

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การใช้เชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์และเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชักนำให้เกิดความต้านทานโรคทางใบในสตรอว์เบอร์รี

ผู้เขียน

นางสาวศิริมาศ ชัยชม

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ. ดร. เกวลิน คุณาศักดากุล อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
ดร. ปิณฑนา ฐาปนพงษ์วรกุล อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

จากการวินิจฉัยโรคทางใบของสตรอว์เบอร์รี พบเชื้อ *Colletotrichum* sp. และ เชื้อ *Pestalotia* sp. เป็นเชื้อสาเหตุของโรคใบจุดและใบไหม้ ตามลำดับ และจากศึกษาการแยกเชื้อปฏิปักษ์ในกลุ่มแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์จากพืชสมุนไพรรและพืชวงศ์กุหลาบ (Rosaceae) บนอาหาร IMA-2 ซึ่งสามารถแยกเชื้อได้ทั้งหมด 102 ไอโซเลต เมื่อนำมาคัดเลือกเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตสาเหตุโรคทางใบ ด้วยวิธี dual culture บนอาหาร IMA-2 พบ เชื้อจำนวน 6 ไอโซเลต คือ ERY2, MET4, POL4, DUC2, PRU2 และ ROS7 ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคดังกล่าวได้ในระดับสูง-สูงมาก โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป พบว่า ไอโซเลต MET4 มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum* sp. มากที่สุดเท่ากับ 92.50 เปอร์เซ็นต์ ไอโซเลต PRU2 มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งเชื้อ *Pestalotia* sp. มากที่สุดเท่ากับ 87.50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์ทั้ง 6 ไอโซเลต ที่คัดเลือกได้ไป ทดสอบการเข้าอยู่อาศัยในเนื้อเยื่อของต้นกล้าสตรอว์เบอร์รี โดยหยดเซลล์แขวนลอยของเชื้อแต่ละไอโซเลต ลงบริเวณโคนต้นกล้าสตรอว์เบอร์รีที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ และบ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 14 วัน และแยกเชื้อกลับ พบว่า เชื้อ 6 ไอโซเลต ดังกล่าว มีเปอร์เซ็นต์การแยกเชื้อกลับได้ เท่ากับ 96, 56, 70, 100, 100 และ 93 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยส่วนใหญ่สามารถแยกเชื้อกลับได้จากส่วนใบของพืช และจากการทดสอบความต้านทานโรคทางใบในสภาพปลอดเชื้อของต้นกล้าสตรอว์เบอร์รีที่ได้รับการปลูกเชื้อแอกติโนไมซีสเอนโดไฟต์แต่ละไอโซเลต เป็นเวลา 21 วัน จากนั้นปลูกเชื้อสาเหตุโรคแต่ละชนิดเป็นเวลา 10 วัน พบว่า สามารถชักนำให้พืชต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคใบจุดและใบไหม้ได้ โดยไอโซเลต MET4 ชัก

ทำให้เกิดความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคทั้ง 2 ชนิดได้ดีที่สุด ซึ่งวัดค่าเฉลี่ยระดับการเกิดโรคได้น้อยที่สุดเท่ากับ 0.44 แตกต่างจากชุดควบคุมที่ปลูกเชื้อสาเหตุโรคเพียงอย่างเดียว ซึ่งวัดค่าเฉลี่ยระดับการเกิดโรคได้สูงสุดเท่ากับ 3.78 และ 4.00 ตามลำดับ สอดคล้องกับการทดสอบในสภาพโรงเรือน และการทดสอบด้วยวิธี detached leaf และเมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าสตรอว์เบอร์รีที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า เชื้อปฏิปักษ์ที่คัดเลือกได้ทุกไอโซเลตยกเว้น DUC2 เช่น ไอโซเลต MET4 สามารถส่งเสริม ความสูงต้น จำนวนใบ น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง ได้ดีที่สุดในขณะที่ไอโซเลต POL4 ส่งเสริมความยาวรากมากที่สุด และเมื่อทดสอบการคงอยู่ของเชื้อแอคติโนไมซีสเอนโดไฟต์แต่ละไอโซเลตในเนื้อเยื่อของกล้าพืช หลังการออกปลูกในสภาพโรงเรือนที่ 7, 14, 21 และ 28 วัน พบว่าสามารถแยกเชื้อกลับได้ใน ไอโซเลต POL4, DUC2 และ PRU2 โดยการแยกเชื้อกลับของไอโซเลต DUC2 มีค่าสูงที่สุด ระหว่าง 13.33-21.11 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนชิ้นพืชที่นำมาแยกเชื้อกลับโดยพบจากส่วนใบของพืชได้มากที่สุดเช่นเดียวกัน

Thesis Title Using Endophytic Actinomycetes and Tissue Culture Techniques to Induced Resistance of Leaf Disease in Strawberry

Author Miss Sirimas Chaichom

Degree Master of Science (Plant Pathology)

Thesis Advisory Committee Asst. Prof. Dr. Kaewalin Kunasakdakul Advisor
Dr. Pilunthana Thapanapongworakul Co-advisor

Abstract

The pathogenic agent of leaf spot and leaf blight of strawberry were isolated from disease infected strawberry leaves and identified is *Colletotrichum* sp. and *Pestalotia* sp., respectively. One hundred and two isolates of endopytic actinomycetes were isolated from herb plants and Rosaceae using IMA-2 medium. They were all tested for their efficiencies in controlling of *Colletotrichum* sp. and *Pestalotia* sp. fungal disease by dual culture on IMA-2 medium. It was found that six endopytic actinomycetes isolates as follows ERY2, MET4, POL4, DUC2, PRU2 and ROS7 were highly efficiencies inhibit the radial showed of these two fungal disease and showed the percent inhibition of radial growth (PIRG) more than 70. These six effective endophytic actinomycetes isolates were tested for their abilities to colonize tissue culture strawberry plantlets under aseptic condition by using cell suspension of each isolate dropped onto the plantlets. Re-isolation of each endophytic actinomycetes isolate was done at 14 days after inoculation. It was found that the percentage of re-isolation of ERY2, MET4, POL4, DUC2, PRU2 and ROS7 were 96, 56, 70, 100, 100 and 93 percents, respectively, and the majority them were isolated from leaves. The resistances of endopytic actinomycetes colonize tissue culture plantlet of strawberry to leaf disease were then evaluated *in vitro* after inoculation of *Colletotrichum* sp. and *Pestalotia* sp. to the plantlet for 10 days. The results revealed that MET4 isolate which showed the average disease severity of 0.44 was the best isolate to induce disease resistance to *Colletotrichum* sp. and *Pestalotia* sp. compared to the control treatment with the average disease severity of 3.78 and 4.00, respectively. In addition the abilities of these endopytic

actinomycetes to control leaf spot and leaf blight disease of strawberry were evaluated *in vivo* and by detached leaf method. The experimental results agreed with those from *in vitro* testing. The growth promoting abilities of these selected endophytic actinomycetes were tested *in vitro*. The results revealed that MET4 isolate was the best to promote the height, number of leaves, fresh weight and dry weights of strawberry plantlet while POL4 was the best isolate to promote root length. Persistence of the selected endophytic actinomycetes in inoculated strawberry tissue culture plantlets after transplanting for 7, 14, 21 and 28 days were examined using re-isolation method. It was found that POL4, DUC2 and PRU2 isolated could be re-isolated at all periods. DUC2 isolated had the highest re-isolation percentages with in the range of 13.33 to 21.11. Leaves tissue were the explants which the selected endophytic actinomycetes isolates were frequently re-isolated.