บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ถั่วหรั่ง (*Vigna subterranea* (L.) Verdc.) เป็นพืชไร่ที่มีการปลูกกันอย่างแพร่หลายในหลายประเทศในทวีปแอฟริกา เช่น ประเทศคองโก มาลาวี แคเมอรูน และมาดากัสกา เป็นต้น นอกจากประเทศในแถบแอฟริกาแล้ว ถั่วหรั่งยังเป็นที่นิยมปลูกกันแพร่หลายในทวีปเอเชีย เช่น ประเทศอินเดีย มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ และฟิจิ (Herkelot, 1972) เนื่องจากเป็นพืชที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรต ไขมัน และโปรตีนซึ่งประกอบด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายสูงถึง 32.7 เปอร์เซ็นต์ (Minka and Bruneteau, 2000) นอกจากนี้ถั่วหรั่งยังทนทานต่อความแห้งแล้ง และสามารถปรับตัวในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำได้ดีกว่าถั่วลิสง สามารถใช้เป็นพืชบำรุงดิน เพื่อเป็นการเพิ่มปริมาณธาตุอาหารโดยเฉพาะไนโตรเจนลงสู่ดินได้อีกวิธีการหนึ่ง

ในภาคใต้ของประเทศไทย ถั่วหรั่งเป็นพืชที่นิยมปลูกกันมาก เกษตรกรนิยมปลูกเป็นพืชแซมในสวนยางพาราที่ปลูกใหม่ แต่มักประสบปัญหาโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส ไส้เดือนฝอย และเชื้อราชนิดต่าง ๆ โดยปัญหาโรคที่เกิดจากเชื้อราที่มีความสำคัญสูงสุด คือ โรคใบไหม้ของถั่วหรั่งที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* Kuhn ซึ่งเป็นเชื้อราที่มีวัฏจักรชีวิตในดิน แต่สามารถเข้าทำลายถั่วหรั่งได้เกือบทุกส่วนโดยเฉพาะอย่างยิ่งในส่วนใบซึ่งทำให้ผลผลิตลดลง และมีรายงานว่าสามารถพบโรคใบไหม้นี้ได้ทั่วไปในบริเวณที่มีการปลูกถั่วหรั่ง (ชุติมันต์ พานิชศักดิ์พัฒนา และคณะ, 2536)

การควบคุมเชื้อรา *R. solani* เกษตรกรสามารถใช้สารเคมีซึ่งมีชื่อสามัญ iprodione (ชื่อการค้า รอฟรัล®) เพื่อควบคุมการแพร่กระจายของโรคในแปลงปลูก แต่ในปัจจุบันประเทศทั่วโลกรวมทั้งประเทศไทยกำลังประสบปัญหาเกี่ยวกับมลภาวะ โดยส่วนใหญ่มีสาเหตุจากการใช้สารฆ่าศัตรูพืชและสัตว์ ซึ่งส่งผลกระทบต่อมนุษย์และสภาพแวดล้อมเป็นอย่างมาก โดยมีรายงานว่าปัจจุบันมีแมลง ไร และเชื้อรามากกว่า 400 ชนิด สามารถพัฒนาสายพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อสารฆ่าศัตรูพืชและสัตว์ (กองกีฏและสัตววิทยา, 2537) รวมทั้งการปนเปื้อนของสารเคมีกับแหล่งน้ำใต้ดิน และการมีสารฆ่าศัตรูพืชและสัตว์ตกค้างบนผลผลิตทางการเกษตร (พิสิฐ วงศ์วัฒนะ, 2535)

จากเหตุผลดังกล่าวข้างต้น การควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชโดยมาตรการทางชีววิธี (biological control) จึงได้รับความสนใจมากขึ้น เนื่องจากความต้องการที่จะลดปริมาณการใช้สารฆ่าเชื้อราให้น้อยลง เพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคในปัญหาเรื่องสารเคมีตกค้าง และลดการเกิดสายพันธุ์ต้านทานต่อสารเคมีของเชื้อราสาเหตุ (เกษม สร้อยทอง, 2532) โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ประโยชน์มีหลายชนิด เช่น *Chaetomium* spp. (เกษม สร้อยทอง, 2533) และ *Trichoderma* spp. ซึ่งเชื้อรา *Trichoderma* spp. นั้นมีรายงานว่าหลายชนิดสามารถตรวจพบได้จากดินเกษตรกรรมทั่วไป (จิระเดช แจ่มสว่าง และคณะ, 2535) และสภาพดินป่าไม้ธรรมชาติ (Bull *et al.,* 1992) จากรายงานการศึกษาพบว่าเชื้อ *Trichoderma* spp. มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเกิดโรคหลายชนิดได้ดี เช่น สามารถใช้ควบคุมโรครากเน่าในส้มเขียวหวานซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Phytophthora parasitica* (Erwin *et al.,* 1983) โรคที่เกิดจากเชื้อ *R. solani* ของถั่วซีราโตร (Hadar *et al.,* 1979; Elad *et al.,* 1980; Liu and Baker, 1980) และโรคเน่าของฝ้ายที่เกิดจากเชื้อรา *R. solani* และ *Pythium ultimum* (Lewis *et al.,* 1996) โดยในปัจจุบันมีการผลิตผลิตภัณฑ์ของผงเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. เพื่อจำหน่ายเป็นการค้าอย่างแพร่หลาย (สุมาลี สันติพลวุฒิ, 2536) และคาดว่าแนวโน้มการใช้ผลิตภัณฑ์ผงเชื้อราที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราน่าจะมีมากยิ่งขึ้นในอนาคต

อย่างไรก็ตามเพื่อให้เกษตรกรสามารถพึ่งตนเองได้ การศึกษาเรื่องการผลิตมวลชีวภาพอย่างง่ายจึงเป็นสิ่งจำเป็น การผลิตมวลชีวภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. จากวัสดุเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่หาได้ง่ายในท้องถิ่น และมีราคาถูก เช่น ขี้เลื่อยยางพารา กากใยปาล์ม หรือ ขุยมะพร้าว เพื่อใช้เพิ่มปริมาณของเชื้อรา *Trichoderma* spp. จึงเป็นการลดต้นทุนของการผลิตและเป็นเทคโนโลยีอย่างง่าย เกษตรกรสามารถทำได้ด้วยตนเอง นอกจากนี้ยังเป็นการลดปัญหาวัสดุเหลือใช้ได้อีกแนวทางหนึ่ง

การตรวจเอกสาร

1. ถั่วหรั่ง

ถั่วหรั่ง หมายถึง พืชตระกูลถั่วที่อยู่ใน Family Papilionaceae มีชื่อสามัญว่า Bambara Groundnut หรือ Bambarra Groundnut และมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Voandzeia subterranea* (L.) Thouars หรือ *Vigna subterranea* (L.) Verdc. (สุเทพ รัตนพันธ์, 2525 ; ศิริกุล ศรีแสงจันทร์ และคณะ, 2540)

"ถั่วหรั่ง" นิยมปลูกมากในสวนยางพาราทางภาคใต้ของประเทศไทยโดยเฉพาะในบริเวณสวนยางเก่าที่ได้รับการสงเคราะห์แล้ว และบางครั้งก็ปลูกบนที่ราบหรือปลูกเป็นพืชแซม (intercropping) ในไร่โดยทั่วไป มีชื่อเรียกแตกต่างกันออกไปตามแหล่งและสถานที่ปลูก เช่น ในท้องที่จังหวัดนราธิวาส ยะลา ปัตตานี เรียกว่า "กาแจโป" สงขลา เรียกว่า "ถั่วไทร" ภูเก็ต เรียกว่า "ถั่วปันหยี" ส่วนในท้องที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พัทลุงและจังหวัดอื่น ๆ ที่ปลูกในภาคใต้เรียกว่า "ถั่วเม็ดเดียว" หรือ "ถั่วหรั่ง" (Thuarang) ส่วนในต่างประเทศรู้จักกันในนามของ Conga goober, Earth pea, Baffin pea, Njugo bean (South Africa), Madagascar groundnut, Voandzou (Madagascar), Epi roui (Yuroba), Okpa otuanya (Ido), Juijiya (Hausa, Nigeria), Nzama, Njama (Malawi), Nlubu, Nyimo (Rhodesia), Njugu mawe (Swahili), Kachang menila, Kachang poi, Nela - kadalai (Malaya), Kachang bogor (Java) (สุเทพ รัตนพันธ์, 2525)

ในทางโภชนศาสตร์ Purseglove (1997) กล่าวว่า องค์ประกอบของสารอาหารในเมล็ดถั่วหรั่งแห้งประกอบด้วย โปรตีน 16-21 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 4.5-6.5 เปอร์เซ็นต์ และคาร์โบไฮเดรต 50-60 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นแหล่งของสารอาหารที่สมดุลย์ดีมาก โดยโปรตีนในถั่วหรั่งมีองค์ประกอบของเมไธโอนีนสูงกว่าที่พบในเมล็ดถั่วอาหารชนิดอื่น ๆ (NAS, 1979) นอกจากนี้ถึงแม้จะมีการตรวจพบเชื้อรา *Aspergillus flavus* จากเมล็ดถั่วหรั่ง แต่ไม่พบการปนเปื้อนของสารอะฟลาท็อกซินเลย (ชุติมันต์ พานิชศักดิ์พัฒนา และคณะ, 2537) ดังนั้นจึงนับว่าถั่วหรั่งเป็นพืชที่สูงด้วยโภชนาการและมีความปลอดภัยในการบริโภคสูงกว่าพืชตระกูลถั่วชนิดอื่น ๆ ที่มักมีการปนเปื้อนของสารอะฟลาท็อกซิน

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphological Characteristic)

ถั่วหรั่งเป็นพืชที่มีอายุเพียง 1 ฤดูปลูก ประเภทล้มลุก (annual) ที่ผสมตัวเอง (2n=22) มีลักษณะต่าง ๆ (ภาพที่ 1) (สุเทพ รัตนพันธ์, 2525) ดังนี้

- เมล็ด (seed) ถั่วหรั่งมีเมล็ดที่ค่อนข้างกลม มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1.0-1.5 เซนติเมตร ผิวเมล็ดเรียบ เมล็ดเมื่อแก่จัดจะแข็งและมีขนาดน้ำหนักแตกต่างกันตั้งแต่ 45-65 กรัมต่อ 100 เมล็ด เมล็ดมีสีแตกต่างกัน เช่น สีครีม น้ำตาลค่อนข้างแดง

- ราก (roots) เมื่อเมล็ดเริ่มงอก รากจะเป็นส่วนแรกที่โผล่ออกจากเปลือกหุ้มเมล็ดที่ขยายตัวออกไปอย่างรวดเร็ว รากแก้วจะหยั่งลึกลงไปในดินพร้อมกับรากแขนงที่แตกออกทางด้านข้าง รากจะเจริญเติบโตเป็นกระจุกอยู่ที่ข้อในระดับผิวดินเป็นส่วนใหญ่คล้ายกับพวกพืชใบเลี้ยงเดี่ยว

- ใบ (leaf) ใบจะตั้งตรง โดยปกติแล้วจะประกอบไปด้วยใบเล็ก 3 ใบ (trifoliate) และมีก้านใบ (petioles) ยาวมาก

- ลำต้น (stem) ลำต้นของถั่วหรั่งจะตั้งตรง (erect) และลำต้นส่วนใหญ่จะกระจายราบอยู่กับพื้นดิน (Prostrate type)

- ดอก (flowers) ดอกจะเกิดระหว่างใบซึ่งติดอยู่กับข้อ 1-3 ดอก มีสีเหลืองอ่อน หลังจากดอกผสมตัวเองแล้ว ส่วนล่างของลำต้นก็จะพัฒนาสร้างฝักในดินต่อไป

- ฝัก (pod) ติดฝักคล้าย ๆ กับถั่วลิสง ในฝักหนึ่ง ๆ โดยปกติแล้วจะมีเมล็ด 1 เมล็ด และในบางครั้งจะพบ 2 เมล็ดใน 1 ฝัก

ถั่วหรั่งที่นิยมปลูกในประเทศไทยมี 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์พื้นเมือง และพันธุ์สงขลา 1 ซึ่งมีลักษณะของแต่ละพันธุ์ดังแสดงใน ตารางที่ 1

ภาพที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของถั่วหรั่ง

ที่มา : ศูนย์วิจัยพืชไร่สงขลา (2541)

ตารางที่ 1 ลักษณะประจำพันธุ์ของถั่วหรั่งพันธุ์สงขลา 1 และพันธุ์พื้นเมือง

ลักษณะ	พันธุ์สงขลา 1	พันธุ์พื้นเมือง
สีใบ	เขียว	เขียว
รูปทรงใบย่อย	รูปใบหอกที่ส่วนกลาง กว้างเรียวไปหาส่วนปลาย	รูปใบหอกที่ความกว้างส่วนกลางใบกับปลายใบต่างกันเล็กน้อย
สีก้านใบ	เขียว	เขียวอมม่วงแดงเข้มขึ้นจากปลายก้านใบไปหาส่วนโคนใบ
สีลำต้น	ม่วงแดง	ม่วงแดง
สีดอก	เหลือง	เหลือง
ทรงต้น	ค่อนข้างเป็นกระจุก	แผ่กว้าง
การติดฝัก	แน่นเป็นกระจุก	โปร่ง เนื่องจากข้อห่าง
สีเปลือกฝัก	ขาวปนน้ำตาลอ่อน	ขาวปนน้ำตาลอ่อน
สีเยื่อหุ้มเมล็ด	แดง	เหลืองครีม
ระยะระหว่างข้อ	1 - 2 ซม.	2 - 3 ซม.
อายุที่ดอกเริ่มบาน	38 วัน	52 วัน
อายุเก็บเกี่ยว	110 - 120 วัน	140 - 180 วัน
น้ำหนัก 100 เมล็ด	48.3 กรัม	36.9 กรัม
ผลผลิตฝักสดเฉลี่ย	462.4 กิโลกรัม/ไร่	400.5 กิโลกรัม/ไร่
ผลผลิตฝักแห้งเฉลี่ย	160.6 กิโลกรัม/ไร่	121.2 กิโลกรัม/ไร่
เปอร์เซ็นต์กะเทาะ	73.0เปอร์เซ็นต์	71.5เปอร์เซ็นต์
การเป็นโรคในสภาพธรรมชาติ	น้อยกว่า	ขึ้นอยู่กับสภาพการปลูก
รสชาติ	ดี เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค	ดี

ที่มา : กรมส่งเสริมการเกษตร (2543)

สุเทพ รัตนพันธ์ (2525) รายงานว่าสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการปลูกถั่วหรั่งมีดังนี้

1.1 สภาพพื้นที่

สามารถปลูกได้ในดินแทบทุกสภาพพื้นที่ ทั้งที่เป็นที่ราบ ที่ราบเชิงเขา และที่ดอน ตั้งแต่ความสูงเหนือระดับน้ำทะเลเล็กน้อยถึงความสูง 1,520 เมตร เหนือระดับน้ำทะเล

1.2 ลักษณะดิน

ถั่วหรั่งสามารถเจริญเติบโตได้ดีในดินที่มีความร่วนซุยสูง ได้แก่ ดินทราย ทรายร่วน ถึงดินร่วนปนทราย มีการระบายน้ำและอากาศได้ดี และไม่มีน้ำขัง ในสภาพดินค่อนข้างเหนียวจะมีปัญหาในการเก็บเกี่ยว เนื่องจากฝักจะขาดติดอยู่ในดินมาก ทำให้เปลืองแรงงานและเสียเวลาในการเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ถั่วหรั่งสามารถเจริญเติบโตได้ในสภาพดินกรด แต่ไม่ทนดินด่างและทนดินเค็ม โดยระดับความเป็นกรดด่าง ที่เหมาะสม คือ ระหว่าง 5.0-6.5

1.3 สภาพภูมิอากาศ

ถั่วหรั่งเป็นพืชที่ปรับตัวต่อสภาพภูมิอากาศได้กว้างขวางมาก ตั้งแต่เขตแห้งแล้งกึ่งร้อนถึงร้อนชื้นฝนตกชุก เป็นพืชที่ต้องการแสงแดดมาก และอุณหภูมิค่อนข้างสูง โดยมีอุณภูมิกลางวันเฉลี่ย 20-28 องศาเซลเซียส ฤดูปลูกที่เหมาะสม คือ ต้นฤดูฝน ประมาณเดือนมิถุนายนถึงกรกฎาคม หากเลยช่วงนี้ไปถั่วหรั่งจะออกดอกและติดฝักในช่วงฝนตกหนัก ซึ่งจะทำให้ถั่วหรั่งติดฝักน้อย ส่วนการปลูกนอกฤดูฝนจะเหมาะกับพื้นที่ที่สามารถให้น้ำได้ ซึ่งการปลูกนอกฤดูฝนจะมีผลดี คือ จะมีการระบาดของโรคน้อยกว่าการปลูกในฤดูฝน

1.4 น้ำ

ถั่วหรั่งจะเจริญเติบโตได้ดีในสภาพที่มีฝนตกสม่ำเสมอในช่วงระยะเวลาตั้งแต่ปลูกจนถึงระยะออกดอก แต่สามารถปรับตัวทนต่อสภาพแห้งแล้งได้ดี โดยปลูกได้ในพื้นที่ที่มีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ย 600-750 มิลลิเมตร และจะให้ผลผลิตสูงถ้ามีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ย 900-1,200 มิลลิเมตร

2. เชื้อไรโซเบียมกับการสร้างปมถั่ว

แบคทีเรียพวกไรโซเบียมจัดเป็นจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ร่วมกับรากของพืชตระกูลถั่ว โดยมีการตรึงไนโตรเจนร่วมกันแบบถ้อยทีถ้อยอาศัย (microsymbiont) มีลักษณะเซลล์เป็นท่อน มีขนาด 0.5-0.9 X 1.2-3.0 ไมครอน แกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ สามารถเคลื่อนที่ได้ อาศัยออกซิเจนในการทำกิจกรรมต่าง ๆ ใช้คาร์โบไฮเดรทได้หลายชนิด บางครั้งสะสมกรดและด่าง แต่ไม่สะสมก๊าซ สำหรับการทำให้เกิดปมที่รากของพืชตระกูลถั่วโดยเชื้อไรโซเบียมเป็นไปอย่างเฉพาะเจาะจง คือ ไรโซเบียมแต่ละสปีชีส์จะก่อให้เกิดปมกับพืชตระกูลถั่วกลุ่มใดกลุ่มหนึ่งอย่างเฉพาะเจาะจง (host specificity) (สมศักดิ์ วังใน, 2541) สำหรับสายพันธุ์ไรโซเบียมที่มีความจำเพาะเจาะจงและมีการศึกษากับถั่วหรั่งและมีรายงานการทดสอบแล้ว ได้แก่ เชื้อ *Rhizobium* sp. สายพันธุ์ NC-92 (กรมวิชาการเกษตร ติดต่อส่วนตัว) สายพันธุ์ 280A สายพันธุ์ 100M (Kishinevsky *et al*., 1996) และสายพันธุ์ TAL 169 สามารถเพิ่มน้ำหนักแห้ง และปริมาณไนโตรเจนในลำต้น น้ำหนักปมแห้ง และยังเป็นการเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนส (nitrogenase, N_2ase) (Somasegaran *et al*., 1990)

ปัจจัยที่ส่งเสริมการสร้างปมและความสามารถในการตรึงไนโตรเจนคือ อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดด่าง ปริมาณธาตุอาหารที่สำคัญ ปริมาณแสง และความชื้น โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญของปมอยู่ระหว่าง 19-35 องศาเซลเซียส (ปมถั่วเขตร้อน) และอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการตรึงไนโตรเจนกับกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนส อยู่ระหว่าง 20-30 องศาเซลเซียส หากอุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่าช่วงนี้จะทำให้ขนาดของปมเล็กและจำนวนแบคทีรอยด์ต่ำกว่าปกติ ส่งผลถึงประสิทธิภาพของการตรึงไนโตรเจน ค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมของทั้งสองกระบวนการนี้อยู่ระหว่าง 5-8 ทั้งนี้ขึ้นกับสายพันธุ์ของไรโซเบียม และชนิดของถั่ว ซึ่งจะยังมีผลกับความเป็นประโยชน์ได้ของธาตุอาหารบางชนิด เช่น โมลิบดินัม (Mo) ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญของเอนไซม์ไนโตรจีเนส ส่วนอิทธิพลของปริมาณธาตุอาหารที่สำคัญ เช่น ไนโตรเจน (ซึ่งอยู่ในรูปของไนเตรต, แอมโมเนียม และยูเรีย) ฟอสฟอรัส, โพแทสเซียม, แคลเซียม, แมกนีเซียม, กำมะถัน และโบรอน โดยเป็นองค์ประกอบในกระบวนการต่าง ๆ ซึ่งมีผลทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อกระบวนการตรึงไนโตรเจน ปริมาณแสงยังมีผลต่อการสร้างปมและการตรึงไนโตรเจน โดยแสงมีอิทธิพลต่ออัตราส่วนของคาร์โบไฮเดรทและไนโตรเจน (C:N) และอิทธิพลต่อการเจริญของรากตลอดจนการเกิดและการเจริญของปม และปริมาณน้ำหรือความชื้นในดินยังส่งผลโดยตรงต่อปริมาณออกซิเจน ซึ่งมีผลโดยตรงต่อการหายใจของแบคทีรอยด์ในปมถั่ว (สมศักดิ์ วังใน, 2541)

3. โรคใบไหม้ของถั่วหรั่ง

3.1 ลักษณะอาการของโรคใบไหม้

โรคใบไหม้ของถั่วหรั่งเกิดจากเชื้อรา *R. solani* ซึ่งเป็นเชื้อราสาเหตุที่อาศัยอยู่ในดิน การแสดงอาการของโรคจะปรากฏเมื่อถั่วหรั่งมีทรงพุ่มโต สภาพแวดล้อมมีความชื้นสูง โดยในช่วงที่ต้นถั่วหรั่งเริ่มออกดอก ซึ่งมีอายุประมาณ 2 เดือนขึ้นไปจะเป็นช่วงที่อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุมากที่สุด อาการแรกที่สังเกตได้ คือ ใบเริ่มมีจุดสีน้ำตาลแดง รูปร่างไม่แน่นอน ขนาด 0.2-0.5 เซนติเมตร จากนั้นแผลจะมีขนาดขยายขึ้นลุกลามโดยไม่จำกัดขอบเขต แผลที่ขยายใหญ่จะมีสีเขียวฉ่ำน้ำ มีเส้นใยฟูขาวในตอนเช้าตรู่ เมื่อโดนแสงแดดแผลจะแห้งไหม้และกรอบ อาการของโรคจะลุกลามไปยังส่วนอื่น ๆ จนแห้งตายทั้งกอในที่สุด เมล็ดที่ได้จะมีขนาดเล็กไม่สมประกอบ และมีสีเหลืองหม่น (ชุติมันต์ พานิชศักดิ์พัฒนา และคณะ, 2536 ; 2537)

3.2 ลักษณะของเชื้อราสาเหตุ *Rhizoctonia solani* Kuhn

เชื้อรา *R. solani* จัดอยู่ใน subdivision Deuteromycotina คลาส Agonomycetes เป็นเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สามารถแบ่งออกได้เป็น 4 AG-group (Anastomosis Group) (Sneh *et al.,* 1991) ซึ่งในส่วนของเชื้อ *R. solani* ที่เป็นสาเหตุของโรคที่ทำให้แสดงอาการใบไหม้ในถั่วหรั่งนั้นยังไม่มีรายงานการจัดแบ่งว่าอยู่ในกลุ่มใด (AG-group) อย่างไรก็ตามลักษณะของเชื้อรา *R. solani* โดยทั่วไปเป็นเชื้อราที่มีส่วนหนึ่งของวัฏจักรชีวิตอยู่ในดิน เส้นใยมีสีน้ำตาล เจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว เส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยค่อนข้างกว้าง แตกกิ่งก้านแบบตั้งฉากมีผนังกั้น สร้าง monilioid cell หรือคลาไมโดสปอร์ (chlamydospore) ลักษณะเป็นลูกโซ่หรือบางครั้งรวมกันเป็นกลุ่ม เรียก sporodochia มีโครงสร้างสเคลอโรเทียม (sclerotium) ซึ่งมีขนาดตั้งแต่ 0.2-0.4 มิลลิเมตร เพื่ออยู่ข้ามฤดู มีพืชอาศัยกว้าง เช่น พืชตระกูลถั่ว ตระกูลกะหล่ำ มะเขือเทศ และคะน้า โดยเฉพาะในพืชตระกูลกะหล่ำอาการจะรุนแรงมากทำให้เกิดอาการเน่า (damping-off) ของส่วนรากและส่วนใต้ดินของพืช อาการไหม้ของ hypocotyls ลำต้น ใบ และอาการเน่าเปื่อยของผลและเมล็ด เนื่องจากเชื้อสามารถผลิตเอนไซม์มาย่อยองค์ประกอบของพืช เช่น pectic enzymes, cellulolytic enzymes, proteolytic enzymes นอกจากนี้ยังสามารถสร้างสารชีวพิษ (toxin) ทำลายเนื้อเยื่อพืช (Parameter and Whitney, 1970) อย่างไรก็ตามในปัจจุบันยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับกลไกการสร้างสารชีวพิษของเชื้อรา *R. solani* สายพันธุ์ที่เป็นสาเหตุของโรคใบไหม้ของถั่วหรั่ง

3.3 สภาพแวดล้อมที่ช่วยส่งเสริมในการระบาดของโรค

สภาพอากาศที่เหมาะสมในการเข้าทำลายพืชของเชื้อ *R. solani* ในพืชทั่วไป คือ โรคจะเกิดการระบาดมากในดินที่มีอุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิของอากาศอยู่ในช่วงประมาณ 21-25 องศาเซลเซียส และถ้าดินมีความชื้นสูงหรือดินชั้นบนมีอินทรียวัตถุมากจะทำให้เกิดโรครุนแรงมากยิ่งขึ้น (ศักดิ์ สุนทรสิงห์, 2537) นอกจากนี้การปลูกซ้ำ ๆ และต่อเนื่องกันหลายฤดูปลูกหรือการปลูกพืชในพื้นที่ที่มีโรคนี้ระบาดในฤดูปลูกที่ผ่านมา จะทำให้เกิดการสะสมของเชื้อในดินทำให้ในฤดูถัดไปมีการระบาดของโรคมากยิ่งขึ้น (อรพรรณ วิเศษสังข์ และ จุมพล สาระนาค, 2540)

4. เชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma harzianum*

4.1 ลักษณะของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma harzianum*

เชื้อรา *T. harzianum* จัดอยู่ใน subdivision Deuteromycotina คลาส Hyphomycetes การจัดจำแนกเมื่อเป็น teleomorphs คือ *Hypocrea vinosa* (subdivision Ascomycotina) มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้างโครงสร้างสืบพันธุ์ 2 ชนิด คือ โคนิเดีย (conidia) และ คลาไมโดสปอร์ (chlamydospore) ซึ่งเป็นโครงสร้างสืบพันธุ์ที่อยู่ในดินได้ดีกว่าโคนิเดีย และยังทนต่อสารยับยั้งเชื้อราได้ดีกว่าด้วย (Papavizas, 1985) สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา *T. harzianum* คือ ที่ระดับความเป็นกรดด่างของดิน 5.5 ระดับอุณหภูมิต่ำกว่า 27 องศาเซลเซียส (Chet and Baker, 1980 ; Elad *et al*., 1980) นอกจากนี้ในดินที่มีความชื้นค่อนข้างสูงจะช่วยส่งเสริมการเจริญของเชื้อราอีกด้วย

4.2 เชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. กับการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช

จิระเดช แจ่มสว่าง และ วรรณวิไล อินทนู (2542) รายงานว่า เชื้อรา *Trichoderma* spp. จัดเป็นเชื้อราที่เจริญได้ดีในดินที่มีเศษซากพืช และอินทรียวัตถุ เป็นเชื้อราที่มีศักยภาพในการใช้ควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชโดยชีววิธี ทั้งนี้เพราะเชื้อรา *Trichoderma* spp. มีกลไกในการต่อสู้กับเชื้อโรคพืช 3 ประการ ประกอบด้วย

4.2.1 การแข่งขันกับเชื้อโรคพืช (competition)

เชื้อรา *Trichoderma* spp. เจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว สร้างสปอร์ได้ปริมาณสูงมากโดยอาศัยอาหารจากเศษซากพืชและอินทรียวัตถุ ช่วยให้สามารถแข่งขันกับเชื้อโรคพืชหรือจุลินทรีย์ที่มีอยู่รอบข้างได้ดี

4.2.2 การเป็นปรสิตต่อเชื้อโรคพืช (parasitism)

เชื้อรา *Trichoderma* spp. บางสายพันธุ์เป็นปฏิปักษ์โดยตรงต่อเชื้อโรคพืช โดยการพันรัดแล้วแทงส่วนของเส้นใยเข้าไปภายในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช ทำให้เส้นใยนั้นตาย โดยเฉพาะกับเชื้อรา *R. solani* กระบวนการเข้าทำลายเชื้อราต่าง ๆ ของเชื้อรา *T. harzianum* เริ่มจากการพันรัดเส้นใยของเชื้อรานั้น ๆ การพันรัดดังกล่าวเกิดขึ้นได้ 3 ลักษณะ (Dennis and Webster, 1971) คือ

4.2.2.1 การแตกแขนงสั้น ๆ จากเส้นใยหลัก และแขนงนั้นพันรัดไปบนเส้นใยของเชื้อราสาเหตุ

4.2.2.2 เส้นใยหลักเป็นตัวพันรัดเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโดยตรง โดยจะพบการแตกแขนงของเส้นใยเชื้อรา *T. harzianum* เป็นมุมแคบและเกิดการพันรัดได้น้อย

4.2.2.3 เส้นใยของเชื้อรา *T. harzianum* จะเจริญขนานไปกับเส้นใยของเชื้อราสาเหตุ และมีการแตกแขนงเป็นช่วง ๆ เป็นแขนงสั้น ๆ ออกมาพันรัดเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโดยสามารถสังเกตได้ว่าเส้นใยของเชื้อรา *T. harzianum* เจริญเป็นคลื่นหยักขึ้น ๆ ลง ๆ

การพันรัดดังกล่าวข้างต้นนี้มักเกิดขึ้นกับเส้นใยที่เจริญอยู่เฉพาะเหนือผิวหน้าของอาหารเท่านั้น ไม่พบว่ามีการพันรัดของเส้นใยที่เจริญอยู่ใต้ผิวของอาหาร (Dennis and Webster, 1971) หลังจากเกิดการพันรัดแล้วจะมีการปล่อยน้ำย่อยออกมาเพื่อย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อราสาเหตุ เอนไซม์ที่ปล่อยออกมานั้นมี 2 ชนิด คือ เอนไซม์ chitinase และ laminarinase (β-(1,3)-glucanase) หลังจากนั้นเชื้อรา *T. harzianum* จะดูดเอาส่วนที่ถูกย่อยนั้นไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนต่อไป โดยหลังจากเชื้อรา *T. harzianum* เข้าทำลายเพียง 5-6 สัปดาห์ เส้นใยของเชื้อรา *R. solani* ก็จะถูกย่อยสลายจนหมด (Elad *et al*., 1981) ส่วนการทำลายเม็ดสเคลอโรเทียมเกิดขึ้นโดยเส้นใยเชื้อรา *T. harzianum* แทงผ่านเนื้อเยื่อชั้น rind และ cortex เข้าไปสลาย (lysis) ชั้น medullar แล้วสร้างคลาไมโดสปอร์อยู่ภายใน และสร้างโคนิเดียอยู่ภายนอกเม็ดสเคลอโรเทียม (Henis *et al*., 1983)

4.2.3 การสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiosis)

เชื้อรา *Trichoderma* spp. บางสายพันธุ์สามารถสร้างสารปฏิชีวนะหรือสารชีวพิษ เพื่อหยุดยั้งหรือเข้าทำลายเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งสารที่เชื้อรา *Trichoderma* spp. สร้างขึ้นมี 3 กลุ่ม (Eveleigh, 1985) คือ

สารกลุ่ม trichothecenes ได้แก่สาร trichodermin และ 2,3-epoxytrichodermin มีฤทธิ์ในการขัดขวางกระบวนการทำงานของเอนไซม์ peptidyl transferase ในเชื้อสาเหตุโรคพืช และยังมีผลในการช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชด้วย

สารกลุ่ม cyclic peptides ได้แก่ alamethicine (antibiotic U-22324), trichotoxin, trichopolyns และ trichorzianines สารกลุ่มนี้มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งที่เป็น prokaryotes และ eukaryotes โดยไปทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เซลล์จุลินทรีย์แตกสลาย (lysis)

สารกลุ่ม isocyanide ได้แก่ trichoyiridin สารในกลุ่มนี้เกิดได้บางสภาวะ มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในกระเพาะสัตว์เคี้ยวเอื้องที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลส ทำให้เกิดอันตรายต่อสัตว์เคี้ยวเอื้องที่ได้รับสารนี้เข้าไปจากการกินอาหาร แต่พบได้น้อยมาก

4.3 ผลของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

เชื้อรา *Trichoderma* sp. นอกจากจะมีความสามารถในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชแล้ว ยังมีรายงานความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้อีกด้วย โดย Chang และคณะ (1986) ทำการศึกษาโดยเลี้ยงเชื้อรา *T. harzianum* ในวัสดุพีท (peat)/ รำข้าว หรือในรูป conidial suspension แล้วผสมลงในดินที่ปลูกพริกไทย แพงพวย และเบญจมาศ พบว่าสามารถช่วยในการส่งเสริมการแตกหน่อ เร่งการบานและการออกดอก ช่วยเพิ่มความสูง น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง Windham และคณะ (1986) รายงานว่าการใช้เชื้อรา *T. harzianum* และ *T. koningii* ช่วยเพิ่มอัตราการงอก การเจริญของเนื้อเยื่อ และน้ำหนักแห้งในข้าวโพด มะเขือเทศ ยาสูบ และหัวผักกาด เป็นต้น

Ahmad และ Baker (1987) กล่าวว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. ที่มีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญต่อต้นพืชได้นั้นต้องมีคุณสมบัติในการเป็น rhizosphere competence สำหรับกลไกในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชโดยเชื้อรา *Trichoderma* sp. นั้น มีรายงานการศึกษาพบว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. มีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช โดยการผลิตสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (growth regulating factor) หรือสาร metabolite ซึ่งสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชโดยตรง การควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชระดับรอง (minor pathogens) (Ousley *et al*., 1994; Baker, 1988; Bailey and Lumsden, 1998) การชักนำหรือกระตุ้นให้เกิดความต้านทานในพืช (cross-protection) (ชุติมันต์ พานิชศักดิ์พัฒนา และ รัศมี ฐิติเกียรติพงศ์, 2540; Bailey and Lumsden, 1998) การช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการเคลื่อนย้ายธาตุอาหารมายังรากพืช การเคลื่อนย้ายสารพิษที่มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชออกไป ซึ่งมีลักษณะเช่นเดียวกับเชื้อราในกลุ่ม mycorrhiza (Ousley *et al*., 1994)

5. การผลิตมวลชีวภาพและสูตรสำเร็จของเชื้อราปฏิปักษ์

5.1 การผลิตมวลชีวภาพ (biomass)

วัตถุประสงค์ของการผลิตมวลชีวภาพเชื้อราปฏิปักษ์ คือ การเพิ่มปริมาณสปอร์หรือโคนิเดียของเชื้อราให้ได้ปริมาณมาก ๆ ซึ่งจำเป็นต้องมีอาหารเฉพาะ และสภาพแวดล้อมที่มีความเหมาะสม สำหรับแหล่งอาหารของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ควรหาได้ง่าย ราคาถูก และมีความสมดุลย์ทางธาตุอาหาร โดยมากมักใช้เมล็ดของธัญพืช หรือ แป้งของธัญพืช ฟาง รำข้าว ขี้เลื่อย ชานอ้อย และพีท โดยอาจใช้เดี่ยว ๆ หรือผสมกันเป็นวัสดุเพาะเลี้ยง (ชุติมันต์ พานิชศักดิ์พัฒนา และ รัศมี ฐิติเกียรติพงศ์, 2540) เพื่อนำไปพัฒนาในขั้นตอนของการผลิตเป็นชีวภัณฑ์ต่อไป

จิระเดช แจ่มสว่าง (2539) จัดแบ่งกรรมวิธีการผลิตมวลชีวภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ 2 แบบ ดังนี้

5.1.1 การผลิตโดยใช้อาหารแข็ง (solid state fermentation)

เป็นการใช้เมล็ดพืช ที่มีความสมบูรณ์เป็นวัสดุอาหารในการเลี้ยงเพิ่มปริมาณเชื้อราปฏิปักษ์ ซึ่งเมล็ดพืชที่นำมาใช้ในปัจจุบัน ได้แก่ เมล็ดข้าวฟ่าง ข้าวเปลือก ข้าวโพด ฝ้าย (ชุติมันต์ พานิชศักดิ์พัฒนา และ รัศมี ฐิติเกียรติพงศ์, 2540) รำข้าวสาลี เปลือกถั่วลิสง เปลือกโกโก้ กากถั่วเหลือง และไคติน (Elad *et al*., 1981 ; Lewis *et al*., 1996) เปลือกไม้สน (Steinmetz and Schoenbeck, 1992 อ้างโดย วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์ และคณะ (2537)) และแกลบ (กนิษฐา สังคะหะ และคณะ, 2543) โดย จิระเดช แจ่มสว่าง (2539) แนะนำให้ต้มเมล็ดข้าวฟ่างให้นิ่มก่อนนำไปนึ่งฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15-17 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 30-45 นาที ปล่อยให้เมล็ดข้างฟ่างเย็นลงก่อนปลูกใส่เชื้อราปฏิปักษ์ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 24 - 26 องศาเซลเซียส หลังบ่มเชื้อเป็นเวลา 5 - 7 วัน จะได้มวลชีวภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ซึ่งประกอบด้วยเส้นใยและสปอร์

5.1.2 การผลิตโดยใช้อาหารเหลว (liquid state fermentation)

วัสดุที่สามารถใช้เป็นอาหารเหลว ได้แก่ น้ำแช่ข้าวโพด กากน้ำตาล บรีเวอร์ ยีสต์ (brewer's yeast) ซึ่งพบว่ามีศักยภาพในการใช้เป็นวัสดุในการผลิตมวลชีวภาพเชื้อรา *Trichoderma* spp. ได้ดี (Papavizas *et al*., 1984) โดยนึ่งฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหารเหลวที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 30-40 นาที เมื่ออาหารเหลวเย็นลงจึงเติมเชื้อราปฏิปักษ์ โดยในขบวนการหมักต้องมีการเติมอากาศ อุณหภูมิ และปรับความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมให้แก่เชื้อราในถังหมักตลอดเวลา จนครบกำหนดแล้วจึงทำการกรองมวลชีวภาพ เพื่อนำไปผลิตในรูปแบบสูตรสำเร็จ

5.2 การผลิตสูตรสำเร็จ (formulation)

วัตถุประสงค์ของการผลิตสูตรสำเร็จของชีวภัณฑ์เชื้อราปฏิปักษ์ คือ การผลิตเพื่อให้ได้ชีวภัณฑ์ที่อยู่ในรูปแบบที่เหมาะสมระหว่างการนำไปใช้ การขนส่ง การเก็บรักษา ให้มีความคงตัวและสะดวกต่อการใช้ โดยไม่ทำให้คุณภาพและประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์เปลี่ยนแปลงหรือเสื่อมลง กรรมวิธีการผลิตสูตรสำเร็จ (formulation) แบ่งได้เป็น 2 แบบ ดังนี้

5.2.1 การผลิตผงเชื้อสำเร็จรูป (powder formulation)

โดยนำมวลชีวภาพสดของเชื้อราปฏิปักษ์มาบดปั่นให้ละเอียดก่อนหรือหลังผสมกับสารพาหะ (carrier) หรือสารไม่ออกฤทธิ์ (inert substance) ซึ่งได้แก่ เซเลตอม (celatom) ไดอะตอมมาเซียส เอิร์ธ (diatomaceous earth) เวอร์มิคูไลท์ (vermiculite) ไพโรฟิลไลท์ (pyrophyllite) ผงดินเหนียว (clay) ไดอะตอมไมท์ (diatomite) ผงเคโอลิน (kaolin) ผงทัลคัม (talcum) เป็นต้น นำไปผึ่งหรืออบจนแห้งสนิทก่อนนำไปบดเป็นผง ร่อนจนได้ผงเชื้อสำเร็จรูป อาจมีการเติมสารเพิ่มประสิทธิภาพต่าง ๆ ในกระบวนการผลิตชีวภัณฑ์ด้วย นำผงเชื้อที่ได้บรรจุในถุงกันความชื้น แล้วเก็บไว้ในห้องเย็นที่อุณหภูมิประมาณ 5-10 องศาเซลเซียส ชีวภัณฑ์ในรูปผงแห้งเป็นรูปแบบที่เหมาะสมสำหรับการใช้หว่านหรือโรยลงดิน โดยสามารถเก็บรักษาได้นานกว่า 6 เดือน

5.2.2 การผลิตเม็ดอัลจิเนท (alginate pellet production)

เป็นการนำมวลชีวภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ผสมเข้ากับสารละลายของโซเดียมอัลจิเนท นำไปหยดลงในสารละลาย calcium salt gellant การยึดเกาะกันของประจุโซเดียมและแคลเซียม จะทำให้เกิดเม็ดกลมที่มีจุลินทรีย์อยู่ภายใน ขนาดของเม็ดปรับแต่งได้โดยการปรับขนาดของหยดโซเดียมอัลจิเนท จากนั้นนำเม็ด bead ที่ได้มาทำให้แห้งโดยเหลือความชื้นไว้ประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ เพื่อการเก็บรักษาและการนำไปใช้ต่อไป (จิระเดช แจ่มสว่าง, 2539; ชุติมันต์ พานิชศักดิ์พัฒนา และ รัศมี ฐิติเกียรติพงศ์, 2540; จิระเดช แจ่มสว่าง และ วรรณวิไล อินทนู, 2542)

ในต่างประเทศมีรายงานการเลี้ยงเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* โดยใช้วัสดุที่หาง่ายและมีราคาไม่แพง เช่น Backman และ Rodriguez-Kabana (1975) ทำการเลี้ยงเชื้อ *T. harzianum* บนไดอะตอมมาเซียส เอิร์ธ ซึ่งทำให้ชุ่มด้วยสารละลายกากน้ำตาล (molass solution) เข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเป็นกรดด่าง เท่ากับ 5 บ่มให้เชื้อเจริญก่อนนำไปผึ่งให้แห้งและบดเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปใช้ พบว่าเมื่อใส่เชื้อรา *T. harzianum* ในรูปแห้งนี้ในอัตรา 140 กิโลกรัม/เฮกตาร์ สามารถควบคุมโรคลำต้นและฝักเน่าของถั่วลิสง โดยเทียบเท่ากับการใช้สารเคมีพีซีเอ็นบี (pentachloro nitrobenzene : PCNB) ที่มีสารออกฤทธิ์ 10 เปอร์เซ็นต์ ในอัตรา 112 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์

Elad และคณะ (1981) และ Hadar และคณะ (1979) เลี้ยงเชื้อรา *T. harzianum* โดยใช้รำข้าวสาลีเป็นวัสดุเพิ่มปริมาณเชื้อเพื่อการป้องกันกำจัดโรคลำต้นเน่าของคาร์เนชั่น (*Dianthus caryophyllus* L.) สาเหตุจากเชื้อรา *R. solani* โดยเลี้ยงเชื้อ *T. harzianum* แล้วนำไปใส่ลงในดินอัตรา 150 กรัม/ตารางเมตร สามารถทำให้เกิดโรคลดลง 70 เปอร์เซ็นต์

Jones และคณะ (1984) รายงานการใช้ลิกไนท์ (lignite) ขนาดอนุภาค 425-2,000 ไมครอน เป็นสารพาหะในการเตรียมเชื้อ *T. harzianum* และ *Gliocladium virens* โดยผสมกับ thin liquid stillage (TLS) ซึ่งเป็นส่วนที่เหลือจากการผลิตเอทธานอล (ethanol) ในอัตรา 50 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ปลูกและบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 7 วัน ก่อนนำไปผึ่งให้แห้ง พบว่าเชื้อราปฏิปักษ์สามารถมีชีวิตรอดอยู่ได้ 90 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเก็บเชื้อนาน 4 เดือน ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

Papavizas และคณะ (1984) ทำการผลิตมวลชีวภาพของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ในอาหารเหลว โดยใช้กากน้ำตาล และ บรีเวอร์ ยีสต์ พบว่ามีศักยภาพในการใช้เป็นวัสดุในการผลิตมวลชีวภาพเชื้อรา *Trichoderma* spp. ได้ดี

Dandurand และ Knudsen (1993) ศึกษาการเลี้ยงเชื้อรา *T. harzianum* (ThzlD1) ในอาหารเหลวและทำให้อยู่ในรูปผลิตภัณฑ์โดยใช้แอลจิเนท และโพลีเอทธิลีน ไกลคอล 8,000 (polyethylene glycol 8,000) นำไปปั่นให้มีขนาดเป็นเม็ดเล็ก ๆ พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* (ThzlD1) สามารถมีชีวิตรอดได้นาน 6 เดือนเป็นอย่างต่ำเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส และมีจำนวนลดลงเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส

Kok และคณะ (1996) ศึกษาการใช้ *T. harzianum* ในรูป manure pellet ในการควบคุมเชื้อรา *R. solani* พบว่า *T. harzianum* สามารถเจริญและสร้างสปอร์บนผง processed manure ได้ดี

สำหรับในประเทศไทยมีรายงานการศึกษาของ Chamswarng และคณะ (1992) ทดลองควบคุมโรครากเน่าของมะเขือเทศที่มีสาเหตุจาก *Sclerotium rolfsii* โดยใช้เชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. 13 สายพันธุ์ และ *Penicilium* 1 สายพันธุ์ ที่เพาะเลี้ยงบนเมล็ดข้าวฟ่างที่นึ่งฆ่าเชื้อ แล้วบดเป็นผงผสมกับผงไดอะตอมไมท์ จากนั้นนำไปผสมกับรำข้าวและปุ๋ยอินทรีย์ในอัตราส่วน 1 : 5 : 25 โดยน้ำหนัก พบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคในสภาพไร่ได้ดี

อย่างไรก็ตามในแง่การส่งเสริมการใช้มาตรการทางชีววิธีโดยกรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ได้แนะนำและส่งเสริมให้เกษตรกรใช้เชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. ในการควบคุมโรคผักและพริกในแปลงปลูก โดยใช้เชื้อที่เลี้ยงและเจริญบนข้าวฟ่าง แล้วใช้

หัวเชื้อดังกล่าวผสมกับรำละเอียด 10 กิโลกรัม และปุ๋ยอินทรีย์ 40 กิโลกรัม โดยนำไปโรยก้นหลุมก่อนปลูก (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2540) แต่วัสดุที่ใช้ในการเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณหัวเชื้อ เช่น ข้าวฟ่าง มีราคาแพง กิโลกรัมละ 15-20 บาท ทำให้ต้นทุนในการผลิตของหน่วยงานราชการดังกล่าวสูงขึ้น ดังนั้นจึงได้มีแนวทางในการทำการศึกษาวิจัยโดยนำเอาวัสดุในท้องถิ่นที่เกษตรกรสามารถหาได้ง่ายและราคาถูกมาใช้ ได้แก่ เมล็ดธัญพืชต่าง ๆ (เมล็ดข้าวโพด ถั่วเขียว ถั่วเหลือง และข้าว) เป็นวัสดุเพาะเลี้ยงทดแทนเมล็ดข้าวฟ่างซึ่งมีราคาแพง พบว่าแกลบและรำข้าวในอัตราส่วนเท่ากันโดยน้ำหนัก สามารถเลี้ยงเชื้อรา *Trichoderma* spp. เจริญได้ดี และเชื้อรา *T. harzianum* จำนวน 5 สายพันธุ์มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคโคนเน่าระดับดิน ของกวางตุ้งและแตงกวาที่เกิดจากเชื้อ *Pythium aphanidermatum* ได้ดีโดยมีเปอร์เซ็นต์ต้นรอดตายสูง (กนิษฐา สังคะหะ และคณะ, 2543)

สำหรับในภาคใต้ของประเทศไทยนั้นวัสดุเหลือใช้จากการเกษตรกรรม เช่น กากใยปาล์ม ซึ่งเป็นวัสดุที่หาได้ง่ายในท้องถิ่น จึงน่าจะมีศักยภาพในการเลี้ยงเพื่อใช้เพิ่มปริมาณเชื้อรา *T. harzianum* ทดแทนการใช้เมล็ดข้าวฟ่างซึ่งมีต้นทุนการผลิตสูง

วัตถุประสงค์

1. เพื่อให้ได้เชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* sp. ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *R. solani* สาเหตุโรคใบไหม้ของถั่วหรั่ง
2. เพื่อผลิตมวลชีวภาพเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* อย่างง่าย โดยวัสดุเหลือใช้จากการเกษตร เช่น กากใยปาล์ม
3. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์มวลชีวภาพเชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum* ในการควบคุมโรคใบไหม้ของถั่วหรั่งในสภาพเรือนทดลอง และแปลงทดลองขนาดเล็ก