

<b>Thesis Title</b>	Biopesticide Seed Coating for Controlling Phytopathogenic Molds of Soybean Seeds	
<b>Author</b>	Miss Auntika Sawatwanich	
<b>Degree</b>	Doctor of Philosophy (Biology)	
<b>Thesis Advisory Committee</b>		
	Assoc. Prof. Dr. Araya Jatisatiern	Chairperson
	Asst. Prof. Dr. Chaiwat Jatisatiern	Member
	Dr. Damrat Supyen	Member

### ABSTRACT

The main objective of this research was to use the biopesticide which had potential antifungal activity against phytopathogenic molds of soybean seeds for seed coating application. Sixteen seed-borne pathogenic isolates belonging to 8 genera and five soil-borne pathogenic isolates belonging to 5 genera from soybean seeds were used as test molds. Five selected plants were tested for their antifungal property and the effect of plant extracts on germination of soybean seeds was also investigated. Based on the antifungal activity and seed germination, the plant extracts which were effective were found to be *Acorus calamus* and *Eugenia caryophyllus* followed by *Stemona tuberosa* and *Stemona curtisii*. The extract from *Mammea siamensis* was least effective. Therefore, *E. caryophyllus* was selected because it was able to inhibit all the test molds and it had no negative affect on seed germination. The active compound in *E. caryophyllus* was eugenol which could be extracted by steam distillation.

Eugenol at 1% was found to be the best concentration for seed coating since it had no effect on seed germination and could control fungal contamination as good as the fungicide, captan. The proper formulation for seed coating consisted of 1% w/v eugenol, 2% w/v chitosan, 0.1% w/v lignosulphonic acid, 1% w/v acetic acid, 0.1% w/v food colors and 95.8% distilled water at a proportion of 100 ml per 400 g of seeds. The seeds coated with chitosan plus eugenol showed less phytotoxic effect on seed vigor and viability than those mixed with captan and they were very effective in inhibiting seed-borne and soil-borne fungi. Although, the seeds mixed with captan exhibited better germination than the others but there was no significant difference.

After the coated seeds were kept for 6 months, the seeds blended with captan had the highest tendency to control all the storage fungi for 4 - 5 months, followed by the seeds coated with chitosan plus eugenol (3 - 4 months) whereas, the quality of the untreated seeds was decreased by fungal infection during 1 month of storage. Nevertheless, the seeds coated with chitosan plus eugenol maintained their viability and vigor better than the seeds coated with captan and those fungi were inhibited nearly as good.

The greenhouse experiment showed that the seeds coated with chitosan plus eugenol had good protective activity against the infection by *Alternaria* sp., *Cladosporium cladosporioides* and *Fusarium oxysporum*. Field experiments indicated that the seeds coated with chitosan plus eugenol had lower percentage of germination than those coated with captan and the control. Nevertheless, the seedling infection of soybean could be reduced better than the untreated seed. There were no

significant difference in the yield between the chotosan plus eugenol and the captan treatments. Some chemical properties of productive seeds indicated that treatment of soybean seed did not have any side effect on product qualities.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การเคลือบเมล็ดพันธุ์ด้วยสารกำจัดศัตรูพืชชีวภาพเพื่อการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืชของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง	
ผู้เขียน	นางสาว อัญทิกา สวัสดิ์วินิช	
ปริญญา	วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (ชีววิทยา)	
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์ ดร. อารยา จาคีเสถียร	ประธานกรรมการ
	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชัยวัฒน์ จาคีเสถียร	กรรมการ
	อาจารย์ ดร. คำรัส ทรัพย์เย็น	กรรมการ

### บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสารกำจัดเชื้อราชีวภาพที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืชของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองและนำไปประยุกต์กับเทคนิคการเคลือบเมล็ด โดยใช้เชื้อราที่แยกจากเมล็ดถั่วเหลืองซึ่งเป็น seed-borne fungi 8 สกุล และ เชื้อราซึ่งเป็น soil-borne fungi 5 สกุล เป็นเชื้อราทดสอบ จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชสมุนไพร 5 ชนิดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราทดสอบและผลต่อการงอกของเมล็ดถั่วเหลือง พบว่า สารสกัดว่านน้ำและกานพลูมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราทดสอบได้ดี รองลงมาได้แก่ สารสกัดหนอนตายหยาก ส่วนสารสกัดสารกัมมิตินน้อยที่สุด จึงได้คัดเลือกสารสกัดกานพลูเพื่อใช้ในการวิจัยนี้ เนื่องจากสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราทดสอบทุกชนิดได้ดี และไม่มีผลต่อการงอกของเมล็ด โดยสารออกฤทธิ์ในกานพลู คือ eugenol ซึ่งสามารถสกัดได้ด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ

เมื่อนำ eugenol ความเข้มข้น 1% เคลือบเมล็ดถั่วเหลือง พบว่าไม่มีผลกระทบต่อการงอกของเมล็ดพันธุ์รวมถึงสามารถควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อราในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองได้เท่ากับ captan เมื่อใช้สูตรที่มีความเหมาะสมในการเคลือบเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองคือ ใช้ eugenol 1% w/v

ร่วมกับ chitosan 2% w/v, lignosulphonic acid 0.1% w/v, acetic acid 1% w/v, สีสผสมอาหาร 0.1% w/v และน้ำกลั่น 95.8% ปริมาณ 100 มิลลิลิตรต่อเมล็ดถั่วเหลือง 400 กรัม พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วย chitosan ร่วมกับ eugenol มีผลกระทบต่อการงอกและความแข็งแรงของเมล็ดที่ถูกเคลือบน้อยกว่าเมล็ดพันธุ์ที่คลุกด้วย captan และมีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราก่อโรคทั้ง seed-borne และ soil-borne ได้ดีกว่า แต่ให้เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดน้อยกว่าในเชื้อราก่อโรคบางชนิด

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเมล็ดเคลือบที่เก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือน พบว่าเมล็ดถั่วเหลืองที่คลุกด้วย captan สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อราที่เป็น storage fungi บนเมล็ดในระหว่างการเก็บรักษาได้ดีที่สุด คือประมาณ 4 – 5 เดือน ส่วนเมล็ดที่เคลือบด้วย chitosan ร่วมกับ eugenol สามารถควบคุมเชื้อราได้ประมาณ 3 – 4 เดือน ในขณะที่คุณภาพของเมล็ดในกลุ่มควบคุมจะถูกทำลายโดยเชื้อราและสามารถเก็บรักษาไว้ได้เพียงหนึ่งเดือนเท่านั้น อย่างไรก็ตามเมล็ดที่เคลือบด้วย chitosan ร่วมกับ eugenol สามารถรักษาสภาพความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดได้ดีกว่าเมล็ดที่คลุกด้วย captan นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ใกล้เคียงกับเมล็ดที่คลุกด้วย captan

เมื่อทดสอบประสิทธิภาพเมล็ดเคลือบกับเชื้อราที่เป็น soil-borne ในเรือนเพาะชำ พบว่าเมล็ดเคลือบด้วย chitosan ร่วมกับ eugenol สามารถป้องกันการเข้าทำลายเมล็ดของเชื้อรา *Alternaria* sp., *Cladosporium cladosporioides* และ *Fusarium oxysporum* ได้ดี เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของการเคลือบเมล็ดในแปลงเกษตรกร พบว่า เมล็ดที่เคลือบด้วย chitosan ร่วมกับ eugenol มีความสามารถในการงอกต่ำกว่าเมล็ดที่คลุกด้วย captan และกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามการเคลือบเมล็ดด้วย chitosan ร่วมกับ eugenol สามารถลดการเข้าทำลายของเชื้อราในระยะต้นอ่อนได้ดีกว่าเมล็ดกลุ่มควบคุม ส่วนผลผลิตจากเมล็ดที่เคลือบด้วย chitosan ร่วมกับ eugenol ไม่มีความแตกต่างอย่างชัดเจนกับเมล็ดที่คลุกด้วย captan เมื่อพิจารณาจากคุณสมบัติทางเคมีบางประการพบว่าเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านกรรมวิธีการเคลือบต่างๆ ไม่มีผลต่อคุณภาพของผลผลิตที่ได้