

การจำแนกชนิดและประเมินศักยภาพการละลายฟอสเฟตของ
TALAROMYCES ARGENTINENSIS DAS19079
IDENTIFICATION AND EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS
OF THE PHOSPHATE SOLUBILIZATION
BY *TALAROMYCES ARGENTINENSIS* DAS19079

สนทยา ขำติบ* กนกอร บุญพา อำนาจ เอี่ยมวิจารณ์ จำลอง เข้มทอง
กุลธิตา ประเสริฐสัง และ ยุพดี งามอุโฆษ

Sontaya Khamtib*, Kanokon Bunpha, Amnat Eamvijarn, Jumlong Khemtong,

Kunlathida Prasertsung, and Yuppadee Ngamaukos

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

Soil Science Research Group, Agriculture Production Science Research and Development Division,

Department of Agriculture

*corresponding author e-mail: skbiot@gmail.com

(Received: 20 March 2025; Revised: 11 May 2025; Accepted: 21 May 2025)

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อจำแนกชนิดและประเมินศักยภาพในการละลายฟอสเฟตของราไอโซเลท DAS19079 ภายใต้สภาวะค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ต่างๆ รา DAS19079 ถูกนำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยเพาะเลี้ยงบนอาหารชนิดต่างๆ ผลการศึกษา พบว่าโคโคนีมีลักษณะและสีที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารและช่วงระยะเวลาการบ่มรา DAS19079 สามารถเจริญและสร้างแอสโคมาได้ดีที่สุดในอาหาร Oat meal agar (OMA) หลังบ่ม 7 วัน และ 14 วัน การศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า รา DAS19079 สร้างแอสโคมาและแอสคัส รูปร่างกลม (Globose) หรือค่อนข้างกลม (Subglobose) ภายในแอสคัสบรรจุแอสโคสปอร์ที่มีลักษณะรูปรี (Ellipsoidal) ผนังมีหนาม จำนวน 8 แอสโคสปอร์ นอกจากนี้ยังพบการสร้างโคนิดีโอฟอร์ทั้งแบบ Biverticillate และ Monoverticillate อีกด้วย ส่วนการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของตำแหน่ง Internal transcribed spacer (ITS) พบว่า มีความคล้ายคลึงกับ *Talaromyces argentinensis* NRRL 28750 (NR_165525.1) มากที่สุด เท่ากับ 99.43 เปอร์เซ็นต์ (Query cover 97 เปอร์เซ็นต์) ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการยังบ่งชี้ว่ารา DAS19079 มีความใกล้เคียงกับ *T. argentinensis* มากที่สุด ส่วนการประเมินศักยภาพการละลายอนุมิเนียมฟอสเฟต แคลเซียมฟอสเฟต และเฟอริกฟอสเฟตของรา DAS19079 ภายใต้ pH 3–10 พบว่า รา DAS19079 สามารถละลายอนุมิเนียม

ฟอสเฟตและแคลเซียมฟอสเฟตได้ดีในสภาวะเป็นกรดถึงเป็นกลาง ขณะที่ความสามารถลดลงเมื่อค่าความเป็นกรด-ด่างสูงขึ้น สำหรับการละลายเพอร์ริกฟอสเฟต พบว่ามีประสิทธิภาพสูงสุดในช่วง pH 4–10 จากข้อมูลข้างต้นแสดงถึงความสามารถของรา DASI19079 ในการละลายฟอสเฟตภายใต้สภาวะ pH ที่หลากหลาย ซึ่งเป็นประโยชน์ในการประยุกต์ใช้รา DASI19079 ในรูปแบบของปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต

คำสำคัญ: ปุ๋ยชีวภาพ จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต จุลินทรีย์ดิน

Abstract

This research aims to identify and evaluate the phosphate-solubilizing potential of the fungus DASI19079 under different pH conditions. The morphological characteristics of DASI19079 were studied by culturing it on various media. The results indicated that the colony exhibited different appearances and colors depending on the type of medium and the incubation period. The fungus DASI19079 grew and produced ascomata most effectively on Oat meal agar (OMA) after 7 and 14 days of incubation. Microscopic examination revealed that DASI19079 formed globose or subglobose ascomata, with globose or subglobose asci containing eight ellipsoidal ascospores with spinose walls. Additionally, both biverticillate and monoverticillate conidiophores were observed. Nucleotide sequence analysis of the internal transcribed spacer (ITS) region showed the highest similarity (99.43%) to *Talaromyces argentinensis* NRRL 28750 (NR_165525.1), with 97% query cover. Phylogenetic analysis further indicated that DASI19079 is most closely related to *T. argentinensis*. The phosphate-solubilizing potential of DASI19079 was assessed for aluminum phosphate, calcium phosphate, and ferric phosphate under pH conditions ranging from 3 to 10. The results indicated that DASI19079 effectively solubilized aluminum phosphate and calcium phosphate in acidic to neutral conditions, while its ability decreased at higher pH levels. In contrast, ferric phosphate solubilization was most efficient at pH levels between 4 and 10. These findings demonstrate the ability of DASI19079 to solubilize phosphate under a wide range of pH conditions, highlighting its potential application as a phosphate-solubilizing biofertilizer.

Keywords: Biofertilizer, Phosphate solubilizing microorganism, Soil microorganism

บทนำ

ฟอสฟอรัส เป็นธาตุอาหารหลักที่มีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืช เนื่องจากฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบของสารสำคัญหลายชนิดในกระบวนการทางชีวเคมี เช่น Deoxyribonucleic acid DNA Ribonucleic acid RNA Adenosine triphosphate ATP Phospholipid และ Coenzyme ซึ่งสารประกอบดังกล่าวมีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยปกติพืชจะได้รับฟอสฟอรัสจากดินผ่านกระบวนการดูดซึมทางราก (Root uptake) ในรูปของไอออนฟอสเฟตที่ละลายในน้ำ ได้แก่ ไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (H_2PO_4^-) และโมโนไฮโดรเจนฟอสเฟต (HPO_4^{2-}) ถึงแม้ในดินจะมีฟอสฟอรัสทั้งหมดโดยเฉลี่ยร้อยละ 0.05 โดยน้ำหนัก (Illmer & Schinner, 1995) แต่พืชสามารถดูดใช้ได้เพียงร้อยละ 0.10 ของธาตุฟอสฟอรัสทั้งหมดในดิน (Illmer & Schinner, 1995) ซึ่งเป็นปริมาณที่น้อยมากๆ เนื่องจากฟอสฟอรัสในดินส่วนใหญ่อยู่ในรูปที่ไม่ละลายน้ำทั้งสารประกอบอนินทรีย์ฟอสเฟต (อลูมิเนียมฟอสเฟต (AlPO_4) แคลเซียมฟอสเฟต ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) และเฟอร์ริกฟอสเฟต (FePO_4)) และสารประกอบอินทรีย์ฟอสเฟต (ไฟเตต (Phytates) น้ำตาลฟอสเฟต (Sugar phosphate) โพลีฟอสเฟต (Polyphosphate) และฟอสโฟเนต (Phosphonate)) (Kalayu, 2019) ด้วยเหตุนี้ทำให้มีนักวิจัยจำนวนมากสนใจที่จะเพิ่มประสิทธิภาพความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสในดิน โดยการเปลี่ยนสารประกอบอินทรีย์และอินทรีย์ฟอสเฟตให้อยู่ในรูปของไอออนฟอสเฟตที่ละลายในน้ำ หนึ่งในแนวทางที่ได้รับความสนใจคือ การเติมจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตในดิน โดยทั่วไปแบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่มีประสิทธิภาพสูงมักอยู่ในสกุล *Pseudomonas* *Azotobacter* *Burkholderia* *Bacillus* และ *Rhizobium* (สนธยา และกนกอร, 2567; Jones & Oburger, 2011) ในขณะที่ราละลายฟอสเฟตที่มีประสิทธิภาพสูงมักพบในสกุล *Aspergillus* *Penicillium* และ *Talaromyces* (Sharma et al., 2013) ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้สามารถสร้างและปลดปล่อยกรดอินทรีย์หรือกรดอินทรีย์ออกมานอกเซลล์ ซึ่งช่วยกระตุ้นการละลายของสารประกอบอินทรีย์ฟอสเฟตที่อยู่รอบๆ เซลล์ นอกจากนี้จุลินทรีย์ยังละลายฟอสเฟตยังสามารถผลิตเอนไซม์ในกลุ่ม ฟอสฟาเตส (Phosphatase) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการปลดปล่อยฟอสฟอรัสจากสารประกอบอินทรีย์ในดิน ทำให้พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น

รา DASI19079 เดิมมีชื่อไอโซเลท RPS 003F ถูกคัดแยกมาจากตัวอย่างดินแปลงปลูกฝ้าย จังหวัดเลย และถูกจัดจำแนกชนิดเบื้องต้นโดยการพิจารณาจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาบนอาหาร Potato dextrose agar; PDA และระบุว่าเป็น *Penicillium* sp. RPS 003F โดย ภาวนา ลิกขานนท์ เนื่องจากพบลักษณะของโคนิดิโอฟอร์ทั้งแบบ Biverticillate และ Monoverticillate ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของราในสกุล *Penicillium* ต่อมาในปี พ.ศ. 2562 *Penicillium* sp. RPS 003F ได้รับการเก็บรักษาสายพันธุ์ไว้ ณ กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร และได้รับรหัสไอโซเลทเป็น DASI19079 แต่ยังคงขาดข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา

บนอาหารชนิดต่างๆ รวมถึงการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) ร่วมกับ รากอ้างอิง นอกจากนี้การทดสอบศักยภาพในการละลายฟอสเฟตของรากดังกล่าวส่วนใหญ่ มักดำเนินการในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เป็นกลาง ส่งผลให้ยังไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับ ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตภายใต้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่แตกต่างกัน

ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อจำแนกชนิดและประเมินศักยภาพในการละลายฟอสเฟต ของราละลายฟอสเฟต DAS19079 ภายใต้ pH ต่างๆ (3–10) เพื่อให้ได้ข้อมูลสำหรับนำไปต่อยอด พัฒนารูปแบบการใช้ราละลายฟอสเฟต DAS19079 สำหรับช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ฟอสฟอรัส ในดินที่มี pH แตกต่างกัน เพื่อลดปริมาณการใช้ปุ๋ยเคมีฟอสเฟตในระบบเกษตรกรรม

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

เลี้ยงราละลายฟอสเฟต DAS19079 บนอาหาร 6 ชนิด ได้แก่ Czapek yeast autolysate agar (CYA) Czapek yeast autolysate with 5%NaCl agar (CYAS) Blakeslee's malt extract autolysate agar (MEA) Oat meal agar (OMA) Potato dextrose agar (PDA) และ Yeast extract sucrose agar; YES บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส หลังบ่มเชื้อเป็นเวลา 7 วัน ทำการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง โคลิโคนี สังเกตและบันทึกลักษณะและสีของโคลิโคนี (Rayner, 1970) จากนั้นทำการศึกษาลักษณะ ผิวโคลิโคนี และการสร้างสารหลั่ง (Exudate) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (Olympus SZ61, Japan) ทำการศึกษาลักษณะแอสโคมา (Ascoma) แอสคัส (Ascus) แอสโคสปอร์ (Ascospores) และโคนิดิโอฟอร์ (Conidiophores) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ใช้แสงแบบเลนส์ประกอบ (Olympus BX43, Japan) ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า (Riddell, 1950)

2. การวิเคราะห์หาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (phylogenetic tree)

สกัดดีเอ็นเอจากเส้นใยราละลายฟอสเฟต DAS19079 โดยใช้ชุดสกัดดีเอ็นเอ Geneaid™ DNA Isolation Kit (Yeast) (Geneaid Biotech, Taiwan) จากนั้นเพิ่มปริมาณ DNA ที่ตำแหน่ง Internal transcribed spacer (ITS) ด้วยคู่ไพรเมอร์ ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') และ ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White et al., 1990) โดยใช้สารละลายผสม One PCR ultra (Gene DireX inc., Taiwan) ดำเนินการในเครื่องเทอร์โมไซเคิล (Multigene thermal cycler, Labnet International Inc., New Jersey, USA) โดยมีสภาวะในการทำงาน ดังนี้ 1) Pre-denaturation ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที 2) Denaturation ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 วินาที 3) Annealing ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที 4) Extension ที่ อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที โดยดำเนินการซ้ำในขั้นตอนที่ 2)–4) จำนวน 30 รอบ และ 5) Final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 นาที จากนั้นส่งตัวอย่าง PCR

product เพื่อวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ที่บริษัท MacroGen ประเทศสาธารณรัฐเกาหลี นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้เปรียบเทียบกับความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของราอ้างอิง ในฐานข้อมูล GenBank บนเว็บไซต์ของ The National Center for Biotechnology Information ; NCBI โดยใช้ Nucleotide blast เลือกฐานข้อมูล ITS from fungi type and references material เพื่อเปรียบเทียบ นำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง ITS ของราละลายฟอสเฟต DASI19079 และราอ้างอิง ที่ใกล้เคียงจากฐานข้อมูล ITS from fungi type and references material มาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) โดยใช้โปรแกรม MEGA 11 (Tamura, Stecher & Kumar, 2021) เลือกวิธีการจัดกลุ่มแบบ Neighbor-Joining method (Saitou & Nei, 1987) ทำการ Bootstrapping 1,000 ซ้ำ (Felsenstein, 1985)

3. การศึกษาผลของความเป็นกรด-ด่างต่อการละลายฟอสเฟตของรา DASI19079

เตรียมอาหาร Pikovskaya broth (Pikovskaya, 1948) ที่ปรับเปลี่ยนแหล่งฟอสเฟต 3 ชนิด ได้แก่ อลูมิเนียมฟอสเฟต (AlPO_4) แคลเซียมฟอสเฟต ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) และเฟอร์ริกฟอสเฟต (FePO_4) ปรับ pH เริ่มต้นของอาหารทดสอบให้ได้ 3 4 5 6 7 8 9 และ 10 ด้วย 1 N NaOH และ 1 N HCl โดยเตรียมอาหารทดสอบแต่ละค่า pH จำนวน 3 ขวด จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ใช้ใบมีดปลอดเชื้อตัดริมขอบของโคโลนีราละลายฟอสเฟต DASI19079 ที่เจริญบนอาหาร PDA หลังจากบ่มเชื้อเป็นเวลา 14 วัน ขนาด 1×1 เซนติเมตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ที่มีอาหาร Pikovskaya broth ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จำนวน 1 ขันต่อขวด นำไปบ่มบนเครื่องบ่มเขย่าที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เก็บตัวอย่างน้ำหมักก่อนการบ่ม และหลังบ่มที่เวลา 3 5 และ 7 วัน มาปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Kubota 6000, Kubota corp, Osaka, Japan) ที่ความเร็วรอบ 7,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำสารละลายส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์ความเข้มข้นของฟอสเฟตด้วยวิธี Molybdenum blue method (Murphy & Riley, 1962) นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of variance; ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's new multiple range test; DMRT หรือ DUNCAN โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ IRRISTAT for Dos ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการวิจัย

1. ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา DASI19079

ลักษณะและการเจริญของโคโลนีราละลายฟอสเฟต DASI19079 บนอาหารชนิดต่าง ๆ หลังบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ดังภาพที่ 1 และ 14 วัน ดังภาพที่ 2 พบว่า บนอาหาร CYA หลังบ่ม 7 วัน โคโลนีมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 22–30 มิลลิเมตร ลักษณะ

ฟูแน่น (Deep Floccose) สีเหลืองอ่อน (Straw, R 46) สร้างสารหลังใส และด้านใต้โคโลนีที่เจริญบนอาหาร CYA (CYA-R) สีน้ำตาลอ่อน (Vinous Buff, R 86) ขณะที่หลังบ่ม 14 วัน โคโลนีมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 36–52 มิลลิเมตร ลักษณะฟูแน่น สีขาว ตรงกลางสร้างแอลโคมา สีเหลืองอ่อน (Straw, R 46) สร้างสารหลังใสจนถึงชมพูเข้ม และ CYA-R สีน้ำตาลอ่อน (Vinous Buff, R 86)

บนอาหาร CYAS หลังบ่ม 7 วัน โคโลนีมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 14–17 มิลลิเมตร ลักษณะฟูแน่น (Floccose) สีขาว ไม่สร้างสารหลัง และด้านใต้โคโลนีที่เจริญบนอาหาร CYAS (CYAS-R) สีน้ำตาลอ่อน (Vinous Buff, R 86) ขณะที่หลังบ่ม 14 วัน โคโลนีมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 30–33 มิลลิเมตร ลักษณะฟูแน่น สีเหลืองอ่อน (Straw, R 46) ไม่พบการสร้างแอลโคมา สร้างสารหลังใสจนถึงเหลืองอ่อนเล็กน้อย และ CYAS-R สีน้ำตาลอ่อน (Vinous Buff, R 86)

บนอาหาร MEA หลังบ่ม 7 วัน โคโลนีมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 51–56 มิลลิเมตร ลักษณะเรียบไปกับผิวหน้าอาหาร (Plane) สีขาวจนถึงสีชมพูอมม่วง (Pale Vinous, R 85) ไม่สร้างสารหลัง และมีรอยแยก (Sulcate) ตรงกลางโคโลนี และด้านใต้โคโลนีที่เจริญบนอาหาร MEA (MEA-R) สีน้ำตาลอ่อน (Vinous Buff, R 86) จนถึงสีเหลืองอมน้ำตาล (Ochreous, R 44) ขณะที่หลังบ่ม 14 วัน โคโลนีมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 67–78 มิลลิเมตร ลักษณะเรียบไปกับผิวหน้าอาหาร คล้ายกำมะหยี่ (Velvet) สีชมพูอมม่วง (Pale Vinous, R 85) สร้างแอลโคมา สีเหลือง (Pure Yellow, R 14) และสร้างสารหลังใสเล็กน้อย และ MEA-R สีเหลืองอมน้ำตาล (Ochreous, R 44)

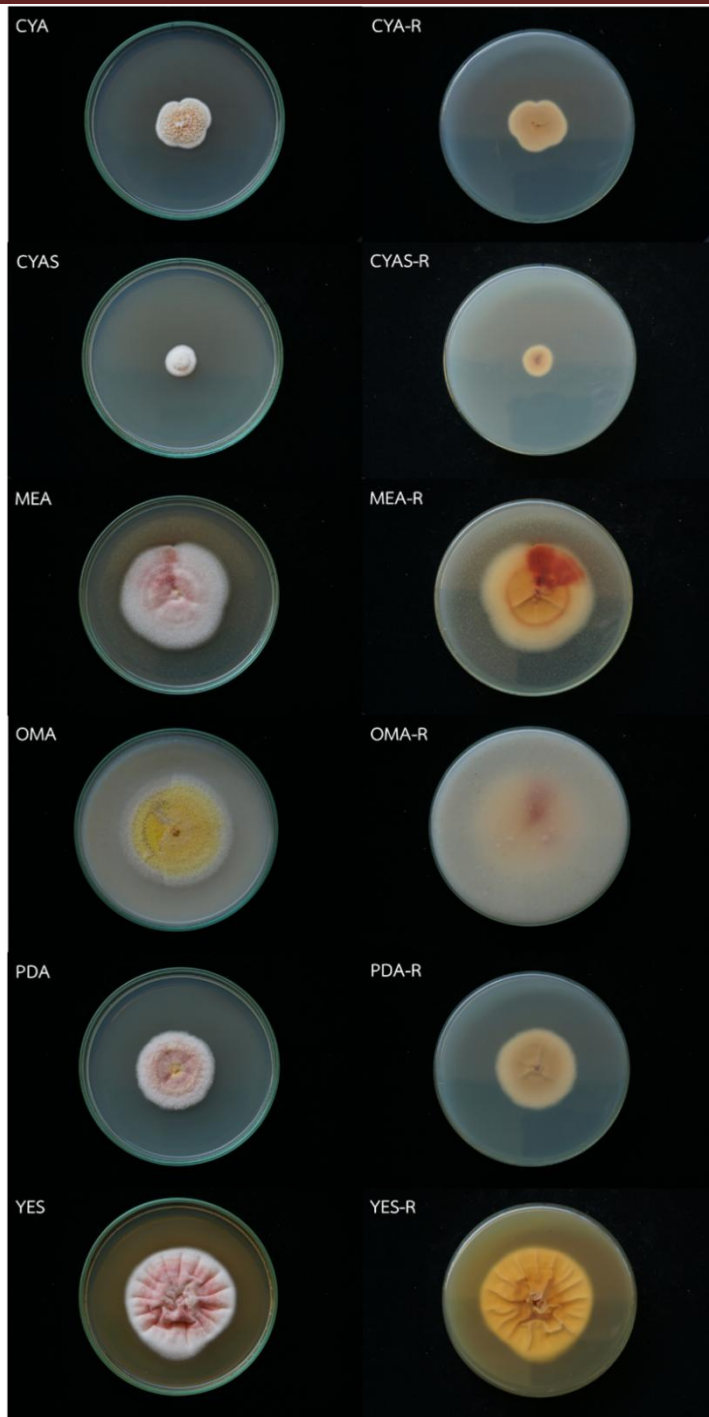
บนอาหาร OMA หลังบ่ม 7 วัน โคโลนีมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 53–55 มิลลิเมตร ลักษณะเรียบไปกับผิวหน้าอาหาร สีเหลือง (Pure Yellow, R 14) บริเวณขอบโคโลนีสร้างเส้นใยสีขาว สร้างแอลโคมาสีเหลือง (Pure Yellow, R 14) กระจายทั่วโคโลนี ไม่สร้างสารหลัง และด้านใต้โคโลนีที่เจริญบนอาหาร OMA (OMA-R) สีน้ำตาลอ่อน (Buff, R 45) ขณะที่หลังบ่ม 14 วัน โคโลนีมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 90 มิลลิเมตร (เจริญเต็มพื้นที่ผิวของจานเพาะเลี้ยง) ลักษณะเรียบไปกับผิวหน้าอาหาร สีเหลือง (Pure Yellow, R 14) สร้างแอลโคมาสีเหลือง (Pure Yellow, R 14) และสร้างสารหลังใสทั่วโคโลนี และ OMA-R สีชมพูอ่อน (Salmon, R 41) ถึงสีชมพูอ่อน (Flesh, R 37)

บนอาหาร PDA หลังบ่ม 7 วัน โคโลนีมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 38–43 มิลลิเมตร ลักษณะฟูมาก บริเวณขอบโคโลนี สีขาวจนถึงสีชมพูอมส้ม (Rosy Vinous, R 58) สร้างแอลโคมา สีเหลือง (Pure Yellow, R 14) จำนวนเล็กน้อย และสร้างไม่สร้างสารหลัง และมีรอยแยก ตรงกลางโคโลนี และด้านใต้โคโลนีที่เจริญบนอาหาร PDA (PDA-R) สีน้ำตาลอ่อน (Vinous Buff, R 86) ขณะที่หลังบ่ม 14 วัน โคโลนีมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 70–75 มิลลิเมตร ลักษณะฟู สีเหลือง

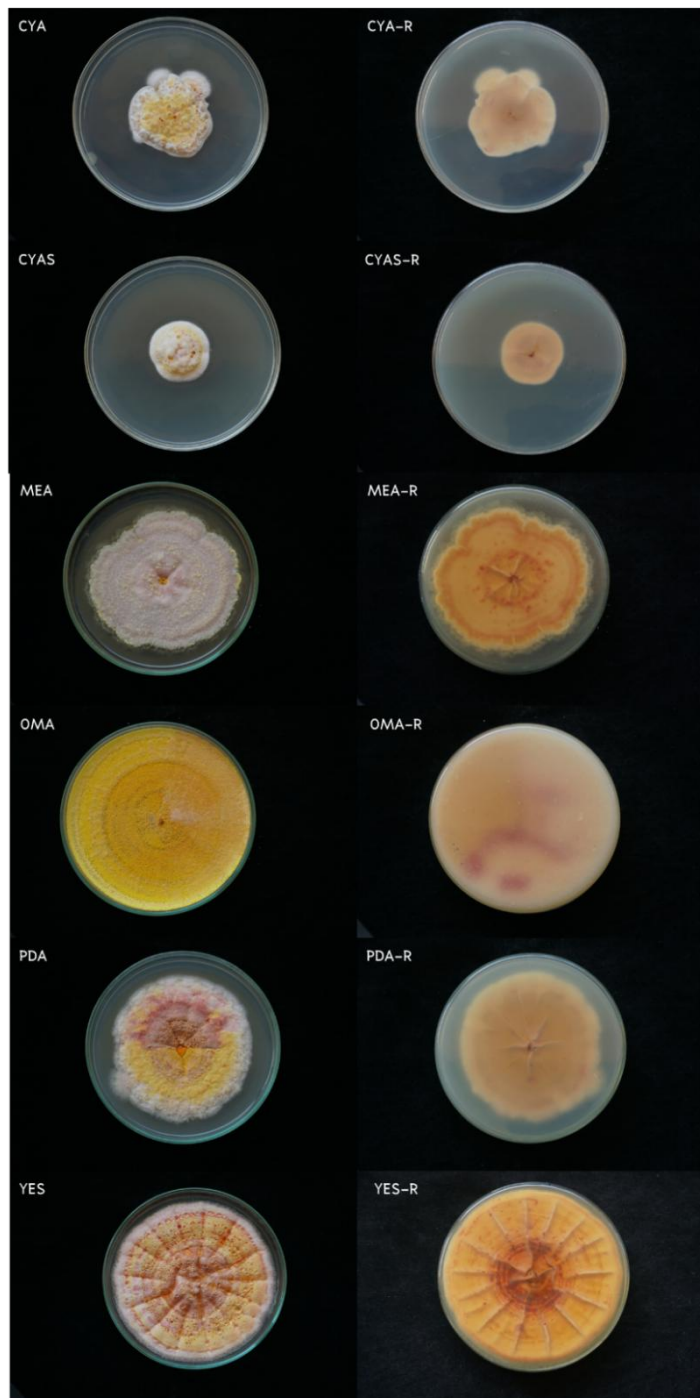
(Pure Yellow, R 14) บริเวณตรงกลาง สีชมพูอมส้ม (Rosy Vinaceous, R 58) ในส่วนที่เจริญงอกสร้างแอลโคมาสีเหลือง (Pure Yellow, R 14) และสร้างสารหลังสีส้มบริเวณที่มีอายุมากตรงกลางโคโลนี และมีรอยแยก ตรงกลางโคโลนี และ PDA-R สีน้ำตาลอ่อน (Vinaceous Buff, R 86) นอกจากนี้พบการสร้างโคนิดีโอฟอร์หลังบ่ม 2–4 วัน

บนอาหาร YES หลังบ่ม 7 วัน โคโลนีมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 53–66 มิลลิเมตร ลักษณะมีรอยย่นหรือร่องแนวรัศมีจากจุดกึ่งกลางถึงขอบโคโลนี (Wrinkled or radially furrowed) สีชมพูอ่อน (Flesh, R 37) ไม่สร้างสารหลัง และด้านใต้โคโลนีที่เจริญบนอาหาร YES (YES–R) สีน้ำตาลอ่อน (Vinaceous Buff, R 86) ขณะที่หลังบ่ม 14 วัน โคโลนีมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 86–90 มิลลิเมตร ลักษณะมีรอยย่นหรือร่องแนวรัศมีจากจุดกึ่งกลางถึงขอบโคโลนี สีชมพูอ่อน (Flesh, R 37) และสีเหลือง (Pure Yellow, R 14) บริเวณที่มีการสร้างแอลโคมาเล็กน้อย สร้างสารหลังใสจนถึงชมพูเข้ม และ YES–R สีน้ำตาล (Umber, R 9)

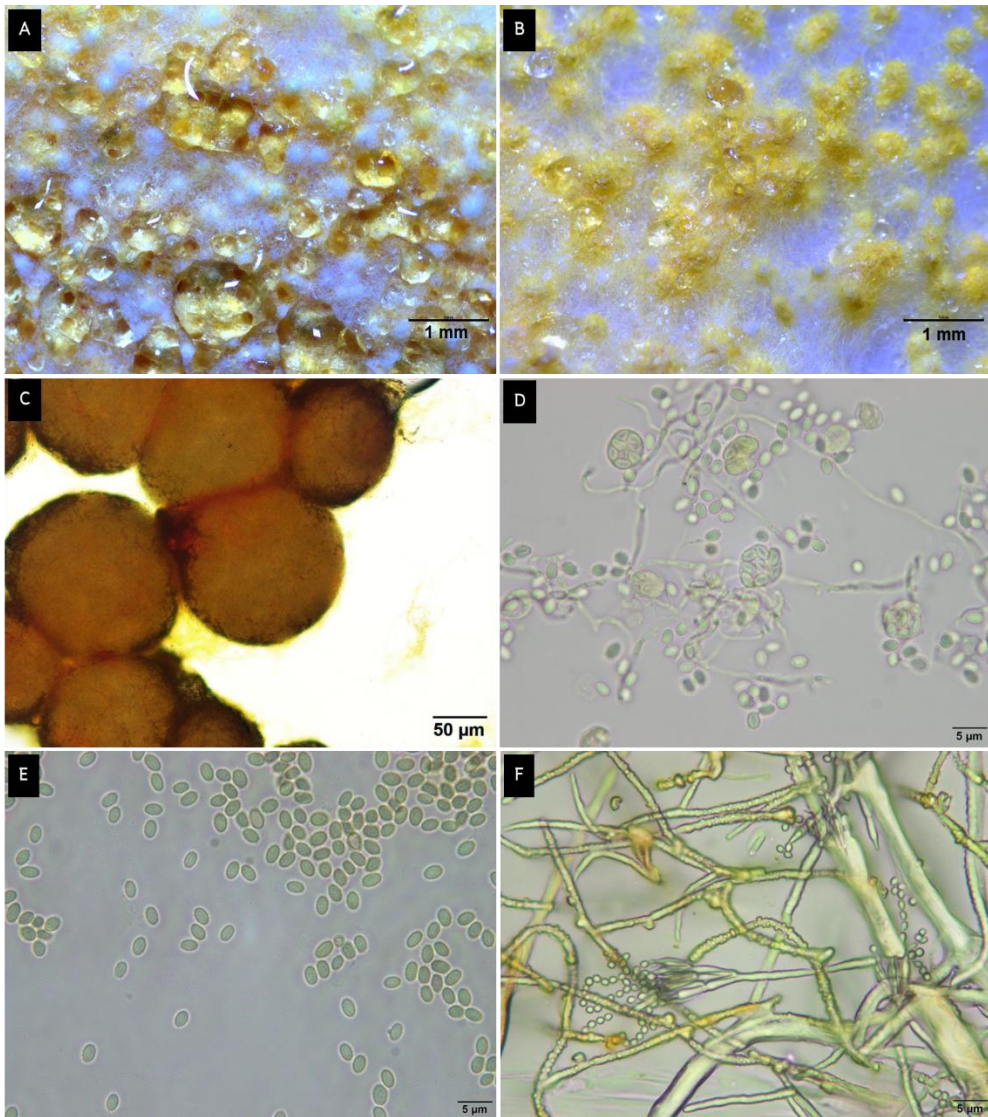
ราละลายฟอสเฟต DAS19079 เป็นราที่สร้างแอลโคมารูปร่างกลม (Globose) หรือค่อนข้างกลม (Subglobose) มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 240–470 ไมโครเมตร ดังภาพที่ 3(C) แอสคัส มีรูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลม ไม่มีสี (Uncolored) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7–10 ไมโครเมตร ภายในแอสคัสมี 8 แอสโคสปอร์ ดังภาพที่ 3(D) โดยแอสโคสปอร์มีลักษณะรูปรี (Ellipsoidal) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง $2.30\text{--}3.10 \times 1.60\text{--}2.40$ ไมโครเมตร ผนังมีหนาม (Spinose walls) ดังภาพที่ 3(D)–3(E) นอกจากนี้ราละลายฟอสเฟต DAS19079 สามารถสร้างโคนิดีโอฟอร์ ดังภาพที่ 3(F) ได้ทั้งแบบ Biverticillate และ Monoverticillate มีก้านโคนิดีโอฟอร์ยาว 8–75 ไมโครเมตร เมตูลา (Metulae) ยาว 3.60–5.70 ไมโครเมตร ไฟอะไลต์ (Phialides) ยาว 4.80–7.60 ไมโครเมตร โคนิเดีย (Conidia) มีรูปร่างค่อนข้างกลมจนถึงรี ขนาด $1.80\text{--}2.40 \times 1.80\text{--}2.90$ ไมโครเมตร เรียงตัวกันเป็นสายโซ่สั้นไม่เป็นระเบียบ (Short disordered chains)



ภาพที่ 1 โคโลนีของราละลายฟอสเฟต *T. argentinensis* DASI19079 ที่เจริญบนอาหาร CYA CYAS MEA OMA PDA และ YES และด้านใต้โคโลนี (CYA-R CYAS-R MEA-R OMA-R PDA-R และ YES-R) หลังการบ่มเชื้อเป็นระยะเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 2 โคโลนีของราละลายฟอสเฟต *T. argentinensis* DAS119079 ที่เจริญบนอาหาร CYA CYAS MEA OMA PDA และ YES และด้านใต้โคโลนี (CYA-R CYAS-R MEA-R OMA-R PDA-R และ YES-R) หลังการบ่มเชื้อเป็นระยะเวลา 14 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

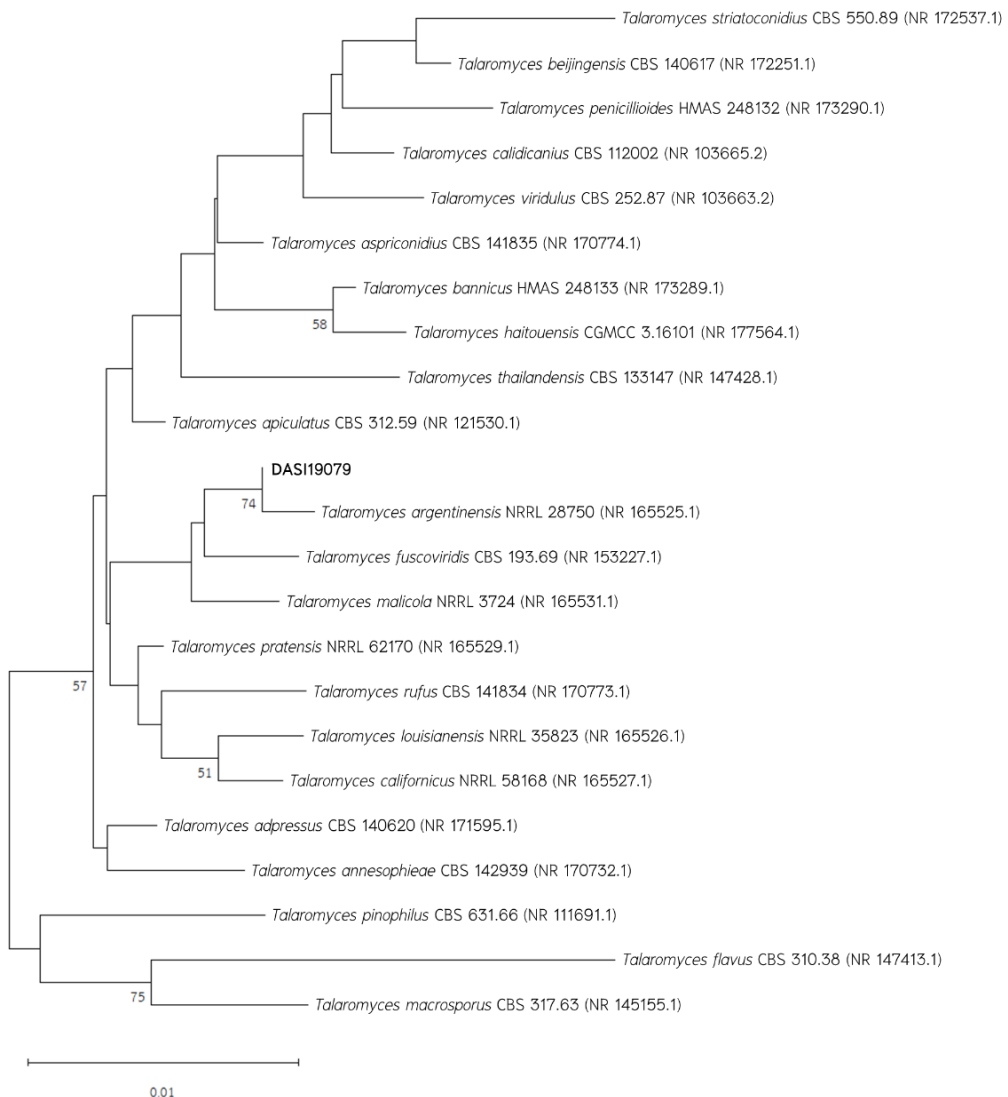


ภาพที่ 3 ลักษณะผิวโคโลนีและสารหลัง (A) และ (B) แอสโคมา (C) แอสคัส (D) แอสโคสปอร์ (D) และ (E) โคนิดิโอฟอร์และโคนิดีย (F) ของราละลายฟอสเฟต DASI19079 ที่เจริญบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

2. ผลวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของรา DASI19079

การวิเคราะห์หาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ โดยวิเคราะห์เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง ITS ของราละลายฟอสเฟต DASI19079 (PV533638.1) กับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง ITS ของราอ้างอิงในฐานข้อมูล GenBank พบว่า ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง

ITS ของราละลายฟอสเฟต DASI19079 มีขนาด 536 คู่เบส ความคล้ายคลึงกับ *Talaromyces argentinensis* NRRL 28750 (NR_165525.1) มากที่สุด เท่ากับ 99.43 เปอร์เซ็นต์ (Query cover 97 เปอร์เซ็นต์) และเมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของราละลายฟอสเฟต DASI19079 กับราในสกุล *Talaromyces* พบว่า ราละลายฟอสเฟต DASI19079 มีความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการอย่างใกล้ชิดกับ *T. argentinensis* มากที่สุด ดังภาพที่ 4



ภาพที่ 4 ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (Phylogenetic trees) ของลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง ITS ของราละลายฟอสเฟต DASI19079 และราในสกุล *Talaromyces* ตามวิธี Neighbour-joining โดยใช้โปรแกรม MEGA11 ทำการ bootstrap จำนวน 1,000 ซ้ำ

3. ผลของความเป็นกรด-ด่างต่อการละลายฟอสเฟตของรา DASI19079

ผลทดสอบความสามารถของการละลายอูมิเนียมฟอสเฟต แคลเซียมฟอสเฟต และเพอร์ริกฟอสเฟต ภายใต้สภาวะ pH 3–10 พบว่า ราละลายฟอสเฟต DASI19079 มีความสามารถในการละลายอูมิเนียมฟอสเฟตได้ดีที่สภาวะเป็นกรดถึงเป็นกลาง (pH 3–7) ขณะที่ความสามารถในการละลายอูมิเนียมฟอสเฟตลดลงอย่างชัดเจนที่สภาวะที่เป็นด่าง (pH 9–10) ดังตารางที่ 1 โดยการละลายอูมิเนียมฟอสเฟตที่ pH เท่ากับ 3 ให้ค่าความเข้มข้นของฟอสฟอรัสสูงสุดที่ 3 5 และ 7 วัน เท่ากับ 71.72 ± 1.2 81.89 ± 0.77 และ 86.87 ± 2.03 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร ตามลำดับ ขณะที่ pH เท่ากับ 10 ให้ค่าความเข้มข้นของฟอสฟอรัสต่ำสุด ที่ 3 5 และ 7 วัน เท่ากับ 21.56 ± 0.93 17.86 ± 1.28 และ 3.65 ± 1.19 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร ตามลำดับ

การละลายแคลเซียมฟอสเฟต มีแนวโน้มคล้ายกับการละลายอูมิเนียมฟอสเฟต คือ ราละลายฟอสเฟต DASI19079 มีความสามารถในการละลายแคลเซียมฟอสเฟตได้ดีที่สภาวะเป็นกรดถึงเป็นกลาง (pH 3–7) ขณะที่ความสามารถในการละลายแคลเซียมฟอสเฟตลดลงอย่างชัดเจนที่สภาวะที่เป็นด่าง (pH 10) ดังตารางที่ 2 โดยการละลายแคลเซียมฟอสเฟตที่ pH เท่ากับ 3 ให้ค่าความเข้มข้นของฟอสฟอรัสสูงสุด ที่ 3 วัน เท่ากับ 156.96 ± 1.16 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร แต่ที่ 5 และ 7 วัน พบว่า การละลายแคลเซียมฟอสเฟตที่ pH เท่ากับ 4 ให้ค่าความเข้มข้นของฟอสฟอรัสสูงสุดเท่ากับ 143.99 ± 1.75 และ 148.67 ± 2.51 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร ตามลำดับ ขณะที่ pH เท่ากับ 10 ให้ค่าความเข้มข้นของฟอสฟอรัสต่ำสุด ที่ 3 5 และ 7 วัน เท่ากับ 70.65 ± 1.50 85.98 ± 8.20 และ 96.45 ± 4.18 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร ตามลำดับ

การละลายเพอร์ริกฟอสเฟตมีแนวโน้มที่แตกต่าง คือ ราละลายฟอสเฟต DASI19079 มีความสามารถในการละลายเพอร์ริกฟอสเฟตได้ใกล้เคียงกันที่ pH 4–10 ดังตารางที่ 3 โดยการละลายเพอร์ริกฟอสเฟตที่ pH เท่ากับ 10 ให้ค่าความเข้มข้นของฟอสฟอรัสสูงสุด ที่ 3 วัน เท่ากับ 243.90 ± 3.24 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร แต่ที่ 5 วัน พบว่า การละลายเพอร์ริกฟอสเฟตที่ pH เท่ากับ 6 ให้ค่าความเข้มข้นของฟอสฟอรัสสูงสุด เท่ากับ 223.02 ± 2.84 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร แต่ไม่แตกต่างกับที่ pH เท่ากับ 4 (222.51 ± 2.87 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร) ขณะที่ 7 วัน การละลายเพอร์ริกฟอสเฟตที่ pH เท่ากับ 9 ให้ค่าความเข้มข้นของฟอสฟอรัสสูงสุด เท่ากับ 227.75 ± 2.84 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร แต่ไม่แตกต่างกับที่ pH เท่ากับ 4 5 7 8 และ 10 (ความเข้มข้นฟอสฟอรัส เท่ากับ 208.45 ± 3.59 225.67 ± 5.82 224.07 ± 2.93 224.50 ± 5.78 และ 226.02 ± 2.46 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร ตามลำดับ)

ตารางที่ 1 ผลของ pH ต่อการละลายอลูมิเนียมฟอสเฟตของรา DAS19079

ความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น	ความเข้มข้นฟอสฟอรัส (มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร)			
	ก่อนบ่ม	หลังบ่ม 3 วัน	หลังบ่ม 5 วัน	หลังบ่ม 7 วัน
3	17.33±1.06 ^a	71.72±1.21 ^a	81.89±0.77 ^a	86.87±2.03 ^a
4	6.41±0.82 ^c	46.03±1.47 ^b	53.27±1.37 ^b	55.86±2.61 ^b
5	5.90±0.37 ^c	36.98±1.93 ^c	40.43±1.44 ^c	47.50±2.03 ^c
6	5.69±0.77 ^c	37.63±1.09 ^c	36.67±2.67 ^d	42.95±3.44 ^{cd}
7	6.03±0.83 ^c	30.76±0.77 ^d	41.99±0.03 ^c	47.18±3.44 ^c
8	6.72±1.85 ^{bc}	32.27±1.98 ^d	38.05±0.68 ^d	39.48±2.69 ^d
9	9.40±1.26 ^b	24.03±0.95 ^e	32.49±1.91 ^e	23.86±1.54 ^e
10	18.91±3.30 ^a	21.56±0.93 ^f	17.86±1.28 ^f	3.65±1.19 ^f

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย±SD (n=3) ของความเข้มข้นฟอสฟอรัส ที่ตามด้วยอักษรในแนวตั้งที่เหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยใช้ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 2 ผลของ pH ต่อการละลายแคลเซียมฟอสเฟตของรา DAS19079

ความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น	ความเข้มข้นฟอสฟอรัส (มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร)			
	ก่อนบ่ม	หลังบ่ม 3 วัน	หลังบ่ม 5 วัน	หลังบ่ม 7 วัน
3.0	28.63±1.45 ^a	156.96±1.16 ^a	130.67±4.44 ^b	142.01±1.79 ^b
4.0	26.83±1.44 ^{ab}	133.89±3.66 ^b	143.99±1.75 ^a	148.67±2.51 ^a
5.0	25.14±1.01 ^{bc}	138.12±0.51 ^b	124.30±3.32 ^{bcd}	116.49±2.95 ^{cd}
6.0	25.19±0.67 ^{bc}	113.96±1.11 ^c	123.25±2.74 ^{cd}	118.85±3.38 ^c
7.0	25.18±0.97 ^{bc}	106.49±1.31 ^e	127.18±4.61 ^{bc}	113.48±3.71 ^{de}
8.0	24.82±0.43 ^c	108.39±0.44 ^d	116.01±6.49 ^d	110.15 ±1.46 ^e
9.0	24.71±1.28 ^c	114.05±3.24 ^c	127.81±2.82 ^{bc}	113.70±1.94 ^d
10.0	24.66±1.30 ^c	70.65±1.50 ^f	85.98±8.20 ^e	96.45±4.18 ^f

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย±SD (n=3) ของความเข้มข้นฟอสฟอรัส ที่ตามด้วยอักษรในแนวตั้งที่เหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยใช้ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 3 ผลของ pH ต่อการละลายเฟอร์ริกฟอสเฟตของรา DAS19079

ความเป็นกรด-ด่าง เริ่มต้น	ความเข้มข้นฟอสฟอรัส (มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร)			
	ก่อนบ่ม	หลังบ่ม 3 วัน	หลังบ่ม 5 วัน	หลังบ่ม 7 วัน
3.0	131.10±1.48 ^b	214.43±3.58 ^d	201.61±2.89 ^e	208.45±3.59 ^b
4.0	134.74±4.59 ^b	232.31±2.55 ^{bc}	222.51±2.87 ^a	224.01±3.26 ^a
5.0	97.18±2.99 ^f	205.92±3.71 ^e	202.39±1.83 ^e	225.67±5.82 ^a
6.0	132.59±2.48 ^b	233.11±2.37 ^{bc}	223.02±2.84 ^a	214.74±4.51 ^b
7.0	145.17±1.35 ^a	229.58±2.77 ^c	214.57±2.38 ^b	224.07±2.93 ^a
8.0	119.78±1.44 ^c	235.47±2.39 ^b	207.37±0.63 ^c	224.50±5.78 ^a
9.0	102.31±0.44 ^e	233.15±2.96 ^{bc}	214.57±1.93 ^b	227.75±2.84 ^a
10.0	115.52±1.86 ^d	243.90±3.24 ^a	213.51±0.95 ^b	226.02±2.46 ^a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย±SD (n=3) ของความเข้มข้นฟอสฟอรัส ที่ตามด้วยอักษรในแนวตั้งที่เหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยใช้ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

อภิปรายผล

ลักษณะสัณฐานวิทยาของรา DAS19079 หลังบ่ม 7 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โคโลนีมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบนอาหาร CYA 20–30 มิลลิเมตร CYAS 14–17 มิลลิเมตร MEA 51–56 มิลลิเมตร OMA 53–54 มิลลิเมตร PDA 38–43 มิลลิเมตร และ YES 53–66 มิลลิเมตร ซึ่งมีความคล้ายคลึงกับ *T. argentinensis* ที่สามารถเจริญได้ดีบนอาหาร MEA (50–52 มิลลิเมตร) OMA (38–40 มิลลิเมตร) และ PDA (47–52 มิลลิเมตร) (Peterson & Jurjević, 2019) นอกจากนี้พบว่า รา DAS19079 สามารถสร้างแอสโคมาสีเหลือง (Pure Yellow, R 14) กระจายทั่วโคโลนี ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับ *T. argentinensis* (Peterson & Jurjević, 2019) อย่างไรก็ตามความแตกต่างที่สำคัญระหว่างรา DAS19079 กับ *T. argentinensis* คือ DAS19079 สามารถเจริญเติบโตบนอาหาร CYAS (14–17 มิลลิเมตร) ขณะที่ *T. argentinensis* ไม่สามารถเจริญบนอาหารนี้ได้ ลักษณะสัณฐานวิทยาของรา DAS19079 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า มีความคล้ายคลึงกับราในสกุล *Talaromyces* 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *T. argentinensis* *T. flavus* และ *T. macrosporus* โดยเฉพาะลักษณะของแอสโคมาและแอสคัส อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาโดยรวมแล้ว รา DAS19079 มีความคล้ายคลึงกับ *T. argentinensis* มากที่สุด แต่ยังคงมีความแตกต่างบางประการ เช่น ขนาดของแอสโคสปอร์และโคนิเดียที่มีขนาดเล็กกว่า ดังตารางที่ 4

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง ITS ของรา DAS19079 กับราในสกุล *Talaromyces* แสดงให้เห็นว่ารา DAS19079 มีความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ

ใกล้เคียงกับ *T. argentinensis* มากที่สุด ดังนั้นจากข้อมูลที่กล่าวมาข้างต้นสามารถบ่งชี้ได้ว่ารา DASI19079 คือ *T. argentinensis*

ตารางที่ 4 ลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของรา DASI19079 *T. argentinensis* *T. flavus* และ *T. macrosporus*

ลักษณะ สัณฐานวิทยา	DASI19079	<i>T. argentinensis</i>	<i>T. flavus</i>	<i>T. macrosporus</i>
แอสโคมา				
-รูปร่าง	กลมหรือค่อนข้างกลม	กลมหรือค่อนข้างกลม	กลม	กลม
-ขนาด (ไมโครเมตร)	240–470	250–500	200–700	100–300
แอสคัส				
-รูปร่าง	กลม จนค่อนข้างกลม	กลม จนค่อนข้างกลม	ค่อนข้างกลม จนถึงรี	ค่อนข้างกลม จนถึงรี
-ขนาด (ไมโครเมตร)	7–10	10–12	8–11x7.50–9	13–18x11–14.50
-จำนวนแอสคัส (สปอร์)	8	8	8	8
แอสโคสปอร์				
-รูปร่าง	รูปร่างรี ผนังมีหนาม	รูปร่างรี ผนังมีหนาม	รูปร่างรี ผนังมีหนาม	รูปร่างรี ผนังมีหนาม
-ขนาด (ไมโครเมตร)	2.30–3.10x1.60–2.40	5–7x4–5	3.50–5x2.50–3.20	5–6.20x4.20–5
โคนิไดโอฟอร์				
-ความยาวก้าน (ไมโครเมตร)	8–75	15–65	24–250	24–250
-ความยาวมดลูก (ไมโครเมตร)	3.60–5.70	7–12	10–15	10–15
-ความยาวฟิเซไลต์ (ไมโครเมตร)	4.80–7.60	9–12	8–12	8–12
โคนิเดีย				
-รูปร่าง	ค่อนข้างกลม จนถึงรี	ค่อนข้างกลม จนถึงรี	ค่อนข้างกลม จนถึงรี	ค่อนข้างกลม จนถึงรี
-ขนาด (ไมโครเมตร)	1.80–2.40x1.80–2.90	2.50–3x2.50–3.50	2.20–3.50x2–2.50	2.20–3.50x2–2.50
-การจัดเรียง	สายโซ่สั้น ไม่เป็นระเบียบ	สายโซ่สั้น ไม่เป็นระเบียบ	สายโซ่สั้น ไม่เป็นระเบียบ	สายโซ่สั้น ไม่เป็นระเบียบ
เอกสารอ้างอิง	การทดลองนี้	Peterson & Jurjević, 2019	Stolk & Samson, 1972	Stolk & Samson, 1972

ปัจจุบันปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตนิยมใช้แบคทีเรียละลายฟอสเฟต เนื่องจากเพาะเลี้ยงได้ง่าย และตอบสนองต่อการละลายฟอสเฟตได้รวดเร็วภายใต้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม (Khan et al., 2007) อย่างไรก็ตามแบคทีเรียเหล่านี้มักมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่างและความชื้นในดิน ซึ่งส่งผลต่อการเจริญและประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟต (Sharma et al., 2013) ตรงกันข้ามกับราละลายฟอสเฟต เช่น *Aspergillus* spp. *Penicillium* spp. *Talaromyces* spp. ที่มีความสามารถในการปรับตัวและทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่แปรปรวน เช่น pH ความเค็ม และความแห้งแล้ง (Vassilev et al., 2006) อีกทั้งยังสามารถคงอยู่ในดินได้นาน และให้ผลระยะยาวในการช่วยละลายฟอสเฟตอย่างต่อเนื่อง (Vassilev et al., 2006) ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาที่พบว่า *T. argentinensis* DASI19079 สามารถเจริญและละลายฟอสเฟตได้ในช่วง pH ที่กว้างตั้งแต่ 4 ถึง 10 แสดงถึงความสามารถในการปรับตัวที่ดีต่อสภาพแวดล้อมที่หลากหลาย อีกทั้ง

ยังสามารถละลายฟอสเฟตได้หลายรูปแบบ ได้แก่ อลูมิเนียมฟอสเฟต แคลเซียมฟอสเฟต และเพอร์ริกฟอสเฟต ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ราในสกุล *Talaromyces* เป็นกลุ่มราที่มีรายงานความสามารถการละลายฟอสเฟตหลายสายพันธุ์ ตัวอย่างเช่น *T. funiculosus* SLS8 แสดงศักยภาพในการละลายแคลเซียมฟอสเฟตได้ในระดับสูง โดยให้ค่าความเข้มข้นของฟอสฟอรัสเท่ากับ 187 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร หลังบ่มเป็นเวลา 5 วัน (Kanse et al., 2015) เช่นเดียวกัน *T. flavus* BAFC 3125 มีความสามารถในการละลายแคลเซียมฟอสเฟต โดยให้ค่าความเข้มข้นของฟอสฟอรัส เท่ากับ 180 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังบ่ม 7 วัน ภายใต้สภาวะที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคส และแหล่งไนโตรเจนเป็นแอมโมเนียมซัลเฟต (Stefanoni Rubio et al., 2016) ในขณะที่ *T. aculeatus* ก็สามารถละลายแคลเซียมฟอสเฟตได้เช่นกัน โดยให้ค่าความเข้มข้นของฟอสฟอรัส เท่ากับ 125.60 มิลลิกรัมต่อลิตร (Suleman et al., 2021) จากข้อมูลดังกล่าว แสดงให้เห็นว่า *T. argentinensis* DAS19079 (148.67 ± 2.51 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อลิตร) มีศักยภาพการละลายฟอสเฟตใกล้เคียงกับสายพันธุ์อื่นในสกุลเดียวกันที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟต

นอกเหนือจากความสามารถการละลายฟอสเฟตแล้ว ยังมีรายงานความสามารถอื่นๆ ของ *T. argentinensis* ที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของพืช เช่น การละลายสารประกอบสังกะสี การผลิตกรดอินโดล-3-แอซิดิก (Indole-3-acetic acid; IAA) ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่สำคัญในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช และการผลิตไซเดอโรฟอร์ (Siderophore) ที่ช่วยเพิ่มการดูดซึมธาตุเหล็กเข้าสู่พืช (Airin et al., 2023) จากคุณสมบัติดังที่ได้กล่าวมา *T. argentinensis* จึงถือเป็นจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพสูงในการนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพ อย่างไรก็ตามการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่พร้อมใช้งานจำเป็นต้องศึกษารูปแบบที่เหมาะสม เช่น พงแห้ง เม็ด หรือของเหลว รวมถึงการศึกษากฎสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์กับพืชเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น ข้าว ข้าวโพด และมันสำปะหลัง เพื่อประเมินผลต่อการเจริญเติบโต การสะสมธาตุอาหาร และความทนทานต่อสภาพแวดล้อม

สรุปผลการวิจัย

จากผลการวิเคราะห์ลักษณะและการเจริญของโคไโลนี ลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง ITS แสดงให้เห็นว่าราละลายฟอสเฟต DAS19079 คือ ราสายพันธุ์ *T. argentinensis* ซึ่งยังไม่ได้ถูกจัด Risk group ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขเรื่องรายการเชื้อโรคที่ประสงค์ควบคุมตามมาตรา 18 พ.ศ. 2561 ฉบับที่ 2 พ.ศ. 2562 และฉบับที่ 3 พ.ศ. 2563 นอกจากนี้ยังพบว่า ราละลายฟอสเฟต DAS19079 มีประสิทธิภาพในการละลายอลูมิเนียมฟอสเฟตและแคลเซียมฟอสเฟตได้ดีที่สภาวะเป็นกรดถึงเป็นกลาง ขณะที่

ประสิทธิภาพในการละลายเฟอร์ริกฟอสเฟตได้ดีทั้งสภาวะที่เป็นกรดและด่าง ดังนั้นการนำราละลายฟอสเฟต DAS19079 ไปใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต เพื่อเพิ่มความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสจะให้ผลดีที่สุดในพื้นที่ดินที่เป็นกรดถึงเป็นกลาง และอาจจะมีประสิทธิภาพลดลงในพื้นที่ดินที่เป็นด่างจัด (≥ 9)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณการสนับสนุนด้านวิชาการ และการวิเคราะห์ตัวอย่างจากห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ปุ๋ยชีวภาพ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

เอกสารอ้างอิง

- สนธยา ขำดีป, และกนกกร บุญพา. (2567). การคัดแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่สามารถผลิตเอนไซม์ ACC DEAMINASE จากพื้นที่แล้งในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย. **PSRU Journal of Science and Technology**, 9(2), 58–71.
- Airin, A.A., Arafat, M.I., Begum, R.A., Islam, M.R., & Seraj, Z.I. (2023). Plant growth-promoting endophytic fungi of the wild halophytic rice *Oryza coarctata*. **Annals of Microbiology**, 73, 36.
- Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. **Evolution**, 39, 783–791.
- Illmer, P.A., & Schinner, F. (1995). Solubilization of inorganic calcium phosphates solubilization mechanism. **Soil Biology and Biochemistry**, 27, 257–263.
- Jones, D.L., & Oburger, E. (2011). **Solubilization of phosphorus by soil microorganisms**. In: Bünemann, E., Oberson, A. & Frossard, E. (eds.). Phosphorus in action: biological processes in soil phosphorus cycling. Berlin: Springer Berlin Heidelberg.
- Kalayu, G. (2019). Phosphate solubilizing microorganisms: promising approach as biofertilizers. **International Journal of Agronomy**, 4917256.
- Khan, M.S., Zaidi, A., & Wani, P.A. (2007). Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture – A review. **Agronomy for Sustainable Development**, 27, 29–43.
- Kanse, O.S., Whitelaw-Weckert, M., Kadam, T.A., & Bhosale H.J. (2015). Phosphate solubilization by stress-tolerant soil fungus *Talaromyces funiculosus* SLS8 isolated from the Neem rhizosphere. **Annals of Microbiology**, 65, 85–93.
- Murphy, J., & Riley, J.P. (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural water. **Analytica Chimica Acta**, 27, 31–36.
- Peterson, S.W., & Jurjević, Z. (2019). The *Talaromyces pinophilus* species complex. **Fungal Biology**, 123(10), 745–762.

- Pikovskaya, R.I. (1948). Mobilization of phosphorus in soil in connection with the vital activity of some microbial species. **Mikrobiologiya**, **17**, 362–370.
- Rayner, R.W. (1970). **A mycological colour chart**. London: The British Mycological Society.
- Riddell, R.W. (1950). Permanent stained mycological preparations obtained by slide culture. **Mycologia**, **42**, 265–270.
- Saitou, N., & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. **Molecular Biology and Evolution**, **4**, 406–425.
- Sharma, S.B., Sayyed, R.Z., Trivedi, M.H., & Gobi, T.A. (2013). Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. **Springerplus**, **2**, 587.
- Stefanoni Rubio, P.J., Godoy, M.S., Della Mónica, I.F., Pettinari, M.J., Godeas, A.M., & Scervino, J.M. (2016). Characterization of phosphate-solubilizing fungal strains from agricultural soils. **Current Microbiology**, **72**, 41–47.
- Stolk, A.C., & Samson, R.A. (1972). The genus *Talaromyces* studies on *Talaromyces* and related genera II. **Studies in Mycology**, **2**, 1–65.
- Suleman, D., Asrul, S., Suaib, S., Ambardini, S., Yanti, N.A., Boer, D., Yusuf, D.N., & Faad, H. (2021). Screening and identification of phosphate solubilizing fungi from Indonesian rhizosphere soils. In **Proceedings of The First Asian PGPR Indonesian Chapter International e-Conference 2021** (p. 99–109). Bali: Udayana University.
- Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA 11: Molecular evolutionary genetics analysis version 11. **Molecular Biology and Evolution**, **38**(7), 3022–3027.
- Vassilev, N., Vassileva, M., & Nikolaeva, I. (2006). Simultaneous P-solubilizing and biocontrol activity of microorganisms: potentials and future trends. **Applied Microbiology and Biotechnology**, **71**, 137–144.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J. & White, T.J. (eds.). **PCR protocols: a guide to methods and applications** (p.315–322). New York: Academic Press.