

การคัดแยกจุลินทรีย์ย่อยสลายฟอสเฟตจากดินแปลงนาข้าวอินทรีย์ในจังหวัดสุรินทร์
Isolation of Phosphate Solubilizing Microorganisms from
Organic Paddy Fields Soil in Surin Province

อรลัดดา เจือจันทร์¹ นีอร งามสุข² และ อุไรลักษณ์ พงษ์เกษ³
Juajun, O.¹, Ngamhui, N.² and Pongket, U.³

Abstract

Phosphate solubilizing bacteria were isolated from 16 organic rice field soil samples of Surin province. Soil sample properties such as pH were in the range of 4.19 - 6.62, total phosphate 379.62±22.87 to 44.21±6.80 mg/kg and available phosphorus 31.52±0.18 to 1.64±0.41 mg/kg. The Pikovskaya's solid medium was used to screen the effective phosphate solubilizing bacteria capable of solubilizing inorganic calcium phosphate complex form to a soluble form. Two isolates out of forty-five phosphate solubilizing bacteria were the highest solubility of phosphate. The isolated bacteria can be identified as *Burkholderia vietnamiensis* (PB1601) and *B. anthina/territorii* (PB1603), which has the phosphate solubilizing efficiency (PSE) on solid media with an average of 5.58±0.84 and 5.48±0.23, respectively. Both bacterial strains can dissolve phosphates in Pikovskaya's liquid medium containing tricalcium phosphate 5 mg/ml. In addition, *B. vietnamiensis* and *B. anthina/territorii* bacteria can increase soluble phosphate content of 11.02±2.21 and 7.10±0.17 mg/ml, respectively.

Keywords: Phosphate solubilizing bacteria, Organic rice field, Isolate, Pikovskaya's solid media

บทคัดย่อ

การคัดแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตของดินตัวอย่างจากแปลงนาข้าวอินทรีย์ในจังหวัดสุรินทร์จำนวน 16 แปลงนา โดยตัวอย่างดินมีค่าพีเอชระหว่าง 4.19 - 6.62 ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมด 379.62±22.87 ถึง 44.21±6.80 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืช 31.52±0.18 ถึง 1.64±0.41 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สามารถคัดแยกแบคทีเรียที่มี ประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตโดยใช้อาหารแข็ง Pikovskaya's ซึ่งละลายสารประกอบอินทรีย์แคลเซียมฟอสเฟตให้อยู่ใน รูปของเหลวได้จำนวน 45 ไอโซเลท แบคทีเรียที่คัดแยกได้จำนวน 2 ไอโซเลท มีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตได้มากที่สุด จำแนกได้สายพันธุ์ *Burkholderia vietnamiensis* (PB1601) และ *B. anthina/territorii* (PB1603) ให้ประสิทธิภาพในการ ละลายฟอสเฟต PSE บนอาหารแข็งมีค่าเฉลี่ย 5.58±0.84 และ 5.48±0.23 ตามลำดับ โดยแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์สามารถ ละลายฟอสเฟตในอาหารเหลว Pikovskaya's ที่มี tricalcium phosphate 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ยังพบว่า แบคทีเรีย *B. vietnamiensis* และ *B. anthina/territorii* ให้ฟอสเฟตละลายน้ำเพิ่มเป็น 11.02±2.21 และ 7.10±0.17 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

คำสำคัญ: แบคทีเรียละลายฟอสเฟต นาข้าวอินทรีย์ ไอโซเลท อาหารแข็ง Pikovskaya's

คำนำ

ฟอสฟอรัส (Phosphorus) จัดเป็นธาตุอาหารหลักที่มีความสำคัญรองจากธาตุไนโตรเจนสำหรับพืช ช่วยในการ เจริญเติบโตและการให้ผลผลิต ใช้ในขบวนการขนส่งและเก็บรักษาพลังงานในกระบวนการชีวเคมีของเซลล์พืช (Khan และคณะ,

¹ สาขาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ อ.เมือง จ.สุรินทร์ 32000

¹ Department of Agro-Industry, Faculty of Agriculture and Technology, Rajamangala University of Technology Isan, Surin Campus. Mueang District, Surin Province. 32000

² สาขาพืชศาสตร์ สิ่งทอ และการออกแบบ คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ อ.เมือง จ.สุรินทร์ 32000

² Department of Plant Science Textile and Design Faculty of Agriculture and Technology, Rajamangala University of Technology Isan, Surin Campus. Mueang District, Surin Province. 32000

³ สาขาวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ อ.เมือง จ.สุรินทร์ 32000

³ Department of Science and Mathematics, Faculty of Agriculture and Technology, Rajamangala University of Technology Isan, Surin Campus. Mueang District, Surin Province. 32000

2009) ซึ่งพืชต้องการในปริมาณมาก แต่พบเพียง 0.1 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณฟอสเฟตที่พบในดินในสภาพสารละลายที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ ซึ่งแสดงว่าฟอสเฟตในดินถูกตรึงไว้และละลายออกมาในดินค่อนข้างต่ำ (Pereira และ Castro, 2014) งานวิจัยทางการเกษตรสมัยใหม่เห็นความสำคัญของการจัดการด้านธาตุอาหารพืช โดยการใช้จุลินทรีย์เพื่อเพิ่มปริมาณธาตุฟอสฟอรัสในดินเป็นแนวทางที่น่าสนใจ เนื่องจากเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและค่าใช้จ่ายค่อนข้างต่ำในการเพิ่มธาตุอาหารฟอสฟอรัสให้กับพืช รวมทั้งเป็นปัจจัยสำคัญสำหรับวัฏจักรชีวเคมีธรณี จุลินทรีย์ย่อยสลายฟอสเฟต (phosphate solubilizing microorganisms (PSM) เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีความสามารถละลายและเป็นการเพิ่มแร่ธาตุฟอสเฟตในดินที่อยู่ในรูปอินทรีย์และอินทรีย์สำหรับพืชนำไปใช้ได้ (Rodriguez และ Fraga, 1999) โดยต้องอยู่ในรูป $H_2PO_4^-$ และ HPO_4^{2-} จุลินทรีย์บริเวณรอบรากพืชจะช่วยให้พืชเจริญเติบโตได้ดี กลุ่มจุลินทรีย์ย่อยสลายฟอสเฟตมีหลากหลายชนิดรวมถึงแบคทีเรีย เชื้อรา และแอคติโนมัยซิส มีความสามารถเหมือนกับกลุ่มจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจน ซึ่งสามารถผลิตฮอร์โมน ควบคุมระบบภูมิคุ้มกันต่างๆ ในเซลล์พืชได้ มักพบกลุ่มแบคทีเรียมากกว่าเชื้อรา และแอคติโนมัยซิส โดยมีปริมาณ 1 – 50 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนจุลินทรีย์ในดิน (Alam และคณะ, 2002) แบคทีเรียย่อยสลายฟอสเฟตส่วนใหญ่ที่พบในดิน ได้แก่ *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Serratia*, *Enterobacter*, *Rhodococcus* และ *Arthrobacter* (Mamta และคณะ, 2010; Karpagam และ Nagalakshmi, 2014; Pereira และ Castro, 2014) วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ เพื่อคัดเลือกจุลินทรีย์ย่อยสลายฟอสเฟตจากแปลงนาข้าว และศึกษาคุณสมบัติของจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การเก็บตัวอย่างดิน

เก็บตัวอย่างดินจากแปลงนาข้าวอินทรีย์ในจังหวัดสุรินทร์ 16 ตัวอย่าง โดยเก็บตัวอย่างดินห่างจากขอบนาประมาณ 1 เมตรทั้ง 4 ด้าน ขุดดินรอบรากต้นข้าว ลึกจากผิวดิน 6 - 15 เซนติเมตร ใส่ในถุงปราศจากเชื้อ (Pande และคณะ, 2017) ผสมดินให้เข้ากันภายในถุง ผึ่งให้แห้ง วิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมด และปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืช การวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของตัวอย่างดิน (กรมพัฒนาที่ดิน, 2553)

ชั่งตัวอย่างดินที่แห้งและร่อนแล้ว 20 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร อัตราส่วนดิน : น้ำ เท่ากับ 1 : 1 (w/w) ใช้แท่งแก้วคนให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้จนดินตกตะกอน วัด pH ตรงบริเวณใส และบันทึกค่า pH

การเตรียมดินสำหรับวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดและปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืช

นำดินตัวอย่างใส่ภาชนะอะลูมิเนียม กระจายดินในภาชนะ และอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนดินแห้ง ร่อนดินด้วยตะกร้าพลาสติกที่มีช่องว่าง เพื่อกรองสิ่งสกปรกออกจากดิน บดดินให้ละเอียด เก็บดินในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ การวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมด (ดัดแปลงจากกลุ่มวิจัยเกษตรเคมี, 2551)

นำดินอบแห้ง ชั่งประมาณ 1.0 กรัม เติมกรด HNO_3 เข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ย่อยบนเตาจนควันสีน้ำตาลหมด ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เติมกรด $HClO_4$ เข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ย่อยบนเตาจนสารละลายใส ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ให้ความร้อน 2 - 3 นาที ปิเปตสารละลาย 5 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 45 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 5 นาที เติมสารละลาย molybdovanadate reagent ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 420 นาโนเมตร เทียบกับ blank

$$\%P = \frac{\text{ppm P from standard curve} \times \text{dilution factor} \times 100}{\text{wt of sample (g)} \times 10^6}$$

$$\%P_2O_5 = \frac{\%P \times [(2 \times \text{Atomic wt. of P}) + (5 \times \text{Atomic wt. of O})]}{2 \times \text{Atomic wt. of P}}$$

การวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืช (Available Phosphorus) โดยวิธี Bray II (ดัดแปลงจาก กรมพัฒนาที่ดิน, 2553)

ชั่งตัวอย่างดินประมาณ 5.0 กรัม เติมน้ำยาสกัด Bray II ปริมาตร 40 มิลลิลิตร เขย่า 3 นาที กรองด้วยกระดาษกรอง No.5 ปิเปตสารละลายที่ได้ 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดสอบ เติมน้ำยา develop สี (สาร ascorbic acid ที่มี sulfuric-molybdate-tartrate solution) 16 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ครึ่งชั่วโมง นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ 882 นาโนเมตร นำมาคำนวณ โดย A คือ น้ำหนักของตัวอย่างดิน (กรัม) B คือ น้ำยาสกัด (มิลลิลิตร) X คือ ค่าที่อ่านได้ เทียบกับ Standard curve

$$\text{ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืช (P) (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)} = \frac{B \times X}{A}$$

ระบุชนิดของแบคทีเรียละลายฟอสเฟต

คัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพละลายฟอสเฟตบนอาหารแข็ง (PSE) และประสิทธิภาพละลายฟอสเฟตในอาหารเหลวได้ดีที่สุด จำนวน 2 ไอโซเลท ระบุ species ด้วยเทคนิค 16s DNA sequencing โดยส่งวิเคราะห์การจำแนกที่ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ตัวอย่างดินจากแปลงนาข้าวอินทรีย์ในพื้นที่จังหวัดสุรินทร์ จำนวน 16 ตัวอย่าง มีลักษณะของเนื้อดินแตกต่างกันออกไป โดยส่วนใหญ่เป็นดินร่วน 10 ตัวอย่าง และดินเหนียว 6 ตัวอย่าง ตัวอย่างดินส่วนใหญ่มีความเป็นกรดสูงในระดับกรดจัดมาก มีค่า pH 4.19±0.06 ถึง 6.62±0.06 ตัวอย่างดินที่มีปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดมากที่สุดปริมาณเฉลี่ย 379.62±22.87 มิลลิกรัม/กิโลกรัม คิดเป็นร้อยละ 0.038 หรือร้อยละฟอสฟอรัสในรูป P₂O₅ เท่ากับ 0.087 ตัวอย่างดินที่มีปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดน้อยที่สุดเฉลี่ย 44.21±6.80 มิลลิกรัม/กิโลกรัม หรือร้อยละ 0.004 คิดเป็นฟอสฟอรัสในรูป P₂O₅ ร้อยละ 0.010 ส่วนปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชเฉลี่ยสูงสุด 31.52±0.18 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และมีค่าน้อยที่สุดเท่ากับ 1.64±0.41 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตบนอาหารแข็งและอาหารเหลว

คัดแยกจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตจากตัวอย่างดินบนอาหารแข็ง Pikovskaya's agar บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 24-48 ชั่วโมง พบจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายฟอสเฟตได้ 45 ไอโซเลท ลักษณะการเกิดวงใสรอบโคโลนี หรือ Halo zone diameter เกิดจากแบคทีเรียมีเอนไซม์ย่อยสลายฟอสเฟต สามารถแยกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดได้ 5 ไอโซเลท คือ PB1601 PB1602 PB1603 PB0305 และ PB0601 (Figure 1) โดยแบคทีเรียไอโซเลท PB1602 มีค่าประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตมากที่สุดเท่ากับ 7.05±0.92 รองลงมาคือ ไอโซเลท PB1601 PB1603 PB0305 และ PB0601 มีค่า 5.58±0.84 5.48±0.23 4.54±0.08 และ 4.12±0.41 ตามลำดับ (Table 1) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Alam และคณะ (2002) ที่พบว่าจุลินทรีย์ย่อยสลายฟอสเฟตส่วนใหญ่มักเป็นกลุ่มแบคทีเรีย ซึ่งแบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่คัดแยกได้ทั้ง 5 ไอโซเลท เมื่อย้อมสี Gram stain พบว่า ติดสีแดงทุกไอโซเลท จัดเป็นแบคทีเรียแกรมลบ แบคทีเรียไอโซเลท PB1601 โคโลนีมีสีเหลืองอ่อน ขอบเรียบ ตรงกลางนูน และสีเข้มกว่ารอบๆ ไม่วาวแสง มีรูปแท่ง ไม่สร้างสปอร์ แต่พบว่าแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการละลายฟอสเฟตในอาหารเหลว Pikovskaya's มี 2 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท PB1601 และ PB1603 จึงนำไประบุสายพันธุ์ในขั้นต่อไป

ระบุชนิดของแบคทีเรียละลายฟอสเฟตด้วยเทคนิค 16S rDNA sequencing

นำแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการละลายฟอสเฟตในอาหารเหลว เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rDNA ในฐานข้อมูล โดยการส่งตัวอย่างตรวจวิเคราะห์ที่ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ พบว่าไอโซเลท PB1601 ใกล้เคียงกับรหัสพันธุกรรมของแบคทีเรีย *Burkholderia vietnamiensis* ส่วนไอโซเลท PB1603 มีความใกล้เคียงกับรหัสพันธุกรรมของแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Burkholderia anthina* และ *Burkholderia territorii* มากที่สุด 99.65% ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรีย PB1603 ซึ่งไม่สามารถแยกความแตกต่างของแบคทีเรียทั้งสองชนิดได้ชัดเจน หากต้องการแยกสายพันธุ์ให้ชัดเจนต้องศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณอื่น ๆ หรือลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมดของดีเอ็นเอ หรือเปรียบเทียบความเหมือนของดีเอ็นเอทั้งหมดด้วยวิธี DNA-DNA hybridization กับ Type strain ใกล้เคียงเพื่อจำแนกชนิดในระดับ species

สรุปผล

ตัวอย่างดินจากแปลงนาข้าวอินทรีย์ในพื้นที่จังหวัดสุรินทร์มีลักษณะเป็นดินร่วนและดินเหนียว โดยเป็นดินกรดจัดมาก ปริมาณฟอสเฟตทั้งหมดในดินมีค่า 44.21 - 379.62 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชมีค่า 1.64 - 31.52 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สามารถคัดแยกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตในอาหารแข็งได้ แบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการละลายฟอสเฟตบนอาหารแข็งคือ ไอโซเลท PB1601 และ PB1603 ให้ปริมาณฟอสฟอรัสในอาหารเหลวมากที่สุดตามลำดับ ระบุชนิดของแบคทีเรียด้วยเทคนิค 16s DNA sequencing โดยเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16s rDNA ในฐานข้อมูล พบว่า แบคทีเรียไอโซเลท PB1601 มีความใกล้เคียงกับแบคทีเรียสายพันธุ์ *Burkholderia vietnamiensis* และแบคทีเรียไอโซเลท PB1603 มีความใกล้เคียงกับแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์ โดยมีค่าความเหมือนกับแบคทีเรียสายพันธุ์ *Burkholderia anthina* และ *Burkholderia territorii* จึงนำแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ไปทดสอบการปลูกข้าวในการทดลองต่อไป

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคณะกรรมการศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ที่ได้สนับสนุนการทำวิจัยในครั้งนี้ ตลอดจนเอื้อเฟื้ออุปกรณ์ สารเคมี และสถานที่ในการดำเนินงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- กรมพัฒนาที่ดิน, 2553, คู่มือการปฏิบัติงาน: กระบวนการวิเคราะห์ตรวจสอบดินทางเคมี. แก้ไขครั้งที่ 1. 1-51.
- กลุ่มวิจัยเกษตรเคมี, 2551, คู่มือวิธีวิเคราะห์ปุ๋ยเคมี. สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 66 หน้า.
- Alam, S., Khalil, S., Ayub, N. and Rashid, M., 2002, In Vitro Solubilization of Inorganic Phosphate by Phosphate Solubilizing Microorganism (PSM) from Maize Rhizosphere, *International Journal of Agriculture and Biology*, 4: 454-458.
- Karpagam, T. and Nagalakshmi, P.K., 2014, Isolation and Characterization of Phosphate Solubilizing Microbes from Agricultural Soil, *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(3): 601-614.
- Khan, A.A., Jilani, G., Akhtar, S.M., Naqvi, S.M.S. and Rasheed, M., 2009, Phosphorus Solubilizing Bacteria: Occurrence, Mechanisms and Their Role in Crop Production, *Research journal of Agriculture and Biological Sciences*, 1(1): 48-58.
- Mamta, R.P., Pathania, V., Gulati, A., Singh, B., Bhanwra, R.K. and Tewari, R., 2010, Stimulatory Effect of Phosphate-solubilizing Bacteria on Plant Growth, Stevioside and Rebaudioside-A Contents of *Stevia rebaudiana* Bertoni, *Applied Soil Ecology*, 46: 222-229.
- Pande, A., Pandey, P., Mehra, S., Singh, M. and Kaushik, S., 2017, Phenotypic and Genotypic Characterization of Phosphate Solubilizing Bacteria and Their Efficiency on the Growth of Maize, *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 15: 379-391.
- Pereira, S.I.A. and Castro, P.L., 2014, Phosphate-solubilizing Rhizobacteria Enhance *Zea mays* Growth in Agricultural P-deficient Soils, *Journal of Ecological Engineering*, 73: 526-535.
- Rodriguez, H. and Fraga, R., 1999, Phosphate Solubilizing Bacteria and Their Role in Plant Growth Promotion, *Biotechnology Advances*, 17: 319-339.

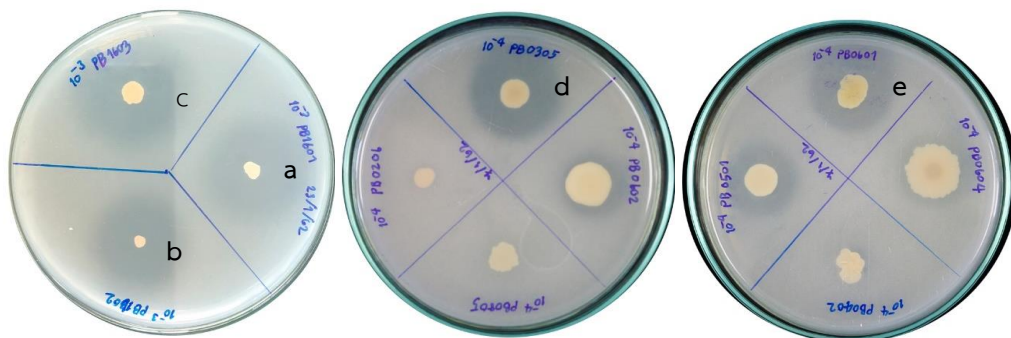


Figure 1 Halo zone or clear zone of the effective phosphate solubilizing bacteria

a) PB1601, b) PB1602, c) PB1603, d) PB0305 and e) PB0601.

Table 1 Properties of five effective phosphate solubilizing bacteria.

Isolate	Colony diameter* (cm)	Halo zone diameter* (cm)	PSE*	Phosphorus** (mg/ml)
PB1601	0.51±0.07	2.30±0.15	5.58±0.84 ^b	11.02±2.21 ^a
PB1602	0.38±0.06	2.26±0.07	7.05±0.92 ^a	4.45±1.44 ^{b,c}
PB1603	0.57±0.03	2.57±0.15	5.48±0.23 ^b	7.10±0.17 ^{b,c}
PB0305	0.79±0.03	2.78±0.05	4.54±0.08 ^{b,c}	5.81±0.40 ^{b,c}
PB0601	0.85±0.13	2.62±0.10	4.12±0.41 ^c	3.18±1.69 ^c

Note: PSE: Phosphate Solubilization Efficiency, * Results in Pikovskaya's agar, ** Results in Pikovskaya's broth

Values are means of triplicate determination. Values within the same column followed by different superscript are significant difference (p ≤ 0.05).