

บทที่ 6

สรุปผลการวิจัย

สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อคัดแยกไรโซแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์โปรตีเอส (protease) และนำเอนไซม์ที่ได้ไปทดสอบทำลายตัวอ่อนระยะ J2 ของไส้เดือนฝอยรากปม *M. incognita* ในห้องปฏิบัติการและผลิตเป็นชีวภัณฑ์ เพื่อใช้ในการควบคุมไข่และตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยรากปมในพื้นที่แปลงปลูกมันฝรั่ง ซึ่งสรุปผลการวิจัยการดังนี้

1. การศึกษาการคัดแยกไรโซแบคทีเรีย

เก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบรากมันฝรั่งที่ไม่มีประวัติการเป็นโรครากปมในเขตพื้นที่อำเภอพบพระ จังหวัดตาก จำนวน 365 ตัวอย่าง มีไรโซแบคทีเรียที่มีเอนไซม์สามารถทำลายตัวอ่อนของไส้เดือนฝอย จำนวน 60 ไอโซเลต โดยไอโซเลตที่ 22 สามารถทำลายตัวอ่อนของไส้เดือนฝอยรากปมได้ดีที่สุด

2. การทดสอบคุณสมบัติการส่งเสริมการเจริญของพืช

การศึกษาคูสมบัติ phosphate solubilization ของแบคทีเรียรอบรากพืช โดยการนำตัวอย่างบริเวณรอบรากพืชมาเพาะเลี้ยงลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ modified pikovskaya agar บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่ามี halo zone ทางโคโลนี ทั้งหมด 60 ไอโซเลต

ส่วนการศึกษา siderophore production โดยการนำแบคทีเรียที่แยกได้จากรอบรากมันฝรั่งมาเพาะเลี้ยงเชื้อ ใน CAS agar บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C พบว่า แบคทีเรียที่แยกได้จากดินรอบรากมันฝรั่งทั้งหมด 60 ไอโซเลต สามารถสร้าง siderophore ให้โคโลนีมีสีเหลืองส้ม

สุดท้ายการศึกษา protease activity โดยการเลือกโคโลนีให้โซนใสรอบๆ โคโลนีจากแบคทีเรียที่แยกได้จากดินรอบรากมันฝรั่งทั้งหมด 60 ไอโซเลต มีเพียง 22 ไอโซเลตที่สามารถสร้างเอนไซม์โปรตีเอส ซึ่งประกอบด้วย TK54, TK15, TK12, TK19, TK3, TK27, TK31, TK23, TK42, TK10, TK38, TK40, TK47, TK49, TK51, TK77, TK44, TK11, TK105, TK121, TK97 และ TK14

3. การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอสจากไรโซแบคทีเรีย

โดยการนำไรโซแบคทีเรียจำนวน 22 ไอโซเลท ที่สามารถสร้างเอนไซม์โปรตีเอสมาเลี้ยงในเชื้อ YPD และแยกส่วนโสมมาทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอส พบว่า TK10 มีกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอสสูงที่สุดเท่ากับ 182.08 Uml^{-1} รองลงมาคือไอโซเลทที่ TK23 เท่ากับ 159.16 Uml^{-1} ส่วน TK19 มีกิจกรรมของเอนไซม์น้อยที่สุดเท่ากับ 81.25 Uml^{-1}

4. ประสิทธิภาพของเอนไซม์โปรตีเอสจากไรโซแบคทีเรียในการทำลายตัวอ่อนระยะ J2 ของ *M. incognita*

โดยการนำส่วนใส 300 μl ผสมกับตัวอ่อนระยะที่ 2 (J2) ของ *M. incognita* จำนวน 200 ตัว แล้วนับจำนวนตัวอ่อนที่ตายภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แบบ light microscope พบว่า ร้อยละของการตายของไส้เดือนฝอยรอบรากพืชสูงที่สุด คือ TK23 เท่ากับ ร้อยละ 83 รองลงมา คือ TK10 และ TK15 เท่ากับร้อยละ 78 และ TK19 ให้ร้อยละการตายของไส้เดือนฝอยรอบรากพืชต่ำที่สุดเท่ากับร้อยละ 47

5. การจำแนกชนิดของไรโซแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์โปรตีเอส

ผลการคัดแยกและเปรียบเทียบลำดับเบส 16 rRNA ยีนของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้กับลำดับเบสอื่นๆ ในฐานข้อมูล GenBank โดยใช้โปรแกรม BLAST พบว่า มีความคล้ายคลึงกับลำดับเบสของ *Bacillus toyonensis* strain bct_7112 โดย % homology เท่ากับ 99% และมีลำดับเบสเหมือนกัน 100% ซึ่งเชื้อที่แยกได้คือ *Bacillus toyonensis* strain TK23

6. การนำเอนไซม์โปรตีเอสมาผลิตเป็นชีวภัณฑ์ในรูปแบบน้ำมาทดสอบประสิทธิภาพ

นำเอนไซม์โปรตีเอสจากไรโซแบคทีเรียมาผลิตเป็นชีวภัณฑ์ ทดสอบประสิทธิภาพโดยสาธิตให้กับเกษตรกรอาสาสมัคร พบว่า การศึกษาจำนวน 5 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ ซึ่งกรรมวิธีที่ 4 มีค่าเฉลี่ยการทำลายไส้เดือนฝอยในแปลงมันสำปะหลังเฉลี่ยสูงสุด เท่ากับร้อยละ 32.3 รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ 3 มีค่าเฉลี่ยการทำลายไส้เดือนฝอยเท่ากับร้อยละ 27.3 กรรมวิธีที่ 2 และ 5 สามารถลดการทำลายของไส้เดือนฝอยรากปมได้เฉลี่ย ร้อยละ 10.8 และ 8.3 ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีที่ 1 ไม่สามารถทำลายไส้เดือนฝอยได้