# บทที่ 5
## สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการแยกแบคทีเรียจากแหล่งต่างๆ ได้แก่ ดิน ปุ๋ยอินทรีย์ ตัวปลวกและดินรังปลวก ทั้งหมด 166 ตัวอย่าง โดยเลี้ยงในจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารแข็งปราศจากไนโตรเจน โดยใช้ $CaHPO_4$ เป็นแหล่งฟอสฟอรัส และใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่ามีแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟตทั้งหมด 18 สายพันธุ์ จาก 18 แหล่งตัวอย่าง อัตราส่วนของแหล่งตัวอย่างที่มีแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟตต่อแหล่งตัวอย่างทั้งหมดคิดเป็น 10.84 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับการแยกแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนหรือละลายฟอสเฟตที่มีคุณสมบัติเพียงอย่างใดอย่างหนึ่ง เช่น งานวิจัยของ Yahya และ Al-Azawi (1989) ซึ่งแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตจากดิน 52 ตัวอย่าง พบแบคทีเรียใน 47 ตัวอย่าง หรือ 90 เปอร์เซ็นต์ ที่ละลายฟอสเฟตได้ ซึ่งการพบแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟตจำนวนน้อยนี้ อาจเนื่องจากแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติสำคัญ 2 อย่าง คือ ทั้งตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟตได้ในตัวเดียวกันหาได้ยาก แม้ว่าแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้มีอยู่มากแต่ส่วนใหญ่อาจไม่มีการสร้างกรดจึงไม่สามารถละลายฟอสเฟตได้ และแบคทีเรียที่สร้างกรดได้ก็มีจำนวนมากแต่ไม่สามารถตรึงไนโตรเจนได้

เมื่อทำการคัดเลือกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟตได้สูง โดยนำแบคทีเรียทั้ง 18 สายพันธุ์ที่แยกได้มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อปราศจากไนโตรเจนและมี $Ca_3(PO_4)_2$ เป็นแหล่งฟอสฟอรัสพบว่าแบคทีเรียทั้ง 18 สายพันธุ์มีการตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟตแตกต่างกัน และได้คัดเลือกแบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ M2 ซึ่งสามารถตรึงไนโตรเจนได้ดีที่สุดแต่มีการละลายฟอสเฟตได้ระดับปานกลาง สายพันธุ์ N1 สามารถละลายฟอสเฟตได้ดีที่สุดแต่ตรึงไนโตรเจนได้ระดับปานกลาง และสายพันธุ์ S54 ซึ่งตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟตได้ในระดับปานกลางและมีอันดับใกล้เคียงกันทั้ง 2 กิจกรรม ส่วนแบคทีเรียสายพันธุ์อื่นๆ พบว่าบางส่วนถ้าตรึงไนโตรเจนได้มากจะละลายฟอสเฟตได้น้อย เช่น สายพันธุ์ ST30 หรือละลายฟอสเฟตได้ในระดับปานกลาง เช่น สายพันธุ์ S8 T18 และ T27 และบางส่วนถ้าละลายฟอสเฟตได้ดีกลับตรึงไนโตรเจนได้น้อย เช่น สายพันธุ์ N2 N3 N10 N11 และ N12 การที่ผลการทดลองเป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะแบคทีเรียจะต้องทำกิจกรรมสองอย่างในเวลาเดียวกันคือ ทั้งตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟตเนื่องจากในอาหารเลี้ยงเชื้อไม่มีแหล่งไนโตรเจนและฟอสเฟตในรูปสารละลายหรือมีแต่ปริมาณน้อยมากไม่เพียงพอต่อความต้องการของเซลล์ และสภาวะในการเกิดกิจกรรมอย่างหนึ่งอาจไม่เหมาะที่จะเกิดกิจกรรมอีกอย่างหนึ่ง เช่น ในการละลายฟอสเฟตแบคทีเรียจะสร้างกรดทำให้ความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อลดลงจนมีผลต่อเอนไซม์ไนโตรจีเนสและ

การตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรีย แต่ในแบคทีเรียที่ละลายฟอสเฟตได้น้อยกลับตรึงไนโตรเจนได้มากอาจเป็นเพราะแบคทีเรียมีการสร้างกรดได้น้อยทำให้ความเป็นกรด-ด่างลดลงไม่มากนัก ทำให้เอนไซม์ไนโตรจีเนสสามารถทำงานได้ดีและเกิดการตรึงไนโตรเจนได้มาก นอกจากนี้อาจเป็นผลมาจากปัจจัยอื่นๆ เช่น ปริมาณออกซิเจน เนื่องจากเอนไซม์ไนโตรจีเนสที่ใช้ในการตรึงก๊าซไนโตรเจนเป็นแอมโมเนีย มีความไวต่อออกซิเจนมาก (Giller และ Wilson,1991; Postgate,1982) และแบคทีเรียแต่ละชนิดมีความไวที่ต่างกัน ซึ่งในสภาวะที่ทดสอบการละลายฟอสเฟตมีการเขย่าขวดเลี้ยงเชื้อเพื่อให้แบคทีเรียละลาย $Ca_3(PO_4)_2$ ได้เต็มที่ ทำให้มีการตรึงไนโตรเจนสร้างแอมโมเนียได้น้อยไม่เพียงพอต่อความต้องการของแบคทีเรีย ทำให้การละลายฟอสเฟตเกิดได้น้อยกว่าความสามารถที่แท้จริงได้

เมื่อนำแบคทีเรียที่คัดเลือกได้มาทดสอบปัจจัยต่างๆ ได้แก่ แหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน ความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิ ที่มีผลของแหล่งคาร์บอนต่อการตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟต พบว่าแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรีย N1, M2 และ S54 เหมือนกันคือ กลูโคส รองลงมาคือซูโครส และแมนนิทอลใช้ได้น้อยที่สุด สอดคล้องกับการทดลองของ O'Toole และ Knowles (1973) ที่พบว่าการใช้กลูโคสทำให้การตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียเกิดขึ้นได้ดีที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากกลูโคสมีโครงสร้างเป็นโมโนแซคคาไรด์ (monosaccharide) หรือน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวทำให้แบคทีเรียสามารถนำไปใช้ได้ง่าย แต่น้ำตาลซูโครสเป็นไดแซคคาร์ไรด์ (disaccharide) หรือน้ำตาลโมเลกุลคู่ ซึ่งแบคทีเรียจะต้องสลายให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวคือกลูโคส และฟรักโทสก่อนจึงจะนำไปใช้ในกระบวนการเมทาบอลิซึมต่างๆ ในเซลล์ได้ ส่วนแมนนิทอลทำให้เกิดการตรึงไนโตรเจนโดยแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ได้น้อยมาก แสดงว่าแบคทีเรียไม่สามารถใช้แมนนิทอลได้ทั้งนี้เนื่องจากแมนนิทอลเป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ (polyols) จะต้องถูกสลายให้เป็นน้ำตาลฟรักโทสเสียก่อนโดยใช้เอนไซม์ฟอสโฟแมนโนสไอโซโมเรส แต่แบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดไม่สร้างเอนไซม์ชนิดนี้จึงไม่สามารถใช้แมนนิทอลได้

ผลของแหล่งคาร์บอนต่อการละลายฟอสเฟต พบว่าเมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน มีผลให้ประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตของแบคทีเรีย N1 M2 และ S54 ได้มากที่สุดทั้ง 3 สายพันธุ์ รองลงมาคือ ซูโครส และแมนนิทอล ตามลำดับ เช่นเดียวกับผลของการตรึงไนโตรเจน เนื่องจากแบคทีเรียสามารถนำกลูโคสซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวไปใช้ในกระบวนการต่างๆ ของเซลล์ รวมทั้งใช้ในการสร้างกรดเพื่อละลายฟอสเฟตได้ง่ายกว่าแหล่งคาร์บอนอื่นๆ สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Vazquez และคณะ (1999) และ Kumar และ Narula (1999) ที่พบว่าการละลายฟอสเฟตของแบคทีเรียที่แยกได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนดีกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน

ผลของแหล่งไนโตรเจนต่อการตรึงไนโตรเจน พบว่าแบคทีเรีย N1 M2 และ S54 มีการตรึงไนโตรเจนได้ดีที่สุดเมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เติมแหล่งไนโตรเจน และมีการตรึงไนโตรเจนได้เพียงเล็กน้อยในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมแหล่งไนโตรเจนซึ่งได้แก่ แอมโมเนียมคลอไรด์ โซเดียมไนเตรท และเปปโตน ทั้งนี้เพราะสารประกอบไนโตรเจนเป็นปัจจัยที่มีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไนโตรจีเนสทำให้มีการตรึงไนโตรเจนได้น้อยลงหรือหยุดการตรึงไนโตรเจนไปชั่วคราว จนกว่าสารประกอบไนโตรเจนจะหมดไปจึงเกิดการตรึงไนโตรเจนได้ใหม่อีกครั้ง (Postgate, 1982) สอดคล้องกับการทดลองของ Deluca และคณะ (1996) พบว่าการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนทั้งปุ๋ยคอกและปุ๋ยเคมีซึ่งได้แก่ ยูเรีย และแอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้นสูงๆ ให้กับดินพบว่ามีผลยับยั้งการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรีย *Azotobacter* spp. และสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในดินได้ และผลการศึกษาของ Bhattarai และ Hess (1998) พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสของแบคทีเรีย *Azospirillum* sp. ลดลงเมื่อให้ ไนเตรท ($NO_3^-$) ความเข้มข้นสูงในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ผลของแหล่งไนโตรเจนต่อการละลายฟอสเฟต พบว่าในวันที่ 2 ของการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์สามารถละลายฟอสเฟตได้มากที่สุดเมื่อใช้เปปโตนเป็นแหล่งไนโตรเจน รองลงมาคือ แอมโมเนียมคลอไรด์ โซเดียมไนเตรท และไม่เติมแหล่งไนโตรเจน ตามลำดับ แต่หลังจากนั้นในวันที่ 6 ถึง 14 ของการเลี้ยงเชื้อ พบว่าแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถละลายฟอสเฟตได้ดีที่สุดเมื่อใช้แอมโมเนียมคลอไรด์เป็นแหล่งไนโตรเจน รองลงมาคือเปปโตนและโซเดียมไนเตรท ส่วนในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่เติมแหล่งไนโตรเจนให้ผลการละลายฟอสเฟตได้น้อยที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากแบคทีเรียต้องการนำสารประกอบไนโตรเจนไปใช้เพื่อการเจริญและสร้างสารพันธุกรรมเพื่อใช้ในการสร้างและเพิ่มจำนวนเซลล์ใหม่ และแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถตรึงไนโตรเจนได้เองน้อยกว่าการรับไนโตรเจนโดยตรงจากแหล่งไนโตรเจนที่เติมให้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ จึงพบว่าในอาหารที่มีการเติมแหล่งไนโตรเจนมีการละลายฟอสเฟตได้มากกว่า โดยการใช้เปปโตนให้ผลมากที่สุดในวันที่ 2 เพราะเปปโตนเป็นแหล่งไนโตรเจนที่มีกรดอะมิโนเป็นส่วนประกอบและเป็นรูปที่พร้อมให้แบคทีเรียสามารถใช้ได้ง่าย แต่หลังจากนั้นในวันที่ 6-14 การใช้แอมโมเนียมคลอไรด์ให้ผลการละลายฟอสเฟตดีที่สุด อาจเนื่องจากในวันที่ 6-14 มีความเป็นกรดมากกว่าวันที่ 2 จนอาจจะทำให้เปปโตนซึ่งเป็นกรดอะมิโนเสียสภาพไปบางส่วนได้ ส่วนแอมโมเนียมคลอไรด์เป็นอนินทรีย์ไนโตรเจนจึงทนต่อความเป็นกรดมากกว่า นอกจากนั้นอาจเกิดจากแบคทีเรียมีการใช้ไนโตรเจนในรูปของแอมโมเนีย ทำให้เหลือกรดไฮโดรคลอริกในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้แอมโมเนียมคลอไรด์เป็นแหล่งไนโตรเจน ซึ่งเป็นการเพิ่มความเป็นกรดให้อาหารเลี้ยงเชื้อนอกเหนือจากกรดที่แบคทีเรียผลิตได้ จึงพบว่ามีการละลายฟอสเฟตได้มากขึ้น และจากรายงานของ Lapeyrie และคณะ (1991) พบว่าเมื่อใส่แอมโมเนียมซัลเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้ราเอกโตไมคอร์ไรซ่าทุกสายพันธุ์ละลายฟอสเฟตทุกชนิดได้ดี แต่ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโซเดียมไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจนพบว่ารา

ส่วนใหญ่ไม่สามารถละลายฟอสเฟตได้ แสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตสามารถใช้แหล่งไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียมได้ดีกว่าในรูปไนเตรท

ผลของอุณหภูมิในการบ่มเชื้อต่อการตรึงไนโตรเจน พบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสมีผลให้ประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรีย N1 M2 และS54 ได้มากที่สุดทั้ง 3 สายพันธุ์ รองลงมาคือ 40 และ 20 องศาเซลเซียส ตามลำดับ สอดคล้องรายงานของจารุรัตน์ เอี่ยมศิริ (2541) ที่พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรีย *Azomonas insignis Azotobacter chroococcum* และ *Azomonas agilis* ที่แยกได้จากใบข้าว คือ 30-40 องศาเซลเซียส ทั้งนี้เนื่องจากอุณหภูมิเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเจริญและตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรีย โดยถ้าอุณหภูมิต่ำเกินไปจะมีผลให้ปฏิกิริยาหรือกระบวนการทางเคมีภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ช้าลงหรือหยุดชะงัก และที่อุณหภูมิสูงมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไนโตรจีเนสโดยตรง และถ้าอุณหภูมิสูงมากๆ จะมีผลทำลายเอนไซม์ไนโตรจีเนสซึ่งเป็นสารประเภทโปรตีนให้มีการ denature ได้

ผลของอุณหภูมิต่อการละลายฟอสเฟต พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 และS54 มีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตได้มากที่สุด เมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ส่วนแบคทีเรียสายพันธุ์ M2 มีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตได้มากที่สุด เมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในวันที่ 2-10 ของการเลี้ยงเชื้อ แต่ในวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อพบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสให้ผลการละลายฟอสเฟตได้มากที่สุดแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับที่ 40 องศาเซลเซียส สอดคล้องกับรายงานของ Johri และคณะ (1999) ที่พบว่าแบคทีเรียที่แยกได้จากดินในประเทศอินเดียสามารถละลายฟอสเฟตได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส รองลงมาคือ 37 องศาเซลเซียส และรายงานของ Gaind และ Gaur (1991) ซึ่งทดสอบการละลายฟอสเฟตของจุลินทรีย์ที่แยกได้ที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่าแบคทีเรียส่วนใหญ่และราทั้งหมดละลายฟอสเฟตได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และมีแบคทีเรียและราบางสายพันธุ์เท่านั้นที่สามารถละลายฟอสเฟตได้ดีที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

ผลของความเป็นกรด-ด่างต่อการตรึงไนโตรเจน พบว่าความเป็นกรด-ด่าง 7 ให้ผลการตรึงไนโตรเจนดีที่สุดในแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ รองลงมาคือที่ความเป็นกรด-ด่าง 8 ให้ผลไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับที่ความเป็นกรด-ด่าง 7 ทั้งนี้เนื่องจากความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียและการทำงานของเอนไซม์โดยทั่วไปอยู่ในช่วงความเป็นกรด-ด่างที่เป็นกลาง และสอดคล้องกับรายงานของ Okon (1976) ที่พบว่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญและตรึงไนโตรเจนของ *Azoapirillum* sp. อยู่ที่ความเป็นกรด-ด่าง 6.8-7.8

ผลของความเป็นกรด-ด่างต่อการละลายฟอสเฟต พบว่าแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์มีการละลายฟอสเฟตที่ความเป็นกรด-ด่าง 5, 6, 7, 8 และ 9 ไม่แตกต่างกันมากนัก แต่ที่ความเป็นกรด-ด่าง 5 ให้ผลการละลายฟอสเฟตได้มากที่สุด ทั้งนี้เพราะแบคทีเรียสามารถย่อยฟอสเฟตได้ใน

ช่วงความเป็นกรด-ด่างค่อนข้างกว้าง สอดคล้องกับรายงานของ Bajpai และ Rao (1971b) ที่พบว่า *Bacillus megatherium* var.*phosphaticum* ซึ่งแยกได้จากหัวเชื้อที่ผลิตทางการค้าชื่อ phosphobacterin ของรัสเซียมีประสิทธิภาพในการละลายแคลเซียมฟอสเฟตได้ในช่วง 5.2-8.85 และรายงานของ Yahya และ Al-Azawi (1989) พบว่าสามารถแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตได้จากดินที่มีความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 7.6-8.9 รายงานของ Taha และคณะ (1969) พบว่าที่ความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นเท่ากับ 7 แบคทีเรียชนิดต่างๆ สามารถละลายฟอสเฟตได้ต่างกัน และเมื่อวัดความเป็นกรด-ด่างหลังการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 2, 6, 10 และ 14 วัน พบว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรียทุกชนิดมีความเป็นกรด-ด่างลดลง และแบคทีเรียที่มีความเป็นกรด-ด่างลดลงถึง 4.8 สามารถละลายฟอสเฟตให้อยู่ในรูปสารละลายได้มากที่สุด

จากการทดลองแปรผันปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟตของแบคทีเรีย N1 M2 และS54 พบว่าแบคทีเรีย N1 สามารถตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟตได้มากที่สุด แสดงว่าแบคทีเรีย N1 สามารถสร้างกรดเพื่อละลายฟอสเฟตได้มากและขณะเดียวกันก็สามารถตรึงไนโตรเจนในสภาวะที่มีความเป็นกรดสูงได้มากที่สุดอีกด้วย ซึ่งความสามารถในการตรึงไนโตรเจนได้สูงนี้ อาจเป็นผลเนื่องจากแบคทีเรียมีการสร้างเมือกจึงสามารถป้องกันการแพร่ของออกซิเจนไม่ให้มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนส ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาทางสัณฐานวิทยาของเซลล์โดยการส่องดูและถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดที่พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 มีการสร้างเมือกมากที่สุด ส่วนแบคทีเรียสายพันธุ์ M2 ซึ่งในขั้นตอนการคัดเลือกเชื้อพบว่ามีการตรึงไนโตรเจนมากที่สุด แต่หลังจากนั้นเมื่อนำมาทดลองแปรผันปัจจัยต่างๆ พบว่ามีการตรึงไนโตรเจนได้น้อยที่สุด การตรึงไนโตรเจนได้ลดลงนี้อาจเกิดขึ้นจากการกลายพันธุ์ (mutation) ของแบคทีเรียทำให้สูญเสียคุณสมบัติในการตรึงไนโตรเจนได้สูงในสภาวะที่มีการสร้างกรดไป หรืออาจเกิดจากความผิดพลาดในการทดลองในขั้นตอนการคัดเลือกเชื้อทำให้พบว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ M2 สามารถตรึงไนโตรเจนได้มากเกินกว่าปกติ

การทดสอบทางสัณฐานวิทยาโดยการดูกล้องจุลทรรศน์ธรรมดาและกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน พบว่าแบคทีเรีย N1, M2 และ S54 เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปแท่ง ไม่สร้างสปอร์ ไม่สร้างซีสท์แต่มีการสร้างเมือก สอดคล้องกับรายงานส่วนใหญ่ที่พบว่าแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนส่วนใหญ่มีลักษณะดังกล่าว เช่น แบคทีเรียในวงศ์ Azotobacteriaceae ได้แก่ แบคทีเรียสกุล Azomonas , Beijerinkia , Derxia , แบคทีเรียในวงศ์ Pseudomonadaceae ได้แก่ สกุล Pseudomonas , Xanthomonas และแบคทีเรียในกลุ่ม Enterobacter เป็นต้น แต่จากการทดสอบทางชีวเคมีและเปรียบเทียบตาม Bergey's mannual of Systematic Bacteriology Vol.1 (1984) พบว่าแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถแยกออกจากแบคทีเรียในวงศ์ Enterobacteriaceae ได้ แต่ไม่สามารถแยกจากแบคทีเรียในกลุ่มอื่นได้อย่างชัดเจน ทั้งนี้เนื่องจากแบคทีเรียที่จำแนกไว้ใน

Bergey's mannual of Systematic Bacteriology Vol.1 (1984) มีการทดสอบหลายอย่าง เช่น การใช้น้ำตาลที่แตกต่างกัน แต่ในการทดลองสามารถทดสอบการใช้น้ำตาลได้เพียงบางชนิดเท่านั้น และถ้าพิจารณาจากรูปร่าง ขนาดของเซลล์ และลักษณะของโคโลนีพบว่าแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์มีลักษณะคล้ายคลึงและแตกต่างกับแบคทีเรียหลายสายพันธุ์ แต่ไม่สามารถสรุปได้ว่าตรงกับสายพันธุ์หรือสกุลใดอย่างชัดเจน ดังนั้นในการวิจัยนี้จึงยังไม่สามารถจำแนกชนิดของแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ทั้ง 3 สายพันธุ์จากการทดสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและคุณสมบัติทางชีวเคมี หากต้องการการจำแนกที่ชัดเจนอาจใช้วิธีการพิสูจน์ทางชีวโมเลกุล จะทำให้การจำแนกเห็นผลได้อย่างชัดเจนมากขึ้น

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย