บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการแยกเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์จากใบ และกิ่งของส้มสายน้ำผึ้งที่ไม่เป็นโรค โดยเก็บตัวอย่างจากสวนส้มในเขตอำเภอแม่อาย จังหวัดเชียงใหม่ พบว่าเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโด-ไฟท์ส่วนใหญ่ที่แยกได้จัดอยู่ในกลุ่ม Streptomycetes ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Sardi *et al*. (1996), Takao *et al*.(1995), Shimizu *et al*.(2000) และ Taechowisan (2003) ที่พบว่าเชื้อแอคติโน-มัยซีสที่แยกได้จากชิ้นส่วนพืชส่วนใหญ่เป็นเชื้อแอคติโนมัยซีสในสกุล *Streptomyces* ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม Streptomycetes เช่นกัน (Williama *et al*., 1989)

เมื่อทำการเก็บตัวอย่างดินบริเวณโคนต้นส้มที่เป็นโรครากเน่ามาทำการแยกเชื้อ ด้วยวิธีการใช้เหยื่อล่อ (baiting technique) พบว่าเชื้อสาเหตุโรคคือ เชื้อรา *Phytophthora* sp. ส่วนการแยกเชื้อจากอาการของโรคแอนแทรคโนสพบเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* เป็นสาเหตุโรค ซึ่งสอดคล้องกับนิพนธ์ (4542) และ เปรมปรี (2544) ที่รายงานว่าเชื้อรา *Phytophthora* spp. เป็นเชื้อสาเหตุโรครากเน่า และ เชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* เป็นเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของส้ม นอกจากนี้วิธีการใช้ใบเป็นเหยื่อล่อเชื้อจากสารแขวนลอยของดินตัวอย่างแล้ววางบนอาหาร WA ถึงแม้จะไม่ได้ใช้สารปฏิชีวนะผสมลงในอาหาร PDA ตามวิธีของพรพรรณ (2544) ที่มีการเติม BNPRA (benomyl 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร Nystatin 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร pentachloronitrobenzene 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร rifampin 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ ampicillin 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) แต่ก็สามารถแยกเชื้อราบริสุทธิ์ได้ดี ส่วนการแยกเชื้อจากอาการของโรคแอนแทรคโนสพบเชื้อรา *C. gloeosporioides* เป็นสาเหตุของโรค และเมื่อนำเชื้อราทั้งสองชนิดมาปลูกเชื้อกลับลงบนใบส้ม พบว่าเชื้อที่แยกได้สามารถทำให้เกิดโรคกับใบได้หลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 10 วัน ซึ่งตรงกับการทดลองของวิเชียร (2544) แต่แตกต่างจากผลของ พรพรรณ (2544) ที่ใช้เวลา 7 วันในการทดสอบ ส่วนการปลูกเชื้อลงบนผลส้มด้วยเชื้อรา *C. gloeosporioides* พบว่าใช้เวลา 5 วันก็จะเริ่มแสดงอาการของโรคได้ และแสดงอาการของโรคได้ชัดเจนขึ้น การปลูกเชื้อเป็นเวลา 7 วันหลังพรพรรณ (2544)

จากการทดสอบความสามารถของเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora* sp. สาเหตุโรครากเน่า และเชื้อรา *C. gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรค-โนสของส้มพบว่ามีเชื้อแอคติโนมัยซีสจำนวน 44 ไอโซเลทที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โดยมีเชื้อแอคติโนมัยซีสจำนวน 33 ไอโซเลทที่ยับยั้งเชื้อราทั้งสองชนิดได้ ซึ่งเชื้อทุกไอโซเลทที่สามารถควบคุมเชื้อรา *Phytophthora* sp. จะให้ผลในการควบคุมเชื้อรา *C. gloeosporioides* ได้เช่นกัน และมีเชื้อแอคติโนมัยซีสอีก 11 ไอโซเลทที่สามารถยับยั้งเชื้อ *C. gloeosporioides* ได้เพียงชนิดเดียว ส่วนอีก 12 ไอโซเลทไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราใดเลย ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของมัลลิกา (2550) ที่รายงานว่าเชื้อแอคติโนมัยซีสที่แยกได้จากดินบริเวณรากพริกและมะเขือเทศ จำนวนทั้งหมด 80 ไอโซเลท มีเชื้อแอคติโนมัยซีสเพียง 46 ไอโซเลทที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Pythium* sp. และเชื้อรา *Rhizoctonia solani* ทั้งสองชนิด และมีเชื้อแอคติโนมัยซีสจำนวน 13 ไอโซเลทที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Pythium* sp. เพียงชนิดเดียว แต่มีเชื้อแอคติโนมัยซีสจำนวนเพียง 3 ไอโซเลทที่เป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *R. solani* เพียงชนิดเดียว นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานทดลองของ Trejo-Estrada *et al*. (1998a) และ Trejo-Estrada *et al.* (1998b) ที่พบว่าเชื้อ *Streptomyces violaceusniger* YCED-9 นอกจากสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Phytophthora ultimum* สาเหตุโรคเน่าคอดินของกะหล่ำปลีแล้ว ยังสามารถให้ผลในการยับยั้งเชื้อ *Fusarium oxysporium, Gaeumannomyces graminis, Colletotrichum graminicola, Rhizoctonia solani, Microdochium nivale* และ *Sclerotinia homeocarpa* ได้อีกด้วย เนื่องจากเชื้อแอคติโนมัยซีส YCED-9 สามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้อย่างน้อย 3 ชนิด ได้แก่ nigericin, eldanamycin และสารประกอบเชิงซ้อนของ macrocyclic lactone antibiotics

ส่วนการทดสอบประสิทธิภาพน้ำกรองเชื้อแอคติโนมัยซีสไอโซเลท EAC06, EAC26 และ EAC46 ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืช 14 ชนิด พบว่าน้ำกรองเชื้อของเชื้อแอคติ-โนมัยซีสทุกไอโซเลทมีประสิทธิภาพในการยับยั้งต่ำซึ่งแตกต่างจากการทดลองของปิยะธิดา (2549) ที่การใช้น้ำกรองเชื้อให้ผลสอดคล้องกันกับการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคด้วยวิธี dual culture นอกจากนี้รังสี (2547) ได้รายงานว่าน้ำกรองเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์ ไอโซเลท JSS 4 และ JSS 19 ที่แยกจากพุทรา สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์เชื้อราแป้งได้ดี แต่อย่างไรก็ดีการที่น้ำกรองเชื้อมีประสิทธิภาพต่ำในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา ไม่ได้หมายความว่าเชื้อแอคติโนมัยซีสนั้นไม่เหมาะสมหรือขาดคุณสมบัติในการนำมาใช้ควบคุมโรคโดยชีววิธีกับต้นพืช เพราะการสร้างและปลดปล่อยสารปฏิชีวนะของเชื้อแอคติโนมัยซีสมีปัจจัยควบคุมหลายปัจจัย โดยอาหารเลี้ยงเชื้อก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่ผนังเซลล์ของเชื้อในการปลดปล่อยสารปฏิชีวนะออกมาภายนอกเซลล์ (ดรุณี, 2541) และระยะเวลาอาจเป็นปัจจัยหนึ่งซึ่งต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อความแน่ชัดว่า การเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวต้องใช้ระยะเวลาเท่าไรเชื้อจึงจะสร้างและปดปล่อยสารปฏิชีวนะได้ดี หรือหากต้องการศึกษาสารปฏิชีวนะที่เชื้อแอคติโนมัยซีสสร้างขึ้น อาจจำเป็นต้องใช้วิธีสกัดสารปฏิชีวนะออกมา ตัวอย่างเช่น การใช้ acetone ในปริมาณที่เท่ากัน ในการสกัดสารปฏิชีวนะจากเชื้อแอคติโน-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

มัยซีสเอนโดไฟท์ไอโซเลท R-5 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว (ประกอบไปด้วย glucose, 5 กรัม glycerol 20 มิลลิลิตร soluble starch 20 กรัม Pharmamedia (Southern Cotton Oil Co., U.S.A) 15 กรัม yeast extract 3 กรัม Diaion HP-20 resin 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร) เป็นเวลา 3 วัน ซึ่งพบว่า สารสกัดที่ได้สามารถควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้หลายชนิด ได้แก่ *Phytophthora cinnamomi, Pestalotiopsis sydowiana, Botrytis cinerea, Sclerotinia homoeocarpa, Fusarium avenaceum, Rhizoctonia solani* และ *Pythium aphanidermatum* (Shimizu, 2000) แต่อย่างไรก็ตาม (Shimizu, 2006) ได้รายงานว่าเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์ไอโซเลท MBR-37 and MBR-38 ที่แยกได้จาก rhododendron ไม่แสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Pestalotiopsis sydowiana* สาเหตุโรคใบไหม้ของ rhododendron ด้วยวิธี dual culture แต่สามารถลดอาการของโรคได้เมื่อปลูกเชื้อกับต้นกล้าในสภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้าที่ปลูกเชื้อด้วยเชื้อแอคติ-โนมัยซีสเอนโดไฟท์ ที่ให้ผลในการควบคุมโรคใบไหม้ได้ดีที่สุดด้วยวิธี dual culture และการปลูกเชื้อให้กับต้นกล้าในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบกว่าเชื้อแอคติโนมัยซีสเอนโดไฟท์ไอโซเลท MBR-37 and MBR-38 ให้ผลในการควบคุมโรคในต้นกล้าได้น้อยกว่าไอโซเลท MBR-5 เพียงเล็กน้อย (Shimizu, 2006)

จากการสำรวจแปลงปลูกส้มของเกษตรกรบ้านเดื่องก อำเภอสารภี จังหวัดเชียงใหม่ พบว่ามีการระบาดของโรครากเน่าและโคนเน่าโดยมีระดับความรุนแรงเฉลี่ยอยู่ที่ระดับ 3 คือ ใบของส้มมีสีเหลือง ใบลู่เรียวเล็ก ใบเริ่มหลุดร่วงทำให้ทรงพุ่มบางลง นอกจากนี้ยังพบว่าต้นส้มส่วนใหญ่มีอาการของโรคโคนเน่า โดยเห็นได้ชัดว่าเปลือกผิวบริเวณโคนต้นมีรอยแตกจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *Phytophthora* sp. เมื่อทำการวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่างของดินบริเวณโคนต้นพบว่าอาการความรุนแรงของโรคมีความสัมพันธ์กับค่าความเป็นเป็นกรด-ด่างของดิน โดยระดับความรุนแรงของโรคจะเพิ่มมาขึ้นเมื่อค่าความเป็นกรดเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับพรพรรณ (2544) ที่รายงานว่าการควบคุมโรครากเน่าของส้มในสภาพโรงเรือนทดลอง จะแปรผันตามค่าความเป็นกรด-ด่างของดิน และพบว่าปริมาณของเชื้อสาเหตุโรคที่ปลูกลงในดินที่เป็นกรดจะมีเพิ่มขึ้นมากกว่าในดินที่เป็นด่าง

ส่วนการทดสอบประสิทธิภาพของหัวเชื้อแอคติโนมัยซีสไอโซเลท EAC46 และชีวภัณฑ์ *Chaetomium* ในการควบคุมโรครากเน่าในแปลงทดลอง พบว่าในต้นส้มที่มีระดับความรุนแรงของโรคก่อนการทดลองต่ำ คือระดับ 1 ถึง 3 เชื้อแอคติโนมัยซีสไอโซเลท EAC46 และชีวภัณฑ์ *Chaetomium* สามารถควบคุมระดับความรุนแรงของโรคได้ โดยปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ระดับความรุนแรงของโรคเพิ่มขึ้น แต่จากการทดลองเพียง 60 วัน เชื้อแอคติโนมัยซีสไอโซเลท EAC46 และชีวภัณฑ์ *Chaetomium* ไม่สามารถลดระดับความรุนแรงของโรคลงได้ ในขณะที่ในต้นส้มที่มี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ระดับความรุนแรงของโรคก่อนการทดลองสูง คือระดับ 4 และ 5 การใช้เชื้อแอคติโนมัยซีส หรือชีวภัณฑ์ *Chaetomium* ไม่สามารถควบคุมโรครากเน่าได้ ซึ่งให้ผลดีแตกต่างจากการทดลองของพรพรรณ (2544) ซึ่งใช้ชีวภัณฑ์ *Chaetomium* อัตราส่วน 5 กรัมต่อต้น ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ในอัตรา 10 กก.ต่อต้นทุก 4 เดือน หรือการใช้ชีวภัณฑ์ *Trichoderma* อัตราส่วน 5 กรัมต่อต้น ร่วมกับการใช้ชีวภัณฑ์ *Chaetomium* อัตราส่วน 2.5 กรัมต่อต้น และปุ๋ยอินทรีย์ในอัตรา 10 กก.ต่อต้นทุก 4 เดือน ในแปลงทดลองที่พบการระบาดของโรคมาก่อน พบว่าสามารถลดระดับการเกิดโรครากเน่าและโคนเน่าได้แตกต่างจากการใส่ปุ๋ยอินทรีย์เพียงอย่างเดียว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved