

**EFFICIENCY OF ANTAGONISTIC MICROORGANISMS TO  
BIOCONTROL OF ANTHRACNOSE DISEASE  
IN *DENDROBIUM* SP.**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR  
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE  
(APPROPRIATE TECHNOLOGY FOR RESOURCES  
AND ENVIRONMENTAL DEVELOPMENT)  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY  
2009**

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

**EFFICIENCY OF ANTAGONISTIC MICROORGANISMS TO BIOCONTROL OF ANTHRACNOSE DISEASE IN *DENDROBIUM* SP.**

URAIWAN AKRAPIKULCHART 4837320 ENAT/M

M.Sc. (APPROPRIATE TECHNOLOGY FOR RESOURCES AND ENVIRONMENTAL DEVELOPMENT)

THESIS ADVISORSORY COMMITTEE: BENJAPHORN PRAPAGDEE, D. Tech. Sc. (ENVIRONMENTAL TOXICOLOGY, TECHNOLOGY AND MANAGEMENT), ACHARAPHORN KUMSOPA, Ph.D. (BIOLOGY), KANNIKA DUANGMAL, Ph.D. (MICROBIOLOGY)

**ABSTRACT**

*Colletotrichum gloeosporioides* causes anthracnose disease of orchids, resulting in quality loss and yield loss. The aims of this study were to isolate the microbial antagonist from orchids and soil and evaluate its potential for growth inhibition of *Colletotrichum gloeosporioides*. A total of 201 bacterial isolates and 146 actinomycete isolates were collected. From antagonistic activity assay, isolate NO. SR14 and NBR46 showed high antifungal activity against *C.gloeosporioides*. Both SR14 and NBR46 were identified by 16s rDNA sequencing analysis. SR14 and NBR46 were identified as *Streptomyces sp.* and *Pantoea sp.*, respectively. Unfortunately, *Pantoea sp.* is phytopathogenic bacteria, thus, this isolate was not selected for further study. Cell free culture filtrates of *S. hygrosopicus* SRA14 inhibited the growth of *C. gloeosporioides*. The percentage of growth inhibition by the stationary culture filtrate was significantly higher than that of exponential culture filtrate. Additionally, morphological changes such as hyphal swelling and abnormal shapes were observed in fungi grown on potato dextrose agar that contained the culture filtrates. Culture filtrates were used for biocontrol of anthracnose disease in orchids. The results found that application of culture filtrates was able to prevent the expression of anthracnose disease in orchids, indicating that disease inhibition was due to antifungal metabolites in the culture filtrates. No significant prevention of anthracnose disease development was observed in the stationary culture filtrate and mancozab-treated leaves. Present data suggest the stationary culture filtrate of *Streptomyces sp.* SRA14 can be use as biofungicide for control of anthracnose disease in *Dendrobium* orchids.

**KEY WORDS:** *COLLETOTRICHUM GLOEOSPORIOIDES* / *STREPTOMYCES HYGROSCOPICUS* / ANTAGONISM / *DENDROBIUM*

93 pages

ประสิทธิภาพจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคแอนแทรกโคโนสในกล้วยไม้สกุลหวาย  
EFFICIENCY OF ANTAGONISTIC MICROORGANISMS TO BIOCONTROL OF ANTHRACNOSE  
DISEASE IN *DENDROBIUM* SP.

อุไรวรรณ อัครพิกุลชาติ 4837320 ENAT/M

วท.ม. (เทคโนโลยีที่เหมาะสมในการพัฒนาทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: เบญจภรณ์ ประภักดี, D.Tech.Sc (ENVIRONMENTAL TOXICOLOGY, TECHNOLOGY AND MANAGEMENT), อัจฉราพร ขำโสภณ, Ph.D. (BIOLOGY), กรรณิการ์ ดวงมาลย์, Ph.D. (MICROBIOLOGY),

บทคัดย่อ

*Colletotrichum gloeosporioides* เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรกโคโนสในกล้วยไม้ซึ่งเป็นเหตุให้เกิดการสูญเสียคุณภาพและปริมาณผลผลิต ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเป็นการคัดแยกจุลินทรีย์จากกล้วยไม้และดินบริเวณรอบรากพืชแปลงกล้วยไม้และนำมาศึกษาความสามารถของจุลินทรีย์ในการยับยั้งการเจริญของ *Colletotrichum gloeosporioides* จากการศึกษา สามารถคัดแยกแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีทได้ 201 และ 146 ไอโซเลทตามลำดับ โดยจุลินทรีย์ไอโซเลท SRA14 และ NBR46 มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C.gloeosporioides* และเมื่อนำมาจำแนกสายพันธุ์โดยใช้วิธีการหาลำดับเบส 16s rDNA พบว่าจุลินทรีย์ไอโซเลท SRA14 และ NBR46 เป็น *Streptomyces sp.* และ *Pantoea sp.* ตามลำดับ แต่มีรายงานว่า *Pantoea sp.* เป็นแบคทีเรียก่อโรคพืช จึงไม่นำไอโซเลท NBR46 มาทำการศึกษาต่อ เมื่อนำน้ำเลี้ยงเชื้อของ *Streptomyces sp.* SRA14 มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้ง *C. gloeosporioides* พบว่า เปร้รเซ็นต์การยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* ของน้ำเลี้ยงเชื้อที่เก็บจากช่วง stationary มีประสิทธิภาพดีกว่าช่วง exponential อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อนำมาสังเกตการเปลี่ยนแปลงของเส้นใยเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยการนำมาเลี้ยงบน PDA ที่ผสมกับน้ำเลี้ยงเชื้อพบว่า เส้นใย ของ *C. gloeosporioides* แดก บวม และเส้นใย ขมวดเป็นปม จากนั้นนำน้ำเลี้ยงเชื้อมาทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันโรคแอนแทรกโคโนสกับกล้วยไม้ในสภาพแปลงปลูก ผลการศึกษาพบว่า น้ำเลี้ยงเชื้อในช่วง stationary สามารถยับยั้งการเกิดโรคแอนแทรกโคโนสของ *C. gloeosporioides* ได้โดยในช่วง stationary สามารถยับยั้งการก่อโรคของ *C. gloeosporioides* ได้ไม่แตกต่างกับการใช้สารเคมีแมนโคเซ็บอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากในช่วง stationary เชื้อ *Streptomyces sp.* SRA14 ได้มีการสร้างสาร metabolite ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา *C. gloeosporioides* และเชื้อ *Streptomyces sp.* SRA14 สามารถนำมาใช้แทนสารเคมีในการควบคุมโรคแอนแทรกโคโนสได้