

บทที่ 4

ผลการทดลอง และวิจารณ์

4.1 การแยกเชื้อราสาเหตุโรครากเน่า

จากการเก็บตัวอย่างต้นสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ 329 (Yael) ที่เป็นโรครากเน่าจากแปลงเพาะต้นกล้าของเกษตรกรใน อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่ พบต้นสตรอว์เบอร์รีที่เป็นโรครากเน่าแสดงอาการเหี่ยวทั้งต้น โดยใบเกิดการเหี่ยว และกลายเป็นสีน้ำตาล พบรากเน่าเป็นสีน้ำตาลโดยเกิดจากบริเวณโคนรากขยายออกไปสู่ปลายราก เมื่อผ่าลำต้นตามแนวยาวพบเนื้อเยื่อภายในลำต้นเกิดการเน่า มีลักษณะเป็นสีน้ำตาลเข้ม

จากการแยกเชื้อราสาเหตุโรครากเน่าจากส่วนของรากและลำต้นสตรอว์เบอร์รีที่เกิดโรคด้วยวิธี tissue transplant พบว่าเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้มีลักษณะเส้นใยละเอียดสีขาว โคลนินฟูขึ้นเหนือผิวหน้าอาหารมีลักษณะเป็นชั้น ๆ ใช้ระยะเวลาในการเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เป็นเวลา 5 วัน เมื่อนำเชื้อราสาเหตุมาตรวจดูลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้กล้องจุลทรรศน์ พบเส้นใยของเชื้อราที่มีลักษณะใส ไม่มีผนังกัน sporangium มีรูปร่างคล้ายผลเลมอน (lemon - shaped) ส่วนปลายของ sporangium มี papilla ที่สามารถมองเห็นได้ชัดเจน และพบ oospore ลักษณะกลม และมีผนังหนา โดยเกิดจากการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศระหว่าง oogonium และ antheridium ในแบบ paragynous (ภาพที่ 10) ซึ่งจากลักษณะดังกล่าวพบว่าตรงกับเชื้อรา *Phytophthora cactorum* โดย Erwin and Ribeiro (1996) รายงานว่าเชื้อรา *P. cactorum* สร้างเส้นใยใส ไม่มีผนังกัน มีการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้าง zoospore ภายใน sporangium ซึ่ง sporangium มีรูปร่างได้หลายแบบเช่น เลมอน (lemon shape), ทรงกลม (spherical) และ obpyriform ส่วนปลายของ sporangium มี papilla ที่เห็นได้ชัดเจน สร้าง oospore ซึ่งเกิดจากการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศระหว่าง oogonium และ antheridium ส่วนใหญ่จะเกิดแบบ paragynous และจากรายงานของธิดิมา และคณะ (2541) พบว่าเชื้อรา *P. cactorum* เป็นเชื้อราสาเหตุที่ทำให้เกิดโรค crown rot ของต้นสตรอว์เบอร์รีที่มีการระบาดของโรคในจังหวัดเชียงใหม่ และเชียงราย



ภาพที่ 10 ลักษณะการเจริญและการสร้างส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อรา *Phytophthora cactorum* สาเหตุโรครากเน่าของสตรอว์เบอร์รี

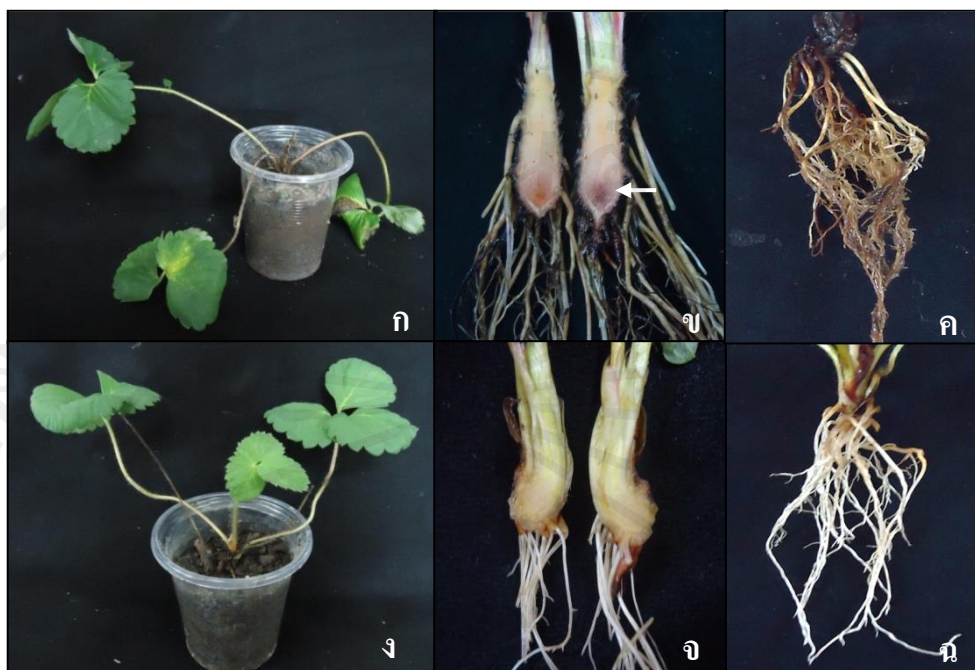
ก. โคโลนีของเชื้อรา *P. cactorum* ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อายุ 5 วัน

ข. Sporangium (Sg) ของเชื้อรา *P. cactorum* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

ค. Oospore (Oo) ของเชื้อรา *P. cactorum* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

4.2 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค

จากการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อรา *P. cactorum* สาเหตุโรครากเน่าของสตรอว์เบอร์รี ด้วยวิธี soil infestation พบว่าต้นสตรอว์เบอร์รีที่ได้รับการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคเป็นเวลา 14 วัน แสดงอาการเหี่ยว โดยใบมีลักษณะเหี่ยว และกลายเป็นสีน้ำตาล เมื่อผ่าลำต้นตามแนวยาวพบอาการเน่าของเนื้อเยื่อภายในลำต้นเป็นสีน้ำตาลคล้ำ และรากเน่าเป็นสีน้ำตาล โดยเริ่มเกิดจากบริเวณโคนราก และลุกลามต่อไปยังรากแขนง เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อราสาเหตุซึ่งไม่แสดงอาการของโรค (ภาพที่ 11) โดยอาการของโรคจะเริ่มแสดงขึ้นในวันที่ 5 และแสดงอาการเหี่ยวรุนแรงในวันที่ 14 หลังปลูกเชื้อราสาเหตุโรค ซึ่งจากลักษณะอาการของโรคที่เกิดขึ้นสอดคล้องกับรายงานของ Mass (1988) และคงฤช อินทแสน (2553) ซึ่งพบว่าเชื้อรา *P. cactorum* สาเหตุโรครากเน่าของสตรอว์เบอร์รี สามารถเข้าทำลายบริเวณลำต้น และรากของสตรอว์เบอร์รี ส่งผลให้เกิดอาการเน่าเป็นสีน้ำตาลแดงจนถึงน้ำตาลเข้มทั่วทั้งส่วนบนของลำต้น (crown) และโคนก้านใบ และพบการตายของรากโดยเริ่มจากโคนรากลุกลามต่อไปที่รากแขนงทำให้เกิดอาการเหี่ยว และเกิดการแคระแกรนของต้นสตรอว์เบอร์รี



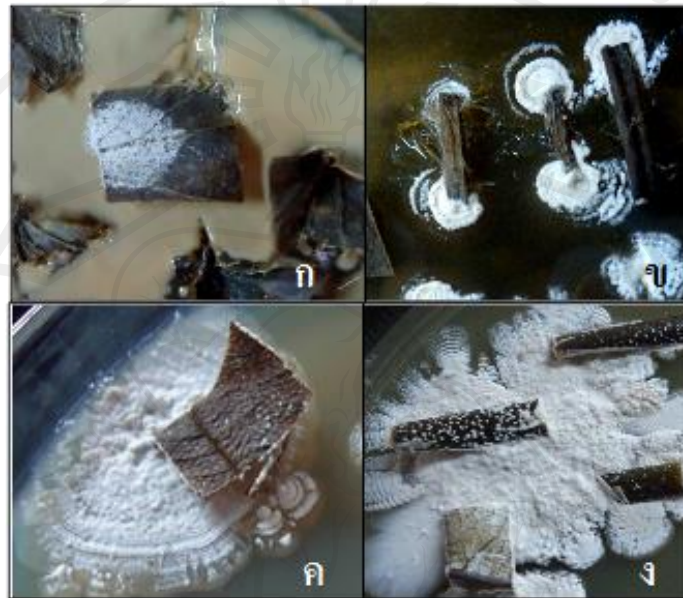
ภาพที่ 11 อาการโรครากเน่าของต้นสตรอว์เบอร์รีอายุ 30 วัน ที่ได้รับปลูกเชื้อรา *Phytophthora cactorum* เป็นเวลา 14 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ

- ก. อาการเหี่ยวของต้นสตรอว์เบอร์รีที่เป็นโรค
- ข. ลำต้นของสตรอว์เบอร์รีที่เป็นโรคเกิดอาการเน่าเป็นสีน้ำตาล (สรชี้)
- ค. รากของสตรอว์เบอร์รีที่เป็นโรคเกิดอาการเน่าเป็นสีน้ำตาล
- ง. ชุดควบคุมที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อ
- จ. ลำต้นของสตรอว์เบอร์รีในชุดควบคุมที่ไม่เป็นโรค
- ฉ. รากของสตรอว์เบอร์รีในชุดควบคุมที่ไม่เป็นโรค

4.3 การแยกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์

จากการแยกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์จากพืชวงศ์กุหลาบจำนวน 4 ชนิด และพืชสมุนไพรจำนวน 12 ชนิด บนอาหารเลี้ยงเชื้อ IMA-2 บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 วัน พบโคโลนีของเชื้อที่มีลักษณะคล้ายผงแป้งเจริญออกมาจากชิ้นพืชที่วางอยู่บนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ IMA-2 (ภาพที่ 12) โดยสามารถแยกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์จากพืชวงศ์กุหลาบได้จำนวน 47 ไอโซเลต และจากพืชสมุนไพรจำนวน 50 ไอโซเลต รวมทั้งหมด 97 ไอโซเลต (ตารางที่ 2) และพบว่าเชื้อที่แยกได้ส่วนใหญ่ได้มาจากใบของพืช และจากการแยกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์จากพืชพบว่าเชื้อที่แยกได้จากพืชแต่ละชนิดมีปริมาณไม่เท่ากัน เนื่องจากเป็นพืชต่างชนิดกัน และเก็บในพื้นที่ที่ ๆ ต่างกันโดย Sardi *et al.* (1992) รายงานว่าชนิด และปริมาณของเชื้อแอคติโนไมซีสต์

เอนโดไฟต์ที่พบในพืชนั้น ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช แหล่งของพืชที่ปลูก รวมไปถึงอายุของพืช ชนิดของดิน และฤดูกาลปลูก ตลอดจนปัจจัยทางสภาพแวดล้อมและภูมิอากาศ (วันวิสาข์ พักแฟง, 2546) รวมทั้งขั้นตอนในการฆ่าเชื้อที่ผิวพืชซึ่งหากไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอ จะทำให้เชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่อาศัยอยู่บนผิวของพืชเจริญขึ้นอย่างรวดเร็ว และปกคลุมบริเวณพื้นผิวของพืชทั้งหมด ทำให้เชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ไม่สามารถเจริญออกมาจากพืชได้ (Shimizu *et al.*, 2000)



ภาพที่ 12 ลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่เจริญออกมาจากใบ และก้านใบของสตรอว์เบอร์รี่ และอบเชยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ IMA-2 หลังจากบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน

- ก. เชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่เจริญออกมาจากชิ้นส่วนของใบของสตรอว์เบอร์รี่
- ข. เชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่เจริญออกมาจากชิ้นส่วนของก้านใบของสตรอว์เบอร์รี่
- ค. เชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่เจริญออกมาจากชิ้นส่วนของใบอบเชย
- ง. เชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่เจริญออกมาจากชิ้นส่วนของก้านใบอบเชย

ตารางที่ 2 จำนวนไอโซเลทของเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่แยกได้จากพืชวงศ์กุหลาบ และ พืชสมุนไพรบนอาหารเลี้ยงเชื้อ IMA-2 หลังจากบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน

	พืชอาศัย	ชื่อไอโซเลท	จำนวน
พืชวงศ์กุหลาบ	1. นางพญาเสือโคร่ง (<i>Prunus cerasoides</i>)	PRU	4
	2. กุหลาบ (<i>Rosa</i> sp.)	ROS	18
	3. สตรอว์เบอร์รี (<i>Fragaria ananassa</i>)	FRA	23
	4. สตรอว์เบอร์รี ป่า (<i>Duchesnea indica</i> Focke)	DUC	2
พืชสมุนไพร	1. สะระแหน่ (<i>Metha cordifolia</i> Opiz.)	MET	6
	2. ผักไผ่ (<i>Polygonum odoratum</i> Lour.)	POL	4
	3. กาแฟ (<i>Coffea arabica</i> L.)	COF	4
	4. หม่อน (<i>Morus alba</i> L.)	MOR	3
	5. อบเชย (<i>Cinnamomum verum</i> J. Presl)	CINv	6
	6. การบูร (<i>Cinnamomum camphora</i> (L.) J.S. Presl)	CINc	1
	7. เอื้องหมายนา (<i>Costus speciosus</i>)	COS	3
	8. ตะไคร้ต้น (<i>Litsea cubeba</i> Per.)	LIT	7
	9. ผักชีฝรั่ง (<i>Eryngium foetidum</i> L.)	ERY	2
	10. โสม (<i>Panax ginseng</i> C. A. Meyer)	PAN	10
	11. สะเดา (<i>Azadirachta indica</i>)	AZA	1
	12. ดอกไม้จีน (<i>Hemerocallis fulva</i> Linn.)	HEM	3
รวม			97

4.4 การคัดเลือกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรครากเน่า

จากการนำเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่แยกได้จากการทดลองที่ 4.3 จำนวน 97 ไอโซเลท มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. cactorum* สาเหตุโรครากเน่าของ สตรอว์เบอร์รีด้วยวิธี dual culture พบว่าเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์แต่ละไอโซเลทสามารถ ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. cactorum* ได้ แตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบ เชื้อไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งในระดับสูงมากจำนวน 5 ไอโซเลท ได้แก่ DUC2, CINv1, FRA19, CINc1 และ POL2 โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่ไม่แตกต่างกันในทางสถิติเท่ากับ 95.51, 94.38, 93.43, 89.89 และ 88.96 ตามลำดับ (ตารางที่ 3 และภาคผนวก ข ตารางที่ 1) นอกจากนี้ยังพบว่า เส้นใยเชื้อรา *P. cactorum* ที่ถูกยับยั้งโดยเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ทั้ง 5 ไอโซเลท ดังกล่าว เจริญได้น้อย และมีลักษณะแบนราบติดไปกับผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP-2 เมื่อเปรียบเทียบกับเส้นใย เชื้อราสาเหตุที่ถูกยับยั้งการเจริญจากเชื้อไอโซเลทอื่น ๆ และในชุดควบคุม ซึ่งเส้นใยมีลักษณะเจริญ พูขึ้นอย่างหนาแน่นบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ (ภาพที่ 13) และเมื่อนำเส้นใยของเชื้อราสาเหตุ ในบริเวณที่ถูกยับยั้งมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเส้นใยของเชื้อรามีลักษณะบิดเบี้ยว เกิดการ แตกแขนงของเส้นใยเป็นแขนงสั้น ๆ ส่วนปลายของเส้นใยมีลักษณะบวม เมื่อเปรียบเทียบกับ เส้นใยของเชื้อราสาเหตุในชุดควบคุม (ภาพที่ 14) ทำให้เส้นใยของเชื้อราสาเหตุที่ถูกยับยั้งไม่สามารถ เจริญแผ่ขยายเส้นใยออกไปได้ โดย Erwin *et al.* (1983) รายงานว่าผนังเซลล์ของเชื้อรา *P. cactorum* ประกอบไปด้วย cellulose (β -1,4 glucan), non-cellulosic (β -1,3 และ β -1,6-glucan) และ amino acid hydroxyproline ซึ่ง Valois *et al.* (1996) พบว่าเชื้อแอคติโนไมซีสต์สามารถผลิตเอนไซม์ glucanase ได้แก่ β -1,3 β -1,4 และ β -1,6-glucanases ที่สามารถย่อย glucan ที่เป็นส่วนประกอบผนังเซลล์ของ เชื้อรา *P. fragariae* var. *rubi* สาเหตุโรครากเน่าของราสเบอร์รี ทำให้เส้นใยของเชื้อราเกิดการเจริญ ผิดปกติส่งผลให้สามารถลดการเข้าทำลายของเชื้อรา และลดความรุนแรงของโรครากเน่า ในต้นราสเบอร์รีได้ ดังนั้นจึงได้คัดเลือกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ทั้ง 5 ไอโซเลท ที่มี ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุในระดับสูงมากไม่แตกต่างกันทางสถิติ และทำให้เส้นใย เกิดความผิดปกติดังกล่าวไปใช้ในการทดสอบในขั้นต่อไป

ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพของเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ไอโซเลตต่าง ๆ ในการยับยั้งเชื้อรา

Phytophthora cactorum

ไอโซเลต	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง ¹	ไอโซเลต	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง ¹
CINc1	89.89 ^{AB 2}	ERY3	4.67 ^{ijk 2}
CINv1	94.38 ^A	FRA1	57.41 ^{OPQRSTUVX}
CINv2	70.22 ^{FGHIJKLM}	FRA2	59.88 ^{NOPQRSTU}
CINv3	66.85 ^{IJKLMNOP}	FRA3	43.82 ^{YZab}
CINv4	79.78 ^{CDEF}	FRA4	48.31 ^{XYZabcd}
CINv5	66.85 ^{IJKLMNOP}	FRA5	73.46 ^{DEFGHIJ}
CINv6	73.03 ^{DEFGHIJK}	FRA6	81.46 ^{BCD}
COF4	58.02 ^{OPQRSTUVWXYZ}	FRA7	71.60 ^{EFGHIJKL}
COF5	29.01 ^e	FRA8	57.41 ^{OPQRSTUVWX}
COF6	55.56 ^{QRSTUVWXYZ}	FRA9	53.93 ^{STUVWXYZ}
COF7	66.05 ^{IJKLMNOP}	FRA10	76.97 ^{DEFGH}
COS1	38.89 ^d	FRA11	74.16 ^{DEFGHIJ}
COS2	22.84 ^{efgh}	FRA12	74.16 ^{DEFGHI}
COS3	20.99 ^{efgh}	FRA13	51.23 ^{UVWXYZa}
DUC1	63.58 ^{KLMNOPQR}	FRA14	68.52 ^{GHIJKLMN}
DUC2	95.51 ^A	FRA15	76.54 ^{DEFGH}
ERY1	72.89 ^{DEFGHIJK}	FRA16	47.53 ^{YZabcd}
LSD _{0.05}	9.61		
%CV	13.31		

¹ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ

² ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี LSD ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (โดยใช้อักษร 2 ชุดในการแยกความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ได้แก่ A...Z และ a....k)

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ไอโซเลท	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง ¹	ไอโซเลท	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง ¹
FRA17	73.46 ^{DEFGHIJ 2}	MET1	48.95 ^{WXYZabc 2}
FRA18	62.36 ^{LMNOPQRS}	MET4	76.54 ^{DEFGH}
FRA19	93.43^A	MET6	41.27 ^{YZab}
FRA20	74.69 ^{DEFGHI}	MET8	21.39 ^{efgh}
FRA21	55.56 ^{QRSTUVWXYZ}	MET10	78.09 ^{DEFG}
FRA22	65.17 ^{IJKLMNOP}	MET13	28.40 ^{ef}
FRA23	70.79 ^{FGHIJKLM}	MOR1	55.56 ^{QRSTUVWXYZ}
HEM2	4.21 ^{jk}	MOR2	53.70 ^{STUVWXY}
HEM3	21.84 ^{ijk}	MOR3	66.67 ^{IJKLMNOP}
HEM5	5.41 ^{hijk}	AZA1	80.90 ^{BCDE}
LIT5	51.20 ^{UVWXYZa}	PAN1	53.46 ^{STUVWXY}
LIT7	5.12 ^{ijk}	PAN2	7.2 ^{ijk}
LIT9	5.01 ^{ijk}	PAN3	52.56 ^{TUVWXY}
LIT10	7.83 ^{ijk}	PAN4	59.34 ^{NOPQRSTU}
LIT11	8.73 ^{ijk}	PAN5	57.08 ^{PQRSTUVWXYZ}
LIT12	39.91 ^{cd}	PAN7	39.91 ^{cd}
LIT13	48.95 ^{WXYZabc}	PAN9	20.93 ^{efgh}
LSD _{0.05}	9.61		
%CV	13.31		

¹ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ

² ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี LSD ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (โดยใช้อักษร 2 ชุดในการแยกความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ได้แก่ A...Z และ a.....k)

ตารางที่ 3 (ต่อ)

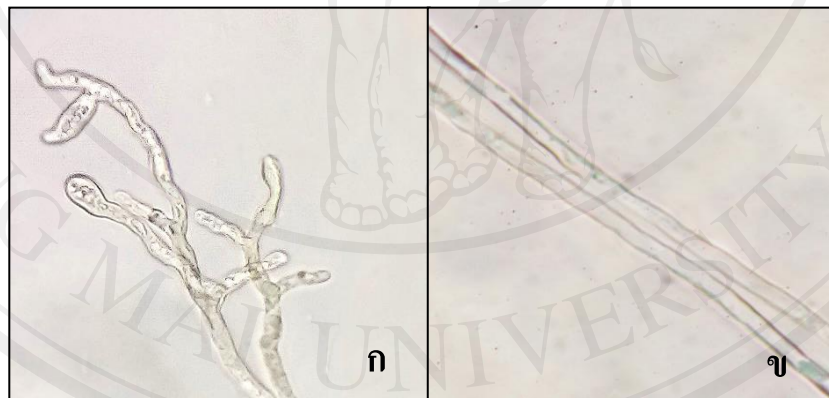
ไอโซเลท	เปอร์เซ็นต์ การยับยั้ง ¹	ไอโซเลท	เปอร์เซ็นต์ การยับยั้ง ¹
PAN10	23.19 ^{efg 2}	ROS5	59.55 ^{NOPQRSTUV 2}
PAN12	14.16 ^{ghi}	ROS6	72.22 ^{DEFGHIJK}
PAN13	41.27 ^{bcd}	ROS7	61.24 ^{MNOPQRST/2}
POL1	50.00 ^{VWXYZab}	ROS8	77.53 ^{DEFGH}
POL2	88.76^{ABC}	ROS9	59.88 ^{NOPQRSTU}
POL3	43.80 ^{Zabcd}	ROS10	57.30 ^{OPQRSTUVWXYZ}
POL4	62.25 ^{LMNOPQRS}	ROS11	74.07 ^{DEFGHIJ}
PRU1	73.03 ^{DEFGHIJK}	ROS12	25.93 ^{ef}
PRU2	19.14 ^{fgh}	ROS13	41.98 ^{abcd}
PRU3	54.49 ^{RSTUVWXY}	ROS14	25.31 ^{ef}
PRU4	3.70 ^k	ROS15	62.35 ^{LMNOPQRS}
ROS1	64.81 ^{JKLMNOPQ}	ROS16	50.62 ^{UVWXYZab}
ROS2	68.54 ^{GHIJKLMN}	ROS17	26.54 ^{ef}
ROS3	13.58 ^{hij}	ROS18	24.69 ^{ef}
ROS4	67.98 ^{HIJKLMN}		
LSD _{0.05}	9.61		
%CV	13.31		

¹ ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ

² ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี LSD ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์
(โดยใช้อักษร 2 ชุดในการแยกความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ได้แก่ A...Z และ a.....k)



ภาพที่ 13 ลักษณะการยับยั้งการเจริญเชื้อรา *Phytophthora cactorum* โดยการเลี้ยงร่วมกับเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ 5 ไอโซเลท ที่คัดเลือกได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP-2 ด้วยวิธี dual culture เป็นเวลา 7 วัน



ภาพที่ 14 ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora cactorum* ที่ถูกยับยั้งโดยเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP-2 ด้วยวิธี dual culture เป็นเวลา 7 วันภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า

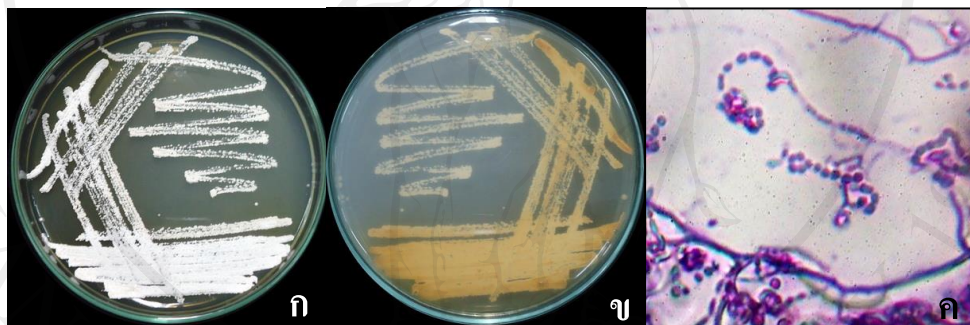
ก. เส้นใยของเชื้อรา *P. cactorum* ที่ถูกยับยั้งโดยเชื้อไอโซเลท CINv1

ข. เส้นใยของเชื้อรา *P. cactorum* ในชูดควบคุม

4.5 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์

จากการศึกษาสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่คัดเลือกได้จากการทดลองที่ 4 จำนวน 5 ไอโซเลต ได้แก่ CINc1, CINv1, DUC2, FRA19 และ POL2 โดยศึกษาลักษณะรูปร่าง และ สีของโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ IMA-2 และการสร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ และทำการย้อมสี เพื่อตรวจสอบลักษณะเส้นใย การแตกแขนงของเส้นใย และการเรียงตัวของสปอร์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 1,000 เท่า โดยแต่ละไอโซเลตมีลักษณะดังนี้

ไอโซเลต CINc1 (ภาพที่ 15) ลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ IMA-2 มีลักษณะ คล้ายผงแป้งสีขาว เกาะยึดติดกับผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ เจริญสม่ำเสมอตามแนว streak ลักษณะโคโลนี บนอาหารเลี้ยงเชื้อมีสี white (388) สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้สี light yellow (133) ไม่พบการสร้าง โครงสร้างสืบพันธุ์อย่างอื่น นอกจากสปอร์ เมื่อตรวจสอบลักษณะของเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเชื้อสร้างสปอร์เซลล์เดี่ยวต่อกันเป็นสายลูกโซ่ยาวประมาณ 10 - 20 สปอร์ ขึ้นไป ลักษณะของเส้นสายสปอร์เป็นแบบ spira type บริเวณปลายของสปอร์บิดเป็นเกลียว



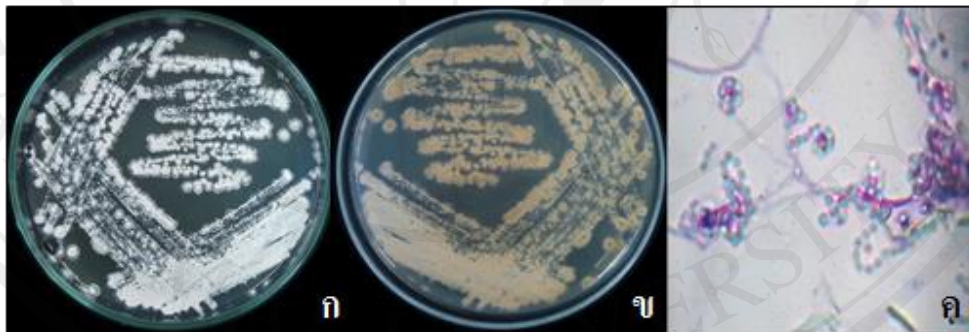
ภาพที่ 15 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ CINc1 ลักษณะด้านหน้า (ก) และด้านหลัง (ข) ของโคโลนี ที่เจริญบนอาหาร IMA-2 เป็นเวลา 7 วัน และการเรียงตัวของสปอร์ที่เรียงตัวแบบ spira type ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า (ค)

ไอโซเลต CINv1 (ภาพที่ 16) ลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ IMA-2 มีลักษณะ คล้ายผงแป้งสีขาว เกาะยึดติดกับผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ เจริญสม่ำเสมอตามแนว streak ลักษณะโคโลนี บนอาหารเลี้ยงเชื้อมีสี pale yellow (127) สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้สี light orange (65) ไม่พบการสร้าง โครงสร้างสืบพันธุ์อย่างอื่น นอกจากสปอร์ เมื่อตรวจสอบลักษณะของเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเชื้อสร้างสปอร์เซลล์เดี่ยวต่อกันเป็นสายลูกโซ่ยาวประมาณ 10 - 20 สปอร์ ขึ้นไป ลักษณะของเส้นสายสปอร์เป็นแบบ spira type บริเวณปลายของสปอร์บิดเป็นเกลียว



ภาพที่ 16 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ CINv1 ลักษณะด้านหน้า (ก) และด้านหลัง (ข) ของโคโลนี ที่เจริญบนอาหาร IMA-2 เป็นเวลา 7 วัน และการเรียงตัวสปอร์ที่เรียงตัวแบบ spira type ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า (ค)

ไอโซเลท DUC2 (ภาพที่ 17) ลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ IMA-2 มีลักษณะคล้ายผงแป้งสีขาว เกาะยึดติดกับผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ เจริญสม่ำเสมอตามแนว streak ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อมีสี yellowish white (393) ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ ไม่พบการสร้างโครงสร้างสืบพันธุ์อื่นนอกจากสปอร์ เมื่อตรวจดูลักษณะของเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเชื้อสร้างสปอร์เซลล์เดี่ยวต่อกันเป็นสายลูกโซ่ยาวประมาณ 10 - 20 สปอร์ขึ้นไป ลักษณะของเส้นสายสปอร์เป็นแบบ spira type บริเวณปลายของสปอร์บิดเป็นเกลียว



ภาพที่ 17 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ DUC2 ลักษณะด้านหน้า (ก) และด้านหลัง (ข) ของโคโลนี ที่เจริญบนอาหาร IMA-2 เป็นเวลา 7 วัน และการเรียงตัวสปอร์ที่เรียงตัวแบบ spira type ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า (ค)

ไอโซเลท FRA19 (ภาพที่ 18) ลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ IMA-2 มีลักษณะคล้ายผงแป้งสีขาว เกาะยึดติดกับผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ เจริญสม่ำเสมอตามแนว streak ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อมีสี pale yellow (127) สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำได้สี light orange (65) ไม่พบการสร้างโครงสร้างสืบพันธุ์อื่นนอกจากสปอร์ เมื่อตรวจดูลักษณะของเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์

ที่กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเชื้อสร้างสปอร์เซลล์เดี่ยวต่อกันเป็นสายลูกโซ่ยาวประมาณ 10 - 20 สปอร์ขึ้นไป ลักษณะของเส้นสายสปอร์เป็นแบบ spira type บริเวณปลายของสปอร์บิดเป็นเกลียว



ภาพที่ 18 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ FRA19 ลักษณะด้านหน้า (ก) และด้านหลัง (ข) ของโคโลนีที่เจริญบนอาหาร IMA-2 เป็นเวลา 7 วันและการเรียงตัวสปอร์ที่เรียงตัวแบบ spira type ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า (ค)

ไอโซเลท POL2 (ภาพที่ 19) ลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ IMA-2 มีลักษณะคล้ายผงแป้งสีขาวอมเทา เกาะยึดติดกับผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ เจริญสม่ำเสมอตามแนว streak ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อมีสี pale yellow wish gray (127) ไม่สร้างรงควัตถุที่ละลายน้ำ ไม่พบการสร้างโครงสร้างสืบพันธุ์อื่นนอกจากสปอร์ เมื่อตรวจจุลลักษณะของเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเชื้อสร้างสปอร์เซลล์เดี่ยวต่อกันเป็นสายลูกโซ่ยาวประมาณ 10 - 20 สปอร์ขึ้นไป ลักษณะของเส้นสายสปอร์เป็นแบบ rectiflexibles type บริเวณปลายของสปอร์โค้งงอเล็กน้อย



ภาพที่ 19 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ POL2 ลักษณะด้านหน้า (ก) และด้านหลัง (ข) ของโคโลนีที่เจริญบนอาหาร IMA-2 เป็นเวลา 7 วันและการเรียงตัวสปอร์ที่เรียงตัวแบบ rectiflexibles type ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า (ค)

จากการศึกษาลักษณะการเรียงตัวของสปอร์ของเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่คัดเลือกได้ พบว่าเชื้อทั้ง 5 ไอโซเลท อาศัยอยู่ในสกุล *Streptomyces* ซึ่งมีลักษณะการเรียงตัวของสปอร์แบบ spira type และแบบ rectiflexibiles type (Pridham *et al.*, 1958) สอดคล้องกับรายงานของ Okazaki *et al.* (1995), Taehowisan (2003) และ Shimizu *et al.* (2000) พบว่าในการแยกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์จากพืชนั้น เชื้อที่แยกได้ส่วนใหญ่มักจัดอยู่ในสกุล *Streptomyces* ซึ่งเชื้อสกุลนี้มีลักษณะการเรียงตัวของสปอร์ได้ 3 แบบ ได้แก่ แบบ spira type คือบริเวณส่วนปลายเส้นสายของสปอร์บิดเกลียว, แบบ rectiflexibiles type สปอร์เรียงต่อกันเป็นเส้นตรงและโค้งเล็กน้อย และแบบ retinaculiaperti type คือบริเวณปลายเส้นสายของสปอร์ม้วนเป็นวงคล้ายตะขอ และเชื้อสกุล *Streptomyces* สามารถสร้างสารปฏิชีวนะ และ growth hormone ซึ่งช่วยกระตุ้นให้ต้นพืชเกิดการป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืช และยังช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตให้แก่ต้นพืช โดยจากรายงานของ Cao *et al.* (2005) ทำการแยกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์จากรากของกล้วยได้ทั้งหมด 131 ไอโซเลท เป็นเชื้อ *Streptomyces* มากที่สุดจำนวน 99 ไอโซเลท และจากการทดสอบการประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุ พบว่า 18.3 เปอร์เซ็นต์ของเชื้อทั้งหมดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* สาเหตุโรคเหี่ยวของกล้วยได้ เช่นเดียวกับรายงานของ Xiao *et al.* (2002) พบว่าเชื้อ *Streptomyces* สามารถควบคุมเชื้อ *Phytophthora medicaginis* และ *Phytophthora sojae* สาเหตุโรค *Phytophthora root rots* ในถั่วเหลืองและถั่ว alfalfa ได้

4.6 การตรวจสอบความสามารถในการเข้าอาศัยของเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ในต้นสตรอว์เบอร์รีในสภาพปลอดเชื้อ

จากการนำต้นสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ 329 (Yael) ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ และได้รับการปลูกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่คัดเลือกได้ เป็นเวลา 21 วัน มาตรวจสอบความสามารถในการเข้าอาศัยของเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ด้วยวิธีการแยกเชื้อกลับ บนอาหาร IMA-2 เป็นเวลา 7 วัน สามารถแยกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ทั้ง 5 ไอโซเลท จากชิ้นส่วนต่าง ๆ ของต้นสตรอว์เบอร์รีได้ โดยสามารถแยกเชื้อกลับจากชิ้นส่วนใบได้มากที่สุด และพบว่าปริมาณเชื้อแต่ละไอโซเลทที่แยกได้จากชิ้นพืชมีความแตกต่างกัน โดยเชื้อไอโซเลท DUC2 สามารถแยกเชื้อกลับได้มากที่สุดเท่ากับ 96 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือไอโซเลท POL2, CINc1, FRA19 และ CINv1 ซึ่งแยกเชื้อกลับได้เท่ากับ 80, 60, 58 และ 43 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 4 และ ภาพที่ 20) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่พบการเจริญออกมาจากชิ้นส่วนพืช ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่คัดเลือกได้ทั้ง 5 ไอโซเลท สามารถเข้าอาศัยภายในต้นสตรอว์เบอร์รีได้ สอดคล้องกับรายงานของ Meguro *et al.* (2006) ได้ทำการทดสอบการเข้าอาศัยของเชื้อ *Streptomyces* sp. MBR-52

จากต้น *Rhododendron* ที่ได้รับการปลูกเชื้อ *Streptomyces* sp. MBR-52 ในสภาพปลอดเชื้อด้วยวิธีการแยกเชื้อกลับ พบว่าสามารถแยกเชื้อ *Streptomyces* sp. MBR-52 จากส่วนต่าง ๆ ของต้น *Rhododendron* เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อ และไม่สามารถแยกเชื้อได้ เช่นเดียวกับ Kunoh (2002) ได้ทำการทดสอบการเข้าอาศัยของเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ภายในพืช พบว่าการปลูกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ในสภาพปลอดเชื้อ ทำให้เชื้อสามารถเข้าอาศัยพืชได้โดยไม่เกิดการแข่งขันระหว่างจุลินทรีย์อื่น ๆ และจากการแยกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์หลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 7, 14 และ 21 วันนั้น พบว่าเชื้อที่แยกได้มีปริมาณเพิ่มมากขึ้นซึ่งแปรผันตามระยะเวลาในการบ่มเชื้อที่นานขึ้น (ภาพที่ 21) สอดคล้องกับรายงานของ Meguro *et al.* (2004) ทำการแยกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์จากต้น mountain laurel ที่ได้รับการปลูกเชื้อ *Streptomyces padanus* AOK-30 ในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 14 วัน โดยทำการแยกเชื้อทุก ๆ 4 วัน หลังจากการปลูกเชื้อ พบว่าสามารถแยกเชื้อ *Streptomyces padanus* AOK-30 ได้จากใบและลำต้นของต้น mountain ในปริมาณที่เพิ่มมากขึ้น แปรผันตามระยะเวลาการปลูกเชื้อที่นานขึ้น

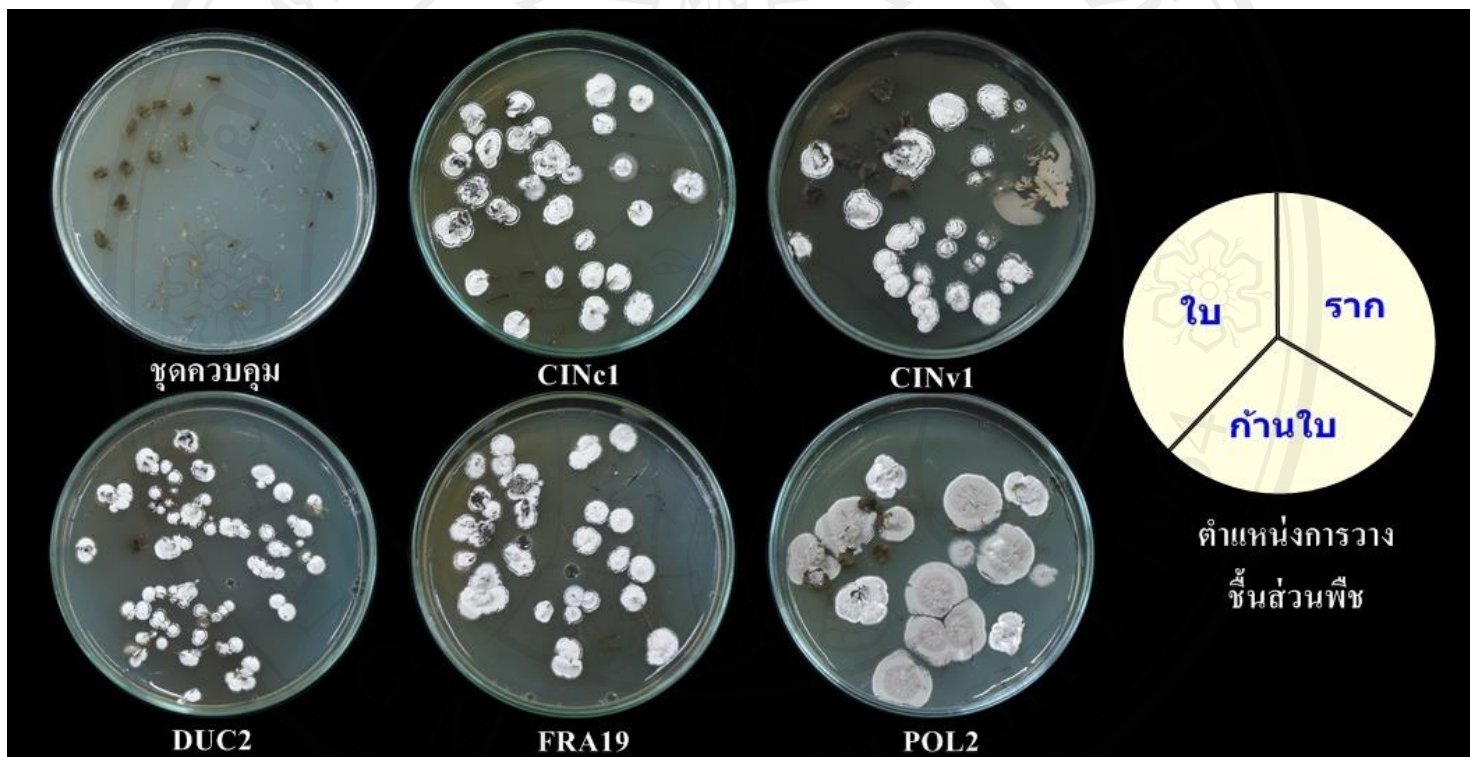
ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์การแยกเชื้อกลับจากส่วนต่าง ๆ ของต้นสตรอว์เบอร์รีที่ได้รับการปลูกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ไอโซเลตต่าง ๆ ในสภาพปลอดเชื้อ เป็นเวลา 21 วันหลังมาเชื้อที่ผิวและวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ IMA-2 เป็นเวลา 7 วัน

ไอโซเลต	จำนวนชิ้นพืชที่แยกเชื้อกลับได้			เปอร์เซ็นต์การแยกเชื้อกลับ ³
	ใบ ²	ก้าน ²	ราก ²	
ชุดควบคุม	0	0	0	0
CINc1	8	5	5	60
CINv1	5	4	4	43
DUC	10	10	9	97
FRA19	6	6	5	57
POL2	9	9	6	80

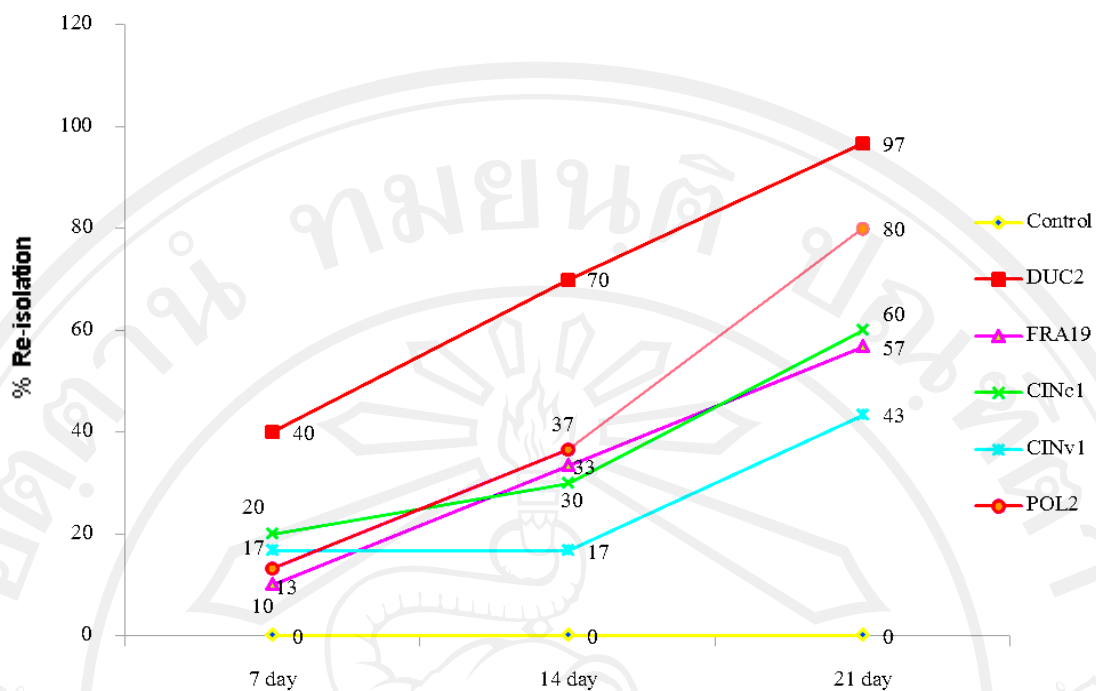
¹จำนวนชิ้นพืชทั้งหมด 30 ชิ้นต่อไอโซเลต

²จำนวนชิ้นพืช 10 ชิ้น ในแต่ละส่วนของต้นสตรอว์เบอร์รี

³เปอร์เซ็นต์ของจำนวนชิ้นพืชทั้งหมด (30 ชิ้นต่อไอโซเลต) ที่แยกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ได้จากต้นสตรอว์เบอร์รีในแต่ละไอโซเลต



ภาพที่ 20 ลักษณะของเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ไอโซเลตต่าง ๆ ที่เจริญออกมาจากชิ้นพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อ IMA-2 จากการแยกเชื้อกลับจากต้นสตรอว์เบอร์รี่ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ และได้รับการปลูกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์เป็นเวลา 21 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์



ภาพที่ 21 เปอร์เซนต์การแยกเชื้อกลับจากส่วนต่าง ๆ ของต้นสตรอว์เบอร์รีที่ได้รับการปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ไอโซเลตต่าง ๆ ในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 7, 14 และ 21 วัน

4.7 การชักนำความต้านทานโรครากเน่าในต้นสตรอว์เบอร์รี

4.7.1 การชักนำความต้านทานโรครากเน่าในต้นสตรอว์เบอร์รีในสภาพปลอดเชื้อ

จากการนำต้นสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ 329 (Yael) ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อและได้รับการปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่คัดเลือกได้จำนวน 5 ไอโซเลต ได้แก่ CINc1, CINv1, DUC2, FRA19 และ POL2 เป็นเวลา 30 วัน มาปลูกเชื้อราสาเหตุโดยหูด oospore แวนลอยของเชื้อรา *P. cactorum* ลงในบริเวณโคนต้นสตรอว์เบอร์รี บ่มเชื้อเป็นเวลา 14 และทำการประเมินระดับความรุนแรงของการเกิดโรคที่ระดับ 0 - 4 (ภาพที่ 7) พบว่าต้นสตรอว์เบอร์รีแสดงการต้านทานต่อการเกิดโรครากเน่าได้แตกต่างกัน โดยพบว่าเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ไอโซเลต CINv1 และ FRA19 สามารถชักนำให้ต้นสตรอว์เบอร์รีต้านทานต่อการเกิดโรคได้ดีที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของการเกิดโรค เท่ากับ 2.20 และ 2.50 รองลงมาได้แก่ไอโซเลต CINc1, POL2 และ DUC2 โดยมีค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของการเกิดโรคเท่ากับ 2.80, 2.90 และ 3.15 ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุมที่มีค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของการเกิดโรคเท่ากับ 3.90 (ตารางที่ 5 ภาพที่ 22 และภาคผนวก ข ตารางที่ 2) จากผลการ

ทดลองแสดงให้เห็นว่าต้นสตรอว์เบอร์รีที่ได้รับการปลูกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์สามารถต้านทานต่อการเกิดโรครากเน่าได้ สอดคล้องกับรายงานของ Shimizu *et al.* (2001) ทดสอบความต้านทานการเกิดโรคของต้น *Rhododendron* ด้วยการปลูกเชื้อ *Streptomyces* sp. R-5 ลงบนต้น *Rhododendron* ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อก่อน ปลูกเชื้อตาม ด้วยเชื้อรา *Pestalotiopsis sydowiana* บนใบของต้น *Rhododendron* พบว่าต้น *Rhododendron* ที่ได้รับการปลูกเชื้อด้วย *Streptomyces* sp. R-5 มีระดับความรุนแรงของโรคน้อยกว่าชุดควบคุม และสามารถลดการตายของต้น *Rhododendron* ได้

ตารางที่ 5 ระดับความรุนแรงของการเกิดโรครากเน่าในต้นสตรอว์เบอร์รีที่ได้รับการปลูกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ไอโซเลตต่าง ๆ ในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 30 วัน และหลังจากปลูกเชื้อรา *Phytophthora cactorum* เป็นเวลา 14 วัน

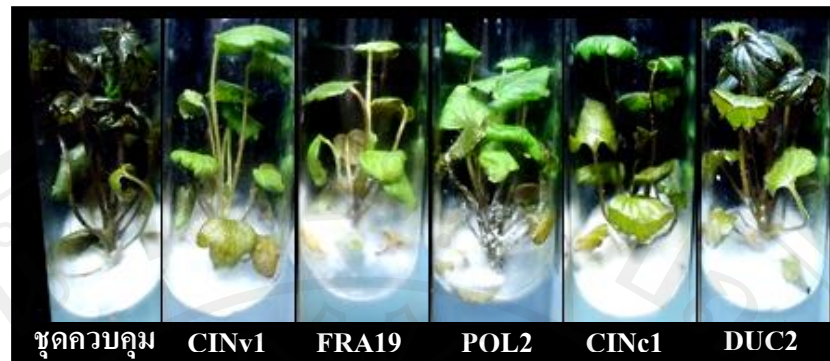
ไอโซเลต	เปอร์เซ็นต์ของต้นสตรอว์เบอร์รีที่เกิดโรค ในระดับความรุนแรงต่าง ๆ ²					ค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรง ของการเกิดโรค ³
	0	1	2	3	4	
ชุดควบคุม ¹	0	0	0	10	90	3.90 ^{d 4}
CINc1	0	5	25	50	20	2.90 ^{bc}
CINv1	0	20	50	20	10	2.20 ^a
DUC2	0	5	0	70	25	3.15 ^c
FRA19	0	10	45	30	15	2.50 ^{ab}
POL2	0	0	35	50	15	2.80 ^{bc}
LSD _{0.05}						0.48
%CV						12.59

¹ไม่ปลูกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์

²จากจำนวนต้นสตรอว์เบอร์รีไอโซเลตละ 20 ต้น

³ค่าเฉลี่ยจากจำนวนต้นสตรอว์เบอร์รีไอโซเลตละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ต้น

⁴ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี LSD ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 22 ลักษณะความต้านทานต่อโรครากเน่าของกล้าต้นสตรอว์เบอร์รี่ที่ได้รับการปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสเอนโดไฟต์ไอโซเลตต่าง ๆ ในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 30 วัน และหลังจากได้รับการปลูกเชื้อรา *Phytophthora cactorum* เป็นเวลา 14 วัน เปรียบเทียบกับต้นสตรอว์เบอร์รี่ในชุดควบคุมที่ปลูกเฉพาะเชื้อรา *P. cactorum* เพียงอย่างเดียว

4.7.2 การชักนำความต้านทานโรครากเน่าในต้นสตรอว์เบอร์รี่ในสภาพโรงเรือน

จากการนำต้นสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์ 329 (Yael) ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ และได้รับการปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสเอนโดไฟต์ที่คัดเลือกได้ เป็นเวลา 21 วัน มาออกปลูก จากนั้นจึงปลูกเชื้อราสาเหตุโดยคลุก inoculums ที่เตรียมในเมล็ดข้าว บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 วัน และทำการประเมินระดับความรุนแรงของการเกิดโรครากเน่าแตกต่างกัน โดยพบว่าเชื้อแอคติโนไมซีสเอนโดไฟต์ไอโซเลต CINv1 สามารถชักนำให้ต้นสตรอว์เบอร์รี่ต้านทานต่อการเกิดโรคได้ดีที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของการเกิดโรคเท่ากับ 1.78 รองลงมาได้แก่ไอโซเลต CINc1, DUC2, FRA19 และ POL2 โดยมีค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของการเกิดโรค เท่ากับ 2.45, 2.80, 2.98 และ 3.45 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากชุดควบคุมที่มีค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของการเกิดโรคเท่ากับ 3.88 (ตารางที่ 6 ภาพที่ 23 และภาคผนวก ข ตารางที่ 2) ซึ่งให้ผลการทดลองที่สอดคล้องกับการทดสอบความต้านทานในสภาพปลอดเชื้อในการทดลองที่ 4.7.1 โดยพบว่าไอโซเลต CINv1 สามารถชักนำให้ต้นสตรอว์เบอร์รี่ต้านทานต่อการเกิดโรคได้ดีที่สุด เช่นเดียวกันกับไอโซเลต CINc1, DUC2, FRA19 และ POL2 ที่ชักนำให้ต้นสตรอว์เบอร์รี่ต้านทานต่อการเกิดโรคได้แตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าต้นสตรอว์เบอร์รี่ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ และได้รับการปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสเอนโดไฟต์สามารถต้านทานต่อการเกิดโรครากเน่าที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรค

หลังการออกปลูกในสภาพโรงเรือนได้ สอดคล้องกับรายงานของ Meguro *et al.* (2004) ได้ทดสอบความต้านทานโรครากเน่าในสภาพโรงเรือนโดยนำต้น mountain laurel ที่ได้รับการปลูกเชื้อ *Streptomyces padanus* AOK-30 ออกปลูก และทำการปลูกเชื้อ *Rhizoctonia* sp. สาเหตุโรครากเน่า พบว่าต้น mountain laurel ที่ได้รับการปลูกเชื้อ *Streptomyces padanus* AOK-30 แสดงระดับความรุนแรงของการเกิดโรครากเน่าน้อยกว่า ต้นที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อในชุดควบคุม แสดงให้เห็นว่าต้น mountain laurel ที่ได้รับการปลูก *Streptomyces padanus* AOK-30 สามารถต้านทานการเกิดโรครากเน่าได้ เช่นเดียวกับ EL-Tarabily *et al.* (2009) รายงานว่าต้นแตงกวาที่ได้รับการปลูกเชื้อ แอคติโนไมซีสดีเอ็นโคไฟต์ *Actinoplanes campanulatus* เมื่อปลูกเชื้อรา *Pythium aphanidermatum* สาเหตุโรครากเน่า ในสภาพโรงเรือน พบว่าต้นแตงกวาสามารถต้านทานการเกิดโรครากเน่าได้โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคน้อยกว่าชุดควบคุมที่ได้รับการปลูกเชื้อราสาเหตุเพียงอย่างเดียว

ตารางที่ 6 ระดับความรุนแรงของการเกิดโรคในต้นสตรอว์เบอร์รีที่ได้รับการปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ไอโซเลตต่าง ๆ ในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 30 วัน แล้วออกปลูกในโรงเรือนและปลูกเชื้อรา *Phytophthora cactorum* เป็นเวลา 14 วัน

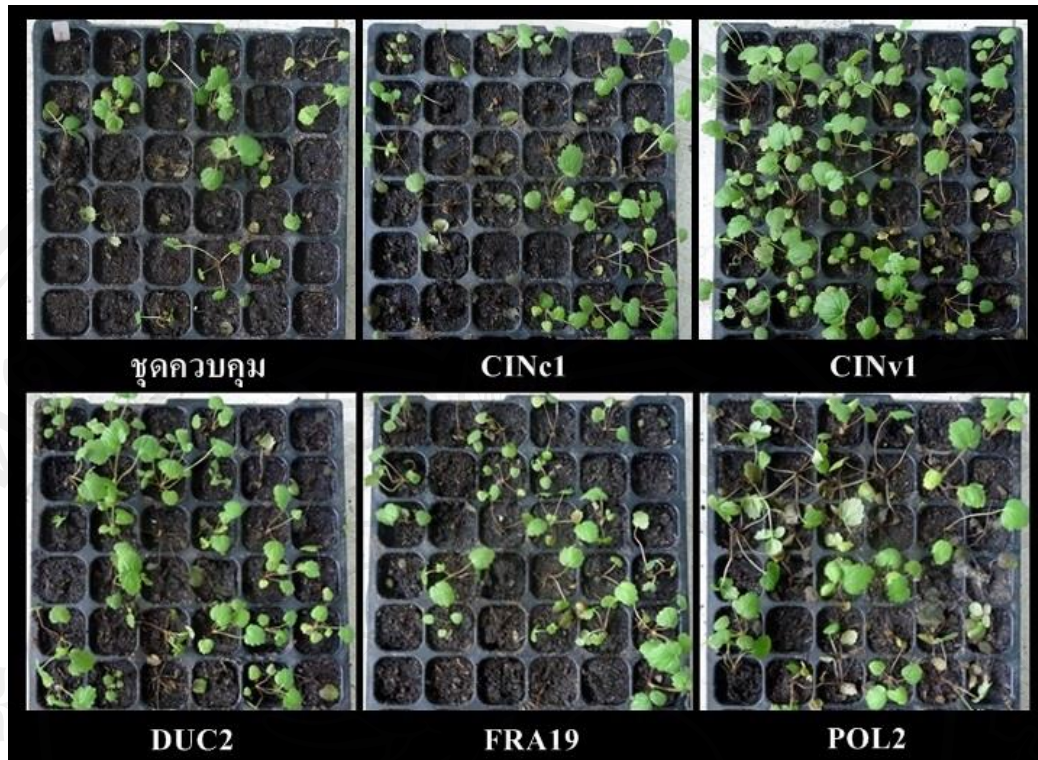
ไอโซเลต	เปอร์เซ็นต์ของต้นสตรอว์เบอร์รีที่เกิดโรค ในระดับความรุนแรงต่าง ๆ ²					ค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของการเกิดโรค ³
	0	1	2	3	4	
ชุดควบคุม ¹	0	0	2.5	7.5	90.0	3.88 ^{c 4}
CINc1	0	12.5	17.5	47.5	22.5	2.80 ^{bc}
CINv1	10.0	47.5	15.0	10.0	17.5	1.78 ^a
DUC2	2.5	35.0	17.5	5.0	40.0	2.45 ^b
FRA19	0	7.5	32.5	15.0	45.0	2.98 ^c
POL2	0	7.5	7.5	17.5	67.5	3.45 ^d
LSD _{0.05}						0.39
%CV						9.12

¹ไม่ปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์

²จากจำนวนต้นสตรอว์เบอร์รีไอโซเลตละ 20 ต้น

³ค่าเฉลี่ยจากจำนวนต้นสตรอว์เบอร์รีไอโซเลตละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ต้น

⁴ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี LSD ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

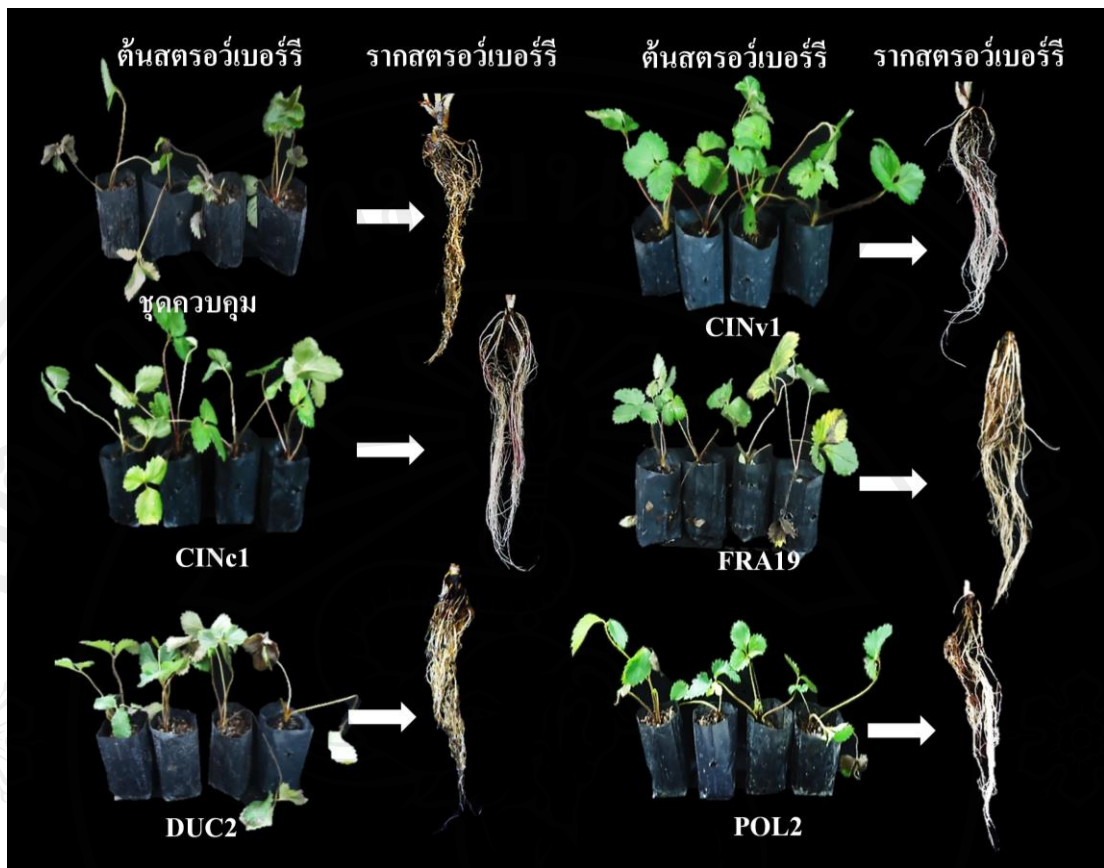


ภาพที่ 23 ลักษณะความต้านทานต่อโรครากเน่าของกล้าต้นสตรอว์เบอร์รี่ที่ได้รับการปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสเอนโดไฟต์ไอโซเลตต่าง ๆ ในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 30 วัน แล้วออกปลูกโรงเรือน และปลูกเชื้อรา *Phytophthora cactorum* เป็นเวลา 14 วัน เปรียบเทียบกับต้นสตรอว์เบอร์รี่ในชุดควบคุมที่ปลูกเฉพาะเชื้อรา *P. cactorum* เพียงอย่างเดียว

4.8 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ในการควบคุมโรครากเน่าในสภาพโรงเรือน

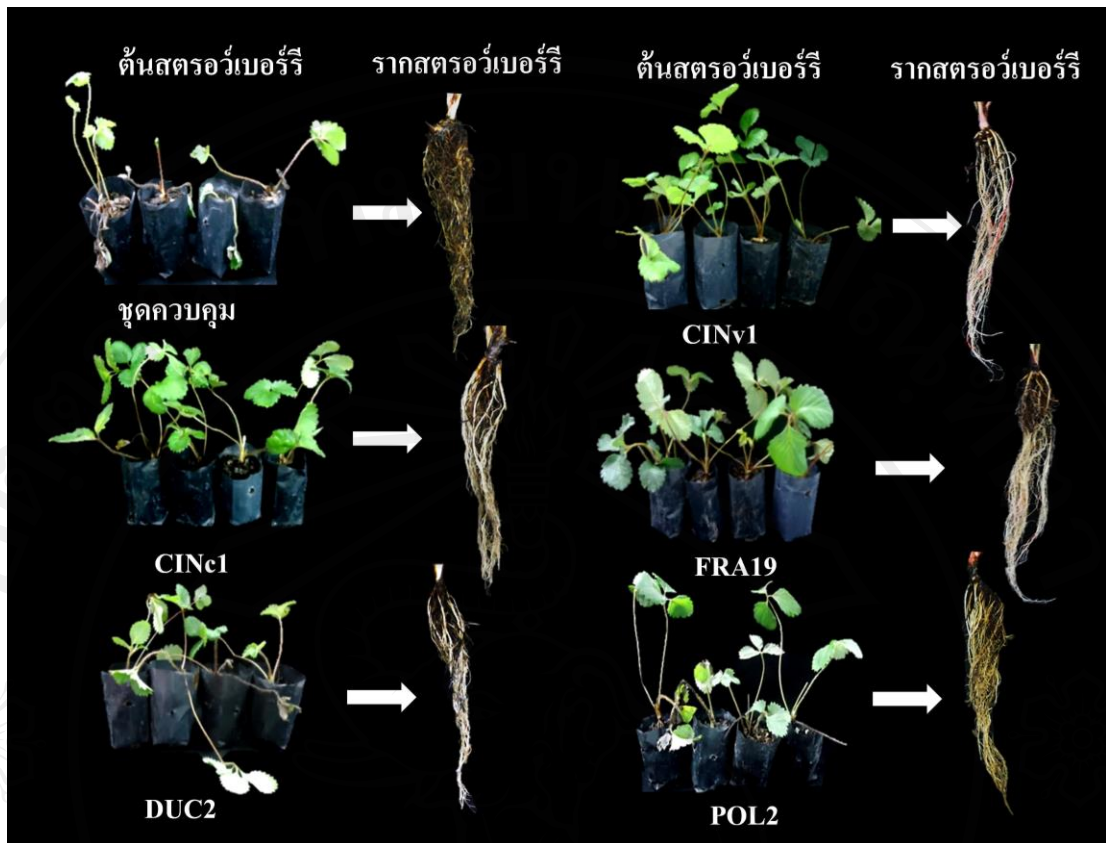
จากการนำต้นสตรอว์เบอร์รี่ที่ได้จากการขยายพันธุ์โดยใช้ไหลจากต้นแม่พันธุ์สตรอว์เบอร์รี่พันธุ์ 329 (Yael) อายุ 30 วัน มาปลูกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่คัดเลือกจำนวน 5 ไอโซเลท ได้แก่ CINC1, CINv1, DUC2, FRA19 และ POL2 โดยแบ่งเป็น 2 กรรมวิธี ได้แก่ กรรมวิธีที่ 1 พ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์บนต้นสตรอว์เบอร์รี่ และกรรมวิธีที่ 2 ราดสปอร์แขวนลอยของเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์บริเวณโคนต้นสตรอว์เบอร์รี่ โดยปลูกเชื้อแต่ละไอโซเลททุก ๆ 7 วัน จำนวน 4 ครั้ง จากนั้นจึงทำการปลูก inoculums ของเชื้อราสาเหตุที่เตรียมในเมล็ดข้าวฟ่างบริเวณโคนต้น บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน และทำการประเมินระดับความรุนแรงของการเกิดโรคจากอาการเหี่ยวของต้นสตรอว์เบอร์รี่ในแต่ละต้น ที่ระดับ 0 - 4 (ภาพที่ 9) ซึ่งจากการทดลองให้ผลดังนี้

จากการการปลูกเชื้อราสาเหตุเป็นเวลา 14 วัน ในต้นสตรอว์เบอร์รี่ที่ได้รับการปลูกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ด้วยวิธีการพ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อ พบว่าต้นสตรอว์เบอร์รี่ที่ได้รับการปลูกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ทั้ง 5 ไอโซเลท แสดงการต้านทานต่อการเกิดโรครากเน่าแตกต่างกัน โดยพบว่าต้นสตรอว์เบอร์รี่ที่ได้รับการปลูกเชื้อไอโซเลท CINv1 สามารถต้านทานต่อการเกิดโรครากเน่าได้ดีที่สุด ซึ่งมีค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของการเกิดโรคน้อยที่สุดเท่ากับ 1.31 รองลงมาได้แก่ไอโซเลท CINc1, FRA19, DUC2 และ POL2 โดยมีค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของการเกิดโรคเท่ากับ 1.50, 1.69, 1.81, 2.94 และ 2.88 ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของการเกิดโรคเท่ากับ 3.00 (ตารางที่ 7 และภาคผนวก ข ตารางที่ 4) นอกจากนี้ยังพบว่ารากของต้นสตรอว์เบอร์รี่ที่ได้รับการปลูกเชื้อทั้ง 5 ไอโซเลท แสดงอาการเน่าเพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่เกิดอาการเน่าเป็นสีน้ำตาลตลอดทั้งราก (ภาพที่ 24)



ภาพที่ 24 ลักษณะความต้านทานต่อโรครากเน่าของต้นสตรอว์เบอร์รีที่ได้รับการปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสต์ เอนโดไฟต์ไอโซเลตต่าง ๆ ด้วยวิธีพ่นเชื้อทุก ๆ 7 วัน จำนวน 4 ครั้งและปลูกเชื้อรา *Phytophthora cactorum* เป็นเวลา 14 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ปลูกเชื้อรา *P. cactorum* เพียงอย่างเดียว

จากการการปลูกเชื้อราสาเหตุเป็นเวลา 14 วัน ในต้นสตรอว์เบอร์รีที่ได้รับแอคติโนไมซีสต์ เอนโดไฟต์โดยวิธีการราดสปอร์แขวนลอยของเชื้อ พบว่าต้นสตรอว์เบอร์รีที่ได้รับการปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ ทั้ง 5 ไอโซเลต แสดงการต้านทานต่อการเกิดโรครากเน่าแตกต่างกัน โดยพบว่าต้นสตรอว์เบอร์รีที่ได้รับการปลูกเชื้อไอโซเลต CINv1 สามารถต้านทานต่อการเกิดโรครากเน่าได้ดีที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของการเกิดโรคน้อยที่สุดเท่ากับ 1.75 รองลงมา ได้แก่ ไอโซเลต CINc1, DUC2, FRA19, และ POL2 โดยมีค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของการเกิดโรคเท่ากับ 1.81, 2.19, 2.31, และ 2.56 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุมที่มีค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของการเกิดโรคเท่ากับ 3.06 (ตารางที่ 7 และภาคผนวก ข ตารางที่ 4) นอกจากนี้ยังพบว่ารากของต้นสตรอว์เบอร์รีที่ได้รับการปลูกเชื้อทั้ง 5 ไอโซเลต แสดงอาการเน่าเพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่เกิดอาการเน่าเป็นสีน้ำตาลตลอดทั้งราก (ภาพที่ 25)



ภาพที่ 25 ลักษณะความต้านทานต่อโรครากเน่าของต้นสตรอว์เบอร์รีที่ได้รับการปลูกเชื้อแอคติโนมัยซิสต์ เอนโดไฟต์ไอโซเลตต่าง ๆ ด้วยวิธีรากเชื้อทุก ๆ 7 วัน จำนวน 4 ครั้งและปลูกเชื้อรา *Phytophthora cactorum* เป็นเวลา 14 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ปลูกเชื้อรา *P. cactorum* เพียงอย่างเดียว

ตารางที่ 7 ระดับความรุนแรงของการเกิดโรคในต้นสตรอว์เบอร์รี่ที่ได้รับการปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ไอโซเลตต่าง ๆ ด้วยวิธีพ่น และราดเชื้อ และหลังจากปลูกเชื้อรา *Phytophthora cactorum* เป็นเวลา 14 วัน ในสภาพโรงเรือน

ไอโซเลต	ค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของการเกิดโรค ²	
	พ่นเชื้อ	ราดเชื้อ
ชุดควบคุม ¹	3.00 ^{a,3}	3.06 ^a
CINc1	1.50 ^e	1.81 ^{cdef}
CINv1	1.31 ^f	1.75 ^{def}
DUC2	1.81 ^{cdef}	2.19 ^{bcde}
FRA19	1.69 ^{ab}	2.31 ^{abcd}
POL2	2.94 ^{ab}	2.56 ^{abc}
LSD _{0.05}	0.38	
%CV	25.08	

¹ไม่ปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์

²ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ต้น

³ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกันในทั้งแนวดิ่ง และแนวนอน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบโดยวิธี LSD ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าต้นสตรอว์เบอร์รี่ที่ได้รับการปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์สามารถต้านทานการเกิดโรครากเน่าได้ ส่งผลให้สามารถควบคุมการเกิดโรครากเน่าในต้นสตรอว์เบอร์รี่ได้เช่นกัน โดยเฉพาะต้นสตรอว์เบอร์รี่ที่ได้รับการปลูกเชื้อไอโซเลต CINv1 สามารถต้านทานต่อการเกิดโรครากเน่าได้ดีที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยระดับความรุนแรงของการเกิดโรคน้อยที่สุดทั้งในกรรมวิธีพ่นเชื้อ และราดเชื้อ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1.31 และ 1.75 ตามลำดับ แตกต่างจากชุดควบคุมได้รับการปลูกเชื้อราสาเหตุเพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และจากการเปรียบเทียบกรรมวิธีการพ่นและราดเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์เพื่อควบคุมการเกิดโรครากเน่า พบว่าทั้ง 2 กรรมวิธีมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สอดคล้องกับจักรสุดาใจเฟือกแก้ว (2551) พบว่าต้นผักกาดขาวปลีที่ได้รับการปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ไอโซเลต SC2 และ SC16 ด้วยวิธีการหยดสปอร์แขวนลอย และการพ่นสปอร์แขวนลอย สามารถควบคุมการเกิดโรครากเน่าคอดินของผักกาดขาวปลี สาเหตุจากเชื้อ *Pythium aphanidermatum*, *Rhizoctonia solani* และ *Sclerothium rofsii* ได้ และจากงานวิจัยของ EL-tarabilly *et al.* (2009) พบว่าเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ *Actinoplanes campamulatus*, *Micromonospora chalybeata* และ *Streptomyces spiralis* ที่ถูกปลูกเชื้อ

บนต้นแดงกว่า สามารถควบคุมการเกิดโรครากเน่าคอดินที่เกิดเข้าทำลายของเชื้อ *P. aphanidermatum* ในสภาพโรงเรือนได้ และให้ผลการควบคุมไม่แตกต่างจากการใช้สารเคมี metaleyl ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรค

4.9 การศึกษาการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นสตรอว์เบอร์รี หลังการปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ในสภาพปลอดเชื้อ

จากการนำต้นสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ 329 (Yael) ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ และได้รับการปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่คัดเลือกได้จำนวน 5 ไอโซเลทได้แก่ CINc1, CINv1, DUC2, FRA19 และ POL2 เป็นเวลา 30 วัน มาวัดน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความสูงต้น ความยาวราก จำนวนใบ และจำนวนรากของต้นสตรอว์เบอร์รี พบว่าต้นสตรอว์เบอร์รีที่ได้รับการปลูกเชื้อไอโซเลท POL2 และต้นสตรอว์เบอร์รีในชุดควบคุม 2 ที่หยดเฉพาะอาหารเลี้ยงเชื้อ IMB-2 ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นสตรอว์เบอร์รีได้ดีที่สุดไม่แตกต่างกัน โดยให้น้ำหนักสดเท่ากับ 225.42 และ 217.46 มิลลิกรัม ตามลำดับ และน้ำหนักแห้งเท่ากับ 27.09 และ 29.26 มิลลิกรัม ตามลำดับ นอกจากนี้ยังช่วยส่งเสริมให้ต้นสตรอว์เบอร์รีมีความสูงมากที่สุดเท่ากับ 4.60 และ 4.55 เซนติเมตร ตามลำดับ แตกต่างจากต้นสตรอว์เบอร์รีในชุดควบคุม 1 ที่ได้รับการหยดน้ำกลั่นฆ่าเชื้อเพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 8 และภาคผนวก ข ตารางที่ 5) ส่วนต้นสตรอว์เบอร์รีที่ได้รับการปลูกเชื้อไอโซเลท CINc1, CINv1, DUC2 และ FRA19 นั้น พบว่าการเจริญในด้านต่าง ๆ ไม่มีความแตกต่างกัน และไม่แตกต่างจากชุดควบคุม 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 8 การส่งเสริมการเจริญของต้นสตรอว์เบอร์รี่ที่ได้รับการปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์
ไอโซเลตต่าง ๆ ในสภาพปลอดเชื้อ เป็นเวลา 30 วัน

กรรมวิธี	น้ำหนักสด (มิลลิกรัม) ¹	น้ำหนักแห้ง (มิลลิกรัม) ¹	จำนวน ใบ ¹	จำนวน ราก ¹	ความสูง ต้น (ซม.) ¹	ความยาว ราก (ซม.) ¹
ชุดควบคุม 1	149.05 ^{bc 2}	18.87 ^{bc}	7.45 ^a	5.85 ^b	3.70 ^c	5.10 ^b
ชุดควบคุม 2	217.46 ^a	29.26 ^a	7.40 ^a	6.25 ^a	4.55 ^a	5.35 ^{ab}
CINc1	137.46 ^c	16.05 ^c	7.15 ^a	5.40 ^{bc}	3.63 ^c	5.13 ^{ab}
CINv1	160.45 ^{bc}	19.93 ^{bc}	7.55 ^a	5.95 ^a	4.10 ^b	5.40 ^{ab}
DUC2	139.42 ^c	19.47 ^{bc}	7.40 ^a	5.15 ^{bc}	3.89 ^{bc}	5.10 ^{bc}
FRA19	178.63 ^b	21.65 ^b	7.60 ^a	5.75 ^{ab}	3.90 ^{bc}	5.18 ^{ab}
POL2	225.42 ^a	27.09 ^a	7.30 ^a	5.70 ^{ab}	4.60 ^a	5.43 ^a
LSD0.05	0.02	2.02	0.36	0.37	0.21	0.15
%CV	38.41	36.50	15.22	20.64	16.59	9.16

ชุดควบคุม 1: หยอดเฉพาะน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ

ชุดควบคุม 2: หยอดเฉพาะอาหารเลี้ยงเชื้อ IMB-2

¹ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ต้น

²ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันใน column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างนัยสำคัญทางสถิติ
เปรียบเทียบโดยวิธี LSD ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

จากผลการทดลองพบว่าต้นสตรอว์เบอร์รี่ที่ได้รับการปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์
ไอโซเลต POL2 ช่วยส่งเสริมการเจริญของต้นสตรอว์เบอร์รี่ได้ดีที่สุดทั้งในด้านน้ำหนักสด น้ำหนัก
แห้ง และความสูงของต้น ซึ่งเชื่ออาจมีการสร้างสารที่ช่วยในการเจริญของต้นพืชได้ เช่น ฮอร์โมน
ต่าง ๆ ที่มีส่วนช่วยในการเจริญของพืชสอดคล้องกับ EL-tarabily *et al.* (2009) พบว่าเชื้อ
แอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ *Actinoplanes campanulatus* สามารถผลิตฮอร์โมน IAA, IPYA และ GA₃
และเชื้อ *Micromonospora chalybeata* สามารถผลิตฮอร์โมน IAA ได้ เมื่อทำการปลูกเชื้อลงในต้นแตงกวา
พบว่าช่วยส่งเสริมการเจริญของต้นแตงกวาได้มากกว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อ
แอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ เช่นเดียวกับ Cao *et al.* (2004) พบว่า *Streptomyces* sp. ไอโซเลต S30
สามารถเพิ่มน้ำหนักสดของต้นมะเขือเทศได้มากกว่าชุดควบคุมเท่ากับ 26.12 เปอร์เซ็นต์ และในปี 2005
พบว่า *Streptomyces* sp. ไอโซเลต S96 สามารถลดความรุนแรงของโรค และยังสามารถเพิ่มน้ำหนักสดของ
หน่อกล้วยได้อีกด้วย สำหรับกรณีของต้นสตรอว์เบอร์รี่ในชุดควบคุม 2 ที่ได้รับการหยอดเฉพาะอาหาร

เลี้ยงเชื้อ IMB-2 ซึ่งช่วยส่งเสริมการเจริญของต้นสตรอว์เบอร์รีได้ไม่แตกต่างกับต้นสตรอว์เบอร์รีที่ได้รับการปลูกเชื้อไอโซเลท POL2 นั้น อาจเป็นเพราะต้นสตรอว์เบอร์รีในชุดควบคุม 2 ได้รับการสารอาหารเพิ่มเติมจากองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ IMB-2 โดยเฉพาะน้ำตาลกลูโคส ซึ่งต้นสตรอว์เบอร์รีสามารถดูดซึมไปใช้ในการเจริญได้ สอดคล้องกับรายงานของ Thapa *et al.* (2007) ที่ได้ทดสอบปริมาณของน้ำตาล glucose ในอาหาร half-MS ที่ส่งผลต่อการเจริญของต้นข้าว พบว่าอาหาร half-MS ที่เพิ่มน้ำตาล glucose ปริมาณ 0.25 เปอร์เซ็นต์ช่วยส่งเสริมการเจริญของต้นข้าว ด้านความสูงของต้น และความยาวรากได้ มากกว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้ใส่น้ำตาล นอกจากนี้ยังอาจรวมถึง yeast extract ที่ผสมอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งในสมัยก่อนใช้เป็นแหล่งของวิตามินโดยเฉพาะวิตามิน B1 ซึ่งช่วยในการเจริญของพืชได้เช่นกัน (George *et al.*, 2008) ดังนั้นจึงทำให้ต้นสตรอว์เบอร์รีในชุดควบคุม 2 เจริญเติบโตได้ดีกว่าต้นสตรอว์เบอร์รีที่ได้รับการปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ ไอโซเลทอื่น ๆ ซึ่งเชื้ออาจนำสารอาหารในอาหารเลี้ยงเชื้อ IMB-2 ไปใช้ในการเจริญจนหมดไปก่อนที่จะได้นำไปใช้ได้

4.10 การตรวจสอบความคงอยู่ของเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ในต้นสตรอว์เบอร์รีหลังการออกปลูกในสภาพโรงเรือน

จากการนำต้นสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ 329 (Yael) ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ และได้รับการปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่คัดเลือกได้จำนวน 5 ไอโซเลท เป็นเวลา 21 วัน และออกปลูกในโรงเรือนมาแยกกลับ พบว่าสามารถแยกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ทั้ง 5 ไอโซเลทจากชิ้นส่วนต่าง ๆ ของสตรอว์เบอร์รีได้ โดยพบว่าหลังจากออกปลูกเป็นเวลา 7 วัน สามารถแยกเชื้อแต่ละไอโซเลทจากต้นสตรอว์เบอร์รีได้ในปริมาณมากที่สุด โดยไอโซเลท DUC2 สามารถแยกเชื้อกลับจากชิ้นพืชได้มากที่สุด ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การแยกเชื้อกลับเท่ากับ 63 รองลงมาคือไอโซเลท POL2, FRA19, CINc1 และ CINv1 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การแยกเชื้อกลับเท่ากับ 57, 53, 37 และ 27 ตามลำดับ (ตารางที่ 9) สำหรับการแยกเชื้อกลับจากต้นสตรอว์เบอร์รีหลังจากออกปลูกเป็นเวลา 7, 14, 21 และ 28 วัน พบว่าเชื้อแต่ละไอโซเลทที่แยกได้มีปริมาณลดลงซึ่งแปรผันตามระยะเวลาในการออกปลูกที่นานขึ้น (ภาพที่ 26) โดยเชื้อไอโซเลท CINc1 และ CINv1 สามารถแยกกลับได้จากต้นสตรอว์เบอร์รีหลังจากออกปลูกเป็นเวลา 7, 14 และ 21 วัน ในขณะที่เชื้อไอโซเลท DUC2, FRA19 และ POL2 สามารถแยกเชื้อกลับได้หลังจากออกปลูกเป็นเวลา 7, 14, 21 และ 28 วัน ซึ่งจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ทั้ง 5 ไอโซเลท สามารถเข้าอาศัยในเนื้อเยื่อของต้นสตรอว์เบอร์รี และยังคงอยู่ภายในเนื้อเยื่อของต้นสตรอว์เบอร์รีหลังออกปลูกในสภาพโรงเรือนได้ โดยเฉพาะเชื้อไอโซเลท DUC2, FRA19 และ POL2 ซึ่งสามารถเข้าอาศัยอยู่ภายในต้นสตรอว์เบอร์รีได้นานถึง

28 วันหลังจากการออกปลูกในสภาพโรงเรือน สอดคล้องกับรายงานของ Meguro *et al.* (2006) พบว่าสามารถแยกเชื้อ *Streptomyces* sp. MBR-52 จากต้น *Rhododendron* ที่ได้รับการปลูกเชื้อดังกล่าวในสภาพปลอดเชื้อ และออกปลูกในโรงเรือนเป็นเวลา 21 วันได้ เช่นเดียวกับ EL-tarabily *et al.* (2010) พบว่าหลังจากปลูกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโคไฟต์ในต้นแตงกวาเป็นเวลา 8 สัปดาห์ในสภาพโรงเรือน และทำการแยกเชื้อกลับ พบว่าเชื้อสามารถแยกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโคไฟต์จากส่วน ใบ ลำต้น และรากของต้นแตงกวาได้ แสดงให้เห็นว่าเชื้อสามารถเข้าอาศัย และสามารถคงอยู่ได้ภายในต้นพืชหลังจากการปลูกเชื้อนานถึง 8 สัปดาห์

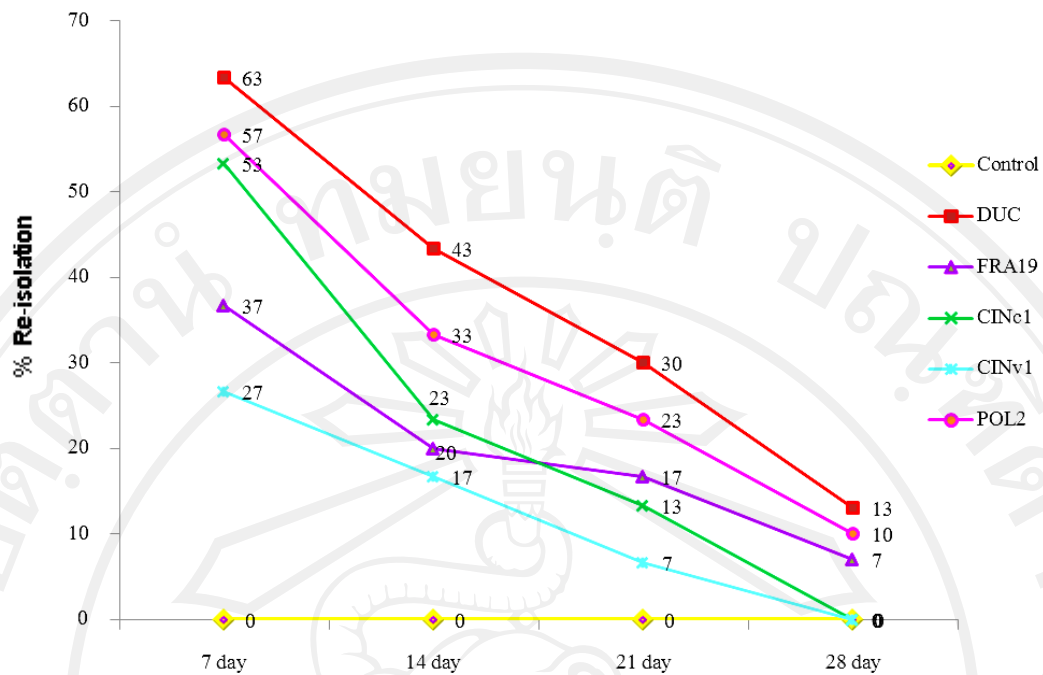
ตารางที่ 9 เปอร์เซ็นต์การแยกเชื้อกลับจากส่วนต่าง ๆ ของต้นสตรอว์เบอร์รีที่ได้รับการปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโคไฟต์ไอโซเลทต่าง ๆ หลังจากออกปลูกในสภาพโรงเรือนเป็นเวลา 7, 14, 21 และ 28 วัน

ไอโซเลท	จำนวนชิ้นพืชที่แยกเชื้อได้ ¹ หลังจากออกปลูกเป็นเวลา 7 วัน			RE (%) 7 วัน	จำนวนชิ้นพืชที่แยกเชื้อได้ ¹ หลังจากออกปลูกเป็นเวลาเป็นเวลา 14 วัน			RE (%) 14 วัน	จำนวนชิ้นพืชที่แยกเชื้อได้ ¹ หลังจากออกปลูกเป็นเวลาเป็นเวลา 21 วัน			RE (%) 21 วัน	จำนวนชิ้นพืชที่แยกเชื้อได้ ¹ หลังจากออกปลูกเป็นเวลาเวลา 28 วัน			RE (%) 28 วัน
	ใบ ²	ก้าน ²	ราก ²		ใบ ²	ก้าน ²	ราก ²		ใบ ²	ก้าน ²	ราก ²		ใบ ²	ก้าน ²	ราก ²	
ชุดควบคุม	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CINc1	7	6	3	53	3	3	1	23	3	1	0	13	0	0	0	0
CINv1	5	2	1	27	2	1	2	17	1	1	0	7	0	0	0	0
DUC	8	6	5	63	7	3	3	43	5	2	2	30	3	1	0	13
FRA19	5	3	3	37	3	2	1	20	2	1	2	17	1	1	0	7
POL2	7	6	4	57	4	4	2	33	3	2	2	23	2	1	0	10

¹จำนวนชิ้นพืชทั้งหมด 30 ชิ้นต่อไอโซเลท

²จำนวนชิ้นพืช 10 ชิ้น ในแต่ละส่วนของต้นสตรอว์เบอร์รี

RE (%) Re-isolation) : เปอร์เซ็นต์ของจำนวนชิ้นพืชที่แยกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโคไฟต์ได้จากพืช ในแต่ละไอโซเลท



ภาพที่ 26 เปอร์เซ็นต์การแยกเชื้อกลับจากต้นสตรอว์เบอร์รี่ที่ได้รับการปลูกเชื้อแบคทีเรียไมชีสต์
เอนโดไฟต์ไอโซเลตต่าง ๆ หลังจากออกปลูกในสภาพโรงเรือนเป็นเวลา 7, 14, 21 และ
28 วัน