รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

ชุดโครงการวิจัย : วิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

โครงการวิจัย : วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตและเทคนิคการตรวจวิเคราะห์ ปุ๋ยชีวภาพ ปุ๋ยหมัก ปุ๋ยอินทรีย์เคมีและจุลินทรีย์ย่อยสลายทางการเกษตร

กิจกรรม : การพัฒนาเทคนิคการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยชีวภาพของประเทศไทย

กิจกรรมย่อย : การวิจัยและพัฒนาเทคนิคการตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยชีวภาพละลายโพแทสเซียม

ชื่อการทดลอง : การพัฒนาสูตรอาหารดัดแปลงสำหรับการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียละลายโพแทสเซียม

(Development of Modified Growth Medium for Quantification of Potassium Solubilizing Bacteria)

คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง นางสาวศิริลักษณ์ จิตรอักษร

นางสาวจิตรา เกาะแก้ว

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาสูตรอาหารดัดแปลงสำหรับการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียละลายโพแทสเซียม (Potassium solubilizing bacteria: KSB) ดำเนินการโดยทดสอบปริมาณแร่เฟลด์สปาร์ที่เหมาะสมในส่วนผสมของอาหารเหลวซิลิเกตแบคทีเรียกับเชื้อ KSB จำนวน 4 ไอโซเลต ได้แก่ K02004 K05074 K05080 และ *Bacillus circulans* เป็นเชื้อเปรียบเทียบ พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวที่มีส่วนผสมของแร่เฟลด์สปาร์ปริมาณ 0.175 กรัมต่ออาหารเหลว 50 มิลลิลิตรทำให้ปริมาณแบคทีเรียเพิ่มขึ้น 10 เท่า จากนั้นเมื่อนำมาผสมกับโลหะหนักพบว่าเชื้อ KSB ส่วนใหญ่เจริญได้ดีในอาหารที่มีส่วนผสมของแร่เฟลด์สปาร์ 0.175 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อเหลว 50 มิลลิลิตรที่มีการเติม $ZnCl_2$ ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตรวจนับปริมาณ KSB ได้ 10^7-10^8 cfu ต่อมิลลิลิตร นำส่วนผสมดังกล่าวมาพัฒนาเป็นสูตรอาหารดัดแปลงเพื่อทดสอบการเพิ่มจำนวนและประสิทธิภาพการละลายโพแทสเซียม โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD มี 3 ซ้ำ 9 กรรมวิธีที่มีความแตกต่างกันของชนิดแหล่งคาร์บอน แหล่งโพแทสเซียมและปริมาณโลหะหนัก ทำการทดลองทั้งหมด 7 ชุด ตามชนิดของ KSB จำนวน 5 ไอโซเลต และใช้ *Bacillus circulans* และ *Pseudomonas fluorescens* เป็นเชื้อเปรียบเทียบ พบว่าสูตรอาหารดัดแปลงที่มีส่วนผสมของน้ำตาลซูโครส สารสกัดจากยีสต์ แร่เฟลด์สปาร์ 0.175 กรัมต่ออาหารเหลว 50 มิลลิลิตร และใส่ $ZnCl_2$ ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เหมาะสมสำหรับการส่งเสริมการเจริญของ KSB เพื่อการตรวจนับจำนวนโดยทำให้ปริมาณแบคทีเรียเพิ่มขึ้น 10-100 เท่าและทำให้สะดวกต่อการคัดกรอง KSB ที่สามารถละลายโพแทสเซียมและปลดปล่อย K_2O ในอาหารเหลว 3.91-4.28%

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

คำสำคัญ: อาหารดัดแปลง การตรวจนับจำนวนแบคทีเรียละลายโพแทสเซียม

Abstract

This research was aimed to develop modified growth medium for quantification of potassium solubilizing bacteria (KSB). The appropriate amount of feldspar in medium was determined in four strains of KSB (i.e. K02004 K05074 K05080 and *Bacillus circulans* employed as a control). The results indicated that culture medium with addition of 0.175 g of feldspar/50 ml enhanced number of KSB about 10 times. The growth of KSB was subsequently determined in the previous medium with 100 µg/ml of $ZnCl_2$. The investigated KSB mostly grew well and reached to 10^7-10^8 cfu/ml. Furthermore, such component was used for developing modified growth medium in order to examine the number of KSB and their efficacy in potassium solubility. The experiment was designed as CRB with three replications and nine treatments with various in carbon sources and amount of potassium and heavy metal. There were seven sets of experiment comprising of KSB five isolates and *Bacillus circulans* and *Pseudomonas fluorescens* used as controls. The modified growth medium comprising of sucrose, yeast extract 0.175 g of feldspar/50 ml, and 100 µg/ml of $ZnCl_2$ was suitable for promoting KSB growth for quantification. Number of KSB approximately increased 10-100 times and facilitated in screening KSB with high capability of potassium solubilty up to K_2O 3.91-4.28% in liquid phase.

Key words: modified growth medium, potassium solubilizing bacteria, heavy metal, feldspar

คำนำ

ปัจจุบันวิธีการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียมีหลายวิธี ได้แก่ quantitative immunofluorescence (Schmidt et al., 1986) การนับจำนวนโดยวิธีเจือจางตัวอย่างและเกลี่ยให้เจริญบนอาหารที่ส่งเสริมการเจริญ หรือการเติมสารปฏิชีวนะในอาหารที่ส่งเสริมการเจริญ (Somasegarn and Hoben, 1994) เป็นต้น ซึ่งแต่ละวิธีมีข้อจำกัด การฟื้นฟูปริมาณแบคทีเรียบริเวณรอบรากที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชจากดิน (plant growth promoting rhizobacteria: PGPR) เช่น สกุล *Rhizobium* และ *Bradyrhizobium* นิยมเติมสารที่มีความจำเพาะ เช่น สารปฏิชีวนะ สี สารยับยั้งกระบวนการแมตาโบลิซึม และโลหะหนักบางชนิด (El-Aziz et al, 1991; Graham, 1969; Top et al., 1990)

การศึกษาความทนทานต่อโลหะหนักของจุลินทรีย์ดินที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายทั้งในแบคทีเรียสกุล *Rhizobium* (El-Aziz et al., 1991) แบคทีเรียละลายฟอสเฟต (Kele et al., 2014 และ Dinu et al., 2011) จุลินทรีย์ชนิดอื่นที่มีความต้านทานต่อโลหะหนักในระดับสูง ได้แก่ *Klebsiella* spp. (Brynhildsen and Rosswall, 1989) และ *Alcaligenes eutrophus* (Top et al., 1990) ซึ่งต้านทานต่อสังกะสี โคบอลต์ เช่น สังกะสี โคบอลต์ และแคดเมียม ความแตกต่างของระดับความต้านทานต่อโลหะหนักหลายชนิดสามารถใช้คัดแยกสกุลของแบคทีเรียได้ เช่น Kinkle at et. (1987) พบว่าแบคทีเรียสร้างปมราก *Bradyrhizobium japonicum* หลายสายพันธุ์มีความต้านทานต่อชนิดของโลหะหนักมากกว่าสายพันธุ์ของ *Rhizobium* sp. หลายสายพันธุ์และในระดับที่สูงกว่า Tong และ Sadowsky (1994) ใช้ความแตกต่างของความต้านทานต่อโลหะหนักของแบคทีเรียสร้างปมรากมาพัฒนาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความจำเพาะในการแยกและตรวจนับปริมาณสายพันธุ์ *Bradyrhizobium japonicum* และ *Bradyrhizobium elkanii* จากดินและหัวเชื้อจุลินทรีย์ ดังนั้นเพื่อให้การตรวจวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียละลายโพแทสเซียมจากดินและหัวเชื้อจุลินทรีย์ในปุ๋ยชีวภาพทำได้รวดเร็วมากขึ้นและมีความถูกต้อง จึงเห็นสมควรวิจัยความต้านทานต่อโลหะหนักของแบคทีเรียละลายโพแทสเซียมและองค์ประกอบอื่นที่จำเป็นของสูตรอาหารเพื่อฟื้นฟูจำนวนแบคทีเรียละลายโพแทสเซียมและนำมาพัฒนาเป็นสูตรอาหารดัดแปลงเพื่อการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียละลายโพแทสเซียม

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

แบคทีเรียละลายโพแทสเซียม จำนวน 3 ไอโซเลต ได้แก่ K02004 K05074 K05080 K06005 K05075 K05078 K05085 K05122 K07002 แบคทีเรียละลายฟอสเฟต *Bacillus circulans* และ *Pseudomonas fluorescens* อาหารซิลิเกตแบคทีเรีย (Hebie Academy of Science, 1996) โลหะหนัก ได้แก่ $ZnCl_2$ $CdCl_2$ $CuCl_2$ และ MoO_3 เครื่อง Atomic Spectrophotometer กล้องจุลทรรศน์ และตู้บ่มเลี้ยงจุลินทรีย์

วิธีการ

การศึกษาปริมาณแร่เฟลด์สปาร์ที่เหมาะสมในส่วนประกอบของอาหารซิลิเกตแบคทีเรีย

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 6 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 อาหารเหลวซิลิเกตแบคทีเรีย (ไม่ใส่แหล่งโพแทสเซียม)

กรรมวิธีที่ 2 ใส่ KH_2PO_4 จำนวน 2 กรัม ในอาหารเหลวซิลิเกตแบคทีเรีย 1,000 มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 3 ใส่แร่เฟลด์สปาร์ จำนวน 0.09 กรัมในอาหารเหลว 50 มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 4 ใส่แร่เฟลด์สปาร์ จำนวน 0.175 กรัมในอาหารเหลว 50 มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 5 ใส่แร่เฟลด์สปาร์ จำนวน 0.270 กรัมในอาหารเหลว 50 มิลลิลิตร

เลี้ยงแบคทีเรียละลายโพแทสเซียมไอโซเลต K02004 K05074 K05080 และ *Bacillus circulans* (เชื้อเปรียบเทียบ) ในอาหาร nutrient broth เขย่าเลี้ยงที่ความเร็ว 125 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ลงในอาหารเหลวซิลิเกตแบคทีเรียตามกรรมวิธี เขย่าเลี้ยงที่ความเร็ว 125 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 144 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนโคโลนีด้วยอาหารวุ้นแข็งซิลิเกตแบคทีเรียและวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ K_2O ในส่วนเหลวของอาหาร วิเคราะห์ผลทางสถิติ

การศึกษาส่วนผสมของแร่เฟลด์สปาร์และโลหะหนักต่อการเจริญของแบคทีเรียละลายโพแทสเซียม

การทดลองแบ่งเป็น 6 ชุด ตามไอโซเลตแบคทีเรียละลายโพแทสเซียมที่ทดสอบ ได้แก่ *Bacillus circulans* (เชื้อเปรียบเทียบ) แบคทีเรียละลายโพแทสเซียมจำนวน 4 ไอโซเลต K02004, k05074, K05080 และแบคทีเรียละลายฟอสเฟตจำนวน 1 ไอโซเลต (เปรียบเทียบ) วางแผนการทดลองแบบ 3x6 factorial in CRD มี 3 ซ้ำ ปัจจัยที่ 1 ได้แก่ แหล่งโพแทสเซียม (K_2HPO_4 (เปรียบเทียบ) แร่เฟลด์สปาร์ 0.09 กรัม และ 0.175 กรัม) ปัจจัยที่ 2 ได้แก่ชนิดและปริมาณโลหะหนัก (ไม่ใส่ (เปรียบเทียบ) ใส่ $ZnCl_2$ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ใส่ $CuCl_2$ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร $CdCl_2$ 1,600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร MoO_3 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ $ZnCl_2$+MoO_3 100+200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

เลี้ยงแบคทีเรียให้เจริญในอาหารเหลว nutrient broth จนกระทั่งมีความหนาแน่นไม่น้อยกว่า 10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ถ่ายเชื้อ 1 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรลงในอาหารเหลวซิลิเกตแบคทีเรียที่มีส่วนผสมของแหล่งโพแทสเซียมและโลหะหนักตามกรรมวิธี บ่มเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จนกระทั่งไม่สังเกตเห็นการเจริญ บันทึกจำนวนโคโลนีด้วยวิธี viable plate count บนอาหารวุ้นแข็งซิลิเกตแบคทีเรีย

การทดสอบสูตรอาหารดัดแปลงต่อการเจริญของแบคทีเรียละลายโพแทสเซียม

การทดลองแบ่งเป็น 7 ชุด (ตามแบคทีเรียละลายโพแทสเซียมที่ทดสอบ ได้แก่ *Bacillus circulans* และ *Pseudomonas fluorescens* (เชื้อเปรียบเทียบ) แบคทีเรียละลายโพแทสเซียมจำนวน 5 ไอโซเลต วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 3 ซ้ำ 9 กรรมวิธี ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 อาหารเลี้ยงแบคทีเรียสูตร A (กลูโคส 5 กรัม) (สูตร A1)

กรรมวิธีที่ 2 อาหารเลี้ยงแบคทีเรียสูตร A + แร่เฟลด์สปาร์ 2 กรัม (สูตร A2)

กรรมวิธีที่ 3 อาหารเลี้ยงแบคทีเรียสูตร A+$ZnCl_2$ 100 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร (สูตร A3)

กรรมวิธีที่ 4 อาหารเลี้ยงแบคทีเรียสูตร B (สูตร B1)

กรรมวิธีที่ 5 อาหารเลี้ยงแบคทีเรียสูตร B + แร่เฟลด์สปาร์ 0.175 กรัม (สูตร B2)

กรรมวิธีที่ 6 อาหารเลี้ยงแบคทีเรียสูตร B +แร่เฟลด์สปาร์ 0.175 กรัม + $ZnCl_2$ 100 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร (สูตร B3)

กรรมวิธีที่ 7 อาหารเลี้ยงแบคทีเรียสูตร C (ซูโครส 5 กรัม+ สารสกัดยีสต์ 0.5 กรัม) (สูตร C1)

กรรมวิธีที่ 8 อาหารเลี้ยงแบคทีเรียสูตร C + แร่เฟลด์สปาร์ 0.175 กรัม (สูตร C2)

กรรมวิธีที่ 9 อาหารเลี้ยงแบคทีเรียสูตร C+ แร่เฟลด์สปาร์ 0.175 กรัม + $ZnCl_2$ 100 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร (สูตร C3)

หมายเหตุ: อาหารซิลิเกตแบคทีเรีย คือ กรรมวิธีที่ 7

แยกบริสุทธิ์ไอโซเลตแบคทีเรียละลายโพแทสเซียมด้วยอาหารวุ้นแข็ง nutrient agar และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาบนอาหารวุ้นแข็งซิลิเกตแบคทีเรีย จากนั้นเตรียมหัวเชื้อแบคทีเรียโดยในอาหารเหลว nutrient broth เขย่าเลี้ยงที่ความเร็ว 125 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และถ่ายเชื้อ 1 เปอร์เซ็นต์ลงในอาหารเหลวซิลิเกตแบคทีเรียตามกรรมวิธี เขย่าเลี้ยงที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 144 ชั่วโมง บันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแบคทีเรีย ตรวจนับจำนวนโคโลนีบนอาหารวุ้นแข็งซิลิเกตแบคทีเรีย และวัดปริมาณ K_2O ในส่วนเหลวของอาหารเลี้ยงเชื้อ

เวลาและสถานที่ ตุลาคม 2554- กันยายน 2557

สถานที่ กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

การศึกษาปริมาณแร่เฟลด์สปาร์ที่เหมาะสมในส่วนประกอบของอาหารซิลิเกตแบคทีเรีย

แบคทีเรียละลายโพแทสเซียมทั้ง 4 ไอโซเลตที่ทดสอบมีการเจริญโดยใช้ชนิดของแหล่งโพแทสเซียมและปริมาณที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 1) ทุกไอโซเลตเจริญได้ดีที่สุดในอาหารที่มีส่วนผสมที่ใช้แร่เฟลด์สปาร์ จำนวน 0.175 กรัมต่ออาหารเหลว 50 มิลลิลิตร เป็นแหล่งโพแทสเซียม (ยกเว้น K02074 เจริญเพิ่มจำนวนได้ 10 เท่า) เพิ่มจำนวนจากปริมาณเริ่มต้น 10^7 เป็น 10^8 cfu ต่อมิลลิลิตร และมากกว่าการใช้ KH_2PO_4 จำนวน 2 กรัมต่ออาหารเหลว 1,000 มิลลิลิตร เมื่อเขย่าเลี้ยงที่ความเร็ว 125 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 144 ชั่วโมง โดยไอโซเลต K05080 เพิ่มจำนวนได้สูงสุดถึง 6.04×10^8 cfu ต่อมิลลิลิตร การใส่แร่เฟลด์สปาร์ จำนวน 0.270 กรัมต่ออาหารเหลว 50 มิลลิลิตรทำให้แบคทีเรียเพิ่มจำนวนได้ดีกว่าการใส่จำนวน 0.09 กรัม (ยกเว้น *Bacillus circulans*) จึงสามารถจัดกลุ่มแบคทีเรียที่ทดสอบเป็นซิลิเกตแบคทีเรียได้ซึ่งสามารถละลายโพแทสเซียม ซิลิกอน และอลูมินั่มที่เป็นองค์ประกอบของแร่ที่ไม่ละลายให้สามารถละลายได้และอยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ (Aleksandrov et al, 1967; Vandeviver et al, 1994) เช่น *Bacillus edaphicus* สามารถละลายโพแทสเซียมในสินแร่ Nanjing feldspar และ Suzhou illite (Sheng and Lin, 2006)

ตารางที่ 1 ความสามารถในการเจริญของแบคทีเรียละลายโพแทสเซียมในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนผสมของแร่เฟลด์สปาร์

แหล่งโพแทสเซียม	จำนวนโคโลนี (cfu/มล.)			
	K02004	K05074	K05080	*Bacillus circulans*
ไม่ใส่โพแทสเซียม	$1.18x10^7$c	$3.31x10^7$c	$4.49x10^7$c	$1.42x10^7$c
KH_2HPO_4 2 กรัม	$1.97x10^8$b	$4.15x10^7$bc	$5.01x10^8$b	$1.72x10^8$bc
แร่เฟลด์สปาร์ 0.09 กรัม	$1.93x10^8$bc	$4.55x10^7$b	$4.47x10^8$bc	$2.34x10^8$b
แร่เฟลด์สปาร์ 0.175 กรัม	$2.97x10^8$a	$6.11x10^7$a	$6.04x10^8$a	$2.58x10^8$a
แร่เฟลด์สปาร์ 0.270 กรัม	$1.98x10^8$b	$4.50x10^7$b	$5.58x10^8$a	$2.24x10^8$b
F-test	**	**	**	**
cv	0.7	0.5	0.2	0.6

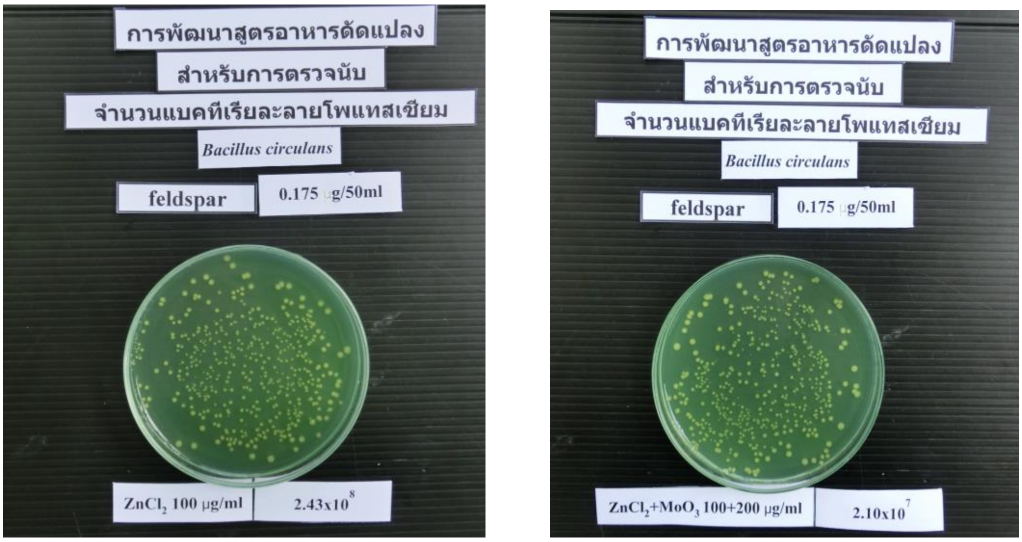
การศึกษาส่วนผสมของแร่เฟลด์สปาร์และโลหะหนักต่อการเจริญของแบคทีเรียละลายโพแทสเซียม

การศึกษาส่วนผสมของแร่เฟลด์สปาร์และโลหะหนักต่อการเจริญของแบคทีเรียละลายโพแทสเซียม 5 ไอโซเลต และแบคทีเรียละลายฟอสเฟต พบว่าปริมาณแร่เฟลด์สปาร์หรือชนิดโลหะหนักในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียละลายโพแทสเซียมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติแต่ไม่มีปฏิสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแร่เฟลด์สปาร์และชนิดโลหะหนักถึงระดับนัยสำคัญทางสถิติ

Bacillus circulans ที่เลี้ยงในอาหารที่ใส่แร่เฟลด์ปาร์ 0.175 กรัมต่ออาหาร 50 มิลลิลิตรมีจำนวนโคโลนีสูงสุด $1.39x10^8$ cfu ต่อมิลลิลิลิตร และการใส่โลหะหนัก $ZnCl_2$ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร $CdCl_2$ 1,600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ MoO_3 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำให้แบคทีเรียมีจำนวนโคโลนีมากกว่าการใส่โลหะหนักชนิดอื่นโดยเฉลี่ย $2.05x10^8$-$2.16x10^8$ cfu ต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 2 และรูปภาพที่ 1)

ตารางที่ 2 ผลของการใส่แร่เฟลด์สปาร์และโลหะหนักในส่วนผสมของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อจำนวนโคโลนีของ *Bacillus circulans* (cfu/มล.)

แหล่งโพแทสเซียม	ชนิดและปริมาณโลหะหนักในส่วนผสมอาหารดัดแปลง						เฉลี่ย
	None	$ZnCl_2$ 100 ไมโครกรัม/มล.	$CuCl_2$ 100 ไมโครกรัม/มล.	$CdCl_2$ 1,600 ไมโครกรัม/มล.	MoO_3 200 ไมโครกรัม/มล.	$ZnCl_2$ +MoO_3 100+200 ไมโครกรัม/มล.	
K_2HPO_4 2 กรัม	$1.40x10^8$	$1.73x10^8$	$1.20x10^7$	$2.13x10^8$	$2.35x10^7$	$1.82x10^7$	$9.66x10^7$c
0.09 กรัม feldspar	$2.14x10^8$	$2.01x10^8$	$1.53x10^7$	$1.83x10^8$	$1.98x10^7$	$1.92x10^7$	$1.09x10^8$b
0.175 กรัม feldspar	$2.68x10^8$	$2.43x10^8$	$1.94x10^7$	$2.53x10^8$	$2.83x10^7$	$2.10x10^7$	$1.39x10^8$a
เฉลี่ย	$2.07x10^8$a	$2.05x10^8$a	$1.56x10^7$d	$2.16x10^8$a	$2.39x10^7$b	$1.95x10^7$c	
F-test โลหะหนัก			**				
F-test แหล่งโพแทสเซียม			**				
F-test โลหะหนักxแหล่งโพแทสเซียม			ns				
cv (%)			0.52				



รูปภาพที่ 1 แสดงผลของการใส่แร่เฟลด์สปาร์และโลหะหนักต่อการเจริญของ *Bacillus circulans*

ปริมาณแร่เฟลด์สปาร์และชนิดโลหะหนักในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียละลายโพแทสเซียมไอโซเลต K02004 อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 3) ไอโซเลต K02004 ไม่เจริญในอาหารที่มีส่วนผสมของ $ZnCl_2+MoO_3$ ความเข้มข้น 100+200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรที่ไม่มีแร่เฟลด์สปาร์ และการใส่ $CuCl_2$ ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หรือ $CdCl_2$ ความเข้มข้น 1,600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้แร่เฟลด์สปาร์เป็นแหล่งโพแทสเซียม เมื่อเปรียบเทียบระหว่างแหล่งโพแทสเซียมพบว่าการใส่แร่เฟลด์สปาร์ 0.09 กรัมในอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้ไอโซเลต K02004 มีจำนวนโคโลนีสูงสุด $1.22 x 10^8$ cfu ต่อมิลลิลิตร และการใส่ $ZnCl_2$ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำให้มีจำนวนโคโลนี $1.47 x 10^8$ cfu ต่อมิลลิลิตร ซึ่งมากกว่าการใส่โลหะหนักชนิดอื่น (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ผลของการใส่แร่เฟลด์สปาร์และโลหะหนักในส่วนผสมของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อจำนวนโคโลนีของ K02004 (cfu/มล.)

แหล่งโพแทสเซียม	ชนิดและปริมาณโลหะหนักในส่วนผสมอาหารดัดแปลง						เฉลี่ย
	None	$ZnCl_2$ 100 ไมโครกรัม/มล.	$CuCl_2$ 100 ไมโครกรัม/มล.	$CdCl_2$ 1,600 ไมโครกรัม/มล.	MoO_3 200 ไมโครกรัม/มล.	$ZnCl_2$ +MoO_3 100+200 ไมโครกรัม/มล.	
K_2HPO_4 2 กรัม	2.15x10^7	1.80x10^8	1.79x10^7	1.79x10^7	2.59x10^6	-	3.99x10^{7}c
0.09 กรัม feldspar	2.40x10^8	2.46x10^8	-	-	2.29x10^8	1.95x10^7	1.22x10^{8}a
0.175 กรัม feldspar	1.77x10^8	1.54x10^7	-	-	4.48x10^7	9.15x10^7	5.47x10^{7}b
เฉลี่ย	1.46x10^{8}a	1.47x10^{8}a	5.96x10^{6}d	5.96x10^{6}d	9.21x10^{7}b	3.70x10^{7}c	
F-test โลหะหนัก			**				
F-test แหล่งโพแทสเซียม			**				
F-test โลหะหนักxแหล่งโพแทสเซียม			ns				
cv (%)			0.50				

ปริมาณแร่เฟลด์สปาร์และชนิดโลหะหนักในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียละลายโพแทสเซียมไอโซเลต K05074 อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ แต่ไม่มีปฏิสัมพันธ์ระหว่างแหล่งโพแทสเซียมกับชนิดโลหะหนัก (ตารางที่ 4) ไอโซเลต K05074 ไม่เจริญในอาหารที่มีส่วนผสมของ $ZnCl_2$+MoO_3 ความเข้มข้น 100+200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรที่ไม่มีแร่เฟลด์สปาร์ และการใส่ $CuCl_2$ ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หรือ $CdCl_2$ ความเข้มข้น 1,600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้แร่เฟลด์สปาร์เป็นแหล่งโพแทสเซียม เมื่อเปรียบเทียบระหว่างแหล่งโพแทสเซียมพบว่าการใส่แร่เฟลด์สปาร์ 0.09 กรัมในอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้ไอโซเลต K05074 มีจำนวนโคโลนีสูงสุด 9.93x10^7 cfu ต่อมิลลิลิตร และการใส่ $ZnCl_2$ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำให้มีจำนวนโคโลนี 2.03x10^8 cfu ต่อมิลลิลิตรซึ่งมากกว่าการใส่โลหะหนักชนิดอื่น

ตารางที่ 4 ผลของการใส่แร่เฟลด์สปาร์และโลหะหนักในส่วนผสมของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียละลายโพแทสเซียมไอโซเลท K05074 (cfu/มล.)

แหล่งโพแทสเซียม	ชนิดและปริมาณโลหะหนักในส่วนผสมอาหารดัดแปลง						เฉลี่ย
	None	$ZnCl_2$ 100 ไมโครกรัม/มล.	$CuCl_2$ 100 ไมโครกรัม/มล.	$CdCl_2$ 1,600 ไมโครกรัม/มล.	MoO_3 200 ไมโครกรัม/มล.	$ZnCl_2$ +MoO_3 100+200 ไมโครกรัม/มล.	
K_2HPO_4 2 กรัม	$2.33x10^7$	$2.21x10^8$	$1.94x10^7$	$1.94x10^7$	$9.13x10^6$	-	$4.87x10^7$c
0.09 กรัม feldspar	$2.34x10^8$	$3.21x10^8$	-	-	$2.04x10^7$	$2.06x10^7$	$9.93x10^7$a
0.175 กรัม feldspar	$2.38x10^8$	$6.86x10^7$	-	-	$2.26x10^8$	$3.16x10^7$	$9.40x10^7$b
เฉลี่ย	$1.65x10^8$b	$2.03x10^8$a	$6.46x10^6$e	$6.46x10^6$e	$8.51x10^7$c	$1.74x10^7$d	
F-test โลหะหนัก			**				
F-test แหล่งโพแทสเซียม			**				
F-test โลหะหนักxแหล่งโพแทสเซียม			ns				
cv (%)			4.34				

ปริมาณแร่เฟลด์สปาร์และชนิดโลหะหนักในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียละลายโพแทสเซียมไอโซเลต K05080 อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 5) ไอโซเลต K05080 ไม่เจริญในอาหารที่มีส่วนผสมของ $ZnCl_2$+MoO_3 ความเข้มข้น 100+200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรที่ไม่มีแร่เฟลด์สปาร์ และการใส่ $CuCl_2$ ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หรือ $CdCl_2$ ความเข้มข้น 1,600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรใน

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้แร่เฟลด์สปาร์เป็นแหล่งโพแทสเซียม เมื่อเปรียบเทียบระหว่างแหล่งโพแทสเซียมพบว่าการใส่แร่เฟลด์สปาร์ 0.175 กรัมในอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้ไอโซเลต K05080 มีจำนวนโคโลนีสูงสุด $5.27x10^7$ cfu ต่อมิลลิลิตร และการใส่ MoO_3 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำให้มีจำนวนโคโลนี $2.31x10^7$ cfu ต่อมิลลิลิตร มากกว่าการใส่โลหะหนักชนิดอื่น

ตารางที่ 5 ผลของการใส่แร่เฟลด์สปาร์และโลหะหนักในส่วนผสมของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ต่อจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียละลายโพแทสเซียมไอโซเลท K05080 (cfu/มล.)

แหล่งโพแทสเซียม	ชนิดและปริมาณโลหะหนักในส่วนผสมอาหารดัดแปลง						เฉลี่ย
	None	$ZnCl_2$ 100 ไมโครกรัม/มล.	$CuCl_2$ 100 ไมโครกรัม/มล.	$CdCl_2$ 1,600 ไมโครกรัม/มล.	MoO_3 200 ไมโครกรัม/มล.	$ZnCl_2$ +MoO_3 100+200 ไมโครกรัม/มล.	
K_2HPO_4 2 กรัม	$2.40x10^7$	$2.76x10^7$	$2.43x10^7$	$2.43x10^7$	$3.56x10^6$	-	$2.07x10^7$b
0.09 กรัม feldspar	$2.30x10^8$	$8.85x10^6$	-	-	$3.23x10^7$	-	$4.51x10^7$ab
0.175 กรัม feldspar	$2.02x10^8$	$1.79x10^7$	-	-	$3.36x10^7$	$6.30x10^7$	$5.27x10^7$a
เฉลี่ย	$1.52x10^8$a	$1.81x10^7$d	$8.10x10^6$e	$8.10x10^6$e.	$2.31x10^7$b	$2.10x10^7$c	
F-test โลหะหนัก			**				
F-test แหล่งโพแทสเซียม			**				
F-test โลหะหนักxแหล่งโพแทสเซียม			ns				
cv (%)			0.86				

ปริมาณแร่เฟลด์สปาร์และชนิดโลหะหนักในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่ทดสอบอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 6) โดยแบคทีเรียละลายฟอสเฟตไม่เจริญในอาหารที่มีส่วนผสมของ $CuCl_2$ ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบระหว่างแหล่งโพแทสเซียมพบว่าการใส่ K_2HPO_4 ในอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้มีจำนวนโคโลนีสูงสุด 2.79×10^8 cfu ต่อมิลลิลิตร และการใส่ $ZnCl_2$ ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำให้มีจำนวนโคโลนี 2.92×10^8 cfu ต่อมิลลิลิตร มากกว่าการใส่โลหะหนักชนิดอื่น (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ผลของการใส่แร่เฟลด์สปาร์และโลหะหนักในส่วนผสมของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียละลายฟอสเฟต (cfu/มล.)

แหล่งโพแทสเซียม	ชนิดและปริมาณโลหะหนักในส่วนผสมอาหารดัดแปลง						เฉลี่ย
	None	$ZnCl_2$ 100 ไมโครกรัม/มล.	$CuCl_2$ 100 ไมโครกรัม/มล.	$CdCl_2$ 1,600 ไมโครกรัม/มล.	MoO_3 200 ไมโครกรัม/มล.	$ZnCl_2$ +MoO_3 100+200 ไมโครกรัม/มล.	
K_2HPO_4 2 กรัม	2.14×10^8	4.49×10^8	-	7.35×10^7	4.60×10^8	4.81×10^8	2.79×10^8a
0.09 กรัม feldspar	1.46×10^8	2.01×10^8	-	1.87×10^8	2.20×10^7	-	9.26×10^7c
0.175 กรัม feldspar	1.31×10^8	2.28×10^8	-	1.82×10^7	3.22×10^8	2.71×10^8	1.61×10^8b
เฉลี่ย	1.63×10^8d	2.92×10^8a	0d	9.29×10^7e	2.68×10^8b	2.50×10^8c	
F-test โลหะหนัก			**				

F-test แหล่งโพแทสเซียม	**
F-test โลหะหนักxแหล่งโพแทสเซียม	ns
cv (%)	0.39

โดยภาพรวมแบคทีเรียละลายโพแทสเซียมที่ทดสอบมีความสามารถในการเจริญได้ในอาหารที่ใช้แร่เฟลด์สปาร์ 0.175 กรัมในอาหารเหลว 50 มิลลิลิตรที่มีการใส่ $ZnCl_2$ ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่แบคทีเรียละลาย และสามารถเจริญได้ในอาหารซิลิเกตแบคทีเรียปกติที่ใช้ KH_2PO_4 จำนวน 2 กรัมในปริมาตรอาหาร 1,000 มิลลิลิตรที่มีการเติม $CuCl_2$ ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่แบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่ทดสอบไม่สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีการเติม $CuCl_2$ ที่ความเข้มข้นดังกล่าว แบคทีเรียละลายโพแทสเซียมและแบคทีเรียละลายฟอสเฟตเป็นแบคทีเรียที่ย่อยละลายธาตุอาหารพืชที่อยู่ในรูปอนินทรีย์สารที่ไม่เป็นประโยชน์ต่อพืชให้อยู่ในรูปที่พืชใช้ประโยชน์ได้ แบคทีเรียละลายโพแทสเซียมจะผลิตสารออกฤทธิ์เป็นกรดในการย่อยสลายแร่เฟลด์สปาร์เพื่อให้ได้โพแทสเซียมและนำมาใช้ในการเจริญ (Styriakova and Styriak, 2002) หรือสร้างสารอินทรีย์ซึ่งทำหน้าที่เป็นสารคีเลตไอออนของโพแทสเซียมเพื่อให้อยู่ในรูปที่ละลายได้ (Vandevivere et al., 1994) แต่ผลการทดลองที่พบว่าแบคทีเรียทั้ง 2 กลุ่มมีความแตกต่างเรื่องความทนทานต่อโลหะหนักจึงมีความเป็นไปได้ในการใช้สาร CuCl2 ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อพัฒนาเป็นอาหารจำเพาะเพื่อแยกความแตกต่างของแบคทีเรียทั้งสองกลุ่มในบางสกุลหรือสปีชีส์หรือสายพันธุ์ได้ ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Tong and Sadowsky (1994) ที่พัฒนาสูตรอาหารจำเพาะเพื่อแยกและตรวจนับจำนวนสายพันธุ์ *Bradyrhizobium japonicum* และ *Bradyrhizobium elkanii* ออกจากสายพันธุ์ *Rhizobium* spp. จากดินและหัวเชื้อจุลินทรีย์เพื่อการผลิตปุ๋ยชีวภาพ โดยการเติมโลหะหนัก Zn^{2+} และ Co^{2+} ความเข้มข้น 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรซึ่ง *Bradryrhizobium* ทั้งสองสายพันธุ์สามารถทนทานต่อโลหะหนักทั้งสองชนิดจึงสามารถเจริญได้ในขณะที่สายพันธุ์ *Rhizobium* spp. อ่อนแอต่อโลหะหนักชนิดดังกล่าว

การทดสอบสูตรอาหารดัดแปลงต่อการเจริญของแบคทีเรียละลายโพแทสเซียม

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียละลายโพแทสเซียม จำนวน 7 ไอโซเลตที่ทดสอบที่เลี้ยงให้เจริญบนอาหารวุ้นแข็งซิลิเกตแบคทีเรีย พบว่าสามารถจัดได้เป็น 4 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่ 1 โคโลนีมีสีเหลืองขอบเรียบ รูปร่างเซลล์เป็นท่อน ติดสีแกรมบวก ได้แก่ *Bacillus circulans* กลุ่มที่ 2 โคโลนีสีเหลืองอ่อนขอบเรียบ รูปร่างเซลล์เป็นท่อน ติดสีแกรมบวก ได้แก่ ไอโซเลต K05075 K05078 K05085 และ K05122

กลุ่มที่ 3 โคโลนีสีขาวขุ่น ขอบไม่เรียบ รูปร่างเซลล์เป็นท่อน ติดสีแกรมบวก ได้แก่ ไอโซเลต K07002 กลุ่มที่ 4 โคโลนีสีเหลือง ขอบเรียบ รูปร่างเซลล์เป็นท่อน ติดสีแกรมลบ ได้แก่ *Pseudomonas fluorescens* (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 ลักษณะโคโลนี รูปร่างเซลล์ และการติดสีแกรมของแบคทีเรียละลายโพแทสเซียมที่ทดสอบ

ลักษณะโคโลนี รูปร่างเซลล์ และการติดสีแกรม	ไอโซเลต
โคโลนีมีสีเหลือง ขอบเรียบ รูปร่างเซลล์เป็นท่อน ติดสีแกรมบวก	*Bacillus circulans*
โคโลนีสีเหลืองอ่อน ขอบเรียบ รูปร่างเซลล์เป็นท่อน ติดสีแกรมบวก	ไอโซเลต K05075 K05078 K05085 และ K05122
โคโลนีสีเหลืองขอบไม่เรียบ รูปร่างเซลล์เป็นท่อน ติดสีแกรมบวก	ไอโซเลต K07002
โคโลนีสีเหลือง ขอบเรียบ รูปร่างเซลล์เป็นท่อน ติดสีแกรมลบ	*Pseudomonas fluorescens*

กล่าวโดยรวมแบคทีเรียละลายโพแทสเซียมที่ทดสอบมีความสามารถในการเจริญเพิ่มจำนวนได้ในอาหารสูตรดัดแปลงที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 8) โดยภาพรวมแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่ทดสอบเจริญได้สูงสุดเมื่อเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร A3 ซึ่งเป็นสูตรอาหารซิลิเกตแบคทีเรียซึ่งมีองค์ประกอบหลักเป็นน้ำตาลซูโครส 5 กรัม สารสกัดจากยีสต์ 0.5 กรัม ใส่แร่เฟลด์สปาร์ 0.175 กรัมและเติม $ZnCl_2$ ความเข้มข้น 100 ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร (ยกเว้น ไอโซเลต K07002) เมื่อเปรียบเทียบสูตรอาหารทั้ง 3 สูตรหลัก คือ สูตร A B และ C พบว่าแบคทีเรียละลายโพแทสเซียมสามารถเจริญและมีชีวิตรอดสูงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร C ภายหลังเลี้ยงเป็นเวลา 144 ชั่วโมง โดยไอโซเลต K05078 มีจำนวนโคโลนีสูงสุด 5.28×10^7 cfu ต่อมิลลิลิตร เมื่อเลี้ยงด้วยอาหารสูตร C1 และส่วนใหญ่อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร C2 และ C3 ทำให้แบคทีเรียเพิ่มจำนวนโคโลนี ($\times 10^6$ cfu/มิลลิลิตร) ได้มากกว่าสูตร C1

เมื่อพิจารณาความสามารถในการละลายและปลดปล่อย K_2O พบว่าองค์ประกอบของสูตรอาหารมีผลทำให้วิเคราะห์ %K_2O ในส่วนเหลวของอาหารเลี้ยงเชื้อแตกต่างกัน (ตารางที่ 9) พบว่าการเลี้ยงแบคทีเรียละลายโพแทสเซียมทุกไอโซเลตที่ทดสอบด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร C2 หรือ C3 ทำให้ตรวจพบปริมาณ %K_2O สูง มีค่าเฉลี่ย 3.91-4.28 เปอร์เซ็นต์ โดยไอโซเลต K07002 สามารถละลายให้ %K_2O สูงสุด 4.28 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 8 การเจริญของแบคทีเรียละลายโพแทสเซียมในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรดัดแปลงต่างๆ

ไอโซเลต	จำนวนโคโลนี (cfu/มล.) ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่างๆ									F-test	cv
	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3		
Bacillus circulans	8.25×10^4 e	2.10×10^5 d	2.25×10^5 d	6.15×10^5 b	4.55×10^5 bc	3.70×10^5 cd	4.42×10^5 bc	2.75×10^6 a	5.78×10^6 a	**	2.1
Pseudomonas fluorescens	1.49×10^5 e	1.40×10^6 b	6.70×10^5 cd	8.45×10^5 bc	4.83×10^5 d	4.52×10^5 d	1.18×10^5 e	3.90×10^6 a	5.60×10^6 a	**	3.2
K05075	1.52×10^5 f	6.95×10^5 c	8.90×10^5 b	8.85×10^4 g	5.65×10^5 d	3.45×10^5 e	5.49×10^5 d	5.29×10^5 d	3.20×10^6 a	**	0.6
K05078	1.10×10^5 d	4.85×10^5 c	3.05×10^5 c	5.31×10^5 c	5.45×10^5 c	3.25×10^5 c	5.28×10^7 a	4.05×10^6 b	7.60×10^6 b	**	3.3
K05085	3.85×10^6 f	8.35×10^6 de	1.60×10^6 g	2.13×10^7 ab	1.95×10^7 bc	5.70×10^6 ef	3.85×10^7 a	1.20×10^7 cd	4.40×10^6 f	**	2.3
K05122	1.49×10^5 e	1.41×10^6 b	6.70×10^5 cd	8.45×10^5 bc	4.83×10^5 d	4.52×10^5 d	1.18×10^5 e	3.90×10^6 a	5.60×10^6 a	**	3.2
K07002	7.80×10^6 c	8.65×10^5 f	6.90×10^7 a	6.10×10^5 g	9.25×10^6 d	1.28×10^5 h	1.75×10^7 b	1.44×10^7 c	7.2×10^6 e	**	0.5

ตารางที่ 9 ปริมาณ %K_2O ในส่วนเหลวของอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่างๆ

ไอโซเลต	ปริมาณ %K_2O ในส่วนเหลวของอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่างๆ	F-	cv

	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	test	
Bacillus circulans	0.93h	0.06i	2.01e	1.18f	4.05b	4.00c	0.95g	3.91d	4.14a	**	0.5
Pseudomonas fluorescens	0.92h	2.24d	2.12e	1.18f	4.19ab	4.18b	0.96g	4.22a	4.10c	**	1.0
K05075	0.93g	2.02e	2.21d	0.64h	0.12i	3.96c	0.97f	4.16b	4.18a	**	0.4
K05078	0.97i	1.91f	2.08e	1.20g	4.15a	3.94d	1.00h	4.03c	4.11b	**	0.4
K05085	1.00h	1.84f	2.00e	1.20g	4.05b	4.02c	0.98i	3.98d	4.16a	**	0.3
K05122	1.05g	2.00d	1.89e	1.26f	3.87c	3.98b	0.96h	4.10a	3.98b	**	0.3
K07002	0.96f	2.04d	2.03d	1.17e	3.94c	3.93c	0.94g	4.28a	3.99b	**	0.5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

แบคทีเรียละลายโพแทสเซียมที่ทดสอบมีความสามารถในการเจริญได้ในอาหารดัดแปลง (จากอาหารซิลิเกตแบคทีเรีย) ที่มีองค์ประกอบหลัก ได้แก่ กลูโคส 5 กรัม สารสกัดจากยีสต์ 0.5 กรัม และใช้แร่เฟลด์สปาร์ 0.175 กรัม ในอาหารเหลว 50 มิลลิลิตรเป็นแหล่งโพแทสเซียม พร้อมทั้งเติม $ZnCl_2$ ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เขย่าเลี้ยงที่ความเร็ว 125 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 144 ชั่วโมง ส่งเสริมการเพิ่มจำนวนโคโลนีประมาณ 10 เท่า (เริ่มต้น 10^7 เพิ่มเป็น 10^8 cfu ต่อมิลลิลิตร) และส่งเสริมการละลายและปลดปล่อย %K_2O ในส่วนเหลวของอาหารได้สูงถึง 4.28

เนื่องจากผลการทดลองพบว่าแบคทีเรียละลายฟอสเฟตสายพันธุ์ที่ทดสอบไม่สามารถเจริญได้ในอาหารซิลิเกตแบคทีเรียที่มีการเติม $CuCl_2$ ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่แบคทีเรียละลายโพแทสเซียมไอโซเลตที่ทดสอบสามารถเจริญได้ จึงควรวิจัยพัฒนาสูตรอาหารดัดแปลงโดยเติม $CuCl_2$ ในองค์ประกอบของสูตรอาหารเพื่อคัดแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตออกจากแบคทีเรียละลายโพแทสเซียม ส่วนสูตรอาหารดัดแปลง C3 ควรนำทดสอบเปรียบเทียบกับแบคทีเรียละลายโพแทสเซียมสายพันธุ์อื่นที่มีความสามารถในการละลายโพแทสเซียมที่แตกต่างกันเพื่อยืนยันความใช้ได้ของสูตรอาหารดัดแปลง

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ผลงานวิจัยสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการวิจัยพัฒนาต่อยอดการพัฒนาสูตรอาหารดัดแปลงจำเพาะสำหรับการตรวจนับปริมาณและวัดประสิทธิภาพการละลายโพแทสเซียมของแบคทีเรียละลายโพแทสเซียมในปุ๋ยชีวภาพและในดิน

เอกสารอ้างอิง

Aleksandrov, V. G., R. N. Blagodry, and I. P. Ilev. 1967. Liberation of phosphoric acid from apatite by silicate bacteria. ***Mikrobiolohichnyi Zhurnal*** (*Kiev*) 29:111-114.

Brynhildsen, L. and T. Rosswall. 1989. Effects of cadmium, copper, magnesium, and zinc on the decomposition of citrate by a *Klebsiella* sp. ***Applied and Environmental Microbiology*** 55:1375-1379.

Danso, S. K., A. M. Habte and M. Alexander. 1973. Estimating the density of individual bacterial populations introduced into natural ecosystems. ***Canadian Journal of Microbiology*** 19:1145-1451.

El-Aziz, R., J. S. Angle and R. L. Chaney. 1991. Metal tolerance of Rhizobium meliloti isolated from heavy metal contaminated soils. ***Soil Biology Biochemistry*** 23:795-798.

Graham, P.H. 1969. Selective medium for growth of Rhizobium. ***Applied Microbiology*** 17:769-770.

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

Kelel, M. G. Abera, A. Yisma, B. Molla, N. Gebre, T. Adugna and G. Wessel. 2014. Isolation of phosphate solubilizing bacteria from acacia tree rhizosphere soil. ***Journal of Microbiology and Biotechnology Research*** 4(5):9-13.

Kinkle, B. K., J.S. Angle and H. H. Keyser. 1987. Long-term effects of metal-rich sewage sludge application on soil populations of *Bradyrhizobium japonicum*. ***Applied and Environmental Microbiology*** 53:315-319.

Dinu, L. R., L. Anghel and S. Jurcoane. 2011. Isolation of heavy metal resistant bacterial strains form the battery manufactured polluted environment. ***Romanian Biotechnological Letters*** 16(6):102-106.

Schmidt, E. L., R. O. Bankole and B. B. Bohlool. 1968. Fluorescent-antibody approach to study of rhizobia in soil. ***Journal of Bacteriology*** 95:1987-1992.

Sheng, X. F. and H. Y. Lin. 2006. Solubilization of potassium-bearing minerals by a wild-type strain of Bacillus edaphicus and its mutants and increased potassium uptake by wheat. ***Canadian Journal of Microbiology*** 52:66-72.

Somagsegaran, P. and H. J. Hoben. 1994***. Methods in legume-Rhizobium technology***. NifTAL Project, Paia, Hawaii.

Styriakova, I and I. Styriak. 2002. Iron removal from kaolins by bacteria leaching. ***Ceramic Silikaty*** 44(4):135-141.

Tong, Z. and M. J. Sadowsky. 1994. A selective medium for the isolation and quantification of *Bradyrhizobium japonicum* and *Bradyrhizobium elkanii* strains from soils and inoculants. ***Applied and Environmental Microbiology*** 60(2):581-586.

Top, E., M. Mergeay, D. Springael and W. Vestrate. 1990. Gene escape model: transfer of heavy metal resistance genes from *Escherichia coli to Alcaligenes eutrophus* on agar plates and in soil samples. ***Applied Environmental Microbiology*** 56:2471-2479.

Vandevivere, P., S. A. Welch, W. j. Ullman and D. L. Kirchman.1994. Enhanced dissolution of silicate minerals by bacteria at near-neutral pH. ***Microbial Ecology*** 27:241-251.