

ความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสในดินและการเจริญเติบโตของอ้อยโดยแบคทีเรียละลายฟอสเฟต Phosphorus Availability in Soil and Sugarcane Growth by Phosphate Solubilizing Bacteria

ณัฐริ ไวมาศย์¹ เพชรดา ปินใจ¹ และณัฐพล จิตมาตย์¹
Natnaree Wimat¹, Pechrada Pinjai¹ and Nattapol Jittamart¹

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใส่แบคทีเรียละลายฟอสเฟต *K. radicincitans* และ *B. subtilis* ร่วมกับการใส่ปุ๋ยเคมีและหินฟอสเฟตต่อความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสในดิน การเจริญเติบโตและผลผลิตของอ้อยในสภาพไร่ ทำการศึกษาในชุดดินทับพริก จ. สระแก้ว ผลการศึกษาพบว่า การใส่แบคทีเรียละลายฟอสเฟตร่วมกับหินฟอสเฟตมีผลต่อการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดิน โดยการใส่เชื้อร่วมกัน (2 ไอโซเลต) ร่วมกับการใส่หินฟอสเฟตส่งผลต่อปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินสูงที่สุด การใส่เชื้อ *K. radicincitans* ส่งผลต่อการสะสมฟอสฟอรัสในอ้อยสูงที่สุด สอดคล้องกับการดูดใช้ฟอสฟอรัสของอ้อยพบว่าการใส่เชื้อ *K. radicincitans* ช่วยส่งเสริมการดูดใช้ฟอสฟอรัสในอ้อยได้สูงและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากตำรับควบคุมและตำรับการใส่ปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) และปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ (0-0-60) การใส่แบคทีเรียละลายฟอสเฟตส่งผลต่อน้ำหนักสดลำ แต่ไม่ส่งผลต่อความสูง เส้นผ่านศูนย์กลางลำ และจำนวนปล้อง การใส่เชื้อแบบเดี่ยว *B. subtilis* ร่วมกับหินฟอสเฟต และการใส่เชื้อแบบรวม 2 ไอโซเลต ทำให้อ้อยมีน้ำหนักสดลำสูงใกล้เคียงกันและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเท่ากับ 880 และ 853 กรัมต่อลำ ตามลำดับ ส่งผลให้อ้อยมีผลผลิตเท่ากับ 12.48 และ 12.15 ตันต่อไร่ สำหรับผลต่อค่าความหวานของอ้อย พบว่าการใส่เชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตส่งผลดีต่อค่าความหวานของอ้อย โดยในตำรับการใส่ร่วมกันทั้ง 2 ไอโซเลต ร่วมกับหินฟอสเฟตมี %CCS สูงที่สุดคือ 14.55 %

คำสำคัญ: แบคทีเรียละลายฟอสเฟต สัดส่วนของฟอสฟอรัสในดิน การดูดใช้ฟอสฟอรัส

Abstract

This research was carried out in order to study the effects of the use of phosphate solubilizing bacteria (*K. radicincitans* and *B. subtilis*) combined with chemical fertilizers and rock phosphate on the P availability in soil, and the impact of phosphate solubilizing bacteria on the growth and yield of sugarcane under field conditions. The study was conducted in soils of the Thap Phrik soil series, in Sa Kaeo province. The results showed that the addition of bacterial isolate combined with rock phosphate resulted in the highest available P content. The application of *K. radicincitans* produced the highest accumulation of total phosphorus content and phosphorus uptake in sugarcane and these results were significantly different from the control and fertilizer applications of urea (46-0-0) and potassium chloride (0-0-60). The addition of the bacteria promoted the growth of sugarcane as measured by fresh cane weight but had no effect on height, cane diameter and no. of inter-nodes. The inoculation with a single isolate of *B. subtilis* combined with rock phosphate and combined isolates without rock phosphate resulted in the greatest cane weights of 880 g and 853 g, and led to sugarcane yields of 12.48 and 12.15 ton/rai, respectively. The inoculation of phosphate solubilizing bacteria together with rock phosphate gave higher CCS of 14.55%

Keywords: phosphorus-solubilizing-bacteria, phosphorus fraction in soil, phosphorus uptake

¹ ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

¹ Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok 10900

*Corresponding author, Email: agrprj@ku.ac.th

คำนำ

ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารหลักที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของอ้อย ซึ่งอ้อยต้องการธาตุฟอสฟอรัสแตกต่างกันตามระยะการเจริญเติบโต โดยต้องการมากในช่วงระยะการแตกกอและย่างปล้อง หลังจากนั้นความต้องการของฟอสฟอรัสจะน้อยลงจนกระทั่งเก็บผลผลิต แม้ว่าความต้องการธาตุฟอสฟอรัสจะน้อยลงแต่ธาตุฟอสฟอรัสก็ยังจำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตตลอดระยะเวลาจนถึงช่วงเก็บผลผลิต (สมศรี บุญเรือง และคณะ, 2552) ดังนั้นฟอสฟอรัสในดินจึงควรมีในปริมาณที่เพียงพอต่อการดูดใช้ของอ้อยในระยะต่าง ๆ และอยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์กับพืช หากอ้อยได้รับธาตุฟอสฟอรัสไม่เพียงพอจะมีผลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของอ้อยได้ ซึ่งอ้อยที่ขาดฟอสฟอรัสจะเป็นโรคได้ง่าย แคระแกร็น โตช้า ปล้องสั้น การแตกหน่อลดลง ใบมีสีม่วง ขอบใบแห้ง การใส่ปุ๋ยฟอสฟอรัสในรูปปุ๋ยนั้นอาจเกิดปัญหาการทำให้ปฏิกิริยากับแร่ในดิน ทำให้ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์เปลี่ยนไปอยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้ยากขึ้น ส่งผลให้ฟอสฟอรัสไม่สามารถละลายออกมาเป็นประโยชน์ให้กับพืชได้ (Syers et al., 2008) โดยปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นนี้จะขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของไอออนประจุบวกและไอออนประจุลบในปุ๋ย พีเอชในดิน และความชื้นในดิน (Bache, 1964) อย่างไรก็ตามฟอสฟอรัสในรูปที่ไม่ละลายเหล่านี้สามารถละลายออกมาเป็นประโยชน์ได้โดยอาศัยกิจกรรมของจุลินทรีย์ดิน ซึ่งจุลินทรีย์จะสร้างสารที่มีฤทธิ์เป็นกรดไปละลายฟอสฟอรัสในรูปที่ไม่ละลายให้ละลายออกมาเป็นประโยชน์แก่พืช ตัวอย่างเช่น การละลายอินทรีย์ฟอสเฟตโดยแบคทีเรียละลายฟอสเฟตประสิทธิภาพสูงที่คัดแยกได้จากรอบรากข้าวโพด สามารถละลายฟอสเฟตได้โดยการผลิต Citric acid และ Oxalic acid (Sadia et al., 2002) กลไกในการละลายฟอสเฟตขึ้นกับชนิดของจุลินทรีย์ ความเข้มข้น และชนิดของกรดที่จุลินทรีย์หลั่งออกมา ตัวอย่างจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต เช่น แบคทีเรียในสกุล *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Burkholderia*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Rhizobium*, *Erwinia*, *Serratia*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium* (Kloepper et al. 1988) อย่างไรก็ตามแบคทีเรียละลายฟอสเฟต (phosphate solubilizing bacteria, PSB) ซึ่งมีบทบาทในการเปลี่ยนรูปฟอสฟอรัสที่ไม่เป็นประโยชน์ให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ได้นั้น นอกจากแบคทีเรียเหล่านี้จะช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวรากพืชในการดูดซับฟอสเฟตเพื่อให้พืชสามารถดูดฟอสเฟตไปใช้ประโยชน์ได้มากแล้ว (Sperberg, 1985) ยังเป็นการช่วยลดการสูญเสียฟอสฟอรัสจากการตรึงในดินได้อีกด้วย ทั้งนี้แบคทีเรียละลายฟอสเฟตมีกลไกในการละลายฟอสฟอรัสโดยอาศัยการผลิตสารที่มีฤทธิ์เป็นกรดทั้งที่เป็นกรดอินทรีย์และกรดอนินทรีย์ (Illmer and Schinree, 1992) ซึ่งกรดอินทรีย์และกรดอนินทรีย์ต่าง ๆ เหล่านี้ที่หลั่งออกมาจะทำให้เกิดกระบวนการแลกเปลี่ยนประจุหรือกระบวนการคีเลชัน (chelation) ส่งผลให้ฟอสฟอรัสที่ถูกตรึงในดินละลายออกมาเป็นประโยชน์ต่อพืช (Sharma et al., 2013) จะเห็นได้ว่าแบคทีเรียละลายฟอสเฟตสามารถช่วยเพิ่มความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารและยังส่งผลทางอ้อมต่อการเจริญเติบโตของพืช ตัวอย่างเช่น Sundara et al. (2002) รายงานผลของแบคทีเรียละลายฟอสเฟต (*Bacillus megaterium* var. *Phosphaticum*) ต่อการเจริญเติบโตของอ้อยในแปลงร่วมกับปุ๋ยฟอสฟอรัส single super phosphate (SSP) และหินฟอสเฟต พบว่าการใส่เชื้อร่วมกับปุ๋ยฟอสฟอรัส ทำให้อ้อยมีการแตกกอเพิ่มขึ้น ส่งผลต่อจำนวนลำ น้ำหนักลำ และผลผลิตอ้อยเพิ่มขึ้น 12.6% สอดคล้องกับงานวิจัยของ ไตรธานี เยี่ยมอ่อน และคณะ (2555) พบว่าการใส่แบคทีเรียละลายฟอสเฟต *B. aryabhatai* UT-KKU-26 ร่วมกับหินฟอสเฟตส่งผลต่อความสูง น้ำหนักสดลำและน้ำหนักแห้งของอ้อยเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับ Sadiq et al. (2013) รายงานว่าแบคทีเรีย *Enterobacter aerogenes* และ *Citrobacter freundii* เป็นแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพสูงกว่าแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของอ้อย โดยพบว่าการใส่เชื้อช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของอ้อยสูงกว่าค่าควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ส่งผลให้ความสูง จำนวนใบ ความยาวราก และน้ำหนักแห้งของอ้อยเพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้ Yadav et al. (2016) ได้ศึกษาผลของการใส่แบคทีเรียละลายฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตของอ้อยที่ปลูกร่วมกับการปลูกถั่ว พบการใส่แบคทีเรียละลายฟอสเฟตอัตรา 6 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ ส่งผลให้จำนวนหน่อ จำนวนปล้อง และผลผลิตของอ้อยสูงกว่าค่ารับการทดลองที่ไม่ใส่เชื้ออีกด้วย และจากงานวิจัยของ จัตุราภรณ์ ทองปนแก้ว (2559) ที่ศึกษาผลของการใส่แบคทีเรียละลายฟอสเฟต *K. radicincitans* และ *B. subtilis* ต่อการเจริญเติบโตของอ้อยในสภาพกระถาง ผลการทดลองพบว่าการใส่เชื้อเดี่ยวและเชื้อร่วมร่วมกับการใส่หินฟอสเฟตสามารถเพิ่มความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสในดินได้สูงกว่าค่าควบคุม และค่ารับที่ใส่เชื้อเพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ยังช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของอ้อยด้านของความสูง น้ำหนักสดลำ จำนวนลำ ความยาวปล้อง ความยาวลำ เส้นผ่านศูนย์กลางลำ และการดูดใช้ธาตุฟอสฟอรัสของอ้อยเพิ่มขึ้นสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงมีความเป็นไปได้ที่จะพัฒนาต่อยอดการทดสอบในสภาพไร่เพื่อพัฒนาเป็นปุ๋ยชีวภาพต่อไป ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบผลของแบคทีเรียละลายฟอสเฟต *K. radicincitans* และ *B. subtilis* ต่อการละลายฟอสเฟตการเจริญเติบโตและผลผลิตของอ้อยในสภาพไร่ ทั้งนี้ก็เพื่อการนำไปใช้ประโยชน์อย่างปลอดภัยและยั่งยืน

วิธีการศึกษา

การเตรียมหัวเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่ใช้ในการศึกษา

แบคทีเรียละลายฟอสเฟต (PSB) ที่ใช้ศึกษาจำนวน 2 ไอโซเลต ได้แก่ *Kosakonia radicincitans* (accession no. KR558720.1) และ *Bacillus subtilis* (accession no. KT265078.1) ผ่านการตรวจสอบเกณฑ์การให้ระดับอันตราย เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค และไม่พบเป็นเชื้อสาเหตุโรคคน พืช และสัตว์ตามประกาศของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และฐานข้อมูล ศูนย์ทรัพยากรชีวภาพ (ฉัตรภรณ์ ทองปนแก้ว, 2559) เตรียมหัวเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตในอาหารเหลว NB ปริมาตร 250 มล. บ่มที่อุณหภูมิ 30°C นาน 48 ชม. ก่อนนำไปขยายเชื้อในอาหารเหลว Nutrient Broth (NB) 3,000 ml เพื่อเตรียมเซลล์ ให้มีปริมาณจุลินทรีย์รับรองขั้นต่ำอย่างน้อย 10^8 CFU/ml ตามเกณฑ์มาตรฐานปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตของกรมวิชาการเกษตร (เพชรดา ปิ่นใจ, 2560)

การผลิตกรดอินทรีย์ของแบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่ใช้ในการศึกษา

ทดสอบชนิดและปริมาณของกรดอินทรีย์ที่ผลิตโดยแบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่ใช้ในการศึกษา เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับ ประเมินรูปของฟอสฟอรัสที่สามารถละลายได้ในดิน โดยนำเซลล์เริ่มต้นของแบคทีเรียละลายฟอสเฟต ที่เลี้ยงในอาหาร NB ซึ่งปรับค่าความขุ่นของเซลล์แบคทีเรีย ($OD_{600} = 1.0$) คูดสารละลายเซลล์เริ่มต้นปริมาณ 1 มล. ถ่ายใส่อาหารเหลว NB ปริมาตร 100 มล. ที่บรรจุใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มล. เขย่าด้วยความเร็ว 180 รอบต่อนาที บ่มอุณหภูมิ 30°C นาน 24 ชม. จากนั้น นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 13000 xg เป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนใสที่ได้จากการเหวี่ยงนำไปวิเคราะห์กรดอินทรีย์ด้วยเครื่อง HPLC (Lopez and Gomez, 1996) โดยส่งวิเคราะห์กรดอินทรีย์ที่สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร (IFRPD) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

การวางแผนการทดลอง

ศึกษาผลของการใส่แบคทีเรียละลายฟอสเฟตต่อการความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสในดิน และการเจริญเติบโต ของอ้อย ในชุดดินท่งพริก (Tpk) ณ ตำบลห้วยโจด อ. วัฒนานคร จ. สระแก้ว พิกัด 13°42'07.3"N และ 102°12'57.2"E โดยใช้ อ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) จำนวน 8 ตำรับการทดลอง 3 ซ้ำ ประกอบด้วย 1) ตำรับการทดลองที่ไม่ใส่เชื้อและไม่ใส่ปุ๋ยทุกชนิด (ชุดควบคุม) 2) ตำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยยูเรีย 46-0-0 (N) และปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ 0-0-60 (K) 3) ตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อ *K. radicincitans* 4) ตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อ *B. subtilis* 5) ตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อ *K. radicincitans* ร่วมกับ *B. subtilis* 6) ตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อ *K. radicincitans* ร่วมกับการใส่ หินฟอสเฟต 7) ตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อ *B. subtilis* ร่วมกับการใส่หินฟอสเฟต 8) ตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อ *K. radicincitans* กับ *B. subtilis* ร่วมกับการใส่หินฟอสเฟต โดยตำรับการทดลองที่ 3-8 ใส่ปุ๋ยยูเรียและปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์รวมด้วย จีดพ่น เชื้อลงดินบริเวณรอบรากอ้อยหลังปลูก 10-15 วัน (จีดพ่นสารกำจัดวัชพืชก่อนปลูก) โดยจีดพ่นในอัตรา 520 ลิตรต่อไร่ และ จีดพ่นในอัตราเดียวกันหลังอ้อยอายุครบ 1 เดือน ตามวิธีการของ ฉัตรภรณ์ ทองปนแก้ว (2559)

วิเคราะห์สมบัติทางเคมีของดินก่อนปลูก ดัง Table 1 พบเนื้อดินเป็นดินเหนียวสีดํา มีปฏิกิริยาดินที่เป็นกรดเล็กน้อย (pH=6.40) ปริมาณอินทรีย์วัตถุอยู่ในระดับปานกลาง (2.44%) ปริมาณไนโตรเจนต่ำ (0.12%) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็น ประโยชน์ในระดับสูง (23.1 mg/kg) และมีปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับสูงมาก (487 mg/kg) จากนั้น นำข้อมูลดินและทำการจำลองการปลูกพืชเพื่อคาดคะเนอัตราค่าแนะนำปุ๋ยด้วย โปรแกรม DASSAT และ PDSS (เสาวนุช ถาวรพฤษ และคณะ, 2557) ได้อัตราค่าแนะนำปุ๋ย โดยตำรับการทดลองที่ 2-8 ใส่ปุ๋ยยูเรียและปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ โดยใส่ ปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) ในอัตรา 1.74 กิโลกรัมต่อไร่ ปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ (0-0-60) ในอัตรา 10.00 กิโลกรัมต่อไร่ และตำรับ การทดลอง 6-8 ใส่หินฟอสเฟต (0-3-0) อัตรา 40.5 กิโลกรัมต่อไร่ การใส่ปุ๋ย ปุ๋ยยูเรียแบ่งใส่ 3 ครั้ง พร้อมปลูก เมื่ออ้อยอายุ 50-60 วัน และเมื่ออ้อยอายุ 90 วัน สำหรับปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ และหินฟอสเฟตใส่พร้อมปลูก ขนาดพื้นที่แปลงย่อยมีขนาด 7.5 × 6 ตร.ม. ปลูกอ้อย 5 แถว เก็บตัวอย่าง 3 แถวกลาง ระยะปลูกระหว่างแถว 1.5 ม. ระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 2 ม. คิดเป็นพื้นที่รวมขนาด 30.5 × 87.5 ตร.ม. หรือ 1.66 ไร่ ปลูกอ้อยเป็นระยะเวลา 8 เดือน

Table 1 The soil chemical properties before sugarcane plantation.

Soil series	pH (1:1)	OM	Total N	Avai. P	Avai.K	Al-P	Fe-P	Ca-P
		(%)		(mg/kg)		(----- P fraction (%) -----)		
Tpk	6.40	2.44	0.12	23.1	487.1	34.08	52.52	13.41

การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ผล

วิเคราะห์ดินหลังปลูกโดยสุ่มเก็บตัวอย่างดินลึก 15 เซนติเมตร นำตัวอย่างดินที่เก็บมาคลุกเคล้าให้เข้ากัน จากนั้นแบ่งตัวอย่างดินในแต่ละตำรับการทดลอง เพื่อวิเคราะห์สมบัติทางเคมี ได้แก่ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดิน (available phosphorus) ตามวิธีของ Murphy and Riley (1962) สัดส่วนของฟอสฟอรัสในดิน ประกอบด้วย Al-P, Fe-P และ Ca-P ตามวิธีของ Kovar and Pierzynski (2009) และสุ่มเก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบรากอ้อยสำหรับวิเคราะห์จุลินทรีย์ในดิน เพื่อนับจำนวนการอยู่รอดของแบคทีเรียละลายฟอสเฟตในดินเมื่ออ้อยอายุ 4, 6 และ 8 เดือน ตามระยะการเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตของอ้อย

การวิเคราะห์พีซีวิเคราะห์ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในเนื้อเยื่อพืช และการดูดใช้ฟอสฟอรัสของอ้อยที่ระยะเก็บเกี่ยว โดยเก็บตัวอย่างใบและลำต้น นำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักแห้งคงที่ บดตัวอย่างให้ละเอียดและย่อยตัวอย่างด้วยกรดไนตริกเพอร์คลอริก ($\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$) และกรดซัลฟิวริก ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ ($\text{H}_2\text{SO}_4\text{-H}_2\text{O}_2$) จากนั้นนำไปวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสด้วยวิธี Vanado-molybdate yellow color (Bray and Kurtz, 1945)

การเก็บข้อมูลการเจริญเติบโต เก็บข้อมูลการเจริญเติบโตเมื่ออ้อยอายุได้ 4, 6 และ 8 เดือน ได้แก่ ความสูง เส้นผ่านศูนย์กลางลำ จำนวนปล้อง น้ำหนักสดลำ คำนวณผลผลิตต่อไร่และวิเคราะห์คุณภาพความหวานอ้อย (%CCS)

การศึกษาการอยู่รอดของแบคทีเรียละลายฟอสเฟตในดิน

ตรวจนับจำนวนแบคทีเรียละลายฟอสเฟตในดินด้วยเทคนิค dilution and plating บนอาหารเฉพาะโดยนำตัวอย่างดินมาเจือจางใน 0.85% NaCl เขย่าและตั้งทิ้งไว้ให้สารละลายดินตกตะกอน นำสารละลายดินด้านบนมาเจือจางที่ระดับการเจือจาง 10^{-1} - 10^{-8} นำสารละลายดินที่ได้ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มาเลี้ยงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อเฉพาะ โดยตรวจนับจำนวนแบคทีเรีย *K. radicincitans* และ *B. subtilis* บนอาหาร NBRIIP ที่มีการเติมสารปฏิชีวนะคลอแรมฟินิคอล (Chloramphenicol) ความเข้มข้น 20 ug/L และบ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 35°C เป็นเวลานาน 7 วัน หลังจากนั้นสังเกตลักษณะโคโลนีและปรากฏไขในใสที่เกิดขึ้น โดยโคโลนีของเชื้อ *K. radicincitans* มีลักษณะโคโลนีมีรูปร่างกลม ขนาดเล็ก ขอบเรียบไม่มีรอยหักเว้า สีของโคโลนีเป็นสีเหลืองโปร่งแสงเล็กน้อย ในขณะที่ *B. subtilis* ลักษณะโคโลนีมีรูปร่างกลม ขนาดใหญ่ ขอบไม่เรียบ สีของโคโลนีเป็นสีขาวขุ่น ตรวจนับจำนวน และคำนวณเป็น CFU/ดินแห้ง 1 กรัม

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) เพื่อหาค่า F-test พร้อมทั้งเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ DMRT (Duncan's Multiple Range Tests) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ขึ้นไป

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การผลิตกรดอินทรีย์ของแบคทีเรียละลายฟอสเฟต

จากการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดอินทรีย์ที่ผลิตโดยแบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่ใช้ในการศึกษา (*K. radicincitans* และ *B. subtilis*) พบแบคทีเรียทั้งสองสามารถผลิตกรดอินทรีย์ได้ชนิดเดียวกัน โดยผลิตกรดอินทรีย์ได้ทั้งหมด 5 ชนิด คือ กรดแอซิกติก กรดซิติค กรดแล็กติก กรดมาลิก และกรดทาร์ทาริก แต่ไม่สามารถผลิตกรดกลูโคนิกได้ ทั้งนี้แบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดสามารถผลิตกรดอินทรีย์ได้ชนิดเดียวกันแต่มีปริมาณที่ต่างกัน ดัง Table 2 กล่าวคือ *K. radicincitans* สามารถผลิตกรดแอซิกติกได้มากที่สุด รองลงมาคือ กรดซิติค และกรดแล็กติก เท่ากับ 211.0, 201.5 และ 171.5 mg/l ตามลำดับ สำหรับ *B. subtilis* สามารถผลิตกรดแอซิกติกได้มากที่สุดเช่นเดียวกัน รองลงมาคือ กรดมาลิก และกรดทาร์ทาริก เท่ากับ 260.5, 200.5 และ 170.0 mg/l ตามลำดับ

Table 2 Type of organic acids produced by phosphate solubilizing bacteria.

PSB isolates	Organic acid (mg/l)					
	Acetic	Citric	Lactic	Malic	Tartaric	Gluconic
<i>K. radicincitans</i>	211.0	201.5	171.5	150.0	140.0	-
<i>B. subtilis</i>	260.5	154.0	159.0	200.5	170.0	-

การผลิตกรดอินทรีย์ต่าง ๆ ของจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตนั้นมักเป็นกลไกหลักในการการละลายฟอสฟอรัสของจุลินทรีย์และรากพืช ซึ่งสามารถช่วยละลายฟอสฟอรัสที่ถูกตรึงในดินในรูปต่าง ๆ ได้ เช่น Al-P, Fe-P, Ca-P เป็นต้น โดยการกรดอินทรีย์ที่หลั่งออกมานั้นจะทำให้เกิดกระบวนการแลกเปลี่ยนประจุหรือปฏิกิริยาคีเลชัน (chelation) จับกับธาตุประจุบวก และทำให้ปลดปล่อยฟอสเฟตที่ถูกตรึงละลายออกมาในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืชได้ (Poonguzhali et al., 2008; Khan et al., 2009) อย่างไรก็ตาม ปริมาณการละลายฟอสเฟตจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ ปริมาณของแคลเซียม เหล็ก อะลูมิเนียมในดิน และยังขึ้นอยู่กับกลุ่มของกรดอินทรีย์ (กลุ่มที่ประกอบด้วย -COOH ที่มีอยู่ในกรดอินทรีย์ทุกชนิดหรือเรียกว่ากรดคาร์บอกซิลิก) ที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้น ซึ่งในกลุ่มของ tri-carboxylic มีประสิทธิภาพมากกว่ากรดอินทรีย์ในกลุ่ม di-carboxylic และกลุ่มของ monocarboxylic acid ตามลำดับ (Ryan et al., 2001; Adeleke et al., 2018) จากการทดลองของ Saeid et al. (2018) ได้ศึกษาประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตของแบคทีเรียสกุล *Bacillus* 3 สายพันธุ์ (*B. megaterium* *B. cereus* และ *B. subtilis*) ที่บ่มในแหล่งฟอสเฟตที่ต่างกัน ได้แก่ กระดูกไก่บด (poultry bones) ขี้เถ้า (ash) ก้างปลาบด (fish bones) และหินฟอสเฟต (phosphate rock) และพบว่าทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถผลิตกรดได้ชนิดเดียวกัน 5 ชนิด คือ กรดกลูโคนิก กรดแล็กติก กรดแอสซิดิก กรดซักซินิก และกรดโพรพิโอนิก ซึ่งแบคทีเรียผลิตกรดแล็กติกและกรดแอสซิดิกได้สูงที่สุดในทุกแหล่งฟอสเฟตที่ทดสอบ เมื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของปริมาณกรดทั้งหมดและปริมาณฟอสฟอรัสที่ละลายออกมาพบว่า *B. megaterium* ที่บ่มในก้างปลาบด (fish bones) สามารถละลายฟอสฟอรัสในรูป P_2O_5 ออกมาได้สูงที่สุดเท่ากับ 483.5 มิลลิกรัมต่อลิตร นั้นแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียในสกุลเดียวกันสามารถผลิตกรดอินทรีย์ได้ในปริมาณที่แตกต่างกัน และมีความสามารถละลายฟอสฟอรัสจากแหล่งที่แตกต่างกันด้วย

ผลของแบคทีเรียละลายฟอสเฟตต่อสัดส่วนฟอสฟอรัสและความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสในดิน

ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินเมื่ออายุ 4, 6 และ 8 เดือน มีปริมาณแตกต่างกันในแต่ละดำรับ การทดลอง การใส่เชื้อและการใส่หินฟอสเฟตร่วมด้วยส่งผลต่อการละลายฟอสเฟตในดินเมื่ออายุ 4 และ 6 เดือน (Table 3) จากตารางพบว่าปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในเดือนที่ 4 ดำรับการทดลองที่มีการใส่เชื้อร่วมกับใส่หินฟอสเฟต มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์สูงกว่าดำรับการทดลองที่ไม่ใส่หินฟอสเฟต และดำรับการทดลองที่ไม่ใส่เชื้ออย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยดำรับที่มีการใส่เชื้อร่วม *K. radicincitans* + *B. subtilis* ร่วมกับการใส่หินฟอสเฟต มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์สูงที่สุดเท่ากับ 60.4 mg/kg รองลงมาคือ ดำรับการใส่เชื้อเดี่ยว *K. radicincitans* ร่วมกับการใส่หินฟอสเฟต และดำรับการใส่เชื้อเดี่ยว *B. subtilis* ร่วมกับการใส่หินฟอสเฟต เท่ากับ 56.0 และ 46.8 mg/kg ตามลำดับ

Table 3 Effects of phosphate solubilizing bacteria on available phosphorous in soil.

Treatment	Soil available P (mg/kg)		
	4 months	6 months	8 months
T1 Control	32.9c	25.3d	59.1
T2 N K	32.5c	26.4d	65.9
T3 <i>K. radicincitans</i>	15.5d	42.9b	46.2
T4 <i>B. subtilis</i>	16.5d	33.6c	44.3
T5 <i>K. radicincitans</i> + <i>B. subtilis</i>	28.1c	42.2b	68.2
T6 <i>K. radicincitans</i> + RP	56.0a	57.8a	82.2
T7 <i>B. subtilis</i> + RP	46.8b	44.5b	81.0
T8 <i>K. radicincitans</i> + <i>B. subtilis</i> + RP	60.4a	63.4a	99.1
F-test	**	**	ns
CV (%)	14.38	7.46	19.91

Mean in the same column of each treatments by common letter are not significantly different at 5% level by DMRT;

** = significant at 1%; ns = non-significant.

ทั้งนี้ในเดือนที่ 6 ยังคงพบว่าดำรับการทดลองที่ใส่หินฟอสเฟตมีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์สูงกว่าดำรับที่ไม่ใส่หินฟอสเฟต โดยการใส่เชื้อร่วม *K. radicincitans* + *B. subtilis* ร่วมกับการใส่หินฟอสเฟต ส่งผลต่อปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์สูงที่สุด สูงกว่าดำรับการใส่เชื้อเพียงอย่างเดียวและดำรับควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เท่ากับ 63.4 mg/kg และมี

แนวโน้มที่จะมีประสิทธิภาพในการเกิดกิจกรรมการละลายฟอสเฟตได้สูงกว่าการใส่เชื้อเดี่ยวเพียงอย่างเดียว ตลอดระยะเวลาที่ทำการศึกษา (8 เดือน) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Vikram and Hamzeharghani (2008) รายงานว่าการเติมหินฟอสเฟตร่วมกับแบคทีเรียละลายฟอสเฟต ส่งผลต่อปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินสูงกว่าการเติมหินฟอสเฟตหรือปุ๋ยฟอสฟอรัสเพียงอย่างเดียว ซึ่งให้เห็นว่าการเติมหินฟอสเฟตช่วยส่งเสริมกิจกรรมการละลายฟอสเฟตของแบคทีเรีย สอดคล้องกับการทดลองในกระถางหลายงานวิจัยที่พบว่า การใส่เชื้อเดี่ยวและการใส่เชื้อร่วมโดยมีการเติมหินฟอสเฟตลงไป จะส่งผลให้ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินสูงขึ้น และสูงกว่าในตำรับควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ โดยการใส่เชื้อร่วมกันร่วมกับการใส่หินฟอสเฟตจะให้ผลดีกว่าอย่างมากที่สุด (Walpolo and Yoon, 2013) ทั้งนี้เป็นผลมาจากในดินที่มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์อยู่ต่ำ เมื่อใส่เชื้อลงไป จุลินทรีย์จะหลั่งกรดหรือเอนไซม์ออกมาเพื่อทำการละลายฟอสฟอรัสที่ละลายได้ง่ายก่อน ซึ่งหินฟอสเฟตเป็นแหล่งของฟอสฟอรัสที่ง่ายต่อการละลายและจุลินทรีย์สามารถนำฟอสฟอรัสที่ละลายได้ไปใช้ในการสร้างพลังงาน เจริญเติบโต และเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ได้อย่างรวดเร็ว ดังนั้นการเติมหินฟอสเฟตลงไปจึงเป็นตัวกระตุ้นให้จุลินทรีย์สามารถรอดชีวิตและดำเนินกิจกรรมต่าง ๆ ที่ต้องการในดิน ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อพืชในเวลาต่อมา ซึ่งในเดือนที่ 8 ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินเป็นไปในทิศทางเดียวกับเดือนที่ 4 และ 6 โดยตำรับการทดลองที่ใส่หินฟอสเฟตร่วมด้วยส่งผลให้ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินสูงกว่าในตำรับที่ไม่ใส่หินฟอสเฟตแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยพบว่าตำรับที่ใส่เชื้อร่วมส่งผลต่อปริมาณฟอสฟอรัสในดินได้สูงกว่าตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อเดี่ยว ซึ่งการใส่เชื้อร่วมกันทั้ง 2 ไส้เลต ร่วมกับหินฟอสเฟต สามารถส่งเสริมการทำงานซึ่งกันและกันจึงทำให้ประสิทธิภาพการละลายฟอสฟอรัสได้สูงที่สุด เท่ากับ 99.1 mg/kg จากรายงานของ Walpolo and Yoon (2013) ที่ศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียละลายฟอสเฟต 2 ไส้เลต คือ *Pantoea agglomerans* และ *Burkholderia anthina* ร่วมกับหินฟอสเฟต พบตำรับการทดลองที่ใส่เชื้อ 2 ไส้เลต ทั้งที่มีการเติมหินฟอสเฟตและไม่เติมหินฟอสเฟต ส่งผลทำให้ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินเพิ่มสูงขึ้นกว่าตำรับควบคุม และตำรับที่ใส่เชื้อเดี่ยวและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Akhtar et al. (2013) พบว่าการใส่ *Rhizobium* ร่วมกับ *Bacillus* sp. ส่งผลให้ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินเพิ่มขึ้น 36.9% เมื่อเปรียบเทียบกับการใส่ *Bacillus* sp. เพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ Kaur and Reddy (2015) ได้ศึกษาผลของแบคทีเรียละลายฟอสเฟตร่วมกับการใส่หินฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพดและข้าวสาลี พบการใส่แบคทีเรียละลายฟอสเฟตร่วมกับหินฟอสเฟตส่งผลให้จำนวนแบคทีเรียละลายฟอสเฟตเพิ่มขึ้น แตกต่างจากตำรับควบคุมสอดคล้องกับความยาวราก ลำต้น และน้ำหนักแห้งของทั้งข้าวโพดและข้าวสาลีที่เพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับ Sundara et al. (2002) ได้ศึกษาผลของแบคทีเรียละลายฟอสเฟต (*Bacillus megaterium* var. *Phosphaticum*) ต่อการเจริญเติบโตของอ้อย พบว่าการใส่เชื้อร่วมกับหินฟอสเฟตและปุ๋ยฟอสฟอรัส ทำให้ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับตำรับที่ใส่หินฟอสเฟตและปุ๋ยฟอสฟอรัสเพียงอย่างเดียว โดยปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินเพิ่มสูงขึ้นทั้ง 3 ระยะการเจริญเติบโตของอ้อย (แตกกอ ยีดปล้อง สุกแก่)

อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาสัดส่วนของฟอสฟอรัสในดินเปรียบเทียบกับดินก่อนปลูกและหลังปลูก จากการวิเคราะห์พบสัดส่วนของฟอสฟอรัสในดินก่อนปลูกซึ่งประกอบด้วย AI-P, Fe-P และ Ca-P มีปริมาณเท่ากับ 34.08, 52.52 และ 13.41% ของสัดส่วนฟอสฟอรัสทั้งหมดในดิน ตามลำดับ (Table 1) จะเห็นได้ว่าฟอสฟอรัสในดินส่วนใหญ่ถูกตรึงกับเหล็กและอะลูมิเนียมออกไซด์ ซึ่งเป็นผลมาจากปฏิกิริยาดินที่เป็นกรดเล็กน้อย (pH 6.4) อาจจะมีเหล็กและอะลูมิเนียมออกไซด์จำนวนมากเนื่องจากธาตุทั้งสองเป็นองค์ประกอบของแร่พวก Goethite, Hematite หรือ Gibbsite (Parfitt, 1989) จึงเกิดปฏิกิริยาตกตะกอนกลายเป็นสารประกอบที่ละลายน้ำยาก ซึ่งส่งผลให้แร่เหล่านี้มีความสามารถในการตรึงฟอสฟอรัสได้สูง เมื่อวิเคราะห์ดินหลังปลูกพบสัดส่วนฟอสฟอรัสในดินเปลี่ยนแปลงไป พิจารณาในตำรับการทดลองที่ 3-8 (ใส่แบคทีเรียละลายฟอสเฟต) จะพบสัดส่วนของ AI-P 1-2%, สัดส่วนของ Fe-P 34-58% และสัดส่วนของ Ca-P 41-64% ของสัดส่วนฟอสฟอรัสทั้งหมดในดิน (Figure 1) ตามลำดับ พบว่าสัดส่วนของ Ca-P เพิ่มขึ้นจากดินก่อนการทดลอง ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องจากการเพิ่มขึ้นของพีเอชดินหลังปลูก โดยตำรับที่มีการใส่และไม่ใส่หินฟอสเฟตมีสัดส่วนของ Ca-P เพิ่มขึ้นไม่แตกต่างกันอาจเป็นผลมาจากการดูดใช้ของฟอสฟอรัสของพืชในปริมาณสูงทำให้ฟอสฟอรัสในดินที่เหลือมีน้อยลง และเมื่อพีเอชของดินเพิ่มขึ้นทำให้หลงเหลือสัดส่วนของ Ca-P ในปริมาณที่ไม่แตกต่างกัน สำหรับสัดส่วนฟอสฟอรัสที่ถูกตรึงโดยเหล็ก (Fe-P) และอะลูมิเนียมออกไซด์ (AI-P) ซึ่งพบว่ามีปริมาณลดลง ซึ่งให้เห็นว่าการใส่แบคทีเรียละลายฟอสเฟตมีแนวโน้มละลายฟอสเฟตในรูปอะลูมิเนียมฟอสเฟตและเหล็กฟอสเฟตจากการผลิตกรดอินทรีย์ทั้งหมด 5 ชนิดข้างต้น และบางส่วนจากอิทธิพลของสารเอกซูด (exudate) ที่พืชหลั่งออกมา ซึ่งกรดอินทรีย์หรือกรดคาร์บอกซิลิกส่วนใหญ่จะละลาย AI-P และ Fe-P (Khan et al., 2009) และประสิทธิภาพการละลายแตกต่างกันตามโครงสร้างโมเลกุลของกรดอินทรีย์ เช่น กรดซิตริก สามารถละลาย Fe/Al ได้สูงกว่า กรดออกซาลิก > กรดมาลิก > กรดทาร์ทาริก > กรดแล็กติก > กรดแอสซิดิก (Ryan et al., 2001) สอดคล้องกับ Henri et al. (2008) ได้ศึกษา

ประสิทธิภาพของ *Pseudomonas fluorescens* ต่อการละลายอินทรีย์ฟอสเฟต พบแบคทีเรียสามารถละลายฟอสเฟตในรูป $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, $\text{AlPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ และ $\text{FePO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (ทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ) และเมื่อทดสอบผลของกรดอินทรีย์ต่อการละลายฟอสเฟตพบว่ากรดซิตริกสามารถละลายอะลูมิเนียมฟอสเฟตและเหล็กฟอสเฟตได้สูงที่สุด รองลงมาคือ กรดมาลิก และ กรดทาร์ทาริก ตามลำดับ

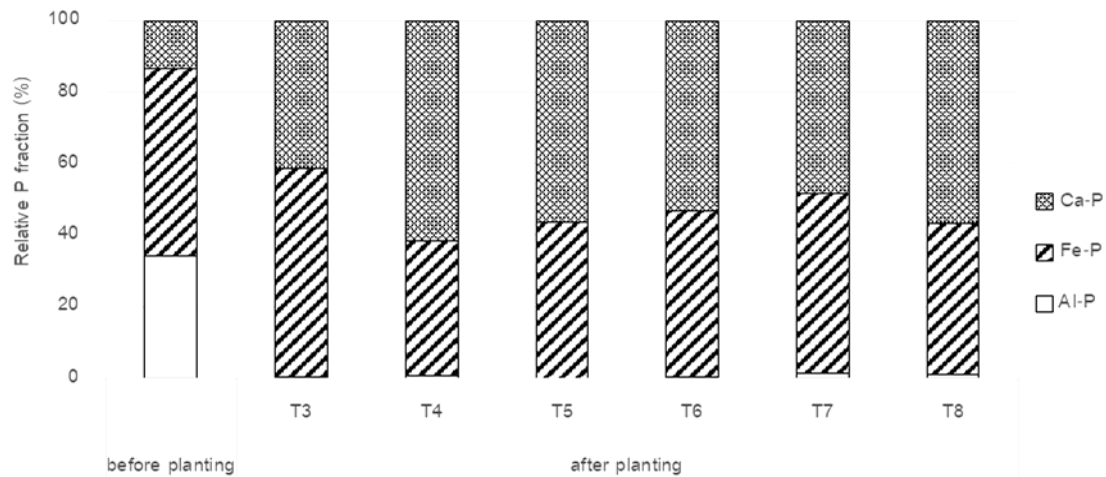


Figure 1 Percentage of fractionation phosphorus in Tpk soil series.

T1 Control, T2 N K, T3 *K. radicincitans*, T4 *B. subtilis*, T5 *K. radicincitans* + *B. subtilis*,
T6 *K. radicincitans* + RP, T7 *B. subtilis* + RP, T8 *K. radicincitans* + *B. subtilis* + RP.

ผลของแบคทีเรียละลายฟอสเฟตต่อการสะสมฟอสฟอรัสและการดูดใช้ฟอสฟอรัสของอ้อย

จากการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสในอ้อยและปริมาณการดูดฟอสฟอรัสของอ้อย ซึ่งประกอบด้วยส่วนของใบและลำต้น พบฟอสฟอรัสส่วนใหญ่ถูกสะสมในส่วนของใบสูงกว่าในลำต้น แต่กลับพบการดูดใช้ฟอสฟอรัสของอ้อยในส่วนของลำต้นมากกว่าใบ ดัง Table 4 โดยได้รับการทดลองที่ใส่เชื้อเดี่ยว *K. radicincitans* มีปริมาณฟอสฟอรัสสะสมในใบสูงสุดเท่ากับ 455 mg/kg รองลงมาคือ ตำรับที่ใส่เชื้อเดี่ยว *B. subtilis* และตำรับที่ใส่เชื้อร่วม *K. radicincitans* + *B. subtilis* มีปริมาณฟอสฟอรัส 328 และ 303 mg/kg ตามลำดับ และการใส่เชื้อเดี่ยว *K. radicincitans* ยังสามารถช่วยสะสมปริมาณฟอสฟอรัสในลำต้นได้ ซึ่งการใส่เชื้อเดี่ยว *K. radicincitans* มีปริมาณฟอสฟอรัสสะสมในลำต้นสูงสุดเท่ากับ 280 mg/kg เมื่อพิจารณาปริมาณฟอสฟอรัสที่สะสมทั้งหมดในอ้อยพบว่า การใส่เชื้อ *K. radicincitans* ส่งผลต่อการสะสมฟอสฟอรัสในอ้อยสูงที่สุดเท่ากับ 735 mg/kg และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับผลของการใส่เชื้อต่อการดูดใช้ฟอสฟอรัสของอ้อย พบได้รับการทดลองที่ใส่เชื้อส่งผลต่อการดูดใช้ฟอสฟอรัสในใบได้สูงกว่าตำรับควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่แตกต่างจากตำรับที่ใส่ปุ๋ยยูเรียและปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ (N K) โดยตำรับที่ใส่เชื้อเพียงอย่างเดียวมีผลต่อการดูดใช้ฟอสฟอรัสในใบมากกว่าเชื้อร่วมกับหินฟอสเฟต พบตำรับที่ใส่เชื้อ *B. subtilis* และ *K. radicincitans* มีปริมาณการดูดใช้ฟอสฟอรัสในใบสูงที่สุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เท่ากับ 271 และ 229 มิลลิกรัมต่อต้น ตามลำดับ ในส่วนการดูดใช้ฟอสฟอรัสในลำต้น พบตำรับที่ใส่เชื้อ *K. radicincitans* ร่วมกับหินฟอสเฟต มีปริมาณการดูดใช้ฟอสฟอรัสในลำต้นสูงที่สุดเท่ากับ 703 มิลลิกรัมต่อต้น รองลงมาคือ ตำรับที่ใส่เชื้อ *K. radicincitans* เพียงอย่างเดียว เท่ากับ 670 มิลลิกรัมต่อต้น ซึ่งจะเห็นได้ว่าการใส่เชื้อ *K. radicincitans* ส่งผลต่อการดูดใช้ฟอสฟอรัสในลำต้นได้ดี พิจารณาการดูดใช้ฟอสฟอรัสทั้งหมดในอ้อยพบว่า การใส่เชื้อ *K. radicincitans* ทั้งที่ใส่และไม่ใส่หินฟอสเฟตร่วมด้วยช่วยส่งเสริมการดูดใช้ฟอสฟอรัสในอ้อยได้สูง และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากตำรับควบคุมและตำรับการใส่ปุ๋ยยูเรียและปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ (N K) แสดงให้เห็นว่าการใส่แบคทีเรียละลายฟอสเฟตส่งเสริมการสะสมฟอสฟอรัสและการดูดใช้ของอ้อย ซึ่งสอดคล้องกับ ไตรธานี เยี่ยมอ่อน และคณะ (2555) ที่พบว่า การใส่แบคทีเรียละลายชนิดต่าง ๆ ทำให้อ้อยมีการสะสมฟอสฟอรัสสูงกว่าอ้อยตำรับควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และ Safirzadeh et al. (2019) พบว่าการใส่แบคทีเรียละลายฟอสเฟตร่วมด้วยช่วยเพิ่มการดูดใช้ฟอสฟอรัสในอ้อยได้สูงขึ้น 161% เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับควบคุมที่ไม่ใส่แบคทีเรียละลายฟอสเฟต

Table 4 Effects of phosphorus solubilizing bacteria on total P accumulation and P uptake (leaves and stalk) of sugarcane for 8 months.

Treatment	Total P in plant (mg/kg)			P uptake (mg/plant)		
	Leaves	Stalk	Total	Leaves	Stalk	Total
T1 Control	248c	196cd	444c	82d	322d	404d
T2 N K	254c	187d	441c	177b	470cd	647c
T3 <i>K. radicincitans</i>	455a	280a	735a	229a	670ab	899a
T4 <i>B. subtilis</i>	328b	219bcd	548b	271a	511bc	782abc
T5 <i>K. radicincitans</i> + <i>B. subtilis</i>	303bc	248ab	551b	171bc	635abc	806ab
T6 <i>K. radicincitans</i> + RP	249c	276a	526b	123cd	703a	826a
T7 <i>B. subtilis</i> + RP	280bc	227bc	508b	151bc	598abc	749abc
T8 <i>K. radicincitans</i> + <i>B. subtilis</i> + RP	284bc	221bcd	505b	137bc	518bc	655bc
F-test	**	**	**	*	**	**
CV (%)	11.12	9.04	5.04	16.6	16.9	11.5

Mean in the same column of each treatments by common letter are not significantly different at 5% level by DMRT;

** = significant at 1%; * = significant at 5% level.

ผลของการใส่แบคทีเรียละลายฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตของอ้อย

จากการเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตของอ้อยที่ 4, 6 และ 8 เดือน พบการใส่แบคทีเรียละลายฟอสเฟตไม่ส่งผลต่อความสูงเส้นผ่านศูนย์กลาง จำนวนปล้องของอ้อยให้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นความสูงของอ้อยในช่วงแรก (4-6 เดือน) กล่าวคือดำรับที่มีการใส่ปุ๋ยยูเรียและปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ (N K) และดำรับที่ใส่แบคทีเรียละลายฟอสเฟตมีแนวโน้มทำให้อ้อยมีความสูงมากกว่าดำรับควบคุมที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ยและไม่ใส่เชื้อ เมื่อพิจารณาในแต่ละดำรับการทดลองจะเห็นได้อย่างชัดเจนว่าดำรับที่มีการใส่เชื้อร่วมกับหินฟอสเฟตกระตุ้นให้อ้อยมีความสูงมากกว่าการไม่ใส่หินฟอสเฟต โดยเฉพาะอย่างยิ่งดำรับที่มีการใส่เชื้อร่วมกัน 2 ไอโซเลตร่วมกับหินฟอสเฟต ทั้งนี้เมื่ออ้อยมีอายุมากขึ้น การยืดปล้องของอ้อยเริ่มลดลง เนื่องจากปัญหาการขาดน้ำของอ้อยทำให้ความสูงของอ้อยในแต่ละดำรับการทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามดำรับการทดลองที่ใส่เชื้อร่วมกับหินฟอสเฟตยังคงเป็นดำรับการทดลองที่ให้ผลสูงมากที่สุด (Table 5) สำหรับเส้นผ่านศูนย์กลางลำ จำนวนปล้องก็เช่นเดียวกัน กล่าวคือจะมีค่าใกล้เคียงกันในทุกดำรับการทดลองและไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางลำเฉลี่ยอยู่ที่ 27.1-26.2 mm และจำนวนปล้องอยู่ที่ 13.6-14.7 ปล้องต่อลำ สำหรับน้ำหนักสดลำพบการใส่เชื้อส่งผลให้น้ำหนักสดลำสูงขึ้นและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับดำรับควบคุม แต่ไม่แตกต่างกับดำรับที่มีการใส่ปุ๋ยยูเรียและปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ (N K) ซึ่งสามารถให้น้ำหนักสดได้ราว 833 g นั้นแสดงให้เห็นว่าชุดดินทับทิมซึ่งเป็นชุดดินในพื้นที่ทดสอบ น่าจะมีปริมาณฟอสฟอรัสในดินที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของอ้อยในระดับหนึ่ง ทำให้อ้อยมีการตอบสนองต่อการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนและโพแทสเซียมที่เพียงพอจึงสามารถช่วยให้อ้อยเจริญเติบโตและมีน้ำหนักที่สูงขึ้น แม้ว่าจะไม่ใส่ปุ๋ยฟอสฟอรัสก็ตาม อย่างไรก็ตามแม้การใส่เชื้อในทุกดำรับการทดลองจะไม่ส่งผลต่อน้ำหนักสดของอ้อยที่สูงกว่าการใส่ปุ๋ย แต่จะเห็นได้ว่าดำรับที่มีการใส่เชื้อในบางดำรับการทดลองจะให้น้ำหนักสดลำของอ้อยสูงที่สุดและสูงกว่าการใส่ปุ๋ย กล่าวคือ การใส่เชื้อ *B. subtilis* ร่วมกับหินฟอสเฟตส่งผลให้อ้อยมีน้ำหนักสดลำสูงที่สุด เท่ากับ 880 g ซึ่งสอดคล้องกับผลความสูงของอ้อย รองลงมาคือการใส่เชื้อร่วมกัน (*K. radicincitans* + *B. subtilis*) และการใส่เชื้อ *K. radicincitans* ร่วมกับหินฟอสเฟตให้น้ำหนักสดลำ เท่ากับ 853 g และ 840 g ตามลำดับ ทั้งนี้ด้านการให้ผลผลิต (ต้นต่อไร่) พบการใส่เชื้อไม่ส่งผลต่อการเพิ่มผลผลิตของอ้อยเมื่อเทียบกับดำรับควบคุม โดยดำรับที่ใส่ปุ๋ยยูเรียและปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ (N K) ส่งผลต่อผลผลิตต้นต่อไร่สูงที่สุด แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตามการใส่เชื้อเดี่ยว *K. radicincitans* ร่วมกับหินฟอสเฟตยังสามารถให้ผลผลิตสูงที่สุด คือ 12.6 ton/rai รองลงมาคือการใส่เชื้อร่วมกัน (*K. radicincitans* + *B. subtilis*) และการใส่เชื้อเดี่ยว *B. subtilis* ร่วมกับหินฟอสเฟต ให้ผลผลิตเท่ากับ 12.5 และ 12.2 ton/rai ตามลำดับ สำหรับผลต่อค่าคุณภาพความหวานของอ้อย พบการใส่เชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตส่งผลดีต่อค่าความหวานของอ้อย โดยในดำรับการใส่เชื้อร่วมกัน (*K. radicincitans* + *B. subtilis*)

ร่วมกับหินฟอสเฟตมี %CCS สูงที่สุดคือ 14.6% และในตารางจะเห็นได้ว่าการใส่แบคทีเรียละลายฟอสเฟตส่งผลต่อความหวานของอ้อยที่สูงกว่าดำรับควบคุมและดำรับที่มีการใส่ปุ๋ย ยกเว้นการใส่เชื้อ *B. subtilis* ร่วมกับหินฟอสเฟต

Table 5 Effect of phosphate solubilizing bacteria on height, stalk weight, stalk diameter, no. of internode, yields (ton/rai) and %CCS.

Treatment	Height (cm)			Stalk weight (g)	Stalk Diameter (mm)	No. of internode	Yield (ton/rai)	% CCS
	4	6	8					
	(----- months -----)							
T1 Control	91.4b	106.2c	153.5	547b	26.3	14.3	11.0	12.4
T2 N K	105.9ab	137.5ab	161.6	833a	26.8	15.8	13.2	12.4
T3 <i>K. radicincitans</i>	107.0a	150.2ab	160.8	793a	26.9	14.0	11.8	13.6
T4 <i>B. subtilis</i>	105.9ab	140.2ab	153.8	773a	25.9	14.7	10.4	13.2
T5 <i>K. radicincitans</i> + <i>B. subtilis</i>	110.0ab	155.0ab	164.5	853a	27.1	13.8	12.5	12.6
T6 <i>K. radicincitans</i> + RP	112.4a	153.0ab	162.0	840a	26.6	13.6	12.6	12.9
T7 <i>B. subtilis</i> + RP	112.3a	155.9a	164.6	880a	26.7	14.7	12.2	11.4
T8 <i>K. radicincitans</i> + <i>B. subtilis</i> + RP	106.0ab	157.0a	161.6	780a	26.6	14.3	11.5	14.6
F-test	*	*	ns	*	ns	ns	ns	ns
CV (%)	9.91	7.33	6.96	15.3	3.34	8.94	20.9	9.4

Mean in the same column of each treatments by common letter are not significantly different at 5% level by DMRT;

* = significant at 5% level; ns = non-significant.

การอยู่รอดของแบคทีเรียละลายฟอสเฟตในสภาพไร่

แบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่ใส่ลงไปมีจำนวนลดลงเมื่ออ้อยอายุมากขึ้น เมื่ออ้อยอายุ 4 เดือน พบว่าดำรับการใส่เชื้อแบบเดียว *K. radicincitans* เมื่อเทียบกับการใส่เชื้อแบบเดียว *B. subtilis* จะมีอัตราการอยู่รอดใกล้เคียงกัน การใส่หินฟอสเฟตร่วมด้วยจะมีจำนวนการอยู่รอดเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย เช่นเดียวกับการใส่เชื้อร่วมกัน (*K. radicincitans* + *B. subtilis*) ซึ่งมีอัตราการอยู่รอดใกล้เคียงกัน อย่างไรก็ตามพบว่าดำรับที่มีการใส่เชื้อร่วม (*K. radicincitans* + *B. subtilis*) ร่วมกับหินฟอสเฟตมีจำนวนแบคทีเรียละลายฟอสเฟตสูงที่สุด เท่ากับ 54.2×10^4 CFU/g dry soil เมื่ออายุ 6 เดือน พบแบคทีเรียละลายฟอสเฟตมีจำนวนลดลงต่ำลงมาถึง 10^4 CFU/g dry soil ทั้งนี้ดำรับการทดลองที่ใส่หินฟอสเฟตส่งผลต่อจำนวนการอยู่รอดของแบคทีเรียละลายฟอสเฟต ทั้งการใส่เชื้อแบบเดียวและการใส่เชื้อแบบร่วมกัน (Figure 2) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Yu et al. (2011) รายงานว่า การเติมหินฟอสเฟตทำให้จำนวนแบคทีเรียละลายฟอสเฟตและฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยดำรับที่ใส่มีการเชื้อแบบเดียว *B. subtilis* ร่วมกับการใส่หินฟอสเฟต มีผลต่ออัตราการอยู่รอดของแบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่ใส่ลงไปสูงที่สุด เท่ากับ 17.1×10^4 CFU/g dry soil ทั้งนี้ เมื่ออ้อยอายุ 8 เดือน จำนวนแบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่ใส่ลงไปในดินมีจำนวนน้อยกว่า 30 โคโลนี จึงไม่สามารถนำมาคำนวณจำนวนของแบคทีเรียได้ ถือได้ว่าแบคทีเรียไม่สามารถอยู่รอดได้นั่นเอง ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับการทดลองในกระถางก่อนหน้านี้ ซึ่งจัดรายการณ์ทองปนแก้ว (2559) รายงานว่า แบคทีเรียละลายฟอสเฟตมีจำนวนลดลงในทุกดำรับการทดลองเหลือประมาณ 10^3 CFU/g day soil เมื่อเปรียบเทียบกับการใส่เชื้อพร้อมปลูก 10^8 CFU/g day soil เมื่ออ้อยอายุ 8 เดือน อย่างไรก็ตามดำรับที่มีการใส่หินฟอสเฟตร่วมด้วยพบการอยู่รอดของแบคทีเรียสูงกว่าดำรับการทดลองที่ไม่ใส่หินฟอสเฟต จะเห็นได้ว่ารูปแบบการใส่ปุ๋ยอาจมีผลต่อจำนวนการอยู่รอดของแบคทีเรียละลายฟอสเฟตด้วย ทั้งนี้การลดลงของแบคทีเรียโดยทั่วไปมักเป็นผลมาจากสภาพแวดล้อมสมบัติของดิน และตัวจุลินทรีย์เอง เนื่องจากในสภาพแวดล้อมจุลินทรีย์มีการแย่งแย่งอาหาร พลังงาน ที่อยู่อาศัย และปัจจัยในการดำรงชีวิตอื่น ๆ เพิ่มขึ้น ถึงแม้ว่าจุลินทรีย์หรือแบคทีเรียที่ใส่ลงไปจะสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้มากแค่ไหน

จุลินทรีย์ก็จะมีแข่งขันกันมากขึ้นเพื่อให้ได้มาซึ่งปัจจัยการดำรงชีวิต ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงทั้งสมบัติดิน สภาพแวดล้อม บริเวณรอบรากพืชตามระยะการเจริญเติบโตของพืชย่อมส่งผลต่อแบคทีเรียที่ใส่ลงไป (Indi et al., 2014) ซึ่งเป็นไปได้ว่าในช่วงที่อ้อยอยู่ในช่วงสุดท้ายของการเจริญเติบโตและเก็บผลผลิตนั้นมีการเปลี่ยนแปลงของสรีรวิทยาของพืช ความต้องการธาตุอาหารรวมทั้งสารที่หลั่งออกมาจากรากพืช จึงส่งผลต่อการทำงานของจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตน้อยลง ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกลุ่มของจุลินทรีย์ที่มีในดินให้เพิ่มขึ้นหรือลดลงได้

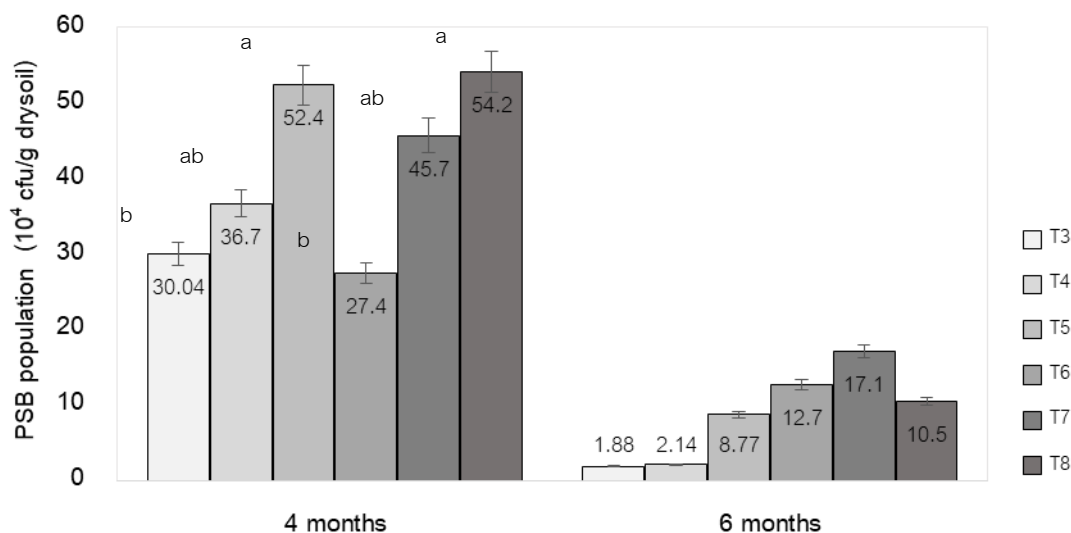


Figure 2 Number of phosphate solubilizing bacteria in soil (4 and 6 months).

T1 Control, T2 N K, T3 *K. radicincitans*, T4 *B. subtilis*, T5 *K. radicincitans* + *B. subtilis*,

T6 *K. radicincitans* + RP, T7 *B. subtilis* + RP, T8 *K. radicincitans* + *B. subtilis* + RP.

สรุปผลการศึกษา

แบคทีเรียละลายฟอสเฟต *K. radicincitans* และ *B. subtilis* สามารถผลิตกรดอินทรีย์ทั้งหมด 5 ชนิด ได้แก่ กรดแอสติก กรดซิตริก กรดแล็กติก กรดมาลิก และกรดทาร์ทาริก ซึ่งทั้ง 2 ไอโซเลตผลิตกรดแอสติกได้มากที่สุด และพบว่าการใส่แบคทีเรียละลายฟอสเฟตสามารถช่วยเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินได้ โดยการใส่เชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่มีการใส่หินฟอสเฟตร่วมด้วย มีผลต่อปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินสูง และการใส่แบคทีเรียละลายฟอสเฟตยังสามารถส่งเสริมการสะสมฟอสฟอรัสทั้งหมดและการดูดใช้ของอ้อยได้ โดยการใส่เชื้อ *K. radicincitans* ส่งผลให้อ้อยสะสมฟอสฟอรัสและการดูดใช้ฟอสฟอรัสได้ดี สำหรับการส่งเสริมการเจริญเติบโตของอ้อยพบการใส่แบคทีเรียละลายฟอสเฟตส่งผลต่อน้ำหนักสดลำอ้อย แต่ไม่ส่งผลต่อความสูง เส้นผ่านศูนย์กลางลำ จำนวนปล้อง ผลผลิต (ต้นต่อไร่) โดยการใส่แบคทีเรียละลายฟอสเฟตแบบเชื้อเดี่ยว *B. subtilis* ร่วมกับการใส่หินฟอสเฟต จะส่งผลต่อความสูงของอ้อยมากที่สุด เช่นเดียวกับน้ำหนักสดลำ ทั้งนี้พบว่าการใส่หินฟอสเฟตร่วมด้วยส่งผลดีต่อแบคทีเรียทั้ง 2 ไอโซเลต โดยการใส่ *K. radicincitans* แบบเชื้อเดี่ยวหรือการใส่เชื้อร่วมกับ *B. subtilis* ให้ผลดีกับอ้อยและฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินมากขึ้น ในขณะที่ *B. subtilis* เหมาะสำหรับการใส่เชื้อเดี่ยวมากกว่าการใส่เชื้อร่วม

กิตติกรรมประกาศ

บทความนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัยเรื่อง “ศักยภาพของการใช้แบคทีเรียละลายฟอสเฟตต่อการละลายฟอสเฟตในดินและการเพิ่มเจริญเติบโตและผลผลิตของอ้อยในจังหวัดสระแก้ว” ซึ่งได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ประจำปีงบประมาณ 2560 และขอขอบคุณโรงงานอ้อยและน้ำตาลตะวันออก (มหาชน) จำกัด อ.วัฒนานคร จ. สระแก้ว ที่ให้การสนับสนุนพื้นที่วิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- ฉัตรภาภรณ์ ทองปนแก้ว. 2559. การคัดเลือกและศักยภาพของแบคทีเรียละลายฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตของข้าว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- ไตรธานี เยี่ยมอ่อน, นันทวัน ฤทธิ์เดช, ประสิทธิ์ ใจคิด และโสภณ บุญลือ. 2555. การส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวด้วยแบคทีเรียละลายฟอสเฟตในสภาพเรือนทดลอง. *แก่นเกษตร* 3 (พิเศษ): 185-193.
- เพชรดา ปินใจ, เสาวนุช ถาวรพฤษ, ณัฐพล จิตมาตย์, ทิมทอง ดรุณสนธยา, สุรเชษฐ์ อร่ามรักษ์, รัฐนนท์ เจริญชาศรี, มิตรว วัฒนา, กรรณิการ์ หอมยามเย็น, ดวงใจ วัยเจริญ และเบญจลักษณ์ วังโสง. 2560. ศักยภาพของการใช้แบคทีเรียละลายฟอสเฟตต่อการละลายฟอสเฟตในดินและการเพิ่มการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวในจังหวัดสระแก้ว. ใน *รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ (โครงการย่อยที่ 2) การเพิ่มประสิทธิภาพการจัดการธาตุอาหารพืชตามดัชนีผลิตภาพดินเพื่อเพิ่มผลผลิตข้าวในจังหวัดสระแก้ว*. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.
- สมศรี บุญเรือง, รังสิมันต์ สัมฤทธิ์ และคมณัฐ ธีระนุกูล. 2552. *การปลูกข้าว: เอกสาร คำแนะนำ* ที่ 159. กรมส่งเสริมการเกษตร สำนักงานส่งเสริมและจัดการสินค้าเกษตร, กรุงเทพฯ.
- เสาวนุช ถาวรพฤษ, ณัฐพล จิตมาตย์, ทิมทอง ดรุณสนธยา, สมิตรา วัฒนา, ดวงใจ วัยเจริญ, กรรณิการ์ หอมยามเย็น, รัฐนนท์ เจริญชาศรี และราชน เลิศพยัคฆ์รัตน์. 2557. การจัดชั้นสมรรถนะความอุดมสมบูรณ์และศักยภาพของดินที่ใช้ปลูกข้าวในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย. ใน *รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ (โครงการย่อยที่ 1) ภายใต้แผนงานวิจัยการพัฒนาศักยภาพและผลิตภาพของดินเพื่อการผลิตข้าวในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย*. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.
- Adeleke, R., Nwagburuka, C., and Oboirien, B. 2017. Origins, roles and fate of organic acids in soils: A review. *South African Journal of Botany* 108: 393-406.
- Akhtar, N. I., Arshad, M. A., Shakir, M. A., Qureshi, J., and Sehrish, A. L. 2013. Co-inoculation with Rhizobium and Bacillus sp. to improve the phosphorus availability and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Animal and Plant Sciences* 23: 190-197.
- Bachchhav, S. 2005. Fertigation technology for increasing sugarcane production. *Indian Journal of Fertilisers* 1: 85-89.
- Bache, B. W. 1964. Aluminum and iron phosphate studies related to soils. II Reaction between phosphates and hydrous oxides. *European Journal of Soil Science* 15: 110-116.
- Bray, R. H., and Kurtz, L. T. 1945. Determination of total, organic and available forms of phosphorus in soils. *Soil Science* 59: 39-45.
- Henri, F., Laurette, N. N., Annette, D., John, Q., Wolfgang, M., François-Xavier, E., and Dieudonne, N. 2008. Solubilization of inorganic phosphates and plant growth promotion by strains of *Pseudomonas fluorescens* isolated from acidic soils of Cameroon. *African Journal of Microbiology Research* 2: 171-178.
- Illmer, P. A., and Schiner, F. 1992. Solubilization of inorganic phosphate by microorganism isolate from forest soil. *Soil Biology Biochemistry Journal* 24: 389-395.
- Indi, D., Nalawade, S. V., Deshmukh, S. U., and Pawar, S. M. 2014. Response of sugarcane varieties to nitrogen and phosphorus as inoculated by gluconacetobacter diazotrophicus and PSB. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* 3: 260-269.
- Kaur, G., and Reddy, M. S. 2015. Effects of phosphate-solubilizing bacteria, rock phosphate and chemical fertilizers on maize-wheat cropping cycle and economics. *Pedosphere* 25: 428-437.
- Kloepper, J. W., Lifshitz, K., and Schroth, M. N. 1988. *Pseudomonas* inoculants to benefit plant production. *ISI Atlas of Science Animal and Plant Sciences* 1: 60-64.
- Khan, A. A., Jilani, G., Akhtar, S. M., Navi, S. M. S., and Rasheed, M. 2009. Phosphorus solubilizing bacteria: occurrence, mechanisms and their role in crop production. *Journal of Agricultural and Biological Science* 1: 48-58.
- Lopez, E. F., and Gomez, E. F. 1996. Simultaneous determination of the major organic acids, sugars, glycerol, and ethanol by HPLC in grape musts and white wines. *The Journal of Chromatographic Science* 34: 254-257.
- Murphy, J., and Riley, J. P. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta* 27: 31-36.
- Parfitt, R. L. 1989. Phosphate reactions with natural allophane, ferrihydrite and goethite. *The European Journal of Soil Science* 40: 359-369.
- Ryan, P. R., Delhaize, E., and Jones, D. L. 2001. Function and mechanism of organic anion exudation from plant roots. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 52: 527-560.
- Poonguzhali, S., Madhaiyan, M., and Sa, T. 2008. Isolation and identification of phosphate solubilizing Bacteria from Chinese cabbage and their effect on growth and phosphorus utilization of plants. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 18: 773-777.
- Sadia, A., Samina, K., Najma, A., and Maliha, R. 2002. In vitro solubilization of inorganic phosphate by phosphate solubilizing microorganisms (PSM) from maize rhizosphere. *International Journal of Agriculture and Biology* 4: 454-458.
- Sadiq, H. M., Jahangir, G. Z., Nasir, I. A., Iqtidar, M., and Iqbal, M. 2013. Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from rhizosphere soil. *Biotechnology & Biotechnological Equipment* 27: 4248-4255.
- Saeid, A., Prochownik, E., and Dobrowolska-Iwanek, J. 2018. Phosphorus solubilization by bacillus species. *Molecules* 23: 2897.

- Safirzadeh, S., Chorom, M., and Enayatizamir, N. 2019. Effect of phosphate solubilising bacteria (*Enterobacter cloacae*) on phosphorus uptake efficiency in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). *Soil Research* 57(4): 333-341.
- Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi M. H., and Gobi, T. A. 2013. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *Springer Plus* 2: 587-600.
- Sperberg, J. I. 1958. The incidence of apatite-solubilizing organisms in the rhizosphere and soil. *Australian Journal of Agricultural Research* 9: 778-781.
- Sundara, B., Natarajan, V., and Hari, K. 2002. Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane and sugar yield. *Field Crop Research* 77: 43-49.
- Syers, J. K., Johnston, A. E., and Curtin, D. 2008. *Efficiency of soil and fertilizer phosphorus use: Reconciling changing concepts of soil phosphorus behaviour with agronomic information*. Rome: Food and Agricultural Organization of the United Nations.
- Vikram, A., and Hamzeharghani, H. 2008. Effect of Phosphate solubilizing bacteria on nodulation and growth parameters of greengram (*Vigna Radiata* L. wilezek.). *Research Journal of Microbiology* 3: 62-72.
- Walpola, B. C., and Yoon, M. H. 2013. Phosphate solubilizing bacteria: Assessment of their effect on growth promotion and phosphorous uptake of mung bean (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek). *Chilean Journal of Agricultural Research* 73: 275-281.
- Yadav, S. P., Kuma, A., Yadav, S., Singh, A. K., Tiwari, A. K., and Ram, B. 2016. Yield, quality and nutrient uptake in autumn sugarcane as influenced by phosphorus levels and inoculation of phosphate solubilizing bacteria in legume based intercropping systems. *Indian Journals* 5: 63-65.
- Yu, X., Liu, X., Zhu, T., Liu, G., and Mao, C. 2011. Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from walnut and their effect on growth and phosphorus mobilization. *Biology and Fertility of Soils* 47: 437-446.

วันรับบทความ (Received date) : 20 ก.พ. 63

วันแก้ไขบทความ (Revised date) : 1 พ.ค. 63

วันตอบรับบทความ (Accepted date) : 20 พ.ค. 63