การศึกษาเชื้อราเอนโดไฟท์จากใบข้าวหอมกระดังงาและคุณสมบัติการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์

Study on the Endophytic Fungi from Leaves of Hom Kradung-Nga Rice and Their Antagonistic Property

สายทอง แก้วฉาย ปร.ด. (Saithong Kaewchai, Ph.D.)[1]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ แยกเชื้อราเอนโดไฟท์จากใบของข้าวหอมกระดังงา และศึกษาการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อราเอนโดไฟท์ต่อเชื้อรา *Pyricularia grisea* สาเหตุโรคไหม้ของข้าว โดยแยกเชื้อราเอนโดไฟท์จากใบข้าว วางบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) ได้เชื้อราเอนโดไฟท์ทั้งหมด 93 ไอโซเลท เปอร์เซ็นต์ชิ้นพืชที่พบเอนโดไฟท์เจริญออกมาได้ 72.2% จำนวนชิ้นพืชที่มีเชื้อราเจริญออกมาเท่ากับ 4.33 และจำนวนไอโซเลทของเชื้อเอนโดไฟท์ต่อชิ้นพืชเท่ากับ 1.2 พบว่าเป็นเชื้อรา *Chaetomium* sp. (10.75%) *Penicillium* sp. (8.62%) *Aspergillus* sp. (6.45%) *Trichoderma* sp. (2.15%) และ *Xylaria* sp. (1.07%), *Fusarium* sp. (1.07%) *Colletotrichum* sp. (1.07%) และ sterile form ในการทดสอบการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ พบว่า ไอโซเลทที่มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *P. grisea* สาเหตุโรคไหม้ของข้าว มากที่สุด 2 ไอโซเลท คือ NHS021 และ NHS022 เป็น 95.4 และ 91.5 ตามลำดับ ซึ่งเชื้อทั้งสองไอโซเลทเป็น *Trichoderma* sp.

คำสำคัญ : เอนโดไฟท์ เชื้อราปฏิปักษ์ ข้าวหอมกระดังงา

Abstract

This research aimed to isolate endophytic fungi from leaves of HomKradung-Nga rice and study their antagonistic property to control *Pyricularia grisea* causing agent of rice blast. The PDA (Potato dextrose agar) was used as isolation media. The total endophytic fungi isolates were 93 isolates. The colonization frequency was 72.2% and number of segments colonized by fungi was 4.33. The colonized fungi per segment was 1.2. The endophytic fungi were *Chaetomium* sp. (10.75%), *Penicillium* sp. (8.62%), *Aspergillus* sp. (6.45%), *Trichoderma* sp. (2.15%), *Xylaria* sp. (1.07%), *Fusarium* sp. (1.07%) *Colletotrichum* sp. (1.07%) and sterile form. The isolates NHS021 and NHS022 showed the highest percent inhibition to *P. grisea* causing agent of rice blast at 95.4 and 91.5%, respectively which identified as *Trichoderma* sp.

Keywords : Endophyte, antagonistic fungi, Hom Kradung-Nga Rice

[1] อาจารย์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์

บทนำ

ข้าว (*Oryza sativa*) เป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญยิ่งของประเทศไทยเนื่องจากข้าวเป็นอาหารหลักของคนไทย ดังนั้นการปลูกข้าวจะปลูกทั่วทุกภาคของประเทศ การปลูกข้าวมีจุดประสงค์แตกต่างกันไปเช่นเกษตรกรที่มีพื้นที่มากจะปลูกข้าวไว้บริโภคและขายในส่วนที่เหลือ ส่วนเกษตรกรที่มีพื้นที่น้อยจะปลูกข้าวไว้บริโภคเป็นหลัก พันธุ์ข้าวที่ปลูก จะปลูกโดยให้เหมาะสมกับพื้นที่ ลักษณะดินฟ้าอากาศ และพันธุ์ที่เหมาะสมกับการบริโภค ข้าวที่ปลูกจะมีทั้งที่เป็นข้าวพันธุ์เพื่อการค้าและพันธุ์พื้นเมือง ซึ่งภาคใต้เป็นแหล่งที่มีพันธุ์ข้าวพื้นเมืองมากที่สุดในประเทศไทย (ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง, 2550) จังหวัดนราธิวาส เป็นจังหวัดหนึ่งในภาคใต้ ที่การปลูกข้าวส่วนใหญ่ปลูกเพื่อการบริโภค พันธุ์ข้าวที่ปลูกคือข้าวพันธุ์พื้นเมืองในท้องถิ่นซึ่งเป็นพันธุ์ที่เกษตรกรนิยมบริโภค พันธุ์ข้าวพื้นเมืองของจังหวัดนราธิวาส ได้แก่ เต่าร้าง ขม บางกอก เหนียวหลันตัน บือลำ เหนียวลูกผึ้ง เบา แม่หม้าย มะลิ เหนียวเนียง สี่สิบ เหนียวดอกมุด เหนียวล้างปิ้ง ข้าวนก ข้าวปลอก อาเนาะนาฆอ ยาโกบะ ปูยู นางฉิ้น คล้าหนัก ข้าวหยี งาช้าง หอมกระดังงา เป็นต้น (ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง, 2550) โดยเฉพาะข้าวหอมกระดังงา มีการปลูกเพื่อผลิตเป็นข้าวกล้อง ลักษณะของข้าวพันธุ์นี้คล้ายกับข้าวสังข์หยดของจังหวัดพัทลุง สีน้ำตาลเข้ม เม็ดยาวรี มีความหอมกว่าคล้ายกับข้าวขาวดอกมะลิ นอกจากนี้ยังมีสรรพคุณทางยาช่วยรักษาอาการเหน็บชาได้ดีจึงเป็นที่นิยมรับประทานกันมากในปัจจุบันจนได้รับการสนับสนุนให้มีการผลิตข้าวพันธุ์นี้มากขึ้น ในการปลูกข้าวจะมีโรคหลายชนิดเข้าทำลาย เช่น โรคไหม้ โรคกาบใบแห้ง โรคใบจุดสีน้ำตาล โรคใบวงสีน้ำตาล โรคกาบใบเน่า โรคเมล็ดด่าง เป็นต้น ซึ่งโรคเหล่านี้มีสาเหตุจากเชื้อรา เชื้อแบคทีเรีย ไวรัส เป็นต้น และโรคเหล่านี้อาจทำความเสียหายกับข้าวที่ปลูก ในการป้องกันกำจัดโรคข้าว ไม่แนะนำให้ใช้สารเคมี เนื่องจากจะมีการตกค้างของสารเคมีในข้าว และในสภาพแวดล้อม (Naik, Shashikala & Krishnamurthy, 2009) ดังนั้นในการป้องกันกำจัด อาจใช้ชีววิธี เช่น การใช้เชื้อรา เชื้อแบคทีเรีย ที่เป็นเชื้อปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคพืช ในปัจจุบันมีการศึกษาเชื้อราเอนโดไฟท์ (endophyte) ที่มีประสิทธิภาพ มาใช้ในการการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืช

เชื้อเอนโดไฟท์ เป็นเชื้อที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืชเกือบทุกชนิด ทั้งในส่วนที่เป็น ลำต้น ใบ กิ่ง และราก โดยไม่ทำอันตรายกับพืช อาจเป็นทั้งเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา สาหร่าย (Petrini, 1991; Schulz & Boyle, 2005) มีบทบาทสำคัญในการช่วยลดการกินของสัตว์กินพืช ทนแล้ง ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Verma and Kharwar. 2006; Hyde & Soytong, 2008; Naik et al., 2009) ทำให้พืชต้านทานต่อการเข้าทำลายของแมลง ไส้เดือนฝอย และต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อโรคพืช (Naik et al., 2009) นอกจากนี้ยังช่วยตรึงไนโตรเจน (Rahman & Saiga, 2005) เชื้อราเอนโดไฟท์สามารถแยกได้จากส่วนต่างๆ ของพืช เช่น ใบ ก้านใบ ลำต้น กิ่ง เมล็ด และ ราก (Lu et al., 2000) ปัจจุบันได้มีการศึกษาและแยกเชื้อราเอนโดไฟท์จากพืชหลายชนิด และค้นพบเชื้อรามากมาย เชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกได้ส่วนใหญ่เป็น ascomycetes (Hyde and Soytong, 2008) เช่น เลขา มาโนช และคณะ (2544) ได้แยกเชื้อราเอนโดไฟท์จากใบของกล้วยไม้ดิน เชื้อราที่พบส่วนใหญ่ ได้แก่ ได้แก่ *Colletotrichum* sp., *Nodulosporium* sp. และ Xylariaceae และเป็นเชื้อราเอนโดไฟท์พวกที่ไม่สร้างสปอร์ Huang et al. (2008) ได้ศึกษาเชื้อราเอนโดไฟท์จากพืชสมุนไพรของจีน 29 ชนิด พบเชื้อราเอนโดไฟท์มากมายหลายชนิด ที่เด่นๆ ได้แก่ *Alternaria, Colletotrichum, Phoma, Phomopsis, Xylaria* และ mycelia sterilia (เชื้อราที่ไม่พบการสร้างสปอร์) Pinruan et al. (2010) ศึกษาเชื้อราเอนโดไฟท์จากปาล์มน้ำมัน พบ เชื้อราในกลุ่ม Xylariaceous และ Basidiomycete ส่วนในข้าวได้มีการศึกษาเชื้อราเอนโดไฟท์จากส่วนต่างๆ เช่น ใบ กาบใบ ลำต้น พบเชื้อรา เช่น *Chaetomium globosum, Penicillium chrysogenum, Cladosporium cladosporioides* (Naik, Shashikala & Krishnamurthy, 2009) *Acremonium* sp., *Alternara* sp., *Ampelomyces, Arthrinium, Aspergillus* sp., *Botryosphaeria* sp., *Colletotrichum* sp., *Fusarium* sp., *Paecilomycetes* sp., *Pyricularia* sp., *Helminthosporium* sp. (Yuan et al., 2011; Tian et al., 2004)

ปัจจุบันได้มีการศึกษาอย่างกว้างขวางถึงความหลากหลายของเชื้อราเอนโดไฟท์ในพืชแต่ละชนิด และนำเชื้อราเหล่านี้มาปรับใช้ประโยชน์ โดยเฉพาะการนำมาควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช เช่น ราเอนโดไฟท์จากกล้วยไม้ดิน สามารถควบคุมเชื้อรา *Rhizoctonia* สาเหตุโรคกาบใบแห้งของข้าว ข้าวโพด และทุเรียน ได้ (เลขา มาโนช และคณะ, 2544) มีรายงานเอนโดไฟท์ *Chaetomium globosum, Penicillium chrysogenum* และ *Cladosporium cladosporioides* มีคุณสมบัติต้านทานการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชด้วย (Naik et al., 2009) Tain et al. (2004) ศึกษาเอนโดไฟท์จากข้าวและคุณสมบัติการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืช พบเชื้อรา *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp. *Pacecilomyces* sp. และพวกเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์ พบว่า *Fusarium* sp. มีคุณสมบัติควบคุมเชื้อรา สาเหตุโรคไหม้ของข้าวที่ 54.75% นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาเอนโดไฟท์ใช้ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคข้าว เช่น *Magnaporthe grisea* สาเหตุโรคไหม้ของข้าว และ *Corticium sasaki* สาเหตุโรคกาบใบไหม้ของข้าว พบว่า เอนโดไฟท์บางไอโซเลทสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืชได้มากกว่า 90% (Park et al., 2003) Mejia et al. (2008) ได้แยกเชื้อจากใบโกโก้ (*Theobroma cacao*) และศึกษาการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ต่อเชื้อ *Phytopthora palmivora* โรคผลเน่าของโกโก้ นอกจากนี้ยังมีรายงานวิจัยว่าเอนโดไฟท์ยังเป็นแหล่งสำคัญของ secondary metabolites (Naik et al., 2009) ซึ่งสารเหล่านี้มีการศึกษาวิจัยในการควบคุมโรค (Schulz et al., 1999; Boontim and Lamyong, 1998) เช่นเชื้อราเอนโดไฟท์ *Chaetomium* spp. สามารถผลิตสารที่สามารถยับยั้งเชื้อรา *Pyrenophora tritici-repentis* ในห้องปฏิบัติการได้ (Istifadah et al., 2006) *Colletotrichum* sp. ผลิตสาร metabolites และสามารถยับยั้งการเกิดโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Gaeumannomyces graminis var. tritici, Rhizoctonia cerealis, Helminthosporium sativum* และ *Phytophthora capisici* (Lu et al., 2000) *Colletotrichum gloeosporioides* ที่แยกได้จากต้น *Cryptocarya mandioccana* Nees สามารถผลิตสาร metabolites ที่ต่อต้านเชื้อราสาเหตุโรคพืช *Cladosporium sphaerospermum* และ *Cladosporium cladosporioides* ได้ (Inácio et al., 2006) เป็นต้น

ปัจจุบันได้มีการศึกษาอย่างกว้างขวางถึงความหลากหลายของเชื้อราจำพวกนี้ในพืชแต่ละชนิด และนำเชื้อราเหล่านี้มาปรับใช้ประโยชน์มากมาย ในข้าวก็เช่นเดียวกันมีเชื้อราเหล่านี้อาศัยอยู่ อย่างไรก็ตามเชื้อราพวกเอนโดไฟท์ ในข้าวพันธุ์พื้นเมืองของนราธิวาส ยังมีการศึกษาน้อย โดยเฉพาะพันธุ์หอมกระดังงาซึ่งยังไม่มีรายงาน งานวิจัยนี้ได้ศึกษาถึงความหลากหลายของเชื้อราเอนโดไฟท์ในขาวหอมกระดังงา และนำเชื้อราเหล่านี้มาใช้ในการควบคุมเชื้อรา *Pyricularia grisea* สาเหตุโรคไหม้ของข้าวในห้องปฏิบัติการ

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาชนิดของเชื้อราเอนโดไฟท์จากใบของข้าวหอมกระดังงา
2. เพื่อศึกษาเชื้อราเอนโดไฟท์ที่ที่แยกได้จากใบของข้าวหอมกระดังงาในการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ของข้าว

ระเบียบวิธีการวิจัย

1. การแยกเชื้อราเอนโดไฟท์จากใบข้าวหอมกระดังงา

เก็บใบข้าวหอมกระดังงาที่สมบูรณ์ ไม่อ่อนหรือแก่เกินไป จำนวน 15 ใบ นำมาแยกเชื้อราเอนโดไฟท์ โดยล้างใบข้าวให้สะอาดด้วยน้ำไหล ตัดเนื้อเยื่อใบและเส้นกลางใบข้าว บริเวณโคนใบ กลางใบ และปลายใบ จำนวน 6 ชิ้นต่อใบ ตัดเป็นรูปสี่เหลี่ยมขนาด 3 x 3 มิลลิเมตร แช่ในแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 2 นาที และแช่ในคลอรอกซ์ 10% เป็นเวลา 1 นาที หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองฆ่าเชื้อ แล้วนำไปวางในจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร PDA (Potato Dextrose Agar)

(เลขา มาโนช และคณะ, 2544) บ่มที่อุณหภูมิห้อง (28-32 องศาเซลเซียส) สังเกตุการเปลี่ยนแปลงจนกว่าจะมีเส้นใยของเชื้อราเจริญออกมาจากชิ้นส่วนของข้าว แล้วใช้เข็มเขี่ยลนไฟฆ่าเชื้อตัดชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้อรา โดยตัดบริเวณปลายเส้นใย นำไปใส่ในอาหาร PDA เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ เก็บเชื้อบริสุทธิ์ในหลอดอาหารเอียง PDA จำแนกชนิดของเชื้อที่แยกได้โดยศึกษาลักษณะรูปร่างสปอร์ ลักษณะทางโคโลนี สำหรับเอนโดไฟท์ที่ไม่สามารถสร้างสปอร์จะจัดอยู่ในพวก sterile form คำนวณค่าความถี่ของการพบเชื้อรา โดยวิธีของ Gond et al. (2007) โดย %CF คือ เปอร์เซ็นต์ความถี่ของการพบเชื้อรา Ncol คือ จำนวนของชิ้นส่วนพืชที่มีเชื้อราเจริญออกมา และ Nt คือ จำนวนชิ้นส่วนพืชที่ศึกษา

2. การศึกษาการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ของเอนโดไฟท์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ของข้าว

นำเชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกได้มาทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Pyricularia grisea* สาเหตุโรคไหม้ของข้าว ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยข้าวปัตตานี โดยวิธี dual culture โดยเลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคพืช และเชื้อราเอนโดไฟท์ ในอาหาร PDA เป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นใช้เข็มเขี่ยลนไฟฆ่าเชื้อตัดชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเชื้อราบริเวณขอบโคโลนี แล้วนำไปวางบนอาหาร PDA ในจานเดียวกัน โดยวางให้ห่างจากขอบจาน 2 เซนติเมตร และวางชิ้นวุ้นของเชื้อราสาเหตุโรคพืชเพียงอย่างเดียว เป็นจานควบคุม ทำการทดลอง 4 ซ้ำ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 วัน วัดความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อก่อโรคในจานทดสอบ และวัดความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อก่อโรคในจานควบคุม หลังจากนั้นคำนวณเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อก่อโรค (%PI = [(Dc-Dd)/Dc] x 100 โดย %PI คือ เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อก่อโรค Dc คือ ความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อก่อโรคในจานควบคุม และ Dd คือความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อก่อโรคในจานทดสอบ

ผลการวิจัยและวิจารณ์

1. เชื้อราเอนโดไฟท์จากใบข้าวหอมกระดังงา

จากการแยกเชื้อราเอนโดไฟท์จากใบข้าวหอมกระดังงา โดยตัดเนื้อเยื่อ 6 ชิ้นต่อใบวางบนอาหาร PDA สามารถแยกเชื้อราเอนโดไฟท์ได้ทั้งหมด 93 ไอโซเลทคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ชิ้นพืชที่พบเอนโดไฟท์เจริญออกมาได้ 72.2% โดยมีจำนวนชิ้นพืชที่มีเชื้อราเจริญออกมาเท่ากับ 4.33 และจำนวนไอโซเลทของเชื้อเอนโดไฟท์ต่อชิ้นพืชเท่ากับ 1.2 นอกจากนี้ยังพบว่า เป็นเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์บนอาหาร PDA (sterile form) 59.14% และเป็นเชื้อราที่สร้างสปอร์บนอาหาร PDA 40.86% โดยเชื้อราที่สร้างสปอร์ พบว่าเป็นเชื้อรา *Chaetomium* sp. (10.75%), *Penicillium* sp. (8.62%), *Aspergillus* sp. (6.45%), *Trichoderma* sp. (2.15%), *Xylaria* sp. (1.07%), *Fusarium* sp. (1.07%), *Colletotrichum* sp. (1.07%) และ ไม่สามารถจำแนกได้ (unidentified) (9.68%) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Naik et al. (2009) ที่แยกเชื้อราเอนโดไฟท์จากข้าวและเชื้อราที่พบมากที่สุดคือ *Chaetomium globosum, Penicillium chrysogenum* และ *Cladosporium cladosporioides* นอกจากนี้ยังพบ *Aspergillus, Fusarium, Trichoderma* และเชื้อรา sterile form นอกจากนี้ Yuan et al. (2010) พบว่าเชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากข้าวป่า (*Oryza granulate*) พบว่าเป็น Ascomycota มากที่สุด เช่น *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp. *Fusarium* sp., *Trichoderma* sp., *Phomopsis* sp., *Xylaria* sp. Tian et al. (2004) พบว่าเชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากข้าว และที่พบมากคือ *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., และ *Aspergillus* sp. นอกจากนี้ Hyde & Soytong (2008) รายงานว่าเชื้อราเอนโดไฟท์ที่เด่นๆ ที่สามารถแยกออกมาจากเนื้อเยื่อพืช คือ *Colletotrichum, Phomopsis* และ *Xylaria*

ในงานวิจัยนี้พบเชื้อราเอนโดไฟท์ที่เป็น sterile form มากที่สุด ซึ่งมีรายงานว่าเชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกได้มักเป็นพวกที่ไม่สร้างสปอร์ (non-sporulating isolates) Ascomycets และ พวก anamorphs ของ Ascomycets (Pinruan et al., 2010) ซึ่งเชื้อราเอนโดไฟท์บางชนิดไม่สามารถเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ หรือเจริญได้แต่ช้ามาก หรือเชื้อราบางชนิด ต้องการอาหารที่เฉพาะเจาะจง ดังนั้นอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดาไม่สามารถแยกเชื้อราเอนโดไฟท์บางชนิดได้ จึงแยกได้เฉพาะที่เจริญเร็ว

ดังนั้นยังอาจมีเชื้อราเอนโดไฟท์อีกหลายชนิดที่ยังไม่สามารถแยกออกมาจากเนื้อเยื่อพืชได้ (Hyde and Soytong, 2008) ประกอบกับในปัจจุบัน การจัดจำแนกเชื้อนอกจากอาศัยลักษณะภายนอก เช่น ลักษณะสปอร์ การสร้างสปอร์ สีสปอร์ สีโคโลนี ลักษณะโคโลนี แล้วต้องอาศัยเทคนิคทางโมเลกุล ซึ่งนอกจากจะช่วยจัดจำแนกเชื้อราที่สร้างสปอร์ในอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว ยังช่วยจัดจำแนกเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์ด้วย (Schulz and Boyle, 2005)

2. การศึกษาการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ของเอนโดไฟท์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ของข้าว

จากการแยกเชื้อราเอนโดไฟท์จากใบข้าวหอมกระดังงา ทั้งหมด 93 ไอโซเลทนำมาทดสอบความเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *P. grisea* สาเหตุโรคไหม้ของข้าว โดยทดสอบในจานเลี้ยงเชื้อแบบ dual culture โดยวัดการเจริญเติบโตใน 15 วัน ดังภาพที่ 1พบว่าไอโซเลทที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตมากกว่า 80% มีทั้งหมด 8 ไอโซเลท คือ NHL012 NHL021 NHL042 NHL051 NHL200 NHL182 NHS021 และ NHS022 (ตารางที่ 1) โดย 6 ไอโซเลทแรกเป็นพวก sterile form และ NHS021 และ NHS022 เป็น *Trichoderma* sp. (ภาพที่ 1) ซึ่ง *Trichoderma* sp. เป็นเชื้อที่มีรายงานมากมายว่าเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิด เช่น *Rhizoctonia* spp., *Pythium* spp., *Botrytis cinerea, Fusarium* spp., *Phythopthora palmivora, P. parasitica* ในปัจจุบันมีรายงานว่า *Trichoderma* หลายชนิดที่เป็นเชื้อราปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพ เช่น *T. harzianum, T. viride, T. virens* (สายทอง แก้วฉาย, 2555) และมีการผลิตเป็นรูปแบบผลิตภัณฑ์เพื่อการค้ามากมาย (Kaewchai at al., 2009) ซึ่ง *Trichoderma* sp. ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อพืชปกติที่เป็นเชื้อราเอนโดไฟท์ยังมีรายงานน้อย แต่อย่างไรก็ตามเอนโดไฟท์ที่สามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชในห้องปฏิบัติการโดยวิธี dual culture เช่น *Chaetomium globosum* ซึ่งสามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืช คือ *Rhizoctonia solani, Nigospora oryzae, Macrophomina phaseolina, Phoma sorghina* และ *Alternaria alternate* ที่มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งเป็น 62.13, 64.29, 69.74, 61.11 และ 62.15 ตามลำดับ (Naik, Shashikala & Krishnamurthy, 2009) และ *Fusarium* sp. และ *Streptomyces griseofuscus* ซึ่งเป็นเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากข้าวสามารถควบคุมเชื้อรา *Magnaporthe grisea* สาเหตุโรคไหม้ของข้าว ในห้องปฏิบัติการได้ 54.1 และ 54.4% ตามลำดับ (Tian et al., 2004)

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา Pyricularia grisea โดยไอโซเลทของเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากใบข้าวหอมกระดังงา

ไอโซเลท	การยับยั้ง (%)	ไอโซเลท	การยับยั้ง (%)	ไอโซเลท	การยับยั้ง (%)
NHL010	45.0	NHL101	44.2	NWL190	48.9
NHL011	46.9	NHL102	57.8	NWL200	66.7
NHL012	82.5	NHL103	45.3	NWL201	46.7
NHL013	46. 9	NHL110	52.5	NWL202	39.7
NHL014	59.2	NHL120	54.4	NWL203	47.2
NHL015	47.2	NHL121	58.6	NWL204	33.2
NHL020	36.9	NHL130	37.2	NWL205	63.3
NHL021	85.8	NHL140	52.2	NWL206	65.5
NHL022	51.4	NHL150	45.6	NWL207	34.1



ตารางที่ 1 (ต่อ) เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา Pyricularia grisea โดยไอโซเลทของเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากใบข้าวหอมกระดังงา

ไอโซเลท	การยับยั้ง (%)	ไอโซเลท	การยับยั้ง (%)	ไอโซเลท	การยับยั้ง (%)
NHL030	52.2	NHL151	57.5	NHS001	29.0
NHL031	57.2	NHL170	62.8	NHS002	58.3
NHL032	61.7	NHL180	58.5	NHS003	50.3
NHL040	57.5	NHL182	81.1	NHS004	48.3
NHL041	57.2	NHL200	82.2	NHS005	56.7
NHL042	81.0	NWL010	64.2	NHS006	75.3
NHL051	80.1	NWL020	66.9	NHS007	40.6
NHL052	36.9	NWL030	43.6	NHS008	56.4
NHL053	63.9	NWL040	52.8	NHS009	40.8
NHL060	45.3	NWL050	47.2	NHS010	70.8
NHL061	54.7	NWL060	56.1	NHS011	51.4
NHL070	55.0	NWL070	62.8	NHS012	46.8
NHL071	30.3	NWL080	47.8	NHS013	60.0
NHL080	57.2	NWL090	48.1	NHS014	63.6
NHL081	45.3	NWL110	63.3	NHS015	42.2
NHL082	68.1	NWL120	47.5	NHS016	59.2
NHL083	39.4	NWL130	46.7	NHS017	50.8
NHL084	50.6	NWL140	63.6	NHS018	58.1
NHL090	52.2	NWL150	47.8	NHS019	43.6
NHL091	49.7	NWL160	47.2	NHS020	34.2
NHL092	42.2	NWL170	46.4	NHS021	95.4
NHL100	47.8	NWL180	63.3	NHS022	91.5


NHL012


NHL021


NHL042


NHL051


NHL200


NHL182


NHS021


NHS022

ภาพที่ 1 การยับยั้งของเอนโดไฟท์ไอโซเลทต่างๆ ต่อเชื้อรา *Pyricularia grisea* สาเหตุโรคไหม้ของข้าว

สรุป

เชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากใบข้าวหอมกระดังงา จำนวน 93 ไอโซเลทพบว่าส่วนใหญ่เป็น *Chaetomium* sp., *Penicillium* sp. และ *Aspergillus* sp. และในการทดสอบความเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Pyricularia oryzae* สาเหตุโรคใบไหม้ของข้าวพบว่า *Trichoderma* sp. NHS021 และ NHS022 มีเปอร์เซนต์ยับยั้งการเจริญสูงที่สุด

ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาเชื้อราเอนโดไฟท์จากใบข้าวพื้นเมืองพันธุ์หอมกระดังงาของจังหวัดนราธิวาส และศึกษาการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ของเชื้อราเอนโดไฟท์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ของข้าว ซึ่งพบว่าเชื้อรา *Trichoderma* sp. สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราสาเหตุโรคข้าวมากที่สุดในห้องปฏิบัติการ แต่อย่างไรก็ตามในขั้นตอนต่อไป ควรศึกษาหรือทดสอบในระดับเรือนทดลองหรือทดสอบในกระถางถึงประสิทธิภาพของเชื้อราปฏิปักษ์นี้ในการควบคุมโรคไหม้ของข้าว หรืออาจรวมถึงการศึกษาถึงรูปแบบการใช้เชื้อราปฏิปักษ์ที่ง่ายสะดวก และมีประสิทธิภาพ หรือศึกษาถึง secondary metabolites ที่เชื้อราผลิตออกมาที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช รวมถึงการทดสอบการเป็นพิษของสารเหล่านี้ต่อสิ่งมีชีวิตอื่นๆ เพื่อพัฒนาการใช้เชื้อราปฏิปักษ์ต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยในเรื่องนี้ และขอขอบคุณ ศูนย์วิจัยข้าวปัตตานี จังหวัดปัตตานี ที่อนุเคราะห์เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ของข้าว

รายการอ้างอิง

เลขา มาโนช กัญญา เจริญไทย คะนึงนิจ บุศราคำ พรพิมล อธิปัญญาคม อภิรัชต์ สมฤทธิ์ และ อรอุมา เจียมจิตต์. (2544). เชื้อราโรคพืช ราเอนโดไฟท์ และราดินในประเทศไทย. **การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39,** 502-510.

สายทอง แก้วฉาย. (2555). การใช้ไตรโคเดอร์มาในการควบคุมโรคพืช. **วารสารมหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์, 4**(3), 108-123.

ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง. (2550). **ข้าวพันธุ์พื้นเมืองภาคใต้เล่ม 1.** สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว.

Boontim, N. & Lamyong, S. (1998). Some Metabolites of Endophytic Fungi are Potent Inhibitors of Bacterial & Fungal Growths. **Thaksin Journal, 1**(2), 89-92.

Gond, S.K., Verma, V.C., Kumar, A., Kumar, V. & Kharwar, R.N. (2007). Study of endophytic fungal community from different parts of AlglemarmelosCorreae (Rutaceae) from Varanasi (India). **World Journal Microbiology Biotechnology, 23**, 1371-1375.

Huang, W.Y., Cai, Y.Z., Hyde, K.D., Corke, H. & Sun, M. (2008). Biodiversity of endophytic fungi associated with 29 traditional Chinese medicinal plants. **Fungal Diversity, 33**, 61-75.

Hyde, K.D. & Soytong, K. (2008). The fungal endophyte dilemma. **Fungal Diversity, 33**, 163-173.

Inácio, M.L., Silva, G.H., Teles, H.L., Trevisan, H.C., Cavalheiro, A.J., Bolzani, V.D.S., Young, M.C.M., Pfenning, L.H. & Araújo, Á.R. (2006). Antifungal Metabolites from Colletotrichumgloeosporioides, an Endophytic Fungus in CryptocaryamandioccanaNees (Lauraceae). **Biochemistry System Ecology, 34**, 822-824.

Istifadah, N., Saleeba, J.A. & McGee, P.A. (2006). Isolates of EndophyticChaetomiumspp. Inhibit the Fungal Pathogen Pyrenophoratritici-repentisin vitro. **Canadian Journal of Botany, 84**(7), 1148-1155.

Kaewchai, S., Soytong, K. & Hyde, K.D. (2009). Mycofungicides & fungal biofertilizers. **Fungal Diversity, 38**, 25-50.

Lu, H., Zou, W.X., Meng, J.C., Hu, J. & Tan, R.X. (2000). New Bioactive Metabolites Produced by Colletotrichumsp., an Endophytic Fungus in Artemistaannua. **Plant Science, 151**(1), 67-73.

Mejia, L.C., Rojas, E.I., Maynard, Z., Van Bael, S., Arnold, A.E., Hebbar, P., Samuels, G.J., Robbins, N. & Herre, E.A. (2008). Endophytic fungi as biocontrol agents of Theobroma cacao pathogens. **Biological Control, 46**, 4-14.

Naik, S.B., Shashikala, J. & Krishnamurthy, Y.L. (2009). Study on the diversity of endophytic communities from rice (Oryza sativa L.) & their antagonistic activities in vitro. **Microbiological Research, 164**, 290-296.

Park, J.H., Park, H.J., Choi, J.G., Lee, S.W., Jang, K.S., Choi, Y.H., Cho K.Y. & Kim J.C. (2003). Screening for antifungal endophytic fungi against six pathogenic fungi. **Mycobiology, 31**(3), 179-182.

Petrini, O. (1991). Fungal endophytes in tree leaves. In: **Microbial Ecology of leaves** (eds. J.H. Andrews & S.S. Hirrano) Springer, New York, 179-197.

Pinnuan, U., Rungjindamai, N., Choeyklin, R., Lumyong, S., Hyde, K.D. & Gareth Jones, E.B. (2010). Occurrence & diversity of basidiomycetousendophytes from the oil palm, Elaeisguineensis in Thailand. **Fungal Diversity, 41**, 71-88.

Rahman, M.H. & Saiga, S. (2005). Endophytic fungi (Neotyphodiumcoenophialum) & effect the growth & mineral uptake, transport & efficiency rations in tall fescue (Festucaarundinacea). **Plant Soil, 272**, 163-171.

Schulz, B. & Boyle, C. (2005). The endophytic continuum. **Mycological Research, 109**(6), 661-686.

Schulz, B., Rommert, A.K., Dammann, U., Aust, H.J. & Strack, D. (1999). The Endophyte-Host Interaction : a Balanced Antagonism?. **Mycological Research, 103**, 1275-1283.

Tian, X.L., Cao, L.X., Tan, H.M., Zegg, Q.G., Jia, Y.Y., Han, W.Q. & Zhou, S.N. (2004). Study on the community of endophytic fungi & endophyticactinomycetes from rice & their antipathogenic activities in vitro. **World Journal of Microbiology & Biotechnology, 20**, 303-309.

Verma, V.C. & Kharwar, R.N. (2006). Efficacy of Neem Leaf Extract Against it's own Fungal Endophyte Curvularialunata. **Journal of Agricultural Technology, 2**(2), 329-335.

Yuan, Z.L., Su, Z., Mao, L., Peng, Y., Yang, G., Lin, F. & Zhang, C. (2011). Distinctive endophytic fungi assemblage in stems of wild rice (Oryza granulate) in China with special reference to two species of Muscodor (Xylariaceae). **The Journal of Microbiology, 49**, 15-23.

Yuan, Z.L., Zhang, C.L., Lin, F.C. & Kubicek, P.C. (2010). Identity, diversity, & molecular phylogeny of the endophyticmycobiota in the roots of rare wild rice (Oryza granulate) from natural reserve in Yunnan, **China. Applied & Environmental Microbiology, 76**, 1642-1652.