

ผลของสารสกัดเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ

Effects of Endophytic Actinomycetes Extracts on Seedling Growth of Tested Plants

กิติภัทร์ ปราบแกะ¹, อภิรัฐ บัณฑิต¹, สิริชัย สารวิจารณ์², ภารดี ธรรมาภิชัย³ และยุพา จอมแก้ว^{1*}
Kitiphat Prabkae¹, Apirat Bundit¹, Sirichai Sathuwijarn², Paradee Thammapichai³ and Yupa Chromkaew^{1*}

Received date: 22 ก.ค. 67 Revised date: 28 ก.ย. 67 Accepted date: 16 ต.ค. 67

DOI: <https://doi.org/10.55003/kmaj.2025.06.16.005>

บทคัดย่อ

เชื้อกลุ่มของแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งกำเนิดที่มีศักยภาพของสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติชนิดใหม่สำหรับการจัดการวัชพืช การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลกระทบของสารสกัดแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์ต่อการงอกและการเติบโตของพืชทดสอบ โดยสุ่มเก็บตัวอย่างใบและรากของต้นส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งในอำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ และแยกเชื้อที่แยกได้จำนวน 7 ไอโซเลท นำไปใช้ในการทดลอง ผลการทดลองพบว่า สารสกัดแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์จากไอโซเลท TGSr-01-004, TGSr-01-005, TGSr-02-017, TGSr-02-018, TGSr-02-004, TGSr-04-028 และ TGcL-04-053 มีการยับยั้งอัตราการงอก ความยาวต้น ความยาวราก น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของผักกาดหอมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ใช้สารสกัด นอกจากนี้ สารสกัดส่วนเหนือตะกอนจากไอโซเลท TGSr-04-028 ที่ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นสามารถยับยั้งการงอกและการเติบโตของผักกาดหอมได้มากกว่าสารสกัดส่วนตะกอนเซลล์จากไอโซเลทเดียวกัน อย่างไรก็ตาม สารสกัดจากไอโซเลทต่างชนิดกันมีการยับยั้งการงอกและการเติบโตของผักกาดหอมและกันจ้าวดอกใหญ่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อและพืชทดสอบ แสดงให้เห็นว่า แอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์มีผลทางอัลลีโลพาตีต่อการเติบโตของพืช และเป็นโอกาสค้นหาสารอัลลีโลเคมีคอลที่มีประสิทธิภาพในการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติป้องกันกำจัดวัชพืชชนิดใหม่ ดังนั้น แอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์จึงเป็นแหล่งกำเนิดของสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติชนิดใหม่สำหรับใช้เป็นกลยุทธ์ในการจัดการวัชพืชได้

คำสำคัญ: อัลลีโลพาตี แอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์ สารสกัด ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ

Abstract

Endophytic actinomycetes are utilized as potential sources of novel natural products for exploitation in weed management. The present study aimed to investigate the allelopathic effects of endophytic actinomycetes extracts on germination and growth of test plants. Leaf and roots sample of tangerine tree in Fang District, Chiang Mai Province were randomly collected and isolated into seven isolates for the experiment. It was found that endophytic actinomycetes crude extract from isolate TGSr-01-004, TGSr-01-005, TGSr-02-017, TGSr-02-018, TGSr-02-004, TGSr-04-028, and TGcL-04-053 reduced the germination rate, shoot length and root length, as well as the fresh weight and dry weight of *Lactuca sativa* seedlings compared to the control group in a statistically significant manner. In addition, the TGSr-04-028 extracts of supernatant part with increasing concentration exhibited a more pronounced inhibitory effect on *L. sativa* germination and growth than cell extracts from the same isolate. However, the extracts from endophytic actinomycetes had significantly inhibited germination and growth of *L. sativa* and *Bidens pilosa* depending on isolate and test plant species. Our results suggest that endophytic actinomycete had an allelopathic effects on plants growth and suggest a promising avenue for investigating allelochemicals that could potentially serve as effective alternatives for the development of novel bioherbicides. Thus, endophytic actinomycetes hold considerable promise as a source of novel natural products for weed management strategies.

¹ ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

² สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร 10900

³ ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร 10900

¹ Department of Plant and Soil Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

² Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, Bangkok 10900

³ Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900

* Corresponding author: yupa.c@cmu.ac.th

Keywords: allelopathy, endophytic actinomycetes, extracts, natural product

คำนำ

วัชพืชเป็นศัตรูพืชที่มีความสำคัญทางการเกษตร โดยการขึ้นรบกวนของวัชพืชภายในแปลงเพาะปลูกพืชส่งผลทำให้ผลผลิตของพืชปลูกลดลง เนื่องจากวัชพืชต้องการปัจจัยสำหรับการเจริญเติบโตคล้ายคลึงกันกับพืชปลูก (Kropff, 1988) เกษตรกรส่วนใหญ่นิยมใช้สารกำจัดวัชพืชในการป้องกันกำจัดวัชพืชภายในแปลงเพาะปลูกพืช อย่างไรก็ตาม การใช้สารกำจัดวัชพืชเป็นระยะเวลานานหรือมีวิธีการใช้ไม่ถูกต้อง อาจส่งผลเสียต่อพืชปลูกและสิ่งแวดล้อมได้ (Li et al., 2023) ดังนั้นจึงมีการศึกษาวิจัยวิธีการป้องกันกำจัดวัชพืชในรูปแบบอื่น ๆ เพื่อเป็นทางเลือกในการลดหรือทดแทนการใช้สารกำจัดวัชพืชได้ ในอนาคต อัลลีโลพาตี (allelopathy) เป็นปรากฏการณ์ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาทางชีวเคมีที่สามารถเกิดขึ้นได้จากสิ่งมีชีวิตได้แก่ พืช หรือจุลินทรีย์ โดยการปลดปล่อยสารอัลลีโลเคมีคอล (allelochemicals) ที่ไปมีผลกระทบต่อการทำงานของสิ่งมีชีวิตอื่นที่อาศัยอยู่ภายใต้สภาพแวดล้อมในช่วงระยะเวลาเดียวกัน (Barazani and Friedman, 2001, Molisch, 1937, Rice, 1985) มีการรายงานเกี่ยวกับจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติทางอัลลีโลพาตี (allelopathic microorganisms) โดยพบว่าจุลินทรีย์มีความเกี่ยวข้องโดยตรงกับการผลิตสารอัลลีโลเคมีคอล และมีผลในทางอ้อมต่อการเปลี่ยนแปลงของสารสำคัญที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากพืชได้ (Singh et al., 2021) นอกจากนี้ จุลินทรีย์สามารถสร้างและปลดปล่อยสารอัลลีโลเคมีคอลที่ไปมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชชั้นสูงได้ (Barazani and Friedman, 2001) ดังนั้น การประยุกต์ใช้จุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติทางอัลลีโลพาตีในการป้องกันกำจัดวัชพืช จึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่มีความเป็นไปได้สูง ซึ่งอาจนำไปสู่การลดหรือทดแทนการใช้สารกำจัดวัชพืชภายในแปลงเพาะปลูกพืชได้

จุลินทรีย์เอนโดไฟท์ (endophytic microorganisms) เป็นแหล่งกำเนิดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ (Strobel et al., 2004) มีบทบาทในทางสรีรวิทยาและสัณฐานวิทยาของพืช ตลอดจนการส่งเสริมการเจริญเติบโต การอยู่รอด และความสมบูรณ์แข็งแรงของพืช (Tripathi et al., 2022) เอนโดไฟท์เป็นจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อภายในพืช และดำรงอยู่ในลักษณะทางชีวภาพ หรือมีความสัมพันธ์ร่วมกันกับพืชที่เป็นแหล่งอาศัย โดยไม่ทำให้เกิดอาการติดเชื้อที่ชัดเจน ซึ่งมีรายงานว่าเชื้อกลุ่มของแอกติโนมัยซีท์เอนโดไฟท์ (endophytic actinomycetes) ถูกค้นพบได้มากและเป็นแหล่งผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Passari et al., 2015) แอกติโนมัยซีท์เอนโดไฟท์จึงหมายถึง เชื้อแอกติโนมัยซีท์ที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืช เช่น ใบ กิ่ง และราก โดยจัดอยู่ในกลุ่มจุลินทรีย์เซลล์เดี่ยว เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีลักษณะเป็นเส้นสาย และสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (Chromkaew, 2009) มีการรายงานว่า เชื้อแอกติโนมัยซีท์เอนโดไฟท์ที่อาศัยภายในเนื้อเยื่อพืชสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช ด้วยการผลิตสารออกฤทธิ์บางอย่าง และช่วยต่อต้านจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อสาเหตุของโรคพืชที่อาศัยอยู่ภายในพืชชนิดเดียวกันได้ (Aamir et al., 2020) ยิ่งไปกว่านั้น มีการประยุกต์ใช้เชื้อแอกติโนมัยซีท์เอนโดไฟท์ทางการเกษตร ในลักษณะการส่งเสริมหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช และการป้องกันกำจัดโรคพืช เป็นต้น (Bhatti et al., 2017; Waqas et al., 2013) เช่น สารสกัดชั้น ethyl acetate จากเชื้อ *Cladosporium cladosporioides* LWL5 มีผลยับยั้งการงอกและการเติบโตของผักกาดหอม ซึ่งสารสกัดชั้น ethyl acetate ประกอบด้วยสาร benzoic acid (Waqas et al., 2013) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่ากลุ่มของสาร avermectins สาร milbemycins และสาร spinosyns ที่สร้างมาจากเชื้อแอกติโนมัยซีท์มีฤทธิ์ในการป้องกันกำจัดแมลงและไส้เดือนฝอยได้ (Li et al., 2021) เป็นต้น แสดงให้เห็นได้ว่า สามารถนำเชื้อแอกติโนมัยซีท์เอนโดไฟท์ไปประยุกต์ใช้ในการป้องกันกำจัดวัชพืชได้ ดังนั้น วัตถุประสงค์ของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้จึงทำเพื่อประเมินผลทางอัลลีโลพาตีของเชื้อแอกติโนมัยซีท์เอนโดไฟท์ และเปรียบเทียบชนิดและอัตราของสารสกัดแอกติโนมัยซีท์เอนโดไฟท์ที่มีผลต่อการงอกและการเติบโตของพืชทดสอบ ซึ่งคาดว่าจะการศึกษาศักยภาพทางอัลลีโลพาตีของเชื้อแอกติโนมัยซีท์เอนโดไฟท์สำหรับการป้องกันกำจัดวัชพืช สามารถใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาวิธีการป้องกันกำจัดวัชพืชในระบบการผลิตทางการเกษตรได้ในอนาคต

วิธีการศึกษา

การเก็บตัวอย่างพืชและการแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์

สุ่มเก็บตัวอย่างใบและรากของต้นส้ม พันธุ์สายน้ำผึ้ง ที่ไม่มีการเข้าทำลายของโรคพืชและแมลงศัตรูพืชในพื้นที่ตำบลแม่สูน อำเภอดง จังหวัดเชียงใหม่ (Chromkaew, 2009) แยกเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์ให้บริสุทธิ์และเก็บรักษาด้วยการประยุกต์วิธีการของ Shimizu et al. (2000) โดยใช้น้ำประปาไหลผ่านชิ้นส่วนพืชเป็นระยะเวลา 30 นาที จึงตัดชิ้นส่วนใบพืชให้ได้ขนาด 1×1 เซนติเมตร และรากยาว 1 เซนติเมตร แล้วล้างชิ้นส่วนพืชด้วยสารละลาย Tween 20 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2 - 3 วินาที จากนั้นแช่ด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 5 นาที และล้างในน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ นำชิ้นส่วนพืชไปฆ่าเชื้อที่บริเวณผิวด้วยเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 5 นาที และผึ่งให้แห้ง จึงนำชิ้นส่วนพืชไปวางบนอาหารรูน IMA-2 ที่มีส่วนผสมของ Glucose 5 กรัม, Soluble starch 5 กรัม, Beef extract 1 กรัม, Yeast extract 1 กรัม, NZ-case (enzyme hydrolyzed casein) 2 กรัม, CaCO_3 1 กรัม, Agar 15 กรัม และน้ำกลั่น 1 ลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 1 เดือน

การแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์ให้บริสุทธิ์และการเก็บรักษา ทำโดยใช้เข็มเย้ายายเชื้อที่เจริญขึ้นอยู่บนชิ้นส่วนพืช มาขีดบนแผ่นกรองเซลลูโลสที่มีขนาดรู 0.2 ไมโครเมตร ที่วางบนอาหาร IMA-2 และนำเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 วัน จากนั้นนำแผ่นกรองเซลลูโลสออก หากเป็นเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์จะสามารถเจริญรอดผ่านแผ่นกรองเซลลูโลสได้ จึงเก็บรวบรวมเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์ที่แยกได้ไว้เป็น Stock culture โดยเก็บเชื้อไว้ในหลอดอาหาร IMA-2 และเก็บใน Glycerin 10 เปอร์เซ็นต์ ที่ผสมด้วยสาร DMSO 10 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่านำไปใช้ในการทดลอง (Chromkaew, 2009) ซึ่งมีเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์ 7 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท TGsR-01-004, TGsR-01-005, TGsR-02-017, TGsR-02-018, TGsL-02-004, TGsL-04-028 และ TGcL-04-053 ที่มีการนำไปใช้ในการทดลอง

ผลของสารสกัดเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์ในการยับยั้งการงอกและการเติบโตของผักกาดหอม

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ 8 กรรมวิธี ดังนี้ กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใช้สารสกัดหยาบ กรรมวิธีที่ 2 สารสกัดหยาบของไอโซเลท TGsR-02-018 กรรมวิธีที่ 3 สารสกัดหยาบของไอโซเลท TGsL-02-004 กรรมวิธีที่ 4 สารสกัดหยาบของไอโซเลท TGsR-02-017 กรรมวิธีที่ 5 สารสกัดหยาบของไอโซเลท TGsR-01-005 กรรมวิธีที่ 6 สารสกัดหยาบของไอโซเลท TGcL-04-053 กรรมวิธีที่ 7 สารสกัดหยาบของไอโซเลท TGsL-04-028 และกรรมวิธีที่ 8 สารสกัดหยาบของไอโซเลท TGsR-01-004 เริ่มจากนำเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์จำนวน 7 ไอโซเลท มาเพิ่มปริมาณในอาหารเหลว IMA-2 ปริมาตร 500 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าแนวราบที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลาประมาณ 7 วัน (จนได้เชื้อปริมาณสูงสุด) แล้วนำสารละลายเชื้อที่ได้มาทำการแยกตะกอนเซลล์ (cell) และส่วนเหนือตะกอน (supernatant) ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 นาที แล้วอบแห้งที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เก็บตะกอนเซลล์แอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์ในโถดูดความชื้นที่อุณหภูมิห้องจนกระทั่งนำไปใช้

เตรียมสารสกัดหยาบจากเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์สำหรับการทดสอบทางชีววิธี (bioassay test) โดยนำเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์ที่ผ่านการอบแห้ง จำนวน 0.01 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลองและเติมน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่อง Vortex mixer เป็นระยะเวลา 5 นาที และบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 30 นาที ก่อนนำไปทดสอบกับผักกาดหอม (*Lactuca sativa*) การทดสอบทางชีววิธีประยุกต์จาก Bundit et al. (2021) ทำโดยนำเมล็ดพืชทดสอบ จำนวน 13 เมล็ด วางบนจานแก้วทดลองที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 60 มิลลิเมตร ที่รองด้วยกระดาษเพาะเมล็ด แล้วเติมน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร และนำเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์ 1 มิลลิลิตร จึงนำเข้าตู้เพาะเมล็ดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส สภาพปลอดแสงเป็นระยะเวลา 7 วัน แล้วบันทึกผลการทดลองตามที่กำหนดไว้ส่วนท้าย

ผลของส่วนสารสกัดแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์ในการยับยั้งการงอกและการเติบโตของผักกาดหอม

วางแผนการทดลองแบบ 2×3 Factorial in CRD จำนวน 4 ซ้ำ ประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือ 1) ส่วนของสารสกัด ได้แก่ ตะกอนเซลล์และส่วนเหนือตะกอน และ 2) สัดส่วนความเข้มข้น ได้แก่ 0, 0.005 และ 0.01 กรัมต่อมิลลิลิตร โดยเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์ไอโซเลท TGcL-04-028 เป็นตัวแทนของกลุ่มเชื้อในการทดสอบผลของส่วนสารสกัด เนื่องจากสามารถเพิ่มจำนวนเชื้อได้ปริมาณมากและมีผลการยับยั้งพืชทดสอบจากการทดลองเบื้องต้น ทำการเพิ่มจำนวนเชื้อด้วยวิธีการที่กล่าวมาข้างต้น ซึ่งการเพิ่มจำนวนเชื้อได้มีการล้างด้วยน้ำกลั่น 2 - 3 รอบ หลังจากปั่นเหวี่ยงแยกอาหารเลี้ยงเชื้อออกจาก

ตะกอนเซลล์ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอน เพื่อให้มั่นใจว่าตะกอนเซลล์ไม่ปนเปื้อนอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วจึงเตรียมสารสกัดเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์สำหรับการทดสอบทางชีววิธีตามวิธีการที่กล่าวมาข้างต้น โดยนำเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์ที่ผ่านการอบแห้งจำนวน 0, 0.005 และ 0.01 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลองและเติมน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร แล้วจึงเขย่าเป็นระยะเวลา 5 นาที และบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 30 นาที หลังจากนั้นทำการแยกส่วนของตะกอนเซลล์และส่วนเหนือตะกอนออกจากกัน ด้วยการปั่นเหวี่ยงตกตะกอนที่ 5,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 นาที แล้วนำส่วนเหนือตะกอนที่อยู่ด้านบนไปใช้ทดสอบทางชีววิธีตามวิธีการที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น

การเปรียบเทียบผลทางอัลลีโลพาตีของสารสกัดแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์ที่มีต่อพืชทดสอบ

วางแผนการทดลองแบบ 3 x 4 Factorial in CRD จำนวน 4 ซ้ำ ประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือ 1) ไอโซเลทของเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์ ได้แก่ TGsR-01-005, TGsR-02-017 และ TGsL-04-028 และ 2) สัดส่วนความเข้มข้น ได้แก่ 0, 0.005, 0.01 และ 0.02 กรัมต่อมิลลิลิตร ทำการทดสอบกับพืชทดสอบ ได้แก่ ผักกาดหอม และก้นจ้าวขาวดอกใหญ่ (*Bidens pilosa*) เนื่องจากก้นจ้าวขาวดอกใหญ่จัดเป็นวัชพืชที่สามารถพบได้ทั่วไปและเมล็ดใช้เวลาพักตัวไม่นานจึงสามารถงอกได้ โดยนำเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์ไอโซเลท TGsR-01-005, TGsR-02-017 และ TGsL-04-028 (Figure 1) ไปเพิ่มจำนวนเชื้อด้วยวิธีการข้างต้น เตรียมสารสกัดเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์สำหรับการทดสอบทางชีววิธีโดยประยุกต์จากวิธีการที่กล่าวมาข้างต้น นำสัดส่วนของเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์ที่ผ่านการอบแห้งจำนวน 0, 0.005, 0.01 และ 0.02 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลองและเติมน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส สภาพปลอดแสงเป็นระยะเวลา 7 วัน เมื่อครบกำหนดจึงนำเข้าเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อด้วยแรงดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 10 นาที ก่อนนำสารสกัดไปใช้ทดสอบทางชีววิธีตามวิธีการข้างต้น



Figure 1 Colony characteristics of endophytic actinomycetes TGsR-01-005 (A), TGsL-04-028 (B), and TGsR-02-017 (C).

การบันทึกผลการทดลอง

1) อัตราการงอกของพืชทดสอบ (germination) โดยนับจำนวนต้นพืชทดสอบที่มีการงอกและนำไปคำนวณด้วยสมการอัตราการงอก มีหน่วยเป็น เปอร์เซ็นต์

$$\text{อัตราการงอก (\%)} = \left(\frac{\text{จำนวนเมล็ดงอกของกรรมวิธี}}{\text{จำนวนเมล็ดงอกของชุดควบคุม}} \right) \times 100$$

2) การเติบโตของพืชทดสอบ ได้แก่ ความยาวต้น (shoot length) โดยวัดจากปลายยอดจนถึงโคนต้น มีหน่วยเป็น เซนติเมตร, ความยาวราก (root length) โดยวัดจากโคนต้นจนถึงส่วนของปลายราก มีหน่วยเป็น เซนติเมตร, น้ำหนักสด (fresh weight) โดยนำต้นพืชทดสอบทั้งหมดไปชั่งน้ำหนักแล้วหารด้วยจำนวนต้นทั้งหมด มีหน่วยเป็น กรัมต่อต้น และน้ำหนักแห้ง (dry weight) โดยการนำต้นพืชทดสอบทั้งหมดที่ผ่านการอบแห้งด้วยอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 วัน ก่อนนำไปชั่งน้ำหนักแล้วหารด้วยจำนวนต้นทั้งหมด มีหน่วยเป็น กรัมต่อต้น

การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธีของ Fisher's protected least significant difference test (Fisher's LSD test) โดยใช้โปรแกรม R เวอร์ชัน 4.1.2. (R Development Core Team, 2021)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลของสารสกัดหยาบแอคติโนไมซีทเอนโดไฟท์ในการยับยั้งการงอกและการเติบโตของผักกาดหอม

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สารสกัดหยาบแอคติโนไมซีทเอนโดไฟท์ส่งผลให้อัตราการงอก (germination) ความยาวต้น (shoot length) ความยาวราก (root length) น้ำหนักสด (fresh weight) และน้ำหนักแห้ง (dry weight) ของผักกาดหอมลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 1) ซึ่งอัตราการงอกของผักกาดหอมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยที่สารสกัดหยาบแอคติโนไมซีทเอนโดไฟท์จากไอโซเลท TGSr-01-004, TGSr-02-018, TGSr-02-004, TGSr-04-053, TGSr-01-005, TGSr-04-028 และ TGSr-02-017 ส่งผลให้อัตราการงอกของผักกาดหอมเท่ากับ 80.0, 77.41, 58.06, 58.06, 32.25, 32.25 และ 16.12 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ความยาวส่วนเหนือดินของผักกาดหอมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยที่สารสกัดหยาบแอคติโนไมซีทเอนโดไฟท์จากไอโซเลท TGSr-02-017, TGSr-02-004, TGSr-04-028, TGSr-01-004, TGSr-02-018, TGSr-04-053 และ TGSr-01-005 ส่งผลทำให้ความยาวส่วนเหนือดินของผักกาดหอมเท่ากับ 0.59, 0.33, 0.19, 0.19, 0.13, 0.10 และ 0.08 เซนติเมตร ตามลำดับ ความยาวรากของผักกาดหอมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยที่สารสกัดหยาบแอคติโนไมซีทเอนโดไฟท์จากไอโซเลท TGSr-02-017, TGSr-02-004, TGSr-02-018, TGSr-04-028, TGSr-01-004, TGSr-04-053 และ TGSr-01-005 ส่งผลทำให้ความยาวรากของผักกาดหอมเท่ากับ 0.25, 0.18, 0.09, 0.09, 0.08, 0.06 และ 0.04 เซนติเมตร ตามลำดับ น้ำหนักสดของผักกาดหอมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยที่สารสกัดหยาบแอคติโนไมซีทเอนโดไฟท์จากไอโซเลท TGSr-04-053, TGSr-02-017, TGSr-02-004, TGSr-04-028, TGSr-01-004, TGSr-02-018 และ TGSr-01-005 ส่งผลทำให้น้ำหนักสดของผักกาดหอมเท่ากับ 0.0671, 0.0526, 0.0362, 0.0257, 0.0211, 0.0180 และ 0.0120 กรัมต่อต้น ตามลำดับ น้ำหนักแห้งของผักกาดหอมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยที่สารสกัดหยาบแอคติโนไมซีทเอนโดไฟท์จากไอโซเลท TGSr-04-028, TGSr-02-004, TGSr-01-004, TGSr-02-018, TGSr-02-017, TGSr-04-053 และ TGSr-01-005 ส่งผลทำให้น้ำหนักแห้งของผักกาดหอมเท่ากับ 0.0040, 0.0036, 0.0031, 0.0027, 0.0024, 0.0024 และ 0.0017 กรัมต่อต้น ตามลำดับ เนื่องจากแอคติโนไมซีทเอนโดไฟท์สามารถสร้างสารทุติยภูมิที่มีคุณสมบัติเป็นสารยับยั้งหรือสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชภายใต้สิ่งแวดล้อมตามธรรมชาติ (Doroghazi and Metcalf, 2013; Golinska et al., 2015) อย่างไรก็ตาม สารสกัดหยาบแอคติโนไมซีทเอนโดไฟท์ที่ได้จากแต่ละไอโซเลทส่งผลยับยั้งการงอกและการเติบโตของผักกาดหอมแตกต่างกัน โดยสารสกัดหยาบแอคติโนไมซีทเอนโดไฟท์ไอโซเลท TGSr-02-017 ส่งผลยับยั้งอัตราการงอกมากที่สุด ขณะที่ไอโซเลท TGSr-02-018, TGSr-01-005, TGSr-04-028 และ TGSr-01-004 ส่งผลยับยั้งความยาวต้น ความยาวราก และน้ำหนักสดมากที่สุด ส่วนไอโซเลท TGSr-01-005 ส่งผลทำให้น้ำหนักแห้งลดลงมากที่สุด (Table 1) อาจเป็นสาเหตุอันเนื่องมาจากไอโซเลทของเชื้อแอคติโนไมซีทเอนโดไฟท์ที่มีความแตกต่างกัน ส่งผลทำให้มีคุณสมบัติในการสร้างชนิดและปริมาณสารสำคัญแตกต่างกันได้ ตลอดจนส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของพืชต่างกันที่สุด สอดคล้องกับการรายงานของ Matsumoto and Takahashi (2017) ที่มีการศึกษาแหล่งที่มาของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของแอคติโนไมซีทเอนโดไฟท์ โดยพบว่า แอคติโนไมซีทเอนโดไฟท์แต่ละชนิดมีการสร้างชนิดของสารทุติยภูมิแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้น ผลกระทบที่มีต่อการเจริญเติบโตของพืชจึงอาจแตกต่างกันออกไปตามแต่ละชนิดของเชื้อแอคติโนไมซีท (Elshafie and Camele, 2022) ดังนั้น สารสกัดหยาบแอคติโนไมซีทเอนโดไฟท์ทั้ง 7 ไอโซเลท มีผลทางอ้อมในการยับยั้งการงอกและการเติบโตของผักกาดหอม

Table 1 Effects of endophytic actinomycete crude extracts on germination and growth of *Lactuca sativa*

Treatment	<i>Lactuca sativa</i>				
	Germination (%)	Shoot length (cm)	Root length (cm)	Fresh weight (g/plant)	Dry weight (g/plant)
Control	100.00 a ^a	1.13 a	0.53 a	0.0845 a	0.0051 a
TGsR-02-018	77.41 c	0.13 c	0.09 c	0.0180 d	0.0027 de
TGsL-02-004	58.06 d	0.33 bc	0.18 bc	0.0362 c	0.0036 bc
TGsR-02-017	16.12 f	0.59 b	0.25 b	0.0526 b	0.0024 e
TGsR-01-005	32.25 e	0.08 c	0.04 c	0.0120 d	0.0017 f
TGsL-04-053	58.06 d	0.10 c	0.06 c	0.0671 b	0.0024 e
TGsL-04-028	32.25 e	0.19 c	0.09 c	0.0257 cd	0.0040 b
TGsR-01-004	80.00 b	0.19 c	0.08 c	0.0211 cd	0.0031 cd
<i>F-test</i>	**	**	**	**	**
LSD	7.33	0.27	0.15	0.0152	0.0005

^a Values are given as mean and different letters indicate significant difference at $**P < 0.01$, according to LSD test.

ผลของส่วนสารสกัดแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์ในการยับยั้งการงอกและการเติบโตของผักกาดหอม

สารสกัดหยาบแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์ในการทดลองข้างต้นประกอบด้วย สารสกัดส่วนเหนือตะกอน (supernatant) และสารสกัดส่วนตะกอนเซลล์ (cell) รวมกันอยู่ ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่า ผลกระทบของส่วนสารสกัดในการยับยั้งการงอกและการเติบโตของผักกาดหอมอาจมีความแตกต่างกันได้ จึงเลือกใช้ไอโซเลท TGsL-04-028 เป็นเชื้อตัวแทนเพื่อทดสอบความแตกต่างระหว่างผลการยับยั้งของสารสกัดส่วนเหนือตะกอนและสารสกัดส่วนตะกอนเซลล์ ซึ่งเมื่อพิจารณาผลกระทบของส่วนสารสกัดจากไอโซเลท TGsL-04-028 พบว่า ส่งผลกระทบต่อการงอกและการเติบโตของผักกาดหอมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสารสกัดส่วนเหนือตะกอนส่งผลยับยั้งการงอกและการเติบโตของเมล็ดผักกาดหอมมากกว่าสารสกัดส่วนตะกอนเซลล์ (Table 2) ปฏิสัมพันธ์ระหว่างส่วนของสารสกัดกับสัดส่วนความเข้มข้นของสารสกัดแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์จากไอโซเลท TGsL-04-028 ส่งผลกระทบต่อการงอกและการเติบโตของผักกาดหอมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ พบว่า อัตราการงอกของผักกาดหอมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยสารสกัดแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์จากตะกอนเซลล์และส่วนเหนือตะกอนที่ความเข้มข้น 0.005 และ 0.01 กรัมต่อมิลลิลิตร ส่งผลให้อัตราการงอกของผักกาดหอมเท่ากับ 46.20, 30.80, 15.40 และ 7.70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ความยาวส่วนเหนือดินของผักกาดหอมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยสารสกัดแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์จากตะกอนเซลล์และส่วนเหนือตะกอนที่ความเข้มข้น 0.005 และ 0.01 กรัมต่อมิลลิลิตร ส่งผลทำให้ความยาวส่วนเหนือดินของผักกาดหอมเท่ากับ 1.64, 0.50, 0.13 และ 0.00 เซนติเมตร ตามลำดับ ความยาวรากของผักกาดหอมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยสารสกัดแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์จากตะกอนเซลล์และส่วนเหนือตะกอนที่ความเข้มข้น 0.005 และ 0.01 กรัมต่อมิลลิลิตร ส่งผลทำให้ความยาวรากของผักกาดหอมเท่ากับ 1.17, 0.29, 0.06 และ 0.00 เซนติเมตร ตามลำดับ น้ำหนักสดของผักกาดหอมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยสารสกัดแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์จากตะกอนเซลล์และส่วนเหนือตะกอนที่ความเข้มข้น 0.005 และ 0.01 กรัมต่อมิลลิลิตร ส่งผลทำให้น้ำหนักสดของผักกาดหอมเท่ากับ 0.0226, 0.0157, 0.0120 และ 0.0022 กรัมต่อต้น ตามลำดับ และน้ำหนักแห้งของผักกาดหอมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยสารสกัดแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์จากตะกอนเซลล์และส่วนเหนือตะกอนที่ความเข้มข้น 0.005 และ 0.01 กรัมต่อมิลลิลิตร ส่งผลทำให้น้ำหนักแห้งของผักกาดหอมเท่ากับ 0.0009, 0.0014, 0.0006 และ 0.0000192 กรัมต่อต้น ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า สารสกัดส่วนเหนือตะกอนประกอบด้วยสารสำคัญ

หรือสารอัลลีโลเคมีคอล (allelochemicals) ที่ส่งผลยับยั้งการงอกและการเติบโตของพืชทดสอบมากกว่า ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาวิจัยสารสกัดส่วนเหนือตะกอนจากสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ ที่มีผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตอื่น อาทิเช่น การศึกษาวิจัยสารสกัดและวิเคราะห์ชนิดสารสำคัญของเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์ *Cladosporium cladosporioides* LWL5 ที่ทำการแยกเชื้อจากทานตะวัน สามารถสร้างสารอัลลีโลเคมีคอลซึ่งไปมีผลยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของผักกาดหอมได้ (Waqas et al., 2013) และการศึกษาผลทางอัลลีโลพาตีของพืช *Rhus typhina* ในการรุกรานพืช *Tagetes erecta* ซึ่งพบว่า สารสกัดจากรากของ *R. typhina* สามารถปรับเปลี่ยนคุณสมบัติเคมีดินและกิจกรรมต่าง ๆ ของจุลินทรีย์ในดิน ส่งผลทำให้ปฏิสัมพันธ์ระหว่างพืชกับจุลินทรีย์ในดินเกิดการเปลี่ยนแปลง จนนำไปสู่การสนับสนุนให้การรุกรานของ *R. typhina* ประสบความสำเร็จมากขึ้น (Qu et al., 2021) นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาฤทธิ์ด้านจุลชีพของสารสกัดส่วนเหนือตะกอนของขึ้นเอทิลอะซิเตตจาก *Streptomyces* sp. CRB46 ที่มีผลยับยั้งจุลินทรีย์ได้ 11 ชนิด (Ambarwati et al., 2020) เป็นต้น อย่างไรก็ตาม สัดส่วนความเข้มข้นของส่วนสารสกัดแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์จากไอโซเลท TGS-L-04-028 ส่งผลกระทบต่อการงอกและการเติบโตของผักกาดหอมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยแต่ละส่วนสารสกัดจากไอโซเลท TGS-L-04-028 ที่มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ส่งผลทำให้การงอกและการเติบโตของผักกาดหอมมีแนวโน้มลดลงอย่างชัดเจน (Table 2) ซึ่งสอดคล้องกับ Khan et al. (2006) ที่ได้รายงานว่าการเจริญเติบโตของ *Albizia saman* อยู่ในระดับที่ดีเมื่อได้รับสารสำคัญจากจุลินทรีย์ที่ความเข้มข้น 0 - 2 เปอร์เซ็นต์ โดยการได้รับสารที่มีความเข้มข้นที่ 2 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลทำให้มีการงอกสูงที่สุดเท่ากับ 71 เปอร์เซ็นต์ แต่ถ้าหากสารสำคัญจากจุลินทรีย์มีความเข้มข้นมากกว่า 2 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลทำให้อัตราการงอกของ *A. saman* ลดลง

นอกจากนี้ ยังพบข้อสังเกตสำคัญที่ว่า สารสกัดส่วนตะกอนเซลล์สามารถยับยั้งการงอกและการเติบโตของเมล็ดผักกาดหอมได้เช่นกัน โดยมีความเป็นไปได้ว่า เซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ยังคงมีการสร้างและปลดปล่อยสารอัลลีโลเคมีคอลได้อยู่ตลอดเวลา ส่งผลทำให้สารสกัดส่วนตะกอนเซลล์มีผลทางอัลลีโลพาตีที่มีต่อผักกาดหอมได้ ซึ่งอาจจะสามารถนำสารสกัดส่วนตะกอนเซลล์ไปเพิ่มปริมาณสารอัลลีโลเคมีคอลได้มากกว่าสารสกัดส่วนเหนือตะกอน อย่างไรก็ตาม จึงควรมีการศึกษาชนิดและปริมาณสารอัลลีโลเคมีคอลที่สะสมอยู่ภายในแต่ละส่วนสารสกัดเพิ่มเติม เพื่อทำการเปรียบเทียบชนิดและปริมาณของสารอัลลีโลเคมีคอลที่ถูกสร้างและปลดปล่อยออกมา

ผลทางอัลลีโลพาตีของสารสกัดแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์ในการยับยั้งการงอกและการเติบโตของพืชทดสอบ

สิ่งมีชีวิตที่นำมาใช้ในการป้องกันกำจัดวัชพืชด้วยชีววิธีต้องไม่กลายเป็นศัตรูพืชในอนาคต จัดเป็นเงื่อนไขที่มีความสำคัญ จึงได้มีการพัฒนาวิธีการสกัดสารจากเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์ โดยประยุกต์ใช้สารสกัดส่วนตะกอนเซลล์และการนึ่งฆ่าเชื้อร่วมกัน เพื่อให้เซลล์ที่มีชีวิตสามารถสร้างและปลดปล่อยสารอัลลีโลเคมีคอลออกมาเพิ่มได้ และยังทำให้เซลล์ของเชื้อตายสนิทไม่สามารถแพร่ระบาดได้อีก ดังนั้น วิธีการสกัดสารจากเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์ที่ถูกพัฒนาขึ้นมาและทดสอบกับชนิดของพืชทดสอบเพิ่มเติม จึงถูกนำมาศึกษาวิจัยในการทดลองนี้

Table 2 Effects of interaction between extract parts (E) and concentrations (C) of TGsL-04-028 extracts on germination and growth of *Lactuca sativa*

Treatment	<i>Lactuca sativa</i>				
	Germination (%)	Shoot length (cm)	Root length (cm)	Fresh weight (g/plant)	Dry weight (g/plant)
E1 : C1	100.00 a ^a	2.35 a	1.33 a	0.0856 a	0.0028 a
E1 : C2	46.20 b	1.64 a	1.17 a	0.0226 b	0.0009 b
E1 : C3	30.80 c	0.50 b	0.29 b	0.0157 c	0.0014 b
E2 : C1	100.00 a	2.31 a	1.31 a	0.0856 a	0.0028 a
E2 : C2	15.40 d	0.13 b	0.06 b	0.0120 c	0.0006 bc
E2 : C3	7.70 d	0.00 b	0.00 b	0.0022 d	0.00002 c
E x C	**	*	*	*	*
LSD	1.9E-13	0.86	0.59	0.0060	0.0008

^a Values are given as mean and different letters indicate significant difference at * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$, according to LSD test. Extract parts = cell (E1) and supernatant (E2); Concentrations = 0 (C1), 0.005 (C2) and 0.01 (C3) g.mL⁻¹.

เมื่อพิจารณาปฏิสัมพันธ์ระหว่างชนิดของไอโซเลทกับอัตราความเข้มข้นของสารสกัด พบว่า สารสกัดเชื้อแอคติโนมัยซีทจากแต่ละไอโซเลทที่มีระดับความเข้มข้นเพิ่มขึ้น มีการผลยับยั้งการงอกและการเติบโตของผักกาดหอมและก้านจ้ำขาวดอกใหญ่มากขึ้น ซึ่งสารสกัดจากไอโซเลท TGsL-04-028 ส่งผลให้อัตราการงอกและน้ำหนักแห้งของผักกาดหอมลดลงมากที่สุด ในขณะที่สารสกัดจากไอโซเลท TGsR-02-017 ส่งผลให้อัตราการงอกและน้ำหนักแห้งของก้านจ้ำขาวดอกใหญ่ลดลงมากที่สุด อย่างไรก็ตาม สารสกัดจากไอโซเลท TGsR-02-017 ส่งผลให้ความยาวต้นและน้ำหนักสดของพืชทดสอบทั้งสองชนิดลดลงมากที่สุด ในขณะที่สารสกัดไอโซเลท TGsL-04-028 ส่งผลยับยั้งความยาวรากของพืชทดสอบทั้งสองชนิดมากที่สุด (Table 3 และ Table 4) ถึงแม้ว่าสารสกัดแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟต์แต่ละไอโซเลทที่ความเข้มข้น 0.02 กรัมต่อมิลลิลิตร มีผลยับยั้งอัตราการงอกของผักกาดหอม แต่ผักกาดหอมยังคงมีอัตราการงอกมากกว่า 60.90 เปอร์เซ็นต์ อาจเป็นเพราะว่า การใช้สารสกัดส่วนตะกอนเซลล์และการนึ่งฆ่าเชื้อร่วมกันอาจจะส่งผลทำให้ปริมาณสารอัลลีโลเคมีคอลลดลงได้ จึงควรใช้ความเข้มข้นมากกว่า 0.02 กรัมต่อมิลลิลิตร ขึ้นไป เพื่อให้มีการยับยั้งอัตราการงอกเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม สารสกัดแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟต์แต่ละไอโซเลทที่ความเข้มข้น 0.02 กรัมต่อมิลลิลิตร ส่งผลยับยั้งอัตราการงอกของก้านจ้ำขาวดอกใหญ่ได้ดี โดยอัตราการงอกของก้านจ้ำขาวดอกใหญ่มีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 53.00 เปอร์เซ็นต์ จึงมีความเป็นไปได้ว่า ก้านจ้ำขาวดอกใหญ่มีความอ่อนแอต่อสารสกัดแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟต์แต่ละไอโซเลทที่ความเข้มข้น 0.02 กรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้น จึงควรมีการศึกษาเปรียบเทียบชนิดและปริมาณของสารอัลลีโลเคมีคอลที่อยู่ในสารสกัดแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟต์แต่ละไอโซเลทเพิ่มเติม

Table 3 Effects of interaction between endophytic actinomycetes (*En*) and concentrations (*C*) of the extracts on germination and growth of *Lactuca sativa*

Treatment	<i>Lactuca sativa</i>				
	Germination (%)	Shoot length (cm)	Root length (cm)	Fresh weight (g/plant)	Dry weight (g/plant)
<i>En1</i> : <i>C1</i>	100.00 a ^a	1.97 c ^a	1.18 a	0.0817 cd	0.0075 bc
<i>En1</i> : <i>C2</i>	100.00 a	2.90 a	1.11 a	0.1314 b	0.0089 a
<i>En1</i> : <i>C3</i>	90.90 d	2.41 abc	1.07 a	0.0814 cde	0.0070 cd
<i>En1</i> : <i>C4</i>	90.90 d	2.18 bc	0.57 bc	0.0846 cd	0.0072 bcd
<i>En2</i> : <i>C1</i>	100.00 a	2.21 bc	0.96 a	0.0818 cd	0.0076 b
<i>En2</i> : <i>C2</i>	84.80 f	1.92 c	0.68 b	0.0658 def	0.0074 bcd
<i>En2</i> : <i>C3</i>	95.70 c	2.65 ab	0.44 bc	0.0995 c	0.0085 a
<i>En2</i> : <i>C4</i>	60.90 h	1.29 d	0.16 d	0.0471 fg	0.0055 e
<i>En3</i> : <i>C1</i>	100.00 a	2.14 bc	1.21 a	0.0734 de	0.0069 d
<i>En3</i> : <i>C2</i>	97.70 b	2.58 ab	0.53 bc	0.1922 a	0.0072 bcd
<i>En3</i> : <i>C3</i>	86.40 e	2.38 abc	0.32 cd	0.0566 ef	0.0077 b
<i>En3</i> : <i>C4</i>	70.50 g	0.31 e	0.32 cd	0.0312 g	0.0057 e
<i>En</i> x <i>C</i>	**	**	*	**	**
LSD	7.0E-14	0.53	0.26	0.0250	0.0005

^a Values are given as mean and different letters indicate significant difference at **P* < 0.05 and ***P* < 0.01, according to LSD test. Endophytic actinomycetes = TGsR-01-005 (*En1*), TGsL-04-028 (*En2*) and TGsR-02-017 (*En3*); Concentrations = 0 (*C1*), 0.005 (*C2*), 0.01 (*C3*) and 0.02 (*C4*) g.mL⁻¹.

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สารสกัดแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟต์แต่ละไอโซเลตส่งผลยับยั้งการงอกและการเติบโตของพืชทดสอบแตกต่างกัน อาจเป็นเพราะว่า ความหลากหลายทางสกุลของเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟต์ที่มีความแตกต่างกันทางสัณฐานวิทยา จึงส่งผลทำให้มีปฏิสัมพันธ์กับพืชแตกต่างกันได้ (Du et al., 2013) สอดคล้องกับการทดสอบเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟต์สกุล *Nocardopsis* sp. ที่ถูกเพาะเลี้ยงภายในอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมกับเมล็ด *Bidens biternate* ส่งผลทำให้ยับยั้งการงอกของเมล็ด *B. biternate* ลดลง 20 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เมื่อทดสอบกับสกุล *Nocardiodes* sp. สามารถยับยั้งการงอกได้มากถึง 80 เปอร์เซ็นต์ (Singh et al., 2017) นอกจากนี้ จุลินทรีย์สามารถสร้างสารสำคัญบางชนิดที่ส่งผลกระทบต่อเซลล์เนื้อเยื่อเจริญของพืชได้ (Bataineh et al., 2008) อาทิเช่น กรณีการศึกษาเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟต์ในชา ที่เชื้อสามารถผลิตกรดอินโดล-3-อะซิติก (IAA) ได้ค่อนข้างสูง จึงทำให้สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ (Shan et al., 2018) แต่ในทางตรงกันข้าม การลดลงของความยาวรากพืชอาจเกี่ยวข้องกับปริมาณ IAA ที่เชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟต์สร้างขึ้นได้เช่นกัน โดยปกติ IAA เป็นฮอร์โมนธรรมชาติในกลุ่มออกซิน เกี่ยวข้องกับการขยายขนาด และการแบ่งเซลล์ (Manulis et al., 1994) และอาจจะมีสามารถในการยับยั้งและส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นที่ได้รับในขณะนั้น (Ma et al., 2023; Wang et al., 2021) หากพืชที่ได้รับปริมาณ IAA ที่มีความเข้มข้นสูงเกินไป อาจส่งผลกระทบต่อรากพืชได้ (Beyeler et al., 1999) ซึ่งสอดคล้องกับ Pilet and Saugy (1985) ที่ได้รายงานไว้ว่า ความเข้มข้นของ IAA ที่สูงขึ้นไม่สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของรากข้าวโพด แต่มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของรากข้าวโพดแทน อย่างไรก็ตาม การศึกษาชนิดและปริมาณสารอัลลิโลเคมีคอลที่ถูกสร้างและปลดปล่อยออกมาจากเซลล์ของแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟต์จากแต่ละไอโซเลต เป็นข้อบ่งชี้สำคัญที่แสดงถึงความแตกต่างกันของผลการยับยั้งการงอกและการเติบโตของแต่ละพืชทดสอบเพิ่มเติม

Table 4 Effects of interaction between endophytic actinomycetes (*En*) and concentrations (*C*) of the extracts on germination and growth of *Bidens pilosa*

Treatment	<i>Bidens pilosa</i>				
	Germination (%)	Shoot length (cm)	Root length (cm)	Fresh weight (g/plant)	Dry weight (g/plant)
<i>En1</i> : <i>C1</i>	100.00 a ^a	2.71 bc	1.75 a	0.0638 a	0.0061 cdef
<i>En1</i> : <i>C2</i>	46.83 e	0.51 e	1.81 a	0.0378 cd	0.0060 defg
<i>En1</i> : <i>C3</i>	41.95 f	0.30 e	0.92 bc	0.0295 e	0.0057 gh
<i>En1</i> : <i>C4</i>	37.07 g	0.26 e	0.72 c	0.0259 fg	0.0063 bcd
<i>En2</i> : <i>C1</i>	100.00 a	3.39 a	1.53 ab	0.0627 a	0.0058 fg
<i>En2</i> : <i>C2</i>	55.00 c	1.77 d	0.90 bc	0.0351 d	0.0068 a
<i>En2</i> : <i>C3</i>	63.00 b	2.30 cd	0.65 c	0.0373 d	0.0055 h
<i>En2</i> : <i>C4</i>	53.00 d	0.68 e	0.45 c	0.0279 ef	0.0059 efg
<i>En3</i> : <i>C1</i>	100.00 a	3.00 ab	1.76 a	0.0649 a	0.0062 bcde
<i>En3</i> : <i>C2</i>	41.95 f	0.44 e	2.13 a	0.0435 b	0.0063 bc
<i>En3</i> : <i>C3</i>	37.07 g	0.38 e	1.68 a	0.0407 bc	0.0064 b
<i>En3</i> : <i>C4</i>	29.27 h	0.15 e	0.47 c	0.0233 g	0.0050 i
<i>En</i> x <i>C</i>	**	**	*	**	**
LSD	2.02E-13	0.54	0.67	0.0031	0.0003

^a Values are given as mean and different letters indicate significant difference at **P* < 0.05 and ***P* < 0.01, according to LSD test. Endophytic actinomycetes = TGSR-01-005 (*En1*), TGSrL-04-028 (*En2*) and TGSR-02-017 (*En3*); Concentrations = 0 (*C1*), 0.005 (*C2*), 0.01 (*C3*) and 0.02 (*C4*) g.mL⁻¹.

สรุปผลการศึกษา

สารสกัดหยาบที่ได้จากเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์ทั้งหมด 7 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท TGSR-01-004, TGSR-01-005, TGSR-02-017, TGSR-02-018, TGSrL-02-004, TGSrL-04-028 และ TGSrL-04-053 มีผลทางอัลลีโลพาตี โดยสารสกัดหยาบแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์ไอโซเลท TGSR-02-017 ส่งผลยับยั้งอัตราการงอกมากที่สุด ขณะที่ไอโซเลท TGSR-02-018, TGSR-01-005, TGSrL-04-028 และ TGSR-01-004 ส่งผลยับยั้งความยาวต้น ความยาวราก และน้ำหนักสดมากที่สุด ส่วนไอโซเลท TGSR-01-005 ส่งผลทำให้น้ำหนักแห้งลดลงมากที่สุด และเมื่อพิจารณาผลทางอัลลีโลพาตีของส่วนสารสกัดแต่ละส่วนที่ได้มาจากไอโซเลท TGSrL-04-028 แสดงให้เห็นว่า สารสกัดส่วนเหนือตะกอนยับยั้งการงอกและการเติบโตของผักกาดหอมมากกว่าสารสกัดส่วนตะกอนเซลล์ นอกจากนี้ ชนิดของเชื้อแอคติโนมัยซีทเอนโดไฟท์มีผลทางอัลลีโลพาตีแตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อและพืชทดสอบ อย่างไรก็ตาม การเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดสูงขึ้นมีแนวโน้มส่งผลทำให้เกิดการยับยั้งการงอกและการเติบโตของผักกาดหอมและก้านจ้าวดอกใหญ่เพิ่มมากขึ้น

ผลประโยชน์ทับซ้อน

ผู้เขียนขอประกาศว่าบทความนี้ไม่มีผลประโยชน์ทับซ้อน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์และทีมงานวิจัยทางด้านวิทยาการวัชพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่สนับสนุนการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

การมีส่วนร่วมในการเขียนบทความของผู้เขียน

ความคิดริเริ่ม และ สมมุติฐาน: อภิรัฐ บัณฑิต, ยุพา จอมแก้ว. การปฏิบัติการวิจัย การมีส่วนร่วมในการ ออกแบบ การทดลอง การทดสอบ เครื่องมือวัด วิธีการเก็บข้อมูล และ criteria: อภิรัฐ บัณฑิต, ยุพา จอมแก้ว. การจัดเก็บข้อมูล การวิเคราะห์ข้อมูล การแปลผล: กิติภัทร์ ปราบแกะ, อภิรัฐ บัณฑิต, ยุพา จอมแก้ว. การวิพากษ์วิจารณ์ผล การแสดง การเปรียบเทียบกับข้อสรุปหรือองค์ความรู้ หรือทฤษฎีเดิม: กิติภัทร์ ปราบแกะ, อภิรัฐ บัณฑิต, สิริชัย สาธุวิจารณ์, ภารดี ธรรมาภิชัย และยุพา จอมแก้ว. การมีส่วนร่วมในการเขียนต้นฉบับบทความ: กิติภัทร์ ปราบแกะ, อภิรัฐ บัณฑิต, สิริชัย สาธุวิจารณ์, ภารดี ธรรมาภิชัย, ยุพา จอมแก้ว. การให้การสนับสนุนเครื่องมือ ตัวอย่างพืช และห้องปฏิบัติการ และ ครุภัณฑ์: กิติภัทร์ ปราบแกะ, อภิรัฐ บัณฑิต, สิริชัย สาธุวิจารณ์, ภารดี ธรรมาภิชัย, ยุพา จอมแก้ว.

เอกสารอ้างอิง

- Aamir, M., Rai, K. K., Zehra, A., Dubey, M. K., Samal, S., Yadav, M., & Upadhyay, R. S. (2020). Endophytic actinomycetes in bioactive compounds production and plant defense system. In Kumar, A., & Singh, V. K. (Ed.), **Microbial Endophytes: Prospects for Sustainable Agriculture**, pp. 189-229. Woodhead Publishing.
- Ambarwati, A., Wahyuono, S., Moeljopawiro, S., & Yuwono, T. (2020). Antimicrobial activity of ethyl acetate extracts of *Streptomyces* sp. CRB46 and the prediction of their bioactive compounds chemical structure. **Biological Diversity**, 21(7), 3380-3390.
- Barazani, O., & Friedman, J. (2001). Allelopathic bacteria and their impact on higher plants. **Critical Reviews in Microbiology**, 27(1), 41-55.
- Bataineh, S. M. B., Saadoun, I., Hameed, K. M., & Ababneh, Q. (2008). Screening for soil Streptomyces from north Jordan that can produce herbicidal compounds. **Polish Journal of Microbiology**, 57(4), 297-305.
- Beyeler, M., Keel, C., Michaux, P., & Hass, D. (1999). Enhanced production of indole-3-acetic acid by a genetically modified strain of *Pseudomonas fluorescens* CHA0 affects root growth of cucumber, but does not improve protection of the plant against Pythium root rot. **FEMS Microbiology Ecology**, 28(3), 225-233.
- Bhatti, A. A., Haq, S., & Bhat, R. A. (2017). Actinomycetes benefaction role in soil and plant health. **Microbial Pathogenesis**, 111(1), 458-467.
- Bundit, A., Ostlie, M., & Prom-U-Thai, C. (2021). Sunn hemp (*Crotalaria juncea*) weed suppression and allelopathy at different timings. **Biocontrol Science and Technology**, 31(7), 694-704.
- Doroghazi, J. R., & Metcalf, W. W. (2013). Comparative genomics of actinomycetes with a focus on natural product biosynthetic genes. **BMG Genomics**, 14(611), 2-13.
- Chromkaew, Y. (2009). **Phenotypic and Genotypic Characterization of Endophytic Actinomycetes Isolated from Tangerines and Their Potential for Plant Growth Promotion**. Master's Thesis. Chiang Mai University. (in Thai).
- Du, H., Su, J., Yu, L., & Zhang, Y. (2013). **Isolation and Physiological Characteristics of Endophytic Actinobacteria from Medicinal Plants**. Retrieved from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23614236>.
- Elshafie, E. S., & Camele, I. (2022). Rhizospheric actinomycetes revealed antifungal and plant-growth-promoting activities under controlled environment. **Plants**, 11(14), 2-11.
- Golinska, P., Wypij, M., Agarkar, G., Rathod, D., Dahm, H., & Rai, M. (2015). Endophytic actinobacteria of medicinal plants: diversity and bioactivity. **Springer**, 108(2), 267-289.
- Khan, B. M., Hossain, M. K., & Mridha, M. A. U. (2006). Effect of microbial inoculants on *Albizia saman* germination and seedling growth. **Journal of Forestry Research**, 17(2), 99-102.
- Kropff, M. J. (1988). Modelling the effects of weeds on crop production. **Weed Research**, 28(1), 465-471.
- Li, S., Yang, B., Tan, G. Y., Ouyang, L. M., Qiu, S., Wang, W., Xiang, W., Zhang, L. (2021). Polyketide pesticides from actinomycetes. **Current Opinion in Biotechnology**, 69(1), 299-307.
- Li, Y., Guo, R., Liang, X., Yao, B., Yan, S., Guo, Y., Han, Y., & Cui, J. (2023). Pollution characteristics, ecological and health risks of herbicides in a drinking water source and its inflowing rivers in North China. **Environmental Pollution**, 334(12), 122130.
- Ma, Y. Y., Shen, Y., Zhou, X. P., Ma Y. T., & Xue, Q. H. (2023). An antagonist of *Caenorhabditis elegans* controls root-knot disease and promotes tomato plant growth. **Archives of Agronomy and Soil Science**, 69(14), 3154-3166.
- Manulis, S., Shafrir, H., Epstein, E., Lichter, A., & Barash, I. (1994). Biosynthesis of indole-3-acetic acid via the indole-3-acetamide pathway in *Streptomyces* spp. **Microbiology**, 140(5), 1045-1050.

- Matsumoto, A., & Takahashi, Y. (2017). Endophytic actinomycetes: promising source of novel bioactive compounds. **The Journal of Antibiotics**, 70(1), 514-519.
- Molisch, H. (1937). **Der Einfluss einer Pflanze auf die andere-Allelopathie**. Retrieved from: <https://n9.cl/walyxn>.
- Passari, A. K., Mishra, V. K., Saikia, R., Gupta, V. K., & Singh, B. M. (2015). Isolation, abundance and phylogenetic affiliation of endophytic actinomycetes associated with medicinal plants and screening for their *in vitro* antimicrobial biosynthetic potential. **Frontiers in Micrology**, 6(1), 1-11.
- Pilet, P. E., & Saugy, M. (1985). Effect of applied and endogenous indol-3-yl-acetic acid on maize root growth. **Planta**, 164(2), 254-258.
- Qu, T., Du, X., Peng, Y., Guo, W., Zhao, C., & Losapio, G. (2021). Invasive species allelopathy decreases plant growth and soil microbial activity. **Plos One**, 16(2), 1-12.
- R Development Core Team. (2021). **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. Retrieved from: <https://cran.r-project.org/bin/windows/base/old/4.1.2>.
- Rice, E. L. (1985). Allelopathy — An Overview. In Cooper-Driver, G. A., Swain, T., & Conn, E. E. (Ed.), **Chemically Mediated Interactions between Plants and Other Organisms**, pp. 81-82. Springer Publishing.
- Shan, W., Zhou, Y., Liu, H., & Yu, X. (2018). Endophytic actinomycetes from tea plants (*Camellia sinensis*): Isolation, abundance, antimicrobial, and plant-growth-promoting activities. **BioMed Research International**, 27(1), 1-12.
- Singh, H., Naik, B., Kumar, V., & Bisht G. S. (2017). Screening of endophytic actinomycetes for their herbicidal activity. **Annals of Agrarian Sciences**, 16(2), 1-20.
- Singh, A. A., Rajeswari, G., Nirmal, L. A., & Jacob, S. (2021). Synthesis and extraction routes of allelochemicals from plants and microbes. **Reviews in Analytical Chemistry**, 40(1), 293–311.
- Strobel, G., Daisy, B., Castillo, U., & Harper, J. (2004). Natural products from endophytic microorganisms. **Journal of Natural Products**, 67(2), 257-268.
- Shimizu, M., Nakagawa, Y., Sato, Y., Furumai, T., Igarashi, Y., Onaka, H., Yoshida, R., & Kunoh, H. (2000). Studies on endophytic actinomycete (I) *Streptomyces* sp. Isolated from rhododendron and it's antifungal activity. **Journal of General Plant Pathology**, 66(4), 360-366.
- Tripathi, A., Pandey, P., Tripathi, S. N., & Kalra, A. (2022). Perspectives and potential applications of endophytic microorganisms in cultivation of medicinal and aromatic. **Plant Science**, 13(1), 1-21.
- Wang, Y., Zhang, W., Liu, W., Ahammed, G. J., Wen, W., Guo, S., Shu, S., & Sun, J. (2021). Auxin is involved in arbuscular mycorrhizal fungi-promoted tomato growth and NADP-malic enzymes expression in continuous cropping substrates. **BMC Plant Biology**, 21(48), 1-12.
- Waqas, M., Khan, A. L., Ali, L., Kang, S. M., Kim, Y. H., & Lee, I. J. (2013). Seed germination-influencing bioactive secondary metabolites secreted by the Endophyte *Cladosporium cladosporioides* LWL5. **Molecules**, 18(12), 15519-15530.