# การแยกและคัดเลือกแอคติโนมัยสีทและแบคทีเรียจากน้ำหมักหน่อกล้วยที่มีกิจกรรมการส่งเสริมการเจริญเติบโตในพืช

# ISOLATION AND SCREENING OF ACTINOMYCETES AND BACTERIA FROM BANANA-SHOOT FERTILIZER FOR PLANT GROWTH PROMOTING ACTIVITIES

ธนวรรณ ม่วงอิ่ม
อิทธิพัทธ์ โตขำ

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ISOLATION AND SCREENING OF ACTINOMYCETES AND BACTERIA FROM BANANA-SHOOT FERTILIZER FOR PLANT GROWTH PROMOTING ACTIVITIES

THANAWAN MUANGIM
ITTHIPAT THOKHOM

THIS REPORT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2017

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | |
|---|---|
| **หัวข้อโครงงานพิเศษ** | **การแยกและคัดเลือกแอคติโนมัยสีท และแบคทีเรียจากน้ำหมักหน่อกล้วยที่มีกิจกรรมการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช**<br>Isolation and Screening of Actinomycetes and Bacteria from banana-shoot fertilizer for plant growth promoting activities |
| **ชื่อนักศึกษา** | นางสาวธนวรรณ ม่วงอิ่ม รหัสนักศึกษา 57050696<br>นายอิทธิพัทธ์ โตขำ รหัสนักศึกษา 57050730 |
| **ปริญญา** | วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) |
| **ภาควิชา** | ชีววิทยา |
| **คณะ** | วิทยาศาสตร์ |
| **มหาวิทยาลัย** | สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) |
| **ปีการศึกษา** | 2560 |
| **อาจารย์ที่ปรึกษา** | รศ.ดร.จิตติ ท่าไว |

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2560

| **คณะกรรมการสอบ** | **ลายมือชื่อ** |
|---|---|
| ผศ.ดร.ดวงกมล เรือนงาม<br>ประธานกรรมการ | |
| ดร.คนึงกานต์ กลั่นบุศย์<br>กรรมการ | |
| รศ.ดร.จิตติ ท่าไว<br>กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา | |

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**หัวข้อโครงงานพิเศษ** การแยกและคัดเลือกแอคติโนมัยสีทและแบคทีเรียจากน้ำหมักหน่อกล้วยที่มีกิจกรรมการส่งเสริมการเจริญเติบโตในพืช

**ชื่อนักศึกษา** นางสาวธนวรรณ ม่วงอิ่ม รหัสนักศึกษา 57050696
นายอิทธิพัทธ์ โตขำ รหัสนักศึกษา 57050730

**ปริญญา** วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

**ภาควิชา** ชีววิทยา

**คณะ** วิทยาศาสตร์

**มหาวิทยาลัย** สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)

**ปีการศึกษา** 2560

**อาจารย์ที่ปรึกษา** รศ.ดร.จิตติ ท่าไว

## บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ต้องการศึกษาความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของงจุลินทรีย์ที่เจริญในน้ำหมักหน่อกล้วยชีวภาพจาก 3 เขตพื้นที่ในจังหวัดสุพรรณบุรี โดยการหมักหน่อกล้วยพร้อมดินรอบๆ ด้วยกากน้ำตาล

การถ่ายน้ำหมักอายุ 14 วัน ลงบนอาหารสำหรับคัดแยกเชื้อนั้นทำให้สามารถแยกแอคติโนมัยสีท 26 ไอโซเลต และแบคทีเรียอีก 21 ไอโซเลตจากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่าแอคติโนมัยสีทส่วนใหญ่มีลักษณะสปอร์เป็นเส้นตรงยาว ปลายโค้งงอคล้ายตะขอไปจนถึงขดม้วนเป็นก้นหอยบนเส้นใยอากาศโดยตรง ลักษณะทางฐานวิทยาพบว่าแบคทีเรียส่วนใหญ่เป็นแกรมบวก ทุกไอโซเลตที่แยกได้ถูกนำไปทดสอบความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ สำหรับแอคติโนมัยสีทนั้น SP3-4 สามารถผลิต IAA ได้มากที่สุดคือ 238.130 µg/ml และ SP2-3 187.617 µg/ml ไอโซเลตที่ผลิต Gibberellin ได้มากที่สุดคือ SP2-24 ผลิตได้ 233.111 µg/ml มี 20 ไอโซเลตที่สังเคราะห์ซิเดอร์โรฟอร์ได้ รวมไปถึง SP2-3 และ SP3-4 ด้วย และมี 7 ไอโซเลตที่สามารถละลายแคลฟอสเฟตได้ สำหรับแบคทีเรียนั้น ไอโซเลตที่สร้าง IAA ได้สูงที่สุดคือ SB3-16 ผลิตได้ 1107.469 µg/ml และไอโซเลตที่ผลิต Gibberellin ได้มากที่สุดคือ SB3-19 ผลิตได้ 565.802 µg/ml มี 19 ไอโซเลตที่สังเคราะห์ซิเดอราฟอร์ได้ และ 7 ไอโซเลตที่สามารถละลายฟอสเฟตบนอาหารวุ้น NBRIP-BPB ได้สามตัวที่ถูกนำมาวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บน 16s RNA คือ SP2-3 SP2-4 และ SB2-21 พบว่า SB2-21 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ตรงกับ *Methylobacterium aquaticum* DSM 16371 มากที่สุด (99.15%) และ SP3-4 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ตรงกับ *Geodermatophilus nigrescens* DSM 45408$^{T}$ มากที่สุด (98.47%) และ ไอโซเลต SP2-3 มีลำดับนิวคลีโอไทใกล้เคียงกับจีนัส *Nonomuraea* แต่ต่างกับสายพันธุ์อื่นในระดับสปีชีส์ (97.50%) จึงถูกจัดให้เป็นสายพันธุ์ใหม่ด้วยชื่อ *Nonomuraea gerenzanensis* ATCC 39727$^{T}$ งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยแรกที่ศึกษาการออกฤทธิ์ส่งเสริมการเจริญเติบโตและความหลากหลายทางชีวภาพของจุลินทรีย์ซึ่งเจริญได้ในน้ำหมักชีวภาพที่ทำจากหน่อกล้วย ผลวิจัยนี้แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่โด่งเด่นในหลายๆไอโซเลต และเหมาะกับการนำไปพัฒนาเป็นปุ๋ยเพื่อเพิ่มคุณภาพดินและสนับสนุนการเจริญเติบโตของพืชได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**คำสำคัญ :** แอคติโนมัยซีท แบคมีเรีย การส่งเสริมการเจริญเติบโตแก่ต่อพืช 16s rRNA เชื้อสายพันธุ์ใหม่

| | |
|---|---|
| **Special Project Title** | Isolation and screening of actinomycetes bacteria from bannana-shoot fertilizer for plant growth promoting activities |
| **Students** | Miss Thanawan Muangim Student ID 57050696 |
| | Mr. Itthipat Tokham Student ID 57050730 |
| **Degree** | Bachelor of Science (Biotechnology) |
| **Department** | Biology |
| **Faculty** | Science |
| **University** | King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang |
| **Academic Year** | 2017 |
| **Advisor** | Assoc. Prof. Dr. Chitti Thawai |


## ABSTRACT


This study aims to investigate plant growth promoting traits of microorganism grown in banana shoot biofertilizer from 3 different banana-shoot samples in Suphanburi. Whole plants were used without washing and fermented with molasses. Twenty-six isolates of actinomycetes and twenty isolates of bacteria were isolated after inoculated fertilizer on isolation agar. From preliminary morphological characterization of spore formation, actinomycete isolates from biofertilizer have several spore characteristics. Most of isolates are Long Straight Chains, Retinaculiaperti type, and Verticillate type aerial mycelium. Bacterial isolates mainly are gram-positive and rod-shaped. A series of plant growth promoting tests were conducted. For actinomycetes, the highest yield of IAA was obtained from SP.3-4 which yielded 238.130 µg/ml and also SP.2-3 which produced IAA 187.617 µg/ml. SP2-24 gave highest gibberellin yield which produced 233.111 µg/ml. Twenty isolates of actinomycetes produced siderophore including SP.2-3 and SP.3-4. Seven isolates showed the ability to dissolve calcium phosphate from NBRIP-BPB medium. For bacterial isolates, SB.2-16 yielded highest IAA which produced 1107.469 µg/ml. Highest gibberellin yield was obtained from SB.3-19, this isolate produced gibberellin 565.802 µg/ml in broth. Nineteen bacterial isolates produced siderophore and seven isolates were positive in phosphate solubilisation. Two isolates of actinomycetes and one isolate of bacteria were selected for 16s rRNA sequence analysis and the results showed that SB.2-21 has highest similarity to *Methylobacterium aquaticum* DSM 16371 (99.15%). The nearest matching type strain of SP3-4 is *Geodermatophilus nigrescens* DSM 45408$^{T}$ (98.47%) and the similarity to nearest type strain of isolate SP.2-3 suggested that this isolate is new specie and it was named *Nonomuraea gerenzanensis* ATCC 39727$^{T}$ (97.50%). This is the first report on the diversity and


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

characterization of microorganism associated with banana shoot fertilizer. Our results demonstrate that some strains have the promising activity to be developed as biofertilizers to enhance soil fertility and promote the plant growth.

**Keywords** : actinomycetes, bacteria, plant growth promoting traits, 16s rRNA, new specie



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความช่วยเหลือของ ผศ.ดร.จิตติ ท่าไว ผู้ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาปริญญานิพนธ์ ตลอดจนให้คำแนะนำในด้านต่างๆ แนวคิด อีกทั้งยังตรวจทานแก้ไขข้อบกพร่องจนกระทั้งปริญญานิพนธ์เล่มนี้เสร็จสมบรูณ์ กราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.ดวงกมล เรือนงาม ที่กรุณารับเป็นประธานกรรมการและ ดร.คนึงกานต์ กลั่นบุศย์ ซึ่งกรุณารับเป็นคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ ในการตรวจสอบปริญญานิพนธ์นี้ พร้อมทั้งได้กรุณาให้ข้อเสนอแนะ และปรับปรุงปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณนักวิทยาศาสตร์ เจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยาที่ได้อำนวยความสะดวกและให้ความช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ ขอขอบพระคุณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ได้ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัย ท้ายที่สุดนี้ขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างยิ่งสำหรับบิดามารดา และครอบครัวของผู้วิจัย ที่คอยเป็นกำลังใจ ให้โอกาส และสนับสนุนในทุกด้านเป็นอย่างดีมา โดยตลอดคุณค่าและประโยชน์ที่พึงมีจากปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

ธนวรรณ ม่วงอิ่ม
อิทธิพัฒน์ โตขำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

หน้า


บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ค
สารบัญ ..... จ
สารบัญตาราง ..... ฉ
สารบัญรูป ..... ฌ
**บทที่ 1 บทนำ** ..... 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของโครงงานพิเศษ ..... 1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ ..... 2
1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ ..... 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ ..... 2
**บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง** ..... 3
2.1 ความหลากหลายของจุลินทรีย์ในดิน ..... 3
2.1.1 จุลินทรีย์นักย่อยสลาย (Decomposer) ..... 3
2.1.2 จุลินทรีย์นักเกื้อหนุน (Mutualists) ..... 3
2.1.3 จุลินทรีย์นักก่อโรค (Pathogens) ..... 3
2.2 ความสามารถในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในน้ำหมักชีวภาพ ..... 4
2.3 การคัดแยกจุลินทรีย์จากน้ำหมักชีวภาพ ..... 4
2.3.1 อาหารสำหรับคัดแยกแอคติโนมัยสีท ..... 4
2.4 การพิสูจน์เอกลักษณ์ (Identification) ของเชื้อแอคติโนมัยสีท ..... 5
2.4.1 ลักษณะทางฟีโนไทป์ของแอคติโนมัยสีท ..... 5
2.4.2 ลักษณะทางจีโนไทป์ของแอคติโนมัยสีท ..... 10
2.5 สารส่งเสริมการเจริญเติบโตต่อพืช ..... 10
2.5.1 ออกซิน (auxin) ..... 11
2.5.2 จิบเบอเรลลิน ..... 12
2.5.3 ซิเดอร์โรฟอร์ (siderophores) ..... 12
2.5.4 การย่อยสลายฟอสเฟต ..... 13
**บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง** ..... 14
3.1 เครื่องมือ ..... 14
3.2 สารเคมี ..... 15
3.3 การเก็บตัวอย่างหน่อกล้วยที่ใช้ในการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีท แบคทีเรีย ..... 15
3.4 การแยกเชื้อแอคติโนมัยสีท แบคทีเรีย ..... 15
3.4.1 การทำน้ำหมักชีวภาพจากหน่อกล้วย ..... 15
3.4.2 การคัดแยกแอคติโนมัยสีทจากน้ำหมักหน่อกล้วย ..... 16
3.4.3 การคัดแยกแบคทีเรียจากน้ำหมักหน่อกล้วย ..... 16
3.5 การคัดเลือกและจัดกลุ่มเชื้อแอคติโนมัยสีท แบคทีเรีย ..... 16


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.6 การตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแอคติโนมัยสีท แบคทีเรีย ..... 17
3.7 การทดสอบคุณสมบัติและการผลิตสารส่งเสริมการเจริญเติบโตในพืชของแอคติโนมัยสีทและแบคทีเรีย ..... 17
3.7.1 การทดสอบ Indole-3-acetic acid ..... 17
3.7.2 การทดสอบ Gibberellin ..... 19
3.7.3 การทดสอบคุณสมบัติการย่อยสลายฟอสเฟต ..... 19
3.7.4 ความสามารถในการสร้างซิเดอร์โรฟอร์ ..... 20
3.8 การศึกษาการระบุชนิดเชื้อแอคติโนมัยสีทเบื้องต้น ..... 20
3.8.1 สกัดดีเอ็นเอ ..... 20
3.8.2 การเพิ่มปริมาณยีน 16s rRNA ..... 21
3.8.3 การทำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ (PCR Product) ให้มีความบริสุทธิ์ ..... 22
3.8.4 การวิเคราะห์ล้าดับนิวคีลโอไทด์ และสายวิวัฒนาการ (Phylogenetic Analysis) ..... 22
3.9 การเก็บรักษาแอคติโนมัยสีทและแบคทีเรีย ..... 22
3.10 สถานที่ทำการทดลอง ..... 22
**บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล** ..... 23
4.1 ลักษณะตัวอย่างและผลการแยกและคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสีท แบคทีเรีย ..... 23
4.2 ผลการคัดเลือกและจัดกลุ่มเชื้อแอคตินัยสีทไอโซเลตที่สนใจ ..... 25
4.2.1 การจัดกลุ่มเชื้อแอคติโนมัยสีทโดยลักษณะทางฟีโนไทป์(Phenotype) ..... 25
4.2.2 การจัดกลุ่มเชื้อแบคทีเรียโดยลักษณะทางฟีโนไทป์ (Phenotype) ..... 39
4.3 ผลการทดสอบความสามารถในการผลิตสารส่งเสริมการเจริญในพืช ..... 50
4.3.1 การทดสอบการผลิตกรดอินโดล-3-อะซิติกของแอคติโนมัยสีท ..... 50
4.3.2 การทดสอบการผลิตกรดอินโดล-3-อะซิติกของแบคทีเรีย ..... 53
4.3.3 การทดสอบการผลิตจิบเบอเรลินของแอคติโนมัยสีท ..... 56
4.3.4 การทดสอบการผลิตจิบเบอเรลินของแบคทีเรีย ..... 61
4.3.5 การตรวจสอบแอคติโนมัยสีทที่มีความสามารถในการย่อยสลายฟอสเฟต ..... 64
4.3.6 การตรวจสอบแอคติโนมัยสีทที่มีความสามารถในการสร้างสารซิเดอร์โรฟอร์ ..... 64
4.3.7 การตรวจสอบแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายฟอสเฟต ..... 65
4.3.8 การตรวจสอบแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างสารซิเดอร์โรฟอร์ ..... 65
4.4 ผลการศึกษาการระบุชนิดของแอคติโนมัยสีท แบคทีเรีย ..... 67
**บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ** ..... 70
5.1 สรุปผลการวิจัย ..... 70
5.2 ข้อเสนอแนะ ..... 72
เอกสารอ้างอิง ..... 74
ภาคผนวก ..... 76

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น และห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ภาคผนวก ก ..... 77
ภาคผนวก ข ..... 78
ภาคผนวก ค ..... 87
ภาคผนวก ง ..... 105



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง

**ตารางที่** **หน้า**

**ตารางที่ 3.1** ส่วนประกอบที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส ..... 21

**ตารางที่ 3.2** วงจรพีซีอาร์ (PCR cycle) ..... 21

**ตารางที่ 4.1** ไอโซเลตแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้และแหล่งที่เก็บตัวอย่าง ..... 24

**ตารางที่ 4.2** ไอโซเลตแบคทีเรียที่คัดแยกได้และแหล่งที่เก็บตัวอย่าง ..... 24

**ตารางที่ 4.3** ลักษณะการเจริญและสัณฐานวิทยาของเชื อแอคติโนมัยสีทบนอาหาร Yeast extract – Malt extract agar ระยะเวลา 14 วัน ..... 38

**ตารางที่ 4.4** ลักษณะสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียบนอาหาร Nutrient agar ระยะเวลา 4 วัน โดยวิธีการย้อมแกรม (Gram staining) ..... 51

**ตารางที่ 4.5** ผลการทดสอบการผลิตกรดอินโดล-3-อะซิติกของแอคติโนมัยสีทไอโซเลตSP1 ..... 52

**ตารางที่ 4.6** ผลการทดสอบการผลิตกรดอินโดล-3-อะซิติกของแอคติโนมัยสีทไอโซเลตSP2 ..... 53

**ตารางที่ 4.7** ผลการทดสอบการผลิตกรดอินโดล-3-อะซิติกของแอคติโนมัยสีทไอโซเลตSP3 ..... 54

**ตารางที่ 4.8** ผลการทดสอบการผลิตกรดอินโดล-3-อะซิติกของแบคทีเรียไอโซเลตSB1 ..... 55

**ตารางที่ 4.9** ผลการทดสอบการผลิตกรดอินโดล-3-อะซิติกของแบคทีเรียไอโซเลตSB2 ..... 56

**ตารางที่ 4.10** ผลการทดสอบการผลิตกรดอินโดล-3-อะซิติกของแบคทีเรียไอโซเลตSB3 ..... 57

**ตารางที่ 4.11** ผลการทดสอบการผลิตจิบเบอเรลินของแอคติโนมัยสีทไอโซเลตSP1 ..... 58

**ตารางที่ 4.12** ผลการทดสอบการผลิตจิบเบอเรลินของแอคติโนมัยสีทไอโซเลตSP2 ..... 59

**ตารางที่ 4.13** ผลการทดสอบการผลิตจิบเบอเรลินของแอคติโนมัยสีทไอโซเลตSP3 ..... 60

**ตารางที่ 4.14** ผลการทดสอบการผลิตจิบเบอเรลินของแบคทีเรียไอโซเลตSB1 ..... 61

**ตารางที่ 4.15** ผลการทดสอบการผลิตจิบเบอเรลินของแบคทีเรียไอโซเลตSB2 ..... 62

**ตารางที่ 4.16** ผลการทดสอบการผลิตจิบเบอเรลินของแบคทีเรียไอโซเลตSB3 ..... 63

**ตารางที่ 4.17** ผลการทดสอบคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตของแอคติโนมัยสีท ..... 64

**ตารางที่ 4.18** ผลการทดสอบคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ..... 66

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญรูป

**รูปที่** **หน้า**

**รูปที่ 2.1** การสร้างสปอร์เดี่ยวของเชื้อแอคติโนมัยสีท ..... 6
**รูปที่ 2.2** ลักษณะสปอร์เป็นสาย ..... 7
**รูปที่ 2.3** การสร้างสปอร์แบบเป็นสายยาวของ *Streptomyces* ..... 8
**รูปที่ 2.4** รูปทรงของอับสปอร์ที่เจริญบนอาหาร ..... 9
**รูปที่ 2.5** รูปทรงของอับสปอร์ ..... 9
**รูปที่ 3.1** ส่วนประกอบของเครื่อง Ebulliometer ..... 15
**รูปที่ 4.1** แสดงลักษณะน้ำหมักหน่อกล้วยตัวอย่างที่ 1 ทำการหมักเป็นระยะเวลา 14 วัน ..... 23
**รูปที่ 4.2** แสดงลักษณะน้ำหมักหน่อกล้วยตัวอย่างที่ 2 ทำการหมักเป็นระยะเวลา 14 วัน ..... 23
**รูปที่ 4.3** แสดงลักษณะน้ำหมักหน่อกล้วยตัวอย่างที่ 3 ทำการหมักเป็นระยะเวลา 14 วัน ..... 23
**รูปที่ 4.4** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อสีทไอโซเลตSP2-1 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14วัน ..... 25
**รูปที่ 4.5** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อสีทไอโซเลตSP1-2 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14วัน ..... 26
**รูปที่ 4.6** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อสีทไอโซเลตSP2-3 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14วัน ..... 26
**รูปที่ 4.7** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อสีทไอโซเลตSP3-4 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14วัน ..... 27
**รูปที่ 4.8** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อสีทไอโซเลตSP3-5 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14วัน ..... 27
**รูปที่ 4.9** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อสีทไอโซเลตSP1-6 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14วัน ..... 28
**รูปที่ 4.10** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อสีทไอโซเลตSP2-7 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14วัน.....28
**รูปที่ 4.11** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อสีทไอโซเลตSP2-8 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14วัน.....29
**รูปที่ 4.12** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อสีทไอโซเลตSP2-9 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14วัน.....29
**รูปที่ 4.13** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อสีทไอโซเลตSP2-10 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14วัน... 30
**รูปที่ 4.14** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อสีทไอโซเลตSP1-11 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14วัน... 30
**รูปที่ 4.15** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อสีทไอโซเลตSP2-12 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14วัน... 31
**รูปที่ 4.16** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อสีทไอโซเลตSP1-13 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14วัน... 31
**รูปที่ 4.17** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อสีทไอโซเลตSP2-14 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14วัน... 32
**รูปที่ 4.18** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อสีทไอโซเลตSP1-15 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14วัน... 32
**รูปที่ 4.19** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อสีทไอโซเลตSP1-16 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14วัน... 33
**รูปที่ 4.20** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อสีทไอโซเลตSP2-17 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14วัน... 33
**รูปที่ 4.21** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อสีทไอโซเลตSP1-18 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14วัน... 34
**รูปที่ 4.22** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อสีทไอโซเลตSP2-19 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14วัน... 34
**รูปที่ 4.23** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อสีทไอโซเลตSP1-20 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14วัน... 35
**รูปที่ 4.24** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อสีทไอโซเลตSP2-21 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14วัน... 35
**รูปที่ 4.25** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อสีทไอโซเลตSP1-22 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14วัน... 36
**รูปที่ 4.26** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อสีทไอโซเลตSP2-23 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14วัน... 36
**รูปที่ 4.27** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อสีทไอโซเลตSP1-24 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14วัน... 37
**รูปที่ 4.28** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อสีทไอโซเลตSP1-25 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14วัน... 37
**รูปที่ 4.29** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อสีทไอโซเลตSP2-26 บนอาหาร ISP2 ระยะเวลา 14วัน... 38
**รูปที่ 4.30** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSB1-1 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน..... 41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญรูป (ต่อ)

**รูปที่** **หน้า**

**รูปที่ 4.31** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSB1-2 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน..... 41
**รูปที่ 4.32** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSB1-3 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน..... 42
**รูปที่ 4.33** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSB1-4 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน..... 42
**รูปที่ 4.34** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSB1-5 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน..... 43
**รูปที่ 4.35** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSB1-6 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน..... 43
**รูปที่ 4.36** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSB1-7 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน..... 44
**รูปที่ 4.37** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSB2-8 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน..... 44
**รูปที่ 4.38** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSB2-9 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน..... 45
**รูปที่ 4.39** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSB2-10 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน..... 45
**รูปที่ 4.40** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSB2-11 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน..... 46
**รูปที่ 4.41** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSB2-12 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน..... 46
**รูปที่ 4.42** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSB2-13 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน..... 47
**รูปที่ 4.43** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSB2-14 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน..... 47
**รูปที่ 4.44** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSB3-15 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน..... 48
**รูปที่ 4.45** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSB3-16 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน..... 48
**รูปที่ 4.46** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSB3-17 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน..... 49
**รูปที่ 4.47** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSB3-18 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน..... 49
**รูปที่ 4.48** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSB3-19 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน..... 50
**รูปที่ 4.49** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSB3-20 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน..... 50
**รูปที่ 4.50** แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSB3-21 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน..... 51
**รูปที่ 4.51** กราฟแสดงผลปริมาณ IAA ที่ผลิตได้จากอาหาร ISP2 broth และ20% soil extract ของไอโซเลต SP1..... 52
**รูปที่ 4.52** กราฟแสดงผลปริมาณ IAA ที่ผลิตได้จากอาหาร ISP2 broth และ20% soil extract ของไอโซเลต SP2..... 53
**รูปที่ 4.53** กราฟแสดงผลปริมาณ IAA ที่ผลิตได้จากอาหาร ISP2 broth และ20% soil extract ของไอโซเลต SP3..... 54
**รูปที่ 4.54** แสดงผลปริมาณ IAA ที่ผลิตได้จากอาหาร NB broth และ 20% soil extract ของไอโซเลต SB1 ..... 55
**รูปที่ 4.55** แสดงผลปริมาณ IAA ที่ผลิตได้จากอาหาร NB broth และ 20% soil extract ของไอโซเลต SB2 ..... 56
**รูปที่ 4.56** แสดงผลปริมาณ IAA ที่ผลิตได้จากอาหาร NB broth และ 20% soil extract ของไอโซเลต SB3 ..... 57
**รูปที่ 4.57** แสดงผลปริมาณ GAs ที่ผลิตได้จากอาหาร ISP2 broth และ 20% soil extract ของไอโซเลต SP1 ..... 58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญรูป (ต่อ)

**รูปที่** **หน้า**

**รูปที่ 4.58** แสดงผลปริมาณ GAs ที่ผลิตได้จากอาหาร ISP2 broth และ 20% soil extract ของไอโซเลต SP2 ..... 59
**รูปที่ 4.59** แสดงผลปริมาณ GAs ที่ผลิตได้จากอาหาร ISP2 broth และ 20% soil extract ของไอโซเลต SP3 ..... 60
**รูปที่ 4.60** แสดงผลปริมาณ GAs ที่ผลิตได้จากอาหาร NB broth และ 20% soil extract ของไอโซเลต SB1 ..... 61
**รูปที่ 4.61** แสดงผลปริมาณ GAs ที่ผลิตได้จากอาหาร NB broth และ 20% soil extract ของไอโซเลต SB2 ..... 62
**รูปที่ 4.62** แสดงผลปริมาณ GAs ที่ผลิตได้จากอาหาร NB broth และ 20% soil extract ของไอโซเลต SB3 ..... 63
**รูปที่ 4.63** แสดงตำแหน่งของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP3-4 บน phylogenetic tree (neighbor-joining method)..... 67
**รูปที่ 4.64** แสดงตำแหน่งของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP2-3 บน phylogenetic tree (neighbor-joining method)..... 68
**รูปที่ 4.65** แสดงตำแหน่งของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SB3-21บน phylogenetic tree (neighbor-joining method)..... 69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1
# บทนำ

## 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของโครงงานพิเศษ

เกษตรอินทรีย์ (Organic Agriculture) เป็นระบบการผลิตที่นิยมใช้อย่างแพร่หลายในปัจจุบันเพื่อบำรุงรักษาสภาพดิน ระบบนิเวศน์ รวมไปถึงการเป็นอยู่ของสิ่งมีชีวิต โดยพึ่งพากระบวนการทางธรรมชาติมากกว่าการใช้สารเคมีที่อาจจะทำให้เกิดการปนเปื้อนต่อทรัพยากรทางธรรมชาติ และสิ่งมีชีวิต เกษตรอินทรีย์จึงเป็นทางออกของปัญหาโดยเฉพาะด้านสิ่งแวดล้อมและสุขอนามัยของผู้บริโภค อีกทั้งผู้คนยังหันมาใส่ใจดูแลสุขภาพมากขึ้น เกษตรอินทรีย์จึงกลายมาเป็นที่สนใจของเกษตรกรยุคใหม่เพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคในปัจจุบัน

โดยทั่วไปเกษตรกรจะใช้ปุ๋ยชีวภาพในการเร่งการเจริญเติบโตซึ่งให้ผลที่ดีกว่าหรือเทียบเท่ากับการใช้ปุ๋ยเคมี (Ramirez ปี 2015) ปุ๋ยชีวภาพใช้วัตถุดิบได้จากหลากหลายแหล่ง ไม่ว่าจะเป็นใบไม้ มูลสัตว์ ชานอ้อย เศษอาหาร น้ำซาวข้าว และที่น่าสนใจที่สุดคือจาก “หน่อกล้วย” เนื่องจากการสืบค้นข้อมูลพบว่าการนำต้นกล้วยไปปลูกบนดินที่แห้งแล้งมากต้นกล้วยนั้นสามารถเจริญเติบโตได้และเปลี่ยนสภาพดินให้กลับมาดีได้ภายในระยะเวลาอันสั้นอาจจะเป็นไปได้ว่าบริเวณรอบๆรากของต้นกล้วยนั้นมีจุลินทรีย์ตามธรรมชาติที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชอาศัยอยู่ จุลินทรีย์เหล่านี้เมื่ออยู่ในธรรมชาติร่วมกับต้นกล้วยแล้วสามารถเปลี่ยนแปลงพื้นดินแห้งแล้งโดยรอบให้กลับมาอุดมสมบูรณ์ได้

โดยปกติเมื่อนำวัตถุดิบใดๆมาทำน้ำหมักชีวภาพเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่ในน้ำหมักนั้นๆจะมาจากดินรอบๆรากพืชที่นำมาใช้ อีกทั้งยังเจริญเติบโตดีกว่าที่เคยอยู่ในดินตามที่ได้สืบค้นข้อมูลพบว่ายังไม่มีงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์ใดที่ศึกษาจุลินทรีย์ที่เจริญในน้ำหมักหน่อกล้วย

จุลินทรีย์ที่เจริญในน้ำหมัก แอคติโนมัยสีทมีความน่าสนใจเนื่องจากความสามารถในการผลิตสปอร์จึงทำให้เจริญได้ดีในดินสภาพต่างๆ อีกทั้งแอคติโนมัยสีทยังสามารถสร้างสารทุติยภูมิได้ ซึ่งมีผลต่อการควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคและส่งเสริมการเจริญเติบโตต่อพืชอีกด้วย นอกจากนี้เรายังสนใจฤทธิ์ทางชีวภาพของแบคทีเรียโดยทั่วไปการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของจุลินทรีย์ ที่ทำศึกษาได้แก่ ความสามารถในการสร้างฮอร์โมนพืช การละลายฟอสเฟตจากดิน และการสร้างสารจับกับธาตุเหล็ก

ฮอร์โมนพืชที่สนใจมีอยู่สองตัวคือ Idole-3-Acetic Acid (IAA) และ Giberellic Acid เป็นสองฮอร์โมนหลักที่มีผลต่อการเจริญเติบโตโดยตรงต่อพืช IAA เป็นฮอร์โมนในกลุ่มออกซิน เนื่องจากฮอร์โมนกลุ่มนี้มีผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ ควบคุมการเจริญของพืชในระดับเนื้อเยื่อไปจนถึงอวัยวะ Gibberellin เป็นฮอร์โมนหลักที่กระตุ้นการงอกของเมล็ด ซึ่งพืชส่วนใหญ่ที่เจริญเติบโตในดินแห้งแล้งได้ มักจะมีจุลินทรีย์ที่ผลิตฮอร์โมนเหล่านี้อาศัยอยู่ตามรากพืช ผู้วิจัยคาดว่าอาจจะพบจุลินทรีย์กลุ่มนี้ในน้ำหมักหน่อกล้วย นอกจากนี้ยังสนใจจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในละลายลายฟอสเฟตซึ่งเป็นหนึ่งในรูปแบบของสารประกอบฟอสเฟตที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ มีผลต่อการเร่งการเจริญเติบโตของราก เร่งการสุกของผล และมีผลต่อการออกดอกออกผลของพืช สำหรับความสามารถ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการผลิตสารจับธาตุเหล็กอย่างเช่น ซิเดอร์โรฟอร์นั้นมีบทบาทสำคัญในการควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคในรากพืช เนื่องจากธาตุเหล็กเป็นธาตุสำคัญในการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรค หากจุลินทรีย์ในรากพืชสามารถผลิตซิเดอร์โรฟอร์ได้ จะลดโอกาสที่เชื้อก่อโรคจะนำธาตุเหล็กไปใช้ในการเจริญเติบโตได้ และเพิ่มปริมาณธาตุเหล็กที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ด้วยโดยเฉพาะต่อพืชในดินที่มีธาตุเหล็กจำกัด

การศึกษาจุลินทรีย์ที่เจริญในน้ำหมักหน่อกล้วยนั้นมีความสำคัญมาก เนื่องจากกล้วยนั้นเป็นพืชเศรษฐกิจที่เจริญเติบโตได้ดีในทุกภูมิภาค ไม่ต้องหมั่นดูแลเหมือนพืชเศรษฐกิจชนิดอื่นแต่กลับให้ผลผลิตที่ดีซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับการมีเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้เจริญอยู่ เราจึงสนใจที่จะคัดแยกจุลินทรีย์ทั้งแอคติโนมัยสีท แบคทีเรียจากน้ำหมักหน่อกล้วย และนำมาศึกษาการออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช รวมไปถึงศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติโดดเด่น

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) เพื่อทำการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีท แบคทีเรียจากน้ำหมักหน่อกล้วย

2) เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยสีท แบคทีเรียที่คัดแยกได้

3) เพื่อวิเคราะห์กิจกรรมของเชื้อแอคติโนมัยสีท แบคทีเรียที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ การสร้าง IAA จิบเบอเรลลิน ซิเดอร์โรฟอร์ และการละลายฟอสเฟต

4) เพื่อศึกษาอนุกรมวิธานเบื้องต้นเชื้อแอคติโนมัยสีท แบคทีเรียที่มีคุณสมบัติโดดเด่น

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1) คัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีท แบคทีเรียจากน้ำหมักหน่อกล้วย

2) รวบรวมเชื้อแอคติโนมัยสีท แบคทีเรียนำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานเบื้องต้น

3) ทดสอบคุณสมบัติการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชด้วยวิธีดังนี้ ได้แก่ การสร้าง IAA จิบเบอเรลลิน ซิเดอร์โรฟอร์ และการละลายฟอสเฟต

4) นำเชื้อที่มีคุณสมบัติโดดเด่นมาศึกษาอนุกรมวิธานเบื้องต้น

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) พบเชื้อที่มีประโยชน์สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้จากน้ำหมักหน่อกล้วย

2) สามารถตรวจสอบลักษณะและพิสูจน์เอกลักษณ์ของเชื้อแอคติโนมัยสีท แบคทีเรีย

3) อาจจะค้นพบเชื้อแอคติโนมัยสีท แบคทีเรียสายพันธุ์ใหม่

4) เชื้อแอคติโนมัยสีท แบคทีเรียที่พบนี้สามารถนำมาทำประโยชน์ในการเป็นหัวเชื้อในทางเกษตรอินทรีย์ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 2
# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

## 2.1 ความหลากหลายของจุลินทรีย์ในดิน

จุลินทรีย์คือสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว มีขนาดเล็กมาก พบได้ทั่วไปในสภาพแวดล้อมรอบตัวเรา ไม่ว่าจะเป็นในน้ำ ลอยไปมาในอากาศ และในดิน ซึ่งหากเราตักดินขึ้นมา 1 ช้อนชา ดินในช้อนนั้นจะมีแบคทีเรียอาศัยอยู่ถึง 100 ถึง 1000 ล้านตัว จุลินทรีย์ในดินนั้นส่วนมากจะเป็นแบคทีเรีย 69.59% แอคติโนมัยสีท 20.41% (Breazealb และ Camper ปี 1969) โดยแบคทีเรียสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 กลุ่มใหญ่ๆดังนี้

### 2.1.1 จุลินทรีย์นักย่อยสลาย (Decomposer)

เป็นกลุ่มที่มีจำนวนมากที่สุด ดำรงชีวิตโดยการย่อยแหล่งคาร์บอนจากสิ่งมีชีวิตที่ตายแล้วแล้วด้วยกระบวนการเดียวกันนี้เอง แบคทีเรียกลุ่มนี้จึงสามารถเปลี่ยนสารอินทรีย์เป็นแหล่งพลังงานรูปแบบอื่นที่ใช้ประโยชน์ได้ออกสู่ระบบนิเวศน์ทั่วโลก มีหลายสายพันธุ์ที่ย่อยสลายสารพิษอย่างยาฆ่าหญ้าได้ ผู้ย่อยสลายเหล่านี้จึงมีประโยชน์ต่อสิ่งมีชีวิตบนโลกอย่างมากในการขับเคลื่อนและรักษาสมดุลทางธรรมชาติเอาไว้

ในงานวิจัยของ Nan และคณะปี 2014 นั้นได้ทดลองเอาจุลินทรีย์ในดินมาผสมกับปุ๋ยชีวภาพทำจากมูลสุกรและเติมกรดอะมิโนลงไปแล้วนำไปใช้ปลูกต้นกล้วย ผลปรากฏว่าการใช้ปุ๋ยจากสิ่งปฏิกูลทำให้มีจำนวนจุลิทรีย์ในดินรอบๆรากของต้นกล้วยเพิ่มขึ้น 2 ถึง 4 เท่าเมื่อเทียบกับการใช้ปุ๋ยเคมี และกลุ่มจุลินทรีย์ส่วนใหญ่เป็นแอคติโนมัยสีท

### 2.1.2 จุลินทรีย์นักเกื้อหนุน (Mutualists)

เป็นกลุ่มที่มีความสัมพันธุ์พิเศษกับพืช ซึ่งกลุ่มที่รู้จักกันดีคือจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนในปัจจุบันจุชินทรีย์กลุ่มนี้เป็นกลุ่มที่น่าสนใจอย่างมากเนื่องจากมีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตต่อพืช เป็นทางออกในยุคที่โลกเต็มไปด้วยมลภาวะจากการใช้สารเคมี กลุ่มที่น่าสนใจที่สุดคือกลุ่มเอนโดไฟต์ (Endophyte) และกลุ่มที่อาศัยตามบริเวณดินรอบรากพืช

มีหลายงานวิจัยที่แสดงให้เห็นถึงความหลากหลายของจุลินทรีย์ที่อยู่แบบเกื้อหนุนกันกับพืช เช่นงานวิจัยของ Qin และคณะ ในปี 2015 ที่สามารถแยกจุลินทรีย์กลุ่มแอคติโนมัยซีทจากเนื้อเยื่อต่างๆของต้นสบู่ดำได้ถึง 257 ไอโซเลต 14 จีนัส และมีหลายจีนัสที่เป็นสายพันธุ์หายากโดยส่วนใหญ่แยกได้จากราก ลำต้น และมีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตที่มีประสิทธิภาพต่างกันไปในแต่ละด้านอีกด้วย

งานวิจัยที่ส่งเสริมแนวคิดความหลากหลายของเอนโดไฟต์คืองานวิจัยของ Qin และคณะในปี 2009 ที่ทดสอบแยกเอนโดไฟต์จากเนื้อเยื่อพืชสายพันธุ์ต่าง 90 สายพันธุ์โดยสามารถแยกได้ 2,174 ไอโซเลต เฉลี่ยพืช 1 สายพันธุ์สามารถแยกได้ 24 ไอโซเลต และจากเอนโดไฟต์ทั้งหมด 87% เป็นกลุ่ม *Streptomyces*

### 2.1.3 จุลินทรีย์นักก่อโรค (Pathogens)

แม้จุลินทรีย์ส่วนใหญ่บนโลกจะไม่ก่อโรค อีกทั้งยังมีประโยชน์ต่อมนุษย์แต่บางกลุ่มที่มีความสามารถในการก่อโรค (Pathogenicity) ปัจจุบันเชื้อก่อโรคคือ *Mycobacterium tuberculosis*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำให้มนุษย์เสียชีวิตไปถึง 2 ล้านคนต่อปี ผู้คนเหล่านั้นส่วนใหญ่อาศัยในทวีปแอฟริกาเป็นพื้นที่ที่ยังขาดแคลนสาธารณูปโภคขั้นพื้นฐาน อย่างไรก็ตามจุลินทรีย์ก่อโรคเหล่านี้สามารถจัดการได้ด้วยยาปฏิชีวนะ (Antibiotic) ที่สร้างโดยจุลินทรีย์ด้วยกันเองมาเพื่อทำลายผนังเซลล์ทำให้สารพันธุกรรมกระจายออกมาไม่สามารถก่อโรคต่อได้และตายลงในที่สุด

สำหรับในภาคเกษตรกรรมนั้นก็มีเชื้อก่อโรคมากมายเช่นกัน ในบทความของ Mansfield และคณะปี 2012 ในการจัดอันดับเชื้อก่อโรคในพืชไว้ โดย 4 อันดับแรกคือ Pseudomonas (โรคจุดดำ) Ralstonia (โรคเหี่ยว) Agrobacterium (โรคปุ่มปม) และ Xanthomonas (โรคใบจุด) อีกหนึ่งเชื้อก่อโรคที่โด่งดังคือ Fusarium เป็นตัวการณ์ของผลผลิตกล้วยที่ลดลงทั่วโลก

**2.1.4 กลุ่มจุลินทรีย์ผู้สร้าง (Lithotrophs)**

เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่ใช้สารอนินทรีย์ โดยเฉพาะจากแหล่งแร่ธาตุในการสังเคราะห์สารอินทรีย์ เช่น ไนโตรเจน ซัลเฟอร์ ธาตุเหล็ก หรือ ไฮโดรเจน

## 2.2 ความสามารถในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในน้ำหมักชีวภาพ

งานวิจัยของเรานั้นเป็นการคัดแยกจุลินทรีย์จากน้ำหมักหน่อกล้วยสิ่งที่ต้องมั่นใจที่สุดคือ จุลินทรีย์ที่เราต้องการนั้นสามารถอยู่รอดได้ตลอดระยะเวลาการหมัก 7 ถึง 14 วัน ซึ่งในงานวิจัยของ Nan และคณะปี 2014 จุดประสงค์ของงานคือทดลอง Pot Experiment โดยการสร้างปุ๋ยจากมูลสุกรและนำไปใช้กับต้นกล้วยทำการตรวจดูการเพิ่มขึ้นของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งแอคติโนมัยสีทแบคทีเรีย และรา โดยปุ๋ยชีวภาพแต่ละสูตรของ Nan นั้นเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ได้อย่างเห็นได้ชัดเพิ่มจำนวนแบคทีเรียจากเดิม 2 เท่า แอคติโนมัยสีทเพิ่มขึ้น 4 เท่า เมื่อเทียบกับการใช้ปุ๋ยเคมี และได้นำปุ๋ยแต่ละสูตรที่ผสมจุลินทรีย์แล้วไปทดสอบกับกล้วยในกระถางผลปรากฏว่าไม่ว่าจะใช้ปุ๋ยสูตรใดก็ให้ผลผลิตได้ดีเท่ากับการใช้ปุ๋ยเคมีในงานวิจัยระบุไว้ว่าจุลินทรีย์ในปุ๋ยหมักชีวภาพนั้นสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรค Fusarium ได้ดีกว่าปุ๋ยเคมี 2 ถึง 5 เท่า งานวิจัยนี้ทำให้เรามั่นใจได้ว่านอกจากจุลินทรีย์จะสามารถเพิ่มจำนวนได้ดีในน้ำหมักชีวภาพแล้วยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคอีกด้วย

## 2.3 การคัดแยกจุลินทรีย์จากน้ำหมักชีวภาพ

จุลินทรีย์ที่เราต้องการแยกนั้นเป็นจุลินทรีย์ที่อาศัยในดินรอบๆรากกล้วย และบางส่วนมาจากเนื้อเยื่อของต้นกล้วยเองทั้งนี้เราสนใจทั้งแอคติโนมัยสีทและแบคทีเรียแต่การจะใช้อาหารเลี้ยงเชื้อแบบเดียวกันนั้นจะเป็นการลดความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อทั้งสองกลุ่ม จึงต้องเลือกใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อเชื้อกลุ่มนั้นๆ

**2.3.1 อาหารสำหรับคัดแยกแอคติโนมัยสีท**

อาหารเลี้ยงที่ใส่สำหรับการคักแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่เหมาะสมคือ อาหาร แซงสตาร์ซซอย เอ็กแทรกท์ เอการ์ (Zhang's starch soil extract agar, ZSSE) เป็นอาหารที่มีโภชนาการต่ำเกินไปสำหรับจุลินทรีย์ทั่วไปแต่สำหรับแอคติโนมัยสีทนั้นจากส่วนผสมหลักของอาหาร ZSSE คือ แป้งและสารสกัดจากดิน เมื่อนำตัวอย่างจากดินธรรมชาติมากศึกษาการที่เรานำสารสัดจากดินมาเป็นส่วนผสมก็อาจจะทำให้เชื้อเจริญในสภาพสิ่งแวดล้อมที่ใกล้เคียงแบบเดิมที่สุด เชื้อแอคติโนมัยสีทยังสามารถสร้างสปอร์ได้เมื่อทำการเลี้ยงบนอาหาร ZSSE ในงานวิจัยของ Hamaki และคณะปี 2005 ได้ทดลองใช้อาหารที่มีสารสกัดจากดินเป็นส่วนประกอบหลักเพื่อหาแบคทีเรียและแอคติโนมัยสีทสาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พันธุ์ใหม่ผลงานวิจัยของ Hamaki และคณะสอดคล้องกับงานวิจัยของเราที่ได้พบ 2 จีนัส และ 2 สปีชีส์ใหม่ทำให้อาหาร ZSSE ที่ซึ่งมี Soil Extract เป็นส่วนประกอบหลักนั้นเป็นทางเลือกของเราในการจะนำไปใช้แยกแอคติโนมัยสีท

แต่ทว่าในน้ำหมักชีวภาพนั้นอาจจะไม่ได้มีแค่เชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถเจริญได้ แบคทีเรียและรา ก็สามารถเจริญได้เช่นกัน ดังนั้นเมื่อจะทำการแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทโดยเฉพาะทำได้โดยวิธีใส่ยาปฏิชีวนะ (Antibiotic) ผสมลงไปอาหาร ZSSE เพื่อช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของ แบคทีเรีย และรา ได้ทำการดัดแปลงสูตรอาหาร ZSSE โดยเติมนิสตาติน (Nystatin) และนาลิดิซิก (Nalidixic)

Nystatin เป็นยาที่มีฤทธิ์ในการกำจัดเชื้อรา ใช้ทั่วไปในการกำจัดเชื้อรา *Candida* และราชนิดอื่นๆ ซึ่งออกฤทธิ์แบบ Board Spectrum (Kristanc และคณะปี 2011) อีกทั้งยังเคยนำไปประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ในส่วนของการใช้เป็น Specific Drug-Delivery Agent (Gomišček และคณะปี 2000) และปัจจุบันนำมาใช้กับ Isolation Agar กันอย่างแพร่หลาย (Balachandar และคณะปี 2018) (Hayakawa และ Nonomura ปี1987)

Nalidixic เป็นยาต้านเชื้อจุลินทรีย์หรือแบคทีเรียก่อโรคนำมาใช้ควบคู่ก็ Nystatin โดยให้ออกฤทธิ์ร่วมกันเพื่อลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการออกไป ( Gurovic และ Olivera ปี 2017)

## 2.4 การพิสูจน์เอกลักษณ์ (Identification) ของเชื้อแอคติโนมัยสีท

การพิสูจน์เอกลักษณ์ของเชื้อแอคติโนมัยสีททำได้โดยการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานหลายส่วน (Polyphasic taxonomy) ซึ่งประกอบด้วยการศึกษาลักษณะทางฟีโนไทป์ (Phenotype) และจีโนไทป์ (Genotype) โดยมีรายละเอียดดังนี้

### 2.4.1 ลักษณะทางฟีโนไทป์

เป็นลักษณะต่าง ๆ ที่ปรากฏให้เห็น เช่น ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ลักษณะการเจริญ ลักษณะทางสรีระวิทยาและการทดสอบทางชีวเคมี การศึกษาลักษณะทางฟีโนไทด์ของแอคติโนมัยสีทมีดังนี้ คือ

2.3.1.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphological characteristic)

ทำโดยการศึกษาลักษณะรูปร่างและโครงสร้างของเชื้อแอคติโนมัยสีท เช่น ลักษณะของเส้นใยอากาศ เส้นใยอาหาร และลักษณะสปอร์ ซึ่งศึกษาได้โดยการใช้กล้องจุลทรรศน์ที่มีเลนส์ส่องระยะไกล (Long working distance) เป็นเลนส์วัตถุ หรือในกรณีที่ต้องการรายละเอียดที่ชัดเจนมากขึ้นอาจศึกษาโดยการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

2.3.1.1.1 ลักษณะเส้นใย

ลักษณะของเส้นใยสามารถบ่งบอกลักษณะของเชื้อในแต่ละสกุลได้ โดยเส้นใยแบ่งออกเป็น 2 ชนิดคือเส้นใยที่เจริญแทรกลงไปใต้ผิวอาหาร เรียกว่า เส้นใยอาหารและเส้นใยที่ชูสูงขึ้นมาบนอากาศ เรียกว่า เส้นใยอากาศ โดยปกติเชื้อแอคติโนมัยสีทจะสร้างเส้นใยทั้งสองชนิดแต่จะมีเชื้อแอคติโนมัยสีทในบางสกุลสร้างแค่เส้นใยอาหารเท่านั้นเชื้อแอคติโนมัยสีทมีการสร้างเส้นใยที่มีลักษณะแตกต่างกัน เช่น บางสกุลอาจสร้างเส้นใยที่มีการหักเป็นท่อน ๆ บางสกุลอาจสร้างเส้นใยที่แตกเป็นกิ่งก้าน เป็นต้น

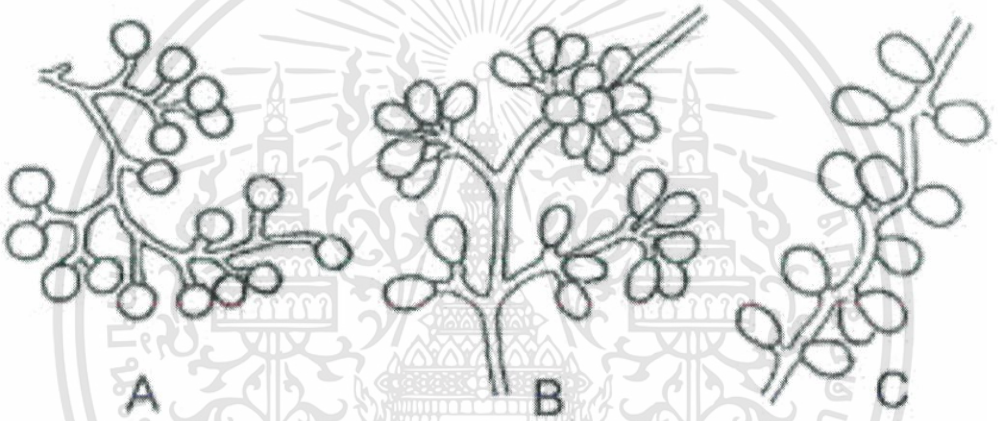
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.1.1.2 ลักษณะสปอร์

สปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยสีท มีทั้งสปอร์ที่ไม่มีถุงหุ้ม (Conidia) และสปอร์ที่ไม่มีถุงหุ้ม (Sporangiospore) การเรียงตัวของสปอร์สามารถใช้ในการจำแนกแอคติโนมัยสีทได้ โดยแอคติโนมัยสีทมักมีการสร้างสปอร์โดยแบ่งออกเป็น 3 ลักษณะ ดังนี้

(1) สปอร์เดี่ยว

มักพบได้ทั่วไปในเชื้อแอคติโนมัยสีทหลายสกุล เช่น *Micromonospora* มีการสร้างสปอร์บนเส้นใยอาหาร สปอร์มีทั้งแบบมีก้านชูสปอร์และก้านชูสปอร์สั้นและแบบอยู่ร่วมกันเป็นช่อ การสร้างสปอร์เริ่มจากการโป่งพองของปลายเส้นใยลงมาจนถึงผนังกั้นแล้วค่อยมีการสร้างผนังสปอร์ เชื้อสกุล *Thermomonospora* สร้างสปอร์เดี่ยวบนเส้นใยอากาศ ปลายก้านชูสปอร์จะมีทั้งแบบที่มีการแตกแขนงและแบบที่ไม่มีการแตกแขนง เชื้อสกุล *Saccharomonospora* มีการสร้างสปอร์เดี่ยวบนเส้นใยอากาศ สปอร์มีลักษณะเป็นรูปไข่อยู่บนก้านชูสปอร์ที่สั้นและก้านชูสปอร์ที่ไม่แตกแขนง ตัวอย่างของการสร้างสปอร์ของเชื้อแอคติโนมัยสีทสกุลต่าง ๆ แสดงดังรูปที่ 2.1




**รูปที่ 2.1** การสร้างสปอร์เดี่ยวของเชื้อแอคติโนมัยสีทสกุล
*Micromonospora* (A)
*Thermomonospora* (B)
*Saccharomonospora* (C)

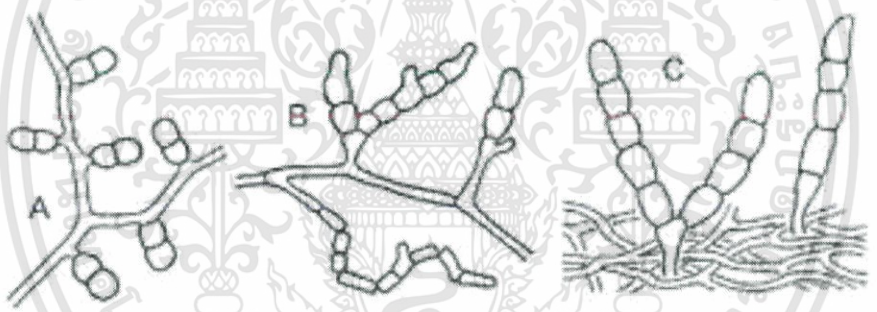
(2) สปอร์ที่สร้างต่อกันเป็นสาย (Spores formed in chains)

สปอร์มีลักษณะเป็นเส้นสาย เกิดจากผนังกั้นเส้นใยในแต่ละห้องท้าให้เส้นใยเปลี่ยนไปเป็นสปอร์ เชื้อแอคติโนมัยสีทส่วนใหญ่มีการสร้างสปอร์ในลักษณะนี้ การเรียกชนิดของสปอร์จะเรียกตามลักษณะของสปอร์ ความยาวของสายสปอร์และจ้านวนสปอร์ เช่น สปอร์คู่ (Dsporous) สปอร์สายสั้น (Oligosporous) และสปอร์สายยาว (Polysporous)

**สปอร์คู่** เป็นคู่ของสปอร์ที่มีการเรียงตัวตามยาว สปอร์มีลักษณะกลมไปจนถึงรูปไข่ มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 ไมโครเมตร ผนังสปอร์มีความหนามากกว่าเส้นใย 3 ถึง 4 เท่า ก้านชูสปอร์มีลักษณะสั้นมากอยู่บนเส้นใยอากาศ การสร้างสปอร์ในช่วงแรกเกิดการแยกตัวออกทางด้านข้างของเส้นใยอากาศท้าให้เกิดเป็นแขนงสั้นๆ และเกิดการโปร่งพองพร้อมกับสร้างผนังกั้นตรงกลางตามแนวขวาง เช่น เชื้อสกุล *Microbospora* แสดงดังรูปที่ 2.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**สปอร์สายสั้น** เป็นการสร้างสปอร์ที่มีลักษณะเป็นสายสั้น ๆ ส่วนมากในแต่ละสายจะมีสปอร์ประมาณ 7 ถุง 20 สปอร์ น้อยที่สุด 3 สปอร์ หรือบางสายพันธุ์สร้างได้มากสุดถึง 30 สปอร์ ตัวอย่างเช่นเชื้อ *Nocardia brevicatena* (แสดงดังรูปที่ 2.2) มีการสร้างสปอร์สายสั้นจำนวน 2 ถึง 7 สปอร์อยู่บนเส้นใยอาหารและเส้นใยอากาศ โดยก้านชูสปอร์และสายสปอร์อาจเกิดมาจากเส้นใยที่มีการแตกหักเป็นท่อน ๆ เชื้อ *Saccharopolyspora rectivirgura* มีการสร้างสายสปอร์ที่มีสปอร์จำนวนน้อยกว่า 5 สปอร์อยู่ที่ด้านข้างหรือส่วนปลายของเส้นใยที่ไม่มีการแตกกิ่งก้าน *Actinomadura* และ *Microtetraspora* มีการสร้างสปอร์สายสั้นที่มีลักษณะเฉพาะอยู่บนเส้นใยอากาศ จำนวนสปอร์ต่อสายนั้นแตกต่างกันไปตามชนิดของเชื้อ โดยสกุล *Microtetraspora* มีสปอร์จำนวน 4 สปอร์ต่อสาย ส่วนสกุล *Actinomadura* มีสปอร์จ้านวน 20 ถึง 40 สปอร์ต่อสาย สายของสปอร์อาจมีลักษณะตรง โค้งงอเป็นรูปตะขอ หรือมีลักษณะเป็นเกลียว ในบางสายพันธุ์เช่น *Actinomadura pusilla* สายของสปอร์มีลักษณะขดกันเป็นก้อนหนา ซึ่งมีลักษณะคล้ายถุงหุ้มสปอร์ของเชื้อสกุล *Streptosporangium* เรียกสปอร์ลักษณะนี้ว่าซูโดสปอแรงเจีย (Pseudosporangia) เชื้อสกุล *Catellatospora* (แสดงดังรูปที่ 2.2) สร้างสายสปอร์ที่มีลักษณะตรงหรือโค้งงอ มีจำนวนสปอร์ 5 ถึง 30 สปอร์ ซึ่งโผล่ออกมาโดยตรงบนก้านชูสปอร์ที่สั้น ก้านชูสปอร์อาจมีการแตกแขนงหรือไม่มีการแตกแขนงก็ได้




**รูปที่ 2.2** ลักษณะสปอร์เป็นสาย
A : การสร้างแบบ disporous ของ Microbispora
B : การสร้างสปอร์ oligosporous ของ Nocardia brevicatena
C : การสร้างสปอร์ oligosporous ของ Catellatospora
(Vobis. 1997)

**สปอร์สายยาว** ตัวอย่างแอคติโนมัยสีทที่สร้างสปอร์สายยาว คือ สกุล *Streptomyces* มีการสร้างสายสปอร์ที่มีจำนวนมากกว่า 50 สปอร์ มักเรียกสปอร์ที่เป็นสายยาวนี้ว่า อาร์โทสปอร์ (Arthospore) ลักษณะของสายสปอร์ที่แตกต่างกันสามารถใช้ในการจัดกลุ่มให้เป็นมาตรฐานได้ การสร้างสปอร์ของเชื้อสกุล Streptomyces สามารถแบ่ง 4 ชนิด แสดงดังรูปที่ 2.3

1. Rectiflexibiles สายของสปอร์มีลักษณะตรงหรือโค้งงอ
2. Retinaculiaperti สายของสปอร์มีลักษณะคล้ายรูปตะขอหรือหมุนเป็นเกลียว 1-3 รอบ
3. Spira สายของสปอร์มีลักษณะเป็นเกลียว ซึ่งแบ่งเป็น 2 แบบ คือ เกลียวแบบวงปิดติดกันแน่น และเกลียวแบบวงเปิดไม่ติดกันแน่น มีลักษณะยาวและยืดออกไป
4. Verticillate สายของสปอร์ขดเป็นก้นหอย และแตกแขนงออกเป็นช่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากเชื้อสกุล *Streptomyces* แล้วยังมีสมาชิกของเชื้อแอคติโนมัยสีทในวงศ์ *Pseudonocardiaceae* อีกจ้านวนมากที่มีการสร้างสปอร์สายยาวเช่น เชื้อสกุล *Pseudonocardia* สร้างสปอร์ที่เส้นใยอาหารและเส้นใยอากาศ ซึ่งสายสปอร์มีรูปซิกแซก เชื้อสกุล *Actinopolyspora* สร้างสปอร์สายยาวอยู่บนเส้นใยอากาศ เชื้อสกุล *Kibdelosporangium* สร้างสปอร์สายยาและมีการสร้างโครงสร้างที่มีลักษณะคล้ายถุงหุ้มสปอร์อยู่บนเส้นใยอากาศ ร่วมทั้งเส้นใยมีการแตกหักเป็นท่อน

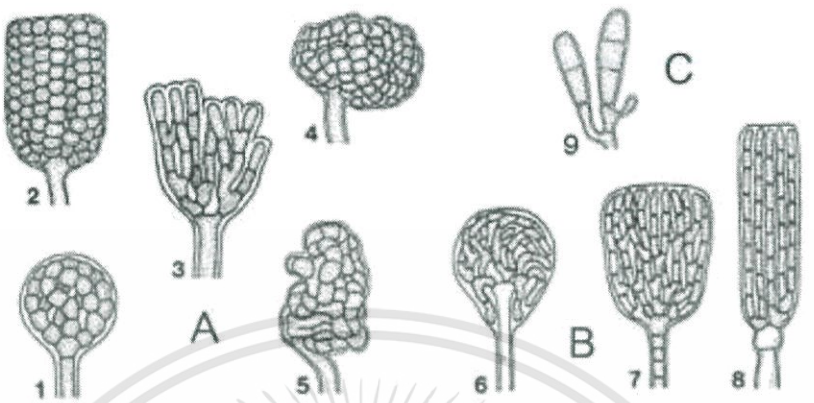
**รูปที่ 2.3** การสร้างสปอร์แบบเป็นสายยาวของ *Streptomyces*
1: Rectiflexbiles
2: Retinaculiaperti
3: Spira
4: Verticillati
(Vobis. 1997)

(3) สปอร์ที่สร้างอยู่ภายในถุงหุ้ม (Spores formed within sporangia)

เชื้อแอคติโนมันสีทหลายสกุลสร้างสปอร์อยู่ภายในถุงหุ้ม โดยถุงหุ้มสปอร์จะสร้างขึ้นมาห่อหุ้มสปอร์ตั้งแต่เริ่มมีการสร้างสปอร์ไปจนกระทั่งสปอร์แก่ จึงมีการปล่อยสปอร์ออกมาจากถุงหุ้มสปอร์มีความแตกต่างกันทั้งขนาดและรูปร่าง โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 2 ถึง 50 ไมโครเมตร แต่ส่วนใหญ่จะมีขนาดประมาณ 10 ไมโครเมตร มีรูปร่างต่าง ๆ เช่น รูปทรงกระบอก (Cylindrical) รูปกระบอง (Clavate) รูปทรงคล้ายท่อ (Tubular) รูปขวด (Bottle-shaped) รูประฆัง (Campanulate) รูปนิ้วมือ (Digitate) รูปร่างที่ไม่เป็นทรง (Irregular) รูปแฉก (Lobate) รูปร่างคล้ายร่ม (Umbelliform) รูปผลแพร์ (Pyriform) หรือรูปทรงกลม (Globose) เราสามารถจำแนกชนิดของสปอร์ที่สร้างอยู่ภายในถุงหุ้มได้โดยการสังเกตจ้านวนสปอร์ที่อยู่ภายในถุงหุ้มสปอร์ การเรียกชื่อสปอร์ในกรณีที่มีสปอร์จ้านวนน้อยอยู่ภายในถุงหุ้ม เช่น มี 1 สปอร์ เรียกว่า โมโนสปอรัส (Monosporous) มี 2 สปอร์ เรียกว่า ไดสปอรัส (Disporous) แต่ในกรณีที่มีสปอร์จ้านวนมากอยู่ภายในถุงหุ้ม เรียกว่า โพลี สปอรัส (Polysporous) โครงสร้างภายในของสปอร์แบบโพลีสปอรัสนี้สปอร์อาจอยู่ขดกันเป็นวง หรือเรียงตัวขนานกันเป็นแถวอยู่ภายในถุงหุ้ม ซึ่งถุงหุ้มสปอร์นี้จะเชื่อมกับผนังชั้นนอกของก้านชูสปอร์ เชื้อแอคติโนมัยสีทที่สร้างสปอร์ที่อยู่ภายในถุงหุ้มนี้มีทั้งสกุลที่สร้างสปอร์อยู่บนเส้นใยอาหาร เช่น *Actinoplanes*, *Ampullariella*, *Dactylosporangium* และ Pilimwlia

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(แสดงดังรูปที่ 2.4) และสกุลที่สร้างสปอร์อยู่บนเส้นใยอากาศ เช่น *Planomonospora*, *Planobispora*, *Planotetraspora*, *Planopolyspora*, *Spirillospora* และ *Streptosporangium* แสดงดังรูปที่ 2.5




**รูปที่ 2.4** รูปทรงของอับสปอร์ที่เจริญบนอาหาร (Vobis. 1997)
(A) ถุงหุ้มสปอร์ของเชื้อสกุล *Actinoplanes* รวมทั้งสกุล *Ampullariella*
1. ทรงกลม 2. ทรงกระบอก 3. รูปแฉก 4. กึ่งทรงกลม 5. รูปร่างที่ไม่เป็นทรง
(B) ถุงหุ้มสปอร์ของเชื้อสกุล *Pilimelia*
6. รูปไข่ 7. รูประฆัง 8. ทรงกระบอก
(C) ถุงหุ้มสปอร์รูปกระบองของเชื้อสกุล *Dactylosporangium*

**รูปที่ 2.5** รูปทรงของอับสปอร์ที่สร้างบนเส้นใยอากาศ (Vobis. 1997)
(A) ถุงหุ้มสปอร์แบบโมโนสปอรัสของเชื้อสกุล Planomonospora สปอร์รูปทรงกระบอก
(B) ถุงหุ้มสปอร์แบบไดสปอรัสของเชื้อสกุล Planobispora สปอร์รูปทรงกระบอก
(C) ถุงหุ้มสปอร์แบบเตตระสปอรัสของเชื้อสกุล Planotetraspora สปอร์รูปทรงกระบอก
(D) ถุงหุ้มสปอร์แบบโพลีสปอรัสของเชื้อสกุล Planopolyspora สปอร์รูปทรงคล้ายท่อ
(E) ถุงหุ้มสปอร์แบบโพลีสปอรัสของเชื้อสกุล Spirillospora สปอร์รูปทรงกลม
(F) ถุงหุ้มสปอร์แบบโพลีสปอรัสของเชื้อสกุล Streptosporangium สปอร์รูปทรงกล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.3.2 ลักษณะทางจีโนไทป์

ข้อมูลในสารพันธุกรรม (DNA) ของเชื้อแบคทีเรีย มีความสำคัญต่อการศึกษาการจัดระบบ (Systemetic) ของเชื้อแบคทีเรียเป็นอย่างมาก การศึกษาระบบของแบคทีเรียมักนิยมศึกษาข้อมูลของ 16S rRNA gene บนสายดีเอ็นเอ เพื่อสืบหาสายวิวัฒนาการของเชื้อโดยการวิเคราะห์จากต้นไม้แห่งสายวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) การศึกษา 16S rRNA gene นี้ มีกระบวนการดังนี้

2.3.2.1 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerasechain reaction : PCR)

ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสเป็นเทคนิคการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในเวลาอันสั้น อาศัยสมบัติของเอนไซม์ดีเอ็นเอพอลิเมอเรส (DNA polymerase) ชนิดที่มีความสามารถในการต่อสายของดีเอ็นเอให้ยาวขึ้นโดยอาศัยดีเอ็นเอต้นแบบสายสั้นๆ ที่เรียกว่า ดีเอ็นเอไพรเมอร์ (DNAprimer) และคุณสมบัติพิเศษของเอนไซม์ที่สามารถทนความร้อนได้มากกว่า 90 องศาเซลเซียส ทำให้สามารถปรับอุณหภูมิของปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสให้สูงต่ำตามความต้องการ โดยที่ไม่ทำให้เอนไซม์นี้เสียความสามารถในการทำงาน

ปัจจัยสำคัญของปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสประกอบด้วย

1. ดีเอ็นเอแม่แบบ (DNA template) ที่ต้องการเพิ่มปริมาณ
2. ดีเอ็นเอไพรเมอร์ที่มีล้าดับเบสคู่สมรสกับดีเอ็นเอแม่แบบที่ปลาย 5’ และปลาย 3’
3. ดีออกซีไรโบนิวคีลโอไทด์ (Deoxyribonucleotide) คือ dATP dTTP dGTP และ dCTP
4. เอนไซม์ดีเอ็นเอพอลิเมอเรส (DNA polymerase)
5. โคแฟกเตอร์ (Cofactor) ของเอนไซม์ดีเอ็นเอพอลิเมอเรส ได้แก่ Mg หรือ Mn

ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสประกอบด้วย 3 ขั้นตอนหลัก คือ

(1) การสูญเสียสภาพธรรมชาติของดีเอ็นเอ (DNA denaturation)

เป็นการเพิ่มอุณหภูมิให้สูงพอที่จะท้าให้สายดีเอ็นเอแม่แบบเกิดสูญเสียสภาพธรรมชาติโดยท้าให้สายพอลินิวคีลโอไทด์ (Polynucleotide) สองสายที่พันกันเป็นเกลียวดีเอ็นเอแยกออกจากกัน อุณหภูมิที่กล่าวถึงนี้ ส่วนใหญ่ใช้อุณหภูมิประมาณ 90 องศาเซลเซียส ซึ่งอาจแตกต่างกันไปบ้างขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของเบส (% G+C content) ในสายดีเอ็นเอท้าให้ความสามารถในการทนความร้อนแตกต่างกัน

(2) การเข้าคู่ของสายดีเอ็นเอตั้งต้นกับดีเอ็นเอที่เป็นไพร์เมอร์ (Annealing)

เป็นการปรับอุณหภูมิให้เหมาะสมเพื่อให้ดีเอ็นเอ ไพรเมอร์เข้าคู่กับสายดีเอ็นเอแม่แบบ โดยทั่วไปจะใช้อุณหภูมิประมาณ 52 ถึง 58 องศาเซลเซียส ซึ่งขึ้นอยู่กับค่าอุณหภูมิการหลอมเหลว (Melting temperature, TM) ของสายดีเอ็นเอไพรเมอร์

(3) การต่อสายยาวของดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ดีเอ็นเอพอลิเมอเรส (Extension)

เป็นขั้นตอนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่โดยสังเคราะห์ต่อจากส่วนปลาย 5’ ของไพรเมอร์ตามข้อมูลบนดีเอ็นเอที่เป็นต้นแบบแต่ละสาย โดยอาศัยการท้างานของเอนไซม์ดีเอ็นเอพอลิเมอร์เรส ซึ่งเอนไซม์นี้สามารถท้างานได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 72 ถึง 75 องศาเซลเซียส เอนไซม์ดีเอ็นเอพอลิเมอเรสที่ใช้ควรจะคงคุณสมบัติอยู่ได้ภายใต้สภาวะของปฏิกิริยาทั้งสามขั้นตอน

กระบวนการการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสจะเป็นการดำเนินของขั้นตอนที่ 1 ถึง 3 ซึ่งนับเป็นจ้านวน 1 รอบ (One cycle) จะได้ดีเอ็นเอเพิ่มขึ้นเป็นเท่าตัว ซึ่งเมื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ครบประมาณ 30 รอบจะได้ดีเอ็นเอเพิ่มเป็น 2 หรือประมาณ 10 โมเลกุล โดยทั่วไปนิยมใช้ 20 ถึง 35 รอบ

2.3.2.2 ลำดับนิวคีลโอไทด์บนสายดีเอ็นเอของ 16S rRNA gene

สิ่งมีชีวิตสองชนิดอาจไม่ใกล้ชิดกันมากพอที่จะมีดีเอ็นเอที่คล้ายกันมาก แต่ก็ยังมีไรโบโซมที่คล้ายกัน ไรโบโซมเป็นโครงสร้างเล็ก ๆ ภายในเซลล์ ทำหน้าที่สังเคราะห์โปรตีน ไรโบโซมประกอบไปด้วยโปรตีนและไรโบโซมัลอาร์เอ็นเอ (rRNA) ไรโบโซมัลอาร์เอ็นเอ (rRNA) สร้างโดยอาศัยคำสั่งจากดีเอ็นเอส่วนไรโบโซมัลอาร์เอ็นเอซิสตรอน (rRNA cistron) ในแบคทีเรียทุกชนิดลำดับนิวคีลโอไทด์ของ rRNA gene พบว่ามีความคงตัวสูงมาก แม้จะมีวิวัฒนาการมานานแต่ลำดับนิวคีลโอไทด์จะเปลี่ยนไปน้อยมาก ซึ่งหมายความว่าแม้สิ่งมีชีวิตสองตัวจะมีความใกล้ชิดกันน้อยและไม่มีดีเอ็นเอที่คล้ายกัน แต่ก็ยังมีลำดับนิวคีลโอไทด์ในไรโบโซมัลอาร์เอ็นเอซิสตรอน (rRNA cistron) คล้ายกัน ความคล้ายคลึงกันนี้สามารถใช้เป็นเครื่องวัดความใกล้ชิดระหว่างสิ่งมีชีวิตได้ในระดับสกุล (Gene) วงศ์ (Family) และล้าดับ (Order) ความคล้ายคลึงกันของไรโบโซมัลอาร์เอ็นเอ (rRNA) และไรโบโซมัลอาร์เอ็นเอ โอลิโกนิวคีลโอไทด์ แคตตาล็อกกิ้ง (rRNA oligonucleotide cataloging) เป็นวิธีใหม่ที่ใช้หาความคล้ายคลึงกันของไรโบโซมัลอาร์เอ็นเอซิสตรอน (rRNA cistron) ของสิ่งมีชีวิต

วิธีการตรวจหาลำดับเบสบนดีเอ็นเอช่วยในการศึกษาวิเคราะห์ความสัมพันธ์และความแตกต่างของดีเอ็นเอที่มาจากแหล่งต่าง ๆ วิธีการตรวจหาลำดับเบสดีเอ็นเอมีหลายวิธี วิธีที่เป็นที่นิยมเป็นกระบวนการของ Sanger ซึ่งอาศัยการขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาต่อสายดีเอ็นเอทำให้ได้ดีเอ็นเอสายสั้น ๆ จากนั้นติดฉลากสารรังสีที่มีความจำเพาะกับเบสแต่ละชนิดที่ปลายของสายดีเอ็นเอและตรวจสอบลำดับเบสโดยอาศัยการแยกสายดีเอ็นเอโดยใช้กระแสไฟฟ้าผ่านดีเอ็นเอที่อยู่บนแผ่นเจลที่ทำด้วยพอลิเอคริลเลไมด์ (Polyacrylamide Gel Electrophoresis)

ปัจจุบันมีเครื่องมือสำเร็จรูปทำให้การหาลำดับดีเอ็นเอนี้ทำได้สะดวกรวดเร็วและแม่นยำมากขึ้น การติดฉลากบนสายดีเอ็นเอที่ตำแหน่งเบสแต่ละชนิดอาศัยสารไดดีแกซีนิวคีลโอไทด์ (dideoxynucleotide : ddG ddA ddT ddC) ที่ทำให้เกิดสีฟลูออเรสเซนต์ที่มีสีแตกต่างกัน ทำให้สามารถวิเคราะห์ผลได้รวดเร็วและไม่ต้องใช้สารรังสี

## 2.5 สารส่งเสริมการเจริญเติบโตในพืช

หนึ่งในจุดประสงค์ของเราคือนำจุลินทรีย์ ทั้งแบคทีเรีย และแอคติโนมัยซีท มาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ 4 แบบ แต่ทว่าตามที่เราทราบ ยังไม่มีการทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพนด้านการส่งเสริมการเจริญเติบโตต่อพืชเลย งานวิจัยที่เรานำมาใช้เป็นแหล่งอ้างอิง จึงเป็นการทดสอบกับพืชชนิดอื่นมากกว่า โดยฤทธิ์ทางชีวภาพที่เราต้องการทดสอบมีดังนี้

### 2.5.1 ความสามารถในการผลิต Indole-3-Acetic Acid (IAA)

IAA เป็นหนึ่งในกลุ่มฮอร์โมน ออกซิน (Auxin) เป็นฮอร์โมนกลุ่มแรกที่คนพบ และเป็นฮอร์โมนหลักในการควบคุมการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อและการปรับเปลี่ยนพฤติกรรมของพืช พบได้ในนทุกส่วนของเนื้อเยื่อพืช ต่างกันที่ความเข้มข้น โดยความเข้มข้นของฮอร์โมนนี้ที่สะสมต่างกันไปมีผลต่อการพัฒนาที่ต่างกันอีกด้วย

มีงานวิจัยหลากหลายงานที่ทดสอบการสร้าง IAA จากจุลินทรีย์ โดยเฉพาะแอคติโนมัยซีท (Qin และ คณะ 2015, Montarez และคณะ 2012, Qin และคณะ 2014) ซึ่งการจะให้จุลินทรีย์สร้าง Auxin ได้นั้น จะต้องใส่สารตั้งต้นคือ L-Tryptophan ความเข้มข้นที่ใช้ทั่วไปคือ 2mg/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Montarez และคณะ 2012, Tamreihao 2016) โดยเชื้อจะใช้ TRP transaminase เพื่อแปลง L-Tryptophan ไปเป็น Indole-3-acetic acid

สำหรับการทดสอบในเชิงปริมาณนั้น ใช้วิธีวัดสีแบบสากลที่คิดค้นโดน Salkovski ปี 1885 เป็นสารละลายเหล็กในกรดเข้มข้น เมื่อสารละลายผสมกับสารตั้งต้นที่เป็น IAA จะเกิดปฏิกิริยาจนได้ผลิตภัณฑ์เป็น Tris-(indole-3-acetato)iron(III) ซึ่งเป็นสีชมพูสด และวัดที่ค่าการดูดกลืนแสง 530 นาโนเมตร (Glickmann และ Dessaux ปี 1994)

**2.5.2 ความสามารถในการผลิต Gibberellic Acid**

จิบเบอรเรลิน เป็นฮอร์โมนที่ได้ในพืชและรา หากครั้นเมื่อบริสุทธิ์แล้ว จะมีลักษณะเป็นตะกอนขาวอมเหลือง โดยปัจจุบันผู้ผลิตฮอร์โมนนี้ในระดับอุตสาหกรรมคือจุลินทรีย์ พบครั้งแรกในญี่ปุ่นเมื่อปี 1926 จิบเบอเรลินมีผลหลายอย่างต่อพืช ไม้ว่าจะเป็นการกระตุ้นการงอกของเมล็ดและตา จำเป็นอย่างมากสำหรับพืชเขตหนาวที่เมล็ดมีระยะพักตัวนาน ฮอร์โมนนี้ทำลายการพักตัวของเมล็ด ช่วยให้งอกได้อย่างปรกติ ส่วนกระตุ้นงานงอกตาคือการแตกกิ่งก้านสาขานั่นเอง โดยจำเป็นอย่างมากกับพืชจำพวกองุ่น อีกทั้งฮอร์โมนยังมีส่วนช่วยในการติดผล

งานวิจัยเกี่ยวกับการทดสอบ Gibberellin จากเชื้อนั้นมีมากมาย (Tamreihao และคณะ ปี 2016, Salazar-Cerezo และคณะ ปี 2018, Kim และคณะ ปี 2017) จากการค้นคว้าพบว่า วิธีที่เหมาะสมจะใช้ทดสอบที่สุดคือวิธีของ Vikram และคณะ ในปี 2007 ซึ่งเป็นวิธีที่ประยุกต์ร่วมมาจากงานวิจัยของ Paleg และคณะ ในปี 1965 และ Kidd และคณะ ในปี 1941 กล่าวคือใช้วิธีการทดสอบกับกรดเข้มข้มเปลี่ยนสีของ Gibberellin 3 ไปเป็นสีฟ้าเขียว โดยส่วนใสที่นำมาทนสอบนั้นผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์โดยอาศัยปฏิกิริยาระหว่างซิงค์ อะซีเตต และ โพแทชเซียมเฟอโรไซยาไนด์ แล้ววัดที่ 254 นาโนเมตร

**2.5.3 ความสามารถในกการผลิต Sideraphore**

อีกหนึ่งการออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เป็นที่น่าสนใจคือการสร้าง Sideraphore เป็นตัวละลายสารประกอบแร่เหล็กที่ดีมาก สังเคราะห์โดยจุลินทรีย์ และส่งออกผ่านผนังเซลล์ไปยังสภาพแวดล้อมโดยรอบ ธาตุเหล็กมีความสำคัญต่อการสังเคราะห์ดีเอ็นเอและการหายใจระดับเซลล์ในสภาวะที่มีธาตุเหล็กจำกัดนั้น แบคทีเรียที่สังเคราะห์ซิเดอราฟอร์ได้จะสร้างตัวจับเหล็กตัวนี้ออกมาละลายธาตุเหล็ก เพิ่มโอกาสให้ตัวเองอยู่รอด และลดโอกาสอยู่รอดของเชื้อชนิดอื่นโดยเฉพาะเชื้อก่อโรค ฉะนั้น จุลินทรีย์ที่ผลิตซิเดอราฟอร์ได้โดยเฉพาะแอคติโนมัยซีทจึงเป็นที่น่าสนใจมาก

มีหลายงานวิจัยที่ทดสอบความสามารถในการสร้างซิเดอราฟอร์ของเชื้อ (Misk และคณะ ปี 2011, Tamreihao และคณะ ปี 2016, Qin และคณะ ปี 2015) โดยหลักการทดสอบที่ทุกการทดลองใช้นั้นเป็นวิธีที่คิดค้นโดย Schwyn และ Neilands ตั้งแต่ปี 1986 มีชื่อเรียกว่า CAS essay โดยอาศัยสีย้อม Chrome Azurol S เป็นอินดิเคเตอร์ โดยปรกติ CAS จะมีสีส้มเมื่อละลายในสารละลาย แต่หากผสมกับสีย้อมกับธาตุเหล็กจะเกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน เมื่อนำสารละลายนี้ไปผสมกับอาหารวุ้นจะให้สีอาหารเขียวขี้ม้า เมื่อนำอาหารนี้ไปเลี้ยงจุลินทรีย์ที่ผลิตซิเดอราฟอร์ได้ ซิเดอราฟอร์ที่มีความจำเพาะกับธาตุเหล็กสูงจะดึงธาตุเหล็กออกมาจากสีย้อม จนบริเวณรอบๆโคโลนีเปลี่ยนไปเป็นสีส้ม แสดงถึงความสามารถในการผลิตซิเดอราฟอร์ของจุลินทรีย์นั้นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.5.4 ความสามารถในการละลายฟอตเฟต**

ในดินนั้นมีฟอสเฟตประมาณ 400-1200 มิลิกรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม (Ferna´ ndez และ Novo ปี 1988) แต่ส่วนใหญ่แล้วอยู่ในโครงสร้างที่ละลายน้ำไม่ได้ เช่นแคลเซียมฟอตเฟต จากดิน 1 กิโลกรัมนั้น พืชสามารถนำฟอตเฟตไปใช้ได้เพียง 1 มิลลิกรัม ซึ่งการขาดธาตุฟอตเฟตที่พืชจะนำไปใช้ได้ในดินจัดเป็นปัญหาของภาคเกษตกรรมทั่วโลก และการใช้ปุ๋ยเคมีเพื่อเพิ่มฟอตเฟตในดินก็ยังเป็นตัวก่อมลพิษทางดินอีกด้วย ในช่วงไม่กี่ปีมานี้ด้มีการค้นพบความสามารถในการละลายฟอตเฟตให้อยู่ในรูปแบบที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ (Arcand และ Schneider ปี 2006) ในงานวิจัยของ Hamdali และคณะ ปี 2007 ได้ทำการแยกเชื้อแอคติโนมัยซีทจากดินในเขตเหมืองหินของอเมริกา และพบว่ามี 8 จาก 55 ไอโซเลตที่สามารถละลายฟอตเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อได้

โดยปรกติงานวิจัยส่วนใหญ่จะใช้อาหาร PVK ในการทดสอบ แต่อาหารเลี้ยงเชื้อที่เราเลือกมาใช้นั้นคือ NBRI-BPB เป็นอาหารที่ปรับแต่งนำสีย้อม Bromophenol Blue (BPB) มาใช้กับอาหาร NBRIP (National Botanical Research Institute's phosphate growth medium ) ลักษณะอาหารจะเป็นสีม่วงขุ่นที่เกิดจากตะกอนฟอตเฟตในอาหาร ก่อนหน้านี้ BPB ถูกใช้ร่วมกับอาหาร PVK เมื่อทดสอบการละลายฟอตเฟตของรา (Gupta และคณะ ปี 1993) โดยหากจุลินทรีย์ใดๆที่สามารถละลายแคลเซียมฟอตเฟตได้ โคโลนีของจุลินทรีย์นั้นจะสร้างสารอินทรีย์ออกมาแล้วเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์ให้เป็นสีส้ม ทำให้สามารถวัดผลได้ด้วยตาเปล่าในเชิงคุณภาพวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 3
# อุปกรณ์และวิธีทดลอง

## 3.1 เครื่องมือ

1. ถังพลาสติก
2. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง
3. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
4. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
5. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)
6. กล้องจุลทรรศน์ (Microscope)
7. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
8. ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar Flow)
9. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
10. ตู้แช่แข็ง (Freezer)
11. เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Shaker incubator)
12. เครื่องผสมสาร (Vortex)
13. เครื่องดูดสารอัตโนมัติ (Automatic pipette)
14. หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)
15. ชุดกรองแก้วสุญญากาศ (Filtration System)
16. เครื่องกรองสุญญากาศ (Vacuum Pump)

## 3.2 สารเคมี

Glucose , Malt extract , Yeast extract , Agar , KNO , Soluble starch , Nalidixic acid , NaOH , DMSO , Nystatin , Indole-3-acetic acid(IAA) , 30% perchloric acid , $FeCl_3$ , Gibberellic acid , 30%HCl , 5%HCl , Hexadecyltrimethylammonium bromide (HDTM) , $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ , Chromo Azurol S , $Ca_3(PO_4)_2$ , $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ , $MgSO_2 \cdot 7H_2O$ , KCl , $(NH_4)_2SO_4$ , Bromophenol blue

## 3.3 การเก็บตัวอย่างหน่อกล้วยที่ใช้ในการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทและแบคทีเรีย

ตัวอย่างที่ใช้ในการคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทและแบคทีเรียเป็นตัวอย่างที่เก็บมาจากจังหวัดสุพรรณบุรีจำนวน 3 ตัวอย่างในเขตพื้นที่ที่แตกต่างกันเพื่อเพิ่มความหลากหลายของเชื้อให้มากขึ้น บริเวณพื้นที่ของตัวอย่างที่ 1 ได้รับความอนุเคราะห์หน่อกล้วยจาก คุณอุทัย ไทยวงษ์ บ้านเลขที่ 142/1 ตำบลท่าระหัด อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี บริเวณพื้นที่ของตัวอย่างที่ 2 ได้รับความอนุเคราะห์จาก คุณนวลจันทร์ ม่วงอิ่ม บ้านเลขที่ 142/1 ตำบลท่าระหัด อำเภอบางปลาม้า จังหวัดสุพรรณบุรี บริเวณพื้นที่ของตัวอย่างที่ 3 ได้รับความอนุเคราะห์หน่อกล้วยจาก คุณวิมล โพธิ์อ้น บ้านเลขที่ 125 ตำบลสนามชัย อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี วิธีการเก็บตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หน่อกล้วยจะทำการเลือกหน่อกล้วยที่สมบูรณ์ ไม่เป็นโรค มีความสูงประมาณ 1 เมตร ทำการขุดหน่อกล้วยพร้อมราก เง้า และดินที่ติดมากับราก

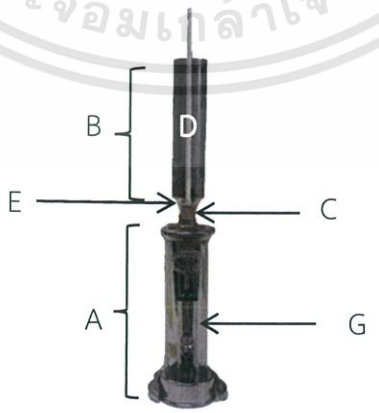
## 3.4 การแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทและแบคทีเรีย

การแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทและแบคทีเรียโดยให้ตัวอย่างผ่านกระบวนการ (Treatment) ด้วยวิธีการต่าง ๆ ดังนี้

### 3.4.1 การทำน้ำหมักชีวภาพจากหน่อกล้วย

นำหน่อกล้วยทั้งต้นมาสับให้ละเอียด แล้วนำส่วนที่สับทั้งหมดพร้อมดินที่ติดอยู่กับรากประมาณ 3 กิโลกรัมจากนั้นนำมาผสมกับกากน้ำตาลปริมาณ 1 กิโลกรัมในถังพลาสติก โดยอัตราส่วนเท่ากับ 3:1 จากนั้นผสมให้เข้ากันในถังพลาสติกทำการหมักที่อุณหภูมิห้องสภาวะไร้อากาศเป็นเวลา 14 วัน นำถังหมักเก็บไว้บริเวณที่ร่ม หลังผ่านไป 7 วัน ทำการคนน้ำหมักเพื่อระบายแก๊สกดเศษหน่อกล้วยให้จมใต้น้ำหมัก เมื่อครบ 14 วันกรองเอากากหน่อกล้วยออกจากน้ำหมักและเก็บไว้ในภาชนะปิด ลักษณะของน้ำหมักสีน้ำตาลเข้ม มีกลิ่นเปรี้ยว จากนั้นนำตัวอย่างน้ำหมักมาวัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัดพีเอช (pH meter) และการวิเคราะห์หาปริมาณแอลกอฮอล์โดยใช้เครื่องวัดแอลกอฮอล์ (Ebulliometer) ตามวิธีของ Zoecklein และคณะ (1995) Ebulliometer เป็นเครื่องมือที่ใช้หาปริมาณแอลกอฮอล์โดยหาจุดเดือดแล้วเปรียบเทียบกับแผ่นสเกลไว้สำหรับอ่านค่าอุณหภูมิ และเป็นเซ็นต์แอลกอฮอล์

วิธีการวิเคราะห์ขั้นตอนแรกทำการจุดเดือดของน้ำกลั่นโดยทำการเติมน้ำกลั่นปริมาตร 30 มิลลิลิตรใส่ในช่อง C และเสียบเทอโมมิเตอร์ปิดไว้จากนั้นเติมน้ำกลั่นเย็นในช่อง D จากนั้นสวมต่อทรงกระบอก A และ B ตรงช่อง E จุดตะเกียงแล้ววางไว้ใต้ท่อ G เมื่อน้ำเดือดแล้วไปอ่านอุหณภูมิที่คงที่ นำค่าของอุหณภูมิที่ได้ไปปรับสเกล โดยให้ขีดศูนย์ของสเกลวงนอกตรงกับค่าอุหณภูมิจุดเดือดของน้ำกลั่น ขั้นตอนที่สองทำการหาจุดเดือดของตัวอย่างเติมสารละลายตัวอย่างปริมาตร 50 มิลลิลิตร ลงในช่อง C และเสียบเทอโมมิเตอร์ปิดไว้จากนั้นเติมน้ำกลั่นเย็นในช่อง D จากนั้นสวมต่อทรงกระบอก A และ B ตรงช่อง E จุดตะเกียงแล้ววางไว้ใต้ท่อ G เมื่อตัวอย่างเดือดแล้วไปอ่านอุหณภูมิที่คงที่การอ่านค่าปริมาณแอลกอฮอล์ให้อ่านค่าปริมาณแอลกอฮอจากแผ่นสเกลรอบนอกที่ตรงกับค่าอุหณภูมิจุดเดือดของสารละลายตัวอย่างที่ได้หน่วยของปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้คือ เปอร์เซ็นต์ปริมาตรต่อปริมาตร (%V/V)




**รูปที่ 3.1** ส่วนประกอบของเครื่อง Ebulliometer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**3.4.2 การคัดแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทจากน้ำหมักหน่อกล้วย**

นำตัวอย่างน้ำหมัก 1 มิลลิลิตร มาทำการเจือจางในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อที่ผสม 0.02% SDS เป็นตัวทำละลายปริมาตร 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยเครื่องผสมสาร (Vortex) และทำการเจือจางต่อให้มีความเจือจางที่ระดับ $10^{-1}$ ถึง $10^{-3}$ ดูดสารละลายตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง $10^{-1}$ ถึง $10^{-3}$ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มาเกลี่ย (Spread plate) ลงบนอาหารสูตรดัดแปลง แซงสตาร์ชซอย เอ็กแทรกท์ เอการ์ (Zhang's starch soil extract agar, ZSSE) (ภาคผนวก ก) อาหาร ZSSE นั้นได้ทำการเพิ่มน้ำหมักเพื่อเป็นหัวเชื้อให้แก่เชื้อจุลินทรีย์ โดยนำน้ำหมักปริมาตร 5 มิลลิลิตรนำมาปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 4500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นนำน้ำหมักไปกรองสุญญากาศด้วยชุดกรองแก้วสุญญากาศ (Filtration System) กระดาษกรองขนาดรูพรุน 0.45 นำน้ำหมักที่ผ่านการกรองใส่ลงในอาหาร ZSSE ปริมาตร 5 มิลลิลิตรต่อลิตร หลังจากการทำให้อาหารปราศจากเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) ทำการเติมนิสตาติน (Nystatin) ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ละลายใน DMSO 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติมนาริกดิซิก (Nalidixic) ความเข้มข้น นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 ถึง 14 วัน

**3.4.3 การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากน้ำหมักหน่อกล้วย**

นำตัวอย่างน้ำหมัก 1 มิลลิลิตร มาทำการเจือจางในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อที่ผสม 0.02% SDS เป็นตัวทำละลายปริมาตร 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยเครื่องผสมสาร (Vortex) และทำการเจือจางต่อให้มีความเจือจางที่ระดับ $10^{-1}$ ถึง $10^{-6}$ ดูดสารละลายตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง $10^{-4}$ ถึง $10^{-6}$ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มาเกลี่ย (Spread plate) ลงบนอาหารอาหารสูตรดัดแปลง อาหารนิวเทรียนท์ เอการ์ (Nutrient Agar, NA) (ภาคผนวก ก) นั้นได้ทำการเพิ่มน้ำหมักเพื่อเป็นหัวเชื้อให้แก่เชื้อจุลินทรีย์ โดยนำน้ำหมักปริมาตร 5 มิลลิลิตรนำมาปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 4500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นนำน้ำหมักไปกรองสุญญากาศด้วยชุดกรองแก้วสุญญากาศ (Filtration System) กระดาษกรองขนาดรูพรุน 0.45 นำน้ำหมักที่ผ่านการกรองใส่ลงในอาหาร ZSSE ปริมาตร 5 มิลลิลิตรต่อลิตร หลังจากการทำให้อาหารปราศจากเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) เติมนิสตาติน (Nystatin) ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ละลายใน DMSO 100 มิลลิกรัมต่อลิตร นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 ถึง 4 วัน

## 3.5 การคัดเลือกและจัดกลุ่มเชื้อแอคติโนมัยสีทและแบคทีเรีย

เมื่อครบระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงเชื้อ ทำการคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสีทจากลักษณะของโคโลนีซึ่งโคโลนีของแบคทีเรียจะมีลักษณะมันวาว โคโลนีไม่ฝังลงไปบนอาหารแผ่เป็นวงกว้างขนาดปานกลาง โคโลนีของเชื้อราจะมีลักษณะฟู เส้นใยแผ่กว้างเป็นวงใหญ่ โคโลนีของแอคติโนมัยสีทนั้นจะมีลักษณะ แข็ง โคโลนีจะฝังตัวลงไปบนอาหาร เป็นเส้นใยอัดแน่น ไม่แผ่เป็นวงกว้าง ภายใต้จานเพาะเลี้ยงเชื้อจะเห็นโคโลนีเป็นเส้นใยเล็กๆ

การคัดเลือกแอคติโนมัยสีทและแบคทีเรียใช้เข็มเขี่ยเชื้อขนาดเล็ก (Mircro needle) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อเขี่ยบริเวณตรงกลางโคโลนีของแอคติโนมัยสีทมาขีดลากลงบนอาหารยีสต์เอ็กแทรกท์ – มอลท์เอ็กแทรกท์ เอการ์ (Yeast extract – Malt extract agar, ISP2) (ภาคผนวก ก) นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 ถึง 14 วัน ส่วนแบคทีเรียมาขีดลากลงบนอาหาร NA นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน แอคติโนมัยสีทและแบคทีเรียทำให้เชื้อบริสุทธิ์โดยการขีดลากเชื้อลงบน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหาร ISP2 NA ตามลำดับ โดยวิธีครอส สตีก (Cross streak) เพื่อให้ได้เชื้อโคโลนีเดี่ยว (Single colony)

## 3.6 การตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเจริญของแอคติโนมัยสีทและแบคทีเรีย

ตรวจสอบการเจริญของแอคติโนมัยสีทโดยเพาะเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยสีทลงบนอาหาร ISP2 ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 วัน ตรวจผลโดยดูสีของโคโลนีทั้งด้านบนและด้านล่าง การเจริญของเชื้อ ลักษณะการสร้างเส้นใยอาหาร การสร้างเส้นใยอากาศหรือสปอร์ของเชื้อ ดูการสร้างรงควัตถุที่สามารถละลายน้ำได้โดยเทียบกับกระดาษสีมาตรฐาน และตรวจดูลักษณะสปอร์ด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยใช้เลนส์ส่องระยะส่องไกล (Long-Working distance) กำลังขยาย 400 เท่า

แบคทีเรียจำแนกออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ แบคทีเรียแกรมบวก (Gram positive bacteria) แบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bacteria) การศึกษาเซลล์แบคทีเรียทำได้โดยการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียลงบน NA ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 ถึง 7 วัน จากนั้นใช้วิธีการย้อมแกรม (Gram staining) ร่วมกับกล้องจุลทรรศน์ใช้แสง (light microscope) ตรวจดูลักษณะเซลล์

## 3.7 การทดสอบคุณสมบัติและการผลิตสารส่งเสริมการเจริญเติบโตในพืชของแอคติโนมัยสีทและแบคทีเรีย

นำแอคติโนมัยสีทไปเลี้ยงในอาหารเหลว ISP2 และ 20% soil extract ส่วนแบคทีเรีย นำไปเลี้ยงในอาหารเหลว NA และ 20% soil extract ที่ประกอบด้วย แอล-ทริปโตเฟน ปริมาตร 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และบ่มในเครื่องเขย่า (180 รอบต่อนาที, 30องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7 วัน สำหรับอาหาร ISP2 และ NA 14 วันสำหรับอาหารเหลว 20% soil extract เมื่อครบเวลาบ่ม นำอาหารเหลวไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4500 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 20 นาที เพื่อให้ตัวเซลล์ตกตะกอน ซึ่งเมื่อปั่นเหวี่ยงแล้วจะได้สารละลายส่วนใส นำสารละลายส่วนใสที่ได้ไปใช้ทดสอบต่อไป โดย Supernatant ที่ได้จะใช้ทดสอบทั้ง IAA และ GA

### 3.7.1 การทดสอบ Indole-3-acetic acid

การเตรียมสารเคมีสารเคมีที่ใช้ทดสอบ IAA นั้นใช้เพียง Salkovski's reagent เตรียมโดยชั่งสารประกอบธาตุเหล็ก $FeCl_3$ 1.35 g ละลายในน้ำกลั่น 10 ml จะได้สารละลาย $FeCl_3$ ความเข้มข้น 0.5M ดูดสารละลาย 0.5M $FeCl_3$ ปริมาตร 2 ml ผสมกับกรดเปอคลอริค 35% ซึ่งเตรียมโดยผสมกรดเปอร์คลอริค 70% กับน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 1:1

**การเตรียมสารละลายมาตรฐานเพื่อทดสอบปริมาณ IAA**

การทำกราฟมาตรฐานจะต้องใช้ควาใเข้นข้น IAA ที่ 1, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 200, 400, 500, 800 และ 1000 µg/ml เริ่มเตรียม Stock Solution โดยการชั่ง Indole-3-Acetic Acid ปริมาตร 30 mg ละลายลง Absoloute Alcohol 30 ml ผสมให้เข้ากัน จะได้สารละลาย IAA 1 mg/ml ดูด 2.5 ml ผสมกับอาหารเหลว 25 ml ผสมให้เข้ากัน จะได้สารละลายลาย Stock Solution ของ IAA 100 µg/ml และทำตามขั้นตอนดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1) ดูด 8 ml จาก 100 µg/ml Stock Solution ผสมกับอาหาร 2 ml ผสมให้เข้ากัน จะได้ 80 µg/ml IAA Solution
2) ดูด 5 ml จาก 80 µg/ml IAA Solution ผสมกับอาหาร 5 ml ผสมให้เข้ากัน จะได้ 40 µg/ml IAA Solution
3) ดูด 5 ml จาก 40 µg/m IAA Solution ผสมกับอาหาร 5 ml ผสมให้เข้ากัน จะได้ 20 µg/ml IAA Solution
4) ดูด 5 ml จาก 20 µg/ml IAA Solution ผสมกับอาหาร 5 ml ผสมให้เข้ากัน จะได้ 10 µg/ml IAA Solution
5) ดูด 5 ml จาก 10 µg/ml IAA Solution ผสมกับอาหาร 5 ml ผสมให้เข้ากัน จะได้ 1 µg/ml IAA Solution
6) ดูด 6 ml จาก 100 µg/ml Stock Solution ผสมกับอาหาร 4 ml ผสมให้เข้ากัน จะได้ 60 µg/ml IAA Solution
7) ดูด 5 ml จาก 60 µg/ml Stock Solution ผสมกับอาหาร 5 ml ผสมให้เข้ากัน จะได้ 30 µg/ml IAA Solution
8) ดูด 5 ml จาก 100 µg/ml Stock Solution ผสมกับอาหาร 5 ml ผสมให้เข้ากัน จะได้ 50 µg/ml IAA Solution

สำหรับความเข้มข้นตั้งแต่ 200 µg/ml ทำการเจือจางดังต่อไปนี้

1) ดูด 8 ml จาก 1 mg/ml หรือ 1000 µg/ml IAA Solution ผสมกับอาหาร 2 ml ผสมให้เข้ากัน จะได้ 800 µg/ml IAA Solution
2) ดูด 5 ml จาก 800 µg/ml IAA Solution ผสมกับอาหาร 5 ml ผสมให้เข้ากันจะได้ 400 µg/ml IAA Solution
3) ดูด 5 ml จาก 400 µg/ml IAA Solution ผสมกับอาหาร 5 ml ผสมให้เข้ากันจะได้ 200 µg/ml IAA Solution
4) ดูด 5 ml จาก 1000 µg/ml IAA Solution ผสมกับอาหาร 5 ml ผสมให้เข้ากันจะได้ 500 µg/ml IAA Solution

**การทดสอบปริมาณ Indole-3-Acetic Acid ในอาหาร**

นำอาหารที่มี IAA ความเข้มข้นต่างๆละลายอยู่หรือ Supernatant ของตัวอย่างที่จะทดสอบปริมาตร 1 ml ผสมกับ Salkovski's reagent 2 ml บ่มไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที สำหรับสารมาตรฐานนั้นใช้อาหารที่ไม่ได้ละลาย IAA Solution ผสมกับ Salkovski's reagent เป็น Blank ส่วนตัว Blank อย่างนั้นใช้ตัวอาหารที่ไม่ได้ทดสอบเป็น Positive Blank และใช้ Salkovski's reagent เป็น Negative Blank โดยการทดสอบนั้นใช้ 96-well plate ปิเปตอาหารที่ทำปฏิกิริยาแล้วลงไปหลุมละ 200 µl จากนั้นอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ 530 nm ค่าที่ได้จากเครื่องจะเป็นค่าดิบต้องนำมาลบด้วยสมการด้านล่าง และนำค่าที่ได้ไปคำนวณกับตัวแปรที่ได้จากการสร้างกราฟสารละลายมาตรฐาน

O.D. ของตัวอย่าง = O.D. ที่วัดได้ - (Positive Blank+Negative Blank)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**การสร้างกราฟ IAA มาตรฐาน และการคำนวนปริมาณสารที่วัดได้**

นำค่าปริมาณเฉลี่ย IAA ที่วัดได้มาพลอตกราฟโดยให้แกน X เป็นค่า O.D. และแกน Y เป็นค่าปริมาตร IAA ที่ละลายลงในอาหาร จากนั้นสร้างสมการจากกราฟจะได้รูปแบบสมการ y = ax+b และกลับสมการเป็น x = (y-b)/a โดย x คือปริมาณ IAA ในอาหาร y คือค่า O.D. ของตัวอย่างที่วัดได้ b คือค่าความชันของเส้นกราฟ และ a คือจุดตัดแกน x

**3.7.2 การทดสอบ Gibberellin**

การเตรียมสารเคมีสารเคมีที่ใช้ในการทดสอบ Gibberlellin นั้นมี 3 สาร คือ Zinc Acetate, Potassium Ferrocyanide, และ 30% HCl โดย Zince Acetate ชั่ง Zince Acetate 5.49 กรัมผสมกับน้ำกลั่น 50 ml จะได้ 0.5M Zinc Acetate สำหรับ Potassium Ferrocyanide นั้นเตรียมโดยชั่ง 10.56 g ละลายน้ำกบั่น 50 ml จะได้ 0.5 m Potassium Ferrocyanide ส่วน 30% HCl นั้นเตรียมโดยนำ HCl 37% ปริมาตร 30 ml ผสมกับน้ำกลั่น 70 ml

**การเตรียมสารละลายมาตรรฐานเพื่อทดสอบปริมาณ Gibberellin**

การเตรียม สารละลายมาตรฐานนั้นทำขั้นตอนเดียวกันกับวิธีที่ 3.7.1.2

**การทดสอบปริมาณ Gibberellin ในอาหาร**

นำอาหารที่ละลาย Gibberelin แล้ว หรือนำ Supernatant ของเชื้อทดสอบมา 2.5 ml จากนั้นเติมสารละลาย Zinc Acetate 200 µl ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 2 นาที และเติมสารละลาย Potassium Ferrocyanide ลงไปอีก 200 µl จะได้ตะกอนสีขาวขุ่น ผสมให้เข้ากันและนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 4500 rpm นาน 25 นาที และใช้ไมโครปิเปตดูด Supernatant ออกมา 2 ml โดยห้ามให้ตะกอนฟุ้ง นำ Supernatant 2 ml ผสมกับ 30% HCl และนำไปบ่มในตู้อุณหภูมิ 18-20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 75 นาที Supernatant ที่มีปริมาณ GA สูงจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นขาวอมเขียวไปจนถึงขาวอมฟ้า จากนั้นวัดด้วยเครื่อง Spectophotometer ทันทีที่ค่าการดูดกลืนแสง 254 nm สำหรับ Blank นั้นเตรียมโดยการนำตัวอาหารที่ไม่ได้ทำปฏิกิริยากับ Zinc Acetate และ Potassium Ferrocyanide ไปผสมกับ 5% HCl และบ่มพร้อมกับตัวอย่าง ตัว Blank จะไม่เปลี่ยนสีเนื่องจากกรดมีความเข้มข้นต่ำ ทุกๆตัวอย่างนั้นจะต้องมี Blank เป็นของตัวเองเพื่อใช้ Set Zero ก่อนวัดตัวอย่าง ค่าที่ได้สามารถนำไปคำนวณกับตัวแปรจากกราฟมาตรฐานได้เลย

**การสร้างกราฟ GA มาตรฐาน และการคำนวนปริมาณสารที่วัดได้**

การสร้างกราฟมาตรฐานและการคำนวนนั้นใช้วิธีเดียวกับวิธีการที่ 3.7.1.4

**3.7.3 การทดสอบคุณสมบัติของแอคติโนมัยสีทและแบคทีเรียที่มีการย่อยสลายฟอสเฟต**

เตรียมอาหารแข็ง NBRIP-BPB ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร โดยเตรียมจากกการชั่งน้ำตาลกลูโคส 10 กรัม สาร Ca3(PO4)2 5 กรัม สาร$MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 5 กรัม สาร $MgSO_2 \cdot 7H_2O$ 0.25 กรัม สาร KCl 0.2 กรัม สาร $(NH_4)_2SO_4$ 0.1 กรัม Bromophenol blue ปริมาณ 0.025 กรัม (Mehta and Nautiyal, 2001) จากนั้นนำไปผ่านหม้อนึ่งความดันไอที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เมื่ออาหาร NBRIP-BPB เย็นลงจึงนาไปเทลงบนจานเพาะเชื้อแล้วรอให้อาหารแข็งตัว นำเชื้อแอคติโนมัยสีทที่แยกได้นามาแตะลงบนอาหารแล้ววนเป็นวงกลม (spot) นาไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน จากนั้นตรวจสอบประสิทธิภาพการย่อยสลายฟอสเฟต จากลักษณะการเกิดส่วนใสโดยรอบบริเวณที่เขี่ยเชื้อไว้บนอาหาร (Ningthoujam et al.2016)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.7.4 ความสามารถในการสร้างซิเดอร์โรฟอร์ของแอคติโนมัยสีทและแบคทีเรีย

เตรียมอาหารแข็ง ISP2 และ 20% soil extract เพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของแอคติโนมัยสีทและเตรียมอาหารแข็ง NA และ 20% soil extract เพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของแบคทีเรียโดยในแต่ละอาหารมีส่วนผสมของ casamino acid 0.45 กรัม ในอาหาร 900 มิลลิลิตรและปรับค่าความเป็นกรดด่างให้มีค่าพีเอชอยู่ในช่วงระหว่าง 6.8-7.2 จากนั้นเตรียมสารละลาย 3 ชนิดซึ่งเอาไว้ผสมในอาหารแข็ง ISP2 20% soil extract และNA เตรียมสารละลายแรกสารละลายCAS solution(Chromo Azurol S) ชั่ง CAS มา 0.0605 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตรเตรียมสารละลายที่สองHDTMA solution (Hexadecyltrimethylammonium bromide) ชั่ง HDTMA 0.0729 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 40 มิลลิลิตร เตรียมสารละลายที่สาม สารละลาย Iron (III) solution ซึ่งเตรียมโดยการชั่ง $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมกับ กรดไฮโดรคลอริก(HCl) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายทั้งสามมาผสมรวมกัน ซึ่งจะได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำส่วนของอาหาร ISP2 20% soil extract และ NA และสารละลายผสม 100 มิลลิลิตร มาฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเมื่ออาหาร ISP2 และ 20% soil extract และสารละลายผสมที่เย็นลง จึงทาการผสมโดยนำสารละลายผสมเทลงในอาหาร ISP2 20% soil extract และ NA เขย่าให้เข้ากัน ซึ่งปริมาตรรวมจะเท่ากับ 1000 มิลลิลิตรและสีอาหารจะเป็นสีน้ำเงิน จากนั้นแล้วเทอาหารลงในจานเพาะเชื้อ เมื่ออาหารแข็งตัวก็นำแอคติโนมัยสีทและแบคทีเรียที่แยกได้นามาแตะลงบนอาหารแล้ววนเป็นวงกลม (spot) จากนั้นนาไปบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน ตรวจลักษณะการสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้จากการเกิดโซนใสสีเหลืองบนอาหาร

## 3.8 การศึกษาการระบุชนิดเชื้อแอคติโนมัยสีทเบื้องต้น

### 3.8.1 สกัดดีเอ็นเอ

นำเชื้อแอคติโนมัยสีทที่ต้องการระบุชนิดไปเลี้ยงในอาหารแข็ง ISP2 บ่มไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 วัน เมื่อบ่มครบเวลา ขูดโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีทมาใส่ในหลอด Eppendorf ใส่ไลโซไซม์ ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 20 มิลลิกรัม และ TE buffer ปริมาตร 200 ไมโครลิตรผสมให้เข้ากันแล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ จากนั้นเติมสาร SDS ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 40 ไมโครลิตรแล้วผสมให้เข้ากันจากนั้นนาไปบ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ในเครื่องให้ความร้อนหลอดทดลอง หลังจากนั้นเติมสารละลายฟีนอล คลอโรฟอร์ม ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ให้ท่วมตัวอย่างในหลอดผสมให้เข้ากันแล้วนาไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,000 รอบต่อนาที เวลา 15 นาที จากนั้นจะสังเกตเห็นได้ว่าสารละลายในหลอดจะแยกชั้นกัน เก็บส่วนใสมาใส่ในหลอด Eppendorf อันใหม่ เติมเอทานอลที่เย็นจัดในปริมาตรที่เป็น 2 เท่าของส่วนใสจากนั้นเขย่าเบาๆ เพื่อให้ดีเอ็นเอที่ต้องการตกตะกอนแล้วนาไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 – 20 นาที เมื่อครบเวลาให้เทส่วนใสทิ้งจะเหลือแค่ตะกอนติดอยู่ตรงก้นหลอดให้ว่าหลอด Eppendorf ลงบนกระดาษทิชชูที่ฆ่าเชื้อแล้วรอจนตะกอนแห้งแล้วเติม SSC ความเข้มข้น 0.1 เท่าในปริมาตร 20 ไมโครลิตร เพื่อทำการละลายดีเอ็นเอ จากนั้นนาไปวัดปริมาณและความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอด้วยเครื่อง Nanodrop Spectrophotometer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.8.2 การเพิ่มปริมาณยีน 16S rRNA

การเพิ่มปริมาณยีน 16S rRNA ได้จะต้องอาศัยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสหรือPCR (Polymerase Chain Reaction) โดยนาดีเอ็นเอที่แยกได้จากกระบวณการสกัดดีเอ็นเอมาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของ16S rRNA โดยใช้ไพรเมอร์สากล (Universal primer) นาสารที่มีปริมาตรและความเข้มข้นตามตารางใส่ลงในหลอด Eppendorf และผสมให้เข้ากันจากนั้นนาไปทาปฏิกิริยาเครื่อง Thermal cycler

**ตารางที่ 3.1** ส่วนประกอบที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส

| | ความเข้มข้น | ปริมาตร |
|---|---|---|
| Template DNA | 100 - 200 ng/ µl | 2.0 µl |
| dNTP | 2.0 mM | 8.0 µl |
| *Taq* DNA Polymerase | 5 Unit/ µl | 0.5 µl |
| 10X *Taq* buffer | 10X | 0.5 µl |
| MgCl2 | 25.0 mM | 8.0 µl |
| Milli Q water | - | 61.5 µl |
| Primer : 1541R | 10.0 µM | 5.0 µl |
| Primer : 9F | 10.0 µM | 5.0 µl |
| รวม | | 100 µl |

ที่มา : นันทวัน , 2555

**ตารางที่ 3.2** วงจรพีซีอาร์ (PCR cycle)

| อุณหภูมิ | เวลา | จำนวนรอบ (cycle) | ขั้นตอน |
|---|---|---|---|
| 94 องศาเซลเซียส | 3 นาที | 1 | Denaturation step |
| 94 องศาเซลเซียส | 1 นาที | 25 | |
| 50 องศาเซลเซียส | 1 นาที | | Annealing step |
| 72 องศาเซลเซียส | 2 นาที | | Extension step |
| 72 องศาเซลเซียส | 3 นาที | 1 | |
| | รวมเวลา 2 ชั่วโมง 30 นาที | | |

ที่มา : นันทวัน , 2555

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**3.8.3 การทำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ (PCR Product) ให้มีความบริสุทธิ์**

เมื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน16S rRNA แล้ว นำมาผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์โดยใช้ Gel/PCR DNA Fragments Extraction Kit โดยละลายผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ได้ในปริมาตร 100 ไมโครลิตรลงในหลอด Eppendorf ที่มี FADF buffer อยู่ในปริมาตร 500 ไมโครลิตร นำสารละลายที่ได้ใส่ลงในคอลัมน์ FADF column แล้วนาไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 30 วินาที จากนั้นเทส่วนของเหลวที่ตกจากคอลัมน์ทิ้งและเติม wash buffer ปริมาตร 750 ไมโครลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เวลา 30 วินาที เทส่วนของเหลวที่ตกจากคอลัมน์ทิ้ง และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 นาที หลังจากนั้นย้ายคอลัมน์ใส่ลงในหลอด Eppendorf อันใหม่แล้วเติม Elution buffer ในปริมาตร 30 ไมโครลิตร ใส่ลงตรงกลางคอลัมน์จากนั้นตั้งทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้อง 2 นาที จึงนาไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที 5 นาที จึงจะสามารถนำสารละลายดีเอ็นที่ได้ไปใช้ในการวิเคราะห์ลาดับเบสได้

**3.8.4 การวิเคราะห์ล้าดับนิวคีลโอไทด์ และสายวิวัฒนาการ (Phylogenetic Analysis)**

ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จะถูกจัดเรียง (Alignment) โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้กับลำดับนิวคลีโอไทด์ที่คัดเลือก (Selected sequences) จากฐานข้อมูล ezbiocloud โดยใช้โปรแกรม Bioedit และสร้างPhylogenetic trees โดยใช้โปรแกรม MEGA V.7

## 3.9 การเก็บรักษาแอคติโนมัยสีทและแบคทีเรีย

การเก็บรักษาแอคติโนมัยสีทและแบคทีเรียที่มีความบริสุทธิ์ (Pure culture) ทำโดยการถ่ายเชื้อลงในหลอดอาหารเอียง (slant) ซึ่งอาหารที่เอียงจะใช้อาหาร ISP2 จากนั้นนาไปบ่มที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 ถึง 14 วัน เพื่อเก็บรักษาไว้ใช้ในการทดสอบหรือเก็บไว้ในงาน
การเก็บรักษาเชื้อเป็นระยะเวลานานเพื่อเก็บไว้ใช้งานได้หลายปี ทำโดยนำเชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีความบริสุทธิ์มาขีดเพาะเลี้ยงลงบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร ISP2 จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 ถึง 14 วัน หรือจนกระทั่งเชื้อสร้างสปอร์เมื่อบ่มครบเวลาจึงตัดชิ้นวุ้นที่มีโคโลนีของแอคติโนมัยสีทและแบคทีเรียให้เป็นสี่เหลี่ยมและเก็บลงในหลอดขนาดเล็กที่บรรจุสารละลายกลีเซอรอลที่มีความเข้มข้นร้อยละ 20 จากนั้นให้เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

## 3.10 สถานที่ทำการทดลอง

อาคารวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 4
# ผลการวิจัยและอภิปรายผล

## 4.1 ลักษณะตัวอย่างและผลการคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสีทและแบคทีเรีย

ทำการหมักหน่อกล้วยผสมกับกากน้ำตาลเป็นเวลา 14 วัน จากหน่อกล้วยตัวอย่างที่ 1 บริเวณพื้นที่ ของคุณอุทัย ไทยวงษ์ ตำบลท่าระหัด อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี ตัวอย่างที่ 2 บริเวณพื้นที่ ของคุณนวลจันทร์ ม่วงอิ่ม ตำบลมะขามล้ม อำเภอบางปลาม้า จังหวัดสุพรรณบุรี ตัวอย่างที่ 3 บริเวณพื้นที่ของคุณวิมล โพธิ์อ้น ตำบลสนามชัย อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี พบว่า น้ำหมักหน่อกล้วยตัวอย่างที่ 1 ลักษณะน้ำหมักมีสีน้ำตาลเข้มอมดำมีกลิ่นเปรี้ยว วัดค่าความเป็นกรด-ด่างได้เท่ากับ 3.93 วัดปริมาณแอลกอฮอล์ได้เท่ากับ 3.7% น้ำหมักหน่อกล้วยตัวอย่างที่ 2 ลักษณะน้ำหมักมีสีน้ำตาลอ่อน มีกลิ่นเปรี้ยว วัดค่าความเป็นกรด-ด่างได้เท่ากับ 4.13 วัดปริมาณแอลกอฮอล์ได้เท่ากับ 5.4% น้ำหมักหน่อกล้วยตัวอย่างที่ 3 ลักษณะน้ำหมักมีสีดำ มีกลิ่นเปรี้ยว วัดค่าความเป็นกรด-ด่างได้เท่ากับ 4.21 วัดปริมาณแอลกอฮอล์ได้เท่ากับ 4.5%

(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.1** (ก) แสดงลักษณะน้ำหมักหน่อกล้วยตัวอย่างที่ 1 ทำการหมักเป็นระยะเวลา 14 วัน

**รูปที่ 4.2** (ข) แสดงลักษณะน้ำหมักหน่อกล้วยตัวอย่างที่ 2 ทำการหมักเป็นระยะเวลา 14 วัน

**รูปที่ 4.3** (ค) แสดงลักษณะน้ำหมักหน่อกล้วยตัวอย่างที่ 3 ทำการหมักเป็นระยะเวลา 14 วัน

ทำการแยกและคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสีทโดยวิธีการทำน้ำหมักหน่อกล้วยและนำน้ำหมักหน่อกล้วยมาเกลี่ย (Spread plate) ซึ่งสามารถคัดแยกและคัดเลือกแอคติโนมัยสีทได้จำนวน 26 ไอโซเลต ได้แก่ แอคติโนมัยสีทจากน้ำหมักหน่อกล้วยตัวอย่างที่ 1 จำนวน 7 ไอโซเลต แอคติโนมัยสีทจากน้ำหมักหน่อกล้วยตัวอย่างที่ 2 จำนวน 14 ไอโซเลต แอคติโนมัยสีทจากน้ำหมักหน่อกล้วยตัวอย่างที่ 3 จำนวน 5 ไอโซเลต ดังแสดงในตารางที่ 4.1 และสามารถคัดแยกและคัดเลือกแบคทีเรียได้จำนวน 21 ไอโซเลต ได้แก่ แบคทีเรียจากน้ำหมักหน่อกล้วยตัวอย่างที่ 1 จำนวน 7 ไอโซเลต แบคทีเรียจากน้ำหมักหน่อกล้วยตัวอย่างที่ 2 จำนวน 14 ไอโซเลต แบคทีเรียจากน้ำหมักหน่อกล้วยตัวอย่างที่ 3 จำนวน 5 ไอโซเลต ดังแสดงในตารางที่ 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.1** ไอโซเลตแอคติโนมัยสีทที่คัดแยกได้และแหล่งที่เก็บตัวอย่าง

| ตัวอย่าง | สถานที่ | pH | ปริมาณแอลกอฮอล์ | ไอโซเลต |
|---|---|---|---|---|
| ตัวอย่างหน่อกล้วย 1 | บริเวณพื้นที่ของคุณอุทัย ไทยวงษ์ ตำบลท่าระหัด อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี | 3.93 | 3.7% | SP1-2 SP1-6 SP1-11 SP1-12 SP1-18 SP1-22 SP1-26 |
| ตัวอย่างหน่อกล้วย 2 | บริเวณพื้นที่ของคุณนวลจันทร์ ม่วงอิ่ม ตำบลมะข้ามล้ม อำเภอบางปลาม้า จังหวัดสุพรรณบุรี | 4.13 | 5.4% | SP2-1 SP2-3 SP2-7 SP2-8 SP2-9 SP2-10 SP2-13 SP2-14 SP2-16 SP2-17 SP2-20 SP2-21 SP2-24 SP2-25 |
| ตัวอย่างหน่อกล้วย 3 | บริเวณพื้นที่ของคุณวิมล โพธิ์อ้น ตำบลสนามชัย อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี | 4.21 | 4.5% | SP3-4 SP3-5 SP3-15 SP3-19 SP3-23 |

**ตารางที่ 4.2** ไอโซเลตแบคทีเรียที่คัดแยกได้และแหล่งที่เก็บตัวอย่าง

| ตัวอย่าง | สถานที่ | ไอโซเลต |
|---|---|---|
| ตัวอย่างหน่อกล้วย 1 | บริเวณพื้นที่ของคุณอุทัย ไทยวงษ์ ตำบลท่าระหัด อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี | SB1-1 SB1-2 SB1-3 SB1-4 SB1-5 SB1-6 SB1-7 |
| ตัวอย่างหน่อกล้วย 2 | บริเวณพื้นที่ของคุณนวลจันทร์ ม่วงอิ่ม ตำบลมะข้ามล้ม อำเภอบางปลาม้า จังหวัดสุพรรณบุรี | SB2-8 SB2-9 SB2-10 SB2-11 SB2-12 SB2-13 SB2-14 |
| ตัวอย่างหน่อกล้วย 3 | บริเวณพื้นที่ของคุณวิมล โพธิ์อ้น ตำบลสนามชัย อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี | SB1-15 SB1-16 SB1-17 SB1-18 SB1-19 SB1-20 SB1-21 |

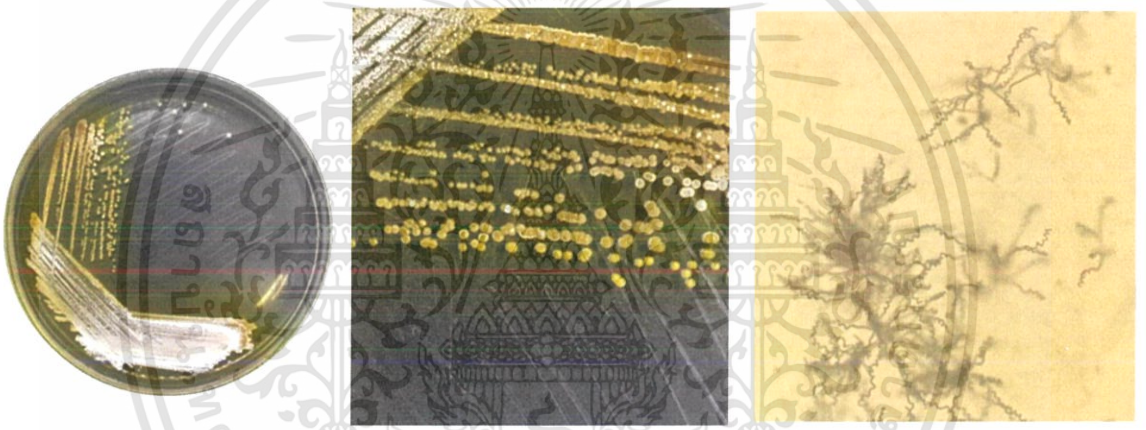
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 4.2 ผลการคัดเลือกและจัดกลุ่มเชื้อแอคตินัยสีทไอโซเลตที่สนใจ

### 4.2.1 การจัดกลุ่มเชื้อแอคติโนมัยสีทโดยลักษณะทางฟีโนไทป์(Phenotype)

ทำการเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยสีท 26 ไอโซเลต บนอาหาร yeast extract – malt extract ager (ISP2) เพื่อทำการตรวจสอบการเจริญของเชื้อและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ สังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อหลังจากเลี้ยงบนอาหารแข็งเป็นเวลา 14 วัน เพื่อศึกษาการเจริญ ลักษณะโคโลนี สีของเส้นใยอาหาร สีของเส้นใยอากาศ สีของรงควัตถุของเชื้อ และลักษณะสปอร์

เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP2-1 เจริญได้ดีมากในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP2 โคโลนีมีลักษณะแข็ง นูน เป็นฝุ่น สร้างเส้นใยอาหารสีเหลืองอมเขียว (Vivid Greenish Yellow) เส้นใยอากาศสีขาวอมเหลือง (Yellowish White) สร้างรงควัตถุสีเหลืองสว่างอมเขียว (Brilliant Greenish Yellow) สร้างสายสปอร์มีลักษณะเป็นเกลียวยาวแบบวงเปิด ไม่ติดกันแน่น

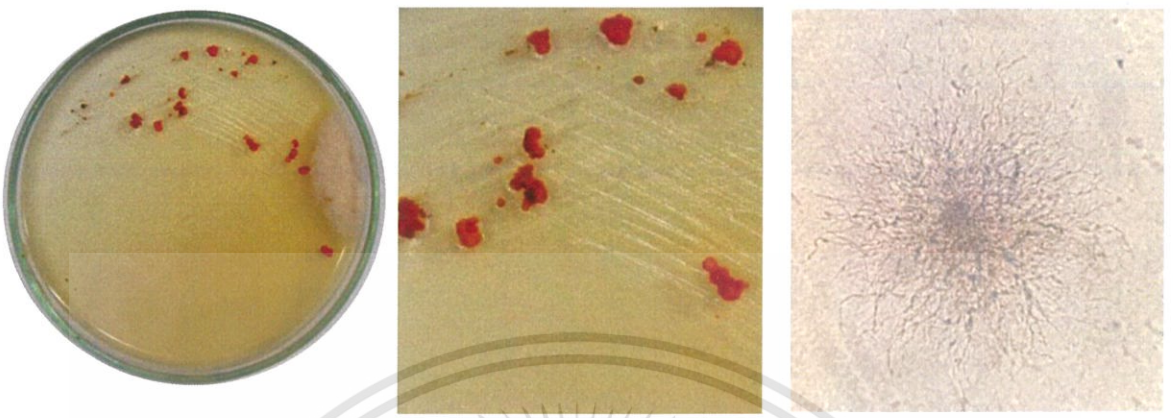


(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.4** (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลต SP2-1 บนอาหารISP2ระยะเวลา 14 วัน (ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP1-2 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP2 โคโลนีมีลักษณะเป็นก้อนกลม สร้างเส้นใยอาหารสีส้ม (Vivid Orange) เส้นใยอากาศสีน้ำตาลเข้ม (Dark Grayish Reddish Brown) ไม่สร้างรงควัตถุ สร้างสายสปอร์มีลักษณะเป็นเส้นตรงแตกแขนง

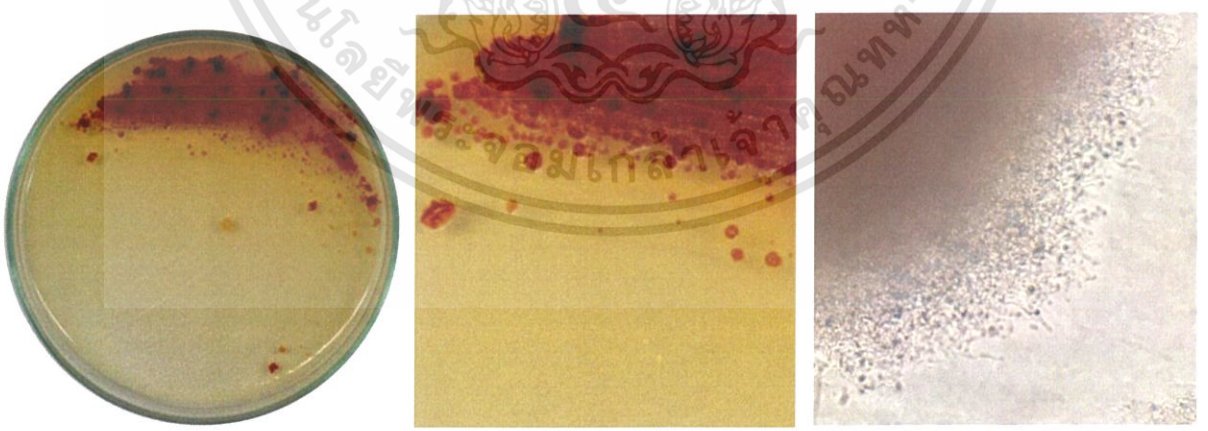


(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.5** (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP1-2 บนอาหารISP2 ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP2-3 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP2 โคโลนีมีลักษณะเป็นก้อนกลม สร้างเส้นใยอาหารสีแดงเข้มอมน้ำตาล (Strong Reddish Brown) ไม่สร้างเส้นใยอากาศ สร้างรงควัตถุสีแดงเข้มอมน้ำตาล (Strong Reddish Brown) สร้างสายสปอร์มีลักษณะขดเป็นเกลียวติดกันแน่น



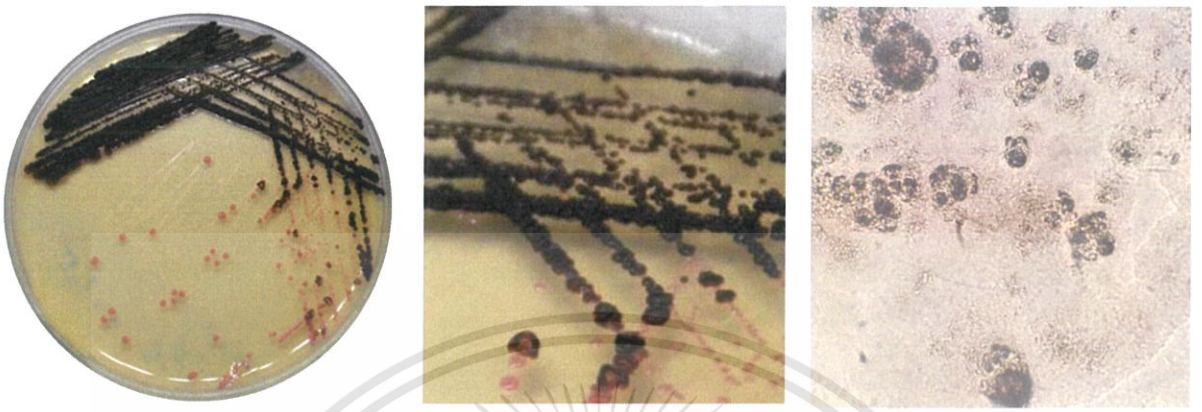
(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.6** (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลต SP2-3 บนอาหารISP2ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP3-4 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP2 โคโลนีมีลักษณะเป็นวงกลม ฟูยัก สร้างเส้นใยอาหารสีชมพูสว่าง (Light Pink) เส้นใยอากาศสีดำ (Black) ไม่สร้างรงควัตถุ สร้างสายสปอร์มีลักษณะขดเป็นเกลียว ติดกันแน่น

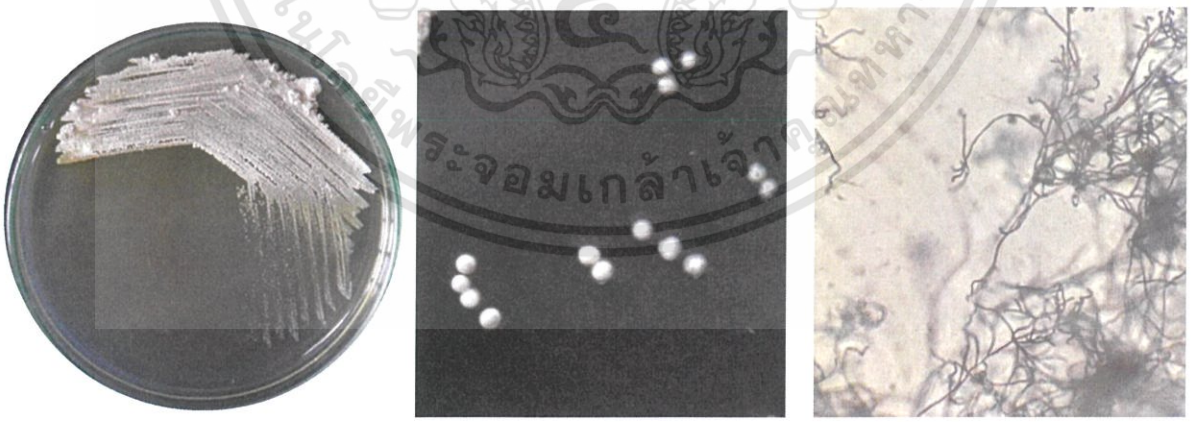


(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.7** (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP3-4 บนอาหารISP2 ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP3-5 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP2 โคโลนีมีลักษณะเป็นฝุ่นสร้างเส้นใยอาหารสีเทาอมฟ้า (Very Pale Purplish Blue) เส้นใยอากาศสีขาว (White) ไม่สร้างรงควัตถุ สร้างสายสปอร์มีลักษณะเป็นขดเป็นเกลียวคล้ายก้นหอย ไม่ติดกันแน่น



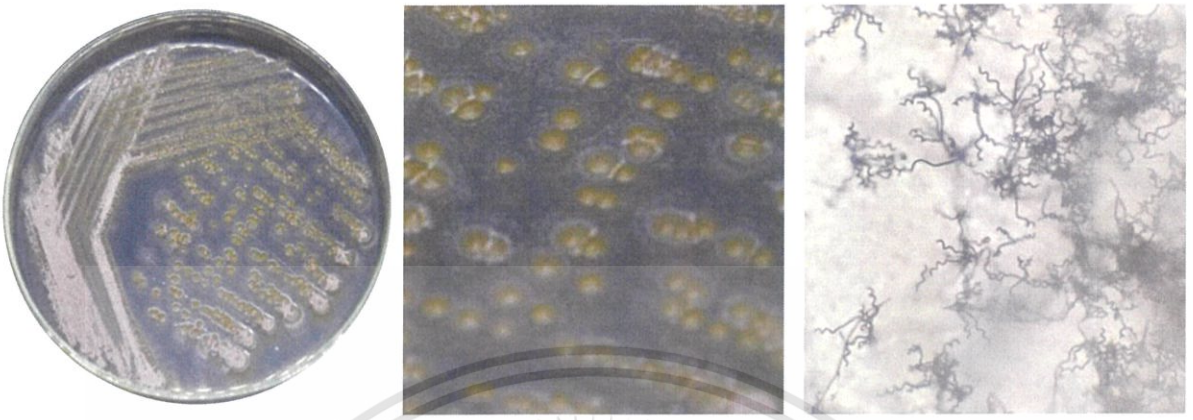
(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.8** (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP3-5 บนอาหารISP2 ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP1-6 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP2 โคโลนีมีลักษณะ กลม นูน สร้างเส้นใยอาหารสีเหลืองเข้มอมเขียว (Moderate Greenish Yellow) เส้นใยอากาศสีเทาสว่าง (Light Gray) ไม่สร้างรงค์วัตถุ สร้างสปอร์มีลักษณะเป็นเกลียวยาวแบบวงเปิด ไม่ติดกันแน่น

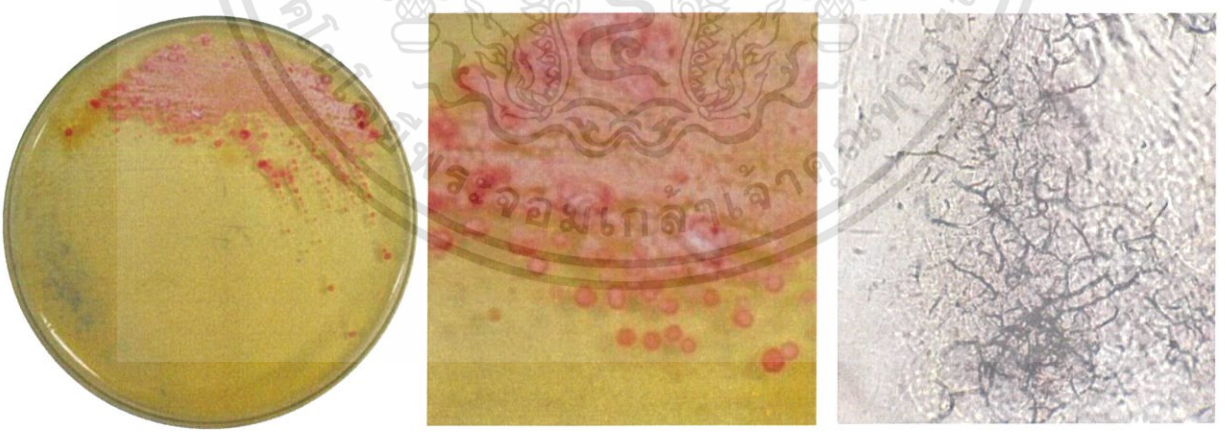


(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.9** (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP1-6 บนอาหารISP2ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP2-7 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP2 โคโลนีมีลักษณะเป็น กลม นูนสร้างเส้นใยอาหารสีชมพูเข้ม (Strong Pink) เส้นใยอากาศสีขาว (White) ไม่สร้างรงควัตถุ สร้างสายสปอร์มีลักษณะเป็นเส้นตรงแตกแขนง



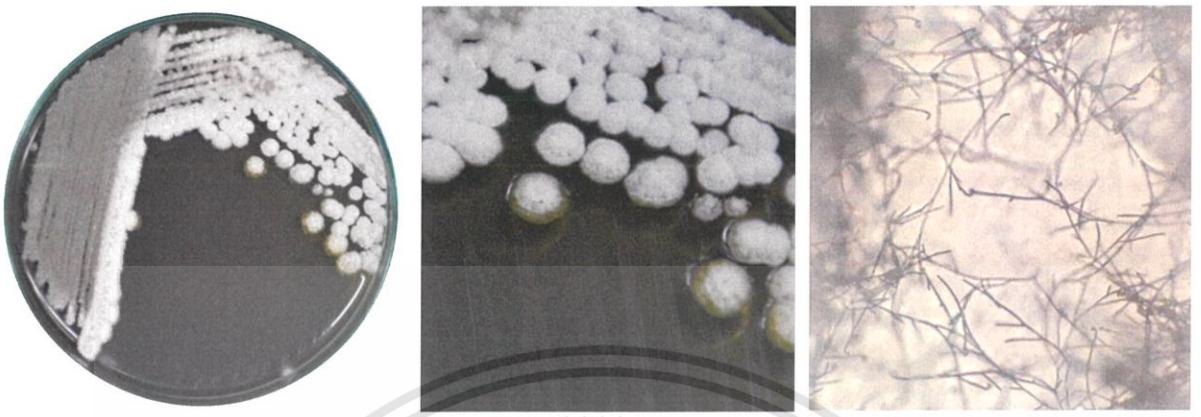
(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.10** (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP2-7 บนอาหารISP2ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP2-8 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP2 โคโลนีมีลักษณะเป็นก้อนกลม นูน ฝุ่น สร้างเส้นใยอาหารสีเหลืองอมเขียว (Vivid Greenish Yellow) เส้นใยอากาศสีเทาอมเขียว (Greenish Gray) “ไม่สร้างรงควัตถุสร้างสายสปอร์เป็นเส้นตรงแตกแขนง



(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.11** (ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP2-8 บนอาหารISP2ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP2-9 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP2 โคโลนีมีลักษณะเป็นก้อนนูน ฝุ่น สร้างเส้นใยอาหารสีน้ำตาลเข้มอมเหลือง (Deep Yellowish Brown) เส้นใยอากาศสีขาว ( White) ไม่สร้างรงควัตถุ สร้างสายสปอร์เป็นเกลียววงเปิด ไม่ติดกันแน่น

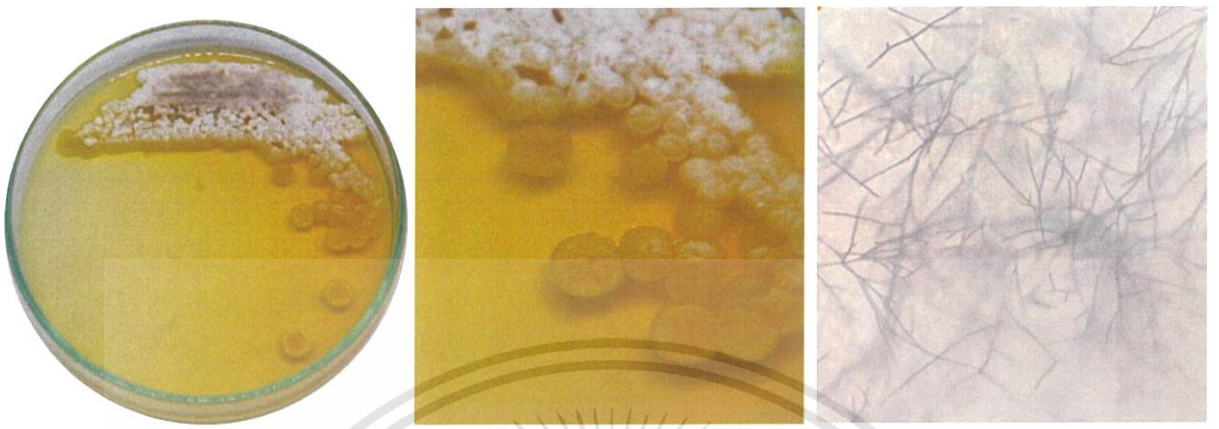
(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.12**(ก) และ (ข) แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP2-9 บนอาหารISP2 ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP2-10 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP2 โคโลนีมีลักษณะเป็นกลม นูน สร้างเส้นใยอาหารสีเหลืองสด (Brilliant Yellow) เส้นใยอากาศสีเทาเข้ม (Olive Gray) ไม่สร้างรงควัตถุ สร้างสปอร์เป็นเส้นตรงแตกแขนง

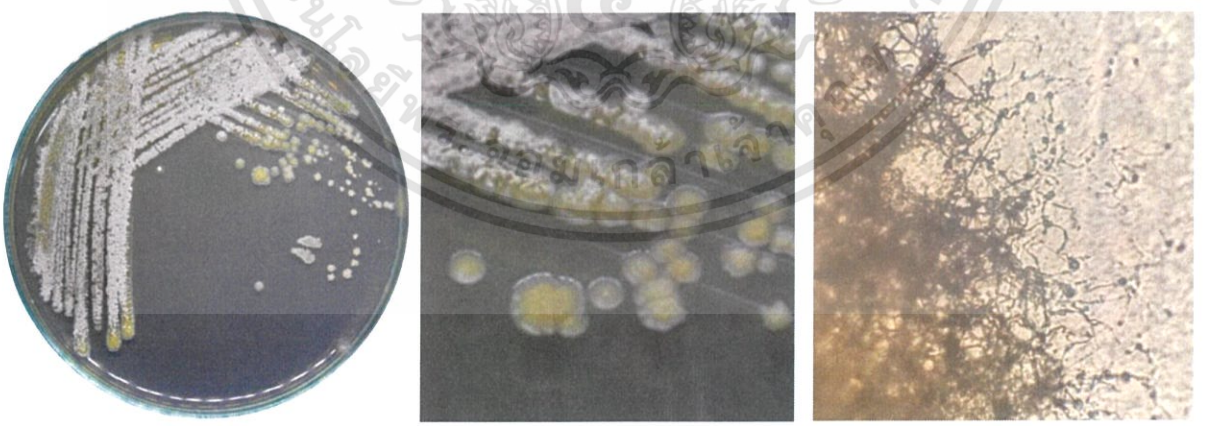


(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.13** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP2-10 บนอาหารISP2ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP1-11 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP2 โคโลนีมีลักษณะเป็นกลม นูน สร้างเส้นใยอาหารสีเหลืองสว่างอมเขียว (Light Greenish Yellow) เส้นใยอากาศสีเทาสว่างอมน้ำตาล (Light Bluish Gray) ไม่สร้างรงค์วัตถุ สร้างสปอร์อยู่ภายในถุงหุ้มเป็นรูปทรงกกลมสายเป็นเกลียววงปิด ติดกันแน่น



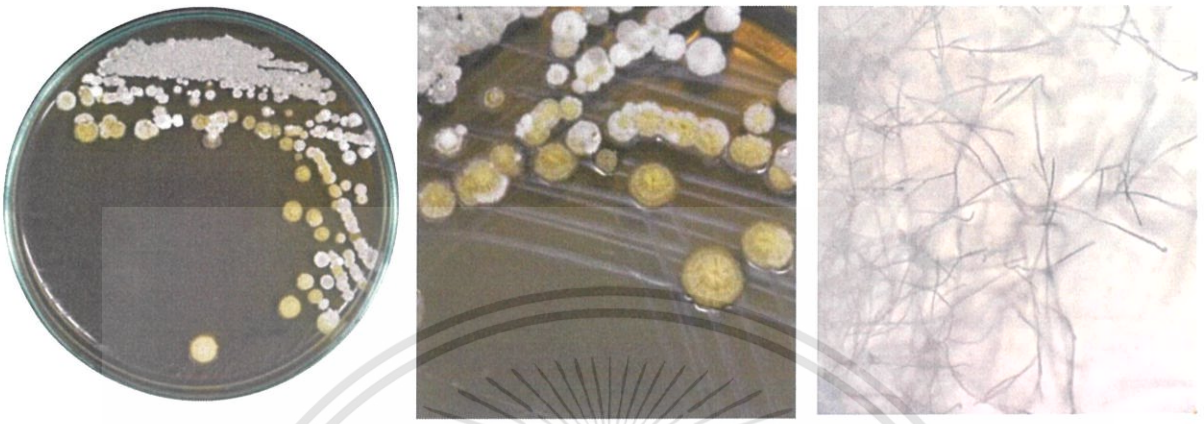
(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.14** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP1-11 บนอาหาร ISP2ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP1-12 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP2 โคโลนีมีลักษณะเป็นกลม นูน สร้างเส้นใยอาหารสีเหลืองสดอมเขียว (Brilliant Greenish Yellow) เส้นใยอากาศสีเทาสว่าง (Light Gray) สร้างรงค์วัตถุสีเหลืองสว่างอมเขียว (Light Greenish Yellow) สร้างสายสปอร์มีลักษณะเส้นตรงแตกแขนง



(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.15** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP1-12 บนอาหาร ISP2ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP2-13 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP2 โคโลนีมีลักษณะเป็นกลมสร้างเส้นใยอาหารสีส้มสว่าง (Vivid Orange) เส้นใยอากาศสีแดงสว่างอมส้ม (Vivid Reddish Orange) ไม่สร้างรงควัตถุ สร้างสายสปอร์มีลักษณะเป็นเส้นตรงแตกแขนง

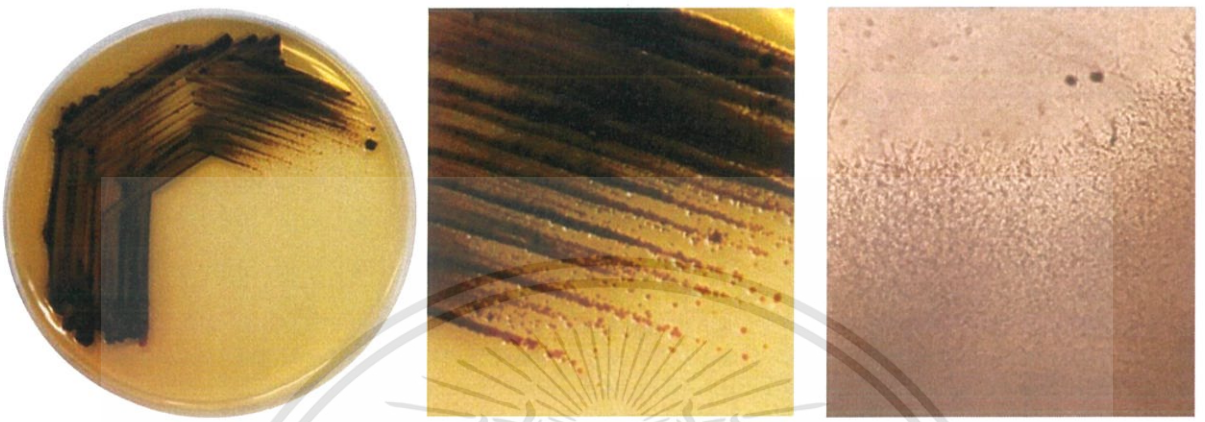
(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.16** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP2-13 บนอาหาร ISP2ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

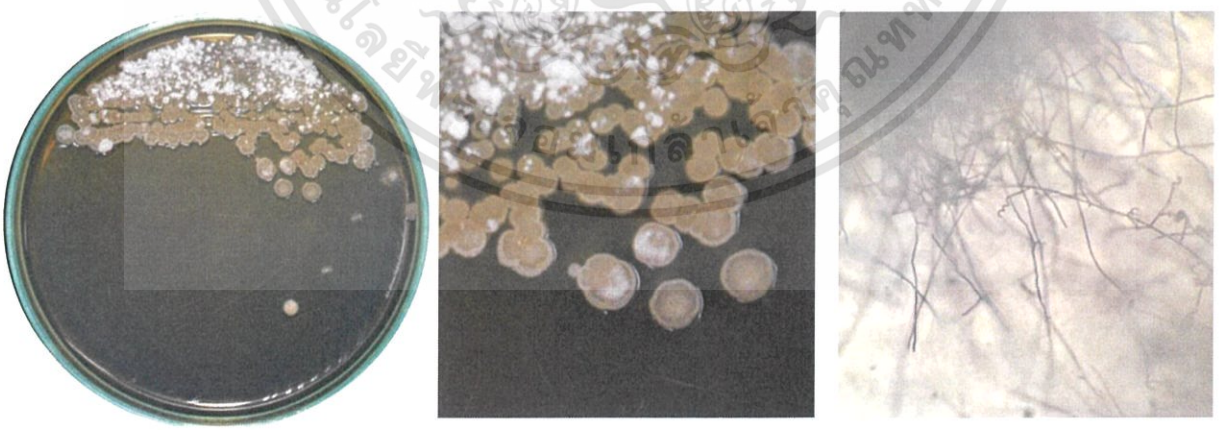
เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP2-14 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP2 โคโลนีมีลักษณะเป็นกลม สร้างเส้นใยอาหารสีส้มเข้ม (Strong Orange) เส้นใยอากาศสีน้ำตาลเข้ม (Dark Brown) สร้างรงค์วัตถุสีน้ำตาลอมดำ (Brownish Black) สร้างสายสปอร์มีลักษณะเป็นเส้นตรงแตกแขนง



(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.17** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP2-14 บนอาหาร ISP2ระยะเวลา 14 วัน (ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP3-15 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP2 โคโลนีมีลักษณะเป็นกลมสร้างเส้นใยอาหารสีน้ำตาลอมเหลือง (Grayish Yellow) เส้นใยอากาศสีขาว (White) ไม่สร้างรงค์วัตถุ สร้างสายสปอร์เป็นเกลียวยาววงเปิด ติดกันแน่น

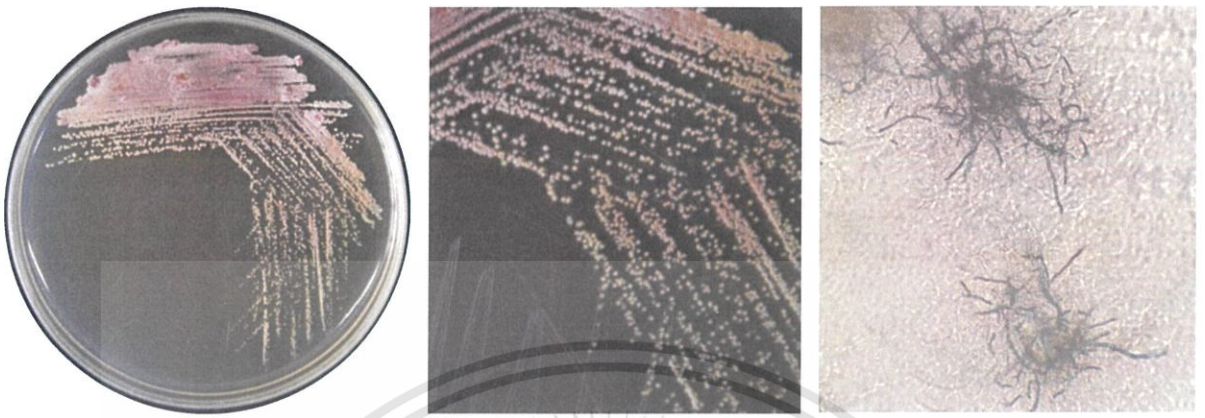


(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.18** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP3-15 บนอาหาร ISP2ระยะเวลา 14 วัน (ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP2-16 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP2 โคโลนีมีลักษณะเป็นกลม แข็ง สร้างเส้นใยอาหารสีชมพูอ่อนอมขาว (Pinkish White) เส้นใยอากาศสีแดงสว่างอมเทาเข้ม (Light Grayish Red) ไม่สร้างรงค์วัตถุ สร้างสายสปอร์เป็นลักษณะตรง แตกออกจากช่อ ติดอัดแน่น



(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.19** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP2-16 บนอาหาร ISP2ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP2-17 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP2 โคโลนีมีลักษณะเป็นกลม สร้างเส้นใยอาหารสีเหลืองเข้มอมเขียว (Strong Greenish Yellow) เส้นใยอากาศสีขาว (White) ไม่สร้างรงค์วัตถุ สร้างสายสปอร์เป็นขดเป็นเกลียวคล้ายก้นหอย ติดกันแน่น

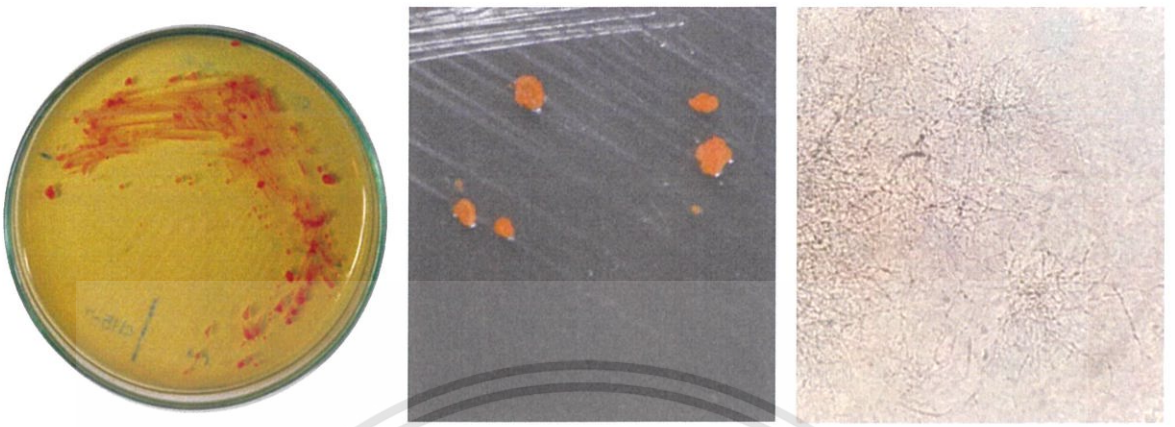
(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.20** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP2-17 บนอาหาร ISP2ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP1-18 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP2 โคโลนีมีลักษณะเป็นกลมแตกแฉก สร้างเส้นใยอาหารสีส้มสว่าง (Vivid Orange) ไม่เส้นใยอากาศ ไม่สร้างรงค์วัตถุ สร้างสายสปอร์เป็นเส้นตรงแตกแขนง



(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.21** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP1-18 บนอาหาร ISP2ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP3-19 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP2 โคโลนีมีลักษณะเป็นกลม นูน กลมสร้างเส้นใยอาหารสีส้มสว่าง (Vivid Orange) ไม่เส้นใยอากาศ ไม่สร้างรงควัตถุ สร้างสายสปอร์เป็นเส้นตรงแตกแขนง

(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.22** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP3-19 บนอาหาร ISP2ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

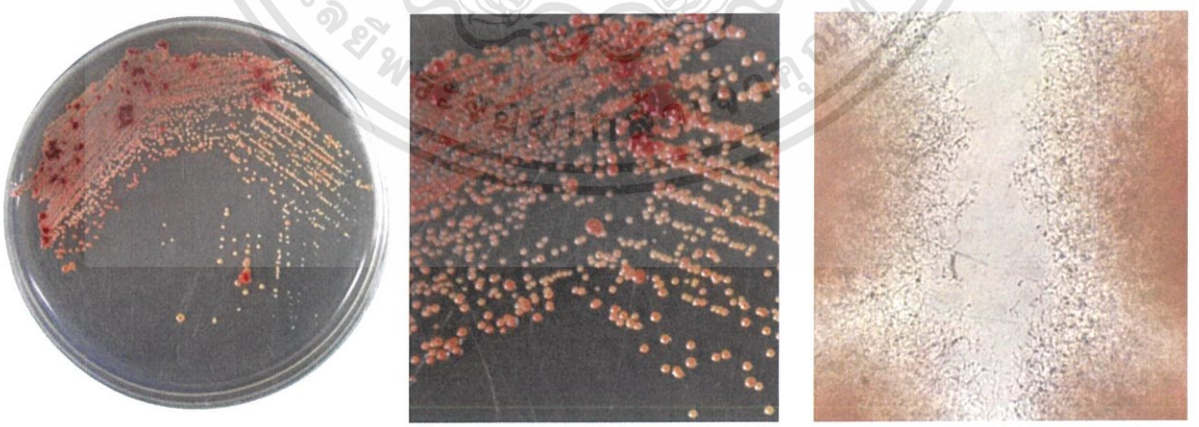
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP2-20 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP2 โคโลนีมีลักษณะเป็นกลมสร้างเส้นใยอาหารสีน้ำตาลเข้มอมแดง (Dark Grayish Red) เส้นใยอากาศสีชมพูอ่อนอมเหลือง (Pale Yellowish Pink) ไม่สร้างรงควัตถุ สร้างสายสปอร์เป็นขดเป็นเกลียวยาวแบบวงปิด ไม่ติดกันแน่น

(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.23** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP2-20 บนอาหาร ISP2ระยะเวลา 14 วัน (ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP2-21 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP2 โคโลนีมีลักษณะเป็นกลมแตกแฉก สร้างเส้นใยอาหารสีแดงเข้มอมน้ำตาล (Strong Reddish Brown) ไม่สร้างเส้นใยอากาศ สร้างรงควัตถุสีแดงเข้มอมน้ำตาล (Strong Reddish Brown) สร้างสายสปอร์เป็นขดเป็นเกลียวยาวแบบวงเปิด ติดกันแน่น



(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.24** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP2-21 บนอาหาร ISP2ระยะเวลา 14 วัน (ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP1-22 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP2 โคโลนีมีลักษณะเป็นกลมสร้างเส้นใยอาหารสีส้ม (Vivid Greenish Yellow) เส้นใยอากาศสีน้ำตาล (Yellowish White) สร้างรงค์วัตถุสีเหลืองสว่างอมเขียว (Brilliant Greenish Yellow) สร้างสายสปอร์เป็นขดเป็นเกลียวติดกันแน่น

(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.25** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP1-22 บนอาหาร ISP2ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP3-23 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP2 โคโลนีมีลักษณะเป็นกลมสร้างเส้นใยอาหารสีเขียวเข้มอมเทา (Dark Grayish Olive Green) เส้นใยอากาศสีเขียวสว่างอมเหลือง (Light Yellow Green) สร้างรงค์วัตถุสีเขียวเข้มอมเหลือง (Strong Greenish Yellow) สร้างสายสปอร์มีลักษณะขดเป็นเกลียววงปิด ติดกันแน่น

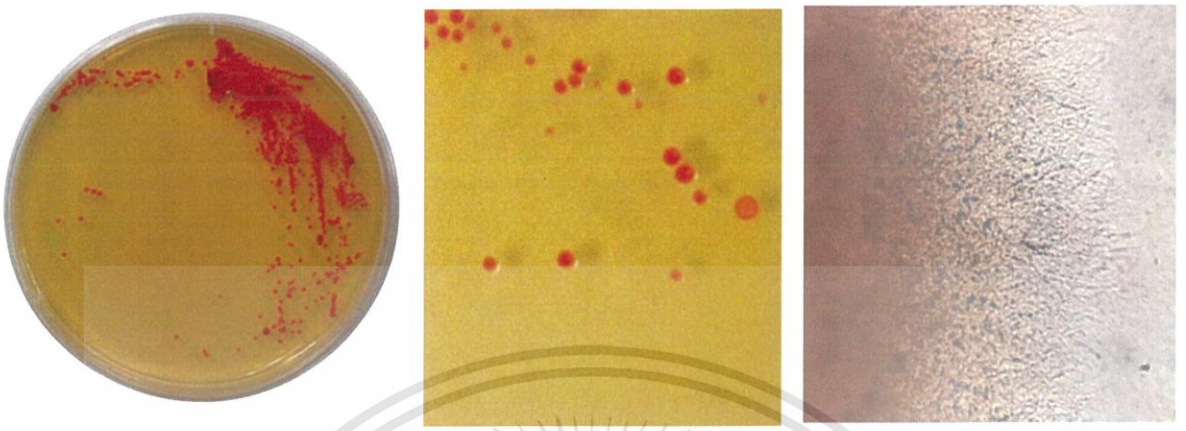
(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.26** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP3-23 บนอาหาร ISP2ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP2-24 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP2 โคโลนีมีลักษณะเป็นกลมสร้างเส้นใยอาหารสีส้มเข้มอมชมพู (Deep Yellowish Pink) ไม่สร้างเส้นใยอากาศ ไม่สร้างรงควัตถุ สร้างสายสปอร์เป็นสายตรงแตกแขนง



(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.27** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP2-24 บนอาหาร ISP2ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

เชื้อแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP2-25 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP2 โคโลนีมีลักษณะเป็นกลมสร้างเส้นใยอาหารสีส้มเข้มอมแดง (Vivid Reddish Orange) เส้นใยอากาศสีน้ำตาลเข้มอมแดง (Dark Grayish Reddish Brown) ไม่สร้างรงควัตถุ สร้างสายสปอร์เป็นสายตรงแตกแขนง

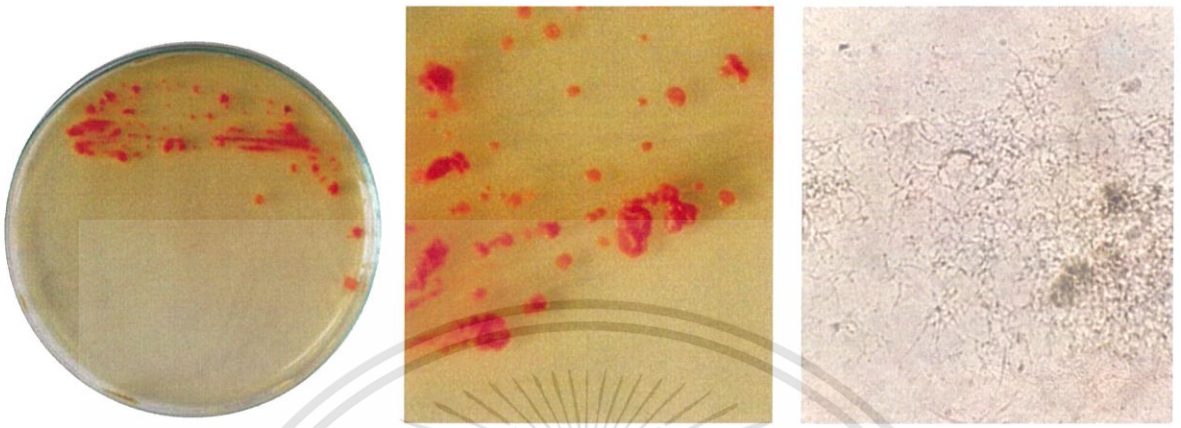
(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.28** (ก)และ(ข) แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP2-25 บนอาหารISP2ระยะเวลา 14 วัน

(ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP1-26 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ ISP2 โคโลนีมีลักษณะเป็นกลม สร้างเส้นใยอาหารสีส้มสว่าง (Vivid Orange) ไม่สร้างเส้นใยอากาศ ไม่สร้างรงควัตถุ สร้างสายสปอร์เป็นเส้นตรงแตกแขนง



(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.29** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP1-26 บนอาหาร ISP2ระยะเวลา 14 วัน (ค) แสดงลักษณะของเส้นใยและสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า

**ตารางที่ 4.3** ลักษณะการเจริญและสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยสีทบนอาหาร Yeast extract – Malt extract agar ระยะเวลา 14 วัน

| เชื้อ | การเจริญ | สีของเส้นใยอาหาร | สีของเส้นใยอากาศ | สีรงค์วัตถุ |
|---|---|---|---|---|
| SP.1 | ดีมาก | เหลืองอมเขียว Vivid Greenish Yellow 9.1y 8.2 12.0 | ขาวอมเหลือง Yellowish White 4.5y 9.2 1.2 | เหลืองสดอมเขียว Brilliant Greenish Yellow 9.8y 8.8 9.5 |
| SP.2 | ดี | ส้มสว่าง Vivid Orange 4.1yr 6.5 15.0 | น้ำตาลเข้ม Dark Grayish Reddish Brown 9.0r 2.0 2.0 | - |
| SP.3 | ดี | แดงเข้มอมน้ำตาล Strong Reddish Brown 0.3yr 3.1 9.9 | - | แดงเข้มอมน้ำตาล Strong Reddish Brown 0.3yr 3.1 9.9 |
| SP.4 | ดีมาก | ชมพูสว่าง Light Pink 2.6r 8.5 4.0 | สีดำ Black 2.5pb 0.8 0.0 | - |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.3 (ต่อ)** ลักษณะการเจริญและสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยสีทบนอาหาร Yeast extract – Malt extract agar ระยะเวลา 14 วัน

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| SP.5 | ดีมาก | เทาอมฟ้า<br>Very Pale Purplish Blue 7.0pb 8.0 3.7 | ขาว<br>White<br>2.5pb 9.5 0.2 | - |
| SP.6 | ดีมาก | เหลืองเข้มอมเขียว<br>Moderate Greenish Yellow 9.5y 7.1 6.5 | เทาสว่าง<br>Light Gray<br>6.7y 7.4 0.2 | - |
| SP.7 | ดีมาก | ชมพูอ่อนอมขาว<br>Pinkish White<br>5.8r 9.0 0.8 | ขาว<br>White<br>2.5pb 9.5 0.2 | - |
| SP.8 | ดีมาก | เหลืองอมเขียว<br>Vivid Greenish Yellow<br>9.1y 8.2 12.0 | เทาอมเขียว<br>Greenish Gray<br>7.5g 5.5 1.0 | - |
| SP.9 | ดีมาก | สีน้ำตาลเข้มอมเหลือง<br>Deep Yellowish Brown 8.8yr 3.1 5.0 | ขาว<br>White<br>2.5pb 9.5 0.2 | - |
| SP.10 | ดีมาก | เหลืองสด<br>Brilliant Yellow<br>4.4y 8.7 8.9 | เทาเข้ม<br>Olive Gray<br>8.1y 3.5 0.9 | - |
| SP.11 | ดีมาก | เหลืองสว่างอมเขียว<br>Light Greenish Yellow<br>9.8y 8.9 7.0 | เทาสว่างอมน้ำตาล<br>Light Bluish Gray<br>8.2b 7.5 1.0 | - |
| SP.12 | ดีมาก | เหลืองสดอมเขียว<br>Brilliant Greenish Yellow9.8y 8.8 9.5 | เทาสว่าง Light Gray<br>6.7y 7.4 0.2 | เหลืองสว่างอมเขียว<br>Light Greenish Yellow<br>9.8y 8.9 7.0 |
| SP.13 | ดีมาก | ส้มสว่าง<br>Vivid Orange<br>4.1yr 6.5 15.0 | - | - |
| SP.14 | ดี | ส้มเข้ม<br>Strong Orange<br>4.3yr 6.5 12.2 | น้ำตาลเข้ม<br>Dark Brown<br>5.3yr 1.6 3.4 | สีดำ<br>Black<br>2.5pb 0.8 0.0 |
| SP.15 | ดีมาก | น้ำตาลอมเหลือง<br>Grayish Yellow<br>4.4y 7.2 3.8 | ขาว<br>White<br>2.5pb 9.5 0.2 | - |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.3 (ต่อ)** ลักษณะการเจริญและสัณฐานวิทยาของเชื้อแอคติโนมัยสีทบนอาหาร Yeast extract – Malt extract agar ระยะเวลา 14 วัน

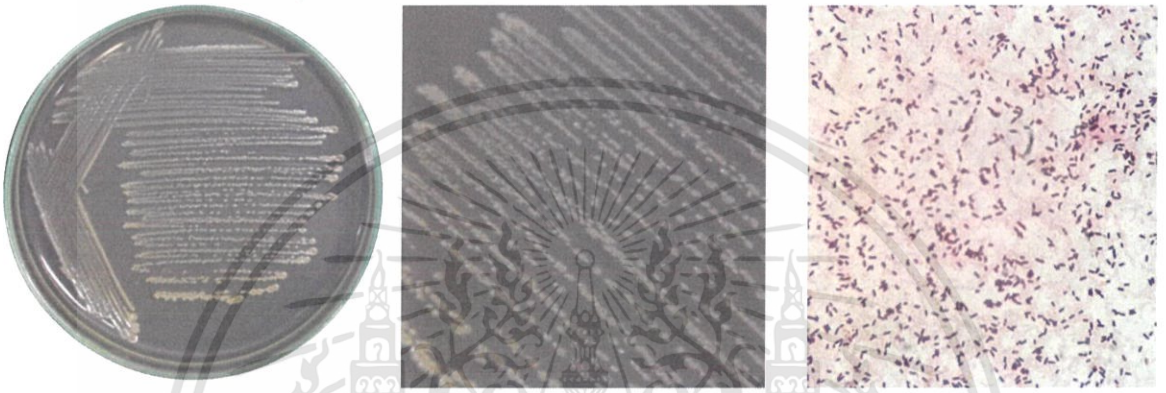
| เชื้อ | การเจริญ | สีของเส้นใยอาหาร | สีของเส้นใยอากาศ | สีรงควัตถุ |
|---|---|---|---|---|
| SP.16 | ดีมาก | ชมพูอ่อนอมขาว Pinkish White 5.8r 9.0 0.8 | แดงสว่างอมเทาเข้ม Light Grayish Red 5.3r 5.9 3.5 | - |
| SP.17 | ดีมาก | เหลืองเข้มอมเขียว Strong Greenish Yellow 9.2y 7.2 9.2 | ขาว White 2.5pb 9.5 0.2 | - |
| SP.18 | ดี | ส้มสว่าง Vivid Orange 4.1yr 6.5 15.0 | - | - |
| SP.19 | ดี | ส้มสว่าง Vivid Orange 4.1yr 6.5 15.0 | - | - |
| SP.20 | ดีมาก | น้ำตาลเข้มอมแดง Dark Grayish Red 2.9r 2.7 2.1 | ชมพูอ่อนอมเหลือง Pale Yellowish Pink 4.2yr 8.6 2.2 | - |
| SP.21 | ดี | แดงเข้มอมน้ำตาล Strong Reddish Brown 0.3yr 3.1 9.9 | - | แดงเข้มอมน้ำตาล Strong Reddish Brown 0.3yr 3.1 9.9 |
| SP.22 | ดี | | | |
| SP.23 | ดีมาก | เขียวเข้มอมเทา Dark Grayish Olive Green 5.4gy 2.0 1.8 | เขียวสว่างอมเหลือง Light Yellow Green 5.0gy 8.4 5.6 | เข้มเข้มอมเหลือง Strong Greenish Yellow 9.2y 7.2 9.2 |
| SP.24 | ดี | ส้มเข้มอมชมพู Deep Yellowish Pink 5.5r 5.8 12.1 | - | - |
| SP.25 | ดี | ส้มเข้มอมแดง Vivid Reddish Orange 9.8r 5.4 14.5 | น้ำตาลเข้มอมแดง Dark Grayish Reddish Brown 9.0r 2.0 2.0 | - |
| SP.26 | ดี | ส้มสว่าง Vivid Orange 4.1yr 6.5 15.0 | - | - |

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 4.2.2 การจัดกลุ่มเชื้อแบคทีเรียโดยลักษณะทางฟีโนไทป์ (Phenotype)

เมื่อคัดแยกเชื้อได้ทั้งหมด 21 ไอโซเลตทำการเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยสีท 21 ไอโซเลต บนอาหาร Nutrient agar (NA) เป็นเวลา 4 วัน เพื่อทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียโดยการย้อมสีแกรมเพื่อดูรูปร่างลักษณะการเรียงตัวและการติดสีย้อม ดังตารางนี้ 4.3 ผลการย้อมแกรมนั้นพบว่าส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียแกรมบวก 18 ชนิด และแกรมลบ 3 ชนิดมีรูปร่างทอน 13 ชนิดรูปร่างกลม 8 ชนิด

เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SB1-1 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA โคโลนีมีลักษณะสีน้ำตาลอ่อน เป็นแกรมบวก รูปร่างท่อนสั้น ไม่สร้างรงควัตถุ

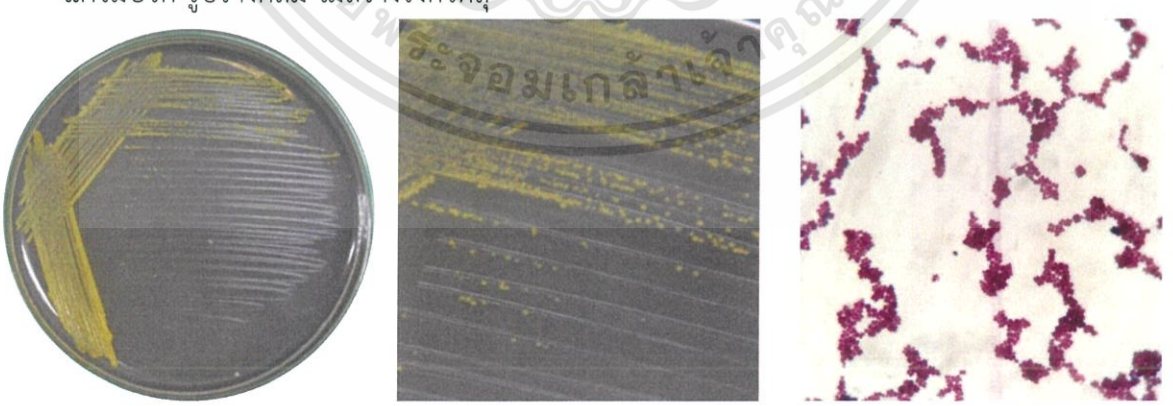


(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.30** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSB1-1 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน

(ค) แสดงลักษณะของการติดสีแกรมและรูปร่างภายใต้กล้องจุทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SB1-2 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA โคโลนีมีลักษณะสีเหลือง เป็นแกรมบวก รูปร่างกลม ไม่สร้างรงควัตถุ



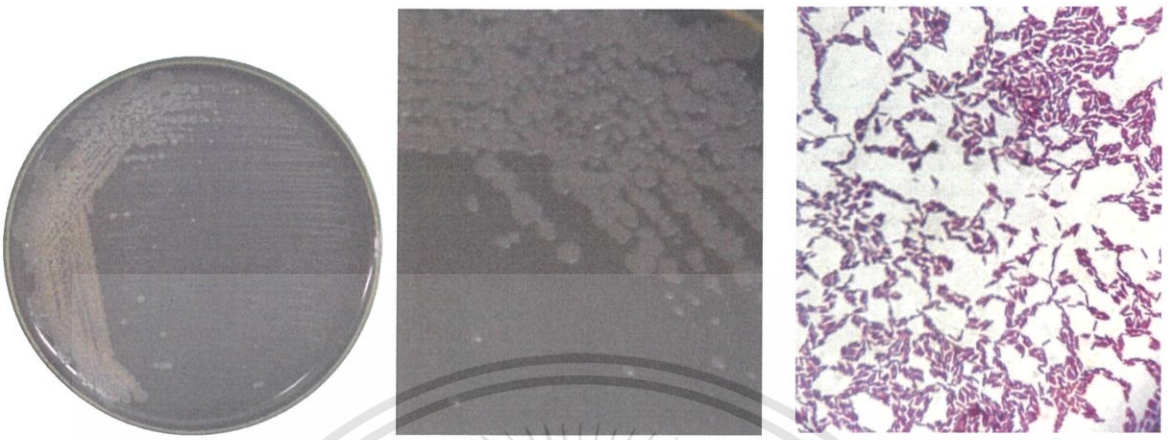
(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.31** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSB1-2 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน

(ค) แสดงลักษณะของการติดสีแกรมและรูปร่างภายใต้กล้องจุทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SB1-3 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA โคโลนีมีลักษณะสีน้ำตาลอ่อน เป็นแกรมบวก รูปร่างท่อนยาวต่อกัน ไม่สร้างรงควัตถุ

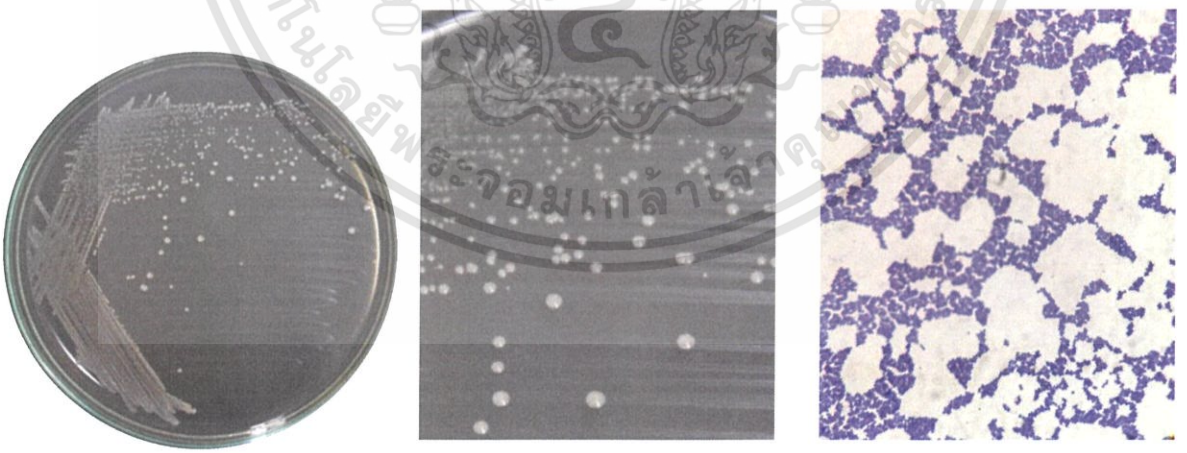


(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.32** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP1-3 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน

(ค) แสดงลักษณะของการติดสีแกรมและรูปร่างภายใต้กล้องจุทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SB1-4 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA โคโลนีมีลักษณะสีขาวขุ่น เป็นแกรมบวก รูปร่างกลม ไม่สร้างรงควัตถุ



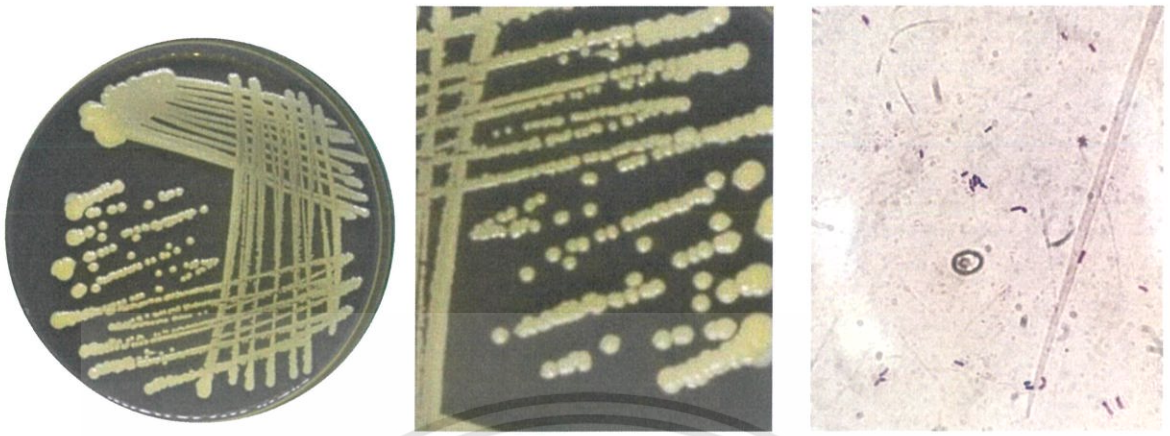
(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.33** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP1-4 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน

(ค) แสดงลักษณะของการติดสีแกรมและรูปร่างภายใต้กล้องจุทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SB1-5 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA โคโลนีมีลักษณะสีน้ำตาลอ่อน เป็นแกรมบวก รูปร่างท่อนสั้น ไม่สร้างรงควัตถุ



(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.34** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP1-3 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน

(ค) แสดงลักษณะของการติดสีแกรมและรูปร่างภายใต้กล้องจุทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SB1-6 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA โคโลนีมีลักษณะสีเหลืองอมขาว เป็นแกรมบวก รูปร่างกลม ไม่สร้างรงควัตถุ

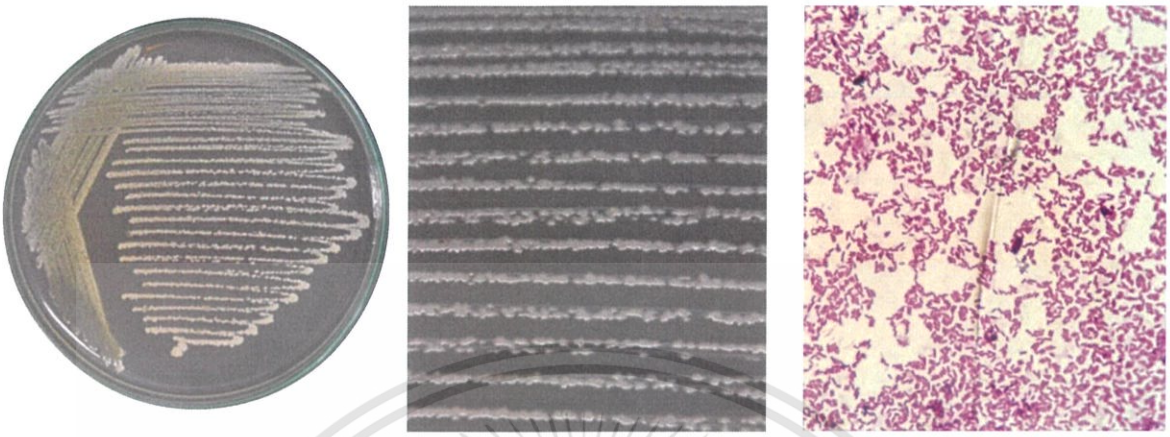
(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.35** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP1-6 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน

(ค) แสดงลักษณะของการติดสีแกรมและรูปร่างภายใต้กล้องจุทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SB1-7 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA โคโลนีมีลักษณะสีน้ำตาลอ่อน เป็นแกรมบวก รูปร่างท่อนสั้น ไม่สร้างรงควัตถุ



(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.36** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP1-3 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน

(ค) แสดงลักษณะของการติดสีแกรมและรูปร่างภายใต้กล้องจุทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SB2-8 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA โคโลนีมีลักษณะสีน้ำตาลอมเหลือง เป็นแกรมลบ รูปร่างท่อนสั้น ไม่สร้างรงควัตถุ

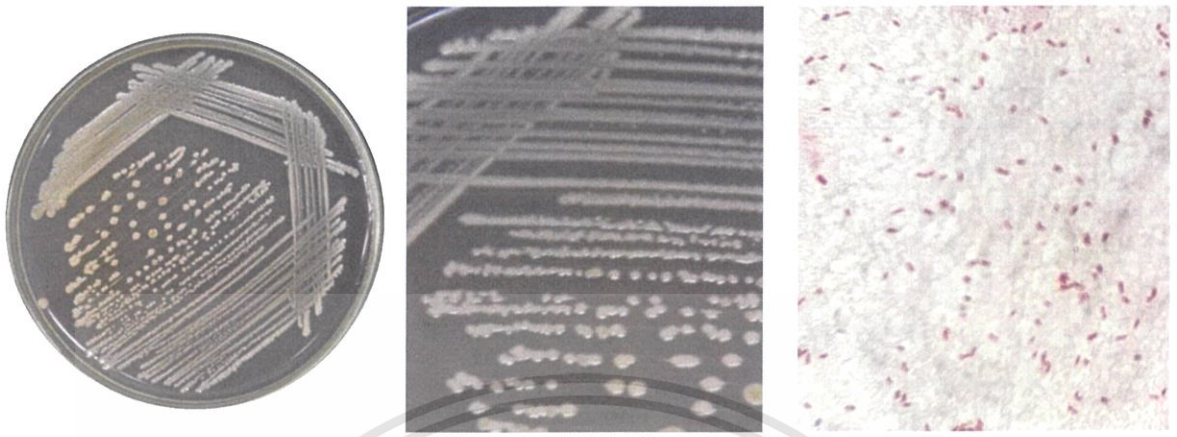
(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.37** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP2-8 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน

(ค) แสดงลักษณะของการติดสีแกรมและรูปร่างภายใต้กล้องจุทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SB2-9 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA โคโลนีมีลักษณะสีน้ำตาลอ่อน เป็นแกรมลบ รูปร่างท่อนสั้น ไม่สร้างรงควัตถุ

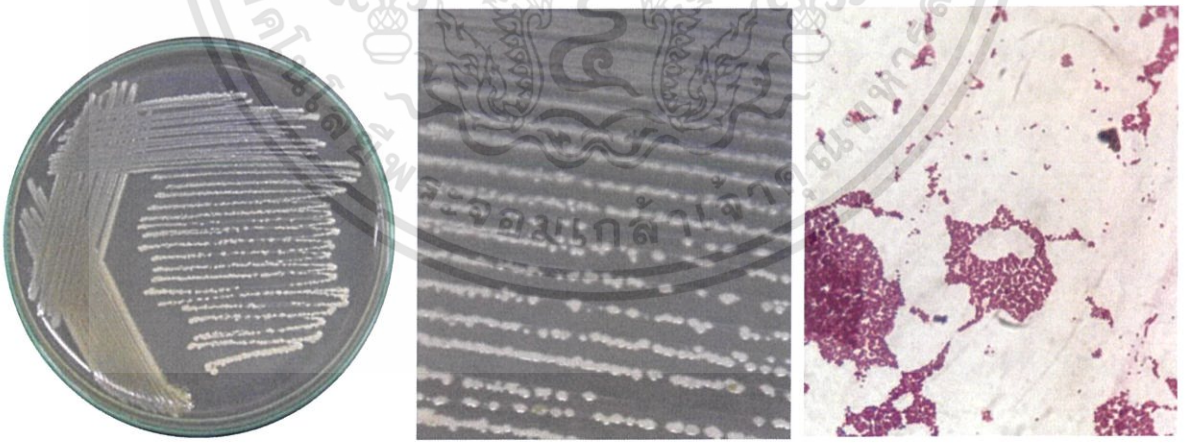


(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.38** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP2-9 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน

(ค) แสดงลักษณะของการติดสีแกรมและรูปร่างภายใต้กล้องจุทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SB2-10 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA โคโลนีมีลักษณะสีขาวขุ่น เป็นแกรมบวก รูปร่างกลม ไม่สร้างรงควัตถุ



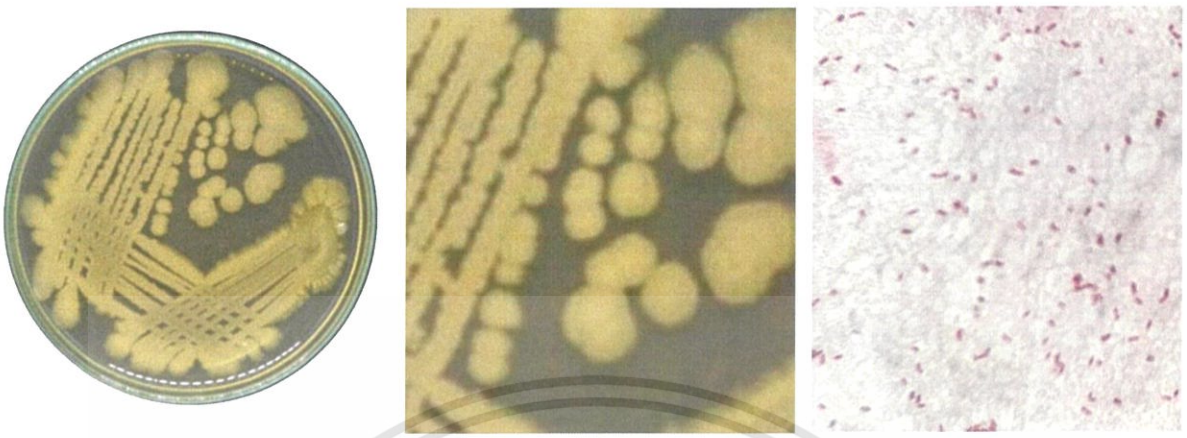
(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.39** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP2-10 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน

(ค) แสดงลักษณะของการติดสีแกรมและรูปร่างภายใต้กล้องจุทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SB2-11 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA โคโลนีมีลักษณะสีน้ำตาลอ่อน เป็นแกรมบวก รูปร่างท่อนยาวต่อกัน ไม่สร้างรงควัตถุ

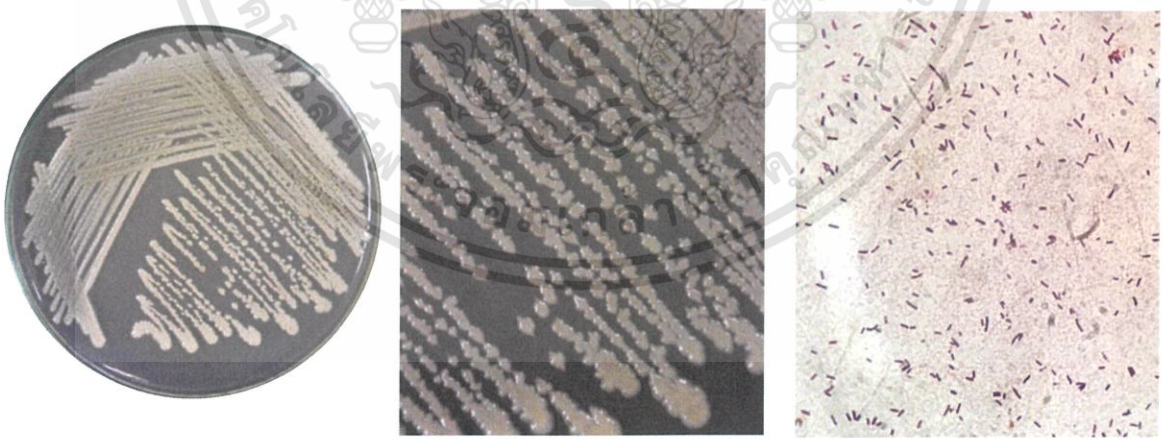


(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.40** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP2-11 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน

(ค) แสดงลักษณะของการติดสีแกรมและรูปร่างภายใต้กล้องจุทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SB2-12 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA โคโลนีมีลักษณะสีขาวขุ่น เป็นแกรมบวก รูปร่างท่อนสั้นต่อกัน ไม่สร้างรงควัตถุ



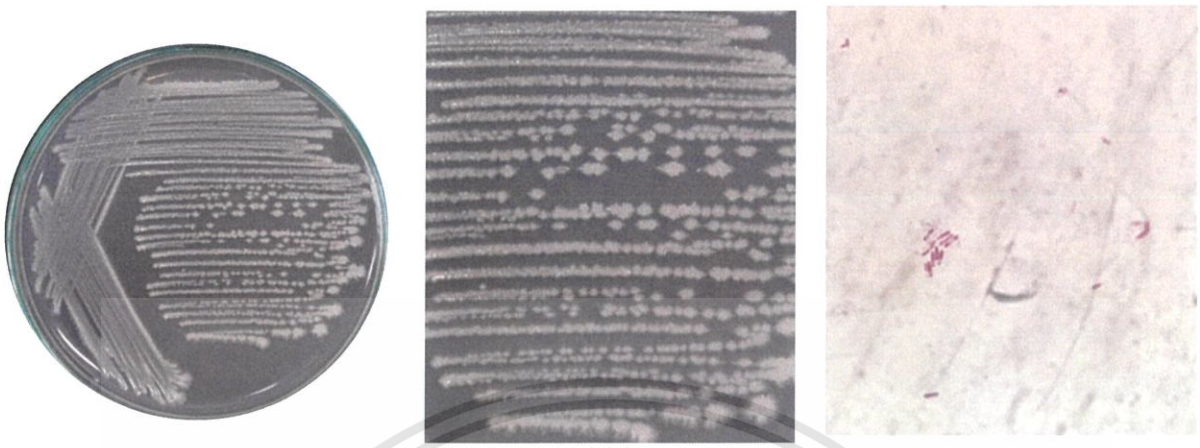
(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.41** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP2-12 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน

(ค) แสดงลักษณะของการติดสีแกรมและรูปร่างภายใต้กล้องจุทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SB2-13 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA โคโลนีมีลักษณะสีน้ำตาลอ่อน เป็นแกรมบวก รูปร่างท่อนยาวต่อกัน ไม่สร้างรงควัตถุ



(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.42** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP2-13 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน

(ค) แสดงลักษณะของการติดสีแกรมและรูปร่างภายใต้กล้องจุทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SB2-14 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA โคโลนีมีลักษณะสีขาวขุ่น เป็นแกรมบวก รูปร่างกลม ไม่สร้างรงควัตถุ

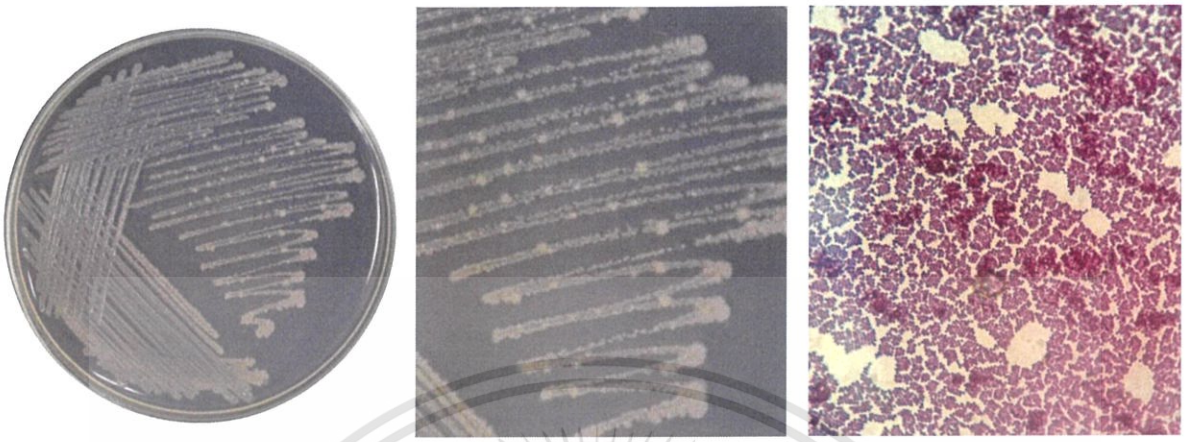
(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.43** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP2-14 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน

(ค) แสดงลักษณะของการติดสีแกรมและรูปร่างภายใต้กล้องจุทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SB3-15 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA โคโลนีมีลักษณะสีน้ำตาลอ่อน เป็นแกรมบวก รูปร่างท่อนยาวต่อกัน ไม่สร้างรงควัตถุ

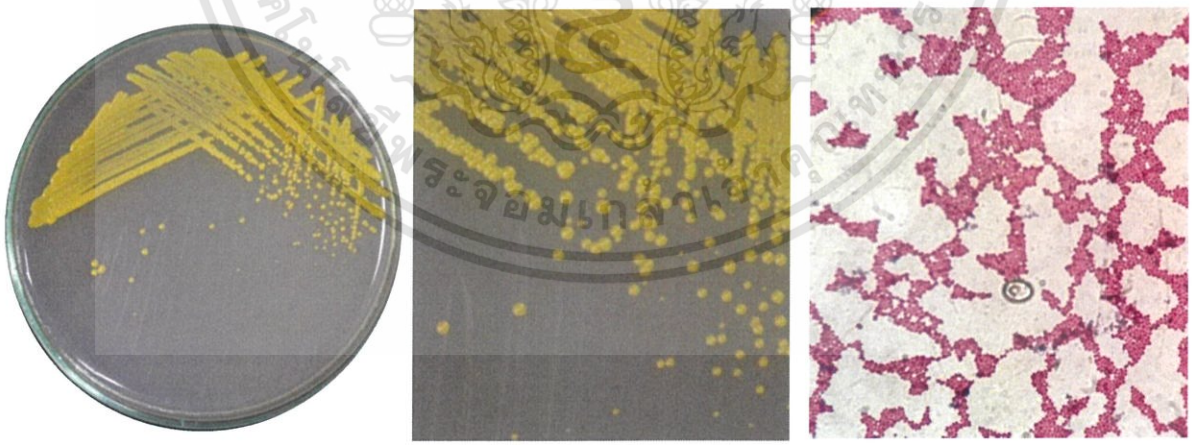


(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.44** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP3-15 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน

(ค) แสดงลักษณะของการติดสีแกรมและรูปร่างภายใต้กล้องจุทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SB3-16 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA โคโลนีมีลักษณะสีขาวขุ่น เป็นแกรมบวก รูปร่างกลม ไม่สร้างรงควัตถุ



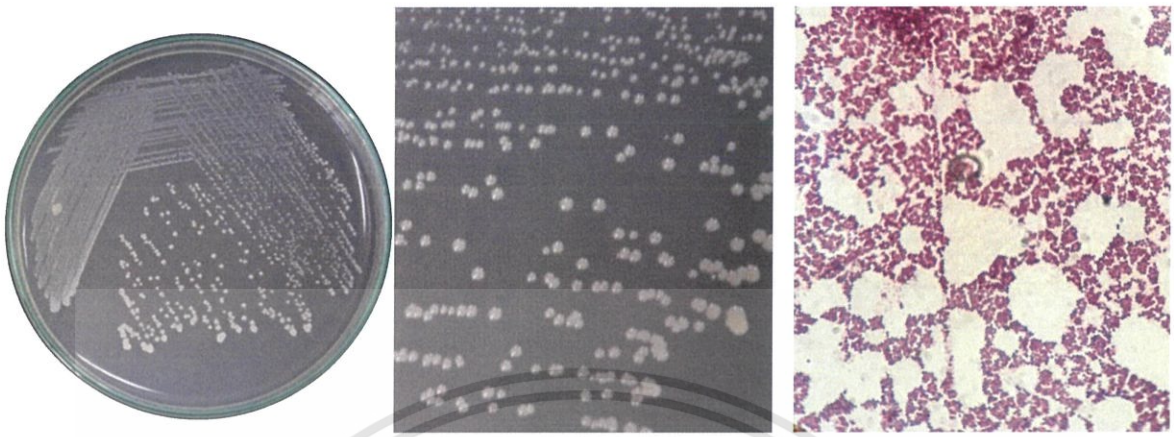
(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.45** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP3-16 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน

(ค) แสดงลักษณะของการติดสีแกรมและรูปร่างภายใต้กล้องจุทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SB3-17 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA โคโลนีมีลักษณะสีน้ำตาลอ่อน เป็นแกรมบวก รูปร่างท่อนยาวต่อกัน ไม่สร้างรงควัตถุ



(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.46** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP3-17 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน

(ค) แสดงลักษณะของการติดสีแกรมและรูปร่างภายใต้กล้องจุทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SB3-18 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA โคโลนีมีลักษณะสีขาวขุ่น เป็นแกรมบวก รูปร่างกลม ไม่สร้างรงควัตถุ

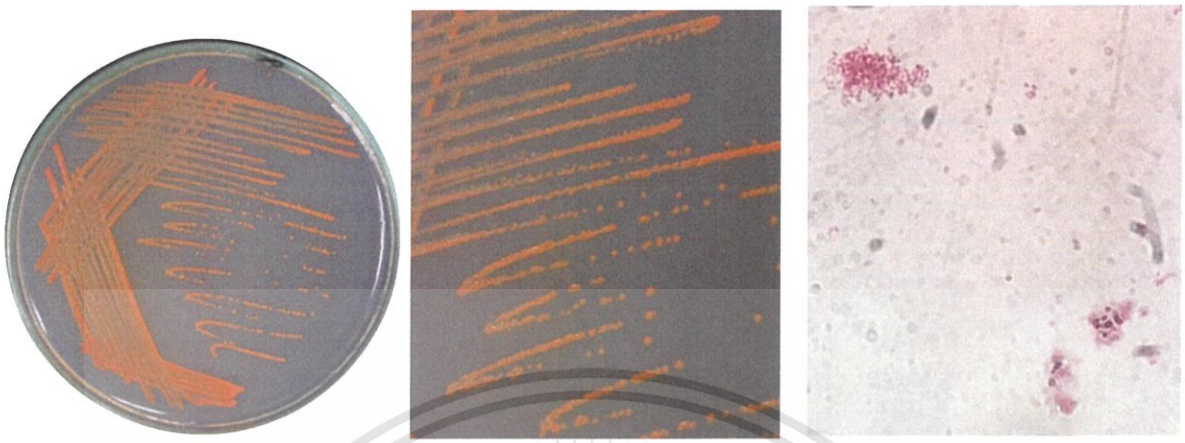
(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.47** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP3-18 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน

(ค) แสดงลักษณะของการติดสีแกรมและรูปร่างภายใต้กล้องจุทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SB3-19 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA โคโลนีมีลักษณะสีน้ำตาลอ่อน เป็นแกรมบวก รูปร่างท่อนยาวต่อกัน ไม่สร้างรงควัตถุ

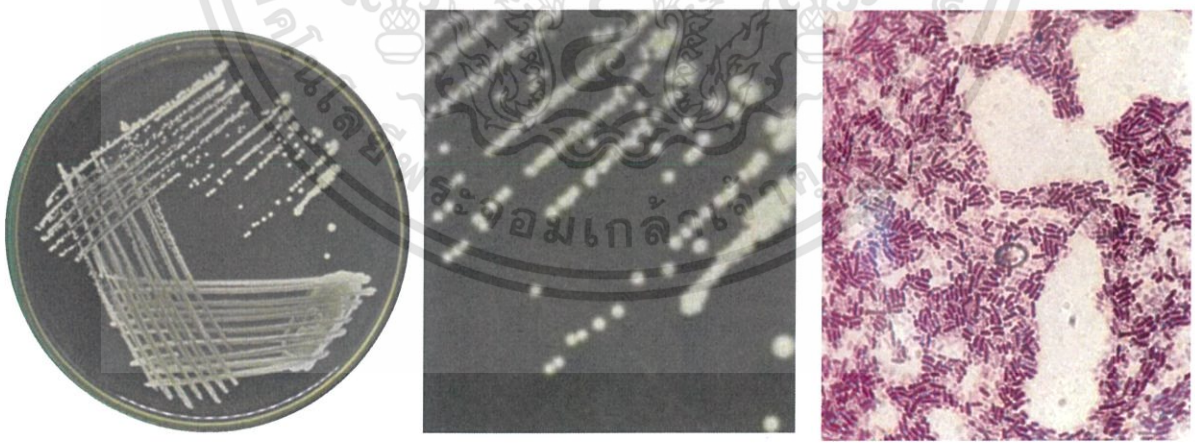


(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.48** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP3-19 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน

(ค) แสดงลักษณะของการติดสีแกรมและรูปร่างภายใต้กล้องจุทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SB3-20 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA โคโลนีมีลักษณะสีขาวขุ่น เป็นแกรมบวก รูปร่างกลม ไม่สร้างรงควัตถุ



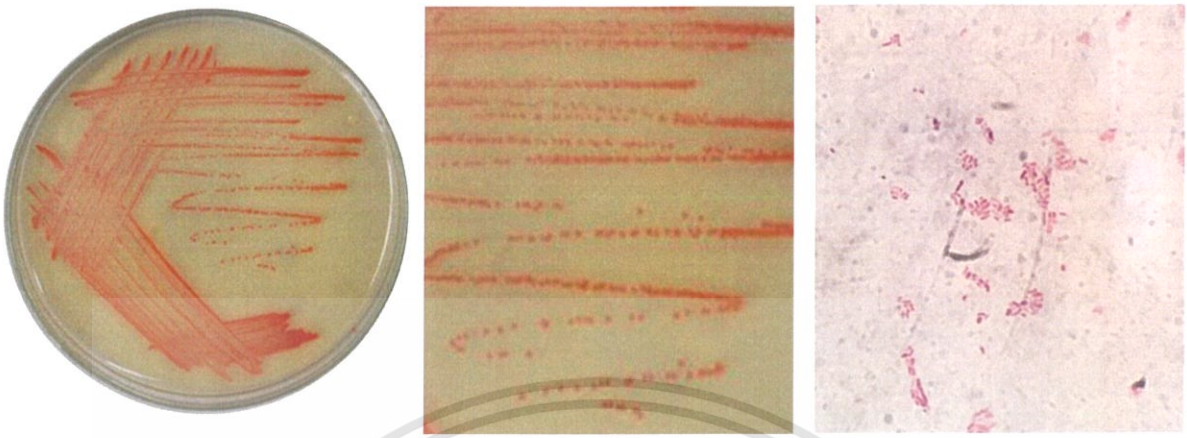
(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.49** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP3-20 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน

(ค) แสดงลักษณะของการติดสีแกรมและรูปร่างภายใต้กล้องจุทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SB3-21 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ NA โคโลนีมีลักษณะสีน้ำตาลอ่อน เป็นแกรมบวก รูปร่างท่อนยาวต่อกัน ไม่สร้างรงควัตถุ



(ก) (ข) (ค)

**รูปที่ 4.50** (ก)และ(ข)แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อไอโซเลตSP3-21 บนอาหาร NA ระยะเวลา 4 วัน

(ค) แสดงลักษณะของการติดสีแกรมและรูปร่างภายใต้กล้องจุทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

**ตารางที่ 4.4** ลักษณะสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียอาหาร Nutrient agar ระยะเวลา 4 วันโดยวิธีการย้อมแกรม (Gram staining)

| เชื้อ | ลักษณะการติดสีแกรม | รูปร่างของเซลล์ | เชื้อ | ลักษณะการติดสีแกรม | รูปร่างของเซลล์ |
|---|---|---|---|---|---|
| SB.1 | แกรมบวก | ท่อนสั้น | SB.12 | แกรมบวก | ท่อนสั้น |
| SB.2 | แกรมบวก | กลม | SB.13 | แกรมบวก | ท่อนสั้น |
| SB.3 | แกรมบวก | ท่อนยาว | SB.14 | แกรมบวก | กลม |
| SB.4 | แกรมบวก | กลม | SB.15 | แกรมบวก | กลม |
| SB.5 | แกรมบวก | ท่องสั้น | SB.16 | แกรมบวก | กลม |
| SB.6 | แกรมบวก | กลม | SB.17 | แกรมบวก | กลม |
| SB.7 | แกรมบวก | ท่อนสั้น | SB.18 | แกรมบวก | ท่อนสั้น |
| SB.8 | แกรมลบ | ท่อนสั้น | SB.19 | แกรมบวก | ท่อนสั้น |
| SB.9 | แกรมลบ | ท่อนสั้น | SB.20 | แกรมบวก | ท่อนยาว |
| SB.10 | แกรมบวก | กลม | SB.21 | แกรมลบ | ท่อนสั้น |
| SB.11 | แกรมบวก | ท่อนสั้น | | | |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

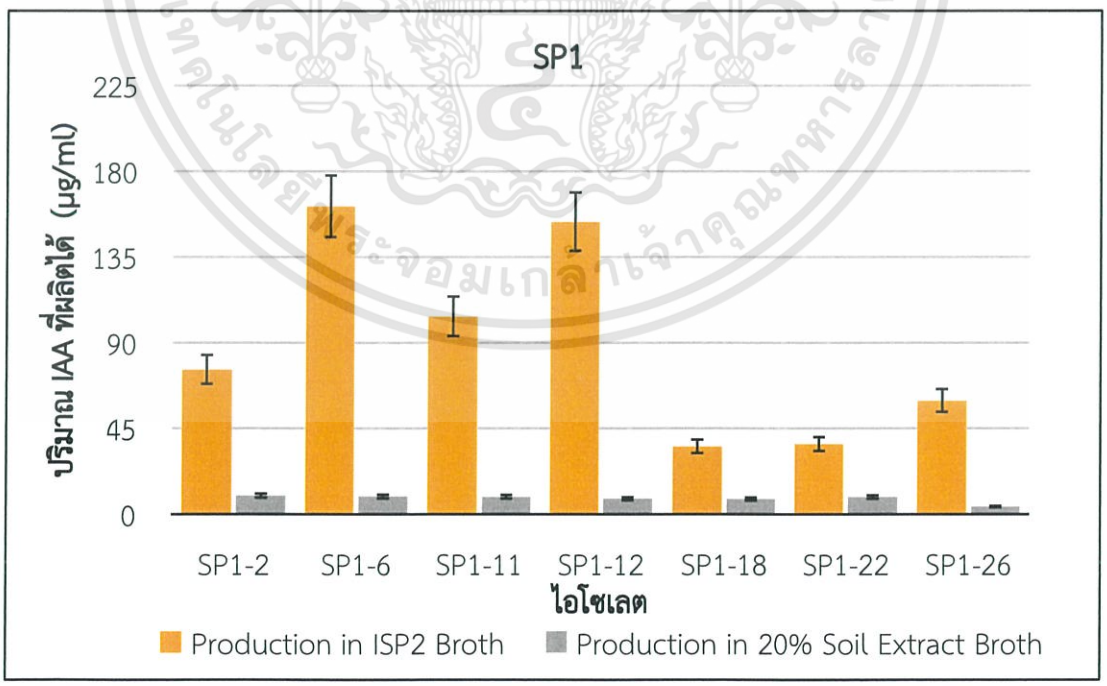
## 4.3 ผลการทดสอบความสามารถในการผลิตสารส่งเสริมการเจริญในพืช

### 4.3.1 การทดสอบการผลิตกรดอินโดล- 3- อะซิติก ของแอคติโนมัยสีท

จากการทดสอบแอคติโนมัยสีทที่มีความสามารถในการสร้างสารกรดอินโดล-3-อะซิติกจากการเลี้ยงเชื้อในอาหาร ISP2 broth และ อาหาร 20% soil extract โดยนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 530 นาโนเมตร พบว่าเชื้อแอคติโนมัยสีทที่เลี้ยงในอาหาร 20% soil extract 26 ไอโซเลตที่สามารถผลิตกรดอินโดล-3-อะซิติกได้ และมีไอโซเลตที่สามารถผลิตได้ดีที่สุดคือ CP2-10 และแอคติโนมัยสีทที่เลี้ยงในอาหาร ISP2 broth 26 ไอโซเลต ที่สามารถผลิตกรดอินโดล-3- อะซิติกได้และ มีไอโซเลตที่สามารถผลิตได้ดีที่สุดได้แก่ SP2-1 SP3-4 SP2-2

**ตารางที่ 4.5** ผลการทดสอบการผลิตกรดอินโดล-3-อะซิติกของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP1

| ไอโซเลต | IAA Production (µg/ml) | |
|---|---|---|
| | ISP2 Broth | 20% Soil Extract Broth |
| SP1-2 | 75.935 | 9.810 |
| SP1-6 | 161.691 | 9.400 |
| SP1-11 | 103.805 | 9.195 |
| SP1-12 | 153.577 | 8.221 |
| SP1-18 | 35.675 | 8.066 |
| SP1-22 | 36.894 | 9.144 |
| SP1-26 | 59.659 | 4.067 |

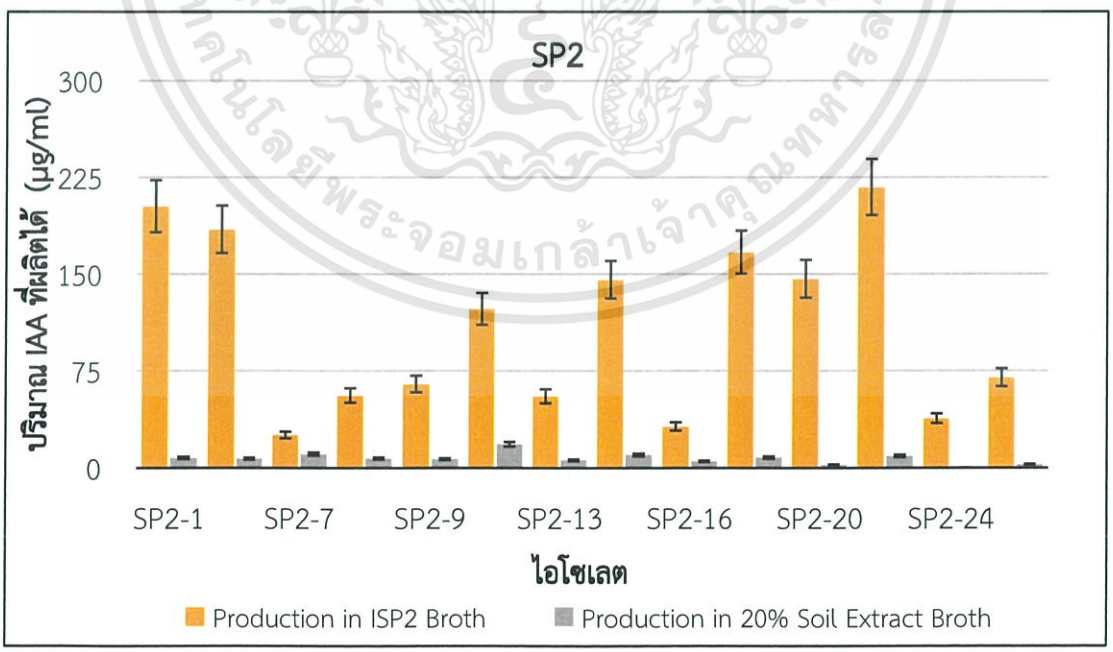



**รูปที่4.51** แสดงผลปริมาณ IAA ที่ผลิตได้จากอาหาร ISP2 broth และ20% soil extract ของไอโซเลต SP1

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.6** ผลการทดสอบการผลิตกรดอินโดล-3-อะซิติกของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP2

| ไอโซเลต | IAA Production (µg/ml) | |
|---|---|---|
| | ISP2 Broth | 20% Soil Extract Broth |
| SP2-1 | 202.504 | 7.708 |
| SP2-3 | 184.618 | 7.041 |
| SP2-7 | 25.431 | 10.682 |
| SP2-8 | 56.016 | 7.297 |
| SP2-9 | 64.959 | 6.785 |
| SP2-10 | 123.089 | 18.272 |
| SP2-13 | 55.431 | 6.0667 |
| SP2-14 | 145.610 | 9.985 |
| SP3-16 | 32.016 | 4.990 |
| SP2-17 | 166.992 | 8.0154 |
| SP2-20 | 146.260 | 2.374 |
| SP2-21 | 217.301 | 9.159 |
| SP2-24 | 38.195 | 0.142 |
| SP2-25 | 69.837 | 2.579 |

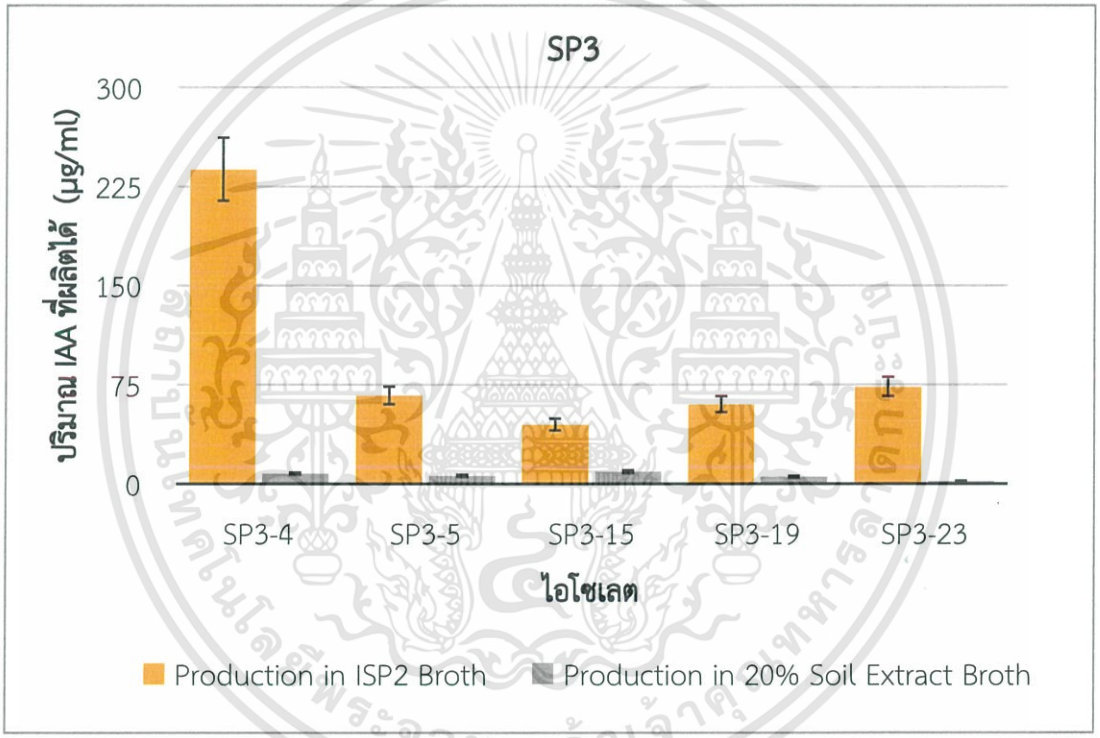



**รูปที่ 4.52** แสดงผลปริมาณ IAA ที่ผลิตได้จากอาหาร ISP2 broth และ20% soil extract ของไอโซเลต SP2

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.7** ผลการทดสอบการผลิตกรดอินโดล-3-อะซิติกของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP3

| ไอโซเลต | IAA Production (µg/ml) | |
|---|---|---|
| | ISP2 Broth | 20% Soil Extract Broth |
| SP3-4 | 238.130 | 7.964 |
| SP3-5 | 67.0570 | 6.272 |
| SP3-15 | 45.024 | 9.349 |
| SP3-19 | 60.390 | 5.451 |
| SP3-23 | 73.642 | 2.169 |




**รูปที่ 4.53** แสดงผลปริมาณ IAA ที่ผลิตได้จากอาหาร ISP2 broth และ20% soil extract ของไอโซเลต SP3

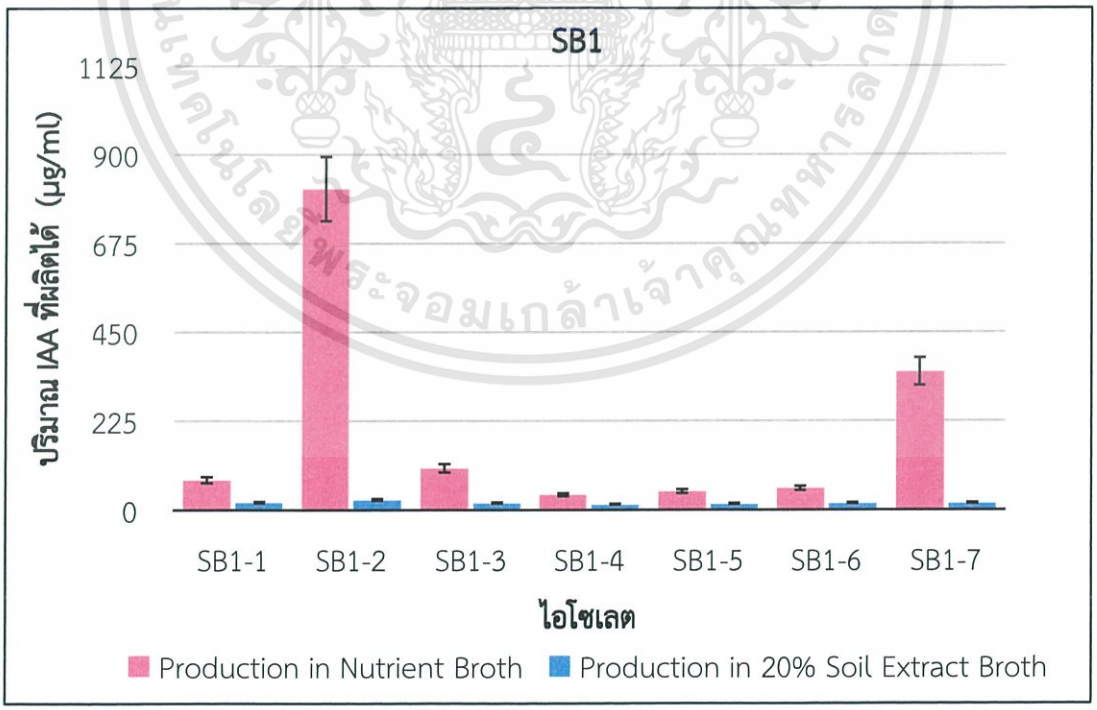
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 4.3.2 การทดสอบการผลิตกรดอินโดล- 3- อะซิติกของแบคทีเรีย

จากการทดสอบแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างสารกรดอินโดล-3-อะซิติกจากการเลี้ยงเชื้อในอาหาร NB broth และ อาหาร 20% soil extract โดยนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 530 นาโนเมตร พบว่าแบคทีเรียที่เลี้ยงในอาหาร 20% soil extract 21 ไอโซเลตที่สามารถผลิตกรดอินโดล-3-อะซิติกได้ และมีไอโซเลตที่สามารถผลิตได้ดีที่สุดคือ SB2-10 และแบคทีเรียที่เลี้ยงในอาหาร NB broth 21 ไอโซเลต ที่สามารถผลิตกรดอินโดล-3-อะซิติกได้และมีไอโซเลตที่สามารถผลิตได้ดีที่สุดคือ SB3-16

**ตารางที่ 4.8** ผลการทดสอบการผลิตกรดอินโดล-3-อะซิติกของแบคทีเรียไอโซเลต SB1

| ไอโซเลต | IAA Production (µg/ml) | |
|---|---|---|
| | NB Broth | 20% Soil Extract Broth |
| SB1-1 | 75.741 | 18.810 |
| SB1-2 | 813.395 | 25.477 |
| SB1-3 | 105.247 | 17.426 |
| SB1-4 | 38.457 | 13.785 |
| SB1-5 | 47.099 | 15.118 |
| SB1-6 | 54.630 | 16.964 |
| SB1-7 | 349.815 | 16.554 |

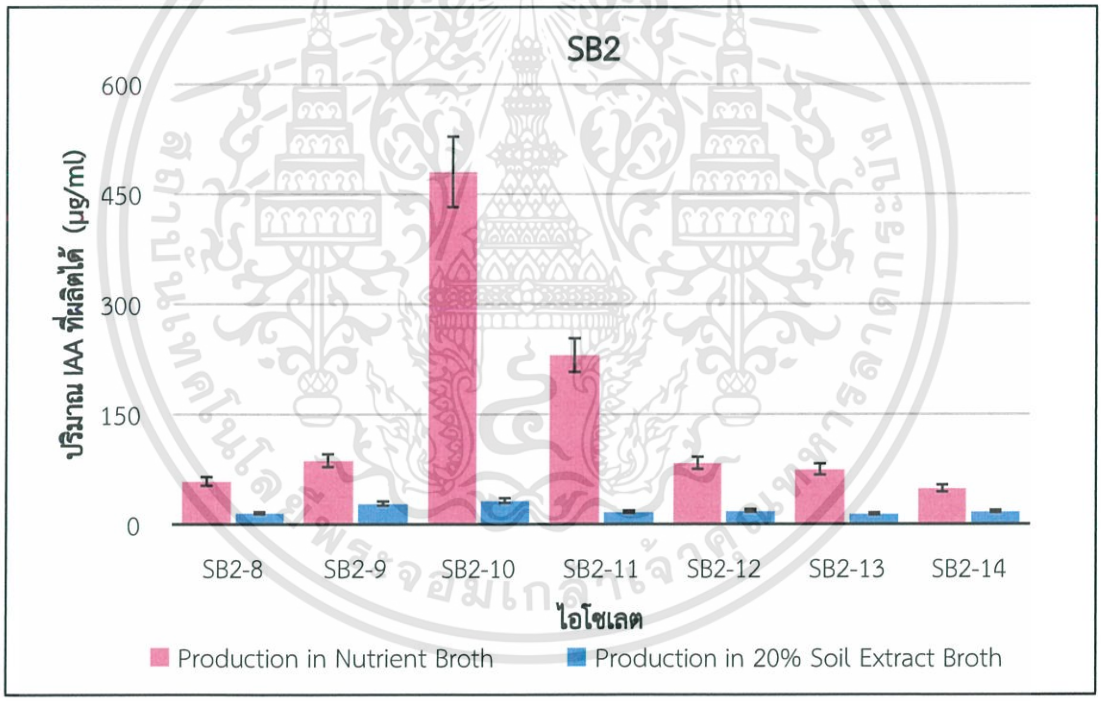



**รูปที่ 4.54** แสดงผลปริมาณ IAA ที่ผลิตได้จากอาหาร NB broth และ 20% soil extract ของไอโซเลต SB1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.9** ผลการทดสอบการผลิตกรดอินโดล-3-อะซิติกของแบคทีเรียไอโซเลต SB2

| ไอโซเลต | IAA Production (µg/ml) | |
|---|---|---|
| | NB Broth | 20% Soil Extract Broth |
| SB2-8 | 58.704 | 15.734 |
| SB2-9 | 87.099 | 28.605 |
| SB2-10 | 480.556 | 32.503 |
| SB2-11 | 230.556 | 17.169 |
| SB2-12 | 83.395 | 18.656 |
| SB2-13 | 75.000 | 14.349 |
| SB2-14 | 48.951 | 17.477 |

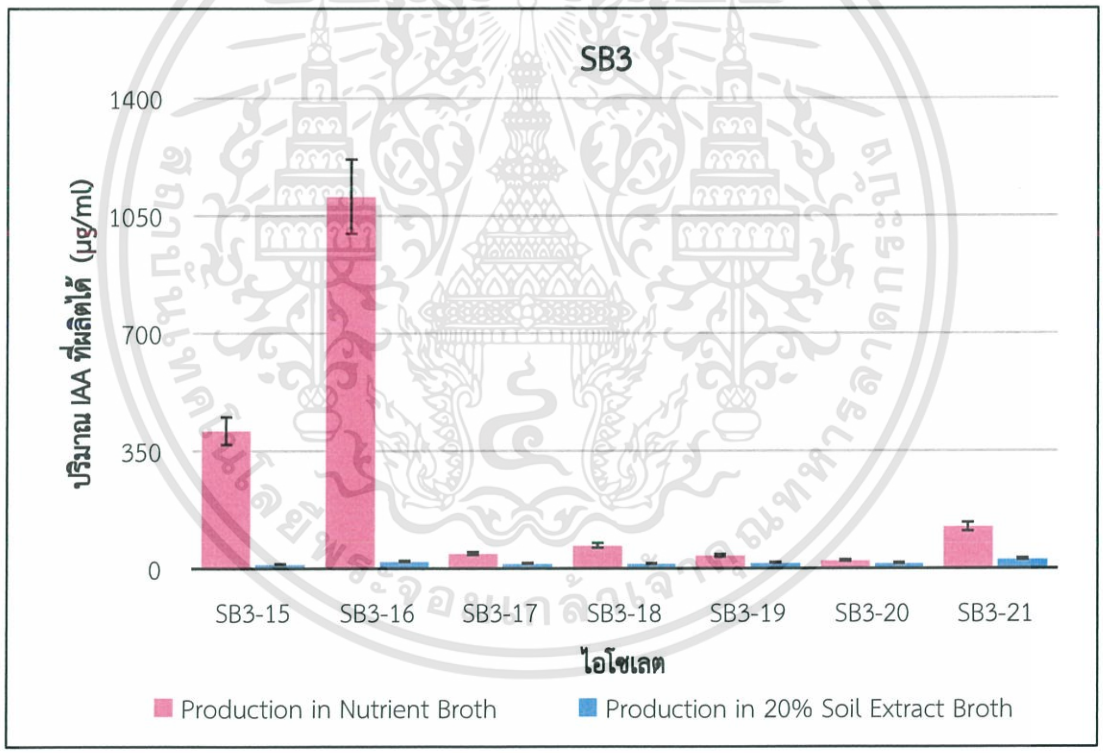



**รูปที่ 4.55** แสดงผลปริมาณ IAA ที่ผลิตได้จากอาหาร NB broth และ 20% soil extract ของไอโซเลต SB2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.10** ผลการทดสอบการผลิตกรดอินโดล-3-อะซิติกของแบคทีเรียสีทไอโซเลต SB3

| ไอโซเลต | IAA Production (µg/ml) | |
|---|---|---|
| | NB Broth | 20% Soil Extract Broth |
| SB3-15 | 409.815 | 13.374 |
| SB3-16 | 1107.469 | 21.939 |
| SB3-17 | 45.309 | 15.631 |
| SB3-18 | 69.012 | 14.862 |
| SB3-19 | 39.506 | 17.682 |
| SB3-20 | 24.321 | 16.349 |
| SB3-21 | 124.568 | 28.554 |




**รูปที่ 4.56** แสดงผลปริมาณ IAA ที่ผลิตได้จากอาหาร NB broth และ 20% soil extract ของไอโซเลต SB3

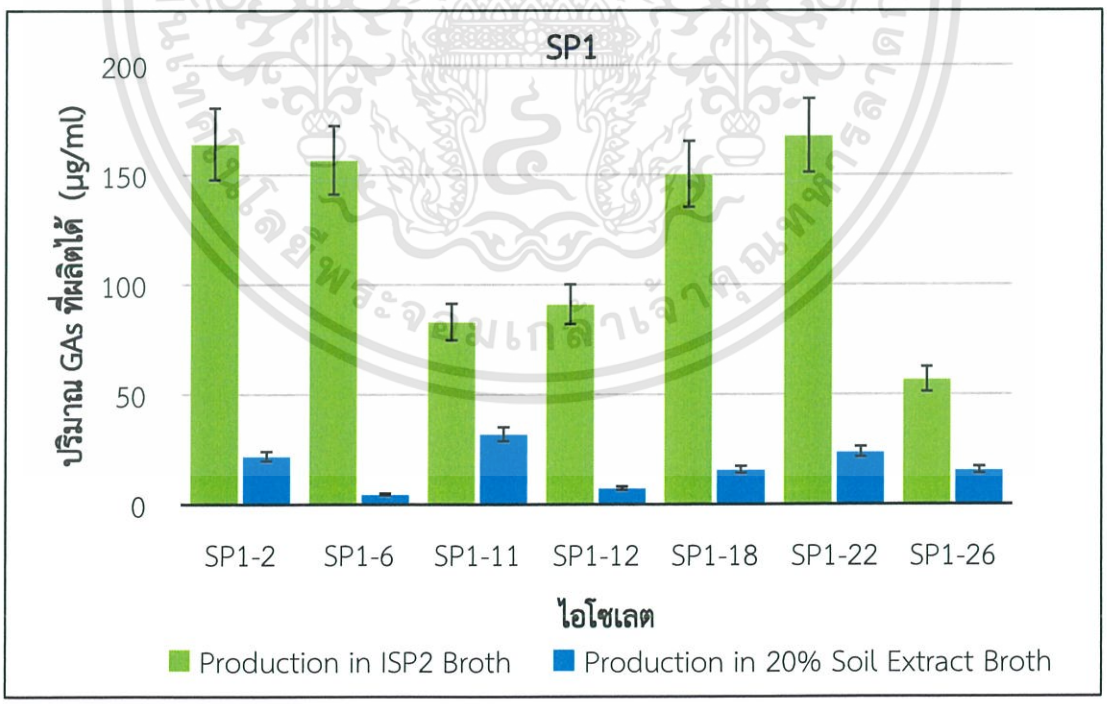
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 4.3.3 การทดสอบการผลิตจิบเบอเรลินของแอคติโนมัยสีท

จากการทดสอบแอคติโนมัยสีทที่มีความสามารถในการสร้างจิบเบอเรลิน (Gibberellic acid) จากการเลี้ยงเชื้อในอาหาร ISP2 broth และ อาหาร 20% soil extract โดยนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 254 นาโนเมตร พบว่าแอคติโนมัยสีทที่เลี้ยงในอาหาร 20% soil extract 26 ไอโซเลต ที่สามารถผลิตจิบเบอเรลิน (Gibberellic acid) ได้และมีไอโซที่สามารถผลิตได้ดีที่สุดได้แก่ SP3-4 SP1-11 และแอคติโนมัยสีทที่เลี้ยงในอาหาร ISP2 broth 26 ไอโซเลต ที่สามารถผลิตจิบเบอเรลิน (Gibberellic acid) ได้และมีไอโซเลตที่สามารถผลิตได้ดีที่สุดคือ SP1-24

**ตารางที่ 4.11** ผลการทดสอบการผลิตจิบเบอเรลินของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP1

| ไอโซเลต | GAs Production (µg/ml) | |
|---|---|---|
| | ISP2 Broth | 20% Soil Extract Broth |
| SP1-2 | 164.099 | 21.937 |
| SP1-6 | 156.815 | 4.7230 |
| SP1-11 | 83.111 | 32.117 |
| SP1-12 | 91.136 | 7.432 |
| SP1-18 | 150.395 | 15.811 |
| SP1-22 | 167.926 | 23.919 |
| SP1-26 | 56.938 | 15.721 |

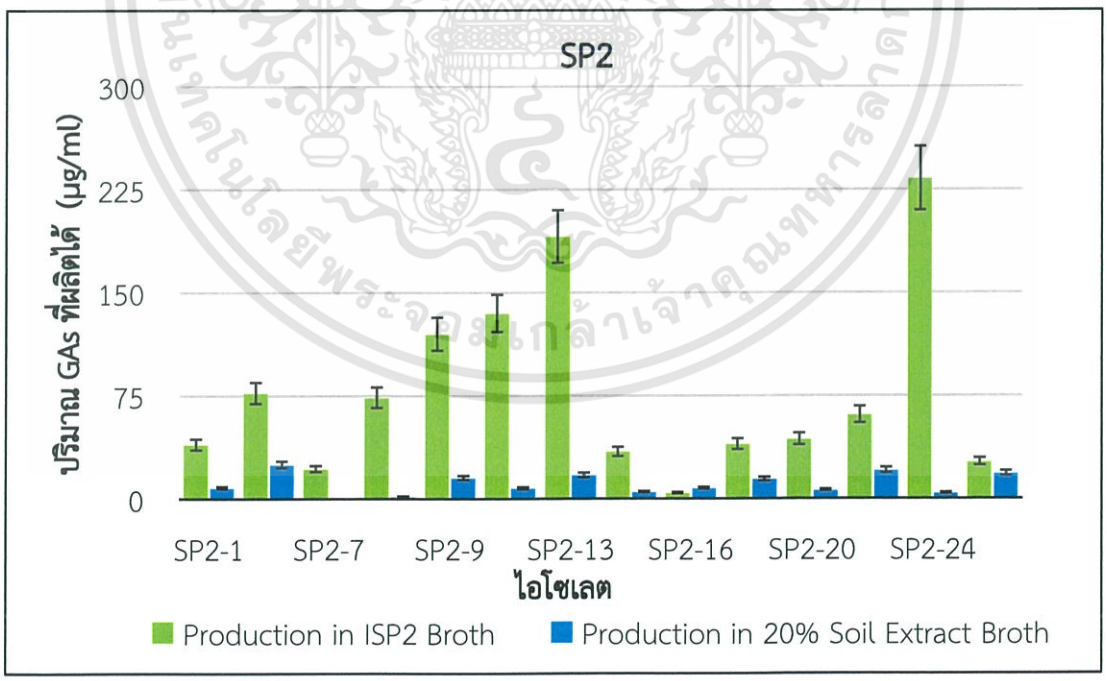



**รูปที่ 4.57** แสดงผลปริมาณ GAs ที่ผลิตได้จากอาหาร ISP2 broth และ 20% soil extract ของไอโซเลต SP1

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.12** ผลการทดสอบการผลิตจิบเบอเรลินของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP2

| ไอโซเลต | GAs Production (µg/ml) | |
|---|---|---|
| | ISP2 Broth | 20% Soil Extract Broth |
| SP2-1 | 39.654 | 8.063 |
| SP2-3 | 77.0617 | 24.910 |
| SP2-7 | 21.877 | 0.010 |
| SP2-8 | 73.728 | 1.667 |
| SP2-9 | 119.901 | 15.360 |
| SP2-10 | 134.963 | 7.703 |
| SP2-13 | 190.889 | 17.342 |
| SP2-14 | 34.346 | 5.000 |
| SP3-16 | 4.222 | 7.793 |
| SP2-17 | 39.901 | 14.369 |
| SP2-20 | 43.358 | 6.261 |
| SP2-21 | 61.136 | 20.676 |
| SP2-24 | 233.111 | 4.099 |
| SP2-25 | 26.8148 | 18.334 |

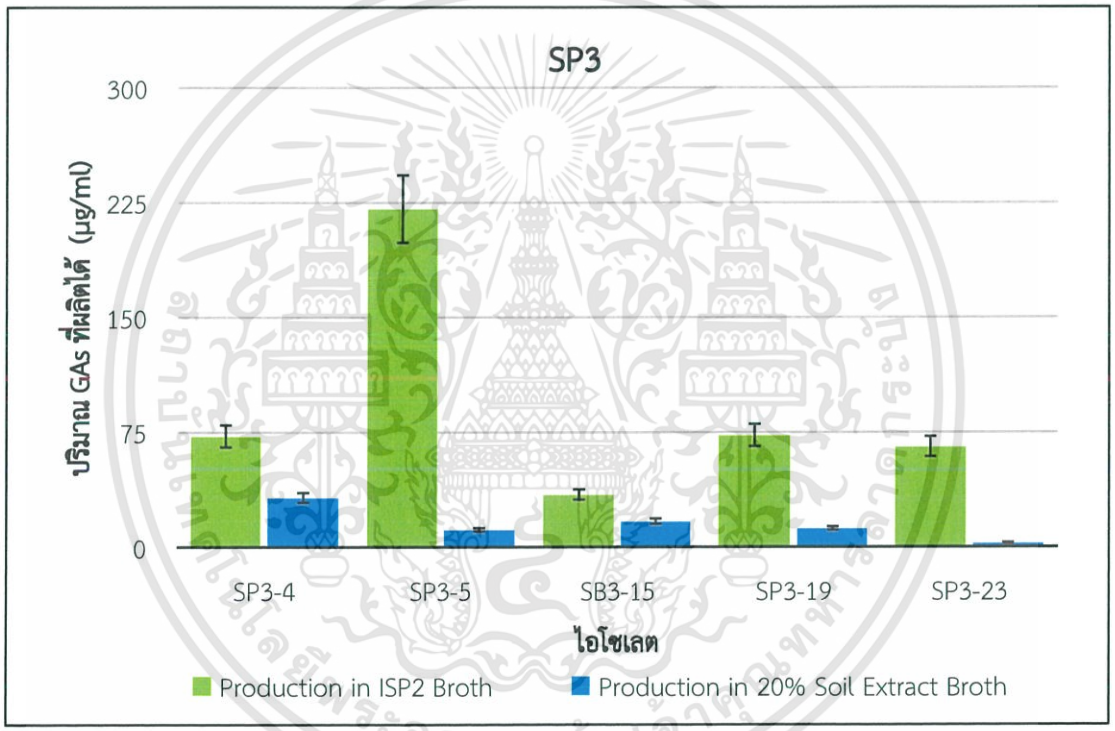



**รูปที่ 4.58** แสดงผลปริมาณ GAs ที่ผลิตได้จากอาหาร ISP2 broth และ20% soil extract ของไอโซเลต SP2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.13** ผลการทดสอบการผลิตจิบเบอเรลินของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP3

| ไอโซเลต | GAs Production (µg/ml) | |
|---|---|---|
| | ISP2 Broth | 20% Soil Extract Broth |
| SP3-4 | 72.494 | 32.387 |
| SP3-5 | 220.889 | 11.487 |
| SB3-15 | 34.346 | 16.892 |
| SP3-19 | 73.111 | 12.297 |
| SP3-23 | 65.580 | 2.658 |




**รูปที่ 4.59** แสดงผลปริมาณ GAs ที่ผลิตได้จากอาหาร ISP2 broth และ 20% soil extract ของไอโซเลต SP3

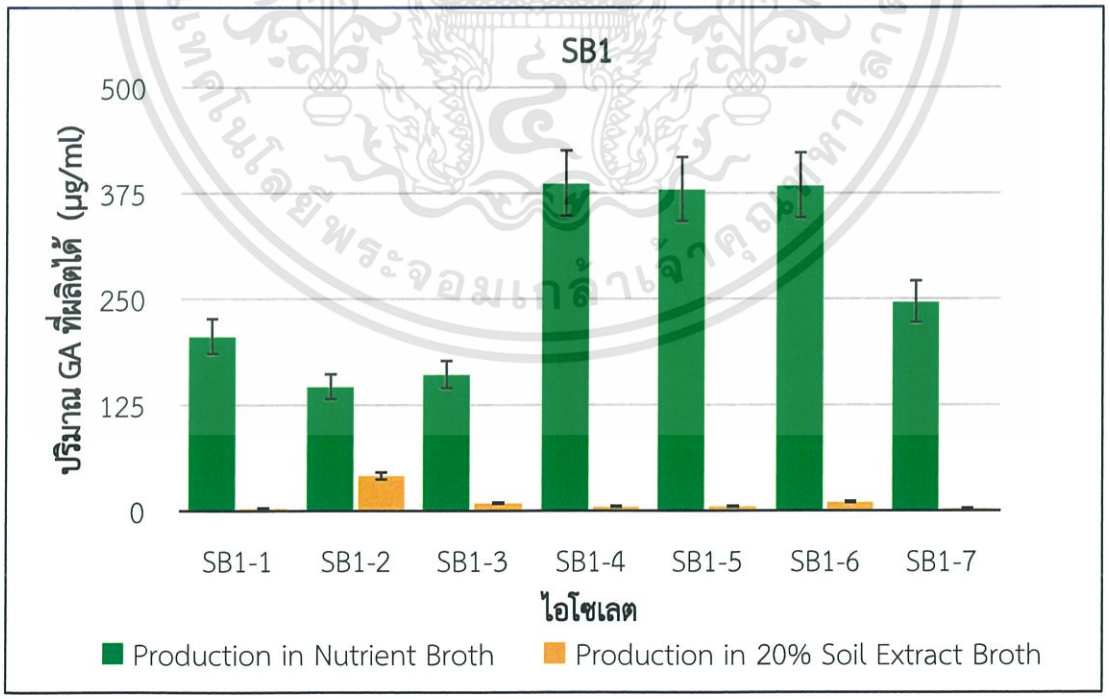
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 4.3.4 การทดสอบการผลิตจิบเบอเรลินของแบคทีเรีย

จากการทดสอบแอคติโนมัยสีทที่มีความสามารถในการสร้างจิบเบอเรลิน (Gibberellic acid) จากการเลี้ยงเชื้อในอาหาร NB broth และ อาหาร 20% soil extract โดยนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 254 นาโนเมตร พบว่าแอคติโนมัยสีทที่เลี้ยงในอาหาร 20% soil extract 21 ไอโซเลตที่สามารถผลิตจิบเบอเรลิน (Gibberellic acid) ได้และมีไอโซที่สามารถผลิตได้ดีที่สุดได้แก่ SP3-4 SP1-11 และแอคติโนมัยสีทที่เลี้ยงในอาหาร ISP2 broth 26 ไอโซเลต ที่สามารถผลิตจิบเบอเรลิน (Gibberellic acid) ได้และมีไอโซเลตที่สามารถผลิตได้ดีที่สุดคือ SP1-24

**ตารางที่ 4.14** ผลการทดสอบการผลิตจิบเบอเรลินของแบคทีเรียไอโซเลต SB1

| ไอโซเลต | GAs Production (µg/ml) | |
|---|---|---|
| | NB Broth | 20% Soil Extract Broth |
| SB1-1 | 205.765 | 3.108 |
| SB1-2 | 146.506 | 41.487 |
| SB1-3 | 160.704 | 9.144 |
| SB1-4 | 386.506 | 5.090 |
| SB1-5 | 379.469 | 5.180 |
| SB1-6 | 384.161 | 10.405 |
| SB1-7 | 246.753 | 2.604 |

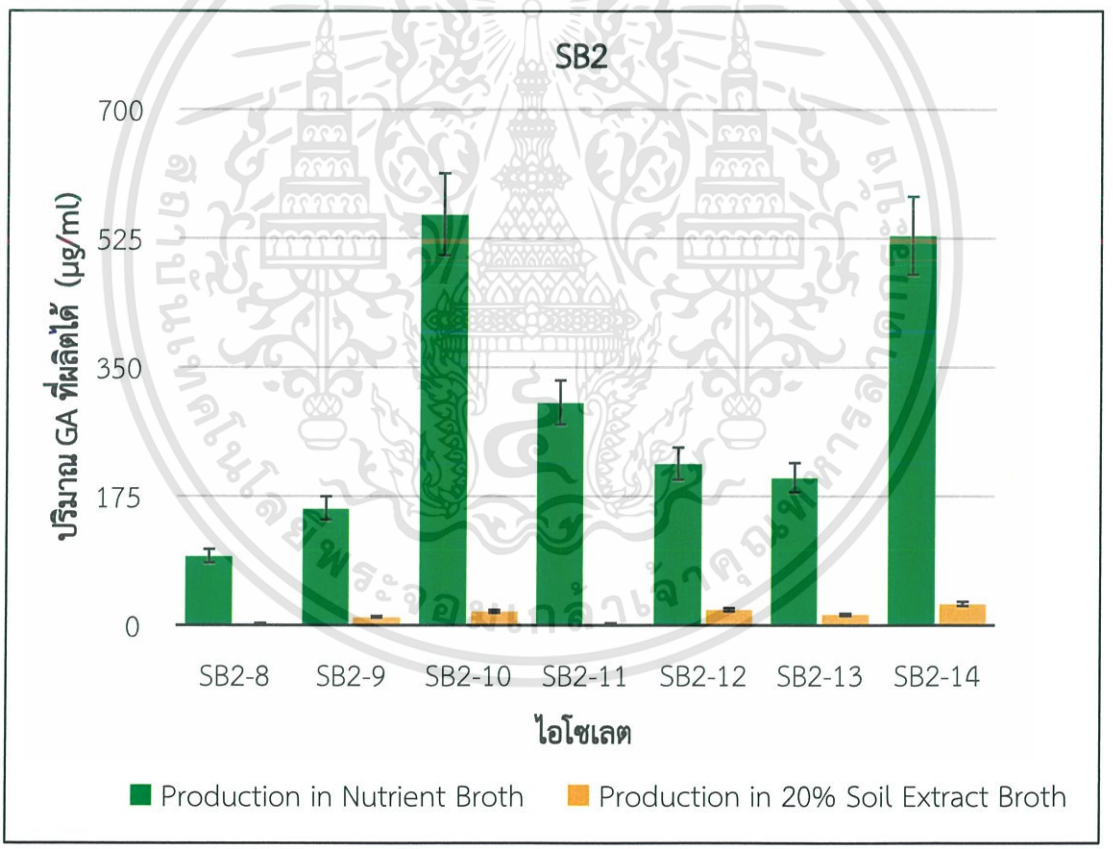



**รูปที่ 4.60** แสดงผลปริมาณ GAs ที่ผลิตได้จากอาหาร NB broth และ 20% soil extract ของไอโซเลต SB1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.15** ผลการทดสอบการผลิตจิบเบอเรลินของแบคทีเรียไอโซเลต SB2

| ไอโซเลต | GAs Production (µg/ml) | |
|---|---|---|
| | NB Broth | 20% Soil Extract Broth |
| SB2-8 | 93.914 | 2.568 |
| SB2-9 | 158.482 | 11.396 |
| SB2-10 | 557.741 | 18.964 |
| SB2-11 | 302.062 | 2.658 |
| SB2-12 | 219.222 | 21.396 |
| SB2-13 | 200.086 | 14.640 |
| SB2-14 | 528.728 | 29.324 |

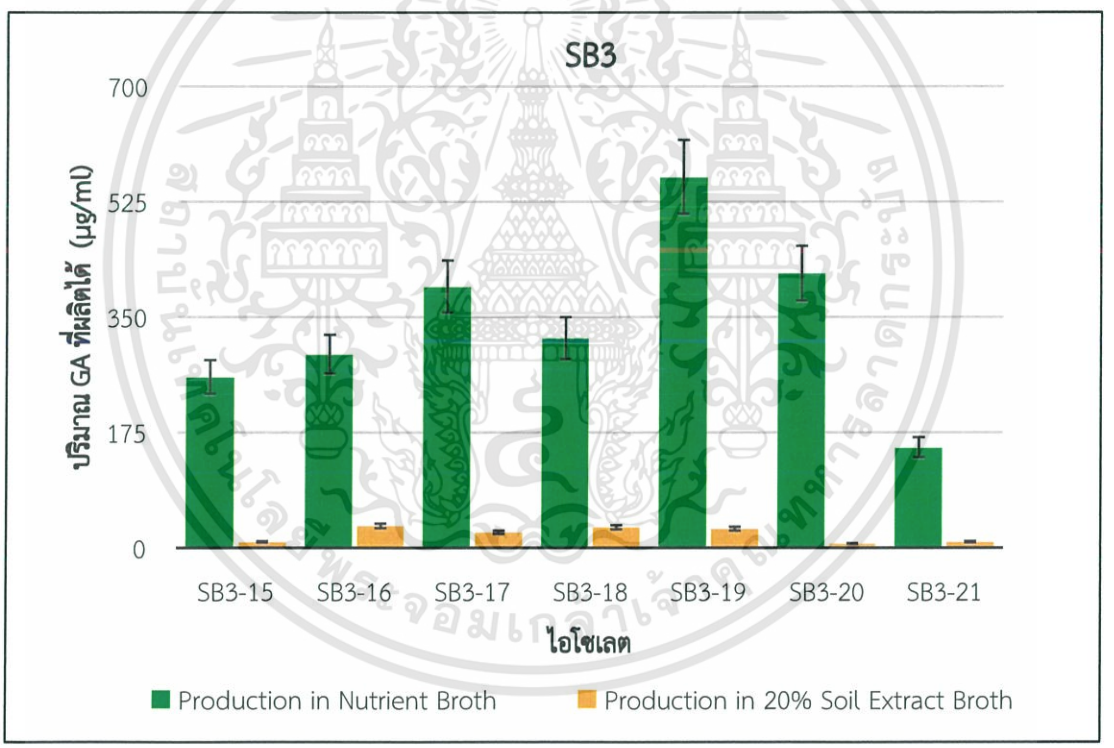



**รูปที่ 4.61** แสดงผลปริมาณ GAs ที่ผลิตได้จากอาหาร NB broth และ 20% soil extract ของไอโซเลต SB2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.16** ผลการทดสอบการผลิตจิบเบอเรลินของแบคทีเรียไอโซเลต SB3

| ไอโซเลต | GAs Production (µg/ml) | |
|---|---|---|
| | NB Broth | 20% Soil Extract Broth |
| SB3-15 | 259.222 | 9.414 |
| SB3-16 | 293.914 | 33.649 |
| SB3-17 | 396.519 | 23.919 |
| SB3-18 | 318.481 | 31.577 |
| SB3-19 | 562.803 | 29.414 |
| SB3-20 | 416.630 | 6.802 |
| SB3-21 | 152.432 | 9.144 |




**รูปที่ 4.62** แสดงผลปริมาณ GAs ที่ผลิตได้จากอาหาร NB broth และ 20% soil extract ของไอโซเลต SB3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 4.3.5 การตรวจสอบแอคติโนมัยสีทที่มีความสามารถในการย่อยสลายฟอสเฟต

จากการทดสอบแอคติโนมัยสีทที่มีความสามารถในการย่อยสลายฟอสเฟตจากการเลี้ยงเชื้อในอาหาร NBRIP-BPB พบว่ามีแอคติโนมัยสีทจำนวน 10 ไอโซเลต ที่มีความสามารถในการย่อยสลายฟอสเฟตได้ โดยเชื้อไอโซเลต SP1-6 SP2-8 SP2-20 สามารถย่อยสลายฟอสเฟตได้ดีที่สุด วัดผลโดยสังเกตส่วนใสรอบโคโลนีของเชื้อ ดังแสดงในตารางที่ 4.17

### 4.3.6 การตรวจสอบแอคติโนมัยสีทที่มีความสามารถในการสร้างสารซิเดอร์โรฟอร์

จากการทดสอบแอคติโนมัยสีทที่มีความสามารถในการผลิตสารซิเดอร์โรฟอร์ จากการเลี้ยงเชื้อในอาหาร 2 ชนิดคือ อาหาร Yeast extract-malt extract agar (ISP2) และในอาหาร 20% soil extract พบว่ามีแอคติโนมัยสีทจำนวน 15 ไอโซเลตที่มีการสร้างสารซิเดอร์โรฟอร์ โดยเชื้อไอโซเลต SP1-2 SP1-18 SP1-22 SP2-13 SP2-25 SP3-19 สามารถสร้างสารซิเดอร์โรฟอร์ได้ดีที่สุดในอาหาร 20% soil extract ส่วนในอาหาร ISP2 พบว่ามีแอคติโนมัยสีทจำนวน 20 ไอโซเลตที่มีการสร้างสารซิเดอร์โรฟอร์ โดยเชื้อไอโซเลต SP1-2 SP1-18 SP1-26 SP2-3 SP2-13 SP2-14 SP2-24 SP2-25 SP3-19 SP3-23 สามารถสร้างสารซิเดอร์โรฟอร์ได้ดีที่สุด วัดผลโดยสังเกตส่วนใสที่เป็นสีส้มรอบโคโลนีของเชื้อ ดังแสดงในตารางที่ 4.17

**ตารางที่ 4.17** ผลการทดสอบคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตของแอคติโนมัยสีท

| ไอโซเลต | คุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโต | | |
|---|---|---|---|
| | Iron Chelator Production | | Phosphate Ultilization |
| | ISP2 Agar | 20% Soil Extract Agar | NBRIP-BPB Agar |
| SP1-2 | ++ | ++ | - |
| SP1-6 | - | - | ++ |
| SP1-11 | + | + | + |
| SP1-12 | +/- | - | - |
| SP1-18 | ++ | ++ | - |
| SP1-22 | + | ++ | - |
| SP1-26 | ++ | + | - |
| SP2-1 | - | - | + |
| SP2-3 | ++ | + | - |
| SP2-7 | + | + | - |
| SP2-8 | - | - | ++ |
| SP2-9 | - | - | - |
| SP2-10 | +/- | + | - |
| SP2-13 | ++ | ++ | - |
| SP2-14 | ++ | +/- | - |
| SP2-16 | + | + | +/- |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.17 (ต่อ)** ผลการทดสอบคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตของแอคติโนมัยสีท

| ไอโซเลต | คุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโต | | |
|---|---|---|---|
| | Iron Chelator Production | | Phosphate Ultilization |
| | ISP2 Agar | 20% Soil Extract Agar | NBRIP-BPB Agar |
| SP2-17 | - | - | - |
| SP2-20 | - | - | ++ |
| SP2-21 | + | + | - |
| SP2-24 | ++ | +/- | - |
| SP2-25 | ++ | ++ | - |
| SP3-4 | + | - | - |
| SP3-5 | + | - | +/- |
| SP3-15 | + | - | + |
| SP3-19 | ++ | ++ | + |
| SP3-23 | ++ | - | +/- |

หมายเหตุ: ++ หมายถึง เชื้อสามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์หรือย่อยฟอสเฟตได้มาก
+ หมายถึง เชื้อสามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์หรือย่อยฟอสเฟตได้ปานกลาง
+/- หมายถึง เชื้อสามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์หรือย่อยฟอสเฟตได้น้อย
- หมายถึง เชื้อไม่สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์หรือย่อยฟอสเฟตได้

### 4.3.7 การตรวจสอบแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายฟอสเฟต

จากการทดสอบแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายฟอสเฟตจากการเลี้ยงเชื้อในอาหาร NBRIP-BPB พบว่ามีแบคทีเรียจำนวน 7 ไอโซเลต ที่มีความสามารถในการย่อยสลายฟอสเฟตได้ โดยเชื้อไอโซเลต SB2-12 SB2-8 SB2-11 สามารถย่อยสลายฟอสเฟตได้ดีที่สุดวัดผลโดยสังเกตส่วนใสรอบโคโลนีของเชื้อ ดังแสดงในตารางที่ 4.18

### 4.3.8 การตรวจสอบแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างสารซิเดอร์โรฟอร์

จากการทดสอบแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตสารซิเดอร์โรฟอร์ จากการเลี้ยงเชื้อในอาหาร 2 ชนิดคือ อาหาร และในอาหาร 20% soil extract พบว่ามีแบคทีเรียจำนวน 20 ไอโซเลตที่มีการสร้างสารซิเดอร์โรฟอร์ โดยเชื้อไอโซเลต Nutrient agar (NA) SB3-18 SB3-19 SB3-20 SB3-21 SB2-9 SB2-10 SB2-13 SB1-2 SB1-3 SB1-4 SB1-5 SB1-6 SB1-7 สามารถสร้างสารซิเดอร์โรฟอร์ได้ดีที่สุด ในอาหาร NA ส่วนในอาหาร 20% soil extract พบว่ามีแบคทีเรียจำนวน 18 ไอโซเลตที่มีการสร้างสารซิเดอร์โรฟอร์ โดยเชื้อไอโซเลต SB2-16 สามารถสร้างสารซิเดอร์โรฟอร์ได้ดีที่สุด วัดผลโดยสังเกตส่วนใสที่เป็นสีส้มรอบโคโลนีของเชื้อดังแสดงในตารางที่ 4.18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ในการเรียนการสอนเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.18** ผลการทดสอบคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

| ไอโซเลต | คุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโต | | |
|---|---|---|---|
| | Iron Chelator Production | | Phosphate Ultilization |
| | NA Agar | 20% Soil Extract Agar | NBRIP-BPB Agar |
| SB1-1 | +/- | - | - |
| SB1-2 | ++ | + | - |
| SB1-3 | ++ | + | - |
| SB1-4 | ++ | + | - |
| SB1-5 | +/- | + | - |
| SB1-6 | ++ | +/- | - |
| SB1-7 | + | + | ++ |
| SB2-8 | +/- | + | ++ |
| SB2-9 | ++ | + | - |
| SB2-10 | ++ | +/- | + |
| SB2-11 | - | + | ++ |
| SB2-12 | + | + | ++ |
| SB2-13 | ++ | + | +/- |
| SB2-14 | + | + | - |
| SB3-15 | +/- | + | - |
| SB3-16 | +/- | ++ | - |
| SB3-17 | + | + | - |
| SB3-18 | ++ | +/- | + |
| SB3-19 | ++ | - | - |
| SB3-20 | ++ | +/- | - |
| SB3-21 | ++ | - | - |

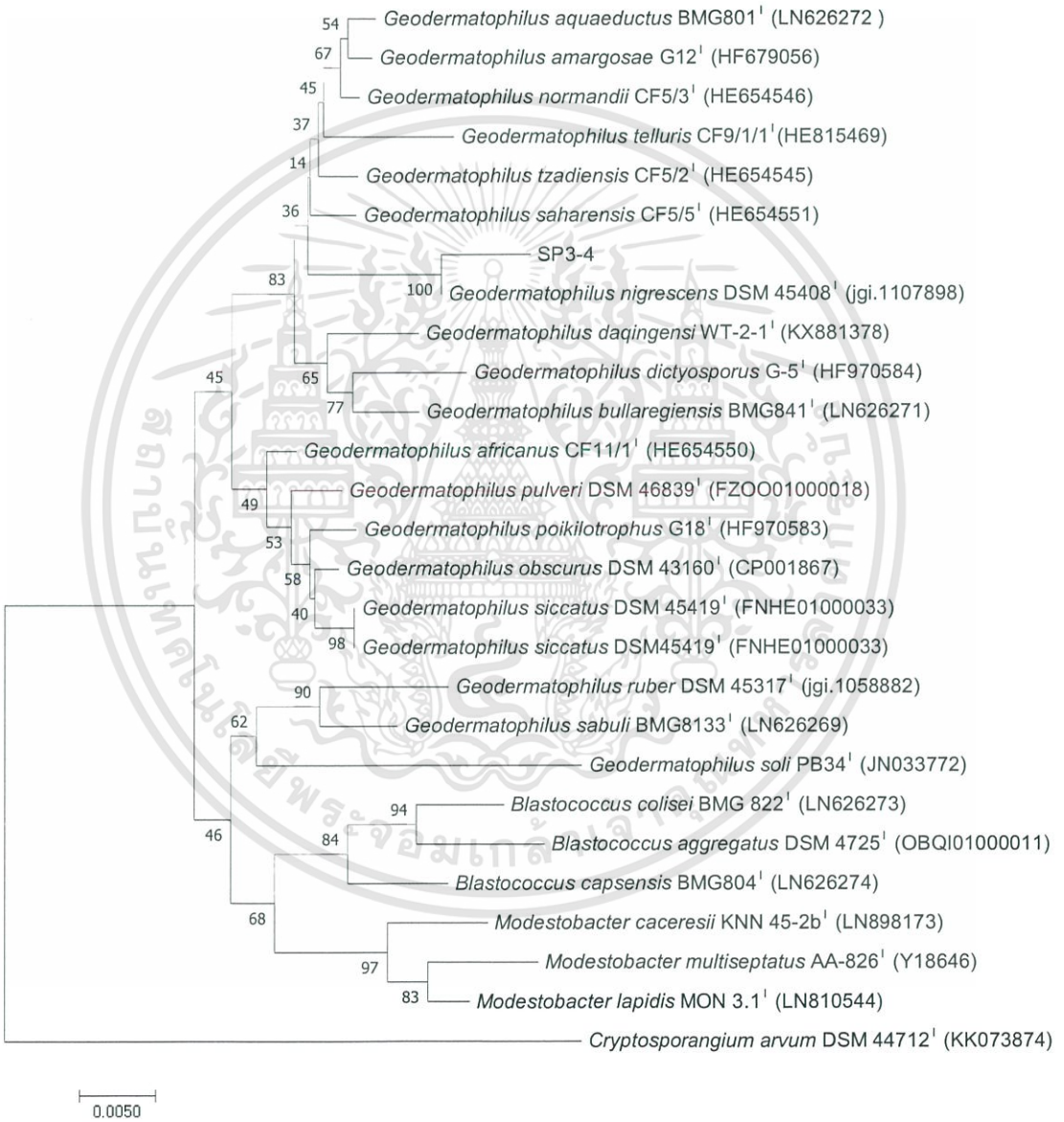
หมายเหตุ: ++ หมายถึง เชื้อสามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์หรือย่อยฟอสเฟตได้มาก
+ หมายถึง เชื้อสามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์หรือย่อยฟอสเฟตได้ปานกลาง
+/- หมายถึง เชื้อสามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์หรือย่อยฟอสเฟตได้น้อย
- หมายถึง เชื้อไม่สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์หรือย่อยฟอสเฟตได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 4.4 ผลการศึกษาการระบุชนิดของแอคติโนมัยสีท แบคทีเรียเบื้องต้น

4.4.1 การวิเคราะห์ลักษณะทางจีโนไทป์ของแอคติโนมัยสีท

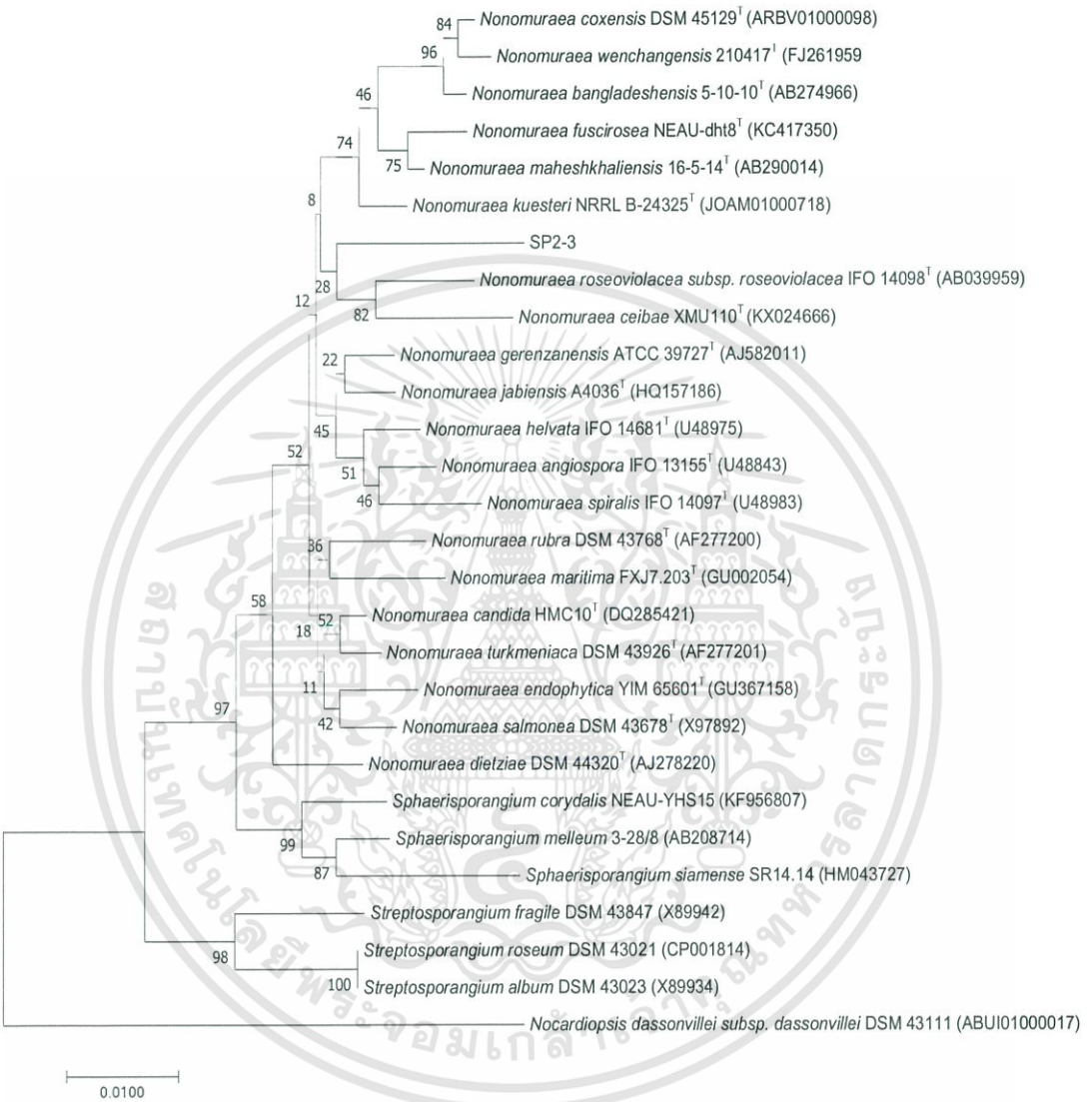
ทำการวิเคราะห์ลำดับเบสในช่วง 16S rRNA gene ของเชื้อแอคติโนมัยสีทได้ผลดังนี้ แอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP3-4 ทำการวิเคราะห์ลำดับเบสในช่วง 16S rRNA gene พบว่ามีความคล้ายคลึงกับ *Geodermatophilus nigrescens* DSM 45408$^{T}$ มากที่สุด ด้วยลำดับความคล้ายคลึงของนิวคีลโอไทด์ (% similarity) ร้อยละ 98.47 ที่ระดับความเชื่อมั่นของการทำซ้ำ (bootstrap values) บนต้นสายวิวัฒนาการ (phylogenetic tree) ร้อยละ 100 แสดงรูปที่ 4.107




**รูปที่ 4.63** แสดงตำแหน่งของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP3-4 บน phylogenetic tree (neighbor-joining method)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

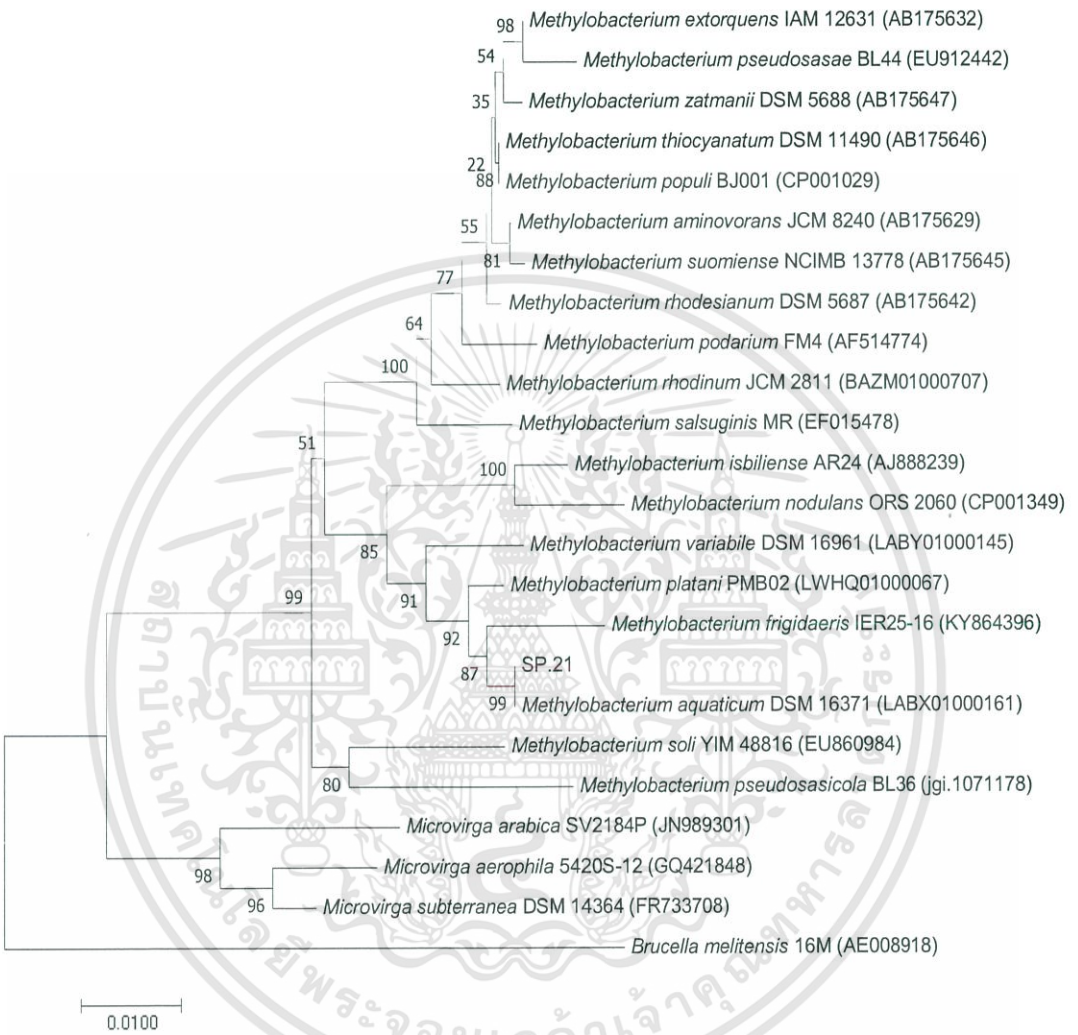
แอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP2-3 ทำการวิเคราะห์ล้าดับเบสในช่วง 16S rRNA gene พบว่ามีความคล้ายคลึงกับ *Nonomuraea gerenzanensis* ATCC 39727$^{T}$ มากที่สุด ด้วยลำดับความคล้ายคลึงของนิวคีลโอไทด์ (% similarity) ร้อยละ 97.50 ที่ระดับความเชื่อมั่นของการทำซ้ำ (bootstrap values) บนต้นสายวิวัฒนาการ (phylogenetic tree) ร้อยละ 28 แสดงรูปที่ 4.40




**รูปที่ 4.64** แสดงตำแหน่งของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SP2-3 บน phylogenetic tree (neighbor-joining method)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อแบคทีเรียไอโซเลต SB3-21 ทำการวิเคราะห์ลำดับเบสในช่วง 16S rRNA gene พบว่ามีความคล้ายคลึงกับ *Methylobacterium aquaticum* DSM 16371 มากที่สุด ด้วยลำดับความคล้ายคลึงของนิวคีลโอไทด์ (% similarity) ร้อยละ 99.15 ที่ระดับความเชื่อมั่นของการทำซ้ำ (bootstrap values) บนต้นสายวิวัฒนาการ (phylogenetic tree) ร้อยละ 99 แสดงรูปที่ 4.41




**รูปที่ 4.65** แสดงตำแหน่งของแบคทีเรียไอโซเลต SB3-21 บน phylogenetic tree (neighbor-joining method)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 5
# สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

## 5.1 สรุปผลการวิจัย

ในงานวิจัยนี้ หน่อกล้วยอ่อน 3 ตัวอย่างถูกนำมาสับละเอียดและนำไปใช้ในการหมักด้วยกับกากน้ำตาลเมื่อผ่านไปแล้ว 14 วัน

เมื่อนำน้ำหมักมาเกลี่ย (Spread plate) ลงบนอาหาร ZSSE ที่เติม Nystatin ความเข้มข้น 100 mg/L และ Nalidixic 50 mg/L แล้วทำให้เราสามารถแยกแอคติโนมัยสีท 7 ไอโซเลตจากการทดลองครั้งที่ 1 14 ไอโซเลตจากการทดลองครั้งที่ 2 และ 5 ไอโซเลตจากการทดลองครั้งที่ 3 รวมทั้งหมด 26 ไอโซเลตแล้วนำไปทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพทั้ง 4 ด้าน ได้แก่ความสามรถในการสร้างฮอร์โมน IAA ฮอร์โมน Gibberelin การสร้างซิเดอร์โรฟอร์ และความสามารถในการละลายฟอตเฟต

สำหรับแบคทีเรียนั้น เมื่อนำน้ำหมักมาเกลี่ย (Spread plate) ลงบนอาหาร NA ที่เติม Nystatin ความเข้มข้น 100 mg/L แล้ว เราสามารถแยกแบคทีเรียได้ 7 ไอโซเลตจากการทดลองครั้งที่ 1 7 ไอโซเลตจากการทดลองครั้งที่ 2 และอีก 7 ไอโซเลตจากการทดลองครั้งที่ 3 รวมทั้งหมด 21 ไอโซเลตแล้วนำไปทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพทั้ง 4 ด้านต่อไป

ก่อนหน้านี้มีงานวิจัยของ Zhang ในปี 2010 ที่ทดสอบใช้อาหารชนิดต่างๆในการแยกแอคติโนมัยสีทจากดิน โดยอาหาร ZSSE Agar นั้นมีประสิทธิภาพในการแยกเชื้อจากดินมากที่สุดคือที่ 6.22 cfu6/ml สามารถแยก *Micromonospora* และ *nonomuraea* ได้แต่แยก *Streptomycete* ได้น้อยที่สุด ส่วนแบคทีเรียนั้น Abdulkadir และ Waliyu ในปี 2011 ได้ใช้ NA แยกแบคทีเรียที่สามารถผลิตยาปฏิชีวนะจากดินได้ถึง 5 จีนัส และงานวิจัยของ Saha และ Santra ในปี 2014 ก็ใช้อาหารแข็ง NA ในการแยกเชื้อแบคทีเรียจากดินได้ถึง 9 สายพันธุ์

จากการทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของแอคติโนมัยสีทพบว่า 4 ไอโซเลตที่สามารถสร้าง IAA ได้มากที่สุดในอาหารเหลว ISP2 ที่เติมทริปโทเฟน 2 mg/ml คือ SP3-4 SP2-21 SP2-1 และ SP2-3 ผลิตได้ 238.130 217.301 202.504 และ 187.617 µg/ml ตามลำดับ และ 4 ไอโซเลตที่สามารถสร้าง IAA ได้มากที่สุดในอาหารเหลว 20% Soil Extract ที่เติมทริปโทเฟน 2 mg/ml คือ SP2-10 SP2-7 SP2-14 และ SP1-2 ผลิตได้ 18.272 10.682 9.925 และ 9.810 µg/ml ตามลำดับ

สำหรับแบคทีเรียนั้น จากการทดสอบพบว่า 4 ไอโซเลตที่สามารถสร้าง IAA ได้มากที่สุดในอาหารเหลว NB ที่เติมทริปโทเฟน 2 mg/ml คือ SB3-16 SB1-2 SB2-10 และ SB3-15 ผลิตได้ 1107.469 813.395 480.556 และ 409.815 µg/ml ตามลำดับ และ 4 ไอโซเลตที่สามารถสร้าง IAA ได้มากที่สุดในอาหารเหลว 20% Soil Extract ที่เติมทริปโทเฟน 2 mg/ml คือ SB2-10 SB2-9 SB3-21 และ SB1-2 ผลิตได้ 32.503 28.605 28.554 และ 25.477 µg/ml ตามลำดับ

มีหลายงานวิจัยที่ทดสอบการสร้าง IAA ของแอคติโนมัยสีทเช่น Qin และคณะในปี 2015 โดยใช้อาหาร Minimal Salt Medium เติมทริปโทเฟน 0.5 mg/ml ผลในวันที่ 7 พบว่า *Streptomyces globisporus* สามารถผลิตได้มากที่สุดคือ 9.14 µg/ml รองลงมาคือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*Streptomyces purpurascens* ผลิตได้ 7.87 µg/ml แต่ในงานของ Tamreihao และคณะ ปี 2016 ได้วัดการผลิต IAA ของแอคติโนมัยสีทโดยรายงานว่าในอาหารที่มีโภชนาการต่ำนั้นแอคติโนมัยสีทจะเจริญได้ดีสุดในวันที่ 7 และเริ่มลงลด แต่ฮอร์โมนนั้นจะสร้างมากขึ้นหลังวันที่ 7 จนถึงวันที่ 14 ทำให้ 14 วันเป็นช่วงการทดลองที่เหมาะสมที่สุด ซึ่งผลิตได้เยอะที่สุดคือ 29 µg/ml ในวันที่ 14 หลังถ่ายเชื้อลงไปในอาหาร และมีงานทดลองของ Vikram และคณะ ในปี 2007 ซึ่งเลี้ยง *Pseudomonas* ในอาหาร Czapek พบว่า7 วัน แบคทีเรียตัวนี้สามารถสร้าง IAA ได้มากที่สุด 13.14050 mg/25mL broth หรือ 0.526 µg/ml

สำหรับการสร้างฮอร์โมน Gibberellin นั้น 4 ไอโซเลตที่สามารถสร้าง GA ได้มากที่สุดในอาหารเหลว ISP2 ที่เติมทริปโทเฟน 2 mg/ml คือ SP2-24 SP3-5 23 SP2-13 และ SP1-22 ผลิตได้ 233.111 220.889 190.889 และ 167.926 µg/ml ตามลำดับ และ 4 ไอโซเลตที่สามารถสร้าง IAA ได้มากที่สุดในอาหารเหลว 20% Soil Extract ที่เติมทริปโทเฟน 2 mg/ml คือ SP3-4 SP1-11 SP2-3 และ SP1-22 ผลิตได้ 32.388 32.117 24.910 และ 23.919 µg/ml ตามลำดับ

ในส่วนของการสร้างฮอร์โมน Gibberellin นั้น 4 ไอโซเลตที่สามารถสร้าง GA ได้มากที่สุดในอาหารเหลว NB ที่เติมทริปโทเฟน 2 mg/ml คือ SB3-19 SB2-10 SB2-14 และ SB3-20 ผลิตได้ 565.802 557.741 528.728 และ 416.630 µg/ml ตามลำดับ และ 4 ไอโซเลตที่สามารถสร้าง GA ได้มากที่สุดในอาหารเหลว 20% Soil Extract ที่เติมทริปโทเฟน 2 mg/ml คือ SB1-2 SB3-16 SB3-18 และ SB3-19 ผลิตได้ 41.486 33.649 31.557 และ 29.414 µg/ml ตามลำดับ

ในปี 2007 Vikram และคณะ ได้ทดสอบฤทธิ์การสร้าง Gibberellin ของเชื้อ *Pseudomonas* ซึ่งผลิตได้มากที่สุดถึง 8.2519 mg/25mL broth หรือประมาณ 330 µg/ml ภายในเวลา 7 วัน ในอาหารที่อุดมสมบูรณ์ ซึ่งสอดคล้องกับงานของเราที่ผลิตได้มากที่สุดคือ 565.802 µg/ml ทั้งนี้ในงานวิจัยของ Kim และคณะในปี 2007 ได้ทดสอบเลี้ยง *Piriformospora indica* กับต้นผักกาด พบว่าเชื้อตัวนี้สามารถลดวันออกดอกจาก 25 วัน เหลือ 20 วันได้

ในส่วนของการสร้างซิเดอราฟอร์ของแอคติโนมัยสีท จากทั้งหมด 26 ไอโซเลต มี 20 ไอโซเลตที่สร้างซิเดอร์โรฟอร์บนอาหารแข็ง CAS-ISP2 ได้ และ 15 ไอโซเลตที่สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์บนอาหารแข็ง CAS-20% Soil Extract สุดท้ายสำหรับผลการละลายฟอสเฟตบนอาหาร NBRIP-BPB Agar นั้น จากทั้งหมด 16 ไอโซเลต มี 7 ไอโซเลตที่สามารถละลายแคลเซียมฟอตเฟตจากอาหารได้

จากแบคทีเรียทั้งหมด 21 ไอโซเลต มี 19 ไอโซเลตสามารถสังเคราะห์ซิเดอร์โรฟอร์บนอาหาร CAS-NA ได้ และ 15 ไอโซเลต ที่สามารถสังเคราะห์ซิเดอร์โรฟอร์บนอาหารแข็ง CAS-20% Soil Extract และจาก 21 ไอโซเลตนั้น มี 7 ไอโซเลตที่สามารถละลายฟอตเฟตบนอาหาร NBRIP-BPB Agar ได้

Qin และคณะ ในปี 2015 ได้ทำการแยกแอคติโนมัยสีทจากเนื้อเยื่อต่างๆของต้นสบู่ดำ มี 1 ไอโซเลตที่เป็นสายพันธุ์หายาก *Kibdelosporangium aridum* สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้และแยกได้มาจากเนื้อเยื่อส่วนรากเช่นเดียวกันกับงานของ Sridevi และคณะในปี 2008 ที่ศึกษาเกี่ยวกับการสังเคราะห์ซอเดอราฟอร์ของ *Rhizobium* ในปมรากถั่ว ผลคือแบคทีเรีย *Rhizobium* จะเริ่มสังเคราะห์ในชั่วโมงที่ 12 และสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้สูงสุดในชั่วโมงที่ 24 ในอาหารเหลว ส่วนแอคติโนมัยสีทนั้น Tamreihao และคณะในปี 2016 พบว่าสามารถสร้างได้เยอะที่สุดในวันที่ 7 บนทุกๆ อาหาร และในงานวิจัยเดียวกันนี้เอง Tamreihao ได้ทดสอบพบว่าแบคทีเรียจะละลายฟอสเฟตได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในสภาวะที่พีเอชต่ำๆ และจากงานวิจัยของ Hamdali และคณะในปี 2008 นั้นได้แยกจุลินทรีย์จากเหมืองหินมาทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟต พบว่า *Streptomyces griseus* สามารถละลายฟอสเฟตจากดินได้มากสุดถึง 30 µg/ml

หลังจากทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพแล้ว แอคติโนมัยสีท 2 ไอโซเลต และ แบคทีเรีย 1 ไอโซเลต ถูกเลือกมาวิเคราะห์ลักษณะทางจีโนไทป์ โดยแอคติโนมัยสีท 2 ไอโซเลตได้แก่ SP2-3 และ SP3-4 ถูกเลือกมาใช้เนื่องจากมีฤทธิ์ทางชีวภาพและลักษณะทางฟีโนไทป์ที่โดดเด่น เช่นเดียวกันกับไอโซเลต SB2-21 ของแบคทีเรีย

SB2-21 มีความสามารถในการผลิตฮอร์โมนทั้ง 2 ชนิดที่ดี แม้ในอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการต่ำอย่าง 20% Soil Extract Broth อีกทั้งยังสามารถผลิตซิเดอร์โรฟอร์ได้ทั้งบนอาหาร CAS-NB และ 20% Soil Extract Agar โดยผลจากการบลาสต์ผลบน EXBiocloud SB.21 มีลำดับนิวคลีโอไทด์บน 16s RNA ตรงกับ *Methylobacterium aquaticum* มากที่สุดที่ 99.15 %

ในงานของ Chauhan และคณะปี 2015 ได้อธิบายไว้ว่าเชื้อกลุ่ม *Methylobacterium* มีความสามารถอย่างมากในการส่งเสริมการเจริญเติบโตในด้านต่างๆ ทั้งการสังเคราะห์ฮอร์โมนพืช ได้แก่ Auxin Cytokinin Gibberellin การลดความตึงเครียดของพืชโดยการสังเคราะห์ ACC Deaminase ควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรคได้โดยการสร้างซิเดอราฟอร์ และ HCN และบางสายพันธุ์ตรึงไนโตรเจนได้ และจากการศึกษาจีโนมพบว่า *Methylobacterium aquaticum* มียีน rhbC ที่ควบคุมการสังเคราะห์ซิเดอราฟอร์ได้ และยังมีรายงานถึงความสามารถในการสร้างสาร Antioxidant ชนิดแรงอย่าง Ergothioneine อีกด้วย (Fujitani และคณะ 2018)

ไอโซเลต SP3-4 มีความสามารถในการสร้างฮอร์โมนพืชที่โดดเด่นที่สุดในทุกๆอาหาร มีลำดับนิวคลีโอไทด์บน 16s RNA ตรง*กับ Geodermatophilus nigrescens* มากที่สุดที่ 98.47% มีโคโลนีสีแดงไปจนดำ ลักษณะโคโลนีจะเกาะติดกับวุ้นแน่นและไม่สร้างไมซีเลียบนอาหาร

*Geodermatophilus nigrescens* เป็นสายพันธุ์ใหม่ที่คนพบในปี 2012 โดย Nie และคณะ แยกได้จากดินที่แห้งแล้งในทางตอนใต้ของจีน ยังไม่มีการทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพใดๆกับเชื้อตัวนี้เลย งานวิจัยนี้เป็นงานแรกที่ทดสอบฤทธิ์ในการสร้างฮอร์โมนพืชของเชื้อตัวนี้

ไอโซเลต SP2-3 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ตรงกับ *Nonomuraea gerenzanensis* อยู่ที่ 97.50% ซึ่งจัดอยู่ในเกณฑ์ของสายพันธุ์ใหม่ จึงจัดตั้งชื่อให้เป็น *Nonomuraea musa* มีความสามารถในการสร้างซิเดอราฟอร์ที่ดีทั้งบน CAS-ISP2 และ CAS-20% Soil Extract Agar และสังเคราะห์ฮอร์โมนพืชได้ดีมากๆเทียบเท่ากับ SP3-4

ในงานวิจัยของ Benhadj และคณะ ปี 2017 ได้ทดสอบความสามารถในการต้านจุลชีพของแอคติโนมัยสีทที่หายากหนึ่งในนั้นคือ *nonomuraea kuesteri* บนอาหาร ISP2 นั้น เชื้อสามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli Staphylococcus* และ *Enterobacter* ได้ในระดับดีจนถึงดีมาก และมีฤทธิ์ Antifungal ยับยั้งการเจริญของ *Candida* ได้ถึง 4 สายพันธุ์ และในงานวิจัยของ Nimnoi และคณะ ปี 2010 รายงานว่า *Nonomuraea rubra* สามารถสังเคราะห์ IAA และซิเดอร์โรฟอร์ได้อีกด้วย

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

งานของเราเป็นรากฐานแห่งการต่อยอดการนำแอคติโนมัยสีทและแบคทีเรียจากปุ๋ยชีวภาพที่เกษตรกรนิยมใช้ในปัจจุบันไปศึกษาต่ออีกมากมาย ทั้งในด้านของความหลากหลายของยีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาเชื้อตัวใหม่โครงสร้างในระดับโมเลกุล เพื่อเพิ่มความรู้ความเข้าใจให้ผู้ศึกษาค้นคว้า ในส่วนของภาคการเกษตรนั้น สามารถนำเชื้อเหล่านี้ไปแปรรูปให้อยู่ในรูปที่พร้อมใช้งานอย่างเช่นแบบผงหรือน้ำจะเป็นการเพิ่มผลผลิตที่ปลอดภัย และหากพิจารณาจากกำลังผลิตของเชื้อในด้านของฮอร์โมนพืชจะเห็นได้ว่าเหมาะจะนำไปศึกษาเพื่อประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรมมาก อีกทั้งความสามารถในการสร้างสารยับยั้งเชื้อรายังเหมาะต่อการนำไปศึกษาค้นคว้ายาปฏิชีวนะตัวใหม่ได้อีกด้วย



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# เอกสารอ้างอิง

มหัศจรรย์จุลินทรีย์ Vs หน่อกลวัย ฉบับสมบูรณ์ที่สุดในประเทศไทย!! (ระบบออนไลน์) แหล่งที่มา : https://www.rakbankerd.com/agriculture/page.php?id=10069&s=tblplant (15 สิงหาคม พ.ศ. 2560)

Benhadj M., Djamila Gacemi-Kirane a, Taha M.b., Khaoula G.b., Zina A. (2018) "Screening of rare actinomycetes isolated from natural wetland ecosystem (Fetzara Lake, northeastern Algeria) for hydrolytic enzymes and antimicrobial activities". Journal of King Saud University.

CHWYN B., NEILANDS B. (1987) "Universal Chemical Assay for the Detection and Determination of Siderophores" ANALYTICAL BIOCHEMISTRY 160, หน้า 47-56Fujitani Y., Alamgir K.V., และ Tani A. (2018) "Ergothioneine production using *Methylobacterium* species, yeast, and fungi" Journal of Bioscience and Bioengineering Volume 125, Issue 2 หน้า 141-258.

GUPTA R., SINGAL R., SHANKAR A., KUHAD R.C., และ SAXENA R.K. (1994) "Short A MODIFIED PLATE ASSAT For sCREENING PHOSPHATE" Applied Microbiology 40 หน้า 255-260

Hamdali H., Bouizgarne B., Hafidi M., Lebrihi A., Virolle M.J., Ouhdouch Y. (2008) "Screening for rock phosphate solubilizing Actinomycetes from Moroccan phosphate mines." applied soil ecology 38 (2008) หน้า 12–19

Kim D., Abdelaziz M.E., Ntui V.O., Guo X., Salim A.B. (2017) "Colonization by the endophyte Piriformospora indica leads to early flowering in Arabidopsis thaliana likely by triggering gibberellin biosynthesis." Biochemical and Biophysical Research Communications 490 (2017) หน้า 1162-1167

Mehtav S., Nautiyal C.S. (2001) "An Efficient Method for Qualitative Screening of Phosphate-Solubilizing Bacteria." Current Microbiology Vol. 43 (2001), หน้า 51–56

Ming H, Li S, Zhou EM, Cheng J, Yu TT, Zhang J, Feng HG, Tang SK, Li WJ. (2012) "*Geodermatophilus nigrescens* sp. nov., isolated from a dry-hot valley." Antonie van Leeuwenhoek Volume 101, Issue 4, หน้า 811–817

Nan Z., Xin H., Zhang J., RAZA W., YANG X. M., RUAN Y. Z., SHEN Q. R., และ HUANG Q. W. (2014) "Suppression of *Fusarium* Wilt of Banana with Application of Bio-Organic Fertilizers." Pedosphere 24(5): หน้า 613–624.

PALEG L. G.(1965) "PHYSIOLOGICAL EFFECTS OF GIBBERELLINS" Plant Physiology 1965.16: หน้า 291-32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Qin a.S., Qian M.a., Feng W.a., Wang Y.a., Zhu x.a., Xing K.c., Jiang J.H. (2015) "Biodiversity and plant growth promoting traits of culturable endophytic actinobacteria associated with Jatropha curcas L. growing in Panxi dry-hot valley soil." Applied Soil Ecology 93 หน้า 47–55

Saha A., และ Santra S.C. (2014) "Isolation and Characterization of Bacteria Isolated from Municipal Solid Waste for Production of Industrial Enzymes and Waste Degradation." Journal of Microbiology & Experimentation .Volume 1 Issue 1 - 2014

Sridevi M., Kumar K.G., และ Mallaiah K.V. (2008) "Production of Catechol-type of Siderophores by *Rhizobium* sp. Isolated from Stem Nodules of *Sesbania procumbens* (Roxb.) Research Journal of Microbiology Volume 3 (4): หน้า 282-287.

Tamreihaoa K., Ningthoujama D.S., Nimaichanda. Singha E.S., Reenac P., Singhc S.H., Nongthomba U. (2016) "Biocontrol and plant growth promoting activities of a Streptomyces corchorusii strain UCR3-16 and preparation of powder formulation for application as biofertilizer agents for rice plant" Microbiological Research 192 (2016) หน้า 260–270

Tani A., Ogura Y, Hayashi, และ Kazuhide Kimbaraa. (2015) "Complete Genome Sequence of *Methylobacterium aquaticum* Strain 22A, Isolated from *Racomitrium japonicum* Moss." Genome Announc. March/April 2015 vol. 3 no. 2

Vikram A., Hamzahzarghani H., LAGAWADI A.R., KRISHNARAJ P.U. และ Chandrashekar B.S. (2007) "Prodution of Plant Growth Promoting Substances by Phosphate Solubilizing Bacteria Isolated from Vertisoils." Journal of Plant Sciences 2 (3): หน้า 326-333.

Zhang J., (2011) "Improvement of an Isolation Medium for Actinomycetes" Modern Applied Science Vol. 5, No. 2.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ก
# สูตรอาหาร

**Yeast extract – malt extract agar (ISP2)**

| | | |
|---|---|---|
| Glucose | 4.0 | กรัม |
| Yeast extract | 4.0 | กรัม |
| Malt extract | 10.0 | กรัม |
| Agar | 18.0 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1 | ลิตร |

pH 7.3
นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

**Zhang's Starch Soil Extract agar (ZSSE)**

| | | |
|---|---|---|
| Soluble starch | 5.0 | กรัม |
| KNO | 1.0 | กรัม |
| Soil extract solution | 1 | ลิตร |
| Agar | 18.0 | กรัม |

pH 7.2
นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

**Soil extract**

| | | |
|---|---|---|
| Humic soil | 1 | กิโลกรัม |
| น้ำกลั่น | 1 | ลิตร |

ทำผสมกันจากนั้นกรองดินด้วยผ้าขาวบางทำการตกตะกอนดิน
ด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วรอบที่ 4500 rpm นำส่วนใสไป
นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

**Nutrient agar (NA)**

| | | |
|---|---|---|
| Peptone | 5.0 | กรัม |
| Beef extract | 3.0 | กรัม |
| Agar | 15.0 | กรัม |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ข

# กระดาษสีมาตรฐาน

กระดาษสีมาตรฐาน (the NBS/IBCC color system, Mundie 1995)

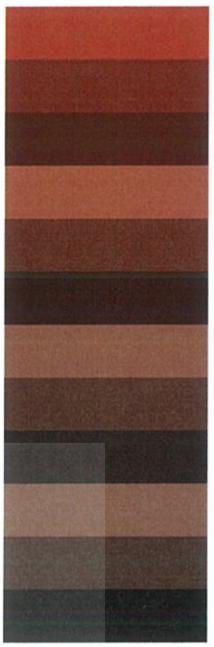
| Centroid | Munsell | RGB | Swatch |
|---|---|---|---|
| | **Red, Pink** | | |
| 1 Vivid Pink | 1r 8.0 13.0 | #FF7E93 | |
| 2 Strong Pink | 1.2r 6.9 8.2 | #FD7B7C | |
| 3 Deep Pink | 2.1r 6.0 11.1 | #F3545E | |
| 4 Light Pink | 2.6r 8.5 4.0 | #FFBCAD | |
| 5 Moderate Pink | 2.8r 7.2 5.3 | #EE9086 | |
| 6 Dark Pink | 2.7r 5.9 6.1 | #C76864 | |
| 7 Pale Pink | 2.0r 8.7 2.1 | #FFCBBB | |
| 8 Grayish Pink | 2.6r 7.2 2.3 | #CF9B8F | |
| 9 Pinkish White | 5.8r 9.0 0.8 | #F9DBC8 | |
| 10 Pinkish Gray | 9.8r 7.4 1.0 | #C8A696 | |
| 11 Vivid Red | 5.0r 3.9 15.4 | #C10020 | |
| 12 Strong Red | 4.0r 4.4 12.1 | #BF2233 | |
| 13 Deep Red | 5.1r 2.8 10.1 | #7B001C | |
| 14 Very Deep Red | 6.5r 1.7 8.4 | #4F0014 | |
| 15 Moderate Red | 3.8r 4.4 9.1 | #AB343A | |
| 16 Dark Red | 4.0r 2.8 6.8 | #681C23 | |
| 17 Very Dark Red | 2.0r 1.2 4.8 | #320A18 | |
| 18 Light Grayish Red | 5.3r 5.9 3.5 | #B17267 | |
| 19 Grayish Red | 4.0r 4.4 4.8 | #8C4743 | |
| 20 Dark Grayish Red | 2.9r 2.7 2.1 | #482A2A | |
| 21 Blackish Red | 3.9r 0.8 1.7 | #1F0E11 | |
| 22 Reddish Gray | 7.0r 5.4 1.3 | #8B6C62 | |
| 23 Dark Reddish Gray | 6.0r 3.4 1.0 | #523C36 | |
| 24 Reddish Black | 2.0r 0.9 0.9 | #1E1112 | |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| Yellowish Pink | | |
|---|---|---|
| 25 Vivid Yellowish Pink | 8.0r 8.0 13.0 | #FF845C |
| 26 Strong Yellowish Pink | 8.4r 7.0 9.5 | #FF7A5C |
| 27 Deep Yellowish Pink | 5.5r 5.8 12.1 | #F64A46 |
| 28 Light Yellowish Pink | 1.9yr 8.2 4.6 | #FFB28B |
| 29 Moderate Yellowish Pink | 0.7yr 7.2 4.9 | #EE9374 |
| 30 Dark Yellowish Pink | 7.0r 6.0 6.1 | #CC6C5C |
| 31 Pale Yellowish Pink | 4.2yr 8.6 2.2 | #FFC8A8 |
| 32 Grayish Yellowish Pink | 1.3yr 7.2 2.4 | #D39B85 |
| **Reddish Orange, Reddish Brown** | | |
| 33 Brownish Pink | 7.0yr 7.1 2.3 | #CD9A7B |
| 34 Vivid Reddish Orange | 9.8r 5.4 14.5 | #F13A13 |
| 35 Strong Reddish Orange | 9.3r 5.4 12.2 | #FFB961 |
| 36 Deep Reddish Orange | 9.2r 3.9 12.1 | #A91D11 |
| 37 Moderate Reddish Orange | 9.3r 5.5 9.2 | #D35339 |
| 38 Dark Reddish Orange | 9.3r 4.0 9.1 | #9B2F1F |
| 39 Grayish Reddish Orange | 0.4yr 5.4 6.2 | #B85D43 |
| 40 Strong Reddish Brown | 0.3yr 3.1 9.9 | #7F180D |
| 41 Deep Reddish Brown | 1.6yr 1.5 8.3 | #490005 |
| 42 Light Reddish Brown | 0.5yr 5.5 4.1 | #AA6651 |
| 43 Moderate Reddish Brown | 9.0r 3.4 5.2 | #712F26 |
| 44 Dark Reddish Brown | 9.6r 1.3 3.6 | #321011 |
| 45 Light Grayish Reddish Brown | 2.9yr 5.4 2.3 | #966A57 |
| 46 Grayish Reddish Brown | 9.0r 3.4 2.4 | #5E3830 |
| 47 Dark Grayish Reddish Brown | 9.0r 2.0 2.0 | #371F1C |
| **Orange Brown** | | |
| 48 Vivid Orange | 4.1yr 6.5 15.0 | #FF6800 |
| 49 Brilliant Orange | 4.0yr 9.0 12.0 | #FFB841 |
| 50 Strong Orange | 4.3yr 6.5 12.2 | #FF6F1A |
| 51 Deep Orange | 4.1yr 5.1 11.3 | #C34D0A |
| 52 Light Orange | 4.8yr 7.8 7.2 | #FFA161 |
| 53 Moderate Orange | 4.6yr 6.5 8.2 | #E8793E |

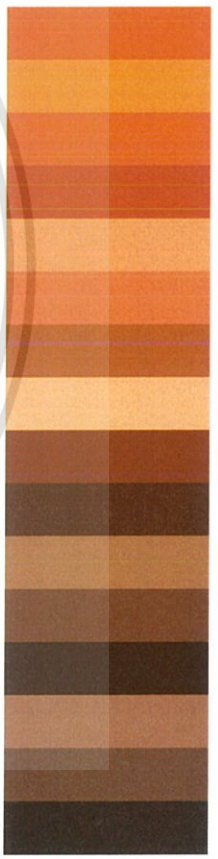
เอกสารนี้จัดเตรียมไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | | |
|---|---|---|
| 54 Brownish Orange | 4.1yr 5.0 8.0 | #B15124 |
| 55 Strong Brown | 4.6yr 3.5 7.6 | #753313 |
| 56 Deep Brown | 5.6yr 2.4 5.2 | #4D220E |
| 57 Light Brown | 5.4yr 5.4 4.8 | #A86540 |
| 58 Moderate Brown | 5.6yr 3.5 3.9 | #673923 |
| 59 Dark Brown | 5.3yr 1.6 3.4 | #35170C |
| 60 Light Grayish Brown | 6.4yr 5.4 2.2 | #946B54 |
| 61 Grayish Brown | 5.5yr 3.5 1.8 | #5A3D30 |
| 62 Dark Grayish Brown | 5.5yr 2.0 1.5 | #32221A |
| 63 Light Brownish Gray | 7.0yr 5.4 1.2 | #8B6D5C |
| 64 Brownish Gray | 5.65r 3.4 0.9 | #503D33 |
| 65 Brownish Black | 7.8yr 0.6 0.9 | #140F0B |



Orange Yellow, Yellowish Brown

| | | |
|---|---|---|
| 66 Vivid Orange Yellow | 8.6yr 7.3 15.2 | #FF8E00 |
| 67 Brilliant Orange Yellow | 0.1y 8.1 10.5 | #FFB02E |
| 68 Strong Orange Yellow | 9.1yr 7.1 11.6 | #FF8E0D |
| 69 Deep Orange Yellow | 8.6yr 6.0 12.1 | #D76E00 |
| 70 Light Orange Yellow | 9.4yr 8.3 6.8 | #FFB961 |
| 71 Moderate Orange Yellow | 8.7yr 7.2 8.3 | #F7943C |
| 72 Dark Orange Yellow | 9.3yr 6.0 7.9 | #C37629 |
| 73 Pale Orange Yellow | 9.2yr 8.7 4.4 | #FFCA86 |
| 74 Strong Yellowish Brown | 8.8yr 4.6 8.5 | #95500C |
| 75 Deep Yellowish Brown | 8.8yr 3.1 5.0 | #593315 |
| 76 Light Yellowish Brown | 8.7yr 6.5 5.0 | #BB8B54 |
| 77 Moderate Yellowish Brown | 9.5yr 4.4 3.9 | #7D512D |
| 78 Dark Yellowish Brown | 9.4yr 2.3 3.3 | #3F2512 |
| 79 Light Grayish Yellowish Brown | 9.7yr 6.4 2.5 | #B48764 |
| 80 Grayish Yellowish Brown | 9.5yr 4.6 2.1 | #785840 |
| 81 Dark Grayish Yellowish Brown | 8.8yr 2.5 1.6 | #3D2B1F |

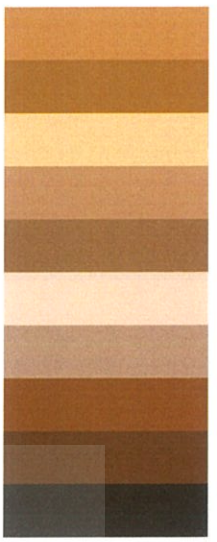


Yellow, Olive Brown

| | | |
|---|---|---|
| 82 Vivid Yellow | 3.3y 8.0 14.3 | #FFB300 |
| 83 Brilliant Yellow | 4.4y 8.7 8.9 | #FFCF40 |
| 84 Strong Yellow | 3.7y 7.2 9.3 | #E59E1F |
| 85 Deep Yellow | 3.7y 5.9 9.1 | #B57900 |
| 86 Light Yellow | 4.3y 8.8 6.8 | #FFD35F |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | | |
|---|---|---|
| 87 Moderate Yellow | 3.8y 7.1 6.5 | #D79D41 |
| 88 Dark Yellow | 3.9y 6.0 6.4 | #B07D2B |
| 89 Pale Yellow | 4.7y 9.0 3.8 | #FFDB8B |
| 90 Grayish Yellow | 4.4y 7.2 3.8 | #CEA262 |
| 91 Dark Grayish Yellow | 3.8y 5.9 4.0 | #A47C45 |
| 92 Yellowish White | 4.5y 9.2 1.2 | #FFE2B7 |
| 93 Yellowish Gray | 3.8y 7.4 1.4 | #CAA885 |
| 94 Light Olive Brown | 2.1y 4.9 7.9 | #945D0B |
| 95 Moderate Olive Brown | 2.7y 3.6 5.5 | #64400F |
| 96 Dark Olive Brown | 2.0y 1.9 2.2 | #302112 |



Greenish Yellow, Olive

| | | |
|---|---|---|
| 97 Vivid Greenish Yellow | 9.1y 8.2 12.0 | #F4C800 |
| 98 Brilliant Greenish Yellow | 9.8y 8.8 9.5 | #FFDC33 |
| 99 Strong Greenish Yellow | 9.2y 7.2 9.2 | #CCA817 |
| 100 Deep Greenish Yellow | 9.2y 5.9 9.2 | #9F8200 |
| 101 Light Greenish Yellow | 9.8y 8.9 7.0 | #FFDE5A |
| 102 Moderate Greenish Yellow | 9.5y 7.1 6.5 | #C4A43D |
| 103 Dark Greenish Yellow | 9.4y 5.9 6.3 | #9B8127 |
| 104 Pale Greenish Yellow | 9.5y 9.0 4.2 | #FFDF84 |
| 105 Grayish Greenish Yellow | 9.0y 7.2 3.9 | #C4A55F |
| 106 Light Olive | 8.2y 5.1 5.6 | #846A20 |
| 107 Moderate Olive | 7.6y 3.8 5.4 | #5E490F |
| 108 Dark Olive | 8.9y 2.4 3.1 | #362C12 |
| 109 Light Grayish Olive | 7.85y 5.5 2.5 | #8B734B |
| 110 Grayish Olive | 8.0y 3.6 2.0 | #52442C |
| 111 Dark Grayish Olive | 9.7y 2.0 1.8 | #2B2517 |
| 112 Light Olive Gray | 6.9y 5.5 1.3 | #887359 |
| 113 Olive Gray | 8.1y 3.5 0.9 | #4D4234 |
| 114 Olive Black | 9.0y 1.1 0.9 | #121910 |

Yellow Green, Olive Green

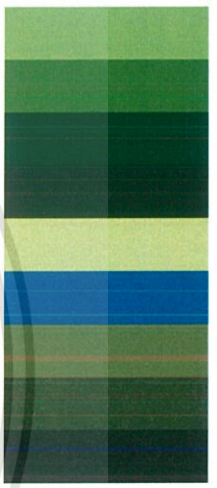
| | | |
|---|---|---|
| 115 Vivid Yellowish Green | 5.4gy 6.8 11.2 | #93AA00 |
| 116 Brilliant Yellow Green | 4.9gy 8.2 9.1 | #CED23A |
| 117 Strong Yellow Green | 5.4gy 6.0 8.7 | #7F8F18 |
| 118 Deep Yellow Green | 7.4gy 4.2 7.1 | #425E17 |
| 119 Light Yellow Green | 5.0gy 8.4 5.6 | #DCD36A |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | | |
|---|---|---|
| 120 Moderate Yellow Green | 4.8gy 6.0 5.0 | #8B8940 |
| 121 Pale Yellowish Green | 3.4gy 8.7 2.4 | #F0D698 |
| 122 Grayish Yellowish Green | 4.4gy 6.0 2.3 | #90845B |
| 123 Strong Olive Green | 4.0gy 3.0 11.0 | #0A4500 |
| 124 Deep Olive Green | 4.0gy 1.5 11.0 | #142300 |
| 125 Moderate Olive Green | 5.7gy 3.6 4.8 | #434B1B |
| 126 Dark Olive Green | 8.0gy 2.2 3.6 | #232C16 |
| 127 Grayish Olive Green | 4.6gy 3.5 2.0 | #48442D |
| 128 Dark Grayish Olive Green | 5.4gy 2.0 1.8 | #27261A |
| 129 Vivid Yellowish Green | 1.1g 5.9 11.2 | #379931 |

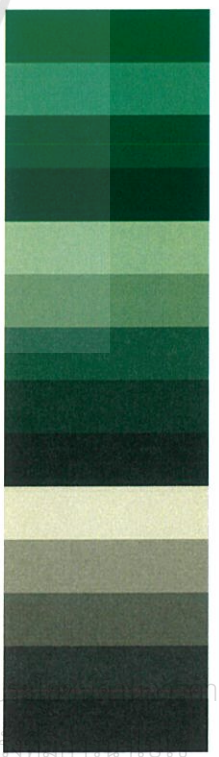
Yellowish Green

| | | |
|---|---|---|
| 130 Brilliant Yellowish Green | 0.3g 7.7 8.6 | #8CCB5E |
| 131 Strong Yellowish Green | 0.4g 5.4 8.7 | #478430 |
| 132 Deep Yellowish Green | 0.9g 3.5 9.0 | #00541F |
| 133 Very Deep Yellowish Green | 10.0gy 1.5 11.0 | #002800 |
| 134 Very Light Yellowish Green | 0.2g 8.6 4.6 | #C6DF90 |
| 135 Light Yellowish Green | 0.7g 7.4 5.2 | #007BA7 |
| 136 Moderate Yellowish Green | 0.5g 5.5 4.8 | #657F4B |
| 137 Dark Yellowish Green | 0.6g 3.5 5.0 | #304B26 |
| 138 Very Dark Yellowish Green | 0.3g 1.8 4.3 | #132712 |



Green

| | | |
|---|---|---|
| 139 Vivid Green | 3.2g 4.9 11.1 | #007D34 |
| 140 Brilliant Green | 6.2g 6.5 8.3 | #47A76A |
| 141 Strong Green | 5.8g 4.4 8.7 | #006B3C |
| 142 Deep Green | 5.1g 3.0 8.1 | #004524 |
| 143 Very Light Green | 6.5g 7.8 4.9 | #98C793 |
| 144 Light Green | 6.0g 6.4 5.1 | #719B6E |
| 145 Moderate Green | 6.3g 4.5 5.1 | #386646 |
| 146 Dark Green | 6.6g 2.8 4.6 | #203A27 |
| 147 Very Dark Green | 8.0g 1.8 3.0 | #16251C |
| 148 Very Pale Green | 7.3g 8.8 1.9 | #D8DEBA |
| 149 Pale Green | 7.6g 6.4 1.7 | #8D917A |
| 150 Grayish Green | 8.8g 4.5 1.8 | #575E4E |
| 151 Dark Greenish Yellowish Green | 1.0bg 2.9 1.8 | #313830 |
| 152 Blackish Green | 10.0g 1.0 1.4 | #141613 |



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

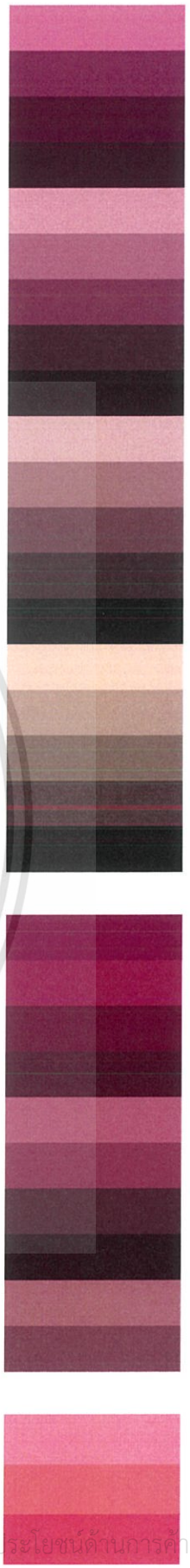
| | | |
|---|---|---|
| 153 Greenish White | 10.0g 9.2 0.8 | #F5E6CB |
| 154 Light Greenish Gray | 3.0g 7.5 0.9 | #BAAF96 |
| 155 Greenish Gray | 7.5g 5.5 1.0 | #7A7666 |
| 156 Dark Greenish Gray | 1.5bg 3.5 0.9 | #45433B |
| 157 Greenish Black | 8.7g 1.0 0.7 | #181513 |
| Bluish Green | | |
| 158 Vivid Bluish Green | 5.0bg 5.0 13.0 | #00836E |
| 159 Brilliant Bluish Green | 2.9bg 6.0 9.6 | #009B76 |
| 160 Strong Bluish Green | 4.6bg 4.5 8.5 | #006D5B |
| 161 Deep Bluish Green | 2.8bg 2.4 8.3 | #00382B |
| 162 Very Light Bluish Green | 4.4bg 8.3 4.6 | #A0D6B4 |
| 163 Light Bluish Green | 4.6bg 6.5 4.9 | #669E85 |
| 164 Moderate Bluish Green | 4.6bg 4.5 5.0 | #2F6556 |
| 165 Dark Bluish Green | 4.9bg 2.7 5.0 | #013A33 |
| 166 Very Dark Bluish Green | 3.6bg 1.2 4.0 | #001D18 |
| 167 Vivid Greenish Blue | 5.0b 5.0 13.0 | #007BA7 |
| Greenish Blue | | |
| 168 Brilliant Greenish Blue | 4.6b 5.9 7.7 | #2A8D9C |
| 169 Strong Greenish Blue | 4.9b 4.5 8.4 | #00677E |
| 170 Deep Greenish Blue | 5.0b 5.0 13.0 | #007BA7 |
| 171 Very Light Greenish Blue | 4.0b 8.0 4.0 | #A3C6C0 |
| 172 Light Greenish Blue | 4.5b 6.5 5.4 | #649A9E |
| 173 Moderate Greenish Blue | 4.7b 4.5 5.2 | #30626B |
| 174 Dark Greenish Blue | 3.7b 2.7 5.0 | #003841 |
| 175 Very Dark Greenish Blue | 5.0b 1.5 3.6 | #022027 |
| Blue | | |
| 176 Vivid Blue | 5.0b 5.0 14.0 | #007CAD |
| 177 Brilliant Blue | 1.6pb 5.9 9.4 | #4285B4 |
| 178 Strong Blue | 2.9pb 4.1 10.4 | #00538A |
| 179 Deep Blue | 2.8pb 2.5 7.9 | #002F55 |
| 180 Very Light Blue | 2.7pb 7.9 6.0 | #A6BDD7 |
| 181 Light Blue | 1.6pb 6.4 6.9 | #6C92AF |
| 182 Moderate Blue | 3.0pb 4.3 6.8 | #395778 |
| 183 Dark Blue | 2.2pb 1.7 5.5 | #002137 |
| 184 Very Pale Blue | 1.5pb 8.3 3.3 | #C1CACA |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | | |
|---|---|---|
| 185 Pale Blue | 0.6pb 6.5 2.6 | #919192 |
| 186 Grayish Blue | 0.2pb 4.2 3.0 | #4A545C |
| 187 Dark Grayish Blue | 9.2b 2.7 2.0 | #2C3337 |
| 188 Blackish Blue | 9.8b 1.3 1.5 | #161A1E |
| 189 Bluish White | 9.2b 9.1 1.2 | #F9DFCF |
| 190 Light Bluish Gray | 8.2b 7.5 1.0 | #BEADA1 |
| 191 Bluish Gray | 8.9b 5.5 0.9 | #7D746D |
| 192 Dark Bluish Gray | 0.3pb 3.6 1.1 | #464544 |
| 193 Bluish Black | 9.6b 1.1 0.8 | #151719 |
| Purplish Blue | | |
| 194 Very Purplish Blue | 7.8pb 2.0 12.5 | #20155E |
| 195 Brilliant Purplish Blue | 7.3pb 5.1 9.0 | #62639B |
| 196 Strong Purplish Blue | 8.0pb 4.0 10.9 | #474389 |
| 197 Deep Purplish Blue | 7.8pb 1.5 8.0 | #1A153F |
| 198 Very Light Purplish Blue | 7.4pb 7.6 5.2 | #BAACC7 |
| 199 Light Purplish Blue | 7.3pb 6.0 6.5 | #837DA2 |
| 200 Moderate Purplish Blue | 7.9pb 3.5 6.5 | #423C63 |
| 201 Dark Purplish Blue | 8.0pb 1.3 4.3 | #1A162A |
| 202 Very Pale Purplish Blue | 7.0pb 8.0 3.7 | #CBBAC5 |
| 203 Pale Purplish Blue | 7.0pb 6.0 3.9 | #8A7F8E |
| 204 Grayish Purplish Blue | 6.9pb 3.4 3.8 | #413D51 |
| Violet | | |
| 205 Vivid Violet | 2.0p 5.0 14.0 | #884BAE |
| 206 Brilliant Violet | 9.9pb 5.1 9.4 | #755D9A |
| 207 Strong Violet | 0.2p 3.7 10.1 | #53377A |
| 208 Deep Violet | 1.1p 1.2 8.6 | #240935 |
| 209 Very Light Violet | 2.0p 8.5 7.0 | #EEBEF1 |
| 210 Light Violet | 0.5p 5.6 7.1 | #876C99 |
| 211 Moderate Violet | 1.4p 3.6 7.0 | #543964 |
| 212 Dark Violet | 1.4p 1.3 4.9 | #22132B |
| 213 Very Pale Violet | 9.7pb 7.9 3.7 | #D8B1BF |
| 214 Pale Violet | 1.3p 6.0 4.0 | #957B8D |
| 215 Grayish Violet | 1.2p 3.3 3.9 | #46394B |
| Purple | | |
| 216 Vivid Purple | 6.0p 4.5 14.0 | #943391 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | | |
|---|---|---|
| 217 Brilliant Purple | 6.0p 7.0 11.0 | #DD80CC |
| 218 Strong Purple | 6.5p 4.3 9.2 | #803E75 |
| 219 Deep Purple | 6.3p 2.7 9.1 | #531A50 |
| 220 Very Deep Purple | 5.0p 1.5 8.0 | #320B35 |
| 221 Very Light Purple | 6.5p 7.8 5.1 | #E3A9BE |
| 222 Light Purple | 6.2p 6.5 6.5 | #BA7FA2 |
| 223 Moderate Purple | 6.6p 4.5 7.1 | #7F4870 |
| 224 Dark Purple | 6.3p 2.8 4.9 | #472A3F |
| 225 Very Dark Purple | 6.9p 1.0 4.5 | #230D21 |
| 226 Very Pale Purple | 5.5p 8.2 3.2 | #E6BBC1 |
| 227 Pale Purple | 7.9p 6.4 3.1 | #AE848B |
| 228 Grayish Purple | 8.1p 4.5 2.7 | #72525C |
| 229 Dark Grayish Purple | 0.5rp 2.8 2.0 | #452D35 |
| 230 Blackish Purple | 0.8rp 0.9 1.6 | #1D1018 |
| 231 Purplish White | 2.5rp 9.0 0.8 | #FADBC8 |
| 232 Light Purplish Gray | 0.3rp 7.5 1.1 | #C8A99E |
| 233 Purplish Gray | 1.0rp 5.5 0.9 | #88706B |
| 234 Dark Purplish Gray | 1.0rp 3.6 1.0 | #564042 |
| 235 Purplish Black | 9.54p 0.9 0.6 | #1B1116 |
| Reddish Purple | | |
| 236 Vivid Reddish Purple | 1.0rp 3.0 14.0 | #7E0059 |
| 237 Strong Reddish Purple | 1.3rp 4.4 10.2 | #9A366B |
| 238 Deep Reddish Purple | 1.0rp 2.8 9.5 | #641349 |
| 239 Very Deep Reddish Purple | 0.9rp 1.9 8.9 | #470736 |
| 240 Light Reddish Purple | 0.7rp 6.0 6.9 | #BB6C8A |
| 241 Moderate Reddish Purple | 0.8rp 4.5 7.0 | #8C4566 |
| 242 Dark Reddish Purple | 1.3rp 2.8 4.8 | #4F273A |
| 243 Very Dark Reddish Purple | 1.5rp 1.0 4.8 | #270A1F |
| 244 Pale Reddish Purple | 1.3rp 6.0 4.2 | #AC7580 |
| 245 Grayish Reddish Purple | 1.0rp 4.5 4.2 | #7D4D5D |
| Purplish Pink, Purplish Red | | |
| 246 Brilliant Purplish Pink | 6.0rp 8.5 11.0 | #FF97BB |
| 247 Strong Purplish Pink | 5.6rp 6.8 9.0 | #F6768E |
| 248 Deep Purplish Pink | 4.4rp 6.0 12.2 | #EB5284 |



เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | | |
|---|---|---|
| 249 Light Purplish Pink | 4.6rp 8.0 5.5 | #FFA8AF |
| 250 Moderate Purplish Pink | 4.6rp 6.8 6.7 | #E28090 |
| 251 Dark Purplish Pink | 6.4rp 5.9 7.0 | #C76574 |
| 252 Pale Purplish Pink | 3.7rp 8.4 3.3 | #FDBDBA |
| 253 Grayish Purplish Pink | 3.7rp 7.0 3.5 | #CC9293 |
| 254 Vivid Purplish Red | 7.6rp 4.9 13.6 | #D5265B |
| 255 Strong Purplish Red | 7.3rp 4.4 11.4 | #B32851 |
| 256 Deep Purplish Red | 7.3rp 2.6 10.1 | #6F0035 |
| 257 Very Deep Purplish Red | 6.8rp 1.7 8.0 | #470027 |
| 258 Moderate Purplish Red | 7.1rp 4.5 9.0 | #A73853 |
| 259 Dark Purplish Red | 7.1rp 2.7 6.0 | #5B1E31 |
| 260 Very Dark Purplish Red | 6.6rp 0.9 4.8 | #28071A |
| 261 Light Grayish Purplish Red | 7.8rp 5.9 4.2 | #B27070 |
| 262 Grayish Purplish Red | 7.0rp 4.5 5.1 | #8C4852 |
| 263 White | 2.5pb 9.5 0.2 | #FFC9D7 |
| 264 Light Gray | 6.7y 7.4 0.2 | #C2A894 |
| 265 Medium Gray | 3.3gy 5.4 0.1 | #817066 |
| 266 Dark Gray | 2.5pb 3.5 0.0 | #49423D |
| 267 Black | 2.5pb 0.8 0.0 | #131313 |

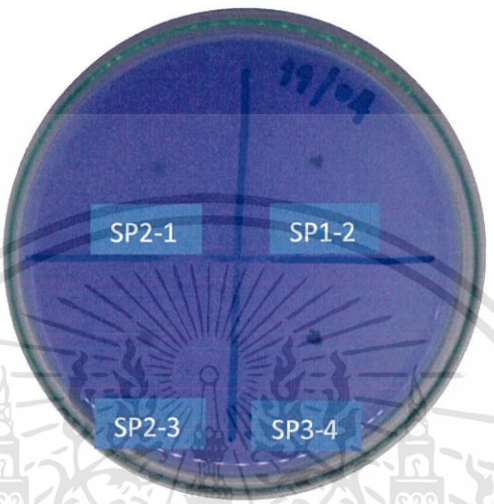
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ค

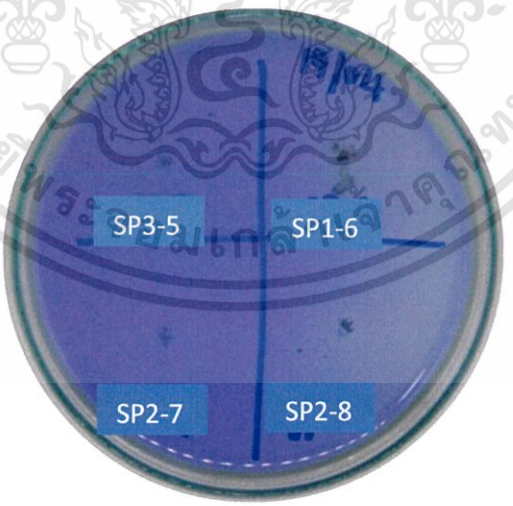
## ค1

# ผลการศึกษาการย่อยสลายฟอสเฟตของแอคติโนมัยสีท

ผลการทดสอบการย่อยสลายฟอสเฟตของแอคติโนมัยสีท ทดสอบโดยใช้อาหารNBRIP-BPB



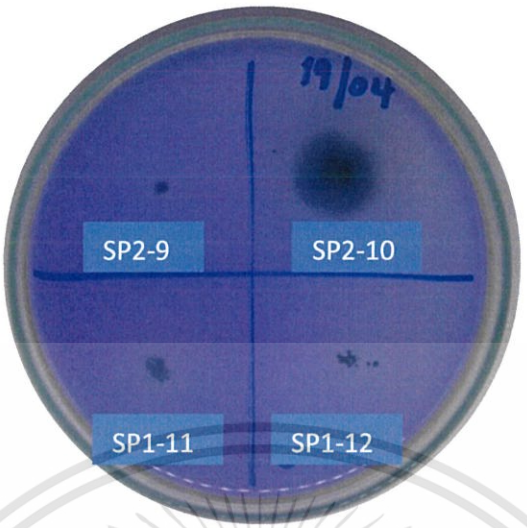

รูปที่ ค1.1 SP2-1 สามารถย่อยสลายฟอสเฟตได้ปานกลาง
SP1-2 ไม่สามารถย่อยสลายฟอสเฟต
SP2-3 ไม่สามารถย่อยสลายฟอสเฟต
SP3-4 ไม่สามารถย่อยสลายฟอสเฟต




รูปที่ ค1.2 SP3-5 สามารถย่อยสลายฟอสเฟตได้น้อย
SP1-6 สามารถย่อยสลายฟอสเฟตได้มาก
SP2-7 ไม่สามารถย่อยสลายฟอสเฟต
SP2-8 สามารถย่อยสลายฟอสเฟตได้มาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดสอบการย่อยสลายฟอสเฟตของแอคติโนมัยสีท ทดสอบโดยใช้อาหาร NBRIP-BPB

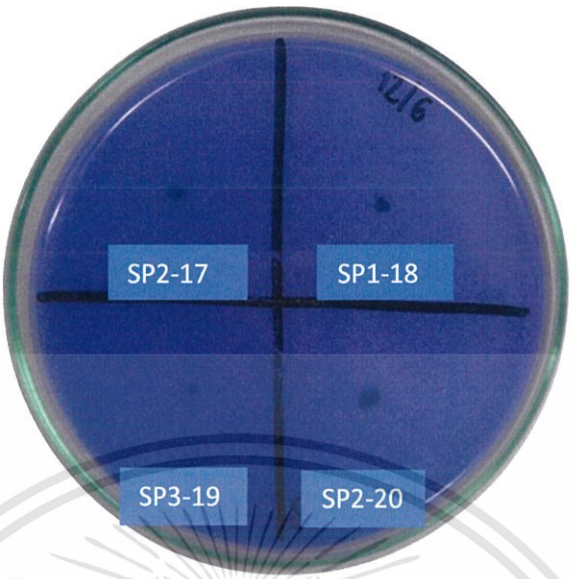



รูปที่ ค1.3 SP2-9 ไม่สามารถย่อยสลายฟอสเฟต
SP2-10 ไม่สามารถย่อยสลายฟอสเฟต
SP1-11 สามารถย่อยสลายฟอสเฟตได้ปานกลาง
SP1-12 ไม่สามารถย่อยสลายฟอสเฟต

รูปที่ ค1.4 SP2-13 ไม่สามารถย่อยสลายฟอสเฟต
SP2-14 ไม่สามารถย่อยสลายฟอสเฟต
SP3-15 สามารถย่อยสลายฟอสเฟตได้ปานกลาง
SP2-16 สามารถย่อยสลายฟอสเฟตได้น้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดสอบการย่อยสลายฟอสเฟตของแอคติโนมัยสีท ทดสอบโดยใช้อาหาร NBRIP-BPB




รูปที่ ค1.5 SP2-17 ไม่สามารถย่อยสลายฟอสเฟต
SP1-18 ไม่สามารถย่อยสลายฟอสเฟต
SP3-19 ไม่สามารถย่อยสลายฟอสเฟตได้ปานกลาง
SP2-20 ไม่สามารถย่อยสลายฟอสเฟตได้น้อย

รูปที่ ค1.6 SP2-21 ไม่สามารถย่อยสลายฟอสเฟต
SP1-22 ไม่สามารถย่อยสลายฟอสเฟต
SP3-23 สามารถย่อยสลายฟอสเฟตได้น้อย
SP2-24 ไม่สามารถย่อยสลายฟอสเฟต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

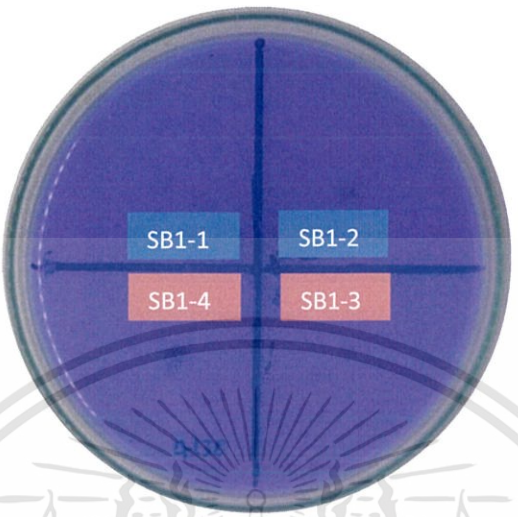
ผลการทดสอบการย่อยสลายฟอสเฟตของแอคติโนมัยสีท ทดสอบโดยใช้อาหารNBRIP-BPB

รูปที่ ค1.7 SP2-25 ไม่สามารถย่อยสลายฟอสเฟต
SP1-26 ไม่สามารถย่อยสลายฟอสเฟต

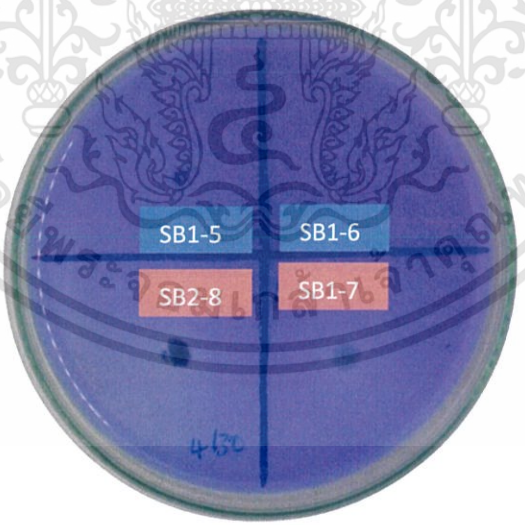
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ค2
# ผลการศึกษาการย่อยสลายฟอสเฟต

ผลการทดสอบการย่อยสลายฟอสเฟตของแบคทีเรีย ทดสอบโดยใช้อาหารNBRIP-BPB



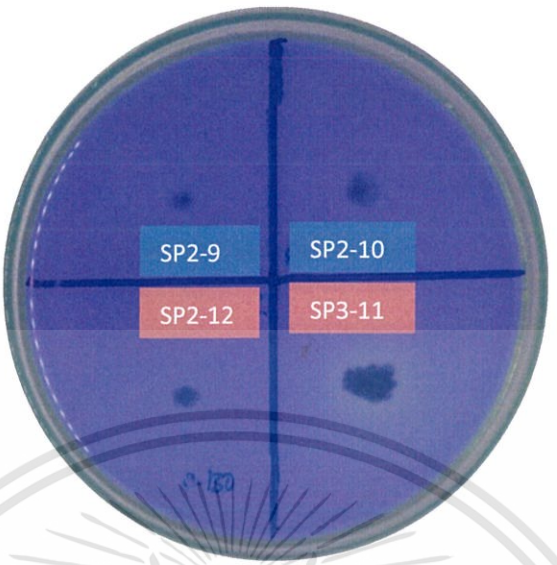

รูปที่ ค1.1 SB1-1 ไม่สามารถย่อยสลายฟอสเฟต
SB1-2 ไม่สามารถย่อยสลายฟอสเฟต
SB1-3 ไม่สามารถย่อยสลายฟอสเฟต
SB1-4 ไม่สามารถย่อยสลายฟอสเฟต



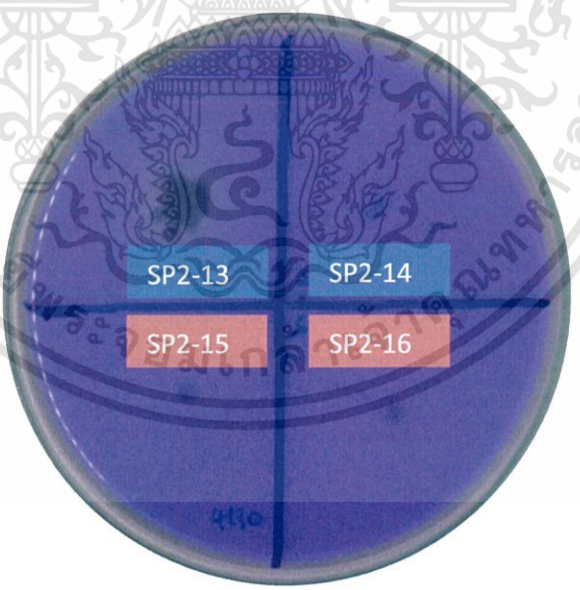

รูปที่ ค1.2 SB1-5 ไม่สามารถย่อยสลายฟอสเฟต
SB1-6 ไม่สามารถย่อยสลายฟอสเฟต
SB1-7 สามารถย่อยสลายฟอสเฟตได้มาก
SB1-8 สามารถย่อยสลายฟอสเฟตได้มาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดสอบการย่อยสลายฟอสเฟตของแบคทีเรีย ทดสอบโดยใช้อาหารNBRIP-BPB



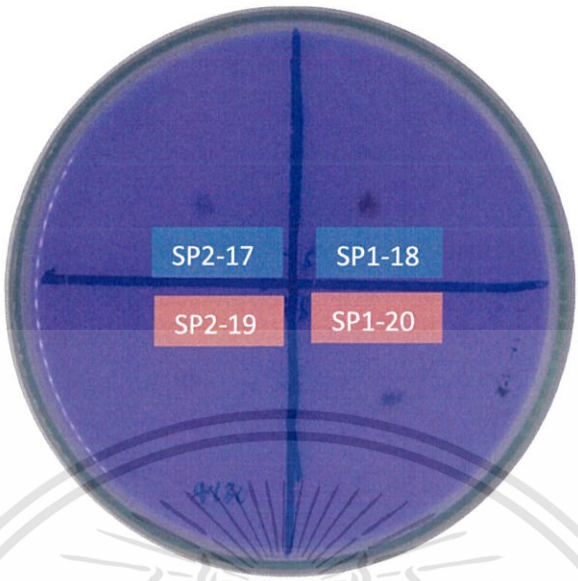

รูปที่ ค1.3 SB2-9 สามารถย่อยสลายฟอสเฟตได้มาก
SB2-10 สามารถย่อยสลายฟอสเฟตปานกลาง
SB2-11 สามารถย่อยสลายฟอสเฟตได้มาก
SB2-12 สามารถย่อยสลายฟอสเฟตได้มาก




รูปที่ ค1.4 SB2-13 สามารถย่อยสลายฟอสเฟตได้มาก
SB2-14 ไม่สามารถย่อยสลายฟอสเฟต
SB3-15 ไม่สามารถย่อยสลายฟอสเฟต
SB3-16 ไม่สามารถย่อยสลายฟอสเฟต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดสอบการย่อยสลายฟอสเฟตของแอคติโนมัยสีท ทดสอบโดยใช้อาหารNBRIP-BPB

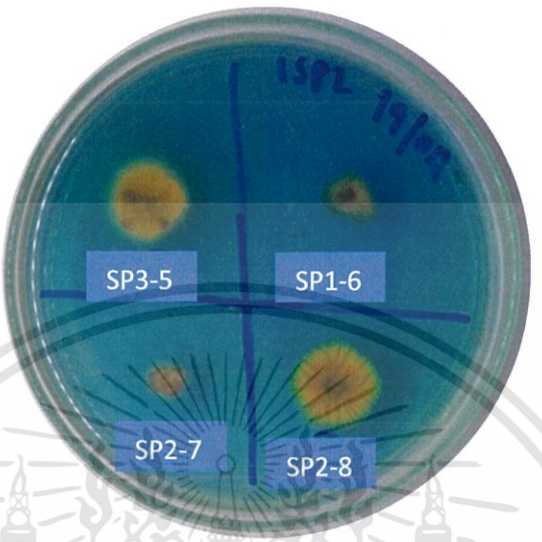



รูปที่ ค1.5 SB3-17 ไม่สามารถย่อยสลายฟอสเฟต
SB3-18 สามารถย่อยสลายฟอสเฟตปานกลาง
SB3-19 ไม่สามารถย่อยสลายฟอสเฟต
SB3-20 ไม่สามารถย่อยสลายฟอสเฟต

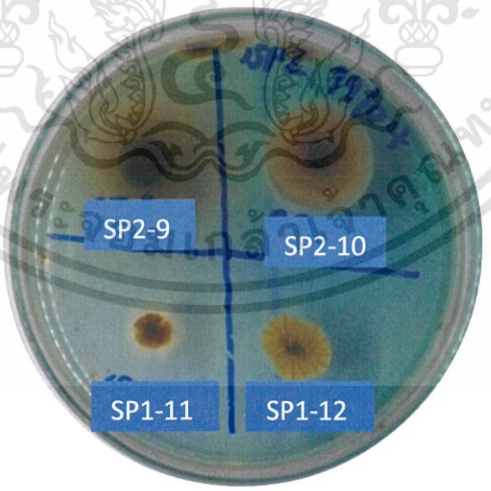
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ค3
# ผลการศึกษาการสร้างซิเดอร์โรฟอร์

ผลการทดสอบการสร้างซิเดอร์โรฟอร์ของแอคติโนมัยสีททดสอบโดยใช้ ISP2 CAS agar




รูปที่ ค3.1 SP3-5 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้น้อย
SP1-6 ไม่สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์
SP2-7 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้น้อย
SP2-8 ไม่สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์

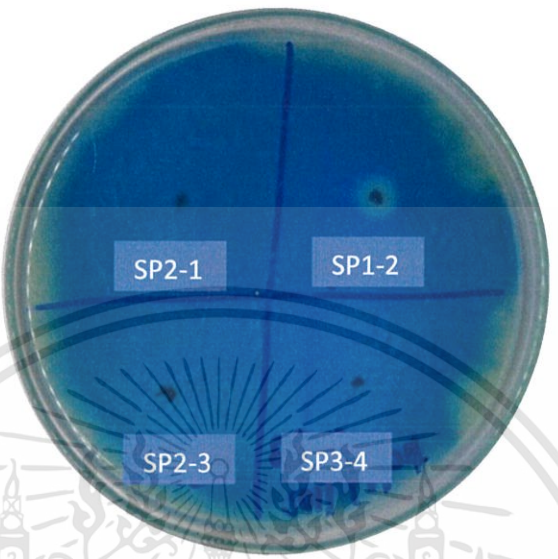



รูปที่ ค3.2 SP2-9 ไม่สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์
SP2-10 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้น้อย
SP1-11 ไม่สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้ปานกลาง
SP1-12 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้น้อย

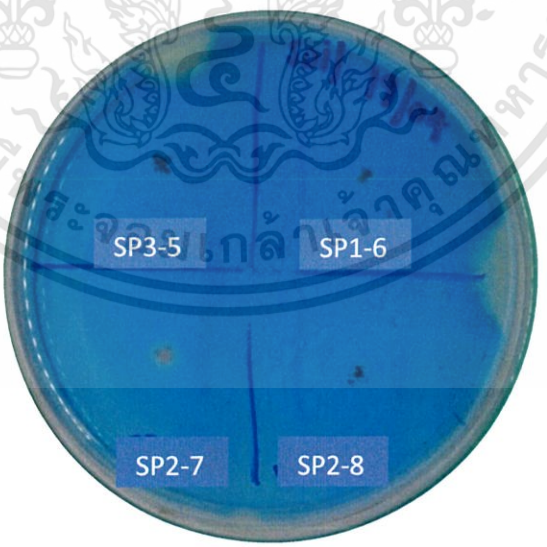
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ค4
# ผลการศึกษาการสร้างซิเดอร์โรฟอร์

ผลการทดสอบการสร้างซิเดอร์โรฟอร์ของแอคติโนมัยสีททดสอบโดยใช้ 20% soil extract CAS agar



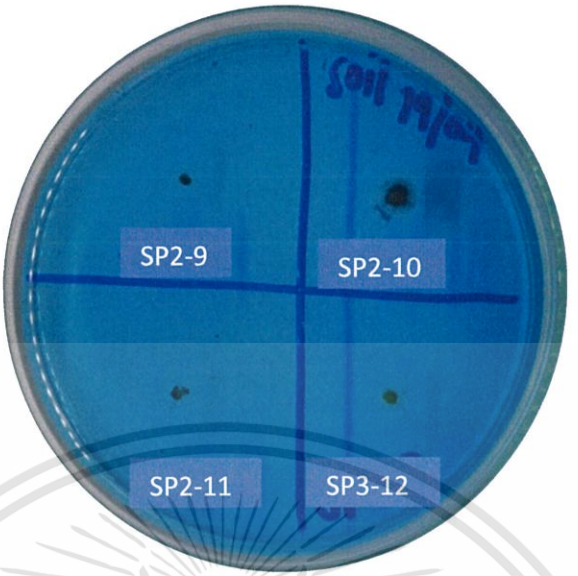

รูปที่ ค4.1 SP2-1 ไม่สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์
SP1-2 ไม่สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้มาก
SP2-3 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้ปานกลาง
SP3-4 ไม่สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์




รูปที่ ค4.2 SP3-5 ไม่สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์
SP1-6 ไม่สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์
SP2-7 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้ปานกลาง
SP2-8 ไม่สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดสอบการสร้างซิเดอร์โรฟอร์ของแอคติโนมัยสีททดสอบโดยใช้ 20% soil extract CAS agar

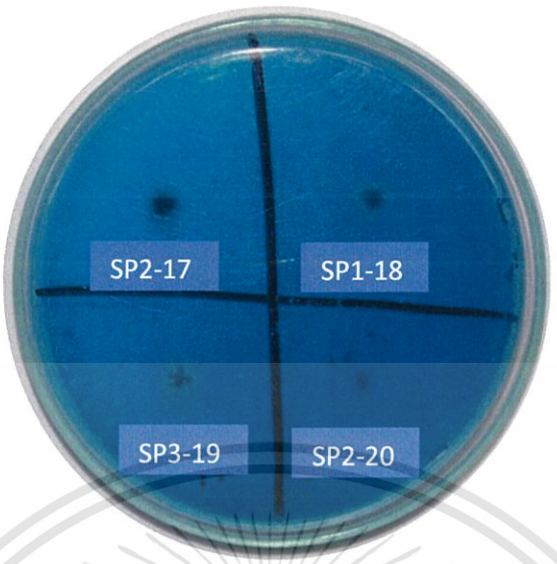



รูปที่ ค4.3 SP2-9 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้น้อย
SP2-10 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้ปานกลาง
SP2-11 ไม่สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์
SP3-12 ไม่สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์

รูปที่ ค4.4 SP2-13 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้มาก
SP1-14 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้น้อย
SP2-15 ไม่สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์
SP3-16 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้ปานกลาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดสอบการสร้างซิเดอร์โรฟอร์ของแอคติโนมัยสีททดสอบโดยใช้ 20% soil extract CAS agar




รูปที่ ค4.5 SP2-17 ไม่สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์
SP1-18 ไม่สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้มาก
SP3-19 ไม่สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้มาก
SP2-20 ไม่สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์

รูปที่ ค4.6 SP2-21 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้ปานกลาง
SP1-22 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้มาก
SP3-23 ไม่สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์
SP2-24 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้น้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

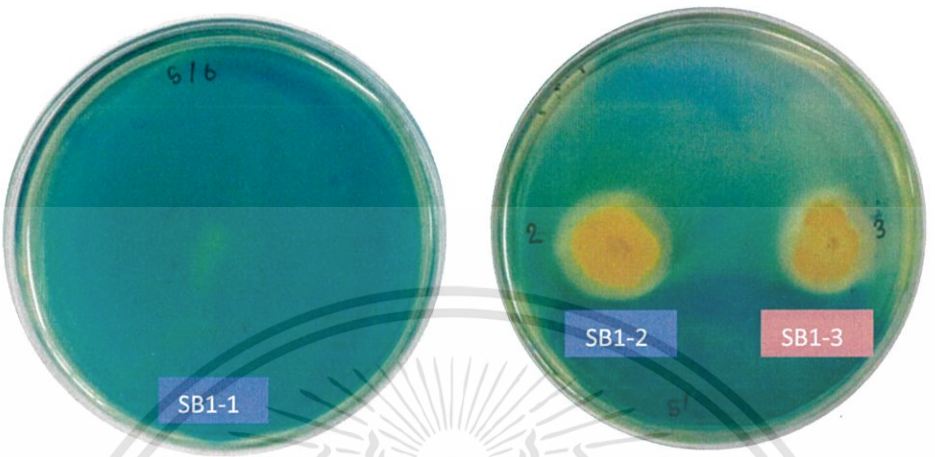
ผลการทดสอบการสร้างซิเดอร์โรฟอร์ของแอคติโนมัยสีททดสอบโดยใช้ 20% soil extract CAS agar

รูปที่ ค4.7 SP2-25 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้มาก
SP1-26 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้ปานกลาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ค4
# ผลการศึกษาการสร้างซิเดอร์โรฟอร์

ผลการทดสอบการสร้างซิเดอร์โรฟอร์ของแบคทีเรียทดสอบโดยใช้ NA CAS agar




รูปที่ ค4.1 SB1-1 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้ปานกลาง
SB1-2 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้มาก
SB1-3 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้มาก
SB1-4 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้มาก

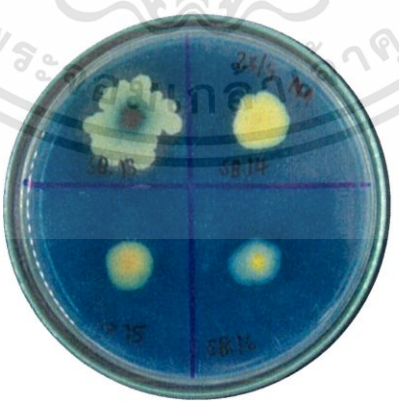
รูปที่ ค4.2 SB1-4 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้มากได้มาก
SB1-5 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้มากได้น้อย
SB1-6 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้มากได้มาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดสอบการสร้างซิเดอร์โรฟอร์ของแบคทีเรียทดสอบโดยใช้ NA CAS agar

รูปที่ ค4.3 SB2-7 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้ปานกลาง
SB2-8 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้น้อย
SB2-9 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้มาก

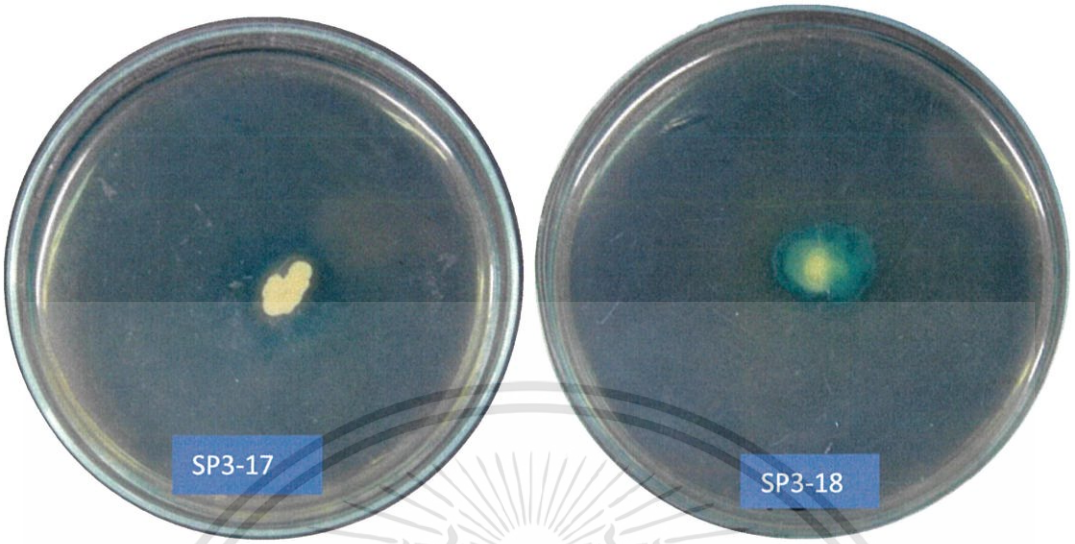
รูปที่ ค4.4 SB2-10 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้มาก
SB2-11 ไม่สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้มาก
SB3-12 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้ปานกลาง



รูปที่ ค4.4 SB2-13 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้มาก
SB2-14 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้ปานกลาง
SB3-15 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้น้อย
SB3-16 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้น้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดสอบการสร้างซิเดอร์โรฟอร์ของแบคทีเรียทดสอบโดยใช้ NA CAS agar



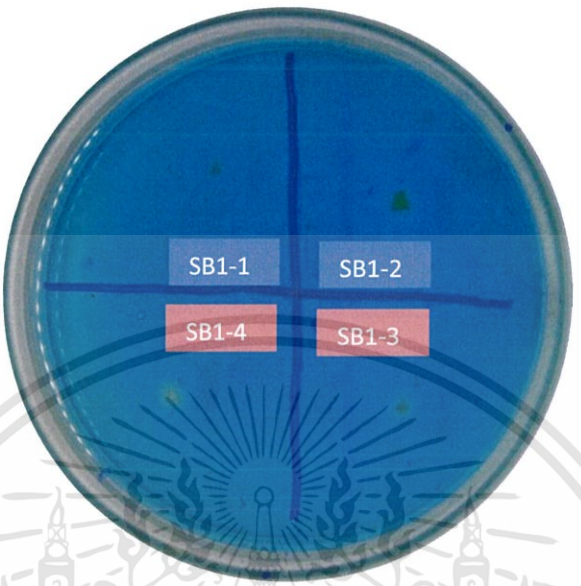

รูปที่ ค4.5 SB3-17 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้ปานกลาง
SB3-18 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้มาก

รูปที่ ค4.5 SB3-19 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้มาก
SB3-20 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้มาก
SB3-21 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้มาก

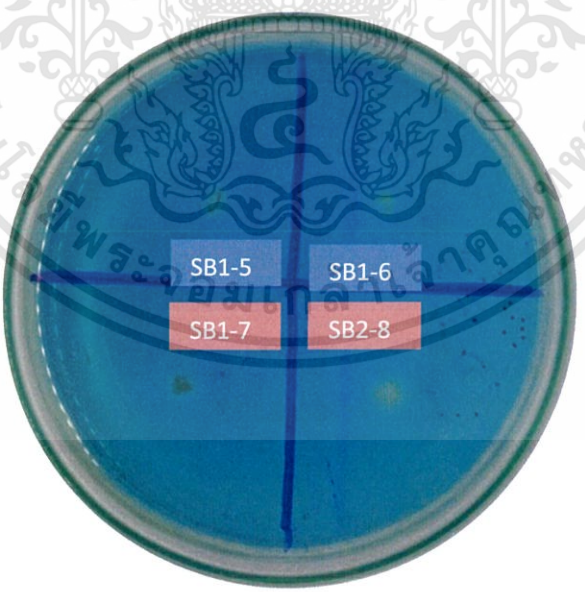
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ค6
# ผลการศึกษาการสร้างซิเดอร์โรฟอร์

ผลการทดสอบการสร้างซิเดอร์โรฟอร์ของแอคติโนมัยสีททดสอบโดยใช้ 20% soil extract CAS agar



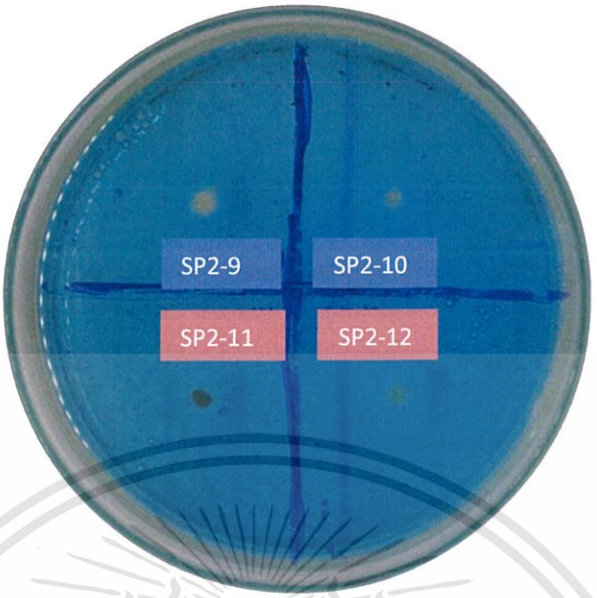

รูปที่ ค1.1 SB1-1 ไม่สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์
SB1-2 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้ปานกลาง
SB1-3 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้ปานกลาง
SB1-4 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้ปานกลาง



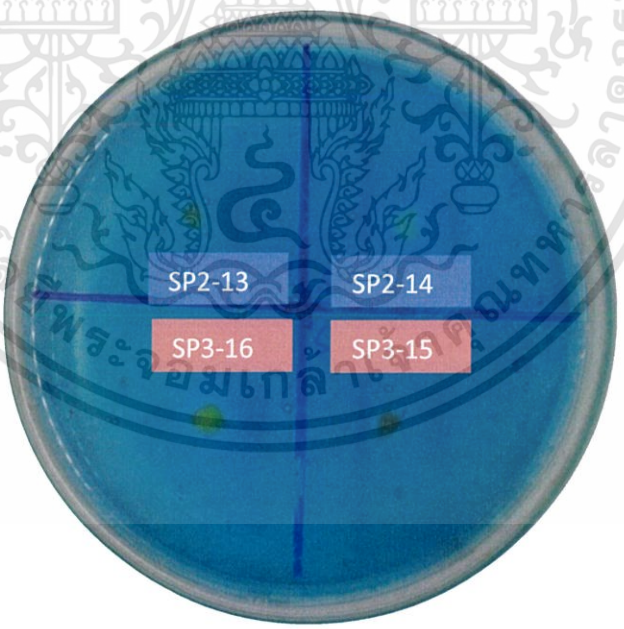

รูปที่ ค1.2 SB1-5 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้ปานกลาง
SB1-6 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้น้อย
SB1-7 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้ปานกลาง
SB1-8 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้ปานกลาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดสอบการสร้างซิเดอร์โรฟอร์ของแอคติโนมัยสีททดสอบโดยใช้ 20% soil extract CAS agar




รูปที่ ค1.3 SB2-9 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้ปานกลาง
SB2-10 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้น้อย
SB2-11 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้ปานกลาง
SB2-12 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้ปานกลาง




รูปที่ ค1.4 SB2-13 สามารถย่อยสลายฟอสเฟตได้ปานกลาง
SB2-14 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้ปานกลาง
SB3-15 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้ปานกลาง
SB3-16 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้มาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดสอบการสร้างซิเดอร์โรฟอร์ของแอคติโนมัยสีททดสอบโดยใช้ 20% soil extract CAS agar

รูปที่ ค1.5 SB3-17 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้ปานกลาง
SB3-18 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้ปานกลาง
SB3-19 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้ปานกลาง
SB3-20 สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์ได้น้อย

รูปที่ ค1.5 SB3-21 ไม่สามารถสร้างซิเดอร์โรฟอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ง
# การทดสอบการผลิตสารส่งเสริมการเจริญในพืช

**1. การทดสอบการผลิตกรดอินโดล-3-อะซิติก (indole-3-acitic acid)**

1.1 ผลการทดลองการผลิตกรดอินโดล-3-อะซิติก (indole-3-acitic acid) ของแอคติโนมัยสีทในอาหาร ISP2 broth

**ตารางที่ 1.1** ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm ของไอโซเลต SP1

| ไอโซเลต | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm เฉลี่ย (หักลบblank) | dilute | ผลสุทธิ |
|---|---|---|---|
| SP1-2 | 0.838 | 1 | 202.504 |
| SP1-6 | 0.670 | 1 | 161.691 |
| SP1-11 | 0.433 | 1 | 103.805 |
| SP1-12 | 0.133 | 5 | 153.577 |
| SP1-18 | 0.154 | 1 | 35.675 |
| SP1-22 | 0.159 | 1 | 36.894 |
| SP1-26 | 0.252 | 1 | 59.659 |

**ตารางที่ 1.2** ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm ของไอโซเลต SP2

| ไอโซเลต | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm เฉลี่ย (หักลบblank) | dilute | ผลสุทธิ |
|---|---|---|---|
| SP2-1 | 0.070 | 5 | 75.935 |
| SP2-3 | 0.764 | 1 | 184.618 |
| SP2-7 | 0.112 | 1 | 25.431 |
| SP2-8 | 0.053 | 5 | 56.016 |
| SP2-9 | 0.061 | 5 | 64.959 |
| SP2-10 | 0.108 | 5 | 123.089 |
| SP2-13 | 0.235 | 1 | 55.431 |
| SP2-14 | 0.112 | 5 | 145.610 |
| SP2-16 | 0.139 | 1 | 32.016 |
| SP2-17 | 0.144 | 5 | 166.992 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 1.2 (ต่อ)** ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm ของไอโซเลต SP2

| ไอโซเลต | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm เฉลี่ย (หักลบblank) | dilute | ผลสุทธิ |
|---|---|---|---|
| SP2-20 | 0.127 | 5 | 146.260 |
| SP2-21 | 0.898 | 1 | 217.301 |
| SP2-24 | 0.164 | 1 | 38.195 |
| SP2-25 | 0.065 | 5 | 69.837 |

**ตารางที่ 1.3** ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm ของไอโซเลต SP3

| ไอโซเลต | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm เฉลี่ย (หักลบblank) | dilute | ผลสุทธิ |
|---|---|---|---|
| SP3-4 | 0.203 | 5 | 238.130 |
| SP3-5 | 0.282 | 1 | 67.057 |
| SB3-15 | 0.192 | 1 | 45.024 |
| SP3-19 | 0.255 | 1 | 60.390 |
| SP3-23 | 0.309 | 1 | 73.642 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 ผลการทดลองการผลิตกรดอินโดล-3-อะซิติก ( indole-3-acitic acid )ของแอคติโนมัยสีทในอาหาร 20% soil extract

**ตารางที่ 1.4** ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm ของไอโซเลต SP1

| ไอโซเลต | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm เฉลี่ย (หักลบblank) | dilute | ผลสุทธิ |
|---|---|---|---|
| SP1-2 | 0.170 | 1 | 21.937 |
| SP1-6 | 0.670 | 1 | 161.691 |
| SP1-11 | 0.061 | 1 | 9.195 |
| SP1-12 | 0.055 | 1 | 8.221 |
| SP1-18 | 0.054 | 1 | 8.067 |
| SP1-22 | 0.061 | 1 | 9.144 |
| SP1-26 | 0.028 | 1 | 4.067 |

**ตารางที่ 1.5** ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm ของไอโซเลต SP2

| ไอโซเลต | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm เฉลี่ย (หักลบblank) | dilute | ผลสุทธิ |
|---|---|---|---|
| SP2-1 | 0.052 | 1 | 7.708 |
| SP2-3 | 0.047 | 1 | 7.041 |
| SP2-7 | 0.071 | 1 | 10.682 |
| SP2-8 | 0.049 | 1 | 7.297 |
| SP2-9 | 0.046 | 1 | 6.785 |
| SP2-10 | 0.120 | 1 | 18.272 |
| SP2-13 | 0.041 | 1 | 6.067 |
| SP2-14 | 0.064 | 1 | 9.985 |
| SP2-16 | 0.034 | 1 | 4.990 |
| SP2-17 | 0.054 | 1 | 8.015 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 1.5 (ต่อ)** ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm ของไอโซเลต SP2

| ไอโซเลต | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm เฉลี่ย (หักลบblank) | dilute | ผลสุทธิ |
|---|---|---|---|
| SP2-20 | 0.017 | 1 | 2.374 |
| SP2-21 | 0.031 | 2 | 9.159 |
| SP2-24 | 0.109 | 1 | 0.142 |
| SP2-25 | 0.018 | 1 | 2.579 |

**ตารางที่ 1.6** ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm ของไอโซเลต SP3

| ไอโซเลต | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm เฉลี่ย (หักลบblank) | dilute | ผลสุทธิ |
|---|---|---|---|
| SP3-4 | 0.053 | 1 | 7.964 |
| SP3-5 | 0.042 | 1 | 6.272 |
| SB3-15 | 0.062 | 1 | 9.349 |
| SP3-19 | 0.037 | 1 | 5.451 |
| SP3-23 | 0.016 | 1 | 2.169 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2. การทดสอบการผลิตจิบเบอเรลิน (Gibberellic acid)**

2.1 ผลการทดลองการผลิตจิบเบอเรลิน (Gibberellic acid) ของแอคติโนมัยสีทในอาหาร ISP2 broth

**ตารางที่ 1.7** ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 254 nm ของไอโซเลต SP1

| ไอโซเลต | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm เฉลี่ย (หักลบblank) | dilute | ผลสุทธิ |
|---|---|---|---|
| SP1-2 | 0.501 | 1 | 164.099 |
| SP1-6 | 0.481 | 1 | 156.815 |
| SP1-11 | 0.282 | 1 | 83.111 |
| SP1-12 | 0.304 | 1 | 91.136 |
| SP1-18 | 0.464 | 1 | 150.395 |
| SP1-22 | 0.511 | 1 | 167.926 |
| SP1-26 | 0.211 | 1 | 56.938 |

**ตารางที่ 1.8** ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 254 nm ของไอโซเลต SP2

| ไอโซเลต | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm เฉลี่ย (หักลบblank) | dilute | ผลสุทธิ |
|---|---|---|---|
| SP2-1 | 0.164 | 1 | 39.407 |
| SP2-3 | 0.266 | 1 | 77.062 |
| SP2-7 | 0.117 | 1 | 21.877 |
| SP2-8 | 0.257 | 1 | 73.728 |
| SP2-9 | 0.381 | 1 | 119.901 |
| SP2-10 | 0.422 | 1 | 134.963 |
| SP2-13 | 0.573 | 1 | 190.889 |
| SP2-14 | 0.150 | 1 | 34.346 |
| SP2-16 | 0.069 | 1 | 4.222 |
| SP2-17 | 0.165 | 1 | 39.901 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 1.8 (ต่อ)** ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 254 nm ของไอโซเลต SP2

| ไอโซเลต | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm เฉลี่ย (หักลบblank) | dilute | ผลสุทธิ |
|---|---|---|---|
| SP2-20 | 0.175 | 1 | 43.358 |
| SP2-21 | 0.223 | 1 | 61.136 |
| SP2-24 | 0.687 | 1 | 233.111 |
| SP2-25 | 0.130 | 1 | 26.815 |

**ตารางที่ 1.9** ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 254 nm ของไอโซเลต SP3

| ไอโซเลต | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm เฉลี่ย (หักลบblank) | dilute | ผลสุทธิ |
|---|---|---|---|
| SP3-4 | 0.253 | 1 | 72.494 |
| SP3-5 | 0.654 | 1 | 220.889 |
| SB3-15 | 0.150 | 1 | 34.346 |
| SP3-19 | 0.255 | 1 | 73.111 |
| SP3-23 | 0.235 | 1 | 65.580 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 ผลการทดลองการผลิตจิบเบอเรลิน (Gibberellic acid) ของแอคติโนมัยสีทในในอาหาร 20% soil extract

**ตารางที่ 1.10** ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 254 nm ของไอโซเลต SP1

| ไอโซเลต | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm เฉลี่ย (หักลบblank) | dilute | ผลสุทธิ |
|---|---|---|---|
| SP1-2 | 0.170 | 1 | 21.937 |
| SP1-6 | 0.106 | 1 | 4.730 |
| SP1-11 | 0.207 | 1 | 32.117 |
| SP1-12 | 0.116 | 1 | 7.432 |
| SP1-18 | 0.147 | 1 | 15.811 |
| SP1-22 | 0.177 | 1 | 23.919 |
| SP1-26 | 0.147 | 1 | 15.721 |

**ตารางที่ 1.11** ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 254 nm ของไอโซเลต SP2

| ไอโซเลต | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm เฉลี่ย (หักลบblank) | dilute | ผลสุทธิ |
|---|---|---|---|
| SP2-1 | 0.118 | 1 | 8.063 |
| SP2-3 | 0.181 | 1 | 24.910 |
| SP2-7 | 0.148 | 1 | 0.010 |
| SP2-8 | 0.095 | 1 | 1.667 |
| SP2-9 | 0.145 | 1 | 15.360 |
| SP2-10 | 0.117 | 1 | 7.703 |
| SP2-13 | 0.153 | 1 | 17.342 |
| SP2-14 | 0.107 | 1 | 5.000 |
| SP2-16 | 0.117 | 1 | 7.793 |
| SP2-17 | 0.142 | 1 | 14.369 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 1.11 (ต่อ)** ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 254 nm ของไอโซเลต SP2

| ไอโซเลต | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm เฉลี่ย (หักลบblank) | dilute | ผลสุทธิ |
|---|---|---|---|
| SP2-20 | 0.112 | 1 | 6.261 |
| SP2-21 | 0.165 | 1 | 20.676 |
| SP2-24 | 0.104 | 1 | 4.099 |
| SP2-25 | 0.156 | 1 | 18.333 |

**ตารางที่ 1.12** ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 254 nm ของไอโซเลต SP3

| ไอโซเลต | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm เฉลี่ย (หักลบblank) | dilute | ผลสุทธิ |
|---|---|---|---|
| SP3-4 | 0.208 | 1 | 32.387 |
| SP3-5 | 0.131 | 1 | 11.486 |
| SB3-15 | 0.151 | 1 | 16.892 |
| SP3-19 | 0.134 | 1 | 12.297 |
| SP3-23 | 0.098 | 1 | 2.658 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**3. การทดสอบการผลิตกรดอินโดล-3-อะซิติก (indole-3-acitic acid)**

3.1 ผลการทดลองการผลิตกรดอินโดล-3-อะซิติก (indole-3-acitic acid) ของแบคทีเรียในอาหาร NB broth

**ตารางที่ 1.13** ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm ของไอโซเลต SB1

| ไอโซเลต | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm เฉลี่ย (หักลบblank) | Dilute | ผลสุทธิ |
|---|---|---|---|
| SB1-1 | 0.236 | 1 | 75.741 |
| SB1-2 | 2.227 | 1 | 813.395 |
| SB1-3 | 0.315 | 1 | 105.247 |
| SB1-4 | 0.135 | 1 | 38.457 |
| SB1-5 | 0.158 | 1 | 47.099 |
| SB1-6 | 0.179 | 1 | 54.630 |
| SB1-7 | 0.976 | 1 | 349.815 |

**ตารางที่ 1.14** ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm ของไอโซเลต SB2

| ไอโซเลต | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm เฉลี่ย (หักลบblank) | dilute | ผลสุทธิ |
|---|---|---|---|
| SB2-8 | 0.190 | 1 | 58.704 |
| SB2-9 | 0.266 | 1 | 87.099 |
| SB2-10 | 1.329 | 1 | 480.556 |
| SB2-11 | 0.654 | 1 | 230.556 |
| SB2-12 | 0.256 | 1 | 83.395 |
| SB2-13 | 0.234 | 1 | 75.000 |
| SB2-14 | 0.163 | 1 | 48.951 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 1.15** ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm ของไอโซเลต SB3

| ไอโซเลต | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm เฉลี่ย (หักลบblank) | Dilute | ผลสุทธิ |
|---|---|---|---|
| SB3-15 | 1.138 | 1 | 409.815 |
| SB3-16 | 3.021 | 1 | 1107.469 |
| SB3-17 | 0.153 | 1 | 45.309 |
| SB3-18 | 0.217 | 1 | 69.012 |
| SB3-19 | 0.138 | 1 | 39.506 |
| SB3-20 | 0.097 | 1 | 24.321 |
| SB1-21 | 0.367 | 1 | 124.568 |

3.2 ผลการทดลองการผลิตกรดอินโดล-3-อะซิติก (indole-3-acitic acid) ของแบคทีเรียในอาหาร 20% soil extract

**ตารางที่ 1.16** ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm ของไอโซเลต SB1

| ไอโซเลต | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm เฉลี่ย (หักลบblank) | Dilute | ผลสุทธิ |
|---|---|---|---|
| SB1-1 | 0.124 | 1 | 18.810 |
| SB1-2 | 0.167 | 1 | 25.477 |
| SB1-3 | 0.115 | 1 | 17.426 |
| SB1-4 | 0.091 | 1 | 13.785 |
| SB1-5 | 0.100 | 1 | 15.118 |
| SB1-6 | 0.112 | 1 | 16.964 |
| SB1-7 | 0.109 | 1 | 16.554 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 1.17** ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm ของไอโซเลต SB2

| ไอโซเลต | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm เฉลี่ย (หักลบblank) | dilute | ผลสุทธิ |
|---|---|---|---|
| SB2-8 | 0.104 | 1 | 15.733 |
| SB2-9 | 0.187 | 1 | 28.605 |
| SB2-10 | 0.213 | 1 | 32.503 |
| SB2-11 | 0.113 | 1 | 17.169 |
| SB2-12 | 0.123 | 1 | 18.656 |
| SB2-13 | 0.095 | 1 | 14.349 |
| SB2-14 | 0.115 | 1 | 17.477 |

**ตารางที่ 1.18** ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm ของไอโซเลต SB3

| ไอโซเลต | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm เฉลี่ย (หักลบblank) | Dilute | ผลสุทธิ |
|---|---|---|---|
| SB3-15 | 0.088 | 1 | 13.374 |
| SB3-16 | 0.144 | 1 | 21.938 |
| SB3-17 | 0.103 | 1 | 15.631 |
| SB3-18 | 0.098 | 1 | 14.862 |
| SB3-19 | 0.116 | 1 | 17.682 |
| SB3-20 | 0.108 | 1 | 16.349 |
| SB1-21 | 0.187 | 1 | 28.554 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**4.การทดสอบการผลิตจิบเบอเรลิน (Gibberellic acid)**

4.1 ผลการทดลองการผลิตจิบเบอเรลิน (Gibberellic acid) ของแอคติโนมัยสีทในในอาหาร NB broth

**ตารางที่ 1.19** ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 254 nm ของไอโซเลต SB1

| ไอโซเลต | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm เฉลี่ย (หักลบblank) | Dilute | ผลสุทธิ |
|---|---|---|---|
| SB1-1 | 0.559 | 1 | 205.765 |
| SB1-2 | 0.399 | 1 | 146.506 |
| SB1-3 | 0.437 | 1 | 160.704 |
| SB1-4 | 1.047 | 1 | 386.506 |
| SB1-5 | 1.028 | 1 | 379.469 |
| SB1-6 | 1.040 | 1 | 384.160 |
| SB1-7 | 0.669 | 1 | 246.753 |

**ตารางที่ 1.20** ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 254 nm ของไอโซเลต SB2

| ไอโซเลต | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm เฉลี่ย (หักลบblank) | dilute | ผลสุทธิ |
|---|---|---|---|
| SB2-8 | 0.257 | 1 | 93.914 |
| SB2-9 | 0.431 | 1 | 158.481 |
| SB2-10 | 1.509 | 1 | 557.741 |
| SB2-11 | 0.819 | 1 | 302.062 |
| SB2-12 | 0.595 | 1 | 219.222 |
| SB2-13 | 0.543 | 1 | 200.086 |
| SB2-14 | 1.431 | 1 | 528.728 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 1.21** ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 254 nm ของไอโซเลต SB3

| ไอโซเลต | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm เฉลี่ย (หักลบblank) | Dilute | ผลสุทธิ |
|---|---|---|---|
| SB3-15 | 0.703 | 1 | 259.222 |
| SB3-16 | 0.797 | 1 | 293.914 |
| SB3-17 | 1.074 | 1 | 396.519 |
| SB3-18 | 0.863 | 1 | 318.481 |
| SB3-19 | 1.523 | 1 | 562.802 |
| SB3-20 | 1.128 | 1 | 416.630 |
| SB1-21 | 0.415 | 1 | 152.432 |

3.2 ผลการทดลองการผลิตกรดอินโดล-3-อะซิติก (indole-3-acitic acid) ของแบคทีเรียในอาหาร 20% soil extract

**ตารางที่ 1.22** ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 254 nm ของไอโซเลต SB1

| ไอโซเลต | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm เฉลี่ย (หักลบblank) | Dilute | ผลสุทธิ |
|---|---|---|---|
| SB1-1 | 0.100 | 1 | 3.108 |
| SB1-2 | 0.242 | 1 | 41.486 |
| SB1-3 | 0.122 | 1 | 9.144 |
| SB1-4 | 0.107 | 1 | 5.090 |
| SB1-5 | 0.108 | 1 | 5.180 |
| SB1-6 | 0.127 | 1 | 10.405 |
| SB1-7 | 0.098 | 1 | 2.604 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 1.23** ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 254 nm ของไอโซเลต SB2

| ไอโซเลต | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm เฉลี่ย (หักลบblank) | dilute | ผลสุทธิ |
|---|---|---|---|
| SB2-8 | 0.098 | 1 | 2.568 |
| SB2-9 | 0.131 | 1 | 11.396 |
| SB2-10 | 0.159 | 1 | 18.964 |
| SB2-11 | 0.098 | 1 | 2.658 |
| SB2-12 | 0.168 | 1 | 21.396 |
| SB2-13 | 0.143 | 1 | 14.640 |
| SB2-14 | 0.197 | 1 | 29.324 |

**ตารางที่ 1.24** ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 254 nm ของไอโซเลต SB3

| ไอโซเลต | ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm เฉลี่ย (หักลบblank) | Dilute | ผลสุทธิ |
|---|---|---|---|
| SB3-15 | 0.123 | 1 | 9.414 |
| SB3-16 | 0.213 | 1 | 33.649 |
| SB3-17 | 0.177 | 1 | 23.919 |
| SB3-18 | 0.205 | 1 | 31.577 |
| SB3-19 | 0.197 | 1 | 29.414 |
| SB3-20 | 0.114 | 1 | 6.802 |
| SB1-21 | 0.122 | 1 | 9.144 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้