

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การคัดเลือกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์เพื่อควบคุมโรค
รากเน่าไฟทอปธอราในสตรอว์เบอร์รี

ผู้เขียน

นางสาว อภาพร โพธิยอด

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช)

คณะกรรมการที่ปรึกษา

ผศ. ดร. เกวณีน คุณาศักดากุล

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

อ. ดร. ปิณฑนา ฐาปนพงษ์วรกุล

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

จากการนำเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่แยกได้จากพืชวงศ์กุหลาบ (Rosaceae) และพืชสมุนไพร จำนวน 97 ไอโซเลท มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora cactorum* สาเหตุโรครากเน่าของสตรอว์เบอร์รี ด้วยวิธี dual culture พบว่าสามารถคัดเลือกเชื้อที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเชื้อราสาเหตุได้ในระดับสูงมากจำนวน 5 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท DUC2, CINv1, FRA19, CINc1 และ POL2 โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติเท่ากับ 95.51, 94.38, 93.43, 89.89 และ 88.96 ตามลำดับ เมื่อศึกษาลักษณะของเชื้อทั้ง 5 ไอโซเลท ที่คัดเลือกได้จากการเรียงตัวของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าอาจจัดอยู่ในสกุล *Streptomyces* จากนั้นนำเชื้อจำนวน 5 ไอโซเลทที่คัดเลือกได้ มาทดสอบการเข้าอาศัยในเนื้อเยื่อของต้นสตรอว์เบอร์รี โดยปลูกเชื้อแต่ละไอโซเลทในต้นสตรอว์เบอร์รีที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ บ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 21 วัน แล้วนำมาแยกเชื้อกลับ พบว่าเชื้อทั้ง 5 ไอโซเลท สามารถเข้าอาศัยภายในเนื้อเยื่อของต้นสตรอว์เบอร์รีได้ โดยไอโซเลท DUC2 เข้าอาศัยภายในต้นสตรอว์เบอร์รี ได้มากที่สุด ซึ่งแยกเชื้อกลับได้เท่ากับ 96 เปอร์เซ็นต์ และจากการทดสอบการชักนำความต้านทานต่อการเกิดโรครากเน่า โดยนำต้นสตรอว์เบอร์รีที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อและได้รับการปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์แต่ละไอโซเลทที่คัดเลือกได้ เป็นเวลา 30 วัน จากนั้นหยด oospore แววนลอยของ *P. cactorum* บริเวณโคนต้นสตรอว์เบอร์รีในสภาพปลอดเชื้อ บ่มเชื้อไว้เป็นเวลา 14 วัน พบว่าเชื้อทั้ง 5 ไอโซเลท สามารถชักนำให้ต้นสตรอว์เบอร์รีต้านทานต่อการเกิดโรครากเน่าได้ โดยไอโซเลท CINv1 และ FRA19 ชักนำให้ต้นสตรอว์เบอร์รีเกิดความต้านทานต่อการเกิดโรครากเน่าได้ดีที่สุด ซึ่งลดค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรง

ของโรคได้มากที่สุดไม่แตกต่างกันทางสถิติเท่ากับ 2.20 และ 2.50 ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุมที่มีระดับรุนแรงของโรคเท่ากับ 3.90 และจากการทดสอบการชักนำความต้านทานต่อการเกิดโรครากเน่าในสภาพโรงเรือน พบว่าไอโซเลท CINv1 สามารถชักนำให้ต้นสตรอว์เบอร์รีต้านทานต่อการเกิดโรครากเน่าได้ดีที่สุด โดยลดค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของโรคได้มากที่สุดเท่ากับ 1.78 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุมที่มีค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 3.88 สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนไมซีสเอนโดไฟต์ในการควบคุมโรครากเน่าในสภาพโรงเรือน โดยการปลูกเชื้อแต่ละไอโซเลทที่คัดเลือกได้ด้วยวิธีการพ่น และราดเชื้อบนต้นสตรอว์เบอร์รี ทุกๆ 7 วัน จำนวน 4 ครั้ง แล้วปลูก inoculum ของเชื้อราสาเหตุเป็นเวลา 14 วัน พบว่าเชื้อไอโซเลท CINv1 สามารถควบคุมการเกิดโรครากเน่าได้ดีที่สุดทั้งในวิธีการพ่น และราดเชื้อซึ่งมีค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 1.31 และ 1.75 ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุมที่ปลูกเชื้อราสาเหตุเพียงอย่างเดียว ซึ่งมีค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของโรคเท่ากับ 3.00 และ 3.06 ตามลำดับ และจากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนไมซีสเอนโดไฟต์ทั้ง 5 ไอโซเลทที่คัดเลือกได้ ในการส่งเสริมการเจริญของต้นสตรอว์เบอร์รีในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าไอโซเลท POL2 สามารถส่งเสริมการเจริญได้ดีที่สุด โดยให้น้ำหนักสดเท่ากับ 225.42 มิลลิกรัม น้ำหนักแห้งเท่ากับ 27.09 มิลลิกรัม และความสูงเท่ากับ 4.60 เซนติเมตร แตกต่างจากชุดควบคุมที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และจากการทดสอบการคงอยู่ของเชื้อแอคติโนไมซีสเอนโดไฟต์ทั้ง 5 ไอโซเลทที่คัดเลือกได้ในเนื้อเยื่อของต้นสตรอว์เบอร์รีหลังการออกปลูกในสภาพโรงเรือนด้วยวิธีการแยกเชื้อกลับ พบว่าไอโซเลท DUC2, FRA19 และ POL2 สามารถเข้าอาศัยและคงอยู่ภายในเนื้อเยื่อของต้นสตรอว์เบอร์รีหลังจากออกปลูกในสภาพโรงเรือนได้ โดยสามารถแยกเชื้อกลับได้ที่ระยะเวลา 7, 14, 21 และ 28 วัน หลังจากออกปลูกในสภาพโรงเรือน

Thesis Title	Selection of Endophytic Actinomycetes for Controlling Phytophthora Root Rot in Strawberry	
Author	Miss Apaporn Potiyot	
Degree	Master of Science (Plant Pathology)	
Advisory Committee	Asst. Prof. Dr. Kaewalin Kunasakdakul	Advisor
	Lect. Dr. Pilunthana Thapanapongworakul	Co-advisor

ABSTRACT

Ninety-seven isolates of endophytic actinomycetes isolated from Rosaceae and herbal plants were used to evaluate their inhibitory effects on growth of *Phytophthora cactorum* root rot pathogen of strawberry. Percent inhibition of the radial growth (PIRG) of the strawberry root rot fungi were measured after dual culture method were done compared to control treatment. Five isolates of endophytic actinomycetes; DUC2, CINv1, FRA19, CINc1 and POL2, were selected since of their non-significant in very high inhibitory levels of the PIRG at 95.51, 94.38, 93.43, 89.89 and 88.96 respectively. After that, spore chains morphology of the selected isolates were observed to show that all selected isolates were possibly exhibited in the genus *Streptomyces*. Strawberry tissue culture plantlets were further proved for colonization by these five endophytic actinomycetes using re-isolation method. The results found that all isolate successfully colonized in plant tissue particularly isolate DUC2 showed the highest colonization with the highest re-isolation percentages at 96. Furthermore, the colonized strawberry tissue culture plantlets were proved for their root rot resistant induction after the pathogen oospore were inoculated onto the plants. The disease severity data revealed that, *in vitro* plantlet inoculated with the isolate CINv1 and FRA19 were the best isolate to induce disease resistance which non-significant disease severity at 2.20 and 2.50, respectively compared to 3.90 of the untreated control. Furthermore, strawberry tissue plantlets inoculated with the selected isolates were used to evaluate disease resistance under greenhouse conditions. The results presented that untreated control showed the average disease severity at 3.88, while isolate CINv1 was the best to induce disease resistance of the

plantlet by showing the average disease severity at 1.78. Moreover, the spraying and soil drenching of this isolate to control root rot disease of strawberry testing *in vivo* revealed the best results to decrease disease severity at 1.31 and 1.75 compared to control treatment which showed the results at 3.00 and 3.06 respectively. The growth promoting abilities of the selected isolates were tested *in vitro*. The result showed that isolate POL2 significantly promoted fresh weight (225.42 mg), dry weight (27.08 mg) and plant height (4.60 cm) of strawberry tissue culture plantlets. In addition, There 5 selected endophytic actinomycetes were found to be colonized in strawberry tissue culture plantlets after transplanting to greenhouse for 7, 14, 21 and 28 days examining by re-isolation method. And the isolate, DUC2, FRA19 and POL2 were persisted to be found in all re-isolation periods.