื้อราสร้าง mycelium, conidiophore และ conidia ขึ้นปกคลุมเมล็ด conidiophore และ conidia มีสีเขียวอ่อนถึงสีเขียวเข้ม สร้างขึ้นเป็นกลุ่มหรือกระจายทั่วเมล็ด และพบว่าเมื่อพบเชื้อรา *Trichoderma* sp. บนเมล็ดแล้วจะไม่มีเชื้อราชนิดอื่นขึ้นบนเมล็ดเลย และเมื่อเลี้ยงบนอาหาร PDA พบว่ามีการเจริญที่เร็วมาก โดยใช้เวลา 3 วัน ในการเจริญเต็มจานอาหาร ซึ่งเมื่อเลี้ยงบนอาหารได้ 1 วัน เชื้อราจะสร้างเส้นใยสีขาวเรียบติดผิวหน้าอาหาร ต่อมา สร้างเส้นใยอยู่เหนืออาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้โคโลนีมีลักษณะสีขาวฟู และเมื่ออายุได้ประมาณ 7 วัน เส้นใยเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเขียว และมีกลิ่นคล้ายกลิ่นมะพร้าว ซึ่งเมื่อตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบ conidia หรือ phialospore มีสีเขียว ไม่มีผนังกัน รูปไข่ เกิดเป็นกลุ่มตรงปลาย conidiophore มีลักษณะตั้งตรง แดกกิ่งก้าน ไม่มีสี (ภาพที่ 21)





A

B



C

ภาพที่ 17 ลักษณะการเจริญบนเมล็ดถั่วเหลือง ลักษณะ โคลโคนีและลักษณะของเชื้อรา

*Chaetomium globosum* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

A= ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Chaetomium globosum* บนเมล็ดถั่วเหลือง

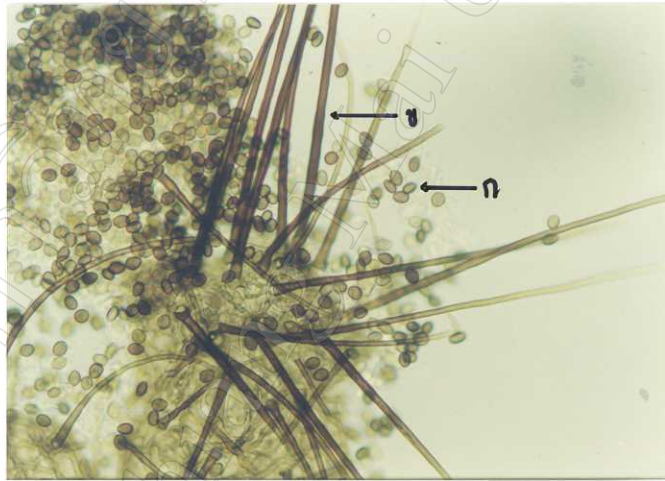
B= ลักษณะ โคลโคนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อายุ 8 วัน

C= ลักษณะ ascospore (ก) และ hair (ข) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (x400)



A

B



C

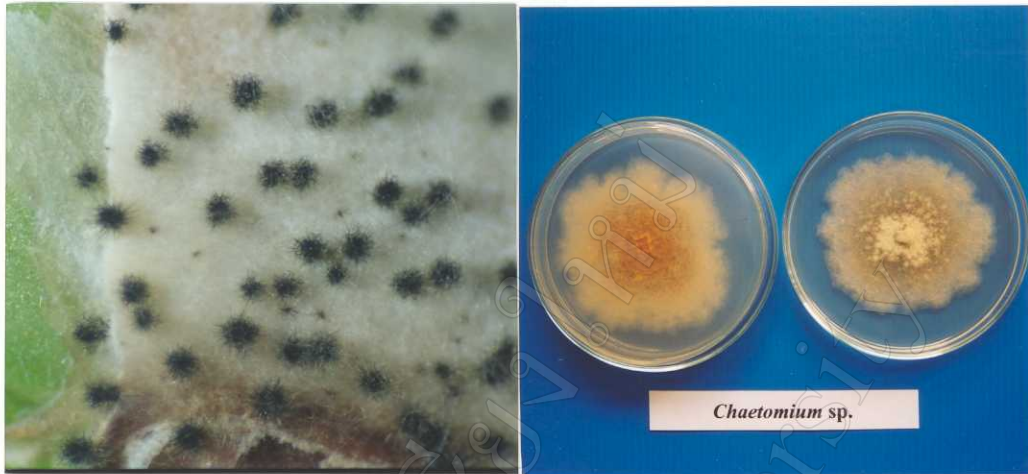
ภาพที่ 18 ลักษณะการเจริญบนเมล็ดถั่วเหลือง ลักษณะโคโคนีและลักษณะของเชื้อรา

*Chaetomium tortile* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

A= ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Chaetomium tortile* บนเมล็ดถั่วเหลือง

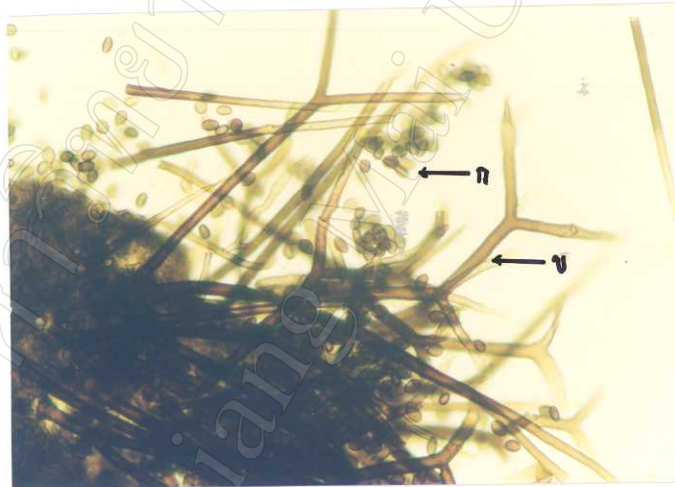
B= ลักษณะโคโคนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อายุ 8 วัน

C= ลักษณะ ascospore (ก) และ hair (ข) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (x400)



A

B



C

ภาพที่ 19 ลักษณะการเจริญบนเมล็ดถั่วเหลือง ลักษณะโคโลนีและลักษณะของเชื้อรา

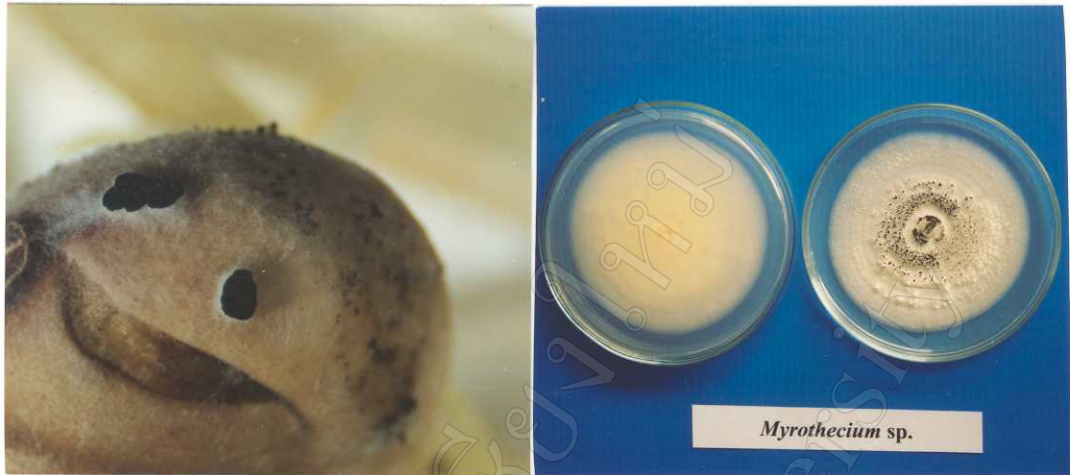
*Chaetomium cupruum* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

A= ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Chaetomium cupruum* บนเมล็ดถั่วเหลือง

B= ลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อายุ 8 วัน

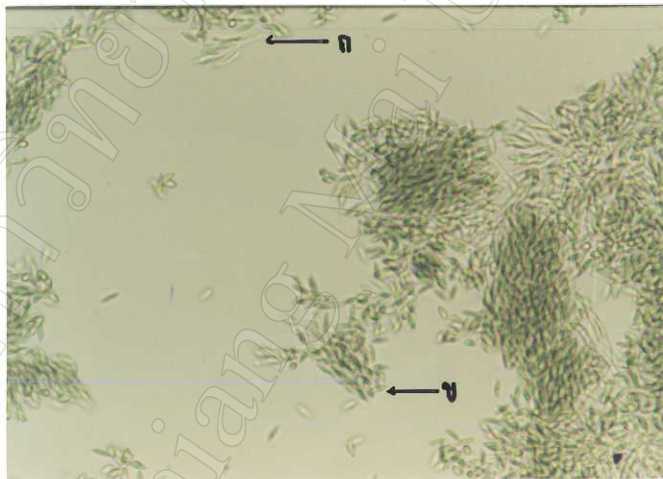
C= ลักษณะ ascospore (ก) และ hair (ข) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (x400)





A

B



C

ภาพที่ 20 ลักษณะการเจริญบนเมล็ดหัวเห็ด ลักษณะ โคล โคโนและลักษณะของเชื้อรา

*Myrothecium* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

A= ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Myrothecium* sp. บนเมล็ดหัวเห็ด

B= ลักษณะ โคล โคโนของเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อายุ 12 วัน

C= ลักษณะ conidiophore (ก) และ conidia (ข) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (x400)



A

B



C

ภาพที่ 21 ลักษณะการเจริญบนเมล็ดถั่วเหลือง ลักษณะโคโลนีและลักษณะของเชื้อรา

*Trichoderma* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

A= ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *Trichoderma* sp. บนเมล็ดถั่วเหลือง

B= ลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA อายุ 8 วัน

C= ลักษณะ conidiophore (ก) และ conidia (ข) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (x400)

### 3. การคัดเลือกเชื้อราที่แยกได้จากเมล็ดถั่วเหลืองในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา

*Colletotrichum truncatum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของถั่วเหลือง

#### 3.1 ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อราที่แยกได้จากเมล็ดถั่วเหลืองในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum truncatum*

เมื่อนำเชื้อราที่แยกได้จากเมล็ดถั่วเหลืองมาเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพของเชื้อราในการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *C. truncatum* เชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนส ซึ่งได้ทำการทดสอบโดยวิธี Dual culture และนำเชื้อราที่แยกได้จากเมล็ดถั่วเหลืองมาใช้ในการทดสอบ 16 Isolate โดยบันทึกผลและเปรียบเทียบผลการทดลองที่ 7, 9 และ 12 วัน แล้วนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ ดังตารางที่ 3 ภาคผนวก ข ตารางที่ 1

ผลการทดสอบที่เวลา 7, 9 และ 12 วัน พบว่าเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. truncatum* ได้ดีที่สุดคือ เชื้อรา *Trichoderma* sp. โดยที่ 7 และ 9 วัน มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 62.14 เปอร์เซ็นต์ และ 72.24 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และที่ 12 วัน มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงที่สุดโดยสามารถยับยั้งได้ 80.05 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่ 7 และ 9 วัน และเมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การยับยั้งกับเชื้อราแต่ละชนิดที่นำมาทดสอบที่ 7 และ 9 วัน พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% และเมื่อประมาณค่าการยับยั้งเชื้อราพบว่าที่เวลา 7 และ 9 วัน เชื้อรา *Trichoderma* sp. มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูง และที่เวลา 12 วัน พบว่าเชื้อราดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงมาก

จากการทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อราที่แยกได้จากเมล็ดถั่วเหลือง ทั้ง 16 Isolate ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. truncatum* พบลักษณะการยับยั้งเชื้อรา *C. truncatum* มี 3 ลักษณะคือ เชื้อราหรือเชื้อราปฏิปักษ์จะเจริญชนกับเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* แต่ไม่เจริญทับกัน เชื้อราเจริญทับเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* และการเกิด clear zone (ภาพที่ 22 - 26)



ตารางที่ 3 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อราที่แยกได้จากเมล็ดถั่วเหลืองในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Colletotrichum truncatum* สาเหตุโรคนแอนแทรคโนสของถั่วเหลือง หลังจากการวางเชื้อ 7, 9 และ 12 วัน

เชื้อรา	ประสิทธิภาพการยับยั้ง(%) <sup>1</sup>		
	7 วัน	9 วัน	12 วัน
<i>Trichoderma</i> sp.	62.14	72.24	80.05
<i>Macrophomina phaseolina</i>	50.92	63.50	73.78
<i>Myrothecium</i> sp.	-1.53	23.40	44.59
<i>Curvularia</i> sp.	28.58	46.54	61.59
<i>Aspergillus flavus</i>	32.04	49.69	63.46
<i>Aspergillus niger</i>	51.60	64.53	74.15
<i>Chaetomium cupreum</i>	12.39	34.74	53.10
<i>Chaetomium globosum</i>	3.31	21.93	37.61
<i>Chaetomium tortile</i>	-11.42	17.73	39.43
<i>Fusarium</i> sp. I1( <i>F. moniliforme</i> )	30.65	49.16	63.46
<i>Fusarium</i> sp. I 2( <i>F. equiseti</i> )	26.35	43.97	59.74
<i>Fusarium</i> sp. I 3( <i>F. oxysporum</i> )	25.05	45.05	60.14
<i>Fusarium</i> sp. I 4( <i>F. solani</i> )	38.40	53.34	66.45
<i>Fusarium</i> sp. I 5( <i>F. semitectum</i> )	39.07	54.32	67.13
<i>Fusarium</i> sp. I 6	41.86	57.36	69.35
<i>Phomopsis</i> sp.	47.43	60.93	71.92

<sup>1</sup> ค่าเฉลี่ยจาก 5 ซ้ำ

<sup>2</sup>  $LSD_{(0.01)} = 9.33$

$LSD_{(0.05)} = 6.64$

$CV_A(\%) = 22.73$

$CV_B(\%) = 6.02$

<sup>3</sup> I1 = Isolate 1      I3 = Isolate 4

I2 = Isolate 2      I4 = Isolate 5

I3 = Isolate 3      I5 = Isolate 6



ภาพที่ 22 การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum truncatum* โดยเชื้อราที่แยกได้จากเมล็ดถั่วเหลือง *Phomopsis* sp. (A), *Macrophomina phaseolina* (B), *Chaetomium totile* (C), *Chaetomium* sp. (D) ในลักษณะการเจริญชนกันแต่ไม่เจริญทับกัน (แต่ละภาพ ซ้าย = ชุดควบคุม ขวา = ชุดทดสอบ)



ภาพที่ 23 การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum truncatum* โดยเชื้อราที่แยกได้จากเมล็ดถั่วเหลือง *Fusarium moniliforme* (*Fusarium* sp. Isolate 1) (E), *Myrothecium* sp. (F), *Fusarium solani* (*Fusarium* sp. Isolate 4) (G), *Fusarium semitectum* (*Fusarium* sp. Isolate 5) (H) ในลักษณะการเจริญบน แต่ไม่เจริญทับ (แต่ละภาพ ซ้าย = ชุดควบคุม ขวา = ชุดทดสอบ)



ภาพที่ 24 การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum truncatum* โดยเชื้อราที่แยกได้จากเมล็ดถั่วเหลือง *Chaetomium globosum* (A), *Fusarium equiseti* (*Fusarium* sp. Isolate 2) (B), *Fusarium oxysporum* (*Fusarium* sp. Isolate 3) (C), *Fusarium* sp. Isolate 6 (D) ในลักษณะการเกิด clear zone (แต่ละภาพ ซ้าย = ชุดควบคุม ขวา = ชุดทดสอบ)





E

F



G

ภาพที่ 25 การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum truncatum* โดยเชื้อราที่แยกได้จากเมล็ดถั่วเหลือง *Curvularia* sp. (E), *Aspergillus flavus* (F), *Aspergillus niger* (G) แสดงลักษณะการเกิด clear zone (แต่ละภาพ ซ้าย = ชุดควบคุม ขวา = ชุดทดสอบ)



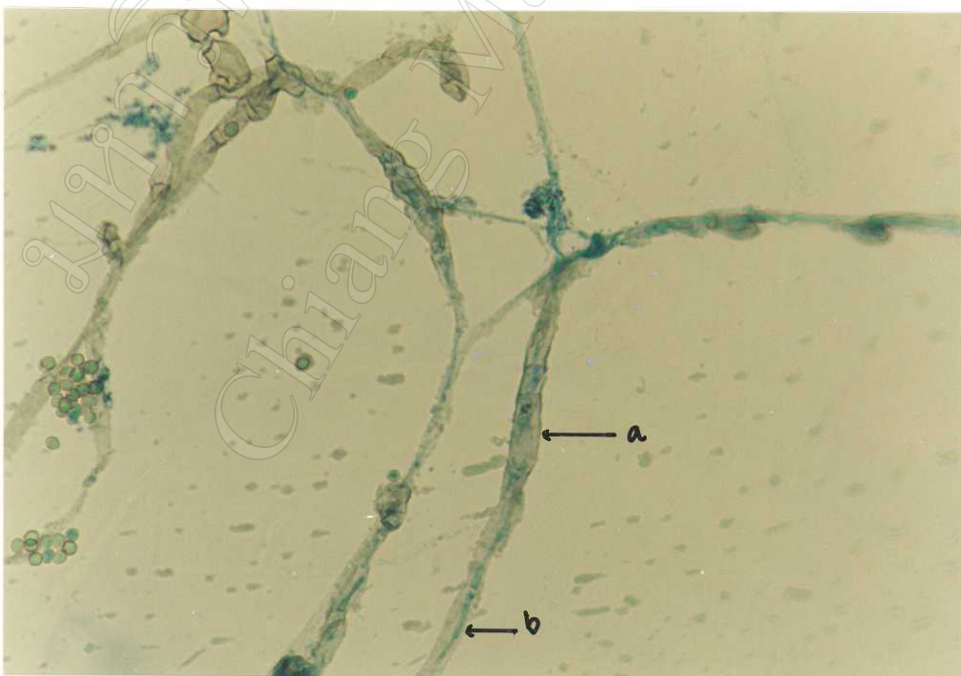
ภาพที่ 26 การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum truncatum* โดยเชื้อรา *Trichoderma* sp. ที่แยกได้จากเมล็ดถั่วเหลือง ในลักษณะการเจริญทับของเชื้อราสาเหตุ (แต่ละภาพ ซ้าย = ชุคควบคุม ขวา = ชุคทดสอบ)

### 3.2 ผลการศึกษาปฏิบัติการยับยั้งของเชื้อราที่มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการเจริญต่อเชื้อรา *Colletotrichum truncatum*

จากการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อราที่แยกได้จากเมล็ดถั่วเหลืองในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. truncatum* ในข้อ 3.1 พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. truncatum* จึงได้นำเชื้อรา *Trichoderma* sp. มาศึกษาถึงปฏิบัติการยับยั้งต่อเชื้อรา *C. truncatum* ซึ่งจากการทดลองเลี้ยงเชื้อรา *Trichoderma* sp. และเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* บนอาหาร PDA ร่วมกันโดยวิธี Dual slide culture เป็นระยะเวลาประมาณ 14 วัน แล้วนำมาศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. เป็นปรสิตรต่อเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* โดยการสร้างเส้นใยแทงเข้าไปในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* (ภาพที่ 27) ทำให้เส้นใยของเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* เหี่ยวแฟบลง (ภาพที่ 28)



ภาพที่ 27 ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *Trichoderma* sp. ขนาดเล็กและสีเข้ม (a) เจริญอยู่ภายในเส้นใยของเชื้อรา *Colletotrichum truncatum* ขนาดใหญ่สีจาง (b) ที่ย้อมสีด้วย lactophenol cotton blue (x400)



ภาพที่ 28 ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *Colletotrichum truncatum* ขนาดใหญ่สีจาง (a) เหี่ยวแฟบลงหลังถูกเชื้อรา *Trichoderma* sp. ขนาดเล็กสีเข้ม (b) แทะเข้าไปที่ย้อมสีด้วย lactophenol cotton blue (x400)

#### 4. ผลการศึกษาผลของเชื้อราปฏิปักษ์ต่อการงอกและการเจริญของต้นกล้าถั่วเหลือง พันธุ์ ชม.2

##### 4.1 การทดสอบผลของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ต่อการงอกของเมล็ดถั่วเหลือง (Germination Test)

จากการทดสอบผลของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ต่อการงอกของเมล็ดถั่วเหลืองด้วยวิธี Between paper method พบว่าเมล็ดถั่วเหลืองที่ปลูกด้วยเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. มีเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำกว่าชุดควบคุมซึ่งไม่ได้ปลูกด้วยเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. โดยเมล็ดที่ปลูกด้วยเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเท่ากับ 89 เปอร์เซ็นต์ และยังพบว่าบริเวณเปลือกหุ้มเมล็ดมีเชื้อรา *Trichoderma* sp. เจริญ ปกคลุมอยู่หนาแน่นเห็นเป็นสีเขียวชัดเจนและไม่พบเชื้อราชนิดอื่นเจริญบนเปลือกหุ้มเมล็ด โดยในชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเท่ากับ 96 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 4 ภาคผนวก ข ตารางที่ 2)

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์ ชม.2 ที่ปลูกด้วยเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์ความงอก <sup>1</sup>
ชุดควบคุม	96 a <sup>2</sup>
ปลูกด้วยเชื้อรา <i>Trichoderma</i> sp.	89 b
LSD (p=0.05)	1.64
CV (%)	3.30

<sup>1</sup>ค่าเฉลี่ยจาก 8 ซ้ำ (ซ้ำละ 50 เมล็ด)

<sup>2</sup>ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  
เปรียบเทียบโดยวิธี LSD ที่ความเชื่อมั่น 95%



## 4.2 การทดสอบผลของเชื้อราปฏิปักษ์ต่อความแข็งแรงของต้นกล้าถั่วเหลือง

### (Seed Vigor)

#### 4.2.1 อัตราการเจริญของต้นกล้า (Seedling Growth Rate)

จากการทดสอบผลของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ต่ออัตราการเจริญของต้นกล้าถั่วเหลืองด้วยวิธี Between paper method พบว่ามีอัตราการเจริญของต้นกล้าถั่วเหลืองเท่ากับชุดควบคุม โดยเมล็ดที่ผ่านการแช่ใน suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ไม่มีผลต่อความแข็งแรงของต้นกล้าถั่วเหลือง เมื่อเปรียบเทียบกับชุดที่ไม่ได้แช่ใน suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. และเมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 5 ภาคผนวก ข ตารางที่ 3)

ตารางที่ 5 อัตราการเจริญของต้นกล้าถั่วเหลืองพันธุ์ ชม.2 ที่ปลูกด้วยเชื้อราปฏิปักษ์

*Trichoderma* sp. เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

กรรมวิธี	อัตราการเจริญของต้นกล้า (มิลลิกรัม/ต้น) <sup>1</sup>
ชุดควบคุม	109.96 a <sup>2</sup>
ปลูกชนิดเชื้อรา <i>Trichoderma</i> sp.	110.14 a
LSD (p=0.05)	9.62
CV (%)	8.15

<sup>1</sup>ค่าเฉลี่ยจาก 8 ซ้ำ (ซ้ำละ 50 ต้น)

<sup>2</sup>ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี LSD ที่ความเชื่อมั่น 95%

#### 4.2.2 อัตราการเจริญเติบโตของราก (Root Growth Rate)

ทำการทดสอบเช่นเดียวกับการทดสอบอัตราการเจริญของต้นกล้าถั่วเหลือง แต่ทำการประเมินผลด้วยการวัดความยาวของส่วนที่งอกเป็นราก โดยวัดความยาวรากถั่วเหลืองจากข้อของใบเลี้ยงไปถึงปลายราก พบว่าอัตราการเจริญเติบโตของรากในชุดที่ปลูกด้วยเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. มีความยาวรากเฉลี่ยคือ 15.6 เซนติเมตร ซึ่งต่ำกว่า

ชุดควบคุม โดยพบว่ารากของต้นอ่อนมีลักษณะอ้วน และสั้น รวมทั้งมีขนรากน้อยกว่า ชุดควบคุมและยังพบว่าต้นอ่อนมีลักษณะผิดปกติแต่พบเพียงเล็กน้อย ซึ่งแตกต่างจาก ชุดควบคุมที่มีความยาวรากเฉลี่ยเท่ากับ 19.7 เซนติเมตร และเมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 6 ภาคผนวก ข ตารางที่ 4)

ตารางที่ 6 อัตราการเจริญเติบโตของรากแก้วเหลืองพันธุ์ ชม.2 ที่ปลูกด้วยเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

กรรมวิธี	ความยาวราก (เซนติเมตร) <sup>1</sup>
ชุดควบคุม	19.7 a <sup>2</sup>
ปลูกชนิดเชื้อรา <i>Trichoderma</i> sp.	15.6 b
LSD (p=0.05)	1.69
CV (%)	9.49

<sup>1</sup>ค่าเฉลี่ยจาก 8 ซ้ำ (ซ้ำละ 50 ต้น)

<sup>2</sup>ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี LSD ที่ความเชื่อมั่น 95%

#### 4.3 การทดสอบผลของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ต่อการเจริญของต้นกล้า ถั่วเหลือง ในโรงเรือน

จากการทดสอบผลของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ต่อการเจริญของต้นกล้าถั่วเหลืองในโรงเรือน โดยวัดผลจากน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นกล้าถั่วเหลือง ที่อายุ 14 วัน ผลการวัดน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง ดังแสดงในตารางที่ 7 (ภาคผนวก ข ตารางที่ 5) และภาพที่ 29 และภาพที่ 30 เมื่อทำการเก็บผลและชั่งน้ำหนักของต้นกล้าถั่วเหลือง ที่อายุ 14 วัน พบว่าน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของต้นกล้าถั่วเหลืองที่ปลูกด้วยเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. คือ 108.40 และ 8.34 กรัม ตามลำดับ โดยน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นกล้า ถั่วเหลืองที่ปลูกด้วยเชื้อราดังกล่าว ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับชุดควบคุมซึ่งไม่ได้ปลูกเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ที่ความเชื่อมั่น 95% และจากการเพาะปลูกถั่วเหลืองเพื่อทำการทดสอบผลของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp.

ต่อการเจริญของต้นกล้าถั่วเหลืองในโรงเรือน หลังปลูกถั่วเหลืองได้ 7 วัน พบว่าเมล็ดถั่วเหลืองที่ปลูกเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. มีเปอร์เซ็นต์ความงอก 97 เปอร์เซ็นต์ และพบต้นกล้าปกติ 91 เปอร์เซ็นต์ ไม่ปกติ 6.25 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ดังตารางที่ 8 (ภาคผนวก ข ตารางที่ 6)

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบผลของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นกล้าถั่วเหลืองพันธุ์ ชม.2

กรรมวิธี	ต้นกล้าอายุ 14 วัน	
	น้ำหนักสด (กรัม) <sup>1</sup>	น้ำหนักแห้ง (กรัม)
ชุดควบคุม	119.71 a <sup>2</sup>	9.83 a
ปลูกด้วยเชื้อรา <i>Trichoderma</i> sp.	108.40 a	8.34 a
LSD (p=0.05)	19.12	1.50
CV (%)	9.68	9.57

<sup>1</sup>ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ (ซ้ำละ 100 ต้น)

<sup>2</sup>ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  
เปรียบเทียบ โดยวิธี LSD ที่ความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 29 ลักษณะการเจริญของต้นกล้าถั่วเหลืองที่ปลูกด้วยเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. หลังงอก 4 วัน



ภาพที่ 30 ลักษณะการเจริญของต้นกล้าถั่วเหลือง ที่ปลูกด้วยเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ซ้าย = ชุดควบคุม ขวา = เชื้อราปฏิปักษ์) หลังงอก 14 วัน

ตารางที่ 8 ผลของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ต่อความงอก การตายก่อนงอก ต้นกล้าปกติ และต้นกล้าไม่ปกติเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อปลูกในโรงเรือน ที่อายุ 7 วัน

กรรมวิธี	เมล็ดที่ งอก (%) <sup>1</sup>	ตายก่อน งอก (%)	ต้นกล้าปกติ (%)	ต้นกล้าไม่ ปกติ (%)
ชุดควบคุม ปลูกด้วยเชื้อรา	97 a <sup>2</sup>	2.75 a	92.75 a	4.50 a
<i>Trichoderma</i> sp.	97 a	2.75 a	91.00 a	6.25 a
LSD (p=0.05)	2.78	2.78	4.51	4.56
CV %	1.65	58.45	4.85	49.08

<sup>1</sup>ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ (ซ้ำละ 100 ต้น)

<sup>2</sup>ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  
เปรียบเทียบโดยวิธี LSD ที่ความเชื่อมั่น 95%



5. ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของถั่วเหลืองพันธุ์ ชม.2 ในระยะต้นกล้าในโรงเรือนเปรียบเทียบกับสารเคมีคลุกเมล็ด

5.1 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ต่อการงอกของเมล็ดถั่วเหลืองที่ปลูกด้วยเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกโนสของถั่วเหลือง (*Colletotrichum truncatum*) เปรียบเทียบกับสารเคมีคลุกเมล็ด

จากการทดสอบผลของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ต่อการงอกของเมล็ดถั่วเหลืองที่ปลูกด้วยเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* เปรียบเทียบกับสารเคมีคลุกเมล็ด thiram โดยเฉพาะเมล็ดในดินซึ่งบรรจุในแก้วน้ำพลาสติกใบละ 10 เมล็ด หลังจากนั้น 14 วัน วิเคราะห์ผลโดยตรวจนับจากเปอร์เซ็นต์ความงอก ต้นกล้าปกติ ต้นกล้าไม่ปกติ และต้นกล้าที่ตายก่อนงอก และหลังงอก พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดถั่วเหลืองที่ปลูกเชื้อด้วยเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* ร่วมกับเชื้อใน suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. เท่ากับ 90 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งน้อยกว่าในเมล็ดที่ผ่านการปลูกเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* ร่วมกับคลุกสารเคมี thiram และในชุดที่คลุกสารเคมี thiram อย่างเดียวคือ 95 เปอร์เซ็นต์ และ 98 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ผ่านการปลูกเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* อย่างเดียวซึ่งมีค่าเท่ากับ 87 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 9 ภาคผนวก ข ตารางที่ 7)

พบว่าเมล็ดที่ปลูกเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* ใบเลี้ยงคดหรือออกยากเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมและต้นกล้าที่งอกจะตายหลังงอก โดยเกิดแผลสีน้ำตาลบริเวณยอดและใบเลี้ยง ส่วนต้นที่รอดพบแผลสีน้ำตาลที่ใบเลี้ยง และโคนต้น ส่วนเมล็ดที่ปลูกเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* ร่วมกับเชื้อใน suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. พบว่าเมล็ดคดใบเลี้ยงออกได้ดีกว่าเมล็ดที่ปลูกเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* อย่างเดียว แต่ไม่ดีเมื่อเปรียบเทียบกับชุดที่ปลูกเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* ร่วมกับสารเคมีคลุกเมล็ด thiram และมีแผลบริเวณใบเลี้ยงแต่พบน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ปลูกเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* อย่างเดียว และก็ยังพบต้นกล้าตายหลังงอกแต่ในปริมาณที่น้อยเมื่อเปรียบเทียบกับชุดที่ปลูกเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* อย่างเดียว และพบเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. บริเวณเปลือกเมล็ดและใบเลี้ยงของถั่วเหลือง ทำให้ลดการเกิดโรคลงและช่วยให้เมล็ดที่มีเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* สามารถงอกได้มากขึ้น (ภาพที่ 33-33)

ตารางที่ 9 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความงอก การตายก่อน-หลังงอก ต้นกล้าปกติ และต้นกล้าไม่ปกติของเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์ ชม.2 ในแต่ละกรรมวิธี ภายหลังจากปลูกลงในโรงเรือน

กรรมวิธี	เมล็ดที่งอก (%) <sup>1</sup>	ตายก่อนงอก(%)	ตายหลังงอก(%)	ต้นกล้าปกติ (%)	ต้นกล้าไม่ปกติ (%)
ชุดควบคุม	98 a <sup>2</sup>	1.50 c	0 c	98.00 a	1.50 c
ปลูกเชื้อ <i>C. truncatum</i>	87 b	12.50 a	7.25 a	0 d	80.25 a
ปลูกเชื้อ <i>C. truncatum</i> + <i>Trichoderma</i> sp.	90 b	8.50 bc	3.25 b	34.50 c	58.00 b
ปลูกเชื้อ <i>C. truncatum</i> + สารเคมี thiram	95 a	5.00 ab	1.75 c	90.50 b	4.50 c
สารเคมีคลุกเมล็ด thiram อย่างเดียว	98 a	1.75 c	0 c	96.75 a	1.75 c
LSD (p=0.05)	4.02	3.10	2.08	3.90	5.71
CV %	2.84	54.76	30.43	4.04	12.98

<sup>1</sup>ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ (ซ้ำละ 100 ต้น)

<sup>2</sup>ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เปรียบเทียบโดยวิธี LSD ที่ความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 31 ลักษณะอาการของต้นกล้าถั่วเหลืองพันธุ์ ชม.2 ที่อายุ 14 วันภายหลังจากปลูกลงด้วยเชื้อรา *Colletotrichum truncatum*



ภาพที่ 32 ลักษณะอาการของต้นกล้าถั่วเหลืองพันธุ์ชม.2 ที่อายุ 14 วัน ภายหลัง  
ปลูกด้วยเชื้อรา *Colletotrichum truncatum*



ภาพที่ 33 การเจริญของต้นกล้าถั่วเหลืองพันธุ์ ชม. 2 ในแต่ละกรรมวิธีที่เพาะในแก้ว  
น้ำพลาสติก เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (จากซ้ายไปขวา)  
1 = ชุดควบคุม(ไม่ปลูกเชื้อ) 2 = ปลูกเชื้อ *C. truncatum*  
3 = ปลูกเชื้อ *C. truncatum* + *Trichoderma* sp.  
4 = ปลูกเชื้อ *C. truncatum* + สารเคมี thiram  
5 = สารเคมีคลุกเมล็ด thiram อย่างเดียว

เมื่อทำการวิเคราะห์ผลโดยทำการวัดความยาวราก และยอดอ่อนของต้นกล้าด้วเหลือง พบว่าความยาวยอดอ่อนของเมล็ดที่ปลูกเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* ร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. น้อยกว่าในเมล็ดที่ปลูกเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* ร่วมกับสารเคมีคลุกเมล็ด thiram แต่มีความยาวยอดอ่อนมากกว่าในเมล็ดที่ปลูกเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* เพียงอย่างเดียว และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 % โดยความยาวยอดอ่อนของเมล็ดด้วเหลืองในชุดควบคุม มีความยาวยอดอ่อนเท่ากับ 36.4 เซนติเมตร โดยในชุดควบคุม และชุดสารเคมีคลุกเมล็ด thiram อย่างเดียว ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% ส่วนความยาวรากของเมล็ดที่ปลูก เชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* ร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. และเมล็ดที่ปลูกเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* เพียงอย่างเดียว ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 11.2 และ 10.4 เซนติเมตร ตามลำดับ โดยในชุดควบคุมมีความยาวรากเท่ากับ 17.5 เซนติเมตร และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบกับสารเคมีคลุกเมล็ด thiram อย่างเดียว ซึ่งมีค่าเท่ากับ 15.1 เซนติเมตร (ตารางที่ 10 ภาคผนวก ข ตารางที่ 8)

ตารางที่ 10 ความยาวรากและยอดอ่อนของต้นกล้าด้วเหลืองพันธุ์ ชม.2 ที่อายุ 14 วัน  
เปรียบเทียบแต่ละกรรมวิธี

กรรมวิธี	ต้นกล้าอายุ 14 วัน	
	ความยาวยอดอ่อน (เซนติเมตร) <sup>1</sup>	ความยาวราก (เซนติเมตร) <sup>1</sup>
ชุดควบคุม (ไม่ปลูกเชื้อ)	36.4 a <sup>2</sup>	17.5 a
ปลูกเชื้อ <i>C. truncatum</i>	17.5 d	10.4 c
ปลูกเชื้อ <i>C. truncatum</i> + <i>Trichoderma</i> sp.	20.1 c	11.2 c
ปลูกเชื้อ <i>C. truncatum</i> + สารเคมี thiram	33.1 b	16.3 ab
สารเคมีคลุกเมล็ด thiram อย่างเดียว	36.5 a	15.1 b
LSD (p=0.05)	2.13	1.72
CV (%)	4.92	8.30

<sup>1</sup>ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ (ซ้ำละ 50 ต้น)

<sup>2</sup>ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  
เปรียบเทียบ โดยวิธี LSD ที่ความเชื่อมั่น 95%



## 5.2 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของถั่วเหลืองในระยะต้นกล้าในโรงเรือนเปรียบเทียบกับสารเคมีคลุกเมล็ด

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของถั่วเหลืองในระยะต้นกล้าในโรงเรือน โดยวัดผลจากน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นกล้าถั่วเหลืองที่อายุ 14 วัน ผลจากการวัดน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นกล้า ดังแสดงในตารางที่ 11 (ภาคผนวก ข ตารางที่ 9) ซึ่งพบว่า เมื่อทำการเก็บผลและชั่งน้ำหนักสดของต้นกล้าถั่วเหลือง น้ำหนักสดของต้นกล้าถั่วเหลืองในชุดควบคุมมีค่าเท่ากับ 111.68 กรัม และไม่มีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบกับสารเคมีคลุกเมล็ด thiram อย่างเดียว ซึ่งมีค่าเท่ากับ 109.50 กรัม ส่วนน้ำหนักสดของต้นกล้าถั่วเหลืองในชุดที่ปลูกเชื้อสาเหตุ *C. truncatum* เพียงอย่างเดียว ชุดที่ปลูกเชื้อสาเหตุ *C. truncatum* ร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. และชุดที่ปลูกเชื้อสาเหตุ *C. truncatum* ร่วมกับสารเคมีคลุกเมล็ด thiram มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยชั่งน้ำหนักสดได้ 46.80, 63.44 และ 89.15 กรัม ตามลำดับ

จากการวัดผลโดยการชั่งน้ำหนักแห้งของต้นกล้าถั่วเหลือง พบว่าน้ำหนักแห้งของต้นกล้าถั่วเหลืองในชุดควบคุม และสารเคมีคลุกเมล็ด thiram อย่างเดียว ไม่มีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% ซึ่งมีค่าเท่ากับ 10.02 และ 9.22 กรัม ตามลำดับ ส่วนน้ำหนักแห้งของต้นกล้าถั่วเหลืองในชุดปลูกเชื้อสาเหตุ *C. truncatum* ร่วมกับสารเคมีคลุกเมล็ด thiram และในชุดปลูกเชื้อสาเหตุ *C. truncatum* ร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และมีน้ำหนักแห้ง 9.07 และ 5.48 กรัม ตามลำดับ

จากการปลูกถั่วเหลืองเพื่อทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของถั่วเหลืองโดยชุดทดสอบกรรมวิธีต่าง ๆ พบว่าลักษณะการเจริญและความสมบูรณ์ของต้นกล้าถั่วเหลืองที่ปลูกด้วยเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* ร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ดีกว่าต้นกล้าถั่วเหลืองที่ปลูกด้วยเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* เพียงอย่างเดียว แต่เมื่อเปรียบเทียบกับชุดที่ปลูกเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* ร่วมกับสารเคมีคลุกเมล็ด thiram แล้วมีประสิทธิภาพต่ำกว่า อีกทั้งต้นกล้าถั่วเหลืองในชุดที่ปลูกเชื้อสาเหตุเพียงอย่างเดียว มีลักษณะสีใบ ผอม ไม่สมบูรณ์ รวมทั้งเกิดแผลบนต้นกล้ามากซึ่งแตกต่างจากชุดทดสอบกรรมวิธีอื่น ๆ (ภาพที่ 34)

ตารางที่ 11 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของถั่วเหลืองในระยะต้นกล้าในโรงเรือน โดยวัดผลจากน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของต้นกล้าในแต่ละกรรมวิธี

กรรมวิธี	ต้นกล้าอายุ 14 วัน	
	น้ำหนักสด (กรัม) <sup>1</sup>	น้ำหนักแห้ง (กรัม)
ชุดควบคุม (ไม่ปลูกเชื้อ)	111.68 a <sup>2</sup>	10.02 a
ปลูกเชื้อ <i>C. truncatum</i>	46.80 d	4.41 c
ปลูกเชื้อ <i>C. truncatum</i> + <i>Trichoderma</i> sp.	63.44 c	5.48 b
ปลูกเชื้อ <i>C. truncatum</i> + สารเคมี thiram	89.15 b	9.07 a
สารเคมีคลุกเมล็ด thiram อย่างเดียว	109.50 a	9.22 a
LSD (p=0.05)	11.35	1.07
CV (%)	8.96	9.30

<sup>1</sup>ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ (ซ้ำละ 50 ต้น)

<sup>2</sup>ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เปรียบเทียบโดยวิธี LSD ที่ความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 34 การเจริญของต้นกล้าถั่วเหลือง (อายุ 14 วัน) ที่เพาะในตะกร้า ในแต่ละกรรมวิธี

เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ซ้าย = ชุดควบคุม ขวา = ชุดทดสอบ)

A= ชุดควบคุม, ปลุกเชื้อ *C. truncatum*

B=ชุดควบคุม, ปลุกเชื้อ *C. truncatum*+*Trichoderma* sp.

C= ชุดควบคุม, ปลุกเชื้อ *C. truncatum*+ สารเคมี Thiram

D= ชุดควบคุม, สารเคมีคอกมูลดี Thiram อย่างเดียว