

การคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซิสเอนโดไฟต์ที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* สาเหตุโรคใบไหม้และผลเน่าของเสาวรส

Selection of endophytic actinomycetes against *Phytophthora nicotianae* causing leaf blight and fruit rot of passion fruit

ประวิทย์ ยอดปะนัน¹ และ ปิลันธนา ฐานพงษ์วรกุล^{1*}

Prawit Yodpanan¹ and Pilunthana Thapanapongworakul^{1*}

บทคัดย่อ: การคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซิสเอนโดไฟต์จากเสาวรส หม่อน อัญชัน และผักกระเฉด ที่ไม่เป็นโรคจากพื้นที่ปลูกเสาวรสนใน อ.แม่วง จ.เชียงใหม่ เพื่อนำมาควบคุมโรคใบไหม้และผลเน่าของเสาวรส สามารถแยกเชื้อแอคติโนมัยซิสเอนโดไฟต์ได้ 96 ไอโซเลท และแยกเชื้อรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรคของเสาวรสจากศูนย์พัฒนาโครงการหลวงสะโงะ อ.เชียงแสน จ.เชียงราย ได้ 6 ไอโซเลท (SN01-SN06) เมื่อทดสอบประสิทธิภาพการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อแอคติโนมัยซิสเอนโดไฟต์กับเชื้อราสาเหตุโรคด้วยวิธี dual culture พบ 4 ไอโซเลท (PE04 PE06 CT18 และ CT20) ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora* sp. SN04 ได้สูงสุด 82.22, 84.44, 90.00 และ 91.11 % ตามลำดับ จากคุณสมบัติทางชีวเคมีพบแอคติโนมัยซิสเอนโดไฟต์ ไอโซเลท CT20 สามารถสร้างเซลล์ไลโคไคตินเอส อะไมเลส และสารไฮโดรฟอบ์ได้ จึงนำไอโซเลท CT20 มาทดสอบการควบคุมโรคด้วยวิธี detached leaf และ detached fruit พบ สามารถลดความรุนแรงการเกิดโรคบนใบและผลของเสาวรสได้ เมื่อนำเชื้อรา *Phytophthora* sp. SN04 มาวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS1 และ ITS4 พบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์เหมือนกับเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* มากถึง 100 % และนำเชื้อแอคติโนมัยซิสเอนโดไฟต์ ไอโซเลท CT20 มาวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rDNA มีลำดับนิวคลีโอไทด์เหมือนกับเชื้อ *Streptomyces exfoliates* ถึง 100 %

คำสำคัญ: เชื้อแอคติโนมัยซิสเอนโดไฟต์, โรคใบไหม้และผลเน่า, *Phytophthora nicotianae*, เสาวรส

ABSTRACT: Endophytic actinomycetes from healthy tissue of passion fruit, butterfly peas, mulberry, and water mimosa were selected for control of leaf blight and fruit rot disease of passion fruit. 96 isolates of endophytic actinomycetes obtained from local fields in Mae Wang District, Chiang Mai. The *Phytophthora* sp. 6 isolates (SN01-SN06) were isolated from Sa-ngo Royal project, Chiang San district, Chiang Rai. The efficiency of endophytic actinomycetes against *Phytophthora* sp. was tested by dual culture assay. Four isolates (PE04, PE06, CT18 and CT20) showed the most effective in suppression of mycelial growth of pathogenic *Phytophthora* sp. SN04 with highest suppression rate of 82.22, 84.44, 90.00 and 91.11 % respectively, which are statistically significant ($P<0.05$). Furthermore, biochemical properties were tested, the isolate CT20 was found capable of producing cellulase, chitinase, amylase, and siderophore. Therefore, isolate CT20 was selected for testing in disease control ability by detached leaf and detached fruit techniques. The result showed the efficiency of isolate CT20 in reducing disease severity of affected leaves and fruits. *Phytophthora* sp. SN04 was analyzed in nucleotide sequence at ITS1 and ITS4 which resembled 100 % *Phytophthora nicotianae*. The isolate CT20 was identified by 16S rDNA sequencing which resembled 100 % *Streptomyces exfoliates*.
Keywords: endophytic actinomycetes, leaf blight and fruit rot, *Phytophthora nicotianae*, passion fruits

¹ ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

* Corresponding author: pilunthana.t@cmu.ac.th

บทนำ

เสาวรส (Passion fruit) เป็นพันธุ์ไม้เลื้อยอยู่ในวงศ์ Passifloraceae มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนบนพื้นที่สูงของอเมริกาใต้ มีหลายสายพันธุ์และมีเพียง 60 สายพันธุ์ที่สามารถรับประทานได้ เสาวรสที่ปลูกเป็นการค้ามี 2 สายพันธุ์ คือ เสาวรสพันธุ์สีม่วง (*Passiflora edulis* f. *edulis* Sims.) และเสาวรสพันธุ์สีเหลือง (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener) ซึ่งเป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกในไทย แหล่งปลูกที่สำคัญพบในจังหวัดเพชรบูรณ์ เชียงราย และเลย ผลผลิตรวมของเสาวรสในปี พ.ศ. 2559 ประมาณ 8,063 ตัน (กุหลาบ, 2560) โรคที่สำคัญและพบการระบาดของเสาวรส คือ โรคใบไหม้และผลเน่า ที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora cinnamomi* และ *P. nicotianae* สามารถสร้างความเสียหายอย่างรุนแรงต่อผลผลิต ระยะแรกพบส่วนเหนือดินจะมีอาการตายยอด ต่อมาใบเสาวรสเปลี่ยนเป็นสีเขียวอ่อน เหง้าเหี่ยว จากนั้นใบและผลร่วงในที่สุดพบการระบาดได้มากในช่วงฤดูฝนอุณหภูมิระหว่าง 26–30 องศาเซลเซียส การระบาดรวดเร็วจากต้นสู่ต้น (Cole et al., 1992) จากการสำรวจโรคของเสาวรสในพื้นที่ปลูกบนศูนย์พัฒนาโครงการหลวงสะโงะ อ.เชียงแสน จ.เชียงราย พบว่า โรคใบไหม้และผลเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* sp. เป็นโรคที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งที่เข้าทำลายและก่อให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตของเสาวรส

ในปัจจุบันการป้องกันกำจัดโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora* spp. มีหลายวิธีทั้งวิธีกล เขตกรรม รวมถึงการใช้สารเคมีถือว่าเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด แต่ยังไม่สามารถป้องกันกำจัดโรคได้อย่างสมบูรณ์ทำให้เกิดสารพิษตกค้างในพืช และส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้น การควบคุมโรคโดยชีววิธี (Biological control) โดยจุลินทรีย์ที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรคเป็นหนึ่งในทางเลือกของการป้องกันกำจัดโรคพืช มีนักวิจัยหลายท่านได้ศึกษาการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคใบไหม้และผลเน่า และเชื้อแอคติโนมัยซิสเอนโดไฟต์เป็นเชื้อที่มีคุณสมบัติในการสร้างสารทุติยภูมิ (Secondary metabolites) ได้หลายชนิด (Shimizu et al., 2000) รวมถึงสามารถนำมาใช้ในการป้องกันกำจัดโรคพืช

ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซิสเอนโดไฟต์ที่มีประสิทธิภาพควบคุมโรคใบไหม้และผลเน่าของเสาวรสที่เกิดจาก

เชื้อรา *Phytophthora* sp. เป็นทางเลือกหนึ่งในการลดหรือทดแทนการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดโรคพืชที่ปลอดภัยต่อเกษตรกร ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม อีกทั้งเชื้อแอคติโนมัยซิสเอนโดไฟต์ยังสามารถอาศัยอยู่ได้ทั้งในดินและพืช

วิธีการศึกษา

การแยกและจัดจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุใบไหม้และผลเน่า

นำตัวอย่างของเสาวรสที่แสดงอาการของโรคใบไหม้และผลเน่าจากแปลงเกษตรกร ณ ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงสะโงะ อ.เชียงแสน จ.เชียงราย นำมาแยกเชื้อด้วยวิธี baiting method ประยุกต์ตามวิธีของ Pettitt et al. (2002) โดยตัดชิ้นส่วนของเสาวรสที่มีอาการไหม้และฉ่ำน้ำวางในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำกลั่นฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 20 มล. แล้วตัดใบเสาวรสขนาด 1x1 ซม. นำมาลอยบนผิวน้ำ เป็นเวลา 36 ชั่วโมง จากนั้นใช้เข็มเย็บย้ายเส้นใยของเชื้อราสาเหตุที่เจริญออกมาจากใบเสาวรสที่ใส่ลงในจานอาหาร PDA เป็นเวลา 24 ชม. และทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี hyphal tip isolation บนอาหาร PDA นำเชื้อราสาเหตุบริสุทธิ์ที่แยกได้ไปทดสอบความสามารถในการเกิดโรคโดยวางชิ้นส่วนของเชื้อรา *Phytophthora* sp. ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 ซม. อายุ 10 วัน ลงบนใบเสาวรส นำไอโซเลทที่ก่อโรคมาแยกเชื้อกลับและศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น ลักษณะของเส้นใย การสร้าง zoospore ใน sporangium หรือ oogonium และ antheridium จากนั้นตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS1 และ ITS4 เพื่อจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้และผลเน่าของเสาวรสต่อไป

การแยกเชื้อแอคติโนมัยซิสเอนโดไฟต์

เก็บตัวอย่างใบและรากของเสาวรส หม่อน อัญชัน และผักกระเฉด จากบริเวณแปลงและรอบแปลงปลูกเสาวรสที่ไม่มีการระบาดของโรคในอ.แม่จาง จ.เชียงใหม่ มาแยกเชื้อแอคติโนมัยซิสเอนโดไฟต์ตามวิธีของ shimizu et al. (2000) วางชิ้นพืชที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิวน้ำอาหาร IMA-2 บ่มไว้ในที่มืด เป็นเวลา 30 วัน เมื่อพบการเจริญของเชื้อออกมาจากชิ้นพืช นำมาเลี้ยงให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี cross streak เพื่อใช้ทดสอบในขั้นตอนต่อไป

การคัดเลือกและการจัดจำแนกเชื้อแอคติโนมัยซิสเอนโดไฟต์ที่เป็นปฏิปักษ์

นำเชื้อแอคติโนมัยซิสเอนโดไฟต์ที่แยกได้มาคัดเลือกเบื้องต้นตามวิธีการของ Intra et al. (2011) บนอาหาร IMA-2 เป็นเวลา 10 วัน โดยเลือกเชื้อแอคติโนมัยซิสเอนโดไฟต์ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเส้นใยมากกว่า 70 % มาทดสอบเพื่อยืนยันผลการยับยั้งของเชื้อด้วยวิธี dual culture ตามวิธีการของ Shimizu et al. (2000) วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ บันทึกขนาดรัศมีของเชื้อราสาเหตุโรคในชุดทดสอบและชุดควบคุมหลังจากบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (percent inhibition of radial growth: PIRG) จากสมการ $PIRG = \{(R1-R2)/R1\} \times 100$ โดย R1 คือความยาวรัศมีในชุดควบคุม และ R2 คือความยาวรัศมีในชุดทดสอบ จึงคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซิสเอนโดไฟต์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งดีที่สุดไปทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี ความสามารถในการควบคุมโรค และวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บนบริเวณ 16S rDNA ต่อไป

การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยซิสเอนโดไฟต์ที่เป็นปฏิปักษ์

เลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยซิสเอนโดไฟต์ที่เป็นปฏิปักษ์บนอาหาร IMA-2 เป็นเวลา 7 วัน นำมาทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อโดยทดสอบการสร้างเซลล์ลูเลซินบนอาหาร carboxymethylcellulose (CMC) การสร้างไคตินเนสบนอาหาร chitin agar การสร้างอะไมเลสบนอาหาร starch agar การสร้างไฮโดรฟอรับนอาหาร chrome azurol s (CAS) agar และ การละลายฟอสเฟตบนอาหาร Pikovskaya (PVK) (Anwar et al., 2016)

การทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคใบไหม้และผลเน่าของเสาวรสในสภาพห้องปฏิบัติการ

กระตุ้นการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Phytophthora* sp. SN04 โดยเลี้ยงบนอาหาร V8 เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เทน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 20 มล. ลงในจานอาหารที่เชื้อราสาเหตุเจริญอยู่ บ่มไว้ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 24 ชม. เพื่อกระตุ้นให้เชื้อราสาเหตุปล่อย zoospore บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

และบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 นาที (Chi et al., 2013) จากนั้นนำเชื้อแอคติโนมัยซิสเอนโดไฟต์ที่คัดเลือกมาทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคใบไหม้และผลเน่าของเสาวรส ประยุกต์ตามวิธีการของ Lee et al. (2008) ด้วยวิธี detached leaf และ detached fruit วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) แบ่งเป็น 3 กรรมวิธี ๆ ละ 3 ซ้ำ ซ้ำเชื้อที่ผิวใบและผลของเสาวรสด้วยเอทานอล 70 % แล้วพ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อแอคติโนมัยซิสเอนโดไฟต์ที่ระดับความเข้มข้น 10^8 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นพ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Phytophthora* sp. ที่ระดับความเข้มข้น 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ในชุดควบคุมพ่นน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อและพ่นเชื้อรา *Phytophthora* sp. เพียงอย่างเดียว บ่มไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ให้แสงสลบมืด เป็นเวลา 12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80 % บันทึกผลหลังจากปลูกเชื้อราสาเหตุ เป็นเวลา 3 และ 7 วัน ตามลำดับ

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การแยกและจัดจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุใบไหม้และผลเน่า

จากการสำรวจเสาวรสที่แสดงอาการใบไหม้และผลเน่าจากแปลงเกษตรกรรมพัฒนาโครงการหลวงสะโงะ อ.เชียงแสน จ.เชียงราย พบผลเสาวรสมี้อาการคล้ายน้ำร้อนลวกที่ก้นผลลูกกลมขึ้นมายังขั้วผล และใบแสดงอาการจ้ำน้ำคล้ายน้ำร้อนลวกเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และร่วง อาการลามสู่ต้นอื่นจากเถาหรือใบที่สัมผัสกัน (Figure 1A) สามารถแยกเชื้อราสาเหตุได้ 6 ไอโซเลท (SN01-SN06) เมื่อตรวจจุลลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้อง compound microscope พบการสร้าง sporangium มีความยาวเฉลี่ยเท่ากับ $35.70 \mu\text{m}$ กว้าง $24.90 \mu\text{m}$ เส้นใยไม่มีสี และไม่มีผนังกัน (Figure 1B) เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการก่อโรค พบเพียง 4 ไอโซเลท (SN01, SN02, SN03 และ SN04) ที่ทำให้ใบของเสาวรสแสดงอาการจ้ำน้ำโดยเฉพาะไอโซเลท SN04 ก่อให้เกิดอาการอย่างรวดเร็ว จากนั้นนำเชื้อรา *Phytophthora* sp. SN04 มาวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS1 และ ITS4 พบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์เหมือนกับเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* มากถึง 100 % สอดคล้องกับการรายงานของ Nguyen et al. (2015) พบการ

ระบาดของโรคต้นเน่าของเสาวรสที่เกิดจากเชื้อรา *P. nicotianae* ลำต้นมีอาการเนื่อเยื่อตายเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วลูกกลมสุบและผลก่อนที่จะเหี่ยวและต้นตายในที่สุด โดยเฉพาะเสาวรสพันธุ์สีม่วงจะอ่อนแอกว่าพันธุ์เหลือง

การแยกเชื้อแอคติโนมัยซิสเอนโดไฟต์

จากการแยกเชื้อแอคติโนมัยซิสเอนโดไฟต์จากเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ของเสาวรส หม่อน อัญชัน และผักกระเฉด บ่มเป็นเวลา 30 วัน พบ เนื้อเยื่อของพืชมีโคลิโคนคล้ายผงแป้งสีขาว และสีเทาเจริญออกมา และสามารถแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ได้ทั้งหมด 96 ไอโซเลต คือ เสาวรส (PE01-PE39) 39 ไอโซเลต อัญชัน (CT01-CT33) 33 ไอโซเลต หม่อน (ME01-ME22) 22 ไอโซเลต และผักกระเฉด (NO01-NO02) 2 ไอโซเลต สอดคล้องกับการรายงานของ Shimizu et al. (2000) ที่แยกเชื้อแอคติโนมัยซิสเอนโดไฟต์จากไม้ดอกในสกุล

Rhododendron พบโคลิโคนเจริญผ่านผิวพืชชั้น epidermis

การคัดเลือกและการจัดจำแนกเชื้อแอคติโนมัยซิสเอนโดไฟต์ที่เป็นปฏิปักษ์

จากการคัดเลือกเบื้องต้นของเชื้อแอคติโนมัยซิสเอนโดไฟต์ จำนวน 96 ไอโซเลต ต่อเชื้อราสาเหตุ 1 ไอโซเลต พบมีเพียง 12 ไอโซเลต ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora* sp. SN01 ได้มากกว่า 70 % เมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยด้วยวิธี dual culture พบว่า เชื้อแอคติโนมัยซิสเอนโดไฟต์ ไอโซเลต CT20 มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora* sp. SN01 และ SN04 ได้สูงสุด เท่ากับ 91.11 % (Figure1 C-D) รองลงมาคือไอโซเลต CT18, PE06 และ PE04 สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้เท่ากับ 90.00, 84.44 และ 82.22 %

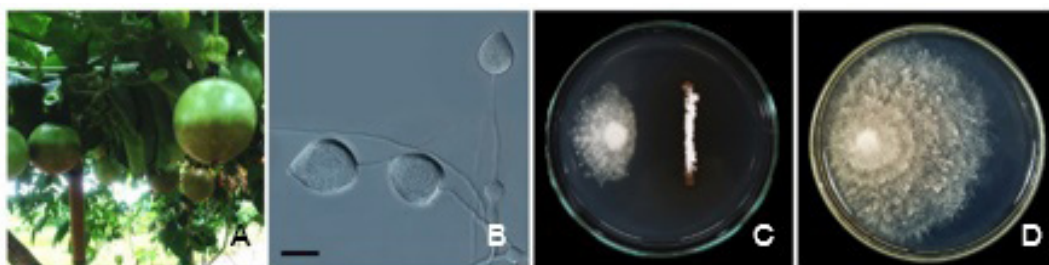


Figure 1 Selection of endophytic actinomycetes to control leaf blight and fruit rot disease of passion fruit. A: Fruit rot disease of passion fruit in field. B: sporangium of *Phytophthora nicotianae* (scale 30 µm). C-D: Dual culture assay

Table 2 Antifungal activity of endophytic actinomycetes isolates to *Phytophthora nicotianae*.

Endophytic actinomycetes	Percent inhibition (%) ¹			
	SN01	SN02	SN03	SN04
PE04	68.89 B	81.11 BC	78.89 B	82.22 B
PE06	84.44 A	83.33 B	78.89 B	84.44 B
CT18	82.22 A	86.67 AB	78.89 B	90.00 A
CT20	91.11 A	90.00 A	83.33 A	91.11 A
CV	12.22	5.44	3.24	3.18
LSD	10.46	5.84	2.96	3.37

¹ Means within the same column followed by different letters were significantly different at $P < 0.05$ by LSD

ตามลำดับ (Table 1) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) จากการรายงานของ Vurukonda et al. (2018) กล่าวว่าเชื้อแอคติโนมัยซีตในสกุล *Streptomyces* มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้อย่างกว้างขวาง เช่น เชื้อรา *Phytophthora capsica* สาเหตุโรคไหม้, เชื้อรา *Rhizoctonia solani* สาเหตุโรคเน่าคอดิน, เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนส เป็นต้น และเมื่อนำเชื้อแอคติโนมัยซีตเอนโดไฟต์ ไอโซเลท CT20 มาวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rDNA มีลำดับนิวคลีโอไทด์เหมือนกับเชื้อ *Streptomyces exfoliates* ถึง 100 %

การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยซีตเอนโดไฟต์ที่เป็นปฏิปักษ์

เมื่อทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อแอคติโนมัยซีตเอนโดไฟต์ทั้ง 4 ไอโซเลท คือ PE04 PE06 CT18 และ CT20 บนอาหารทดสอบต่าง ๆ เป็นเวลา 7 วัน พบว่า ทุกไอโซเลทสามารถสร้างเอนไซม์อะไมเลส โคติเนส และ ไชโคโรฟอรได้ แต่ไม่สามารถละลายฟอสเฟตในรูปไตรแคลเซียมฟอสเฟตบนอาหาร PVK ได้ และเฉพาะไอโซเลท CT20 เท่านั้นที่สามารถสร้างเซลล์ูลัสได้ (Table 2) ซึ่ง Grenville-Briggs et al. (2008) ได้รายงานว่า กลไก

การเข้าทำลายของเชื้อรา *Phytophthora infestans* จำเป็นต้องอาศัยการสังเคราะห์เซลล์ูลัสเพื่อที่จะสร้าง appressorium ดังนั้นการนำเชื้อแอคติโนมัยซีตเอนโดไฟต์ไอโซเลท CT20 ไปใช้ในการควบคุมในสภาพแปลงปลูกอาจลดความรุนแรงหรือลดการแพร่ระบาดของโรคได้ จึงคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีตเอนโดไฟต์ไอโซเลท CT20 ไปทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคใบไหม้และผลเน่าของเสาวรสต่อไป

การทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคใบไหม้และผลเน่าของเสาวรสในสภาพห้องปฏิบัติการ

จากการทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคใบไหม้และผลเน่าของเสาวรส (Figure 2) พบว่ากรรมวิธีที่พ่นแอคติโนมัยซีตเอนโดไฟต์ร่วมกับปลูกเชื้อรา *P. nicotiae* SN04 เป็นเวลา 3 วัน ใบเสาวรสแสดงอาการจ้ำน้ำ และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 ซม. ซึ่งแสดงอาการของโรคได้ช้ากว่ากรรมวิธีที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคเพียงอย่างเดียว (Figure 2A-C) ในขณะที่ผลของเสาวรสมีอาการลูกกลมช้ากว่าใบหลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 7 วัน พบแผลบนผลมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 ซม. มีขนาดเล็กกว่าผลที่ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคเพียงอย่างเดียวซึ่งมีแผลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ซม. ผลการทดลองสอดคล้อง

Table 3. Biochemical characteristics of endophytic actinomycetes under in vitro conditions

Endophytic actinomycetes	Biochemical characteristics ¹				
	Amylase	Cellulase	Chitinase	Siderophore	Phosphate solubilize
PE04	++++	-	+	++	-
PE06	++++	-	+	++	-
CT18	++++	-	+	++	-
CT20	++	++	+	++	-

¹measuring clear zone and halo zone of biochemical test. -, negative +; positive 1-5 mm., ++; positive 6-15 mm. +++; positive 16-25 mm. ++++; positive >26 mm.

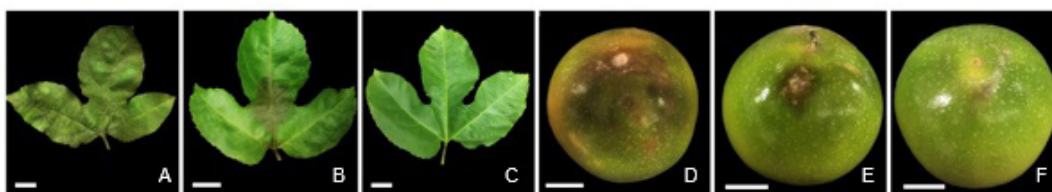


Figure 2 Efficacy of endophytic actinomycetes isolate SN20 to control infection of *Phytophthora incotianae* on fruit and leaf tissues of passion fruit. A, D: negative control. B, E: spray with CT20 before inoculation the pathogen. C, F: positive control (scale bar 2 cm.)

กับ Chen et al. (2016) ที่ใช้เชื้อแอคติโนมัยซีสในสกุล *Streptomyces* ในการยับยั้งการเกิดโรคบนใบของพริกที่เกิดจากเชื้อรา *Phytophthora capsica* นอกจากนี้ Verma et al. (2009) รายงานว่าเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟต์ที่แยกได้จากสะเดาสามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *Phytophthora cypogea*, *P. cactorum* และ *P. infestan* ได้อีกด้วย

สรุป

สามารถคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟต์จากใบของเสาวรสและอัญชันที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเส้นใยเชื้อรา *Phytophthora nicotianae* ได้เพียง 4 ไอโซเลท (PE04 PE06 CT18 และ CT20) ด้วยวิธี dual culture บนอาหาร JMA-2 โดยไอโซเลท CT20 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อ *P. nicotianae* ทั้ง 4 ไอโซเลทได้สูงสุดอยู่ในช่วง 83.33-91.11 % และสามารถสร้างเอนไซม์ เซลลูเลส โคติเนส อะไมเลส และไฮโดรฟอเรสได้ เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคใบไหม้และผลเน่าของเสาวรสสามารถชะลอการเกิดโรคบนใบและผลของเสาวรสได้ งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟต์ในการควบคุมโรคใบไหม้และผลเน่าของเสาวรส อย่างไรก็ตาม ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อหาวิธีที่เหมาะสมในการนำไปใช้ในสภาพโรงเรือนหรือแปลงปลูกเสาวรสต่อไปในอนาคต

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในการสนับสนุนทุนวิจัยบางส่วนเพื่อทำวิทยานิพนธ์

เอกสารอ้างอิง

กุลหาบ หมายสุขกลาง. 2560. ระบบจัดเก็บและรายงานข้อมูลภาวะการผลิตพืชรายเดือน ระดับตำบล (รต.) กรมส่งเสริมการเกษตร. <http://www.agriinfo.doae.go.th/year60/plant/rortor/fruit2/passion.pdf>. ค้นเมื่อ 15 สิงหาคม 2561.

Anwar, S., B. Ali, and I. Sajid. 2016. Screening of rhizospheric actinomycetes for various In-vitro and In-vivo plant growth promoting (PGP) traits and for agroactive compounds. *Front Microbiol* 7: 1-11.

Chen, Y., P. Chen, and T. Tsay. 2016. The biocontrol efficacy and antibiotic activity of *Streptomyces plicatus* on the oomycete *Phytophthora capsici*. *Biol Control* 98: 34-42.

Cole, D. L., T. R. Hedges, and T. Ndowora. 1992. A wilt of passion fruit (*Passiflora edulis* f. *edulis* Sims) caused by *Fusarium solani* and *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica*. *Trop. Pest Manag.* 38: 362-366.

Chi, T. T. P., O. Choi, Y. Kwak, D. Son, J. J. Lee, and J. Kim. 2013. *Streptomyces padanus* for the biological control of *Phytophthora capsici* on pepper plants. *Journal of Agriculture & Life Science* 47(4):1-9.

Grenville-Briggs, L. J., V. L. Anderson, J. Fugelstad, A. O. Avrova, J. Bouzenzana, A. Williams, S. Wawra, S. C. Whisson, P. R. J. Birch, V. Bulone, and P. V. Westa. 2008. Cellulose synthesis in *Phytophthora infestans* is required for normal appressorium formation and successful infection of potato. *Plant Cell*. 20: 720-738.

Intra, u., I. Mungsuntisuk, T. Nihira, Y. Igarashi, and W. Panbangred. 2011. Identification of actinomycetes from plant rhizospheric soils with inhibitory activity against *Colletotrichum* spp., the causative agent of anthracnose disease. *BMC Res Notes* 4: 98.

Lee, K. J., S. Kamala-Kannan, H. S. Sub, C. K. Seong, and G. W. Lee. 2008. Biological control of *Phytophthora* blight in red pepper (*Capsicum annum* L.) using *Bacillus subtilis*. *World J Microbiol Biotechnol* 24: 1139-1145.

Pettitt, T. R., A. J. Wakeham, M. F. Wainwright, and J. G. White. 2002. Comparison of serological, culture, and bait methods for detection of *Pythium* and *Phytophthora* zoospores in water. *Plant Pathol.* J. 51: 720-727.

Shimizu, M., Y. Nakawa, Y. Sato, T. Furumai, Y. Igarashi, H. Onaka, R. Yoshida, and H. Kunoh. 2000. Studies on endophytic actinomycetes (I) *Streptomyces* sp. isolated from *Rhododendron* and its antifungal activity. *J. Gen. Plant Pathol.* 66: 360-366.

Verma, V. C., S. K. Gond, A. Kumar, A. Mishra, R. N. Kharwar, and A. C. Gange. 2009. Endophytic actinomycetes from *Azadirachta indica* A. Juss.: isolation, diversity, and antimicrobial activity. *Microb Ecol.* 57: 749-756.

Vurukonda, S. S. K. P., D. Giovanardi, and E. Stefani. 2018. Plant growth promoting and biocontrol activity of *Streptomyces* spp. as endophytes. *Int. J. Mol. Sci.* 19: 952-978.