ประสิทธิภาพของสารสกัดน้ำจากเหง้าขมิ้นแห้งในการควบคุมเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ด้วยวิธีการคลุกและวิธีการแช่เมล็ด

Efficacy of Dried Turmeric Rhizome Water Extract in Controlling Seed-borne Fungi of Rice cv. Khao Dawk Mali 105 Using Seed Dressing and Seed Soaking Methods

ทวัช พุ่มวงษ์[1] และ นุชนารถ จงเลขา[2]

Tawat Pumwong[1] and Nuchnart Jonglaekha[2]

Abstract

Seed borne fungi were inspected with Blotter Method in rice cv. Khao Dawk Mali 105 obtained from two farmers' rice storehouses. Isolation and identification of the fungi were made on PDA and found two major field pathogens -- *Fusarium moniliforme* and *F.semitectum* together with saprophytic and storage fungi.

Efficacy test of dried turmeric rhizomes water extract for seed treatment on the rice seed after 3 months storage was made, using seed dressing and seed soaking methods. Results showed that seed soaking method gave best control, reduced percentage of seed damage when compared with seed dressing and control treatments. Measurement on effect of the extract on seed damage and growth of seedlings (root length, stem height and dried weight of the whole plant), using Standard Soil Method, indicated that both methods gave much better results than control treatment, statistically different at 95% level.

บทคัดย่อ

ตรวจเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ105 ในยุ้งฉางของเกษตรกร 2 ราย ด้วยวิธี Blotter Method ทำการแยกและจำแนกเชื้อราบนอาหาร PDA พบเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคในแปลงปลูกที่สำคัญ คือ *Fusarium moniliforme* และ *F. semitectum* รวมทั้งเชื้อรา แซพโพรไฟท์ และเชื้อราในโรงเก็บ

ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดน้ำจากเหง้าขมิ้นแห้ง ด้วยวิธีการคลุกและวิธีการแช่เมล็ด โดยวัดผลหลังเก็บเมล็ดไว้ 3 เดือน ด้วยวิธี Agar Method ผลปรากฏว่าวิธีการแช่เมล็ดด้วยสารสกัดน้ำจากเหง้าขมิ้นแห้ง ให้ผลในการควบคุมดีที่สุด สามารถลดเปอร์เซ็นต์ความเสียหายที่เกิดกับเมล็ดพันธุ์ข้าวเมื่อเทียบกับวิธีการคลุกเมล็ดและชุดควบคุม เมื่อวัดผลความเสียหายจากโรคและผลต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้า (ความยาวราก ความสูงลำต้น และน้ำหนักแห้งของต้นกล้า) ด้วยวิธี Standard Soil Method พบว่าทั้งสองวิธีการให้ผลในการควบคุมดีกว่าชุดควบคุมมาก แตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

คำนำ

ข้าว (Rice : *Oryza sativa* L.) เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวในตระกูล Oryza ใน วงศ์ Gramineae ซึ่งเป็นพืชอาหารหลักสำคัญที่สุดของมนุษย์ (ไพศาล, 2543) โดยมีประชากรมากกว่าหนึ่งในสามของโลกที่บริโภคข้าวเป็นอาหารหลักโดยเฉพาะทวีปเอเชียซึ่งทำการผลิตและบริโภคประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ ของการผลิตและการบริโภคทั่วโลก (Khush and Toenniessen, 1991) ปัจจุบันมีการผลิตข้าวเป็นปริมาณมากในหลายประเทศและส่งไปจำหน่ายในตลาดต่างประเทศ เป็นผลให้เกิดการแข่งขันกันขึ้น เพื่อให้ข้าวไทยสามารถแข่งขันได้ในตลาดโลก รัฐบาลไทยจึงมีนโยบายส่งเสริมให้มีการผลิตข้าวคุณภาพดีเพื่อการส่งออกได้แก่ข้าวหอมพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ตลาดโลกมีความต้องการสูงมาก (วันชัย,2542)

---

[1] สถานวิทยา การหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ / Post-harvest Technology Institute, Chiang Mai University

[2] ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ / Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University

การผลิตข้าวให้ได้ผลผลิตดีและมีคุณภาพสูงนั้น จำเป็นต้องใช้เมล็ดพันธุ์ที่ดี มีศักยภาพในการงอกสูงและสามารถเจริญเติบโตเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์ และต้องปราศจากเชื้อโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ (seed - borne pathogen) ได้แก่ เชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส (วันชัย,2542) มีรายงานถึงเชื้อราสาเหตุโรคที่ติดมากับเมล็ดว่ามีผลต่อประสิทธิภาพในการงอกของเมล็ดพันธุ์และการเจริญของต้นกล้า เช่น เชื้อรา *Fusarium moniliforme* สาเหตุโรคถอดฝักดาบ เป็นเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ ซึ่งเมื่อนำพันธุ์ข้าวที่ติดเชื้อจากโรคนี้ไปเพาะจะทำให้ต้นกล้าแสดงอาการของโรค ซึ่งอาจจะมีทั้งต้นเตี้ยแคระแกรนและต้นสูงชะลูดผิดปกติ (สมคิด, 2532) นอกจากนี้ยังทำให้เมล็ดพันธุ์ข้าวเน่า หรือเมื่อเมล็ดงอกเป็นระยะต้นกล้า ต้นกล้าจะไหม้ แห้งตาย (Agarwal and Sinclair, 1997)

การควบคุมโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มักนิยมใช้วิธีคลุกเมล็ดด้วยสารเคมี เพื่อกำจัดเชื้อโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ และป้องกันเมล็ดพันธุ์ จากการเข้าทำลายของโรคและแมลงที่อยู่ในดิน ก่อนนำเมล็ดพันธุ์ไปปลูก (จวงจันทร์, 2529) แต่การใช้สารกำจัดเชื้อราอาจเป็นอันตรายต่อผู้ใช้ อาจมีผลต่อการดื้อยาของเชื้อสาเหตุ และอาจทำให้อายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์สั้นลงด้วย (วันชัย, 2542) ด้วยเหตุนี้จึงมีผู้พยายามหาสิ่งอื่น ๆ มาใช้แทนสารเคมี สารสกัดจากพืชสมุนไพรน่าจะเป็นสิ่งทดแทนที่ดี มีสารสกัดจากพืชหลายชนิดที่สามารถนำมาใช้ควบคุมโรคพืชได้ โดยมีผู้รายงานผลงานวิจัยไว้เป็นจำนวนมาก ดังเช่น สุรีย์ (2522) แสดงให้เห็นว่าผลการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันสกัดจากขมิ้นชันสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราหลายชนิดได้แก่ *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Curvularia oryzae*, *Helminthosporium oryzae*, *Microsporium gypseum*, *Penicillium corymbiferum*, *P. javanicum* และ *P. tilacinum*

การวิจัยครั้งนี้จึงมีจุดมุ่งหมายที่จะศึกษาสารสกัดน้ำจากเหง้าขมิ้นแห้งที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวหอมขาวดอกมะลิ 105 ด้วยวิธีการคลุกและวิธีการแช่เมล็ดในโรงเก็บ เพื่อให้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการนำไปใช้เผยแพร่เกษตรกรและผู้ที่เกี่ยวข้องต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 การศึกษาและตรวจสอบเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวหอมขาวดอกมะลิ 105

การเก็บตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าว

ทำการสำรวจยุ้งฉางของเกษตรกรที่ปลูกข้าวหอมขาวดอกมะลิ 105 ณ. บ้านท่า ต.สง่าบ้าน อ.ดอยสะเก็ด จ. เชียงใหม่ ซึ่งมีพื้นที่ปลูกข้าวพันธุ์นี้สูงที่สุดในเชียงใหม่ (อารี และคณะ,2544)

การตรวจดูเชื้อโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธี Blotter Method

การตรวจดูเชื้อโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ด้วย Blotter Method เป็นวิธีการเพาะเมล็ดพืชลงบนกระดาษชื้น โดยทำการตรวจสอบ 3 ครั้ง คือ หลังจากนำเมล็ดข้าวมาทันที (ตรวจสอบครั้งที่1) หลังจากการตรวจสอบครั้งที่หนึ่ง 1 สัปดาห์ (ตรวจสอบครั้งที่2) และหลังจากการตรวจสอบครั้งที่สอง 1 สัปดาห์ (ตรวจสอบครั้งที่3) ใช้เมล็ดข้าวสำหรับการตรวจสอบ ครั้งละ 480 เมล็ด จำนวน 4 ซ้ำ ซ้ำละ 20 เมล็ด ต่อ จานเลี้ยงเชื้อ (Petridish) แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นตรวจดูชนิด ลักษณะเชื้อรา เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อรา และเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ Stereo และแบบ Compound พร้อมทั้งบันทึกผลการทดลอง

$$\text{การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายของเชื้อรา} = \frac{\text{จำนวนเมล็ดพันธุ์พืชที่ถูกเชื้อราเข้าทำลาย} \times 100}{\text{จำนวนเมล็ดพันธุ์พืชที่นำมาตรวจสอบ}}$$

การแยกเชื้อบริสุทธิ์ (Pure Isolate) จากเมล็ดพันธุ์ข้าวที่เป็นโรค

ทำการแยกเชื้อราที่พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายของเชื้อรามากที่สุด ให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ โดยตรวจดูชนิดและลักษณะเชื้อราจากเมล็ดข้าวที่มีการเข้าทำลายของเชื้อราชนิดนั้นภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ Stereo และทำการแยกเชื้อบริสุทธิ์ (pure isolate) (Single Spore Isolation Technique) ด้วยการแยกสปอร์เดี่ยวของเชื้อรา จากเมล็ดข้าวตัวอย่างที่เป็นโรคภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ Compound ที่กำลังขยาย 100 เท่า ด้วยเข็มเขี่ยขนาดจิ๋ว(micro needle) ที่ทำจาก cappilary tulse มาเลี้ยง บนอาหาร PDA เลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 องศาเซลเซียส ช่วงกลางวัน และประมาณ 27 องศาเซลเซียส ช่วงกลางคืน) จากนั้นตรวจดูลักษณะรูปร่างของโคโลนีและสปอร์ของเชื้อราทดสอบ แล้วนำมาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค (pathogenicity test) เก็บเชื้อราทดสอบบนหลอดอาหารเอียง (PDA slant) เพื่อเก็บเป็น stock culture ไว้ทดสอบต่อไป

การสกัดสารจากเหง้าขมิ้นและใบสะเดาแห้งด้วยน้ำ

ทำการสกัดสารจากเหง้าขมิ้นและใบสะเดาแห้ง โดยนำเหง้าขมิ้น และใบสะเดาสด ชนิดละ 150 กรัม (น้ำหนักสด) ตากให้แห้งในที่ร่ม แล้วจึงนำไปปั่นละเอียด จากนั้นนำไปแช่ในน้ำสะอาด 300 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้องนาน 24 ชั่วโมง จากนั้นกรองสารสกัดด้วยผ้าขาวบาง 2 ชั้น เช่นเดียวกับการสกัดพืชสด

การทดสอบวิธีการใช้สารสกัด เพื่อควบคุมเชื้อโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าว โดยใช้วิธีการคลุก และวิธีการแช่เมล็ด ต่อเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อรา อาการโรคที่เกิดบนต้นกล้า และการเจริญเติบโตของต้นกล้า หลังเก็บเมล็ดพันธุ์ข้าว 3 เดือน

วิธีการคลุกเมล็ดพันธุ์ข้าว

การคลุกเมล็ดพันธุ์ข้าวโดยนำสารสกัดที่ได้คัดเลือกจากกลุ่มกรรมวิธีสารสกัดด้วยน้ำ (3.2.1) และกลุ่มกรรมวิธีสารสกัดด้วยเอทานอล (3.2.2) ที่ให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีที่สุด โดยนำเมล็ดพันธุ์ข้าว ปริมาณ 300 กรัม ใส่ในถุงพลาสติกใส แล้วเทสารสกัดปริมาตร 200 มิลลิลิตร ลงในถุงเมล็ดข้าว เขย่าให้เมล็ดข้าวคลุกเคล้ากับสารสกัดจนทั่วแล้วเทเมล็ดข้าวออกมาผึ่งให้แห้งสนิทในที่ร่ม จึงนำไปบรรจุในถุงพลาสติกใบใหม่ที่ยังไม่ได้ใช้ พร้อมทั้งมัดปากถุงให้แน่นสนิทด้วยหนังยาง แล้วนำถุงข้าวนี้ไปใส่ในกล่องพลาสติกใส มีฝาปิดสนิทอีกครั้ง เพื่อป้องกัน ความชื้นในอากาศ เชื้อโรค แมลงศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติ เช่น หนู นก เข้าทำลาย เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 เดือน

วิธีการแช่เมล็ดพันธุ์ข้าว

การแช่เมล็ดพันธุ์ข้าวโดยนำสารสกัดที่ได้คัดเลือกจากกลุ่มกรรมวิธีสารสกัดด้วยน้ำ (3.2.1) และกลุ่มกรรมวิธีสารสกัดด้วยเอทานอล (3.2.2) ที่ให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีที่สุดในการทดลองที่ 3.2 โดยนำเมล็ดพันธุ์ข้าว 300 กรัม เทลงในบิกเกอร์ ขนาด 500 มิลลิลิตร แล้วเทสารสกัดปริมาตร 500 มิลลิลิตร ลงในบิกเกอร์ ที่มีข้าวบรรจุอยู่จนท่วมเมล็ดข้าว นานครึ่งชั่วโมง จากนั้นรินสารสกัดออก ผึ่งเมล็ดข้าวให้แห้งสนิทในที่ร่ม จึงนำไปบรรจุในถุงพลาสติกพร้อมทั้งมัดปากถุงให้แน่นสนิท นำถุงข้าวนี้ไปใส่รวมกับถุงเมล็ดข้าวที่คลุกเมล็ดในกล่องพลาสติกใส มีฝาปิดสนิท เพื่อป้องกันความชื้นในอากาศ เชื้อโรค แมลง ศัตรูพืช และศัตรูธรรมชาติ เช่น หนู นก เข้าทำลาย เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 เดือน

การวางแผนการทดลอง

โดยวางแผนการทดลองแบบ RCBD มี 2 กรรมวิธี และชุดควบคุม 1 กรรมวิธี กรรมวิธี ละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 100 เมล็ด

การบันทึกผลและประเมินผล

บันทึกผล โดยกำหนดให้ วิธีการคลุกเมล็ดด้วยสารสกัดเป็นกรรมวิธี (Treatment)ที่ 1 และวิธีการแช่เมล็ดเป็นกรรมวิธีที่ 2 ส่วนเมล็ดพันธุ์ข้าวที่ไม่ได้คลุกและ แช่เมล็ดเป็นชุดควบคุม จากนั้นนำเมล็ดพันธุ์ข้าวหลังจากคลุกและแช่เมล็ดด้วยสารสกัดแล้วเก็บไว้ 1 เดือน 2 เดือน และ 3 เดือนโดยแต่ละเดือนจะนำเมล็ดมาตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ความงอก เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราด้วย Blotter Method และ Agar Method (ภาคผนวกที่ 2) ตรวจสอบอาการโรคบนต้นกล้า และการเจริญเติบโตของต้นกล้าด้วย Standard Soil Method (ภาคผนวกที่ 3) โดยแต่ละวิธีการที่นำมาตรวจสอบเมล็ดข้าว(Blotter Method Agar Method และ Standard Soil Method) ทำการทดสอบกรรมวิธี ละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 100 เมล็ด

ประเมินผล โดยวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of variance) จากเปอร์เซ็นต์ความงอก เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อรา เปอร์เซ็นต์ต้นกล้าเป็นโรค และการเจริญเติบโตของต้นกล้า ในโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS Version 6

ผลการทดลอง

การศึกษาและตรวจสอบเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวหอมขาวดอกมะลิ 105

จากการสำรวจยุ้งฉางของเกษตรกรสองรายที่ปลูกข้าวหอมขาวดอกมะลิ 105 ณ.บ้านท่า ต.สง่าบ้าน อ.ดอยสะเก็ด จ.เชียงใหม่ พบว่าลักษณะยุ้งฉางของเกษตรกรรายแรกมีสภาพเป็นพื้นดินชื้นแฉะ และเลี้ยงไก่ใต้ยุ้งฉาง ส่วนยุ้งฉางของของเกษตรกรรายที่สองมีสภาพเป็นพื้นซีเมนท์ ยกพื้นสูง มีสภาพอากาศปลอดโปร่งและไม่ได้เลี้ยงไก่ใต้ยุ้งฉาง (ภาพที่ 1.) และเมื่อวัดเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดข้าวด้วยเครื่องมือ Rice Moisture Tester ก่อนตรวจเชื้อราที่ติดมากับเมล็ด พบเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ข้าว 12 เปอร์เซ็นต์ทั้งสองยุ้งฉาง

เมื่อตรวจสอบเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าวด้วย Blotter Method พบเชื้อราในยุ้งฉางของเกษตรกรรายแรกมากกว่าเกษตรรายที่สองทั้งชนิดและปริมาณของเชื้อรา จึงนำเฉพาะเมล็ดพันธุ์ข้าวของเกษตรกรรายแรกมาตรวจสอบเชื้อ พบเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคในแปลงปลูกที่สำคัญ คือ *Fusarium* spp. มากที่สุด โดยตรวจสอบครั้งที่ 1 พบ 27.92 เปอร์เซ็นต์ ตรวจสอบครั้งที่ 2 พบ 22.70 และ ตรวจสอบครั้งที่ 3 พบ 19.58 เปอร์เซ็นต์ รวมทั้งเชื้อราแซพโพรไฟท์ (saprophytic fungi) และเชื้อราในโรงเก็บ(ตารางที่ 1)

เมื่อนำเชื้อรา *Fusarium* spp. ที่แยกได้จากเมล็ดข้าวมาเลี้ยงบนอาหาร PDA ด้วยวิธี Culture Disc แล้วศึกษาลักษณะของเชื้อราที่แยกได้ สามารถจำแนกได้ 2 ชนิด หรือ 2 สปีชีส์ (species) คือ *Fusarium moniliforme* และ *F. semitectum* ซึ่งมีลักษณะดังนี้ (Jack, 2002)

F. moniliforme บนอาหาร PDA เมื่ออายุ 1 สัปดาห์ โคโลนีสีม่วง ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร สร้างสปอร์แบบ microconidia เป็นจำนวนมาก มีลักษณะเซลล์เดี่ยวรูปหัวท้ายค่อนข้างทู่ (blunt shaped) มีขนาดความกว้าง 1.5-2.5 ไมครอน (μm) ความยาว 5-12 ไมครอน ไม่มีผนังกั้น (ภาพที่ 2)

F. semitectum บนอาหาร PDA เมื่ออายุ 1 สัปดาห์ โคโลนีสีส้ม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางยาวกว่า 7 เซนติเมตร แล้วสร้างสปอร์แบบ macroconidia จำนวนมาก มีลักษณะเซลล์เดี่ยวรูปเรือแคนู (canoo shaped) มีขนาดความกว้างน้อยกว่า 3 ไมครอน ความยาว 20-40 ไมครอน มีผนังกันตามขวาง 3-4 อัน (ภาพที่ 3)

ตารางที่ 1 ชนิดและปริมาณของเชื้อราที่ตรวจพบในเมล็ดพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ด้วย Blotter Method ในการตรวจสอบสามครั้งห่างกัน ครั้งละ 1 สัปดาห์

เชื้อรา	ปริมาณของเชื้อรา (เปอร์เซ็นต์) [1)]		
	ตรวจสอบครั้งที่ 1	ตรวจสอบครั้งที่ 2	ตรวจสอบครั้งที่ 3
Aspergillus Flavas	2.08	1.46	1.04
A.niger	8.75	6.66	8.13
A.sp	-	-	2.50
Bipolaris oryzae	1.25	1.04	3.96
Curvularia oryzae	2.08	4.58	5.00
Fusarium sp.	27.92	22.70	19.58
Penicillium sp.	-	-	3.13
จำนวนเมล็ดติดเชื้อรา (%)	36.45	42.08	43.33
จำนวนเมล็ดงอก (%)	90.83	90.83	89.38

[1)]เปอร์เซ็นต์การติดเชื้อราของจำนวนเมล็ดข้าว 480 เมล็ด ในการตรวจสอบเมล็ดแต่ละครั้ง