บทคัดย่อ

จากการสำรวจการระบาดของโรคราสีเทาบนพื้นที่เพาะปลูกกุหลาบของมูลนิธิโครงการหลวง 4 แห่ง ได้แก่ สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง สถานีเกษตรหลวงอินทนนท์ สถานีเกษตรหลวงปางดะ และศูนย์พัฒนาโครงการหลวงทุ่งเรา พบการระบาดของโรคราสีเทาในทุกพื้นในเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคที่แตกต่างกัน 0.17- 16.67 % เมื่อนำช่อดอกที่เป็นโรคมาแยกเชื้อด้วยวิธี tissue transplanting และทดสอบความสามารถการเกิดโรค พบเชื้อรา *Botrytis cinerea* เป็นเชื้อสาเหตุที่สามารถก่อให้เกิดโรคได้อย่างรุนแรง 51-75% และเมื่อนำเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกและรวบรวมได้ 160 ไอโซเลท มาทดสอบประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเส้นใยราสีเทาด้วยวิธี dual culture และทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคบนใบ กลีบดอก และช่อดอกกุหลาบ สามารถคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ได้จำนวน 2 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งการสร้างสปอร์ราสีเทาและลดการแสดงอาการของโรคบนช่อดอกได้มากกว่า 75 % ได้แก่ เชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์ไอโซเลท CEN26 (78.55 %) และเชื้อยีสต์ปฏิปักษ์ไอโซเลท CHY2 (75.63 %) ผลการทดสอบสูตรอาหารเหลวที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณของเชื้อปฏิปักษ์ทั้งสองชนิด พบความสัมพันธ์ระหว่าง 2 ปัจจัย ได้แก่ สูตรอาหาร และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่มีความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ การเพิ่มปริมาณเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์ในสูตรอาหาร International Streptomyces Project- 2 (ISP- 2) ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับ 7 สามารถเพิ่มความเข้มข้นของเชื้อเริ่มต้น 2.1 × 10^5 cfu/ml เป็น 6.2 × 10^9 cfu/ml ส่วนการเพิ่มปริมาณของเชื้อยีสต์ปฏิปักษ์ไอโซเลท CHY2 พบว่าสูตรอาหาร Nutrient broth (NB) ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) อยู่ที่ 6.8 สามารถเพิ่มความเข้มข้นของเชื้อเริ่มต้น 1.9 × 10^5 cfu/ml เป็น 1.6 × 10^{10} cfu/ml นอกจากนี้ผลการทดสอบยังแสดงให้เห็นว่า ระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณเชื้อในสูตรอาหารและค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่ให้ความเข้มข้นมากสุด คือวันที่ 7 ซึ่งอาหารทั้งสองสูตรนี้มีต้นทุนการผลิตอยู่ที่ 68.01 และ 32.02 บาท ต่อลิตร ตามลำดับ การเก็บรักษา stock ในส่วนของเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์ไอโซเลท CEN26 สามารถเก็บรักษาได้ 2 รูปแบบ ได้แก่ เก็บบนอาหารวุ้นเอียงที่ปิดปากหลอดแก้วด้วยพาราฟิน แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และเก็บในสภาพแห้งบนกระดาษกรองนึ่งฆ่าเชื้อ การเก็บรักษา stock ของเชื้อยีสต์ปฏิปักษ์ ไอโซเลท CHY2 ได้ 2 รูปแบบ ได้แก่ เก็บรักษาในน้ำกลั่นปลอดเชื้อ และเก็บรักษาเชื้อในจุกแก้วเล็กๆ (glass beads) ที่ผสม 15 % glycerol เพื่อใช้ในการผลิตชีวภัณฑ์ต่อไป

Abstract

There was an exploration grey-mold disease outbreaks in cutting rose grown at the Royal Project Foundation, in four stations which included AngKhang Royal Agricultural Station, Inthanon, Pang Da and Royal project Development Center. This investigated of the grey-mold disease transmission, found that there were 0.17 to 16.67 percent (disease severity about 51-75%). The infected samples were collected and used for pathogen isolation and pathogenicity testing. After an inoculation, it revealed that *Botrytis cineria* was the pathogen. Antagonistic microbe studies, including the new isolate isolation was done and 160 isolates were obtained. And all of isolates of antagonist microbial were selected by the dual culture method and tested on leave, petal and rose flower. Due to the selection of the best antagonistic microbial two strains which occupied a qualification in inhibiting grey-mold infection at least 75%, these isolates included the endophytic acinomyces isolate CEN26 (78.55%) and the antagonistic yeast isolate CHY2 (75.63%), then at least the two species will be used for bioproduct development to control gray mold disease. The most suitable media for multiplication of antagonistic endophytic acinomyces isolate CEN26 was International Streptomyces Project- 2 (ISP- 2) media at pH 7 to determine for suitable media at 1.6×10^{10} cfu/ml and antagonistic yeast group isolate CHY2, that was Nutrient broth (NB) media pH 6.8 by increase at 6.2×10^{9} cfu/ml Results showed that both of culture media provided high biomass, simple techniques and inexpensive of material. Finally, the study of microbial preservation, the endophytic acinomyces isolate CEN26 were used by 1) slant agar method with paraffin gel and 2) paper replica method. While, antagonistic yeast isolate CHY2 were preservation in distilled water method and glass beads with glycerol 15 %.