บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. การแยกและจำแนกชนิดของแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์

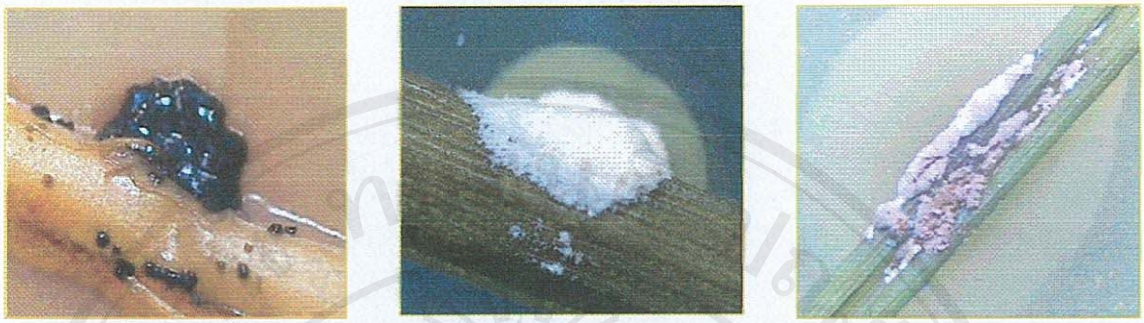
1.1 การแยกเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์

จากการแยกเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์จากต้นข้าวแต่ละพันธุ์และจากพื้นที่ต่างๆกันพบว่า หลังจากการบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ เชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์เริ่มเจริญออกมาจากชิ้นพืช ซึ่งมีลักษณะการเจริญแตกต่างกัน (ภาพที่ 4) โดยสามารถแยกเชื้อ แอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์จากต้นข้าวได้รวม 16 ไอโซเลท จากต้นข้าว 5 พันธุ์ ที่เก็บจากจากสถานีวิจัยการเกษตรเขตชลประทาน แปลงปลูกข้าวของเกษตรกรเขตอำเภอสะเมิง อ.สันป่าตอง อ.สันทราย จังหวัดเชียงใหม่ และแปลงทดลองภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่แบ่งออกเป็นพันธุ์เหมยนอง 5 ไอโซเลท (31.25 เปอร์เซ็นต์) KMST 4 ไอโซเลท (25 เปอร์เซ็นต์) ข้าวเหนียวขาว 3 ไอโซเลท (18.75 เปอร์เซ็นต์) ข้าวเหนียวสันป่าตอง 3 ไอโซเลท (18.75 เปอร์เซ็นต์) และหอมมะลิ 105 1 ไอโซเลท (6.25 เปอร์เซ็นต์) เมื่อเปรียบเทียบจำนวนโคโลนีที่เกิดจากส่วนต่างๆของต้นข้าว (colonization rate) พบว่า ส่วนใหญ่แยกได้จากรากข้าว ซึ่งพบเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ทั้งหมด 9 ไอโซเลท (56.25 เปอร์เซ็นต์) ส่วนเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากใบและลำต้นมี 6 และ 1 ไอโซเลท หรือ 37.5 และ 6.25 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

เชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ที่แยกได้สามารถแบ่งออกเป็นไอโซเลทต่างๆ ได้ดังต่อไปนี้

1. ข้าวพันธุ์เหมยนอง แบ่งออกเป็น MN1, MN2, MN4, MN5 และ MN7
2. ข้าวพันธุ์ KMST แบ่งออกเป็น KMST1, KMST 2, KMST3 และ KMST5
3. ข้าวพันธุ์ข้าวเหนียวขาว แบ่งออกเป็น WSR1,WSR2 และ WSR3
4. ข้าวพันธุ์ข้าวเหนียวสันป่าตอง แบ่งออกเป็น SPT1, SPT3 และ SPT8
5. ข้าวพันธุ์หอมมะลิ 105 แบ่งออกเป็น WM105

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 4 ลักษณะการเจริญออกมาจากชิ้นพืชของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์

ตารางที่ 1 จำนวนไอโซเลทของแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ที่เจริญจากเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ของต้นข้าวในแต่ละพันธุ์ที่เก็บจากพื้นที่ต่างๆ

ตัวอย่างข้าว	จำนวนไอโซเลทที่เอนโดไฟท์เจริญขึ้นมา			colonization rate [1](%)
	ราก	ใบ	ลำต้น	
ข้าวเหนียวขาว	1	1	1	18.75
หอมมะลิ 105	1	-	-	6.25
ข้าวเหนียวสันป่าตอง	3	-	-	18.75
เหมยนอง	1	4	-	31.25
KMST	3	1	-	25
CR (%)[2]	56.25	6.25	37.50	100

CR (Colonization rate [1]) = เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ของจำนวนโคโลนีของแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ที่เกิดจากส่วนต่างๆของต้นข้าว

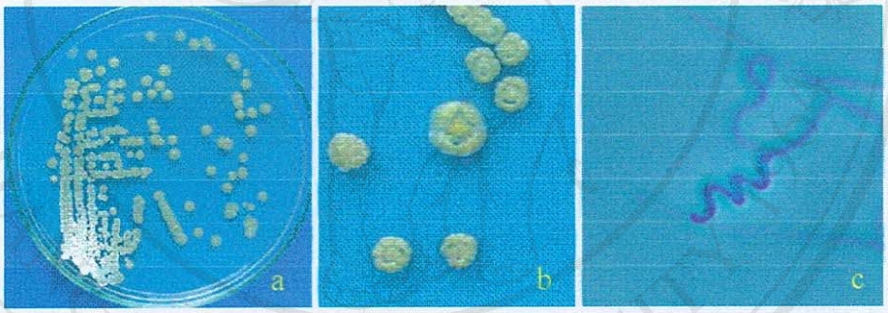
CR (Colonization rate [2]) = เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ของจำนวนโคโลนีของแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ที่เกิดจากข้าวพันธุ์ต่างๆ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.2 การจำแนกชนิดของแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่มองเห็นด้วยตาเปล่าและลักษณะของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ที่แยกได้มีลักษณะดังนี้

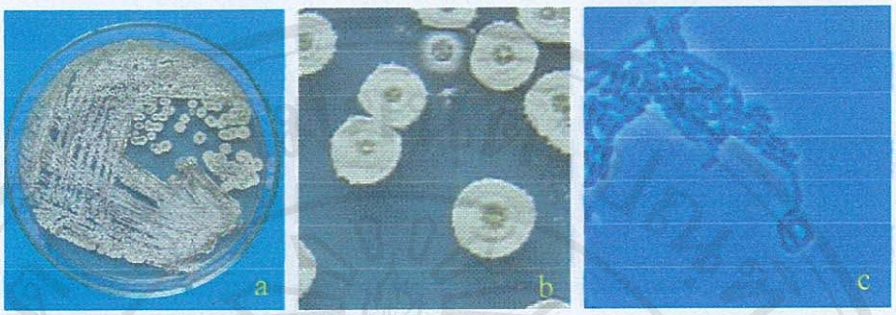
ไอโซเลท MN1 ลักษณะโคโลนีมีสีเหลือง substrate mycelium มีสีเหลืองเกาะยึดติดแน่นกับผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ aerial mycelium สร้างสปอร์คล้ายผงแป้งสีขาวปกคลุมด้านบนของ substrate mycelium ไม่พบการสร้างโครงสร้างสืบพันธุ์อย่างอื่นนอกจากสปอร์ เมื่อส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์สร้างสปอร์ต่อกันเป็นสายยาวคล้ายลูกโซ่ บิดเป็นเกลียวคล้ายสปริง (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 ลักษณะโคโลนีและรูปแบบการสร้างสปอร์ของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ ไอโซเลท MN1 (a และ b = ลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้ออายุ 7 วัน, c = ลักษณะของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า)

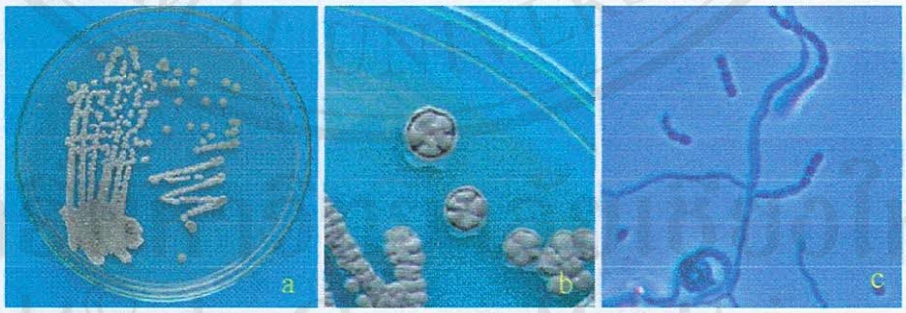
ไอโซเลท MN2 ลักษณะโคโลนีมีสีเหลืองครีม ผิวของโคโลนีย่น substrate mycelium มีสีเหลืองเกาะยึดติดแน่นกับผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ aerial mycelium สร้างสปอร์คล้ายผงแป้งสีขาวปกคลุมด้านบนของ substrate mycelium เมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองน้ำตาลไม่พบการสร้างโครงสร้างสืบพันธุ์ เมื่อส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์สร้างสปอร์ต่อกันเป็นสายยาวคล้ายลูกโซ่ (ภาพที่ 6)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 6 ลักษณะโคโลนีและรูปแบบการสร้างสปอร์ของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ไอโซเลท MN2 (a และ b = ลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้ออายุ 7 วัน, c = ลักษณะของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า)

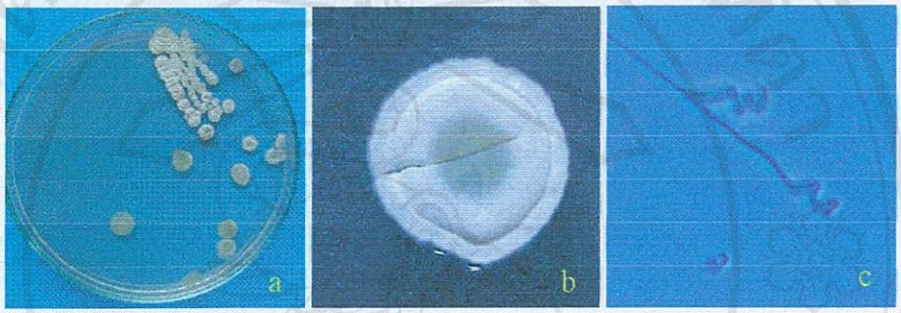
ไอโซเลท MN4 ลักษณะโคโลนีมีสีน้ำตาลเทา substrate mycelium มีสีเหลืองเกาะยึดติดแน่นกับผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ aerial mycelium สร้างสปอร์คล้ายผงแป้งสีขาวปกคลุมด้านบนของ substrate mycelium เมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลไม่พบการสร้างโครงสร้างสืบพันธุ์อย่างอื่น เมื่อส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์สร้างสปอร์ต่อกันเป็นสายยาวคล้ายลูกโซ่ประมาณ 8 – 20 สปอร์ (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 ลักษณะโคโลนีและรูปแบบการสร้างสปอร์ของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ไอโซเลท MN4 (a และ b = ลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้ออายุ 7 วัน, c = ลักษณะของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

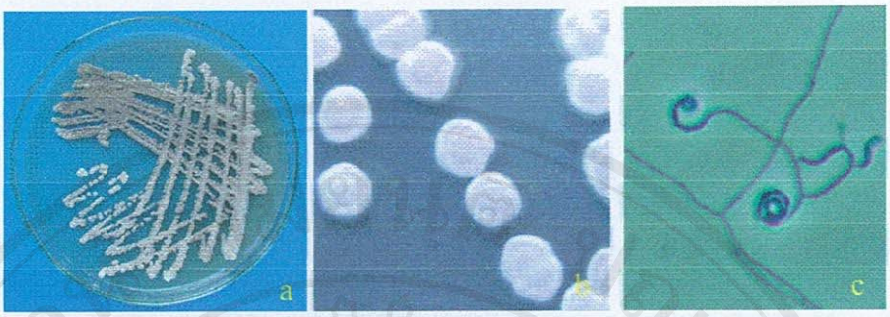
ไอโซเลท MN5 ลักษณะโคโลนีมีสีขาวครีม ผิวโคโลนีย่นเล็กน้อย substrate mycelium มีสีเหลืองเกาะยึดติดแน่นกับผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ aerial mycelium สร้างสปอร์คล้ายผงแป้งสีขาวปกคลุมด้านบนของ substrate mycelium ไม่พบการสร้างโครงสร้างสืบพันธุ์อย่างอื่น เมื่อส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์สร้างสปอร์ต่อกันเป็นสายยาวคล้ายลูกโซ่ บิดเป็นเกลียวคล้ายสปริง (ภาพที่ 8)



ภาพที่ 8 ลักษณะโคโลนีและรูปแบบการสร้างสปอร์ของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ไอโซเลท MN5 (a และ b = ลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้ออายุ 7 วัน, c = ลักษณะของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า)

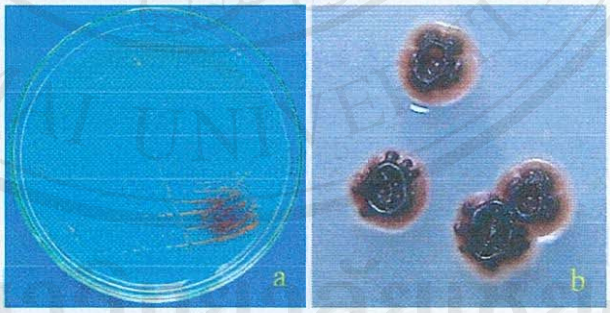
ไอโซเลท MN7 ลักษณะโคโลนีมีสีขาวครีม ผิวโคโลนีเรียบ substrate mycelium มีสีขาวครีมเกาะยึดติดแน่นกับผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ aerial mycelium สร้างสปอร์คล้ายผงแป้งสีขาวปกคลุมด้านบนของ substrate mycelium เมื่อสปอร์แก่จะเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาลเทา ไม่พบการสร้างโครงสร้างสืบพันธุ์อย่างอื่น เมื่อส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์สร้างสปอร์ต่อกันเป็นสายยาวคล้ายลูกโซ่ ขดเป็นวงกลม (ภาพที่ 9)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 9 ลักษณะโคโลนีและรูปแบบการสร้างสปอร์ของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ไอโซเลท MN7 (a และ b = ลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้ออายุ 7 วัน, c = ลักษณะของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า)

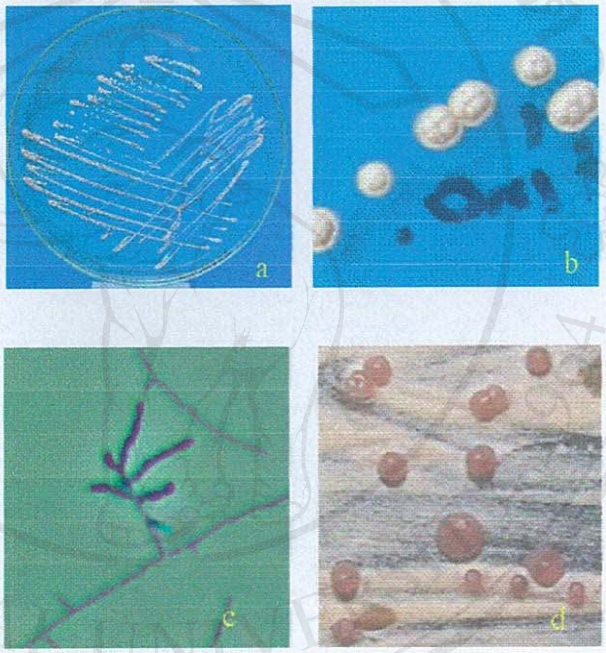
ไอโซเลท KMST1 ลักษณะโคโลนีมีสีแดงเข้มเกือบดำ ผิวของโคโลนีย่นเป็นจีบบริเวณขอบ substrate mycelium มีสีเหลืองอ่อนเมื่อโคโลนีเริ่มเจริญต่อมาจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดงเข้มยึดติดแน่นกับผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ aerial mycelium ไม่พบการสร้างสปอร์ ไม่พบการสร้างโครงสร้างสืบพันธุ์อย่างอื่น สร้าง pigment สีแดงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า (ภาพที่ 10)



ภาพที่ 10 ลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ไอโซเลท KMST1 (a และ b = ลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้ออายุ 7 วัน)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

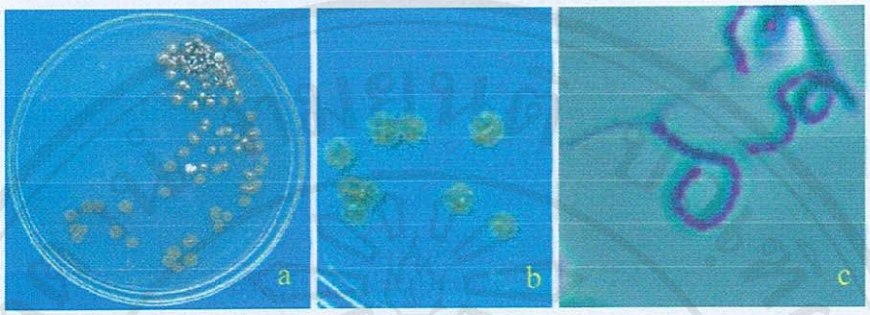
ไอโซเลท KMST2 ลักษณะโคโลนีมีสีส้มอ่อน ผิวโคโลนีย่นเป็นจีบบริเวณกลางโคโลนี substrate mycelium มีสีส้มเกาะยึดติดแน่นกับผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ aerial mycelium สร้างสปอร์คล้ายผงแป้งปกคลุมด้านบนของ substrate mycelium เมื่อเลี้ยงเชื้อนี้เป็นเวลานานพบโครงสร้างคล้ายหยดน้ำอยู่บนโคโลนี เมื่อส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์สร้างสปอร์ต่อกันเป็นสายประมาณ 3-6 สปอร์คล้ายลูกโซ่ สปอร์เกิดเป็นกลุ่มใกล้ๆ กันบน arial mycelium (ภาพที่ 11)



ภาพที่ 11 ลักษณะโคโลนีและรูปแบบการสร้างสปอร์ของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ไอโซเลท KMST2 (a b และ d = ลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้ออายุ 7 วัน, c = ลักษณะของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า)

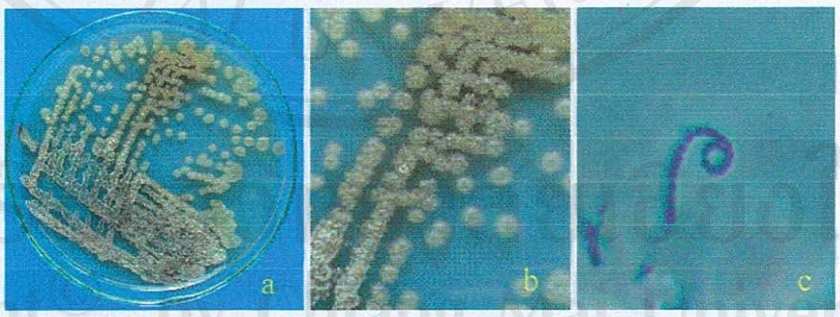
ไอโซเลท KMST3 ลักษณะโคโลนีมีสีเหลืองน้ำตาลอ่อน ผิวโคโลนีย่นเป็นจีบบริเวณกลางโคโลนี substrate mycelium มีสีเหลืองเกาะยึดติดแน่นกับผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ aerial mycelium สร้างสปอร์สีขาวคล้ายผงแป้งปกคลุมด้านบนของ substrate mycelium บริเวณกลางโคโลนี เมื่อเลี้ยงเชื้อนี้เป็นเวลานานพบว่าสร้าง pigment สีน้ำตาล เมื่อส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์สร้างสปอร์ต่อกันเป็นสายยาวคล้ายลูกโซ่ (ภาพที่ 12)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 12 ลักษณะโคโลนีและรูปแบบการสร้างสปอร์ของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ไอโซเลท KMST3 (a และ b = ลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้ออายุ 7 วัน, c = ลักษณะของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า)

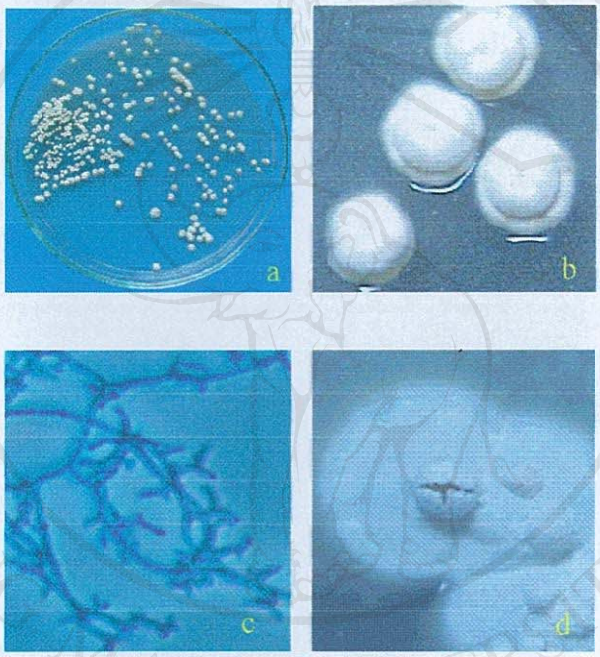
ไอโซเลท KMST5 ลักษณะโคโลนีมีสีเหลืองน้ำตาลอ่อน ผิวโคโลนีย่นเป็นจีบบริเวณกลางโคโลนี substrate mycelium มีสีเหลืองเกาะยึดติดแน่นกับผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ aerial mycelium สร้างสปอร์สีขาวคล้ายผงแป้งปกคลุมด้านบนของ substrate mycelium บริเวณกลางโคโลนี เมื่อเลี้ยงเชื้อนี้เป็นเวลานานจะสร้าง pigment สีน้ำตาล เมื่อส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์สร้างสปอร์ต่อกันเป็นสายยาวคล้ายลูกโซ่ (ภาพที่ 13)



ภาพที่ 13 ลักษณะโคโลนีและรูปแบบการสร้างสปอร์ของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ไอโซเลท KMST5 (a และ b = ลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้ออายุ 7 วัน, c = ลักษณะของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

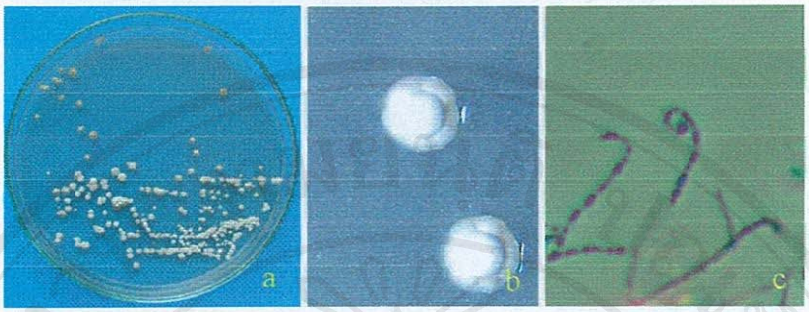
ไอโซเลท WSR1 ลักษณะโคโลนีมีสีขาวครีม ผิวโคโลนีย่นเป็นจีบบริเวณขอบของโคโลนี substrate mycelium มีสีขาวเกาะยึดติดแน่นกับผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ aerial mycelium สร้างสปอร์สีขาวคล้ายผงแป้งปกคลุมด้านบนของ substrate mycelium เมื่อเลี้ยงเชื้อนี้เป็นเวลานานจะสร้างโครงสร้างเป็นกระเปราะ เมื่อส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์สร้างสปอร์ต่อกันประมาณ 2-3 สปอร์ (ภาพที่ 14)



ภาพที่ 14 ลักษณะโคโลนีและรูปแบบการสร้างสปอร์ของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ไอโซเลท WSR1 (a b และ d = ลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้ออายุ 7 วัน, c = ลักษณะของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า)

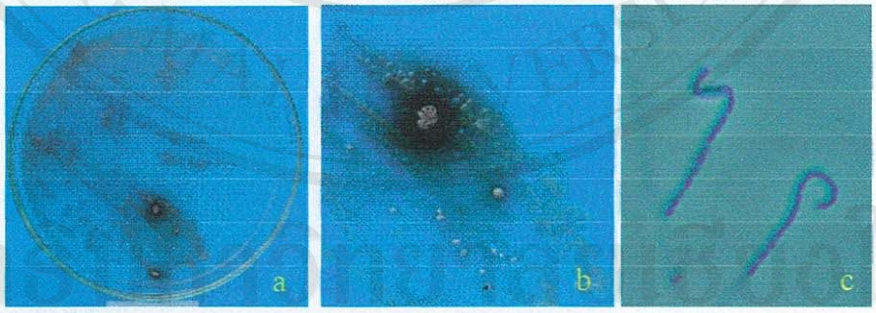
ไอโซเลท WSR2 ลักษณะโคโลนีมีสีขาวครีม ผิวโคโลนีย่นเป็นจีบบริเวณขอบของโคโลนี substrate mycelium มีสีขาวเกาะยึดติดแน่นกับผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ aerial mycelium สร้างสปอร์สีขาวคล้ายผงแป้งปกคลุมด้านบนของ substrate mycelium เมื่อเลี้ยงเชื้อนี้เป็นเวลานานจะสร้างโครงสร้างเป็นกระเปราะ เมื่อส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์สร้างสปอร์ต่อกันเป็นสายประมาณ 5-20 สปอร์ (ภาพที่ 15)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 15 ลักษณะโคโลนีและรูปแบบการสร้างสปอร์ของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ไอโซเลท WSR2 (a และ b = ลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้ออายุ 7 วัน, c = ลักษณะของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า)

ไอโซเลท WSR3 ลักษณะโคโลนีมีสีเทา ผิวโคโลนีย่นเป็นจีบบริเวณขอบของโคโลนี substrate mycelium มีสีเหลืองเกาะยึดติดแน่นกับผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ aerial mycelium สร้างสปอร์สีขาวคล้ายผงแป้งปกคลุมด้านบนของ substrate mycelium เมื่อเลี้ยงเชื้อนี้เป็นเวลานานสปอร์จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล สร้าง pigment สีน้ำตาลดำ เมื่อส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์สร้างสปอร์ต่อกันเป็นสายคล้ายโซ่ (ภาพที่ 16)



ภาพที่ 16 ลักษณะโคโลนีและรูปแบบการสร้างสปอร์ของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ไอโซเลท WSR3 (a และ b = ลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้ออายุ 7 วัน, c = ลักษณะของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ไอโซเลท SPT1 ลักษณะโคโลนีมีสีส้มอ่อน ผิวโคโลนีย่นเป็นจีบบริเวณขอบของโคโลนี substrate mycelium มีสีส้มยึดเกาะติดแน่นกับผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ aerial mycelium สร้างสปอร์สีขาวคล้ายผงแป้งปกคลุมด้านบนของ substrate mycelium เมื่อส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์สร้างสปอร์ต่อกันเป็นสายคล้ายโซ่ประมาณ 5-20 สปอร์ (ภาพที่ 17)

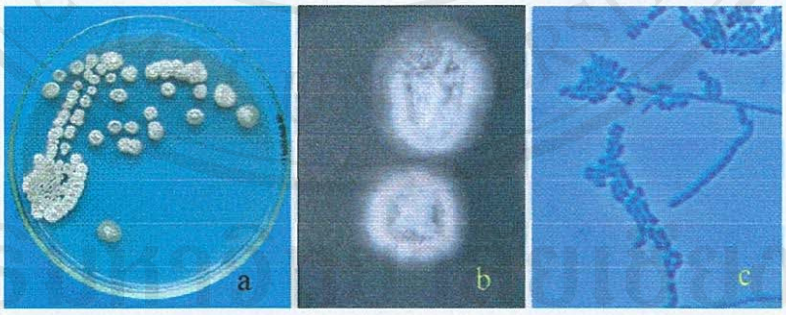
ภาพที่ 17 ลักษณะโคโลนีและรูปแบบการสร้างสปอร์ของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ไอโซเลท SPT1 (a และ b = ลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้ออายุ 7 วัน, c = ลักษณะของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า)

ไอโซเลท SPT3 ลักษณะโคโลนีมีสีน้ำตาลเข้ม เริ่มการเจริญมีโคโลนีสีน้ำตาลอ่อน ผิวโคโลนีย่นเป็นจีบบริเวณขอบของโคโลนี เรียบคล้ายแผ่นหนัง substrate mycelium มีสีเหลืองเกาะยึดติดแน่นกับผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ aerial mycelium สร้างสปอร์สีขาวคล้ายผงแป้งปกคลุมด้านบนของ substrate mycelium สร้าง pigment สีน้ำตาลดำ เมื่อส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์สร้างสปอร์ต่อกันประมาณ 2- 3 สปอร์ (ภาพที่ 18)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 18 ลักษณะโคโลนีและรูปแบบการสร้างสปอร์ของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ไอโซเลท SPT3 (a และ b = ลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้ออายุ 7 วัน, c = ลักษณะของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า)

ไอโซเลท SPT8 ลักษณะโคโลนีมีสีเหลืองอ่อน ผิวโคโลนีย่นเป็นจีบบริเวณกลางของโคโลนี substrate mycelium มีสีเหลืองเกาะยึดติดแน่นกับผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ aerial mycelium สร้างสปอร์สีขาวคล้ายผงแป้งปกคลุมด้านบนของ substrate mycelium ไม่สร้าง pigment บนอาหาร เมื่อส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์มีสร้างสปอร์โดยการแตกหักของเส้นใยต่อกันเป็นสาย (ภาพที่ 19)



ภาพที่ 19 ลักษณะโคโลนีและรูปแบบการสร้างสปอร์ของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ไอโซเลท SPT8 (a และ b = ลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้ออายุ 7 วัน, c = ลักษณะของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ไอโซเลท WM105 ลักษณะโคโลนีมีสีน้ำตาลเข้ม เริ่มการเจริญมีโคโลนีสีน้ำตาลอ่อน ผิวโคโลนีย่นเป็นจีบบริเวณขอบของโคโลนี เรียบคล้ายแผ่นหนัง substrate mycelium มีสีเหลืองเกาะยึดติดแน่นกับผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ aerial mycelium สร้างสปอร์สีขาวคล้ายผงแป้งปกคลุมด้านบนของ substrate mycelium สร้าง pigment สีน้ำตาลดำ เมื่อส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่าเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์สร้างสปอร์ต่อกันประมาณ 2- 3 สปอร์ (ภาพที่ 20)

ภาพที่ 20 ลักษณะโคโลนีและรูปแบบการสร้างสปอร์ของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ไอโซเลท WM105 (a และ b = ลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้ออายุ 7 วัน, c = ลักษณะของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า)

จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้แก่ ลักษณะโคโลนี และรูปแบบการสร้างสปอร์สามารถจัดจำแนกและบ่งชนิดของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ดังกล่าวได้ว่าเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ทุกไอโซเลทจัดอยู่ใน *Streptomyces* sp. ยกเว้น ไอโซเลท KMST 1 ไม่สามารถบ่งชนิดได้เนื่องจากไม่พบการสร้างสปอร์

2. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช

จากการนำเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากต้นข้าวมาทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 5 ชนิด ทำการทดสอบโดยวิธี Dual Culture โดยบันทึกผล เมื่อเชื้อราสาเหตุโรคที่ใช้เป็นชุดควบคุมเจริญเกือบเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำผลมาทำการวิเคราะห์ทางสถิติ (ดังตารางที่ 2 ตารางที่ 3 และ ภาพที่ 21)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 2 ผลการยับยั้งของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอน โดไฟท์16 ไอโซเลท โดยเปรียบเทียบขนาดความกว้างระหว่างขอบของโคโลนีเชื้อราสาเหตุกับขอบโคโลนีของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์

Endophytic Actinomycetes isolates ต่างๆ	ขนาดความกว้างระหว่างขอบของโคโลนีเชื้อราสาเหตุกับขอบโคโลนีของเชื้อแอคทิโนไมซิท (มม.)[1]				
	Pyricularia oryzae	*Colletotrichum gloeosporioides*	*Phytophthora infestans*	*Fusarium oxysporum*	*Rhizoctonia solani*
MN1	2.25 d	0.00 h	0.00 e	0.00 h	0.00 e
MN2	22.75 a	21.50 a	10.75 b	14.25 a	12.75 a
MN4	2.25 d	0.00 h	0.00 e	7.75 c	0.00 e
MN5	0.00 e	0.00 h	0.00 e	0.00 h	0.00 e
MN7	21.75 a	16.00 c	5.00 d	4.00 d	0.00 e
KMST1	0.00 e	0.00 h	0.00 e	0.00 h	0.00 e
KMST2	0.00 e	8.75 g	0.00 e	0.00 h	0.00 e
KMST3	21.50 a	12.00 e	16.25 a	0.00 h	6.75 b
KMST5	0.00 e	0.00 h	0.00 e	0.00 h	0.00 e
WSR1	7.50 b	17.25 b	0.00 e	4.00 d	6.25 c
WSR2	7.75 b	14.00 d	16.00 a	3.00 e	4.00 c
WSR3	0.00 e	5.20 h	15.25 a	2.25 g	0.00 e
SPT1	1.25 e	0.00 h	0.00 e	2.50 fg	0.00 e
SPT3	6.00 c	0.00 h	0.00 e	0.00 h	0.00 e
SPT8	0.00 e	0.00 h	0.00 e	0.00 h	0.00 e
WM105	17.50 b	11.25 f	6.00 c	10.75 b	3.75 d
control	0.00 e	0.00 h	0.00 e	0.00 h	0.00 e
CV (%)	1.01	0.07	1.12	1.23	2.71

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ

[2] ตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ความเชื่อมั่น 95 % (ภาคผนวก ข)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

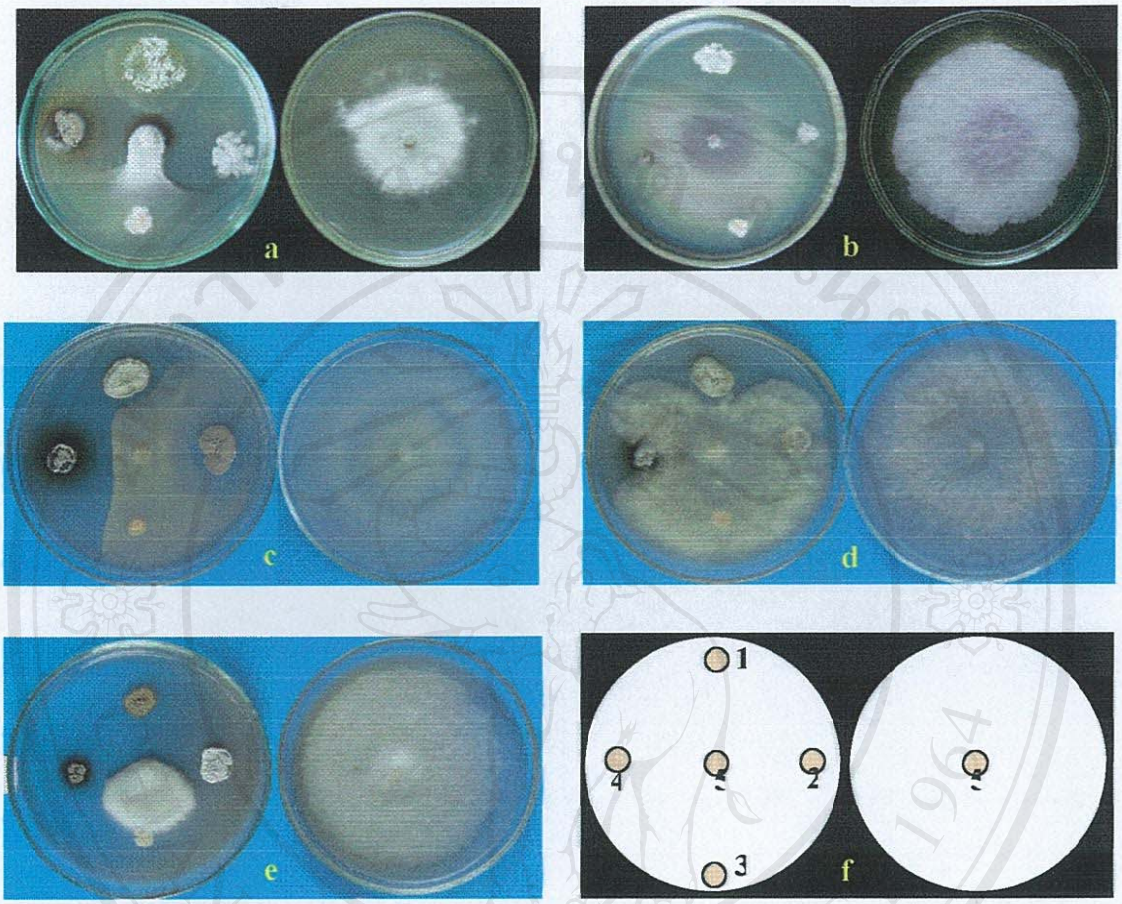
ตารางที่ 3 ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ 16 ไอโซเลท ต่อเชื้อราสาเหตุโรคต่างๆ 5 ชนิด

Endophytic Actinomycetes isolates ต่างๆ	เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (%)				
	Pyricularia oryzae	*Colletotrichum gloeosporioides*	*Phytophthora infestans*	*Fusarium oxysporum*	*Rhizoctonia solani*
MN1	9.00 e	0.00 i	0.00 e	0.00 g	0.00 d
MN2	91.00 a	86.00 a	43.00 b	57.00 a	51.00 a
MN4	9.00 e	0.00 i	0.00 e	31.00 c	0.00 d
MN5	0.00 g	0.00 i	0.00 e	0.00 g	0.00 d
MN7	87.00 a	64.00 c	20.00 d	16.00 d	0.00 d
KMST1	0.00 g	0.00 i	0.00 e	0.00 g	0.00 d
KMST2	0.00 g	35.00 g	0.00 e	0.00 g	0.00 d
KMST3	86.00 a	48.00 e	65.00 a	0.00 g	27.00 b
KMST5	0.00 g	0.00 i	0.00 e	0.00 g	0.00 d
WSR1	30.00 c	69.00 b	0.00 e	16.00 d	25.00 b
WSR2	31.00 c	56.00 d	64.00 a	12.00 e	16.00 c
WSR3	0.00 g	21.00 h	61.00 a	9.00 f	0.00 d
SPT1	5.00 f	0.00 i	0.00 e	10.00 ef	0.00 d
SPT3	24.00 d	0.00 i	0.00 e	0.00 g	0.00 d
SPT8	0.00 g	0.00 i	0.00 e	0.00 g	0.00 d
WM105	70.00 b	45.00 f	24.00 c	43.00 b	15.00 c
control	0.00 g	0.00 i	0.00 e	0.00 g	0.00 d
CV (%)	1.83	1.02	1.64	2.31	1.58

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ

[2] ตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan' s Multiple Range Test ที่ความเชื่อมั่น 95 % (ภาคผนวก ข)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 21 การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืช 5 ชนิด โดยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท MN2 KMST3 KMST2 และ MN7 (a = เชื้อแอคทิโนไมซิทร่วมกับเชื้อ *Pyricularia oryzae,* b = เชื้อแอคทิโนไมซิทร่วมกับเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides,* c = เชื้อแอคทิโนไมซิทร่วมกับเชื้อ *Phytophthora infestans,* d = เชื้อแอคทิโนไมซิทร่วมกับเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* e = เชื้อแอคทิโนไมซิทร่วมกับเชื้อ *Rhizoctonia solani* และ f = แผนภาพการวางเชื้อราสาเหตุโรคและเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ, 1 = MN2, 2 = KMST3, 3 = KMST2, 4 = MN7 และ 5 = เชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ใช้ทดสอบ)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ในการยับยั้งเชื้อรา *Pyricularia oryzae* พบว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท MN2, MN7 และ KMST3 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงสุดคือ 91, 87 และ 86 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งถือได้ว่ามีประสิทธิภาพการยับยั้งอยู่ในระดับสูงมาก โดยเชื้อสร้าง clear zone กว้าง 22.70, 21.75 และ 21.50 มิลลิเมตรถือได้ว่ามีความแตกต่างทางสถิติกับเชื้อแอคทิโนไมซิทตัวอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท WM105 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจัดได้ว่ามีประสิทธิภาพการยับยั้งสูงคือมีความกว้าง clear zone เท่ากับ 17.50, 7.75 และ 7.50 ตามลำดับ ส่วนเชื้อแอคทิโนไมซิทตัวอื่นๆถือว่ามีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคบ้างแต่จัดอยู่ในระดับต่ำมากคือน้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์

ในการยับยั้งเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* พบว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท MN2 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงสุดคือ 86 เปอร์เซ็นต์ (ประสิทธิภาพการยับยั้งสูงมาก) โดยเชื้อสร้าง clear zone กว้าง 21.50 มิลลิเมตรถือได้ว่ามีความแตกต่างทางสถิติกับเชื้อแอคทิโนไมซิทตัวอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท WSR1 MN7 และ WSR2 ซึ่งมีความกว้าง clear zone เท่ากับ 17.25, 16.00 และ 14.00 มิลลิเมตรตามลำดับ และมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 69 64 และ 56 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแสดงว่ามีประสิทธิภาพการยับยั้งระดับปานกลาง ส่วนเชื้อแอคทิโนไมซิทตัวอื่นๆมีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคบ้างแต่จัดอยู่ในระดับต่ำคือน้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์

ในการยับยั้งเชื้อรา *Phytophthora infestans* พบว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท KMST3 WSR 2 และ WSR3 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงสุดคือ 65, 64 และ 61 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ประสิทธิภาพการยับยั้งปานกลาง)โดยเชื้อสร้าง clear zone กว้าง 16.25 16.00 และ 15.25 มิลลิเมตรตามลำดับ ถือได้ว่ามีความแตกต่างทางสถิติกับเชื้อแอคทิโนไมซิทตัวอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท MN2 ซึ่งมีความกว้าง clear zone เท่ากับ 10.75 มิลลิเมตร มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 43 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแสดงว่ามีประสิทธิภาพการยับยั้งต่ำ ส่วนเชื้อแอคทิโนไมซิทตัวอื่นๆ พบว่าไม่มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคเมื่อเทียบกับชุดควบคุม

ในการยับยั้งเชื้อ *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* พบว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท MN2 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงสุดคือ 57 เปอร์เซ็นต์ (ประสิทธิภาพการยับยั้งปานกลาง) โดยเชื้อสร้าง clear zone กว้าง 14.25 มิลลิเมตรถือได้ว่ามีความแตกต่างทางสถิติกับเชื้อแอคทิโนไมซิทตัวอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท WM105 ซึ่งมีความกว้าง clear zone เท่ากับ 10.75 มิลลิเมตร มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 43

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เปอร์เซ็นต์ (ประสิทธิภาพการยับยั้งต่ำ) ส่วนเชื้อแอคทิโนไมซิทตัวอื่นๆมีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคบ้างแต่จัดอยู่ในระดับต่ำมาก เมื่อเปรียบเทียบความชุดควบคุม

ในการยับยั้งเชื้อ *Rhizoctonia solani* พบว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท MN2 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงสุดเท่ากับ 51 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแสดงว่ามีประสิทธิภาพการยับยั้งปานกลาง โดยเชื้อสร้าง clear zone กว้าง 12.75 มิลลิเมตร ถือได้ว่ามีความแตกต่างทางสถิติกับเชื้อแอคทิโนไมซิทตัวอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเชื้อแอคทิโนไมซิทตัวอื่นๆ มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคบ้างแต่จัดอยู่ในระดับต่ำมากเมื่อเปรียบเทียบความชุดควบคุมและในบางไอโซเลทไม่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรค

จากผลการทดลองข้างต้นดังกล่าวจึงทำการคัดเลือกเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท MN2, KMST3 และ WM105 มาทำการศึกษาคุณสมบัติในด้านต่างๆ ที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อแอคทิโนไมซิท พร้อมทั้งตรวจดูลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนเพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาให้มากขึ้นต่อไป และนำเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท MN2 ไปศึกษาความเป็นไปได้ในการควบคุมโรคไหม้ในสภาพโรงเรือนในขั้นต่อไปด้วย

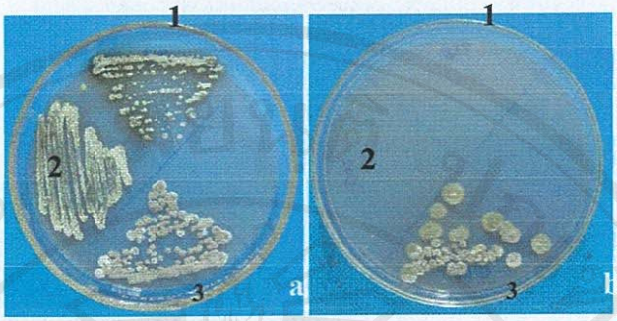
3. การศึกษาคุณสมบัติของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์

ในการนำเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท MN2, KMST3 และ WM105 มาทำการศึกษาคุณสมบัติในด้านต่างๆ ของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ ได้ผลการทดลองดังต่อไปนี้

3.1 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญ

จากการเลี้ยงเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์บนอาหาร IMA-2 ที่ระดับอุณหภูมิ 30, 37, 45 และ 50 องศาเซลเซียส พบว่า ที่ระดับอุณหภูมิ 30 และ 37 องศาเซลเซียส เชื้อทั้ง 3 ไอโซเลทสามารถเจริญได้ดีโดยที่ระดับอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เชื้อทั้ง 3 ไอโซเลทมีการเจริญและการสร้างสปอร์ดีที่สุด ที่ระดับอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส พบว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท WM105 สามารถเจริญได้เพียงไอโซเลทเดียว และที่ระดับอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เชื้อทั้ง 3 ไอโซเลทไม่สามารถเจริญเติบโตได้ (ภาพที่ 22)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 22 ลักษณะโคโลนีของ เชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ที่เจริญที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส(a) และ 45 องศาเซลเซียส (b) เป็นเวลา 3 วัน บนอาหาร IMA-2 , 1 คือ ไอโซเลท KMST3, 2 คือ ไอโซเลท MN2 และ 3 คือ ไอโซเลท WM105

3.2 การศึกษาค่าความเป็นกรดด่างต่างๆ (pH) ที่เหมาะสมกับการเจริญ

ในการเลี้ยงเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ในอาหารเหลว GYB ที่ระดับค่าความเป็นกรดด่างตั้งแต่ 4 ถึง 9 เป็นเวลา 5 วัน พบว่าเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์สามารถเจริญในอาหารที่มีค่าความเป็นกรดด่างระหว่าง 5 ถึง 9 แต่ในอาหารที่มีระดับความเป็นกรดด่างเท่ากับ 9 เชื้อทั้ง 3 ไอโซเลทสามารถเจริญได้ดีที่สุด ส่วนในอาหารที่มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 4 เชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ทั้ง 3 ไอโซเลทไม่สามารถเจริญได้ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ในอาหารระดับ pH 4 - 9

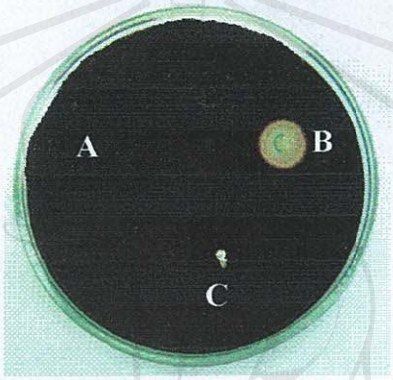
Endophytic Actinomycetes ต่างๆ	ระดับ pH ของอาหาร					
	4	5	6	7	8	9
KMST3	-[1]	-	+	++	++	++
MN2	-	+	++	++	++	+++
WM105	-	+	++	++	++	+++

[1] - คือ ไม่มีการเจริญ + คือ มีการเจริญน้อย ++ คือ มีการเจริญดี +++ คือ มีการเจริญดีมาก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.3 การศึกษาความสามารถในการผลิตเอนไซม์อะไมเลส

จากการเลี้ยงเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์บนอาหารสำหรับการทดสอบการผลิตเอนไซม์อะไมเลส บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน แล้วย่อมด้วยสารละลายไอโอดีน เมื่อตรวจดูลักษณะวงใสที่เกินออกมาจากรัศมีของโคโลนีเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ พบว่า เชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท MN2 สร้างวงใสรอบโคโลนีแสดงว่าสามารถสร้างเอนไซม์อะไมเลสได้ ส่วน *Streptomyces* sp. ไอโซเลท KMST3 และ WM105 ไม่มีวงใสรอบโคโลนี (ภาพที่ 23)



ภาพที่ 23 วงใสที่เกิดจากการสร้างเอ็นไซม์อะไมเลสของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ทั้ง 3 ไอโซเลท A คือ KMST3, B คือ MN2 และ C คือ WM105

3.4 การศึกษาความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส

จากการเลี้ยงเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์บนอาหารสำหรับการทดสอบการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน แล้วย่อมด้วยสารละลาย congo red เมื่อตรวจดูลักษณะวงใสที่เกินออกมาจากรัศมีของโคโลนีเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ พบว่า เชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท KMST3 สร้างวงใสรอบโคโลนีแสดงว่าสามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้ ส่วน *Streptomyces* sp. ไอโซเลท MN2 และ WM105 ไม่มีวงใสรอบโคโลนี (ภาพที่ 24)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 24 วงใสที่เกิดจากการสร้างเอ็นไซม์อะไมเลสของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ทั้ง 3 ไอโซเลท A คือ MN2, B คือ KMST3 และ C คือ WM105

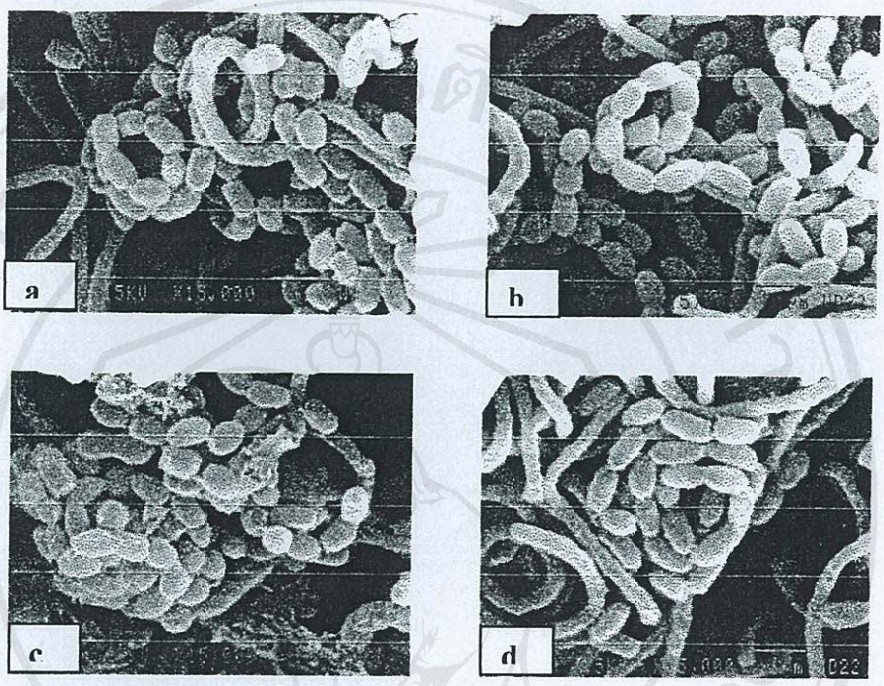
4. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

เมื่อนำเชื้อทั้ง 3 ไอโซเลท ไปทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนไมซิทเอนโดไฟต์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ได้ผลการทดลองดังภาพที่ 25, 26 และ 27 ตามลำดับ

เชื้อ *Streptomyces* sp. ทั้ง 3 ไอโซเลท มีการสร้างสปอร์ต่อกันเป็นสายคล้ายกันแต่มีข้อแตกต่างกันได้แก่ ไอโซเลท KMST3 มีการสร้างสปอร์รูปทรงกระบอก ผิวเรียบ ต่อกันเป็นสายยาวคล้ายโซ่ม้วนงอเป็นวง (ภาพที่ 25 a-d) ไอโซเลท MN2 มีการสร้างสปอร์ซึ่งเกิดจากการแตกหักของเส้นใย (ภาพที่ 26 a-b)สปอร์มีรูปร่างเป็นท่อนสั้นๆ (ภาพที่ 26 a-d) และในไอโซเลท WM105 พบว่ามีการสร้างสปอร์ต่อกันเป็นสายยาว ไม่คดเป็นวงกลมเหมือนในไอโซเลท KMST 3 (ภาพที่ 27 a-d) จากลักษณะดังกล่าวข้างต้นสามารถยืนยันได้ว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. ทั้ง 3 ไอโซเลทเป็นเชื้อคนละสายพันธุ์กัน แต่ไม่อาจระบุสปีชีส์ที่แน่นอนได้

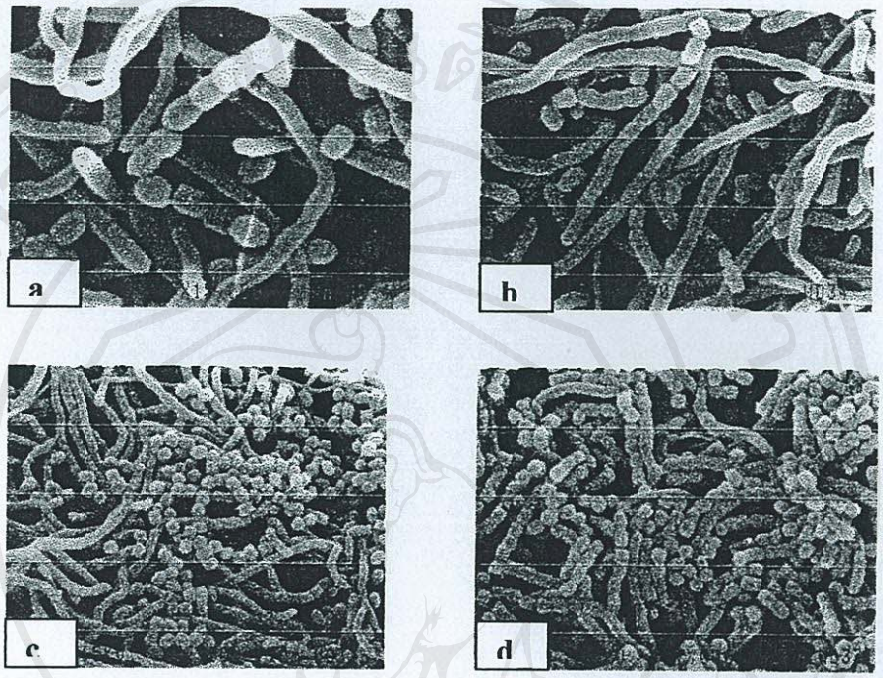
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ว
579.37
ว115ก
เลขหมู่.....
สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยเชียงใหม่



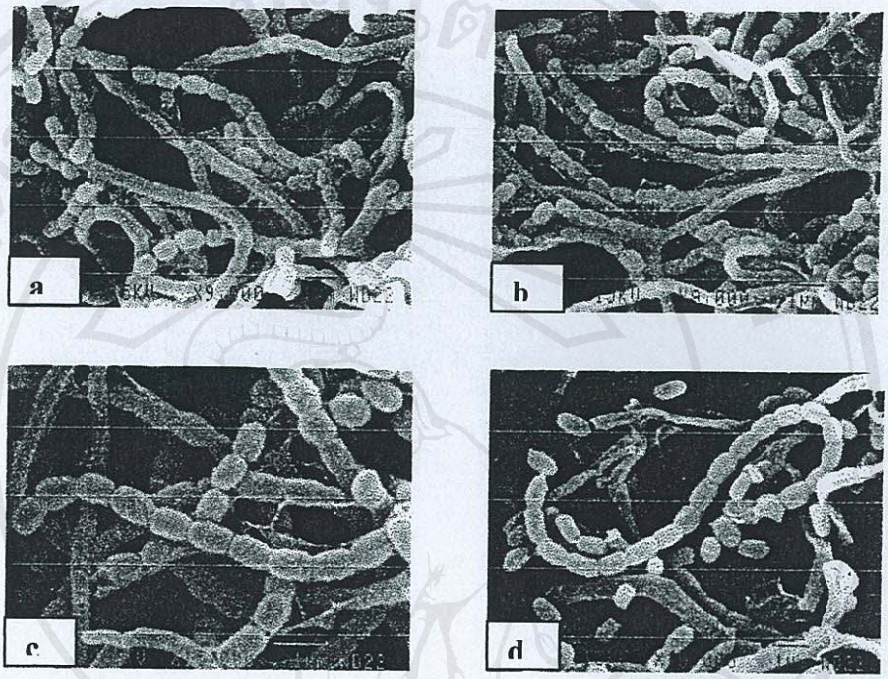
ภาพที่ 25 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท KMST3 ภายใต้กล้อง SEM กำลังขยาย 15,000 เท่า ภาพ a – d แสดงการสร้างสปอร์รูปทรงกระบอก ผิวเรียบ ต่อกันเป็นสายยาวคล้ายโซ่ ม้วนงอเป็นวง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 26 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท MN2 ภายใต้กล้อง SEM (รูป a กำลังขยาย 15,000 เท่า รูป b กำลังขยาย 10,000 เท่า รูป c กำลังขยาย 6,500 เท่า และ รูป d กำลังขยาย 7,000 เท่า) ภาพ a – d แสดงการสร้างสปอร์รูปทรงกระบอก ผิวเรียบ ซึ่งเกิดจากการแตกหักของเส้นใย สปอร์มีรูปร่างเป็นท่อนสั้นๆ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่27 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ *Streptomyces* sp.ไอโซเลท WM105 ภายใต้กล้อง SEM (รูป a และ b กำลังขยาย 9,000 เท่า รูป c กำลังขยาย 15,000 เท่า และ รูป d กำลังขยาย 10,000 เท่า) ภาพ a – d แสดงการสร้างสปอร์รูปทรงกระบอก ผิวเรียบ ต่อกันเป็นสายยาว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. การทดสอบผลของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ต่อการงอกและการเจริญของกล้าข้าวและการควบ คุมโรคไหม้ข้าวในระยะกล้า

4.1 การทดสอบผลของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ต่อการงอกของเมล็ดข้าว

การเปรียบเทียบผลการงอกของเมล็ดข้าวทั้ง 4 กรรมวิธี คือ การคลุกเมล็ดด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท MN2 และการคลุกเมล็ดด้วย spore suspension ของเชื้อ *Pyricularia oryzae* เพียงอย่างเดียว การคลุกเมล็ดด้วย spore suspension ของเชื้อ *Pyricularia oryzae* ร่วมกับเชื้อแอคทิโนไมซิทไอโซเลท MN2 และชุดควบคุมคือไม่ทำการคลุกเมล็ด จำนวน 100 เมล็ดต่อกรรมวิธี พบว่าการงอกของเมล็ดข้าวทั้ง 4 กรรมวิธีมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเท่ากับ 90.25, 94.50, 90.50 และ 88.75 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อนำผลการทดลองไปวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบความงอกของเมล็ดข้าวที่คลุกเมล็ดด้วยกรรมวิธีต่างๆ

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์ความงอก[1]
เมล็ดข้าวคลุกด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. isolate MN2	90.25 a[2]
เมล็ดข้าวคลุกด้วยเชื้อ *Pyricularia oryzae*	94.50 a
เมล็ดข้าวคลุกด้วยเชื้อ *Pyricularia oryzae* + MN2	90.50 a
ชุดควบคุม(แช่ในน้ำกลั่น 24 ชั่วโมง)	88.75 a
CV (%)	4.3437

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำๆละ 100 เมล็ด

[2] ตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan Multiple Range Test ที่ความเชื่อมั่น 95 % (ภาคผนวก ข)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.2 การทดสอบผลของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ต่อการเจริญของต้นกล้าในโรงเรือน

จากการทดสอบผลของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ต่อการเจริญของกล้าข้าวในโรงเรือน โดยวัดผลจากน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของกล้าข้าว จำนวน 3 ครั้งคือเมื่อกล้าข้าวอายุ 14, 21 และ 28 วัน ตามลำดับพบว่า

เมื่อนำต้นกล้าข้าวที่อายุ 14, 21 และ 28 วัน มาชั่งน้ำหนักสด ต้นข้าวที่เมล็ดผ่านการคลุกด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp.ไอโซเลท MN2 มีน้ำหนักสดเฉลี่ยเท่ากับ 14.30, 22.00 และ 25.43 กรัมตามลำดับ ส่วนชุดควบคุมซึ่งไม่ได้ปลูกเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์มีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 12.89, 19.19 และ 24.38 กรัมตามลำดับ เมื่อนำไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันทางนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 6)

หลังจากนำต้นกล้าข้าวที่ผ่านการชั่งน้ำหนักสดมาอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5– 7 วัน แล้วทำการชั่งน้ำหนักแห้ง ผลปรากฏว่า ต้นข้าวที่เมล็ดผ่านการคลุกด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp.ไอโซเลท MN2 อายุ 14, 21 และ 28 วัน มีน้ำหนักแห้งเฉลี่ยเท่ากับ 2.48, 2.89 และ 3.48 กรัม ตามลำดับ ส่วนชุดควบคุมซึ่งไม่ได้ปลูกเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์มีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 2.35, 2.63 และ 3.39 กรัม ตามลำดับ เมื่อนำไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันทางนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 7 และภาพที่ 28)

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบน้ำหนักสดของต้นกล้าข้าวที่ผ่านการคลุกเมล็ดด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. isolate MN2 กับชุดควบคุมในสภาพโรงเรือน ที่อายุ 14, 21 และ 28 วัน

Treatment	น้ำหนักสดต้นกล้าข้าว (กรัม)[1]		
	14 วัน	21 วัน	28 วัน
เมล็ดข้าวคลุกด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. isolate MN2	14.30 a[2]	22.00 a	25.43 a
ชุดควบคุม(แช่ในน้ำกลั่น 24 ชั่วโมง)	12.89 b	19.19 b	24.38 a

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำๆละ 100 ต้น

[2] ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี T-Test (ภาคผนวก ข)

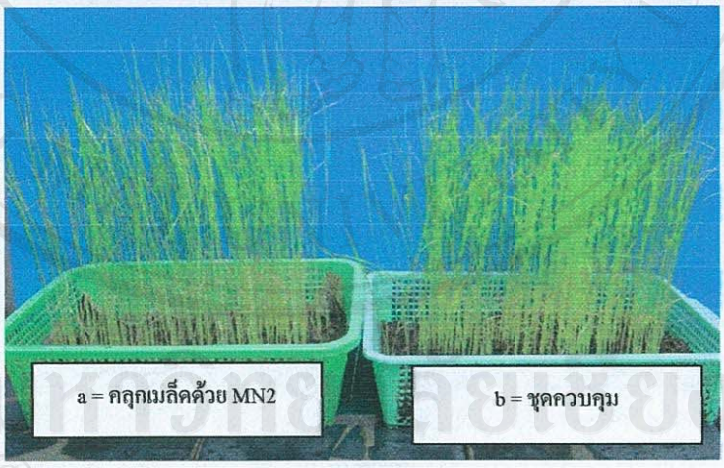
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบน้ำหนักแห้งของต้นกล้าข้าวที่ผ่านการคลุกเมล็ดด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. isolate MN2 กับชุดควบคุมในสภาพโรงเรือน ที่อายุ 14, 21 และ 28 วัน

Treatment	น้ำหนักแห้งต้นกล้าข้าว (กรัม)[1]		
	14 วัน	21 วัน	28 วัน
เมล็ดข้าวคลุกด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. isolate MN2	2.48a[2]	2.89a	3.48a
ชุดควบคุม(แช่ในน้ำกลั่น 24 ชั่วโมง)	2.35a	2.63b	3.39b

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำๆละ 100 ต้น

[2] ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี T-Test (ภาคผนวก ข)



ภาพที่ 28 เปรียบเทียบการเจริญของต้นข้าวที่ปลูกในกระบะอายุ 28 วัน (กระบะ a = เมล็ดข้าวคลุกด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. isolate MN2 ก่อนปลูก และ กระบะ b = ชุดควบคุม, เมล็ดข้าวแช่ในน้ำกลั่นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ในการควบคุมโรคไหม้ของข้าวในระยะต้นกล้าในโรงเรือน

เมื่อฉีดพ่นด้วย spore suspension ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ของข้าวในกรรมวิธีที่ 1 และ 3 เป็นเวลา 7 วัน แล้วทำการตรวจโรคในทุกกรรมวิธีโดยดูจากเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย จากการทดลองพบว่า ต้นข้าวที่ผ่านการคลุกเมล็ดด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท MN2 ก่อนปลูกมีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายเฉลี่ยเท่ากับ 2.57 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลายเฉลี่ยเท่ากับ 13.83 เปอร์เซ็นต์ถือได้ว่าผลการทดลองใน 2 กรรมวิธีนี้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในกรรมวิธีที่ 2 และ 4 นั้นต้นข้าวไม่ได้ถูกฉีดพ่นด้วย spore suspension ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้จึงไม่พบอาการของโรค (ตารางที่ 8 และ ภาพที่ 29)

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใบที่ถูกทำลายของต้นข้าว 2 กรรมวิธี เมื่อทำการปลูกเชื้อด้วยเชื้อราสาเหตุโรคไหม้

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์พื้นที่ใบที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย[1]
เมล็ดข้าวปลูกเชื้อด้วยแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ (MN2) แล้วทำการฉีดพ่นด้วย spore suspension ของ *Pyricularia oryzae*	2.57 b[2]
เมล็ดข้าวปลูกเชื้อด้วยแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ (MN2) เพียงอย่างเดียว	0.00 c
เมล็ดข้าวแช่ในน้ำกลั่น 24 ชั่วโมงแล้วฉีดพ่นด้วย spore suspension ของ *Pyricularia oryzae*	13.83 a
เมล็ดข้าวแช่ในน้ำกลั่น 24 ชั่วโมง(control)	0.00 c
CV (%)	1.5123

[1] ค่าเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำๆ ละ 30 ต้น

[2] ตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan Multiple Range Test ที่ความเชื่อมั่น 95 % (ภาคผนวก ข)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 29 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใบที่ถูกเชื้อราสาเหตุโรคไหม้เข้าทำลายของต้นข้าว 2 กรรมวิธี A คือ เมล็ดข้าวแช่ในน้ำกลั่น 24 ชั่วโมงแล้วฉีดพ่นด้วย spore suspension ของ *Pyricularia oryzae* และ B คือ เมล็ดข้าวปลูกเชื้อด้วยแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ (MN2) แล้วทำการฉีดพ่นด้วย spore suspension ของ *Pyricularia oryzae*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved