ผลของการเคลือบเมล็ดร่วมกับ *Streptomyces* sp. CU-02 ต่อคุณภาพและการควบคุมโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลี

Effect of Seed Coating with *Streptomyces* sp. CU-02 on Quality and Control Damping-Off in Chinese Cabbage *(Brassica rapa,* subspecies *pekinensis)*

นิละมัย แสนสุภา[1] จักรพงษ์ กางโสภา[2*] ประนอม ยังคำมั่น[1] และฉัตรสุดา เผือกใจแผ้ว[3]
Nilamai Sansupa[1], Jakkrapong Kangsopa[2*], Pranom Yangkhamman[1] and Chatsuda Phuakjaiphaeo[3]

[1]สาขาวิชาพืชสวน คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ 50290
[2]สาขาวิชาพืชไร่ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ 50290
[3]สาขาวิชาอารักขาพืช คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ 50290
[1]Division of Horticulture, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, San Sai, Chiang Mai 50290, Thailand
[2]Division of Agronomy, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, San Sai, Chiang Mai 50290, Thailand
[3]Division of Plant Protection, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, San Sai, Chiang Mai 50290, Thailand
*Corresponding author, E-mail: jakkrapong_ks@mju.ac.th
(Received: Jan 21, 2021; Revised: Apr 22, 2021; Accepted: Apr 29, 2021)

บทคัดย่อ

การควบคุมโรคเน่าคอดินในผักกาดขาวปลี เกษตรกรนิยมใช้สารเคมีในการควบคุมโรคทำให้มีปัญหาในเรื่องสารพิษตกค้างในอาหารเป็นอันตรายต่อเกษตรกรผู้ใช้ ผู้บริโภค และเป็นมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม จึงศึกษาการควบคุมโรคเน่าคอดินโดยชีววิธีเพื่อทดแทนการใช้สารเคมี โดยนำเชื้อปฏิปักษ์ *Streptomyces* sp. CU-02 มาทดสอบประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคเน่าคอดินที่เกิดจากเชื้อราสาเหตุ *Pythium aphanidermatum* ในผักกาดขาวปลี ใช้แผนการทดลองแบบ Completely Randomize Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ มีวิธีการเคลือบทั้งหมด 5 กรรมวิธีคือ 1) เมล็ดไม่เคลือบ, 2) เมล็ดที่ผ่านการเคลือบด้วย Carboxymethyl cellulose (CMC) เพียงอย่างเดียว เมล็ดที่เคลือบด้วย CMC ร่วมกับ *Streptomyces* sp. CU-02 ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 3) $1x10^6$, 4) $1x10^7$ และ 5) $1x10^8$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ต่อเมล็ดพันธุ์ 10 กรัม จากนั้นตรวจสอบคุณภาพเมล็ดและประสิทธิภาพการควบคุมโรคเน่าคอดินในสภาพเรือนทดลองพบว่า การเคลือบเมล็ดพันธุ์ผักกาดขาวปลีร่วมกับเชื้อ *Streptomyces* sp. CU-02 ทำให้เมล็ดมีความงอกดัชนีความเร็วในการงอก และเวลาเฉลี่ยในการงอกดีกว่าเมล็ดไม่เคลือบและเมล็ดเคลือบด้วย CMC เพียงอย่างเดียว ส่วนการทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าคอดินพบว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. CU-02 ในระดับความเข้มข้น $1x10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าคอดิน โดยพบเปอร์เซ็นต์เมล็ดเน่าลดลง ในขณะที่ระดับความเข้มข้น $1x10^7$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ต้นกล้าเป็นโรคเน่าดินเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นการเคลือบเมล็ดด้วย *Streptomyces* sp. CU-02 ที่ระดับความเข้มข้น $1x10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร เป็นอัตราแนะนำสำหรับใช้เคลือบร่วมกับเมล็ดพันธุ์ผักกาดขาวปลี เนื่องจากลดต้นทุนมากที่สุด และมีผลต่อการยับยั้งการเข้าทำลายของ *P. Aphanidermatum* ได้ดีที่สุด

คำสำคัญ : การเคลือบเมล็ดพันธุ์ คุณภาพเมล็ดพันธุ์ การควบคุมโรคโดยชีววิธี โรคเน่าคอดิน *Streptomyces* sp. CU-02

Abstract

Farmers usually use chemical substances to control damping-off in Chinese cabbages leading to the risk of food contamination and farmers, consumers, as well as pollution of the environment. For studying the control of damping-off using biological controls to replace the use of chemical substances. The antagonistic microorganisms *Streptomyces* sp. CU-02 was used to test its efficiency in promoting growth of Chinese cabbage seeds and controlling damping-off caused by *Pythium aphanidermatum*. The test design is based on the completely randomized design (CRD) with four replications using five seed coating methods which were 1) uncoated seeds, 2) seeds coated with Carboxymethyl cellulose (CMC)

วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มรย.
YRU Journal of Science and Technology
ISSN : 2539-5688

mixed *Streptomyces* sp. CU-02 at various concentrations, which is defined as 3) $1x10^6$, 4) $1x10^7$ and 5) $1x10^8$ spore ml^{-1}/10 g. After testing the quality of Chinese cabbage seeds under greenhouse conditions, it was found that Chinese cabbage seeds coated with all levels of *Streptomyces* sp.CU-02 had better germination, speed of germination index, and mean germination time compared to uncoated seeds and seeds coated with CMC. Meanwhile, in terms of the efficiency of *Streptomyces* sp. CU-02 in controlling damping-off, it was found that a $1x10^6$ spore ml^{-1} of *Streptomyces* sp. CU-02 is efficient in controlling damping-off with a lower percentage of seed rot. Meanwhile efficiency of *Streptomyces* sp. CU-02 was not evident as significantly increased in percentage damping-off was found that a $1x10^7$ spore ml^{-1}/10 g. high percentage with significance. As a result, $1x10^6$ spore ml^{-1} of *Streptomyces* sp.CU-02 is recommended concentrations to coated Chinese cabbages seeds since it is the most cost-effective and had the best inhibitory effect on *P. aphanidermatum*.

Keywords: Seed coating, seed quality, biological control, damping-off *Streptomyces* sp. CU-02

บทนำ

ผักกาดขาวปลี (Chinese cabbage) เป็นผักที่อยู่ในตระกูล Cruciferae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Brassicarapa var. pekinensis* เมล็ดพันธุ์ผักกาดขาวปลีส่วนใหญ่นำเข้าจากต่างประเทศ เช่น จีน และไต้หวัน เป็นต้น ซึ่งในประเทศไทยมีพื้นที่การเพาะปลูกผักกาดขาวปลี 30,816 ไร่ ผลผลิตต่อไร่ 2,874 กิโลกรัม ส่วนใหญ่อยู่ที่จังหวัดเชียงใหม่ พิษณุโลก เพชรบูรณ์ กาญจนบุรี และ ตาก เป็นต้น (Department of Agriculture, 2018, Online) อย่างไรก็ตาม การเพาะปลูกผักกาดขาวปลีมักพบปัญหาการเกิดโรคเน่าคอดินในระยะต้นกล้า (Damping-off) ซึ่งเกิดจากเชื้อราสาเหตุ *Pythium aphanidermatum* ที่อาศัยอยู่ในแปลงปลูกและติดมากับเมล็ดพันธุ์ จึงทำให้เชื้อราสามารถเข้าทำลายเมล็ดได้ทั้งก่อนและหลังเมล็ดงอก (Kipngeno *et al.,* 2015, pp. 92-95) โดยอาการเน่าก่อนเมล็ดงอกพ้นดินเมล็ดมีลักษณะนิ่ม ยุ่ย เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เหี่ยวย่นและเน่าในที่สุด ส่วนอาการเน่าหลังเมล็ดงอกพ้นดิน แสดงอาการต้นกล้าเน่ายุบ อาการปรากฏให้เห็นตรงโคนต้นกล้าที่อยู่ระดับดินหรือใต้ดิน ระยะแรกเกิดแผลจุดฉ่ำน้ำ แล้วขยายเป็นรอยช้ำสีน้ำตาลรอบลำต้นทำให้ต้นกล้าหักพับลงในขณะที่ยอดยังเขียวอยู่ต่อมาส่วนยอดจะเฉาและแห้งตาย จากสาเหตุดังกล่าวเกษตรกรมีวิธีการป้องกันและควบคุมโรคเน่าคอดินโดยการใช้สารเคมี เช่น การใช้ไฮเมซาโซล (hymexazol) 36 เปอร์เซ็นต์ อัตรา 22-26 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นในแปลงทั้งก่อนและหลังเมล็ดงอก อย่างไรก็ตามการใช้สารเคมีอาจมีผลตกค้างในแปลงปลูกพืชและเป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม จึงทำให้การค้นหาวิธีการป้องกันโรคเน่าคอดินในระยะต้นกล้าผักกาดขาวปลีจึงเป็นความจำเป็นต่อระบบการปลูกพืชสมัยใหม่

การเคลือบเมล็ดพันธุ์ (seed coating) เป็นเทคโนโลยีด้านเมล็ดพันธุ์ที่ทันสมัยจึงถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากเป็นวิธีการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้เมล็ดพันธุ์ให้เกิดประโยชน์สูงสุดโดยไม่มีผลต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ การเคลือบเมล็ดเป็นเทคนิควิธีการสร้างฟิล์มบาง ๆ ด้วยสารเคลือบ เพื่อเป็นตัวกลางนำพาสารออกฤทธิ์ให้ติดไปกับเมล็ดพันธุ์ (Kangsopa, 2020, pp. 417-425) นอกจากนี้สารเคลือบยังสามารถใช้ร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์ ช่วยให้เมล็ดสามารถป้องกันจากการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคทางดิน และเพื่อเป็นการส่งเสริมคุณภาพความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์หลังปลูกให้ดีขึ้น โดยการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี (biological control) เป็นอีกหนึ่งวิธีที่ได้รับความสนใจอย่างแพร่หลายเพื่อลดการใช้สารเคมี ปัจจุบันมีการนำเชื้อปฏิปักษ์ที่ได้รับความสนใจกันอย่างกว้างขวาง คือ เชื้อสเตรปโตมัยซิส (*Streptomyces* sp.) ซึ่งเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่มีรายงานการผลิตสารปฏิชีวนะ เช่น Chitinase, Cellulase และ Protease เป็นต้น (Xue *et al*., 2013, pp. 231-240) โดยเอนไซม์ดังกล่าวมีผลในการยับยั้งเส้นใยของเชื้อรา และยังเป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชทางดินได้ดี เช่น โรคเหี่ยว (Winter *et al.,* 2019, pp. 52-60) โรคโคนเน่า (Al-Askar *et al.,* 2015, pp. 457-462) และโรคเน่าคอดิน (Suwitchayanon *et al*., 2018, pp. 692-700) เป็นต้น จากการศึกษาที่ผ่านมาทำให้ทราบว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคพืชทางดินได้ดี

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces* sp. CU-02 ต่อการควบคุมโรคเน่าคอดินจากเชื้อราสาเหตุ *P. aphanidermatum* และติดตามการเปลี่ยนแปลงความงอก และความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ผักกาดขาวปลี

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมเชื้อ *Pythium aphanidermatum*

สำรวจและเก็บตัวอย่างพืชโรคเน่าคอดินที่เกิดจากเชื้อสาเหตุ *P. aphanidermatum* โดยนำต้นกล้าที่แสดงอาการโรคเน่าคอดินล้างทำความสะอาดด้วยน้ำไหล เพื่อกำจัดสิ่งสกปรกและเศษดินออกให้หมด จากนั้นแช่ใน Clorox 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที และแช่ใน ethanol 95 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำต้นกล้าใส่กล่องความชื้น (moist chamber) เป็นเวลา 2 วัน จะพบเชื้อราสาเหตุโรคเจริญออกบนต้นกล้า ใช้เข็มเขี่ยฆ่าเชื้อ เขี่ยเส้นใยเชื้อสาเหตุโรคที่เจริญออกมาวางบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ (pure culture) เมื่อเชื้อรามีอายุ 3-4 วัน ใช้ cork borer ขนาด 0.5 เซนติเมตร เจาะชิ้นวุ้นบริเวณปลายเส้นใย (hyphal tip) จำนวน 2 ชิ้น ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคลงในพีทมอส 150 กรัม ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที โดยบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 วัน

2. การเตรียมเชื้อ *Streptomyces* sp. CU-02

เตรียมเชื้อปฏิปักษ์เลี้ยงเพิ่มปริมาณในจานอาหาร International Streptomyces Project-2 Medium (ISP-2) โดยใช้ลูปแตะเชื้อแล้วนำมาขีด (streak plate) ให้ทั่วผิวหน้าอาหาร แล้วนำไปบ่มไว้ในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นเติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อลง 10 มิลลิลิตร ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อปฏิปักษ์ ใช้ลูปขูดผิวหน้าของโคโลนีลงในหลอดทดลอง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer ปรับความเข้มข้นให้ได้ 3 ระดับคือ $1x10^6$, $1x10^7$ และ $1x10^8$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร

3. การเคลือบเมล็ดพันธุ์ร่วมกับ *Streptomyces* sp. CU-02

นำเมล็ดผักกาดขาวปลีฆ่าพื้นผิวเชื้อด้วย clorox 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ผึ่งให้แห้งเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำเมล็ดผักกาดขาวปลีมาเคลือบเมล็ด โดยใช้ CMC ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ (w/v) โดยน้ำหนัก เป็นสารเคลือบเมล็ด แสดงกรรมวิธีการทดลองในตารางที่ 1 หลังจากการเคลือบเมล็ดพันธุ์ในแต่ละวิธีการแล้วนำไปลดความชื้นเมล็ดในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยการผึ่งให้แห้ง จากนั้นนำไปตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ในลักษณะต่าง ๆ

ตารางที่ 1 สูตรการเคลือบเมล็ดพันธุ์ผักกาดขาวปลีร่วมกับเชื้อปฏิปักษ์ *Streptomyces* sp. CU-02 ในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน

สารออกฤทธิ์	สูตรสารเคลือบเมล็ดพันธุ์ผักกาดขาวปลี				
	F1	F2	F3	F4	F5
Carboxymethyl cellulose 5 (กรัม)	-	0.2	0.2	0.2	0.2
Streptomyces sp. $1x10^6$ (มิลลิลิตร)	-	-	1	-	-
Streptomyces sp. $1x10^7$ (มิลลิลิตร)	-	-	-	1	-
Streptomyces sp. $1x10^8$ (มิลลิลิตร)	-	-	-	-	1
น้ำกลั่น (มิลลิลิตร)	-	99.8	98.8	98.8	98.8

4. การบันทึกข้อมูล

4.1 การตรวจสอบความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของสารเคลือบเมล็ด

นำสูตรการเคลือบเมล็ดทั้ง 3 สูตร ที่ผ่านการเตรียมร่วมกับ *Streptomyces* sp. CU-02 และเฉพาะสารเคลือบ CMC เพียงอย่างเดียว มาตรวจสอบตรวจสอบค่า pH ของสารเคลือบ และตรวจสอบค่า pH ของสารแขวนลอย *Streptomyces* sp. CU-02 หลังการเตรียม (ก่อนนำไปผสมรวมกับสารเคลือบ) ที่ระดับความเข้มข้น $1x10^6$, $1x10^7$ และ $1x10^8$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ด้วยเครื่องพีเอชมิเตอร์ (pH meter) ในแต่ละวิธีการทำ 4 ซ้ำ

วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มรย. YRU Journal of Science and Technology ISSN : 2539-5688

4.2 การตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* sp. CU-02 บนผิวเมล็ดที่เคลือบ

สุ่มเมล็ดผักกาดขาวปลีที่ผ่านการเคลือบร่วมกับ *Streptomyces* sp. CU-02 ในแต่ละวิธีการทำ 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 เมล็ด ใส่ลงในหลอดน้ำนึ่งฆ่าเชื้อปริมาณ 9 มิลลิลิตร เขย่าด้วย vortex mixture นาน 2 นาที เพื่อให้เชื้อหลุดออกจากผิวเมล็ด แล้วดูดสารแขวนลอยปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร ของแต่ละวิธีการหยดและใช้แท่งแก้วงอช่วยกระจายสารแขวนลอยให้ทั่วผิวหน้าอาหาร ISP-2 บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน แล้วตรวจนับจำนวนโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียที่เจริญขึ้นมาในแต่ละวิธีการทดลอง

4.3 ดัชนีความเร็วในการงอกของเมล็ดพันธุ์ (Speed of germination index; SGI)

ตรวจสอบความงอกในสภาพเรือนทดลอง โดยการเพาะเมล็ดลงในกระถางขนาด 2 X 2 นิ้ว โดยใช้พีทมอส (peat moss) เป็นวัสดุเพาะที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ ในแต่ละวิธีการทดลองทำ 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 ต้น จากนั้นตรวจนับความงอกต้นกล้าปกติทุกครั้งแรกที่ 4 วัน (first count) และ 7 วันหลังเพาะ (final count) และคำนวณหาดัชนีความเร็วในการงอก (ISTA, 2018, p. 298)

$$\text{ดัชนีความเร็วในการงอก (ต้นต่อวัน)} = \frac{\text{จำนวนต้นงอกปกติที่นับครั้งแรก}}{\text{จำนวนวันที่นับหลังเพาะครั้งแรก}} + \ldots + \frac{\text{จำนวนต้นงอกปกติที่นับครั้งสุดท้าย}}{\text{จำนวนวันที่นับหลังเพาะครั้งสุดท้าย}}$$

4.4 เวลาเฉลี่ยในการงอก (Mean germination time; MGT)

ตรวจนับต้นกล้าปกติที่งอกทุกวันเป็นเวลา 7 วันหลังเพาะ จากนั้นคำนวณหาเวลาเฉลี่ยในการงอกตามวิธีการของ Shen *et al*. (2015, pp. 65-70)

$$\text{เวลาเฉลี่ยในการงอก (วัน)} = \frac{(\text{Tini})}{(\text{ni})}$$

เมื่อ n_i คือ วันที่ i เริ่มนับตั้งแต่เริ่มเพาะ (first count) จนถึงวันสุดท้าย (final count)

T_i คือ จำนวนเมล็ดที่งอกในวันที่ i

4.5 การตรวจวัดความยาวต้นในสภาพเรือนทดลอง

นับจำนวนต้นกล้าปกติ โดยประเมินที่อายุต้นกล้า 7 วันหลังเพาะ ตรวจวัดตั้งแต่ส่วนรอยต่อระหว่างโคนต้นติดชิดดินไปจนถึงปลายใบ (foliage leaf) มีหน่วยเป็นเซนติเมตร

4.6 การตรวจสอบเมล็ดเน่า (Seed rot)

ตรวจนับจำนวนเมล็ดเน่าที่ผ่านการเพาะ โดยประเมิน 7 วันหลังเพาะ ตรวจสอบลักษณะเมล็ดมีแผลเปื่อยหรือรอยช้ำ และมีเส้นใยของเชื้อราปกคลุม นำข้อมูลมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์จำนวนเมล็ดเน่า

4.7 การตรวจสอบต้นกล้าไม่เป็นโรค

ตรวจนับจำนวนต้นกล้าปกติ ปราศจากการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรค โดยประเมินที่อายุต้นกล้า 7 วันหลังเพาะ จากนั้นคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต

$$\text{การรอดชีวิต (\%)} = \frac{\text{จำนวนต้นกล้าปกติ}}{\text{จำนวนต้นกล้าทั้งหมด}} \text{ X } 100$$

4.8 การตรวจสอบต้นกล้าเกิดโรค

ตรวจนับเมล็ดที่เจริญเติบโตเป็นต้นกล้าผิดปกติ มีลักษณะการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรค โดยประเมินจากลักษณะของต้นล้มพับ หรือมีลักษณะเน่าทั้งส่วนของโคนต้น และลำต้น จากนั้นคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ต้นกล้าผิดปกติ

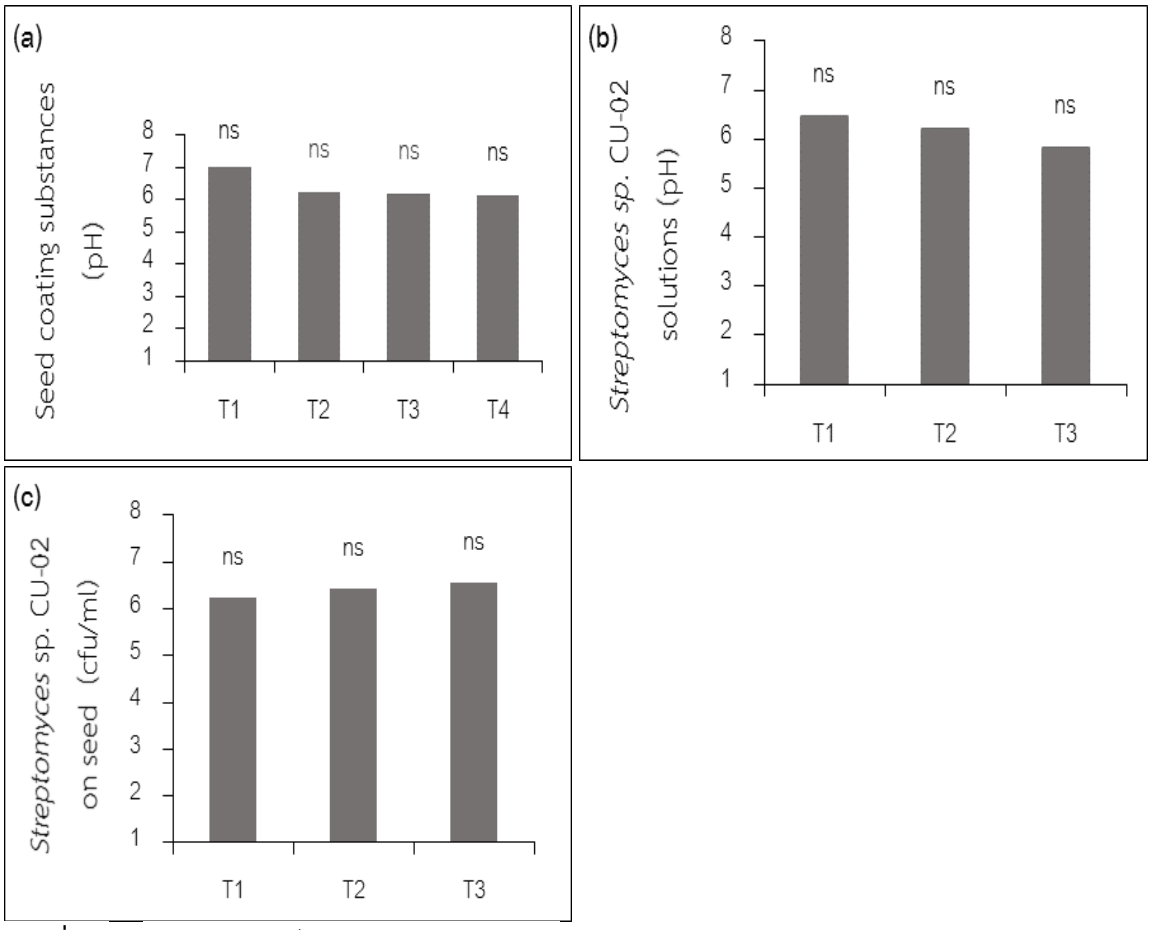
4.9 การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลคุณภาพเมล็ดพันธุ์และการเปลี่ยนแปลงคุณภาพเมล็ดพันธุ์ผักกาดขาวปลีตามลักษณะต่าง ๆ วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) Completely เพื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป

ผลการวิจัย

1. การตรวจสอบความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของสารเคลือบ

การเตรียมสารเคลือบเมล็ดพันธุ์ผักกาดขาวปลี โดยมี *Streptomyces* sp. CU-02 ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ร่วมกับ CMC สำหรับเป็นสารเคลือบพบว่า ค่า pH ของสารเคลือบในทุกกรรมวิธี ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ภาพที่ 1a) ซึ่งผลการทดลองพบว่า ปริมาณของเชื้อที่เพิ่มมากขึ้นไม่ได้มีผลทำให้ pH (ภาพที่ 1b) และปริมาณของเชื้อที่ติดไปกับเมล็ดไม่แตกต่างกันในทางสถิติ (ภาพที่ 1c)



ภาพที่ 1 (a) แสดงค่าความเป็นกรด-ด่างของสารเคลือบ Carboxymethyl cellulose (CMC) ร่วมกับ *Streptomyces* sp. CU-02 โดย สารเคลือบ CMC เพียงอย่างเดียว (T1), CMC + *Streptomyces* sp. CU-02 $1x10^6$ (T2), $1x10^7$ (T3) และ $1x10^8$ (T4) สปอร์ต่อมิลลิลิตร ส่วน (b) แสดงค่าความเป็นกรด-ด่างของสารแขวนลอย และ (c) แสดงปริมาณเชื้อที่เกาะติดไปกับเมล็ด โดย *Streptomyces* sp. CU-02 $1x10^6$ (T1), $1x10^7$ (T2) และ $1x10^8$ (T3) สปอร์ต่อมิลลิลิตร

2. ผลของการเคลือบเมล็ดร่วมกับ *Streptomyces* sp. CU-02 ต่อความงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดขาวปลี

หลังจากตรวจสอบคุณสมบัติของสารเคลือบเมล็ดพันธุ์ร่วมกับเชื้อ *Streptomyces* sp. CU-02 จึงพิจารณาตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ในสภาพเรือนทดลองพบว่า เมล็ดผักกาดขาวปลีที่ผ่านการเคลือบเมล็ดร่วมกับ *Streptomyces* sp. CU-02 ความเข้มข้น $1x10^6$, $1x10^7$ และ $1x10^8$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ทำให้เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การความงอกและดัชนีความเร็วในการงอกเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อพิจารณาเวลาเฉลี่ยในการงอกพบว่า การเคลือบเมล็ดด้วย *Streptomyces* sp. CU-02 ที่ความเข้มข้น $1x10^7$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ไม่ทำให้เวลาเฉลี่ยในการงอกแตกต่างกันในทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่ผ่านการเคลือบ และไม่มีผลต่อความยาวต้น (ตารางที่ 2)

วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี USE. YRU Journal of Science and Technology ISSN : 2539-5688

ตารางที่ 2 คุณภาพเมล็ดพันธุ์ผักกาดขาวปลีหลังการเคลือบเมล็ดร่วมกับ *Streptomyces* sp. CU-02 ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

กรรมวิธี[1]	ความงอก (%)	(%)[2]	ดัชนีความเร็วในการงอก (ต้น/วัน)	(%)	เวลาเฉลี่ยในการงอก (วัน)	(%)	ความยาวต้น (เซนติเมตร)	(%)
T1	55.00 b[3]		4.01 c		1.53 bc		4.77	
T2	60.00 b	(+9)	5.04 bc	(+26)	1.78 a	(+16)	5.15	(+8)
T3	85.5 a	(+55)	6.90 a	(+72)	1.38 c	(-9)	5.67	(+19)
T4	82.5 a	(+50)	7.00 a	(+75)	1.66 b	(+1)	5.07	(+6)
T5	77.5 a	(+41)	6.16 ab	(+54)	1.45 c	(-5)	4.80	(+1)
F-test	*		*		*		ns	
C.V. (%)	9.82		13.16		15.08		16.54	

ns, *: ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ และมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P≤0.05 ตามลำดับ

[1] T1 = เมล็ดไม่เคลือบ, T2 = การเคลือบเมล็ดด้วย CMC เพียงอย่างเดียว, T3 = การเคลือบเมล็ดด้วย *Streptomyces* sp. CU-02 ที่อัตรา 1x10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร T4 = การเคลือบเมล็ดด้วย *Streptomyces* sp. CU-02 ที่อัตรา 1x10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร และ T5 = การเคลือบเมล็ดด้วย *Streptomyces* sp. CU-02 ที่อัตรา 1x10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

[2] ตัวเลขในวงเล็บแสดงการเพิ่มขึ้น (+) และลดลง (-) ของลักษณะต่าง ๆ เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการเคลือบ

[3] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ด้วยวิธี DMRT

3. ผลของการเคลือบเมล็ดร่วมกับเชื้อ *Streptomyces* sp. CU-02 ในการควบคุมโรคเน่าคอดิน

เมื่อตรวจสอบผลของการเคลือบเมล็ดร่วมกับ *Streptomyces* sp. CU-02 ในอัตราที่ต่างกันพบว่า เมล็ดผักกาดขาวปลีที่ผ่านการเคลือบเมล็ดด้วย *Streptomyces* sp. CU-02 ที่อัตรา 1x10^6 และ 1x10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ทำให้จำนวนเมล็ดเน่าลดลง และมีความแตกต่างกันในทางสถิติเมื่อเทียบกับเมล็ดที่ไม่เคลือบ แต่การเคลือบเมล็ดด้วย *Streptomyces* sp. CU-02 ทุกอัตรา ไม่ได้ทำให้จำนวนต้นกล้าที่เป็นโรคลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่เคลือบ และการเคลือบ *Streptomyces* sp. CU-02 ที่อัตรา 1x10^7 ทำให้ต้นกล้าเป็นโรคเพิ่มมากขึ้นและมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ผลของการเคลือบเมล็ดผักกาดขาวปลีร่วมกับ *Streptomyces* sp. CU-02 ในการควบคุมโรคน่าคอดินจากเชื้อสาเหตุ *Pythium aphanidermatum* ในเมล็ดผักกาดขาวปลี

กรรมวิธี[1]	เมล็ดเน่า (%)	(%)[2]	ต้นกล้าเป็นโรค (%)	(%)	ต้นกล้าไม่เป็นโรค (%)	(%)
T1	45.00 a[3]		15.00 c		40.00 c	
T2	40.00 ab	(-11)	20.00 bc	(+33)	40.00 c	(0)
T3	15.00 c	(-66)	22.50 b	(+50)	62.00 a	(+55)
T4	17.50 c	(-61)	37.50 a	(+150)	45.00 bc	(+12)
T5	22.52 b	(-49)	25.50 b	(+70)	52.50 b	(+31)
F-test (0.05)	*		*		*	
C.V. (%)	15.56		13.78		11.41	

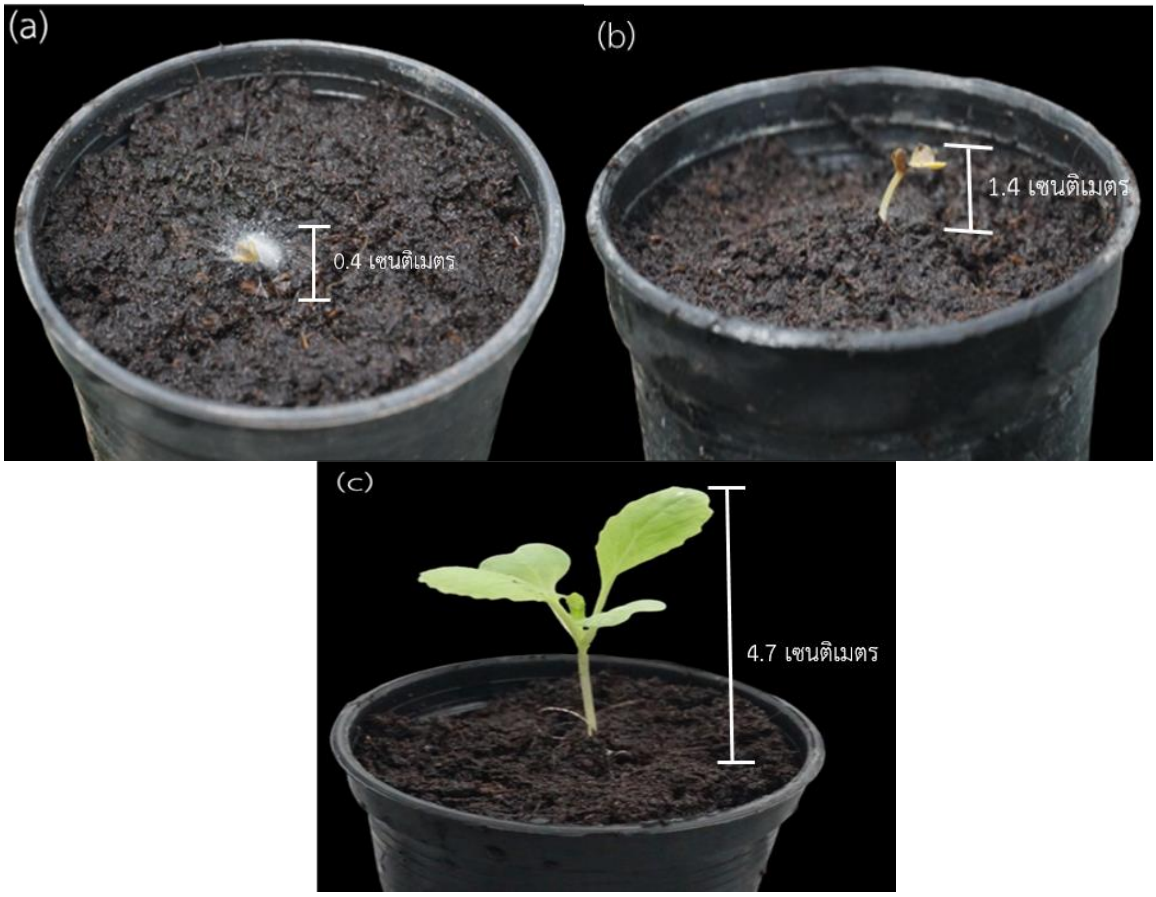
*: มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ P≤0.05

[1] T1 = เมล็ดไม่เคลือบ, T2 = การเคลือบเมล็ดด้วย CMC เพียงอย่างเดียว, T3 = การเคลือบเมล็ดด้วย *Streptomyces* sp. CU-02 ที่อัตรา1x10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร T4 = การเคลือบเมล็ดด้วย *Streptomyces* sp. CU-02 ที่อัตรา 1x10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร และ T5 = การเคลือบเมล็ดด้วย *Streptomyces* sp. CU-02 ที่อัตรา 1x10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

[2] ตัวเลขในวงเล็บแสดงการเพิ่มขึ้น (+) และลดลง (-) ของลักษณะต่าง ๆ เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการเคลือบ

[3] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ด้วยวิธี DMRT

จากผลการทดลองพบว่า เมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการเคลือบ และการเคลือบเมล็ดด้วย CMC เพียงอย่างเดียว พบการเข้าทำลายของ *P. aphanidermatum* ในระยะก่อนการงอกจำนวนมาก (ภาพที่ 2a) จึงพบเปอร์เซ็นต์เมล็ดเน่ามากกว่าวิธีการเคลือบเมล็ดร่วมกับ *Streptomyces* sp. CU-02 ในทุกอัตรา จึงปรากฏจำนวนต้นกล้าเป็นโรคน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับการเคลือบเมล็ดทุกกรรมวิธี โดยเฉพาะเมื่อประเมินผลต้นกล้าไม่เป็นโรคที่อายุ 7 วัน แสดงให้เห็นชัดเจนว่า เมล็ดที่ไม่ได้เคลือบและการเคลือบเมล็ดเพียงอย่างเดียวมีต้นกล้าไม่เป็นโรคเล็กน้อย เนื่องจากเมล็ดได้ถูก *P. aphanidermatum* เริ่มเข้าทำลายตั้งแต่ในระยะก่อนเมล็ดงอก (ภาพที่ 2b) อีกทั้งเมล็ดที่ผ่านการเคลือบด้วย *Streptomyces* sp. CU-02 ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันมีเปอร์เซ็นต์จำนวนเมล็ดเน่าน้อย จึงพบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคมากกว่าวิธีการที่ไม่ได้เคลือบเพียงเล็กน้อย แต่พบจำนวนต้นกล้าไม่เป็นโรคมากกว่าวิธีการที่ไม่ได้เคลือบ และการเคลือบเมล็ดด้วย CMC เพียงอย่างเดียว (ภาพที่ 2c)



ภาพที่ 2 ลักษณะอาการโรคเน่าคอดินจากเชื้อราสาเหตุ *Pythium aphanidermatum* ในผักกาดขาวปลี (a) เมล็ดเน่า, (b) ต้นกล้าเป็นโรค และ (c) ต้นกล้าไม่เป็นโรค

อภิปรายผลการวิจัย

การตรวจสอบค่า pH ของสารเคลือบมีผลต่อปริมาณเชื้อ *Streptomyces* sp. CU-02 ที่เกาะติดกับเมล็ด โดยค่า pH ของสารเคลือบที่มีความเป็นกรดอ่อนทำให้เชื้อ *Streptomyces* sp. CU-02 ติดไปกับเมล็ดมากยิ่งขึ้น เนื่องจากเชื้อ *Streptomyces* sp. CU-02 สามารถเจริญและสร้างเส้นใยได้ดีช่วง pH ที่เป็นกรดอ่อน และจากรายงานของ Sangkaew (2013, pp. 59-62) ผลิตสูตรสำเร็จ *Streptomyces* sp. แบบผงเมื่อนำมาละลายน้ำเพื่อวัดค่า pH พบว่า มีความเป็นกรดอ่อนอยู่ในช่วง 5.97- 6.67 เป็นช่วงที่เชื้อสามารถเจริญและสร้างเส้นใยได้ได้ดีที่สุด Kangsopa (2020, pp. 119-130) อีกทั้งการใช้ CMC เป็นสารเคลือบสามารถละลายน้ำได้ดี และมีคุณสมบัติช่วยในการอุ้มน้ำได้ดี จึงไม่ขัดขวางต่อกระบวนการงอกของเมล็ดผักกาดขาวปลี นอกจากนี้เมล็ดที่ผ่านการเคลือบร่วมกับ *Streptomyces* sp. CU-02 ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นเชื้อปฏิปักษ์ที่มีกลไกการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช โดยมีการสร้างฮอร์โมนพืชในกลุ่ม Indole-3-Acetic Acid (IAA) เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช โดย *Streptomyces* sp. ผลิตสร้างฮอร์โมน IAA ได้ถึง 4.49 มิลลิกรัมต่อลิตร

วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มรย.
YRU Journal of Science and Technology
ISSN : 2539-5688

(Suwitchayanon *et al*., 2018, pp. 692-700) และ IAA มีหน้าที่สำคัญต่อการทำลายการพักตัวของเมล็ด (Miransari & Smith, 2014, pp. 110-121) อีกทั้งสามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลสเพื่อกระตุ้นการงอกของเมล็ดได้ โดยเอนไซม์ดังกล่าวมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายสารอาหารที่สะสมอยู่ในเอนโดสเปิร์ม และเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงจากแป้งเป็นน้ำตาล เพื่อใช้ในกระบวนการงอกของเมล็ดตระกูลผักกาด (Suwitchayanon *et al*. 2018, pp. 692-700) สาเหตุดังกล่าว ทำให้เมล็ดงอกได้เร็วกว่าปกติ ดัชนีความเร็วในการงอกเพิ่มขึ้น และเวลาเฉลี่ยในการงอกลดลง และเมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงการเจริญเติบโตของความยาวต้นพบว่า เมล็ดที่ผ่านการเคลือบและไม่ผ่านการเคลือบไม่ส่งผลต่อความยาวต้น เนื่องจาก *Streptomyces sp.* CU-02 ไม่มีอิทธิพลต่อการกระตุ้นการยืดขยายลำต้นและการชักนำการยืดขยายขนาดตามยาวบริเวณข้อปล้อง นอกจากนี้ Zacky & Ting (2013, pp. 204-208) รายงานว่า *Streptomyces* sp. มีการสร้างสารเอนไซม์ α-1,3-glucanases เป็นเอนไซม์ที่สำคัญในการย่อยสลายผนังเซลล์และยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราได้อย่างมีประสิทธิภาพ และ Phuakjaiphaeo *et al*. (2016, pp. 38-44) ทดสอบประสิทธิภาพ *Streptomyces* sp. CEN26 พบว่าสามารถสร้างความผิดปกติในการงอกของสปอร์ และสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราเมื่อตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ดั้งนั้นเปอร์เซ็นต์เมล็ดเน่าจึงลดลงเมื่อเทียบกับเมล็ดที่ไม่เคลือบ และการเคลือบเมล็ดด้วย CMC เพียงอย่างเดียว และเมื่อตรวจสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเน่าคอดินก่อนเมล็ดงอกพบว่า การเคลือบเมล็ดร่วมกับ *Streptomyces* sp. CU-02 สามารถควบคุมโรคได้ดี โดยเฉพาะ *Streptomyces* sp. CU-02 ที่อัตรา $1x10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งสอดคล้องกับ Suwitchayanon *et al*. (2018, pp. 692-700) ได้ทดสอบการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคเน่าคอดินและการครอบครองพื้นที่บริเวณราก โดยนำเมล็ดผักกาดขาวปลีมาเคลือบร่วมกับ *Streptomyces rochei* ERY1 พบว่าสามารถลดการเกิดเมล็ดเน่าได้ถึง 40.74 เปอร์เซ็นต์ และยับยั้งการเจริญของเส้นใย *P. aphanidermatum* ได้ถึง 84.31 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจากงานวิจัยนี้จึงแสดงให้เห็นว่า การเคลือบเมล็ดผักกาดขาวปลีร่วมกับ *Streptomyces* sp. CU-02 สามารถป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. aphanidermatum* ที่เป็นเชื้อสาเหตุโรคเน่าคอดินของผักกาดขาวปลีในระยะก่อนเมล็ดงอกได้ดี

สรุปผลการวิจัย

การเคลือบเมล็ดพันธุ์ผักกาดขาวปลีร่วมกับ *Streptomyces* sp. CU-02 ที่ระดับความเข้มข้น $1x10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ทำให้เมล็ดมีความงอกสูงที่สุดและมีจำนวนเมล็ดเน่าน้อยที่สุด ดังนั้นการเคลือบเมล็ดด้วย *Streptomyces* sp. CU-02 ที่ระดับความเข้มข้น $1x10^6$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร จึงเป็นอัตราความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการเคลือบร่วมกับเมล็ดพันธุ์ผักกาดขาวปลี ซึ่งสามารถยับยั้งการเข้าทำลายของ *P. aphanidermatum* เมื่อทดสอบในสภาพเรือนทดลอง

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของรายวิชา พร521 สรีรวิทยาเมล็ดพันธุ์ ประจำปีการศึกษา 2563 ภาคการศึกษาที่ 1 และขอขอบคุณสาขาวิชาพืชไร่ และสาขาวิชาอารักขาพืช คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้การสนับสนุนการห้องปฏิบัติการทำงานวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณสาขาวิชาพืชสวนประดับ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้การสนับสนุนโรงเรือนทดลองและวัสดุอุปกรณ์ในการทำงานทดลองครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

Al-Askar, A. A., Rashad, Y. M., Hafez, E. E., Abdulkhair, W. M., Baka, Z. A., & Ghoneem, K. M. (2015). Characterization of Alkaline Protease Produced by *Streptomyces Griseorubens* E44G and Its Possibility for Controlling *Rhizoctonia* Root Rot Disease of Corn. *Biotechnology & Biotechnological Equipment, 29*(3), 457-462.

Department of Agriculture Extension. (2018). *Situation Report for the Year of Plant in Chinese Cabbage* [Online]. Retrieved September 20, 2020, from: http://www.agriinfo.doae.go.th. (in Thai)

ISTA. (2018). *International Rules for Seed Testing*. Bassersdorf: International Seed Testing Association.

Kangsopa, J. (2020). Binder Material for Seed Pelleting. *Khon Kaen Agriculture Journal*, *48*(1), 119-130. (in Thai)

Kangsopa, J. (2020). Seed Coating with Plant Nutrients on Seed Germination and Seedling Vigour. *King Mongkut's Agricultural Journal*, *38*(3), 417-425. (in Thai)

Kipngeno, P., Losenge, T., Maina, N., Kahangi, E., & Juma, P. (2015). Efficacy of *Bacillus subtilis* and *Trichoderma asperellum* against *Pythium aphanidermatum* in tomatoes. *Biological Control*, 90, 92-95.

Miransari, M., & Smith, D. L. (2014). Plant Hormones and Seed Germination. *Environmental and Experimental Botany*, *99*, 110-121.

Phuakjaiphaeo, C., Chang, C. I., Ruangwong, O., & Kunasakdakul, K. (2016). Isolation and Identification of an Antifungal Compound from Endophytic *Streptomyces* sp. CEN 26 Active Against *Alternaria brassicicola*. *Letters in Applied Microbiology*, *63*(1), 38-44.

Sangkaew, P. (2013). *Formulation of Streptomyces griseus subsp. formicus Biocontrol Agent for the Suppression of Rubber White Root Rot Disease*. Master's Thesis Prince of Songkla University. (in Thai)

Shen, S. K., Wu, F. Q., Yang, G. S., Wang, Y. H., & Sun, W. B. (2015). Seed Germination and Seedling Emergence in the Extremely Endangered Species *Rhododendron Protistum* var. *Giganteum* the World's Largest Rhododendron. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, *216*, 65-70.

Suwitchayanon, P., Chaipon, S., Chaichom, S., & Kunasakdakul, K. (2018). Potentials of Streptomyces rochei ERY1 as an Endophytic Actinobacterium Inhibiting Damping-off Pathogenic Fungi and Growth Promoting of Cabbage Seedling. *Chiang Mai Journal of Science*, *45*(2), 692-700.

Winter, M., Samuels, P. L., Otto-Hanson, L. K., Dill-Macky, R., & Kinkel, L. (2019). Biological Control of Fusarium Crown and Root Rot of Wheat by *Streptomyces* Isolates It' s Complicated. *Phytobiomes Journal*, *3*(1), 52-60.

Xue, L., Xue, Q., Chen, Q., Lin, C., Shen, G., & Zhao, J. (2013). Isolation and Evaluation of Rhizosphere *Actinomycetes* with Potential Application for Biocontrol of Verticillium Wilt of Cotton. *Crop Protection*, *43*, 231-240.

Zacky, F. A., & Ting, A. S. Y. (2013). Investigating the Bioactivity of Cells and Cell-Free Extracts of *Streptomyces* Griseus Towards *Fusarium oxysporum* sp. Cubense Race 4. *Biological Control*,