



วิทยานิพนธ์

การศึกษาความหลากหลายและประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* sp.
ในการละลายฟอสเฟตอนินทรีย์

Diversity and Efficiency of *Bacillus* sp. on Inorganic Phosphate
Solubilization

นิพนธ์ การอำนวนย

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2550



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (จุลชีววิทยา)

ปริญญา

จุลชีววิทยา

จุลชีววิทยา

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การศึกษาความหลากหลายและประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* sp. ในการละลายฟอสเฟตอินทรีย์

Diversity and Efficiency of *Bacillus* sp. on Inorganic Phosphate Solubilization

นามผู้วิจัย นางสาวนิจกาด การอำนาจ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ

(อาจารย์สุรางค์ สุทธิราช, Dr.Agr.)

กรรมการ

(อาจารย์เสรี เจริญกิจมงคล, Dr.Agric.)

กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ธงชัย มาลา, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(รองศาสตราจารย์ ร้อยเอกชัยวัฒน์ กิตติกุล, วท.ม.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์วินัย อัจจงหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การศึกษาความหลากหลายและประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* sp. ในการละลายฟอสเฟตอนินทรีย์

Diversity and Efficiency of *Bacillus* sp. on Inorganic Phosphate Solubilization

โดย

นางสาวนิจกาด การอำนาจ

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อขอความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (จุลชีววิทยา)

พ.ศ. 2550

นิจกาล การอำนวยการ 2550: การศึกษาความหลากหลายและประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* sp. ในการละลายฟอสเฟตอินทรีย์ ปรินญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (จุลชีววิทยา) สาขา จุลชีววิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา ปรินญากรรมการที่ปรึกษา: อาจารย์สุรางค์ สุทธิราช, Dr. Agr. 76 หน้า

จากการคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตบนอาหารแข็งที่เดิมแหล่ง ฟอสเฟตละลายยากสูตร Pikovskaya's medium (PVK) และ National Botanical Research Institute's Phosphate growth medium (NBRIP) พบแบคทีเรีย 12 ไอโซเลตที่สามารถละลายฟอสเฟตได้ในอาหาร แข็งทั้งสองสูตร จากจำนวนเชื้อทั้งหมด 344 ไอโซเลตที่แยกจากดิน และหินฟอสเฟตแหล่งต่าง ๆ และ จำแนกชนิดได้เป็น *B. megaterium* อย่างชัดเจน จากการรวบรวม *B. megaterium* ทั้ง 12 สายพันธุ์ *Bacillus* sp. จำนวน 7 สายพันธุ์ และ *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ N11 จากแหล่งเก็บเชื้ออื่น นำมา ศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตในอาหารเหลวสูตร PVK และ NBRIP หลังการเลี้ยง เชื้อนาน 7 วัน และวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตที่ละลายได้ พบว่าแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ N11 สามารถละลายฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งสองสูตรได้ปริมาณสูงสุด มีค่าเท่ากับ 450.6 และ 595.9 mg P L⁻¹ ตามลำดับ และ *B. megaterium* สายพันธุ์ C411 ซึ่งแยกจากตัวอย่างดิน สามารถละลาย ฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งสองสูตรได้ปริมาณสูงกว่า *Bacillus* sp. สายพันธุ์อื่นที่เลือกมาศึกษา มีค่า เท่ากับ 216.4 และ 453.8 mg P L⁻¹ ตามลำดับ

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญของแบคทีเรีย ค่า pH และการละลายฟอสเฟต ของเชื้อ *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ N11, *B. megaterium* สายพันธุ์ C411 และ *B. megaterium* สายพันธุ์ TIRP13 ในอาหารเหลวสูตร PVK และ NBRIP พบว่าการละลายฟอสเฟตที่เกิดขึ้นสัมพันธ์กับการเจริญ ของเชื้อ และละลายได้สูงเมื่อเชื้อเจริญเข้าสู่ระยะ stationary phase ภายใน 1-3 วัน นอกจากนี้การสร้าง กรดของแบคทีเรียระหว่างการเจริญเป็นสาเหตุของการละลายฟอสเฟตที่เพิ่มขึ้น ซึ่งจากการศึกษา ความสัมพันธ์ดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า สามารถลดระยะเวลาของการเลี้ยงเชื้อ เพื่อศึกษาการละลาย ฟอสเฟตของจุลินทรีย์จากเดิม 7 วัน เป็น 1-3 วัน

Nitjakarn Kanamnuay 2007: Diversity and Efficiency of *Bacillus* sp. on Inorganic Phosphate Solubilization. Master of Science (Microbiology), Major Field: Microbiology, Department of Microbiology. Thesis Advisor: Mrs. Surang Suthirawut, Dr. Agr. 76 pages.

The ability of phosphate solubilization of bacteria was screened on Pikovskaya's medium (PVK) and National Botanical Research Institute's Phosphate growth medium (NBRIP). Twelve of 344 isolates of bacteria from various soil and commercial phosphate rocks were able to solubilize phosphate on both agar plates. All selected isolates were clearly identified as *Bacillus megaterium* by conventional method. Comparison of the efficiency of phosphate solubilization by the twelve strains of *B. megaterium*, 7 strains of *Bacillus* sp. and *Pseudomonas* sp. N11 were studied in PVK and NBRIP broth by analyzing soluble phosphate after 7 days incubation. The highest yield of soluble phosphate were obtained from *Pseudomonas* sp. N11 with 450.6 and 595.9 mg P L⁻¹ in PVK and NBRIP broth, respectively, whereas soil phosphate solubilizing bacteria (PSB), *B. megaterium* C411, was able to solubilize more phosphate than other strains of *Bacillus* sp., 216.4 and 453.4 mg P L⁻¹, respectively.

The relationship among bacterial growth, pH and phosphate solubilization of *Pseudomonas* sp. N11, *B. megaterium* C411 and *B. megaterium* T1RP13 were also studied in broth media. Phosphate solubilization was shown to be relative to the bacterial growth and even getting higher when it reached the stationary phase within 1-3 days. Moreover, production of acids during the bacterial growth could result in an increase of phosphate solubilization. It also indicated that 7 days incubation period of bacteria could be reduced to 1-3 days

Student's signature

Thesis Advisor's signature

/ /

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ดร.สุรางค์ สุทธิราช ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ดร.เสรี เจริญกิจมงคล กรรมการที่ปรึกษาวิชาเอก รศ.ดร.ชงชัย มาลา กรรมการที่ปรึกษาวิชารอง เป็นอย่างสูง ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำในการค้นคว้าวิจัย ตลอดจนตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้เสร็จสมบูรณ์ และขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.มิ่งขวัญ มิ่งเมือง ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาจุลชีววิทยาหลายท่าน ที่ได้กรุณาและยินดีสละเวลาตอบคำถาม รวมถึงเอื้อเฟื้ออุปกรณ์ที่จำเป็นสำหรับการวิจัยแก่ข้าพเจ้า ขอขอบคุณภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน และเจ้าหน้าที่ในภาควิชาทุกท่าน ที่ให้การแนะนำ สนับสนุนอุปกรณ์ และสถานที่ทำวิจัย จนกระทั่งงานสำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบคุณภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน คุณวันทนี พิงแสง เจ้าหน้าที่จากภาควิชาปฐพีเป็นอย่างสูง ที่ได้เสียสละเวลาแนะนำวิธีการตรวจวิเคราะห์ฟอสเฟตในเบื้องต้น และมอบตัวอย่างหินฟอสเฟตสำหรับการวิจัย ขอขอบคุณภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน ที่ได้มอบตัวอย่างดินสำหรับการวิจัยในครั้งนี้ อีกทั้งขอขอบคุณนางสาวเจษฎาภรณ์ เรืองมะเริง ที่ได้สอนและแนะนำวิธีการวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ขอบคุณเพื่อน ๆ พี่ ๆ และน้อง ๆ ในภาควิชาทุกท่าน ที่เป็นกำลังใจช่วยเหลือกันและกันมาโดยตลอด

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณมารดา และญาติของข้าพเจ้าทุกคน ที่ให้การสนับสนุนด้านการศึกษาเป็นอย่างดี รวมถึงเข้าใจและเป็นกำลังใจให้ข้าพเจ้ามาโดยตลอด ซึ่งทำให้ข้าพเจ้าประสบความสำเร็จในวันนี้

นิจกาล การอำนวย

มีนาคม 2550