รายงานวิจัย

การใช้แอคติโนมัยสีทที่มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญของพืชที่ตรึงกับวัสดุเหลือทิ้งการเกษตรเพื่อส่งเสริมการเจริญของข้าว

โดย

เจนจิรา เดชรักษา

ทุนสนับสนุนการวิจัย มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี

2561

มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี

ชื่อโครงการ การใช้แอคติโนมัยสีทที่มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญของพืชที่ตรึงกับวัสดุเหลือทิ้งการเกษตรเพื่อส่งเสริมการเจริญของข้าว

ชื่อผู้วิจัย เจนจิรา เดชรักษา

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ทำการพัฒนากล้าเชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญของพืช โดยการตรึงเซลล์บนวัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตรและอุตสาหกรรมที่เหมาะสม เพื่อใช้ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพสำหรับส่งเสริมการเจริญของข้าว นำแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากดินนาข้าวในจังหวัดลพบุรี จำนวน 116 ไอโซเลต มาทดสอบหาคุณสมบัติการส่งเสริมการเจริญของพืช พบว่าแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SR14-2 สามารถผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้สูงที่สุด 26.24 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสามารถละลายฟอสเฟตบนอาหาร Pikovskaya's agar ได้ จึงคัดเลือกแอคติโนมัยสีท SR14-2 เป็นกล้าเชื้อส่งเสริมการเจริญของข้าว จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่าแอคติโนมัยสีท SR14-2 มีสปอร์เป็นแบบ Rectiflexbiles ซึ่งมีความคล้ายคลึงกับจีนัส *Streptomyces* จากนั้นนำเซลล์แอคติโนมัยสีท SR14-2 มาทดสอบการตรึงกับวัสดุตัวกลางต่างๆ ได้แก่ แกลบ ผักตบชวาแห้ง ชานอ้อย และกากตะกอนหม้อกรอง พบว่าปริมาณเชื้อในผักตบชวาแห้ง ชานอ้อย และกากตะกอนหม้อกรองมีปริมาณใกล้เคียงกัน คืออยู่ในช่วง 2.7-4.0 x 10^7 CFU/กรัม เมื่อทำทดสอบประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญของต้นกล้าข้าวในระดับกระถาง พบว่าชุดทดลอง แอคติโนมัยสีท SR14-2 ที่ตรึงกับกากตะกอนหม้อกรองสามารถเพิ่มความสูงต้น และน้ำหนักต้นกล้าข้าวได้สูงที่สุด จากผลการวิจัยครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าแอคติโนมัยสีท SR14-2 ที่ตรึงกับกากตะกอนหม้อกรองมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นปุ๋ยชีวภาพสำหรับส่งเสริมการเจริญของข้าวต่อไป

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

Research Title Using plant growth promoting actinomycetes immobilized with agricultural waste residue for promoting rice growth

Researcher Janejira Detraksa

Abstract

The present study investigate the potential use of agricultural and industrial wastes as carrier materials for preparation of biofertilizers using plant growth promoting actinomycete and its effect on the growth of rice. A total 116 actinomycete isolates were determined of indole-3-acetic acid production and phosphate solubilize ability. Results showed that the actinomycete SR14-2 showed the highest ability to produce indole-3-acetic acid 26.24 µg/ml and solubilized inorganic phosphate on Pikovskaya's agar. Based on morphological analysis indicated the selected actinomycete SR14-2 belonged to *Streptomyces* genus. The organic carriers included rice husk, dried water hyacinth, bagasse, and filter cake was evaluated as potential supports for immobilization of actinomycetes isolate SR14-2. The highest number of actinomycetes cells was found on the dried water hyacinth, bagasse, and filter cake. Pot culture experiments revealed that the actinomycetes isolate SR14-2 immobilized with filter cake treatment gave the best enhancement of rice seedling growth and increased shoot lengths, shoot fresh weight, and shoot dry weight, compared with all treatments. These results suggest that the actinomycetes SR14-2 immobilized with filter cake could be a promising candidate for utilization in rice growth improvement.

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัย มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 ซึ่งช่วยให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณคณะกรรมการพิจารณาทุนวิจัยที่ได้อนุมัติทุนวิจัยในครั้งนี้ และสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี ที่ช่วยให้ข้อเสนอแนะในโครงการวิจัยนี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี และศูนย์วิทยาศาสตร์ทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการทำวิจัย และขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และครอบครัวที่ให้การสนับสนุนในทุกด้านจนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ผู้วิจัย

ธันวาคม 2561

มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี

สารบัญ

	หน้า
ปกใน	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	ง
สารบัญ	จ
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
บทที่	
1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญ และที่มาของปัญหาที่ทำวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 แอคติโนมัยสีท	4
2.2 จุลินทรียส่งเสริมการเจริญของพืช	9
3 วิธีการดำเนินการวิจัย	14
3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์	14
3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย	15
4 ผลการวิจัย	19

มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี

4.1 การทดสอบความสามารถในการผลิตกรดอินโดล-3-แอซิติก และการละลายฟอสเฟตของแอคติโนมัยสีท 19
4.2 การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของแอคติโนมัยสีท 21
4.3 การทดสอบความสามารถในการตรึงอยู่บนวัสดุตัวกลางชนิดต่างๆ 21
4.4 การทดสอบประสิทธิภาพของแอคติโนมัยสีทที่ตรึงบนตัวกลางต่อการส่งเสริมการเจริญของต้นกล้าข้าว 22

5 สรุปและข้อเสนอแนะ 26
5.1 สรุป 26
5.2 ข้อเสนอแนะ 27

บรรณานุกรม 28

มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
1	ความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของผนังเซลล์และน้ำตาลในผนังเซลล์ของแอคติโนมัยสีท	6
2	ปริมาณกรดอินโดล-3-แอซิติกและความสามารถในการละลายฟอสเฟตของแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากดินนาข้าว	18
3	ปริมาณแอคติโนมัยสีทในวัสดุตัวกลางชนิดต่างๆ	22
4	การเจริญของต้นกล้าข้าวที่ปลูกในดินที่มีการเติมวัสดุตัวกลางชนิดต่างๆ	23

มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	วงจรชีวิตของแอคติโนมัยสีท	6
2	แอคติโนมัยสีทที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟต โดยการทดสอบบนอาหาร Pikovskaya agar	20
3	ลักษณะโคโลนีบนอาหาร GYM agar (ก) และเส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า (ข) ของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SR14-2	21
4	ลักษณะการเจริญของต้นกล้าข้าวที่ปลูกด้วยวัสดุตัวกลางต่างๆ	24

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทยและยังเป็นพืชอาหารหลักในหลายประเทศ ปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญในการเพาะปลูกข้าวคือ ปุ๋ย ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ ปุ๋ยอินทรีย์ ปุ๋ยชีวภาพและปุ๋ยเคมี ในการเพาะปลูกข้าวนั้นพบว่าการใช้ปุ๋ยเคมีทำให้ข้าวมีผลผลิตข้าวสูงกว่าการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ แต่ก็มีผลทำให้ดินเสื่อมคุณภาพซึ่งมักเป็นผลเสียที่เกิดขึ้นในระยะยาว ต่างจากปุ๋ยอินทรีย์ที่ช่วยบำรุงดินและในระยะยาวมักให้ผลผลิตที่ดีกว่าหรือเทียบเท่าปุ๋ยเคมี (อภิวัฒน์ และคณะ, 2559) ในปัจจุบันปุ๋ยชีวภาพได้รับความสนใจจากเกษตรกร โดยเป็นปุ๋ยที่ประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่มีชีวิตกลุ่มที่ส่งเสริมการเจริญของพืช (plant growth promoting (PGR) microorganism) ซึ่งกลไกการส่งเสริมการเจริญของพืชของจุลินทรีย์ PGR ได้แก่ สามารถสร้างธาตุอาหารจากย่อยสลายอินทรียวัตถุในดินที่เป็นประโยชน์แก่พืช ความสามารถละลายฟอสเฟตและสังกะสี การผลิตฮอร์โมนส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช เช่น auxin หรือ gibberellin และช่วยให้ธาตุอาหารเสริมบางชนิดเป็นประโยชน์ (Nutaratat et al., 2014) นอกจากนี้คุณสมบัติการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืชโดยการควบคุมโดยชีววิธี ซึ่งจะช่วยลดอันตรายจากการใช้สารเคมีกำจัดและปัญหาสารเคมีตกค้างในพืชและสิ่งแวดล้อม

แอคติโนมัยสีทเป็นจุลินทรีย์กลุ่มหนึ่งที่ได้รับความสนใจในการศึกษาจุลินทรีย์จุลินทรีย์ PGR เนื่องจากพบในสิ่งแวดล้อมตามธรรมชาติ เช่น ดิน น้ำ โคลน และบริเวณรอบรากพืช เป็นต้น มีบทบาทในการย่อยสลายสารอินทรีย์และทำให้เกิดการหมุนเวียนแร่ธาตุในระบบนิเวศ สามารถสร้างสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้หลายชนิด เช่น เอนไซม์ สารปฏิชีวนะ เป็นต้น มีรายงานการคัดแยกแอคติโนมัยสีทที่มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญ ได้แก่ *Streptomyces* CMU-H009 ที่แยกจากรากพืชสมุนไพร *Streptomyces ramulosus* EUSKR2S82 ที่แยกจากรากยูคาลิปตัส และ *S. aurantiogriseus* VSMGT1014 ที่แยกจากรากข้าว มีความสามารถสร้างฮอร์โมนพืช กรดอินโดล-3-แอซิติก (Indole-3-acetic acid) และสามารถละลายฟอสเฟตที่ไม่ละลายน้ำได้ (Khamna et al., 2010; Himaman et al., 2016, Harikrishnan et al. 2014) อย่างไรก็ตามการค้นหาเชื้อจุลินทรีย์ PGR ที่มีศักยภาพและเหมาะสมต่อแหล่งปลูกพืชนั้นเป็นสิ่งจำเป็น และการใช้เชื้อจุลินทรีย์ในสภาวะ

ธรรมชาติจำเป็นต้องมีการเพิ่มจำนวนให้มีปริมาณเพียงพอและไม่สูญหายไป จึงอาจนำเชื้อไปเพิ่มจำนวนในวัสดุที่เหมาะสม เช่น วัสดุเหลือทิ้งการเกษตร อุตสาหกรรม และเศษพืช เป็นต้น ที่สามารถเป็นแหล่งคาร์บอนให้กับการเจริญของเชื้อได้ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์แอคติโนมัยสีทที่มีคุณสมบัติการส่งเสริมการเจริญของพืชจากดินนาข้าวในจังหวัดลพบุรี ได้แก่ ความสามารถในการละลายฟอสเฟต และการสร้างฮอร์โมนกรดอินโดล-3-แอซิติกจากนั้นนำสายพันธุ์แอคติโนมัยสีทที่คัดเลือกได้มาทดสอบการตรึงกับตัวกลางวัสดุเหลือทิ้ง ได้แก่ แกลบ ชานอ้อยและผักตบชวา และนำแอคติโนมัยสีทที่ตรึงบนตัวกลางไปทดสอบการส่งเสริมการเจริญของต้นกล้าข้าว โดยสายพันธุ์แอคติโนมัยสีทและตัวกลางที่เหมาะสมที่ได้จะสามารถพัฒนาเป็นกล้าเชื้อจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติการส่งเสริมการเจริญของพืช ที่มีประโยชน์ต่อการผลิตปุ๋ยชีวภาพสำหรับส่งเสริมการเจริญของข้าวต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1) เพื่อคัดเลือกแอคติโนมัยสีทที่มีคุณสมบัติการส่งเสริมการเจริญของพืชแยกจากดินนาข้าว ได้แก่การละลายฟอสเฟตและผลิตฮอร์โมนกรดอินโดล-3-แอซิติก ได้

2) เพื่อทดสอบความสามารถในการเจริญและตรึงบนวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรของแอคติโนมัยสีทที่ละลายฟอสเฟตและผลิตฮอร์โมนกรดอินโดล-3-แอซิติกที่แยกได้

3) เพื่อทดสอบการส่งเสริมการเจริญของต้นข้าวจากการใช้แอคติโนมัยสีทที่ตรึงวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเหมาะสม

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

นำแอคติโนมัยสีทที่แยกจากดินนาข้าวและดินรอบรากข้าวในพื้นที่ปลูกข้าวในจังหวัดลพบุรี จำนวน 116 ไอโซเลต มาทดสอบคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญของพืช ได้แก่ การละลายฟอสเฟตและการสร้างฮอร์โมนกรดอินโดล-3-แอซิติก คัดเลือกแอคติมัยสีทที่มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญของพืชมาทดสอบการเจริญและตรึงในวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ได้แก่ แกลบ ผักตบชวา ชานอ้อย และกากตะกอนหม้อกรอง และทดสอบการส่งเสริมการเจริญของข้าวพันธุ์ กข 49 ในระดับกระถาง

มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้สายพันธุ์แอคติโนมัยสีทที่มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญของพืช และวัสดุตัวกลางที่เหมาะสมในการเตรียมกล้าเชื้อแอคติโนมัยสีท เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพเพื่อส่งเสริมการเจริญของข้าวในการทำนาแบบการเกษตรยั่งยืน

มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แอคติโนมัยสีท (Actinomycetes)

ลักษณะทั่วไป

แอคติโนมัยสีทเป็นกลุ่มของแบคทีเรียแกรมบวกใน Class Actinobacteria มีลักษณะเด่น คือ มีเบสกวานีน (guanine) และไซโตซีน (cytosine) ในสารพันธุกรรมสูงกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนใหญ่มีรูปร่างลักษณะการเจริญภายนอกคล้ายเชื้อรา สร้างสปอร์บนเส้นใยที่ชูขึ้นในอากาศ ลักษณะสำคัญของแอคติโนมัยซิทีสเป็นแบคทีเรียที่แท้จริง คือ มีผนังเซลล์ประกอบด้วย peptidoglycan และมีพวกกรดมิวรามิกและกรดไดอะมิโนไพมิลิก (diaminopiminolic acid, DAP) ไม่มีไคตินและเซลลูโลส โคโลนีมีลักษณะทึบแสง อาจมีผิวเรียบคล้ายหนังสัตว์หรือรอยย่น สามารถสร้างรงควัตถุสีต่างๆ เช่น เขียว ส้ม แดง น้ำตาล ชมพู ม่วง และดำ เป็นต้น สามารถสร้างเส้นใยใต้ผิวอาหาร เรียกว่า substrate mycelium และเส้นใยเหนือผิวอาหาร เรียกว่า aerial mycelium แอคติโนมัยสีทพบได้ในสภาวะแวดล้อมทั่วไป เช่น ดิน น้ำ โคลน และปมราก เป็นต้น ในดินทั่วไปพบแอคติโนมัยสีทเป็นอันดับสองรองจากแบคทีเรีย เช่น ดิน 1 กรัม ที่มีสารอินทรีย์วัตถุจะพบแอคติโนมัยสีทประมาณ 10^5-10^8 เซลล์ ส่วนดินที่มีสภาพเป็นเบส อาจพบแอคติโนมัยซิทีสได้สูงถึง 95 เปอร์เซ็นต์ของจุลินทรีย์ทั้งหมด แอคติโนมัยสีทมีการดำรงชีวิตอิสระ (saprophytic) ที่สามารถย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีโมเลกุลซับซ้อนได้เช่น ลิกนิน เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส เพคติน เคราตินและไคติน (ยุวดี, 2546)

แบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยสีทค่อนข้างทนต่อความแห้งแล้งดังนั้นจึงสามารถรอดชีวิตได้ในสภาวะที่แห้งแล้งมาก เช่น ดินในทะเลทราย นอกจากนั้นยังชอบที่จะเจริญในสภาวะที่เป็นด่างหรือเป็นกลางแต่ไม่ทนในสภาวะเป็นกรด แอคติโนมัยซิทีสได้รับความสนใจมากขึ้นเมื่อมีการค้นพบว่าบางสกุลของแอคติโนมัยซิทิส เช่น *Streptomyces* สามารถผลิตสารปฏิชีวนะ (สุบัณฑิต, 2549)

สัณฐานวิทยาของแอคติโนมัยสีท

การสร้างโคโลนีของแอคติโนมัยซิทีส

โคโลนีของแอคติโนมัยสีทเกิดจากการสร้างเส้นใยจำนวนมาก จนเกิดการรวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อนเรียกว่า โคโลนี (colony) ซึ่งความหมายของโคโลนีของแอคติโนมัยสีทจะต่างจากโคโลนี

มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี

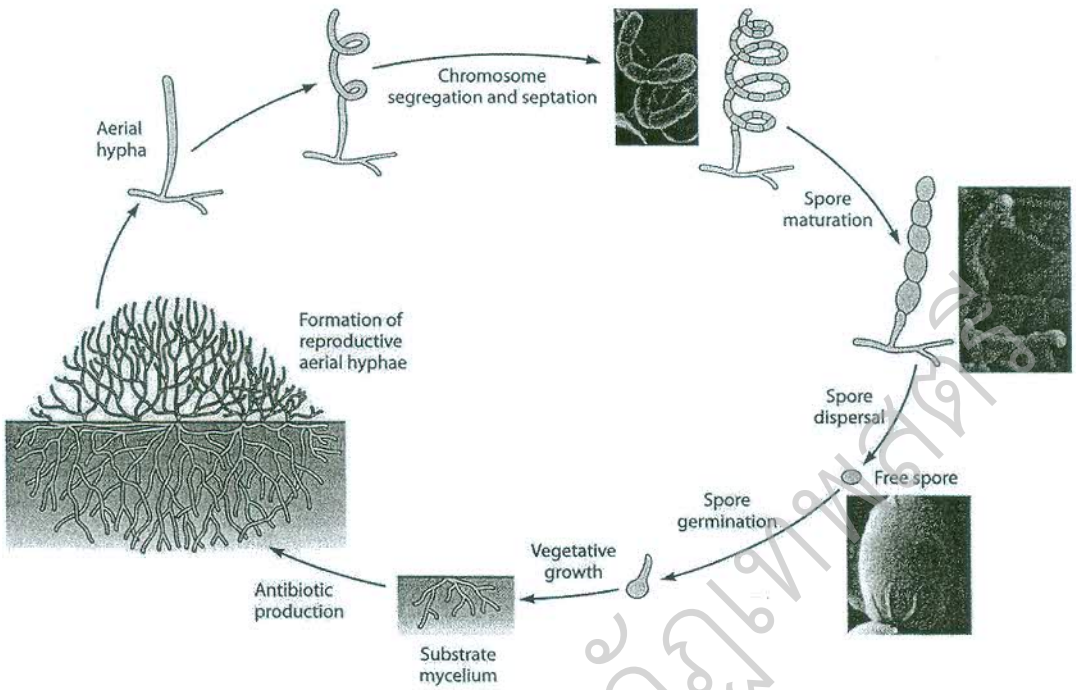
ของแบคทีเรีย (ทิสนา, 2550) เนื่องจากโคโลนีของแบคทีเรียจะเกิดจากเซลล์เดี่ยวหรือกลุ่มของเซลล์ที่มีลักษณะเหมือนกัน แต่โคโลนีของแอคติโนมัยสีทเกิดจากการรวมกันของเส้นใย เป็นกลุ่มเส้นใยที่หนาแน่น การสร้างโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง ดังแสดงภาพที่ 1 เป็นวงชีวิตของการสร้างโคโลนีของแอคติโนมัยสีท เริ่มจากการเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งอาจเป็นสปอร์เดี่ยว อับสปอร์ ส่วนของเส้นใยที่แตกหัก หรือจากบางส่วนของโคโลนีเดิม จากนั้นเมื่อหัวเชื้อตกลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งจะพัฒนาเป็นเส้นใยอาหาร (substrate mycelium) และสายใยอาหารเจริญโดยการแทงผ่านอาหารขึ้นมาเป็นเส้นใยอากาศ (aerial hyphae) ซึ่งเป็นส่วนที่สัมผัสกับอากาศโดยตรง จากนั้นมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะโคโลนี เช่น สร้างสปอร์โดยการแบ่งตัวของเส้นใยเริ่มจากการสร้างผนังกั้นภายในเส้นใย โดยทั่วไปเส้นใยมักมีผนังกั้นชั้นเดียวเพื่อความคงตัว และสร้างเส้นใยแข็ง (ยุวดี, 2546)

ลักษณะของโคโลนีมีความแตกต่างกันของแต่ละสปีชีส์ เช่น ใน *Streptomyces* มีทั้งเส้นใยอาหารและเส้นใยอากาศเป็นโครงสร้างหลักของโคโลนี ใน *Micromonospora* และ *Actinoplanes* ไม่มีเส้นใยอากาศจะสร้างสปอร์และอับสปอร์ โคโลนีของแอคติโนมัยสีทมีลักษณะนูน (raised) เรียบแบน (flat) บางครั้งมีลักษณะคล้ายแผ่นหนัง (leather) มีความหลากหลายตั้งแต่นุ่มเหนียวจนถึงแข็ง สีโคโลนีมีสี ขาว เหลือง ส้ม ชมพู แดง ม่วง ฟ้า เขียว น้ำตาลและดำ ผิวโคโลนีมีลักษณะเรียบ (smooth) สันนูน (ridged) ขรุขระ (rough) เป็นรอยย่น (wrinkled) เป็นเม็ดเล็ก (granular) เป็นผง (powder) หรือเป็นเกล็ด (squamous) ขนาดโคโลนีขึ้นอยู่กับสปีชีส์ อายุ และสภาวะการเจริญ เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีมีความแตกต่างตั้งแต่หน่วยมิลลิเมตรจนถึงเซนติเมตร (ทิสนา, 2550)

การจัดจำแนกแอคติโนมัยสีท

การจำแนกแอคติโนมัยสีทในพื้นฐานจะอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น ลักษณะของสายใยอาหาร สายใยอากาศ (conidia) และอับสปอร์ นอกจากนี้ลักษณะทางเคมีของเซลล์ คือ Dibasic amino acid ในผนังเซลล์และการวิเคราะห์น้ำตาลภายในเซลล์ที่ถูกย่อย สามารถนำมาใช้ในการจัดจำแนก แอคติโนมัยสีทได้อีกด้วย จากการวิเคราะห์ลักษณะทางเคมีของเซลล์ ได้แบ่งผนังเซลล์ของแอคติโนมัยสีท ออกได้เป็น 4 ชนิด แสดงดังตารางที่ 1 ผนังเซลล์ I คือมี diaminopimelic acid (DAP) ที่มีไอโซเมอร์แบบ L- พบในกลุ่ม Streptomycetes และในสกุลที่ใกล้เคียงกันซึ่งทำให้สามารถจำแนกกลุ่มดังกล่าว ออกจากแอคติโนมัยสีทกลุ่มอื่นได้อย่างชัดเจน (กิ่งจันทน์, 2555)

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี



ภาพที่ 1 วงจรชีวิตของแอคติโนมัยสีท

ที่มา: actinomycetes (2018)

ตารางที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของผนังเซลล์และน้ำตาลในผนังเซลล์ของแอคติโนมัยสีท

ชนิดของผนังเซลล์	รูปแบบของกรดอะมิโนและน้ำตาล
I	L- diaminopimelic acid ไกลซีน
II	Meso* diaminopimelic acid ไกลซีน
III	meso diaminopimelic acid ไม่พบไกลซีน
IV	meso diaminopimelic acid อะราบิโนส กาแลคโตส ไม่พบไกลซีน

* อาจพบในรูปของ 3-hydroxy diaminopimelic acid

ที่มา: กิ่งจันทน์ (2555)

นอกจากนี้องค์ประกอบอื่นที่มีความสำคัญในการจัดจำแนกแอคติโนมัยสีท คือ ลักษณะรูปร่างและสีของเส้นใยและสปอร์ การสร้างรงควัตถุที่แพร่เข้าในอาหาร การสร้างรงควัตถุเมลานีน

มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี

และลำดับของเบส 16S rDNA สามารถใช้ในการจำแนกแอคติโนมัยสีทออกเป็น 8 กลุ่มใหญ่ (วีระวัฒน์, 2544)

1) Nocardioform actinomycetes ประกอบด้วย

สกุล Nocardia

สกุล Rhodococus

สกุล Nocaridioides

สกุล Pseudonocardia

สกุล Oerskovis

สกุล Saccharopolyspora

สกุล Micropolyspora

สกุล Promicromonospora

สกุล Intersporangium

สกุล Actinopolyspora

สกุล Saccharomonospora

สกุล Amycolatopsis

สกุล Amycolata

2) Actinomycetes with multi-locular sporangia ประกอบด้วย

สกุล Geodermatophilus

สกุล Dermatophilus

สกุล Frankia

3) Actinoplanetes ประกอบด้วย

สกุล Actinoplanes

สกุล Ampullariella

สกุล Pilimelia

สกุล Dactylosporangium

สกุล Micromonospora

มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี

4) Sterptomycetes and related genera ประกอบด้วย

สกุล Sterptomyces

สกุล Sterptoveticllium

สกุล Kineosporia

สกุล Sporichtpya

5) Madurometes ประกอบด้วย

สกุล Actinomadura

สกุล Microbispora

สกุล Microtetraspora

สกุล Planobispora

สกุล Spirillospora

สกุล Streptosporangium

6) Themomonospora and related genera ประกอบด้วย

สกุล Thermomonospora

สกุล Actinosynnema

สกุล Nocardiopsis

สกุล Streptoalloterichus

7) Thermoactinomycetes ประกอบด้วย

สกุล Thermoactinomyces

8) Other genera ประกอบด้วย

สกุล Glycomyces

สกุล Kibdelosporangium

สกุล Kiasatosporia

สกุล Saccharothix

มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี

ประโยชน์ของแอคติโนมัยสีท

ประโยชน์ที่เกิดจากแอคติโนมัยสีท ได้แก่ ช่วยย่อยสลายวัตถุในดินโดยเฉพาะสารอินทรีย์ที่มีโครงสร้างยากต่อการย่อยสลายโดยแบคทีเรียหรือเชื้อรา แอคติโนมัยสีทหลายสายพันธุ์สามารถย่อยสลาย แป้ง (starch) อินูลิน (inulin) หรือไคตินได้ ความสามารถในการย่อยไคตินเป็นคุณสมบัติพิเศษของแอคติโนมัยสีท แอคติโนมัยสีทยังมีความสามารถในการย่อยสลายสารอินทรีย์ที่ย่อยสลายยากบางตัวที่เหลือจากการย่อยสลายโดยแบคทีเรียและเชื้อราได้ เช่น *Nocardia* ย่อยสลายสารจำพวกพาราฟิน (paraffins) ฟีนอล (phenols) และไพริมิดีน (pyrimidine) *Micromonospora* ย่อยสลายไคติน (chitin) เซลลูโลส (cellulose) กลูโคไซด์ (glucosides) เพนโตแซน (pentosan) และลิกนิน (lignin)

ในธรรมชาติ *Streptomyces* มีบทบาทสำคัญในการซากพืชและซากสิ่งมีชีวิตต่างๆ ได้ดี สามารถย่อยสลายเซลลูโลสและลิกนิน ซึ่งเป็นองค์ประกอบของลิกโนเซลลูโลส (lignocellulose) *Streptomycetes* หลายชนิดสามารถย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสของหญ้า ไม้เนื้ออ่อน และไม้เนื้อแข็ง รวมทั้งย่อยสลายไคติน เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) เคอราติน เปคติน รวมทั้งผนังเซลล์ของเชื้อรา นอกจากนี้ *Streptomyces* ยังสามารถสร้างเมลานินซึ่งเป็นรงควัตถุคล้ายๆ กรดฮิวมิค ซึ่งอาจช่วยสร้างฮิวมัสในดินด้วย จึงทำให้แอคติโนมัยสีทมีบทบาทที่สำคัญมากในการทำปุ๋ยหมัก โดยเฉพาะพวกที่ชอบเจริญในช่วงอุณหภูมิสูงๆ (thermophilic) เพราะเนื่องจากขนวนการหมักปุ๋ยหมักจะเกิดความร้อน ทำให้อุณหภูมิในกองปุ๋ยสูงมาก แอคติโนมัยสีทที่พบในกองปุ๋ยหมัก ได้แก่ *Streptomyces, Thermoactinomyces* และ *Thermomonospora* (ศรีสกุล, 2553)

2.2 จุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญของพืช

จุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญของพืช (plant growth promoting (PGP) microbe) คือ จุลินทรีย์ที่เจริญอยู่บริเวณรอบรากและสามารถช่วยกระตุ้นการเจริญของพืช โดยอาศัยอยู่บริเวณผิวของราก และสามารถเกาะติดกับดินที่อยู่บริเวณรอบๆรากพืชซึ่งเรียกว่า Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) (Gopalakrishnan et al., 2013) บริเวณที่อยู่อาศัยของ PGPR ในระบบรากพืชและ rhizosphere ทำให้สามารถแบ่งชนิดของ PGPR ได้ 2 ประเภท ได้แก่ (มธุรส, 2557)

1) **Intracellular PGPR (iPGPR)** หมายถึง กลุ่ม PGPR ที่เข้าอาศัยภายในเซลล์ของรากพืช ตัวอย่างที่ชัดเจน ได้แก่ การเข้าอาศัยและสร้างปมของไรโซเบียมกับพืชตระกูลถั่ว

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

2) **Extracellular PGPR (ePGPR)** หมายถึง กลุ่ม PGPR ที่ไม่ได้อาศัยอยู่ในเซลล์ของราก พืช แต่มีคุณสมบัติเช่นเดียวกับ PGPR ทั่วไป สามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยตามตำแหน่งที่อยู่ได้ 3 กลุ่ม คือ

2.1) กลุ่มที่อาศัยอยู่ใกล้กับราก

2.2) กลุ่มที่อาศัยติดอยู่ที่ผิวของราก

2.3) กลุ่มที่อาศัยอยู่บริเวณระหว่างเซลล์ของรากในชั้น cortex

กระบวนการส่งเสริมการเจริญเติบโตพืชของจุลินทรีย์กลุ่มส่งเสริมการเจริญของพืช

การส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ทำได้ 2 ทาง คือ โดยทางตรงและทางอ้อม ได้แก่ (มธุรส, 2557; วิยะดา, 2554; Gopalakrishnan et al., 2013)

1. กระบวนการในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชโดยทางตรง ได้แก่

1.1. ความสามารถในการตรึงไนโตรเจน

1.2. ความสามารถในการเพิ่มความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารพืช เช่น ละลายฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม เป็นต้น

1.3. ความสามารถในการสร้างสาร siderophores ในการจับธาตุเหล็ก

1.4. ความสามารถในการสร้างฮอร์โมนพืช (phytohormone) เช่น auxin, cytokinin, gibberelin

1.5. ลดปริมาณ ethylene ในพืช

2. กระบวนการในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชโดยทางอ้อม ได้แก่

2.1 ความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiotics)

2.2 ความสามารถในการสร้างสารยับยั้งเชื้อราก่อโรค

2.3 ความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อราก่อโรค

2.4 ความสามารถในการแข่งขันเพื่อเข้าอาศัยบริเวณระบบรากพืช

2.5 ความสามารถในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ (antagonist) ยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืช

2.6 ความสามารถในการเป็นเชื้อปรสิต (parasite) ของเชื้อสาเหตุโรคพืช

2.7 ความสามารถในการชักนำให้พืชเกิดความต้านทานต่อโรคพืช

มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี

การประยุกต์ใช้ จุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญของพืชในด้านการเกษตร

จุลินทรีย์กลุ่ม PGP เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติที่ดีต่อพืชใน 3 ประการ ได้แก่ (หนึ่ง และคณะ, 2555)

1. ปุ๋ยชีวภาพ (Biofertilizer) ได้แก่ กลุ่มจุลินทรีย์ที่มีความสามารถเปลี่ยนก๊าซไนโตรเจนในบรรยากาศมาเป็นปุ๋ยไนโตรเจนให้กับพืชได้ เช่น แบคทีเรียในจีนัส *Beijerinkia, Azotobacter* และ *Azospirillum* ไซยาโนแบคทีเรีย เช่น Anabaena และ Nostoc เป็นต้น

แบคทีเรียที่ทำให้ฟอสฟอรัสละลาย หรือกลุ่มแบคทีเรียที่สร้าง siderophore เพื่อสกัดธาตุเหล็กในดินให้กับพืช เป็นต้น ตัวอย่างบทบาทของจุลินทรีย์ PGP ที่มีคุณสมบัติเป็นปุ๋ยชีวภาพ เช่น แบคทีเรีย *Paenibacillus polymyxa* มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนได้ และสามารถให้ธาตุอาหารไนโตรเจนกับพืช และยังสามารถส่งเสริมการเจริญในพืชกลุ่มข้าวโพดได้เป็นอย่างดี

2. เป็นผู้สร้างฮอร์โมนให้พืช (Phytostimulator) ฮอร์โมนที่จุลินทรีย์สร้าง ได้แก่ Gibberellin, Auxin และ Cytokinin การผลิตฮอร์โมนพืชโดยจุลินทรีย์ PGP เป็นกลไกที่สำคัญในการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของพืช โดยรายงานเกี่ยวกับการผลิต phytohormones จากจุลินทรีย์ PGP ส่วนใหญ่จะมุ่งเน้นไปที่บทบาทของกลุ่ม Auxins ได้แก่ indole-3-acetic acid (IAA) ซึ่งจะช่วยกระตุ้นการยืดตัวของเซลล์ (cell elongation) การแบ่งเซลล์ (cell division) และการเปลี่ยนสภาพของเซลล์ (cell differentiation) (วิยะดา, 2554) โดยมีรายงานการคัดแยกแอคติโนมัยสีทที่สามารถสร้าง IAA ได้จากดินรอบรากพืชหลายชนิด ซึ่งสายพันธุ์ส่วนใหญ่ที่พบเป็นจีนัส *Streptomyces* Harikrishnan et al. (2014) ได้ทำการแยก *Streptomyces atrovirens* ASU14 จากดินรอบรากข้าวสาลีซึ่งสามารถผลิต IAA 22 µg/ml Himaman et al. (2016) สามารถแยก *Streptomyces ramulosus* strain EUSKR2S82 จากดินรอบรากยูคาลิปตัสโดยสามารถผลิต IAA ได้ 28.03 µg/ml และ Khamna et al. (2010) ทำการแยก *Streptomyces* CMU-H009 จาก ดินรอบรากตระไคร้สามารถผลิต IAA ได้สูงถึง 143.95 µg/ml

3. การควบคุมโรคโดยชีววิธี

การควบคมโรคโดยชีวิธี (biological control) หมายถึง การลดปริมาณเชื้อสาเหตุของโรคหรือลดกิจกรรมการก่อโรคของเชื้อสาเหตุโรคหรือปรสิตที่อยู่ในระยะที่มีปฏิกิริยา โดยการใช้สิ่งมีชีวิตหนึ่งหรือมากกว่ามาใช้ในการควบคุม และอาจรวมถึงการใช้สารพันธุกรรม (ยีนหรือผลิตภัณฑ์จากยีน) จากสิ่งมีชีวิตเหล่านั้นด้วย ซึ่งสิ่งมีชีวิตเหล่านั้นไม่รวมถึงมนุษย์ (มัลลิกา, 2550)

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

กลไกการควบคุมโรคโดยชีววิธีประกอบด้วย

เชื้อปฏิปักษ์ไม่ว่าจะเกิดเองในธรรมชาติหรือที่นักวิชาการนำมาเลี้ยงและขยายให้ผลิตเป็นการค้าได้มีวิธีการทำลายเชื้อสาเหตุโรคพืชได้หลายรูปแบบ แต่ละรูปแบบก็มีผลแตกต่างกันออกไปดังนี้

1. การเป็นปรสิตโดยตรง หมายถึง การที่เชื้อปฏิปักษ์เข้าทำลายส่วนต่างๆ ภายในของเชื้อก่อโรคพืชได้โดยตรง เช่น การสร้างเอนไซม์ chitinase ที่สามารถย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อราซึ่งมีไคตินเป็นองค์ประกอบหลัก โดยแบคทีเรียที่สังเคราะห์เอนไซม์ chitinase สามารถนำมาใช้ในการควบคุมโรคพืชที่เกิดจาก *Fusarium, Pythium, Gaeumannomyces graminis* และ *Rhizoctonia solani* การใช้ *Streptomyces* ที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืชโดยสามารถผลิตเอนไซม์ chitinase, β-1,3-glucosidase, cellulase and protease ที่ย่อยผนังเซลล์ของเชื้อราก่อโรค เช่น *V. dahliae* (Xue et al., 2013) *Fusarium oxysporum* (Gopalakrishnan et al., 2011) *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Sclerotium rolfsii* (Prapagdee et al., 2008) เป็นต้น

2. การแข่งขันกัน คือ การที่จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งเข้าไปยึดพื้นที่หรือเจริญเติบโตก่อนที่เชื้อสาเหตุโรคพืชจะสามารถเข้าทำลายพืชได้

3. การสร้างสารปฏิชีวนะ จุลินทรีย์หลายชนิดสามารถสร้างสารปฏิชีวนะเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อราในดินหลายชนิดและแอคติโนมัยสีท

4. การชักนำให้พืชต้านทานต่อเชื้อโรค (induction of resistant in plant) เป็นกลไกที่จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ไปกระตุ้นให้ต้นพืชไปสร้างภูมิคุ้มกัน หรือสร้างสารต่างๆ ที่มีผลในการต่อต้านหรือยับยั้งการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืช

จะเห็นได้ว่าการใช้จุลินทรีย์กลุ่ม PGP เป็นอีกทางเลือกหนึ่งโดยเฉพาะกับสภาวการณ์ปัจจุบันที่เน้นความเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ซึ่งสามารถใช้ทดแทนปุ๋ยเคมี และยาปราบศัตรูพืช (โดยเฉพาะเชื้อราที่มีภาวะดื้อยาสูงขึ้นในปัจจุบัน) จึงเห็นได้ว่าในกลุ่มประเทศที่พัฒนาแล้ว เช่น กลุ่มประเทศ EU หรือ สหรัฐอเมริกา ได้มีการพัฒนาขึ้นเป็นการค้าในรูปของ Bioinoculant แล้ว เช่น กลุ่ม *Rhizobium, Pseudomonas, Bacillus* และ *Streptomyces* เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามการประยุกต์ใช้ในสภาพจริงยังมีความจำเป็นต้องศึกษาศักยภาพและประสิทธิภาพในพื้นที่แต่ละพื้นที่กับ

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

พืชแต่ละชนิดด้วย ซึ่งจากการวิจัยหลาย ๆ แห่งพบว่าประสิทธิภาพของแบคทีเรียชนิดเดียวกันจะต่างกันไปตามสภาพสิ่งแวดล้อมของดิน (หนึ่ง และคณะ, 2555)

เมื่อทำการคัดเลือกได้เชื้อที่มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญของพืชที่ต้องการแล้ว จำเป็นที่จะต้องดำเนินการพัฒนารูปแบบสูตร (formulation) ที่จะทำให้ง่ายต่อการนำไปใช้และได้ประสิทธิภาพสูง รูปแบบสูตรจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญของพืชที่นิยมพัฒนาและนำไปใช้มี 3 รูปแบบ ได้แก่ (อนุเทพ, 2561)

1) รูปแบบสูตรน้ำ (liquid formulation) เป็นรูปแบบสูตรที่ผลิตได้ง่ายแต่เก็บรักษาได้ยาก ไม่สะดวกในการขนส่ง การผลิตสูตรน้ำทำได้โดยการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหารเหลว และนำมาผสมกับน้ำหรือสารละลายที่เหมาะสม

2) รูปแบบสูตรผง (powder formulation) เป็นรูปแบบสูตรที่ผลิตได้ง่าย สามารถเก็บรักษาได้ยาวนานกว่าสูตรน้ำ ขนส่งได้สะดวก โดยเริ่มจากการเตรียมเชื้อผงที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารแบบเหลวแล้วผสมกับสารป้องกันเซลล์ เช่น กลีเซอรีน น้ำตาล แป้งมัน และสารผง ได้แก่ ทัลกัม (talcum) คาร์บอกซิลเมทธิลเซลลูโลส (carboxyl methyl cellulose) ไดอะตอมไมต์ (diatomite) แล้วนำส่วนผสมมาอบให้แห้งแล้วบดให้เป็นผงละเอียด

3) รูปแบบสูตรเม็ด (granular formulation) เป็นรูปแบบสูตรที่นิยมนำเชื้อจุลินทรีย์ที่มีส่วนประกอบของรูปแบบสูตรคล้ายกับรูปแบบสูตรผง กล่าวคือมีการเตรียมเชื้อจุลินทรีย์และผสมกับสารป้องกันเซลล์ สารผงและสารจับตัวหรือสารยึดเกาะในการทำเม็ด และนำไปทำให้แห้งในรูปของเม็ด เชื้อสูตรเม็ดสามารถใช้ในรูปของการละลายน้ำหรือหว่านลงดิน

จุลินทรีย์ในรูปแบบสูตรต่าง ๆ จะต้องได้รับการตรวจสอบคุณภาพของรูปแบบสูตร โดยศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ เช่น ความคงตัวของรูปแบบสูตร การละลายตัวในน้ำ การมีชีวิตของเชื้อจุลินทรีย์ และการศึกษาประสิทธิภาพของรูปแบบสูตรจุลินทรีย์ทั้งในห้องปฏิบัติการ เรือนทดลอง และในสภาพไร่

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1) หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) บริษัท *Tomy Seiko Co.,Ltd.*

2) ตู้ถ่ายเชื้อ (Laminar air flow) บริษัท *Clayson Laboratory*

3) เครื่องเขย่า (shaker) บริษัท *Forma Scientific Inc*

4) เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) บริษัท *Andreas Hettich GmbH & Co.KG*

5) เครื่องผสมสาร (Vortex mixer) บริษัท *Ika Works (Asia) Sdn. Bhd.*

6) เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างหยาบ (Balance) บริษัท *Mettler-Toledo GmbH*

7) กล้องจุลทรรศน์ (Microscope) บริษัท *Nikon Corporation*

8) เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) บริษัท *THERMO SCIENTIFIC*

3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1) กลูโคส (D-glucose) บริษัท *Asia Pacific Specialty Chemicals Limited*

2) สารสกัดยีสต์ (Yeast extract) บริษัท *HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., India*

3) สารสกัดจากมอลต์ (Malt extract) บริษัท *HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., India*

4) วุ้น (Agar) บริษัท *HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., India*

5) เฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4$. $7H_2O$) บริษัท *AJEX FINECHEM, Australia*

6) กรดเปอร์คลอริก บริษัท *AJAX FINECHEM, Australia*

7) แคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) *บริษัท Ajax Finechem*, Australia

8) Pikovskaya agar บริษัท *HIMEDIA LABORATORIES Prt. Ltd, India*

9) L-tryptophan บริษัท *HIMEDIA LABORATORIES Prt. Ltd, India*

10) Indole-3-acetic acid บริษัท Sigma-Aldrich *Pte.Ltd.*

11) โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) บริษัท *AJAX FINECHEM, Australia*

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

3.3 วิธีการดำเนินการวิจัย

1) การเตรียมสายพันธุ์แอคติโนมัยสีทที่แยกจากดินนาข้าว

นำสายพันธุ์แอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากตัวอย่างดินนาข้าวในอำเภอเมืองลพบุรี ท่าวุ้ง โคกสำโรง และบ้านหมี่ จำนวน 116 สายพันธุ์ที่เก็บไว้ใน 20% glycerol ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร Glucose yeast extract malt extract (GYM) agar บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5-7 วัน ศึกษาลักษณะโคโลนีและรูปร่างภายใต้กล้องจุลทรรศน์

2) การวิเคราะห์ความสามารถในการสร้างกรดอินโดล-3-แอซิติก

เพาะเลี้ยงแอคติโนมัยสีทใน GYM agar บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน จากนั้นถ่ายเชื้อลงอาหาร GYM broth ที่ประกอบด้วย L-tryptophan ปริมาณ 2 กรัมต่อลิตร บ่มบนเครื่องเขย่าความเร็ว 180 rpm ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงแยกเซลล์ออก นำส่วนใส (supernatant) เติม Salkowski's reagent ปริมาตร 2 มิลลิลิตร บ่มในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที และนำสารละลายวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร ด้วย spectrophotometer คำนวณปริมาณกรดอินโดล-3-แอซิติก โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดอินโดล-3-แอซิติก

3) การวิเคราะห์ความสามารถในการละลายฟอสเฟต

เพาะเลี้ยงแอคติโนมัยสีทบนอาหาร GYM agar บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5-7 วัน ขีดเชื้อลงบนอาหาร Pikovskaya's agar ที่มี 0.5% tricalcium phosphate เป็นแหล่งฟอสฟอรัส (Himaman et al., 2016) บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน สังเกตการเปลี่ยนแปลง ถ้ามีการละลายฟอสเฟตก็จะเกิดบริเวณใสรอบเชื้อแอคติโนมัยสีท

4) การศึกษาลักษณะโคโลนี สีเส้นใย สีสปอร์ของแอคติโนมัยสีทที่คัดเลือกได้

เพาะเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยสีทบนอาหาร GYM agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5-7 วัน สังเกตลักษณะและสีของโคโลนี ศึกษาลักษณะรูปร่างทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยการทำ slide culture

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

5) การทดสอบความสามารถในการตรึงอยู่บนวัสดุตัวกลางชนิดต่างๆ

5.1) การเตรียมสปอร์แขวนลอยของแอคติโนมัยสีท

เพาะเลี้ยงแอคติโนมัยสีทบนอาหาร GYM agar บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 วัน เติม Tween 80 0.1 เปอร์เซ็นต์ ขูดสปอร์และกรองแยกเส้นใยออกด้วยผ้าขาวบาง นับจำนวนสปอร์ด้วย heamacytometer และปรับให้ได้ 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

5.2) การศึกษาการเจริญของแอคติโนมัยสีทในตัวกลางชนิดต่างๆ

นำขี้เถ้าแกลบ ผักตบชวาแห้ง ชานอ้อย กากตะกอนหม้อกรองและปลายข้าว มาทำการฆ่าเชื้อ จากนั้นเติมสปอร์แขวนลอยของแอคติโนมัยสีท คลุกเคล้าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 วัน ตรวจนับแอคติโนมัยสีทโดยการเพาะเลี้ยงด้วยวิธี spread plate บนอาหาร GYM agar คัดเลือกวัสดุตัวกลางที่เชื้อสามารถเจริญและตรึงอยู่บนตัวกลางได้มากที่สุด

6) การทดสอบความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของต้นกล้าข้าว

เตรียมดินปลูกที่ทำเติมวัสดุตัวกลางปริมาณ 10% ของดินปลูกทั้งหมด โดยแบ่งชุดทดลองดังนี้

ชุดที่ 1 ชุดควบคุม ดินนาข้าวอย่างเดียว
ชุดที่ 2 ดินนาข้าว + ผักตบชวา
ชุดที่ 3 ดินนาข้าว + แอคติโนมัยสีทตรึงบนผักตบชวา
ชุดที่ 4 ดินนาข้าว + ชานอ้อย
ชุดที่ 5 ดินนาข้าว + แอคติโนมัยสีทตรึงบนชานอ้อย
ชุดที่ 6 ดินนาข้าว + กากตะกอนหม้อกรอง
ชุดที่ 7 ดินนาข้าว + แอคติโนมัยสีทตรึงบนกากตะกอนหม้อกรอง

บรรจุดิน 3 กิโลกรัมต่อกระถาง แต่ละชุดการทดลองทำการปลูก 10 กระถาง บ่มดินในสภาพน้ำขังเป็นเวลา 1 สัปดาห์

นำข้าวเปลือก (กข 49) มาล้างและเลือกเฉพาะเมล็ดที่จมน้ำ ฆ่าเชื้อที่ผิวเมล็ดข้าวโดยแช่ในสารละลายไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที ล้างน้ำออกด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 4-5 ครั้ง แช่เมล็ดข้าวในน้ำกลั่นเป็นเวลา 1 คืน รินน้ำออกและวางทิ้งไว้อีก 1 คืน เพื่อให้เมล็ดข้าวงอก (นราวรรณ, 2554) จากนั้นนำเมล็ดข้าวที่งอกแล้วจำนวน 3 เมล็ดปลูกในกระถาง เมื่อครบ 30 วัน วัดความสูงของลำต้นและความยาวราก ชั่งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของลำต้นข้าวจากทุกกระถาง

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การทดสอบความสามารถในการผลิตกรดอินโดล-3-แอซิติก และการละลายฟอสเฟตของแอคติโนมัยสีท

จากการนำแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากตัวอย่างดินนาข้าวจำนวน 116 ไอโซเลต มาทดสอบความสามารถในการผลิตกรดอินโดล-3-แอซิติก โดยวิธีของ Salkowski โดยทำการเพาะเลี้ยงแอคติโนมัยสีทในอาหาร Glucose yeast extract broth ที่มี L-trypytophan ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ โดย L-trypytophan เป็นสารตั้งต้นในการกระตุ้นให้แอคติโนมัยสีทสร้างกรดอินโดล-3-แอซิติก ผลการทดลองพบว่าแอคติโนมัยสีทจำนวน 50 ไอโซเลตสามารถผลิตกรดอินโดล-3-แอซิติกได้และมีปริมาณแตกต่างกัน โดยมีปริมาณระหว่าง 3.29-26.24 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 2) แอคติโนมัยสีทไอโซเลตที่ผลิตได้สูง ได้แก่ ไอโซเลต SR14-2, SR18-10, SR7-10, SR17-8, SR13-2, SR18-3 และ SR18-5 ผลิตได้ 26.24, 18.04, 16.64, 16.15, 15.98, 10.27 และ 8.38 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินโดล-3-แอซิติกในงานวิจัยนี้ เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานการคัดแยกแอคติโนมัยสีทที่แยกจากดินรอบรากพืชหลายชนิดพบว่ามีการสร้างกรดอินโดล-3-แอซิติกในปริมาณใกล้เคียงกัน โดยแอคติโนมัยสีทสายพันธุ์ส่วนใหญ่ที่สร้างกรดอินโดล-3-แอซิติก คือจีนัส *Streptomyces* Poovarasan et al. (2013) ทำการแยกแอคติโนมัยสีทที่อยู่กับสปอร์ของเชื้อราไมคอร์ไรซา *Glomus mosseae* เพื่อใช้ส่งเสริมการเจริญของต้นกล้าทับทิม พบว่าแอคติโนมัยสีทที่แยก *Streptomyces canus* ผลิตกรดอินโดล-3-แอซิติกได้ปริมาณเท่ากับ 10.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร Harikrishnan et al. (2014) ได้ทำการแยก *Streptomyces atrovirens* ASU14 จากดินรอบรากข้าวสาลีซึ่งสามารถผลิต IAA 22 µg/ml Himaman et al. (2016) สามารถแยก *Streptomyces ramulosus* strain EUSKR2S82 จากดินรอบรากยูคาลิปตัสโดยสามารถผลิต IAA ได้ 28.03 µg/ml

ตารางที่ 2 ปริมาณกรดอินโดล-3-แอซิติกและความสามารถในการละลายฟอสเฟตของแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากดินนาข้าว

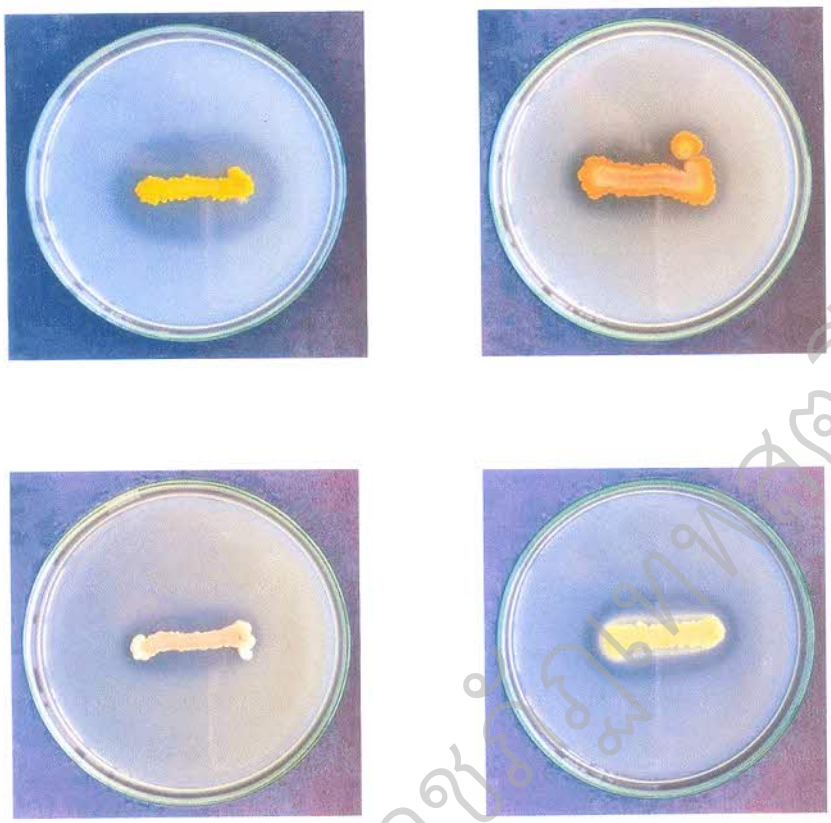
ไอโซเลต	กรดอินโดล-3-แอซิติก (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	การละลายฟอสเฟต
SR1-1	4.04	-
SR1-9	3.68	-
SR2-1	5.07	-
SR3-4	3.78	-
SR4-2	8.43	-
SR4-3	6.63	-
SR5-1	3.94	-
SR5-2	3.39	-
SR7-4	3.78	-
SR7-8	3.47	-
SR7-9	3.97	-
SR7-10	16.64	+
SR8-2	4.15	-
SR8-4	3.31	-
SR8-10	4.60	-
SR8-11	3.82	-
SR9-2	4.00	-
SR9-3	4.02	-
SR9-4	3.29	-
SR9-5	3.49	-
SR11-14	4.19	-
SR11-18	3.37	-
SR12-1	3.61	-
SR12-5	3.47	-
SR13-1	4.18	-

มหาวิทยาลัยรามคำแหง

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ไอโซเลต	กรดอินโดล-3-แอซิติก (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	การละลายฟอสเฟต
SR13-2	15.98	+
SR13-5	3.86	-
SR13-6	3.68	-
SR14-1	3.76	-
SR14-2	26.24	+
SR14-4	4.43	-
SR14-5	4.73	-
SR15-1	3.96	-
SR15-2	4.63	-
SR16-4	3.35	-
SR16-5	4.65	-
SR16-6	4.63	-
SR16-8	3.45	-
SR16-19	3.78	-
SR16-22	3.66	-
SR17-1	3.52	-
SR17-2	4.40	-
SR17-4	3.67	-
SR17-6	4.78	-
SR17-8	16.15	+
SR17-10	4.44	-
SR18-1	4.62	-
SR18-2	3.02	-
SR18-3	10.27	+
SR18-5	8.38	+
SR18-7	3.56	-
SR18-10	18.04	+

มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี



ภาพที่ 2 แอคติโนมัยสีทที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟต โดยการทดสอบบนอาหาร Pikovskaya agar

จากการนำแอคติโนมัยสีทไอโซเลตจำนวน 116 ไอโซเลตมาทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟต โดยการเพาะเลี้ยงบนอาหาร Pikovskaya's agar พบว่ามีแอคติโนมัยสีทจำนวน 7 ไอโซเลต ได้แก่ SR14-2, SR18-10, SR7-10, SR17-8, SR13-2, SR18-3 และ SR18-5 สามารถละลายฟอสเฟตได้ โดยสังเกตจากบริเวณโซนใสที่เกิดขึ้นรอบเชื้อ (ภาพที่ 2)

ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารหลักที่มีความสำคัญต่อการเจริญของพืช ดินหลายพื้นที่ประสบปัญหาการขาดธาตุฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ เพราะถึงแม้ว่าดินจะมีธาตุฟอสฟอรัสทั้งหมดในปริมาณสูง แต่ปริมาณฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำซึ่งพืชสามารถนำไปใช้ได้มีปริมาณต่ำ โดยมีเพียง 1-5% ของปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดที่พืชจะสามารถนำไปใช้ได้ (Wang et al., 2015) มีรายงานแสดงให้เห็นว่ามีจุลินทรีย์หลายชนิดที่สามารถละลายฟอสเฟตในรูปที่ไม่ละลาย เช่น $Ca_3(PO_4)_2$, $FePO_4$ และ $AlPO_4$ โดยการสร้างกรดอินทรีย์ siderophores และ hydroxyl ion (Souza et al., 2015)

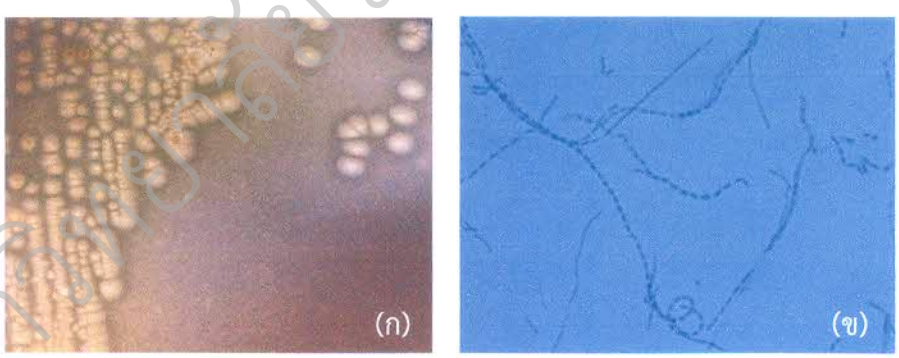
มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

ตัวอย่างจุลินทรีย์ที่สามารถละลายฟอสเฟต ได้แก่ *Burkholderia*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Aspergillus*, *Paenibacillus* และ *Trichoderma*

เมื่อพิจารณาจากความสามารถในการผลิตกรดอินโดล-3-แอซิติกและความสามารถในการละลายฟอสเฟต พบว่าแอคติโนมัยสีท SR14-2 สามารถผลิตกรดอินโดล-3-แอซิติกได้สูงที่สุดและสามารถละลายฟอสเฟตได้ จึงทำการคัดเลือกแอคติโนมัยสีท SR14-2 ไปศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและทดสอบความสามารถในการตรึงกับวัสดุตัวกลางที่เหมาะสมต่อไป

4.2 การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของแอคติโนมัยสีท

จากการนำแอคติโนมัยสีท SR14-2 มาศึกษาลักษณะโคโลนี สีเส้นใยและสีสปอร์ SR14-2 มีลักษณะ คือ โคโลนีกลมนูน ขอบหยัก เส้นใยมีสีน้ำตาล และสปอร์สีขาว เมื่อศึกษาลักษณะรูปร่างเส้นใย และสายสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SR14-2 มีลักษณะสปอร์เป็นแบบ Rectiflexbiles สายสปอร์มีลักษณะตรงหรือโค้งงอ (ภาพที่ 3) ซึ่งแอคติโนมัยสีทที่มีลักษณะสายสปอร์มีลักษณะตรงหรือโค้งงอคล้ายขอเป็นวงปิดมีความคล้ายคลึงกับจีนัส *Streptomyces*



ภาพที่ 3 ลักษณะโคโลนีบนอาหาร GYM agar (ก) และเส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า (ข) ของแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SR14-2

4.3 การทดสอบความสามารถในการตรึงอยู่บนวัสดุตัวกลางชนิดต่างๆ

นำแอคติโนมัยสีทไอโซเลต SR14-2 ที่สามารถผลิตกรดอินโดล-3-แอซิติกได้สูงและสามารถละลายฟอสเฟตมาทดสอบการตรึงบนวัสดุเหลือทิ้ง เพื่อนำไปทำเชื้อเริ่มต้น (microbial inoculant) ในการทำปุ๋ยชีวภาพ โดยนำแกลบ ผักตบชวาแห้ง ชานอ้อย กากตะกอนหม้อกรอง (filter press

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

cake) และปลายข้าว มาทำการฆ่าเชื้อ เติมกล้าเชื้อแอคติโนมัยสีท (1.6×10^9 CFU/ml) บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน และตรวจนับปริมาณแอคติโนมัยสีทที่เจริญบนวัสดุต่างๆ พบว่าแอคติโนมัยสีทสามารถมีชีวิตอยู่บนวัสดุตัวกลางทั้งหมดได้ (ตารางที่ 3) โดยปลายข้าวเป็นวัสดุตัวกลางที่มีแอคติโนมัยสีทเจริญได้สูงที่สุด เนื่องจากเป็นวัสดุที่มีสารอาหารประเภทแป้งซึ่งเชื้อสามารถนำไปใช้ในการเจริญได้ดี ในส่วนผักตบชวาอบแห้ง ชานอ้อย และกากหม้อกรองมีปริมาณเชื้อใกล้เคียงกัน คืออยู่ในช่วง $2.7\text{-}4.0 \times 10^7$ CFU/กรัม และแกลบมีปริมาณเชื้อต่ำที่สุด ซึ่งผักตบชวาเป็นวัสดุที่มีมากในแหล่งน้ำชุมชน จึงเป็นตัวเลือกหนึ่งที่น่าสนใจในการนำมาใช้ประโยชน์ ในขณะที่ชานอ้อย และกากหม้อกรองเป็นผลพลอยได้ที่เกิดจากกระบวนการผลิตในอุตสาหกรรมน้ำตาลซึ่งมีปริมาณมากและมีการประยุกต์ใช้เป็นสารปรับปรุงดินในการปลูกอ้อยด้วย ผู้วิจัยจึงสนใจนำผักตบชวา ชานอ้อย และกากตะกอนหม้อกรองมาศึกษาในขั้นตอนต่อไป

ตารางที่ 3 ปริมาณแอคติโนมัยสีทในวัสดุตัวกลางชนิดต่างๆ

วัสดุตัวกลาง	ปริมาณแอคติโนมัยสีท (CFU/กรัม)
ปลายข้าว	5.8×10^8
แกลบ	2.3×10^6
ผักตบชวา	3.0×10^7
ชานอ้อย	2.7×10^7
กากตะกอนหม้อกรอง	4.0×10^7

4.4 การทดสอบประสิทธิภาพของแอคติโนมัยสีทที่ตรึงบนตัวกลางต่อการส่งเสริมการเจริญของต้นกล้าข้าว

จากการนำแอคติโนมัยสีท SR14-2 ที่ตรึงบนตัวกลางผักตบชวา ชานอ้อย และกากตะกอนหม้อกรอง มาทดสอบการส่งเสริมการเจริญของต้นกล้าข้าวพันธุ์ กข 49 โดยการทดลองนี้นำวัสดุตัวกลางมาผสมกับดินนาข้าว และเวลาในการปลูกต้นข้าว 30 วัน จากนั้นวัดการเจริญจากความสูง ความยาวราก น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของต้นกล้าข้าว ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4

มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี

ตารางที่ 4 การเจริญของต้นกล้าข้าวที่ปลูกในดินที่มีการเติมวัสดุตัวกลางชนิดต่างๆ

ชุดการทดลอง	ความยาวราก (เซนติเมตร)	ความสูง (เซนติเมตร)	น้ำหนักสด (กรัม)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)
กากตะกอนหม้อกรอง	5.80±1.38*	22.64±3.57	0.34±0.02	0.07±0.01
SR14-2 + กากตะกอนหม้อกรอง	7.20±1.69	30.06±3.17	0.52±0.06	0.15±0.01
ผักตบชวา	13.00±2.50	20.34±1.21	0.28±0.03	0.05±0.01
SR14-2 + ผักตบชวา	14.74±4.61	23.52±2.63	0.27±0.04	0.05±0.01
ชานอ้อย	12.68±1.00	20.44±0.86	0.22±0.03	0.04±0.02
SR14-2 + ชานอ้อย	18.16±3.94	23.46±2.00	0.31±0.06	0.07±0.02
ชุดควบคุม	9.18±2.79	16.56±1.22	0.30±0.35	0.04±0.01

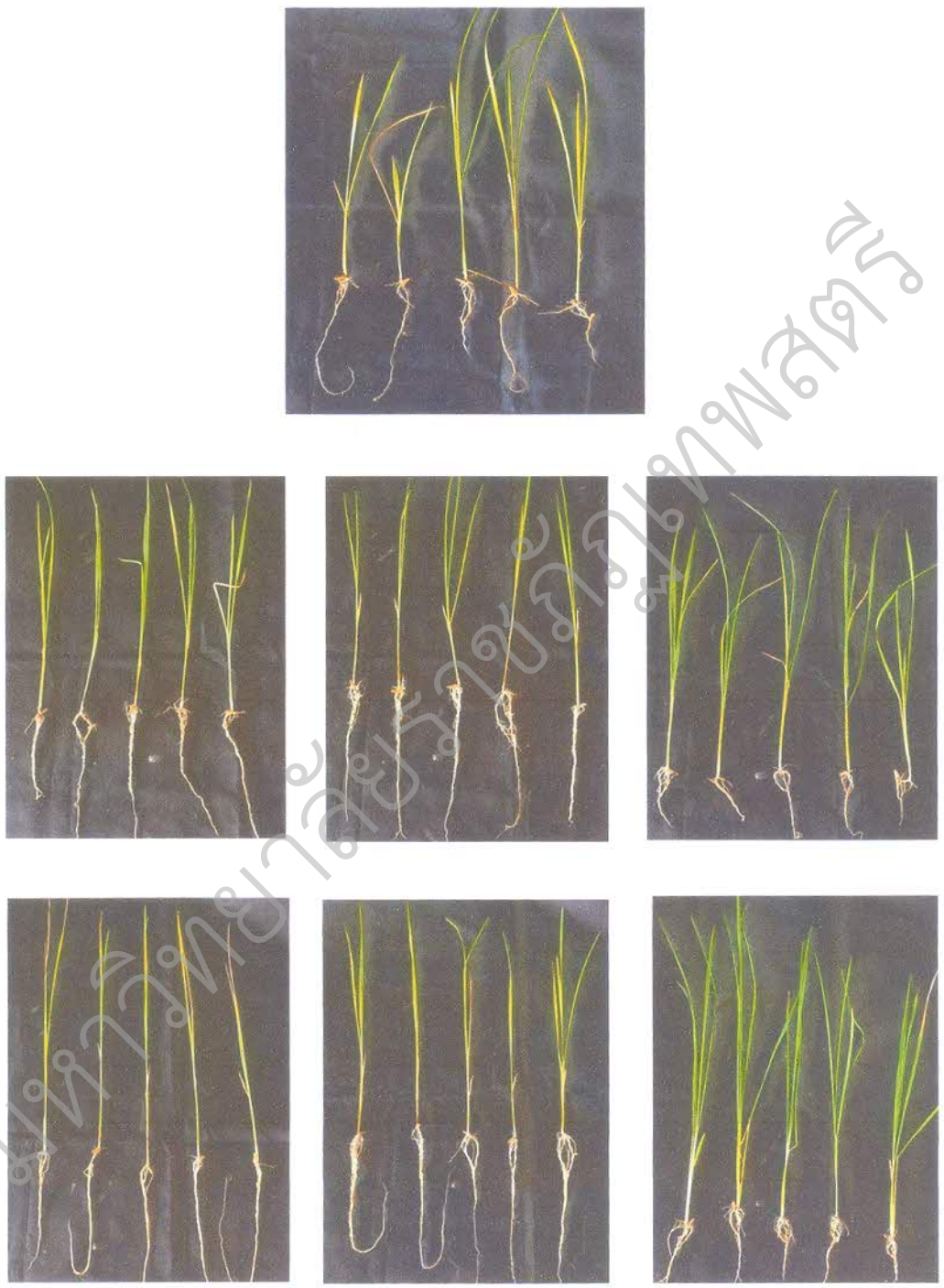
* ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จากการทดลองพบว่าต้นข้าวที่ปลูกในดินที่มีผักตบชวาและชานอ้อย มีความยาวรากมากกว่าชุดควบคุม ในขณะที่ดินที่เติมกากตะกอนหม้อกรองมีความยาวรากน้อยกว่าชุดควบคุม (ภาพที่ 4) โดยที่ต้นข้าวที่ปลูกในดินที่มีชานอ้อยตรึงเชื้อแอคติโนมัยสีท SR14-2 มีความยาวรากสูงที่สุด แต่เมื่อพิจารณาจากขนาดของรากพบว่าการเติมรากกากตะกอนหม้อกรองทำให้ข้าวมีรากขนาดใหญ่กว่าทั้งการเติมชานอ้อยและผักตบชวา

ต้นข้าวที่ปลูกในดินที่มีการเติมวัสดุตัวกลางทุกชุดการทดลองมีความสูงของต้นข้าวสูงกว่าชุดควบคุม โดยที่ต้นข้าวที่ปลูกในดินที่เติมแอคติโนมัยสีทตรึงกับกากตะกอนหม้อกรองมีความสูงของต้นข้าวสูงที่สุด นอกจากนี้มีจำนวนใบที่มากกว่าและมีขนาดของใบใหญ่กว่าทุกชุดการทดลอง เมื่อทำการวิเคราะห์น้ำหนักสดและแห้งของต้นพบว่าต้นข้าวที่ปลูกในดินที่เติมแอคติโนมัยสีทตรึงกับกากตะกอนหม้อกรองมีปริมาณน้ำหนักสดและแห้งสูงสุด แสดงให้เห็นว่าการใช้แอคติโนมัยสีทตรึงกับกากตะกอนหม้อกรองส่งเสริมการเจริญของต้นข้าวได้

เมื่อเปรียบเทียบการใช้กากตะกอนหม้อกรองเพียงอย่างเดียวสามารถส่งเสริมการเจริญของต้นกล้าได้มากกว่าชุดควบคุม แต่เมื่อมีแอคติโนมัยสีทที่ตรึงกับกากตะกอนหม้อกรองพบว่าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการส่งเสริมการเจริญของต้นข้าวได้เพิ่มขึ้น แสดงถึงความสามารถของเชื้อในการส่งเสริมการเจริญได้ ซึ่งการเจริญเติบโตของพืชมีผลโดยตรงมาจากปริมาณของฮอร์โมนโดยเฉพาะกรดอินโดล-3-แอซิติกและจิบเบอเรลลิน ซึ่งมีปฏิสัมพันธ์ร่วมกันกับปริมาณกรดอินโดล-3-แอซิติก และ

มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี



ภาพที่ 4 ลักษณะการเจริญของต้นกล้าข้าวที่ปลูกด้วยวัสดุตัวกลางต่างๆ

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

gibberelic acid ภายในต้นพืช โดยส่งผลให้เซลล์พืชยืดยาวและช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซับธาตุอาหารจากดินของพืช (วิลาวรรณ์ และดุสิต, 2557) ซึ่งกากตะกอนหม้อกรองเป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมน้ำตาลที่นำมาใช้ปรับปรุงดินในพื้นที่เกษตรกรรม มีรายงานการนำจุลินทรีย์ PGR มาเติมในกากตะกอนอ้อย ซึ่งทำหน้าที่เป็นทั้งแหล่งอาหารและวัสดุตัวกลางที่พาเชื้อที่คัดเลือกไปสู่ดิน ซึ่งกากตะกอนอ้อยที่มีจุลินทรีย์สามารถประยุกต์เป็นปุ๋ยชีวภาพเพื่อส่งเสริมการเจริญของพืชได้ (Dotaniya et al., 2016)

มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุป

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์แอคติโนมัยสีทที่มีคุณสมบัติการส่งเสริมการเจริญของพืชจากดินนาข้าวในจังหวัดลพบุรี นำสายพันธุ์แอคติโนมัยสีทที่คัดเลือกได้มาทดสอบการตรึงกับตัวกลางวัสดุเหลือทิ้ง และนำแอคติโนมัยสีทที่ตรึงบนตัวกลางไปทดสอบการส่งเสริมการเจริญของต้นกล้าข้าว เพื่อพัฒนาเป็นกล้าเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อการผลิตปุ๋ยชีวภาพสำหรับส่งเสริมการเจริญของข้าว

จากการนำแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากดินนาข้าวจำนวน 116 ไอโซเลต มาทดสอบการสร้างกรดอินโดล-3-แอซีติกและการละลายฟอสเฟตพบว่า แอคติโนมัยสีทจำนวน 50 ไอโซเลตสามารถผลิตกรดอินโดล-3-แอซีติกได้ระหว่าง 3.29-26.24 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แอคติโนมัยสีทไอโซเลตที่ผลิตได้สูง ได้แก่ ไอโซเลต SR14-2, SR18-10, SR7-10, SR17-8, SR13-2, SR18-3 และ SR18-5 ผลิตได้ 26.24, 18.04, 16.64, 16.15, 15.98, 10.27 และ 8.38 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ และทั้ง 7 ไอโซเลตมีความสามารถในการละลายฟอสเฟตได้ เมื่อพิจารณาจากความสามารถในการสร้างกรดอินโดล-3-แอซีติก พบว่าแอคติโนมัยสีท SR14-2 สามารถสร้างได้สูงที่สุด 26.24 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและมีความสามารถในการละลายฟอสเฟตได้ จึงทำการคัดเลือกแอคติโนมัยสีท SR14-2 เป็นกล้าเชื้อส่งเสริมการเจริญ

เมื่อทำการศึกษาลักษณะโคโลนีและรูปร่างใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าแอคติโนมัยสีท SR14-2 มีโคโลนีกลมนูน ขอบหยัก เส้นใยมีสีน้ำตาลและสปอร์สีขาว ส่วนสายสปอร์มีลักษณะสปอร์เป็นแบบ Rectiflexbiles ซึ่งมีความคล้ายคลึงกับจีนัส *Streptomyces*

ศึกษาความสามารถในการตรึงเซลล์แอคติโนมัยสีท SR14-2 กับวัสดุตัวกลางต่างๆ ได้แก่ แกลบ ผักตบชวาแห้ง ชานอ้อย กากตะกอนหม้อกรอง บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน พบว่าแอคติโนมัยสีทสามารถมีชีวิตอยู่บนวัสดุตัวกลางทั้งหมดได้ โดยปริมาณเชื้อในผักตบชวาแห้ง ชานอ้อย และกากตะกอนหม้อกรองมีปริมาณใกล้เคียงกัน คืออยู่ในช่วง 2.7-4.0 x 10^7 CFU/กรัม

มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี

นำวัสดุตัวกลางทั้งหมดไปทดสอบประสิทธิภาพการส่งเสริมการเจริญของต้นกล้าข้าวในระดับกระถางเป็นเวลา 30 วัน พบว่าแอคติโนมัยสีท SR14-2 ที่ตรึงกับกากตะกอนหม้อกรองสามารถเพิ่มความสูง และน้ำหนักต้นกล้าข้าวได้สูงที่สุด

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรจะศึกษาผลของแอคติโนมัยสีท SR14-2 ที่ตรึงกับกากตะกอนหม้อกรองต่อการเจริญเติบโตในระยะต้นกล้าจนถึงระยะออกรวงด้วยเพื่อดูปริมาณผลผลิตของข้าว
2. ควรมีการศึกษาข้อมูลทาง DNA เพิ่มเติมเพื่อช่วยในการจัดจำแนกชนิดของแอคติโนมัยสีท
3. ควรศึกษาถึงการพัฒนาผลิตภัณฑ์กล้าเชื้อการผลิตแอคติโนมัยสีท SR14-2 ที่ตรึงกับกากตะกอนหม้อกรองเป็นปุ๋ยชีวภาพ

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

บรรณานุกรม

กิ่งจันทน์ มะลิซ้อน. (2555). ความหลากหลายของแอคติโนแบคทีเรียในดิน. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี.

นราวรรณ ปั้นงาม อรินทิพย์ ธรรมชัยพิเนต และ กรรณิการ์ ดวงมาลย์. (2554). แอคติโนมัยสีทจากดินนาและความสามารถในการยับยั้งราก่อโรคข้าว. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์. ครั้งที่ 49: สาขาวิทยาศาสตร์. หน้า 234-241.

ทิศนา นิธิสกุลกาญจน์. (2550). สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพผลิตโดยแอคติโนมัยซีตที่แยกจากมูลสัตว์กินพืช. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาคจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

มัลลิกา หมูแก้ว. (2550). การประเมินความสามารถของเชื้อแอคติโนมัยซีสในการควบคุมโรคเน่าคอดินของพริก. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิชาโรคพืช มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

มธุรส ชัยหาญ. (2557). การควบคุมทางชีวภาพของแบคทีเรียบริเวณรากพืชในการยับยั้งโรคขอบใบแห้งในข้าวสายพันธุ์เศรษฐกิจของไทย. รายงานผลการวิจัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้. เชียงใหม่.

ยุวดี มหาศักดิ์ศิริ. (2546). การแยกแอคติโนมัยซีตที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะจากดินรังปลวก. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. ภาคจุลชีววิทยา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วิยะดา มงคลธนารักษ์. (2554). การศึกษาสารเร่งการเจริญเติบโตของพืชและคุณลักษณะของเชื้อเอ็นโดไฟติกแบคทีเรียที่ได้จากเขตพื้นที่เขื่อนอุบลรัตน์. รายงานการวิจัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น.

วิลาวรรณ์ เชื้อบุญ และดุสิต อธินุวัฒน์. (2557). ฮอร์โมนพืชผลิตจาก *Pseudomonas fluorescens* SP007s ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของคะน้าอินทรีย์. Thai Journal of Science and Technology. 3(3): 196-205.

วีรวัฒน์ ปิยะเกรียงไกร. (2544). สัณฐานวิทยา และสรีรวิทยาของแอคติโนมัยซิทีสที่ไม่ติดเชื้อแอคติโนฟาจ. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาคจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ศรีสกุล ชนะพันธุ์. (2553). การคัดแยกและคัดกรองเชื้อเอ็นโดไฟติคแอคติโนมันซีสที่สามารถสร้างสารต้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบและการประยุกต์ใช้. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา. มหาวิทยาลัยศิลปากร.

มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี

สุบัณฑิต นิ่มรัตน์. (2549). จุลชีววิทยาทางดิน. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

หนึ่ง เตียอำรุง สมปอง หมื่นแจ้ง สมพร ชุณหลือชานนท์. (2555). การรวบรวมและคัดเลือกสายพันธุ์ Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR). รายงานการวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

อนุเทพ ภาสุระ. (2561, 1 กันยายน). รูปแบบสูตรชีวภัณฑ์จุลินทรีย์เพื่อดูแลสุขภาพพืช. (ออนไลน์) เข้าถึงได้จาก: http://www.uniserv.buu.ac.th/forum2/topic.asp?TOPIC_ID=6200

อภิวัฒน์ อินทร์นก พักตร์เพ็ญ ภูมิพันธ์ และ อรประภา เทพศิลปะวิสุทธิ์. (2559). การเปรียบเทียบคุณภาพข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกโดยใช้ปุ๋ยเคมีและปุ๋ยอินทรีย์ในจังหวัดสุรินทร์. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 24 (5) (ฉบับพิเศษ): 766-776.

Acinomycetes. (2018). Taxonomy, Physiology, and Natural Products of *Actinobacteria*. [Online]. Retrieved June 1, 2018, from http://mmbr.asm.org/content/80/1/1/F4.expansion.html

Dotaniya, M. L., Datta, S. C., Biswas, D. R., Dotaniya, C. K., Meena, B. L., Rajendiran, S., Regar, K. L., Lata, M. (2016). Use of sugarcane industrial by-products for improving sugarcane productivity and soil health. Int J Recycl Org Waste Agricult. 5:185–194.

Gopalakrishnan, S., Pande, S., Sharma, M., Humayun, P., Kiran, B. K., Sandeep, D., Vidya, M. S., Deepthi, K.,and Rupela, Om. (2011). Evaluation of actinomycete isolates obtained from herbal vermicompost for the biological control of *Fusarium* wilt of chickpea. Crop Protection. 30: 1070-1078.

Gopalakrishnan, S., Srinivas, V., Vidya, M. S., and Rathore, A. (2013). Plant growth-promoting activities of Streptomyces spp. in sorghum and rice. SpringerPlus. 2:574. 1-8.

Harikrishnan, H., Shanmugaiah, V., Balasubramanian, N., Sharma, M.P., Kotchoni, S.O. (2014). Antagonistic potential of native strain *Streptomyces aurantiogriseus* VSMGT1014 against sheath blight of rice disease. World J Microbiol Biotechnol. 30: 3149–3161.

Himaman, W., Thamchaipenet, A., Pathom-aree, W., Duangmal K. (2016). Actinomycetes from *Eucalyptus* and their biological activities for controlling *Eucalyptus* leaf and shoot blight. Microbiol Res. 188-189:42–52.

Khamna, S., Yokota, A., Peberdy, J. F., Lumyong, S. (2010). Indole-3-acetic acid production by *Streptomyces* sp. isolated from some Thai medicinal plant rhizosphere soils. EurAsia J BioSci. 4: 23-32.

Nutaratat, P., Srisuk, N., Arunrattiyakorn, P., Limtong, S. (2014). Plant growth-promoting traits of epiphytic and endophytic yeasts isolated from rice and sugar cane leaves in Thailand. Fungal biology. 118: 683 -694.

Prapagdee, B., Kuekulvong, C. and Mongkolsuk, S. (2008). Antifungal potential of extracellular metabolites produced by *Streptomyces hygroscopicus* against phytopathogenic fungi. International Journal of Biological Sciences. 4(5):330-337.

Souza, R., Ambrosini, A., and Passaglia, L.M.P. (2015). Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. Genetics and Molecular Biology, 38(4): 401-419.

Wang, H., Liu, S., Zhai L., Zhang, J., Ren T., Fan B., Liu, H. (2015). Preparation and utilization of phosphate biofertilizers using agricultural waste. Journal of Integrative Agriculture. 14(1): 158–167.

Xue, L., Xue, Q., Chen, Q., Lin, C., Shen, G., and Zhao, J. (2013). Isolation and evaluation of rhizosphere actinomycetes with potential application for biocontrol of *Verticillium* wilt of cotton. Crop Protection. 43: 231-240.