

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ ประสิทธิภาพของสารพอลิแซคคาไรด์และสารทุติยภูมิของ
Pseudomonas fluorescens ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้ายางและ
ยางชำถุงในสภาพอุณหภูมิสูง

คณะผู้วิจัย สังกัด

1. อาจารย์ ดร.ดุสิต อธิวัฒน์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
2. อาจารย์วิลาวรรณ เชื้อบุญ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
3. นางปาริชาติ สถิตธรรมพนา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)

และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย วช. - สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

บทสรุปย่อรายงานสำหรับผู้บริหาร

Executive Summary

ชื่อเรื่อง (ภาษาไทย) ประสิทธิภาพของสารพอลิแซ็กคาไรด์และสารทุติยภูมิของ *Pseudomonas fluorescens* ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้ายางและยางชำถุงในสภาพอุณหภูมิสูง

(ภาษาอังกฤษ) Efficacy of polysaccharides and secondary metabolites of *Pseudomonas fluorescens* SP007s to enhance growth of seedling and nurseries poly-bag rubber under high temperature condition

ชื่อหัวหน้าโครงการ หน่วยงานสังกัด และที่อยู่

ชื่อ- สกุล อาจารย์ ดร.ดุสิต อธิโนวัฒน์

หน่วยงาน คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ที่อยู่ 99 ถ. พหลโยธิน ต. คลองหนึ่ง อ. คลองหลวง จ. ปทุมธานี 12120

โทรศัพท์/โทรสาร 02-5644440 ต่อ 2063/02-5644485 E-mail address athinova6@hotmail.com

นักศึกษา/ผู้ร่วมวิจัย อาจารย์วิลาวรรณ เชื้อบุญ และนางปาริชาติ สถิตธรรมพนา

งบประมาณทั้งโครงการ 142,000 บาท

ระยะเวลาดำเนินการ 12 เดือน ตั้งแต่วันที่ 1 สิงหาคม 2555 ถึง 31 กรกฎาคม 2556

ปัญหาที่ทำวิจัยและความสำคัญ

ระบบรากและการดูดธาตุอาหารของยางพาราได้รับผลกระทบโดยตรงจากการเพิ่มสูงขึ้นของอุณหภูมิ การใช้พันธุ์ที่ทนทานต่อสภาพอุณหภูมิสูงจึงเป็นวิธีการเดียวที่จะบรรเทาปัญหานี้ได้ โดยมีรายงานว่าเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* สายพันธุ์ SP007s มีประสิทธิภาพกระตุ้นให้พืชเศรษฐกิจหลายชนิดผลิตสารต่าง ๆ ในระบบภูมิคุ้มกันที่ช่วยยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อโรคและเพิ่มความทนทานต่อสภาพอุณหภูมิสูง รวมทั้งการศึกษายังเบื้องต้นพบว่าเชื้อปฏิปักษ์ SP007s มีประสิทธิภาพเร่งอัตราการออกของเมล็ดยาง 98% และส่งเสริมความสูงของต้นกล้าอายุ 1 เดือน 30% แต่ยังไม่มีการศึกษารายละเอียดถึงกลไกของเชื้อปฏิปักษ์ที่เกี่ยวข้องในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและความทนต่อสภาพอุณหภูมิสูง โดยหากเชื้อปฏิปักษ์ SP007s สามารถชักนำให้ต้นกล้ายางเจริญเติบโตรวดเร็วและสะสม guaicol peroxidase เช่นเดียวกับผลการศึกษายังในพืชอื่น ๆ ที่ผ่านมาก็จะทำให้ลดปัญหาสภาพอุณหภูมิสูงที่จะทำอันตรายต่อต้นยาง ตลอดจนช่วยเตรียมความพร้อมของต้นยางให้มีความสมบูรณ์และผลผลิตสูงต่อไป

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาผลของการใช้สารพอลิแซ็กคาไรด์และสารทุติยภูมิของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ในการเพิ่มเปอร์เซ็นต์การออกและกระตุ้นให้ต้นกล้าผลิตฮอร์โมน indole-3-acetic acid ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของยางพารา

2. ศึกษาผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์และสารทุติยภูมิของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและกระตุ้นให้ยางชำถุงพันธุ์ RRIM600 เกิดการสะสมสาร guaicol peroxidase เพื่อทนต่อสภาพอุณหภูมิสูง

ผลการดำเนินงาน

สารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นการงอกของเมล็ดยางพันธุ์ RRIM600 98% ส่งเสริมความสูงต้น ความยาวราก จำนวนฉัตร และเส้นรอบวงลำต้นของต้นกล้าและยางชำถุง ด้วยการชักนำให้พืชผลิตฮอร์โมนพืช indole-3-acetic acid (IAA) สอดคล้องกับงานวิจัยในพืชอื่นที่ผ่านมา เช่น *Bacillus* sp., *Bacillus subtilis* TU-Orga1 และ *Pseudomonas fluorescens* TU-Orga2 สามารถผลิตฮอร์โมนหรือสารกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช เช่น ออกซิน (auxin) จิบเบอเรลลิน (gibberellin) และไซโตไคนิน (cytokinin) เป็นต้น ซึ่งสามารถใช้แบคทีเรียเหล่านี้พ่นต้นและใบพืชเพื่อชักนำให้พืชผลิตสารกระตุ้นการเจริญเติบโตช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Buensanteai et al., 2008; 2012; Prathuangwong et al., 2013) ตลอดจนสารพอลิแซคคาไรด์สามารถเพิ่มความทนทานต่อสภาพอุณหภูมิสูงโดยการกระตุ้นให้ต้นกล้าและยางชำถุงสะสม guaicol peroxidase อย่างรวดเร็วหลังจากการคลุกเมล็ดและพ่นใบ (Chatnaparat et al., 2009)

นอกจากนี้ มีรายงาน *P. fluorescens* ผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ และสารปฏิชีวนะ pyoluteorin, 2,4-di-acetylphloroglucinol, phenazine-1-carboxylic acid และ HCN ในการยับยั้งเชื้อราและแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชโดยตรง และทำหน้าที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ทำให้พืชมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นและรากยาวขึ้น เนื่องจากแบคทีเรียใช้สารพอลิแซคคาไรด์และการแพร่สารปฏิชีวนะรอบ ๆ รากพืชที่ถูกควบคุมโดย homoserine lactone ซึ่งเป็นระบบ autoinducer ที่จะถูกชักนำโดยสภาวะความเครียดต่าง ๆ เช่น ethanol และ NaCl เป็นต้น อีกทั้งการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชก็ยังสามารถใช้ระบบ autoinducer อื่น ๆ ได้ เช่น N-(3-oxododecanoyl)-L-homoserine lactone หรือสภาวะความเครียดจากเกลือ อุณหภูมิสูง และความแห้งแล้ง เป็นต้น (Nakata et al., 1999; 2000) จึงเป็นเหตุผลรองรับผลของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

สรุปผลการวิจัย

1. สารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นให้ต้นกล้ายางพาราผลิต IAA เพิ่มขึ้นเพื่อส่งเสริมการเจริญพืช
2. สารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s มีประสิทธิภาพกระตุ้นให้ต้นกล้าและยางชำถุงพันธุ์ RRIM600 เกิดการสะสมสาร guaicol peroxidase ซึ่งเป็นหนึ่งในตัวชี้วัดในการทนต่อสภาพอุณหภูมิสูง

ข้อเสนอแนะที่คาดว่าจะควรวิจัยเพิ่มเติม และวิธีการที่ควรพัฒนาต่อยอดสู่ภาคปฏิบัติจริง

สารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s มีแนวโน้มเป็นสารกระตุ้น (elicitor) การเจริญเติบโต และระบบภูมิคุ้มกันด้านทานพืชหากมีการศึกษาในรายละเอียดเกี่ยวกับสารออกฤทธิ์ (active ingredient) กระบวนการผลิต และเก็บรักษาให้คงประสิทธิภาพ จะสามารถพัฒนาไปสู่เชิงพาณิชย์ได้ แต่อย่างไรก็ตาม สูตรสำเร็จหรือผลิตภัณฑ์สารพอลิแซคคาไรด์ที่พัฒนาขึ้นจำเป็นต้องทดสอบในสภาพแปลงเพาะกล้าและ ยางชำถุงหลายพื้นที่ก่อนพิจารณาตัดสินใจนำไปใช้ในระบบการผลิตเชิงพาณิชย์ต่อไป

ผลงานทางวิชาการที่คาดว่าจะเกิดขึ้น

1. ผลิตภัณฑ์สารพอลิแซคคาไรด์ต้นแบบ
2. อนุสิทธิบัตรกระบวนการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ที่มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและ กระตุ้นภูมิคุ้มกันพืช
3. ผลงานวิจัยตีพิมพ์ 1 เรื่อง

Abstract

The rubber cultivar RRIM600 seed treated with the cell-free filtrate of *Pseudomonas fluorescens* SP007s increased stem high, root length, and stem circumference on 30-day-old plant with 26.72, 9.02, and 0.26 cm, respectively. Also, the cell-free filtrate triggered slightly increase expression of plant growth hormones, indole-3-acetic acid (IAA) and defense-related enzymes, guaiacol peroxidase (GPX) under greenhouse conditions. The activity of IAA and GPX were increased immediately after seed treated with the cell-free filtrate reaching peak levels at 7 and 10 days at 3.54 $\mu\text{g}/\text{mg}$ and 3.78 $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ protein, respectively compared to control treatments ($P=0.05$). Moreover, foliar spray application with an extracellular polysaccharide (EPS) of SP007s increased plant growth and triggered slightly increase expression of IAA and GPX on nursering poly-bag rubber under abiotic stress (temperature 40 - 45 °C) condition in the same trend with seed treatment. The activity of IAA and GPX were increased immediately after para rubber foliar spray with the EPS reaching peak levels at 4 days at 4.56 $\mu\text{g}/\text{mg}$ and 4.25 $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ protein, respectively compared to control treatments ($P=0.05$). Induction of systemic resistance by EPS of SP007s against abiotic stress of the rubber seedling and the nursering poly-bag rubber through the biochemical changes brings about accumulation of defense-related enzymes that relates to biosynthesis of GPX. These defensive compounds are play a marked role in stress response and immunity of plants. The application of EPS of SP007s as an elicitor against abiotic stress conditions will be compatible and alternative with its use for plant health.

บทคัดย่อ

การโคลนเมล็ดยางพันธุ์ RRIM600 ด้วยสารกรองของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s สามารถส่งเสริมให้มีความสูงต้น ความยาวราก และเส้นรอบวงลำต้นยางอายุ 30 วัน เท่ากับ 26.72, 9.02, และ 0.26 ซม. ตามลำดับ อย่างไรก็ตามสารกรองของเชื้อดังกล่าวสามารถกระตุ้นให้ต้นกล้ามีการผลิตฮอร์โมน indole-3-acetic acid (IAA) และกระตุ้นภูมิคุ้มกันต้านทานพืชให้ผลิต guaiacol peroxidase (GPX) ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง โดยกิจกรรมของ IAA และ GPX จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเท่ากับ 3.54 $\mu\text{g}/\text{mg}$ และ 3.78 $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{protein}$ หลังต้นกล้าออก 7 และ 10 วัน ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่น ๆ ($P=0.05$) ยิ่งไปกว่านั้นการพ่นใบยางด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตและกระตุ้นการผลิตฮอร์โมน IAA และกระตุ้นภูมิคุ้มกันต้านทานพืชให้ผลิต GPX ในสภาพอุณหภูมิ 40 - 45 °C เช่นเดียวกันกับวิธีการโคลนเมล็ด โดยกิจกรรมของ IAA และ GPX จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเท่ากับ 4.56 $\mu\text{g}/\text{mg}$ และ 4.25 $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{protein}$ หลังพ่นใบยางด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ 4 วัน ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่น ๆ ($P=0.05$) ดังนั้น การชักนำระบบภูมิคุ้มกันต้านทานพืชโดยใช้สารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ให้ต้นกล้าและยางชำถุงต้านทานต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม (อุณหภูมิ 40 - 45 °C) เกิดขึ้นมาจากการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีภายในเซลล์พืชจากการสะสมของ GPX จึงสามารถสรุปได้ว่าสารที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานภายในพืชนี้เป็นตัวการสำคัญที่พืชใช้สำหรับตอบสนองต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมและกระตุ้นภูมิคุ้มกันต้านทานภายในพืช ดังนั้นการประยุกต์ใช้สารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ในการเป็นสารกระตุ้นให้พืชทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมจึงมีความเป็นไปได้และเป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการส่งเสริมสุขภาพพืช

ความสำคัญและความเป็นมาของการวิจัย

สภาวะโลกร้อนในปัจจุบันส่งผลกระทบต่ออุณหภูมิของโลกเพิ่มสูงขึ้นเรื่อย ๆ การปลูกยางพาราจึงได้รับผลกระทบโดยตรงจากการเพิ่มสูงขึ้นของอุณหภูมิ โดยส่งผลกระทบต่อระบบรากและการดูดธาตุอาหารพืช การใช้พันธุ์ที่ทนทานต่อสภาพอุณหภูมิสูงจึงเป็นวิธีการเดียวที่จะบรรเทาปัญหานี้ได้ (สามารถ, 2553; วิทย์, 2553) นอกจากนี้ยังมีรายงานการพ่นใบพืชหรือคลุกเมล็ดก่อนปลูกด้วยสารอนินทรีย์กลุ่ม low concentration inorganic salts หรือ osmoprotectants หรือ signaling molecule หรือ antioxidant ต่างๆ เช่น H_2O_2 สามารถกระตุ้นให้พืชแสดงกลไกต้านทานต่อสภาพอุณหภูมิสูงได้ โดยกลไกที่เกี่ยวข้องได้แก่ การปรับ osmotic potential และการปรับอัตราการหายใจและการคายน้ำของปากใบ ตลอดจนปรับกระบวนการทางชีวเคมี ได้แก่ การสร้าง malonaldehyde (MDA), glutathione synthase, guaiacol peroxidase, superoxide dismutase และ catalase (Dusotoit-Coucsud et al., 2009a; 2009b) นอกจากนี้ยังมีรายงานการสะสมสาร guaiacol peroxidase ในต้นยางที่ให้น้ำยางปริมาณมากอีกด้วย (จริญญา, 2546)

ดังนั้นกลไกการชักนำให้พืชเกิดการปกป้องตัวเองโดยใช้สารกระตุ้น (elicitors) จึงเป็นประเด็นที่น่าสนใจที่จะนำมาพัฒนาเป็นเทคโนโลยีในการผลิตต้นกล้าสำหรับใช้เป็นต้นตอและการเพิ่มความทนต่อสภาพอุณหภูมิสูงของยางชำถุง ซึ่งจากการศึกษาเกี่ยวกับกลไกเหล่านี้พบว่าเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s จากดินรอบรากพืชตระกูลกะหล่ำ มีศักยภาพในการส่งเสริมการผลิตพืชนานาชนิดด้วยคุณลักษณะพิเศษหลายประการ เช่น สามารถเจริญแข่งขันคลุมทับเชื้อโรคได้อย่างรวดเร็ว และผลิต siderophore ที่มีความจำเพาะเจาะจงในการจับกับอนุมูลของธาตุเหล็กในดิน ทำให้ธาตุเหล็กอยู่ในรูปแบบที่แบคทีเรียที่มีประโยชน์และพืชนำไปใช้ได้ดี ตลอดจนเชื้อปฏิปักษ์ SP007s สามารถผลิตสารปฏิชีวนะหลายชนิดยับยั้งเชื้อโรคได้โดยตรง รวมทั้งสามารถผลิตฮอร์โมนพืช indole-3-acetic acid (IAA) และ gibberellin กระตุ้นให้พืชเศรษฐกิจเจริญเติบโตสมบูรณ์แข็งแรงอย่างรวดเร็ว รวมทั้งการผลิตสารต่าง ๆ ในระบบภูมิต้านทาน ได้แก่ salicylic acid, jasmonic acid, β -1,3-glucanase, peroxidase, phenolics, guaiacol peroxidase และ glucosinolate ที่ช่วยยับยั้งการเข้าทำลายของโรคและแมลง (สุดฤดี และคณะ, 2549; 2551; 2552ก; 2552ข; 2552ค; 2552ง; Athinuwat et al., 2007; Buensanteai et al., 2008; 2012; Prathuangwong and Athinuwat, 2009; Prathuangwong et al., 2005; 2007a; 2007b; 2009a; 2009b) ตลอดจนเพิ่มความทนทานต่อสภาพอุณหภูมิสูง (Chatnaparat et al., 2009) ซึ่งส่งผลให้พืชมีผลผลิตที่มีคุณภาพเพิ่มขึ้น งานวิจัยเหล่านี้บ่งชี้ถึงความสำคัญของเอนไซม์และสารชนิดต่าง ๆ ในระบบภูมิต้านทาน ซึ่งเชื้อปฏิปักษ์ SP007s สามารถส่ง elicitor เหล่านี้ไปกระตุ้นระบบภูมิต้านทานทั้งระบบสำหรับในยางพารานั้นพบว่าเชื้อปฏิปักษ์ SP007s มีประสิทธิภาพเร่งการงอกของเมล็ดยางพาราพันธุ์ RRIM600 98% และส่งเสริมความสูงของต้นกล้า อายุ 1 เดือน 30% แต่ยังไม่มีการศึกษารายละเอียดถึงกลไก

ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ที่เกี่ยวข้องในการส่งเสริมการเจริญเติบโต และความทนต่อสภาพอุณหภูมิสูง โดยหากเชื้อปฏิปักษ์ SP007s สามารถชักนำให้ต้นกล้ายางและยางชำถุงผลิตฮอร์โมนพืช IAA ทำให้เจริญเติบโตเร็ว และสะสม guaiacol peroxidase เช่นเดียวกับผลการศึกษาวิจัยในพืชอื่น ๆ ที่ผ่านมา ก็จะทำให้เตรียมความพร้อมของต้นตอยางสำหรับการติดตาได้เร็วขึ้น และลดปัญหาสภาพอุณหภูมิสูงที่จะทำอันตรายต่อยางชำถุงในสภาพแปลงปลูกจริงต่อไป ซึ่งในระยะต่อไปสามารถขยายผลการศึกษาดังกล่าวและวิธีการใช้สารพอลิแซคคาไรด์และสารทุติยภูมิเกี่ยวกับการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการรอดตายของยางชำถุงในแปลงปลูกจริงซึ่งมีอุณหภูมิสูง รวมทั้งผลของการใช้สารดังกล่าวในการเพิ่มผลผลิตน้ำยาง ตลอดจนศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารพอลิแซคคาไรด์และสารทุติยภูมิเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติสำหรับเร่งการเจริญเติบโต เพิ่มเปอร์เซ็นต์การรอดของยางชำถุงหลังติดตาทั้งในโรงเรือนและสภาพแปลงปลูกจริง และใช้เพิ่มปริมาณน้ำยางอย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์และสารทุติยภูมิของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ในการเพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอกและกระตุ้นให้ต้นกล้าผลิตฮอร์โมน indole-3-acetic acid ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของยางพารา
2. ศึกษาผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์และสารทุติยภูมิของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและกระตุ้นให้ยางชำถุงพันธุ์ RRIM600 เกิดการสะสมสาร guaiacol peroxidase เพื่อทนต่อสภาพอุณหภูมิสูง

ทฤษฎี แนวคิดในการวิจัย และผลงานที่เกี่ยวข้อง

คณะนักวิจัยได้คัดเลือกและศึกษาเชื้อปฏิปักษ์สายพันธุ์คุณภาพเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมศัตรูพืช โดยการศึกษาที่ผ่านมาเน้นเฉพาะการใช้เชื้อปฏิปักษ์ฆ่าหรือลดปริมาณเชื้อก่อโรคเท่านั้น แต่ในปัจจุบันมีรายงานว่าเชื้อปฏิปักษ์และสารพอลิแซคคาไรด์และสารทุติยภูมิที่เชื้อสร้างขึ้นหลายชนิดสามารถมีปฏิสัมพันธ์ที่ให้คุณประโยชน์หลายแนวทางต่อพืช รวมทั้งกระตุ้นการแบ่งเซลล์ ชักนำระบบภูมิคุ้มกันด้านทาน รักษาสมดุลภายในของเซลล์พืชในสภาวะเครียด ส่งผลต่อการเพิ่มผลผลิตทั้งปริมาณและคุณภาพ (สุตฤดี และคณะ, 2549; 2551; 2552ก; 2552ข; 2552ค; 2552ง; Athinuwat et al., 2007; Buensanteai et al., 2008; 2012; Prathuangwong and Athinuwat, 2009; Prathuangwong et al., 2005; 2007a; 2007b; 2009a; 2009b) คณะผู้วิจัยจึงเลือกเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ซึ่งสามารถผลิต elicitor กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันด้านทานของพืชได้หลายกลไกเป็นต้นแบบ ซึ่งหากเชื้อนี้สามารถช่วยกำกับดูแลควบคุมสุขภาพ

ยางพาราได้ในกลไกสำคัญสามารถทำหน้าที่ได้ครบ (different modes of action) เช่นเดียวกับที่ประสบความสำเร็จในพืชอื่น ๆ ดังกล่าวมาข้างต้นหรือสามารถทำงานร่วมกับสารชีวภัณฑ์อื่น ๆ (biofertilizer และ bioproduct) ส่งผลให้สามารถไปกระตุ้น (elicits) การเจริญเติบโต ปรับสมดุลให้พืชทนต่อสภาพอุณหภูมิสูง จะสามารถช่วยลดการใช้สารเคมีหรือเทคนิคเดิม ๆ นอกจากนี้ยังช่วยลดต้นทุนการผลิตของเกษตรกรต่อไปในอนาคต

วิธีการ

งานวิจัยนี้เป็นการค้นหาสารกระตุ้น (elicitor) ชนิดใหม่ที่มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นกระบวนการ innate immunity และ self-defense mechanism response ของยางพารา โดยการใช้สารพอลิแซ็กคาไรด์ และสารทุติยภูมิของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ในการกระตุ้นให้ต้นกล้ายางผลิตฮอร์โมนพืช indole-3-acetic acid (IAA) เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโต พร้อมทั้งกระตุ้นให้ยางสร้างเอนไซม์ guaiacol peroxidase เพื่อทนต่อสภาพอุณหภูมิสูง ซึ่งมีรายละเอียดการศึกษาดังนี้

1. ศึกษาผลของการใช้เชื้อปฏิปักษ์ SP007s และสารรองต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้า

1.1 การศึกษาผลของการใช้เชื้อปฏิปักษ์ SP007s และสารรองต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้ายางพันธุ์ RRIM600 ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง ณ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ โดยวางแผนการทดลองแบบ random complete blocked (RCBD) จำนวน 6 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 30 เมล็ด จำนวน 10 ซ้ำ ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 คลุกเมล็ดด้วยเซลล์สดเชื้อปฏิปักษ์ SP007s (10^8 cfu/ml) ใน nutrient glucose broth (NGB)

กรรมวิธีที่ 2 คลุกเมล็ดด้วยสารรองเชื้อปฏิปักษ์ SP007s

กรรมวิธีที่ 3 คลุกเมล็ดด้วยเซลล์สดเชื้อปฏิปักษ์ SP007s (10^8 cfu/ml) ในน้ำ

กรรมวิธีที่ 4 คลุกเมล็ดด้วยเซลล์ตายเชื้อปฏิปักษ์ SP007s (10^8 cfu/ml) ใน NGB

กรรมวิธีที่ 5 คลุกเมล็ดด้วยสาร salicylic acid เข้มข้น 2.5 mM (สารสังเคราะห์กระตุ้นภูมิคุ้มกันพืช)

กรรมวิธีที่ 6 คลุกเมล็ดด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ

โดยคลุกเมล็ดยางพาราพันธุ์ RRIM600 ด้วยสารกระตุ้นต่าง ๆ อัตรา 10 มิลลิลิตร : เมล็ดยางพารา 1 กิโลกรัมตามกรรมวิธี 1-6 ผึ่งเมล็ดจนหมาดจากนั้นจึงนำเมล็ดในแต่ละกรรมวิธีไปเพาะในขุยมะพร้าว เก็บรักษาเมล็ดไว้ในเรือนปลูกพืชทดลองจนกระทั่งเมล็ดแตกยอดและรากอ่อน วัดอัตราการงอก และย้ายแต่ละเมล็ดที่งอกไปปลูกในถุงชำแต่ละถุงที่บรรจุดิน $\frac{3}{4}$ ของถุงชำ รดน้ำเช้า-เย็น จึงวัดการเจริญเติบโต ได้แก่ ความสูงต้น ความยาวราก และเส้นรอบวงของลำต้นต้นกล้ายางพาราเมื่ออายุ 1 และ 2 เดือน วิเคราะห์หาความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติโดย Duncan's new multiple range tests (DMRT)

1.2 วิเคราะห์ปริมาณการผลิต IAA

วิเคราะห์ปริมาณ IAA ที่สะสมในต้นกล้าของพาราพันธุ์ RRIM600 โดยนำไปอย่างเต็มที่ในตำแหน่งเดียวกันของแต่ละกรรมวิธีมาซึ่งน้ำหนัก 0.1 กรัม นำมาบดในโกร่งที่เย็นด้วย homogenization buffer (0.1 M Tris – HCl buffer, pH 7, 0.1 M KCl, 1 mM PMSF, 1 μ g/ml leupeptin, 1 % (v/v) Triton X – 100 3 % (w/v) PVPP) ที่เย็นจัดปริมาตร 1 มิลลิลิตรโดยจะต้องเตรียมอยู่บนน้ำแข็งตลอดเวลาแล้วนำไป vortex ให้เนื้อเยื่อพืชที่บดละเอียดตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็ว 12,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4°C ดูด IAA standard และส่วนน้ำใสของแต่ละกรรมวิธีมาใส่ใน microcentrifuge tube หลอดใหม่หลอดละ 500 μ l บนน้ำแข็งเติม reagent หลอดละ 500 μ l และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ความยาวคลื่น 535 nm ด้วยเครื่อง spectrophotometer CE 1011 1000 SERIES และทำการเขียนกราฟ standard curve ของ IAA โดยให้แนวตั้งเป็นค่าความเข้มข้นของ IAA แนวนอนเป็นค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้และวิเคราะห์ข้อมูลหาค่าความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติโดย DMRT โดยโปรแกรม R โดยจะทำการวิเคราะห์ IAA ทุกๆ วัน เป็นเวลา 7 – 10 วัน หลังออก

2. ศึกษาผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์และสารทุติยภูมิของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ต่อการเจริญเติบโตและการกระตุ้นให้ยางชำถุงพันธุ์ RRIM600 เกิดการสะสมสาร guaiacol peroxidase เพื่อทนต่อสภาพอุณหภูมิสูง

2.1 การสกัดสารพอลิแซคคาไรด์และสารทุติยภูมิจากเชื้อปฏิปักษ์ SP007s

นำเชื้อปฏิปักษ์ SP007s มาเลี้ยงในอาหาร nutrient glucose broth (NGB) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 30°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดทำการปั่นแยกเอาเซลล์เชื้อปฏิปักษ์ออกด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็ว 10,000 รอบ/นาที อุณหภูมิ 4°C เวลา 15 นาที โดยตกตะกอนสารพอลิแซคคาไรด์เพื่อแยกน้ำใน supernatant ออกโดยใช้ petroleum ether และ anhydrous sodium sulfate จากนั้นระเหยแห้ง petroleum ether ออกด้วยเครื่อง rotary evaporator สำหรับการสกัดสารทุติยภูมิโดยการปรับ pH ของสาร supernatant ให้ได้เท่ากับ 2.0 จากนั้นเติมเอทานอลที่เย็นจัดลงไป แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบ/นาที อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 15 นาที นำตะกอนสารทุติยภูมิไปอบแห้งและนำไปเจือจางสำหรับไปใช้เป็นสารกระตุ้น (elicitor) ต่อไป

2.2 ศึกษาผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์และสารทุติยภูมิจากเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ต่อการเจริญเติบโตและการกระตุ้นให้ยางชำถุง พันธุ์ RRIM600 สะสมสาร guaiacol peroxidase ในสภาพอุณหภูมิ 30-35°C และ 40-45°C ด้วยวิธีการพ่นใบด้วยสารกระตุ้นต่าง ๆ อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อต้น รายละเอียด ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นยางชำถุงด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s

กรรมวิธีที่ 2 พ่นยางชำถุงด้วยสารทุติยภูมิของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s

กรรมวิธีที่ 3 พ่นยางชำถุงด้วยสาร salicylic acid ความเข้มข้น 2.5 mM

กรรมวิธีที่ 4 พ่นยางฆ่าถุงด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ

วางแผนการทดลองแบบ split plot in RCBD โดยให้อุณหภูมิเป็น main plot และกรรมวิธีเป็น sub plot รวม 8 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 30 ต้น จำนวน 10 ซ้ำ วัดการเจริญเติบโตของยางฆ่าถุง ได้แก่ ความสูงต้น ความยาวราก จำนวนจันทร และเส้นรอบวงของลำต้นยางฆ่าถุง เมื่ออายุ 1 และ 2 เดือน หลังจากพ่นใบด้วย สารกระตุ้นต่าง ๆ วิเคราะห์หาความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติโดย DMRT

2.3 วิเคราะห์การกระตุ้นให้ยางฆ่าถุงสะสมสาร guaiacol peroxidase

ซึ่งตัวอย่างใบยางพาราน้ำหนัก 0.1 กรัมแต่ละกรรมวิธีในข้อ 2.2 บดในโกร่งที่เย็นจัดให้ละเอียดใน homogenization buffer 1 มิลลิลิตร บนน้ำแข็งจากนั้น vortex ให้เนื้อเยื่อพืชที่บดละเอียดผสมกับ homogenization buffer บดให้เศษชิ้นส่วนของพืชตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็ว 12,000 รอบ/นาาที เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4°C ดูดของเหลวใสด้านบน (homogenate) ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ใส่ใน microtubes แช่ไว้ในน้ำแข็งเพื่อหาค่ากิจกรรมของ guaiacol peroxidase โดยปฏิกิริยาประกอบด้วย 1019 ไมโครลิตรของสารละลายซับสเตรทของ peroxidase (guaiacol 125 ไมโครลิตร + hydrogen peroxide 153 ไมโครลิตร และ 10 mM sodium phosphate buffer, pH 6.0 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร) จากนั้นทำการวัดค่าความดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer CE 1011 1000 SERIES ที่ความยาวคลื่น 460 นาโนเมตร บันทึกตั้งแต่ 0 30 60 และ 90 วินาที นำค่าที่ได้มาคำนวณหากิจกรรมของ peroxidase โดยให้ 1 หน่วยของกิจกรรมหมายถึง peroxidase ที่ออกซิไดซ์ 1 ไมโครโมล ของซับสเตรทในเวลา 1 นาที ($\text{min}^{-1}\text{mg}^{-1}\text{protein}$) (Hammerschmidt *et al.*, 1982) โดยทำการวิเคราะห์ guaiacol peroxidase หลังจากพ่นใบพืช ทุกๆ วัน เป็นเวลา 7 – 10 วัน

2.4 วิเคราะห์ปริมาณการผลิต IAA หลังจากพ่นใบพืช ทุกๆ วัน เป็นเวลา 7 – 10 วัน ดังวิธีการข้อ 1.2

ผลการวิจัย

1. ผลของการใช้เชื้อปฏิปักษ์ SP007s และสารรองต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้า

เมล็ดยางพันธุ์ RRIM600 ที่ได้รับการคลุกเมล็ดด้วยเซลล์สดเชื้อปฏิปักษ์ SP007s (10^8 cfu/ml) ใน nutrient glucose broth (NGB)(กรรมวิธีที่ 1) หรือสารรองเชื้อปฏิปักษ์ SP007s (กรรมวิธีที่ 2) หรือเซลล์สดเชื้อปฏิปักษ์ SP007s (10^8 cfu/ml) ในน้ำ (กรรมวิธีที่ 3) อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัม มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุดคือ 98% ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติ ($p = 0.05$) กับเมล็ดยางที่ได้รับการคลุกเมล็ดด้วยด้วยเซลล์ตายเชื้อปฏิปักษ์ SP007s (10^8 cfu/ml) ใน NGB (กรรมวิธีที่ 4), สาร salicylic acid เข้มข้น 2.5 mM (กรรมวิธีที่ 5) และน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีที่ 6) ที่มีเปอร์เซ็นต์การงอก 96%, 94% และ 92% ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลของการคลุกเมล็ดยางพาราพันธุ์ RRIM600 ด้วยเชื้อปฏิปักษ์ SP007s และสารกรองต่อการงอกและการเติบโตของต้นกล้าอายุ 1 เดือน^{1/}

กรรมวิธีที่ ^{2/}	การงอก (%)	ความสูงต้น (ซม.)	ความยาวราก(ซม.)	เส้นรอบวงลำต้น (ซม.)
1	98a	26.82a	8.79ab	0.26a
2	98a	26.72a	9.02a	0.26a
3	98a	25.19b	8.48bc	0.25b
4	96a	25.29b	8.22c	0.25b
5	94a	24.80c	8.13c	0.25b
6	92a	22.99d	8.18c	0.22c

^{1/}ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรตัวพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในแนวดิ่ง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p = 0.05$)

^{2/}กรรมวิธีที่ 1 = คลุกเมล็ดด้วยเซลล์สดเชื้อปฏิปักษ์ SP007s (10^8 cfu/ml) ใน nutrient glucose broth (NGB), กรรมวิธีที่ 2 = คลุกเมล็ดด้วยสารกรองเชื้อปฏิปักษ์ SP007s, กรรมวิธีที่ 3 = คลุกเมล็ดด้วยเซลล์สดเชื้อปฏิปักษ์ SP007s (10^8 cfu/ml) ในน้ำ, กรรมวิธีที่ 4 = คลุกเมล็ดด้วยเซลล์ตายเชื้อปฏิปักษ์ SP007s (10^8 cfu/ml) ใน NGB, กรรมวิธีที่ 5 = คลุกเมล็ดด้วยสาร salicylic acid เข้มข้น 2.5 mM และกรรมวิธีที่ 6 = คลุกเมล็ดด้วยน้ำกลั่นนิ่งมาเชื้อ

เมื่อกล้ายางมีอายุ 1 เดือน พบว่า T1 คลุกเมล็ดด้วยเซลล์สดเชื้อปฏิปักษ์ SP007s (10^8 cfu/ml) ใน NGB และ T2 การคลุกเมล็ดด้วยสารกรองเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ส่งผลให้กล้ายางมีความสูงต้น; ความยาวราก; และเส้นรอบวงลำต้นสูงสุด 26.82; 8.79; และ 0.26 เซนติเมตร และ 26.72, 9.02 และ 0.26 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างทางสถิติ ($p = 0.05$) กับกรรมวิธีควบคุมและกรรมวิธีอื่น ๆ (ตารางที่ 1)

เมื่อกล้ายางมีอายุ 2 เดือน พบว่า T1 คลุกเมล็ดด้วยเซลล์สดเชื้อปฏิปักษ์ SP007s (10^8 cfu/ml) ใน NGB และ T2 การคลุกเมล็ดด้วยสารกรองเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ยังคงมีประสิทธิภาพส่งเสริมให้กล้ายางมีความสูงต้น; ความยาวราก; และเส้นรอบวงลำต้นสูงสุด 40.60; 13.00; และ 0.31 เซนติเมตรและ 40.23, 13.10 และ 0.30 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างทางสถิติ ($p = 0.05$) กับกรรมวิธีควบคุมและกรรมวิธีอื่น ๆ (ตารางที่ 2)

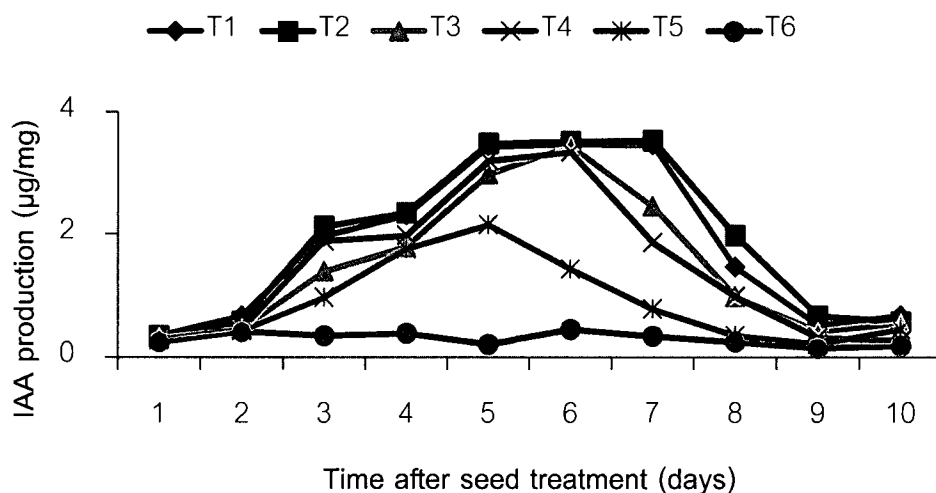
ตารางที่ 2 ผลของการคลุกเมล็ดยางพาราพันธุ์ RRIM600 ด้วยเชื้อปฏิปักษ์ SP007s และสารกรองต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าอายุ 2 เดือน^{1/}

กรรมวิธีที่ ^{2/}	ความสูงต้น (ซม.)	ความยาวราก(ซม.)	เส้นรอบวงลำต้น (ซม.)
1	40.60a	13.00a	0.31a
2	40.23a	13.10a	0.30a
3	38.87b	12.32b	0.29b
4	38.91b	12.31b	0.28bc
5	38.35b	11.82c	0.28c
6	36.97c	10.47d	0.27c

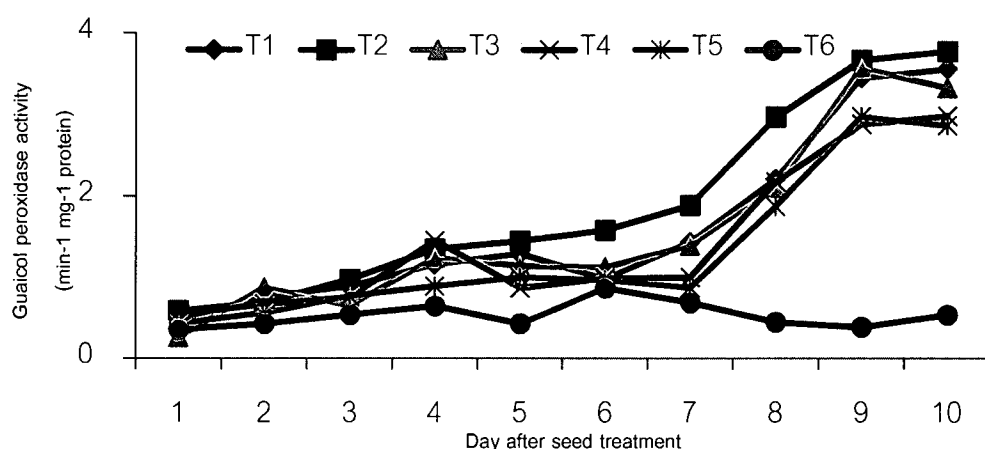
^{1/}ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรตัวพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p = 0.05$)

^{2/}กรรมวิธีที่ 1 = คลุกเมล็ดด้วยเซลล์สดเชื้อปฏิปักษ์ SP007s (10^8 cfu/ml) ใน nutrient glucose broth (NGB), กรรมวิธีที่ 2 = คลุกเมล็ดด้วยสารกรองเชื้อปฏิปักษ์ SP007s, กรรมวิธีที่ 3 = คลุกเมล็ดด้วยเซลล์สดเชื้อปฏิปักษ์ SP007s (10^8 cfu/ml) ในน้ำ, กรรมวิธีที่ 4 = คลุกเมล็ดด้วยเซลล์ตายเชื้อปฏิปักษ์ SP007s (10^8 cfu/ml) ใน NGB, กรรมวิธีที่ 5 = คลุกเมล็ดด้วยสาร salicylic acid เข้มข้น 2.5 mM และกรรมวิธีที่ 6 = คลุกเมล็ดด้วยน้ำกลั่นนิ่งมาเชื้อ

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณการผลิต indole-3-acetic acid (IAA) ในต้นกล้ายางเป็นเวลา 7 – 10 วัน หลังออก พบว่า T1 การคลุกเมล็ดด้วยเซลล์สดเชื้อปฏิปักษ์ SP007s (10^8 cfu/ml) ใน NGB และ T2 การคลุกเมล็ดด้วยสารกรองเชื้อปฏิปักษ์ SP007s มีประสิทธิภาพกระตุ้นให้ต้นกล้ายางผลิต IAA ได้สูงสุดในวันที่ 5 - 7 หลังออก โดยเฉพาะ T2 การคลุกเมล็ดด้วยสารกรองเชื้อปฏิปักษ์ SP007s มีประสิทธิภาพกระตุ้นให้ต้นกล้ายางผลิต IAA ได้สูงสุดในวันที่ 7 เท่ากับ $3.54 \mu\text{g/mg}$ ($p = 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (ภาพที่ 1) เมื่อวิเคราะห์ปริมาณ guaiacol peroxidase (GPX) พบว่า T2 การคลุกเมล็ดด้วยสารกรองเชื้อปฏิปักษ์ SP007s มีประสิทธิภาพกระตุ้นให้ต้นกล้ายางผลิต guaiacol peroxidase เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ตั้งแต่วันที่ 8 และสะสมสูงสุดในวันที่ 10 เท่ากับ $3.78 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ protein}$ ($p = 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 1 ปริมาณการผลิต indole-3-acetic acid (IAA) ในต้นกล้ายางพันธุ์ RRIM600 ที่คลุกเมล็ดด้วยสารกระตุ้นต่างชนิด ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้ T1 = กรรมวิธีที่ 1 คลุกเมล็ดด้วยเซลล์สดเชื้อปฏิปักษ์ SP007s (10^8 cfu/ml) ใน nutrient glucose broth (NGB), T2 = กรรมวิธีที่ 2 คลุกเมล็ดด้วยสารกรองเชื้อปฏิปักษ์ SP007s, T3 = กรรมวิธีที่ 3 คลุกเมล็ดด้วยเซลล์สดเชื้อปฏิปักษ์ SP007s (10^8 cfu/ml) ในน้ำ, T4 = กรรมวิธีที่ 4 คลุกเมล็ดด้วยเซลล์ตายเชื้อปฏิปักษ์ SP007s (10^8 cfu/ml) ใน NGB, T5 = กรรมวิธีที่ 5 คลุกเมล็ดด้วยสาร salicylic acid เข้มข้น 2.5 mM และ T6 = กรรมวิธีที่ 6 คลุกเมล็ดด้วยน้ำกลั่นหนึ่งขวดเป็นเวลา 10 วัน



ภาพที่ 2 ปริมาณการผลิต gualcol peroxidase ในต้นกล้ายางพันธุ์ RRIM600 ที่คลุกเมล็ดด้วยสารกระตุ้นต่างชนิด ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้ T1 = กรรมวิธีที่ 1 คลุกเมล็ดด้วยเซลล์สดเชื้อปฏิปักษ์ SP007s (10^8 cfu/ml) ใน nutrient glucose broth (NGB), T2 = กรรมวิธีที่ 2 คลุกเมล็ดด้วยสารกรองเชื้อปฏิปักษ์ SP007s, T3 = กรรมวิธีที่ 3 คลุกเมล็ดด้วยเซลล์สดเชื้อปฏิปักษ์ SP007s (10^8 cfu/ml) ในน้ำ, T4 = กรรมวิธีที่ 4 คลุกเมล็ดด้วยเซลล์ตายเชื้อปฏิปักษ์ SP007s (10^8 cfu/ml) ใน NGB, T5 = กรรมวิธีที่ 5 คลุกเมล็ดด้วยสาร salicylic acid เข้มข้น 2.5 mM และ T6 = กรรมวิธีที่ 6 คลุกเมล็ดด้วยน้ำกลั่นหนึ่งขวดเป็นเวลา 10 วัน

2. ผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์และสารทุติยภูมิของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ต่อการเจริญเติบโตและการกระตุ้นให้ยางชำถุงพันธุ์ RRIM600 เกิดการสะสมสาร guaicol peroxidase เพื่อทนต่อสภาพอุณหภูมิสูง

ผลการทดลองพบว่าสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s (T1 และ T5) มีประสิทธิภาพส่งเสริมการเจริญเติบโตของยางชำถุงอายุ 1 เดือน ให้มีความสูงต้น ความยาวราก และเส้นรอบวงลำต้นสูงสุดทั้งในสภาพอุณหภูมิ 30-35°C และ 40-45°C เท่ากับ 24.32, 23.59 และ 1.34 เซนติเมตร และ 23.83, 22.33 และ 0.99 เซนติเมตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมและกรรมวิธีอื่น ๆ ($p = 0.05$) (ตารางที่ 3) เมื่อกล้ายางมีอายุ 2 เดือน พบว่าสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s (T1 และ T5) ยังคงมีประสิทธิภาพส่งเสริมให้กล้ายางมีความสูงต้น; ความยาวราก; และเส้นรอบวงลำต้นสูงสุด 31.75; 29.21; และ 2.16 เซนติเมตรและ 28.72; 25.07; และ 1.59 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างทางสถิติ ($p = 0.05$) กับกรรมวิธีควบคุมและกรรมวิธีอื่น ๆ (ตารางที่ 4) ยิ่งไปกว่านั้นสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ยังส่งผลให้ยางชำถุงมีค่าเฉลี่ยของจำนวนฉัตรสูงที่สุดทั้งในสภาพอุณหภูมิ 30-35°C และ 40-45°C เท่ากับ 1.20 และ 1.10 ฉัตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 3 ผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์และสารทุติยภูมิของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ต่อการเจริญเติบโตของยางชำถุงพันธุ์ RRIM600 อายุ 1 เดือน ในสภาพอุณหภูมิสูง^{1/}

กรรมวิธี ^{2/}	สภาพอุณหภูมิ 30-35°C			สภาพอุณหภูมิ 40-45°C		
	ความสูงต้น (ซม.)	ความยาวราก(ซม.)	เส้นรอบวงลำต้น (ซม.)	ความสูงต้น (ซม.)	ความยาวราก(ซม.)	เส้นรอบวงลำต้น (ซม.)
1	24.32 a	23.59 a	1.34 a	23.83 a	22.33 a	0.99 a
2	21.98 b	21.58 b	1.17 b	21.61 b	20.78 b	0.90 b
3	23.18 c	21.10 b	1.18 b	21.97 b	20.89 b	0.87 b
4	21.25 d	20.56 c	0.90 c	20.88c	19.28 c	0.72 c

^{1/}ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกันในแต่ละแถว มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p = 0.05$)

^{2/}กรรมวิธีที่ 1 = พ่นยางชำถุงด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s, กรรมวิธีที่ 2 = พ่นยางชำถุงด้วยสารทุติยภูมิเชื้อปฏิปักษ์ SP007s, กรรมวิธีที่ 3 = พ่นยางชำถุงด้วยสาร salicylic acid ความเข้มข้น 2.5 mM และกรรมวิธีที่ 4 = พ่นยางชำถุงด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ

ตารางที่ 4 ผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์และสารทุติยภูมิของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ต่อการเจริญเติบโตของยางชำถุงพันธุ์ RRIM600 อายุ 2 เดือน ในสภาพอุณหภูมิสูง^{1/}

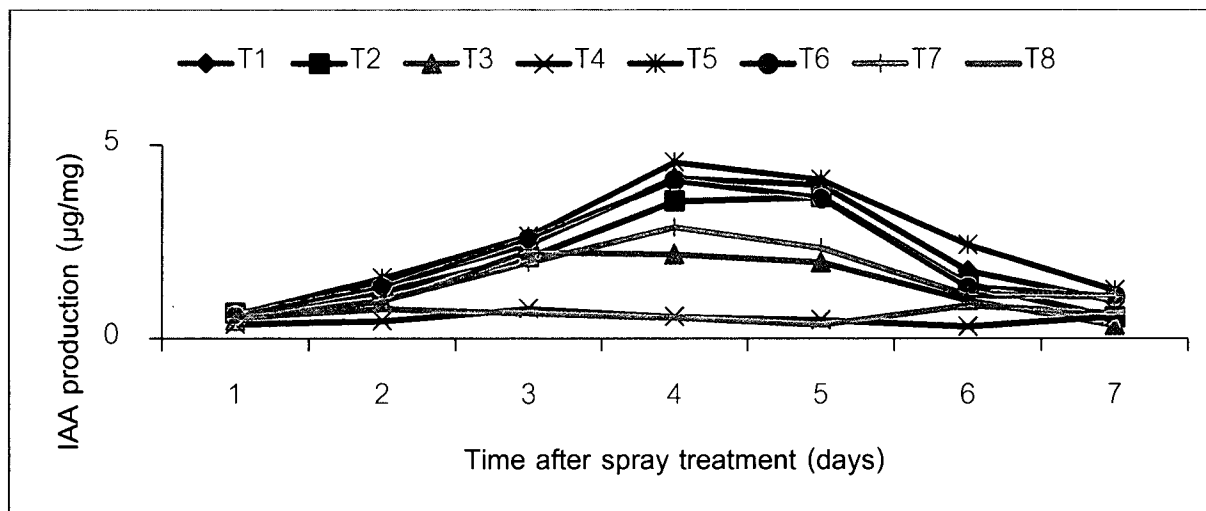
กรรมวิธี ^{2/}	สภาพอุณหภูมิ 30-35°C				สภาพอุณหภูมิ 40-45°C			
	ความสูง ต้น (ซม.)	ความ ยาวราก (ซม.)	เส้นรอบ วงลำต้น (ซม.)	จำนวน จذور	ความสูง ต้น (ซม.)	ความ ยาวราก (ซม.)	เส้นรอบ วงลำต้น (ซม.)	จำนวน จذور
1	31.75a	29.21a	2.16a	1.20a	28.72a	25.07a	1.59a	1.10a
2	27.67b	26.41b	1.68b	1.08b	25.94b	24.39b	1.16b	1.08ab
3	27.58b	27.98c	1.68b	1.08b	25.72b	25.32a	1.16b	1.04ab
4	25.33c	23.81d	1.70c	1.00 b	24.49c	21.66c	0.98c	0.98b

^{1/}ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรตัวพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในแนวดิ่ง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p = 0.05$)

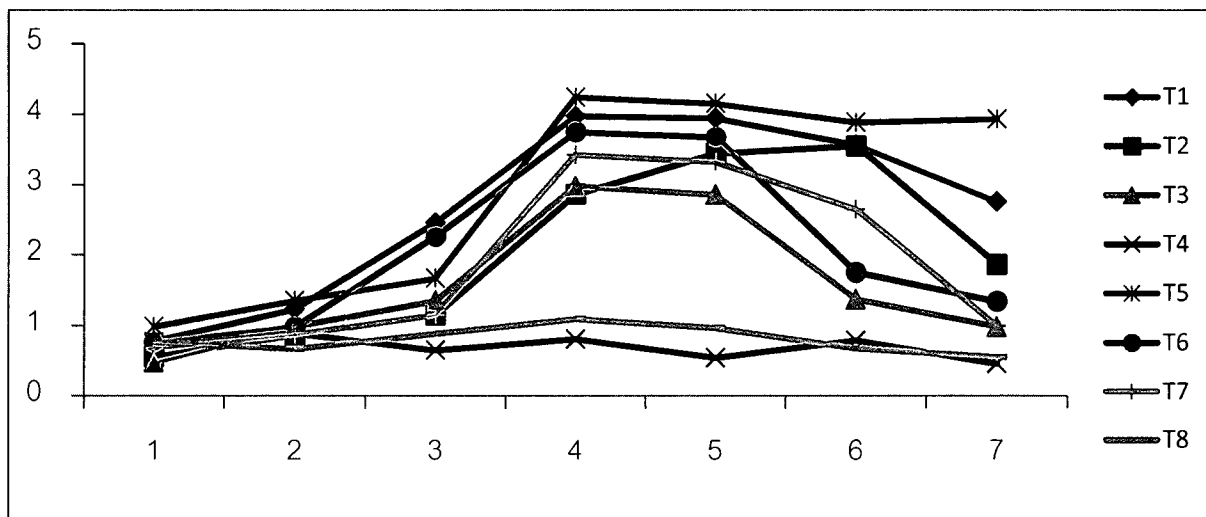
^{2/}กรรมวิธีที่ 1 = พนยางชำถุงด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s, กรรมวิธีที่ 2 = พนยางชำถุงด้วยสารทุติยภูมิเชื้อปฏิปักษ์ SP007s, กรรมวิธีที่ 3 = พนยางชำถุงด้วยสาร salicylic acid ความเข้มข้น 2.5 mM และกรรมวิธีที่ 4 = พนยางชำถุงด้วยน้ำกลั่นหนึ่งขวด

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณการผลิต indole-3-acetic acid (IAA) ในต้นยางชำถุงพันธุ์ RRIM600 หลังพ่นด้วยสารกระตุ้นต่างชนิด 7 วัน พบว่า T5 พนยางชำถุงด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ในสภาพอุณหภูมิ 40-45 °C มีประสิทธิภาพกระตุ้นให้ต้นกล้าผลิต IAA ได้สูงสุดในวันที่ 4 หลังพ่นต้นยาง เท่ากับ 4.56 $\mu\text{g}/\text{mg}$ แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม ($p = 0.05$) (ภาพที่ 3) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับ T1 พนยางชำถุงด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ในสภาพอุณหภูมิ 30-35 °C และ T6 พนยางชำถุงด้วยสารทุติยภูมิของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ในสภาพอุณหภูมิ 40-45 °C (ภาพที่ 3) แสดงให้เห็นว่า สารพอลิแซคคาไรด์และสารทุติยภูมิของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s มีศักยภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นยางชำถุง ถึงแม้จะอยู่ในสภาพอุณหภูมิ 40-45°C ก็สามารถเจริญได้ดี

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณ guaiacol peroxidase (GPX) พบว่า T5 พนยางชำถุงด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ในสภาพอุณหภูมิ 40-45°C มีประสิทธิภาพกระตุ้นให้ต้นกล้าผลิต guaiacol peroxidase ได้เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ตั้งแต่วันที่ 4 หลังพ่นต้นยาง เท่ากับ 4.25 $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{protein}$ รองลงมาคือ T1 พนยางชำถุงด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ในสภาพอุณหภูมิ 30-35 °C และ T6 พนยางชำถุงด้วยสารทุติยภูมิของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ในสภาพอุณหภูมิ 40-45°C พบการสะสมสาร GPX 3.98 และ 3.76 $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{protein}$ ตามลำดับ แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม ($p = 0.05$) (ภาพที่ 4) แสดงให้เห็นว่า สารพอลิแซคคาไรด์และสารทุติยภูมิของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s มีศักยภาพในการกระตุ้นให้ต้นยางชำถุงเจริญเติบโตภายใต้สภาพอุณหภูมิ 40-45°C ได้



ภาพที่ 3 ปริมาณการผลิต indole-3-acetic acid (IAA) ในต้นยางชำถุงพันธุ์ RRIM600 หลังพ่นด้วยสารกระตุ้นต่างชนิด 7 วัน ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้ T1 และ T5 = พ่นยางชำถุงด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s, T2 และ T6 = พ่นยางชำถุงด้วยสารทุติยภูมิของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s, T3 และ T7 = พ่นยางชำถุงด้วยสาร salicylic acid ความเข้มข้น 2.5 mM, และ T4 และ T8 = พ่นยางชำถุงด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ โดย T1-T4 ทดสอบในสภาพอุณหภูมิ 30-35 °C และ T5-T8 ทดสอบในสภาพอุณหภูมิ 40-45 °C



ภาพที่ 4 ปริมาณการผลิต guaiacol peroxidase ในต้นยางชำถุงพันธุ์ RRIM600 หลังพ่นด้วยสารกระตุ้นต่างชนิด 7 วัน ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้ T1 และ T5 = พ่นยางชำถุงด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s, T2 และ T6 = พ่นยางชำถุงด้วยสารทุติยภูมิของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s, T3 และ T7 = พ่นยางชำถุงด้วยสาร salicylic acid ความเข้มข้น 2.5 mM, และ T4 และ T8 = พ่นยางชำถุงด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ โดย T1-T4 ทดสอบในสภาพอุณหภูมิ 30-35 °C และ T5-T8 ทดสอบในสภาพอุณหภูมิ 40-45 °C

วิจารณ์ผล

จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์หลายชนิดถูกนำมาปรับใช้ในระบบการผลิตพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการปกป้องพันธุ์พืชอ่อนแอให้รอดพ้นจากศัตรูพืชและสภาวะความเครียดต่าง ๆ เช่น สภาวะแล้ง และสภาพอุณหภูมิสูง เป็นต้น หน้าที่ของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อพืช ได้แก่ การตรึงไนโตรเจน ละลายฟอสเฟตและธาตุอาหารพืชอื่น ๆ ป้องกันการเข้าทำลายพืชจากเชื้อโรคพืชและแมลงศัตรูพืชโดย กลไกการเป็นปรสิตและการเป็นตัวห้ำ การชักนำให้พืชผลิตฮอโมนพืช และการกระตุ้นภูมิคุ้มกันพืชทั้ง ระบบ ซึ่งจุลินทรีย์หนึ่งสายพันธุ์อาจมีหนึ่งหรือมากกว่าหนึ่งกลไกดังกล่าวมาแล้ว ตัวอย่างกรณีแบบที่เรีย บริเวณรอบรากพืช (plant growth promoting rhizosphere) ที่มีประสิทธิภาพหลากหลายทั้งการผลิตสาร ปฏิชีวนะ การแย่งใช้ธาตุหลักจากเชื้อโรคพืช และการชักนำภูมิคุ้มกันพืช เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโต ของพืชให้รอดพ้นจากการรบกวนของศัตรูพืชและสภาวะความเครียดต่าง ๆ โดยการใช้จุลินทรีย์มีหลาย รูปแบบ ได้แก่ การใส่หรือรดดิน การคลุกเมล็ดหรือจุ่มส่วนขยายพันธุ์พืช รวมทั้งการพ่นต้นพืช อย่างไรก็ตาม การใช้จุลินทรีย์ในระบบการปลูกพืชยังมีข้อจำกัดอยู่หลายประการ เช่น ความเชี่ยวชาญของเกษตรกร ทั้งประเด็นของการใช้ วิธีการใช้ รวมทั้งวิธีการขยายพันธุ์จุลินทรีย์สำหรับใช้เอง การพัฒนาผลิตภัณฑ์ จุลินทรีย์หรือสารจากจุลินทรีย์พร้อมใช้จึงน่าจะเป็นทางเลือกที่ดีที่สุด ปัจจุบันมีการพัฒนาสูตรสำเร็จหรือ ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ที่เหมาะสมเป็นจำนวนมากเพื่อคงประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ไม่ให้ลดลงเช่นเดียวกับการ ศึกษาวิจัยในครั้งนี้เพื่อทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s สำหรับพัฒนาเป็นสารกระตุ้น (elicitor) ชนิดใหม่ในเชิงพาณิชย์ต่อไป ผลการศึกษา พบว่า สารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมความสูงต้น ความยาว ราก จำนวนจันทร และเส้นรอบวงลำต้นของต้นกล้าและยางชำถุง ด้วยการชักนำให้พืชผลิตฮอโมนพืช indole-3-acetic acid สอดคล้องกับงานวิจัยในพืชอื่นที่ผ่านมา เช่น *Bacillus* sp., *Bacillus subtilis* TU- Orga1 และ *Pseudomonas fluorescens* TU- Orga2 สามารถผลิตฮอโมนหรือสารกระตุ้นการ เจริญเติบโตของพืช เช่น ออกซิน (auxin) จิบเบอเรลลิน (gibberellin) และไซโตไคนิน (cytokinin) เป็นต้น ซึ่งสามารถใช้แบบที่เรียเหล่านี้พ่นต้นและใบพืชเพื่อชักนำให้พืชผลิตสารกระตุ้นการเจริญเติบโตช่วย ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Buensanteai et al., 2008; 2012; Prathuangwong et al., 2013) ตลอดจนสารพอลิแซคคาไรด์สามารถเพิ่มความทนทานต่อสภาพอุณหภูมิสูงโดยการกระตุ้นให้ต้นกล้าและ ยางชำถุงสะสม guaiacol peroxidase อย่างรวดเร็วหลังจากการคลุกเมล็ดและพ่นใบ (Chatnaparat et al., 2009) อีกทั้งผลงานวิจัยยังสอดคล้องกับผลการศึกษาจุลินทรีย์และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจาก *Acaulospora denticulate*, *Glomus claroidium*, *Glomus clarum*, *Acaulospora foveata* และ *Entrophospora colombiana* ในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นยางพาราและการป้องกันกำจัดโรค รากขาว ซึ่งพบว่า ต้นกล้ายางพารามีการเจริญเติบโตตอบสนองต่อเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวได้ดี โดย G.

claroidium สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นกล้ายางพาราได้ดีกว่า ไม่มีการใส่เชื้อถึง 38 % เนื่องจากจุลินทรีย์ดังกล่าวมีศักยภาพในการผลิตฮอร์โมนพืช Auxin ได้ดีที่สุด (สถาบันวิจัยยาง กรมวิชาการเกษตร, 2555)

นอกจากนี้สารพอลิแซคคาไรด์ที่แบคทีเรียผลิตขึ้นในระหว่างการมีปฏิสัมพันธ์ร่วมกันเพื่อรวมกลุ่มกันเป็นโคโลนี (colony) และระหว่างการมีปฏิสัมพันธ์กับพืชและสัตว์ ซึ่งภายใต้ปฏิสัมพันธ์ต่าง ๆ เหล่านี้ แบคทีเรียจะใช้สารพอลิแซคคาไรด์ที่มีลักษณะเป็นสารเหนียวอยู่รอบเซลล์รักษาความชุ่มชื้นและปกป้องเซลล์จากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม รวมทั้งใช้ในการยึดเกาะครอบครองพื้นที่ผิวเซลล์ของพืชและสัตว์ แต่หน้าที่อื่น ๆ ของสารพอลิแซคคาไรด์ยังมีข้อมูลอยู่ค่อนข้างจำกัด มีรายงานเกี่ยวกับสารพอลิแซคคาไรด์ของ *Klebsiella pneumonia* ทำหน้าที่ในการจับตัวเป็นกลุ่มก้อนของแบคทีเรียชนิดนี้ (Nakata and Kurane, 1999) โดยเฉพาะการใช้ H12 polysaccharide ความเข้มข้น 1-100 ppm ร่วมกับ CaCl_2 ทำให้เซลล์แบคทีเรียมีประสิทธิภาพยึดติดกับผิวเซลล์พืชได้อย่างแนบแน่น (Leigh, 1992; Roberts, 1996) แต่ถึงแม้ว่าสารพอลิแซคคาไรด์จะมีหน้าที่โดดเด่นด้านการยึดติดแนบแน่นของเซลล์แบคทีเรียในระหว่างการมีปฏิสัมพันธ์กับเซลล์พืช ขณะเดียวกันก็ต้องหลีกเลี่ยงระบบภูมิคุ้มกันพืชที่จะตอบสนองในการป้องกันพืชจากเชื้อโรคเช่นกัน (Leigh, 1992) ซึ่ง Nakata et al. (2000) รายงาน adhesion system ระหว่างพืชและแบคทีเรียที่สามารถผลิตสารปฏิชีวนะได้เพื่อเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันพืช โดยเฉพาะ *Pseudomonas fluorescens* ที่สามารถยึดครองผิวรากพืชและปกป้องพืชจากการเข้าทำลายของเชื้อโรคในดิน (soilborne pathogen) ทั้งแบคทีเรียและราสาเหตุโรคพืช แม้ว่าแบคทีเรียจะอาศัยอยู่ในดินเขตรากพืช (rhizosphere) โดยปราศจากการมีปฏิสัมพันธ์ใด ๆ (Cook, 1993) ยิ่งไปกว่านั้นนอกจาก *P. fluorescens* จะผลิตสารพอลิแซคคาไรด์และสารปฏิชีวนะ pyoluteorin, 2,4-di-acetylphloroglucinol, phenazine-1-carboxylic acid และ HCN ในการยับยั้งเชื้อราและแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชโดยตรงแล้ว ยังทำหน้าที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (หัวไชเท้า) ทำให้หัวไชเท้ามีน้ำหนักเพิ่มขึ้นและรากยาวขึ้น เนื่องจากแบคทีเรียใช้สารพอลิแซคคาไรด์จากระบบ adhesion system และผลของการแพร่สารปฏิชีวนะรอบ ๆ รากพืชที่ถูกควบคุมโดย homoserine lactone ซึ่งเป็นระบบ autoinducer ที่จะถูกชักนำโดยสภาวะความเครียดต่าง ๆ เช่น ethanol และ NaCl เป็นต้น นอกจากนี้การส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชก็ยังสามารถใช้ระบบ autoinducer อื่น ๆ ได้ เช่น N-(3-oxododecanoyl)-L-homoserine lactone หรือสภาวะความเครียดจากเกลือ อุณหภูมิสูง และความแห้งแล้งเป็นต้น (Nakata et al., 1999) แต่อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของสารพอลิแซคคาไรด์ยังมีผลต่อโครงสร้างของดิน หากใช้สารพอลิแซคคาไรด์อัตราที่สูงเกินไปจะยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช เนื่องจากการอัดตัวแน่นของเม็ดดิน เหตุผลอีกประการหนึ่งคือ สารพอลิแซคคาไรด์จะแพร่ไปครอบครองผิวรากและดินบริเวณเขตรากพืชและยับยั้งอิทธิพลของสารพอลิแซคคาไรด์จากจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ (Nakata et al., 2000) จึงเป็นเหตุผลรองรับผลของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

สรุปผล

1. สารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นให้ต้นกล้ายางพาราผลิต IAA เพิ่มขึ้นเพื่อส่งเสริมการเจริญพืช
2. สารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s มีประสิทธิภาพกระตุ้นให้ต้นกล้าและยางชำถุงพันธุ์ RRIM600 เกิดการสะสมสาร guaiacol peroxidase ซึ่งเป็นหนึ่งในตัวชี้วัดในการทนต่อสภาพอุณหภูมิสูง

ข้อเสนอแนะ

สารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s มีแนวโน้มเป็นสารกระตุ้น (elicitor) การเจริญเติบโตและระบบภูมิคุ้มกันทางพืชหากมีการศึกษาในรายละเอียดเกี่ยวกับสารออกฤทธิ์ (active ingredient) กระบวนการผลิต และเก็บรักษาให้คงประสิทธิภาพ จะสามารถพัฒนาไปสู่เชิงพาณิชย์ได้ แต่อย่างไรก็ตามสูตรสำเร็จหรือผลิตภัณฑ์สารพอลิแซคคาไรด์ที่พัฒนาขึ้นจำเป็นต้องทดสอบในสภาพแปลงเพาะกล้าและยางชำถุงหลายพื้นที่ก่อนพิจารณาตัดสินใจนำไปใช้ในระบบการผลิตเชิงพาณิชย์ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- วิทยุประทัชชีใจ. 2553. ชาวสวนยางอีสานสุดเศร้าวิกฤติภัยแล้งและภาวะอากาศร้อนจัดส่งผลต้นยางยืนตายซากเป็นทิวแถวจังหวัดเลย เสียหายแล้วกว่า 60%. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : <http://tonklagroup.blogspot.com> (วันที่ค้นข้อมูล : 17 มีนาคม 2555).
- สถาบันวิจัยยาง กรมวิชาการเกษตร. 2555. รายงานสรุปผลงานวิจัยและพัฒนายางพารา รอบ 9 เดือน (ตุลาคม 2554 – มิถุนายน 2555).
- สามารถ บุญจรัส. 2553. ยางพารายืนต้นตายที่จังหวัดเลยแก้ไขได้โดยการใช้โพลิเมอร์ที่เป็นการแก้ไขปัญหามือต้น (รังไรรอดเพื่อรอดฝน). [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : www.thaigreenagro.com (วันที่ค้นข้อมูล : 17 มีนาคม 2555).
- สุดฤดี ประเทืองวงศ์ ชัยสิทธิ์ ปรีชา วิลาวรรณ เชื้อบุญ สุพจน์ กาเข็ม จารุวัฒน์ เกาธรรมพิทักษ์ และดุสิต อธิณูวัฒน์. 2549. การพัฒนาปุ๋ยชีวภาพด้วยแบคทีเรียที่ส่งเสริมการเจริญและความแข็งแรงของพืชเป็นปฏิปักษ์ที่สามารถควบคุมการระบาดของโรคพืช. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา.
- สุดฤดี ประเทืองวงศ์ สมศิริ แสงโชติ ศรีเมฆ ชาวโพพาง สุรเชษฐ์ จามรมาน วิบูลย์ จงรัตนเมธิกุล ทศพล พรพรม สุพจน์ กาเข็ม ชัยสิทธิ์ ปรีชา จารุวัฒน์ เกาธรรมพิทักษ์ และดุสิต อธิณูวัฒน์. 2551. การพัฒนาระบบการจัดการศัตรูพืชสำหรับถั่วเหลืองฝักสดแบบผสมผสาน. ในเอกสารประกอบการ

- ประชุมวิชาการเครือข่ายการวิจัยสถาบันอุดมศึกษาทั่วประเทศ ปี 2551 “ เทคโนโลยีสู่ชุมชนเพื่อการพัฒนาที่ยั่งยืน” . 17-19 มกราคม 2551.จ. ขอนแก่น. หน้า 385-390.
- สุดฤดี ประเทืองวงศ์ สุพจน์ กาเข็ม จารุวัฒน์ เถาธรรมพิทักษ์ ดุสิต อธินุวัฒน์ วิลาวรรณ เชื้อบุญและติยากร จัตรนภารัตน์. 2552ก. หนังสือคู่มือการใช้จุลินทรีย์จัดการโรคและแมลงเพื่อการผลิตข้าวและพืชผัก. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.144 หน้า.
- สุดฤดี ประเทืองวงศ์ สุพจน์ กาเข็ม จารุวัฒน์ เถาธรรมพิทักษ์ ดุสิต อธินุวัฒน์ วิลาวรรณ เชื้อบุญและติยากร จัตรนภารัตน์. 2552ข.หนังสือคู่มือการใช้จุลินทรีย์จัดการโรคและแมลงเพื่อการผลิตข้าวแบบผสมผสาน. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.72 หน้า.
- สุดฤดี ประเทืองวงศ์ติยากร จัตรนภารัตน์ สุนันทนาถ นุราภักดิ์และดุสิต อธินุวัฒน์. 2552ค. *Bacillus amyloliquefaciens* KPS46 ชักนำให้ตัวเหลืองเกิดการต้านทานโรคด้วยการสร้าง salicylic acid เพิ่มขึ้นภายใต้การผลิตพืชระดับฟาร์ม.(Salicylic Acid Increased by *Bacillus amyloliquefaciens* KPS46 Inducer Enhances Plant Resistance Against Diseases Under Farm Production) ใน การประชุมวิชาการพืชไร่วงศ์ถั่วแห่งชาติ ครั้งที่ 2. 15 - 17 กรกฎาคม 2552. ณ โรงแรมจอมเทียน ปาล์ม บีช รีสอร์ท จ. ชลบุรี. หน้า 13-14.
- สุดฤดี ประเทืองวงศ์ สมศิริ แสงโชติ ศรีเมฆ ชาวโพพาง สุรเชษฐ จามรมาน วิบูลย์ จงรัตนเมธิกุล ทศพล พรพรมติยากร จัตรนภารัตน์ สุนันทนาถ นุราภักดิ์ ดุสิต อธินุวัฒน์ สุพจน์ กาเข็ม และจารุวัฒน์ เถาธรรมพิทักษ์. 2552ง. การตัดสินใจใช้พันธุ์พืชที่เหมาะสมและการลดการใช้สารเคมีในระบบการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสานเพื่อการผลิตถั่วเหลืองฝักสด.ใน รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืช ครั้งที่ 9. 24-26 พฤศจิกายน 2552.จ.อุบลราชธานี. หน้า 415-430.
- Athinuwat, D., N. Joonlamanop and S. Prathuangwong. 2007. *Bacillus amyloliquefaciens* KPS46 related to both plant growth and pathogen-induced resistance regulation in vegetable soybean. p. 1.*In* Proc. of International Conference on Integration of science & Technology for Sustainable Development. April 26-27, 2007. Bangkok.
- Buensanteai, N., D. Athinuwat, T. Chatnaparat, G.Y. Yuen and S. Prathuangwong. 2008. Extracellular proteome of plant growth promoting-bacteria, *Bacillus amyloliquefaciens*KPS46 and its effect on enhanced growth promotion and induced systemic resistance on soybean. Kasetart J. (Nat. Sci.). 42: 13-26.
- Buensanteai, N., K. Thumanu, M. Sompong, D. Athinuwatand S. Prathuangwong. 2012. The FTIR spectroscopy investigation of the cellular components of cassava after sensitization with plant growth promoting rhizobacteria, *Bacillus subtilis* CaSUT007. African Journal of Microbiology Research 6(3) : 603-610.

- Chatnaparat, T., D. Athinuwat and S. Prathuangwong. 2009. Bacterial antagonist mediated broad-spectrum resistance of maize against disease and water stress. Proc. of the 1st International Conference on Corn and Sorghum Research and the 34th National Corn and Sorghum Research Conference. Apr. 8-10, 2009. Patthaya. P36.
- Cook, R.J. 1993. Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. Annu. Rev. Phytopathol. 31: 53-80.
- Dusotoit-Coucaud, A., N. Brunel, P. Kongsawadworakul, U. Viboonjun, A. Lacointe, J.-L. Julien. 2009a. Sucrose importation into laticifers of *Hevea brasiliensis*, in relation to ethylene stimulation of latex production. Ann Bot. 104: 635–47.
- Dusotoit-Coucaud, A., N., Brune, J. Franchel, F. Granet, H. Chrestin, S. Sakr. 2009b. Molecular characterization of the sucrose transporter *HbSUT1B* in relation with rubber production in the latex cells. J Rubb Res. 12: 125–39.
- Leigh, J.A. 1992. Exopolysaccharides in plant-bacterial interactions. Annu. Rev. Microbiol. 46: 307–346.
- Nakata, K. and R. Kurane. 1999. Production of an extracellular polysaccharide bioflocculant by *Klebsiella pneumoniae*. Biosci. Biotechnol. Biochem. 63: 2064 - 2068.
- Nakata, K., A. Yoshimoto and Y. Yamada. 1999. Promotion of antibiotic production by *Pseudomonas fluorescens* S272 under some stress conditions. Biosci. Biotechnol. Biochem. 63: 293 - 297.
- Nakata, K. N. Harada, K. Sumitomo and K. Yoneda. 2000. Enhancement of plant stem growth by flocculation of the antibiotic-producing bacterium, *Pseudomonas fluorescens* S272, on the root. Biosci. Biotechnol. Biochem. 63 (3): 459 - 465.
- Prathuangwong, S. and D. Athinuwat. 2009. Mixtures of bacterial antagonist strains enhanced biocontrol efficacy and reduce fungicide use of green soybean production. p 30. In Proc. of World Soybean Research Conference VIII. Aug. 10-15, 2009. Beijing.
- Prathuangwong, S. and N. Buensanteai. 2007. *Bacillus amyloliquefaciens* KPS46 induced systemic resistance against bacterial pustule pathogen with increased phenols, peroxides, and 1,3- β -glucanase in soybean plant. Acta Phytopathol. Acad. Sci. Hung. 42: 321-330.

- Prathuangwong, S., S. Kasem, J. Thowthampitak and D. Athinuwat. 2005. Multiple plant response to bacterial mediated protection against various diseases. *Journal of ISSAAS* Vol. 11(3): 79-87.
- Prathuangwong, S., S. Kasem, C. Preecha, J. Thowthampitak, D. Athinuwat, N. Buensanteai, R. Detmanee and S. Tsuyumu. 2007b. *Bacillus amyloliquefaciens* KPS46 Uniformly Perceives in Numerous Experiments to Improve Plant Health and Environment. Summery Book JSPS-NRCT Core University Program (1998~2008) on Development of Thermotolerant Microbial Resources and Their Applications. 84:29-30.
- Prathuangwong, S., S. Tsuyumu, J. Thowthampitak, D. Athinuwat, N. Buensanteai and T. Chatnaparat. 2009a. *Bacillus amyloliquefaciens* KPS46 increases IAA and phenolic content for enhanced growth promotion and induced systemic resistance in IPM program of green soybean production. p.159. *In Proc. of the 1st Joint Seminar of Asian Core Program*. Mar. 20-21, 2009. Bangkok.
- Prathuangwong, S., W. Chuaboon, S. Kasem, D. Athinuwat, K. Suyama and H. Negishi. 2009b. Potential for application time of *Pseudomonas fluorescens* SP007s and biofertilizer for alternaria leaf spot management of Chinese kale. *In Proc. of the ISSAAS International Congress*. Feb. 23 -27, 2009. Bangkok.
- Prathuangwong, S., D. Athinuwat, W. Chuaboon, T. Chatnaparat and N. Bueansanteai. 2013. Bioformulation *Pseudomonas fluorescens* SP007s against dirty panicle disease of rice. *African Journal of Microbiology Research* 7(47): 5274 - 5283.
- Roberts, I.S. 1996. The biochemistry and genetics of capsular polysaccharide production in bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 50 : 285 - 315.

ภาคผนวก

แบบฟอร์มสรุปผลงานวิจัยเพื่อเผยแพร่

ชื่อเรื่อง (ภาษาไทย) ประสิทธิภาพของสารพอลิแซคคาไรด์และสารทุติยภูมิของ *Pseudomonas fluorescens* ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้ายางและยางชำถุงในสภาพอุณหภูมิสูง

(ภาษาอังกฤษ) Efficacy of polysaccharides and secondary metabolites of *Pseudomonas fluorescens* SP007s to enhance growth of seedling and nursering poly-bag rubber under high temperature condition

โดย (ชื่อนักวิจัย) อาจารย์ ดร. ดุสิต อธิณวัฒน์

(หน่วยงานที่สังกัด) สาขาวิชาการจัดการเกษตรอินทรีย์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ม. ธรรมศาสตร์

ประเด็นปัญหาก่อนการวิจัย

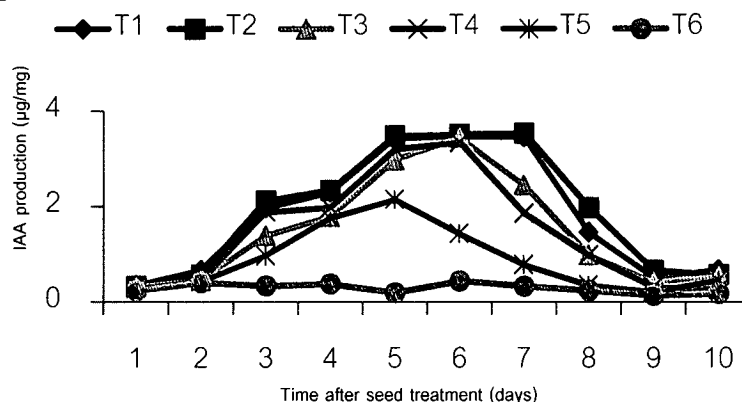
สภาวะโลกร้อนในปัจจุบันส่งผลกระทบต่ออุณหภูมิของโลกเพิ่มสูงขึ้นเรื่อย ๆ การปลูกยางพาราจึงได้รับผลกระทบโดยตรงจากการเพิ่มสูงขึ้นของอุณหภูมิ โดยส่งผลกระทบต่อระบบรากและการดูดธาตุอาหารพืช การใช้พันธุ์ที่ทนทานต่อสภาพอุณหภูมิสูงจึงเป็นวิธีการเดียวที่จะบรรเทาปัญหานี้ได้ (สามารถ, 2553; วิทย์, 2553) นอกจากนี้ยังมีรายงานการพ่นใบพืชหรือคลุกเมล็ดก่อนปลูกด้วยสารอนินทรีย์กลุ่ม low concentration inorganic salts หรือ osmoprotectants หรือ signaling molecule หรือ antioxidant ต่างๆ เช่น H_2O_2 สามารถกระตุ้นให้พืชแสดงกลไกต้านทานต่อสภาพอุณหภูมิสูงได้ โดยกลไกที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ การปรับ osmotic potential และการปรับอัตราการหายใจและการคายน้ำของปากใบ ตลอดจนปรับกระบวนการทางชีวเคมี ได้แก่ การสร้าง malonaldehyde (MDA), glutathione synthase, guaiacol peroxidase, superoxide dismutase และ catalase (Dusotoit-Coucsud et al., 2009a; 2009b) นอกจากนี้ยังมีรายงานการสะสมสาร guaiacol peroxidase ในต้นยางที่ให้น้ำยางปริมาณมากอีกด้วย (จริญญา, 2546) โดยมีรายงานว่าเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* สายพันธุ์ SP007s มีประสิทธิภาพกระตุ้นให้พืชเศรษฐกิจหลายชนิดผลิตสารต่าง ๆ ในระบบภูมิคุ้มกัน ได้แก่ salicylic acid, jasmonic acid, β -1,3-glucanase, peroxidase, phenolics, guaiacol peroxidase และ glucosinolate ที่ช่วยยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อโรค (สุดฤดี และคณะ, 2549; 2551; 2552ก; 2552ข; 2552ค; 2552ง; Athinuwat et al., 2007; Buensanteai et al., 2008; 2012; Prathuangwong and Athinuwat, 2009; Prathuangwong et al., 2005; 2007; 2009a; 2009b) และเพิ่มความทนทานต่อสภาพอุณหภูมิสูง (Prathuangwong and Buensanteai, 2007; Athinuwat et al., 2007) รวมทั้งการศึกษายังเบื้องต้นพบว่าเชื้อปฏิปักษ์ SP007s มีประสิทธิภาพเร่งอัตราการงอกของเมล็ดยางพาราพันธุ์ RRIM600 98% และส่งเสริมความสูงของต้นกล้า อายุ 1 เดือน 30% แต่ยังไม่มีการศึกษารายละเอียดถึงกลไกของเชื้อปฏิปักษ์ที่เกี่ยวข้องในการส่งเสริมการเจริญเติบโตความทนต่อสภาพอุณหภูมิสูง โดยหากเชื้อปฏิปักษ์ SP007s สามารถ

ชักนำให้ต้นกล้าอย่างเจริญเติบโตรวดเร็วและสะสม guaiacol peroxidase เช่นเดียวกับผลการศึกษาวิจัยในพืชอื่น ๆ ที่ผ่านมา ก็จะทำให้ลดปัญหาสภาพอุณหภูมิสูงที่จะทำอันตรายต่อต้นยาง ตลอดจนช่วยเตรียมความพร้อมของต้นยางให้มีความสมบูรณ์และผลผลิตสูงต่อไป ความรู้ที่ได้จากประเด็นนี้จะสามารถกำหนดระดับเศรษฐกิจสำคัญ (threshold) ที่เกี่ยวข้องกับปริมาณ (antagonist density) และวิธีการใช้ (application) เชื้อปฏิปักษ์ รวมทั้งการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ และสารทุติยภูมิจากเชื้อปฏิปักษ์ในการชักนำให้ต้นกล้าอย่างพาราเจริญเติบโตเร็วทนต่อสภาพอุณหภูมิสูงอย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น รวมทั้งเชื้อสด สารพอลิแซคคาไรด์ และสารทุติยภูมิของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s จะสามารถนำไปพัฒนาในระดับอุตสาหกรรมและใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตยางพาราเชิงการค้าได้ดี

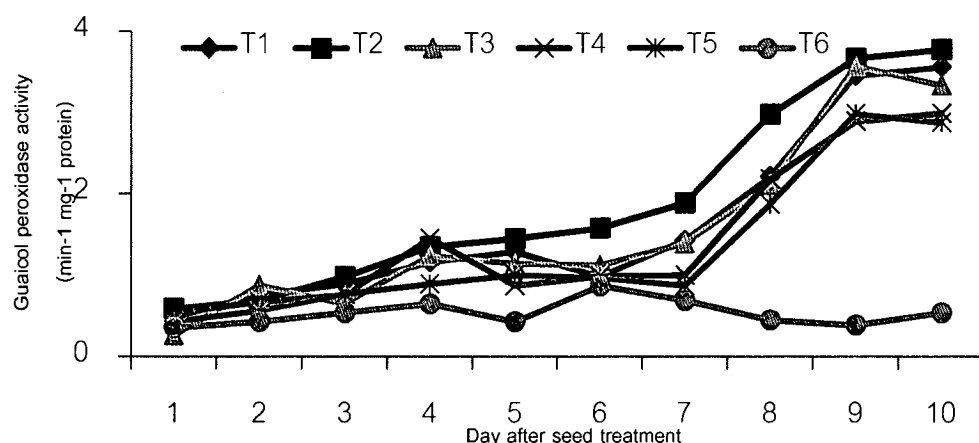
การแก้ปัญหาโดยผลงานวิจัย

ต้นกล้าอย่างพาราที่ปลูกเมล็ดด้วยสารกรองของ *P. fluorescens* มีปริมาณการสะสมสาร indole-3-acetic acid (IAA) ซึ่งเป็นฮอร์โมนพืชที่เกี่ยวข้องกับการแตกยอดและการแตกรากของพืชสูงสุด เท่ากับ $3.54 \mu\text{g/ml}$ แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น ๆ ($P=0.05$) (ภาพที่ 1) ยิ่งไปกว่านั้นสารกรองของ *P. fluorescens* มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นให้ต้นกล้าอย่างพาราเกิดการสะสมสาร guaiacol peroxidase สูงสุด ในวันที่ 10 หลังออก เท่ากับ $3.78 \text{ min}^{-1}\text{mg}^{-1}\text{protein}$ แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น ๆ ($P=0.05$) (ภาพที่ 2) ซึ่ง guaiacol peroxidase เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกลไกการปกป้องตนเองของพืชจากสภาวะความเครียดต่าง ๆ เช่น สภาพอุณหภูมิสูง และแห้งแล้ง เป็นต้น บ่งชี้ให้เห็นว่าสารกรองเชื้อ *P. fluorescens* มีประสิทธิภาพและหน้าที่เป็น elicitor ชักนำให้ต้นกล้าอย่างพาราเกิดความทนทานต่อสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม จึงมีแนวโน้มกระตุ้นให้ต้นกล้าอย่างพาราทนต่อสภาพอุณหภูมิสูงได้

รูปภาพประกอบ



ภาพที่ 1 ปริมาณการผลิต indole-3-acetic acid (IAA) ในต้นกล้ายางพันธุ์ RRIM600 ที่คลุกเมล็ดด้วยสารกระตุ้นต่างชนิด ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้ T1 = กรรมวิธีที่ 1 คลุกเมล็ดด้วยเซลล์สดเชื้อปฏิปักษ์ SP007s (10^8 cfu/ml) ใน nutrient glucose broth (NGB), T2 = กรรมวิธีที่ 2 คลุกเมล็ดด้วยสารกรองเชื้อปฏิปักษ์ SP007s, T3 = กรรมวิธีที่ 3 คลุกเมล็ดด้วยเซลล์สดเชื้อปฏิปักษ์ SP007s (10^8 cfu/ml) ในน้ำ, T4 = กรรมวิธีที่ 4 คลุกเมล็ดด้วยเซลล์ตายเชื้อปฏิปักษ์ SP007s (10^8 cfu/ml) ใน NGB, T5 = กรรมวิธีที่ 5 คลุกเมล็ดด้วยสาร salicylic acid เข้มข้น 2.5 mM และ T6 = กรรมวิธีที่ 6 คลุกเมล็ดด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อเป็นเวลา 10 วัน



ภาพที่ 2 ปริมาณการผลิต guaicol peroxidase ในต้นกล้ายางพันธุ์ RRIM600 ที่คลุกเมล็ดด้วยสารกระตุ้นต่างชนิด ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้ T1 = กรรมวิธีที่ 1 คลุกเมล็ดด้วยเซลล์สดเชื้อปฏิปักษ์ SP007s (10^8 cfu/ml) ใน nutrient glucose broth (NGB), T2 = กรรมวิธีที่ 2 คลุกเมล็ดด้วยสารกรองเชื้อปฏิปักษ์ SP007s, T3 = กรรมวิธีที่ 3 คลุกเมล็ดด้วยเซลล์สดเชื้อปฏิปักษ์ SP007s (10^8 cfu/ml) ในน้ำ, T4 = กรรมวิธีที่ 4 คลุกเมล็ดด้วยเซลล์ตายเชื้อปฏิปักษ์ SP007s (10^8 cfu/ml) ใน NGB, T5 = กรรมวิธีที่ 5 คลุกเมล็ดด้วยสาร salicylic acid เข้มข้น 2.5 mM และ T6 = กรรมวิธีที่ 6 คลุกเมล็ดด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อเป็นเวลา 10 วัน

(ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปี 2555)

แบบฟอร์มการรายงานการนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์อย่างเป็นรูปธรรม

1. ชื่อโครงการ/กิจกรรมที่ได้รับการสนับสนุน...ประสิทธิภาพของสารพอลิแซ็กคาไรด์และสารทุติยภูมิของ *Pseudomonas fluorescens* SP007s ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้วยและยางชำถุงในสภาพอุณหภูมิสูง.....
2. ชื่อนักวิจัย.....อ.ดร. ดุสิต อธิโนวัฒน์.....
3. งบประมาณที่ได้รับการสนับสนุน.....142,000.....บาท
4. ปีงบประมาณที่ดำเนินการ.....2555.....
5. การนำผลผลิตจากงานวิจัยไปสู่การใช้ประโยชน์ ☒ มีการนำไปใช้ประโยชน์ ☐ ยังไม่มีการนำไปใช้ประโยชน์
6. ช่วงเวลาที่งานวิจัยได้นำไปสู่การใช้ประโยชน์.....มกราคม – มิถุนายน 2556.....
7. เป้าหมายดำเนินการ.....นำสารพอลิแซ็กคาไรด์ของ *Pseudomonas fluorescens* SP007s ไปใช้คลุมเมล็ดยาง เพื่อกระตุ้นการงอกและการเจริญเติบโต.....
8. พื้นที่การใช้ประโยชน์.....อ. ขววด จ. นครศรีธรรมราช.....
9. รูปแบบการใช้ประโยชน์จากงานวิจัยตามข้อ 7 และ 8 (สามารถเลือกได้มากกว่า 1 รูปแบบ เนื่องจากถ้าเป็นเรื่องเดียวกันสามารถนำไปใช้มากกว่า 1 มิติ ได้)
 - ☐ 9.1 การใช้ประโยชน์มีดินโยบาย ได้แก่ การนำข้อมูลไปประกอบการตัดสินใจในการบริหาร/ กำหนดนโยบายโดย
 - ☐ ได้รับหนังสือขอข้อมูลเพื่อใช้ประกอบการตัดสินใจในเรื่องใดเรื่องหนึ่ง
 - ☐ ได้รับหนังสือเรียนเชิญให้ข้อมูลประกอบการตัดสินใจ/กำหนดนโยบาย
 - ☐ อื่นๆ (โปรดระบุ)
 - ☐ 9.2 การใช้ประโยชน์มีมติเศรษฐกิจ/พาณิชย์
 - ☐ ได้รับหนังสือหรือหลักฐานอื่น แสดงความสนใจเพื่อเจรจาธุรกิจ
 - ☐ มีการซื้อขาย เทคโนโลยีระหว่างนักวิจัยและผู้นำไปใช้ประโยชน์
 - ☐ อื่นๆ (โปรดระบุ)
 - ☒ 9.3 การใช้ประโยชน์มีมติการพัฒนาสังคม /ชุมชน/ท้องถิ่น โดย
 - ☒ การถ่ายทอดเทคโนโลยีที่ได้จากงานวิจัยในชุมชน/ท้องถิ่น (อบรม, คู่มือ, แผ่นพับ, โปสเตอร์, เว็บไซต์ ฯลฯ)
 - ☐ ได้รับหนังสือเรียนเชิญให้ความรู้จากชุมชน/องค์กร/ หน่วยงานในพื้นที่ต่างๆ
 - ☐ อื่นๆ (โปรดระบุ)
 - ☐ 9.4 การใช้ประโยชน์มีมติวิชาการ โดย
 - ☐ ได้มีการอ้างอิงผลงานที่ดีพิมพ์วารสารวิชาการระดับประเทศ/ระดับนานาชาติ
 - ☐ ได้รับหนังสือเรียนเชิญเป็นวิทยากรเพื่อให้ความรู้ในกรอบของผลงานวิจัยจากหน่วยงานต่างๆ
 - ☐ อื่นๆ (โปรดระบุ)

(การใช้ประโยชน์ทางวิชาการ หมายถึง ผลงานที่มีคุณค่าหรือเป็นที่ยอมรับในวงวิชาการ ย่อมต้องมีบุคคลหรือนักวิชาการอื่น นำผลงานไปอ้างอิง ซึ่งสามารถตรวจสอบได้ในเชิงปริมาณด้วยจำนวนและความถี่ในการอ้างอิง ดังนั้น การอ้างอิงจึงมี 4 ประเภท คือ

- 1) การอ้างอิงในวารสารใน/หรือต่างประเทศ (ซึ่งปัจจุบันมีหน่วยบริการตรวจสอบการอ้างอิงได้)
- 2) การนำไปอ้างอิงในการจัดทำหนังสือ หรือรายงานของหน่วยงานระดับกรม

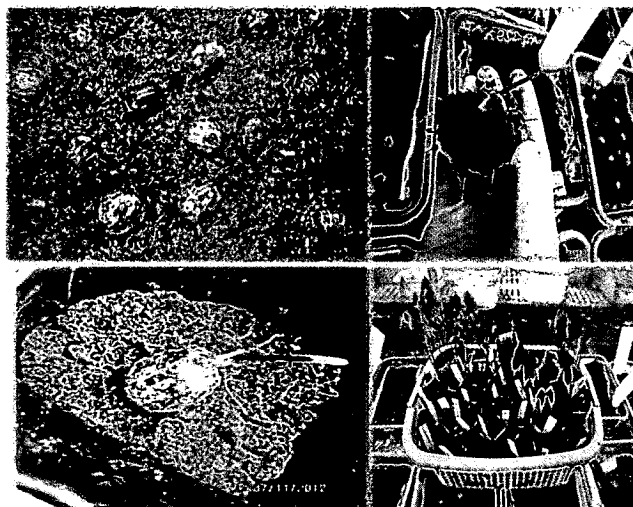
3) การนำไปอ้างอิงของหน่วยงานในระดับรัฐวิสาหกิจ 48 หน่วยงาน

4) การอ้างอิงโดยบริษัทมหาชน

10. รายละเอียดผลการดำเนินงานตามข้อ 9 เกิดการเปลี่ยนแปลงจากการนำผลผลิตจากงานวิจัยไปใช้อย่างไร

ลดปัญหาการใช้สารเคมีส่งเสริมการเจริญเติบโตและลดระยะเวลาในการงอกจากปกติใช้เวลา 10 – 15 วัน เหลือเพียง 5 - 7 วัน

11. รูปภาพประกอบกิจกรรม หรือ รูปภาพแสดงถึงการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นเปรียบเทียบก่อน-หลังการนำผลผลิตจากงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ (พร้อมคำบรรยายกิจกรรมโดยย่อ ที่แสดงถึงวัน เดือน ปี ที่จัดกิจกรรม)



ภาพแสดงผลของการใช้สารพอลิแซ็กคาไรด์ของ *Pseudomonas fluorescens* SP007s
ในการกระตุ้นการงอกและการเจริญเติบโตของยางพารา

หมายเหตุ: การรายงานการนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ ต้องสื่อให้ทราบถึงการนำงานวิจัยไปใช้ประโยชน์อย่างชัดเจน ดังนั้น
ต้องแนบเอกสารเป็นหลักฐาน เช่น รูปถ่าย หนังสือเชิญ หนังสือแสดงความต้องการหรือเอกสารที่แสดงได้ว่าการนำผลงานไป
ใช้จริง

ตารางเปรียบเทียบวัตถุประสงค์ กิจกรรมที่วางแผนไว้ และกิจกรรมที่ดำเนินการมาและผลที่ได้รับตลอดโครงการ

Output		ในกรณีล่าช้า (ผลสำเร็จไม่ถึง 100%) ให้ ท่านระบุสาเหตุ และการแก้ไขที่ท่าน ดำเนินการ
กิจกรรมในข้อเสนอโครงการ/หรือจากการปรับแผน	ผลสำเร็จ (%)	
1. ศึกษาผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์และสารทุติยภูมิของ <i>P. fluorescens</i> SP007s ในการเพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอกและกระตุ้นให้ผลิต IAA ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของต้นกล้ายางพารา 1.1 การสกัดสารพอลิแซคคาไรด์และสารทุติยภูมิจากเชื้อปฏิปักษ์ SP007s 1.2 วิเคราะห์ปริมาณการสร้าง IAA ในต้นกล้ายางที่เก็บไว้ในสภาพอุณหภูมิสูง หลังคลุกเมล็ดด้วยน้ำกลั่นหนึ่งมาเชื้อ salicylic acid และสารพอลิแซคคาไรด์และสารทุติยภูมิจากเชื้อปฏิปักษ์ SP007s หลังงอก เป็นเวลา 7 วัน	100%	
2. ศึกษาผลของการใช้สารพอลิแซคคาไรด์และสารทุติยภูมิของ SP007s ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและกระตุ้นให้ยางชำถุงพันธุ์ RRIM600 เกิดการสะสมสาร guaiacol peroxidase เพื่อทนต่อสภาพอุณหภูมิสูง - วิเคราะห์ปริมาณการสร้าง IAA และ guaiacol peroxidase ในยางชำถุงที่เก็บไว้ในสภาพอุณหภูมิสูง หลังพ่นใบด้วยน้ำกลั่นหนึ่งมาเชื้อ salicylic acid และสารพอลิแซคคาไรด์และสารทุติยภูมิจากเชื้อปฏิปักษ์ SP007s นาน 7 วัน	100%	
3. รายงานความก้าวหน้า	100%	
4. วิเคราะห์ วิจารณ์ผลการวิจัย รายงานฉบับสมบูรณ์	100%	ล่าช้าเพราะไม่มีความรู้เกี่ยวกับต้นกล้ายาง/ต้นยางชำถุง และการบันทึกข้อมูลด้านยางพารา ทำให้บันทึกข้อมูลผิดพลาด หลังจากได้รับข้อเสนอแนะจากผู้ทรงคุณวุฒิทำงานทดลองใหม่ เพื่อความน่าเชื่อถือของผลการทดลองและความถูกต้องทางวิชาการ

คำชี้แจงรายละเอียดข้อคิดเห็น/ข้อเสนอแนะของผู้ทรงคุณวุฒิ

หน้าที่ได้แก้ไข

1. ปรับวัตถุประสงค์และ output ในบทสรุปผู้บริหารหน้า 3-4
2. ปรับชื่อโครงการตามคำแนะนำของผู้ทรงคุณวุฒิจาก “ประสิทธิภาพของสารพอลิแซ็กคาไรด์และสารทุติยภูมิของ *Pseudomonas fluorescens* SP007s ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตน้ำยางในสภาพอุณหภูมิสูง” เป็น “ประสิทธิภาพของสารพอลิแซ็กคาไรด์และสารทุติยภูมิของ *Pseudomonas fluorescens* ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้วยและยางชำถุงในสภาพอุณหภูมิสูง”
3. อธิบายเพิ่มเติมในหน้า 12 ว่าต้นยางชำถุงที่นำมาทดสอบแล้วนับอายุหลังจากฟันใบด้วยสารกระตุ้นต่าง ๆ
4. ใช้คำว่า “ต้นยางชำถุง” แทน “ต้นตอตาเขียว” ตลอดเล่มรายงานฉบับสมบูรณ์
5. แก้ไขคำว่า “ความกว้างลำต้น” เป็น “เส้นรอบวงลำต้น” ตลอดเล่มรายงานฉบับสมบูรณ์
6. เพิ่มผลการทดลองยืนยันการสะสมของ guaiacol peroxidase ต่อต้นยางที่อุณหภูมิสูงในหน้า 17-18
7. แก้ไขสรุปหน้า 20 ว่าเชื้อ SP007s ไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการงอก
8. เลือกรูปแบบใดรูปแบบหนึ่งในการนำเสนอผลการทดลองเรียบร้อยแล้ว หากนำเสนอเป็นตารางจะไม่นำเสนอด้วยภาพ หรือหากนำเสนอด้วยภาพจะไม่นำเสนอด้วยตาราง
9. การแสดงข้อมูลด้วยกราฟ scale ของแกน y เริ่มต้นด้วย 0
10. เพิ่มวิจารณ์ผลการทดลอง

หน้าที่ไม่ได้แก้ไข

1. รายละเอียดการเก็บข้อมูลและวิธีการเก็บตัวอย่างดังปรากฏอยู่ในระเบียบวิธีวิจัยเรียบร้อยแล้ว
2. ผลการวิเคราะห์ IAA แสดงให้เห็นว่าภายหลังจากเมล็ดงอก 7 วัน การผลิต IAA จะเริ่มลดลงจนเหลือใกล้เคียงกับ control ที่เป็นเช่นนี้เพราะระบบภูมิคุ้มกันพืชต้องปรับสมดุล หากมีการสะสมสารชนิดใดชนิดหนึ่งเป็นระยะเวลานานพืชจะเกิดความเครียดและส่งผลกระทบต่อสรีระพืชในภาพรวมต่อไป