

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัย อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

#### สรุปผลการวิจัย

การศึกษาค้างนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อแยกและคัดเลือกแบคทีเรีย KSB ในดินบริเวณรอบบรอกมัน สำปะหลังที่มีศักยภาพสูงสุดในการละลายแร่โพแทสเซียมออกจากดินดาน เพื่อให้มันสำปะหลังสามารถใช้โพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ได้ ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรีย KSB ในการส่งเสริมการดูดใช้ธาตุโพแทสเซียมจากดินดาน ในกระถางในโรงเรือนทดสอบ ซึ่งสรุปผลการวิจัยการดังนี้

#### 1. การเก็บตัวอย่างดินเพื่อคัดแยกแบคทีเรีย KSB

คัดแยกแบคทีเรีย KSB โดยเก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบบรอกมันสำปะหลังที่ปลูกในเขตพื้นที่อำเภอท่าคันโท จังหวัดนครราชสีมา ที่มีประวัติการใช้ปุ๋ยโพแทสเซียม นำมาคัดแยกแบคทีเรียที่มีศักยภาพในการละลายโพแทสเซียมออกจากแร่ธรรมชาติ เพื่อให้ได้โพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ ในระดับห้องปฏิบัติการ

#### 2. การทดสอบคุณสมบัติการละลายโพแทสเซียมออกจากแร่ธรรมชาติของแบคทีเรียที่แยกจากดินรอบบรอกมันสำปะหลัง

การศึกษาคูณสมบัติการละลายโพแทสเซียมของแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อ aleksandrov agar ตรวจสอบการสร้าง potassium solubilization zone พบว่า สามารถคัดแยกแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการละลายโพแทสเซียมได้ 5 ไอโซเลท ประกอบด้วยไอโซเลท SS 011, SS 030, SS 040, SS 045 และ SS 046 ตามลำดับ โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนใสจากปฏิกิริยาการสร้างละลายโพแทสเซียมของแบคทีเรีย บนอาหารเลี้ยงเชื้อ aleksandrov agar ของไอโซเลท SS 011, SS 030, SS 040, SS 045 และ SS 046 เท่ากับ 2.7, 3.9, 2.9, 3.4 และ 2.1 cm ตามลำดับ

#### 3. การจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรีย KSB โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการทดสอบทางชีวเคมี

เมื่อทำการจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรีย KSB โดยอาศัยข้อมูล Classification ตามหลักอนุกรมวิธานวิทยาของ Bergey's Manual of Systematic Bacteriology โดยนำมาย้อมสีแกรม พบลักษณะของแกรมบวก และรูปร่างเซลล์เป็นแบบท่อน (rods) สปอร์อยู่ตรงกลางเซลล์ (central spores) เมื่อทำการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีต่าง ๆ ได้แก่ การทดสอบ Indole และ Voges-

Proskauer ให้ผลลบ ส่วนการทดสอบ Catalase, Methyl red, Ornithine utilization, Lysine utilization และ Nitrate reduction

#### 4. การจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรีย KSB ด้วยวิธีทางอณูชีววิทยา

จัดจำแนกแบคทีเรียที่ความสามารถในการละลายโพแทสเซียม ด้วยเทคนิคทางอณูชีววิทยา โดยเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอส่วน Conserved region ของ 16S rRNA ของแบคทีเรีย ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะ และแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้าโดยใช้เครื่อง Electrophoresis ผลการศึกษา พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอส่วน Conserved regions ของ 16S rRNA ได้ PCR Product ขนาด 1500 bp นำไปวิเคราะห์ลำดับเบส เพื่อจัดจำแนกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการละลายโพแทสเซียมในระดับสปีชีส์ ผลการเปรียบเทียบลำดับเบส 16S rRNA ยีนของแบคทีเรียแต่ละไอโซเลทกับลำดับเบสอื่นๆ ในฐานข้อมูล GenBank ของ NCBI โดยใช้โปรแกรม BLAST พบว่า ลำดับเบสมีความคล้ายคลึงกับลำดับเบส 16S rRNA ยีนของ *Bacillus kochii* strain SBCYB2 (98%) *Bacillus megaterium* NBRC 15308 (96%) *Bacillus aryabhattai* strain P10 (98%) *Bacillus safensis* strain SHR3-1 (97%) และ *Bacillus megaterium* strain AVMB3 (97%) ตามลำดับ

#### 5. การศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยโพแทสเซียมของแบคทีเรีย KSB ในดินดาน

นำแบคทีเรีย KSB ไอโซเลท SS 030 ซึ่งมีประสิทธิภาพในการย่อยโพแทสเซียมสูงสุด มาศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยและปลดปล่อยธาตุโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ในดิน โดยนำแบคทีเรียไปทดสอบการย่อยดินดานตัวอย่างในกระถางโรงเรือนเพื่อประเมินประสิทธิภาพการย่อยโพแทสเซียมดินดานที่นำมาทดสอบเป็นชุดดินหินกอง มีปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ เฉลี่ยเท่ากับ 25.61 มิลลิกรัม/ลิตร โดยในแผนการทดลองประกอบด้วย 4 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ได้แก่ กรรมวิธีที่ 1 ดินใส่ไมกา 6 กรัม/กระถาง ไม่ใส่เชื้อ KSB กรรมวิธีที่ 2 ดินใส่เชื้อ KSB 25 มิลลิลิตร ร่วมกับแร่ไมกา 6 กรัม/กระถาง กรรมวิธีที่ 3 ดินใส่เชื้อ KSB 50 มิลลิลิตร ร่วมกับแร่ไมกา 6 กรัม/กระถาง และกรรมวิธีที่ 4 ดินใส่เชื้อ KSB 75 มิลลิลิตร ร่วมกับแร่ไมกา 6 กรัม/กระถาง เก็บตัวอย่างดินมาวิเคราะห์ทุก 2 วัน ในช่วง 6 วันแรก แล้วนำดินมาวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมโดย AAS ผลการศึกษา พบว่า การละลายโพแทสเซียมของทุกกรรมวิธี มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาและปริมาณเชื้อแบคทีเรีย KSB ที่เพิ่มขึ้น กรรมวิธีที่ 4 มีการละลายโพแทสเซียมสูงสุด รองลงมาเป็นกรรมวิธีที่ 3 และกรรมวิธีที่ 2 ตามลำดับ ส่วนกรรมวิธีที่ 1 มีการละลายโพแทสเซียมน้อยมาก เมื่อนำข้อมูลปริมาณการย่อยโพแทสเซียมในดินของแต่ละวิธีมาเปรียบเทียบต่อช่วงเวลา 2 4 และ 6 วัน กรรมวิธีในการย่อยโพแทสเซียมแบบที่ 1 ถึง 4 เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนวันย่อย ปริมาณโพแทสเซียมที่ย่อยไม่แตกต่างกันมากนัก ( $p>0.05$ ) แสดงว่า จำนวนวันที่เพิ่มขึ้นไม่ได้ทำให้เกิดการย่อยปริมาณเพิ่มขึ้นตามไปด้วย กรรมวิธีที่ 4 มีความสามารถในการย่อยโพแทสเซียมเฉลี่ยสูงสุด คือ

197.94 มิลลิกรัม/ลิตร ในวันที่ 6 ของการย่อย รองลงมา คือ 186.46 มิลลิกรัม/ลิตร ของวันที่ 4 การย่อย ส่วน กรรมวิธีที่ 1 ของการย่อยในวันที่ 6 ให้ค่าเฉลี่ยในการย่อยต่ำสุด คือ 23.18 มิลลิกรัม/ลิตร

### การอภิปรายผล

จากการแยกและคัดเลือกแบคทีเรีย KSB ในดินบริเวณรอบรากมันสำปะหลัง ที่มีศักยภาพสูงที่สุดในการละลายแร่โพแทสเซียมออกจากดินดาน โดยตรวจสอบการสร้าง potassium solubilization zone โดยดูจากการย่อย insoluble mica powder ซึ่งเป็นแหล่ง potassium source จนเกิดโซนใส พบว่าสามารถคัดเลือกแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการละลายโพแทสเซียมได้ 5 ไอโซเลท ประกอบด้วยไอโซเลท SS 011, SS 030, SS 040, SS 045 และ SS 046 ตามลำดับ นำมาศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา ได้แก่ รูปร่างของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ การติดสีแกรม และการสร้างเอนโดสปอร์ เพื่อจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรีย KSB โดยอาศัยข้อมูล Classification ตามหลักอนุกรมวิธานวิทยาของ Bergey's Manual of Systematic Bacteriology และจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรีย KSB ด้วยวิธีทางอนุชีววิทยา โดยเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอส่วน Conserved region ของ 16S rRNA ของแบคทีเรีย ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะวิเคราะห์ลำดับเบส เพื่อจัดจำแนกแบคทีเรียมีความสามารถในการละลายโพแทสเซียมในระดับสปีชีส์ เปรียบเทียบลำดับเบส 16S rRNA ยีนของแบคทีเรียแต่ละไอโซเลทกับลำดับเบสอื่น ๆ ในฐานข้อมูล GenBank ของ NCBI โดยใช้โปรแกรม BLAST ลำดับเบสมีความคล้ายคลึงกับลำดับเบส 16S rRNA ยีนของ *B. kochii* strain SBCYB2 (98%) *B. megaterium* NBRC 15308 (96%) *B. aryabhatai* strain P10 (98%) *B. safensis* strain SHR3-1 (97%) และ *B. megaterium* strain AVMB3 (97%) ตามลำดับ ซึ่งมีการศึกษา พบว่า กลุ่มของแบคทีเรีย KSB ที่มีการคัดแยกจากรากพืช ได้มากที่สุด ได้แก่ *Bacillus* sp. และ *Pseudomonas* sp. ซึ่งสกุล *Bacillus* ที่มีการศึกษากันมาก คือ *B. mucilaginosus* (Liu, 2001; Murali และคณะ, 2005; Zhou และคณะ, 2006; Sugumaran และ Janarthanam, 2007) โดย *B. mucilaginosus* ถูกนำมาใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพในการย่อยของเสียพวกแร่ mica จากโรงงานอุตสาหกรรม (Basak และ Biswas, 2008) จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่า แบคทีเรีย KSB สามารถใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพได้ดี เนื่องจากช่วยเพิ่มธาตุอาหารในดิน แก้ปัญหาดินแน่น แข็ง ทำให้ดินอุดมสมบูรณ์ และกระตุ้นการเจริญของพืช ในประเทศอินเดียได้มีการนำแบคทีเรีย KSB *Frateuria aurantia* มาใช้ในทางการเกษตร โดยใช้ชื่อทางการค้าว่า Symbion-K (Ramarethinam และ Chandra, 2006) นอกจากนี้ ยังมีการศึกษา พบว่า การใช้แบคทีเรีย KSB ร่วมกับแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนหรือจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง (Photosynthetic bacteria; PSB) ช่วยเพิ่มธาตุอาหารในดิน โดยมีการศึกษาการใช้แบคทีเรีย KSB *Paenibacillus mucilaginosus* ร่วมกับแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจน *Azotobacter chroococccum* ในข้าวฟ่าง พบว่า แบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดช่วยปรับปรุงคุณภาพดินและส่งเสริมการเติบโตของข้าวฟ่างได้ (Basak และ Biswas, 2010)

เมื่อนำแบคทีเรีย KSB ไอโซเลท SS 030 ซึ่งมีประสิทธิภาพในการย่อยโพแทสเซียมสูงสุด มาศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยและปลดปล่อยธาตุโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ในดินโดยในแผนการทดลองประกอบด้วย 4 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ได้แก่ กรรมวิธีที่ 1 ดินใส่ไมกา 6 กรัม/กระถาง ไม่ใส่เชื้อ KSB กรรมวิธีที่ 2 ดินใส่เชื้อ KSB 25 มิลลิลิตร ร่วมกับแร่ไมกา 6 กรัม/กระถาง กรรมวิธีที่ 3 ดินใส่เชื้อ KSB 50 มิลลิลิตร ร่วมกับแร่ไมกา 6 กรัม/กระถาง และกรรมวิธีที่ 4 ดินใส่เชื้อ KSB 75 มิลลิลิตร ร่วมกับแร่ไมกา 6 กรัม/กระถาง เก็บตัวอย่างดินมาวิเคราะห์ทุก 2 วัน ในช่วง 6 วันแรก แล้วนำดินมาวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมโดย AAS ผลการศึกษา พบว่า การละลายโพแทสเซียมของทุกกรรมวิธีมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาและปริมาณเชื้อแบคทีเรีย KSB ที่เพิ่มขึ้น กรรมวิธีที่ 4 มีการละลายโพแทสเซียมสูงสุด รองลงมาเป็นกรรมวิธีที่ 3 กรรมวิธีที่ 2 กรรมวิธีที่ 1 และตามลำดับ เมื่อนำข้อมูลปริมาณการย่อยโพแทสเซียมในดินของแต่ละวิธีมาเปรียบเทียบต่อช่วงเวลา 2 4 และ 6 วัน พบว่าปริมาณโพแทสเซียมที่ย่อยไม่แตกต่างกันมากนัก ( $p>0.05$ ) แสดงว่า จำนวนวันที่เพิ่มขึ้นไม่ได้ทำให้เกิดการย่อยปริมาณเพิ่มขึ้นตามไปด้วย โดยกรรมวิธีที่ 4 มีความสามารถในการย่อยโพแทสเซียมเฉลี่ยสูงสุด คือ 197.94 มิลลิกรัม/ลิตร ในวันที่ 6 ของการย่อย รองลงมา คือ 186.46 มิลลิกรัม/ลิตร ของวันที่ 4 การย่อย ส่วนกรรมวิธีที่ 1 ของการย่อยในวันที่ 6 ให้ค่าเฉลี่ยในการย่อยต่ำสุด คือ 23.18 มิลลิกรัม/ลิตร ที่ผ่านมามีการศึกษาการละลายโพแทสเซียมของแบคทีเรีย KSB ที่แยกได้ในประเทศอินเดีย ได้แก่ *B. licheniformis* BHU18 และ *Pseudomonas azotoformis* BHU 21 พบว่า ที่อุณหภูมิ 30 °C และ pH 7 นั้น แบคทีเรีย *B. licheniformis* BHU18 และ *Pseudomonas azotoformis* BHU 21 สามารถย่อยโพแทสเซียมได้ 7.22 และ 6.03 โมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ (Saha และคณะ, 2016)

การศึกษาในครั้งนี้ ผู้วิจัยจะนำแบคทีเรีย KSB ที่แยกได้จากแปลงมันสำปะหลังในเขตจังหวัดนครราชสีมาซึ่งมีศักยภาพในการละลายโพแทสเซียมออกจากแร่ธรรมชาตินี้ มาพัฒนาเป็นปุ๋ยชีวภาพต่อไป ซึ่งมีการศึกษาพบว่า ในระยะยาวนั้น การขาด K จะกลายเป็นปัญหาสำคัญในการปลูกมันสำปะหลัง (Howeler, 2011) เนื่องจาก ในมันสำปะหลังนั้น ปริมาณโพแทสเซียมมากกว่า 60% ที่ดูดซึม จะไปสะสมอยู่ที่ราก (หัว) ทำให้ในดินมีแนวโน้มขาดโพแทสเซียม (El-Sharkawy และ Cadavid, 2000) การศึกษาของ Byju และคณะ (2012) คาดว่าการปลูกมันสำปะหลัง จะต้องมีการดูดซึมโพแทสเซียมรวม 15.6 กิโลกรัม ธาตุโพแทสเซียมสามารถปรับปรุง Taufiq และคณะ, 2013; John และคณะ, 2013; El-Sharkawy และ Cadavid, 2000) ปริมาณแป้งของมันสำปะหลัง และลดปริมาณไซยาไนด์ในมันสำปะหลังได้

### ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป

ควรมีการศึกษาการประสิทธิภาพของแบคทีเรีย KSB ไอโซเลทที่แยกได้ร่วมกับแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืชอื่น ๆ ในการแก้ปัญหาดินดานและเพิ่มผลผลิตมันสำปะหลัง