



การจำแนกลักษณะทางพันธุกรรมและคุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียที่แยกได้
จากปมรากของพืชสมุนไพรไทย

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

โดย

นางสาวชนชนก ลีพหาวงศ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาจุลชีววิทยา

ภาควิชาจุลชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2552

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การจำแนกลักษณะทางพันธุกรรมและคุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียที่แยกได้
จากปมรากของพืชสมุนไพรไทย

โดย
นางสาวชนชนก ลีพหาวงศ์

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาจุลชีววิทยา

ภาควิชาจุลชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2552

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

**MOLECULAR CHARACTERIZATION AND BIOCHEMICAL PROPERTIES OF ROOT
NODULE BACTERIA ISOLATED FROM THAI MEDICINAL PLANTS**

By

Chonchanok Leelahawong

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree

MASTER OF SCIENCE

Department of Microbiology

Graduate School

SILPAKORN UNIVERSITY

2009

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร อนุมัติให้วิทยานิพนธ์เรื่อง “ การจำแนกลักษณะทาง พันธุกรรมและคุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียที่แยกได้จากปมรากของพืชสมุนไพรไทย ” เสนอ โดย นางสาวชณชนก ลีพหาวงศ์ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร มหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริชัย ชินะตั้งกูร)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
วันที่.....เดือน..... พ.ศ.....

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

1. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เน็ลวรรณ พงศ์ศิลป์
2. ดร.อัจฉรา นันทกิจ
3. รองศาสตราจารย์ ดร.หนึ่ง เตียอำรุง

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์
คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(อาจารย์ ดร.เชาวรีย์ อรรถถังรอง)

...../...../.....

..... กรรมการ

(ศาสตราจารย์(เกียรติคุณ) ดร.นันทกร บุญเกิด)

...../...../.....

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เน็ลวรรณ พงศ์ศิลป์)

...../...../.....

..... กรรมการ

(ดร.อัจฉรา นันทกิจ)

...../...../.....

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.หนึ่ง เตียอำรุง)

...../...../.....

49513201 : สาขาวิชาจุลชีววิทยา

คำสำคัญ : คราม/ กวาวเครือขาว/ หางไหลแดง; พืชสมุนไพรไทย/ แบคทีเรียปมราก/ การจำแนกตามคุณสมบัติทางกายภาพ และชีวเคมี/ ยีน 16S rDNA/ ฟอสฟาเตส

ชมนชนก ลิพหาวงศ์ : การจำแนกลักษณะทางพันธุกรรมและคุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียที่แยกได้จากปมรากของพืชสมุนไพรไทย. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ผศ. ดร. นิลวรรณ พงศ์ศิลป์, ดร. อัจฉรา นันทกิจ และ รศ. ดร. หนึ่ง เตียอำรุง: 237 หน้า.

จากการศึกษาเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากปมรากของพืชสมุนไพรไทย ได้แก่ กวาวเครือขาว คราม และ หางไหลแดง จำนวน 56 สายพันธุ์ พบว่า เชื้อทุกสายพันธุ์สามารถใช้ D-glucose, D-fructose, D-galactose, D-mannose, L-arabinose, mannitol, proline, DL-alanine, L-alanine, L-ornithine monohydrochloride, L-glutamine และ casein เป็นแหล่งคาร์บอน และสามารถใช้ DL-lysine, DL-valine, DL-phenyl alanine, ammonium molybdate-4-hydrate และ proline เป็นแหล่งไนโตรเจน เชื้อโดยส่วนใหญ่มีความต้านทานต่อ ceftazidime (30 µg) ampicillin (30 µg) และ chloramphenicol (30 µg) มีการเจริญได้ดีที่ pH 5.0 และ 6.5 ที่อุณหภูมิ 20 และ 30 องศาเซลเซียส และที่ระดับความเข้มข้นของ NaCl 0 และ 0.2 M มีความสามารถในการสังเคราะห์ IAA โดยมีค่าความเข้มข้นของ IAA อยู่ระหว่าง 4.310±0.672 ถึง 34.757±0.178 µg/ml จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rDNA จากเชื้อจำนวน 28 สายพันธุ์ เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rDNA กับฐานข้อมูล GenBank พบว่า เชื้อแบคทีเรียปมรากคราม คล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Pseudoalteromonas*, *Ralstonia-Cupriavidus*, *Rhizobium*, *Sinorhizobium* และ *Bradyrhizobium* เชื้อแบคทีเรียปมรากกวาวเครือขาวคล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Rhizobium* และเชื้อแบคทีเรียปมรากหางไหลแดงคล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Rhizobium*, *Sinorhizobium* และ *Bradyrhizobium* หลังจากนั้นคัดเลือกเชื้อจำนวน 5 สายพันธุ์ นำมาวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *nifH* และ *nodC* พบว่า เชื้อที่คัดเลือกจากคราม กวาวเครือขาว และหางไหลแดงมีลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *nifH* คล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Bradyrhizobium* และ *Sinorhizobium* และเชื้อที่คัดเลือกจากครามและหางไหลแดงมีลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *nodC* คล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Bradyrhizobium* และ *Sinorhizobium* ในการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ฟอสฟาเตส พบว่า เชื้อทุกสายพันธุ์มีกิจกรรมเอนไซม์ฟอสฟาเตสที่เป็น extracellular enzyme สูงกว่า intracellular enzyme โดยเชื้อที่มีกิจกรรมเอนไซม์ acid phosphatase สูงที่สุด ได้แก่ เชื้อสายพันธุ์ DASA 68062 เชื้อที่มีกิจกรรมเอนไซม์ neutral phosphatase และ alkaline phosphatase สูงที่สุด ได้แก่ เชื้อสายพันธุ์ DASA 68056 ต่อมาศึกษาอิทธิพลของปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ phosphatase ของเชื้อสายพันธุ์ DASA 57020 DASA 68056 และ DASA 68066 พบว่า ปัจจัย D-fructose มีผลในการเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ acid phosphatase, neutral phosphatase และ alkaline phosphatase ที่เป็น extracellular enzyme

ภาควิชาจุลชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2552

ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ 1. 2. 3.

49513201 : MAJOR : MICROBIOLOGY

KEY WORDS : INDIGOFERA TINCTORIA/ PUERARIA MIRIFICA/ DERRIS ELLIPTICA;
THAI MEDICINAL PLANTS/ ROOT NODULE BACTERIA / NUMERICAL
ANALYSIS/ 16S rDNA GENE/ PHOSPHATASE

CHONCHANOK LEELAHAWONG : MOLECULAR CHARACTERIZATION AND
BIOCHEMICAL PROPERTIES OF ROOT NODULE BACTERIA ISOLATED FROM THAI
MEDICINAL PLANTS. THESIS ADVISORS : ASST. PROF. NEELAWAN PONGSILP, Ph.D.,
ACHARA NUNTAGIJ, Ph.D., AND ASSOC. PROF. NEUNG TEAUMROONG, Ph.D. 237 pp.

Fifty-six strains of root-nodule bacteria isolated from Thai medicinal plants (*Pueraria mirifica*, *Derris elliptica* and *Indigofera tinctoria*) were characterized. All isolates utilized D-glucose, D-fructose, D-galactose, D-mannose, L-arabinose, mannitol, proline, DL-alanine, L-alanine, L-ornithine monohydrochloride, L-glutamine and casein as sole carbon sources. They could use DL-lysine, DL-valine, DL-phenyl alanine, ammonium molybdate-4-hydrate and proline as sole nitrogen sources. Most isolates showed resistance to ceftazidime (30 µg) ampicillin (10 µg) and chloramphenicol (30 µg). They grew well at pH 5.0 and 6.5. The optimum temperatures were 20 and 30°C. They were able to grow at 0 and 0.2 M NaCl. The concentration of IAA produced by these isolates ranging from 4.310 ± 0.672 to 34.757 ± 0.178 µg/ml. The 16s rDNA sequence of 28 strains were analyzed. The bacterial strains from root nodules of *Indigofera tinctoria* were similarly related to genera *Pseudoalteromonas*, *Ralstonia-Cupriavidus*, *Rhizobium*, *Sinorhizobium* and *Bradyrhizobium*. The strains from root nodules of *Pueraria mirifica* were related to genera *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*, while the strains from *Derris elliptica* were related to members of genera *Rhizobium*, *Sinorhizobium* and *Bradyrhizobium*. Five strains were selected to analyze *nifH* and *nodC* genes. The results indicated that *nifH* gene of symbionts isolated from *Indigofera tinctoria*, *Pueraria mirifica* and *Derris elliptica* correlated with *nifH* of genera *Bradyrhizobium* and *Sinorhizobium*. The *nodC* gene of symbionts isolated from *Indigofera tinctoria* and *Derris elliptica* correlated with *nodC* of genera *Bradyrhizobium* and *Sinorhizobium*. Then, phosphatase activities were studied in all strains. They had extracellular enzyme activity higher than intracellular enzyme activity. The highest level of acid phosphatase activity was generated by the strain DASA 68062. While the highest level of alkaline and neutral phosphatase activities were generated by the strain DASA 68056. Furthermore, factors influencing phosphatase activities were studied in the strains DASA 57020, DASA 68056 and DASA 68066. The result showed that D-fructose increased acid phosphatase, neutral phosphatase and alkaline phosphatase of extracellular enzyme.

Department of Microbiology Graduate School, Silpakorn University Academic Year 2009

Student's signature

Thesis Advisors' signature 1. 2. 3.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ประสบความสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์จากผู้มีพระคุณทุกท่าน

ขอขอบพระคุณ ผศ. ดร. นิลวรรณ พงศ์ศิลป์ อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัยที่กรุณาให้ความรู้ คำปรึกษา ช่วยชี้แนะแนวในการทำงานวิจัยและการแก้ปัญหาต่างๆ ที่เกิดขึ้นในระหว่างการทำงานวิจัย รวมถึงช่วยแนะนำแก้ไขข้อผิดพลาดต่างๆ ในการเขียนวิทยานิพนธ์ให้ออกมาได้อย่างสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ดร. อัจฉรา นันทกิจ และ รศ. ดร. หนึ่ง เตียอำรุง อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัยร่วมที่ให้คำแนะนำที่ดีในการทำงานวิจัยครั้งนี้ และช่วยแนะนำแก้ไขข้อผิดพลาดต่างๆ ในการเขียนวิทยานิพนธ์ให้ออกมาได้อย่างสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ (เกียรติคุณ) ดร. นันทกร บุญเกิด อาจารย์คณะกรรมกรตรวจสอบวิทยานิพนธ์ที่ให้คำแนะนำที่ดีในการทำงานวิจัย และช่วยแนะนำแก้ไขข้อผิดพลาดต่างๆ ในการเขียนวิทยานิพนธ์ให้ออกมาได้อย่างสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านในภาควิชาชีววิทยาที่ให้ความกรุณาและข้อคิดเห็นต่างๆ เป็นอย่างดี

ขอขอบคุณทุนสนับสนุนจาก โครงการพัฒนาองค์ความรู้ และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย

ขอขอบคุณกลุ่มงานจุลินทรีย์ดิน สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ในการทำงานวิจัย

ขอขอบคุณสถาบัน องค์กร ต่างๆ ที่ช่วยเหลือด้านข้อมูล และสนับสนุนในการทำงานวิจัย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ช่วยอำนวยความสะดวกเรื่องวัสดุอุปกรณ์ และสารเคมีที่จำเป็นในการทำงานวิจัย

ขอขอบคุณ พี่ๆ น้องๆ และเพื่อน ๆ ที่ให้กำลังใจ และช่วยเหลือเป็นอย่างดี
สุดท้ายขอขอบพระคุณ บิดา มารดา และทุกคนในครอบครัวที่คอยให้ความรัก กำลังใจ และการสนับสนุนที่ดีตลอดจนวิทยานิพนธ์ครั้งนี้สำเร็จสมบูรณ์

หากมีข้อผิดพลาดประการใด ขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	๗
บทที่	
1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา.....	2
ขอบเขตของการศึกษา.....	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
ความสัมพันธ์แบบซิมไปโอซิสของแบคทีเรียปมรากและพืชตระกูลถั่ว.....	4
แบคทีเรียปมรากพืชตระกูลถั่ว	5
แบคทีเรียปมรากกลุ่มแอลฟาโปรตีโอแบคทีเรีย	5
แบคทีเรียปมรากกลุ่มเบต้าโปรตีโอแบคทีเรีย.....	9
การตรึงไนโตรเจนโดยชีววิธี.....	10
ความสามารถในการเข้าอยู่ของแบคทีเรียปมรากพืชตระกูลถั่ว	11
กระบวนการเข้าสู่รากพืชของแบคทีเรียปมรากพืชตระกูลถั่ว.....	13
ยีนที่ควบคุมการสร้างปมและยีนที่ควบคุมการตรึงไนโตรเจน	14
ยีนที่ควบคุมการสร้างปม	14
ยีนที่ควบคุมการตรึงไนโตรเจน	15
การถ่ายโอนยีนระหว่างแบคทีเรียในสภาวะแวดล้อม.....	16
การจำแนกแบคทีเรียปมรากพืชตระกูลถั่ว.....	17
การจำแนกตามลักษณะทางกายภาพและชีวเคมี	17
การผลิตกรดหรือด่าง	18
ลักษณะ โคลโลนี	18
การวัดอัตราการเจริญ.....	18

บทที่	หน้า
การใช้แหล่งคาร์บอน	19
การใช้แหล่งไนโตรเจน.....	19
ความต้านทานสารปฏิชีวนะ.....	19
ความต้องการวิตามิน.....	21
การเจริญที่ pH ต่างๆ	21
การเจริญที่อุณหภูมิ ต่างๆ	22
การเจริญที่ความเข้มข้น NaCl ต่างๆ	22
การสังเคราะห์เมลานิน.....	22
การสังเคราะห์ IAA.....	26
การจำแนกโดยใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรม.....	28
การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rDNA	28
ฟอสฟอรัสในดินและจุลินทรีย์ที่สามารถละลายฟอสเฟตให้แก่พืช	29
3 อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการทดลอง.....	34
สารเคมี.....	34
เชื้อแบคทีเรียปราคที่ทำการศึกษ.....	35
วิธีการดำเนินงานวิจัย	37
การศึกษาลักษณะคุณสมบัติทางฟิโนไทป์ของเชื้อแบคทีเรีย.....	37
การผลิตกรดหรือด่าง	37
ลักษณะของโคโลนีและลักษณะของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์.....	37
การใช้แหล่งคาร์บอน.....	37
การใช้แหล่งไนโตรเจน.....	38
ความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ.....	39
ความต้องการวิตามิน.....	39
การเจริญที่ระดับ pH ต่างๆ	40
การเจริญที่ระดับอุณหภูมิต่างๆ	40
การเจริญต่อ NaCl ที่ระดับต่างๆ	40
การสังเคราะห์เมลานิน.....	40
การสังเคราะห์ IAA.....	41
การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน 16s rRNA.....	41

บทที่	หน้า
การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน <i>nifH</i>	42
การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน <i>nodC</i>	42
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....	43
การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ฟอสฟาเตส	43
การศึกษากิจกรรมของปัจจัยที่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ฟอสฟาเตส	44
4 ผลการทดลอง	45
การศึกษาลักษณะคุณสมบัติทางฟีโนไทป์ของเชื้อแบคทีเรีย	45
การผลิตกรดหรือด่าง	45
ลักษณะของโคโลนี.....	48
การใช้แหล่งคาร์บอน	51
การใช้แหล่งไนโตรเจน.....	59
ความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ	63
ความต้องการวิตามิน.....	66
การเจริญที่ระดับ pH ต่างๆ	71
การเจริญที่ระดับอุณหภูมิต่างๆ	74
การเจริญต่อ NaCl ที่ระดับต่างๆ	77
การสังเคราะห์เมลานิน.....	80
การศึกษาศามารถในการสังเคราะห์ IAA.....	82
การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน 16s rRNA	86
การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน <i>nifH</i>	90
การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน <i>nodC</i>	93
การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ฟอสฟาเตส.....	95
การศึกษากิจกรรมของปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ ฟอสฟาเตสของเชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือก	99
5 วิจัยและอภิปรายผลการทดลอง.....	107
6 สรุปผลการทดลอง	122
บรรณานุกรม.....	126

บทที่	หน้า
ภาคผนวก	142
ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ	143
ภาคผนวก ข สารเคมี	148
ภาคผนวก ค สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ PCR และ gel electrophoresis	151
ภาคผนวก ง ข้อมูลของการทดลอง	153
ภาคผนวก จ คำอธิบายคำย่อ	235
ประวัติผู้วิจัย.....	237

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

สารบัญญัตินี้

ตารางที่		หน้า
1	ตัวอย่างสารประกอบที่ปลดปล่อยมาจากรากพืชและบทบาทของสารประกอบ ที่มีต่อบริเวณรอบๆรากพืช.....	11
2	กลไกความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะของแบคทีเรีย.....	20
3	ผลของ IAA ต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาและการเจริญเติบโตของพืช.	27
4	สายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการศึกษาและแหล่งที่ทำการเก็บตัวอย่าง	35
5	ผลการผลิตกรด-ด่างของเชื้อแบคทีเรียปมรากของพืชสมุนไพรร.....	46
6	ลักษณะโคโลนี และการทดสอบแกรมของเชื้อแบคทีเรียปมรากพืชสมุนไพรร.....	48
7	ความสามารถในการใช้แหล่งคาร์บอนของเชื้อแบคทีเรียปมรากพืชสมุนไพรร....	53
8	ความสามารถในการใช้แหล่งไนโตรเจนของเชื้อแบคทีเรียปมรากพืชสมุนไพรร.	60
9	ความต้านทานและความไวต่อสารปฏิชีวนะของเชื้อแบคทีเรีย ปมรากพืชสมุนไพรร.....	64
10	การเจริญของเชื้อแบคทีเรียปมรากพืชสมุนไพรรบนอาหารที่มีวิตามิน.....	67
11	ชนิดของวิตามินที่จำเป็นสำหรับการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์.....	70
12	จำนวนเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ ที่ระดับ pH 5.0, 6.5 และ 8.0	71
13	จำนวนเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ ที่อุณหภูมิ 20, 30 และ 40 °C	74
14	จำนวนเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ที่ระดับความเข้มข้นของ NaCl ที่ 0, 0.2 และ 1.0 M.....	77
15	ผลการสังเคราะห์เมลานินบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TY ที่เติม L –tyrosine และ CuSO ₄	81
16	ความเข้มข้นของ IAA ที่สังเคราะห์ได้จากเชื้อแบคทีเรียปมรากสมุนไพรร.....	83
17	ผลการเปรียบเทียบยีน 16S rRNA ของเชื้อแบคทีเรียที่ทำการศึกษา กับเชื้อในฐานข้อมูลของ GenBank โดยโปรแกรม BlastN.....	87
18	ผลการเปรียบเทียบยีน <i>nifH</i> ของเชื้อแบคทีเรียที่ทำการศึกษา กับเชื้อในฐานข้อมูลของ GenBank โดยโปรแกรม BlastN.....	92
19	ผลการเปรียบเทียบยีน <i>nodC</i> ของเชื้อแบคทีเรียที่ทำการศึกษา กับเชื้อในฐานข้อมูลของ GenBank โดยโปรแกรม BlastN.....	94
20	จำนวนเซลล์ (CFU/ml) และกิจกรรมเอนไซม์ฟอสฟาเตสของเชื้อแบคทีเรีย ที่เลี้ยงในอาหาร Pikovskaya ที่มี tricalcium phosphate.....	96

ตารางที่		หน้า
21	จำนวนเซลล์ (CFU/ml) และกิจกรรมเอนไซม์ฟอสฟาเตสของเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ DASA 57020 ที่เลี้ยงในอาหาร Pikovskaya ที่มีแหล่งปัจจัยต่างๆ	101
22	จำนวนเซลล์ (CFU/ml) และกิจกรรมเอนไซม์ฟอสฟาเตสของเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ DASA 68056 ที่เลี้ยงในอาหาร Pikovskaya ที่มีแหล่งปัจจัยต่างๆ	102
23	จำนวนเซลล์ (CFU/ml) และกิจกรรมเอนไซม์ฟอสฟาเตสของเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ DASA 68066 ที่เลี้ยงในอาหาร Pikovskaya ที่มีแหล่งปัจจัยต่างๆ	103
24	ขนาดของ clear zone ในการทดสอบความต้านทานของเชื้อต่อสารปฏิชีวนะ .	154
25	จำนวนเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ ที่ระดับ pH 5.0	184
26	จำนวนเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ ที่ระดับ pH 6.5	187
27	จำนวนเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ ที่ระดับ pH 8.0	190
28	จำนวนเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ ที่อุณหภูมิ 20°C	193
29	จำนวนเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ ที่อุณหภูมิ 30°C	196
30	จำนวนเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ ที่อุณหภูมิ 40°C	199
31	จำนวนเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ ที่ไม่มีระดับความเข้มข้นของ NaCl	202
32	จำนวนเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ ที่ระดับความเข้มข้นของ NaCl 0.2 M	205
33	จำนวนเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ ที่ระดับความเข้มข้นของ NaCl 1.0 M	208
34	ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ IAA (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) และค่าดูดกลืนแสง(Absorbance) ที่ 530 นาโนเมตร	211
35	ค่าดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ 530 นาโนเมตรในการศึกษาเชื้อที่มีความสามารถในการสังเคราะห์ IAA	213
36	ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ p - nitrophenol (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) และค่าดูดกลืนแสง(Absorbance) ที่ 405 นาโนเมตร	216
37	จำนวนเซลล์ (CFU/ml) ของเชื้อแบคทีเรียที่เลี้ยงในอาหาร Pikovskaya	

ตารางที่		หน้า
	ที่มี tricalcium phosphate [$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$] เป็นแหล่งฟอสฟอรัส.....	220
38	ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ 405 นาโนเมตร ในการศึกษา กิจกรรมของเอนไซม์ฟอสฟาเตส	223
39	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 405 นาโนเมตร ในการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ ฟอสฟาเตสของเชื้อสายพันธุ์ DASA 57020 ที่เลี้ยงในอาหาร Pikovskaya ที่มีแหล่งปัจจัยต่างๆ	229
40	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 405 นาโนเมตร ในการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ ฟอสฟาเตสของเชื้อสายพันธุ์ DASA 68056 ที่เลี้ยงในอาหาร Pikovskaya ที่มีแหล่งปัจจัยต่างๆ	230
41	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 405 นาโนเมตร ในการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ ฟอสฟาเตสของเชื้อสายพันธุ์ DASA 68066 ที่เลี้ยงในอาหาร Pikovskaya ที่มีแหล่งปัจจัยต่างๆ	231
42	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 405 นาโนเมตร ในการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ ฟอสฟาเตสของเชื้อสายพันธุ์ DASA 57020 ที่เลี้ยงในอาหาร Pikovskaya ที่มีแหล่งปัจจัยต่างๆ	232
43	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 405 นาโนเมตร ในการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ ฟอสฟาเตสของเชื้อสายพันธุ์ DASA 68056 ที่เลี้ยงในอาหาร Pikovskaya ที่มีแหล่งปัจจัยต่างๆ	233
44	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 405 นาโนเมตร ในการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ ฟอสฟาเตสของเชื้อสายพันธุ์ DASA 68066 ที่เลี้ยงในอาหาร Pikovskaya ที่มีแหล่งปัจจัยต่างๆ	234

สารบัญญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	กลไกการสังเคราะห์เมลานินแบบ Eumelanins	23
2	กลไกการสังเคราะห์เมลานินแบบ Pheomelanins	24
3	กลไกการสังเคราะห์เมลานินแบบ Allomelanins... ..	25
4	กลไกการสังเคราะห์ IAA แบบ IPyA pathway IAM pathway (1) IAN pathway (2) และ TAM pathway (3)	27
5	Phylogenetic tree แสดงความสัมพันธ์ที่ได้จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ ทั้งหมดของยีน 16S rDNA ของไรโซเบียมชนิดต่างๆ และแบคทีเรีย ในกลุ่มที่มีความคล้ายคลึงกันของยีน 16S rDNA	29
6	ผลการเปลี่ยนสีของอาหารจากการผลิตกรดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ	45
7	ผลลักษณะ โคลิโคนของเชื้อแบคทีเรียปมรากพืชสมุนไพรมบนอาหารเลี้ยงเชื้อ.....	48
8	ผลการเจริญของเชื้อบนอาหาร Basal medium ที่เติมแหล่งคาร์บอน	51
9	ผลการเจริญของเชื้อบนอาหาร Basal medium ที่เติมแหล่งไนโตรเจน	59
10	ผลความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะของเชื้อแบคทีเรียปมรากพืชสมุนไพรม.....	63
11	ผลของวิตามินที่มีต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียปมรากพืชสมุนไพรม.....	66
12	ผลการเจริญของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TY ที่ประกอบด้วย tyrosine และ CuSO ₄	81
13	ผลการตรวจสอบผลผลิตของปฏิกิริยา PCR ในการเพิ่มจำนวนของ ยีน 16S rDNA ขนาดประมาณ 500 bp.....	86
14	ผลการตรวจสอบผลผลิตของปฏิกิริยา PCR ในการเพิ่มจำนวนของยีน <i>nifH</i> ขนาดประมาณ 780 bp.....	90
15	ผลการตรวจสอบผลผลิตของปฏิกิริยา PCR ในการเพิ่มจำนวนของยีน <i>nifH</i> ขนาดประมาณ 360 bp.....	91
16	ผลการตรวจสอบผลผลิตของปฏิกิริยา PCR ในการเพิ่มจำนวนของยีน <i>nodC</i> ขนาดประมาณ 930 bp.....	93
17	กราฟแสดงกิจกรรมเอนไซม์ฟอสฟาเตสของเชื้อแบคทีเรีย DASA 57020.....	104
18	กราฟแสดงกิจกรรมเอนไซม์ฟอสฟาเตสของเชื้อแบคทีเรีย DASA 68056.....	105
19	กราฟแสดงกิจกรรมเอนไซม์ฟอสฟาเตสของเชื้อแบคทีเรีย DASA 68066.....	106
20	กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง IAA และค่าดูดกลืนแสงที่ 530 นาโนเมตร	212

ภาพที่		หน้า
21	ผลการวิเคราะห์ IAA โดยวิธี colorimetric	212
22	กราฟความสัมพันธ์ระหว่าง p - nitrophenol และค่าดูดกลืนแสง ที่ 405 นาโนเมตร	217
23	ผลการวิเคราะห์ p - nitrophenol	217

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

บทที่ 1

บทนำ

1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

เมื่อคิดอยู่ในสภาวะที่มีระดับไนโตรเจนต่ำ แบคทีเรียปมรากและพืชตระกูลถั่วจะมีปฏิสัมพันธ์กันอยู่ในรูปแบบของความสัมพันธ์แบบซิมไบโอซิส (symbiosis) โดยแบคทีเรียจะเข้าสู่รากพืชที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อพืชอาศัย จะกระตุ้นให้พืชเกิดการสร้างปมส่งผลให้แบคทีเรียเข้าไปอยู่ภายในมีการพัฒนาเปลี่ยนแปลงรูปร่างเป็นแบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจนโดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ไนโตรจีเนส ดังนั้นความสัมพันธ์ระหว่างพืชตระกูลถั่วกับแบคทีเรียปมรากพืชต่างฝ่ายต่างได้รับประโยชน์ในการอยู่ร่วมกัน ซึ่งพืชจะได้รับธาตุไนโตรเจนจากการตรึงไนโตรเจนอย่างเพียงพอ ส่วนแบคทีเรียจะได้รับแหล่งคาร์บอน และพลังงานสำหรับใช้ในการเจริญเติบโต (สมศักดิ์ วงษ์ใน 2541 : 9-17 ; Gregory 2006 : 185 - 187)

พืชตระกูลถั่วประเภทสมุนไพรไทย ได้แก่ กวาวเครือขาว (*Pueraria mirifica*) คราม (*Indigofera tinctoria*) และหางไหลแดง (*Derris elliptica*) ในปัจจุบันเป็นที่รู้จักและถูกนำไปใช้อย่างแพร่หลาย เนื่องจากกวาวเครือขาวมีสรรพคุณทางยาเป็นสารในกลุ่มของไฟโตเอสโตรเจน (phytoestrogen) มีคุณสมบัติต่อต้านอนุมูลอิสระ และต่อต้านมะเร็ง (Cherdshewasart and Sutjit 2008 : 38 - 43) ส่วนใหญ่จึงนำไปใช้ในอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร และเครื่องสำอาง (Chandeying and Lamlerkittikul 2007 : 1274 - 1280) ครามเป็นพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ (Bakasso et al. 2008 : 1428 - 1435) สามารถป้องกันตับจากการถูกทำลายด้วยสารพิษ (Singh et al 2001 : 294 - 297) และลดภาวะไขมันในเลือดผิดปกติ (Puri et al. 2007 : 59 - 64) รวมถึงสามารถนำไปใช้สำหรับอุตสาหกรรมย้อมผ้า (Bukill 1995 : 654 - 670 ; Dorfling 2001 : 791) และหางไหลแดงมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งการเกิดการตกตะกอนของซีโมโกลบินที่ไม่คงตัว (Palasuwan et al. 2005 : 458 - 463) และมีสารโรทีโนน (rotenone) ใช้สำหรับกำจัดแมลง (Matsumura 1975 : 94 - 98) จากประโยชน์ที่กล่าวมาทำให้พืชสมุนไพรไทยทั้ง 3 ชนิด ต้องมีการเพิ่มผลผลิตอย่างรวดเร็ว เพื่อตอบสนองให้เพียงพอกับความต้องการทางตลาด จึงทำให้ต้องมีการศึกษาแบคทีเรียปมรากที่มีความสำคัญกับพืชสมุนไพรไทยที่ไม่เคยมีการศึกษามาก่อน

การจำแนกแบคทีเรียปมรากโดยทั่วไปต้องอาศัยคุณลักษณะทางฟีโนไทป์ (phenotypic characteristics) ได้แก่ การจำแนกตามการเกิดกรดหรือต่างใน litmus milk การจำแนก

ตามกลุ่มของพืชตระกูลถั่วที่เกิดปม (cross-inoculation group) การจำแนกโดยอาศัยลักษณะทางเซรุ่มวิทยา (serology) และการจำแนกตามลักษณะทางกายภาพและชีวเคมี (numerical analysis) รวมทั้งต้องอาศัยคุณลักษณะทางจีโนไทป์ (genotypic characteristics) ช่วยในการจำแนกลักษณะทางพันธุกรรมและความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต

ในการวิจัยครั้งนี้ทำการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่แยกมาจากปมรากของถั่วเขียวครีวคราม และหางไหลแดง จำนวน 56 สายพันธุ์ นำมาจำแนกตามลักษณะทางกายภาพและชีวเคมี ได้แก่ การผลิตกรดหรือด่าง ลักษณะโคโลนี ลักษณะของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ การใช้แหล่งคาร์บอน การใช้แหล่งไนโตรเจน ความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ ความต้องการวิตามิน การเจริญที่ระดับ pH 5.0, 6.5 และ 8.0 การเจริญที่อุณหภูมิ 20, 30 และ 40 °C การเจริญที่ระดับความเข้มข้น NaCl 0, 0.2 และ 1.0 M การสังเคราะห์เมลานิน และการสังเคราะห์กรดอินโดลอะซิติก (Indole-3-acetic acid; IAA) รวมถึงศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อจำนวน 28 สายพันธุ์ โดยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rDNA และวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่ควบคุมการตรึงไนโตรเจน (*nifH* gene) และวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่ควบคุมการเกิดปม (*nodC* gene) ของเชื้อ 5 สายพันธุ์ และศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ฟอสฟาเตส (phosphatase) ของเชื้อแบคทีเรียปมรากจำนวน 3 สายพันธุ์ และอิทธิพลของปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ phosphatase จากการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยหวังว่าข้อมูลที่ได้จะช่วยเอื้อประโยชน์ในการประยุกต์ใช้เชื้อแบคทีเรียปมรากของพืชสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด เพื่อเพิ่มผลผลิตของพืชสมุนไพรไทยได้รวมถึงได้รับข้อมูลพื้นฐานทางพันธุศาสตร์ที่เกี่ยวกับยีนควบคุมการตรึงไนโตรเจน และยีนควบคุมการเกิดปม

2. ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อศึกษาจำแนกเชื้อแบคทีเรียปมรากตามลักษณะทางกายภาพและชีวเคมี
2. เพื่อระบุสกุล (genus) โดยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rDNA
3. เพื่อวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่ควบคุมการตรึงไนโตรเจน (*nifH* gene) และยีนที่ควบคุมการเกิดปม (*nodC* gene) ของเชื้อแบคทีเรียปมราก
4. เพื่อศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ฟอสฟาเตส (phosphatase) ของเชื้อแบคทีเรียปมราก
5. เพื่อศึกษาอิทธิพลของปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ฟอสฟาเตส (phosphatase) ของเชื้อแบคทีเรียปมราก

3. ขอบเขตของการศึกษา

ทำการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่แยกมาจากปมรากของกวางเครือขาว คราม และหางไหลแดง จำนวน 56 สายพันธุ์ นำมาจำแนกตามคุณสมบัติทางกายภาพ และชีวเคมี ได้แก่ การผลิตกรดหรือด่าง ลักษณะโคโลนี ลักษณะของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ การใช้แหล่งคาร์บอน การใช้แหล่งไนโตรเจน ความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ ความต้องการวิตามิน การเจริญที่ระดับ pH 5.0, 6.5 และ 8.0 การเจริญที่อุณหภูมิ 20, 30 และ 40 °C การเจริญที่ระดับ NaCl 0, 0.2 และ 1.0 M การสังเคราะห์เมลานิน และการสังเคราะห์กรดอินโดลอะซิติก (Indole-3-acetic acid; IAA) รวมถึงศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อจำนวน 28 สายพันธุ์ โดยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rDNA วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่ควบคุมการตรึงไนโตรเจน (*nifH* gene) และวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนที่ควบคุมการเกิดปม (*nodC* gene) ของเชื้อ 5 สายพันธุ์ และศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ฟอสฟาเตส (phosphatase) ของเชื้อจำนวน 3 สายพันธุ์ และอิทธิพลของปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ฟอสฟาเตส (phosphatase)

4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถจำแนกและระบุสกุล (genus) ของเชื้อแบคทีเรียปมราก

2. ได้ข้อมูลทางพันธุศาสตร์พื้นฐานเกี่ยวกับยีนควบคุมการตรึงไนโตรเจนและยีน

ควบคุมการเกิดปม

3. ได้ข้อมูลกิจกรรมของเอนไซม์ฟอสฟาเตส (phosphatase) และผลของปัจจัยต่างๆที่มีต่อกิจกรรมของเอนไซม์ฟอสฟาเตส (phosphatase) ซึ่งอาจมีปัจจัยบางอย่างที่สามารถช่วยเพิ่มการเจริญและกิจกรรมของเอนไซม์ได้

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. ความสัมพันธ์แบบซิมไบโอซิส (symbiosis) ของแบคทีเรียปมรากและพืชตระกูลถั่ว

เมื่อดินอยู่ในสถานะที่มีระดับไนโตรเจนต่ำ แบคทีเรียปมรากและพืชตระกูลถั่วจะมีปฏิสัมพันธ์กันอยู่ในรูปแบบของความสัมพันธ์แบบซิมไบโอซิส (symbiosis) โดยแบคทีเรียที่เข้าสู่รากพืชจะมีความเฉพาะเจาะจงต่อพืชอาศัย จะกระตุ้นให้พืชเกิดการสร้างปมส่งผลให้แบคทีเรียเข้าไปอยู่ภายในปมรากมีการพัฒนาเปลี่ยนแปลงรูปร่างเป็นแบคทีเรียที่รอดชีวิตที่สามารถตรึงไนโตรเจนโดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ไนโตรจิเนส ดังนั้นความสัมพันธ์ระหว่างพืชตระกูลถั่ว และแบคทีเรียปมรากพืชต่างฝ่ายต่างได้รับประโยชน์ในการอยู่ร่วมกัน ซึ่งพืชจะได้รับธาตุไนโตรเจนจากการตรึงไนโตรเจนอย่างเพียงพอ ส่วนแบคทีเรียจะได้รับแหล่งคาร์บอน และพลังงานสำหรับใช้ในการเจริญเติบโต (สมศักดิ์ วัจโน 2541 : 9 - 17 ; Gregory 2006 : 185 - 187)

พืชตระกูลถั่วที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ กวาวเครือขาว (*Pueraria mirifica*) เป็นพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณทางยาเป็นสารในกลุ่มของไฟโตเอสโตรเจน (phytoestrogen) มีสรรพคุณทางยาเป็นสารในกลุ่มของไฟโตเอสโตรเจน (phytoestrogen) ต่อด้านอนุมูลอิสระ และต่อต้านต้านมะเร็ง (Cherdshewasart and Sutjit 2008 : 38 - 43) ซึ่งนำไปใช้ในอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและเครื่องสำอาง เพื่อบำรุงร่างกาย บำรุงโลหิต บำรุงผิวพรรณ เพิ่มเส้นผม เสริมทรวงอกสำหรับสตรี และเป็นยาอายุวัฒนะสำหรับผู้สูงอายุ (Chandeying and Lamlerkittikul 2007 : 1274 - 1280) คราม (*Indigofera tinctoria*) เป็นพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ (Bakasso et al. 2008 : 1428 - 1435) สามารถป้องกันตับจากการถูกทำลายด้วยสารพิษ (Singh et al 2001 : 294 - 297) และลดภาวะไขมันในเลือดผิดปกติ (Puri et al. 2007 : 59 - 64) รวมถึงสามารถนำไปใช้สำหรับอุตสาหกรรมย้อมผ้า (Bukill 1995 : 654 - 670 ; Dorfling 2001 : 791) และหางไหลแดง (*Derris elliptica*) เป็นพืชสมุนไพรที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งการเกิดการตกตะกอนของฮีโมโกลบินที่ไม่คงตัว (Palasuwan et al. 2005 : 458 - 463) และมีสารโรทีโนน (rotenone) อยู่บริเวณรากใช้สำหรับกำจัดแมลง นอกจากนี้สามารถนำมาปลูกเพื่อโลกเป็นปุ๋ยพืชสดบำรุงดิน และปลูกพืชคลุมดิน เพื่อป้องกันการสูญเสียความชื้นจากดินและป้องกันการชะล้างพังทลายของดิน (Matsumura 1975 : 94 - 98)

2. แบคทีเรียปมรากพืชตระกูลถั่ว

การจำแนกแบคทีเรียปมรากมีวิธีการและเทคนิคต่าง ๆ ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มแบคทีเรียโดยทั่วไป ดังนั้นในการจำแนกแบคทีเรียปมรากต้องอาศัยทั้งคุณลักษณะทางฟีโนไทป์ (phenotypic characteristics) และคุณลักษณะทางจีโนไทป์ (genotypic characteristics) ร่วมกัน ในปัจจุบันแบคทีเรียปมรากพืชมีการรายงานเฉพาะในกลุ่มของแบคทีเรียแกรมลบ ดังนั้นจึงขอยกตัวอย่าง กลุ่มแบคทีเรียไรโซเบียม ซึ่งเป็น intracellular symbionts ที่มีลักษณะโดยทั่วไป รูปร่างเป็นท่อน อาศัยออกซิเจนในการเจริญ ไม่สร้างสปอร์ เคลื่อนที่ได้โดยอาศัยแฟลกเจลลา (flagella) เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด phase contrast illumination จะสามารถเห็นการสร้างสาร poly- β -hydroxybutyrate (Young 2001 : 89-103)

2.1 แบคทีเรียปมรากกลุ่มแอลฟาโปรตีโอแบคทีเรีย (α -Proteobacteria)

Rhizobium

Rhizobium เป็นแบคทีเรียอยู่ในแฟมิลี Rhizobiaceae มีการผลิตกรดเมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-mannitol Agar (Vincent, 1970) เซลล์แบคทีเรียสามารถเจริญได้ดีในอุณหภูมิ 25-30°C และ pH ระหว่าง 6-7 มีอัตราการเจริญเร็ว (fast grower) โดยมี doubling time น้อยกว่า 6 ชั่วโมง โคโลนีมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2-4 มิลลิเมตร มีลักษณะกลม นูน กึ่งโปร่งแสง มีเมือกเหนียวบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-mannitol agar เมื่อเลี้ยงได้ 3-5 วัน เชื้อใน genus *Rhizobium* โดยส่วนใหญ่สามารถใช้คาร์โบไฮเดรต และเกลือของสารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน รวมทั้งยังสามารถใช้เกลือแอมโมเนีย ไนเตรต ไนไตรต์ และกรดอะมิโนเป็นแหล่งไนโตรเจนได้ ต้องการวิตามินบางชนิด ได้แก่ biotin (vitamin B₇) และวิตามินที่ละลายน้ำได้ (Jordan 1982 : 136 - 139 ; Holt et al. 1994 : 95 ; Young 2001 : 89 - 103) ตัวอย่างของ *Rhizobium* ที่มีการศึกษา เช่น *R. gallicum* สร้างปมกับถั่วแดงหลวง (*Phaseolus vulgaris* L.) (Amerger et al. 1997 : 996) *R. yanglingense* สร้างปมกับ *Coronilla varia* และ *Amphicarpaea triserma* (Tan et al. 2001 : 909) *R. indigoferae* สร้างปมกับ *Indigofera* spp. และ *Kummerowia stipulacea* (Wei et al. 2002 : 2231) เป็นต้น

Sinorhizobium

Sinorhizobium เป็นแบคทีเรียอยู่ในแฟมิลี Rhizobiaceae มีการผลิตกรดเมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-mannitol agar เซลล์แบคทีเรียสามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25 - 30 °C แต่บางสายพันธุ์เจริญได้ที่อุณหภูมิ 10 และ 35 °C เจริญได้ดีที่ pH 6-8 แต่บางสายพันธุ์เจริญได้ดีที่ pH 5 และเชื้อโดยส่วนใหญ่สามารถเจริญได้ดีที่ 1% NaCl แต่ไม่ถึง 1.5% NaCl มีส่วนน้อยเจริญได้ดีที่ 4.5% NaCl มีอัตราการเจริญได้เร็ว (fast grower) โดยมี doubling time น้อยกว่า

6 ชั่วโมง โคโลนีมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 - 4 มิลลิเมตร ลักษณะกลม หนูน กึ่งโปร่งแสง มีเมือกเหนียวบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-mannitol agar เมื่อเลี้ยงได้ 3-5 วัน เชื้อใน genus *Sinorhizobium* โดยส่วนใหญ่สามารถใช้คาร์โบไฮเดรต และเกลือของสารอินทรีย์ ได้แก่ D-arabinose, cellobiose, fructose, D-galactose, glucose, L-glutamine, lactose, D-mannose, mannitol, D-ribose, sodium succinate, xylose และ D-turanose เป็นแหล่งคาร์บอนรวมทั้งยังสามารถใช้เกลือแอมโมเนีย ในเตรต ไนไตรต์ และกรดอะมิโน เช่น ammonium tartrate, ammonium oxalate, cellulose, dulcitol, fucose, glycine, sorbose, sodium alginate และ vanillic acid เป็นแหล่งไนโตรเจนได้ ต้องการวิตามินบางชนิด ได้แก่ calcium panthothenate (vitamin B₅) และ nicotonic acid (vitamin B₃) ในการเจริญ ตัวอย่างของเชื้อ *Sinorhizobium* ที่มีการศึกษา เช่น *S. meliloti* สร้างปมกับ *Maliotus*, *Medicago* และ *Trigonell S. fredii* สร้างปมกับ *Glycine max* (Chen et al, 1988: 392 -397 ; Young 2001 : 89 - 103) Willems et al. (2003) เปรียบเทียบเชื้อ *Sinorhizobium* (Chen et al. 1988) กับ *Ensifer* (Casida 1982) รายงานว่า เชื้อทั้ง 2 กลุ่ม มีคุณสมบัติทางพีโนไทป์ ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rDNA ยีน *nod* และบางส่วนของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *recA* มีความคล้ายคลึงกัน ในปัจจุบันเชื้อ *Sinorhizobium* และ *Ensifer* จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

Bradyrhizobium

Bradyrhizobium เป็นแบคทีเรียอยู่ในแฟมิลี Bradyrhizobiaceae ซึ่ง Young

และ Haukka (1996) รายงานว่า ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16s rDNA ของ *Bradyrhizobium japonicum* มีความคล้ายคลึงกับ *Rhodopseudomonas palustris* เชื้อใน genus *Bradyrhizobium* มีอัตราการเจริญช้า โดยมี doubling time มากกว่า 6 ชั่วโมง มีการผลิตต่างเมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-mannitol agar เซลล์แบคทีเรียสามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25-30 °C และ pH ระหว่าง 6-7 โคโลนีมีสีขาวอมชมพูบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-mannitol agar มีลักษณะกลม หนูน โปร่งแสงน้อยหรือทึบแสง มีเมือกเหนียว เมื่อเลี้ยงได้ 5-7 วัน จะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 มิลลิเมตร สามารถใช้คาร์โบไฮเดรต และเกลือของสารอินทรีย์ได้ เช่น sodium citrate, xylose, mannitol, arabinose, fructose, galactose, pentose และ dextran เป็นแหล่งคาร์บอน รวมทั้งสามารถใช้เกลือแอมโมเนีย ไนเตรต และกรดอะมิโนได้บางชนิดเป็นแหล่งไนโตรเจนได้ ได้ (Jordan 1982 : 136 - 139 ; Holt et al. 1994 : 78) ตัวอย่างของเชื้อ *Bradyrhizobium* ที่มีการศึกษา เช่น *B. liaoningense* สร้างปมกับถั่วเหลือง (*Glycine max* L. และ *Glycine soja*) (Xu 1995 : 706) *B. yuanmingense* สร้างปมกับ *Lespedeza Cuneata* (Yao et al. : 2219) เป็นต้น

Azorhizobium

Azorhizobium เป็นแบคทีเรียอยู่ในแฟมิลี Hyphomicrobiaceae ซึ่ง Dreyfus et al. (1988) รายงานว่า เชื้อ *A. caulinodans* สามารถสร้างปมได้ทั้งกับรากและลำต้นของ *Sesbania rostrata* ลักษณะของโคโลนีบนอาหาร Yeast-mannitol agar มีรูปร่างกลมและมีสีครีม สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 12-43°C ซึ่ง pH ระหว่าง 5 และ 8 และสามารถเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี azelate, malate, adipate, pimelate, suberate, gluconate, mucate, crotonate, nicotinate, 2-ketogluconate, propionate, butyrate, isobutyrate, valerate, isovalerate, caproate, laurate, 2-ketoglutarate, fumarate, glutarate, sebacate, DL-malate, citrate, pyruvate, quinate, aconitate, citraconitate, D-glucuronate, α -D-galacturonate, *m*-hydroxybenzoate เป็นแหล่งคาร์บอน L-aspartate, L-alanine, L-lysine, L-asparagine, sarcosine, betaine เป็นแหล่งไนโตรเจน และต้องการวิตามินบางชนิด เช่น nicotonic acid (vitamin B₃)

Mesorhizobium

Mesorhizobium เป็นแบคทีเรียอยู่ในแฟมิลี Phyllobacteriaceae ซึ่ง Jarvis et al. (1997) รายงานว่า เชื้อใน genus *Mesorhizobium* อยู่ระหว่างเชื้อใน genus *Bradyrhizobium* และ *Rhizobium* มีอัตราเจริญเร็วกว่า *Bradyrhizobium* แต่มีอัตราเจริญช้ากว่า *Rhizobium* และ *Sinorhizobium* โดยมี doubling time น้อยกว่า 6 ชั่วโมง มีการผลิตกรดเมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-mannitol agar ได้เช่นเดียวกับ *Rhizobium* และ *Sinorhizobium* เมื่อเลี้ยงได้ 3-7 วัน ที่อุณหภูมิ 28 °C โคโลนีจะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2-4 มิลลิเมตร เชื้อใน genus *Mesorhizobium* โดยปกติสามารถใช้ glucose, rhamnose และ sucrose เป็นแหล่งคาร์บอนได้ ตัวอย่างของ *Mesorhizobium* ที่มีการศึกษา เช่น *M. huakuii* สร้างปมได้กับ *Astragalus sinicus* (Hu et al 2006 : 845) เป็นต้น

Allorhizobium

Allorhizobium เป็นแบคทีเรียอยู่ในแฟมิลี Rhizobiaceae ซึ่ง de Lajudie et al. (1998) รายงานว่า *A. undicola* สามารถตรึงไนโตรเจนได้เมื่อสร้างปมกับรากหรือลำต้นของ *Neptunia natan* เชื้อใน genus *Allorhizobium* มี doubling time น้อยกว่า 6 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยง 1-2 วัน บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast- mannitol agar จะมีขนาด 0.5-3.0 มิลลิเมตร สามารถใช้คาร์โบไฮเดรต สารอินทรีย์ และกรดอะมิโนเป็นแหล่งคาร์บอน

Methylobacterium

Methylobacterium เป็น facultatively methylotrophic bacteria ที่สามารถออกซิไดส์มีเทนในกลไก C₁ metabolism เมื่อเจริญในสภาวะที่มีเมทิลแอลกอฮอล์หรือมีเทนเป็นสารตั้งต้น และสามารถสังเคราะห์รงควัตถุสีชมพู (Patt et al 1976: 226 - 229 ; Jourand 2004 : 2269

- 2273) นอกจากนั้น Green (1992) รายงานว่า เชื้อ *Methylobacterium* สามารถใช้แหล่งคาร์บอน และแหล่งพลังงานได้จาก formate, formaldehyde และ methanol ซึ่งแบคทีเรียชนิดนี้จัดอยู่ในแฟมิลี Methylobacteriaceae ต่อมา Sy et al. (2001) รายงานว่า เชื้อ *M. nodulans* ที่แยกได้จากปมรากของ *Crotalaria* spp. ได้แก่ *C. glaucooides*, *C. perrottetii* และ *C. podocarpa* สามารถสร้างปมและเกิดการตรึงไนโตรเจนได้ ใช้เมทิลแอลกอฮอล์หรือมีเทนเป็นสารตั้งต้นในการเจริญแต่ไม่สามารถสังเคราะห์รงควัตถุ มีลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *nifH* คล้ายคลึงกับยีน *nifH* ของ *Gluconacetobacter diazotrophicus* Jaftha et al. (2002) ทำการศึกษาเชื้อ *Methylobacterium* ที่สร้างปมกับ *Lotonois bainesii* พบว่า เชื้อ *Methylobacterium* สามารถสังเคราะห์รงควัตถุสีชมพู นอกจากนั้น Mathaiyan et al. (2006) รายงานว่า เชื้อ *Methylobacterium* ที่สร้างปมกับ *Sesbania* มีกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสสูง รวมทั้งสามารถสร้างปมที่มีประสิทธิภาพกับ *Crotalaria juncea*

Devosia

Devosia เป็นแบคทีเรียอยู่ในแฟมิลี Hyphomicrobiaceae Rivas et al. (2002, 2003) รายงานว่า เชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากปมรากของพืชน้ำ *Neptunia natans* ในอินเดีย พบว่า มีความความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการที่มีความใกล้เคียงมากกับ *Devosia riboflavin* 95.9% แต่ไม่ใช่ *D. riboflavin* ซึ่งได้มีการจำแนกไว้ก่อนแล้ว นอกจากนั้นยังมีลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *nodD* และ ยีน *nifH* ของ *Devosia* ที่แยกได้จาก *Neptunia natans* คล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *nodD* และ ยีน *nifH* ของ *Rhizobium tropici* จึงได้มีการจำแนกเชื้อที่พบเป็น species ใหม่มีชื่อว่า *Devosia neptuniae* (Rivas et al 2003 : 5217 - 5222)

Phyllobacterium

Phyllobacterium จัดอยู่ในแฟมิลี Phyllobacteriaceae เป็นแบคทีเรียที่แยกได้จากปมที่อยู่บนใบของ *Rubiaceae* และ *Myrsinaceae* ในเขตร้อน หลังจากนั้น Valverde et al. (2005) พบว่า *Phyllobacterium trifolii* ที่แยกได้จากปมของ *Trifolium pratense* ในดินจากประเทศสเปน เมื่อนำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA พบว่า มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ของ *Phyllobacterium myrsinacearum* และ *Mesorhizobium* spp. 98 % มีลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *nodD* คล้ายคลึงกับยีน *nodD* ของ *Ochrobactrum* ที่อยู่ในกลุ่ม β -proteobacteria ที่สามารถเกิดปมกับ *Lupinus* นอกจากนั้นมียีนที่ควบคุมการเกิดปมและยีนที่ควบคุมการตรึงไนโตรเจนอยู่บน Sym plasmids

Ochrobactrum

Ochrobactrum เป็นแบคทีเรียอยู่ในแฟมิลี Brucellaceae ซึ่ง Ngom et al. (2004) ได้แยกเชื้อแบคทีเรียจากปมรากของกระถินเทพา (*Acacia mangium*) ที่เจริญในฟิลิปปินส์ และไทย นำมาวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rDNA ศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมัน วิเคราะห์ส่วนประกอบ G และ C ของ DNA และศึกษาคุณสมบัติทางสรีรวิทยาอื่น ๆ พบว่า เชื้อแบคทีเรียที่แยกได้เป็น *Ochrobactrum* ที่มีความเฉพาะต่อพืชอาศัยสามารถตรึงไนโตรเจน Trujillo et al. (2005) พบว่า สปีชีส์ของ *O. lupini* ที่สร้างปมกับ *Lupinus honoratum* เป็นเชื้อมีลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rDNA แตกต่างจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rDNA ของเชื้อใน genus ของไรโซเบียมที่รายงาน แต่มีความคล้ายคลึงอย่างชัดเจนกับ *Ochrobactrum anthropi* และ *Ochrobactrum tritici* และยังพบยีนที่ควบคุมการเกิดปม และยีนที่ควบคุมการตรึงไนโตรเจนอยู่บน Sym plasmids

2.2 แบคทีเรียปมรากพืชตระกูลถั่วกลุ่มเบต้าโปรตีโอแบคทีเรีย (β -Proteobacteria)

Ralstonia -Cupriavidus

Ralstonia taiwanensis หรือ *Cupriavidus taiwanensis* หรือ *Wautersia taiwanensis* แยกได้จากปมรากของ *Mimosa diplotricha* และ *Mimosa pudica* สามารถสร้างปมตรึงไนโตรเจนได้อย่างมีประสิทธิภาพ และพบยีน *nod* ขนาดประมาณ 3.5 Mb และ ยีน *nif* ขนาดประมาณ 2.4 Mb บน Sym plasmids (Chen et al. 2001 : 1729 - 1735, 2003 : 7266 - 7272) นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวมีความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการแตกต่างจาก species ของไรโซเบียม Winn (2006) รายงานว่า คุณสมบัติของ *Cupriavidus taiwanensis* อยู่ในแฟมิลี Burkholderiaceae มีลักษณะแกรมลบ รูปท่อน ขนาด 0.5-0.7 ถึง 0.8-2.0 μm ไม่สร้างสปอร์ ไม่สามารถย่อยสลายน้ำตาล สามารถผลิตกรดจากคาร์โบไฮเดรต ไม่เจริญที่ 6.5% NaCl ไม่สามารถรีดิวซ์ไนเตรต สามารถย่อยสลาย esculin ไม่เจริญที่ 42 °C มีความต้านทานต่อยา colistin เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ tryptic soy agar ที่อุณหภูมิ 28-37 °C

Herbaspirillum

Oliveres et al. (1997) รายงานว่า *Herbaspirillum* เป็นแบคทีเรียดินตรึงไนโตรเจนที่อาศัยอยู่บริเวณผิวของรากพืช (rhizoplane) และภายในรากของพืชตระกูลหญ้า แบคทีเรียชนิดนี้จัดอยู่ในแฟมิลี Burkholderiaceae Valverde et al. (2003) ค้นพบ species ใหม่ *Herbaspirillum lustitanum* ที่แยกได้จากปมรากของถั่วแดงหลวง (*Phaseolus vulgaris* L.) จากดินในประเทศโปรตุเกส เมื่อนำมาวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rDNA พบว่า มีความคล้ายคลึงกับ *Herbaspirillum seropedicae* และ *Herbaspirillum rumbrissubalbicans*

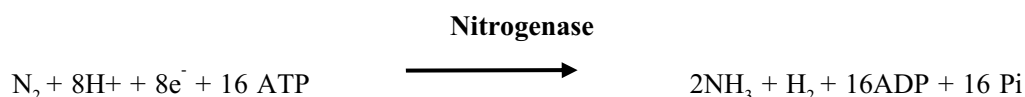
Burkholderia

Gillis (1995) รายงานว่า genus *Burkholderia* อยู่ในแฟมิลี Burkholderiaceae แยกมาจาก genus *Pseudomonas* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่แยกจากบริเวณรากข้าวในประเทศเวียดนามที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้ มีชื่อว่า *Burkholderia vietnamiensis* ต่อมามีการค้นพบ species ใหม่ของ *Burkholderia* ได้แก่ *Burkholderia tuberum* แยกได้จาก *Aspalathus carnosus* ในประเทศแอฟริกาใต้ มีลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rDNA คล้ายคลึงมากกับ *Burkholderia kururiansis* ที่ระดับ 96.9 % และมีลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *nodA* คล้ายคลึงกับยีน *nodA* ของ *Methylobacterium nodulans* (Moulin et al. 2001 : 948 - 950) Balachander (2007) รายงานว่า *Burkholderia phymatum* แยกได้จาก *Machaerium lunatum* ในประเทศแถบอเมริกาใต้ มีลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *nodA* คล้ายคลึงกับยีน *nodA* ของ *Cupriavidus taiwanensis*

3. การตรึงไนโตรเจนโดยชีววิธี

การตรึงไนโตรเจนโดยชีววิธี ในกลุ่มของแบคทีเรียไรโซเบียมมีความสำคัญในระบบเกษตรกรรม เนื่องจากแบคทีเรียไรโซเบียมสามารถช่วยเพิ่มธาตุไนโตรเจนส่งผลทำให้ดินมีความอุดมสมบูรณ์ การตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียไรโซเบียมเกิดขึ้นได้โดยอาศัยกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจิเนสเป็นแหล่งพลังงานใหญ่ในการตรึงไนโตรเจน (Zahran 1999 : 968 - 989) โดยเอนไซม์ไนโตรจิเนสจะประกอบด้วยโปรตีนหลัก 2 ประเภท ได้แก่ dinitrogenase reductase protein (Fe-protein) และ nitrogenase molybdenum-iron protein (Mo-Fe protein) (สุนนทิพย์ บุนนาค 2542)

ปฏิกิริยาการตรึงไนโตรเจนจะเริ่มขึ้นเมื่อไนโตรเจนเข้าจับกับเอนไซม์ไนโตรจิเนส โดย Fe-protein⁺ จะรับอิเล็กตรอนจาก ferredoxin⁻ แล้วจะจับกับ ATP 4 ตัว จากนั้นจะจ่ายอิเล็กตรอนให้กับ Mo-Fe protein⁺ กลายเป็น Mo-Fe protein⁻ ซึ่งจะจ่ายอิเล็กตรอนให้แก่ไนโตรเจน จะได้เป็นไดอะมีน (NH=NH) หลังจากนั้นจะเกิดปฏิกิริยาต่อไปจนได้เป็นไฮดราซีน (H₂N-NH₂) ซึ่งจะรับอิเล็กตรอนต่อไปจนได้เป็นแอมโมเนีย (2NH₃) ซึ่งสมการแสดงปฏิกิริยาการตรึงไนโตรเจนโดยชีววิธี ดังนี้ (สุนนทิพย์ บุนนาค 2542)



ต่อมาในกระบวนการเปลี่ยนแอมโมเนียไปเป็นกรดอะมิโนเกิดขึ้นได้โดยผ่านกิจกรรมของพืชและกลุ่มแบคทีเรียไรโซเบียมในรูปร่างของแบคทีเรียร็อค โดยอาศัยบทบาทสำคัญของกลไก

ปฏิกิริยาของเอนไซม์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ เอนไซม์ glutamate dehydrogenase (GDH) glutamine synthetase (GS) และ glutamate synthase (GOGAT) เป็นต้น (Vance and Gantt 1992 : 266 - 274)

4. ความสามารถในการเข้าอยู่ของแบคทีเรียปมรากพืชตระกูลถั่ว

แบคทีเรียแต่ละชนิดมีความสามารถในการเข้าอยู่กับรากพืชได้แตกต่างกัน เนื่องจากคุณสมบัติเฉพาะเชื้อ ความสามารถในการใช้สารประกอบที่พืชปลดปล่อยออกมาจากรากพืชและยีนที่จำเพาะต่างๆ ในกระบวนการเข้าสู่รากพืช สารประกอบที่พืชปลดปล่อยจากรากมีหลากหลายชนิด ได้แก่ กรดอินทรีย์ กรดอะมิโน น้ำตาล โพลีแซคคาไรด์ ฮอร์โมน วิตามิน คาร์โบไฮเดรต พิวรีน นิโคลิโอไซด์ เอนไซม์ อีออนของสารอนินทรีย์ โมเลกุลของก๊าซ สารต่างๆ ที่มาจากการย่อยสลายของเซลล์ และสารประกอบจำพวกกลุ่ม flavonoid (Dakora and Phillips 2002 : 35 - 47; Kang and Mills 2004 : 55 - 65 ; Marschner 1995) ซึ่งสารแต่ละชนิดจะมีบทบาทหน้าที่ในบริเวณรอบๆ รากพืชแตกต่างกัน (Bais และคณะ 2004 : 26 - 32) ตัวอย่างสารประกอบและบทบาทของสารประกอบแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1: ตัวอย่างสารประกอบที่ปลดปล่อยจากรากพืชและบทบาทของสารประกอบที่มีต่อบริเวณรอบๆ รากพืช

ประเภทของสารประกอบ	บทบาทของสารประกอบ	ชนิดของสารประกอบจำเพาะ
น้ำตาลและวิตามิน	- เป็นแหล่งสารอาหาร - เป็นสารกระตุ้นของการเจริญเติบโตของพืชและจุลินทรีย์	glucose, fructose, sucrose, maltose, galactose, rhamnose, ribose, xylose, arabinose, raffinose, oligosaccharides, desoxyribose, biotin, thiamin, niacin, pantothenate และ riboflavin
เอนไซม์	- ตัวเร่งทำให้ฟอสฟอรัสจากโมเลกุลของสารอินทรีย์ลดลง - ตัวเร่งทางชีวภาพในการเปลี่ยนแปลงอินทรีย์วัตถุ	acid/alkaline phosphatase, invertase, amylase, proteinase, polygalacturonase, และ protease

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ประเภทของสารประกอบ	บทบาทของสารประกอบ	ชนิดของสารประกอบจำเพาะ
ไอออนของสารอนินทรีย์ และก๊าซ	- สารเคมีชักนำจุลินทรีย์	HCO^{3-} , OH^- , H^+ , CO_2 และ H_2
ฟีนอลิก	- แหล่งสารอาหาร - สารเคมีชักนำจุลินทรีย์ - เป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ - ตัวชักนำยีนที่ควบคุมการสร้างปมของแบคทีเรียไรโซเบียม - ยับยั้งยีนที่ควบคุมการสร้างปมของแบคทีเรียไรโซเบียม - ชักนำทำให้เกิดความต้านทานส่งผลทำให้ป้องกันตัวเองจากพืช - จับแร่ธาตุที่ละลายน้ำได้น้อย - ป้องกันจุลินทรีย์ก่อโรค - กำจัดพิษของอลูมิเนียม	liquiritigenin, daidzein, genistein, coumetrol, eriodictyol, naringenin, isoliquiritigenin, umbelliferone, formononetin, quercetin, luteolin, 4',7-dihydroxyflavanone, 4',7-dihydroxyflavone, 4,4'-dihydroxy-2'-methoxychalcone, 4'-7-dihydroxyflavone, 3,5,7,3'-tetrahydroxy-4'-methoxyflavone, 7,3'-dihydroxy-4'-methoxyflavone, (+)- และ (-)- catechin
พิวรีน	- แหล่งสารอาหาร	adenine, guanine, cytidine และ uridine
เซลล์รอบๆราก	- ผลิตสัญญาณควบคุมการแบ่งนิวเคลียสแบบไมโทซิส - ผลิตสัญญาณควบคุมการแสดงออกของยีน - กระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์ - ลดสารเคมีชักนำจุลินทรีย์	

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ประเภทของสารประกอบ	บทบาทของสารประกอบ	ชนิดของสารประกอบจำเพาะ
กรดอะมิโน	<ul style="list-style-type: none"> - เป็นแหล่งสารอาหาร - จับแร่ธาตุที่ละลายน้ำได้น้อย - สารชักนำจุลินทรีย์ 	asparagine, α -alanine, glutamine, aspartic acid, leucine/ isoleucine, serine, proline, tryptophan, aminobutyric acid, glycine, cysteine/cystine, methionine, β -alanine, arginine, homoserine, lysine, tyrosine, phenylalanine, threonine, cystathionine, aminoadipic acid, histidine, valin และ ornithine
สารอินทรีย์	<ul style="list-style-type: none"> - เป็นแหล่งสารอาหาร - สารเคมีชักนำจุลินทรีย์ - จับแร่ธาตุที่ละลายน้ำได้น้อย - ทำให้ดินเป็นกรด - กำจัดพิษของอลูมิเนียม - ชักนำยีนที่ควบคุมการสร้างปม 	citric, oxalic, malic, fumaric, succinic, acetic, butanoic, lactic, butyric, syringic, valeric, glutaric, formic, pyruvic, ferulic, rosmarinic, glycolic, piscidic, <i>trans</i> - cinnamic, vanillic, tetric, aconitic, malonic, aldonic และ erythronic

ที่มา: Sullivan, T. "Interactions between Soil Microbial Communities and Plant Roots: A Minireview." Soil and Crop Sciences, Colorado State University, (2004): 4 - 5.

5. กระบวนการเข้าสู่รากพืชของแบคทีเรียปมรากพืชตระกูลถั่ว

เมื่อพืชเริ่มมีการปลดปล่อยสารประกอบต่างๆ จากรากพืช โดยเฉพาะสารประกอบฟลูโวนอยด์ flavonoids และ chalcones เป็นสารที่สามารถกระตุ้นให้แบคทีเรียมีกระบวนการเข้าสู่รากพืช โดยการทำงานของสารจำพวกนี้จะกระตุ้นไปยังยีน *nodD* ทำให้ผลิต NodD protein ซึ่งกระตุ้นต่อไปยังกลุ่มของยีนที่ควบคุมการสร้างปมทำให้เกิดการเชื่อมติดกันระหว่างบริเวณผิวเซลล์

ของแบคทีเรียซึ่งมีองค์ประกอบของ polysaccharide ที่จำเพาะกับ Lectin ที่ผิวของพืช และยีนที่ควบคุมการสร้างปมของแบคทีเรียจะมีการผลิต Nod-factor (NF) ซึ่งเป็นสารประกอบจำพวก lipochitooligosaccharide (LCO) โดยส่วนใหญ่จะมีความยาวของ chitin backbone เป็น 4 หรือ 5 ของ *N*-acetylglucosamine (GlcNAc) ซึ่งประกอบด้วย น้ำตาล 3 ถึง 5 โมเลกุล โครงสร้างกรดไขมันที่มีคาร์บอน 16 ถึง 20 เป็นไฮโดรคาร์บอนที่มีระดับความยาว และความอิมิตัวแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ (Lindstrom et al. 2002 : 61) ขึ้นอยู่กับยีน *nodF* ที่ทำหน้าที่ควบคุมการสังเคราะห์ NodF protein เป็น acyl carrier proteins (ACP) ทำหน้าที่จับกลุ่ม 4-phosphopantetheine prosthetic group และยีน *nodE* ทำหน้าที่ควบคุมการสังเคราะห์ NodE protein เป็นเอนไซม์ β -keto acyl synthases เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์กรดไขมัน (van Rhijn and Vanderleyden, 1995 : 134 - 135) และหมู่แทนที่กลุ่ม hydroxyl รวมถึง carbamoyl, methyl, fucosyl, arabinosyl, sulphuryl และ acetyl เป็นต้น ซึ่งเป็นส่วนสำคัญที่จะกำหนดความจำเพาะระหว่างสายพันธุ์ของแบคทีเรียต่อชนิดของพืชอาศัย (Denarie et al. 1996: 503 ; Perret et al. 2000 : 180 - 201) ซึ่งมีผลกระทบทำให้พืชตอบสนองโดยเกิดการม้วนงอ การขยายขนาด การแบ่งเซลล์ และการย่อยผนังเซลล์ของรากพืชทำให้เกิดการพัฒนาจากท่อเล็กๆจนกลายเป็นปม ในขณะเดียวกันมีกระบวนการแลกเปลี่ยนในระหว่างการสร้างปมของแบคทีเรียปมรากกับพืชอาศัย ส่งผลให้แบคทีเรียที่เข้าไปอยู่ภายในปมมีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็วและพัฒนาเปลี่ยนแปลงรูปร่างเป็นแบคทีเรียที่รอดชีวิตสามารถตรึงไนโตรเจน โดยอาศัยกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนส (Lindstrom et al. 2002: 61 – 64 ; Gregory 2006 : 185 - 187)

Lindstrom et al. (2002) รายงานว่า กระบวนการแลกเปลี่ยนที่เกี่ยวข้องในระหว่างการสร้างปมของแบคทีเรียปมรากกับพืชอาศัย ได้แก่ การเจริญของแบคทีเรียในบริเวณรอบๆ รากพืช การชักนำของสารที่ปลดปล่อยออกมาจากรากพืชส่งผลกระทบต่อยีนที่ควบคุมการเกิดปมทำให้มีกระบวนการเข้าไปสู่รากพืช และมีกระบวนการแลกเปลี่ยนโปรตีนภายในปมราก

6. ยีนที่ควบคุมการสร้างปมและยีนที่ควบคุมการตรึงไนโตรเจน

6.1. ยีนที่ควบคุมการสร้างปม

กลุ่มของยีนควบคุมการสร้างปม (*nod genes*) เป็นยีนที่พบอยู่บนโครโมโซมหรือ *Sym* plasmids มียีน *nodD* เป็นตัวกลางในการควบคุมและจดจำสารจำพวกกลุ่ม flavonoid ซึ่งเป็นสารที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อพืชอาศัย (Triplett and Sadowsky 1992 : 399) กลุ่มของยีนที่ควบคุมการสร้างปม ได้แก่ กลุ่ม common *nod genes* เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์ Nod factors ซึ่งกระบวนการเริ่มแรกในการประกอบรวมตัวกันของ Nod factors เริ่มจาก ยีน *nodC* จะควบคุมการสังเคราะห์เอนไซม์ UDP-GlcNAc transferase ซึ่งเกี่ยวข้องในการสังเคราะห์ Chito oligosaccharide

backbone แล้วต่อมาเอนไซม์ De-N-acetylase ที่ถูกควบคุมโดยยีน *nodB* จะทำหน้าที่กำจัดหมู่เอซิด (N-acetyl) ที่มาจากตำแหน่งของน้ำตาลที่ไม่ถูกรีดิวส์ (non-reducing sugar) ของ N-acetyl-D-glucosamine oligosaccharides สุดท้ายยีน *nodA* จะควบคุมการสังเคราะห์เอนไซม์ N-acetyltransferase ที่เกี่ยวข้องในการขนส่งกรดไขมัน ไปยัง chitin backbone นอกจากนี้ยังมียีน *nodI* และ *nodJ* ที่เกี่ยวข้องกับในการขนส่งของ Nod factors (Prome, 1996 : 671 - 678 ; Perret et al. 2000 : 180 - 201; Werner and Muller 2003 : 9) และ กลุ่ม host-specific nod (*hsn*) genes เป็นยีนที่ควบคุมการสร้างปมในกลุ่มที่มีความจำเพาะต่อพืชอาศัยอาจมีหรือไม่มีในบางสายพันธุ์ ยกตัวอย่างเช่น ยีน *nodF* และ *nodE* เกี่ยวข้องกับชนิดของโครงสร้างกรดไขมันของ Nod factors ซึ่งมีงานวิจัยรายงานว่า ยีน *nodF* และ *nodE* ใน *Rhizobium leguminosarum* และ *Sinorhizobium meliloti* Nod factor มีส่วนประกอบของกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง และระดับความยาวแตกต่างกัน ซึ่ง *R. leguminosarum* จะมีกรดไขมันจำนวนคาร์บอน 18 หรือ 20 ส่วน *S. meliloti* มีกรดไขมันจำนวนคาร์บอน 16 ส่งผลให้ความเฉพาะเจาะจงของแบคทีเรียทั้งสองต่อชนิดของพืชอาศัยจึงมีความแตกต่างกัน (van Rhijn และ Vanderleyden, 1995 : 134 – 135 ; Debelle et al. 2001 : 359 - 365)

6.2 ยีนที่ควบคุมการตรึงไนโตรเจน

กลุ่มของยีนควบคุมการตรึงไนโตรเจน (*nif* genes) เป็นยีนที่พบอยู่บนโครโมโซม หรือ *Sym* plasmids โดย *nif* genes เป็นยีนที่มีบทบาทต่อการสังเคราะห์โปรตีนในกระบวนการตรึงไนโตรเจนซึ่งได้แก่ เอนไซม์ไนโตรจีเนส รวมถึงหน่วยย่อยต่างๆของเอนไซม์ ที่ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ dinitrogenase reductase protein (Fe-protein) มีการควบคุมโดยยีน *nifH* และ nitrogenase molybdenum-iron protein (Mo-Fe protein) ที่ประกอบด้วย alpha chain (α -subunit) และ beta chain (β -subunit) มีการควบคุมโดยการทำงานของยีน *nifD* และ *nifK* (Kaminski et al. 1998 : 433 - 434) ในการประกอบรวมตัวของเอนไซม์ไนโตรจีเนสที่สมบูรณ์มีความต้องการผลผลิตจาก *nif* genes ต่างๆ หลายชนิด ยีน *nifB*, *nifE* และ *nifN* เป็นยีนที่จำเป็นสำหรับการสังเคราะห์โคแฟกเตอร์ของ FeMo ของเอนไซม์ไนโตรจีเนส โดยลำดับของกรดอะมิโนที่มีความคล้ายคลึงกันระหว่างโปรตีน NifE และโปรตีน NifD และระหว่างโปรตีน NifN กับโปรตีน NifK ทำให้ผลผลิตของยีน *nifE* และ *nifN* อาจเกิดเป็นโครงสร้าง heterotetrameric complex คล้ายคลึงกับ Mo-Fe protein (Aguilar et al. 1987, 1997 ; Brigle et al. 1987) นอกจากนี้ยังมียีนอื่นๆ ได้แก่ ยีน *nifS* ควบคุมโปรตีนซึ่งเกี่ยวข้องกับ Fe-S อยู่ภายใน Fe-protein (Zheng et al. 1993) ยีน *nifW* ควบคุมโปรตีนที่จำเป็นต่อกิจกรรมของ dinitrogenase (Postgate 1998 : 84 - 85) Kim and Burgess (1996) รายงานว่าโปรตีน NifW ส่งผลโดยตรงกับ Mo-Fe protein ทำให้เกิดเป็น complex ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง รวมทั้งสามารถปกป้องออกซิเจนของ Mo-Fe protein ยีน *nifA*

ควบคุมโปรตีนที่กระตุ้นกระบวนการถอดรหัสที่มีความจำเพาะของยีนโอเพอรอน *nif* ยีน *nifX* เป็นตัวยับยั้งการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ไนโตรจีเนส (Hennecke 1990) ยีน *nifQ* ควบคุมโปรตีนซึ่งเกี่ยวข้องกับการใช้โมลิบดีนัม (Mo) ในการสังเคราะห์โคแฟกเตอร์ของ FeMo ยีน *nifZ* ควบคุมโปรตีนเกี่ยวข้องในการเพิ่มโคแฟกเตอร์ของ FeMo ไปยัง dinitrogenase ยีน *nifL* ควบคุมโปรตีนที่ยับยั้งการทำงานของโปรตีน NifA ส่งผลทำให้หยุดการสังเคราะห์เอนไซม์ไนโตรจีเนส ยีน *nifF* ทำหน้าที่ควบคุม flavodoxin ที่รับอิเล็กตรอนมาจาก pyruvate ส่งผ่านไปยัง Fe-protein และยีน *nifJ* ควบคุมเอนไซม์ pyruvate oxido-reductase ที่ส่งผ่านอิเล็กตรอนในกระบวนการ reduction ของ dinitrogen (Kaminski et al. 1998 : 433-434 ; Postgate 1998 : 84 - 85)

fix genes เป็นยีนอีกกลุ่มหนึ่งที่มีความเฉพาะซึ่งเกี่ยวข้องกับการตรึงไนโตรเจนแบบซิมไบโอซิส โดยโอเพอรอน *fix* จะอยู่ภายใต้การควบคุมของยีน *fixK* ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน 211 หน่วย ถูกกระตุ้นในสภาวะที่มีออกซิเจนต่ำโดยยีน *fixJ* ทำให้สังเคราะห์โปรตีน FixK ซึ่งเป็นตัวกระตุ้น (positive regulator) ของโอเพอรอน *fixNOQP* ที่ควบคุมการส่งผ่านอิเล็กตรอนเป็นช่วงๆในระบบการถ่ายทอดอิเล็กตรอน (respiratory chain) ระบบของ FixL/FixJ regulator genes เกิดขึ้นได้เมื่อเซลล์มีการตอบสนองต่อแรงกระตุ้นทางสภาวะแวดล้อม โดยเริ่มจากยีน *fixL* เป็น sensor gene ตรวจวัดความเข้มข้นของออกซิเจน (David et al. 1988) มีการแสดงออกของยีน *fixL* โดยเกิดการสังเคราะห์โปรตีน FixL ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน 505 หน่วย เกิดกระบวนการ phosphorylation ของโปรตีน FixL ในบริเวณ upstream ของยีน *fixK* ซึ่งบริเวณที่มีความสามารถในการจับสูงจะอยู่ระหว่างตำแหน่งที่ -69 และ -44 ถึงบริเวณเริ่มต้นถอดรหัส และบริเวณที่มีความสามารถในการจับต่ำอยู่ระหว่างตำแหน่งที่ -57 และ -31 คาบเกี่ยวกับบริเวณ -35 ของโปรโมเตอร์ (promoter) โดยโปรตีน FixL จะส่งผ่านกลุ่มฟอสเฟตพลังงานสูง (phosphoryl groups) จาก sensor kinase ไปยังยีน *fixJ* ซึ่งทำหน้าที่เป็นยีนสำหรับโปรตีนตัวควบคุมการตอบสนอง ทำให้สังเคราะห์โปรตีน FixJ ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน 204 หน่วย (de-Philip et al. 1990) สามารถจับกับฟอสเฟตพลังงานสูง เช่น acetyl-phosphate (Lukat et al. 1992; Reyrat et al. 1993) ซึ่งมาจาก sensor protein (Sanders et al. 1992) ทำหน้าที่เป็นตัวกระตุ้นการถอดรหัส (transcriptional activator) ที่สามารถเพิ่มระดับของกระบวนการถอดรหัสของยีน *nifA* และโปรโมเตอร์ (Kaminski et al. 1998 : 434 - 435)

7. การถ่ายโอนยีนระหว่างแบคทีเรียในสภาวะแวดล้อม

การกลายพันธุ์ การถ่ายทอดยีน การแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนระหว่างโฮโมโลกซ์ของ DNA และกระบวนการซ่อมแซม DNA รวมทั้งสภาพแวดล้อมเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดวิวัฒนาการของ

ความผันแปรทางพันธุกรรมในสิ่งแวดล้อมที่อาจเกิดขึ้นบ่อยครั้ง เพราะแบคทีเรียมีชีวิตอยู่เป็นระยะเวลานานมีสภาพแวดล้อมเป็นตัวกำหนดซึ่งจะถูกคัดเลือกโดยธรรมชาติ ดังนั้นจึงต้องปรับตัวให้เหมาะสมตามสภาพแวดล้อม เพื่อให้มีชีวิตอยู่ได้จึงอาจส่งผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรม หรือเกิดกระบวนการที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง รวมถึงการเกิดความแปรปรวนเป็นอย่างมากของข้อมูลของจีโนมของแบคทีเรีย (bacterial genome) ในสายวิวัฒนาการแตกต่างชัดเจน (distinct evolutionary lineages) ดังนั้นการถ่ายโอนยีนในแนวระนาบ (horizontal transfer genes) โดยส่วนใหญ่มีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการทางชีววิธี ได้แก่ การแพร่กระจายของความรุนแรง (virulence) การเข้าอยู่อาศัยในปมราก (symbiosis) การเปลี่ยนรูปสารประกอบ xenobiotic และความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ (Minamisawa et al. 2002 : 687 - 710) ยกตัวอย่าง เช่น การถ่ายโอนยีนที่ควบคุมปฏิกิริยาสังเคราะห์แสงของแบคทีเรียสีม่วง (purple bacteria) ซึ่งแสดงถึงความสัมพันธ์ที่ใกล้ชิดกันของยีน 16S rRNA ระหว่างไซยาโนแบคทีเรียและแบคทีเรียสีม่วง (purple bacteria) (Nagashima et al. 1997 : 131 - 136) การถ่ายโอนยีนในการแลกเปลี่ยนข้อมูลในการเข้าอยู่อาศัยของแบคทีเรียไรโซเบียม (Sanjuan et al. 2000 : 593 - 594) การถ่ายโอนยีนของ *nif* genes ระหว่างจุลินทรีย์ เป็นต้น

8. การจำแนกแบคทีเรียปมรากพืชตระกูลถั่ว

การจำแนกแบคทีเรียปมรากพืชตระกูลถั่วมีวิธีการหลากหลาย มีความแตกต่างจากกลุ่มแบคทีเรียโดยทั่วไป ดังนั้นในการจำแนกแบคทีเรียปมรากต้องอาศัยคุณลักษณะทางฟีโนไทป์ (phenotypic characteristics) ได้แก่ การจำแนกตามการเกิดกรดหรือด่างใน litmus milk การจำแนกตามกลุ่มของพืชตระกูลถั่วที่เกิดปม (cross-inoculation group) การจำแนกโดยอาศัยลักษณะทางเซรุ่มวิทยา (serology) การจำแนกตามลักษณะทางกายภาพและชีวเคมี (numerical analysis) และต้องอาศัยคุณลักษณะทางจีโนไทป์ (genotypic characteristics) เป็นการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมและความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตโดยใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรม เช่น การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16 S ribosomal DNA (16S rDNA) เป็นต้น

8.1 การจำแนกตามลักษณะทางกายภาพและชีวเคมี

การจำแนกตามคุณสมบัติทางกายภาพและชีวเคมี (numerical analysis) ของแบคทีเรียปมราก ได้แก่ ความสามารถในการผลิตกรดหรือด่าง ความต้านทานต่อสีย้อม ลักษณะโคโลนี ลักษณะของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ การเกิดกรดหรือด่างใน litmus milk การรีดิวซ์ของ methyl blue การเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ peptone broth การรีดิวซ์ไนเตรด การวัดอัตราการเจริญ การใช้แหล่งคาร์บอน การใช้แหล่งไนโตรเจน ความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ ความต้องการ

วิตามิน การสังเคราะห์เมลานิน ลักษณะแฟลกเจลลา การสังเคราะห์เอนไซม์ การสังเคราะห์ฮอร์โมนพืช การเจริญที่ระดับ pH และอุณหภูมิ และ NaCl ต่างๆ แล้วนำข้อมูลที่ได้มารวบรวม และทำการวิเคราะห์ระดับความคล้ายคลึงในระหว่างแต่ละสายพันธุ์และแต่ละกลุ่ม cluster และผลวิเคราะห์นิยมแสดงเป็นรูปของ dendrograms หรือตารางข้อมูลของแต่ละกลุ่มของสายพันธุ์ (Sneath 1985 : 217 - 231 , 1995 : 281 - 298)

ตัวอย่างคุณสมบัติที่ใช้ในการจัดจำแนกลักษณะทางกายภาพและชีวเคมี

การผลิตกรดหรือด่าง

การศึกษาการผลิตกรด-ด่างของแบคทีเรียไรโซเบียม แบ่งเป็น 2 ประเภท ได้แก่ กลุ่มเจริญเร็วและผลิตกรด ได้แก่ *Rhizobium*, *Mesorhizobium* และ *Sinorhizobium* เปลี่ยนสีในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-mannitol agar ที่มี bromthymol blue จากสีเขียวเป็นเหลือง (Rathore et al. 2009 : 115 - 122) และกลุ่มเจริญช้าและผลิตด่าง ได้แก่ *Bradyrhizobium* จะเปลี่ยนสีในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-mannitol agar ที่มี bromthymol blue จากสีเขียวเป็นน้ำเงิน (van Berkum and Eardly 1998 : 132 - 136 ; Rathore et al. 2009 : 115 - 122)

ลักษณะโคโลนี

การศึกษาลักษณะ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง และส่วนประกอบของโคโลนีเบื้องต้น ตัวอย่างงานวิจัยของ Teixeira et al. (2010) รายงานว่า กลุ่มไรโซเบียมเจริญเร็วที่แยกได้จากปมรากของ *Cratylia mollis* Mart. ex Benth, *Calliandra depauperata* Benth. และ *Mimosa tenuiflora* (Willd.) มีลักษณะโคโลนีกลม สีขาว ขอบเรียบ เมื่อกเหนียวและปริมาณมากในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-mannitol agar งานวิจัยของ Girgis et al. (2007) รายงานว่า *Bradyrhizobium* spp. ที่แยกได้จากปมของถั่วเหลือง (*Glycine max*) มีลักษณะขนาดเล็ก กลม สีขาว ทึบแสง ขอบเรียบและมีเมื่อกเหนียวในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-mannitol agar

การวัดอัตราการเจริญ

อัตราการเจริญของแบคทีเรียปมรากขึ้นอยู่กับความสามารถในการใช้แหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน รวมทั้งแร่ธาตุและวิตามิน ตัวอย่างงานวิจัยของ Kalita et al. (2004) รายงานว่าเชื้อ *Rhizobium* spp., *Sinorhizobium* spp. และ *Mesorhizobium* sp. ที่แยกได้จากปมรากของ *Genista tinctoria* ใช้เวลาสำหรับการเจริญ 3-5 วัน ในขณะที่ *Bradyrhizobium* sp. ใช้เวลาสำหรับการเจริญ 7-10 วัน งานวิจัยของ Amrani et al. (2010) รายงานว่า เชื้อ *Rhizobium* spp. และ *Sinorhizobium* spp. ที่แยกได้จากปมรากของ *Acacia saligna* (Labill.)Wendl. มี doubling time 2.3-4.7 ชั่วโมง และเชื้อ *Bradyrhizobium* spp. มี doubling time 7.2-9.4 ชั่วโมง

การใช้แหล่งคาร์บอน

การใช้แหล่งคาร์บอนของแบคทีเรียจำเป็นต่อการเจริญเติบโตและการทำหน้าที่ของเซลล์ (ดวงพร คันธโชติ 2545) ตัวอย่างงานวิจัย El-Akhal et al. (2009) รายงานว่า เชื้อไรโซเบียมเจริญเร็ว genus *Rhizobium* ที่แยกได้จากปมรากของถั่วลิสง (*Arachis hypogaea* L.) สามารถใช้ทั้งน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและน้ำตาลโมเลกุลคู่เป็นแหล่งคาร์บอน และ เชื้อไรโซเบียมเจริญช้าและเจริญช้ามาก genus *Bradyrhizobium* สามารถใช้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเป็นแหล่งคาร์บอน นอกจากนี้ *Bradyrhizobium* sp. ที่แยกได้จากปมรากของ *Genista tinctoria* สามารถใช้ L-alanine, DL-arginine hydrochloride, L-asparagine, cellobiose, sodium citrate, glycerol, L-glutamine, sodium hippurate, inulin, L-lysine, sodium tartate, salocin, starch, Tween 20 และ L-tyrosine เป็นแหล่งคาร์บอน (Kalita et al. 2004 : 707 - 715)

การใช้แหล่งไนโตรเจน

การใช้แหล่งไนโตรเจนของแบคทีเรียจำเป็นต่อการสร้างส่วนประกอบต่างๆของเซลล์ (ดวงพร คันธโชติ 2545) ตัวอย่างงานวิจัยของ Wei et al. (2006) รายงานว่า เชื้อไรโซเบียมเจริญเร็ว genus *Rhizobium* ที่แยกได้จากปมรากของ *Astragalus*, *Lespedeza* และ *Hedysarum* ใช้กรดอะมิโนและสารประกอบเกลือ ได้แก่ L-arginine, L-threonine, L-proline, L-histidine และ sodium glutamate ส่วน *Bradyrhizobium* sp. ที่แยกได้จากปมรากของ *Genista tinctoria* สามารถใช้ L-isoleucine, DL-arginine, L-methionine, L-proline, L-serine, L-threonine, L-tyrosine และ ammonium nitrate เป็นแหล่งไนโตรเจน (Kalita et al. 2004 : 707 - 715)

ความต้านทานสารปฏิชีวนะ

สารปฏิชีวนะ หมายถึง สารประกอบที่จุลินทรีย์สังเคราะห์ขึ้นมาซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญหรือทำลายต่อจุลินทรีย์กลุ่มอื่นๆ

Fleming (1946) รายงานว่า กลไกการออกฤทธิ์ของสารปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญหรือทำลายจุลินทรีย์ แบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม ดังนี้

1. ยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก ได้แก่ rifampicin และ chloroquine ออกฤทธิ์โดยจับกับ β -subunit ของ RNA polymerase ทำให้ไม่สามารถสังเคราะห์ RNA

2. ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนและการเจริญ ได้แก่ erythromycin ออกฤทธิ์โดยจับกับไรโบโซมขัดขวางการสร้างสายเปปไทด์ของไรโบโซม ได้แก่ chloramphenicol และ lincomycin ออกฤทธิ์โดยรบกวนการทำงานของไรโบโซม ทำให้ไม่สามารถสังเคราะห์โปรตีน aminoglycosides ได้แก่ streptomycin, spectinomycin, neomycin, kanamycin, tobramycin ออกฤทธิ์โดยรบกวนการเริ่มต้นสังเคราะห์โปรตีนของไรโบโซม ได้แก่ gentamycin ออกฤทธิ์โดยรวมเป็น

complex กับ Mg^{2+} แล้วไปจับกับ ribosome ทำให้เกิดการยับยั้งการสร้าง protein ได้แก่ tetracycline และออกฤทธิ์โดยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ DNA gyrase ทำให้ DNA ไม่สามารถคลายเกลียว ในขณะที่เกิด DNA replication ทำให้เซลล์ตายเนื่องจากไม่สามารถสร้าง DNA ได้แก่ novobiocin

3. ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ ได้แก่ amphotericin B, polyenes, nystatin, colistin และ polymyxin B มีโครงสร้างเป็น decapeptides ที่ต่อกันเป็นวง ทำให้การสร้างของ lipid bilayer บิดเบี้ยว องค์ประกอบต่างๆ รั่วออกนอกเซลล์ ทำให้เซลล์ตาย

4. ยับยั้งการสังเคราะห์สารเมแทบอลิต์ และรบกวนระบบของเอนไซม์ ได้แก่ trimethoprim และ paraaminosalicylic acid

5. ยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์ ได้แก่ penicillin, cefotaxime sodium, cephalosporins, imipenem, bacitracin, ampicillin, ceftazidime, fosfomycin และ vancomycin

ความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะของแบคทีเรียขึ้นอยู่กับกลไกแบคทีเรียต่อความต้านทานของสารปฏิชีวนะของแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ แสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2: กลไกความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะของแบคทีเรีย

สารปฏิชีวนะ	กลไกแบคทีเรียต่อความต้านทานของสารปฏิชีวนะ
chloramphenicol, streptomycin	ลดสารปฏิชีวนะโดยไม่ให้โมเลกุลของสารปฏิชีวนะจับกับไรโบโซมที่มีผลต่อปฏิกิริยาการสร้างพันธะเปปไทด์ระหว่างกรดอะมิโน
Tetracycline	ทำให้สารปฏิชีวนะไหลออกจากเซลล์
β -lactams, erythromycin lincomycin	กำจัดหรือลดสารปฏิชีวนะที่เข้าจับเซลล์เป้าหมาย
β -lactams, erythromycin	ย่อยสารปฏิชีวนะที่เข้าไปจับเซลล์เป้าหมาย
β -lactams, fusidic acid	ยับยั้งกิจกรรมโดยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซลล์
sulfonamides, trimethoprim	ลดความเป็นพิษของสารปฏิชีวนะโดยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารปฏิชีวนะ
sulfonamides, trimethoprim	เปลี่ยนแปลงปฏิกิริยาของสารปฏิชีวนะ
blcomycin	เปลี่ยนแปลงผนังเซลล์ทำให้สารปฏิชีวนะไม่สามารถจับกับผนังเซลล์และไม่สามารถแทรกซึมเข้ามาภายในเซลล์

ที่มา: Egorov, N. S. Antibiotic A Scientific Approach. Moscow: MIR Publishers, 1985: 385-387.

ตัวอย่างงานวิจัยของ Kucuk et al. (2006) พบว่า เชื้อไรโซเบียมที่ได้แยกจากถั่วแดงหลวง (*Phaseolus vulgaris*) มีระดับของความต้านทานต่อ streptomycin, erythromycin, chloramphenicol และ kanamycin แตกต่างกันขึ้นอยู่กับคุณสมบัติความไม่ชอบน้ำ (hydrophobicity) การแลกเปลี่ยนประจุ และปริมาณของสารปฏิชีวนะ รวมถึงส่วนประกอบ exopolysaccharides และ lipopolysaccharides ของผนังเซลล์มีผลต่อการส่งผ่านสารปฏิชีวนะไปยังแบคทีเรียซึ่งกำหนดการซึมผ่านสารปฏิชีวนะถึงแบคทีเรีย และงานวิจัยของ Zurdo-Pineiro et al. (2004) รายงานว่า เชื้อไรโซเบียมที่แยกได้จากปมรากของ *Sesbania*, *Caliandra*, *Poitea*, *Piptadenia*, *Neptunia* และ *Mimosa* มีความต้านทานต่อ ampicillin, erythromycin, penicillin, cefuroxime และ cloxacillin ไม่ต้านทานต่อ oxytetracyclin, gentamicin และ neomycin

ความต้องการวิตามิน

วิตามิน เป็นโคเอนไซม์ที่ช่วยในการทำงานของเอนไซม์ในปฏิกิริยาต่างๆ ของจุลินทรีย์บางชนิดซึ่งสามารถสังเคราะห์วิตามินต่าง ๆ ได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อ จุลินทรีย์บางชนิดต้องการวิตามิน 1 ชนิด หรือมากกว่า 1 ชนิดสำหรับการเจริญ ขึ้นอยู่กับปัจจัยความต้องการของกลไกเมแทบอลิซึมของแต่ละสายพันธุ์ (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ 2544) ตัวอย่างงานวิจัย Graham (1963) รายงานว่า เชื้อไรโซเบียม ได้แก่ *Rhizobium trifolii*, *R. leguminosarum* และ *Rhizobium phaseoli* ต้องการแหล่งวิตามินจาก thiamine (vitamin B₁), biotin (vitamin B₇) และ calcium pantothenate (vitamin B₃) ส่วน *Bradyrhizobium japonicum* ต้องการแหล่งวิตามินจาก biotin และงานวิจัยของ Watson (2001) รายงานว่า *Sinorhizobium meliloti* ต้องการ biotin (vitamin B₇)

การเจริญที่ pH ต่าง ๆ

pH มีผลต่อโครงสร้างและหน้าที่ของโปรตีนของแบคทีเรีย ดังนั้นช่วงการทนต่อ pH ของแบคทีเรียจะแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อแต่ละสายพันธุ์ ช่วง pH กับการเจริญของแบคทีเรียโดยส่วนใหญ่ ช่วง pH ต่ำสุด 3-5 ช่วง pH ที่เหมาะสม 6.5-7.5 และ ช่วง pH สูงสุด 8-10 (ดวงพร คันธโชติ 2545) ตัวอย่างงานวิจัยของ Kucuk et al. (2005) รายงานว่า เชื้อ *Rhizobium* sp. ที่แยกได้จากปมรากของถั่วแดงหลวง (*Phaseolus vulgaris* L.) สามารถเจริญได้ที่ช่วง pH 3.5 - 9.0 และงานวิจัยของ Wei et al. (2006) รายงานว่า เชื้อ *Rhizobium* spp. ที่แยกได้จากปมรากของ *Astragalus*, *Lespedeza* และ *Hedysarum* เจริญได้ดีที่ pH 5 และงานวิจัยของ Rathore et al. (2009) รายงานว่า ช่วง pH ในการเจริญของเชื้อไรโซเบียมเจริญเร็ว และเชื้อไรโซเบียมเจริญช้าที่แยกได้จาก *Mucuna pruriens* และ *Pueraria tuberosa* อยู่ระหว่าง pH 3-11

การเจริญที่อุณหภูมิต่าง ๆ

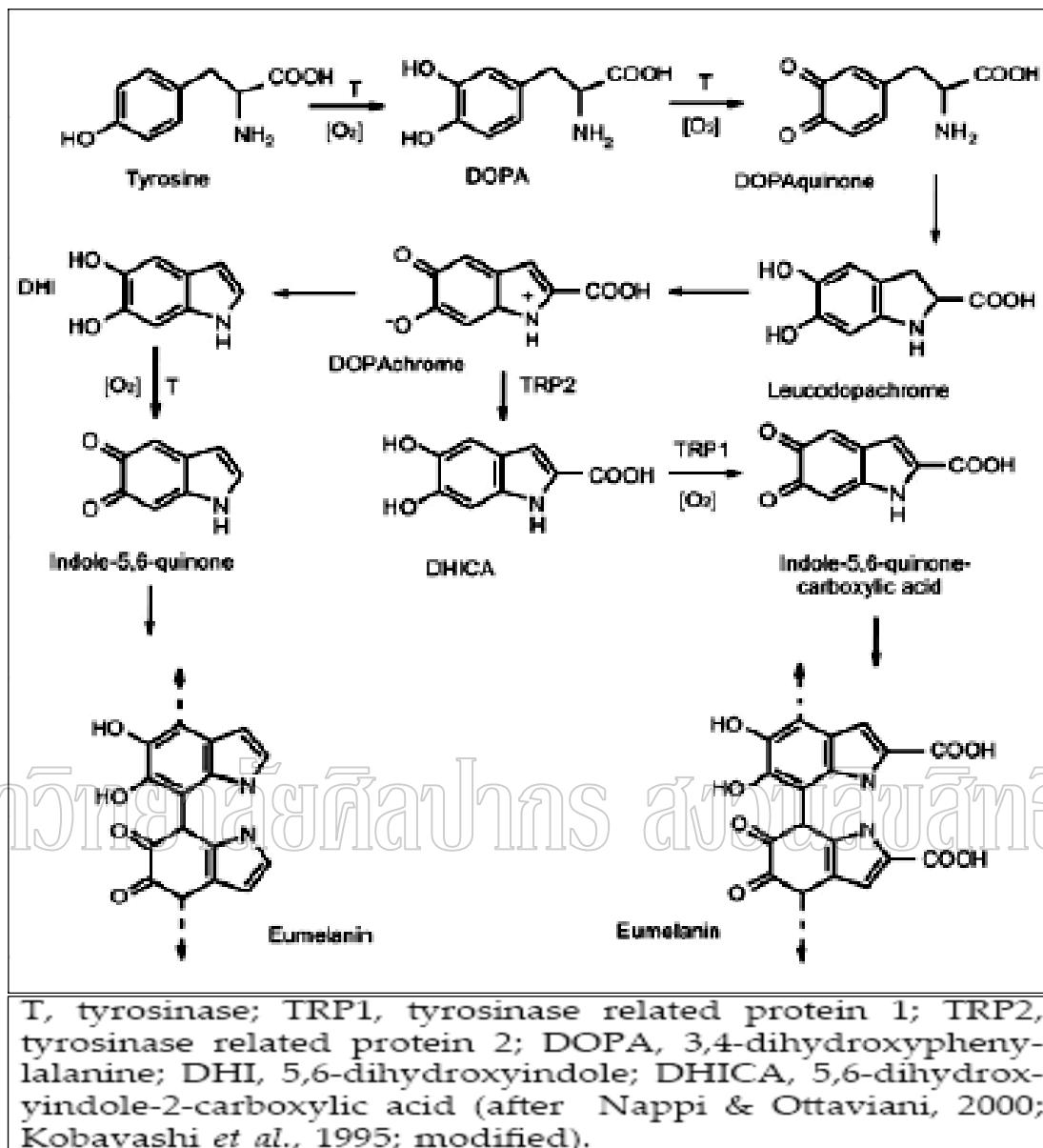
อุณหภูมิเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญ เนื่องจากอุณหภูมิส่งผลต่อปฏิกิริยาชีวเคมีภายในเซลล์และรูปแบบของโครงสร้างโปรตีนทำให้มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ ตัวอย่างงานวิจัยของ Zahran (1999) รายงานว่า เชื้อไรโซเบียมโดยส่วนใหญ่เจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิเหมาะสม 28-31°C ส่วนมากไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 37°C แต่ก็มีบางสายพันธุ์ใน genus *Rhizobium* สามารถเจริญได้ที่ 40°C Moschetti et al. (2005) รายงานว่า เชื้อไรโซเบียมที่แยกได้จากปมรากของ *Vicia*, *Lathyrus* และ *Pisum* สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 15-44°C และ Young et al. (2001) รายงานว่า เชื้อ *Rhizobium* และ *Sinorhizobium* เจริญได้ที่อุณหภูมิ 28, 35 และ 40°C

การเจริญที่ความเข้มข้น NaCl ระดับต่าง ๆ

ระดับความเข้มข้นของ NaCl ที่แบคทีเรียมีการเจริญได้เกี่ยวข้องกับปริมาณน้ำที่แบคทีเรียต้องการ (A_w) และแรงดันออสโมซิส ระดับ NaCl ที่แบคทีเรียเจริญได้โดยส่วนใหญ่จะต้องไม่มีการปรับตัวของระบบสรีระของแบคทีเรีย เพื่อให้ทนต่อ NaCl ที่ความเข้มข้นสูง เชื้อแต่ละสายพันธุ์จะมีความไวต่อ NaCl แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของสายพันธุ์ (ดวงพร กันทร โชติ 2545) ตัวอย่างงานวิจัยของ Kucuk et al. (2005) รายงานว่า เชื้อ *Rhizobium* sp. ที่แยกได้จากปมรากของถั่วแดงหลวง (*Phaseolus vulgaris* L.) สามารถเจริญได้ที่ระดับ 5% NaCl Wei et al. (2006) พบว่า เชื้อ *Rhizobium* spp. ที่แยกได้จากปมรากของ *Astragalus*, *Lespedeza* และ *Hedysarum* เจริญได้ที่ระดับ 1-2 % NaCl และงานวิจัยของ Rathore et al. (2009) รายงานว่า ระดับการทนต่อ NaCl ของเชื้อไรโซเบียมเจริญเร็วและเชื้อไรโซเบียมเจริญช้าที่แยกมาจาก *Mucuna pruriens* และ *Pueraria tuberosa* อยู่ระหว่าง 2-6 % NaCl

การสังเคราะห์เมลานิน

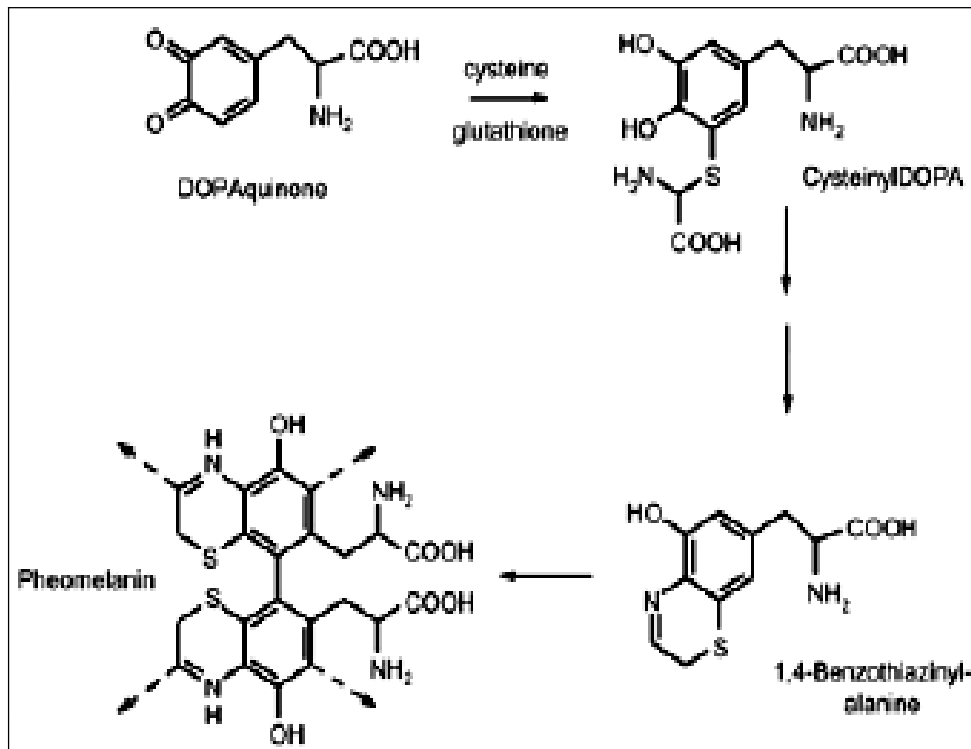
เมลานินหรือเมลานโนโปรตีนเป็นสารพอลิเมอร์ของสารประกอบฟีนอลิก (phenolic) ของพืช สัตว์ และจุลินทรีย์บางชนิด เมลานินสังเคราะห์ได้โดยผ่านปฏิกิริยาเอนไซม์จำเพาะต่อสารประกอบตั้งต้น (Precursor) ของเมลานินในกระบวนการชีวสังเคราะห์ เมลานินแบ่งออกเป็น 3 แบบ ได้แก่ แบบ Eumelanins เป็นสารรงควัตถุน้ำตาลอ่อนถึงดำ การสังเคราะห์เริ่มจากปฏิกิริยา Oxidation ของ tyrosine หรือ phenylalanine เปลี่ยนเป็น *o*- dihydroxyphenylalanine (DOPA) และ dopaquinone แล้วต่อมาเกิดกระบวนการ cyclization ของ 5,6-dihydroxyindole (DHI) หรือ 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid (DHICA) (Plonka and Grabacka 2006 : 429) แสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1: กลไกการสังเคราะห์เมลานินแบบ Eumelanins

ที่มา: Plonka, P. M. and M. Grabacka "Melanin synthesis in microorganisms-biotechnological and medical aspects," *Acta biochimica. Polonica* 53. (2006): 430.

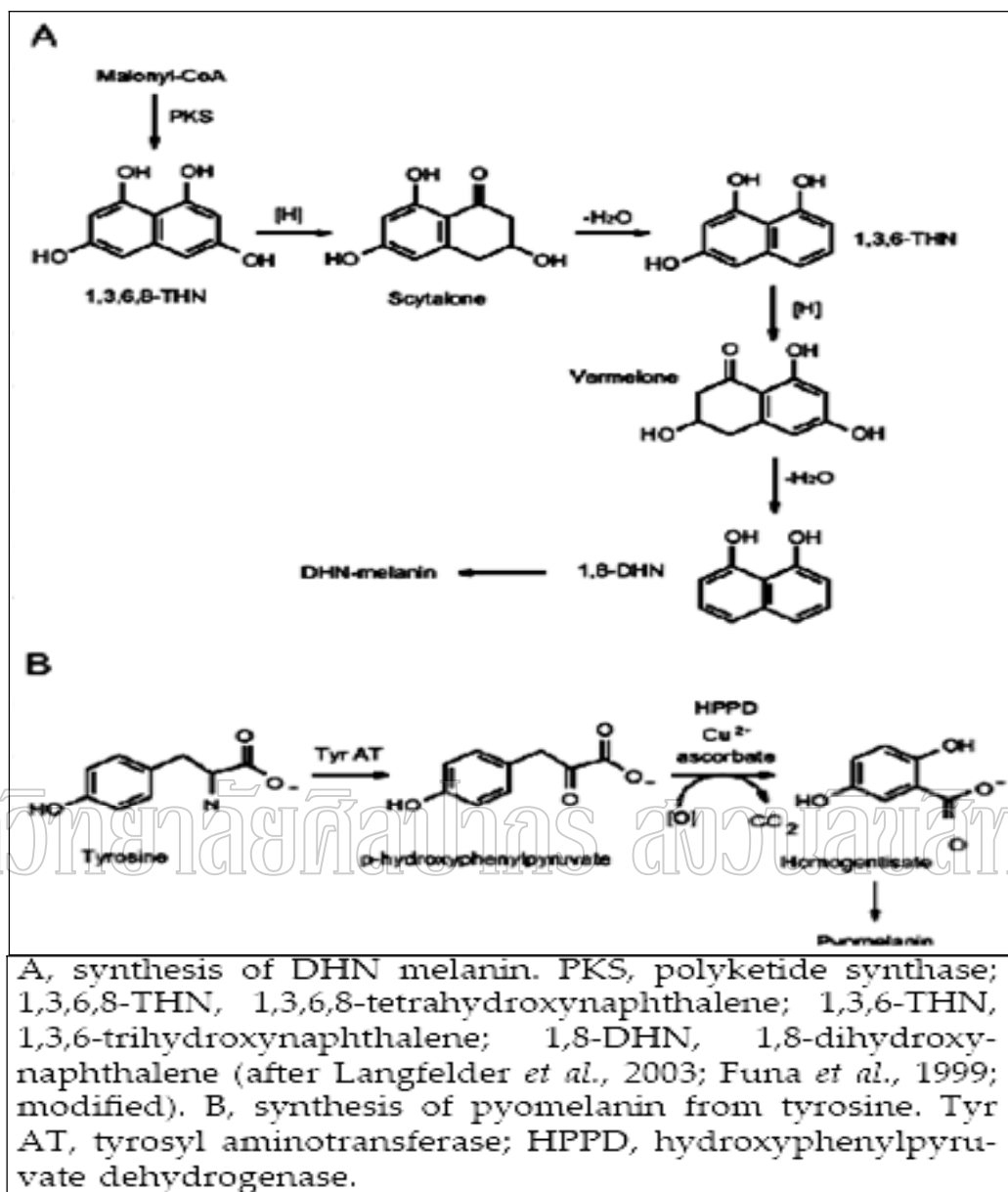
แบบ Pheomelanins เป็นสารรงควัตถุเหลืองถึงแดง การสังเคราะห์เหมือนกับ Eumelanins แต่ DOPA จะเกิด cysteinylolation โดยตรง หรือผ่าน mediation ของ glutathione จนได้ผลิตภัณฑ์สุดท้าย คือ cysteinylDOPA เปลี่ยนไปสารอนุพันธ์ benzothiazines (Plonka and Grabacka, 2006 : 429) แสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 2: กลไกการสังเคราะห์เมลานินแบบ Pheomelanins

ที่มา: Plonka, P. M. and M. Grabacka "Melanin synthesis in microorganisms-biotechnological and medical aspects," *Acta biochimica. Polonica* 53. (2006): 430.

แบบ Allomelanins เป็นกลุ่มสาร heterogenous ของพอลิเมอร์ เกิดได้โดยปฏิกิริยา oxidation และ polymerization ของ di-(DHN) หรือ tetrahydroxynaphthalene ในกลไก pentaketide มีตัวนำสำคัญผ่านพอลิเมอร์ flavoline และพอลิเมอร์อื่นๆ ของ DHN-melanins แสดงในภาพที่ 3A และ homogentisic acid (pyomelanins) แสดงในภาพที่ 3B รวมทั้ง γ -glutaminy-4-hydroxybenzene, catechols ของ 4-hydroxyphenylacetic acid กลไกการสังเคราะห์เมลานินแบบนี้ส่วนใหญ่พบในรา และ พืชชั้นสูง (Plonka and Grabacka, 2006 : 430)



ภาพที่ 3: กลไกการสังเคราะห์เมลานินแบบ Allomelanins

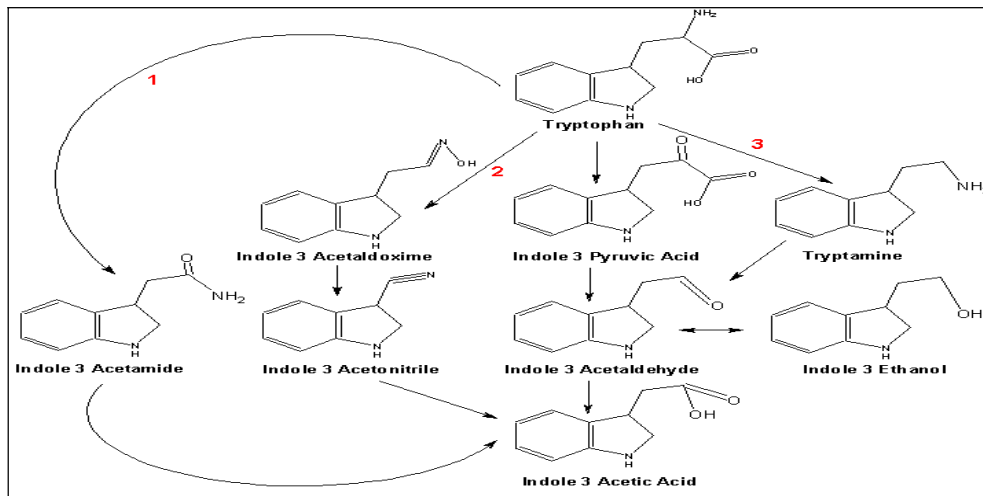
ที่มา: Plonka, P. M. and M. Grabacka “Melanin synthesis in microorganisms-biotechnological and medical aspects,” *Acta biochimica. Polonica* 53. (2006): 430.

ตัวอย่างงานวิจัยที่เคยมีการศึกษา เช่น ใน genus ของไรโซเบียม ได้แก่ *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* (Beynon *et al.* 1980 : 421 -429) *Rhizobium meliloti* (Mercado-blanco *et al.* 1993 : 5403 - 5410) มีการสังเคราะห์รงควัตถุเมลานินการสังเคราะห์รงควัตถุเมลานินเกิดขึ้นได้เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี L-tyrosine และ Cu²⁺ (CuSO₄) โดย tyrosinase ซึ่งเป็น

เอนไซม์เฉพาะในการเร่งปฏิกิริยา oxidation ของ monophenols เข้าจับกับ Cu^{2+} ซึ่งเป็นโคเอนไซม์ ในกระบวนการ orthohydroxylation ของ tyrosine monophenols อื่น ๆ และ aromatic amines ไปเป็น *o*-dihydroxyphenylalanine (DOPA) หรือ *o*-diphenols และต่อมาเปลี่ยนไปเป็น *o*-quinones หรือ dopaquinone ผ่านกระบวนการชีวสังเคราะห์ จนพัฒนาเข้าสู่ Eumelanins หรือ Pheomelanins (Mercado-blanco et al. 1993 : 5403 - 5410)นอกจากนั้น Hawkins and Johnston (1988) รายงานว่า ยีนที่ควบคุมเอนไซม์ tyrosinase มีความสำคัญต่อการพัฒนาของเชื้อแบคทีเรียในการอยู่อาศัยแบบ ซิมไบโอซิส แต่ยีนเหล่านี้ไม่ได้เป็นยีนหลักสำหรับการพัฒนาปมราก หรือสำหรับการตรึง ไนโตรเจน จุดประสงค์ในการสังเคราะห์เมลานินของเชื้อแบคทีเรียที่อยู่อาศัยแบบอิสระ แบบซิมไบโอซิส และเชื้อรา เพื่อยับยั้งสาร secondary metabolite เอนไซม์ต่างๆ ที่ย่อยสลายเซลล์ ป้องกัน เอนไซม์ที่มาจาก potential substrates ปกป้องตัวเองจากยูวี แสงรังสีต่างๆ อนุมูลอิสระที่ไม่เสถียร อุณหภูมิสูงหรือต่ำที่สุด และโลหะไอออนต่างๆ รวมทั้งทนทานต่อปัจจัยสภาวะแวดล้อมต่างๆ ที่ไม่เหมาะสม แต่สำหรับเชื้อแบคทีเรียก่อโรคการสังเคราะห์เมลานินเป็นปัจจัยช่วยเพิ่มความรุนแรงในการติดเชื้อ (Plonka and Grabacka, 2006 : 428 - 433)

การสังเคราะห์ IAA

กรดอินโดลอะซิติก (Indole-3-acetic acid: IAA) เป็นฮอร์โมนพืชในกลุ่มออกซิน (phytohormone) เป็นสารทุติยภูมิที่สำคัญต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาในด้านการเจริญเติบโตของพืชและการพัฒนาของพืช (Basu and Ghosh 2006 : 362 - 366) IAA สังเคราะห์ได้จากสารตั้งต้น Tryptophan IAA มีโครงสร้างเป็น Indoles มีคุณสมบัติเป็นกรดไม่อิมตัว อาจเป็นกลุ่มคาร์บอกซิลถูกจับด้วยน้ำตาลและ *myo*-inositol โดยผ่าน ester linkages หรือ amino acids หรือ peptides กับ amide linkages (Cohen and Bandurski 1982; Bartel et al. 2001; Ljung et al. 2002) การสังเคราะห์ IAA นอกจากจะพบในพืชตามธรรมชาติแล้วยังมีจุลินทรีย์ดินหลายชนิดที่พบว่าสามารถสังเคราะห์ IAA ได้อีกด้วย เช่น *Rhizobium*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, Epiphytic microorganism , Mycorrhizal fungi และ Algae เป็นต้น โดย IAA ที่จุลินทรีย์ดินเหล่านี้ที่สามารถสังเคราะห์นั้นจัดได้ว่าคล้ายคลึงกับ IAA ของพืชที่มีบทบาทต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาของพืชเช่นกัน จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีกลไกการสังเคราะห์ IAA เกิดได้หลายแบบขึ้นอยู่กับชนิดของสายพันธุ์ แสดงในภาพที่ 4



ภาพที่ 4: กลไกการสังเคราะห์ IAA แบบ IPyA pathway IAM pathway (1) IAN pathway (2) และ TAM pathway (3)

ที่มา: Buchanan, B. B., Gruissem, W., and Jones, R. L. Biochemistry and Molecular Biology of Plants. Rockville: Courier Companies, 2000 : 884-894.

จากการศึกษาและการรายงานผลของออกซินต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาและการเจริญเติบโตของพืช แสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3: ผลของ IAA ต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาและการเจริญเติบโตของพืช

การตอบสนองของ IAA ต่อ พืช	
ขยายขนาด และกระตุ้นการแบ่งเซลล์	ยับยั้งและส่งเสริมการออกดอกและชะลอการสุกของผล
ยับยั้งการเจริญของตาข้าง	การเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเจริญเป็นเนื้อเยื่ออื่น ๆ
ตอบสนองต่อแรงโน้มถ่วงและแสง	กระตุ้นหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของราก
กระตุ้นให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีน	กระตุ้นให้เกิดการข่มตายอดและกระตุ้นการสร้างเอทิลีน
ชะลอการหลุดร่วงของใบและผล	กระตุ้นการเจริญของผลและการสร้างดอกเพศเมีย
ชักนำให้เกิดตาออก	กระตุ้นให้เกิดการสังเคราะห์ RNA
ส่งเสริมการไหลเวียนของโพรโทพลาสซึม	เพิ่มกระบวนการหายใจและกิจกรรมเอนไซม์

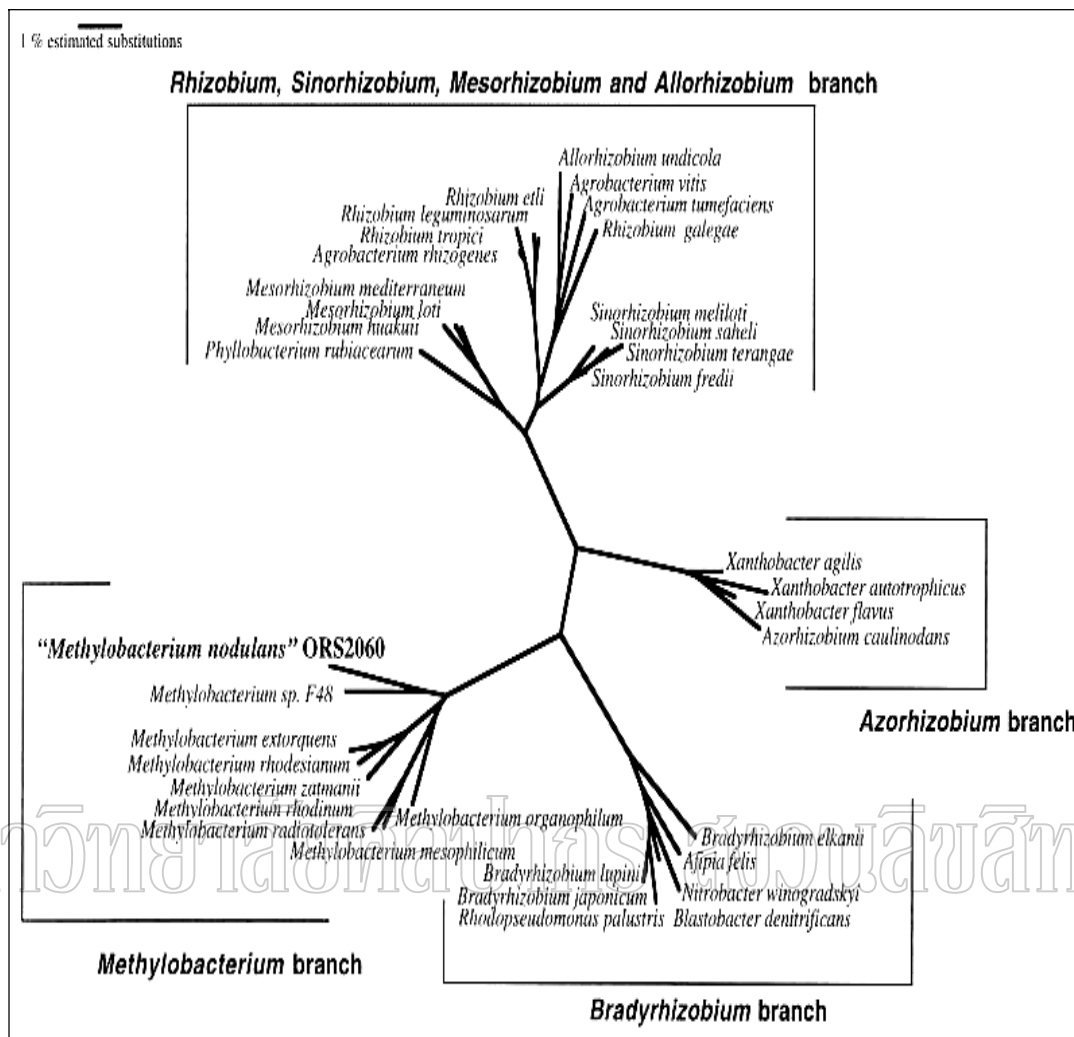
ที่มา: Frankenberger, W. T. and M. Arshad Phytohormone in Soil Microbial Production and Function. New York : Marcel Dekker, 1995 : 20.

ตัวอย่างงานวิจัยของ Kumari et al. 2009 และ Ghosh et al. (2008) รายงานว่า *Rhizobium* spp. สามารถสังเคราะห์ IAA ได้จากสารตั้งต้น L-TRP, D-TRP และ DL-TRP

8.2 การจัดจำแนกโดยใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรม

การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rDNA

ยีน 16S ribosomal DNA (16S rDNA) เป็นยีนที่พบมากในแบคทีเรียทั้งหมด มีการเปลี่ยนแปลงทางวิวัฒนาการช้า และมีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เหมือนกัน ดังนั้นจึงนำไปใช้ในการศึกษาการจัดหมวดหมู่ และหาความสัมพันธ์ของวิวัฒนาการของแบคทีเรียชนิดต่างๆ การใช้ยีน 16S rDNA มีข้อจำกัดในการจำแนกที่ระดับสปีชีส์ (species) โดยส่วนใหญ่จะแสดงความสัมพันธ์ของวิวัฒนาการอยู่ในระดับต่ำ (low phylogenetic power) และเมื่อจำแนกบางจิ้นัส (genus) จะพบว่า ศักยภาพในการจำแนกสายพันธุ์ได้ผลไม่ชัดเจน 100 % (Janda and Abbott 2007 : 2761 - 2764) ตัวอย่างงานวิจัยของ Sy et al. (2001) ได้ทำการจำแนกแบคทีเรียที่แยกได้จากปมรากของพืช *Crotalaria* โดยวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมดของยีน 16S rDNA แล้วนำมาสร้าง Phylogenetic tree พบว่า *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium* และ *Allorhizobium* จัดอยู่ใน branch ที่ 1 *Azorhizobium* จัดอยู่ใน branch ที่ 2 *Bradyrhizobium* จัดอยู่ใน branch ที่ 3 และ *Methylobacterium* จัดอยู่ใน branch ที่ 4 ในขณะเดียวกันแบคทีเรียที่ศึกษาเป็น *Methylobacterium nodulans* มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rDNA ของ *Methylobacterium* ซึ่งอยู่ใน branch ที่ 4 แสดงในภาพที่ 5



ภาพที่ 5: Phylogenetic tree แสดงความสัมพันธ์ที่ได้จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมดของยีน 16S rDNA ของไรโซเบียมชนิดต่างๆ และแบคทีเรียในกลุ่มที่มีความคล้ายคลึงกันของยีน 16S rDNA

ที่มา: Sy, A et al. "Methylophilic *Methylobacterium* bacteria nodulate and fix nitrogen in symbiosis with legumes." *J. Bacteriol* 183 (2001): 214-220.

9. ฟอสฟอรัสในดินและจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต

ธาตุฟอสฟอรัส เป็นธาตุอาหารหลักที่เป็นส่วนประกอบของ ATP และโครงสร้างของเซลล์ เช่น DNA, RNA และฟอสโฟลิพิดของเยื่อหุ้มเซลล์สำหรับการเจริญเติบโตและการพัฒนาของสิ่งมีชีวิต ฟอสฟอรัสในดินโดยปกติเป็นปัจจัยที่จำกัดต่อพืช เนื่องจากฟอสฟอรัสในดินโดยส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปที่พืชไม่สามารถนำไปใช้ได้ (ภาวนา ลิกขานนท์ 2549 ; Stevenson 1986 ;

Chen et al, 2006) ดังนั้นพืชต้องอาศัยจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติละลายฟอสเฟตในการเปลี่ยนฟอสเฟตให้อยู่ในรูปสารอินทรีย์ให้เป็นสารอนินทรีย์หรืออยู่ในรูปละลายน้ำ หรือมีการละลายฟอสเฟตในรูปอนินทรีย์ให้อยู่ในรูปที่พืชดูดไปใช้ได้ง่ายขึ้น ในปัจจุบันรายงานถึงจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟต เช่น ราไมคอร์ไรซา แบคทีเรียสังเคราะห์การเจริญของพืช และแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติละลายฟอสเฟต เป็นต้น

กลุ่มแบคทีเรียที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตจะมีกิจกรรมของเอนไซม์เกิดขึ้นโดยมีการปลดปล่อยเอนไซม์ฟอสฟาเตส (phosphatase) นิวคลีโอติเดส (nucleotidases) กลีเซอโรฟอสฟาเตส (glicerophosphatase) และไฟเตส (phytase) หรืออาจมีการปลดปล่อยกรดอินทรีย์ เช่น กรดซิตริก กรดอะซิติก กรดฟูมาริก กรดโพธิโอนิก กรดแลกติก กรดฟอร์มิก กรดกลูโคนิก กรดออกซาลิก และกรดซัคซินิก ทำให้ค่า pH ของสารอินทรีย์ลดลงส่งผลให้ฟอสเฟตละลายออกมา นอกจากนั้นแบคทีเรียเหล่านี้ยังมีการสังเคราะห์ฮอร์โมนพืชหรือสารเมแทบอลิต์ที่เหมือนฮอร์โมนพืช สามารถตรึงไนโตรเจน ปรับสมดุลของจุลินทรีย์บริเวณรอบๆ ราก ป้องกันหรือควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรค และสามารถชักนำให้พืชอาศัยเกิดความต้านทานโดยการใช้อนุพันธ์ป้องกันการเกิดโรคของพืช ส่วนโดยทางอ้อมอาจมีการสังเคราะห์สารปฏิชีวนะ หรือ siderophore (Rodriguez and Fraga 1999 : 319 - 359)

เอนไซม์ฟอสฟาเตส (phosphatase) มีทั้ง phosphoric monoester hydrolases และ phosphoric diester hydrolases ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มเอนไซม์ phytase, nucleotidase และ sugar phosphatase และกลุ่มเอนไซม์ nuclease และ phospholipases กิจกรรมของเอนไซม์ phosphatase ในดินโดยส่วนใหญ่มีทั้ง acid phosphatase, neutral phosphatase และ alkaline phosphatase เกิดขึ้นได้โดยจุลินทรีย์ดินที่อยู่บริเวณรอบๆ รากพืชที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตจะมีการปลดปล่อยเอนไซม์ phosphatase ซึ่งไฮโดรไลซ์หมู่ phosphate esters ของฟอสเฟตอินทรีย์และโพลีฟอสเฟต (polyphosphates) ทำให้เกิดการละลายฟอสเฟตออกมาในรูปของออร์โทฟอสเฟต ($H_2PO_4^{-1}$ และ HPO_4^{-2}) หรือฟอสฟอรัสอิสระอยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืช ในขณะที่มีการละลายฟอสเฟตอินทรีย์ในดินจะมีการปลดปล่อยประจุโปรตอน (H^+) ทำให้ค่า pH ของสารอินทรีย์ลดลง (Rodriguez and Fraga, 1999 : 319 - 359)

ดวงพร คันทโชติ (2537) รายงานว่า เทคนิคที่ใช้ศึกษาเอนไซม์ phosphatase ในจุลินทรีย์มีหลากหลายวิธีการ เช่น การใช้สารตั้งต้น phenolphthalein phosphate มีการทำงานโดยสารตั้งต้นนี้จะถูกไฮโดรไลซ์โดย phosphatase แล้วจะปลดปล่อย phenolphthalein ส่งผลให้คุณสมบัติของสารมี pH เป็นกรด (ไม่มีสี) และเป็นด่าง (สีชมพู) การใช้สารตั้งต้น 5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate ที่ pH 5.2 มีการทำงานโดยสารตั้งต้นนี้จะถูกไฮโดรไลซ์โดย phosphatase จะเกิดเป็น

ตะกอนดำของ blue-green indigo และการใช้สารตั้งต้น p-nitrophenyl phosphate หรือ 4-nitrophenyl phosphate (ไม่มีสี) โดยการทำงานสารตั้งต้นนี้จะถูกไฮโดรไลส์โดย phosphatase ทำให้เกิด p-nitrophenol หรือ 4-Nitrophenoxide (เหลือง) และกรดฟอสโฟริก

ตัวอย่างงานวิจัยที่เคยมีการศึกษา

Rodriguez and Fraga (1999) ศึกษาเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากดิน โดยทดสอบความสามารถในการละลาย tricalcium phosphate [$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$], Hydroxyapatite และ Rock phosphate ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya พบว่า เชื้อ *Pseudomonas*, *Bacillus* และ *Rhizobium* มีความสามารถในการละลาย tricalcium phosphate [$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$], Hydroxyapatite และ Rock phosphate ได้ดีโดยมีการปลดปล่อยเอนไซม์ acid phosphatase โดยสภาวะที่เหมาะสมมีค่า pH ระหว่าง 3 - 6

Hesham and El-Komy (2005) ศึกษาเชื้อ *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus megaterium* and *Azospirillum* spp. โดยทดสอบความสามารถในการละลายไตรแคลเซียมฟอสเฟต [$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$] ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya พบว่า เชื้อ *Pseudomonas fluorescens* และ *Bacillus megaterium* มีความสามารถในการละลายไตรแคลเซียมฟอสเฟต [$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$] ได้ดี โดยเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* มีค่า pH reduction สูงสุด ที่ 2.8 และ *Bacillus megaterium* มี pH reduction ที่ 1.2 ส่วนเชื้อ *Azospirillum lipoferum* สายพันธุ์ 137 มีการละลายฟอสเฟตได้ต่ำและมี pH reduction ที่ 0.5

Chen et al. (2006) ศึกษาเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากดินในประเทศแถบร้อน โดยทดสอบความสามารถการละลาย tricalcium phosphate [$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$] ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya ต่อมาเมื่อนำมาวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rDNA พบว่า เชื้อที่มีความสามารถละลาย tricalcium phosphate [$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$] ได้แก่ เชื้อใน genus ของ *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Arthrobacter*, *Serratia*, *Delftia*, *Gordonia*, *Chryseobacterium* และ *Phyllobacterium*

Rajankar et al. (2007) ศึกษาเชื้อราและแบคทีเรียที่แยกได้จากดินที่มีเกลือสูงบริเวณแม่น้ำ Purna ในอินเดีย โดยทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารประกอบอินทรีย์ฟอสเฟต พบว่า เชื้อรา *Aspergillus* spp. *Penicillium* spp. และ *Fusarium* spp. มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตได้สูงกว่าในเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* และ *Bacillus megatherium*

Chaiham and Lumyong (2009) คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียกลุ่มส่งเสริมการเจริญของพืช (Plant-Growth Promoting Rhizobacteria: PGPR) ที่แยกได้จากดินที่ปลูกข้าวในภาคเหนือของไทย ศึกษาความสามารถในการละลายสารประกอบอินทรีย์ฟอสเฟต พบว่า เชื้อทุกสายพันธุ์สามารถ

ละลายสารประกอบอินทรีย์ฟอสเฟตได้ โดยเฉพาะเชื้อ *Acinetobacter* CR 1.8 สายพันธุ์ CR มีความสามารถในการละลาย tricalcium phosphate $[Ca_3(PO_4)_2]$ และ aluminium phosphate $[AlPO_4]$ ได้สูงที่สุด

Linu et al. (2009) ศึกษาเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากดินบริเวณรอบบรอกพืชหลายชนิดของ Kerala อินเดีย โดยทดสอบความสามารถในการละลาย tricalcium phosphate $[Ca_3(PO_4)_2]$ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya พบว่า เชื้อ *Gluconacetobacter* sp. และ *Burkholderia* sp. มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตสูง

Nautiyal et al. (2000) ศึกษาเชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติละลายฟอสเฟตที่แยกมาบริเวณรอบรากของถั่วชิกพี (*Cicer arietinum* L) ที่ปลูกในดินที่เป็นด่าง พบว่า เชื้อสายพันธุ์ NBRI0603, NBRI2601, NBRI3246 และ NBRI4003 สามารถใช้ fructose, galactose, sorbitol, mannitol, xylose, sucrose, maltose และ lactose เป็นแหล่งคาร์บอน และสามารถใช้อะมโมเนียมไนเตรต, potassium nitrate, calcium nitrate และ sodium nitrate เป็นแหล่งไนโตรเจน นอกจากนี้ยังพบว่าปัจจัย xylose, lactose และ glucose เป็นแหล่งคาร์บอนที่มีผลทำให้การละลายฟอสเฟตดีที่สุด และปัจจัยไนโตรเจนทุกชนิดมีผลทำให้การละลายฟอสเฟตสูงขึ้น

Neddermann and Nausch (2004) ศึกษาผลกระทบของสารประกอบอินทรีย์และสารประกอบอินทรีย์ต่อการกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ phosphatase ของเชื้อแบคทีเรีย พบว่า ปัจจัย ammonium และ glucose เพิ่มการเจริญและกิจกรรมของเอนไซม์ phosphatase ส่วน leucine ลดการเจริญและกิจกรรมของเอนไซม์ phosphatase ผลแสดงถึงปัจจัยของแหล่งคาร์บอนอินทรีย์และไนโตรเจนมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ phosphatase และการย่อยสลายสารประกอบฟอสฟอรัสอินทรีย์

Onthong et al. (2007) ศึกษาผลกระทบของแคตไอออนต่อกิจกรรมเอนไซม์ acid phosphatase ของเชื้อยีสต์ *Ustilago* sp. ที่แยกมาจากบริเวณรอบรากข้าวที่ปลูกในดินกรดจัด พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อยีสต์ในอาหารเหลวสูตร modified Pikovskaya, pH 4 ที่มีลูมิเนียม เหล็ก แมงกานีส และสารละลายโซเดียมไฟเตส พบว่า อะลูมิเนียม แคลเซียม และเหล็กไอออนไม่ได้มีผลต่อเจริญของเชื้อยีสต์ แต่ลูมิเนียม และแคลเซียมไอออนมีผลยับยั้งต่อกิจกรรมของเอนไซม์ acid phosphatase ของเชื้อบางสายพันธุ์ ส่วนเหล็กไอออนมีผลส่งเสริมต่อกิจกรรมของเอนไซม์ acid phosphatase ของเชื้อบางสายพันธุ์ อย่างไรก็ตาม เชื้อทุกสายพันธุ์มีความสามารถในการปลดปล่อยฟอสฟอรัสจากสารละลายโซเดียมไฟเตส ส่วนในสารละลายที่มีลูมิเนียมและเหล็กละลายอยู่มาก ฟอสฟอรัสที่ปลดปล่อยออกมาจะเข้าทำปฏิกิริยากับลูมิเนียมและเหล็กทำให้ตกตะกอนอยู่ในรูปไม่ละลายน้ำ

Srividya et al. (2009) ศึกษาผลกระทบของปัจจัยสิ่งแวดล้อมและความเป็นกรดจัดต่อการละลายฟอสเฟตของเชื้อ *Aspergillus niger* (F7) ที่แยกได้สายพันธุ์ใหม่จากดินเกษตร โดยทดสอบการละลายฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya ที่มี 0.5 % $[Ca_3 (PO_4)_2]$ พบว่า สายพันธุ์ *Aspergillus niger* (F7), *A. niger* (F4), *A. niger* และ *Penicillium* sp. มีความสามารถในการละลายฟอสเฟต เท่ากับ 107.7% 108.3 % 112.7 % และ 110.3% ตามลำดับ ส่วนในอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya's liquid broth ที่มี 0.5 % $[Ca_3 (PO_4)_2]$ พบว่า เชื้อมีความสามารถในการละลายฟอสเฟต เท่ากับ 285 $\mu\text{g/ml}$ 187.5 $\mu\text{g/ml}$ 258 $\mu\text{g/ml}$ และ 70.5 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ ต่อมานำเชื้อ *Aspergillus niger* (F7) ทดสอบการใช้แหล่งคาร์บอน และแหล่งไนโตรเจนต่อการละลายฟอสเฟต พบว่า เชื้อมีความหลากหลายในการใช้แหล่งคาร์บอน โดยปัจจัย maltose มีผลทำให้การละลายฟอสเฟตสูงที่สุด ทำให้ pH ต่ำที่สุด ปัจจัย glucose และ sucrose มีผลทำให้การละลายฟอสเฟตไม่แตกต่างกัน และ fructose, xylose และ galactose มีผลทำให้การละลายฟอสเฟตลดลงจึงทำให้ pH สูงขึ้น ส่วนการใช้แหล่งไนโตรเจน พบว่า ammonium sulfate มีผลทำให้การละลายฟอสเฟตสูงที่สุด ทำให้ pH ลดลงต่ำที่สุด และปัจจัย ammonium chloride, casein, potassium nitrate, urea, sodium nitrate และ sodium nitrite มีผลทำให้การละลายฟอสเฟตลดลง

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

บทที่ 3

อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการทดลอง

1. สารเคมี

1.1 สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-mannitol agar และ Yeast-mannitol broth (Vincent 1970) แสดงในภาคผนวก ก

1.2 สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Basal medium (Amerger et al. 1997) แสดงในภาคผนวก ก

1.3 สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Bergersen's synthetic medium (BSM; Bergersen 1961) แสดงในภาคผนวก ก

1.4 สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ TY (Beringer 1974) แสดงในภาคผนวก ก

1.5 สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Tris-TMRT broth (Nuntagij et al.) แสดงในภาคผนวก ก

1.6 สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya broth (Pikovskaya 1948) แสดงในภาคผนวก ก

1.7 สารเคมีสำหรับทดสอบเมลานิน แสดงในภาคผนวก ข

1.8 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ IAA โดยวิธี Colorimetric (Gordon and Weber 1951) แสดงในภาคผนวก ข

1.9 สารเคมีสำหรับทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์ฟอสฟาเตส (phosphatase) แสดงในภาคผนวก ข

1.10 สารเคมีและรีเอเจนต์ (reagent) สำหรับปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR) แสดงในภาคผนวก ค

1.11 สารเคมีสำหรับตรวจสอบผลผลิตของปฏิกิริยา PCR โดยวิธี gel electrophoresis แสดงในภาคผนวก ง

2. เชื้อแบคทีเรียปมรากที่ทำการศึกษา

เชื้อแบคทีเรียปมรากที่ใช้ในการศึกษา จำนวน 56 ไอโซเลต ได้รับความอนุเคราะห์จาก กลุ่มงานจุลินทรีย์ดิน สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ โดยจำแนกเชื้อแบคทีเรียตามชนิดของพืชอาศัย แสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4: สายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการศึกษาและแหล่งที่ทำการเก็บตัวอย่าง

ชนิดของพืชอาศัย	รหัสเชื้อแบคทีเรีย	แหล่งที่ทำการเก็บตัวอย่าง
คราม	DASA 57003	เชียงใหม่
คราม	DASA 57004	จันทบุรี
คราม	DASA 57005	ตราด
คราม	DASA 57009	ตราด
คราม	DASA 57010	ราชบุรี
คราม	DASA 57015	นครราชสีมา
คราม	DASA 57019	ขอนแก่น
คราม	DASA 57020	ขอนแก่น
คราม	DASA 57024	เลย
คราม	DASA 57027	ชัยนาท
คราม	DASA 57034	จันทบุรี
คราม	DASA 57038	ขอนแก่น
คราม	DASA 57050	กรุงเทพฯ
คราม	DASA 57053	เชียงใหม่
คราม	DASA 57057	เชียงใหม่
คราม	DASA 57065	เชียงใหม่
คราม	DASA 57066	เชียงใหม่
คราม	DASA 57075	ลำปาง
คราม	DASA 57076	เชียงใหม่
คราม	DASA 57098	ลำปาง
กวาวเครือขาว	DASA 64006	ฉะเชิงเทรา

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ชนิดของพืชอาศัย	รหัสเชื้อแบคทีเรีย	แหล่งที่ทำการเก็บตัวอย่าง
กวาวเครือขาว	DASA 64008	ฉะเชิงเทรา
กวาวเครือขาว	DASA 64010	ฉะเชิงเทรา
กวาวเครือขาว	DASA 64011	พิจิตร
กวาวเครือขาว	DASA 64012	พิจิตร
กวาวเครือขาว	DASA 64014	ฉะเชิงเทรา
กวาวเครือขาว	DASA 64016	กาญจนบุรี
กวาวเครือขาว	DASA 64020	ฉะเชิงเทรา
กวาวเครือขาว	DASA 64021	ฉะเชิงเทรา
กวาวเครือขาว	DASA 64022	กาญจนบุรี
กวาวเครือขาว	DASA 64023	พิจิตร
กวาวเครือขาว	DASA 64026	พิจิตร
กวาวเครือขาว	DASA 64027	ลำปาง
กวาวเครือขาว	DASA 64031	ลำปาง
กวาวเครือขาว	DASA 64034	ลำปาง
กวาวเครือขาว	DASA 64038	ลำปาง
กวาวเครือขาว	DASA 64040	บุรีรัมย์
กวาวเครือขาว	DASA 64042	กาญจนบุรี
หางไหลแดง	DASA 68003	ลำปาง
หางไหลแดง	DASA 68006	ลำปาง
หางไหลแดง	DASA 68010	ลำปาง
หางไหลแดง	DASA 68012	ลำปาง
หางไหลแดง	DASA 68020	ลำปาง
หางไหลแดง	DASA 68025	ลำปาง
หางไหลแดง	DASA 68030	ลำปาง
หางไหลแดง	DASA 68032	ลำปาง
หางไหลแดง	DASA 68053	สระบุรี

ตารางที่ 4 (ต่อ)

ชนิดของพืชอาศัย	รหัสเชื้อแบคทีเรีย	แหล่งที่ทำการเก็บตัวอย่าง
หางไหลแดง	DASA 68055	สระบุรี
หางไหลแดง	DASA 68056	สระบุรี
หางไหลแดง	DASA 68058	สระบุรี
หางไหลแดง	DASA 68061	สระบุรี
หางไหลแดง	DASA 68062	สระบุรี
หางไหลแดง	DASA 68066	ลำปาง
หางไหลแดง	DASA 68069	ลำปาง
หางไหลแดง	DASA 68070	ลำปาง
หางไหลแดง	DASA 68071	ลำปาง

3. วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 การศึกษาลักษณะคุณสมบัติทางฟิโนไทป์ของเชื้อแบคทีเรีย

1. การผลิตกรด-ด่าง

เชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ มาทดสอบการผลิตกรด-ด่างบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-mannitol agar (Vincent 1970) ที่เติม bromthymol blue ที่มีความเข้มข้น 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยปรับ pH เริ่มต้นของอาหารให้เท่ากับ 6.80 ทำการ streak เชื้อบนอาหาร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 3-7 วัน สังเกตผลการเจริญของเชื้อและการเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อ

2. ลักษณะของโคโลนีและลักษณะของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์โดยวิธีการ spread plate ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-mannitol agar (Vincent 1970) ที่เติม congo red ที่มีความเข้มข้น 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร บ่มเชื้อที่ อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 3-7 วัน สังเกตลักษณะโคโลนีและทำการย้อมเชื้อด้วย carbol fuchin เพื่อตรวจสอบลักษณะของโคโลนีและลักษณะของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3. การใช้แหล่งคาร์บอน

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-mannitol broth (Vincent 1970) เขย่าด้วยความเร็ว 180 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 5-7 วัน จากนั้นทดสอบการใช้แหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Amarger et al. (1997) และ Ji

and Wilson (2002) โดยทำการเหวี่ยงปั่นสารแขวนลอยของเชื้อ 1 มิลลิลิตร ที่ 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ต่อมานำตะกอนเซลล์ที่ได้มาล้างด้วยสารละลาย potassium phosphate buffer (0.01M, pH 7.0) เหวี่ยงปั่นตกตะกอนเซลล์ ทำซ้ำเช่นเดิมเป็นจำนวน 5 ครั้ง จากนั้นเติมสารละลาย potassium phosphate buffer (0.01M, pH7.0) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วดูดสารแขวนลอยเซลล์ ปริมาตร 10 ไมโครลิตร หยดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Basal medium (Amerger et al. 1997) ที่เติม แหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ ได้แก่ DL-lysine, DL-alanine, glycerol, citric acid, potassium acetate, ammonium citrate, L-asparagine monohydrate, potassium sodium tartrate, D-serine, galactonic acid, sodium acetate, lithium lactate, L-alanine, 4-phenylphenol, proline, L-ornithine monohydrochloride, DL-aspartic acid, malic acid, isopropyl alcohol, phthalic acid, sodium benzoate, DL-valine, D-maltose, sodium tartrate dehydrate, mannitol, L-arabinose, Lactose, D-fructose, sucrose, D-glucose, D-xylose, ammonium oxalate, glycine, L-glutamine, α - cellulose, tannic acid, trehalose, anthrone, benzoic acid, D-cellobiose, urea, D-sorbitol, D-raffinose, D-mannose, xylitol, inulin, sorbose, D-galactose, dextrose, myo-inositol, adenitol และ casein ที่ ระดับความเข้มข้น 0.1% ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 3-7 วัน สังเกตแล้วบันทึกผลการเจริญของเชื้อโดยเปรียบเทียบกับ negative control ซึ่ง ไม่มีแหล่งคาร์บอน

4. การใช้แหล่งไนโตรเจน

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-mannitol Broth (Vincent 1970) เขย่าด้วยความเร็ว 180 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 5-7 วัน จากนั้น ทดสอบการใช้แหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Amerger et al. (1997) และ Ji and Wilson (2002) โดยทำการเหวี่ยงปั่นสารแขวนลอยของเชื้อ 1 มิลลิลิตร ที่ 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ต่อมานำตะกอนเซลล์ที่ได้มาล้างด้วยสารละลาย potassium phosphate buffer (0.01M, pH7.0) เหวี่ยงปั่นตกตะกอนเซลล์ ทำซ้ำเช่นเดิมเป็นจำนวน 5 ครั้ง จากนั้นเติมสารละลาย potassium phosphate buffer (0.01M, pH7.0) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วดูดสารแขวนลอยเซลล์ ปริมาตร 10 ไมโครลิตร หยดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Basal medium (Amerger et al. 1997) ที่เติม แหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ ได้แก่ L-glutamine, glycine, D-serine, DL- phynyl alanine, proline, DL-valin, L-alanine, DL-threonine, DL-aspartic acid, L-arginine, DL-lysine, DL-alanine, L-aspartic acid, urea, L-tyrosine, L-ornithine monohydrochloride, ammonium nitrate, ammonium citrate tribasic , ammonium chloride, sodium barbitone, sodium nitrite, sodium nitrate, ammonium oxalate, L-asparagine, galactonic acid, ammonium dihydrogen orthophosphate, calcium nitrate, diphenyl amine, trimethyl ammonium bromide และ ammonium molydate-4-

hydrate ที่ระดับความเข้มข้น 0.1% ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 3-7 วัน สังเกตแล้วบันทึกผลการเจริญของเชื้อ โดยเปรียบเทียบกับ negative control ซึ่งไม่มีแหล่งไนโตรเจน

5. ความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-mannitol broth (Vincent 1970) เขย่าด้วยความเร็ว 180 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 5-7 วัน จากนั้นทดสอบความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ โดย spread สารแขวนลอยเชื้อเข้มข้นปริมาตร 100 ไมโครลิตร บนอาหาร Yeast-mannitol agar (Vincent 1970) วาง antibiotic discs (OXOID, UK) ลงบน plate อาหาร สำหรับสารปฏิชีวนะที่ทำการทดสอบ ได้แก่ Tetracycline (30 ไมโครกรัม) Ceftazidime (30 ไมโครกรัม) Ampicillin (10 ไมโครกรัม) Chloramphenicol (30 ไมโครกรัม), Spectinomycin (10 ไมโครกรัม) Cefotaxime sodium (30 ไมโครกรัม), Gentamicin (120 ไมโครกรัม) Streptomycin (10 ไมโครกรัม) Kanamycin (30 ไมโครกรัม) และ Novobiocin (30 ไมโครกรัม) ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 3-5 วัน สังเกตและบันทึกผลการเจริญของเชื้อและวัดขนาด clear zone ที่เกิดขึ้นรอบๆ antibiotic disc

6. ความต้องการวิตามิน

นำเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ทดสอบความต้องการวิตามิน ได้แก่ myo-inositol, aminobenzoic acid (vitamin B) thiamine hydrochloride (vitamin B₁) riboflavin (vitamin B₂) nicotonic acid (vitamin B₃) D-calcium panthothenate (vitamin B₅) pyridoxine hydrochloride (vitamin B₆) biotin (vitamin B₇ or H) folic acid (vitamin B₉) cyanocobalamin (vitamin B₁₂) และ L-ascorbic acid (vitamin C) ที่ระดับความเข้มข้น 0.025 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้วิธีการที่ดัดแปลงจากวิธีของ Watson และคณะ (2001) โดย streak เชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Bergersen's synthetic medium (pH 6.8) (BSM; Bergersen 1961) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 3-7 วัน จากนั้น streak เชื้อจากอาหารเลี้ยงเชื้อ BSM ลงบนอาหารที่ใช้ทดสอบ 3 ชนิด ได้แก่ 1) อาหารเลี้ยงเชื้อ BSM ที่ไม่เติม glutamate, thiamine และ biotin และใช้ agarose 12 กรัมต่ออาหาร 1 ลิตรแทน agar 2) อาหารเลี้ยงเชื้อ BSM ที่ไม่เติม glutamate, thiamine และ biotin ใช้ agarose 12 กรัมต่ออาหาร 1 ลิตรแทน agar และเติมวิตามินแต่ละชนิด 3) อาหารเลี้ยงเชื้อ BSM ที่ไม่เติม glutamate, thiamine และ biotin ใช้ agarose 12 กรัมต่ออาหาร 1 ลิตรแทน agar และเติม yeast extract 50 มิลลิกรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 3-7 วัน สังเกตและบันทึกผลการเจริญของเชื้อ โดยเปรียบเทียบกับ negative control ซึ่งไม่มีแหล่งวิตามิน

7. การเจริญที่ระดับ pH ต่างๆ

ปิเปตสารแขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ 50 ไมโครลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-mannitol broth (Vincent 1970) ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ที่มีการเติม HEPES buffer ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ที่ pH เท่ากับ 5.0, 6.5 และ 8.0 เลี้ยงเชื้อเขย่าด้วยความเร็ว 180 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 5-7 วัน แล้วนำมาหาปริมาณเชื้อเป็นจำนวนเซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยวิธี Total plate count บนอาหารเลี้ยงเชื้อ yeast-mannitol agar (Vincent 1970) ที่เติม congo red ความเข้มข้น 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

8. การเจริญที่ระดับที่อุณหภูมิต่างๆ

ปิเปตสารแขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ 50 ไมโครลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-mannitol broth (Vincent 1970) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เลี้ยงเชื้อเขย่าด้วยความเร็ว 180 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ เท่ากับ 20, 30 และ 40 °C เป็นเวลา 5-7 วัน แล้วนำมาหาปริมาณเชื้อเป็นจำนวนเซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยวิธี Total plate count บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-Mannitol Agar (Vincent 1970) ที่เติม congo red ความเข้มข้น 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

9. การเจริญต่อ NaCl ที่ระดับต่างๆ

ปิเปตสารแขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ 50 ไมโครลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-mannitol broth (Vincent 1970) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ที่มีการเติม NaCl เท่ากับ 0, 0.2 และ 1 M เลี้ยงเชื้อเขย่าด้วยความเร็ว 180 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 5-7 วัน แล้วนำมาหาปริมาณเชื้อเป็นจำนวนเซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยวิธี Total plate count บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-Mannitol Agar (Vincent 1970) ที่เติม congo red ความเข้มข้น 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

10. การสังเคราะห์เมลานิน

ทดสอบการสังเคราะห์เมลานินของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ โดยวิธีของ Cubo และคณะ (1988) โดย streak เชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TY (Beringer 1974) ที่เติม L-tyrosine (600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และ CuSO_4 (40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) บ่มเชื้อที่ อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 3-4 วันสำหรับเชื้อที่มีการเจริญเร็ว และ 7-10 วันสำหรับเชื้อที่มีการเจริญช้า ในกรณีเชื้อไม่สามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TY จะปรับลดปริมาณ CuSO_4 จาก 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็น CuSO_4 4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หลังจากเชื้อมีการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว ทดสอบการสังเคราะห์เมลานินด้วยการหยดสารละลาย 10 % (w/v) sodium dodecyl sulfate (SDS) ใน TBE (pH 8.3) ปริมาตร 0.05 มิลลิลิตรให้ท่วม plate และบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตการเกิดสีน้ำตาลเข้มของโคโลนี ซึ่งแสดงว่าเชื้อมีการสังเคราะห์เมลานิน โดยเปรียบเทียบกับ negative control บนอาหาร TY ที่ไม่ได้เติม L-tyrosine และ CuSO_4

11. การสังเคราะห์ IAA

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Tris-TMRT Broth (Nuntagij et al. 1997 : 183 - 187) เขย่าในที่มืด ด้วยความเร็ว 180 rpm ที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 7 วัน นำ supernatant 1 มิลลิลิตร มาทำปฏิกิริยาโดยวิธี Colorimetric (Gordon and Weber) วัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ 530 นาโนเมตรด้วยเครื่อง UV/VIS Spectrophotometer รุ่น CE1011 1000 SERIES (Cecle, Cambridge, UK) ทำ 3 ซ้ำแล้วหาค่าเฉลี่ย นำค่าเฉลี่ยที่ได้ไปเทียบเป็นความเข้มข้นของ IAA ได้จากกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของ IAA และค่าดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ 530 นาโนเมตร

4. การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน 16S rRNA

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-mannitol broth (Vincent 1970) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร และเหวี่ยงปั่นเก็บตะกอนเซลล์ด้วยความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำตะกอนเซลล์ที่ได้มาสกัด total genomic DNA โดยการทำให้เซลล์แตก เติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 500 ไมโครลิตร ทำการ resuspend และเหวี่ยงปั่น 12000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เก็บตะกอนเซลล์แล้วเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 100 ไมโครลิตร ทำการ resuspend แล้วนำไปต้ม 5 นาที แช่น้ำแข็ง 3 นาที และเหวี่ยงปั่น 12000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ปิเปตส่วน supernatant ที่มี total genomic DNA นำมาใช้เป็น template เพื่อทำการเพิ่มจำนวนยีน 16S rDNA โดยใช้ universal primers 1 คู่ คือ UN 16S 926f (5'- AAA CTY AAA KGA ATT GAC GG -3') และ UN 16S 1392r (5'- ACG GGC GGT GTG TRC -3') [Y = C หรือ T; K = G หรือ T; R = A หรือ G] (Lane 1991) โดยเทคนิค polymerase chain reaction (PCR) ซึ่งสภาวะที่ใช้คือ 1 cycle ที่ 98° C เป็นเวลา 5 นาที, 34 cycles ประกอบด้วย 95° C เป็นเวลา 30 วินาที, 62° C เป็นเวลา 30 วินาที, 72° C เป็นเวลา 1 นาที และ 1 cycle ที่ 72° C เป็นเวลา 5 นาที ทำการเก็บผลของปฏิกิริยาที่ 4° C (Pongsilp et al. 2002) ซึ่งปริมาตรทั้งหมดเท่ากับ 25 µl โดยประกอบด้วย 2.5 µl ของ 10x บัฟเฟอร์, 2 µl ของ 2.5 mM dNTP, 2 µl ของ 50 mM MgCl₂, 1 µl ของแต่ละ primer และ 0.25 µl ของ Taq polymerase (5U/µl) หลังจากนั้นตรวจสอบผลของปฏิกิริยา PCR ใน 1% agarose gel electrophoresis ทำการสกัดแยกชิ้นส่วน DNA ออกจาก agarose โดยใช้ QIA Quick Gel Extraction kit (Qiagen, Valencia, CA) นำชิ้น DNA ที่แยกได้มาทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rDNA โดย Bio Basic (Markham, Canada) และเปรียบเทียบฐานข้อมูล ของ NCBI โดยใช้โปรแกรม BLASTN (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)

5. การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *nifH*

ทำการสกัด total genomic DNA ของเชื้อแต่ละสายพันธุ์ตามวิธีการในหัวข้อ 3.4 ปีเปิด ส่วน supernatant นำมาใช้เป็น template เพื่อเพิ่มจำนวนยีน *nifH* โดยใช้ primer 2 คู่ primer คู่แรก ได้แก่ primer *nifHF* (5'-TACGGNAARGGSGGNATCGGCAA-3') และ primer *nifHI* (5'-AGCATGTCYTCSAGYTCNTCCA-3') [Y = C หรือ T; H = A, C หรือ T; R = A หรือ G; S = C หรือ G; K = G หรือ T; N = A, C, G หรือ T; I = inosine (Laguerre et al. 1994, 1997, 2001) โดยเทคนิค polymerase chain reaction (PCR) ซึ่งใช้สภาวะที่ดัดแปลงจากวิธีการของ Laguerre et al. (1997, 2001) คือ 1 cycle ที่ 95°C เป็นเวลา 3 นาที, 34 cycles ประกอบด้วย 94°C เป็นเวลา 1 นาที, 60°C เป็นเวลา 1 นาที, 72°C เป็นเวลา 2 นาที และ 1 cycle ที่ 72°C เป็นเวลา 3 นาที ทำการเก็บผลของปฏิกิริยาที่ 4°C ซึ่งปริมาตรทั้งหมดเท่ากับ 25 μ l โดยประกอบด้วย 2.5 μ l ของ 10x บัฟเฟอร์, 2 μ l ของ 2.5 mM dNTP, 2 μ l ของ 50mM MgCl₂, 1 μ l ของแต่ละ primer และ 0.25 μ l ของ Taq polymerase (5U/ μ l) primer คู่ที่สอง ได้แก่ primer *Zehr-nifHf* (5'- TGYGAYCCNAARGCNGA-3') และ primer *Zehr-nifHr* (5'-ADNGCCATCATYTCNCC-3') (Zehr and McReynolds 1989) สภาวะที่ใช้คือ 1 cycle ที่ 94°C เป็นเวลา 1 นาที, 39 cycles ประกอบด้วย 94°C เป็นเวลา 1 นาที, 57°C เป็นเวลา 2 นาที, 72°C เป็นเวลา 2 นาที และ 1 cycle ที่ 72°C เป็นเวลา 3 นาที ทำการเก็บผลของปฏิกิริยาที่ 4°C (Chowdhury et al. 2008) ซึ่งปริมาตรทั้งหมดเท่ากับ 50 μ l โดยประกอบด้วย 5 μ l ของ 10x บัฟเฟอร์, 4 μ l ของ 50 mM MgCl₂, 4 μ l ของ 2.5 mM dNTP, 1 μ l ของแต่ละ primer และ 0.5 μ l ของ Taq polymerase (5U/ μ l) หลังจากนั้นตรวจผลของปฏิกิริยา PCR ใน 1% agarose gel electrophoresis ทำการสกัดแยกชิ้นส่วน DNA ออกจาก agarose โดยใช้ QIA Quick Gel Extraction kit (Qiagen, Valencia, CA) นำชิ้น DNA ที่แยกได้มาทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *nifH* โดย Bio Basic (Markham, Canada) และเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้กับข้อมูลลำดับ นิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล ของ NCBI โดยใช้โปรแกรม BLASTN (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)

6. การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *nodC*

ทำการสกัด total genomic DNA ของเชื้อแต่ละสายพันธุ์ตามวิธีการในหัวข้อ 3.4 ปีเปิด ส่วน supernatant นำมาใช้เป็น template เพื่อเพิ่มจำนวนยีน *nodC* โดยใช้ primer 1 คู่ ได้แก่ primer *nodCF* (5'- AYGTHGTYGAYGACGGTTC -3') และ primer *nodCI* (5'- CGYGACAGCCANTCKCTATTG -3') [Y = C หรือ T; H = A, C หรือ T; R = A หรือ G; S = C หรือ G; K = G หรือ T; N = A, C, G หรือ T; I = inosine (Laguerre et al. 1994, 1997, 2001) โดย

เทคนิค polymerase chain reaction (PCR) ซึ่งสภาวะที่ใช้ คือ 1 cycle ที่ 95°C เป็นเวลา 3 นาที, 34 cycles ประกอบด้วย 94°C เป็นเวลา 1 นาที, 55°C เป็นเวลา 1 นาที, 72°C เป็นเวลา 2 นาที และ 1 cycle ที่ 72°C เป็นเวลา 3 นาที ทำการเก็บผลผลิตของปฏิกิริยาที่ 4°C (Laguerre et al. 1997, 2001) ซึ่งปริมาตรทั้งหมดเท่ากับ 25 μ l โดยประกอบด้วย 2.5 μ l ของ 10x บัฟเฟอร์, 2 μ l ของ 2.5 mM dNTP, 2 μ l ของ 50 mM MgCl₂, 1 μ l ของแต่ละ primer และ 0.25 μ l ของ Taq polymerase (5U/ μ l) หลังจากนั้นตรวจผลของปฏิกิริยา PCR ใน 1% agarose gel electrophoresis ทำการสกัดแยกชิ้นส่วน DNA ออกจาก agarose โดยใช้ QIA Quick Gel Extraction kit (Qiagen, Valencia, CA) นำชิ้น DNA ที่แยกได้มาทำการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *nodC* โดย Bio Basic (Markham, Canada) และเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้กับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูลของ NCBI โดยใช้โปรแกรม BLASTN (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)

7. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำค่าต่าง ๆ ที่ได้จากการทดลอง มาทำการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ ใช้

โปรแกรม SPSS โดยใช้วิธี analysis of variance (ANOVA)

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

8. การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ฟอสฟาเตส (phosphatase)

เตรียมเชื้อเริ่มต้นแต่ละสายพันธุ์ให้มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 5.00×10^6 เซลล์ต่อ มิลลิลิตร จากนั้นทำการเหวี่ยงปั่นสารแขวนลอยของเชื้อ 5 มิลลิลิตร ที่ 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ต่อมานำตะกอนเซลล์ที่ได้มาล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ เหวี่ยงปั่นตกตะกอนเซลล์ ทำซ้ำเช่นเดิมเป็นจำนวน 5 ครั้ง จากนั้นเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อปรับปริมาตรเท่ากับที่จะใช้ ต่อมานำมาเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya broth (Pikovskaya 1948) เขย่าด้วยความเร็ว 180 รอบต่อนาที ที่ อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 4 วัน หาจำนวนเซลล์ที่เจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya broth (Pikovskaya 1948) โดยวิธี Total plate count บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-Mannitol broth (Vincent 1970) ที่เติม congo red ความเข้มข้น 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หลังจากนั้นเหวี่ยงปั่นแยกส่วน supernatant และตะกอนเซลล์ ซึ่งส่วนตะกอนเซลล์จะทำการ resuspend ในน้ำกลั่นปลอดเชื้อ sonicate เป็นเวลา 10 นาที แล้วเหวี่ยงปั่นตกตะกอน เก็บส่วน supernatant อีกครั้ง นำทั้งสองส่วนที่ได้มาวัดกิจกรรมของเอนไซม์ phosphatase โดยวิธีการของ Garrahan et al. (1969) นำ supernatant 3 มิลลิลิตร ทำปฏิกิริยากับ reaction buffer 1 มิลลิลิตร ซึ่งได้แก่ Citric acid และ sodium citrate buffer (pH 5), Na₂HPO₄·12H₂O และ NaH₂PO₄·H₂O (pH 7) และ Tris buffer (pH 9.0) เติม 0.5M p-nitrophenyl phosphate 100 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 20 นาที แล้วเติม 3M NaOH

ปริมาตร 1 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ 405 นาโนเมตรด้วยเครื่อง UV/VIS Spectrophotometer รุ่น CE1011 1000 SERIES (Cecle, Cambridge, UK) ทำการทดลอง 3 ซ้ำแล้วหาค่าเฉลี่ย นำค่าเฉลี่ยที่ได้ไปเทียบเป็นความเข้มข้น p-nitrophenyl phosphate จากกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของ p-nitrophenol (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และค่าดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ 405 นาโนเมตรคำนวณกิจกรรมเอนไซม์ (Enzyme activity) โดย 1 ยูนิต (unit) เท่ากับปริมาณของเอนไซม์ที่เปลี่ยนสารตั้งต้น p-nitrophenyl phosphate เป็นผลิตภัณฑ์ p-nitrophenol 1 ไมโครโมลต่อ 1 นาที (Streeter 1989)

9. การศึกษาอิทธิพลของปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ฟอสฟาเตส (phosphatase)

คัดเลือกเชื้อ 3 สายพันธุ์ ที่มีกิจกรรมของเอนไซม์ฟอสฟาเตสมาทำการศึกษาอิทธิพลของปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ phosphatase โดยทำการทดสอบผลของปัจจัยต่าง ๆ ซึ่งประกอบด้วย 1) ชนิดของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ได้แก่ D-fructose และ D-xylose 2) ชนิดของน้ำตาลโมเลกุลคู่ ได้แก่ sucrose และ maltose 3) ชนิดของ sugar alcohol ได้แก่ D-sorbitol และ D-mannitol 4) ชนิดของโพลีแซคคาไรด์ ได้แก่ soluble starch 5) ชนิดของกรดอะมิโน ได้แก่ L-alanine และ L-lysine 6) ชนิดของสารอนินทรีย์ในโตรเจน ได้แก่ Urea, NH_4Cl และ KNO_3 7) ชนิดของสารประกอบฟอสเฟต ได้แก่ AlPO_4 โดยวิธีการศึกษาเช่นเดียวกับในข้อ 3.8

บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. การศึกษาลักษณะคุณสมบัติทางฟิโนไทป์ของเชื้อแบคทีเรียปมรากพืชสมุนไพร

1.1 การผลิตกรด-ด่าง

จากการศึกษาการผลิตกรด-ด่างของเชื้อแบคทีเรีย 56 สายพันธุ์ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-mannitol agar ที่เติม bromthymol blue ที่มีความเข้มข้น 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงในภาพที่ 6 พบว่า เชื้อที่มีการผลิตกรดปริมาณมาก มีจำนวนทั้งสิ้น 46 สายพันธุ์ เชื้อที่มีการผลิตกรดในปริมาณน้อย มีจำนวนทั้งสิ้น 4 สายพันธุ์ และเชื้อที่ไม่มีการผลิตกรด-ด่าง มีจำนวนทั้งสิ้น 6 สายพันธุ์ ผลการผลิตกรด-ด่าง แสดงในตารางที่ 5



ภาพที่ 6: ผลการเปลี่ยนสีของอาหารจากการผลิตกรดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-mannitol agar ที่เติม

bromthymol blue ที่มีความเข้มข้น 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็น pH indicator

A: อาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-mannitol agar, pH 6.8

B: การเจริญของเชื้อที่มีการผลิตกรดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-mannitol agar

C: การเจริญของเชื้อที่มีการผลิตกรดเป็นปริมาณมากบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-mannitol agar

D: การเจริญของเชื้อที่ไม่มีการผลิตกรด-ด่างบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-mannitol agar

ตารางที่ 5: ผลการผลิตรวด-ต่างของเชื้อแบคทีเรียปริมาณของพืชสมุนไพร

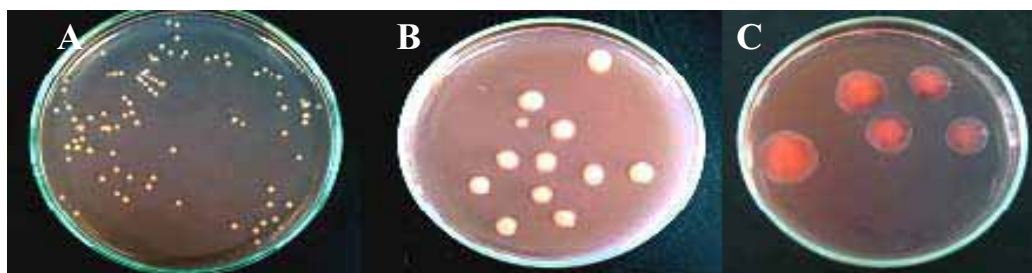
สายพันธุ์ แบคทีเรีย	การผลิตรวด-ต่าง	สายพันธุ์ แบคทีเรีย	การผลิตรวด-ต่าง	สายพันธุ์ แบคทีเรีย	การผลิตรวด-ต่าง
DASA 57003	กรุดมาก	DASA 64006	กรุดมาก	DASA 68003	กรุดมาก
DASA 57004	กรุดมาก	DASA 64008	กริด	DASA 68006	กรุดมาก
DASA 57005	กรุดมาก	DASA 64010	กรุดมาก	DASA 68010	ไม่มีการผลิตรวด-ต่าง
DASA 57009	กรุดมาก	DASA 64011	กรุดมาก	DASA 68012	กรุดมาก
DASA 57010	กรุดมาก	DASA 64012	กรุดมาก	DASA 68020	กรุดมาก
DASA 57015	กรุดมาก	DASA 64014	กรุดมาก	DASA 68025	กรุดมาก
DASA 57019	ไม่มีการผลิตรวด-ต่าง	DASA 64016	กรุดมาก	DASA 68030	ไม่มีการผลิตรวด-ต่าง
DASA 57020	กรุดมาก	DASA 64020	กรุดมาก	DASA 68032	กรุดมาก
DASA 57024	กรุดมาก	DASA 64021	กรุดมาก	DASA 68053	กรุดมาก
DASA 57027	กรุดมาก	DASA 64022	กรุดมาก	DASA 68055	กรุดมาก
DASA 57034	กรุดมาก	DASA 64023	กรุดมาก	DASA 68056	ไม่มีการผลิตรวด-ต่าง
DASA 57038	กริด	DASA 64026	กรุดมาก	DASA 68058	กรุดมาก
DASA 57050	กรุดมาก	DASA 64027	กรุดมาก	DASA 68061	กรุดมาก

ตารางที่ 5 (ต่อ)

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	การผลิตกรด-ต่าง	สายพันธุ์ แบคทีเรีย	การผลิตกรด-ต่าง	สายพันธุ์ แบคทีเรีย	การผลิตกรด-ต่าง	สายพันธุ์ แบคทีเรีย	การผลิตกรด-ต่าง
DASA 57053	กรดมาก	DASA 64031	กรดมาก	DASA 68062	กรดมาก		
DASA 57057	กรดมาก	DASA 64034	กรดมาก	DASA 68066	กรดมาก		
DASA 57065	กรดมาก	DASA 64038	กรดมาก	DASA 68069	กรดมาก		
DASA 57066	กรดมาก	DASA 64040	กรดมาก	DASA 68070	กรดมาก		
DASA 57075	กรดมาก	DASA 64042	กรดมาก	DASA 68071	ไม่มีการผลิตกรด-ต่าง		ไม่มีการผลิตกรด-ต่าง
DASA 57076	กรด	DASA 57098	กรด		กรด		

1.2 ลักษณะของโคโลนี

จากการศึกษาลักษณะโคโลนี รวมทั้งการย้อมแกรม พบว่า เมื่อเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปมรากพืชสมุนไพรมานานในแต่ละสายพันธุ์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-mannitol agar ที่เติม congo red บ่มเชื้อที่ อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 3-7 วัน ได้ผลดังแสดงในภาพที่ 7 และ ตารางที่ 6



ภาพที่ 7: ผลลักษณะ โคโลนีของเชื้อแบคทีเรียปมรากของพืชสมุนไพรมานานอาหารเลี้ยงเชื้อ

Yeast-mannitol agar, pH 6.8 ที่มี congo red

A: โคโลนีมีลักษณะกลม นูน ขอบเรียบ สีขาวหรือสีขาวอมชมพู ทึบแสง มีเมือก และขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-3.0 มิลลิเมตร

B: โคโลนีมีลักษณะกลม นูน ขอบเรียบ สีขาวหรือสีขาวอมชมพู ทึบแสง มีเมือก และขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.0-9.0 มิลลิเมตร

C: โคโลนีมีลักษณะกลม นูน ขอบเรียบ สีขาวหรือสีขาวอมชมพู กึ่งโปร่งแสง มีเมือก และขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.0-14.0 มิลลิเมตร

ตารางที่ 6: ลักษณะโคโลนี และการติดสีแกรมของเชื้อแบคทีเรียปมรากพืชสมุนไพรมานาน

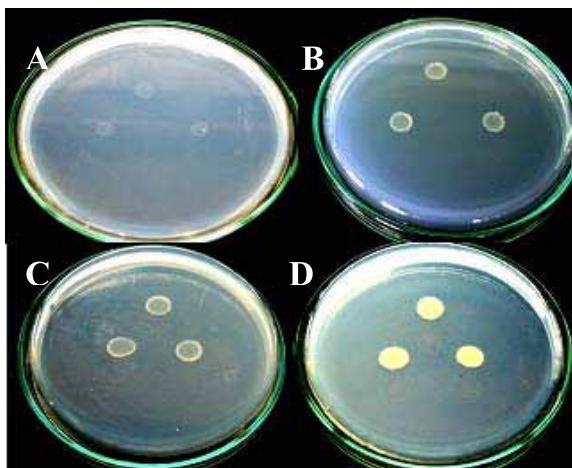
สายพันธุ์แบคทีเรีย	ลักษณะโคโลนี	การติดสีแกรมและลักษณะเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์
DASA 57003	ลักษณะแบบ C	เป็นท่อน ขนาด $1 \times 2 \mu\text{m}$ ติดสีแกรมลบและไม่สร้างสปอร์
DASA 57004	ลักษณะแบบ C	เป็นท่อน ขนาด $1 \times 2 \mu\text{m}$ ติดสีแกรมลบและไม่สร้างสปอร์
DASA 57005	ลักษณะแบบ A	เป็นท่อน ขนาด $1 \times 1-2 \mu\text{m}$ ติดสีแกรมลบและไม่สร้างสปอร์
DASA 57009	ลักษณะแบบ A	เป็นท่อน ขนาด $1 \times 1-2 \mu\text{m}$ ติดสีแกรมลบและไม่สร้างสปอร์
DASA 57010	ลักษณะแบบ C	เป็นท่อน ขนาด $1 \times 2 \mu\text{m}$ ติดสีแกรมลบและไม่สร้างสปอร์

ตารางที่ 6 (ต่อ)

สายพันธุ์แบคทีเรีย	ลักษณะโคโลนี	การติดสีแกรมและลักษณะเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์
DASA 68070	ลักษณะแบบ C	เป็นท่อน ขนาด $1 \times 2 \mu\text{m}$ ติดสีแกรมลบและไม่สร้างสปอร์
DASA 68071	ลักษณะแบบ A	เป็นท่อน ขนาด $1 \times 1-2 \mu\text{m}$ ติดสีแกรมลบและไม่สร้างสปอร์

1.3. การใช้แหล่งคาร์บอน

จากการศึกษาความสามารถในการใช้แหล่งคาร์บอน 52 ชนิด ของเชื้อแบคทีเรีย ทั้ง 56 สายพันธุ์ โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Amarger et al. (1997) และ Ji and Wilson (2002) ผลการเจริญของเชื้อบนอาหาร Basal medium ที่เติมแหล่งคาร์บอนของเชื้อแบคทีเรีย 56 สายพันธุ์ พบว่า แหล่งคาร์บอนที่เชื้อทุกสายพันธุ์สามารถใช้ในการเจริญ ได้แก่ D-glucose, D-fructose, D-galactose, D-mannose, L-arabinose, mannitol, proline, DL-alanine, L-alanine, L-ornithine monohydrochloride, L-glutamine และ casein แหล่งคาร์บอนที่เชื้อทุกสายพันธุ์ไม่สามารถใช้ได้ ได้แก่ 4-phenylphenol, tannic acid และ benzoic acid ผลการทดสอบการใช้แหล่งคาร์บอนแสดงใน ภาพที่ 8 และตารางที่ 7



ภาพที่ 8: ผลการเจริญของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Basal medium ที่เติมแหล่งคาร์บอน

- A: ไม่มีการเจริญของเชื้อ (-) แสดงว่า เชื้อไม่สามารถใช้แหล่งคาร์บอนที่ทำการทดสอบ
 B: มีการเจริญของเชื้อปริมาณน้อย (+) แสดงว่า เชื้อสามารถใช้แหล่งคาร์บอนที่ทำการทดสอบได้น้อย

C: มีการเจริญของเชื้อปริมาณปานกลาง (++) แสดงว่า เชื้อสามารถใช้แหล่งคาร์บอนที่ทำการทดสอบได้ปานกลาง

D: มีการเจริญของเชื้อปริมาณมาก (+++) แสดงว่า เชื้อสามารถใช้แหล่งคาร์บอนที่ทำการทดสอบได้มาก

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ตารางที่ 7: ความสามารถในการใช้แหล่งคาร์บอนของเชื้อแบคทีเรียปรอทที่เปรียบราคาพืชสมุนไพร

แหล่งคาร์บอน	สายพันธุ์ DASA																				
	57003	57004	57005	57009	57010	57015	57019	57020	57024	57027	57034	57038	57050	57053	57057	57065	57066	57075	57076	57098	
DL-alanine	+++	+	++	+	++	+	++	++	+	++	+	+	++	++	++	++	+	++	++	+	++
glycerol	+	+	+	+	+	+	++	+++	+	++	+	+	+	+	+++	+	+	+	++	+	+
L-asparagine monohydrate	+++	+	++	+	++	+	++	++	++	++	++	+	++	++	+	+	+	++	++	+	+
L-alanine	+++	++	+	+	++	++	++	++	+	++	+	+	++	++	+	+	+	++	++	+	+
proline	+++	+	++	+	++	++	++	++	+	++	+	+	++	++	+	+	+	++	++	+	++
mannitol	+	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+	+++	+++	+++
lithium lactate	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-fructose	+++	++	++	+	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	++	++	++	++	++	+++	++	++	+	+++
L-ornithine monohydrochloride	+++	+	+	+	++	+	+	++	++	++	+	+	++	++	+	+	++	++	++	+	++
L-arabinose	+	++	+++	+	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++
casein	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
sodium tartrate dehydrate	+++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
D-glucose	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
D-xylose	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
L-glutamine	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+	+++	+++	+++
D-mannose	+	+	+	+	++	+++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++	+	++
D-galactose	++	++	++	+	++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	++	+	++	++	++
ammonium citrate	+++	+	+	+	++	++	+	+++	++	++	+	+	++	++	++	+	++	++	+	+	++
potassium sodium tartrate	+++	+	+	-	+	+	+	++	++	++	+	+	++	++	+	-	++	++	+	+	++
isopropyl alcohol	++	+	+	-	+	+	+	++	++	++	+	+	++	++	+	-	++	++	+	+	++
lactose	+++	++	++	-	++	++	++	+++	++	++	++	++	++	++	++	-	++	++	++	++	++
D-maltose	+	++	++	-	++	+++	++	++	++	++	+++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++
D-serine	++	+	+	+	+	+	+	++	++	++	+	+	++	++	+	+	+	++	++	+	++
DL-valin	+++	+	+	-	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++
sodium benzoate	++	-	-	-	-	-	++	+	++	++	-	-	++	++	-	-	-	-	-	-	+
dextrose	+	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+	+++	+++	+++

- หมายถึง ไม่มีการเจริญของเชื้อ, + หมายถึง มีการเจริญของเชื้อปริมาณน้อย, ++ หมายถึง มีการเจริญของเชื้อปริมาณปานกลาง, +++ หมายถึง มีการเจริญของเชื้อปริมาณมาก

ตารางที่ 7 (ต่อ)

แหล่งคาร์บอน	ดัชนี DASA																			
	57003	57004	57005	57009	57010	57015	57019	57020	57024	57027	57034	57038	57050	57053	57057	57065	57066	57075	57076	57098
sodium acetate	+				+	+	+	++	+	+	+	+	+		+	+	+		+	+
DL-lysine	++	+	++	+	+	++	++	++	++	++	+	+	++		+	+	+		+	+
DL-aspartic acid	+++	+	+	+	+	+++	++	++	+	+	+	+	+		+++	-	+		+	+
D-cellobiose	++	++	+++	+	++	++	++	++	++	++	+	+	++		++	+	++		++	++
ammonium oxalate	+++	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+		+	+
sucrose	+++	++	+++	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++		++	++	++		++	++
glycine	+++	-	+++	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++		++	+	+		++	+
trehalose	++	-	++	-	+	++	++	+	+	+	-	-	++		+	+	+		+	+
galactonic acid	-	++	++	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+		+	+
α-cellulose	+++	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+		+	-	-		+	+
anthrone	+++	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+		+	-	-		+	+
urea	+++	-	+++	-	+++	+++	-	-	-	+++	+++	-	+++		+++	-	-		+++	+++
adenitol	+++	-	+	-	+	+++	-	-	-	+	-	-	+		+	-	-		+	+
D-raffinose	+++	-	-	-	-	++	-	-	+	-	-	-	+++		+	-	-		+	+
xylitol	++	-	+	+	+	+++	-	+	+	+	-	-	++		+	-	-		+	+
inulin	++	-	-	+	-	++	-	-	-	-	-	-	++		+	+	-		+	+
myo-inositol	++	-	+	-	-	++	-	+	+	+	+	-	++		+	-	-		+	+
D-sorbitol	++	-	-	+	-	++	-	+	+	+	+	-	++		+	-	-		+	+
potassium acetate	+++	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+		+	+	+		+	+
sorbose	++	-	-	++	-	-	-	-	-	+	-	-	+		+	+	+		+	+
malic acid	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-		-	-
phthalic acid	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-		-	-
citric acid	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+		-	-	-		-	-
4-phenylphenol	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+		-	-	-		-	-
tannic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-		-	-
benzoic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-		-	-

- หมายถึง ไม่มีการเจริญของเชื้อ, + หมายถึง มีการเจริญของเชื้อปริมาณน้อย, ++ หมายถึง มีการเจริญของเชื้อปริมาณปานกลาง, +++ หมายถึง มีการเจริญของเชื้อปริมาณมาก

ตารางที่ 7 (ต่อ)

แหล่งกำเนิด	สายพันธุ์ DASA																	
	64006	64008	64010	64011	64012	64014	64016	64020	64021	64022	64023	64026	64027	64031	64034	64038	64040	64042
DL-alanine	+++	+	+	+	++	+	+	++	+	+	+	+	+	+	++	+	+	+++
glycerol	+	++	++	++	+	+	+	++	+	++	++	++	+	+	+	+	+	+
L-asparagine monohydrate	+++	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	++	+	+
L-alanine	+++	+	+	++	+	+	+	++	+	+	+	+	+	+	++	++	+	++
proline	+++	+	++	+	++	++	+	++	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+
mannitol	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
lithium lactate	+++	+	++	+	+	+	+	++	+	+	+	+	+	+	++	+	+	+
D-fructose	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	++	++	+++	+++	+++	+	+	+	+
L-ornithine monohydrochloride	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+++	+++	+	+
L-arabinose	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	++	++	++	++	++	++	+	+	+
casein	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++
sodium tartrate dehydrate	+++	+	+	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+++	+	+	+
D-glucose	++	+	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	+	+
D-xylose	++	++	++	++	+++	+++	++	++	+	++	++	++	++	++	+++	++	+	++
L-glutamine	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+
D-mannose	+	+	++	++	+	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++
D-galactose	++	+	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	+	+
ammonium citrate	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+++	+	+	+
potassium sodium tartrate	+++	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	+	-
isopropyl alcohol	++	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
lactose	+++	-	+++	+	++	++	+++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	-	-
D-maltose	++	-	++	++	+++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	-
D-serine	++	+	+	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	++	+	+
DL-valin	+++	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	++
sodium benzoate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
dextrose	+	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+

- หมายถึง ไม่มีการเจริญของเชื้อ, + หมายถึง มีการเจริญของเชื้อปริมาณน้อย, ++ หมายถึง มีการเจริญของเชื้อปริมาณปานกลาง, +++ หมายถึง มีการเจริญของเชื้อปริมาณมาก

ตารางที่ 7 (ต่อ)

แหล่งคาร์บอน	สายพันธุ์ DASA																	
	64006	64008	64010	64011	64012	64014	64016	64020	64021	64022	64023	64026	64027	64031	64034	64038	64040	64042
sodium acetate	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
DL-lysine	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+++	+	+	+
DL-aspartic acid	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+++	+	+	-
D-cellobiose	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	+
sucrose	+++	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	-
ammonium oxalate	+++	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	-	-
glycine	+++	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	-	+
trehalose	++	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	++	+	+	-
galactonic acid	-	-	+	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
α-cellulose	-	-	+	-	++	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+
anthrone	+++	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+++	-	-	-
urea	+++	-	+++	-	+++	-	-	+++	+	+++	-	-	+++	+	++	++	-	-
adenitol	+++	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+++	++	+	-
D-raffinose	+++	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	++	++	+	-
xylitol	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	++	+	-
inulin	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	+
myo-inositol	++	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	+	-
D-sorbitol	++	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	-	+	+
potassium acetate	+++	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
sorbitose	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	+	+	-
malic acid	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
phthalic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
citric acid	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-phenylphenol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
tannic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
benzoic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- หมายถึง ไม่มีการเจริญของเชื้อ, + หมายถึง มีการเจริญของเชื้อปริมาณน้อย, ++ หมายถึง มีการเจริญของเชื้อปริมาณปานกลาง, +++ หมายถึง มีการเจริญของเชื้อปริมาณมาก

ตารางที่ 7 (ต่อ)

แหล่งกำเนิด	สายพันธุ์ DASA																	
	68003	68006	68010	68012	68020	68025	68030	68032	68053	68055	68056	68058	68061	68062	68066	68069	68070	68071
DL-alanine	+	+	++	+	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
glycerol	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-asparagine monohydrate	+	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-alanine	+	++	+	++	+	+	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
proline	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+
mannitol	+	++	+++	+	++	+	+++	+	++	++	+	+	+	+	+	+	++	+
lithium lactate	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-fructose	+	+	+++	+	++	+	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-ornithine monohydrochloride	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-arabinose	++	++	++	+	++	+	++	+	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+
casein	+	+++	+	+	+	+++	+	+	+	+	+	+++	+	+	+	+	+	+
sodium tartrate dehydrate	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-glucose	+	+	++	+	++	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+
D-xylose	+	++	++	+	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-glutamine	+	+	+++	+	++	+	+++	+	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+
D-mannose	+	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	++	+	+	++	++
D-galactose	+	+	++	+	++	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+
ammonium citrate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+
potassium sodium tartrate	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
isopropyl alcohol	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
lactose	-	-	++	-	++	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+
D-maltose	-	-	++	+	++	-	++	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
D-serine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
DL-valin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
sodium benzoate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
dextrose	+	-	+++	-	+++	-	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

- หมายถึง ไม่มีการเจริญของเชื้อ, + หมายถึง มีการเจริญของเชื้อปริมาณน้อย, ++ หมายถึง มีการเจริญของเชื้อปริมาณปานกลาง, +++ หมายถึง มีการเจริญของเชื้อปริมาณมาก

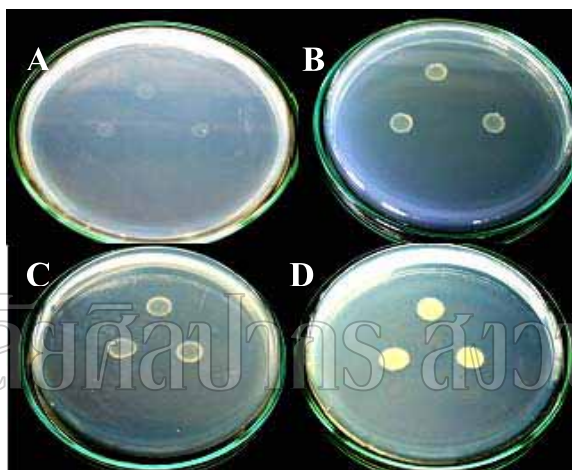
ตารางที่ 7 (ต่อ)

แหล่งคาร์บอน	สายพันธุ์ DASA																	
	68003	68006	68010	68012	68020	68025	68030	68032	68053	68055	68056	68058	68061	68062	68066	68069	68070	68071
sodium acetate	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DL-lysine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	+	+	+	+	+
DL-aspartic acid	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
D-cellobiose	-	-	++	+	++	-	++	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
sucrose	+	-	++	-	++	-	++	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
ammonium oxalate	-	-	++	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
glycine	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+
trehalose	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
galactonic acid	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α-cellulose	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
anthrone	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
urea	-	-	+++	-	+++	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
adenitol	-	-	+	-	+	-	++	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
D-raffinose	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
xylitol	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
inulin	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
myo-inositol	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
D-sorbitol	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
potassium acetate	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
sorbitose	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
malic acid	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
phthalic acid	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
citric acid	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4-phenylphenol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
tannic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
benzoic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- หมายถึง ไม่มีการเจริญของเชื้อ, + หมายถึง มีการเจริญของเชื้อปริมาณน้อย, ++ หมายถึง มีการเจริญของเชื้อปริมาณปานกลาง, +++ หมายถึง มีการเจริญของเชื้อปริมาณมาก

1.4 การใช้แหล่งไนโตรเจน

จากการศึกษาความสามารถในการใช้แหล่งไนโตรเจน 30 ชนิดของเชื้อแบคทีเรีย 56 สายพันธุ์ โดยวิธีการที่ดัดแปลงจากวิธีการของ Amarger et al. (1997) และ Ji and Wilson (2002) ผลการเจริญของเชื้อบนอาหาร Basal medium ที่เติมแหล่งไนโตรเจนของเชื้อแบคทีเรีย 56 สายพันธุ์ พบว่า แหล่งไนโตรเจนที่เชื้อทุกสายพันธุ์สามารถใช้ในการเจริญ ได้แก่ DL-lysine, DL-valine, DL-phenyl alanine, ammonium molybdate-4-hydrate และ proline แหล่งไนโตรเจนที่เชื้อทุกสายพันธุ์ไม่สามารถใช้ได้ ได้แก่ sodium barbitone และ trimethyl ammonium bromide ผลการทดสอบการใช้แหล่งไนโตรเจนแสดงในภาพที่ 9 และตารางที่ 8



ภาพที่ 9: ผลการเจริญของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Basal medium ที่เติมแหล่งไนโตรเจน

- A: ไม่มีการเจริญของเชื้อ (-) แสดงว่า เชื้อไม่สามารถใช้แหล่งไนโตรเจนที่ทำการทดสอบ
- B: มีการเจริญของเชื้อปริมาณน้อย (+) แสดงว่า เชื้อสามารถใช้แหล่งไนโตรเจนที่ทำการทดสอบได้น้อย
- C: มีการเจริญของเชื้อปริมาณปานกลาง (++) แสดงว่า เชื้อสามารถใช้แหล่งไนโตรเจนที่ทำการทดสอบได้ปานกลาง
- D: มีการเจริญของเชื้อปริมาณมาก (+++) แสดงว่า เชื้อสามารถใช้แหล่งคาร์บอนที่ทำการทดสอบได้มาก

ตารางที่ 8: ความสามารถในการใช้แหล่งไนโตรเจนของเชื้อแบคทีเรียปราคทีดิสโมนีเฟอ

แหล่งไนโตรเจน	สายพันธุ์ DASA																				
	57003	57004	57005	57009	57010	57015	57019	57020	57024	57027	57034	57038	57050	57053	57057	57065	57066	57075	57076	57098	
glycine	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++
DL-phenyl alanine	+	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+	++	++	++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++
DL-lysine	+++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++
DL-valin	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++
DL-aspartic acid	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++
urea	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++
L-ornithine monohydrochloride	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
proline	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ammonium dihydrogen orthophosphate	+++	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ammonium molybdate-4-hydrate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-glutamine	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
DL-threonine	+	+	+	-	+	+	+	+	+++	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
DL-alanine	++	+++	+++	-	++	+	+++	++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++
ammonium nitrate	++	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-alanine	+++	+++	+++	-	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
sodium nitrate	+++	+++	+++	-	+++	+	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
L-asparagine	++	+++	+++	-	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
L-tyrosine	++	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ammonium citrate	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ammonium oxalate	+++	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+
D-serine	+++	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+
L-aspartic acid	-	+++	+++	-	+	+++	+	+++	+++	-	+	+++	+++	+++	+	-	+++	+++	+++	+++	+++
L-arginine	+++	+++	+++	-	+++	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ammonium chloride	+++	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
calcium nitrate	+++	+	+++	-	+	+++	+++	+++	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
sodium barbitone	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
galactonoric acid	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
diphenyl amine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
sodium nitrite	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
trimethyl ammonium bromide	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- หมายถึง ไม่มีการเจริญของเชื้อ, + หมายถึง มีการเจริญของเชื้อปริมาณน้อย, ++ หมายถึง มีการเจริญของเชื้อปริมาณปานกลาง, +++ หมายถึง มีการเจริญของเชื้อปริมาณมาก

ตารางที่ 8 (ต่อ)

แหล่งโคโคตอน	สายพันธุ์ DASA																	
	64006	64008	64010	64011	64012	64014	64016	64020	64021	64022	64023	64026	64027	64031	64034	64038	64040	64042
glycine	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	++	++	++	++	++	+	+++	+++	+
DL-phenyl alanine	+++	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
DL-lysine	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	++	++	++	++	++	+	+	+	+
DL-valin	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	++	++	++	++	++	+	+	+	+
DL-aspartic acid	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	++	++	++	++	++	+	+	+	+
urea	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	++	++	++	++	++	+	+	+	+
L-ornithine monohydrochloride	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	++	++	++	++	++	+	+	+	+
proline	+++	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	++	++	++	++	++	+	+	+	+
ammonium dihydrogen orthophosphate	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ammonium molybdate-4-hydrate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-glutamine	+++	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	++	++	++	++	++	+	+++	+	-
DL-threonine	+++	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+++	+	-	+
DL-alanine	++	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	++	++	++	++	++	+	+	-	+
ammonium nitrate	+++	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
L-alanine	++	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	++	++	++	++	++	+	+	+	+
sodium nitrate	+++	-	+	+++	+++	+++	+++	+++	+	++	++	++	++	++	+	+	+	+
L-asparagine	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	++	++	++	++	++	+	+++	+	+
L-tyrosine	+	++	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	++	+	+
ammonium citrate tribasic	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	+
ammonium oxalate	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+++	+	+	+
D-serine	+++	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+
L-aspartic acid	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	++	++	++	++	++	-	-	-	+
L-arginine	+++	-	+	+++	+++	+++	+++	+++	+	++	++	++	++	++	+	+	+	+
ammonium chloride	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	+
calcium nitrate	++	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
sodium barbitione	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
galactonic acid	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
diphenyl amine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
sodium nitrite	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
trimethyl ammonium bromide	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- หมายถึง ไม่มีการเจริญของเชื้อ, + หมายถึง มีการเจริญของเชื้อปริมาณน้อย, ++ หมายถึง มีการเจริญของเชื้อปริมาณปานกลาง, +++ หมายถึง มีการเจริญของเชื้อปริมาณมาก

ตารางที่ 8 (ต่อ)

แหล่งโปรตีน	สายพันธุ์ DASA																	
	68003	68006	68010	68012	68020	68025	68030	68032	68053	68055	68056	68058	68061	68062	68066	68069	68070	68071
glycine	-	+	++	-	+++	+	++	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-
DL-phenyl alanine	++	+	++	+	++	+	++	+	+	+	+	+	++	+++	+	+	+++	+
DL-lysine	++	++	+++	++	+++	++	+++	++	+++	++	++	+	++	++	++	++	+++	+
DL-valin	++	+++	+++	++	+++	++	+++	++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
DL-aspartic acid	-	+	+++	-	+++	+	+++	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-
urea	+	+	+++	-	+++	+	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-ornithine monohydrochloride	+	++	+++	-	+++	+	+++	+	+	+	+	+	++	++	++	++	++	+
proline	++	++	+++	++	+++	++	+++	++	+++	++	++	+++	++	++	++	++	++	++
ammonium dihydrogen orthophosphate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++
ammonium molydate-4-hydrate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-glutamine	+	+	+++	-	+++	+	+++	+	+	+	+	-	+	-	+	++	+	-
DL-threonine	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	++	+	+	-
DL-alanine	-	+	+++	-	+++	+	+++	+	+	+	+	+	-	-	+	+	++	-
ammonium nitrate	-	+	+	-	++	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-
L-alanine	+	+	+++	+	+++	+	+++	+	+	+	+	-	-	-	+	+	++	-
sodium nitrate	-	+	++	-	+++	+	++	+	+	+	+	-	-	-	+	+	++	-
L-asparagine	+	+	+++	+	+++	+	+++	+	+	+	+	+	+	-	+	+	++	-
L-tyrosine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	+	+++	+
ammonium citrate tribasic	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	++	+	+	+	+
ammonium oxalate	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-serine	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-
L-aspartic acid	-	-	+++	-	+++	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-arginine	-	+	+++	-	+++	+	+++	+	+	+	+	+	-	-	+	+	++	-
ammonium chloride	+	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	++
calcium nitrate	+	+	++	-	++	+	++	+	+	+	+	-	+	-	++	++	++	-
sodium barbitione	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
galactonoric acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
diphenyl amine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
sodium nitrite	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
trimethyl ammonium bromide	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- หมายถึง ไม่มีสารพิษของเชื้อปริมาณน้อย, + หมายถึง มีสารพิษของเชื้อปริมาณน้อย, ++ หมายถึง มีสารพิษของเชื้อปริมาณปานกลาง, +++ หมายถึง มีสารพิษของเชื้อปริมาณมาก

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

1.5 ความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ

จากการทดสอบความต้านทานของสารปฏิชีวนะของเชื้อแบคทีเรีย 56 สายพันธุ์ พบว่า ไม่มีเชื้อใดที่มีความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะทุกชนิด เชื้อที่มีความไวต่อสารปฏิชีวนะทุกชนิด มีจำนวนทั้งสิ้น 10 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 57004 DASA 57020 DASA 57034 DASA 57050 DASA 57076 DASA 64012 DASA 64016 DASA 68010 DASA 68030 และ DASA 68055 เชื้อที่มีความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะทุกชนิด ยกเว้น gentamycin และ kanamycin มีจำนวนทั้งสิ้น 4 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 57009 DASA 64040 DASA 68006 และ DASA 68053 เชื้อที่มีความต้านทานต่อ gentamycin และ kanamycin มีจำนวนทั้งสิ้น 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 57066 DASA 57075 และ DASA 64008 ผลการทดสอบความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะแสดงในภาพที่ 10 และตารางที่ 9



ภาพที่ 10: ผลความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะของเชื้อแบคทีเรียปมรากสมุนไพรมะนาว

- A: มีการเจริญของเชื้อแสดงถึงความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ
- B: ไม่มีการเจริญของเชื้อแสดงถึงความไวต่อสารปฏิชีวนะ

ตารางที่ 9: ความต้านทานและความไวต่อสารปฏิชีวนะของเชื้อแบคทีเรียปมรากพืชสมุนไพร

สารปฏิชีวนะ	สายพันธุ์ DASA																			
	57003	57004	57005	57009	57010	57015	57019	57020	57024	57027	57034	57038	57050	57053	57057	57065	57066	57075	57076	57098
Streptomycin (10 µg)	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Spectinomycin (10 µg)	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+
Novobiocin (30 µg)	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
Tetracycline (30 µg)	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Gentamycin (120 µg)	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Kanamycin (30 µg)	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Ampicillin (10 µg)	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-
Ceftazidime (30 µg)	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-
Chloramphenicol (30µg)	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+
Cefotaxime sodium (30 µg)	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-

สายพันธุ์ DASA

สารปฏิชีวนะ	สายพันธุ์ DASA																		
	64006	64008	64010	64011	64012	64014	64016	64020	64021	64022	64023	64026	64027	64031	64034	64038	64040	64042	
Streptomycin (10 µg)	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Spectinomycin (10 µg)	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-
Novobiocin (30 µg)	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-
Tetracycline (30 µg)	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-
Gentamycin (120 µg)	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kanamycin (30 µg)	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ampicillin (10 µg)	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
Ceftazidime (30 µg)	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-
Chloramphenicol (30µg)	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
Cefotaxime sodium (30 µg)	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-

+ หมายถึง เชื้อมีความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ, - หมายถึง เชื้อมีความไวต่อสารปฏิชีวนะ

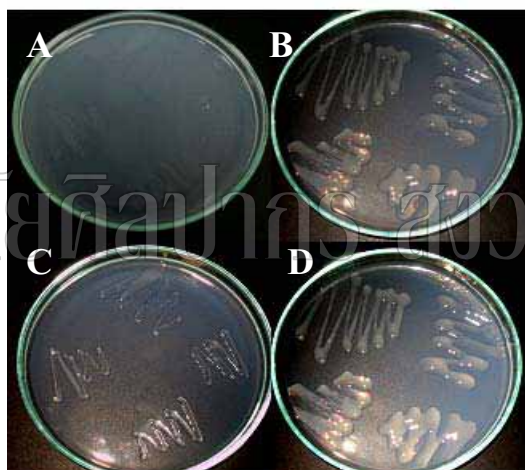
ตารางที่ 9 (ต่อ)

สารปฏิชีวนะ	สายพันธุ์ DASA																	
	68003	68006	68010	68012	68020	68025	68030	68032	68053	68055	68056	68058	68061	68062	68066	68069	68070	68071
Streptomycin (10 µg)	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+
Spectinomycin (10 µg)	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-
Novobiocin (30 µg)	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+
Tetracycline (30 µg)	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+
Gentamycin (120 µg)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kanamycin (30 µg)	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
Ampicillin ((10 µg)	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Ceftazidime (30 µg)	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
Chloramphenicol (30 µg)	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+
Cefotaxime sodium (30 µg)	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+

+ หมายถึง มีความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ, - หมายถึง ไม่มีความไวต่อสารปฏิชีวนะ

1.6 ความต้องการวิตามิน

จากการทดสอบความต้องการวิตามินของเชื้อแบคทีเรีย 56 สายพันธุ์ โดยวิธีการที่ดัดแปลงจากวิธีของ Watson et al. (2001) ผลการทดสอบความต้องการวิตามิน พบว่า เชื้อที่ต้องการวิตามินชนิดใดชนิดหนึ่งสำหรับการเจริญ มีจำนวนทั้งสิ้น 22 สายพันธุ์ แสดงในตารางที่ 11 เชื้อที่ไม่ต้องการวิตามินที่ทดสอบทุกชนิด มีจำนวนทั้งสิ้น 24 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 57015 DASA 57020 DASA 57027 DASA 57066 DASA 57075 DASA 57076 DASA 64006 DASA 64008 DASA 64011 DASA 64012 DASA 64016 DASA 64021 DASA 64023 DASA 64027 DASA 64034 DASA 64038 DASA 64040 DASA 68020 DASA 68025 DASA 68055 DASA 68058 DASA 68061 DASA 68062 และ DASA 68070 ผลของวิตามินที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียปมรากสมุนไพรมองเห็นในภาพที่ 11 และตารางที่ 10



ภาพที่ 11: ผลของวิตามินที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียปมรากสมุนไพรมองเห็น

- A: ไม่มีการเจริญบนอาหารที่ไม่มีวิตามิน แสดงว่า เชื้อต้องการวิตามินในการเจริญ
- B: มีการเจริญของเชื้อบนอาหารที่ไม่มีวิตามิน แสดงว่า เชื้อไม่ต้องการวิตามินในการเจริญ
- C, D: มีการเจริญของเชื้อบนอาหารที่มีวิตามินที่ทดสอบ แสดงว่า เชื้อต้องการวิตามินที่ทดสอบในการเจริญ

ตารางที่ 10: การเจริญของเชื้อแบคทีเรียบรอกาฟัสสมุนไพรมบนอาหารที่มีวิตามินแต่ละชนิด

แหล่งวิตามิน	สายพันธุ์ DASA																			
	57003	57004	57005	57009	57010	57015	57019	57020	57024	57027	57034	57038	57050	57053	57057	57065	57066	57075	57076	57098
BSM medium (ไม่มี vitamin)	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-
Myo-inositol (B)	++	-	-	-	-	+	-	++	+	+	-	+	-	++	-	-	++	++	+	-
aminobenzoic acid (B)	+	-	-	-	+	+	+	++	++	++	-	-	+	+	-	-	++	++	+	+
thiamine hydrochloride (B ₁)	-	-	-	-	+	+	+	++	++	++	-	+	-	++	-	-	++	++	+	+
D-calcium panthothenate (B ₂)	++	-	-	-	+	++	+	++	++	++	-	+	-	++	+	-	++	++	++	++
pyridoxine hydrochloride (B ₆)	+	-	-	-	+	+	+	++	++	++	-	+	-	++	-	-	++	++	++	-
cyanocobalamin (B ₁₂)	+	-	-	-	-	++	+	+	++	++	-	+	-	++	-	-	++	++	++	-
biotin (B ₇)	+	-	-	-	-	+	-	++	++	++	-	+	-	+	-	-	++	++	+	+
nicotonic acid (B ₃)	++	-	-	-	-	++	-	++	++	++	-	-	-	++	-	-	++	++	++	-
folic acid (B ₉)	++	-	-	-	+	+	-	++	++	++	-	+	-	++	-	-	++	++	++	++
L-ascorbic acid (C)	+	-	-	-	-	+	-	++	+	++	-	-	-	+	-	-	++	+	++	-
riboflavin (B ₂)	+	+	-	-	-	++	+	++	++	+	-	-	-	+	-	-	++	++	++	-
yeast extract	+++	+	-	++	-	+++	++	+++	++	++	++	++	-	+++	++	++	+++	+++	+++	+

-: ไม่มีการเจริญของเชื้อ, +: มีการเจริญของเชื้อปริมาณน้อย, ++: มีการเจริญของเชื้อปริมาณปานกลาง, +++: มีการเจริญของเชื้อปริมาณมาก

ตารางที่ 10 (ต่อ)

แหล่งวิตามิน	สายพันธุ์ DASA																	
	64006	64008	64010	64011	64012	64014	64016	64020	64021	64022	64023	64026	64027	64031	64034	64038	64040	64042
BSM medium (ไม่มี vitamin)	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-
Myo-inositol (B)	-	-	-	++	+	-	+	++	++	-	++	-	-	-	-	++	++	-
aminobenzoic acid (B)	-	-	-	+	++	-	++	++	++	+	++	+	+	-	+	++	++	-
thiamine hydrochloride (B ₁)	-	-	-	++	++	+	++	++	++	+	++	-	+	-	+	+	+	-
D-calcium panthothenate (B ₃)	-	-	-	+++	+++	-	+++	+++	+++	-	+++	+	+	-	+++	++	++	-
pyridoxine hydrochloride (B ₆)	-	-	-	++	++	-	++	++	++	-	++	-	-	-	++	+	++	-
cyanocobalamin (B ₁₂)	-	-	-	++	++	-	++	++	++	-	++	-	+	-	+	++	++	-
biotin (B ₇)	-	-	-	+++	++	+	++	++	++	+	-	-	+	-	+	++	++	-
nicotinic acid (B ₃)	-	-	-	+	++	-	-	-	++	-	++	+	-	-	+	++	++	-
folic acid (B ₉)	-	-	-	++	+++	+	+++	++	++	+	++	+	+	-	++	++	++	-
L-ascorbic acid (C)	-	-	-	++	++	-	++	-	++	-	++	-	-	-	+	++	++	-
riboflavin (B ₂)	-	-	-	++	++	+	++	++	++	-	++	+	-	-	++	++	++	-
yeast extract	+	++	+	+++	+++	++	+++	+++	+++	+	+++	++	++	+	+++	+++	+++	+

-: ไม่มีการเจริญของเชื้อ, +: มีการเจริญของเชื้อปริมาณน้อย, ++: มีการเจริญของเชื้อปริมาณปานกลาง, +++: มีการเจริญของเชื้อปริมาณมาก

ตารางที่ 10 (ต่อ)

แหล่งวิตามิน	สายพันธุ์ DASA																	
	68003	68006	68010	68012	68020	68025	68030	68032	68053	68055	68056	68058	68061	68062	68066	68069	68070	68071
BSM medium (ไม่มี vitamin)	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-
Myo-inositol (B)	++	++	+	+	++	++	-	+	+	+	-	+	++	+	+	++	+	-
aminobenzoic acid (B)	++	++	-	+	++	++	-	-	++	+	-	+	++	+	+	++	++	++
thiamine hydrochloride (B ₁)	++	+	-	+	++	++	-	-	+	+	-	+	++	+	++	++	+	+
D-calcium panthothenate (B ₃)	++	++	+	+	++	++	-	+	++	+	-	++	++	+	++	++	++	+
pyridoxine hydrochloride (B ₆)	++	++	-	+	++	++	-	-	+	+	-	+	++	+	++	++	+	-
cyanocobalamin (B ₁₂)	++	++	-	+	++	++	-	-	++	++	-	+	++	+	++	+	-	-
biotin (B ₇)	++	++	+	+	++	++	-	-	++	++	-	++	++	+	++	++	++	-
nicotonic acid (B ₃)	+	++	-	+	++	+	-	-	+	+	-	++	++	+	++	+	++	-
folic acid (B ₉)	++	++	-	+	++	++	-	-	++	++	-	+	++	+	++	++	++	+
L-ascorbic acid (C)	++	++	-	+	++	+	-	-	++	++	-	+	-	+	+	++	++	-
riboflavin (B ₂)	++	++	++	+	++	++	-	-	++	++	-	+	+	++	+	++	++	+
yeast extract	+++	+++	+	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	+++	+++	+++	+	+++	+++	-

-: ไม่มีการเจริญของเชื้อ, +: มีการเจริญของเชื้อปริมาณน้อย, ++: มีการเจริญของเชื้อปริมาณปานกลาง, +++: มีการเจริญของเชื้อปริมาณมาก

ตารางที่ 11: ชนิดของวิตามินที่จำเป็นสำหรับการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์

สายพันธุ์แบคทีเรีย	ชนิดของวิตามินที่จำเป็นสำหรับการเจริญ
DASA 57003	Bm, Ba, B2, B3, B5, B6, B7, B9, B12, C
DASA 57004	B2
DASA 57005	Nd
DASA 57010	Ba, B1, B5, B6, B9
DASA 57019	Ba, B1, B2, B5, B6, B12
DASA 57024	Bm, B1, B5, B6, B7, B12
DASA 57038	Bm, B1, B5, B6, B7, B9, B12
DASA 57050	Ba, , B1, B6
DASA 57053	Bm, Ba, B1, B2, B3, B5, B6, B7, B9, B12, C
DASA 57057	B5
DASA 57098	Ba, , B1, B5, B7, B9
DASA 64014	B1, B2, B7, B9
DASA 64020	Bm, B1, B5, B6, B12
DASA 64022	Ba, B1, B7, B9
DASA 64026	Ba, B2, B3, B5, B9
DASA 68003	Bm, Ba, B1, B2, B3, B5, B6, B7, B9, B12, C
DASA 68006	Bm, Ba, B1, B2, B3, B5, B6, B7, B9, B12, C
DASA 68010	Bm, B2, B5, B7
DASA 68012	Bm, Ba, B1, B2, B3, B5, B6, B7, B9, B12, C
DASA 68032	Nd
DASA 68053	Bm, B5
DASA 68066	Bm, Ba, B1, B2, B3, B5, B6, B7, B9, B12, C
DASA 68069	Bm, Ba, B1, B2, B3, B5, B6, B7, B9, B12, C
DASA 68071	Ba, B1, B2, B5, B9

Bm, Myo-inositol; Ba, Aminobenzoic acid; B1,Thiamine hydrochloride; B2,Riboflavin; B3,Nicotonic acid; B5,D-Calcium panthothenate; B6,Pyridoxine hydrochloride; B7,Biotin; B9,Folic acid; B12,Cyanocobalamin; C, L-Ascorbic acid; Nd, not determined ไม่สามารถระบุผลได้ เนื่องจากเชื้อไม่สามารถเจริญในอาหารที่ทำการทดสอบ

1.7 การเจริญที่ระดับ pH ต่างๆ

จากการศึกษาการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย 56 สายพันธุ์ ที่ระดับ pH ต่าง ๆ ได้แก่ pH 5.0, 6.5 และ 8.0 โดยทำการวัดปริมาณเชื้อเป็นจำนวนเซลล์ต่อมิลลิลิตร พบว่า เชื้อที่มีการเจริญได้ดีที่ระดับ pH 5.0 มีจำนวนทั้งสิ้น 21 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 57003 DASA 57019 DASA 57027 DASA 57034 DASA 57053 DASA 57066 DASA 57076 DASA 57098 DASA 64006 DASA 64012 DASA 64014 DASA 64020 DASA 64021 DASA 64038 DASA 68003 DASA 68010 DASA 68012 DASA 68020 DASA 68061 DASA 68066 และ DASA 68070 เชื้อที่มีการเจริญได้ที่ระดับ pH 8.0 มีจำนวนทั้งสิ้น 28 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 57003 DASA 57004 DASA 57010 DASA 57015 DASA 57019 DASA 57020 DASA 57024 DASA 57034 DASA 57053 DASA 57066 DASA 57076 DASA 64006 DASA 64011 DASA 64012 DASA 64014 DASA 64021 DASA 64023 DASA 64034 DASA 64038 DASA 68003 DASA 68020 DASA 68025 DASA 68058 DASA 68061 DASA 68062 DASA 68066 DASA 68069 และ DASA 68070 จำนวนเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ที่ระดับ pH ต่างๆ แสดงในตารางที่ 12

ตารางที่ 12: จำนวนเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ ที่ระดับ pH 5.0, 6.5 และ 8.0

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)* ของเชื้อแบคทีเรียที่ระดับ pH		
	pH 5.0	pH 6.5	pH 8.0
DASA 57003	$1.47 \times 10^8 \pm 4.16 \times 10^7$	$1.67 \times 10^8 \pm 5.77 \times 10^7$	$4.67 \times 10^9 \pm 1.15 \times 10^9$
DASA 57004	$7.67 \times 10^5 \pm 1.15 \times 10^5$	$1.47 \times 10^8 \pm 3.79 \times 10^7$	$4.16 \times 10^8 \pm 2.06 \times 10^8$
DASA 57005	$1.33 \times 10^7 \pm 5.77 \times 10^6$	$2.00 \times 10^7 \pm 0.00$	$3.33 \times 10^7 \pm 2.08 \times 10^7$
DASA 57009	$8.07 \times 10^7 \pm 1.01 \times 10^7$	$2.76 \times 10^8 \pm 2.31 \times 10^7$	$1.78 \times 10^5 \pm 6.56 \times 10^4$
DASA 57010	$7.30 \times 10^5 \pm 6.04 \times 10^6$	$1.53 \times 10^9 \pm 2.10 \times 10^8$	$9.40 \times 10^8 \pm 6.93 \times 10^7$
DASA 57015	$2.00 \times 10^4 \pm 1.00 \times 10^4$	$4.93 \times 10^8 \pm 5.69 \times 10^7$	$2.20 \times 10^8 \pm 6.08 \times 10^7$
DASA 57019	$3.16 \times 10^8 \pm 6.43 \times 10^7$	$8.00 \times 10^8 \pm 5.57 \times 10^7$	$1.83 \times 10^8 \pm 3.51 \times 10^7$
DASA 57020	$4.30 \times 10^7 \pm 0.00$	$1.16 \times 10^9 \pm 2.15 \times 10^8$	$2.20 \times 10^8 \pm 3.00 \times 10^7$
DASA 57024	$1.83 \times 10^8 \pm 1.89 \times 10^7$	$5.73 \times 10^8 \pm 9.50 \times 10^7$	$1.42 \times 10^9 \pm 1.39 \times 10^8$
DASA 57027	$4.67 \times 10^6 \pm 2.08 \times 10^6$	$8.70 \times 10^8 \pm 3.00 \times 10^7$	$1.33 \times 10^9 \pm 1.62 \times 10^8$
DASA 57034	$3.86 \times 10^9 \pm 4.04 \times 10^8$	$3.53 \times 10^8 \pm 3.06 \times 10^7$	$3.20 \times 10^8 \pm 6.24 \times 10^7$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 12 (ต่อ)

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)* ของเชื้อแบคทีเรียที่ระดับ pH		
	pH 5.0	pH 6.5	pH 8.0
DASA 57038	$3.40 \times 10^7 \pm 3.61 \times 10^6$	$1.05 \times 10^9 \pm 3.46 \times 10^7$	$1.00 \times 10^4 \pm 0.00$
DASA 57050	$5.50 \times 10^7 \pm 5.00 \times 10^6$	$9.33 \times 10^7 \pm 3.79 \times 10^7$	$1.33 \times 10^7 \pm 5.77 \times 10^6$
DASA 57053	$1.00 \times 10^8 \pm 0.00$	$3.30 \times 10^9 \pm 1.40 \times 10^9$	$8.70 \times 10^8 \pm 3.51 \times 10^7$
DASA 57057	$3.00 \times 10^6 \pm 1.73 \times 10^6$	$4.53 \times 10^7 \pm 1.53 \times 10^6$	$4.40 \times 10^7 \pm 3.61 \times 10^6$
DASA 57065	$1.13 \times 10^7 \pm 1.15 \times 10^6$	$2.00 \times 10^7 \pm 0.00$	0.00 ± 0.00
DASA 57066	$6.67 \times 10^8 \pm 1.07 \times 10^8$	$7.47 \times 10^8 \pm 1.31 \times 10^8$	$3.13 \times 10^8 \pm 1.04 \times 10^8$
DASA 57075	$5.20 \times 10^7 \pm 1.00 \times 10^6$	$1.80 \times 10^8 \pm 3.61 \times 10^7$	0.00 ± 0.00
DASA 57076	$3.30 \times 10^8 \pm 7.55 \times 10^8$	$7.30 \times 10^8 \pm 3.61 \times 10^7$	$1.47 \times 10^8 \pm 2.29 \times 10^7$
DASA 57098	$1.41 \times 10^8 \pm 2.15 \times 10^7$	$4.20 \times 10^8 \pm 1.00 \times 10^7$	$4.03 \times 10^2 \pm 1.00 \times 10^2$
DASA 64006	$2.67 \times 10^8 \pm 5.77 \times 10^7$	$2.67 \times 10^9 \pm 6.51 \times 10^8$	$2.22 \times 10^9 \pm 2.43 \times 10^8$
DASA 64008	$1.43 \times 10^7 \pm 4.51 \times 10^6$	$2.00 \times 10^7 \pm 0.00$	$1.00 \times 10^6 \pm 0.00$
DASA 64010	$3.00 \times 10^7 \pm 0.00$	$9.00 \times 10^7 \pm 1.00 \times 10^7$	0.00 ± 0.00
DASA 64011	$8.67 \times 10^5 \pm 1.53 \times 10^5$	$6.47 \times 10^8 \pm 1.51 \times 10^8$	$1.77 \times 10^8 \pm 2.08 \times 10^7$
DASA 64012	$3.00 \times 10^8 \pm 1.00 \times 10^8$	$3.50 \times 10^9 \pm 6.00 \times 10^8$	$2.47 \times 10^9 \pm 6.51 \times 10^8$
DASA 64014	$1.15 \times 10^8 \pm 4.04 \times 10^6$	$3.03 \times 10^8 \pm 2.08 \times 10^7$	$3.97 \times 10^8 \pm 1.53 \times 10^7$
DASA 64016	$6.00 \times 10^6 \pm 0.00$	$2.67 \times 10^7 \pm 1.15 \times 10^7$	0.00 ± 0.00
DASA 64020	$4.30 \times 10^8 \pm 9.85 \times 10^7$	$3.30 \times 10^8 \pm 4.36 \times 10^7$	$1.41 \times 10^6 \pm 1.35 \times 10^5$
DASA 64021	$1.67 \times 10^8 \pm 5.77 \times 10^7$	$3.37 \times 10^8 \pm 3.21 \times 10^7$	$1.87 \times 10^8 \pm 3.51 \times 10^7$
DASA 64022	$1.37 \times 10^6 \pm 2.65 \times 10^5$	$2.40 \times 10^7 \pm 7.94 \times 10^6$	0.00 ± 0.00
DASA 64023	$7.00 \times 10^6 \pm 1.73 \times 10^6$	$9.00 \times 10^8 \pm 2.00 \times 10^8$	$9.17 \times 10^8 \pm 3.79 \times 10^7$
DASA 64026	$1.00 \times 10^5 \pm 0.00$	$3.07 \times 10^7 \pm 5.77 \times 10^5$	$1.00 \times 10^5 \pm 0.00$
DASA 64027	$1.43 \times 10^7 \pm 1.53 \times 10^6$	$6.30 \times 10^8 \pm 1.37 \times 10^8$	$7.46 \times 10^7 \pm 1.16 \times 10^7$
DASA 64031	$9.67 \times 10^6 \pm 2.08 \times 10^6$	$6.33 \times 10^7 \pm 3.21 \times 10^7$	0.00 ± 0.00
DASA 64034	$2.00 \times 10^7 \pm 1.00 \times 10^7$	$1.57 \times 10^9 \pm 1.53 \times 10^8$	$9.87 \times 10^8 \pm 1.15 \times 10^7$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 12 (ต่อ)

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)* ของเชื้อแบคทีเรียที่ระดับ pH		
	pH 5.0	pH 6.5	pH 8.0
DASA 64038	$3.33 \times 10^8 \pm 1.15 \times 10^8$	$5.27 \times 10^9 \pm 1.53 \times 10^8$	$1.60 \times 10^9 \pm 2.65 \times 10^8$
DASA 64031	$9.67 \times 10^6 \pm 2.08 \times 10^6$	$6.33 \times 10^7 \pm 3.21 \times 10^7$	0.00 ± 0.00
DASA 64034	$2.00 \times 10^7 \pm 1.00 \times 10^7$	$1.57 \times 10^9 \pm 1.53 \times 10^8$	$9.87 \times 10^8 \pm 1.15 \times 10^7$
DASA 64038	$3.33 \times 10^8 \pm 1.15 \times 10^8$	$5.27 \times 10^9 \pm 1.53 \times 10^8$	$1.60 \times 10^9 \pm 2.65 \times 10^8$
DASA 64040	0.00 ± 0.00	$2.00 \times 10^6 \pm 0.00$	0.00 ± 0.00
DASA 64042	$4.60 \times 10^7 \pm 3.61 \times 10^6$	$1.00 \times 10^7 \pm 0.00$	0.00 ± 0.00
DASA 68003	$1.00 \times 10^8 \pm 0.00$	$3.97 \times 10^8 \pm 5.51 \times 10^7$	$1.07 \times 10^9 \pm 5.77 \times 10^7$
DASA 68006	$2.67 \times 10^7 \pm 5.77 \times 10^6$	$2.57 \times 10^8 \pm 3.06 \times 10^7$	$9.33 \times 10^6 \pm 1.15 \times 10^5$
DASA 68010	$1.06 \times 10^8 \pm 1.05 \times 10^7$	$5.27 \times 10^8 \pm 5.51 \times 10^7$	$1.90 \times 10^5 \pm 4.00 \times 10^4$
DASA 68012	$2.33 \times 10^8 \pm 5.77 \times 10^7$	$5.00 \times 10^8 \pm 1.73 \times 10^8$	$1.00 \times 10^5 \pm 0.00$
DASA 68020	$1.00 \times 10^9 \pm 9.18 \times 10^9$	$3.47 \times 10^9 \pm 3.21 \times 10^8$	$9.03 \times 10^8 \pm 2.68 \times 10^8$
DASA 68025	$4.67 \times 10^7 \pm 1.53 \times 10^7$	$3.63 \times 10^8 \pm 4.04 \times 10^7$	$6.67 \times 10^8 \pm 4.93 \times 10^7$
DASA 68030	$7.30 \times 10^6 \pm 1.32 \times 10^6$	$1.52 \times 10^8 \pm 9.16 \times 10^7$	$7.30 \times 10^6 \pm 1.32 \times 10^6$
DASA 68032	$2.33 \times 10^7 \pm 5.77 \times 10^6$	$4.17 \times 10^8 \pm 3.51 \times 10^7$	$3.63 \times 10^6 \pm 1.15 \times 10^5$
DASA 68053	$1.67 \times 10^6 \pm 5.77 \times 10^5$	$5.33 \times 10^7 \pm 2.52 \times 10^7$	0.00 ± 0.00
DASA 68055	$1.87 \times 10^6 \pm 1.15 \times 10^5$	$2.90 \times 10^9 \pm 2.65 \times 10^8$	0.00 ± 0.00
DASA 68056	$5.83 \times 10^7 \pm 2.08 \times 10^6$	$1.00 \times 10^6 \pm 0.00$	0.00 ± 0.00
DASA 68058	$4.00 \times 10^6 \pm 0.00$	$1.67 \times 10^8 \pm 6.87 \times 10^8$	$8.53 \times 10^8 \pm 8.08 \times 10^7$
DASA 68061	$1.00 \times 10^8 \pm 0.00$	$1.87 \times 10^8 \pm 9.90 \times 10^8$	$1.21 \times 10^9 \pm 4.04 \times 10^7$
DASA 68062	$1.00 \times 10^7 \pm 0.00$	$1.77 \times 10^8 \pm 4.51 \times 10^7$	$8.13 \times 10^8 \pm 4.73 \times 10^7$
DASA 68066	$4.33 \times 10^8 \pm 2.52 \times 10^8$	$6.47 \times 10^8 \pm 3.51 \times 10^7$	$7.43 \times 10^8 \pm 1.25 \times 10^8$
DASA 68069	$3.00 \times 10^7 \pm 0.00$	$2.53 \times 10^8 \pm 1.00 \times 10^7$	$1.08 \times 10^9 \pm 1.66 \times 10^8$
DASA 68070	$2.00 \times 10^8 \pm 1.00 \times 10^8$	$8.67 \times 10^8 \pm 2.52 \times 10^8$	$9.43 \times 10^8 \pm 1.15 \times 10^7$
DASA 68071	$3.17 \times 10^5 \pm 2.89 \times 10^4$	$6.93 \times 10^7 \pm 1.51 \times 10^7$	0.00 ± 0.00

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

1.8 การเจริญที่ระดับอุณหภูมิต่างๆ

จากการศึกษาการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย 56 สายพันธุ์ ที่อุณหภูมิต่างๆ ได้แก่ 20, 30 และ 40 °C โดยทำการวัดปริมาณเชื้อเป็นจำนวนเซลล์ต่อมิลลิลิตร พบว่า เชื้อที่มีการเจริญได้ที่อุณหภูมิ 20 °C มีจำนวนทั้งสิ้น 31 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 57003 DASA 57004 DASA 57009 DASA 57010 DASA 57019 DASA 57020 DASA 57024 DASA 57038 DASA 57053 DASA 57066 DASA 57075 DASA 57076 DASA 64006 DASA 64014 DASA 64020 DASA 64026 DASA 64034 DASA 64038 DASA 68003 DASA 68010 DASA 68020 DASA 68025 DASA 68030 DASA 68053 DASA 68055 DASA 68058 DASA 68066 DASA 68069 DASA 68070 และ DASA 68071 เชื้อที่มีการเจริญได้ที่อุณหภูมิ 40 °C มีจำนวนทั้งสิ้น 23 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 57003 DASA 57004 DASA 57005 DASA 57010 DASA 57015 DASA 57020 DASA 57027 DASA 57075 DASA 57076 DASA 64006 DASA 64014 DASA 64021 DASA 64034 DASA 64038 DASA 68003 DASA 68010 DASA 68020 DASA 68025 DASA 68058 DASA 68061 DASA 68062 DASA 68069 และ DASA 68070 จำนวนเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ที่ระดับอุณหภูมิต่างๆ แสดงในตารางที่ 13

ตารางที่ 14: จำนวนเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ ที่อุณหภูมิ 20, 30 และ 40 °C

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)* ของเชื้อแบคทีเรียที่อุณหภูมิ		
	20°C	30°C	40°C
DASA 57003	$3.33 \times 10^8 \pm 5.77 \times 10^7$	$1.67 \times 10^8 \pm 5.77 \times 10^7$	$7.67 \times 10^8 \pm 7.51 \times 10^7$
DASA 57004	$1.13 \times 10^8 \pm 2.52 \times 10^7$	$1.47 \times 10^8 \pm 3.79 \times 10^7$	$2.10 \times 10^8 \pm 6.00 \times 10^7$
DASA 57005	$1.33 \times 10^7 \pm 5.77 \times 10^6$	$2.00 \times 10^7 \pm 0.00$	$6.13 \times 10^8 \pm 8.02 \times 10^7$
DASA 57009	$1.00 \times 10^{10} \pm 0.00$	$2.76 \times 10^8 \pm 2.31 \times 10^7$	$1.47 \times 10^6 \pm 1.15 \times 10^5$
DASA 57010	$1.47 \times 10^9 \pm 1.60 \times 10^8$	$1.53 \times 10^9 \pm 2.10 \times 10^8$	$1.33 \times 10^9 \pm 5.77 \times 10^7$
DASA 57015	$8.67 \times 10^6 \pm 1.53 \times 10^6$	$4.93 \times 10^8 \pm 5.69 \times 10^7$	$1.57 \times 10^8 \pm 2.89 \times 10^7$
DASA 57019	$4.77 \times 10^8 \pm 1.22 \times 10^8$	$8.00 \times 10^8 \pm 5.57 \times 10^7$	$4.87 \times 10^3 \pm 1.80 \times 10^3$
DASA 57020	$7.43 \times 10^8 \pm 1.63 \times 10^8$	$1.16 \times 10^9 \pm 2.15 \times 10^8$	$1.83 \times 10^8 \pm 1.53 \times 10^7$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 13 (ต่อ)

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)* ของเชื้อแบคทีเรียที่อุณหภูมิ		
	20°C	30°C	40°C
DASA 57024	$3.53 \times 10^8 \pm 3.21 \times 10^7$	$5.73 \times 10^8 \pm 9.50 \times 10^7$	$2.47 \times 10^4 \pm 6.06 \times 10^3$
DASA 57027	$1.00 \times 10^5 \pm 0.00$	$8.70 \times 10^8 \pm 3.00 \times 10^7$	$1.45 \times 10^8 \pm 7.00 \times 10^6$
DASA 57034	$1.67 \times 10^7 \pm 5.77 \times 10^6$	$3.53 \times 10^8 \pm 3.06 \times 10^7$	0.00 ± 0.00
DASA 57038	$1.98 \times 10^8 \pm 3.75 \times 10^7$	$1.05 \times 10^9 \pm 3.46 \times 10^7$	$3.33 \times 10^4 \pm 3.06 \times 10^3$
DASA 57050	$5.00 \times 10^7 \pm 0.00$	$9.33 \times 10^7 \pm 3.79 \times 10^7$	$4.27 \times 10^7 \pm 4.93 \times 10^6$
DASA 57053	$1.60 \times 10^9 \pm 2.65 \times 10^8$	$3.30 \times 10^9 \pm 1.40 \times 10^9$	$2.13 \times 10^7 \pm 3.39 \times 10^6$
DASA 57057	$1.67 \times 10^7 \pm 5.77 \times 10^6$	$4.53 \times 10^7 \pm 1.53 \times 10^6$	0.00 ± 0.00
DASA 57065	$2.67 \times 10^7 \pm 1.53 \times 10^7$	$2.00 \times 10^7 \pm 0.00$	$1.53 \times 10^6 \pm 2.08 \times 10^5$
DASA 57066	$2.20 \times 10^9 \pm 5.00 \times 10^8$	$7.47 \times 10^8 \pm 1.31 \times 10^8$	$6.63 \times 10^5 \pm 7.64 \times 10^4$
DASA 57075	$6.33 \times 10^8 \pm 8.50 \times 10^7$	$1.80 \times 10^8 \pm 3.61 \times 10^7$	$2.87 \times 10^8 \pm 9.02 \times 10^7$
DASA 57076	$9.50 \times 10^8 \pm 5.00 \times 10^7$	$7.30 \times 10^8 \pm 3.61 \times 10^7$	$2.63 \times 10^8 \pm 1.01 \times 10^5$
DASA 57098	$2.69 \times 10^7 \pm 5.33 \times 10^6$	$4.20 \times 10^8 \pm 1.00 \times 10^7$	$2.10 \times 10^7 \pm 1.00 \times 10^6$
DASA 64006	$6.50 \times 10^8 \pm 5.00 \times 10^7$	$2.67 \times 10^9 \pm 6.51 \times 10^8$	$7.60 \times 10^8 \pm 8.89 \times 10^7$
DASA 64008	0.00 ± 0.00	$2.00 \times 10^7 \pm 0.00$	$5.83 \times 10^5 \pm 8.50 \times 10^4$
DASA 64010	$3.67 \times 10^7 \pm 2.52 \times 10^7$	$9.00 \times 10^7 \pm 1.00 \times 10^7$	$5.67 \times 10^5 \pm 5.77 \times 10^4$
DASA 64011	$1.00 \times 10^7 \pm 0.00$	$6.47 \times 10^8 \pm 1.51 \times 10^8$	0.00 ± 0.00
DASA 64012	$3.63 \times 10^9 \pm 3.51 \times 10^8$	$3.50 \times 10^9 \pm 6.00 \times 10^8$	$1.00 \times 10^6 \pm 2.65 \times 10^5$
DASA 64014	$1.43 \times 10^8 \pm 5.77 \times 10^6$	$3.03 \times 10^8 \pm 2.08 \times 10^7$	$3.47 \times 10^8 \pm 2.52 \times 10^7$
DASA 64016	$4.33 \times 10^7 \pm 2.52 \times 10^7$	$2.67 \times 10^7 \pm 1.15 \times 10^7$	$3.13 \times 10^6 \pm 1.15 \times 10^5$
DASA 64020	$1.46 \times 10^8 \pm 4.51 \times 10^7$	$3.30 \times 10^8 \pm 4.36 \times 10^7$	$3.50 \times 10^3 \pm 5.29 \times 10^2$
DASA 64021	$1.33 \times 10^7 \pm 5.77 \times 10^6$	$3.37 \times 10^8 \pm 3.21 \times 10^7$	$6.73 \times 10^8 \pm 1.19 \times 10^8$
DASA 64022	0.00 ± 0.00	$2.40 \times 10^7 \pm 7.94 \times 10^6$	$7.37 \times 10^6 \pm 1.15 \times 10^6$
DASA 64023	$2.00 \times 10^6 \pm 0.00$	$9.00 \times 10^8 \pm 2.00 \times 10^8$	$1.04 \times 10^9 \pm 1.73 \times 10^7$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 13 (ต่อ)

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)* ของเชื้อแบคทีเรียที่อุณหภูมิ		
	20°C	30°C	40°C
DASA 64026	$2.66 \times 10^8 \pm 3.00 \times 10^7$	$3.07 \times 10^7 \pm 5.77 \times 10^5$	0.00 ± 0.00
DASA 64027	$7.03 \times 10^7 \pm 3.06 \times 10^6$	$6.30 \times 10^8 \pm 1.37 \times 10^8$	$8.90 \times 10^3 \pm 1.14 \times 10^3$
DASA 64031	0.00 ± 0.00	$6.33 \times 10^7 \pm 3.21 \times 10^7$	$2.30 \times 10^7 \pm 4.36 \times 10^6$
DASA 64034	$2.40 \times 10^9 \pm 6.08 \times 10^8$	$1.57 \times 10^9 \pm 1.53 \times 10^8$	$1.04 \times 10^9 \pm 1.71 \times 10^8$
DASA 64038	$7.70 \times 10^8 \pm 7.00 \times 10^7$	$5.27 \times 10^9 \pm 1.53 \times 10^8$	$8.30 \times 10^6 \pm 9.02 \times 10^5$
DASA 64040	$1.00 \times 10^4 \pm 0.00$	$2.00 \times 10^6 \pm 0.00$	$1.35 \times 10^6 \pm 1.25 \times 10^5$
DASA 64042	$8.64 \times 10^6 \pm 1.18 \times 10^6$	$1.00 \times 10^7 \pm 0.00$	$6.80 \times 10^6 \pm 1.60 \times 10^6$
DASA 68003	$6.00 \times 10^8 \pm 0.00$	$3.97 \times 10^8 \pm 5.51 \times 10^7$	$3.90 \times 10^3 \pm 0.00$
DASA 68006	$3.60 \times 10^7 \pm 7.81 \times 10^6$	$2.57 \times 10^8 \pm 3.06 \times 10^7$	$5.67 \times 10^7 \pm 1.15 \times 10^7$
DASA 68010	$1.58 \times 10^8 \pm 1.30 \times 10^7$	$5.27 \times 10^8 \pm 5.51 \times 10^7$	0.00 ± 0.00
DASA 68012	$9.33 \times 10^7 \pm 5.77 \times 10^6$	$5.00 \times 10^8 \pm 1.73 \times 10^8$	$2.33 \times 10^6 \pm 5.77 \times 10^5$
DASA 68020	$2.10 \times 10^9 \pm 4.58 \times 10^8$	$3.47 \times 10^9 \pm 3.21 \times 10^8$	$6.80 \times 10^8 \pm 1.00 \times 10^7$
DASA 68025	$5.33 \times 10^8 \pm 8.33 \times 10^7$	$3.63 \times 10^8 \pm 4.04 \times 10^7$	$2.61 \times 10^8 \pm 2.52 \times 10^7$
DASA 68030	$6.73 \times 10^8 \pm 4.16 \times 10^7$	$1.52 \times 10^8 \pm 9.16 \times 10^7$	$1.62 \times 10^3 \pm 3.84 \times 10^2$
DASA 68032	$9.67 \times 10^7 \pm 1.15 \times 10^7$	$4.17 \times 10^8 \pm 3.51 \times 10^7$	$9.00 \times 10^5 \pm 2.00 \times 10^5$
DASA 68053	$1.17 \times 10^8 \pm 4.51 \times 10^7$	$5.33 \times 10^7 \pm 2.52 \times 10^7$	$7.00 \times 10^6 \pm 0.00$
DASA 68055	$3.60 \times 10^8 \pm 3.61 \times 10^7$	$2.90 \times 10^9 \pm 2.65 \times 10^8$	$8.43 \times 10^8 \pm 1.29 \times 10^8$
DASA 68056	$4.50 \times 10^6 \pm 5.00 \times 10^5$	$1.00 \times 10^6 \pm 0.00$	$2.67 \times 10^5 \pm 5.77 \times 10^4$
DASA 68058	$3.23 \times 10^9 \pm 5.51 \times 10^8$	$1.67 \times 10^8 \pm 6.87 \times 10^8$	$1.05 \times 10^9 \pm 2.00 \times 10^8$
DASA 68061	$2.00 \times 10^7 \pm 1.00 \times 10^7$	$1.87 \times 10^8 \pm 9.90 \times 10^8$	$8.33 \times 10^8 \pm 7.64 \times 10^7$
DASA 68062	$7.33 \times 10^7 \pm 1.53 \times 10^7$	$1.77 \times 10^8 \pm 4.51 \times 10^7$	$7.47 \times 10^8 \pm 6.43 \times 10^7$
DASA 68066	$9.30 \times 10^8 \pm 1.57 \times 10^8$	$6.47 \times 10^8 \pm 3.51 \times 10^7$	$1.00 \times 10^6 \pm 0.00$
DASA 68069	$1.00 \times 10^8 \pm 2.00 \times 10^7$	$2.53 \times 10^8 \pm 1.00 \times 10^7$	$2.90 \times 10^8 \pm 1.05 \times 10^8$
DASA 68070	$7.67 \times 10^8 \pm 2.52 \times 10^8$	$8.67 \times 10^8 \pm 2.52 \times 10^8$	$7.13 \times 10^8 \pm 7.23 \times 10^7$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 13 (ต่อ)

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)* ของเชื้อแบคทีเรียที่อุณหภูมิ		
	20°C	30°C	40°C
DASA 68071	$1.30 \times 10^8 \pm 4.36 \times 10^7$	$6.93 \times 10^7 \pm 1.51 \times 10^7$	$7.70 \times 10^7 \pm 0.00$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

1.9 การเจริญต่อ NaCl ที่ระดับต่างๆ

จากการศึกษาการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย 56 สายพันธุ์ ที่ระดับความเข้มข้นของ NaCl ที่ 0, 0.2 M (1.17%) และ 1.0 M (5.84%) โดยทำการวัดปริมาณเชื้อเป็นจำนวนเซลล์ต่อมิลลิลิตร พบว่า เชื้อที่ไม่มีการเจริญเมื่อไม่มี NaCl ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 64031 และ DASA 68053 เชื้อที่มีการเจริญได้ที่ระดับความเข้มข้น NaCl 0.2 M มีจำนวนทั้งสิ้น 27 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 57003 DASA 57010 DASA 57015 DASA 57020 DASA 57027 DASA 57066 DASA 57076 DASA 64006 DASA 64011 DASA 64012 DASA 64014 DASA 64016 DASA 64021 DASA 64023 DASA 64034 DASA 64038 DASA 68003 DASA 68006 DASA 68012 DASA 68020 DASA 68032 DASA 68058 DASA 68061 DASA 68062 DASA 68066 DASA 68069 และ DASA 68070 เชื้อที่มีการเจริญได้ที่ระดับความเข้มข้น NaCl 1.0 M มีจำนวนทั้งสิ้น 2 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 64006 และ DASA 64012 จำนวนเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ที่ความเข้มข้น NaCl ระดับ ต่างๆ แสดงในตารางที่ 14

ตารางที่14: จำนวนเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ ที่ระดับความเข้มข้นของ NaCl ที่ 0, 0.2 และ 1.0 M

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)* ของเชื้อแบคทีเรียที่ระดับความเข้มข้นของ NaCl		
	0 M	0.2 M	1.0 M
DASA 57003	$3.33 \times 10^8 \pm 1.53 \times 10^8$	$2.16 \times 10^{10} \pm 3.21 \times 10^8$	$5.37 \times 10^7 \pm 1.91 \times 10^7$
DASA 57004	$2.33 \times 10^8 \pm 5.77 \times 10^7$	$5.33 \times 10^7 \pm 5.77 \times 10^6$	$4.50 \times 10^4 \pm 1.22 \times 10^4$
DASA 57005	$8.00 \times 10^7 \pm 0.00$	$8.33 \times 10^7 \pm 2.08 \times 10^7$	$1.13 \times 10^6 \pm 1.53 \times 10^5$
DASA 57009	$7.67 \times 10^8 \pm 1.36 \times 10^8$	$3.10 \times 10^5 \pm 6.93 \times 10^4$	$1.00 \times 10^3 \pm 0.00$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 14 (ต่อ)

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)* ของเชื้อแบคทีเรียที่ระดับความเข้มข้นของ NaCl		
	0 M	0.2 M	1.0 M
DASA 57010	$1.24 \times 10^9 \pm 3.04 \times 10^8$	$1.18 \times 10^9 \pm 1.80 \times 10^8$	$1.67 \times 10^5 \pm 5.77 \times 10^5$
DASA 57015	$2.00 \times 10^9 \pm 0.00$	$1.05 \times 10^9 \pm 7.00 \times 10^7$	$1.38 \times 10^5 \pm 1.51 \times 10^4$
DASA 57019	$1.11 \times 10^9 \pm 5.77 \times 10^8$	$3.17 \times 10^4 \pm 9.50 \times 10^2$	$3.00 \times 10^1 \pm 0.00$
DASA 57020	$4.00 \times 10^8 \pm 0.00$	$1.03 \times 10^9 \pm 9.29 \times 10^7$	$4.50 \times 10^4 \pm 7.00 \times 10^3$
DASA 57024	$1.16 \times 10^9 \pm 6.40 \times 10^8$	$3.10 \times 10^4 \pm 4.58 \times 10^3$	$5.07 \times 10^2 \pm 11.55$
DASA 57027	$3.00 \times 10^8 \pm 1.00 \times 10^8$	$2.13 \times 10^8 \pm 4.73 \times 10^7$	$2.33 \times 10^1 \pm 1.10 \times 10^1$
DASA 57034	$9.00 \times 10^7 \pm 2.65 \times 10^7$	$4.00 \times 10^7 \pm 3.46 \times 10^7$	$1.97 \times 10^3 \pm 3.51 \times 10^2$
DASA 57038	$7.90 \times 10^8 \pm 9.17 \times 10^7$	$3.53 \times 10^4 \pm 1.35 \times 10^4$	0.00 ± 0.00
DASA 57050	$3.87 \times 10^8 \pm 5.51 \times 10^7$	$1.00 \times 10^5 \pm 0.00$	0.00 ± 0.00
DASA 57053	$3.00 \times 10^6 \pm 0.00$	$8.00 \times 10^5 \pm 0.00$	$3.50 \times 10^3 \pm 5.00 \times 10^2$
DASA 57057	$4.13 \times 10^7 \pm 9.29 \times 10^6$	$3.33 \times 10^7 \pm 2.52 \times 10^7$	$3.33 \times 10^1 \pm 5.77$
DASA 57065	$2.33 \times 10^8 \pm 1.53 \times 10^8$	$4.00 \times 10^7 \pm 3.00 \times 10^7$	$1.33 \times 10^1 \pm 5.77$
DASA 57066	$1.13 \times 10^9 \pm 2.52 \times 10^8$	$1.44 \times 10^9 \pm 8.89 \times 10^7$	$3.06 \times 10^5 \pm 2.75 \times 10^4$
DASA 57075	$6.40 \times 10^8 \pm 7.94 \times 10^7$	$6.30 \times 10^7 \pm 2.01 \times 10^7$	$3.47 \times 10^5 \pm 4.16 \times 10^4$
DASA 57076	$2.50 \times 10^9 \pm 1.78 \times 10^9$	$1.35 \times 10^9 \pm 1.05 \times 10^8$	$1.49 \times 10^5 \pm 1.01 \times 10^4$
DASA 57098	$9.83 \times 10^9 \pm 1.63 \times 10^8$	$1.40 \times 10^6 \pm 1.00 \times 10^5$	0.00 ± 0.00
DASA 64006	$6.33 \times 10^8 \pm 5.77 \times 10^7$	$8.57 \times 10^8 \pm 3.23 \times 10^8$	$1.10 \times 10^8 \pm 1.42 \times 10^7$
DASA 64008	$6.55 \times 10^8 \pm 5.03 \times 10^8$	$1.87 \times 10^5 \pm 1.15 \times 10^4$	$3.43 \times 10^4 \pm 1.15 \times 10^3$
DASA 64010	$1.90 \times 10^8 \pm 5.00 \times 10^7$	$9.00 \times 10^7 \pm 2.65 \times 10^7$	$1.06 \times 10^2 \pm 5.77$
DASA 64011	$8.67 \times 10^7 \pm 2.65 \times 10^7$	$5.63 \times 10^8 \pm 9.45 \times 10^7$	$2.00 \times 10^2 \pm 57.74$
DASA 64012	$2.67 \times 10^9 \pm 6.51 \times 10^8$	$6.77 \times 10^8 \pm 4.51 \times 10^7$	$2.63 \times 10^8 \pm 1.53 \times 10^7$
DASA 64014	$1.79 \times 10^9 \pm 8.96 \times 10^8$	$1.21 \times 10^9 \pm 7.23 \times 10^7$	$3.30 \times 10^4 \pm 6.56 \times 10^3$
DASA 64016	$4.00 \times 10^7 \pm 1.73 \times 10^7$	$8.83 \times 10^8 \pm 1.06 \times 10^8$	$4.00 \times 10^5 \pm 0.00$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 14 (ต่อ)

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)* ของเชื้อแบคทีเรียที่ระดับความเข้มข้นของ NaCl		
	0 M	0.2 M	1.0 M
DASA 64020	$3.21 \times 10^8 \pm 7.29 \times 10^7$	$1.40 \times 10^5 \pm 2.00 \times 10^4$	0.00 ± 0.00
DASA 64021	$6.87 \times 10^8 \pm 3.06 \times 10^7$	$2.87 \times 10^9 \pm 2.31 \times 10^8$	$1.53 \times 10^4 \pm 2.52 \times 10^3$
DASA 64022	$1.93 \times 10^6 \pm 1.15 \times 10^5$	$4.00 \times 10^7 \pm 0.00$	0.00 ± 0.00
DASA 64023	$1.33 \times 10^8 \pm 5.77 \times 10^7$	$7.33 \times 10^8 \pm 3.51 \times 10^8$	$5.57 \times 10^6 \pm 1.15 \times 10^5$
DASA 64026	$5.20 \times 10^8 \pm 5.29 \times 10^7$	$4.30 \times 10^4 \pm 1.70 \times 10^4$	0.00 ± 0.00
DASA 64027	$1.00 \times 10^{10} \pm 4.36 \times 10^8$	$2.92 \times 10^4 \pm 3.03 \times 10^3$	$4.80 \times 10^3 \pm 0.00$
DASA 64031	0.00 ± 0.00	$8.00 \times 10^4 \pm 0.00$	$1.03 \times 10^2 \pm 15.28$
DASA 64034	$1.01 \times 10^9 \pm 2.26 \times 10^8$	$2.30 \times 10^9 \pm 5.57 \times 10^8$	$8.00 \times 10^3 \pm 4.36 \times 10^3$
DASA 64038	$4.13 \times 10^8 \pm 4.16 \times 10^7$	$7.33 \times 10^8 \pm 1.53 \times 10^8$	$2.00 \times 10^6 \pm 1.73 \times 10^6$
DASA 64040	$9.30 \times 10^8 \pm 2.65 \times 10^7$	$8.90 \times 10^6 \pm 6.08 \times 10^5$	$1.00 \times 10^4 \pm 0.00$
DASA 64042	$2.97 \times 10^7 \pm 6.11 \times 10^6$	$1.67 \times 10^5 \pm 1.15 \times 10^5$	$1.00 \times 10^5 \pm 0.00$
DASA 68003	$5.87 \times 10^8 \pm 3.77 \times 10^8$	$2.03 \times 10^8 \pm 0.00$	$7.67 \times 10^2 \pm 57.74$
DASA 68006	$4.60 \times 10^8 \pm 2.99 \times 10^8$	$5.67 \times 10^8 \pm 2.89 \times 10^8$	$3.33 \times 10^3 \pm 5.77 \times 10^3$
DASA 68010	$3.73 \times 10^8 \pm 5.77 \times 10^6$	$2.05 \times 10^5 \pm 6.51 \times 10^3$	$6.67 \times 10^1 \pm 11.55$
DASA 68012	$3.00 \times 10^7 \pm 0.00$	$3.33 \times 10^8 \pm 5.77 \times 10^6$	$2.67 \times 10^5 \pm 1.53 \times 10^5$
DASA 68020	$3.00 \times 10^9 \pm 0.00$	$8.97 \times 10^8 \pm 1.07 \times 10^8$	$1.62 \times 10^5 \pm 2.91 \times 10^4$
DASA 68025	$3.67 \times 10^6 \pm 1.15 \times 10^6$	$9.43 \times 10^7 \pm 7.51 \times 10^6$	$7.33 \times 10^6 \pm 2.52 \times 10^6$
DASA 68030	$9.50 \times 10^9 \pm 7.00 \times 10^7$	$3.11 \times 10^5 \pm 6.27 \times 10^4$	$3.57 \times 10^5 \pm 6.66 \times 10^4$
DASA 68032	$7.43 \times 10^8 \pm 1.31 \times 10^8$	$1.73 \times 10^8 \pm 6.66 \times 10^7$	0.00 ± 0.00
DASA 68053	$1.33 \times 10^5 \pm 5.77 \times 10^4$	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
DASA 68055	$5.07 \times 10^8 \pm 5.77 \times 10^6$	$3.00 \times 10^3 \pm 0.00$	$1.90 \times 10^3 \pm 1.00 \times 10^2$
DASA 68056	$2.77 \times 10^9 \pm 3.79 \times 10^8$	$1.00 \times 10^6 \pm 2.00 \times 10^5$	0.00 ± 0.00
DASA 68058	$8.10 \times 10^8 \pm 9.00 \times 10^7$	$3.33 \times 10^8 \pm 4.00 \times 10^7$	$1.27 \times 10^4 \pm 1.27 \times 10^4$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 14 (ต่อ)

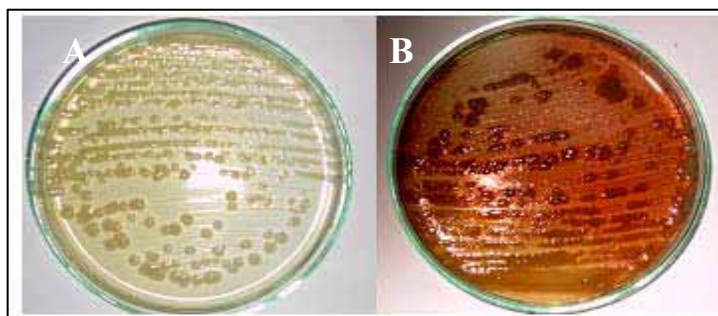
สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)* ของเชื้อแบคทีเรียที่ระดับความเข้มข้นของ NaCl		
	0 M	0.2 M	1.0 M
DASA 68061	$6.00 \times 10^8 \pm 4.58 \times 10^8$	$1.40 \times 10^9 \pm 3.61 \times 10^8$	$1.33 \times 10^5 \pm 1.33 \times 10^5$
DASA 68062	$3.87 \times 10^8 \pm 1.15 \times 10^8$	$2.22 \times 10^9 \pm 4.00 \times 10^7$	$6.00 \times 10^4 \pm 9.33 \times 10^4$
DASA 68066	$2.33 \times 10^6 \pm 1.53 \times 10^6$	$3.40 \times 10^8 \pm 7.21 \times 10^7$	$3.93 \times 10^4 \pm 3.93 \times 10^4$
DASA 68069	$3.00 \times 10^9 \pm 0.00$	$3.00 \times 10^9 \pm 0.00$	$3.00 \times 10^2 \pm 0.00$
DASA 68070	$5.10 \times 10^8 \pm 1.30 \times 10^8$	$6.17 \times 10^8 \pm 2.52 \times 10^7$	$1.00 \times 10^5 \pm 0.00$
DASA 68071	$4.37 \times 10^8 \pm 6.43 \times 10^7$	$5.27 \times 10^3 \pm 1.10 \times 10^3$	$3.00 \times 10^4 \pm 0.00$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

1.10 การสังเคราะห์เมลานิน

จากการศึกษาการสังเคราะห์เมลานินของเชื้อแบคทีเรีย 56 สายพันธุ์ โดยวิธีของ Cubo et al. (1988) ตั้งตรงควัตถุสีน้ำตาลเข้มของโคโลนีแสดงถึงเชื้อมีความสามารถสังเคราะห์เมลานิน โดยเปรียบเทียบกับ negative control บนอาหาร TY ที่ไม่ได้เติม L-tyrosine และ CuSO_4 ผล

จากการทดสอบความสามารถในการสังเคราะห์เมลานิน พบว่า สายพันธุ์ DASA 57003 เป็นสายพันธุ์เดียวที่ให้ผลบวกแสดงถึงความสามารถในการสังเคราะห์เมลานิน มีเชื้อ 9 สายพันธุ์ไม่สามารถเจริญได้เพราะมีความไวต่อความเข้มข้นของ NaCl และ CuSO_4 ที่ระดับที่ใช้ทำการทดสอบ ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 57015 DASA 57050 DASA 57098 DASA 64027 DASA 64042 DASA 68053 DASA 68056 DASA 68061 และ DASA 68071 และเชื้อ 1 สายพันธุ์ที่มีความไวต่อความเข้มข้นของ NaCl, CuSO_4 และ L-tyrosine คือ สายพันธุ์ DASA 57019 ผลการสังเคราะห์เมลานินแสดงในภาพที่ 12 และตารางที่ 15



ภาพที่ 12: ผลการเจริญของเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TY ที่ประกอบด้วย tyrosine และ CuSO_4

A: การเจริญของเชื้อหลังทดสอบกับสารละลาย 10% (wt/vol) sodium dodecyl sulfate (SDS) ใน TBE (pH 8.3) หลังจากบ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง ไม่มีการเปลี่ยนสีของโคโลนี แสดงว่า เชื้อไม่มีความสามารถสังเคราะห์เมลานิน

B: การเจริญของเชื้อหลังทดสอบกับสารละลาย 10% (wt/vol) sodium dodecyl sulfate (SDS) ใน TBE (pH 8.3) หลังจากบ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 24 ชั่วโมง มีสารรงควัตถุสีน้ำตาลเข้มของโคโลนี แสดงว่า เชื้อมีความสามารถสังเคราะห์เมลานิน

ตารางที่ 15: ผลการสังเคราะห์เมลานินบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TY ที่เติม L-tyrosine และ CuSO_4

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	การสังเคราะห์ เมลานิน	สายพันธุ์ แบคทีเรีย	การสังเคราะห์ เมลานิน	สายพันธุ์ แบคทีเรีย	การสังเคราะห์ เมลานิน
DASA 57003	+	DASA 64006	-	DASA 68003	-
DASA 57004	-	DASA 64008	-	DASA 68006	-
DASA 57005	-	DASA 64010	-	DASA 68010	-
DASA 57009	-	DASA 64011	-	DASA 68012	-
DASA 57010	-	DASA 64012	-	DASA 68020	-
DASA 57015	Nd	DASA 64014	-	DASA 68025	-
DASA 57019	Nd	DASA 64016	-	DASA 68030	-
DASA 57020	-	DASA 64020	-	DASA 68032	-

+ หมายถึง มีการสังเคราะห์เมลานิน, - หมายถึง ไม่มีการสังเคราะห์เมลานิน และ Nd, not determined ไม่สามารถระบุผลได้ เนื่องจากเชื้อไม่สามารถเจริญในอาหารที่ทำการทดสอบ

ตารางที่ 15 (ต่อ)

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	การสังเคราะห์ เมลานิน	สายพันธุ์ แบคทีเรีย	การสังเคราะห์ เมลานิน	สายพันธุ์ แบคทีเรีย	การสังเคราะห์ เมลานิน
DASA 57024	-	DASA 64021	-	DASA 68053	Nd
DASA 57027	-	DASA 64022	-	DASA 68055	-
DASA 57034	-	DASA 64023	-	DASA 68056	Nd
DASA 57038	-	DASA 64026	-	DASA 68058	-
DASA 57050	Nd	DASA 64027	Nd	DASA 68061	Nd
DASA 57053	-	DASA 64031	-	DASA 68062	-
DASA 57057	-	DASA 64034	-	DASA 68066	-
DASA 57065	-	DASA 64038	-	DASA 68069	-
DASA 57066	-	DASA 64040	-	DASA 68070	-
DASA 57075	-	DASA 64042	Nd	DASA 68071	Nd
DASA 57076	-				
DASA 57098	Nd				

+ หมายถึง มีการสังเคราะห์เมลานิน, - หมายถึงไม่มีการสังเคราะห์เมลานิน และ Nd, not determined ไม่สามารถระบุผลได้ เนื่องจากเชื้อไม่สามารถเจริญในอาหารที่ทำการทดสอบ

1.11 การศึกษาความสามารถในการสังเคราะห์ IAA ของเชื้อแบคทีเรียปมรากสมุนไพรมะนาว

จากการศึกษาการสังเคราะห์ IAA ของเชื้อแบคทีเรีย 56 สายพันธุ์ ในอาหาร Tris-TMRT Broth (Nuntagij et al. 1997) โดยวิธี Colorimetric (Gordon and Weber 1951) พบว่า เชื้อทุกสายพันธุ์มีความสามารถในการสังเคราะห์ IAA อยู่ระหว่าง 4.310 ± 0.672 ถึง 34.757 ± 0.178 $\mu\text{g/ml}$ ผลความเข้มข้นของ IAA ที่สังเคราะห์ได้จากเชื้อแต่ละสายพันธุ์แสดงในตารางที่ 16

ตารางที่ 16: ความเข้มข้นของ IAA ที่สังเคราะห์ได้จากเชื้อแบคทีเรียปมรากสมุนไพรมะนาว

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	ความเข้มข้น IAA ($\mu\text{g/ml}$)						ค่าเฉลี่ย*
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	ซ้ำ 5	ซ้ำ 6	
DASA 57003	20.227	20.485	24.045	20.647	22.621	23.463	21.915 \pm 1.669
DASA 57004	18.414	21.78	18.252	21.521	17.12	16.181	18.878 \pm 2.297
DASA 57005	30.68	33.528	32.201	31.877	34.887	31.812	32.497 \pm 1.484
DASA 57009	8.22	6.472	6.311	6.343	8.22	8.544	7.352 \pm 1.077
DASA 57010	19.676	24.757	17.152	18.414	18.932	19.288	19.703 \pm 2.626
DASA 57015	34.693	34.498	34.628	34.887	34.951	34.887	34.757 \pm 0.178
DASA 57019	9.935	9.482	7.67	6.99	6.926	7.184	8.031 \pm 1.333
DASA 57020	25.825	21.456	19.515	24.531	24.142	25.793	23.544 \pm 2.537
DASA 57024	20.939	21.521	21.392	20.744	18.22	19.223	20.340 \pm 1.324
DASA 57027	25.631	23.786	24.207	24.725	24.401	21.812	24.094 \pm 1.278
DASA 57034	25.663	25.34	26.958	25.275	24.854	25.372	25.577 \pm 0.725
DASA 57038	6.958	8.285	6.99	9.223	9.223	8.317	8.166 \pm 1.011
DASA 57050	11.359	12.265	10.874	10.939	10.777	10.162	11.063 \pm 0.704
DASA 57053	13.042	14.984	15.89	10.162	9.903	13.269	12.875 \pm 2.446
DASA 57057	25.243	27.994	28.026	28.544	28.997	28.544	27.891 \pm 1.350
DASA 57065	19.482	26.084	24.466	25.955	20.68	20.712	22.896 \pm 2.944
DASA 57066	16.505	15.469	15.858	16.731	17.087	16.472	16.354 \pm 0.591
DASA 57075	17.573	14.207	13.657	15.178	13.43	17.184	15.205 \pm 1.793
DASA 57076	7.896	7.767	7.864	6.57	8.544	8.803	7.907 \pm 0.777
DASA 57098	12.298	13.625	13.107	13.463	15.049	11.197	13.123 \pm 1.301
DASA 64006	21.262	18.285	20.356	21.036	18.35	20.518	19.968 \pm 1.320
DASA 64008	7.929	7.411	8.544	6.796	4.919	4.79	6.731 \pm 1.565
DASA 64010	9.935	7.735	8.382	9.029	10.485	9.029	9.099 \pm 1.000
DASA 64011	30.744	31.392	29.871	30.356	31.392	31.553	30.885 \pm 0.676

* ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 16 (ต่อ)

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	ความเข้มข้น IAA ($\mu\text{g/ml}$)						
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	ซ้ำ 5	ซ้ำ 6	ค่าเฉลี่ย*
DASA 64012	26.926	22.298	21.65	24.66	24.887	21.036	23.576 \pm 2.276
DASA 64014	22.395	18.35	21.197	21.1	21.521	21.942	21.084 \pm 1.424
DASA 64016	24.951	25.113	27.443	23.01	27.12	24.757	25.399 \pm 1.646
DASA 64020	11.489	13.074	14.045	13.528	13.463	13.754	13.225 \pm 0.910
DASA 64021	23.722	19.838	22.718	23.916	23.528	24.11	22.972 \pm 1.609
DASA 64022	5.34	3.139	5.21	5.178	5.081	5.275	4.871 \pm 0.853
DASA 64023	21.456	18.706	23.236	20.259	20.324	19.45	20.572 \pm 1.599
DASA 64026	12.848	13.107	12.977	13.786	14.272	14.79	13.630 \pm 0.787
DASA 64027	8.641	8.188	8.997	8.447	9.612	11.489	9.229 \pm 1.212
DASA 64031	23.916	18.058	24.66	18.317	18.252	24.142	21.224 \pm 3.313
DASA 64034	23.139	20.129	22.589	19.45	19.935	23.43	21.446 \pm 1.795
DASA 64038	7.896	10.032	7.411	8.964	8.188	6.699	8.198 \pm 1.175
DASA 64040	4.013	3.657	3.722	4.239	4.887	5.34	4.310 \pm 0.672
DASA 64042	12.298	10.841	10.453	11.586	12.168	11.165	11.419 \pm 0.734
DASA 68003	9.223	8.317	9.094	8.252	9.482	8.35	8.786 \pm 0.541
DASA 68006	10.194	9.579	11.942	10.939	10.68	11.553	10.814 \pm 0.867
DASA 68010	11.23	12.298	11.1	11.359	11.23	10.809	11.338 \pm 0.506
DASA 68012	23.528	24.401	24.531	26.505	22.395	19.838	23.533 \pm 2.260
DASA 68020	15.275	18.576	18.673	18.252	18.997	19.709	18.247 \pm 1.538
DASA 68025	6.861	7.767	8.123	7.638	8.803	10.647	8.306 \pm 1.310
DASA 68030	5.146	5.243	4.984	5.825	5.955	5.955	5.518 \pm 0.442
DASA 68032	5.663	5.178	7.411	6.117	6.343	6.958	6.278 \pm 0.820
DASA 68053	7.799	6.893	7.087	7.12	8.091	7.12	7.352 \pm 0.476
DASA 68055	10.065	11.78	11.23	11.586	9.968	10.259	10.814 \pm 0.811

* ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 16 (ต่อ)

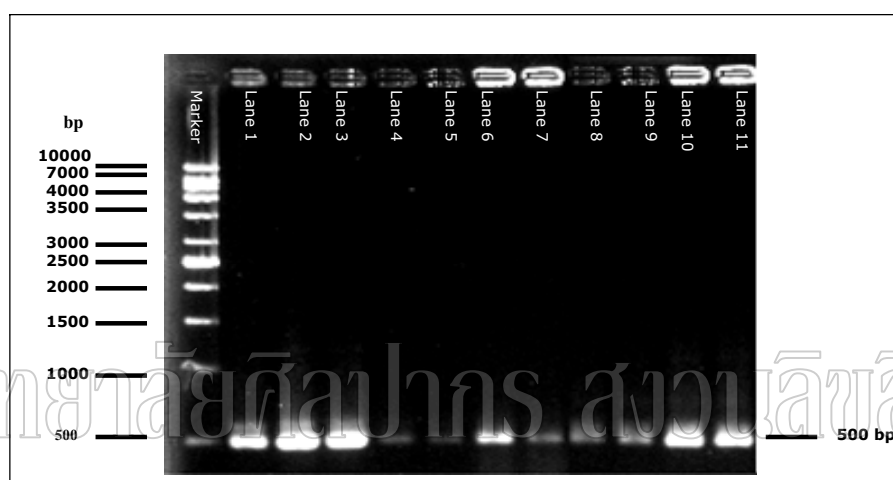
สายพันธุ์ แบคทีเรีย	ความเข้มข้น IAA ($\mu\text{g/ml}$)						ค่าเฉลี่ย*
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	ซ้ำ 5	ซ้ำ 6	
DASA 68056	9.644	8.155	9.515	9.515	9.256	10.194	9.380 \pm 0.676
DASA 68058	14.498	11.521	13.269	8.673	8.641	8.511	10.852 \pm 2.634
DASA 68061	15.437	13.948	15.955	13.495	14.79	13.786	14.569 \pm 0.987
DASA 68062	11.618	10.777	11.197	11.133	10.939	11.877	11.257 \pm 0.416
DASA 68066	14.822	11.748	11.456	12.751	11.197	10.356	12.055 \pm 1.563
DASA 68069	11.553	10.097	9.709	9.191	11.845	9.45	10.307 \pm 1.122
DASA 68070	10.615	13.107	13.366	13.56	12.46	9.709	12.136 \pm 1.599
DASA 68071	10.227	11.586	15.049	9.547	9.741	12.006	11.359 \pm 2.062

* ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

2. การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน 16S rRNA ของเชื้อแบคทีเรียปมรากพืชสมุนไพร

จากการนำเชื้อแบคทีเรีย 28 สายพันธุ์ มารับชนิด โดยนำ total genomic DNA มาทำการเพิ่มจำนวนยีน 16S rRNA โดยใช้ universal primers 1 คู่ คือ primer UN 16S 926f และ primer UN 16S 1392r โดยเทคนิค polymerase chain reaction (PCR) หลังจากนั้นตรวจผลผลิตของปฏิกิริยา PCR โดยวิธี gel electrophoresis พบว่า เชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์มีชิ้น DNA เพียงแถบเดียว ขนาดประมาณ 500 bp ซึ่งตัวอย่างเชื้อที่ศึกษาแสดงในภาพที่ 13



ภาพที่13: ผลการตรวจสอบผลผลิตของปฏิกิริยา PCR ในการเพิ่มจำนวนของยีน 16S rDNA ขนาดประมาณ 500 bp (Marker: 1Kb ladder และ Lane 1-11: ตัวอย่างของเชื้อแบคทีเรียที่ศึกษา)

เมื่อนำผลลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อแต่ละสายพันธุ์ นำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบ alignment กับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล GenBank โดยโปรแกรม BlastN (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) ผลการเปรียบเทียบแสดงในตารางที่ 17 จากผลการวิเคราะห์ พบว่า ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ของสายพันธุ์ DASA 57003 DASA 57004 DASA 57066 และ DASA 57075 มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน 16S rRNA ใน genus *Pseudoalteromonas* ที่ระดับ 70-88% ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ของสายพันธุ์ DASA 57009 DASA 57020 และ DASA 57038 มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน 16S rRNA ใน genus *Ralstonia-Cupriavidus* ที่ระดับ 69-72% ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ของสายพันธุ์ DASA 57010 DASA 57027 DASA 57053 DASA 64006 DASA 64012

DASA 64016 DASA 64021 DASA 64038 DASA 64040 DASA 68020 DASA 68025 DASA 68053 DASA 68061 DASA 68066 DASA 68069 และ DASA 68070 มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน 16S rRNA ใน genus *Rhizobium* ที่ระดับ 90-100% ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ของสายพันธุ์ DASA 57015 และ DASA 68012 มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน 16S rRNA ใน genus *Sinorhizobium* ที่ระดับ 95-99% ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ของสายพันธุ์ DASA 57019 DASA 68010 และ DASA 68056 มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน 16S rRNA ใน genus *Bradyrhizobium* ที่ระดับ 87-99%

ตารางที่ 17: ผลการเปรียบเทียบยีน 16S rRNA ของเชื้อแบคทีเรียที่ทำการศึกษากับเชื้อในฐานข้อมูลของ GenBank โดยโปรแกรม BlastN

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	ชนิดของเชื้อในฐานข้อมูล NCBI ที่มี ความคล้ายคลึงกันของลำดับนิวคลีโอ ไทด์ของยีน 16S rDNA	bits score	% Identities	Genbank Accession no.
DASA 57003	<i>Pseudoalteromonas</i> sp.	134	70	FJ172090.1 EU722712.1
DASA 57004	<i>Pseudoalteromonas</i> sp.	841 836	84 85	AM990863.1 EU586897.1
DASA 57009	<i>Ralstonia</i> sp. <i>Cupriavidus</i> sp.	235 232	72 72	DQ026295.1 FJ648699.1
DASA 57010	<i>Rhizobium</i> sp.	560	93	GQ355323.1 GQ355317.1 FJ969841.1 FJ688380.1
DASA 57015	<i>Sinorhizobium</i> sp.	138	95	FJ405372.1 EU255298.1
DASA 57019	<i>Bradyrhizobium</i> sp. <i>Bradyrhizobium elkanii</i>	432 430	95 95	AY507980.1 AF417556.1
DASA 57020	<i>Cupriavidus</i> sp. <i>Ralstonia</i> sp.	221 214	69 69	EU652873.1 DQ854844.1

ตารางที่ 17 (ต่อ)

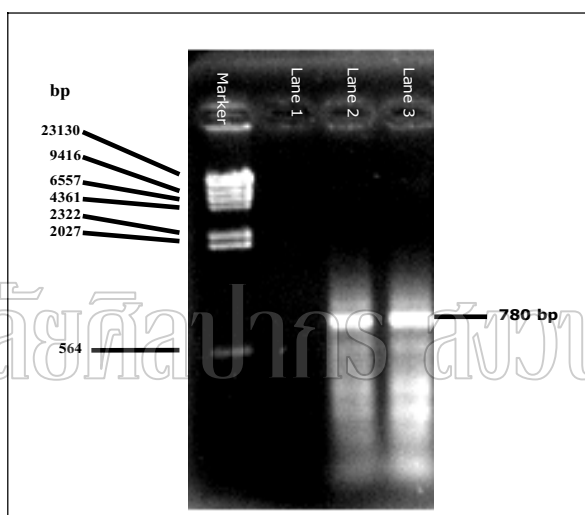
สายพันธุ์ แบคทีเรีย	ชนิดของเชื้อในฐานข้อมูล NCBI ที่ มีความคล้ายคลึงกันของลำดับนิว คลีโอไทด์ของยีน 16S rDNA	bits score	% Identities	Genbank Accession no.
DASA 57027	<i>Rhizobium</i> sp.	836	99	GQ355323.1 GQ355317.1 FJ969841.1
DASA 57038	<i>Ralstonia</i> sp. <i>Cupriavidus</i> sp.	167 165	69 67	DQ887520.1 AB480341.1 EU882153.1
DASA 57053	<i>Rhizobium</i> sp.	288	90	EU359716.1
DASA 57066	<i>Pseudoalteromonas</i> sp.	71.6	65	EU330364.1
DASA 57075	<i>Pseudoalteromonas</i> sp.	973 969	88 88	AM990863.1 EU586897.1
DASA 64006	<i>Rhizobium</i> sp.	838	99	GQ355323.1 GQ355317.1
DASA 64012	<i>Rhizobium</i> sp.	852	100	GQ355323.1 GQ355317.1
DASA 64016	<i>Rhizobium</i> sp.	843	99	GQ355323.1 GQ355317.1
DASA 64021	<i>Rhizobium</i> sp.	832	98	GQ355323.1 GQ355317.1
DASA 64038	<i>Rhizobium</i> sp.	838	99	GQ355323.1 GQ355317.1
DASA 64040	<i>Rhizobium</i> sp.	700 699	93 93	EU359716.1 EU259511.1

ตารางที่ 17 (ต่อ)

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	ชนิดของเชื้อในฐานข้อมูล NCBI ที่มี ความคล้ายคลึงกันของลำดับนิวคลีโอ ไทด์ของยีน 16S rDNA	bits score	% Identities	Genbank Accession no.
DASA 68010	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	841	99	GQ249217.1 FJ959102.1
	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	841	99	AB509378.1 FJ959102.1
DASA 68012	<i>Sinorhizobium sp.</i>	838	99	FJ405372.1 EU255298.1
DASA 68020	<i>Rhizobium sp.</i>	843	100	EU359716.1
DASA 68025	<i>Rhizobium sp.</i>	569	96	GQ355323.1 GQ355317.1
DASA 68053	<i>Rhizobium sp.</i>	843	99	GQ355323.1 GQ355317.1
DASA 68056	<i>Bradyrhizobium sp.</i>	583	91	GQ249217.1 FJ959102.1
	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	583	91	AB509378.1
DASA 68061	<i>Rhizobium sp.</i>	843	99	GQ355323.1 GQ355317.1
DASA 68066	<i>Rhizobium sp.</i>	843	99	GQ355323.1 GQ355317.1
DASA 68069	<i>Rhizobium sp.</i>	841	99	GQ355323.1 GQ355317.1
DASA 68070	<i>Rhizobium sp.</i>	544	91	GQ355323.1 GQ355317.1

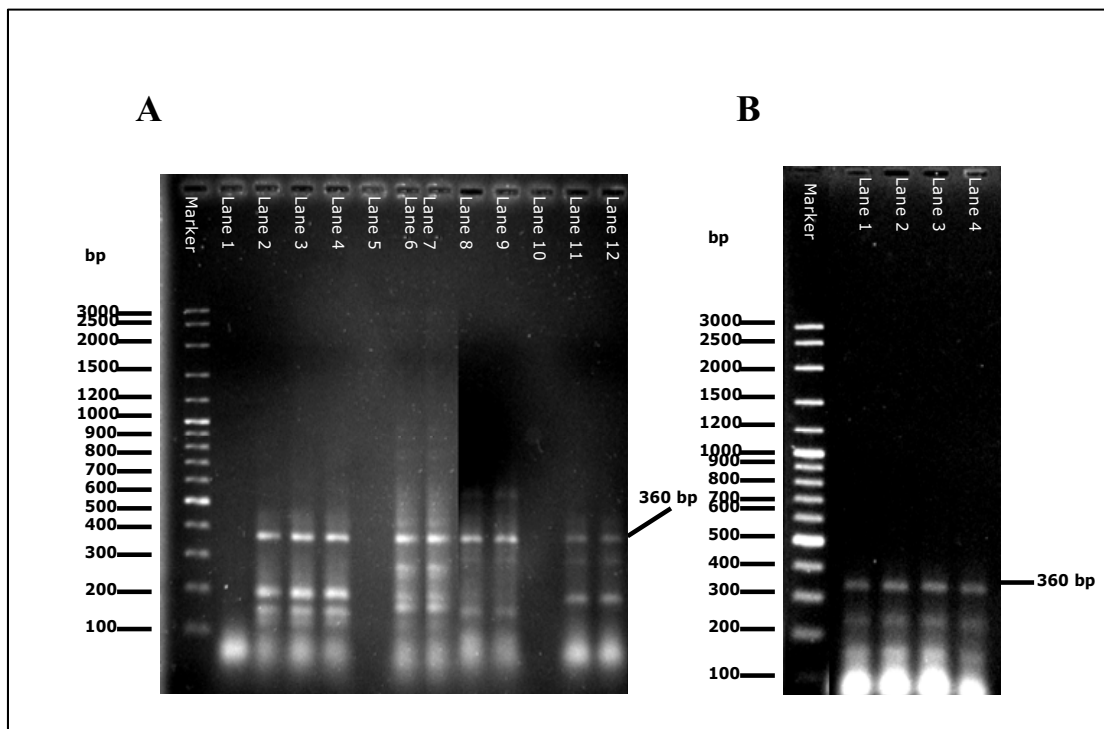
3. การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *nifH* ของเชื้อแบคทีเรียปมรากพืชสมุนไพรม

จากการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียแต่ละ genus นำมาศึกษายีน *nifH* โดยนำ total genomic DNA มาทำการเพิ่มจำนวนยีน *nifH* โดยใช้ primer ของยีน *nifH* 2 คู่ ซึ่ง primer ของยีน *nifH* 1 คู่แรก ได้แก่ primer *nifHF* และ primer *nifHI* ซึ่งจะสามารถเพิ่มจำนวนของยีน *nifH* ขนาดประมาณ 780 bp หลังจากนั้นตรวจสอบผลผลิตของปฏิกิริยา PCR โดยวิธี gel electrophoresis พบว่า จากการทดสอบกับเชื้อจำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 57009 DASA 57075 DASA 64014 DASA 68012 และ DASA 68056 primer คู่นี้ น่าจะสามารถเพิ่มจำนวนยีน DNA ขนาดประมาณ 780 bp ได้เพียง 1 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ DASA 57009 แสดงในภาพที่ 14



ภาพที่ 14: ผลการตรวจสอบผลผลิตของปฏิกิริยา PCR ในการเพิ่มจำนวนของยีน *nifH* ขนาดประมาณ 780 bp. โดยใช้ primer *nifHF* และ *nifHI* (Laguerre et al. 1994 ; 1997 ; 2001) (Marker: VC Lamda *Hind* III marker; Lane 2: Negative control ; Lane 3 และ 4:DASA 57009)

สำหรับ primer คู่ที่ 2 ใช้ primer Zehr-*nifHf* และ primer Zehr-*nifHr* ซึ่งเพิ่มจำนวนยีน *nifH* ที่ขนาดประมาณ 360 bp หลังจากนั้นตรวจสอบผลผลิตของปฏิกิริยา PCR โดยวิธี gel electrophoresis พบว่า เชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์มี PCR product หลายขนาด แต่ทุกสายพันธุ์ที่ศึกษาจะมียีน *nifH* ยีน DNA ขนาดประมาณ 360 bp แสดงในภาพที่ 15



ภาพที่ 15: ผลการตรวจสอบผลผลิตของปฏิกิริยา PCR ในการเพิ่มจำนวนของยีน *nifH* ขนาดประมาณ 360 bp. โดยใช้ primer Zehr-nifHf และ Zehr-nifHr (Zehr and McReynolds, 1989) (Marker: 100bp DNA marker; Lane 1: Negative control ; Lane 2-4: DASA 57075; Lane 6 และ 7: DASA 64014; Lane 8 และ 9: DASA 68012; Lane 11 และ 12: DASA 68056 (B) Marker: 100bp DNA marker; Lane 1-4 : DASA 57066)

เมื่อนำผลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *nifH* ที่ได้จากปฏิกิริยา PCR ของแต่ละสายพันธุ์ที่คัดเลือก นำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบ alignment ของลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล GenBank โดยโปรแกรม BlastN (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) ผลการเปรียบเทียบแสดงในตารางที่ 18 จากผลการวิเคราะห์ พบว่า ยีน *nifH* ของสายพันธุ์ DASA 57075 มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *nifH* ของ *Bradyrhizobium* sp. KO20A และ *Bradyrhizobium* sp. KO13 ที่ระดับ 95% ยีน *nifH* ของสายพันธุ์ DASA 64014 มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *nifH* ของ *Bradyrhizobium yuanmingense* SR35, *Bradyrhizobium* sp. CCBAU และ *Bradyrhizobium* sp. CCBAU 35186-1 ที่ระดับ 97% ยีน *nifH* ของสายพันธุ์ DASA 68012 มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *nifH* ของ *Sinorhizobium* sp. CCBAU 83751 ที่ระดับ 95% ยีน *nifH* ของสายพันธุ์ DASA 68056 มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *nifH* ของ *Bradyrhizobium elkanii* ที่ระดับ 92%

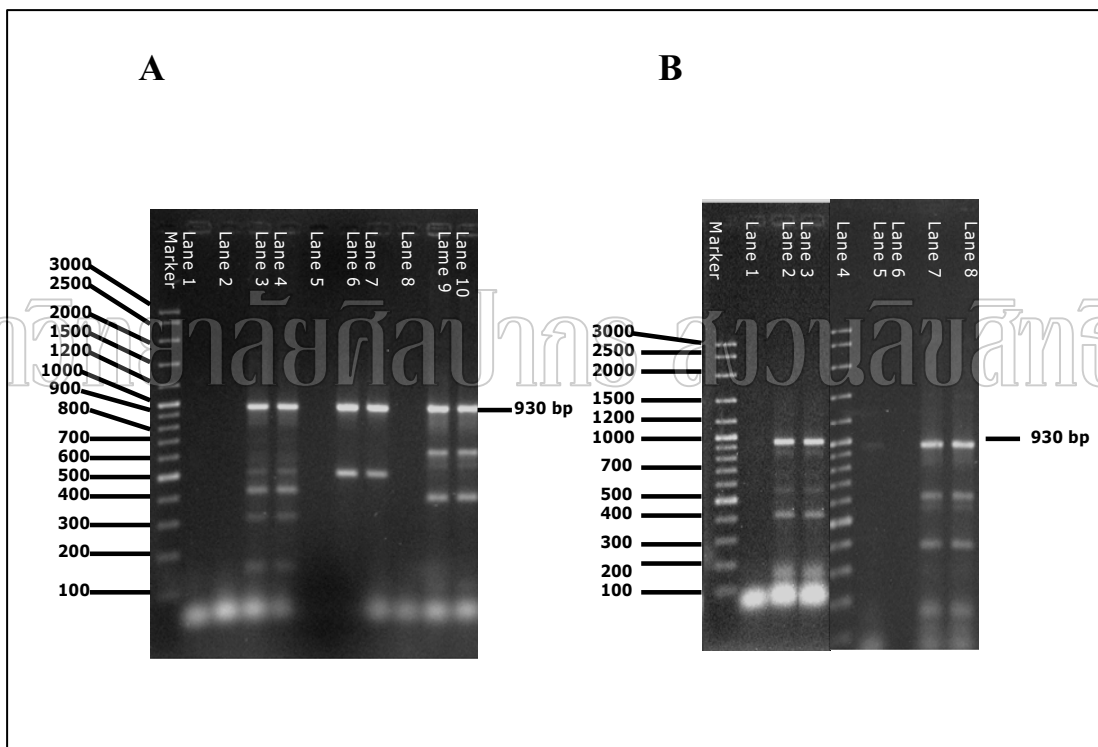
ตารางที่ 18: ผลการเปรียบเทียบยีน *nifH* ของเชื้อแบคทีเรียที่ทำการศึกษา กับเชื้อในฐานข้อมูลของ GenBank โดยโปรแกรม BlastN

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	ชนิดของเชื้อในฐานข้อมูล NCBI ที่มี ความคล้ายคลึงกันของลำดับนิวคลีโอ ไทด์ของยีน <i>nifH</i>	bits score	% Identities	Genbank Accession no.
DASA 57075	<i>Bradyrhizobium</i> sp. KO20A	477	95	AB367740.1
	<i>Bradyrhizobium</i> sp. KO13	477	95	AB367736.1
DASA 64014	<i>Bradyrhizobium yuanmingense</i> SR35	533	97	FJ514065.1
	<i>Bradyrhizobium</i> sp. CCBAU	533	97	FJ514065.1
	<i>Bradyrhizobium</i> sp. CCBAU 35186-1	533	97	EU113225.1
DASA 68012	<i>Sinorhizobium</i> sp. CCBAU 83751	502	95	EU146012.1
DASA 68056	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	450	92	AF484640.1
	<i>Bradyrhizobium elkanii</i>	450	92	AB094963.1

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

4. การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *nodC* ของเชื้อแบคทีเรียปมรากพืชสมุนไพรมะเขือ

จากการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียแต่ละ genus จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 57015 DASA 57019 DASA 57038 DASA 57075 และ DASA 68012 นำมาศึกษา ยีน *nodC* โดยนำ total genomic DNA มาทำการเพิ่มจำนวนยีน *nodC* โดยใช้ primer ของยีน *nodC* 1 คู่ ได้แก่ primer *nodCF* และ primer *nodCI* ซึ่งจะสามารถเพิ่มจำนวนของยีน *nodC* ขนาดประมาณ 930 bp. หลังจากนั้นตรวจสอบผลผลิตของปฏิกิริยา PCR โดยวิธี gel electrophoresis พบว่า เชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์มี PCR product หลายขนาด แต่ทุกสายพันธุ์ที่ศึกษาจะมียีน *nodC* ขึ้น DNA ขนาดประมาณ 930 bp แสดงในภาพที่ 16



ภาพที่16: ผลการตรวจสอบผลผลิตของปฏิกิริยา PCR ในการเพิ่มจำนวนของยีน *nodC* ขนาดประมาณ 930 bp. โดยใช้ primer *nodCF* และ *nodCI* (Laguerre et al. 1994 ; 1997 ; 2001) (A) Marker: 100bp DNA marker; Lane 1และ 2: Negative control ; Lane 3 และ 4: DASA 57038; Lane 5: Negative control; Lane 6และ7: DASA 57075; Lane 8: Negative control; Lane 9 และ 10: DASA 68012 (B) Lane 1 : 100bp DNA marker; Lane 2และ 3: DASA 57019; Lane 4 : 100bp DNA marker; Lane 5: Positive control; Lane 7 และ 8 : DASA 57015

เมื่อนำผลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *nodC* ที่ได้จากปฏิกิริยา PCR ของแต่ละสายพันธุ์ที่คัดเลือก นำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบ alignment ของลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล GenBank โดยโปรแกรม BlastN (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) ผลการเปรียบเทียบแสดงในตารางที่ 19 จากผลการวิเคราะห์ พบว่า ยีน *nodC* ของสายพันธุ์ DASA 57015 มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *nodC* ของ *Sinorhizobium meliloti* ที่ระดับ 80% ยีน *nodC* ของสายพันธุ์ DASA 57019 มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *nodC* ของ *Bradyrhizobium* sp. KO20A และ *Bradyrhizobium* sp. KO13 ที่ระดับ 84% ยีน *nodC* ของสายพันธุ์ DASA 57038 มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *nodC* ของ *Bradyrhizobium yuanmingense* CCBAU23230 ที่ระดับ 81% ยีน *nodC* ของสายพันธุ์ DASA 57075 มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *nodC* ของ *Sinorhizobium fredii* CPAC 402, *Bradyrhizobium japonicum* SEMIA 566 และ *Bradyrhizobium* sp. CCBAU 43169 ที่ระดับ 87% ยีน *nodC* ของสายพันธุ์ DASA 68012 มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *nodC* ของ *Sinorhizobium meliloti* Llan-6 และ *Sinorhizobium fredii* CCBAU:45274 ที่ระดับ 87%

ตารางที่ 19: ผลการเปรียบเทียบยีน *nodC* ของเชื้อแบคทีเรียที่ทำการศึกษากับเชื้อในฐานข้อมูลของ GenBank โดยโปรแกรม BlastN

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	ชนิดของเชื้อในฐานข้อมูล NCBI ที่มี ความคล้ายคลึงกันของลำดับนิวคลีโอ ไทด์ของยีน <i>nodC</i>	bits score	% Identities	Genbank Accession no.
DASA 57015	<i>Sinorhizobium meliloti</i>	129	80	FM178857.1
	<i>Sinorhizobium meliloti</i>	129	79	FM178855.1
DASA 57019	<i>Bradyrhizobium</i> sp. KO20A	567	84	AB367760.1
	<i>Bradyrhizobium</i> sp. KO13	567	84	AB367756.1
DASA 57038	<i>Bradyrhizobium yuanmingense</i> CCBAU23230	156	81	DQ010033.2

ตารางที่ 19 (ต่อ)

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	ชนิดของเชื้อในฐานข้อมูล NCBI ที่มี ความคล้ายคลึงกันของลำดับนิวคลีโอ ไทด์ของยีน <i>nodC</i>	bits score	% Identities	Genbank Accession no.
DASA 57075	<i>Sinorhizobium fredii</i> CPAC 402	221	87	DQ485716.1
	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> SEMIA	221	87	DQ485699.1
	566	221	87	DQ010041.1
	<i>Bradyrhizobium</i> sp. CCBAU 43169			
DASA 68012	- <i>Sinorhizobium meliloti</i> Llan-6	343	87	FM178857.1
	- <i>Sinorhizobium fredii</i> CCBAU:45274	343	87	EU753431.1

5. การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ฟอสฟาเตส (phosphatase) จากเชื้อแบคทีเรียปมรากพืช

สมุนไพรมะนาว

จากการศึกษาการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย 56 สายพันธุ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya ที่มี tricalcium phosphate $[Ca_3(PO_4)_2]$ พบว่า เชื้อ 22 สายพันธุ์ที่สามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya ที่มี tricalcium phosphate $[Ca_3(PO_4)_2]$ ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 57020 DASA 57027 DASA 57034 DASA 57038 DASA 57053 DASA 57057 DASA 57098 DASA 64006 DASA 64016 DASA 64020 DASA 64021 DASA 64023 DASA 64031 DASA 64038 DASA 64040 DASA 68020 DASA 68032 DASA 68061 DASA 68062 DASA 68066 DASA 68070 และ DASA 68071 ต่อมาเมื่อนำเชื้อต่างๆ มาวัดกิจกรรมเอนไซม์ phosphatase พบว่า เชื้อทุกสายพันธุ์มีกิจกรรมของเอนไซม์ phosphatase ที่เป็น Extracellular enzyme สูงกว่า Intracellular enzyme เชื้อสายพันธุ์ DASA 68062 มีกิจกรรมของเอนไซม์ acid phosphatase ที่เป็น Extracellular enzyme สูงที่สุด เท่ากับ 7.86 ± 0.26 milliunit/ml และเชื้อสายพันธุ์ DASA 68056 มีกิจกรรมของเอนไซม์ neutral phosphatase และ alkaline phosphatase ที่เป็น Extracellular enzyme สูงที่สุด เท่ากับ 5.88 ± 0.01 milliunit/ml และ 12.65 ± 0.13 milliunit/ml ตามลำดับ แสดงในตารางที่ 20

ตารางที่ 20: จำนวนเซลล์ (CFU/ml) และกิจกรรมของเอนไซม์ฟอสฟาเตส (phosphatase) ของเชื้อแบคทีเรียที่เลี้ยงในอาหาร Pikovskaya ที่มี tricalcium phosphate [$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$] เป็นแหล่งฟอสฟอรัส

สายพันธุ์แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU / ml)*	Extracellular enzyme activity* (milliunit/ml)			Intracellular enzyme activity* (milliunit/mg)		
		Acid (pH 5)	Neutral (pH 7)	Alkaline(pH 9)	Acid (pH 5)	Neutral (pH 7)	Alkaline(pH 9)
DASA 57003	$5.07 \times 10^6 \pm 5.03 \times 10^5$	4.10 ± 0.20	3.26 ± 0.09	4.33 ± 0.13	0.02 ± 0.00	0.26 ± 0.01	0.13 ± 0.01
DASA 57004	$2.67 \times 10^3 \pm 2.08 \times 10^3$	5.95 ± 0.55	4.13 ± 0.11	5.95 ± 0.30	0.07 ± 0.01	0.37 ± 0.02	0.23 ± 0.02
DASA 57005	$1.00 \times 10^5 \pm 0.00$	4.59 ± 0.40	3.40 ± 0.29	5.05 ± 0.35	0.02 ± 0.01	0.32 ± 0.03	0.20 ± 0.03
DASA 57009	$1.67 \times 10^5 \pm 4.16 \times 10^4$	5.37 ± 1.00	3.51 ± 0.16	6.50 ± 0.09	0.01 ± 0.01	0.27 ± 0.02	0.11 ± 0.00
DASA 57010	$2.00 \times 10^6 \pm 0.00$	4.72 ± 0.20	3.21 ± 0.10	4.88 ± 0.06	0.02 ± 0.01	0.23 ± 0.00	0.10 ± 0.02
DASA 57015	$4.43 \times 10^5 \pm 1.02 \times 10^5$	3.53 ± 0.07	2.67 ± 0.13	3.60 ± 0.13	0.01 ± 0.00	0.32 ± 0.07	0.10 ± 0.01
DASA 57019	$5.00 \times 10^5 \pm 0.00$	5.18 ± 0.34	3.58 ± 0.26	5.57 ± 0.18	0.03 ± 0.01	0.28 ± 0.04	0.11 ± 0.01
DASA 57020	$2.43 \times 10^8 \pm 3.21 \times 10^7$	3.54 ± 0.08	2.46 ± 0.14	3.63 ± 0.47	0.04 ± 0.02	0.66 ± 0.02	0.13 ± 0.01
DASA 57024	$7.00 \times 10^4 \pm 2.00 \times 10^4$	4.90 ± 0.02	3.63 ± 0.12	4.93 ± 0.23	0.03 ± 0.02	0.37 ± 0.03	0.14 ± 0.02
DASA 57027	$2.83 \times 10^8 \pm 4.73 \times 10^7$	3.66 ± 0.36	3.11 ± 0.45	3.75 ± 0.12	0.13 ± 0.04	0.33 ± 0.03	0.15 ± 0.02
DASA 57034	$9.27 \times 10^8 \pm 2.45 \times 10^8$	4.68 ± 0.26	4.11 ± 0.28	4.99 ± 0.35	0.06 ± 0.03	0.15 ± 0.02	0.07 ± 0.00
DASA 57038	$7.67 \times 10^8 \pm 5.77 \times 10^7$	4.91 ± 0.14	3.54 ± 0.11	5.08 ± 0.12	0.11 ± 0.06	0.17 ± 0.01	0.10 ± 0.01
DASA 57050	$6.00 \times 10^5 \pm 4.00 \times 10^5$	4.63 ± 0.13	3.60 ± 0.53	4.67 ± 0.04	0.16 ± 0.04	0.43 ± 0.01	0.28 ± 0.01
DASA 57053	$7.33 \times 10^8 \pm 1.53 \times 10^7$	3.92 ± 0.22	3.65 ± 0.28	3.92 ± 0.02	0.06 ± 0.02	0.31 ± 0.01	0.19 ± 0.01
DASA 57057	$1.03 \times 10^7 \pm 5.77 \times 10^5$	2.81 ± 0.17	3.01 ± 0.15	2.96 ± 0.28	0.05 ± 0.01	0.26 ± 0.00	0.18 ± 0.01
DASA 57065	$2.53 \times 10^6 \pm 5.51 \times 10^5$	3.06 ± 0.07	2.64 ± 0.02	3.07 ± 0.46	0.04 ± 0.00	0.19 ± 0.01	0.11 ± 0.01
DASA 57066	$1.33 \times 10^4 \pm 5.77 \times 10^3$	6.63 ± 0.06	3.73 ± 0.11	6.61 ± 0.33	0.23 ± 0.04	0.63 ± 0.14	0.29 ± 0.00
DASA 57075	$9.27 \times 10^6 \pm 2.52 \times 10^5$	4.06 ± 0.28	3.23 ± 0.15	4.37 ± 0.09	0.04 ± 0.01	0.16 ± 0.03	0.10 ± 0.01
DASA 57076	$1.00 \times 10^6 \pm 0.00$	4.84 ± 0.20	3.39 ± 0.28	5.05 ± 0.67	0.02 ± 0.00	0.25 ± 0.02	0.16 ± 0.00
DASA 57098	$7.90 \times 10^8 \pm 1.73 \times 10^8$	4.37 ± 0.36	3.06 ± 0.34	4.71 ± 0.23	0.08 ± 0.02	0.23 ± 0.03	0.15 ± 0.02

* ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 20 (ต่อ)

สายพันธุ์แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU / ml)*	Extracellular enzyme activity* (milliunit/ml)			Intracellular enzyme activity* (milliunit/mg)		
		Acid (pH 5)	Neutral (pH 7)	Alkaline(pH 9)	Acid (pH 5)	Neutral (pH 7)	Alkaline(pH 9)
DASA 64006	$2.37 \times 10^8 \pm 2.89 \times 10^7$	3.82 ± 0.15	3.02 ± 0.25	4.57 ± 0.78	0.12 ± 0.01	0.17 ± 0.01	0.16 ± 0.01
DASA 64008	$1.67 \times 10^8 \pm 5.77 \times 10^3$	4.13 ± 0.09	2.82 ± 0.07	4.22 ± 0.11	0.04 ± 0.00	0.25 ± 0.01	0.19 ± 0.01
DASA 64010	$2.00 \times 10^6 \pm 0.00$	4.63 ± 0.16	3.59 ± 0.12	4.35 ± 0.20	0.05 ± 0.02	0.22 ± 0.01	0.18 ± 0.04
DASA 64011	$1.00 \times 10^6 \pm 0.00$	7.02 ± 0.74	3.60 ± 0.20	6.29 ± 0.54	0.15 ± 0.02	0.30 ± 0.00	0.27 ± 0.00
DASA 64012	$4.00 \times 10^6 \pm 2.65 \times 10^6$	4.24 ± 0.18	2.87 ± 0.22	3.68 ± 0.01	0.11 ± 0.04	0.22 ± 0.02	0.24 ± 0.00
DASA 64014	$2.00 \times 10^4 \pm 0.00$	4.98 ± 0.19	3.68 ± 0.20	4.55 ± 0.15	0.04 ± 0.01	0.20 ± 0.00	0.17 ± 0.01
DASA 64016	$1.56 \times 10^7 \pm 4.04 \times 10^5$	4.38 ± 0.12	2.58 ± 0.13	3.53 ± 0.05	0.07 ± 0.03	0.28 ± 0.03	0.24 ± 0.04
DASA 64020	$3.00 \times 10^7 \pm 1.00 \times 10^7$	4.90 ± 0.45	3.21 ± 0.07	4.61 ± 0.22	0.26 ± 0.00	0.39 ± 0.02	0.48 ± 0.04
DASA 64021	$3.00 \times 10^8 \pm 0.00$	4.43 ± 0.38	2.89 ± 0.24	4.28 ± 0.17	0.24 ± 0.01	0.29 ± 0.02	0.16 ± 0.03
DASA 64022	$1.10 \times 10^6 \pm 1.00 \times 10^5$	4.95 ± 0.20	3.68 ± 0.02	4.83 ± 0.33	0.22 ± 0.04	0.44 ± 0.01	0.12 ± 0.02
DASA 64023	$1.95 \times 10^8 \pm 2.18 \times 10^7$	3.79 ± 0.23	3.15 ± 0.09	4.09 ± 0.23	0.21 ± 0.02	0.26 ± 0.01	0.29 ± 0.01
DASA 64026	$1.00 \times 10^6 \pm 0.00$	4.68 ± 0.44	3.46 ± 0.04	4.55 ± 0.23	0.15 ± 0.01	0.39 ± 0.04	0.19 ± 0.02
DASA 64027	$2.67 \times 10^4 \pm 1.53 \times 10^4$	4.49 ± 0.10	3.55 ± 0.12	4.77 ± 0.35	0.14 ± 0.02	0.41 ± 0.04	0.20 ± 0.00
DASA 64031	$4.83 \times 10^8 \pm 1.53 \times 10^7$	6.07 ± 0.16	3.49 ± 0.16	6.65 ± 0.39	0.08 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.18 ± 0.01
DASA 64034	$1.67 \times 10^6 \pm 5.77 \times 10^5$	4.12 ± 0.31	3.46 ± 0.03	3.92 ± 0.04	0.08 ± 0.04	0.24 ± 0.02	0.16 ± 0.04
DASA 64038	$4.97 \times 10^8 \pm 1.19 \times 10^8$	4.84 ± 0.02	4.55 ± 0.03	4.99 ± 0.57	0.18 ± 0.03	0.34 ± 0.02	0.22 ± 0.05
DASA 64040	$1.65 \times 10^8 \pm 1.55 \times 10^7$	4.45 ± 0.39	2.47 ± 0.06	4.40 ± 0.03	0.25 ± 0.01	0.34 ± 0.01	0.38 ± 0.02
DASA 64042	$6.00 \times 10^5 \pm 1.00 \times 10^5$	5.42 ± 0.23	3.80 ± 0.15	5.26 ± 0.05	0.28 ± 0.02	0.30 ± 0.02	0.18 ± 0.02

* ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 20 (ต่อ)

สายพันธุ์แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU / ml)*	Extracellular enzyme activity* (milliunit/ml)			Intracellular enzyme activity* (milliunit/mg)		
		Acid (pH 5)	Neutral (pH 7)	Alkaline (pH 9)	Acid (pH 5)	Neutral (pH 7)	Alkaline (pH 9)
DASA 68003	$2.23 \times 10^5 \pm 3.51 \times 10^4$	5.38 ± 0.24	3.50 ± 0.13	4.75 ± 0.28	0.10 ± 0.01	0.39 ± 0.02	0.21 ± 0.04
DASA 68006	$1.00 \times 10^6 \pm 0.00$	4.55 ± 0.09	3.18 ± 0.17	4.19 ± 0.07	0.07 ± 0.02	0.34 ± 0.01	0.17 ± 0.00
DASA 68010	$1.00 \times 10^5 \pm 0.00$	6.44 ± 0.09	4.67 ± 0.31	7.69 ± 0.40	0.09 ± 0.06	0.07 ± 0.02	0.10 ± 0.01
DASA 68012	$1.80 \times 10^6 \pm 0.00$	4.34 ± 0.11	3.00 ± 0.12	3.66 ± 0.13	0.13 ± 0.01	0.23 ± 0.06	0.18 ± 0.00
DASA 68020	$1.60 \times 10^8 \pm 0.00$	2.87 ± 0.11	2.63 ± 0.40	2.64 ± 0.28	0.18 ± 0.01	0.32 ± 0.05	0.20 ± 0.04
DASA 68025	$8.00 \times 10^4 \pm 0.00$	6.13 ± 0.34	4.17 ± 0.35	6.06 ± 0.21	0.24 ± 0.03	0.52 ± 0.07	0.26 ± 0.01
DASA 68030	$1.00 \times 10^4 \pm 0.00$	4.49 ± 0.16	3.68 ± 0.11	4.68 ± 0.36	0.08 ± 0.02	0.24 ± 0.01	0.12 ± 0.01
DASA 68032	$6.27 \times 10^7 \pm 8.39 \times 10^6$	6.45 ± 0.31	5.72 ± 0.95	9.66 ± 0.35	0.42 ± 0.03	0.84 ± 0.03	0.45 ± 0.02
DASA 68053	$1.00 \times 10^5 \pm 0.00$	4.14 ± 0.10	3.16 ± 0.13	5.62 ± 0.42	0.09 ± 0.00	0.29 ± 0.02	0.11 ± 0.01
DASA 68055	$7.37 \times 10^6 \pm 7.77 \times 10^5$	4.36 ± 0.12	3.43 ± 0.17	4.69 ± 0.23	0.22 ± 0.06	0.35 ± 0.03	0.13 ± 0.01
DASA 68056	$6.00 \times 10^6 \pm 5.29 \times 10^6$	6.55 ± 0.12	5.88 ± 0.01	12.65 ± 0.13	0.10 ± 0.01	0.25 ± 0.01	0.16 ± 0.05
DASA 68058	$1.97 \times 10^6 \pm 1.53 \times 10^5$	6.31 ± 0.04	4.97 ± 0.78	7.18 ± 0.67	0.40 ± 0.06	0.81 ± 0.11	0.26 ± 0.03
DASA 68061	$1.20 \times 10^7 \pm 1.00 \times 10^6$	5.08 ± 0.07	3.89 ± 0.39	5.27 ± 0.17	0.08 ± 0.03	0.24 ± 0.01	0.12 ± 0.01
DASA 68062	$2.27 \times 10^7 \pm 4.51 \times 10^6$	7.86 ± 0.26	5.05 ± 0.12	10.11 ± 0.48	0.33 ± 0.04	0.59 ± 0.00	0.41 ± 0.02
DASA 68066	$6.87 \times 10^8 \pm 4.73 \times 10^7$	6.91 ± 0.06	5.06 ± 0.10	9.94 ± 0.50	0.59 ± 0.05	1.06 ± 0.04	0.73 ± 0.06
DASA 68069	$1.00 \times 10^6 \pm 0.00$	4.81 ± 0.03	3.87 ± 0.06	4.56 ± 0.42	0.06 ± 0.01	0.17 ± 0.05	0.11 ± 0.00
DASA 68070	$1.97 \times 10^8 \pm 2.17 \times 10^7$	2.90 ± 0.02	2.59 ± 0.16	2.84 ± 0.17	0.21 ± 0.05	0.29 ± 0.05	0.32 ± 0.02
DASA 68071	$8.30 \times 10^8 \pm 1.30 \times 10^8$	4.78 ± 0.30	4.16 ± 0.11	5.93 ± 0.21	0.19 ± 0.05	0.22 ± 0.02	0.31 ± 0.02

*ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

6. การศึกษาอิทธิพลของปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ฟอสฟาเตส (phosphatase) ของเชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือก

จากการศึกษาอิทธิพลของปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ phosphatase โดยคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียจำนวน 3 สายพันธุ์ ที่มีกิจกรรมของเอนไซม์ phosphatase ผลการทดลองพบว่า สำหรับเชื้อสายพันธุ์ DASA 57020 ปัจจัย L-alanine มีผลในการเพิ่มการเจริญของเชื้อ โดยพิจารณาจากจำนวนเซลล์ (CFU/ml) ในอาหาร Pikovskaya ที่มีการเติมปัจจัยดังกล่าว เปรียบเทียบกับจำนวนเซลล์ในอาหาร Pikovskaya มีผลให้ปริมาณเซลล์สูงสุด เพิ่มจาก $2.43 \times 10^8 \pm 3.21 \times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร เป็น $1.02 \times 10^9 \pm 2.52 \times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ต่อมาเมื่อนำมาวัดกิจกรรมของเอนไซม์ phosphatase พบว่า ปัจจัย D-xylose, D-fructose, D-mannitol, ammonium chloride [NH_4Cl] และ urea มีผลในการเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ acid phosphatase, neutral phosphatase และ alkaline phosphatase ที่เป็น Extracellular enzyme โดยเฉพาะปัจจัย D-mannitol มีกิจกรรมของเอนไซม์ acid phosphatase สูงที่สุด เพิ่มจาก 3.54 ± 0.08 milliunit/ml เป็น 5.05 ± 0.06 milliunit/ml ปัจจัย D-fructose มีกิจกรรมของเอนไซม์ neutral phosphatase สูงที่สุด เพิ่มจาก 2.46 ± 0.14 milliunit/ml เป็น 9.66 ± 0.51 milliunit/ml และปัจจัย D-xylose มีกิจกรรมของเอนไซม์ alkaline phosphatase สูงที่สุด เพิ่มจาก 3.69 ± 0.47 milliunit/ml เป็น 16.59 ± 0.75 milliunit/ml สำหรับเชื้อสายพันธุ์ DASA 68056 ปัจจัย maltose มีผลในการเพิ่มการเจริญของเชื้อ โดยพิจารณาจากจำนวนเซลล์ (CFU/ml) ในอาหาร Pikovskaya ที่มีการเติมปัจจัยดังกล่าว เปรียบเทียบกับจำนวนเซลล์ในอาหาร Pikovskaya มีผลให้ปริมาณเซลล์สูงสุด เพิ่มจาก $6.00 \times 10^6 \pm 1.11 \times 10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร เป็น $1.11 \times 10^9 \pm 1.50 \times 10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ต่อมาเมื่อนำมาวัดกิจกรรมของเอนไซม์ phosphatase พบว่า ปัจจัย D-xylose, D-fructose และ ammonium chloride [NH_4Cl] มีผลในการเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ acid phosphatase, neutral phosphatase และ alkaline phosphatase ที่เป็น Extracellular enzyme โดยเฉพาะปัจจัย D-xylose มีกิจกรรมของเอนไซม์ acid phosphatase และ neutral phosphatase สูงที่สุด เพิ่มจาก 6.55 ± 0.12 milliunit/ml และ 5.88 ± 0.01 milliunit/ml ตามลำดับ เป็น 25.79 ± 1.32 milliunit/ml และ 15.13 ± 0.78 milliunit/ml ตามลำดับ และปัจจัย D-fructose มีกิจกรรมของเอนไซม์ alkaline phosphatase สูงที่สุด เพิ่มจาก 12.65 ± 0.31 milliunit/ml เป็น 25.48 ± 0.67 milliunit/ml สำหรับเชื้อสายพันธุ์ DASA 68066 ไม่มีปัจจัยใดๆ ที่มีการเพิ่มการเจริญของเชื้อ โดยพิจารณาจากจำนวนเซลล์ (CFU/ml) ในอาหาร Pikovskaya ที่มีการเติมปัจจัยดังกล่าว เปรียบเทียบกับจำนวนเซลล์ในอาหาร Pikovskaya ต่อมาเมื่อนำมาวัดกิจกรรมของเอนไซม์ phosphatase พบว่า ปัจจัย fructose, sucrose และ potassium nitrate [KNO_3] มีผลในการเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ acid phosphatase, neutral phosphatase และ alkaline phosphatase ที่เป็น Extracellular

enzyme โดยเฉพาะปัสจัย D-fructose มีกิจกรรมของเอนไซม์ acid phosphatase และ alkaline phosphatase สูงที่สุด เพิ่มจาก 6.91 ± 0.06 milliunit/ml และ 9.94 ± 0.50 milliunit/ml ตามลำดับ เป็น 10.72 ± 0.72 milliunit/ml และ 14.42 ± 0.28 milliunit/ml ตามลำดับ และปัสจัย D-xylose มีกิจกรรมของเอนไซม์ neutral phosphatase สูงที่สุด เพิ่มจาก 5.06 ± 0.10 milliunit/ml เป็น 20.93 ± 0.16 milliunit/ml ส่วนกิจกรรมของเอนไซม์ phosphatase ที่เป็น Intracellular enzyme พบว่า เชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์ ไม่มีปัสจัยใดๆ ที่มีผลในการเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ acid phosphatase, neutral phosphatase และ alkaline phosphatase แสดงในตารางที่ 21-23 ภาพที่ 17-19

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ตารางที่ 21: จำนวนเซลล์ (CFU/ml) และกิจกรรมของเอนไซม์ฟอสฟาเตสของเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ DASA 57020 ที่เลี้ยงในอาหาร Pikovskaya ที่มี

แหล่งปัจจัยต่างๆ

แหล่งปัจจัย	จำนวนเซลล์ (CFU / ml)*	Extracellular enzyme activity* (milliunit/ml)			Intracellular enzyme activity* (milliunit/mg)		
		Acid (pH 5)	Neutral (pH 7)	Alkaline(pH 9)	Acid (pH 5)	Neutral (pH 7)	Alkaline(pH 9)
Pikovskaya	$2.43 \times 10^8 \pm 3.21 \times 10^7$	3.54 ± 0.08	2.46 ± 0.14	3.69 ± 0.47	0.05 ± 0.02	0.06 ± 0.02	0.02 ± 0.01
D-xylose	$1.00 \times 10^7 \pm 0.00$	4.26 ± 0.30	5.99 ± 0.75	16.59 ± 0.75	0.04 ± 0.02	0.09 ± 0.01	0.10 ± 0.01
D-fructose	$2.00 \times 10^5 \pm 0.00$	4.66 ± 0.09	9.66 ± 0.51	10.20 ± 0.12	0.06 ± 0.03	0.06 ± 0.00	0.03 ± 0.02
Sucrose	$1.67 \times 10^6 \pm 5.77 \times 10^5$	0.48 ± 0.04	2.09 ± 0.09	8.34 ± 1.01	0.18 ± 0.00	0.17 ± 0.06	0.17 ± 0.02
Maltose	$1.00 \times 10^2 \pm 0.00$	3.39 ± 0.09	6.52 ± 0.60	7.71 ± 0.63	0.07 ± 0.01	0.10 ± 0.00	0.08 ± 0.02
D-sorbitol	$9.83 \times 10^7 \pm 5.86 \times 10^6$	2.95 ± 0.07	3.06 ± 0.20	3.85 ± 0.03	0.06 ± 0.03	0.11 ± 0.00	0.07 ± 0.02
D-mannitol	$9.00 \times 10^2 \pm 3.61 \times 10^2$	5.05 ± 0.06	6.45 ± 0.47	4.63 ± 0.37	0.25 ± 0.02	0.28 ± 0.01	0.28 ± 0.01
Soluble starch	$9.90 \times 10^6 \pm 1.15 \times 10^6$	1.71 ± 0.04	2.63 ± 0.07	4.03 ± 0.38	0.22 ± 0.03	0.24 ± 0.02	0.19 ± 0.01
No PO₄	$1.50 \times 10^8 \pm 2.98 \times 10^7$	1.66 ± 0.04	2.46 ± 0.07	3.82 ± 0.41	0.01 ± 0.02	0.01 ± 0.01	0.01 ± 0.00
AIPO₄	$2.90 \times 10^8 \pm 3.61 \times 10^7$	1.54 ± 0.10	2.60 ± 0.16	5.31 ± 0.61	0.06 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.05 ± 0.00
NH₄Cl	$2.00 \times 10^7 \pm 1.00 \times 10^7$	3.73 ± 0.30	4.57 ± 0.21	6.08 ± 0.24	0.17 ± 0.03	0.11 ± 0.00	0.11 ± 0.02
KNO₃	$3.53 \times 10^7 \pm 5.69 \times 10^6$	3.26 ± 0.12	4.76 ± 0.03	5.50 ± 0.21	0.10 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.10 ± 0.02
Urea	$8.67 \times 10^8 \pm 1.45 \times 10^8$	4.66 ± 0.21	6.21 ± 0.18	8.75 ± 0.38	0.17 ± 0.04	0.10 ± 0.03	0.11 ± 0.05
L-alanine	$1.02 \times 10^9 \pm 2.52 \times 10^7$	2.50 ± 0.10	4.16 ± 0.28	6.26 ± 0.41	0.06 ± 0.03	0.09 ± 0.01	0.03 ± 0.01
L-lysine	$7.73 \times 10^8 \pm 1.33 \times 10^8$	2.47 ± 0.12	4.26 ± 0.20	5.28 ± 0.36	0.14 ± 0.04	0.05 ± 0.01	0.09 ± 0.02

*ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 22: จำนวนเซลล์ (CFU/ml) และกิจกรรมของเอนไซม์ฟอสฟาเตสของเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ DASA 68056 ที่เลี้ยงในอาหาร Pikovskaya ที่มี

แหล่งปัจจัยต่างๆ

แหล่งปัจจัย	จำนวนเซลล์ (CFU / ml)*	Extracellular enzyme activity* (milliunit/ml)			Intracellular enzyme activity* (milliunit/mg)		
		Acid (pH 5)	Neutral (pH 7)	Alkaline(pH 9)	Acid (pH 5)	Neutral (pH 7)	Alkaline(pH 9)
Pikovskaya	$6.00 \times 10^6 \pm 5.29 \times 10^6$	6.55 ± 0.12	5.88 ± 0.01	12.65 ± 0.31	0.09 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.11 ± 0.05
D-xylose	$1.40 \times 10^8 \pm 2.65 \times 10^7$	25.79 ± 1.32	15.13 ± 0.78	23.79 ± 0.51	0.05 ± 0.05	0.10 ± 0.01	0.15 ± 0.02
D-fructose	$1.53 \times 10^5 \pm 4.51 \times 10^4$	19.85 ± 0.33	13.97 ± 0.52	25.48 ± 0.67	0.03 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.06 ± 0.01
Sucrose	$6.17 \times 10^8 \pm 1.53 \times 10^7$	4.08 ± 0.05	5.76 ± 0.82	2.50 ± 0.24	0.13 ± 0.01	0.12 ± 0.09	0.11 ± 0.01
Maltose	$1.11 \times 10^9 \pm 1.50 \times 10^8$	15.83 ± 1.03	5.52 ± 0.43	9.58 ± 1.07	0.19 ± 0.04	0.23 ± 0.01	0.27 ± 0.00
D-sorbitol	$6.57 \times 10^8 \pm 1.85 \times 10^8$	4.23 ± 0.07	4.22 ± 0.16	7.92 ± 0.77	0.19 ± 0.02	0.21 ± 0.01	0.17 ± 0.00
D-mannitol	$1.40 \times 10^8 \pm 5.29 \times 10^7$	2.89 ± 0.07	2.99 ± 0.63	2.25 ± 0.66	0.09 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.08 ± 0.01
Soluble starch	$2.33 \times 10^5 \pm 5.77 \times 10^4$	5.68 ± 0.25	8.73 ± 0.39	5.52 ± 0.82	0.35 ± 0.04	0.33 ± 0.00	0.41 ± 0.00
No PO₄	$1.50 \times 10^5 \pm 5.57 \times 10^4$	4.15 ± 0.21	2.89 ± 0.10	3.53 ± 0.12	0.06 ± 0.02	0.10 ± 0.01	0.07 ± 0.02
AlPO₄	$6.67 \times 10^5 \pm 1.53 \times 10^5$	2.88 ± 0.04	2.08 ± 0.14	2.12 ± 0.19	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0.10 ± 0.01
NH₄Cl	$2.33 \times 10^7 \pm 1.15 \times 10^7$	7.68 ± 0.41	6.22 ± 0.56	15.46 ± 0.47	0.07 ± 0.00	0.07 ± 0.01	0.06 ± 0.00
KNO₃	$4.33 \times 10^5 \pm 5.77 \times 10^4$	4.56 ± 0.17	6.09 ± 0.52	4.76 ± 0.02	0.07 ± 0.01	0.06 ± 0.02	0.05 ± 0.01
Urea	$9.00 \times 10^6 \pm 1.73 \times 10^6$	7.79 ± 0.34	5.69 ± 0.26	5.98 ± 0.40	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.03	0.05 ± 0.01
L-alanine	$2.00 \times 10^7 \pm 0.00$	6.12 ± 0.13	5.37 ± 0.26	8.55 ± 0.74	0.03 ± 0.01	0.02 ± 0.03	0.01 ± 0.03
L-lysine	$4.00 \times 10^5 \pm 3.00 \times 10^5$	3.66 ± 0.16	2.48 ± 0.07	1.25 ± 0.29	0.05 ± 0.01	0.07 ± 0.02	0.06 ± 0.04

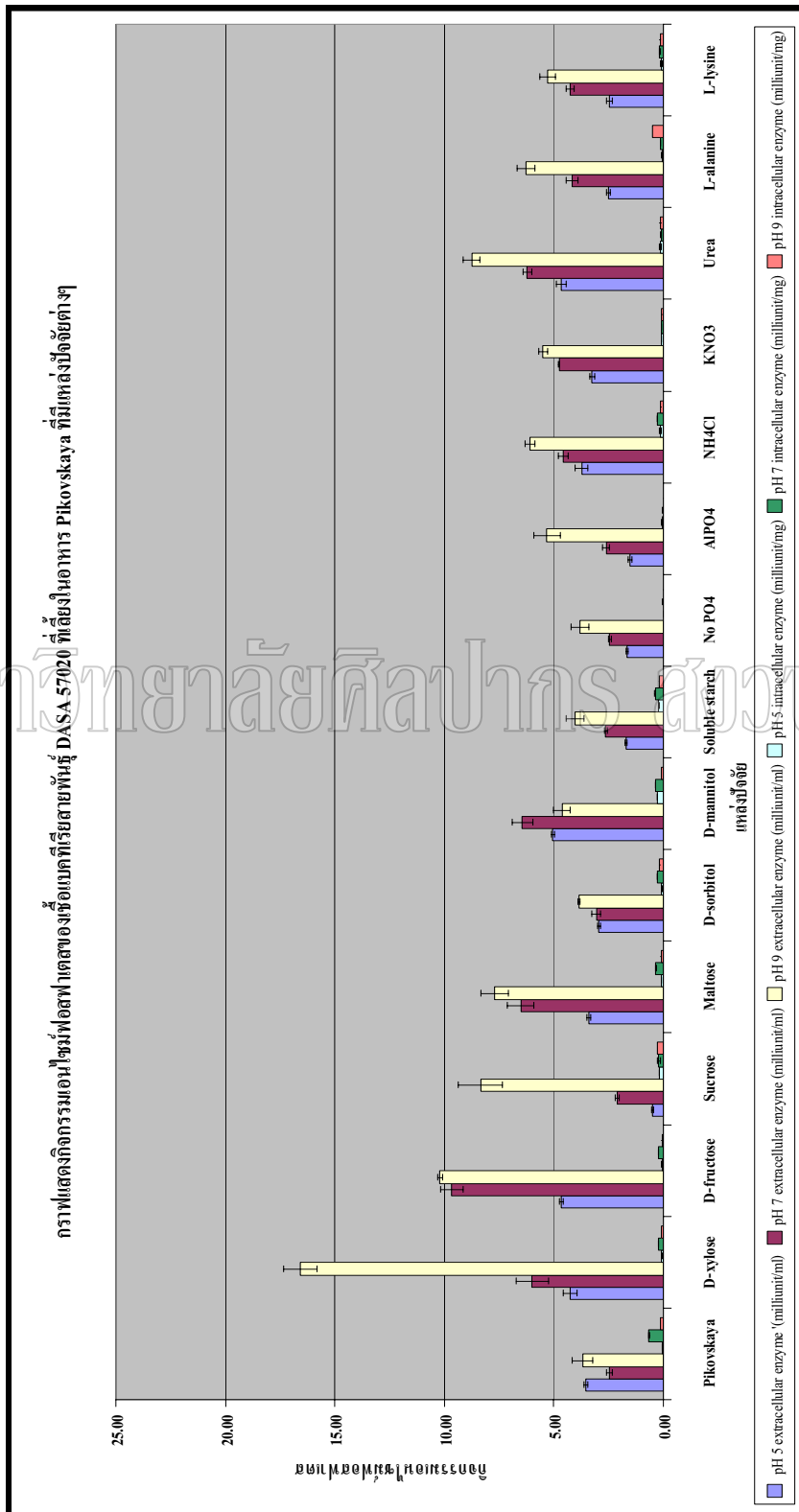
*ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 23: จำนวนเซลล์ (CFU/ml) และกิจกรรมของเอนไซม์ฟอสฟาเตสของเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ DASA 68066 ที่เลี้ยงในอาหาร Pikovskaya ที่มี

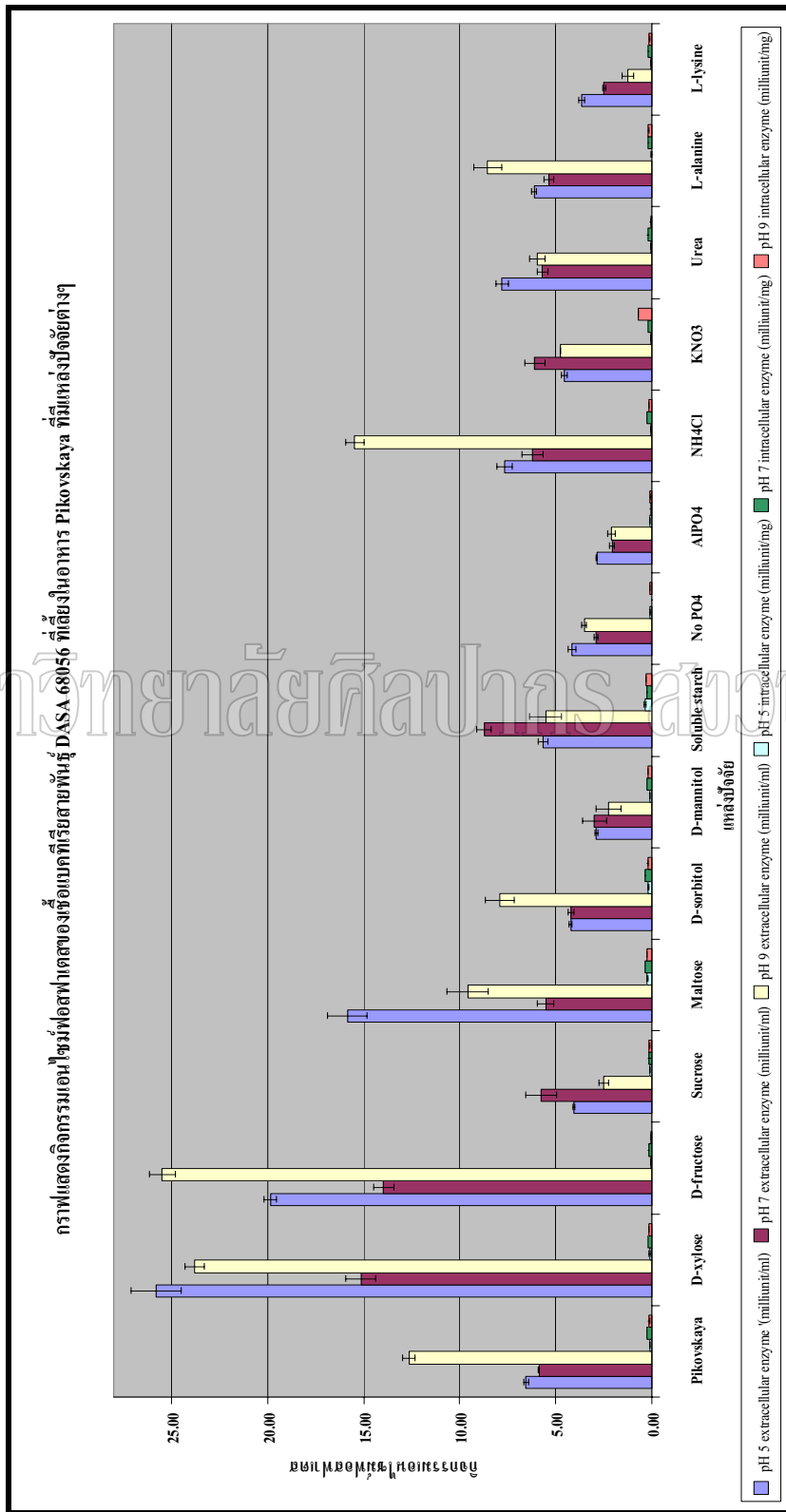
แหล่งปัจจัยต่างๆ

แหล่งปัจจัย	จำนวนเซลล์ (CFU / ml)*	Extracellular enzyme activity* (milliunit/ml)			Intracellular enzyme activity*(milliunit/mg)		
		Acid (pH 5)	Neutral (pH 7)	Alkaline(pH 9)	Acid (pH 5)	Neutral (pH 7)	Alkaline(pH 9)
Pikovskaya	$6.87 \times 10^8 \pm 4.73 \times 10^7$	6.91 ± 0.06	5.06 ± 0.10	9.94 ± 0.50	0.54 ± 0.05	0.63 ± 0.04	0.61 ± 0.06
D-xylose	$1.00 \times 10^5 \pm 0.00$	7.21 ± 0.12	20.93 ± 0.16	5.82 ± 0.61	0.04 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.04 ± 0.00
D-fructose	$1.00 \times 10^5 \pm 0.00$	10.72 ± 0.72	18.53 ± 0.72	14.42 ± 0.28	0.05 ± 0.01	0.06 ± 0.02	0.07 ± 0.00
Sucrose	$1.13 \times 10^5 \pm 1.15 \times 10^4$	7.51 ± 0.37	12.79 ± 0.20	13.46 ± 0.73	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.07	0.11 ± 0.00
Maltose	$1.00 \times 10^5 \pm 0.00$	4.99 ± 0.54	11.42 ± 0.44	4.03 ± 0.02	0.15 ± 0.03	0.10 ± 0.01	0.10 ± 0.01
D-sorbitol	$6.43 \times 10^8 \pm 1.04 \times 10^8$	5.99 ± 0.03	3.16 ± 0.51	2.69 ± 0.06	0.08 ± 0.02	0.12 ± 0.03	0.08 ± 0.00
D-mannitol	$8.27 \times 10^4 \pm 1.97 \times 10^4$	5.33 ± 0.29	3.08 ± 0.51	1.76 ± 0.28	0.10 ± 0.03	0.05 ± 0.00	0.04 ± 0.00
Soluble starch	$1.42 \times 10^5 \pm 1.91 \times 10^4$	3.38 ± 0.08	3.80 ± 0.58	1.39 ± 0.18	0.15 ± 0.02	0.15 ± 0.00	0.19 ± 0.01
No PO₄	$2.60 \times 10^6 \pm 2.65 \times 10^5$	3.53 ± 0.11	6.72 ± 0.28	2.47 ± 0.25	0.31 ± 0.01	0.31 ± 0.00	0.32 ± 0.00
AlPO₄	$1.33 \times 10^2 \pm 5.77 \times 10^1$	3.77 ± 0.22	6.85 ± 0.05	3.16 ± 0.17	0.25 ± 0.02	0.21 ± 0.00	0.24 ± 0.00
NH₄Cl	$3.20 \times 10^7 \pm 8.19 \times 10^6$	5.15 ± 0.25	9.23 ± 0.56	6.84 ± 0.45	0.08 ± 0.02	0.04 ± 0.01	0.05 ± 0.02
KNO₃	$2.07 \times 10^8 \pm 2.08 \times 10^7$	8.15 ± 0.22	7.93 ± 0.95	12.97 ± 1.19	0.12 ± 0.02	0.10 ± 0.01	0.09 ± 0.00
Urea	$5.67 \times 10^7 \pm 1.53 \times 10^7$	4.61 ± 0.27	9.89 ± 0.11	3.55 ± 0.25	0.23 ± 0.01	0.24 ± 0.02	0.23 ± 0.00
L-alanine	$9.00 \times 10^7 \pm 3.61 \times 10^7$	7.66 ± 0.28	8.13 ± 0.01	8.74 ± 0.48	0.63 ± 0.00	0.63 ± 0.03	0.63 ± 0.01
L-lysine	$1.67 \times 10^7 \pm 1.15 \times 10^7$	5.87 ± 0.02	8.95 ± 0.16	8.34 ± 0.15	0.08 ± 0.04	0.14 ± 0.02	0.06 ± 0.01

*ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation



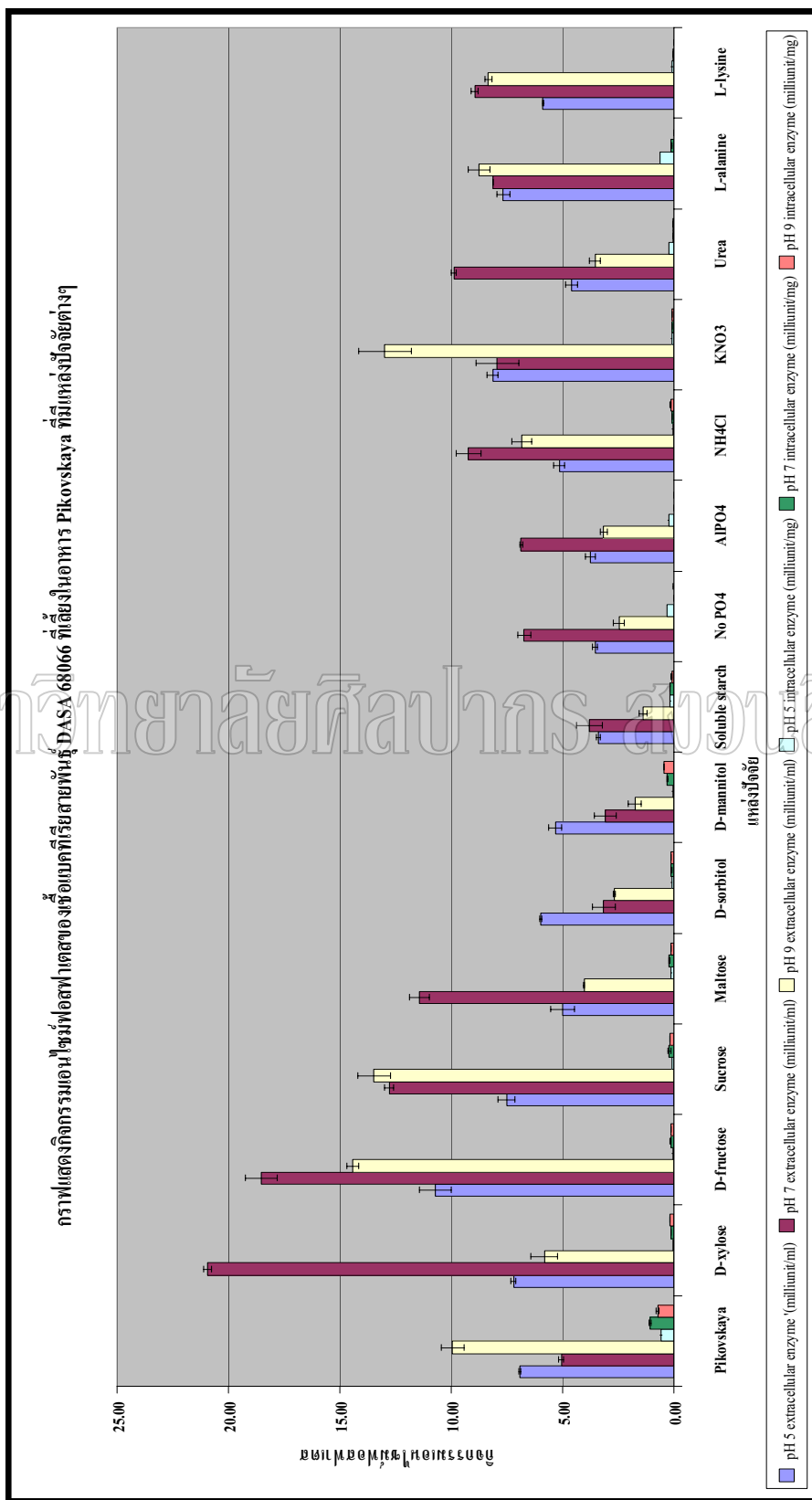
ภาพที่ 17: กราฟแสดงกิจกรรมของเอนไซม์ฟอสฟาตเอสของเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ DASA 57020 ที่เลี้ยงในอาหาร Pikovskaya ที่มีแหล่งปัจจัยต่างๆ
 Error bars แสดง ค่า ± Standard deviation



ภาพที่ 18: ภาพแสดงกิจกรรมของเอนไซม์ฟอสฟาเตสของเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ DASA 68056 ที่เลี้ยงในอาหาร Pikovskaya ที่มีแหล่งโปรตีนต่างๆ

I Error bars แสดง ค่า \pm Standard deviation

มหาวิทยาลัยศิลปากร สาขาวิชาสัตวศาสตร์



ภาพที่ 19: กราฟแสดงกิจกรรมเอนไซม์ฟอสฟาเตสของเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ DASA 68066 ที่เลี้ยงในอาหาร Pikovskaya ที่มีแหล่งปัจจัยต่างๆ

I Error bars แสดง ค่า ± Standard deviation

บทที่ 5

วิจารณ์และอภิปรายผลการทดลอง

การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน 16S rRNA โดยเปรียบเทียบกับ เชื้อในฐานข้อมูลของ GenBank โดยโปรแกรม BlastN พบว่า เชื้อแบคทีเรียปมรากคราม จำนวน 12 สายพันธุ์ มีลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน 16S rRNA คล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Pseudoalteromonas* ที่ระดับ 70-80 % *Ralstonia-Cupriavidus* ที่ระดับ 69-72% *Rhizobium* ที่ระดับ 90-100 % *Sinorhizobium* ที่ระดับ 95% และ *Bradyrhizobium* ที่ระดับ 95% เชื้อแบคทีเรียปมราก กวาวเครือขาวจำนวน 6 สายพันธุ์ มีลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน 16S rRNA คล้ายคลึงกับ เชื้อใน genus *Rhizobium* ที่ระดับ 93-100% เชื้อแบคทีเรียปมรากหางไหลแดง จำนวน 10 สายพันธุ์ มีลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน 16S rRNA คล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Rhizobium* ที่ระดับ 91-100% *Sinorhizobium* ที่ระดับ 99% และ *Bradyrhizobium* ที่ระดับ 91-99% สอดคล้องกับงานวิจัย ซึ่งรายงานถึงพืชอาศัยชนิดเดียวกันสามารถเกิดปมกับเชื้อมากกว่า 1 genus เช่น *Indigofera* spp. และ *Kummerowia stipulacea* สามารถเกิดปมกับเชื้อใน genus *Rhizobium* และ *Sinorhizobium* (Wei et al. 2002 : 2231 - 2239) *Robinia pseudoacacia* (black locust) สามารถเกิดปมกับเชื้อใน genus *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Sinorhizobium* และ *Mesorhizobium* (Mierzwa et al. 2009 : 687 - 710) โดยความแตกต่างของ genus ของเชื้อแบคทีเรียในปมของพืชชนิดเดียวกันอาจเกิดจาก ผลของความหลากหลายทางพันธุกรรมและการปรับตัวของเชื้อแบคทีเรียต่อสภาวะสิ่งแวดล้อม (Fuentes et al. 2002 : 181 - 191) ผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์กับลักษณะทางกายภาพและ ชีวเคมีของเชื้อ *Pseudoalteromonas* ใน species ต่างๆ ที่มีการรายงานมาก่อน พบว่า เชื้อแบคทีเรีย ปมรากครามทุกสายพันธุ์ที่มีความคล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Pseudoalteromonas* มีระดับ % identity ต่ำ และมีคุณลักษณะเด่นในการใช้แหล่งคาร์บอน ได้แก่ L-ornithine monohydrochloride และ DL-valine และบางสายพันธุ์สามารถใช้ adenitol เป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งแตกต่างจากเชื้อ *Pseudoalteromonas* ใน species ต่างๆ ที่ Gauthier et al. (1995) รายงานว่า เชื้อ *Pseudoalteromonas* ทุกสายพันธุ์ไม่สามารถใช้ L-ornithine monohydrochloride, DL-valine และ adenitol เป็นแหล่ง คาร์บอน จากผลทำให้ไม่สามารถระบุได้แน่นอนว่าเป็นเชื้อ *Pseudoalteromonas* ใน species ต่างๆ ที่มีรายงานมาก่อน ดังนั้นจึงตั้งสมมติฐานสำหรับการจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียปมรากครามที่มีความ

คล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Pseudoalteromonas* ว่าเชื้อแบคทีเรียเหล่านี้ น่าจะเป็นเชื้อสายพันธุ์ใหม่ที่มีความคล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Pseudoalteromonas*

การผลิตรวด-ค้าง พบว่า เชื้อใน genus *Ralstonia-Cupriavidus*, *Rhizobium* และ *Sinorhizobium* มีการเจริญที่มีการผลิตรวดและสามารถผลิตรวดปริมาณมาก สอดคล้องกับงานวิจัยซึ่งรายงานว่าเชื้อใน genus *Rhizobium* และ *Sinorhizobium* มีการเจริญที่มีการผลิตรวด (Rathore et al. 2009 : 115 - 122) และเชื้อใน genus *Ralstonia-Cupriavidus* สามารถผลิตรวดได้ (Chen et al. 2001 : 1729 - 1735) ผลการผลิตรวด-ค้างเชื้อใน genus *Bradyrhizobium* มีการเจริญของเชื้อไม่มีการผลิตรวด-ค้าง ไม่สอดคล้องกับงานวิจัยที่รายงานว่า *Bradyrhizobium* มีความสามารถในการผลิตรวด (van Berkum and Eardly, 2002 : 1132 – 1136 ; Rathore et al. 2009 : 115 - 122) เชื้อแบคทีเรียปมรากครามทุกสายพันธุ์ที่คล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Pseudoalteromonas* มีการเจริญที่มีการผลิตรวดปริมาณมาก ไม่มีงานวิจัยที่มีการรายงานถึงความสามารถในการผลิตรวด-ค้างบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-mannitol agar

การศึกษาลักษณะโคโลนีและลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า เชื้อแบคทีเรียทุกสายพันธุ์เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ขนาด $1 \times 2 \mu\text{m}$ หรือ $1 \times 1-2 \mu\text{m}$ ไม่สร้างสปอร์ โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast-mannitol agar ที่เติม congo red มีลักษณะกลม นูน ขอบเรียบ สีขาวหรือสีขาวอมชมพู ทึบแสงหรือกึ่งโปร่งแสง สามารถสร้างเมือก และมีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อแต่ละสายพันธุ์แตกต่างกันขึ้นอยู่กับอัตราการเจริญของเชื้อ ผลสอดคล้องกับงานวิจัยของ Teixeira et al. (2010) รายงานว่า กลุ่มไรโซเบียมเจริญเร็วที่แยกได้จากปมรากของ *Cratylia mollis* Mart. ex Benth, *Calliandra depauperata* Benth. และ *Mimosa tenuiflora* (Willd.) โคโลนีมีลักษณะกลม สีขาว ขอบเรียบ เมือกเหนียวและปริมาณมาก และงานวิจัยของ Girgis et al. (2007) รายงานว่า *Bradyrhizobium* spp. ที่แยกได้จากปมของถั่วเหลือง (*Glycine max*) มีลักษณะโคโลนีขนาดเล็ก กลม สีขาว ขอบเรียบ และมีเมือกเหนียว ผลลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของเชื้อใน genus *Ralstonia-Cupriavidus* สอดคล้องกับงานวิจัยที่รายงานว่า เชื้อ *Ralstonia taiwanensis* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อนและไม่สร้างสปอร์ (Chen et al. 2001 : 1729 - 1735) เชื้อแบคทีเรียปมรากครามทุกสายพันธุ์ที่คล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Pseudoalteromonas* ไม่สอดคล้องกับเชื้อ *Pseudoalteromonas* ที่มีการรายงาน เช่น *Pseudoalteromonas aliena* sp. nov. มีลักษณะโคโลนีกลม นูน โคนขึ้นเล็กน้อย ขอบเรียบ ขนาด 2-3 มิลลิเมตร สามารถสร้างรงควัตถุซึ่งมีสีน้ำตาลรอบๆโคโลนีในอาหารเลี้ยงเชื้อ marine agar หรือ medium B (Ivanova et al. 2004 : 1431 - 1437)

การทดสอบการใช้แหล่งคาร์บอน 52 ชนิด พบว่า แหล่งคาร์บอนที่เชื้อใน genus *Rhizobium* สายพันธุ์ DASA 57010 DASA 57027 DASA 57038 DASA 57053 DASA 64006 DASA 64012 DASA 64016 DASA 64021 DASA 64038 DASA 64040 DASA 68020 DASA 68025 DASA 68053 DASA 68061 DASA 68066 DASA 68069 และ DASA 68010 สามารถใช้ได้ ได้แก่ DL-alanine, ammonium citrate, L-asparagine monohydrate, D-serine, lithium lactate, L-alanine, proline, L-ornithine monohydrochloride, DL-valin, mannitol, L-arabinose, D-fructose, D-glucose, L-glutamine, D-mannose, D-galactose และ casein แหล่งคาร์บอนที่เชื้อ *Rhizobium* บางสายพันธุ์สามารถใช้ได้ บางสายพันธุ์ไม่สามารถใช้ได้ ได้แก่ DL-lysine, glycerol, citric acid, potassium acetate, potassium sodium tartrate, sodium tartrate dehydrate, galactonic acid, sodium acetate, DL-aspartic acid, malic acid, isopropyl alcohol, sodium benzoate, lactose, sucrose, D-xylose, ammonium oxalate, glycine, D-maltose, α -cellulose, trehalose, anthrone, D-cellobiose, urea, D-sorbitol, D-raffinose, xylitol, inulin, sorbose, myo-inositol และ adenitol แหล่งคาร์บอนที่เชื้อ *Rhizobium* ทุกสายพันธุ์ไม่สามารถใช้ได้ ได้แก่ 4-phenylphenol, phthalic acid, benzoic acid และ tannic acid สอดคล้องกับงานวิจัยที่รายงานไว้ เชื้อใน genus *Rhizobium* ที่แยกจากปมของ *Vicia angustifolia* และ *Mucuna pruriens* สามารถใช้ D-xylose, D-galactose, D-maltose และ lactose (Pandey 2004 : 204 - 207)

แหล่งคาร์บอนที่เชื้อใน genus *Bradyrhizobium* สายพันธุ์ DASA 57019 DASA 68010 และ DASA 68056 สามารถใช้ได้ ได้แก่ DL-lysine, DL-alanine, glycerol, ammonium citrate, L-asparagine monohydrate, lithium lactate, L-alanine, proline, L-ornithine monohydrochloride, DL-aspartic acid, isopropyl alcohol, DL-valine, sodium tartrate dehydrate, mannitol, L-arabinose, D-fructose, D-xylose, L-glutamine, D-cellobiose, D-mannose, D-galactose, potassium sodium tartrate, lactose, D-maltose, sucrose, trehalose และ casein แหล่งคาร์บอนที่เชื้อ *Bradyrhizobium* บางสายพันธุ์สามารถใช้ได้ บางสายพันธุ์ไม่สามารถใช้ได้ ได้แก่ citric acid, potassium acetate, D-serine, galactonic acid, sodium acetate, phthalic acid, sodium benzoate, ammonium oxalate, glycine, α -cellulose, malic acid, anthrone, urea, D-sorbitol, D-raffinose, xylitol, inulin, sorbose, myo-inositol และ adenitol แหล่งคาร์บอนที่เชื้อ *Bradyrhizobium* ทุกสายพันธุ์ไม่สามารถใช้ได้ ได้แก่ 4-phenylphenol, tannic acid และ benzoic acid สอดคล้องกับเชื้อ *Bradyrhizobium* sp. ที่แยกได้จากปมรากของ *Genista tinctoria* สามารถใช้ L-alanine, L-

asparagine, cellobiose, sodium citrate, glycerol, L-glutamine และ inulin (Kalita et al. 2004 : 707 - 715)

แหล่งคาร์บอนที่เชื้อใน genus *Sinorhizobium* สายพันธุ์ DASA 57015 และ DASA 68012 สามารถใช้ได้ ได้แก่ DL-lysine, DL-alanine, ammonium citrate, L-asparagine monohydrate, D-serine, L-alanine, proline, L-ornithine monohydrochloride, DL-aspartic acid, DL-valin, D-maltose, sodium tartrate dehydrate, mannitol, L-arabinose, D-fructose, D-glucose, D-xylose, L-glutamine, D-cellobiose, D-sorbitol, D-mannose, xylitol, inulin, D-galactose, และ casein แหล่งคาร์บอนที่เชื้อ *Sinorhizobium* บางสายพันธุ์สามารถใช้ได้ บางสายพันธุ์ไม่สามารถใช้ได้ ได้แก่ glycerol, citric acid, potassium acetate, potassium sodium tartrate, galactonic acid, sodium acetate, lithium lactate, malic acid, isopropyl alcohol, phthalic acid, Lactose, sucrose, ammonium oxalate, glycine, α - cellulose, trehalose, anthrone, urea, D-raffinose, myo-inositol และ adenitol แหล่งคาร์บอนที่เชื้อ *Sinorhizobium* ทุกสายพันธุ์ไม่สามารถใช้ได้ ได้แก่ 4-phenylphenol, sodium benzoate, tannic acid, benzoic acid และ sorbose สอดคล้องกับงานวิจัยที่รายงานว่า เชื้อใน genus *Sinorhizobium* สามารถใช้คาร์โบไฮเดรต และเกลือของสารอินทรีย์ ได้แก่ D-arabinose, cellobiose, fructose, D-galactose, glucose, L-glutamine, lactose, D-mannose, mannitol, D-ribose และ xylose (Chen et al. 1988 : 392 - 307; Young 2001 : 89 - 103)

แหล่งคาร์บอนที่เชื้อใน genus *Ralstonia-Cupriavidus* สายพันธุ์ DASA 57009 DASA 57020 และ DASA 57038 สามารถใช้ได้ ได้แก่ DL-lysine, DL-alanine, glycerol, ammonium citrate, L-asparagine monohydrate, D-serine, lithium lactate, L-alanine, proline, L-ornithine monohydrochloride, DL-aspartic acid, sodium tartrate dehydrate, mannitol, L-arabinose, D-fructose, D-glucose, D-xylose, L-glutamine, D-cellobiose, D-mannose, D-galactose และ casein แหล่งคาร์บอนที่เชื้อ *Ralstonia-Cupriavidus* บางสายพันธุ์สามารถใช้ได้ บางสายพันธุ์ไม่สามารถใช้ได้ ได้แก่ potassium sodium tartrate, galactonic acid, isopropyl alcohol, sodium benzoate, DL-valine, D-maltose, sodium acetate, lactose, sucrose, ammonium oxalate, glycine, trehalose, xylitol, inulin, sorbose, myo-inositol และ D-sorbitol แหล่งคาร์บอนที่เชื้อ *Ralstonia-Cupriavidus* ทุกสายพันธุ์ไม่สามารถใช้ได้ ได้แก่ citric acid, potassium acetate, 4-phenylphenol, malic acid, phthalic acid, α - cellulose, tannic acid, anthrone, benzoic acid, urea, D-raffinose และ adenitol สอดคล้องกับงานวิจัยที่ได้รายงานว่า *R. taiwanensis* ที่แยกได้จากปมรากของ *Mimosa diplotricha* และ *Mimosa pudica* สามารถออกซิไดส์สารตั้งต้นของคาร์บอนและเปลี่ยนนำมาใช้ ได้แก่ L-

alanine, L-asparagine, D-serine, L-aspartic acid, L-ornithine และ L-proline (Chen et al. 2001 : 1729 - 1735)

แหล่งคาร์บอนที่เชื้อแบคทีเรียปมรากคราม สายพันธุ์ DASA 57003 DASA 57004 DASA 57066 และ DASA 57075 ที่คล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Pseudoalteromonas* สามารถใช้ได้ ได้แก่ DL-lysine, DL-alanine, glycerol, ammonium citrate, L-asparagine monohydrate, potassium sodium tartrate, lithium lactate, L-alanine, proline, L-ornithine monohydrochloride, DL-aspartic acid, isopropyl alcohol, DL-valine, D-maltose, sodium tartrate dehydrate, mannitol, L-arabinose, lactose, D-fructose, sucrose, D-glucose, D-xylose, ammonium oxalate, L-glutamine, D-cellobiose, D-mannose, D-galactose และ casein แหล่งคาร์บอนที่เชื้อแบคทีเรียปมรากครามที่คล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Pseudoalteromonas* บางสายพันธุ์สามารถใช้ได้ บางสายพันธุ์ไม่สามารถใช้ได้ ได้แก่ potassium acetate, D-serine, galactonic acid, sodium acetate, sodium benzoate, α - cellulose, trehalose, anthrone, urea, D-sorbitol, D-raffinose, glycine, xylitol, inulin, sorbose, myo-inositol และ adenitol แหล่งคาร์บอนที่เชื้อแบคทีเรียปมรากครามทุกสายพันธุ์ที่คล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Pseudoalteromonas* ไม่สามารถใช้ได้ ได้แก่ citric acid, phthalic acid, malic acid, tannic acid, benzoic acid และ 4-phenylphenol สอดคล้องกับงานวิจัยของ Pujalte et al. (2007) รายงานว่า เชื้อ *Pseudoalteromonas* บางสายพันธุ์ที่แยกได้จาก gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) และ European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) สามารถใช้ D-glucose, maltose, sucrose, glutamate, aspartate และ L-ornithine ในขณะที่เดียวกันผลไม่สอดคล้องกับงานวิจัยของ Gauthier et al. (1995) รายงานว่า เชื้อ *Pseudoalteromonas* ทุกสายพันธุ์ไม่สามารถใช้ adonitol, L-valine และ L-ornithine

การทดสอบการใช้แหล่งไนโตรเจน 30 ชนิด พบว่า แหล่งไนโตรเจนที่เชื้อใน genus *Rhizobium* ทุกสายพันธุ์สามารถใช้ได้ ได้แก่ DL- phenyl alanine, proline, DL-valine, DL-lysine, urea, ammonium citrate tribasic, ammonium oxalate, ammonium dihydrogen orthophosphate และ ammonium molybdate-4-hydrate แหล่งไนโตรเจนที่เชื้อ *Rhizobium* บางสายพันธุ์สามารถใช้ได้ บางสายพันธุ์ไม่สามารถใช้ได้ ได้แก่ L-glutamine, glycine, D-serine, L-alanine, DL-threonine, DL-aspartic acid, L-arginine, L-tyrosine, L-ornithine monohydrochloride, ammonium nitrate, DL-alanine, L-aspartic acid, ammonium chloride, sodium barbitone, sodium nitrate, L-asparagine, galactonic acid และ calcium nitrate แหล่งไนโตรเจนที่เชื้อ *Rhizobium* ทุกสายพันธุ์ไม่สามารถใช้ได้ ได้แก่ sodium nitrite, diphenyl amine และ trimethyl ammonium bromide สอดคล้องกับงานวิจัยที่รายงานไว้ว่า เชื้อใน genus *Rhizobium* ที่แยกได้จากปมรากของ *Astragalus*, *Lespedeza* และ

Hedysarum สามารถใช้กรดอะมิโน และสารประกอบเกลือ ได้แก่ L-arginine, L-threonine และ L-proline (Wei et al. 2006 : 1 - 12)

แหล่งไนโตรเจนที่เชื้อใน genus *Bradyrhizobium* ทุกสายพันธุ์สามารถใช้ได้ ได้แก่ glycine, DL- phenyl alanine, proline, DL-valine, DL-aspartic acid, DL-lysine, DL-alanine, urea, ammonium citrate tribasic, ammonium chloride, L-asparagine, ammonium dihydrogen orthophosphate, diphenyl amine และ ammonium molybdate-4-hydrate แหล่งไนโตรเจนที่เชื้อ *Bradyrhizobium* บางสายพันธุ์สามารถใช้ได้ บางสายพันธุ์ไม่สามารถใช้ได้ ได้แก่ L-ornithine monohydrochloride, ammonium oxalate, D-serine, L-aspartic acid, L-tyrosine, L-glutamine, DL-threonine, L-alanine, ammonium nitrate, sodium nitrate, L-arginine และ calcium nitrate แหล่งไนโตรเจนที่เชื้อ *Bradyrhizobium* ทุกสายพันธุ์ไม่สามารถใช้ได้ ได้แก่ sodium barbitone, galactonic acid, sodium nitrite และ trimethyl ammonium bromide สอดคล้องกับเชื้อ *Bradyrhizobium* sp. ที่แยกได้จากปมรากของ *Genista tinctoria* สามารถใช้ DL-arginine, L-proline, L-serine, L-threonine, L-tyrosine และ ammonium nitrate (Kalita et al. 2004: 707 - 715)

แหล่งไนโตรเจนที่เชื้อใน genus *Sinorhizobium* ทุกสายพันธุ์สามารถใช้ได้ ได้แก่ DL-phenyl alanine, proline, DL-valine, L-alanine, DL-aspartic acid, DL-lysine, urea, L-tyrosine, ammonium citrate tribasic, ammonium chloride, L-asparagine, ammonium dihydrogen orthophosphate และ ammonium molybdate-4-hydrate แหล่งไนโตรเจนที่เชื้อ *Sinorhizobium* บางสายพันธุ์สามารถใช้ได้ บางสายพันธุ์ไม่สามารถใช้ได้ ได้แก่ glycine, ammonium oxalate, L-aspartic acid, L-ornithine monohydrochloride, L-glutamine, DL-threonine, ammonium nitrate, DL-alanine, sodium nitrate, D-serine, L-arginine และ calcium nitrate แหล่งไนโตรเจนที่เชื้อ *Sinorhizobium* ทุกสายพันธุ์ไม่สามารถใช้ได้ ได้แก่ galactonic acid, sodium barbitone, diphenyl amine, trimethyl ammonium bromide และ sodium nitrite สอดคล้องกับเชื้อใน genus *Sinorhizobium* สามารถใช้เกลือแอมโมเนียม ไนเตรต ไนไตรต์ และกรดอะมิโน ได้แก่ ammonium oxalate, cellulose และ glycine (Chen et al. 1988 : 392 - 397 ; Young 2001 : 89 - 103)

แหล่งไนโตรเจนที่เชื้อใน genus *Ralstonia-Cupriavidus* ทุกสายพันธุ์สามารถใช้ได้ ได้แก่ L-glutamine, glycine, DL- phenyl alanine, proline, DL-valine, DL-aspartic acid, DL-lysine, urea, L-ornithine monohydrochloride, ammonium citrate tribasic, ammonium oxalate, ammonium dihydrogen orthophosphate และ ammonium molybdate-4-hydrate แหล่งไนโตรเจนที่

เชื้อ *Ralstonia-Cupriavidus* บางสายพันธุ์สามารถใช้ได้ บางสายพันธุ์ไม่สามารถใช้ได้ ได้แก่ DL-threonine, L-alanine, ammonium nitrate, DL-alanine, sodium nitrate, L-asparagine, D-serine, L-aspartic acid, L-arginine, calcium nitrate, L-tyrosine, galactonic acid และ ammonium chloride แหล่งไนโตรเจนที่เชื้อ *Ralstonia-Cupriavidus* ทุกสายพันธุ์ไม่สามารถใช้ได้ ได้แก่ sodium barbitone, sodium nitrite, diphenyl amine และ trimethyl ammonium bromide สอดคล้องกับงานวิจัยที่รายงานว่า เชื้อใน genus *Cupriavidus* สามารถใช้กรดอะมิโนได้หลากหลายเป็นแหล่งไนโตรเจน (Vandamme and Coenye 2004 : 2285 - 2289)

แหล่งไนโตรเจนที่เชื้อแบคทีเรียปราคกรวม สายพันธุ์ DASA 57003 DASA 57004 DASA 57066 และ DASA 57075 ที่คล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Pseudoalteromonas* สามารถใช้ได้ ได้แก่ L-glutamine, glycine, DL-phenyl alanine, proline, DL-valine, L-alanine, DL-threonine, DL-aspartic acid, DL-lysine, DL-alanine, urea, L-tyrosine, L-ornithine monohydrochloride, ammonium nitrate, sodium nitrate, L-asparagine, ammonium dihydrogen orthophosphate และ ammonium molybdate-4-hydrate แหล่งไนโตรเจนที่เชื้อแบคทีเรียปราคกรวมที่คล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Pseudoalteromonas* บางสายพันธุ์สามารถใช้ได้ บางสายพันธุ์ไม่สามารถใช้ได้ ได้แก่ L-aspartic acid, ammonium chloride, sodium barbitone, galactonic acid, ammonium citrate tribasic, ammonium oxalate, D-serine, L-arginine และ calcium nitrate แหล่งไนโตรเจนที่เชื้อแบคทีเรียปราคกรวมทุกสายพันธุ์ที่คล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Pseudoalteromonas* ไม่สามารถใช้ได้ ได้แก่ diphenyl amine, trimethyl ammonium bromide และ sodium nitrite ไม่มีงานวิจัยรายงานถึงการใช้แหล่งไนโตรเจน

ความแตกต่างของการใช้แหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนของเชื้อในแต่ละ genus อาจมีผลกระทบจากความหลากหลายของสารประกอบที่ปลดปล่อยมาจากรากพืช ซึ่งประกอบด้วยสารประกอบที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เช่น น้ำตาล ฟีนอลิก กรดอะมิโน กรดอินทรีย์ สอร์บอน และวิตามินและสารประกอบทุติยภูมิ และสารประกอบที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เช่น โปรตีน (Marschner 1995 ; Sullivan 2004 : 1) โดยพืชแต่ละชนิดจะมีการปลดปล่อยสารประกอบต่างๆ ที่แตกต่างกัน จึงส่งผลทำให้เชื้อในแต่ละ genus ต้องมีการปรับตัวตามสภาวะแวดล้อมของการอยู่อาศัยร่วมกับพืช (Bais et al. 2004 : 26-32 , 2006 : 233 - 266 ; Weisskopf 2006 : 919 - 927)

การทดสอบความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ ทั้ง 10 ชนิด พบว่า เชื้อใน genus *Rhizobium* และ *Bradyrhizobium* โดยส่วนใหญ่มีความต้านทานต่อ ampicillin, ceftazidime และ

chloramphenicol สอดคล้องกับงานวิจัยของ Zurdo-Pineiro et al. (2004) รายงานว่า เชื้อไรโซเบียมที่แยกได้จากปมรากของ *Sesbania*, *Caliandra*, *Poitea*, *Piptadenia*, *Neptunia* และ *Mimosa* มีความต้านทานต่อ ampicillin, erythromycin, penicillin, cefuroxime และ cloxacillin แต่ไม่ต้านทานต่อ oxytetracyclin, gentamycin และ neomycin และงานวิจัยของ Kalita and Malek (2004) รายงานว่า เชื้อ *Bradyrhizobium* sp. ที่แยกได้จากปมรากของ *Gentista tintoria* มีความต้านทานสูงต่อ chloramphenicol, rifampicin และ streptomycin เชื้อใน genus *Sinorhizobium* ทุกสายพันธุ์มีความต้านทานต่อ ampicillin และ ceftazidime สอดคล้องกับงานวิจัยของ Wei et al. (2002) รายงานว่า เชื้อ *Sinorhizobium kummerowiae* ap. nov. ที่แยกได้จากปมรากของ *Kummerowia stipulacea* มีความต้านทานต่อ kanamycin, chloramphenicol หรือ erythromycin เชื้อใน genus *Ralstonia-Cupriavidus* โดยส่วนใหญ่มีความต้านทานต่อ spectinomycin, ampicillin, ceftazidime และ chloramphenicol ไม่สอดคล้องกับงานวิจัยที่รายงานว่า เชื้อ *R. taiwanensis* มีความต้านทานต่อ penicillin และ streptomycin แต่ไม่มีความต้านทานต่อ ampicillin, chloramphenicol, kanamycin, tetracycline, nalidixic acid และ piperacillin เชื้อแบคทีเรียปมรากครามทุกสายพันธุ์ที่คล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Pseudoalteromonas* โดยส่วนใหญ่มีความต้านทานต่อ ampicillin, gentamycin และ kanamycin ไม่สอดคล้องกับเชื้อที่มีการรายงานมาก่อน เช่น เชื้อ *Pseudoalteromonas citrea* ที่แยกได้จากน้ำทะเล ไม่มีความต้านทานต่อ rifampicin, ampicillin, gentamycin, oxacillin, polymyxin, erythromycin และ ofloxacin (Ivanova et al. 2004 : 1431 - 1437) ดังนั้นความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะของเชื้อขึ้นอยู่กับคุณสมบัติความไม่ชอบน้ำ การแลกเปลี่ยนประจุ และปริมาณระดับความเข้มข้นของสารปฏิชีวนะ รวมถึงส่วนประกอบ exopolysaccharides (EPS) และ lipopolysaccharides (LPS) ของผนังเซลล์เป็นปัจจัยกำหนดการส่งผ่านสารปฏิชีวนะไปยังเชื้อแบคทีเรีย (Kucuk et al. 2006 : 127 - 132)

การทดสอบความต้องการวิตามิน ทั้ง 10 ชนิด พบว่า เชื้อใน genus *Ralstonia-Cupriavidus* บางสายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 57038 ต้องการ myo-inositol (vitamin B), thiamine (vitamin B₁), D-calcium panthothenate (vitamin B₅), pyridoxine hydrochloride (vitamin B₆), biotin (vitamin B₇), folic acid (vitamin B₉), cyanocobalamin (vitamin B₁₂) และบางสายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 57020 ไม่ต้องการวิตามินทุกชนิด เชื้อใน genus *Sinorhizobium* บางสายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 68012 ต้องการวิตามินทุกชนิด และบางสายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 57015 ไม่ต้องการวิตามินทุกชนิด เชื้อใน genus *Bradyrhizobium* ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 57019 และ DASA 68010 ต้องการ D-calcium panthothenate (vitamin B₅) และ riboflavin (vitamin

B₂) เชื้อใน genus *Rhizobium* บางสายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 57010 DASA 57053 DASA 68053 DASA 68066 และ DASA 68069 ต้องการเฉพาะ calcium panthothenate (vitamin B₅) บางสายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 57027 DASA 64006 DASA 64012 DASA 64016 DASA 64021 DASA 64038 DASA 64040 DASA 68020 DASA 68025 DASA 68061 และ DASA 68070 ไม่ต้องการวิตามิน เชื้อแบคทีเรียปมรากครามที่คล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Pseudoalteromonas* บางสายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 57003 และ 57004 ต้องการ riboflavin (vitamin B₂) และบางสายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 57066 และ 57075 ไม่ต้องการวิตามินทุกชนิด ผลความต้องการวิตามินของ *Rhizobium* สอดคล้องกับงานวิจัยซึ่งรายงานว่า *R. trifolii*, *R. leguminosarum* และ *R. phaseoli* มีความต้องการ D-calcium pantothenate (vitamin B₅) ส่วนผลของเชื้อใน genus *Bradyrhizobium* ไม่สอดคล้องกับงานวิจัยซึ่งรายงานว่า *Bradyrhizobium japonicum* มีความต้องการ biotin (vitamin B₇) (Graham 1963 : 245 - 248) เชื้อแต่ละสายพันธุ์อาจมีความต้องการวิตามินแตกต่างกันขึ้นอยู่กับปัจจัยความต้องการของกลไกเมแทบอลิซึม (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ 2544) รวมทั้งผลกระทบจากความหลากหลายของสารประกอบที่ปลดปล่อยมาจากรากพืช ซึ่งประกอบด้วย สารประกอบที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เช่น น้ำตาล ฟีนอลิก กรดอะมิโน กรดอินทรีย์ สอร์บอน และวิตามินและสารประกอบทุติยภูมิ และสารประกอบที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เช่น ไพรติน (Marschner 1995 ; Sullivan 2004 : 1) โดยพืชแต่ละชนิดจะมีการปลดปล่อยสารประกอบต่างๆ ที่แตกต่างกัน จึงส่งผลทำให้เชื้อในแต่ละ genus ต้องมีการปรับตัวตามสภาวะแวดล้อมของการอยู่อาศัยร่วมกับพืช (Bais et al. 2004 : 26-32 , 2006 : 233 - 266 ; Weisskopf 2006 : 919 - 927)

การเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ระดับ pH ต่าง ๆ ได้แก่ pH 5.0, 6.5 และ 8.0 พบว่า เชื้อใน genus *Sinorhizobium* ทุกสายพันธุ์เจริญได้ที่ pH 5.0 และ 6.5 และไม่เจริญที่ pH 8 ไม่สอดคล้องกับงานวิจัยซึ่งรายงานว่า เชื้อ *Sinorhizobium* spp. เจริญได้ที่ pH 6.0 และ 8.0 แต่บางสายพันธุ์เจริญได้ที่ pH 5.0 (Chen et al. 1988 : 392 -397 ; Young 2001 : 89 - 103) เชื้อใน genus *Ralstonia-Cupriavidus* สายพันธุ์ DASA 57009 DASA 57020 และ DASA 57038 เจริญได้ดีที่ pH 6.5 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Chen et al. (2001) รายงานว่า เชื้อ *R. taiwanensis* เจริญได้ที่ pH 6.5 เชื้อใน genus *Rhizobium* บางสายพันธุ์ ได้แก่ DASA 57053 DASA 64012 DASA 64021 DASA 64038 DASA 68020 DSASA 68062 DASA 68066 DASA 68070 สามารถเจริญได้ที่ pH 5.0, 6.5 และ 8.0 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Wei et al. (2006) รายงานว่า เชื้อ *Rhizobium* spp. ที่แยกได้จากปมรากของ *Astragalus*, *Lespedeza* และ *Hedysarum* เจริญได้ดีที่ pH 5.0 และงานวิจัยของ Kucuk et al.

(2005) รายงานว่า เชื้อ *Rhizobium* sp. ที่แยกได้จากปมรากของถั่วแดงหลวง (*Phaseolus vulgaris* L.) สามารถเจริญได้ที่ช่วง pH 3.5-9.0 เชื้อใน genus *Bradyrhizobium* บางสายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 57019 เจริญได้ทั้ง pH 5.0, 6.5 และ 8.0 บางสายพันธุ์ DASA 68010 เจริญได้ที่ pH 5.0 และ 6.5 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kalita and Malek (2004) รายงานว่า เชื้อ *Bradyrhizobium* sp. ที่แยกได้จากปมรากของ *Gentista tintoria* เจริญได้ดีในช่วง pH 5.0-8.0 และงานวิจัยของ Fuentes et al. (2002) รายงานว่า เชื้อ *Bradyrhizobium* spp. ที่แยกได้จากปมรากของมันแกว (*Pachyrhizus erosus* L. Urban) เจริญได้ที่ช่วง pH 6.5-8.5 เชื้อแบคทีเรียปมรากครามที่คล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Pseudoalteromonas* บางสายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 57003 และ DASA 57066 มีการเจริญได้ทั้ง pH 5.0, 6.5 และ 8.0 บางสายพันธุ์ ได้แก่ DASA 57004 เจริญได้ที่ pH 6.5 และ 8.0 และบางสายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 57075 เจริญได้ที่ pH 5.0 ไม่สอดคล้องกับเชื้อ *Pseudoalteromonas* บางสายพันธุ์ที่มีการรายงานมาก่อน เช่น เชื้อ *Pseudoalteromonas aliena* sp. nov. มีช่วงการเจริญที่ pH 6.0 - 10.0 (Ivanova et al 2004 : 1431 - 1437)

การเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่อุณหภูมิต่างๆ ได้แก่ 20, 30 และ 40°C พบว่า เชื้อใน genus *Sinorhizobium* ทุกสายพันธุ์เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30°C สอดคล้องกับงานวิจัยซึ่งรายงานไว้ เชื้อใน genus *Sinorhizobium* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25-30°C (Chen และคณะ, 1988; John และคณะ, 1994; Young, 2001) เชื้อใน genus *Bradyrhizobium* สายพันธุ์ 57019 และ DASA 68010 เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 20 และ 30 °C สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kalita และ Maleky (2004) รายงานว่า เชื้อ *Bradyrhizobium* spp. ที่แยกได้จากปมรากของ *Gentista tintoria* สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 28-30°C เชื้อใน genus *Ralstonia-Cupriavidus* ทุกสายพันธุ์ เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 20 และ 30 °C สอดคล้องกับงานวิจัยของ Chen และคณะ (2001) รายงานว่า เชื้อ *R. taiwanensis* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30°C เชื้อใน genus *Rhizobium* โดยส่วนใหญ่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 20 และ 30 °C บางสายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 57010 DASA 64006 DASA 68020 DASA 68025 DASA 68053 DASA 68069 และ DASA 68070 สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 40°C สอดคล้องงานวิจัยของ Zahran (1999) รายงานว่า เชื้อไรโซเบียมโดยส่วนใหญ่เจริญได้ที่ช่วงอุณหภูมิเหมาะสม 28-31°C แต่มีบางสายพันธุ์สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 40°C และงานวิจัยของ Moschetti et al. (2005) พบว่า เชื้อไรโซเบียมที่แยกได้จากปมรากของ *Vicia*, *Lathyrus* และ *Pisum* สามารถเจริญได้ที่ช่วงอุณหภูมิ 15-44°C เชื้อแบคทีเรียปมรากครามที่คล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Pseudoalteromonas* บางสายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 57003 DASA 57004 และ DASA 57075 เจริญได้ที่อุณหภูมิ 20, 30 และ 40 °C บางสายพันธุ์ ได้แก่ DASA 57066 ไม่เจริญที่อุณหภูมิ 40°C สอดคล้องกับเชื้อที่มีการรายงาน

เช่น *Pseudoalteromonas* gen. nov. เจริญได้ที่อุณหภูมิ 20°C (Gauthier และคณะ, 1995) และ เชื้อ *Pseudoalteromonas aliena* sp. nov. เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 22-25°C (Ivanova และคณะ, 2004)

การเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ระดับความเข้มข้นของ NaCl ที่ 0, 0.2 M (1.17%) และ 1.0 M (5.84%) พบว่า เชื้อใน genus *Bradyrhizobium* สามารถเจริญได้ดีที่ไม่มีระดับความเข้มข้นของ NaCl และไม่ทนต่อระดับความเข้มข้น NaCl 0.2 และ 1 M สอดคล้องกับงานวิจัยที่รายงานว่า เชื้อ *Bradyrhizobium* sp. ที่แยกได้จากปมรากของ *Gentista tinctoria* ไม่สามารถทนต่อ 1% NaCl (Kalita และ Maleky, 2004) เชื้อใน genus *Ralstonia-Cupriavidus* ทุกสายพันธุ์ เจริญได้ดีที่ไม่มี NaCl บางสายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 57020 เจริญได้ที่ระดับความเข้มข้น NaCl 0.2 M ไม่สอดคล้องกับงานวิจัยของ Chen และคณะ (2001) ระบุว่า เชื้อ *R. taiwanensis* เจริญได้ที่ระดับความเข้มข้น 0.5-1.0 % เชื้อใน genus *Sinorhizobium* บางสายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 57015 เจริญได้ที่ระดับความเข้มข้นของ NaCl 0 และ 0.2 M บางสายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 68012 เจริญได้ที่ระดับความเข้มข้นของ NaCl 0.2 M เท่านั้น ผลสอดคล้องกับงานวิจัยของ Young (2003) ซึ่งรายงานว่า เชื้อใน genus *Sinorhizobium* โดยส่วนใหญ่สามารถเจริญได้ที่ 1-1.5% NaCl เชื้อใน genus *Rhizobium* โดยส่วนใหญ่เจริญได้ที่ระดับความเข้มข้นของ NaCl 0 และ 0.2 M ผลสอดคล้องกับงานวิจัยของ Wei et al. (2006) พบว่า เชื้อ *Rhizobium* spp. ที่แยกได้จากปมรากของ *Astragalus*, *Lespedeza* และ *Hedysarum* เจริญได้ที่ระดับ 1-2% NaCl เชื้อแบคทีเรียปมรากครามทุกสายพันธุ์ที่คล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Pseudoalteromonas* เจริญได้ที่ไม่มี NaCl บางสายพันธุ์ ได้แก่ DASA 57003 และ DASA 57066 เจริญได้ที่ระดับความเข้มข้นของ NaCl 0.2 M ผลไม่สอดคล้องกับเชื้อที่มีการรายงานมาก่อน เช่น เชื้อ *Pseudoalteromonas* gen. nov. เจริญได้ต้องมีน้ำทะเลหรือปริมาณของ NaCl สูง (Gauthier และคณะ, 1995)

การสังเคราะห์รงควัตถุเมลานินจะเกิดขึ้นได้เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี L-tyrosine และ CuSO₄ (Mercado-blanco et al. 1993 : 5403 - 5410) จากผลการทดสอบความสามารถในการสังเคราะห์เมลานินของเชื้อแบคทีเรียปมรากพืชสมุนไพร 56 สายพันธุ์ พบว่า เชื้อแบคทีเรียปมรากครามสายพันธุ์ DASA 57003 ที่คล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Pseudoalteromonas* สามารถสังเคราะห์เมลานินได้ดังนั้นจึงสมมติฐานว่าความสามารถในการสังเคราะห์รงควัตถุเมลานิน ขึ้นอยู่กับชนิดของสายพันธุ์และคุณสมบัติเฉพาะของสายพันธุ์

การสังเคราะห์ IAA จะสามารถเกิดขึ้นได้ เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่มี Tryptophan เนื่องจาก Tryptophan เป็นสารตั้งต้น (Precursor) ซึ่งเป็นปัจจัยส่งเสริมการสังเคราะห์ IAA (Farah et al, 2005)

ผลการทดสอบความสามารถในการสังเคราะห์ IAA ของเชื้อแบคทีเรียพืชสมุนไพรมะเขือเทศ 56 สายพันธุ์ พบว่า เชื้อทุกสายพันธุ์มีความสามารถในการสังเคราะห์ IAA มีค่าความเข้มข้นของ IAA อยู่ระหว่าง 4.310 ± 0.672 ถึง 34.757 ± 0.178 $\mu\text{g/ml}$ ดังนั้นจึงสมมติฐานว่าความสามารถในการสังเคราะห์ IAA ขึ้นอยู่กับ คุณสมบัติเฉพาะของสายพันธุ์ และกลไกเมแทบอลิซึมในระหว่างการเจริญ นอกจากนี้ IAA จัดเป็นแหล่งคาร์บอน ไนโตรเจน และพลังงานที่สามารถใช้ในระหว่างการเจริญเติบโต (Leveau and Lindow, 2005 : 2365 - 2371) และการสังเคราะห์ IAA จะมีปริมาณมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับรูปแบบของ Isomer ของ Tryptophan (Bhattacharyya and Basu 1997, 108 - 109)

การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *nifH* โดยทำการเปรียบเทียบ alignment กับ ข้อมูลของยีน *nifH* ในฐานข้อมูลของ GenBank โดยโปรแกรม BlastN ของเชื้อจำนวน 5 สายพันธุ์ พบว่า ยีน *nifH* ของสายพันธุ์ DASA 57075 มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของ ยีน *nifH* ของ *Bradyrhizobium* sp. KO20A และ *Bradyrhizobium* sp. KO13 ที่ระดับ 95% ยีน *nifH* ของสายพันธุ์ DASA 64014 มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *nifH* ของ *Bradyrhizobium yuanmingense* SR35, *Bradyrhizobium* sp. CCBAU และ *Bradyrhizobium* sp. CCBAU 35186-1 ที่ระดับ 97% ยีน *nifH* ของสายพันธุ์ DASA 68012 มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *nifH* ของ *Sinorhizobium* sp. CCBAU 83751 ที่ระดับ 95% ยีน *nifH* ของสายพันธุ์ DASA 68056 มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *nifH* ของ *Bradyrhizobium elkanii* ที่ระดับ 92% ผลของยีน *nifH* ยืนยันได้ว่าเชื้อแบคทีเรียที่ศึกษาสามารถตรึงไนโตรเจนกับพืชสมุนไพรมะเขือเทศ เนื่องจากยีน *nifH* เป็นยีนที่ควบคุมการสังเคราะห์ dinitrogenase reductase protein (Fe-protein) ซึ่งเป็นหน่วยย่อยของเอนไซม์ไนโตรจีเนส (Kaminski et al. 1998 : 433 - 434)

การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *nodC* โดยทำการเปรียบเทียบ alignment กับ ข้อมูลของยีน *nodC* ในฐานข้อมูลของ GenBank โดยโปรแกรม BlastN ของเชื้อจำนวน 5 สายพันธุ์ พบว่า ยีน *nodC* ของสายพันธุ์ DASA 57015 มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของ ยีน *nodC* ของ *Sinorhizobium meliloti* ที่ระดับ 80% ยีน *nodC* ของสายพันธุ์ DASA 57019 มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *nodC* ของ *Bradyrhizobium* sp. KO20A และ *Bradyrhizobium* sp. KO13 ที่ระดับ 84% ยีน *nodC* ของสายพันธุ์ DASA 57038 มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *nodC* ของ *Bradyrhizobium yuanmingense* CCBAU23230 ที่ระดับ 81% ยีน *nodC* ของสายพันธุ์ DASA 57075 มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *nodC* ของ *Sinorhizobium fredii* CPAC 402, *Bradyrhizobium japonicum* SEMIA

566 และ *Bradyrhizobium* sp. CCBAU 43169 ที่ระดับ 87% ยีน *nodC* ของสายพันธุ์ DASA 68012 มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *nodC* ของ *Sinorhizobium meliloti* Llan-6 และ *Sinorhizobium fredii* CCBAU:45274 ที่ระดับ 87% ผลของยีน *nodC* ยืนยันได้ว่าเชื้อแบคทีเรียที่ศึกษาเกิดปมกับพืชสมุนไพรร เนื่องจากยีน *nodC* เป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ Nod factors ทำหน้าที่ควบคุมการสังเคราะห์เอนไซม์ UDP-GLcNAc transferase ที่เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์ Chito oligosaccharide backbone (Prome 1996: 671 -678; Perret et al, 2000 : 180 - 201; Werner and Muller 2003 : 9)

จากการวิเคราะห์ยีน *nifH* และ *nodC* ของเชื้อแบคทีเรียปมรากครามสายพันธุ์ DASA 57075 ที่คล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Pseudoalteromonas* พบว่า เชื้อสายพันธุ์ DASA 57075 มียีน *nifH* คล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *nifH* ของ *Bradyrhizobium* sp. KO20A และ *Bradyrhizobium* sp. KO13 ที่ระดับ 95% และยีน *nodC* คล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *nodC* ของ *Sinorhizobium fredii* CPAC 402, *Bradyrhizobium japonicum* SEMIA 566 และ *Bradyrhizobium* sp. CCBAU 43169 ที่ระดับ 87% จากผลระดับ % identity ของยีน *nifH* และ *nodC* แสดงให้เห็นว่าเชื้อสายพันธุ์ DASA 57075 เป็นเชื้อสายพันธุ์ใหม่ที่อยู่ร่วมกับक्रमแบบซิมไบโอซิส เนื่องจากมียีนที่เป็นส่วนประกอบต่อการเข้าอยู่อาศัยร่วมกับพืชแบบซิมไบโอซิส สอดคล้องกับงานวิจัยที่รายงานว่า ยีนที่เกี่ยวข้องกับการเข้าอยู่อาศัยกับพืชแบบซิมไบโอซิส เช่น ยีน *nif* และ *nod* อาจมีการถ่ายโอนยีนในแนวระนาบ (horizontal gene transfer) จากสายพันธุ์หนึ่งถึงสายพันธุ์หนึ่งได้ เนื่องจากกลุ่มยีนเหล่านี้อยู่บนโครโมโซม หรือ *Sym* plasmid ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่จะส่งผ่านได้ด้วยตัวเองในบริเวณรอบ ๆ รากพืช หรือระหว่าง genus ที่แตกต่างกัน (Banfalvi et al. 1985 : 129 - 138; Fuentes et al. 2002 : 181 - 191)

การศึกษาการเจริญของเชื้อแบคทีเรียปมรากพืชสมุนไพรรในอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya ที่มี tricalcium phosphate [$Ca_3(PO_4)_2$] พบว่า เชื้อใน genus *Ralstonia-Cupriavidus* ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 57020 และ DASA 57038 และ เชื้อใน genus *Rhizobium* ได้แก่ สายพันธุ์ DASA 57027 DASA 57053 DASA 64006 DASA 64016 DASA 64021 DASA 64038 DASA 64040 DASA 68020 DASA 68061 DASA 68066 DASA และ 68070 สามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya ที่มี tricalcium phosphate [$Ca_3(PO_4)_2$] ผลของการเจริญของเชื้อขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลาย tricalcium phosphate [$Ca_3(PO_4)_2$] เพื่อนำไปใช้สำหรับการเจริญ ต่อมาเมื่อนำเชื้อต่าง ๆ มาวัดกิจกรรมของเอนไซม์ phosphatase พบว่า เชื้อทุกสายพันธุ์มีกิจกรรมของเอนไซม์ phosphatase ที่เป็น Extracellular enzyme สูงกว่า Intracellular enzyme เนื่องจากเอนไซม์ที่จุลินทรีย์

ผลิตภายในเซลล์โดยส่วนใหญ่จะถูกขับออกมาภายนอกเซลล์ เพื่อใช้ในการย่อยสลายสารโมเลกุลใหญ่ให้เป็นสารโมเลกุลเล็กสำหรับการเจริญและใช้ในการสร้างองค์ประกอบต่างๆ ของเซลล์ (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจและปรีชา สุวรรณพินิจ, 2544) การเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya ที่มี tricalcium phosphate $[Ca_3(PO_4)_2]$ มีความสัมพันธ์กับกิจกรรมของเอนไซม์ phosphatase โดยการเกิดกิจกรรมของเอนไซม์ phosphatase แสดงถึงความสามารถในการละลาย tricalcium phosphate $[Ca_3(PO_4)_2]$ ที่เชื้อสามารถดูดซึมนำไปใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึมภายในเซลล์ได้ เชื้อแต่ละสายพันธุ์เจริญได้มีความแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับสภาวะการเกิดกิจกรรมของเอนไซม์ phosphatase ที่เหมาะสมทั้งในสภาวะเป็นกรด กลาง หรือด่าง แสดงถึงการทำงานของเอนไซม์ phosphatases ทั้งที่เป็น acid phosphatase, neutral phosphatase และ alkaline phosphatase (Oliveira et al, 2007 : 1 - 6) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Freitas et al. (1997) รายงานว่า เชื้อ *Rhizobium* spp, *Bacillus thuringiensis* และ *Xanthomonas maltophilia* สามารถละลายฟอสเฟตที่อยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya โดยอาศัยการปลดปล่อยเอนไซม์ alkaline phosphatase เพื่อไฮโดรไลส์หมู่ phosphate esters ทำให้ละลายฟอสเฟต และปลดปล่อยฟอสฟอรัสอิสระออกมาอยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืช โดยสภาวะที่เหมาะสม pH มีค่าประมาณ 10 และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Rodriguez and Fraga (1999) รายงานว่า เชื้อ *Pseudomonas*, *Bacillus* และ *Rhizobium* มีคุณสมบัติในการละลาย tricalcium phosphate $[Ca_3(PO_4)_2]$, Hydroxyapatite และ Rock phosphate ได้ดี โดยมีการปลดปล่อยเอนไซม์ acid phosphatase โดยสภาวะที่เหมาะสมมีค่า pH ระหว่าง 3-6

การศึกษาอิทธิพลของปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ phosphatase โดยคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียจำนวน 3 สายพันธุ์ ที่มีกิจกรรมของเอนไซม์ phosphatase พบว่า สำหรับเชื้อใน genus *Ralstonia-Cupriavidus* สายพันธุ์ DASA 57020 ปัจจัย L-alanine มีผลในการเพิ่มการเจริญ ปัจจัย D-xylose, D-fructose, D-mannitol, ammonium chloride $[NH_4Cl]$ และ urea มีผลในการเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ acid phosphatase, neutral phosphatase และ alkaline phosphatase ที่เป็น Extracellular enzyme โดยเฉพาะปัจจัย D-mannitol มีกิจกรรมของเอนไซม์ acid phosphatase สูงที่สุด ปัจจัย D-fructose มีกิจกรรมของเอนไซม์ neutral phosphatase สูงที่สุด และปัจจัย D-xylose มีกิจกรรมของเอนไซม์ alkaline phosphatase สูงที่สุด สำหรับเชื้อใน genus *Bradyrhizobium* สายพันธุ์ DASA 68056 ปัจจัย maltose มีผลในการเพิ่มการเจริญของเชื้อ ปัจจัย D-xylose, D-fructose และ ammonium chloride $[NH_4Cl]$ มีผลในการเพิ่มกิจกรรมเอนไซม์ acid phosphatase, neutral phosphatase และ alkaline phosphatase ที่เป็น Extracellular enzyme โดยเฉพาะปัจจัย D-xylose มีกิจกรรมของเอนไซม์ acid phosphatase และ neutral phosphatase สูงที่สุด และปัจจัย D-fructose ทำ

ให้กิจกรรมของเอนไซม์ alkaline phosphatase สูงที่สุด สำหรับเชื้อใน genus *Rhizobium* สายพันธุ์ DASA 68066 ไม่มีปัจจัยใดๆ ที่มีการเพิ่มการเจริญของเชื้อ ปัจจัย fructose, sucrose และ potassium nitrate [KNO₃] มีผลในการเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ acid phosphatase, neutral phosphatase และ alkaline phosphatase ที่เป็น Extracellular enzyme โดยเฉพาะปัจจัย D-fructose มีกิจกรรมของเอนไซม์ acid phosphatase และ alkaline phosphatase สูงที่สุด และปัจจัย D-xylose มีกิจกรรมของเอนไซม์ neutral phosphatase สูงที่สุด สอดคล้องกับงานวิจัยซึ่งรายงานว่า เชื้อจุลินทรีย์ในดินที่มีคุณสมบัติละลายฟอสเฟตต้องการแหล่งคาร์บอน และพลังงานใช้ในการสังเคราะห์ส่วนประกอบของเซลล์ใหม่ และใช้ในการ oxidation ของสารประกอบคาร์บอน (Moat and Foster 1988 : 111 - 115) นอกจากนั้นยังมีงานวิจัยอื่นๆ ซึ่งรายงานว่า เชื้อเหล่านี้เป็นกลุ่ม heterotrophs มีระบบเอนไซม์ กลไกเมแทบอลิซึม และเงื่อนไขของสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมแตกต่างกัน จึงทำให้เชื้อมีความสามารถในการใช้แหล่งคาร์บอนและพลังงาน แหล่งไนโตรเจน และแหล่งฟอสฟอรัสได้ต่างกัน ปัจจัยของแหล่งคาร์บอน และพลังงานส่งผลต่อการเจริญ และระดับของกิจกรรมของเชื้อที่ใช้ในการละลายฟอสเฟต โดยจะขึ้นอยู่กับการย่อยสลายของสารประกอบอินทรีย์ และชนิดของแหล่งคาร์บอนที่ใช้สำหรับการเจริญ (Nahas 2007 : 111 - 115) ปัจจัยของแหล่งไนโตรเจนส่งผลโดยตรงต่อกิจกรรมของการละลายฟอสเฟตในการปลดปล่อยกรดอินทรีย์ หรือโปรตอน (H⁺) ที่เกิดขึ้นพร้อมกับปฏิกิริยา NH₄⁺ assimilation (Roos and Luckner 1984 : 1007 -1014) และปัจจัยของแหล่งฟอสฟอรัสส่งผลต่อการเจริญ ระบบของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาในการละลายฟอสเฟต (Nahas 2007 : 111 - 115) และระดับของกรดอินทรีย์ที่ปลดปล่อยออกมาในระหว่างการย่อยสลายของสารประกอบอินทรีย์แต่ละชนิด (Ryan et al 2001) ดังนั้นจึงตั้งสมมติฐานได้ว่า การใช้แหล่งคาร์บอน และพลังงาน แหล่งไนโตรเจน และแหล่งฟอสฟอรัส มีผลต่อการเจริญ ชนิดของกรดอินทรีย์ที่ปลดปล่อยในระหว่างการย่อยสลายของสารประกอบอินทรีย์ ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟต และระบบของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาในการละลายฟอสเฟต ขึ้นอยู่กับชนิดของสายพันธุ์และคุณลักษณะเฉพาะของเชื้อที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟต

บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง

1. เชื้อแบคทีเรียปมรากคราม จำนวน 12 สายพันธุ์ มีลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของ ยีน 16S rRNA คล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Pseudoalteromonas* ที่ระดับ 70-80% *Ralstonia Cupriavidus* ที่ระดับ 69-72% *Rhizobium* ที่ระดับ 90-100 % *Sinorhizobium* ที่ระดับ 95% และ *Bradyrhizobium* ที่ระดับ 95% เชื้อแบคทีเรียปมรากกวาวเครือขาวจำนวน 6 สายพันธุ์ มีลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน 16S rRNA คล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Rhizobium* ที่ระดับ 93-100% เชื้อแบคทีเรียปมรากหางไหลแดง จำนวน 10 สายพันธุ์ มีลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน 16S rRNA คล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Rhizobium* ที่ระดับ 91-100 % *Sinorhizobium* ที่ระดับ 99% และ *Bradyrhizobium* ที่ระดับ 91-99%

2. แหล่งคาร์บอนที่เชื้อใน genus *Rhizobium* สามารถใช้ได้ ได้แก่ DL-alanine, ammonium citrate, L-asparagine monohydrate, D-serine, lithium lactate, L-alanine, proline, L-ornithine monohydrochloride, DL-valine, mannitol, L-arabinose, D-fructose, D-glucose, L-glutamine, D-mannose, D-galactose และ casein แหล่งไนโตรเจนที่เชื้อทุกสายพันธุ์สามารถใช้ได้ ได้แก่ DL-phenyl alanine, proline, DL-valin, DL-lysine, urea, ammonium citrate tribasic, ammonium oxalate, ammonium dihydrogen orthophosphate และ ammonium molybdate-4-hydrate

3. เชื้อใน genus *Rhizobium* โดยส่วนใหญ่มีความต้านทานต่อ ampicillin, ceftazidime และ chloramphenicol บางสายพันธุ์ต้องการ D-calcium panthothenate (vitamin B₅) และบางสายพันธุ์ไม่ต้องการวิตามินทุกชนิด เชื้อโดยส่วนใหญ่มีการเจริญได้ดีทั้ง pH 5.0, 6.5 และ 8.0 เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 20 และ 30 °C และเจริญได้ที่ NaCl 0 และ 0.2 M

4. แหล่งคาร์บอนที่เชื้อใน genus *Bradyrhizobium* สามารถใช้ได้ ได้แก่ DL-lysine, DL-alanine, glycerol, ammonium citrate, L-asparagine monohydrate, lithium lactate, L-alanine, proline, L-ornithine monohydrochloride, DL-aspartic acid, isopropyl alcohol, DL-valine, sodium tartrate dehydrate, mannitol, L-arabinose, D-glucose, D-fructose, D-xylose, L-glutamine, D-cellobiose, D-mannose, D-galactose, potassium sodium tartrate, lactose, D-maltose, sucrose, trehalose และ casein แหล่งไนโตรเจนที่เชื้อทุกสายพันธุ์สามารถใช้ได้ ได้แก่ glycine, DL-phenyl alanine, proline, DL-valine, DL-aspartic acid, DL-lysine, DL-alanine, urea, ammonium citrate

tribasic, ammonium chloride, L-asparagine, ammonium dihydrogen orthophosphate, diphenyl amine และ ammonium molybdate-4-hydrate

5. เชื้อใน genus *Bradyrhizobium* โดยส่วนใหญ่มีความต้านทานต่อ ampicillin, ceftazidime และ chloramphenicol บางสายพันธุ์ต้องการ D-calcium pantothenate (vitamin B₅) และ riboflavin (vitamin B₂) และบางสายพันธุ์ไม่ต้องการวิตามินทุกชนิด เชื้อทุกสายพันธุ์มีการเจริญได้ที่ pH 5.0 และ 6.5 เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 20 และ 30 °C และที่ไม่มีระดับความเข้มข้นของ NaCl

6. แหล่งคาร์บอนที่เชื้อใน genus *Sinorhizobium* สามารถใช้ได้ ได้แก่ DL-lysine, DL-alanine, ammonium citrate, L-asparagine monohydrate, D-serine, L-alanine, proline, L-ornithine monohydrochloride, DL-aspartic acid, DL-valine, D-maltose, sodium tartrate dehydrate, mannitol, L-arabinose, D-fructose, D-glucose, D-xylose, L-glutamine, D-cellobiose, D-sorbitol, D-mannose, xylitol, inulin, D-galactose, และ casein แหล่งไนโตรเจนที่เชื้อทุกสายพันธุ์สามารถใช้ได้ ได้แก่ DL-phenyl alanine, proline, DL-valine, L-alanine, DL-aspartic acid, DL-lysine, urea, L-tyrosine, ammonium citrate tribasic, ammonium chloride, L-asparagine, ammonium dihydrogen orthophosphate และ ammonium molybdate-4-hydrate

7. เชื้อใน genus *Sinorhizobium* ทุกสายพันธุ์มีความต้านทานต่อ ampicillin และ ceftazidime บางสายพันธุ์ต้องการวิตามินทุกชนิดและบางสายพันธุ์ไม่ต้องการวิตามินทุกชนิด เชื้อทุกสายพันธุ์มีการเจริญได้ที่ pH 5.0 และ 6.5 เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30°C มีบางสายพันธุ์เจริญได้ที่ระดับความเข้มข้นของ NaCl 0 และ 0.2 M

8. แหล่งคาร์บอนที่เชื้อใน genus *Ralstonia-Cupriavidus* สามารถใช้ได้ ได้แก่ DL-lysine, DL-alanine, glycerol, ammonium citrate, L-asparagine monohydrate, D-serine, lithium lactate, L-alanine, proline, L-ornithine monohydrochloride, DL-aspartic acid, sodium tartrate dehydrate, mannitol, L-arabinose, D-fructose, D-glucose, D-xylose, L-glutamine, D-cellobiose, D-mannose, D-galactose และ casein แหล่งไนโตรเจนที่เชื้อทุกสายพันธุ์สามารถใช้ได้ ได้แก่ L-glutamine, glycine, DL-phenyl alanine, proline, DL-valine, DL-aspartic acid, DL-lysine, urea, L-ornithine monohydrochloride, ammonium citrate tribasic, ammonium oxalate, ammonium dihydrogen orthophosphate และ ammonium molybdate-4-hydrate

9. เชื้อใน genus *Ralstonia-Cupriavidus* โดยส่วนใหญ่มีความต้านทานต่อ spectinomycin, ampicillin, ceftazidime และ chloramphenicol บางสายพันธุ์ต้องการ myo-inositol (vitamin B₈) thiamine (vitamin B₁), D-calcium pantothenate (vitamin B₅), pyridoxine hydrochloride (vitamin B₆), biotin (vitamin B₇), folic acid (vitamin B₉), cyanocobalamin (vitamin

B₁₂) บางสายพันธุ์ไม่ต้องการวิตามินทุกชนิด เชื้อทุกสายพันธุ์เจริญได้ดีที่ pH 6.5 ที่อุณหภูมิ 20 และ 30 °C และที่ไม่มีระดับความเข้มข้นของ NaCl

10. แหล่งคาร์บอนที่เชื้อแบคทีเรียปมรากครามทุกสายพันธุ์ที่มีความคล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Pseudoalteromonas* สามารถใช้ได้ ได้แก่ DL-lysine, DL-alanine, glycerol, ammonium citrate, L-asparagine monohydrate, potassium sodium tartrate, lithium lactate, L-alanine, proline, L-ornithine monohydrochloride, DL-aspartic acid, isopropyl alcohol, DL-valine, D-maltose, sodium tartrate dehydrate, mannitol, L-arabinose, lactose, D-fructose, sucrose, D-glucose, D-xylose, ammonium oxalate, L-glutamine, D-cellobiose, D-mannose, D-galactose และ casein แหล่งไนโตรเจนที่เชื้อแบคทีเรียปมรากครามทุกสายพันธุ์ที่มีความคล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Pseudoalteromonas* สามารถใช้ได้ ได้แก่ L-glutamine, glycine, DL-phenyl alanine, proline, DL-valine, L-alanine, DL-threonine, DL-aspartic acid, DL-lysine, DL-alanine, urea, L-tyrosine, L-ornithine monohydrochloride, ammonium nitrate, sodium nitrate, L-asparagine, ammonium dihydrogen orthophosphate และ ammonium molybdate-4-hydrate

11. เชื้อแบคทีเรียปมรากครามที่คล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Pseudoalteromonas* โดยส่วนใหญ่มีความต้านทานต่อ ampicillin, gentamycin และ kanamycin บางสายพันธุ์ต้องการ riboflavin (vitamin B₂) และบางสายพันธุ์ไม่ต้องการวิตามินทุกชนิด บางสายพันธุ์มีการเจริญได้ที่ pH 5.0, 6.5 และ 8.0 เจริญได้ที่อุณหภูมิ 20, 30 และ 40 °C เชื้อทุกสายพันธุ์เจริญได้ที่ไม่มีระดับความเข้มข้นของ NaCl และมีบางสายพันธุ์เจริญได้ที่ระดับความเข้มข้นของ NaCl 0.2 M

12. เชื้อแบคทีเรียปมรากครามสายพันธุ์ DASA 57003 ที่มีความคล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Pseudoalteromonas* สามารถสังเคราะห์ เมลานินได้

13. เชื้อทุกสายพันธุ์มีความสามารถในการสังเคราะห์ IAA มีค่าความเข้มข้นของ IAA อยู่ระหว่าง 4.310±0.672 ถึง 34.757±0.178 µg/ml โดยเฉพาะเชื้อใน genus *Sinorhizobium* สายพันธุ์ DASA 57015 มีการสังเคราะห์ IAA ความเข้มข้นสูงที่สุด

14. เชื้อสายพันธุ์ DASA 57075 DASA 64014 และ DASA 68056 มีลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *nifH* คล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Bradyrhizobium* ที่ระดับ 92-97% ส่วนเชื้อสายพันธุ์ DASA 68012 มีลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *nifH* คล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Sinorhizobium* ที่ระดับ 95%

15. เชื้อสายพันธุ์ DASA 57015 DASA 57075 และ DASA 68012 มีลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *nodC* คล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Sinorhizobium* ที่ระดับ 80-87% ส่วนเชื้อสาย

พันธุ์ DASA 57019 DASA 57038 และ DASA 57075 มีลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *nodC* คล้ายคลึงกับเชื้อใน genus *Bradyrhizobium* ที่ระดับ 81-87%

16. เชื้อทุกสายพันธุ์ที่ทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya ที่มี tricalcium phosphate [$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$] มีกิจกรรมของเอนไซม์ phosphatase ที่เป็น Extracellular enzyme สูงกว่า Intracellular enzyme เชื้อสายพันธุ์ DASA 68062 มีกิจกรรมของเอนไซม์ acid phosphatase สูงที่สุด เท่ากับ 7.86 ± 0.26 milliunit/ml และเชื้อสายพันธุ์ DASA 68056 มีกิจกรรมของเอนไซม์ neutral phosphatase และ alkaline phosphatase สูงที่สุด เท่ากับ 5.88 ± 0.01 milliunit/ml และ 12.65 ± 0.13 milliunit/ml ตามลำดับ

17. สำหรับเชื้อใน genus *Ralstonia-Cupriavidus* สายพันธุ์ DASA 57020 ปัจจัย L-alanine มีผลให้ปริมาณเซลล์สูงสุด เท่ากับ $1.02 \times 10^9 \pm 2.52 \times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร สำหรับเชื้อใน genus *Bradyrhizobium* สายพันธุ์ DASA 68056 ปัจจัย maltose มีผลให้ปริมาณเซลล์สูงสุด เท่ากับ $1.11 \times 10^9 \pm 1.50 \times 10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร สำหรับเชื้อใน genus *Rhizobium* สายพันธุ์ DASA 68066 ไม่มีปัจจัยใดๆ ที่มีการเพิ่มการเจริญของเชื้อ ส่วนปัจจัยที่มีผลในการเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ phosphatase พบว่า ปัจจัย D-fructose มีผลในการเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ acid phosphatase, neutral phosphatase และ alkaline phosphatase ที่เป็น extracellular enzyme และไม่มีปัจจัยใดๆ ที่มีผลในการเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ acid phosphatase, neutral phosphatase และ alkaline phosphatase ที่เป็น Intracellular enzyme

บรรณานุกรม

ดวงพร คันธโชติ. อนุกรมวิธานของแบคทีเรียและปฏิบัติการ. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์ โอเดียนสโตร์, 2537.

ดวงพร คันธโชติ. นิเวศวิทยาของจุลินทรีย์. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, 2545.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และ ปรีชา สุวรรณพินิจ. จุลชีววิทยาทั่วไป. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2544.

ภาวนา ลิกขนานนท์ และคณะ. การใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตในการเกษตร. กรุงเทพมหานคร: สำนักวิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร, 2549.

สมศักดิ์ วังใน. จุลินทรีย์และกิจกรรมในดิน. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2524.

สมศักดิ์ วังใน. การตรึงไนโตรเจน:ไรโซเบียม-พืชตระกูลถั่ว. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2541.

สุนนทิพย์ บุญนาค. ไนโตรเจนเมแทบอลิซึม. ขอนแก่น: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2542.

Aguilar, O. M et al. J. Bacteriol 169 (1987) : 5393-5400. Cited by Kaminski, P. A., Batut, J., and Boistard, P. "A survey of symbiotic nitrogen fixation by rhizobia" In The Rhizobiaceae: Molecular Biology of Model Plant-Associated Bacteria." Edited by Spaink, H. P., Kondorosi, A. and Hooykaa, P. J. J. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995.

Aguilar, O. M et al. Mol. Gen. Genet. 224 (1990) : 413-420. Cited by Kaminski, P. A., Batut, J., and Boistard, P. "A survey of symbiotic nitrogen fixation by rhizobia" In The Rhizobiaceae: Molecular Biology of Model Plant-Associated Bacteria." Edited by Spaink, H. P., Kondorosi, A. and Hooykaa, P. J. J. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995.

Amarger, N., Macheret, V., and Laguerre, G. "*Rhizobium gallicum* sp. nov. and *Rhizobium giardinii* sp. nov. from *Phaseolus vulgaris* nodules." J. Syst. Bacteriol 47 (1997) : 996-1006.

- Amrani, S et al. "Phenotypic and genotypic characterization of rhizobia associated with *Acacia saligna* (Labill.) Wendl. in nurseries from Algeria." Syst. Appl. Microbiol 33 (2010) : 44-51.
- Bais, H. P et al. "How plant communicate using the underground information superhighway." Trends Plant Sci 9 (2004) : 26-32.
- Bais, H. P et al. "The role of root exudates in rhizosphere interaction with plants and other organisms." Annu Rev Plant Biol 57 (2006) : 233-266.
- Bakasso, S et al. "Polyphenol contents and antioxidant activities of five *Indigofera* species (Fabaceae) from Burkina Faso." Pak. J. Biol. Sci. 11(2008) : 1429-1435.
- Balachandar, D et al. "Non-rhizobial nodulation in legumes," Biot. Mol. Biol. Rev 2 (2007) : 49-57.
- Banfalvi, Z., Kondorosi, E., and Kondorosi, A. "*R. meliloti* carries two megaplasmids." Plasmid 13 (1985) : 129-138.
- Bartel, B et al. "Inputs to the active indole-3-acetic acid pool: *de novo* synthesis, conjugate hydrolysis, and indole-3-butyric acid β -oxidation." J. Plant Growth Regul 20 (2001) : 198-216.
- Basu, P. S. and S. Ghosh. "Production and metabolism of indole acetic acid in roots and root nodules of *Phaseolus mungo*." Microbiol. Res 161 (2006) : 362-366.
- Bergersen, J. "The growth of *Rhizobium* in synthetic media." Aust. J. Biol. Sci 14 (1961) : 849.
- Beringer, J. E. "R factor transfer in *Rhizobium leguminosarum*." J. Gen. Microbiol 84 (1974) : 188-189.
- Beynon, J. L., Beringer, J. E., and Johnston A. W. B. "Plasmids and host-range in *Rhizobium leguminosarum* and *Rhizobium phaseoli*." J. Gen. Microbiol 120 (1980) : 421-429.
- Bhattacharyya, R. N. and B. S. Basu "Bioproduction of indole acetic acid (IAA) by a *Rhizobium* sp. from root nodules of *Desmodium gangeticum* DC." Acta Microbiol. Immunol. Hung 44 (1997) : 108-109.
- Brigle, K. E et al. J. Bacteriol 169 (1987) : 1574-1553. Cited by Kaminski, P. A., Batut, J., and Boistard, P. "A survey of symbiotic nitrogen fixation by rhizobia" In The Rhizobiaceae: Molecular Biology of Model Plant-Associated Bacteria. Edited by

- Herman, P. S., Adam, K., and Paul, J. J. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995.
- Buchanan, B. B., Grissem, W., and Jones, R. L. Biochemistry and Molecular Biology of Plants. Rockville : Courier Companies, 2000.
- Burkill, H. M. “The useful plants of West Tropical Africa.” Royal Botanic Gardens Kew 2 (1995) : 654-670.
- Casida, Jr. L. E. “ *Ensifer adhaerens* gen. nov., sp. nov. : a bacterial predator of bacteria in soil.” Int. J. Syst. Bacteriol 32 (1982) : 339-345.
- Chaiharn, M. and S. Lumyong “Phosphate solubilization potential and stress tolerance of rhizobacteria from rice soil in Northern Thailand.” World J. Microbiol Biot 25 (2009) : 305-314.
- Chandeying, V., and S. Lamlerkittikul “Challenges in the conduct of Thai herbal scientific study: efficacy and safety of phytoestrogen, *Pueraria Mirifica* (Kwao Keur Kao), phase I, in the alleviation of climacteric symptoms in perimenopausal women.” J. Med. Assoc. Thai 90 (2007) : 1274-1280.
- Chen, W. X., Yan, G. H., and Li, J. L. “Numerical taxonomic study of the fast-growing soybean rhizobia and a proposal that *Rhizobium fredii* be assigned to *Sinorhizobium* gen. nov.” Int. J. Syst. Bacteriol 38 (1988) : 392-397.
- Chen, W. M et al. “*Ralstonia taiwanensis* sp. nov., isolated from root nodules of *Mimosa* species and sputum of cystic fibrosis patient.” Int. J. Syst. Evol. Microbiol 51 (2001) : 1729 -1735.
- Chen, W. M et al. “Legume symbiotic nitrogen fixation by β - Proteobacteria is wide spread nature.” J. Bacteriol 185 (2003) : 7266-7272.
- Chen, Y. P et al. “Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities.” Appl. Soil Ecol 34 (2006) : 33-41.
- Cherdshewasart, W., and W. Sutjit “Correlation of antioxidant activity and major isoflavonoid contents of the phytoestrogen-rich *Pueraria mirifica* and *Pueraria lobata* tubers.” Phytomedicine 15 (2008) : 38–43.

- Chowdhury, S. P et al. "Diversity of 16S-rRNA and *nifH* genes derived from rhizosphere soil and roots of an endemic drought tolerant grass, *Lasiurus syndicus*." Eur. J. Soil Biol 45 (2008) : 114-122.
- Cohen, J. D. and R. S. Bandurski "Chemistry and physiology of the bound auxin." Annu. Rev. Plant Physiol. 33(1982) : 403-430. In Frankenberger, W. T. and M. Arshad Phytohormone in Soil Microbial Production and Function, New York: Marcel Dekker Inc, 1995
- Cubo, M. T et al. "Melanin production by *Rhizobium* strains." Appl. Environ. Microbiol, 54 (1988) : 1812-1817.
- Dakora, F. D., and D. A. Phillips. "Root exudates as mediators of mineral acquisition in low -nutrient environments." Plant and Soil 245 (2002) : 35-47.
- David, M et al. Cell 54 (1988) : 671-683. Cited by Kaminski, P. A., Batut, J., and Boistard, P. "A survey of symbiotic nitrogen fixation by rhizobia" In The Rhizobiaceae: Molecular Biology of Model Plant-Associated Bacteria. Edited by Spink, H. P., Kondorosi, A. and Hooykaa, P. J. J. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995.
- Debelle, F et al. "Nod genes and Nod signals and the evolution of the *Rhizobium* legume symbiosis." Acta Biochim. Pol 48 (2001) : 359-365.
- de Lajudie, P et al. "*Allorhizobium undicola* gen. nov., sp. nov., nitrogen-fixing bacteria that efficiently nodulate *Neptunia natans* in Senegal." Int. J. Syst. Bacteriol, 48 (1998) : 1277-1290.
- Denarie, J., Debelle, F., and Prome, J. C. "*Rhizobium* lipochitooligosaccharide nodulation factors: Signaling molecules mediating recognition and morphogenesis." Annu. Rev. Biochem 65 (1996) : 503-535.
- de-Philip, P., Batut, J., and Boistard, P. J.Bacteriol, 172 (1990) : 4255-4262. Cited by Kaminski, P. A., Batut, J., and Boistard, P. "A survey of symbiotic nitrogen fixation by rhizobia" In The Rhizobiaceae: Molecular Biology of Model Plant-Associated Bacteria. Edited by Spink, H. P., Kondorosi, A. and Hooykaa, P. J. J. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995.
- Dorfling, C. Growing Native Plants. New York: Hepper and Row Publisher, 2001

- Dreyfus, B., Garcia, J. L., and Gillis, M. "Characterization of *Azorhizobium caulinodans* gen. nov., sp. nov., a stem-nodulation nitrogen-fixing bacterium isolated from *Sesbania rostrata*." Int. J. Syst. Bacteriol 38 (1988) : 89-98.
- Egorov, N.S. Antibiotic A Scientific Approach. Moscow : MIR Publishers, 1985
- El-Akhl, M. R et al. "Phenotypic and genotypic characterizations of rhizobia isolated from root nodules of peanut (*Arachis hypogaea* L.) grown in Moroccan soils." J. Basic Microbiol 49 (2009) : 415-425.
- Farah, A., Iqbal, A., and K. S. Mohd. "Indole acetic acid production by the indigenous isolates of *Azotobacter* and fluorescent *Pseudomonas* in the presence and absence of tryptophan." Turk. J. Biol 29 (2005) : 29-34.
- Fleming, A. Penicillin: Its Practical Application. Philadelphia: The Blakiston Company, 1946
- Frankenberger, W. T., and Arshad, M. Phytohormone in Soil Microbial Production and Function. New York: Marcel Dekker, 1995
- Freitas, J. R., Banerjee, M. R., and Germida, J. J. "Phosphate-solubilizing rhizobacteria enhance the growth and yield but not phosphorus uptake of canola (*Brassica napus* L.)." Biol. Fertil. Soils 24 (1997) : 358-364.
- Fuentes J. B et al. "Symbiotic root nodule bacteria isolated from yam bean (*Pachyrhizus erosus*)." J. Gen. Appl. Microbiol 48 (2002) : 181-191.
- Garrahan, P. J., Pouchan, M. I., and Rega, A. F. "Potassium activated phosphatase from human red blood cells: the mechanism of potassium activation." J. Physiol 202 (1969) : 305-327.
- Gauthier, G., Gauthier, M., and Christen, R. "Combinations phylogenetic analysis of the genera *Alteromonas*, *Shewanella*, and *Moritella* using genes coding for small-subunit rRNA sequences and division of the genus *Alteromonas* into two genera, *Alteromonas* (Emended) and *Pseudoalteromonas* gen. nov., and proposal of twelve new species." J. Syst. Bacteriol 45 (1995) : 755-761.
- Ghosh, S et al. "Production of 3-indolylacetic acid in root nodules and culture by a *Rhizobium* species isolated from root nodules of the leguminous pulse *Phaseolus mungo*." Folia Microbiol 53 (2008) : 351-355.

- Gillis, M et al. "Polyphasic taxonomy in the genus *Burkholderia* leading to an emended description of the genus and proposition of *Burkholderia vietnamiensis* sp. nov. for N,-fixing isolates from rice in Vietnam." Int. J. Syst. Bacteriol 45 (1995) : 274-289.
- Girgis, M.G.Z., Sharaf, M. S., and Khalil, M. A. "Differentiation between *Bradyrhizobium* isolates by colony type, exopolysaccharides and streptomycin resistance." J. Appl. Sci. Res 3 (2007) : 1997-2008.
- Gordon, S. A. and R. P. Weber. "Colorimetric estimation of indole acetic acid." Plant Physiol 26 (1950) : 192-195.
- Graham, P. H. "Vitamin requirements of root nodule bacteria." J. Gen. Microbiol 30 (1963) : 245-248.
- Green, P. N. "The genus *Methylobacterium*" In The Prokaryotes. Edited by Balows, A et al. New York: Springer-Verlag, 1992
- Gregory, P. J. Plant Roots Growth, Activity and Interaction with Soils. Oxford: Blackwell Publishing, 2006
- Guilfoile, P., Edward, A., and Heymann, D. Antibiotic-resistant bacteria New York: Chelsea House, 2007
- Hawkins, F. K. L. and A.W.B. Johnston. "Transcription of a *Rhizobium leguminosarum* biovar *pbaseoli* gene needed for melanin synthesis is activated by *nifA* of *Rhizobium* and *Klebsiella pneumoniae*." Mol. Microbiol 2 (1988) : 331-337.
- Hennecke, H. FEBS Lett 268 (1990) : 422-426. Cited by Kaminski, P. A., Batut, J., and Boistard, P. "A survey of symbiotic nitrogen fixation by rhizobia" In The Rhizobiaceae: Molecular Biology of Model Plant-Associated Bacteria." Edited by Spaink, H. P., Kondorosi, A. and Hooykaa, P. J. J. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995.
- Hesham, M., and El-Komy, A. Coimmobilization of *Azospirillum lipoferum* and *Bacillus megaterium* for successful phosphorus and nitrogen nutrition of wheat plants Food Technol. Biotechnol, 43 (2005) : 19-27.
- Hirsch, A. M., Lum, M. R., and Downie, J. A. "What makes the rhizobia-legume symbiosis so special?." Plant Physiol, 127 (2001) : 1484-1492.

- Holt, J. G et al. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Baltimore: Williams and Wilkins, 1994
- Hu, G., Li, Y. and Zhou, J. "Biological characteristics of plasmids of *Mesorhizobium huakuii* HN3015 from *Astragalus sinicus* of plasmids of *Mesorhizobium huakuii* HN3015 from *Astragalus sinicus*." World J. Microbiol. Biotechnol 10 (2006) : 845-851.
- Ivanova, E. P et al. "Characterization of *Pseudoalteromonas distincta*-like sea-water isolates and description of *Pseudoalteromonas aliena* sp. nov." Int. J. Syst. Evol. Microbiol 54 (2004) : 1431-1437.
- Jaftha, J. B., Strijdom, B. W., and Steyn, P. L. "Characterization of pigmented methylotrophic bacteria which nodulate *Lotononis bainesii*." Syst. Appl. Microbiol 25 (2002) : 440-449.
- Janda, M. and Abbott, S. L "16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: pluses, perils, and pitfalls." J. Clin. Microbiol 45 (2007) : 2761-2764.
- Jarvis, B. D. W et al. "Transfer of *Rhizobium huakuii*, *Rhizobium ciceri*, *Rhizobium mediterraneum*, and *Rhizobium tianshanense* to *Mesorhizobium* gen. nov." Int. J. Syst. Bacteriol 47 (1997) : 895-898.
- Ji, P., and Wilson, M. "Assessment of the importance of similarity in carbon source utilization profiles between the biological control agent and the pathogen in biological control of bacterial speck of tomato." Appl. Environ. Microbiol, 68 (2002) : 4383-4389.
- Jordan, D. C. "Transfer of *Rhizobium japonicum* Buchanan 1980 to *Bradyrhizobium* gen. nov., a genus of slow-growing, root nodule bacteria from leguminous plants." Int. J. Syst. Bacteriol 32 (1982) : 136-139.
- Jourand, P et al. "*Methylobacterium nodulans* sp. nov., for a group of aerobic, facultatively methylotrophic, legume root-nodule-forming and nitrogen-fixing bacteria." Int. J. Syst. Evol. Microbiol, 54 (2004) : 2269-2273.
- Kalita, M. and W. Malek. "Phenotypic and genomic characteristic of rhizobia isolated from *Gentista tinctoria* root nodules." Syst. Appl. Microbiol 27 (2004) : 707-715.
- Kaminski, P. A., Batut, J., and Boistard, P. "A survey of symbiotic nitrogen fixation by rhizobia." In The Rhizobiaceae: Molecular Biology of Model Plant-Associated

- Bacteria. Edited by Spink, H. P., Kondorosi, A. and Hooykaa, P. J. J. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995.
- Kang, S. and A. L. Mills “Soil bacterial community structure changes following disturbance of the overlying plant community.” Soil Sci 169 (2004) : 55-65.
- Kim, S., and B. K. J. Burgess J. Biol. Chem 271 (1996) : 9764-9770. Cited by Kaminski, P. A., Batut, J., and Boistard, P. “A survey of symbiotic nitrogen fixation by rhizobia.” In The Rhizobiaceae: Molecular Biology of Model Plant-Associated Bacteria. Edited by Spink, H. P., Kondorosi, A. and Hooykaa, P. J. J. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995.
- Kucuk, C., Kivanc, M., and Kinaci, E. “Characterization of *Rhizobium* sp. isolated from bean.” Turk. J. Biol 30 (2006) : 127-132.
- Kumari, B. S., Ram, M. R., and Mallaiah K. V. “Studies on exopolysaccharide and indole acetic acid production by *Rhizobium* strains from *Indigofera*.” African J. Microbiol. Res 3 (2009) : 10-14.
- Laguerre, G et al. “Rapid identification of rhizobia by restriction fragment length polymorphism analysis of PCR-amplified 16S rRNA genes.” Appl. Environ. Microbiol 60 (1994) : 56-63.
- Laguerre, G et al. “Genetic diversity of rhizobial symbionts isolated from legume species within the genera *Astragalus*, *Oxytropis* and *Onobrychis*.” Appl. Environ. Microbiol 63 (1997) : 4748-4758.
- Laguerre, G et al. “Classification of rhizobia based on *nodC* and *nifH* gene analysis reveals a close phylogenetic relationship among *Phaseolus vulgaris* symbionts.” Microbiol 147 (2001) : 981-993.
- Lane, D. J. “16S / 23S rRNA sequencing.” In Nucleic acid Techniques in Bacterial Systematics. Edited by Stackebrandt, E. and M. Goodfellow. New York: John Wiley and Sons, 1991
- Langfelder, K et al. “Biosynthesis of fungal melanins and their importance for human pathogenic fungi.” Fungal Genet. Biol 38 (2003) : 143-158.

- Leveau, J. and S. Lindow “Utilization of plant hormone indole-3-acetic acid for growth by *Pseudomonas putida* Strain 1290. **Appl. Environ. Microbiol**, 71 (2005) : 2365-2371.
- Lindstrom, K. et al. “Signalling and development of *Rhizobium*-legume symbioses.” In **Biology and Environment: Proceedings of the Royal Irish Academy**. Edited by Lindstrom, K et al. Royal Irish Academy, 2002
- Linu, M. S., Stephen, J., and Jisha, M. S. “Phosphate solublizing *Gluconacetobacter* sp., *Burkholderia* sp. and their potential interaction with cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.)” **Int. J. Agri. Res** 4 (2009) : 79-87.
- Ljung, K et al. “Biosynthesis, conjugation, catabolism and homeostasis of indole-3-acetic acid in *Arabidopsis thaliana*.” **Plant Mol. Biol** 49 (2002) : 249-272.
- Lukat, G. S. et al. **Proc. Natl. Acad. Sci** 89 (1992) : 718-722. Cited by Kaminski, P. A., Batut, J., and Boistard, P. “A survey of symbiotic nitrogen fixation by rhizobia” In **The Rhizobiaceae: Molecular Biology of Model Plant-Associated Bacteria.** Edited by Spaink, H. P., Kondorosi, A. and Hooykaa, P. J. J. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995.
- Madhaiyan, M et al. “Nodulation and plant growth promotion by methylotrophic bacteria isolated from tropical legumes.” **Microbiol. Res** 164 (2006) : 114-120.
- Marschner, H. **Mineral Nutrition of Higher Plants**. 2nd ed. London: Academic Press, 1995
- Matsumara, F. “Botanical insecticides.” In **Toxicology of Insecticides**. Edited by Matsumara, F. New York: Plenum, 1975
- Mercado-Blanco, J. et al. J. “Melanin production by *Rhizobium meliloti* GR4 is linked to nonsymbiotic plasmid pRmeGR4b: Cloning sequencing, and expression of the tyrosinase Gene *mep4*.” **J. Bacteriol** 175 (1993) : 5403-5410.
- Mierzwa, B., Wdowiak-Wrobel, S., and Malek, W. “Phenotypic, genomic and phylogenetic characteristics of rhizobia isolated from root nodules of *Robinia pseudoacacia* (black locust) growing in Poland and Japan.” **Arch. Microbiol** 191 (2009) : 687-710.
- Minamisawa, K et al. “Horizontal transfer of nodulation genes in soils and microcosms from *Bradyrhizobium japonicum* to *B. elkanii*.” **Microbes Environ.** 17 (2002): 82-90.

- Moat, A. G., and Foster, J. W. Microbial Physiology, 2nd ed. New York : Wiley-Liss, 1988
Cited by Nahas, E. “Phosphate solubilizing microorganisms: Effect of carbon, nitrogen, and phosphorus sources.” In First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization. Edited by Velazquez, E., and C. Rodriguez-Barrueco. Springer, 2007
- Monson, E. K., Weinstein, M., Ditta, G. S., and Helinski, D. R. Proc. Natl. Acad. Sci. 89 (1992) : 4280-4284. Cited by Kaminski, P. A., Batut, J., and Boistard, P. “A survey of symbiotic nitrogen fixation by rhizobia.” In The Rhizobiaceae: Molecular Biology of Model Plant-Associated Bacteria. Edited by Spaink, H. P., Kondorosi, A. and Hooykaa, P. J. J. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995.
- Moschetti, G et al. “Use of nodulation pattern, stress tolerance, *nodC* gene amplification, RAPD-PCR and RFLP–16S rDNA analysis to discriminate genotypes of *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae*.” Syst. Appl. Microbiol 28 (2005) : 619–631.
- Moulin, L et al. “Nodulation of legumes by members of the β - subclass of Proteobacteria.” Nature, 411 (2001) : 948-950.
- Nagashima, K. V. P et al. “Horizontal transfer of genes coding for the photosynthetic reaction centers of purple bacteria.” J. Mol. Evol 45 (1997) : 131–136.
- Nahas, E. “Phosphate solubilizing microorganisms: Effect of carbon, nitrogen, and phosphorus sources.” In First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization. Edited by Velazquez, E. and C. Rodriguez-Barrueco. Berlin: Springer, 2007
- Nautiyal, C. S et al. “Stress induced phosphate solubilization in bacteria isolated from alkaline soils.” FEMS Microbiol Lett, 182 (2000) : 291-296.
- Neddermann, K. and M. Nausch “Effects of organic and inorganic nitrogen compounds on the activity of bacterial alkaline phosphatase.” Aquatic Ecol 38 (2004) : 475–484.
- Ngom, A et al. “A novel symbiotic nitrogen-fixing members of the *Ochrobactrum* clade isolated form root nodules of *Acacia mangium*.” J. Gen. Appl. Microbiol 50 (2004) : 17-27.
- Nuntagij, A et al. “Characterization of *Bradyrhizobium* strains isolated from soybean cultivation in Thailand.” J. Gen. Appl. Microbiol 43 (1997) : 183-187.

- Oliveira, C. A et al. “Phosphate solubilizing microorganisms isolated from rhizosphere of maize cultivated in an oxisol of the Brazilian Cerrado Biome.” Soil Boil 1 (2007) : 1-6.
- Oliveres, F. L et al. “Infection of mottled stripe disease susceptible and resistant sugarcane varieties by the endophytic diazotroph *Herbaspirillum*” New Phytol, 135 (1997) : 723-737.
- Onthong, J et al. “Effect of pH and some cations on activity of acid phosphatase secreted from *Ustilago* sp. isolated from acid sulphate soil.” Songklanakarin J. Sci. Technol, 29 (2007) : 275-280.
- Palasuwan, A et al. “Inhibition of Heinz body induction in an in vitro model and total antioxidant activity of medicinal Thai plants.” Asian Pac. J. Cancer Prev 6 (2005) : 458-463.
- Pandey, P et al. “Genetic diversity of rhizobia isolated from medicinal legumes growing in the sub-Himalayan region of Uttaranchal.” Current Sci, 86 (2004) : 204-207.
- Patt, T. E., Cole, G. C., and Hanson, R. S. “*Methylobacterium*, a new genus of facultatively methylophilic bacteria.” Int. J. Syst. Bacteriol, 26 (1976) : 226-229.
- Perret, X., Staehelin, C., and Broughton, W. J. “Molecular basis of symbiotic promiscuity.” Microbiol. Mol. Biol. Rev. 64 (2000) : 180-201.
- Pikovskaya, R. I. “Mobilization of phosphorus in soil in connection with vital activity of some microbial species.” Microbiologiya, 17 (1948) : 362–370.
- Plonka, P. M., and M. Grabacka “Melanin synthesis in microorganisms-biotechnological and medical aspects.” Acta biochimica. Polonica 53 (2006) : 429–443.
- Pongsilp, N et al. “Genetic structure of indigenous non-nodulating and nodulating populations of *Bradyrhizobium* in soils from Thailand.” Symbiosis 33 (2002) : 39-58.
- Postgate, J. R. Nitrogen Fixation, 3rd ed. Cambridge : United Kingdom at the University Press, 1998
- Prome, J. C. “Signalling events elicited in plants by defined oligosaccharide structures.” Curr. Opin. Struct. Biol. 6 (1996) : 671-678.
- Pujalte, M. J et al. “Occurrence and virulence of *Pseudoalteromonas* spp. in cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) and European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.).

- molecular and phenotypic characterisation of *P. undina* strain U58.” Aquaculture, 271 (2007) : 47-53.
- Puri, A et al. “Antidyslipidemic activity of *Indigofera tinctoria*.” J. Herb. Pharmacother. 7 (2007) : 59–64.
- Rajankar, P. N., Tambekar, D. H., and Wate, S. R. “Study of phosphate solubilization efficiencies of fungi and bacteria isolated from saline belt of Purna river basin.” Res. J. Agri. Biol. Sci, 3 (2007) : 701-703.
- Ralph, D. et al. “*Leptospira* species categorized by arbitrarily primed polymerase chain reaction (PCR) and by mapped restriction polymorphisms in PCR-amplified rRNA genes.” J. Bacteriol 175 (1993) : 973-981.
- Rathore, M. S., Shekhawat, N.S., and Gehlot, H. S. “Need of Assessing Rhizobia for Their Plant Growth Promoting Activities Associated with Native Wild Legumes Inhabiting Aravalli Ranges of Rajasthan, India.” Bota. Res. Int 2 (2009) : 115-122.
- Reyrat, J. M et al. Bacteriol 175 (1993) : 6867-6872. Cited by Kaminski, P. A., Batut, J., and Boistard, P. “A survey of symbiotic nitrogen fixation by rhizobia” In The Rhizobiaceae: Molecular Biology of Model Plant-Associated Bacteria. Edited by Spaink, H. P., Kondorosi, A. and Hooykaa, P. J. J. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995.
- Rivas, R. et al. “A new species of *Devosia* that forms a unique nitrogen fixing root symbiosis with aquatic legume *Neptunia natans* (l.f) Druce.” Appl. Environ. Microbiol, 68 (2002) : 5217-5222.
- Rivas, R. et al. “Description of *Devosia neptuniae* sp. nov. that nodulates and fixes nitrogen in symbiosis with *Neptunia natans*, an aquatic legume from India.” Syst. Appl. Microbiol. 26 (2003) : 47-53.
- Rodriguez, H. and Fraga, R. “Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion.” Biotech. Adv 17 (1999) : 319-359.
- Roos, W., and M. Luckner “Relationships between proton extrusion and fluxes of ammonium ions and organic acids in *Penicillium cyclopium*.” J. Gen. Microbiol 130 (1984) : 1007-1014.

- Ryan, P. R., Delhaize, E., and John, D. L. "Function and mechanism of organic anion exudation from plant root" Annu. Rev. Plant Physiol, 52 (2001) : 527-560. Cited by Nahas, E. "Phosphate solubilizing microorganisms: Effect of carbon, nitrogen, and phosphorus sources." In First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization. Edited by Velazquez, E., and C. Rodriguez-Barrueco, Springer, 2007
- Sanders, D. A et al. Bacteriol. 174 (1992) : 5117-5122. Cited by Kaminski, P. A., Batut, J., and Boistard, P. "A survey of symbiotic nitrogen fixation by rhizobia" In The Rhizobiaceae: Molecular Biology of Model Plant-Associated Bacteria." Edited by Spaink, H. P., Kondorosi, A. and Hooykaa, P. J. J. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995.
- Sanjuan, J. et al. "Horizontal gene transfer in Rhizobia: Ecological implications" In Nitrogen Fixation: From Molecules to Crop Productivity. Edited by Pedrosa, F. O. et al. Springer, 2000 : 593-594.
- Singh, B. et al. "Hepatoprotective activity of indigtone-a bioactive fraction from *Indigofera tinctoria* Linn." Phytother. Res 15 (2001) : 294-297.
- Sneath, P. H. A. and R. I. Hensell. "Naturalness and predictivity of classifications." Biol. J. Linn. Soc 24 (1985) : 217-231.
- Sneath, P. H. A. "Thirty Years of Numerical Taxonomy." Syst. Biol 44(3) (1995) : 281-298.
- Srividya, S., Soumya, S., and Pooja, K. "Influence of environmental factors and salinity on phosphate solubilization by a newly isolated *Aspergillus niger* F7 from agricultural soil." African J. Biot 8 (2009) : 1864-1870.
- Stevenson, F. J. Cycles of soil: Carbon, Nitrogen, Phosphorus, Sulfur, Micronutrients. New York : John Wiley and Sons, 1986
- Streeter, J. G. "Analysis of periplasmic enzymes in intact cultured bacteria and bacteroids of *Bradyrhizobium japonicum* and *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*." J. Gen. Microbiol 135 (1989) : 3477-3484.
- Sullivan, T. "Interactions Between Soil Microbial Communities and Plant Roots: A Minireview" Soil and Crop Sciences. Colorado State University, (2004) : 1-16.
- Sy, A et al. "Methylotrophic *Methylobacterium* bacteria nodulate and fix nitrogen in symbiosis with legumes." J. Bacteriol, 183 (2001) : 214-220.

- Tan, Z. Y et al. “*Rhizobium yanglingense* sp. nov., isolated from arid and semi-arid regions in China.” Int. J. Syst. Evol. Microbiol 51 (2001) : 909-914.
- Teixeira, F. C. P et al. “Characterization of indigenous rhizobia from Caatinga.” Brazil. J. Microbiol 41 (2010) : 201-208.
- Triplett, E. W. and M. J. Sadowsky. “Genetics of competition for nodulation of legumes.” Annu. Rev. Microbiol 46 (1992) : 399-428.
- Trujillo, M. E et al. “Nodulation of *Lupinus* by strains of the new species *Ochrobactrum lupini* sp. nov.” Appl. Environ. Microbiol 71 (2005) : 1318-1327.
- Valverde, A et al. “*Herbaspirillum lusitanum* sp. nov., a novel nitrogen fixing bacterium associated with root nodules of *Phaseolus vulgaris*. Int. J. Syst. Evol. Microbiol 53 (2003) : 1979-1983.
- Valverde, A et al. “*Phyllobacterium trifolii* sp. nov., nodulating *Trifolium* and *Lupinus* in Spanish soils. Int. J. Syst. Evol. Microbiol 55 (2005) : 1985-1989.
- van Berkum, P. and B. D. Eardly. “The Aquatic budding bacterium *Blastobacter denitrificans* is a Nitrogen- fixing symbiont of *Aeschynomene indica*.” Appl. Environ. Microbiol 68 (2002) : 132- 1136.
- Vance, C. P. and J. S. Gantt “Control of nitrogen and carbon metabolism in root nodules.” Physiol. Plant 85 (1992) : 266-274.
- Vandamme, P et al. “Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics.” Microbiol. Rev 60 (1996) : 407-438.
- Vandamme, P. and T. Coeyne “Taxonomy of the genus *Cupriavidus*: a tale of lost and found.” Int. J. Syst. Evol. Microbiol 54 (2004) : 2285-2289.
- van Rhijn, P. and J. Vanderleyden “The *Rhizobium*-Plant Symbiosis.” Microbiol. Rev 59 (1995) : 124-142.
- Vincent, J. M. A Manual for the Practical Study of Root Nodule Bacteria. IBP Handbook no. 15. Oxford : Blackwell scientific publications, 1970
- Watson, R. J et al. “*Sinorhizobium meliloti* cells require biotin and either cobalt or methionine for growth.” Appl. Environ. Microbiol, 67 (2001) : 3767-3770.

- Wei, G. et al. “*Rhizobium indigoferae* sp. nov. and *Sinorhizobium kummerowiae* sp. nov., respectively isolated from *Indigofera* spp. and *Kummerowia stipulacea*.” Int. J. Syst. Evol. Microbiol 52 (2002) : 2231-2239.
- Wei, G. H et al. “Phenotypic and genetic diversity of rhizobia isolated from nodules of the legume genera *Astragalus*, *Lespedeza* and *Hedysarum* in northwestern China.” Microbial Res 10 (2006) : 1-12.
- Weisskopf, L et al. “White lupin has developed a complex strategy to limit microbial degradation of secreted citrate required for phosphate acquisition.” Plant Cell Environ 29 (2006) : 919-927.
- Werner, D. and P. Muller. Environmental Signal Processing and Adaptation. Edited by Heldmaier, G. and D. Werner. Berlin: Springer, 2003
- Willems, A. et al. “Description of new *Ensifer* strains from nodules and proposal to transfer *Ensifer adhaerens* Casida 1982 to *Sinorhizobium* as *Sinorhizobium adhaerens* comb. nov. Request for an Opinion.” Int. J. Syst. Evol. Microbiol 53 (2003) : 1207–1217.
- Winn, W et al. Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th ed. Baltimore: Lippincott Williams and Wilkins Publishers, 2006
- Xu, L. M. et al. “*Bradyrhizobium liaoningense* sp. nov., isolated from the root nodules of soybeans.” Int. J. Syst. Bacteriol 45 (1995) : 706-711.
- Yao, Z. Y et al. “Characterization of rhizobia that nodulate legume species of the genus *Lespedeza* and description of *Bradyrhizobium yuanmingense* sp. nov.” Int. J. Syst. Evol. Microbiol 52 (2002) : 2219-2230.
- Young, J. P. W. and K. E. Haukka “Diversity and phylogeny of rhizobia.” New Phytol 133 (1996) : 87-94.
- Young, J. M. et al. “A revision of *Rhizobium* Frank 1889, with an emended description of the genus, and the inclusion of all species of *Agrobacterium* Conn 1942 and *Allorhizobium undicola* de Lajudie et al. 1998 as new combinations : *Rhizobium radiobacter*, *R. rhizogenes*, *R. rubi*, *R. undicola* and *R. vitis*.” Int. J. Syst. Evol. Microbiol 51 (2001) : 89-103.
- Young, J. M. “The genus name *Ensifer* Casida 1982 takes priority over *Sinorhizobium* Chen et al. 1988, and *Sinorhizobium morelense* Wang et al. 2002 is a later synonym of

Ensifer adhaerens Casida 1982. Is the combination ‘*Sinorhizobium adhaerens*’ (Casida 1982) Willems et al. 2003 legitimate? Request for an opinion.” Int. J. Syst. Evol. Microbiol 53 (2003) : 2107–2110.

Zahran, H. “*Rhizobium*-legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate.” Microbiol. Mol. Biol. Rev 63 (1999) : 968-989.

Zehr, J. P. and L. A. McReynolds “Use of degenerate oligonucleotides for amplification of the *nifH* gene from the marine cyanobacterium *Trichodesmium thiebautii*.” Appl. Environ. Microbiol 55 (1989) : 2522–2526.

Zheng, L. et al. Proc. Natl. Acad. Sci 90 (1993) : 2754-2758. Cited by Kaminski, P. A., Batut, J., and Boistard, P. “A survey of symbiotic nitrogen fixation by rhizobia” In The Rhizobiaceae: Molecular Biology of Model Plant-Associated Bacteria. Edited by Spaink, H. P., Kondorosi, A. and Hooykaa, P. J. J. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995.

Zurdo-Pineiro, J. L et al. “Identification of fast-growing Rhizobia nodulating Tropical Legumes from Puerto Rico as *Rhizobium gallicum* and *Rhizobium tropici*.” Syst. Appl. Microbiol 27 (2004) : 469–477.

มหาวิทยาลัยศิลปากร ภาคผนวก สงวนลิขสิทธิ์

มหาวิทยาลัยศิลปากร ภาคผนวก ก สงวนลิขสิทธิ์

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast Mannitol Agar (Vincent 1970)

Mannitol	10	กรัม
K ₂ HPO ₄	0.5	กรัม
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.2	กรัม
NaCl	0.1	กรัม
Yeast extract	0.5	กรัม
Agar	15	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม: ชั่งสารต่าง ๆ ตามสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ปรับ pH ที่ 6.8 แล้วเติมน้ำจนปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 1000 มิลลิลิตร และนำไป Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ / ตารางนิ้ว 15 นาที

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Basal medium (Amerger et al. 1997)

K ₂ HPO ₄	1	กรัม
KH ₂ PO ₄	1	กรัม
FeCl ₃ ·6H ₂ O	0.01	กรัม
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.2	กรัม
CaCl ₂	0.1	กรัม
(NH ₄) ₂ SO ₄	1	กรัม
Agar	15	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม: ชั่งสารต่าง ๆ ตามสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วเติมน้ำปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 1000 มิลลิลิตร และนำไป Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ / ตารางนิ้ว 15 นาที

กรณีทดสอบการใช้แหล่งไนโตรเจน: ใช้ Mannitol แทน (NH₄)₂SO₄

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ Bergersen Synthetic Medium (BSM; Bergersen 1961)

Mannitol	10	กรัม
Na ₂ HPO ₄ · 12H ₂ O	0.45	กรัม
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.1	กรัม
FeCl ₃	0.02	กรัม
CaCl ₂	0.04	กรัม
Agarose	12	กรัม
Distilled water	970	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม: ชั่งสารต่าง ๆ ตามสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อปรับ pH ที่ 6.8 แล้วเติมน้ำจนปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 970 มิลลิลิตรนำไป Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ / ตารางนิ้ว 15 นาที หลังจากนั้นเติม stock solution ดังต่อไปนี้

- เตรียม stock solution ของ L-glutamic acid monosodium salt 11 กรัม ใน Distilled water 100 มิลลิลิตร นำไปกรองแล้วแบ่ง 10 มิลลิลิตรเติมในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปรับ pH ที่ 6.8 ส่วน stock solution ที่เหลือเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส
- เตรียม stock solution ของ thiamine 0.01 กรัม ใน Distilled water 1000 มิลลิลิตรนำไปกรองแล้วแบ่ง 10 มิลลิลิตรเติมในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปรับ pH ที่ 6.8 ส่วน stock solution ที่เหลือหุ้ม foil เก็บที่ 4 องศาเซลเซียส
- เตรียม stock solution ของ biotin 0.025 กรัม ใน Distilled water 1000 มิลลิลิตรนำไปกรองแล้วแบ่ง 10 มิลลิลิตรเติมในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปรับ pH ที่ 6.8 ส่วน stock solution ที่เหลือหุ้ม foil เก็บที่ 4 องศาเซลเซียส

ในการทดสอบความต้องการวิตามิน มีวิธีการดังนี้

3.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ **BM plates** (pH 6.8) ไม่เติมสารละลาย Glutamate, thiamine และ biotin

3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ **BM plates** (pH 6.8) เติม vitamin แต่ละชนิด แทน สารละลาย Glutamate, thiamine และ biotin

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ **BM plates** (pH 6.8) เติม yeast extract 50 มิลลิกรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1000 มิลลิลิตรแทนสารละลาย Glutamate, thiamine และ biotin

4. อาหารเลี้ยงเชื้อ TY agar (Beringer 1974)

Hyptone	10	กรัม
NaCl	8	กรัม
Yeast extract	5	กรัม
Agar	12	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม: ชั่งสารต่าง ๆ ตามสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วเติมน้ำปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 1000 มิลลิลิตร และนำไป Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ / ตารางนิ้ว 15 นาที
กรณีทดสอบการสังเคราะห์เมลานิน: เติม L-tyrosine 0.6 กรัม และ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.04 กรัม ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Agar

5. อาหารเลี้ยงเชื้อ Tris-TMRT Broth (Nuntagij et al. 1997)

Mannitol	10	กรัม
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.2	กรัม
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.25	กรัม
Tris	1.21	กรัม
Yeast extract	0.2	กรัม
DL-tryptophan	0.06	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม: ชั่งสารต่าง ๆ ตามสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ปรับ pH ที่ 6.8 แล้วเติมน้ำจนปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 1000 มิลลิลิตร และนำไป Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ / ตารางนิ้ว 15 นาที

6. อาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya broth (Pikovskaya, 1948)

Glucose	10	กรัม
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.5	กรัม
NaCl	0.2	กรัม
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.1	กรัม
KCl	0.2	กรัม
Yeast extract	0.5	กรัม

MnSO ₄	0.1	มิลลิลิตร ของ stock solution 0.1 กรัม ใน 100 มิลลิลิตร
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.1	มิลลิลิตร ของ stock solution 0.1 กรัม ใน 100 มิลลิลิตร
Ca ₃ (PO ₄) ₂	5	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม: ชั่งสารต่าง ๆ ตามสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ปรับ pH ที่ 7.0 แล้วเติมน้ำจนปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 1000 มิลลิลิตร และนำไป Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ / ตารางนิ้ว 15 นาที

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

มหาวิทยาลัยศิลปากร ภาคผนวก ข สงวนลิขสิทธิ์

สารเคมี

1. สารเคมีสำหรับทดสอบเมลานิน

sodium dodecyl sulfate 10 กรัม

B (pH 8.3) 100 กรัม

2. สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ IAA โดยวิธี Colorimetric (Gordon and Weber 1951)

0.01 M FeCl₃ 2.70 กรัม

70 %HClO₄ 500 มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม: ชั่ง 0.01 M FeCl₃ 2.70 กรัม ละลายในน้ำกลั่นผสมให้เข้ากันและเติม 70 %HClO₄ ลงไปแล้วโดยปรับให้ความเข้มข้น HClO₄ สุดท้ายเท่ากับ 35 %HClO₄ และเติมน้ำให้ปริมาตรสุดท้ายเท่ากับ 1000 มิลลิลิตร

3. สารเคมีสำหรับการทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์ฟอสฟาเตส (phosphatase)

3.1 Citric acid / sodium citrate buffer, pH 5.0

วิธีเตรียม Stock solution:

0.1M Citric acid monohydrate solution(C₆H₈O₇;MW :210.14) : 21.01 กรัมต่อลิตร

0.1M Trisodium citrate dehydrate(C₆H₅O₇Na₃·2H₂O;MW:294.12): 29.41กรัมต่อลิตร

1. ผสม 0.1M Citric acid monohydrate solution 35 มิลลิลิตร และ 0.1M Trisodium citrate dehydrate 65 มิลลิลิตร

2. ชั่ง MgCl₂·6H₂O 20.33 กรัม ละลายในน้ำ 100 มิลลิลิตร

3. ผสม buffer 25 มิลลิลิตร กับ MgCl₂·6H₂O 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เป็น 500 มิลลิลิตร ปรับ pH เท่ากับ 5.0

3.2 Na₂HPO₄·12H₂O / NaH₂PO₄·H₂O, pH 7.0

วิธีเตรียม Stock solution:

0.2 M Na₂HPO₄·12H₂O (MW :358.14) : 71.63 กรัมต่อลิตร

0.2 M NaH₂PO₄·H₂O (MW :137.99) : 27.60 กรัมต่อลิตร

1. ผสม 0.2 M Na₂HPO₄·12H₂O solution 24.50 มิลลิลิตร และ 0.2 M NaH₂PO₄·H₂O 19.50 มิลลิลิตร

2. ชั่ง $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 20.33 กรัม ละลายในน้ำ 100 มิลลิลิตร

3. ผสม buffer 25 มิลลิลิตร กับ $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 500 มิลลิลิตร ปรับ pH เท่ากับ 7.0

3.3 Mg buffer, pH 9.0

วิธีเตรียม Stock solution:

Mg buffer 12.1 กรัม ในน้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร ปรับ pH เป็น 9.0

1. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 ml

2. ชั่ง $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 20.33 กรัม ละลายในน้ำ 100 มิลลิลิตร

3. ผสม buffer 25 มิลลิลิตร กับ $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 500 มิลลิลิตร ปรับ pH เท่ากับ 9.0

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

มหาวิทยาลัยศิลปากร ภาคผนวก ค สงวนลิขสิทธิ์

สารเคมีและรีเอเจนท์ (reagent) สำหรับการวิเคราะห์ PCR และ gel electrophoresis

1. สารละลายบัฟเฟอร์สำหรับอิเล็กโทรโฟรีซิส

5x TBE (Tris-borate buffer)

Tris base	54.0	กรัม
Boric acid	27.5	กรัม
0.5 M Na ₂ EDTA	20.0	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม: ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1000 มิลลิลิตร โดยใช้ในการเป็น stock solution และในการเตรียม agarose gel จะทำการเจือจางให้เป็น 1x ด้วยน้ำกลั่น

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

มหาวิทยาลัยศิลปากร ภาคผนวก ง สงวนลิขสิทธิ์

ข้อมูลของการทดลอง

ตารางที่ 24: ขนาด clear zone ในการทดสอบความต้านทานของเชื้อต่อสารปฏิชีวนะ

Tetracycline 30 µg.				
ขนาดของ clear zone (cm.)				
สายพันธุ์แบคทีเรีย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 57003	1.70	2.00	1.50	1.73±0.25
DASA 57004	2.50	2.60	2.50	2.53±0.06
DASA 57005	-	-	-	-
DASA 57009	-	-	-	-
DASA 57010	-	-	-	-
DASA 57015	2.90	3.60	3.10	3.20±0.36
DASA 57019	3.00	3.00	3.00	3.00±0.00
DASA 57020	2.60	2.50	2.60	2.57±0.06
DASA 57024	-	-	-	-
DASA 57027	1.80	2.00	1.90	1.90±0.10
DASA 57034	2.50	2.50	2.50	2.50±0.00
DASA 57038	2.00	1.70	2.50	2.07±0.40
DASA 57050	2.60	2.90	2.80	2.77±0.15
DASA 57053	2.80	2.70	2.70	2.73±0.06
DASA 57057	2.60	2.80	2.60	2.67±0.12
DASA 57065	1.60	1.50	1.60	1.57±0.06
DASA 57066	-	-	-	-
DASA 57075	2.40	2.50	2.50	2.47±0.06
DASA 57076	2.00	2.00	1.80	1.93±0.12
DASA 57098	1.70	2.00	1.80	1.83±0.15

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 24 (ต่อ)

Tetracycline 30 μ g.				
ขนาดของ clear zone (cm.)				
สายพันธุ์แบคทีเรีย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 64006	2.50	2.90	3.40	2.93 \pm 0.45
DASA 64008	-	-	-	-
DASA 64010	1.10	1.30	1.50	1.30 \pm 0.20
DASA 64011	-	-	-	-
DASA 64012	2.60	2.50	2.50	2.53 \pm 0.06
DASA 64014	1.80	2.00	1.50	1.77 \pm 0.25
DASA 64016	1.70	2.00	1.90	1.87 \pm 0.15
DASA 64020	-	-	-	-
DASA 64021	1.70	1.90	2.40	2.00 \pm 0.36
DASA 64022	3.00	3.50	3.00	3.17 \pm 0.29
DASA 64023	-	-	-	-
DASA 64026	-	-	-	-
DASA 64027	-	-	-	-
DASA 64031	-	-	-	-
DASA 64034	2.00	2.60	2.20	2.27 \pm 0.31
DASA 64038	2.50	2.40	2.60	2.50 \pm 0.10
DASA 64040	-	-	-	-
DASA 64042	1.70	1.70	1.70	1.70 \pm 0.00

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 24 (ต่อ)

Tetracycline 30 μ g.				
ขนาดของ clear zone (cm.)				
สายพันธุ์แบคทีเรีย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 68003	-	-	-	-
DASA 68006	-	-	-	-
DASA 68010	2.10	1.80	1.80	1.90 \pm 0.17
DASA 68012	4.20	4.40	4.40	4.33 \pm 0.12
DASA 68020	-	-	-	-
DASA 68025	2.10	2.20	2.20	2.17 \pm 0.06
DASA 68030	2.00	2.10	2.20	2.10 \pm 0.10
DASA 68032	2.50	2.60	2.50	2.53 \pm 0.06
DASA 68053	-	-	-	-
DASA 68055	2.90	2.90	2.90	2.90 \pm 0.00
DASA 68056	1.90	2.30	2.00	2.07 \pm 0.21
DASA 68058	-	-	-	-
DASA 68061	-	-	-	-
DASA 68062	3.10	3.10	3.00	3.07 \pm 0.06
DASA 68066	2.70	2.60	3.00	2.77 \pm 0.21
DASA 68069	3.00	3.20	3.80	3.33 \pm 0.42
DASA 68070	-	-	-	-
DASA 68071	-	-	-	-

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 24 (ต่อ)

Ceftazidime 30 μ g.				
ขนาดของ clear zone (cm.)				
สายพันธุ์แบคทีเรีย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
DASA 57003	-	-	-	-
DASA 57004	1.80	1.60	1.60	1.67 \pm 0.12
DASA 57005	3.10	3.20	3.20	3.17 \pm 0.06
DASA 57009	-	-	-	-
DASA 57010	-	-	-	-
DASA 57015	-	-	-	-
DASA 57019	-	-	-	-
DASA 57020	2.80	2.80	2.70	2.77 \pm 0.06
DASA 57024	1.40	1.10	1.20	1.23 \pm 0.15
DASA 57027	3.70	4.40	4.30	4.13 \pm 0.38
DASA 57034	1.50	1.90	2.00	1.80 \pm 0.26
DASA 57038	-	-	-	-
DASA 57050	2.20	2.40	2.50	2.37 \pm 0.15
DASA 57053	1.60	1.00	1.10	1.23 \pm 0.32
DASA 57057	1.50	1.50	1.50	1.50 \pm 0.00
DASA 57065	3.00	3.20	3.40	3.20 \pm 0.20
DASA 57066	-	-	-	-
DASA 57075	-	-	-	-
DASA 57076	2.40	2.50	2.40	2.43 \pm 0.06
DASA 57098	3.70	3.60	4.20	3.83 \pm 0.32

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 24 (ต่อ)

Ceftazidime 30 µg.				
ขนาดของ clear zone (cm.)				
สายพันธุ์แบคทีเรีย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 64006	-	-	-	-
DASA 64008	-	-	-	-
DASA 64010	-	-	-	-
DASA 64011	-	-	-	-
DASA 64012	3.00	2.70	2.80	2.83±0.15
DASA 64014	2.90	3.00	3.40	3.10±0.26
DASA 64016	2.10	2.40	1.90	2.13±0.25
DASA 64020	-	-	-	-
DASA 64021	3.30	3.60	3.40	3.43±0.15
DASA 64022	1.90	1.80	1.70	1.80±0.10
DASA 64023	-	-	-	-
DASA 64026	-	-	-	-
DASA 64027	-	-	-	-
DASA 64031	-	-	-	-
DASA 64034	-	-	-	-
DASA 64038	2.70	2.80	2.70	2.73±0.06
DASA 64040	-	-	-	-
DASA 64042	1.90	2.00	1.70	1.87±0.15

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 24 (ต่อ)

Ceftazidime 30 μ g.				
ขนาดของ clear zone (cm.)				
สายพันธุ์แบคทีเรีย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 68003	-	-	-	-
DASA 68006	-	-	-	-
DASA 68010	2.00	1.90	1.80	1.90 \pm 0.10
DASA 68012	-	-	-	-
DASA 68020	-	-	-	-
DASA 68025	-	-	-	-
DASA 68030	2.00	2.40	2.30	2.23 \pm 0.21
DASA 68032	-	-	-	-
DASA 68053	-	-	-	-
DASA 68055	2.60	2.40	3.00	2.67 \pm 0.31
DASA 68056	-	-	-	-
DASA 68058	2.70	2.50	2.80	2.67 \pm 0.15
DASA 68061	-	-	-	-
DASA 68062	2.00	2.20	2.20	2.13 \pm 0.12
DASA 68066	-	-	-	-
DASA 68069	3.00	3.20	3.10	3.10 \pm 0.10
DASA 68070	-	-	-	-
DASA 68071	1.30	1.50	1.30	1.37 \pm 0.12

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 24 (ต่อ)

Ampicillin 10 µg.				
ขนาดของ clear zone (cm.)				
สายพันธุ์แบคทีเรีย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 57003	-	-	-	-
DASA 57004	1.00	1.00	1.00	1.00±0.00
DASA 57005	-	-	-	-
DASA 57009	-	-	-	-
DASA 57010	1.20	1.30	1.20	1.23±0.06
DASA 57015	-	-	-	-
DASA 57019	-	-	-	-
DASA 57020	2.60	2.60	2.60	2.60±0.00
DASA 57024	1.60	1.50	1.00	1.37±0.32
DASA 57027	-	-	-	-
DASA 57034	2.40	2.40	2.30	2.37±0.06
DASA 57038	-	-	-	-
DASA 57050	2.40	2.40	2.50	2.43±0.06
DASA 57053	-	-	-	-
DASA 57057	0.90	1.10	1.00	1.00±0.10
DASA 57065	-	-	-	-
DASA 57066	-	-	-	-
DASA 57075	-	-	-	-
DASA 57076	3.10	2.90	2.90	2.97±0.12
DASA 57098	4.00	4.00	4.00	4.00±0.00

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 24 (ต่อ)

Ampicillin 10 µg.				
ขนาดของ clear zone (cm.)				
สายพันธุ์แบคทีเรีย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย
DASA 64006	-	-	-	-
DASA 64008	-	-	-	-
DASA 64010	-	-	-	-
DASA 64011	-	-	-	-
DASA 64012	2.20	2.70	2.40	2.43±0.25
DASA 64014	-	-	-	-
DASA 64016	1.60	1.50	1.60	1.57±0.06
DASA 64020	-	-	-	-
DASA 64021	-	-	-	-
DASA 64022	1.50	1.10	1.10	1.23±0.23
DASA 64023	-	-	-	-
DASA 64026	-	-	-	-
DASA 64027	-	-	-	-
DASA 64031	-	-	-	-
DASA 64034	-	-	-	-
DASA 64038	1.30	1.20	1.30	1.27±0.06
DASA 64040	-	-	-	-
DASA 64042	-	-	-	-

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 24 (ต่อ)

Ampicillin 10 µg.				
ขนาดของ clear zone (cm.)				
สายพันธุ์แบคทีเรีย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 68003	-	-	-	-
DASA 68006	-	-	-	-
DASA 68010	2.50	2.50	2.30	2.43±0.12
DASA 68012	-	-	-	-
DASA 68020	-	-	-	-
DASA 68025	-	-	-	-
DASA 68030	2.00	1.90	2.20	2.03±0.15
DASA 68032	-	-	-	-
DASA 68053	-	-	-	-
DASA 68055	2.80	2.50	2.70	2.67±0.15
DASA 68056	-	-	-	-
DASA 68058	-	-	-	-
DASA 68061	-	-	-	-
DASA 68062	-	-	-	-
DASA 68066	-	-	-	-
DASA 68069	-	-	-	-
DASA 68070	-	-	-	-
DASA 68071	-	-	-	-

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 24 (ต่อ)

Chloramphenicol 30 µg.				
ขนาดของ clear zone (cm.)				
สายพันธุ์แบคทีเรีย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 57003	0.80	0.80	0.90	0.83±0.06
DASA 57004	2.90	3.00	2.70	2.87±0.15
DASA 57005	-	-	-	-
DASA 57009	-	-	-	-
DASA 57010	-	-	-	-
DASA 57015	0.80	0.70	0.70	0.73±0.06
DASA 57019	-	-	-	-
DASA 57020	2.70	2.70	2.70	2.70±0.00
DASA 57024	-	-	-	-
DASA 57027	-	-	-	-
DASA 57034	3.00	3.00	3.00	3.00±0.00
DASA 57038	-	-	-	-
DASA 57050	3.50	3.20	3.20	3.30±0.17
DASA 57053	-	-	-	-
DASA 57057	-	-	-	-
DASA 57065	1.00	0.80	0.90	0.90±0.10
DASA 57066	-	-	-	-
DASA 57075	-	-	-	-
DASA 57076	3.30	3.20	3.00	3.17±0.15
DASA 57098	-	-	-	-

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 24 (ต่อ)

Chloramphenicol 30 µg.				
ขนาดของ clear zone (cm.)				
สายพันธุ์แบคทีเรีย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 64006	-	-	-	-
DASA 64008	-	-	-	-
DASA 64010	-	-	-	-
DASA 64011	-	-	-	-
DASA 64012	2.90	2.70	2.90	2.83±0.12
DASA 64014	-	-	-	-
DASA 64016	3.50	3.60	4.20	3.77±0.38
DASA 64020	-	-	-	-
DASA 64021	-	-	-	-
DASA 64022	3.50	3.50	3.50	3.50±0.00
DASA 64023	-	-	-	-
DASA 64026	-	-	-	-
DASA 64027	-	-	-	-
DASA 64031	-	-	-	-
DASA 64034	-	-	-	-
DASA 64038	1.20	1.30	1.20	1.23±0.06
DASA 64040	-	-	-	-
DASA 64042	-	-	-	-

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 24 (ต่อ)

Chloramphenicol 30 µg.				
ขนาดของ clear zone (cm.)				
สายพันธุ์แบคทีเรีย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 68003	-	-	-	-
DASA 68006	-	-	-	-
DASA 68010	2.80	2.60	3.00	2.80±0.20
DASA 68012	1.50	1.50	1.40	1.47±0.06
DASA 68020	-	-	-	-
DASA 68025	-	-	-	-
DASA 68030	2.90	3.00	2.80	2.90±0.10
DASA 68032	3.40	3.10	3.00	3.17±0.21
DASA 68053	-	-	-	-
DASA 68055	3.90	3.40	3.10	3.47±0.40
DASA 68056	-	-	-	-
DASA 68058	-	-	-	-
DASA 68061	-	-	-	-
DASA 68062	3.90	3.90	3.90	3.90±0.00
DASA 68066	-	-	-	-
DASA 68069	2.90	3.40	3.80	3.37±0.45
DASA 68070	-	-	-	-
DASA 68071	-	-	-	-

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 24 (ต่อ)

Spectinomycin 10 µg.				
ขนาดของ clear zone (cm.)				
สายพันธุ์แบคทีเรีย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 57003	1.00	1.00	0.70	0.09±0.17
DASA 57004	2.10	1.70	2.00	1.93±0.21
DASA 57005	1.60	1.70	1.60	1.63±0.06
DASA 57009	-	-	-	-
DASA 57010	-	-	-	-
DASA 57015	1.30	1.60	1.40	1.43±0.15
DASA 57019	1.20	1.50	1.20	1.30±0.17
DASA 57020	2.20	2.40	2.30	2.30±0.10
DASA 57024	1.60	1.00	1.40	1.33±0.31
DASA 57027	-	-	-	-
DASA 57034	2.60	2.60	2.50	2.57±0.06
DASA 57038	-	-	-	-
DASA 57050	2.70	2.70	2.80	2.73±0.06
DASA 57053	1.10	1.00	1.40	1.17±0.21
DASA 57057	1.50	1.30	1.70	1.50±0.20
DASA 57065	-	-	-	-
DASA 57066	-	-	-	-
DASA 57075	2.40	2.90	2.30	2.53±0.32
DASA 57076	3.00	3.00	2.80	2.93±0.12
DASA 57098	-	-	-	-

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 24 (ต่อ)

Spectinomycin 10 µg.				
ขนาดของ clear zone (cm.)				
สายพันธุ์แบคทีเรีย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 64006	-	-	-	-
DASA 64008	-	-	-	-
DASA 64010	-	-	-	-
DASA 64011	-	-	-	-
DASA 64012	2.50	2.60	2.90	2.67±0.21
DASA 64014	1.80	1.40	1.90	1.70±0.26
DASA 64016	1.70	2.00	1.90	1.87±0.15
DASA 64020	1.70	1.40	1.80	1.63±0.00
DASA 64021	-	-	-	-
DASA 64022	-	-	-	-
DASA 64023	2.00	2.00	2.00	2.00±0.00
DASA 64026	-	-	-	-
DASA 64027	-	-	-	-
DASA 64031	-	-	-	-
DASA 64034	1.00	0.90	0.90	0.93±0.06
DASA 64038	2.70	2.40	2.30	2.47±0.21
DASA 64040	-	-	-	-
DASA 64042	1.40	1.40	1.30	1.37±0.06

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 24 (ต่อ)

Spectinomycin 10 µg.				
ขนาดของ clear zone (cm.)				
สายพันธุ์แบคทีเรีย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 68003	-	-	-	-
DASA 68006	-	-	-	-
DASA 68010	2.40	2.70	2.70	2.60±0.17
DASA 68012	2.80	3.20	3.00	
DASA 68020	-	-	-	-
DASA 68025	-	-	-	-
DASA 68030	2.20	2.00	2.10	2.10±0.10
DASA 68032	1.10	1.10	1.20	1.13±0.06
DASA 68053	-	-	-	-
DASA 68055	2.80	2.60	3.00	2.80±0.20
DASA 68056	-	-	-	-
DASA 68058	-	-	-	-
DASA 68061	-	-	-	-
DASA 68062	1.20	2.00	1.70	1.63±0.40
DASA 68066	1.70	1.40	1.50	1.53±0.15
DASA 68069	1.40	1.70	1.50	1.53±0.15
DASA 68070	-	-	-	-
DASA 68071	1.20	1.20	1.20	1.20±0.00

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 24 (ต่อ)

Cefotaxime sodium 30 µg.				
ขนาดของ clear zone (cm.)				
สายพันธุ์แบคทีเรีย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 57003	1.50	1.20	1.50	1.4±1.17
DASA 57004	2.40	2.90	2.60	2.63±0.25
DASA 57005	-	-	-	-
DASA 57009	-	-	-	-
DASA 57010	5.20	5.30	5.30	5.27±0.06
DASA 57015	2.20	2.20	2.00	2.13±0.12
DASA 57019	2.70	2.70	2.80	2.73±0.06
DASA 57020	3.20	2.90	2.80	2.97±0.21
DASA 57024	3.20	3.30	3.20	3.23±0.06
DASA 57027	2.50	2.10	1.90	2.17±0.31
DASA 57029	3.30	3.60	3.50	3.47±0.15
DASA 57034	3.00	2.80	2.60	2.80±0.20
DASA 57038	2.50	2.50	2.60	2.53±0.06
DASA 57050	3.40	3.90	3.50	3.60±0.26
DASA 57053	2.50	2.80	2.70	2.67±0.15
DASA 57057	2.00	2.20	2.00	2.07±0.12
DASA 57065	1.90	1.70	1.60	1.73±1.15
DASA 57066	-	-	-	-
DASA 57075	3.70	3.50	3.60	3.60±0.10
DASA 57076	3.40	3.30	3.40	3.37±0.06
DASA 57098	2.30	2.30	2.20	2.27±0.06

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 24 (ต่อ)

Cefotaxime sodium 30 µg.				
ขนาดของ clear zone (cm.)				
สายพันธุ์แบคทีเรีย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 64006	-	-	-	-
DASA 64008	3.50	3.40	3.70	3.53±0.15
DASA 64010	3.30	3.40	3.20	3.30±0.10
DASA 64011	-	-	-	-
DASA 64012	2.70	2.60	2.60	2.63±0.06
DASA 64014	3.40	3.20	3.90	3.50±0.36
DASA 64016	2.50	2.20	2.60	2.43±0.21
DASA 64020	3.30	3.20	3.40	3.30±0.10
DASA 64021	2.20	2.40	1.70	2.10±0.36
DASA 64022	2.70	3.00	2.70	2.80±0.17
DASA 64023	1.20	1.10	1.20	1.17±0.06
DASA 64026	-	-	-	-
DASA 64027	-	-	-	-
DASA 64031	-	-	-	-
DASA 64034	2.00	2.50	1.90	-
DASA 64038	3.20	3.20	3.20	3.20±0.00
DASA 64040	-	-	-	-
DASA 64042	3.80	3.70	3.70	-

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 24 (ต่อ)

Cefotaxime sodium 30 µg.				
ขนาดของ clear zone (cm.)				
สายพันธุ์แบคทีเรีย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 68003	-	-	-	-
DASA 68006	-	-	-	-
DASA 68010	2.70	2.70	3.00	2.80±0.17
DASA 68012	2.70	3.10	2.80	2.87±0.21
DASA 68020	-	-	-	-
DASA 68025	-	-	-	-
DASA 68030	2.90	3.00	3.50	3.13±0.32
DASA 68032	3.70	3.50	3.60	3.60±0.10
DASA 68053	-	-	-	-
DASA 68055	3.60	3.60	3.70	3.63±0.06
DASA 68056	1.50	1.50	1.40	1.47±0.06
DASA 68058	4.10	4.70	4.50	4.43±0.31
DASA 68061	-	-	-	-
DASA 68062	3.90	4.50	4.00	4.13±0.32
DASA 68066	-	-	-	-
DASA 68069	3.30	4.60	3.70	3.87±0.67
DASA 68070	-	-	-	-
DASA 68071	-	-	-	-

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 24 (ต่อ)

Gentamicin 120 µg.				
ขนาดของ clear zone (cm.)				
สายพันธุ์แบคทีเรีย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 57003	2.80	2.70	2.70	2.73±0.06
DASA 57004	2.40	2.40	2.50	2.43±0.06
DASA 57005	4.00	3.50	3.60	3.70±0.26
DASA 57009	3.20	3.20	3.70	3.37±0.29
DASA 57010	-	-	-	-
DASA 57015	2.90	2.90	2.80	2.87±0.06
DASA 57019	2.80	2.80	2.70	2.77±0.06
DASA 57020	2.30	2.30	2.40	2.33±0.06
DASA 57024	2.60	2.70	2.20	2.50±0.26
DASA 57027	3.10	2.70	3.10	2.97±0.23
DASA 57029	2.90	2.60	2.60	2.70±0.17
DASA 57034	2.50	2.60	2.40	2.50±0.10
DASA 57038	2.80	2.70	2.70	2.73±0.06
DASA 57050	2.40	2.30	2.40	2.37±0.06
DASA 57053	2.40	2.90	3.10	2.80±0.36
DASA 57057	2.60	2.60	2.50	2.57±0.06
DASA 57065	2.90	3.10	2.90	2.97±0.12
DASA 57066	-	-	-	-
DASA 57075	-	-	-	-
DASA 57076	3.00	3.00	2.80	2.93±0.12
DASA 57098	2.50	2.60	2.50	2.53±0.06

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 24 (ต่อ)

Gentamicin 120 µg.				
ขนาดของ clear zone (cm.)				
สายพันธุ์แบคทีเรีย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 64006	-	-	-	-
DASA 64008	-	-	-	-
DASA 64010	3.00	2.50	2.60	2.70±0.26
DASA 64011	3.90	3.20	3.60	3.57±0.35
DASA 64012	2.80	2.80	2.90	2.83±0.06
DASA 64014	3.20	3.20	3.00	3.13±0.12
DASA 64016	2.50	2.40	2.30	2.40±0.10
DASA 64020	2.80	2.40	3.00	2.73±0.31
DASA 64021	3.00	3.00	2.80	2.93±0.12
DASA 64022	2.90	2.70	2.80	2.80±0.10
DASA 64023	3.20	4.20	3.80	3.73±0.50
DASA 64026	2.60	2.60	2.70	2.63±0.06
DASA 64027	2.60	2.70	3.00	2.77±0.21
DASA 64031	2.60	2.60	2.70	2.63±0.06
DASA 64034	2.50	2.80	2.70	2.67±0.15
DASA 64038	2.40	2.20	2.30	2.30±0.10
DASA 64040	2.40	2.70	2.70	2.60±0.17
DASA 64042	2.50	2.70	3.00	2.73±0.25

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 24 (ต่อ)

Gentamicin 120 µg.				
ขนาดของ clear zone (cm.)				
สายพันธุ์แบคทีเรีย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 68003	2.40	2.20	2.30	2.33±0.15
DASA 68006	3.00	3.00	3.00	3.00±0.00
DASA 68010	2.30	2.20	2.70	2.40±0.26
DASA 68012	3.50	3.70	3.70	3.63±0.12
DASA 68020	4.00	3.70	4.10	3.93±0.21
DASA 68025	2.60	2.40	2.50	2.50±0.10
DASA 68030	2.50	2.50	2.40	2.47±0.06
DASA 68032	1.30	1.60	1.70	1.53±0.21
DASA 68053	3.20	3.40	3.40	3.33±0.12
DASA 68055	2.40	2.40	2.20	2.33±0.12
DASA 68056	3.20	3.10	3.20	3.17±0.06
DASA 68058	3.40	3.30	3.50	3.40±0.10
DASA 68061	2.30	2.30	2.30	2.30±0.00
DASA 68062	2.30	2.60	2.40	2.43±0.15
DASA 68066	2.50	3.20	2.90	2.87±0.35
DASA 68069	1.60	2.00	1.90	1.83±0.21
DASA 68070	2.80	2.70	2.90	2.80±0.10
DASA 68071	3.50	3.50	3.50	3.50±0.00

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 24 (ต่อ)

Streptomycin 10 µg.				
ขนาดของ clear zone (cm.)				
สายพันธุ์แบคทีเรีย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 57003	0.90	0.90	0.90	0.90±0.00
DASA 57004	2.20	2.40	2.10	2.23±0.15
DASA 57005	3.00	3.40	3.00	3.13±0.23
DASA 57009	-	-	-	-
DASA 57010	-	-	-	-
DASA 57015	2.10	2.30	2.20	2.20±0.10
DASA 57019	2.50	2.80	2.50	2.60±0.17
DASA 57020	1.90	1.90	2.00	1.93±0.06
DASA 57024	2.40	2.60	2.50	2.50±0.10
DASA 57027	1.40	1.30	1.30	1.33±0.06
DASA 57029	2.10	2.20	2.20	2.17±0.06
DASA 57034	2.50	2.50	2.30	2.43±0.12
DASA 57038	2.40	2.50	2.10	2.33±0.21
DASA 57050	1.90	1.90	1.90	1.90±0.00
DASA 57053	1.50	1.50	1.40	1.47±0.06
DASA 57057	2.80	2.80	2.70	2.77±0.06
DASA 57065	1.30	1.50	1.70	1.50±0.20
DASA 57066	-	-	-	-
DASA 57075	1.30	1.50	1.30	1.37±0.12
DASA 57076	2.70	2.50	2.20	2.47±0.25
DASA 57098	2.40	2.50	2.50	2.47±0.06

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 24 (ต่อ)

Streptomycin 10 µg.				
ขนาดของ clear zone (cm.)				
สายพันธุ์แบคทีเรีย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 64006	0.90	0.90	0.90	0.90±0.00
DASA 64008	1.40	1.60	1.40	1.47±0.12
DASA 64010	3.00	3.30	3.40	3.23±0.21
DASA 64011	-	-	-	-
DASA 64012	2.10	2.10	2.00	2.07±0.06
DASA 64014	1.70	2.20	2.20	2.03±0.29
DASA 64016	2.00	2.10	1.90	2.00±0.10
DASA 64020	2.10	2.60	2.50	2.40±0.26
DASA 64021	1.00	1.10	1.30	1.13±0.15
DASA 64022	2.50	2.50	2.20	2.40±0.17
DASA 64023	3.10	3.10	3.40	3.20±0.17
DASA 64026	2.50	2.30	2.20	2.33±0.15
DASA 64027	2.40	2.40	2.30	2.37±0.06
DASA 64031	2.60	2.50	2.40	2.50±0.10
DASA 64034	1.50	1.30	1.40	1.40±0.10
DASA 64038	1.00	1.10	1.00	1.03±0.06
DASA 64040	-	-	-	-
DASA 64042	1.10	1.30	1.40	1.27±0.15

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 24 (ต่อ)

Streptomycin 10 µg.				
ขนาดของ clear zone (cm.)				
สายพันธุ์แบคทีเรีย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 68003	2.40	2.40	2.00	2.27±0.23
DASA 68006	-	-	-	-
DASA 68010	2.00	1.70	1.80	1.83±0.15
DASA 68012	1.00	1.10	1.10	1.07±0.06
DASA 68020	2.40	2.60	2.50	2.50±0.10
DASA 68025	2.50	2.50	2.50	2.50±0.00
DASA 68030	2.00	2.30	1.90	2.07±0.21
DASA 68032	2.20	2.00	2.30	2.17±0.15
DASA 68053	-	-	-	-
DASA 68055	3.00	3.00	2.70	2.90±0.17
DASA 68056	-	-	-	-
DASA 68058	1.50	1.30	1.20	1.33±0.15
DASA 68061	1.40	1.50	1.40	1.43±0.06
DASA 68062	2.30	2.40	2.30	2.33±0.06
DASA 68066	2.20	2.90	2.70	2.60±0.36
DASA 68069	2.20	2.20	2.40	2.27±0.12
DASA 68070	1.30	1.20	1.20	1.23±0.06
DASA 68071	-	-	-	-

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 24 (ต่อ)

Kanamycin 30 µg.				
ขนาดของ clear zone (cm.)				
สายพันธุ์แบคทีเรีย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 57003	1.50	1.50	1.40	1.47±0.06
DASA 57004	2.30	2.30	2.40	2.33±0.06
DASA 57005	3.50	3.50	3.40	3.47±0.06
DASA 57009	2.50	3.00	3.00	2.83±0.29
DASA 57010	-	-	-	-
DASA 57015	2.60	2.60	2.60	2.60±0.00
DASA 57019	2.30	2.30	2.40	2.33±0.06
DASA 57020	2.40	2.30	2.00	2.23±0.21
DASA 57024	2.60	2.40	2.20	2.40±0.20
DASA 57027	2.90	2.60	3.00	2.83±0.21
DASA 57029	2.50	2.50	2.40	2.47±0.06
DASA 57034	3.00	3.00	2.90	2.97±0.06
DASA 57038	2.10	2.10	2.20	2.13±0.06
DASA 57050	2.80	3.20	3.40	3.13±0.31
DASA 57053	2.70	3.00	3.00	2.90±0.17
DASA 57057	2.20	2.30	2.40	2.30±0.10
DASA 57065	3.10	3.00	2.90	3.00±0.10
DASA 57066	-	-	-	-
DASA 57075	-	-	-	-
DASA 57076	2.80	2.80	2.80	2.80±0.00
DASA 57098	2.40	2.20	2.60	2.40±0.20

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 24 (ต่อ)

Kanamycin 30 µg.				
ขนาดของ clear zone (cm.)				
สายพันธุ์แบคทีเรีย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 64006	1.90	2.00	2.00	1.97±0.06
DASA 64008	-	-	-	-
DASA 64010	4.00	4.00	4.30	4.10±0.17
DASA 64011	3.50	3.50	3.50	3.50±0.00
DASA 64012	2.40	2.60	2.60	2.53±0.12
DASA 64014	2.40	2.20	2.40	2.33±0.12
DASA 64016	2.20	2.20	2.40	2.27±0.12
DASA 64020	2.40	2.40	2.60	2.47±0.12
DASA 64021	2.60	3.00	3.00	2.87±0.23
DASA 64022	2.50	2.40	2.30	2.40±0.10
DASA 64023	3.30	3.70	4.20	3.73±0.45
DASA 64026	2.60	2.40	2.30	2.43±0.15
DASA 64027	2.10	2.20	2.20	2.17±0.06
DASA 64031	2.30	2.20	2.50	2.33±0.15
DASA 64034	2.00	1.70	2.40	2.03±0.35
DASA 64038	3.00	2.40	2.80	2.73±0.21
DASA 64040	2.50	2.50	2.50	2.50±0.00
DASA 64042	1.20	1.80	1.60	1.53±0.31

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 24 (ต่อ)

Kanamycin 30 µg.				
ขนาดของ clear zone (cm.)				
สายพันธุ์แบคทีเรีย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 68003	2.40	2.70	2.70	2.60±0.17
DASA 68006	2.60	2.70	2.60	2.63±0.06
DASA 68010	2.50	2.60	2.20	2.43±0.21
DASA 68012	2.80	3.20	3.00	3.00±0.20
DASA 68020	2.50	2.50	2.60	2.53±0.06
DASA 68025	2.70	2.40	2.50	2.53±0.15
DASA 68030	2.30	2.40	2.00	2.23±0.21
DASA 68032	-	-	-	-
DASA 68053	2.70	2.60	2.70	2.67±0.06
DASA 68055	2.00	2.00	2.30	2.10±0.17
DASA 68056	3.00	2.90	2.90	2.93±0.06
DASA 68058	3.20	3.40	3.60	3.40±0.20
DASA 68061	2.00	2.00	2.00	2.00±0.00
DASA 68062	-	-	-	-
DASA 68066	-	-	-	-
DASA 68069	1.20	1.20	1.30	1.23±0.06
DASA 68070	2.70	2.70	2.70	2.70±0.00
DASA 68071	3.00	3.00	3.00	3.00±0.00

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 24 (ต่อ)

Novobiocin 30 µg.				
ขนาดของ clear zone (cm.)				
สายพันธุ์แบคทีเรีย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 57003	1.30	1.60	1.20	1.37±0.21
DASA 57004	2.40	2.40	2.80	2.53±0.23
DASA 57005	3.50	4.00	3.60	3.70±0.26
DASA 57009	-	-	-	-
DASA 57010	-	-	-	-
DASA 57015	1.00	0.90	1.00	0.97±0.06
DASA 57019	2.60	3.00	2.50	2.70±0.26
DASA 57020	2.60	2.70	2.50	2.60±0.10
DASA 57024	3.30	2.70	2.60	2.87±0.38
DASA 57027	-	-	-	-
DASA 57029	-	-	-	-
DASA 57034	3.00	2.70	2.80	2.83±0.15
DASA 57038	2.60	2.30	2.40	2.43±0.15
DASA 57050	3.60	3.30	3.10	3.33±0.25
DASA 57053	3.40	3.10	3.00	3.17±0.21
DASA 57057	2.70	2.70	2.20	2.53±0.29
DASA 57065	-	-	-	-
DASA 57066	-	-	-	-
DASA 57075	2.30	3.50	3.20	3.00±0.62
DASA 57076	3.80	3.80	3.60	3.73±0.12
DASA 57098	2.80	2.60	2.70	2.70±0.10

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 24 (ต่อ)

Novobiocin 30 µg.				
ขนาดของ clear zone (cm.)				
สายพันธุ์แบคทีเรีย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 64006	-	-	-	-
DASA 64008	2.70	2.40	2.40	2.50±0.17
DASA 64010	2.80	2.80	2.80	2.80±0.00
DASA 64011	3.50	3.80	4.00	3.77±0.25
DASA 64012	3.00	3.00	2.90	2.97±0.06
DASA 64014	-	-	-	-
DASA 64016	2.50	2.70	2.80	2.67±0.15
DASA 64020	2.90	3.00	2.70	2.87±0.15
DASA 64021	-	-	-	-
DASA 64022	2.70	2.70	2.40	2.60±0.17
DASA 64023	3.90	3.20	4.00	3.70±0.44
DASA 64026	2.20	2.60	2.50	2.43±0.21
DASA 64027	2.50	2.50	2.40	2.47±0.06
DASA 64031	2.60	2.60	2.50	2.57±0.06
DASA 64034	-	-	-	-
DASA 64038	1.60	1.60	1.60	1.6±0.00
DASA 64040	-	-	-	-
DASA 64042	2.80	2.80	2.90	2.83±0.06

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 24 (ต่อ)

Novobiocin 30 µg.				
ขนาดของ clear zone (cm.)				
สายพันธุ์แบคทีเรีย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 68003	-	-	-	-
DASA 68006	-	-	-	-
DASA 68010	3.00	3.60	3.70	3.43±0.38
DASA 68012	2.80	3.40	3.10	3.10±0.30
DASA 68020	4.10	3.60	4.00	3.90±0.26
DASA 68025	-	-	-	-
DASA 68030	2.60	2.70	2.80	2.70±0.10
DASA 68032	2.60	2.70	2.60	2.63±0.06
DASA 68053	-	-	-	-
DASA 68055	3.50	3.10	3.20	3.27±0.21
DASA 68056	-	-	-	-
DASA 68058	-	-	-	-
DASA 68061	-	-	-	-
DASA 68062	3.70	3.50	3.00	3.40±0.36
DASA 68066	-	-	-	-
DASA 68069	3.00	4.20	3.70	3.63±0.60
DASA 68070	-	-	-	-
DASA 68071	-	-	-	-

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 25: จำนวนเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ ที่ระดับ pH 5.0

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 57003	1.00×10^8	1.80×10^8	1.60×10^8	$1.47 \times 10^8 \pm 4.16 \times 10^7$
DASA 57004	7.00×10^5	7.00×10^5	9.00×10^5	$7.67 \times 10^5 \pm 1.15 \times 10^5$
DASA 57005	1.00×10^7	2.00×10^7	1.00×10^7	$1.33 \times 10^7 \pm 5.77 \times 10^6$
DASA 57009	8.60×10^7	6.90×10^7	8.70×10^7	$8.07 \times 10^7 \pm 1.01 \times 10^7$
DASA 57010	4.00×10^5	7.00×10^5	1.10×10^6	$4.03 \times 10^6 \pm 6.04 \times 10^6$
DASA 57015	2.00×10^4	3.00×10^4	1.00×10^4	$2.00 \times 10^4 \pm 1.00 \times 10^4$
DASA 57019	2.70×10^8	2.90×10^8	3.90×10^8	$3.16 \times 10^8 \pm 6.43 \times 10^7$
DASA 57020	4.00×10^7	4.00×10^7	4.00×10^7	$4.00 \times 10^7 \pm 0.00$
DASA 57024	1.79×10^8	1.67×10^8	2.04×10^8	$1.83 \times 10^8 \pm 1.89 \times 10^7$
DASA 57027	7.00×10^6	3.00×10^6	4.00×10^6	$4.67 \times 10^6 \pm 2.08 \times 10^6$
DASA 57034	3.50×10^9	3.80×10^9	4.30×10^9	$3.86 \times 10^9 \pm 4.04 \times 10^8$
DASA 57038	3.70×10^7	3.50×10^7	3.00×10^7	$3.40 \times 10^7 \pm 3.61 \times 10^6$
DASA 57050	5.00×10^7	6.00×10^7	5.50×10^7	$5.50 \times 10^7 \pm 5.00 \times 10^6$
DASA 57053	1.00×10^8	1.00×10^8	1.00×10^8	$1.00 \times 10^8 \pm 0.00$
DASA 57057	4.00×10^6	4.00×10^6	1.00×10^6	$3.00 \times 10^6 \pm 1.73 \times 10^6$
DASA 57065	1.20×10^7	1.00×10^7	1.20×10^7	$1.13 \times 10^7 \pm 1.15 \times 10^6$
DASA 57066	7.60×10^8	5.50×10^8	6.90×10^8	$6.67 \times 10^8 \pm 1.07 \times 10^8$
DASA 57075	5.20×10^7	5.10×10^7	5.30×10^7	$5.20 \times 10^7 \pm 1.00 \times 10^6$
DASA 57076	2.60×10^8	4.10×10^8	3.20×10^8	$3.30 \times 10^8 \pm 7.55 \times 10^8$
DASA 57098	1.16×10^8	1.55×10^8	1.51×10^8	$1.41 \times 10^8 \pm 2.15 \times 10^7$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 25 (ต่อ)

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 64006	3.00×10^8	3.00×10^8	2.00×10^8	$2.67 \times 10^8 \pm 5.77 \times 10^7$
DASA 64008	1.90×10^7	1.40×10^7	1.00×10^7	$1.43 \times 10^7 \pm 4.51 \times 10^6$
DASA 64010	3.00×10^7	3.00×10^7	3.00×10^7	$3.00 \times 10^7 \pm 0.00$
DASA 64011	9.00×10^5	1.00×10^6	7.00×10^5	$8.67 \times 10^5 \pm 1.53 \times 10^5$
DASA 64012	4.00×10^8	2.00×10^8	3.00×10^8	$3.00 \times 10^8 \pm 1.00 \times 10^8$
DASA 64014	1.13×10^8	1.13×10^8	1.20×10^8	$1.15 \times 10^8 \pm 4.04 \times 10^6$
DASA 64016	6.00×10^6	6.00×10^6	6.00×10^6	$6.00 \times 10^6 \pm 0.00$
DASA 64020	3.20×10^8	4.60×10^8	5.10×10^8	$4.30 \times 10^8 \pm 9.85 \times 10^7$
DASA 64021	1.00×10^8	2.00×10^8	2.00×10^8	$1.67 \times 10^8 \pm 5.77 \times 10^7$
DASA 64022	1.40×10^6	1.50×10^6	1.00×10^6	$1.37 \times 10^6 \pm 2.65 \times 10^5$
DASA 64023	6.00×10^6	9.00×10^6	6.00×10^6	$7.00 \times 10^6 \pm 1.73 \times 10^6$
DASA 64026	1.00×10^5	1.00×10^5	1.00×10^5	$1.00 \times 10^5 \pm 0.00$
DASA 64027	1.20×10^7	1.50×10^7	1.60×10^7	$1.43 \times 10^7 \pm 1.53 \times 10^6$
DASA 64031	9.00×10^6	8.00×10^6	1.20×10^7	$9.67 \times 10^6 \pm 2.08 \times 10^6$
DASA 64034	2.00×10^7	3.00×10^7	1.00×10^7	$2.00 \times 10^7 \pm 1.00 \times 10^7$
DASA 64038	2.00×10^8	4.00×10^8	4.00×10^8	$3.33 \times 10^8 \pm 1.15 \times 10^8$
DASA 64040	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00
DASA 64042	4.30×10^7	4.50×10^7	5.00×10^7	$4.60 \times 10^7 \pm 3.61 \times 10^6$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 25 (ต่อ)

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 68003	1.00×10^8	1.00×10^8	1.00×10^8	$1.00 \times 10^8 \pm 0.00$
DASA 68006	2.00×10^7	3.00×10^7	3.00×10^7	$2.67 \times 10^7 \pm 5.77 \times 10^6$
DASA 68010	9.60×10^7	1.06×10^8	1.17×10^8	$1.06 \times 10^8 \pm 1.05 \times 10^7$
DASA 68012	2.00×10^8	2.00×10^8	3.00×10^8	$2.33 \times 10^8 \pm 5.77 \times 10^7$
DASA 68020	8.00×10^8	1.00×10^9	1.20×10^9	$1.00 \times 10^9 \pm 9.18 \times 10^9$
DASA 68025	3.00×10^7	6.00×10^7	5.00×10^7	$4.67 \times 10^7 \pm 1.53 \times 10^7$
DASA 68030	8.80×10^6	6.30×10^6	6.80×10^6	$7.30 \times 10^6 \pm 1.32 \times 10^6$
DASA 68032	2.00×10^7	3.00×10^7	2.00×10^7	$2.33 \times 10^7 \pm 5.77 \times 10^6$
DASA 68053	2.00×10^6	1.00×10^6	2.00×10^6	$1.67 \times 10^6 \pm 5.77 \times 10^5$
DASA 68055	1.80×10^6	2.00×10^6	1.80×10^6	$1.87 \times 10^6 \pm 1.15 \times 10^5$
DASA 68056	5.90×10^7	6.00×10^7	5.60×10^7	$5.83 \times 10^7 \pm 2.08 \times 10^6$
DASA 68058	4.00×10^6	4.00×10^6	4.00×10^6	$4.00 \times 10^6 \pm 0.00$
DASA 68061	1.00×10^8	1.00×10^8	1.00×10^8	$1.00 \times 10^8 \pm 0.00$
DASA 68062	1.00×10^7	1.00×10^7	1.00×10^7	$1.00 \times 10^7 \pm 0.00$
DASA 68066	7.00×10^8	4.00×10^8	2.00×10^8	$4.33 \times 10^8 \pm 2.52 \times 10^8$
DASA 68069	3.00×10^7	3.00×10^7	3.00×10^7	$3.00 \times 10^7 \pm 0.00$
DASA 68070	1.00×10^8	3.00×10^8	2.00×10^8	$2.00 \times 10^8 \pm 1.00 \times 10^8$
DASA 68071	3.50×10^5	3.00×10^5	3.00×10^5	$3.17 \times 10^5 \pm 2.89 \times 10^4$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 26: จำนวนเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ ที่ระดับ pH 6.5

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 57003	2.00×10^8	1.00×10^8	2.00×10^8	$1.67 \times 10^8 \pm 5.77 \times 10^7$
DASA 57004	1.30×10^8	1.20×10^8	1.90×10^8	$1.47 \times 10^8 \pm 3.79 \times 10^7$
DASA 57005	2.00×10^7	2.00×10^7	2.00×10^7	$2.00 \times 10^7 \pm 0.00$
DASA 57009	2.86×10^8	2.93×10^8	2.50×10^8	$2.76 \times 10^8 \pm 2.31 \times 10^7$
DASA 57010	1.74×10^9	1.52×10^9	1.32×10^9	$1.53 \times 10^9 \pm 2.10 \times 10^8$
DASA 57015	5.40×10^8	5.10×10^8	4.30×10^8	$4.93 \times 10^8 \pm 5.69 \times 10^7$
DASA 57019	8.50×10^8	8.10×10^8	7.40×10^8	$8.00 \times 10^8 \pm 5.57 \times 10^7$
DASA 57020	9.50×10^8	1.38×10^9	1.16×10^9	$1.16 \times 10^9 \pm 2.15 \times 10^8$
DASA 57024	5.70×10^8	4.80×10^8	6.70×10^8	$5.73 \times 10^8 \pm 9.50 \times 10^7$
DASA 57027	9.00×10^8	8.40×10^8	8.70×10^8	$8.70 \times 10^8 \pm 3.00 \times 10^7$
DASA 57034	3.60×10^8	3.20×10^8	3.80×10^8	$3.53 \times 10^8 \pm 3.06 \times 10^7$
DASA 57038	1.01×10^9	1.07×10^9	1.07×10^9	$1.05 \times 10^9 \pm 3.46 \times 10^7$
DASA 57050	1.10×10^8	1.20×10^8	5.00×10^7	$9.33 \times 10^7 \pm 3.79 \times 10^7$
DASA 57053	4.70×10^9	1.90×10^9	3.30×10^9	$3.30 \times 10^9 \pm 1.40 \times 10^9$
DASA 57057	4.50×10^7	4.40×10^7	4.70×10^7	$4.53 \times 10^7 \pm 1.53 \times 10^6$
DASA 57065	2.00×10^7	2.00×10^7	2.00×10^7	$2.00 \times 10^7 \pm 0.00$
DASA 57066	6.00×10^8	7.90×10^8	8.50×10^8	$7.47 \times 10^8 \pm 1.31 \times 10^8$
DASA 57075	2.20×10^8	1.70×10^8	1.50×10^8	$1.80 \times 10^8 \pm 3.61 \times 10^7$
DASA 57076	6.90×10^8	7.40×10^8	7.60×10^8	$7.30 \times 10^8 \pm 3.61 \times 10^7$
DASA 57098	4.20×10^8	4.10×10^8	4.30×10^8	$4.20 \times 10^8 \pm 1.00 \times 10^7$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 26 (ต่อ)

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 64006	2.00×10^9	2.70×10^9	3.30×10^9	$2.67 \times 10^9 \pm 6.51 \times 10^8$
DASA 64008	2.00×10^7	2.00×10^7	2.00×10^7	$2.00 \times 10^7 \pm 0.00$
DASA 64010	8.00×10^7	9.00×10^7	1.00×10^8	$9.00 \times 10^7 \pm 1.00 \times 10^7$
DASA 64011	5.40×10^8	8.20×10^8	5.80×10^8	$6.47 \times 10^8 \pm 1.51 \times 10^8$
DASA 64012	4.10×10^9	2.90×10^9	3.50×10^9	$3.50 \times 10^9 \pm 6.00 \times 10^8$
DASA 64014	3.20×10^8	3.10×10^8	2.80×10^8	$3.03 \times 10^8 \pm 2.08 \times 10^7$
DASA 64016	2.00×10^7	2.00×10^7	4.00×10^7	$2.67 \times 10^7 \pm 1.15 \times 10^7$
DASA 64020	3.80×10^8	3.00×10^8	3.10×10^8	$3.30 \times 10^8 \pm 4.36 \times 10^7$
DASA 64021	4.90×10^8	4.30×10^8	4.80×10^8	$4.67 \times 10^8 \pm 3.21 \times 10^7$
DASA 64022	2.70×10^7	1.50×10^7	3.00×10^7	$2.40 \times 10^7 \pm 7.94 \times 10^6$
DASA 64023	9.00×10^8	7.00×10^8	1.10×10^9	$9.00 \times 10^8 \pm 2.00 \times 10^8$
DASA 64026	3.10×10^7	3.00×10^7	3.10×10^7	$3.07 \times 10^7 \pm 5.77 \times 10^5$
DASA 64027	4.80×10^8	6.60×10^8	7.50×10^8	$6.30 \times 10^8 \pm 1.37 \times 10^8$
DASA 64031	1.00×10^8	5.00×10^7	4.00×10^7	$6.33 \times 10^7 \pm 3.21 \times 10^7$
DASA 64034	1.40×10^9	1.70×10^9	1.60×10^9	$1.57 \times 10^9 \pm 1.53 \times 10^8$
DASA 64038	5.30×10^9	5.40×10^9	5.10×10^9	$5.27 \times 10^9 \pm 1.53 \times 10^8$
DASA 64040	2.00×10^6	2.00×10^6	2.00×10^6	$2.00 \times 10^6 \pm 0.00$
DASA 64042	1.00×10^7	1.00×10^7	1.00×10^7	$1.00 \times 10^7 \pm 0.00$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 26 (ต่อ)

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 68003	4.50×10^8	3.40×10^8	4.00×10^8	$3.97 \times 10^8 \pm 5.51 \times 10^7$
DASA 68006	2.30×10^8	2.90×10^8	2.50×10^8	$2.57 \times 10^8 \pm 3.06 \times 10^7$
DASA 68010	4.70×10^8	5.30×10^8	5.80×10^8	$5.27 \times 10^8 \pm 5.51 \times 10^7$
DASA 68012	6.00×10^8	3.00×10^8	6.00×10^8	$5.00 \times 10^8 \pm 1.73 \times 10^8$
DASA 68020	3.10×10^9	3.60×10^9	3.70×10^9	$3.47 \times 10^9 \pm 3.21 \times 10^8$
DASA 68025	3.70×10^8	4.00×10^8	3.20×10^8	$3.63 \times 10^8 \pm 4.04 \times 10^7$
DASA 68030	1.40×10^8	1.50×10^8	1.66×10^8	$1.52 \times 10^8 \pm 9.16 \times 10^7$
DASA 68032	3.80×10^8	4.50×10^8	4.20×10^8	$4.17 \times 10^8 \pm 3.51 \times 10^7$
DASA 68053	3.00×10^7	8.00×10^7	5.00×10^7	$5.33 \times 10^7 \pm 2.52 \times 10^7$
DASA 68055	3.10×10^9	2.60×10^9	3.00×10^9	$2.90 \times 10^9 \pm 2.65 \times 10^8$
DASA 68056	1.00×10^6	1.00×10^6	1.00×10^6	$1.00 \times 10^6 \pm 0.00$
DASA 68058	1.30×10^9	1.00×10^8	1.20×10^8	$5.07 \times 10^8 \pm 6.87 \times 10^8$
DASA 68061	1.90×10^9	1.80×10^8	1.90×10^8	$7.57 \times 10^8 \pm 9.90 \times 10^8$
DASA 68062	1.30×10^8	2.20×10^8	1.80×10^8	$1.77 \times 10^8 \pm 4.51 \times 10^7$
DASA 68066	6.10×10^8	6.80×10^8	6.50×10^8	$6.47 \times 10^8 \pm 3.51 \times 10^7$
DASA 68069	2.40×10^8	2.70×10^8	2.50×10^8	$2.53 \times 10^8 \pm 1.00 \times 10^7$
DASA 68070	1.10×10^9	6.00×10^8	9.00×10^8	$8.67 \times 10^8 \pm 2.52 \times 10^8$
DASA 68071	8.00×10^7	5.20×10^7	7.60×10^7	$6.93 \times 10^7 \pm 1.51 \times 10^7$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 27: จำนวนเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ ที่ระดับ pH 8.0

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 57003	3.50×10^9	5.80×10^9	4.70×10^9	$4.67 \times 10^9 \pm 1.15 \times 10^9$
DASA 57004	2.20×10^8	6.30×10^8	4.00×10^8	$4.16 \times 10^8 \pm 2.06 \times 10^8$
DASA 57005	1.00×10^7	4.00×10^7	5.00×10^7	$3.33 \times 10^7 \pm 2.08 \times 10^7$
DASA 57009	1.84×10^5	1.79×10^5	1.71×10^5	$1.78 \times 10^5 \pm 6.56 \times 10^4$
DASA 57010	9.00×10^8	9.00×10^8	1.02×10^9	$9.40 \times 10^8 \pm 6.93 \times 10^7$
DASA 57015	2.50×10^8	2.60×10^8	1.50×10^8	$2.20 \times 10^8 \pm 6.08 \times 10^7$
DASA 57019	1.80×10^8	1.50×10^8	2.20×10^8	$1.83 \times 10^8 \pm 3.51 \times 10^7$
DASA 57020	2.20×10^8	2.50×10^8	1.90×10^8	$2.20 \times 10^8 \pm 3.00 \times 10^7$
DASA 57024	1.38×10^9	1.57×10^9	1.30×10^9	$1.42 \times 10^9 \pm 1.39 \times 10^8$
DASA 57027	1.50×10^9	1.18×10^9	1.30×10^9	$1.33 \times 10^9 \pm 1.62 \times 10^8$
DASA 57034	3.00×10^8	3.90×10^8	2.70×10^8	$3.20 \times 10^8 \pm 6.24 \times 10^7$
DASA 57038	1.00×10^4	1.00×10^4	1.00×10^4	$1.00 \times 10^4 \pm 0.00$
DASA 57050	2.00×10^7	1.00×10^7	1.00×10^7	$1.33 \times 10^7 \pm 5.77 \times 10^6$
DASA 57053	8.30×10^8	9.00×10^8	8.80×10^8	$8.70 \times 10^8 \pm 3.51 \times 10^7$
DASA 57057	4.80×10^7	4.10×10^7	4.30×10^7	$4.40 \times 10^7 \pm 3.61 \times 10^6$
DASA 57065	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00
DASA 57066	2.30×10^8	2.80×10^8	4.30×10^8	$3.13 \times 10^8 \pm 1.04 \times 10^8$
DASA 57075	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00
DASA 57076	1.29×10^8	1.40×10^8	1.73×10^8	$1.47 \times 10^8 \pm 2.29 \times 10^7$
DASA 57098	5.00×10^2	3.00×10^2	4.10×10^2	$4.03 \times 10^2 \pm 1.00 \times 10^2$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 27 (ต่อ)

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 64006	2.06×10^9	2.10×10^9	2.50×10^9	$2.22 \times 10^9 \pm 2.43 \times 10^8$
DASA 64008	1.00×10^6	1.00×10^6	1.00×10^6	$1.00 \times 10^6 \pm 0.00$
DASA 64010	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00
DASA 64011	1.60×10^8	2.00×10^8	1.70×10^8	$1.77 \times 10^8 \pm 2.08 \times 10^7$
DASA 64012	3.10×10^9	1.80×10^9	2.50×10^9	$2.47 \times 10^9 \pm 6.51 \times 10^8$
DASA 64014	4.00×10^8	3.80×10^8	4.10×10^8	$3.97 \times 10^8 \pm 1.53 \times 10^7$
DASA 64016	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00
DASA 64020	1.32×10^6	1.59×10^6	1.46×10^6	$1.41 \times 10^6 \pm 1.35 \times 10^5$
DASA 64021	1.90×10^8	2.20×10^8	1.50×10^8	$1.87 \times 10^8 \pm 3.51 \times 10^7$
DASA 64022	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00
DASA 64023	8.90×10^8	9.60×10^8	9.00×10^8	$9.17 \times 10^8 \pm 3.79 \times 10^7$
DASA 64026	1.00×10^5	1.00×10^5	1.00×10^5	$1.00 \times 10^5 \pm 0.00$
DASA 64027	8.70×10^7	6.40×10^7	7.30×10^7	$7.46 \times 10^7 \pm 1.16 \times 10^7$
DASA 64031	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00
DASA 64034	9.80×10^8	1.00×10^9	9.80×10^8	$9.87 \times 10^8 \pm 1.15 \times 10^7$
DASA 64038	1.90×10^9	1.40×10^9	1.50×10^9	$1.60 \times 10^9 \pm 2.65 \times 10^8$
DASA 64040	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00
DASA 64042	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 27 (ต่อ)

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 68003	1.10×10^9	1.00×10^9	1.10×10^9	$1.07 \times 10^9 \pm 5.77 \times 10^7$
DASA 68006	1.00×10^6	8.00×10^5	1.00×10^6	$9.33 \times 10^6 \pm 1.15 \times 10^5$
DASA 68010	2.30×10^5	1.50×10^5	1.90×10^5	$1.90 \times 10^5 \pm 4.00 \times 10^4$
DASA 68012	1.00×10^5	1.00×10^5	1.00×10^5	$1.00 \times 10^5 \pm 0.00$
DASA 68020	6.00×10^8	1.11×10^9	1.00×10^9	$9.03 \times 10^8 \pm 2.68 \times 10^8$
DASA 68025	6.10×10^8	7.00×10^8	6.90×10^8	$6.67 \times 10^8 \pm 4.93 \times 10^7$
DASA 68030	8.80×10^6	6.30×10^6	6.80×10^6	$7.30 \times 10^6 \pm 1.32 \times 10^6$
DASA 68032	3.70×10^6	3.50×10^6	3.70×10^6	$3.63 \times 10^6 \pm 1.15 \times 10^5$
DASA 68053	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00
DASA 68055	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00
DASA 68056	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00
DASA 68058	9.40×10^8	7.80×10^8	8.40×10^8	$8.53 \times 10^8 \pm 8.08 \times 10^7$
DASA 68061	1.25×10^9	1.17×10^9	1.20×10^9	$1.21 \times 10^9 \pm 4.04 \times 10^7$
DASA 68062	7.60×10^8	8.50×10^8	8.30×10^8	$8.13 \times 10^8 \pm 4.73 \times 10^7$
DASA 68066	6.20×10^8	8.70×10^8	7.40×10^8	$7.43 \times 10^8 \pm 1.25 \times 10^8$
DASA 68069	9.00×10^8	1.23×10^9	1.10×10^9	$1.08 \times 10^9 \pm 1.66 \times 10^8$
DASA 68070	9.50×10^8	9.30×10^8	9.50×10^8	$9.43 \times 10^8 \pm 1.15 \times 10^7$
DASA 68071	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 28: จำนวนเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 57003	3.00×10^8	4.00×10^8	3.00×10^8	$3.33 \times 10^8 \pm 5.77 \times 10^7$
DASA 57004	9.00×10^7	1.10×10^8	1.40×10^8	$1.13 \times 10^8 \pm 2.52 \times 10^7$
DASA 57005	1.00×10^7	1.00×10^7	2.00×10^7	$1.33 \times 10^7 \pm 5.77 \times 10^6$
DASA 57009	1.00×10^{10}	1.00×10^{10}	1.00×10^{10}	$1.00 \times 10^{10} \pm 0.00$
DASA 57010	1.48×10^9	1.62×10^9	1.30×10^9	$1.47 \times 10^9 \pm 1.60 \times 10^8$
DASA 57015	1.00×10^7	7.00×10^6	9.00×10^6	$8.67 \times 10^6 \pm 1.53 \times 10^6$
DASA 57019	4.50×10^8	6.10×10^8	3.70×10^8	$4.77 \times 10^8 \pm 1.22 \times 10^8$
DASA 57020	6.30×10^8	6.70×10^8	9.30×10^8	$7.43 \times 10^8 \pm 1.63 \times 10^8$
DASA 57024	3.30×10^8	3.40×10^8	3.90×10^8	$3.53 \times 10^8 \pm 3.21 \times 10^7$
DASA 57027	1.00×10^5	1.00×10^5	1.00×10^5	$1.00 \times 10^5 \pm 0.00$
DASA 57034	2.00×10^7	2.00×10^7	1.00×10^7	$1.67 \times 10^7 \pm 5.77 \times 10^6$
DASA 57038	2.45×10^8	3.20×10^8	2.80×10^8	$2.82 \times 10^8 \pm 3.75 \times 10^7$
DASA 57050	5.00×10^7	5.00×10^7	5.00×10^7	$5.00 \times 10^7 \pm 0.00$
DASA 57053	1.80×10^9	1.30×10^9	1.70×10^9	$1.60 \times 10^9 \pm 2.65 \times 10^8$
DASA 57057	2.00×10^7	1.00×10^7	2.00×10^7	$1.67 \times 10^7 \pm 5.77 \times 10^6$
DASA 57065	3.00×10^7	1.00×10^7	4.00×10^7	$2.67 \times 10^7 \pm 1.53 \times 10^7$
DASA 57066	2.70×10^9	1.70×10^9	2.20×10^9	$2.20 \times 10^9 \pm 5.00 \times 10^8$
DASA 57075	7.30×10^8	5.70×10^8	6.00×10^8	$6.33 \times 10^8 \pm 8.50 \times 10^7$
DASA 57076	9.00×10^8	1.00×10^9	9.50×10^8	$9.50 \times 10^8 \pm 5.00 \times 10^7$
DASA 57098	2.24×10^7	3.28×10^7	2.56×10^7	$2.69 \times 10^7 \pm 5.33 \times 10^6$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 28 (ต่อ)

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 64006	7.00×10^8	6.50×10^8	6.00×10^8	$6.50 \times 10^8 \pm 5.00 \times 10^7$
DASA 64008	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00
DASA 64010	4.00×10^7	6.00×10^7	1.00×10^7	$3.67 \times 10^7 \pm 2.52 \times 10^7$
DASA 64011	1.00×10^7	1.00×10^7	1.00×10^7	$1.00 \times 10^7 \pm 0.00$
DASA 64012	3.30×10^9	4.00×10^9	3.60×10^9	$3.63 \times 10^9 \pm 3.51 \times 10^8$
DASA 64014	1.50×10^8	1.40×10^8	1.40×10^8	$1.43 \times 10^8 \pm 5.77 \times 10^6$
DASA 64016	2.00×10^7	7.00×10^7	4.00×10^7	$4.33 \times 10^7 \pm 2.52 \times 10^7$
DASA 64020	1.90×10^8	1.00×10^8	1.50×10^8	$1.46 \times 10^8 \pm 4.51 \times 10^7$
DASA 64021	1.00×10^7	1.00×10^7	2.00×10^7	$1.33 \times 10^7 \pm 5.77 \times 10^6$
DASA 64022	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00
DASA 64023	2.00×10^6	2.00×10^6	2.00×10^6	$2.00 \times 10^6 \pm 0.00$
DASA 64026	2.31×10^8	2.82×10^8	2.84×10^8	$2.66 \times 10^8 \pm 3.00 \times 10^7$
DASA 64027	7.30×10^7	7.10×10^7	6.70×10^7	$7.03 \times 10^7 \pm 3.06 \times 10^6$
DASA 64031	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00
DASA 64034	2.10×10^9	3.10×10^9	2.00×10^9	$2.40 \times 10^9 \pm 6.08 \times 10^8$
DASA 64038	7.70×10^8	7.00×10^8	8.40×10^8	$7.70 \times 10^8 \pm 7.00 \times 10^7$
DASA 64040	1.00×10^4	1.00×10^4	1.00×10^4	$1.00 \times 10^4 \pm 0.00$
DASA 64042	7.90×10^6	8.00×10^6	1.00×10^7	$8.64 \times 10^6 \pm 1.18 \times 10^6$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 28 (ต่อ)

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 68003	6.00×10^8	6.00×10^8	6.00×10^8	$6.00 \times 10^8 \pm 0.00$
DASA 68006	3.10×10^7	3.20×10^7	4.50×10^7	$3.60 \times 10^7 \pm 7.81 \times 10^6$
DASA 68010	1.73×10^8	1.50×10^8	1.51×10^8	$1.58 \times 10^8 \pm 1.30 \times 10^7$
DASA 68012	9.00×10^7	9.00×10^7	1.00×10^8	$9.33 \times 10^7 \pm 5.77 \times 10^6$
DASA 68020	2.20×10^9	1.60×10^9	2.50×10^9	$2.10 \times 10^9 \pm 4.58 \times 10^8$
DASA 68025	4.40×10^8	5.60×10^8	6.00×10^8	$5.33 \times 10^8 \pm 8.33 \times 10^7$
DASA 68030	6.60×10^8	6.40×10^8	7.20×10^8	$6.73 \times 10^8 \pm 4.16 \times 10^7$
DASA 68032	1.10×10^8	9.00×10^7	9.00×10^7	$9.67 \times 10^7 \pm 1.15 \times 10^7$
DASA 68053	1.60×10^8	7.00×10^7	1.20×10^8	$1.17 \times 10^8 \pm 4.51 \times 10^7$
DASA 68055	3.30×10^8	3.50×10^8	4.00×10^8	$3.60 \times 10^8 \pm 3.61 \times 10^7$
DASA 68056	4.00×10^6	5.00×10^6	4.50×10^6	$4.50 \times 10^6 \pm 5.00 \times 10^5$
DASA 68058	3.80×10^9	3.20×10^9	2.70×10^9	$3.23 \times 10^9 \pm 5.51 \times 10^8$
DASA 68061	1.00×10^7	3.00×10^7	2.00×10^7	$2.00 \times 10^7 \pm 1.00 \times 10^7$
DASA 68062	6.00×10^7	9.00×10^7	7.00×10^7	$7.33 \times 10^7 \pm 1.53 \times 10^7$
DASA 68066	1.00×10^9	7.50×10^8	1.04×10^9	$9.30 \times 10^8 \pm 1.57 \times 10^8$
DASA 68069	8.00×10^7	1.20×10^8	1.00×10^8	$1.00 \times 10^8 \pm 2.00 \times 10^7$
DASA 68070	1.00×10^9	5.00×10^8	8.00×10^8	$7.67 \times 10^8 \pm 2.52 \times 10^8$
DASA 68071	1.50×10^8	8.00×10^7	1.60×10^8	$1.30 \times 10^8 \pm 4.36 \times 10^7$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 29: จำนวนเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 57003	2.00×10^8	1.00×10^8	2.00×10^8	$1.67 \times 10^8 \pm 5.77 \times 10^7$
DASA 57004	1.30×10^8	1.20×10^8	1.90×10^8	$1.47 \times 10^8 \pm 3.79 \times 10^7$
DASA 57005	2.00×10^7	2.00×10^7	2.00×10^7	$2.00 \times 10^7 \pm 0.00$
DASA 57009	2.86×10^8	2.93×10^8	2.50×10^8	$2.76 \times 10^8 \pm 2.31 \times 10^7$
DASA 57010	1.74×10^9	1.52×10^9	1.32×10^9	$1.53 \times 10^9 \pm 2.10 \times 10^8$
DASA 57015	5.40×10^8	5.10×10^8	4.30×10^8	$4.93 \times 10^8 \pm 5.69 \times 10^7$
DASA 57019	8.50×10^8	8.10×10^8	7.40×10^8	$8.00 \times 10^8 \pm 5.57 \times 10^7$
DASA 57020	9.50×10^8	1.38×10^9	1.16×10^9	$1.16 \times 10^9 \pm 2.15 \times 10^8$
DASA 57024	5.70×10^8	4.80×10^8	6.70×10^8	$5.73 \times 10^8 \pm 9.50 \times 10^7$
DASA 57027	9.00×10^8	8.40×10^8	8.70×10^8	$8.70 \times 10^8 \pm 3.00 \times 10^7$
DASA 57034	3.60×10^8	3.20×10^8	3.80×10^8	$3.53 \times 10^8 \pm 3.06 \times 10^7$
DASA 57038	1.01×10^9	1.07×10^9	1.07×10^9	$1.05 \times 10^9 \pm 3.46 \times 10^7$
DASA 57050	1.10×10^8	1.20×10^8	5.00×10^7	$9.33 \times 10^7 \pm 3.79 \times 10^7$
DASA 57053	4.70×10^9	1.90×10^9	3.30×10^9	$3.30 \times 10^9 \pm 1.40 \times 10^9$
DASA 57057	4.50×10^7	4.40×10^7	4.70×10^7	$4.53 \times 10^7 \pm 1.53 \times 10^6$
DASA 57065	2.00×10^7	2.00×10^7	2.00×10^7	$2.00 \times 10^7 \pm 0.00$
DASA 57066	6.00×10^8	7.90×10^8	8.50×10^8	$7.47 \times 10^8 \pm 1.31 \times 10^8$
DASA 57075	2.20×10^8	1.70×10^8	1.50×10^8	$1.80 \times 10^8 \pm 3.61 \times 10^7$
DASA 57076	6.90×10^8	7.40×10^8	7.60×10^8	$7.30 \times 10^8 \pm 3.61 \times 10^7$
DASA 57098	4.20×10^8	4.10×10^8	4.30×10^8	$4.20 \times 10^8 \pm 1.00 \times 10^7$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 29 (ต่อ)

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 64006	2.00×10^9	2.70×10^9	3.30×10^9	$2.67 \times 10^9 \pm 6.51 \times 10^8$
DASA 64008	2.00×10^7	2.00×10^7	2.00×10^7	$2.00 \times 10^7 \pm 0.00$
DASA 64010	8.00×10^7	9.00×10^7	1.00×10^8	$9.00 \times 10^7 \pm 1.00 \times 10^7$
DASA 64011	5.40×10^8	8.20×10^8	5.80×10^8	$6.47 \times 10^8 \pm 1.51 \times 10^8$
DASA 64012	4.10×10^9	2.90×10^9	3.50×10^9	$3.50 \times 10^9 \pm 6.00 \times 10^8$
DASA 64014	3.20×10^8	3.10×10^8	2.80×10^8	$3.03 \times 10^8 \pm 2.08 \times 10^7$
DASA 64016	2.00×10^7	2.00×10^7	4.00×10^7	$2.67 \times 10^7 \pm 1.15 \times 10^7$
DASA 64020	3.80×10^8	3.00×10^8	3.10×10^8	$3.30 \times 10^8 \pm 4.36 \times 10^7$
DASA 64021	4.90×10^8	4.30×10^8	4.80×10^8	$4.67 \times 10^8 \pm 3.21 \times 10^7$
DASA 64022	2.70×10^7	1.50×10^7	3.00×10^7	$2.40 \times 10^7 \pm 7.94 \times 10^6$
DASA 64023	9.00×10^8	7.00×10^8	1.10×10^9	$9.00 \times 10^8 \pm 2.00 \times 10^8$
DASA 64026	3.10×10^7	3.00×10^7	3.10×10^7	$3.07 \times 10^7 \pm 5.77 \times 10^5$
DASA 64027	4.80×10^8	6.60×10^8	7.50×10^8	$6.30 \times 10^8 \pm 1.37 \times 10^8$
DASA 64031	1.00×10^8	5.00×10^7	4.00×10^7	$6.33 \times 10^7 \pm 3.21 \times 10^7$
DASA 64034	1.40×10^9	1.70×10^9	1.60×10^9	$1.57 \times 10^9 \pm 1.53 \times 10^8$
DASA 64038	5.30×10^9	5.40×10^9	5.10×10^9	$5.27 \times 10^9 \pm 1.53 \times 10^8$
DASA 64040	2.00×10^6	2.00×10^6	2.00×10^6	$2.00 \times 10^6 \pm 0.00$
DASA 64042	1.00×10^7	1.00×10^7	1.00×10^7	$1.00 \times 10^7 \pm 0.00$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 29 (ต่อ)

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 68003	4.50×10^8	3.40×10^8	4.00×10^8	$3.97 \times 10^8 \pm 5.51 \times 10^7$
DASA 68006	2.30×10^8	2.90×10^8	2.50×10^8	$2.57 \times 10^8 \pm 3.06 \times 10^7$
DASA 68010	4.70×10^8	5.30×10^8	5.80×10^8	$5.27 \times 10^8 \pm 5.51 \times 10^7$
DASA 68012	6.00×10^8	3.00×10^8	6.00×10^8	$5.00 \times 10^8 \pm 1.73 \times 10^8$
DASA 68020	3.10×10^9	3.60×10^9	3.70×10^9	$3.47 \times 10^9 \pm 3.21 \times 10^8$
DASA 68025	3.70×10^8	4.00×10^8	3.20×10^8	$3.63 \times 10^8 \pm 4.04 \times 10^7$
DASA 68030	1.40×10^8	1.50×10^8	1.66×10^8	$1.52 \times 10^8 \pm 9.16 \times 10^7$
DASA 68032	3.80×10^8	4.50×10^8	4.20×10^8	$4.17 \times 10^8 \pm 3.51 \times 10^7$
DASA 68053	3.00×10^7	8.00×10^7	5.00×10^7	$5.33 \times 10^7 \pm 2.52 \times 10^7$
DASA 68055	3.10×10^9	2.60×10^9	3.00×10^9	$2.90 \times 10^9 \pm 2.65 \times 10^8$
DASA 68056	1.00×10^6	1.00×10^6	1.00×10^6	$1.00 \times 10^6 \pm 0.00$
DASA 68058	1.30×10^9	1.00×10^8	1.20×10^8	$5.07 \times 10^8 \pm 6.87 \times 10^8$
DASA 68061	1.90×10^9	1.80×10^8	1.90×10^8	$7.57 \times 10^8 \pm 9.90 \times 10^8$
DASA 68062	1.30×10^8	2.20×10^8	1.80×10^8	$1.77 \times 10^8 \pm 4.51 \times 10^7$
DASA 68066	6.10×10^8	6.80×10^8	6.50×10^8	$6.47 \times 10^8 \pm 3.51 \times 10^7$
DASA 68069	2.40×10^8	2.70×10^8	2.50×10^8	$2.53 \times 10^8 \pm 1.00 \times 10^7$
DASA 68070	1.10×10^9	6.00×10^8	9.00×10^8	$8.67 \times 10^8 \pm 2.52 \times 10^8$
DASA 68071	8.00×10^7	5.20×10^7	7.60×10^7	$6.93 \times 10^7 \pm 1.51 \times 10^7$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 30: จำนวนเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 57003	8.40×10^8	6.90×10^8	7.70×10^8	$7.67 \times 10^8 \pm 7.51 \times 10^7$
DASA 57004	1.50×10^8	2.70×10^8	2.10×10^8	$2.10 \times 10^8 \pm 6.00 \times 10^7$
DASA 57005	6.20×10^8	6.90×10^8	5.30×10^8	$6.13 \times 10^8 \pm 8.02 \times 10^7$
DASA 57009	1.40×10^6	1.60×10^6	1.40×10^6	$1.47 \times 10^6 \pm 1.15 \times 10^5$
DASA 57010	1.30×10^9	1.30×10^9	1.40×10^9	$1.33 \times 10^9 \pm 5.77 \times 10^7$
DASA 57015	1.40×10^8	1.90×10^8	1.40×10^8	$1.57 \times 10^8 \pm 2.89 \times 10^7$
DASA 57019	6.10×10^3	5.70×10^3	2.80×10^3	$4.87 \times 10^3 \pm 1.80 \times 10^3$
DASA 57020	2.00×10^8	1.70×10^8	1.80×10^8	$1.83 \times 10^8 \pm 1.53 \times 10^7$
DASA 57024	1.77×10^4	2.83×10^4	2.81×10^4	$2.47 \times 10^4 \pm 6.06 \times 10^3$
DASA 57027	1.45×10^8	1.38×10^8	1.52×10^8	$1.45 \times 10^8 \pm 7.00 \times 10^6$
DASA 57034	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00
DASA 57038	3.60×10^4	3.40×10^4	3.00×10^4	$3.33 \times 10^4 \pm 3.06 \times 10^3$
DASA 57050	4.60×10^7	4.50×10^7	3.70×10^7	$4.27 \times 10^7 \pm 4.93 \times 10^6$
DASA 57053	2.43×10^7	1.76×10^7	2.19×10^7	$2.13 \times 10^7 \pm 3.39 \times 10^6$
DASA 57057	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00
DASA 57065	1.30×10^6	1.60×10^6	1.70×10^6	$1.53 \times 10^6 \pm 2.08 \times 10^5$
DASA 57066	7.30×10^5	6.80×10^5	5.80×10^5	$6.63 \times 10^5 \pm 7.64 \times 10^4$
DASA 57075	2.80×10^8	2.00×10^8	3.80×10^8	$2.87 \times 10^8 \pm 9.02 \times 10^7$
DASA 57076	2.00×10^8	3.80×10^8	2.10×10^8	$2.63 \times 10^8 \pm 1.01 \times 10^5$
DASA 57098	2.20×10^7	2.10×10^7	2.00×10^7	$2.10 \times 10^7 \pm 1.00 \times 10^6$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 30 (ต่อ)

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 64006	7.30×10^8	6.90×10^8	8.60×10^8	$7.60 \times 10^8 \pm 8.89 \times 10^7$
DASA 64008	5.80×10^5	6.70×10^5	5.00×10^5	$5.83 \times 10^5 \pm 8.50 \times 10^4$
DASA 64010	6.00×10^5	6.00×10^5	5.00×10^5	$5.67 \times 10^5 \pm 5.77 \times 10^4$
DASA 64011	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00
DASA 64012	1.10×10^6	1.20×10^6	7.00×10^5	$1.00 \times 10^6 \pm 2.65 \times 10^5$
DASA 64014	3.70×10^8	3.50×10^8	3.20×10^8	$3.47 \times 10^8 \pm 2.52 \times 10^7$
DASA 64016	3.20×10^6	3.00×10^6	3.20×10^6	$3.13 \times 10^6 \pm 1.15 \times 10^5$
DASA 64020	3.90×10^3	3.70×10^3	2.90×10^3	$3.50 \times 10^3 \pm 5.29 \times 10^2$
DASA 64021	7.10×10^8	7.70×10^8	5.40×10^8	$6.73 \times 10^8 \pm 1.19 \times 10^8$
DASA 64022	8.70×10^6	6.70×10^6	6.70×10^6	$7.37 \times 10^6 \pm 1.15 \times 10^6$
DASA 64023	1.03×10^9	1.03×10^9	1.06×10^9	$1.04 \times 10^9 \pm 1.73 \times 10^7$
DASA 64026	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00
DASA 64027	1.02×10^4	8.10×10^3	8.40×10^3	$8.90 \times 10^3 \pm 1.14 \times 10^3$
DASA 64031	1.80×10^7	2.50×10^7	2.60×10^7	$2.30 \times 10^7 \pm 4.36 \times 10^6$
DASA 64034	1.22×10^9	1.02×10^9	8.80×10^8	$1.04 \times 10^9 \pm 1.71 \times 10^8$
DASA 64038	7.30×10^6	8.30×10^6	9.10×10^6	$8.23 \times 10^6 \pm 9.02 \times 10^5$
DASA 64040	1.45×10^6	1.39×10^6	1.21×10^6	$1.35 \times 10^6 \pm 1.25 \times 10^5$
DASA 64042	8.40×10^6	5.20×10^6	6.80×10^6	$6.80 \times 10^6 \pm 1.60 \times 10^6$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 30 (ต่อ)

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 68003	3.90×10^3	3.90×10^3	3.90×10^3	$3.90 \times 10^3 \pm 0.00$
DASA 68006	5.00×10^7	5.00×10^7	7.00×10^7	$5.67 \times 10^7 \pm 1.15 \times 10^7$
DASA 68010	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00
DASA 68012	2.00×10^6	3.00×10^6	2.00×10^6	$2.33 \times 10^6 \pm 5.77 \times 10^5$
DASA 68020	6.90×10^8	6.70×10^8	6.80×10^8	$6.80 \times 10^8 \pm 1.00 \times 10^7$
DASA 68025	2.84×10^8	2.34×10^8	2.65×10^8	$2.61 \times 10^8 \pm 2.52 \times 10^7$
DASA 68030	1.18×10^3	1.83×10^3	1.86×10^3	$1.62 \times 10^3 \pm 3.84 \times 10^2$
DASA 68032	7.00×10^5	1.10×10^6	9.00×10^5	$9.00 \times 10^5 \pm 2.00 \times 10^5$
DASA 68053	7.00×10^6	7.00×10^6	7.00×10^6	$7.00 \times 10^6 \pm 0.00$
DASA 68055	7.00×10^8	8.80×10^8	9.50×10^8	$8.43 \times 10^8 \pm 1.29 \times 10^8$
DASA 68056	3.00×10^5	2.00×10^5	3.00×10^5	$2.67 \times 10^5 \pm 5.77 \times 10^4$
DASA 68058	1.21×10^9	1.13×10^9	8.30×10^8	$1.05 \times 10^9 \pm 2.00 \times 10^8$
DASA 68061	8.50×10^8	9.00×10^8	7.50×10^8	$8.33 \times 10^8 \pm 7.64 \times 10^7$
DASA 68062	7.00×10^8	7.20×10^8	8.20×10^8	$7.47 \times 10^8 \pm 6.43 \times 10^7$
DASA 68066	1.00×10^6	1.00×10^6	1.00×10^6	$1.00 \times 10^6 \pm 0.00$
DASA 68069	4.00×10^8	2.80×10^8	1.90×10^8	$2.90 \times 10^8 \pm 1.05 \times 10^8$
DASA 68070	7.60×10^8	7.50×10^8	6.30×10^8	$7.13 \times 10^8 \pm 7.23 \times 10^7$
DASA 68071	7.70×10^7	7.70×10^7	7.70×10^7	$7.70 \times 10^7 \pm 0.00$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 31: จำนวนเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ ที่ไม่มีระดับความเข้มข้นของ NaCl

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 57003	2.00×10^8	3.00×10^8	5.00×10^8	$3.33 \times 10^8 \pm 1.53 \times 10^8$
DASA 57004	2.00×10^8	3.00×10^8	2.00×10^8	$2.33 \times 10^8 \pm 5.77 \times 10^7$
DASA 57005	8.00×10^7	8.00×10^7	8.00×10^7	$8.00 \times 10^7 \pm 0.00$
DASA 57009	8.50×10^8	8.40×10^8	6.10×10^8	$7.67 \times 10^8 \pm 1.36 \times 10^8$
DASA 57010	1.51×10^9	9.10×10^8	1.29×10^9	$1.24 \times 10^9 \pm 3.04 \times 10^8$
DASA 57015	2.00×10^9	2.00×10^9	2.00×10^9	$2.00 \times 10^9 \pm 0.00$
DASA 57019	1.18×10^9	1.13×10^8	1.03×10^9	$7.74 \times 10^8 \pm 5.77 \times 10^8$
DASA 57020	2.00×10^8	2.00×10^8	2.00×10^8	$2.00 \times 10^8 \pm 0.00$
DASA 57024	1.29×10^9	1.06×10^8	1.12×10^9	$8.39 \times 10^8 \pm 6.40 \times 10^8$
DASA 57027	4.00×10^8	2.00×10^8	3.00×10^8	$3.00 \times 10^8 \pm 1.00 \times 10^8$
DASA 57034	1.10×10^8	1.00×10^8	6.00×10^7	$9.00 \times 10^7 \pm 2.65 \times 10^7$
DASA 57038	7.10×10^8	8.90×10^8	7.70×10^8	$7.90 \times 10^8 \pm 9.17 \times 10^7$
DASA 57050	3.30×10^8	3.90×10^8	4.40×10^8	$3.87 \times 10^8 \pm 5.51 \times 10^7$
DASA 57053	3.00×10^6	3.00×10^6	3.00×10^6	$3.00 \times 10^6 \pm 0.00$
DASA 57057	3.70×10^7	3.50×10^7	5.20×10^7	$4.13 \times 10^7 \pm 9.29 \times 10^6$
DASA 57065	4.00×10^8	2.00×10^8	1.00×10^8	$2.33 \times 10^8 \pm 1.53 \times 10^8$
DASA 57066	1.40×10^9	9.00×10^8	1.10×10^9	$1.13 \times 10^9 \pm 2.52 \times 10^8$
DASA 57075	7.00×10^8	5.50×10^8	6.70×10^8	$6.40 \times 10^8 \pm 7.94 \times 10^7$
DASA 57076	4.50×10^9	1.90×10^9	1.10×10^9	$2.50 \times 10^9 \pm 1.78 \times 10^9$
DASA 57098	1.04×10^9	8.00×10^8	1.11×10^9	$9.83 \times 10^8 \pm 1.63 \times 10^8$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 31 (ต่อ)

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 64006	6.00×10^8	7.00×10^8	6.00×10^8	$6.33 \times 10^8 \pm 5.77 \times 10^7$
DASA 64008	9.60×10^8	1.07×10^9	8.00×10^8	$9.43 \times 10^8 \pm 1.36 \times 10^8$
DASA 64010	2.40×10^8	1.90×10^8	1.40×10^8	$1.90 \times 10^8 \pm 5.00 \times 10^7$
DASA 64011	7.00×10^7	6.00×10^7	1.10×10^8	$8.00 \times 10^7 \pm 2.65 \times 10^7$
DASA 64012	2.00×10^9	2.70×10^9	3.30×10^9	$2.67 \times 10^9 \pm 6.51 \times 10^8$
DASA 64014	1.70×10^9	1.89×10^8	1.78×10^9	$1.22 \times 10^9 \pm 8.96 \times 10^8$
DASA 64016	6.00×10^7	3.00×10^7	3.00×10^7	$4.00 \times 10^7 \pm 1.73 \times 10^7$
DASA 64020	3.40×10^8	2.40×10^8	3.82×10^8	$3.21 \times 10^8 \pm 7.29 \times 10^7$
DASA 64021	7.20×10^8	6.80×10^8	6.60×10^8	$6.87 \times 10^8 \pm 3.06 \times 10^7$
DASA 64022	1.80×10^6	2.00×10^6	2.00×10^6	$1.93 \times 10^6 \pm 1.15 \times 10^5$
DASA 64023	1.00×10^8	1.00×10^8	2.00×10^8	$1.33 \times 10^8 \pm 5.77 \times 10^7$
DASA 64026	4.60×10^8	5.60×10^8	5.40×10^8	$5.20 \times 10^8 \pm 5.29 \times 10^7$
DASA 64027	1.05×10^{10}	9.80×10^9	9.70×10^9	$1.00 \times 10^{10} \pm 4.36 \times 10^8$
DASA 64031	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00
DASA 64034	7.60×10^8	1.07×10^9	1.20×10^9	$1.01 \times 10^9 \pm 2.26 \times 10^8$
DASA 64038	4.00×10^8	4.60×10^8	3.80×10^8	$4.13 \times 10^8 \pm 4.16 \times 10^7$
DASA 64040	9.40×10^8	9.00×10^8	9.50×10^8	$9.30 \times 10^8 \pm 2.65 \times 10^7$
DASA 64042	2.30×10^7	3.10×10^7	3.50×10^7	$2.97 \times 10^7 \pm 6.11 \times 10^6$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 31 (ต่อ)

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย
DASA 68003	2.60×10^8	1.00×10^9	5.00×10^8	$5.87 \times 10^8 \pm 3.77 \times 10^8$
DASA 68006	8.00×10^8	3.40×10^8	2.40×10^8	$4.60 \times 10^8 \pm 2.99 \times 10^8$
DASA 68010	3.70×10^8	3.70×10^8	3.80×10^8	$3.73 \times 10^8 \pm 5.77 \times 10^6$
DASA 68012	3.00×10^7	3.00×10^7	3.00×10^7	$3.00 \times 10^7 \pm 0.00$
DASA 68020	3.00×10^9	3.00×10^9	3.00×10^9	$3.00 \times 10^9 \pm 0.00$
DASA 68025	5.00×10^6	3.00×10^6	3.00×10^6	$3.67 \times 10^6 \pm 1.15 \times 10^6$
DASA 68030	1.03×10^9	9.20×10^8	9.00×10^8	$9.50 \times 10^9 \pm 7.00 \times 10^7$
DASA 68032	6.40×10^8	8.90×10^8	7.00×10^8	$7.43 \times 10^8 \pm 1.31 \times 10^8$
DASA 68053	2.00×10^5	1.00×10^5	1.00×10^5	$1.33 \times 10^5 \pm 5.77 \times 10^4$
DASA 68055	5.10×10^8	5.10×10^8	5.00×10^8	$5.07 \times 10^8 \pm 5.77 \times 10^6$
DASA 68056	3.20×10^9	2.60×10^9	2.50×10^9	$2.77 \times 10^9 \pm 3.79 \times 10^8$
DASA 68058	9.00×10^8	7.20×10^8	8.10×10^8	$8.10 \times 10^8 \pm 9.00 \times 10^7$
DASA 68061	2.00×10^8	5.00×10^8	1.10×10^9	$6.00 \times 10^8 \pm 4.58 \times 10^8$
DASA 68062	5.20×10^8	3.10×10^8	3.30×10^8	$3.87 \times 10^8 \pm 1.15 \times 10^8$
DASA 68066	2.00×10^6	1.00×10^6	4.00×10^6	$2.33 \times 10^6 \pm 1.53 \times 10^6$
DASA 68069	3.00×10^9	3.00×10^9	3.00×10^9	$3.00 \times 10^9 \pm 0.00$
DASA 68070	4.30×10^8	4.40×10^8	6.60×10^8	$5.10 \times 10^8 \pm 1.30 \times 10^8$
DASA 68071	4.10×10^8	3.90×10^8	5.10×10^8	$4.37 \times 10^8 \pm 6.43 \times 10^7$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 32: จำนวนเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ ที่ระดับความเข้มข้นของ NaCl 0.2 M

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 57003	2.15×10^{10}	2.14×10^{10}	2.20×10^{10}	$2.16 \times 10^{10} \pm 3.21 \times 10^8$
DASA 57004	6.00×10^7	5.00×10^7	5.00×10^7	$5.33 \times 10^7 \pm 5.77 \times 10^6$
DASA 57005	6.00×10^7	9.00×10^7	1.00×10^8	$8.33 \times 10^7 \pm 2.08 \times 10^7$
DASA 57009	2.70×10^5	3.90×10^5	2.70×10^5	$3.10 \times 10^5 \pm 6.93 \times 10^4$
DASA 57010	1.00×10^9	1.36×10^9	1.19×10^9	$1.18 \times 10^9 \pm 1.80 \times 10^8$
DASA 57015	1.05×10^9	9.80×10^8	1.12×10^9	$1.05 \times 10^9 \pm 7.00 \times 10^7$
DASA 57019	3.17×10^4	3.08×10^4	3.27×10^4	$3.17 \times 10^4 \pm 9.50 \times 10^2$
DASA 57020	9.20×10^8	1.09×10^9	1.07×10^9	$1.03 \times 10^9 \pm 9.29 \times 10^7$
DASA 57024	3.00×10^4	2.70×10^4	3.60×10^4	$3.10 \times 10^4 \pm 4.58 \times 10^3$
DASA 57027	1.60×10^8	2.50×10^8	2.30×10^8	$2.13 \times 10^8 \pm 4.73 \times 10^7$
DASA 57034	2.00×10^7	2.00×10^7	8.00×10^7	$4.00 \times 10^7 \pm 3.46 \times 10^7$
DASA 57038	4.90×10^4	2.20×10^4	3.50×10^4	$3.53 \times 10^4 \pm 1.35 \times 10^4$
DASA 57050	1.00×10^5	1.00×10^5	1.00×10^5	$1.00 \times 10^5 \pm 0.00$
DASA 57053	8.00×10^5	8.00×10^5	8.00×10^5	$8.00 \times 10^5 \pm 0.00$
DASA 57057	1.00×10^7	3.00×10^7	6.00×10^7	$3.33 \times 10^7 \pm 2.52 \times 10^7$
DASA 57065	4.00×10^7	7.00×10^7	1.00×10^7	$4.00 \times 10^7 \pm 3.00 \times 10^7$
DASA 57066	1.51×10^9	1.34×10^9	1.47×10^9	$1.44 \times 10^9 \pm 8.89 \times 10^7$
DASA 57075	4.20×10^7	8.20×10^7	6.50×10^7	$6.30 \times 10^7 \pm 2.01 \times 10^7$
DASA 57076	1.35×10^9	1.24×10^9	1.45×10^9	$1.35 \times 10^9 \pm 1.05 \times 10^8$
DASA 57098	1.40×10^6	1.50×10^6	1.30×10^6	$1.40 \times 10^6 \pm 1.00 \times 10^5$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 32 (ต่อ)

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 64006	1.20×10^9	8.10×10^8	5.60×10^8	$8.57 \times 10^8 \pm 3.23 \times 10^8$
DASA 64008	2.00×10^5	1.80×10^5	1.80×10^5	$1.87 \times 10^5 \pm 1.15 \times 10^4$
DASA 64010	6.00×10^7	1.00×10^8	1.10×10^8	$9.00 \times 10^7 \pm 2.65 \times 10^7$
DASA 64011	6.70×10^8	5.30×10^8	4.90×10^8	$5.63 \times 10^8 \pm 9.45 \times 10^7$
DASA 64012	6.80×10^8	6.30×10^8	7.20×10^8	$6.77 \times 10^8 \pm 4.51 \times 10^7$
DASA 64014	1.17×10^9	1.16×10^9	1.29×10^9	$1.21 \times 10^9 \pm 7.23 \times 10^7$
DASA 64016	9.00×10^8	9.80×10^8	7.70×10^8	$8.83 \times 10^8 \pm 1.06 \times 10^8$
DASA 64020	1.40×10^5	1.20×10^5	1.60×10^5	$1.40 \times 10^5 \pm 2.00 \times 10^4$
DASA 64021	2.60×10^9	3.00×10^9	3.00×10^9	$2.87 \times 10^9 \pm 2.31 \times 10^8$
DASA 64022	4.00×10^7	4.00×10^7	4.00×10^7	$4.00 \times 10^7 \pm 0.00$
DASA 64023	1.10×10^9	4.00×10^8	7.00×10^8	$7.33 \times 10^8 \pm 3.51 \times 10^8$
DASA 64026	2.60×10^4	6.00×10^4	4.30×10^4	$4.30 \times 10^4 \pm 1.70 \times 10^4$
DASA 64027	2.68×10^4	3.26×10^4	2.82×10^4	$2.92 \times 10^4 \pm 3.03 \times 10^3$
DASA 64031	8.00×10^4	8.00×10^4	8.00×10^4	$8.00 \times 10^4 \pm 0.00$
DASA 64034	2.80×10^9	1.70×10^9	2.40×10^9	$2.30 \times 10^9 \pm 5.57 \times 10^8$
DASA 64038	9.00×10^8	6.00×10^8	7.00×10^8	$7.33 \times 10^8 \pm 1.53 \times 10^8$
DASA 64040	8.60×10^6	8.50×10^6	9.60×10^6	$8.90 \times 10^6 \pm 6.08 \times 10^5$
DASA 64042	1.00×10^5	3.00×10^5	1.00×10^5	$1.67 \times 10^5 \pm 1.15 \times 10^5$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 32 (ต่อ)

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 68003	2.10×10^8	2.00×10^8	2.00×10^8	$2.03 \times 10^8 \pm 0.00$
DASA 68006	4.00×10^8	4.00×10^8	9.00×10^8	$5.67 \times 10^8 \pm 2.89 \times 10^8$
DASA 68010	1.99×10^5	2.05×10^5	2.12×10^5	$2.05 \times 10^5 \pm 6.51 \times 10^3$
DASA 68012	3.30×10^8	3.40×10^8	3.30×10^8	$3.33 \times 10^8 \pm 5.77 \times 10^6$
DASA 68020	8.30×10^8	8.40×10^8	1.02×10^9	$8.97 \times 10^8 \pm 1.07 \times 10^8$
DASA 68025	9.00×10^7	9.00×10^7	1.03×10^8	$9.43 \times 10^7 \pm 7.51 \times 10^6$
DASA 68030	2.55×10^5	3.03×10^5	3.75×10^5	$3.11 \times 10^5 \pm 6.27 \times 10^4$
DASA 68032	1.00×10^8	1.90×10^8	2.30×10^8	$1.73 \times 10^8 \pm 6.66 \times 10^7$
DASA 68053	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00
DASA 68055	3.00×10^3	3.00×10^3	3.00×10^3	$3.00 \times 10^3 \pm 0.00$
DASA 68056	8.00×10^5	1.20×10^6	1.00×10^6	$1.00 \times 10^6 \pm 2.00 \times 10^5$
DASA 68058	3.70×10^8	2.90×10^8	3.30×10^8	$3.33 \times 10^8 \pm 4.00 \times 10^7$
DASA 68061	1.70×10^9	1.00×10^9	1.50×10^9	$1.40 \times 10^9 \pm 3.61 \times 10^8$
DASA 68062	2.18×10^9	2.26×10^9	2.22×10^9	$2.22 \times 10^9 \pm 4.00 \times 10^7$
DASA 68066	4.20×10^8	3.20×10^8	2.80×10^8	$3.40 \times 10^8 \pm 7.21 \times 10^7$
DASA 68069	3.00×10^9	3.00×10^9	3.00×10^9	$3.00 \times 10^9 \pm 0.00$
DASA 68070	5.90×10^8	6.40×10^8	6.20×10^8	$6.17 \times 10^8 \pm 2.52 \times 10^7$
DASA 68071	4.00×10^3	5.80×10^3	6.00×10^3	$5.27 \times 10^3 \pm 1.10 \times 10^3$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 33: จำนวนเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ ที่ระดับความเข้มข้นของ NaCl 1.0 M

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 57003	7.40×10^7	3.60×10^7	5.10×10^7	$5.37 \times 10^7 \pm 1.91 \times 10^7$
DASA 57004	4.30×10^4	2.30×10^4	2.10×10^4	$2.90 \times 10^4 \pm 1.22 \times 10^4$
DASA 57005	1.00×10^6	1.10×10^6	1.30×10^6	$1.13 \times 10^6 \pm 1.53 \times 10^5$
DASA 57009	1.00×10^3	1.00×10^3	1.00×10^3	$1.00 \times 10^3 \pm 0.00$
DASA 57010	2.00×10^5	2.00×10^5	1.00×10^5	$1.67 \times 10^5 \pm 5.77 \times 10^5$
DASA 57015	1.43×10^5	1.50×10^5	1.21×10^5	$1.38 \times 10^5 \pm 1.51 \times 10^4$
DASA 57019	3.00×10^1	3.00×10^1	3.00×10^1	$3.00 \times 10^1 \pm 0.00$
DASA 57020	5.00×10^4	3.70×10^4	4.80×10^4	$4.50 \times 10^4 \pm 7.00 \times 10^3$
DASA 57024	5.00×10^2	5.20×10^2	5.00×10^2	$5.07 \times 10^2 \pm 11.55$
DASA 57027	1.00×10^1	3.00×10^1	3.00×10^1	$2.33 \times 10^1 \pm 1.10 \times 10^1$
DASA 57034	1.60×10^3	2.30×10^3	2.00×10^3	$1.97 \times 10^3 \pm 3.51 \times 10^2$
DASA 57038	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00
DASA 57050	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00
DASA 57053	3.00×10^3	4.00×10^3	3.50×10^3	$3.50 \times 10^3 \pm 5.00 \times 10^2$
DASA 57057	3.00×10^1	3.00×10^1	4.00×10^1	$3.33 \times 10^1 \pm 5.77$
DASA 57065	1.00×10^1	2.00×10^1	1.00×10^1	$1.33 \times 10^1 \pm 5.77$
DASA 57066	2.74×10^5	3.20×10^5	3.23×10^5	$3.06 \times 10^5 \pm 2.75 \times 10^4$
DASA 57075	3.60×10^5	3.00×10^5	3.80×10^5	$3.47 \times 10^5 \pm 4.16 \times 10^4$
DASA 57076	1.50×10^5	1.38×10^5	1.58×10^5	$1.49 \times 10^5 \pm 1.01 \times 10^4$
DASA 57098	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 33 (ต่อ)

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 64006	1.23×10^8	1.13×10^8	9.50×10^7	$1.10 \times 10^8 \pm 1.42 \times 10^7$
DASA 64008	3.30×10^4	3.50×10^4	3.50×10^4	$3.43 \times 10^4 \pm 1.15 \times 10^3$
DASA 64010	1.10×10^2	1.00×10^2	1.10×10^2	$1.06 \times 10^2 \pm 5.77$
DASA 64011	2.00×10^2	3.00×10^2	2.00×10^2	$2.33 \times 10^2 \pm 57.74$
DASA 64012	2.60×10^8	2.50×10^8	2.80×10^8	$2.63 \times 10^8 \pm 1.53 \times 10^7$
DASA 64014	3.40×10^4	2.60×10^4	3.90×10^4	$3.30 \times 10^4 \pm 6.56 \times 10^3$
DASA 64016	4.00×10^5	4.00×10^5	4.00×10^5	$4.00 \times 10^5 \pm 0.00$
DASA 64020	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00
DASA 64021	1.50×10^4	1.80×10^4	1.30×10^4	$1.53 \times 10^4 \pm 2.52 \times 10^3$
DASA 64022	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00
DASA 64023	5.50×10^6	5.70×10^6	5.50×10^6	$5.57 \times 10^6 \pm 1.15 \times 10^5$
DASA 64026	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00
DASA 64027	4.80×10^3	4.80×10^3	4.80×10^3	$4.80 \times 10^3 \pm 0.00$
DASA 64031	1.20×10^2	1.00×10^2	9.00×10^1	$1.03 \times 10^2 \pm 15.28$
DASA 64034	3.00×10^3	1.00×10^4	1.10×10^4	$8.00 \times 10^3 \pm 4.36 \times 10^3$
DASA 64038	4.00×10^6	1.00×10^6	1.00×10^6	$2.00 \times 10^6 \pm 1.73 \times 10^6$
DASA 64040	1.00×10^4	1.00×10^4	1.00×10^4	$1.00 \times 10^4 \pm 0.00$
DASA 64042	1.00×10^5	1.00×10^5	1.00×10^5	$1.00 \times 10^5 \pm 0.00$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 33 (ต่อ)

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 68003	7.00×10^2	8.00×10^2	8.00×10^2	$7.67 \times 10^2 \pm 57.74$
DASA 68006	3.00×10^3	4.00×10^3	3.00×10^3	$3.33 \times 10^3 \pm 5.77 \times 10^3$
DASA 68010	8.00×10^1	6.00×10^1	6.00×10^1	$6.67 \times 10^1 \pm 11.55$
DASA 68012	1.00×10^5	4.00×10^5	3.00×10^5	$1.77 \times 10^5 \pm 1.97 \times 10^5$
DASA 68020	1.87×10^5	1.69×10^5	1.30×10^5	$1.62 \times 10^5 \pm 2.91 \times 10^4$
DASA 68025	9.00×10^6	9.00×10^6	4.00×10^6	$7.33 \times 10^6 \pm 2.52 \times 10^6$
DASA 68030	4.30×10^5	3.00×10^5	3.40×10^5	$3.57 \times 10^5 \pm 6.66 \times 10^4$
DASA 68032	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00
DASA 68053	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00
DASA 68055	1.80×10^3	1.90×10^3	2.00×10^3	$1.90 \times 10^3 \pm 1.00 \times 10^2$
DASA 68056	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00×10^0	0.00
DASA 68058	1.30×10^4	1.20×10^4	1.30×10^4	$1.27 \times 10^4 \pm 1.27 \times 10^4$
DASA 68061	1.00×10^5	2.00×10^5	1.00×10^5	$1.33 \times 10^5 \pm 1.33 \times 10^5$
DASA 68062	1.10×10^5	8.00×10^4	9.00×10^4	$9.33 \times 10^4 \pm 1.53 \times 10^4$
DASA 68066	4.80×10^4	3.60×10^4	3.40×10^4	$3.93 \times 10^4 \pm 7.57 \times 10^3$
DASA 68069	3.00×10^2	3.00×10^2	3.00×10^2	$3.00 \times 10^2 \pm 0.00$
DASA 68070	1.00×10^5	1.00×10^5	1.00×10^5	$1.00 \times 10^5 \pm 0.00$
DASA 68071	3.00×10^4	3.00×10^4	3.00×10^4	$3.00 \times 10^4 \pm 0.00$

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

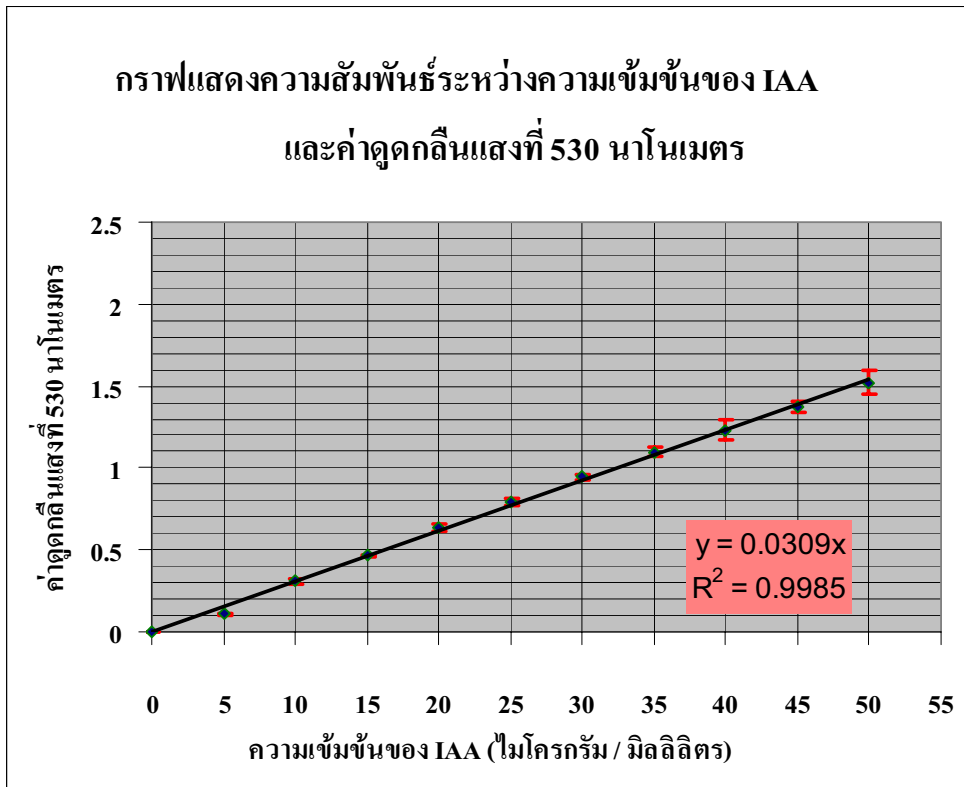
การสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของ IAA และค่าดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ 530 นาโนเมตร

จากการเตรียมสารละลาย IAA ที่ระดับความเข้มข้น 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำปฏิกิริยาของสารละลาย IAA แต่ละความเข้มข้น โดยวิธี Colorimetric (Gordon และ Weber, 1951) วัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ 530 นาโนเมตร แสดงในภาพที่ 21 พบว่า เมื่อนำค่าความเข้มข้นของ IAA และค่าการดูดกลืนแสงที่ 530 นาโนเมตร มาสร้างกราฟมาตรฐานจะได้แนวโน้มเชิงเส้นตรง $y=0.0309x$ แสดงในตารางที่ 34 และ ภาพที่ 20

ตารางที่ 34: ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ IAA (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) และค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ 530 นาโนเมตร

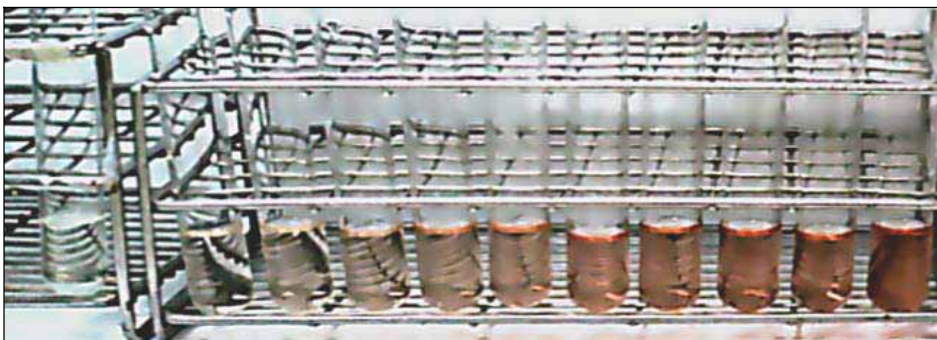
ความเข้มข้น IAA ($\mu\text{g/ml}$)	ค่า OD ₅₃₀				
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	ค่าเฉลี่ย*
0	0	0	0	0	0.00 \pm 0.00
5	0.11	0.104	0.119	0.106	0.10975 \pm 0.01
10	0.311	0.321	0.308	0.289	0.30725 \pm 0.01
15	0.462	0.472	0.467	0.455	0.464 \pm 0.01
20	0.635	0.677	0.605	0.623	0.635 \pm 0.03
25	0.831	0.788	0.77	0.779	0.792 \pm 0.03
30	0.936	0.931	0.952	0.959	0.945 \pm 0.01
35	1.12	1.062	1.114	1.086	1.096 \pm 0.03
40	1.238	1.14	1.288	1.256	1.231 \pm 0.06
45	1.346	1.388	1.416	1.352	1.376 \pm 0.03
50	1.556	1.5	1.602	1.432	1.523 \pm 0.07

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation



ภาพที่ 20: กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น IAA และค่าการดูดกลืนแสงที่ 530 นาโนเมตร

โดยสัญลักษณ์ ● แสดงความเข้มข้นเฉลี่ยของ IAA (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) และ I
Error bars แสดงค่า \pm Standard deviation



ภาพที่ 21: ผลการวิเคราะห์ IAA โดยวิธี colorimetric

ตารางที่ 35: ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ 530 นาโนเมตร ในการศึกษาเชื้อที่มีความสามารถในการสังเคราะห์ IAA

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ 530 นาโนเมตร						ค่าเฉลี่ย
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	ซ้ำ 5	ซ้ำ 6	
DASA 57003	0.625	0.633	0.743	0.638	0.699	0.725	0.677
DASA 57004	0.569	0.673	0.564	0.665	0.529	0.500	0.583
DASA 57005	0.948	1.036	0.995	0.985	1.078	0.983	1.004
DASA 57009	0.254	0.200	0.195	0.196	0.254	0.264	0.227
DASA 57010	0.608	0.765	0.530	0.569	0.585	0.596	0.609
DASA 57015	1.072	1.066	1.070	1.078	1.080	1.078	1.074
DASA 57019	0.307	0.293	0.237	0.216	0.214	0.222	0.248
DASA 57020	0.798	0.663	0.603	0.758	0.746	0.797	0.728
DASA 57024	0.647	0.665	0.661	0.641	0.563	0.594	0.629
DASA 57027	0.792	0.735	0.748	0.764	0.754	0.674	0.745
DASA 57034	0.793	0.783	0.833	0.781	0.768	0.784	0.790
DASA 57038	0.215	0.256	0.216	0.285	0.285	0.257	0.252
DASA 57050	0.351	0.379	0.336	0.338	0.333	0.314	0.342
DASA 57053	0.403	0.463	0.491	0.314	0.306	0.410	0.398
DASA 57057	0.780	0.865	0.866	0.882	0.896	0.882	0.862
DASA 57065	0.602	0.806	0.756	0.802	0.639	0.640	0.708
DASA 57066	0.510	0.478	0.490	0.517	0.528	0.509	0.505
DASA 57075	0.543	0.439	0.422	0.469	0.415	0.531	0.470
DASA 57076	0.244	0.240	0.243	0.203	0.264	0.272	0.244
DASA 57098	0.380	0.421	0.405	0.416	0.465	0.346	0.406

ตารางที่ 35 (ต่อ)

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ 530 นาโนเมตร						ค่าเฉลี่ย
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	ซ้ำ 5	ซ้ำ 6	
DASA 64006	0.657	0.565	0.629	0.650	0.567	0.634	0.617
DASA 64008	0.245	0.229	0.264	0.210	0.152	0.148	0.208
DASA 64010	0.307	0.239	0.259	0.279	0.324	0.279	0.281
DASA 64011	0.950	0.970	0.923	0.938	0.970	0.975	0.954
DASA 64012	0.832	0.689	0.669	0.762	0.769	0.650	0.729
DASA 64014	0.692	0.567	0.655	0.652	0.665	0.678	0.652
DASA 64016	0.771	0.776	0.848	0.711	0.838	0.765	0.785
DASA 64020	0.355	0.404	0.434	0.418	0.416	0.425	0.409
DASA 64021	0.733	0.613	0.702	0.739	0.727	0.745	0.710
DASA 64022	0.165	0.097	0.161	0.160	0.157	0.163	0.151
DASA 64023	0.663	0.578	0.718	0.626	0.628	0.601	0.636
DASA 64026	0.397	0.405	0.401	0.426	0.441	0.457	0.421
DASA 64027	0.267	0.253	0.278	0.261	0.297	0.355	0.285
DASA 64031	0.739	0.558	0.762	0.566	0.564	0.746	0.656
DASA 64034	0.715	0.622	0.698	0.601	0.616	0.724	0.663
DASA 64038	0.244	0.310	0.229	0.277	0.253	0.207	0.253
DASA 64040	0.124	0.113	0.115	0.131	0.151	0.165	0.133
DASA 64042	0.380	0.335	0.323	0.358	0.376	0.345	0.353

ตารางที่ 35 (ต่อ)

สายพันธุ์ แบคทีเรีย	ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ 530 นาโนเมตร						ค่าเฉลี่ย
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 4	ซ้ำ 5	ซ้ำ 6	
DASA 68003	0.285	0.257	0.281	0.255	0.293	0.258	0.272
DASA 68006	0.315	0.296	0.369	0.338	0.330	0.357	0.334
DASA 68010	0.347	0.380	0.343	0.351	0.347	0.334	0.350
DASA 68012	0.727	0.754	0.758	0.819	0.692	0.613	0.727
DASA 68020	0.472	0.574	0.577	0.564	0.587	0.609	0.564
DASA 68025	0.212	0.240	0.251	0.236	0.272	0.329	0.257
DASA 68030	0.159	0.162	0.154	0.180	0.184	0.184	0.171
DASA 68032	0.175	0.160	0.229	0.189	0.196	0.215	0.194
DASA 68053	0.241	0.213	0.219	0.220	0.250	0.220	0.227
DASA 68055	0.311	0.364	0.347	0.358	0.308	0.317	0.334
DASA 68056	0.298	0.252	0.294	0.294	0.286	0.315	0.290
DASA 68058	0.448	0.356	0.410	0.268	0.267	0.263	0.335
DASA 68061	0.477	0.431	0.493	0.417	0.457	0.426	0.450
DASA 68062	0.359	0.333	0.346	0.344	0.338	0.367	0.348
DASA 68066	0.458	0.363	0.354	0.394	0.346	0.320	0.373
DASA 68069	0.357	0.312	0.300	0.284	0.366	0.292	0.319
DASA 68070	0.328	0.405	0.413	0.419	0.385	0.300	0.375
DASA 68071	0.316	0.358	0.465	0.295	0.301	0.371	0.351

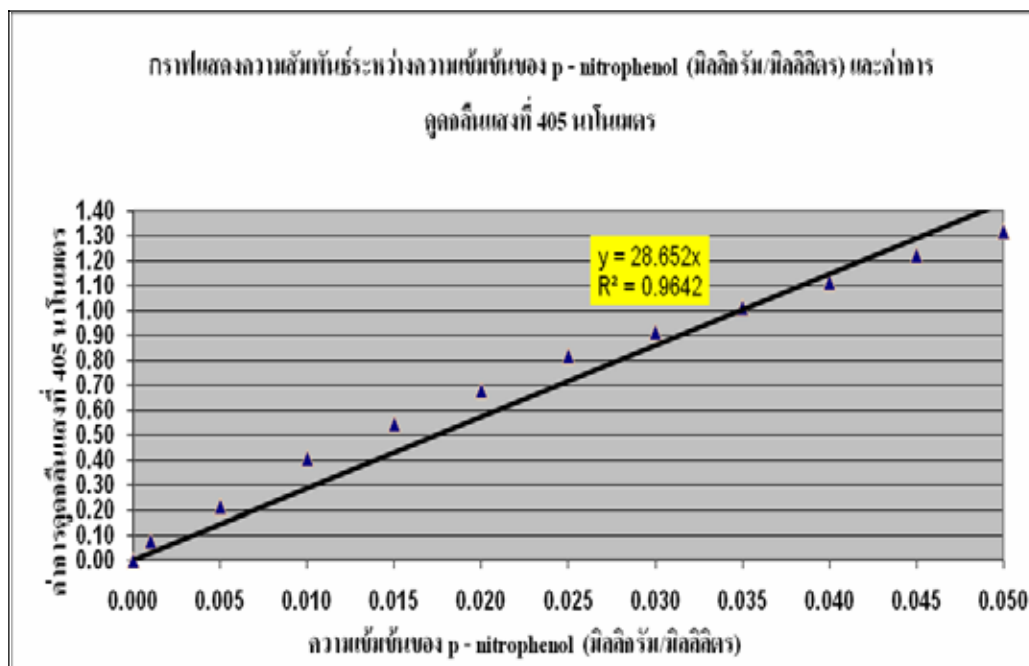
การสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของ **p-nitrophenol** และค่าดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ 405 นาโนเมตร

จากการเตรียม Stock solution ของ p-nitrophenol ให้มีความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เจือจางให้มีความเข้มข้น 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงในภาพที่ 23 พบว่า เมื่อนำค่าความเข้มข้นของ p-nitrophenol (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร มาสร้างกราฟมาตรฐานจะได้แนวโน้มเชิงเส้นตรง $y = 28.652x$ แสดงในตารางที่ 36 และ ภาพที่ 22

ตารางที่ 36: ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ p-nitrophenol (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) และค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ 405 นาโนเมตร

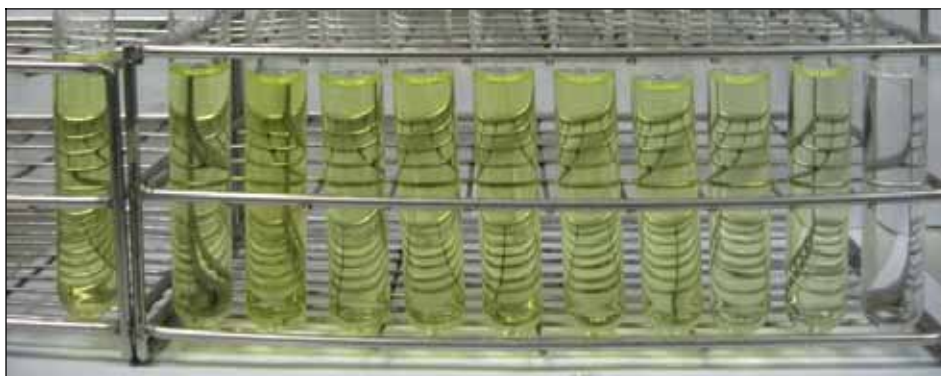
ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	ความเข้มข้น (mg/ml)	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย *
0	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000 \pm 0.000
1	0.001	0.079	0.077	0.079	0.078 \pm 0.001
5	0.005	0.218	0.208	0.217	0.214 \pm 0.006
10	0.010	0.391	0.414	0.416	0.407 \pm 0.014
15	0.015	0.572	0.519	0.543	0.545 \pm 0.027
20	0.020	0.669	0.670	0.702	0.680 \pm 0.019
25	0.025	0.816	0.798	0.842	0.819 \pm 0.022
30	0.030	0.906	0.914	0.922	0.914 \pm 0.008
35	0.035	1.026	1.010	1.002	1.013 \pm 0.012
40	0.040	1.110	1.104	1.128	1.114 \pm 0.012
45	0.045	1.212	1.216	1.240	1.223 \pm 0.015
50	0.050	1.324	1.326	1.304	1.318 \pm 0.012

*: ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation



ภาพที่ 22: กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ p-nitrophenol และค่าการดูดกลืนแสงที่

405 นาโนเมตร โดยสัญลักษณ์ ▲ แสดงความเข้มข้นเฉลี่ยของ p-nitrophenol (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) และ I Error bars แสดงค่า \pm Standard deviation



ภาพที่ 23: ผลการวิเคราะห์ p-nitrophenol

การคำนวณกิจกรรมของฟอสฟาเตส

1 ยูนิต (unit) เท่ากับ ปริมาณของเอนไซม์ที่เปลี่ยนสารตั้งต้น p-nitrophenyl phosphate เป็นผลิตภัณฑ์ p-nitrophenol 1 ไมโครโมลต่อ 1 นาที (Streeter 1989)

กิจกรรมของฟอสฟาเตส ที่เป็น extracellular enzyme (milliunit/ml)

กิจกรรมของฟอสฟาเตส ที่เป็น intracellular enzyme (milliunit/mg)

ปริมาตร supernatant ของเชื้อ เท่ากับ 3.0 ml (Extracellular enzyme)

น้ำหนักเซลล์ของเชื้อ โดยเฉลี่ย เท่ากับ 20 mg (Intracellular enzyme)

ปริมาตรรวมของปฏิกิริยา เท่ากับ 5.1 ml

เวลาที่ใช้บ่มของปฏิกิริยา เท่ากับ 20 min

มวลโมเลกุลของ p-nitrophenol เท่ากับ 139.11 g/mol

วิธีการคำนวณ: หากกิจกรรมของเอนไซม์ acid phosphatase ที่เป็น extracellular enzyme

(milliunit/ml) ของเชื้อสายพันธุ์ DASA 57003

ค่า OD₄₀₅ โดยเฉลี่ย = 0.192 แทนค่าในสมการ $y = 28.652x$

จะได้ความเข้มข้นของ p-nitrophenol = 0.0067 mg/ml

สารละลาย p-nitrophenol 1.0 ml จะมีความเข้มข้น p-nitrophenol = 0.0067 mg

สารละลาย p-nitrophenol 5.1 ml จะมีความเข้มข้น p-nitrophenol = 0.0340 mg

ปริมาตร supernatant 3.0 ml จะมีความเข้มข้น p-nitrophenol = 0.0340 mg

ปริมาตร supernatant 1.0 ml จะมีความเข้มข้น p-nitrophenol = 0.0113 mg/ml

เวลาที่ใช้บ่ม 20 min จะมีความเข้มข้น p-nitrophenol = 0.0113 mg/ml

เวลาที่ใช้บ่ม 1.0 min จะมีความเข้มข้น p-nitrophenol = 0.000565 mg/ml/min

= 0.565 μ g/ml/min

น้ำหนักมวลโมเลกุลของ p-nitrophenol 139.11 μ g คิดเป็น 1.0 μ mol

ถ้ามี p-nitrophenol 0.565 μ g คิดเป็น 0.004 μ mol

จาก 1.0 μ mol / min = 1.0 unit

ถ้ามี 0.004 μ mol / min = 0.0041 unit

= 4.10 milliunit/ml

ดังนั้นสารละลาย p-nitrophenol ที่ระดับความเข้มข้นของ p-nitrophenol 0.0067 mg/ml

จะมีกิจกรรมของ acid phosphatase ที่เป็น extracellular enzyme 4.10 milliunit/ml

หมายเหตุ : ในกรณีกิจกรรมของเอนไซม์ฟอสฟาเตสที่เป็น Intracellular enzyme (milliunit/mg) จะใช้น้ำหนักเซลล์ของเชื้อ โดยเฉลี่ย เท่ากับ 20 mg แทนปริมาตร supernatant ของเชื้อ

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ตารางที่ 37: จำนวนเซลล์ (CFU/ml) ของเชื้อแบคทีเรียที่เลี้ยงในอาหาร Pikovskaya ที่มี tricalcium phosphate [$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$] เป็นแหล่งฟอสฟอรัส

สายพันธุ์แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU / ml)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 57003	4.60×10^6	5.00×10^6	5.60×10^6	$5.07 \times 10^6 \pm 5.03 \times 10^5$
DASA 57004	1.00×10^3	2.00×10^3	5.00×10^3	$2.67 \times 10^3 \pm 2.08 \times 10^3$
DASA 57005	1.00×10^5	1.00×10^5	1.00×10^5	$1.00 \times 10^5 \pm 0.00$
DASA 57009	1.20×10^5	2.00×10^5	1.80×10^5	$1.67 \times 10^5 \pm 4.16 \times 10^4$
DASA 57010	2.00×10^6	2.00×10^6	2.00×10^6	$2.00 \times 10^6 \pm 0.00$
DASA 57015	3.70×10^5	5.60×10^5	4.00×10^5	$4.43 \times 10^5 \pm 1.02 \times 10^5$
DASA 57019	5.00×10^5	5.00×10^5	5.00×10^5	$5.00 \times 10^5 \pm 0.00$
DASA 57020	2.80×10^8	2.30×10^8	2.20×10^8	$2.43 \times 10^8 \pm 3.21 \times 10^7$
DASA 57024	9.00×10^4	7.00×10^4	5.00×10^4	$7.00 \times 10^4 \pm 2.00 \times 10^4$
DASA 57027	3.20×10^8	3.00×10^8	2.30×10^8	$2.83 \times 10^8 \pm 4.73 \times 10^7$
DASA 57034	1.17×10^8	6.80×10^8	9.30×10^8	$9.27 \times 10^8 \pm 2.45 \times 10^8$
DASA 57038	8.00×10^8	8.00×10^8	7.00×10^8	$7.67 \times 10^8 \pm 5.77 \times 10^7$
DASA 57050	2.00×10^5	6.00×10^5	1.00×10^6	$6.00 \times 10^5 \pm 4.00 \times 10^5$
DASA 57053	7.20×10^8	7.30×10^8	7.50×10^8	$7.33 \times 10^8 \pm 1.53 \times 10^7$
DASA 57057	1.00×10^7	1.10×10^7	1.00×10^7	$1.03 \times 10^7 \pm 5.77 \times 10^5$
DASA 57065	2.50×10^6	2.00×10^6	3.10×10^6	$2.53 \times 10^6 \pm 5.51 \times 10^5$
DASA 57066	1.00×10^4	2.00×10^4	1.00×10^4	$1.33 \times 10^4 \pm 5.77 \times 10^3$
DASA 57075	9.00×10^6	9.30×10^6	9.50×10^6	$9.27 \times 10^6 \pm 2.52 \times 10^5$
DASA 57076	1.00×10^6	1.00×10^6	1.00×10^6	$1.00 \times 10^6 \pm 0.00$
DASA 57098	6.00×10^8	8.30×10^8	9.40×10^8	$7.90 \times 10^8 \pm 1.73 \times 10^8$

* ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 37 (ต่อ):

สายพันธุ์แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU / ml)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 64006	2.20×10^8	2.20×10^8	2.70×10^8	$2.37 \times 10^8 \pm 2.89 \times 10^7$
DASA 64008	2.00×10^4	1.00×10^4	2.00×10^4	$1.67 \times 10^4 \pm 5.77 \times 10^3$
DASA 64010	2.00×10^6	2.00×10^6	2.00×10^6	$2.00 \times 10^6 \pm 0.00$
DASA 64011	1.00×10^6	1.00×10^6	1.00×10^6	$1.00 \times 10^6 \pm 0.00$
DASA 64012	7.00×10^6	3.00×10^6	2.00×10^6	$4.00 \times 10^6 \pm 2.65 \times 10^6$
DASA 64014	2.00×10^4	2.00×10^4	2.00×10^4	$2.00 \times 10^4 \pm 0.00$
DASA 64016	1.52×10^7	1.55×10^7	1.60×10^7	$1.56 \times 10^7 \pm 4.04 \times 10^5$
DASA 64020	4.00×10^7	2.00×10^7	3.00×10^7	$3.00 \times 10^7 \pm 1.00 \times 10^7$
DASA 64021	3.00×10^8	3.00×10^8	3.00×10^8	$3.00 \times 10^8 \pm 0.00$
DASA 64022	1.20×10^6	1.00×10^6	1.10×10^6	$1.10 \times 10^6 \pm 1.00 \times 10^5$
DASA 64023	2.05×10^8	2.10×10^8	1.70×10^8	$1.95 \times 10^8 \pm 2.18 \times 10^7$
DASA 64026	1.00×10^6	1.00×10^6	1.00×10^6	$1.00 \times 10^6 \pm 0.00$
DASA 64027	4.00×10^4	1.00×10^4	3.00×10^4	$2.67 \times 10^4 \pm 1.53 \times 10^4$
DASA 64031	4.70×10^8	5.00×10^8	4.80×10^8	$4.83 \times 10^8 \pm 1.53 \times 10^7$
DASA 64034	1.00×10^6	2.00×10^6	2.00×10^6	$1.67 \times 10^6 \pm 5.77 \times 10^5$
DASA 64038	3.60×10^8	5.50×10^8	5.80×10^8	$4.97 \times 10^8 \pm 1.19 \times 10^8$
DASA 64040	1.50×10^8	1.65×10^8	1.81×10^8	$1.65 \times 10^8 \pm 1.55 \times 10^7$
DASA 64042	7.00×10^5	5.00×10^5	6.00×10^5	$6.00 \times 10^5 \pm 1.00 \times 10^5$

* ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 37 (ต่อ):

สายพันธุ์แบคทีเรีย	จำนวนเซลล์ (CFU / ml)			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย*
DASA 68003	2.60×10^5	2.20×10^5	1.90×10^5	$2.23 \times 10^5 \pm 3.51 \times 10^4$
DASA 68006	1.00×10^6	1.00×10^6	1.00×10^6	$1.00 \times 10^6 \pm 0.00$
DASA 68010	1.00×10^5	1.00×10^5	1.00×10^5	$1.00 \times 10^5 \pm 0.00$
DASA 68012	1.80×10^6	1.80×10^6	1.80×10^6	$1.80 \times 10^6 \pm 0.00$
DASA 68020	1.60×10^8	1.60×10^8	1.60×10^8	$1.60 \times 10^8 \pm 0.00$
DASA 68025	8.00×10^4	8.00×10^4	8.00×10^4	$8.00 \times 10^4 \pm 0.00$
DASA 68030	1.00×10^4	1.00×10^4	1.00×10^4	$1.00 \times 10^4 \pm 0.00$
DASA 68032	6.70×10^7	6.80×10^7	5.30×10^7	$6.27 \times 10^7 \pm 8.39 \times 10^6$
DASA 68053	1.00×10^5	1.00×10^5	1.00×10^5	$1.00 \times 10^5 \pm 0.00$
DASA 68055	7.60×10^6	6.50×10^6	8.00×10^6	$7.37 \times 10^6 \pm 7.77 \times 10^5$
DASA 68056	4.00×10^6	2.00×10^6	1.20×10^7	$6.00 \times 10^6 \pm 5.29 \times 10^6$
DASA 68058	1.80×10^6	2.10×10^6	2.00×10^6	$1.97 \times 10^6 \pm 1.53 \times 10^5$
DASA 68061	1.20×10^7	1.10×10^7	1.30×10^7	$1.20 \times 10^7 \pm 1.00 \times 10^6$
DASA 68062	2.70×10^7	2.30×10^7	1.80×10^7	$2.27 \times 10^7 \pm 4.51 \times 10^6$
DASA 68066	7.40×10^8	6.50×10^8	6.70×10^8	$6.87 \times 10^8 \pm 4.73 \times 10^7$
DASA 68069	1.00×10^6	1.00×10^6	1.00×10^6	$1.00 \times 10^6 \pm 0.00$
DASA 68070	2.20×10^8	1.77×10^8	1.93×10^8	$1.97 \times 10^8 \pm 2.17 \times 10^7$
DASA 68071	9.60×10^8	7.00×10^8	8.30×10^8	$8.30 \times 10^8 \pm 1.30 \times 10^8$

* ค่าเฉลี่ย \pm Standard deviation

ตารางที่ 38: ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ 405 นาโนเมตร ในการศึกษาการทำงานของเอนไซม์ฟอสฟาเตส

สายพันธุ์แบคทีเรีย	ค่า OD ₄₀₅ Extracellular enzyme											
	pH 5				pH 7				pH 9			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย±SD	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย±SD	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย±SD
DASA 57003	0.188	0.186	0.203	0.192 ± 0.009	0.150	0.158	0.151	0.153 ± 0.004	0.208	0.220	0.214	0.214 ± 0.006
DASA 57004	0.253	0.305	0.279	0.279 ± 0.026	0.193	0.199	0.189	0.194 ± 0.005	0.257	0.265	0.238	0.253 ± 0.014
DASA 57005	0.207	0.202	0.237	0.215 ± 0.019	0.151	0.175	0.152	0.159 ± 0.014	0.238	0.208	0.212	0.219 ± 0.016
DASA 57009	0.217	0.234	0.305	0.252 ± 0.047	0.173	0.158	0.163	0.165 ± 0.008	0.230	0.223	0.230	0.228 ± 0.004
DASA 57010	0.211	0.224	0.229	0.221 ± 0.009	0.147	0.149	0.156	0.151 ± 0.005	0.243	0.238	0.238	0.240 ± 0.003
DASA 57015	0.162	0.166	0.169	0.166 ± 0.004	0.120	0.132	0.124	0.125 ± 0.006	0.156	0.144	0.152	0.151 ± 0.006
DASA 57019	0.233	0.234	0.261	0.243 ± 0.016	0.176	0.174	0.154	0.168 ± 0.012	0.214	0.223	0.231	0.223 ± 0.009
DASA 57020	0.165	0.163	0.170	0.166 ± 0.004	0.120	0.108	0.118	0.115 ± 0.006	0.164	0.198	0.157	0.173 ± 0.022
DASA 57024	0.230	0.229	0.231	0.230 ± 0.001	0.176	0.165	0.169	0.170 ± 0.006	0.242	0.240	0.222	0.235 ± 0.011
DASA 57027	0.153	0.186	0.176	0.172 ± 0.017	0.133	0.170	0.134	0.146 ± 0.021	0.175	0.171	0.164	0.170 ± 0.006
DASA 57034	0.213	0.212	0.234	0.220 ± 0.012	0.206	0.180	0.192	0.193 ± 0.013	0.598	0.574	0.605	0.592 ± 0.016
DASA 57038	0.227	0.226	0.238	0.230 ± 0.007	0.171	0.166	0.161	0.166 ± 0.005	0.236	0.225	0.231	0.231 ± 0.006
DASA 57050	0.222	0.210	0.219	0.217 ± 0.006	0.165	0.195	0.146	0.169 ± 0.025	0.247	0.243	0.246	0.245 ± 0.002
DASA 57053	0.194	0.173	0.184	0.184 ± 0.011	0.156	0.177	0.180	0.171 ± 0.013	0.209	0.211	0.209	0.210 ± 0.001
DASA 57057	0.133	0.123	0.139	0.132 ± 0.008	0.146	0.133	0.145	0.141 ± 0.007	0.200	0.223	0.201	0.208 ± 0.013
DASA 57065	0.147	0.140	0.144	0.144 ± 0.004	0.123	0.124	0.125	0.124 ± 0.001	0.192	0.219	0.176	0.196 ± 0.022
DASA 57066	0.309	0.314	0.310	0.311 ± 0.003	0.180	0.170	0.175	0.175 ± 0.005	0.292	0.280	0.261	0.278 ± 0.016
DASA 57075	0.179	0.187	0.205	0.190 ± 0.013	0.159	0.145	0.150	0.151 ± 0.007	0.213	0.217	0.209	0.213 ± 0.004
DASA 57076	0.218	0.226	0.237	0.227 ± 0.010	0.167	0.166	0.144	0.159 ± 0.013	0.273	0.321	0.262	0.285 ± 0.031
DASA 57098	0.187	0.207	0.221	0.205 ± 0.017	0.155	0.125	0.150	0.143 ± 0.016	0.479	0.464	0.485	0.476 ± 0.011

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 38 (ต่อ)

สายพันธุ์แบคทีเรีย	ค่า OD ₆₀₀ Extracellular enzyme												
	pH 5				pH 7				pH 9				
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย±SD	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย	SD	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย±SD
DASA 64006	0.172	0.186	0.180	0.179 ± 0.007	0.150	0.128	0.147	0.142 ± 0.012	0.012	0.173	0.242	0.228	0.214 ± 0.036
DASA 64008	0.198	0.193	0.190	0.194 ± 0.004	0.133	0.135	0.129	0.132 ± 0.003	0.003	0.193	0.198	0.203	0.198 ± 0.005
DASA 64010	0.226	0.214	0.212	0.217 ± 0.008	0.175	0.164	0.166	0.168 ± 0.006	0.006	0.215	0.198	0.199	0.204 ± 0.010
DASA 64011	0.332	0.293	0.362	0.329 ± 0.035	0.179	0.161	0.167	0.169 ± 0.009	0.009	0.282	0.279	0.324	0.295 ± 0.025
DASA 64012	0.192	0.208	0.196	0.199 ± 0.008	0.141	0.140	0.123	0.135 ± 0.010	0.010	0.173	0.172	0.172	0.172 ± 0.001
DASA 64014	0.243	0.225	0.232	0.233 ± 0.009	0.176	0.180	0.162	0.173 ± 0.009	0.009	0.221	0.208	0.211	0.213 ± 0.007
DASA 64016	0.212	0.203	0.201	0.205 ± 0.006	0.119	0.116	0.128	0.121 ± 0.006	0.006	0.165	0.168	0.163	0.165 ± 0.003
DASA 64020	0.254	0.215	0.220	0.230 ± 0.021	0.147	0.151	0.154	0.151 ± 0.004	0.004	0.221	0.204	0.223	0.216 ± 0.010
DASA 64021	0.222	0.188	0.213	0.208 ± 0.018	0.144	0.123	0.140	0.136 ± 0.011	0.011	0.210	0.196	0.196	0.201 ± 0.008
DASA 64022	0.243	0.227	0.226	0.232 ± 0.010	0.171	0.173	0.173	0.172 ± 0.001	0.001	0.232	0.239	0.209	0.227 ± 0.016
DASA 64023	0.180	0.187	0.166	0.178 ± 0.011	0.150	0.150	0.143	0.148 ± 0.004	0.004	0.181	0.191	0.203	0.192 ± 0.011
DASA 64026	0.243	0.213	0.203	0.220 ± 0.021	0.163	0.164	0.160	0.162 ± 0.002	0.002	0.208	0.226	0.206	0.213 ± 0.011
DASA 64027	0.216	0.208	0.208	0.211 ± 0.005	0.171	0.160	0.169	0.167 ± 0.006	0.006	0.235	0.205	0.231	0.224 ± 0.016
DASA 64031	0.285	0.277	0.292	0.285 ± 0.008	0.156	0.164	0.171	0.164 ± 0.008	0.008	0.331	0.295	0.309	0.312 ± 0.018
DASA 64034	0.180	0.191	0.209	0.193 ± 0.015	0.161	0.164	0.162	0.162 ± 0.002	0.002	0.186	0.182	0.183	0.184 ± 0.002
DASA 64038	0.228	0.227	0.226	0.227 ± 0.001	0.212	0.213	0.215	0.213 ± 0.002	0.002	0.260	0.207	0.235	0.234 ± 0.027
DASA 64040	0.190	0.227	0.209	0.209 ± 0.019	0.115	0.119	0.114	0.116 ± 0.003	0.003	0.206	0.205	0.208	0.206 ± 0.002
DASA 64042	0.243	0.256	0.264	0.254 ± 0.011	0.183	0.170	0.182	0.178 ± 0.007	0.007	0.248	0.248	0.244	0.247 ± 0.002

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 38 (ต่อ)

สายพันธุ์แบคทีเรีย	ค่า OD ₆₀₀ Extracellular enzyme											
	pH 5				pH 7				pH 9			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย±SD	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย±SD	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย±SD
DASA 68003	0.244	0.265	0.248	0.252 ± 0.011	0.167	0.168	0.157	0.164 ± 0.006	0.219	0.237	0.212	0.223 ± 0.013
DASA 68006	0.212	0.210	0.218	0.213 ± 0.004	0.157	0.141	0.149	0.149 ± 0.008	0.196	0.193	0.200	0.196 ± 0.004
DASA 68010	0.305	0.297	0.304	0.302 ± 0.004	0.227	0.202	0.228	0.219 ± 0.015	0.380	0.343	0.359	0.361 ± 0.019
DASA 68012	0.198	0.208	0.205	0.204 ± 0.005	0.147	0.138	0.137	0.141 ± 0.006	0.177	0.165	0.173	0.172 ± 0.006
DASA 68020	0.129	0.137	0.138	0.135 ± 0.005	0.145	0.113	0.112	0.123 ± 0.019	0.112	0.122	0.138	0.124 ± 0.013
DASA 68025	0.274	0.305	0.283	0.287 ± 0.016	0.190	0.183	0.214	0.196 ± 0.016	0.280	0.295	0.277	0.284 ± 0.010
DASA 68030	0.202	0.216	0.213	0.210 ± 0.007	0.172	0.168	0.178	0.173 ± 0.005	0.239	0.210	0.210	0.220 ± 0.017
DASA 68032	0.289	0.318	0.301	0.303 ± 0.015	0.304	0.282	0.218	0.268 ± 0.045	0.442	0.472	0.445	0.453 ± 0.017
DASA 68053	0.199	0.194	0.190	0.194 ± 0.005	0.155	0.144	0.145	0.148 ± 0.006	0.283	0.244	0.263	0.263 ± 0.020
DASA 68055	0.207	0.198	0.208	0.204 ± 0.006	0.170	0.157	0.156	0.161 ± 0.008	0.229	0.208	0.223	0.220 ± 0.011
DASA 68056	0.306	0.313	0.302	0.307 ± 0.006	0.275	0.276	0.276	0.276 ± 0.001	0.606	0.577	0.596	0.593 ± 0.015
DASA 68058	0.295	0.298	0.295	0.296 ± 0.002	0.222	0.203	0.274	0.233 ± 0.037	0.364	0.344	0.302	0.337 ± 0.032
DASA 68061	0.236	0.236	0.242	0.238 ± 0.003	0.203	0.175	0.169	0.182 ± 0.018	0.241	0.245	0.256	0.247 ± 0.008
DASA 68062	0.355	0.378	0.373	0.369 ± 0.012	0.243	0.24	0.234	0.239 ± 0.005	0.459	0.463	0.500	0.474 ± 0.023
DASA 68066	0.323	0.327	0.322	0.324 ± 0.003	0.238	0.232	0.239	0.236 ± 0.004	0.480	0.439	0.480	0.466 ± 0.024
DASA 68069	0.224	0.227	0.226	0.226 ± 0.002	0.182	0.185	0.184	0.184 ± 0.002	0.194	0.215	0.233	0.214 ± 0.020
DASA 68070	0.135	0.137	0.136	0.136 ± 0.001	0.131	0.115	0.123	0.123 ± 0.008	0.140	0.135	0.124	0.133 ± 0.008
DASA 68071	0.214	0.218	0.240	0.224 ± 0.014	0.195	0.195	0.186	0.192 ± 0.005	0.288	0.278	0.268	0.278 ± 0.010

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 38 (ต่อ)

สายพันธุ์แบคทีเรีย	ค่า OD ₆₀₅ Intracellular enzyme						ค่าเฉลี่ย ± SD						
	pH 5			pH 7			pH 9			ค่าเฉลี่ย ± SD			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย ± SD
DASA 57003	0.007	0.005	0.005	0.001	0.090	0.087	0.091	± 0.004	0.047	0.045	0.039	0.044	± 0.004
DASA 57004	0.026	0.023	0.022	± 0.002	0.130	0.134	0.128	± 0.007	0.087	0.077	0.077	0.080	± 0.006
DASA 57005	0.006	0.009	0.002	± 0.004	0.118	0.098	0.108	± 0.010	0.079	0.068	0.059	0.069	± 0.010
DASA 57009	0.001	0.001	0.007	± 0.003	0.092	0.102	0.094	± 0.008	0.039	0.040	0.038	0.039	± 0.001
DASA 57010	0.007	0.005	0.011	± 0.003	0.080	0.078	0.079	± 0.001	0.042	0.032	0.030	0.035	± 0.006
DASA 57015	0.003	0.003	0.005	± 0.001	0.084	0.120	0.110	± 0.022	0.038	0.033	0.035	0.035	± 0.003
DASA 57019	0.012	0.009	0.007	± 0.003	0.098	0.081	0.095	± 0.013	0.033	0.039	0.038	0.037	± 0.003
DASA 57020	0.018	0.020	0.008	± 0.006	0.218	0.228	0.226	± 0.007	0.042	0.043	0.050	0.045	± 0.004
DASA 57024	0.007	0.005	0.018	± 0.010	0.128	0.116	0.127	± 0.011	0.043	0.051	0.053	0.049	± 0.005
DASA 57027	0.059	0.038	0.034	± 0.013	0.106	0.125	0.114	± 0.010	0.060	0.047	0.049	0.052	± 0.007
DASA 57034	0.019	0.015	0.033	± 0.009	0.049	0.047	0.058	± 0.006	0.027	0.024	0.026	0.026	± 0.002
DASA 57038	0.060	0.035	0.022	± 0.039	0.061	0.057	0.060	± 0.002	0.033	0.036	0.036	0.035	± 0.002
DASA 57050	0.067	0.042	0.056	± 0.055	0.149	0.151	0.148	± 0.004	0.094	0.092	0.098	0.095	± 0.003
DASA 57053	0.015	0.018	0.026	± 0.020	0.100	0.110	0.105	± 0.005	0.066	0.065	0.061	0.064	± 0.003
DASA 57057	0.017	0.015	0.021	± 0.018	0.090	0.087	0.089	± 0.002	0.065	0.060	0.056	0.060	± 0.005
DASA 57065	0.013	0.013	0.014	± 0.013	0.061	0.066	0.067	± 0.003	0.034	0.035	0.043	0.037	± 0.005
DASA 57066	0.086	0.087	0.060	± 0.078	0.163	0.258	0.232	± 0.049	0.100	0.099	0.099	0.099	± 0.001
DASA 57075	0.012	0.017	0.009	± 0.013	0.065	0.055	0.042	± 0.012	0.034	0.038	0.034	0.035	± 0.002
DASA 57076	0.006	0.008	0.007	± 0.007	0.085	0.093	0.082	± 0.006	0.054	0.054	0.055	0.054	± 0.001
DASA 57098	0.036	0.021	0.024	± 0.029	0.075	0.090	0.071	± 0.010	0.053	0.044	0.056	0.051	± 0.006

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 38 (ต่อ)

สายพันธุ์แบคทีเรีย	ค่า OD ₆₀₀ Intracellular enzyme											
	pH 5				pH 7				pH 9			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย±SD	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย±SD	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย±SD
DASA 64006	0.038	0.045	0.038	0.040 ± 0.004	0.063	0.056	0.053	0.057 ± 0.005	0.051	0.06	0.058	0.056 ± 0.005
DASA 64008	0.015	0.017	0.014	0.015 ± 0.002	0.085	0.085	0.091	0.087 ± 0.003	0.059	0.064	0.068	0.064 ± 0.005
DASA 64010	0.024	0.012	0.013	0.016 ± 0.007	0.077	0.078	0.069	0.075 ± 0.005	0.060	0.077	0.048	0.062 ± 0.015
DASA 64011	0.061	0.047	0.048	0.052 ± 0.008	0.102	0.102	0.104	0.103 ± 0.001	0.092	0.093	0.095	0.093 ± 0.002
DASA 64012	0.030	0.027	0.054	0.037 ± 0.015	0.080	0.070	0.072	0.074 ± 0.005	0.080	0.083	0.082	0.082 ± 0.002
DASA 64014	0.018	0.013	0.014	0.015 ± 0.003	0.070	0.070	0.071	0.070 ± 0.001	0.063	0.058	0.059	0.060 ± 0.003
DASA 64016	0.037	0.022	0.018	0.026 ± 0.010	0.085	0.094	0.107	0.095 ± 0.011	0.069	0.095	0.083	0.082 ± 0.013
DASA 64020	0.089	0.090	0.091	0.090 ± 0.001	0.128	0.140	0.138	0.135 ± 0.006	0.177	0.150	0.165	0.164 ± 0.014
DASA 64021	0.080	0.086	0.084	0.083 ± 0.003	0.096	0.108	0.098	0.101 ± 0.006	0.067	0.054	0.043	0.055 ± 0.012
DASA 64022	0.089	0.074	0.063	0.075 ± 0.013	0.153	0.157	0.149	0.153 ± 0.004	0.036	0.048	0.039	0.041 ± 0.006
DASA 64023	0.078	0.066	0.070	0.071 ± 0.006	0.092	0.086	0.092	0.090 ± 0.003	0.100	0.099	0.096	0.098 ± 0.002
DASA 64026	0.048	0.052	0.057	0.052 ± 0.005	0.147	0.119	0.133	0.133 ± 0.014	0.058	0.066	0.068	0.064 ± 0.005
DASA 64027	0.050	0.055	0.044	0.050 ± 0.006	0.140	0.130	0.155	0.142 ± 0.013	0.068	0.069	0.066	0.068 ± 0.002
DASA 64031	0.030	0.027	0.027	0.028 ± 0.002	0.051	0.046	0.048	0.048 ± 0.003	0.062	0.058	0.061	0.060 ± 0.002
DASA 64034	0.030	0.039	0.013	0.027 ± 0.013	0.076	0.078	0.090	0.081 ± 0.008	0.045	0.069	0.048	0.054 ± 0.013
DASA 64038	0.050	0.072	0.059	0.060 ± 0.011	0.122	0.112	0.114	0.116 ± 0.005	0.096	0.062	0.068	0.075 ± 0.018
DASA 64040	0.089	0.080	0.084	0.084 ± 0.005	0.113	0.116	0.118	0.116 ± 0.003	0.122	0.138	0.133	0.131 ± 0.008
DASA 64042	0.104	0.097	0.088	0.096 ± 0.008	0.095	0.106	0.104	0.102 ± 0.006	0.067	0.054	0.067	0.063 ± 0.008

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 38 (ต่อ)

สายพันธุ์แบคทีเรีย	ค่า OD ₆₀₀ Intracellular enzyme															
	pH 5						pH 7						pH 9			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย±SD	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย±SD	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย±SD	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย±SD
DASA 68003	0.035	0.038	0.029	0.034 ± 0.005	0.137	0.128	0.142	0.136 ± 0.007	0.085	0.060	0.073	0.073 ± 0.013	0.058	0.058	0.059	0.058 ± 0.001
DASA 68006	0.018	0.031	0.027	0.025 ± 0.007	0.120	0.114	0.114	0.116 ± 0.003	0.058	0.058	0.059	0.058 ± 0.001	0.033	0.031	0.038	0.033 ± 0.004
DASA 68010	0.053	0.021	0.019	0.031 ± 0.019	0.018	0.027	0.031	0.025 ± 0.007	0.030	0.031	0.038	0.030 ± 0.001	0.062	0.064	0.062	0.063 ± 0.001
DASA 68012	0.040	0.048	0.045	0.044 ± 0.004	0.055	0.084	0.095	0.078 ± 0.021	0.062	0.064	0.062	0.062 ± 0.015	0.085	0.059	0.085	0.068 ± 0.015
DASA 68020	0.059	0.065	0.066	0.063 ± 0.004	0.115	0.125	0.092	0.111 ± 0.017	0.059	0.059	0.085	0.059 ± 0.005	0.089	0.085	0.089	0.090 ± 0.005
DASA 68025	0.072	0.089	0.088	0.083 ± 0.010	0.207	0.158	0.169	0.178 ± 0.026	0.095	0.085	0.089	0.085 ± 0.003	0.043	0.041	0.041	0.043 ± 0.003
DASA 68030	0.037	0.027	0.021	0.028 ± 0.008	0.087	0.077	0.081	0.082 ± 0.005	0.046	0.041	0.041	0.046 ± 0.007	0.154	0.162	0.151	0.154 ± 0.007
DASA 68032	0.131	0.146	0.153	0.143 ± 0.011	0.286	0.283	0.302	0.290 ± 0.010	0.148	0.162	0.151	0.148 ± 0.003	0.038	0.041	0.037	0.038 ± 0.003
DASA 68053	0.033	0.030	0.031	0.031 ± 0.002	0.092	0.106	0.103	0.100 ± 0.007	0.036	0.041	0.037	0.036 ± 0.003	0.046	0.045	0.049	0.046 ± 0.003
DASA 68055	0.072	0.099	0.061	0.077 ± 0.020	0.127	0.126	0.109	0.121 ± 0.010	0.043	0.045	0.049	0.043 ± 0.016	0.090	0.080	0.094	0.090 ± 0.009
DASA 68056	0.032	0.031	0.037	0.033 ± 0.003	0.091	0.083	0.083	0.086 ± 0.005	0.073	0.047	0.045	0.073 ± 0.005	0.043	0.043	0.038	0.043 ± 0.005
DASA 68058	0.128	0.125	0.160	0.138 ± 0.019	0.309	0.238	0.285	0.277 ± 0.036	0.096	0.080	0.094	0.096 ± 0.009	0.251	0.276	0.238	0.251 ± 0.022
DASA 68061	0.038	0.019	0.024	0.027 ± 0.010	0.079	0.085	0.080	0.081 ± 0.003	0.047	0.043	0.038	0.047 ± 0.005	0.139	0.146	0.132	0.139 ± 0.007
DASA 68062	0.127	0.115	0.097	0.113 ± 0.015	0.206	0.203	0.204	0.204 ± 0.002	0.140	0.146	0.132	0.140 ± 0.002	0.036	0.036	0.038	0.036 ± 0.002
DASA 68066	0.184	0.217	0.209	0.203 ± 0.017	0.355	0.381	0.356	0.364 ± 0.015	0.238	0.276	0.238	0.238 ± 0.022	0.111	0.118	0.113	0.111 ± 0.008
DASA 68069	0.020	0.022	0.018	0.020 ± 0.002	0.039	0.071	0.062	0.062 ± 0.017	0.035	0.036	0.038	0.035 ± 0.002	0.108	0.115	0.100	0.108 ± 0.008
DASA 68070	0.056	0.072	0.092	0.073 ± 0.018	0.078	0.106	0.113	0.099 ± 0.019	0.103	0.118	0.113	0.103 ± 0.008	0.046	0.046	0.046	0.046 ± 0.003
DASA 68071	0.077	0.045	0.075	0.066 ± 0.018	0.069	0.083	0.076	0.076 ± 0.007	0.109	0.115	0.100	0.109 ± 0.008	0.046	0.046	0.046	0.046 ± 0.003

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 39: ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ 405 นาโนเมตร ในการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ฟอสฟาเตสของเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ DASA 57020 ที่เลี้ยงในอาหาร Pikovskaya ที่มีแหล่งปัจจัยต่างๆ

แหล่งปัจจัย	ค่า OD ₄₀₅ Extracellular enzyme											
	pH 5				pH 7				pH 9			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย±SD	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย±SD	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย±SD
Pikovskaya	0.165	0.163	0.170	0.166 ± 0.004	0.120	0.108	0.118	0.115 ± 0.006	0.164	0.198	0.157	0.173 ± 0.022
D-xylose	0.204	0.184	0.211	0.200 ± 0.014	0.241	0.302	0.298	0.280 ± 0.034	0.769	0.817	0.748	0.778 ± 0.035
D-fructose	0.221	0.214	0.221	0.219 ± 0.004	0.480	0.434	0.445	0.453 ± 0.024	0.484	0.473	0.478	0.478 ± 0.006
Sucrose	0.021	0.022	0.025	0.023 ± 0.002	0.103	0.095	0.096	0.098 ± 0.004	0.337	0.410	0.426	0.391 ± 0.047
Maltose	0.161	0.154	0.162	0.159 ± 0.004	0.280	0.336	0.301	0.306 ± 0.028	0.386	0.329	0.370	0.362 ± 0.029
D-sorbitol	0.141	0.139	0.135	0.138 ± 0.003	0.154	0.142	0.135	0.144 ± 0.010	0.179	0.182	0.180	0.180 ± 0.002
D-mannitol	0.240	0.234	0.237	0.237 ± 0.003	0.318	0.312	0.277	0.302 ± 0.022	0.237	0.207	0.207	0.217 ± 0.017
Soluble starch	0.082	0.079	0.079	0.080 ± 0.002	0.123	0.120	0.127	0.123 ± 0.004	0.174	0.209	0.184	0.189 ± 0.018
No PO ₄	0.080	0.077	0.077	0.078 ± 0.002	0.113	0.114	0.119	0.115 ± 0.003	0.180	0.160	0.198	0.179 ± 0.019
AlPO ₄	0.077	0.071	0.068	0.072 ± 0.005	0.114	0.129	0.124	0.122 ± 0.008	0.218	0.254	0.275	0.249 ± 0.029
NH ₄ Cl	0.191	0.166	0.168	0.175 ± 0.014	0.213	0.205	0.225	0.214 ± 0.010	0.275	0.284	0.297	0.285 ± 0.011
KNO ₃	0.153	0.147	0.158	0.153 ± 0.006	0.223	0.222	0.225	0.223 ± 0.002	0.269	0.250	0.255	0.258 ± 0.010
Urea	0.222	0.207	0.226	0.218 ± 0.010	0.281	0.296	0.296	0.291 ± 0.009	0.418	0.423	0.390	0.410 ± 0.018
L-alanine	0.113	0.122	0.117	0.117 ± 0.005	0.185	0.190	0.210	0.195 ± 0.013	0.279	0.286	0.315	0.293 ± 0.019
L-lysine	0.121	0.116	0.110	0.116 ± 0.006	0.189	0.204	0.206	0.200 ± 0.009	0.233	0.266	0.244	0.248 ± 0.017

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 40: ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ 405 นาโนเมตร ในการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ฟอสฟาเตสของเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ DASA 68056 ที่เลี้ยงในอาหาร Pikovskaya ที่มีแหล่งปัจจัยต่าง ๆ

แหล่งปัจจัย	ค่า OD ₄₀₅ Extracellular enzyme											
	pH 5				pH 7				pH 9			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย±SD	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย±SD	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย±SD
Pikovskaya	0.306	0.313	0.302	0.307 ± 0.006	0.275	0.276	0.276	0.276 ± 0.001	0.606	0.577	0.596	0.593 ± 0.015
D-xylose	1.138	1.242	1.248	1.209 ± 0.062	0.702	0.679	0.748	0.710 ± 0.035	1.096	1.108	1.142	1.115 ± 0.024
D-fructose	0.936	0.913	0.943	0.931 ± 0.016	0.637	0.683	0.645	0.655 ± 0.025	1.228	1.166	1.190	1.195 ± 0.031
Sucrose	0.190	0.194	0.190	0.191 ± 0.002	0.305	0.276	0.229	0.270 ± 0.038	0.109	0.112	0.130	0.117 ± 0.011
Maltose	0.697	0.737	0.793	0.742 ± 0.048	0.236	0.273	0.268	0.259 ± 0.020	0.396	0.495	0.457	0.449 ± 0.050
D-sorbitol	0.198	0.202	0.195	0.198 ± 0.004	0.189	0.203	0.201	0.198 ± 0.008	0.397	0.330	0.387	0.371 ± 0.036
D-mannitol	0.132	0.137	0.138	0.136 ± 0.003	0.127	0.120	0.174	0.140 ± 0.029	0.127	0.119	0.070	0.105 ± 0.031
Soluble starch	0.268	0.254	0.277	0.266 ± 0.012	0.406	0.393	0.429	0.409 ± 0.018	0.232	0.241	0.303	0.259 ± 0.039
No PO ₄	0.184	0.196	0.204	0.195 ± 0.010	0.140	0.135	0.131	0.135 ± 0.005	0.159	0.169	0.168	0.165 ± 0.006
AlPO ₄	0.134	0.137	0.134	0.135 ± 0.002	0.100	0.102	0.090	0.097 ± 0.006	0.089	0.105	0.104	0.099 ± 0.009
NH ₄ Cl	0.368	0.338	0.374	0.360 ± 0.019	0.302	0.311	0.262	0.292 ± 0.026	0.747	0.725	0.703	0.725 ± 0.022
KNO ₃	0.218	0.205	0.219	0.214 ± 0.008	0.261	0.286	0.310	0.286 ± 0.025	0.222	0.224	0.223	0.223 ± 0.001
Urea	0.348	0.369	0.379	0.365 ± 0.016	0.281	0.259	0.260	0.267 ± 0.012	0.260	0.297	0.284	0.280 ± 0.019
L-alanine	0.283	0.294	0.284	0.287 ± 0.006	0.238	0.260	0.258	0.252 ± 0.012	0.362	0.413	0.428	0.401 ± 0.035
L-lysine	0.169	0.180	0.166	0.172 ± 0.007	0.113	0.116	0.120	0.116 ± 0.004	0.048	0.054	0.074	0.059 ± 0.014

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 41: ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ 405 นาโนเมตร ในการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ฟอสฟาเตสของเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ DASA 68066 ที่เลี้ยงในอาหาร Pikovskaya ที่มีแหล่งปัจจัยต่างๆ

แหล่งปัจจัย	ค่า OD ₄₀₅ Extracellular enzyme											
	pH 5				pH 7				pH 9			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย±SD	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย±SD	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย±SD
Pikovskaya	0.323	0.327	0.322	0.324 ± 0.003	0.238	0.232	0.239	0.236 ± 0.004	0.480	0.439	0.480	0.466 ± 0.024
D-xylose	0.343	0.332	0.339	0.338 ± 0.006	0.989	0.975	0.978	0.981 ± 0.007	0.305	0.264	0.250	0.273 ± 0.029
D-fructose	0.494	0.474	0.540	0.503 ± 0.034	0.881	0.895	0.831	0.869 ± 0.034	0.690	0.664	0.674	0.676 ± 0.013
Sucrose	0.351	0.335	0.370	0.352 ± 0.018	0.590	0.600	0.609	0.600 ± 0.010	0.634	0.596	0.664	0.631 ± 0.034
Maltose	0.221	0.218	0.263	0.234 ± 0.025	0.528	0.559	0.520	0.536 ± 0.021	0.190	0.189	0.188	0.189 ± 0.001
D-sorbitol	0.282	0.281	0.279	0.281 ± 0.002	0.176	0.134	0.135	0.148 ± 0.024	0.129	0.124	0.125	0.126 ± 0.003
D-mannitol	0.265	0.238	0.247	0.250 ± 0.014	0.117	0.161	0.155	0.144 ± 0.024	0.072	0.079	0.097	0.083 ± 0.013
Soluble starch	0.156	0.157	0.163	0.159 ± 0.004	0.176	0.152	0.206	0.178 ± 0.027	0.073	0.066	0.056	0.065 ± 0.009
No PO ₄	0.167	0.160	0.170	0.166 ± 0.005	0.312	0.304	0.330	0.315 ± 0.013	0.103	0.118	0.126	0.116 ± 0.012
AlPO ₄	0.185	0.165	0.180	0.177 ± 0.010	0.320	0.324	0.320	0.321 ± 0.002	0.143	0.144	0.157	0.148 ± 0.008
NH ₄ Cl	0.253	0.241	0.230	0.241 ± 0.012	0.420	0.416	0.463	0.433 ± 0.026	0.327	0.297	0.338	0.321 ± 0.021
KNO ₃	0.393	0.372	0.381	0.382 ± 0.011	0.366	0.330	0.419	0.372 ± 0.045	0.631	0.545	0.649	0.608 ± 0.056
Urea	0.230	0.205	0.214	0.216 ± 0.013	0.458	0.468	0.465	0.464 ± 0.005	0.158	0.161	0.180	0.166 ± 0.012
L-alanine	0.367	0.367	0.344	0.359 ± 0.013	0.381	0.382	0.381	0.381 ± 0.001	0.395	0.399	0.436	0.410 ± 0.023
L-lysine	0.276	0.276	0.274	0.275 ± 0.001	0.428	0.418	0.413	0.420 ± 0.008	0.386	0.388	0.399	0.391 ± 0.007

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 42: ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ 405 นาโนเมตร ในการศึกษากิจกรรมของไซโทสเฟลาตของเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ DASA 57020 ที่เลี้ยงในอาหาร Pikovskaya ที่มีแหล่งปัจจัยต่างๆ

แหล่งปัจจัย	ค่า OD ₄₀₅ Intracellular enzyme											
	pH 5				pH 7				pH 9			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย±SD	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย±SD	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย±SD
Pikovskaya	0.018	0.020	0.008	0.015 ± 0.006	0.218	0.228	0.231	0.226 ± 0.007	0.042	0.043	0.050	0.045 ± 0.004
D-xylose	0.015	0.031	0.034	0.027 ± 0.010	0.073	0.075	0.078	0.075 ± 0.003	0.030	0.036	0.037	0.034 ± 0.004
D-fructose	0.022	0.020	0.011	0.018 ± 0.006	0.077	0.078	0.078	0.078 ± 0.001	0.016	0.019	0.028	0.021 ± 0.006
Sucrose	0.062	0.060	0.060	0.061 ± 0.001	0.096	0.058	0.060	0.071 ± 0.021	0.089	0.100	0.090	0.093 ± 0.006
Maltose	0.025	0.035	0.029	0.030 ± 0.005	0.117	0.115	0.117	0.116 ± 0.001	0.045	0.038	0.029	0.037 ± 0.008
D-sorbitol	0.021	0.038	0.024	0.028 ± 0.009	0.095	0.096	0.098	0.096 ± 0.002	0.064	0.052	0.055	0.057 ± 0.006
D-mannitol	0.087	0.097	0.096	0.093 ± 0.006	0.125	0.123	0.120	0.123 ± 0.003	0.032	0.028	0.027	0.029 ± 0.003
Soluble starch	0.077	0.081	0.064	0.074 ± 0.009	0.130	0.133	0.118	0.127 ± 0.008	0.056	0.059	0.064	0.060 ± 0.004
No PO ₄	0.004	0.005	0.002	0.004 ± 0.002	0.004	0.008	0.005	0.006 ± 0.002	0.000	0.000	0.000	0.000 ± 0.000
AlPO ₄	0.021	0.024	0.017	0.021 ± 0.004	0.001	0.003	0.009	0.004 ± 0.004	0.000	0.000	0.000	0.000 ± 0.000
NH ₄ Cl	0.057	0.038	0.039	0.045 ± 0.011	0.096	0.098	0.098	0.097 ± 0.001	0.043	0.029	0.044	0.039 ± 0.008
KNO ₃	0.036	0.026	0.033	0.032 ± 0.005	0.030	0.034	0.035	0.033 ± 0.003	0.029	0.022	0.033	0.028 ± 0.006
Urea	0.059	0.034	0.037	0.043 ± 0.014	0.027	0.036	0.049	0.037 ± 0.011	0.058	0.042	0.025	0.042 ± 0.017
L-alanine	0.021	0.031	0.012	0.021 ± 0.010	0.052	0.048	0.044	0.048 ± 0.004	0.170	0.165	0.167	0.167 ± 0.003
L-lysine	0.047	0.018	0.031	0.032 ± 0.015	0.059	0.050	0.053	0.054 ± 0.005	0.056	0.040	0.048	0.048 ± 0.008

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 43: ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ 405 นาโนเมตร ในการศึกษาการมอดินโซฟอสฟาเตสของเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ DASA 68056 ที่เลี้ยงในอาหาร Pikovskaya ที่มีแหล่งปัจจัยต่างๆ

แหล่งปัจจัย	ค่า OD ₄₀₅ Intracellular enzyme											
	pH 5				pH 7				pH 9			
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย±SD	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย±SD	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ค่าเฉลี่ย±SD
Pikovskaya	0.032	0.031	0.037	0.033 ± 0.003	0.091	0.083	0.083	0.086 ± 0.005	0.073	0.047	0.045	0.055 ± 0.016
D-xylose	0.017	0.034	0.050	0.034 ± 0.017	0.072	0.070	0.064	0.069 ± 0.004	0.058	0.044	0.054	0.052 ± 0.007
D-fructose	0.010	0.013	0.019	0.014 ± 0.005	0.064	0.057	0.058	0.060 ± 0.004	0.025	0.016	0.017	0.019 ± 0.005
Sucrose	0.043	0.040	0.038	0.040 ± 0.003	0.080	0.027	0.030	0.046 ± 0.030	0.041	0.045	0.048	0.045 ± 0.004
Maltose	0.065	0.078	0.094	0.079 ± 0.015	0.122	0.127	0.121	0.123 ± 0.003	0.085	0.087	0.085	0.086 ± 0.001
D-sorbitol	0.065	0.071	0.058	0.065 ± 0.007	0.111	0.115	0.112	0.113 ± 0.002	0.076	0.078	0.076	0.077 ± 0.001
D-mannitol	0.031	0.037	0.028	0.032 ± 0.005	0.087	0.088	0.092	0.089 ± 0.003	0.068	0.064	0.073	0.068 ± 0.005
Soluble starch	0.122	0.114	0.142	0.126 ± 0.014	0.091	0.090	0.092	0.091 ± 0.001	0.095	0.097	0.097	0.096 ± 0.001
No PO ₄	0.022	0.033	0.025	0.027 ± 0.006	0.000	0.004	0.000	0.001 ± 0.002	0.040	0.028	0.040	0.036 ± 0.007
AlPO ₄	0.037	0.037	0.033	0.036 ± 0.002	0.033	0.017	0.025	0.025 ± 0.008	0.025	0.032	0.029	0.029 ± 0.004
NH ₄ Cl	0.024	0.023	0.022	0.023 ± 0.001	0.082	0.089	0.087	0.086 ± 0.004	0.050	0.048	0.047	0.048 ± 0.002
KNO ₃	0.023	0.019	0.017	0.020 ± 0.003	0.077	0.069	0.067	0.071 ± 0.005	0.240	0.245	0.248	0.244 ± 0.004
Urea	0.021	0.020	0.016	0.019 ± 0.003	0.083	0.063	0.062	0.069 ± 0.012	0.019	0.026	0.027	0.024 ± 0.004
L-alanine	0.011	0.007	0.003	0.007 ± 0.004	0.054	0.070	0.068	0.064 ± 0.009	0.054	0.057	0.075	0.062 ± 0.011
L-lysine	0.018	0.024	0.020	0.021 ± 0.003	0.072	0.064	0.059	0.065 ± 0.007	0.052	0.053	0.030	0.045 ± 0.013

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

ตารางที่ 44: ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ 405 นาโนเมตร ในการศึกษากิจกรรมเอนไซม์ฟอสฟาเตสของเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ DASA 68066 ที่เลี้ยงในอาหาร Pikovskaya ที่มีแหล่งโปรตีนต่างๆ

แหล่งโปรตีน	ค่า OD ₄₀₅ Intracellular enzyme														
	pH 5			pH 7			pH 9			ค่าเฉลี่ย±SD					
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3			
Pikovskaya	0.184	0.217	0.209	0.203	± 0.017	0.355	0.381	0.356	0.364	± 0.015	0.238	0.276	0.238	0.251	± 0.022
D-xylose	0.015	0.018	0.015	0.016	± 0.002	0.051	0.047	0.048	0.049	± 0.002	0.062	0.060	0.063	0.062	± 0.002
D-fructose	0.017	0.019	0.024	0.020	± 0.004	0.047	0.044	0.057	0.049	± 0.007	0.046	0.044	0.045	0.045	± 0.001
Sucrose	0.036	0.035	0.038	0.036	± 0.002	0.076	0.097	0.049	0.074	± 0.024	0.066	0.067	0.068	0.067	± 0.001
Maltose	0.052	0.033	0.034	0.040	± 0.011	0.070	0.066	0.076	0.071	± 0.005	0.053	0.051	0.049	0.051	± 0.002
D-sorbitol	0.026	0.040	0.029	0.032	± 0.007	0.037	0.054	0.031	0.041	± 0.012	0.048	0.048	0.049	0.048	± 0.001
D-mannitol	0.033	0.016	0.015	0.021	± 0.010	0.099	0.100	0.101	0.100	± 0.001	0.155	0.154	0.152	0.154	± 0.002
Soluble starch	0.050	0.052	0.065	0.056	± 0.008	0.057	0.056	0.058	0.057	± 0.001	0.039	0.043	0.033	0.038	± 0.005
No PO ₄	0.108	0.105	0.109	0.107	± 0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	± 0.000	0.005	0.006	0.008	0.006	± 0.002
AlPO ₄	0.086	0.073	0.083	0.081	± 0.007	0.003	0.003	0.003	0.003	± 0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	± 0.000
NH ₄ Cl	0.029	0.015	0.016	0.020	± 0.008	0.035	0.026	0.027	0.029	± 0.005	0.049	0.062	0.049	0.053	± 0.008
KNO ₃	0.042	0.033	0.030	0.035	± 0.006	0.028	0.032	0.035	0.032	± 0.004	0.025	0.024	0.024	0.024	± 0.001
Urea	0.078	0.083	0.080	0.080	± 0.003	0.007	0.012	0.022	0.014	± 0.008	0.012	0.013	0.012	0.012	± 0.001
L-alanine	0.216	0.217	0.218	0.217	± 0.001	0.035	0.035	0.050	0.040	± 0.009	0.007	0.000	0.005	0.004	± 0.004
L-lysine	0.028	0.049	0.021	0.033	± 0.015	0.006	0.014	0.016	0.012	± 0.005	0.005	0.003	0.007	0.005	± 0.002

*: ค่าเฉลี่ย ± Standard deviation

มหาวิทยาลัยศิลปากร ภาคผนวก จ สงวนลิขสิทธิ์

คำอธิบายคำย่อ

คำย่อ	=	คำเต็ม
bp	=	base pair
° C	=	degree Celsius
rDNA	=	ribosomal deoxyribonucleic acid
rRNA	=	ribosomal ribonucleic acid
M	=	molarity
kb	=	kilobase
L	=	liter
mg	=	milligram
ml	=	milliliter
OD	=	optical density
U	=	unit
µg	=	microgram
µl	=	microliter
Fe-protein	=	dinitrogenase reductase protein
Mo-Fe protein	=	nitrogenase molybdenum-iron protein
EPS	=	exopolysaccharide
NF	=	Nod-factor
LCO	=	lipochitooligosaccharide
PCR	=	Polymerase chain reaction
IAA	=	Indole-3-acetic acid

มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ สงวนลิขสิทธิ์

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาวชนชนก ลีพหาวงศ์
ที่อยู่	103 ซอยเพชรเกษม 55/1 ถนนเพชรเกษม แขวงหลักสอง เขตบางแค กรุงเทพมหานคร 10160
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2548	สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา ภาควิชา จุลชีววิทยา จากมหาวิทยาลัยศิลปากร พระราชวังสนามจันทร์ นครปฐม
พ.ศ. 2549	ศึกษาต่อระดับปริญญาโท สาขาวิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์