บทสรุปผู้บริหาร

ผลการศึกษาของผู้วิจัยที่ผ่านมาพบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Enterobacter asburiae* สายพันธุ์ RS83 สามารถกระตุ้นพริกต้านทานโรคทั้งโรคพืชที่เกิดจากเชื้อสาเหตุในดิน (soil-borned pathogens) และโรคพืชที่เกิดจากเชื้อสาเหตุเหนือดิน (air-borned pathogens) ในสภาพเรือนทดลอง แปลงปลูก และแปลงเกษตรกรอาสาสมัคร อีกทั้งช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตให้กับพืช จึงนำมาสู่การศึกษาเชิงลึกทางวิชาการเกี่ยวกับกลไกของเชื้อสายพันธุ์ RS83 ที่มีประโยชน์ต่อพืชทั้งสองด้าน ดังนั้นโครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์หลัก คือ 1) เพื่อตรวจหาตัวกำหนดของเชื้อซึ่งเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นพืชสร้างภูมิคุ้มกันโรค และ 2) เพื่อค้นหากลไกของเชื้อที่เกี่ยวข้องกับการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

โครงการวิจัยนี้ได้ศึกษาตัวกำหนดของเชื้อที่เกี่ยวข้องกับการกระตุ้นพืชสร้างภูมิคุ้มกันโรค จำนวน 4 ชนิด คือ lipopolysaccharide (LPS) ของเชื้อที่อยู่ตรงตำแหน่งเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกของแบคทีเรีย สารประกอบอินทรีย์ที่ระเหยได้ (volatile organic compounds; VOC) สารซิเดอร์โรฟอร์ และ salicylic acid (SA) ที่เชื้อปลดปล่อยออกมา ซึ่งการศึกษาตัวกำหนดของเชื้อชนิด LPS เริ่มโดยการสกัด crude LPS ของเชื้อสายพันธุ์ RS83 ออกมาจากบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอก ทดสอบความสามารถของ crude LPS ในการกระตุ้นผักกาดหอมต้านทานโรคเน่าเละในลักษณะ *in vitro* bioassay ผลการทดลองพบว่าต้นพืชที่กระตุ้นด้วย crude LPS มีจำนวนต้นที่เป็นโรคน้อยกว่าประมาณ 90 เปอร์เซนต์โดยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม อีกทั้งกิจกรรมของเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) และ peroxidase (PO) ในต้นพืชที่กระตุ้นด้วย crude LPS เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับต้นพืชควบคุมภายหลังการปลูกเชื้อสาเหตุโรคเน่าเละให้กับต้นพืช

การศึกษาสารซิเดอร์โรฟอร์ที่เชื้อสายพันธุ์ RS83 ปลดปล่อยออกมาโดยมีผลกระตุ้นพืชต้านทานโรค เริ่มต้นศึกษาโดยการกลายพันธุ์เชื้อสายพันธุ์ RS83 ชนิด wild type ด้วยวิธี Electroporation เชื้อที่กลายพันธุ์ผลิตสารซิเดอร์โรฟอร์เล็กน้อยล้อมมีลักษณะเป็นรัศมีสีเหลืองส้มรอบ

ขอบโคโลนีของเชื้อที่เลี้ยงบนอาหารแข็ง Chrome Azurol S ในขณะที่เชื้อชนิด wild type ผลิตสารซิเดอร์ฟอร์ปรากฏเป็นรัศมีสีเหลืองส้มล้อมรอบโคโลนีเด่นอย่างเห็นได้ชัด ผลการวิเคราะห์ด้วยวิธี high performance liquid chromatography (HPLC) พบว่าสารซิเดอร์โรฟอร์ที่เชื้อสายพันธุ์ RS83 ชนิด wild type ปลดปล่อยออกมาคือ enterobactin ซึ่งมีปริมาณมากกว่าเชื้อที่กลายพันธุ์ถึง 80% เมื่อใช้วิธี Inverse polymerase chain reaction ตรวจสอบยีนที่มีผลต่อการลดการสร้างสารซิเดอร์โรฟอร์ของเชื้อที่กลายพันธุ์ พบว่ายีนดังกล่าวคือ glycerol-3-phosphate dehydrogenase (NAD (P)+) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่ายีน glycerol-3-phosphate dehydrogenase (NAD (P)+) มีผลต่อการควบคุมกระบวนการส่งผ่านสาร enterobactin ออกมาจากเซลล์ตรงบริเวณเยื่อหุ้มชั้นใน (inner membrane) ของเชื้อแบคทีเรีย เมื่อนำเชื้อชนิด wild type และชนิดกลายพันธุ์ทดสอบความสามารถของเชื้อในการกระตุ้นมะเขือเทศ และพริกชี้ฟ้าต้านทานโรคเหี่ยวเหลืองในเรือนทดลองพบว่าเชื้อชนิดกลายพันธุ์หมดศักยภาพในการกระตุ้นพืชต้านทานโรคเหี่ยวเหลือง ในขณะที่เชื้อชนิด wild type ยังให้ผลการควบคุมโรคได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับต้นพืชที่กระตุ้นด้วยเชื้อชนิดกลายพันธุ์

ผลการทดสอบ *in vitro* bioassay system แสดงให้เห็นว่าตัวกำหนดของเชื้อซึ่งเป็นสารอินทรีย์ระเหย (VOC) ที่ปลดปล่อยออกมาจากเชื้อสายพันธุ์ RS83 มีผลยับยั้งการเกิดโรคเน่าเละของผักกาดหอมใบหยิกได้ถึง 90% ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับต้นพืชในกรรมวิธีควบคุม นอกจากนี้ยังพบอีกว่าต้นพืชที่กระตุ้นด้วย VOC ที่ปลดปล่อยออกมาจากเชื้อสายพันธุ์ RS83 มีกิจกรรมรวมของเอนไซม์ SOD และ PO มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญภายหลังการเข้าทำลายของเชื้อก่อโรคเมื่อเปรียบเทียบกับต้นพืชควบคุม

ผลการศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับตัวกำหนดของเชื้อชนิด salicylic acid โดยการเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว 1% casamino acid และ 2% casamino acid ก่อนการวิเคราะห์ด้วยวิธีชีวเคมี และวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 527 nm พบว่าเชื้อสายพันธุ์ RS83 ปลดปล่อย SA ออกมาในปริมาณที่น้อยมากหรือแทบจะไม่มีความแตกต่างจากกรรมวิธีควบคุมซึ่งใช้

อาหารเหลว casamino acid เพียงอย่างเดียว ดังนั้นผู้วิจัยเชื่อว่าตัวกำหนดดังกล่าวอาจไม่เกี่ยวข้องกับการกระตุ้นพืชต้านทานโรคจึงไม่ได้ทำการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

สำหรับตัวกำหนดของเชื้อที่เกี่ยวข้องกับการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชนั้น จากการศึกษาทั้งการเลี้ยงบนอาหารเฉพาะ ปฏิกิริยาทางชีวเคมีที่วัดค่าการดูดกลืนด้วยเครื่อง spectrophotometer วิเคราะห์สารที่เชื้อปลดปล่อยออกมาโดยวิธี HPLC วิธี GC และ/หรือ วิธี GC-mass spectrometry รวมถึงการทดสอบกับพืชด้วยวิธี *in vitro* bioassay system พบว่าเชื้อสายพันธุ์ RS83 สามารถปลดปล่อยสารหลากหลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเช่น ฮอร์โมน indole-3-acetic acid ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของรากพืช ฮอร์โมน gibberellic aicd (GA3) ที่ส่งเสริมการยืดตัวของเซลล์พืช ปลดปล่อย VOC ที่มีผลกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช และสาร gluconic acid ช่วยย่อยสลายฟอสเฟตที่ตรึงอยู่ในดินให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืช รวมถึงความสามารถของเชื้อในการตรึงไนโตรเจนในอากาศให้เป็นประโยชน์ต่อการเจริญของพืช ดังนั้นเชื้อสายพันธุ์ RS83 มีตัวกำหนดที่เกี่ยวข้องกับการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชหลากหลายชนิด

ดังนั้นผลการศึกษาในโครงการวิจัยนี้จึงสรุปได้ว่าตัวกำหนดของเชื้อสายพันธุ์ RS83 ที่เกี่ยวข้องกับการกระตุ้นพืชต้านทานโรค และตัวกำหนดของเชื้อที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชมีหลากหลายชนิด อย่างไรก็ตามการทำงานของตัวกำหนดดังกล่าวของเชื้อทำงานร่วมกันในเวลาเดียวกัน หรือทำงานเชิงเดี่ยวภายใต้สภาวะแวดล้อมที่เฉพาะนั้น จำเป็นต้องทำการศึกษาต่อไป