

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ

ก

บทคัดย่อภาษาไทย

ง

ABSTRACT

น

สารบัญตาราง

ด

สารบัญภาพ

จ

บทที่ 1 บทนำ

1

1.1 ประวัติความเป็นมา

1

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

2

บทที่ 2 ตรวจสอบเอกสาร

3

2.1 สตรอว์เบอร์รี

3

2.2 ประโยชน์ของสตรอว์เบอร์รี

4

2.3 การผลิตต้นสตรอว์เบอร์รี โดยใช้วิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

4

2.4 ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

5

2.5 โรคราเน่าสตรอว์เบอร์รี

6

2.6 การจัดลำดับขั้นของเชื้อรา *Phytophthora* sp.

8

2.7 การป้องกันกำจัดโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* sp.

10

2.8 การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี

12

2.9 เชื้อแอคติโนไมซีตส์

14

2.10 การใช้ประโยชน์จากเชื้อแอคติโนไมซีตส์เอนโดไฟต์ในการควบคุมโรคพืช

17

บทที่ 3 อุปกรณ์ และวิธีการ

21

3.1 การแยกเชื้อสาเหตุโรคราเน่า

21

3.2 การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค

21

3.3	การแยกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์	22
3.4	การคัดเลือกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรครากเน่า	23
3.5	การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์	25
3.6	การตรวจสอบความสามารถในการเข้าอาศัยของเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ในต้นสตรอว์เบอร์รี่ในสภาพปลอดเชื้อ	25
3.7	การชักนำความต้านทานโรครากเน่าในต้นสตรอว์เบอร์รี่	27
3.8	การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ในการควบคุมโรครากเน่าในสภาพโรงเรือน	30
3.9	การศึกษากการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นสตรอว์เบอร์รี่หลังการปลูกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ในสภาพปลอดเชื้อ	32
3.10	การตรวจสอบความคงอยู่ของเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ในต้นสตรอว์เบอร์รี่หลังการออกปลูกในสภาพโรงเรือน	33
บทที่ 4	ผลการทดลองและวิจารณ์	34
4.1	การแยกเชื้อสาเหตุโรครากเน่า	34
4.2	การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค	35
4.3	การแยกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์	36
4.4	การคัดเลือกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรครากเน่า	39
4.5	การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์	44
4.6	การตรวจสอบความสามารถในการเข้าอาศัยของเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ในต้นสตรอว์เบอร์รี่ในสภาพปลอดเชื้อ	47
4.7	การชักนำความต้านทานโรครากเน่าในต้นสตรอว์เบอร์รี่	50
4.8	การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ในการควบคุมโรครากเน่าในสภาพโรงเรือน	56
4.9	การศึกษากการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นสตรอว์เบอร์รี่หลังการปลูกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ในสภาพปลอดเชื้อ	60

4.10 การตรวจสอบความคงอยู่ของเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ใน
ต้นสตรอว์เบอร์รี่หลังการออกปลูกในสภาพโรงเรือน

62

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง

66

เอกสารอ้างอิง

69

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

76

ภาคผนวก ข

79

ประวัติผู้เขียน

82

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ชื่อไอโซเลทของเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่แยกได้จากพืชวงศ์หาลาบ และสมุนไพรร	23
ตารางที่ 2 จำนวนไอโซเลทของเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ที่แยกได้จากพืชวงศ์หาลาบ และพืชสมุนไพรร บนอาหารเลี้ยงเชื้อ IMA-2 หลังจากบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน	38
ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพของเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ไอโซเลทต่าง ๆ ในการยับยั้งเชื้อรา <i>Phytophthora cactorum</i>	40
ตารางที่ 4 เปอร์เซนต์การแยกเชื้อกลับจากส่วนต่าง ๆ ของต้นสตรอว์เบอร์รี่ที่ได้รับการปลูกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ไอโซเลทต่าง ๆ ในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 21 วัน หลังนำเชื้อที่ผิวและวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ IMA-2 เป็นเวลา 7 วัน	48
ตารางที่ 5 ระดับความรุนแรงของการเกิดโรครากเน่าในต้นสตรอว์เบอร์รี่ที่ได้รับการปลูกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ไอโซเลทต่าง ๆ ในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 30 วัน และหลังจากปลูกเชื้อรา <i>Phytophthora cactorum</i> เป็นเวลา 14 วัน	51
ตารางที่ 6 ระดับความรุนแรงของการเกิดโรคในต้นสตรอว์เบอร์รี่ที่ได้รับการปลูกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ไอโซเลทต่าง ๆ ในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 30 วันและออกปลูกในโรงเรือน และปลูกเชื้อรา <i>Phytophthora cactorum</i> เป็นเวลา 14 วัน	54

สารบัญตาราง (ต่อ)

		หน้า
ตารางที่ 7	ระดับความรุนแรงของการเกิดโรคในต้นสตรอว์เบอร์รี ที่ได้รับการปลูกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ไอโซเลตต่าง ๆ โดยวิธีพ่นเชื้อ และราดเชื้อ และหลังจากปลูกเชื้อรา <i>Phytophthora cactorum</i> เป็นเวลา 15 วัน ในสภาพโรงเรือน	59
ตารางที่ 8	การส่งเสริมการเจริญของต้นสตรอว์เบอร์รี ที่ได้รับการปลูกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ในไอโซเลตต่าง ๆ ในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 30 วัน	61
ตารางที่ 9	เปอร์เซ็นต์การแยกเชื้อกลับจากส่วนต่าง ๆ ของต้นสตรอว์เบอร์รี ที่ได้รับการปลูกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ไอโซเลตต่าง ๆ หลังจากออกปลูกในสภาพโรงเรือนเป็นเวลา 7, 14, 21 และ 28 วัน	64

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1	ลักษณะของรากสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์ 329 ที่ถูกเข้าทำลายโดยเชื้อรา <i>Phytophthora fragariae</i> และ <i>Phytophthora cactorum</i>
ภาพที่ 2	วงจรชีวิตของเชื้อ <i>Phytophthora</i> sp.
ภาพที่ 3	ลักษณะการสร้างเส้นใยของ <i>Streptomyces</i> sp. มีการสร้าง arthospore ที่มี hydrophobic หุ้ม ลักษณะสปอร์ต่อกันเป็นสายโซ่
ภาพที่ 4	การฉีดเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ลงผิวหน้าบนอาหารเลี้ยงเชื้อ IMA-2 วางแผ่นกรองเซลลูโลส (cellulose membrane filters)
ภาพที่ 5	การทดสอบประสิทธิภาพของแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ในการยับยั้งเชื้อสาเหตุของโรคโดยวิธี dual culture
ภาพที่ 6	การเตรียม slide culture ของเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์เพื่อศึกษา ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ IMA-2
ภาพที่ 7	ระดับความรุนแรงโรครากเน่าของต้นสตรอว์เบอร์รี่พันธุ์ 329 ที่ได้รับการปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์เป็นเวลา 30 วัน หลังจากปลูกเชื้อรา <i>Phytophthora cactorum</i> เป็นเวลา 14 วัน ในสภาพปลอดเชื้อ
ภาพที่ 8	ระดับความรุนแรงโรครากเน่าของต้นสตรอว์เบอร์รี่ที่ได้รับปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 30 วันและออกปลูกในโรงเรือน และปลูกเชื้อรา <i>Phytophthora cactorum</i> เป็นเวลา 14 วัน

สารบัญภาพ (ต่อ)

		หน้า
ภาพที่ 9	ระดับความรุนแรงของโรคในต้นสตรอว์เบอร์รี ที่ได้รับการปลูกเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโคไฟต์ทุก ๆ 7 วัน จำนวน 4 ครั้ง หลังจากปลูกเชื้อรา <i>Phytophthora cactorum</i> เป็นเวลา 14 วันในสภาพโรงเรือน	32
ภาพที่ 10	ลักษณะการเจริญและการสร้างส่วนขยายพันธุ์ของเชื้อรา <i>Phytophthora cactorum</i> สาเหตุโรครากเน่าของสตรอว์เบอร์รี	35
ภาพที่ 11	อาการโรครากเน่าของต้นสตรอว์เบอร์รีอายุ 30 วัน หลังจากปลูกเชื้อรา <i>Phytophthora cactorum</i> เป็นเวลา 14 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ	36
ภาพที่ 12	ลักษณะโคโลนีของเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโคไฟต์ที่เจริญออกมาจากใบและก้านใบของสตรอเบอร์รีและอบเชยบนอาหารเลี้ยงเชื้อ IMA-2 หลังจากบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน	37
ภาพที่ 13	ลักษณะการยับยั้งการเจริญเชื้อรา <i>Phytophthora cactorum</i> โดยการเลี้ยงร่วมกับเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโคไฟต์ไอโซเลตที่คัดเลือกได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP-2 ด้วยวิธี dual culture เป็นเวลา 7 วัน	43
ภาพที่ 14	ลักษณะเส้นใยของเชื้อรา <i>Phytophthora cactorum</i> ที่ถูกยับยั้งโดยเชื้อแอกติโนไมซีสต์เอนโคไฟต์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP-2 ด้วยวิธี dual culture เป็นเวลา 7 วันภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า	43
ภาพที่ 15	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ CINc1 ลักษณะด้านหน้า และด้านหลังของโคโลนีที่เจริญบนอาหาร IMA-2 วัน และการเรียงตัวสปอร์ที่เรียงตัวแบบ spira type ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า	44
ภาพที่ 16	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ CINv1 ลักษณะด้านหน้า และด้านหลังของโคโลนีที่เจริญบนอาหาร IMA-2 วัน และการเรียงตัวสปอร์แบบ spira type ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า	45

สารบัญภาพ (ต่อ)

		หน้า
ภาพที่ 17	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ DUC2 ลักษณะด้านหน้า และด้านหลังของโคโลนีที่เจริญบนอาหาร IMA-2 วัน และการเรียงตัวของสปอร์แบบ spira type ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า	45
ภาพที่ 19	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ POL2 ลักษณะด้านหน้า และด้านหลังของโคโลนีที่เจริญบนอาหาร IMA-2 วัน และการเรียงตัวของสปอร์แบบ rectiflexibiles type ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า	46
ภาพที่ 20	ลักษณะของเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ไอโซเลตต่าง ๆ ที่เจริญออกมาจากชิ้นพืชบนอาหารเลี้ยงเชื้อ IMA-2 จากการแยกเชื้อกลับจากต้นสตรอว์เบอร์รี่ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ และได้รับการปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์เป็นเวลา 21 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์	49
ภาพที่ 21	เปอร์เซ็นต์การแยกเชื้อกลับจากส่วนต่าง ๆ ของต้นสตรอว์เบอร์รี่ที่ได้รับการปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสต์เอนโดไฟต์ไอโซเลตต่าง ๆ ในสภาพปลอดเชื้อ เป็นเวลา 7, 14 และ 21 วัน	50
ภาพที่ 22	ลักษณะความต้านทานต่อโรครากเน่าของกล้าต้นสตรอว์เบอร์รี่ที่ได้รับการปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสเอนโดไฟต์ไอโซเลตต่าง ๆ ในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 30 วัน และหลังจาก <i>P. cactorum</i> เป็นเวลา 14 วัน เปรียบเทียบกับต้นสตรอว์เบอร์รี่ในชุดควบคุมที่ปลูกเฉพาะเชื้อรา <i>P. cactorum</i> เพียงอย่างเดียว	52
ภาพที่ 23	ลักษณะความต้านทานต่อโรครากเน่าของกล้าต้นสตรอว์เบอร์รี่ที่ได้รับการปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสเอนโดไฟต์ไอโซเลตต่าง ๆ ในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 30 วัน และออกปลูกในโรงเรือนและปลูกหลังจากเชื้อรา <i>P. cactorum</i> เป็นเวลา 14 วัน เปรียบเทียบกับต้นสตรอว์เบอร์รี่ในชุดควบคุมที่ปลูกเฉพาะเชื้อรา <i>P. cactorum</i> เพียงอย่างเดียว	55

สารบัญภาพ (ต่อ)

	หน้า
ภาพที่ 24	57
ลักษณะความต้านทานต่อโรครากเน่าของต้นสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ 329 ที่ได้รับการปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสเอนโดไฟต์ไอโซเลตต่าง ๆ โดยวิธีพ่นเชื้อทุก ๆ 7 วัน จำนวน 4 ครั้ง และปลูกเชื้อรา <i>Phytophthora cactorum</i> บ่มเชื้อเป็นเวลา 14 วัน เปรียบเทียบกับต้นสตรอว์เบอร์รีในชุดควบคุม	
ภาพที่ 25	58
ลักษณะความต้านทานต่อโรครากเน่าของต้นสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ 329 ที่ได้รับการปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสเอนโดไฟต์ไอโซเลตต่าง ๆ โดยวิธีราดเชื้อ ทุก ๆ 7 วัน จำนวน 4 ครั้ง และปลูกเชื้อรา <i>Phytophthora cactorum</i> บ่มเชื้อเป็นเวลา 14 วัน เปรียบเทียบกับต้นสตรอว์เบอร์รีในชุดควบคุม	
ภาพที่ 26	65
เปอร์เซ็นต์การแยกเชื้อกลับจากส่วนต่าง ๆ ของต้นสตรอว์เบอร์รีพันธุ์ 329 ที่ได้รับการปลูกเชื้อแอคติโนไมซีสเอนโดไฟต์ไอโซเลตต่าง ๆ หลังจากออกปลูกในสภาพโรงเรือนเป็นเวลา 7, 14, 21 และ 28 วัน	