บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการแยกเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์จากพืชสมุนไพร 8 ชนิด พบเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์จำนวน 87 ไอโซเลท จากรายงานของ Matsukuma *et al*. (1994) และ Okazaki *et al*. (1995) กล่าวว่า ความหลากหลายของเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์ที่อาศัยอยู่ในพืชหลายชนิดเป็นแบบ symbionts หรือ parasites โดยชนิดและปริมาณของเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์ที่พบในพืชขึ้นอยู่กับชนิดของพืช แหล่งของพื้นที่ปลูกพืช (Sardi *et al*., 1992) ตลอดจนปัจจัยทางสภาพแวดล้อมและภูมิอากาศ นอกจากนี้การมีเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์หรือไม่นั้นขึ้นอยู่กับอายุพืช ระยะการเจริญเติบโต ชนิดของดินที่ปลูกและฤดูกาล (วันวิสาข์, 2546) รวมทั้งขั้นตอนในการฆ่าเชื้อที่บริเวณผิวพืช ต้องฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ให้หมด เพื่อป้องกันเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการปกคลุมผิวพืช ทำให้เชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์เจริญออกมาไม่ได้ (Shimizu *et al*., 2000)

จากการศึกษาลักษณะการรียงตัวของสปอร์ (spore chains) ตามลักษณะของ Holt *et al*. (1994) ของเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์ทั้ง 87 ไอโซเลท พบว่าส่วนใหญ่จำนวน 54 ไอโซเลท จัดอยู่ในสกุล *Streptomyces* ซึ่งสอดคล้องกับรายงานที่ผ่านมา (Takao *et al*., 1995; Shimizu *et al*., 2000; Taechowisan, 2003; ปิยะธิดา, 2549) พบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากต้นพืชส่วนมากจัดอยู่ในสกุล *Streptomyces* จากนั้นทำการจัดกลุ่มโดยแบ่งตามชนิดของพืชอาศัย (Host plant) และลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ ลักษณะโคโลนี สี การสร้างรงควัตถุและรูปแบบการเรียงเส้นสายของสปอร์ที่แตกต่างกัน คือ แบบ Rectiflexibiles type แบบ Retinaculiaperti type และแบบ Spira type สามารถจัดได้ 18 ไอโซเลท ชื่อว่า SC1-SC18 และจากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อสเตรปโตมัยซีสเอนโดไฟท์ไอโซเลท SC2 SC14 และ SC16 ภายใต้กล้อง SEM พบว่า สปอร์มีผิวเรียบ (smooth surface) ลักษณะเป็นท่อนสั้น (dolifrom) และกลม (globose) เส้นสายสปอร์เป็นแบบ Spira type บิดเป็นเกลียวและแบบ Retinaculiaperti type ส่วนปลายม้วนคล้ายตะขอ จากลักษณะดังกล่าวสามารถจัดได้เบื้องต้นว่าอยู่ในสกุล *Streptomyces*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Shimizu *et al*. (2006) ตรวจลักษณะทางสัณฐานวิทยาของไอโซเลท MBR-37 และ MBR-38 ภายใต้กล้อง SEM พบว่า สปอร์มีผิวเรียบ เส้นสายสปอร์ของทั้ง 2 ไอโซเลท มีการเรียงแบบ Rectiflexibiles type ซึ่งมีสปอร์มากว่า 50 สปอร์ จึงจัดได้ว่าอยู่ในสกุล *Streptomyces* นอกจากนี้ Nishimura *et al*. (2002) พบว่า ไอโซเลท AOK-30 สปอร์มีผิวเรียบ ขนาด 0.4-0.6 ไมโครเมตร เส้นสายสปอร์เป็นแบบ Spira type จึงจัดได้ว่าอยู่ในสกุล *Streptomyces* อย่างไรก็ตาม การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยายังไม่เพียงพอต่อการจำแนกชนิดของเชื้อสเตรปโตมัยซีสเอนโดไฟท์ จึงควรมีการศึกษาด้านชีวเคมี เช่น การวิเคราะห์ 16S rDNA nucleotide sequence ของไอโซเลท AOK-30 สามารถจำแนกได้เป็นเชื้อ *Streptomyces durhamensis* เป็นต้น

การศึกษาครั้งนี้คัดเลือกเฉพาะเชื้อในสกุลสเตรปโตมัยซีส (*Streptomyces*) มาทดสอบ เนื่องจากเชื้อสกุลนี้มีคุณสมบัติโดนเด่นหลายประการ กล่าวคือ มีความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะและฮอร์โมน ช่วยกระตุ้นให้ต้นพืชมีการป้องกันตัวเองจากการเข้าทำลายของเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชนอกจากนี้ยังช่วยส่งเสริมความแข็งแรงและการเจริญเติบโตของพืชได้ดี (Marja, 2000; Shimizu *et al*.,2001; Kunoh, 2002; Cao *et al*.,2004; Sharifi *et al*.,2007) และจากการศึกษาที่ผ่านมา (Sharifi *et al*., 2007; Aghighi *et al*.,2006; Errakhi *et al*., 2007) พบว่า เชื้อ *Streptomyces* spp. มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเกิดโรคที่มีสาเหตุจากโรคทางดิน (soilborne) หลายชนิด เช่น เชื้อรา *Pythium aphanidermatum*, *Rhizoctonia solani* และ *Sclerotium rolfsii* สาเหตุของโรคเน่าคอดิน ฉะนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อสเตรปโตมัยซีสเอนโดไฟท์ในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคเน่าคอดินของกลุ่มผักกาด

การทดสอบความสามารถในการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อสเตรปโตมัยซีสเอนโดไฟท์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคเน่าคอดิน (damping-off) ของกลุ่มผักกาด พบว่าไอโซเลท SC11 และ SC14 สามารถยับยั้งเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้ที่ 81.88 และ 80.63 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไอโซเลท SC2 และ SC3 สามารถยับยั้งเชื้อรา *R. solani* ได้ที่ 81.62 และ 83.09 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับและไอโซเลท SC1 และ SC16 สามารถยับยั้งเชื้อรา *S. rolfsii* ได้ที่ 77.50 และ 70.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งสารปฏิชีวนะที่เชื้อสเตรปโตมัยซีสเอนโดไฟท์สร้างขึ้น อาจมีผลต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้แตกต่างกัน สอดคล้องกับรายงานของ Sardi *et al*. (1992) กล่าวว่า เชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์บางชนิดที่พบทั่วไปในธรรมชาติ จะสร้างสารปฏิชีวนะที่มีผลยับยั้งการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ 1-2 ชนิดเท่านั้น จัดเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะจำพวก narrow antimicrobial spectrum

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อสเตรปโตมัยซีสเอนโดไฟท์ในการควบคุมโรคเน่าคอดินที่เกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum*, *R. solani* และ *S. rolfsii* ในสภาพโรงเรือน พบว่าไอโซเลท SC14 SC2 และ SC16 สามารถควบคุมการเกิดโรคเน่าคอดินของผักกาดขาวปลีได้ 100 เปอร์เซ็นต์เท่ากัน ต้นกล้ามีความอุดมสมบูรณ์ ไม่แสดงอาการของโรค เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม สำหรับผักกาดฮ่องเต้ความสามารถในการควบคุมการเกิดโรคเน่าคอดินของทั้ง 3 ไอโซเลทแตกต่างกัน โดยไอโซเลท SC14 ควบคุมการเกิดโรคเน่าคอดิน สาเหตุจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้เท่ากับ 66.67 เปอร์เซ็นต์ และพบความรุนแรงของโรคอยู่ที่ระดับ 2 ส่วนไอโซเลท SC2 ควบคุมการเกิดโรคเน่าคอดิน สาเหตุจากเชื้อรา *R. solani* ได้เท่ากับ 83.33 เปอร์เซ็นต์และพบความรุนแรงของโรคอยู่ที่ระดับ 1 และไอโซเลท SC16 สามารถควบคุมการเกิดโรคเน่าคอดิน สาเหตุจากเชื้อรา *S. rolfsii* ได้เท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม จากการทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเน่าคอดินดังข้างต้น พบว่าเชื้อสเตรปโตมัยซีสเอนโดไฟท์ที่สามารถควบคุมการเกิดโรคได้ดีที่สุดในสภาพโรงเรือน เป็นไอโซเลทที่มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคในสภาพห้องปฏิบัติการได้ดีเป็นลำดับที่ 2 ซึ่งไอโซเลทที่ยับยั้งได้ดีที่สุดมีประสิทธิภาพในการควบคุมการเกิดโรคได้น้อยกว่า อาจเนื่องจากความสามารถในการปรับตัวตามสภาพแวดล้อมของเชื้อแต่ละไอโซเลทแตกต่างกัน สอดคล้องกับรายงานของ Rukayadi *et al.* (1995) กล่าวว่า ในการทดสอบสภาพแปลง เพื่อคัดเลือกเชื้อในการควบคุมโรค เชื้ออาจสูญเสียความสามารถในการเป็นปฏิปักษ์ เมื่อสภาพแวดล้อมเปลี่ยนแปลงและเชื้อจุลินทรีย์อาจมีการตอบสนองที่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิมได้ และจากการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *Streptomyces* spp. ในการควบคุมโรคเน่าคอดินที่ผ่านมาได้ประสบผลสำเร็จมากมาย อาทิ รายงานของ Sharifi *et al.* (2007) พบว่าเชื้อ *Streptomyces* ไอโซเลท 311 และ 321 มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. aphanidermatum* สาเหตุโรคเน่าคอดินของ cucurbit, Aghighi *et al.* (2006) รายงานว่าเชื้อ *Streptomyces* ไอโซเลท S2 และ C สามารถยับยั้งการเกิดโรคเน่าคอดินของ sugar beet ที่เกิดจากเชื้อรา *R. solani* ได้ รวมถึงรายงานของ Errakhi *et al.* (2007) พบว่าเชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Streptomyces spp. ไอโซเลท J-2 สามารถลดความรุนแรงของการเกิดโรคเน่าคอดินของ sugar beet ที่เกิดจากเชื้อรา *S. rolfsii* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

จากการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการใช้เชื้อสเตรปโตมัยซีสเอนโดไฟท์ในการยับยั้งการเกิดโรคเน่าคอดินของกล้าอายุ 14 วัน ด้วยวิธีคลุกเมล็ด การพ่นสปอร์แขวนลอย และการหยดสปอร์แขวนลอยลงในดิน จากนั้นปลูกเชื้อสาเหตุโรคแต่ละชนิดลงไป พบว่าการควบคุมเชื้อรา *P. aphanidermatum* ของกล้าผักกาดขาวปลีและกล้าผักกาดฮ่องเต้โดยเชื้อสเตรปโตมัยซีสเอนโดไฟท์ไอโซเลท SC14 ด้วยวิธีการคลุกเมล็ดและวิธีการหยดสปอร์แขวนลอยลงในดิน สามารถยับยั้งการเกิดโรคเน่าคอดินได้ดีที่สุดเท่ากับ 83.34 เปอร์เซ็นต์ เท่ากัน ตามลำดับ ส่วนการควบคุมเชื้อรา *R. solani* ของกล้าผักกาดขาวปลีและกล้าผักกาดฮ่องเต้โดยเชื้อสเตรปโตมัยซีสเอนโดไฟท์ไอโซเลทSC2 ด้วยวิธีการหยดสปอร์แขวนลอยลงในดินและการพ่นสปอร์แขวนลอย สามารถยับยั้งการเกิดโรคเน่าคอดินได้ดีที่สุดเท่ากับ 83.34 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับการควบคุมเชื้อรา *S. rolfsii* ของกล้าผักกาดขาวปลีและกล้าผักกาดฮ่องเต้โดยเชื้อสเตรปโตมัยซีสเอนโดไฟท์ไอโซเลท SC16 ด้วยวิธีการพ่นสปอร์แขวนลอยและวิธีการคลุกเมล็ด สามารถการยับยั้งการเกิดโรคเน่าดินได้ดีที่สุดเท่ากับ 91.67 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

นอกจากนั้นการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการใช้เชื้อสเตรปโตมัยซีสเอนโดไฟท์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้า พบว่า การปลูกเชื้อสเตรปโตมัยซีสเอนโดไฟท์ไอโซเลท SC14 ด้วยวิธีการหยดสปอร์แขวนลอยลงในดิน สามารถเพิ่มน้ำหนักสดและความกว้างใบของกล้าผักกาดฮ่องเต้คิดเป็น 25 และ 3.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม แต่กล้าผักกาดขาวปลีมีความสมบูรณ์ต้นและการเจริญเติบโตน้อยกว่าชุดควบคุม แต่ความหนาแน่นรากของกล้าผักจากการปลูกเชื้อทั้ง 3 วิธี มีความหนาแน่นรากมากกว่าชุดควบคุม ส่วนวิธีการหยดสปอร์แขวนลอยลงในดินด้วยเชื้อสเตรปโตมัยซีสเอนโดไฟท์ไอโซเลท SC2 สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโต ความสมบูรณ์ต้น ความหนาแน่นราก เพิ่มน้ำหนักสดของกล้าผักกาดขาวปลีและกล้าผักกาดฮ่องเต้ได้คิดเป็น 17.78 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เพิ่มความกว้างใบคิดเป็น 16.85 และ 27.27 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม สำหรับวิธีการหยดสปอร์แขวนลอยลงในดินด้วยเชื้อ สเตรปโตมัยซีสเอนโดไฟท์ไอโซเลท SC16 สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโต ความสมบูรณ์ต้น ความหนาแน่นราก เพิ่มน้ำหนักสดของกล้าผักกาดขาวปลีและกล้าผักกาดฮ่องเต้ได้คิด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เป็น 17.78 และ 62.5เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เพิ่มความกว้างใบคิดเป็น 15.17 และ 24.48 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม จากการศึกษาดังกล่าวสามารถสรุปได้ว่า วิธีการหยดสปอร์แขวนลอยลงในดิน สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้าผักกาดขาวปลีและผักกาดฮ่องเต้ได้มากกว่าชุดควบคุม โดยเฉพาะความหนาแน่นรากของกล้าผักทั้ง 2 ชนิด พบว่า กล้าผักที่ปลูกเชื้อสเตรปโตมัยซีสเอนโดไฟท์ด้วยวิธีการหยดสปอร์แขวนลอยลงในดินมีความหนาแน่นของรากมากว่าวิธีอื่นและชุดควบคุม สอดคล้องกับรายงานของ Kunoh (2002) กล่าวว่าเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์อาจมีบทบาทต่อความสมบูรณ์และการพัฒนาของพืช เนื่องจากเชื้อสามารถส่งผลต่อการเจริญของพืช โดยการเพิ่มความสามารถในการดูดซึมสารอาหารหรือโดยการผลิตสารปฏิชีวนะ เพื่อส่งเสริมการเจริญของพืชได้ นอกจากนี้ Marja (2000) รายงานว่า เชื้อ *Streptomyces griseoviridis* สามารถผลิตสาร Auxin (indole-3-acetic acid, IAA) ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่ช่วยกระตุ้นการเจริญ ความแข็งแรงและเพิ่มผลผลิตของพืชได้ พร้อมกับ Sharifi *et al.* (2007) รายงานว่า *Streptomyces* ไอโซเลท 311 สามารถควบคุมโรคเน่าคอดิน ของเมลอนที่เกิดจากเชื้อรา *P. aphanidermatum* ได้และส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นเมลอน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ตลอดจนรายงานของ Cao *et al*. (2004) กล่าวว่า เชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท S30 สามารถเพิ่มน้ำหนักสดของกล้ามะเขือเทศได้มากกว่าชุดควบคุม 26.12 เปอร์เซ็นต์ และในปี ค.ศ. 2005 พบว่า ไอโซเลท S96 สามารถลดความรุนแรงของโรคได้แล้วยังช่วยเพิ่มน้ำหนักสดของกล้วยด้วย นอกจากนั้น Aghighi *et al.* (2006) พบว่า ไอโซเลท S2 และ C สามารถยับยั้งการเกิดโรคเน่าคอดินของ sugar beet ได้ และยังเพิ่มน้ำหนักแห้งของลำต้นและราก และเปอร์เซ็นต์การงอกได้อีกด้วย

แต่วิธีการหยดสปอร์แขวนลอยลงในดินดังกล่าวอาจมีความยุ่งยากในการนำไปใช้จริงในสภาพแปลง จึงควรมีการปรับปรุงวิธีให้สอดคล้องกับความสะดวกและความปลอดภัยในการนำไปใช้

จากการศึกษาความสามารถในการครอบครองใบและรากพืช (leaf and root colonization) ของเชื้อสเตรปโตมัยซีสเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากพืชสมุนไพร พบว่าไอโซเลท SC2 SC14 และ SC16 สามารถเจริญครอบครองใบและรากได้ โดยเฉพาะไอโซเลท SC16 สามารถเจริญปกคลุมบริเวณผิวใบและรากของผักกาดฮ่องเต้ได้มากที่สุด พบเชื้อลักษณะเป็นผงสีขาวเจริญปกคลุมบริเวณผิวใบและผิวรากพืช และจากการตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่อง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กราด พบว่าเชื้อสเตรปโตมัยซีสเอนโดไฟท์ไอโซเลท SC16 สามารถสร้างเส้นแบบ substrate mycelium และ aerial mycelium ปกคลุมบริเวณผิวใบและรากพืช ตลอดจนการเจริญเข้าไปในปากใบพืชด้วย ชี้ให้เห็นได้ว่าเชื้อสเตรปโตมัยซีสสามารถเข้าไปเจริญในพืชได้ ตรงกับรายงายของ Kortemaa *et al.* (1994) กล่าวว่า เชื้อ *Streptomyces griseoviridis* ที่แยกได้จากพีทมอส สามารถครอบครองรากของเทอร์นิพ (*Brassica rapa* subsp. *oleifera*) ได้มากถึง 72 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ Shimizu *et al*. (2001) สามารถตรวจพบการเจริญของเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท R-5 ภายในใบพืช ซึ่งจะสามารถป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อรา *Pestalotiopsis sydowiana* สาเหตุโรคใบไหม้สีเทาในระยะต้นกล้าของ Rhododendron ได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved