ผลของไคโตซานต่อการงอกของสปอร์และการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราสาเหตุโรคพืช

Effect of Chitosan on Spore Germination and Mycelial Growth of Fungi

จินตนา ทำทอง[1] ทักษอร บุญชู [1]และ ทรงศิลป์ พจน์ชนะชัย[1]

Jintana Tamthong[1] Taksaon Boonchoo[1] and Songsin Photchanachai[1]

ABSTRACT

The effect of chitosan on spore germination and mycelial growth of fungi was studied on plant pathogen of four species that were inoculated on PDA (Potato Dextrose Agar) plate with pH 5.6. The results revealed that chitosan treatment could significantly suppress spore germination of *Fusarium solani*, *Sclerothium rolfsii* and *Pythium aphanidermatum* (soilborne pathogen) and *Macrophomena phaseolina* (seedborne pathogen) comparison to control and 0.5% acetic acid (pH 5.6) treatment. The medium amended with 0.8% chitosan showed the greatest in delaying the germination of fungal spore. Moreover, on the medium with chitosan treatment at the concentration in range of study, the mycelial growth of *F. solani* and *M. phaseolina* was significantly less than control and acetic acid treatment. However, depleting of mycelial growth of *P. aphanidermatum* was due to the interaction between acetic acid and chitosan. Meanwhile, mycelium growth of *S. rolfsii* was inhibited when it was inoculated on the medium mixed with acetic acid.

Key words: chitosan *Fusarium solani* *Sclerothium rolfsii* *Pythium aphanidermatum* *Macrophomena phaseolina*

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของไคโตซานต่อการงอกของสปอร์และการเจริญเติบโตของเส้นใยของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 4 ชนิด ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (Potato Dextrose Agar) pH 5.6พบว่า ไคโตซานสามารถชะลอการงอกของสปอร์เชื้อรา *Fusarium solani*, *Sclerotium rolfsi* และ *Pythium aphanidermatum* (soilborne pathogen) และ *Macrophomena phaseolina* (seedborne pathogen) ได้อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมและชุดที่มีกรดอะซิติก 0.5%(pH 5.6) อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไคโตซานความเข้มข้น 0.8% ชะลอการงอกของสปอร์ของเชื้อราได้ดีที่สุด นอกจากนี้ การเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *F. solani* และ *M .phaseolina* ที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไคโตซานในทุกความเข้มข้นมีการเจริญเติบโตช้ากว่าชุดควบคุมและชุดที่มีกรดอะซิติกอย่างมีนัยสำคัญ แต่การเจริญเติบโตของเส้นใยของเชื้อรา *P. aphanidermatum* เป็นผลจากปฏิกิริยาร่วมของกรดอะซิติกและไคโตซานในขณะที่เชื้อรา *S. rolfsii* การเจริญเติบโตถูกยับยั้งเมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อมีกรดอะซิติกร่วมด้วย

คำสำคัญ ไคโตซาน *Fusarium solani* *Sclerothium rolfsii* *Pythium aphanidermatum* *Macrophomena phaseolina*

คำนำ

ปัญหาการระบาดของโรคพืชจากเชื้อราที่ปนเปื้อนอยู่ในดินและวัสดุปลูก (soilborne pathogen) เช่น เชื้อราในกลุ่ม *Fusarium* sp .*Sclerotium* sp. *Colletothichum* sp. และ *Pythium* sp. รวมทั้งเชื้อราที่สามารถติดต่อผ่านทางเมล็ดพันธุ์ เช่น *Macrophomena phaseolina* และ *Colletothichum* sp. ทำความเสียหายให้กับพืชหลายชนิด การระบาดจะรุนแรงและก่อให้เกิดความเสียหายมากที่สุดในระยะต้นกล้า (กัญจนา, 2538; บุญญวดี, 2540) สำหรับการป้องกันที่นิยมปฏิบัติคือ การใช้สารเคมีคลุกเมล็ดพันธุ์ก่อนการปลูก การรมแปลงปลูกด้วยสารเคมี หรือการฉีดพ่นสารเคมีให้กับต้นกล้า ทำให้มีการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดเพิ่มมากขึ้นซึ่งมีผลกระทบต่อผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม การใช้ไคโตซานซึ่งเป็นสารที่ได้จากธรรมชาติมีคุณสมบัติในการป้องกันเชื้อสาเหตุของโรคพืชทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว (Bautista-Banos และคณะ, 2005) เช่นการเคลือบเมล็ดพันธุ์ข้าวสาลีด้วยไคโตซานสามารถกระตุ้นการต้านทานการเข้าทำลายของเชื้อรา *Fusarium graminearum* ที่ติดต่อผ่านทางเมล็ดพันธุ์ โดยทำให้เปอร์เซ็นต์ความงอก และความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ดีกว่าเมล็ดที่ไม่เคลือบด้วยไคโตซาน (Reddy และคณะ, 1999) การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาความเข้มข้นของไคโตซานที่เหมาะสมในการยับยั้งการเจริญเติบโตและ

[1] ภาควิชาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

[1] Division of Postharvest Technology, School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi

การงอกสร้างสปอร์ของเชื้อรา *F. solani S. rolfsii P. aphanidermatum* และ *M. phaseolina* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

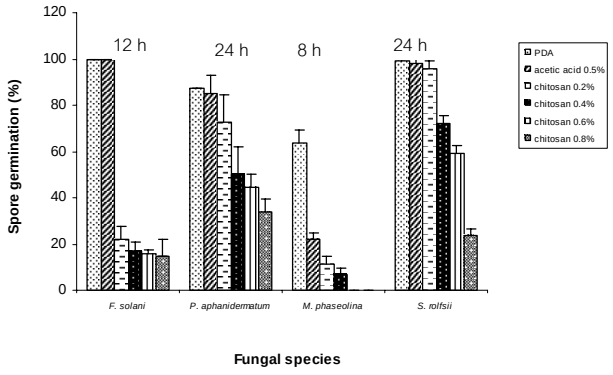
อุปกรณ์และวิธีการ

เชื้อราบริสุทธิ์ *Fusarium solani Sclerothium rolfsii* และ*Pythium aphanidermatum* (soilborne pathogen) และ *Macrophomena phaseolina* (seedborne pathogen) ซื้อจากสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

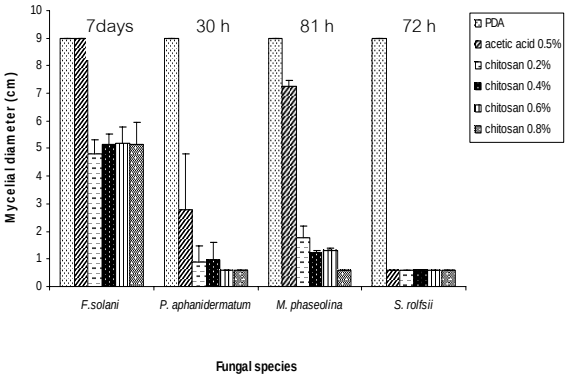
เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA)ให้มีความเข้มข้นของไคโตซาน 0.2, 0.4, 0.6และ0.8 % และ PDA ที่เติมกรดอะซิติก แล้วปรับ pH อาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวเป็น 5.6 ก่อนนำอาหารเลี้ยงเชื้อไปนึ่งฆ่าเชื้อเพื่อใช้ในการทดลองและเปรียบเทียบกับชุดควบคุมต่อไป ตัดชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยเชื้อราเจริญเติบโตแล้ววางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง ($35\pm2^{\circ}C$) ศึกษาการเจริญเติบโตของเส้นใยโดยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของกลุ่มเส้นใย (ซม.) เปรียบเทียบกับชุดควบคุม สำหรับการงอกของสปอร์ปฏิบัติโดยนำ spore suspension มา spread ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ตรวจนับจำนวนสปอร์ที่งอกเปรียบเทียบกับชุดควบคุมโดยส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ รายงานผลเป็นเปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์ ทำการทดลอง 4 ซ้ำ

ผลและวิจารณ์

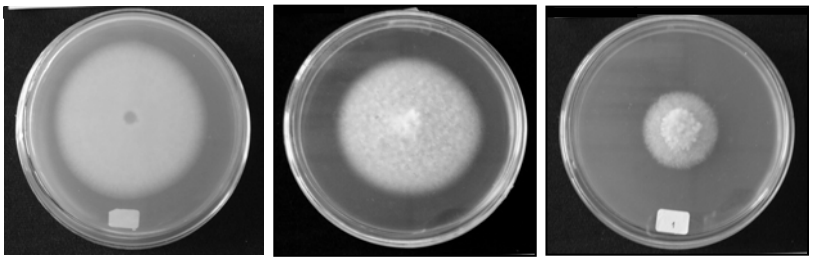
อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไคโตซานสามารถชะลอการงอกของสปอร์เชื้อราทั้ง 4 ชนิดได้ตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นและในระยะเวลาที่แตกต่างกัน ไคโตซานมีประสิทธิภาพในการชะลอการงอกของสปอร์ *P. aphanidermatum* ได้ใกล้เคียงกับเชื้อรา *S. rolfsii* ส่วนสปอร์เชื้อรา *F. solani* ที่เลี้ยงบนอาหารที่มีไคโตซานมีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำกว่า 20% ซึ่งต่างจากอาหารที่มีกรดอะซิติก และชุดควบคุมที่สปอร์งอกได้ 100 % ภายใน 12 ชม .สำหรับสปอร์เชื้อรา *M. phaseolina* ไคโตซานสามารถควบคุมการงอกของสปอร์ได้มากกว่า 8 ชม .ในขณะที่ชุดควบคุมสปอร์งอกได้มากกว่า 63 % (รูปที่ 1) นอกจากนี้ ไคโตซานทุกความเข้มข้นยังสามารถชะลอการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *M. phaseolina* และ *F. solani* ได้ ส่วนเชื้อรา *P. aphanidermatum* พบว่าการเจริญเติบโตของเส้นใยเกิดจากอิทธิพลร่วมของไคโตซานและกรดอะซิติก ในขณะที่เส้นใยเชื้อรา *S. rolfsii* ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารที่มีกรดอะซิติก (รูปที่ 2) ทั้งนี้อาจจะมีสาเหตุจากอาหารเลี้ยงเชื้อมี pH ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราชนิดนี้ จะเห็นได้ว่าประสิทธิภาพของไคโตซานขึ้นอยู่กับชนิด และระยะการเจริญเติบโตของเชื้อรา การงอกของสปอร์ และการเจริญเติบโตของเส้นใย (El Ghaouth, A. และ คณะ, 1997; Benhamou, N. และคณะ, 1994)



รูปที่ 1 เปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อราที่ปลูกเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีส่วนผสมของไคโตซานความเข้มข้นต่างๆ ภายหลังจากการบ่มเชื้อเป็นระยะเวลาแตกต่างกัน



รูปที่ 2 การเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อราที่ปลูกเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีส่วนผสมของไคโตซานความเข้มข้นต่างๆ ภายหลังจากการบ่มเชื้อเป็นระยะเวลาแตกต่างกัน



PDA PDA+acetic acid 0.5% PDA+chitosan 0.2%

รูปที่ 3 การเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *F. solani* ที่ปลูกเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีส่วนผสมของไคโตซานหรือกรดอะซิติก หลังจากบ่มเป็นเวลา 5 วัน

สรุป

ไคโตซานสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์และชะลอการเจริญเติบโตของเส้นใยของเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคพืชได้ในช่วงเวลาแตกต่างกัน และขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของไคโตซาน ชนิดและระยะการเจริญเติบโตของเชื้อรา โดยไคโตซานความเข้มข้นสูงสามารถชะลอการงอกของสปอร์และการเจริญเติบโตของเส้นใยได้ดีกว่าความเข้มข้นต่ำ ยกเว้นเส้นใยของเชื้อรา *S. rolfsii* ที่อาจมีสาเหตุจากความเป็นกรดของอาหารเลี้ยงเชื้อ

เอกสารอ้างอิง

กัญจนา พุทธสมัย ,2538 ,โรคเมล็ดพันธุ์และเชื้อรา ,กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ 46 ,หน้า.

บุญญวดี จิระวุฒิ, 2540, การทำให้เกิดโรคของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* บนผลพริกและการถ่ายทอดเชื้อจากผลที่เป็นโรคสู่เมล็ดพันธุ์, วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 66 หน้า.

Bautista-Banos, S., Hernandez-Lauzardo, A.N., Velazquez-del Valle, M.G., Hernandez-Lopez, M., Ait Barka, E., Bosquez-Molina, E., Wilson, C.L., 2005, Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities, Crop Protection. Inpress.

Benhamou, N., Lafontaine, P.J., Nicole, M., 1994. Induction on systemic resistance to Fusarium crown and root rot in tomato plants by seed treatment with chitosan. Phytopathology 84,1432–1444.

El Ghaouth, A., Arul, J., Wilson, C., Benhamou, N., 1997,Biochemical and cytochemical aspects of the interactions of chitosan and *Botrytis cinerea* in bell pepper fruit. Postharv. Biol.Technol. 12, 183–194.

Reddy M.V.B., Joseph, A. Angers P., Couture, L., 1999, Chitosan treatment of wheat seeds induces resistance to *Fusarium graminearum* and improves seed quality, J. Agric. Food Chem. 47, 1208-1216.