บทที่ 5
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาเพื่อแยกเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์จากต้นข้าวโดยการเลี้ยงบนอาหาร IMA-2 พบว่าหลังจากบ่มเชื้อเป็นเวลา 3 สัปดาห์ เชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์เจริญออกมาบนผิวด้านนอกของชิ้นส่วนพืช ในบางไอโซเลทเจริญอยู่บนอาหารเลี้ยงเชื้อ การแยกเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์จากต้นข้าวในแต่ละพันธุ์และจากพื้นที่ต่างๆกันพบว่า สามารถแยกเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ได้ทั้งหมด 16 ไอโซเลท จากต้นข้าว 5 สายพันธุ์ สามารถแยกแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์จากรากข้าวได้จำนวน 9 ไอโซเลท คิดเป็น 56.25 เปอร์เซ็นต์ของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ที่แยกได้ทั้งหมด นอกจากนี้ยังแยกได้จากใบและลำต้นจำนวน 6 และ 1ไอโซเลทตามลำดับ (37.5 และ 6.25 เปอร์เซ็นต์) ในขั้นตอนการฆ่าเชื้อที่บริเวณผิวพืชนั้น ถ้าไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอจะเป็นเหตุให้เชื้อจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ตามผิวพืชเจริญอย่างรวดเร็วปกคลุมบริเวณผิวพืช ทำให้เชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ไม่สามารถเจริญออกมาได้ (Shimizu *et al.*, 2000) เชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ที่แยกได้ในต้นข้าวในแต่ละสายพันธุ์ซึ่งเพาะปลูกในแต่ละสถานที่นั้น มีผลต่อจำนวนเชื้อแอคทิโนไมซิทที่สามารถแยกได้ Kunoh (personal communicated) กล่าวว่า สภาพแวดล้อมและภูมิอากาศเป็นปัจจัยที่มีผลต่อชนิดและปริมาณของเชื้อเอนโดไฟต์ที่พบในพืชในพื้นที่ต่างๆ และการมีเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์หรือไม่นั้นขึ้นอยู่กับอายุพืช ระยะการเจริญเติบโต ชนิดของดินที่ปลูก และฤดูกาล

จากการจำแนกโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้แก่ ลักษณะโคโลนี และรูปแบบการสร้างสปอร์ของเชื้อแอคทิโนไมซิทพบว่าสามารถจำแนกชนิดของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ 15 ไอโซเลทได้ ซึ่งจัดอยู่ในจีนัส *Streptomyces* sp. ส่วน ไอโซเลท KMST 1 นั้นไม่สามารถบ่งชนิดได้เนื่องจากไม่พบการสร้างสปอร์ จากการจำแนกข้างต้นสอดคล้องกับรายงานของ Shimizu *et al.* (2000) และ Takao *et al.* (2000) โดยพบว่าเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากต้นพืชส่วนมากจัดอยู่ในจีนัส *Streptomyces* sp. โดยเชื้อแอคทิโนไมซิทในจีนัสนี้เป็นเชื้อที่มีความสามารถในการสร้างสาร antibiotic และ growth hormone บางชนิด กระตุ้นให้ต้นพืชป้องกันตัวเองจากการเข้าทำลายของเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช ส่งเสริมความแข็งแรงและการเจริญเติบโตได้ดี Sardi *et al.* ในปี 1992 สามารถแยกเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ได้จำนวน 482 ไอโซเลทจากพืช 13 ชนิด และพบว่าเป็นเชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Streptomyces sp. ถึง 482 ไอโซเลท, *Streptoverticillium* sp. 2 ไอโซเลท, *Nocardia* sp. 4 ไอโซเลท, *Micromonospora* sp. 1 ไอโซเลท และ *Streptosporangium* sp. 1 ไอโซเลท ตามลำดับ

จากนั้นนำเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากต้นข้าวมาทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อเชื้อราสาเหตุโรคพืชทั้ง 5 ชนิดคือ *Pyricularia oryzae*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Phytophthora infestans*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* และ *Rhizoctonia solani* โดยวิธี Dual Method พบว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท MN2 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคทั้ง 5 ชนิดสูงที่สุด โดยมีค่าประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *Pyricularia oryzae* และ *Colletotrichum gloeosporioides* อยู่ระดับสูงมากเท่ากับ 86- 91 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเชื้อ *Rhizoctonia solani* และ *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* มีค่าประสิทธิภาพการยับยั้งอยู่ในระดับปานกลางเท่ากับ 51-57 เปอร์เซ็นต์ และในเชื้อ *Phytophthora infestans* มีค่าประสิทธิภาพการยับยั้งอยู่ในระดับต่ำคือ 43 เปอร์เซ็นต์ ไอโซเลท MN7 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Pyricularia oryzae* และ *Colletotrichum gloeosporioides* ในระดับ 64-87 เปอร์เซ็นต์ แต่มีประสิทธิภาพในยับยั้งเชื้ออีก 3 จีนัส อยู่ในระดับต่ำ ไอโซเลท WM105 และ KMST3 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *Pyricularia oryzae* ในระดับสูง ส่วนเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคพืชอีก 4 จีนัส จัดอยู่ในระดับปานกลาง คือ มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ เชื้อแอคทิโนไมซิทไอโซเลทอื่นๆ มีประสิทธิภาพการยับยั้งน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม Sardi *et al.* (1992) รายงานว่าเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์บางชนิดสามารถสร้างสาร antibiotic ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ 1-2 ชนิดเท่านั้น จัดเป็นจุลินทรีย์ที่สร้าง antibiotic พวก narrow antimicrobial spectrum มักพบทั่วไปในธรรมชาติ แต่ในทางตรงกันข้าม เชื้อ *Streptomyces* spp. บางชนิดมีความสามารถในการสร้างสาร Phythoxazolin A และ AB 023 ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์และเชื้อราได้หลายชนิด

การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและคุณสมบัติในการสร้างเอนไซม์ของเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท MN2, KMST3 และ WM105 พบว่า เชื้อ *Streptomyces* sp.ทั้ง 3 ไอโซเลท เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิสูงสุดที่เชื้อเจริญได้คือ 45 องศาเซลเซียส อาจเป็นเพราะเชื้อดังกล่าวอยู่ในจีนัส *Streptomyces* sp. ซึ่งเชื้อในจีนัสนี้สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิไม่สูงมากนัก นอกจากนี้ยังพบว่าอุณหภูมิในการเจริญนั้นมีผลต่อลักษณะโคโลนี การสร้างสปอร์ และความสามารถในการสร้างสารเมตาบอไลท์ต่างๆ ด้วย (นพรัตน์, 2546) ช่วง pH ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อแอคทิโนไมซิทอยู่ระหว่าง 5 ถึง 9 โดยที่ระดับ pH 9 เชื้อทั้ง 3 ไอโซเลทเจริญดีที่สุด เชื้อ *Streptomyces* sp.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ไอโซเลท MN2 มีความสามารถสร้างเอนไซม์อะไมเลสได้ และในเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท KMST3 มีความสามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ภายใต้กล้อง SEM พบว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. ทั้ง 3 ไอโซเลท มีการสร้างสปอร์ต่อกันเป็นสายโซ่คล้ายกันแต่มีข้อแตกต่างกัน คือ *Streptomyces* sp.ไอโซเลท KMST3 มีการสร้างสปอร์รูปทรงกระบอก ผิวเรียบ ต่อกันเป็นสายยาว คล้ายโซ่ ม้วนงอเป็นวง *Streptomyces* sp.ไอโซเลท MN2 มีการสร้างสปอร์ซึ่งเกิดจากการแตกหักของเส้นใย สปอร์มีรูปร่างเป็นท่อนสั้นๆ และใน *Streptomyces* sp.ไอโซเลท WM105 พบว่ามีการสร้างสปอร์ต่อกันเป็นสายยาว ซึ่งสอดคล้องกับในรายงานของ Miyadoh (1997) และ Stanley *et al.* (1989) ว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. สร้างเส้นใยยึดเกาะติดกับชิ้นอาหารและแตกกิ่งก้านได้ดี มีการสร้างสปอร์บน aerial mycelium สปอร์ต่อกันเป็นสายยาวมากกว่า 50 สปอร์ แต่ในบางสปีชีส์สร้างสปอร์เป็นสายสั้นๆ น้อยกว่า 10 สปอร์ การสร้างสปอร์อาจสร้างเป็นเส้นเดี่ยวหรือสร้างเป็นวง (verticillate) เป็นสายตรงหรืออาจโค้งงอ คดเป็นคลื่น หรือบิดเป็นเกรียวคล้ายสปริง ผิวของสปอร์อาจเรียบ ขรุขระ มีหนามและมีขน ลักษณะดังกล่าวเหล่านี้สามารถนำมาใช้ในการจำแนกในระดับสปีชีส์ได้ ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์ภายใต้กล้อง SEM นั้นสามารถศึกษาลักษณะทางสัณฐานของเชื้อ *Streptomyces* sp. ทั้ง 3 ไอโซเลทได้ละเอียดแต่ในการจำแนกถึงระดับสปีชีส์นั้นยังไม่สามารถทำได้เนื่องจากยังขาดข้อมูลในด้านชีวเคมี การศึกษาองค์ประกอบของ diaminopomilic acid ที่อยู่ภายในผนังเซลล์ของเชื้อแอคทิโนไมซิท และการวิเคราะห์ DNA hybridization เปรียบเทียบกับเชื้อแอคทิโนไมซิทสปีชีส์ที่มีสัณฐานวิทยาใกล้เคียงกัน

การทดสอบผลของเชื้อ *Streptomyces* sp.ไอโซเลท MN2 ต่อการงอกของเมล็ดข้าวเปรียบเทียบกับเชื้อ *Pyricularia oryzae* และชุดควบคุม พบว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท MN2 ไม่มีผลต่อการงอกของเมล็ดข้าวและเมื่อทำการวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติพบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดข้าวที่คลุกเมล็ดด้วย *Streptomyces* sp. ไอโซเลท MN2 ไม่มีความแตกต่างกับชุดควบคุม แต่เมื่อทำการศึกษาการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวที่ทำการปลูกในโรงเรือนนั้น พบว่ามีการเจริญของต้นกล้าในระยะแรกค่อนข้างดีโดยพิจารณาจากน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งจะเห็นได้ว่า กล้าข้าวที่ปลูกเชื้อด้วยเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท MN2 มีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งดีกว่าชุดควบคุมซึ่งไม่ได้ปลูกเชื้อด้วยเชื้อเอนโดไฟท์ และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม Marja (2000) ได้รายงานว่า เชื้อ *Streptomyces griseoviridis* สามารถผลิตสาร Auxin (indole – 3 – acetic acid, IAA) ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่ช่วยกระตุ้นการเจริญ ความแข็งแรง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

และการเพิ่มผลผลิตของพืชได้ Takao *et al.* (2000) รายงานว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. สามารถสร้างสาร antibiotic และ growth hormone บางชนิด กระตุ้นให้ต้นพืชป้องกันตัวเองจากการเข้าทำลายของเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรค มีความแข็งแรงและเจริญเติบโตได้ดี ในการศึกษาความสามารถของเชื้อ *Streptomyces* sp. ไอโซเลท MN2 ในการควบคุมโรคใบไหม้ของข้าวในระยะต้นกล้า พบว่าต้นข้าวที่ปลูกเชื้อด้วย *Streptomyces* sp. ไอโซเลท MN2 มีเปอร์เซ็นต์พื้นที่ใบที่ถูกทำลายน้อยกว่าในต้นข้าวที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อด้วยเชื้อเอนโดไฟท์และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ในต้นข้าวที่ได้รับการปลูกเชื้อด้วยเชื้อเอนโดไฟท์นั้น ลักษณะแผลของโรคที่เกิดขึ้นจะมีขนาดเล็กกว่าและมีการขยายตัวช้ากว่าในชุดควบคุม

จากผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่าเชื้อแอคทิโนไมซิทเอนโดไฟท์มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบไหม้ของข้าวในระยะต้นกล้า อีกทั้งยังส่งเสริมการเจริญของต้นพืช โดยทำให้พืชมีความแข็งแรงซึ่งทำให้เกิดความต้านทานและทนทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคได้ด้วย การทดลองในครั้งนี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์เอนโดไฟท์ที่มีประสิทธิภาพเป็นเชื้อปฏิปักษ์กับเชื้อราสาเหตุโรคพืชอื่นๆ ได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved