รายงานผลงานวิจัย
สถาบันเทคโนโลยีการเกษตรแม่โจ้

เรื่อง ความสัมพันธ์ระหว่าง *Macrophomina phaseoi* และ*Meloidogyne janvaica* ต่อโรคโคนเน่าดำของถั่วเขียว

INTERACTION OF *MACROPHOMINA PHASEOLI* AND *MELOIDGYNE JAVANICA* ON CHARCOAL ROT DISEASE OF MUNGBEAN

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย ประจำปี 2535
จำนวน 149,000 บาท

หัวหน้าโครงการ ประเทือง สง่าวงศ์
ผู้ร่วม -

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์
วันที่ 6 กุมภาพันธ์ 2537

S173/49

ความสัมพันธ์ระหว่าง *Macrophomina phaseoli* และ *Meloidogyne javanica* ต่อโรคโคนเน่าดำของถั่วเขียว

Interaction of *Macrophomina phaseoli* and *Meloidogyne javanica* on charcoal rot disease of mungbean

นายประเทือง สง่าวงศ์

ภาควิชาพืชไร่
คณะผลิตกรรมการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีการเกษตรแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

บทคัดย่อ

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง *Macrophomina Phaseoli* และ *Meloidogyne javanica* ต่อโรคโคนเน่าดำของถั่วเขียวโดยใช้ถั่วเขียวพันธุ์อู่ทอง ทำการทดลองในฤดูฝน ระหว่างเดือนกรกฎาคมถึงเดือนตุลาคม 2535 วางแผนการทดลองแบบ Factorial experimental design มี 4 ซ้ำ เปรียบเทียบผลการทดลองการใช้ sclerotia ของเชื้อราเพียงอย่างเดียวผสมลงในดินก่อนปลูกถั่วเขียวในอัตรา 0.5 กรัม/ดิน 1,000 มล./กระถาง และ sclerotia ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อราบนเมล็ดข้าวฟ่างเพียงอย่างเดียวใส่ลงพร้อมกับการปลูกในอัตรา 10 กรัม/ดิน 1,000มล./กระถาง เปรียบเทียบกับการใช้เนมาโทดรากปมในปริมาณ 500, 1,500 และ 3,000 ตัว/ดิน 1,000 มล./กระถางเพียงอย่างเดียว และการใช้ sclerotia ของเชื้อราและเนมาโทดร่วมกันในอัตราดังกล่าวแล้วพร้อมกับการปลูกถั่วเขียวจากผลการทดลองพบว่าถั่วเขียวในระยะเริ่มงอก และเป็นต้น กล้า 14 วันหลังจากปลูก จะถูกทำลายเสียหายเนื่องจากเชื้อราเพียงอย่างเดียวเท่านั้น ไม่มีปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราและเนมาโทด แต่ในระยะ 21 วันภายหลังจากปลูกพบว่าถั่วเขียวจะแสดงอาการเป็นโรคแตกต่างกัน เมื่อมีปริมาณเนมาโทดแตกต่างกัน หากมีเชื้อราร่วมอยู่ด้วยถั่วเขียวจะแสดงอาการเป็นโรคเพิ่มมากขึ้นและการสร้างปมของเนมาโทดในถั่วเขียว 21 และ 45 วันหลังจากปลูกก็เพิ่มมากขึ้นเช่นเดียวกัน โดยเฉพาะเมื่อมีปริมาณเนมาโทด 1,500 และ 3,000 ตัวต่อกระถางในการวิเคราะห์ผลผลิต จำนวนฝัก

ต่อต้น และน้ำหนักเมล็ดต่อต้นของถั่วเขียวก็พบปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราและเนมาโทดเช่นเดียวกันคือถ้าหากมีเชื้อราอยู่ร่วมกับเนมาโทดแล้ว ถั่วเขียวจะให้ผลผลิตน้อยลงมากกว่าการมีเชื้อราหรือเนมาโทด ในปริมาณต่ำเพียงอย่างเดียว

Abstracts

Interaction of *Macrophomina phaseoli* and *Meloidogyne javanica* on chacoal rot disease of mungbean was studied on Uthong mungbean variety during rainy season (July-October) in 1992. Factorial experimental design with 4 replications was used in the experiment. Several comparisons were made among uninoculated and inoculated mungbean treatments e.g. with sclerotia alone before planting at 0.5 gm./1,000 ml. 50 il/pot, in sorghum medium alone at planting 10 gm./1,000 ml.soil/pot, root knot nematode alone at 500, 1,500 and 3,000 larvae/1,000 ml. soil/pot and sclerotia-nematode combinations at the above mentioned rates of application. The results found no interaction between fungus and nematode 14 days after planting. However, there were interaction between fungus and nematode at 21 and 45 days after planting. Increasing of dieas infection rate and severe root knot symptom were also found in fungus-nematode inoculated mungbean treatments 21 and 45 days after planting, especially at the rate of 1,500 and 3,000 larvae/pot. The interaction between fungus and nematode was also found on number of pod/plant and seed weight/plant. More yield reduction was found in fungus-nematode combinations than fungus or nematode alone on tested mungbean.

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง ความสัมพันธ์ระหว่าง *Macrophomina phaseoli* และ *Meloidogyne javanica* ต่อโรคโคนเน่าดำของถั่วเขียว ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2535 โดยสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร และด้วยการสนับสนุนจากภาควิชาพืชไร่ สถาบันเทคโนโลยีการเกษตรแม่โจ้ ที่ให้ความสะดวกในการใช้อุปกรณ์และสถานที่ ตลอดจนห้องปฏิบัติการ รวมทั้งได้รับความร่วมมือจากบรรดาคณาจารย์และบุคลากรของภาควิชาพืชไร่ หากปราศจากเงินอุดหนุนวิจัยและความร่วมมือจากท่านดังกล่าวแล้ว โครงการวิจัยเรื่องนี้คงจะไม่สำเร็จลงได้ ข้าพเจ้าจึงขอขอบคุณสำนักวิจัยฯ และสถาบันฯ รวมทั้งบรรดาคณาจารย์และบุคลากรของภาควิชาฯทุกท่านมา ณ โอกาสนี้ด้วยเป็นอย่างสูง

ประเทือง สงาวงศ์

คำนำ

ผลผลิตต่อไร่ของถั่วเขียวของประเทศไทยในปัจจุบันนั้นค่อนข้างต่ำ และมีแนวโน้มว่าจะลดลง ดังจะเห็นได้จากในปี 2531/2532 มีผลผลิตโดยเฉลี่ยต่อไร่เพียง 116 กก./ไร่ เมื่อเปรียบเทียบกับประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน โซเวียต สหรัฐอเมริกาและแคนาดา ซึ่งมีผลผลิตต่อไร่ 184, 276 และ 321 กก./ไร่ (นิรนาม,2532) โรคพืชนับว่าเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ผลผลิตต่อไร่ของถั่วเขียวลดลง โดยเฉพาะโรคโคนเน่าดำที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Macrophomina phaseoli* ซึ่งพบระบาดทั่วไปในพื้นที่ปลูกถั่วเขียวที่เป็นดินร่วนปนทรายในช่วงที่มีอากาศแห้งแล้ง นอกจากนี้ยังพบว่าบริเวณรอบ ๆ รากของถั่วเขียวมีเนมาโทดหลายชนิดเกี่ยวข้องอยู่ด้วย (Timm, 1965) ซึ่งเนมาโทดเหล่านี้อาจจะช่วยเพิ่มทำความเสียหายให้แก่ถั่วเขียวมากขึ้นก็ได้ โดยเฉพาะเนมาโทดรากปม *Meloidogyne javanica* เป็นเนมาโทดที่สำคัญที่สุด (Toida, et al, 1990) ดังนั้นจึงเป็นการสมควรที่จะศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดนี้ว่า การระบาดของโรค ความเสียหายที่เกิดขึ้นและผลผลิตที่ลดลงนั้น สืบเนื่องมาจากเชื้อรา *M.phaseoli* หรือเนมาโทดรากปม *M.javanica* เพียงอย่างเดียว หรือเป็นผลสืบเนื่องมาจากการทำงานร่วมกันของจุลินทรีย์ทั้งสองชนิด เพื่อประโยชน์ในการศึกษาแนะนำในการบริหารโรคพืชแก่ประชาชน ผู้สนใจและเกษตรกรโดยทั่วไป

อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. เชื้อราบริสุทธิ์ *M.phaseoli* แยกได้จากต้นถั่วเขียวที่เป็นโรค โดยใช้อาหาร PDA แล้วนำมาเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณ sclerotia บนเมล็ดข้าวฟ่าง และในอาหารเหลว Soybean decoction-sucrose medium (Dingra and Sinclair, 1986.)

2. เนมาโทดรากปม *M.javanica* บริสุทธิ์ได้รับจากกองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร (ศิริวัลย์, 2535) นำมาเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณในต้นกล้ามะเขือเทศ

3. เมล็ดถั่วเขียวพันธุ์อู่ทอง

4. ดินร่วนร่อนทำความสะอาดแล้ว อบฆ่าเชื้อด้วย methyl bromide

5. กระถางดินเผาสำหรับปลูกถั่วเขียว อุปกรณ์และเคมีภัณฑ์อื่น ๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

วิธีการทดลอง

1.การเตรียม Sclerotia inoculum บริสุทธิ์ของ *M.phaseoli*

ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มม.ตัดเอาชิ้นส่วนเส้นใยบริเวณขอบนอกโคโลนีของ *M.phaseoli* ที่เลี้ยงไว้บนอาหาร PDA อายุ 1 สัปดาห์ จำนวน 1 ชิ้นใส่ลงไปใน flask ขนาด 250 ml. ที่บรรจุอาหารเหลว Soybean decoction-sucrose medium นำไปเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิของห้อง 15 วัน จึงนำไปแยกเอา sclerotia เพื่อใช้เป็น inoculum ต่อไป

การแยก sclerotia กระทำโดยเทอาหารเหลวใน flask ทิ้ง รวบรวมเอาเฉพาะ sclerotia ใส่ใน blender เติมน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วลงไปให้ท่วมพอประมาณแล้วปั่นแยก 3 นาที ด้วยความเร็วรอบต่ำ เสร็จแล้วนำมาเหวี่ยงแยกด้วย centrifuge ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที นาน 2 นาที จะได้ sclerotia สีดำตกตะกอนอยู่ข้างล่าง เทน้ำส่วนบนทิ้ง เติมน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เขย่าให้ sclerotia ลอยขึ้นมาเพื่อล้างแยกด้วย centrifuge โดยใช้ความเร็วรอบและเวลานานเท่าเดิม กระทำ 2 ครั้ง

รวบรวมเอา sclerotia ที่แยกได้ไว้บนกระดาษกรองเบอร์ 4 นำไปอบให้แห้งที่ 40 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง แล้วนำไปบดแยกเบา ๆ ด้วยครกบดยา เก็บ sclerotia ที่แยกได้นี้นำไปผสมกับดินในอัตรา 5 กรัม ต่อดิน 1,000 มิลลิลิตร เพื่อใช้เป็น sclerotia inoculum ต่อไป โดยนำไปผสมกับดินที่จะปลูกถั่วเขียวเพื่อการทดลองในอัตรา 100 มิลลิลิตร / ดิน 1000 มิลลิลิตร / กระถาง ซึ่งจะให้ sclerotia 0.5 กรัม / ดิน 1000 มิลลิลิตร / กระถาง

2. การเตรียม Sclerotia inoculum ของ *M. phaseoli* บนเมล็ดข้าวฟ่าง

นำ *M. phaseoli* ที่แยกได้มาเลี้ยงและเพิ่มปริมาณบนเมล็ดข้าวฟ่างที่แช่น้ำแล้ว 48 ชั่วโมง ล้างให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น 2-3 ครั้ง บรรจุลงในถุงพลาสติคทนความร้อนขนาด 6 x 9 นิ้ว จำนวน 200 กรัมต่อถุง ปิดด้วยจุกสำลี นำไปนึ่งฆ่าเชื้อแล้วทิ้งไว้ 1 คืน จึงนำไปเลี้ยงเชื้อรา โดยใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มม. ตัดเอาส่วนปลายเส้นใยของเชื้อราที่กำลังเจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ใส่ลงไปในถุงเมล็ดข้าวฟ่างที่เตรียมไว้แล้ว นำไปเก็บไว้ ณ อุณหภูมิของห้อง 15 วัน สังเกตดูเมื่อเห็น

เชื้อราเจริญดีแล้ว จึงนำไปใช้เป็น inoculum ต่อไป

3. การเตรียมเนมาโทดรากปมเพื่อใช้เป็น inoculum

นำเนมาโทดรากปม *M. javanica* มาเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณในต้นกล้ามะเขือเทศในเรือนปลูกต้นไม้นาน 4 สัปดาห์ ตรวจเลือกปมเนมาโทดที่มีเนมาโทดวัยที่ 2 ในไข่มาใช้สำหรับทำการทดลอง

4. ทำการเปรียบเทียบผลการศึกษาทดลองระหว่างการปลูกเชื้อรา *M. phaseoli* อย่างเดียว กับเนมาโทดรากปม *M. javanica* อย่างเดียว ในปริมาณต่าง ๆ กันและเปรียบเทียบกับการใช้เชื้อราร่วมกับเนมาโทดรากปมในปริมาณต่าง ๆ กัน โดยวางแผนการทดลองแบบ 3 x 4 Factorial experiment in RBD มี 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 กระถาง ในแต่ละกระถางที่ปลูกถั่วเขียว inoculate ด้วยเชื้อราและเนมาโทดรากปมตามแผนการทดลองดังต่อไปนี้

Treatments

1. Control
2. Nematode 500
3. Nematode 1,500
4. Nematode 3,000
5. Sclerotia 0.5 gm.
6. Sclerotia 0.5 gm. + Nematode 500
7. Sclerotia 0.5 gm. + Nematode 1,500
8. Sclerotia 0.5 gm. + Nematode 3,000
9. Sclerotia in sorghum medium 10 gm.
10. Sclerotia in sorghum medium 10 gm. + Nematode 500
11. Sclerotia in sorghum medium 10 gm. + Nematode 1,500
12. Sclerotia in sorghum medium 10 gm. + Nematode 3,000

5. การตรวจและบันทึกผลการทดลอง

5.1 บันทึกคะแนนการเป็นโรค (0 - 5) และตรวจผลการเข้าทำลายรากถั่วเขียวของเนมาโทดรากปม โดยวิธี Cloral hydrate method

(Dingra and Sinclair, 1986) 21 วัน หลังจากการปลูกและ inoculate เชื้อโรค

5.2 บันทึกการให้คะแนนการสร้างปมเนมาโทด ดังวิธีต่อไปนี้

0 = ไม่มีปม
1 = มีปม 1 -- 25 %
2 = มีปม 26 -- 50 %
3 = มีปม 51 -- 75 %
4 = มีปม 76 -- 100 %

5.3 ตรวจนับจำนวนการติดฝักต่อต้น

5.4 เก็บเกี่ยว นวดฝักแห้ง ทำความสะอาดเมล็ดแห้ง และชั่งน้ำหนัก บันทึกผลการทดลอง

การทดลองกระทำ 2 ครั้ง โดยเริ่มการทดลองครั้งแรกในฤดูฝนระหว่างเดือนกรกฎาคม 2535 ถึง เดือนตุลาคม 2535 และครั้งที่ 2 ในฤดูหนาวระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2535 ถึง เดือนเมษายน 2536

ผลการทดลอง

รายงานผลการทดลองนี้ เป็นผลการทดลองในฤดูฝนระหว่างเดือนกรกฎาคม 2535 ถึง ตุลาคม 2535 สำหรับผลการทดลองในฤดูหนาวระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2535 ถึงเดือนเมษายน 2536 นั้นได้กระทำแล้ว ผลการทดลองไม่ประสบผลเป็นที่น่าพอใจ เนื่องจากถั่วเขียวได้รับผลกระทบจากอุณหภูมิของอากาศที่หนาวเย็นเกินไประหว่างเดือนธันวาคม ทำให้การเจริญเติบโตช้าผิดปกติและอายุการเจริญเติบโตยืดออกไป การเก็บเกี่ยวล่าช้าไปมาก เป็นผลให้การทดลองล้มเหลวไม่สามารถที่จะเก็บข้อมูลผลการทดลองมารายงานได้

1. เปอร์เซ็นต์ต้นกล้าถั่วเขียวที่เหลือรอดโดยเฉลี่ยจากการทำลายเนื่องจาก *M. phaseoli* และ *M. javanica* 14 วัน หลังจากปลูก

การวิเคราะห์ความแปรปรวนเปอร์เซ็นต์ต้นกล้าถั่วเขียวที่รอดตายจากการทำลายโดยเฉลี่ยพบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระหว่างวิธีการปลูกเชื้อรา แต่ไม่มีความแตกต่างระหว่างการใช้เนมาโทดรากปมปริมาณต่าง ๆ กันและไม่มี

ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราและเนมาโทดรากปม (ตารางที่ 1) ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่าต้นกล้าถั่วเขียว ในระยะนี้ถูกทำลายโดยเชื้อราเพียงอย่างเดียว การปลูกเชื้อราโดยใช้ sclerotia บริสุทธิ์ จะมีเปอร์เซ็นต์ต้นกล้าถั่วเขียวรอดตายโดยเฉลี่ยแล้วต่ำกว่าการปลูกเชื้อราโดยใช้ sclerotia in sorghum medium แต่เมื่อเปรียบเทียบกับไม่มีเชื้อรา จะเห็นว่ามีเปอร์เซ็นต์รอดตาย โดยเฉลี่ยต่ำกว่าเพียงเล็กน้อยไม่มีนัยสำคัญในทางสถิติ (ตารางที่ 2)

2. เปอร์เซ็นต์การเป็นโรคโดยเฉลี่ยของถั่วเขียวเนื่องจาก *M. phaseoli* และ *M. javanica* 21 วันหลังจากปลูก

การวิเคราะห์ความแปรปรวนเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคโดยเฉลี่ย 21 วันหลังจากปลูก พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระหว่างวิธีการปลูกเชื้อราและไม่มีการปลูกเชื้อรา แต่พบว่ามีความแตกต่างกันระหว่างการ inoculate ด้วยเนมาโทดรากปมในอัตราต่าง ๆ กัน นอกจากนี้ยังพบว่ามีปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราและเนมาโทดรากปมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติอย่างยิ่งอีกด้วย (ตารางที่ 3) แสดงให้เห็นว่าเชื้อราอย่างเดียวไม่สามารถทำให้ถั่วเขียวแสดงอาการเป็นโรคอย่างมีนัยสำคัญ ในกรณีที่ไม่มีเชื้อราร่วมกับเนมาโทดรากปม ถึงแม้จะเพิ่มปริมาณเนมาโทดรากปมจาก 500 เป็น 3,000 ตัวต่อกระถาง ก็ไม่เพิ่มเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคโดยเฉลี่ยมากขึ้น แต่ถ้าหากมีเชื้อราร่วมกับเนมาโทดรากปมแล้ว การเพิ่มปริมาณเนมาโทดจาก 500 เป็น 3,000 ตัวต่อกระถาง จะทำให้เปอร์เซ็นต์การเป็นโรคโดยเฉลี่ยของถั่วเขียวเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่มีความแตกต่างระหว่างการ inoculate ด้วยเนมาโทดรากปม 1,500 ตัวต่อกระถาง และ 3,000 ตัวต่อกระถาง (ตารางที่ 4) ภาพที่ 1, 2 และ 3 แสดงการเข้าทำลายรากถั่วเขียวของเนมาโทดรากปม 21 วันหลังจากปลูก

3. การสร้างปมเนมาโทดโดยเฉลี่ย 21 วันหลังจากปลูก

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนการสร้างปมเนมาโทดในรากของถั่วเขียวโดยเฉลี่ย 21 วันหลังจากปลูก ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างวิธีการปลูกเชื้อราและไม่มีการปลูกเชื้อราลงถั่วเขียว แต่พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งระหว่างการ inoculate ด้วยเนมาโทดในปริมาณต่าง ๆ กัน และพบว่ามีปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราและเนมาโทดอีกด้วย (ตารางที่ 5) ในกรณีที่มีเชื้อราและเนมาโทดร่วมกัน

โดยเฉพาะเนมาโทดรากปมในปริมาณสูง 1,500 และ 3,000 ตัวต่อกระถางจะพบการสร้างปมเนมาโทดโดยเฉลี่ยเพิ่มมากขึ้น (ตารางที่ 6)

4. การสร้างปมเนมาโทดโดยเฉลี่ย 45 วันหลังจากปลูก

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนการสร้างปมเนมาโทดในรากของถั่วเขียว 45 วันหลังจากปลูก ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างวิธีการปลูกเชื้อราและไม่มีการปลูกเชื้อรากับถั่วเขียว แต่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งระหว่างการ inoculate ด้วยเนมาโทดในปริมาณต่าง ๆ กัน และพบว่ามีปฏิสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญยิ่งระหว่างเชื้อราและเนมาโทดรากปม (ตารางที่ 7) ในกรณีที่มีเชื้อราและเนมาโทดร่วมกัน โดยเฉพาะเนมาโทดรากปมในปริมาณสูง 3,000 ตัวต่อกระถาง จะพบการสร้างปมของเนมาโทดโดยเฉลี่ยมากขึ้น (ตารางที่ 8)

5. ผลผลิตของถั่วเขียว (จำนวนฝักต่อต้น)

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนฝักต่อต้นโดยเฉลี่ยของถั่วเขียว ไม่มีความแตกต่างระหว่างวิธีการปลูกเชื้อราและไม่มีการปลูกเชื้อรา แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งระหว่างการ inoculate ด้วยเนมาโทดในปริมาณต่าง ๆ กัน และพบว่ามีปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราและเนมาโทดรากปม (ตารางที่ 9) โดยเฉลี่ยแล้วการ inoculate ด้วยเนมาโทดรากปมในปริมาณสูง 3,000 ตัวต่อกระถางให้จำนวนฝักต่อต้นน้อยกว่าการ inoculate ด้วยเนมาโทดในปริมาณต่ำ 500 และ 1,500 ตัวต่อกระถางอย่างมีนัยสำคัญ ในกรณีที่มีเชื้อรากับเนมาโทดร่วมกันแล้วจะให้ผลผลิตต่ำกว่าไม่มีเชื้อรา (ตารางที่ 10)

6. ผลผลิตของถั่วเขียว (น้ำหนักเมล็ดต่อต้น)

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักเมล็ดต่อต้น โดยเฉลี่ยของถั่วเขียวไม่มีความแตกต่างระหว่างวิธีการปลูกเชื้อราและไม่มีการปลูกเชื้อรา แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งระหว่างการ inoculate ด้วยเนมาโทดในปริมาณต่าง ๆ กัน และพบว่ามีปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราและเนมาโทดรากปมอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ 11) การ inoculate ด้วยเนมาโทดรากปมเพียงอย่างเดียวในปริมาณ 500, 1,500, 3,000 ตัวต่อกระถางไม่มีความแตกต่างกัน แต่ถ้ามีเชื้อราเข้าร่วมด้วยโดยเฉพาะ sclerotium inoculum ก็พบว่าในปริมาณเนมาโทดรากปม 3,000 ตัวต่อต้นให้น้ำหนัก

เมล็ดต่อต้นโดยเฉลี่ยต่ำกว่าที่ 500 ตัวต่อต้นอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่มีความแตกต่างกันที่ 1,500 ตัวต่อกระถาง (ตารางที่ 12)

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง *M. phaseoli* และ *M. javanica* ต่อโรคโคนเน่าดำของถั่วเขียว สรุปได้ดังนี้

1. เชื้อราทำความเสียหายแก่ถั่วเขียวในระยะแรกเริ่มงอกและระยะเป็นต้นกล้าอ่อน ทำให้มีจำนวนต้นรอดตายน้อยกว่าการไม่มีเชื้อราเข้ามาเกี่ยวข้อง ในระยะ 14 วันภายหลังการงอกนั้น ถั่วเขียวยังไม่มีความเสียหายเนื่องมาจากเนมาโทดรากปมแต่อย่างใด และไม่มีปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราและเนมาโทดรากปม

2. การแสดงอาการเป็นโรคในระยะ 21 วันหลังจากปลูก ไม่มีความแตกต่างระหว่างถั่วเขียวที่ได้รับการปลูกเชื้อราและไม่ได้รับการปลูกเชื้อรา พบว่ามีปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราและเนมาโทดรากปม หากไม่มีเชื้อราอยู่ร่วมกับเนมาโทดแล้วถึงแม้ว่าจะเพิ่มปริมาณเนมาโทดจาก 500 ตัวเป็น 3,000 ตัวต่อกระถาง เปอร์เซ็นต์การเป็นโรคก็จะไม่เพิ่มมากขึ้น แต่ถ้าหากมีเชื้อราร่วมอยู่ด้วยแล้วการเพิ่มเนมาโทดเป็น 1,500 ตัวต่อกระถางก็เพียงพอให้ถั่วเขียวมีเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ว่าหากมีเชื้อราร่วมอยู่ด้วยแล้ว เนมาโทดรากปมสามารถเข้าทำลายถั่วเขียวได้มากขึ้น

3. การสร้างปมเนมาโทดบนรากถั่วเขียว 21 และ 45 วันหลังจากปลูก พบว่ามีปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราและเนมาโทดรากปม ในกรณีที่มีเชื้อราร่วมอยู่ด้วยมักจะพบการสร้างปมเนมาโทดมากขึ้น เมื่อมีปริมาณเนมาโทด 1,500 และ 3,000 ตัวต่อกระถางตามลำดับ

4. การวิเคราะห์ผลผลิต จำนวนฝักต่อต้นและน้ำหนักเมล็ดต่อต้น พบว่ามีปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราและเนมาโทดรากปม ในกรณีที่มีเชื้อรากับเนมาโทดร่วมกันแล้วถั่วเขียวจะให้จำนวนฝักต่อต้นและน้ำหนักเมล็ดต่อต้นน้อยลงมาก โดยเฉพาะเมื่อมีเนมาโทดในปริมาณ 500, 3,000 ตัวต่อกระถาง

ดังนั้น จะเห็นได้ว่าเนมาโทดเข้าทำลายถั่วเขียวภายหลังจากเชื้อราเข้าทำลาย ในระยะเป็นต้นกล้าอ่อน เนื่องจากการตรวจพบถั่วเขียวแสดงอาการเป็นโรคและตรวจพบปมของเนมาโทดเพิ่มมากขึ้นภายหลัง ในระยะ 21 วันหลังจากปลูกและใส่เชื้อโรค ความเสียหายของถั่วเขียวที่เพิ่มมากขึ้นนั้น เป็นผลจากเชื้อราและเนมาโทดร่วมกัน การมีเชื้อราอยู่ร่วมด้วยนั้น อาจจะช่วยให้เนมาโทดรากปมเข้าทำลายถั่วเขียวได้มากขึ้น เนื่องจากพบว่าในปริมาณของจำนวนเนมาโทดเท่ากันแล้ว หากมีเชื้อราร่วมอยู่ด้วย ความเสียหายของถั่วเขียวนั้นมีมากกว่าการที่ไม่มีเชื้อรา ซึ่งสอดคล้องกับ Tu and Cheng, 1971. ที่รายงานว่าโรครากเน่าของปอแก้วเพิ่มมากขึ้นเมื่อมี *M. javanica* เข้าทำลาย

เอกสารอ้างอิง

ดีรีวัลย์ สมควร, 2535. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร(ติดต่อส่วนตัว)

นิสนาม, 2532 . สถิติการเกษตรของประเทศไทย 2531/2532 ศูนย์สถิติการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ 267 หน้า

Dhingra, O.D., and J.B. Sinclair. 1986. Basic plant pathology methods. CRC Press, Inc. Boca Raton. Florida.

Timm, R.W. 1965. A preliminary survey of the plant parasitic nematodes of Thailand and the Philippines. Thai Sambhand Printing Press. Bangkok. 71 p.

Toida, Y., S. Keereewan, and N. Puttirut. 1990. Analysis and control of mungbean demage caused by the root knot nematode *Meloidogyne javanica*. Proceedings of the mungbean meeting 90 held in Chiang Mai, Thailand. pp. 141-145.

Tu, C.C., and Y.H. Cheny. 1971. Interaction of *Meloidogyne javanica and Macrophomina phaseoli* in kenaf root rot. J. Nematol. 3:39-42.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนเปอร์เซ็นต์รอดตายโดยเฉลี่ยของถั่วเขียว 14 วัน หลังจากปลูก

SOURCE	df	SS	MS	F	F .05	F .01	
Res.	3	0.098	0.033	0.116	2.92	4.51	
Treatment	11	5.551	0.505	1.778	2.16	2.98	
A	2	1.949	0.975	3.433	3.32	5.39	*
B	3	1.605	0.535	1.885	2.92	4.51	ns
AB	6	1.996	0.333	1.172	2.42	3.47	ns
Error	33	9.368	0.284				
Total	47	15.017	0.320				

Grand mean = 9.0350 CV = 5.8551

* = significant

ns = non significant

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์รอดตายโดยเฉลี่ย(transform value) ของถั่วเขียว 14 วันหลังจากปลูก

Inoc. methods (*M. phaseoli*)	Level of nematode larvae (*M. javanica*) 0	500	1,500	3,000	Average
No fungus	8.59	9.32	9.15	9.14	9.05 AB
	(73.78)	(86.36)	(83.22)	(83.04)	(81.60)
Sclerotia	8.97	8.58	8.87	9.12	8.88 B
	(79.96)	(73.11)	(78.17)	(82.67)	(78.47)
Sclerotia in	9.16	9.24	9.14	9.94	9.37 A
sorghum medium	(83.40)	(84.87)	(83.04)	(98.30)	(87.40)
Average	8.90	9.04	9.05	9.04	
	(78.04)	(81.45)	(81.48)	(88.00)	

ผลเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรภาษาอังกฤษที่ไม่เหมือนกันมีความแตกต่างกันโดยวิธี DMRT p .05

Transform value ($\sqrt{X + 1/2}$) Original value (ตัวเลขภายในวงเล็บ)

ตารางที่ 3 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนเปอร์เซ็นต์การเป็นโรค (% infection) โดยเฉลี่ยของถั่วเขียว 21 วันหลังจากปลูก

SOURCE	df	ss	MS	F	F .05	F .01	
Res.	3	20.481	6.827	1.351	2.92	4.51	
Treatment	11	424.768	38.615	7.639	2.16	2.98	
A	2	29.607	14.803	2.929	3.32	5.39	ns
B	3	278.938	92.979	18.394	0.92	4.51	**
AB	6	116.223	19.370	3.832	2.42	3.47	**
Error	33	116.811	5.056				
Total	47	612.060	13.023				

Grand mean = 5.6904 CV = 39.5104

* = significant

** = highly significant

ns = non significant

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์การเป็นโรค(% infection) โดยเฉลี่ย (transform value) ของถั่วเขียว 21 วันหลังจากปลูก

Inoc. methods	Level of nematode larvae (*M. javanica*)				Average
(*M. phaseoli*)	0	500	1,500	3,000	
No fungus	0.71 d	7.75 ab	9.76 a	8.94 a	6.79
	(0.00)	(58.00)	(94.75)	(83.00)	
Sclerotia	0.71 d	3.78 cd	7.08 abc	9.59 a	5.29
	(0.00)	(17.00)	(51.00)	(92.00)	
Sclerotia in	4.35 bc	4.24 bc	6.26 abc	5.14 bc	5.00
sorghum medium	(31.00)	(23.00)	(45.00)	(31.00)	
Average	1.92 c	5.26 B	7.70 A	7.89 A	
	(10.80)	(32.00)	(63.58)	(68.66)	

ผลเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรภาษาอังกฤษที่ไม่เหมือนกันมีความแตกต่างกันโดยวิธี DMRT p .05

Transform value ($\sqrt{X+1/2}$) Original value (ตัวเลขภายในวงเล็บ)

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ตารางที่ 5 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนการสร้างปมเนมาโทด โดยเฉลี่ยของถั่วเขียว 21 วันหลังจากปลูก

SOURCE	df	ss	MS	F	F .05	F .01	
Res.	3	0.418	0.139	1.930	2.92	4.51	
Treatment	11	12.638	1.149	15.910	2.16	2.98	
A	2	0.281	0.141	1.948	3.32	5.39	ns
B	3	10.917	3.639	50.395	2.92	4.51	**
AB	6	1.439	0.240	3.322	2.42	3.47	**
Error	33	2.383	0.072				
Total	47	15.439	0.328				

Grand mean = 1.5337 CV = 17.5208

* = significant

** = highly significant

ns = non significant

ตารางที่ 6 คะแนนการสร้างปมเนมาโทดโดยเฉลี่ย(transform value) ของถั่วเขียว 21 วันหลังจากปลูก

Inoc. methods (*M. phaseoli*)	Level of nematode larvae (*M. javanica*) 0	500	1,500	3,000	Average
No fungus	0.71 e (0.00)	1.98 ab (3.50)	1.61 bcd (2.26)	1.40 d (1.50)	1.43
Sclerotia	0.71 e (0.00)	1.78 abcd (2.75)	1.98 ab (3.50)	1.89 abc (3.25)	1.59
Sclerotia in sorghum medium	0.71 e (0.00)	1.56 cd (2.00)	2.00 ab (3.50)	2.06 a (3.75)	1.58
Average	0.71 B (0.00)	1.77 A (2.75)	1.87 A (3.08)	1.79 A (2.83)	

ผลเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรภาษาอังกฤษที่ไม่เหมือนกันมีความแตกต่างกันโดยวิธี DMRT p .05
Transform value ($\sqrt{X + 1/2}$) Original value (ตัวเลขภายในวงเล็บ)

ตารางที่ 7 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนการสร้างปมเนมาโทด โดยเฉลี่ยของถั่วเขียว 45 วันหลังจากปลูก

SOURCE	df	ss	MS	F	F .05	F .01	
Res.	3	0.509	0.170	1.785	2.92	4.51	
Treatment	11	12.133	1.103	11.607	2.16	2.98	
A	2	0.085	0.042	0.447	3.32	5.39	ns
B	3	9.696	3.232	34.008	2.92	4.51	**
AB	6	2.353	0.329	4.126	2.42	3.47	**
Error	33	3.136	0.095				
Total	47	15.778	0.336				

Grand mean = 1.4735 CV = 20.9206

** = highly significant

ns = non significant

ตารางที่ 8 คะแนนการสร้างปมเนมาโทดโดยเฉลี่ย (transform value) ของถั่วเขียว 45 วันหลังจากปลูก

Inoc. methods (*M. phaseoli*)	Level of nematode larvae (*M. javanica*) 0	500	1,500	3,000	Average
No fungus	0.71 d	1.78 abc	1.83 abc	1.35 c	1.42
	(0.00)	(2.75)	(3.00)	(1.50)	
Sclerotia	0.71 d	1.53 bc	1.58 bc	2.12 a	1.49
	(0.00)	(2.00)	(1.00)	(4.00)	
Sclerotia in	0.71 d	2.12 a	1.35 c	1.89 ab	1.52
sorghum medium	(0.00)	(4.00)	(1.50)	(3.25)	
Average	0.71 B	1.81 A	1.59 A	1.79 A	
	(0.00)	(2.92)	(1.83)	(2.92)	

ผลเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรภาษาอังกฤษที่ไม่เหมือนกันมีความแตกต่างกันโดยวิธี DMRT p .05
Transform value ($\sqrt{X + 1/2}$) Original value (ตัวเลขภายในวงเล็บ)

ตารางที่ 9 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนจำนวนฝักต่อต้นโดยเฉลี่ยของถั่วเขียว

SOURCE	df	ss	MS	F	F .05	F .01	
Res.	3	1.054	0.351	0.729	2.92	4.51	
Treatment	11	23.062	2.097	4.350	2.16	2.98	
A	2	0.356	0.178	0.369	3.32	5.39	ns
B	3	13.807	4.602	9.549	2.92	4.51	**
AB	6	8.899	1.483	3.077	2.42	3.47	*
Error	33	15.905	0.482				
Total	47	40.020	0.851				

Grand mean = 2.0708 CV = 33.5246

* = significant

** = highly significant

ns = non significant

ตารางที่ 10 จำนวนฝักต่อต้นโดยเฉลี่ย (transform value) ของถั่วเขียว

Inoc. methods	Level of nematode larvae (*M. javanica*)				Average
(*M. phaseoli*)	0	500	1,500	3,000	
No fungus	3.14 a	2.48 ab	2.27 ab	0.84 c	2.18
	(9.70)	(6.00)	(5.12)	(0.25)	
Sclerotia	3.02 ab	2.23 ab	1.93 b	0.71 c	1.97
	(8.66)	(4.50)	(4.25)	(0.00)	
Sclerotia in	2.17 ab	1.89 b	1.92 b	2.27 ab	2.06
sorghum medium	(4.33)	(3.66)	(4.12)	(4.87)	
Average	2.77 A	2.20 AB	2.04 B	1.27 C	
	(7.56)	(4.72)	(4.50)	(1.71)	

ผลเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรภาษาอังกฤษที่ไม่เหมือนกันมีความแตกต่างกันโดยวิธี DMRT p .05

Transform value ($\sqrt{X + 1/2}$) Original value (ตัวเลขภายในวงเล็บ)

ตารางที่ 11 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักเมล็ด (กรัม) ต่อต้นโดยเฉลี่ยของถั่วเขียว

SOURCE	df	ss	MS	F	F .05	F .01	
Res.	3	0.585	0.195	0.697	2.92	4.51	
Treatment	11	9.197	0.836	2.988	2.16	2.98	
A	2	0.894	0.447	1.597	3.332	5.39	ns
B	3	4.305	1.435	5.129	2.92	4.51	**
AB	6	3.998	0.666	2.40	2.42	3.47	**
Error	33	9.234	0.280				
Total	47	19.016	0.406				

Grand mean = 1.7033 CV = 31.0567

** = highly significant

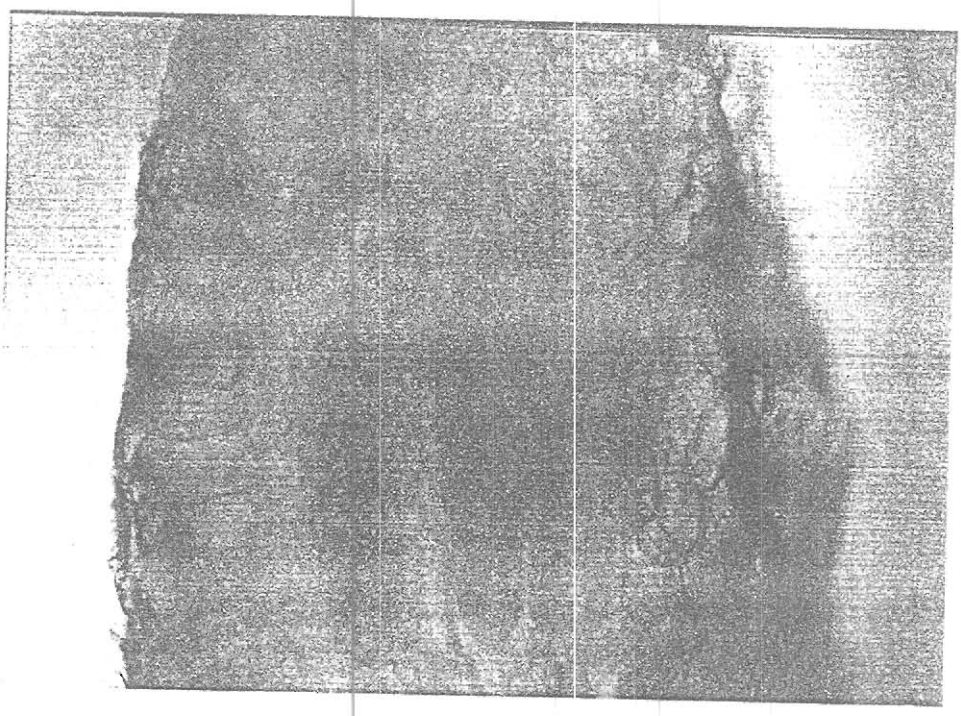
ns = non significant

ตารางที่ 12 น้ำหนักเมล็ด (กรัม) ต่อต้นโดยเฉลี่ย (transform value) ของถั่วเขียว

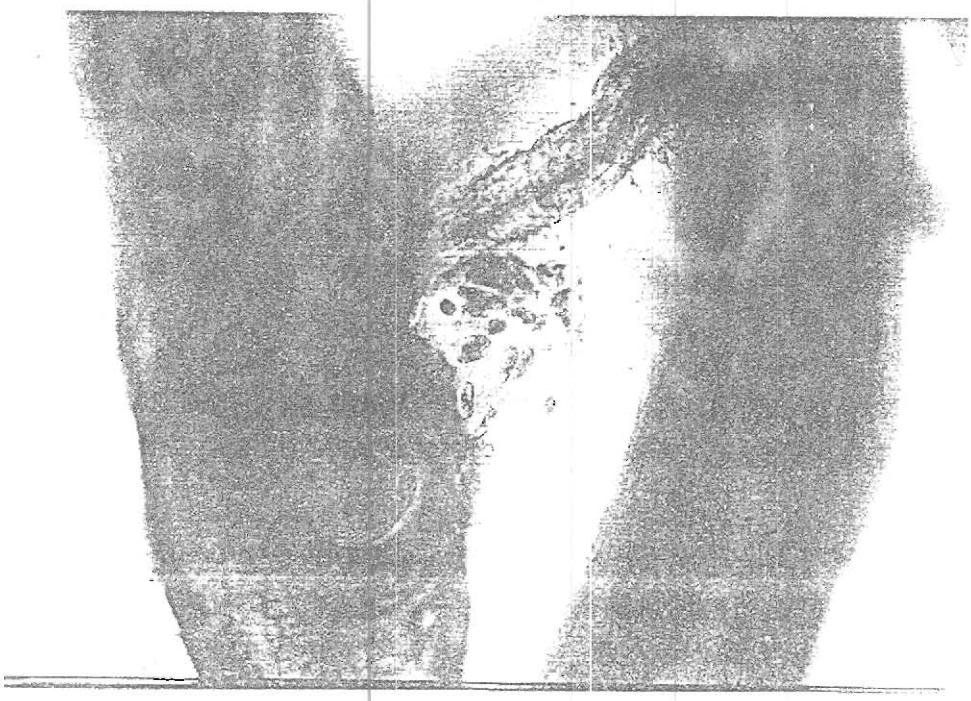
Inoc. methods (*M. phaseoli*)	Level of nematode larvae (*M. javanica*) 0	500	1,500	3,000	Average
No fungus	2.26 ab (4.75)	2.14 abc (4.14)	1.71 abc (2.57)	1.27 cd (1.73)	1.84
Sclerotia	2.35 a (5.04)	1.58 abc (2.08)	1.44 bcd (1.91)	0.71 d (0.00)	1.52
Sclerotia in sorghum medium	1.82 abc (2.89)	1.62 abc (2.60)	1.57 abc (2.27)	1.99 abc (3.61)	1.75
Average	2.14 A (4.22)	1.78 AB (2.94)	1.57 B (2.25)	1.33 B (1.78)	

ผลเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรภาษาอังกฤษที่ไม่เหมือนกันมีความแตกต่างกันโดยวิธี DMRT p .05

Transform value ($\sqrt{X + 1/2}$) Original value (ตัวเลขภายในวงเล็บ)



ภาพที่ 1 เนมาโทดวากปมวัยหาลาย (larvae) ภายในราก (root tip) ของถั่วเขียว ภาพขยาย 3,500 เท่า



ภาพที่ 2 เนมาโทดวากปมเพศเมียวัยแก่ภายในราก (lateral root) ของถั่วเขียว ระยะวางไข่ (egg-mass) ซึ่งถูกขับออกมาภายนอก ภาพขยาย 900 เท่า

ภาพที่ 3 กลุ่มไข่ (egg-mass) ของเนมาโทดรากปมพร้อมด้วยเนมาโทดวัยอ่อนวัยที่ 1 อยู่ภายในไข่ ซึ่งถูกขับออกมาภายนอกจากของถั่วเขียว ภาพขยาย 3,500 เท่า