บทที่ 5
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการตรวจหาเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดข้าวขาวดอกมะลิ 105 พบเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดทั้งที่ทำให้เกิดโรค (parasitic fungi) และไม่ทำให้เกิดโรค (saprophytic fungi) ได้แก่ *Aspergillus flavus*, *A. niger, A. gluacus, Bipolaris oryzae*, *Curvularia lunata*, *Fusarium moniliforme*, *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp., *Trichoconis padwickii*, Unknown และ *Xylaria* sp. จากเชื้อราที่พบนี้มีเชื้อรา *F. moniliforme* เป็นเชื้อราสาเหตุโรคที่สำคัญ ลักษณะการเจริญของเชื้อรา *F. moniliforme* บนเมล็ดเมื่อนำมาส่องภายใต้กล้อง stereomicroscope จะพบเส้นใยสีส้มจาง ๆ หรือสีชมพูอ่อน ลักษณะของ macroconidia จะต่อกันเป็นเส้นยาวใส หรือเป็น false head ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ macroconidia รูปเคียว ส่วนปลายค่อนข้างแหลม ที่ปลายด้านหนึ่งจะมีลักษณะโป่งออกเป็นหน้าตัดที่ปลาย เรียกว่า foot cell (เซลล์ฐาน) conidia มี septate ใสไม่มีสี ส่วน microconidia มีลักษณะเป็นเซลล์เดียว ใสไม่มีสี รูปร่างรี ต่อกันเป็น chain อยู่บน conidiophore สอดคล้องกับรายงานของ Wollenweber and Reinking (1935) กล่าวว่าเชื้อรา *F. moniliforme* สร้าง macroconidia หรือ microconidiophore สร้างแบบเดี่ยวชูขึ้นในอากาศ microconidia อาจอยู่เกาะกันเป็นกลุ่มหรือต่อกันเป็นสายโซ่ หากสายโซ่หลุดออกจากกันทำให้ conidia เหล่านี้กระจายมองเห็นเป็นสีเหลืองใสจนถึงสีชมพูจาง ๆ หรือไม่มีสี เป็นรูปไข่อาจมี 1-2 เซลล์ macroconidia ซึ่งมีรูปร่างโค้งงอเล็กน้อยจนเกือบตรง รูปร่างนั้นบอบบาง มีสีใส ปลายทั้งสองด้านโค้งงอเล็กน้อยคล้ายตะขอเกี่ยว

ผลการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อรา *F. moniliforme* ที่แยกได้จากเมล็ดข้าวขาวดอกมะลิ 105 พบว่าเชื้อรามีผลต่อความงอกของเมล็ด เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อ และการเกิดโรคกับต้นกล้าโดยให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% ลักษณะของโรคที่เกิดขึ้น คือ เมล็ดเน่าไม่สามารถงอกได้ ส่วนเมล็ดที่งอกเป็นต้นกล้าพบว่า ต้นกล้ามีอาการผิดปกติ มีลักษณะขาวซีด แคระแกรนจนถึงเน่าเป็นสีน้ำตาล และตายในที่สุด สอดคล้องกับการรายงานของ Ou (1985) คือ ต้นกล้าที่ถูกเชื้อเข้าทำลายอย่างรุนแรงจะทำให้ต้นกล้าแคระแกรน ลำต้นผอมซีด รวมทั้งอาจตายก่อนการย้ายปลูก โดยการพัฒนาของโรคนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของพืชอาศัย รวมทั้งสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ความชื้น เป็นต้น

ในการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. moniliforme* โดยเชื้อราปฏิปักษ์ที่แยกได้จากเมล็ดข้าวขาวดอกมะลิ 105 ทดสอบโดยวิธี dual culture พบว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. ให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงสุด รองลงมาได้แก่ รองลงมาได้แก่ *A. niger* และ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

Unknown ซึ่งให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 81.40, 68.80 และ 63.60 % ตามลำดับ นอกจากนั้นยังพบลักษณะการยับยั้งระหว่างเชื้อราที่นำมาทดสอบกับเชื้อรา *F. moniliforme* มี 3 ลักษณะคือ เชื้อราหรือเชื้อราปฏิปักษ์จะเจริญชนกับเชื้อราสาเหตุแต่ไม่เจริญทับกัน ลักษณะที่สองคือ เชื้อราปฏิปักษ์เจริญทับเชื้อราสาเหตุ และลักษณะที่สามคือ จะเกิด clear zone ระหว่างเชื้อราปฏิปักษ์และเชื้อราสาเหตุ โดยทั้งสามลักษณะส่งผลให้เชื้อราสาเหตุเจริญเติบโตช้าลงหรือถูกยับยั้งการเจริญเติบโต โดยเชื้อราหรือเชื้อราปฏิปักษ์มีคุณสมบัติมากน้อยแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อรา โดยพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโต ซึ่งจากการทดลองนี้เชื้อราที่ให้ผลการยับยั้งแบบเจริญทับคือ *Trichoderma* sp., *A. niger* และ Unknown และเชื้อราที่ให้ผลในการเกิด clear zone คือ *A. gluacus* ส่วนเชื้อรา ชนิดอื่นๆ ส่วนใหญ่จะเป็นลักษณะเจริญชนเชื้อราสาเหตุ สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์ต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ด การติดเชื้อของเมล็ด และการเกิดโรคของต้นกล้าข้าวจากการเพาะบนกระดาษชื้น พบว่าเชื้อราปฏิปักษ์ทั้ง 3 ชนิดมีประสิทธิภาพช่วยเพิ่มความงอกของเมล็ด ลดการติดเชื้อของเมล็ด และลดเปอร์เซ็นต์ต้นกล้าผิดปกติได้ดีเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ปลูกเชื้อเพียงอย่างเดียว แต่ให้ผลไม่แตกต่างจากชุดควบคุมที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ ยกเว้นการติดเชื้อของเมล็ดที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ สำหรับผลจากการเพาะในดินอบฆ่าเชื้อ พบว่า *Trichoderma* sp. มีประสิทธิภาพช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์ความงอกในแปลง ต้นกล้าผิดปกติ ความยาวลำต้น ความยาวราก น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของต้นกล้าข้าวได้ดีที่สุด รองลงมาคือ *A. niger* และ Unknown ตามลำดับ สอดคล้องกับรายงานของ Chang *et al.* (1986); Kleifeld and Chet (1992) ที่กล่าวว่า การใช้เชื้อรา *Trichoderma* sp. สามารถช่วยส่งเสริมให้เมล็ดพืชชนิดต่าง ๆ งอกได้เร็วขึ้นและจำนวนเมล็ดที่งอกมีมากขึ้น และ Baker (1988) ได้รายงานไว้ว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. ทำหน้าที่ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชระดับรอง และผลิตสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชด้วย ซึ่งทำให้พืชสามารถเจริญเติบโตได้ดีขึ้น โดยทั่วไปที่เกี่ยวกับการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี มี 4 ปัจจัยด้วยกัน คือ พืชอาศัย (host plant) เชื้อโรค (pathogen) สิ่งแวดล้อมทางกายภาพ (physical environment) และเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

จากการทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากพืช 5 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *F. moniliforme* พบว่าน้ำมันกานพลูสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้ 100 % ที่ความเข้มข้นเพียง 400 ppm รองลงมาคือ อบเชย 500 ppm และเจอราเนียม 1,400 ppm สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากพืชต่อความงอกของเมล็ด การติดเชื้อของเมล็ด และการเกิดโรคของต้นกล้าข้าวจากการเพาะบนกระดาษชื้น พบว่าน้ำมันกานพลูมีประสิทธิภาพดีที่สุดช่วยเพิ่มความงอกให้แก่เมล็ดข้าว ลดการติดเชื้อของเมล็ด และลดเปอร์เซ็นต์ต้นกล้าผิดปกติแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกรรมวิธีอื่นๆ แต่ไม่แตกต่างจาก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

กรรมวิธีของชุดควบคุมที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ รองลงมาคือ น้ำมันอบเชย แต่ให้เปอร์เซ็นต์ความงอกที่ต่ำกว่ากรรมวิธีอื่นๆ ไม่พบการติดเชื้อบนเมล็ดเลย ให้ต้นกล้าผิดปกติในอัตราที่ต่ำ ส่วนน้ำมันเจอราเนียมนั้นเมล็ดไม่สามารถงอกได้เลยทั้งหมด และไม่มีการติดเชื้อของเมล็ดอีกด้วย อาจเนื่องจากน้ำมันเจอราเนียมมีความเข้มข้นไม่เหมาะสมกับเมล็ด ส่วนผลจากการเพาะในดินอบฆ่าเชื้อ พบว่าน้ำมันกานพลูมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์ความงอกแปลง ต้นกล้าผิดปกติ ความยาวลำต้น ความยาวราก น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือ น้ำมันอบเชยและน้ำมันเจอราเนียม ที่ให้ผลในด้านความงอกลดลง ตามลำดับ ซึ่งจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าน้ำมันหอมระเหยสามารถควบคุมการติดเชื้อของเมล็ดได้ เนื่องจากในน้ำมันหอมระเหยมีองค์ประกอบที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ เช่น thymol, carvacol, eugenol, cinnamic aldehyde และ allyl isothiocyanate เป็นต้น (Basilico and Basilico, 1999)

จากการทดสอบประสิทธิภาพของไคโตซาน ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *F. moniliforme* พบว่าไคโตซานสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุดังกล่าวได้ดี โดยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญได้สูงสุด 73.56 % ที่ความเข้มข้น5,000 ppm โดยขนาดของโคโลนีลดลงเมื่อมีความเข้มข้นที่สูงขึ้น ซึ่ง Yu and Chen (2002) รายงานว่าไคโตซานมีผลต่อการยอมให้สารผ่านเข้าออกเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อและยังกระตุ้นให้เกิดการรั่วไหลของโปรตีนภายในเซลล์ อีกทั้งยังส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ เช่น มีรูปร่างที่ผิดปกติ บวม โค้งงอ บิดเบี้ยวหรือแตกกิ่งก้านมากกว่าปกติ ดังนั้นถ้าให้ไคโตซานที่มีความเข้มข้นสูงขึ้นจะมีผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *F. moniliforme* ได้ดีกว่าความเข้มข้นต่ำ ๆ สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของไคโตซานต่อความงอกของเมล็ด การติดเชื้อของเมล็ด และการเกิดโรคของต้นกล้าข้าวจากการเพาะบนกระดาษชื้น พบว่าไคโตซานมีประสิทธิภาพช่วยเพิ่มความงอกและลดต้นกล้าผิดปกติให้แก่เมล็ดข้าวได้ดี โดยให้ผลไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีชุดควบคุมไม่ปลูกเชื้อ แต่แตกต่างจากกรรมวิธีที่ปลูกเชื้อเพียงอย่างเดียว ยกเว้นการติดเชื้อของเมล็ดที่ให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น ๆ ส่วนผลจากการเพาะในดินอบฆ่าเชื้อ พบว่าไคโตซานมีประสิทธิภาพดีในการช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์ความงอกในแปลง ต้นกล้าผิดปกติ ความยาวลำต้น ความยาวราก น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง โดยให้ผลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากกรรมวิธีที่ปลูกเชื้อ

จากการตรวจสอบความมีชีวิตของเมล็ดข้าวขาวดอกมะลิ 105 หลังจากแช่เมล็ดด้วยน้ำมันหอมระเหย 3 ชนิด และไคโตซานที่ความเข้มข้นที่ดีที่สุดที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *F. moniliforme* ได้ พบว่าหลังจากเก็บเมล็ดไว้ 1 เดือน ความมีชีวิตของเมล็ดลดลงอย่างเห็นได้ชัดจากทุกกรรมวิธี โดยกรรมวิธีที่ทำให้เมล็ดข้าวยังคงความมีชีวิตอยู่ได้สูงที่สุดหลังจากเก็บไว้ 1 เดือนคือ กานพลู ที่ความ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

เข้มข้น 400 ppm รองลงมาคือ chitosan ที่ความเข้มข้น 5,000 ppm และจากการที่พบว่าเมล็ดพันธุ์ข้าวมีความมีชีวิตลดลงในทุกๆ กรรมวิธีอาจเนื่องมาจาก เมล็ดข้าวเป็นเมล็ดที่เก็บไว้เพื่อทำการทดลองจึงมีอายุการเก็บรักษามากอยู่แล้ว ประกอบกับได้ทำการแช่เมล็ดด้วยกรรมวิธีต่าง ๆ กันจึงทำให้ความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์นั้นแตกต่างกันไปด้วย และจากการทดลองแช่เมล็ดพันธุ์ข้าวด้วยน้ำมันหอมระเหยจากพืช พบว่ามีความมีชีวิตที่ต่ำ และเมื่อดูในผลการทดลองอื่น ๆ จะเห็นได้ว่า การงอกของเมล็ดข้าวนั้นมีน้อยจนถึงไม่งอกเลย ซึ่งอาจเกิดจากส่วนประกอบในน้ำมันหอมระเหยจากอบเชย และเจอราเนียม โดยทั้งสองชนิดมีส่วนประกอบที่เหมือนกันคือ linalool ซึ่งพบในเจอราเนียมในอัตราที่สูงกว่าอบเชย และมีการรายงานถึงค่าความเป็นพิษ (LD_{50}) ของ linalool อยู่ในช่วง 200-8,000 มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม (Bickers *et al*., 2003) จึงเป็นไปได้ว่า linalool อาจมีผลต่อความมีชีวิตของเมล็ดได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved