

บทที่ 5

อภิปรายและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากรายงานฉบับสมบูรณ์ในปี 2551 งานวิจัยเริ่มต้นเก็บตัวอย่างดินในพื้นที่เขื่อนจุฬาภรณ์ จังหวัดชัยภูมิ เพื่อนำมาแยกเชื้อในกลุ่มของ *Pseudomonas* สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งหมด 363 ไอโซเลตเป็นแบคทีเรียรูปท่อน แกรมบวก 96 ไอโซเลต และแกรมลบ 261 ไอโซเลต แบคทีเรียรูปกลม แกรมลบ 3 ไอโซเลต และแบคทีเรียรูปกลม แกรมบวกอีก 3 ไอโซเลต จากนั้นนำแบคทีเรียรูปท่อน แกรมลบมาศึกษาลักษณะทางชีวเคมีพบว่า มีลักษณะที่แตกต่างกันถึง 18 กลุ่ม ดังนั้นงานวิจัยต่อมาได้สุ่มเชื้อแบคทีเรียจากทุกกลุ่มจำนวน 78 ไอโซเลตมาศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* พบว่ามีจำนวน 11 ไอโซเลตได้แก่ 4Z2B-4, 2Z2D-5, 4Z1D-2, 4Z2E-1, 4Z4C-2, Z1B-1, Z3B-2, Z4G-1, 2Z1A-5, 2Z2E-7 และ 2Z4E-2 ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยราได้ โดยให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 50, 56, 50, 40, 60, 40, 48, 56, 40, 56 และ 60 ตามลำดับ จากนั้นคัดเลือกเชื้อจำนวน 4 ไอโซเลตที่ให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง มากกว่าหรือเท่ากับ 50 มาจำแนกชนิดด้วยวิธี Partial 16S rDNA sequencing และนำข้อมูลสร้างต้นไม้ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) พบว่า แบคทีเรียไอโซเลต 4Z2B-4 มีลำดับความเหมือนของนิวคลีโอไทด์ 98.39 % เมื่อเทียบกับสายพันธุ์มาตรฐาน *Pseudomonas koreensis* PS9-14 ดังนั้น *Pseudomonas* ไอโซเลต 4Z2B-4 มีความเป็นไปได้ที่จะเป็น *Pseudomonas* สายพันธุ์ใหม่ สิ่งที่ต้องทำต่อไปคือ ตรวจสอบผลทางชีวเคมีเปรียบเทียบกับสายพันธุ์มาตรฐาน *P. koreensis* PS9-14 และส่งวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์เพิ่ม ในกรณีไอโซเลต 2Z2E-7, Z4G-1 จัดเป็นเชื้อแบคทีเรีย *Enterobacter cancerogenus* / *E. asburiae* เพราะลำดับความเหมือนของนิวคลีโอไทด์เป็น 100 % เมื่อเปรียบเทียบกับ *Enterobacter cancerogenus* / *E. asburiae* ส่วน 2Z4E-2 จัดอยู่ในกลุ่ม *Enterobacter* sp. เนื่องจาก มีลำดับลำดับความเหมือนของนิวคลีโอไทด์เป็น 99.12 % จากผลการทดลองดังกล่าวจะเห็นได้ว่า แบคทีเรียไอโซเลต 2Z2E-7, 1Z4G-1, 2Z4E-2 ถูกจัดอยู่ในกลุ่ม *Enterobacter* และแบคทีเรียดังกล่าวมีคุณสมบัติทางชีวเคมีดังนี้ หมักย่อยน้ำตาลกลูโคส และให้ผลลบกับการทดสอบเอนไซม์ไซโตโครม ออกซิเดส (วรณดีและคณะ, 2551) ซึ่งเป็นคุณสมบัติเดียวกับแบคทีเรียใน Family Enterobacteriaceae ส่วนแบคทีเรียไอโซเลต 4Z2B-4 เมื่อนำมาจำแนกชนิดด้วยวิธี Partial 16S rDNA sequencing พบว่ามีความใกล้เคียงกับเชื้อ *Pseudomonas* และจากการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีพบว่า ไม่หมักย่อยน้ำตาลกลูโคส ให้ผลบวกกับการทดสอบเอนไซม์ไซโตโครม ออกซิเดส และคาตาเลส (วรณดีและคณะ, 2551) ซึ่งเป็นคุณสมบัติของแบคทีเรียใน Family Pseudomonadaceae ดังนั้นผลการทดลองคุณสมบัติทางชีวเคมีจึงสอดคล้องกับการจัดจำแนกลักษณะทางชีวโมเลกุล

นอกจากนี้แบคทีเรียไอโซเลต 4Z2B-4 ถูกนำมาจัดจำแนกโดยใช้ชุดทดสอบ API20NE[®] พบว่าเป็น *P. fluorescens* ซึ่งคลาดเคลื่อนจากการจัดจำแนกโดยวิธี Partial 16S rDNA sequencing ซึ่งรายงานว่ามีความใกล้เคียงกับเชื้อ *P. koreensis* PS9-14 ส่วนแบคทีเรียไอโซเลต 2Z2E-7, 1Z4G-1, 2Z4E-2 จัดอยู่ในกลุ่มเชื้อ *Enterobacter* ซึ่งอยู่ใน Family Enterobacteriaceae ซึ่งถ้านำมาจัดจำแนกลักษณะทางชีวเคมีด้วยชุดทดสอบควรใช้ชุดทดสอบการจำแนกชนิดของแบคทีเรียใน Family Enterobacteriaceae ซึ่งได้แก่ API20E[®]