การศึกษาการละลายฟอสเฟตโดยแอคติโนมัยสีทที่แยกจากดินสวนส้มโอจังหวัดนครปฐม

Study of Phosphate Solibulizing by Actinomycetes Isolated from pomelo orchard soil in Nakhon Pathom Province

กัญญา สอนสนิท

สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม
jkanya@windowslive.comท

บทคัดย่อ

แอคติโนมัยสีทจำนวนทั้งหมด 425 ไอโซเลทที่แยกได้จากดินสวนส้มโอ ได้นำมาตรวจหาความสามารถในการละลายฟอสเฟต จากผลการทดลองพบว่า แอคติโนมัยสีท 40 ไอโซเลท สามารถละลายฟอสเฟตบนอาหารแข็งสูตร PVK ได้ โดยไอโซเลท DP05 และ DP47 สามารถสร้างบริเวณใสบนอาหารแข็งได้กว้างที่สุด อย่างไรก็ตามเมื่อนำมาทำการวิเคราะห์หาปริมาณฟอสเฟตที่ละลายได้โดยใช้ spectrophotometer ที่ OD_{470} พบว่า ไอโซเลท DP106 สามารถละลายฟอสเฟตได้ปริมาณสูงที่สุดเท่ากับ 67.216 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นนำไอโซเลท DP106 ไปศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการละลายฟอสเฟต ได้แก่ ระยะเวลาในการบ่มเชื้อ อุณหภูมิ และ pH พบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการละลายฟอสเฟต คือ ระยะเวลาในการบ่มเชื้อ 13 วัน อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่ pH 7

คำสำคัญ: แอคติโนมัยสีท การละลายฟอสเฟต ดินสวนส้มโอ

Abstract

Total four hundreds and twenty five isolates of actinomycetes which isolated from pummelo orchards soil were distinguished for phosphate solubilization. The results showed that 40 isolates were able to solubilize phosphate on PVK agar. Isolated code DP05 and DP47 produced the largest clear zone on PVK agar. However, quantitative analysis of available phosphorus by using spectrophoymeter at OD 470 showed that isolated code DP106 released the maximum phosphate of 67.216 mg/L. Then DP106 was tested for effect of incubation period, temperature and pH on phosphate solobilization. The results showed that the optimum incubation period over the release of phosphate was 13 days at 30 ^{o}C and pH 7.

Keywords: Actinomycetes, phosphate solubilizing, pummelo orchards soil

1. บทนำ

ส้มโอ (pomelo) เป็นไม้ผลที่เป็นเอกลักษณ์ และมีความสำคัญโดยสร้างรายได้ให้เกษตรกรในพื้นที่ลุ่มน้ำนครชัยศรี จังหวัดนครปฐม เกษตรกรในพื้นที่นิยมปลูกกันมาก เนื่องจากมีรสชาติหวานอร่อย โดยเฉพาะในพื้นที่อำเภอนครชัยศรีและอำเภอสามพราน ในอดีตก่อนเกิดวิกฤตการณ์น้ำท่วมเมื่อปี พ.ศ. 2554 ส้มโอนครชัยศรีจัดได้ว่าเป็นผลไม้ที่มีชื่อเสียงของจังหวัดนครปฐม สามารถสร้างรายได้ให้กับเกษตรกรเป็นจำนวนมาก เนื่องจากเป็นที่ต้องการของตลาด จึงมีราคาค่อนข้างสูง ซึ่งในขณะนั้นปัญหาใหญ่อย่างหนึ่งของเกษตรกรผู้ปลูกส้มโอ คือ ปัญหาโรคของส้มโอ ไม่ว่าจะเป็นโรคราก เน่า โคนเน่า โรคผลร่วง และอื่นๆ ซึ่งมีสาเหตุมาจากปัจจัยหลายปัจจัย โดยปัจจัยที่สำคัญอย่างหนึ่ง ได้แก่ เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค จึงทำให้เกษตรกรต้องใช้สารเคมีในการป้องกันและกำจัดโรคอย่างมากมาโดยตลอด ต่อมาในปี พ.ศ. 2554 ประเทศไทยประสบปัญหาวิกฤตการณ์น้ำท่วม ซึ่งพื้นที่หลักในการปลูกส้มโอของจังหวัดนครปฐมในสามอำเภอ ได้แก่ อำเภอนครชัยศรี อำเภอสามพราน และอำเภอพุทธมณฑล ก็ได้รับผลกระทบเป็นอย่างมากจากการเกิดน้ำท่วมในครั้งนั้น เป็นเหตุให้พื้นที่ปลูกส้มโอลดลงถึงร้อยละ 90 คือ เหลือพื้นที่ปลูกส้มโออยู่เพียง 700 ไร่ จากเดิมมีสวนส้มโออยู่ถึง 7,000 ไร่ จากการเข้าร่วมเสวนากลุ่มเกษตรกรผู้ปลูกสมโอ ซึ่งจัดโดยมหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม และการสำรวจพื้นที่ปลูกทำให้ได้ข้อมูลปัญหาของเกษตรกรผู้ปลูกส้มโอเพิ่มเติม นั่นคือ พื้นที่ที่ผ่านการถูกน้ำท่วมขังเป็นเวลานาน หรือกระทั่งพื้นที่เดิมจะประสบปัญหาดินเสื่อมคุณภาพ อันเนื่องมาจากน้ำท่วมขังและการใช้ปุ๋ยเคมีอย่างต่อเนื่อง ทำให้ดินแข็ง บางพื้นที่เป็นดินฝุ่น ทำให้พืชเจริญเติบโตช้า รากไม่เจริญเติบโต ซึ่งส่งผลให้การดูดซึมธาตุอาหารได้ไม่ดี และจากการที่เกษตรกรใช้ปุ๋ยเคมีปริมาณมากเป็นระยะเวลานาน ส่งผลให้เกิดการสะสมของธาตุอาหารโดยเฉพาะฟอสฟอรัสมากเกินไป เนื่องจากฟอสฟอรัสถูกตรึงอยู่ในดินได้ง่าย นอกจากนี้ส้มโอยังต้องการไนโตรเจนในช่วงของการสร้างใบและกิ่งใหม่ และเมื่อเริ่มสร้างตาดอกความต้องการฟอสฟอรัสจะมีมากขึ้น เมื่อส้มโอเริ่มติดผลความต้องการไนโตรเจนจะเพิ่มขึ้นอีกครั้ง การใช้จุลินทรีย์เพื่อช่วยในการละลายฟอสฟอรัสในรูปของฟอสเฟตออกมาให้พืชใช้ประโยชน์ได้มากขึ้นจะช่วยลดการใช้ปุ๋ยเคมีลงได้ แอคติโนมัยสีทเป็นจุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์ในด้านการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้หลายประเภท นอกจากนี้แอคติโนมัยสีทบางชนิดยังสามารถตรึงไนโตเจนได้ และบางชนิดสามารถช่วยย่อยสลายหรือละลายฟอสเฟตเพื่อเป็นประโยชน์ต่อพืชได้ (รัตนาภรณ์ ศรีวิบูลย์, 2548; ชาญวิทย์ สุริยฉัตรกุล และคณะ, 2546)

ในการวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาถึงประสิทธิภาพของแอคติโนมัยสีทในการช่วยเพิ่มธาตุอาหารที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช โดยการคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากดินสวนส้มโอในพื้นที่จังหวัดนครปฐมที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟต และปัจจัยที่มีผลต่อการละลายฟอสเฟตของเชื้อที่คัดเลือกได้ ทั้งนี้เพื่อนำไปสู่การใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ดินในการฟื้นฟูและเพิ่มธาตุอาหารในดินให้แก่ส้มโอต่อไป

2. วัตถุประสงค์การวิจัย

2.1 เพื่อคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถละลายฟอสเฟตได้
2.2 เพื่อศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการละลายฟอสเฟตของเชื้อที่คัดเลือกได้

3. วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การเตรียมเชื้อแอคติโนมัยสีทเพื่อทดสอบ

นำแอคติโนมัยสีทจำนวน 425 ไอโซเลท ที่คัดแยกไว้แล้วจากห้องปฏิบัติการสาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม ที่เก็บไว้ใน slant มาทำให้เชื้ออยู่ในสภาพที่พร้อมนำไปใช้ทดสอบโดยการใช้อาหาร NB ใส่ลงไปใน slant แล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นเขี่ยเชื้อ (streak) บนอาหารแข็ง ISP-2 บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน นำเชื้อไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

3.2 การเตรียมสารละลายและกราฟมาตรฐานฟอสเฟต

3.2.1 สารละลายมาตรฐานฟอสเฟต

ชั่ง 307.3 มิลลิกรัม ของ KH_2PO4 (anhydrous) เติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร สารละลายนี้มีความเข้มข้นเท่ากับ 70 มิลลิกรัมต่อลิตร ใช้เป็นสารละลายมาตรฐานฟอสเฟต

เตรียม Calibration Curve โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานฟอสเฟตที่เตรียมไว้ ปริมาตร 0, 17.5, 35, 52.5 และ 70 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรเป็น 70 มิลลิลิตรทุกความเข้มข้น จะได้อนุกรมของฟอสเฟตที่มีความเข้มข้น 0, 17.5, 35, 52.5 และ 70 มิลลิกรัมต่อลิตร ใช้เตรียมกราฟมาตรฐานของฟอสเฟต

3.3 การคัดเลือกแอคติโนมัยสีทที่สามารถละลายฟอสเฟต

นำไม้จิ้มฟันที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเขี่ยเชื้อบริสุทธิ์ของแอคติโนมัยสีทแต่ละไอโซเลทมาแตะลงอาหารแข็ง PVK โดยใช้ 10 ไอโซเลทต่อ 1 จานเพาะเชื้อ ทำการทดลอง 2 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 7 -14 วัน สังเกตรอบโคโลนีถ้ามีบริเวณใสแสดงว่าสามารถละลายฟอสเฟตได้ เนื่องจากอาหาร PVK มีแคลเซียมฟอสเฟตเป็นส่วนประกอบ

3.4 การทดสอบประสิทธิภาพแอคติโนมัยสีทที่สามารถละลายฟอสเฟต

3.4.1 นำ cork borer เบอร์ 3 เจาะลงบริเวณที่เชื้อขึ้นอย่างหนาแน่นจำนวนหนึ่งชิ้นมาใส่ลงในอาหารเหลว PVK ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่บรรจุใน ฟลาสก์ ขนาด 125 มิลลิลิตร บ่มโดยการเขย่าด้วยเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Incubator shaker) ความเร็ว 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน โดยทำการทดลอง 2 ซ้ำ เก็บตัวอย่างโดยการนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใส่ (supernatant) ไปวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำโดยวิธี vanadomolybdophosphoric acid ถ้าตัวอย่างมีค่า pH สูงกว่า 10 ให้เติมฟีนอล์ฟทาลีน 1 หยด ลงในน้ำตัวอย่าง 50 มิลลิลิตร เพื่อปรับ pH ไม่ให้เกิน 10

3.4.2 เขย่าตัวอย่าง 5 มิลลิลิตร ด้วยถ่านกัมมันต์ (activated carbon) 20 มิลลิกรัม ในขวดรูปกรวย 5 นาที กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 42 เพื่อขจัดคาร์บอนออก กรองหลายๆ ครั้งด้วยถ่านกัมมันต์ (activated carbon) จนได้สารละลายใส เพื่อทำการกำจัดสีของตัวอย่าง

3.4.3 นำตัวอย่าง 3.5 มิลลิลิตร เติม Vanadate – molybdate 1 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที (นับเวลาจากที่เติม vanadate – molybdate) เป็นขั้นตอนการทำให้ตัวอย่างเกิดสี สีที่เกิดจะคงตัวได้หลายวัน ที่อุณหภูมิห้อง นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่างเทียบกับหลอดควบคุม นำตัวอย่างที่ได้ไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายฟอสเฟต

3.5 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการละลายฟอสเฟต

3.5.1 ผลของระยะเวลาในการบ่มเพาะเลี้ยงเชื้อ ดำเนินการเช่นเดียวกับข้อ 3.4 โดยใช้เชื้อที่มีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตได้ดีที่สุด ผันแปรเวลาในการเพาะเลี้ยงช่วง 1 ถึง 15 วัน

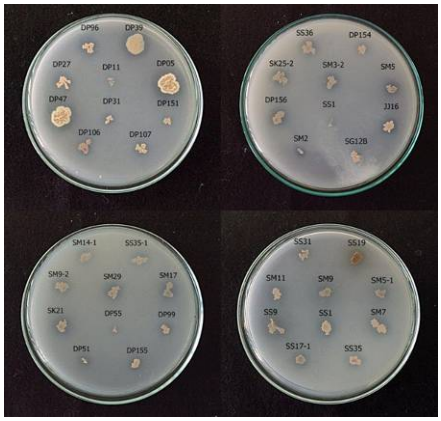
3.5.2 ผลของอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยงเชื้อต่อประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟต ดำเนินการเช่นเดียวกับข้อ 3.4 โดยใช้เชื้อที่มีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตได้ดีที่สุด ผันแปรอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยงเป็น 25, 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส

3.5.3 ผลของ pH ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อต่อประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟต ดำเนินการเช่นเดียวกับข้อ 3.4 โดยใช้เชื้อที่มีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตได้ดีที่สุด ผันแปร pH ในช่วง 4-10

4. ผลการวิจัย

4.1 ผลการคัดเลือกแอคติโนมัยสีทที่สามารถละลายฟอสเฟต

จากการนำเชื้อแอคติโนมัยสีททั้งหมด จำนวน 425 ไอโซเลท มาทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟตบนอาหารแข็ง Pikovskayas บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน พบว่ามีเชื้อแอคติโนมัยสีท จำนวน 40 ไอโซเลท ที่สามารถละลายฟอสเฟตได้ โดยสังเกตจากการเกิดบริเวณใสขึ้นรอบๆ โคโลนีของเชื้อ บนอาหาร PVK ดังแสดงในภาพที่ 1 โดยพบว่าแอคติโนมัยสีทไอโซเลต DP05 และ DP47 มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณใสรอบโคโลนีสูงที่สุด คือ 1.8 เซนติเมตร รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 1



ภาพที่ 1 เชื้อแอคติโนมัยสีทจำนวน 40 ไอโซเลท ทีสามารถละลายฟอสเฟตได้ บนอาหารแข็ง PVK

ตารางที่ 1 แอคติโนมัยสีทที่สามารถสร้างวงใสบนอาหารแข็งสูตร **PVK** ทั้งหมด **40** ไอโซเลท

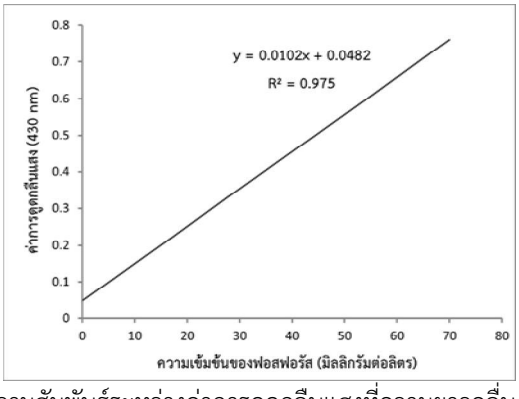
ไอโซเลท	บริเวณใส (เซนติเมตร)	ไอโซเลท	บริเวณใส (เซนติเมตร)
DP05	1.8	SM2	0.9
DP11	0.6	SM3-2	0.9
DP27	0.9	SM5	0.6
DP31	0.7	SM5-1	0.8
DP39	1.5	SM7	1.0
DP47	1.8	SM9	0.9
DP51	0.5	SM9-2	1.0
DP55	0.4	SM11	1.0
DP96	0.9	SM14-1	0.9
DP99	0.7	SM17	0.8
DP106	1.0	SM17-1	0.8
DP107	0.8	SM29	0.8
DP151	0.6	SS1	1.0
DP154	0.9	SS9	0.9
DP155	0.7	SS19	1.0

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ไอโซเลท	บริเวณใส (เซนติเมตร)	ไอโซเลท	บริเวณใส (เซนติเมตร)
DP156	1.0	SS31	0.7
DP158	0.5	SS35	0.7
JJ16	1.1	SS35-1	0.8
SK21	1.0	SS36	0.8
SK25-2	1.3	SG12B	0.8

4.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพแอคติโนมัยสีทที่สามารถละลายฟอสเฟต

นำแอคติโนมัยสีทที่สามารถละลายฟอสเฟตได้ จำนวน 40 ไอโซเลต มาทดสอบประสิทธิภาพโดยนำไปเลี้ยงในอาหารเหลว PVK ปริมาตร 50 มิลลิลิตร บ่มโดยการเขย่าด้วยเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นนำไปเซนตริฟิวจ์ เก็บตัวอย่างส่วนใส (supernatant) ไปวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำโดยวิธี vanadomolybdophosphoric acid นำไปเทียบกับกราฟมาตรฐานฟอสเฟต ดังภาพที่ 2 พบว่าไอโซเลทที่มีปริมาณการละลายฟอสเฟตสูงที่สุดคือ DP106 มีปริมาณถึง 67.216 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 2



ภาพที่ 2 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตรกับปริมาณความเข้มข้นของฟอสเฟตในสารละลายมาตรฐานในช่วง 0 – 70 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 2 ประสิทธิภาพของแอคติโนมัยสีท 40 ไอโซเลต ที่สามารถละลายฟอสเฟตได้ (มิลลิกรัมต่อลิตร)

ไอโซเลท	ปริมาณฟอสเฟตที่ละลาย (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ไอโซเลต	ปริมาณฟอสเฟตที่ละลาย (มิลลิกรัมต่อลิตร)
DP106	**67.216**	SM5	59.005
SS31	63.763	DP47	58.091
SM17	63.216	DP99	57.828
SS19	62.562	SM29	57.373
DP31	62.377	SS35-1	57.347
DP11	62.144	SM2	57.032
SM9	62.051	SK21	55.509

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ไอโซเลท	ปริมาณฟอสเฟตที่ละลาย (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ไอโซเลต	ปริมาณฟอสเฟตที่ละลาย (มิลลิกรัมต่อลิตร)
DP154	61.513	DP51	54.680
SS9	61.485	SM14-1	54.417
SM7	61.094	SM17-1	53.179
SS1	60.968	DP107	52.540
DP155	60.686	DP158	51.453
SS35	60.229	DP156	50.652
SM9-2	60.170	DP27	48.829
JJ16	61.531	SG12B	45.165
SM5-1	59.827	DP55	41.570
SM11	59.773	DP151	37.166
SM3-2	59.773	DP96	37.154
SS36	59.096	DP39	34.628
SK25-2	52.578	DP05	31.395

4.3 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการละลายฟอสเฟต

4.3.1 ผลของระยะเวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงต่อประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟต

เมื่อนำเชื้อ DP106 ไปทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว PVK ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่บรรจุใน ฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร บ่มโดยการเขย่าด้วยเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Incubator shaker) ความเร็ว 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน โดยเก็บตัวอย่างเพื่อตรวจหาประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตทุกวัน ตั้งแต่วันที่ 1 ถึง 15 ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตของเชื้อ **DP106** เมื่อใช้ระยะเวลาในการบ่มเชื้อต่างๆ กัน

เวลาในบ่มเชื้อ DP106 (วัน)	ปริมาณฟอสเฟตที่ละลาย (มิลลิกรัมต่อลิตร)
1	6.94
2	13.41
3	16.22
4	22.81
5	27.55
6	34.78
7	37.59
8	41.25
9	47.54

ตารางที่ 3 (ต่อ)

เวลาในบ่มเชื้อ DP106 (วัน)	ปริมาณฟอสเฟตที่ละลาย (มิลลิกรัมต่อลิตร)
10	59.21
11	61.45
12	68.35
13	72.54
14	67.42
15	66.33

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าไอโวเลต DP106 มีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตสูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 13 วัน

4.3.2 ผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มเชื้อแอคติโนมัยสีทต่อประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟต

เมื่อนำเชื้อ DP106 ไปทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว PVK ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่บรรจุในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร บ่มโดยการเขย่าด้วยเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (incubator shaker) ความเร็ว 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25, 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 13 วัน จากนั้นเก็บตัวอย่างเพื่อตรวจหาประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟต ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตของเชื้อ **DP106** เมื่อใช้อุณหภูมิในการบ่มเชื้อต่างๆ กัน

อุณหภูมิในบ่มเชื้อ DP106 (องศาเซลเซียส)	ปริมาณฟอสเฟตที่ละลาย (มิลลิกรัมต่อลิตร)
25	22.13
30	76.86
35	72.44
40	65.23

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าไอโซเลท DP106 มีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตสูงที่สุดเมื่อใช้อุณหภูมิในการบ่มเชื้อเป็น 30 องศาเซลเซียส เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 13 วัน

4.3.3 ผลของ pH ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยสีทต่อประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟต

เมื่อนำเชื้อ DP106 ไปทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว PVK ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่บรรจุในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร บ่มโดยการเขย่าด้วยเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Incubator shaker) ความเร็ว 120 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่ pH เริ่มต้นเท่ากับ 4-10 เป็นเวลา 13 วัน เก็บตัวอย่างเพื่อตรวจหาประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟต ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตของเชื้อ **DP106** เมื่อใช้ **pH** เริ่มต้นในการบ่มเชื้อต่างๆ กัน

pH เริ่มต้นในบ่มเชื้อ DP106	ปริมาณฟอสเฟตที่ละลาย (มิลลิกรัมต่อลิตร)
4	15.64
5	22.01
6	56.33
7	77.97
8	76.42
9	60.54
10	42.35

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าไอโซเลท DP106 มีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตสูงที่สุดเมื่อใช้ pH เริ่มต้นในการเพาะเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 7 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 13 วัน

5. สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

จากการศึกษาความสามารถในการละลายฟอสเฟตของเชื้อแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากดินสวนส้มโอ พื้นที่จังหวัดนครปฐม จำนวน 425 ไอโซเลท พบว่าสามารถคัดแยกเชื้อที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตได้ จำนวน 40 ไอโซเลท โดยไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตได้สูงตั้งแต่ 60.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ขึ้นไป คือ DP11, DP31, DP106, DP154, DP155, JJ16, SM7, SM9, SM9-2, SM17, SS1, SS9, SS19, SS31, SS35 โดยมีปริมาณฟอสเฟตที่ละลายได้เป็น 62.144, 62.377, 67.216, 61.513, 60.686, 61.531, 61.094, 62.051, 60.170, 63.216, 60.968, 61.485, 62.562, 63.763, 60.229 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพละลายฟอสเฟตได้สูงสุด คือ DP106 โดยมีปริมาณการละลายฟอสเฟตสูงถึง 67.216 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิการเพาะเลี้ยงเท่ากับ 35 องศาเซลเซียส นำไอโซเลท DP106 ไปศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟต ได้แก่ ระยะเวลา อุณหภูมิ และ pH ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อ พบว่าระยะเวลาที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเชื้อ DP106 ให้มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการละลายฟอสเฟต ได้แก่ เวลานาน 13 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส pH เริ่มต้นเท่ากับ 7 โดยมีประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตได้สูงสุดเท่ากับ 77.97 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Balakrishna, G. et. al. (2012) ได้ทำการแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถละลายฟอสเฟตได้จากดินในป่า โดยศึกษาจากแอคติโนมัยสีท 10 ไอโซเลท พบว่ามี 4 ไอโซเลทที่สามารถละลายฟอสเฟตได้ และการละลายฟอสเฟตโดยไอโซเลทที่แยกได้เกิดขึ้นได้ดีที่ค่า pH เท่ากับ 7 เมื่อใช้เวลาในการเพาะเลี้ยง 10 วัน จุลินทรีย์ในดินหลายชนิดสามารถละลายฟอสเฟตได้ ได้แก่ แบคทีเรีย รา และแอคติโนมัยสีท ฟอสเฟตที่ละลายได้นี้ส่วนใหญ่เกิดจากการที่เชื้อสร้างกรดและปลดปล่อยออกมา โดยกรดที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นมีทั้งที่เป็นกรดอินทรีย์ และกรดอนินทรีย์ (Hanane et.al., 2008) กรดอินทรีย์บางชนิดอาจเกิดคีเลตกับแคลเซียมและเหล็ก ทำให้การละลาย และการใช้ฟอสเฟตมีมากขึ้น อย่างไรก็ตามปริมาณการละลายฟอสเฟตจะแตกต่างกันตามความสามารถในการละลายของจุลินทรีย์แต่ละชนิด รวมทั้งลักษณะและชนิดของหินฟอสเฟตด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าจะพบจุลินทรีย์ปริมาณมากในดินบริเวณรากพืช (รัชนี มิ่งมา, 2552) และปริมาณจุลินทรีย์ที่ละลายฟอสเฟตได้รับอิทธิพลจากชนิดของดิน ความ ลึกของดิน และการเขตกรรมที่แตกต่างกันมากกว่าสภาพทางกายภาพของดิน ปริมาณฮิวมัส ไนโตรเจน และฟอสฟอรัสในดิน (ธงชัย มาลา, 2546)

6. ข้อเสนอแนะ

ควรศึกษาสารที่สามารถละลายฟอสเฟตของไอโซเลท DP106 ว่าเป็นสารใด เช่นเป็นกรดอินทรีย์ หรือเป็นกรดอนินทรีย์ และควรเพิ่มการจำแนกสายพันธุ์แอคติโนมัยสีทด้วย

7. กิตติกรรมประกาศ

ขอบคุณ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม ที่สนับสนุนทุนวิจัยโครงการพัฒนาศักยภาพอาจารย์ด้านวิชาการและการวิจัยเพื่อเข้าสู่ตำแหน่งทางวิชาการ ประจำปี 2558 และขอขอบคุณกลุ่มเกษตรกรสวนส้มโออำเภอนครชัยศรีและอำเภอสามพราน ที่ให้ความเอื้อเฟื้อ และอำนวยความสะดวกในการเก็บตัวอย่างดินในแปลงปลูกพืช

8. เอกสารอ้างอิง

ชาญวิทย์ สุริยฉัตรกุล, พูนพิไล สุวรรณฤทธิ์, พัฒนี จันทรโรทัย และ วิเชียร กิจปรีชาวนิช. 2546. เชื้อแอคติโนมัยสีทที่หายากในดินจากพื้นที่สงวนชีวมณฑลสะแกราช และไร่สุวรรณ จังหวัดนครราชสีมา ประเทศไทย, น. 104-111. **ในรายงานการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 41** (สาขาวิทยาศาสตร์สาขาการจัดการทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ธงชัย มาลา. 2546. **ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพเทคนิคการผลิตและการใช้ประโยชน์.** กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

รัชนี มิ่งมา. 2552. **แอคติโนมัยสีทจากรากและดินรอบรากพืชตระกูลถั่วและการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคพืช.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 128 หน้า

รัตนาภรณ์ ศรีวิบูลย์. 2548. **แอคติโนมัยซีท.** สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล. มหาวิทยาลัยบูรพา จ. ชลบุรี. Success Advertising design Partnership. ศรีราชา. ชลบุรี. 100 หน้า.

Balakrishna G., A. Shiva Shanker and Pavan Kumar Pindi. 2012. Isolation of Phosphate Solibulizing Actinomycetes from Forest Soils of Mahabubnagar **District. Pharmacy**.

Hanane Hamdali, Mohamed Hafidi, Marie Joe lle Virolle, Yedir Ouhdouch. 2008. Growth promotion and protection against damping-off of wheat by two rock phosphate solubilizing actinomycetes in a P-deficient soil under greenhouse conditions. **Applied soil ecology** 40: 510–517.