บทที่ 4

ผลการวิจัย

1.การคัดเลือกแบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจนได้จากบริเวณผิวใบข้าว

1.1 การแยกแบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจนได้จากบริเวณผิวใบข้าว

ในการทดลองนี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างใบข้าวที่มีอายุประมาณ 2 เดือนมาจากแปลงนาบริเวณต่างๆได้แก่ อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี อำเภอบ้านโป่ง จังหวัดราชบุรี อำเภอสองพี่น้อง จังหวัดสุพรรณบุรี อำเภอบ้านลาด จังหวัดเพชรบุรี และแปลงนาทดลองภายในมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน จำนวน 35 ตัวอย่าง มาทำการแยกแบคทีเรียที่อยู่บนผิวใบข้าว โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากไนโตรเจน พบว่ามีแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากไนโตรเจนได้ทั้งหมด 15 สายพันธุ์ ดังแสดงในตารางที่ 3

1.2 ผลการคัดเลือกแบคทีเรียสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนสูง

คัดเลือกแบคทีเรียสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนสูง จากแบคทีเรียทั้ง 15 สายพันธุ์ที่แยกได้ โดยวัดอัตราการตรึงไนโตรเจนด้วยวิธีอะเซทิลีน รีดักชั่นเทคนิค ตามวิธีในข้อ 3.2.1 ดังแสดงในตารางที่ 4

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3 แหล่งที่มาของแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนทั้ง 15 สายพันธุ์ที่แยกได้จากใบข้าว

สายพันธุ์	แหล่งเก็บตัวอย่าง	บริเวณของใบที่แยกเชื้อได้
1	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	หน้าใบ
2	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	หน้าใบ
3	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	หลังใบ
4	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	หลังใบ
5	อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี	หน้าใบ
6	อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี	หน้าใบ
7	อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี	หลังใบ
8	อ.บ้านโป่ง จ.ราชบุรี	หน้าใบ
9	อ.บ้านโป่ง จ.ราชบุรี	หน้าใบ
10	อ.บ้านโป่ง จ.ราชบุรี	หลังใบ
11	อ.สองพี่น้อง จ.สุพรรณบุรี	หลังใบ
12	อ.สองพี่น้อง จ.สุพรรณบุรี	หน้าใบ
13	อ.สองพี่น้อง จ.สุพรรณบุรี	หน้าใบ
14	อ.บ้านลาด จ.เพชรบุรี	หลังใบ
15	อ.บ้านลาด จ.เพชรบุรี	หลังใบ

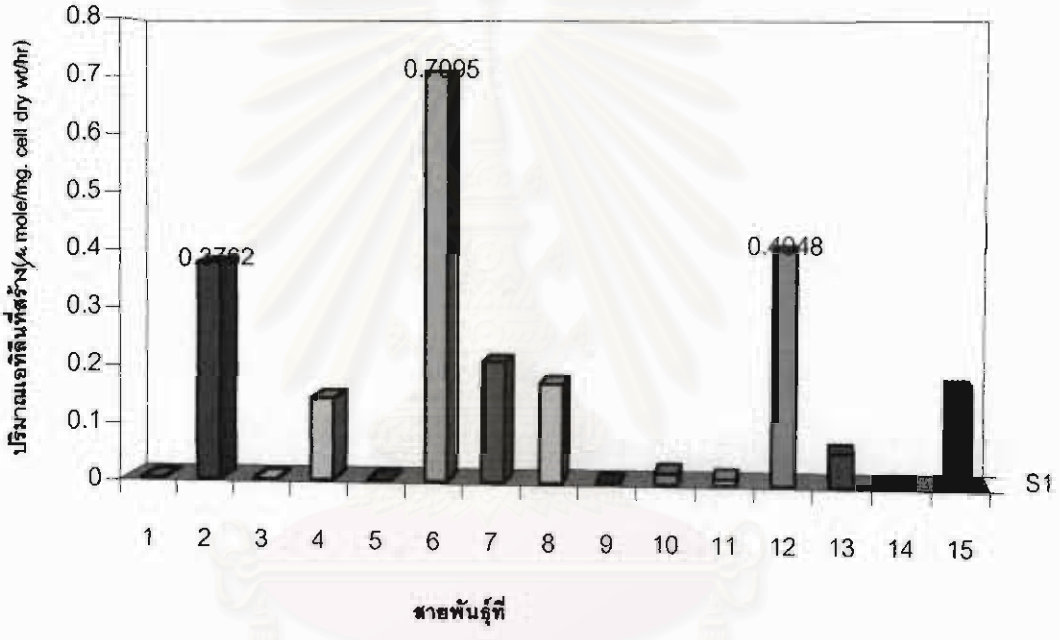
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์อัตราการตรึงไนโตรเจนโดยวิธีอะเซธิลีน รีดักชั่น และน้ำหนักเซลล์แห้งของแบคทีเรียสายพันธุ์ต่าง ๆ เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจน ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

สายพันธุ์	ปริมาณเอธิลีน (C_2H_4) (μ mole)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (mg/อาหารเลี้ยงเชื้อ 10 ml)	ปริมาณเอธิลีน/น้ำหนักเซลล์แห้ง (μmole/mg.dry wt/hr.)
1	0.0000	1.1	0.00
2	1.4674	1.3	0.3762
3	0.0014	2.0	0.0002
4	0.6384	1.5	0.1419
5	0.0000	1.7	0.0000
6	2.5541	1.2	0.7095
7	0.8470	1.4	0.2081
8	0.9794	1.9	0.1718
9	0.0020	0.9	0.0007
10	0.1462	2.7	0.0181
11	0.0736	2.5	0.0098
12	1.4572	1.2	0.4048
13	0.2891	1.7	0.0567
14	0.2729	2.3	0.0039
15	1.0304	2.0	0.1717

มี 2 สายพันธุ์ที่ตรวจไม่พบการตรึงไนโตรเจนคือสายพันธ์ที่ 1 กับสายพันธุ์ที่ 5 ส่วนแบคทีเรียอีก 13 สายพันธุ์ ตรวจพบมีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนโดยวัดปริมาณเอทิลีนที่สร้างขึ้นอยู่ในช่วง 0.00-0.7095 μ mole/mg. cell dry wt./hr จึงได้ทำการคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอทิลีนได้สูงสุด จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้

แก่สายพันธุ์ที่ 2 6 และ 12 ซึ่งสามารถสร้างเอทิลีนได้ 0.3762 0.7095 และ 0.4048 μ mole/g. cell dry wt./hr ตามลำดับ

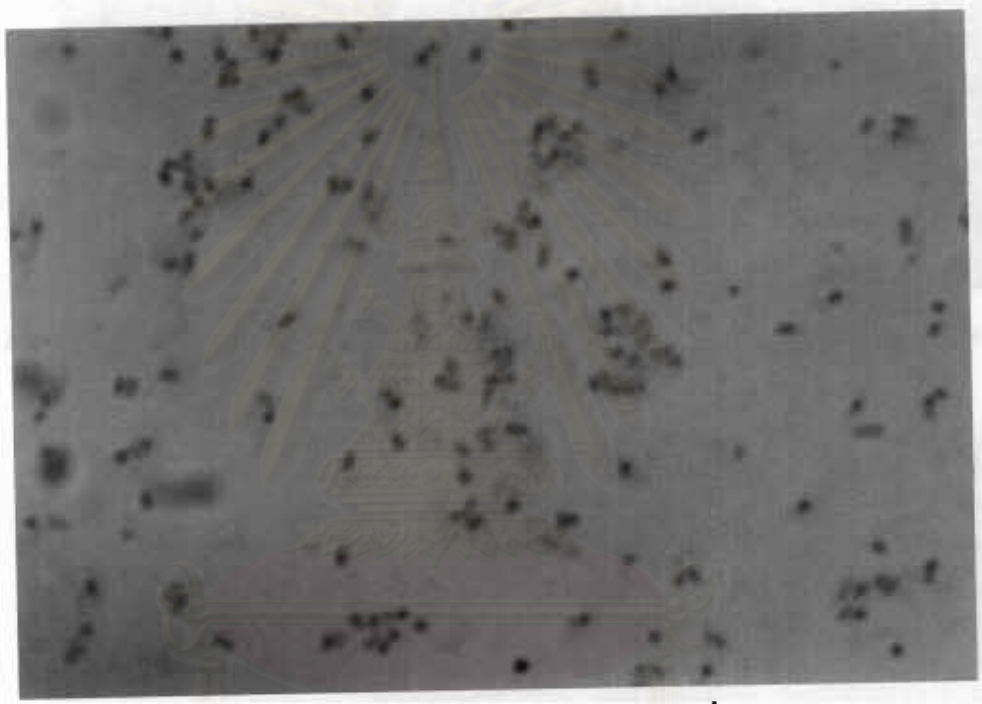


รูปที่ 7 เปรียบเทียบความสามารถในการตรึงไนโตรเจนด้วยวิธีอะเซทิลีน รีดักชั่น เทคนิค โดยการวัดปริมาณเอทิลีนที่สร้างขึ้น ของแบคทีเรียทีแยกได้ทั้ง 15 สายพันธุ์

2. การจำแนกชนิดของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนได้สูง

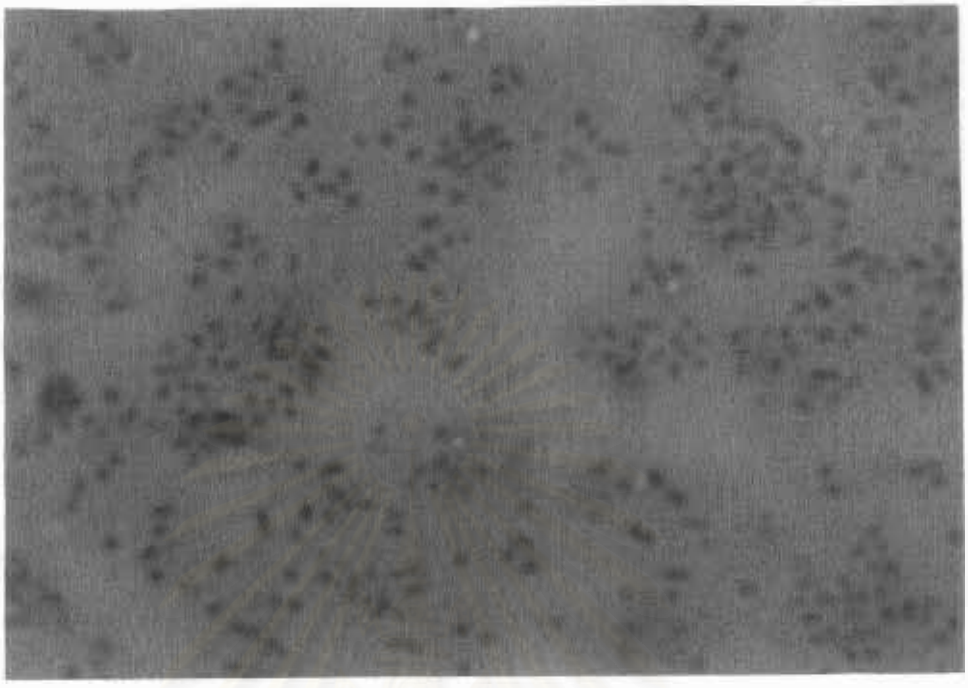
2.1 การดูโครงสร้าง และการติดสีของเซลล์

จากผลการคัดเลือกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนได้สูง คือ สายพันธุ์ที่ 2, 6 และ12 โดยได้ทำการศึกษารูปร่าง และการย้อมติดสีแกรมของเซลล์แบคทีเรียโดยส่องกล้องจุลทรรศน์ พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 มีรูปร่างกลม ย้อมติดสีแกรมลบ (รูปที่ 8) แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 6 มีรูปร่างค่อนข้างกลม ย้อมติดสีแกรมลบ (รูปที่ 9) ส่วนแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 12 มีรูปร่างค่อนข้างกลม ย้อมติดสีแกรมลบ (รูปที่ 10)

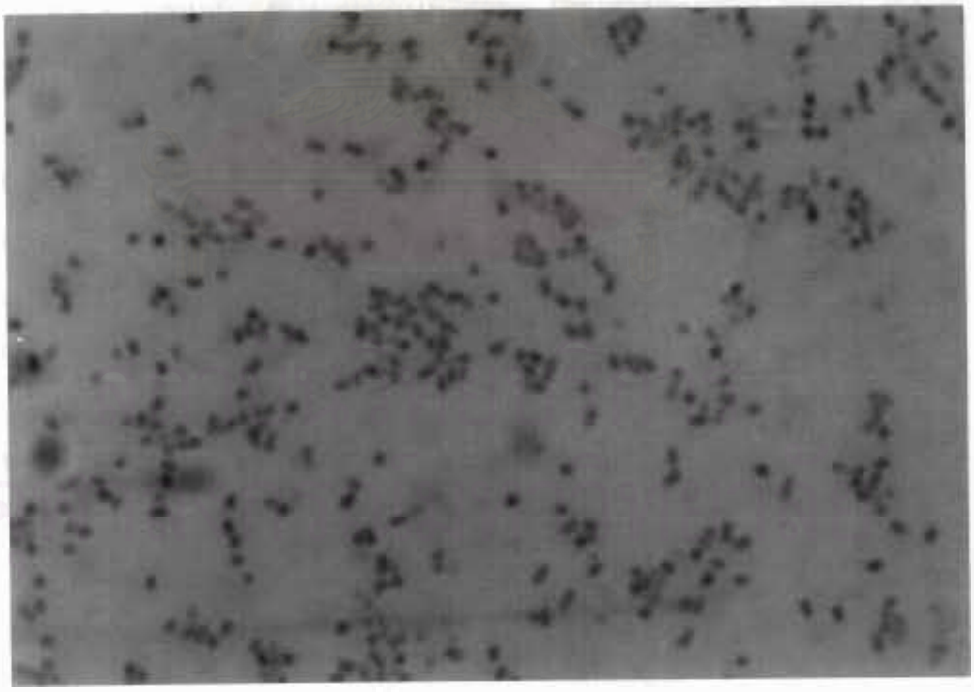


รูปที่ 8 ลักษณะของเซลล์ และการติดสีแกรมของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 1,000 เท่า

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 9 ลักษณะของเซลล์ และการติดสีแกรมของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 6 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า



รูปที่ 10 ลักษณะของเซลล์ และการติดสีแกรมของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 12 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 1,000เท่า

2.2 การทดสอบทางชีวเคมี

2.2.1 การทดสอบการใช้น้ำตาลชนิดต่าง ๆ

นำแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 6 และ12 มาตรวจสอบการใช้น้ำตาลชนิดต่าง ๆ ได้แก่ กลูโคส ซูโครส แมนนิทอล มอลโตส ฟรักโตส แลคโตส กาแลคโตส และแรมโนส โดยใช้อาหาร Andrade's carbohydrate broth (ภาคผนวก ก) แล้วเติมน้ำตาลที่ต้องการทดสอบลงไป โดยในอาหารนี้จะมีอินดิเคเตอร์คือ Acid fuchsin ผสมอยู่ ถ้าเชื้อนั้นสามารถใช้น้ำตาลชนิดนั้นได้อาหารก็จะมีฤทธิ์เป็นกรดเนื่องจากเชื้อจะย่อยสลายน้ำตาลไปเป็นกรดอินทรีย์หลายชนิด

2.2.2 การทดสอบการเคลื่อนที่ สามารถดูได้จากลักษณะการเจริญในอาหาร semi-solid (ภาคผนวก ก) ซึ่งเชื้อที่เคลื่อนที่ได้จะเจริญแผ่ออกนอกรอย stab เชื้อ

2.2.3 การตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ออกซิเดส และคะตาเลส ซึ่งเอนไซม์ออกซิเดสสามารถตรวจสอบได้โดยใช้สารละลายอัลฟ่าแนปทอล หยดลงบนโคโลนีของเชื้อ ถ้าผลเป็นบวกจะเกิดสีน้ำเงินขึ้นภายใน 10-30 วินาที ส่วนเอมไซม์คะตาเลส สามารถทดสอบได้โดยหยดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ลงบนโคโลนีเชื้อ ถ้าผลเป็นบวกจะเกิดฟองอากาศขึ้น

2.2.4 ความสามารถในการตรึงไนโตรเจน โดยใช้วิธีอะเซทิลีน รีดักชั่น ตามวิธีในข้อ 3.2.1

เมื่อทำการศึกษาเพื่อจำแนกชนิดของแบคทีเรีย พบว่าในแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 มีลักษณะรูปร่าง และให้ปฏิกิริยาทางชีวเคมีใกล้เคียงกับ *Azomonas insignis* ตามที่ได้บรรยายไว้ในหนังสือ Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Vol.1, 1984 กล่าวคือมีลักษณะเซลล์ค่อนข้างกลม ติดสีแกรมลบ สามารถตรึงไนโตรเจนได้ และไม่สร้างซีสท์ (cyst) และเอนโดสปอร์ (endospore) เคลื่อนที่ได้ มีกิจกรรมของเอนไซม์คะตาเลส และออกซิเดส และสามารถใช้น้ำตาลกลูโคส และฟรักโตสได้ ซึ่งเป็นลักษณะที่แตกต่างกับจีนัส *Azotobacter* ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบคุณสมบัติ และลักษณะของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 กับแบคทีเรีย *Azomonas insignis*

Characteristics	*Azomonas insignis*	แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2
Gram's stanning	-	-
shape	rods to ovoid to coccoid	coccoid
endospore	-	-
cyst	-	-
motile	+	+
capable to fix N_2	+	+
catalase	+	+
oxidase	+	+
nitrate--> nitrite	+	+
starch hydrolysis	+	+เล็กน้อย
Utilization as carbon source		
mannitol	-	-
maltose	-	-
glucose	+	+
fructose	+	+
galactose	-	-
lactose	ไม่มีรายงาน	-
sucrose	ไม่มีรายงาน	-
rhamnose	ไม่มีรายงาน	-

จากการศึกษาแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 6 ที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนได้สูงสุด ลักษณะของเซลล์จะเป็นรูปไข่ ติดสีแกรมลบ และมีการสร้างซีสต์ล้อมรอบเซลล์ สามารถเคลื่อนที่ได้ มีกิจกรรมของเอนไซม์ออกซิเดส และคะตาเลส สามารถใช้น้ำตาลฟรักโตส และกลูโคส เมื่อทำการศึกษาถึงคุณสมบัติต่าง ๆของแบคทีเรียสายพันธุ์นี้ พบว่ามีคุณสมบัติใกล้เคียงกับแบคทีเรีย *Azotobacter chroococcum* ตามที่ได้บรรยายไว้ในหนังสือ Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Vol.1, 1984 ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบคุณสมบัติ และลักษณะของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 6 กับแบคทีเรีย *Azotobacter chroococcum*

characteristics	*Azotobacter chroococcum*	แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 6
Gram's stanning	-	-
shape	ovoid	ovoid
cyst formation	+	+
endospore	ไม่มีรายงาน	-
motile	+	+
nitrate--> nitrite	ไม่มีรายงาน	+
capable to fix N_2	+	+
catalase	+	+
oxidase	+	+
Utilization of carbon source		
mannitol	+	+
rhamnose	-	-
lactose	-	-
sucrose	ไม่มีรายงาน	+
glucose	ไม่มีรายงาน	+
maltose	ไม่มีรายงาน	-
fructose	ไม่มีรายงาน	+
galactose	ไม่มีรายงาน	-

จากการศึกษาแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 12 ที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนได้รองลงมาเป็นอันดับสอง เซลล์จะมีลักษณะเป็นรูปไข่ ติดสีแกรมลบ ไม่สร้างซีสต์ มีกิจกรรมของเอนไซม์ออกซิเดส และคะตาเลส และสามารถใช้น้ำตาลแมนนิทอลได้ เมื่อทำการศึกษาถึงคุณสมบัติต่าง ๆ ของแบคทีเรียสายพันธุ์นี้ พบว่ามีคุณสมบัติใกล้เคียงกับแบคทีเรีย *Azomonas agilis* ตามที่ได้

บรรยายไว้ในหนังสือ Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Vol.1, 1984 ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบคุณสมบัติ และลักษณะของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 12 กับแบคทีเรีย *Azomonas agilis*

characteristics	*Azomonas agilis*	แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 12
Gram's stanning	-	-
shape	rods to ovoid to coccoid	ovoid
cyst formation	-	-
motile	+	+
catalase	+	+
oxidase	+	+
nitrite---> nitrate	-	-
capable to fix N_2	+	+
Utilization of carbon source		
maltose	+	+
sucrose	+	+
mannitol	ไม่มีรายงาน	+
rhamnose	ไม่มีรายงาน	-
lactose	ไม่มีรายงาน	+
glucose	ไม่มีรายงาน	+
fructose	ไม่มีรายงาน	+
galactose	ไม่มีรายงาน	-

3. ผลของการแปรผันปัจจัยที่มีผลต่อความสามารถในการตรึงไนโตรเจน และการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้

จากการคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนได้สูงจำนวน 3 สายพันธุ์ คือสายพันธุ์ที่ 2, 6 และ 12 มาหาแหล่งคาร์บอน อุณหภูมิ และค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการตรึงไนโตรเจน และการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์

3.1 ผลการแปรผันแหล่งคาร์บอน

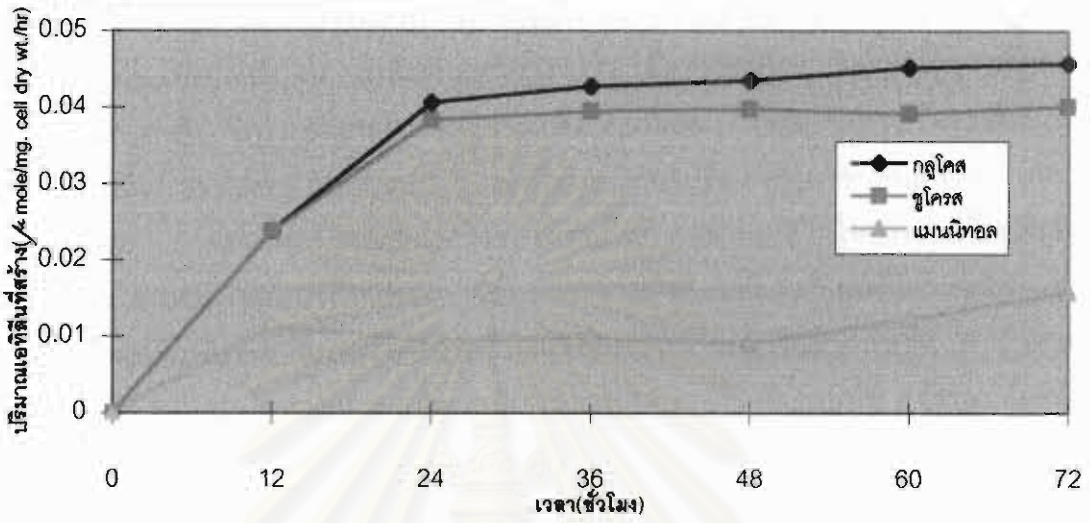
เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2, 6 และ 12 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากไนโตรเจน โดยแปรผันแหล่งคาร์บอนที่ใช้เป็น กลูโคส ซูโครส และแมนนิทอล ในปริมาณที่เท่ากัน แล้วเปรียบเทียบประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน และการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์

3.1.1 การเจริญและการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากไนโตรเจน ที่มีการแปรผันแหล่งของคาร์บอน

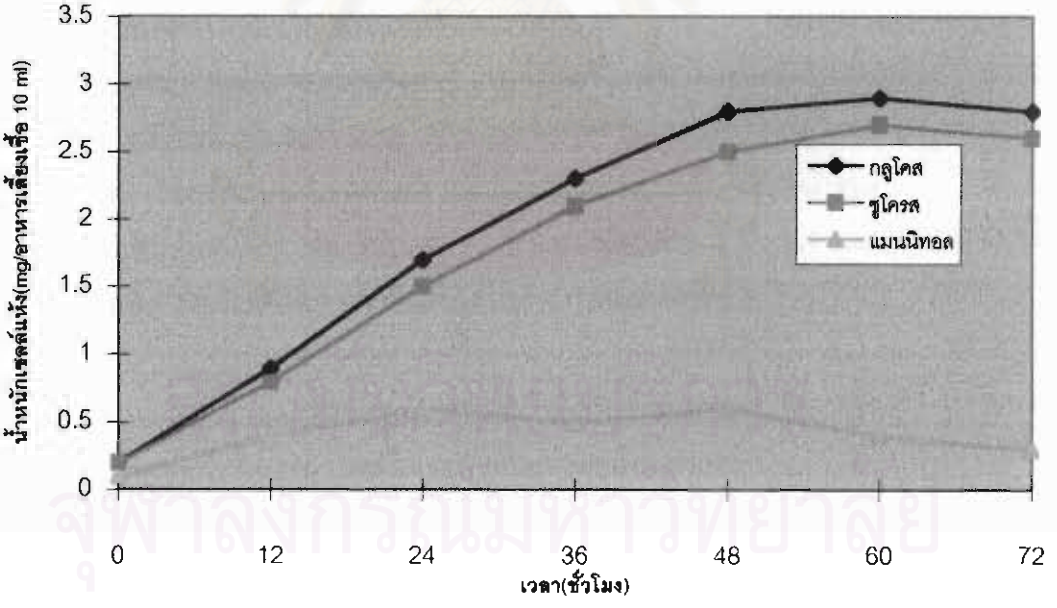
เมื่อทำการแปรผันแหล่งคาร์บอนที่ใช้ โดยใช้ซูโครส และแมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอน โดยใช้แทนกลูโคสในสูตรอาหารเหลวที่ปราศจากไนโตรเจนในปริมาณที่เท่ากันคือ 10 กรัมต่อลิตร แล้วเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 ที่คัดเลือกได้ ในขวดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร เป็นเวลา 72 ชั่วโมง บ่มที่อุณหภูมิห้อง จำนวน 28 ขวด แล้วทำการเก็บตัวอย่างครั้งละ 4 ขวด ทุก 12 ชั่วโมง นำไปวิเคราะห์หาความสามารถในการตรึงไนโตรเจนโดยใช้เทคนิคอะเซธิลีน รีดักชั่นตามวิธีในข้อ 3.2.1 และวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้งตามวิธีในข้อ 3.2.2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ก)



ข)



รูปที่ 11 ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน (ก) และอัตราการเจริญ (ข) ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อปราศจากไนโตรเจน ที่แปรผันแหล่งคาร์บอน กลูโคส ซูโครส หรือแมนนิทอล ที่อุณหภูมิห้อง

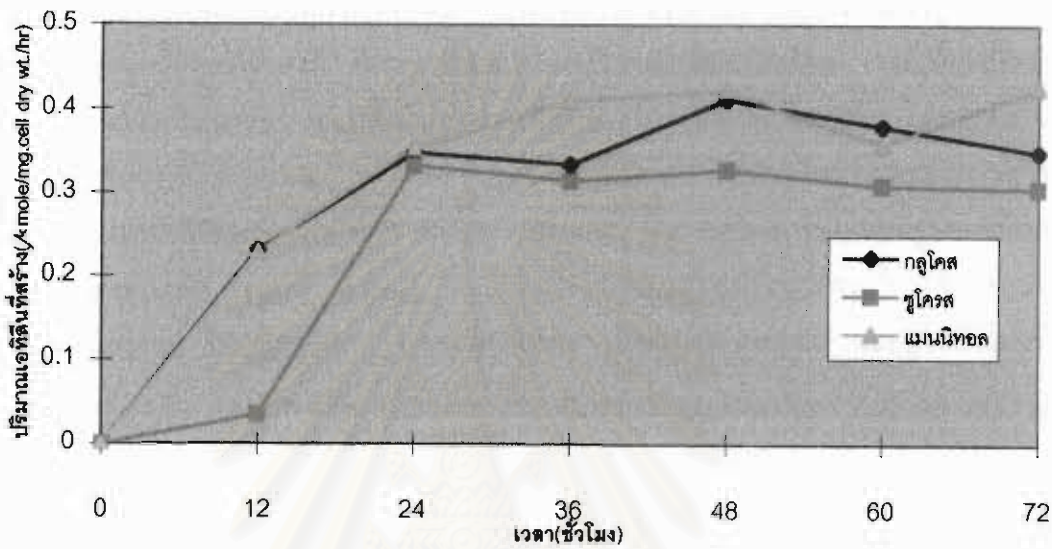
จากการทดลองนี้พบว่าประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 โดยการสร้างเอทิลีน เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ปราศจากไนโตรเจน โดยมีกลูโคสและซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เมื่อเซลล์มีอายุ 24 ชั่วโมง แต่หลังจากนั้นจะมีค่าคงที่ มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณเพียงเล็กน้อย ในขณะที่การสร้างเอทิลีนในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากไนโตรเจน และมีแมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอนเชื้อจะเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย แต่เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการสร้างเอทิลีนในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากไนโตรเจน โดยแปรผันแหล่งคาร์บอนดังกล่าวด้วยแหล่งคาร์บอนทั้งสามชนิด พบว่ากลูโคสมีผลทำให้ประสิทธิภาพของการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 ดีที่สุด รองลงมา คือ ซูโครส ในขณะที่แมนนิทอลมีผลน้อยที่สุด ตามลำดับ (รูปที่ 11ก.) โดยมีการสร้างเอทิลีนสูงสุดในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ปราศจากไนโตรเจน โดยมีกลูโคส ซูโครส และแมนนิทอล เป็นแหล่งคาร์บอน จะเกิดในชั่วโมงที่ 72 ของการเลี้ยงเชื้อ โดยมีค่าเป็น 0.0457, 0.0401 และ 0.0159 μmole/mg cell dry wt./hr ตามลำดับ (ตารางภาคผนวกที่ 1)

การวัดอัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 ในอาหารเหลวที่ปราศจากไนโตรเจน โดยมีส่วนผสมของแหล่งคาร์บอนที่ต่างกัน พบว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมด้วยกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน มากกว่าซูโครส และแมนนิทอล (รูปที่ 11ข.) โดยที่น้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกลูโคส ซูโครส และแมนนิทอล เป็นแหล่งคาร์บอน ในเวลา 72 ชั่วโมง มีค่าเป็น 2.9, 2.7 และ 0.6 มิลลิกรัม/อาหารเลี้ยงเชื้อ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางภาคผนวกที่ 1)

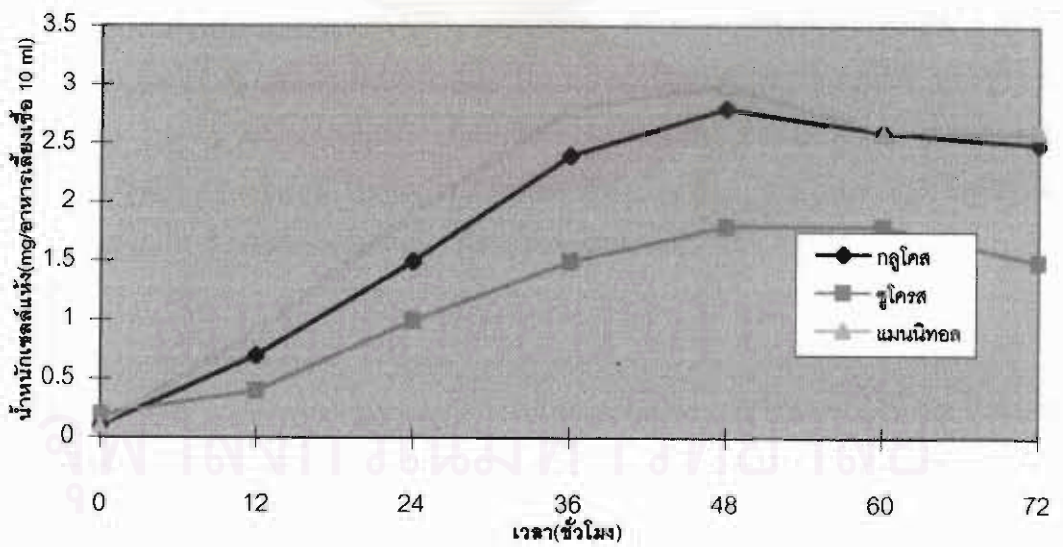
3.1.2 ผลการเจริญและการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 6 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากไนโตรเจน และมีการแปรผันแหล่งของคาร์บอน

เมื่อทำการแปรผันแหล่งคาร์บอนที่ใช้ โดยใช้ซูโครส หรือแมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอน โดยใช้แทนกลูโคสในสูตรอาหารเหลวที่ปราศจากไนโตรเจนในปริมาณที่เท่ากันคือ 10 กรัมต่อลิตร โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 6 ในขวดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร เป็นเวลา 72 ชั่วโมง บ่มที่อุณหภูมิห้อง จำนวน 28 ขวด แล้วทำการเก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง นำไปวิเคราะห์หาความสามารถในการตรึงไนโตรเจนโดยใช้เทคนิคอะเซทิลีน รีดักชั่นตามวิธีในข้อ 3.2.1 และวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้งตามวิธีในข้อ 3.2.2

ก)



ข)



รูปที่ 12 ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน (ก) และอัตราการเจริญ (ข) ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 6 เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อปราศจากไนโตรเจนที่แปรผันแหล่งคาร์บอน กลูโคส ซูโครส หรือแมนนิทอล ที่อุณหภูมิห้อง

จากการทดลองนี้พบว่าประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 6 โดยการสร้างเอทิลีน เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ปราศจากไนโตรเจน โดยมีกลูโคส ซูโครส หรือแมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอน จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เมื่อเซลล์มีอายุ 24 ชั่วโมง แต่หลังจากนั้นจะมีค่าคงที่ มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณเพียงเล็กน้อย แต่เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการสร้างเอทิลีนในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากไนโตรเจน โดยแปรผันด้วยแหล่งคาร์บงนทั้งสามชนิด พบว่าแมนนิทอลมีผลทำให้ประสิทธิภาพของการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 6 ดีที่สุด รองลงมา คือ กลูโคส ในขณะที่ซูโครสมีผลน้อยที่สุด ตามลำดับ (รูปที่ 12ก.) การสร้างเอทิลีนสูงสุดในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ปราศจากไนโตรเจน โดยมีกลูโคส และแมนนิทอล เป็นแหล่งคาร์บอน จะอยู่ในชั่วโมงที่ 60 ของการเลี้ยงเชื้อ โดยมีค่าเป็น 0.3796 และ 0.4262 μmole/mg cell dry wt./hr ตามลำดับ ส่วนในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ปราศจากไนโตรเจนที่มีซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน การสร้างเอทิลีนสูงสุดจะเกิดในชั่วโมงที่ 48 ของการเลี้ยงเชื้อ โดยมีค่าเป็น 0.3272 μ mole/mg cell dry wt./hr (ตารางภาคผนวกที่ 2)

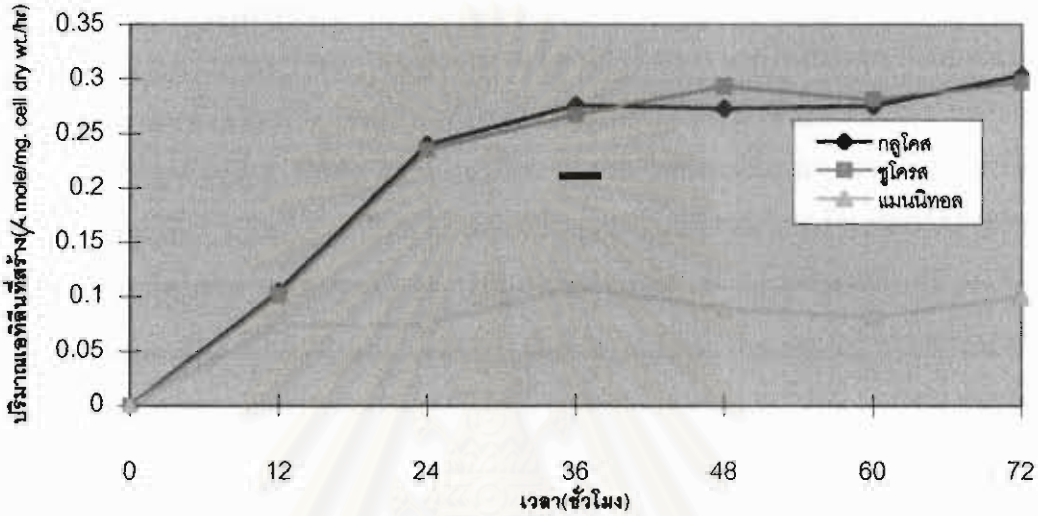
การวัดอัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 6 ในอาหารเหลวที่ปราศจากไนโตรเจน โดยมีส่วนผสมของแหล่งคาร์บอนที่ต่างกัน พบว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 6 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมด้วยแมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอน มากกว่ากลูโคส และซูโครส (รูปที่ 12ข.) โดยที่น้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกลูโคส ซูโครส และแมนนิทอล เป็นแหล่งคาร์บอน ในเวลา 72 ชั่วโมง มีค่าเป็น 2.8, 1.8 และ 3.0 มิลลิกรัม/อาหารเลี้ยงเชื้อ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางภาคผนวกที่ 2)

3.1.3 ผลการเจริญและการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 12 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากไนโตรเจน และมีการแปรผันแหล่งของคาร์บอน

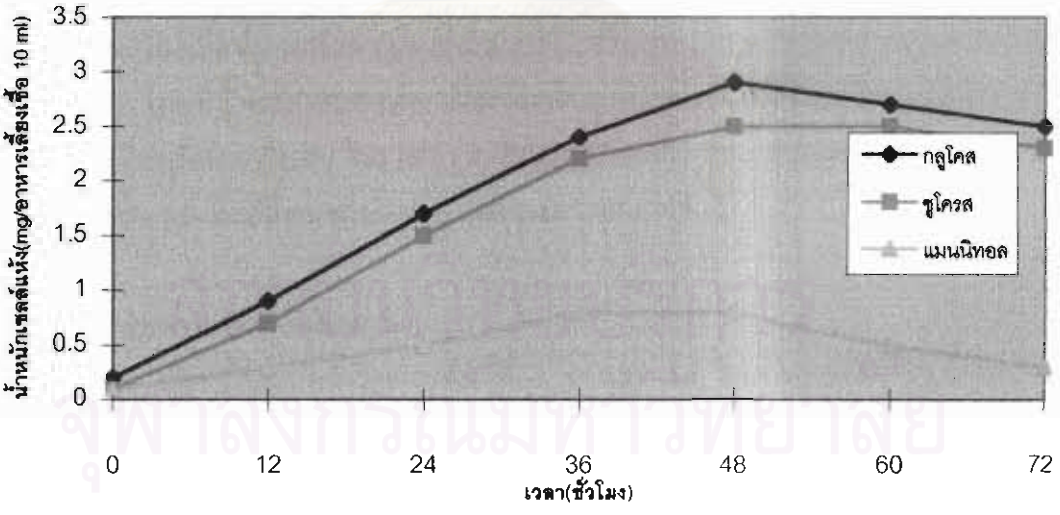
เมื่อทำการแปรผันแหล่งคาร์บอนที่ใช้ โดยใช้ซูโครส หรือแมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอน โดยใช้แทนกลูโคสในสูตรอาหารเหลวที่ปราศจากไนโตรเจนในปริมาณที่เท่ากันคือ 10 กรัมต่อลิตร แล้วเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 12 ที่คัดเลือกได้ ในขวดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร เป็นเวลา 72 ชั่วโมง บ่มที่อุณหภูมิห้อง จำนวน 28 ขวด แล้วทำการเก็บตัวอย่าง 4 ขวด

ทุก 12 ชั่วโมง นำไปวิเคราะห์หาความสามารถในการตรึงไนโตรเจน โดยใช้อะเซทิลีน รีดักชั่น เทคนิคตามวิธีในข้อ 3.2.1 และวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้งตามวิธีในข้อ 3.2.2

ก)



ข)



รูปที่ 13 ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน (ก) และอัตราการเจริญ (ข) ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 12 เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อปราศจากไนโตรเจนที่แปรผันแหล่งคาร์บอน กลูโคส ซูโครส หรือแมนนิทอล ที่อุณหภูมิห้อง

จากการทดลองนี้พบว่าประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 12 โดยการสร้างเอทิลีน เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ปราศจากไนโตรเจน โดยมีกลูโคส ซูโครส และแมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอน จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เมื่อเซลล์มีอายุ 24 ชั่วโมง แต่หลังจากนั้นจะมีค่าคงที่ มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณเพียงเล็กน้อย แต่เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการสร้างเอทิลีนในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากไนโตรเจน โดยแปรผันด้วยแหล่งคาร์บอนทั้งสามชนิด พบว่ากลูโคสมีผลทำให้ประสิทธิภาพของการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 6 ดีที่สุด รองลงมา คือ ซูโครส ในขณะที่แมนนิทอลมีผลน้อยที่สุดตามลำดับ (รูปที่ 13ก.) การสร้างเอทิลีนสูงสุดในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ปราศจากไนโตรเจน โดยมีซูโครส และแมนนิทอล เป็นแหล่งคาร์บอน จะอยู่ในชั่วโมงที่ 60 ของการเลี้ยงเชื้อ โดยมีค่าเป็น 0.2972 และ 0.1001 μmole/mg cell dry wt./hr ตามลำดับ ส่วนในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ปราศจากไนโตรเจนที่มีซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน การสร้างเอทิลีนสูงสุดจะเกิดในชั่วโมงที่ 48 ของการเลี้ยงเชื้อ โดยมีค่าเป็น 0.3272 μ mole/mg cell dry wt./hr (ตารางภาคผนวกที่ 3)

การวัดอัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 12 ในอาหารเหลวที่ปราศจากไนโตรเจน โดยมีส่วนผสมของแหล่งคาร์บอนที่ต่างกัน พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 12 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมด้วยกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน มากกว่าซูโครส และแมนนิทอล (รูปที่ 13ข.) โดยที่น้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกลูโคส ซูโครส และแมนนิทอล เป็นแหล่งคาร์บอน ในเวลา 72 ชั่วโมง มีค่าเป็น 2.5, 2.3 และ 0.8 มิลลิกรัม/อาหารเลี้ยงเชื้อ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางภาคผนวกที่ 3)

3.2 ผลการแปรผันอุณหภูมิ

เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 6 และ 12 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากไนโตรเจน โดยแปรผันอุณหภูมิที่ใช้ คือ 20, 30 และ 40 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน และการเจริญของแบคทีเรีย

3.2.1 ผลประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน และอัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อปราศจากไนโตรเจน ที่อุณหภูมิ 20, 30 และ 40 องศาเซลเซียส

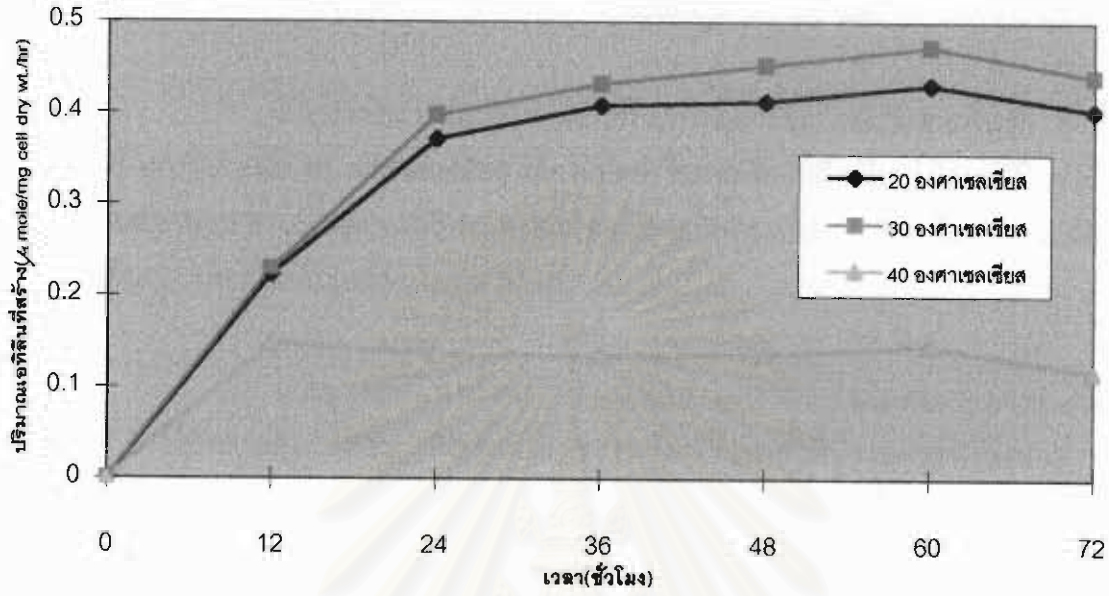
เมื่อทำการแปรผันอุณหภูมิที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 ที่คัดเลือกได้เป็น 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส เลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้ตามวิธีในข้อ 5.3 นำไปวิเคราะห์หาความสามารถในการตรึงไนโตรเจนโดยใช้เทคนิคอะเซทิลีน รีดักชั่นตามวิธีในข้อ 3.2.1 และวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้งตามวิธีในข้อ 3.2.2

จากการทดลองนี้พบว่าประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 โดยการสร้างเอทิลีน เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ปราศจากไนโตรเจน และบ่มที่อุณหภูมิ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เมื่อเซลล์มีอายุ 24 ชั่วโมง แต่หลังจากนั้นจะมีค่าคงที่ มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณเพียงเล็กน้อย แต่เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการสร้างเอทิลีน ณ.ที่อุณหภูมิดังกล่าว พบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสประสิทธิภาพของการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 ดีที่สุด รองลงมา คือที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ในขณะที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสมีผลน้อยที่สุด ตามลำดับ (รูปที่ 14ก.) การสร้างเอทิลีนสูงสุดในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ปราศจากไนโตรเจน เมื่อแปรผันอุณหภูมิในการบ่มเป็น 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส ในชั่วโมงที่ 60 ของการเลี้ยงเชื้อ โดยมีค่าเป็น 0.4313 0.4732 และ 0.1465 μmole/mg cell dry wt/hr ตามลำดับ (ตารางภาคผนวกที่ 4)

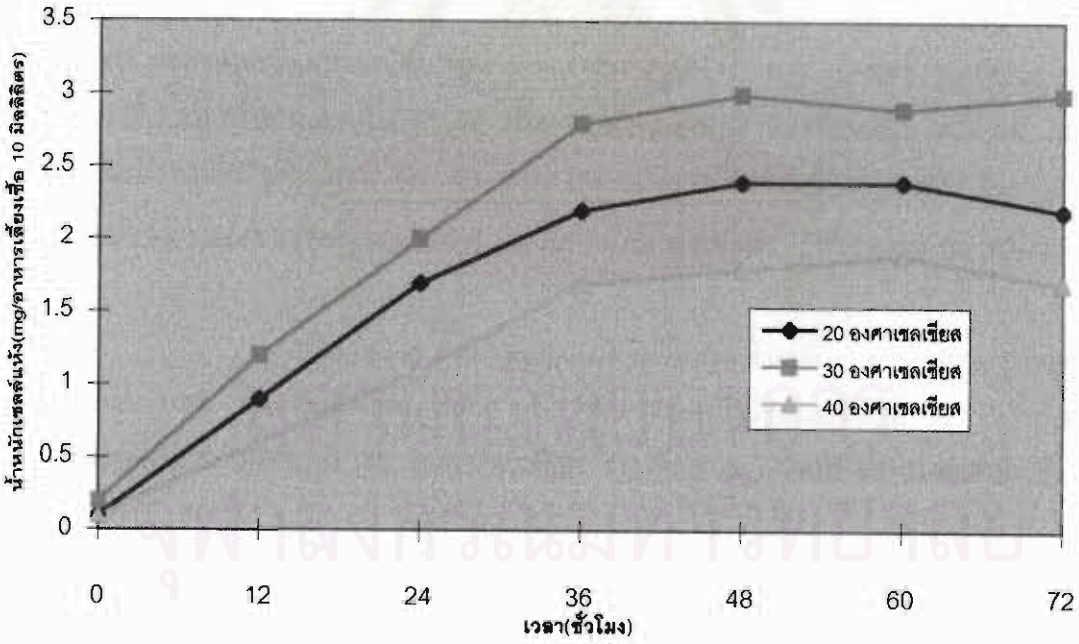
การวัดอัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 ในอาหารเหลวที่ปราศจากไนโตรเจนโดยบ่มที่อุณหภูมิที่ต่างกัน พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (รูปที่ 14ข.) โดยที่น้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อเจริญที่อุณหภูมิ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส ในเวลา 72 ชั่วโมง มีค่าเป็น 2.4 3.0 และ 1.9 มิลลิกรัม/อาหารเลี้ยงเชื้อ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางภาคผนวกที่ 4)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ก



ข)



รูปที่ 14 ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน (ก) และอัตราการเจริญ (ข) ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 เมื่อเจริญในอาหารเหลวที่ปราศจากไนโตรเจนที่อุณหภูมิ 20, 30 และ 40 องศาเซลเซียส

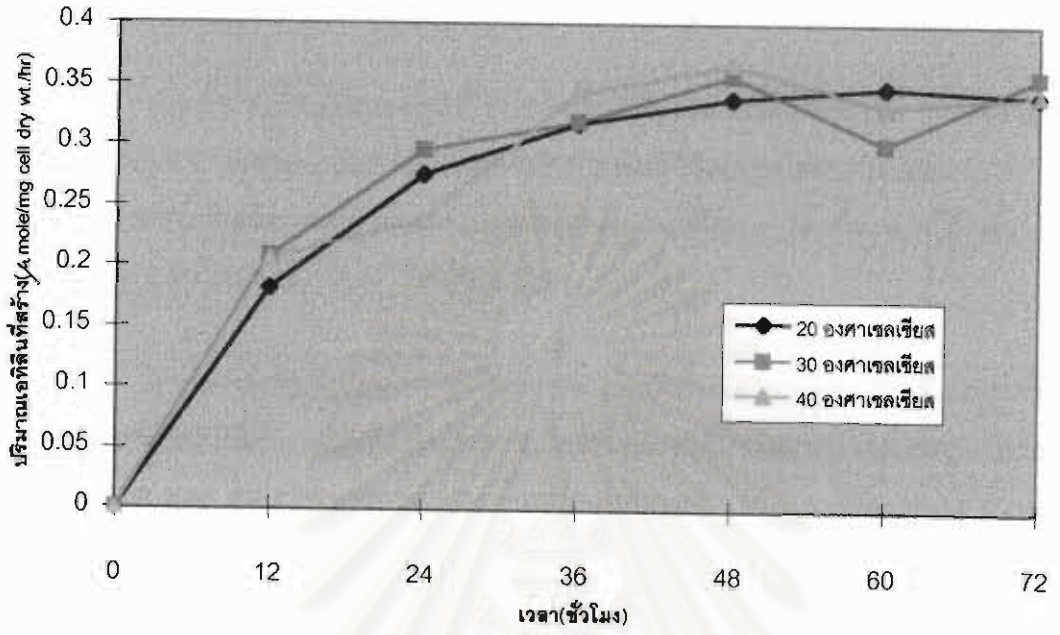
2.2.2 ผลประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน และอัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 6 ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อปราศจากไนโตรเจน ที่อุณหภูมิ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส

เมื่อทำการแปรผันอุณหภูมิที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 6 ที่คัดเลือกได้เป็น 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส เลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้ตามวิธีในข้อ 5.3 นำไปวิเคราะห์หาความสามารถในการตรึงไนโตรเจนโดยใช้เทคนิคอะเซทิลีน รีดักชั่น ตามวิธีในข้อ 3.2.1 และวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้งตามวิธีในข้อ 3.2.2

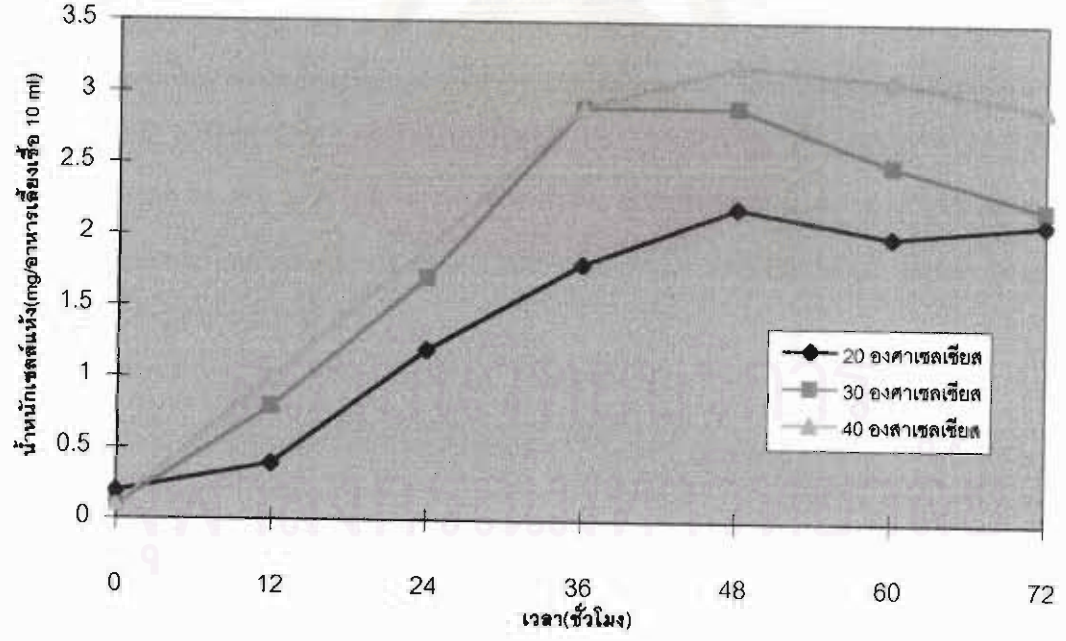
จากการทดลองนี้พบว่าประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 6 โดยการสร้างเอทิลีน เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ปราศจากไนโตรเจน และบ่มที่อุณหภูมิ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เมื่อเซลล์มีอายุ 24 ชั่วโมง แต่หลังจากนั้นจะมีค่าคงที่ มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณเพียงเล็กน้อย แต่เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการสร้างเอทิลีนในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากไนโตรเจน ณ.ที่อุณหภูมิดังกล่าว พบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสประสิทธิภาพของการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 จะมีค่าสูงที่สุด ในชั่วโมงที่ 48 รองลงมา คือที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ในขณะที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสมีผลน้อยที่สุด ตามลำดับ (รูปที่ 15ก.) การสร้างเอทิลีนสูงสุดในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ปราศจากไนโตรเจน เมื่อแปรผันอุณหภูมิในการบ่มเป็น 20 30 และ40 องศาเซลเซียส จะเกิดในชั่วโมงที่ 60 48 และ 36 ของการเลี้ยงเชื้อ ตามลำดับ โดยมีค่าเป็น 0.3478 0.3574 และ 0.3429 μmole/mg cell dry wt/hr ตามลำดับ (ตารางภาคผนวกที่ 5)

การวัดอัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 6 ในอาหารเหลวที่ปราศจากไนโตรเจน โดยบ่มที่อุณหภูมิต่างๆกัน พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 6 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (รูปที่ 15ข.) โดยที่น้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อเจริญที่อุณหภูมิ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส ในเวลา 72 ชั่วโมง มีค่าเป็น 2.1 2.2 และ 2.9 มิลลิกรัม/อาหารเลี้ยงเชื้อ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางภาคผนวกที่ 5)

ก)



ข)



รูปที่ 15 ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน (ก) และอัตราการเจริญ (ข) ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 6 เมื่อเจริญในอาหารเหลวที่ปราศจากไนโตรเจนที่อุณหภูมิ 20, 30 และ 40 องศาเซลเซียส

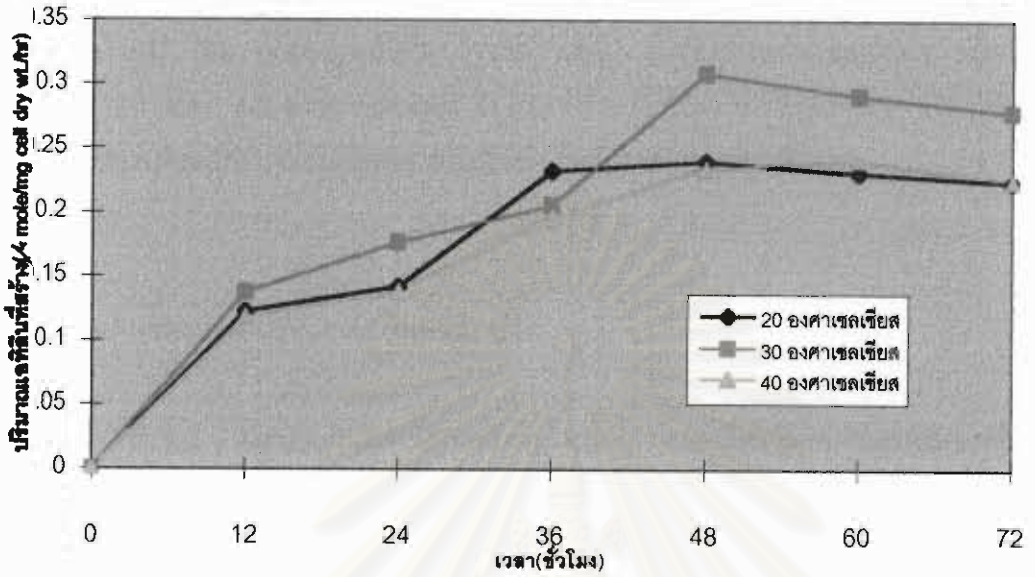
2.2.3 ผลประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน และอัตราการเจริญ ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 12 ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อปราศจากไนโตรเจน ที่อุณหภูมิ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส

เมื่อทำการแปรผันอุณหภูมิที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 12 ที่คัดเลือกได้เป็น 20 30 และ40 องศาเซลเซียส เลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้ตามวิธีในข้อ 5.3 นำไปวิเคราะห์หาความสามารถในการตรึงไนโตรเจนโดยใช้เทคนิคอะเซทิลีน รีดักชั่น ตามวิธีในข้อ 3.2.1 และวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้งตามวิธีในข้อ 3.2.2

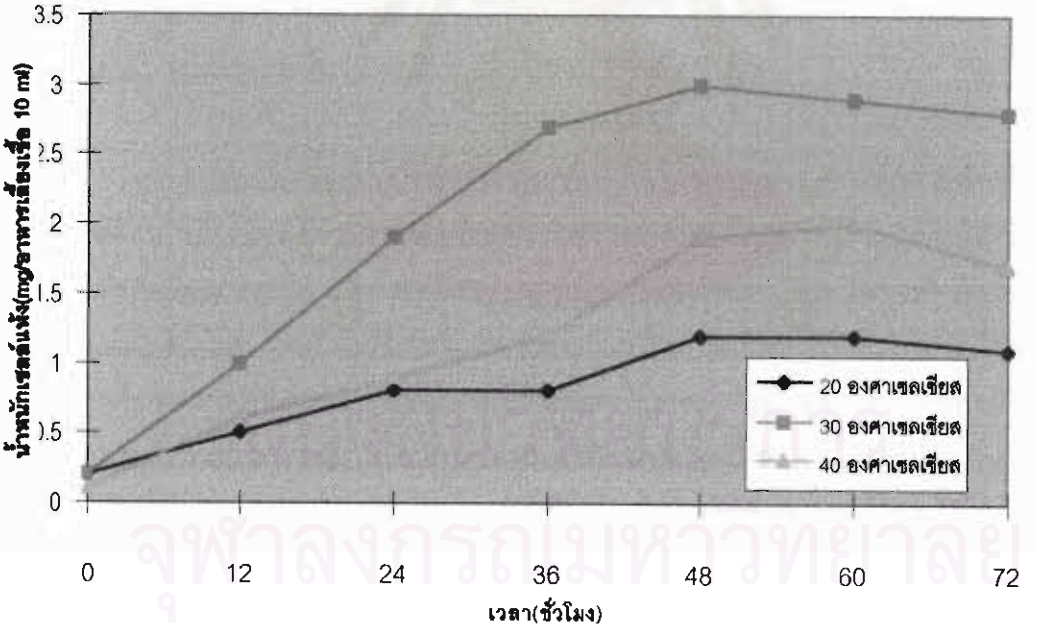
จากการทดลองนี้พบว่าประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 12 โดยการสร้างเอทิลีน เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ปราศจากไนโตรเจน และบ่มที่อุณหภูมิ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เมื่อเซลล์มีอายุ 36 ชั่วโมง แต่หลังจากนั้นจะมีค่าคงที่ มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณเพียงเล็กน้อย แต่เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการสร้างเอทิลีนในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากไนโตรเจน โดยบ่มที่อุณหภูมิ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส พบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสประสิทธิภาพของการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 12 จะมีค่าสูงที่สุด ในชั่วโมงที่ 48 รองลงมา คือที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ในขณะที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสมีผลน้อยที่สุด ตามลำดับ (รูปที่ 16ก.) การสร้างเอทิลีนสูงสุดในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ปราศจากไนโตรเจน เมื่อแปรผันอุณหภูมิในการบ่มเป็น 20 และ 30 องศาเซลเซียส จะเกิดในชั่วโมงที่ 48 ของการเลี้ยงเชื้อ โดยมีค่าเป็น 0.2399 และ 0.3089 μmole/mg dry cell wt/hr ตามลำดับ ส่วนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จะมีการสร้างเอทิลีนสูงสุดในชั่วโมงที่ 60 ของการเลี้ยงเชื้อโดยมีค่าเป็น 0.2410 μmole/mg cell dry wt/hr (ตารางภาคผนวกที่ 6)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ก)



ข)



รูปที่ 16 ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน (ก) และอัตราการเจริญ (ข) ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 12 เมื่อเจริญในอาหารเหลวที่ปราศจากไนโตรเจนที่อุณหภูมิ 20,30 และ 40 องศาเซลเซียส

การวัดอัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 12 ในอาหารเหลวที่ปราศจากไนโตรเจน โดยบ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆกัน พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 12 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (รูปที่ 16ข.) โดยที่น้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อเจริญที่อุณหภูมิ 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส ในเวลา 72 ชั่วโมง มีค่าเป็น 1.1 2.8 และ 1.7 มิลลิกรัม/อาหารเลี้ยงเชื้อ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางภาคผนวกที่ 6)

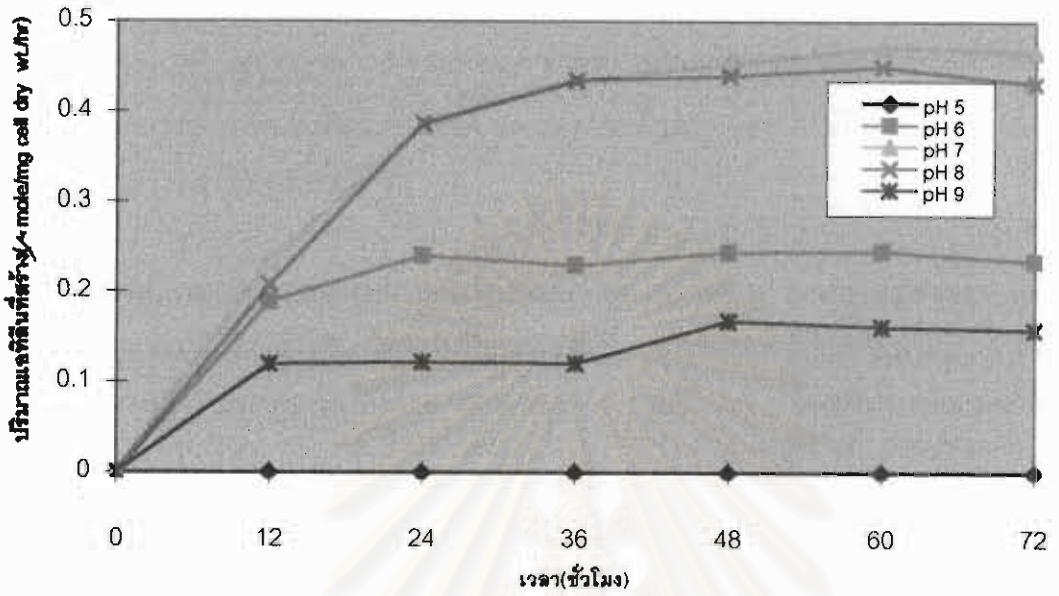
2.3 ผลการแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง

2.3.1 ผลประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน และอัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อปราศจากไนโตรเจน ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5 6 7 8 และ 9

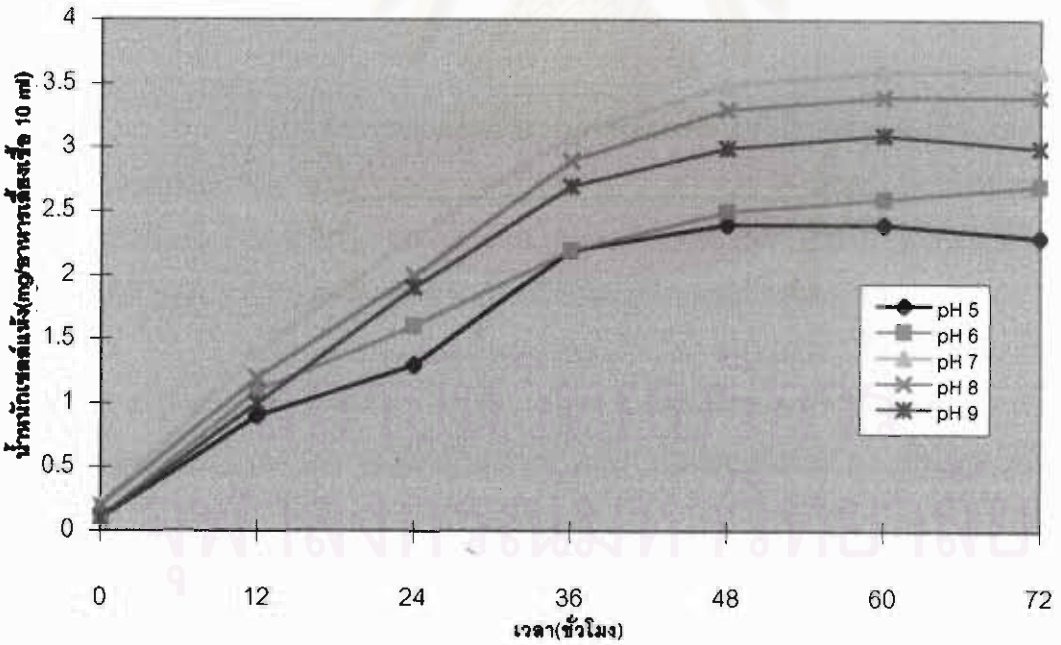
เมื่อทำการแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่างที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 โดยแปรผันที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5 6 7 8 และ 9 เลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้ตามวิธีในข้อ 5.4 นำไปวิเคราะห์หาความสามารถในการตรึงไนโตรเจนโดยใช้เทคนิคอะเซทิลีน รีดักชั่น ตามวิธีในข้อ 3.2.1 และวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้งตามวิธีในข้อ 3.2.2

จากการทดลองนี้พบว่าประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 โดยการสร้างเอทิลีน เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ปราศจากไนโตรเจน และแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เมื่อเซลล์มีอายุ 24 ชั่วโมง แต่หลังจากนั้นจะมีค่าคงที่ มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณเพียงเล็กน้อย แต่เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการสร้างเอทิลีนในอาหารเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากไนโตรเจน แล้วแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 7 ประสิทธิภาพของการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 จะมีค่าสูงที่สุด ในชั่วโมงที่ 48 รองลงมา คือที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 8 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7 รองลงมาคือค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6 9 และ 5 ตามลำดับ โดยที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5 จะไม่พบการเจริญ (รูปที่ 17ก.)

ก)



ข)



รูปที่ 17 ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน (ก) และอัตราการเจริญ (ข) ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 ในอาหารเหลวที่ปราศจากไนโตรเจนที่แปรผันค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5, 6, 7, 8 และ 9 ณ.ที่อุณหภูมิห้อง

การสร้างเอทิลีนสูงสุดในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ปราศจากไนโตรเจน เมื่อแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6 7 และ8 จะเกิดในชั่วโมงที่ 60 ของการเลี้ยงเชื้อ โดยมีค่าเป็น 0.2461 0.4721 และ 0.4497 μmole/mg cell dry wt/hr ตามลำดับ ส่วนที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 9 การสร้างเอทิลีนสูงสุดในอาหารเลี้ยงเชื้อจะเกิดในชั่วโมงที่ 48 ของการเลี้ยงเชื้อ โดยมีค่าเป็น 0.1682 μmole/mg cell dry wt/hr (ตารางภาคผนวกที่ 7)

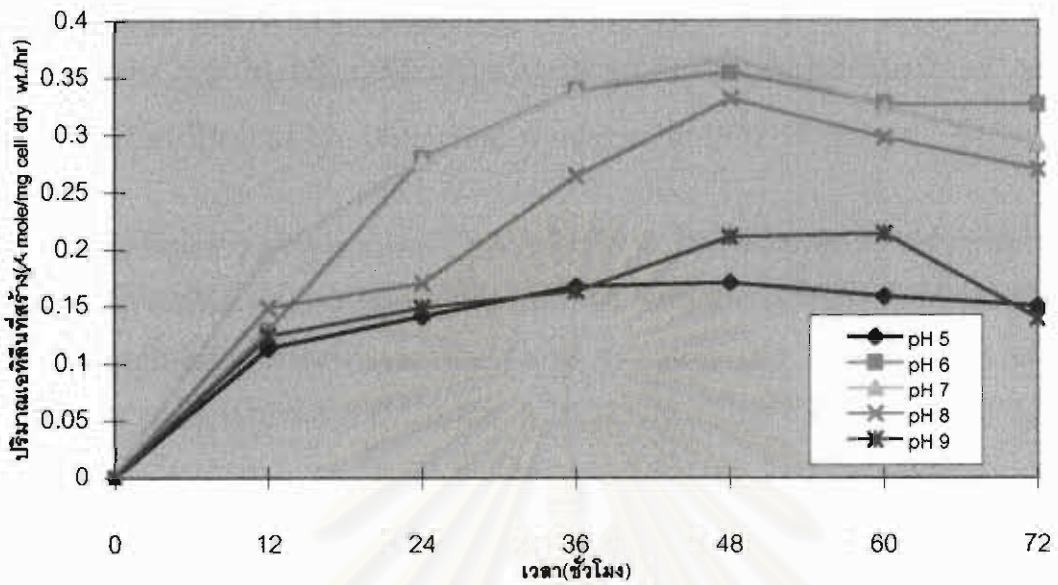
การวัดอัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 ในอาหารเหลวที่ปราศจากไนโตรเจนที่แปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยบ่มที่อุณหภูมิห้อง พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7 (รูปที่ 17ข.) โดยที่น้ำหนักเซลล์แห้ง เมื่อเจริญที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5 6 7 8 และ 9 ในเวลา 72 ชั่วโมง มีค่าเป็น 2.3 2.7 3.6 3.4 และ 3.0 มิลลิกรัม/อาหารเลี้ยงเชื้อ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางภาคผนวกที่ 7)

2.3.2 ผลประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน และอัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 6 ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อปราศจากไนโตรเจน ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5 6 7 8 และ 9

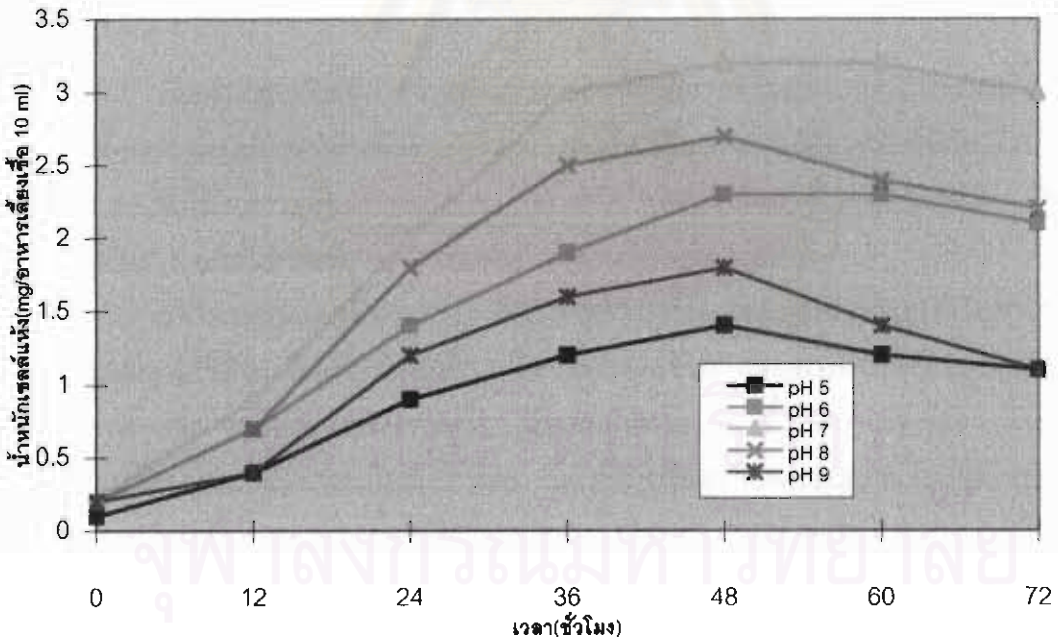
เมื่อทำการแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่างที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 6 โดยแปรผันที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5 6 7 8 และ 9 เลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้ตามวิธีในข้อ 5.3 นำไปวิเคราะห์หาความสามารถในการตรึงไนโตรเจนโดยใช้เทคนิคอะเซทิลีนรีดักชั่นตามวิธีในข้อ 3.2.1 และวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้งตามวิธีในข้อ 3.2.2

จากการทดลองนี้พบว่าประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 6 โดยการสร้างเอทิลีน เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ปราศจากไนโตรเจน และแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เมื่อเซลล์มีอายุ 24 ชั่วโมง แต่หลังจากนั้นจะมีค่าคงที่ มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณเพียงเล็กน้อย แต่เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการสร้างเอทิลีนในอาหารเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากไนโตรเจน แล้วแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 7 ประสิทธิภาพของการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 6 จะมีค่าสูงที่สุด ในชั่วโมงที่ 48 รองลงมา คือที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 8 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7 รองลงมาคือค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6 9 และ 5 ตามลำดับ โดยที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5 จะไม่พบการเจริญ (รูปที่ 18ก.) การสร้างเอทิลีนสูงสุดในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ปราศจากไนโตรเจน เมื่อแปรผัน

ก)



ข)



รูปที่ 18 ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน (ก) และอัตราการเจริญ (ข) ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 6 ในอาหารเหลวที่ปราศจากไนโตรเจนที่แปรผันค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5, 6, 7, 8 และ 9 ณ.ที่อุณหภูมิห้อง

ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6 7 และ8 จะเกิดในชั่วโมงที่ 48 ของการเลี้ยงเชื้อ โดยมีค่าเป็น 0.2461 0.3682 และ 0.3316 μmole/mg cell dry wt/hr ตามลำดับ ส่วนที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 9 การสร้างเอทิลีนสูงสุดในอาหารเลี้ยงเชื้อจะเกิดในชั่วโมงที่ 48 ของการเลี้ยงเชื้อ โดยมีค่าเป็น 0.2112 μmole/mg cell dry wt/hr (ตารางภาคผนวกที่ 8)

การวัดอัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 6 ในอาหารเหลวที่ปราศจากไนโตรเจนที่แปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยบ่มที่อุณหภูมิห้อง พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 6 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7 (รูปที่ 18ข.) โดยที่น้ำหนักเซลล์แห้งเมื่อความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5 6 7 8 และ 9 ในเวลา 72 ชั่วโมง มีค่าเป็น 1.1 2.1 0.2 3.0 และ 1.1 มิลลิกรัม/อาหารเลี้ยงเชื้อ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางภาคผนวกที่ 8)

2.3.3 ผลประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน และอัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 12 ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อปราศจากไนโตรเจน ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5 6 7 8 และ 9

เมื่อทำการแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่างที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 12 โดยแปรผันที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5 6 7 8 และ 9 เลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้ตามวิธีในข้อ 5.3 นำไปวิเคราะห์หาความสามารถในการตรึงไนโตรเจนโดยใช้เทคนิคอะเซทิลีน รีดักชั่นตามวิธีในข้อ 3.2.1 และวิเคราะห์หาน้ำหนักเซลล์แห้งตามวิธีในข้อ 3.2.2

จากการทดลองนี้พบว่าประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 12 โดยการสร้างเอทิลีน เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ปราศจากไนโตรเจน และแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เมื่อเซลล์มีอายุ 36 ชั่วโมง แต่หลังจากนั้นจะมีค่าคงที่ มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณเพียงเล็กน้อย แต่เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการสร้างเอทิลีนในอาหารเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากไนโตรเจน แล้วแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง พบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 7 ประสิทธิภาพของการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 12 จะมีค่าสูงที่สุด ในชั่วโมงที่ 48 รองลงมา คือที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7 รองลงมาคือค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 8 9 และ 5 ตามลำดับ โดยที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5 จะไม่พบการเจริญ (รูปที่ 19 ก) การสร้างเอทิลีนสูงสุดในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ปราศจากไนโตรเจน เมื่อแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6 7และ8 จะเกิดในชั่วโมงที่ 60 ของการเลี้ยงเชื้อ โดยมีค่าเป็น 0.2237

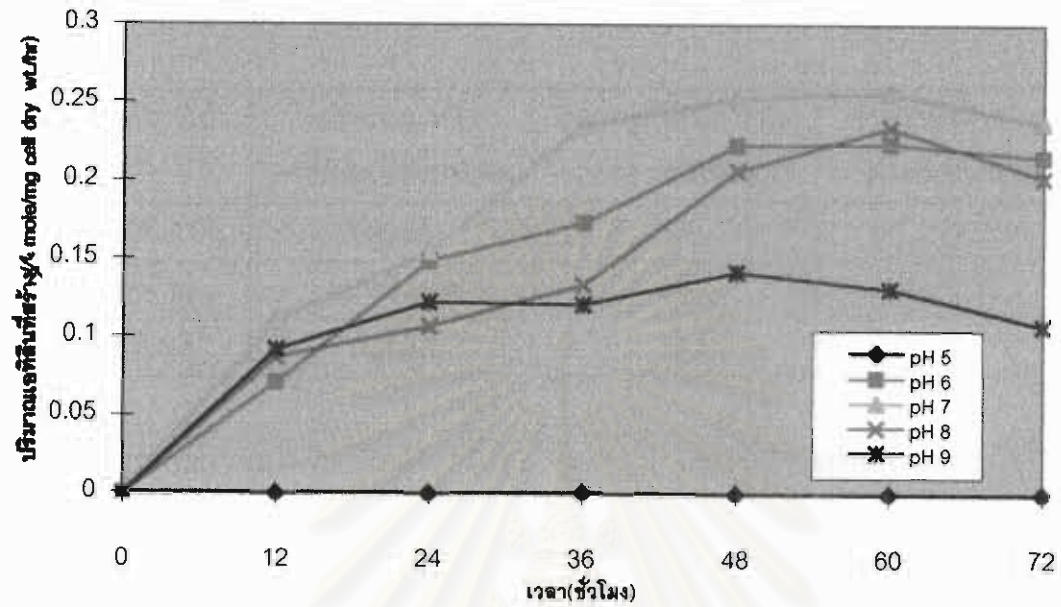
0.2566 และ 0.2344 μmole/mg cell dry wt/hr ตามลำดับ ส่วนที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 9 การสร้างเอทิลีนสูงสุดในอาหารเลี้ยงเชื้อจะเกิดในชั่วโมงที่ 48 ของการเลี้ยงเชื้อ โดยมีค่าเป็น 0.1418 μmole/mg cell dry wt/hr (ตารางภาคผนวกที่ 9)

การวัดอัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 ในอาหารเหลวที่ปราศจากไนโตรเจนที่แปรผันค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยบ่มที่อุณหภูมิห้อง พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 12 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7 (รูปที่ 19ข.) โดยที่น้ำหนักเซลล์แห้งเมื่อเจริญในอาหารเหลวที่ปราศจากไนโตรเจนที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5 6 7 8 และ 9 ในเวลา 72 ชั่วโมง มีค่าเป็น 0.4 2.1 2.5 2.1 และ 1.4 มิลลิกรัม/อาหารเลี้ยงเชื้อ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ (ตารางภาคผนวกที่ 9)

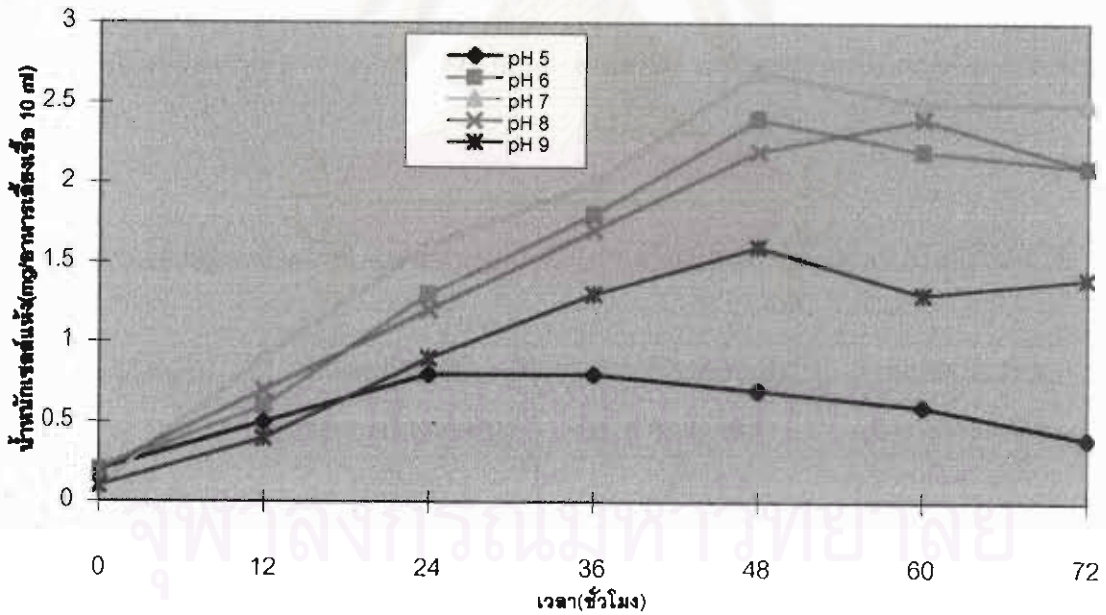
จากการทดลองการแปรผันปัจจัยที่มีผลต่อความสามารถในการตรึงไนโตรเจนและการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 6 และ 12 อันได้แก่ แหล่งคาร์บอน อุณหภูมิ และ ค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าในแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนได้ดี เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเป็น 7 ในแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 6 มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนได้ดี เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเป็น 7 ส่วนแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 12 มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนได้ดีเมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเท่ากับ 7 (ตารางที่ 8)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ก)



ข)



รูปที่ 19 ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน (ก) และอัตราการเจริญ (ข) ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 12 ในอาหารเหลวที่ปราศจากไนโตรเจนที่แปรผันค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5, 6, 7, 8 และ 9 ณ.ที่อุณหภูมิห้อง

ตารางที่ 8 สรุปพารามิเตอร์ที่เหมาะสมต่อประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่แยกได้ 3 สายพันธุ์ ซึ่งวัดโดยอะเซธิลีน รีดักชั่น เทคนิค

ชนิดของจุลินทรีย์	ชนิดของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสม	อุณหภูมิที่เหมาะสม (องศาเซลเซียส)	ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสม
สายพันธุ์ที่ 2	กลูโคส	30	7
สายพันธุ์ที่ 6	แมนนิทอล	30	7
สายพันธุ์ที่ 12	กลูโคส	30	7

นอกจากนี้การแปรผัน แหล่งคาร์บอน อุณหภูมิ และค่าความเป็นกรด-ด่างในการเลี้ยงเชื้อ ยังมีผลต่ออัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 6 และ 12 โดยในแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 จะมีอัตราการเจริญสูงเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 7 ในแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 6 มีอัตราการเจริญสูงเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีแมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอน อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 7 ส่วนในแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 12 พบว่ามีอัตราการเจริญสูงในอาหารที่ใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7 (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 สรุปพารามิเตอร์ที่เหมาะสมต่ออัตราการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่แยกได้

ชนิดของจุลินทรีย์	ชนิดของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสม	อุณหภูมิที่เหมาะสม (องศาเซลเซียส)	ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสม
สายพันธุ์ที่ 2	กลูโคส	30	7
สายพันธุ์ที่ 6	แมนนิทอล	40	7
สายพันธุ์ที่ 12	กลูโคส	30	7

4. ผลการทดสอบความสามารถของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2, 6 และ 12 ที่มีผลต่อการเจริญของต้นข้าว

4.1 การวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนในดินที่จะนำมาใช้ในการทดลองปลูกข้าว

โดยนำตัวอย่างดินจากอำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี อำเภอบางบัวทอง จังหวัดนนทบุรี และอำเภอบ้านลาด จังหวัดเพชรบุรี ที่อบแห้งแล้วมา 0.1 กรัม เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินสามารถทำได้ ตามวิธีของ Stayermark, (1995) (ภาคผนวก ค) พบว่าตัวอย่างดินจาก 3 แหล่งคือ จังหวัดปทุมธานี นนทบุรี และเพชรบุรี มีปริมาณไนโตรเจนภายในดินแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ปริมาณไนโตรเจนที่วิเคราะห์ได้จากดินจากแหล่งต่าง ๆ

แหล่งที่ทำการเก็บตัวอย่าง	ปริมาณไนโตรเจน(เปอร์เซ็นต์)
อ.บางบัวทอง จ.นนทบุรี	1.718
อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี	1.309
อ.บ้านลาด จ.เพชรบุรี	1.694

จากผลการทดลองปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่างดินจากจังหวัดปทุมธานีจะมีค่าต่ำกว่าดินจากจังหวัดนนทบุรี และจังหวัดเพชรบุรี โดยมีค่าเป็น 1.309, 1.718 และ 1.694 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังนั้นจึงเลือกดินจากจังหวัดปทุมธานีมาใช้ในการปลูกข้าว

4.2 ผลของการเพาะปลูกข้าว

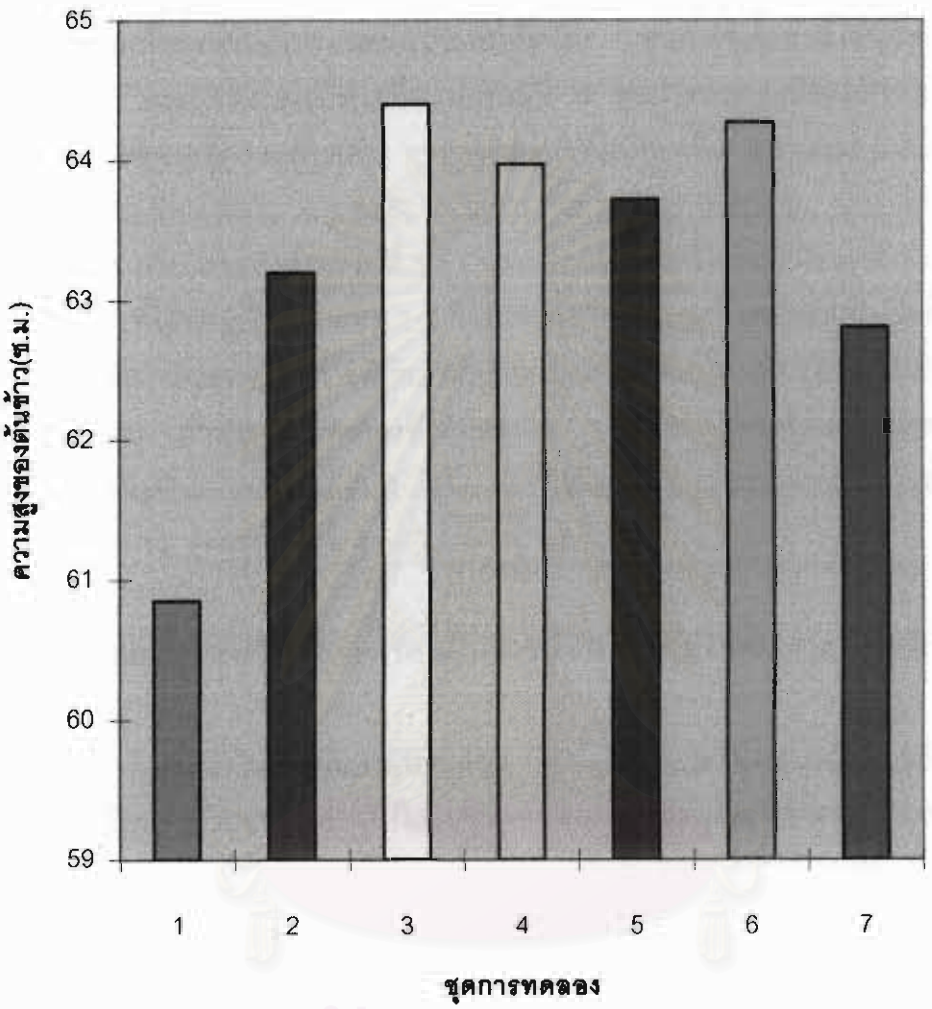
เมื่อได้ทดลองเพาะปลูกข้าวโดยศึกษาถึงผลของเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้ 3 สายพันธุ์ คือสายพันธุ์ที่ 2, 6 และ 12 ที่พ่นบริเวณใบข้าวเมื่อข้าวมีอายุประมาณ 1 เดือน เปรียบเทียบกับการใส่ปุ๋ยยูเรียที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆกัน คือ 5, 10 และ 12 กิโลกรัมต่อไร่ โดยทำการศึกษาความสูง และน้ำหนักแห้งของต้นข้าว เมื่อเปรียบเทียบความ

สูงของต้นข้าวที่มีอายุ 3 เดือนในชุดการทดลองต่างๆ พบว่าเมื่อเรียงลำดับความสูงของต้นข้าวจากมากไปน้อย คือ ชุดการทดลองที่พ่นเชื้อสายพันธุ์ที่ 6 ชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยยูเรีย 10 กิโลกรัมต่อไร่ ชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยยูเรีย 12 กิโลกรัมต่อไร่ ชุดการทดลองที่พ่นเชื้อสายพันธุ์ที่ 2 ชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยยูเรีย 5 กิโลกรัมต่อไร่ ชุดการทดลองที่พ่นเชื้อสายพันธุ์ที่ 12 และชุดการทดลองควบคุม ตามลำดับ โดยมีค่า 64.400, 64.400, 63.975, 63.725, 63.450, 62.800 และ 60.850 เซนติเมตร ตามลำดับ (รูปที่ 20) เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่า ความสูงของต้นข้าวที่ได้จากการทดลองที่พ่นเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์จะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม แต่เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยยูเรีย พบว่าชุดการทดลองที่พ่นเชื้อสายพันธุ์ที่ 12 จะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยยูเรีย 10 กิโลกรัมต่อไร่และชุดการทดลองที่พ่นเชื้อสายพันธุ์ที่ 6 (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 11 ความสูง และน้ำหนักแห้งของต้นข้าวที่ปลูกในกระบะทดลองต่างๆ เมื่อต้นข้าวอายุ 3 เดือน

ชุดการทดลอง	ความสูง(เซ็นติเมตร)	น้ำหนักแห้ง(กรัม)
ชุดควบคุม	60.850 c	0.1954 c
ชุดที่ใส่ปุ๋ย 5 kg/ไร่	63.450 ab	0.1969 bc
ชุดที่ใส่ปุ๋ย10kg/ไร่	64.400 a	0.1993 bc
ชุดที่ใส่ปุ๋ย12 kg/ไร่	63.975 ab	0.2215 a
ชุดที่พ่นแบคทีเรีย 2	63.725 ab	0.2049 bc
ชุดที่พ่นแบคทีเรีย 6	64.400 a	0.2207 a
ชุดที่พ่นแบคทีเรีย12	62.800 b	0.2113 ab

เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามอักษรในแนวตั้ง ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับด้านข้างต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(P=0.25)



รูปที่ 20 เปรียบเทียบความสูงของต้นข้าวเจ้าพันธุ์ กข1 ในชุดการทดลองต่าง ๆดังนี้

1.ชุดควบคุม
2.ชุดที่ใส่ปุ๋ยยูเรีย 5 kg/ไร่
3.ชุดที่ใส่ปุ๋ยยูเรีย 10 kg/ไร่
4.ชุดที่ใส่ปุ๋ยยูเรีย 12 kg/ไร่
5.ชุดที่พ่นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2
6.ชุดที่พ่นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 6
7.ชุดที่พ่นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 12

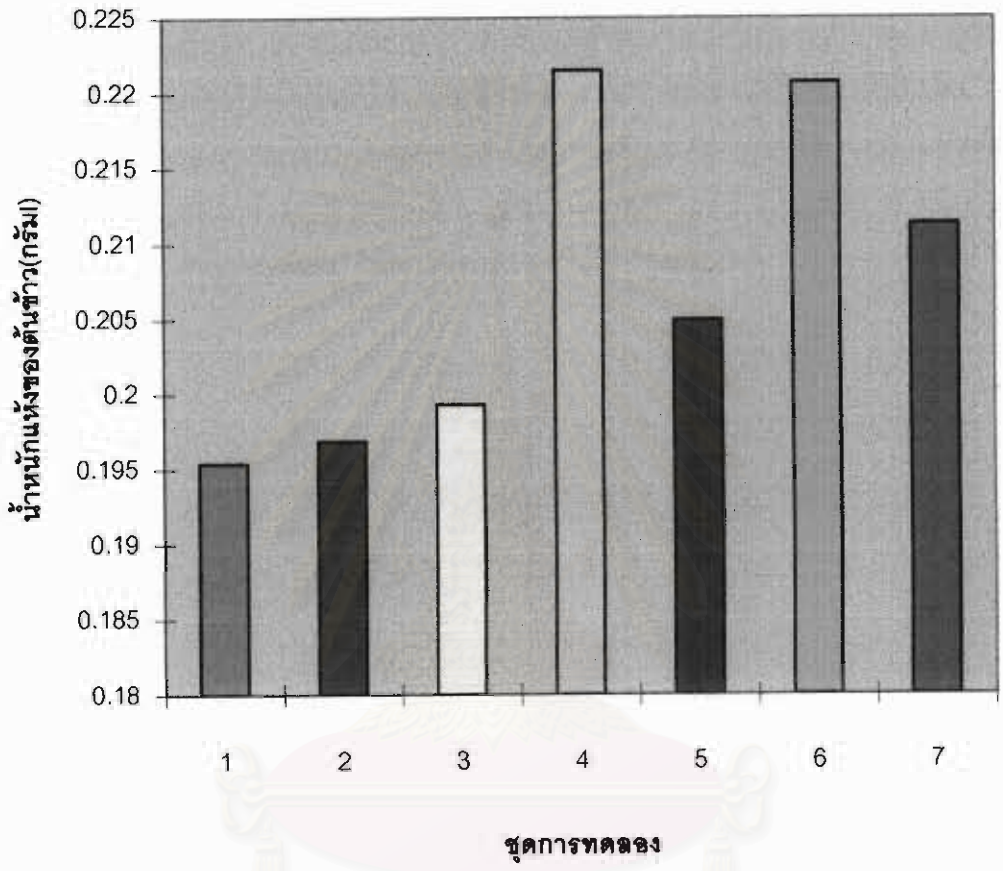
เมื่อศึกษาถึงน้ำหนักแห้งของต้นข้าวในการทดลองทั้ง 7 ชุด พบว่า เมื่อเรียงลำดับน้ำหนักแห้งของต้นข้าวจากมากไปน้อยได้ดังนี้ ชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยยูเรีย 12 กิโลกรัมต่อไร่ ชุดการทดลองที่พ่นเชื้อสายพันธุ์ที่ 6 ชุดการทดลองที่พ่นเชื้อสายพันธุ์ที่ 7 ชุดการทดลองที่พ่นเชื้อสายพันธุ์ที่ 2 ชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยยูเรีย 10 และ 5 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ โดยมีค่าเท่ากับ 0.2215, 0.2207, 0.2113, 0.2049, 0.1993, 0.1969 และ 0.1954 กรัม ตามลำดับ (รูปที่ 21) และเมื่อนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า ชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยยูเรีย 5 และ 10 กิโลกรัมต่อไร่ และชุดการทดลองที่พ่นเชื้อสายพันธุ์ที่ 2 จะไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ กับชุดการทดลองควบคุม ส่วนชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยยูเรีย 12 กิโลกรัมต่อไร่จะไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ กับชุดการทดลองที่พ่นด้วยเชื้อสายพันธุ์ที่ 6 และ 12 (ตารางที่ 11)

5. การตรวจสอบการตรึงไนโตรเจนบนใบข้าวที่พ่น และไม่ได้พ่นด้วยแบคทีเรีย

เมื่อนำใบข้าวที่มีอายุประมาณ 2 เดือน มาวิเคราะห์อะเซธิลีน รีดักชั่น เทคนิค โดยนำตัวอย่างใบข้าวไปใส่ในขวดทดลอง แล้วฉีดก๊าซอะเซธิลีนเข้าไปในขวดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร ตามวิธีในข้อ 3.2.1 พบว่า ในใบข้าวที่มีการพ่นด้วยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2, 6 และ 12 มีการตรวจพบการตรึงไนโตรเจนสูงกว่าใบที่ไม่ได้พ่นด้วยแบคทีเรีย ดังแสดงในตารางที่ 12

ตารางที่ 12 ผลการวิเคราะห์ อะเซธิลีน รีดักชั่น ของใบข้าวที่มีอายุ 2 เดือนที่พ่นด้วยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2, 6 และ 12 เปรียบเทียบกับใบข้าวที่ไม่ได้พ่นด้วยแบคทีเรีย เมื่อบ่มก๊าซอะเซธิลีนเป็นเวลา 3 ชั่วโมง

ใบไม้ที่พ่นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่	เอทิลีนที่สร้าง(μmole/g. cell dry wt./hr)
2	0.2154
6	0.6610
12	0.3268
ชุดควบคุม(ไม่ได้พ่นเชื้อ)	0.1036



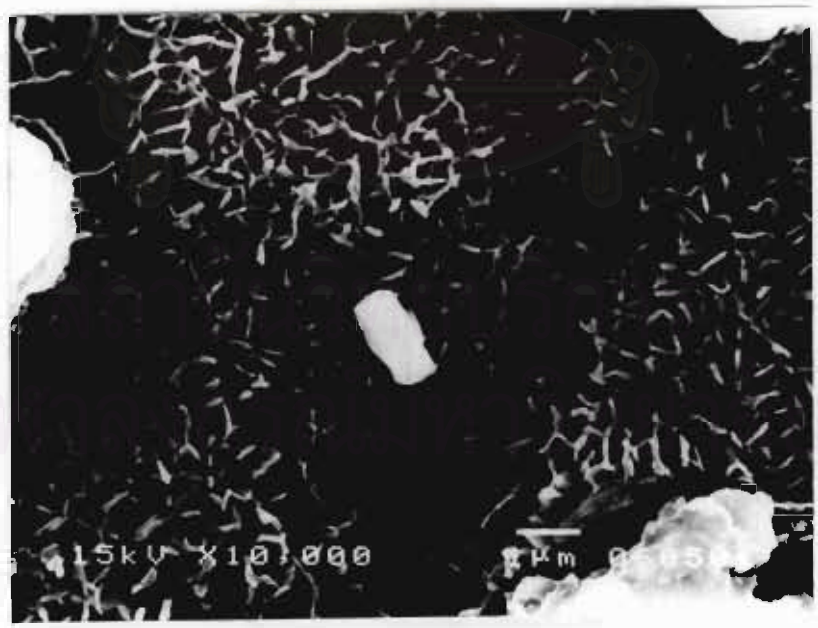
รูปที่ 21 เปรียบเทียบน้ำหนักแห้งของต้นข้าวเจ้าพันธุ์ กข1 ในชุดการทดลองต่าง ๆ ดังนี้

1.ชุดควบคุม
2.ชุดที่ใส่ปุ๋ยยูเรีย 5 kg/ไร่
3.ชุดที่ใส่ปุ๋ยยูเรีย 10 kg/ไร่
4.ชุดที่ใส่ปุ๋ยยูเรีย 12 kg/ไร่
5.ชุดที่พ่นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2
6.ชุดที่พ่นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 6
7.ชุดที่พ่นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 12

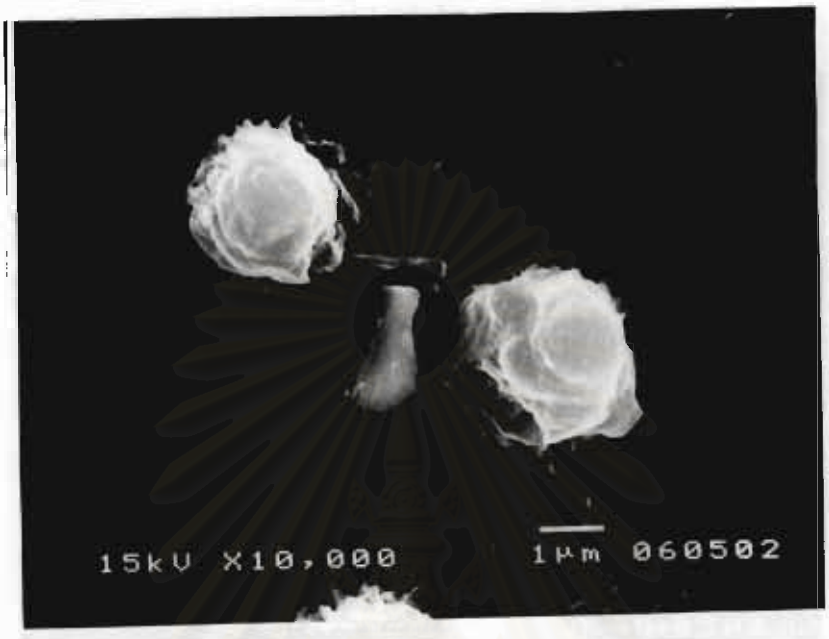
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

6. การตรวจสอบการคงอยู่ของแบคทีเรีย ที่พ่นบนใบข้าว

โดยการนำตัวอย่างใบข้าวอายุ 3 เดือน ที่พ่นด้วยแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้ทั้ง 3 สายพันธุ์คือ สายพันธุ์ที่ 2, 6 และ 12 และที่ไม่ได้พ่นด้วแบคทีเรียมาตรวจสอบการคงอยู่ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้บนใบข้าวหลังจากการพ่นลงบนใบข้าวเป็นเวลา 2 เดือน จากการศึกษาดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด พบว่าแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์เจริญบนใบข้าวไม่มากนัก โดยแสดงไว้ในรูปที่ 22, 23 และ24 ตามลำดับ ส่วนใบข้าวที่ไม่ได้พ่นด้วยแบคทีเรีย ไม่ตรวจพบแบคทีเรีย (รูปที่ 25)



รูปที่ 22 ภาพถ่ายใบข้าวเจ้าสายพันธุ์ กข1 อายุ 3 เดือน จากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด แสดงแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 2 ที่เจริญอยู่บนใบข้าว



รูปที่ 23 ภาพถ่ายใบข้าวเจ้าสายพันธุ์ กข1 อายุ 3 เดือน จากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด แสดงแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 6 ที่เจริญอยู่บนใบข้าว

รูปที่ 24 ภาพถ่ายใบข้าวเจ้าสายพันธุ์ กข1 อายุ 3 เดือน จากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด แสดงแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 12 ที่เจริญอยู่บนใบข้าว

รูปที่ 25 ใบข้าวที่ไม่ได้พ่นเชื้อแบคทีเรีย เมื่อดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย