14406

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การควบคุมโรคโคนเน่าของถั่วเหลืองที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium moniliforme* f.sp. *subglutinans* โดยชีววิธี

Biological Control of Damping off of Soybean caused by *Fusarium moniliforme* f.sp. *subglutinans*

T099120

โดย

น.ส. เพ็ญ นิติกรไชยรัตน์

อาจารย์ที่ปรึกษา

รศ.ดร. เกษม สร้อยทอง

ปก.
ฬ88ป
2537

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 99120
วัน,เดือน,ปี 11 ม.ค. 2538

เสนอ

ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

ชื่อเรื่อง : การควบคุมโรคโคนเน่าของถั่วเหลืองที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium moniliforme* f.sp. *subglutinans* โดยชีววิธี

โดย : น.ส. เพ็ญ นิติกรไชยรัตน์

ชื่อปริญญา : วิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

สาขาวิชา : เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช

ประธานกรรมการอาจารย์ที่ปรึกษา : .....

(รศ.ดร. เกษม สร้อยทอง)

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Chaetomium cupreum* และ *Trichoderma hamatum* ในการควบคุมโรคโคนเน่าของถั่วเหลือง ที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium moniliforme* f.sp.*subglutinans* โดยทำการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 5 ซ้ำ โดยใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดเชื้อราที่ผลิตจากจุลินทรีย์ต่อต้านทั้ง *Ch. cupreum* และ *T. hamatum* เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราประเภท Pentachloronitrobenzene (PCNB) และน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ (Control) พบว่ายาเชื้อที่ผลิตจาก *Ch. cupreum* และ *T. hamatum* สามารถลดเปอร์เซนต์การเกิดโรคโคนเน่าถั่วเหลืองที่เกิดจากเชื้อรา *F. moniliforme* f. sp. *subglutinans* ได้เท่ากับ 2-8 เปอร์เซนต์ และ 8-16 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ และปรากฏว่า ความยาวของลำต้นถั่วเหลือง, ความยาวรากของต้นถั่วเหลือง, น้ำหนักสดของต้นถั่วเหลือง เมื่ออายุ 45 วัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ แต่น้ำหนักสดของรากถั่วเหลือง เมื่ออายุ 45 วัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับ control

ABSTRACT

Title : Biological Control of Damping off of Soybean caused by *Fusarium moniliforme* f. sp. *subglutinans*

By : Phen Nitikronchairat

Degree : Bachelor of Science (Agriculture)

Major field : Plant Pest Management Technology

Advisor : .....Kasem Soytong.....

(Assoc. Prof. Dr. Kasem Soytong)

Biological control of damping off of soybean (*Glycine max*) caused by *Fusarium moniliforme* f. sp. *subglutinans* in greenhouse was conducted by using mycofungicides which produced from *Chaetomium cupreum* and *Trichoderma hamatum* as potential microantagonists. The experiment was done by using Completely Randomized Design (CRD) with five replications. Results showed that using pellets of *Ch. cupreum* and *T. hamatum* could significantly reduce the damping off of soybean as effectively as Pentachloronitrobenzene (PCNB). However, using pellets of *Ch. cupreum* and *T. hamatum* tended to control the damping off of soybean when compared with the control (Sterilize distilled water). Accordingly, the treatments were shown highly significant different in term of plant height, root length and fresh weight of stem at 45 days, but the fresh weight of root at 45 days was shown non-significantly different when compared with the control.

คำนิยม

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. เกษม สร้อยทอง อาจารย์ที่ปรึกษาที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ และแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ จนกระทั่งปัญหานิเศษเล่มนี้สำเร็จด้วยดี, ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. วิทยา บัวเจริญ ที่กรุณาให้ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสด พันธุ์ Yoshida และขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ติกปฏิบัติการเกษตร 2 ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ได้ให้ความสะดวกและช่วยเหลือเป็นอย่างดี รวมทั้งเพื่อน ๆ ที่มีส่วนช่วยเหลือ และให้กำลังใจมาโดยตลอด

เน็ญ นิติกรไชยรัตน์

มีนาคม 2537

สารบาญ

	หน้า
สารบาญ	(1)
สารบาญตาราง	(2)
สารบาญตารางผนวก	(3)
สารบาญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	9
ผลการทดลอง	15
วิจารณ์	39
สรุป	40
เอกสารอ้างอิง	41
ภาคผนวก	45

สารบาญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงเปอร์เซนต์การมีชีวิตรอดของยาเชื้อป้องกันกำจัดเชื้อรา	27
2	แสดงอัตราการเกิดโรคโคนเน่าถั่วเหลืองโดยเฉลี่ย	29
3	แสดงค่าเฉลี่ยความยาวของลำต้นถั่วเหลืองเมื่ออายุ 45 วัน	31
4	แสดงค่าเฉลี่ยความยาวรากของต้นถั่วเหลืองเมื่ออายุ 45 วัน	33
5	แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของต้นถั่วเหลืองเมื่ออายุ 45 วัน	35
6	แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของรากถั่วเหลืองเมื่ออายุ 45 วัน	37

สารบาญตารางผนวก

ตารางที่		หน้า
1	แสดงการวิเคราะห์ผลทางสถิติของเปอร์เซนต์การมีชีวิตรอดของยาเชื้อป้องกันกำจัดเชื้อรา	46
2	แสดงการวิเคราะห์ผลทางสถิติของอัตราการเกิดโรคโคนเน่าถั่วเหลืองโดยเฉลี่ย	47
3	แสดงการวิเคราะห์ผลทางสถิติของค่าเฉลี่ยความยาวของลำต้นถั่วเหลืองเมื่ออายุ 45 วัน	48
4	แสดงการวิเคราะห์ผลทางสถิติของค่าเฉลี่ยความยาวรากของต้นถั่วเหลืองเมื่ออายุ 45 วัน	49
5	แสดงการวิเคราะห์ผลทางสถิติของค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของต้นถั่วเหลืองเมื่ออายุ 45 วัน	50
6	แสดงการวิเคราะห์ผลทางสถิติของค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของรากถั่วเหลืองเมื่ออายุ 45 วัน	51

สารบาญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	เชื้อรา *Aspergillus niger* Van Tieghem	21
2	เชื้อรา *Aspergillus flavus* Link	22
3	เชื้อรา *Fusarium moniliforme* f.sp. *subglutinans* Wr.& Reink.	23
4	เปรียบเทียบต้นถั่วเหลืองที่เกิดโรคโคนเน่ากับตัวเปรียบเทียบ (Control)	24
5	การทดสอบคุณสมบัติในการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าโดยชีววิธี	25
6	เปรียบเทียบต้นถั่วเหลืองที่เป็นโรคโคนเน่ากับต้นปกติ	26
7	แสดงเปอร์เซนต์การมีชีวิตรอดของยาเชื้อป้องกันกำจัดเชื้อรา	28
8	แสดงอัตราการเกิดโรคโคนเน่าถั่วเหลืองโดยเฉลี่ย	30
9	แสดงค่าเฉลี่ยความยาวของลำต้นถั่วเหลืองเมื่ออายุ 45 วัน	32
10	แสดงค่าเฉลี่ยความยาวรากของต้นถั่วเหลืองเมื่ออายุ 45 วัน	34
11	แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของต้นถั่วเหลืองเมื่ออายุ 45 วัน	36
12	แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของรากถั่วเหลืองเมื่ออายุ 45 วัน	38

คำนำ

ถั่วเหลือง (Soybean, *Glycine max* (L.) Merrill) เป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจพืชหนึ่งของประเทศไทย นำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างแพร่หลาย มีคุณค่ายิ่งต่อมนุษย์และสัตว์ นับตั้งแต่การบริโภคในรูปฝักสด หรือการนำไปแปรรูป เช่น เต้าหู้ เต้าเจี้ยว ซอสถั่วเหลือง น้ำนมถั่วเหลือง ตลอดจนใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น อุตสาหกรรมน้ำมันพืชและอาหารสัตว์ เพราะในเมล็ดถั่วเหลือง มีกรดไขมันอิ่มตัวสูง 51 เปอร์เซนต์ มีโปรตีนที่มีกรดอะมิโน ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตสูง และอุดมไปด้วยวิตะมินบี จึงเหมาะในการนำมาทดแทนอาหารโปรตีนจากเนื้อสัตว์ จากความสำคัญของถั่วเหลืองดังกล่าว ทำให้เป็นที่ต้องการใช้บริโภคในประเทศสูงขึ้น และมีแนวโน้มที่ตลาดต้องการเพิ่มขึ้น (ศุภชัย และคณะ, 2530)

แม้ว่าประเทศไทยจะผลิตถั่วเหลืองได้มากขึ้น แต่ก็ยังไม่เพียงพอต่อความต้องการใช้ในประเทศ กล่าวคือ ถั่วเหลืองที่ผลิตได้ส่วนหนึ่ง จะเก็บไว้ทำพันธุ์ ส่วนที่เหลือก็จะใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดน้ำมันพืช และส่งออก (อัญชลี,2530)

ปัจจุบันโรคที่เกิดกับถั่วเหลือง นับว่าเป็นอุปสรรคสำคัญในการผลิตถั่วเหลืองภายในประเทศ โรคโคนเน่า (Damping off) ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Fusarium moniliforme* f. sp. *subglutinans* ก็เป็นอีกโรคหนึ่งซึ่งก่อความเสียหายทางเศรษฐกิจ ในการปลูกถั่วเหลือง โรคนี้มักพบในฤดูฝน ต้นถั่วเหลืองที่เป็นโรคจะมีลักษณะ โคนต้นกล้าเน่า คอหักพับและตายในที่สุด ในการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าของถั่วเหลืองนี้ นิยมใช้วิธีการป้องกันกำจัดโรคพืชโดยชีววิธี (Biological Control) เพื่อหลีกเลี่ยง จากการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชที่มีราคาแพง และยังก่อให้เกิดมลพิษตกค้าง ต่อสภาพแวดล้อม ตลอดจนปัญหาการดื้อยา ต่อสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชดังกล่าว การป้องกันกำจัดโรคพืชโดยชีววิธีจึงได้รับการค้นคว้าวิจัย และมีบทบาทมากยิ่งขึ้นในปัจจุบัน

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาถึงชนิดของเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง
2. เพื่อศึกษาถึงชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคโคนเน่าของถั่วเหลือง
3. เพื่อศึกษาถึงวิธีการผลิตยาเชื้อป้องกันกำจัดเชื้อราชนิดเม็ด
4. เพื่อศึกษาถึงศักยภาพในการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่า ของยาเชื้อป้องกันกำจัดเชื้อรา

การตรวจเอกสาร

เมล็ดพันธุ์พืชต่าง ๆ ที่มีลักษณะภายนอกสมบูรณ์ ปราศจากอาการผิดปกติใด ๆ อาจมีเชื้อราบางชนิด แฝงตัวอยู่ภายใน ซึ่งเป็นผลเสีย และทำลายการงอกของเมล็ดพันธุ์ได้ ฉะนั้นเมื่อเกษตรกรนำเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวไปปลูก จะมีผลทำให้ต้นพืชอ่อนแอ และอาจเป็นโรคตายในระยะต้นกล้า จากการสำรวจ และแยกเชื้อราสาเหตุ ที่ติดต่อทางเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองสายพันธุ์ เชียงใหม่ 60 โดยวิธี Agar Plate Method พบเชื้อรา 14 ชนิด เช่น *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Fusarium solani*, *Penicillium terrestre*, *Alternalia alternata* เป็นต้น (เกษม และ สุมล,2533)

Prasartporn (1983) กล่าวว่า ถั่วเหลืองเป็นพืชไร่ที่สำคัญชนิดหนึ่งในภาคเหนือของประเทศไทย ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อถั่วเหลือง คือ การเปลี่ยนอุณหภูมิ, วันสั้น-วันยาว, น้ำฝน, สภาพดิน ถ้าบวกปัจจัยเหล่านี้กับโรคและแมลง ก็จะเป็นปัญหาใหญ่ของผลผลิตถั่วเหลือง จากการศึกษาในจังหวัดเชียงใหม่ เริ่มมีการวิจัยเกี่ยวกับโรคทางเมล็ดพันธุ์ ซึ่งเมล็ดถั่วเหลืองสามารถถูกปนเปื้อนจากเชื้อรา, แบคทีเรีย และไวรัส เชื้อโรคเหล่านี้จะทำให้เมล็ดไม่มีคุณภาพ แหล่งที่เชื้อกระจายนั้นไม่แน่นอน ตัวอย่างของเมล็ดพืชในศูนย์วิจัยพืชไร่แม่โจ้ และสถาบันวิจัยพืชไร่ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ พบเชื้อราบนเมล็ดถั่วเหลืองหลายชนิด เช่น *Aspergillus flavus* , *A. niger* , *Penicillium* spp. , *Cladosporium* spp. , *Fusarium moniliforme* ฯลฯ

Oyekan และ Naik (1987) ได้รายงานว่า โรคของถั่วเหลืองที่ทำความเสียหายทั่วโลกถึง 7 ล้านตัน ในปี ค.ศ. 1977 มีเชื้อสาเหตุ มากกว่า 100 ชนิด เข้าทำลายถั่วเหลือง เมล็ดถูกโรคหลายชนิดเข้าทำลาย ได้รับความเสียหายมาก โดยพบ *Fusarium oxysporum* เป็นเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวของถั่วเหลือง พบในเขตที่มีอากาศร้อน และปลูกถั่วเหลืองในดินทราย โรคเหี่ยวนี้จะทำให้ถั่วเหลือง มีลักษณะ เนื้อเยื่อบริเวณราก, ลำต้นเป็นสีน้ำตาล หลังจากเชื้อราเข้าทำลายพืช จะทำให้พืชเหลือง และเหี่ยวตายในที่สุด

Datnoff (1989) ได้รายงานว่า พบเชื้อรา *Fusarium* ที่ก่อให้เกิดโรครากเน่าในปี 1961 ซึ่งทำความเสียหายทางเศรษฐกิจถึง 59 เปอร์เซนต์ เชื้อรา *Fusarium oxysporum* ที่เข้าทำลายถั่วเหลือง ทำให้เกิดโรครากเน่านั้น จะทำให้ลำต้นแคระแกรน เตี้ย เกิดจุดสีน้ำตาลที่บริเวณเมล็ด เมื่อในดินมีความชื้นต่ำ เชื้อราจะเข้าทำลาย ทำให้พืชเหี่ยว และตายในที่สุด นอกจากนี้ยังพบ โรคไหม้ หรือ เหี่ยว ที่เกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* อาการที่เกิดบนต้นถั่วเหลือง จะทำให้เกิด สีเหลืองแก่, น้ำตาล, ดำ ที่เนื้อเยื่อบริเวณรากและลำต้น ขอบใบแห้งตายและหลุดร่วง ต่อมาเกิดลำต้นเหี่ยว ฝักไม่เจริญเติบโต และอาการรากเน่าจะตามมาภายหลัง

Gaur และ Sharma (1989) รายงานว่า โรคเหี่ยวของถั่วเขียว มีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium udum* ซึ่งทำความเสียหาย ให้กับพืชปลูกหลายพื้นที่ เป็นเวลาหลายปีมาแล้ว โดยโรคนี้จะทำให้พืชเกิดใบเหลืองและแห้งตาย ใบเหี่ยว ระบบรากจะสร้างสีที่ผิดปกติไป เกิดสีน้ำตาลเข้มเป็นแถบ ที่ลำต้นจนถึงบริเวณราก ในที่สุดก็เกิดอาการเหี่ยว โรคจะเกิดมากในแปลงต้นกล้า เชื้อโรคติดต่อทางดิน

Khan (1982) รายงานว่า โรคเน่าคอดินของถั่วพู ทำให้เกิดการตายเป็นจำนวนมาก อาการเริ่มแรกจะเกิดใบเหี่ยว ต่อมาพืชจะตาย หลังจากเมล็ดงอกแล้ว 3-4 สัปดาห์ ลำต้นข้อแรก จากโคนต้นขึ้นมา จะหด, เหี่ยว เกิดอาการแห้งตาย เชื้อสาเหตุมีหลายชนิด คือ เชื้อรา *Macrophomina phaseolina* , *Fusarium semitectum* , *F. equiseti*, *F. moniliforme* และ *Rhizoctonia solani* เชื้อแพร่กระจายโดยดินที่มีเชื้อโรคปะปนอยู่

Booth (1971) รายงานว่า *Fusarium moniliforme* พบมากในดินที่มีความชื้นและในเขตร้อนชื้นทั่วโลก เชื้อราเข้าทำลายพืชหลายชนิด มีรายงานว่า ในประเทศไทย *F. moniliforme* เป็นเชื้อราที่ทำความเสียหายให้กับฝ้าย อย่างมาก และพบ *F. moniliforme* f. sp. *subglutinans* มีพืชอาศัยหลายชนิด รวมทั้งใน Family Leguminoseae ด้วย เชื้อโรคทำให้เมล็ดไหม้, ลำต้นเน่า ในข้าวโพด และยังเกิดลำต้น, หัวเน่า ในข้าวฟ่าง เชื้อโรคแพร่ระบาดทางดิน

ในปัจจุบันได้มีการพัฒนาการผลิตยาเชื้อ ควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช (mycofungicide) กันมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องมาจากเพื่อความสะดวกในการนำไปใช้ และเพื่อให้อยู่ในรูปที่เหมาะต่อการมีชีวิตรอด ของจุลินทรีย์ต่อต้าน (microantagonist) หรือเชื้อควบคุมโดยชีววิธี (biological control agent) ซึ่งเป็นแนวทางหนึ่งในการพัฒนาเทคโนโลยีการควบคุมโดยชีววิธี เชิงอุสาหกรรมในรูปแบบของยาเชื้อ การผลิตยาเชื้อในรูป alginate pellets โดยใช้สปอร์ของรา *Chaetomium cupreum* ผลิตในรูปเม็ดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร และเมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 เดือน ปรากฏว่ายาเชื้อมีชีวิตอยู่รอดได้ เฉลี่ย 74.10-80.34 เปอร์เซนต์ และยาเชื้อที่ผลิตในรูปเม็ด ยังสะดวกต่อการขนส่ง และการนำไปใช้ (เกษม,2535ก)

เกษม (2535ข) รายงานว่า จากการใช้ยาเชื้อที่ผลิตจาก *Chaetomium cupreum* เป็นรูปเม็ดทรงกลม สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ พันธุ์สีดา ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* ในสภาพไร่ได้ ซึ่งยาเชื้อชนิดเม็ดมีความสามารถในการมีชีวิตรอด ในการเก็บรักษาที่ 12 สัปดาห์ และยังคงมีเปอร์เซนต์ความมีชีวิตรอดอยู่เฉลี่ย 74 - 80 จากการทดสอบในสภาพไร่ นอกจาก *Ch. cupreum* สามารถควบคุมโรคเหี่ยว ยังช่วยส่งเสริมในการเจริญเติบโต ของต้นมะเขือเทศได้อีกด้วย

เกษม (2533) รายงานว่า *Chaetomium* spp. สามารถใช้ในการควบคุมโรคที่ติดต่อทางเมล็ดพันธุ์ข้าว ที่เกิดจากเชื้อรา *Curvularia lunata*, *Dreshslera oryzae*, *Fusarium moniliforme* และ *Pyricularia oryzae* ได้

จากการทดสอบคุณสมบัติของรา *Chaetomium cupreum* เพื่อใช้ควบคุมโดยชีววิธี (biological control) ต่อราสาเหตุของโรคข้าว พบว่ารา *Ch. cupreum* ยับยั้งการเจริญเติบโตของรา *Pyricularia oryzae* , *Curvularia lunata* , *Dreshslera oryzae* , *Fusarium moniliforme* , *Rhizoctonia oryzae* และ *R. solani* ได้ผลดี เมื่อทดสอบในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar ด้วยวิธี Dual agar culture (เกษม,2532)

Gaysorn และคณะ (1990) ได้รายงานว่า ตลอดระยะเวลาหลายปีที่ผ่านมา ได้มีการศึกษาถึงจุลินทรีย์ในดินตัวอย่าง มักพบแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในดินร่วน คือ *Bacillus* spp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีชีวิตอยู่ในดิน ได้นานหลายปี เมื่อไม่นานมานี้ ได้มีการใช้ *Bacillus* ในการควบคุมโรครากและโคนเน่าของอ้อย โดยชีววิธี ซึ่งมีเชื้อสาเหตุ คือ *Fusarium moniliforme* ปัจจุบันโรคนี้ทำความเสียหาย ให้กับผู้ผลิตอ้อยมากในประเทศไทย ในการใช้ *Bacillus* เป็นจุลินทรีย์ต่อต้านในการควบคุม *F. moniliforme* จึงได้รับความสนใจอย่างมาก จากตัวอย่างดิน สามารถแยกแบคทีเรียที่สามารถสร้างสปอร์ได้มากมาย โดยสร้างโคโลนีได้ 10^5 โคโลนี ต่อดิน 1 กรัม อย่างไรก็ตาม ในดินที่พบจุลินทรีย์ต่อต้าน *Bacillus* พบว่ามีน้อยกว่า 10 isolates ที่นำไปใช้ในการศึกษาเกี่ยวกับ การป้องกันกำจัดโรครากและโคนเน่าของอ้อย ที่เกิดจากเชื้อรา *F. moniliforme*

Chiradej และคณะ (1992) ได้รายงานว่า จากการใช้ *Trichoderma* spp. 13 isolates และ *Penicillium* sp. 1 isolate ในการควบคุมโรคลำต้นเน่าของมะเขือเทศ ซึ่งมีสาเหตุมาจาก เชื้อรา *Sclerotium rolfsii* โดยทำการทดลองในเรือนเพาะชำ โดยใช้สปอร์ของเชื้อรา ผสมกับเมล็ดข้าวฟ่างอบฆ่าเชื้อ และรำข้าวในอัตราส่วน 1:5:25 โดยน้ำหนัก นำไปโรยรอบ ๆ โคนต้นมะเขือเทศ ที่ปลูกในดินธรรมชาติ เป็นเวลา 68 วัน ปลูกเชื้อ *S. rolfsii* และไม่ปลูกเชื้อ *S. rolfsii* (ตัวควบคุม) พบว่า *Trichoderma* spp. 10 isolates และ *Penicillium* 1 isolate สามารถลดการเกิดโรคได้ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวเปรียบเทียบ โดยมีเปอร์เซนต์การมีชีวิตรอด 26-63 % ซึ่งมากกว่าตัวควบคุม

Al-Hecti และ Sinclair (1988) ได้รายงานว่า กลไกการต่อต้านของจุลินทรีย์ต่อต้านระหว่าง *Gliocladium roseum* , *Trichoderma harzianum* หรือ *Trichoderma roseum* กับ *Phytophthora megasperam* f.sp. *glycinae* (*Pmg*) สาเหตุของโรคโคนเน่าในถั่วเหลือง (*Glycine max*) ศึกษาโดยเลี้ยง *G. roseum*, *T. harzianum* และ 17 isolates ของ *T. roseum* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Modified Czapek-Dox (MCD) ในที่มืด ที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 25 วัน โดยกรองเชื้อรา *T. roseum* ความเข้มข้น 0.5 % และ 20 % สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใย *Pmg* ถึง 3.9 % และ 40 %, *G. roseum* ยับยั้งได้ 0.7 % และ 40 %, *T. harzianum* ยับยั้งได้ 0.7 % และ 46 % ตามลำดับ และเชื้อรา *T. roseum* ที่กรองด้วยความเข้มข้น 0.5 % ยังสามารถยับยั้ง การงอกของสปอร์ *Pmg* ได้ถึง 98 % อีกด้วย

Hubbard และคณะ (1983) ได้รายงานว่า ในดินบางพื้นที่ *Trichoderma hamatum* สามารถสร้างโคโลนีขึ้นมา เพื่อปกป้องเมล็ดถั่วไม่ให้เกิดโรคเมล็ดเน่า ที่มีเชื้อราสาเหตุ คือ *Pytium ultimum* บางครั้งประสบความล้มเหลว ในนิวยอร์ค *T. hamatum* ไม่สามารถปกป้องเมล็ดได้ เพราะในดินมีธาตุเหล็กน้อย และสังเกตพบ *Pseudomonas* spp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียรูปร่าง rod - shaped ปะปนมากับการงอกของ *T. hamatum* ที่ปลูกเชื้อลงบนเมล็ดในดินสำหรับปลูกพืช การเพิ่มปริมาณของ *Pseudomonas* บนเมล็ดที่ปลูกเชื้อ *T. hamatum* เป็นสาเหตุให้ *T. hamatum* ไม่ประสบความสำเร็จในการเป็นจุลินทรีย์ควบคุมเชื้อโรค เมื่อนำเมล็ดมาปลูกในดินที่มีธาตุเหล็ก 1 $\mu g/g$ ในดิน สามารถแก้ไขโรคเมล็ดเน่าที่เกิดจาก *P. ultimum* ได้ ในทางตรงกันข้าม เมล็ดพืชที่ปลูกเชื้อ *T. hamatum* และ *Pseudomonas* ในดินที่มีธาตุเหล็ก 7 $\mu g/g$ เป็นผลให้ไม่สามารถลดการเจริญเติบโตของ *T. hamatum* ได้ และธาตุเหล็กในดินเพิ่มเป็น 8 $\mu g/g$ และยังพบว่าธาตุเหล็กที่เพิ่มเข้าไปในดินทำให้ *T. hamatum* มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเมล็ดเน่า บริเวณรอบ ๆ เมล็ดพืชที่เกิดโคโลนีของ *Pseudomonas* ต้องทำการปลูกยาปฏิชีวนะ ต่อต้านแบคทีเรียนั้นลงไป เพื่อให้การปลูกเชื้อ *T. hamatum* ลงบนเมล็ดถั่วปราศจาก *Pseudomonas* จึงสามารถควบคุมโรคเมล็ดเน่าของถั่ว ที่เกิดจาก *P. ultimum* ได้

Chao และคณะ (1986) ได้รายงานว่า จากการศึกษา เชื้อราและแบคทีเรีย หลายชนิดที่สามารถเคลื่อนที่เข้าสู่เมล็ดพืช แล้วพัฒนาเจริญไปยังรากพืช รากพืชในดินปกติจะไม่พบ โคโลนีของ *Trichoderma* spp. แต่พบโคโลนีของ *Enterobacter cloacae* เมื่อรากเจริญในดินอบฆ่าเชื้อ ตรวจพบ *Trichoderma harzianum* ที่บริเวณดินรอบรากพืช และใต้ดินบริเวณรากพืช ส่วน *E. cloacae* พบบริเวณดินรอบรากพืชเท่านั้น ในดินอบฆ่าเชื้อที่เพิ่มโคโลนีของเชื้อราลงไป โคโลนีของ *E. cloacae* เจริญเติบโตดีในรากพืช *T. harzianum* ไม่เจริญเติบโต ในทางตรงกันข้าม ในดินอบฆ่าเชื้อ ที่เพิ่มแบคทีเรียเข้าไป *E. cloacae* ไม่เจริญเติบโต ส่วน *T. harzianum* เจริญเติบโตดี และน่าจะทำให้แบคทีเรียและเชื้อราเคลื่อนที่ได้ดีขึ้น

อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการราวิทยา ภาควิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง กรุงเทพฯ

1. การแยกเชื้อราจากเมล็ดถั่วเหลือง

นำเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์ Yoshida แช่ในสารละลาย clorox 10 % เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำเมล็ดถั่วเหลืองไปวางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีอาหารสูตร PDA (Potato Dextrose Agar) ผสมกับ NaCl 10 % ดังสูตร

มันฝรั่ง	200	กรัม
Dextrose	20	กรัม
วุ้น	17	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิกรัม

นึ่งในหม้อนึ่งไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที เพื่อฆ่าเชื้อ

เมื่อนำเมล็ดถั่วเหลือง วางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีอาหาร PDA + NaCl 10 % แล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 25-28 °C เป็นเวลา 7 วัน เมื่อพบเส้นใย, สปอร์ของเชื้อรา ที่บริเวณเมล็ด, ลำต้น และรากของถั่วเหลือง ย้ายเชื้อราแต่ละ isolate ไปเลี้ยงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร PDA อยู่ เพื่อเลี้ยงเชื้อราให้เป็นเชื้อราบริสุทธิ์ (pure culture) เมื่อเชื้อราเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปทำสไลด์ (slide) และแยกเชื้อราบริสุทธิ์แต่ละ isolate ไว้ในหลอดทดสอบที่มีอาหาร PDA เอียงอยู่ (agar slant) เก็บรักษา โดยใส่ mineral oil ไว้ศึกษาต่อไป

การบันทึกผลการทดลอง

1. จำแนกเชื้อรา โดยจำแนกเป็น sub-division , class , family, genus และ species

2. วัดขนาดของสปอร์และโครงสร้างต่างๆ ของรา 100 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย

3. ถ่ายภาพ ลักษณะสำคัญแต่ละ species ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

4. ถ่ายภาพ เชื้อราบริสุทธิ์ แต่ละ species ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร PDA ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ชนิด สเตอริโอ (Stereomicroscope)

2. ปลูกถั่วเหลืองในกระถางเพื่อแยกเชื้อราสาเหตุโรคโคนเน่า

นำเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์ Yoshida ปลูกลงในกระถาง เมื่อเกิดโรคโคนเน่า นำต้นถั่วเหลืองมาล้างน้ำให้สะอาด ตัดส่วนโคนเน่าเป็นท่อน ๆ ขนาด 1 ซม. แช่ในสารละลาย clorox 10 % เป็นเวลา 1 นาที นำส่วนโคนเน่าที่ตัดเป็นท่อน ๆ ไปวางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร PDA อยู่ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 25-28 °C เป็นเวลา 3 วัน เมื่อพบเชื้อราเจริญขึ้น ให้ย้ายเชื้อราไปเลี้ยงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีอาหาร PDA อยู่ เพื่อแยกให้เป็น เชื้อราบริสุทธิ์ นำไปทำสไลด์ เพื่อศึกษาว่าเป็นเชื้อราชนิดใด

การบันทึกผลการทดลอง

1. จำแนกว่าเชื้อราสาเหตุโรคโคนเน่า เป็นราใน species ใด

2. วัดขนาดของสปอร์และโครงสร้างต่างๆ ของรา 100 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย

3. ถ่ายภาพลักษณะสำคัญ, รูปร่าง และสปอร์ ของเชื้อราสาเหตุโรคโคนเน่าของถั่วเหลือง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3. การพิสูจน์โรค

นำเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์ Yoshida มาปลูกในดินอบฆ่าเชื้อ ที่นึ่งในหม้อนึ่งไอน้ำภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 45 นาที วัด pH ของดินโดยใช้อัตราส่วน ดิน:น้ำ (1:1) แบ่งการทดลองเป็น 2 treatments 4 replications ดังนี้

1). ตัวเปรียบเทียบ (control) นำดินใส่ถ้วยพลาสติก ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8.8 ซม. จำนวน 4 ถ้วย แล้วปลูกเมล็ดถั่วเหลืองลงไป ถ้วยละ 1 เมล็ด ดูแลรดน้ำทุกวัน บันทึกผลการทดลอง

2). นำดินใส่ในถ้วยพลาสติก ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8.8 ซม. จำนวน 4 ถ้วยใส่เมล็ดถั่วเหลือง ถ้วยละ 1 เมล็ด ซึ่งจุ่มสปอร์แขวนลอย (spore suspension) โดยการทำ spore suspension ของเชื้อราสาเหตุโรคโคนเน่า *Fusarium moniliforme* f. sp. *subglutinans* ที่แยกไว้ โดยเลี้ยงเชื้อราในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร PDA อยู่ เป็นเวลา 10 วัน เพื่อให้สร้างสปอร์ในปริมาณมาก นับสปอร์ในเครื่อง Haemacytometer ความหนาแน่นของสปอร์เท่ากับ 50,000 สปอร์ต่อมิลลิลิตร นำเมล็ดถั่วเหลืองจุ่มใน spore suspension เป็นเวลา 5 นาที นำไปปลูกในดินอบฆ่าเชื้อที่เตรียมไว้แล้ว รดน้ำทุกวัน สังเกตอาการของโรคโคนเน่า เมื่อเกิดโรคโคนเน่า นำต้นถั่วเหลืองมาล้างน้ำให้สะอาด ตัดเป็นท่อน ๆ ขนาด 1 ซม. แช่ในสารละลาย clorox 10 % เป็นเวลา 1 นาที นำไปเลี้ยงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร PDA อยู่ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 25-28 °C เป็นเวลา 3 วัน เมื่อพบเชื้อราเจริญขึ้น นำไปแยกให้เป็นเชื้อราบริสุทธิ์ ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร PDA อยู่ เขี่ยเส้นใยเชื้อรามาทำสไลด์ ตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ว่าเป็นเชื้อราสาเหตุโรคโคนเน่าที่ปลูกเชื้อลงบนเมล็ดหรือไม่

การบันทึกผลการทดลอง

1. ถ่ายภาพ ต้นถั่วเหลืองที่เป็นโรคโคนเน่า เปรียบเทียบกับ ต้วเปรียบเทียบ

2. ตรวจเชื้อราสาเหตุโรคโคนเน่าถั่วเหลือง ด้วยกล้องจุลทรรศน์ว่าเป็นเชื้อราสาเหตุโรคโคนเน่าถั่วเหลือง ที่ปลูกเชื้อลงบนเมล็ดก่อนนำไปปลูก

4. การทดสอบคุณสมบัติในการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าโดยชีววิธี

1). ทำการผลิตยาเชื้อป้องกันกำจัดเชื้อราชนิดเม็ดจากเชื้อรา *Chaetomium cupreum* และ *Trichoderma hamatum* ตามวิธีของเกษม (2535ก)

และทำการตรวจสอบความมีชีวิต (viable population) ของยาเม็ดซึ่งเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 25-28 °C ที่ 1 วัน, 2 สัปดาห์, 4 สัปดาห์ และ 6 สัปดาห์ ตามลำดับ โดยนำยาเม็ด ล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ แล้วซับบนกระดาษฟาง เพื่อไม่ให้เกิดเชื้อแบคทีเรียเข้าปนเปื้อน นำยาเชื้อไปวางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร PDA อยู่จานละ 10 เม็ด บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 25-28 °c เป็นเวลา 5 วัน ทำการทดลองแบบ 2 factors factorial experiment in CRD จำนวน 4 ซ้ำ โดยมี factor a = ยาเชื้อชนิดเม็ด ; a_1 = *Ch. cupreum* ($CaCl_2$), a_2 = *Ch. cupreum* ($CaCl_2$ + Ca gluconate), a_3 = *T. hamatum* ($CaCl_2$) และ a_4 = *T. hamatum* (Ca gluconate) และ factor b = การเก็บรักษา ; b_1 = ที่อายุ 1 วัน, b_2 = 2 สัปดาห์, b_3 = 4 สัปดาห์ และ b_4 = 6 สัปดาห์ ตามลำดับ

บันทึกผลการทดลอง โดยการนับจำนวนยาเชื้อชนิดเม็ดที่ยังมีชีวิตรอดอยู่

2). ล้างเมล็ดข้าวฟ่างให้สะอาด นำไปอบฆ่าเชื้อ ในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 °C ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 50 นาที บรรจุเมล็ดข้าวฟ่างในถุงพลาสติก ปริมาณถุงละ 20 กรัม จำนวน 60 ถุง จากนั้นทำการย้ายชิ้นวุ้นของเชื้อราสาเหตุโรคโคนเน่าถั่วเหลือง ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิลิตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 25-28 °C เป็นเวลา 10 วัน

3). ดินอบฆ่าเชื้อ ในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 °C ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 45 นาที

4). นำดินอบฆ่าเชื้อ ในปริมาณ 100 กรัม มาผสมกับ เมล็ดข้าวฟ่าง ที่มีเชื้อก่อโรคอยู่ในปริมาณ 20 กรัม ใส่ในถ้วยพลาสติก ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8.8 ซม. จำนวน 60 ถ้วย ทำการทดลองแบบ CRD จำนวน 5 replications 6 treatments ดังนี้

T1 ตัวเปรียบเทียบ (control) ปลูกเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์ Yoshida ในถ้วยพลาสติก ที่มีดินอบฆ่าเชื้อ ผสมกับ เมล็ดข้าวฟ่างที่มีเชื้อก่อโรคเจริญอยู่ ถ้วยละ 1 เมล็ด จำนวน 10 ถ้วย ดูแลรดน้ำทุกวัน บันทึกผลการทดลอง

T2 ใช้ยาเชื้อ 0.5 กรัม ที่ผลิตจาก *Chaetomium cupreum* (calcium chloride) โรยยาเชื้อที่บริเวณผิวดิน ในถ้วยพลาสติก จำนวน 10 ถ้วย บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 25-28 °C เป็นเวลา 2 สัปดาห์ จึงปลูกเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์ Yoshida ถ้วยละ 1 เมล็ด ดูแลรดน้ำทุกวัน บันทึกผลการทดลอง

T3 ใช้ยาเชื้อ 0.5 กรัม ที่ผลิตจาก *Ch. cupreum* (calcium gluconate และ calcium chloride) โรยยาเชื้อที่บริเวณผิวดินในถ้วยพลาสติก จำนวน 10 ถ้วย บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 25-28 °C เป็นเวลา 2 สัปดาห์ จึงปลูกเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์ Yoshida ถ้วยละ 1 เมล็ด ดูแลรดน้ำทุกวัน บันทึกผลการทดลอง

T4 ใช้ยาเชื้อ 0.5 กรัม ที่ผลิตจาก *Trichoderma hamatum* (calcium chloride) โรยยาเชื้อบริเวณผิวดิน ในถ้วยพลาสติก จำนวน 10 ถ้วย บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 25-28 °C เป็นเวลา 2 สัปดาห์ จึงปลูกเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์ Yoshida ถ้วยละ 1 เมล็ด ดูแลรดน้ำทุกวัน บันทึกผลการทดลอง

T5 ใช้ยาเชื้อ 0.5 กรัม ที่ผลิตจาก *T. hamatum* (calcium gluconate) โรยยาเชื้อที่บริเวณผิวดิน ในถ้วยพลาสติก จำนวน 10 ถ้วย บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 25-28 °C เป็นเวลา 2 สัปดาห์ จึงปลูกเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์ Yoshida ถ้วยละ 1 เมล็ด ดูแลรดน้ำทุกวัน บันทึกผลการทดลอง

T6 Chemical Control ใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา (PCNB) ผสมน้ำราดลงบนดินอบฆ่าเชื้อ ที่ผสมกับ เมล็ดข้าวฟ่างที่มีเชื้อก่อโรคอยู่ จำนวน 10 ถ้วยพลาสติก บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 25-28 °C เป็นเวลา 2 สัปดาห์ จึงปลูกเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์ Yoshida ถ้วยละ 1 เมล็ด ดูแลรดน้ำทุกวัน บันทึกผลการทดลอง

<u>การบันทึกผลการทดลอง</u>

1. วัดเปอร์เซนต์การเกิดโรค โดยวัดอัตราการเกิดโรคโดนเน่า เปรียบเทียบกับ ตัวเปรียบเทียบ

อัตราการเกิดโรค (Rate of disease)

1 = ต้นปกติ, เป็นโรค 0-20 %

2 = เป็นโรค 21-40 %

3 = เป็นโรค 41-60 %

4 = เป็นโรค 61-80 %

5 = เป็นโรค 81-100 %, ต้นตาย

2. ถ่ายภาพต้นถั่วเหลือง ที่ไม่เป็นโรค เปรียบเทียบกับต้นที่เป็นโรค

3. วัดการเจริญเติบโตของพืช เช่น ความสูงของต้นถั่วเหลือง (ซม.), ความยาวราก (ซม.), น้ำหนักสดของต้นและราก (กรัม)

4. วิเคราะห์ผลการทดลองเชิงสถิติ

ผลการทดลอง

1. การแยกเชื้อราจากเมล็ดถั่วเหลือง

จากการทดลองพบว่า สามารถแยกเชื้อราจากเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์ Yoshida พบเชื้อรา 2 ชนิด จัดจำแนกได้ 2 species คือ *Aspergillus niger* และ *A. flavus*

Aspergillus niger Van Tieghem

Division	Amastigomycota
Sub-division	Deuteromycotina
Form class	Deuteromycetes
Form order	Moniliales
Form family	Moniliaceae
Form genus	*Aspergillus*
Form specie	*niger*

ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA พบว่า เส้นใยสีขาว ตรงปลายมีกลุ่มสปอร์สีดำ เจริญเต็ม plate 2-3 วัน ตรวจดูโครงสร้างภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า sterigma 2 ชั้น conidia head เป็นแบบ radiate vesicle มีขนาดเฉลี่ย 40.01 ไมครอน phialospore มีสีดำ รูปร่างกลม ผนังของ phialospore ขรุขระ ขนาดเฉลี่ย 3.92 ไมครอน มี foot cell ขนาดเฉลี่ย 39.62 ไมครอน ความยาวโดยเฉลี่ยของ phialophore 440 ไมครอน ความกว้างของ phialophore โดยเฉลี่ย 9.40 ไมครอน (ภาพที่ 1)

Aspergillus flavus Link

Division Amastigomycota

Sub-division Deuteromycotina

Form class Deuteromycetes

Form order Moniliales

Form family Moniliaceae

Form genus *Aspergillus*

Form spicie *flavus*

ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA สีเขียวอ่อน เจริญเต็ม plate 2-3 วัน เมื่อตรวจโครงสร้างภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า มี sterigma 2 ชั้น conidia head เป็นแบบ radiate มีขนาดโดยเฉลี่ย 32.64 ไมครอน phialospore มีสีเขียวอ่อน รูปร่างกลม ขนาดโดยเฉลี่ย 3.32 ไมครอน มี foot cell ขนาดเฉลี่ย 36.83 ไมครอน ความยาวโดยเฉลี่ยของ phialophore 445 ไมครอน ความกว้างของ phia lophore โดยเฉลี่ย 9.14 ไมครอน (ภาพที่ 2)

2. ปลูกถั่วเหลืองในกระถางเพื่อแยกเชื้อราสาเหตุโรคโคนเน่า

จากการทดลองนำเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์ Yoshida ปลูกลงในกระถาง เมื่อพบว่าต้นถั่วเหลืองเกิดโรคโคนเน่า แล้วนำส่วนของโคนต้นที่เป็นโรค มาตัดเป็นท่อน ๆ วางบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร PDA อยู่ พบว่า สามารถจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคโคนเน่าได้ คือ *Fusarium moniliforme* f. sp. *subglutinans* Wr. & Reink. โดยจำแนกเป็น

Division Eumycota

Sub-division Deuteromycotina

Class Hyphomycetes

Order Hyphales or Moniliales

Family Tuberculariaceae

Genus *Fusarium*

Specie *moniliforme*

Form-specie *subglutinans*

ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA สีขาวอมม่วง,ขาวอมเหลือง เจริญเต็ม plate 4-6 วัน macroconidium รูปร่างแบบ fusiform ยาวเรียว มี 3-5 septate ขนาดโดยเฉลี่ย 38.10-58.42 ไมครอน microconidia รูปร่างไข่ ยาวเรียว ไม่มี septate ขนาดเล็กมาก มีจำนวนมาก พบอยู่ตามปลายของ conidiophore (ภาพที่ 3)

3. การพิสูจน์โรค

จากการนำเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์ Yoshida ไปปลูกในดินอบฆ่าเชื้อ พบว่าใน Treatment ที่ 1 (Control) ต้นถั่วเหลืองเจริญเติบโตดี ไม่พบอาการของโรคโคนเน่า ส่วนใน Treatment ที่ 2 มีการนำเมล็ดถั่วเหลืองไปจุ่ม spore suspension ของ *F. moniliforme* f.sp. *subglutinans* นับสปอร์ในเครื่อง Haemacytometer ความหนาแน่นสปอร์เท่ากับ 5.92×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร แล้วปลูก พบว่า ต้นถั่วเหลืองเกิดอาการของโรคโคนเน่า 3 ต้น จากนั้นนำส่วนของต้นที่เป็นโรค ตัดเป็นท่อน ๆ นำไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบเชื้อราเกิดขึ้นบนชิ้นส่วนของต้นที่เป็นโรค นำไปเลี้ยงให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ ทำสไลด์ แล้วนำมาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่า เชื้อราที่ทำให้เกิดโรคโคนเน่าถั่วเหลือง คือ *F. moniliforme* f.sp. *subglutinans* ซึ่งเป็นเชื้อราตัวเดียวกันกับเชื้อราที่นำไป inoculate ก่อนปลูก (ภาพที่ 4)

99120

4. การทดสอบคุณสมบัติในการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าโดยชีววิธี

การผลิตยาเชื้อป้องกันกำจัดเชื้อรา ตามวิธีของ(เกษม,2535ก)

Treatment ที่ 1 ใช้จุลินทรีย์ต่อต้าน *Chaetomium cupreum* ซึ่งตรวจนับปริมาณสปอร์ด้วยเครื่อง Haemacytometer เท่ากับ 4.2×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร pH เท่ากับ 6.8 โดยใช้ calcium chloride พบว่า ในส่วนผสม 1 ลิตร ผลิตยาเชื้อชนิดเม็ดได้ 116.03 กรัม

Treatment ที่ 2 ใช้จุลินทรีย์ต่อต้าน *Ch. cupreum* ซึ่งตรวจนับปริมาณสปอร์ด้วยเครื่อง Haemacytometer เท่ากับ 3.8×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร pH เท่ากับ 6.8 โดยใช้ calcium chloride และ calcium gluconate พบว่า ในส่วนผสม 1 ลิตร ผลิตยาเชื้อชนิดเม็ดได้ 116.23 กรัม

Treatment ที่ 3 ใช้จุลินทรีย์ต่อต้าน *Trichoderma hamatum* ซึ่งตรวจนับปริมาณสปอร์ด้วยเครื่อง Haemacytometer เท่ากับ 4.3×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร pH เท่ากับ 6.8 โดยใช้ calcium chloride พบว่า ในส่วนผสม 1 ลิตร ผลิตยาเชื้อชนิดเม็ดได้ 108.13 กรัม

Treatment ที่ 4 ใช้จุลินทรีย์ต่อต้าน *T. hamatum* ซึ่งตรวจนับปริมาณสปอร์ด้วยเครื่อง Haemacytometer เท่ากับ 3.9×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร pH เท่ากับ 7.2 โดยใช้ calcium gluconate พบว่า ในส่วนผสม 1 ลิตร ผลิตยาเชื้อชนิดเม็ดได้ 85.24 กรัม

ทำการตรวจสอบเปอร์เซนต์การมีชีวิต (viable population) ของยาเชื้อที่ 1 วัน, 2 สัปดาห์, 4 สัปดาห์ และ 6 สัปดาห์ พบว่ายาเชื้อที่ผลิตจาก *Ch. cupreum* (calcium chloride), ยาเชื้อที่ผลิตจาก *Ch. cupreum* (calcium chloride และ calcium gluconate), ยาเชื้อที่ผลิตจาก *T. hamatum* (calcium chloride) และยาเชื้อที่ผลิตจาก *T. hamatum*(calcium gluconate) มีเปอร์เซนต์การมีชีวิตรอดเฉลี่ยคือ 87.5-100 %, 80-100 %, 70-92.5 % และ 70-90 % ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

จากการทดลอง ได้มีการนำเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์ Yoshida ไปปลูกในดินผสมเมล็ดข้าวฟ่างที่มีเชื้อก่อโรคอยู่ เมื่อต้นถั่วเหลืองอายุ 45 วัน พบว่า ตัวเปรียบเทียบเทียบ (Control), การใช้ยาเชื้อที่ผลิตจาก *Ch. cupreum* (calcium chloride), การใช้ยาเชื้อที่ผลิตจาก *Ch. cupreum* (calcium chloride และ calcium gluconate), การใช้ยาเชื้อที่ผลิตจาก *T. hamatum* (calcium chloride), การใช้ยาเชื้อที่ผลิตจาก *T. hamatum* (calcium gluconate) และ การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา (PCNB) พบว่ามีต้นถั่วเหลืองที่เกิดโรคโคนเน่า มีอัตราการเกิดโรคโคนเน่า เท่ากับ 3.7, 1.1, 1.4, 1.4, 1.8 และ 1.8 ตามลำดับ และมีเปอร์เซนต์การเกิดโรคโคนเน่าโดยเฉลี่ย เท่ากับ 54 %, 2 %, 8 %, 8 %, 16 % และ 16 % ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

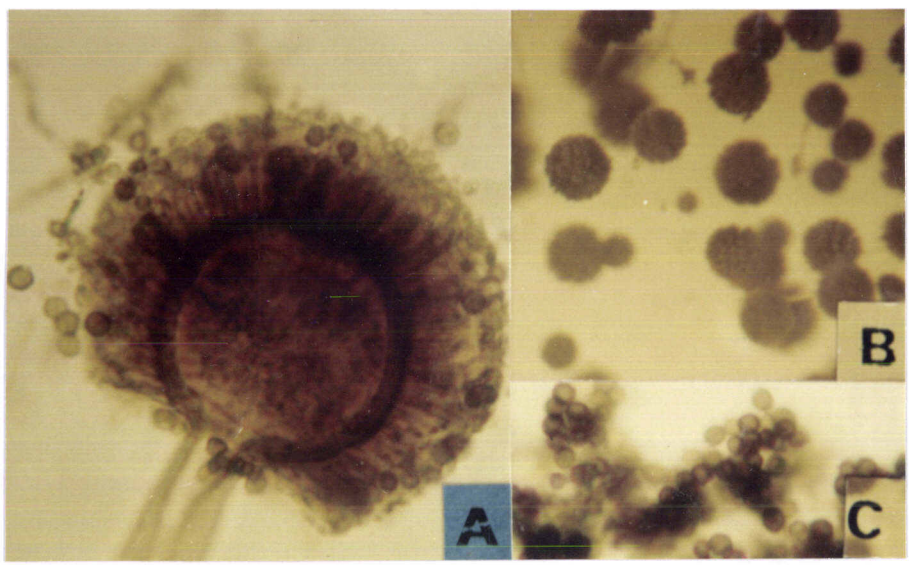
จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติ(ตารางผนวกที่ 2) แสดงให้เห็นว่า การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี โดยการใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดเชื้อรานั้น มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ในอัตราการเกิดโรคโคนเน่าโดยเฉลี่ย และเปอร์เซนต์การเกิดโรคโคนเน่าโดยเฉลี่ย การใช้ยาเชื้อที่ผลิตจาก *Ch. cupreum* (calcium chloride) มีอัตราการเกิดโรคโคนเน่าโดยเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ 1.1 และมีเปอร์เซนต์การเกิดโรคน้อยที่สุด คือ 2 % เมื่อเปรียบเทียบกับ Control ที่มีเปอร์เซนต์การเกิดโรคโคนเน่าถึง 54 %

เมื่อต้นถั่วเหลืองอายุ 45 วัน ตัวเปรียบเทียบ (Control), การใช้ยาเชื้อที่ผลิตจาก *Ch. cupreum* (calcium chloride), การใช้ยาเชื้อที่ผลิตจาก *Ch. cupreum* (calcium chloride และ calcium gluconate), การใช้ยาเชื้อที่ผลิตจาก *T. hamatum* (calcium chloride), การใช้ยาเชื้อที่ผลิตจาก *T. hamatum* (calcium gluconate) และ การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา (PCNB) พบว่ามีความยาวของลำต้นถั่วเหลืองโดยเฉลี่ย เท่ากับ 18.17, 20.91, 23.78, 27.04, 22.00 และ 16.66 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) มีความยาวรากของต้นถั่วเหลืองโดยเฉลี่ย เท่ากับ 3.04, 4.44, 5.39, 4.71, 4.08 และ 2.61 ตามลำดับ (ตารางที่ 4) มีน้ำหนัก

สดของต้นถั่วเหลืองโดยเฉลี่ย เท่ากับ 0.64, 0.83, 1.09, 0.78, 0.86 และ 0.50 ตามลำดับ (ตารางที่ 5) และมีน้ำหนักสดของรากถั่วเหลืองโดยเฉลี่ยเท่ากับ 0.046, 0.052, 0.054, 0.056, 0.064 และ 0.038 ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติ (ตารางผนวกที่ 3, 4, 5, 6) แสดงให้เห็นว่า การควบคุมโรคโคนเน่าโดยชีววิธี โดยใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดเชื้อรา มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ในความยาวของลำต้นถั่วเหลือง, ความยาวของรากถั่วเหลือง และ น้ำหนักสดของต้นถั่วเหลือง ส่วนน้ำหนักสดของรากถั่วเหลือง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

14406



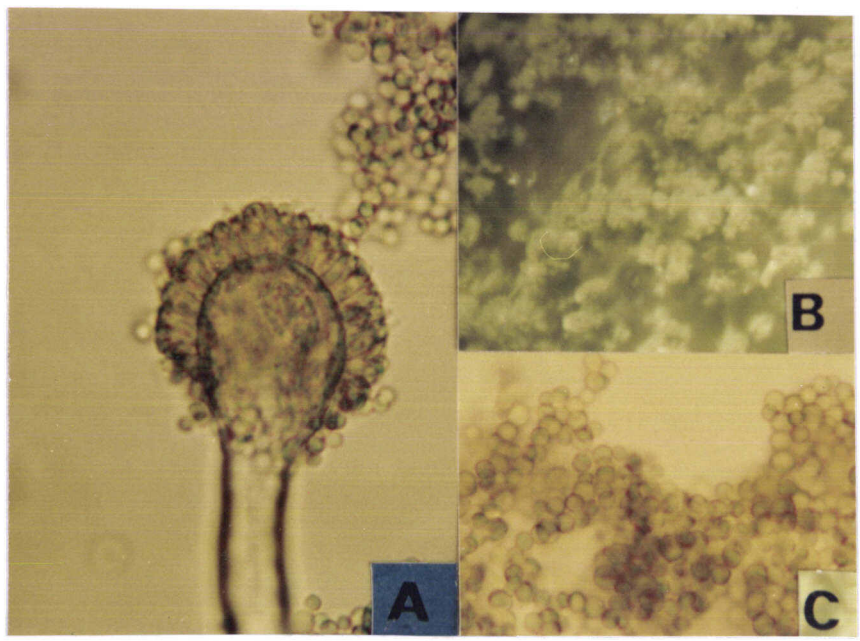
ภาพที่ 1 เชื้อรา *Aspergillus niger* Van Tieghem

A = ลักษณะ conidial head (400x)

B = ลักษณะ thalli จากกล้อง Stereomicroscope (40x)

C = ลักษณะ phialospores (400x)

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า
เจ้าคุณทหารลาดกระบัง

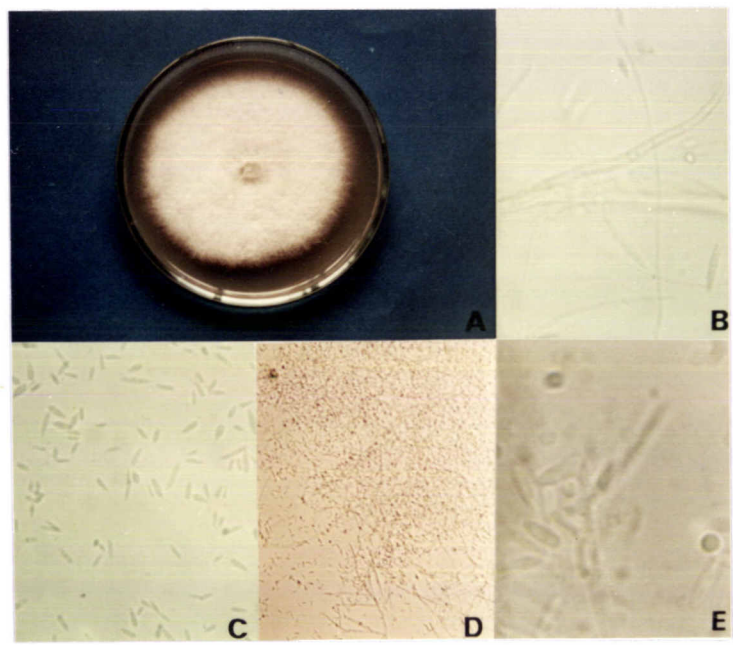


ภาพที่ 2 *Aspergillus flavus* Link

A = ลักษณะ conidial head (400x)

B = ลักษณะ thalli จากกล้อง Stereomicroscope (40x)

C = ลักษณะ phialospores (400x)



ภาพที่ 3 เชื้อรา *Fusarium moniliforme* f.sp. *subglutinans* Wr. & Reink.

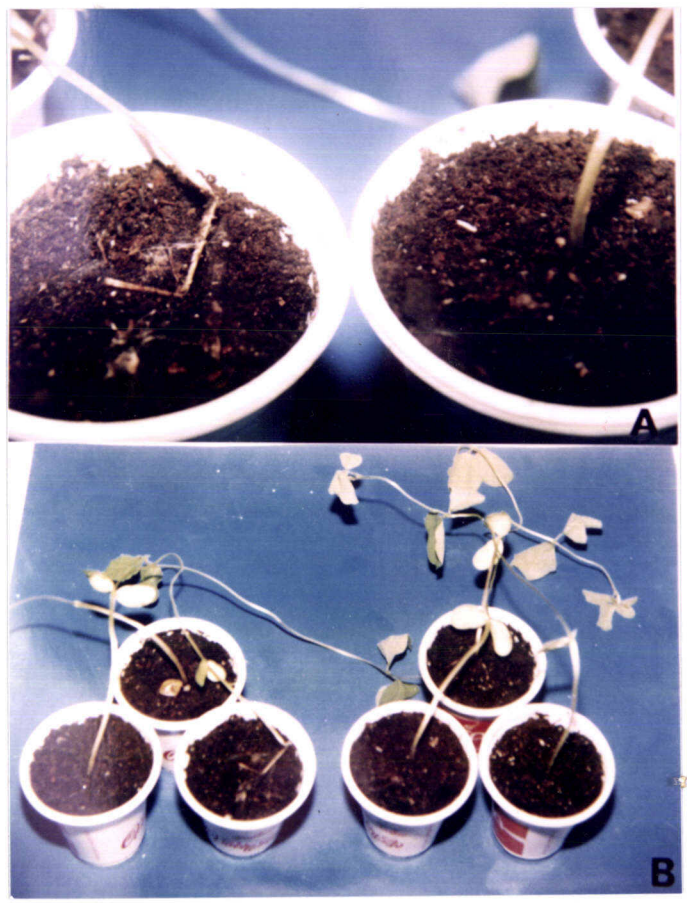
A = ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน

B = ลักษณะ macroconidia (400x)

C = ลักษณะ microconidia (400x)

D = ลักษณะ เส้นใย, macroconodia, microconidia (100x)

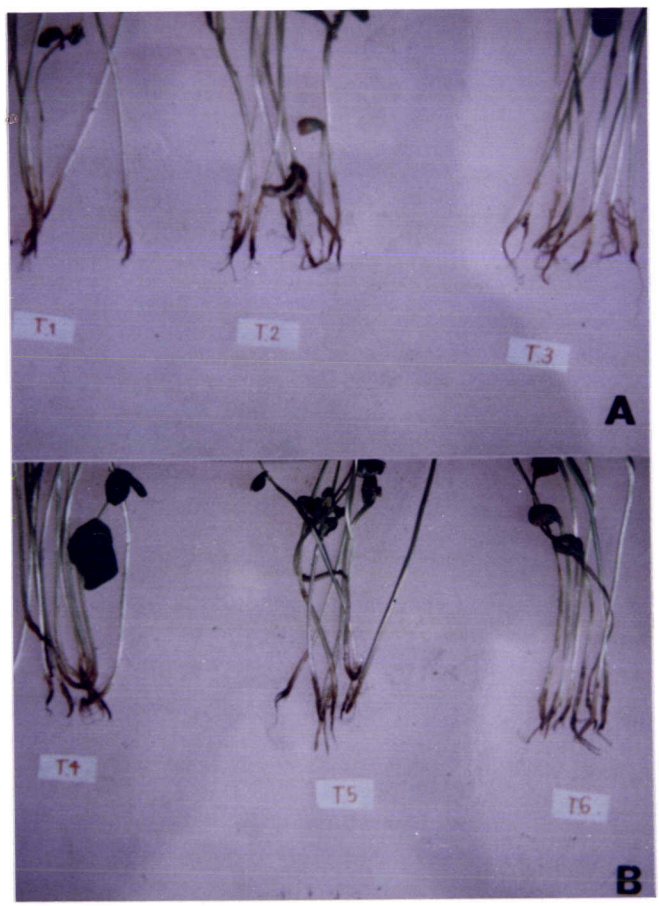
E = ลักษณะ microconidia (1000x)



ภาพที่ 4 เปรียบเทียบต้นถั่วเหลืองที่เป็นโรคโคนเน่ากับตัวเปรียบเทียบ (Control)

A = ซ้าย ต้นถั่วเหลืองที่เป็นโรคโคนเน่า, ขวา ต้นถั่วเหลืองปกติ

B = ซ้าย ต้นถั่วเหลืองที่คลุกเมล็ดก่อนปลูกด้วย *F. moniliforme* f.sp. *subglutinans*, ขวา ต้นถั่วเหลืองปกติ (Control)



ภาพที่ 5 การทดสอบคุณสมบัติในการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าโดยชีววิธี

A = T1 Control

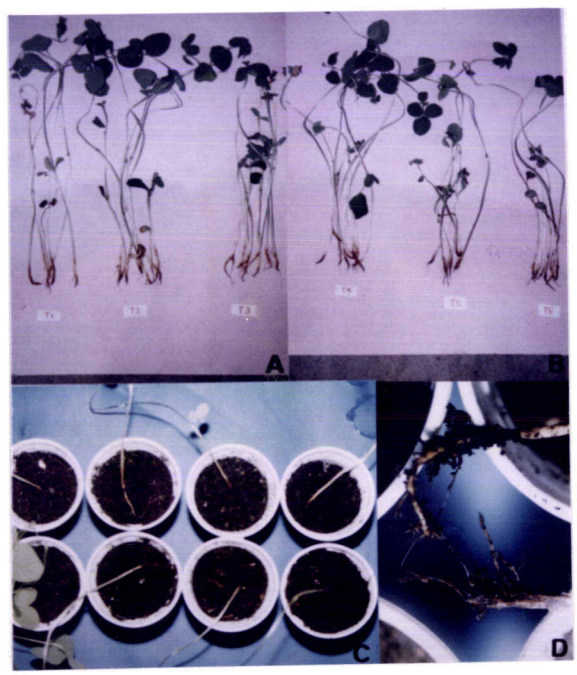
T2 ใช้ยาเชื้อที่ผลิตจาก *C. cupreum* (calcium chloride)

T3 ใช้ยาเชื้อที่ผลิตจาก *C. cupreum* (calcium chloride + calcium gluconate)

B = T4 ใช้ยาเชื้อที่ผลิตจาก *T. hamatum* (calcium chloride)

T5 ใช้ยาเชื้อที่ผลิตจาก *T. hamatum* (calcium gluconate)

T6 Chemical control (PCNB)



ภาพที่ 6 เปรียบเทียบต้นถั่วเหลืองที่เป็นโรคโคนเน่ากับต้นปกติ

A = T1 (control), T2 (*Ch. cupreum* + $CaCl_2$), T3 (*Ch. cupreum* + $CaCl_2$ และ Ca gluconate)

B = T4 (*T. hamatum* + $CaCl_2$), T5 (*T. hamatum* + Ca gluconate), T6 (PCNB)

C = Control

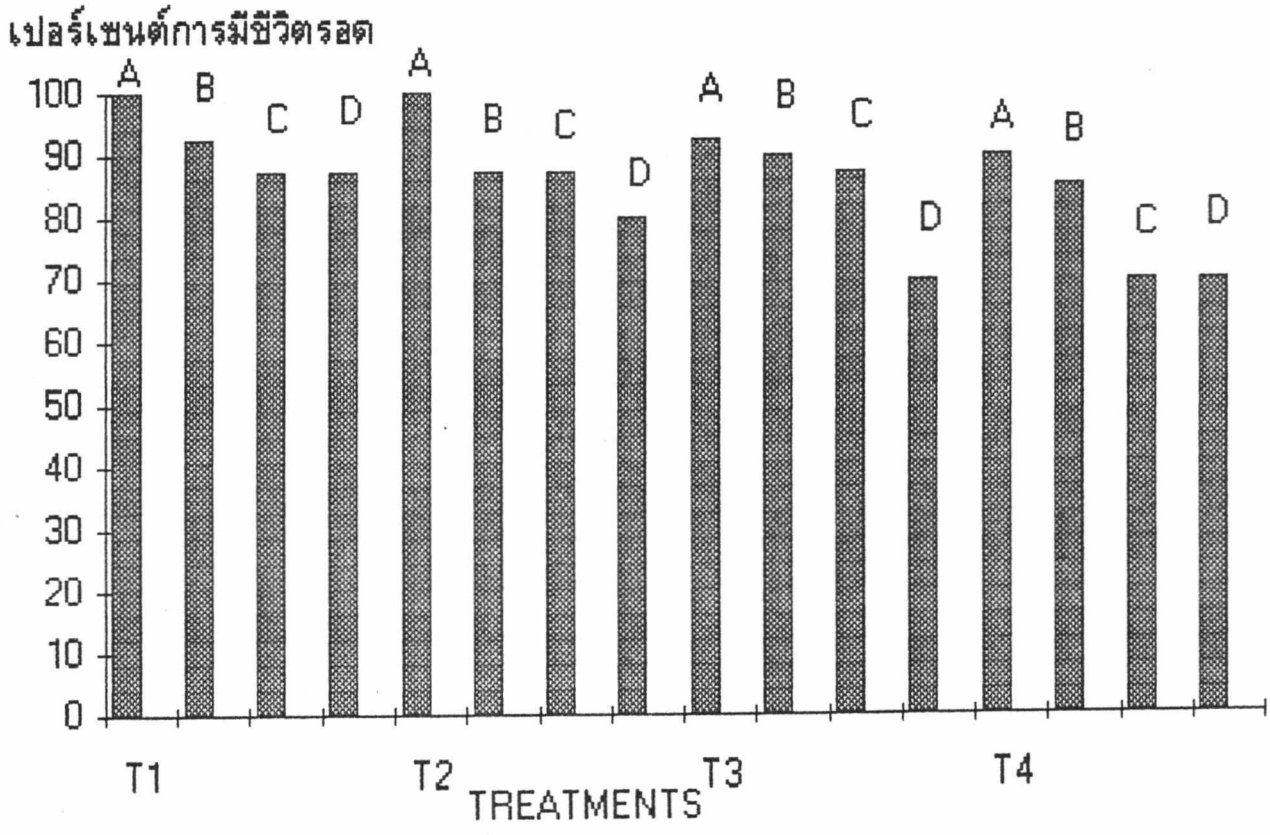
D = บน ต้นถั่วเหลืองปกติ, ล่าง ต้นถั่วเหลืองที่เป็นโรคโคนเน่า

ตารางที่ 1 แสดงเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของยาเชื้อป้องกันกำจัดเชื้อรา (%)

ยาเชื้อ	การเก็บรักษา	จำนวนซ้ำ 1	2	3	4.	รวม	เฉลี่ย	การมีชีวิตอยู่รอด (%)
Ch. cupreum	1 วัน	10	10	10	10	40	10.00 a[1]	100.00
($CaCl_2$)	2 สัปดาห์	9	10	9	9	37	9.25 b	92.50
	4 สัปดาห์	9	8	9	9	35	8.75 bc	87.50
	6 สัปดาห์	8	9	9	9	35	8.75 bc	87.50
Ch. cupreum	1 วัน	10	10	10	10	40	10.00 a	100.00
($CaCl_2$ +	2 สัปดาห์	9	8	9	9	35	8.75 bc	87.50
Ca gluconate)	4 สัปดาห์	8	9	9	9	35	8.75 bc	87.50
	6 สัปดาห์	8	8	8	8	32	8.00 d	80.00
T. hamatum	1 วัน	10	9	9	9	37	9.25 b	92.50
($CaCl_2$)	2 สัปดาห์	9	9	9	9	36	9.00 bc	90.00
	4 สัปดาห์	9	8	9	9	35	8.75 bc	87.50
	6 สัปดาห์	7	7	7	7	28	7.00 e	70.00
T. hamatum	1 วัน	9	9	9	9	36	9.00 bc	90.00
(Ca gluconate)	2 สัปดาห์	8	9	8	9	34	8.50 cd	85.00
	4 สัปดาห์	7	7	7	7	28	7.00 e	70.00
	6 สัปดาห์	7	7	7	7	28	7.00 e	70.00

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ DMRT (P 0.05)

CV (%) = 4.19



ภาพที่ 7 แสดงเปอร์เซนต์การมีชีวิตรอดของยาเชื้อป้องกันกำจัดเชื้อรา ระยะเวลาการเก็บรักษา

A = 1 วัน

B = 2 สัปดาห์

C = 4 สัปดาห์

D = 6 สัปดาห์

ตารางที่ 2 แสดงอัตราการเกิดโรคโคนเน่าถั่วเหลืองโดยเฉลี่ย

Treatmen	จำนวนซ้ำ 1	2	3	4	5	รวม	เฉลี่ย	การเกิดโรคโดยเฉลี่ย (%)
T1	4.5	4.5	3.5	2.0	4.0	18.5	3.7	54.00
T2	1.0	1.0	1.5	1.0	1.0	5.5	1.1	2.00
T3	1.0	1.0	1.0	1.0	3.0	7.0	1.4	8.00
T4	1.0	1.0	1.0	3.0	1.0	7.0	1.4	8.00
T5	3.0	3.0	1.0	1.0	1.0	9.0	1.8	16.00
T6	1.0	3.0	3.0	1.0	1.0	9.0	1.8	16.00
Total	11.5	13.5	11.0	9.0	11.0	56.0	1.87	17.33

หมายเหตุ : Rate of disease

1 = 0 - 20 %

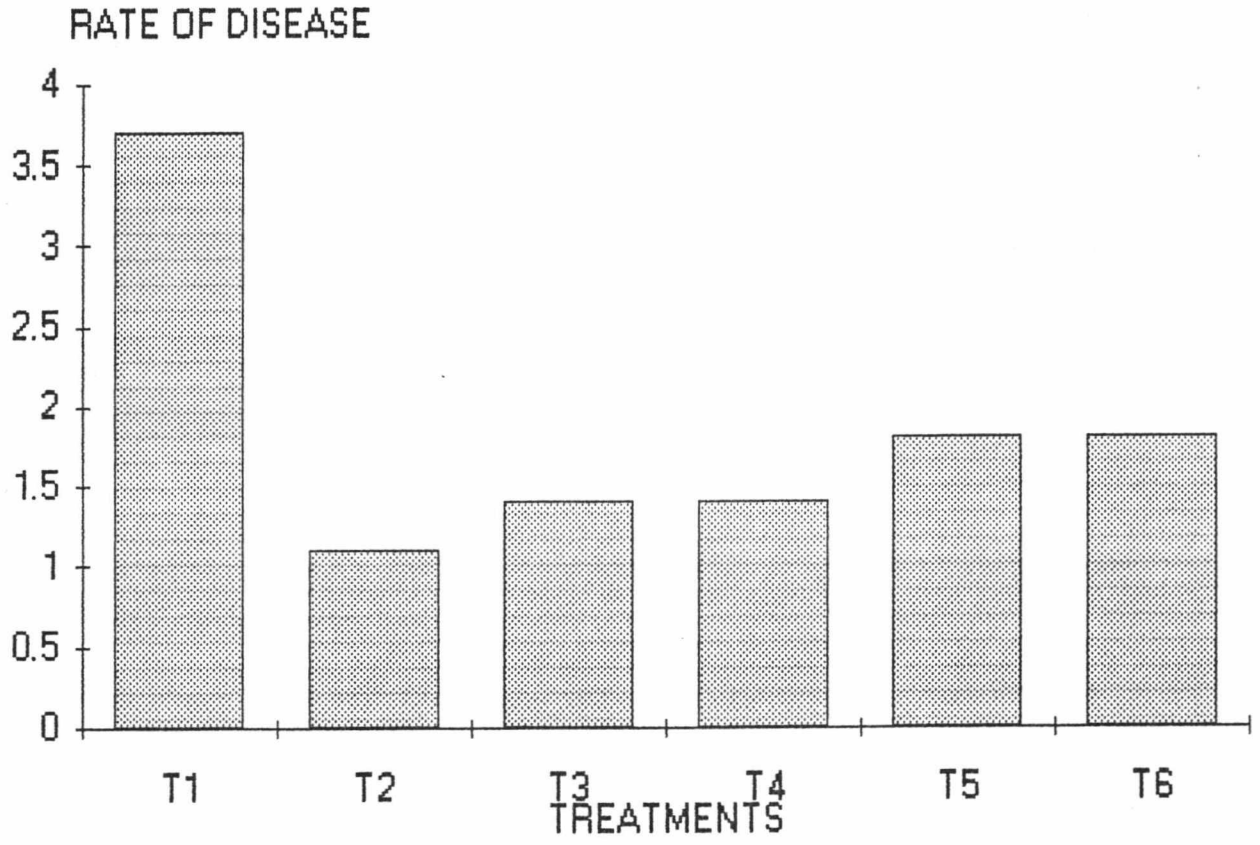
2 = 21 - 40 %

3 = 41 - 60 %

4 = 61 - 80 %

5 = 81 - 100 % (ตาย)

CV (%) = 49.51



ภาพที่ 8 แสดงอัตราการเกิดโรคโคนเน่าถั่วเหลืองโดยเฉลี่ย

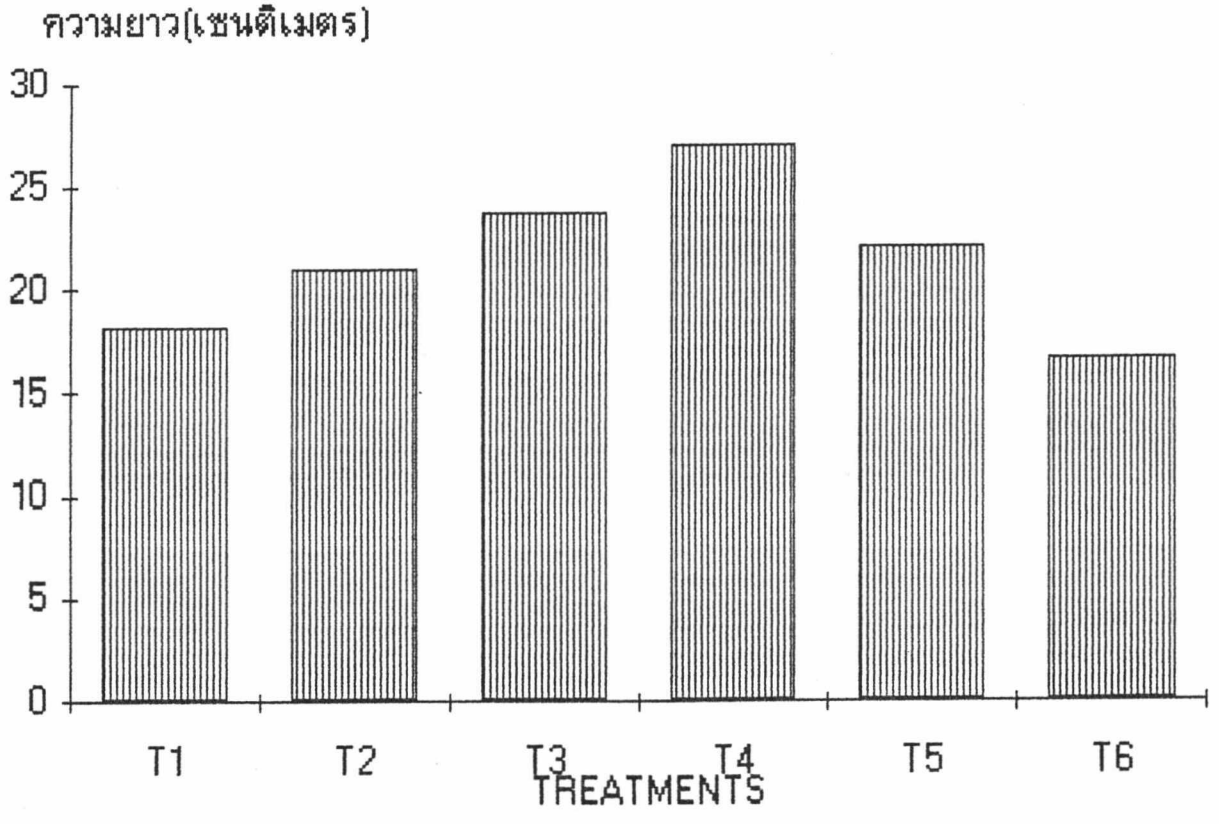
ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยความยาวของลำต้นถั่วเหลืองเมื่ออายุ 45 วัน (เซนติเมตร)

Treatment	จำนวนซ้ำ 1	2	3	4	5	รวม	เฉลี่ย
T1	16.35	18.15	18.80	20.90	16.65	90.85	18.17
T2	19.25	20.55	18.95	20.50	25.30	104.55	20.91
T3	24.20	25.50	24.55	24.45	20.20	118.90	23.78
T4	27.35	28.75	29.65	28.50	20.95	135.20	27.04
T5	20.90	18.85	24.95	22.30	23.00	110.00	22.00
T6	15.40	16.20	19.70	18.02	14.00	83.32	16.66
Total	123.45	128.00	136.60	134.67	120.10	642.82	21.43

CV (%) = 11.53

LSD .05 = 3.226

LSD .01 = 4.372



ภาพที่ 9 แสดงค่าเฉลี่ยความยาวของลำต้นถั่วเหลืองเมื่ออายุ 45 วัน

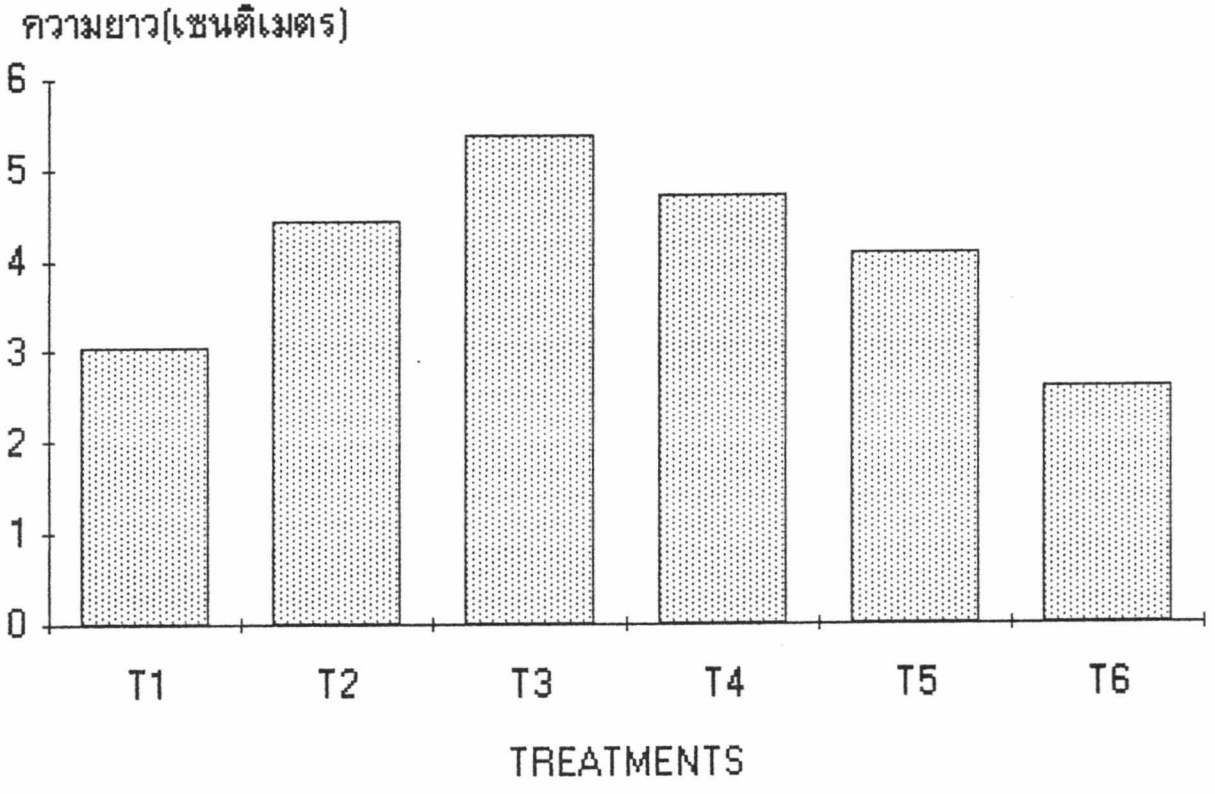
ตารางที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ยความยาวรากของต้นถั่วเหลืองเมื่ออายุ 45 วัน (เซนติเมตร)

Treatment	จำนวนซ้ำ 1	2	3	4	5	รวม	เฉลี่ย
T1	2.10	3.45	3.60	3.95	2.10	15.20	3.04
T2	4.75	4.30	3.65	5.15	4.35	22.20	4.44
T3	4.85	5.05	8.70	4.75	3.60	26.95	5.39
T4	4.00	6.00	3.75	5.55	4.25	23.55	4.71
T5	6.00	2.95	3.35	4.70	3.40	20.40	4.08
T6	3.00	2.55	2.30	2.75	2.45	13.05	2.61
Total	24.70	24.30	25.35	26.85	20.15	121.35	4.05

CV (%) = 27.62

LSD .05 = 1.458

LSD .01 = 1.976



ภาพที่ 10 แสดงค่าเฉลี่ยความยาวรากของต้นถั่วเหลืองเมื่ออายุ 45 วัน

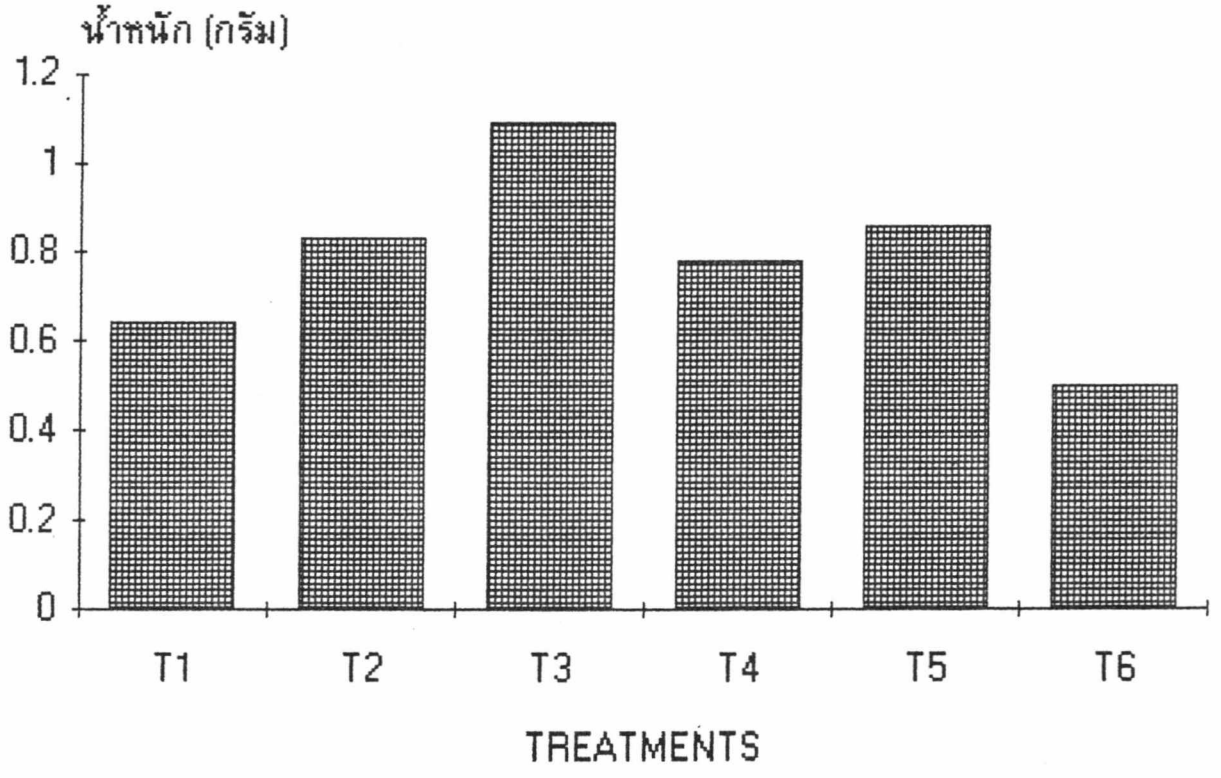
ตารางที่ 5 แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของต้นถั่วเหลืองเมื่ออายุ 45 วัน (กรัม)

Treatment	จำนวนซ้ำ 1	2	3	4	5	รวม	เฉลี่ย
T1	0.65	0.62	0.61	0.77	0.56	3.21	0.64
T2	0.71	0.85	0.74	0.92	0.92	4.14	0.83
T3	1.49	0.98	1.18	0.96	0.82	5.43	1.09
T4	0.82	0.93	0.97	0.75	0.43	3.90	0.78
T5	1.00	0.90	0.94	0.56	0.92	4.32	0.86
T6	0.62	0.46	0.57	0.42	0.44	2.51	0.50
Total	5.29	4.74	5.01	4.38	4.09	23.51	0.78

CV (%) = 21.31

LSD .05 = 0.218

LSD .01 = 0.295

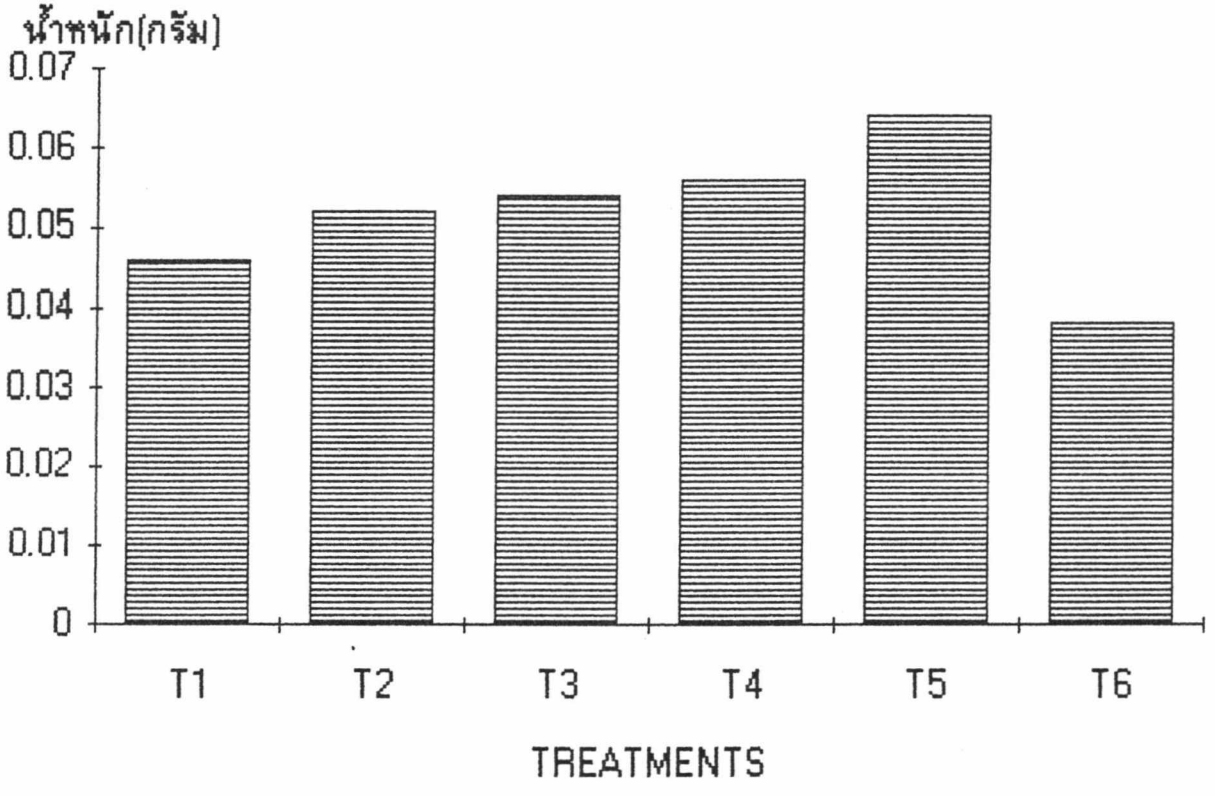


ภาพที่ 11 แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของต้นถั่วเหลืองเมื่ออายุ 45 วัน

ตารางที่ 6 แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของรากถั่วเหลืองเมื่ออายุ 45 วัน (กรัม)

Treatment	จำนวนซ้ำ					รวม	เฉลี่ย
	1	2	3	4	5		
T1	0.03	0.06	0.05	0.05	0.04	0.23	0.046
T2	0.04	0.08	0.04	0.04	0.06	0.26	0.052
T3	0.04	0.08	0.06	0.05	0.04	0.27	0.054
T4	0.04	0.05	0.06	0.05	0.08	0.28	0.056
T5	0.04	0.05	0.05	0.06	0.12	0.32	0.064
T6	0.04	0.05	0.03	0.05	0.02	0.19	0.038
Total	0.23	0.37	0.29	0.30	0.36	1.55	0.052

CV (%) = 36.72



ภาพที่ 12 แสดงค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของรากถั่วเหลืองเมื่ออายุ 45 วัน

วิจารณ์

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Chaetomium cupreum* และ *Trichoderma hamatum* ในการควบคุมโดยชีววิธีต่อโรคโคนเน่าของถั่วเหลือง ที่เกิดจากเชื้อราสาเหตุ *Fusarium moniliforme* f.sp. *subglutinans* โดยผลิตเป็นยาเชื้อป้องกันกำจัดเชื้อรา ซึ่งใช้ calcium chloride และ/หรือ calcium gluconate เพื่อให้ยาเชื้อจับตัวกันเป็นเม็ด (pellets) การใช้ calcium chloride ซึ่งสามารถละลายน้ำได้ดี จึงทำให้ยาเชื้อที่ผลิตได้ มีน้ำหนักมากในส่วนผสม 1 ลิตร และมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าถั่วเหลืองได้ดี ยาเชื้อที่ผลิตจาก *T. hamatum* โดยใช้ calcium gluconate ซึ่งละลายน้ำได้ไม่ดี ทำให้ในส่วนผสม 1 ลิตร ซึ่งน้ำหนักได้ 85.24 กรัมเท่านั้น แต่ก็ยังมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าถั่วเหลืองได้ดีเช่นเดียวกัน และการผลิตยาเชื้อจาก *Ch. cupreum* (calcium chloride) มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดโรคโคนเน่าถั่วเหลือง ได้ดีกว่าสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา (PCNB) ซึ่งได้สอดคล้องกับ รายงานของ Kasem (1992) พบว่า การใช้ spore suspension และ culture extract ฉีดพ่นลงบนดินรอบ ๆ โคนต้นมะเขือเทศ ที่ปลูกในดินที่มีการปลูกเชื้อ *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ ได้มากกว่าการใช้ สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา (PCNB) และยังสอดคล้องกับรายงานของ Harman และคณะ (1989) พบว่า การทำ Seed Treatments ของ *Trichoderma harzianum* สามารถป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อรา *Fusarium graminearum* บนเมล็ดข้าวสาลี ได้ดีกว่า การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา(Vitavax) อีกด้วย

สรุป

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Chaetomium cupreum* และ *Trichoderma hamatum* ในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium moniliforme* f.sp. *subglutinans* ที่เป็นสาเหตุของโรคโคนเน่าถั่วเหลือง (Damping off) โดยวิธี พบว่า ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรคพืชที่ผลิตจากจุลินทรีย์ต่อต้าน *Ch. cupreum* และ *T. hamatum* โดยใช้ calcium chloride และ/หรือ calcium gluconate เพื่อให้ยาเชื้อจับตัวกันเป็นเม็ด สามารถควบคุมการเกิดโรคโคนเน่าของถั่วเหลืองได้ เมื่ออายุ 45 วัน ความยาวของลำต้น, ความยาวของราก และ น้ำหนักสดของต้นถั่วเหลือง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ และ น้ำหนักสดของรากถั่วเหลือง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และเปอร์เซนต์การเกิดโรคโคนเน่า จากการใช้ยาเชื้อป้องกันกำจัดโรคพืชที่ผลิตจาก *Ch. cupreum* และ *T. hamatum* สามารถลดเปอร์เซนต์การเกิดโรคได้ใกล้เคียงกับการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา (PCNB) และเมื่อเปรียบเทียบ Control กับการใช้ยาเชื้อในการป้องกันกำจัดเชื้อรา ที่ผลิตจาก *Ch. cupreum* และ *T. hamatum* พบว่า ต้นถั่วเหลือง มีเปอร์เซนต์การเกิดโรคโคนเน่า และอัตราการเกิดโรคโคนเน่าน้อยกว่าอีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

เกษม สร้อยทอง. 2532. การใช้รา *Chaetomoium cupreum* ในการควบคุมโรคไหม้ของข้าวโดยชีววิธี. วารสารโรคพืช. 9(1): 28-33.

เกษม สร้อยทอง. 2533. ประสิทธิภาพของรา *Chaetomium cochliodes* และ *Chaetomium cuniculorum* ใช้ในการป้องกันโรคไหม้ของข้าว (Rice Blast) ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae*. วารสารแก่นเกษตร. 18(2):89-96.

เกษม สร้อยทอง. 2535 ก. การผลิตยาเชื้อสำหรับการควบคุมเชื้อโรคพืชโดยชีววิธี. รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 30 29 มกราคม-1 กุมภาพันธ์ 2535 (สาขาพืช). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 301-307.

เกษม สร้อยทอง. 2535 ข. การใช้ยาเชื้อที่ผลิตจาก *Chaetomium cupreum* ในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ ที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ในสภาพดินที่มีคุณสมบัติในการป้องกันกำจัดโรคพืช. วารสารบางพระ. 29(2):13-16.

เกษม สร้อยทอง และ สุมล กันตรัตนากุล. 2533. การแยกเชื้อราสาเหตุที่ติดต่อทางเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองสายพันธุ์เชียงใหม่ 60. วารสารวิจัยและส่งเสริมการเกษตร. 7(3):117-120.

ศุภชัย แก้วมีชัย, เอนก โชติญาณวงษ์, รังสรรค์ คีรีทวีป, พิมพร โชติญาณวงษ์, วันชัย สร้อยอินทรากุล, ศรีภูมิ กองอินทร์, นาค โพธิแท่น, มณฑา นันทพันธุ์, วิจิตร ขจรมาล, อาวุธ ณ ลำปาง และ วิจิตร เบญจศิล. 2530. การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองเพื่อต้านทานโรคราสนิม. รายงานการสัมมนาเชิงปฏิบัติการ เรื่อง งานวิจัยถั่วเหลือง ครั้งที่ 2 22-25 ธันวาคม 2530. กรมส่งเสริมการเกษตร.:96-128.

อัญชลี เพ่งสุข. 2530. การประเมินความต้องการของถั่วเหลืองในอนาคต. รายงานการสัมมนาเชิงปฏิบัติการ เรื่อง งานวิจัยถั่วเหลือง ครั้งที่ 2 22-25 ธันวาคม 2530. กรมส่งเสริมการเกษตร.:1-14.

Al-Hecti,M.B. and Sinclair, J.B. 1988. Antagonism between *Gliocladium roseum*, *Trichoderma harzianum* or *Trichothecium roseum* and *Phytophthora megaspema* f. sp. *glycinae*. Mycopathologia. 103:135-140.

Booth, C. 1971. The Genus *Fusarium* Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England. 237 p.

Chao,W.L., Nelson,E.B., Harman,G.E. and Hoch,H.C. 1986. Colonization of the Rhizosphere by Biological Control Agents Applied to Seeds. Phytopathology. 76(1):60-65.

Chiradej Chamswarng, Kanitta Sangkaha and Noppol Kateprasard. 1992. Field Plot Screening of Antagonistic fungi Used for Biocontrol of Tomato Root and Stem Rot Caused by *Sclerotium rolfsii*. Kasetsart Journal (Nat.Sci.). 26(5):25-29.

Datnoff,L.E. 1989. *Fusarium* blight or wilt, root rot, and pod and collar rot., in Compendium of Soybean Diseases, Sinclair,J.B. and Backman,P.A., Eds. The American Phytopath. Soc. p.33-36.

Gaur,V.K. and Sharma,L.C. 1989. Prevalence of *Fusarium* wilt of pigonpea in Rajasthan. Indian Phytopathology. 42(3):468.

Gaysorn Dhavises, Srisuda Kawayasakul and Pitsom Meethom. 1990. Antagonistic Bacilli for Biological Control of *Fusarium moniliforme*. Kasetsart Journal. 24:32-40.

Harman, G.E., Taylor,A.G. and Stasz,T.E. 1989. Combining Effective Strains of *Trichoderma harzianum* and Solid Matrix Priming to Improve Biological Seed Treatments. Plant Disease. 73(8):631-637.

Hubbard,J.P., Harman,G.E. and Hadar,Y. 1983. Effect of Soilborne *Pseudomonas* spp. on the Biological Control Agent, *Trichoderma hamatum*, on Pea Seeds. Phytopathology. 73(5):655-659.

Kasem Soytong. 1992. Biological Control of Tomato Wilt Caused by *Fusarium oxysporum* F.SP. *Lycopersici* by Using *Chaetomium cupreum*. Kasetsart Journal. 26: 310-313.

Khan,T.N. 1982. Winged bean production in the tropics. Food and Agriculture Organization of the United Nation, Rome. 217p.

Oyekan,P.O. and Naik,D.M. 1987. Fungal and Bacterial Diseases of Soybean in the Tropics., in Soybeans for the Tropics., Singh,S.R., Rachie, K.O. and Dashiell,K.E.,Eds. Biddles Ltd, Guildford and King's Lynn, Great Britain. p.47-52.

Prasartporn Smitamana. 1983. Soybean Diseases in Chiang Mai, Thailand., in Tropical Legume Improvement. Persley,G.J., Ed. ACIAR Planning and Coordination Workshop, Bangkok, Thailand. p.47.

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 แสดงการวิเคราะห์ผลทางสถิติของเปอร์เซนต์การมีชีวิตรอดของยาเชื้อป้องกันกำจัดเชื้อรา

S.O.V.	df	SS	MS	F. ratio	F. table 5 %	F. table 1 %
Treatment	15	52.984	3.532	27.128 **	1.92	2.52
A	3	15.297	5.099	39.160 **	2.84	4.31
B	3	30.672	10.224	78.520 **	2.84	4.31
AB	9	7.016	0.780	5.987 **	2.11	2.89
Error	48	6.250	0.130			
Total	63	59.234	0.940			

** = highly significant at 1 % level

CV (%) = 4.19

LSD .05 = 0.5052072

LSD .01 = 0.6677411

ตารางผนวกที่ 2 แสดงการวิเคราะห์ผลทางสถิติของอัตราการเกิดโรคโคนเน่าถั่วเหลืองโดยเฉลี่ย

S.O.V.	df	SS	MS	F. ratio	F. table 5 %	F. table 1 %
Treatment	5	21.967	4.393	5.143 **	2.62	3.90
Error	24	20.500	0.854			
Total	29	42.467	1.464			

** = highly significant at 1 % level

CV (%) = 49.51

LSD .05 = 1.206455

LSD .01 = 1.63491

ตารางผนวกที่ 3 แสดงการวิเคราะห์ผลทางสถิติของค่าเฉลี่ยความยาวของลำต้นถั่วเหลือง เมื่ออายุ 45 วัน

					F. table	
S.O.V.	df	SS	MS	F.ratio	5%	1%
Treatment	5	354.661	70.932	11.614 **	2.62	3.90
Error	24	146.576	6.107			
Total	29	501.237	17.284			

** = highly significant at 1 % level

CV (%) = 11.53

LSD .05 = 3.22609

LSD .01 = 4.37168

ตารางผนวกที่ 4 แสดงการวิเคราะห์ผลทางสถิติของค่าเฉลี่ยความยาวรากของต้นถั่วเหลือง เมื่ออายุ 45 วัน

S.O.V.	df	SS	MS	F. ratio	F. table 5%	F. table 1%
Treatment	5	27.389	5.478	4.389 **	2.62	3.90
Error	24	29.953	1.248			
Total	29	57.342	1.977			

** = highly significant at 1 % level

CV (%) = 27.62

LSD .05 = 1.458324

LSD .01 = 1.976228

ตารางผนวกที่ 5 แสดงการวิเคราะห์ผลทางสถิติของค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของต้นถั่วเหลือง เมื่ออายุ 45 วัน

S.O.V.	df	SS	MS	F.ratio	F. table 5%	F. table 1%
Treatment	5	0.996	0.199	7.145 **	2.62	3.90
Error	24	0.669	0.028			
Total	29	1.665	0.057			

** = highly significant at 1 % level

CV (%) = 21.31

LSD .05 = 0.2179907

LSD .01 = 0.295407

ตารางผนวกที่ 6 แสดงการวิเคราะห์ผลทางสถิติของค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของรากถั่วเหลือง เมื่ออายุ 45 วัน

S.O.V.	df	SS	MS	F. ratio	F. table 5%	F. table 1%
Treatment	5	0.002	0.000	1.098 ns	2.62	3.90
Error	24	0.009	0.000			
Total	29	0.011	0.000			

ns = not significant

CV (%) = 36.72