



## รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

### โครงการ

### การควบคุมโรคไหม้ของข้าวโดยชีววิธี ด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มา

Biological Control of Rice Blast with *Trichoderma* spp.



โดย

กัทลีวัลย์ สุขช่วย

สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร  
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา  
ธันวาคม 2558

## บทสรุปสำหรับผู้บริหาร

**ชื่อโครงการ** การควบคุมโรคไหม้ของข้าวโดยชีววิธีด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มา

### คณะนักวิจัยและสังกัด

กัทลีวัลย์ สุขช่วย สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา

**ระยะเวลาที่ทำการวิจัย** 1 ปี 8 เดือน ระหว่าง กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2557 ถึง กันยายน พ.ศ. 2558

### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

ได้เชื้อราไตรโคเดอร์มาที่มีประสิทธิภาพสูงสามารถควบคุมโรคไหม้ของข้าวในสภาพห้องปฏิบัติการ

### ขอบเขตการวิจัย

สำรวจรวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ของข้าว และเชื้อราไตรโคเดอร์มา ใน 3 อำเภอของจังหวัดลำปาง คัดเลือกทดสอบประสิทธิภาพของสายพันธุ์เชื้อราไตรโคเดอร์มาต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ของข้าวบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ทดสอบความเข้มข้นและจำนวนครั้งในการพ่นเชื้อราไตรโคเดอร์มาต่อการควบคุมโรคไหม้ในสภาพห้องปฏิบัติการ

### วิธีการวิจัย

#### 1. การสำรวจเก็บตัวอย่างและการแยกเชื้อบริสุทธิ์

สำรวจและเก็บตัวอย่างใบข้าวที่เป็นโรคไหม้ใน 3 อำเภอ จังหวัดลำปาง บันทึกสถานที่ พันธุ์ข้าว และลักษณะอาการของโรค จากนั้น นำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ โดยวิธี Tissue Transplanting Method นำเชื้อรา *Pyricularia grisea* บริสุทธิ์ที่แยกได้เก็บไว้บนอาหาร PDA slant ในตู้เย็น เพื่อใช้ทดสอบต่อไป

เก็บตัวอย่างใบข้าวปกติที่ไม่เป็นโรคและตัวอย่างดินในนาข้าว นำมาแยกเชื้อราไตรโคเดอร์มา ให้บริสุทธิ์ โดยวิธี Soil Plate Method นำเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้เก็บไว้ในตู้เย็น เพื่อใช้ทดสอบต่อไป

#### 2. การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับใบข้าว

นำเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวมะลิ 105 ซึ่งอ่อนแอต่อการเกิดโรคไหม้ มาฆ่าเชื้อที่ผิวเมล็ดด้วย คลอรีน 10 % นาน 5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น นำมาเพาะในถาดเพาะ ในกระโจมที่คลุมด้วยพลาสติกใส ป้องกันสปอร์เชื้อโรคมาตกบนใบข้าว เมื่อต้นข้าวอายุ 21 วันจึงตัดใบข้าวมาทำการทดสอบ

นำเชื้อรา *P. grisea* บริสุทธิ์ มาเลี้ยงในอาหาร Rice-Polish Agar (RPA) ในจานเลี้ยงเชื้อ เป็นเวลา 14 วัน เพื่อให้เชื้อสร้างสปอร์ จากนั้นนำมาทำสปอร์แขวนลอย ให้มีความเข้มข้น 10<sup>5</sup> สปอร์/มล. นำไปทดสอบต่อไป

ตัดใบข้าวอายุ 21 วันนำมาล้างด้วยน้ำกลั่น หุ้มโคนก้านใบด้วยสำลีจุ่มน้ำกลั่นจากนั้นนำไปวางบนอาหารวุ้น Water agar (WA) ในจานเลี้ยงเชื้อ จำนวน 5 ใบ/จาน พ่นด้วยสปอร์แขวนลอยของ เชื้อรา *P. grisea* จำนวน 10 ไชโหลต อัตรา 5 มล./จาน บ่มในกล่องพลาสติกขึ้น ที่อุณหภูมิห้อง 25 °C ในที่มืด สลับสว่างอย่างละ 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 10 วัน สังเกตลักษณะอาการของโรคแต่ละไชโหลต บันทึกภาพจากนั้นคัดเลือกไชโหลตที่เกิดโรคไปทดสอบต่อไป

### 3. การทดสอบคัดเลือกเชื้อราไตรโคเดอร์มา

นำเชื้อราไตรโคเดอร์มาที่แยกได้จำนวน 21 ไชโหลตและที่เก็บรวบรวมไว้ที่งานอารักขาพืชอีก 13 ไชโหลต รวม 34 ไชโหลต มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา *P. grisea* ที่คัดเลือกไว้จำนวน 3 ไชโหลต ได้แก่ Py 5 (อ.เมือง) Py 11 (อ.ห้างฉัตร) และ Py 13 (อ.แม่เกาะ) ในการทดสอบใช้วิธี bi-culture test บันทึกข้อมูล รัศมีโคโลนีเชื้อรา *P. grisea* คำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง จากนั้นคัดเลือกไชโหลตที่มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งสูงสุด เพื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคไหม้ต่อไป

### 4. การทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมโรคไหม้ในสภาพห้องปฏิบัติการ

นำเชื้อราไตรโคเดอร์มาไชโหลตที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด มาเลี้ยงในเมล็ดข้าวฟ่างสุก (ฆ่าเชื้อแล้ว) นาน 7 วัน จนเชื้อสร้างสปอร์สีเขียวทั้งถุง เติมน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วและ Tween 20 ลงไป คนให้สปอร์กระจาย กรองเมล็ดข้าวฟ่างออก จะได้สปอร์แขวนลอยของเชื้อราไตรโคเดอร์มา นำไปใช้ทดสอบต่อไป

### 5. การทดสอบความเข้มข้นที่เหมาะสมของเชื้อราไตรโคเดอร์มา

นำสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *P. grisea* (Py 5) ปรับให้มีความเข้มข้น  $10^5$  สปอร์/มล. พ่นลงบนใบข้าวในจานเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ โดยใช้เครื่องทดสอบประสิทธิภาพสารเคมีในการพ่น อัตราการพ่น 5 มล./จาน บ่มไว้ในที่มืด 24 ชั่วโมง จากนั้นพ่นทับด้วยสปอร์แขวนลอยของเชื้อราไตรโคเดอร์มาไชโหลต Th6s ที่ระดับความเข้มข้น  $10^5$   $10^7$  และ  $10^9$  สปอร์/มล เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (พ่นด้วยน้ำกลั่นผสม Tween 20) พ่นในอัตรา 5 มล./จาน นำจานเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 °C ในที่มืดสลับกับสว่างอย่างละ 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 30 วัน สังเกตการเกิดโรคและ บันทึกภาพ

### 6. การศึกษาจำนวนครั้งที่เหมาะสมในการใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา

ตัดใบข้าวอายุ 21 วันวางในจานเลี้ยงเชื้อจำนวน 6 ใบ/จานจากนั้นพ่นด้วยเชื้อรา *P. grisea* (Py5) ที่ระดับความเข้มข้น  $10^5$  สปอร์/มล. อัตรา 5 มล./จาน บ่มไว้ 24 ชม. พ่นด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มา 5 10 และ 15 วัน/ครั้ง สังเกตอาการโรคและ บันทึกภาพ

## ผลการวิจัย

### 1. การเก็บตัวอย่างโรคข้าวและการแยกเชื้อสาเหตุโรคไหม้

การสำรวจโรคข้าวดำเนินการใน 3 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมือง อำเภอห้างฉัตรและอำเภอแม่เกาะ การเก็บตัวอย่างดำเนินการ 2 ช่วงคือ ฤดูนาปรัง ออกสำรวจ 11 มี.ค.– 2 เม.ย. 2557 ไม่พบโรคไหม้ข้าวพบโรคใบจุดสีน้ำตาล การสำรวจช่วงที่ 2 ฤดูปลูกข้าวนาปี ออกสำรวจ 21-28 สิงหาคม 2557 พบโรคไหม้ระบาดรุนแรงในหลายพื้นที่ของทั้ง 3 อำเภอ แยกเชื้อรา *P. grisea* บริสุทธิ์สาเหตุโรคไหม้ข้าวได้จำนวน 10

ไอโซเลต ส่วนการเก็บตัวอย่างดินและใบข้าวสามารถแยกเชื้อราไตรโคเดอร์มาบริสุทธิ์จากใบข้าวได้จำนวน 9 ไอโซเลต และจากตัวอย่างดินได้จำนวน 12 ไอโซเลต รวม 21 ไอโซเลต

## 2. การทดสอบการเกิดโรคใหม่

ได้นำเชื้อรา *P. grisea* บริสุทธิ์ที่แยกได้จำนวน 10 ไอโซเลต มาทดสอบการเกิดโรคใหม่บนใบข้าวในห้องปฏิบัติการ พบว่ามีเพียง 3 ไอโซเลต ที่สามารถทำให้ใบข้าวเกิดโรคใหม่ได้ ได้แก่ ไอโซเลต Py 5 (อ.เมือง) Py 11 (อ.ห้างฉัตร) และ Py 13 (อ.แม่เมาะ) โดย Py 5 แสดงอาการของโรคชัดเจนที่สุด รองลงมาคือ Py 13 และ Py 11

## 3. การทดสอบคัดเลือกเชื้อราไตรโคเดอร์มา

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราไตรโคเดอร์มาในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. grisea* สาเหตุโรคใหม่ พบว่า เชื้อราไตรโคเดอร์มาทั้ง 34 ไอโซเลต สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. grisea* ทั้ง 3 ไอโซเลต โดยภายหลังการทดสอบ 6 วัน เชื้อราไตรโคเดอร์มา Th6s สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. grisea* (Py 5 Py11 และ Py 13) ได้ 33.93-62.50 32.08-69.81 และ 32.08-71.70% ตามลำดับ โดยเชื้อรา Th6s ยับยั้งเชื้อรา *P. grisea* (Py 5) และ *P. grisea* (Py 13) ได้สูงสุด 62.50 และ 71.70 % ตามลำดับ ส่วนเชื้อรา Th7-1S ยับยั้งเชื้อรา *P. grisea* (Py 11) ได้สูงสุด 69.81% ซึ่งแตกต่างจากไอโซเลตอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง นอกจากนี้เชื้อราไตรโคเดอร์มา 28 ไอโซเลตจาก 34 ไอโซเลต สามารถเจริญปกคลุมโคโลนี เชื้อรา *P. grisea* ได้ทั้งหมดภายใน 7 วันหลังการทดสอบจึงได้คัดเลือกเชื้อราไตรโคเดอร์มา Th6s และเชื้อรา *P. grisea* (Py 5) เพื่อใช้ทดสอบต่อไป

## 4. การทดสอบความเข้มข้นที่เหมาะสมของเชื้อราไตรโคเดอร์มา

ผลการทดสอบความเข้มข้นที่เหมาะสมของเชื้อราไตรโคเดอร์มา (Th6s) ในการควบคุมโรคใหม่ของใบข้าวในสภาพห้องปฏิบัติการพบว่า ภายหลังการทดสอบ 30 วันใบข้าวที่พ่นด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มาที่ระดับความเข้มข้น  $1.0 \times 10^5$   $1.3 \times 10^7$  และ  $2.1 \times 10^9$  สปอร์/มล ไม่เกิดโรคใหม่ แตกต่างจากกรรมวิธีควบคุม (ไม่พ่นเชื้อราไตรโคเดอร์มา) ซึ่งใบข้าวมีลักษณะแผลไหม้เป็นปื้นอย่างชัดเจนแต่ไม่พบแผลรูปตา (รูปที่ 6) และจากการตัดเนื้อเยื่อใบที่เป็นแผลนำไปตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์พบสปอร์ของเชื้อรา *P. grisea* ส่วนใบที่ไม่เป็นโรคไม่พบสปอร์ของเชื้อราดังกล่าว แสดงให้เห็นว่าเชื้อราไตรโคเดอร์มา (Th6s) ทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใหม่ของข้าวในสภาพห้องปฏิบัติการ

## 5. การศึกษาจำนวนครั้งที่เหมาะสมในการใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา

ผลการทดลองพบว่า ทุกกรรมวิธีที่ทดสอบทั้งที่พ่นด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มา 5 7 และ 10 วัน/ครั้ง รวมทั้งกรรมวิธีควบคุม (ไม่พ่นเชื้อราไตรโคเดอร์มา) ไม่พบการเกิดโรคใหม่ในทุกกรรมวิธี จึงไม่อาจสรุปผลการทดลองตามวัตถุประสงค์ในประเด็นดังกล่าวได้

## วิจารณ์

การสำรวจเก็บตัวอย่างโรคไหม้ข้าว ช่วงแรกระหว่าง 11 มี.ค.- 2 เม.ย. 2557 ซึ่งเป็นข้าวนาปรังเมื่อนำมาแยกเชื้อไม่พบเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ โรคที่พบส่วนใหญ่เป็นโรคใบจุดสีน้ำตาลที่เกิดจากเชื้อรา *Bipolaris oryzae* ซึ่งพบว่า ในฤดูนาปรังเกษตรกรไม่ปลูกพันธุ์หอมมะลิ 105 และ กข 6 เนื่องจากทั้ง 2

พันธุ์ เป็นข้าวไวแสงไม่สามารถนำมาปลูกในฤดูการทำนาปรังได้ เนื่องจาก จะให้ผลผลิตต่ำหรือไม่ให้ผลผลิตเลย เนื่องจากข้าวไม่ออกดอก ส่วนพันธุ์ที่นิยมปลูกในฤดูนาปรัง ได้แก่ ข้าวจำวปทุมธานี 1 และข้าวเหนียวพันธุ์สันป่าตอง 1 ซึ่งทั้ง 2 พันธุ์ต้านทานต่อโรคไหม้และโรคขอบใบแห้ง (กองเมล็ดพันธุ์ข้าว , มปป.) อีกทั้งโรคไหม้มักจะระบาดรุนแรงในช่วงฤดูฝนที่อากาศร้อนและความชื้นสูงจึงอาจเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ไม่พบโรคไหม้ในช่วงการสำรวจดังกล่าว

สำหรับการทดสอบ จำนวนครั้งของการพ่นเชื้อราไตรโคเดอร์มา ในการควบคุมโรคไหม้ในสภาพห้องปฏิบัติการ ซึ่งทุกกรรมวิธีไม่เกิดโรคนั้นสาเหตุหลักอาจเนื่องมาจากเชื้ออ่อนแอลง ไม่สามารถเกิดโรคได้ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในระหว่างการเก็บรักษา ไฟฟ้าดับบ่อย ทำให้อุณหภูมิในตู้เย็นไม่คงที่อาจเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เชื้ออ่อนแอลงจนไม่สามารถก่อให้เกิดโรคได้

### สรุปและข้อเสนอแนะ

#### สรุป

1. เชื้อราไตรโคเดอร์มา ไอโซเลต Th6s และ Th7-1s มีประสิทธิภาพสูงสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. grisea* ไอโซเลต Py5 Py11 และ Py13 ที่เป็นสาเหตุโรคไหม้ได้สูงสุด
2. เชื้อราไตรโคเดอร์มาไอโซเลต Th6s ทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น ( $1.0 \times 10^5$   $1.3 \times 10^7$  และ  $2.1 \times 10^9$  สปอร์/มล) สามารถควบคุมโรคไหม้ของใบข้าวในสภาพห้องปฏิบัติการได้ ดี โดยใบข้าวไม่เป็นโรคไหม้ตลอดการทดสอบ 30 วัน ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมเกิดโรคไหม้ชัดเจน
3. การทดสอบจำนวนครั้งที่เหมาะสมของการใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา ในการควบคุมโรคไหม้ของใบข้าวในสภาพห้องปฏิบัติการ ไม่อาจสรุปผลการทดลองได้เนื่องจากทุกกรรมวิธีรวมทั้งกรรมวิธีควบคุมไม่เกิดโรค

#### ข้อเสนอแนะ

1. ในการสำรวจเพื่อเก็บตัวอย่างโรคไหม้ของข้าวควรดำเนินการในฤดูฝนซึ่งเป็นข้าวนาปี
2. เพื่อยืนยันผลการทดลองและเกิดความแม่นยำยิ่งขึ้น ควรจะได้นำผลการทดลองไปทดสอบในสภาพแปลงอีกครั้งหนึ่ง

คำสำคัญ : โรคไหม้ของข้าว ไตรโคเดอร์มา การควบคุมโดยชีววิธี

## EXECUTIVE SUMMARY

**Project Title :** Biological Control of Rice Blast with *Trichoderma* spp.

**Investigators :** Kattaleewan Sookchaoy , Agricultural Technology Research Institute,  
Rajamangala University of Technology Lanna

**Project Period:** 1 years and 8 months from February, 2014 to September, 2015

**Objectives :**

To obtain the high effective *Trichoderma* sp. isolate to control rice blast disease under laboratory condition

**Scope of Research:**

The survey of rice blast disease and *Trichoderma* fungi were conducted in 3 districts of Lampang province. Screening test of *Trichoderma* efficacy on *Pyricularia grisea*, causal agent of rice blast disease on PDA medium was examined in laboratory. The test of appropriate concentrations and spraying frequency of *Trichoderma* to control rice blast disease were also investigated in laboratory condition.

**Methodology:**

### 1. Survey and pure culture isolation

1.1 Survey and sampling of rice blast disease were conducted in 3 districts; Muang, Hangchat and Mae Moh. The location, variety and symptoms of the blast were recorded. Pure culture of *Pyricularia grisea*, causal agent of the blast was isolated by Tissue Transplanting Method. The pure culture isolates were stored in the refrigerator for further experiments.

1.2 The healthy rice leaves (no disease) and paddy soil were collected to isolate the pure culture of *Trichoderma* spp. by using soil plate method. The pure cultures were stored in the refrigerator for further experiments.

### 2. Test of pathogenicity on rice leaves

Rice seeds (Jasmine rice105), which is susceptible to blast disease, were soaked in 10% of sodium hypochlorite for 5 min. and washed in sterile distilled water. The seeds were planted in nursery trays and covered with transparent plastic sheet to prevent contamination. The 21-day-old rice plants were used for the experiment.

Pure culture of *P. grisea* was grown on Rice-Polish Agar (RPA) medium in the plates to increase the amount of spores. The plates were incubated at 25°C for 14 days in the dark and light, every 12 hrs alternately. The spore suspension was prepared at concentration of  $10^5$  spores/ml for the experiment.

Healthy rice leaves were washed with sterile distilled water and wrapped at the base with a moist cotton wool. Then it was placed on water agar (WA) medium in plates, 5 leaves/plate. The plates were sprayed with *P. grisea* spore suspension at the rate of 5 ml/plate. Then the plates were incubated in moist plastic box at the temperature of 25 °C in the dark and light, every 12 hrs alternately. After 10 days of incubation, disease symptoms in each isolates (10 isolates) were recorded. The blast disease isolates were selected for the experiment.

### 3. Screening test of *Trichoderma* spp.

An efficacy test of mycelial growth inhibition of 3 isolates, *P. grisea* ; Py5 (Muang) Py11(Hangchat) and Py13 (Mae Moh) were done by bi-culture testing with 34 isolates of *Trichoderma* fungi. They were 21 isolates which obtained from rice leaves and paddy soil and 13 isolates which received from Plant Protection Division, Agricultural Technology Research Institute. The radial growth of *P. grisea* colonies were measured and then the percentage of inhibition was calculated. The highest percentage of inhibition was selected for further rice blast disease control efficacy test.

### 4. Appropriate concentration of *Trichoderma* testing

The best effective *Trichoderma* isolate was grown on sterile sorghum grain in plastic bag for 7 days until green spores were produced. The bags were filled with sterile distill water and Tween 20 and shaken until the spores come out from the grains. The spore suspension was screened to take off the grains.

Spore suspension of *P. grisea* (Py 5) was adjusted to be a concentration of  $10^5$  spores/ml. The suspension was sprayed on rice leaves in plates, with the chemical efficacy test instrument, at the rate of 5 ml/plate. The plates were incubated in the dark at 25°C for 24 hrs. The  $10^5$ ,  $10^7$  and  $10^9$  spores/ml of *Trichoderma* (Th6s) spore suspension were following sprayed into the plates at the rate of 5 ml/plate except the control plate. The plates were then incubated at 25°C in the dark and light, every 12 hrs alternately. The disease symptom was observed and recorded at 30 days after spraying.

### 5. Appropriate frequency of *Trichoderma* spraying

The rice leaves of 21 days of age were cut and placed in a Plate, 6 leaves/plate and sprayed with *P. grisea* (Py5) spore suspension at the concentration of  $10^5$  spores/ml, 5 ml/plate. The plates were incubated in the dark at the temperature of 25°C. After 24 hrs of incubation the *Trichoderma* (Th6s) spore suspension was following sprayed at every 5, 10 and 15 days for 30 days. The disease symptom was observed and recorded.

## Results:

### 1. Survey and pure culture isolation

The first survey of rice blast disease was conducted during March 11- April 2, 2014 at 6 different villages of 3 districts in Lampang province. The result showed that rice blast disease caused by *Pyricularia grisea* was not found in the survey but found only brown leaf spot disease. The second survey was conducted during August 21-28, 2014. The blast disease was found in several areas of the three districts and can be isolated in 10 pure cultures of *P. grisea*. The nine pure culture of *Trichoderma* spp. were isolated from rice leaves and 12 isolates from paddy soil samples, total of 21 isolates.

### 2. Test of pathogenicity on rice leaves

Ten isolates of *P. grisea* were tested on rice blast disease in the laboratory condition. It was found that the rice blast disease was occurred by only 3 isolates; Py5, Py11 and Py13. The Py5 (Muang) showed the most obviously symptom of the disease followed by Py 13 (Mae Moh) and Py 11 (Hangchat).

### 3. Screening test of *Trichoderma* spp

An efficacy test between 34 isolates of *Trichoderma* and 3 isolates of *P. grisea*, causal agent of blast disease *in vitro* after the test of 3 and 6 days found that all 34 isolates of *Trichoderma* could inhibited the mycelial growth of *P. grisea* (Py 5, Py11and Py 13) at 33.93 to 62.50, 32.08 to 69.81 and 32.08 to 71.70 % of the inhibition, respectively. The mycelial growth of *P. grisea* (Py 5 and Py 13) were the best inhibited by Th6s isolate, 62.50 and 71.70 % respectively. But *P. grisea* (Py 11) was the best inhibited by Th7-1S isolate, 69.81% which was significantly different from the other isolates. In addition, 28 from 34 isolates of *Trichoderma* grew and cover on the entire colonies of *P. grisea* within 7 days of the test.

### 4. Appropriate concentration of *Trichoderma* testing

The appropriate concentration of *Trichoderma* (Th6s) to control rice blast disease was tested under laboratory condition. The results showed that the rice leaves which were sprayed with all 3 concentrations ( $1.0 \times 10^5$ ,  $1.3 \times 10^7$  and  $2.1 \times 10^9$  spores/ml) of *Trichoderma* did not show disease symptom, while the control treatment (no treated with the Th6s) appeared spots and clearly burns symptom at the leaves. The microscopic examination found that spores of the fungus *P. grisea* were noticed on the rice leaves only in the control treatment. The results indicated that the 3 concentrations of *Trichoderma* (Th6s) expressed the effective control for rice blast disease under laboratory condition.



## 5. Appropriate frequency of *Trichoderma* spraying

It was found that after *Trichoderma* spray at every 5, 7 and 10 days for 30 days the rice leaves of all treatments including with the control (no *Trichoderma*) were not brought about blast disease. This may be because the pathogen was lost the ability to plant disease during stored in the refrigerator. Due to the power often outage it caused the inconstant of refrigerator temperature.

### Discussion :

The first survey of rice blast disease was conducted during March 11- April 2, 2014. The result showed that rice blast disease caused by *Pyricularia grisea* was not found in the survey but found only brown leaf spot disease which is caused by *Bipolarisoryzae*. This is because of the rice varieties grown at that season, second crop, which were PathumThani 1 and Sanpatong 1. Its resistant to rice blast disease (Seed Division, the DEA.). Normally, Jasmine rice 105 and GorKor 6 which are susceptible to rice blast disease are grown at the first crop season. Furthermore, the blast disease usually occurs during the rainy season (first crop season) when the weather is hot and humid.

The appropriate frequency of *Trichoderma* spray for rice blast disease control in the laboratory condition was tested. The result could not be summarized in this case because there were not effective evidence in all treatments including the control. This may be due to the blast pathogen agent was weakened down during storage in the refrigerator. The pathogen lose the ability to make a disease due to the unstable temperature.

### Conclusion and Suggestions

#### Conclusion

1. The isolates of *Trichoderma* (Th6s and Th7-1s) had the highest efficacy to inhibit the *P. grisea* (Py 5, Py 11 and Py 13) mycelial growth.
2. The isolation of *Trichoderma* (Th6s) at the concentrations of  $1.0 \times 10^5$ ,  $1.3 \times 10^7$  and  $2.1 \times 10^9$  spores/ml could be controlled rice blast disease in the laboratory condition.
3. The result of appropriate frequency of *Trichoderma* spray for rice blast disease control in the laboratory condition test could not be summarized in this case because there were not effective evidence in all treatments including the control.

#### Suggestions

1. Rice blast disease survey should be carried out in the rainy season
  2. It should be done the field test in order to confirm and get the completely results for farmer utilization.
- Keywords :** rice blast disease, *Trichoderma* spp., Bio-control

# การควบคุมโรคไหม้ของข้าวโดยชีววิธีด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มา

## Biological Control of Rice-Blast with *Trichoderma* spp.

กัทลีวัลย์ สุขช่วย

Kattaleewan Sookchaoy

### บทคัดย่อ

การสำรวจโรคไหม้ของข้าวดำเนินการใน 3 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมือง อำเภอห้างฉัตร และอำเภอแม่เมาะของจังหวัดลำปาง ในฤดูนาปีระหว่าง 11 มี.ค.- 2 เม.ย. 2557 ผลการสำรวจไม่พบโรคไหม้ข้าวที่เกิดจากเชื้อรา *Pyricularia grisea* พบเฉพาะโรคใบจุดสีน้ำตาล การสำรวจครั้งที่ 2 ฤดูนาปีระหว่าง 21-28 สิงหาคม 2557 พบโรคไหม้ระบาดรุนแรงทั้ง 3 อำเภอ สามารถแยกเชื้อรา *P. grisea* บริสุทธิ์ได้จำนวน 10 ไอโซเลต เมื่อนำมาปลูกเชื้อบนใบข้าวพบว่ามีเพียง 3 ไอโซเลตที่สามารถทำให้ใบข้าวเกิดโรค ได้แก่ ไอโซเลต Py 5 Py 11 และ Py 13 ซึ่ง Py 5 (อ.เมือง) แสดงอาการของโรคชัดเจนที่สุด รองลงมาคือ Py 13 (อ.แม่เมาะ) และ Py 11 (อ.เมือง) การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราไตรโคเดอร์มา จำนวน 34 ไอโซเลตในการยับยั้งเชื้อรา *P. grisea* สาเหตุโรคไหม้ 3 ไอโซเลตในสภาพห้องปฏิบัติการพบว่า ภายหลังจากทดสอบ 3 และ 6 วัน เชื้อราไตรโคเดอร์มาทุกไอโซเลต สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. grisea* (Py 5 Py11 และ Py 13) ได้ 33.93-62.50 32.08-69.81 และ 32.08-71.70% ตามลำดับ ซึ่งไอโซเลต Th6s สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. grisea* (Py 5 และ Py 13) ได้ดีที่สุดโดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง 62.50 และ 71.70 ตามลำดับ เชื้อรา Th7-1S ยับยั้งเชื้อรา *P. grisea* (Py 11) ได้ดีที่สุดโดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง 69.81 แตกต่างจากไอโซเลตอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง นอกจากนี้เชื้อราไตรโคเดอร์มา 28 ไอโซเลต จากจำนวน 34 ไอโซเลต สามารถเจริญปกคลุมทั้งโคโลนีของเชื้อรา *P. grisea* ได้ใน 7 วันของการทดสอบ การทดสอบระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของเชื้อราไตรโคเดอร์มา (Th6s) ในการควบคุมโรคไหม้ของข้าวในสภาพห้องปฏิบัติการ ผลการทดลองพบว่าใบข้าวที่พ่นด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มาทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น ( $1.0 \times 10^5$   $1.3 \times 10^7$  และ  $2.1 \times 10^9$  สปอร์/มล.) ไม่เกิดโรคไหม้ ในขณะที่กรรมวิธีควบคุม (ไม่พ่นเชื้อราไตรโคเดอร์มา) ใบข้าวมีอาการจุดไหม้เป็นปื้นอย่างชัดเจน จากการตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์พบสปอร์ของเชื้อรา *P. grisea* เฉพาะบนใบข้าวในกรรมวิธีควบคุมเท่านั้น จากผลการทดลองแสดงว่า เชื้อราไตรโคเดอร์มา (Th6s) ทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น มีประสิทธิภาพ ในการควบคุมโรคไหม้ในสภาพห้องปฏิบัติการ

**คำสำคัญ** โรคไหม้ของข้าว ไตรโคเดอร์มา โรคพืช การควบคุมโดยชีววิธี

## ABSTRACT

Rice blast disease survey was conducted during March 11- April 2, 2014 in 3 districts of Lampang province; Muang, Hangchat and Maemoh. Rice blast disease caused by *Pyricularia grisea* was not found in the survey but found only brown leaf spot disease. The second survey was conducted during August 21-28, 2014. The blast disease was found in several areas of the three districts and 10 pure culture of *P. grisea* could be isolated. All of 10 isolates were inoculated on rice leaves *in vivo*. It was found that the rice blast disease was occurred by only 3 isolates; Py5 Py11 and Py13. The Py5 (Muang) showed the most obviously symptom of the disease followed by Py 13 (Mae Moh) and Py 11 (Hangchat). An efficacy test between 34 isolates of *Trichoderma* and 3 isolates of *P. grisea*, caused of blast disease *in vitro* after the test of 3 and 6 days found that all 34 isolates of *Trichoderma* could inhibit the mycelial growth of *P. grisea* (Py 5, Py11 and Py 13) at 33.93 to 62.50, 32.08 to 69.81 and 32.08 to 71.70 % of the inhibition, respectively. The mycelial growth of *P. grisea* (Py 5 and Py 13) were the best of inhibition by Th6s isolate 62.50 and 71.70 % respectively. But *P. grisea* (Py 11) was the best of inhibition by Th7-1S isolate 69.81 % which was significantly different from the other isolates. In addition, 28 from 34 isolates of *Trichoderma* grew and covered on the entire colonies of *P. grisea* within 7 days of the test. The appropriate concentration of *Trichoderma* (Th6s) to control rice blast disease was tested under laboratory condition. The results showed that the rice leaves which were sprayed with all 3 concentrations ( $1.0 \times 10^5$ ,  $1.3 \times 10^7$  and  $2.1 \times 10^9$  spores / ml) of *Trichoderma* (Th6s) did not show disease symptom, while the control treatment (no treated with Th6s) appeared spots and clearly burns symptom on leaves. The microscopic examination found that spores of the fungus *P. grisea* were found on rice leaves only in the control treatment. The results indicated that the 3 concentrations of *Trichoderma* (Th6s) expressed the effective control of rice blast disease under laboratory condition.

**Keyword** : rice blast, *Trichoderma*, plant disease, bio-control



บ้านต้นตอง แปลง 1  
อ.เมือง



บ้านต้นตอง แปลง 2  
อ.เมือง



บ้านต้นตอง แปลง 3  
อ.เมือง



บ้านม่อนเขาแก้ว หมู่  
1 อ.เมือง



บ้านม่อนเขาแก้ว  
หมู่ 2 อ.เมือง



บ้านม่อนเขาแก้ว  
หมู่ 3 อ.เมือง



บ้านลู่ ต.เสด็จ  
อ.เมือง



บ้านใหม่พัฒนา  
อ.เมือง



บ้านใหม่พัฒนา  
กข 6 อ.เมือง



บ้านห้วยรากไม้ หมู่ 3  
อ.แม่เมาะ



บ้านห้วยรากไม้ หมู่ 4  
อ.แม่เมาะ



บ้านห้วยรากไม้  
หมู่ 5 อ.แม่เมาะ



อ.ห้างฉัตร  
แปลง 1

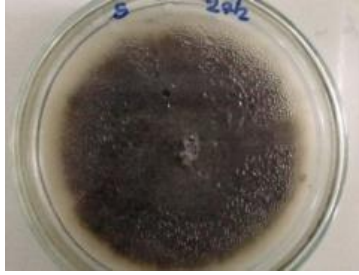


อ.ห้างฉัตร  
แปลง 2



อ.ห้างฉัตร  
แปลง 3

**รูปที่ 1** ลักษณะอาการโรคไหม้ของข้าว จากการสำรวจที่อำเภอเมือง  
อำเภอห้างฉัตรและอำเภอแม่เมาะ จังหวัดลำปาง ระหว่าง  
วันที่ 21- 28 สิงหาคม 2557



รูปที่ 2 เชื้อรา *P. grisea* ปริสุทธิ บน  
อาหาร เลี้ยงเชื้อ PDA อายุ 10 วัน



รูปที่ 3 สปอร์และเส้นใยเชื้อรา *P. grisea* ไอโซเลต Py5 (ซ้าย) Py11 (กลาง) และ Py13  
(ขวา) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Compound microscope กำลังขยาย 400 x

## 2. ผลการเก็บตัวอย่างดินและใบข้าวเพื่อแยกเชื้อราไตรโคเดอร์มา

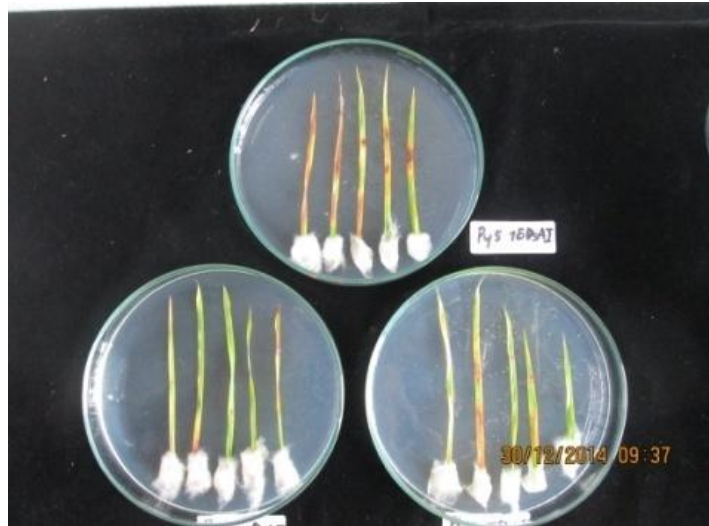
สามารถแยกเชื้อราไตรโคเดอร์มาบริสุทธิ์จากใบข้าวที่ไม่เป็นโรคใหม่ได้จำนวน 9 ไอโซเลต และ  
จากตัวอย่างดินในแปลงนาข้าวได้จำนวน 12 ไอโซเลต รวม 21 ไอโซเลต



รูปที่ 4 เชื้อราไตรโคเดอร์มา จากใบข้าว (ซ้าย) จากดิน  
(ขวา) เจริญบนอาหาร PDA อายุ 5 วัน

## 3 การทดสอบการเกิดโรคใหม่

จากเชื้อรา *P. grisea* บริสุทธิ์ที่แยกได้จำนวน 10 ไอโซเลตได้นำมาทดสอบการเกิดโรคใหม่บนใบ  
ข้าวในห้องปฏิบัติการ พบว่ามีเพียง 3 ไอโซเลตที่สามารถทำให้ใบข้าวเกิดโรคใหม่ได้ ได้แก่ ไอโซเลต Py 5  
Py 11 และ Py 13 โดย Py 5 แสดงอาการของโรคชัดเจนที่สุด รองลงมาคือ Py 13 และ Py 11 (รูปที่ 5)

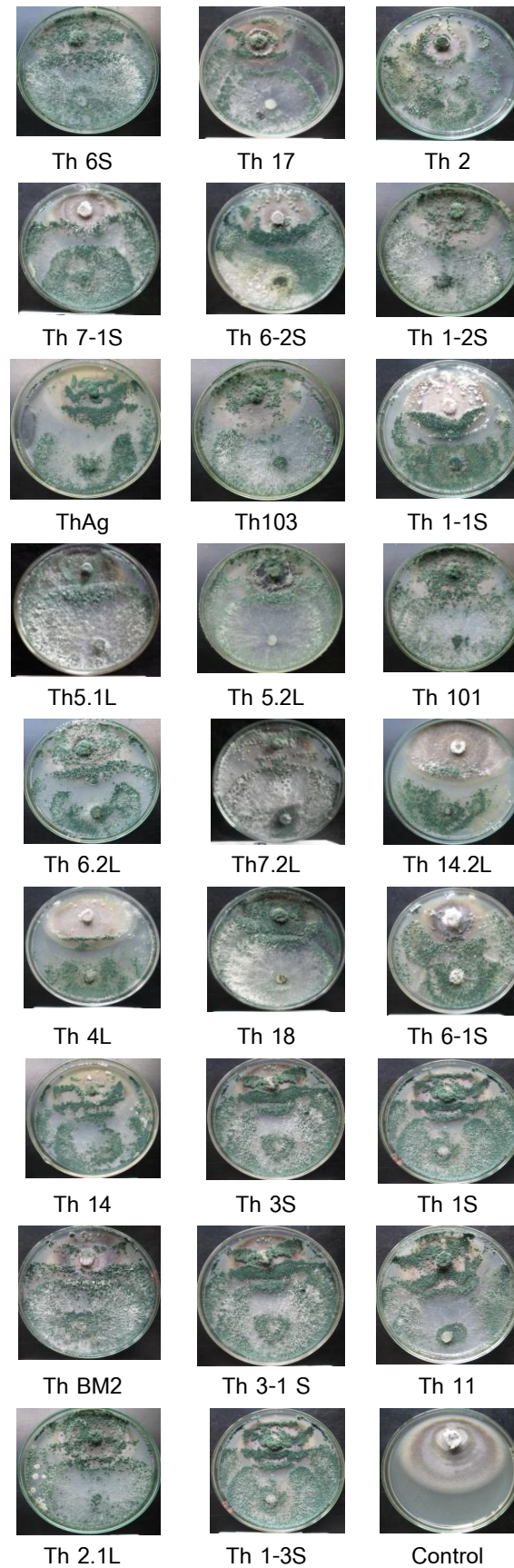


รูปที่ 5 ลักษณะอาการโรคไหม้ของข้าวหลังการปลูกเชื้อรา *P. grisea* Py 5 (บน) Py 11 (ซ้าย) และ Py 13 (ขวา) ภายหลังปลูกเชื้อ 15 วัน

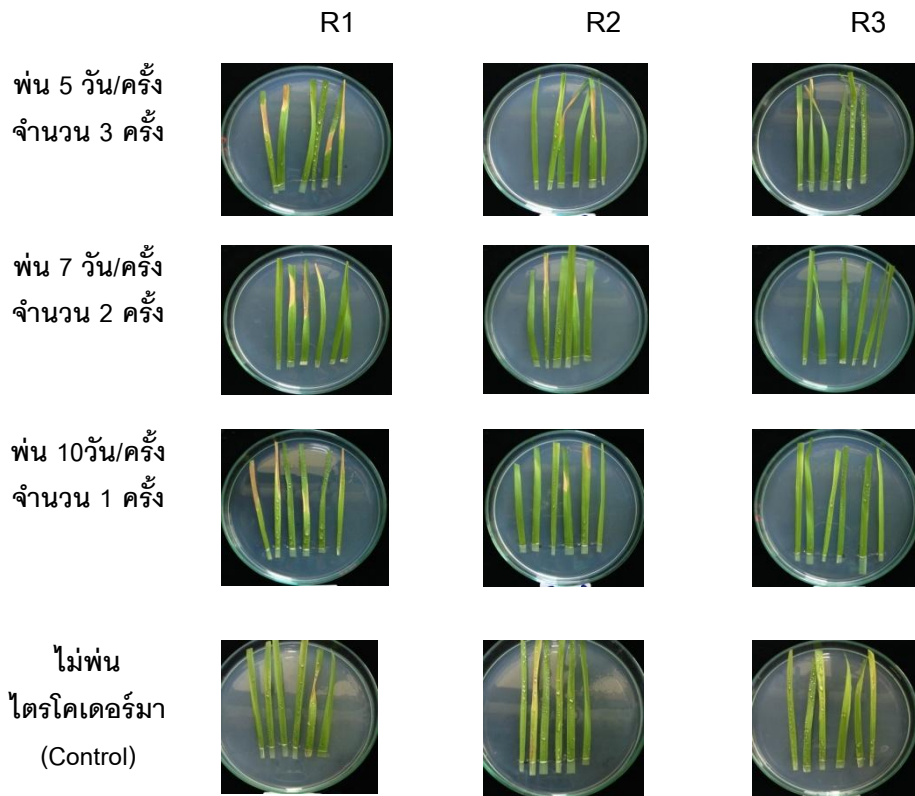
#### 4. การคัดเลือกเชื้อราไตรโคเดอร์มา

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราไตรโคเดอร์มา จำนวน 34 ไอโซเลต ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. grisea* สาเหตุโรคไหม้ของข้าว ทั้ง 3 ไอโซเลต ในสภาพห้องปฏิบัติการพบว่า ภายหลังจากทดสอบ 3 และ 6 วัน เชื้อราไตรโคเดอร์มา ทั้ง 34 ไอโซเลต สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *P. grisea* ทั้ง 3 ไอโซเลตได้ โดยยับยั้งเชื้อรา *P. grisea* (Py5) ได้ 10.53-42.11 % ยับยั้งเชื้อรา *P. grisea* (Py11) ได้ 15.38-51.28 % และยับยั้งเชื้อรา *P. grisea* (Py13) ได้ 13.51-51.35% ภายหลังจากทดสอบ 3 วัน ส่วนภายหลังจากทดสอบ 6 วัน พบว่า เชื้อราไตรโคเดอร์มา ส่วนใหญ่ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *P. grisea* ทั้ง 3 ไอโซเลต ได้สูงขึ้น โดยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. grisea* (Py 5 Py11 และ Py 13) ได้ 33.93-62.50 32.08-69.81 และ 32.08-71.70% ตามลำดับ (ตารางที่ 2-4) เชื้อรา Th6s ยับยั้งเชื้อรา *P. grisea* (Py 5) ได้ดีที่สุดมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งสูงสุด 62.50 (ตารางที่ 2) นอกจากนี้เชื้อรา Th6s ยังสามารถยับยั้งเชื้อรา *P. grisea* (Py 13) ได้ดีที่สุดโดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งสูงสุด 71.70 ซึ่งแตกต่างจาก 31 ไอโซเลตที่เหลืออย่างมีนัยสำคัญยิ่ง แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับไอโซเลต Th3-1s และ Th7-1s (ตารางที่ 4) ส่วนเชื้อรา Th7-1S สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. grisea* (Py 11) ได้ดีที่สุดโดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งสูงสุด 69.81 ซึ่งแตกต่างจากไอโซเลตอื่นอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ 3) นอกจากนี้เชื้อราไตรโคเดอร์มา 28 ไอโซเลตจาก 34 ไอโซเลต สามารถเจริญปกคลุมโคโลนีเชื้อรา *P. grisea* ได้ทั้งหมดภายใน 7 วัน (รูปที่ 6) จากผลการทดลองจึงได้คัดเลือกเชื้อราไตรโคเดอร์มา Th6s และเชื้อรา *P. grisea* (Py 5) นำไปทดสอบการควบคุมโรคไหม้ต่อไป





รูปที่ 6 เชื้อราไตรโคเดอร์มาทั้ง 34 ไส้เลตสามารถเจริญปกคลุมโคโคนี  
เชื้อรา *P. grisea* (Py 5) สาเหตุโรคไหม้ข้าวภายหลังการทดลอง 7 วัน



รูปที่ 8 ลักษณะใบข้าวที่แห้งภายหลังการทดสอบ 30 วัน แต่ไม่พบอาการโรคใบไหม้ที่เกิดจากเชื้อรา *P. grisea* (Py 5)

## สรุปและข้อเสนอแนะ

### สรุป

1. เชื้อราไตรโคเดอร์มา ไอโซเลต Th6s และ Th7-1s มีประสิทธิภาพสูงสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ *P. grisea* ไอโซเลต Py5 Py11 และ Py13 ได้สูงสุด
2. เชื้อราไตรโคเดอร์มาไอโซเลต Th6s ทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น ( $1.0 \times 10^5$   $1.3 \times 10^7$  และ  $2.1 \times 10^9$  สปอร์/มล) สามารถควบคุมโรคไหม้ของใบข้าวในสภาพห้องปฏิบัติการได้ไม่แตกต่างกัน โดยใบข้าวไม่เป็นโรคไหม้ ตลอดการทดสอบ 30 วัน ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมเกิดโรคไหม้ชัดเจน
3. การทดสอบจำนวนครั้งที่เหมาะสมของการใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา ในการควบคุมโรคไหม้ของใบข้าวในสภาพห้องปฏิบัติการ ไม่อาจสรุปผลการทดลองได้เนื่องจากทุกกรรมวิธีรวมทั้งกรรมวิธีควบคุมไม่เกิดโรค

### ข้อเสนอแนะ

1. ในการสำรวจเพื่อเก็บตัวอย่างโรคไหม้ของข้าวควรดำเนินการในฤดูฝนซึ่งเป็นข้าวนาปี
2. เพื่อยืนยันผลการทดลองและเกิดความแม่นยำยิ่งขึ้น ควรจะได้นำผลการทดลองไปทดสอบในสภาพแปลงนาของเกษตรกรอีกครั้งหนึ่ง