



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ปฐพีวิทยา)

ปริญญา

ปฐพีวิทยา	ปฐพีวิทยา
สาขา	ภาควิชา
เรื่อง	การแยกและศึกษาลักษณะของแบคทีเรียละลายฟอสเฟต
	Isolation and Characterization of Phosphate-Solubilizing Bacteria
นามผู้วิจัย	นางสาวสุภาพร จันรุ่งเรือง
ได้พิจารณาเห็นชอบโดย	
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	(ผู้ช่วยศาสตราจารย์กรรณิการ์ สัจจาพันธ์, Ph.D.)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนูชัย กองแก้ว, D.Agr.)
หัวหน้าภาควิชา	(ผู้ช่วยศาสตราจารย์พิบูลย์ กังแสง, วท.ม.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญจนา วีระกุล, D.Agr.)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การแยกและศึกษาลักษณะของแบคทีเรียละลายฟอสเฟต

Isolation and Characterization of Phosphate-Solubilizing Bacteria

โดย

นางสาวสุภาพร จันรุ่งเรือง

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ปฐพีวิทยา)

พ.ศ. 2553

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ศุภาพร จันรุ่งเรือง 2553: การแยกและศึกษาลักษณะของแบคทีเรียละลายฟอสเฟต
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ปฐพีวิทยา) สาขาปฐพีวิทยา ภาควิชาปฐพีวิทยา อาจารย์
ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์กรรณิการ์ สัจจาพันธ์, Ph.D. 107 หน้า

การคัดแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตจำนวน 24 ไอโซเลต จากดินนากรดกำมะถัน (paddy acid sulfate soil) ดินไร่ที่เป็น upland sesquioxide soil และ ดินไร่ที่เป็น upland calcareous soil จำนวน 8 ชุดดิน ได้แก่ ชุดดินรังสิต ชุดดินอยุธยา ชุดดินโชคชัย ชุดดินปากช่อง ชุดดินโยธธ ชุดดินตาคี ชุดดินลพบุรี และชุดดินลำน้ำราชนัด และทำการทดสอบการละลายไตรแคลเซียมฟอสเฟต (TCP) ในหลอดทดลอง เพื่อคัดเลือกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในอาหารเหลว ซึ่งฟอสฟอรัสที่ละลายได้จะถูกปลดปล่อยออกมาในอาหารเหลว National Botanical Research Institute' phosphate growth medium (NBRIP) ที่มีไตรแคลเซียมฟอสเฟตอยู่ ผลการทดลองพบว่า สายพันธุ์ Rs 01 มีประสิทธิภาพในการละลายและการปลดปล่อยอินทรีย์ฟอสฟอรัสได้ 878.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากการบ่มทิ้งไว้ 3 วัน จากนั้นทำการระบุชนิดของสายพันธุ์ Rs 01 โดยการทดสอบแหล่งคาร์บอนด้วยวิธี Biolog microlog system พบว่าเป็น *Burkholderia multivorans* เมื่อนำ สายพันธุ์ Rs 01 มาทดสอบประสิทธิภาพต่อการเจริญเติบโตของพืช พบว่า การเติมสายพันธุ์ Rs 01 ร่วมกับการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนและโพแทสเซียมทำให้ความสูง เส้นรอบวง และน้ำหนักแห้งของข้าวโพดหวาน พันธุ์อินทรี 2 ที่ระยะออกใหม่ (54 วัน) และระยะเก็บเกี่ยว (75 วัน) ไม่แตกต่างกับการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมร่วมกัน อย่างไรก็ตาม ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินหลังการเก็บเกี่ยวข้าวโพดหวานมีปริมาณมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ตอนเริ่มต้น

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

Supaporn Junrungreang 2010: Isolation and Characterization of Phosphate-Solubilizing Bacteria. Master of Science (Soil Science), Major Field: Soil Science, Department of Soil Science. Thesis Advisor: Asistant Professor Kannika Sajjaphan, Ph.D. 107 pages.

Twenty four Phosphate solubilizing bacteria were isolated from paddy acid sulfate soils, upland sesquioxide soils and upland calcareous soils which are Rangsit series, Ayutthaya series, Chok Chai series, Pak Chong series, Yasothon series, Takhli series, Lop Buri series and Lam Narai series. They were tested for their efficacy to solubilize tri-calcium phosphate (TCP) *in vitro*. The results showed high solubilizing index in liquid medium. Also, they effectively solubilized TCP in National Botanical Research Institutue' phosphate growth medium (NBRIP) and released amounts of P into medium. The efficiency of strain Rs 01 to solubilize and release the inorganic P was approximately 878.5 mg/kg after three days of incubation. Biolog carbon source analysis indicated that the isolated bacterium was *Burkholderia multivarans*. In pot experiment, the inoculation of strain Rs 01 with nitrogen (NH_4^+) and potassium (K^+) fertilizers showed that the height, circumference, dry weight of sweet corn at silking (54 days) and harvesting stage (75 days) were not different from treatment with nitrogen, phosphorus and potassium chemical fertilizers. However, soil analysis showed that the available P, were significantly increased when compared to the initial soil.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กรรณิการ์ สัจจาพันธ์ ประธานกรรมการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธนุชัย กองแก้ว กรรมการร่วม ที่ให้คำปรึกษา คำแนะนำ ทั้งในเรื่องการเรียน การวางแผนการทดลอง ตลอดจนการแก้ไขเล่มวิทยานิพนธ์ ขอขอบคุณ ดร. ศิริลักษณ์ จิตอักษร ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอกในการสอบปากเปล่าขั้นสุดท้าย ที่ให้คำแนะนำเกี่ยวกับการเขียนวิทยานิพนธ์ และขอขอบคุณอาจารย์เพชรดา เจริญมิตร นางสาวพิมพ์ภัค หีบเงิน นางสาวเบญจมา สรโสภา ที่คอยช่วยเหลือและให้คำแนะนำในการทำการทดลองและการเขียนเล่มวิทยานิพนธ์ เพื่อให้เล่มวิทยานิพนธ์มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณนางเบญจรัตน์ อนันต์พงศ์สุข ผู้อำนวยการสำนักวิจัยและพัฒนาการจัดการที่ดิน กรมพัฒนาที่ดิน ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้ห้องปฏิบัติการ และเครื่องมือสำหรับทำการทดลอง และขอบคุณน้องๆ ที่สำนักเทคโนโลยีชีวภาพดิน กรมพัฒนาที่ดิน นางสาวศรียุญา โชติชุติพันธ์ นายโกศล เคนทะ นางสาวสิรินภา ชินอ่อน และนายชัยสิทธิ์ วัฒนาวังจงสุข และขอขอบคุณน้องๆ ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ภาควิชาปฐพีวิทยา ทั้งนายวิศรุต วิชัยวิทย์ นางสาวหรรษรัตน์ แดงเจริญ และนางสาวพรพิมล บัวขาวเกาะ ที่คอยให้ความช่วยเหลือขณะที่ทำการทดลองทั้งในห้องปฏิบัติการ และเรือนทดลอง

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณพ่อ แม่ พี่น้อง และญาติทุกคน ที่คอยเป็นกำลังใจเสมอมา

สุภาพร จันรุ่งเรือง

มีนาคม 2553

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	25
อุปกรณ์	25
วิธีการ	25
ผลการทดลองและวิจารณ์	39
สรุป	76
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	77
ภาคผนวก	91
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	107

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	สารประกอบอนินทรีย์ฟอสฟอรัสที่พบทั่วไปในดิน	13
2	ราคาแม่ปุ๋ยฟอสเฟต 18-46-0 (P) (SE Asia cfr) ในตลาดโลก	15
3	การละลายฟอสฟอรัสในรูป $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, Hydroxyapatite และ Rock phosphate	19
4	แบคทีเรียบางชนิดที่สามารถเปลี่ยนฟอสฟอรัสจากรูปอนินทรีย์ไปเป็นรูปอนินทรีย์ได้	20
5	รายชื่อชุดดินที่เป็นตัวแทนดินกรดและดินด่างและสถานที่เก็บตัวอย่างดิน	26
6	อาหาร NBRIP ที่มี $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ เป็นแหล่งฟอสเฟต	30
7	อาหาร NBRIP ที่มี AlPO_4 เป็นแหล่งฟอสเฟต	31
8	อาหาร NBRIP ที่มี FePO_4 เป็นแหล่งฟอสเฟต	32
9	ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และค่าปฏิกิริยาดินในดินนากรดกำมะถัน (Paddy acid sulfate soils) ของชุดดินอยุธยา (Ay)	40
10	ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และค่าปฏิกิริยาดินในดินนากรดกำมะถัน (Paddy acid sulfate soils) ของชุดดินรังสิต (Rs)	41
11	ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และค่าปฏิกิริยาดินในดินไร่ที่เป็น upland sesquioxide soils ของชุดดินโชคชัย (Ci)	43
12	ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และค่าปฏิกิริยาดินในดินไร่ที่เป็น upland sesquioxide soils ของชุดดินปากช่อง (Pc)	44
13	ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และค่าปฏิกิริยาดินในดินไร่ที่เป็น upland sesquioxide soils ของชุดดินยโสธร (Yt)	45
14	ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และค่าปฏิกิริยาดินในดินไร่ที่เป็น upland calcareous soils ของชุดดินลพบุรี (Lb)	47
15	ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และค่าปฏิกิริยาดินในดินไร่ที่เป็น upland calcareous soils ของชุดดินลำานารายณ์ (Ln)	48
16	ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และค่าปฏิกิริยาดินในดินไร่ที่เป็น upland calcareous soils ของชุดดินตากลิ (Tk)	49
17	ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และค่าปฏิกิริยาดินในดินที่ใช้สำหรับการแยกเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟต	52

สารบัญตาราง (ต่อ)

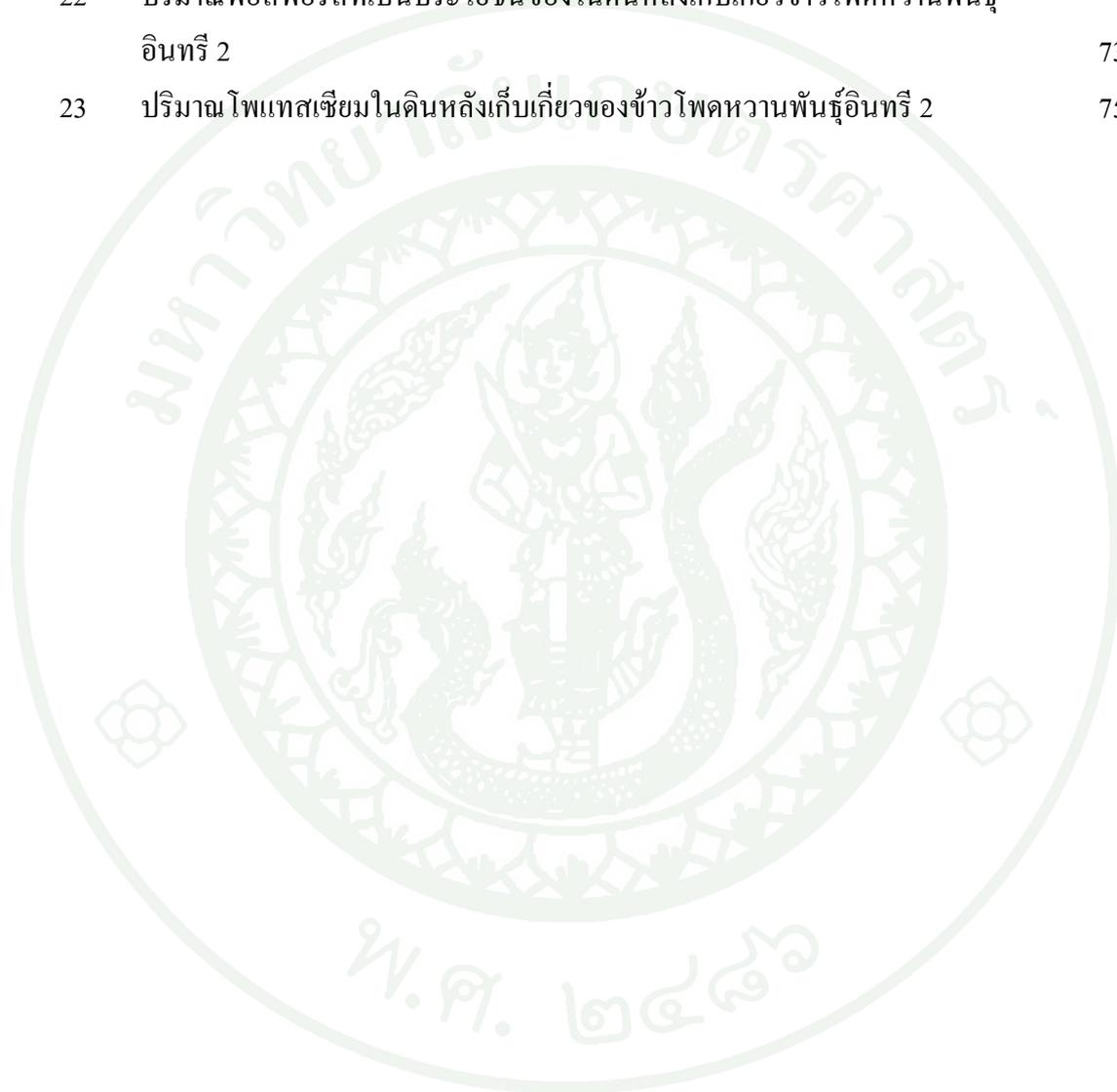
ตารางที่		หน้า
18	จำนวนแบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่คัดแยกได้จากชุดดินต่างๆ	53
19	ปริมาณฟอสเฟตที่ละลายในรูปต่างๆ	55
20	สมบัติบางประการของดินทดลองก่อนปลูก	57
ตารางผนวกที่		
1	ระดับความรุนแรงของปฏิกิริยา	92
2	ระดับของไนโตรเจนในดิน (%)	93
3	ระดับของฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (available P) (Bray)	94
4	ระดับของโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	95
5	ระดับของความสามารถในการแลกเปลี่ยนประจุบวก (me/100gm.soil)	96
6	ความสูงของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2	97
7	ขนาดเส้นรอบวงของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2	98
8	น้ำหนักสดของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2 ที่อายุ 54 วัน (ระยะออกไหม)	99
9	น้ำหนักแห้งของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2 ที่อายุ 54 วัน (ระยะออกไหม)	100
10	น้ำหนักสดของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2 ที่อายุ 75 วัน (ระยะเก็บเกี่ยว)	101
11	น้ำหนักแห้งของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2 ที่อายุ 75 วัน (ระยะเก็บเกี่ยว)	102
12	ค่าปฏิกิริยาดินในดินหลังเก็บเกี่ยวข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2	103
13	ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินหลังการเก็บเกี่ยวข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2	104
14	ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดและปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินหลังการเก็บเกี่ยวข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2	105
15	ปริมาณโพแทสเซียมในดินหลังการเก็บเกี่ยวข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2	106

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 โครงสร้างของ DNA และ RNA	5
2 โครงสร้างของ ATP	6
3 โครงสร้างของ NAD^+ FAD และ Coenzyme A (CoA)	7
4 โครงสร้างของฟอสโฟลิพิด	8
5 วัฏจักรฟอสฟอรัส แสดงการหมุนเวียน การเปลี่ยนรูป และการสูญเสียฟอสฟอรัส ใน สิ่งแวดล้อม	10
6 การละลายของฟอสฟอรัสที่ค่าปฏิกิริยาดิน (pH) ต่างๆ	11
7 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าปฏิกิริยาดินกับการตรึงฟอสฟอรัสในดินกรดและดินด่าง	12
8 ราคาวัตถุดิบปุ๋ยเคมีในตลาดโลก	17
9 ตัวอย่างพื้นที่บริเวณที่ไปเก็บตัวอย่างดิน	27
10 ภาพหน้าตัดดินที่นำมาวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของดินบางประการ	28
11 การทำเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่คัดแยกจากชุมชนรังสิตให้บริสุทธิ์บนอาหาร แข็งสูตร NBRIP ที่เติม $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	53
12 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียละลายฟอสเฟตสายพันธุ์ Rs 01	56
13 ความสูงของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2 ที่อายุ 15 30 45 และ 54 วัน	59
14 ขนาดเส้นรอบวงของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2 ที่อายุ 15 30 45 และ 54 วัน	60
15 น้ำหนักสดของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2 ที่อายุ 54 วัน (ระยะออกไหม)	61
16 น้ำหนักแห้งของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2 ที่อายุ 54 วัน (ระยะออกไหม)	63
17 น้ำหนักสดของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2 ที่อายุ 75 วัน (ระยะเก็บเกี่ยว)	64
18 น้ำหนักแห้งของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2 ที่อายุ 75 วัน (ระยะเก็บเกี่ยว)	66
19 ค่าปฏิกิริยาดินหลังเก็บเกี่ยวของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2	67
20 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินหลังเก็บเกี่ยวของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2	68
21 ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในดินหลังเก็บเกี่ยวข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2	70

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
22	ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ของในดินหลังเก็บเกี่ยวข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2	73
23	ปริมาณโพแทสเซียมในดินหลังเก็บเกี่ยวของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2	75



การแยกและศึกษาลักษณะของแบคทีเรียละลายฟอสเฟต

Isolation and Characterization of Phosphate-Solubilizing Bacteria

คำนำ

ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารหลักของพืช ธาตุฟอสฟอรัสเป็นตัวจำกัดการเจริญเติบโตของพืช (Iqbal *et. al.*, 2001) ดินในประเทศไทยโดยภาพรวมพบว่ามีปริมาณฟอสฟอรัสต่ำ การใช้ปุ๋ยฟอสฟอรัสจึงเป็นสิ่งจำเป็น (Chinabut, 2003) การขาดธาตุฟอสฟอรัสในดินเป็นปัจจัยทางด้านเคมีที่สำคัญในการกำหนดผลผลิตของดิน การใส่ปุ๋ยฟอสฟอรัสในรูปที่ละลายได้ (soluble phosphate fertilizer) เช่น ซูเปอร์ฟอสเฟต เป็นการทดแทนปริมาณฟอสฟอรัสที่มีอยู่ในปริมาณน้อยในดิน แต่อย่างไรก็ตามปุ๋ยฟอสฟอรัสในรูปที่ละลายได้ที่ใส่จะทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วกับไอออนในดินและปุ๋ยฟอสฟอรัสในรูปที่ละลายได้จะถูกเปลี่ยนรูปไปอยู่ในรูปที่ไม่เป็นประโยชน์ต่อพืช (Stevenson, 1986; McLaughlin *et. al.*, 1988)

พื้นที่การเกษตรส่วนใหญ่มีปริมาณสำรองของฟอสฟอรัส (reserved P) เป็นจำนวนมากซึ่งมาจากการสะสมอย่างต่อเนื่องของการใช้ปุ๋ยเคมี โดยส่วนมากอนินทรีย์ฟอสเฟตที่ละลายน้ำ (soluble inorganic phosphate) ที่ใส่ลงไปดินจะถูกตรึง ให้อยู่ในรูปที่ไม่ละลายน้ำ และไม่เป็นประโยชน์ต่อพืช ซึ่งเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วภายหลังจากการใส่ปุ๋ยเคมี (Lindsay, 1982) phosphorus fixation และ precipitation ในดินขึ้นอยู่กับความเป็นกรดต่างของดิน (pH) และ ชนิดดิน ในดินกรดจะมี free oxides และ hydroxides ของพวก Al และ Fe ที่ตรึงฟอสฟอรัส ให้อยู่ในรูปของ ferric phosphate (FePO_4) และ aluminum phosphate (AlPO_4) ในสภาพดินต่าง ฟอสฟอรัสจะถูกตรึงโดย Ca ทำให้เกิด tricalcium phosphate ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) สารประกอบเหล่านี้อยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้น้อย

จุลินทรีย์ดินมีบทบาทสำคัญต่อการเปลี่ยนรูปของธาตุอาหารต่างๆในดิน สำหรับฟอสเฟต จุลินทรีย์ดินมีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการเปลี่ยนรูปฟอสเฟตซึ่งมีอิทธิพลต่อการปลดปล่อยฟอสเฟตให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อรากพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งจุลินทรีย์ดินที่สามารถละลายหรือ mineralize ฟอสเฟตจากรูปของสารอนินทรีย์หรืออินทรีย์ในดิน เพื่อประโยชน์ต่อจุลินทรีย์ และพืช อีกทั้งตัวจุลินทรีย์ดินเองก็เป็นแหล่งของ immobilized P ซึ่งมีศักยภาพที่จะปลดปล่อยให้แก่พืชเมื่อ

ตายและถูกย่อยสลาย นอกจากนี้จุลินทรีย์ดินบางชนิดยังช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวของรากพืชในการดูดซับฟอสเฟต ในดินส่วนใหญ่ที่ขาดฟอสเฟตในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืช ทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น อันเนื่องมาจากค่าใช้จ่ายของการใช้ปุ๋ยฟอสเฟต ซึ่งเป็นปัญหาที่เกิดขึ้นทั่วโลก ดังนั้นการนำจุลินทรีย์ดินมาใช้เป็นหัวเชื้อจุลินทรีย์ (inoculant) ในการเปลี่ยนรูปฟอสเฟตในดินให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์นั้นจึงเป็นที่น่าสนใจศึกษา ถึงแม้ว่าได้มีการศึกษาแยกจุลินทรีย์ดินที่มีความสามารถในการเปลี่ยนรูปฟอสเฟตให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ แต่การนำไปใช้ยังอยู่ในวงจำกัดเนื่องจากความไม่เข้าใจอย่างถ่องแท้ถึงปัจจัยของสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการทำงานของจุลินทรีย์

ในการศึกษารุ่นนี้จึงมุ่งแยกแบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟตรูป $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, FePO_4 หรือ AlPO_4 ให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ รวมทั้งศึกษาลักษณะของจุลินทรีย์เหล่านี้ และคัดเลือกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตสูงสุดเพื่อนำมาศึกษาความสามารถของแบคทีเรียในการละลายฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพดพันธุ์อินทรี 2 ในชุดดินตาคลี

วัตถุประสงค์

1. เพื่อคัดแยกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพสูงในการละลายฟอสเฟต
2. เพื่อศึกษาความสามารถในการละลายฟอสเฟตในรูปของ $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, FePO_4 และ AlPO_4 ของแบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่คัดแยกได้
3. เพื่อศึกษาผลของการใช้แบคทีเรียละลายฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2 ในชุดดินตาคลี

ขอบเขตของการศึกษา

ในการศึกษาครั้งนี้จะเป็นการคัดแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟต (phosphate solubilizing bacteria) จากดินนากรดกำมะถัน (paddy acid sulfate soil) จำนวน 2 ชุดดิน ดินไร่ที่เป็น upland sesquioxide soil จำนวน 3 ชุดดิน และดินไร่ที่เป็น upland calcareous จำนวน 3 ชุดดิน จากนั้นทำการคัดเลือกแบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟตสูงสุดจากชุดดินทั้งหมด และนำมาทำการระบุชนิดของแบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งคาร์บอนแตกต่างกันด้วยวิธี Biolog Microlog System ต่อจากนั้นนำแบคทีเรียดังกล่าวไปทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟตในชุดดินตาคลีต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2

การตรวจเอกสาร

1. ฟอสฟอรัส

ฟอสฟอรัสเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับสิ่งมีชีวิตทุกชนิด เพราะฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบของโครงสร้างที่สำคัญในสิ่งมีชีวิต โดยฟอสฟอรัสเป็นส่วนหนึ่งของสารที่เป็นองค์ประกอบสำคัญในโครงสร้างของสิ่งมีชีวิต ไม่ว่าจะเป็นกรดนิวคลีอิก ซึ่งเป็นสารที่เกี่ยวข้องกับการถ่ายทอดทางพันธุกรรม Adenosine triphosphate (ATP) ซึ่งเป็นสารพลังงานสูงที่ใช้ในกระบวนการต่างๆ ของสิ่งมีชีวิต เช่น กระบวนการหายใจ กระบวนการถ่ายทอดอิเล็กตรอน และโคเอนไซม์ สารที่เป็นตัวช่วยให้เอนไซม์ในกระบวนการและกิจกรรมต่างๆ ของสิ่งมีชีวิตทำงานได้อย่างสมบูรณ์ สารเหล่านี้มีหน้าที่และความสำคัญ (Anonymous, 2010) ดังนี้

1. กรดนิวคลีอิก มี 2 ชนิด คือ DNA (deoxyribonucleic acid) และ RNA (ribonucleic acid) หน่วยโครงสร้างของกรดนิวคลีอิก คือ โมโนนิวคลีโอไทด์ (mononucleotide) ซึ่งจะต่อกันเป็นสายด้วยพันธะ 3,5 ไดฟอสโฟไดเอสเทอร์ (3,5 diphosphodiester bond) ได้โพลินิวคลีโอไทด์ (ภาพที่ 1)

โมโนนิวคลีโอไทด์ประกอบด้วย 3 ส่วน คือ น้ำตาลไรโบส ในโตรจีนัสเบส (nitrogenous base) และอนุมูลฟอสเฟต น้ำตาลไรโบสใน DNA คือ ดีออกซีไรโบส ส่วนใน RNA คือ D-ไรโบส ทั้ง DNA และ RNA มีเบส 2 ชนิด คือ เพียวรีน (purine) และไพริมิดีน (pyrimidine) จึงถือว่าในโตรเจนและฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบสำคัญในโครงสร้าง

ดีเอ็นเอเป็นสารที่เก็บข้อมูลทางพันธุกรรมซึ่งมีโมเลกุลยาวมาก พบในนิวเคลียส ไมโทคอนเดรีย และคลอโรพลาสต์ ส่วน RNA สร้างขึ้นมาจากดีเอ็นเอมี 3 ชนิด คือ

- อาร์เอ็นเอเข้ารหัส (mRNA) ทำหน้าที่นำรหัสจากดีเอ็นเอเพื่อเป็นแม่พิมพ์ในการสังเคราะห์โปรตีน

- อาร์เอ็นเอถ่ายโอน (tRNA) ทำหน้าที่พากรดอะมิโนมายังอาร์เอ็นเอเข้ารหัส เพื่อให้ต่อเรียงกันตามลำดับตามแบบที่อาร์เอ็นเอเข้ารหัสกำหนดไว้

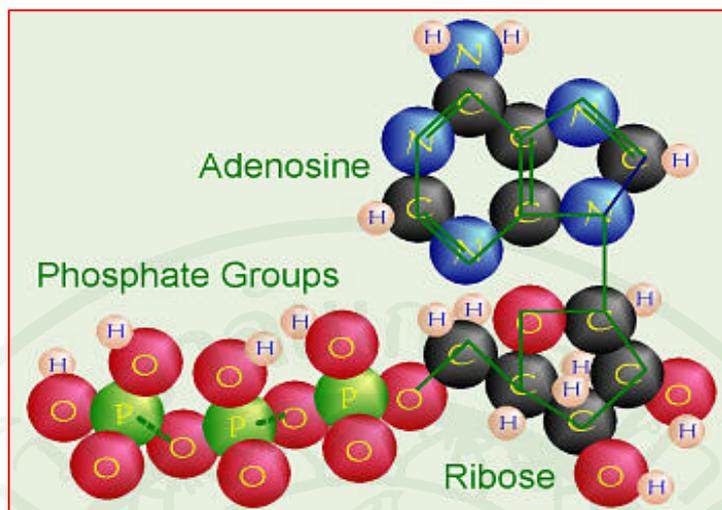
- อาร์เอ็นเอไรโบโซม (rRNA) อยู่ไรโบโซมมีบทบาทร่วมอยู่ในการสังเคราะห์โปรตีน เช่นเดียวกัน



ภาพที่ 1 โครงสร้างของ DNA และ RNA

ที่มา: Anonymous (2010)

2. ATP (adenosine triphosphate) เป็นแหล่งพลังงานทางเคมีที่สำคัญของสิ่งมีชีวิต เป็นสารประกอบพลังงานสูงซึ่งมีบทบาทสำคัญในระบบชีวเคมีของเซลล์ (ภาพที่ 2) เมื่อ ATP ผ่านระบบกระบวนการไฮดรอลิซิส (hydrolysis) ซึ่งเร่งปฏิกิริยาด้วยเอนไซม์ ATPase จะได้ ADP (adenosine diphosphate) หรือ AMP (adenosine monophosphate) เนื่องจาก ATP มีพลังงานสูงกว่า ADP ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงจาก ATP หรือ ADP จึงปลดปล่อยพลังงานออกมาเพื่อใช้ในปฏิกิริยาต่างๆ ในเซลล์ได้ นอกจากนี้ผลของปฏิกิริยายังมีอิทธิพลต่อฟอสเฟต และ โปรตอนด้วย (ยงยุทธ, 2543)



ภาพที่ 2 โครงสร้างของ ATP

ที่มา: Charles (2003)

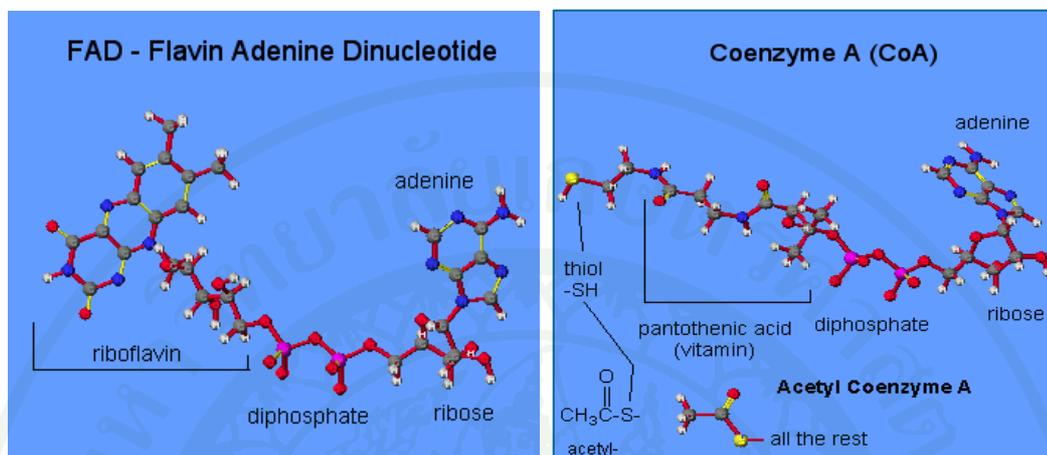
3. โคเอนไซม์ (coenzyme) คือ อินทรีย์สารซึ่งเอนไซม์บางชนิดต้องการเพื่อให้มีกิจกรรมได้ ได้แก่ NAD^+ NADP^+ FAD และโคเอนไซม์เอ (ยงยุทธ, 2543)

- NAD^+ (nicotinamide adenine dinucleotide) และ NADP^+ (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) เป็นโคเอนไซม์สำหรับเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนส NADP^+ แตกต่างจาก NAD^+ เนื่องจากมีฟอสเฟตเพิ่มอีกหนึ่งตัวที่น้ำตาลตรงคาร์บอนตำแหน่งที่สองเท่านั้น ในแง่การทำหน้าที่ NADP^+ ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสงส่วน NAD^+ ใช้ในกระบวนการหายใจ สำหรับองค์ประกอบและปฏิกิริยาออกซิเดชันและรีดักชันของโคเอนไซม์ทั้งสอง

- FAD (flavin adenine dinucleotide) สังเคราะห์ได้จากวิตามินบี 2 ทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์สำหรับเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน เช่น ไนเตรตรีดักเทสคอมเพล็กซ์ สารนี้มีไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบ (ภาพที่ 3)

- โคเอนไซม์เอ (coenzyme A) มีไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และกำมะถันเป็นองค์ประกอบ ทำหน้าที่เป็นพาหะของหมู่แอซิติล (acetyl) หรือหมู่แอซิล (acyl) ในปฏิกิริยาที่เกี่ยวกับการสลายและ

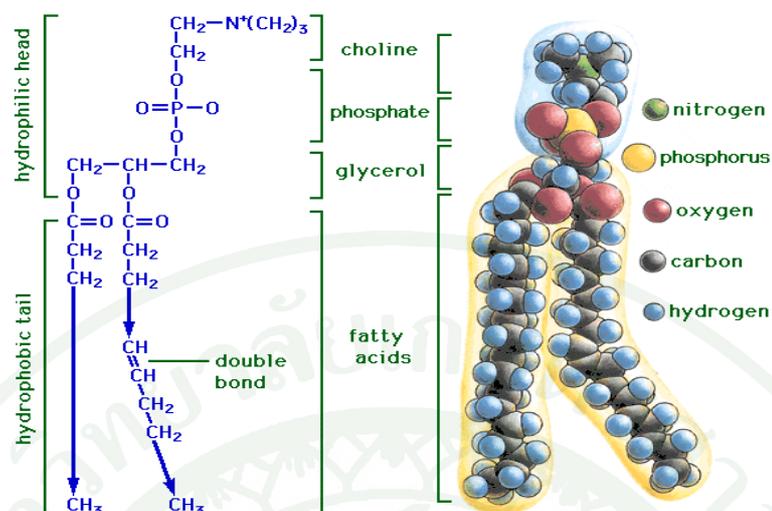
การสังเคราะห์ไขมัน ร่วมอยู่ในปฏิกิริยาการออกซิโดสักรดไพรูวิก (pyruvic acid) ได้แอสีทิลโคเอ (acetyl CoA) (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 โครงสร้างของ FAD และ Coenzyme A (CoA)

ที่มา: Charles (2003)

สำหรับพืชนั้นนอกจากฟอสฟอรัสจะเป็นองค์ประกอบสำคัญของสารดังกล่าวข้างต้น ในพืชยังมีโครงสร้างที่เรียกว่า ฟอสโฟลิพิด (ภาพที่ 4) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของผนังเซลล์พืชที่ทำให้พืชมีโครงสร้างที่คงรูปร่าง แข็งแรง และยังเป็นตัวช่วยในการนำพาไอออนต่างๆ เข้าและออกนอกเซลล์พืชอีกด้วย ฟอสโฟลิพิด มีฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบในโครงสร้าง โดยฟอสฟอรัสจะเป็นตัวเชื่อมระหว่างไดแอซิลกลีเซอรอลกับโมเลกุลอื่น เช่น กรดอะมิโน อะไมด์ หรือแอลกอฮอล์ ฟอสโฟลิพิดมีบทบาทในการสร้างเสถียรภาพของเยื่อ เนื่องจากสารนี้ด้านหนึ่งชอบลิพิด ซึ่งประกอบด้วย ส่วนที่เป็นกรดไขมัน ไช่ยาวกับอีกด้านหนึ่งซึ่งชอบน้ำและหันเข้าหาสารละลายเนื่องจากเยื่อมีฟอสโฟลิพิดสองชั้นเมื่อด้านที่ชอบลิพิดต่างหันมารวมกันอยู่ส่วนในทั้งหมดเยื่อจึงมีความเสถียรภาพ



ภาพที่ 4 โครงสร้างของฟอสโฟลิพิด

ที่มา : Charles (2003)

นอกจากนี้ในเมแทบอลิซึมของพืชยังมีสารประกอบฟอสเฟตอื่นๆ จำนวนมากเกี่ยวข้องกับอยู่ เช่น ในวัฏจักรคัลวิน (Calvin cycle) ของกระบวนการสังเคราะห์แสงมี ribulose bis phosphate, phosphoglyceraldehyde ในกระบวนการไกลโคไลซิส (glycolysis) มี glucose-6-phosphate, fructose-1,6-diphosphate, glyceraldehydes phosphate และในวัฏจักรเครบส์ (Kreb's cycle) มี guanosine triphosphate (GTP) ซึ่งเป็นสารที่ให้พลังงานสูงอีกรูปหนึ่ง

2. บทบาทของฟอสฟอรัสต่อพืช

ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารหลักที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช รองจากไนโตรเจน ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารที่พืชต้องการในปริมาณมาก การที่พืชได้รับฟอสฟอรัสเพียงพอต่อความต้องการจะทำให้พืชมีประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสง กระบวนการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแป้ง กระบวนการถ่ายทอดพันธุกรรม การตรึงไนโตรเจน การออกดอก การออกผลและเมล็ด และการสุกของผลให้ดีขึ้น พืชต้องการฟอสฟอรัสในปริมาณมากสำหรับการสร้างเนื้อเยื่อ อีกทั้งฟอสฟอรัสยังช่วยกระตุ้นให้เกิดการเจริญเติบโตของราก โดยเฉพาะการแผ่กระจายของรากออกทางด้านข้าง และรากฝอย (Brady and Weil, 2008; Mehrvarz *et. al.*, 2008) โดยปกติจะพบฟอสฟอรัสในพืชประมาณ 0.2-0.4% ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งมีปริมาณที่มากกว่าปริมาณของไนโตรเจนอยู่ 10 เท่าในน้ำหนักแห้ง

ของพืช และระดับของฟอสฟอรัสที่ถือว่าเป็นพืชต่อพืชคือ 1% ของน้ำหนักแห้ง (ขงยุทธ, 2546; Brady and Weil, 2008)

พืชที่ขาดธาตุฟอสฟอรัสจะทำให้การเจริญเติบโตหยุดชะงัก ลำต้นแคระแกร็น ผอม สูง ใบมีขนาดเล็กลง จำนวนใบลดลง และเป็นสีเขียวเข้มออกน้ำตาล (Brady and Weil, 2008) การที่พืชขาดฟอสฟอรัสแล้วมีใบเล็กลงนั้น เนื่องจากเซลล์ชั้นผิวไม่ค่อยขยายตัวเพราะปริมาณฟอสฟอรัสในเซลล์ชั้นผิวดำและสภาพน้ำลดลง แม้ว่าใบจะมีขนาดเล็กลง แต่ปริมาณโปรตีนและคลอโรฟิลล์ต่อหน่วยพื้นที่ในใบลดลงเล็กน้อย เพราะคลอโรฟิลล์ที่ลดลงนั้นน้อยกว่าพื้นที่ใบที่ลดลง ทำให้พืชที่ขาดฟอสฟอรัสในตอนแรกมีสีของใบเข้มขึ้น อย่างไรก็ตาม อัตราการสังเคราะห์แสงต่อหน่วยของคลอโรฟิลล์มีค่าลดลง (ขงยุทธ, 2546) นอกจากนี้พืชที่ขาดฟอสฟอรัสจะมีการเจริญเติบโตช้า การออกดอกน้อย คุณภาพเมล็ดที่ได้ต่ำ ถ้าพืชขาดฟอสฟอรัสอย่างรุนแรงจะทำให้ใบเป็นสีเหลืองและเหี่ยวเฉา และในพืชบางชนิดการเจริญเติบโตจะช้ามาก ใบกับลำต้นจะมีการพัฒนาเป็นสีม่วง ซึ่งเกิดจากความเครียดของพืชคล้ายกับถ้าพืชสัมผัสอากาศหนาว จะทำให้พืชสร้างเม็ดสี (pigment) ซึ่งเป็นสีม่วง ฟอสฟอรัสเป็นธาตุที่เคลื่อนที่ได้จึงมีการถ่ายโอนฟอสฟอรัสจากใบแก่ไปสู่ยอดใบอ่อน จึงทำให้อาการขาดธาตุฟอสฟอรัสแสดงที่ใบแก่ก่อน (Brady and Weil, 2008) อย่างไรก็ตามได้มีการศึกษาพบว่า การขาดฟอสฟอรัสของพืชมีผลกระทบต่อรากน้อย เนื่องจากการขาดธาตุฟอสฟอรัสทำให้คาร์โบไฮเดรตเกิดการกระจายมาสู่รากมากขึ้น ทำให้รากมีการเจริญเติบโตได้ ในขณะที่ส่วนเหนือดินหยุดการเจริญเติบโตไปแล้ว ซึ่งพบว่าในรากของถั่วที่ขาดฟอสฟอรัสมีคาร์โบไฮเดรต 27% แต่ในพืชปกติมีคาร์โบไฮเดรตอยู่เพียง 15.7% (Smith *et. al.*, 1990)

3. วัฏจักรฟอสฟอรัส

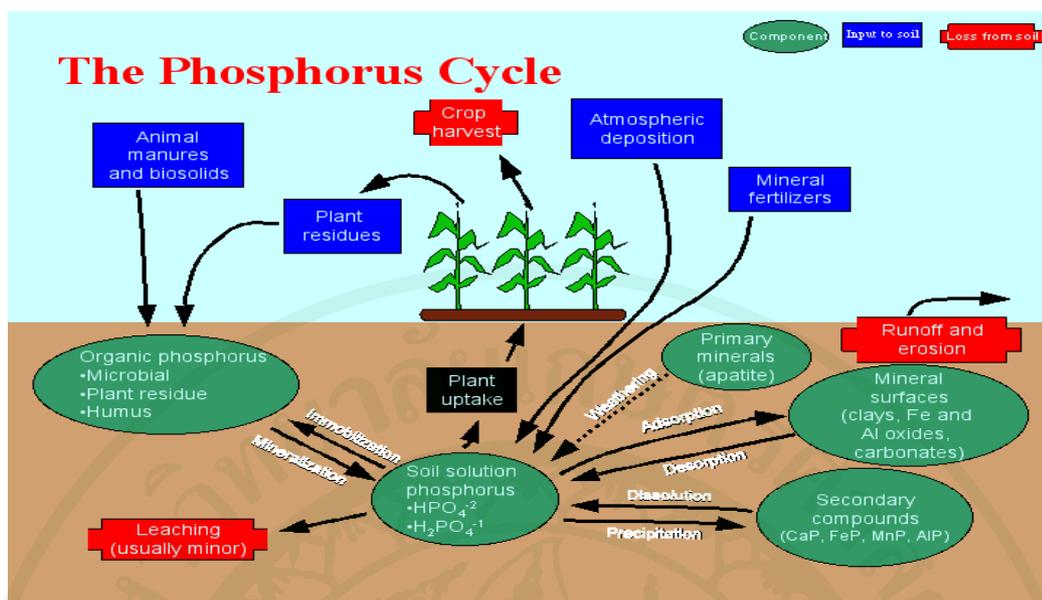
วัฏจักรฟอสฟอรัส หมายถึง การหมุนเวียนของฟอสฟอรัสในสิ่งแวดล้อมจากดินไปสู่พืช จากพืชไปสู่คนและสัตว์ และจากคนและสัตว์กลับมาสู่ดินอีกครั้ง การหมุนเวียนของฟอสฟอรัสเกิดจากปฏิกิริยาทางเคมีและทางชีววิทยา (Walbridge, 1991) ดังแสดงในภาพที่ 5 ซึ่งแบ่งเป็น 2 ส่วนย่อยๆ คือ Geochemical subcycle และ Biological subcycle

Geochemical subcycle คือ ส่วนของแร่ปฐมภูมิและแร่ทุติยภูมิที่เกิดการผุพังสลายตัวทางเคมีและทางชีวเคมีทำให้เกิดเป็นสารละลายฟอสเฟต (orthophosphate; $H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-} ในดิน หรือเกิดจากการละลายด้วยกรดอินทรีย์ที่จุลินทรีย์ดินผลิตออกมาออร์โทฟอสเฟตที่อยู่ในสารละลายดิน

จะถูกพืชและจุลินทรีย์จะนำไปใช้ในการเจริญเติบโตต่อไป หรืออาจจะถูกดูดซับด้วยออกไซด์ของ อะลูมิเนียม และเหล็ก อาจจะถูกจับกลายเป็นอนินทรีย์ฟอสเฟตที่ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ หรือ อาจจะตกตะกอนกับอะลูมิเนียม เหล็ก หรือแคลเซียมกลายเป็นแร่ทุติยภูมิก็ได้ ซึ่งออร์โทฟอสเฟตที่อยู่ในสารละลายดินแล้วพืชและจุลินทรีย์นำไปใช้ ก็จะเข้าสู่ Biological subcycle

Biological subcycle คือ พืชและจุลินทรีย์ดูดซับฟอสเฟตมาใช้ในการเจริญเติบโต จากนั้นคนและสัตว์ก็จะบริโภคพืชเข้าไป แล้วเศษซากพืชและมูลสัตว์ที่เหลือถูกทิ้งกลับลงสู่ดิน ซึ่งเกิดกระบวนการย่อยสลายด้วยกิจกรรมจุลินทรีย์ดินเป็นอนินทรีย์ฟอสเฟตและฮิวมัส อนินทรีย์ฟอสเฟต จะเกิดขบวนการมิเนอไรเซชัน (mineralization) เป็นอนินทรีย์ฟอสเฟต หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นสารอนินทรีย์ฟอสเฟตกลับไปอยู่ในรูปอนินทรีย์ฟอสเฟตจากกระบวนการอิมโมบิไลเซชัน (immobilization) โดยจุลินทรีย์

ส่วนการสูญเสียฟอสเฟตเกิดได้จากการสูญเสียไปกับผลผลิตพืช และอีกทางหนึ่งที่ทำให้เกิดการสูญเสียฟอสเฟตก็คือ การชะล้างลงสู่แม่น้ำ ลำธาร มหาสมุทร และสุดท้ายจะไปทับถมอยู่กับตะกอน

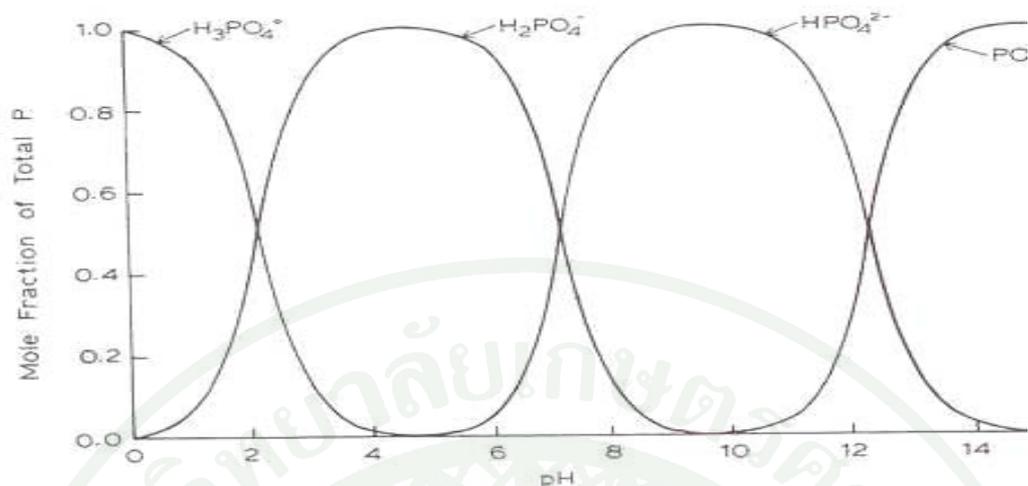


ภาพที่ 5 วัฏจักรฟอสฟอรัส แสดงการหมุนเวียน การเปลี่ยนรูป และการสูญเสียฟอสฟอรัส ในสิ่งแวดล้อม

ที่มา: Mississippi state university (2009)

4. รูปและความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสในดิน

ฟอสฟอรัสเป็นหนึ่งในธาตุอาหารหลักที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของสิ่งมีชีวิต (Ehrlich, 1990) ส่วนมากพืชจะได้รับฟอสฟอรัสจากดินซึ่งมีหลายรูปแบบด้วยกันทั้งอินทรีย์และอนินทรีย์ เมื่อทั้งสองแหล่งนี้มีการผุพังและสลายตัวก็就会有การปลดปล่อยฟอสฟอรัสออกมาเป็นประโยชน์ต่อพืช ซึ่งเป็นฟอสฟอรัสที่ในรูปแอนไอออนของกรดอโธฟอสฟอริก (H_3PO_4) มี 3 รูปแบบตามค่าปฏิกิริยาของสารละลายดิน กล่าวคือ เมื่อดินมีค่าปฏิกิริยาดำกว่า 6.8 มักอยู่ในรูป H_2PO_4^- เป็นรูปที่พืชดูดใช้ได้ง่ายที่สุด ถ้าค่าปฏิกิริยาดินอยู่ระหว่าง 6.8 – 7.2 จะอยู่ในรูป HPO_4^{2-} เป็นรูปที่พืชดูดใช้ได้ช้ากว่ารูปแรก และเมื่อดินมีค่าปฏิกิริยาสูงกว่า 7.2 มักพบว่าอยู่ในรูปของ PO_4^{3-} เป็นรูปที่พืชดูดใช้ได้ยาก (ยงยุทธ, 2546; Beaver and Burns, 1986) (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 รูปของอโทฟอสฟอริกที่ค่าปฏิกิริยาดิน (pH) ต่างๆ

ที่มา: Smart growing intelligently (2010)

ฟอสฟอรัสในดินมีทั้งอินทรีย์ฟอสฟอรัสและอนินทรีย์ฟอสฟอรัส โดยพบว่าอินทรีย์ฟอสฟอรัสจะพบบริเวณชั้นผิวดิน ประมาณ 20-80% ของฟอสฟอรัสทั้งหมด ในขณะที่ดินที่อยู่ลึกลงไปจะมีฟอสฟอรัสในรูปอนินทรีย์เป็นส่วนมาก โดยเฉพาะบริเวณดินแห้งแล้ง (arid soil) และดินกึ่งแห้งแล้ง (semiarid soil) ซึ่งอินทรีย์ฟอสฟอรัสที่พบในดินส่วนมากก็คือ อินโนซิทอลฟอสเฟต (inositol phosphate; inositol: $C_6H_6(OH)_6$) หรือฟอสเฟตเอสเทอร์ (phosphate esters) กรดนิวคลีอิก และฟอสโฟลิพิด ส่วนอนินทรีย์ฟอสฟอรัสที่พบในดินจะอยู่ในรูปของสารประกอบเกลืออะลูมิเนียม และแคลเซียม ดังแสดงในตารางที่ 1 (Brady and Weil, 2008)

ตารางที่ 1 สารประกอบอนินทรีย์ฟอสฟอรัสที่พบทั่วไปในดิน

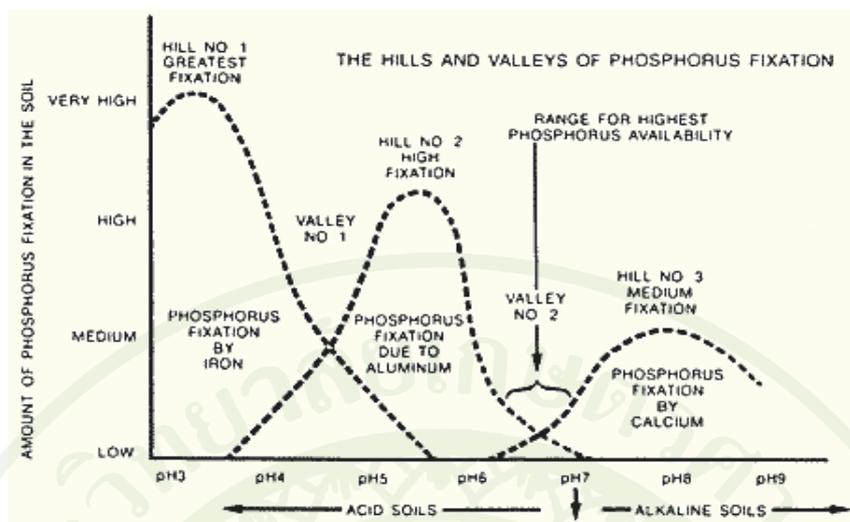
สารประกอบ	สูตรโมเลกุล
สารประกอบเหล็กและอะลูมิเนียม	
Strengite	$\text{FePO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
Variscite	$\text{AlPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
สารประกอบแคลเซียม	
Fluorapatite	$[\text{3Ca}_3(\text{PO}_4)_2] \cdot \text{CaF}_2$
Carbonate apatite	$[\text{3Ca}_3(\text{PO}_4)_2] \cdot \text{CaCO}_3$
Hydroxy apatite	$[\text{3Ca}_3(\text{PO}_4)_2] \cdot \text{Ca}(\text{OH})_2$
Oxyapatite	$[\text{3Ca}_3(\text{PO}_4)_2] \cdot \text{CaO}$
Tricalcium phosphate	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$
Octacalcium phosphate	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
Dicalcium phosphate	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
Monocalcium phosphate	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$

ที่มา: Brady and Weil (2008)

ปกติในดินจะพบปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดต่ำ อยู่ในช่วง 400-1,200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Fernandez *et. al.*, 1988) และมีปริมาณของฟอสฟอรัสที่ละลายได้ในดินมีอยู่ต่ำมาก อยู่ในระดับ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือน้อยกว่า (Goldstein, 1994) ฟอสฟอรัสเป็นธาตุที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างในโตรเจน เนื่องจากธาตุนี้ไม่มีการเปลี่ยนรูปหรือสูญหายไปเป็นก๊าซเมื่อสัมผัสกับอากาศ (Begon *et. al.*, 1990) แต่จุลินทรีย์จะมีบทบาทมากต่อวัฏจักรฟอสฟอรัสในกระบวนการออกซิเดชัน (oxidation) และกระบวนการรีดักชัน (reduction) ของการเปลี่ยนรูปของฟอสฟอรัสจากฟอสฟีน (phosphine) ซึ่งมีประจุ -3 ไปเป็นฟอสเฟต (phosphate) ที่มีประจุ +5 ในขั้นตอนการถ่ายทอดอิเล็กตรอนของกระบวนการออกซิเดชัน (Ohtake *et. al.*, 1996)

อินทรีย์ฟอสฟอรัสที่พบในดินส่วนมากเป็นหินและสิ่งทับถมอื่นที่กักเก็บฟอสฟอรัสเอาไว้ เช่น แร่อะพาไทต์ขั้นปฐมภูมิ (primary apatite) และแร่ปฐมภูมิอื่นๆ (Fernandez *et. al.*, 1988; Odum, 1986) ตัวอย่างเช่น พบหินที่มีการทับถมของฟอสเฟตอยู่ 40 ล้านตันในประเทศอินเดีย

(Roychoudhury *et. al.*, 1989) และวัสดุเหล่านี้ก็กลายมาเป็นแหล่งของปุ๋ยฟอสเฟตราชาถูกสำหรับการผลิตพืชไร่ (Halder *et. al.*, 1990) ฟอสฟอรัสในดินจะอยู่ในรูปของแร่ปฐมภูมิ เช่น อะพาไทต์ (apatite) ไฮดรอกซีอะพาไทต์ (hydroxyapatite) และออกซีอะพาไทต์ (oxyapatite) ซึ่งแร่เหล่านี้เป็นส่วนหนึ่งของหินในระดับพื้นดิน และมีลักษณะที่สำคัญคือไม่สามารถละลายน้ำได้ หินเหล่านี้จึงเปรียบเสมือนแหล่งสะสมธาตุอาหารในดินที่ใหญ่ที่สุด โดยภายใต้สภาวะที่เหมาะสมธาตุอาหารเหล่านี้จะสามารถละลายออกมาและเป็นประโยชน์ต่อพืชและจุลินทรีย์ได้ แต่ในดินที่มีเหล็กเป็นองค์ประกอบแร่ฟอสเฟตรวมตัวกับเหล็ก อะลูมิเนียม และแมงกานีส ทำให้ความสามารถในการละลาย การย่อยและการดูดซึมต่ำ โดยบริเวณที่มีน้ำและการสะสมของไฮดรอกไซด์ และไฮดรอกไซด์ของเหล็กจะทำให้มีการตรึงฟอสฟอรัสเพิ่มมากขึ้น (Fernandez, 1988) โดยทั่วไปปรากฏการณ์การตรึงและการตกตะกอนฟอสฟอรัสในดินขึ้นอยู่กับความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) และชนิดของดินเป็นอย่างมาก ในดินที่มีปฏิกิริยาดินเป็นกรด ฟอสฟอรัสจะถูกตรึงด้วยออกไซด์และไฮดรอกไซด์ของเหล็กและอะลูมิเนียม ขณะที่ดินที่มีปฏิกิริยาดินเป็นด่างฟอสฟอรัสจะถูกตรึงด้วยแคลเซียม ทำให้ประสิทธิภาพการละลายของฟอสฟอรัสต่ำ (Goldstein, 1986; Goldstein, 1994; Jones *et. al.*, 1991) และในดินที่มีแคลเซียมเป็นองค์ประกอบแร่ฟอสเฟตก็จะรวมตัวกับแคลเซียม ดังแสดงในภาพที่ 7 นอกจากนี้ได้มีการศึกษาพบว่า ดินที่ใช้ในการทำการเกษตรส่วนใหญ่จะมีฟอสฟอรัสสะสมอยู่มากซึ่งเป็นผลมาจากการใช้ปุ๋ยฟอสเฟต (Richardson, 1994) อย่างไรก็ตาม อนินทรีย์ฟอสฟอรัสที่ละลายได้ในดินส่วนใหญ่จะเป็นปุ๋ยเคมีที่ถูกไอออนในดินตรึงไว้อย่างรวดเร็ว จึงทำให้กลายเป็นส่วนที่พืชไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ (Dey, 1988)



ภาพที่ 7 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าปฏิกิริยาดินกับการตรึงฟอสฟอรัสในดินกรดและดินด่าง

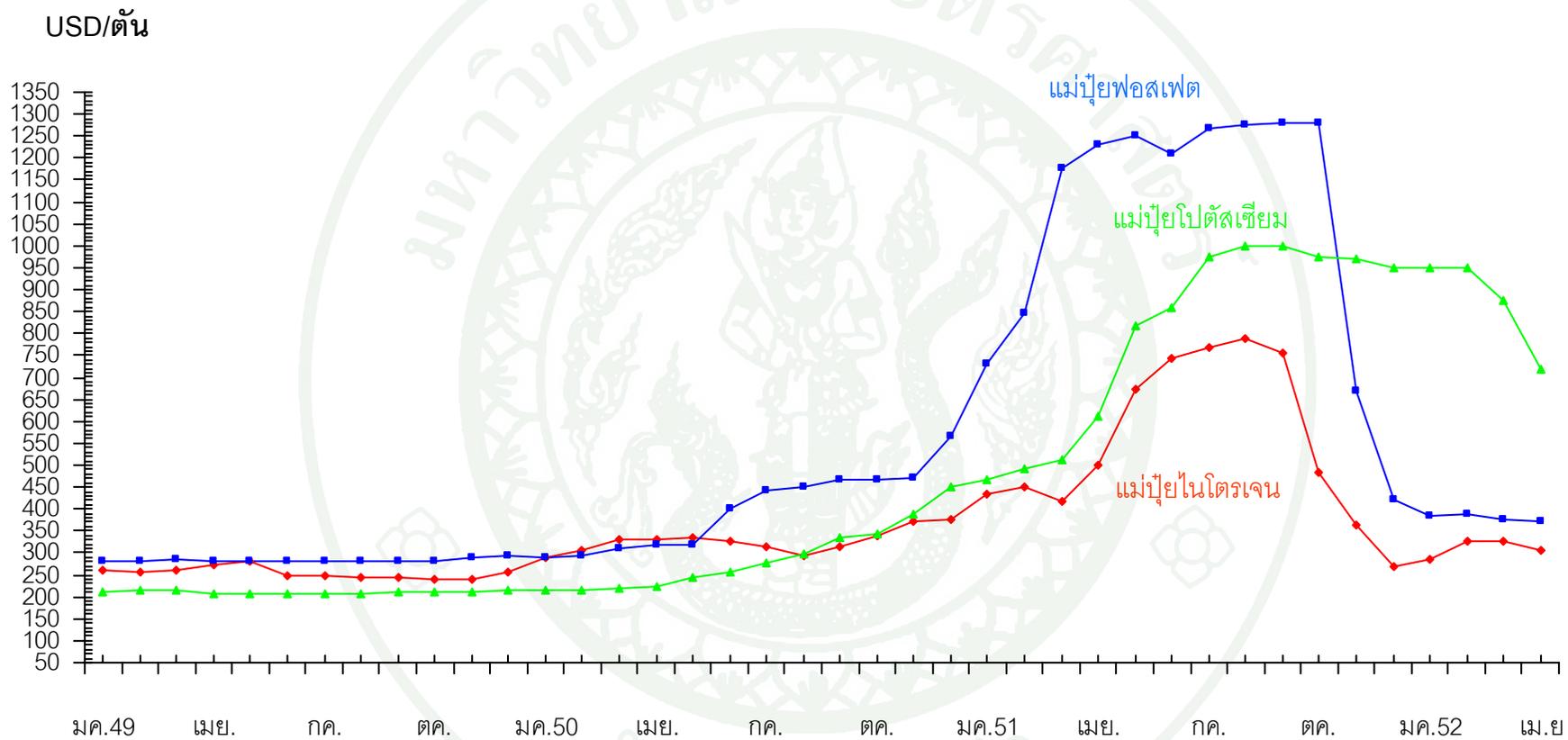
ที่มา: Sydney Environmental and Soil Laboratory (2007)

ดินที่ใช้ปลูกพืชที่ฟอสฟอรัสไม่สามารถละลายออกมาอยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืช ส่งผลให้พืชแสดงอาการขาดธาตุฟอสฟอรัส วิธีที่เกษตรกรนิยมใช้ในการแก้ปัญหาการขาดธาตุฟอสฟอรัสคือ การใส่ปุ๋ยฟอสเฟต ได้แก่ ซิงเกิ้ลซูเปอร์ฟอสเฟต ดับเบิลซูเปอร์ฟอสเฟต ทริปเปิ้ลซูเปอร์ฟอสเฟต ซึ่งเป็นวิธีที่เห็นผลเร็ว เนื่องจากปุ๋ยฟอสเฟตเหล่านี้ละลายน้ำได้ดี แต่การใช้ปุ๋ยฟอสเฟตก็ไม่เหมาะสมกับทุกดินเสมอไป ปุ๋ยฟอสเฟตเหมาะที่จะใช้ในดินซึ่งไม่เป็นกรดจัด เพราะถ้าดินมีปฏิกิริยาดินเป็นกรด ประมาณ 5-5.5 ปุ๋ยฟอสเฟตที่ใส่ลงไปก็ไม่มีประสิทธิภาพอย่างที่ควรจะเป็น จึงควรใส่หินฟอสเฟตบด เพราะหินฟอสเฟตบดมีคุณสมบัติละลายได้ช้า จึงเป็นประโยชน์ต่อพืชได้ดีในสภาพที่ดินเป็นกรดจัด ส่วนปุ๋ยซูเปอร์ฟอสเฟตถ้านำมาใช้ในดินที่มีลักษณะเช่นนี้ ส่วนใหญ่จะถูกตรึงกับธาตุเหล็กและอะลูมิเนียมอยู่ในรูปที่พืชดูดดึงเอาไปใช้ประโยชน์ไม่ได้ เพราะสารประกอบของเหล็กและอะลูมิเนียมจะละลายออกมาในดินกรดจัด (กลุ่มวิจัยอนุรักษ์ดินและน้ำเพื่อการเกษตร, 2547) แต่ในสภาวะปัจจุบันราคาแม่ปุ๋ยฟอสเฟต (18-46-0) ในตลาดโลกมีราคาสูงขึ้นตามราคาน้ำมันและก๊าซธรรมชาติ (ยรรยง, 2552) ดังตารางที่ 2 และ ภาพที่ 8 ส่งผลให้ต้นทุนในการใช้ปุ๋ยเคมีสูงขึ้นด้วย ทำให้เกษตรกรมีความเสี่ยงในการลงทุนอีกด้วย ทางเลือกอีกทางหนึ่งที่เหมาะสมคือ การใช้แบคทีเรียละลายฟอสเฟตไปละลายฟอสเฟตที่ถูกตรึงอยู่ในดินให้เป็นประโยชน์ เพื่อเป็นการประหยัดต้นทุน อีกทั้งยังเป็นวิธีการที่ยั่งยืน และไม่ทำลายสภาพแวดล้อมด้วย

ตารางที่ 2 ราคาแม่ปุ๋ยฟอสเฟต 18-46-0 (P) (SE Asia cfr) ในตลาดโลก

ปี	หน่วย USD/ตัน												
	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	เฉลี่ย
2548	286	287	287	286	286	286	283	283	283	282	282	282	284.42
2549	282	282	284	283	282	282	282	282	282	283	288	295	283.92
2550	291	292	308	317	318	402	443	449	468	468	473	565	399.50
2551	732	846	1,175	1,231	1,250	1,210	1,268	1,274	1,280	1,280	670	422	1053.17
2552	383	389	378	373									380.75

ที่มา: ขรรขง (2552)



ภาพที่ 8 ราคาวัตถุดิบปุ๋ยเคมีในตลาดโลก

ที่มา: ขรรจบง (2552)

4. แบคทีเรียละลายฟอสเฟตในดิน

แบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่คัดแยกได้จากดินมีหลายชนิดด้วยกัน เช่น *Pseudomonas sp.*, *Burkholderia sp.*, *Rhizobium sp.*, *Ralstonia sp.* เป็นต้น และเนื่องจากฟอสฟอรัสในดินส่วนใหญ่อยู่ในรูปแร่ชนิดต่างๆ เช่น แร่อะพาไทต์ แร่ไฮดรอกซีอะพาไทต์ และอยู่ในรูปอินทรีย์ฟอสฟอรัส จึงได้แยกแบคทีเรียออกเป็น 2 หัวข้อ คือ การละลายแร่ที่มีฟอสเฟตเป็นองค์ประกอบ และการละลายอินทรีย์ฟอสฟอรัส

4.1 การละลายแร่ที่มีฟอสเฟตเป็นองค์ประกอบ

แบคทีเรียที่มีความสามารถในการละลายแร่ที่มีฟอสเฟตเป็นองค์ประกอบหรือสารประกอบอนินทรีย์ฟอสเฟต เช่น ไตรแคลเซียมฟอสเฟต (tricalcium phosphate) ไดแคลเซียมฟอสเฟต (dicalcium phosphate) ไฮดรอกซีอะพาไทต์ (hydroxyapatite) และหินฟอสเฟต (rock phosphate) มีหลายชนิดด้วยกัน (Goldstein, 1986) แบคทีเรียในกลุ่มนี้ ได้แก่ *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.*, *Rhizobium sp.*, *Burkholderia sp.*, *Achromobacter sp.*, *Agrobacterium sp.*, *Micrococcus sp.*, *Aerobacter sp.*, *Flavobacterium sp.* และ *Erwinia sp.* ซึ่งแบคทีเรียละลายฟอสเฟตเหล่านี้พบได้ในดินและในดินบริเวณรอบรากพืช (Sperberg, 1958; Katznelson *et. al.*, 1962; Raghu and MacRae, 1966; Alexander, 1977) ไม่ว่าจะเป็นสายพันธุ์ที่ใช้และไม่ใช้ออกซิเจน ซึ่งแบคทีเรียละลายฟอสเฟตจะพบในดินบริเวณรอบรากพืชมากกว่าดินที่ไม่ได้อยู่บริเวณรอบรากพืช (Katznelson *et. al.*, 1962; Raghu and MacRae, 1966) Babenko และคณะ (1984) ทำการคัดแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตได้ 4 ชนิดด้วยกันซึ่งแบ่งตามการเคลื่อนไหวและอัตราการสะสมฟอสฟอรัส ซึ่งแบคทีเรียละลายฟอสเฟตเหล่านี้มีปริมาณฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นตามการเจริญเติบโต

จากการศึกษาที่ผ่านมาพบแบคทีเรียละลายฟอสเฟตหลายชนิดด้วยกัน ที่สามารถละลายฟอสฟอรัสชนิดต่างๆ ที่ไม่สามารถละลายน้ำได้ โดยแบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสฟอรัสที่ดีที่สุดอยู่ในกลุ่ม *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.* และ *Citrobacter sp.* (Rodriguez and Fraga, 1999) และแบคทีเรียแต่ละชนิดเหล่านี้ก็สามารถละลายฟอสฟอรัสได้แตกต่างกัน ซึ่งจะสามารถละลายฟอสฟอรัสในรูปไตรแคลเซียมฟอสเฟต ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) และไฮดรอกซีอะพาไทต์ (hydroxyapatite) ได้ดีกว่าหินฟอสเฟต (rock phosphate) ดังแสดงในตารางที่ 3 (Arora and Gaur, 1979)

ตารางที่ 3 การละลายฟอสฟอรัสในรูป $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ Hydroxyapatite และ Rock phosphate

แบคทีเรีย	ปริมาณฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)		
	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	Hydroxyapatite	Rock phosphate
<i>Pseudomonas striata</i>	156	143	22
<i>Bacillus polymyxa</i>	116	87	17
<i>Bacillus megaterium</i>	82	31	16
<i>Bacillus pulvifaciens</i>	54	65	13
<i>Bacillus circulans</i>	11	17	6
<i>Citrobacter freundii</i>	16	7	5

4.2 การละลายอินทรีย์ฟอสฟอรัส

อินทรีย์ฟอสฟอรัสในดินที่เป็นแหล่งฟอสฟอรัสให้พืชใช้ในการเจริญเติบโตนั้นมีอยู่ในปริมาณมากพอสมควร แต่อยู่ในรูปที่ไม่เป็นประโยชน์ต่อพืช พืชจะใช้ฟอสฟอรัสเหล่านี้ได้ต้องผ่านกระบวนการมินERALIZATION) ด้วยปฏิกิริยาไฮดรอลิซิส (hydrolysis) ก่อน ซึ่งกระบวนการนี้จะสำเร็จได้ต้องมีเอนไซม์ฟอสฟาเทส (phosphatase enzymes) เข้ามาเกี่ยวข้อง และเอนไซม์นี้ก็เกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ (Kirchner *et. al.*, 1993; Kucharski *et. al.*, 1996; Garcia *et. al.*, 1992; Xu and Johnson, 1995) โดยเอนไซม์นี้จะพบมากบริเวณรอบรากพืช (Tarafdar and Junk, 1987) ซึ่งเป็นไปได้ว่าจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เหล่านี้มีมากที่บริเวณรอบรากพืชเช่นกัน

Greaves และ Webley (1965) ได้ทำการศึกษาพบว่า 30-48% ของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากดินบริเวณรอบรากพืชและบริเวณใกล้เคียงสามารถใช้ไฟเทต (phytate) ได้ ต่อมา Richardson และ Hadobos (1997) พบว่า 63% ของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากดินสามารถใช้ไฟเทตเป็นแหล่งคาร์บอน และฟอสฟอรัสได้ในอาหารแข็ง แต่มีเพียง 39-44% เท่านั้นที่สามารถใช้ไฟเทตเป็นแหล่งฟอสฟอรัสได้ในอาหารเหลว นอกจากนี้ยังมีนักวิจัยอีกหลายท่านได้ทำการศึกษาแล้วพบจุลินทรีย์อีกหลายชนิด เช่น *Pseudomonas fluorescens* *Burkholderia cepacia* *Enterobacter aerogenes* *Citrobacter freundii* เป็นต้น สามารถใช้อินทรีย์ฟอสฟอรัสได้ โดยการปลดปล่อยเอนไซม์ฟอสฟาเทส (phosphatase enzymes) ไฟเทส (phytase) ฟอสโฟโนอะซิเตท ไฮโดรเลส (phosphonoacetate hydrolase) ดี-แอลฟา-ไกลเซอโรฟอสฟาเทส (D- α -glycerophosphatase) และ

ซี-พี ไลเอส (C-P Lyase) ดังแสดงในตารางที่ 4 (Gugi *et. al.*, 1991; Rodriguez *et. al.*, 1996; Thaller *et. al.*, 1995; Richadson and Hadobas, 1997; Skrary and Cameron, 1998; McGrath *et. al.*, 1995; Ohtake *et. al.*, 1996)

ตารางที่ 4 แบคทีเรียบางชนิดที่สามารถเปลี่ยนฟอสฟอรัสจากรูปอินทรีย์ไปเป็นรูปอนินทรีย์ได้

แบคทีเรีย	อินทรีย์ฟอสฟอรัส	ชนิดของเอนไซม์
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Non-specific	Acid phosphatase
<i>Pseudomonas sp.</i>	Non-specific	Acid phosphatase
<i>Burkholderia cepacia</i>	Non-specific	Acid phosphatase
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Non-specific	Acid phosphatase
<i>Enterobacter cloacae</i>	Non-specific	Acid phosphatase
<i>Citrobacter freundii</i>	Non-specific	Acid phosphatase
<i>Proteus mirabilis</i>	Non-specific	Acid phosphatase
<i>Serratia marcescens</i>	Non-specific	Acid phosphatase
<i>Bacillus subtilis</i>	Inositol phosphate	Phytase
<i>Pseudomonas putida</i>	Inositol phosphate	Phytase
<i>Pseudomonas mendocina</i>	Inositol phosphate	Phytase
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Phosphonoacetate	Phosphonoacetate hydrolase
<i>Bacillus licheniformis</i>	D- α -glycerophosphate	D- α -glycerophosphatase
<i>Klebsiella aerogenes</i>	Phosphonate	C-P Lyase

นอกจากแบคทีเรียละลายฟอสเฟตจะช่วยให้ฟอสฟอรัสอยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืชมากขึ้นแล้ว แบคทีเรียละลายฟอสเฟตยังสามารถผลิตสารที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้อีกด้วย เช่น ฮอว์โมนสำหรับพืช (phytohormone) สารปฏิชีวนะ (antibiotics) หรือซีเดอโรฟออร์ (siderophore) (Kloepper *et. al.*, 1988; Gaur and Ostwal, 1972; Subba Rao, 1982; Gerretsen, 1948; Kucey *et. al.*, 1989)

การคัดแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตสามารถทำได้ด้วยการนำมาคัดแยกบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (plate screening method) ถ้าแบคทีเรียที่ขึ้นบนอาหารนั้นเป็นแบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟตได้

จะเกิดบริเวณใส (clear zone) รอบโคโลนี โดยในอาหารเลี้ยงเชื้อจะต้องมีการใส่ฟอสเฟตที่ไม่สามารถละลายน้ำ ได้แก่ ไตรแคลเซียมฟอสเฟต หรือ ไฮดรอกซีอะพาไทต์ แต่ในบางครั้งผลการทดลองในอาหารแข็งกับอาหารเหลวก็ให้ผลที่ตรงข้ามกัน คือ แบคทีเรียสามารถละลายฟอสเฟตในอาหารแข็งได้ดีมีบริเวณใสรอบโคโลนีที่ชัดเจน แต่ผลการละลายฟอสเฟตในอาหารเหลวกลับไม่ดีเท่า (Louw and Webley, 1959; Das, 1963; Ostwal and Bhide, 1972) อย่างไรก็ตามวิธีนี้ก็เป็นที่เชื่อถือได้สำหรับการคัดแยกและศึกษาลักษณะเบื้องต้นของแบคทีเรียละลายฟอสเฟต (Katznelson *et. al.*, 1962; Bardiya and Gaur, 1974; Darmwall *et. al.*, 1989; Illmer and Schinner, 1992; Goldstein and Liu, 1987) ในปี ค.ศ. 1994 Gupta และคณะ ได้พัฒนาอาหารสำหรับทดสอบแบคทีเรียละลายฟอสเฟตโดยการเติมบรอมอฟินอลบลู (bromophenol blue) ลงไปในอาหาร โดยอาหารนี้จะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองถ้าค่า pH เกิดการเปลี่ยนแปลง ซึ่งถ้าแบคทีเรียที่ขึ้นบนอาหารนี้สามารถละลายฟอสเฟตได้ อาหารจะเป็นสีเหลืองรอบโคโลนีของแบคทีเรีย เนื่องจากกรดอินทรีย์ที่แบคทีเรียผลิตออกมาเพื่อละลายฟอสเฟตนั่นเอง ซึ่งการทดสอบแบบนี้จะให้ผลการทดสอบที่ดีกว่าการทดสอบแบบธรรมดาที่ไม่มีการเติมบรอมอฟินอลบลู

การละลายฟอสเฟตของแบคทีเรียมีการศึกษาโดยทำการทดลองในหลอดทดลองโดยการใช้แหล่งฟอสฟอรัสที่ไม่สามารถละลายน้ำได้ แล้ววัดปริมาณฟอสฟอรัสที่ละลายออกมาในอาหารเหลว ซึ่งอัตราการละลายฟอสฟอรัสสามารถประเมินได้จากการนำไปลบออกจากปริมาณฟอสฟอรัสที่ใส่ในตอนต้น

5. กลไกในการละลายฟอสฟอรัสในดิน

การละลายฟอสเฟตโดยจุลินทรีย์มีกลไกที่แตกต่างกันออกไป (Salehrastin, 1999) เช่น กระบวนการทำให้เกิดกรด (acidification) กระบวนการคีเลต (chelation) และกระบวนการแลกเปลี่ยน (Exchange) (Gerke, 1992 ; Dadarwal, 1997 ; Yadav and Dadarwal, 1997) แต่ส่วนใหญ่การละลายฟอสเฟตเป็นผลมาจากการสร้างกรดโดยจุลินทรีย์ (Illmer, 1992) โดย Ivanova *et. al.* (2006) รายงานว่า จุลินทรีย์เหล่านี้จะผลิตกรดอินทรีย์มวลโมเลกุลต่ำ ออกมาซึ่งจะเข้าทำลายโครงสร้างและเปลี่ยนรูปของฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปที่พืชไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ให้กลับมาอยู่ในรูปที่พืชสามารถใช้ประโยชน์ได้ จากการศึกษาของ Chen *et. al.* (2005) ที่ศึกษาถึงความสามารถในการละลายฟอสเฟตใน tricalcium phosphate medium โดยพบความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมในการละลายฟอสฟอรัสกับค่า pH ที่ลดลง เนื่องจากกรดอินทรีย์ที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากกิจกรรมจุลินทรีย์ และจากการระบุน

ชนิดของกรดอินทรีย์เหล่านี้โดยวิธี High performance liquid chromatography (HPLC) พบกรดอินทรีย์ 7 ชนิด คือ citric acid gluconic acid lactic acid propionic acid และในรูปอื่นๆ ที่ยังไม่สามารถระบุได้อีก 3 ชนิด จากการศึกษาของ Vikaam *et. al.* (2007) ในการคัดแยกจุลินทรีย์ที่สามารถละลายฟอสฟอรัสในดิน Vertisol จำนวน 30 สายพันธุ์ พบว่า จุลินทรีย์เหล่านี้มีการผลิตกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ ออกมาประกอบด้วย gluconic acid tartaric acid citric acid maleic acid succinic acid และ oxalic acid ซึ่งกรดที่ผลิตออกมาสามารถจำแนกได้ 2 ชนิด คือ กรดอนินทรีย์ (inorganic acid) ได้แก่ กรดไนตริก และกรดซัลฟูริก (ภาพที่ 7) ที่ถูกสร้างขึ้นโดย *Nitrobacter* และ *Thiobacillus* ตามลำดับ และกรดอินทรีย์ (organic acid) ได้แก่ monocarboxylic acid (acetic หรือ formic), monocarboxylic hydroxyl (lactic gluconic หรือ glycolic), monocarboxylic, ketoglucenic, decarboxylic (oxalic หรือ succinic, dicarboxylic hydroxyl (malic หรือ maleic) และ tricarboxylic hydroxyl acid (citric) เป็นต้น (Lal, 2002)

6. ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียละลายฟอสเฟต

ปริมาณธาตุอาหารและสิ่งแวดล้อมของดินนั้นเป็นปัจจัยสำคัญต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย โดยทั่วไปเมื่อมีปัจจัยเหมาะสมแบคทีเรียจะสามารถเจริญเติบโตได้ดี สำหรับปริมาณธาตุอาหารในดินจากการศึกษาของ Vikaam *et. al.* (2007) เกี่ยวกับความสัมพันธ์กันระหว่างสมบัติของดินกับแบคทีเรียละลายฟอสเฟต โดยทำการคัดแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟต 66 ตัวอย่างในภาคเหนือของ Karnataka ประเทศอินเดีย พบว่าเป็นแบคทีเรียละลายฟอสเฟตจำนวน 31 ไอโซเลต และพบว่า จำนวนประชากรแบคทีเรียเพิ่มขึ้นอันเนื่องมาจากอินทรีย์คาร์บอนและปริมาณไนโตรเจนในดิน โดยมีความสัมพันธ์ในทางบวกอย่างเด่นชัดระหว่างประชากรของแบคทีเรียละลายฟอสเฟตกับอินทรีย์คาร์บอนและปริมาณไนโตรเจนในดินที่เพิ่มขึ้น และจากการศึกษาของ Ponmurugan and Gopi (2006) ได้ศึกษาถึงจำนวนและความหนาแน่นของประชากรจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตบริเวณรากพืชหลายชนิด พบว่า จำนวนและความหนาแน่นของประชากรเหล่านี้มีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดพืช เนื่องจากเศษพืชแต่ละชนิดที่สลายตัวเป็นโมเลกุลเล็กจะซึมซาบผ่านผนังเซลล์ไปได้ ทำให้จุลินทรีย์ได้พลังงานและคาร์บอนในการสร้างเซลล์ใหม่ ซึ่งต้องการธาตุอาหารที่จำเป็น (essential element) สำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2535)

ในส่วนของสิ่งแวดล้อมในดินนั้นมีผลต่อการเจริญและการละลายฟอสเฟตของจุลินทรีย์ โดย ภาวนา และวิทยา (2543) รายงานว่า ความชื้นมีผลต่อการอยู่รอดและประสิทธิภาพในการย่อยสลายหินฟอสเฟตของจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต แต่เมื่อปล่อยให้วันนานๆ 3-6 เดือน จำนวนเซลล์

แบคทีเรียและเชื้อราจะลดลง โดยเฉลี่ยประมาณ 10 – 100 เท่า จากการศึกษาของ Chen *et. al.* (2002) ยังพบว่า ชนิดของวัชพืชยังมีอิทธิพลเด่นชัดต่อองค์ประกอบและกิจกรรมของจุลินทรีย์เหล่านี้ นอกจากนี้แบคทีเรียละลายฟอสเฟตยังมีบทบาททำให้เกิดการละลายฟอสเฟตในบริเวณรากวัชพืชด้วย ดังนั้น การอนุรักษ์วัชพืชจะช่วยทำให้เกิดประโยชน์ต่อการพัฒนากระบวนการพัฒนาเกษตรในช่วงเริ่มแรก เนื่องจากดินที่ว่างเปล่าจะมีแหล่งคาร์บอนต่ำ จุลินทรีย์นำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้น้อย ดังนั้น การอนุรักษ์วัชพืชสามารถเพิ่มจำนวนแบคทีเรียในดินได้

7. บทบาทของแบคทีเรียละลายฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตของพืช

แบคทีเรียละลายฟอสเฟตมีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการเปลี่ยนรูปฟอสเฟต ซึ่งมีอิทธิพลต่อการปลดปล่อยอินทรีย์ฟอสเฟตให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อรากพืช และยังสามารถละลายหรือเปลี่ยนรูปอินทรีย์ฟอสเฟตให้อยู่ในรูปอนินทรีย์ฟอสเฟตในดินที่พืชและจุลินทรีย์ดินนำไปใช้ประโยชน์ได้ อีกทั้งยังช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวรากพืชในการดูดซับฟอสเฟต ทำให้พืชได้รับฟอสเฟตที่เป็นประโยชน์มากขึ้น ปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ได้ทำการศึกษาบทบาทของแบคทีเรียละลายฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตของพืชชนิดต่างๆ โดยนำแบคทีเรียละลายฟอสเฟตมาคลุกกับเมล็ดพืช เช่น Sudhansa (2004) ทำการคลุกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตสายพันธุ์ PAS2 กับเมล็ดข้าวโพด ข้าวสาลี และข้าวฟ่างก่อนปลูก พบว่าทำให้ผลผลิตของข้าวโพด ข้าวสาลี และข้าวฟ่างเพิ่มขึ้น 33.85 20.71 และ 19.19 กรัมต่อแอสแตร์ ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Han and Lee (2005) ที่ทำการศึกษาผลของแบคทีเรียที่ละลายฟอสเฟต *Bacillus megateridium* ต่อการเจริญเติบโตของมะเขือยาว พบว่า ดำรับที่มีการคลุกด้วยแบคทีเรียละลายฟอสเฟตทำให้น้ำหนักแห้งของลำต้น ราก น้ำหนักรวม และความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสในดินเพิ่มขึ้นร้อยละ 7.63 16.67 9.33 และ 6.17 ตามลำดับ

นอกจากนี้ Sharma and Agawal (2003) ได้ทำการศึกษาผลของแบคทีเรียละลายฟอสเฟต (*Pseudomonas striata*) ร่วมกับปุ๋ยฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตและผลตอบแทนทางเศรษฐกิจในพืชตระกูลถั่วคลุมดิน (*Trifolium alexandrinum*) ในประเทศอินเดียโดยการใช้ปุ๋ยฟอสฟอรัส อัตรา 0 20 40 60 80 และ 100 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อแอสแตร์ กับการคลุกและไม่คลุกแบคทีเรียละลายฟอสเฟต จากการทดลอง พบว่า การใช้แบคทีเรียคลุกเมล็ดจะทำให้ผลผลิตสูงกว่าการไม่คลุกเมล็ดด้วยแบคทีเรียละลายฟอสเฟต โดยทำให้ผลผลิตน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และโปรตีนเพิ่มขึ้นร้อยละ 7.13 9.20 และ 11.7 ตามลำดับ และเมื่อคิดผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ พบว่า การคลุกด้วยแบคทีเรียละลายฟอสเฟตร่วมกับปุ๋ยฟอสฟอรัสอัตรา 60 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อแอสแตร์ จะให้ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ

สูงสุด และ Manjitinder (2007) ทำการศึกษาผลของแบคทีเรียละลายฟอสเฟต ปุ๋ยคอกและปุ๋ยฟอสฟอรัสต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตถั่ว Lentil (*Lens culinaris* Medik) ที่ University of Agriculture and Technology, Pantnagar ซึ่งมีดำรับการทดลองประกอบด้วย การใช้แบคทีเรียละลายฟอสเฟตและไม่ใช้แบคทีเรียละลายฟอสเฟต การใส่ปุ๋ยคอกอัตรา 0 และ 5 ตันต่อเฮกเตอร์ และ ปุ๋ยฟอสฟอรัสอัตรา 0 20 และ 40 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อเฮกเตอร์ พบว่า การใช้แบคทีเรียละลายฟอสเฟตทำให้ผลผลิตถั่วแห้งเพิ่มขึ้น 3.97 และ 7.07 เปอร์เซ็นต์ และความสูงถั่วแห้งเพิ่มขึ้น 5.39 และ 5.58 เปอร์เซ็นต์ ในปี 2548 และ 2549 ตามลำดับ การใช้ปุ๋ยคอกอัตรา 5 ตันต่อเฮกเตอร์ ทำให้ผลผลิตถั่วเพิ่มขึ้น 6.3 และ 26.9 เปอร์เซ็นต์ ในปี ค.ศ. 2004 และ 2005 และการใช้ปุ๋ยฟอสฟอรัสอัตรา 40 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อเฮกเตอร์ ทำให้ผลผลิตถั่วในปี ค.ศ. 2004 และ 2005 เพิ่มขึ้น 5.83 และ 13.3 เปอร์เซ็นต์

ดังนั้นการศึกษาและพัฒนาการใช้จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์เพื่อสร้างเสริมคุณภาพทรัพยากรดินที่ยั่งยืน โดยการนำแบคทีเรียละลายฟอสเฟตมาใช้เป็น inoculum ในการเปลี่ยนรูปฟอสเฟตในดินให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์นั้นจึงเป็นเรื่องที่น่าทำการศึกษาเป็นอย่างยิ่ง ทำให้เกษตรกรสามารถพึ่งพาตนเองได้มากขึ้นด้วยทรัพยากรชีวภาพที่มีอยู่ในประเทศ เพื่อให้การผลิตพืชเกิดประโยชน์สูงสุด

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ขวดเก็บตัวอย่าง
2. ถังพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่างดิน
3. ถังน้ำแข็ง
4. อุปกรณ์การเก็บดิน ได้แก่ พลั่วมือ
5. จานสำหรับเลี้ยงจุลินทรีย์
6. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 125 250 และ 500 มิลลิลิตร
7. หม้อนึ่งความดันไอ
8. กล้องจุลทรรศน์
9. เครื่องปั่นเหวี่ยง
10. ตู้บ่มเชื้อ (incubator)
11. เครื่อง spectrophotometer
12. เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (shaker incubator)
13. เครื่อง atomic absorption spectrophotometer
14. เครื่องกลั่น
15. กระดาษกรอง

วิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างดิน

เก็บตัวอย่างดิน 3 ประเภท จำนวน 8 ชุดดิน (ตารางที่ 5 และภาพที่ 9) คือ

1.1 ดินนากรดกำมะถัน (paddy acid sulfate soils) จำนวน 2 ชุดดิน ได้แก่ ชุดดินรังสิต (Rs) และชุดดินอยุธยา (Ay)

1.2 ดินไร่ที่เป็นดิน Upland sesquioxide soils จำนวน 3 ชุดดิน ได้แก่ ชุดดิน ไชคชัย (Ci) ชุดดินปากช่อง (Pc) และชุดดินยโสธร (Yt)

1.3 ดินไร่ที่เป็นดิน Upland calcareous soils จำนวน 3 ชุดดิน ได้แก่ ชุดดินตากลิ (Tk) ชุดดินลพบุรี (Lb) และชุดดินลำานารายณ์ (Ln)

โดยเก็บตัวอย่างดินเพื่อนำมาคัดแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่ระดับความลึก 0-10 เซนติเมตร จากนั้นนำตัวอย่างดินมาแช่ในน้ำแข็งทันที และนำมาเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการคัดแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟต และทำการเก็บตัวอย่างดินที่ระดับความลึก 0-10 10-20 20-30 30-40 40-50 50-60 60-70 70-80 80-90 90-100 100-110 และ 110-120 เซนติเมตร (ภาพที่ 10) เพื่อนำมาวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของดินบางประการ

ตารางที่ 5 รายชื่อชุดดินที่เป็นตัวแทนดินกรดและดินด่างและสถานที่เก็บตัวอย่างดิน

ประเภทดิน	ชื่อชุดดิน	สถานที่เก็บตัวอย่างดิน
ดินนากรดกำมะถัน (paddy acid sulfate soils)	ชุดดินอุษยา (Ay)	ต.หินมูล อ.บางเลน จ.นครปฐม
	ชุดดินรังสิต (Rs)	ต.คลองเจ็ด อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี
ดินไร่ที่เป็นดิน upland sesquioxide soils	ชุดดินไชคชัย (Ci)	ต.หนองแรด อ.หนองบุญนาก จ.นครราชสีมา
	ชุดดินปากช่อง (Pc)	ต.กลางดง อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา
	ชุดดินยโสธร (Yt)	ต.ตะเคียน อ.ด่านขุนทด จ.นครราชสีมา
ดินไร่ที่เป็นดิน upland calcareous soils	ชุดดินตากลิ (Tk)	ต.ช่องสาริกา อ.พัฒนานิคม จ.ลพบุรี
	ชุดดินลพบุรี (Lb)	ต.สุขสำราญ อ.ตากฟ้า จ.นครสวรรค์
	ชุดดินลำานารายณ์ (Ln)	ต.นิคมลำานารายณ์ อ.ชัยบาดาล จ.ลพบุรี



ก. ชุคดินอยุธยา (Ay)



ข. ชุคดินโชคชัย (Ci)



ค. ชุคดินรังสิต (Rs)



ง. ชุคดินยโสธร (Yt)

ภาพที่ 9 ตัวอย่างพื้นที่บริเวณที่ไปเก็บตัวอย่างดิน



ชุดดินอยุธยา (Ay)

ชุดดินรังสิต (Rs)

(ก)

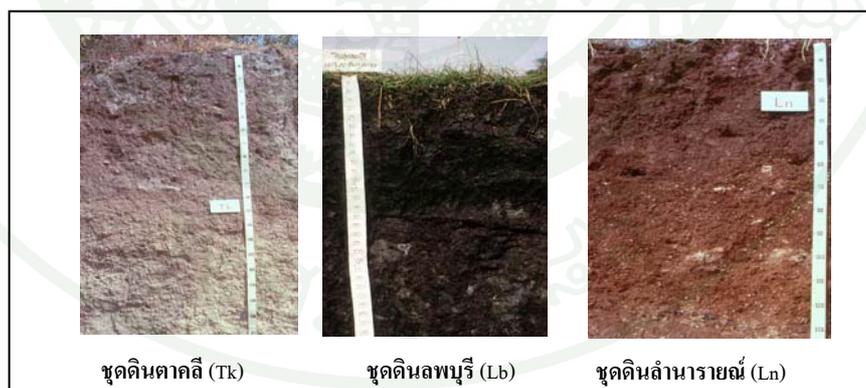


ชุดดินโชคชัย (Ci)

ชุดดินปากช่อง (Pe)

ชุดดินยโสธร (Yt)

(ข)



ชุดดินตากสิน (Tk)

ชุดดินลพบุรี (Lb)

ชุดดินลำนารายณ์ (Ln)

(ค)

ภาพที่ 10 ภาพหน้าตัดดินที่นำมาวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของดินบาง प्रकार

(ก) ดินนากรดกำมะถัน (paddy acid sulfate soil) ได้แก่ ชุดดินอยุธยา และชุดดินรังสิต

(ข) ดินไร้ที่เป็น upland sesquioxide ได้แก่ ชุดดินโซคซัย ชุดดินปากช่อง และชุดดินยโสธร

(ค) ดินไร้ที่เป็น upland calcareous soil ได้แก่ ชุดดินตาคลื ชุดดินลพบุรี และชุดดินถ่านารายณ์

2. การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของดินบางประการที่นำมาแยกแยะแบคทีเรียละลายฟอสเฟต

วิเคราะห์ดินทั้ง 8 ชุดดิน ที่ระดับความลึก 0-10 10-20 20-30 30-40 40-50 50-60 60-70 70-80 80-90 90-100 100-110 และ 110-120 เซนติเมตร

2.1 การวิเคราะห์ค่า pH ด้วย pH meter

การวัด pH ทำได้โดยชั่งดินตัวอย่างที่ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร ใส่บีกเกอร์ขนาด 100 และ 200 มิลลิลิตร ปริมาณ 20 กรัม เติมน้ำกลั่นปริมาตร 20 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร อัตราส่วน ดิน : น้ำ เท่ากับ 1 : 1 และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ขนาด 200 มิลลิลิตร อัตราส่วน ดิน : น้ำ เท่ากับ 1 : 5 คนตัวอย่างดินด้วยแท่งแก้ว 5 – 10 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้ดินตกตะกอน 30 นาที วัด pH ด้วย pH meter บันทึกผล

2.2 การวิเคราะห์หาฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (available phosphorous)

วิธีที่ใช้เป็นวิธีของ Bray II (Bray and Krutz, 1945) โดยชั่งตัวอย่างดินที่ร่อนผ่านตะแกรง 2 มิลลิเมตร จำนวน 2.5 กรัม ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 125 มิลลิลิตร เติมน้ำยาสกัด Bray II ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปิดปาก flask โดยใช้จุกยาง เขย่าเป็นเวลา 5 นาที กรองที่ผ่านกระดาษกรอง Whatmann เบอร์ 5 เก็บสารละลายที่กรองทิ้งไว้หาฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ จากนั้นเตรียมสารละลายมาตรฐาน โดยใช้ปิเปตดูดสารละลายมาตรฐาน 0 1 2 3 4 และ 5 มิลลิลิตร ตามลำดับ ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 25 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน เติมน้ำ 2% H_3BO_3 3 หยด เติมน้ำ reagent B 4 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 25 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 10 นาที เพื่อให้เกิดสีอย่างสมบูรณ์ วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 882 นาโนเมตร คำนวณปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดิน

3. การแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตจากดิน

การแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตจากดินจะใช้ดินที่ระดับความลึก 0-10 เซนติเมตร ในการศึกษานี้ทำการแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟต 2 วิธีคือ การแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตจากดิน โดยตรง (direct isolation) และการแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตด้วยเทคนิค enrichment culture

3.1 การแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตจากดินโดยตรง

ชั่งดินมา 5 กรัม ใส่ใน 0.85 % NaCl ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นนำไปเขย่าเป็นเวลา 30 นาทีด้วยเครื่องเขย่า (agitator) เพื่อให้ดินแตกออกจากกันกลายเป็น สารละลายดิน ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที และนำสารละลายใส่มาเจือจางด้วย 0.85 % NaCl ให้ได้ความ เข้มข้น 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , ..., 10^{-9} CFUต่อมิลลิลิตร แล้วนำมา spread plate บนอาหารแข็ง National Botanical Research Institute' phosphate growth medium (NBRIP) (National Botanical Research Institute, 1999) 3 สูตรดังนี้

สูตรที่ 1 อาหาร NBRIP ที่มี $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ เป็นแหล่งฟอสเฟต (ตารางที่ 6)

สูตรที่ 2 อาหาร NBRIP ที่มี AlPO_4 เป็นแหล่งฟอสเฟต (ตารางที่ 7)

สูตรที่ 3 อาหาร NBRIP ที่มี FePO_4 เป็นแหล่งฟอสเฟต (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 6 อาหาร NBRIP ที่มี $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ เป็นแหล่งฟอสเฟต

ส่วนประกอบ	ปริมาณ	
กลูโคส	10	กรัม
$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	10	กรัม
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.25	กรัม
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.2	กรัม
KCl	0.1	กรัม
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.1	กรัม
วุ้น (agar)	15	กรัม (สำหรับอาหารแข็ง)

นำสารทั้งหมดในตารางข้างตามปริมาณที่กำหนด จากนั้นเติมน้ำลงไปประมาณ 450 มิลลิลิตร คนให้ละลาย แล้วนำสารละลายที่ได้มาปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ปรับ pH เป็น 8.5 และฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

ตารางที่ 7 อาหาร NBRIP ที่มี $AlPO_4$ เป็นแหล่งฟอสเฟต

ส่วนประกอบ	ปริมาณ	
กลูโคส	10	กรัม
$AlPO_4$	5	กรัม
$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	0.25	กรัม
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.2	กรัม
KCl	0.1	กรัม
$(NH_4)_2SO_4$	0.1	กรัม
วุ้น (agar)	15	กรัม (สำหรับอาหารแข็ง)

นำสารทั้งหมดในตารางข้างตามปริมาณที่กำหนด จากนั้นเติมน้ำลงไปประมาณ 450 มิลลิลิตร คนให้ละลาย แล้วนำสารละลายที่ได้มาปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ปรับ pH เป็น 4.5 และฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

ตารางที่ 8 อาหาร NBRIP ที่มี FePO_4 เป็นแหล่งฟอสเฟต

ส่วนประกอบ	ปริมาณ	
กลูโคส	10	กรัม
FePO_4	5	กรัม
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.25	กรัม
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.2	กรัม
KCl	0.1	กรัม
$(\text{NH}_4)\text{SO}_4$	0.1	กรัม
วุ้น (agar)	15	กรัม (สำหรับอาหารแข็ง)

นำสารทั้งหมดในตารางข้างตามปริมาณที่กำหนด จากนั้นเติมน้ำลงไปประมาณ 450 มิลลิลิตร คนให้ละลาย แล้วนำสารละลายที่ได้มาปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ปรับ pH เป็น 4.5 และฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

3.2 การแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตด้วยเทคนิค enrichment culture

การแยกจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค enrichment culture อาหารเหลวที่ใช้ในการทดลองนี้คือ อาหารเหลว NBRIP ซึ่งมีด้วยกัน 3 สูตรเช่นเดียวกับการแยกแบคทีเรียจากดินโดยตรง โดยตัวอย่างดินไร่ที่เป็น upland calcareous soils ใช้อาหารที่มี $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ เป็นแหล่งฟอสเฟต สำหรับตัวอย่างดินนากรดกำมะถันและดินไร่ที่เป็น upland sesquioxide soils ใช้อาหารที่มี AlPO_4 และ FePO_4 เป็นแหล่งฟอสเฟต ตามลำดับ ดังนี้

การทำ enrichment culture

นำตัวอย่างดิน จำนวน 5 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ที่บรรจุอาหารเหลว NBRIP ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่มีการเติม AlPO_4 จำนวน 5 กรัม นำไปเขย่าด้วยความเร็วรอบ 150 รอบต่อ นาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน แล้วนำสารละลายดินที่ได้ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร มาใส่ลงในขวดชมพู่ที่บรรจุอาหารเหลวเดิม ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยความเร็วรอบ 150

รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ทำการถ่ายเชื้อเช่นนี้ ทุก 7 วัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์ ภายหลังจากการถ่ายสารละลายดินครบ 6 สัปดาห์ นำสารละลายดินปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มา spread ลงบนอาหารแข็ง NBRIP สูตรเดียวกับอาหารที่ enrichment culture ทำการบ่มแบคทีเรียไว้ที่ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน สังเกตการเจริญของแบคทีเรียละลายฟอสเฟต โดยแบคทีเรียละลาย ฟอสเฟตจะเกิดบริเวณใสรอบโคโลนี

3.3 การแยกเชื้อบริสุทธิ์

การแยกเชื้อบริสุทธิ์ ทำโดยการนำโคโลนีที่มีความสามารถในการเกิดบริเวณใสรอบ โคโลนี มาทำการ re-streak บนอาหารแข็งสูตรเดิมที่พบแบคทีเรียนั้นหลายๆ ครั้งจนพบว่าลักษณะ ของโคโลนีเดี่ยวๆ ที่เกิดขึ้นมีลักษณะคล้ายคลึงกัน

4. การทดสอบการละลายฟอสเฟตในรูป $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, FePO_4 และ AlPO_4

นำแบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่คัดแยกได้ มาทำการทดสอบการละลายฟอสเฟตในรูป $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, FePO_4 และ AlPO_4 โดยเลี้ยงแบคทีเรียละลายฟอสเฟตในอาหารเหลว NBRIP ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ที่ประกอบด้วย $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, FePO_4 หรือ AlPO_4 บ่มไว้ที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน หลังจากนั้นทำการทดสอบโดยการเก็บอาหารเหลวดังกล่าวข้างต้น มาทำการปั่นเหวี่ยงที่ ความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที นำสารละลายใสที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณฟอสเฟตที่ละลายได้โดยใช้ วิธี molybdenum-blue method ของ Murphy และ Riley (Murphy and Riley, 1962)

5. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์

นำแบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่คัดแยกได้มาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร NBRIP เป็นเวลา 14 วัน จากนั้นนำมาทำการย้อมแกรมด้วยวิธีของ Benson (2005) โดยมีวิธีการดังนี้

ทำการสเมียร์บนสไลด์ จากนั้นนำมาลนบนเปลวไฟ 2-3 ครั้ง เพื่อให้เชื้อติดแน่นบนสไลด์ แล้วหยด crystal violet ทิ้งไว้ประมาณ 20 วินาที ล้างด้วยน้ำเปล่า หยดไอโอดีน ทิ้งไว้ 1/2-1 นาที แล้ว ล้างด้วยแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ โดยให้ไหลผ่านซ้ำๆ บนสไลด์ จนกระทั่งไม่มีสีของ crystal violet ปนไปกับแอลกอฮอล์ (อย่างน้อย 20 วินาที) จากนั้นย้อมทับด้วย safranin O ทิ้งไว้ 1 นาที ล้าง

สีออกด้วยน้ำเปล่า ชับน้ำให้แห้งด้วยกระดาษ แล้วนำไปส่องกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า เพื่อดูการติดสีของจุลินทรีย์

6. การบ่งชี้แบคทีเรียละลายฟอสเฟตสายพันธุ์ Rs 01 ด้วยวิธี Biolog microlog system

นำแบคทีเรียละลายฟอสเฟตสายพันธุ์ Rs 01 ที่สามารถละลายฟอสเฟตได้มากที่สุดจากการทดสอบการละลายฟอสเฟตข้างต้นมาทำการระบุชนิดโดยการทดสอบด้วยวิธี Biolog microlog system โดยขั้นแรกเตรียมสายพันธุ์ Rs 01 ตามวิธีปฏิบัติของ BIOLOG (Biolog, Inc., Hayward, CA, USA) บนอาหารแข็ง BIOLOG Universal Growth (BUG) เมื่อแบคทีเรียบนอาหารแข็งโตนำมาใส่ใน GN2 MicroPlate™ ซึ่งเป็นอาหารเหลวที่มีแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ บรรจุอยู่ จากนั้นนำมาบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปอ่านค่าการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและระบุชนิดของแบคทีเรียด้วย MicroLog™ System 4.20

7. ศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียละลายฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพดหวานพันธุ์ อินทรี 2

7.1 การเก็บตัวอย่างดิน

เก็บตัวอย่างดินชุดตาคลี จากอำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา โดยเก็บตัวอย่างดินที่ระดับความลึก 0-20 เซนติเมตร ซึ่งดินนี้มีลักษณะเป็นดินปนปูน

7.2 การวิเคราะห์สมบัติของดินบางประการก่อนปลูก

ทำการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและทางกายภาพของดินบางประการ โดยนำตัวอย่างดินไปผึ่งลมให้แห้ง จากนั้นนำมาร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร และ 0.5 มิลลิเมตร เพื่อนำไปวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและทางกายภาพ ดังนี้

การวิเคราะห์ค่า pH ด้วย pH meter

ทำได้โดยชั่งดินตัวอย่างที่ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร ใส่บีกเกอร์ ขนาด 100 และ 200 มิลลิลิตร ปริมาณ 20 กรัม เติมน้ำกลั่นปริมาตร 20 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ ขนาด 100 มิลลิลิตร อัตราส่วน ดิน : น้ำ เท่ากับ 1 : 1 และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ ขนาด 200 มิลลิลิตร อัตราส่วน ดิน : น้ำ เท่ากับ 1 : 5 คนตัวอย่างดินด้วยแท่งแก้ว 5 – 10 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้ดินตกตะกอน 30 นาที วัด pH ด้วย pH meter บันทึกผล

การวิเคราะห์อินทรียวัตถุในดิน

เป็นการทำปฏิกิริยา wet oxidation ซึ่งเป็นวิธีของ Walkley and Black (Walkley and Black, 1934) โดยใช้ตัวอย่างดินที่บดไว้ละเอียด (ผ่านตะแกรงขนาด 0.5 มิลลิเมตร)

การคำนวณ

$$\% \text{ organic carbon} = \frac{(\text{me K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 - \text{me FeSO}_4) \times 0.003 \times 100 \times 1.33}{\text{weight of sample in grams}}$$

$$\% \text{ อินทรียวัตถุ} = \% \text{ organic carbon} \times 1.72$$

การวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมด (total nitrogen)

การวิเคราะห์หาไนโตรเจนทั้งหมด ใช้วิธี Kjeldahl method (Jackson, 1965; ทศนีย์ และจรงค์, 2542) ประกอบด้วย 2 ส่วนคือ digestion และ distillation

Digestion เป็นการย่อยตัวอย่างดิน (ผ่านตะแกรงร่อนขนาด 0.5 มิลลิเมตร) ด้วยกรด ซัลฟูริกเข้มข้น ที่อุณหภูมิ 320 องศาเซลเซียส

Distillation เป็นขั้นตอนการกลั่นสารละลายที่ได้จากการย่อย และดักจับไนโตรเจน ด้วย H_3BO_3 indicator

การคำนวณ

$$\% N = \frac{\text{ml HCl used (sample-blank titration)} \times \text{normality ของ HCl} \times 100 \times 1.4}{\text{weight of soil sample (grams)}}$$

การวิเคราะห์หาฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (available phosphorous)

วิธีที่ใช้เป็นวิธีของ Bray II (Bray and Krutz, 1945) เช่นเดียวกับในข้อ 2.2

การวิเคราะห์หาโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (exchangeable K)

นำดินตัวอย่างมาสกัดด้วยสารละลาย NH_4OAc เขย่าด้วยเครื่องเขย่าเป็นเวลา 30 นาที กรองด้วยกระดาษกรอง Whatmann เบอร์ 2 วิเคราะห์หาปริมาณ K ด้วยเครื่อง Atomic absorption spectrophotometer (Varian AA-220, USA.)

7.3 การเพาะปลูกข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2 ในโรงเรือน

การเตรียมดิน

นำตัวอย่างดินที่เก็บมาผึ่งให้แห้งในที่ร่ม เก็บเศษซากพืช เอาหินขนาดใหญ่ออก คลุกตัวอย่างดินให้เป็นเนื้อเดียว เพื่อให้เป็น homogeneous จากนั้นนำดินบรรจุใส่ลงกระถาง 8 กิโลกรัมต่อกระถาง รดน้ำให้ชุ่มทิ้งไว้ 1 คืน ก่อนนำเมล็ดที่เตรียมไว้มาปลูก

การใส่ปุ๋ยเคมี

อัตราปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมที่ใส่เท่ากับ 3.46 1.30 และ 1.73 กรัมต่อกระถาง ตามลำดับ ส่วนหินฟอสเฟตใส่ 2.5 กรัมต่อกระถาง

การเตรียมแบคทีเรียสายพันธุ์ Rs 01 และการบ่มเชื้อลงในดิน

การเตรียมแบคทีเรียสายพันธุ์ Rs 01 ทำได้โดยเลี้ยง Rs 01 ในอาหารเหลว NBRIP ที่มี การเติมฟอสเฟตในรูป $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_2$ แล้วนำไปเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วล้างตะกอนเซลล์ด้วย 0.85% NaCl แล้วปรับค่า OD_{600} ให้ได้ ค่าเท่ากับ 0.8 และทำการประเมินจำนวนเซลล์โดยวิธี plate count ได้เท่ากับ 10^8 CFU ต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายของแบคทีเรียสายพันธุ์ Rs 01 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร หยดลงดินบริเวณต้นกล้า ข้าวโพดหวานในกระถางที่เตรียมไว้

การเตรียมกล้าข้าวโพดหวาน

ทำการเพาะต้นกล้าข้าวโพดหวาน โดยจะต้องเพาะต้นกล้าข้าวโพดหวานในวัสดุปลูก 1 วัน เมื่อต้นข้าวโพดหวานเจริญเติบโตแล้วจึงย้ายไปปลูกในกระถางที่เตรียมดินไว้ปริมาณ 8 กิโลกรัม แล้วนำมาปลูกในกระถางจำนวน 4 ต้นต่อกระถาง เมื่อต้นกล้าสามารถเจริญเติบโตได้แล้ว จึงทำการถอนต้นกล้าที่เหลือ 1 ต้นต่อกระถาง

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ประกอบด้วย 7 ดำรับการทดลอง ดังนี้

ดำรับการทดลองที่ 1 ดินเดิม (control)

ดำรับการทดลองที่ 2 ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และ โพแทสเซียม (NPK)

ดำรับการทดลองที่ 3 ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน โพแทสเซียม และแบคทีเรียละลายฟอสเฟต

(NK+Rs 01)

ดำรับการทดลองที่ 4 ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน โพแทสเซียม และหินฟอสเฟต (NK+RP)

ดำรับการทดลองที่ 5 ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน โพแทสเซียม หินฟอสเฟต และแบคทีเรียละลายฟอสเฟต

(NK+RP+Rs 01)

ดำรับการทดลองที่ 6 ใส่แบคทีเรียละลายฟอสเฟต (Rs 01)

ดำรับการทดลองที่ 7 ใส่หินฟอสเฟต (RP)

การเก็บและวิเคราะห์ข้อมูล

การเก็บข้อมูลพืช จะเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตของข้าวโพดหวาน ได้แก่ ความสูง และขนาดเส้นรอบวงลำต้น ที่ระยะการเจริญเติบโต 15 30 45 และ 54 วัน ส่วนผลผลิตวัดจาก น้ำหนักแห้งของลำต้น และใบ ซึ่งเก็บข้อมูลที่อายุ 54 วัน (ระยะออกไหม) และ ที่อายุ 75 วัน (ระยะเก็บเกี่ยว) สำหรับตัวอย่างดินจะเก็บมาวิเคราะห์ค่าปฏิกิริยาดิน ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ หลังจากเก็บเกี่ยวที่อายุ 75 วัน

7.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำค่าวิเคราะห์ของดินและพืช ทั้งก่อนปลูกและหลังปลูกมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ด้วยโปรแกรม IRRI STAT เวอร์ชัน DOS

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. สมบัติบางประการของดินที่นำมาคัดแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟต

1.1 การวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และค่าปฏิกิริยาดินของดินนากรดกำมะถัน (Paddy acid sulfate soils)

ชุดดินอุษยา (Ay) จากผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ของชุดดินอุษยา (Ay) โดยศึกษาการสะสมฟอสเฟตในหน้าตัดดิน แสดงไว้ในตารางที่ 9 ปรากฏว่าที่ระดับความลึกของดิน 0-10 เซนติเมตร มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์สูง ปฏิกิริยาดินเป็นกรดปานกลาง (pH 6.0) และที่ระดับความลึกของดิน 10-20 เซนติเมตร มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ค่อนข้างสูง ปฏิกิริยาดินเป็นกรดจัด (pH 5.5) และที่ระดับความลึกของดิน 20 เซนติเมตรลงไปจนถึง 120 เซนติเมตร มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ค่อนข้างต่ำจนถึงต่ำ ปฏิกิริยาดินเป็นกรดแก่ถึงกรดจัดมาก (pH 4.7-3.6)

ชุดดินรังสิต (Rs) จากผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ของชุดดินรังสิต (Rs) โดยศึกษาการสะสมฟอสเฟตในหน้าตัดดิน แสดงไว้ในตารางที่ 10 ปรากฏว่าที่ระดับความลึกของดิน 0-10 เซนติเมตร มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ค่อนข้างสูง ค่าปฏิกิริยาดินเป็นกรดจัด (pH 5.1) และที่ระดับความลึกของดิน 10-20 เซนติเมตร มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ปานกลาง ค่าปฏิกิริยาดินกรดรุนแรงมาก (pH 4.2) และที่ระดับความลึกของดิน 20 เซนติเมตรลงไป จนถึง 120 เซนติเมตร มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ค่อนข้างต่ำจนถึงต่ำ ค่าปฏิกิริยาดินเป็นกรดรุนแรงมาก (pH 3.9-3.5)

ตารางที่ 9 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และค่าปฏิกิริยาดินของดินนากรด
กำมะถัน (Paddy acid sulfate soils) ของชุดดินอยุธยา (Ay)

ชุดดิน	ความลึกของดิน (ซม.)	pH	available P	
			ค่าที่วิเคราะห์ได้ (mg/kg)	ระดับเกณฑ์ที่ ประเมิน
Ay	0-10	6.0	39.72	สูง
	10-20	5.5	17.31	ค่อนข้างสูง
	20-30	5.3	9.16	ค่อนข้างต่ำ
	30-40	4.7	3.41	ต่ำ
	40-50	3.9	3.77	ต่ำ
	50-60	3.7	2.18	ต่ำมาก
	60-70	3.6	2.77	ต่ำมาก
	70-80	3.6	2.48	ต่ำมาก
	80-90	3.7	4.40	ต่ำ
	90-100	3.7	3.30	ต่ำ
	100-110	3.7	2.24	ต่ำมาก
	110-120	3.7	3.86	ต่ำ

ตารางที่ 10 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และค่าปฏิกิริยาดินของดินนากรด
กำมะถัน (paddy acid sulfate soils) ของชุดดินรังสิต (Rs)

ชุดดิน	ความลึกของดิน (ซม.)	pH	available P	
			ค่าที่วิเคราะห์ได้ (mg/kg)	ระดับเกณฑ์ที่ ประเมิน
Rs	0-10	5.1	15.42	ค่อนข้างสูง
	10-20	4.2	11.67	ปานกลาง
	20-30	3.9	4.97	ต่ำ
	30-40	3.7	4.85	ต่ำ
	40-50	3.7	3.84	ต่ำ
	50-60	3.6	5.76	ต่ำ
	60-70	3.6	4.49	ต่ำ
	70-80	3.6	5.12	ค่อนข้างต่ำ
	80-90	3.6	2.86	ต่ำมาก
	90-100	3.5	1.85	ต่ำมาก
	100-110	3.5	6.33	ค่อนข้างต่ำ
	110-120	3.5	4.66	ต่ำ

1.2 การวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และค่าปฏิกิริยาดินในดินไร่ที่เป็น upland sesquioxide soils

ชุดดิน ไชคชัย (Ci) จากผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ของชุดดิน ไชคชัย (Ci) โดยศึกษาการสะสมฟอสเฟตในหน้าตัดดิน แสดงไว้ในตารางที่ 11 ปรากฏว่าทุกระดับ ความลึกของดิน 10 เซนติเมตร จนถึง 120 เซนติเมตร มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์สูง โดยเฉพาะที่ระดับความลึก 70-80 80-90 90-100 100-110 และ 110-120 มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์สูงอยู่ที่ 241.39 – 287.79 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สาเหตุที่เป็นเช่นนี้เพราะเกษตรกรมีการ ใส่ปุ๋ยเคมีฟอสฟอรัสในการเกษตร ส่วนปฏิกิริยาดินเป็นกรดปานกลาง (pH 5.7) ที่ระดับความลึกของดิน 0-10 เซนติเมตร และ 10-20 เซนติเมตร ปฏิกิริยาดินเป็นกรดจัด ที่ระดับความลึกของดิน 20 เซนติเมตร จนถึง 70 เซนติเมตร (pH 5.3-5.5) และปฏิกิริยาดินเป็นกรดรุนแรงมากถึงกรดจัดมากที่สุดที่ ระดับความลึกของดิน 70 เซนติเมตรลงไปจนถึง 120 เซนติเมตร (pH 4.0-5.0)

ชุดดินปากช่อง (Pc) จากผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ของชุด ดินปากช่อง (Pc) โดยศึกษาการสะสมฟอสเฟตในหน้าตัดดิน แสดงไว้ในตารางที่ 12 ปรากฏว่าที่ ระดับความลึกของดิน 0-10 เซนติเมตร 10-20 เซนติเมตร และ 20-30 เซนติเมตร มีปริมาณ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์สูง ปฏิกิริยาดินเป็นกรดเล็กน้อยถึงปานกลาง (pH 6.5-6.7) ส่วนที่ระดับ ความลึก 30 เซนติเมตร ลงไปจนถึง 120 เซนติเมตร ปรากฏว่ามีระดับฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่ำ มาก ปฏิกิริยาดินเป็นกรดเล็กน้อยถึงเป็นด่างเล็กน้อย (pH 6.2-7.6) นอกจากนี้ยังปรากฏว่าที่ระดับ ความลึกของดิน 40-50 และ 70-120 เซนติเมตร มีค่าฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 0 มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัม สาเหตุที่เป็นเช่นนี้เพราะดินที่ระดับความลึกดังกล่าวไม่สามารถวัดปริมาณฟอสฟอรัสที่ เป็นประโยชน์ได้โดยวิธี Bray II

ชุดดินยโสธร (Yt) จากผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ของชุด ดินยโสธร (Yt) โดยศึกษาการสะสมฟอสเฟตในหน้าตัดดิน แสดงไว้ในตารางที่ 13 ปรากฏว่าที่ ระดับความลึกของดิน 0-10 เซนติเมตร และ 10-20 เซนติเมตร มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ ก่อนข้างต่ำ ปฏิกิริยาดินเป็นกรดรุนแรงมากถึงกรดจัดมาก (pH 4.3-4.7) ส่วนที่ระดับความลึกของ ดิน 20 เซนติเมตร จนถึง 120 เซนติเมตร มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่ำจนถึงต่ำมาก ค่า ปฏิกิริยาดินเป็นกรดรุนแรงมาก (pH 3.8-4.3)

ตารางที่ 11 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และค่าปฏิกิริยาดินของดินไร่ที่เป็น upland sesquioxide soils ของชุดดิน โซคชัย (Ci)

ชุดดิน	ความลึกของดิน (ซม.)	pH	available P	
			ค่าที่วิเคราะห์ได้ (mg/kg)	ระดับเกณฑ์ที่ ประเมิน
Ci	0-10	5.7	209.76	สูง
	10-20	5.7	222.67	สูง
	20-30	5.5	160.64	สูง
	30-40	5.4	64.61	สูง
	40-50	5.4	76.73	สูง
	50-60	5.3	113.41	สูง
	60-70	5.3	144.54	สูง
	70-80	5.0	241.39	สูง
	80-90	4.5	259.24	สูง
	90-100	4.2	287.79	สูง
	100-110	4.1	254.28	สูง
	110-120	4.0	253.33	สูง

หมายเหตุ จากผลการวิเคราะห์ดิน โซคชัย (Ci) พบว่า มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์สูง เนื่องจากเก็บตัวอย่างดินหลังจากเกษตรกรมีการใส่ปุ๋ยเคมี

ตารางที่ 12 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และค่าปฏิกิริยาดินของดินไรที่เป็น upland sesquioxide soils ของชุดดินปากช่อง (Pc)

ชุดดิน	ความลึกของดิน (ซม.)	pH	available P	
			ค่าที่วิเคราะห์ได้ (mg/kg)	ระดับเกณฑ์ที่ ประเมิน
Pc	0-10	6.6	45.31	สูง
	10-20	6.5	55.25	สูง
	20-30	6.7	65.07	สูง
	30-40	7.0	2.37	ต่ำมาก
	40-50	6.9	0.00	ต่ำมาก
	50-60	7.3	1.18	ต่ำมาก
	60-70	7.6	0.91	ต่ำมาก
	70-80	6.5	0.00	ต่ำมาก
	80-90	6.3	0.00	ต่ำมาก
	90-100	6.2	0.00	ต่ำมาก
	100-110	6.5	0.00	ต่ำมาก
	110-120	6.3	0.00	ต่ำมาก

ตารางที่ 13 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และค่าปฏิกิริยาของดินไรที่เป็น upland sesquioxide soils ของชุดดินยโสธร (Yt)

ชุดดิน	ความลึกของดิน (ซม.)	pH	available P	
			ค่าที่วิเคราะห์ได้ (mg/kg)	ระดับเกณฑ์ที่ ประเมิน
Yt	0-10	4.7	9.19	ค่อนข้างต่ำ
	10-20	4.3	9.29	ค่อนข้างต่ำ
	20-30	4.2	3.79	ต่ำ
	30-40	4.1	2.72	ต่ำมาก
	40-50	4.1	3.22	ต่ำ
	50-60	4.1	1.79	ต่ำมาก
	60-70	4.0	0.64	ต่ำมาก
	70-80	3.9	0.08	ต่ำมาก
	80-90	3.9	1.02	ต่ำมาก
	90-100	3.9	1.20	ต่ำมาก
	100-110	3.8	0.06	ต่ำมาก
	110-120	3.8	1.97	ต่ำมาก

1.3 การวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และค่าปฏิกิริยาดินในดินไรที่เป็น upland calcareous soils

ชุดดินลพบุรี (Lb) จากผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ของชุดดินลพบุรี (Lb) โดยศึกษาการสะสมฟอสเฟตในหน้าตัดดิน แสดงไว้ในตารางที่ 14 ปรากฏว่าที่ระดับความลึกของดิน 0-10 10-20 และ 20-30 เซนติเมตร มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ค่อนข้างต่ำ ปฏิกิริยาดินเป็นด่างเล็กน้อย (pH 7.6-7.8) ส่วนที่ระดับความลึกของดิน 40 เซนติเมตร ลงไปจนถึง 120 เซนติเมตร มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่ำจนถึงต่ำมาก ค่าปฏิกิริยาดินเป็นด่างเล็กน้อยถึงด่างปานกลาง (pH 7.8-7.9)

ชุดดินลำานารายณ์ (Ln) จากผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ของชุดดินลำานารายณ์ (Ln) โดยศึกษาการสะสมฟอสเฟตในหน้าตัดดิน แสดงไว้ในตารางที่ 15 ปรากฏว่าที่ระดับความลึกของดิน 0-10 เซนติเมตร และ 10-20 เซนติเมตร มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์สูง ที่ระดับความลึกของดิน 20-30 เซนติเมตร มีระดับฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ค่อนข้างสูง ที่ระดับความลึกของดิน 30-40 เซนติเมตร มีระดับฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ปานกลาง มีปฏิกิริยาดินเป็นด่างเล็กน้อย (pH 7.4) ส่วนที่ระดับความลึกของดิน 40 เซนติเมตร ลงไปจนถึง 120 เซนติเมตร มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่ำ มีปฏิกิริยาดินทุกระดับความลึกของดิน 10 เซนติเมตร จนถึง 120 เซนติเมตร มีปฏิกิริยาดินเป็นด่างเล็กน้อย (pH 7.5-7.8)

ชุดดินตาคลี (Tk) จากผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ของชุดดินตาคลี (Tk) ในจุดที่เก็บสำหรับศึกษาการสะสมฟอสเฟตในหน้าตัดดิน แสดงไว้ในตารางที่ 16 ปรากฏว่าที่ระดับความลึกของดิน 0-10 เซนติเมตร จนถึง 10-20 เซนติเมตร มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ค่อนข้างสูง และที่ระดับความลึก 20-30 เซนติเมตร มีระดับฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ปานกลาง ที่ระดับความลึกของดิน 30-40 เซนติเมตร มีระดับฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่ำมาก ทุกระดับความลึกของดินที่เก็บได้ดินมีปฏิกิริยาดินเป็นด่างเล็กน้อย (pH 7.4-7.5)

ตารางที่ 14 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และค่าปฏิกิริยาดินในดินไร่ที่เป็น upland calcareous soils ของชุดดินลพบุรี (Lb)

ชุดดิน	ความลึกของดิน (ซม.)	pH	available P	
			ค่าที่วิเคราะห์ได้ (mg/kg)	ระดับเกณฑ์ที่ ประเมิน
Lb	0-10	7.6	9.03	ค่อนข้างต่ำ
	10-20	7.7	9.68	ค่อนข้างต่ำ
	20-30	7.7	7.58	ค่อนข้างต่ำ
	30-40	7.8	4.97	ต่ำ
	40-50	7.9	1.08	ต่ำมาก
	50-60	7.9	1.09	ต่ำมาก
	60-70	7.8	0.74	ต่ำมาก
	70-80	7.9	0.70	ต่ำมาก
	80-90	7.9	0.74	ต่ำมาก
	90-100	7.9	0.74	ต่ำมาก
	100-110	7.9	0.76	ต่ำมาก
	110-120	7.9	0.81	ต่ำมาก

ตารางที่ 15 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และค่าปฏิกิริยาดินในดินไร่ที่เป็น Upland calcareous soils ของชุดดินถ่านารายณ์ (Ln)

ชุดดิน	ความลึกของดิน (ซม.)	pH	available P	
			ค่าที่วิเคราะห์ได้ (mg/kg)	ระดับเกณฑ์ที่ ประเมิน
Ln	0-10	7.4	38.58	สูง
	10-20	7.4	28.11	สูง
	20-30	7.4	22.96	ค่อนข้างสูง
	30-40	7.5	12.66	ปานกลาง
	40-50	7.5	5.62	ค่อนข้างต่ำ
	50-60	7.6	5.68	ค่อนข้างต่ำต่ำ
	60-70	7.6	3.34	ต่ำ
	70-80	7.6	1.75	ต่ำมาก
	80-90	7.8	0.19	ต่ำมาก
	90-100	7.8	0.18	ต่ำมาก
	100-110	7.8	0.17	ต่ำมาก
	110-120	7.8	0.19	ต่ำมาก

ตารางที่ 16 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และค่าปฏิกิริยาดินในดินไร่ที่เป็น upland calcareous soils ของชุดดินตาคลี (Tk)

ชุดดิน	ความลึกของดิน (ซม.)	pH	available P	
			ค่าที่วิเคราะห์ได้ (mg/kg)	ระดับเกณฑ์ที่ ประเมิน
Tk	0-10	7.4	22.00	ค่อนข้างสูง
	10-20	7.4	24.25	ค่อนข้างสูง
	20-30	7.4	10.58	ปานกลาง
	30-40	7.5	2.15	ต่ำมาก
	40-50	-	-	-
	50-60	-	-	-
	60-70	-	-	-
	70-80	-	-	-
	80-90	-	-	-
	90-100	-	-	-
	100-110	-	-	-
	110-120	-	-	-

หมายเหตุ เครื่องหมาย - คือไม่ได้มีการวิเคราะห์ฟอสฟอรัส

1.4 การวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และค่าปฏิกิริยาดินในดินที่ใช้สำหรับการแยกเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟต

ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และค่าปฏิกิริยาดินในดินที่ใช้สำหรับการแยกเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟต ดังแสดงไว้ในตารางที่ 17

ชุดดินยูรธา (Ay) จากผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชของตัวแทนดินในจุดที่เก็บสำหรับการแยกเชื้อ ปรากฏว่าที่ระดับความลึกของดิน 0-10 เซนติเมตร มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชสูง ส่วนปฏิกิริยาดินเป็นกรดจัดในดินบน (pH 5.0)

ชุดดินรังสิต (Rs) จากผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชของตัวแทนดินในจุดที่เก็บสำหรับการแยกเชื้อ ปรากฏว่าที่ระดับความลึกของดิน 0-10 เซนติเมตร มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชสูง ปฏิกิริยาดินเป็นกรดเล็กน้อย (pH 6.4)

ชุดดินโชคชัย (Ci) จากผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชของตัวแทนดินในจุดที่เก็บสำหรับการแยกเชื้อ ปรากฏว่าที่ระดับความลึกของดิน 0-10 เซนติเมตร มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชสูง ปฏิกิริยาดินเป็นกรดเล็กน้อย (pH 6.3)

ชุดดินปากช่อง (Pc) จากผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชของตัวแทนดินในจุดที่เก็บสำหรับการแยกเชื้อ ปรากฏว่าที่ระดับความลึก 0-10 เซนติเมตร มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชสูง ปฏิกิริยาดินเป็นกลาง (pH 7.2)

ชุดดินโยธธ (Yt) จากผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชของตัวแทนดินในจุดที่เก็บสำหรับการแยกเชื้อ ปรากฏว่าที่ระดับความลึก 0-10 เซนติเมตร มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชปานกลาง ปฏิกิริยาดินเป็นกรดจัด (pH 5.0)

ชุดดินลพบุรี (Lb) จากผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชของตัวแทนดินในจุดที่เก็บสำหรับการแยกเชื้อ ปรากฏว่าที่ระดับความลึกของดิน 0-10 เซนติเมตร มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชปานกลาง (pH 7.7)

ชุดดินลำนารายณ์ (Ln) จากผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชของตัวแทนดินในจุดที่เก็บสำหรับการแยกเชื้อ ปรากฏว่าที่ระดับความลึกของดิน 0-10 เซนติเมตร มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชต่ำ ดินบนมีปฏิกิริยาดินเป็นกลาง (pH 7.3)

ชุดดินตาคลี (Tk) จากผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชของตัวแทนดินในจุดที่เก็บสำหรับการแยกเชื้อ ปรากฏว่าที่ระดับความลึกของดิน 0-10 เซนติเมตร และ 30-40 เซนติเมตร มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชสูง ดินทั้ง 2 ระดับความลึกมีปฏิกิริยาดินเป็นด่างอ่อน (pH 7.6)



ตารางที่ 17 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และค่าปฏิกิริยาดินในดินที่ใช้สำหรับการแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟต

ชุดดิน	ความลึกของดิน (ซม.)	pH	available P	
			ค่าที่วิเคราะห์ได้ (mg/kg)	ระดับเกณฑ์ที่ ประเมิน
Ay	0-10	6.0	39.72	สูง
Rs	0-10	5.1	15.42	ปานกลาง
Ci	0-10	5.7	209.76	สูงมาก
Pc	0-10	6.6	45.31	ค่อนข้างสูง
Yt	0-10	4.7	9.19	ค่อนข้างต่ำ
Lb	0-10	7.6	9.03	ค่อนข้างต่ำ
Ln	0-10	7.3	38.58	สูง
Tk	0-10	7.4	22.00	ค่อนข้างสูง

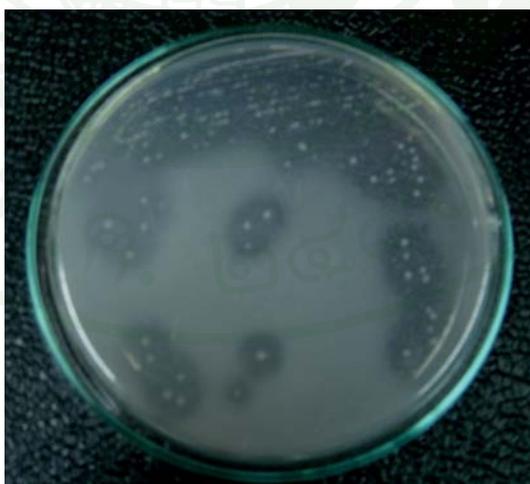
2. การแยกและคัดเลือกแบคทีเรียละลายฟอสเฟต

การคัดแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตจากดินที่มีปฏิกิริยาเป็นกรดจากชุดดินรังสิต และชุดดินอยุธยา ซึ่งเป็นดินนากรดกำมะถัน ชุดดินโชคชัย ชุดดินปากช่อง ชุดดินยโสธร ซึ่งเป็นดินไร่ที่เป็นดิน upland sesquioxide soil และดินที่มีปฏิกิริยาเป็นด่าง ชุดดินตาคี ชุดดินลพบุรี ชุดดินลำานารายณ์ ซึ่งเป็นดินไร่ที่เป็นดิน upland calcareous soil โดยการศึกษาในครั้งนี้ได้ใช้วิธีการคัดแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตจากดินโดยตรง (direct isolation) และเทคนิค enrichment culture ผลการคัดแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟต พบว่า การศึกษาในครั้งนี้ไม่สามารถแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตได้ด้วยวิธีการคัดแยกจากดินโดยตรง แต่การคัดแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตด้วยเทคนิค enrichment culture สามารถแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตได้ 24 ไอโซเลต โดยพบในชุดดินโชคชัยมากที่สุด 11 ไอโซเลต รองลงมาเป็นชุดดินรังสิตคัดแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตได้ 6 ไอโซเลต และสามารถคัดแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตได้จากชุดดินลำานารายณ์ และชุดดินอยุธยา จำนวน 3 และ 2 ไอโซเลต ตามลำดับ ส่วนชุดดินปากช่องและชุดดินยโสธรรคัดแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตได้ ชุดดินละ 1 ไอโซเลต แต่ในชุดดินตาคี และชุดดินลพบุรี ไม่สามารถคัดแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตได้ ดังตารางที่ 18 โดยแบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่แยกได้นี้สังเกตได้จากวงใสรอบโคโลนี

บนอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วนำมาคัดแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ ดังแสดงในภาพที่ 11 จากนั้นนำแบคทีเรียละลายฟอสเฟตทั้ง 24 ไอโซเลต มา streak บนอาหารแข็ง จนกระทั่งได้เชื้อที่บริสุทธิ์ คือ แบคทีเรียที่ได้จะมีโคโลนีเดี่ยว และโคโลนีที่ได้มีความเหมือนกันทั้งงานเลี้ยงเชื้อ

ตารางที่ 18 จำนวนแบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่คัดแยกได้จากชุดดินต่างๆ

ประเภทของดิน	ชุดดิน	จำนวนแบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่คัดแยกได้ (ไอโซเลต)
ดินนากรดกำมะถัน	Ay	2
	Rs	6
ดินไร่ที่เป็นดิน upland sesquioxide soil	Ci	11
	Pc	1
	Yt	1
ดินไร่ที่เป็นดิน upland calcareous soil	Tk	0
	Lb	0
	Ln	3



ภาพที่ 11 การทำเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่คัดแยกจากชุดดินรังสิตให้บริสุทธิ์บนอาหารแข็ง สูตร NBRIP ที่เติม $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$

3. การละลายฟอสเฟตของแบคทีเรียละลายฟอสเฟต

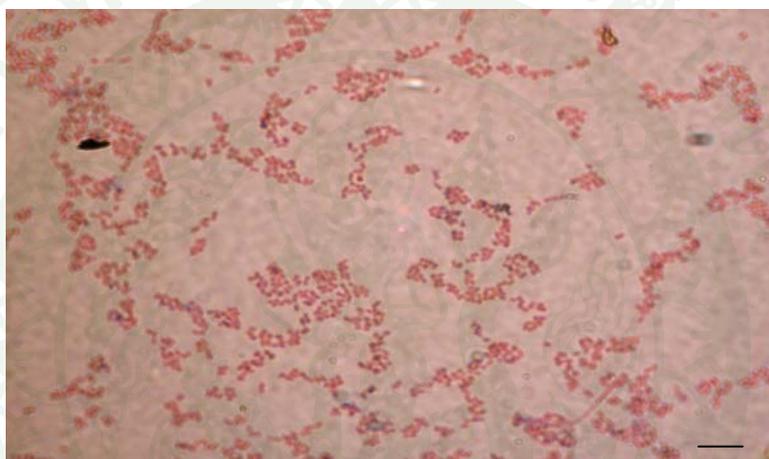
การทดสอบการละลายฟอสเฟตของแบคทีเรียละลายฟอสเฟตทั้ง 24 ไอโซเลต ในอาหารเหลว NBRIP ที่มีคาร์บอนเสริม $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, FePO_4 หรือ AlPO_4 พบว่า แบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่คัดแยกได้จากดินทั้ง 24 ไอโซเลต สามารถละลายฟอสเฟตในรูป $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ได้มากกว่าฟอสเฟตในรูป FePO_4 และ AlPO_4 ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของ Henri *et. al.* (2008) ที่นำแบคทีเรียละลายฟอสเฟตสายพันธุ์ CB501 CD511 และ CE509 กับข้าวโพดสายพันธุ์ CMS8704 ที่พบว่า แบคทีเรียละลายฟอสเฟตสายพันธุ์ CB501 สามารถละลายฟอสเฟตในรูป $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ได้มากกว่าในรูป FePO_4 หรือ AlPO_4 และพบว่า แบคทีเรียละลายฟอสเฟตสายพันธุ์ CD511 สามารถละลายฟอสเฟตในรูป AlPO_4 ได้มากกว่า $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ หรือ FePO_4 แสดงให้เห็นว่า แบคทีเรียละลายฟอสเฟตทุกสายพันธุ์ไม่สามารถละลายฟอสเฟตในรูป $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ได้มากกว่าในรูป FePO_4 หรือ AlPO_4 บางสายพันธุ์อาจละลายฟอสเฟตในรูป $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ได้มากกว่าในรูป FePO_4 หรือ AlPO_4 บางสายพันธุ์อาจละลายฟอสเฟตในรูป FePO_4 หรือ AlPO_4 ได้มากกว่าในรูป $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ที่เป็นเช่นนี้เพราะความสามารถของแบคทีเรียละลายฟอสเฟตแต่ละชนิดไม่เหมือนกัน จากการทดลองในครั้งนี้ พบว่า แบคทีเรียที่ละลายฟอสเฟตในรูป $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ได้สูงสุด คือ สายพันธุ์ Rs 01 สามารถละลายฟอสเฟตในรูป $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ได้ถึง 878.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นไอโซเลตที่คัดแยกได้จากชุดดินรังสิต ซึ่งจัดอยู่ในประเภทดินนากรดกำมะถัน รองลงมาอีก 4 อันดับ คือ แบคทีเรียสายพันธุ์ Ay 02 Yt 01 Rs 02 และ Ln 02 ซึ่งเป็นไอโซเลตที่คัดแยกได้จากชุดดินอยุธยา ชุดดินยโสธร ชุดดินรังสิต และชุดดินลำานารายณ์ ตามลำดับ โดยสามารถละลายฟอสเฟตในรูป $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ได้ 812.5 572.5 555.0 และ 527.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งแสดงไว้ในตารางที่ 19

ตารางที่ 19 ปริมาณฟอสเฟตที่ละลายในรูปต่างๆ

ชุดดิน	รหัสชื่อ	ปริมาณในการละลายฟอสเฟตรูปต่างๆ โดย แบคทีเรียละลายฟอสเฟต (มิลลิกรัมต่อลิตร)		
		$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	FePO_4	AlPO_4
รังสิต	Rs 01	878.5	0	36.5
	Rs 02	555.0	22.5	119.5
	Rs 03	495.5	8.5	0
	Rs 04	46.0	0	0
	Rs 05	31.0	10.5	0
	Rs 06	155.0	22.0	0
อยุธยา	Ay 01	812.5	53.0	139.0
	Ay 02	145.5	42.5	30.0
โชคชัย	Ci 01	501.5	3.9	55.0
	Ci 02	46.5	45.5	17.0
	Ci 03	430	23.5	109
	Ci 04	74.0	21.5	9.5
	Ci 05	328.5	30.5	23.0
	Ci 06	52.5	15.0	0
	Ci 07	375.0	12.0	123.5
	Ci 08	40.5	0	0
	Ci 09	65.5	0	0
	Ci 10	42.0	0	0
	Ci 11	111.0	0	0
ปากช่อง	Pc 01	40.0	10.5	0
ยโสธร	Yt 01	572.5	6.3	40.0
ลำานราชน	Ln 01	495.5	8.5	0
	Ln 02	527.0	7.9	415.0
	Ln 03	519.5	6.9	105.0

4. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์และการระบุชนิดของแบคทีเรียละลายฟอสเฟตสายพันธุ์ Rs 01 ด้วยวิธี Biolog microlog system

เมื่อนำโคโลนีของแบคทีเรียละลายฟอสเฟตสายพันธุ์ Rs 01 มาขย้อมแกรม และศึกษาลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ Rs 01 เป็นแบคทีเรียแกรมลบ และมีลักษณะกลม (cocci) (ภาพที่ 12) และทำการระบุชนิดโดยวิธี Biolog Microlog system พบว่า เป็น *Burkholderia multivorans* ด้วยค่าความเหมือน 99%



ภาพที่ 12 ลักษณะการขย้อมสีแบบแกรมของแบคทีเรียละลายฟอสเฟตสายพันธุ์ Rs 01 (สเกล = 10 ไมครอน)

5. สมบัติบางประการของดินก่อนการทดลอง

ค่าวิเคราะห์สมบัติบางประการของชุดดินตาคลิตีที่เก็บจาก ตำบลขนงพระ อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา ที่พิกัด 47 P 0768821 E 1616269 N ก่อนการทดลอง พบว่า ดินที่นำมาทดลองนี้มีค่า pH 7.87 ซึ่งอยู่ในระดับเป็นด่างปานกลาง ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 0.097 เปอร์เซ็นต์ อยู่ในระดับต่ำมาก ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด 249.51 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 23.00 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อยู่ในระดับค่อนข้างสูง ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 69.80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อยู่ในระดับปานกลาง ส่วนชนิดของดิน พบว่า ดินนี้เป็นดินร่วนมีการกระจายตัวของอนุภาคขนาดทราย ทรายแป้ง และดินเหนียว 45.30 24.40 และ 30.30 เปอร์เซ็นต์

ตามลำดับ และความชื้นของดินนี้ที่ 1/3 และ 15 บรรยากาศ เท่ากับ 31.90 และ 23.10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 20)

ตารางที่ 20 สมบัติบางประการของดินทดลองก่อนปลูก

สมบัติของดิน	ค่าวิเคราะห์
pH	7.87
ไนโตรเจนทั้งหมด (%)	0.097
ฟอสฟอรัสทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	249.51
ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	23.00
โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	69.80
อนุภาคขนาดทราย (%)	45.30
อนุภาคทรายแป้ง (%)	24.40
อนุภาคดินเหนียว (%)	30.30
ความชื้นของดินที่ 1/3 บรรยากาศ (%)	31.90
ความชื้นของดินที่ 15 บรรยากาศ (%)	23.10

6. การทดสอบแบคทีเรียละลายฟอสเฟตสายพันธุ์ Rs 01 ต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพดหวาน พันธุ์อินทรี 2

ผลของการทดสอบแบคทีเรียละลายฟอสเฟตสายพันธุ์ Rs 01 ต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพดหวาน พันธุ์อินทรี 2 ทำโดยวัดจากการเจริญเติบโตของข้าวโพดหวานที่ระยะต่างๆ น้ำหนักแห้งของข้าวโพดหวาน และปริมาณฟอสฟอรัสในดิน

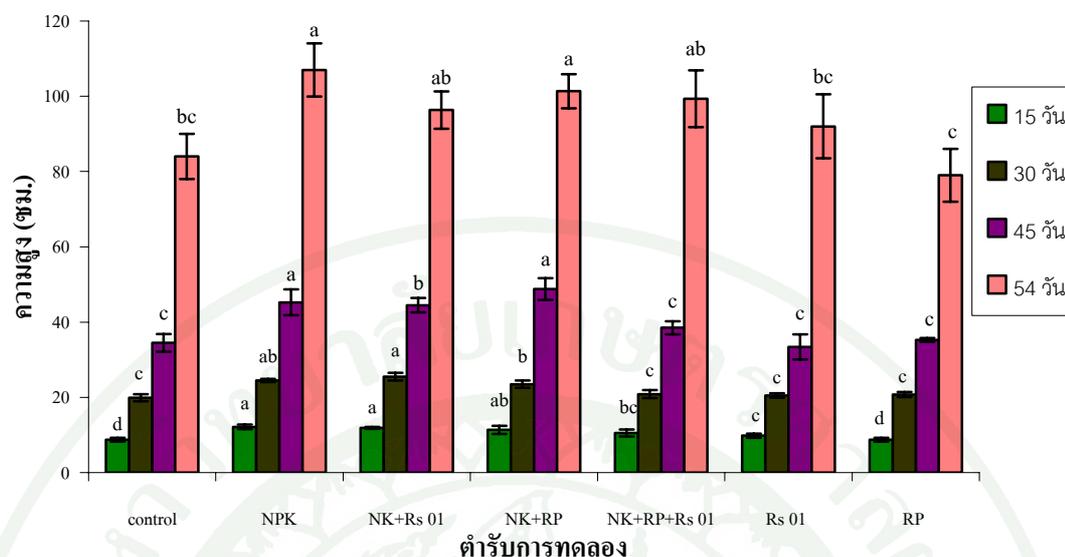
การเจริญเติบโตของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2

ความสูงของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2

ศึกษาการเจริญเติบโตของข้าวโพดหวานโดยวัดความสูงและขนาดเส้นรอบวงของลำต้น เมื่อพิจารณาความสูงของข้าวโพดหวานที่อายุ 15 30 45 และ 54 วัน พบว่า ดำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ย

ในโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมมีความสูงสูงสุด โดยมีความสูง 12.13 25.50 48.75 และ 107.00 เซนติเมตร ตามลำดับ อย่างไรก็ตามความสูงของข้าวโพดหวานในตำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียม (NPK) ตำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจนและโพแทสเซียมร่วมกับ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+Rs 01) และตำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจนและโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟต (NK+RP) ที่อายุ 15 30 และ 54 วัน ก็ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ทั้ง 3 ตำรับการทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) กับความสูงของข้าวโพดหวานในตำรับการทดลองที่ใส่ดินเค็ม (control) ตำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจนและโพแทสเซียม ร่วมกับหินฟอสเฟต และ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+RP+Rs 01) ตำรับการทดลองที่ใส่ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (Rs 01) หรือ หินฟอสเฟตเพียงอย่างเดียว (RP) ยกเว้นความสูงของข้าวโพดหวานที่อายุ 54 วัน ซึ่งพบว่าตำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียม (NPK) ตำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจนและโพแทสเซียมร่วมกับ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+Rs 01) และตำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจนและโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟต (NK+RP) ไม่แตกต่างทางสถิติกับตำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจนและโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟต และ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (Rs 01) (ภาพที่ 13)

เมื่อพิจารณาความสูงแต่ละตำรับของข้าวโพดหวานที่อายุ 54 วัน ซึ่งเป็นระยะออกไหม พบว่า ตำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม (NPK) ตำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจน และโพแทสเซียม ร่วมกับ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+Rs 01) และ ตำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจน และโพแทสเซียม ร่วมกับหินฟอสเฟต (NK+RP) ส่งผลให้ข้าวโพดหวานมีความสูงไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับงานของ Mehrvarz *et. al.* (2008) ที่พบว่า การใส่ปุ๋ยในโตรเจน และโพแทสเซียม ร่วมกับปุ๋ยเคมีฟอสฟอรัสอัตรา 30 และ 60 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ ไม่ส่งผลให้ความสูงของข้าวบาร์เลย์เพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับการใส่การใส่ปุ๋ยในโตรเจน และโพแทสเซียม ร่วมกับแบคทีเรียละลายฟอสเฟต ที่เป็นเช่นนี้เพราะฟอสฟอรัสไม่มีบทบาทสำคัญในการส่งเสริมการเจริญเติบโตด้านความสูง



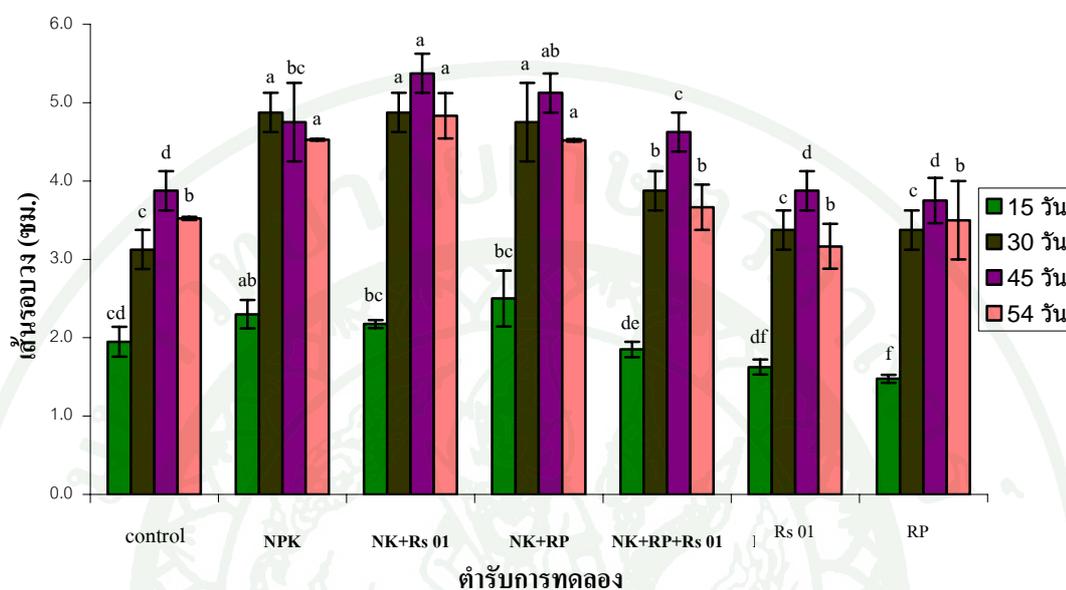
ภาพที่ 13 ความสูงของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2 ที่อายุ 15 30 45 และ 54 วัน

ขนาดเส้นรอบวงของลำต้นข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2

ส่วนขนาดเส้นรอบวงลำต้นของข้าวโพดหวาน ที่อายุ 15 30 45 และ 54 วัน ดังแสดงในภาพที่ 14 พบว่า ตำรับการทดลองที่มีการใส่ปุ๋ยในโตรเจนและโพแทสเซียมร่วมกับ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+Rs 01) มีขนาดเส้นรอบวงลำต้นของข้าวโพดหวานมากที่สุด ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับตำรับการทดลองที่มีการใส่ปุ๋ยในโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียม (NPK) และการใส่ปุ๋ยในโตรเจน และโพแทสเซียม ร่วมกับหินฟอสเฟต (NK+RP) ในขณะที่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) กับเส้นรอบวงลำต้นของข้าวโพดหวานในตำรับการทดลองที่ใส่ดินเค็ม (control) ตำรับการทดลองที่มีการใส่ปุ๋ยในโตรเจน และโพแทสเซียม ร่วมกับหินฟอสเฟตและ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+RP+Rs 01) และหินฟอสเฟตเพียงอย่างเดียว (RP)

จากผลการทดลองข้างต้น พบว่า ตำรับการทดลองที่มีการใส่ปุ๋ยในโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม (NPK) การใส่ปุ๋ยในโตรเจน และโพแทสเซียม ร่วมกับ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+Rs 01) และการใส่ปุ๋ยในโตรเจน และโพแทสเซียม ร่วมกับหินฟอสเฟต (NK+RP) มีแนวโน้มทำให้ข้าวโพดหวานมีการขยายขนาดทางด้านข้างมากที่สุด ในขณะที่ตำรับการทดลองที่ใส่ดินเค็ม (control) ตำรับการทดลองที่ใส่ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01

(Rs 01) และตำรับการทดลองที่ใส่หินฟอสเฟตเพียงอย่างเดียว (RP) มีแนวโน้มการขยายทางด้านข้างของต้นน้อยสุด



ภาพที่ 14 ขนาดเส้นรอบวงของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2 ที่อายุ 15 30 45 และ 54 วัน

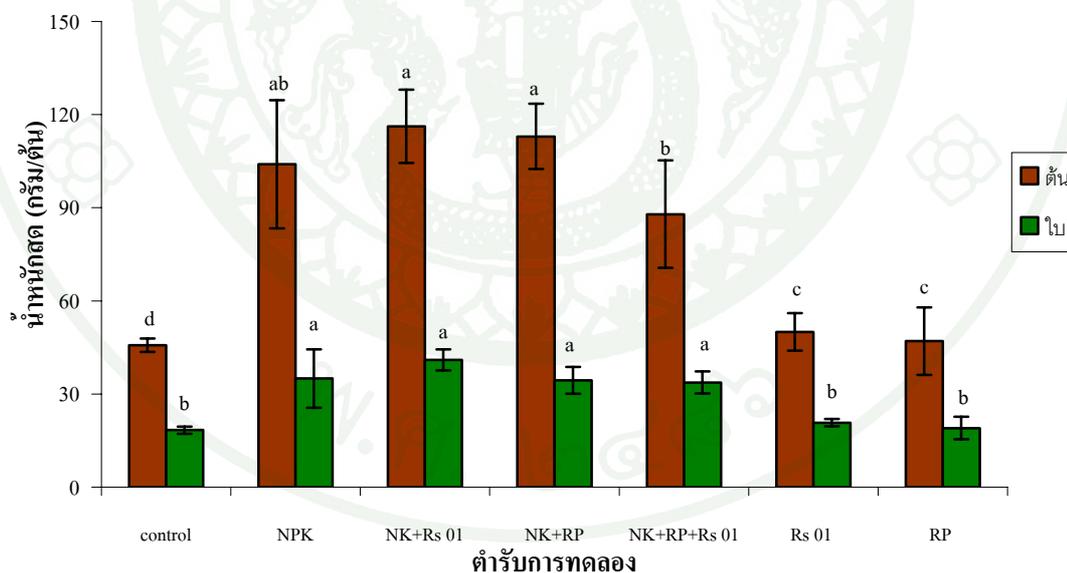
น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2

น้ำหนักสดที่อายุ 54 วัน (ระยะออกไหม)

เมื่อพิจารณาน้ำหนักสดของข้าวโพดหวาน พันธุ์อินทรี 2 ที่อายุ 54 วัน พบว่า ตำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+Rs 01) ทำให้น้ำหนักสดของต้นมากที่สุด 116.25 กรัมต่อต้น ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับตำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนและโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟต (NK+RP) และตำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม (NPK) มีน้ำหนักสดของต้นเฉลี่ย 112.96 และ 103.99 กรัมต่อต้น ตามลำดับ ในขณะที่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) กับตำรับการทดลองที่ใส่ดินเดิม (control) ตำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟต และ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+RP+Rs 01) ตำรับการทดลองที่ใส่ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (Rs 01) หรือ ตำรับการทดลองที่ใส่หิน

ฟอสเฟตเพียงอย่างเดียว (RP) มีน้ำหนักสดของต้น 45.71 87.93 49.98 และ 47.02 กรัมต่อต้นตามลำดับ

สำหรับน้ำหนักสดของใบ พบว่า คำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+Rs 01) ทำให้น้ำหนักสดของใบมากที่สุด 40.99 กรัมต่อต้น ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับคำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม (NPK) คำรับการทดลองที่ใส่ไนโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟต (NK+RP) และคำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟตและ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+RP+Rs 01) มีน้ำหนักสดของใบข้าวโพดหวาน 34.98 34.36 และ 33.72 กรัมต่อต้น ตามลำดับ ในขณะที่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) กับคำรับการทดลองที่ใส่ดินเดิม (control) คำรับการทดลองที่ใส่ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (Rs 01) หรือ คำรับการทดลองที่ใส่หินฟอสเฟตเพียงอย่างเดียว (RP) มีน้ำหนักสดของใบ 18.34 20.78 และ 19.04 กรัมต่อต้น ตามลำดับ (ภาพที่ 15)

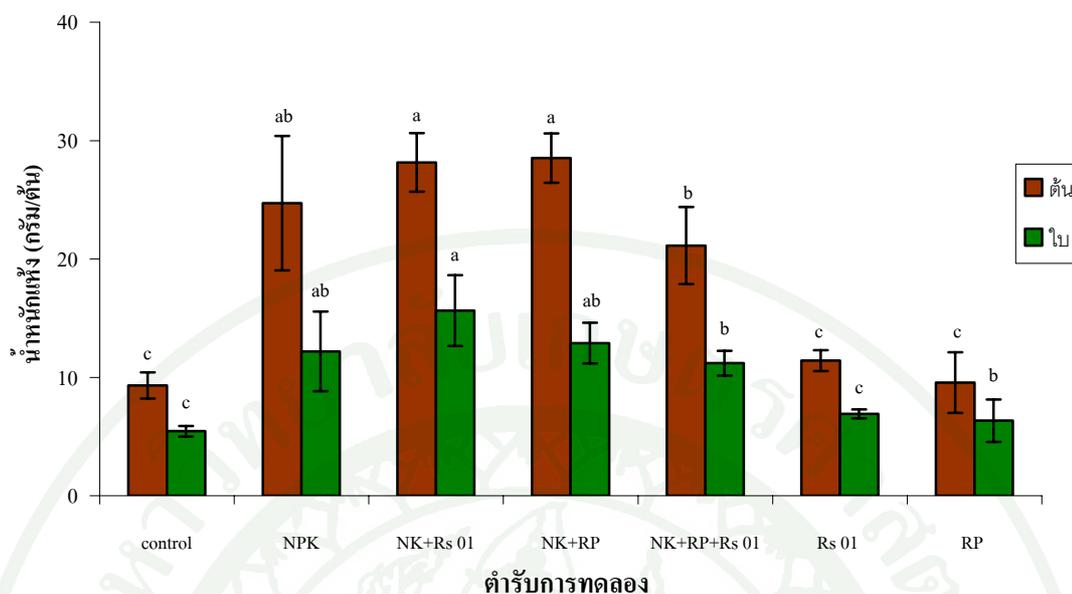


ภาพที่ 15 น้ำหนักสดของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2 ที่อายุ 54 วัน (ระยะออกไหม)

น้ำหนักแห้งที่อายุ 54 วัน (ระยะออกไหม)

เมื่อพิจารณาน้ำหนักแห้งของต้นข้าวโพดหวาน พันธุ์อินทรี 2 ที่อายุ 54 วัน พบว่า คำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+Rs 01) ทำให้น้ำหนักแห้งของต้นข้าวโพดหวานสูงสุด โดยมีน้ำหนักแห้งของต้น 43.79 กรัมต่อต้น ไม่แตกต่างทางสถิติกับคำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม (NPK) และคำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟต (NK+RP) มีการสะสมน้ำหนักแห้ง 36.91 และ 41.42 กรัมต่อต้น ตามลำดับ ในขณะที่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) กับคำรับการทดลองที่ใส่ดินเดิม (control) คำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟตและ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+RP+Rs 01) คำรับการทดลองที่ใส่ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (RS 01) หรือ คำรับการทดลองที่ใส่หินฟอสเฟตเพียงอย่างเดียว (RP) มีน้ำหนักแห้งของต้น 9.31 21.13 11.40 และ 6.34 กรัมต่อต้น ตามลำดับ

สำหรับน้ำหนักแห้งของใบข้าวโพดหวาน พบว่า ให้ผลในการทำงานเดียวกับน้ำหนักแห้งของต้น ซึ่งพบว่า คำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนและโพแทสเซียมร่วมกับ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+Rs 01) มีน้ำหนักแห้งของใบข้าวโพดหวานสูงสุด 15.63 กรัมต่อต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับคำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม (NPK) และคำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟต (NK+RP) มีน้ำหนักแห้งของใบข้าวโพดหวานเฉลี่ย 12.20 และ 12.90 กรัมต่อต้น ตามลำดับ ในขณะที่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) กับคำรับการทดลองที่ใส่ดินเดิม (control) คำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟต และ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+RP+Rs 01) คำรับการทดลองที่ใส่ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (Rs 01) หรือ คำรับการทดลองที่ใส่หินฟอสเฟตเพียงอย่างเดียว (RP) มีน้ำหนักแห้งของใบเฉลี่ย 5.45 11.19 6.92 และ 6.34 กรัมต่อต้น ตามลำดับ (ภาพที่ 16)



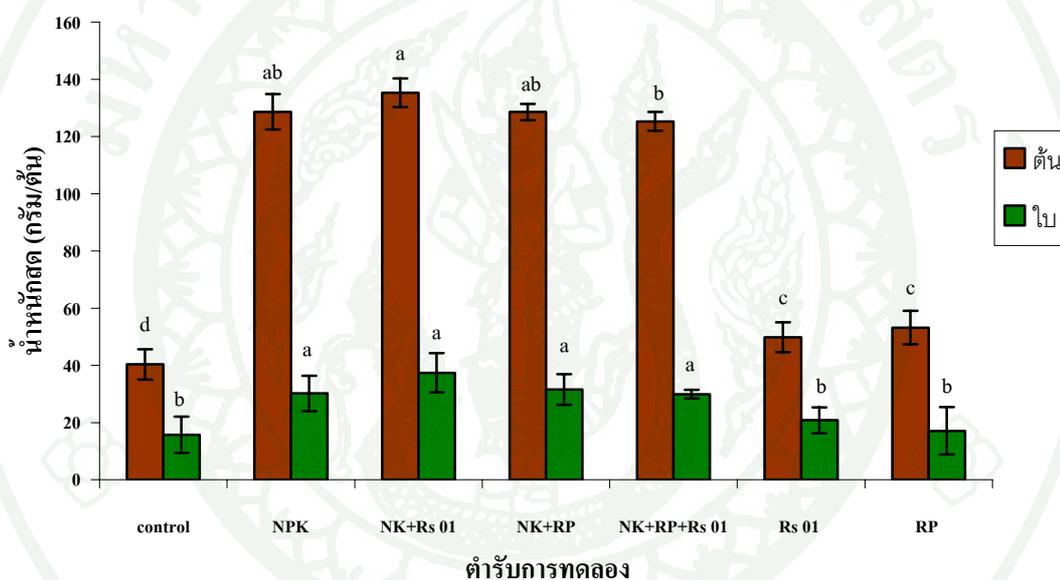
ภาพที่ 16 น้ำหนักแห้งของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2 ที่อายุ 54 วัน (ระยะออกไหม)

น้ำหนักสดที่อายุ 75 วัน (ระยะเก็บเกี่ยว)

การสะสมน้ำหนักสดของต้นข้าวโพดหวานที่อายุ 75 วัน เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับน้ำหนักสดของต้นข้าวโพดหวานที่อายุ 54 วัน ที่พบว่า ตำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจน และโพแทสเซียม และ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+Rs 01) มีน้ำหนักสดของต้นสูงสุด 135.2 กรัมต่อต้น ซึ่งไม่แตกต่างจากตำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม (NPK) และตำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟต (NK+RP) ที่มีน้ำหนักสดของต้นเฉลี่ย 128.6 และ 128.5 กรัมต่อต้น ตามลำดับ ในขณะที่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) กับตำรับการทดลองที่ใส่ดินเดิม (control) ตำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับ หินฟอสเฟต และ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+RP+Rs 01) ตำรับการทดลองที่ใส่ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (Rs 01) หรือ ตำรับการทดลองที่ใส่หินฟอสเฟตเพียงอย่างเดียว (RP) มีน้ำหนักสดของต้น 40.29 125.27 49.72 และ 53.19 กรัมต่อต้น ตามลำดับ

ส่วนน้ำหนักสดของใบข้าวโพดหวาน พบว่า ตำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+Rs 01) เป็นตำรับการทดลองที่มีการน้ำหนักสดของใบสูงสุด 37.35 ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับตำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ย

ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม (NPK) ดำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟต (NK+RP) ดำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับ หินฟอสเฟต และ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+RP+Rs 01) ซึ่งมีน้ำหนักสดของใบ 30.16 31.52 และ 29.89 กรัมต่อต้น ตามลำดับ ในขณะที่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) กับดำรับการทดลองที่ใส่ดินเค็ม (control) ดำรับการทดลองที่ใส่ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (Rs 01) หรือ ดำรับการทดลองที่ใส่หินฟอสเฟตเพียงอย่างเดียว (RP) ซึ่งมีน้ำหนักสดของใบเฉลี่ย 15.73 20.78 และ 17.10 กรัมต่อต้น ตามลำดับ (ภาพที่ 17)



ภาพที่ 17 น้ำหนักสดของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2 ที่อายุ 75 วัน (ระยะเก็บเกี่ยว)

น้ำหนักแห้งของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2 ที่อายุ 75 วัน

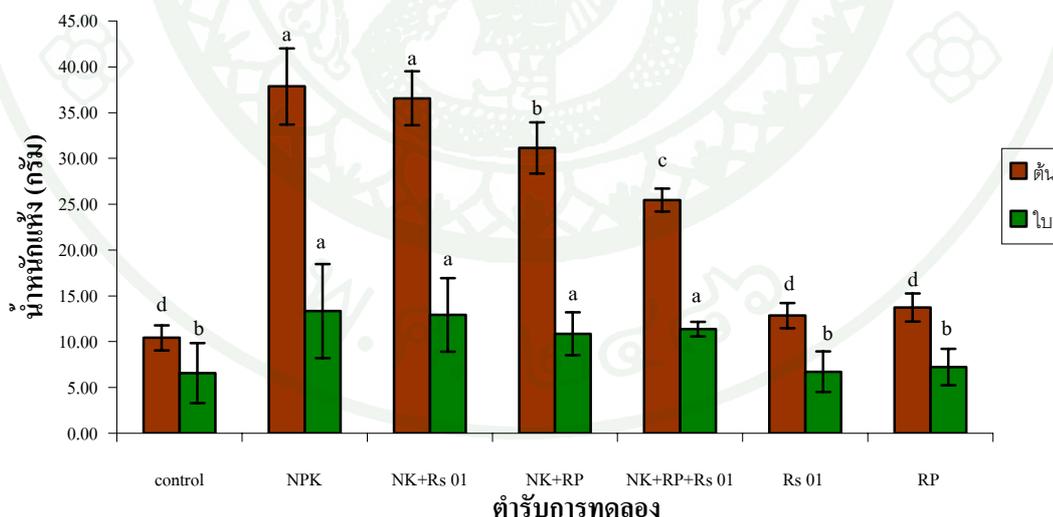
ในส่วนของการสะสมน้ำหนักแห้งของข้าวโพดหวานที่อายุ 75 วัน พบว่า ดำรับการทดลองที่มีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียม (NPK) มีน้ำหนักแห้งของต้นมากที่สุด 37.9 กรัมต่อต้น ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับดำรับการทดลองใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+Rs 01) ที่มีน้ำหนักแห้งของต้น 37.9 กรัมต่อต้น ในขณะที่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) กับดำรับการทดลองที่ใส่ดินเค็ม (control) ดำรับการทดลองใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟต (NK+RP)

ดำรับการทดลองใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟต และ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+RP+Rs 01) ซึ่งมีน้ำหนักแห้งของดิน 10.4 31.1 12.9 และ 13.8 กรัมต่อดิน ตามลำดับ

สำหรับน้ำหนักแห้งใบของข้าวโพดหวาน พบว่า เป็นไปในแนวทางเดียวกันกับน้ำหนักสดของใบข้าวโพดหวานที่อายุ 75 วัน โดยพบว่า ดำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+Rs 01) เป็นดำรับการทดลองที่มีการน้ำหนักแห้งของใบสูงสุด 13.3 กรัมต่อดิน ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับดำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม (NPK) ดำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟต (NK+RP) ดำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับ หินฟอสเฟต และ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+RP+Rs 01) โดยมีน้ำหนักแห้งของใบ 12.9 10.9 และ 11.4 กรัมต่อดิน ในขณะที่แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) กับดำรับการทดลองที่ใส่ดินเค็ม (control) ดำรับการทดลองที่ใส่ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (Rs 01) หรือ ดำรับการทดลองที่ใส่หินฟอสเฟตเพียงอย่างเดียว (RP) ซึ่งมีน้ำหนักสดของใบ 6.6 6.7 และ 7.2 กรัมต่อดิน ตามลำดับ (ภาพที่ 18)

จากผลการทดลองในครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่า ดำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียม (NPK) ดำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+Rs 01) และดำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟต (NK+RP) มีน้ำหนักแห้งของดินและใบของข้าวโพดหวานที่อายุ 54 และ 75 วัน ไม่แตกต่างทางสถิติต่อกัน ซึ่งเป็นไปได้ว่า การใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+Rs 01) ซึ่งแบคทีเรียสายพันธุ์นี้สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้เหมือนกับการใส่ปุ๋ยฟอสฟอรัส ซึ่งสอดคล้องกับงานของ Sundara *et. al.* (2002) ที่พบว่า การใส่แบคทีเรียละลายฟอสเฟต (*Bacillus megatherium* var. *Phosphaticum*) ส่งผลให้น้ำหนักแห้งของลำต้นอ้อยไม่แตกต่างกับการใส่ปุ๋ยฟอสฟอรัส ที่เป็นเช่นนี้ เพราะจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตทุกชนิดสามารถผลิต phytohormone และเอนไซม์ฟอสฟาเตส ซึ่งช่วยในการเจริญเติบโตของพืช (Ponmurugan and Gopi, 2006) พืชจึงเจริญเติบโตดี การทดลองในครั้งนี้ ยังพบว่า ดำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+Rs 01) มีน้ำหนักแห้งของดินข้าวโพดหวานที่อายุ 54 และ 75 วัน มากกว่าดำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟตและ

Burkholderia multivorans สายพันธุ์ Rs 01 (NK+RP+Rs 01) อย่างมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) ซึ่งไม่สอดคล้องกับงานของ Han *et. al.* (2006) ที่พบว่า การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนและโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟตและแบคทีเรียละลายฟอสเฟต ทำให้น้ำหนักแห้งของต้นมากขึ้นเมื่อเทียบกับตำรับการทดลองที่ใส่ไนโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับแบคทีเรียละลายฟอสเฟต สาเหตุที่ผลการทดลองในครั้งนี้ต้นข้าวโพดหวานมีน้ำหนักแห้งของต้นน้อย ทั้งที่ใส่หินฟอสเฟตร่วมกับแบคทีเรียละลายฟอสเฟต ซึ่งน่าจะทำให้ข้าวโพดหวานมีน้ำหนักแห้งของต้นมาก เป็นเพราะการใส่หินฟอสเฟตร่วมกับ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 อาจทำให้มีปริมาณธาตุอาหารฟอสฟอรัสมากเกินไปเกินกว่าความต้องการของข้าวโพดหวาน กล่าวคือ ถ้าพืชได้รับความเข้มข้นหรือปริมาณธาตุอาหารมากเกินไป จะไม่ส่งผลให้พืชเจริญเติบโตมากขึ้น (สรสิทธิ์, 2537) ดังการศึกษาของ Wang และ Li (2004) ที่พบว่า ผักโขมและกะหล่ำที่ได้รับปุ๋ยฟอสฟอรัสมากเกินไป ทำให้การเจริญเติบโตไม่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม จากการศึกษาในครั้งนี้ยังพบอีกว่า ตำรับการทดลองที่ใส่หินฟอสเฟต หรือ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 เพียงอย่างเดียวทำให้ข้าวโพดหวานมีน้ำหนักแห้งของต้นน้อย ซึ่งสอดคล้องกับงานของ Linu *et. al.* (2006) ที่พบว่า การใส่แบคทีเรียละลายฟอสเฟตหรือหินฟอสเฟตเพียงอย่างเดียวทำให้การเจริญเติบโตของพริกไทยและแตงกวาดำกว่าการใส่แบคทีเรียละลายฟอสเฟตร่วมกับหินฟอสเฟต



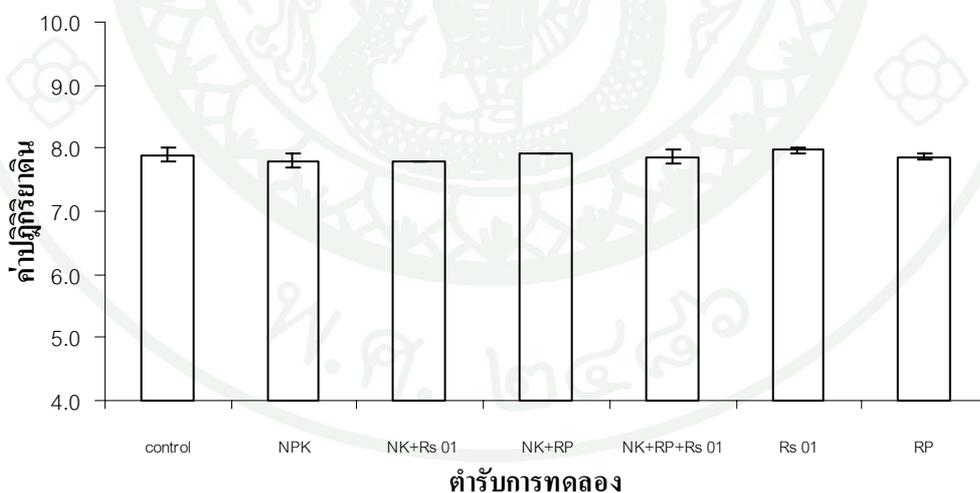
ภาพที่ 18 น้ำหนักแห้งของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2 ที่อายุ 75 วัน (ระยะเก็บเกี่ยว)

7. การวิเคราะห์ดินหลังการเก็บเกี่ยวข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2

จากการวิเคราะห์ตัวอย่างดินหลังการเก็บเกี่ยวข้าวโพดหวาน โดยวิเคราะห์ค่าปฏิกิริยาดิน ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และ ปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ ให้ผลดังนี้

ค่าปฏิกิริยาดิน

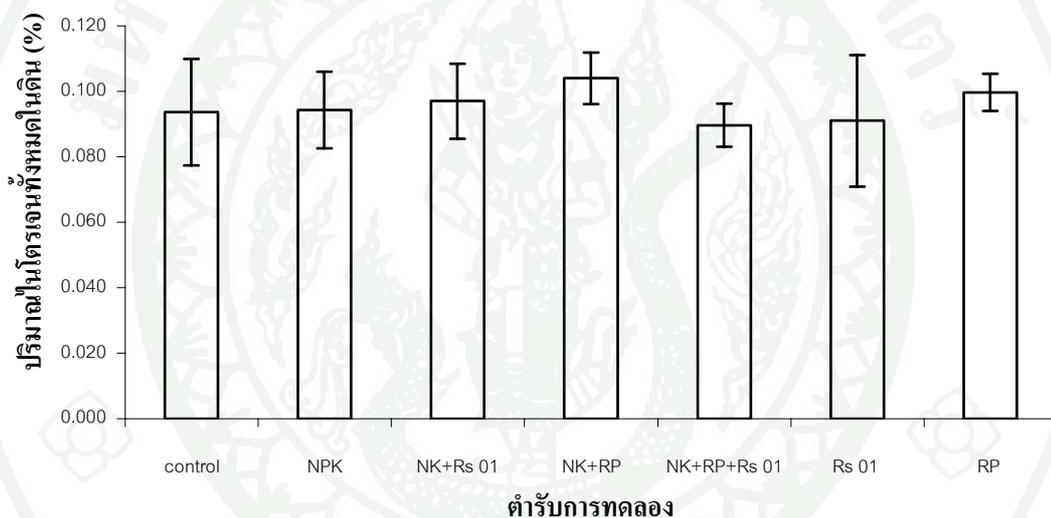
จากผลการทดลอง พบว่า ดำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และ โพแทสเซียม (NPK) ดำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+Rs 01) ดำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และโพแทสเซียม ร่วมกับหินฟอสเฟต (NK+RP) ดำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับหิน ฟอสเฟตหรือ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+RP+Rs 01) หรือดำรับการทดลองที่ ใส่หินฟอสเฟตเพียงอย่างเดียว (RP) ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าปฏิกิริยาเคมีดิน โดยพบว่า ดิน หลังการทดลองมีค่าปฏิกิริยาดินอยู่ในช่วง 7.80-7.90 (ภาพที่ 19)



ภาพที่ 19 ค่าปฏิกิริยาดินหลังเก็บเกี่ยวของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2

ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด

จากผลการวิเคราะห์ดินหลังการทดลอง พบว่า คำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และ โพแทสเซียม (NPK) คำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนและโพแทสเซียมร่วมกับ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+Rs 01) คำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนและโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟต และ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+RP+Rs 01) คำรับการทดลองที่ใส่หินฟอสเฟต (RP) หรือคำรับการทดลองที่ใส่ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 เพียงอย่างเดียว (Rs 01) ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน โดยพบว่า มีค่าปริมาณไนโตรเจนอยู่ในช่วง 0.090 - 0.104 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 20)

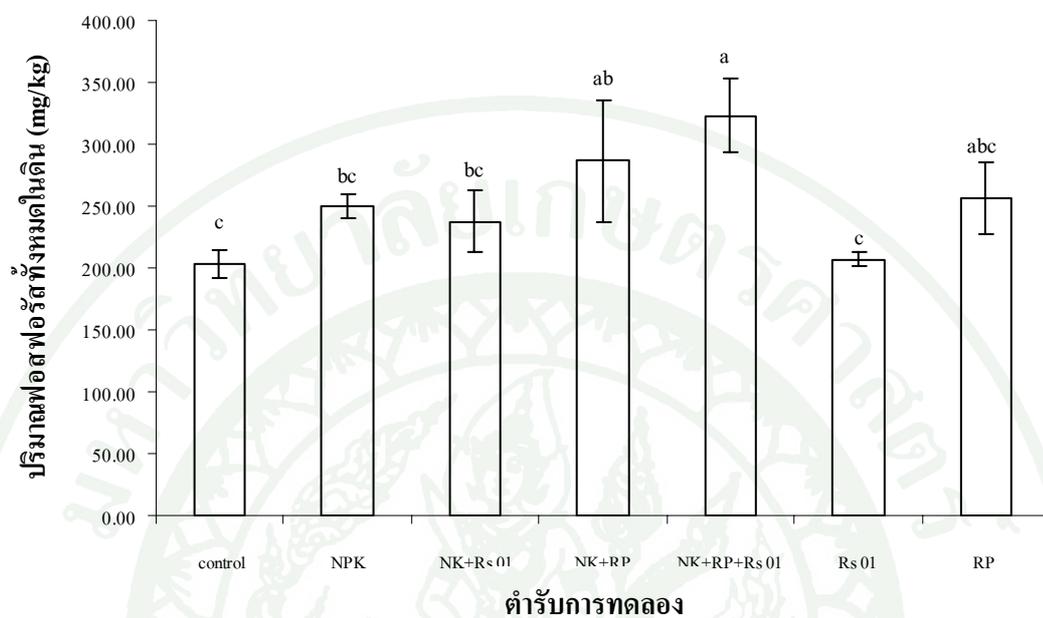


ภาพที่ 20 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินหลังเก็บเกี่ยวของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2

ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดของตัวอย่างดินหลังการเก็บเกี่ยวข้าวโพดหวาน พันธุ์อินทรี 2 (ภาพที่ 21) พบว่า คำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจนและโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟตและ คำรับการทดลองที่ใส่ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+RP+Rs 01) มีปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดมากที่สุด เท่ากับ 323.33 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับ คำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจนและโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟต (NK+RP) และ คำรับการทดลองที่ใส่หินฟอสเฟตเพียงอย่างเดียว (RP) โดยมีปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด 286.67 และ 256.67 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ในขณะที่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) กับ คำรับการทดลองที่ใส่ดินเดิม (control) คำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียม (NPK) คำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจน และโพแทสเซียม ร่วมกับ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+Rs 01) และ คำรับการทดลองที่ใส่หินฟอสเฟตอย่างเดียว (RP) มีปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด 203.33 233.3 243.30 และ 206.67 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อย่างไรก็ตามจากการทดลองในครั้งนี้พบว่า คำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียม (NPK) และ คำรับการทดลองที่ใส่หินฟอสเฟตได้แก่ คำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจนและโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟต (NK+RP) คำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจนและโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟตและ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+RP+Rs 01) และ คำรับการทดลองที่ใส่หินฟอสเฟตเพียงอย่างเดียว (RP) มีปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในดินมากกว่า คำรับการทดลองอื่นๆ ที่ไม่ได้ใส่หินฟอสเฟต ก็เนื่องจากว่า คำรับการทดลองดังกล่าวมีหินฟอสเฟตที่เป็นแหล่งฟอสฟอรัส (Han and Lee, 2006) จึงทำให้มีปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดมาก นอกจากนั้นยังพบว่า คำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจนและโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟตและ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+RP+Rs 01) มีปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดมากกว่า คำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจนและโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟต (NK+RP) สาเหตุที่เป็นเช่นนี้เพราะ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 ที่ใส่ลงไปดิน ได้รับสารอาหารจากปุ๋ยในโตรเจนและโพแทสเซียมในการเจริญเติบโต จึงทำให้แบคทีเรียสายพันธุ์นี้มีการเจริญเติบโตได้เป็นอย่างดี ซึ่ง Vakaam et. al. (2007) รายงานว่า ประชากรแบคทีเรียมีความสัมพันธ์ในทางบวกกับปริมาณไนโตรเจนที่เพิ่มขึ้นในดิน เมื่อมีประชากรแบคทีเรียมากทำให้ย่อยสลายอินทรีย์วัตถุ และเพิ่มธาตุอาหารได้ดี จึงทำให้มีปริมาณฟอสฟอรัสในดินมากขึ้น และเมื่อพิจารณา คำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยเคมีฟอสฟอรัสมีปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในดินน้อยกว่า คำรับการทดลองที่ใส่หินฟอสเฟต สาเหตุที่เป็นเช่นนี้เพราะปุ๋ยฟอสฟอรัสเป็นปุ๋ยที่ละลายน้ำได้ดี (กลุ่มวิจัยอนุรักษ์ดินและน้ำเพื่อ

การเกษตร, 2547) พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ทันที ดังนั้นจึงทำให้มีปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดเหลืออยู่ในดินน้อย



ภาพที่ 21 ปริมาณฟอสฟอรัสฟอสฟอรัสทั้งหมดในดินหลังเก็บเกี่ยวข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2

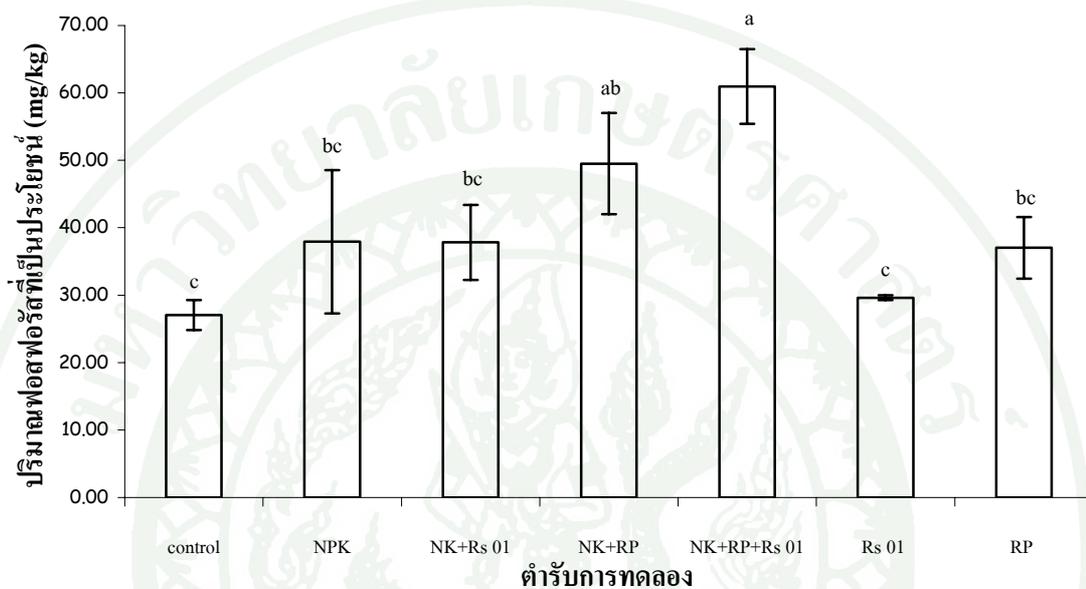
ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์

ในส่วนของปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ พบว่า คำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟตและ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+RP+Rs 01) เป็นคำรับการทดลองที่มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์มากที่สุด 60.95 มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัม ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับคำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟต (NK+RP) โดยมีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 49.51 มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัม ในขณะที่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) กับคำรับการทดลองที่ใส่ดินเดิม (control) คำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียม (NPK) คำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+Rs 01) คำรับการทดลองที่ใส่ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (Rs 01) และคำรับการทดลองที่หินฟอสเฟต (RP) ซึ่งมีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 27.03 37.92 37.82 29.61 และ 37.01 มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัม (ภาพที่ 22)

จากผลการทดลอง แสดงให้เห็นว่า คำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟตและ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+RP+Rs 01) เป็นคำรับการทดลองที่มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์มากกว่าคำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟต (NK+RP) ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับงานของ Turan *et. al.* (2007) ที่ทดสอบการใส่ปุ๋ยฟอสเฟต 5 ชนิด ได้แก่ normal superphosphate triple superphosphate di-ammonium phosphate และ phosphoric acid และหินฟอสเฟตร่วมกับการที่ใส่และไม่ใส่เชื้อ *Bacillus* FS-3 พบว่า การใส่ปุ๋ยฟอสเฟต 5 ชนิด ร่วมกับการใส่เชื้อดังกล่าวส่งผลให้มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินมากกว่าที่ไม่ใส่เชื้อ และให้ผลในทำนองเดียวกับการศึกษาของ Linu *et. al.* (2009) ที่พบว่า การใส่หินฟอสเฟตร่วมกับ *Pseudomonas striata* ให้กับถั่วพุ่ม ส่งผลให้ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินมากกว่าการไม่ใส่แบคทีเรียดังกล่าว ที่เป็นเช่นนี้เพราะแบคทีเรียละลายฟอสเฟตจะทำให้หินฟอสเฟตเป็นประโยชน์ต่อพืชมากขึ้นเพราะไปเปลี่ยนหินฟอสเฟตที่อยู่ในรูปไม่ละลายน้ำให้อยู่ในรูปละลายน้ำได้ พืชจึงสามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้ โดยจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตมีกลไกการผลิตกรดอินทรีย์เพื่อละลายฟอสฟอรัสในดิน ซึ่ง Bar-Yoself *et. al.* (1999) รายงานว่า *Pseudomonas cepacia* สามารถผลิตกรด gluconic และ 2-ketogluconic ทำให้ฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปที่พืชไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ในดินเหนียว kaolinite และ montmoillonite อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืชได้ และยังพบว่า *Bacillus* sp. ผลิต

กรด oxalic และ succinic (Banik and Dey, 1983) *Penicillium bilaii* ผลิตกรด oxalic และ citric ละลายแคลเซียมฟอสเฟต (Cunningham and Kuiack, 1992) และนอกจากนี้ยังพบว่า ปริมาณกรดอินทรีย์ที่เพิ่มมากขึ้นมีผลทำให้ความเป็นประโยชน์ของหินฟอสเฟตมากขึ้นด้วย แต่การทดลองในครั้งนี้ไม่ได้ศึกษาปริมาณกรดอินทรีย์ที่แบคทีเรียผลิตออกมาละลายฟอสเฟต เป็นไปได้ว่าการศึกษาครั้งต่อไปควรมีการศึกษาถึงเรื่องนี้ด้วย จากการทดลองในครั้งนี้ยังพบอีกว่า ดำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟตและ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+RP+Rs 01) ส่งผลให้มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์มากกว่าดำรับที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม (NPK) แสดงว่า การใส่ปุ๋ยในโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟตและ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+RP+Rs 01) สามารถทดแทนการใส่ปุ๋ยเคมีฟอสฟอรัสได้ แต่จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า ดำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจน และโพแทสเซียม ร่วมกับหินฟอสเฟตและ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+RP+Rs 01) ทำให้มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์มากที่สุด แต่ข้าวโพดหวานกลับมีการเจริญเติบโตด้านความสูง ขนาดเส้นรอบวง และน้ำหนักแห้งน้อยกว่าดำรับการทดลองที่มีการใส่ปุ๋ยในโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียม (NPK) ดำรับการทดลองใส่ปุ๋ยในโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+Rs 01) ดำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟต (NK+RP) สาเหตุที่การศึกษาในครั้งนี้เป็นเช่นนี้เพราะมีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์มากเกินไปเกินกว่าความต้องการของข้าวโพดหวาน ข้าวโพดหวานจึงไม่เจริญเติบโตเพิ่มขึ้น ดังนั้น การใส่ปุ๋ยนี้จะต้องพิจารณาถึงความต้องการของพืช เพราะถ้าหากปริมาณฟอสฟอรัสที่มากเกินไปเกินความต้องการของพืช จะทำให้พืชไม่เจริญเติบโตเพิ่มขึ้น และสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายโดยเปล่าประโยชน์ ความพอเหมาะของการใส่ปุ๋ยนี้ต้องอาศัยหลักเกณฑ์และวิธีการต่างๆ หลายประการประกอบการพิจารณา อาทิ ชนิดของพืช ระดับความชื้น และความอุดมสมบูรณ์เดิมของดิน วิธีการปลูก การดูแลและบำรุงรักษา (สรสิทธิ์, 2537) จากการทดลองในครั้งนี้ พบว่า ดำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+Rs 01) แม้มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์น้อยกว่าดำรับการทดลองใส่ปุ๋ยในโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+Rs 01) ดำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟต (NK+RP) แต่กลับมีการเจริญเติบโตด้านความสูง ขนาดเส้นรอบวง และน้ำหนักแห้งมากกว่า โดยที่ไม่แตกต่างกับดำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยในโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม (NPK) แสดงให้เห็นว่าใส่ปุ๋ยในโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 สามารถทดแทนการใส่ปุ๋ยเคมีฟอสฟอรัสได้ ดังนั้น ในการปลูกข้าวโพดหวาน พันธุ์อินทรี 2 ในดินไร่ที่เป็น upland calcareous soil ควรใส่ปุ๋ย

ไนโตรเจน และโพแทสเซียมร่วมกับ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+Rs 01) โดยไม่ต้องปุ๋ยเคมีฟอสฟอรัส หรือหินฟอสเฟต ก็เพียงพอสำหรับการเจริญเติบโตของข้าวโพดหวาน และยังช่วยลดปัญหาสิ่งแวดล้อมเนื่องจากการใช้ปุ๋ยเคมี และลดค่าใช้จ่ายทางเศรษฐกิจได้

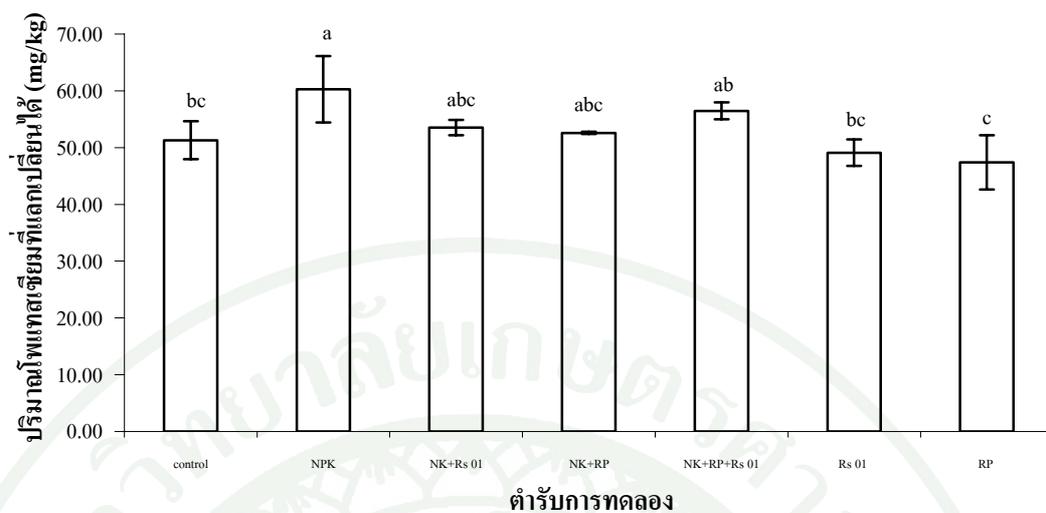


ภาพที่ 22 ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ของในดินหลังเก็บเกี่ยวข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2

ปริมาณ โปแตสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณโปแตสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินหลังการทดลอง พบว่า การใส่ปุ๋ยในโตรเจน ฟอสฟอรัสและโปแตสเซียม (NPK) เป็นการใส่ปุ๋ยที่มีปริมาณโปแตสเซียมสูงสุด เท่ากับ 64.12 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับการใส่ปุ๋ยในโตรเจน และโปแตสเซียมร่วมกับ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+Rs 01) การใส่ปุ๋ยในโตรเจน และโปแตสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟต (NK+RP) และ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+RP+Rs 01) โดยมีปริมาณโปแตสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 53.55 52.58 และ 56.47 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในขณะที่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) กับการใส่ดินเดิม (control) การใส่ปุ๋ยในโตรเจน ฟอสฟอรัสและโปแตสเซียมร่วมกับ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 เพียงอย่างเดียว (Rs 01) ซึ่งมีปริมาณโปแตสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 51.30 49.09 และ 47.40 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ภาพที่ 23)

จากผลการทดลองในครั้งนี้ พบว่า การใส่ปุ๋ยในโตรเจน ฟอสฟอรัสและโปแตสเซียม (NPK) การใส่ปุ๋ยในโตรเจน และโปแตสเซียมร่วมกับ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+Rs 01) การใส่ปุ๋ยในโตรเจน และโปแตสเซียมร่วมกับหินฟอสเฟต (NK+RP) และ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 (NK+RP+Rs 01) มีปริมาณโปแตสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้มาก สาเหตุที่เป็นเช่นนี้เพราะการใส่ปุ๋ยแต่ละตัวมีการใส่ปุ๋ยโปแตสเซียม ซึ่งโดยปกติแล้วการใส่หินฟอสเฟตร่วมกับแบคทีเรียละลายฟอสเฟตโดยปราศจากการใส่ปุ๋ยโปแตสเซียม ทำให้มีปริมาณโปแตสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ มากกว่าการใส่หินฟอสเฟตหรือแบคทีเรียละลายฟอสเฟตเพียงอย่างเดียว ดังการศึกษาของ Han and Lee (2005) ที่พบว่า การใส่หินฟอสเฟตร่วมกับแบคทีเรียละลายฟอสเฟตลงดินให้แก่มะเขือยาว ทำให้มีปริมาณโปแตสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้มากกว่าการใส่หินฟอสเฟตหรือแบคทีเรียละลายฟอสเฟตเพียงอย่างเดียว และการศึกษาของ Han and Lee (2006) ก็พบว่า การใส่หินฟอสเฟตร่วมกับแบคทีเรียละลายฟอสเฟตลงดินให้แก่พริกและแตงกวา ทำให้มีปริมาณโปแตสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้มากกว่าการใส่หินฟอสเฟตหรือแบคทีเรียละลายฟอสเฟตเพียงอย่างเดียวเช่นกัน แสดงว่า แบคทีเรียละลายฟอสเฟตบางสายพันธุ์นอกจากสามารถละลายฟอสเฟตในดินได้แล้ว ยังมีความสามารถละลายโปแตสเซียมในดินได้อีกด้วย



ภาพที่ 23 ปริมาณ โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินหลังเก็บเกี่ยวของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2

สรุป

1. จากผลของการคัดแยกแบคทีเรียละลายฟอสเฟต จากดิน 3 ประเภท ได้แก่ ดินนากรด กัมมะถัน (paddy acid sulfate soils) จำนวน 2 ชุดดิน ดินไร้ที่เป็น upland sesquioxide soil จำนวน 3 ชุดดิน ดินไร้ที่เป็น upland calcareous soil จำนวน 3 ชุดดิน จากชุดดินรังสิต ชุดดินอยุธยา ชุดดิน โขกชัย ชุดดินปากช่อง ชุดดินยโสธร ชุดดินตากลิ ชุดดินลพบุรี และชุดดินลำานรายณ์ จำนวน 8 ชุดดิน พบว่า สามารถคัดแยกแบคทีเรียที่ละลายฟอสเฟตได้จำนวน 24 ไอโซเลต
2. จากผลการทดสอบประสิทธิภาพการละลายแคลเซียมฟอสเฟตของแบคทีเรียละลาย ฟอสเฟต จำนวน 24 ไอโซเลต พบว่า แบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่เก็บตัวอย่างดินมาจากชุดดินรังสิต สายพันธุ์ Rs 01 มีความสามารถในการละลายแคลเซียมฟอสเฟตได้สูงสุด เท่ากับ 878.5 มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัม
3. ผลการระบุชนิดของแบคทีเรียละลายฟอสเฟต สายพันธุ์ Rs 01 ที่มีประสิทธิภาพในการ ละลายแคลเซียมฟอสเฟตสูงสุด คือ สายพันธุ์ Rs01 ด้วยวิธี Biolog microlog system พบว่า เป็น *Burkholderia multivorans* Rs01 ด้วยค่าความเหมือน 99%
4. ผลของ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 ต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพด หวานพันธุ์อินทรี 2 พบว่า การใช้ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 ร่วมกับปุ๋ยในโตรเจน และโพแทสเซียมทำให้การเจริญเติบโตด้านความสูง เส้นรอบวง น้ำหนักแห้งของข้าวโพดหวานที่ ระยะออกไหมอายุ 54 วัน และระยะเก็บเกี่ยวอายุ 75 วัน ไม่แตกต่างกับการใส่ปุ๋ยในโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ดังนั้น *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 มีศักยภาพในการ ใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพในการปรับปรุงดินต่างชุดตากลิได้
5. ผลของ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 ต่อปริมาณธาตุอาหารฟอสฟอรัสใน ดิน พบว่า การใช้ *Burkholderia multivorans* สายพันธุ์ Rs 01 เพียงอย่างเดียวสามารถเพิ่มปริมาณ ความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปเป็นประโยชน์ได้เพียงเล็กน้อย แต่ถ้าใช้ร่วมกับหิน ฟอสเฟต ปุ๋ยในโตรเจน และโพแทสเซียมจะทำให้ฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืชสูง มากขึ้นอย่างเห็นได้ชัด

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2548. **คำแนะนำการใช้ปุ๋ยกับพืชเศรษฐกิจ.**
เอกสารวิชาการลำดับที่ 8. สำนักงานเลขานุการ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและ
สหกรณ์.
- กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2548. **รายงานการจัดการทรัพยากรดิน เพื่อการ
ปลูกพืชเศรษฐกิจหลักตามกลุ่มชุดดิน เล่มที่ 1 ดินบนพื้นที่ราบต่ำ.** กรมพัฒนาที่ดิน,
กรุงเทพฯ.
- คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2548. **ปฐพีวิทยาเบื้องต้น.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ทัศนีย์ อัดดนนันท์ และจรงค์ จันทร์เจริญสุข. 2542. **แบบฝึกหัดและคู่มือปฏิบัติการวิเคราะห์ดิน
และพืช.** ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ยงยุทธ โอสถสภา. 2546. **ธาตุอาหารพืช.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ชรรยง พวงราช. 2552. **การกำกับดูแลราคาจำหน่ายสินค้าปุ๋ยเคมี.** แหล่งที่มา: [www.thaifert.com/
upload_images/file/PriceFertilizer.ppt](http://www.thaifert.com/upload_images/file/PriceFertilizer.ppt), 20 สิงหาคม 2552.
- ภavana ลักพานานท์ และวิทยา ชนานุสนธิ์. 2537. **การย่อยละลายหินฟอสเฟตโดยเชื้อจุลินทรีย์.
กลุ่มวิจัยจุลินทรีย์ดิน กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์,
กรุงเทพฯ.**
- สุบัณฑิต นิมรต์น. 2535. **จุลชีววิทยาทางดิน.** โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.
- ธงชัย มาลา. 2546. **ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ: เทคนิคการผลิตและการใช้ประโยชน์.**
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ศรีสม สุวรรณวงศ์. 2544. **การวิเคราะห์ธาตุอาหารพืช.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

- Alabawadi, A.R. and A.C. Gaur. 1988. Associative effect of rhizobium and phosphate-solubilizing bacteria on the yield and nutrient uptake of chickpea. **Plant and Soil.** 105: 241-246.
- Alexander, M. 1977. **Introduction to Soil Microbiology.** Wiley and Sons, New York.
- Arora, D. and C. Gaur. 1979. Microbial solubilization of different inorganic phosphates. **Indian Journal of Experimental Biology.** 17: 1258-1261.
- Babenko, Y.S., G. Tyrygina, E.F. Grigoryev, L.M. Dolgikh and T.I. Borisova. 1984. Biological activity and physiologobiochemical properties of bacteria dissolving phosphates. **Microbiologiya.** 53: 533-539.
- Banik, S. and B.K. Dey. 1983. Phosphate solubilizing potentiality of the microorganism capable of utilizing aluminium phosphate as a sole phosphate source. **Zentralbl Mikrobial.** 138: 17-23.
- Bardiya, M.C. and A.C. Gaur. 1974. Isolation and screening of microorganisms dissolving low grade rock phosphate. **Folia Microbiol.** 19: 386-389.
- Bar-yoself, B., R.D. Rogers, J.H. Wolfam and E. Richman. 1999. *Pseudomonas cepacia*-mediated rock phosphate solubilizing in kaolinite and montmorillonite suspensions. **Soil Science Society of America journal.** 63: 1703-1708.
- Beever, R.E. and D.J.W. Burns. 1980. Phosphorus uptake, storage and utilization by fungi. **Advances Botany Research.** 8: 127-219.
- Begon, M., J.L. Harper, C.R. Townsend. 1990. **Ecology: Individuals, Populations and Communities.** 2nd ed. Blackwell Scientific Publications, USA.

- Brady N.C. and R.R. Weil. 2008. **The nature and properties of soils.** 14th ed. Pearson Education, Inc, Upper Saddle River, New Jersey.
- Bray, R.H. and L.T. Kurtz. 1945. Determination of total, organic and available forms of phosphorus in soils. **Soil Science.** 59: 39-45.
- Bremner, J.M. and C.S. Mulvaney. 1982. Nitrogen total. *In* A.L. Page, R.H. Miller, D.R. Keeney, eds. **Methods of soil analysis. Part II. Chemical and microbiological properties.** Am. Soc. Agron., Madison, USA.
- Charles, E.O. 2003. **FAD-Flavin Adenine Dinucleotide.** Virtual Chembook. Available Source: www.elmhurst.edu/~chm/vchembook/595FADcoQ.html, 20 January 2009.
- Chen, X., J. Tang, Z. Fang and S. Hu. 2002. Phosphate-solubilizing microbes in rhizosphere soil of 19 weeds in Southern China. **Journal of Zhejiang University Science.** 3: 355-361.
- Chen, Y.P., P.D. Rekha, A.B. Arun, F.T. Shen, W.A. Lai and C.C. Young. 2006. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. **Applied Soil Ecology.** 34: 33-41.
- Chinabut, N. 2003. **A soil testing service for farmers in Thailand, using mobile laboratories.** Available Source: <http://www.ffc.agnet.org/library/article/eb533.html>, 14 January 2009.
- Chung, H.K. and T.M. Sa. 2002. Isolation of phosphate solubilizing bacteria and comparison of their activities. **Journal of Agricultural Science.** 19: 103-110.
- Cunningham, J.E. and C. Kuiack. 1992. Production of citric and oxalic acids and solubilizing of calcium phosphate by *Penicillium bilaii*. **Applied and Environmental Microbiology.** 58: 1451-1458.

- Dadarwal, K.R. 1997. Microorganisms for sustainable crop production. **Jodhpur**. 293-308.
- Darmwall, N.S., R.B. Singh and R. Rai. 1989. Isolation of phosphate solubilizers from different sources. **Current Science**. 58: 570-571.
- Das, A.C. 1963. Utilization of insoluble phosphates by soil fungi. **Journal of Indian Society Soil Science**. 11: 203-207.
- Deol, M.S., C.S. Kahlon and K. Kaur. 2007. **Effect of Phosphate Solubilizing Bacteria, Farmyard Manure and Phosphorus on Growth and Yield of Lentil (*Lens culinaris* Medik)**. Available Source : http://www.k-state.edu/projects/carbon/conference_2007/pdf_files_2007/Manjitinder_Deol.pdf, 16 February 2009.
- Dey, K.B. 1988. Phosphate solubilizing organisms in improving fertility status. pp. 237–48. In S.P. Sen and P. Palit, eds. **Biofertilizers: Potentialities and Problems**. Calcutta: Plant Physiology Forum, Naya Prokash.
- Ehrlich, H.L. 1990. **Geomicrobiology**. 2nd ed. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Fallah, A., SWRI, N.Kargar Ave and Tehran, 2003. Abundance and distribution of phosphate solubilizing bacteria and fungi in some soil samples. **North of Iran 2003 18th word Congress of soil science**. philadephia, Pennsylvania, USA.
- Fernández, C. and R. Novo. 1988. **Vida Microbiana en el Suelo, II**. La Habana: Editorial Puebloy Educación.
- Garcia, C., T. Fernandez, F. Costa, B. Cerranti and G. Masciandaro. 1992. Kinetics of phosphatase activity in organic wastes. **Soil Biology and Biochemistry**. 25: 361-365.

- Gaur, A.C. and K.P. Ostwal. 1972. Influence of phosphate dissolving Bacilli on yield and phosphate uptake of wheat crop. **Indian Journal of Experimental Biology.** 10: 393-394.
- Gerke, L. 1992. Phosphate, aluminum and iron in the soil solution of three different soils in relation to varying concentrations of citric acid. **Z. Pflanzenernahr. Bodenk.** 155: 17-22.
- Gerretsen, F.C. 1948. The influence of microorganisms on the phosphate intake by the plant. **Plant and Soil.** 1: 51-81.
- Goldstein, A.H. 1986. Bacterial solubilization of mineral phosphates: historical perspective and future prospects. **America Journal Alternative Agricultural.** 1: 51-70.
- _____, A.H. 1994. Involvement of the quinoprotein glucose dehydrogenase in the solubilization of exogenous phosphates by gram-negative bacteria. pp. 197-203. In A. Torriani-Gorini, E. Yagil, S. Silver, eds. **Phosphate in Microorganisms: Cellular and Molecular Biology.** ASM Press, Washington, DC.
- _____, A.H. and S.T. Liu. 1987. Molecular cloning and regulation of a mineral phosphate solubilizing gene from *Erwinia herbicola*. **Biology Technology.** 5: 72-74.
- Greaves, M.P. and D.M. Webley. 1965. A study of the breakdown of organic phosphates by microorganisms from the root region of certain pasture grasses. **Journal of Applied Bacteriology.** 28: 454-465.
- Gügi, B., N. Orange, F. Hellio, J.F. Burini, C. Guillou, F. Leriche and J.F. Guespin-Michel. 1991. Effect of growth temperature on several exported enzyme activities in the psychrotropic bacterium *Pseudomonas fluorescens*. **Journal of Bacteriology.** 173: 3814-3820.

- Halder, A.K., A.K. Mishra, P. Bhattacharyya and P.K. Chakrabarty. 1990. Solubilization of rock phosphate by *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*. **Journal General Applied Microbiology**. 36: 81–92.
- Han, H., S. Supanjani and K.D. Lee. 2005. Phosphate and potassium solubilizing bacteria effect on mineral uptake, soil availability and growth of eggplant. **Research Journal of Agriculture and Biological science**. 1: 176-180.
- Han, H., S. Supanjani and K.D. Lee. 2006. Effect of co-inoculation with phosphate and potassium solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. **Plant Soil and Environment**. 52: 130-136.
- Igual, J., M.A. Valverde, E. Cervantes and E. Velázquez. 2001. Phosphate-solubilizing bacteria as inoculants for agriculture: use of updated molecular techniques in their study. **Agronomic**. 21: 561-568
- Illmer, P.A. and F. Schinner. 1992. Solubilization of inorganic phosphate by microorganism isolate from forest soil. **Soil Biology and Biochemistry**. 24: 389-395.
- _____, A. Barbado and F.Schinner. 1995. Solubilization of hardly soluble $AlPO_4$ with P-solubilizing microorganisms. **Soil Biology and Biochemistry**. 27: 265-270.
- Ivanova, R., D. Bojinova and K. Nedialkova. 2006. Rock Phosphate Solubilization by Soil Bacteria. **Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy**. 41: 297-302.
- Jackson, M.L. 1958. **Soil Chemical Analysis**. Prentice-Hall, Inc., Englewood cliffs, New Jersey.
- Jones, D.A., B.F.L. Smith, M.J. Wilson and B.A. Goodman. 1991. Solubilizer fungi of phosphate in rise soil. **Mycological Research**. 95: 1090-1093.

- Jones, D.L. and P.R. Darrah. 1994. Role of root derived organic acid in the mobilization of nutrients from the rhizosphere. **Plant and Soil.** 166: 247-257.
- Katznelson, H., Peterson E.A. and Rovatt J.W. 1962. Phosphate dissolving microorganisms on seed and in the root zone of plants. **Canada Journal of Botany.** 40: 1181-1186.
- Kirchner, M.J., A.G. Wollum, L.D. King. 1993. Soil microbial populations and activities in reduced chemical input agroecosystems. **Soil Science Society of America Journal.** 57: 1289-1295.
- Kloepper, J.W., K. Lifshitz and M.N. Schroth. 1988. *Pseudomonas* inoculants to benefit plant production. **Animal and Plant Science.** 1: 60-64.
- Kucey, R.M.N., H.H. Janzen, M.E. Leggett. 1989. Microbially mediated increases in plant-available phosphorus. **Advances Agronomy.** 42: 199-228.
- Kucharski, J., Z. Cieccko, T. Niewolak and T. Niklewska-Larska. 1996. Activity of microorganisms in soils of different agricultural usefulness complexes fertilized with mineral nitrogen. **Acta Academiae Agriculturae ac Technicae Olstenensis.** 62: 25-35.
- Lal, L. 2002. **Phosphatic biofertilizers.** Agrotech Publication, Academy, Udaipur, India.
- Leslie, H. K. 2009. **Fertilizer composition for 3-Level Plant Nutrition and for *In situ* Biosynthesis of Slow-Release Nourishment.** Kirkegaard Technology. Available Source: http://www.grow-orchid-grow.com/Business_Corner/3-level_fertilizer_patent/3-level_patent.html, 10 October 2009.
- Linu, M. S., J. Stephen and M.S. Jisha. 2009. Phosphate solubilizing *Gluconacetobacter* sp., *Burkholderia* sp. And their potential interaction with cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). **International Journal of Agricultural Research.** 4: 79-87.

- Lindsay, W.L., P.L. Vlek and S.H. Chien. 1989. Phosphate minerals, pp. 1089-1130. *In* J.B. Dixon, and S. B. Weed, eds. **Minerals in Soil Environment**. Soil Sci. Soc. Am., USA.
- Lindsay, W.L., A.W. Frazier and H.F. Stephenson. 1962. Identification of reaction products from phosphate fertilizers in soils. **Soil Science Society of America Journal**. 26: 446-452.
- Louw, H.A. and D.M. Webley. 1959. A study of soil bacteria dissolving certain phosphate fertilizers and related compounds. **Journal of Applied Bacteriology**. 22: 227-233.
- McGrath, J.W., G.B. Wisdom, G. McMullan, M.J. Larkin and J.P. Quinn. 1995. The purification and properties of phosphonoacetate hydrolase, a novel carbon-phosphorus bond-cleaving enzyme from *Pseudomonas fluorescens* 23F. **European Journal of Biochemistry**. 234: 225-230.
- McLaughlin, M.J., A.M. Alston and J.K. Martin. 1988. Phosphorus cycling in wheat-pasture rotations. I. The source of phosphorus taken up by wheat. **Australian Journal of Soil Research**. 26: 323-331.
- Mehrvarz, S., M.R. Chachi and H.A. Alikhani. 2008. Effects of Phosphate solubilizing microorganisms and phosphorus chemical fertilizer on yield and yield components of barely (*Hordeum vulgare* L.). **Journal of Agriculture and Environment Science**. 3: 822-828.
- Mill, H.A. and J.B. Jones. 1996. **Plant Analysis Handbook II: A Practical Sampling, Preparation, Analysis and Interpretation Guide**. Micro Macro Publing Inc., USA.
- Murphy, J. and J.P. Riley. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. **Analytica Chimica Acta**. 27: 31-36.

- National Soil Survey Center. 1996. **Soil Survey Laboratory Methods Manual**. Soil Survey Investigations Report No. 42, Version 3.0. Natural Resources Conservation Service, USDA, Washington, D.C.
- Nautiyal, C.S. 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. **FEMS Microbiol Letter**. 170: 265-270.
- Nelson, D.W. and L.E. Sommers. 1996. Total carbon, organic carbon, and organic matter, pp. 961-1010. In J.M. Bigham, ed. **Method of Soil Analysis: Part III. Chemical Methods**. Amer. Soc. Agron., Inc., Madison, Wisconsin, USA.
- Norrish, K. and H. Rosser. 1983. Mineral phosphate, pp. 335–361. In **Soils: an Australian Viewpoint**. Academic Press, London.
- Odum, E.P. 1986. **Fundamentos de Ecologia**. Interamericana, Mexico.
- Ohtake, H., H. Wu, K. Imazu, Y. Ambe, J. Kato and A. Kuroda. 1996. Bacterial phosphonate degradation, phosphite oxidation and polyphosphate accumulation. **A Resource Conserv and Recycling**. 18: 125–134.
- Ostwal, K.P. and V.P. Bhide. 1972. Solubilization of tricalcium phosphate by soil *Pseudomonas*. **Indian Journal of Experimental Biology**. 10:153-154.
- Parvaze, A.W., Khan M.S. and A. Zaidi. 2007. Synergistic effect of inoculation with nitrogen-fixing and phosphate solubilizing rhizobacteria on the performance of field-grown chickpea. **Journal of Plant Nutrient and Soil Science**. 170: 283-287.
- Ponmurugan, P. and C. Gopi. 2006. In vitro production of growth regulators and phosphatase activity by phosphate solubilizing bacteria. **African Journal of Biotechnology**. 5: 348-350.

- Pratt, P.E. 1965. Potassium, pp. 1022-1030. In C.A. Black, ed. **Methods of Soil Analysis: Part II. Chemical and Microbiological Properties**. Amer. Soc. Agron., Inc., Madison, Wisconsin, USA.
- Raghu, K., I.C. MacRae. 1966. Occurrence of phosphate-dissolving microorganisms in the rhizosphere of rice plants and in submerged soils. **Journal of Applied Bacteriology**. 29: 582-586.
- Rajankar, P. N., D. H. Tambekar and S. R. Wate. 2007. Study of Phosphate Solubilization Efficiencies of Fungi and Bacteria Isolated From Saline belt of Purna river basin. **Research Journal of Agriculture and Biology Science**. 3: 701-703.
- Richard A.E. 2001. Prospective for using soil microorganism to improve the acquisition of phosphorus by plant. **Australian Journal of Plant Physiology**. 28: 897-906.
- Richardson, A.E. 1994. Soil microorganisms and phosphorus availability. pp. 50–62. In C.E. Pankhurst, B.M. Doube, V.V.S.R. Gupta and P.R. Grace, eds. **Soil Biota, Management in sustainable farming systems**. Melbourne, Australia.
- _____, A.E. and P.A. Hadobas. 1997. Soil isolates of *Pseudomonas* spp. that utilize inositol phosphates. **Canada Journal of Microbiol.** 43: 509-516.
- Rodríguez, H., I. Goire and M. Rodríguez. 1996. Caracterización de cepas de *Pseudomonas* solubilizadoras de fósforo. **Rev. ICIDCA**. 30: 47–54.
- _____, H. and R. Fraga. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnology Advances**. 17: 319–339.
- Roychoudhury, P. and B.D. Kaushik. 1989. Solubilization of Mussoorie rock phosphate by cyanobacteria. **Current Science**. 58: 569-570.

- Rudresh, P.L.,M.K. Shivaprakash and R.D. Prasad. 2005. Effect of combined application of rhizobium, phosphate solubilizing bacterium and *Trichoderma* spp. on growth nutrient uptake and yield chickpea (*Cicer artitenium*). **Applied Soil Ecology**. 28: 139-146.
- Salehrastin, N. 1999. Biological fertilizer. **Scientific Journal of Soil and Water**. 12: 116-120.
- Smart growing intelligently. 2010. **Phosphorus uptake by plants**. Phosphorus in plants and soil. Available Source : <http://www.smart-fertilizer.com/index2.php?id=130>, 11 February 2010.
- Sperberg, J.I. 1958. The incidence of apatite-solubilizing organisms in the rhizosphere and soil. **Australian Journal of Agriculture Research**. 9: 778.
- Sydney Environmental and Soil Laboratory. 2007. **This diagram shows how P availability changes with pH**. Fertile minds. Available Source : http://www.sesl.com.au/fertileminds/200909/Understanding_P_fertiliser.php, 11 February 2010.
- Subba Rao, N.S. 1982. Advances in agricultural microbiology. pp. 295–303. In N.S. Subba Rao, ed. **Studies in the agricultura and food sciences**. Butterworth Scientific, London.
- Subba Rao, N.S. 1986. **Biofertilizer in Agriculture**. Oxford and IBH Publishing Co., New Delhi, India.
- Sudhansa, S.P. 1998. Interactions of an acid tolerant strain of phosphate soluulizing bacteria with a few acid tolurant crops. **Plant and Soil**. 198: 169-177.
- Sharma, K.C. and R.K.Agrawal. 2003. Effect of phosphate solubilizing bacteria on productivity and economics of Egyptian clover (*Trifolium alexandrinum*) Range Management and Agroforestrysource.

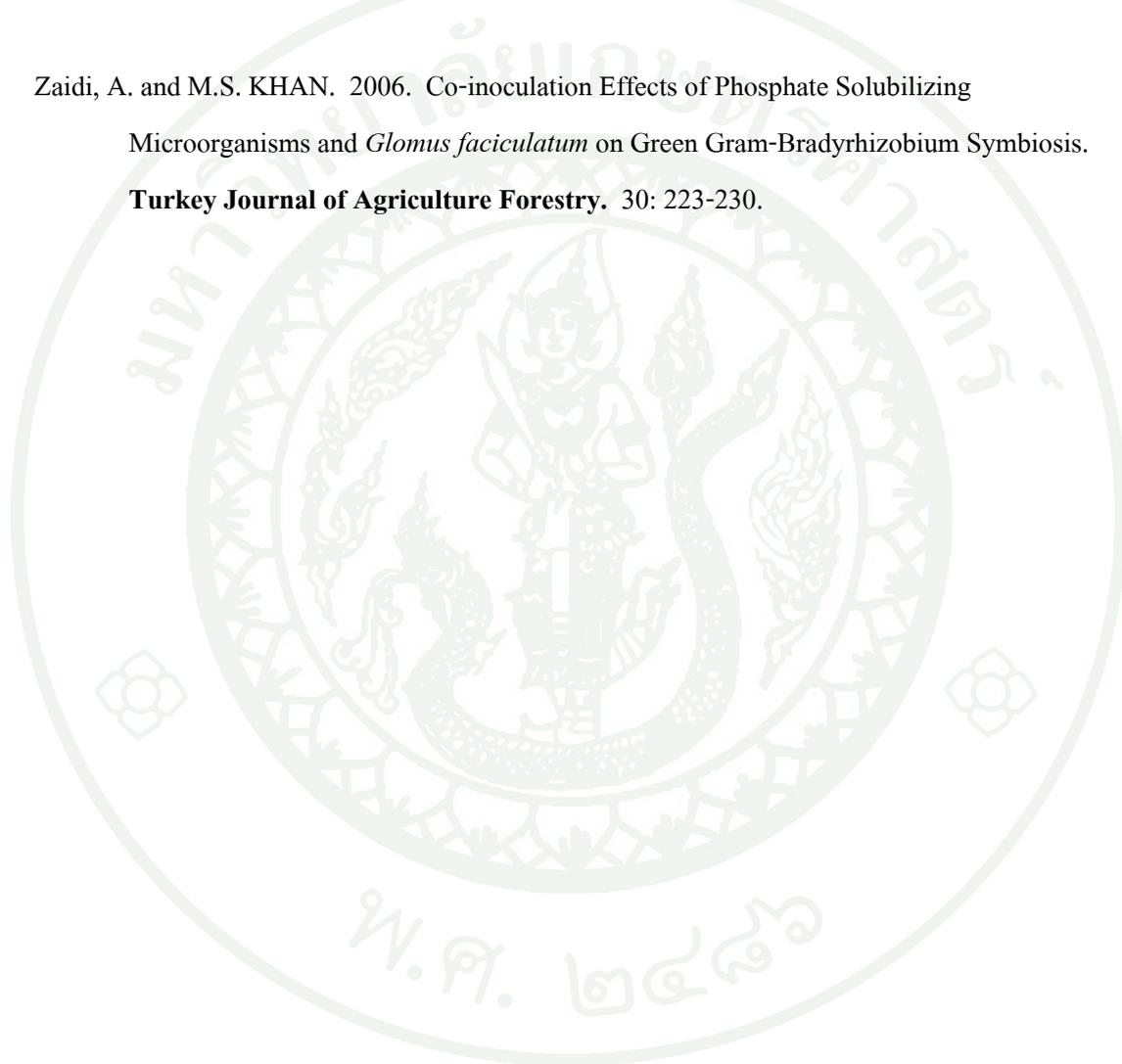
- Skrary, F.A. and D.C. Cameron. 1998. Purification and characterization of a *Bacillus licheniformis* phosphatase specific for D-alpha-glycerphosphate. **Archives of Biochemistry and Biophysics**. 349: 27–35.
- Stevenson, F.J. 1986. **Cycles of Soil, Carbon, Nitrogen, Phosphorus, Sulfur, Micronutrients**. John Wiley, New York.
- Tarafdar, J.C. and A. Junk. 1987. Phosphatase activity in the rhizosphere and its relation to the depletion of soil organic phosphorus. **Biology and Fertility Soil**. 3: 199–204.
- Thaller, M.C., F. Berlutti, S. Schippa, P. Iori, C. Passariello and G.M. Rossolini. 1995. Heterogeneous patterns of acid phosphatases containing low-molecular-mass Polipeptides in members of the family *Enterobacteriaceae*. **International Journal of Systematic Bacteriology**. 4: 255-261.
- Thomas, G.W. 1982. Exchange cations, pp. 159-165. In A.L. Page, ed. **Methods of soil Analysis: Part 2, Chemical and Microbiological Properties**. 2nd ed., Amer. Soc. Agron., Inc., Madison, U.S.A.
- _____. 1996. Soil pH and soil acidity, pp. 475-490. In D.L. Sparks, A.L. Page, P.A. Helmke, R.H. Loeppert, P.N. Soltanpour, M.A. Tabatabai, C.T. Johnston and M.E. Sumner, eds. **Method of Soil Analysis Part 3, Chemical Methods**. Amer. Soc. Agron., Inc., Madison, Wisconsin.
- Toro, M., R. Azcon and J.M. Barea. 1997. Improvement of arbuscular mycorrhiza development by inoculation of soil with phosphate solubilizing rhizobacteria to improve rock phosphate bioavailability. **Applied and Environmental Microbiology**. 63: 4408-4412.

- Tran T. Ng. S., C. Ng. Diep and Tr. Th. M. Giang. 2006. Effect of Bradyrhizobia and phosphate solubilizing bacteria application on soybean in relational system in Mekong Delta. **Omonrice**. 14 :48-57.
- Turan, M. 2006. Evaluation of the capacity of phosphate solubilizing bacteria and fungi on different forms of phosphorus in liquids culture. **Journal of Australian Agriculture**. 28: 99-108.
- Vassileva, M., N. Vassilev and R. Azcon. 1998. Rock phosphate solubilization by *Aspergillus niger* on olive cake-based medium and its further application in soil-plant system world. **Journal of Microbiol Biotechnology**. 14: 281-284.
- Vikaam, A., H. Hamzehzarghani, A.R. Alagawade, P.U. Krishnaray and B.S. Chandrashekar. 2007. Production of plant growth substances by phosphate solubilizing bacteria isolate from vertisols. **Journal of Plant Science**. 2: 326-333.
- Walbridge, M.R. 1991. Phosphorus availability in acid organic soils of the lower North Carolina coastal plain. **Ecology**. 72: 2083-2100.
- Wang, Z. and S. Li. 2004. Effect of nitrogen and phosphorus fertilization on plant growth and nitrate accumulation in vegetables. **Journal of plant nutrient**. 27: 539-556.
- Walkley, A. and C.A. Black. 1934. An examination of degrjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the choroma acid titration method. **Soil Sci**. 37: 29-35.
- Xu, J.G. and R.L. Johnson. 1995. Root growth, microbial activity and phosphatase activity in oil-contaminated, remediated and uncontaminated soils planted to barley and field pea. **Plant Soil**. 173: 3-10.

Yadav, K.S. and K.R. Dadarwal. 1997. Phosphate solubilization and mobilization through soil microorganisms. **Biot. Appr. Soil Micr. Sust. Crop Prod.**

Yoshida, S., D.A. Forno and J.H. Cook. 1971. **Laboratory Manure for Physiological Studies of Rice.** Int. Rice Res. Inst., Los Banos, Laguna, Philippines.

Zaidi, A. and M.S. KHAN. 2006. Co-inoculation Effects of Phosphate Solubilizing Microorganisms and *Glomus faciculatum* on Green Gram-Bradyrhizobium Symbiosis. **Turkey Journal of Agriculture Forestry.** 30: 223-230.





ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 ระดับความรุนแรงของปฏิกิริยา

ระดับ	พีอีซี (range)
เป็นกรดรุนแรงมากที่สุด (ultra acid)	<3.5
เป็นกรดรุนแรงมาก (extremely acid)	3.5-4.5
เป็นกรดจัดมาก (strongly acid)	4.5-5.0
เป็นกรดจัด (strongly acid)	5.1-5.5
เป็นกรดปานกลาง (moderately acid)	5.6-6.0
เป็นกรดเล็กน้อย (slightly acid)	6.1-6.5
เป็นกลาง (neutral)	6.6-7.3
เป็นด่างเล็กน้อย (slightly alkaline)	7.4-7.8
เป็นด่างปานกลาง (moderately alkaline)	7.9-8.4
เป็นด่างจัด (strongly alkaline)	8.5-9.0
เป็นด่างจัดมาก (very strongly alkaline)	>9.0

ที่มา: คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา (2541)

ตารางผนวกที่ 2 ระดับของไนโตรเจนในดิน (%)

ระดับ (rating)	พิสัย (%)
ต่ำมาก (VL)	<0.1
ต่ำ (L)	0.1-0.2
ปานกลาง (M)	0.2-0.5
สูง (H)	0.5-0.75
สูงมาก (VH)	>0.75

ที่มา: กรมพัฒนาที่ดิน (2548)

ตารางผนวกที่ 3 ระดับของฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (available P) (Bray II)

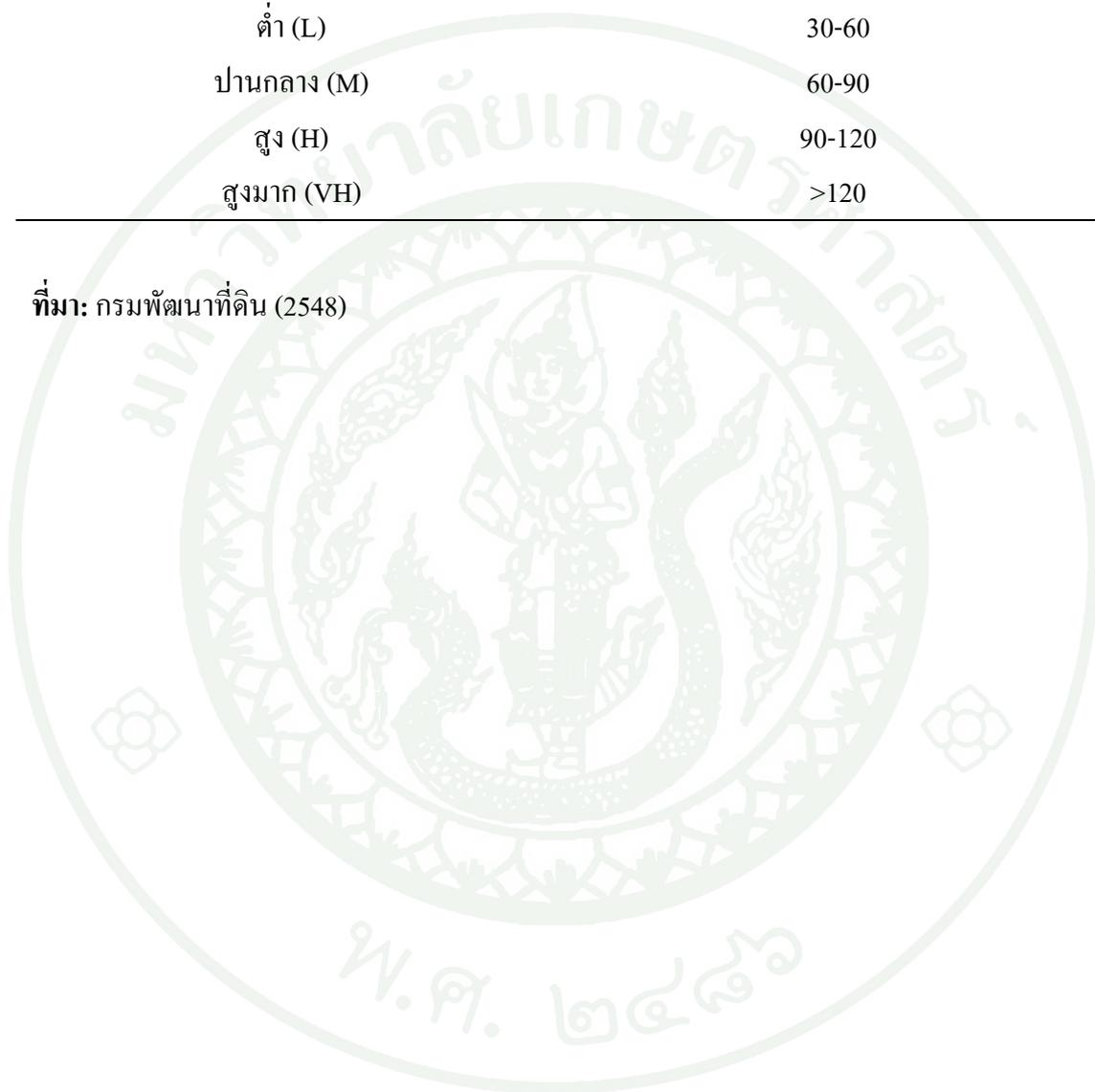
ระดับ (rating)	ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)
ต่ำมาก	<3
ต่ำ	3-5
ค่อนข้างต่ำ	6-10
ปานกลาง	11-15
ค่อนข้างสูง	16-25
สูง	26-42
มาก	>45

ที่มา: กรมพัฒนาที่ดิน (2548)

ตารางผนวกที่ 4 ระดับของโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้

ระดับ (rating)	พืสัย (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)
ต่ำมาก (VL)	<30
ต่ำ (L)	30-60
ปานกลาง (M)	60-90
สูง (H)	90-120
สูงมาก (VH)	>120

ที่มา: กรมพัฒนาที่ดิน (2548)



ตารางผนวกที่ 5 ระดับของความสามารถในการแลกเปลี่ยนประจุบวก (me/100gm.soil)

ระดับ (rating)	พิสัย (me/100gm.soil)
ต่ำมาก	<3
ต่ำ	3-5
ต่ำปานกลาง	5-10
ปานกลาง	10-15
สูงปานกลาง	15-20
สูง	20-30
สูงมาก	>30

ที่มา : กรมพัฒนาที่ดิน (2548)

ตารางผนวกที่ 6 ความสูงของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2

Treatment	ความสูง (cm)			
	16 วัน	30 วัน	45 วัน	54 วัน
control	8.75 d	19.88 c	34.50 d	84.00 bc
NPK	12.13 a	24.50 ab	45.25 ab	101.33 a
NK+Rs 01	11.88 a	25.50 a	44.50 b	96.33ab
NK+RP	11.38 ab	23.50 b	48.75 a	101.33 a
NK+RP+Rs 01	10.50 bc	20.88 c	38.50 c	99.33 ab
Rs 01	9.80 c	20.50 c	33.38 d	84.33 bc
RP	8.75 d	20.75 c	35.25 cd	79.00 c
F-Test	**	**	**	*
% CV	6.6	3.8	6.2	9.3

หมายเหตุ *,** = แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$)
 ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อ
 ตรวจสอบด้วย DMRT

ตารางผนวกที่ 7 ขนาดเส้นรอบวงของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2

Treatment	เส้นรอบวง (cm)			
	16 วัน	30 วัน	45 วัน	54 วัน
control	1.95 cd	3.13 c	3.88 d	3.52 b
NPK	2.30 ab	4.88 a	4.80 bc	4.53 a
NK+Rs 01	2.18 bc	4.88 a	5.38 a	4.83 a
NK+RP	2.50 a	4.75 a	5.13 ab	4.54 a
NK+RP+Rs 01	1.85 de	3.88 b	4.63 c	3.67 b
Rs 01	1.63 ef	3.38 c	3.88 d	3.17 b
RP	1.48 f	3.38 c	3.75 d	3.50 b
F-Test	**	**	**	**
% CV	9.0	7.4	6.8	6.7

หมายเหตุ ** = แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อตรวจสอบด้วย DMRT

ตารางผนวกที่ 8 น้ำหนักสดของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2 ที่อายุ 54 วัน (ระยะออกใหม่)

Treatment	น้ำหนักสด (g)	
	ต้น	ใบ
control	45.71 c	18.34 b
NPK	103.99 ab	34.98 a
NK+Rs 01	116.25 a	40.99 a
NK+RP	112.96 a	34.36 a
NK+RP+Rs 01	87.93 b	33.72 a
Rs 01	49.98 c	20.78 b
RP	47.02 c	19.04 b
F-Test	**	**
% CV	15.8	15.8

หมายเหตุ ** = แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อตรวจสอบด้วย DMRT

ตารางผนวกที่ 9 น้ำหนักแห้งของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2 ที่อายุ 54 วัน (ระยะออกไหม)

Treatment	น้ำหนักแห้ง (g)	
	ต้น	ใบ
Control	9.31 c	5.45 c
NPK	24.71 ab	12.19 ab
NK+Rs 01	28.15 a	15.63 a
NK+RP	28.52 a	12.89 ab
NK+RP+Rs 01	21.12 b	11.19 b
Rs 01	11.40 c	6.92 c
RP	9.56 c	6.34 b
F-Test	**	**
% CV	15.7	19.8

หมายเหตุ ** = แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อตรวจสอบด้วย DMRT

ตารางผนวกที่ 10 น้ำหนักแห้งของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2 ที่อายุ 75 วัน (ระยะเก็บเกี่ยว)

Treatment	น้ำหนักแห้ง (g)	
	น้ำหนักต้น	น้ำหนักใบ
Control	40.29 d	15.73 b
NPK	128.61 ab	30.16 a
NK+Rs 01	135.23 a	37.35 a
NK+RP	128.53 ab	31.52 a
NK+RP+Rs 01	125.27 b	29.89 a
Rs 01	49.76 c	20.78 b
RP	53.19 c	17.10 b
F-Test	**	**
% CV	5.3	17.1

หมายเหตุ ** = แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อตรวจสอบด้วย DMRT

ตารางผนวกที่ 11 น้ำหนักแห้งของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2 ที่อายุ 75 วัน (ระยะเก็บเกี่ยว)

Treatment	น้ำหนักแห้ง (g)	
	ต้น	ใบ
Control	10.40 d	6.60 b
NPK	37.9 a	13.3 a
NK+Rs 01	36.6 a	13.0 a
NK+RP	31.1 b	11.0 a
NK+RP+Rs 01	28.5 c	11.4 a
Rs 01	12.9 d	6.7 b
RP	13.8 d	7.2 b
F-Test	**	**
% CV	10.1	13.7

หมายเหตุ ** = แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อตรวจสอบด้วย DMRT

ตารางผนวกที่ 12 ค่าปฏิกิริยาดินในดินหลังเก็บเกี่ยวข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2

Treatment	pH
Control	7.90
NPK	7.80
NK+Rs 01	7.80
NK+RP	7.90
NK+RP+Rs 01	7.87
Rs 01	7.97
RP	7.87
F-Test	ns
% CV	10.1

หมายเหตุ ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกัน ในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อตรวจสอบด้วย DMRT

ตารางผนวกที่ 13 ปริมาณ ไนโตรเจนทั้งหมดในดินหลังการเก็บเกี่ยวข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2

Treatment	Total N (%)
Control	0.094
NPK	0.094
NK+Rs 01	0.097
NK+RP	0.104
NK+RP+Rs 01	0.090
Rs 01	0.091
RP	0.100
F-Test	ns
% CV	13

หมายเหตุ ns = ไม่แตกต่างทางสถิติ

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกัน ในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อตรวจสอบด้วย DMRT

ตารางผนวกที่ 14 ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดและปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินหลังการเก็บเกี่ยวข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2

Treatment	Total P	Avail. P
	(.....มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม.....)	
control	203.33 c	27.04 c
NPK	233.30 bc	37.92 bc
NK+Rs 01	243.30 bc	37.82 bc
NK+RP	286.67 ab	49.51 ab
NK+RP+Rs 01	323.33 a	60.95 a
Rs 01	206.67 c	29.61 c
RP	256.67 abc	37.03 bc
F-Test	**	**
% CV	13.00	15.16

หมายเหตุ ** = แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกันในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อตรวจสอบด้วย DMRT

ตารางผนวกที่ 15 ปริมาณ โพแทสเซียมในดินหลังการเก็บเกี่ยวข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2

Treatment	Total K (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)
control	51.3 bc
NPK	60.27 a
NK+Rs 01	53.55 abc
NK+RP	52.58 bc
NK+RP+Rs 01	56.47 ab
Rs 01	49.09 bc
RP	47.40 c
F-Test	**
% CV	6.28

หมายเหตุ ** = แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกัน ในสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อตรวจสอบด้วย DMRT

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ -นามสกุล	นางสาวสุภาพร จันรุ่งเรือง
วัน เดือน ปี ที่เกิด	18 ตุลาคม 2499
สถานที่เกิด	โรงพยาบาลนครปฐม จังหวัดนครปฐม
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (เกษตรศาสตร์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ปี 2523
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	ผู้อำนวยการสำนักเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน กรมพัฒนาที่ดิน
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	สำนักเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน กรมพัฒนาที่ดิน
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	ศักยภาพของรูปถ่ายในการบำบัดน้ำเสีย
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-