บทที่ 5
สรุปผล อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

สรุปผล

ผลที่ได้จากงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าดินสวนผลไม้จากสวนเกษตรอินทรีย์และสวนเกษตรผสมผสานของบ้านโป่งแรด ตำบลพลับพลา อำเภอเมือง จังหวัดจันทบุรี มีแบคทีเรียที่สามารถละลายไตรแคลเซียมฟอสเฟตได้ จากแบคทีเรียจำนวน 13 ไอโซเลท มี 7 ไอโซเลท ที่ให้ค่าดัชนีการละลายฟอสเฟตมีค่าระหว่าง 1.65 ถึง 2.93 ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการละลายสารประกอบฟอสเฟต พบว่า *Xantrobacter* sp. O1.2-1 มีประสิทธิภาพการละลายไตรแคลเซียมฟอสเฟตเท่ากับ 0.72 ± 0.12 มิลลิกรัม/ลิตร และเฟอร์ริกฟอสเฟตเท่ากับ 0.45 ± 0.21 มิลลิกรัม/ลิตร โดยสรุปผลที่ได้จากการพัฒนาหัวเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตสูตรน้ำในงานวิจัยนี้ สามารถพัฒนาได้หัวเชื้อ *Xantrobacter* sp. O1.2- 1 สูตรน้ำต้นทุนต่ำที่มีประสิทธิภาพโดยมีปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตในระดับสูงและคงประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตได้ดีกว่าหรือเทียบเท่ากับหัวเชื้อที่เตรียมใหม่ มีอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 3 เดือน จึงเหมาะสมต่อการใช้งานของเกษตรกร ซึ่งเหมาะสมต่อการพัฒนาต่อยอดเชิงพาณิชย์เพื่อประโยชน์ในการใช้งานของเกษตรกร ซึ่งในอนาคตอาจช่วยลดต้นทุนการผลิต ผลกระทบต่อสุขภาพของเกษตรกรและผู้บริโภคและเกิดผลดีต่อสภาพแวดล้อม

อภิปรายผล

ฟอสฟอรัสเป็นหนึ่งในธาตุหลักที่สำคัญต่อการเจริญของพืชโดยเกี่ยวข้องกับพัฒนาการในขั้นต้นของการเจริญของพืช และมีบทบาทสำคัญต่อการเจริญของราก ความแข็งแรงของเนื้อเยื่อ การสร้างช่อดอกและผล นอกจากนี้ยังจำเป็นต่อการสังเคราะห์เนื้อเยื่อพืช การทนต่อสภาวะความเย็นและโรคพืช ถึงแม้ว่าจะมีฟอสฟอรัสปริมาณสูงในดิน แต่ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปที่รากพืชไม่สามารถดึงไปใช้ประโยชน์ได้ โดยมีรายงานว่าพืชสามารถดูดซึมฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำได้ หรืออยู่ในรูป orthophosphate ion เท่านั้น ดังนั้นเพื่อป้องกันสภาวะขาดธาตุฟอสฟอรัสของพืช จึงมีคำแนะนำให้เติมปุ๋ยฟอสเฟตในดิน อย่างไรก็ตามปุ๋ยฟอสเฟตที่เติมลงไปส่วนใหญ่ (75-95 เปอร์เซ็นต์) จะเกิดการตกตะกอนเนื่องจากไปจับกับโลหะในดิน นอกจากนี้การเติมปุ๋ยเคมีปริมาณมากทำให้เกิดผลกระทบในทางลบต่อสภาพแวดล้อม (Ingle & Padole, 2017; Ouattara, A. et al, 2019) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการคัดแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตจากดินสวนผลไม้บ้านโป่งแรด ตำบลพลับพลา อำเภอเมือง จังหวัดจันทบุรี ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีความเป็นไปได้สูงในการตรวจสอบจุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์ เนื่องจากมีรูปแบบการทำเกษตรทั้งแบบผสมผสานและลดการใช้สารเคมี นอกจากนี้ยังมีศูนย์กสิกรรมธรรมชาติ

โป่งแรดเป็นต้นแบบการทำเกษตรอินทรีย์ จากการศึกษางานวิจัยเกี่ยวกับแบคทีเรียละลายฟอสเฟตในช่วง พ.ศ. 2555 - 2561 ทั้งในและต่างประเทศพบว่าส่วนใหญ่เป็นการคัดแยกเชื้อจากดินบริเวณรากข้าวและพืชไร่ แต่ยังมีรายงานการวิจัยจำนวนน้อยที่ทำการคัดแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตจากดินที่เพาะปลูกมังคุดหรือทุเรียนโดยตรง มีเพียงการคัดแยกแบคทีเรีย PSB จากสวนลำไยอินทรีย์ในจังหวัดเชียงใหม่ (จีราภรณ์ อินทสาร, ปฏิภาณ สุทธิกุลบุตร และจักรพงษ์ไชยวงศ์, 2556) ในงานวิจัยนี้ใช้อาหารคัดเลือก PVK (Pikovskaya medium) ในการคัดแยก โดยมีองค์ประกอบหนึ่งของอาหารเป็นไตรแคลเซียมฟอสเฟตปริมาณ 5 กรัม/ลิตร ทำให้อาหารมีลักษณะสีขาวขุ่นภายหลังการเตรียม แบคทีเรียที่ย่อยฟอสเฟตได้จะทำให้เกิดวงใสรอบโคโลนี สามารถคัดแยกได้แบคทีเรียทั้งหมด 13 ไอโซเลท จัดเป็นการคัดเลือกเบื้องต้นที่มีประสิทธิภาพ ซึ่งงานวิจัยอื่น ๆ ก็ใช้แนวทางเดียวกันนี้ เช่น Sarikhani, Khoshru ฿ Greiner (2019) แยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตทนร้อนจากตัวอย่างดินในเมือง Tabriz ประทศอิหร่านโดยใช้อาหาร Sperber medium ที่เติม TCP [$Ca_3(PO_4)_2$] ปริมาณ 2.5 กรัม/ลิตร คัดเลือกได้ 5 ไอโซเลท ที่สร้างวงใสรอบโคโลนีบนอาหารดังกล่าว Ouattara และคนอื่น ๆ (2019) รายงานการคัดแยกแบคทีเรียเอนโดไฟต์ที่มีความสามารถในการละลายไตรแคลเซียมฟอสเฟตจากตัวอย่างดินรอบต้นโกโก้ (*Theobroma cacao* Linn) สาธารณรัฐโกตดิวัวร์ โดยใช้อาหาร PVK ภายหลังบ่ม 7 วัน สามารถคัดแยกได้แบคทีเรียที่สร้างวงใสรอบโคโลนีจำนวน 90 ไอโซเลท จาก 218 ไอโซเลท (คิดเป็น 41.28 เปอร์เซ็นต์)

จากนั้นนำแบคทีเรีย PSB ทั้ง 13 ไอโซเลท ที่คัดแยกได้ในงานวิจัยนี้มาทดสอบค่าดัชนีการละลายฟอสเฟต (Solubilization index; SI) โดยใช้วิธี Disk diffusion และวัดความกว้างวงใสรอบแผ่นดิสก์เชื้อบนอาหารแข็ง PVK ที่มีตะกอนขาวขุ่นของไตรแคลเซียมฟอสเฟต ภายหลังการบ่มนาน 5 วัน ที่อุณหภูมิห้อง การใช้ค่า SI เป็นเกณฑ์คัดเลือกแบคทีเรีย PSB ที่ใช้ในงานวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่นิยมคัดเลือกแบคทีเรีย PSB ซึ่งมีค่า SI สูง เพื่อใช้ในการทดสอบในขั้นตอนต่อไป (วราภรณ์ อินทสาร, ปฏิภาณ สุทธิกุลบุตร และจักรพงษ์ไชยวงศ์, 2556; Sharma, Vijay & Tripathi, 2011; Kapagam & Nagalakshmi, 2014; Atekan, A. et al., 2014) ผลที่ได้จากงานวิจัยนี้พบว่า จาก 13 ไอโซเลท พบเพียง 2 ไอโซเลท คือ I3-3 และ O1.2-1 ที่มีค่าดัชนีการละลายสูงเท่ากับ 2.93 ± 0.10 และ 2.65 ± 0.18 ซึ่งค่า SI ของแบคทีเรีย PSB ทั้งสองไอโซเลทนี้มีค่าใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Karpagam และ Nagalakshmi (2014) ที่พบว่าไอโซเลท Psm1 มีค่าดัชนีการละลาย เท่ากับ 2.00 ภายหลังการบ่มเชื้อเป็นเวลา 7 วัน และใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Atekan และคนอื่น ๆ (2014) ที่พบว่าไอโซเลท T-K5 มีค่าดัชนีการละลาย เท่ากับ 1.75 ภายหลังการบ่มเชื้อเป็นเวลา 5 วัน แต่มีค่าต่ำกว่างานวิจัยของ Sarkar และคนอื่น ๆ (2012) ที่พบว่าไอโซเลท OS07 มีค่าดัชนีการละลาย เท่ากับ 4.70 ภายหลังการบ่มเชื้อเป็นเวลา 14 วัน

แบคทีเรีย PSB ไอโซเลท I3-3 และ O1.2-1 ที่มีค่าดัชนีการละลายสูงนี้คัดแยกได้จากตัวอย่างดินที่มีลักษณะทางกายภาพที่คล้ายคลึงกัน คือ ดินร่วน มีสีดำ สำหรับข้อมูลการใช้ปุ๋ยพบว่ามีการใช้ปุ๋ยเคมีผสมกับปุ๋ยอินทรีย์ เช่น ปุ๋ยขี้ไก่ ปุ๋ยน้ำหมักชีวภาพในการบำรุงใบและดอก (อรุณี สุกใส, สัมภาษณ์, 2561) ซึ่งอาจเป็นปัจจัยส่งเสริมทำให้สามารถคัดแยกได้แบคทีเรีย PSB ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพ แบคทีเรียทั้งสองไอโซเลทถูกคัดแยกมาจากพื้นที่สวนซึ่งมีอุณหภูมิดินในช่วง 26.50 - 28.50 องศาเซลเซียส และมีค่าพีเอชในช่วง 5.38 - 6.60 ซึ่งค่าดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานของพนิดา ปรีเปรม โมทย์ พิกุล เกตุชาญวิทย์ และดวงใจ วัยเจริญ (2556) ที่กล่าวว่าแบคทีเรียที่มีประโยชน์ทางการเกษตรสามารถเจริญได้ดีในสภาพแวดล้อมของดินที่อุณหภูมิ 24.00 – 30.94 องศาเซลเซียสและมีค่าพีเอชในช่วง 3.85 – 7.22 แบคทีเรียไอโซเลท I3-3 และ O1.2-1 สามารถจัดจำแนกอยู่ในจีนัส *Alcaligenes* และ *Xanthrobacter* ตามลำดับ โดยอาศัยผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของโคโลนีและเซลล์ ร่วมกับผลทดสอบทางชีวเคมีเบื้องต้น ซึ่งมีหลายรายงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่จัดแบคทีเรียทั้งสองจีนัสนี้อยู่ในกลุ่มแบคทีเรีย PSB (Shama, S. B. et al., 2013; Shahid, M. et al., 2015, Behera, B. C. et al., 2017)

ประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตของจุลินทรีย์เกิดจากกระบวนการต่าง ๆ เช่น การเกิดมิเนอรัล-ไลเซชันด้วยเอนไซม์ (Mineralization) หรือการละลาย (Solubilization) สารประกอบอนินทรีย์ฟอสเฟตด้วยกรดที่จุลินทรีย์สร้างและปลดปล่อยออกมา เช่น กรดกลูโคนิก กรดซักซินัก และกรดซิตริก เป็นต้น และกระบวนการตรึงฟอสฟอรัสเข้าสู่เซลล์ (Immobilization) (Sharma, Vijay & Tripathi, 2011; Behera, B. C. et al., 2017) จากการทดสอบประสิทธิภาพการละลายสารประกอบฟอสเฟตพบว่าในวันที่ 0 ตรวจพบปริมาณฟอสฟอรัสมีค่าใกล้เคียงกันทั้งในชุดควบคุมและชุดทดลองที่เติมแบคทีเรีย PSB ซึ่งค่าดังกล่าวเป็นปริมาณของฟอสฟอรัสที่ละลายอยู่ในอาหารเหลว โดยชุดควบคุมที่ไม่เติมเชื้อมีปริมาณการละลายสารประกอบฟอสเฟตและค่าพีเอชค่อนข้างคงที่ตลอดการทดลอง ในทางตรงกันข้ามพบว่าในวันที่ 1 ของการทดลอง ทุกชุดทดสอบในแต่ละการทดลองที่เติมแบคทีเรีย PSB (ชุดทดลองที่เติมไตรแคลเซียมฟอสเฟต 0.5 กรัม/ลิตร และชุดทดลองที่เติมเฟอร์ริกฟอสเฟต 5 กรัม/ลิตร) กลับมีปริมาณฟอสฟอรัสลดต่ำลงจนถึงระดับที่ไม่สามารถตรวจวัดได้ สภาวะดังกล่าวอาจเกิดเนื่องจากการลดลงของค่าพีเอชในอาหารเหลว (จากค่าพีเอช ~6 ในวันที่ 0 เป็นค่าพีเอช ~3 - 4) ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมของการจับกันระหว่างฟอสฟอรัสที่ละลายอยู่ในน้ำกับธาตุเหล็ก แคลเซียม หรือองค์ประกอบอื่นในอาหาร เกิดเป็นสารประกอบฟอสเฟตที่ไม่ละลายน้ำ (Atekan, A. et al., 2014) จึงตรวจไม่พบปริมาณฟอสฟอรัสในวันที่ 1 โดยปริมาณฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำในทุกชุดทดลองที่เติม *Alcaligenes* sp. I3-3 มีค่าเป็นศูนย์ตั้งแต่วันที่ 1 จนถึงวันที่ 7 สอดคล้องกับค่าพีเอชซึ่งมีค่าค่อนข้างคงที่ (3.87 – 3.91) ตลอดการทดลอง และเป็นสภาวะที่เหมาะสมในการเกิดสารประกอบฟอสเฟตที่เสถียร ดังนั้นจึงตรวจไม่พบปริมาณฟอสฟอรัสในอาหารเหลวตลอดการทดสอบ 7 วัน

สำหรับชุดทดลองที่เติม *Xantrobacter* sp. O1.2-1 มีค่าพีเอชเพิ่มจาก 3.90 เป็น 5.92 และ 6.96 ในวันที่ 2 และ 3 ของการทดลอง การเพิ่มขึ้นของค่าพีเอชทำให้เกิดสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการจับกันระหว่างฟอสเฟตกับธาตุหรือองค์ประกอบในอาหารเหลว จึงเกิดเป็นสารประกอบฟอสเฟตที่ไม่เสถียร ทำให้ตรวจพบการเพิ่มขึ้นของปริมาณฟอสฟอสรัสในอาหารเหลว อย่างไรก็ตามในการทดลองที่เติมไตรแคลเซียมฟอสเฟตปริมาณ 5 กรัม/ลิตร ปริมาณฟอสฟอรัสในวันที่ 2 ถึง 7 ในชุดทดลองที่เติม *Xantrobacter* sp. O1.2-1 และ *Alcaligenes* sp. I3-3 ยังคงมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุม (ไม่ได้แสดงข้อมูล) แสดงให้เห็นว่าปริมาณฟอสฟอรัสที่เพิ่มขึ้นเป็นผลมาจากการเปลี่ยนสภาวะค่าพีเอชในอาหารเหลว แต่ไม่ได้เกิดจากกิจกรรมการละลายของจุลินทรีย์ ในชุดทดลองที่เติมไตรแคลเซียมฟอสเฟต 0.5 กรัม/ลิตร พบว่า *Xantrobacter* sp. O1.2-1 มีประสิทธิภาพการละลายฟอสฟอรัสเท่ากับ 0.72 ± 0.12 มิลลิกรัม/ลิตร สอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของมวลเซลล์จากค่า OD_{660} เท่ากับ 1.52 ในวันที่ 1 เป็น 2.00 ในวันที่ 4 โดยค่าประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตของ *Xantrobacter* sp. O1.2-1 ที่พบในงานวิจัยนี้มีค่ามากกว่ารายงานวิจัยอื่น ๆ เช่น Kapagam และ Nagalaksnmi (2014) รายงานว่าไอโซเลท psm1, psm2 และ psm6 มีประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตได้ 0.37, 0.30 และ 0.28 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ ในชุดทดลองที่เติมไตรแคลเซียมฟอสเฟตปริมาณ 3 กรัม/ลิตร และ Atekan และคนอื่น ๆ (2014) รายงานว่าไอโซเลท T-K6 และ T-K5 มีประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตได้ 0.74 และ 0.41 มิลลิกรัม/ลิตร ในชุดทดลองที่เติมไตรแคลเซียมฟอสเฟตปริมาณ 5 กรัม/ลิตร สำหรับผลการทดสอบประสิทธิภาพการละลายเฟอร์ริกฟอสเฟตพบว่า *Xantrobacter* sp. O1.2-1 สามารถละลายได้ 0.45 ± 0.21 มิลลิกรัม/ลิตร ในสภาวะการบ่มเขย่าแบบให้อากาศที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน ซึ่งปริมาณการละลายเฟอร์ริกฟอสเฟตที่ได้ในงานวิจัยนี้มีค่าต่ำกว่าที่รายงานโดย สุภาพร จันรุ่งเรือง เบญจมาส รสโสภา และกรรณิการ์ สัจจาพันธ์ (2553) ที่พบว่าไอโซเลท Rs02 มีประสิทธิภาพการละลายเฟอร์ริกฟอสเฟตได้ 22.5 มิลลิกรัม/ลิตร ในชุดทดลองที่เติมเฟอร์ริกฟอสเฟตปริมาณ 5 กรัม/ลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน โดยค่าประสิทธิภาพการละลายเฟอร์ริกฟอสเฟตที่ต่างกันนี้อาจเป็นผลมาจากความแตกต่างในด้านสายพันธุ์แบคทีเรีย PSB และสภาวะการบ่มเชื้อ

ในงานวิจัยนี้ทำการพัฒนาหัวเชื้อจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตสูตรน้ำ ซึ่งจัดเป็นปุ๋ยชีวภาพรูปแบบหนึ่งที่ได้จากการนำจุลินทรีย์มีชีวิตที่สามารถช่วยให้ธาตุอาหารเป็นประโยชน์กับพืช โดยเตรียมเซลล์ของ *Xantrobacter* sp. O1.2- 1 ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงในการละลายไตรแคลเซียมฟอสเฟตและเฟอร์ริกฟอสเฟตจากผลการคัดเลือกในระดับห้องปฏิบัติการ (Shake flask) ปัจจุบันมีการผลิตปุ๋ยอินทรีย์รูปแบบต่าง ๆ ทั้งชนิดผง ชนิดเม็ด และชนิดน้ำกันอย่างแพร่หลาย โดยผลิตใช้เองและผลิตเพื่อการค้า การผลิตปุ๋ยชีวภาพชนิดน้ำโดยเตรียมเชื้อให้อยู่ในรูปเซลล์แขวนลอยมีข้อดีคือสามารถนำจุลินทรีย์ไปใช้ประโยชน์ได้ทันทีโดยที่ไม่ต้องผ่านขั้นตอนการกระตุ้น (Reactivation) สะดวกต่อการเก็บรักษาและการนำไปใช้งาน ทำให้สามารถใช้ประโยชน์จากหัวเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพ (จิตมนัส

นิกาจิ๊, 2559) Soumare และคนอื่น ๆ (2020) กล่าวว่าจุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กมากแต่มีประสิทธิภาพและมีประโยชน์อย่างยิ่งที่สามารถนำธาตุอาหารหลักของพืช ได้แก่ ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) และโพแทสเซียม (K) มาให้พืชใช้ประโยชน์ได้โดยอาศัยกลไกต่าง ๆ ได้แก่ การละลาย (Solubilization) การตรึง (Fixation)

ในงานวิจัยนี้ทดสอบประสิทธิภาพของหัวเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตสูตรน้ำ ชนิดต่าง ๆ 5 สูตร (ตารางที่ 3.1) ทำการวิเคราะห์ประสิทธิภาพของหัวเชื้อแต่ละสูตร โดยการนับปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตและทดสอบประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตบนอาหาร PVK ตลอดอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 3 เดือน โดยใช้กล้าเชื้อเริ่มต้นปริมาณสูง (~ 10^8 cfu/ml) สอดคล้องกับ คำจำกัดความของ “หัวเชื้อจุลินทรีย์” ตามข้อมูลในพระราชบัญญัติปุ๋ย (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2550 ที่ระบุให้มีจำนวนเซลล์ต่อหน่วยสูงซึ่งถูกเพาะเลี้ยงโดยกรรมวิธีทางวิทยาศาสตร์ ทำการเก็บรักษาหัวเชื้อจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต *Xantrobacter* sp. O1.2-1 ทั้ง 5 สูตร ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อจำลองสภาพการใช้งานจริง สภาวะที่ใช้ในงานวิจัยนี้เป็นไปในแนวทางเดียวกับงานวิจัยอื่น ๆ เช่น Goljanian-Tabrizi และคนอื่น ๆ (2016) ที่ใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้นของ *Pseudomonas putida* P13 และ *Pantoea agglomerans* P5 ในช่วง 10^7-10^8 cfu/ml เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของหัวเชื้อสูตรน้ำต้นทุนต่ำ 5 สูตร ต่อการคงประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตและรักษาเซลล์ที่มีชีวิต ตลอดอายุการเก็บรักษานาน 3 เดือน ที่อุณหภูมิห้อง ผลการทดลองพบว่าเซลล์มีชีวิตของ *Xantrobacter* sp. O1.2-1 ที่เก็บรักษาในหัวเชื้อสูตรน้ำชนิดต่าง ๆ มีปริมาณเซลล์ในช่วง 10^7-10^8 cfu/ml ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา โดยประเมินได้ว่าสูตรของชีวภัณฑ์การเกษตรทั้ง 5 สูตร ที่ใช้ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ให้ผลดีในการยืดอายุการเก็บรักษาเซลล์ที่มีชีวิตโดยมีปริมาณเซลล์ในช่วง 1.2-8.5 x10^7 cfu/ml (ตารางที่ 4.2) ภายหลังการเก็บที่อุณหภูมิห้องนาน 3 เดือน และคงประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตโดยมีค่า SI ในช่วง 2.26-2.98 (ตารางที่ 4.3) โดยอาจเป็นผลมาจากการที่ผู้วิจัยเลือกใช้สูตรอาหารอ้างอิงที่เหมาะสม (ตารางที่ 3.1) มาใช้ในการทดสอบอายุการเก็บรักษาหัวเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟต *Xantrobacter* sp. O1.2-1 สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพจากการคัดเลือกในระดับห้องปฏิบัติการ โดยการเพาะเลี้ยงในหัวเชื้อสูตรน้ำต้นทุนต่ำที่มีสารอาหาร ได้แก่ สูตร DNB+G (Diluted Nutrient broth) สูตร PVK+P (กลูโคส, yeast extract) สูตร BM (yeast extract, กากน้ำตาล) สูตร PBM (yeast extract, กากน้ำตาล) บางสูตรอาหารประกอบด้วยสารป้องกันเซลล์หรือวัสดุรองรับที่ช่วยกระตุ้นให้เซลล์รอดชีวิตได้ยาวนานและทนต่อสภาวะที่ไม่เหมาะสม มีการใช้พอลิเมอร์หลายชนิดในการผลิตหัวเชื้อสูตรน้ำ (สูตร DNB+G เติมกลีเซอรอล, สูตร PVK+P เติมพอลิไวนิลไพโรลิโดน) โดยพอลิเมอร์เหล่านี้มีผลจำกัดการถ่ายเทความร้อนและมีกิจกรรมต่าง ๆ ของเซลล์ สอดคล้องกับรายงานของ Surendra Gopal และ Baby (2016) ที่ว่าคุณสมบัติต่าง ๆ ของสูตรอาหารดังกล่าวช่วยส่งเสริมการมีชีวิตรอดของเซลล์ในหัวเชื้อสูตรน้ำ

ภายใต้สภาวะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง จากผลวิจัยนี้อาจเป็นข้อดีของการนำ *Xantrobacter* sp. O1.2-1 ไปใช้ประโยชน์ในพื้นที่การเกษตร โดยเป็นไปได้ว่าเชื้อนี้สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาวะเครียดเนื่องจากการเก็บรักษา สอดคล้องกับรายงานของ Soumare และคนอื่น ๆ (2020) ที่กล่าวว่าประโยชน์ที่สำคัญอีกประเด็นหนึ่งของการนำจุลินทรีย์มีประโยชน์ทางการเกษตรมาพัฒนาให้อยู่ในรูปของชีวภัณฑ์ คือ จุลินทรีย์บางชนิดสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงได้ดี โดยบางชนิดเป็นกลุ่มที่ชอบและทนต่ออุณหภูมิสูง (Extremophile, Extremotolerant) จึงปรับตัวได้ดีในสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงเนื่องจากความดัน ความแห้งแล้ง สภาวะความเค็ม และค่าพีเอชที่ไม่เหมาะสม

จากผลการทดลองพบว่าสูตร PVP + P (PVK Broth + PVP 2.5%) มีประสิทธิภาพในการคงปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตได้ดีที่สุด โดยมีปริมาณแบคทีเรียละลายฟอสเฟตสูงที่สุด (8.5×10^7 cfu/ml) ภายหลังการเก็บรักษานาน 3 เดือน สอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Surendra Gopal และ Baby (2016) ที่พบว่าประชากรของแบคทีเรีย PSB มีจำนวนเซลล์สูงที่สุด (1.1×10^8 cfu/ml) ในสูตรอาหาร PVK ที่เติม Polyvinylpyrrolidone (PVP) 2.5% และเก็บไว้เป็นเวลา 3 เดือน จากปริมาณเซลล์เริ่มต้น 1.33×10^{10} cfu/ml โดยหัวเชื้อนี้มีอายุการเก็บ (Shelf-life) นาน 9 เดือน (มีปริมาณเซลล์ 3.77×10^8 cfu/ml) หนึ่ง เตียอำรุง (2557) กล่าวว่า PVP มีค่า water binding capacity สูง จึงสามารถคงความชื้นโดยการยึดเกาะน้ำบริเวณรอบ ๆ เซลล์ได้มากขึ้น จึงทำให้เซลล์สามารถใช้น้ำในกระบวนการเมแทบอลิซึม นอกจากนี้ PVP ยังช่วยปกป้องเซลล์จากสภาพแวดล้อมที่เป็นพิษ และทำให้เกิดสภาพคอลลอยด์ในภาชนะบรรจุหัวเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตสูตรน้ำ จึงเป็นการยืดอายุการเก็บรักษาหัวเชื้อได้

งานวิจัยนี้ทดสอบการเติมสารพอลิเมอร์ 2 ชนิด ได้แก่ พอลิไวนิลไพโรลิโดน (Polyvinylpyrrolidone; PVP) (สูตร PVK+P) และกลีเซลรอล (สูตร DNB+G) เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาหัวเชื้อแบคทีเรียชนิดเหลว ซึ่งพบว่าทำให้ *Xantrobacter* sp. O1.2- 1 มีปริมาณเซลล์สูงสุด (8.5×10^7cfu/ml) ในสูตร PVK+P ส่วนสูตร DNB+G มีปริมาณเซลล์ในเดือนที่ 3 เท่ากับ 3.7×10^7 cfu/ml สามารถผสม PVP และกลีเซอรอลในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ตามปกติโดยไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญของเซลล์ เนื่องจากเซลล์แบคทีเรียไม่สามารถใช้สารพอลิเมอร์เหล่านี้เป็นแหล่งพลังงานได้ อย่างไรก็ตามสารพอลิเมอร์เหล่านี้มีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญและการมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อแบคทีเรีย เนื่องจากสารเหล่านี้มีความเหนียว ซึ่งช่วยเพิ่มให้เซลล์แบคทีเรียยึดเกาะเป็นกลุ่มได้ดีขึ้น (หนึ่ง เตียอำรุง, 2557) ในขณะที่กากน้ำตาลที่เติมในสูตร BM และ PBM (ตารางที่ 3.1) มีลักษณะเหนียวจึงอาจสามารถยึดเกาะเซลล์เข้าไว้ด้วยกัน โดยเซลล์ของแบคทีเรียละลายฟอสเฟตยังคงสามารถลอยอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ในรูปของคอลลอยด์ ทำให้อากาศที่อยู่ในอาหารสามารถเข้าถึง

เซลล์แบคทีเรียได้ดีขึ้นกว่าการที่เซลล์ตกตะกอนอยู่ด้านล่างของภาชนะบรรจุ ดังนั้นจึงอาจเป็นกลไกที่ทำให้เซลล์สามารถมีชีวิตอยู่รอดและยืดอายุการเก็บรักษาได้นานขึ้น

ในด้านการทดสอบประสิทธิภาพของหัวเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตสูตรต่าง ๆ ภายหลังการเก็บนาน 3 เดือน ที่อุณหภูมิห้อง เทียบกับหัวเชื้อควบคุม (เดือนที่ 0) พบว่าหัวเชื้อ O1.2-1 ละลายฟอสเฟตสูตรน้ำทั้ง 5 สูตร ยังคงประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟต โดยมีค่า SI ในช่วง 2.26-2.98 สอดคล้องกับปริมาณเซลล์ที่มีค่าสูง (~10^7 cfu/ml) โดยหัวเชื้อสูตร BM มีประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตได้สูงสุด (2.98 ± 0.26) ตามด้วยหัวเชื้อสูตร PVK+P (2.82 ± 0.09) สอดคล้องกับปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตซึ่งมีค่าสูงสุด (8.5 x 10^7 cfu/ml ในหัวเชื้อสูตร PVK+P และ 2.8 x 10^7 cfu/ml ในหัวเชื้อสูตร BM) เช่นเดียวกับรายงานของ Goljanian-Tabrizi และคณะ (2016) ที่เปรียบเทียบผลของสูตรอาหารต้นทุนต่ำ 5 สูตร ต่อการรักษาสภาพความมีชีวิตและประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตของ *Pseudomonas putida* P13 และ *Pantoea agglomerans* P5 ซึ่งพบว่าเชื้อ P5 และ P13 ซึ่งมีปริมาณเซลล์สูงสุด 5x10^6 และ 3.75x10^6 cfu/ml มีค่า SI สูงสุด 3.81 และ 3.86 ตามลำดับ โดยสรุปผลจากงานวิจัยนี้พบว่าสูตรอาหาร 4 สูตร ได้แก่ PB, DNB+G, PVK+P และ BM มีผลเพิ่มประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตของ *Xantrobacter* sp. O1.2-1 โดยมีค่า SI ในช่วง 2.54-2.98 สอดคล้องกับการมีปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตในช่วง 1.9-8.5 x 10^7 cfu/ml สูตรอาหาร BM มีประสิทธิภาพสูงสุดในการรักษาเซลล์ที่มีชีวิตและเพิ่มประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตของเชื้อ O1.2-1 ตลอดระยะเวลาการเก็บ 3 เดือน ที่อุณหภูมิห้อง

ข้อเสนอแนะ

1. ควรเพิ่มระยะเวลาทดสอบประสิทธิภาพของหัวเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตให้มากขึ้น เนื่องจากผลทดสอบที่ระยะเวลา 3 เดือน หัวเชื้อยังคงมีปริมาณเซลล์มีชีวิตและมีประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตที่มีค่าในระดับสูง
2. งานวิจัยในขั้นต่อไปควรทดสอบผลการใช้งานหัวเชื้อในระดับแปลงทดลอง เพื่อประเมินศักยภาพการใช้งานในพื้นที่สวนผลไม้ต่อไป

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี