บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง

1. ผลการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียในดินทั้งหมดจากดิน 5 แปลงในพื้นที่บ้านป่าสักงาม ศูนย์ศึกษาพัฒนาห้วยฮ่องไคร้ อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ ที่ช่วงความลึก 7-15 เซนติเมตร ทั้ง 3 ครั้ง พบว่าปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดอยู่ระหว่าง $2.7x10^5$–$2.5x10^7$ โคโลนี/กรัมของดิน $1.92x10^6$–$1.3x10^7$ โคโลนี/กรัมของดิน และ $7.2x10^5$–$9.6x10^6$ โคโลนี/กรัมของดิน ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบจำนวนแบคทีเรียในดินทั้ง 3 ครั้ง จากดินทั้ง 5 แปลง พบว่าแปลงป่าสักธรรมชาติมีปริมาณแบคทีเรียมากที่สุด ส่วนแปลงขยายพันธุ์และแปลงป่าปลูกฟื้นสภาพมีปริมาณแบคทีเรียน้อยที่สุด

เมื่อพิจารณาปริมาณความชื้นในดินทั้งสามครั้ง ครั้งที่ 1, 2 และ 3 มีค่าอยู่ในช่วง 4.03 - 26.40 เปอร์เซ็นต์ 20.99-37.13 เปอร์เซ็นต์ และ 12.73 - 27.08 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และค่าพีเอชของดินทั้ง 3 ครั้ง ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกัน คือมีค่าอยู่ในช่วง 5.91–7.72 6.44–7.37 และ 5.0–7.69 ตามลำดับ และมีค่าอินทรีย์สารอยู่ในช่วง 7.12–15.73 เปอร์เซ็นต์

2. เชื้อแบคทีเรียที่สร้างสปอร์ที่คัดเลือกได้จากดิน 5 แปลง ที่ระดับความลึก 3–15 เซนติเมตร ทั้ง 3 ครั้ง คัดเลือกได้ทั้งหมด 750 ไอโซเลท จัดอยู่ใน *Bacillus* เมื่อจัดจำแนกชนิดของ *Bacillus* ทั้ง 750 ไอโซเลท ได้ *B. subtilis* 35 ไอโซเลท

3. เมื่อนำ *B. subtilis* ทั้ง 35 ไอโซเลท มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา 5 ชนิด บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มตามความสามารถในการยับยั้งออกเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญ คือ *B. subtilis* NRS01–2 *B. subtilis* NRS02–2 *B. subtilis* NRS02–3 *B. subtilis* NRS03–1 *B. subtilis* NRS03–2 *B. subtilis* COS02–1 *B. subtilis* COS03–2 *B. subtilis* COS03–3 *B. subtilis* PS5202–2 *B. subtilis* PS5202–8 *B. subtilis* PS5202–9 และ *B. subtilis* PS5203–4 และกลุ่มที่สามารถยับยั้งการเจริญเชื้อราได้พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญใกล้เคียงกัน ส่วนผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *P. parasitica* ให้ผลแตกต่างไปจากผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด

4. ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่ใช้ในปฏิกิริยา RAPD-PCR คือใช้ Annealing temperature ที่ 36 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วินาที ปริมาณ Taq polymerase ที่ใช้มีความเข้มข้น 1 U ความเข้มข้นของไพรเมอร์ 25 pmol และความเข้มข้นของ $MgCl_2$ 4.0 mM

5. เมื่อตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ โดยใช้ไพรเมอร์ 4 ชนิด พบว่ามีลายพิมพ์ดีเอ็นเอคล้ายกันมาก มีความแตกต่างกันน้อยแสดงว่าสายพันธุ์ที่นำมาศึกษานั้นมีความแตกต่างในระดับสายพันธุ์หรือมีความแปรผันทางพันธุกรรมในสายพันธุ์น้อย และบางไอโซเลทมีลายพิมพ์ดีเอ็นเอเหมือนกัน แสดงว่าเป็นเชื้อสายพันธุ์เดียวกัน

6. เมื่อเปรียบเทียบรูปแบบของแถบดีเอ็นเอของเชื้อในแต่ละไอโซเลท สามารถวิเคราะห์ cluster โดยแบ่งกลุ่ม *B. subtilis* ออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มที่หนึ่งประกอบด้วย 2 ไอโซเลท กลุ่มที่สอง 24 ไอโซเลท กลุ่มที่สาม 4 ไอโซเลท และกลุ่มสี่ 5 ไอโซเลท และมีความสัมพันธ์กับผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา ทั้ง 5 ชนิด ทำให้สามารถแบ่ง *B. subtilis* ทั้ง 35 ไอโซเลท ออกเป็นสองกลุ่ม

ปัญหาและอุปสรรค

ในการเก็บตัวอย่างดินทั้ง 3 ครั้ง ต้องประสบกับปัญหาในการเข้าไปยังพื้นที่เนื่องจากพื้นที่ที่ใช้ศึกษามีฝนตกตลอดทั้ง 3 ครั้ง ทำให้การเก็บตัวอย่างไม่ตรงกับช่วงฤดูที่ต้องการศึกษา

ข้อเสนอแนะ

1. การทดลองนี้ควรทำการทดลองโดยเทคนิค RAPD ร่วมกับเทคนิคอื่นๆ เพื่อยืนยันความถูกต้อง
2. ควรมีการหาแถบดีเอ็นเอที่จำเพาะเพื่อใช้ในการตรวจหายีนที่มีความสัมพันธ์กับผลการยับยั้ง