คัดเลือกแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟต

นางสาว ปิยนุช จันทสุบรรณ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม สหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2544

ISBN 974-17-0419-4

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

SELECTION OF NITROGEN FIXING AND PHOSPHATE SOLUBILIZING BACTERIA

Miss Piyanuch Chantasuban

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Environmental Science
Inter-department of Environmental Science
Graduate School
Chulalongkorn University
Academic Year 2001

ISBN 974-17-0419-4

หัวข้อวิทยานิพนธ์	คัดเลือกแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟต
โดย	นางสาว ปิยนุช จันทสุบรรณ
สหสาขาวิชา	วิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร.ประกิตติ์สิน สีหนนทน์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ศาสตราจารย์ ดร.สุชาดา กีระนันทน์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พิพัฒน์ พัฒนผลไพบูลย์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร.ประกิตติ์สิน สีหนนทน์)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.สมใจ เพ็งปรีชา)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชาญวิทย์ โฆษิตานนท์)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปิยนุช จันทสุบรรณ : คัดเลือกแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟต (SELECTION OF NITROGEN FIXING AND PHOSPHATE SOLUBILIZING BACTERIA) อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ. ดร.ประกิตติ์สิน สีหนนทน์ ; 202 หน้า. ISBN 974-17-0419-4

การแยกแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟตจากแหล่งต่างๆ ตามธรรมชาติสามารถแยกได้ทั้งหมด 18 สายพันธุ์ เมื่อวิเคราะห์การตรึงไนโตรเจนด้วยวิธีอะเซธิลีน รีดักชัน และการละลายฟอสเฟตด้วยวิธีคัลเลอริเมตริก ดีเทอร์มิเนชัน พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ M2 มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนได้สูงที่สุด คือ มีปริมาณเอธิลีนที่สร้าง 113.51 nmole/mg cell dry wt./hr. แบคทีเรียสายพันธุ์ N1 ทีมีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตได้สูงสุด คือ มีฟอสเฟตในรูปสารละลายในวันที่ 14 ของการเลี้ยงเชื้อ 7.57 μg/ml และแบคทีเรียสายพันธุ์ S54 มีประสิทธิภาพระดับปานกลางทั้งในการตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟต คือ มีปริมาณเอธิลีนที่สร้าง 50.05 nmole/mg cell dry wt./hr. และมีฟอสเฟตในรูปสารละลาย 5.90 μg/ml แบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์นี้ได้คัดเลือกไว้ศึกษาในขั้นต่อไป

การศึกษาปัจจัยต่างๆ ได้แก่ แหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน ค่าความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟตของแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ 3 สายพันธุ์คือ แบคทีเรียสายพันธุ์ N1 M2 และ S54 พบว่าแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถตรึงไนโตรเจนได้ดีในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 7 และอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 30 องศาเซลเซียส และพบว่าแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถละลายฟอสเฟตได้ดีที่สุดในสภาวะที่คล้ายกันคือ ในอาหารเหลวที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน มีแอมโมเนียมคลอไรด์เป็นแหล่งไนโตรเจน ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5 ส่วนสภาวะที่เหมาะสมของแบคทีเรียที่แตกต่างกันคือ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการละลายฟอสเฟตของแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 และ S54 คือ 30 องศาเซลเซียส และ 40 องศาเซลเซียสของแบคทีเรียสายพันธุ์ M2

จากการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟตทั้งหมดพบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 สามารถตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟตได้ดีที่สุด ซึ่งแสดงว่ามีความสามารถในการเจริญได้ในสภาวะที่ค่อนข้างกว้าง คือ ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีแหล่งไนโตรเจนและแหล่งฟอสฟอรัสในรูปที่เป็นประโยชน์ และสามารถทนกรดได้ดี ส่วนแบคทีเรียสายพันธุ์ M2 มีการสูญเสียความสามารถในการตรึงไนโตรเจนได้สูงไปซึ่งอาจมีสาเหตุจากการกลายพันธุ์ของแบคทีเรีย

สหสาขา วิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม ลายมือชื่อนิสิต ปิยนุช จันทสุบรรณ

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ประกิตติ์สิน

ปีการศึกษา 2544

4172361623: MAJOR ENVIRONMENTAL SCIENCE

KEYWORD: NITROGEN FIXING BACTERIA / PHOSPHATE SOLUBILIZING BACTERIA. PIYANUCH CHANTASUBAN : SELECTION OF NITROGEN FIXING AND PHOSPHATE SOLUBILIZING BACTERIA. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. PRAKITSIN SIHANONTH, Ph.D. 202 pp. ISBN 974-17-0419-4

Totally eighteen strains of bacterial with capable fix nitrogen and phosphate solubilize were isolated from various sources in nature. When analized nitrogen fixation by acethylene reduction technique and phosphate solubilization by colorimetric determination found that bacterial isolate M2 show the highest nitrogen fixing activity at 113.51 nmole/mg cell dry wt./hr. , N1 show highest phosphate solubilizing activity at 7.57 μg/ml and S54 show moderate both nitrogen fixing activity (50.05 nmole/mg cell dry wt./hr.) and phosphate solubilizing activity (5.90 μg/ml). These three bacterial strains were selected for further study.

The effect of carbon sources, nitrogen sources, pH of media and incubation temperature on the efficiency of nitrogen fixation and phosphate solubilization of selected three of bacterial strains were study. The results revealed that all 3 bacterial isolates showed best efficiency of nitrogen fixing activity when cultured in nitrigen free medium supplemented with glucose as the carbon source with pH of media at 7 and incubated temperature at 30°C. And all 3 isolates showed best effiency of phosphate solubilization when using ammoniumchloride as the nitrogen source and glucose as carbon source with pH of media at 5. The optimal temperature for phosphate solubilization of bacterial isolates N1 and S54 were at 30°C while bacterial isolate M2 was at 40 °C.

From these studies we concluded that bacterial isolate N1 were the highest in both nitrogen fixing and phosphate solubilizing efficiency, due to that it grew well at broad conditions and had acid tolerance property. Bacterial isolate M2 later lost high efficiency at nitrogen fixing which might caused by mutation.

Department/Program..Environmental Science.. Student's signature..Piyanuch Chantasuban.....

Field of study.....Environmental Science..... Advisor's signature..Prakitsin Sihanonth.....

Academic year.....2001.....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยช่วยเหลือเป็นอย่างดียิ่งของ รองศาสตราจารย์ ดร. ประกิตติ์สิน สีหนนทน์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้คำปรึกษา คำแนะนำ ตลอดจนข้อคิดเห็นต่างๆ รวมทั้งได้ช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พิพัฒน์ พัฒนผลไพบูรย์ ที่กรุณารับเป็นประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และได้ให้ข้อคิดเห็น ข้อแนะนำที่ช่วยทำให้การแก้ไขปรับปรุงวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สมใจ เพ็งสาย และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชาญวิทย์ โฆษิตานนท์ ที่กรุณารับเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และได้ให้ข้อคิดเห็น ข้อแนะนำที่ช่วยทำให้การแก้ไขปรับปรุงวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการทำวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าภาควิชาจุลชีววิทยา และเจ้าหน้าที่สหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อมทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการทำวิจัยครั้งนี้ด้วยดีตลอดมา

ขอขอบคุณ บัณฑิตวิทยาลัยและทบวงมหาวิทยาลัย ที่ให้เงินทุนสนับสนุนในการทำวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณ คุณศศิพร โกษลเกษรักษ์ และคุณกิติพงศ์ ปวรางกูล ที่ให้คำแนะนำและช่วยเหลือในการใช้เครื่องก๊าซโครมาโตกราฟฟี

ขอขอบคุณ คุณกัญญา ม่วงแก้ว เพื่อนๆ และน้องๆ ที่น่ารักทุกคนในห้องปฏิบัติการ 401 ที่ได้ให้กำลังใจและความช่วยเหลือในการทำวิจัยตลอดมา

ขอขอบคุณ พี่สาวและน้องชายของข้าพเจ้า ที่ให้ความสนับสนุน ช่วยเหลือ ทั้งแรงกายและแรงใจในการทำรายงานฉบับนี้

ท้ายที่สุดขอกราบขอบพระคุณ พ่อและแม่ที่เคารพรักยิ่งของข้าพเจ้า ที่ได้ให้โอกาสในการศึกษา สนับสนุนค่าใช้จ่าย ตลอดจนให้ความห่วงใยและเป็นกำลังใจแก่ข้าพเจ้าตลอดมา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ
กิตติกรรมประกาศ..... ฉ
สารบัญ..... ช
สารบัญตาราง..... ซ
สารบัญรูป..... ฎ
บทที่
1 บทนำ..... 1
1.1 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย..... 1
1.2 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 2
1.3 ขั้นตอนการวิจัย..... 2
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 3
2.1 ความสำคัญและสถานการณ์การใช้ปุ๋ย..... 3
2.2 ปัญหาที่เกิดจากการใช้ปุ๋ยเคมี..... 4
2.3 ความสำคัญของจุลินทรีย์ต่อการปรับปรุงดิน..... 5
2.4 การตรึงไนโตรเจนโดยแบคทีเรีย..... 5
2.5 การละลายฟอสเฟตโดยจุลินทรีย์..... 19
3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง..... 29
3.1 วัสดุและอุปกรณ์..... 29
3.2 วิธีการทดลอง..... 31
4 ผลการวิจัย..... 41
5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง..... 73
รายการอ้างอิง..... 79
ภาคผนวก..... 84
ภาคผนวก ก..... 85
ภาคผนวก ข..... 89
ภาคผนวก ค..... 91
ภาคผนวก ง..... 99
ภาคผนวก จ..... 146
ภาคผนวก ฉ..... 201
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์..... 202

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1. แสดงชนิดของจุลินทรีย์ที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้ (ดัดแปลงจาก Sprent, 1979) 10
2. แสดงตัวรับอิเลคตรอน ผลที่เกิดขึ้นและจำนวนอิเลคตรอนที่ใช้ในปฏิกิริยาที่กระตุ้นโดยเอนไซม์ไนโตรจีเนส..... 15
3. จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการละลายฟอสเฟต (Rao, 1982)..... 24
4. แบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟตที่แยกได้จากแหล่งต่างๆ..... 41
5. ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนจากปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นโดยวิธีอะเซธิลีน รีดักชันของแบคทีเรียที่แยกได้ทั้ง 18 สายพันธุ์ 43
6. ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตจากปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายของแบคทีเรีย 18 สายพันธุ์ เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่ใส่ไตรแคลเซียมฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัส ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 วัน..... 44
7. เรียงลำดับจากมากไปน้อยของประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนจากปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้น และประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตจากปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายในวันที่ 14 ของแบคทีเรียทั้ง 18 สายพันธุ์..... 45
8. ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนจากปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นเมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่แปรผันแหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคส ซูโครส และแมนนิทอล ความเป็นกรดด่าง 7.0±0.2 บ่มที่อุณหภูมิห้อง 48 ชั่วโมงของแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 M2 และ S54..... 47
9. ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนจากปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นเมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน และแปรผันแหล่งไนโตรเจนเป็นแอมโมเนียมคลอไรด์(NH_4Cl) โซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$) เปปโตน (Peptone) และไม่ได้เติมแหล่งคาร์บอน(N-free) ความเป็นกรด-ด่าง 7.0±0.2 บ่มที่อุณหภูมิห้อง 48 ชั่วโมงของแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 M2 และ S54..... 48
10. ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนจากปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้นเมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0±0.2 และแปรผันอุณหภูมิในการบ่มเชื้อเป็น 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมงของแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 M2 และ S54..... 50

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

11. ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนจากปริมาณเอธิลีนที่สร้างขึ้น เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน และแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5 6 7 8 และ 9 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมงของแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 M2 และ S54..... 51
12. ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตจากปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มีไตรแคลเซียมฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัส แปรผันแหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคส ซูโครส และแมนนิทอล ความเป็นกรด-ด่าง 7.0±0.2 และบ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน..... 53
13. ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตจากปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ M2 เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มีไตรแคลเซียมฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัส แปรผันแหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคส ซูโครสและแมนนิทอล ความเป็นกรด-ด่าง 7.0±0.2 และบ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน..... 54
14. ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตจากปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ S54 เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มีไตรแคลเซียมฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัส แปรผันแหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคส ซูโครสและแมนนิทอล ความเป็นกรด-ด่าง 7.0±0.2 และบ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน..... 55
15. ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตจากปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มีไตรแคลเซียมฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัส มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน แปรผันแหล่งไนโตรเจนเป็น แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) โซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$) เปปโตน(Peptone) และไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจน(N-free) ที่ความเป็นกรดด่าง 7.0±0.2 และบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน..... 56
16. ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตจากปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ M2 เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มีไตรแคลเซียมฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัส มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน แปรผันแหล่งไนโตรเจนเป็น แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) โซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$) เปปโตน(Peptone) และไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจน(N-free) ที่ความเป็นกรดด่าง 7.0±0.2 และบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน..... 57

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

17. ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตจากปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ S54 เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มีไตรแคลเซียมฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัส มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน แปรผันแหล่งไนโตรเจนเป็น แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) โซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$) เปปโตน(Peptone) และไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจน(N-free) ที่ความเป็นกรดด่าง 7.0±0.2 และบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน..... 59
18. ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตจากปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มีไตรแคลเซียมฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัส มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ความเป็นกรด-ด่าง 7.0±0.2 และแปรผันอุณหภูมิในการบ่มเชื้อเป็น 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 วัน..... 60
19. ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตจากปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ M2 เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มีไตรแคลเซียมฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัส มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ความเป็นกรด-ด่าง 7.0±0.2 และแปรผันอุณหภูมิในการบ่มเชื้อเป็น 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 วัน..... 61
20. ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตจากปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ S54 เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มีไตรแคลเซียมฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัส มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ความเป็นกรด-ด่าง 7.0±0.2 และแปรผันอุณหภูมิในการบ่มเชื้อเป็น 20 30 และ 40 องศาเซลเซียส ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 วัน..... 62
21. ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตจากปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มีไตรแคลเซียมฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัส มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน และแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5 6 7 8 และ 9 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 วัน..... 63

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

22. ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตจากปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ M2 เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มีไตรแคลเซียมฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัส มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน และแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5 6 7 8 และ 9 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 วัน..... 65
23. ผลการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตจากปริมาณฟอสเฟตในรูปสารละลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ S54 เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนที่มีไตรแคลเซียมฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัส มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน และแปรผันค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5 6 7 8 และ 9 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 วัน..... 66
24. สรุปสภาวะที่เหมาะสมต่อการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 M2 และ S54..... 67
25. สรุปสภาวะที่เหมาะสมต่อการละลายฟอสเฟตของแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 M2 และ S54..... 67
26. แสดงลักษณะและคุณสมบัติจากการทดสอบทางชีวเคมีของแบคทีเรีย N1 M2 และ S54..... 72

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1.	วัฏจักรของไนโตรเจน (Postgate,1982).....	7
2.	โครงสร้างของเอนไซม์ไนโตรจีเนสและการเกิดปฏิกิริยารีดิวซ์ก๊าซไนโตรเจน (Giller และ Wilson, 1991)	14
3.	วัฏจักรของฟอสฟอรัส (Rao, 1982).....	23
4.	ลักษณะของเซลล์และการย้อมติดสีแกรมของแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า	68
5.	ลักษณะของเซลล์และการย้อมติดสีแกรมของแบคทีเรียสายพันธุ์ M2 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า.....	69
6.	ลักษณะของเซลล์และการย้อมติดสีแกรมของแบคทีเรียสายพันธุ์ S54 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า.....	69
7.	ภาพถ่ายแบคทีเรียสายพันธุ์ N1 อายุ 3 วัน จากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดกำลังขยาย 15,000 เท่า.....	70
8.	ภาพถ่ายแบคทีเรียสายพันธุ์ M2 อายุ 3 วัน จากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดกำลังขยาย 15,000 เท่า.....	71
9.	ภาพถ่ายแบคทีเรียสายพันธุ์ S54 อายุ 3 วัน จากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราดกำลังขยาย 15,000 เท่า.....	72

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย