

## บทที่ 5 อภิปรายผลสรุป และข้อเสนอแนะ

### 5.1 การแยก และการจัดจำแนกเชื้อราเอนโดไฟท์จากบัวสาย

จากการแยกเชื้อราเอนโดไฟท์จากบัวสาย ที่เก็บบริเวณทะเลน้อย จังหวัดพัทลุง พบว่าเชื้อราเอนโดไฟท์กระจายอยู่ในส่วนต่างๆของบัวสาย ทั้ง กลีบดอก ก้านดอก ใบ ก้านใบ และเกสร พบและแยกเชื้อราเอนโดไฟท์ได้มากที่สุดจากส่วนก้านดอก (0.5) ก้านใบ (0.47) และกลีบดอก (0.4) ตามลำดับ การกระจายของเชื้อราเอนโดไฟท์ในส่วนต่างๆของพืช อาจมาจากหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้องด้วยกัน เช่น สถานที่เก็บตัวอย่าง อุณหภูมิ อายุของพืช ฤดูกาล และสารอาหารที่มีอยู่ในแต่ละส่วนของพืช (Wilson, 1998) ความสัมพันธ์ของเชื้อราเอนโดไฟท์กับเนื้อเยื่อพืชเจ้าบ้านค่อนข้างมีความซับซ้อน (Owen, et al., 2004) แต่อย่างไรก็ตามเชื้อราเอนโดไฟท์และพืชต่างอยู่ร่วมกัน ในรูปแบบความสัมพันธ์ที่ต่างฝ่ายต่างได้ประโยชน์ซึ่งกันและกัน โดยพืชได้รับการปกป้องต่อแมลง และเชื้อก่อโรคพืช นอกจากนี้ยังพบว่าพืชที่มีเชื้อราเอนโดไฟท์อยู่สามารถทนต่อความร้อน และความแห้งแล้งได้อีกด้วย อัตราการแยกเชื้อ (isolation rate) ของเชื้อราเอนโดไฟท์จากบัวสายพบว่ามีค่า isolation rate เท่ากับ 0.3 ใกล้เคียงกับ isolation rate จากพืชบก แต่หากเปรียบเทียบ isolation rate กับกลุ่มพืชน้ำ เช่น หญ้าทะเล พบว่า isolation rate ของเชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากหญ้าทะเลมีค่าเท่ากับ 0.03 ซึ่งต่ำกว่า isolation rate จากบัวสาย อาจเป็นไปได้ว่าเนื่องจากหลายปัจจัยด้วยกัน ทั้งลักษณะทางกายภาพ และชีวภาพของสถานที่เก็บตัวอย่าง และสารอาหารของพืชที่ต่างกัน (ตารางที่ 6) เชื้อราเอนโดไฟท์ที่จัดจำแนกได้ในการศึกษาี้ สามารถจัดจำแนกโดยลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ 3 จีนัสด้วยกัน คือ *Nigrospora*, *Curvularia* และ *Pestalotiopsis* ซึ่งจัดเป็น common genus ที่พบเป็นเชื้อราเอนโดไฟท์ในพืช (Buatong, 2009 และ Supaphon et al., 2013) แต่อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาี้ใช้เพียงลักษณะทางสัณฐานวิทยาในการจัดจำแนกเชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกได้ โดยพบว่า

เชื้อราส่วนใหญ่ ไม่สร้างโครงสร้างสืบพันธุ์ โดยเชื้อรากลุ่มนี้ควรจัดจำแนกโดยใช้วิธีทางชีวโมเลกุลต่อไป

นอกจากนี้สารละลายที่ใช้ทำความสะอาดผิวใบก็มีผลต่ออัตราการแยกเชื้อได้เช่นกัน เนื่องจากพืชแต่ละชนิดมีลักษณะทางสรีระวิทยาแตกต่างกัน ในการศึกษาที่ใช้ความเข้มข้นของชุดสารละลาย และเวลา ดังนี้ 10% ethanol เวลา 3 นาที, 3% sodium hypochlorite เวลา 1 นาที, 10% ethanol เวลา 3 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ อ้างอิงตามงานวิจัยของ Supaphon et al, (2013) ซึ่งศึกษาเชื้อราเอนโดไฟต์จากหญ้าทะเล ที่เป็นพืชน้ำ เนื่องจากพบว่าพืชน้ำเหล่านี้ มีลักษณะทางสรีระของใบ และลำต้น ที่อวบน้ำ และบางกว่าพืชบก Phongpaichit, et al (2006) การแยกเชื้อราเอนโดไฟต์จากพืชบก ใช้ชุดความเข้มข้นที่สูง และเวลาในการฆ่าเชื้อผิวใบนานกว่าชุดของสารละลายในพืชน้ำ ดังนี้ 95% ethanol (EtOH) เวลา 30 วินาที, 5% sodium hypochlorite เวลา 5 นาที, 95% ethanol เวลา 30 วินาที และล้างในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ จากการศึกษาก่อนหน้านี้ ผู้วิจัยได้เปรียบเทียบและอัตราการแยกเชื้อราเอนโดไฟต์จากชุดสารละลายที่ความเข้มข้นต่างๆ และเวลาในการฆ่าเชื้อที่ต่างกัน พบว่าหากเลือกใช้สารละลายในการฆ่าเชื้อผิวใบไม่เหมาะสมกับลักษณะของพืช จะมีผลต่อจำนวนของเชื้อราเอนโดไฟต์ที่แยกได้ ดังนั้นการศึกษาเชื้อราเอนโดไฟต์จากพืช ควรเลือกใช้ชุดของสารละลายที่เหมาะสม

ตารางที่ 6 ค่า isolation rate ของเชื้อราเอนโดไฟต์จากบัวสาย และพืชอื่นๆ

พืช	Isolation rate (isolates/segment)	อ้างอิง	
<i>Colophospermum mopane</i>	0.49	Cowan, 1999	
<i>Azadirachta indica</i>	0.35	Mahesh et al., 2005	
<i>Crataeva magna</i>	0.086	Nalini et al., 2005	
<i>Terminalia arjuna</i>	0.11	Tejesvi et al., 2005	
<i>Pinus monticola</i>	1.3	Ganley and Newcombe, 2006	
<i>Garcinia</i> sp.	3.0	Rungjindamai, 2005	
<i>Camptotheca acuminata</i>	0.36	Lin et al., 2007	
<i>Eucommia ulmoides</i>	0.87	Sun et al., 2008	
<i>Forsythia suspense</i>	0.93		
<i>F. giraldiana</i>	0.7		
<i>F. ovata</i>	0.82		
<i>Berberis poiretii</i>	0.92		
<i>Rhus potanini</i>	0.83		
<i>Forsythia suspense</i>	0.93		
<i>F. giraldiana</i>	0.7	Guo et al., 2008	
<i>Pinus tabulaeformis</i>	0.66		
<i>Aegiceras corniculatum</i> (L.) Blanco	0.10		
<i>Avicennia alba</i> BI.	0.14		
<i>Bruguiera cylindrical</i> BI.	0.10		Chaowalit, 2009
<i>Lumnitzera littorea</i> Voigt	1.0		
<i>Rhizophora apiculata</i> BI.	0.2		
<i>Sonneratia caseolaris</i> (L.) Engl.	0.25		
<i>Xylocarpus granatum</i> Koen.	0.36		
<i>Enhalus acoroides</i>	0.014	Supaphon et al., 2013	
<i>Thalassia hemprichii</i>	0.024		
<i>Halophila ovalis</i>	0.082		
<i>Cymodocea serrulata</i>	0.014		

ตารางที่ 6 ค่า isolation rate ของเชื้อราเอนโดไฟต์จากบัวสาย และพืชอื่นๆ (ต่อ)

พืช	Isolation rate (isolates/segment)	อ้างอิง
<i>Aegiceras corniculatum</i> (L.) Blanco	0.2	Buatong, 2009
<i>Avicennia alba</i> BI.	0.43	
<i>Avicennia officinalis</i> L.	0.17	
<i>Bruguiera cylindrica</i> BI	1.05	
<i>Bruguiera gymnorrhiza</i> (L.) Savigny	0.1	
<i>Bruguiera parviflora</i> Wight & Arn.ex Griff	0.48	
<i>Ceriops decandra</i> Ding Hou	0.2	
<i>Ceriops tagal</i> (Perr.) C.B. Rob.	0.13	
<i>Heritiera littoralis</i> Ait	0.55	
<i>Lumnitzera littorea</i> Voigt	0.85	
<i>Rhizophora apiculata</i> BI.	0.83	
<i>Rhizophora mucronata</i> Poir.	0.47	
<i>Scyphiphora hydrophyllacea</i>	0.37	
<i>Sonneratia caseolaris</i> (L.) Engl.	0.43	
<i>Sonneratia griffithii</i> Kurz	0.2	
<i>Sonneratia ovate</i> Back	0.48	
<i>Xylocarpus moluccensis</i> Roem.	0.54	
<i>Scyphiphora hydrophyllacea</i>	0.37	
<i>Hevea brasiliensis</i>	0.78	Gazis and Chaverri, 2010
<i>Nymphaea</i> spp.	0.3	การศึกษานี้

## 5.2 ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเชื้อราเอนโดไฟต์

เนื่องจากปัญหาการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อก่อโรคมะเร็งเพิ่มขึ้น และยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการรักษายังมีผลข้างเคียงต่อผู้ป่วย เช่น เป็นอันตรายต่อไต เป็นผื่น และกระเพาะอาหารเป็นแผล เป็นต้น (Won, et al., 2012 และ Owen and Hundley, 2004) ดังนั้นนักวิจัยจึงสนใจศึกษาเกี่ยวกับ

ความสามารถของสิ่งมีชีวิต เช่น จุลินทรีย์ หรือ พืช และ สมุนไพรชนิดต่างๆ เพื่อหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรค เพื่อลดปัญหาการดื้อยา และผลข้างเคียงจากยา

มีรายงานการศึกษาเชื้อราเอนโดไฟท์จากกลุ่มพืชน้ำ และพบว่าสารสกัดจากเชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากพืชน้ำมีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค และพบว่าการศึกษาเชื้อราเอนโดไฟท์จากพืชน้ำยังไม่แพร่หลายมากนัก เมื่อเทียบกับพืชบก (Wilson, 1998; Alva, et al., 2002 and Sakayaroj, et al., 2010 และ Supaphon, et al., 2013) การศึกษานี้จึงมุ่งเน้นศึกษาเชื้อราเอนโดไฟท์จากพืชน้ำ คือ บัวสาย เนื่องจากเป็นทรัพยากรในท้องถิ่น และยังไม่มียางานการศึกษาศักยภาพของเชื้อราเอนโดไฟท์จากบัวสาย ในทะเลน้อย จากผลการศึกษาพบว่าเชื้อราเอนโดไฟท์ที่แยกได้มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้ดี โดยสารสกัดจากส่วนของเส้นใยที่สกัดด้วยเฮกเซน (CH) ของไอโซเลท TSU-WPLS036 (Unidentified endophytic fungi) มีฤทธิ์ในการยับยั้งและฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบที่ดีที่สุด โดยให้ค่า MIC/MFC เมื่อทดสอบด้วย *Candida albicans* ATCC90028 เท่ากับ 2/8 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Supaphon, et al. (2013) โดยพบว่าสารสกัด CH จากเชื้อราเอนโดไฟท์ PSU-ES73 (*Fusarium* sp.) แสดงฤทธิ์ยับยั้ง *C. neoformans* ได้ดีที่สุด ให้ค่า MIC/MFC เท่ากับ 2/4 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร โดยจากผลการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องผ่าน (Scanning Electron Microscope, SEM) พบว่าสารสกัดไปทำลายผนังเซลล์ของยีสต์ Arunpanichlert et al. (2011) ทำการแยกสารสกัดหยาบส่วน CH จากเชื้อ PSU-ES73 ให้เป็นสารบริสุทธิ์ และพบว่าสารบริสุทธิ์ที่ออกฤทธิ์ยับยั้ง *C. neoformans* (MIC 16 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร) คือสารบริสุทธิ์ zearalenone แต่อย่างไรก็ตาม สารสกัดในการศึกษานี้ยังเป็นสารสกัดหยาบ จึงอาจต้องนำไปแยกและศึกษาฤทธิ์ของสารบริสุทธิ์ต่อไป

จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่า เซ็อร่าเอนโคไฟท์ที่แยกได้จากบัวสาย ทะเลน้อย จังหวัดพัทลุง มีศักยภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคได้ดี และยังเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ทุติยภูมิที่น่าสนใจ

#### ข้อเสนอแนะ

1. ศึกษาความหลากหลายของเซ็อร่าเอนโคไฟท์ที่แยกได้จากบัวสาย โดยเพิ่มการศึกษาการจัดจำแนกโดยเทคนิคทางชีวโมเลกุล
2. ศึกษาศักยภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในระดับสารบริสุทธิ์
3. ศึกษาโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่ได้