ชื่อเรื่อง ความหลากหลายและความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของราบนข้าวกล้องและการผลิตสารเมแทบอไลต์บางชนิด

ผู้แต่ง กชกร ลาภมาก

ที่มา วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (ความหลากหลายทางชีวภาพและชีววิทยาชาติพันธุ์) มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 214 หน้า. 2552.

คำสำคัญ ข้าวกล้อง; เชื้อรา

บทคัดย่อ

ทำการแยกเชื้อราจาก 14 ตัวอย่างของเมล็ดข้าวเปลือกที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิว (SS) และข้าวกล้อง (BR) ของข้าวจำนวน 8 สายพันธุ์ เปรียบเทียบกลุ่มสังคมและความหลากหลายของชนิดของเชื้อราที่พบใน BR และ SS ของข้าวแต่ละพันธุ์ สามารถแยกเชื้อราได้ 1,464 ไอโซเลท นำมาจัดจำแนกตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ 52 ชนิด ประกอบด้วยกลุ่มที่สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ 31 ชนิด ascomycetes 9 ชนิด และเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์ (mycelia sterilia: MS) 12 ชนิด จากการศึกษาพบเชื้อราในกลุ่ม ascomycetes เฉพาะใน SS เท่านั้น ส่วนเชื้อราที่พบมากที่สุดอยู่ในกลุ่ม MS ซึ่งได้แก่ MS1 พบใน BR (43.09%) และ SS (35.46%) ตามลำดับ รองลงมาได้แก่ MS2 พบใน BR 15.14% และ SS 26.30% ตามลำดับ จากการจัดจำแนกเชื้อราในกลุ่ม MS โดยเทคนิคทางอณูชีววิทยา และศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลำดับนิวคลีโอไทด์ในตำแหน่ง 28S และ ITS1-5.8S-ITS2 สามารถจัดจำแนกได้ 7 จีนัส ได้แก่ *Alternaria* (MS3), *Bipolaris* (MS2), *Coriolopsis* (MS4), *Curvularia* (MS6), *Dendryphiella* (MS1), *Massarina* (MS5), และ *Persiciospora* (MS8) ยังมี MS อีก 5 ชนิดที่ไม่สามารถจัดจำแนกได้ในระดับจีนัส พบว่าเชื้อราใน BR และ SS มีความหลากหลายที่ไม่แตกต่างกัน นอกจากนี้พบว่าข้าวเหนียว (RD6) มีความหลากหลายของเชื้อราสูงกว่าข้าวเจ้า (KDML105) แหล่งที่มาของข้าวและพันธุ์ข้าวมีผลต่อความหลากหลายและกลุ่มสังคมของเชื้อราทั้ง BR และ SS

สารเมแทบอไลต์จากเชื้อราเป็นที่รู้จักและนำมาใช้อย่างแพร่หลายทางอุตสาหกรรม ในการศึกษานี้ ได้คัดเลือกเชื้อราในกลุ่มที่มีรายงานว่ามีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส แอลแอสพาราจิเนส และฮอร์โมนพืช ได้แก่ GA_3 และ IAA จากการคัดเลือกเชื้อราจำนวน 112 ไอโซเลท มาทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสบนอาหารแข็งที่มี CMC เป็นแหล่งคาร์บอนโดย gel diffusion assay และตรวจสอบการทำงานของเอนไซม์โดยวัดน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าราจำนวน 27 ไอโซเลทให้วงใสบนอาหารแข็ง โดยเชื้อราไอโซเลท BR307 (MS12) สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สูงสุด (0.481$\pm$0.018 U/ml)

คัดเลือกราจำนวน 36 ไอโซเลท มาทดสอบความสามารถในการผลิตแอลแอสพาราจิเนสบนอาหารแข็ง modified Czapek Dox (mCD) ที่มีแอลแอสพาราจีนเป็นแหล่งไนโตรเจน และฟีนอลเรด เชื้อราจำนวน 24 ไอโซเลท สามารถเปลี่ยนสีอินดิเคเตอร์เป็นสีชมพู จึงนำมาตรวจสอบการทำงานของเอนไซม์โดยวิธี Nesslerization พบว่า *Bipolaris australiensis* ไอโซเลท BR438 ผลิตเอนไซม์ได้สูงสุด (6.3$\pm$0.65 U/ml) เมื่อเลี้ยงในอาหาร mCD ที่มีแอลแอสพาราจีน 1% และกลูโคส 0.4% เป็นส่วนประกอบ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง และเมื่อทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์พบว่าสารสกัดหยาบของเอนไซม์นี้ไม่มีพิษต่อ Vero cell lines

สำหรับการศึกษาเบื้องต้นในการผลิตฮอร์โมนพืชจากเชื้อรา ได้คัดเลือกเชื้อราจำนวน 12 ไอโซเลท ในการผลิต GA_3 และ IAA นำเชื้อรามาเลี้ยงในอาหาร Czapek ที่เติมเปปโตน 1% และกลูโคส 1% บ่มที่ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนามากรองและทำให้แห้งเป็นผงสำหรับวิเคราะห์คุณสมบัติทางชีวภาพของสาร

ตรวจสอบผลของสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 10 μg/ml ของต่อความแข็งแรงของต้นกล้าถั่วเขียวเทียบกับฮอร์โมนมาตรฐาน GA_3, IAA และน้ำ วัดผลโดยคำนวณจากค่า vigour index (VI) พบว่า *Fusarium oxysporum* ไอโซเลท BR464 และ *Acremonium* sp. ไอโซเลท BR484 แสดงค่า VI สูงสุดที่ 1117.67 และ 1115.67 ตามลำดับ ซึ่งค่า VI ที่ได้ต่ำกว่า GA_3 (1336.33) แต่สูงกว่า IAA (875) และน้ำ (864.67) สารสกัดจากเชื้อราทั้งสองไอโซเลทแสดงเปอร์เซ็นต์การงอกดีเทียบเท่ากับ GA_3, IAA และน้ำ โดยพบว่าต้นถั่วเขียวมีน้ำหนักสดและแห้งน้อยกว่าต้นที่ได้รับ GA_3 มาตรฐานแต่มีลักษณะของลำต้นที่ปกติกว่า ทำการตรวจสอบองค์ประกอบของฮอร์โมนในสารสกัดหยาบจากเชื้อราโดยวิธีโครมาโตกราฟีแบบแผ่นบาง (Thin layer chromatography) เทียบกับ GA_3 และ IAA มาตรฐาน พบว่า *Acremonium* sp. ไอโซเลท BR484 มีฮอร์โมนทั้งสองชนิด