

รหัสโครงการ:	RDG5550073
ชื่อโครงการ	โครงการวิจัยขนาดเล็กเรื่องยางพารา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร
ชื่อโครงการย่อยที่ 1	ศักยภาพของแอคติโนมัยสิทต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา <i>Phytophthora</i> สาเหตุโรคเส้นดำยางพาราในระดับห้องปฏิบัติการ
ชื่อนักวิจัย:	ดร. นารีลักษณ์ นาแก้ว
สังกัด:	ภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ ม. นเรศวร
โทรศัพท์:	055 964622
E-mail:	nnakaew@hotmail.com
ระยะเวลาดำเนินโครงการ:	1 สิงหาคม 2555 – 31 กรกฎาคม 2556

บทคัดย่อ

โรคเส้นดำ (Black Stripe) ซึ่งมีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Phytophthora* เป็นโรคทางลำต้นของยางพาราที่มีความสำคัญ เนื่องจากทำลายหน้ากรีดซึ่งเป็นบริเวณเก็บเกี่ยวการป้องกันและกำจัดทำได้โดยการใส่สารเคมี ซึ่งอาจมีอันตรายต่อผู้ใช้หากไม่ระมัดระวัง แนวทางป้องกันการระบาดของเชื้อโรคนี้อาจทำได้โดยใช้วิธีการทางชีวภาพ ซึ่งให้ผลดีและไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งปัจจุบันยังไม่พบรายงานเกี่ยวกับการควบคุมโรคเส้นดำโดยชีววิธี จึงเป็นที่มาของงานวิจัยชิ้นนี้ ซึ่งเป็นการค้นหาแอคติโนมัยสิทซึ่งเป็นกลุ่มของจุลินทรีย์ที่มีรายงานว่าสามารถผลิตสารปฏิชีวนะได้ดีที่สุด มาทดสอบการยับยั้งเชื้อรา และศึกษาความเป็นไปได้ในการนำสารสกัดที่ได้จากเชื้อไปใช้จริง

ผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *Phytophthora* เบื้องต้นในห้องปฏิบัติการโดยวิธี Dual culture bioassay โดยเชื้อแอคติโนมัยสิทที่เก็บรักษาไว้ในห้องปฏิบัติการจำนวน 75 ไอโซเลท พบว่าเชื้อแอคติโนมัยสิทไอโซเลท A31 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีที่สุด โดยให้ขนาดของโซนยับยั้งเท่ากับ 55 มิลลิเมตร เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยสิทไอโซเลท A31 เพื่อเตรียมสารสกัดหยาบเพื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราโดยการเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อราได้ เปรียบเทียบกับ Metalaxyl โดยใช้เชื้อรา *Phytophthora* 2 สายพันธุ์คือ สายพันธุ์ที่แยกได้จากต้นยางที่เป็นโรค และ เชื้อรา *Phytophthora* ที่เป็นสาเหตุของโรคเน่าในทุเรียนที่ได้รับความอนุเคราะห์จากสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร มาใช้ในการทดสอบผลการวิจัยพบว่าสารสกัดหยาบจากแอคติโนมัยสิทมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้ง 2 สายพันธุ์ดีกว่า Metalaxyl โดยให้ค่า MIC ต่อสายพันธุ์ที่แยกได้จากต้นยางที่เป็นโรคและสายพันธุ์ที่ได้รับความอนุเคราะห์มาจากกรมวิชาการเกษตร เท่ากับ 0.1 และ 1 mg/ml ตามลำดับ ในขณะที่ metalaxyl ให้ค่า MIC เท่ากับ 0.5 และ มากกว่า 1 mg/ml ตามลำดับ จากการเปรียบเทียบต้นทุนในการผลิต พบว่าการใช้สารสกัดหยาบจากแอคติโนมัยสิทไอโซเลท A31 ในการยับยั้งเชื้อราใช้ต้นทุนสูงกว่า metalaxyl 50 เท่า ซึ่งถ้ามีการพัฒนาด้านการผลิต และมีการทำให้สารมีความบริสุทธิ์เพิ่มมากขึ้นซึ่งจะทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงขึ้นและปริมาณที่ใช้จะน้อยลงอาจจะสามารถทำให้ต้นทุนการผลิตต่ำลงได้ ดังนั้นสารสกัดจากแอคติโนมัยสิทไอโซเลท A31 จึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการนำมาใช้ทดแทนสารเคมี

Project code: RDG5550073
Project title: Biological control of black stripe of Para-rubber tree with actinomycetes crude extract
Investigator: Dr. Nareeluk Nakaew
E-mail Address: nnakaew@hotmail.com
Project Period: 1 August 2555 – 31 July 2556

Abstract

Black stripe disease caused by *Phytophthora* spp. is a stem disease of para rubber trees. It is an important disease damaging the tapping area reach to reduction of latex yield. Use of chemical fungicides is able to control the disease but may harm to the farmers. However, biological approach to control the disease, which could be safer for human use and environment, has not yet been studied. Here, we aim to evaluate antifungal activity of some actinobacteria and their applicable extract for biological control of the disease in rubber trees farming. Based on *in vitro* antifungal test by dual culture technique, we found 75 bioactive isolates of actinobacteria that were able to inhibit growth of *Phytophthora* sp. Among all tested actinobacteria, an isolate A31 showed the most distinctive antifungal activity against the fungus by giving the largest inhibition zone of 55 mm. The isolate was then grown in a liquid medium (ISP2) for extraction of its cell-free culture fluid. Crude extract obtained by solvents (ethyl acetate) extraction was evaluated its minimum inhibitory concentrations (MICs) against 2 isolates of *Phytophthora* compared with a positive control, metalaxyl. Two isolates of *Phytophthora* include one isolated from diseased rubber tree (isolate 1) and other one causing rot disease in durian (isolate 2) provided by Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture. It was shown that the crude extract revealed greater inhibition activities against both isolates of *Phytophthora* with MIC values of 0.1 mg/ml for isolate 1 and 1 mg/ml for isolate 2, compared to the control that showed higher MIC values of 0.5 and >1 mg/ml, respectively. Although investment cost for production of the crude extract derived from the isolate A31 was 50 times higher than the cost for chemical use, we still convince that purity increase of antifungal substances in the crude extract might reduce effective dose of the substances used and further reduce the investment cost for farmers. We concluded that the antifungal substances produced by the isolate A31 could be an alternative approach for sustainable control of the disease with less or no harm to human and environment.