บทที่ 4
ผลการวิจัย

ผลการคัดเลือกแบคทีเรียพีจีพีอาร์ที่สามารถเจริญบนอาหารแข็งที่เติมไกลโฟเสท

จากการทดสอบความสามารถของแบคทีเรียพีจีพีอาร์ทั้ง 62 ไอโซเลท ในการเจริญบนผิวหน้าอาหารแข็ง MSM ที่เติมไกลโฟเสทความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อลิตร พบว่าจาก 62 ไอโซเลท มีเพียง 29 ไอโซเลท ที่สามารถเจริญได้บนผิวหน้าอาหารทดสอบ แบ่งเป็น แบคทีเรียย่อยสลายสารกำจัดวัชพืช จำนวน 11 ไอโซเลท แบคทีเรียทนแล้ง จำนวน 6 ไอโซเลท แบคทีเรียปฏิปักษ์ จำนวน 11 ไอโซเลท และแบคทีเรียละลายฟอสเฟตทนร้อน จำนวน 1 ไอโซเลท ดังแสดงในตารางที่ 4.1 และ 4.2 ใน จำนวน 29 ไอโซเลท พบว่ามี 3 ไอโซเลท ได้แก่ MaH02-3, SoB02-3 และ RB5-3-3 ที่สามารถเจริญได้ดีบนอาหารแข็ง MSM ที่เติมไกลโฟเสท โดยมีลักษณะการเจริญของโคโลนีปรากฏชัดเจนตามแนวขีดบนผิวหน้าอาหาร ดังแสดงผลในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.1 จำนวนไอโซเลทของแบคทีเรียพีจีพีอาร์ที่สามารถเจริญบนอาหารแข็ง MSM ที่เติมไกลโฟเสทเป็นแหล่งคาร์บอน

แบคทีเรียพีจีพีอาร์	**จำนวนไอโซเลท**	
	ทั้งหมด	**สามารถเจริญได้บนอาหารแข็ง MSM ที่เติมไกลโฟเสท**
แบคทีเรียย่อยสลายสารกำจัดวัชพืช	16	11
แบคทีเรียทนแล้ง	19	6
แบคทีเรียปฏิปักษ์	18	11
แบคทีเรียละลายฟอสเฟตทนร้อน	9	1
รวม	**62**	**29**

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ตารางที่ 4.2 ความสามารถของแบคทีเรียแต่ละไอโซเลทในการเจริญบนอาหารแข็ง MSM ที่เติมไกลโฟเสทเป็นแหล่งคาร์บอน

กลุ่มแบคทีเรียพีจีพีอาร์	รหัสตัวอย่าง	ผลการเจริญ
แบคทีเรียย่อยสลายสารกำจัดวัชพืช	KaH01-5	-
	KhH02-6	++
	ThH02-1	-
	ThH02-3	+
	NaH01-1	+
	NaH02-2	+
	NaH02-4	+
	MaH01-1	+
	MaH01-5	++
	MaH02-3	+++
	MaH02-7	-
	MuH01-4	+
	SoH01-1	++
	SoH02-4	-
	LaH02-1	+
	LaD02-2	-
แบคทีเรียทนแล้ง	KaD01-2	-
	KaD02-1	+
	KlD01-2	-
	KlD02-6	++
	KhD02-1	-
	ThD01-4	+
	ThD02-2	-
	NaD01-2	-
	NaD02-1	-
	PoD01-2	-

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ตารางที่ 4.2 ความสามารถของแบคทีเรียแต่ละไอโซเลทในการเจริญบนอาหารแข็ง MSM ที่เติมไกลโฟเสทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

กลุ่มแบคทีเรียพีจีพีอาร์	รหัสตัวอย่าง	ผลการเจริญ
แบคทีเรียทนแล้ง	PoD02-4	-
	MaD01-7	+
	MaD02-7	++
	MuD01-2	-
	MuD02-5	-
	SoD01-1	-
	SoD02-3	+
	LaD01-2	-
	LaD02-2	-
แบคทีเรียปฏิปักษ์	KaB02-2	++
	KlB01-4	-
	KlB01-7	+
	KlB02-2	-
	ThB01-5	+
	ThB02-2	+
	NaB01-6	++
	NaB01-7	-
	NaB01-8	-
	PoB02-5	+
	MaB01-6	++
	MaB01-12	-
	MaB02-1	+
	MuB02-3	++
	SoB01-7	++
	SoB02-3	+++
	SoB02-4	-
	LaB01-4	-

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ตารางที่ 4.2 ความสามารถของแบคทีเรียแต่ละไอโซเลทในการเจริญบนอาหารแข็ง MSM ที่เติมไกลโฟเสทเป็นแหล่งคาร์บอน (ต่อ)

กลุ่มแบคทีเรียพีจีพีอาร์	รหัสตัวอย่าง	ผลการเจริญ
แบคทีเรียละลายฟอสเฟตทนร้อน	RB1-4-1	-
	RB1-4-2	-
	RB1-4-3	-
	RB4-1-2	-
	RB5-1-1	-
	RB5-1-2	-
	RB5-3-1	-
	RB5-3-3	+++
	RB5-3-4	-

*** หมายเหตุ** (+++) = โคโลนีแบคทีเรียมีการเจริญสม่ำเสมอตามแนวขีดบนผิวหน้าอาหาร
(++) = โคโลนีแบคทีเรียมีการเจริญดีตามแนวขีดบนผิวหน้าอาหาร
(+) = โคโลนีแบคทีเรียมีการเจริญเล็กน้อยตามแนวขีดบนผิวหน้าอาหาร
(-) = ไม่มีการเจริญของโคโลนีแบคทีเรียผิวหน้าอาหาร

ตารางที่ 4.3 ลักษณะการเจริญของแบคทีเรียพีจีพีอาร์ไอโซเลทที่มีการเจริญสม่ำเสมอตามแนวขีดบนผิวหน้าอาหารทดสอบ

กลุ่มแบคทีเรีย	ผลการเจริญของไอโซเลทที่คัดเลือก	
	รหัสตัวอย่าง	ภาพการเจริญ
แบคทีเรียย่อยสลายสารกำจัดวัชพืช	MaH02-3	

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราช

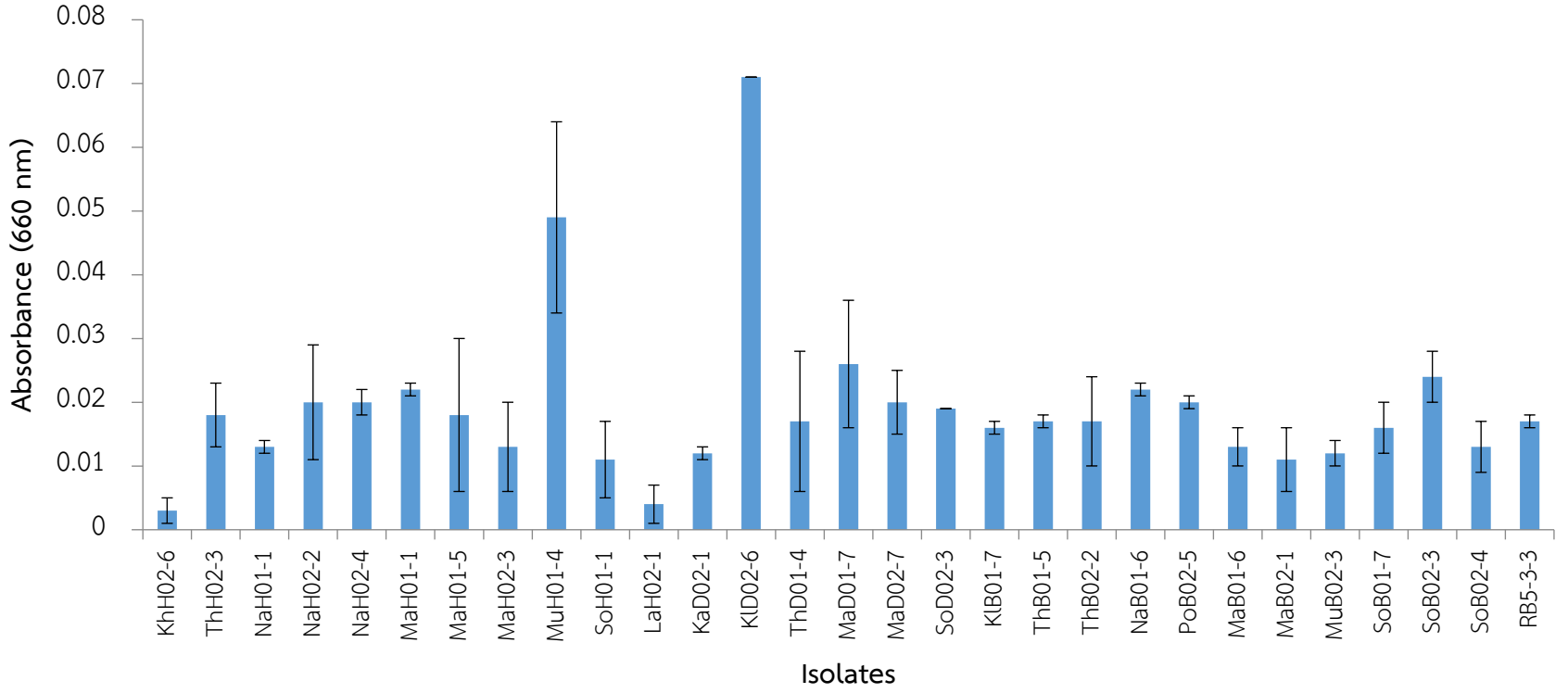
ตารางที่ 4.3 ลักษณะการเจริญของแบคทีเรียพีจีพีอาร์ไอโซเลทที่มีการเจริญสม่ำเสมอตามแนวขีดบนผิวหน้าอาหาร (ต่อ)

กลุ่มแบคทีเรีย	ผลการเจริญของไอโซเลทที่คัดเลือก	
	รหัสตัวอย่าง	ภาพการเจริญ
แบคทีเรียปฏิปักษ์	SoB02-3	
แบคทีเรียละลายฟอสเฟตทนร้อน	RB5-3-3	

ผลการเจริญของแบคทีเรียพีจีพีอาร์ในอาหารเหลวที่เติมไกลโฟเสท

จากการนำแบคทีเรียพีจีพีอาร์ทั้ง 29 ไอโซเลท ซึ่งสามารถเจริญได้บนอาหารแข็งที่เติมสารกำจัดวัชพืชทดสอบ มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MSM ที่เติมไกลโฟเสทความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าแบคทีเรียแต่ละไอโซเลทมีความสามารถในการเจริญในอาหารเหลวได้แตกต่างกัน โดยมีค่า OD_{660} อยู่ในช่วง 0.003 – 0.071 ซึ่งไอโซเลท KlD02-6 และ MuH01-4 สามารถเจริญได้ดีที่สุดในสภาวะดังกล่าว โดยมีค่า OD_{660} เท่ากับ 0.071 ± 0.000 และ 0.049 ± 0.015 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.1)

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี



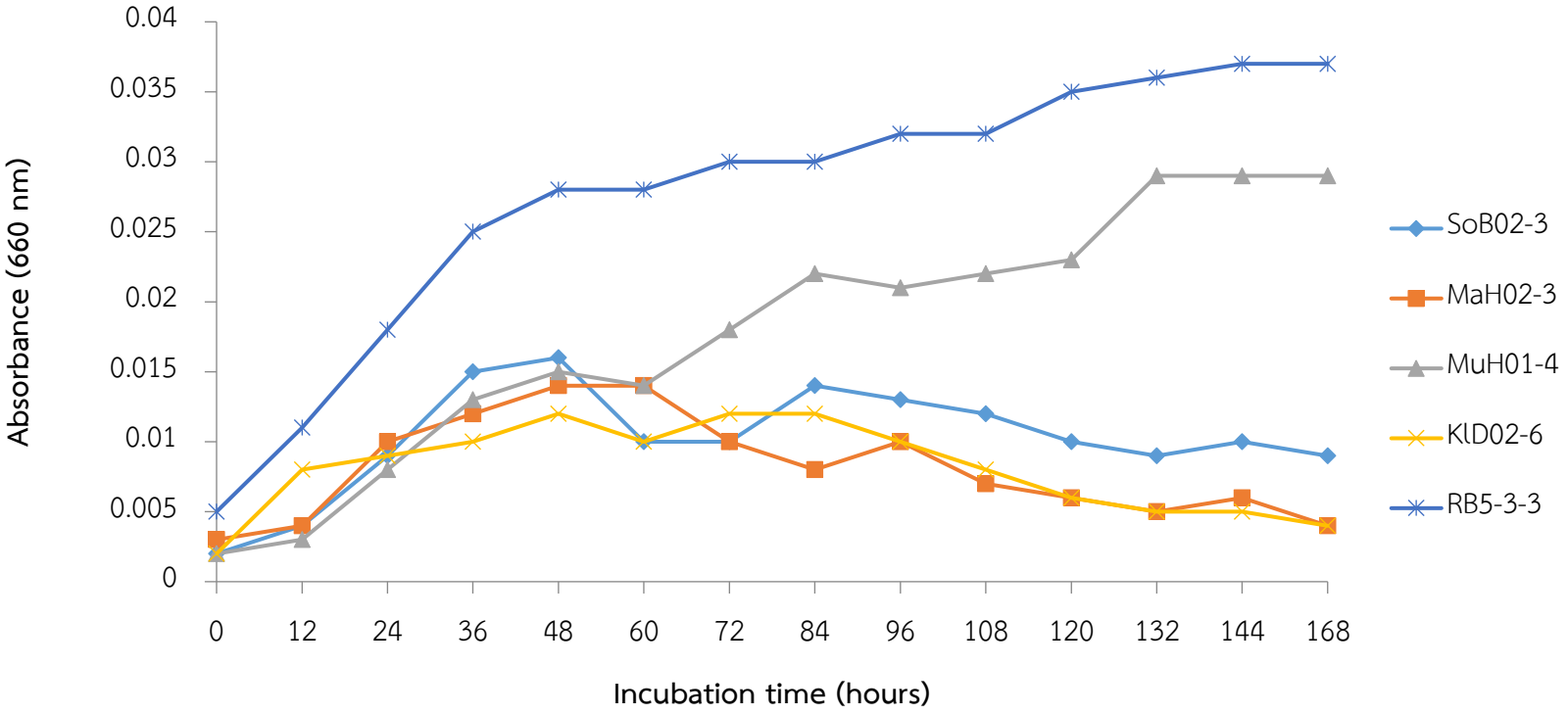
ภาพที่ 4.1 การเจริญของแบคทีเรียพีจีพีอาร์ทั้ง 29 ไอโซเลท ในอาหารเหลว MSM ที่เติมไกลโฟเสทความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อลิตร บ่มเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ผลทดสอบลักษณะการเจริญของแบคทีเรียพีจีพีอาร์ในอาหารเหลวที่เติมไกลโฟเสท

จากการคัดเลือกแบคทีเรียพีจีพีอาร์จำนวน 5 ไอโซเลท ซึ่งสามารถเจริญได้ดีในอาหาร MSM ที่เติมไกลโฟเสท ประกอบด้วย 3 ไอโซเลท ได้แก่ MaH02-3, SoB02-3 และ RB5-3-3 ที่สามารถเจริญได้ดีบนอาหารแข็ง และอีก 2 ไอโซเลท ได้แก่ KlD02-6 และ MuH01-4 ซึ่งสามารถเจริญได้ดีในอาหารเหลว มาทดสอบลักษณะการเจริญ (growth curve) ในอาหารเหลว MSM ที่เติมไกลโฟเสท ความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อลิตร โดยการเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 168 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่า ทั้ง 5 ไอโซเลท มีลักษณะการเจริญที่แตกต่างกัน โดยไอโซเลท RB5-3-3 มีการเจริญได้ดีที่สุด โดยเพิ่มจากค่า OD_{660} เท่ากับ 0.005 ในชั่วโมงที่ 0 เป็น 0.028 ในชั่วโมงที่ 48 หลังจากนั้นแบคทีเรียมีการเจริญเติบโตอย่างต่อเนื่องจนถึงชั่วโมงที่ 168 โดยมีค่า OD_{660} เท่ากับ 0.037 แบคทีเรียไอโซเลทที่มีการเจริญดีเป็นลำดับถัดมาคือ MuH01-4 ซึ่งมีค่า OD_{660} เริ่มต้น เท่ากับ 0.002 และมีการเจริญเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องโดยมีค่า OD_{660} เท่ากับ 0.029 ในชั่วโมงที่ 168 ส่วนไอโซเลท MaH02-3, SoB02-3 และ KlD02-6 มีค่าการเจริญน้อยมาก โดยมีค่า OD_{660} อยู่ในช่วง 0.014-0.016 ภายหลังการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียเป็นเวลา 48 ชั่วโมง (ภาพที่ 4.2)

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี



ภาพที่ 4.2 ลักษณะการเจริญของแบคทีเรียพีจีพีอาร์ทั้ง 5 ไอโซเลท ที่คัดเลือก ในอาหารเหลว MSM ที่เติมไกลโฟเสทความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อลิตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 168 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ผลทดสอบความสามารถในการย่อยสลายไกลโฟเสทของแบคทีเรียพีจีพีอาร์ไอโซเลทที่คัดเลือก ด้วยเครื่อง Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)

1. ผลการวิเคราะห์สเปกตรัมของ Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)

ผลการทดสอบความสามารถในการย่อยสลายไกลโฟเสทของแบคทีเรียพีจีพีอาร์ทั้ง 5 ไอโซเลทที่คัดเลือก โดยการนำ culture supernatant ของแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MSM ที่เติมไกลโฟเสทความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 36 ชั่วโมง ไปวิเคราะห์สเปคตรัมด้วยเครื่อง FTIR แสดงผลการวิเคราะห์ได้ดังต่อไปนี้

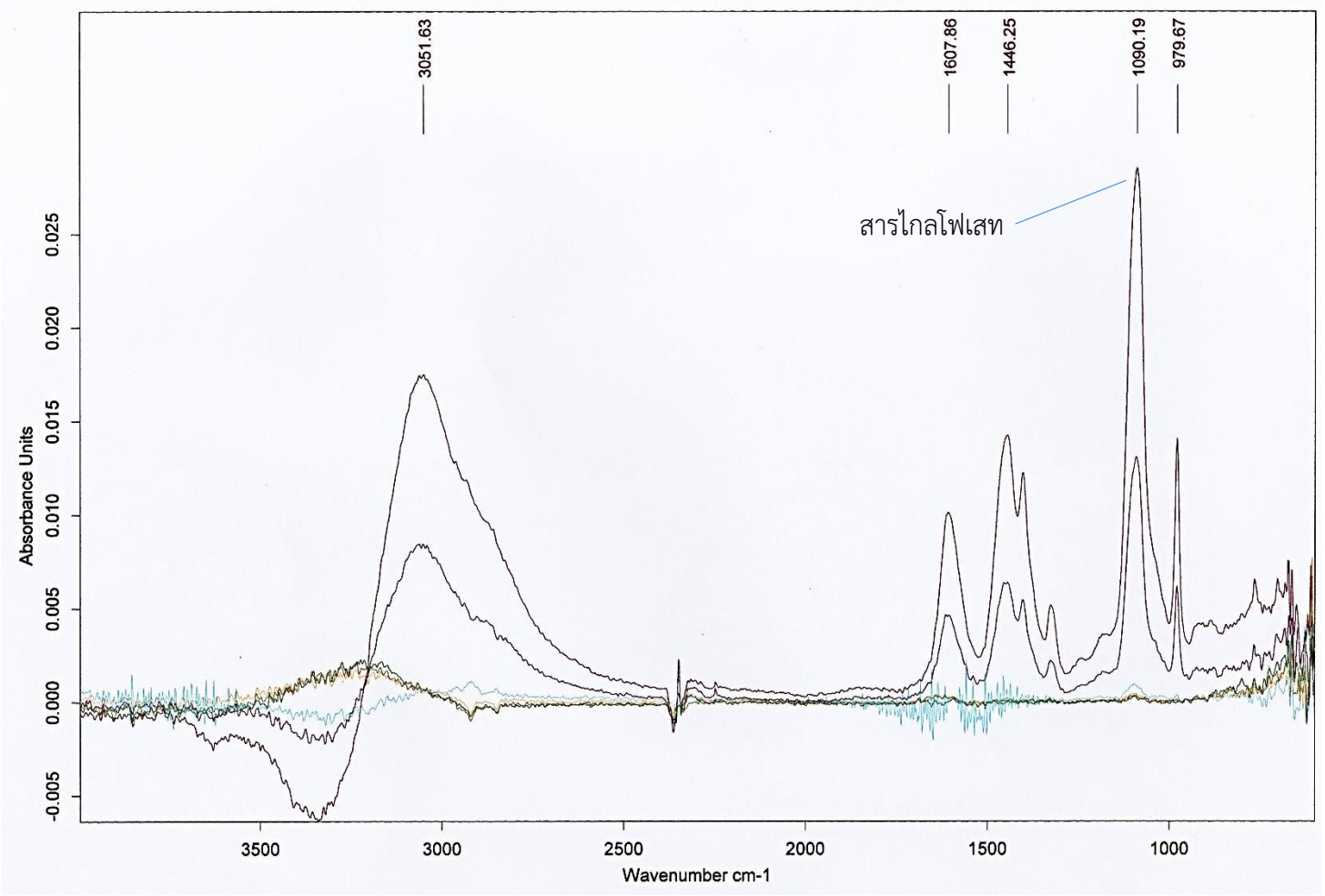
2. สเปกตรัม FTIR ของไกลโฟเสทในชุดควบคุมที่ไม่เติมเชื้อ

วิเคราะห์สเปคตรัมอินฟราเรด โดยการเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของสารไกลโฟเสทในอาหารเหลว MSM เพื่อวิเคราะห์หาตำแหน่งเลขคลื่นของสารไกลโฟเสท พบตำแหน่งเลขคลื่น 1090.19 cm^{-1} ดังภาพที่ 4.3 จากตำแหน่งเลขคลื่นข้างต้น สามารถยืนยันการมีอยู่ของไกลโฟเสทในอาหารเหลว MSM ได้ (Piccolo & Celano, 2008 : 449) จึงใช้ตำแหน่งดังกล่าวในการอ้างอิงเพื่อเปรียบเทียบปริมาณไกลโฟเสทที่เกิดจากการย่อยสลายของแบคทีเรียพีจีพีอาร์แต่ละไอโซเลทในอาหาร MSM

3. สเปกตรัม FTIR ของไกลโฟเสทในชุดทดลองที่เติมเชื้อ

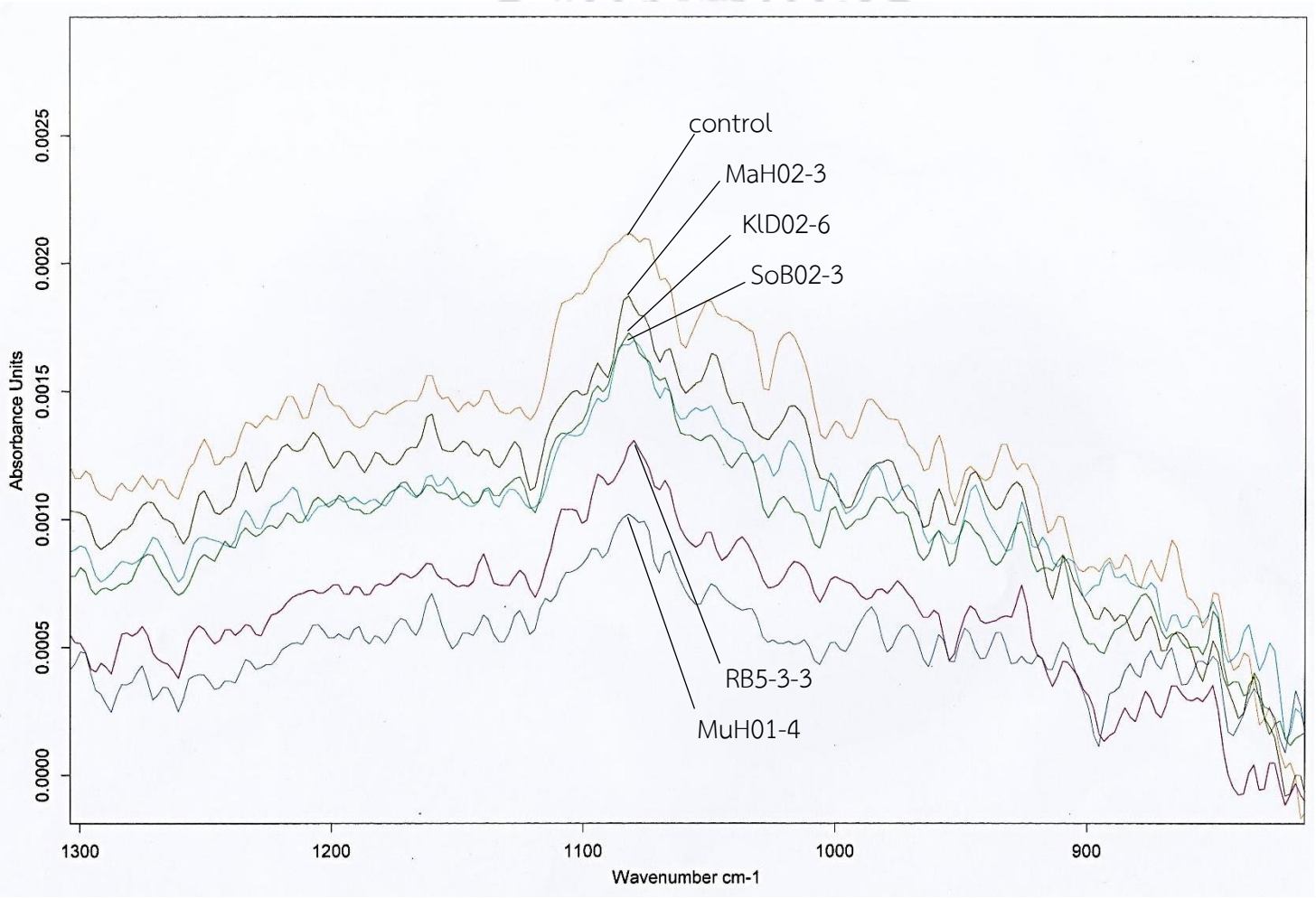
จากการทดสอบความสามารถในการย่อยสลายสารไกลโฟเสทของแบคทีเรียพีจีพีอาร์ทั้ง 5 ไอโซเลท โดยการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเหลว MSM ที่การเติมไกลโฟเสทเข้มข้น 0.5 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 36 ชั่วโมง นำ culture supernatant มาวิเคราะห์การลดลงของไกลโฟเสทด้วยเครื่อง FTIR โดยเทียบจากตำแหน่งเลขคลื่น 1090.19 cm^{-1} ระหว่างชุดควบคุม (uninoculated control) และชุดทดลองที่เติมเชื้อแบคทีเรีย ผลการทดลองพบว่า แบคทีเรียแต่ละไอโซเลทมีความสามารถในการย่อยสลายไกลโฟเสทได้แตกต่างกัน โดยวิเคราะห์จากค่า A ในชุดทดลอง ซึ่งมีค่าแตกต่างกัน โดยชุดควบคุมที่ไม่เติมเชื้อจะมีค่าการดูดกลืนแสงมากที่สุด นั่นคือมีความเข้มข้นของสารไกลโฟเสทสูงสุด ซึ่งมากกว่าไอโซเลท MaH02-3, KlD02-6, SoB02-3, RB5-3-3 และ MuH01-4 ตามลำดับ โดยพบว่าไอโซเลท MuH01-4 ทำให้เกิดการลดลงของไกลโฟเสทมากที่สุดเมื่อเทียบกับปริมาณเริ่มต้น (ชุดควบคุม) สังเกตได้จากค่าการดูดกลืนแสงน้อยที่สุด รองลงมาคือไอโซเลท RB5-3-3 ซึ่งทำให้เกิดการลดลงของสารเป็นลำดับถัดมา ส่วนไอโซเลท MaH02-3, SoB02-3 และ KlD02-6 ทำให้เกิดการลดลงของปริมาณไกลโฟเสทได้น้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณเริ่มต้น แสดงผลดังภาพที่ 4.4 ดังนั้นจึงคัดเลือกเฉพาะแบคทีเรียไอโซเลท RB5-3-3 และ MuH01-4 ซึ่งมีผลการเจริญดีในอาหารเหลว MSM ที่เติมไกลโฟเสท และมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไกลโฟเสทได้มากที่สุด ไปทดสอบในขั้นถัดไป

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี



ภาพที่ 4.3 สเปคตรัม FTIR ของไกลโฟเสทในชุดควบคุมที่ไม่เติมเชื้อ

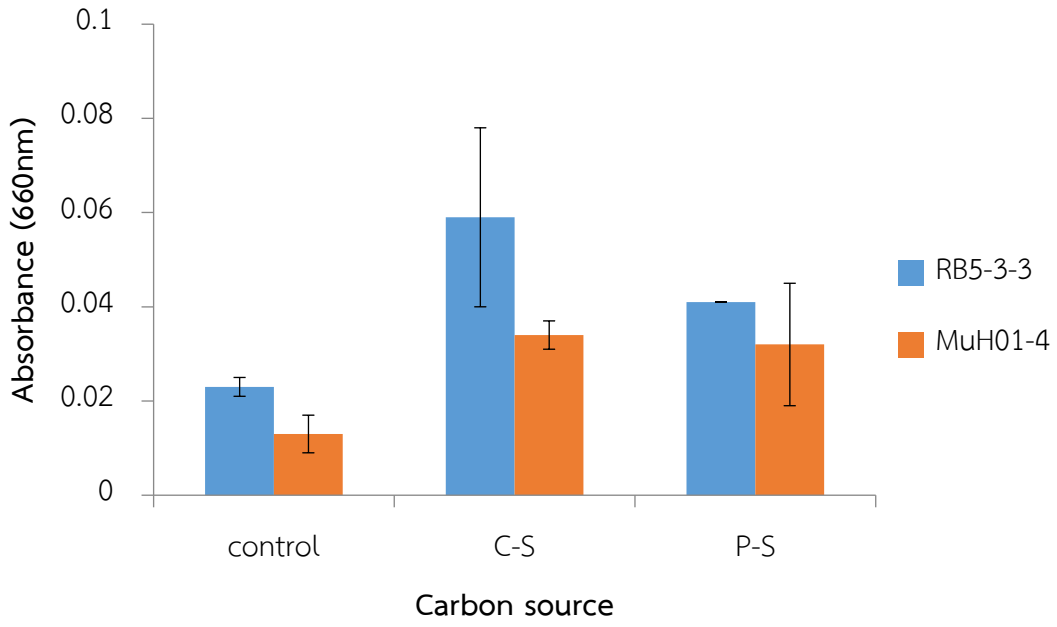
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี



ภาพที่ 4.4 สเปกตรัม FTIR ของไกลโฟเสทในชุดทดลองที่เติมแบคทีเรียพีจีพีอาร์แต่ละไอโซเลท เมื่อเทียบกับชุดควบคุม

ผลการศึกษาความสามารถในการใช้ไกลโฟเสทเป็นแหล่งคาร์บอนหรือแหล่งฟอสฟอรัสเพื่อการเจริญของแบคทีเรียพีจีพีอาร์ไอโซเลท MuH01-4 และ RB5-3-3

จากการทดสอบความสามารถของแบคทีเรียพีจีพีอาร์ไอโซเลท MuH01-4 และ RB5-3-3 ในการเจริญโดยใช้ไกลโฟเสทเป็นแหล่งคาร์บอนหรือแหล่งฟอสฟอรัส ดังภาพที่ 4.5 ซึ่งแสดงค่าการเจริญของแบคทีเรียที่เวลา 24 ชั่วโมง พบว่าไอโซเลท RB5-3-3 มีการเจริญในสภาวะที่ใช้ไกลโฟเสทเป็นแหล่งคาร์บอนสูงกว่า (OD_{660} = 0.06) สภาวะที่ใช้ไกลโฟเสทเป็นแหล่งฟอสฟอรัส (OD_{660} = 0.03) ในขณะที่ไอโซเลท MuH01-4 มีการเจริญในทั้งสองสภาวะใกล้เคียงกัน



ภาพที่ 4.5 เปรียบเทียบความสามารถของไอโซเลท RB5-3-3 และ MuH01-4 ในการใช้ไกลโฟเสทเป็นแหล่งคาร์บอนหรือฟอสฟอรัส เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง

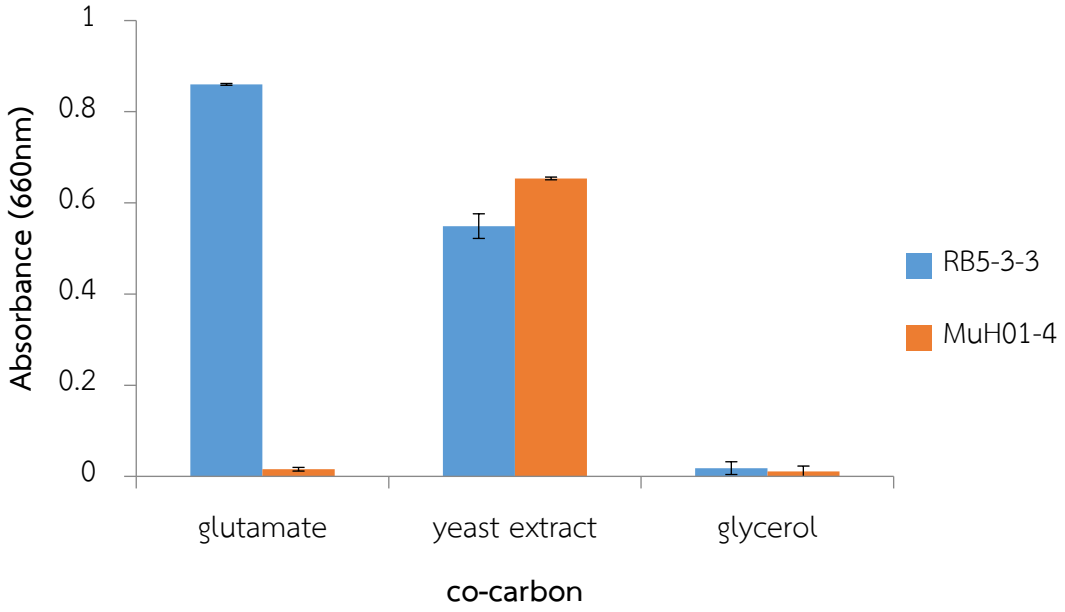
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ผลการเพิ่มศักยภาพการย่อยสลายไกลโฟเสทของแบคทีเรียไอโซเลทที่คัดเลือก

1. ผลการเจริญของแบคทีเรียไอโซเลท RB5-3-3 และ MuH01-4 ในสภาวะที่เติมแหล่งคาร์บอนร่วมกับไกลโฟเสท

จากการทดสอบการเจริญของแบคทีเรียไอโซเลท RB5-3-3 และ MuH01-4 ในสภาวะที่เติมไกลโฟเสทความเข้มข้น 0.5 กรัมต่อลิตร ร่วมกับแหล่งคาร์บอนชนิดอื่น ได้แก่ กลูตาเมท ยีสต์สกัด และกลีเซอรอล เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลายไกลโฟเสทของแบคทีเรีย โดยเติมแหล่งคาร์บอนร่วมชนิดต่าง ๆ ความเข้มข้น 0.1% w/v เมื่อพิจารณาผลการเจริญของแบคทีเรียไอโซเลท RB5-3-3

และ MuH01-4 ในสภาวะที่เติมแหล่งคาร์บอนร่วมกับไกลโฟเสท พบว่าทั้ง 2 ไอโซเลท มีการใช้แหล่งคาร์บอนร่วมที่แตกต่างกัน โดยไอโซเลท RBB5-3-3 สามารถเจริญในอาหารที่มีการเติมกลูตาเมทได้ดีที่สุด (OD_{660} = 0.86) ส่วนไอโซเลท MuH01-4 สามารถเจริญในอาหารที่มีการเติมยีสต์สกัดได้ดีที่สุด (OD_{660} = 0.65) ภายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ภาพที่ 4.6)

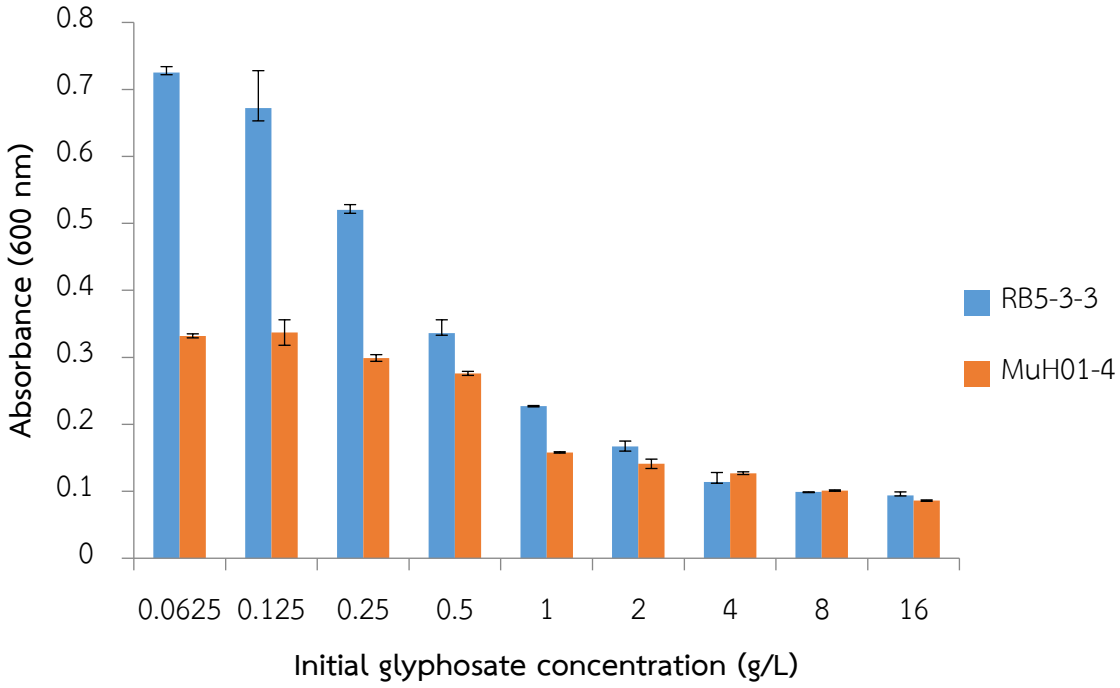


ภาพที่ 4.6 เปรียบเทียบความสามารถของแบคทีเรียในการใช้สารอินทรีย์ต่าง ๆ เป็นแหล่งคาร์บอนร่วมกับไกลโฟเสท ที่ผ่านการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง บ่มอุณหภูมิห้อง

2. ผลการทดสอบความสามารถในการทนต่อไกลโฟเสทที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของไอโซเลท MuH01-4 และ RB5-3-3

ผลการทดสอบความสามารถในการทนต่อไกลโฟเสทที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในช่วง 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8 และ 16 กรัมต่อลิตร ของแบคทีเรียไอโซเลท RB5-3-3 และ MuH01-4 ในอาหารเหลว MSM ที่เติมแหล่งคาร์บอนร่วมต่าง ๆ (ไอโซเลท RB5-3-3 เติม 0.1% w/v กลูตาเมท และ MuH01-4 เติม 0.1% w/v ยีสต์สกัด) โดยการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไกลโฟเสทจะมีผลทำให้ทั้ง 2 ไอโซเลท มีค่าการเจริญลดลง โดย ที่ความเข้มข้นของไกลโฟเสท 0.0625 กรัมต่อลิตร ไอโซเลท RB5-3-3 มีการเจริญได้ดีที่สุดโดยมีค่า OD_{600} = 0.725 เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของไกลโฟเสทเป็น 0.5 และ 16 กรัมต่อลิตร ทำให้มีการเจริญลดลง ซึ่งมีค่า OD_{600} เป็น 0.336 และ 0.094 ตามลำดับ ส่วนผลการเจริญของไอโซเลท MuH01-4 เมื่อเพาะเลี้ยงในสภาวะที่มีความเข้มข้นของไกลโฟเสท 0.0625 กรัมต่อลิตร มีค่า OD_{600} =

0.332 เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของไกลโฟเสทเป็น 0.5 และ 16 กรัมต่อลิตร ทำให้มีค่าการเจริญลดลง ซึ่งวัดได้ OD_{600} = 0.276 และ 0.101 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.7)



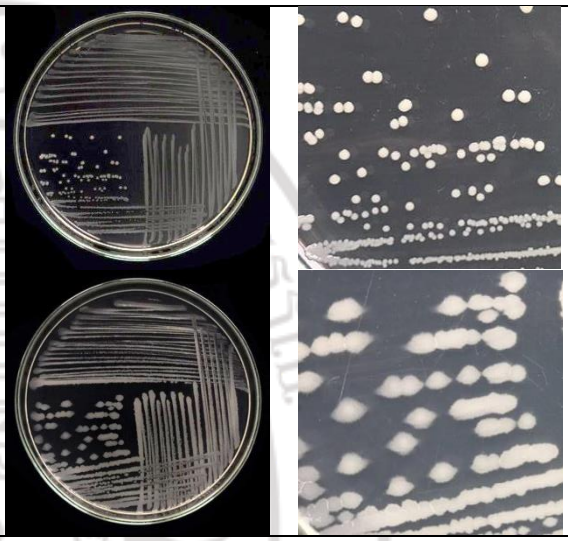
ภาพที่ 4.7 การเจริญของแบคทีเรียไอโซเลท RB5-3-3 และ MuH01-4 ในอาหารเหลว MSM ที่เติมไกลโฟเสทความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นแหล่งคาร์บอน จากการเพาะเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ผลการจัดจำแนกชนิดในระดับจีนัสของแบคทีเรียไอโซเลท RB5-3-3 และ MuH01-4

1. ผลการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาการเจริญของโคโลนีบนผิวหน้าอาหาร

ผลการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียย่อยสลายไกลโฟเสทไอโซเลทที่คัดเลือก โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง Luria Bertani (30% LB) บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าทั้ง 2 ไอโซเลท มีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกัน โดย RB5-3-3 มีโคโลนีสีครีม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 - 2 มิลลิเมตร ทึบแสง รูปร่างกลม ผิวและขอบโคโลนีเรียบไม่มีรอยหยัก ลักษณะการยกตัวของโคโลนีเป็นแบบเจริญสูงขึ้นจากผิวหน้าอาหารเล็กน้อย ส่วน MuH01-4 มีลักษณะโคโลนีสีครีม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 - 4 มิลลิเมตร ทึบแสง รูปร่างโคโลนีไม่แน่นอน ขอบโคโลนีเป็นคลื่นโค้งหรือเว้าเล็กน้อย แบนไปตามผิวหน้าอาหาร แสดงดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ลักษณะสัณฐานวิทยาของโคโลนีแบคทีเรีย

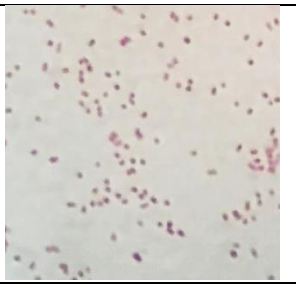
รหัสไอโซเลท	ลักษณะโคโลนี	ภาพโคโลนี
RB5-3-3	โคโลนีมีสีครีม ทึบแสง รูปร่างกลม ผิวและขอบเรียบ	
MuH01-4	โคโลนีมีสีครีม ทึบแสง รูปร่างไม่แน่นอน ขอบหยักเล็กน้อย	

2. ผลการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์แบคทีเรีย

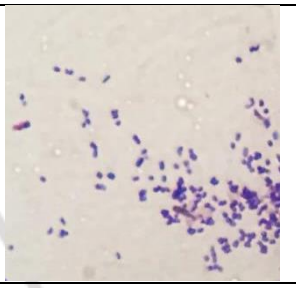
จากการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียย่อยสลายไกลโฟเสทที่คัดเลือกภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า เพื่อสังเกตรูปร่างของเซลล์แบคทีเรีย พบว่าทั้ง 2 ไอโซเลทมีลักษณะเซลล์ที่แตกต่างกัน โดย RB5-3-3 ติดสีแดงของซาฟรานิน (safranin) จึงจัดอยู่ในกลุ่มแบคทีเรียแกรมลบ มีลักษณะเซลล์เป็นรูปร่างกลม/ท่อนสั้น ส่วนไอโซเลท MuH01-4 ติดสีน้ำเงินของคริสตัลไวโอเล็ต (crystal violet) จึงจัดอยู่ในกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวก มีลักษณะเซลล์เป็นรูปร่างท่อนสั้น แสดงดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์แบคทีเรียย่อยสลายไกลโฟเสทที่คัดเลือกภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

รหัสไอโซเลท	ชนิดแกรม	ลักษณะเซลล์	ภาพลักษณะเซลล์
RB5-3-3	แกรมลบ	รูปร่างกลม / ท่อนสั้น	

ตารางที่ 4.5 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์แบคทีเรียย่อยสลายไกลโฟเสทที่คัดเลือกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (ต่อ)

รหัสไอโซเลท	ชนิดแกรม	ลักษณะเซลล์	ภาพลักษณะเซลล์
MuH01-4	แกรมบวก	รูปร่างเป็นท่อนสั้น	

3. การจัดจำแนกชนิดในระดับสกุลของแบคทีเรียย่อยสลายไกลโฟเสทไอโซเลทที่คัดเลือก

จากการเปรียบเทียบผลการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียทั้ง 2 ไอโซเลท ที่คัดเลือกกับข้อมูลในหนังสือ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Ninth Edition (1994) สามารถจัดจำแนกจีนัสของแบคทีเรียได้เป็น *Acetobacter* sp. RB5-3-3 และ *Bacillus* sp. MuH01-4 ตามลำดับ แสดงผลทดสอบทางชีวเคมีในตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ผลการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียไอโซเลท RB5-3-3 และ MuH01-4

การทดสอบ	ผลการทดสอบปฏิกิริยาชีวเคมี	
	RB5-3-3	MuH01-4
Endospore stain	negative (-ve)	positive (+ve)
Strict aerobes	positive (+ve)	positive (+ve)
Facultative anaerobes	positive (+ve)	positive (+ve)
Strict anaerobes	negative (-ve)	negative (-ve)
Indole test	negative (-ve)	negative (-ve)
Urease test	negative (-ve)	negative (-ve)
Citrate utilization test	positive (+ve)	negative (-ve)
Nitrate reduction test	negative (-ve)	positive (+ve)
Catalase test	positive (+ve)	positive (+ve)
Oxidase test	negative (-ve)	positive (+ve)
Methyl red test (MR)	negative (-ve)	positive (+ve)

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ตารางที่ 4.6 ผลการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียไอโซเลท RB5-3-3 และ MuH01-4 (ต่อ)

การทดสอบ	ผลการทดสอบปฏิกิริยาชีวเคมี	
	RB5-3-3	**MuH01-4**
Voges – Prokauer test (VP)	negative (-ve)	negative (-ve)
Motility test	negative (-ve)	positive (+ve)
Hydrogen sulfide test	K/A	A/A
Carbohydrate fermentation		
- Glucose fermentation	positive (+ve), A	positive (+ve), A
- Sucrose fermentation	negative (-ve)	positive (+ve), A
- Lactose fermentation	negative (-ve)	positive (+ve), A
Carbohydrate metabolism (O/F) test	fermentation	Non-oxidative
Requires NaCl for growth	3-6%	3-12%
Genus	***Acetobacter* sp.**	***Bacillus* sp.**

*** หมายเหตุ** ผลการทดสอบของแบคทีเรียที่คัดเลือก: positive (+ve) เกิดปฏิกิริยา, negative (-ve) ไม่เกิดปฏิกิริยา, K/A เกิดการหมักน้ำตาลเพียงชนิดเดียว คือ กลูโคส, A/A แบคทีเรียสามารถใช้น้ำตาลได้ตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป, A เกิดการสร้างกรด

ผลของสารละลายไกลโฟเสทต่อการเจริญของเมล็ดข้าว

จากการศึกษาผลของแบคทีเรียพีจีพีอาร์ *Bacillus* sp. MuH01-4 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไกลโฟเสทต่อการงอกเมล็ดข้าวจำนวน 60 เมล็ด โดยแช่เมล็ดข้าวที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อในสารละลายไกลโฟเสทความเข้มข้น 0.5 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร เป็นเวลา 1 นาที ก่อนนำเมล็ดข้าวไปเพาะในกล่องควบคุมความชื้น เป็นเวลา 14 วัน วิเคราะห์ผลการเจริญของข้าวโดยการวัดความยาวปลายยอดและปลายราก แบ่งชุดทดลองออกเป็น 3 ชุดการทดลอง ได้แก่ (1) ชุดควบคุม (ไม่เคลือบแบคทีเรีย ไม่แช่ไกลโฟเสท) (2) ชุดทดลอง (ไม่เคลือบแบคทีเรีย แช่ไกลโฟเสท) (3) ชุดทดลอง (เคลือบแบคทีเรีย แช่ไกลโฟเสท) ผลการทดสอบพบว่าค่าความยาวเฉลี่ยปลายยอดของชุด (1) มีค่ามากกว่าชุด (3) และ (2) ตามลำดับ ในขณะที่ชุดทดลอง (3) ให้ผลค่าความยาวเฉลี่ยของปลายยอดที่

สูงกว่าชุดทดลอง (2) ในด้านความยาวเฉลี่ยปลายรากพบว่า ชุด (3) มีค่าสูงสุด ในขณะที่ความยาวเฉลี่ยปลายรากของชุด (1) และ (2) มีความแตกต่างกันเล็กน้อย ดังแสดงในตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ผลของสารละลายไกลโฟเสทต่อการเจริญของเมล็ดข้าว

เงื่อนไข	ความยาวเฉลี่ย (มิลลิเมตร)	
	ปลายยอด	ปลายราก
(1) ชุดควบคุม (ไม่เคลือบแบคทีเรีย ไม่แช่ไกลโฟเสท)	108.61 ± 12.82	38.91 ± 6.82
(2) ชุดทดลอง (ไม่เคลือบแบคทีเรีย แช่ไกลโฟเสท)	74.93 ± 17.51	35.27 ± 9.54
(3) ชุดทดลอง (เคลือบแบคทีเรีย แช่ไกลโฟเสท)	98.33 ± 10.36	46.06 ± 10.67

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี