รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

ชุดโครงการวิจัย : วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

โครงการวิจัย : วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตและเทคนิคการตรวจวิเคราะห์ ปุ๋ยชีวภาพ ปุ๋ยหมัก ปุ๋ยอินทรีย์เคมีและจุลินทรีย์ย่อยสลายทางการเกษตร

กิจกรรม : การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยชีวภาพ

กิจกรรมย่อย : การวิจัยและพัฒนาวิธีการผลิตปุ๋ยชีวภาพผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพละลายโพแทสเซียม

ชื่อการทดลอง : ศึกษากรรมวิธีต้นแบบการผลิตปุ๋ยชีวภาพละลายโพแทสเซียมที่ประหยัดทางเศรษฐกิจ Study on Cost Effective Laboratory Scale Production of Potassium Solubilizing Biofertilizer

คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง นางสาวศิริลักษณ์ จิตรอักษร

นางสาวจิตรา เกาะแก้ว

บทคัดย่อ

การศึกษาความเข้ากันได้ของแบคทีเรียละลายโพแทสเซียม จำนวน 3 ไอโซเลต ดำเนินการโดยวางแผนการทดลองแบบ CRD มี 3 ซ้ำ 8 กรรมวิธี ได้แก่ เชื้อเดี่ยวของ K01026 (*Cellulomonas flavigena*) K05074 (*Cellulomonas flavigena*) และ K05080 (*Cellulosimicrobium cellulans*) เชื้อผสม 2 ไอโซเลต เชื้อผสม 3 ไอโซเลต และไม่ใส่เชื้อเป็นกรรมวิธีควบคุม เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียที่ศึกษาบนอาหารวุ้นแข็งซิลิเกตแบคทีเรียที่เติมสารบรอมไธมอลบูล พบว่า K01026 โคโลนีมีสีเหลือง ขอบเรียบ รูปร่างเซลล์เป็นท่อน ติดสีแกรมบวก ส่วน K05074 และ K05080 โคโลนีมีสีเหลืองอ่อน ขอบเรียบ รูปร่างเซลล์เป็นท่อน ติดสีแกรมบวก จากนั้นเลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเหลวซิลิเกตแบคีเรียที่ใช้แร่เฟลด์สปาร์เป็นแหล่งโพแทสเซียมตามกรรมวิธีทดลอง โดยเขย่าเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 144 ชั่วโมง พบว่าการใช้เชื้อผสมของแบคทีเรีย K05074 และ K05080 มีความเข้ากันได้สูงจึงสามารถเจริญเพิ่มจำนวนได้สูงสุด 1.28×10^8 cfu/มิลลิลิตร และละลายแร่เฟลด์สปาร์ให้ปริมาณ K_2O ในส่วนเหลวของอาหารได้สูงสุด 2.659 เปอร์เซ็นต์

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

คำสำคัญ: แบคทีเรียละลายโพแทสเซียม ความเข้ากันได้ของแบคทีเรีย

Abstract

This research was aimed to study on compatible potassium solubilizing bacteria (PSB) for biofertilizer production. The experiment was performed using CRD with three replications and eight treatments comprising of single strain alone, mixed two isolates, as well as mixed three isolates of K01026 (*Cellulomonas flavigena*), K05074 *(Cellulomonas flavigena*), K05080 *Cellulosimicrobium cellulans*) and no inoculation as a control. Bacterial strain of K01026 was yellow and smooth colonies as observed on solid medium with addition of bromthymol bule and gram positive rods as seen under microscopic examination. As for K05074 and K05080 were light yellow and smooth colonies, and gram positive rods. To study the compatibility of PSB strains, they were cultured in liquid silicate bacteria media with feldspar as a potassium source, shaken at 25-30°C for 144 hours. The result revealed that K05074 and K05080 were highly compatible and promoted bacterial growth at 1.28×10^8 cfu/ml, as well as released K_2O in liquid phase of media up to 2.659 %

Key words: potassium solubilizing bacteria, compatible bacteria strains

คำนำ

ปัจจุบันการทำการเกษตรมีทิศทางมุ่งเน้นลดการใช้ปุ๋ยเคมีและวิจัยพัฒนาวิธีการปรับปรุงการเพิ่มผลผลิตทางการเกษตรอย่างยั่งยืน การใช้แบคทีเรียรอบรากที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Plant growth promoting rhizobacteria:PGPR) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายและการเคลื่อนย้ายธาตุอาหารพืชจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่ทดแทนการใช้ปุ๋ยเคมี (Fisher et al., 2007) แบคทีเรียเหล่านี้ ได้แก่ สกุล *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Acetobacter*, *Burkholderia* (Kloepper, 1993; Glick and Bashan, 1997) การผลิตปุ๋ยชีวภาพโดยใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชจะผลิตในระดับอุตสาหกรรมขนาดใหญ่และใช้สำหรับในพื้นที่ทำการเกษตรจริงขนาดใหญ่ (Bhattacharrya and Singh, 1992) ซึ่งเทคโนโลยีการผลิตปุ๋ยชีวภาพประกอบด้วยขั้นตอนสำคัญ 3 ขั้นตอน ได้แก่ การพัฒนาสายพันธุ์แบคทีเรียที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพ การเพิ่มขยายปริมาณมวลชีวภาพ และการเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์ การเริ่มต้นผลิตปุ๋ยชีวภาพแบคทีเรียจำเป็นอย่างยิ่งต้องใช้เชื้อเหลวที่บริสุทธิ์ที่มีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชสูงซึ่งนิยมใช้เชื้อผสมที่มีจำนวนเซลล์สูง

และนำมาผสมกับวัสดุรองรับที่ปลอดเชื้อปนเปื้อนหรือไม่ปลอดเชื้อปนเปื้อน โดยทั่วไปใช้แบคทีเรียที่มีจำนวนเซลล์อย่างน้อย 10^7 เซลล์ต่อกรัมวัสดุรองรับจึงจะสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ผลเป็นอย่างดียิ่ง (Mishra and Dadhich, 2010) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและความเข้ากันได้ของแบคทีเรียที่จะนำมาผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพเพื่อให้มั่นใจว่าปุ๋ยที่ผลิตขึ้นสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้สูงสุด

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

แบคทีเรียละลายโพแทสเซียม จำนวน 3 ไอโซเลต ได้แก่ K01026 (*Cellulomonas flavigena*), K05074 *(Cellulomonas flavigena*) และ K05080 *Cellulosimicrobium cellulans* อาหารซิลิเกตแบคทีเรีย (Hebie Academy of Science, 1996) เครื่อง Atomic Spectrophotometer กล้องจุลทรรศน์ และตู้บ่มเลี้ยงจุลินทรีย์

วิธีการ

แยกบริสุทธิ์แบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลตในอาหารวุ้นแข็งซิลิเกตแบคทีเรียที่เติมสารบรอมไธมอลบูล (ใช้ K_2HPO_4 เป็นแหล่งโพแทสเซียม) (Hebie Academy of Science, 1996) บ่มเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง บันทึกลักษณะโคโลนี รูปร่างเซลล์และการติดสีแกรม จากนั้นเตรียมหัวเชื้อตั้งต้นโดยเลี้ยงในอาหาร nutrient broth ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เขย่าเลี้ยงเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อ 1 เปอร์เซ็นต์ ลงในอาหารเหลวซิลิเกตแบคทีเรียที่ใช้แร่เฟลด์สปาร์เป็นของแหล่งโพแทสเซียม เขย่าเลี้ยงเป็นเวลา 144 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนโคโลนีและวิเคราะห์ปริมาณ %K_2O ในส่วนเหลวของอาหาร

เวลาและสถานที่ ตุลาคม 2556- กันยายน 2557

สถานที่ กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเมื่อเลี้ยงบนอาหารวุ้นแข็งซิลิเกตแบคทีเรียที่เติมสารบรอมไธมอลบูล พบว่า K01026 (*Cellulomonas flavigena*) โคโลนีมีสีเหลือง ขอบเรียบ รูปร่างเซลล์เป็นท่อน ติดสีแกรมบวก K05074 (*Cellulomonas flavigena*) โคโลนีมีสีเหลืองอ่อน ขอบเรียบ รูปร่างเซลล์เป็นท่อน ติดสีแกรมบวก

K05080 (*Cellulosimicrobium cellulans*) โคโลนีมีสีเหลืองอ่อน ขอบเรียบ รูปร่างเซลล์เป็นท่อน ติดสีแกรมบวก (ตารางที่ 1)

การศึกษาความเข้ากันได้ของแบคทีเรียเมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว พบว่า การใช้เชื้อผสมของแบคทีเรีย K05074 (*Cellulomonas flavigena*) และ K05080 (*Cellulosimicrobium cellulans*) สามารถเจริญเพิ่มจำนวนได้สูง 1.28×10^8 cfu/มิลลิลิตร และละลายโพแทสเซียมจากแร่เฟลด์สปาร์ตรวจวัดปริมาณ K_2O ในส่วนเหลวของอาหารได้สูงสุด 2.659 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2) จึงสมควรคัดเลือกแบคทีเรีย K05074 และ K05080 เพื่อใช้ในการศึกษาวิธีการเพิ่มปริมาณหัวเชื้อในระดับห้องปฏิบัติการต่อไป ผลการทดลองที่พบว่าแบคทีเรีย K05074 (*Cellulomonas flavigena*) และ K05080 (*Cellulosimicrobium cellulans*) มีความเข้ากันได้และส่งเสริมการเจริญและการละลายโพแทสเซียมสอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Santosh and Adhikary (2012) ที่รายงานว่า *Rhizobium* และ *Azotobacter* ซึ่งเป็นแบคทีเรียต่างสกุลกันแต่ความเข้ากันได้สูงจึงสามารถนำมาผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพในระดับอุตสาหกรรมที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในสภาพไร่ได้จริง ในทำนองเดียวกันสามารถใช้แบคทีเรียละลายฟอสเฟต (*Bacillus coagulance*) ร่วมกับเชื้อราไมคอร์ไรซ่า (*Glomus mosseae*) ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวสาลีในพื้นที่ปลูกที่มีสภาพกึ่งแห้งแล้ง (Abasi et al., 2011)

ตารางที่ 1 ลักษณะโคโลนี รูปร่างเซลล์ และการติดสีแกรมของแบคทีเรียละลายโพแทสเซียมที่ทดสอบ

แบคทีเรียละลายโพแทสเซียม	ลักษณะโคโลนี รูปร่างเซลล์ และการติดสีแกรม
K01026 (*Cellulomonas flavigena*)	โคโลนีสีเหลือง ขอบเรียบ รูปร่างเซลล์เป็นท่อน ติดสีแกรมบวก
K05074 (*Cellulomonas flavigena*)	โคโลนีสีเหลืองอ่อน ขอบเรียบ รูปร่างเซลล์เป็นท่อน ติดสีแกรมบวก
K05080 (*Cellulosimicrobium cellulans*)	โคโลนีสีเหลืองอ่อน ขอบเรียบ รูปร่างเซลล์เป็นท่อน ติดสีแกรมบวก

ตารางที่ 2 จำนวนโคโลนีและปริมาณ %K_2O ในส่วนเหลวของอาหารที่เลี้ยงแบคทีเรียละลายโพแทสเซียมไอโซเลตต่างๆ

กรรมวิธี	จำนวนโคโลนี (cfu/มล.)	%K_2O

Control (ไม่ใส่เชื้อ)	0c	0.000g
K01026 (*Cellulomonas flavigena*)	3.62×10^{8}a	2.155e
K05074 (*Cellulomonas flavigena*)	5.70×10^{7}b	2.143e
K05080 (*Cellulosimicrobium cellulans*)	1.14×10^{8}ab	2.255d
K01026+K05074	1.96×10^{8}ab	2.099f
K01026+K05080	2.49×10^{8}a	2.500b
K05074+K05080	1.28×10^{8}ab	2.659a
K01026+K05074+K05080	1.16×10^{8}ab	2.293c
F-test	**	**
cv	4.8	0.9

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การศึกษาการเข้ากันได้ของแบคทีเรียละลายโพแทสเซียมเพื่อการผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพนั้น พบว่าแบคทีเรีย K05074 (*Cellulomonas flavigena*) และ K05080 (*Cellulosimicrobium cellulans*) มีความเข้ากันได้สูงสุด จึงเพิ่มจำนวนได้สูงถึง 1.28×10^{8} cfu/มิลลิลิตร และส่งเสริมความสามารถในการละลายและปลดปล่อยโพแทสเซียมจากแร่เฟลด์สปาร์ให้ K_2O ในส่วนเหลวของอาหารได้ 2.659 เปอร์เซ็นต์ จึงเหมาะสมที่จะใช้เป็นจุลินทรีย์เพื่อการผลิตปุ๋ยชีวภาพละลายโพแทสเซียม

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ผลงานวิจัยสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการวิจัยพัฒนาการเพิ่มขยายปริมาณหัวเชื้อในระดับห้องปฏิบัติการเพื่อขยายผลเป็นอุตสาหกรรมเพื่อการผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Abasi, A., M. J. Zarea, F. Rejali and M. Barari. 2011. Effects of P solubilizer and AM fungi on forage maize growth in a semi-arid region in Iran. ***Journal of Agricultural Technology*** 7(3): 589-597.

Bhattacharyya, P. and T. Singh. 1992. Simplified methods of mass production and application of biofertilizer. *In*. ***Proceeding natural organic farming***, Rai M. M. (ed), Indore, India, pp. 166-178.

Fischer, S. E., S. I. Fischer, S. Magris and G. B. Mori. 2007. Isolation and characterization of bacteria from the rhizosphere of wheat. ***World Journal Microbiological Biotechnology*** 23:895-903.

Glick, B. R. and Y. Bashan. 1997. Genetic manipulation of plant growth-promoting bacteria to enhance biocontrol of phytopathogens. ***Biotechnology Advance*** 15:353:378.

Hebie Academy of Science. 1996. ***International training course on biological fertilizer***. The International Science and Technology Corporation Department of SSTCC. The Institute of Microbiology.

Kloepper, J. W. 1993. Plant growth-promoting rhizobacteria as biological control agents. *In*: ***Soil microbial ecology-applications in agricultural and environmental management,*** *Metting FB Jr* (ed**)**. Marcel Dekker, Inc., New York, pp 255-274.

Mishra, B. K. and S. K. Dadhich. 2010. Methodology of nitrogen biofertilizer production. ***Journal of Advance Development Research*** 1:3-6.

Santosh, K. S. and S. P. Adhikary. 2012. Cost effective pilot scale production of biofertilizer

using Rhizobium and Azotobacter. ***African Journal of Biotechnolgoy*** 11(70):13490-13493.