

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การพัฒนาสารชีวภัณฑ์จากเชื้อแอคติโนไมซีสต์เพื่อ

ควบคุมโรคยอดผักดาบของข้าว

ผู้เขียน

นางสาวจันทร์ฉาย จันธิมา

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

อ. ดร. สรัญญา วัลยะเสวี อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

รศ. ดร. ชัยวัฒน์ โตอนันต์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

แยกเชื้อรา *Fusarium moniliforme* สาเหตุโรคยอดผักดาบของข้าว จากแปลงปลูกข้าวของเกษตรกรทั้งหมด 5 สายพันธุ์ ได้แก่ กข 6 ดอกมะลิ 105 กข 15 กข 10 และข้าวเหนียวจากแหล่งต่างๆ ได้แก่ อำเภอกุฉินารายณ์ อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดกาฬสินธุ์ อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น และอำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ ได้จำนวน 88 ไอโซเลต โดยแยกจากลำต้น 61 ไอโซเลต และจากเมล็ดข้าว 27 ไอโซเลต จากนั้นนำเชื้อราดังกล่าวมาพิสูจน์ความสามารถในการทำให้เกิดโรค พบว่าภายหลังการปลูกเชื้อราสาเหตุเป็นเวลา 7 วัน ลำต้นข้าวเริ่มแสดงอาการผิดปกติ โดยข้อปล้องยืดยาว ลำต้นอ่อนข้างชิดเหลือง และภายหลังการปลูกเชื้อ 28 วัน ต้นข้าวที่มีอาการรุนแรงจะแสดงอาการเหี่ยวและแห้งตาย

เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนไมซีสต์ที่แยกได้จากตัวอย่างดินบริเวณอุทยานแห่งชาติสุเทพ-ปุย จำนวน 6 ไอโซเลต ได้แก่ NSP1, NSP2, NSP3, NSP4, NSP5 และ NSP6 ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *F. moniliforme* สาเหตุโรคยอดผักดาบของข้าว โดยวิธี dual culture พบว่า เชื้อแอคติโนไมซีสต์มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุ 4 ไอโซเลต ได้แก่ FmRSt1, FmRSt2, FmRSe1 และ FmRSe2 เฉลี่ยอยู่ในช่วง 69.65 – 76.12 เปอร์เซ็นต์ โดยเชื้อแอคติโนไมซีสต์ไอโซเลต NSP1 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเส้นใยของเชื้อราสาเหตุสูงเท่ากับ 76.12 เปอร์เซ็นต์

จากการทดสอบความมีชีวิตของเชื้อแอคติโนไมซีสต์ในสารชีวภัณฑ์ที่มีตัวกลาง 3 ชนิด ได้แก่ แป้งข้าวโพด (สูตร 1) ดินมาร์ล (สูตร 2) และปูนขาว (สูตร 3) พบว่าสารชีวภัณฑ์สูตร 2 ตรวจพบเชื้อแอคติโนไมซีสต์สามารถมีชีวิตนานที่สุด 120 วัน โดยพบปริมาณเชื้อแอคติโนไมซีสต์เท่ากับ 1×10^5 cfu/g ซึ่งสารชีวภัณฑ์ที่ระยะเวลาเริ่มต้นเท่ากับ 1×10^5 cfu/g ซึ่ง

ซึ่งสารชีวภัณฑ์ที่ระยะเวลาเริ่มต้น เท่ากับ 1.7×10^8 cfu/g

เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์จากเชื้อแบคทีเรียไมซีสต์ทั้ง 3 สูตร ที่มีผลต่อเมล็ดข้าว โดยวิธีการแช่เมล็ดข้าวในสารละลายชีวภัณฑ์ความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 2.0 กรัม/ลิตร เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ พบว่าเมล็ดข้าวหลังแช่สารชีวภัณฑ์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดอยู่ในช่วง 94.00 – 98.00 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่แช่เป็นเวลา 48 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์ความงอกอยู่ในช่วง 82.00 – 97.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับชุดควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุแล้วแช่ในน้ำกลั่นเป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์ความงอกเท่ากับ 96.00 และ 90.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับการตรวจสอบเชื้อราสาเหตุโรคที่ติดมากับเมล็ดข้าวภายหลังจากปลูกเชื้อราสาเหตุและแช่สารชีวภัณฑ์ พบว่าเมล็ดข้าวที่แช่สารชีวภัณฑ์สูตร 3 (ปูนขาว) ทั้ง 3 ความเข้มข้น เป็นเวลา 48 ชั่วโมง มีเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดเท่ากับ 4.00, 1.00 และ 3.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 94.03, 98.51 และ 95.52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำเมล็ดข้าวที่ได้จากการแช่สารชีวภัณฑ์นำไปปลูกดินมาเชื้อ ประเมินความมีชีวิตรอดของต้นกล้าหลังจากปลูกเป็นเวลา 2 เดือน พบว่าในกรณีของการแช่สารชีวภัณฑ์เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง เมล็ดข้าวที่แช่สารชีวภัณฑ์สูตร 3 (ปูนขาว) ความเข้มข้น 2.0 กรัม/ลิตร มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตรอดเท่ากับ 100.00 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อตรวจสอบน้ำหนักแห้งของต้นข้าว โดยชั่งน้ำหนักแห้งของลำต้น ใบ และ ราก หลังจากปลูกเป็นเวลา 2 เดือน พบว่า ในกรณีของการแช่สารชีวภัณฑ์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สารชีวภัณฑ์สูตร 3 (ปูนขาว) ความเข้มข้น 0.5 กรัม/ลิตร มีน้ำหนักแห้งของลำต้นเท่ากับ 3.46 กรัม ส่วนการแช่สารชีวภัณฑ์เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า สารชีวภัณฑ์สูตร 3 (ปูนขาว) ความเข้มข้น 1.0 และ 2.0 กรัม/ลิตร มีน้ำหนักแห้งของลำต้นของเท่ากับ 5.52 และ 5.22 กรัม ตามลำดับ

การทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์จากเชื้อแบคทีเรียไมซีสต์ในการควบคุมโรคถดถอยของข้าวในสภาพโรงเรือน โดยคัดเลือกสารชีวภัณฑ์สูตร 2 (ดินมาร์ล) ในการควบคุมโรคถดถอยของข้าว ภายหลังจากทดสอบสารชีวภัณฑ์จากเชื้อแบคทีเรียไมซีสต์ด้วยวิธีการปลูกเชื้อราสาเหตุลงในดินเป็นเวลา 2 เดือน เมื่อประเมินความมีชีวิตรอดของต้นกล้าพบว่า ในกรณีเมล็ดข้าวที่แช่สารชีวภัณฑ์สูตร 2 (ดินมาร์ล) ความเข้มข้น 2.0 กรัม/ลิตร เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วปลูกในดินที่มีเชื้อรา พบว่าต้นกล้ามีความมีชีวิตรอดเท่ากับ 60.00 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวัดความสูงของต้นกล้า พบว่า ต้นกล้ามีความสูงเท่ากับ 102.25 เซนติเมตร เมื่อเทียบชุดควบคุมที่แช่น้ำกลั่นเป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วปลูกลงในดินที่มีเชื้อรา พบว่าต้นกล้ามีความสูงเท่ากับ 25.00 เซนติเมตร เมื่อตรวจสอบน้ำหนักแห้งของต้นกล้า โดยชั่งน้ำหนักแห้งของลำต้น ใบ และ ราก พบว่า ต้นกล้ามีน้ำหนักแห้งของ ลำต้น ใบ และราก เท่ากับ 3.61, 3.40 และ 2.59 กรัม ตามลำดับ ในขณะที่ชุด

ควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุที่ น้ำกลั่นเป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วปลูกลงในดินที่มีเชื้อสาเหตุ พบต้นกล้ามีน้ำหนักแห้งของ ลำต้น ใบ และราก เท่ากับ 0.98, 0.77 และ 0.16 กรัม ตามลำดับ

สำหรับการหากรรมวิธีที่ดีที่สุดในการนำสารชีวภัณฑ์สูตร 2 ไปใช้ในการควบคุมโรค ถอดผักดาบของข้าวในสภาพโรงเรือน โดยทดสอบ 3 กรรมวิธี ได้แก่ การแช่เมล็ด (2 กรัม/ลิตร) การคลุกเมล็ด (2 กรัม/100 เมล็ด) และพ่นบนต้นกล้า (2 กรัม/ลิตร) โดยประเมินผลจากความมีชีวิตรอดของต้นกล้า ความสูง และน้ำหนักแห้ง ของต้นกล้ามีอายุ 2 เดือน ในกรณีความมีชีวิตรอดของต้นกล้าพบว่า การทดสอบทั้ง 3 กรรมวิธี ทำให้ต้นข้าวมีชีวิตรอดเท่ากับ 65.00, 70.00 และ 75.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อวัดความสูงของต้นกล้าจากเมล็ดข้าวที่ พบว่าต้นกล้ามีความสูงเท่ากับ 86.00, 95.75 และ 103.00 เซนติเมตร ตามลำดับ เมื่อเทียบชุดควบคุมที่แช่น้ำกลั่น แล้วปลูกลงในดินที่มีเชื้อสาเหตุ พบต้นกล้ามีความสูงเท่ากับ 100.00 เซนติเมตร เมื่อตรวจสอบน้ำหนักแห้งของต้นกล้า ในกรณีกรรมวิธีแช่เมล็ดในสารชีวภัณฑ์ แล้วปลูกในดินที่มีเชื้อรา พบว่าต้นกล้ามีน้ำหนักแห้งของ ลำต้น ใบ และราก เท่ากับ 5.97, 5.26 และ 1.50 กรัม ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีคลุกเมล็ดในสารชีวภัณฑ์ มีน้ำหนักแห้งของลำต้น ใบ และราก เท่ากับ 5.16, 4.50 และ 1.62 กรัม ตามลำดับ และกรรมวิธีพ่นสารชีวภัณฑ์บนต้นกล้า มีน้ำหนักแห้งของลำต้น ใบ และราก เท่ากับ 5.88, 6.74 และ 1.65 กรัม ตามลำดับ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่แช่เมล็ดในน้ำกลั่น แล้วปลูกลงในดินที่มีเชื้อสาเหตุ พบต้นกล้ามีน้ำหนักแห้งของ ลำต้น ใบ และราก เท่ากับ 2.67, 2.36 และ 0.17 กรัม ตามลำดับ

Thesis Title	Development of Actinomycete Bioproduct for Controlling Rice Bakanae Disease	
Author	Miss Chanchai Chantima	
Degree	Master of Science (Plant Pathology)	
Thesis Advisory Committee	Lect. Dr. Sarunya Valyasevi	Advisor
	Assoc. Prof. Dr. Chaiwat To-anun	Co-advisor

Abstract

Eighty eight *Fusarium moniliforme* isolates causing rice bakanae disease from five rice cultivars RD 6, Khao Dawk Mali 105, RD 15, RD 10 and Khao Nok were collected from Phu Kum Yao, Chun District, Phayao Province, San Kamphaeng, Mae On and Muang District, Chiang Mai Province and Mae Lao District, Chiang Rai Province. Sixty-one of total strains were isolated from stems and from rice seeds for another twenty-seven isolates. The pathogenicity test showed that appeared symptoms of tested seedlings were started at 7 days after inoculation, which found elongated stem and becoming yellow. Then, wilting found in severe symptoms seedling and finally die at 28 days after inoculation.

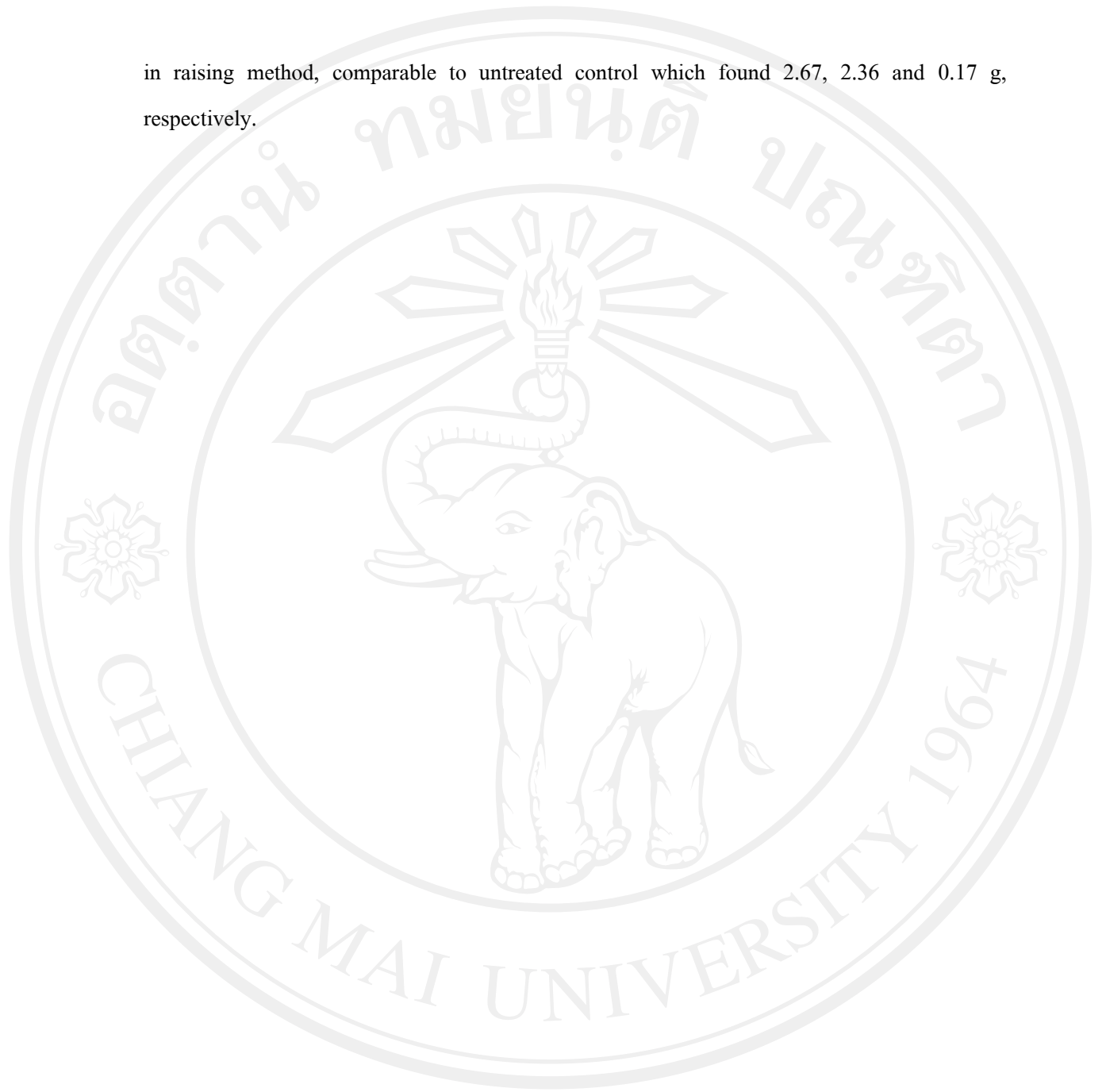
Six isolates of actinomycetes; NSP1, NSP2, NSP3, NSP4, NSP5 and NSP6, collected from natural soil samples from Suthep-Pui National Park, Chiang Mai, were tested for antifungal activity against four isolates of *F. moniliforme* including FmRSt1, FmRSt2, FmRSe1 and FmRSe2. The dual culture method showed inhibitory effects to mycelium growth of *F. moniliforme* ranging from 69.65 – 76.12%, isolate NSP1 showed the highest percentage at 77.61%.

Viability of isolate NSP2 formulated in three different carriers; corn starch (formula 1), marl (formula 2) and lime (formula 3) were tested. In marl-based formulation the NSP2 survived even up to 120 days of storage at 1×10^5 cfu/g, decreased from starting date which found at 1.7×10^7 cfu/g.

Effects of three bioproducts on rice seeds were tested by soaking rice seeds in each bioproduct suspension at three different concentrations including 0.5, 1.0 and 2.0 g/l, for separately 24 and 48 hrs. The percentage of germination grains were found in range 94.00 – 98.00% at 24 hrs after treatment, and 82.00 – 97.00% for 48 hrs after treatment which no significantly differed to pathogen inoculated control (96.00 and 90.00% for 24 and 48 h, respectively). For detection of seed-borne fungi after inoculation before separately soaking in bioproducts, percentage of infection *F. moniliforme* of rice seeds treated with lime-based formulation (formulate 3) were found 4.00, 1.00 and 3.00% in concentration of 0.5, 1.0 and 2.0 g/l, respectively. While percentage inhibition of infected fungi was found 94.03, 98.51 and 95.52% in each concentration. Then, treated-rice seeds of each treatment were separately planted into pot and evaluated for survival seedling at 2 months after planting. The results showed that rice seeds treated with lime-based formulation (formulate 3) at concentration 2.0 g/l, both 24 and 48 h, completely survived (100%) in pots. Then dry weight, of 2-month-old seedlings was separately gathered including stems, leaves and roots. Rice seeds treated with lime-based formulation (formulate 3) at concentration 0.5 g/l for 24 h gave stem dry weight as 3.46 g and found 5.52 and 5.22 g at treatments of 1.0 and 2.0 g concentration for 48 hrs, respectively.

The marl-based formulation (formula 2) was selected to test for rice bakanae disease reduction under greenhouses conditions by soaking rice seeds at 2.0 g/l for 48 h. At 2 months after inoculation, 60% of seedling survived in pot. The plant height was found 102.25 cm, while untreated control found only 25.00 cm. The seedling dry weights of stems, leaves and roots were found 3.61, 3.40 and 2.59 g, while untreated control found 0.98, 0.77 and 0.16 g, respectively. Finally, various application method of marl-based formulation (formula 2), including soaking seed (2 g/ml), raising seed (2 g/100 seeds) and spraying method (2 g/l) were identified the most suitable method, and showed that survival seedlings in pot were 65.00, 70.00 and 75.00% after treatment, respectively. Moreover, the plant heights were found 86.00, 95.75 and 103.00 cm, respectively while untreated control found 100.00 cm. In addition, the seedling dry weights of stems, leaves and roots from soaking seed method were found 5.97, 5.26 and 1.50 g, while raising seed method found 5.16, 4.50 and 1.62 g. and found 5.88, 6.74 and 1.65 g

in raising method, comparable to untreated control which found 2.67, 2.36 and 0.17 g, respectively.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved