การควบคุมโรคเน่าดำของถั่วเขียวผิวดำ พันธุ์พิษณุโลก 2 โดยใช้เชื้อราปฏิปักษ์

Controlling Charcoal Rot of Black Gram Seed cv. Phitsanulok 2 by Antagonistic Fungi

อังคณา กันทาจันทร์[1/] *และ สมบัติ ศรีชูวงศ์*[1/]

Ungkana Kuntajun[1/] *and Sombat Srichuwong*[1/]

Abstract: Blotter method was used to detect *Macrophmina phaseolina*, the causal agent of charcoal rot disease, on black gram seed cv. Phitsanulok 2. Only 23.75 % of seeds were contaminated with the fungus. The study on antagonistic effects of *Trichoderma harzianum* I103, *T. harzianum*, *T. virens* IG10 and *T. virens* IG2 on growth inhibition of *M. phaseolina* were carried out using dual culture method. It was indicated that *T. harzianum* I103 had given the best result. Antagonistic mechanisms of the tested fungi were also examined by slide dual culture technique. All four fungi showed the parasitic characters by coiling around and penetrated into the hyphae of *M. phaseolina*. The hyphae of *M. phaseolina* then became lysis and subsequently collapsed. Among them *T. harzianum* I103 had the abilities to decrease pre-emergence damping off, post-emergence damping-off and abnormal seedlings and to increase seedlings emergence, shoot length, root length, fresh weight and dry weight.

Keywords: Black gram, charcoal rot disease, *Macrophomina phaseolina*, antagonistic fungi, biocontrol

บทคัดย่อ: จากการตรวจหาเชื้อรา *Macrophomina phaseolina* สาเหตุโรคเน่าดำ จากเมล็ดถั่วเขียวผิวดำพันธุ์พิษณุโลก 2 โดยวิธีเพาะบนกระดาษชื้น พบเชื้อรา *M. phaseolina* ร้อยละ 23.75 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ 4 ชนิด ได้แก่ *Trichoderma harzianum* I103, *T. harzianum*, *T. virens* IG10 และ *T. virens* IG2 ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *M. phaseolina* โดยวิธี dual culture พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* I103 ให้ผลดีที่สุด ในการศึกษากลไกในการเข้าทำลาย โดยวิธี slide dual culture พบว่าเชื้อราปฏิปักษ์ทั้ง 4 ชนิด แสดงการเป็นปรสิตด้วยการพันรอบเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรค และแทงเส้นใยเข้าภายในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรค ทำให้เส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคสลายตัว และแฟบลง และเมื่อนำเชื้อราทั้ง 4 ชนิด ไปทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเชื้อรา พบว่า *T. harzianum* I103 สามารถลดการตายก่อนงอก การตายหลังงอก ต้นอ่อนผิดปกติ และช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์ความงอก ความยาวลำต้น ความยาวราก น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง ได้ดีที่สุด

คำสำคัญ: ถั่วเขียวผิวดำ โรคเน่าดำ *Macrophomina phaseolina* เชื้อราปฏิปักษ์ การป้องกันกำจัดโดยชีววิธี

[1/]ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

[1/]Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

คำนำ

โรคเน่าดำ (charcoal rot) ของถั่วเขียวผิวดำ (black gram) เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *Macrophomina phaseolina* พบระบาดทำความเสียหายกับถั่วเขียวผิวดำทุกระยะการเจริญเติบโต ทำให้ต้นถั่วแสดงอาการรากเน่า และโคนเน่า เชื้อราสามารถอาศัยอยู่ในดินได้เป็นเวลานาน เมื่อปลูกถั่วเขียวอาจทำให้ต้นอ่อนถั่วเขียวเป็นโรคเน่าระดับดิน นอกจากนี้เชื้อรายังสามารถติดไปกับเมล็ด เมื่อนำไปเพาะเป็นถั่วงอกทำให้ส่วนรากสกปรก ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญในการส่งออกเมล็ดถั่วเขียวผิวดำ (เชาวนาถ และคณะ, 2548) ดังนั้นการหาแนวทางแก้ปัญหาของโรคนี้จึงมีความจำเป็นเร่งด่วนซึ่งได้มีการศึกษาถึงแนวทางป้องกันกำจัดโรคหลายวิธี เช่น การคลุกเมล็ดด้วยสารเคมีก่อนปลูก (เชาวนาถ และคณะ, 2548) ในปัจจุบันได้มีการสนับสนุนเกี่ยวกับการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีมาใช้เพื่อลดปริมาณการใช้สารเคมีลง โดยมีการใช้จุลินทรีย์บางชนิดที่เป็นปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุ เช่น การใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มาควบคุมโรคเน่าระดับดินของพืชต่าง ๆ และโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนและส้ม เป็นต้น (จิระเดช และคณะ, 2546)

การวิจัยในครั้งนี้เป็นการนำเอาเชื้อราปฏิปักษ์มาใช้ควบคุมเชื้อรา *Macrophomina phaseolina* สาเหตุโรคเน่าดำของถั่วเขียวผิวดำพันธุ์พิษณุโลก 2 ตลอดจนผลกระทบต่อความงอก และความแข็งแรงของต้นอ่อนเพื่อใช้เป็นทางเลือกหนึ่งในการควบคุมโรคทดแทนการใช้สารเคมี

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การตรวจหาเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดถั่วเขียวผิวดำพันธุ์พิษณุโลก 2

นำเมล็ดถั่วเขียวผิวดำพันธุ์พิษณุโลก 2 มาตรวจหาปริมาณของเชื้อรา *M. phaseolina* และเชื้อราอื่น ๆ ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์โดยวิธีเพาะบนกระดาษชื้น (blotter method) ตามมาตรฐานสากลของ ISTA (1999) โดยเพาะเมล็ดจำนวน 4 ซ้ำ ๆ ละ 100 เมล็ด นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (เฉลี่ยเวลากลางวัน 28 องศาเซลเซียส กลางคืน 25 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำมาตรวจหาชนิด และปริมาณของเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดภายใต้กล้อง Stereo microscope เชื้อรา *M. phaseolina* ที่พบบนเมล็ด ทำการแยกให้บริสุทธิ์ เก็บเป็น stock culture เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

2. การทดสอบเบื้องต้นในการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อราปฏิปักษ์ ต่อเชื้อรา *M. phaseolina*

2.1 การศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *M. phaseolina* บนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) โดยวิธี dual culture

นำเชื้อรา *M. phaseolina* มาทำการศึกษาการยับยั้งการเจริญกับเชื้อราปฏิปักษ์ (antagonistic fungi) ที่ได้จากฝ่ายอารักขาพืช มูลนิธิโครงการหลวงและสถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา ซึ่งมี 4 ชนิดดังนี้

Trichoderma harzianum isolate 103 (I103)

Trichoderma harzianum

Trichoderma virens isolate G10 (IG10)

Trichoderma virens isolate G2 (IG2)

วางแผนการทดลองแบบCRD (Completely Randomized Design) โดยทำกรรมวิธีละ 7 ซ้ำ บันทึกการเจริญของเชื้อราสาเหตุโดยวัดขนาดความยาวรัศมีโคโลนีของเชื้อรา *M. phaseolina* ในด้านที่เจริญเข้าหาเชื้อราปฏิปักษ์ และวัดขนาดความยาวรัศมีโคโลนีของเชื้อรา *M. phaseolina* จากชุดควบคุมนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งรัศมีการเจริญ (Percent Inhibition of Radial Growth: PIRG) ของเชื้อสาเหตุจากสูตร

$$PIRG = \frac{R_1 - R_2}{R_1} \times 100$$

โดย R_1 คือ รัศมีการเจริญของเชื้อราสาเหตุในจานชุดควบคุม

R_2 คือ รัศมีการเจริญของเชื้อราสาเหตุด้านที่เจริญไปทางเชื้อราทดสอบ

2.2 ศึกษาการยับยั้งการเจริญและการเข้าทำลายของเชื้อรา *M. phaseolina* โดยเชื้อราปฏิปักษ์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ทดสอบโดยวิธี slide dual culture โดยนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่อบฆ่าเชื้อรองด้วยกระดาษกรอง และวางยางรัดบนกระดาษกรอง และวางแผ่นสไลด์สะอาดบนยางรัด นำชิ้นวุ้นอาหาร PDA ที่ตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 5×5 มิลลิเมตร วางกลางแผ่นสไลด์ที่เตรียมไว้ ใช้เข็มเขี่ยแตะเชื้อรา *M. phaseolina* และTrichoderma spp. แต่ละชนิดตรงกันข้ามกันบนชิ้นอาหาร PDA ที่เตรียมไว้ เมื่อเชื้อราปฏิปักษ์เจริญคลุมเชื้อรา *M. phaseolina* แล้วนำมาศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ตรวจดูลักษณะเส้นใยของเชื้อราปฏิปักษ์ในการยับยั้งและการเข้าทำลายเชื้อราสาเหตุโรค

3. การศึกษาผลของเชื้อราปฏิปักษ์ต่อการเข้าทำลายเมล็ด ความงอกของเมล็ดและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในระยะต้นอ่อนของถั่วเขียวผิวดำ

นำเชื้อราปฏิปักษ์ 4 ชนิดมาเลี้ยงเพิ่มปริมาณบนอาหาร PDA จากนั้นนำมาทำ spore suspension ให้ได้ความเข้มข้น 10^6สปอร์ต่อมิลลิลิตร นำเมล็ดถั่วเขียวผิวดำพันธุ์พิษณุโลก 2 ที่ฆ่าเชื้อที่ผิวแล้วมาแช่ลงใน spore suspension ของเชื้อราปฏิปักษ์แต่ละชนิด นาน 1 ชั่วโมง ผึ่งเมล็ดให้แห้งจากนั้นนำเมล็ดไปปลูกในถาดหลุมขนาด 104 หลุมซึ่งบรรจุดินที่ผสม inoculum ของเชื้อรา *M. phaseolina* โดยแต่ละกรรมวิธีแบ่งเป็น 4 ซ้ำ ๆ ละ 100 เมล็ด วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยในแต่ละกรรมวิธีมีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม หรือ control (ไม่ปลูกเชื้อ)

กรรมวิธีที่ 2 ชุดปลูกเชื้อสาเหตุ (*M. phaseolina*)

กรรมวิธีที่ 3 ชุดปลูกเชื้อสาเหตุ (*M. phaseolina*) + *T. harzianum* I103

กรรมวิธีที่ 4 ชุดปลูกเชื้อสาเหตุ (*M. phaseolina*) + *T. harzianum*

กรรมวิธีที่ 5 ชุดปลูกเชื้อสาเหตุ (*M. phaseolina*) + *T. virens* IG10

กรรมวิธีที่ 6 ชุดปลูกเชื้อสาเหตุ (*M. phaseolina*) + *T. virens* IG2

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การตรวจหาเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดถั่วเขียวผิวดำพันธุ์พิษณุโลก 2

จากการตรวจหาเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดถั่วเขียวผิวดำพันธุ์พิษณุโลก 2 พบเชื้อราทั้งหมด 8 ชนิด โดยพบเชื้อรา *M. phaseolina* 23.75 % และพบเชื้อรา อื่น ๆ ได้แก่ *Altemaria* sp. (5.00%), *Aspergillus niger* (2.25%), *Cladosporium* sp. (1.00 %), *Curvularia* sp. (26.25 %), *Colletotrichum* sp. (1.00%), *Fusarium* sp. (0.25%) และ *Myrothecium* sp. (0.75 %) (ตารางที่ 1) จากเชื้อราที่พบนี้ *M. phaseolina* เป็นเชื้อราสาเหตุที่สำคัญที่ทำให้เกิดโรคเน่าดำในถั่วเขียวผิวดำ และสามารถติดมากับเมล็ดถั่วเขียวผิวดำได้เสมอ (Rahman, 2001)

Table 1 Percentage of fungi associated with seeds of black gram cv. Phitsanulok 2.

Fungi	Percentage[1/]
Alternaria sp.	5.00
Aspergillus niger	2.25
Cladosporium sp.	1.00
Curvularia sp.	26.25
Colletotrichum sp.	1.00
Fusarium sp.	0.25
Macrophomina phaseolina	23.75
Myrothecium sp.	0.75

[1/]Each value is a mean of 4 replications of 400 seeds.

2. การทดสอบเบื้องต้นในการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อรา *Trichoderma* spp. ต่อเชื้อรา *M. phaseolina*

2.1 การศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *M. phaseolina* บนอาหาร PDA โดยวิธี Dual culture

จากการทดสอบเลี้ยงเชื้อรา *M. phaseolina* บนอาหาร PDA พร้อมกับเชื้อราปฏิปักษ์ 4 ชนิดพบว่าเชื้อราปฏิปักษ์ทั้ง 4 ชนิดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *M. phaseolina* สูง (เกษม, 2532) เมื่อเปรียบเทียบผลทางสถิติ พบว่าเชื้อรา *Trichoderma harzianum* I103 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *M. phaseolina* ได้ดีที่สุดโดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 69.59% ให้ผลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับเชื้อราปฏิปักษ์ชนิดอื่น (ตารางที่ 2) และจากการสังเกตลักษณะการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *M. phaseolina* โดยเชื้อราปฏิปักษ์ทั้ง 4 ชนิด พบว่าทำให้เส้นใยของเชื้อรา *M. phaseolina* ที่เจริญเข้าหาเชื้อราปฏิปักษ์หยุดการเจริญขอบโคโลนีเป็นเส้นตรง เมื่อผ่านไปประมาณ 7 วัน เส้นใยของเชื้อราปฏิปักษ์จะปกคลุมเส้นใยของเชื้อรา *M. phaseolina* (ภาพที่ 1) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของวาริน และคณะ (2550) ที่รายงานว่าเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์กลาย 2 สายพันธุ์ (T-35-co4 และT-35-co5) สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora palmivora* บนอาหาร PDA ได้สูง 82.20 และ 80.50% ตามลำดับ และยังมีประสิทธิภาพสูงในการคลุมทับเส้นใยของเชื้อราสาเหตุด้วย

2.2 การยับยั้งการเจริญและการเข้าทำลายของเชื้อรา *M. phaseolina* โดยเชื้อราปฏิปักษ์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

เส้นใยของเชื้อราปฏิปักษ์ทั้ง 4 ชนิด แสดงการเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อรา *M. phaseolina* โดยพบว่าเชื้อรา *T. harzianum* สร้างเส้นใยแทงเข้าไปในเส้นใยของเชื้อรา *M. phaseolina* ทำให้เส้นใยของเชื้อรา *M. phaseolina* เหี่ยวแฟบลง (ภาพที่ 2A) ส่วนเชื้อรา *T. harzianum* I103, *T. virens* IG10 และ *T. virens* IG2 เส้นใยของเชื้อราปฏิปักษ์ทั้ง 3 ชนิดสามารถพันรอบเส้นใยของเชื้อรา *M. phaseolina* จากนั้นเส้นใยของเชื้อราเจริญเข้าไปภายในเส้นใยของเชื้อรา *M. phaseolina* (ภาพที่ 2B, C และ D) ซึ่งตรงกับรายงานของ Hadar *et al.* (1979) และ Elad *et al.* (1983) ที่กล่าวว่า เชื้อรา *Trichoderma* spp. เป็น Antagonistic fungi ที่มีประสิทธิภาพสูงในการเข้าทำลายเชื้อราสาเหตุโรคพืช โดยมีคุณสมบัติในการเป็นปรสิตด้วยการเจริญเข้าหาเส้นใยของเชื้อรา *Rhizoctonia solani* และ *Sclerotium rolfsii* แล้วสัมผัสและพันรัดเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรค จากนั้นจะปลดปล่อยเอนไซม์มาย่อยผนังเซลล์ของเชื้อราสาเหตุได้แก่ β-(1-3)-gluconase และ chitinase แล้วแทงเส้นใยเข้าสู่ภายในเส้นใยของเชื้อสาเหตุโรคจนเกิดการเหี่ยวสลาย (lysis) และตายไปในที่สุด

Table 2 Comparison of effectiveness of *Trichoderma* spp. in inhibiting the growth of *Macrophomina phaseolina* in dual culture test.

Antagonistic fungi	Growth inhibition[1/] (%)
Trichoderma harzianum I103	69.59 a[2/]
Trichoderma harzianum	67.96 b
Trichoderma virens IG10	67.54 b
Trichoderma virens IG2	65.27 c
$LSD_{(P=0.01)}$	1.37
CV (%)	1.36

[1/]Each value is a mean of 7 replications

[2/]Means in column followed by the different letter are significantly different at P=0.01 according to LSD

Figure 1 Effectiveness comparison of *Trichoderma* spp. in inhibiting the growth of *Macrophomina phaseolina* in dual culture test. P= *M. Phaseolina*, T= *Trichoderma* sp.

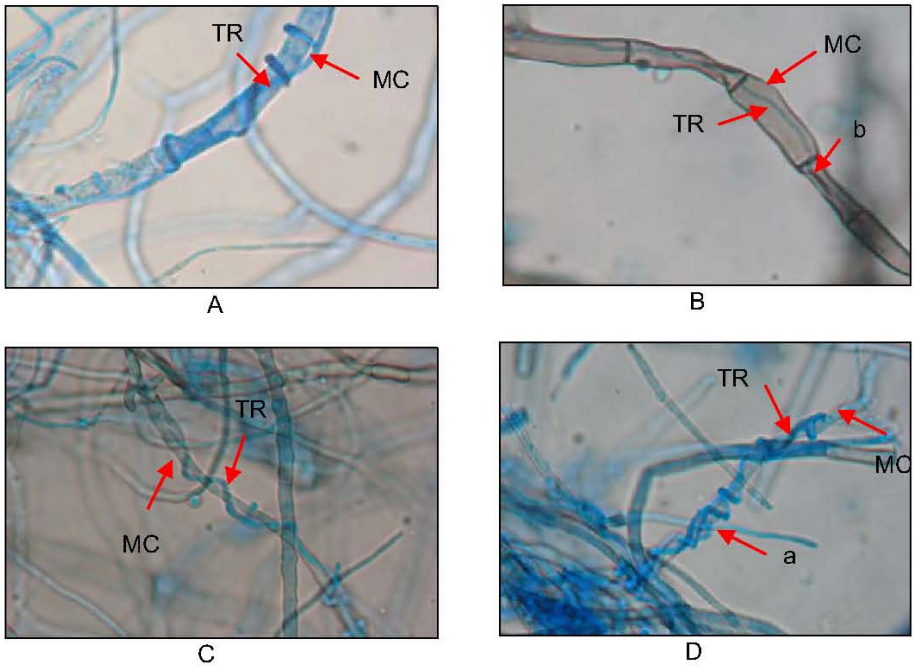

Figure 2 Mycoparasitism of *Macrophomina phaseolina* by *Trichoderma harzianum* I103 (A) *T. harzianum* (B) *T. virens* IG10 (C) and *T. virens* IG2 (D) was exhibited by coiling around the hyphae of *M. phaseolina* (a) and penetrating into the pathogen hyphae causing collapse (b). TR= *Trichoderma* sp., MC= *M. phaseolina*

3. ผลของเชื้อราปฏิปักษ์ต่อการเข้าทำลายเมล็ด ความงอกของเมล็ดและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค ในระยะต้นอ่อนของถั่วเขียวผิวดำ

จากการทดลอง พบว่า กรรมวิธีที่แช่เมล็ดด้วยเชื้อรา *T. harzianum* I103 มีประสิทธิภาพช่วยเพิ่มความงอกโผล่พ้นดินให้แก่ต้นอ่อนถั่วเขียวผิวดำได้ดีที่สุด รองลงมา คือ *T. harzianum*, *T. virens* IG10 และ *T. virens* IG2 โดยมีความงอกของเมล็ด 93.00, 92.75, 91.00 และ 89.50% ตามลำดับ ซึ่งเชื้อราปฏิปักษ์ทั้ง 4 ชนิดให้ผลไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (ตารางที่ 3) สำหรับการตายก่อนงอกและหลังงอก กรรมวิธีที่แช่เมล็ดด้วยเชื้อราปฏิปักษ์ทั้ง 4 ชนิดมีประสิทธิภาพช่วยลดเปอร์เซ็นต์การตายก่อนงอกและหลังงอกได้ดีไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 3) ส่วนต้นอ่อนผิดปกติ กรรมวิธีที่แช่เมล็ดด้วยเชื้อรา *T. harzianum* I103 มีประสิทธิภาพช่วยลดเปอร์เซ็นต์ต้นอ่อนผิดปกติได้ดีที่สุด รองลงมา คือ *T. harzianum* และ *T. virens* IG10 โดยมีเปอร์เซ็นต์ต้นอ่อนผิดปกติ 13.00, 14.25 และ 14.50% ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีที่แช่เมล็ดด้วยเชื้อรา *T. virens* IG2 มีประสิทธิภาพต่ำที่สุด ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ต้นอ่อนผิดปกติ 22.00% โดยให้ผลไม่แตกต่างกับชุดปลูกเชื้อสาเหตุเพียงอย่างเดียว (ตารางที่ 3) สำหรับความยาวลำต้น กรรมวิธีที่แช่เมล็ดด้วยเชื้อรา *T. harzianum* I103 และ *T. harzianum* มีประสิทธิภาพช่วยเพิ่มความยาวลำต้นมากที่สุด คือ 22.87 และ 22.08 เซนติเมตร. ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างจากกรรมวิธีอื่น ๆ ยกเว้นกรรมวิธีที่ปลูกเชื้อสาเหตุเพียงอย่างเดียว โดยมีความยาวลำต้นน้อยที่สุด คือ 15.60 เซนติเมตร. (ตารางที่ 4) ส่วนความยาวราก พบว่ากรรมวิธีที่แช่เมล็ดด้วยเชื้อรา *T. harzianum* I103 มีประสิทธิภาพช่วยเพิ่มความยาวรากมากที่สุด คือ 22.20 เซนติเมตร. ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99% กับกรรมวิธีอื่น ๆ (ตารางที่ 4) จากการวัดผลโดยชั่งน้ำหนักสดของต้นอ่อนถั่วเขียว พบว่ากรรมวิธีที่แช่เมล็ดด้วยเชื้อรา *T. harzianum* I103, *T. harzianum* , *T. virens* IG10 ให้น้ำหนักสุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 27.55, 27.32 และ 26.80 กรัม ตามลำดับ และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 99% กับกรรมวิธีที่แช่เมล็ดด้วยเชื้อรา *T. virens* IG2, ชุดควบคุมไม่ปลูกเชื้อ และชุดปลูกเชื้อสาเหตุเพียงอย่างเดียว ซึ่งมีน้ำหนักสดเท่ากับ 25.55, 24.08 และ 18.96 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 4) ส่วน

Table 3 Effect of *Trichoderma* spp. on seedling emergence, pre-emergence damping-off, post-emergence damping-off and abnormal seedlings of black gram by soil inoculation with *Macrophomina phaseolina*.

Treatment	Seedling emergence[1/] (%)	Pre-emergence damping-off[1/] (%)	Post-emergence damping-off[1/] (%)	Abnormal seedling (%)
Control (uninoculated)	97.00 a[2/]	3.00 b	0.50 d	1.50 d
Inoculated+*M. phaseolina*	53.75 b	46.25 a	11.75 a	27.50 a
Inoculated+*T. harzianum* I103	93.00 a	7.00 b	3.25 cd	13.00 c
Inoculated+*T. harzianum*	92.75 a	9.00 b	5.00 bc	14.25 bc
Inoculated+*T. virens* IG10	91.00 a	8.00 b	5.50 bc	14.50 bc
Inoculated+*T. virens* IG2	89.50 a	10.50 b	7.50 b	22.00 ab
$LSD_{(P=0.01)}$	7.89	7.61	3.34	8.36
CV (%)	4.50	26.79	29.40	26.57

[1/]Each value is a mean of 25 seedlings

[2/]Means in same column followed by the same letter are not significantly different at P=0.01 according to LSD

Table 4 Effect of *Trichoderma* spp. on shoot length, root length, fresh weight and dry weight of black gram by soil inoculation with *Macrophomina phaseolina*.

Treatment	Shoot lenght[1/] (cm)	Root length[1/] (cm)	Fresh weight (g)	Dry weight[1/] (g)
Control (uninoculated)	19.02 ab[2/]	15.48 d	25.55 b	2.82 c
Inoculated+*M. phaseolina*	15.60 b	13.25 e	18.96 c	2.42 d
Inoculated+*T. harzianum* I103	22.87 a	22.20 a	27.55 a	3.40 a
Inoculated+*T. harzianum*	22.08 a	19.96 b	27.32 a	3.30 ab
Inoculated+*T. virens* IG10	20.59 a	18.42 c	26.80 a	3.22 b
Inoculated+*T. virens* IG2	19.57 a	15.94 d	24.08 b	3.18 b
LSD $_{(P=0.01)}$	5.04	1.26	0.81	0.18
CV (%)	12.41	3.51	1.58	2.98

[1/]Each value is a mean of 25 seedlings

[2/]Means in same column followed by the same letter are not significantly different at P=0.01 according to LSD

น้ำหนักแห้งกรรมวิธีที่แช่เมล็ดด้วยเชื้อรา *T. harzianum* I103 ให้น้ำหนักมากที่สุดคือ 3.40 กรัม รองลงมาคือ *T. harzianum* ซึ่งมีน้ำหนักแห้ง 3.20 กรัม โดยทั้งสองกรรมวิธีให้ผลไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 4) ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานของ Harman *et al.* (2004) ที่กล่าวว่าเชื้อรา *Trichoderma* spp. มีความสามารถในการชักนำให้พืชต้านทานโรค โดยเชื้อราสามารถกระตุ้นการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืชได้ และตรงกับรายงานของ Chang *et al.* (1986) ที่กล่าวว่าการใช้เชื้อรา *Trichoderma* sp. สามารถช่วยส่งเสริมให้เมล็ดพืชชนิดต่าง ๆ งอกได้เร็วขึ้นและจำนวนเมล็ดที่งอกมีมากขึ้น

สรุป

ตรวจหาเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดถั่วเขียวผิวดำพันธุ์พิษณุโลก 2 พบเชื้อรา *M. phaseolina.* ซึ่งเป็นเชื้อราสาเหตุโรคที่สำคัญ (23.75%) ในการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *M.phaseolina.* พบว่าเชื้อรา *T. harzianum* I103 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุได้ดีที่สุด คือ 69.59% และพบว่าเส้นใยของเชื้อรา *T. harzianum* I103 เข้าทำลายเชื้อราสาเหตุโรคโดยการพันรอบเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคแล้วเจริญแทงเข้าไปภายในเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคทำให้เชื้อราสาเหตุโรคสลายตัวและแฟบลง นอกจากนี้เชื้อรา *T. harzianum* I103 ยังช่วยลดการตายก่อนงอก การตายหลังงอก ต้นอ่อนผิดปกติ และช่วยเพิ่มความงอกโผล่พ้นดิน ความยาวลำต้น ความยาวราก น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งได้ดีอีกด้วย

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณสถานวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวที่สนับสนุนทุนอุดหนุนในการทำวิทยานิพนธ์และขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่มอบทุนสนับสนุนการทำวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาของปีงบประมาณ ปี 2551 ในครั้งนี้ด้วย

เอกสารอ้างอิง

เกษม สร้อยทอง. 2532. คู่มือปฏิบัติการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี. คณะเทคโนโลยีการเกษตรสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ. 104 หน้า.

จิระเดช แจ่มสว่าง วรรณวิไล อินทนู ถวัลย์ คุ้มช้างและวาริน อินทนา. 2546. การควบคุมโรคเน่าระดับดินของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* โดยใช้เชื้อรา *Trichoderma harzianum* ชนิดสดคลุกเมล็ดและใส่วัสดุเพาะกล้า. หน้า 349-360. *ใน*: รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 6 หนึ่งทศวรรษแห่งการอารักขาพืชในประเทศไทย. 24-27 พฤศจิกายน 2546. โรงแรมโซฟิเทลราชาออคิด, ขอนแก่น.

เชาวนาถ พฤทธิเทพ สุวิมล ถนอมทรัพย์ สุมนา งามผ่องใส และอารดา มาสริ. 2548. การควบคุมโรคเน่าดำในถั่วเขียวผิวดำพันธุ์ ต่าง ๆ. หน้า 189-198. *ใน*: รายงานผลการวิจัยปี 2548 ข้าวโพดฝักสด ถั่วเขียว และพืชไร่ในเขตชลประทาน ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท, ชัยนาท.

วาริน อินทนา มนตรี อิสรไกรศีล ศุภลักษณ์ เศรษฐสกุล ประคอง เย็นจิตต์ และทักษิณ สุวรรณโน. 2550. ประสิทธิภาพของเชื้อราไตรโคเดอร์มา ฮาซิเอนั่มสายพันธุ์กลายในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยและการลดปริมาณเชื้อราไฟทอฟทอร่า พาล์มมิโวร่าในสวนทุเรียน. ว. กำแพงแสน 5(3): 1-9.

Chang, Y.C., Y.C. Chang, R. Baker, O. Klifeld and I. Chet, 1986. Increased growth of plant in the presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. Plant Disease 70: 145-148.

Elad, Y., I. Chet, P. Boyle and Y. Henis, 1983. Parasitism of *Trichoderma* spp. on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* - scanning electron microscopy and fluorescence microscopy. Phytopathology 73: 85-88.

Hadar, Y., I. Chet and Y. Henis. 1979. Biological control of *Rhizoctonia solani* damping-off with wheat bran culture of *Trichoderma harzianum*. Phytophathology 69: 64-68.

Harman, G.E., C.R. Howell, A. Viterbo, I. Chet and M. Lorito. 2004. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Reviews Microbiology 2: 43-55.

International Seed Testing Association. (ISTA) 1999. International Rules for Seed Testing. Seed Sciences and Technology 27, Supplement. 333 pp.

Rahman, M.S. 2001. Seed-borne *Macrophomina phaseolina* in mung-bean (*Vigna radiata*) and black gram (*Vigna mungo*): effects on seed qualities and its control. Ph.D. Thesis. Chiang Mai University, Chiang Mai. 226 pp.