

การละลายฟอสฟอรัสโดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ :

1. การละลายหินฟอสเฟตโดยจุลินทรีย์ ที่เพิ่มออกซิเจนแก่ก้ามะถัน

Phosphorus Dissolution by Microbial Activities : 1. Dissolution of Rock Phosphate by *Thiobacillus*

สมศักดิ์ วังใบ และ สุนทร มณีสวัสดิ์¹

Somsak Vangnai and Soonthorn Maneesawas

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the role of microbial activities on phosphorus dissolution. The study was performed by inoculating fresh and sterilized cells of *Thiobacillus* into flasks containing *Thiobacillus* medium with various amounts of rock phosphate. The flasks were incubated under shaking conditions at 28° C for 8 weeks, available phosphorus was analyzed weekly throughout the period of experiment. The experimental results showed that upon inoculation with fresh cells the available phosphorus concentration was markedly increased with incubation time, except those of treatments with sterilized cells. The marked increase in available phosphorus concentration was also observed with increasing rock phosphates, but the percentages of dissolution tended to decrease. Very slightly increase in soluble phosphorus was also observed with medium treated with sterilized cells, and approximately constant percentages of dissolution being observed. The dissolution of phosphate from rock phosphate appeared to be significantly affected by activities or microorganism and quantities of rock phosphate added. It is suggested that rock phosphate could be dissolved through *Thiobacillus* activities and further studies leading to effectively practical used of rock phosphate are being warranted.

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินบทบาทของกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่มีต่อการละลายฟอสฟอรัส การศึกษากระทำโดยการเติมเชื้อจุลินทรีย์ที่เพิ่มออกซิเจนแก่ก้ามะถันที่สดและเชื้อที่ได้รับการนิ่งฆ่าเชื้อแล้วลงในขวดที่บรรจุด้วยอาหารและหินฟอสเฟตระดับต่าง ๆ กัน ปลอ่ยให้เชื้อเจริญในสภาพเขย่าและที่อุณหภูมิ 28°ซ. ประเมินหาฟอสฟอรัสที่ละลายได้ทุกสัปดาห์ตลอด 8 สัปดาห์ ผลปรากฏว่า การเติมเชื้อสดทำให้ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสที่ละลายได้เพิ่มขึ้นในอัตราที่ค่อนข้างสูงตลอดเวลาการทดลอง แต่การเติมเชื้อที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้วฟอสเฟตเพิ่มขึ้นในอัตราที่ต่ำมาก ในตำรับที่เติมเชื้อสดฟอสฟอรัสที่ละลายได้เพิ่มขึ้นตามปริมาณของหินฟอสเฟตที่ใส่แต่เปอร์เซ็นต์การ

ละลายลดลงเมื่อใส่หินฟอสเฟตมากขึ้น ในตำรับที่เติมด้วยเชื้อซึ่งนิ่งฆ่าแล้ว เปอร์เซ็นต์การละลายของฟอสฟอรัสค่อนข้างคงที่และอยู่ในระดับที่ต่ำตลอดระยะเวลา จากผลการศึกษาสรุปได้ว่าการละลายฟอสฟอรัสจากหินฟอสเฟตจะถูกควบคุมโดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ และปริมาณหินฟอสเฟตในระบบนั้นและมีข้อเสนอแนะว่าการศึกษาในลักษณะนี้อัตถุการใช้กิจกรรมของจุลินทรีย์ในการละลายฟอสฟอรัสจากหินฟอสเฟตจนถึงขั้นปรับใช้ได้น่าจะได้มีการกระทำต่อไป

คำนำ

การปลูกพืชในประเทศไทย ไม่ว่าจะเป็นพืชพวกถั่วต่าง ๆ เช่น ถั่วเหลือง ถั่วเขียว พืชพวกข้าว ข้าวโพด

¹ ภาควิชาปฐพีวิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

และพืชอื่น ๆ ปัจจัยทางด้านธาตุอาหารที่ถือได้ว่าก่อให้เกิดขีดจำกัดในแง่ของผลผลิต ก็คือการขาดธาตุฟอสฟอรัส ดังนั้นการปลูกพืชต่าง ๆ ดังกล่าวส่วนใหญ่จึงต้องใส่ปุ๋ยฟอสฟอรัส ซึ่งอาจจะใส่ในรูปของปุ๋ยฟอสเฟตเข้มข้นหรือปุ๋ยซูเปอร์ฟอสเฟต หรืออาจจะใช้หินฟอสเฟตซึ่งหาได้ภายในประเทศ (สมบุญ เสกธีระ, 2517) ใส่ลงไปโดยตรง อย่างไรก็ตาม การใช้หินฟอสเฟตโดยตรงนั้น ยังนับได้ว่าไม่ได้รับผลสำเร็จเท่าที่ควร ทั้งนี้เพราะฟอสฟอรัสที่ละลายออกมาจากหินฟอสเฟตนั้นเป็นปริมาณที่ต่ำมาก อัตราการละลายก็เป็นเพียงอัตราที่ค่อนข้างช้า แม้ว่าดินส่วนใหญ่จะค่อนข้างเป็นกรดก็ตาม อรุณ จักขุจินดา (2521) พบว่า เมื่อใส่ปุ๋ยหินฟอสเฟตลงไปในดินที่เป็นกรด ในฤดูแรกของการปลูกพืช ฟอสเฟตจะละลายออกมาเพียง 3 เปอร์เซ็นต์ และฤดูต่อ ๆ ไปฟอสเฟตจะค่อย ๆ ละลายออกมาทีละน้อย ๆ แต่ไม่เพียงพอกับความต้องการของพืช

จุลินทรีย์หลายชนิดมีความสามารถในการละลายฟอสฟอรัสจากหินฟอสเฟต หรือสารประกอบฟอสเฟตอื่น ๆ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกรดแก่ เช่น จุลินทรีย์พวก *Thiobacillus*, *Nitrosomonas* เป็นต้น การศึกษานี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินกิจกรรมในการละลายฟอสเฟตจากหินฟอสเฟตของจุลินทรีย์ *Thiobacillus* ที่แยกเชื้อบริสุทธิ์มาจากดินองค์รักษ์

อุปกรณ์และวิธีการ

เตรียมอาหารเหลวสำหรับเชื้อ *Thiobacillus* ซึ่งเสนอขึ้นใช้โดย Parker and Prisk (1953) เป็นอาหารที่มีผงกำมะถันเป็นแหล่งพลังงานของจุลินทรีย์ บรรจุอาหารลงในขวดขนาด 250 มล. ขวดละ 100 มล. จำนวน 30 ขวด แบ่งขวดออกเป็น 6 ชุด ชุดละ 5 ขวด ชุดที่ 1-5 ในแต่ละชุดเติมหินฟอสเฟตที่บดละเอียด ปริมาณ 0.0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 กรัม ตามลำดับ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

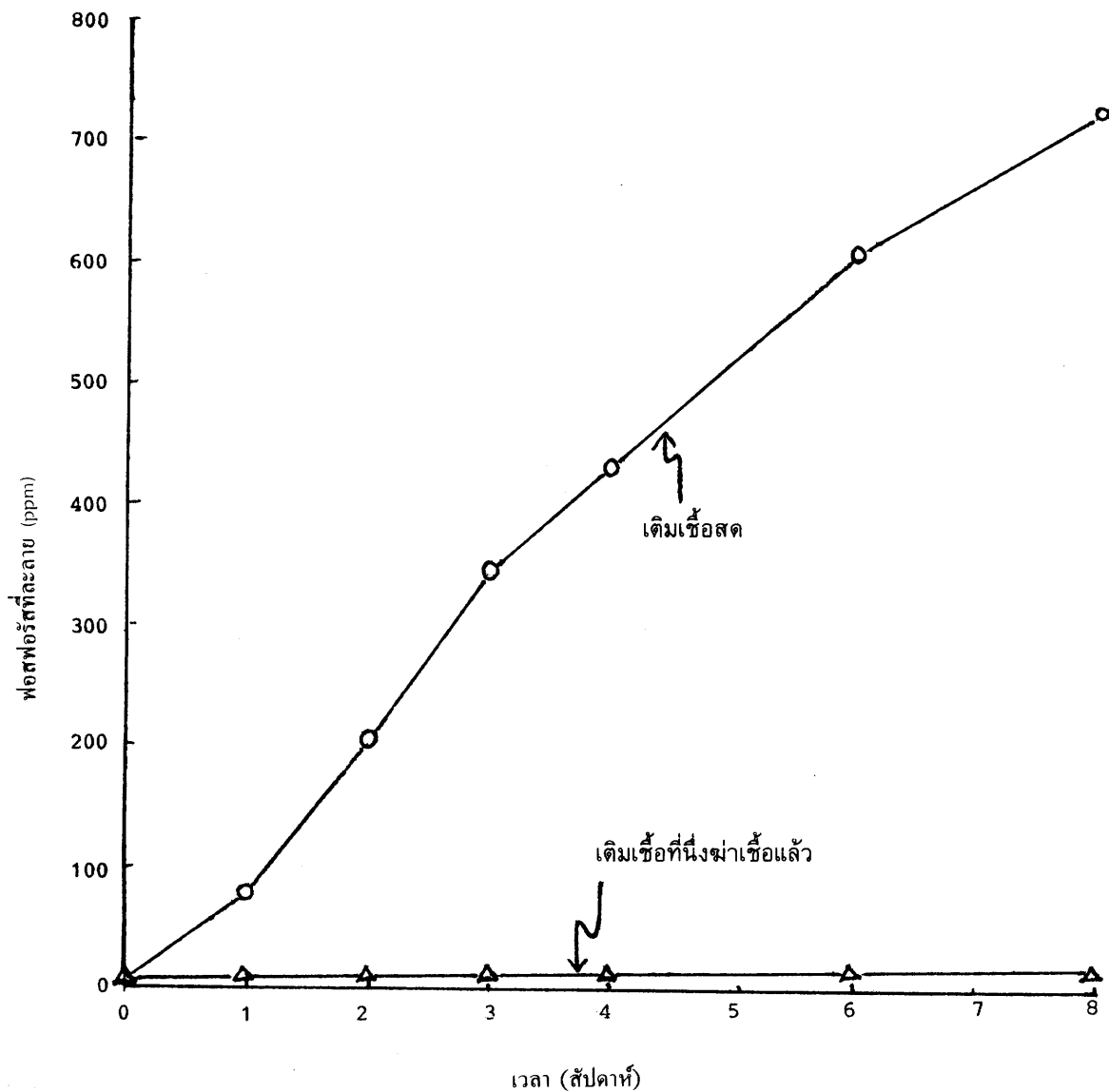
เติมเชื้อ *Thiobacillus* ที่เลี้ยงไว้ (เชื้อสด) ลงไปในขวดชุดที่ 1-3 ส่วนชุดที่ 4-6 เติมด้วยเชื้อที่ได้รับการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว จำนวนขวดละ 1 มล. ปั่นให้

เจริญบนเครื่องเขย่าที่ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 28° เซลเซียส และเขย่าในอัตรา 100 รอบต่อนาที การทดลองนี้ใช้แผนการทดลองแบบ 2×5 factorial in completely randomized design นำตัวอย่างในขวดมาวิเคราะห์หาฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (available phosphorus) โดยวิธี Bray II ทุกสัปดาห์เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ผลและวิจารณ์

ผลการวิเคราะห์ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในช่วง 8 สัปดาห์หลังจากเริ่มต้นการทดลองแสดงไว้ในภาพที่ 1 จะเห็นได้ว่า เมื่อเติมเชื้อ *Thiobacillus* สด ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์จะละลายออกมาจากหินฟอสเฟตมากขึ้นตามเวลาที่ปล่อยให้เชื้อเจริญจนถึง 733.6 ppm. ทั้งนี้เพราะขณะที่เชื้อเจริญนั้นจะมีกรดกำมะถันเกิดขึ้นจากผงกำมะถัน เนื่องจากเชื่อดังกล่าวใช้พลังงานในการเจริญเติบโตจากผงกำมะถัน (Abed, 1976; Pepper and Miller, 1978) และกรดกำมะถันที่เกิดขึ้นจะเป็นตัวละลายฟอสฟอรัสจากหินฟอสเฟตให้อยู่ในรูปของฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ จึงทำให้ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์มีปริมาณเพิ่มขึ้น เมื่อเติมเชื้อ *Thiobacillus* ที่ได้รับการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ปรากฏว่าฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ละลายออกมามาก คือโดยเฉลี่ยตลอดช่วงการทดลอง 4.5 ppm. ที่เป็นเช่นนี้ก็เพราะว่าเชื้อที่เติมลงไปนั้นไม่มีกิจกรรมในการผลิตกรดกำมะถัน จากผงกำมะถันเพราะเป็นเชื้อที่ปราศจากชีวิตแล้ว เหตุที่ยังคงมีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ละลายออกมาบ้างก็อาจเนื่องมาจากความเป็นกรดของอาหาร รวมทั้งกรดที่มีอยู่เดิมใน culture ของเชื้อที่เติมและกรดจากน้ำยาที่ใช้สกัด (Bray II)

ในสัปดาห์ที่ 8 หลังจากเริ่มการทดลอง ผลปรากฏ (ตารางที่ 1) ว่าในลำดับที่เติมเชื้อสดฟอสฟอรัสที่ละลายได้หรือฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์เพิ่มขึ้นตามปริมาณของหินฟอสฟอรัสที่ใส่ลงไป คือเมื่อใส่หินฟอสเฟต 0.0 ถึง 2.0 กรัม/100 มล. ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์จะเพิ่มขึ้นจาก 2.0 ถึง 1,125.0 ppm. แต่อย่างไรก็ตามเมื่อคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์จะเห็นได้ว่าเมื่อปริมาณหินฟอสเฟตเพิ่มขึ้น เปอร์เซ็นต์ของฟอสเฟตที่ละลายได้จะต่ำลง ในลำดับที่เติมด้วยเชื้อที่ได้รับการ



ภาพที่ 1 การละลายของฟอสฟอรัสจากหินฟอสเฟตในช่วง 8 สัปดาห์

ตารางที่ 1 อิทธิพลของเชื้อ *Thiobacillus* ต่อการละลายของ
ฟอสฟอรัสจากหินฟอสเฟต

หินฟอสเฟต (กรัม/100 มล.)	ปริมาณฟอสฟอรัสที่ละลาย			
	เดิมเชื้อสด		เดิมเชื้อที่นำมาเชื้อแล้ว	
	ppm	%	ppm	%
0.0	2.0	0.00	2.0	0.00
0.5	625.0	12.50	2.6	0.05
1.0	875.0	8.75	4.6	0.04
1.5	1,041.0	6.95	5.8	0.04
2.0	1,125.0	5.63	7.5	0.04
เฉลี่ย	733.6	6.77	4.5	0.04

นี้มาเชื้อแล้ว ผลปรากฏว่าฟอสเฟตที่ละลายได้เพิ่มขึ้นตามปริมาณหินฟอสเฟตเช่นเดียวกันแต่ส่วนที่เพิ่มขึ้นต่ำมาก คือเมื่อใส่หินฟอสเฟต 0.0 ถึง 2.0 กรัม/100 มล. ฟอสเฟตที่ละลายได้เพิ่มขึ้นเพียง 2.0 ถึง 7.5 ppm. และเปอร์เซ็นต์การเพิ่มเป็นไปในลักษณะค่อนข้างคงที่

เมื่อนำผลการทดลอง วิเคราะห์ทางสถิติตามแผนการทดลองที่วางไว้ ปรากฏ (ตารางที่ 2) ว่าการเดิมเชื้อ *Thiobacillus* และปริมาณของหินฟอสเฟตที่เดิมลงไปในระบบมีอิทธิพลต่อการละลายของฟอสฟอรัสจากหินฟอสเฟตอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

จากผลการทดลอง จะเห็นได้ว่าหินฟอสเฟตนั้นสามารถที่จะละลายปลดปล่อยฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ได้โดยกิจกรรมของจุลินทรีย์พวก *Thiobacillus* ดังนั้น การศึกษาในลักษณะที่เอื้อต่อการปรับใช้จึงเป็นสิ่งที่ทำให้นักวิชาการเป็นอย่างยิ่ง

คำนิยม

ขอขอบคุณหัวหน้าศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์กลางมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน ที่อนุญาตให้ใช้เครื่องเขยที่ควบคุมอุณหภูมิได้ และอุปกรณ์ที่จำเป็นอื่น ๆ ตลอดระยะเวลาการทดลอง

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์หว่าเรียนซ์ (Analysis of variance)
ของปริมาณฟอสฟอรัสที่ละลายออกมา (เมื่อคิด
ความเข้มข้นเป็น ppm)

SOV	SS	df	MS	F
Total	645.34	29		
Treatment	644.30	9	71.59	1431.8**
เชื้อ <i>Thiobacillus</i> (T)	389.87	1	398.87	7977.4**
ปริมาณหินฟอสเฟต (P)	124.23	4	31.06	621.2**
T × P	121.20	4	30.30	606.0**
Error	1.04	20	0.05	
1sd .05				0.365
1sd .01				0.498

เอกสารอ้างอิง

- สมบูรณ์ เสกธีระ. 2517. ฟอสเฟต. เอกสารเสริมธุรกิจ
ธรณีวิทยา. เล่มที่ 4. กองเศรษฐกิจธรณีวิทยา,
กรมทรัพยากรธรณี, กรุงเทพฯ. 35 น.
- อรุณ จักขุจินดา. 2521. การทำนาในดินเปรี้ยวให้ได้ผล.
เอกสารแนะนำ. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.
13 น.
- Abed, M.A.H.F. 1976. Rate of elemental sulfur
oxidation in some soil of Egypt as affect by
salinity level, moisture content, texture,
temperature and inoculation. Beitr. Trop.
Landwirtsch. Verterinaarmed 14: 179-185.
- Parker, C.D. and J. Prisk. 1953. The oxidation
of inorganic compound of sulfur by various
sulfur bacteria. J. Gen. Microbiol. 8: 334.
- Pepper, I.L. and R.H. Miller. 1978. Comparison
of the oxidation of thiosulfate and elemental
sulfur by two heterotrophic bacteria and
Thiobacillus thiooxidans. Soil Sci. 126:
9-14.