รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

กลไกการเป็นปฏิปักษ์และการประยุกต์ใช้เชื้อ *Streptomyces griseus* subsp. *formicus* เพื่อควบคุมโรครากขาวของยางพารา

Mechanism of Antagonistic and Applications of *Streptomyces griseus* subsp. *formicus* to Control White Root Disease of Rubber

คณะนักวิจัย

ปฏิมาพร ปลอดภัย

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินรายได้มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ประจำปีงบประมาณ 2556 รหัสโครงการ NAT560401S

ชื่อโครงการวิจัย:

กลไกการเป็นปฏิปักษ์และการประยุกต์ใช้เชื้อ *Streptomyces griseus* subsp. *formicus* ในการควบคุมโรครากขาวของยางพารา

Mechanism of Antagonistic and Applications of *Streptomyces griseus* subsp. *formicus* to Control White Root Disease of Rubber

ชื่อผู้วิจัย ดร.ปฏิมาพร ปลอดภัย

หน่วยงานที่สังกัด ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จ. สงขลา 90112
โทรศัพท์ 0-7428-6109
E-mail: patimapon.p@psu.ac.th

สารบัญ

เรื่อง **หน้า**

สารบัญ....-3-
รายการตาราง....-5-
รายการภาพประกอบ....-6-
กิตติกรรมประกาศ....-7-
บทคัดย่อ....-8-
Abstract....-8-
บทที่ 1 บทนำ....1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย....1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย....2
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย....2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ....2
บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง....3
2.1 โรครากขาวของยางพารา....3
2.2 เชื้อ *Streptomyces* sp.....4
2.3 การใช้ *Streptomyces* sp. เพื่อควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช....5
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย....7
3.1 ทดสอบการยับยั้งของ *Streptomyces griseus* subsp. *formicus* ต่อเชื้อราโรครากขาว....7
3.2 จำแนกชนิดของเชื้อราโรครากขาวด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล....7
3.3 ศึกษากลไกการยับยั้งของเชื้อ *Streptomyces griseus* subsp. *formicus* ต่อเชื้อโรครากขาว....9
3.4 การเตรียมเชื้อ *Streptomyces griseus* subsp. *formicus* ในปุ๋ยอินทรีย์อัดเม็ด มูลวัว และมูลไก่....10
3.5 การทดสอบประสิทธิภาพของ *Streptomyces griseus* subsp. *formicus* ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Rigidoporus microporus* ในหลอดทดลอง....10
3.6 ประเมินศักยภาพของ *Streptomyces griseus* subsp. *formicus* ในการควบคุมโรครากขาว....11

สารบัญ

เรื่อง **หน้า**

บทที่ 4 ผลการทดลอง 12

4.1 ทดสอบการยับยั้งของ *Streptomyces griseus* subsp. *formicus* ต่อเชื้อราโรครากขาว 12

4.2 จำแนกชนิดของเชื้อราโรครากขาวด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล 13

4.3 ศึกษากลไกการยับยั้งของเชื้อ *Streptomyces* sp. ต่อเชื้อสาเหตุโรครากขาว 18

4.4 ทดสอบประสิทธิภาพของ *Streptomyces griseus* subsp. *formicus* ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Rigidoporus microporus* ในหลอดทดลอง 23

4.5 ประเมินศักยภาพของ *Streptomyces griseus* subsp. *formicus* ในการควบคุมโรครากขาว 24

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 25

เอกสารอ้างอิง 26

ภาคผนวก 29

รายการตาราง

ตารางที่ **หน้า**

Table 3.1 PCR reaction mixture components 8

Table 4.1 Antagonism of *Streptomyces griseus* subsp. *formicus* on *Rigidoporus microporus* using dual culture technique on PDA plates 12

Table 4.2 Sequences producing significant alignments of *Rigidoporus microporus* RIG 56 15

Table 4.3 Percentage changes of ergosterol levels of *Rigidoporus microporus* RIG 56 treated

Table 4.4 Antifungal effects of Streptomyces bioproducts against *Rigidiporus microporus* RIG 56 using suppressive soil technique 23

Table 4.5 Efficiency of *Streptomyces* bioproducts for controlling white root rot fungal disease under pot culture conditions 24

รายการภาพประกอบ

ภาพประกอบที่ **หน้า**

Fig. 4.1 SEM micrographs of *Rigidoporus microporus* hyphae. Control culture with normal fungi showing healthy hyphal growth (A). The hyphae treated with *Streptomyces griseus* subsp. *formicus* shows hyphal tips appearing shriveled and undifferentiated (B). 18

Fig. 4.2 GC-MS total-ion chromatogram of intracellular metabolite produced by *Rigidoporus microporus* RIG 56 treated with 1% DMSO for 24 h. 20

Fig. 4.3 GC-MS total-ion chromatogram of intracellular metabolite produced by *Rigidoporus microporus* RIG 56 treated with *Streptomyces griseus* subsp. *formicus* for 24 h. 21

Fig. 4.4 GC-MS total-ion chromatogram of intracellular metabolite produced by *Rigidoporus microporus* RIG 56 treated with propiconazole at a concentration of 1,000 µg ml^{-1} 22

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยในนี้ได้รับจัดสรรงบประมาณสนับสนุนทุนวิจัย ประเภททุนดรุณาจารย์ ปีงบประมาณ 2556 และความร่วมมืออย่างดียิ่งจากภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ทำให้โครงการนี้ดำเนินมาด้วยดีตั้งแต่ต้นจนเสร็จสิ้นโครงการ คณะผู้ศึกษาขอขอบพระคุณผู้มีส่วนร่วมในการศึกษาดังกล่าวเป็นอย่างยิ่ง

คณะผู้วิจัย

ชื่อโครงการวิจัย: กลไกการเป็นปฏิปักษ์และการประยุกต์ใช้เชื้อ *Streptomyces griseus* subsp. *formicus* ในการควบคุมโรครากขาวของยางพารา

ชื่อผู้วิจัย ดร.ปฏิมาพร ปลอดภัย

หน่วยงานที่สังกัด ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

บทคัดย่อ

โรครากขาวของยางพาราเป็นโรคที่พบระบาดมากที่สุดในพื้นที่ปลูกทั่วโลก งานวิจัยนี้ได้นำเสนอการประเมินประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces griseus* subsp. *formicus* ในการป้องกันพืชจากการเข้าทำลายของเชื้อราราก ขาว *Rigidoporus microporus* โดยทำการศึกษาผลของเชื้อ *S. griseus* subsp. *formicus* ต่อลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *R. microporus* RIG 56 ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าเชื้อ *S. griseus* subsp. *formicus* ทำให้เส้นใยเชื้อราเจริญผิดปกติ เส้นใยแตกแขนงลดลง รวมทั้งปลายเส้นใยไม่เจริญ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากเชื้อปฏิปักษ์ผลิตสารเมตาบอไลท์ทุติยภูมิไปยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์เยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อรา ผลการทดสอบในสภาพเรือนทดลองพบว่าเชื้อ *S. griseus* subsp. *formicus* ลดการเกิดโรครากขาวได้ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ดังนั้นการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์นี้จึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่จะใช้เพื่อควบคุมการระบาดของโรครากขาวของยางพารา

คำสำคัญ: การควบคุมโดยชีววิธี, โรครากขาว, ยางพารา, *Streptomyces griseus*

Abstract

White root rot of rubber is one of the most important diseases affecting this crop worldwide. This work presents the evaluation of the capacity of *Streptomyces griseus* subsp. *formicus* to protect rubber plants against *Rigidoporus microporus*. Effects of *S. griseus* subsp. *formicus* on morphology of plant pathogenic fungi *R. microporus* RIG 56 was observed by scanning electron microscopy. The micrographs of mycelia treated with *S. griseus* subsp. *formicus* illustrated aberrant surface morphology folding with the formation of short branches and undifferentiated tips. Secondary metabolite production by *S. griseus* subsp. *formicus* may inhibit the ergosterol biosynthesis pathway. In greenhouse experiments, application of *S. griseus* subsp. *formicus* significantly reduced the incidence of white root rot fungal disease compared with untreated controls. Introducing antagonistic bacteria represent an alternative or complementary strategy for the control of this disease.

Keywords: Biological control, White root rot, Rubber, *Streptomyces griseus*