การประเมินความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสในหน้าวัว
Evaluation of Resistance to Anthracnose in *Anthurium andraeanum*

ณัฐพงษ์ ศรีสมุทร[1*] แก้วตา สูตรสุวรรณ[1] เทียมจันทร์ สาระแสน[2] ชลิตา ชูคันหอม[1] และ กิตติศักดิ์ เฉนียง[1]
[1]คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยกาฬสินธุ์ กาฬสินธุ์
[2]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น
[*]corresponding author e-mail: nattapongsri@gmail.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อค้นหาหน้าวัวสายพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสสูง และศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีระวิทยาของหน้าวัวหลังการปลูกเลี้ยงเชื้อราสาเหตุของโรค โดยการแยกเชื้อราบริสุทธิ์ แล้วปลูกเลี้ยงเชื้อราบนต้นหน้าวัวสายพันธุ์ต่างๆ และการประเมินระดับความต้านทานของโรคในสัปดาห์ที่ 4 พบว่า สายพันธุ์เปลวเทียนภูเก็ตมีระดับความต้านทานต่อโรคสูงที่สุด (64.0%) และสายพันธุ์เมอร์ริงเก้มีระดับความต้านทานต่อโรคต่ำที่สุด (22.0%) การเปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์ไคติเนส (chitinase) และเบต้ากลูคาเนส (β-1,3 glucanase) ในสายพันธุ์เปลวเทียนภูเก็ตหลังปลูกเลี้ยงเชื้อรา 14 วัน เปรียบเทียบกับต้นควบคุม พบว่า ต้นที่ได้รับการปลูกเลี้ยงเชื้อรามีกิจกรรมของเอนไซม์ไคติเนสและเบต้ากลูคาเนส เท่ากับ 0.064 และ 0.047 µg/mg protein/hr ตามลำดับ ส่วนต้นควบคุม เท่ากับ 0.043 และ 0.034 µg/mg protein/hr ตามลำดับ แสดงว่าการเปลี่ยนแปลงทางสรีระวิทยาของหน้าวัวหลังการปลูกเลี้ยงเชื้อรา คือ การเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ไคติเนสและเบต้ากลูคาเนส

คำสำคัญ : หน้าวัว ความต้านทานต่อโรค แอนแทรคโนส ไคติเนส เบต้ากลูคาเนส

Abstract

The research aimed to find the *Anthurium andraeanum* cultivars with high resistance to anthracnose and to study the physiological changes after artificial inoculation with pathogen. The fungi were isolated and cultured on PDA medium. Then, spore suspension was sprayed onto Anthurium leaves. The evaluation of disease resistance was performed in the 4th week. The results indicated that the highest level of disease resistance was Plewtien Phuket cultivar while the lowest level of disease resistance was Meringue cultivar, the percentage of disease resistance were 64.0 and 22.0 respectively. Chitinase and β-1, 3-glucanase activities were analyzed and compared between the infected and noninfected Plewtien Phuket cultivar after 14 days of artificial inoculation. The chitinase and β-1, 3-glucanases activity of infected Plewtien Phuket cultivar were 0.064 and 0.047 µg/ mg protein/ hr, respectively, while the noninfected were 0.043 and 0.034 µg/mg protein/hr, respectively. In conclusion, the physiological changes of Anthurium after artificial inoculation were the increasing of chitinase and β-1, 3-glucanases activity.

keywords : *Anthurium andraeanum*, resistance, anthracnose, chitinase, β-1,3-glucanase

บทนำ

หน้าวัว (*Anthurium andraeanum*) เป็นพืชดอกสกุล *Anthurium* อยู่ในวงศ์ Araceae มีชื่อสามัญว่า Flamingo flower หรือ Tail flower แต่นิยมเรียกกันว่า Anthurium ตามชื่อสกุล (Buldewo et al., 2012) หน้าวัวเป็นไม้ตัดดอกที่เป็นที่นิยมของตลาดไม้ตัดดอกเพราะสีสันสดใสสวยงาม สะดุดตา ก้านดอกยาวและแข็งแรงมีอายุการใช้งานที่ยาวนาน (สุรวิช วรรณไกรโรจน์, 2534) ในการปลูกหน้าวัวมักประสบปัญหาที่สำคัญ คือ ศัตรูพืช แมลงที่สำคัญได้แก่ เพลี้ยไฟ หนอนผีเสื้อ เพลี้ยอ่อน เพลี้ยหอยและไรแดง นอกจากนี้ยังมีโรคต่าง ๆ ที่ส่งผลกระทบต่อการผลิตหน้าวัว ได้แก่ โรคเน่าดำ หรือโรคใบแห้ง

โรครากเน่า โรคใบไหม้ (Srisamoot and Soosuwan, 2016) โดยเฉพาะโรคแอนแทรคโนส (Anthracnose) ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* ซึ่งเป็นชนิดเดียวกันกับโรคแอนแทรคโนสที่ก่อปัญหากับพริก (ชาครีย์ เหล่ามโนธรรม และคณะ, 2549) ฝรั่ง (มนัชญา รัตนโชติ และนิพนธ์ วิสารทานนท์, 2549) มะม่วง (สมศิริ แสงโชติ และเนตรนภิส เขียวขำ, 2549) และพืชเศรษฐกิจที่ปลูกในเขตร้อนและเขตกึ่งร้อนหลายชนิด เชื้อรา *C. gloeosporioides* สามารถเข้าทำลายหน้าวัวได้หลายระยะ อาการเริ่มแรกจะเห็นจุดสีน้ำตาลเล็ก ๆ บนปลีดอก ภายใต้ความชื้นสูง จุดจะขยายใหญ่ขึ้นตามรูปทรงเหลี่ยมของดอกย่อย และอาจลุกลามทำให้ปลีดอกเน่า อาการที่ใบขอบแผลค่อนข้างกลมรูปร่างแน่นอน ขอบและเนื้อเยื่อตรงกลางแผลแห้งเป็นสีน้ำตาล มีเชื้อราเป็นจุดดำเล็ก ๆ ฝังเรียงเป็นวงซ้อนกัน ถ้าอากาศชื้นอาจพบกลุ่มของโคนีเดียมีสีส้มลักษณะคล้ายหยดน้ำเกาะอยู่บริเวณแผล (Freeman et al., 1998) จากการที่โรคแอนแทรคโนสเป็นโรคที่ระบาดอย่างรุนแรง และทำให้การผลิตหน้าวัวเพื่อการตัดดอกประสบปัญหามาก จึงได้มีการสั่งพันธุ์การค้าจากมลรัฐฮาวาย ซึ่งได้รับการปรับปรุงพันธุ์เป็นไม้ตัดดอกเพื่อการส่งออกที่มีความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส ได้แก่ พันธุ์โอซากิ (Ozaki) พันธุ์คันโซโก (Kansoko) พันธุ์คัวมานา (Kaumana) และพันธุ์พาราไดส์ พิ๊งค์ (Paradise Pink) เป็นต้น (วันดี ใจนิ่ม, 2531) มาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ เพื่อให้ได้พันธุ์ที่มีลักษณะดี และต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส รวมทั้งการผสมข้ามหรือการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์แล้วมาปลูกทดสอบเพื่อดูความคงตัวของลักษณะที่ปรากฏ และการประเมินลักษณะความต้านทานต่อโรคก็เป็นอีกแนวทางหนึ่งที่จะนำไปประยุกต์ใช้เพื่อวางแผนในการพัฒนาสายพันธุ์หน้าวัวให้ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสให้ได้สูงขึ้น

การประเมินความต้านทานต่อโรคสามารถพิจารณาได้จากเอนไซม์หรือโปรตีนที่พืชสร้างขึ้นเพื่อป้องกันการรุกรานของเชื้อโรค หรือเกี่ยวข้องกับการเกิดโรค เรียกว่า โปรตีนพีอาร์ (pathogenesis-related protein; PR protein) ที่มีคุณสมบัติในการต้านทานโรคหรือเชื้อสาเหตุของโรคอย่างไม่จำเพาะ (นงลักษณ์ เภรินทวงศ์, 2556) โปรตีนพีอาร์สำคัญ ได้แก่ เอนไซม์ไคทิเนส (Chitinase) และเบต้ากลูคาเนส (β-1,3-glucanase) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นเอนไซม์ที่สามารถย่อยผนังเซลล์ผนังเซลล์เชื้อราและแบคทีเรียได้ ตามลำดับ (นงลักษณ์ เภรินทวงศ์, 2556) เอนไซม์ไคทิเนส และเบต้ากลูคาเนส พบทั้งในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและพืชใบเลี้ยงคู่ โดยสามารถสร้างขึ้นได้เมื่อเกิดการเข้าทำลายของเชื้อ การเกิดบาดแผล และการเกิดภาวะกดดันจากสารเคมีและสิ่งแวดล้อม (Malehorn et al., 1993)

ดังนั้น จุดประสงค์ของงานวิจัยนี้ คือ การค้นหาชนิดพันธุ์หน้าวัวที่มีความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสสูง โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีระวิทยาของหน้าวัวจากการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ไคทิเนส และเบต้ากลูคาเนสหลังการปลูกเลี้ยงเชื้อรา *C. gloeosporioides* บนต้นหน้าวัว

วิธีดำเนินการวิจัย

การเก็บตัวอย่างโรคและวินิจฉัยเบื้องต้น

ตัดชิ้นส่วนของต้นหน้าวัวที่แสดงอาการของโรคแอนแทรคโนสในลักษณะ free hand section เพื่อนำไปแยกเชื้อราสาเหตุโรคโดยไปเลี้ยงบนอาหารพีดีเอ (Potato Dextrose Agar; PDA) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน

การพิสูจน์การเกิดโรคโดยอาศัยหลักการพิสูจน์โรคของ Koch (Koch's Postulates)

ตัดเส้นใยที่บริเวณขอบโคโลนีไปเลี้ยงบนอาหารพีดีเอในจานเลี้ยงเชื้อใหม่ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน ล้างเอาสปอร์ที่ผิวหน้าโคโลนีด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ กรองด้วยผ้าขาวบางที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว นำส่วนของ spore suspension ที่ได้มาปรับให้ได้ความเข้มข้น 4 x 105 สปอร์/มิลลิลิตร และนำไปฉีดพ่นลงบนต้นหน้าวัวบริเวณที่ทำแผลด้วยเข็มเขี่ยเชื้อกดลงบริเวณผิวใบโดยให้มีความลึกพอประมาณ แล้วทำการแยกเชื้อจากต้นพืชที่แสดงอาการของโรคอีกครั้ง

การปลูกเลี้ยงเชื้อราบนต้นพืช (Artificial inoculation)

ทำการฉีดพ่นสารแขวนลอยสปอร์ราที่ให้กับต้นหน้าวัวจำนวน 10 สายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 5 ใบ โดยกำหนดจุดโดยการสร้างรอยแผลด้วยเข็มเขี่ยเชื้อกดลงบริเวณผิวใบ ใบละ 10 จุด ส่วนชุดควบคุมฉีดพ่นด้วยน้ำกลั่น คลุมต้นพืชด้วยถุงพลาสติกเพื่อเพิ่มความชื้นเป็นเวลา 7 วัน จึงนำถุงออก หลังจากปลูกเลี้ยงเชื้อแล้วทำการให้น้ำตามปกติ เมื่อต้นพืชแสดงอาการของโรคประเมินระดับต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส โดยหาค่าเฉลี่ยของจำนวนจุดที่เกิดโรค แล้วแปรผันเป็นระดับความต้านทานต่อโรค ดังสมการ

$$\text{ระดับความต้านทาน (\%)} = (100 - (\bar{X} \times 10))$$

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีระวิทยาของหน้าวัวหลังการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides*

การสกัดโปรตีนรวม

นำตัวอย่างใบหน้าวัวน้ำหนัก 0.5 กรัม ล้างทำความสะอาด แล้วบดในโกร่งที่ทำให้เย็นด้วยในไนโตรเจนเหลวจนละเอียด เติม homogenization buffer (0.1 M Tris-HCl, pH 7.0, 0.1 M KCl, 1mM phenylmethylsulfonyl fluoride, triton X -100, 3% (w/v) polyvinylpyrrolidone) 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ดูดสารละลายใส่ในหลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปเขย่าอย่างแรงให้เข้ากัน แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกตะกอนชิ้นส่วนใบพืชออกที่ 12,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ดูดสารละลายส่วนบน (supernatant) ใส่หลอดใหม่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตรวจหาความเข้มข้นของโปรตีนรวมโดยวิธีของ Bradford (1976) ปรับความเข้มข้นของโปรตีนในแต่ละตัวอย่างให้เท่ากันด้วยน้ำปราศจากไอออน (Deionized water) เพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ต่อไป นำสารสกัดที่ได้ไปแยกด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส บนแผ่น SDS-PAGE โดยใช้โปรตีนในแต่ละตัวอย่างเท่ากับ 10 ไมโครกรัม/ Lane

การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ไคทิเนส (chitinase activity)

นำสารผสมเนื้อเดียว (homogenate) ที่ได้จากการสกัดโปรตีนรวม 100 ไมโครลิตร บ่มร่วมกับสารตั้งต้น (substrate; 1% colloidal chitin ใน 0.1 M sodium acetate buffer pH 5) ปริมาตร 900 ไมโครลิตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาด้วยการต้มในน้ำเดือด 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) ที่ถูกย่อยออกจาก colloidal chitin ตามวิธีการของ Somogyi (1952) โดยใช้ GlcNac (N-acetylglucosamine) เป็นน้ำตาลรีดิวซ์มาตรฐาน

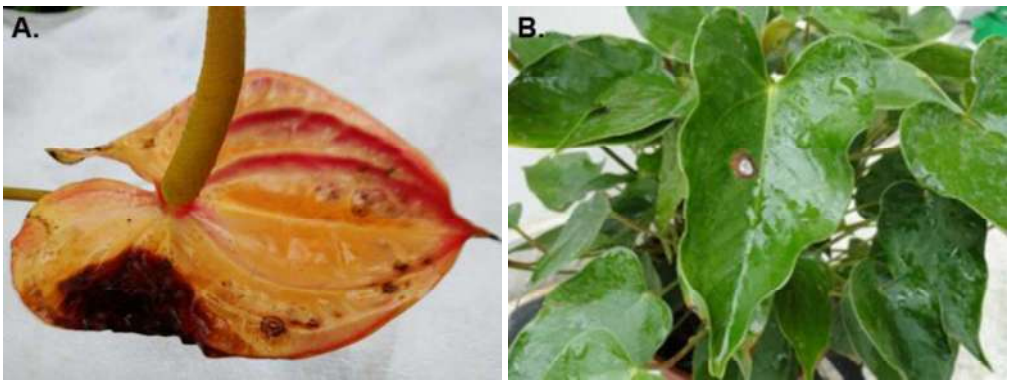
การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์เบต้ากลูคาเนส (β-1,3-glucanase activity)

นำสารผสมเนื้อเดียวที่ได้จากการสกัดโปรตีนรวม 62.5 ไมโครลิตร ผสมกับลามินาริน (laminarin) 4% w/v ใน 0.05 M sodium acetate buffer, pH 5.0 ปริมาตร 62.5 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 40 องสาเซลเซียส 10 นาที จากนั้นหยุดปฏิกิริยาด้วย dinitrosalicylic acid ปริมาตร 375 ไมโครลิตร ต้มในน้ำเดือด 5 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 nm จะได้ปริมาณทั้งหมดของ reducing sugar หลังจากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ ที่ถูกย่อยออกจาก laminarin ตามวิธีการของ Somogyi (1952) โดยใช้น้ำตาล D-glucose เป็นน้ำตาลรีดิวซ์มาตรฐาน

ผลการวิจัย

การเก็บตัวอย่างหน้าวัว การเก็บตัวอย่างโรคและวินิจฉัยเบื้องต้น

การเก็บตัวอย่างหน้าวัวที่แสดงอาการของโรค (ภาพที่ 1ก) มาแยกเชื้อราสาเหตุของโรคโดยเลี้ยงบนอาหารพีดีเอ พบว่า เส้นใยเจริญฟูหนาแน่นบนผิวหน้าอาหาร เส้นใยมีสีขาวครีม เมื่อสร้างปอร์เห็นเป็นหยดเมือกสีส้มเรียงเป็นวงบนแผล และเมื่อพลิกดูใต้จานอาหารเลี้ยงเชื้อมองเห็นกลุ่มสปอร์เป็นสีส้ม เมื่อตรวจดูลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าสปอร์มีลักษณะรูปร่างเป็นท่อนสั้น หัวท้ายมน ใสไม่มีสี ไม่มีผนังกั้นภายในสามารถจำแนกได้เป็นเชื้อรา *C. gloeosporioides* (Sutton, 1980)



ภาพที่ 1 ตัวอย่างหน้าวัวที่แสดงอาการของโรค (A.) และลักษณะของใบหน้าวัวที่แสดงอาการของโรคแอนแทรคโนสหลังการฉีดพ่นสปอร์ของเชื้อรา (B.)

การปลูกเลี้ยงเชื้อราบนต้นพืช (Artificial inoculation)

ในวันที่ 14 หลังการฉีดพ่น ต้นหน้าวัวที่ได้รับการฉีดพ่นสปอร์ของเชื้อราเริ่มแสดงอาการของโรคแอนแทรคโนส ซึ่งลักษณะของอาการจะปรากฏบริเวณที่ทำแผลด้วยเข็มเขี่ยเชื้อกดลงบริเวณกลางใบ คือ แผลมีลักษณะเป็นสีน้ำตาล แผลแห้ง ขอบแผลมีสีเหลือง (ภาพที่ 1 B.)

การทดสอบระดับความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส

หน้าวัวสายพันธ์ต่าง ๆ แสดงอาการของโรคแอนแทรคโนสหลังการปลูกเลี้ยงเชื้อราบนต้นพืชตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 โดยพบว่า ลักษณะของแผลจะขยายขนาดขึ้นเรื่อย ๆ และในสัปดาห์ที่ 4 หน้าวัวสายพันธุ์เปลวเทียนภูเก็ตมีระดับความต้านทานต่อโรคสูงที่สุด ที่ร้อยละ 64.0 และหน้าวัวสายพันธุ์เมอร์ริงเก้มีระดับความต้านทานต่อโรคต่ำที่สุด ที่ร้อยละ 22.0 (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แสดงผลการทดสอบการเกิดโรคแอนแทรคโนสในหน้าวัวสายพันธ์ต่าง ๆ

ลำดับที่	ชื่อสายพันธุ์	จำนวนจุดที่แสดงอาการของโรค							ระดับความต้านทาน (%) (100 – ($\bar{X}$ x 10))
		ตัวอย่างที่						ค่าเฉลี่ย ($\bar{X}$)	
		1	2	3	4	5	Control		
1	แสงเทียน	6	6	5	7	5	0	5.8	42
2	เปลวเทียนลำปาง	4	3	4	4	4	0	3.8	62
3	เปลวเทียนภูเก็ต	4	4	4	3	3	0	3.6	64
4	เรดบาร์	5	5	6	6	7	0	5.8	42
5	ซันเรด	7	7	6	8	6	0	6.8	32
6	เรดสตอง	6	6	7	5	7	0	6.2	38
7	ชมพูนพพร	6	5	5	5	5	0	5.2	48
8	เรดฮอท	7	6	7	8	6	0	6.8	32
9	เชอรี่พิงค์	5	6	6	7	6	0	6	40
10	เมอร์ริงเก้	7	8	9	7	8	0	7.8	22

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีระวิทยาของหน้าวัวหลังการปลูกเชื้อรา *C. Gloeosporioides*

การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ไคทิเนส (chitinase activity)

กราฟมาตรฐานของสารละลาย N-acetylglucosamine มีค่าความชันของจากกราฟมาตรฐานเท่ากับ 0.571 กิจกรรมของเอนไซม์ไคทิเนสจากใบหน้าวัวสายพันธุ์เปลวเทียนภูเก็ตที่ได้รับการปลูกด้วยเชื้อรา *C. gloeosporioides* เป็นเวลา 14 วัน (ตารางที่ 2) พบว่า ต้นควบคุมมีกิจกรรมของเอนไซม์ไคทิเนสเท่ากับ 0.043 ไมโครกรัมต่อปริมาณโปรตีน 1 มิลลิกรัม ในเวลา 1 ชั่วโมง ส่วนต้นที่ได้รับการปลูกเชื้อรามีกิจกรรมของเอนไซม์ไคทิเนสเท่ากับ 0.064 ไมโครกรัมต่อปริมาณโปรตีน 1 มิลลิกรัม ในเวลา 1 ชั่วโมง

การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์เบต้ากลูคาเนส (β-1,3-glucanase activity)

กราฟมาตรฐานของสารละลาย D-glucose ค่าความชันของจากกราฟมาตรฐาน D-glucose เท่ากับ 0.762 กิจกรรมของเอนไซม์เบต้ากลูคาเนสจากใบหน้าวัวสายพันธุ์เปลวเทียนภูเก็ตที่ได้รับเชื้อรา *C. gloeosporioides* เป็นเวลา 14 วัน แสดงดังตารางที่ 2 พบว่า ต้นควบคุมมีกิจกรรมของเอนไซม์เบต้ากลูคาเนส เท่ากับ 0.034 ไมโครกรัมต่อปริมาณโปรตีน 1 มิลลิกรัม ในเวลา 1 ชั่วโมง ส่วนต้นที่ได้รับการปลูกเชื้อราต้นมีกิจกรรมของเอนไซม์เบต้ากลูคาเนสเท่ากับ 0.047 ไมโครกรัมต่อปริมาณโปรตีน 1 มิลลิกรัม ในเวลา 1 ชั่วโมง

ตารางที่ 2 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไคทิเนสและเบต้ากลูคาเนสของใบหน้าวัวที่ได้รับการปลูกด้วยเชื้อรา *C. gloeosporioides* เป็นเวลา 14 วัน

ชุดการทดลอง		ไคทิเนส**		เบต้ากลูคาเนส***	
		ต้นควบคุม	ต้นที่ได้รับการปลูกเชื้อรา	ต้นควบคุม	ต้นที่ได้รับการปลูกเชื้อรา
ค่าการดูดกลืนแสง	ครั้งที่ 1	0.077	0.116	0.045	0.067
	ครั้งที่ 2	0.081	0.11	0.048	0.062
	ครั้งที่ 3	0.07	0.112	0.042	0.058
	ค่าเฉลี่ย	0.076	0.113	0.045	0.062
	SD	0.006	0.003	0.003	0.005
กิจกรรมของเอนไซม์*	ครั้งที่ 1	0.044	0.066	0.034	0.051
	ครั้งที่ 2	0.046	0.063	0.037	0.047
	ครั้งที่ 3	0.04	0.064	0.032	0.044
	ค่าเฉลี่ย	**0.043**	**0.064**	**0.034**	**0.047**
	SD	0.003	0.002	0.003	0.004

* Absorbance x slope, ** (µg(GlcNAc)/mg protein/hr), ***(µg(D-glucose)/mg protein/hr)

อภิปรายผล

หน้าวัวสายพันธุ์เปลวเทียนภูเก็ตมีระดับความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสสูงที่สุดนี้ สอดคล้องกับรายงานของ Srisamoot and Sootsuwan (2016) ที่พบว่าหน้าวัวสายพันธุ์เปลวเทียนภูเก็ตมีความต้านทานต่อโรคใบไหม้สูงรองจากหน้าวัวสายพันธุ์เปลวเทียนลำปาง โรคใบไหม้มีเชื้อแบคทีเรีย *Xantomonas axonopodis* ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญต่อการผลิตหน้าวัวเช่นเดียวกันกับโรคแอนแทรคโนส อย่างไรก็ตาม หน้าวัวสายพันธุ์เปลวเทียนลำปางในการศึกษานี้มีความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสสูงรองจากหน้าวัวสายพันธุ์เปลวเทียนภูเก็ตเช่นกัน เป็นที่น่าสังเกตุว่าหน้าวัวกลุ่มสายพันธุ์เปลวเทียนเป็นกลุ่มที่มีระดับความต้านทานต่อโรคสูง

การเปลี่ยนแปลงทางสรีระวิทยาของหน้าวัวหลังการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* นั้นเป็นการเปลี่ยนแปลงในลักษณะของการเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ไคทิเนส เช่นเดียวกับการศึกษาของ สุวิตา แสไพศาล และคณะ (2554) ที่พบว่า ต้นมะเขือเทศมีกิจกรรมของเอนไซม์ไคทิเนสเพิ่มขึ้นสูงสุดเมื่อ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม หลังจากปลูกเชื้อ Trichoderma spp. เป็น เวลา 14 วัน และ Naher et al. (2012) พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ไคทิเนสเพิ่มขึ้นเมื่อต้นปาล์มน้ำมันได้รับเชื้อรา *Trichoderma harzianum* เพียงอย่างเดียวและเมื่อได้รับร่วมกับเชื้อรา *Ganoderma boninense* เช่นเดียวกันกับการเพิ่มกิจกรรมของเอ็นไซม์เบต้ากลูคาเนส ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ สุวิตา แสไพศาล และคณะ (2554) ที่พบว่าใบของต้นมะเขือเทศที่ได้รับการปลูกเชื้อรา *Trichoderma* spp. ไอโซเลต 162 มีกิจกรรมของเอนไซม์เบต้ากลูคาเนสในระดับสูง ส่วนไอโซเลต T4 พบว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์เบต้ากลูคาเนสสูงที่สุด ทั้งนี้อาจเนื่องจากเชื้อรา *Trichoderma* spp. อาศัยและมีปฏิสัมพันธ์กับพืชอย่างใกล้ชิดจะกระตุ้นให้พืชสร้างสารเคมีส่งสัญญาณ ส่งผลให้พืชเกิดความต้านทานขึ้น และความต้านทานจะเกิดอย่างต่อเนื่องตลอดเวลาที่เชื้ออาศัยอยู่กับพืช (Hurtado, 2004)

อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้เป็นเพียงการศึกษาขั้นต้นเพื่อค้นหาหน้าวัวสายพันธุ์ที่ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนส เท่านั้นยังไม่สามารถระบุได้ว่าหน้าวัวสายพันธุ์ใดเหมาะสำหรับการพัฒนาสายพันธุ์มากที่สุด จำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติม

สรุปผลการวิจัย

ความรุนแรงในการเกิดโรคของหน้าวัวสายพันธ์ต่าง ๆ ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1-4 พบว่า ลักษณะของแผลจะขยายขนาดขึ้นเรื่อย ๆ โดยในสัปดาห์ที่ 4 หน้าวัวสายพันธุ์เปลวเทียนภูเก็ตมีระดับความต้านทานต่อโรคสูงที่สุดที่ร้อยละ 64.0 และหน้าวัวสายพันธุ์เมอร์ริงเก้มีระดับความต้านทานต่อโรคต่ำที่สุดที่ร้อยละ 22.0 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีระวิทยาของหน้าวัว

สายพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสสูง คือ สายพันธุ์เปลวเทียนภูเก็ต หลังการปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยพิจารณากิจกรรมของเอนไซม์ไคทิเนส และเบต้ากลูคาเนส พบว่า ต้นที่ได้รับการปลูกเชื้อรามีกิจกรรมของเอนไซม์ไคทิเนสและเบต้ากลูคาเนส เท่ากับ 0.064 และ 0.047 ไมโครกรัมต่อปริมาณโปรตีน 1 มิลลิกรัม ในเวลา 1 ชั่วโมง ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงทางสรีระวิทยาของหน้าวัวหลังการปลูกเชื้อรานั้นเป็นการเปลี่ยนแปลงในลักษณะของการเพิ่มกิจกรรมของเอ็นไซม์ไคทิเนสและเบต้ากลูคาเนส

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยกาฬสินธุ์ ที่เอื้อเฟื้ออาคารสถานที่และเครื่องมือในการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

ชาครีย์ เหล่าม่โนธรรม, ชลิดา เล็กสมบูรณ์ และชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล. (2549). ผลของสารสกัดจากกระเจี๊ยบแดงต่อเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของพริก. **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44.** กรุงเทพมหานคร.

นงลักษณ์ เภรินทวงศ์. (2556). กลไกการต้านทานโรคของพืช. **วารสารเกษตรพระจอมเกล้า,** 31, 76-82.

มนัชญา รัตนโชติ และนิพนธ์ วิสารทานนท์. (2549). **ผลของแคลเซียมคลอไรด์ต่อการเจริญเติบโตและการงอกของสปอร์ของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของผลฝรั่ง.** การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44. กรุงเทพมหานคร.

วันดี ใจนิ่ม. (2531). **มาปลูกหน้าวัวกันเถอะ.** กรุงเทพมหานคร: สำนักสวัสดิการสังคม กองสวนสาธารณะ.

สมศิริ แสงโชติ และเนตรนภิส เขียวขำ. (2549). ความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสของผลและใบมะม่วง. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร,** 37(พิเศษ), 72-75.

สุรวิช วรรณไกรโรจน์. (2534). **เทคโนโลยีการผลิตไม้ตัดดอกสกุลหน้าวัว.** กรุงเทพมหานคร: สมาคมไม้ประดับแห่งประเทศไทย.

สุวิตา แสไพศาล วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์ และพัฒนา ศรีฟ้า ฮุนเนอร์. (2554). การชักนำให้มะเขือเทศสร้างความต้านทานโรคใบจุดเป้ากระสุนโดยเชื้อ *Trichoderma* spp. และกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยสลาย. **วารสารวิจัย มข.**, 16, 261-270.

Buldewo, S., Pillay, M., & Jaufeerally-Fakim, Y. (2012). Genetic diversity in *Anthurium andraeanum* cultivars in Mauritius. **African Journal of Biotechnology,** 11, 16737-16744.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry,** 72, 248-254.

Freeman, S., Katan, T., & Shabi, E. (1998). Characterization *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits. **Plant Disease,** 82, 596-605.

Malehorn, D. E, Scott, K. J., & Shah, D. M. (1993). Structure and expression of a barley acidic beta-1,3-glucanase gene. **Plant Molecular Biology,** 22, 347-360.

Naher, L., Tan, S. G., Yusuf, U. K., Ho, C. L., & Siddiquee, S. (2012). Activities of chitinase enzymes in the oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) in interactions with pathogenic and non-pathogenic fungi. **Plant Omocs Journal,** 5, 333-336.

Somogyi, M. (1952). Notes on sugar determination. **The Journal of Biological Chemistry,** 195, 19-23.

Srisamoot, N., & Sootsuwan, K. (2016). Screening for bacterial blight resistance molecular marker of *Anthurium andreanum*. **RMUTSV Research Journal,** 8, 102-111.

Sutton, B. C. (1980). **The Coelomycetes: Fungi imperfecti with pycnidia, acervuli, and stromata.** Kew, Surrey, England: Commonwealth Mycological Institute.