บทที่ 4

บทวิจารณ์

1. การเก็บตัวอย่างดิน และการแยกเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. จากดินตัวอย่าง

จากการเก็บตัวอย่างดินจากพื้นที่ทำการเกษตรจำนวน 23 แปลง ที่ปลูกถั่วลิสง (*Arachis hypogeae*) และ ถั่วหรั่ง (*Vigna subterranea*) สามารถแยกเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ได้ 462 สายพันธุ์ ซึ่งในแต่ละพื้นที่สามารถคัดเลือกได้จำนวนสายพันธุ์เชื้อราปฏิปักษ์ที่แตกต่างกัน โดยดินจากแปลง ThG-IV อ. ยะหา จ. ยะลา และ แปลง ThB-I อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา มีจำนวนสายพันธุ์มากที่สุด 72 และ 66 สายพันธุ์ ตามลำดับ ส่วนแปลง ThG-V อ. ยะหา จ.ยะลา สามารถแยกเชื้อราปฏิปักษ์ได้เพียง 1 สายพันธุ์เท่านั้น เนื่องจากปริมาณอินทรียวัตถุเป็นปัจจัยสำคัญในการอยู่รอดของเชื้อราปฏิปักษ์ (จิระเดช แจ่มสว่าง และ วรรณวิไล อินทนู, 2542) ซึ่งพื้นที่แปลง ThG-IV เป็นพื้นที่แปลงที่มีการปลูกถั่วหรั่งเป็นพืชแซมกับพืชชนิดอื่น และพื้นที่แปลง ThB-I เป็นพื้นที่แปลงปลูกถั่วลิสงขององค์การบริหารส่วนตำบลท่าข้าม อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา เพื่อเป็นแปลงสาธิตให้กับเกษตรกร ซึ่งทั้งสองพื้นที่ได้รับการปรับปรุงความอุดมสมบูรณ์อันเนื่องมาจากการไถกลบซากพืช การใส่ปุ๋ย การปรับสภาพพื้นที่เพื่อให้เหมาะสมกับพืชปลูกชนิดต่าง ๆ อยู่เสมอ จึงทำให้ปริมาณอินทรียวัตถุในดินมีมากกว่าพื้นที่แปลง ThG-V ซึ่งเป็นพื้นที่ทิ้งร้างว่างเปล่า เกษตรกรปลูกถั่วหรั่งเนื่องจากไม่สามารถปลูกพืชชนิดอื่นได้

2. การคัดเลือกเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp.

เมื่อนำเชื้อราปฏิปักษ์สายพันธุ์ต่าง ๆ ที่แยกได้จากดิน ทั้งสิ้น 462 สายพันธุ์ มาทำการทดสอบโดยวิธี dual culture technique คัดเลือกจากดิน 6 แปลง จำนวน 249 สายพันธุ์ ซึ่งได้แก่ สายพันธุ์จากแปลง ThA-II, ThA-VI, ThB-I, ThD-I, ThG-I และ ThG-IV ผลการทดสอบพบว่า สายพันธุ์ของเชื้อราปฏิปักษ์สวนใหญ่ที่ผ่านการคัดเลือก มีความสามารถในการเจริญคลุมเชื้อราสาเหตุได้ดีมาก โดยมีปฏิกิริยาการเข้าทำลายเชื้อราสาเหตุแบบที่ 1 คือ เส้นใยของเชื้อราปฏิปักษ์เจริญครอบคลุมเส้นใยของเชื้อราสาเหตุทั้งหมด 226 สายพันธุ์ โดยเชื้อราปฏิปักษ์จากแหล่ง ThG-IV (จำนวน 72 สายพันธุ์) พบว่าสามารถจัดอยู่รูปแบบปฏิกิริยาแบบที่ 1 คือ เส้นใยของเชื้อราปฏิปักษ์เจริญครอบคลุมเส้นใยของเชื้อราสาเหตุทั้งหมด ได้ถึง 61 สายพันธุ์ ซึ่งนับว่าพื้นที่ดังกล่าวมีจำนวนเชื้อราสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุได้มาก และพบปฏิกิริยาการเข้า

ทำลายเชื้อราสาเหตุแบบที่ 3 คือ เส้นใยของเชื้อราปฏิปักษ์และเชื้อราสาเหตุสามารถเจริญมาสัมผัสกันครึ่งทาง เพียง 23 สายพันธุ์

เชื้อราปฏิปักษ์ 226 สายพันธุ์ที่ได้จากการคัดเลือกโดยวิธี dual culture technique เมื่อนำมาตรวจดูความสามารถในการพันรัด ที่เกิดขึ้นระหว่างเชื้อรา *Trichoderma* spp. และ *R. solani* ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบ compound พบว่าเชื้อราปฏิปักษ์จำนวน 13 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ ThA-II-05, ThA-II-13, ThA-VI-04, ThA-VI-23, ThB-I-15, ThB-I-23, ThB-I-26, ThB-I-32, ThB-I-54, ThB-I-59, ThB-I-60, ThB-I-65 และThD-I-02 มีความสามารถในการพันรัดเส้นใยของเชื้อราสาเหตุ ซึ่ง Dennis และ Webster (1971) รายงานว่า เชื้อรา *Trichoderma* spp. บางสายพันธุ์เป็นปฏิปักษ์โดยตรงต่อเชื้อโรคพืช โดยการพันรัดแล้วแทงส่วนของเส้นใยเข้าไปภายในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ทำให้เส้นใยนั้นตาย โดยเฉพาะกับเชื้อรา *R. solani* เมื่อนำเชื้อราปฏิปักษ์สายพันธุ์ดังกล่าวมาทำการทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดยวิธี congo red agar พบว่าเชื้อราปฏิปักษ์เกือบทุกสายพันธุ์มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส โดยเชื้อรา *Trichoderma* sp. สายพันธุ์ ThB-I–54 สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสซึ่งสามารถย่อย CMC–Na ทำให้เห็นเป็นวงใสรอบรูที่เจาะได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อรา *Trichoderma* spp. สายพันธุ์อื่น เชื้อรา *A. flavus* และ *A. niger* โดยมีค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสเท่ากับ 1.8 เซนติเมตร

จากผลการทดสอบดังกล่าวข้างต้นแสดงให้เห็นว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. สายพันธุ์ ThB-I–54 ซึ่งมีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสน่าจะมีความสามารถเจริญและเพิ่มปริมาณได้ดีบนวัสดุที่มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ เช่น กากใยปาล์ม ซึ่งมีสัดส่วนของเปอร์เซ็นต์ C/N ratio เท่ากับ 38.96 (ภาคผนวก ง ตารางที่ 1-3)

3. การทดสอบประสิทธิภาพของมวลชีวภาพเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* สายพันธุ์ ThB-I-54 เพื่อควบคุมโรคใบไหม้ของถั่วหรั่ง ในสภาพเรือนทดลอง

3.1 การทดสอบเพื่อคัดเลือกกรรมวิธีที่เหมาะสมเบื้องต้น

การเพิ่มปริมาณมวลชีวภาพเชื้อราปฏิปักษ์โดยวัสดุจากเมล็ดข้าวฟ่าง และกากใยปาล์ม มีความสามารถในการผลิตเป็นมวลชีวภาพ โดยหลังจากเลี้ยงเชื้อนาน 7-10 วัน เชื้อราปฏิปักษ์สามารถเพิ่มปริมาณเส้นใยและสปอร์บริเวณผิวหน้าของวัสดุดังกล่าว จากการทดสอบในสภาพเรือนทดลองขั้นต้น พบว่าการใช้มวลชีวภาพข้าวฟ่างผสมโดโลไมท์มีความสามารถในการควบคุมและยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุ *R. solani* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ การใช้มวลชีวภาพเมล็ด

ข้าวฟ่าง, มวลชีวภาพกากใยปาล์มบด, ชีวภัณฑ์เชื้อรา *T. harzianum* และ การใช้สารฆ่าเชื้อรา iprodione ตามลำดับ

จากการทดลองสังเกตได้ว่า การใช้สารฆ่าเชื้อรา iprodione มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *R. solani* เพียง 50 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากในการทดลองทำการทดสอบเมื่อต้นถั่วหรั่งอายุ 45 วัน และทำการปลูกเชื้อราสาเหตุก่อน 2 วันแล้วตามด้วยเชื้อราปฏิปักษ์ ช่วงเวลาดังกล่าวเป็นช่วงที่ถั่วเริ่มออกดอก ก้านใบมีความอวบน้ำสูง ซึ่งการเจริญเติบโตเป็นไปอย่างรวดเร็วและมีความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุมากที่สุด ซึ่งการเว้นระยะห่างของการปลูกเชื้อราสาเหตุก่อนเพียง 2 วัน แล้วตามด้วยการพ่นสารฆ่าเชื้อรา จึงสามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุได้เพียงระดับหนึ่ง เนื่องจากเชื้อราสาเหตุได้เข้าทำลายเนื้อเยื่อภายในของต้นถั่วอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้มีรายงานว่าสารฆ่าเชื้อรา iprodione มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Trichoderma* spp. (Antonio *et al*., 1999) ซึ่งจากข้อมูลดังกล่าว เมื่อเปรียบเทียบการเพิ่มปริมาณเชื้อราปฏิปักษ์ลงในดินกับการใช้สารฆ่าเชื้อรา iprodione อาจมีผลให้ลดประสิทธิภาพกลไกการทำงานของเชื้อราปฏิปักษ์ในดินซึ่งอาจมีศักยภาพในการช่วยควบคุมเชื้อราสาเหตุในระดับหนึ่ง ซึ่งสังเกตได้ในชุดควบคุมซึ่งปลูกเชื้อราสาเหตุอย่างเดียว มีเปอร์เซ็นต์จำนวนก้านใบปกติถึง 39.48 เปอร์เซ็นต์

นอกจากนี้จากผลการเปรียบเทียบลักษณะเวลาการปลูกเชื้อราสาเหตุและเชื้อราปฏิปักษ์ให้ผลการควบคุมซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยวิธีการปลูกเชื้อราปฏิปักษ์ก่อน 2 วัน แล้วจึงปลูกเชื้อราสาเหตุ มีผลในการควบคุมการเกิดโรคใบไหม้ของถั่วหรั่งดีที่สุด (74.40 เปอร์เซ็นต์) แต่พบว่าการปลูกเชื้อราสาเหตุก่อนเชื้อราปฏิปักษ์ให้ผลในการควบคุมโรคได้ดีกว่าการปลูกเชื้อทั้งสองพร้อม ๆ กัน ซึ่งอาจเกิดความแปรปรวนอันเนื่องมาจากปริมาณและความไม่สม่ำเสมอของเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ โดยดินที่ใช้ในการทดสอบไม่ได้ทำการอบฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อน ซึ่งในสภาพธรรมชาติทั้งเชื้อราปฏิปักษ์ เชื้อราสาเหตุ และเชื้อราอื่น ๆ มักมีอยู่ทั่วไปในดินธรรมชาติ ซึ่งเกษตรกรไม่สามารถควบคุมปัจจัยทั้งหมดได้ ดังนั้นในการทดสอบขั้นต่อไปจึงทำการทดสอบศักยภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* สายพันธุ์ ThB-I-54 ภายหลังการใส่เชื้อราสาเหตุ เพื่อทดสอบความสามารถในการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุที่มีความสามารถในการเข้าทำลายพืชก่อนแล้วในสภาพธรรมชาติ

3.2 การทดสอบประสิทธิภาพของมวลชีวภาพร่วมกับเชื้อ *Rhizobium* sp. เพื่อควบคุมเชื้อรา *R. solani*

จากการศึกษาการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์จำนวนก้านรอดตายที่ทำการควบคุมโรคโดยกรรมวิธีการต่าง ๆ พบว่าการใช้มวลชีวภาพของเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ ThB-I-54 ในรูปข้าวฟ่างผสมโดโลไมท์ และกากใยปาล์มบดผสมโดโลไมท์มีความสามารถยับยั้ง

การเจริญของเชื้อราสาเหตุได้ดีใกล้เคียงกับการใช้สารฆ่าเชื้อรา iprodione โดยการใช้มวลชีวภาพเชื้อราปฏิปักษ์ที่ผลิตโดยวัสดุข้าวฟ่างที่มีส่วนผสมของโดโลไมท์มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุได้ และมีความแตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุม ซึ่งการผสมโดโลไมท์จะเป็นการช่วยปรับลดสภาพความเป็นกรดของดิน เพื่อส่งเสริมการทำงานของเชื้อราปฏิปักษ์ได้ดีขึ้น โดยเฉพาะในดินที่มีสภาพความเป็นกรดสูง อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าโดโลไมท์มีผลในการลดการเจริญเติบโตของเชื้อรา *T. harzianum* และโดโลไมท์ที่ไม่ผ่านการอบฆ่าเชื้อปนเปื้อน สามารถตรวจพบการปนเปื้อนของเชื้อรา *Thermomyces* sp. Tsiklinsky ซึ่งอาจมีภาวะการเป็นปรสิตต่อเชื้อรา *R. solani* (มานะ กาญจนมณีเสถียร และคณะ, 2545)

การใช้สารชีวภัณฑ์เชื้อราไตรโคเดอร์มาที่มีขายทั่วไปไม่สามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุได้เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ปลูกเชื้อราสาเหตุ) ซึ่งให้ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ก้านรอดตายน้อยกว่าและมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งอาจเนื่องมาจากปริมาณเชื้อราสาเหตุในดินที่มีอยู่ก่อนแล้วในธรรมชาติทำให้ไม่มีความสม่ำเสมอของเชื้อราสาเหตุ และการใช้เชื้อราปฏิปักษ์ในรูปแบบมวลชีวภาพทำให้ความสามารถในการปรับสภาพ และเพิ่มปริมาณให้คงอยู่ในสภาวะต่าง ๆ ได้ดี และรวดเร็วกว่าการใช้ในรูปของสารชีวภัณฑ์ที่มีขายทั่วไป ซึ่งมักมีสารผสมทำให้เชื้อราปฏิปักษ์ที่อยู่ในรูปแบบต่าง ๆ นั้นจะต้องใช้ระยะเวลาในการปรับสภาพเพื่อเพิ่มปริมาณ อาจเป็นผลให้กลไกการทำงานของเชื้อราเป็นไปได้ช้ากว่าที่อยู่ในรูปแบบของมวลชีวภาพ

การคลุกเมล็ดถั่วหรั่งด้วยเชื้อไรโซเบียมก่อนปลูก ถึงแม้ว่าจะไม่ให้ค่าเฉลี่ยที่แตกต่างทางสถิติ แต่พบว่ามีแนวโน้มในการให้ค่าเฉลี่ยจำนวน และน้ำหนักปมมากยิ่งขึ้น และในบางชุดทดลอง เช่น การใช้ในรูปแบบมวลชีวภาพกากใยปาล์มบด และมวลชีวภาพข้าวฟ่างผสมโดโลไมท์ การใช้กรรมวิธีการควบคุมร่วมกับการคลุกเชื้อไรโซเบียมให้ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ก้านปกติมากกว่าการไม่คลุกเชื้อไรโซเบียม ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการใช้เชื้อในกลุ่ม *Bradyrhizobium* sp. โดยจัดเป็นพวกที่เจริญช้า เช่นเดียวกับสายพันธุ์ NC-92 โดยมีรายงานว่าบางสายพันธุ์มีการดำรงชีวิตเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อราสาเหตุโรคพืชทั่วไปในดินโดยเฉพาะเชื้อรา *R. solani* ซึ่งมีการใช้เชื้อไรโซเบียมในกลุ่มดังกล่าวเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อรา *R. solani* และเชื้อราสาเหตุโรคพืชบางชนิดที่อาศัยอยู่ในดิน (Buonassisi *et al*., 1986; Ehteshamul and Ghaffar, 1991; Siddiqui *et al*., 2000)

การใช้เชื้อไรโซเบียมร่วมกับชุดทดลองต่าง ๆ ซึ่งมีผลให้ค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ก้านปกติและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดน้อยกว่าชุดทดลองที่ไม่ใช้ไรโซเบียม เนื่องมาจากปัญหาโครงสร้างทางกายภาพของดินที่มีลักษณะเป็นดินร่วนปนทราย เมื่อได้รับน้ำจะอัดตัวกันแน่นภายในถุง

เพาะชำ และมีค่าความเป็นกรดด่างที่ 5.17 และปริมาณธาตุฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ของดินมีอยู่น้อยมากเท่ากับ 2.88 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (ภาคผนวก ง ตารางที่ 1-1) เนื่องจากธาตุฟอสฟอรัสเป็นปัจจัยสำคัญและเป็นองค์ประกอบหลักของ ATP ในกระบวนการตรึงไนโตรเจน ซึ่งเชื้อไรโซเบียมจากปมถั่วจะต้องได้รับจากต้นถั่วโดยตรง (สมศักดิ์ วังใน, 2541) นอกจากนี้สภาวะดังกล่าวซึ่งมีค่าความเป็นกรดด่าง เท่ากับ 5.17 ยังเป็นสภาพที่ไม่เหมาะสมกับการเจริญของเชื้อไรโซเบียม สายพันธุ์ NC-92 ดังนั้นเชื้อไรโซเบียม สายพันธุ์ NC-92 จึงมีประสิทธิภาพในการดำรงชีวิต ความสามารถในการสร้างปมที่มีคุณภาพและความสามารถในการตรึงไนโตรเจนต่ำกว่าเชื้อไรโซเบียมที่มีอยู่ในธรรมชาติ (ภาคผนวก ง ตารางที่ 1-5) เนื่องจากพื้นที่ดังกล่าวมีการปลูกพืชตระกูลถั่วหมุนเวียนอยู่เป็นประจำ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ สมศักดิ์ วังใน (2541) รายงานว่า พื้นที่ที่มีการปลูกพืชตระกูลถั่วเป็นประจำมักมีเชื้อไรโซเบียมที่ดำรงชีวิตอยู่ตามธรรมชาติ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลอง โดยชุดทดลองที่คลุกเชื้อไรโซเบียมให้ค่าเฉลี่ยของจำนวนปมที่สูง แต่น้ำหนักปมสดและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดน้อยกว่าชุดทดลองที่ไม่มีการคลุกเชื้อไรโซเบียม

จากผลการทดลองการใช้มวลชีวภาพเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* สายพันธุ์ ThB-I-54 ซึ่งผลิตโดยวัสดุข้าวฟ่าง และกากใยปาล์ม มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุได้ดีใกล้เคียงกับการใช้สารฆ่าเชื้อรา iprodione และจะช่วยในการส่งเสริมการเจริญของต้นพืช การใช้มวลชีวภาพเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ ThB-I-54 ร่วมกับเชื้อไรโซเบียม สายพันธุ์ NC-92 น่าจะช่วยส่งเสริมการควบคุมเชื้อราสาเหตุในสภาพแปลงทดลองขนาดเล็กได้ ซึ่งดินดังกล่าวไม่มีสภาพการขาดธาตุฟอสฟอรัสเหมือนในการทดลองในเรือนทดลองที่ 2 โดย Haque และคณะ (1992) รายงานว่าการใช้เชื้อรา *Trichoderma* spp. ร่วมกับเชื้อ *Rhizobium meliloti* โดยการคลุกเมล็ดหรือราดลงดินเพื่อควบคุมโรครากเน่าของต้น fenugreek สาเหตุจากเชื้อรา *Macrophomina phaseolina* สามารถลดการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์

ดังนั้นในการคัดเลือกรูปแบบของมวลชีวภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ เพื่อใช้ในการควบคุมโรคใบไหม้ในสภาพแปลงทดลองขนาดเล็ก จึงได้คัดเลือกวัสดุกากใยปาล์ม ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ของไนโตรเจนทั้งหมด 1.30, ฟอสฟอรัส 0.13, โพแทสเซียม 0.56, organic carbon 50.65 และ C/N ratio เท่ากับ 38.96 และมีค่าความเป็นกรดด่าง เท่ากับ 5.07 ซึ่งสภาวะดังกล่าวเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราปฏิปักษ์ นอกจากนี้การใช้วัสดุกากปาล์มแทนข้าวฟ่างยังเป็นการลดต้นทุนการผลิต และสามารถคงสภาพได้นานกว่ารูปแบบข้าวฟ่าง

4. การทดสอบประสิทธิภาพของมวลชีวภาพเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* สายพันธุ์ ThB-I-54 เพื่อควบคุมโรคใบไหม้ของถั่วหรั่ง ในสภาพแปลงทดลองขนาดเล็ก

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพในสภาพแปลงทดลองขนาดเล็ก เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมและชุดตรวจสอบ พบว่าการใช้สารฆ่าเชื้อรา iprodione มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุน้อยที่สุด เนื่องจากให้ระดับความรุนแรงของโรคสูงสุด และให้น้ำหนักสดของผลผลิตน้อยที่สุดเช่นกัน ซึ่งอาจเกิดจากการที่สารฆ่าเชื้อรา iprodione มีฤทธิ์ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุแบบสัมผัสตาย และการใช้จะมีประสิทธิภาพเมื่อเชื้อราสาเหตุเพิ่งเริ่มเข้าทำลายพืช หากการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุมีความรุนแรงมากก็ไม่สามารถทำการควบคุมได้ นอกจากนี้มีรายงานว่าสารฆ่าเชื้อรา iprodione มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Trichoderma* spp. ซึ่งมีอยู่แล้วในดินธรรมชาติและดินป่าโดยทั่วไป (Antonio *et al*., 1999)

ชุดทดลองที่ไม่คลุกเชื้อไรโซเบียมให้ระดับความรุนแรงของโรคน้อยกว่าชุดทดลองที่มีการคลุกเชื้อไรโซเบียม การคลุกเชื้อไรโซเบียม+มวลชีวภาพกากใยปาล์ม และการใช้สารฆ่าเชื้อรา iprodione เนื่องจากพื้นที่ดินในศูนย์วิจัยพืชไร่สงขลา เป็นพื้นที่เกษตรกรรมซึ่งมีความอุดมสมบูรณ์และมีปริมาณอินทรียวัตถุสูง ทำให้เชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. สามารถเจริญอยู่ได้ (จิระเดช แจ่มสว่าง และ วรรณวิไล อินทนู, 2542) และในขั้นตอนของการปลูกพืชตระกูลถั่ว แต่ละฤดูปลูกจะมีการคลุกเมล็ดถั่วด้วยเชื้อไรโซเบียมทุกครั้ง ทำให้ในดินมีปริมาณเชื้อไรโซเบียมอยู่แล้วในระดับหนึ่ง (ภาคผนวก ง ตารางที่ 1-5) ซึ่งเชื้อไรโซเบียมที่อาศัยอยู่แล้วในดินอาจมีความสามารถในการดำรงชีวิตในดินที่มีสภาพค่อนข้างเป็นกรด ได้ดีกว่าเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ NC-92 ดังนั้นในดินซึ่งอยู่บริเวณรอบรากของต้นถั่วหรั่งที่ไม่ได้รับการคลุกด้วยเชื้อไรโซเบียม สายพันธุ์ NC-92 จึงอาจมีสายพันธุ์ของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. และเชื้อไรโซเบียมที่มีความสามารถในการดำรงชีวิตและมีศักยภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุ *R. solani* ได้ดี นอกจากนี้การใช้สารฆ่าเชื้อรา iprodione ยังอาจมีผลต่อเชื้อรา *Trichoderma* sp. ที่มีอยู่ในดินธรรมชาติ (Antonio *et al*., 1999) จึงอาจส่งผลให้ชุดควบคุมซึ่งปลูกเชื้อราสาเหตุ *R. solani* อย่างเดียว ให้ระดับความรุนแรงของโรคเกิดขึ้นน้อยกว่า

การใช้มวลชีวภาพกากใยปาล์มสามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุได้ดี แม้ว่าจะให้ระดับความรุนแรงของโรคที่ไม่แตกต่างทางสถิติกับการใช้สารฆ่าเชื้อรา แต่มีแนวโน้มในการให้ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสด น้ำหนักแห้งของผลผลิต น้ำหนักซาก จำนวนปม น้ำหนักปม ปริมาณไนโตรเจนทั้งในต้นและในเมล็ดสูง ส่วนการใช้ร่วมกันระหว่างมวลชีวภาพเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ ThB-I-54 และเชื้อไรโซเบียม สายพันธุ์ NC-92 ให้ค่าเฉลี่ยของระดับความรุนแรงของโรคน้อยกว่าแต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ จากผลการทดลอง พบว่าการคลุกเมล็ดด้วยเชื้อไรโซเบียม สาย

พันธุ์ NC-92 ส่งผลให้เกิดโรครุนแรงมากขึ้น ซึ่งขัดแย้งกับรายงานของ Ehteshamul และ Ghaffar (1991) ซึ่งรายงานว่าเชื้อไรโซเบียมบางสายพันธุ์มีความสามารถในการควบคุมเชื้อราสาเหตุบางชนิดรวมทั้งเชื้อรา *R. solani* นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบกับดินสภาพปกติที่ไม่มีการปลูกเชื้อราสาเหตุ พบว่าการคลุกเมล็ดด้วยเชื้อไรโซเบียม สายพันธุ์ NC-92 ให้ระดับความรุนแรงของโรคน้อยลง เนื่องจากเชื้อไรโซเบียม สายพันธุ์ NC-92 ช่วยส่งเสริมการเจริญของต้นพืช และอาจมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชชนิดอื่นที่อาศัยอยู่ในดินธรรมชาติ

การทดสอบในสภาพพื้นที่แปลงทดลอง ณ ศูนย์วิจัยพืชไร่สงขลา ที่มีการทำแปลงสาธิตและสนับสนุนให้เกษตรกรปลูกพืชตระกูลถั่วและพืชไร่ชนิดอื่น ๆ โดยเฉพาะพืชตระกูลถั่วมีรายงานการระบาดของเชื้อรา *R. solani* ทุกฤดูปลูกและมีความรุนแรงมาก และได้ผลผลิตน้อยมาก จากการศึกษาของ Charya และคณะ (1985) รายงานว่าในดินที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อปนเปื้อน เมื่อทำการ inoculate เชื้อ *Fusarium oxysporum*, *Phoma exigua* และ *R. solani* มีผลในการยับยั้งการสร้างปมในถั่วเขียว (*Vigna radiata*) อย่างสมบูรณ์ อย่างไรก็ตามปมจะถูกกระตุ้นเมื่อมีการใส่เชื้อไรโซเบียม แต่ในทางตรงข้ามอาจพบว่า ในดินที่ไม่ผ่านการอบฆ่าเชื้อปนเปื้อนการสร้างปมจะลดลงในบางเมล็ดที่มีการคลุกด้วยเชื้อไรโซเบียม ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองข้างต้น

อย่างไรก็ตามในการทดสอบมีปัจจัยหลายอย่างเข้ามาเกี่ยวข้องทั้งสมบัติทางกายภาพของดินเป็นดินร่วนปนทราย (ภาคผนวก ง ตารางที่ 1-2) ไม่สามารถอุ้มน้ำไว้ได้ เมื่อแห้งจะอัดตัวแน่นทำให้เกิดสภาวะการขาดก๊าซออกซิเจน เนื่องจากโครงสร้างดินที่ถูกทำลายจากการไถปรับพื้นที่ ในแต่ละครั้งที่มีการสับเปลี่ยนพืชปลูก ทำให้ระบบรากของต้นถั่วไม่สามารถเจริญได้เต็มที่ ความสามารถในการแทงฝักลงไปในดินจึงเกิดขึ้นน้อย ผลผลิตที่ได้จึงลดลงตามไปด้วย นอกจากนี้ปัจจัยในด้านปริมาณธาตุอาหาร และค่าความเป็นกรดด่างของดินที่จะต้องเหมาะสมกับการเจริญของพืชปลูกเชื้อไรโซเบียม และเชื้อราปฏิปักษ์ล้วนส่งผลกระทบต่อผลผลิตแทบทั้งสิ้น

5. การตรวจวัดปริมาณมวลชีวภาพเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ ThB-I-54 ที่ผลิตในรูปแบบมวลชีวภาพผสมโดโลไมท์ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (26-32 องศาเซลเซียส)

มวลชีวภาพเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* สายพันธุ์ ThB-I-54 ซึ่งผลิตโดยใช้วัสดุเมล็ดข้าวฟ่างและกากใยปาล์มบดผสมโดโลไมท์ แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (26-32 องศาเซลเซียส) นาน 8 เดือน หลังจากทำการตรวจนับปริมาณของเชื้อทุกเดือน พบว่ามวลชีวภาพในรูปข้าวฟ่างผสมโดโลไมท์ทั้งที่อบและไม่อบฆ่าเชื้อปนเปื้อน สามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (26-32 องศาเซลเซียส) ได้เพียง 1 เดือนเท่านั้น เนื่องจากวัสดุเมล็ดข้าวฟ่างที่ผ่านการต้มแล้วนั้น มีเปอร์เซ็นต์ความชื้นมากกว่าวัสดุกากใยปาล์ม จึงทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียได้ง่าย นอกจากนี้

ความชื้นดังกล่าวจะทำให้เมล็ดข้าวฟ่างเน่าเสียอีกด้วย ส่วนมวลชีวภาพในรูปของกากใยปาล์มบดผสมโดโลไมท์มีประสิทธิภาพในการเก็บรักษาได้ยาวนานกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวฟ่าง โดยมวลชีวภาพในรูปกากใยปาล์มบดซึ่งผสมโดโลไมท์ที่อบฆ่าเชื้อ มีอัตราการลดลงของปริมาณประชากรเป็น 10^{9} เท่าของประชากรตั้งต้น ส่วนมวลชีวภาพในรูปกากใยปาล์มบดซึ่งผสมโดโลไมท์ที่ไม่อบฆ่าเชื้อมีอัตราการลดลงของปริมาณประชากรเป็น 10^{12} เท่าของประชากรตั้งต้น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ มานะ กาญจนมณีเสถียร และคณะ (2545) รายงานว่า โดโลไมท์มีผลทำให้การเจริญของเชื้อรา *T. harzianum* ลดลง ซึ่งการลดลงของปริมาณประชากรของมวลชีวภาพเชื้อรา *T. harzianum* ที่มีส่วนผสมของโดโลไมท์ เนื่องจากวัสดุดังกล่าวมีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 8.2 ซึ่งเป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *T. harzianum*