

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ



248109



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

ประสิทธิภาพของเชื้อ *Pseudomonas* sp. ในน้ำหมักชีวภาพเพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของ

มะเขือเทศ ที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

Efficacy of *Pseudomonas* sp. in liquid organic fertilizer for control of *Fusarium*

Wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

ชื่อผู้วิจัย

วรรณดี บัญญัติรัชต

วีระศักดิ์ ตักศิรรัตน์

อนันต์ วงเจริญ

โครงการนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัย ประเภทอุดหนุนทั่วไป ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2552

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ISBN

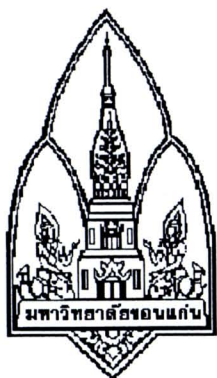
600852910

248109

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ



248109



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

ประสิทธิภาพของเชื้อ *Pseudomonas* sp. ในน้ำหมักชีวภาพเพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของ
มะเขือเทศ ที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

Efficacy of *Pseudomonas* sp. in liquid organic fertilizer for control of *Fusarium*

Wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

ชื่อผู้วิจัย

วรรณดี บัญญูตรัฐ

วีระศักดิ์ ตักดีศิริรัตน์

อนันต์ วงเจริญ



โครงการนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัย ประเภทอุดหนุนทั่วไป ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2552

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ISBN

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยเรื่องประสิทธิภาพของเชื้อ *Pseudomonas* sp. ในน้ำหมักชีวภาพเพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประเภทเงินอุดหนุนทั่วไปจากมหาวิทยาลัยขอนแก่น ผ่านการบริหารจัดการงบประมาณสำนักบริหารการวิจัยต่อเนื่อง 3 ปี (2550-2552) รายงานฉบับนี้ ประจำปี 2552 คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบคุณภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ด้านสถานที่ เครื่องมือ และวัสดุอุปกรณ์บางอย่าง ขอขอบคุณคณาจารย์ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการรวมทั้งบุคลากรสารบรรณทุกท่าน ที่ให้ความสะดวกในด้านต่าง ๆ จนทำให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ชื่อเรื่อง: ประสิทธิภาพของเชื้อ *Pseudomonas* sp. ในน้ำหมักชีวภาพเพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ
ที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*
นักวิจัย: วรณดี บัญญัติวิรัช และคณะ
สถานที่ทำงาน: ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
โทร 043 – 202377 โทรสาร 043 – 202377

บทคัดย่อ

248109

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *Pseudomonas* spp. จำนวน 4 ไอโซเลต ได้แก่ SE-1, SE-2, PT2-1 และ PNN1-5 ร่วมกับน้ำหมักชีวภาพจากผักกาดขาวในการควบคุมโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Fol) race2 ในสภาพเรือนทดลอง โดยวิธีการนำสารแขวนลอยของ *Pseudomonas* spp. แต่ละไอโซเลตที่มีความเข้มข้น 1×10^9 CFU/ml มาใช้ร่วมกับน้ำหมักชีวภาพที่มีความเข้มข้น 0.1% ผลการทดลองพบว่าไอโซเลต SE-1 จะมีประสิทธิภาพมากที่สุดในการควบคุมโรคเหี่ยวเหลืองเมื่อทดสอบกับต้นกล้ามะเขือเทศ และไอโซเลต PT2-1จะมีประสิทธิภาพมากที่สุด เมื่อทดสอบกับเมล็ดพันธุ์ โดยที่สามารถลดการเกิดโรคเหี่ยวเหลืองได้ 90% นอกจากนี้ยังพบว่า น้ำหมักชีวภาพจากผักกาดขาวสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช โดยให้น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งที่เพิ่มขึ้นของต้นมะเขือเทศทั้งต้นสูงสุดเท่ากับ 22.66 และ 1.83 กรัม ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม เมื่อนำเชื้อ *Pseudomonas* ไอโซเลต SE-1, SE-2, PT2-1 และ PNN1-5 มาตรวจสอบการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่าสามารถสร้างสารไซเคอร์โรฟอรัส, volatile compounds, อินโดล-3-อะซิติก แอซิด และเอนไซม์ย่อยสลาย ได้แก่ ไคตินเนส, เบตา-1,3- กลูคาเนส และโปรตีเอส

คำสำคัญ: *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Pseudomonas* spp. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

Title: Efficacy of *Pseudomonas* sp in liquid organic fertilizer for control of Fusarium Wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

Researchers: Wandee Bunyatratchata and others

Office: Department of Microbiology, Faculty of Science, Khon Kaen University

Tel: 043 – 202377, Fax: 043 – 202377

ABSTRACT

248109

Four isolates of antagonistic *Pseudomonas* spp., SE-1, SE-2, PT2-1 and PNN1-5 and liquid organic fertilizer produced from Chinese cabbage amended with 0.5% molasses were tested for controlling Fusarium wilt of tomatoes caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Fol) race2 in the greenhouse. Each seed inoculum of *Pseudomonas* at concentration 1×10^9 CFU/ml combined with liquid organic fertilizer concentration of 0.1% was used. The most effective application was *Pseudomonas* SE-1 using seedling treatment by root dip and *Pseudomonas* PT2-1 with seed treatment reduced disease at the same level of 90%. In addition, the liquid organic fertilizer showed growth induction property of tomato. The highest of fresh and dry weight of 22.66 and 1.83 grams, was obtained respectively, compared to control treatment. The isolates of *Pseudomonas* were determined bioactive compounds. The result showed that, they produced siderophores, indole-3 - acetic acid (IAA), volatile compounds and lytic enzymes as chitinase, beta - 1, 3 – glucanase and protease.

Keywords: *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Pseudomonas* spp. bioactive compound

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ช
บทที่	
1. บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์	3
1.3 ขอบเขตการวิจัย	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
2. ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	
2.1 โรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศ	4
2.2 การควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศโดยชีววิธี	7
2.3 เชื้อแบคทีเรีย <i>Pseudomonas</i> spp.	8
2.4 น้ำหมักชีวภาพ	13
3. วิธีดำเนินงานวิจัย	
3.1 ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ <i>Pseudomonas</i> ร่วมกับน้ำหมักชีวภาพ	15
จากผักกาดขาวในการควบคุมโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศที่เกิดจาก	
เชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> (Fol) ในสภาพเรือนทดลอง	
3.2 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ <i>Pseudomonas</i> ไอโซเลตต่างๆ	18
ร่วมกับการใช้น้ำหมักชีวภาพจากผักกาดขาวในการส่งเสริมการเจริญเติบโต	
ของต้นมะเขือเทศ	
3.3 การตรวจสอบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเชื้อ <i>Pseudomonas</i> spp	20
4 ผลการทดลอง	23
5. อภิปรายและวิจารณ์ผลการทดลอง	40
6. ข้อเสนอแนะ	45

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
เอกสารอ้างอิง	47
ภาคผนวก	51
ประวัติและผลงานนักวิจัย	60

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 กรรมวิธีการแช่เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศก่อนปลูก เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของ <i>Pseudomonas</i> และน้ำหมักชีวภาพจากผักกาดขาวในการควบคุมโรคเหี่ยวเหลืองที่เกิดจากเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> (Fol) ในสภาพเรือนทดลอง	16
3.2 กรรมวิธีทดสอบกับต้นกล้าของมะเขือเทศเพื่อประเมินประสิทธิภาพของ <i>Pseudomonas</i> และน้ำหมักชีวภาพจากผักกาดขาว ในการควบคุมโรคเหี่ยวเหลืองที่เกิดจากเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> (Fol) ในสภาพเรือนทดลอง	17
3.3 กรรมวิธีการแช่เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศก่อนการนำไปปลูก เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของ <i>Pseudomonas</i> ร่วมกับน้ำหมักชีวภาพจากผักกาดขาวในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นมะเขือเทศในสภาพเรือนทดลอง	18
3.4 กรรมวิธีทดสอบกับต้นกล้ามะเขือเทศเพื่อประเมินประสิทธิภาพของ <i>Pseudomonas</i> ร่วมกับน้ำหมักชีวภาพจากผักกาดขาว ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นมะเขือเทศ	19
4.1 กรรมวิธีการแช่เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศก่อนการนำไปปลูก เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของ <i>Pseudomonas</i> และ / หรือน้ำหมักชีวภาพจากผักกาดขาวในการควบคุมโรคเหี่ยวเหลืองที่เกิดจากเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> (Fol) ในสภาพเรือนทดลอง	24
4.2 กรรมวิธีทดสอบกับต้นกล้าของมะเขือเทศเพื่อประเมินประสิทธิภาพของ <i>Pseudomonas</i> และน้ำหมักชีวภาพจากผักกาดขาว ในการควบคุมโรคเหี่ยวเหลืองที่เกิดจากเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> (Fol) ในสภาพเรือนทดลอง	30
4.3 การทดสอบประสิทธิภาพของ <i>Pseudomonas</i> ร่วมกับน้ำหมักชีวภาพจากผักกาดขาว ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นมะเขือเทศในสภาพเรือนทดลอง โดยวิธีการแช่เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศสดด้วยกรรมวิธีต่าง ๆ ก่อนการนำไปปลูก	33
4.4 การทดสอบประสิทธิภาพของ <i>Pseudomonas</i> ร่วมกับน้ำหมักชีวภาพจากผักกาดขาว ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นมะเขือเทศในสภาพเรือนทดลอง โดยวิธีทดสอบกับต้นกล้าที่นำมาตัดรากและจุ่มราก (root dip) ด้วยกรรมวิธีต่าง ก่อนการนำไปปลูก	35
4.5 กิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนเอสเชิงปริมาณของเชื้อ <i>Pseudomonas</i> spp.	38
4.6 กิจกรรมของเอนไซม์เบตา-1,3-กลูคาเนส เชิงปริมาณของเชื้อ <i>Pseudomonas</i> spp.	39
4.7 กิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนสเชิงปริมาณของเชื้อ <i>Pseudomonas</i>	39

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 โรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศ	5
2.2 วงจรการเกิดโรค (Disease cycle) เหี่ยวเหลือง	6
4.1 ประสิทธิภาพของเชื้อ <i>Pseudomonas</i> SE-1 และน้ำหมักชีวภาพจากผักกาดขาวในการควบคุมโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศพันธุ์สีดาโดยวิธีการแช่เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ	25
4.2 ประสิทธิภาพของเชื้อ <i>Pseudomonas</i> SE-2 และน้ำหมักชีวภาพจากผักกาดขาวในการควบคุมโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศพันธุ์สีดาโดยวิธีการแช่เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ	26
4.3 ประสิทธิภาพของเชื้อ <i>Pseudomonas</i> PT2-1 และน้ำหมักชีวภาพจากผักกาดขาวในการควบคุมโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศพันธุ์สีดาโดยวิธีการแช่เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ	27
4.4 ประสิทธิภาพของเชื้อ <i>Pseudomonas</i> PNN1-5 และน้ำหมักชีวภาพจากผักกาดขาวในการควบคุมโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศพันธุ์สีดาโดยวิธีการแช่เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ	28
4.5 ประสิทธิภาพของเชื้อ <i>Pseudomonas</i> และน้ำหมักชีวภาพจากผักกาดขาวในการควบคุมโรคเหี่ยวเหลืองของมะเขือเทศพันธุ์สีดาโดยวิธีนำต้นกล้ามะเขือเทศอายุ 25 วัน มาตัดปลายรากทิ้งประมาณ 2 ซม.	31
4.6 ลักษณะการเปลี่ยนสีอาหาร Chrome azurol S (CAS) agar รอบหลุมที่ใส่สารแขวนลอยของ <i>Pseudomonas</i> SE-1, SE-2, PT2-1 และ PNN1-5 เนื่องจากการสร้างสารไฮเดรโอโรฟอว์ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (control) บนอาหาร CAS (Chrome azurol S) agar	36
4.7 ลักษณะวงสีชมพูรอบโคโลนีของ <i>Pseudomonas</i> PT2-1 ที่เจริญบนกระดาษกรองจุ่มสาร Solkowsky's reagent เนื่องจากการสร้างสาร Indole-3-acetic acid (IAA) ของแบคทีเรีย	36
4.8 การสร้างสาร volatile compounds ของเชื้อ <i>Pseudomonas</i> ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> บนอาหาร PDA เมื่อป้อนที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	37