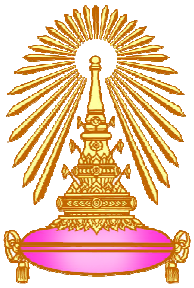

รายงานการวิจัย

การแยกและศึกษาสมบัติของเชื้อเอนโดไฟท์ที่เจริญอยู่ในมันสำปะหลัง และการนำมาประยุกต์ใช้

Isolation and characterization of endophytes in cassava and their applications

โดย

รองศาสตราจารย์ ดร.วันชัย อัศวลาภสกุล

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผู้ร่วมวิจัย

รองศาสตราจารย์ ดร.กนกพร ไตรวิทยากร

ดร.ศุภจิต สระเพชร

สถาบันชีววิทยาศาสตร์โมเลกุล มหาวิทยาลัยมหิดล

อาจารย์ ดร.ณัฐพล อภิรติกุล

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

อาจารย์ ดร.วัฒนชัย จำปาทอง

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

มีนาคม ๒๕๖๑

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินอุดหนุนทั่วไปจากรัฐบาล

ประจำปีงบประมาณ ๒๕๖๐

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง “การแยกและศึกษาสมบัติของเชื้อเอนโดไฟท์ที่เจริญอยู่ในมันสำปะหลัง และการนำมาประยุกต์ใช้” มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประชากรเอนโดไฟท์ที่เจริญอยู่ในมันสำปะหลัง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ห้วยบง 60 สายพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และ สายพันธุ์พิรุณ 1 และศึกษาสมบัติของเอนโดไฟท์ที่แยกได้และความสามารถในการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในรูปแบบต่าง ๆ เพื่อเป็นประโยชน์ต่อวงการเกษตร อุตสาหกรรม และการแพทย์ในอนาคต รวมถึงการสร้างองค์ความรู้ใหม่ โดยโครงการนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินอุดหนุนทั่วไปจากรัฐบาล ประจำปีงบประมาณ 2560

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ นักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ทุกท่านในภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สถาบันชีววิทยาศาสตร์โมเลกุล มหาวิทยาลัยมหิดล คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และทุกหน่วยงาน ที่ได้ให้ความร่วมมือเป็นอย่างดีในการดำเนินการวิจัย

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ นิสิตและนักวิจัยหลังปริญญาเอกทุกคน ในห้องปฏิบัติการ 2014 ชั้น 20 อาคารมหาวชิรุณหิศ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย รวมถึงทุกท่านที่มิได้กล่าวนาม ซึ่งมีส่วนร่วมให้โครงการนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดีสมตามความมุ่งหมาย

รองศาสตราจารย์ ดร.วันชัย อัศวลาภสกุล หัวหน้าโครงการ

และ คณะผู้วิจัย

โครงการวิจัยเรื่อง การแยกและศึกษาสมบัติของเชื้อเอนโดไฟท์ที่เจริญอยู่ในมันสำปะหลัง และการนำมาประยุกต์ใช้

หัวหน้าโครงการวิจัย รองศาสตราจารย์ ดร.วันชัย อัศวลาภสกุล
ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินอุดหนุนทั่วไปจากรัฐบาล ประจำปีงบประมาณ ๒๕๖๐

จำนวนเงิน **๙๕๐,๐๐๐ บาท**

ระยะเวลาการทำวิจัย ๑ ปี ๖ เดือน เริ่มทำการวิจัยเมื่อ ตุลาคม ๒๕๕๙ ถึง มีนาคม ๒๕๖๑

โครงการนี้เป็นโครงการปีที่ 2 ของการศึกษาหาเอนโดไฟท์ที่เจริญอยู่ในส่วนต่าง ๆ ของมันสำปะหลังที่เจริญอยู่ร่วมกับมันสำปะหลังจำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ 1) พันธุ์ห้วยบง 60 2) พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และ 3) พันธุ์พิรุณ 1 สามารถแยกเอนโดไฟท์ได้ 67, 60, และ 42 ไอโซเลทตามลำดับ จากนั้นนำประชากรเอนโดไฟท์ที่แยกได้มาทดสอบสมบัติทางชีวภาพที่มีประโยชน์ในการดำรงชีวิตต่อพืช ได้แก่ ความสามารถในการสร้างกรดอินโดลอะซีติก ความสามารถในการเพิ่มการละลายฟอสเฟต และการสร้างสารไซเดอโรฟอร์ รวมถึงการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ 16S rDNA พบว่า เอนโดไฟท์มีสมบัติในการสร้างกรดอินโดลอะซีติก สมบัติในการละลายฟอสเฟตในดิน และสมบัติในการสร้างสารไซเดอร์โรฟอร์ ที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับไอโซเลท เอนโดไฟท์ที่แยกได้จำนวน 2 ไอโซเลท ได้แก่ $PR1_{s}$-1 และ $HB60_{r}$-9 ได้ถูกนำมาศึกษาในการแยกอนุพันธ์กรดอินโดลอะซีติก ผลการทดลองพบว่า อนุพันธ์ของกรดอินโดลอะซีติก ถูกแยกอยู่ในส่วนของตัวทำละลายเอทิลอะซิเทตและเฮกเซนที่สกัดจากอาหารเลี้ยงเชื้อเอนโดไฟท์ $PR1_{s}$-1 และ $HB60_{r}$-9 ตามลำดับ ซึ่งสารดังกล่าวจะถูกนำมาทำให้บริสุทธิ์ เพื่อศึกษาองค์ประกอบและโครงสร้างของสารต่อไป นอกจากนี้ งานวิจัยนี้ได้ศึกษาแบคทีเรียที่มีสมบัติในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสที่ช่วยในการย่อยสลายซากพืชจากดินที่ปลูกมันสำปะหลัง 3 สายพันธุ์ ในระยะเวลา 3, 6, 9 และ 12 เดือน ผลการศึกษาพบว่า สามารถคัดแยกแบคทีเรียที่มีสมบัติในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส จำนวน 86 ไอโซเลท และเมื่อศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ 16S rDNA จำนวน 68 ไอโซเลท พบว่าไอโซเลทส่วนใหญ่ (67 ไอโซเลท จาก 68 ไอโซเลท) อยู่ในสกุล *Bacillus* ซึ่งไอโซเลทที่แยกได้จะถูกนำมาศึกษาสมบัติของเอนไซม์เซลลูเลสที่จำเพาะและประยุกต์ใช้ต่อไป

Project Title	Isolation and characterization of endophytes in cassava and their applications
Principle Investigator	Associate Professor Wanchai Assavalapsakul, Ph.D. Department of Microbiology, Faculty of Science, Chulalongkorn University
Granted for research from office of the National Research Council of Thailand	
Research Budget	950,000 Baht
Durations	1 year and 6 months (October 2016 - March 2018)

This is the second-year project to study the endophyte co-existing in different parts of 3 strains of cassava plant. Sixty-seven, sixty and forty-two endophytes were respectively isolated from Cassava strain HB60 (Huay Bong 60), KU50 (Kasetsart 50) and PR1 (Pirun-1). To find the bioactive substance, those isolated endophytes were examined the ability of producing indoles acetic acid, enhancing phosphate solubility and siderophore, thereafter, the species were determined by 16S rDNA sequencing. The study showed the ability to produce bioactive reagent is vary from isolate to isolate. As a preliminary study, the 2 isolated endophytes, which are $PR1_s$-1 and $HB60_r$-9, were selected to examined the capability to produce indole acetic acid's derivative. It showed that substances contained in ethyl-acetate and hexane fractions, respectively. The component and chemical structure of the constitutents in those two fractions will be determined in the further work. This work also studied the cellulase-producing bacteria from 3 strains of cassava within 3, 6, 9 and 12 month of cultivation period. The results showed eighty-six isolates of cellulase producing bacteria were isolated from the soil. Based on nucleotide within 16s rDNA, most of them (67 of 68 isolates) were described as a genus of *Bacillus*. Regarding this result, the enzyme in which these bacteria produced will be characterized and be applied in the future.

รายนามคณะผู้วิจัย

1. รศ.ดร.วันชัย อัศวลาภสกุล	หัวหน้าโครงการวิจัย ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โทรศัพท์ 0-2218-5096 โทรสาร 0-2252-7576 อีเมล์ wanchai.a@chula.ac.th
2. รศ.ดร.กนกพร ไตรวิทยากร	สถาบันชีววิทยาศาสตร์โมเลกุล มหาวิทยาลัยมหิดล
3. ดร.ศุภจิต สระเพชร	สถาบันชีววิทยาศาสตร์โมเลกุล มหาวิทยาลัยมหิดล
4. อาจารย์ ดร.ณัฐพล อภิรติกุล	คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
5. อาจารย์ ดร.วัฒนชัย จำปาทอง	คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
6. นายรพี สินเนืองนอง	นิสิตปริญญาเอก หลักสูตรวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา
7. นางสาววิลาสินี ระวีกุล	นิสิตปริญญาโท หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาและเทคโนโลยีจุลินทรีย์
8. นางสาวพิชญ์วสุ เอี่ยมยั่งยืน	นิสิตปริญญาโท หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาและเทคโนโลยีจุลินทรีย์

สารบัญเรื่อง (Table of Contents)

กิตติกรรมประกาศ ก

บทคัดย่อภาษาไทย ข

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ค

รายนามคณะผู้วิจัย ง

สารบัญเรื่อง (Table of Contents) จ

สารบัญตาราง (List of Tables) ฉ

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย (List of Abbreviations) ซ

บทนำ (Introduction) 1

เนื้อเรื่อง (Main Body) 5

การแยกและศึกษาสมบัติของเชื้อเอนโดไฟท์ที่เจริญอยู่ในมันสำปะหลัง 5

วิธีดำเนินการวิจัย (Materials and Methods) 5

ผลการวิจัย (Results) 8

การคัดแยกและศึกษาสมบัติของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสจากดินที่ปลูกมันสำปะหลัง 33

วิธีดำเนินการวิจัย (Materials and Methods) 34

ผลการวิจัย (Results) 35

อภิปราย / วิจารณ์ (Discussion) ผลการวิจัย 47

สรุปและเสนอแนะเกี่ยวกับการวิจัยในขั้นต่อไป 50

บรรณานุกรม (Bibliography) 55

ภาคผนวก (Appendix) 62

ประวัตินักวิจัยและคณะ พร้อมหน่วยงานสังกัด 63

สารบัญตาราง (Table of Tables)

ตารางที่		หน้า
1	ไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากลำต้นก่อนทำการปลูก (ระยะเวลา 0 เดือน)	8
2	สมบัติของไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากลำต้นก่อนทำการปลูก (ระยะเวลา 0 เดือน)	9
3	ไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากลำต้นหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 3 เดือน	10
4	สมบัติของไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากลำต้นหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 3 เดือน	11
5	ไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากใบหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 3 เดือน	11
6	สมบัติของไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากใบหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 3 เดือน	12
7	ไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากลำต้นหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 6 เดือน	13
8	สมบัติของไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากลำต้นหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 6 เดือน	14
9	ไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากใบหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 6 เดือน	15
10	สมบัติของไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากใบหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 6 เดือน	16
11	ไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากหัวมันสำปะหลังหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 6 เดือน	17
12	สมบัติของไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากหัวมันสำปะหลังหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 6 เดือน	18
13	ไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากลำต้นหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 9 เดือน	19
14	สมบัติของไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากลำต้นหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 9 เดือน	20
15	ไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากใบหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 9 เดือน	21
16	สมบัติของไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากใบหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 9 เดือน	22
17	ไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากหัวมันสำปะหลังหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 9 เดือน	23
18	สมบัติของไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากหัวมันสำปะหลังหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 9 เดือน	24
19	ไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากลำต้นหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 12 เดือน	25
20	สมบัติของไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากลำต้นหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 12 เดือน	26
21	ไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากใบหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 12 เดือน	27
22	สมบัติของไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากใบหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 12 เดือน	28
23	ไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากหัวมันสำปะหลังหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 12 เดือน	29

สารบัญตาราง (Table of Tables) (ต่อเนื่อง)

ตารางที่		**หน้า**
24	สมบัติของไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากหัวมันสำปะหลังหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 12 เดือน	30
25	การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่คัดแยกได้จากมันสำปะหลังเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล GenBank	31
26	จำนวนของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสจากดินที่ปลูกมันสำปะหลังในเวลาต่าง ๆ	35
27	ไอโซเลทแบคทีเรียที่แยกได้จากดินที่มีการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส (ระยะเวลา 3 เดือน)	36
28	ไอโซเลทแบคทีเรียที่แยกได้จากดินที่มีการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส (ระยะเวลา 6 เดือน)	37
29	ไอโซเลทแบคทีเรียที่แยกได้จากดินที่มีการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส (ระยะเวลา 9 เดือน)	38
30	ไอโซเลทแบคทีเรียที่แยกได้จากดินที่มีการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส (ระยะเวลา 12 เดือน)	39
31	การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสจากดินที่ปลูกมันสำปะหลังเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล GenBank	40

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย (Abbreviations)

HB60	มันสำปะหลัง สายพันธุ์ห้วยบง 60
KU50	มันสำปะหลัง สายพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50
PR1	มันสำปะหลัง สายพันธุ์พิรุณ 1

บทนำ

มันสำปะหลัง (Casssava, *Manihot esculenta*) เป็นพืชเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศไทยที่ก่อให้เกิดรายได้เข้าสู่ประเทศไทยเป็นจำนวนมาก เนื่องจากมันสำปะหลังสามารถนำไปแปรรูปเพื่อนำไปใช้ในอุตสาหกรรมแป้ง อาทิเช่น แป้งมันสำปะหลัง มันสำปะหลังอัดเม็ด และมันสำปะหลังเส้น เป็นต้น และอุตสาหกรรมอาหารทั้งคนและสัตว์ (ฐานข้อมูลมันสำปะหลัง, สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร, 2557) นอกจากนี้ ทุกส่วนของต้นมันสำปะหลังสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ คุณภาพของมันสำปะหลังและปริมาณแป้งในหัวมันสำปะหลัง ถือเป็นปัจจัยหลักในการที่จะก่อให้เกิดมูลค่า สำหรับพันธุ์ของมันสำปะหลังได้มีการปรับปรุงมาตลอด (เอกสารวิชาการมันสำปะหลัง, กรมพัฒนาที่ดิน) และ มีงานวิจัยที่สนับสนุนเป็นจำนวนมากจากหลายหน่วยงานและความร่วมมือจากภาครัฐ อาทิเช่น ศูนย์วิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร กรมพัฒนาที่ดิน ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (ไบโอเทค) เป็นต้น หน่วยงานจากภาคอุดมศึกษา อาทิเช่น หน่วยวิจัยเทคโนโลยีชีวโมเลกุลมันสำปะหลัง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล กลุ่มวิจัยพืช สถาบันชีววิทยาศาสตร์โมเลกุล มหาวิทยาลัยมหิดล สถาบันวิจัยศรีราชา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เป็นต้น หน่วยงานที่ไม่หวังผลกำไร อาทิเช่น สถาบันพัฒนามันสำปะหลังแห่งประเทศไทย เป็นต้น และในปัจจุบันได้มีการนำเทคโนโลยีต่าง ๆ มาใช้ภายในประเทศ เพื่อศึกษาอุตสาหกรรมมันสำปะหลัง ตั้งแต่ต้นน้ำสู่ปลายน้ำ กล่าวคือ ตั้งแต่การผลิตโดยภาคการเกษตร การแปรรูปของภาคอุตสาหกรรม ตลอดจนผลกระทบที่เกิดขึ้นต่อสิ่งแวดล้อม รวมถึงการนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ซึ่งช่วยสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับอุตสาหกรรมมันสำปะหลัง เพิ่มรายได้ และสร้างชีวิตความเป็นอยู่ที่ดีกับเกษตรกร เศรษฐกิจของประเทศดีขึ้น รวมทั้งลดผลกระทบที่เกิดขึ้นต่อสิ่งแวดล้อมได้อย่างยั่งยืน โดยการบูรณาการงานวิจัยและพัฒนา การใช้งบประมาณที่เกี่ยวข้องในด้านต่าง ๆ อย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อแก้ไขปัญหาตลอดห่วงโซ่อุตสาหกรรมมันสำปะหลัง (ฝ่ายบริหารคลัสเตอร์และโปรแกรมวิจัย, 2554)

มันสำปะหลังที่เลือกใช้ในการศึกษานี้ มี 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ห้วยบง 60 สายพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และ สายพันธุ์พิรุณ 1 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่นิยมปลูก และได้รับคำแนะนำจากคณะผู้วิจัย (รองศาสตราจารย์ ดร.กนกพร ไตรวิทยากร และ ดร.ศุภจิต สระเพชร) ซึ่งเป็นผู้เชี่ยวชาญในการพัฒนาพันธุ์มันสำปะหลังด้วยวิธีการผสมพันธุ์ โดยมีรายละเอียดของแต่ละสายพันธุ์ดังนี้

มันสำปะหลัง สายพันธุ์ห้วยบง 60 (กรมวิชาการเกษตร, 2014)

มันสำปะหลังสายพันธุ์ห้วยบง 60 เป็นพันธุ์ที่พัฒนาโดยความร่วมมือของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์และมูลนิธิมันสำปะหลังแห่งประเทศไทย ได้จากการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์ระยอง 5 และพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 เมื่อปี พ.ศ.2534 ได้ผ่านการประเมินผลผลิตมากกว่า 30 การทดลอง ได้รับพระราชทานชื่อพันธุ์จากสมเด็จ

พระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารีว่า “ห้วยบง 60” รับรองพันธุ์โดยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เมื่อวันที่ 11 มีนาคม พ.ศ.2546 ลักษณะเด่นประจำสายพันธุ์ คือ ยอดอ่อนสีม่วงอ่อน ใบและก้านสีเขียวอมม่วง ใบมีขนอ่อน ลำต้นสีเขียวเงิน ต้นสูง 180-200 เซนติเมตร แตกกิ่งแรกระดับ 90-140 เซนติเมตร หัวยาวเรียว มีลักษณะคอดเป็นปล้องเล็กน้อย เปลือกหัวสีน้ำตาลอ่อน เนื้อสีขาว เปอร์เซ็นต์แป้งเฉลี่ย 25.4%

ข้อดีของสายพันธุ์ห้วยบง 60 คือ ท่อนพันธุ์เก็บรักษาได้ค่อนข้างนาน (3-4 สัปดาห์) อัตราการงอกสูง มีเปอร์เซ็นต์แป้งสูง และคุณภาพแป้งดี

ข้อเสียของสายพันธุ์ห้วยบง 60 คือ ลำต้นสั้น ใช้ทำพันธุ์ได้น้อย ควรเก็บเกี่ยวเมื่ออายุน้อยกว่า 10 เดือน เนื่องจากจะมีเสี้ยนในหัวมันมาก เมื่ออายุมาก

มันสำปะหลัง สายพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 (กรมวิชาการเกษตร, 2014)

มันสำปะหลังสายพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 เป็นสายพันธุ์ลูกผสมระหว่างพันธุ์ระยอง 1 และพันธุ์ระยอง 90 (ผสมขึ้นในปี พ.ศ.2527) ลักษณะเด่นประจำสายพันธุ์ คือ มียอดอ่อนสีม่วง ใบแก่สีเขียวเข้ม และมีก้านใบสีเขียวอมม่วง ลำต้นสีเขียวเงิน ความสูงเฉลี่ย 2 เมตร แตกกิ่งแรกระดับ 150 เซนติเมตร ลำต้นตรง เปลือกหัวสีขาวนวล เนื้อสีขาว เปอร์เซ็นต์แป้ง 23% (ฤดูฝน) หรือ 28% (ฤดูแล้ง)

ข้อดีของสายพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 คือ มีความแข็งแรง ทนแล้ง อัตราการงอกดี ให้ผลผลิตสูง ปรับตัวกับสภาพแวดล้อมได้ดี ท่อนพันธุ์ทนแล้งได้ดีกว่าท่อนพันธุ์อื่นๆ เพราะมีอาหารสะสมมาก ลำต้นตรง ทำให้สามารถตัดเป็นท่อนพันธุ์ปลูกได้จำนวนมาก

ข้อเสียของสายพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 คือ หากเก็บเกี่ยวในฤดูฝน หรือปลูกในดินทรายที่มีการจัดการธาตุอาหารไม่ดี จะทำให้เปอร์เซ็นต์แป้งต่ำ หัวมันไม่ชิดต้น ส่วนโคนของหัวเป็นก้านค่อนข้างยาวเมื่อถอนจะขาดอยู่ในดิน ไม่เหมาะปลูกในพื้นที่ที่เป็นดินเหนียวจัด

มันสำปะหลัง สายพันธุ์พิรุณ 1 (กรมวิชาการเกษตร, 2014)

มันสำปะหลังสายพันธุ์พิรุณ 1 พัฒนาขึ้นจากความร่วมมือของกรมวิชาการเกษตร สถาบันชีววิทยาศาสตร์โมเลกุล มหาวิทยาลัยมหิดล และ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ โดยได้รับการสนับสนุนงบประมาณการวิจัยจากสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ตั้งแต่ปี พ.ศ.2549 จากลูกผสมมันสำปะหลังรุ่นที่ 1 ระหว่างพันธุ์ห้วยบง 60 และพันธุ์ห้านาที ลักษณะเด่นประจำสายพันธุ์ คือ มียอดอ่อนสีม่วงอมเขียว ก้านใบสีเขียวปนแดง ลำต้นสีเขียวเงิน ความสูงเฉลี่ย 2.35 เมตร แตกกิ่งแรกระดับ 90-150 เซนติเมตร ลำต้นตรง เปลือกหัวสีน้ำตาลเข้ม เนื้อสีขาว เปอร์เซ็นต์แป้ง 28.7%

ข้อดีของสายพันธุ์พิรุณ 1 คือ ให้ผลผลิตสูง เปอร์เซ็นต์แป้งในหัวสูง ใช้ปุ๋ยน้อยกว่าพันธุ์รับรองทั่วไป เหมาะปลูกในดินร่วนปนทรายมากที่สุด รองลงมาคือ ดินร่วนปนเหนียว ดินเหนียวสีแดง ดินทรายร่วน และดินเหนียวสีดำ

ข้อเสียของสายพันธุ์พิรุณ 1 คือ ถ้าปลูกในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์สูง การเจริญเติบโตส่วนเหนือดินจะมากกว่าการให้ผลผลิต

เอนโดไฟท์ เป็นจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในหรือระหว่างเนื้อเยื่อพืช โดยไม่ก่อให้เกิดผลเสียหรืออันตรายต่อพืชชนิดนั้น ๆ โดยมากจะเป็นจำพวกแบคทีเรียหรือรา มีการอาศัยอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัยกัน (Mutualism) ได้ประโยชน์ร่วมกัน ช่วยส่งเสริมการเจริญโตของพืช (Spiering et al., 2006) เอนโดไฟท์ส่วนใหญ่ ผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพซึ่งมีประโยชน์ในการดำรงชีวิตต่อพืช (Lahrmann and Zuccaro, 2012; Lahrmann et al., 2013; Zuccaro et al., 2014) รวมถึง phyto- หรือ plant hormone (Clark et al., 2013; Khan et al., 2014) ปัจจุบันมีการศึกษาค้นพบเอนโดไฟท์ที่อาศัยอยู่กับพืชเป็นจำนวนมาก นอกจากนี้ยังพบว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพใหม่ ๆ ผลิตจากเอนโดไฟท์และสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในด้านต่าง ๆ อาทิเช่น เกษตรกรรม อุตสาหกรรม และการแพทย์ ปัจจุบันมีการศึกษาเกี่ยวกับเอนโดไฟท์ที่มีศักยภาพเหล่านี้ เพื่อที่จะนำมาใช้ในขบวนการเทคโนโลยีชีวภาพ โดยมุ่งเน้นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น สารเมทาบอไลท์ทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ที่เป็นศัตรูพืช จำพวก alkaloids, tetraone quinines, terpenoids และ peptides (Mousa and Raizada, 2013) หรือ endotoxin (Monnerat et al., 2007; 2009) และ เอนไซม์ต่าง ๆ อาทิเช่น beta-1,6 glucanase (Moy et al., 2002) และ chitinase (Li et al., 2004) ที่ผลิตได้จากเอนโดไฟท์และสามารถยับยั้งแมลงศัตรูพืชได้ นอกจากนี้ยังสามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีสมบัติแตกต่างกันมากมายหลายรูปแบบ อาทิเช่น สารปฏิชีวนะ (Hazalin et al., 2009, Yu et al., 2010) สารต้านอนุมูลอิสระ (Muresu et al., 2013; Ye et al., 2013) สารต้านมะเร็ง (Chandra et al., 2012; Shweta et al., 2013) เป็นต้น อย่างไรก็ดี การเจริญเติบโตของเอนโดไฟท์ร่วมกับต้นพืชนั้น มีปัจจัยหลายอย่างที่เกี่ยวข้อง อาทิเช่น ลักษณะพื้นที่ ลักษณะภูมิอากาศ ลักษณะทางสรีรวิทยาและความจำเพาะของเนื้อเยื่อพืช ซึ่งปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้ส่งผลต่อการปรับตัวในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน รวมทั้งส่งผลให้รูปแบบประชากรของเอนโดไฟท์มีความจำเพาะต่อสภาพแวดล้อมและเนื้อเยื่อของพืชที่แตกต่างกันอีกด้วย (Ding et al., 2013)

ปัจจุบันกล่าวได้ว่า เอนโดไฟท์ เป็นจุลินทรีย์ที่ผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพใหม่ ๆ ที่จะเป็นต้นแบบในการที่จะนำไปใช้ประโยชน์หลาย ๆ ด้านในภายภาคหน้า สำหรับการศึกษาเอนโดไฟท์ในมันสำปะหลังนั้น แทบจะไม่มีรายงานการศึกษาเอนโดไฟท์ รวมถึงสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้จากเอนโดไฟท์ที่เจริญร่วมกับมันสำปะหลัง ดังนั้น โครงการวิจัยนี้จึงเป็นการศึกษาเอนโดไฟท์ที่อาศัยอยู่ร่วมกับมันสำปะหลัง โดยมีวัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาประชากรของเอนโดไฟท์ และเก็บรวบรวมเอนโดไฟท์ที่เจริญร่วมกับมันสำปะหลังในส่วนต่าง ๆ ที่ปลูกในพื้นที่จังหวัดระยอง เพื่อนำไปศึกษาสปีชีส์เอนโดไฟท์ดังกล่าว พร้อมทั้งทำการคัดแยกเชื้อเอนโดไฟท์ที่มีประสิทธิภาพในการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ในรูปแบบที่เหมาะสมกับเชื้อชนิดนั้น ๆ รวมถึงการแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและการศึกษาโครงสร้างของสารดังกล่าว

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. ศึกษาประชากร และเก็บรวบรวมเอนโดไฟท์ที่เจริญร่วมอยู่ในส่วนต่าง ๆ ของมันสำปะหลัง
2. ศึกษาและแยกเชื้อเอนโดไฟท์ที่มีประสิทธิภาพในการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ
3. ศึกษาและแยกเชื้อเอนโดไฟท์ที่มีประโยชน์ต่อการเจริญของมันสำปะหลัง

ขอบเขตของโครงการวิจัย

โครงการนี้เป็น การศึกษาหาเอนโดไฟท์ (Endophyte) ที่เจริญอยู่ในส่วนต่าง ๆ ของมันสำปะหลังที่เจริญอยู่ร่วมกับมันสำปะหลังในช่วงระยะเวลาการเจริญเติบโตที่ต่างกัน จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ 1) พันธุ์ห้วยบง 60 2) พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และ 3) พันธุ์พิรุณ 1 ซึ่งจะทำการศึกษาหาเอนโดไฟท์ในช่วงก่อนปลูก และหลังจากการลงแปลงไปเป็นระยะเวลา 3, 6, 9 และ 12 เดือน ตามลำดับ โดยมันสำปะหลังดังกล่าวจะทำการเพาะปลูกในพื้นที่จังหวัดระยอง เมื่อถึงกำหนดตามระยะเวลาที่กำหนดไว้ จึงทำการเก็บส่วนต่าง ๆ ของต้นมันสำปะหลัง เพื่อนำมาแยกและศึกษาเอนโดไฟท์ที่เจริญในส่วนต่าง ๆ ของมันสำปะหลัง จากนั้นจึงนำเอนโดไฟท์ที่มีความสามารถในการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในรูปแบบต่าง ๆ รวมถึงสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ และสารออกฤทธิ์ที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังมาทำการศึกษา

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงประชากรเอนโดไฟท์ (Endophyte) ที่เจริญอยู่ในส่วนต่าง ๆ ของมันสำปะหลัง
2. ทราบถึงเอนโดไฟท์ (Endophyte) ที่ที่มีประโยชน์ต่อการเจริญของมันสำปะหลัง
3. ฐานข้อมูลของประชากรเอนโดไฟท์ที่เจริญร่วมกับมันสำปะหลัง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ห้วยบง 60 สายพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และสายพันธุ์พิรุณ 1

เนื้อเรื่อง (Main Body)

วิธีการดำเนินการวิจัย (Materials & Methods)

การคัดแยกและศึกษาลักษณะสมบัติของเอนโดไฟท์จากมันสำปะหลัง

1. ลักษณะสัณฐานของเอนโดไฟท์

นำเชื้อเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากตัวอย่าง (ลำต้น หรือ ใบ หรือ หัวมันสำปะหลัง) มาศึกษาลักษณะสัณฐานของเอนโดไฟท์ที่แยกได้ ได้แก่ สี ขนาด ลักษณะการเจริญ ขอบของโคโลนี จากนั้นบันทึกผลในตาราง

2. ศึกษาสมบัติของเอนโดไฟท์ที่แยกได้

2.1 ความสามารถในการสร้างกรดอินโดลอะซีติก (Indole-3-acetic acid, IAA, 3-IAA)

2.1.1 เขี่ยโคโลนีเดี่ยวของเชื้อเอนโดไฟท์ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่มีกรดอะมิโนทริปโตเฟน 0.001% จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พร้อมเขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

2.1.2 ดูดสารละลายเชื้อ 200 ไมโครลิตร ลงในหลอด 1.5 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5,000 รอบ เป็นเวลา 5 นาที

2.1.3 ดูดส่วนใส 100 ไมโครลิตร มาทำปฏิกิริยากับสารละลาย Salkowski 100 ไมโครลิตร ทิ้งไว้เป็นเวลา 20 นาทีแล้วบันทึกผล

โดย ผลบวก : สารละลายเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีชมพู

ผลลบ : สารละลายไม่มีการเปลี่ยนสี (สีเหลือง)

2.2 ความสามารถในการเพิ่มการละลายฟอสเฟต

2.2.1 เขี่ยโคโลนีเดี่ยวของเชื้อเอนโดไฟท์ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikoskaya’s medium (PVK) จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

2.2.2 ตรวจผลโดยวัดบริเวณใส (clear zone) เป็นหน่วยมิลลิเมตร (มม.)

2.3 การสร้างสารไซเดอโรฟอร์

ขีดเชื้อเอนโดไฟท์เป็นเส้นตรงลงบนอาหาร Chrome Azurol S (CAS) (ภาคผนวก) และบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 ถึง 7 วัน จากนั้นตรวจสอบโซนสีเหลืองรอบๆ โคโลนีที่ขีด ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีการสร้างสารไซเดอโรฟอร์ขึ้น

โดย ผลบวก : มีโซนสีเหลืองรอบๆ โคโลนีที่ขีด

ผลลบ : ไม่มีโซนสีเหลืองรอบๆ โคโลนีที่ขีด

3. การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ 16S rDNA (16S rDNA sequencing)

3.1 เขี่ยโคโลนีเดี่ยวจากอาหาร Nutrient agar (NA) ใส่สารละลาย DNAzol (Invitrogen, UK) ปริมาตร 50 ไมโครลิตรในหลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 g เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทำการดูดส่วนใสใส่หลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตรใหม่และเติม 100% เอทานอล (เย็น) ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 นาทีและนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 g เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ต่อมาเติมสารละลาย 75% เอทานอล ปริมาตร 100 ไมโครลิตร แล้วจึงนำไปปั่นเหวี่ยงที่ ความเร็วรอบ 10,000 g เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เทสารละลายทิ้งและละลายตะกอนดีเอ็นเอที่ได้ด้วยน้ำปราศจากเชื้อปริมาตร 30 ไมโครลิตร นำสารละลายดีเอ็นเอที่ได้ไปเป็นต้นแบบสำหรับทำปฏิกิริยา PCR ต่อไป

3.2 เตรียม Master mix สำหรับทำ Polymerase chain reaction (PCR) มีส่วนประกอบดังนี้

น้ำ	9.3	ไมโครลิตร
10X Taq buffer	2	ไมโครลิตร
25 mM $MgCl_2$	1	ไมโครลิตร
10 mM dNTPs	0.2	ไมโครลิตร
10 µM Forward primer (27F)	0.2	ไมโครลิตร
10 µM Reverse primer (1492R)	0.2	ไมโครลิตร
Taq DNA polymerase (5 Units/µl)	0.1	ไมโครลิตร
สารละลายดีเอ็นเอ (ข้อ 3.1)	7	ไมโครลิตร

จากนั้นนำเข้าเครื่อง PCR โดยมีสภาวะดังนี้

94 องศาเซลเซียส	3 นาที	1	รอบ
94 องศาเซลเซียส	30 วินาที		
57 องศาเซลเซียส	30 วินาที	35	รอบ
72 องศาเซลเซียส	2 นาที		
72 องศาเซลเซียส	6 นาที	1	รอบ
25 องศาเซลเซียส	ไปเรื่อย ๆ		

3.3 ทำการตกตะกอนผลิตภัณฑ์ PCR ด้วย 1/10 Volume ของ 3 M NaOAc และ 2 Volume ของ Ethanol แช่ทิ้งไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

3.4 นำมาปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 13,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาทีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เทส่วนน้ำใส (supernatant) ทิ้ง และล้างด้วย 75% Ethanol 750 ไมโครลิตร ตากตะกอนให้แห้ง เมื่อตะกอนแห้งสนิทแล้ว เติมน้ำ 20 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน

3.5 นำตัวอย่างมาตรวจสอบด้วยอิเล็กโทรโฟรีซิสในอะกาโรสเจล (Agarose Gel Electrophoresis) และนำไปทำให้บริสุทธิ์ ก่อนส่งไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยไพร์เมอร์ 27F, 800R และ 1492R

3.6 นำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาวิเคราะห์ผลโดยเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล GenBank เพื่อระบุชนิดของแบคทีเรียเอนโดไฟท์

4.วิธีการสกัดสารและแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (อนุพันธ์ของกรดอินโดลอะซีติก)

นำอาหารเลี้ยงเชื้อมาสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนโดยใช้ปริมาตรเท่ากับอาหารเลี้ยงเชื้อ จำนวน 3 ครั้งที่อุณหภูมิห้อง รวมสารละลายเฮกเซนทั้ง 3 ครั้ง เติมสารดูดความชื้น (anh Na_2SO_4) ระเหยตัวทำละลายออกจะได้ สารสกัดชั้นเฮกเซน จากนั้นนำอาหารเลี้ยงเชื้อมาสกัดต่อด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเทต โดยใช้ปริมาตรเท่ากับอาหารเลี้ยงเชื้อ จำนวน 3 ครั้ง ที่อุณหภูมิห้อง รวมสารละลายชั้นเอทิลอะซิเทตทั้ง 3 ครั้ง เติมสารดูดความชื้น ระเหยตัวทำละลายออกจะได้ สารสกัดชั้นเอทิลอะซิเทต นำอาหารเลี้ยงเชื้อมาสกัดต่อด้วยตัวทำละลาย เมทานอล โดยใช้ปริมาตรเท่ากับอาหารเลี้ยงเชื้อ จำนวน 3 ครั้ง ครั้งละ 10 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง รวมสารละลายชั้น เมทานอลทั้ง 3 ครั้ง เติมสารดูดความชื้น ระเหยตัวทำละลายออกจะได้ สารสกัดชั้นเมทานอล นำสารสกัดทั้งสามชั้นใส่เครื่องดรายสูญญากาศ ชั้นสารสกัดที่ได้นำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

โดยนำตะกอนของสารสกัดหยาบที่ได้มาละลายด้วย DMSO ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายดังกล่าว 5 ไมโครลิตรผสมกับและใส่สารละลาย Salkowski ปริมาตร 95 ไมโครลิตร และใช้น้ำเปล่าเป็นตัวควบคุมลบ วางในที่มืดเป็นเวลา 20 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง 540 นาโนเมตรด้วยเครื่อง Microplate reader

ผลการวิจัย (Results)

ผลการแยกเอนโดไฟท์และศึกษาสมบัติของเอนโดไฟท์ที่แยกได้

การทดลอง ระยะเวลา 0 เดือน

ผลการทดลองในการแยกเอนโดไฟท์ของ 0 เดือน ลำต้น (ก่อนทำการปลูก) สามารถแยกเชื้อเอนโดไฟท์ได้ 14 ไอโซเลท จากทั้งหมด 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ห้วยบง 60 จำนวน 8 ไอโซเลท สายพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 จำนวน 4 ไอโซเลท และสายพันธุ์พิรุณ 1 จำนวน 2 ไอโซเลท ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากลำต้นก่อนทำการปลูก (ระยะเวลา 0 เดือน)

สายพันธุ์	ไอโซเลท	สีโคโลนี (Colour)	ขนาดโคโลนี (Size)	รูปแบบโคโลนี (Form)	ขอบโคโลนี (Margin)	ลักษณะโคโลนี (Elevation)	ลักษณะเนื้อโคโลนี (Texture)
ห้วยบง 60	HB_S - 1	เหลือง	เล็ก	Circular	Entire	Convex	Mucoid
(HB)	HB_S - 2	เหลือง	ใหญ่	Circular	Entire	Convex	Mucoid
HB_S ลำต้น	HB_S - 3	เหลือง	ใหญ่	Circular	Entire	Convex	Smooth
	HB_S - 4	เหลือง	เล็ก	Circular	Entire	Raised	Smooth
	HB_S - 5	ส้ม	เล็ก	Circular	Entire	Raised	Mucoid
	HB_S - 6	เหลือง	ใหญ่	Circular	Entire	Convex	Mucoid
	HB_S - 7	เหลือง	เล็ก	Circular	Entire	Raised	Smooth
	HB_S - 8	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Convex	Smooth
เกษตรศาสตร์ 50	KU_S - 1	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Convex	Mucoid
(KU)	KU_S - 2	ส้ม	เล็ก	Circular	Entire	Convex	Mucoid
KU_S ลำต้น	KU_S - 3	เหลือง	ใหญ่	Circular	Entire	Convex	Mucoid
	KU_S - 4	เหลือง	เล็ก	Circular	Entire	Convex	Mucoid
พิรุณ 1	$PR1_S$ - 1	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Convex	Smooth
(PR1)	$PR1_S$ - 2	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Convex	MUcoid
$PR1_S$ ลำต้น							

เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการสร้างกรดอินโดลอะซีติก ความสามารถในการเพิ่มการละลายฟอสเฟต และการสร้างสารไซเดอโรฟอร์ ได้ผลดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 สมบัติของไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากลำต้นก่อนทำการปลูก (ระยะเวลา 0 เดือน)

สายพันธุ์	ไอโซเลท	การสร้างกรดอินโดลอะซีติก (IAA, 3-IAA)	ความสามารถในการเพิ่มการละลายฟอสเฟต	การสร้างสารไซเดอโรฟอร์
ห้วยบง 60	HB_S - 1	สายละลายสีเหลือง	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
(HB)	HB_S - 2	สารละลายสีชมพู	เกิดโซนใส (11 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
HB_S ลำต้น	HB_S - 3	สารละลายสีชมพู	เกิดโซนใส (10.5 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_S - 4	สายละลายสีเหลือง	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_S - 5	สารละลายสีชมพู	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_S - 6	สารละลายสีชมพู	เกิดโซนใส (10.5 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_S - 7	สารละลายสีเหลือง	เกิดโซนใส (10.4 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_S - 8	สารละลายสีชมพู	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
เกษตรศาสตร์ 50	KU_S - 1	สายละลายสีเหลือง	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
(KU)	KU_S - 2	สายละลายสีเหลือง	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
KU_S ลำต้น	KU_S - 3	สายละลายสีเหลือง	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	KU_S - 4	สายละลายสีเหลือง	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
พิรุณ 1	$PR1_S$ - 1	สารละลายสีชมพู	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
(PR1)	$PR1_S$ - 2	สารละลายสีชมพู	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
$PR1_S$ ลำต้น				

การทดลอง ระยะเวลา 3 เดือน

ผลการทดลองในการแยกเอนโดไฟท์ของ 3 เดือน สามารถเก็บส่วนของพืชที่นำมาทดลองได้ คือ ลำต้น และใบ ซึ่งในการทดลองส่วนของใบ ได้ทำการทดลองนอกเหนือจากที่ได้วางแผนไว้ เพื่อที่จะให้ได้ความหลากหลายและจำนวนเอนโดไฟท์ที่เพิ่มขึ้น

ดังนั้นในระยะเวลา 3 เดือนที่รายงานนี้จะมีในส่วนของลำต้น และใบ จากมันสำปะหลังสายพันธุ์ห้วยบง 60 สายพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และสายพันธุ์พิรุณ 1 ในส่วนของลำต้นสามารถแยกได้ 4, 2 และ 3 ไอโซเลท ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากลำต้นหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 3 เดือน

สายพันธุ์	ไอโซเลท	สี โคโลนี (Colour)	ขนาด โคโลนี (Size)	รูปแบบ โคโลนี (Form)	ขอบ โคโลนี (Margin)	ลักษณะ โคโลนี (Elevation)	ลักษณะ เนื้อโคโลนี (Texture)
ห้วยบง 60	HB_S - 9	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Flat	Smooth
(HB)	HB_S - 10	ขาว	เล็ก	Circular	Undulate	Umbonate	Mucoid
HB_S ลำต้น	HB_S – 11	ขาว	ใหญ่	Irregular	Entire	Flat	Smooth
	HBs - 12	ขาว	เล็ก	Circular	Undulate	Unbonate	Mucoid
เกษตรศาสตร์ 50	KU_S - 5	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Convex	Mucoid
(KU)	KU_S - 6	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Convex	Mucoid
KU_S ลำต้น							
พิรุณ 1	$PR1_S$ - 3	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Convex	Mucoid
(PR1)	$PR1_S$ - 4	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Convex	Mucoid
$PR1_S$ ลำต้น	$PR1_S$ - 5	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Convex	Smooth

เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการสร้างกรดอินโดลอะซีติก ความสามารถในการเพิ่มการละลายฟอสเฟต และการสร้างสารไซเดอโรฟอร์ ได้ผลดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 สมบัติของไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากลำต้นหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 3 เดือน

สายพันธุ์	ไอโซเลท	การสร้างกรดอินโดล อะซีติก (IAA, 3-IAA)	ความสามารถใน การเพิ่มการละลายฟอสเฟต	การสร้างสารไซเดอโรฟอร์
ห้วยบง 60	HB_S - 9	สารละลายเหลือง	เกิดโซนใส (10.4 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
(HB)	HB_S - 10	สารละลายสีเหลือง	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
HB_S ลำต้น	HB_S – 11	สารละลายเหลือง	เกิดโซนใส (10.5 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HBs - 12	สารละลายสีเหลือง	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
เกษตรศาสตร์	KU_S - 5	สารละลายสีเหลือง	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
50 (KU)	KU_S - 6	สารละลายสีชมพู	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
KU_S ลำต้น				
พิรุณ 1	$PR1_S$ - 3	สารละลายสีชมพู	เกิดโซนใส (10.6 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
(PR1)	$PR1_S$ - 4	สารละลายสีชมพู	เกิดโซนใส (11.1 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
$PR1_S$ ลำต้น	$PR1_S$ - 5	สารละลายสีชมพู	ไม่พบการเจริญ	อยู่ระหว่างดำเนินการ

ในส่วนของใบ สามารถแยกได้ 3 ไอโซเลท โดยมาจาก มันสำปะหลังสายพันธุ์ห้วยบง 60 จำนวน 5 ไอโซเลท สายพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 จำนวน 2 ไอโซเลท และสายพันธุ์พิรุณ 1 จำนวน 1 ไอโซเลท ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากใบหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 3 เดือน

สายพันธุ์	ไอโซเลท	สี โคโลนี (Colour)	ขนาด โคโลนี (Size)	รูปแบบ โคโลนี (Form)	ขอบ โคโลนี (Margin)	ลักษณะ โคโลนี (Elevation)	ลักษณะ เนื้อโคโลนี (Texture)
ห้วยบง 60 (HB)	HB_L - 1	เหลือง	เล็ก	Circular	Entire	Convex	Mucoid
HB_L ใบ	HB_L - 2	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Convex	Mucoid
	HB_L - 3	เหลือง	ใหญ่	Circular	Entire	Convex	Mucoid
	HB_L - 4	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Convex	Mucoid
	HB_L - 5	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Convex	Mucoid
เกษตรศาสตร์ 50							
(KU)	KU_L - 1	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Convex	Smooth
KU_L ใบ	KU_L - 2	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Convex	Smooth
พิรุณ 1 (PR1)	$PR1_L$ - 1	ขาว	ใหญ่	Irregular	Entire	Convex	Smooth
$PR1_L$ ใบ							

เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการสร้างกรดอินโดลอะซีติก ความสามารถในการเพิ่มการละลายฟอสเฟต และการสร้างสารไซเดอโรฟอร์ ได้ผลดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 สมบัติของไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากใบหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 3 เดือน

สายพันธุ์	ไอโซเลท	การสร้างกรดอินโดล อะซีติก (IAA, 3-IAA)	ความสามารถในการเพิ่มการละลาย ฟอสเฟต	การสร้างสารไซเดอโรฟอร์
ห้วยบง 60	HB_L - 1	สารละลายสีเหลือง	ไม่พบการเจริญ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
(HB)	HB_L - 2	สารละลายสีเหลือง	อยู่ระหว่างดำเนินการ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
HB_L ใบ	HB_L - 3	สารละลายสีเหลือง	เกิดโซนใส (11.5 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_L – 4	สารละลายสีชมพู	เกิดโซนใส (12.0 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_L – 5	สารละลายสีชมพู	ไม่พบการเจริญ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
เกษตรศาสตร์	KU_L - 1	สารละลายสีชมพู	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
50 (KU)	KU_L - 2	สารละลายสีชมพู	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
KU_L ใบ				
พิรุณ 1	$PR1_L$ - 1	สารละลายสีชมพู	เกิดโซนใส (1.30 ซม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
(PR1)				
$PR1_L$ ใบ				

การทดลอง ระยะเวลา 6 เดือน

ในการแยกเอนโดไฟท์ของ 6 เดือน สามารถเก็บส่วนของพืชที่นำมาทดลองได้ คือ ลำต้น ใบ และหัวมันสำปะหลัง ซึ่งได้ทำการทดลองเพิ่มเติมจากที่วางแผนไว้ คือ แยกเอนโดไฟท์ในส่วนของใบ และ หัวมันสำปะหลัง เพื่อที่จะให้ได้ความหลากหลายและจำนวนเอนโดไฟท์ที่เพิ่มขึ้นเช่นกัน

ผลการทดลองสามารถแยกเอนโดไฟท์จากลำต้นของมันสำปะหลังสายพันธุ์ห้วยบง 60 ได้จำนวน 6 ไอโซเลท สายพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ได้จำนวน 4 ไอโซเลท และสายพันธุ์พิรุณ 1 จำนวน 3 ไอโซเลท ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากลำต้นหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 6 เดือน

สายพันธุ์	ไอโซเลท	สี โคโลนี (Colour)	ขนาด โคโลนี (Size)	รูปแบบ โคโลนี (Form)	ขอบ โคโลนี (Margin)	ลักษณะ โคโลนี (Elevation)	ลักษณะ เนื้อโคโลนี (Texture)
ห้วยบง 60	HB_S - 13	ส้ม	เล็ก	Circular	Entire	Flat	Smooth
(HB)	HB_S - 14	ขาว	ใหญ่	Irregular	Entire	Flat	Smooth
HB_S ลำต้น	HB_S - 15	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Flat	Smooth
	HB_S - 16	ขาว	เล็ก	Circular	Undulate	Umbonate	Mucoid
	HB_S - 17	เหลือง	เล็ก	Circular	Entire	Flat	Smooth
	HB_S - 18	ขาว	เล็ก	Circular	Undulate	Umbonate	Mucoid
เกษตรศาสตร์ 50	KU_S - 7	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Convex	Mucoid
(KU)	KU_S - 8	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Convex	Mucoid
KU_S ลำต้น	KU_S - 9	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Flat	Rough
	KU_S - 10	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Flat	Smooth
พิรุณ 1	$PR1_S$ - 6	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Raised	Mucoid
(PR1)	$PR1_S$ - 7	ขาว	ใหญ่	Irregular	Undulate	Flat	Mucoid
$PR1_S$ ลำต้น	$PR1_S$ - 8	ขาว	เล็ก	Circular	Undulate	Raised	Smooth

เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการสร้างกรดอินโดลอะซีติก ความสามารถในการเพิ่มการละลายฟอสเฟต และการสร้างสารไซเดอโรฟอร์ ได้ผลดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 สมบัติของไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากลำต้นหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 6 เดือน

สายพันธุ์	ไอโซเลท	การสร้างกรดอินโดลอะซีติก (IAA, 3-IAA)	ความสามารถในการเพิ่มการละลายฟอสเฟต	การสร้างสารไซเดอโรฟอร์
ห้วยบง 60	HB_S - 13	สารละลายสีเหลือง	เกิดโซนใส (11.1 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
(HB)	HB_S - 14	สารละลายสีเหลือง	เกิดโซนใส (10.5 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
HB_S ลำต้น	HB_S - 15	สารละลายสีเหลือง	เกิดโซนใส (12.5 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_S - 16	สารละลายสีเหลือง	เกิดโซนใส (10.3 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_S - 17	สารละลายสีเหลือง	เกิดโซนใส (10.4 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_S - 18	สารละลายสีเหลือง	ไม่พบการเจริญ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
เกษตรศาสตร์	KU_S - 7	อยู่ระหว่างดำเนินการ	เกิดโซนใส (10.5 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
50 (KU)	KU_S - 8	อยู่ระหว่างดำเนินการ	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
KU_S ลำต้น	KU_S - 9	อยู่ระหว่างดำเนินการ	อยู่ระหว่างดำเนินการ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	KU_S - 10	อยู่ระหว่างดำเนินการ	อยู่ระหว่างดำเนินการ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
พิรุณ 1	$PR1_S$ - 6	อยู่ระหว่างดำเนินการ	เกิดโซนใส (12.3 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
(PR1)	$PR1_S$ - 7	อยู่ระหว่างดำเนินการ	ไม่พบการเจริญ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
$PR1_S$ ลำต้น	$PR1_S$ - 8	อยู่ระหว่างดำเนินการ	เกิดโซนใส (12.5 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ

สำหรับใบของมันสำปะหลังทั้ง 3 สายพันธุ์ สามารถแยกเอนโดไฟท์จากใบของมันสำปะหลังสายพันธุ์ห้วยบง 60 ได้จำนวน 9 ไอโซเลท สายพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ได้จำนวน 3 ไอโซเลท และสายพันธุ์พิรุณ 1 จำนวน 6 ไอโซเลท ดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากใบหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 6 เดือน

สายพันธุ์	ไอโซเลท	สีโคโลนี (Colour)	ขนาดโคโลนี (Size)	รูปแบบโคโลนี (Form)	ขอบโคโลนี (Margin)	ลักษณะโคโลนี (Elevation)	ลักษณะเนื้อโคโลนี (Texture)
ห้วยบง 60	HB_L – 6	ขาว	เล็ก	Circular	Lobate	Flat	Smooth
(HB)	HB_L - 7	ขาว	ใหญ่	Circular	Lobate	Flat	Smooth
HB_L ใบ	HB_L - 8	ขาว	ใหญ่	Circular	Lobate	Flat	Smooth
	HB_L - 9	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Flat	Mucoid
	HB_L - 10	ขาว	ใหญ่	Irregular	Lobate	Flat	Rough
	HB_L - 11	ขาว	ใหญ่	Circular	Lobate	Flat	Rough
	HB_L - 12	ขาว	เล็ก	Circular	Lobate	Flat	Rough
	HB_L - 13	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Flat	Smooth
	HB_L - 14	ส้ม	เล็ก	Circular	Entire	Flat	Smooth
เกษตรศาสตร์ 50	KU_L - 3	ขาว	ใหญ่	Irregular	Entire	Convex	Smooth
(KU)	KU_L - 4	ขาว	ใหญ่	Irregular	Entire	Convex	Smooth
KU_L ใบ	KU_L - 5	ขาว	ใหญ่	Irregular	Entire	Convex	Smooth
พิรุณ 1	$PR1_L$ - 2	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Convex	Smooth
(PR1)	$PR1_L$ - 3	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Convex	Smooth
$PR1_L$ ใบ	$PR1_L$ - 4	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Convex	Smooth
	$PR1_L$ - 5	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Convex	Smooth
	$PR1_L$ - 6	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Convex	Smooth
	$PR1_L$ - 7	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Convex	Smooth

เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการสร้างกรดอินโดลอะซีติก ความสามารถในการเพิ่มการละลายฟอสเฟต และการสร้างสารไซเดอโรฟอร์ ได้ผลดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 สมบัติของไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากใบหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 6 เดือน

สายพันธุ์	ไอโซเลท	การสร้างกรดอินโดลอะซีติก (IAA, 3-IAA)	ความสามารถในการเพิ่มการละลายฟอสเฟต	การสร้างสารไซเดอโรฟอร์
ห้วยบง 60	HB_L-6	สารละลายสีเหลือง	ไม่พบการเจริญ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
(HB)	HB_L-7	สารละลายสีเหลือง	เกิดโซนใส (10.8 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
HB_L ใบ	HB_L-8	สารละลายสีเหลือง	เกิดโซนใส (11.1 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_L-9	สารละลายสีชมพู	เกิดโซนใส (12.9 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_L-10	สารละลายสีชมพู	เกิดโซนใส (11.4 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_L-11	สารละลายสีชมพู	ไม่พบการเจริญ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_L-12	สารละลายสีเหลือง	ไม่พบการเจริญ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_L-13	สารละลายสีเหลือง	ไม่พบการเจริญ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_L-14	สารละลายสีเหลือง	เกิดโซนใส (10.3 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
เกษตรศาสตร์	KU_L-3	สารละลายสีเหลือง	เกิดโซนใส (10.5 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
50 (KU)	KU_L-4	สารละลายสีเหลือง	เกิดโซฯใส (10.6 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
KU_L ใบ	KU_L-5	สารละลายสีเหลือง	เกิดโซนใส (10.5 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
พิรุณ 1	$PR1_L$-2	สารละลายสีเหลือง	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
(PR1)	$PR1_L$-3	สารละลายสีเหลือง	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
$PR1_L$ ใบ	$PR1_L$-4	สารละลายสีเหลือง	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	$PR1_L$-5	สารละลายสีเหลือง	ไม่พบการเจริญ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	$PR1_L$-6	สารละลายสีเหลือง	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	$PR1_L$-7	สารละลายสีชมพู	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ

ผลการทดลองสามารถแยกเอนโดไฟท์จากหัวมันสำปะหลังสายพันธุ์ห้วยบง 60 ได้จำนวน 4 ไอโซเลท สายพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ได้จำนวน 3 ไอโซเลท และสายพันธุ์พิรุณ 1 จำนวน 2 ไอโซเลท ดังแสดงในตารางที่ 11

ตารางที่ 11 ไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากหัวมันสำปะหลังหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 6 เดือน

สายพันธุ์	ไอโซเลท	สีโคโลนี (Colour)	ขนาดโคโลนี (Size)	รูปแบบโคโลนี (Form)	ขอบโคโลนี (Margin)	ลักษณะโคโลนี (Elevation)	ลักษณะเนื้อโคโลนี (Texture)
ห้วยบง 60	HB_R - 1	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Flat	Smooth
(HB)	HB_R - 2	ขาว	ใหญ่	Circular	Lobate	Flat	Rough
HB_R	HB_R - 3	ขาว	ใหญ่	Circular	Lobate	Flat	Rough
หัวมันสำปะหลัง	HB_R - 4	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Flat	Smooth
เกษตรศาสตร์ 50	KU_R - 1	ขาว	ใหญ่	Filamentous	Lobate	Flat	Mucoid
(KU)	KU_R - 2	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Raised	Mucoid
KU_R	KU_R - 3	เหลือง	ใหญ่	Circular	Entire	Flat	Smooth
หัวมันสำปะหลัง							
พิรุณ 1	$PR1_R$ - 1	ขาว	ใหญ่	Irregular	Lobate	Flat	Mucoid
(PR1)	$PR1_R$ - 2	ขาว	ใหญ่	Irregular	Lobate	Flat	Mucoid
$PR1_R$							
หัวมันสำปะหลัง							

เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการสร้างกรดอินโดลอะซีติก ความสามารถในการเพิ่มการละลายฟอสเฟต และการสร้างสารไซเดอโรฟอร์ ได้ผลดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 สมบัติของไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากหัวมันสำปะหลังหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 6 เดือน

สายพันธุ์	ไอโซเลท	การสร้างกรดอินโดลอะซีติก (IAA, 3-IAA)	ความสามารถในการเพิ่มการละลายฟอสเฟต	การสร้างสารไซเดอโรฟอร์
ห้วยบง 60 (HB) HB_R หัวมันสำปะหลัง	HB_R - 1	อยู่ระหว่างดำเนินการ	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_R - 2	อยู่ระหว่างดำเนินการ	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_R - 3	อยู่ระหว่างดำเนินการ	เกิดโซนใส (11.5 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_R - 4	อยู่ระหว่างดำเนินการ	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
เกษตรศาสตร์ 50 (KU) KU_R หัวมันสำปะหลัง	KU_R - 1	สารละลายสีเหลือง	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	KU_R - 2	สารละลายสีเหลือง	ไม่พบการเจริญ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	KU_R - 3	สารละลายสีเหลือง	ไม่พบการเจริญ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
พิรุณ 1 (PR1) $PR1_R$ หัวมันสำปะหลัง	$PR1_R$ - 1	อยู่ระหว่างดำเนินการ	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	$PR1_R$ - 2	อยู่ระหว่างดำเนินการ	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ

การทดลอง ระยะเวลา 9 เดือน

ในการแยกเอนโดไฟท์ของ 9 เดือน สามารถเก็บส่วนของพืชที่นำมาทดลองได้ คือ ลำต้น ใบ และหัวมันสำปะหลัง ซึ่งได้ทำการทดลองเพิ่มเติมจากที่วางแผนไว้ คือ แยกเอนโดไฟท์ในส่วนของใบ และหัวมันสำปะหลัง เพื่อที่จะให้ได้ความหลากหลายและจำนวนเอนโดไฟท์ที่เพิ่มขึ้นเช่นกัน

ผลการทดลองสามารถแยกเอนโดไฟท์จากลำต้นของมันสำปะหลังสายพันธุ์ห้วยบง 60 ได้จำนวน 4 ไอโซเลท สายพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ได้จำนวน 10 ไอโซเลท และสายพันธุ์พิรุณ 1 จำนวน 1 ไอโซเลท ดังแสดงในตารางที่ 13

ตารางที่ 13 ไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากลำต้นหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 9 เดือน

สายพันธุ์	ไอโซเลท	สีโคโลนี (Colour)	ขนาดโคโลนี (Size)	รูปแบบโคโลนี (Form)	ขอบโคโลนี (Margin)	ลักษณะโคโลนี (Elevation)	ลักษณะเนื้อโคโลนี (Texture)
ห้วยบง 60	HB_S - 19	ขาว	ใหญ่	Irregular	Undulate	Flat	Smooth
(HB)	HB_S - 20	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Flat	Smooth
HB_S ลำต้น	HB_S - 21	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Flat	Smooth
	HB_S - 22	ขาว	ใหญ่	Irregular	Undulate	Flat	Smooth
เกษตรศาสตร์ 50	KU_S - 11	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Flat	Rough
(KU)	KU_S - 12	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Flat	Smooth
KU_S ลำต้น	KU_S - 13	เหลือง	เล็ก	Circular	Entire	Flat	Smooth
	KU_S - 14	ครีม	ใหญ่	Circular	Entire	Flat	Smooth
	KU_S - 15	เหลือง	เล็ก	Circular	Entire	Flat	Smooth
	KU_S - 16	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Flat	Smooth
	KU_S - 17	เหลือง	ใหญ่	Circular	Entire	Flat	Smooth
	KU_S - 18	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Flat	Smooth
	KU_S - 19	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Flat	Smooth
	KU_S - 20	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Raised	Rough
พิรุณ 1	$PR1_S$ - 9	ขาว	เล็ก	Circular	Undulate	Raised	Smooth
(PR1)							
$PR1_S$ ลำต้น							

เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการสร้างกรดอินโดลอะซีติก ความสามารถในการเพิ่มการละลายฟอสเฟต และการสร้างสารไซเดอโรฟอร์ ได้ผลดังตารางที่ 14

ตารางที่ 14 สมบัติของไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากลำต้นหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 9 เดือน

สายพันธุ์	ไอโซเลท	การสร้างกรดอินโดลอะซีติก (IAA, 3-IAA)	ความสามารถในการเพิ่มการละลายฟอสเฟต	การสร้างสารไซเดอโรฟอร์
ห้วยบง 60 (HB) HB_S ลำต้น	HB_S - 19	อยู่ระหว่างดำเนินการ	ไม่พบการเจริญ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_S - 20	อยู่ระหว่างดำเนินการ	เกิดโซนใส (11.0 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_S - 21	อยู่ระหว่างดำเนินการ	เกิดโซนใส (10.5 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_S - 22	อยู่ระหว่างดำเนินการ	ไม่พบการเจริญ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
เกษตรศาสตร์ 50 (KU) KU_S ลำต้น	KU_S - 11	สารละลายสีเหลือง	ไม่เกิดโซนใส	ไม่เกิดโซนสีเหลือง
	KU_S - 12	สารละลายสีชมพู	เกิดโซนใส (16.0 มม.)	เกิดโซนสีเหลือง
	KU_S - 13	สารละลายสีเหลือง	ไม่เกิดโซนใส	ไม่เกิดโซนสีเหลือง
	KU_S - 14	สารละลายสีเหลือง	ไม่เกิดโซนใส	ไม่เกิดโซนสีเหลือง
	KU_S - 15	สารละลายสีเหลือง	เกิดโซนใส (12.2 มม.)	ไม่เกิดโซนสีเหลือง
	KU_S - 16	สารละลายสีเหลือง	ไม่เกิดโซนใส	ไม่เกิดโซนสีเหลือง
	KU_S - 17	สารละลายสีเหลือง	ไม่เกิดโซนใส	ไม่เกิดโซนสีเหลือง
	KU_S - 18	สารละลายสีเหลือง	ไม่เกิดโซนใส	ไม่เกิดโซนสีเหลือง
	KU_S - 19	สารละลายสีชมพู	ไม่เกิดโซนใส	ไม่เกิดโซนสีเหลือง
	KU_S - 20	สารละลายสีเหลือง	ไม่เกิดโซนใส	ไม่เกิดโซนสีเหลือง
พิรุณ 1 (PR1) $PR1_S$ ลำต้น	$PR1_S$ - 9	อยู่ระหว่างดำเนินการ	เกิดโซนใส (12.0 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ

สำหรับใบของมันสำปะหลังทั้ง 3 สายพันธุ์ สามารถแยกเอนโดไฟท์จากใบของมันสำปะหลังสายพันธุ์ห้วยบง 60 ได้จำนวน 7 ไอโซเลท สายพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ได้จำนวน 6 ไอโซเลท และสายพันธุ์พิรุณ 1 จำนวน 2 ไอโซเลท ดังแสดงในตารางที่ 15

ตารางที่ 15 ไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากใบหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 9 เดือน

สายพันธุ์	ไอโซเลท	สี โคโลนี (Colour)	ขนาด โคโลนี (Size)	รูปแบบ โคโลนี (Form)	ขอบ โคโลนี (Margin)	ลักษณะ โคโลนี (Elevation)	ลักษณะ เนื้อโคโลนี (Texture)
ห้วยบง 60	HB_L - 15	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Convex	Mucoid
(HB)	HB_L - 16	ขาว	ใหญ่	Irregular	Undulate	Flat	Smooth
HB_L ใบ	HB_L - 17	เหลือง	เล็ก	Circular	Entire	Raised	Mucoid
	HB_L - 18	ขาว	ใหญ่	Irregular	Undulate	Flat	Smooth
	HB_L - 19	ขาว	ใหญ่	Irregular	Undulate	Flat	Smooth
	HB_L - 20	ขาว	ใหญ่	Irregular	Undulate	Flat	Smooth
	HB_L - 21	ขาว	ใหญ่	Irregular	Undulate	Flat	Smooth
เกษตรศาสตร์ 50	KU_L - 6	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Flat	Rough
(KU)	KU_L - 7	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Raised	Rough
KU_L ใบ	KU_L - 8	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Curled	Mucoid
	KU_L - 9	ขาว	ใหญ่	Irregular	Undulate	Raised	Smooth
	KU_L - 10	ขาว	เล็ก	Circular	Undulate	Flat	Smooth
	KU_L - 11	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Flat	Smooth
พิรุณ 1	$PR1_L$ - 8	ขาว	ใหญ่	Irregular	Undulate	Flat	Mucoid
(PR1)	$PR1_L$ - 9	ขาว	ใหญ่	Irregular	Undulate	Flat	Smooth
$PR1_L$ ใบ							

เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการสร้างกรดอินโดลอะซีติก ความสามารถในการเพิ่มการละลายฟอสเฟต และการสร้างสารไซเดอโรฟอร์ ได้ผลดังตารางที่ 16

ตารางที่ 16 สมบัติของไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากใบหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 9 เดือน

สายพันธุ์	ไอโซเลท	การสร้างกรดอินโดลอะซีติก (IAA, 3-IAA)	ความสามารถในการเพิ่มการละลายฟอสเฟต	การสร้างสารไซเดอโรฟอร์
ห้วยบง 60 (HB) HB_L ใบ	HB_L - 15	สารละลายสีเหลือง	เกิดโซนใส (14.8 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_L - 16	สารละลายสีเหลือง	เกิดโซนใส (12.1 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_L - 17	สารละลายสีเหลือง	ไม่พบการเจริญ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_L - 18	สารละลายสีชมพู	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_L - 19	สารละลายสีชมพู	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_L - 20	สารละลายสีชมพู	เกิดโซนใส (13.1 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_L - 21	สารละลายสีเหลือง	เกิดโซนใส (11.7 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
เกษตรศาสตร์ 50 (KU) KU_L ใบ	KU_L - 6	สารละลายสีชมพู	เกิดโซนใส (10.8 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	KU_L - 7	สารละลายสีเหลือง	เกิดโซนใส (10.7 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	KU_L - 8	สารละลายสีชมพู	เกิดโซนใส (15.0 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	KU_L - 9	สารละลายสีเหลือง	เกิดโซนใส (10.6 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	KU_L - 10	สารละลายสีเหลือง	เกิดโซนใส (10.9 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	KU_L - 11	สารละลายสีชมพู	เกิดโซนใส (10.7 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
พิรุณ 1 (PR1) $PR1_L$ ใบ	$PR1_L$ - 8	สารละลายสีเหลือง	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	$PR1_L$ - 9	สารละลายสีเหลือง	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ

สำหรับหัวมันสำปะหลังทั้ง 3 สายพันธุ์ สามารถแยกเอนโดไฟท์จากหัวมันสำปะหลังสายพันธุ์ห้วยบง 60 ได้จำนวน 6 ไอโซเลท สายพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ได้จำนวน 7 ไอโซเลท และสายพันธุ์พิรุณ 1 จำนวน 1 ไอโซเลท ดังแสดงในตารางที่ 17

ตารางที่ 17 ไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากหัวมันสำปะหลังหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 9 เดือน

สายพันธุ์	ไอโซเลท	สีโคโลนี (Colour)	ขนาดโคโลนี (Size)	รูปแบบโคโลนี (Form)	ขอบโคโลนี (Margin)	ลักษณะโคโลนี (Elevation)	ลักษณะเนื้อโคโลนี (Texture)
ห้วยบง 60	HB_R - 5	ขาว	ใหญ่	Irregular	Undulate	Raised	Mucoid
(HB)	HB_R - 6	ขาว	ใหญ่	Irregular	Undulate	Raised	Mucoid
HB_R	HB_R - 7	ขาว	ใหญ่	Irregular	Undulate	Flat	Smooth
หัวมันสำปะหลัง	HB_R - 8	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Convex	Mucoid
	HB_R - 9	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Flat	Smooth
	HB_R - 10	เหลือง	ใหญ่	Irregular	Undulate	Flat	Mucoid
เกษตรศาสตร์ 50	KU_R - 4	ขาว	ใหญ่	Irregular	Undulate	Flat	Smooth
(KU)	KU_R - 5	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Flat	Smooth
KU_R	KU_R - 6	ขาว	ใหญ่	Irregular	Entire	Flat	Smooth
หัวมันสำปะหลัง	KU_R - 7	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Flat	Smooth
	KU_R - 8	เหลือง	ใหญ่	Circular	Entire	Flat	Smooth
	KU_R - 9	ขาว	ใหญ่	Irregular	Undulate	Flat	Mucoid
	KU_R - 10	ขาว	เล็ก	Circular	Undulate	Flat	Mucoid
พิรุณ 1	$PR1_R$ - 3	ขาว	เล็ก	Circular	Undulate	Umbonate	Rough
(PR1)							
$PR1_R$							
หัวมันสำปะหลัง							

เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการสร้างกรดอินโดลอะซีติก ความสามารถในการเพิ่มการละลายฟอสเฟต และการสร้างสารไซเดอโรฟอร์ ได้ผลดังตารางที่ 18

ตารางที่ 18 สมบัติของไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากหัวมันสำปะหลังหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 9 เดือน

สายพันธุ์	ไอโซเลท	การสร้างกรดอินโดลอะซีติก (IAA, 3-IAA)	ความสามารถในการเพิ่มการละลายฟอสเฟต	การสร้างสารไซเดอโรฟอร์
ห้วยบง 60 (HB) HB_R หัวมันสำปะหลัง	HB_R - 5	อยู่ระหว่างดำเนินการ	ไม่พบการเจริญ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_R - 6	อยู่ระหว่างดำเนินการ	เกิดโซนใส (11.4 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_R - 7	อยู่ระหว่างดำเนินการ	เกิดโซนใส (15.1 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_R - 8	อยู่ระหว่างดำเนินการ	เกิดโซนใส (14.3 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_R - 9	อยู่ระหว่างดำเนินการ	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_R - 10	อยู่ระหว่างดำเนินการ	เกิดโซนใส (12.5 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
เกษตรศาสตร์ 50 (KU) KU_R หัวมันสำปะหลัง	KU_R - 4	สารละลายสีเหลือง	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	KU_R - 5	สารละลายสีเหลือง	ไม่พบการเจริญ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	KU_R - 6	สารละลายสีเหลือง	เกิดโซนใส (10.7 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	KU_R - 7	สารละลายสีเหลือง	ไม่พบการเจริญ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	KU_R - 8	สารละลายสีเหลือง	ไม่พบการเจริญ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	KU_R - 9	สารละลายสีเหลือง	ไม่พบการเจริญ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	KU_R - 10	สารละลายสีเหลือง	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
พิรุณ 1 (PR1) $PR1_R$ หัวมันสำปะหลัง	$PR1_R$ - 3	อยู่ระหว่างดำเนินการ	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ

การทดลอง ระยะเวลา 12 เดือน

ในการแยกเอนโดไฟท์ของ 12 เดือนซึ่งเป็นการเก็บรอบสุดท้าย สามารถเก็บส่วนของพืชที่นำมาทดลองได้ คือ ลำต้น ใบ และหัวมันสำปะหลัง ซึ่งได้ทำการทดลองเพิ่มเติมจากที่วางแผนไว้ คือ แยกเอนโดไฟท์ในส่วนของใบ และ หัวมันสำปะหลัง เพื่อที่จะให้ได้ความหลากหลาย และจำนวนเอนโดไฟท์ที่เพิ่มขึ้นเช่นกัน

ผลการทดลองสามารถแยกเอนโดไฟท์จากท่อนลำต้นของมันสำปะหลังสายพันธุ์ห้วยบง 60 ได้จำนวน 4 ไอโซเลท สายพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ได้จำนวน 4 ไอโซเลท และสายพันธุ์พิรุณ 1 จำนวน 4 ไอโซเลท ดังแสดงในตารางที่ 19

ตารางที่ 19 ไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากลำต้นหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 12 เดือน

สายพันธุ์	ไอโซเลท	สี โคโลนี (Colour)	ขนาด โคโลนี (Size)	รูปแบบ โคโลนี (Form)	ขอบ โคโลนี (Margin)	ลักษณะ โคโลนี (Elevation)	ลักษณะ เนื้อโคโลนี (Texture)
ห้วยบง 60	HB_S - 23	ขาว	เล็ก	Circular	Undulate	Flat	Smooth
(HB)	HB_S - 24	ส้ม	เล็ก	Circular	Entire	Raised	Mucoid
HB_S ท่อนลำต้น	HB_S - 25	เหลือง	เล็ก	Circular	Entire	Raised	Mucoid
	HB_S - 26	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Flat	Smooth
เกษตรศาสตร์ 50	KU_S - 21	เหลือง	ใหญ่	Circular	Undulate	Raised	Rough
(KU)	KU_S - 22	โปร่งแสง	เล็ก	Circular	Entire	Flat	Smooth
KU_S ท่อนลำต้น	KU_S - 23	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Raised	Rough
	KU_S - 24	ขาว	ใหญ่	Irregular	Undulate	Raised	Smooth
พิรุณ 1	$PR1_S$ - 10	ขาว	เล็ก	Circular	Undulate	Umbonate	Rough
(PR1)	$PR1_S$ - 11	ขาว	เล็ก	Circular	Undulate	Raised	Smooth
$PR1_S$ ท่อนลำต้น	$PR1_S$ - 12	โปร่งแสง	ใหญ่	Irregular	Undulate	Flat	Mucoid
	$PR1_S$ - 13	ขาว	เล็ก	Circular	Undulate	Raised	Rough

เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการสร้างกรดอินโดลอะซีติก ความสามารถในการเพิ่มการละลายฟอสเฟต และการสร้างสารไซเดอโรฟอร์ ได้ผลดังตารางที่ 20

ตารางที่ 20 สมบัติของไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากลำต้นหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 12 เดือน

สายพันธุ์	ไอโซเลท	การสร้างกรดอินโดลอะซีติก (IAA, 3-IAA)	ความสามารถในการเพิ่มการละลายฟอสเฟต	การสร้างสารไซเดอโรฟอร์
ห้วยบง 60	HB_S - 23	อยู่ระหว่างดำเนินการ	อยู่ระหว่างดำเนินการ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
(HB)	HB_S - 24	อยู่ระหว่างดำเนินการ	อยู่ระหว่างดำเนินการ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
HB_S ลำต้น	HB_S - 25	อยู่ระหว่างดำเนินการ	อยู่ระหว่างดำเนินการ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_S - 26	อยู่ระหว่างดำเนินการ	อยู่ระหว่างดำเนินการ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
เกษตรศาสตร์	KU_S - 21	อยู่ระหว่างดำเนินการ	เกิดโซนใส (11.8 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
50 (KU)	KU_S - 22	อยู่ระหว่างดำเนินการ	เกิดโซนใส (13.5 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
KU_S ลำต้น	KU_S - 23	อยู่ระหว่างดำเนินการ	เกิดโซนใส (13.0 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	KU_S - 24	อยู่ระหว่างดำเนินการ	เกิดโซนใส (13.3 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
พิรุณ 1	$PR1_S$ - 10	อยู่ระหว่างดำเนินการ	เกิดโซนใส (14.1 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
(PR1)	$PR1_S$ - 11	อยู่ระหว่างดำเนินการ	เกิดโซนใส (13.3 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
$PR1_S$ ลำต้น	$PR1_S$ - 12	อยู่ระหว่างดำเนินการ	ไม่พบการเจริญ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	$PR1_S$ - 13	อยู่ระหว่างดำเนินการ	เกิดโซนใส (13.3 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ

สำหรับใบของมันสำปะหลังทั้ง 3 สายพันธุ์ สามารถแยกเอนโดไฟท์จากใบของมันสำปะหลังสายพันธุ์ห้วยบง 60 ได้จำนวน 1 ไอโซเลท สายพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ได้จำนวน 6 ไอโซเลท และสายพันธุ์พิรุณ 1 จำนวน 10 ไอโซเลท ดังแสดงในตารางที่ 21

ตารางที่ 21 ไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากใบหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 12 เดือน

สายพันธุ์	ไอโซเลท	สีโคโลนี (Colour)	ขนาดโคโลนี (Size)	รูปแบบโคโลนี (Form)	ขอบโคโลนี (Margin)	ลักษณะโคโลนี (Elevation)	ลักษณะเนื้อโคโลนี (Texture)
ห้วยบง 60 (HB) HB_L ใบ	HB_L - 22	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Raised	Rough
เกษตรศาสตร์ 50 (KU) KU_L ใบ	KU_L - 12	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Raised	Rough
	KU_L - 13	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Convex	Mucoid
	KU_L - 14	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Curled	Mucoid
	KU_L - 15	ขาว	ใหญ่	Irregular	Undulate	Flat	Smooth
	KU_L - 16	ขาว	ใหญ่	Irregular	Undulate	Flat	Smooth
	KU_L - 17	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Raised	Rough
พิรุณ 1 (PR1) $PR1_L$ ใบ	$PR1_L$ - 10	ขาว	ใหญ่	Irregular	Undulate	Flat	Mucoid
	$PR1_L$ - 11	ขาว	ใหญ่	Irregular	Undulate	Flat	Mucoid
	$PR1_L$ - 12	ขาว	ใหญ่	Irregular	Undulate	Flat	Smooth
	$PR1_L$ - 13	ขาว	ใหญ่	Irregular	Undulate	Raised	Mucoid
	$PR1_L$ - 14	ขาว	ใหญ่	Irregular	Undulate	Raised	Mucoid
	$PR1_L$ - 15	ขาว	ใหญ่	Irregular	Undulate	Flat	Smooth
	$PR1_L$ - 16	ขาว	ใหญ่	Irregular	Undulate	Flat	Smooth
	$PR1_L$ - 17	ขาว	ใหญ่	Irregular	Undulate	Flat	Smooth
	$PR1_L$ - 18	ขาว	ใหญ่	Irregular	Undulate	Raised	Mucoid
	$PR1_L$ - 19	ขาว	ใหญ่	Irregular	Undulate	Flat	Smooth

เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการสร้างกรดอินโดลอะซีติก ความสามารถในการเพิ่มการละลายฟอสเฟต และการสร้างสารไซเดอโรฟอร์ ได้ผลดังตารางที่ 22

ตารางที่ 22 สมบัติของไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากใบหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 12 เดือน

สายพันธุ์	ไอโซเลท	การสร้างกรดอินโดลอะซีติก (IAA, 3-IAA)	ความสามารถในการเพิ่มการละลายฟอสเฟต	การสร้างสารไซเดอโรฟอร์
ห้วยบง 60 (HB) HB_L ใบ	HB_L - 22	อยู่ระหว่างดำเนินการ	อยู่ระหว่างดำเนินการ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
เกษตรศาสตร์ 50 (KU) KU_L ใบ	KU_L - 12	สารละลายสีชมพู	เกิดโซนใส (10.2 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	KU_L - 13	สารละลายสีเหลือง	เกิดโซนใส (10.5 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	KU_L - 14	สารละลายสีชมพู	เกิดโซนใส (10.7 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	KU_L - 15	สารละลายสีเหลือง	เกิดโซนใส (10.6 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	KU_L - 16	สารละลายสีเหลือง	เกิดโซนใส (10.8 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	KU_L - 17	สารละลายสีชมพู	เกิดโซนใส (10.6 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
พิรุณ 1 (PR1) $PR1_L$ ใบ	$PR1_L$ - 10	สารละลายสีเหลือง	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	$PR1_L$ - 11	สารละลายสีเหลือง	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	$PR1_L$ - 12	สารละลายสีเหลือง	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	$PR1_L$ - 13	สารละลายสีเหลือง	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	$PR1_L$ - 14	สารละลายสีเหลือง	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	$PR1_L$ - 15	สารละลายสีเหลือง	เกิดโซนใส (11.7 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	$PR1_L$ - 16	สารละลายสีชมพู	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	$PR1_L$ - 17	สารละลายสีเหลือง	เกิดโซนใส (11.2 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	$PR1_L$ - 18	สารละลายสีเหลือง	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	$PR1_L$ - 19	สารละลายสีชมพู	เกิดโซนใส (10.7 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ

สำหรับหัวมันสำปะหลังทั้ง 3 สายพันธุ์ สามารถแยกเอนโดไฟท์จากหัวมันสำปะหลังสายพันธุ์ห้วยบง 60 ได้จำนวน 9 ไอโซเลท สายพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ได้จำนวน 7 ไอโซเลท และ สายพันธุ์พิรุณ 1 จำนวน 8 ไอโซเลท ดังแสดงในตารางที่ 23

ตารางที่ 23 ไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากหัวมันสำปะหลังหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 12 เดือน

สายพันธุ์	ไอโซเลท	สีโคโลนี (Colour)	ขนาดโคโลนี (Size)	รูปแบบโคโลนี (Form)	ขอบโคโลนี (Margin)	ลักษณะโคโลนี (Elevation)	ลักษณะเนื้อโคโลนี (Texture)
ห้วยบง 60	HB_R - 11	ขาว	ใหญ่	Irregular	Undulate	Raised	Mucoid
(HB)	HB_R - 12	เหลือง	ใหญ่	Circular	Entire	Flat	Smooth
HB_R หัวมัน	HB_R - 13	เหลือง	ใหญ่	Irregular	Undulate	Raised	Rough
สำปะหลัง	HB_R - 14	ขาว	ใหญ่	Embedded filamentous	Undulate	Flat	Mucoid
	HB_R - 15	เหลือง	เล็ก	Circular	Undulate	Raised	Mucoid
	HB_R - 16	เหลือง	ใหญ่	Circular	Undulate	Raised	Mucoid
	HB_R - 17	เหลือง	เล็ก	Circular	Entire	Umbonate	Smooth
	HB_R - 18	เหลือง	ใหญ่	Irregular	Undulate	Flat	Rough
	HB_R - 19	เหลือง	เล็ก	Circular	Entire	Flat	Mucoid
เกษตรศาสตร์ 50	KU_R - 11	ขาว	ใหญ่	Irregular	Entire	Flat	Mucoid
(KU)	KU_R - 12	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Curled	Mucoid
KU_R หัวมัน	KU_R - 13	ขาว	ใหญ่	Filamentous	Lobate	Flat	Mucoid
สำปะหลัง	KU_R - 14	ขาว	ใหญ่	Irregular	Lobate	Flat	Smooth
	KU_R - 15	ขาว	ใหญ่	Irregular	Undulate	Raised	Mucoid
	KU_R - 16	ขาว	เล็ก	Irregular	Undulate	Raised	Smooth
	KU_R - 17	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Raised	Mucoid
พิรุณ 1	$PR1_R$ - 4	ขาว	ใหญ่	Irregular	Lobate	Raised	Rough
(PR1)	$PR1_R$ - 5	ขาว	ใหญ่	Irregular	Lobate	Flat	Mucoid
$PR1_R$ หัวมัน	$PR1_R$ - 6	ขาว	เล็ก	Circular	Undulate	Umbonate	Rough
สำปะหลัง	$PR1_R$ - 7	ขาว	ใหญ่	Irregular	Lobate	Flat	Mucoid
	$PR1_R$ - 8	เหลือง	ใหญ่	Irregular	Lobate	Flat	Smooth

เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการสร้างกรดอินโดลอะซีติก ความสามารถในการเพิ่มการละลายฟอสเฟต และการสร้างสารไซเดอโรฟอร์ ได้ผลดังตารางที่ 24

ตารางที่ 24 สมบัติของไอโซเลทเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากหัวมันสำปะหลังหลังทำการปลูกเป็นระยะเวลา 12 เดือน

สายพันธุ์	ไอโซเลท	การสร้างกรดอินโดลอะซีติก (IAA, 3-IAA)	ความสามารถในการเพิ่มการละลายฟอสเฟต	การสร้างสารไซเดอโรฟอร์
ห้วยบง 60	HB_R - 11	อยู่ระหว่างดำเนินการ	เกิดโซนใส (11.8 ซม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
(HB)	HB_R - 12	อยู่ระหว่างดำเนินการ	ไม่พบการเจริญ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
HB_R	HB_R - 13	อยู่ระหว่างดำเนินการ	เกิดโซนใส (11.0 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
หัวมันสำปะหลัง	HB_R - 14	อยู่ระหว่างดำเนินการ	เกิดโซนใส (12.2 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_R - 15	อยู่ระหว่างดำเนินการ	เกิดโซนใส (13.6 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_R - 16	อยู่ระหว่างดำเนินการ	เกิดโซนใส (13.4 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_R - 17	อยู่ระหว่างดำเนินการ	เกิดโซนใส (11.2 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_R - 18	อยู่ระหว่างดำเนินการ	เกิดโซนใส (12.2 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	HB_R - 19	อยู่ระหว่างดำเนินการ	เกิดโซนใส (10.9 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
เกษตรศาสตร์	KU_R - 11	อยู่ระหว่างดำเนินการ	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
50 (KU)	KU_R - 12	อยู่ระหว่างดำเนินการ	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
KU_R	KU_R - 13	อยู่ระหว่างดำเนินการ	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
หัวมันสำปะหลัง	KU_R - 14	อยู่ระหว่างดำเนินการ	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	KU_R - 15	อยู่ระหว่างดำเนินการ	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	KU_R - 16	อยู่ระหว่างดำเนินการ	ไม่เกิดโซนใส	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	KU_R - 17	อยู่ระหว่างดำเนินการ	เกิดโซนใส (12.3 มม.)	อยู่ระหว่างดำเนินการ
พิรุณ 1	$PR1_R$ - 4	อยู่ระหว่างดำเนินการ	อยู่ระหว่างดำเนินการ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
(PR1)	$PR1_R$ - 5	อยู่ระหว่างดำเนินการ	อยู่ระหว่างดำเนินการ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
$PR1_R$	$PR1_R$ - 6	อยู่ระหว่างดำเนินการ	อยู่ระหว่างดำเนินการ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
หัวมันสำปะหลัง	$PR1_R$ - 7	อยู่ระหว่างดำเนินการ	อยู่ระหว่างดำเนินการ	อยู่ระหว่างดำเนินการ
	$PR1_R$ - 8	อยู่ระหว่างดำเนินการ	อยู่ระหว่างดำเนินการ	อยู่ระหว่างดำเนินการ

การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ 16s rDNA (16s rDNA sequencing)

เอนโดไฟท์แบคทีเรียที่คัดแยกได้บางส่วน นำมาสกัดดีเอ็นเอ และเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยปฏิกิริยา PCR บริเวณ 16s rDNA นำไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ และเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล GenBank ผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเอนโดไฟท์แบคทีเรียแสดงดังตารางที่ 25

ตารางที่ 25 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเอนโดไฟท์แบคทีเรียที่คัดแยกได้จากมันสำปะหลังเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล GenBank

สายพันธุ์	ไอโซเลท	สายพันธุ์	Accession No.	Identities
ห้วยบง 60 (HB) HB_L ใบ (3 เดือน)	HB_L - 2	*Pantoea agglomerans* strain AJ-G53	KC895500.1	98%
	HB_L - 3	*Pantoea agglomerans* strain AJ-G53	KC895500.1	98%
	HB_L - 4	*Curtobacterium* sp. 13663I	EU741196.1	99%
ห้วยบง 60 (HB) HB_L ใบ (6 เดือน)	HB_L - 6	*Bacillus subtilis* strain 30L1-2	JN366795.1	96%
	HB_L - 8	*Bacillus* sp. strain JHAR2	MG757948	100%
	HB_L – 9	*Bacillus pumilus*	HQ164544.1	96%
	HB_L - 10	*Bacillus subtilis*	MF403067.1	96%
ห้วยบง 60 (HB) HB_L ใบ (9 เดือน)	HB_L - 15	*Bacillus amyloliquefaciens*	HQ407277.1	97%
	HB_L - 16	*Bacillus amyloliquefaciens*	JQ936683.1	98%
	HB_L - 18	*Bacillus subtilis* strain IBFCBF-4	MG751326.1	96%
	HB_L - 19	*Bacillus subtilis* strain IBFCBF-4	MG751326.1	96%
	HB_L - 20	*Bacillus velezensis* strain YL15	KY887775.1	96%
	HB_L - 21	*Bacillus velezensis* strain NJN-6	CP007165.1	97%
พิรุณ 1 (PR1) $PR1_S$ ลำต้น (0 เดือน)	$PR1_S$ - 1	*Staphylococcus epidermidis* strain MER_187	KT719770.1	99%
	$PR1_S$ - 2	*Staphylococcus sp.* strain InS-282	KY964236.1	96%
	$PR1_s$ - 3	*Bacillus subtilis*	JQ409538.1	98%
	HT_L - 5	*Bacillus subtilis* strain Y14	JQ579621.1	98%

การสกัดสารและแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (อนุพันธ์ของกรดอินโดลอะซีติก)

การวิจัยนี้ได้ทำการทดสอบแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ กรดอินโดลอะซีติก จากอาหารเลี้ยงเชื้อเอนโดไฟท์ของไอโซเลทที่แยกได้ ได้แก่ เอนโดไฟท์ $PR1_s$-1 และ เอนโดไฟท์ $HB60_r$-9 หลังจากการแยกสารสกัดหยาบด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เอทิลอะซิเทต และเมทานอล แล้วนำมาละลายตะกอนด้วย DMSO พบว่า อนุพันธ์ของกรดอินโดลอะซีติก ถูกแยกอยู่ในส่วนของตัวทำละลายเอทิลอะซิเทต และเฮกเซน ในอาหารเลี้ยงเชื้อเอนโดไฟท์ $PR1_s$-1 และ $HB60_r$-9 ตามลำดับ ซึ่งสารดังกล่าวจะถูกนำมาทำให้บริสุทธิ์ เพื่อศึกษาองค์ประกอบและโครงสร้างของสารต่อไป

การคัดแยกและศึกษาลักษณะสมบัติของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสจากดินที่ปลูกมันสำปะหลัง

ในรายงานครั้งนี้ ได้รายงานเพิ่มเติมเกี่ยวกับการคัดแยกและศึกษาลักษณะสมบัติของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสจากดินที่ปลูกมันสำปะหลัง หลังจากเกษตรกรเก็บเกี่ยวหัวมันสำปะหลังไปจำหน่าย จะมีวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรจำพวกกิ่งและใบตกค้างอยู่ในแปลง ซึ่งจัดเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรจำนวนมาก เกษตรกรจำต้องไถกลบลงหน้าดิน เพื่อให้เศษวัสดุทางการเกษตรผสมไปในเนื้อดิน และย่อยสลายโดยธรรมชาติ จากนั้นทำการเตรียมหน้าดินสำหรับการลงแปลงในรอบต่อไป

เซลลูโลสเป็นสารประกอบอินทรีย์พบได้ทั่วไปในผนังเซลล์ของพืชชั้นสูงทุกชนิด (Juturu and Wu, 2014) ในทุกปีจะมีเซลลูโลสสะสมในสิ่งแวดล้อมเพิ่มขึ้นถึงสี่พันล้านตัน (Sarkar et al., 2012) การย่อยสลายซากพืชในธรรมชาติ รวมถึงวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร จำเป็นต้องอาศัยเซลลูเลสที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์ ซึ่งโดยส่วนใหญ่เป็นเอนไซม์ที่ผลิตและปล่อยออกมาสู่ภายนอกเซลล์ (extracellular enzyme) เซลลูเลสที่ราเป็นผู้ผลิตนั้น มีการศึกษาเป็นจำนวนมาก เนื่องจากมีกิจกรรมของเอนไซม์ที่สูงและดี อย่างไรก็ดี ราเจริญเติบโตช้า และเอนไซม์ที่ราผลิตนั้นส่วนใหญ่เกิดกิจกรรมได้ดีที่สภาวะเป็นกรด (มูรนีย์ บริบูรณ์สุข, 2557) ปัจจุบันพบว่าแบคทีเรียสามารถผลิตเซลลูเลสและมีกิจกรรมของเอนไซม์ที่สูงและดีเช่นกัน (Nagendran et al., 2009) นอกจากนี้ แบคทีเรียมีอัตราการเจริญโตที่เร็วกว่ารา ซึ่งส่งผลให้อัตราการผลิตเอนไซม์นั้นสูงตามไปด้วย (Gaur and Tiwari, 2015) เช่น *Bacillus brevis* (Singh and Kumar, 1998), *B. pumilus* (Kotchoni et al., 2003), *B. amyoliquefaciens* DL-3 (Lee et al., 2008) และ *B. subtilis* YJ1 (Yin et al., 2010) นอกจากนี้เอนไซม์จากแบคทีเรียบางสายพันธุ์มีสมบัติทนอุณหภูมิสูง และทนต่อความเป็นด่าง ทำให้เซลลูเลสที่ผลิตได้จากแบคทีเรียถูกนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ อย่างกว้างขวาง (รุจิกาญจน์ นาสนิท, 2545) เซลลูเลสเมื่อแบ่งตามหลักการทำงาน สามารถจำแนกได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ Endoglucanase หรือ Carboxy-methycellulase ซึ่งจำเพาะต่อซับสเตรตที่มีโครงสร้างในลักษณะรูปร่างไม่เป็นระเบียบ เช่น β-glucan carboxymethylcellulose จึงมีความจำเพาะต่อซับสเตรต CMC (Carboxyl Methyl Cellulose) Exoglucanase จำเพาะต่อซับเสรตที่มีโครงสร้างในลักษณะเรียงตัวเป็นระเบียบ (crystalline cellulose) ได้แก่ Avicel, p-nitrophenyl-β-D-cellobioside และ Beta-glucosidase สามารถย่อยซับสเตรต เช่น cellobiose, p-nitrophenyl glucoside (Wood, 1992)

แบคทีเรียที่ผลิตเซลลูเลส สามารถพบได้ในสภาพแวดล้อมที่หลากหลาย เช่น ดินบริเวณทะเลสาบ (Aygan et al., 2011) มูลสัตว์ (Sadhu et al., 2013), กระเพาะอาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้องและลำไส้ปลวก (Fujimoto et al., 2011; Upadhyaya et al., 2012) เหมืองทองคำ (Rastogi et al., 2009) และ น้ำพุร้อน (Acharya and Chaudhary, 2012) แบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนในการเจริญ (aerobic bacteria) ที่คัดแยกจากดินโดยทั่วไปจะผลิตเซลลูเลสชนิดทุติยภูมิ (secondary metabolism) ที่ไม่สัมพันธ์กับการเจริญ เช่น

Bacillus sp., *Micromonospora* sp. และ *Thermobifida* sp. เป็นต้น ประเทศไทยอยู่ในภูมิภาคร้อนชื้น มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง ทำให้มีศักยภาพในการค้นหาจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสได้อย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น จากนั้นคัดเลือกแบคทีเรียที่สามารถผลิตเซลลูเลสในปริมาณที่สูง และศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูเลส รวมถึงศึกษาสมบัติของจุลินทรีย์ดังกล่าวโดยนำเศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมาย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ที่คัดเลือกมาทดลองในระดับห้องปฏิบัติการ เพื่อพัฒนาหัวเชื้อจุลินทรีย์มาใส่ลงในดินระหว่างกระบวนการไถกลบหน้าดิน และย่อยสลายเศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

วิธีการดำเนินการวิจัย (Materials & Methods)

1.เก็บตัวอย่างดินบริเวณแปลงปลูกมันสำปะหลังจากศูนย์วิจัยพืชไร่ จ.ระยอง

เก็บตัวอย่างดินบริเวณรากมันสำปะหลังจากศูนย์วิจัยพืชไร่ จ.ระยอง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 , พันธุ์พิรุณ 1 และ พันธุ์ห้วยบง 60 ทุก 3 เดือน เป็นเวลา 12 เดือน หลังจากที่เก็บตัวอย่างมาแล้วนำมาชั่งน้ำหนักตัวอย่างดิน 5 กรัมละลายใน 0.1 (w/v) % peptone 45 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางด้วย 0.1% (w/v) peptone โดยวิธี 10 - fold serial dilutions นำตัวอย่างที่เจือจางเรียบร้อยแล้วตั้งแต่ dilution ที่ 10^{-1}-10^{-6} มาเกลี่ยลงบนอาหาร Nutrient agar (NA) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นคัดเลือกแบคทีเรียที่มีลักษณะโคโลนีแตกต่างกันมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และศึกษาลักษณะสัณฐานของแบคทีเรียที่แยกได้ ได้แก่ สี ขนาด ลักษณะการเจริญ ขอบของโคโลนี จากนั้นบันทึกผล

1. คัดกรองและแยกแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลส

เขี่ยโคโลนีเดี่ยวของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ลงบนอาหารแข็งคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (CMC agar : 0.5 (w/v) % Carboxyl Methyl Cellulose, 0.05 (w/v) % yeast extract, 0.1 (w/v) % KCl, 0.05 (w/v) % $MgSO_4$, 0.1 (w/v) % K_2HPO_4, 0.1 (w/v) % $NaNO_3$, 1.5 (w/v) % agar) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส โดยเท 1 % คองโกเรด 8 มิลลิลิตร ลงบนอาหารแข็งทิ้ง ไว้ 15 นาที ตามด้วย 1 M โซเดียมคลอไรด์ 8 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 10 นาที (Teather and Wood, 1982) สังเกตโคโลนีที่เกิดบริเวณใส ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี และบริเวณใสที่เกิดขึ้น

2. ลักษณะสัณฐานของแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสที่แยกได้

นำแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสที่แยกได้จากตัวอย่างดินจากบริเวณรากมันสำปะหลังจากศูนย์วิจัยพืชไร่ จ.ระยอง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 , พันธุ์พิรุณ 1 และ พันธุ์ห้วยบง 60 มาศึกษาลักษณะสัณฐานของแบคทีเรีย ได้แก่ สี ขนาด ลักษณะการเจริญ ขอบของโคโลนี จากนั้นบันทึกผลในตาราง

3. การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ 16S rDNA (16S rDNA sequencing)

ทำการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ 16s rDNA ของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากดินที่ปลูกมันสำปะหลังที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลส เทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีในฐานข้อมูล GenBank เช่นเดียวกับเอนโดไฟท์ที่คัดแยกได้จากมันสำปะหลัง ดังการทดลองในข้อ 3.1-3.6

ผลการแยกและศึกษาลักษณะสมบัติของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสจากดินที่ปลูกมันสำปะหลัง

ผลจากการคัดแยกแบคทีเรียจากดินที่ปลูกมันสำปะหลัง สายพันธุ์ เกษตรศาสตร์ 50, ห้วยบง 60 และพิรุณ 1 จากเวลา 3, 6, 9 และ 12 เดือนตามลำดับ สามารถแยกแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้จำนวน 86 ไอโซเลท ดังแสดงในตารางที่ 26

ตารางที่ 26 จำนวนของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสจากดินที่ปลูกมันสำปะหลังในเวลาต่าง ๆ

สายพันธุ์ เวลา (เดือน)	เกษตรศาสตร์ 50 (จำนวนไอโซเลท)	ห้วยบง 60 (จำนวนไอโซเลท)	พิรุณ 1 (จำนวนไอโซเลท)
3	26	-	-
6	6	2	15
9	10	2	7
12	5	5	8

ตารางที่ 27 ไอโซเลทแบคทีเรียที่แยกได้จากดินที่มีการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส (ระยะเวลา 3 เดือน)

สายพันธุ์	ไอโซเลท	สีโคโลนี (Colour)	ขนาดโคโลนี (Size)	รูปแบบโคโลนี (Form)	ขอบโคโลนี (Margin)	ลักษณะโคโลนี (Elevation	ลักษณะเนื้อโคโลนี (Texture)
เกษตรศาสตร์ 50 (KU50)	N2	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Raised	Smooth
	N10	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Raised	Smooth
	N12	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	N13	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	N14	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Raised	Smooth
	N16	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	N17	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	N22	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	N24	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	N25	ขาว	เล็ก	Circular	Undulate	Raised	Smooth
	N27	เหลือง	เล็ก	Circular	Entire	Convex	Smooth
	N40	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Raised	Smooth
	N41	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Convex	Mucoid
	N42	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Convex	Mucoid
	N44	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	N45	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	P5	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	P6	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Raised	Smooth
	P10	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Raised	Smooth
	P13	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Raised	Smooth
	P24	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	P30	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Raised	Smooth
	P32	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Cortex	Mucoid
	P33	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Raised	Smooth
	P34	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Cortex	Mucoid
	P36	ขาว	ใหญ่	Circular	entire	Raised	Smooth

ตารางที่ 28 ไอโซเลทแบคทีเรียที่แยกได้จากดินที่มีการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส (ระยะเวลา 6 เดือน)

สายพันธุ์	ไอโซเลท	สีโคโลนี (Colour)	ขนาดโคโลนี (Size)	รูปแบบโคโลนี (Form)	ขอบโคโลนี (Margin)	ลักษณะโคโลนี (Elevation	ลักษณะเนื้อโคโลนี (Texture)
เกษตรศาสตร์ 50	N1	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Raised	Smooth
(KU50)	N10	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Raised	Smooth
	N12	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	P1	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	P3	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Raised	Smooth
	P8	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Raised	Smooth
ห้วยบง 60	N11	เหลือง	เล็ก	Circular	Entire	Raised	Smooth
(HB60)	P5	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
พิรุณ 1	N1	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
(PR1)	N5	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	N6	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	N7	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Raised	Smooth
	N9	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	N12	เหลือง	เล็ก	Circular	Entire	Raised	Smooth
	N19	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	N23	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	P5	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	P6	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Raised	Smooth
	P8	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	P9	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	P11	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	P13	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Raised	Smooth
	P15	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Raised	Smooth

ตารางที่ 29 ไอโซเลทแบคทีเรียที่แยกได้จากดินที่มีการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส (ระยะเวลา 9 เดือน)

สายพันธุ์	ไอโซเลท	สีโคโลนี (Colour)	ขนาดโคโลนี (Size)	รูปแบบโคโลนี (Form)	ขอบโคโลนี (Margin)	ลักษณะโคโลนี (Elevation	ลักษณะเนื้อโคโลนี (Texture)
เกษตรศาสตร์ 50	N4	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
(KU50)	N6	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Raised	Smooth
	N8	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	N10	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Raised	Smooth
	N15	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	P2	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	P9	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	P10	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	P11	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	P12	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
ห้วยบง 60	N1	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Raised	Smooth
(HB60)	P6	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
พิรุณ 1	N2	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Raised	Smooth
(PR1)	N8	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Raised	Smooth
	N14	ขาว	ใหญ่	Circular	Entire	Raised	Smooth
	P3	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	P4	เหลือง	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Smooth
	P6	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Raised	Smooth
	P12	ขาว	เล็ก	Circular	Entire	Raised	Smooth

ตารางที่ 30 ไอโซเลทแบคทีเรียที่แยกได้จากดินที่มีการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส (ระยะเวลา 12 เดือน)

สายพันธุ์	ไอโซเลท	สีโคโลนี (Colour)	ขนาดโคโลนี (Size)	รูปแบบโคโลนี (Form)	ขอบโคโลนี (Margin)	ลักษณะโคโลนี (Elevation	ลักษณะเนื้อโคโลนี (Texture)
เกษตรศาสตร์ 50	N5	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
(KU50)	N10	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	P1	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	P8	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	P9	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
ห้วยบง 60	N3	เหลือง	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
(HB60)	N5	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	N7	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	P1	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	P5	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
พิรุณ 1	N2	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
(PR1)	N9	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	N10	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Raised	Mucoid
	P1	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	P2	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	P4	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	P8	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid
	P12	ขาว	ใหญ่	Circular	Undulate	Convex	Mucoid

จากนั้นนำแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลส นำมาสกัดดีเอ็นเอเช่นเดียวกับเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากมันสำปะหลัง และเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยปฏิกิริยา PCR บริเวณ 16s rDNA นำไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ และเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล GenBank ผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากดินที่ปลูกมันสำปะหลัง แสดงดังตารางที่ 31

ตารางที่ 31 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสจากดินที่ปลูกมันสำปะหลัง เทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล GenBank

สายพันธุ์	ไอโซเลท	สายพันธุ์	Accession No.	Identities
เกษตรศาสตร์ 50 (KU) (0 เดือน)	N2	*Bacillus velezensis*	KJ767360.1	98%
	N12	*Bacillus aerophilus*	KT067734.1	89%
	N13	*Bacillus amyloliquefaciens* strain ATCC 23350	NR_118950.1	96%
	N14	*Bacillus methylotrophicus* strain CBMB205	NR_116240.1	97%
	N16	*Bacillus subtilis*	HQ738505.1	96%
	N17	*Bacillus subtilis* strain BGSC 3428	NR_104873.1	95%
	N22	*Bacillus subtilis* strain JSM 1465	NR_113265.1	95%
	N24	*Bacillus subtilis* strain BGSC 3428	NR_104873.1	95%
	N25	*Bacillus velezensis* strain FZB42	NR_075005.2	98%
	N27	*Bacillus nakamurai* strain NRRL B-41091	NR_151897.1	95%
	N41	*Bacillus nakamurai* strain NRRL B-41091	NR_151897.1	99%
	N42	*Bacillus fastidious* strain NBRC 101226	NR_113989.1	94%
	N44	*Bacillus amyloliquefaciens*	JN661699.1	96%
	N45	*Bacillus amyloliquefaciens*	KF954553.1	97%
	P5	*Bacillus amyloliquefaciens* strain BCRC 11601	NR_118950.1	97%
	P6	*Bacillus methylotrophicus* strain CBMB205	NR_116240.1	97%
	P10	*Bacillus methylotrophicus* strain CBMB205	NR_116240.1	99%
	P13	*Bacillus velezensis* strain FZB42	NR_075005.2	96%
	P24	*Bacillus velezensis* strain FZB42	NR_075005.2	96%
	P30	*Bacillus velezensis* strain FZB42	NR_075005.2	95%

ตารางที่ 31 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสจากดินที่ปลูกมันสำปะหลังเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล GenBank (ต่อเนื่อง)

สายพันธุ์	ไอโซเลท	สายพันธุ์	Accession No.	Identities
เกษตรศาสตร์ 50 (KU) (0 เดือน) (ต่อ)	P32	*Bacillus amyloliquefaciens* strain NBRC 15535	NR041455.1	95%
	P33	*Bacillus velezensis* strain FZB42	NR075005.2	99%
	P34	*Bacillus amyloliquefaciens* strain ATCC 23350	NR118950.1	97%
	P36	*Bacillus megatarium*	KU647232.1	100%
	N10	*Bacillus pumilus*	KM596793.1	98%
เกษตรศาสตร์ 50 (KU) (6 เดือน)	P1	*Bacillus subtilis* strain IAM 12118	NR112116.2	94%
	P3	*Bacillus siamensis* strain PD-A10	NR117274.1	94%
	P8	*Bacillus subtilis* strain IAM 12118	NR112116.2	99%
	N1	*Bacillus velezensis* strain FZB42	NR075005.2	96%
เกษตรศาสตร์ 50 (KU) (9 เดือน)	N4	*Bacillus velezensis* strain FZB42	NR075005.2	96%
	N6	*Bacillus safensis*	GU339232.1	85%
	N8	*Bacillus subtilis* strain 168	NR102783.2	94%
	N10	*Bacillus safensis*	CP015611.1	96%
	N15	*Bacillus amyloliquefaciens*	KM015452.1	96%
	P2	*Bacillus amyloliquefaciens*	JF460715.1	99%
	P9	*Bacillus amyloliquefaciens*	JF826293.1	96%
	P10	*Bacillus velezensis*	CP007165.1	93%
	P11	*Bacillus siamensis* strain PD-A10	NR117274.1	97%
	P12	*Bacillus amyloliquefaciens*	KT324616.1	96%

ตารางที่ 31 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสจากดินที่ปลูกมันสำปะหลังเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล GenBank (ต่อเนื่อง)

สายพันธุ์	ไอโซเลท	สายพันธุ์	Accession No.	Identities
ห้วยบง 60 (HB) (6 เดือน)	P5	*Bacillus subtilis*	CP029461.1	92%
ห้วยบง 60 (HB) (9 เดือน)	N1	*Bacillus safensis*	KU605230.1	98%
	P6	*Bacillus subtilis*	MF417491.1	98%
ห้วยบง 60 (HB) (12 เดือน)	N3	*Bacillus vallismortis* strain DSM 11031	NR024696.1	95%
	N5	*Bacillus methylotrophicus* strain CBMB205	NR116240.1	97%
	N7	*Bacillus subtilis*	EU294413.1	98%
	P1	*Bacillus amyloliquefaciens*	KF578137.1	98%
	P5	*Bacillus subtilis*	JX467174.1	98%

ตารางที่ 31 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสจากดินที่ปลูกมันสำปะหลังเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล GenBank (ต่อเนื่อง)

สายพันธุ์	ไอโซเลท	สายพันธุ์	Accession No.	Identities
พิรุณ 1 (PR1) (6 เดือน)	N5	*Bacillus amyloliquefaciens*	KY773617.1	99%
	N6	*Bacillus subtilis*	KF032710.1	99%
	N9	*Bacillus amyloliquefaciens*	KM091696.1	99%
	N19	*Bacillus amyloliquefaciens*	KT324616.1	96%
	N23	*Bacillus amyloliquefaciens*	AB301022.1	96%
	P5	*Bacillus velezensis* strain FZB42	NR075005.2	99%
	P6	*Bacillus pumilus*	FJ763645.1	99%
	P8	*Bacillus amyloliquefaciens*	KX058503.1	94%
	P9	*Bacillus subtilis*	HM631977.1	99%
	P11	*Bacillus amyloliquefaciens*	KP001322.1	97%
	P13	*Paenibacillus kribbensis*	KU359268.1	97%
พิรุณ 1 (PR1) (9 เดือน)	N8	*Bacillus pumilus*	JQ798393.1	92%
	N14	*Bacillus safensis*	MF620074.1	94%
	P3	*Bacillus subtilis*	KJ123713.1	96%
	P6	*Paenibacillus polymyxa*	KY810622.1	99%
พิรุณ 1 (PR1) (12 เดือน)	N9	*Bacillus amyloliquefaciens*	CP006960.1	93%
	N10	*Bacillus velezensis*	CP021976.1	89%
	P1	*Bacillus xiamenensis* strain MCCC 1A0008	NR148244.1	94%
	P2	*Bacillus subtilis*	KF815527.1	99%
	P4	*Bacillus amyloliquefaciens*	KF933622.1	99%
	P8	*Bacillus amyloliquefaciens*	FJ685773.1	93%

สรุปผลการดำเนินงาน

การแยกและศึกษาสมบัติของเชื้อเอนโดไฟท์ที่เจริญอยู่ในมันสำปะหลัง

สามารถแยกเอนโดไฟท์ได้ครบระยะเวลา 1 ปี จากมันสำปะหลัง 3 สายพันธุ์ คือ พันธุ์ห้วยบง 60 (HB60) พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 (KU50) และพันธุ์พิรุณ 1 (PR1) ดังนี้

สายพันธุ์มันสำปะหลัง	จำนวนไอโซเลทของเอนโดไฟท์		
	ลำต้น/ท่อน	ใบ	ราก/หัวมันสำปะหลัง
ระยะเวลา 0 เดือน			
พันธุ์ห้วยบง 60 (HB60)	8	-	-
พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 (KU50)	4	-	-
พันธุ์พิรุณ 1 (PR1)	2	-	-
ระยะเวลา 3 เดือน			
พันธุ์ห้วยบง 60 (HB60)	4	5	-
พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 (KU50)	2	2	-
พันธุ์พิรุณ 1 (PR1)	3	1	-
ระยะเวลา 6 เดือน			
พันธุ์ห้วยบง 60 (HB60)	6	9	4
พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 (KU50)	4	5	3
พันธุ์พิรุณ 1 (PR1)	3	6	2
ระยะเวลา 9 เดือน			
พันธุ์ห้วยบง 60 (HB60)	4	7	6
พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 (KU50)	10	6	7
พันธุ์พิรุณ 1 (PR1)	1	2	3
ระยะเวลา 12 เดือน			
พันธุ์ห้วยบง 60 (HB60)	4	1	9
พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 (KU50)	4	6	7
พันธุ์พิรุณ 1 (PR1)	4	10	5

เอนโดไฟท์แบคทีเรียที่แยกได้จากมันสำปะหลัง 3 สายพันธุ์ มีจำนวนทั้งสิ้น 169 ไอโซเลท โดยส่วนที่เป็นท่อนลำต้นนั้น คัดแยกได้ทั้งหมด 63 ไอโซเลท ใบ คัดแยกได้ทั้งหมด 60 ไอโซเลท และหัวมันสำปะหลัง คัดแยกได้ทั้งหมด 46 ไอโซเลท และสามารถศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ 16S rDNA ได้ จำนวน 17 ไอโซเลท เป็นสกุล *Bacillus* จำนวน 12 ไอโซเลท

เอนโดไฟท์แบคทีเรียที่แยกได้ทั้งหมดนั้นได้ถูกนำมาศึกษาลักษณะของโคโลนี ได้แก่ สี ขนาด รูปแบบของโคโลนี ลักษณะของโคโลนี ขอบของโคโลนี และเนื้อโคโลนี นอกจากนี้เอนโดไฟท์ที่แยกได้บางส่วนนำไปศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ช่วยในการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ ศึกษาสมบัติในการสร้างอนุพันธ์กรดอินโดลอะซีติก ศึกษาสมบัติในการละลายฟอสเฟตในดิน และการสร้างสารไซเดอโรฟอร์

งานวิจัยนี้ได้นำตัวอย่างเอนโดไฟท์ที่สามารถผลิตอนุพันธ์กรดอินโดลอะซีติกจากอาหารเลี้ยงเชื้อเอนโดไฟท์ของไอโซเลทที่แยกได้ คือ $PR1_s$-1 และ $HB60_r$-9 ไปทำการสกัดแยกอย่างหยาบด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เอทิลอะซิเทต และเมทานอล พบว่า อนุพันธ์ของกรดอินโดลอะซีติก อยู่ในส่วนของตัวทำละลายเอทิลอะซิเทต และเฮกเซน ในอาหารเลี้ยงเชื้อเอนโดไฟท์ $PR1_s$-1 และ $HB60_r$-9 ตามลำดับ ซึ่งสารดังกล่าวจะถูกนำมาทำให้บริสุทธิ์ เพื่อศึกษาองค์ประกอบและโครงสร้างของสารต่อไป

การคัดแยกและศึกษาลักษณะสมบัติของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสจากดินที่ปลูกมันสำปะหลัง

สามารถแยกแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสจากดินที่ปลูกมันสำปะหลัง 3 สายพันธุ์ คือ พันธุ์ห้วยบง 60 (HB60) พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 (KU50) และพันธุ์พิรุณ 1 (PR1) ดังนี้

สายพันธุ์มันสำปะหลัง	จำนวนไอโซเลทของแบคทีเรีย		
ระยะเวลา 3 เดือน			
พันธุ์ห้วยบง 60 (HB60)	4	5	-
พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 (KU50)	2	2	-
พันธุ์พิรุณ 1 (PR1)	3	1	-
ระยะเวลา 6 เดือน			
พันธุ์ห้วยบง 60 (HB60)	6	9	4
พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 (KU50)	4	5	3
พันธุ์พิรุณ 1 (PR1)	3	6	2
ระยะเวลา 9 เดือน			
พันธุ์ห้วยบง 60 (HB60)	4	7	6
พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 (KU50)	10	6	7
พันธุ์พิรุณ 1 (PR1)	1	2	3
ระยะเวลา 12 เดือน			
พันธุ์ห้วยบง 60 (HB60)	4	1	9
พันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 (KU50)	4	6	7
พันธุ์พิรุณ 1 (PR1)	4	10	5

แบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสที่แยกได้จากดินที่ปลูกมันสำปะหลัง 3 สายพันธุ์ มีจำนวนทั้งสิ้น 155 ไอโซเลท สามารถศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ได้ จำนวน 68 ไอโซเลท เป็นสกุล *Bacillus* จำนวน 67 ไอโซเลท และ ส่วน 1 ไอโซเลทที่เหลือ เป็นสกุล *Paenibacillus* ซึ่งไอโซเลทแบคทีเรียที่แยกได้จะถูกนำมาศึกษาความจำเพาะของเอนไซม์เซลลูเลสด้วยซับสเตรตที่จำเพาะต่อเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ

อภิปราย / วิจารณ์ (Discussion) ผลการวิจัย

การแยกและศึกษาสมบัติของเชื้อเอนโดไฟท์ที่เจริญอยู่ในมันสำปะหลัง

การวิจัยนี้เป็นงานวิจัยต่อเนื่องจากการแยกเอนโดไฟท์จากมันสำปะหลัง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ห้วยบง 60 สายพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และสายพันธุ์พิรุณ 1 ในพื้นที่ปลูกของศูนย์วิจัยพืชไร่ จังหวัดระยอง ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2558 ถึง 31 มีนาคม 2560 ซึ่งศึกษารูปร่างและสมบัติเอนไฟท์ที่แยกได้ โครงการวิจัยนี้เดิมได้เสนอเน้นการแยกเอนโดไฟท์ในส่วนของลำต้น อย่างไรก็ดีทางคณะผู้วิจัย ได้ศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของการเก็บใบ และหัวมันสำปะหลัง เพื่อที่จะได้ประชากรเอนโดไฟท์ที่หลากหลายและจำนวนที่เพิ่มมากขึ้น โดยจากการศึกษาการแยกเอนโดไฟท์จากไม้พุ่ม (*Cirsium arvense*, *Plantago lanceolata* และ *Rumex acetosa*) พบว่าบริเวณรากมีจำนวนและความหลากหลายของเอนโดไฟท์มากกว่าใบ และในฤดูร้อนมีมากกว่าในฤดูหนาว (Wearn et al., 2012) และในการศึกษาเอนโดไฟท์ในส่วนของใบ ลำต้นและรากของพืช Stellera chamaejasme พบว่าในรากมีจำนวนเอนโดไฟท์มากกว่าในส่วนของใบและลำต้นเช่นกัน (Jin et al., 2013) รายงานเอนโดไฟท์ในมันสำปะหลังปัจจุบันยังคงมีจำนวนไม่มาก โดยเอนโดไฟท์ที่รายงานนั้นพบว่าเอนโดไฟท์ที่แยกได้ความสามารถในการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่แตกต่างกันออกไป (de Melo FMP et al., 2009; Canova et al., 2010; Chen et al., 2014; Greenfield et al., 2016)

งานวิจัยนี้ทางคณะผู้วิจัยได้ทำการศึกษาสมบัติทางชีวภาพที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช 3 สมบัติ คือ สมบัติการสร้างกรดอินโดลอะซีติก (Indole-3-Acetic Acid, 3-IAA) ความสามารถในการเพิ่มการละลายฟอสเฟต สมบัติในการสร้างไซเดอโรฟอร์ สมบัติของเอนโดไฟท์ที่แยกได้นั้นได้ทำการศึกษาเพิ่มเติม จนใกล้ครบไอโซเลทของเอนโดไฟท์ที่แยกได้ แต่ทว่าการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ 16s rDNA เพื่อจัดจำแนกสายพันธุ์ของเอนโดไฟท์นั้นยังประสบปัญหา เนื่องจากเอนโดไฟท์ส่วนใหญ่ยากต่อการสกัดสารพันธุกรรม ทำให้การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ดำเนินการไปได้ช้า ไม่เป็นไปตามที่คาดหวังไว้

กรดอินโดลอะซีติก (Indole-3-Acetic Acid; IAA) จัดเป็นฮอร์โมนพืชกลุ่มออกซิน โดยอาศัยกรดอะมิโนทริบโตเฟน (Tryptophan) มาใช้ในการสังเคราะห์ กรดอินโดลอะซีติกจะช่วยในการควบคุม หรือส่งเสริมการเจริญของพืชซึ่งจะให้ผลกระทบที่แตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด มีบทบาทช่วยในการยืดตัว และการแบ่งตัวของเซลล์ รวมถึงการกระตุ้นการเจริญเติบโตและพัฒนาการของพืช ดังนั้น เอนโดไฟท์ที่มีความสามารถในการสร้างกรดอินโดลอะซีติก จัดเป็นเอนโดไฟท์ที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มหนึ่ง ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้พบว่า เอนโดไฟท์ที่แยกได้จากมันสำปะหลังบางส่วน มีความสามารถในการที่จะสร้างกรดอินโดลอะซีติกได้ ซึ่งพบได้ในเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากพืชชนิดอื่นเช่นกัน อาทิเช่น เอนโดไฟท์แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่แยกได้จาก *Curcuma longa* (Kumar et al., 2016) และเอนโดไฟท์แบคทีเรียสายพันธุ์อื่น ๆ ที่แยกได้จากต้นอ่อนพืชและต้นอ่อนแพร์ (Liaqat and Eltem, 2016) มีสมบัติในการผลิตกรดอินโดลอะซีติก เป็นต้น ซึ่งในปัจจุบัน

เอนโดไฟท์แบคทีเรียหลายสกุลที่สร้างกรดอินโดลอะซีติก สามารถนำไปใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลาย โดยมีการนำไปใช้ประโยชน์ทางเกษตรกรรม ซึ่งให้ผลดีต่อการเจริญของพืช เช่น *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Acetobacter*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Enterobacter* และ *Xanthomonas* เป็นต้น (Ahmad et al., 2008)

โดยทั่วไป ธาตุฟอสฟอรัสที่พบในดินส่วนใหญ่อยู่ในรูปของฟอสเฟตที่ไม่ละลายน้ำ ซึ่งไม่เป็นประโยชน์ต่อพืช แต่ทว่าฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารหลักของพืชที่ใช้ในการเจริญเติบโตในด้านต่าง ๆ พืชที่ขาดธาตุฟอสฟอรัสจะทำให้การเจริญเติบโตช้า มีลำต้นแคระแกร็น ใบมีขนาดเล็กลง จำนวนใบลดลง (Brady and Weil 2008) แบคทีเรียบางสายพันธุ์สามารถเปลี่ยนแปลงฟอสเฟตไม่ละลายน้ำในดินให้อยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้ ส่งผลให้พืชสามารถนำฟอสเฟตดังกล่าวไปใช้ประโยชน์ในการเจริญเติบโตได้ เรียกแบคทีเรียนี้ว่า Phosphate solubilizing bacteria มีรายงายพบว่า เอนโดไฟท์แบคทีเรียที่แยกได้จากพืชชนิดต่าง ๆ อาทิเช่น เอนโดไฟท์แบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescens* L111, L228, L321 และ L132 ที่แยกได้จากใบของพืช Miscanthus giganteus และ เอนโดไฟท์แบคทีเรีย Bacillus sp. ที่แยกได้จากลำต้นของ *Brassica napus* (Oteino et al., 2015) และพืช *Carex kobomugi* เป็นพืชที่อยู่ตามชายหาดซึ่งมักเป็นพื้นที่ที่ไม่มีแร่ธาตุอาหารมากนัก สามารถพบเอนโดไฟท์แบคทีเรียจำพวก *Bacillus* sp., *Streptomyces luteogriseus* และ *Pseudomonas fluorescens* ที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตที่อยู่ในชายหาดได้ (Matsuoka et al., 2013)

สำหรับไซเดอโรฟอร์ เป็นสารที่มีความจำเพาะต่อเฟอริกไอออนที่ผลิตได้จากแบคทีเรียและราบางชนิด เป็นตัวช่วยนำเหล็กเข้าสู่จุลินทรีย์ภายใต้สภาวะแวดล้อมที่มีปริมาณเหล็กที่จำกัด ดังนั้น จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างไซเดอโรฟอร์ เมื่ออาศัยอยู่ในดิน และ/หรือรากพืช ก็จะมีส่วนช่วยให้พืชนำธาตุเหล็กเข้าไปใช้ได้ง่าย นอกจากนี้ไซเดอโรฟอร์ยังช่วยในการจับกับธาตุเหล็ก ส่งผลให้จุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคพืชไม่สามารถที่จะนำธาตุเหล็กไปใช้ในเจริญเติบโตได้ จากงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าเอนโดไฟท์แบคทีเรียที่แยกได้จากพืชต่าง ๆ สามารถสร้างไซเดอโรฟอร์ได้ ในกรณีของข้าว *Oryza sativa* ได้มีการศึกษาในส่วนของเมล็ดข้าว ราก และใบ พบว่ามีเอนโดไฟท์แบคทีเรีย โดยส่วนมากอยู่ในสกุล *Sphingomonas*, *Pseudomonas*, *Burkholderia* และ *Enterobacter* ซึ่งจำนวนจะเปลี่ยนแปลงไปตามช่วงอายุของต้นข้าว แต่ทว่าแบคทีเรียเอนโดไฟท์สกุล *Pantoea* พบมากในบริเวณรากช่วงที่เริ่มจะเป็นต้นกล้าและในใบของข้าวในระยะต่อมา (Loaces et al., 2011) ในงานวิจัยนี้ พบว่าแบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากมันสำปะหลังบางไอโซเลทมีความสามารถในการสร้างไซเดอโรฟอร์เช่นกัน

เอนโดไฟท์แบคทีเรียที่คัดแยกได้จากพืชหลาย ๆ ชนิด พบว่า มีสมบัติหลายอย่างที่ช่วยในการเจริญเติบโตของพืชที่เอนโดไฟท์อาศัยอยู่ ดังนั้น เอนโดไฟท์แบคทีเรียที่แยกได้จากมันสำปะหลังในงานวิจัยนี้จะถูกนำไปศึกษาสมบัติทางชีวภาพอื่น ๆ เพิ่มเติม รวมถึงนำไปจัดจำแนกว่าแบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่แยกมาได้นั้นอยู่ในสกุล และ/หรือ สปีชีส์ใด ต่อไป

การคัดแยกและศึกษาลักษณะสมบัติของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสจากดินที่ปลูกมันสำปะหลัง

การศึกษานี้เป็นการศึกษาเพิ่มเติมจากที่ได้วางแผนไว้ เนื่องจากคณะผู้วิจัยมีความสนใจเพิ่มเติมที่จะหาองค์ความรู้ใหม่ ๆ โดยศึกษาประชากรแบคทีเรียเพิ่มเติมจากดินที่ปลูกมันสำปะหลัง โดยเน้นแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้ เพื่อที่จะนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมการเพาะปลูกพืช เนื่องจากปัจจุบันมีการเน้นการทำเกษตรอินทรีย์ ไม่ใช้สารเคมี รวมถึงปุ๋ยเคมีในการปลูกพืช ดังนั้นเกษตรกรส่วนใหญ่จะใช้การไถกลบวัสดุเหลือจากการเก็บเกี่ยว หรือการปลูกปุ๋ยพืชสดโดยเน้นพืชตระกูลถั่ว จากนั้นจึงพักหน้าดิน เพื่อให้เกิดการย่อยสลายของวัสดุทางการเกษตรและซากพืชโดยจุลินทรีย์ที่อยู่ในดินบริเวณเพาะปลูกนั้น ส่งผลให้เป็นการเพิ่มหรือคงไว้ซึ่งปริมาณสารอาหารในดินที่พืชนำไปใช้ในการเจริญเติบโต ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรในการปลูกพืชรอบต่อไป อย่างไรก็ดี ระยะเวลาของการย่อยสลายของวัสดุเหลือทางการเกษตร และ/หรือซากพืชนั้นต้องอาศัยระยะเวลานานระยะหนึ่ง ดังนั้นการนำแบคทีเรียที่มีสมบัติในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสมาใส่ลงไปในดินระหว่างขั้นตอนดังกล่าว จะช่วยลดระยะเวลาในการย่อยสลายให้ลดลง และ/หรือ เพิ่มสารอาหารในดินเพิ่มมากขึ้น จากผลการทดลอง พบว่าสามารถแยกแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้ จำนวน 86 ไอโซเลท ซึ่งแบคทีเรียที่คัดแยกได้ดังกล่าว จะถูกนำไปศึกษาสมบัติของการย่อยเซลลูโลสในรูปแบบต่าง ๆ ได้แก่ Carboxyl Methyl Cellulose, Avicel และ Cellobiose ซึ่งเป็นซับสเตรตที่จำเพาะต่อ Endoglucanase, Exoglucanse และ Beta-glucosidase ตามลำดับ นอกจากนี้ เมื่อศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ 16S rDNA ของไอโซเลทของแบคทีเรียพบว่า เกือบ 100% (98.53 %; 67 จาก 68 ไอโซเลท) เป็น *Bacillus* spp. ซึ่งนอกจากจะมีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ที่ย่อยสลายเซลลูโลสแล้ว ยังพบว่า *Bacillus* spp. มีประโยชน์ต่อเจริญเติบโตของพืช อาทิเช่น ส่งผลให้เพิ่มปริมาณผลผลิต (Orhan et al., 2006) ป้องกันการรุกรานของจุลินทรีย์ก่อโรคในพืช (Timmusk et al., 2005) ตรึงไนโตรเจนจากอากาศ (Puri et al., 2018) ช่วยรักษาสมบัติความพรุนของดิน (Gouzou et al., 1993) และสามารถใช้เป็นตัวควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี (Xu and Kim, 2016; Zhang et al., 2017) ได้อีกด้วย

สรุปและเสนอแนะเกี่ยวกับการวิจัยในขั้นต่อไป

ตารางสรุปผลการดำเนินการ :

การแยกและศึกษาสมบัติของเชื้อเอนโดไฟท์ที่เจริญอยู่ในมันสำปะหลัง

ที่	กิจกรรม	ผลผลิต	ตัวชี้วัด / จำนวน
1	ศึกษาประชากร และเก็บรวบรวมเอนโดไฟท์ที่เจริญร่วมอยู่ในส่วนต่าง ๆ ของมันสำปะหลัง	จำนวนประชากรเอนโดไฟท์ที่แยกได้ทั้งหมดมีจำนวน 67, 60, และ 42 ไอโซเลทจากมันสำปะหลังจำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ห้วยบง 60 สายพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และสายพันธุ์พิรุณ 1 ตามลำดับ ลำดับนิวคลีโอไทด์ 16S rDNA	จำนวนประชากรเอนโดไฟท์ / 169 ไอโซเลท ลำดับนิวคลีโอไทด์16S rDNA / จำนวน 17 ไอโซเลท
2	ศึกษาและแยกเชื้อเอนโดไฟท์ที่มีประสิทธิภาพในการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และเชื้อเอนโดไฟท์ที่มีประโยชน์ต่อการเจริญของมันสำปะหลัง	การสร้างกรดอินโดลอะซีติก หรือ อนุพันธ์ฮอร์โมนออกซิน สมบัติในการละลายฟอสเฟตในดิน การสร้างสารไซเดอร์โรฟอร์	ทำการศึกษาเพิ่มเติม จำนวน 19 ไอโซเลท ทำการศึกษาเพิ่มเติม จำนวน 49 ไอโซเลท อยู่ระหว่างดำเนินการ
3	แยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและศึกษาโครงสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	ทำการแยกสารอนุพันธ์กรดอินโดลอะซีติกอย่างหยาบได้

การคัดแยกและศึกษาลักษณะสมบัติของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสจากดินที่ปลูกมันสำปะหลัง

ที่	กิจกรรม	ผลผลิต	ตัวชี้วัด / จำนวน
1	แยกและศึกษาลักษณะสมบัติของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสจากดินที่ปลูกมันสำปะหลัง	แบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสจากดินที่ปลูกมันสำปะหลัง	จำนวนไอโซเลทแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลส / 86 ไอโซเลท
	ศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ 16S rDNA	ลำดับนิวคลีโอไทด์ 16S rDNA	ลำดับนิวคลีโอไทด์16S rDNA / จำนวน 68 ไอโซเลท อยู่ในสกุล *Bacillus* 67 ไอโซเลท และอยู่ในสกุล *Paenibacillus* 1 ไอโซเลท
	ศึกษาสมบัติของการย่อยเซลลูโลสในรูปแบบต่าง ๆ ได้แก่ Carboxyl Methyl Cellulose, Avicel และ Cellobiose ซึ่งเป็นซับสเตรตที่จำเพาะต่อ Endoglucanase, Exoglucanase และ Beta-glucosidase ตามลำดับ	สมบัติของการย่อยเซลลูโลสในรูปแบบต่าง ๆ ต่อไป ได้แก่ Carboxyl Methyl Cellulose, Avicel และ Cellobiose	แบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ Endoglucanase, Exoglucanase และ Beta-glucosidase

การดำเนินงานในช่วงต่อไป

การแยกและศึกษาสมบัติของเชื้อเอนโดไฟท์ที่เจริญอยู่ในมันสำปะหลัง

ที่	กิจกรรม	ผลผลิต	ตัวชี้วัด / จำนวน
1	ศึกษาประชากร และเก็บรวบรวมเอนโดไฟท์ที่เจริญร่วมอยู่ในส่วนต่าง ๆ ของมันสำปะหลัง	จำนวนประชากรเอนโดไฟท์ที่แยกได้ทั้งหมดมีจำนวน 67, 60, และ 42 ไอโซเลทจากมันสำปะหลังจำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ห้วยบง 60 สายพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 และสายพันธุ์พิรุณ 1 ตามลำดับ ศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ 16S rDNA	จำนวนประชากรเอนโดไฟท์ / 169 ไอโซเลท ทำการศึกษาเพิ่มเติมให้ครบจำนวนเอนโดไฟท์ที่แยกได้
2	ศึกษาและแยกเชื้อเอนโดไฟท์ที่มีประสิทธิภาพในการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และเชื้อเอนโดไฟท์ที่มีประโยชน์ต่อการเจริญของมันสำปะหลัง	การสร้างกรดอินโดลอะซีติก หรือ อนุพันธ์ฮอร์โมนออกซิน สมบัติในการละลายฟอสเฟตในดิน การสร้างสารไซเดอร์โรฟอร์	ทำการศึกษาเพิ่มเติมให้ครบจำนวนเอนโดไฟท์ที่แยกได้ ทำการศึกษาเพิ่มเติมให้ครบจำนวนเอนโดไฟท์ที่แยกได้ ทำการศึกษาเพิ่มเติมให้ครบจำนวนเอนโดไฟท์ที่แยกได้
3	แยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและศึกษาโครงสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	แยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ เพิ่มเติม ทำให้บริสุทธิ์ และศึกษาโครงสร้างของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

การคัดแยกและศึกษาลักษณะสมบัติของแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสจากดินที่ปลูกมันสำปะหลัง

ที่	กิจกรรม	ผลผลิต	ตัวชี้วัด / จำนวน
1	ศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ 16S rDNA ศึกษาสมบัติของการย่อยเซลลูโลสในรูปแบบต่าง ๆ ได้แก่ Carboxyl Methyl Cellulose, Avicel และ Cellobiose ซึ่งเป็นซับสเตรตที่จำเพาะต่อ Endoglucanase, Exoglucanase และ Beta-glucosidase ตามลำดับ	ลำดับนิวคลีโอไทด์ 16S rDNA สมบัติของการย่อยเซลลูโลสในรูปแบบต่าง ๆ ได้แก่ Carboxyl Methyl Cellulose, Avicel และ Cellobiose	ทำการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ 16S rDNA เพิ่มเติมให้ครบจำนวนแบคทีเรียที่แยกได้ สมบัติเอนไซม์เซลลูเลสที่จำเพาะของแบคทีเรียเพิ่มเติม ได้แก่ Endoglucanase, Exoglucanase และ Beta-glucosidase

อุปสรรคในการดำเนินงานและแนวทางแก้ไข

1. ปัญหาจากการทำ PCR โดยใช้ไพร์เมอร์ที่จำเพาะต่อ 16S rDNA จากเอนโดไฟท์ที่แยกได้ยังคงอยู่ แม้ว่าได้หาวิธีการอื่น รวมถึงการใช้ชุดสกัดสารพันธุกรรมยี่ห้อต่าง ๆ เนื่องจากมีสมบัติทางสัญฐานวิทยาของเอนโดไฟท์ส่งผลในการสกัดสารพันธุกรรม ทำให้การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ 16S rDNA ของเอนโดไฟท์ที่แยกได้ยังคงล่าช้าอยู่

แนวทางแก้ไข ทางคณะผู้วิจัยได้ให้นิสิตผู้ร่วมวิจัยหาวิธีการอื่นที่จะสกัดสารพันธุกรรมเพิ่มเติม รวมถึงการใช้ชุดสกัดสารพันธุกรรมต่างยี่ห้อ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์จีโนมิกมาทำ PCR เพื่อศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ อย่างไรก็ดีเอนโดไฟท์บางชนิดอาจไม่สามารถศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ 16S rDNA ได้ เนื่องจากปัญหาในการสกัดสารพันธุกรรม

2. ทำการแยกสารกรดอินโดลอะซีติก หรือ อนุพันธ์ฮอร์โมนออกซิน จากอาหารเลี้ยงเอนโดไฟท์ที่ผลิตกรดอินโดลอะซีติก หรือ อนุพันธ์ฮอร์โมนออกซินอย่างหยาบได้ แต่ยังไม่สามารถแยกให้บริสุทธิ์ได้ เนื่องจากนิสิตที่รับผิดชอบงานในส่วนนี้มีปัญหาทางบ้าน ทำให้หยุดการวิจัยไปตั้งแต่เดือนธันวาคม 2560 จนถึง ปลายเดือนมีนาคม 2561 แม้ว่านิสิตได้ลงทะเบียนเรียน

แนวทางการดำเนินการ รอ และ/หรือ ดำเนินการตามนิสิต ให้กลับเข้ามารายงานตัว เพื่อให้การแยกสารให้บริสุทธิ์ และแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ เพิ่มเติม สามารถดำเนินการต่อไปได้

3. ปัญหาจากนิสิตร่วมวิจัย ได้ลาออกหลังจากเข้ามาได้ศึกษา 1 ภาคการศึกษา ส่งผลให้การศึกษาสมบัติทางชีวภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เอนโดไฟท์ผลิตเพิ่มเติม อาทิเช่น สารยับยั้งเชื้อจุลชีพ (Anitimicrobial) และ สารยับยั้งเซลล์มะเร็ง (Anticancer) ยังคงไม่สามารถหานิสิตมาช่วยงานได้ เนื่องจากนิสิตที่เข้าศึกษาระดับบัณฑิตศึกษามีจำนวนลดลงเป็นอย่างมาก

แนวทางแก้ไข ทางคณะผู้วิจัยพยายามหานิสิต/นักศึกษา มาช่วยงานในการศึกษาสมบัติทางชีวภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เอนโดไฟท์ผลิต

(รองศาสตราจารย์ ดร.วันชัย อัศวลาภสกุล)
หัวหน้าโครงการวิจัย
31 มีนาคม 2560

บรรณานุกรม (Bibliography)

กรมวิชาการเกษตร, การจำแนกพันธุ์มันสำปะหลัง, พิมพ์โดย กรมส่งเสริมการเกษตร บริษัท ซัน แพคเกจจิ้ง (2014) จำกัด

ฐานข้อมูลมันสำปะหลัง, สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร, 2557. (http://kasetinfo.arda.or.th/arda/cassava/?home=home เข้าล่าสุด 24 สิงหาคม 2559)

ฝ่ายบริหารคลัสเตอร์และโปรแกรมวิจัย สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. ยุทธศาสตร์วิจัยและพัฒนาอุตสาหกรรมมันสำปะหลังประเทศไทย (พ.ศ.2555-2559) และโปรแกรมวิจัยและพัฒนามันสำปะหลังภายใต้แผนกลยุทธ์การวิจัยและพัฒนา สวทช. ระยะที่ 2 พ.ศ.2554-2559. สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ-ปทุมธานี : สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ, 2554.

มูรนีย์ บริบูรณ์สุข. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสจากแบคทีเรียชอบความร้อนสูงในดิน. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2557

รุจิกาญจน์ นาสนิท. การศึกษาเอนไซม์เซลลูเลสและยีนที่เกี่ยวข้องจากแบคทีเรียในลำไส้ปลวก. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, สาขาพันธุวิศวกรรม ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2545

เอกสารวิชาการมันสำปะหลัง ฉบับที่ 1001 - Do 46.01, กลุ่มอนุรักษ์ดินและน้ำ, สำนักวิจัยและพัฒนาการจัดการที่ดิน, กรมพัฒนาที่ดิน.

Acharya S, Chaudhary, A. Bioprospecting thermophiles for cellulase production: a review. Brazilian J Microbiology. 2012; 43(3): 844-56.

Ahmad F, Ahmad I, Khan MS. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. Microbiol Res. 2008; 163(2): 173-81.

Aygan A, Karcioglu L, Arikan B. Alkaline thermostable and halophilic endoglucanase from *Bacillus licheniformis* C108. African J Biotechnol. 2011; 10(5): 789-96.

Brady NC, Weil RR. The nature and properties of soils, 14th ed, New Jersey: Pearson Education, Inc. 2008.

Clark TN, Ellsworth K, Li H, Johnson JA, Gray CA. Isolation of the plant hormone (+)-abscisic acid as an antimycobacterial constituent of the medicinal plant endophyte *Nigrospora* sp. Nat Prod Commun. 2013; 8: 1673-4.

Canova SP, Petta T, Reyes LF, Zucchi TD, Moraes LAB, Melo IS. Characterization of lipopeptides from *Paenibacillus* sp. (IIRAC30) suppressing *Rhizoctonia solani* World J Microbiol Biotechnol. 2010; 26(12): 2241-7.

Chandra S. Endophytic fungi: novel sources of anticancer lead molecules. Appl Microbiol Biotechnol. 2012; 95: 47-59.

Chen Y, Fan J-B, Du L, Xu H, Zhang QH, He YQ. The application of phosphate solubilizing endophyte *Pantoea dispersa* triggers the microbial community in red acidic soil. Appl Soil Ecol. 2014; 84: 235-44.

de Melo FMP, Fiore MF, de Moraes LAB, Silva-Stenico ME, Scramin S, de Araújo Teixeira M, de Melo IS. Antifungal compound produced by the cassava endophyte *Bacillus pumilus* MAIIIM4A. Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.) 2009; 66(5); 583-92.

Ding X, Liu K, Deng B, Chen W, Li W, Liu F. Isolation and characterization of endophytic fungi from *Camptotheca acuminata*. World J Microbiol Biotechnol. 2013; 29: 1831-8.

Fujimoto N, Kosaka T, Nakao T, Yamada M. *Bacillus licheniformis* bearing a high cellulose degrading activity, which was isolated as a heat-resistant and micro-aerophilic microorganism from bovine rumen. Open Biotechnol J. 2011; 5: 7-13.

Gaur R, Tiwari S. Isolation, production, purification and characterization of an organic-solvent-thermostable alkalophilic cellulase from *Bacillus vallismortis* RG-07. BMC Biotechnol. 2015; 15: 19

Gouzou L, Burtin G, Philippy R, Bartoli F, Heulin T. Effect of inoculation with *Bacillus polymyxa* on soil aggregation in the wheat rhizosphere : preliminary examination. Geoderma. 1993. 1-4: 479–491.

Greenfield M, Gómez-Jiménez MI, Ortiz V, Vega FE, Kramer M, Parsa S. *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* endophytically colonize cassava roots following soil drench inoculation. Biol Control. 2016; 95: 40-48.

Hazalin N, Ramasamy K, Lim SM, Wahab I, Cole A and Abdul Majeed AB. Cytotoxic and antibacterial activities of endophytic fungi isolated from plants at the national park, Pahang, Malaysia. BMC Complem and Altern Med. 2009; 9: 46.

Jin H, Yan Z, Liu Q, Yang X, Chen J, Qin B. Diversity and dynamics of fungal endophytes in leaves, stems and roots of *Stellera chamaejasme* L. in northwestern China. Anton Leeuw Int J G. 2013; 104(6): 949-63.

Khan AL, Waqas M, Kang SM, Al-Harrasi A, Hussain J, Al-Rawahi A, Al-Khiziri S, Ullah I, Ali L, Jung HY, Lee IJ. Bacterial endophyte *Sphingomonas* sp. LK11 produces gibberellins and IAA and promotes tomato plant growth. J Microbiol. 2014; 52: 689-95.

Kumar A, Singh R, Yadav A, Giri DD, Singh PK, Pandey KD. Isolation and characterization of bacterial endophytes of *Curcuma longa* L. 3 Biotech. 2016; 6(1): 60.

Kotchoni OS, Shonukan OO, Gachomo WE. *Bacillus pumilus* BpCRI 6, a promising candidate for cellulose production under conditions catabolite repression. Afr J Biotechnol. 2003; 2(6): 140-6.

Juturu V, Wu JC. Microbial cellulases: Engineering, production and applications. Renew Sust Energ Rev. 2014; 33: 188-203.

Lahrmann U, Zuccaro A. Opprimo ergo sum-evasion and suppression in the root endophytic fungus *Piriformospora indica*. Mol Plant Microbe Interact. 2012; 25:727-37.

Lahrmann U, Ding Y, Banhara A, Rath M, Hajirezaei MR, Döhlemann S, von Wirén N, Parniske M, Zuccaro A. Host-related metabolic cues affect colonization strategies of a root endophyte. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013; 110: 13965-70.

Lee YJ, Kim BK, Lee KJ, Jo KI, Lee NK, Chung CH, Lee YC, Lee JW. Purification and characterization of cellulose produced by *Bacillus amyoliquefacuens* DL-3 utilizing rice hull. Bioresour Technol. 2008; 99(2): 378-86.

Li HM, Sullivan R, Moy M, Kobayashi DY and Belanger FC. Expression of a novel chitinase by the fungal endophyte in *Poa ampla*. Mycologia. 2004**;** 96: 526-36.

Liaqat F, Eltem R. Identification and characterization of endophytic bacteria isolated from *in vitro* cultures of peach and pear rootstocks. 3 Biotech. 2016; 6(2):120.

Loaces I, Ferrando L, Scavino AF. Dynamics, diversity and function of endophytic siderophore-producing bacteria in rice. Microb Ecol. 2011; 61(3): 606-18.

Matsuoka H, Akiyama M, Kobayashi K, Yamaji K. Fe and P solubilization under limiting conditions by bacteria isolated from *Carex kobomugi* roots at the Hasaki coast. Curr Microbiol. 2013; 66(3): 314-21.

Monnerat RG, Batista AC, de Medeiros PT, Martins ÉS, Melatti VM, Praça LB, Dumas VF, Morinaga C, Demo C, Gomes ACM, Falcão R, Siqueira CB, Silva-Werneck JO, Berry C. Screening of Brazilian *Bacillus thuringiensis* isolates active against *Spodoptera frugiperda*, *Plutella xylostella* and *Anticarsia gemmatalis*. Biol Control. 2007; 41(3): 291-5.

Monnerat RG, Soares CM, Capdeville G, Jones G, Martins ÉS, Praça L, Cordeiro BA, Braz SV, Dos Santos RC, Berry C. Translocation and insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* living inside of plants. Microb Biotechnol. 2009; 2: 512-20.

Mousa WK and Raizada MN. The diversity of anti-microbial secondary metabolites produced by fungal endophytes: An interdisciplinary perspective. Front Microbiol. 2013; 4: 65.

Moy M, Li HM, Sullivan R, White JF and Belanger FC. Endophytic Fungal β-1,6-Glucanase Expression in the Infected Host Grass. Plant Physiol. 2002; 130: 1298-1308.

Muresu R, Tondello A, Polone E, Sulas L, Baldan B, Squartini A. Antioxidant treatments counteract the non-culturability of bacterial endophytes_isolated from legume nodules. Arch Microbiol. 2013; 195: 385-91.

Nagendran S, Hallen-Adams HE, Paper JM, Aslam N, Walton JD. Reduced genomic potential for secreted plant cell wall degrading enzymes in the ectomycorrhizal fungus *Amanita bisporigera*, based on the secretome of *Trichoderma reesei*. Fungal Genet Biol. 2009; 46(5): 427–35.

Orhan E, Esitken A, Ercisli S, Turan M, Sahin F. Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient contents in organically growing raspberry. Sci. Hortic. 2006. 111: 38–43.

Oteino N, Lally RD, Kiwanuka S, Lloyd A, Ryan D, Germaine KJ, Dowling DN. Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic *Pseudomonas* isolates. Front Microbiol. 2015; 6: 745.

Puri A, Padda KP, Chanway CP. Nitrogen-fixation by endophytic bacteria in agricultural crops: Recent advances. In: Amanullah K, Shah F. (Eds.). Nitrogen in Agriculture-Updates. InTech, London, United Kingdom, 2018. pp.73–94.

Rastogi G, Muppidi GL, Gurram RN, Adhikari A, Bischoff KM, Hughes SR, Apel WA, Bang SS, Dixon DJ, Sani RK. Isolation and characterization of cellulose-degrading bacteria from the deep subsurface of the Homestake gold mine, Lead, South Dakota, USA. J Ind Microbiol Biotechnol. 2009; 36(4): 585-98.

Sadhu S, Saha P, Sen SK, Mayilraj S, Maiti TK. Production, purification and characterization of a novel thermotolerant endoglucanase (CMCase) from *Bacillus* strain isolated from cow dung. Springerplus. 2013; 2(1): 10.

Sarkar N, Ghosh SK, Bannerjee S, Aikat K. Bioethanol production from agricultural wastes: An overview. Renew Energ. 2012; 37: 19-27.

Shweta S, Bindu JH, Raghu J, Suma HK, Manjunatha BL, Kumara PM, Ravikanth G, Nataraja KN, Ganeshaiah KN, Uma Shaanker R. Isolation of endophytic bacteria producing the anti-cancer alkaloid camptothecine from *Miquelia dentata* Bedd. (Icacinaceae). Phytomedicine. 2013; 20: 913-7.

Singh VK, Kumar A. Production and purification of an extracellular cellulase from *Bacillus brevis* VS-1. Biochem Mol Biol Int. 1998; 45(3): 443–52.

Spiering MJ, Greer DH, Schmid J. Effects of the fungal endophyte, *Neotyphodium lolii*, on net photosynthesis and growth rates of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) are independent of in Planta endophyte concentration. Ann Bot. 2006; 98: 379-87.

Teather RM, Wood PJ. Use of congo red-polysaccharide interactions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen. Appl Environ Microbiol. 1982; 43(4): 777–80.

Timmusk S, Grantcharova N, Wagner EGH. *Paenibacillus polymyxainvades* plant roots and forms biofilms. Appl Environ Microbiol. 2005. 71:7292–7300.

Upadhyaya SK, Manandhar A, Mainali H, Pokhrel AR, Rijal A, Koirala B. Isolation and characterization of cellulolytic bacteria from gut of termite. Rentech Symposium Compendinum. 2012; 1: 14-8.

Wearn JA, Sutton BC, Morley NJ, Gange AC. Species and organ specificity of fungal endophytes in herbaceous grassland plants. J Ecol. 2012; 100; 1085-92.

Wood TM. Fungal cellulases. Biochem Soc Trans. 1992; 20(1): 46-53.

Xu S, Kim B. Evaluation of *Paenibacillus polymyxa* strain SC09-21 for biocontrol of *Phytophthora* blight and growth stimulation in pepper plants. Trop Plant Pathol. 2016. 41: 162-8.

Ye Y, Xiao Y, Ma L, Li H, Xie Z, Wang M, Ma H, Tang H, Liu J. Flavipin in *Chaetomium globosum* CDW7, an endophytic fungus from *Ginkgo biloba*, contributes to antioxidant activity. Appl Microbiol Biotechnol. 2013; 97: 7131-9.

Yin LJ, Lin HH, Xiao ZR. Purification and characterization of a cellulase from *Bacillus subtilis* YJ1. J Mar Sci Technol. 2010; 18(3): 466-71.

Yu H, Zhang L, Li L, Zheng C, Guo L, Li W, Sun P, Qin L. Recent developments and future prospects of antimicrobial metabolites produced by endophytes. Microbiol Res. 2010; 165: 437-49.

Zhang X, Zhou Y, Li Y, Fu X, Wang Q. Screening and characterization of endophytic *Bacillus* for biocontrol of grapevine downy mildew. Crop Prot. 2017. 96: 173-9.

Zuccaro A, Lahrmann U, Langen G. Broad compatibility in fungal root symbioses. Curr Opin Plant Biol. 2014; 20C:135-45.

ภาคผนวก (Appendix)

การทดสอบความสามารถการสร้างกรดอะซีติก

สารละลาย Salkowski's reagent

0.5 M Ferric chloride	2	มิลลิลิตร
70% Perchloric acid	100	มิลลิลิตร

การทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟต

สารละลาย Pikoskaya's (PVK) medium

Glucose	10.0	กรัม
Calcium phosphate	5.0	กรัม
Ammonium sulfate	5.0	กรัม
Potassium chloride	0.2	กรัม
Magnesium sulfate heptahydrate	0.1	กรัม
Manganese sulfate	0.0002	กรัม
Ferrous sulfate heptahydrate	0.0002	กรัม
Yeast extracts	0.5	กรัม
Agar	15.0	กรัม

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่นให้เข้ากัน ในปริมาตร 1000 มิลลิลิตร เทใส่ขวดปิดฝา นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

การทดสอบความสามารถในการสร้างไซเดอโรฟอร์

อาหาร Chrome Azurol S (CAS)

1. ชั่ง Chrome Azurol S 60.5 มิลลิกรัม ละลายในน้ำ 50 มิลลิลิตร
2. ชั่ง Hexadecyltrimetyl ammonium bromide 72.9 มิลลิกรัม ละลายในน้ำ 40 มิลลิลิตร
3. เตรียม 1 mM $FeCl_3$ 10 มิลลิลิตร

นำส่วนผสมข้อ 1-3 ใส่ลงใน Nutrient agar ปริมาตร 900 มิลลิลิตร เทใส่ขวดปิดฝา นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ประวัตินักวิจัยและคณะผู้ร่วมวิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) วันชัย อัศวลาภสกุล

2. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Wanchai Assavalapsakul

3. ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์

4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

254 ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

โทรศัพท์ 0-2218-5096 โทรศัพท์มือถือ 08-8245-4159

โทรสาร 0-2252-7576 E-mail: wanchai.a@chula.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

ปีที่จบ	ระดับปริญญา	สาขาวิชา	สถาบันการศึกษา	ประเทศ
2538-2541	ตรี	วิทยาศาสตรบัณฑิต (พันธุศาสตร์) เกียรตินิยม	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ไทย
2542-2547	เอก	ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (อณูพันธุศาสตร์และพันธุวิศวกรรมศาสตร์)	มหาวิทยาลัยมหิดล	ไทย
2548-2551	โท	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (การบริหารเทคโนโลยี)	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์	ไทย

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

เทคนิคต่าง ๆ ในทางจุลชีววิทยา อาทิเช่น การแยกเชื้อจุลินทรีย์ทั้งแบคทีเรีย และรา การเพาะเลี้ยงในอาหารที่จำเพาะ การศึกษาสมบัติต่าง ๆ ของจุลินทรีย์ เป็นต้น

เทคนิคทางชีววิทยาศาสตร์โมเลกุล อาทิเช่น การโคลน แสดงออก การทำให้บริสุทธิ์ และศึกษาสมบัติของโปรตีนต่าง ๆ โดยเฉพาะโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อของไวรัส ทั้งของเซลล์เจ้าบ้าน และเชื้อไวรัส, การเพาะเลี้ยงเซลล์ปฐมภูมิต่อมน้ำเหลืองจากกุ้ง, การประยุกต์กลไกการ RNA interference มาใช้ในการยับยั้งการแสดงออกของยีนต่อเซลล์เจ้าบ้าน และเชื้อไวรัสที่ก่อให้เกิดโรคในกุ้ง

ผู้ร่วมวิจัยท่านที่ 1

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) กนกพร ไตรวิทยากร

2. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Kanokporn Triwitayakorn

3. ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์

4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก

สถาบันชีววิทยาศาสตร์โมเลกุล มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตศาลายา

ถนนพุทธมณฑลสาย 4 ตำบลศาลายา อำเภอพุทธมณฑล นครปฐม 73170

โทรศัพท์ 0-2441-9003-6 ต่อ 1368 โทรศัพท์มือถือ 08-9155-8964

โทรสาร 0-2441-9906 E-mail: kanokporn.tri@mahidol.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

ปีที่จบ	ระดับปริญญา	สาขาวิชา	สถาบันการศึกษา	ประเทศ
2530-2534	ตรี	เทคนิคการแพทย์	มหาวิทยาลัยขอนแก่น	ไทย
2534-2536	โท	วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	ไทย
2540-2545	เอก	Plant Biology (Molecular Biotechnology and Genetics)	Southern Illinois University at Carbondale	USA

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

Molecular biology and genetics, Molecular marker and genome mapping, Gene expression

ผู้ร่วมวิจัยท่านที่ 2

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) ศุภจิต สระเพชร

2. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Supajit Sraphet

3. ตำแหน่งปัจจุบัน นักวิจัย

4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก

สถาบันชีววิทยาศาสตร์โมเลกุล มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตศาลายา

ถนนพุทธมณฑลสาย 4 ตำบลศาลายา อำเภอพุทธมณฑล นครปฐม 73170

โทรศัพท์ 0-2441-9003-6 ต่อ 1368 โทรศัพท์มือถือ 08-5171-8570

โทรสาร 0-2441-9906 E-mail: supajit.sra@mahidol.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

ปีที่จบ	ระดับปริญญา	สาขาวิชา	สถาบันการศึกษา	ประเทศ
2541-2545	ตรี	วิทยาศาสตรบัณฑิต (ชีววิทยา)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	ไทย
2545-2547	โท	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (อณูพันธุศาสตร์และพันธุวิศวกรรมศาสตร์)	มหาวิทยาลัยมหิดล	ไทย
2549-2554	เอก	ปริญญาดุษฎีบัณฑิต (อณูพันธุศาสตร์และพันธุวิศวกรรมศาสตร์)	มหาวิทยาลัยมหิดล	ไทย

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

Genomics, Molecular genetics

ผู้ร่วมวิจัยท่านที่ 3

1. ชื่อ- นามสกุล(ภาษาไทย) ณัฐพล อภิรติกุล

2. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Nuttapon Apiratikul

3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์

4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร

114 ซอยสุขุมวิท 23 เขตวัฒนา กรุงเทพมหานคร 10110

โทรศัพท์ - โทรศัพท์มือถือ 087-673-8238

โทรสาร - E-mail: nuttapona@g.swu.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

ปีที่จบ	ระดับปริญญา	สาขาวิชา	สถาบันการศึกษา	ประเทศ
2544-2547	ตรี	เคมี	มหาวิทยาลัยรามคำแหง	ไทย
2548-2550	โท	เคมีประยุกต์	มหาวิทยาลัยรามคำแหง	ไทย
2551-2555	เอก	เคมีประยุกต์	มหาวิทยาลัยรามคำแหง	ไทย

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

Organic chemistry, Natural products

ผู้ร่วมวิจัยท่านที่ 4

1. ชื่อ- นามสกุล(ภาษาไทย) วัฒนชัย จำปาทอง

2. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Watthanachai Jumpathong

3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์

4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

โทรศัพท์ 053943341-5 โทรศัพท์มือถือ 094-869-2784

โทรสาร - E-mail: watthanachai.j@cmu.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

ปีที่จบ	ระดับปริญญา	สาขาวิชา	สถาบันการศึกษา	ประเทศ
2551	ตรี	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เคมี)	มหาวิทยลัยเกษตรศาสตร์	ไทย
2557	โท-เอก	Biological Engineering (Applied Biosciences)	Massachusettes Institute of Technology (MIT)	อเมริกา

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

Organic synthesis, Natural products, Bioanalytical techniques, HPLC separation, mass spectrometry