

## บทที่ 5

### สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการตรวจหาชนิดและปริมาณของเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองทั้ง 6 พันธุ์ คือพันธุ์ ชม.1, ชม.2, ชม.60, สจ.4, สจ.5 และ พันธุ์ค้อยคำ พบเชื้อราชนิดต่าง ๆ ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ในปริมาณที่แตกต่างกันของแต่ละพันธุ์ โดยพบเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ทั้งหมด 20 species คือ *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Cladosporium* sp., *Colletotrichum truncatum*, *Curvularia* sp., *Fusarium semitectum* (*Fusarium* sp.), *Fusarium moniliforme* (*Fusarium* spp. Isolate 1), *Fusarium solani* (*Fusarium* spp. Isolate 4), *Fusarium oxysporum* (*Fusarium* spp. Isolate 3), *Fusarium equiseti* (*Fusarium* spp. Isolate 2), *Fusarium* spp. Isolate 6, *Macrophomina phaseolina*, *Penicillium* sp., *Phomopsis* sp., *Chaetomium* sp. (*Chaetomium globosum*, *Chaetomium tortile*, *Chaetomium cupreum*), *Myrothecium* sp., *Cercospora* sp. และ *Trichoderma* sp. ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Sinclair (1982); Anwar *et al.* (1995); สมบัติ (2544) แต่ตรวจพบทั้งชนิดและปริมาณที่แตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการจัดการพืช แหล่งปลูกและพันธุ์พืช เชื้อราที่พบติดมากับเมล็ดนี้สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ เชื้อราที่ติดมาจากในไร่ (field fungi) และเชื้อราในโรงเก็บ (storage fungi) โดยเชื้อราที่เข้าทำลายพืชตั้งแต่เมล็ดมีการพัฒนาจนกระทั่งใกล้เก็บเกี่ยวส่วนใหญ่เป็นเชื้อราสาเหตุโรคเช่น *Colletotrichum truncatum*, *Fusarium moniliforme*, *F. semitectum*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *Macrophomina phaseolina* และ *Phomopsis* sp. เป็นต้น ส่วนกลุ่มที่สองเป็นเชื้อราหลังการเก็บเกี่ยว ส่วนใหญ่ไม่เป็นสาเหตุโรคแต่ทำให้เมล็ดเสื่อมคุณภาพอย่างรวดเร็วได้แก่ *Aspergillus flavus*, *A. niger* และ *Penicillium* sp. ซึ่งในแง่ของเมล็ดพันธุ์แล้ว เชื้อราที่ติดมาจากในไร่จะมีความสำคัญกว่าเชื้อราในโรงเก็บ (Neergaard, 1979) และจากการศึกษาการเจริญของเชื้อราแต่ละชนิดที่แยกได้จากเมล็ดถั่วเหลืองบนอาหาร PDA พบว่าเชื้อราแต่ละชนิดสามารถเจริญได้แตกต่างกัน ซึ่งพบว่าเชื้อรา *Macrophomina phaseolina* และ *Trichoderma* sp. มีอัตราการเจริญจนเต็มอาหารเร็วกว่าเชื้อราอื่น ๆ โดยใช้เวลาประมาณ 2 -3 วันและพบว่าเชื้อรา *Penicillium* sp. และ *Cladosporium* sp. มีอัตราการเจริญที่ช้ามากเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อราชนิดอื่น ๆ ที่แยกได้จากเมล็ดถั่วเหลือง

สำหรับการคัดเลือกเชื้อราที่แยกได้จากเมล็ดถั่วเหลืองในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *C. truncatum* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของถั่วเหลือง โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อราที่แยกได้จากเมล็ดถั่วเหลือง จำนวน 16 Isolate นำมาทำการทดสอบด้วยวิธี Dual culture พบว่าที่เวลา 12 วัน ของการทดสอบ เชื้อรา *Trichoderma* sp. มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. truncatum* สูงถึง 80.05 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อราแต่ละชนิดที่นำมาทดสอบที่ 7 และ 9 วัน พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% นอกจากนี้ยังพบลักษณะการยับยั้งระหว่างเชื้อราที่นำมาทดสอบกับเชื้อรา *C. truncatum* มี 3 ลักษณะ คือ เชื้อราหรือเชื้อราปฏิปักษ์จะเจริญชนกับเชื้อราสาเหตุแต่ไม่เจริญทับกัน ลักษณะที่สอง คือ เชื้อราปฏิปักษ์เจริญทับเชื้อราสาเหตุ และลักษณะที่สามจะเกิด clear zone ระหว่างเชื้อราปฏิปักษ์กับเชื้อราสาเหตุ โดยทั้งสามลักษณะส่งผลให้เชื้อราสาเหตุเจริญเติบโตช้าลงหรือถูกยับยั้งการเจริญเติบโต โดยเชื้อราหรือเชื้อราปฏิปักษ์มีคุณสมบัตินี้มากน้อยแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อรา โดยพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต ซึ่งจากการทดลองนี้เชื้อราที่ให้ผลในการยับยั้งในลักษณะการเจริญทับ คือ *Trichoderma* sp. และได้นำเชื้อราดังกล่าวมาศึกษาปฏิกิริยาการยับยั้งการเจริญต่อเชื้อรา *C. truncatum* โดยวิธี Dual slide culture พบว่าเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. เป็นปรสิตต่อเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* โดยพบเส้นใยของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. สร้างเส้นใยแทงทะลุเข้าไปเจริญอยู่ภายในเส้นใยของเชื้อรา *C. truncatum* ทำให้เส้นใยของราสาเหตุแฟบลงในเวลาต่อมา ซึ่งคล้ายกับรายงานของ Bruckner and Przybylski (1984) และ Ridout *et al.* (1988) ที่กล่าวว่า เชื้อรา *T. hamatum*, *T. viride* เป็นปรสิตต่อเชื้อราสาเหตุโรค โดยการผลิตเอนไซม์  $\beta$ -1, 3-glucanase, chitinase, cellulase และ protease สลายผนังเซลล์ของเส้นใยเชื้อราสาเหตุ และแทงเข้าไปทำให้เส้นใยเหี่ยวและแฟบลง

เมื่อนำเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. มาทดสอบเพื่อทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดถั่วเหลือง พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดถั่วเหลืองที่ปลูกด้วยเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. มีเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำกว่าชุดควบคุมซึ่งไม่ได้ปลูกด้วยเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเท่ากับ 89 เปอร์เซ็นต์ และ 96 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% ซึ่งแตกต่างจากรายงานของ Chang *et al.* (1986); Kleifeld and Chet (1992) ที่กล่าวว่า การใช้เชื้อรา *Trichoderma* sp. สามารถช่วยส่งเสริมให้เมล็ดพืชชนิดต่าง ๆ งอกได้เร็วขึ้นและจำนวนเมล็ดที่งอกมากขึ้น และวิรัตน์ (2541) ได้กล่าวถึงอัตราการงอกของเมล็ดผักกาดหอมซึ่งจะผันแปรไปโดยขึ้นอยู่กับปริมาณความเข้มข้นและสายพันธุ์ของเชื้อรา *Trichoderma* sp.

ที่ใช้ซึ่งเชื้อราบางสายพันธุ์มีความเป็นพิษมากและจะยับยั้งการงอกของเมล็ดในระยะเริ่มแรกของการเพาะ และจากการทดสอบผลของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ต่อความแข็งแรงของต้นกล้า ถั่วเหลือง พบว่าอัตราการเจริญของต้นกล้าที่ปลูกเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. และชุดควบคุมไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% และเมื่อพิจารณาอัตราการเจริญของรากโดยเปรียบเทียบชุดควบคุม และชุดที่ปลูกเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% ส่วนผลของน้ำหนักรากและน้ำหนักแห้ง พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% Paulitz *et al.* (1986); Baker (1988); Ousley *et al.* (1994) กล่าวว่า การใช้เชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. จะมีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้หรือไม่เพียงใดขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการเช่น ชนิดของพืช ลักษณะส่วนประกอบและระดับความเป็นกรดเป็นด่างของดิน ระดับอุณหภูมิ ความชื้นและการระบายอากาศของดิน ชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อรา ความเข้มข้นหรือปริมาณของเชื้อรา และลักษณะหรือรูปแบบของเชื้อรา

สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของถั่วเหลืองพันธุ์ชม. 2 ในระยะต้นกล้า โดยผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ต่อการงอกของเมล็ดถั่วเหลืองที่ปลูกด้วยเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* พบว่าเมล็ดที่ปลูกเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* เพียงอย่างเดียวมีเปอร์เซ็นต์ของเมล็ดถั่วเหลืองเท่ากับ 87 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ปลูกเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* ร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. มีเปอร์เซ็นต์ความงอก 90 เปอร์เซ็นต์และเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมพบว่ามี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% โดยชุดควบคุม เมล็ดที่ปลูกเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* ร่วมกับสารเคมี thiram และเมล็ดที่คลุกสารเคมี thiram อย่างเดียว มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเท่ากับ 98, 95 และ 98 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% ซึ่งเมล็ดที่ปลูกเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* เพียงอย่างเดียวพบว่าใบเลี้ยงจะคล้อยออกยากและต้นกล้าที่งอกจะตายหลังงอก โดยเกิดแผลสีน้ำตาลบริเวณยอดและใบเลี้ยง ต้นกล้าเน่าระดับดิน ซึ่งสอดคล้องกับ รายงานของ Neergaard *et al.* (1999) ที่กล่าวว่าตำแหน่งการเข้าทำลายของเชื้อจะพบบนเปลือกเมล็ดถึง 89.1 เปอร์เซ็นต์ และต้นกล้าทั้งหมดจะแสดงอาการจุดแผลบนใบเลี้ยงและต้นกล้าแห้งตายหรือนำระดับดิน (seedling blighted/damping-off) ส่วนเมล็ดที่ปลูกเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* ร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์

*Trichoderma* sp. เมล็ดจะสามารถกลีไบลีงออกได้ดีกว่า เนื่องมาจากเมล็ดที่ผ่านการแช่กับเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. นั้นพบว่าเชื้อราปฏิปักษ์จะไปเกาะอยู่กับเมล็ดส่วนเปลือกส่งผลต่อเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* ที่อยู่บริเวณเปลือกเมล็ดทำให้ช่วยลดการเกิดโรคลงได้ และเมื่อทำการวัดความยาวขดอ่อน และความยาวราก พบว่าเมล็ดที่ปลูกเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* ร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. มีความยาวขดอ่อนมากกว่าในชุดที่ปลูกเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* อย่างเดียวส่วนความยาวรากไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดที่ปลูกเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* อย่างเดียวแต่เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ปลูกเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* ร่วมกับสารเคมีคลุกเมล็ด thiram แล้วมีความยาวขดอ่อน และความยาวรากน้อยกว่า ซึ่งเมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่าที่ความยาวขดอ่อนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% และความยาวรากระหว่างเมล็ดที่ปลูกเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* เพียงอย่างเดียวกับเมล็ดที่ปลูกเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* ร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95%

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสของถั่วเหลืองในระยะต้นกล้าในโรงเรือน โดยพิจารณาจากน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นกล้า ซึ่งน้ำหนักแห้งของต้นกล้าถั่วเหลืองจะให้ผลและมีความน่าเชื่อถือมากกว่าการพิจารณาน้ำหนักสด เนื่องจากต้นกล้าถั่วเหลืองในแต่ละต้นอาจมีปริมาณน้ำไม่เท่ากัน ซึ่งเป็นผลมาจากการให้น้ำหรือสภาพที่ปลูกในโรงเรือน โดยนำต้นกล้าถั่วเหลืองมาทำให้แห้งเพื่อให้น้ำหนักให้หมดแล้วจึงนำมาชั่งเพื่อให้ได้น้ำหนักที่แท้จริงของต้นกล้าถั่วเหลืองของการทดสอบในแต่ละกรรมวิธี ดังนั้นเมื่อพิจารณาน้ำหนักแห้งของกล้าถั่วเหลืองที่อายุ 14 วันพบว่า ต้นกล้าที่ปลูกเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* ร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ชั่งน้ำหนักแห้งเฉลี่ยได้ 5.48 กรัม ซึ่งมากกว่าในชุดที่ปลูกเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* เพียงอย่างเดียวคือ 4.41 กรัม แต่เมื่อเปรียบเทียบกับชุดที่ปลูกเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* ร่วมกับสารเคมีคลุกเมล็ด thiram พบว่ามีค่าน้อยกว่า โดยชั่งได้ 9.07 กรัม โดยพบว่าต้นกล้าถั่วเหลืองที่ปลูกเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* เพียงอย่างเดียวมีลักษณะไม่สมบูรณ์ ถ้าต้นดิบ ผอม ซึ่งทั้งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งน้อยกว่าในชุดที่ปลูกเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* ร่วมกับเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ซึ่ง Baker (1988) ได้รายงานไว้ว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. ทำหน้าที่ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชระดับรองและผลิตสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชด้วย ซึ่งทำให้พืชสามารถเจริญเติบโตได้ดีขึ้นโดยทั่วไปปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี มี 4 ปัจจัยด้วยกัน คือ พืชอาศัย

(host plant) เชื้อโรค (pathogen) สิ่งแวดล้อมทางกายภาพ (physical environment) และ จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ Baker and Cook (1974) อ้างโดย กาญจนา (2542) กล่าวว่า พืชอาศัย ในสภาพธรรมชาติพืชอาศัยมีความสำคัญต่อการควบคุมโรค โดยมีส่วนช่วยควบคุม ปริมาณเชื้อโรค โดยสารที่พืชปลดปล่อยออกมาจากราก (plant exudats) มีคุณสมบัติเป็น สิ่งกระตุ้น และเป็นอาหารสำหรับจุลินทรีย์ต่อต้านโรค รวมทั้งเชื้อโรคด้วยเช่นกัน ดังนั้น พืชอาศัยที่อ่อนแอต่อโรค เมื่อมีเชื้อโรคเข้าทำลายจะเกิดอาการของโรคอย่างรุนแรงวัน แต่ในสภาพแวดล้อมนั้นจะมีจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่เหมาะสมต่อการจำกัดโรคอยู่ เมื่อพืช อาศัยมีความต้านทานโรค ถึงแม้ว่าจะมีเชื้อโรคเข้าทำลายก็อาจจะเกิดโรคบ้างแต่เกิดเพียง เล็กน้อย หรืออาจจะไม่เกิดเลยไม่ว่าสภาพแวดล้อมจะเหมาะสมหรือไม่

ผลจากการทดสอบแสดงให้เห็นว่าเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. มีประสิทธิภาพใน การควบคุมโรคแอนแทรคโนสของถั่วเหลืองสูงในสภาพห้องทดลอง ซึ่งสามารถยับยั้ง การเจริญของเชื้อรา *C. truncatum* ได้โดยเป็นปรกติกับเชื้อราสาเหตุรวมทั้งมีการเจริญที่เร็ว ทำให้แย่งพื้นที่อาศัยของเชื้อราสาเหตุโรค ส่งผลให้เชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* หยุดงัก การเจริญเติบโตได้ และเมื่อนำเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ไปทดสอบประสิทธิภาพใน การควบคุมโรคแอนแทรคโนสของถั่วเหลืองในระยะต้นกล้าพบว่า ยังมีประสิทธิภาพ ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับสารเคมี thairam และทำให้เปอร์เซ็นต์ความงอกลดลงในช่วงแรกรวมทั้งอัตราการเจริญของราก น้ำหนักสดน้ำหนักแห้ง ของต้นกล้าลดลง แต่เชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ในภาพรวมแล้วทำให้ต้นกล้าถั่ว เหลืองมีอัตราการเจริญดีกว่าในชุดที่ไม่ใช้เชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. และเปอร์เซ็นต์ ความงอกเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดที่ปลูกเชื้อราสาเหตุ *C. truncatum* อย่างเดียว ดังนั้นในงานวิจัยนี้สามารถนำเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ที่แยกได้จากเมล็ดถั่วเหลืองมา ใช้ร่วมกับวิธีอื่น ๆ ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของถั่วเหลือง เพื่อเพิ่มประสิทธิ ภาพในการควบคุมและเพื่อลดการใช้สารเคมี และเพื่อเป็นแนวทางในการทดสอบควบคุม หรือเป็นข้อมูลที่น่าจะเป็นประโยชน์ในการศึกษาครั้งต่อไป