

การละลายฟอสฟอรัสโดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ :
2. ผลของการละลายหินฟอสเฟต โดย *Thiobacillus*
ต่อการดูดฟอสฟอรัสและการเจริญเติบโตของข้าวโพด
Phosphorus Dissolution by Microbial Activities :
2. Effect of Rock Phosphate Dissolution by *Thiobacillus* on
Phosphorus Uptake and Growth of Corn.

สุนทร มณีสวัสดิ์ และ สมศักดิ์ วังไน¹
Soonthorn Maneesawas and Somsak Vangnai

ABSTRACT

This experiment was aimed at evaluation of phosphorus availability resulted from rock phosphate dissolution by microbial activities. The experiment was initiated by improving some conditions of solution and soil, used as planting media, for optimal activities of *Thiobacillus*, a bacterium strain isolated from Ongkaruk soil. The corn seeds were planted in the solution and soil using rock phosphate, from Lumphun province, as a source of phosphorus fertilizer. The results indicated clearly that the inoculated *Thiobacillus* was able to dissolve phosphate from rock phosphate and available to plant, when this inoculated treatment was compared to that of uninoculated one highly significant difference was observed. Upon comparison of phosphorus uptake and dry weight of corn, it appeared that those observed in inoculated treatment were markedly higher than those observed in uninoculated one (addition with sterilized medium culture). It is hoped that these experimental results would support efficient uses of rock phosphate.

บทคัดย่อ

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบการละลายฟอสเฟตที่เป็นประโยชน์ต่อพืชจากหินฟอสเฟต โดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ การทดลองเริ่มต้นโดยการปรับสภาพบางประการของสารละลายและดินที่จะใช้ปลูกพืช ให้เหมาะสมกับกิจกรรมของจุลินทรีย์ *Thiobacillus* ซึ่งแยกเชื้อบริสุทธิ์ได้จากดินองครักษ์ แล้วปลูกข้าวโพดลงในสารละลายและดินโดยใช้หินฟอสเฟตจากจังหวัดลำพูนเป็นปุ๋ยฟอสฟอรัส ผลปรากฏว่า *Thiobacillus* ที่คลุกสามารถละลายฟอสเฟตจากหินฟอสเฟต และเป็นประโยชน์ต่อพืชเป็นอย่างมาก และเมื่อเทียบกับคำรับที่ไม่ใส่เชื้อ ปรากฏว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทาง

สถิติ จากการประเมินผลจากข้าวโพดซึ่งใช้เป็นพืชทดสอบทั้งที่ปลูกในสารละลายและในดิน ปรากฏว่าคำรับที่ใส่เชื้อ *Thiobacillus* ทำให้ข้าวโพดมีปริมาณฟอสฟอรัสในต้นและน้ำหนักแห้งสูงกว่าคำรับที่ไม่ได้ใส่เชื้อ (ใส่เชื้อที่หนึ่งมาเชื้อแล้ว) อย่างมีนัยสำคัญหวังได้ว่าผลการทดลองนี้จะสนับสนุนให้การใช้ปุ๋ยหินฟอสเฟตเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

คำนำ

ในรายงานฉบับก่อน (สมศักดิ์ วังไน และ สุนทร มณีสวัสดิ์, 2527) ได้แสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์พวก *Thiobacillus* ซึ่งแยกเชื้อบริสุทธิ์มาจากดินองครักษ์ หรือดินเปรี้ยวจัด เป็นจุลินทรีย์ที่มีกิจกรรม

ในการละลายฟอสฟอรัสจากหินฟอสเฟตได้อย่างมีประสิทธิภาพ ฟอสฟอรัสที่ละลายออกมานี้จะเป็นประโยชน์ (available) ต่อพืชได้เป็นอย่างดี (Abed, 1976) การศึกษานี้เป็นการศึกษาเพิ่มเติม โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสที่ละลายออกมาจากหินฟอสเฟตที่มีต่อการดูดฟอสฟอรัสและการให้ผลผลิตของข้าวโพด โดยหวังว่าผลที่ได้จากการศึกษานี้จะทำให้การใช้หินฟอสเฟตซึ่งเป็นทรัพยากรที่มีอยู่ภายในประเทศ (สมบุญเสกธีระ, 2517, สุธรรม แยมนิยม, 2521) เป็นปุ๋ยได้อย่างมีประสิทธิภาพ

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดสอบความเป็นประโยชน์ของฟอสเฟตที่ละลายออกมาจากหินฟอสเฟตที่มีต่อข้าวโพดนี้ประกอบด้วยสองการทดลองด้วยกัน คือ

การทดลองที่หนึ่ง เป็นการทดลองโดยใช้ น้ำยาปลูกพืช กระทำโดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งมี กัมมะถันเป็นแหล่งพลังงาน (Parker and Prisk, 1953) ที่ปราศจาก KH_2PO_4 ใส่ลงในขวดขนาด 250 มล. ขวดละ 100 มล. จำนวน 30 ขวด เติมหินฟอสเฟต (จากจังหวัดลำพูน) อัตรา 0.00, 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.00 กรัม/ขวด อัตราละ 6 ขวด แบ่งขวดของแต่ละอัตราออกเป็นสองชุดชุดละ 3 ขวด ชุดแรกเติมด้วยเชื้อ *Thiobacillus* ที่ยังมีชีวิตอยู่ ชุดที่สองเติมด้วยเชื้อเดียวกันแต่ได้รับการนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว โดยเติมขวดละ 1 มล. นำขวดทั้งหมดไปตั้งไว้บนเครื่องเขย่าที่เขย่าในอัตรา 100 รอบต่อนาที และควบคุมอุณหภูมิที่ 28°C . เป็นเวลา 25 วัน นำของเหลว 30 มล. จากแต่ละขวดไปปั่นด้วยความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที แยกตะกอนออก นำเฉพาะของเหลวใส (ซึ่งมีฟอสฟอรัสละลายอยู่) ผสมกับน้ำยาปลูกพืช (Lie, 1969) ในอัตรา 1 : 1 บรรจุลงในถุงพลาสติก นำกล้าข้าวโพดที่เตรียมไว้ลงปลูก และปล่อยให้เจริญเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ใน growth chamber เก็บตัวอย่างพืชมาวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัส (โดยใช้เครื่อง auto analyzer) พร้อมทั้งบันทึกน้ำหนักแห้งของข้าวโพดต่อ 1 ถุง

การทดลองที่สอง เป็นการทดลองโดยใช้ดิน (ดินบางเลน ซึ่งมี pH 6.7) กระทำโดยบรรจุดินที่บดละเอียดแล้วลงในถุงพลาสติกจำนวน 48 ถุง ๆ ละ 4.00 กก. นำใส่ลงในกระถาง เติมปุ๋ยหินฟอสเฟต ถุงละ 3.0 กรัม เติมเชื้อ *Thiobacillus* (ถุงละ 1.0 มล. เฉพาะกรณีที่ปลูกเชื้อ) ผงกัมมะถันตามวิธีและอัตราตามแผนการทดลอง $2 \times 2 \times 3$ factorial in completely randomized design (4 ซ้ำ) โดยปัจจัยที่ 1 เป็นการปลูกและไม่ปลูกเชื้อ ปัจจัยที่ 2 ใส่ผงกัมมะถันคือ 0.0, 6.0 และ 12.0 กรัม/กระถาง ปลูกข้าวโพด กระถางละ 4 ต้น ปล่อยให้เจริญเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ใน growth chamber เก็บตัวอย่างพืชมาวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสและชั่งน้ำหนักต่อกระถาง

ผลและวิจารณ์

ผลการทดลองความเป็นประโยชน์ของฟอสเฟตที่ละลายออกมาจากหินฟอสเฟตโดยกิจกรรมของ *Thiobacillus* ที่มีต่อข้าวโพดที่ปลูกในน้ำยาแสดงไว้ในตารางที่ 1 และ 2 จากตารางที่ 1 จะเห็นได้ว่า เมื่อเติมเชื้อที่ยังมีชีวิตอยู่ลงในอาหารที่มีหินฟอสเฟตผสมอยู่ ปล่อยให้เชื้อเจริญ แล้วนำของเหลวที่มีฟอสฟอรัสละลายอยู่ใส่ให้กับน้ำยาปลูกพืช แล้วปลูกข้าวโพด ปรากฏว่าข้าวโพดสามารถดูดฟอสฟอรัสจากตำรับที่มีหินฟอสเฟตผสมอยู่ได้สูงกว่าตำรับที่ไม่มีปุ๋ยหินฟอสเฟตอย่างเห็นได้ชัด ส่วนการดูดฟอสฟอรัสจากตำรับที่ได้รับปุ๋ยหินฟอสเฟตตั้งแต่ 0.25 ถึง 1.00 กรัม/100 มล. ปรากฏว่าอยู่ในอัตราที่ใกล้เคียงกัน แสดงว่าในสภาพของการทดลองดังกล่าว การเติมปุ๋ยหินฟอสเฟตเพียง 0.25 กรัม/100 มล. ก็เป็นการเพียงพอ ในตำรับที่เติมด้วยเชื้อที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว ปรากฏว่าการดูดฟอสฟอรัสของข้าวโพดเป็นไปในลักษณะที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นบ้างเมื่อใส่ปุ๋ยหินฟอสเฟตเพิ่มขึ้น เหตุที่การดูดฟอสฟอรัสมิแนวโน้มเพิ่มขึ้นนี้เป็นผลเนื่องมาจากการละลายฟอสฟอรัสโดยกรดที่ติดมากับเชื้อก่อนการนิ่งฆ่าเชื้อนั่นเอง เมื่อเปรียบเทียบการดูดฟอสฟอรัสของข้าวโพดจากตำรับที่เติมเชื้อที่ยังมีชีวิตอยู่และเชื้อที่ได้รับการนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว

ปรากฏว่ามีความแตกต่างกันเป็นอย่างมาก โดยเมื่อเปรียบเทียบเฉพาะตำรับที่เติมปุ๋ยหินฟอสเฟต 0.25 กรัม/100 มล. จะเห็นได้ว่าการดูดฟอสฟอรัสสูงกว่ากันถึงประมาณ 7 เท่า แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *Thiobacillus* ที่เติมลงไปสามารถผลิตกรดจากกำมะถันและละลายฟอสฟอรัสจากหินฟอสเฟตได้อย่างมีประสิทธิภาพและมีประโยชน์ต่อพืช จากการชั่งน้ำหนักแห้งของข้าวโพดที่ปลูกในสภาพแวดล้อมดังกล่าว (ตารางที่ 2) ปรากฏว่า ลักษณะของความแตกต่างเป็นไปในแนวเดียวกันกับการดูดฟอสฟอรัส คือ ในตำรับที่เติมด้วยเชื้อที่ยังมีชีวิตอยู่ น้ำหนักแห้งของข้าวโพดสูงขึ้นเมื่อเติมปุ๋ยหินฟอสเฟต และมีจุดที่จัดได้ว่าเหมาะสมอยู่ที่ 0.25 กรัม/100 มล. ส่วนในตำรับที่เติมด้วยเชื้อที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว ปรากฏว่าข้าวโพดมีน้ำหนักแห้งใกล้เคียงกัน หรือมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อปริมาณปุ๋ยหินฟอสเฟตเพิ่มขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างตำรับที่เติมเชื้อที่มีชีวิตอยู่กับตำรับที่เติมเชื้อที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว พบว่าตำรับแรกมีน้ำหนักแห้งของข้าวโพดสูงกว่าตำรับหลังอย่างชัดเจน โดยเฉพาะเมื่อใส่ปุ๋ยหินฟอสเฟต 0.25 กรัม/100 มล./น้ำหนักแห้งสูงกว่าประมาณ 2 เท่า

ผลการทดสอบผลของการละลายฟอสฟอรัสจากหินฟอสเฟตโดย *Thiobacillus* ที่มีต่อการดูดฟอสฟอรัสและการเจริญเติบโตของข้าวโพดในดิน

ตารางที่ 1 อิทธิพลของฟอสฟอรัสที่ละลายจากหินฟอสเฟตโดยกิจกรรมของ *Thiobacillus* ที่มีต่อการดูดฟอสฟอรัสของข้าวโพดเมื่อปลูกในน้ำยาปลูกพืช

หินฟอสเฟตที่ใช้ (กรัม/100 มล.)	ฟอสฟอรัสที่พืชดูด (มก./ต้น)	
	เติมเชื้อที่ยังมีชีวิตอยู่	เติมเชื้อที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว
0.00	0.3846	0.3088
0.25	2.1862	0.2993
0.50	2.2256	0.3525
0.75	2.2415	0.3453
1.00	2.2634	0.3412

ตารางที่ 2 อิทธิพลของฟอสฟอรัสที่ละลายจากหินฟอสเฟตโดยกิจกรรมของ *Thiobacillus* ที่มีต่อน้ำหนักแห้งของข้าวโพด เมื่อปลูกในน้ำยาปลูกพืช

หินฟอสเฟตที่ใช้ (กรัม/100 มล.)	น้ำหนักแห้ง (กรัม/ต้น)	
	เติมเชื้อที่ยังมีชีวิตอยู่	เติมเชื้อที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว
0.00	0.355	0.345
0.25	0.773	0.399
0.50	0.602	0.347
0.75	0.645	0.358
1.00	0.585	0.364

บางเลน (ซึ่งเป็นดินที่มี pH ค่อนข้างสูง) แสดงไว้ในตารางที่ 3 และ 4 ตามลำดับ จากตารางที่ 3 จะเห็นได้ว่า การดูดฟอสฟอรัสของข้าวโพดในตำรับที่เติมเชื้อที่ยังมีชีวิตอยู่สูงกว่าตำรับที่เติมเชื้อที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้วอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเฉพาะเมื่อใส่ปุ๋ยหินฟอสเฟตอัตรา 6 กรัม/กระถาง สำหรับวิธีใส่ผงกำมะถัน ปรากฏว่า การใส่แบบคลุกผงกำมะถันกับดิน ทำให้การดูดฟอสฟอรัสของข้าวโพดสูงกว่าการใส่กำมะถันเป็นหลุม แสดงว่าการคลุกเคล้ากำมะถันให้เข้ากับดินนั้นทำให้ *Thiobacillus* นำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานและผลิตกรดได้ดีกว่า จากตารางดังกล่าวมีข้อที่น่าสังเกตเพิ่มเติมอยู่สองประการ คือ ประการแรก เมื่อใส่ผงกำมะถันเพิ่มขึ้นเป็น 12 กรัม/กระถาง ปรากฏว่าการดูดฟอสฟอรัสของข้าวโพดลดลง ที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากมีการเกิดชั้นมากเกินไป ทำให้มีผลกระทบกระเทือนต่อการดูดธาตุอาหารของพืช และอีกประการหนึ่ง คือ ในตำรับที่เติมเชื้อที่ปราศจากชีวิตแล้ว แต่ก็ปรากฏว่า การดูดฟอสฟอรัสของข้าวโพดเพิ่มขึ้นเมื่ออัตราของผงกำมะถันสูงขึ้น ผลดังกล่าวนี้มีเหตุผลที่จะอธิบายได้น้อยสองเหตุผล คือ เหตุผลแรกคงเป็นผลสืบเนื่องมาจากกรดเดมที่มีอยู่ในเชื้อ และอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมลงไปเป็นตัวละลายฟอสฟอรัส และเหตุผลที่สอง อาจเป็นผลสืบเนื่องมาจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่มีอยู่เดิมในดิน

ตารางที่ 3 อิทธิพลของฟอสฟอรัสที่ละลายจากหินฟอสเฟต (3.0 กรัม) โดยกิจกรรมของ Thiobacillus และเมื่อเติมกำมะถันในอัตราต่าง ๆ ที่มีต่อการดูดฟอสฟอรัส (มก./กระถาง) ของข้าวโพดเมื่อปลูกในดินบางเลน

ปริมาณกำมะถัน (กรัม/กระถาง)	ใส่กำมะถันโดยวิธีคลุก		ใส่กำมะถันเป็นหลุม	
	เดิมเชื้อที่ยังมีชีวิตอยู่	เดิมเชื้อที่หนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว	เดิมเชื้อที่ยังมีชีวิตอยู่	เดิมเชื้อที่หนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว
0	9.348	9.393	8.206	8.416
6	43.832	13.397	18.547	9.201
12	24.796	12.654	17.285	9.308
LSD .05	6.07			
.01	8.22			
CV (%)	23.49			

ตารางที่ 4 อิทธิพลของฟอสฟอรัสที่ละลายจากหินฟอสเฟต (3.0 กรัม) โดยกิจกรรมของ Thiobacillus และเมื่อเติมกำมะถันในอัตราต่าง ๆ ที่มีต่อน้ำหนักแห้ง (กรัม/กระถาง) ของข้าวโพดเมื่อปลูกในดินบางเลน

ปริมาณกำมะถัน (กรัม/กระถาง)	ใส่กำมะถันโดยวิธีคลุก		ใส่กำมะถันเป็นหลุม	
	เดิมเชื้อที่ยังมีชีวิตอยู่	เดิมเชื้อที่หนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว	เดิมเชื้อที่ยังมีชีวิตอยู่	เดิมเชื้อที่หนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว
0	8.44	8.90	7.10	7.65
6	21.16	8.15	15.86	8.42
12	14.04	5.89	15.33	8.46
LSD .05	4.29			
.01	5.82			
CV (%)	23.63			

อย่างไรก็ตาม กรณีดังกล่าวไม่อาจถือได้ว่าเป็นการละลายฟอสฟอรัสและทำให้ข้าวโพดดูดฟอสฟอรัสได้อย่างมีประสิทธิภาพแต่ประการใด

ผลการประเมินการเจริญเติบโตโดยชั่งน้ำหนักแห้งของข้าวโพดที่ปลูกในดินบางเลนที่ได้รับการปรับสภาพดังรายละเอียดข้างบนแสดงไว้ในตารางที่ 4 จากตารางดังกล่าวจะเห็นได้ว่า ตำรับที่มีการเติมเชื้อที่ยังมีชีวิตอยู่รวมกับการใส่ปุ๋ยหินฟอสเฟตทำให้น้ำหนักแห้งของข้าวโพดสูงกว่าตำรับที่เติมเชื้อที่หนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ร่วมกับการใส่ปุ๋ยหินฟอสเฟตอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยที่ตำรับแรกนั้นให้น้ำหนักแห้งสูงสุด เมื่อใส่ปุ๋ยหินฟอสเฟต 6 กรัม/กระถาง ส่วนลักษณะของการแตกต่างอื่น ๆ เป็นไปในแนวเดียวกันกับลักษณะของการดูดฟอสฟอรัสดังกล่าวแล้วข้างบน

จากการทดสอบนี้พอสรุปได้ว่า การใช้กิจกรรมของ *Thiobacillus* ในการละลายฟอสฟอรัสจากปุ๋ยหินฟอสเฟตนั้น ทำให้พืช (ข้าวโพด) ดูดฟอสฟอรัสและเจริญเติบโตได้ดีขึ้น โดยเฉพาะเมื่อปลูกพืชในดินที่มี pH สูง

กานิยม

ผู้วิจัยขอขอบคุณหัวหน้าศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์กลาง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน ที่อนุญาตให้ใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ต่าง ๆ สำหรับการวิจัยเรื่องนี้

เอกสารอ้างอิง

- สมบุญ เสกธีระ. 2527. ฟอสเฟต. เอกสารเสริมธุรกิจ ธรณีวิทยาเล่มที่ 4, กองเสริมธุรกิจธรณีวิทยา, กรมทรัพยากรธรณี, กรุงเทพฯ, 35 น.
- สมศักดิ์ วังใน และสุนทร มณีสวัสดิ์. 2527. การละลายฟอสฟอรัสโดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ : 1. การละลายหินฟอสเฟต โดยจุลินทรีย์ที่เพิ่มออกซิเจนแก่กำมะถัน. ว. เกษตรศาสตร์ (วิทย.) 18 (1) : 20-23.
- สุธรรม แยมเนียม. 2521. หินฟอสเฟต, น. 13-18. ในรายงานการสัมมนาเรื่องอุตสาหกรรมปุ๋ยกับการเกษตร. กรมทรัพยากรธรณี, กรุงเทพฯ.
- 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. Beih. Trop. Landwirtsch. Verterinaarmed. 14 : 179-185.
- Lie, T.A. 1969. The effect of low pH on different phrase of nodule formation in pea plant. Plant and Soil. 31 : 391-406.
- Parker, C.D. and J. Prisk. 1953. The oxidation of inorganic compound of sulfur by various sulfur bacteria. J. Gen. Microbiol. 8 : 334-341.