รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. แผนงานวิจัย : วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการเพิ่มประสิทธิภาพดิน ปุ๋ยและน้ำทางการเกษตรอย่างสมดุลและยั่งยืน

2. โครงการวิจัย : วิจัยและพัฒนาการเพิ่มประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพและจุลินทรีย์ดินเพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร

3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : การศึกษาจุลินทรีย์กลุ่มละลายฟอสเฟตในดินที่มีปัญหาในการใช้ปุ๋ยฟอสเฟต

ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Study of Phosphate Solubilizing Microorganism in Low Available Phosphorus Soil.

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง นายอธิปัตย์ คลังบุญครอง กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผู้ร่วมงาน นางสุปรานี มั่นหมาย กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

นายสนธยา ขำติ๊บ กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

กรมวิชาการเกษตร

5. บทคัดย่อ

จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต *Taralomyces macrosporus* สามารถละลายแคลเซียมฟอสเฟต ได้ 330-380 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ละลายเฟอริคฟอสเฟต และอลูมินัมฟอสเฟตได้ 60-70 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในระหว่างวันที่ 3-7 ของการเพาะเลี้ยง โดยแคลเซียมไฮดรอกไซด์ แคลเซียมคาร์บอเนต และแคลเซียมคลอไรด์ เป็นสารที่สามารถลดประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตลงได้ จากการใช้ *Taralomyces macrosporus* ร่วมกับจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต *Burkhoderia* sp. และ *Seratia marcescens* ในการผลิตพืช การใช้จุลินทรีย์ทั้ง 3 ไอโซเลท ช่วยให้รากข้าวโพดมีกิจกรรมการละลายฟอสเฟตรอบราก ซึ่งรากข้าวโพดที่ไม่มีการใส่จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตไม่พบกิจกรรมดังกล่าว จากการทดสอบการปลูกคะน้าในกระถาง การใช้จุลินทรีย์ทั้ง 3 ไอโซเลท ช่วยให้คะน้ามีผลผลิตสูงสุด เมื่อทดสอบการผลิตคะน้าในแปลงทดลอง การใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินร่วมกับการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตไม่ช่วยให้ผลผลิตคะน้าเพิ่มมากขึ้น ซึ่งการใช้ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน แต่ปรับปริมาณปุ๋ยเคมีฟอสเฟตลงเหลือ 75

เปอร์เซ็นต์ สามารถช่วยส่งเสริมให้คะน้ามีน้ำหนักต่อต้นที่ได้มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ของผลผลิตสูงสุด เมื่อทดสอบในการผลิตผักกาด และข้าวโพดข้าวเหนียว การใช้ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน แต่ปรับปริมาณปุ๋ยเคมีฟอสเฟตลงเหลือ 75 เปอร์เซ็นต์ สามารถช่วยส่งเสริมให้ผักกาด และข้าวโพดข้าวเหนียวมีผลผลิตที่สูงสุด ไม่แตกต่างจากการใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดินเพียงอย่างเดียว โดยการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตช่วยให้ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินเพิ่มสูงขึ้นในทุกพืชที่ทำการทดสอบ

Abstract

Phosphate solubilizing fungi, *Taralomyces macrosporus* can solute calcium phosphate 330-380 microgram per milliliter ferric phosphate and aluminum phosphate 60-70 microgram per milliliter after 3-7 day of cultivation, however calcium hydroxide calcium carbonate and calcium chloride can reduce phosphate solubilization activity. Application of *Taralomyces macrosporus* with other phosphate solubilizing bacteria *Burkhoderia* sp. and *Seratia marcescens* in maize, maize root shown phosphate solubilization activity that disappear in no application of microbes. In microplot study of Chinese kale plantation, highest yield received from application of 3 isolates. In field test, addition of enough chemical fertilizer and 3 isolates of phosphate solubilizing microbes can not increase production yield, however 90 percentage of highest Chinese kale production was received when application of microbe with 75 percentage of enough phosphate fertilizer and enough nitrogen and potassium. In Chinese cabbage and waxy corn production, highest yield was received when application of microbe with 75 percentage of enough phosphate fertilizer and enough nitrogen and potassium. In all treatment that application of phosphate solubilizing microbes, available phosphorus was increased.

กรมวิชาการเกษตร

6. คำนำ

ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารที่สำคัญธาตุและต้องการปริมาณมากในการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของพืช โดยฟอสฟอรัสจะทำให้ พืชมีประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสงกระบวนการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแป้ง กระบวนการถ่ายทอดพันธุกรรม การตรึงไนโตรเจน การออกดอก การออกผลและเมล็ด และการสุกของผล (Mehrvarz *et al*., 2008) ด้วยเหตุนี้หากพืชขาดธาตุฟอสฟอรัส จะทำให้การเจริญเติบโตหยุดชะงัก ใบมีขนาดเล็ก จำนวนใบน้อย ลำต้นแคระแกร็น ผอม (Brady and Weil, 2008)

ซึ่งต้นเหตุที่สำคัญของปัญหาที่ทำให้พืชขาดธาตุฟอสฟอรัสคือ ปุ๋ยฟอสฟอรัสในรูปที่ละลายได้ที่ใส่จะทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วกับไอออนในดิน ทำให้ปุ๋ยฟอสฟอรัสในรูปที่ละลายได้จะถูกเปลี่ยนรูปไปอยู่ในรูปที่ไม่ละลายซึ่งไม่เป็นประโยชน์ต่อพืช (Mclaughlin *et al*., 1988) จากลักษณะดังกล่าวนี้หากเกษตรกรใส่ปุ๋ยเคมีลงไปในดิน แต่พืชอาจแสดงอาการผิดปกติจากการขาดฟอสฟอรัส เกษตรกรอาจเกิดความเข้าใจคลาดเคลื่อนว่าพืชการขาดฟอสฟอรัส เพราะฟอสเฟตที่ละลายได้ที่ใส่ลงไปในดิน จะถูกตรึงให้อยู่ในรูปที่ไม่ละลายน้ำและไม่เป็นประโยชน์ต่อพืช ซึ่งเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วภายหลังจากการใส่ปุ๋ยเคมี (Lindsay, 1989) จึงใส่ปุ๋ยเคมีเพิ่ม อันเป็นการสิ้นเปลืองและทำให้ใช้ปุ๋ยมากเกินจำเป็น ดินเสื่อมสภาพมากกว่าที่ควร pH ของดินและชนิดดิน เป็นปัจจัยที่มีผลต่อการตรึงและการตกตะกอนฟอสเฟต พืชสามารถดูดฟอสเฟตทางรากในรูปของ $H_2PO_4^-$ และ HPO_4^{-2} แต่ในดินที่แตกต่างกันจะเกิดการตรึงฟอสเฟตในรูปแบบต่างๆ ทำให้พืชไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ เช่น ในดินกรด $H2PO_4^-$ จะถูกตรึงในรูปของ $Al(OH)_2$ H_2PO_4 ซึ่งละลายน้ำยาก ในดินด่าง $H_2PO_4^-$ จะถูกตรึงในรูปของ $Ca_3(PO_4)_2$ ในสารละลายดินหรือคอลลอยด์ของแร่ดินเหนียว ฟอสเฟตจะแลกเปลี่ยนกับ hydroxyl group (OH-) ของดินเหนียว หรือแลกเปลี่ยนกับแคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ ที่ดูดยึดอยู่ที่ผิวของอนุภาคดินเหนียว ตลอดจนถูกดูดซับอยู่ตามผิวของอนุภาคดินเหนียวที่ยังมีประจุบวกค้างอยู่ การตรึงฟอสฟอรัสรูปแบบต่างๆ เหล่านี้ทำให้พืชขาดธาตุฟอสฟอรัส เนื่องจากไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ เพราะอยู่ในรูปฟอสฟอรัสอนินทรีย์ (ธงชัย, 2550) การละลายฟอสเฟตของจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตเกิดจากจุลินทรีย์สร้างสารที่มีฤทธิ์เป็นกรดทั้งกรดอินทรีย์ เช่น กรดฟอร์มิค กรดอะซีติค กรดแลคติค กรดฟูมาริค และกรดอนินทรีย์ เช่น กรดไนตริค และกรดซัลฟูริค ไปย่อยละลายฟอสฟอรัสรูปที่ไม่ละลายให้ละลายออกมาและเป็นฟอสฟอรัสที่พืชนำไปใช้ประโยชน์ได้ ซึ่งเป็นการใช้วิธีทางชีวภาพ ลดการใช้สารเคมี การใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตจึงมีความเหมาะสมต่อการแก้ปัญหาดินที่มีปัญหาการใช้ปุ๋ยฟอสเฟต

จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตแม้จะพบได้มากมายในธรรมชาติ แต่ที่มีประสิทธิภาพดีนั้นต้องได้รับการคัดแยกและทดสอบ เพื่อให้ได้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตที่มีประสิทธิภาพดี เหมาะสมต่อการใช้งาน สมาพร (2554) คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตจากบริเวณรอบรากของไผ่ โดยเก็บดินตัวอย่างจากไผ่ 8 ชนิด พบว่ามีเชื้อแบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟตได้ 16 ไอโซเลท และเชื้อยีสต์ละลายฟอสเฟต 1 ไอโซเลท แบคทีเรียที่ละลายฟอสเฟตได้ดีที่สุดคือ *Pseudomonas aeruginosa* จากไผ่รวก *Burkholderia pyrrocinia* จากไผ่ไร่ *Burkholderia sp.* จากไผ่ปล้องยาว และ *Cedecea neteri* จากไผ่ข้าวหลาม ตามลำดับ Inui Kishi *et al*. (2012) แยกเชื้อที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟต และสร้าง Indole-3-acetic acid (IAA) จากดินในพื้นที่ปลูกอ้อยในประเทศบราซิล พบว่าจากที่แยกได้ 60 ไอโซเลท มี 10 ไอโซเลทที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟต ซึ่งการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตในการผลิตพืชนั้น เป็นอีกแนวทางที่ให้ผลที่ดี Baldotto *et*

กรมวิชาการเกษตร

al. (2012) ใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต *B. silvatlantica* ซึ่งคัดแยกจากสับปะรดในประเทศบราซิล ร่วมกับจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนในการผลิตข้าวโพดโดยใช้หินฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสฟอรัส พบว่าเมื่อใส่จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต จะพบปริมาณปริมาณฟอสฟอรัสในข้าวโพด และผลผลิตข้าวโพดสูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่ใส่เชื้อ Sundara *et al*. (2002) ใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต *Bacillus megatherium* var. Phosphaticum 10 kg/ha ในการเพิ่มผลผลิตอ้อย พบว่าฟอสฟอรัสที่พืชนำไปใช้ได้ และปริมาณจุลินทรีย์ที่ใส่ลงไปมีค่าเพิ่มสูงขึ้นบริเวณรอบรากอ้อย ส่งผลให้ผลผลิตอ้อยเพิ่มสูงขึ้น 12.6% เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ใส่เชื้อ และช่วยลดการใช้ปุ๋ยเคมีฟอสเฟตลงได้ถึง 25% Kaur and Reddy (2013) แยกจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตจากดินในประเทศอินเดียคือ *Pantoea cypripedii* และ *Pseudomonas plecoglossicida* เมื่อทดสอบเชื้อดังกล่าวในการปลูกข้าวโพดพบว่า ดินที่มีการใส่เชื้อ ข้าวโพดจะมี root dry weight และ grain yield สูงกว่าดินที่ไม่ใส่เชื้อ เมื่อตรวจสอบเนื้อเยื่อข้าวโพด พบว่าดินที่มีการใส่เชื้อจะมีปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในเมล็ด ยอด และราก สูงกว่าดินที่ไม่ใส่เชื้อ

จากประโยชน์ของจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตที่กล่าวมา จึงเป็นไปได้ที่จะใช้ในการเพิ่มผลผลิตพืชในในดินที่มีปัญหาการใช้ปุ๋ยฟอสเฟต Sahayand (2013) ศึกษาจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต *Tagetes minuta* ซึ่งคัดแยกจากดินที่มีปริมาณเกลือสูง (sodic soil) แล้วนำมาทดสอบกับการปลูกพืชด้วยดิน pH 9.3 และมีค่า exchangeable sodium percentage (ESP) เท่ากับ 45 พบว่าสามารถเพิ่มการนำธาตุอาหารไปใช้ ความสูง การแตกแขนงและมวลแห้ง ของพืชทดสอบได้ Purnomo *et al*. (2005) คัดแยกจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต ซึ่งสามารถละลาย aluminium phosphate ($AlPO_4$) และ tricalcium phosphate ($Ca_3(PO_4)_2$) เมื่อนำมาใช้กับการปลูกข้าวในดินกรด พบว่าช่วยให้ข้าวสามารถดูดฟอสเฟตในดินไปใช้ได้มากขึ้น Pal (1998) คัดแยกจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตชนิดทนกรดจากดินกรด เพื่อใช้ผลิตพืชในดินกรด พบว่าจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตสามารถเพิ่มผลผลิตต้น และเมล็ด ของข้าวฟ่าง ข้าวโพด ผักโขม ถั่วแขก และข้าวบัควีทได้ จะเห็นได้ว่าจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตสามารถประยุกต์ใช้ในการเพิ่มผลิตพืชในดินที่มีปัญหาการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตได้แต่ต้องมีการศึกษาหารูปแบบที่เหมาะสม ประเทศไทยเองก็เป็นแหล่งของจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตที่น่าสนใจ ดังนั้นการใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต เพื่อการผลิตพืชที่สำคัญในดินที่มีปัญหาการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตจึงมีความเป็นไปได้และน่าสนใจเป็นอย่างยิ่ง

7. วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์

1. เครื่องแก้ว ได้แก่ บีกเกอร์ กระบอกตวง แท่งแก้วคนสาร จานเพาะเชื้อ หลอดทดลอง ฟลาส์ก

กรมวิชาการเกษตร

2. สารเคมี ได้แก่ ferric phosphate aluminum phosphate urea, ammonium sulfate, และ ammonium chloride
3. อาหารเลี้ยงเชื้อได้แก่ อาหารเลี้ยงเชื้อนิวเทรียนท์บรอท (Nutrient broth) และนิวเทรียนท์เอการ์ (Nutrient agar) อาหารพิคอฟสกายา (pikovskaya) อาหารทดสอบการผลิตซิเดอโรฟอร์ อาหารทดสอบการละลายโพแทสเซียม อาหารทดสอบการย่อยสลายเซลลูโลส

4. เครื่องมือ ได้แก่ เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง ตู้อบ ปั๊มน้ำ ปั๊มลม เครื่องเขย่าขวดเลี้ยงเชื้อ เครื่องกวนสาร เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ ตู้ปลอดเชื้อ

- วิธีการ

1. ทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟตของจุลินทรีย์

1.1 ทดสอบการละลายไตรแคลเซียมฟอสเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยการถ่ายเชื้อราบนชิ้นวุ้นขนาด 1x1 เซนติเมตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya ปริมาตร 10 มิลิลลิตร (pH 7) โดยมี tricalcium phosphate เป็นแหล่งฟอสเฟต เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 °C ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ตรวจวัดปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ ด้วยเครื่อง UV–vis spectrophotome-ter (Shimadzu 1700)

1.2 ศึกษาการละลาย ferric phosphate ($FePO_4$) และ aluminum phosphate ($AlPO_4$) ของเชื้อรา *Taralomyces macrosporus* โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya ที่ดัดแปลงโดยใช้ ferric phosphate ($FePO_4$) และ aluminum phosphate ($AlPO_4$) เป็นแหล่งฟอสเฟตตามลำดับ (ความเข้มข้น 5 กรัมต่อลิตร)เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 °C ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ตรวจวัดปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ ด้วยเครื่อง UV–vis spectrophotome-ter (Shimadzu 1700)

1.3 ศึกษาผลของชนิดของไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการละลายฟอสเฟตของจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต *Taralomyces macrosporus* โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ National Botanical Research Institute's phosphate growth medium devoid of yeast extract (NBRIY) โดยใช้ urea, ammonium sulfate, และ ammonium chloride เป็นแหล่งไนโตรเจนเพียงแหล่งเดียวในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยปรับปริมาณไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.5 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

กรมวิชาการเกษตร

1.4 ทดสอบการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตกับพืชเบื้องต้น โดยการแช่เมล็ดข้าวโพดจำนวน 20 เมล็ด ในสารแขวนลอยจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตที่มีปริมาณเซลล์ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยชุดควบคุมแช่ในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ จากนั้นย้ายเมล็ดลงอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya agar เพื่อตรวจสอบการละลายฟอสเฟต และการเจริญของเมล็ดข้าวโพด

1.5 ทดสอบการสร้างกรดอินทรีย์ของจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต โดยการเพาะเมล็ดคะน้าลงในกระบะเพาะที่มีดินปราศจากเชื้อ และใส่จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตที่ปรับปริมาณจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีไอโซเลทและ 10^6 cfu/ml ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ตามกรรมวิธีที่กำหนด ณ เวลา 7 วัน เก็บดิน 1 กรัม เพาะเลี้ยงในอาหาร Pikovskaya ปริมาตร 50 มิลลิลิตร บ่มเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน ตรวจสอบปริมาณกรดอินทรีย์ที่เกิดขึ้น ซึ่งเกิดจากจุลินทรีย์ในดินที่พร้อมจะมีกิจกรรมการละลายฟอสเฟต โดยใช้เครื่อง High performance liquid chromatography ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 detector ชนิด Diode array เพื่อศึกษาชนิดและปริมาณของกรดที่อินทรีย์อาจเกิดขึ้นระหว่างการละลายฟอสเฟตของจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตในดิน โดยใช้ความยาวคลื่นที่ 200 250 300 350 400 500 550 600 nm เพื่อหา retention time ของกรดอินทรีย์คือ กรดอะซิติก กรดซิตริก กรดฟอร์มิก กรดซักซินิก และกรดทาทาริก ในสารมาตรฐาน โดยกำหนดกรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต
กรรมวิธีที่ 2 ใส่ *Taralomyces macrosporus*
กรรมวิธีที่ 3 ใส่ *Taralomyces macrosporus* + *Burkhoderia* sp.
กรรมวิธีที่ 4 ใส่ *Taralomyces macrosporus* + *Seratia marcescens*
กรรมวิธีที่ 5 ใส่ *Burkhoderia* sp.
กรรมวิธีที่ 6 ใส่ *Seratia marcescens*
กรรมวิธีที่ 7 ใส่ *Burkhoderia* sp. + *Seratia marcescens*
กรรมวิธีที่ 8 ใส่ *Taralomyces macrosporus* + *Burkhoderia* sp. + *Seratia marcescens*

2. ทดสอบผลของจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตต่อการผลิตพืชในระดับกระถาง

ดำเนินการเพาะปลูกคะน้าในระดับกระถางด้วยกรรมวิธีเช่นเดียวกับข้อ 1.5 ใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน โดยไม่ใส่ปุ๋ยฟอสเฟต เพื่อตรวจผลจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตโดยตรงต่อผลผลิตคะน้า ในดินกรดจากอำเภอบ้านนา จังหวัดนครนายก บันทึกผลผลิตคะน้า

กรมวิชาการเกษตร

3. ทดสอบผลของจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตต่อการผลิตพืชในระดับแปลงทดลอง

3.1 ทดสอบหัวเชื้อจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตกับดินกรดจากจังหวัดนครนายกในการปลูกผักคะน้า โดยวิเคราะห์ธาตุอาหารในดิน แล้วใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินตามกรรมวิธีที่กำหนด ทำการปลูกคะน้าในแปลงขนาด 2x6 ตารางเมตร ระยะปลูก 25x25 เซนติเมตร แบบ RCB 8 กรรมวิธี 3 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปัจจัยใดๆ
กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต
กรรมวิธีที่ 3 ใส่ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต+ N K
กรรมวิธีที่ 4 ใส่ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต+ N 0.25P K
กรรมวิธีที่ 5 ใส่ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต+ N 0.50P K
กรรมวิธีที่ 6 ใส่ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต+ N 0.75P K
กรรมวิธีที่ 7 ใส่ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต+ N P K
กรรมวิธีที่ 8 ใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน (N P K)

3.2 ทดสอบหัวเชื้อจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตกับดินกรดจากจังหวัดนครนายกในการปลูกผักกาด โดยวิเคราะห์ธาตุอาหารในดิน แล้วใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินตามกรรมวิธีที่กำหนด ทำการปลูกผักกาดในแปลงขนาด 2x6 ตารางเมตร ระยะปลูก 25x25 เซนติเมตร แบบ RCB 8 กรรมวิธี 3 ซ้ำ เช่นเดียวกับข้อ 3.1

3.3 ทดสอบหัวเชื้อจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตในการปลูกข้าวโพดข้าวเหนียว โดยทำการปลูกในแปลงทดลองขนาด 4.5x6.0 ตารางเมตร กำหนดระยะปลูก 25x75 เซนติเมตร แบบ RCB 8 กรรมวิธี 3 ซ้ำ เช่นเดียวกับข้อ 3.1

การบันทึกผล

1. กิจกรรมของจุลินทรีย์ ได้แก่ การละลายฟอสเฟต ปริมาณจุลินทรีย์
2. การเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ ความสูง (ม.) ขนาดลำต้น (ซม.) น้ำหนัก (กรัม) ผลผลิต (กรัม) ปริมาณฟอสฟอรัส
3. สมบัติของดิน ได้แก่ ปฏิกิริยาดิน (pH) ใช้ดินต่ออัตราส่วนของน้ำ 1:1 (สมศักดิ์, 2537) ปริมาณอินทรียวัตถุ (Organic matter, OM) โดยวิธีของ Walkley และ Black (1934) ปริมาณไนโตรเจนรวมทั้งหมดในดิน (Total Nitrogen) โดยวิธี Micro kjeldahl method (จงรักษ์, 2541) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Avialable phosphorus) โดยวิธี Bray II (จำเป็น, 2547) ปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ (available potassium) โดยวิธีของ Schollerger และ Simon (1945)

ระยะเวลา ดำเนินการทดลอง ตุลาคม 2559 - กันยายน 2563

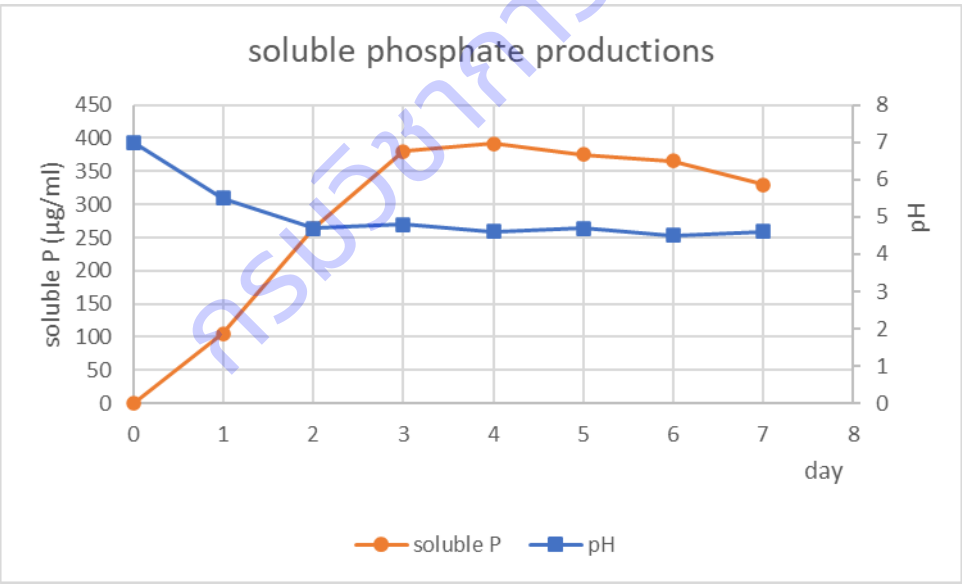
กรมวิชาการเกษตร

สถานที่ดำเนินการ กลุ่มงานวิจัยจุลินทรรย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
อำเภอบ้านนา จังหวัดนครนายก ตำบลห้วยโจด จังหวัดสระแก้ว

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟตของจุลินทรีย์

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองคือ *Taralomyces macrosporus* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตของกรมวิชาการเกษตร โดยจุลินทรีย์ดังกล่าวนี้มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตโดยการถ่ายเชื้อราบนชิ้นวุ้นขนาด 1x1 เซนติเมตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya ปริมาตร 10 มิลิลลิตร (pH 7) โดยมี tricalcium phosphate เป็นแหล่งฟอสเฟต เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 °C ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ตรวจวัดปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ด้วยเครื่อง UV–vis spectrophotome-ter (Shimadzu 1700)



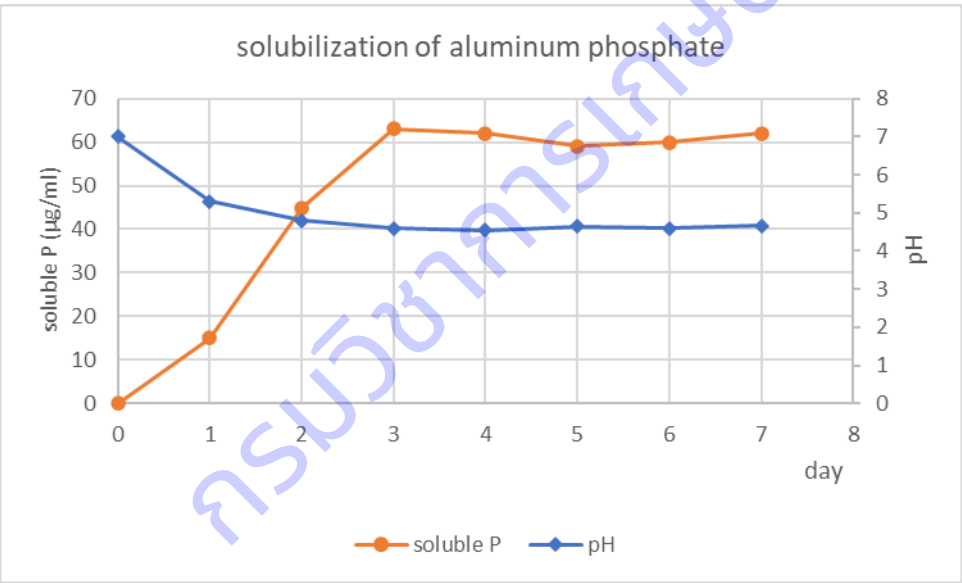
ภาพที่ 1 การละลายฟอสเฟตออกมาในรูปที่ละลายได้ และการลดลงของค่า pH ของอาหาร Pikovskaya ที่อุณหภูมิ 30 °C.

พบว่า *Taralomyces macrosporus* มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตโดยการผลิตกรดเพื่อละลายฟอสเฟตออกมา โดยสามารถลดค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya จาก 7 ลงจนถึง 4.7 ในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง และค่อนข้างมีค่าคงที่จนถึงวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งเป็นการลดค่าความ

กรมวิชาการเกษตร

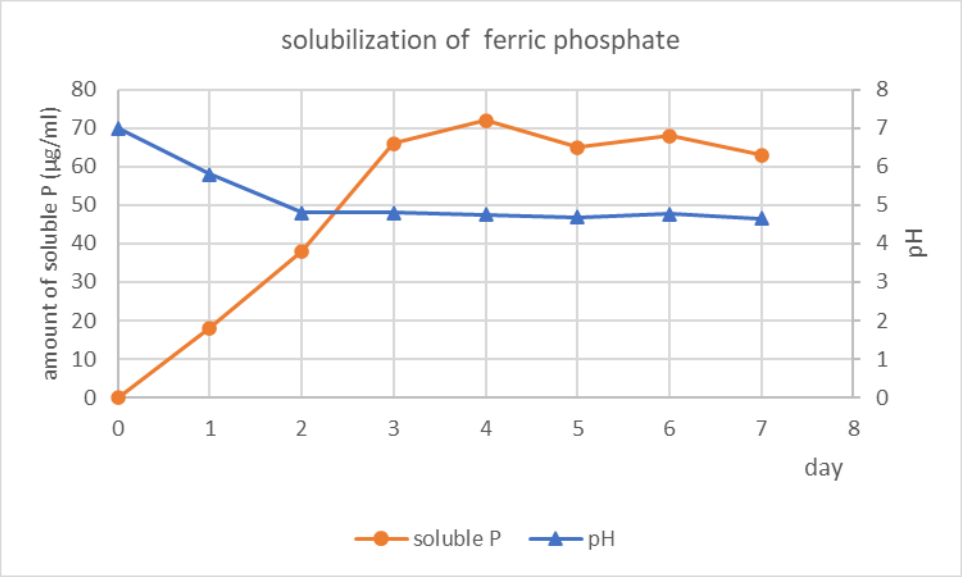
เป็นกรดด่างที่ค่อนข้างเร็ว ซึ่งส่งผลให้การละลายฟอสเฟตเกิดขึ้นได้รวดเร็ว โดยสามารถละลายฟอสเฟตได้ในช่วง 3 วันแรกของการเพาะเลี้ยง ก่อนที่จะเริ่มมีค่าคงที่ประมาณ 330-380 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในระหว่างวันที่ 3-7 ของการเพาะเลี้ยง ดังนั้น *Taralomyces macrosporus* มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตซึ่งเหมาะสมต่อการใช้ในการช่วยละลายฟอสเฟตรูปที่ไม่เป็นประโยชน์ในดินเพื่อให้พืชสามารถใช้ประโยชน์จากฟอสเฟตในดินได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ศึกษาการละลาย ferric phosphate ($FePO_4$) และ aluminum phosphate ($AlPO_4$) ของเชื้อรา *Taralomyces macrosporus* โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya ที่ดัดแปลงโดยใช้ ferric phosphate ($FePO_4$) และ aluminum phosphate ($AlPO_4$) เป็นแหล่งฟอสเฟตตามลำดับ (ความเข้มข้น 5 กรัมต่อลิตร)



กรมวิชาการเกษตร

ภาพที่ 2 การละลาย aluminum phosphate ออกมาในรูปที่ละลายได้ และการลดลงของค่า pH ของอาหาร Pikovskaya ที่อุณหภูมิ 30 °C.



ภาพที่ 3 การละลาย ferric phosphate ออกมาในรูปที่ละลายได้ และการลดลงของค่า pH ของอาหาร Pikovskaya ที่อุณหภูมิ 30 °C.

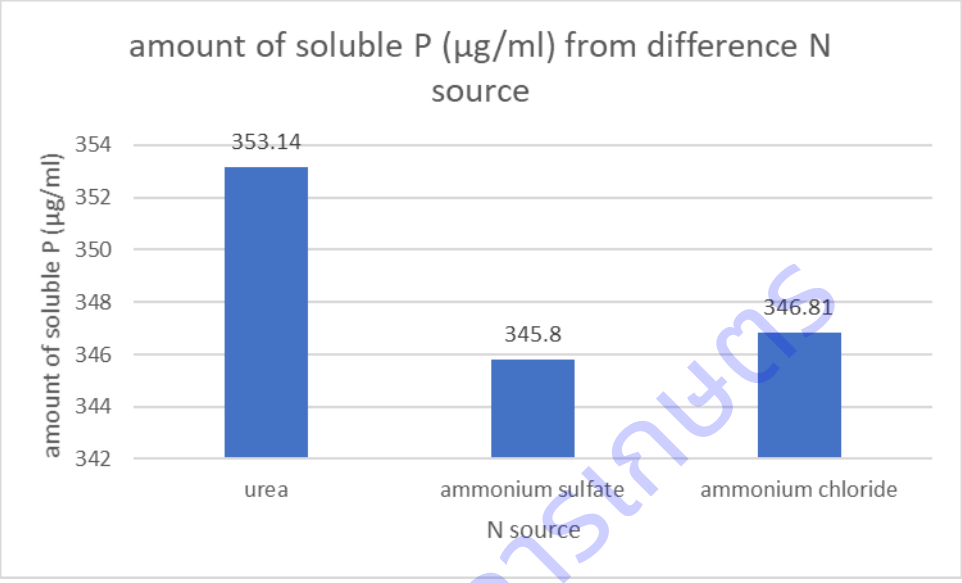
พบว่าเชื้อรา *Taralomyces macrosporus* สามารถละลาย aluminum phosphate ด้วยการปลดปล่อยกรด ซึ่งทำให้ ค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อลดลง (ภาพที่ 2) โดยสามารถละลายฟอสเฟตจนอาหารเลี้ยงเชื้อมีฟอสเฟตที่ละลายประมาณ 60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในช่วงวันที่ 3 เป็นต้นไปจนถึงวันที่ 7 ซึ่งมีค่าคงที่แล้วสอดคล้องกับค่าความเป็นกรดด่างที่มีค่าคงที่ประมาณ 4.6 ตั้งแต่วันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง

ในทำนองเดียวกันกับละลาย aluminum phosphate การละลาย ferric phosphate เริ่มด้วยการปลดปล่อยกรด ซึ่งทำให้ค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อลดลง (ภาพที่ 3) โดยสามารถละลายฟอสเฟตจนอาหารเลี้ยงเชื้อมีฟอสเฟตที่ละลายประมาณ 60-70 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในช่วงวันที่ 3 เป็นต้นไปจนถึงวันที่ 7 ซึ่งมีค่าคงที่แล้วสอดคล้องกับค่าความเป็นกรดด่างที่มีค่าคงที่ประมาณ 4.7 ตั้งแต่วันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง ทั้งนี้ aluminum phosphate และ ferric phosphate เป็นฟอสเฟตรูปที่ละลายได้ยาก การที่จุลินทรีย์สามารถละลายฟอสเฟตทั้งสองรูปนี้ได้ แม้จะไม่มากนัก แต่ก็ช่วยให้จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองมีความน่าสนใจในการใช้ในการละลายฟอสเฟตเพื่อการผลิตพืชต่อไป

ศึกษาผลของชนิดของไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการละลายฟอสเฟตของจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต *Taralomyces macrosporus* โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ National Botanical

กรมวิชาการเกษตร

Research Institute's phosphate growth medium devoid of yeast extract (NBRIY) (แทนอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya เพราะอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya มีการเติม yeast extract ซึ่งสามารถเป็นแหล่งไนโตรเจนได้) โดยใช้ urea, ammonium sulfate, และ ammonium chloride เป็นแหล่งไนโตรเจนเพียงแหล่งเดียวในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยปรับปริมาณไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.5 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส



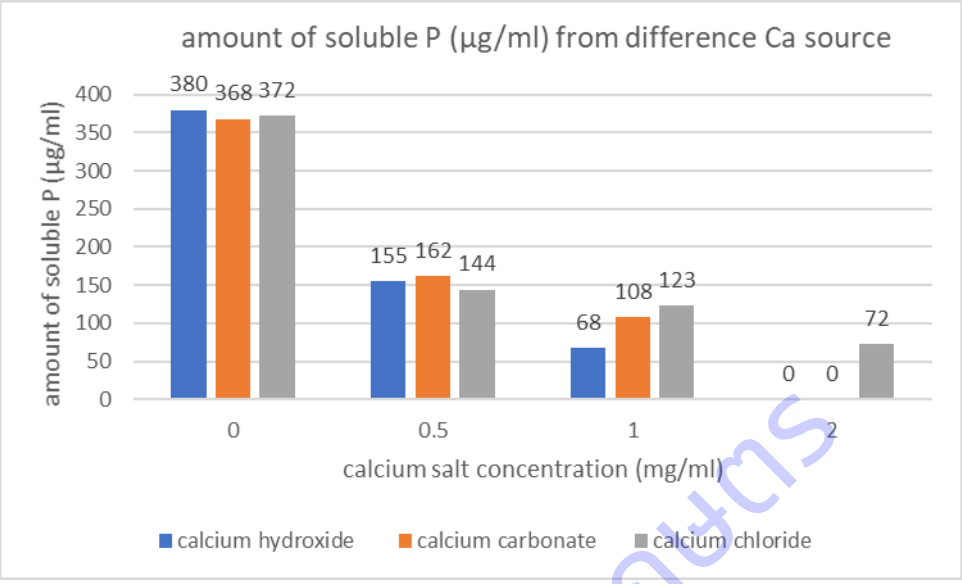
ภาพที่ 4 ผลของชนิดของไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการละลายฟอสเฟตของจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตในอาหาร NBRIY ที่อุณหภูมิ 30 °C.

พบว่าจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต *Taralomyces macrosporus* สามารถละลายฟอสเฟตได้ไม่แตกต่างกันหลังจากเพาะเลี้ยงไป 3 วัน ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตละลายฟอสเฟตออกมากได้เต็มที่ แม้ว่าจะใช้แหล่งของไนโตรเจนที่แตกต่างกัน โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 346.18 ถึง 353.14 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ภาพที่ 4) ด้วยลักษณะดังกล่าวนี้ หากมีการประยุกต์ใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตในสภาพแปลงทดลองที่อาจมีแหล่งของไนโตรเจนที่แตกต่างกัน ทั้งจากการใส่ปุ๋ยโดยเกษตรกรเอง ทั้งจากการเปลี่ยนแปลงรูปของไนโตรเจนโดยจุลินทรีย์ในสภาพแวดล้อมตามธรรมชาติ จึงมีโอกาสที่จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตที่ใช้ในการทดลองนี้ จะสามารถดำรงชีพ และยังคงมีกิจกรรมการละลายฟอสเฟตที่ดี สามารถใช้ในการเพิ่มความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารได้จริงในสภาพพื้นที่เพาะปลูกจริง

ในสภาพการเพาะปลูกพืชจริง อุปสรรคหนึ่งของการละลายฟอสฟอสเฟตของจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตคือ การมีสภาพบัฟเฟอร์ในดิน อันเกิดจากเกลือแคลเซียม ทำให้การทำงานของกรดที่ปลดปล่อยโดยจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตลดประสิทธิภาพลง (Wilson and Ellis, 1984) จึงศึกษาผลของสารประกอบ

กรมวิชาการเกษตร

แคลเซียม ได้แก่ calcium hydroxide ($Ca(OH)_2$) calcium carbonate ($CaCO_3$) และ calcium chloride ($CaCl_2$) ความเข้มข้น 0 0.5 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ NBRIY เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

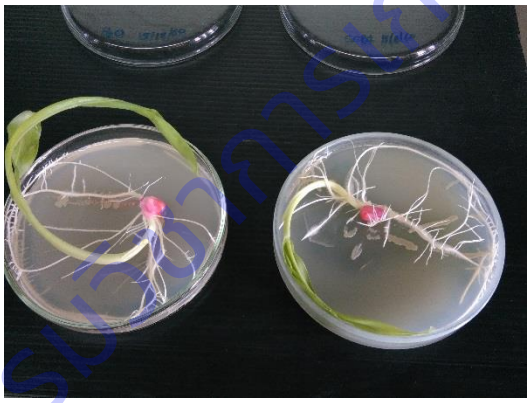


ภาพที่ 5 ผลของชนิดของ calcium salt ในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการละลายฟอสเฟตของจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตในอาหาร NBRIY ที่อุณหภูมิ 30 °C.

ประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตของจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตลดลงเมื่อความเข้มข้นของเกลือแคลเซียมเพิ่มมากขึ้น (ภาพที่ 5) โดยเกลือแคลเซียมทั้งสามชนิด เมื่อมีความเข้มข้นถึง 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ฟอสเฟตที่ถูกละลายออกมาลดลงกว่าครึ่งหนึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับกรณีที่ไม่มีเกลือแคลเซียมทั้งสามชนิด และเมื่อเกลือแคลเซียมทั้งสามชนิดมีความเข้มข้นถึง 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตลดลงมากเมื่อเป็น calcium hydroxide ในขณะที่ calcium carbonate และ calcium chloride ลดประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตลงเช่นกันแต่ไม่มากเท่ากับผลจาก calcium hydroxide แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อความเข้มข้นของเกลือแคลเซียมทั้งสามชนิดมากถึง 2.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผลของ calcium hydroxide และ calcium carbonate สามารถทำให้ไม่เกิดการละลายฟอสเฟต แต่ในกรณีของ calcium chloride ยังคงมีการละลายฟอสเฟตเหลืออยู่ จากผลดังกล่าวนี้ พบว่า calcium hydroxide มีผลต่อการลดประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตมากที่สุด ตามมาด้วย calcium carbonate และ calcium chloride ดังนั้น แม้ว่าจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตสามารถละลายฟอสเฟตได้ดีในสภาวะอื่นๆ แต่ถ้าหากมีเกลือแคลเซียมมากเกินไป ความสามารถในการละลายฟอสเฟตก็ลดลง จนอาจไม่เกิดขึ้นได้ ซึ่งสามารถใช้เป็นข้อพิจารณาในการใช้งาน เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดต่อไป

กรมวิชาการเกษตร

เมื่อทดสอบจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต *Taralomyces macrosporus* ในการอยู่อาศัยร่วมกับรากพืช เพื่อช่วยให้โดยรอบรากพืชเกิดกิจกรรมละลายฟอสเฟต โดยแช่เมล็ดข้าวโพดจำนวน 20 เมล็ด ในสารแขวนลอยจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตที่มีปริมาณเซลล์ $32x10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยชุดควบคุมแช่ในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ จากนั้นย้ายเมล็ดลงอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya agar เพื่อตรวจสอบการละลายฟอสเฟต และการเจริญของเมล็ดข้าวโพด เพื่อศึกษาความสามารถในการอยู่ร่วมกับข้าวโพดและความสามารถช่วยละลายฟอสเฟตให้แก่ข้าวโพดในสภาพที่มีตะกอนของแคลเซียมฟอสเฟต พบว่าเมล็ดข้าวโพดสามารถงอกได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ทั้งในชุดควบคุม และเมล็ดที่ผ่านการแช่ในสารแขวนลอยจุลินทรีย์ เมื่อย้ายเมล็ดลงอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya agar พบว่าเมล็ดจากชุดควบคุมไม่พบการละลายฟอสเฟต แต่เมล็ดที่แช่ในสารแขวนลอยจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตพบการละลายฟอสเฟต ซึ่งแสดงให้เห็นถึงศักยภาพการอยู่อาศัยร่วมกับข้าวโพดได้เป็นอย่างดีของจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต ซึ่งสอดคล้องกับ Nirbhavane และ Kale (2020) รายงานว่าการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตทั้งรา และแบคทีเรีย ไม่ก่อผลลบต่อเมล็ด moth gram แต่ยังสามารถช่วยการงอกของรากอีกด้วย



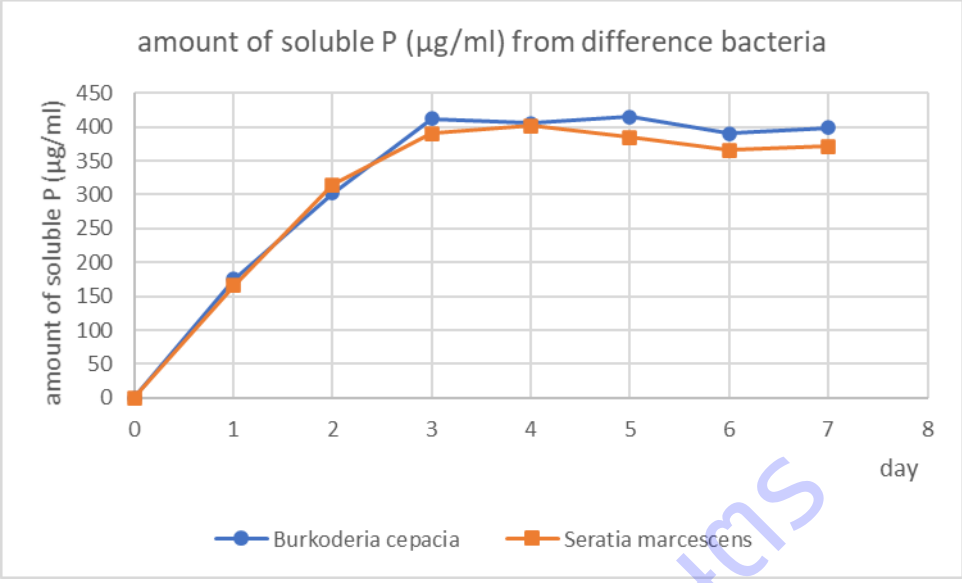
(a) (b)

ภาพที่ 6 การละลายฟอสเฟตรอบรากข้าวโพด (a) ไม่ใส่เชื้อ ; ไม่พบการละลายฟอสเฟต (b) ใส่จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต ; พบการละลายฟอสเฟตรอบราก

เนื่องจากจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต *Taralomyces macrosporus* เป็นเชื้อรา ซึ่งต้องการออกซิเจนจากอากาศในการมีกิจกรรมต่างๆ อย่างพอเพียง หากใช้ในดินเพื่อการละลายฟอสเฟต ซึ่งในดินออกซิเจนมีปริมาณน้อยกว่าผิวดิน การละลายฟอสเฟตโดย *Taralomyces macrosporus* อาจมีประสิทธิภาพที่ลดลง ดังนั้นจึงเลือกใช้แบคทีเรียละลายฟอสเฟต 2 ไอโซเลท ที่มีความสามารถละลายแคลเซียมฟอสเฟตได้ดี (แต่ไม่มีกิจกรรมการละลาย ละลาย aluminum phosphate และ ferric phosphate) ซึ่งแบคทีเรียสามารถดำรงชีพในสภาพออกซิเจนน้อยได้พอสมควร ซึ่งจะสามารถมีกิจกรรมการละลายฟอสเฟตชดเชยกิจกรรมละลาย

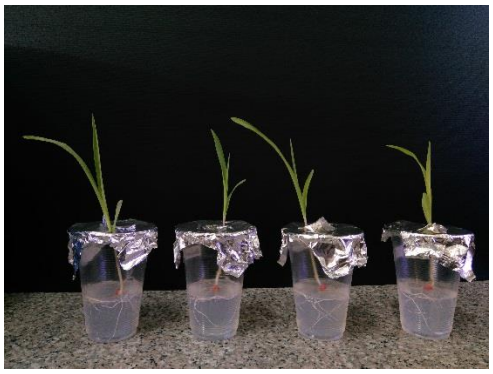
กรมวิชาการเกษตร

ฟอสเฟตที่ลดลงจากการใช้งานเชื้อราเพียงอย่างเดียวได้ โดยในการทดลองนี้ เลือกใช้แบคทีเรีย *Burkhoderia* sp. และ *Seratia marcescens* เพื่อช่วยส่งเสริมกิจกรรมการละลายฟอสเฟต



ภาพที่ 7 การละลายฟอสเฟตของ *Burkhoderia* sp. และ *Seratia marcescens* ในอาหาร Pikovskaya อุณหภูมิ 30 °C

และเมื่อทดสอบการก่อโรคในพืชโดยทดสอบกับการงอกของเมล็ดข้าวพด พบว่าเมล็ดข้าวโพดจากชุดควบคุม และเมล็ดที่แช่ในสารแขวนลอยจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต สามารถเจริญเติบโตได้ดี ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการไม่เป็นจุลินทรีย์โรคพืชของจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตที่ใช้ในการทดลองนี้ (ภาพที่ 8)



(a) (b) (c) (d)

ภาพที่ 8 การเจริญของข้าวโพดโดยปราศจากผลเชิงลบเมื่อ (a) ไม่ใส่เชื้อ (b) ใส่ *Taralomyces macrosporus* (c) ใส่ *Burkhoderia* sp. และ (d) ใส่ *Seratia marcescens*

กรมวิชาการเกษตร

ทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟตของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง โดยการเพาะเมล็ดคะน้าลงในกระบะเพาะที่มีดินปราศจากเชื้อ และใส่จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตที่ปรับปริมาณจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีไอโซเลทและ 10^6 cfu/ml ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ตามกรรมวิธีที่กำหนด ณ เวลา 7 วัน เก็บดิน 1 กรัม เพาะเลี้ยงในอาหาร Pikovskaya ปริมาตร 50 มิลลิลิตร บ่มเขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 วัน ตรวจสอบปริมาณกรดอินทรีย์ที่เกิดขึ้น ซึ่งเกิดจากจุลินทรีย์ในดินที่พร้อมจะมีกิจกรรมการละลายฟอสเฟต โดยใช้เครื่อง High performance liquid chromatography ยี่ห้อ Agilent รุ่น 1290 detector ชนิด Diode array เพื่อศึกษาชนิดและปริมาณของกรดที่อินทรีย์อาจเกิดขึ้นระหว่างการละลายฟอสเฟตของจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตในดิน โดยใช้ความยาวคลื่นที่ 200 250 300 350 400 500 550 600 nm เพื่อหา retention time ของกรดอินทรีย์คือ กรดอะซิติก กรดซิตริก กรดฟอร์มิก กรดซักซินิก และกรดทาทาริก ในสารมาตรฐาน ซึ่งพบว่าที่ความยาวคลื่น 200 nm เหมาะสมต่อการศึกษาชนิดและปริมาณของกรดที่อินทรีย์คือ กรดอะซิติก กรดซิตริก กรดฟอร์มิก กรดซักซินิก และกรดทาทาริก ในสารมาตรฐาน โดยมี retention time เท่ากับ 15.615 8.254 13.847 12.549 และ 8.658 นาที ตามลำดับ โดยใช้น้ำ DI ที่ flow rate 0.6 มิลลิลิตรต่อนาที detector ชนิด Diode array คอลัมน์ Agilent Hi-Plex Ca, 7.7 × 300 mm, 8 µm (p/n PL1170-6810)

ตารางที่ 1 ปริมาณกรดอินทรีย์ที่เกิดจากการสร้างของจุลินทรีย์ (% w/w)

กรดอินทรีย์	ความเข้มข้น (% w/w)							
	กรรมวิธีที่ 1	กรรมวิธีที่2	กรรมวิธีที่3	กรรมวิธีที่4	กรรมวิธีที่5	กรรมวิธีที่6	กรรมวิธีที่7	กรรมวิธีที่8
Citric acid	0.0152	0.0051	0.1017	0.3969	0.2169	0.1146	0.9445	0.2719
Gluconic acid	0.0181	0.0373	0.0458	0.2387	0.0191	0.0267	0.9491	0.2698
Succinic acid	-	-	0.057	0.0359	0.0593	-	0.9424	0.2654
Formic acid	-	-	-	-	-	-	0.9428	0.2702
Acetic acid	-	-	-	0.0605	0.1977	0.075	0.9456	0.2678
Fumaric acid	-	-	0.0011	0.0006	-	0.0009	0.2165	0.3194

กรมวิชาการเกษตร

จากการทดลองพบว่าดินจากกรรมวิธีที่ 7 (ใส่ *Burkhoderia* sp. + *Seratia marcescens*) และกรรมวิธีที่ 8 (ใส่ *Taralomyces macrosporus* + *Burkhoderia* sp. + *Seratia marcescens*) เมื่อบ่มในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Pikovskaya จะเกิดการผลิตกรดอินทรีย์ทั้งกรดซิตริก กรดกลูโคนิก กรดซักซินิก กรดฟอร์มิก กรดอะซิติก กรดฟูมาริก และกรดซิตริก และมีปริมาณมากกว่ากรรมวิธีอื่นๆ นอกจากนี้ในกรรมวิธีอื่นๆ ยังพบการผลิตกรดอินทรีย์เพียงบางชนิดเท่านั้น จึงเป็นไปได้ว่า กรรมวิธีที่ 7 และ 8 ซึ่งเป็นการใช้เชื้อผสม อาจเกิดการทำงานร่วมกันของจุลินทรีย์ที่มากขึ้นในการละลายฟอสเฟตในดินผ่านกลไกการสร้างกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ จากผลดังกล่าวนี้ การใส่จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตลงในดินเพื่อการปลูกพืช ช่วยให้ดินมีความพร้อมต่อการละลายฟอสเฟตอันเกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตที่สามารถดำรงชีพอยู่ในดินได้ โดยการใช้เชื้อผสม มีแนวโน้มที่จะช่วยให้เกิดการละลายฟอสเฟตได้มากกว่าการใช้เชื้อเดี่ยว อันเนื่องมาจากการสร้างกรดอินทรีย์ที่หลากหลายชนิดมากขึ้น ทั้งนี้กรดซิตริกและกลูโคนิกเป็นกรดที่พบในทุกกรรมวิธีที่ทดลอง โดย Park *et al*. (2010) พบว่าในการละลายไตรแคลเซียมฟอสเฟต จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตผลิตกรดซิตริกเพื่อดำเนินกิจกรรมดังกล่าว ซึ่งผลิตได้ถึง 0.93 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก

2. ทดสอบผลของจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตต่อการผลิตพืชในระดับกระถาง

ดำเนินการเพาะปลูกคะน้าในระดับกระถางด้วยกรรมวิธีเช่นเดียวกับการตรวจสอบชนิดและปริมาณกรดอินทรีย์จากการใส่จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต ใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินโดยไม่ใส่ปุ๋ยฟอสเฟต ในดินกรดจากอำเภอบ้านนา จังหวัดนครนายก ซึ่งมีสมบัติทางเคมีและปริมาณธาตุอาหารของดินดังตาราง

ตารางที่ 2 ค่าวิเคราะห์ดินก่อนการทดลอง

ค่าที่วิเคราะห์	ผลวิเคราะห์	หน่วย
pH	4.6	
EC	0.3	dS/m
Total Nitrogen	0.19	%
Available Phosphorus	7.8	mg/kg
Soil Organic Carbon	0.8	%
Total Microorganism	5.82	log10(cfu/g)
Phosphate Solubilizing Microorganism	3	log10(cfu/g)

ตารางที่ 3 ผลผลิตคะน้าจากการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตตามกรรมวิธีต่างๆ

กรมวิชาการเกษตร

กรรมวิธี	ต้น				ใบ			ราก		
	ความสูง (ซม)	ขนาดลำต้น (ซม)	น้ำหนักสด (กรัม)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	พื้นที่ (ตร ซม)	น้ำหนักสด (กรัม)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	น้ำหนักสด (กรัม)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	การละลายฟอสเฟตของราก (ppm)
1	9.33 b	5.37 bc	5.83d	1.36b	319.76ab	9.43c	2.07d	1.25 d	0.32 c	37.02 bc
2	11.17 a	5.87 bc	10.20b	3.84a	415.72a	17.59ab	3.79ab	2.55 c	0.66 b	42.64 ab
3	9.67 b	8.23 a	10.72b	2.33ab	385.11a	19.00ab	4.33a	2.69 c	0.59 b	38.95 ab
4	12.50 a	5.63 bc	9.69c	2.07ab	393.08a	11.80bc	2.43c	1.17 d	0.33 c	40.80 ab
5	7.77 d	4.87 c	3.33e	0.61b	131.86b	6.67d	1.11e	1.83 d	0.43 bc	29.16 c
6	8.50 c	6.77 b	10.08bc	1.87ab	354.07a	14.19b	2.44c	4.38 b	1.15 a	51.01a
7	12.33 a	8.00 a	11.41ab	2.39ab	421.17a	18.49ab	3.41b	3.48 bc	0.98 a	43.11 ab
8	11.00a	8.33a	14.42a	2.52ab	522.14a	22.39a	3.84ab	6.13 a	1.43 a	44.22 ab
CV (%)	16.93	21.05	36.11	44.15	30.49	35.84	37.26	57.52	55.45	15.42

จากการผลการทดลอง พบว่าผลผลิตต่างๆ ของคะน้าเป็นไปในทางเดียวกันคือ กรรมวิธีที่ 1 ซึ่งไม่ใส่ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต จะมีน้ำหนักของต้นและใบที่น้อยกว่ากรรมวิธีอื่นที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต ยกเว้นกรรมวิธีที่ 5 ซึ่งให้ผลผลิตใกล้เคียงกรรมวิธีที่ 1 ซึ่งอาจเกิดจากตัวจุลินทรีย์ในกรรมวิธีที่ 5 คือ *Burkoderia cepapcia* อาจไม่เหมาะสมต่อการใช้ร่วมกับการเพาะปลูกพืช หรือเป็นเพราะจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้อาจต้องการการทำงานร่วมกับจุลินทรีย์สายพันธุ์อื่น เพราะจากการใช้ร่วมกับ *Talaromyces macrosporus* และ *Seratia marcescens* ก็สามารถช่วยให้ผลผลิตคะน้าสูงกว่ากรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต โดยกรรมวิธีที่ช่วยให้ผลผลิตคะน้าสูงที่สุด คือ กรรมวิธีที่ 7 และกรรมวิธีที่ 8 ทั้งนี้หากพิจารณาร่วมกับผลการผลิตกรดอินทรีย์จากดินในกรรมวิธีต่างๆ จะพบว่าการใช้จุลินทรีย์เพียงสายพันธุ์เดียวเมื่ออยู่ในดินจุลินทรีย์จะผลิตกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ ได้น้อยกว่าเมื่ออยู่ในลักษณะการใช้ร่วมกันหลายสายพันธุ์ โดยในกรรมวิธีที่ 7 และ 8 จุลินทรีย์สามารถผลิตกรดอินทรีย์ได้หลายชนิด และมีปริมาณมากกว่ากรรมวิธีอื่นๆ ซึ่งอาจเป็นเหตุให้เกิดการละลายฟอสฟอรัสที่ถูกตรึงอยู่ในดิน ให้ละลายออกมาและส่งผลให้มีการเจริญเติบโตของส่วนต่างๆ ของพืชมากกว่ากรรมวิธีอื่นๆ เมื่อนำรากของคะน้ามาบ่มในอาหารเหลว Pikovskaya เพื่อตรวจสอบการละลายฟอสเฟต พบว่ากรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต (ยกเว้นกรรมวิธีที่ 5) รากคะน้าสามารถละลายฟอสเฟตได้ดีกว่ากรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต ซึ่งอาจสะท้อนให้เห็นถึงความสามารถในการอาศัยอยู่ร่วมกับรากพืชของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองได้ แต่ผลการละลายฟอสเฟตจากกรรมวิธีที่ 5 พบว่าน้อยกว่ากรรมวิธีที่ 1 ซึ่งไม่ใส่ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต เช่นนี้อาจเกิดจากตัวต้นพืชเองที่อาจปรับตัวตามสภาพแวดล้อมไม่ได้ เช่น ต้นกล้าอ่อนแอ จึงทนสภาพแดดแรง หรือฝนตกหนักจนน้ำท่วมขังใน

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

บางวันไม่ได้ ทำให้ต้นพืชอ่อนแอ การหลั่งสารจากรากเพื่อส่งเสริมการทำงานของจุลินทรีย์รอบรากลดลง จุลินทรีย์จึงอาจลดการทำงานลงไปได้ ซึ่งแม้ในกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต แต่หากต้นพืชพืชยังคงแข็งแรง การหลั่งสารจากรากเพื่อส่งเสริมการทำงานของจุลินทรีย์รอบรากยังคงเกิดขึ้น จุลินทรีย์ประจำถิ่นเดิมจึงอาจเพิ่มการทำงานขึ้นได้

จากผลผลิตคะน้าที่ได้พบว่ากรรมวิธีที่ 8 (ใส่ *Taralomyces macrosporus* + *Burkhoderia* sp.+ *Seratia marcescens*) ให้ผลผลิตคะน้าสูงสุดในทุกด้าน และรากคะน้ามีความสามารถละลายฟอสเฟต ซึ่งลักษณะดังกล่าวนี้ แสดงให้เห็นว่าการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตร่วมกัน 3 ไอโซเลท สามารถเพิ่มผลผลิตพืชได้ จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตสามารถอยู่อาศัยบริเวณรากของคะน้า และช่วยให้รากมีความสามารถในการละลายฟอสเฟต ดังนั้นจึงเลือกกรรมวิธีดังกล่าวนี้เพื่อใช้ในการผลิตพืชอื่นๆ ในดินที่มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่ำอันเนื่องมาจากการถูกตรึงในดินต่อไป

3. ทดสอบผลของจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตต่อการผลิตพืชในระดับแปลงทดลอง

ดำเนินการปลูกผักคะน้าในแปลงทดสอบ ณ อำเภอบ้านนา จังหวัดนครนายก ซึ่งดินมีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์อยู่ในปริมาณต่ำ โดยสมบัติของดินแสดงใน ตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ค่าวิเคราะห์ดินก่อนการทดลองปลูกคะน้า

ค่าที่วิเคราะห์	ผลวิเคราะห์	หน่วย
pH	4.8	
EC	0.3	dS/m
Total Nitrogen	0.17	%
Available Phosphorus	9.5	mg/kg
Exchangeable K^+	69	mg/kg
Soil Organic Carbon	0.8	%
Total Microorganism	4.76	log_{10}(cfu/g)
Phosphate Solubilizing Microorganism	3	log_{10}(cfu/g)

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 5 ผลผลิตคะน้าและสมบัติของดินหลังเก็บเกี่ยว

กรรมวิธี	ผลผลิต			ดิน		
	ส่วนพ้นดิน (กรัม)	ราก (กรัม)	ฟอสฟอรัส (มก/100ก)	จุลินทรีย์ทั้งหมด (log cfu/g)	จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต (log cfu/g)	ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (ppm)
control	12.09f	0.90d	29.01f	4.88c	0.90d	13.40d
psm	15.24ef	0.88d	37.23e	5.46bc	0.88d	15.46c
N K+psm	19.11e	2.79b	56.77d	5.70b	2.79b	17.11bc
N 0.25P K+psm	24.53d	0.90d	81.79c	5.93b	0.90d	17.13bc
N 0.5P K+psm	46.37c	1.89c	91.78b	6.73a	1.89c	16.39bc
N 0.75P K+psm	61.79b	2.75b	105.37a	6.67a	2.75b	17.68ab
N P K+psm	64.46ab	1.81c	100.97a	6.12ab	1.81c	19.01a
N P K	67.67a	5.58a	105.24a	6.04ab	5.58a	16.13bc
CV (%)	57.02	67.44	38.08	9.62	67.44	9.40

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

Psm = phosphate solubilizing microorganism

ผลผลิตคะผลผลิตคะน้าจากการใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตร และการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตร่วมกับใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตร สามารถช่วยส่งเสริมให้คะน้ามีผลผลิตที่สูงกว่ากรรมวิธีอื่นๆ คือมีผลผลิตในส่วนพ้นดิน 67.67 และ 64.46 กรัมต่อต้น ตามลำดับ แต่ทั้งนี้กรรมวิธีการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตร่วมกับใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตร แต่ปรับปริมาณปุ๋ยเคมีฟอสเฟตลงเหลือ 75 เปอร์เซ็นต์ เป็นอีกกรรมวิธีหนึ่งที่น่าสนใจ เพราะสามารถช่วยส่งเสริมให้คะน้ามีผลผลิตที่สูง คือมีผลผลิตในส่วนพ้นดิน 61.79 กรัมต่อต้น แม้จะน้อยกว่าอีก 2 กรรมวิธี แต่ผลผลิตที่ได้ก็ยังมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ของผลผลิตสูงสุด การที่คะน้าสามารถเจริญเติบโตได้ดี ย่อมส่งผลให้การดูดธาตุอาหารจากดินเกิดขึ้นได้มาก ปริมาณฟอสฟอรัสในคะน้าจึงสูงขึ้นตามไปด้วย นอกจากนี้การที่คะน้าเจริญเติบโตได้ดี ย่อมส่งผลให้เกิดการปลดปล่อย root exudate ออกมากระตุ้นการทำงานของจุลินทรีย์รอบรากให้มีการ

กรมวิชาการเกษตร

เจริญเติบโตและมีกิจกรรมที่เป็นประโยชน์ต่อพืชมากขึ้น ซึ่งทำให้ทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ในดินรอบรากมีปริมาณสูงตามไปด้วย โดยกรรมวิธีที่วิธีการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตร่วมกับใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตร แต่ปรับปริมาณปุ๋ยเคมีฟอสเฟตเป็น 100 75 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณจุลินทรีย์ในดินรอบรากมีปริมาณสูงสุด แต่ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ สูงที่สุดในกรรมวิธีที่ใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตร่วมกับใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตร แต่ปรับปริมาณปุ๋ยเคมีฟอสเฟตเป็น 100 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นกรรมวิธีที่คะน้าให้ผลผลิตสูง ดังนั้นการเจริญที่ดีของคะน้า ช่วยให้ปริมาณจุลินทรีย์ในดินรอบรากเพิ่มขึ้นไปด้วย ส่งผลให้เกิดการลายฟอสเฟตออกมาในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืชเพิ่มสูงขึ้น เท่ากับ 19.07 และ 17.68 ppm ตามลำดับ ซึ่งในกรณีที่ใช้เพียงปุ๋ยเคมีตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตรเพียงอย่างเดียว ปริมาณฟอสเฟตออกมาในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืชเท่ากับ 16.13 ppm ซึ่งลักษณะดังกล่าวนี้ แม้พืชจะให้ผลผลิตที่สูงแต่ความเป็นประโยชน์จากธาตุฟอสฟอรัสในดินน้อยกว่าการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต

ดังนั้นการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตในการผลิตคะน้านั้น หากมีปริมาณปุ๋ยเคมีที่พียงพอแล้ว การใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตร่วมในการผลิตคะน้า จะไม่ช่วยให้ผลผลิตคะน้าเพิ่มมากขึ้น แต่การใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต จะช่วยให้ปริมาณฟอสเฟตที่เป็นประโยชน์ในดินเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งการใช้ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน แต่ปรับปริมาณปุ๋ยเคมีฟอสเฟตลงเหลือ 75 เปอร์เซ็นต์ สามารถช่วยส่งเสริมให้คะน้ามีผลผลิตที่ได้มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ของผลผลิตสูงสุด จากการใช้ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดินเพียงอย่างเดียว ซึ่งเป็นการลดการใช้ปุ๋ยเคมีฟอสเฟตลงได้กว่า 25 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 6 ค่าวิเคราะห์ดินก่อนการทดลองปลูกผักกาด

ค่าที่วิเคราะห์	ผลวิเคราะห์	หน่วย
pH	4.7	
EC	0.26	dS/m
Total Nitrogen	0.08	%
Available Phosphorus	7.8	mg/kg
Exchangeable K^+	94	mg/kg
Soil Organic Carbon	0.74	%
Total Microorganism	4.42	$\log_{10}$(cfu/g)
Phosphate Solubilizing Microorganism	3	$\log_{10}$(cfu/g)

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 7 ผลผลิตผักกาดและสมบัติของดินหลังเก็บเกี่ยว

กรรมวิธี	ผลผลิต			ดิน		
	ส่วนพ้นดิน (กรัม)	ราก (กรัม)	phosphorus (mg/100g)	ส่วนพ้นดิน (กรัม)	ราก (กรัม)	Available phosphorus (ppm)
control	14.55e	0.87e	21.22e	4.16c	3.0d	11.84f
psm	24.75e	0.92e	25.3d	5b	4.0bc	13.67de
N K+psm	58.3d	3.68d	28.45d	5.19b	4.42b	14.73cd
N 0.25P K+psm	104.64c	2.91d	33.11c	4.91b	4.2bc	15.91bc
N 0.5P K+psm	197.96b	7.63c	35.16bc	6.1a	5.12a	15.84bc
N 0.75P K+psm	547.47a	22.31b	35.63bc	5.8a	4.94a	17.36a
N P K+psm	553.62a	24.87a	38.3ab	5.84a	5.11a	16.76ab
N P K	547.21a	22.67b	41.08a	4.92b	3.88bc	12.54ef
CV (%)	91.12	92.62	19.58	11.38	15.70	12.57

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

Psm = phosphate solubilizing microorganism

กรมวิชาการเกษตร

ทำการทดสอบผลของการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตกับการผลิตผักกาด โดยปลูกผักกาดตามกรรมวิธีที่กำหนด เพื่อศึกษาว่าการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตสามารถช่วยลดการใช้ปุ๋ยเคมีฟอสเฟตได้หรือไม่ จากตารางที่ 6 ผลผลิตคะผลผลิตผักกาดจากการใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตร และการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตร่วมกับใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตร แต่ปรับปริมาณปุ๋ยเคมีฟอสเฟตลง 100 และ 75 เปอร์เซ็นต์สามารถช่วยส่งเสริมให้คะน้ามีผลผลิตที่สูงกว่ากรรมวิธีอื่นๆ คือมีผลผลิตในส่วนพ้นดิน 547.21 553.62 และ 547.47 กรัมต่อต้น ตามลำดับ ในส่วนของราก พบว่าผักกาดมีมวลรากเพิ่มขึ้นตามปริมาณปุ๋ยเคมีที่ใส่เพิ่มขึ้น การใช้เพียงจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตดดยปราศจากการใส่ปุ๋ยเคมี ไม่สามารถช่วยให้มวลรากเพิ่มขึ้นได้ โดยมวลรากมีมวลมากที่สุดเท่ากับ 24.87 กรัม เมื่อใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตรเต็มอัตราร่วมกับการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต

การที่ผักกาดสามารถเจริญเติบโตได้ดี ย่อมส่งผลให้การดูดธาตุอาหารจากดินเกิดขึ้นได้มาก ปริมาณฟอสฟอรัสในผักกาดจึงสูงขึ้นตามไปด้วย นอกจากนี้การที่ผักกาดเจริญเติบโตได้ดีย่อมส่งผลให้เกิดการปลดปล่อย root exudate ออกมากระตุ้นการทำงานของจุลินทรีย์รอบรากให้มีการเจริญเติบโตและมีกิจกรรมที่เป็นประโยชน์ต่อพืชมากขึ้น โดยจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตในดินรอบบริเวณรากจึงเพิ่มขึ้นตามการเจริญที่มากขึ้นของผักกาด โดยกรรมวิธีที่วิธีการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตร่วมกับใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตร แต่ปรับปริมาณปุ๋ยเคมีฟอสเฟตเป็น 100 75 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต และปริมาณจุลินทรีย์โดยรวมในดินรอบรากมีปริมาณสูงสุด คือ 4.94-5.12 log (cfu/g) ซึ่งเป็นกรรมวิธีที่มีการใส่จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต และใส่ปุ๋ยเคมีมากพอที่ช่วยให้พืชเจริญเติบโตได้ การเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์และพืชเกิดขึ้นได้ดี ปริมาณจุลินทรีย์โดยรอบรากจึงเจริญได้มาก ส่งผลให้เกิดการลายฟอสเฟตออกมาในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืชเพิ่มสูงขึ้น เท่ากับ 16.76 17.36 และ 15.84 ppm ตามลำดับ ซึ่งในกรณีที่ใช้เพียงปุ๋ยเคมีตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตรเพียงอย่างเดียว ปริมาณฟอสเฟตออกมาในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืชเท่ากับ 16.13 ppm ซึ่งลักษณะดังกล่าวนี้ แม้พืชจะให้ผลผลิตที่สูงแต่ความเป็นประโยชน์จากธาตุฟอสฟอรัสในดินน้อยกว่าการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต สอดคล้องกับ Wang *et al.* (2017) ซึ่งทดสอบจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตในการผลิตผักกาด พบว่าสามารถสนับสนุนการเจริญของผักกาด โดยมีปริมาณจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตในดิน 4.9 log (cfu/g) ซึ่งใกล้เคียงกับที่ใช้ในการทดลองนี้

ผลผลิตผักกาดจากการปลูกด้วยกรรมวิธีต่างๆ เป็นไปในทำนองเดียวกันกับผลจากการปลูกคะน้า หากมีปริมาณปุ๋ยเคมีที่พียงพอแล้ว การใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตร่วมในการผลิตผักกาด จะไม่ช่วยให้ผลผลิตเพิ่มมากขึ้น แต่การใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต จะช่วยให้ปริมาณฟอสเฟตที่เป็นประโยชน์ในดินเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งการใช้ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน แต่ปรับปริมาณปุ๋ยเคมีฟอสเฟตลงเหลือ 75 เปอร์เซ็นต์ สามารถช่วยส่งเสริมให้ผักกาดมีผลผลิตที่สูงสุด ไม่แตกต่างจากการใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดินเพียงอย่างเดียว ซึ่งเป็นการลดการใช้ปุ๋ยเคมีฟอสเฟตลงได้ 25 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เมื่อลดปริมาณปุ๋ยฟอสเฟตลงถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้ผลผลิตผักกาดลดลงไปถึง 75 เปอร์เซ็นต์

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 6 ค่าวิเคราะห์ดินก่อนการทดลองปลูกข้าวโพด

ค่าที่วิเคราะห์	ผลวิเคราะห์	หน่วย
pH	4.9	
EC	0.3	dS/m
Total Nitrogen	0.06	%
Available Phosphorus	11.48	mg/kg
Exchangeable K^+	140	mg/kg
Soil Organic Carbon	0.9	%
Total Microorganism	4.76	log_{10}(cfu/g)
Phosphate Solubilizing Microorganism	4	log_{10}(cfu/g)

ตารางที่ 9 ผลผลิตข้าวโพด

กรรมวิธี	ต้น		ฝักไม่ปอกเปลือก		
	ความสูง (ซม)	ความกว้าง (ซม)	น้ำหนัก (กรัม)	ความยาว (ซม)	ความกว้าง (ซม)
control	120.53d	2.21c	70.54d	23.46d	3.06e
psm	120.4d	2.84b	209.84b	30.23bc	4.35d
N K+psm	125.55cd	2.94b	207.27b	29.42c	4.37d
N 0.25P K+psm	133.55c	2.9b	229.81b	29.48c	4.55cd
N 0.5P K+psm	161.38b	3.4a	279.52a	34.47a	4.82bc
N 0.75P K+psm	169.73ab	2.89b	298.86a	31.45b	4.95b
N P K+psm	173.8a	2.89b	229.46b	30.88bc	5.16ab
N P K	172.78a	2.92b	175.94c	31.34b	5.42a
CV (%)	15.48	10.42	30.68	9.69	14.71

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 10 ปริมาณฟอสฟอรัส และสมบัติของดินหลังเก็บเกี่ยว

กรรมวิธี	ปริมาณฟอสฟอรัส (mg/100g)					ดิน		
	ฝัก			ต้น		จุลินทรีย์ทั้งหมด (log cfu/g)	จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต (log cfu/g)	ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (ppm)
	เมล็ด	เปลือก	ซัง	ต้น	ใบ			
control	199.29c	52.20cde	26.70c	130.00e	121.77d	4.16c	3.00d	14.56e
psm	210.16bc	68.00e	30.45b	146.00d	121.05c	5.00b	4.00bc	16.80cd
N K+psm	203.25c	64.80bcd	30.60b	150.35cd	127.41bc	5.19b	4.42b	18.03bc
N 0.25P K+psm	232.85ab	67.08cde	32.93b	160.38bcd	138.24bc	4.91b	4.2bc	19.03ab
N 0.5P K+psm	211.11abc	64.17de	40.56b	170.34a	148.2ab	6.10a	5.12a	20.35a
N 0.75P K+psm	227.69ab	65.32a	35.64b	173.40abc	157.07ab	5.80a	4.94a	20.70a
N P K+psm	233.77a	71.78bc	37.74a	167.40a	144.91a	5.84a	5.11a	19.76ab
N P K	232.44ab	73.44ab	34.56a	183.04ab	144.33a	4.92b	3.88c	15.34de
CV (%)	6.14	5.16	7.95	9.00	7.52	11.38	15.70	11.95

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ทำการทดสอบผลของการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตกับการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียว โดยปลูกตามกรรมวิธีที่กำหนด เพื่อศึกษาว่าการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตต่อการลดการใช้ปุ๋ยเคมีฟอสเฟต จาก ตารางที่ 9 ผลผลิตคะผลผลิตข้าวโพดข้าวเหนียว จากการใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตร และการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตร่วมกับใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตร แต่ปรับปริมาณปุ๋ยเคมีฟอสเฟตเป็น 100 และ 75 เปอร์เซ็นต์ สามารถช่วยส่งเสริมให้ข้าวโพดข้าวเหนียว มีความสูงที่สูงกว่ากรรมวิธีอื่นๆ คือมีความสูง 172.7 173.8 และ 169.73 เซนติเมตร ตามลำดับ ในส่วนลำต้น พบว่าข้าวโพดข้าวเหนียวมีขนาดลำต้นสูงที่สุด คือ 3.4 เซนติเมตร เมื่อใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตร่วมกับใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตร แต่ปรับปริมาณปุ๋ยเคมีฟอสเฟตลง 50 เปอร์เซ็นต์

น้ำหนักสดฝักรวมเปลือกสูงที่สุดเท่ากับ 298.86 และ 279.52 กรัม เมื่อปลูกด้วยกรรมวิธีใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตร่วมกับใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตร แต่ปรับปริมาณปุ๋ยเคมีฟอสเฟตเป็น 75 และ 50 เปอร์เซ็นต์ โดยกรรมวิธีใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตร่วมกับใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตร แต่ปรับปริมาณปุ๋ยเคมีฟอสเฟตเป็น 50 เปอร์เซ็นต์ ยังสามารถช่วยให้ฝักมีความยาวสูงที่สุด คือ 34.47 เซนติเมตร แต่ความกว้างของฝักสูงสุดเมื่อใช้กรรมวิธีกรรมวิธีใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตร่วมกับใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตร และใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตรร่วมกับการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต คือมีขนาด 5.42 และ 5.16 เซนติเมตร ตามลำดับ

กรมวิชาการเกษตร

ปริมาณฟอสฟอรัสในข้าวโพดข้าวเหนียวมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามมวลต้นที่มากขึ้น โดยจาก ตารางที่ 9 และ ตารางที่ 10 พบว่าปริมาณฟอสฟอรัสในเมล็ดสูงที่สุดเมื่อความสูงของข้าวโพดข้าวเหนียวสูงกว่า 130 เซนติเมตร คือมีค่าเท่ากับ 232.44 233.77 227.69 211.11 และ 232.85 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ เมื่อปลูกตามกรรมวิธีใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตร และใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตรแต่ปรับปริมาณปุ๋ยเคมีฟอสเฟตเป็น 100 75 50 และ 25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยมีการสะสมฟอสฟอรัสที่ซังข้าวโพดสูงที่สุด เมื่อปลูกตามกรรมวิธีใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตร และใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตรร่วมกับใส่จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต โดยมีค่าเท่ากับ 34.56 และ 37.74 85 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ โดยเมื่อต้นมีความสูงกว่า 160 เซนติเมตร ปริมาณฟอสฟอรัสในลำต้นมีปริมาณสูงกว่า 160 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ซึ่งเป็นไปในทำนองเดียวกันกับปริมาณฟอสฟอรัสในใบ ซึ่งมีปริมาณฟอรัสในลำต้นมีปริมาณสูงกว่า 140 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ซึ่งต้องมีการใช้ปุ๋ยเคมีฟอสฟอสเฟตอย่างน้อย 0.25 เปอร์เซ็นต์ของค่าที่แนะนำโดยกรมวิชาการเกษตร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kaur และ Reddy (2013) ซึ่งแยกจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตจากดินในประเทศอินเดียคือ *Pantoea cypripedii* และ *Pseudomonas plecoglossicida* เมื่อทดสอบเชื้อดังกล่าวในการปลูกข้าวโพด พบว่า ดินที่มีการใส่เชื้อ ข้าวโพดจะรากและเมล็ด สูงกว่าดินที่ไม่ใส่เชื้อ เมื่อตรวจสอบเนื้อเยื่อข้าวโพด พบว่าดินที่มีการใส่เชื้อจะมีปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในเมล็ด ยอด และราก สูงกว่าดินที่ไม่ใส่เชื้อ

ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในดินสูงกว่า 5.8 log (cfu/g) และปริมาณจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตในดินสูงกว่า 4.9 log (cfu/g) เมื่อใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตร่วมกับใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตร แต่ปรับปริมาณปุ๋ยเคมีฟอสเฟตเป็น 100 75 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นกรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต ซึ่งกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียวแม้มวลรวมของข้าวโพดข้าวเหนียวจะมาก แต่ปริมาณจุลินทรีย์ในดินไม่ได้มากขึ้นมากนัก โดยการที่มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด และจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตในดินสูง ช่วยให้ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินหลังการเก็บเกี่ยวสูงขึ้น โดยสูงที่สุดเมื่อใช้กรรมวิธีใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตร่วมกับใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตร แต่ปรับปริมาณปุ๋ยเคมีฟอสเฟตเป็น 100 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ คือมีค่าเท่ากับ 16.76 และ 17.36 ppm ตามลำดับ

ปริมาณปุ๋ยที่มากขึ้น ช่วยให้มวลข้าวโพดข้าวเหนียวเพิ่มสูงด้วยตามไปด้วย แต่ผลผลิตฝักมีน้ำหนักน้อยกว่าการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตร่วมกับใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตร แต่ปรับปริมาณปุ๋ยเคมีฟอสเฟตลง ซึ่งการที่มีปุ๋ยเคมีปริมาณสูงอาจส่งผลให้การเจริญเติบโตเชิงมวลที่มาก จนส่งผลต่อการสร้างฝักที่อาจลดลงเล็กน้อย ซึ่งการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตร่วมกับใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตร แต่ปรับปริมาณปุ๋ยเคมีฟอสเฟตลง ข้าวโพดข้าวเหนียวอาจต้องรอรับฟอสเฟตรูปที่เป็น

กรมวิชาการเกษตร

ประโยชน์จากการทำงานของจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต ซึ่งเกิดอย่างช้าๆ การเจริญของข้าวโพดข้าวเหนียวจึงไม่เร็วเกินไป จึงมีการกระจายธาตุอาหารให้เกิดทั้งต้นและผลได้ทั่วถึง

การใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตในการทดลอง สามารถช่วยเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ได้ ในกรณีการปลูกคะน้า พบว่าสามารถเพิ่มได้ถึง 86-100 เปอร์เซ็นต์ ในกรณีการปลูกผักกาด พบว่าสามารถเพิ่มได้ถึง 53-55 เปอร์เซ็นต์ ในกรณีการปลูกข้าวโพดข้าวเหนียว พบว่าสามารถเพิ่มได้ถึง 41-44 เปอร์เซ็นต์ โดยการใช้ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตเพียงอย่างเดียว เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งไม่ใส่ปัจจัยใดๆ มีแนวโน้มช่วยให้ปริมาณฟอสฟอรัสในพืชเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับการทดลองของ Ku *et al*. (2018) ซึ่งใช้แบคทีเรียละลายฟอสเฟต *Bacillus cereus* YL6 ในการปลูก ถั่วเหลือง ข้าวสาลี และผักกาด สามารถเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสในดินได้ถึง 120.16, 62.47 และ 7.21 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยพืชมีปริมาณฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้น 198.60%, 6.20% และ 78.89%, ตามลำดับ Baldotto *et al*. (2012) ใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต *Bacillus silvatlantica* ในการผลิตข้าวโพด จะพบปริมาณปริมาณฟอสฟอรัสในข้าวโพด และผลผลิตข้าวโพดสูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่ใส่เชื้อ Vigram *et al*. (2008) ทดสอบการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตในการปลูก greengram พบว่าปริมาณฟอสฟอรัสในยอด ราก และเมล็ด เพิ่มขึ้น 29-45, 17-30 และ 12-17 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยปริมาณจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตในดินเพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน ซึ่งในการทดลองนี้ปริมาณจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตในดินที่มีการใส่ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสก็มีปริมาณเพิ่มขึ้นเช่นกัน ดังนั้นการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตในการทดลองนี้ในรูปปุ๋ยชีวภาพจึงสามารถช่วยเพิ่มผลผลิตพืช และเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินได้

กรมวิชาการเกษตร

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต *Taralomyces macrosporus Burkhoderia* sp. และ *Seratia marcescens* สามารถเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินในการปลูกผัก และข้าวโพดข้าวเหนียว การใช้เพียงปุ๋ยเคมีตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตรจากค่าวิเคราะห์ดินเพียงอย่างเดียว แม้ผลผลิตพืชที่ได้มีค่าสูง แต่ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินน้อยกว่าเมื่อมีการใส่จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตร่วมด้วย นอกจากนี้การใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตยังสามารถลดการใช้ปุ๋ยเคมีฟอสเฟตลงได้ประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้ในการผลิตผักกาด คะน้า และข้าวโพดข้าวเหนียว

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ใช้ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต สามารถลดการใช้ปุ๋ยเคมีฟอสเฟตลงได้ 25 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้ในการผลิตผักกาด คะน้า และข้าวโพดข้าวเหนียว

2. การทดสอบในพืชอื่นๆ จะช่วยให้ทราบข้อมูลเพิ่มเติม ว่าสามารถใช้ในการผลิตพืชชนิดใดได้อีก ซึ่งอาจสามารถใช้ในการช่วยเพิ่มความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสในดินในระยะยาวได้

3. หากดินมีสภาพบัพเฟอร์สูง กิจกรรมการละลายฟอสเฟสของจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตจะเกิดได้น้อยลง ซึ่งเป็นข้อจำกัดของการใช้ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต

11. คำขอบคุณ (-)

12. เอกสารอ้างอิง

จงรักษ์ จันทร์เจริญสุข. 2541. การวิเคราะห์ดินและพืชทางเคมี. นครปฐม: ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จำเป็น อ่อนทอง. 2547. คู่มือการวิเคราะห์ดินและพืช. สงขลา: คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัย สงขลานครินทร์.

ธงชัย มาลา. 2546.ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ:เทคนิคการผลิตและการใช้ประโยชน์. สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 300 น.

สมศักดิ์ มณีพงศ์. 2537. การวิเคราะห์ดินและพืช. สงขลา: คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สมาพร เรืองสังข์. 2554. การคัดเลือกแบคทีเรียละลายหินฟอสเฟตจากดินบริเวณไรโซสเฟียร์ของไผ่ในป่าชุมชนบ้านพุเตย อำเภอไทรโยค จังหวัดกาญจนบุรี. วารสารวไลยอลงกรณ์ปริทัศน์ ปีที่ 1 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม-ธันวาคม. 51-58.

กรมวิชาการเกษตร

Appanna, V., Alagawadi, A., Hamzehzarghani, H., and Krishnaraj P. 2008. Efficacy of phosphate solubilizing bacteria on the yield and phosphorus uptake of greengram (Vigna radiata (L.) Wilczek). The American Journal of Plant Science and Biotechnology. 2. 80-84.

Animesh, S., I. Tofazzal, C. B. Gokul, A. Shohidul, H. Mikail and M. T. Nur. 2012. Screening for phosphate solubilizing bacteria inhabiting the rhizoplane of rice grown in acidic soil in Bangladesh. Acta Microbiol. Immun. Hungar. 59(2): 199-213.

Baldotto, L. E. B., L. G. Jr. S. Silva, L. P. Canellas, F. L. Olivares and M. A. Baldotto. 2012. Initial growth of maize in response to application of rock phosphate, vermicompost and endophytic bacteria. Revista Ceres. 59(2) : 262-270.

Brady, N. C. and R. R. Weil. 2008. The nature and properties of soils. 14th ed. Pearson Education, Inc, Upper Saddle River, New Jersey. 960 p.

Inui – Kishi, R. N., L. T. Kishi, S. C. Picchi, J. C. Barbosa, M. T. O. Lemos, J. Marcondes and E. G. de M Lemos. 2012. Phosphorus solubilizing and IAA production activities in plant growth promoting rhizobacteria from brazian soils under sugarcane cultivation. J. Eng. Appl. Sci. 7(11): 1446-1454.

Kaur, G and MS. Reddy. 2013. Phosphate solubilizing rhizobacteria from an organic farm and their influence on the growth and yield of maize (Zea mays L.). J. Gen. Appl. Microbiol. 59(4): 295-303.

Ku Y., Guoyi Xu, Fawei W., Haijin L., Xiangna Y., Xiaohong T., and Cuiling C. 2018. Root Colonization and Growth Promotion of Soybean, Wheat and Chinese Cabbage by *Bacillus cereus* YL6. bioRxiv 353946; doi: https://doi.org/10.1101/353946.

Lindsay, W. L., Vlek, P. L.and S. H. Chien. 1989. Phosphate minerals.. In : J.B. Dixon and S. B. Weed (eds.), Minerals in Soil Environment. Soil Science Society of America Inc., Wisconsin. pp. 1089–1130.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัย

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. Aust. J. Soil Res. 26: 323–331.

Mehrvarz, S., M. R. Chachi and H. A. Alikhani. 2008. Effect of phosphate solubilizing microorganisms and phosphorus chemical fertilizer on yield and yield components of barely (Hordeum vulgare L.). J. Agri. Environ. Sci. 3: 822-828.

Nirbhavane, H. and Kale, A. 2020. Efficiency study of phosphate solubilizing bacterial and fungal species and effects on moth gram seed germination. Indian Journal of Microbiology Research. 7. 335-341.

Park J., Nanthi B., Megharaj M. and Ravi N. 2010. Enhancing the solubility of insoluble phosphorus compounds by phosphate solubilizing bacteria. World Congress of Soil Science, Soil Solutions for a Changing World 1 – 6 August. P 65-68.

Purnomo, E., A. Mursyid, M. Syarwan, A. Jumberi, Y. Hashidoko, T. Hasegawa, S. Honma and M . Osaki. Phosphorus Solubilizing Microorganisms in the Rhizosphere of Local Rice Varieties Grown without Fertilizer on Acid Sulfate Soils. Soil Sci. Pl. Nutr. 51(5): 679–681.

Sahay, R. and D. D. Patra. 2013. Identification and performance of stress-tolerant phosphate-solubilizing bacterial isolates on Tagetes minuta grown in sodic soil. Soil Use and Management. 29(4): 494–500.

Schoebitz, M., C. Ceballos and L . Ciampi. 2013. Effect of immobilized phosphate solubilizing bacteria on wheat growth and phosphate uptake. J. Soil Sci. Pl. Nutr. 13(1): 1-10.

กรมวิชาการเกษตร

Schollerger, C.J. and R.H. Simmon. 1 9 4 5 . Determinate of exchange capacity and exchangeable bases in soil ammonium acetate method. Soil Sci. 59: 13 24.

Shekhar, N. C., B. Shipra , K. Pradeep , L. Hind , M. Rajesh and V. Dinesh. 2000. Stress induced phosphate solubilization in bacteria isolated from alkaline soils. FEMS Microbiol. Let. 182(2): 291–296.

Sundara, B., V. Natarajan and K. Hari. 2002. Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane and sugar yields. Field Crops Research. 77(1): 43–49.

Thakuria, D., N. C. Talukdar, C. Goswami, S. Hazarika, R. C. Boro and M. R. Khan. 2004. Characterization and screening of bacteria from rhizosphere of rice grown in acidic soils of Assam. Cur. Sci. Ass. 86(7): 978-985.

Walkley, A. and I.A. Black. 1934. An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chronic acid titration method. Soil Sci. 37: 29-38.

Wang Z., Guoyi X., Pengda M., Yanbing L., Xiangna Y. and Cuiling C. 2017. Isolation and Characterization of a Phosphorus-Solubilizing Bacterium from Rhizosphere Soils and Its Colonization of Chinese Cabbage (Brassica campestris ssp. chinensis). Frontiers in Microbiology. Vol 8. Article 1270.

Wilson, M.A., Ellis, B.G., 1984. Influence of calcium solution activity and surface area on the solubility of selected rock phosphates. Soil Sci. 138, 354–359.

13. ภาคผนวก (-)

ศูนย์วิทยทรัพยากร