

715

19804

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี  
ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

เรื่อง

การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราดินในการเพิ่มการละลายของหินฟอสเฟต

Study on the Efficiency of Soil Fungi  
in the Dissolution of Rock Phosphate.

โดย

นาย ชัยณรงค์ เหลืองกิ่งวานกิจ

(ผศ.ดร. สุมิตรา กุ้วโรตม)

อาจารย์ที่ปรึกษา

ภาควิชารับรองแล้ว

(ผศ.ดร. อารมย์ ศรีพิจิตร)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

วันที่ 30 เดือน ๖ พ.ศ. ๒๕๖๖

เลขที่ 100425  
ลงทะเบียน 18 JUN 2009

Barcode T100425  
3833  
2593

ใช้เพื่อเรียนหรือทำงานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาติให้ผู้อื่นนำไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาต  
ถ้ามีการผิดเงื่อนไขให้ติดต่อแจ้งเจ้าหน้าที่ดูแลและดำเนินการตามระเบียบของมหาวิทยาลัย



## คำนิยม

ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี ทั้งนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณท่านอาจารย์ ดร. สุมิตรา ภู่วโรดม เป็นอย่างสูง ที่ได้เอาใจใส่ดูแล อำนวยความสะดวกในการทดลองและชี้แนะแนวทางในการแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นในการทดลอง ตลอดจนตรวจแก้ไขการเขียนปัญหาพิเศษฉบับนี้ให้สมบูรณ์

ข้าพเจ้าขอขอบคุณสำนักงานทรัพยากรธรณี จ. กาญจนบุรี และสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย โดย ห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์สำหรับประยุกต์และพันธุศาสตร์ของ เซลล์ ที่กรุณาให้ข่าวสารข้อมูลอันเป็นประโยชน์ต่อการทดลอง ขอขอบคุณเพื่อนที่แสนดีที่ให้ความช่วยเหลือในการทดลองครั้งนี้ด้วย สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อ-คุณแม่ ที่ให้กำลังใจ และคอยห่วงใยเสมอมา

ชัยณรงค์ เหลืองกังวานกิจ  
เมษายน 2533

## บทคัดย่อ

การทดลองศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราดินจากแหล่งหินฟอสเฟตในการเพิ่มการละลายของหินฟอสเฟต โดยเก็บตัวอย่างดินจากแหล่งหินฟอสเฟตเขาวัง อ.บ้านนาแก จ.กาฬสินธุ์ นำมาแยกเชื้อราและทดสอบประสิทธิภาพการละลายหินฟอสเฟต พบว่ามีเชื้อราเพียง 3 จาก 18 isolates เท่านั้น ที่สามารถละลายหินฟอสเฟตได้ ได้แก่ Aspergillus niger, Aspergillus aculeatus และ Penicillium citrinum จากการทดสอบในอาหารเหลว สามารถวัดปริมาณฟอสฟอรัสเฉลี่ยสูงสุดของแต่ละ isolate ได้ 304.02, 12.67 และ 18.72 ppm ภายหลังใส่เชื้อลงไป ในอาหารเหลว 8, 6 และ 2 วัน ตามลำดับ ขณะที่ดำรับที่ไม่ได้ใส่จุลินทรีย์วัดปริมาณฟอสฟอรัสเฉลี่ยสูงสุดได้ 5.23 ppm ที่เวลา 2 วัน

เมื่อนำเชื้อรามาทดสอบในต้นข้าวโพด จากการเปรียบเทียบระหว่างการใช้เชื้อราร่วมกับปุ๋ยหินฟอสเฟต และปุ๋ยเคมีฟอสฟอรัส ในดินชุดโคราช พบว่า uptake P ในต้นข้าวโพดที่อายุ 20 วัน มีปริมาณใกล้เคียงกันในทุกตำรับการทดลอง ยกเว้นในตำรับการทดลองที่ได้รับปุ๋ยทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต 18 กก./ไร่ ได้ปริมาณ uptake P สูงสุด และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อเก็บเกี่ยวข้าวโพดที่อายุ 40 วัน กลับพบว่า การใช้เชื้อ Penicillium citrinum ร่วมกับหินฟอสเฟตอัตรา 200 กก./ไร่ สามารถทำให้ต้นข้าวโพดมีน้ำหนักแห้งและปริมาณ uptake P ไม่แตกต่างกับการใช้ปุ๋ยทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต 18 กก./ไร่ ขณะที่การใช้เชื้อ Aspergillus niger และ Aspergillus aculeatus ร่วมกับปุ๋ยหินฟอสเฟต และการใช้หินฟอสเฟตอย่างเดียวให้น้ำหนักแห้ง และปริมาณ uptake P ในต้นข้าวโพดต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

## ABSTRACT

Phosphate solubilizing fungi were isolated from soil near Khao E-toom phosphate deposit, Khanchanaburi. It was found that only three out of eighteen isolates were able to solubilize rock phosphate i.e. Aspergillus niger, Aspergillus aculeatus and Penicillium citrinum. The maximum solubilization in liquid culture by A.niger, A.aculeatus and P.citrinum were 304.02, 12.67 and 18.72 ppm, respectively, whereas only 5.23 ppm was detected in the control treatment.

The effect of these fungi in solubilization of rock phosphate was tested in pot experiment growing maize. The result indicated that uptake of P in maize stover at 20 days after germination was highest in treatment receiving 18 kg  $P_2O_5$ /rai as triplesuperphosphate, whereas at 40 days after germination uptake of P in treatments receiving P.citrinum together with 200 kg/rai rock phosphate were not significantly different from treatment receiving 18 kg  $P_2O_5$ /rai as triplesuperphosphate. In contrast, inoculation of A.niger and A.aculeatus together with rock phosphate or rock phosphate alone resulted in lower amount of P uptake.

## สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	(1)
สารบัญรูป	(2)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	7
ผลการทดลอง	11
วิจารณ์ผลการทดลอง	20
สรุปผลการทดลอง	22
เอกสารอ้างอิง	23
ภาคผนวก	25



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แหล่งหินฟอสเฟตที่สำคัญของประเทศไทย	4
2	จุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายสารประกอบฟอสเฟตและแหล่งของ สารประกอบฟอสเฟต	6
3	ปริมาณฟอสฟอรัสเฉลี่ยในสารละลายที่เวลา 0-20 วัน	14
4	ค่า pH เฉลี่ยในสารละลายที่เวลา 0-20 วัน	14
5	น้ำหนักรากแห้งและปริมาณ uptake P เฉลี่ยของข้าวโพดเก็บเกี่ยว ที่อายุ 20 วัน	17
6	น้ำหนักรากแห้งและปริมาณ uptake P เฉลี่ยของข้าวโพดเก็บเกี่ยว ที่อายุ 40 วัน	17
7	ปริมาณฟอสฟอรัสที่ละลายได้ในอาหารเหลวที่เวลา 0-20 วัน (แสดงผลแต่ละซ้ำ)	25
8	ค่า pH ที่วัดได้ในอาหารเหลวที่เวลา 0-20 วัน (แสดงผลแต่ละซ้ำ)	26
9	ผลการวิเคราะห์ดินข้าวโพดเก็บเกี่ยวเมื่ออายุ 20 วัน (แสดงผลแต่ละซ้ำ)	27
10	ผลการวิเคราะห์ดินข้าวโพดเก็บเกี่ยวเมื่ออายุ 40 วัน (แสดงผลแต่ละซ้ำ)	28
11	การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณฟอสฟอรัสในอาหารเหลว Pikovskaya	29
12	การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักรากแห้งข้าวโพดเก็บเกี่ยวที่อายุ 20 วัน	30
13	การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณ uptake P ในดินข้าวโพดเก็บเกี่ยว ที่อายุ 20 วัน	30
14	การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักรากแห้งข้าวโพดเก็บเกี่ยวที่อายุ 40 วัน	31
15	การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณ uptake P ในดินข้าวโพดเก็บเกี่ยว ที่อายุ 40 วัน	31
16	สูตรอาหารแยกเชื้อรา Martin's Rose Bengal Agar	32
17	สูตรอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์ Potato Dextrose Agar	32
18	สูตรอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์เพื่อทดสอบการเกิดไนโตรเจนใน Soil Extract Agar	33
19	สูตรอาหารเหลวเลี้ยงจุลินทรีย์เพื่อวัดการละลายหินฟอสเฟต Pikovskaya	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	ลักษณะ โชนัสที่เกิดขึ้นในอาหารทดสอบ Soil Extract Agar	11
2	แสดงลักษณะสีพื้นฐานของเชื้อราที่สามารถละลายหิมฟอสเฟตซึ่งแยกได้จากดินตัวอย่าง	12
3	แสดงเชื้อราที่เลี้ยงในอาหารทดสอบ Pikovskaya	13
4	แสดงปริมาณฟอสฟอรัสที่ละลายได้ในอาหารเหลว	15
5	กราฟเปรียบเทียบน้ำหนักต้นแห้งเฉลี่ยของข้าวโพดที่เก็บเกี่ยวเมื่ออายุ 20 วัน และ 40 วัน	18
6	กราฟเปรียบเทียบปริมาณ uptake P เฉลี่ยของข้าวโพดที่เก็บเกี่ยวเมื่ออายุ 20 วัน และ 40 วัน	19

## คำนำ

ประเทศไทย เป็นประเทศเกษตรกรรมมาแต่ดั้งเดิม จนถึงปัจจุบันการกสิกรรมในประเทศ ได้มีการศึกษาพัฒนาขึ้น เป็นลำดับ เพื่อเพิ่มคุณภาพและผลผลิตต่อพื้นที่ การใส่ปุ๋ยให้กับพืชเป็นวิธีหนึ่งที่สามารถเพิ่มผลผลิตพืชให้สูงขึ้นได้ และรู้จักใช้กันมานานแล้ว ปุ๋ยที่ใช้กันมากคือปุ๋ยเคมีธาตุอาหารหลัก ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม แต่ปุ๋ยเคมีดังกล่าวมีราคาแพง โดยเฉพาะปุ๋ยฟอสฟอรัสมีราคาแพงที่สุด จึงอาจเป็นข้อจำกัดในการใช้ปุ๋ยของเกษตรกร

สำหรับปุ๋ยฟอสฟอรัสนั้น ในธรรมชาติมีวัสดุชนิดหนึ่งที่สามารถใช้ใส่ลงในดินเป็นปุ๋ยฟอสฟอรัสให้กับพืชได้ วัสดุดังกล่าวคือ หินฟอสเฟต ซึ่งประเทศไทยมีแหล่งหินฟอสเฟตกระจายอยู่ในภาคต่าง ๆ ค่อนข้างมาก อีกทั้งหินฟอสเฟตยังมีราคาถูกและหาซื้อได้ง่าย หินฟอสเฟตมีธาตุฟอสฟอรัสประมาณ 20-40 %P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของหินฟอสเฟตนั้น แต่หินฟอสเฟตมีข้อเสียคือละลายน้ำให้ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชได้ช้ามาก แต่จะเพิ่มการละลายยิ่งขึ้นเมื่อใส่ลงในดินที่มีสภาพเป็นกรด ดังนั้น ส่วนใหญ่จึงใช้หินฟอสเฟตกับพื้นที่ที่เป็นดินกรดเท่านั้น นักวิชาการหลายท่านจึงพยายามที่จะเพิ่มประสิทธิภาพในการละลายของหินฟอสเฟต เพื่อให้สามารถใช้หินฟอสเฟตได้กว้างขวางยิ่งขึ้น วิธีการหนึ่งที่ศึกษากันอยู่คือการใช้จุลินทรีย์บางชนิดช่วยในการละลายของหินฟอสเฟต ซึ่งหากได้จุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการละลายหินฟอสเฟตให้กับพืช จะทำให้สามารถใช้หินฟอสเฟตแทนปุ๋ยเคมีฟอสฟอรัสได้ อันจะเป็นผลให้สามารถลดต้นทุนการผลิตให้ต่ำลง และสามารถลดการนำเข้าปุ๋ยเคมีฟอสฟอรัสจากต่างประเทศเป็นจำนวนเงินมหาศาล

การทดลองครั้งนี้ต้องการทดสอบประสิทธิภาพของ เชื้อราดิน ในแหล่งหินฟอสเฟต โดยคาดคะเนว่า เชื้อราดินในแหล่งหินฟอสเฟตน่าจะมีบางชนิดที่สามารถช่วยเพิ่มการละลายของหินฟอสเฟตได้ และศึกษาแนวโน้มในการนำเชื้อราดังกล่าวไปใช้ประโยชน์ดังที่กล่าวมาแล้ว

### วัตถุประสงค์

1. เพื่อทดสอบความสามารถในการเพิ่มการละลายของหินฟอสเฟต โดยเชื้อราดินในแหล่งหินฟอสเฟต
2. เพื่อศึกษาแนวโน้มที่จะนำเชื้อรามาใช้เพิ่มการละลายของหินฟอสเฟต โดยใส่ร่วมกับการปลูกพืชแทนการใช้ปุ๋ยเคมีฟอสฟอรัส



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### การตรวจเอกสาร

#### ฟอสฟอรัส (Phosphorus)

ธาตุฟอสฟอรัสมีความสำคัญในการสร้างการเจริญเติบโตทั้งในส่วนที่เป็นลำต้น ใบ ดอก ผล นอกจากนี้ยังมีหน้าที่ช่วยให้พืชมีเมล็ดมาก ทำให้มีเมล็ดสมบูรณ์ และยังทำให้ต้นพืชออกรากแผ่ขยายได้เพิ่มมากขึ้นอีกด้วย (สุนทร 2526) ธาตุฟอสฟอรัสที่พบในพืชเป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของกรด nucleic, phospholipids, coenzyme NAD และ NADP และที่สำคัญที่สุดเป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของ ATP และยังเป็นองค์ประกอบของสารอื่น ๆ อีกหลายชนิดในพืช (มนัส 2525)

ตามปกติธาตุฟอสฟอรัสมีการแพร่กระจายทั่วไปบนผิวโลก ทั้งในน้ำ บนดิน และหินแร่ ซึ่งจะมีอยู่มากน้อยเพียงใดก็แล้วแต่สภาพของสิ่งแวดล้อมในบริเวณนั้น ๆ เป็นสำคัญ ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดที่เป็นส่วนประกอบอยู่ในหินชั้นเปลือกโลกมีปริมาณราว 1,200 ppm และในดินอยู่ในช่วง 200-5,000 ppm หรือมีค่าเฉลี่ย 600 ppm (Lindsay, 1979) ขณะที่ปริมาณฟอสฟอรัสในสารละลายดินหรือในรูปที่พืชสามารถดูดไปใช้ได้พบน้อยมาก คือโดยเฉลี่ยแล้วมีปริมาณต่ำกว่า 4 ppm โดยทั่วไปแล้วพืชจะดูดใช้ฟอสฟอรัสได้มากเมื่อมีฟอสฟอรัสในสารละลายดินระหว่าง 20-40 ppm (ปรีดา 2532)

#### หินฟอสเฟต (Phosphate rock)

หินฟอสเฟต หมายถึง หินที่มีแคลเซียมฟอสเฟต  $[Ca_3(PO_4)_2]$  เป็นส่วนประกอบที่สำคัญซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในรูปของแร่อะพาไทต์ (Apatite) หินฟอสเฟตส่วนใหญ่จะมีธาตุอื่นสะสมอยู่ด้วย จึงทำให้มีคุณสมบัติแตกต่างกันไป บางชนิดละลายน้ำได้ดี บางชนิดละลายน้ำได้ยาก

แร่อะพาไทต์มีอยู่ 5 ชนิด ได้แก่

1. Carbonate apatite  $(Ca_3(PO_4)_2)_3 \cdot CaCO_3$
2. Fluorapatite  $(Ca_3(PO_4)_2)_3 \cdot CaF_2$
3. Chloroapatite  $(Ca_3(PO_4)_2)_3 \cdot CaCl_2$
4. Hydroxy apatite  $(Ca_3(PO_4)_2)_3 \cdot Ca(OH)_2$
5. Sulfateapatite  $(Ca_3(PO_4)_2)_3 \cdot CaSO_4$

หินฟอสเฟตนี้ ในทางอุตสาหกรรมนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตปุ๋ยฟอสเฟต กรดฟอสฟอริก และธาตุฟอสฟอรัส (ยงยุทธ 2528) สำหรับในประเทศไทย กรมทรัพยากรธรณีค้นพบแหล่งแร่หินฟอสเฟตกระจายอยู่ในจังหวัดต่าง ๆ ทั่วประเทศ แต่ส่วนใหญ่ไม่สามารถนำมาทำปุ๋ยเคมีในชั้นอุตสาหกรรมหลักได้ เพราะปริมาณที่พบค่อนข้างน้อย ส่วนใหญ่จะนำมาบดให้ละเอียดและใช้

เป็นปุ๋ยกับพืชโดยตรง (ประดิษฐ์ 2527) สำหรับแหล่งหินฟอสเฟตที่สำคัญในประเทศไทย ได้แสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แหล่งหินฟอสเฟตที่สำคัญของประเทศไทย (สุทธรม 2521)

ที่ตั้งแหล่งแร่	ปริมาณแร่สำรอง (เมตริกตัน)	% P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
บ้านโคกสูง อ.เมือง จ.ร้อยเอ็ด	125,000	10-20
บ้านนาภาณุจัน อ.เมือง จ.กาญจนบุรี	100,000	30-40
บ้านเหล่าขาม อ.เมือง จ.ร้อยเอ็ด	80,000	10-20
เขาเป็ง อ.ท่าม่วง จ.กาญจนบุรี	50,000	25-30
บ้านสมเมย อ.แม่ทา จ.ลำพูน	50,000	30-38
เขาชะงอก อ.ชนแดน จ.เพชรบูรณ์	10,000	10-30
เขาพิภพ อ.เมือง จ.ราชบุรี	40,000	10-40

เนื่องจากหินฟอสเฟตมีคุณสมบัติละลายน้ำได้ยาก จะเห็นในการนำหินฟอสเฟตมาใช้เป็นปุ๋ยจึงจำเป็นต้องหาวิธีการเปลี่ยนแปลงหินฟอสเฟตเหล่านี้ เพื่อให้พืชดูดธาตุฟอสฟอรัสไปใช้ประโยชน์ได้มากที่สุด สำหรับแนวทางที่จะทำให้หินฟอสเฟตเป็นประโยชน์มากขึ้นอาจทำได้โดยการทำปฏิกิริยากับกรด การทำให้แตกสลายด้วยความร้อน และการใช้จุลินทรีย์บางชนิดช่วยละลายหินฟอสเฟต (Barea et al., 1975 อ้างถึง สุนทร 2528)

#### การละลายของอนินทรีย์ฟอสฟอรัสโดยจุลินทรีย์ (Solubilizing of Inorganic Phosphorus by Microorganisms)

ฟอสฟอรัสในดินส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปอนินทรีย์ฟอสฟอรัสและอนินทรีย์ฟอสฟอรัส ซึ่งไม่ละลายน้ำและไม่เป็นประโยชน์ต่อพืชในทันที จุลินทรีย์มีบทบาทสำคัญในการปลดปล่อยฟอสฟอรัสออกมาในรูปที่เป็นประโยชน์ (Naplekova, 1967)

จุลินทรีย์ในดินที่สามารถละลายอนินทรีย์ฟอสฟอรัสให้อยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้ หรือรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืชมีอยู่ประมาณ 1/10 - 1/5 ของจุลินทรีย์ทั้งหมด ตัวอย่างเช่นจุลินทรีย์ใน genus Pseudomonas, Mycobacterium, Micrococcus, Bacillus, Flavobacterium,

Penicillium, Sclerotium, Fusarium, Aspergillus โดยจุลินทรีย์เหล่านี้ไม่เพียงละลายฟอสฟอรัสออกมาให้เพียงพอกับความต้องการของเซลล์เท่านั้น แต่ยังสามารถปลดปล่อยฟอสฟอรัสส่วนเกินให้เป็นประโยชน์ต่อพืชอีกด้วย (Alexander, 1977)

แบคทีเรียและเชื้อราหลายชนิดในดิน โดยเฉพาะแบคทีเรียใน genus Pseudomonas Bacillus และเชื้อราใน genus Penicillium และ Aspergillus มีความสามารถในการละลายสารประกอบฟอสเฟตจากรูปที่ไม่เป็นประโยชน์มาอยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืชโดยการผลิตรกรดอินทรีย์ต่าง ๆ เช่น กรด formic, acetic, propanic, glycolic, furmric, lactic และ succinic (สุมิตรา 2532)

ศุภมาศ (2529) ได้ให้ข้อสรุปวิธีการละลายของอินทรีย์ฟอสฟอรัสโดยจุลินทรีย์ ดังนี้

- 1) จุลินทรีย์สร้างกรดอินทรีย์ เช่น lactic, glycolic, oxalic, gluconic, citric acid เป็นต้น
- 2) จุลินทรีย์หลายชนิดสามารถออกซิไดซ์ ammonium, sulfur เป็นต้น ไปเป็นกรดไนตริกหรือกรดซัลฟูริก ก็จะสามารถปลดปล่อย orthophosphate ions จากหินฟอสเฟตได้
- 3) การหายใจของจุลินทรีย์จะได้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (จะพบว่าความเข้มข้นของแก๊สในดินจะมากกว่าในบรรยากาศทั่วไป) ซึ่งเมื่อละลายน้ำจะได้  $H_2CO_3$  ซึ่งมีสภาพเป็นกรดอ่อนและจะเพิ่มการละลายได้ของหินฟอสเฟต
- 4) จุลินทรีย์บางชนิดสามารถปลดปล่อย  $H_2S$  ซึ่งทำปฏิกิริยากับ ferric phosphate ได้ ferrous sulfide ทำให้ฟอสเฟตถูกปลดปล่อยออกมาได้ ในกรณี aluminum phosphate ก็สามารถอธิบายได้เช่นเดียวกัน

Khan and Bhatnagar (1979) รายงานว่า จุลินทรีย์ที่ละลายหินฟอสเฟตได้ดีจะพบมากในบริเวณรากพืช โดยได้ทำการทดลองพบว่า เชื้อรา Aspergillus niger ที่แยกจากดินในเขตรากข้าวโพดมีประสิทธิภาพในการละลายหินฟอสเฟตมากที่สุด โดยวัดปริมาณฟอสฟอรัสในอาหารเหลวทดสอบ (ใช้หินฟอสเฟต 1 กรัม/อาหารเหลว 100 มล.) ได้ 297 ppm ที่เวลา 7 วัน และ 225 ppm ที่เวลา 21 วัน

Naplekova (1967) ได้ทำการทดลองพบว่าเชื้อราใน genus Fusarium, Chaetomium, Stachybotrys, Rhizopus และ Cephalosporium สามารถปลดปล่อยฟอสฟอรัสจากหินฟอสเฟตในอัตรา 5.0-8.7 % ของปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด ขณะที่เชื้อราจะตรึงฟอสฟอรัสไว้ในเซลล์ประมาณ 47-73 % ของส่วนที่ละลายออกมา

พงษ์เทพและคณะ (2531) ได้ทำการศึกษาการละลายของหินฟอสเฟตโดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ พบว่า Aspergillus sp. No.1 มีประสิทธิภาพสูงสุด โดยการทดสอบในอาหารเหลววัดปริมาณฟอสฟอรัสในสารละลายได้ 140 ppm ที่เวลา 14 วัน

ตารางที่ 2 จุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายสารประกอบฟอสเฟตและแหล่งของสารประกอบฟอสเฟต  
(Subba Rao, 1982)

ชนิดจุลินทรีย์	แหล่งของสารประกอบฟอสเฟต
<b>Bacteria</b>	
Bacillus sp. B.pluivfaciens, B.megaterium, B.circulans, B.substilis, B.mycoides, B.mesentericus, B.fluorescence, B.circulans Pseudomonas sp. P.putida, P.liquifaciens, P.calcis, P.rathonia Eschirichia freundii, E.intermedia Xanthomonas spp. Flavobacterium spp. Brevicacterium spp. Serratia spp. Alcaligenes spp. Achromobacter spp. Aerobacter aerogenes Erwinia spp. Nitrosomonas spp. Thiobacillus thiooxidans	Mineral Tricalcium phosphate Calcium phosphate Iron phosphate Hydroxyapatite Fluorapatite Rock phosphate  Organic Calcium phosphate Calcium glycerophosphate Phytin Lecithin Hexose monophosphatic Ester Phenyl phosphate  other organic phosphate
<b>Fungi</b>	
Aspergillus sp. A.niger, A.flavus A.fumigatus, A.terreus, A.awamori Penicillium sp. P.lilacinum, P.digitatum Fusarium sp. F.cxyssporum Curvularia lunata Humicola sp. Sclerotium rolfsii Phythium sp. Acrothecium sp. Phoma sp. Mortierella sp. Paecilomyces sp. Cladosporium sp. Rhizoctonia sp. Cunninghamella sp. Rhodotorula sp. Candida sp. Schwanniomycetes occidentalis Oideodendron sp. Pseudogymnoascus sp.	
<b>Actinomycetes</b>	
Streptomyces sp.	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

วิธีการทดลองประกอบด้วย การเก็บตัวอย่างดินจากแหล่งหินฟอสเฟต เพื่อนำมาแยกเชื้อราในห้องปฏิบัติการ หลังจากนั้นจึงทดสอบจัดลำดับความสามารถในการละลายหินฟอสเฟตของเชื้อราดังกล่าว และท้ายที่สุดเป็นการทดลองใช้เชื้อราร่วมกับหินฟอสเฟตแทนการใช้ปุ๋ยฟอสฟอรัสให้กับพืช เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อรา

### 1. การแยกเชื้อราจากดินที่เก็บจากแหล่งหินฟอสเฟต

#### อุปกรณ์

- หลอดเจาะดิน
- อาหารเลี้ยงเชื้อ Rose Bengal Agar
- อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA)

#### วิธีปฏิบัติ

ทำการเก็บตัวอย่างดินจากแหล่งหินฟอสเฟต เขาอีตุ้ม ต.บ้านนากาญจน์ อ.เมือง จ.กาญจนบุรี โดยใช้หลอดเจาะดินเจาะเก็บตัวอย่างดินในบริเวณที่มีพืชเจริญเติบโต ที่ระดับความลึก 0-40 ซม. จำนวน 15 จุด นำตัวอย่างดินทั้ง 15 จุดมาคลุกเคล้ารวมกันเป็นตัวอย่างเดียว เก็บตัวอย่างดินใส่ถุงพลาสติกปิดให้มิดชิด

นำตัวอย่างดินที่ได้มาแยกเชื้อราในห้องปฏิบัติการปฐพีวิทยา ด้วยวิธี soil plate ร่วมกับอาหารเลี้ยงเชื้อรา Rose Bengal Agar ทำเช่นนี้จำนวน 10 plates ตรวจสอบเชื้อที่เจริญขึ้นมาใหม่ทุก 24 ชั่วโมง แยกเก็บไว้ในอาหาร Potato Dextrose Agar

### 2. ทดสอบความสามารถในการการละลายหินฟอสเฟต โดยเชื้อราที่แยกได้ในห้องปฏิบัติการ

#### อุปกรณ์และสารเคมี

- อาหารเลี้ยงจุลินทรีย์ Potato Dextrose Broth
- อาหารเลี้ยงจุลินทรีย์ทดสอบการละลายหินฟอสเฟต Soil Extract Agar
- อาหารเลี้ยงจุลินทรีย์ทดสอบการละลายหินฟอสเฟต Pikovskaya
- กล้องจุลทรรศน์
- Haemocytometer
- เครื่องเขย่าแบบแกว่ง (orbital shaker)
- สารเคมีเทียบสีเพื่อวัดปริมาณฟอสฟอรัส molybdate-vanadate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และสารเคมี (ต่อ)

- Spectrophotometer
- pH meter

วิธีปฏิบัติ

ก. ทดสอบในอาหารแข็ง

ย้ายจุลินทรีย์ที่บริสุทธิ์จากชั้นที่ 1 ลงบนอาหารทดสอบ Soil Extract Agar จำนวน isolate ละ 2 plates บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน ตรวจสอบว่าเชื้อใดสามารถทำให้เกิดโซนในอาหารทดสอบ

ข. ทดสอบในอาหารเหลว

ย้ายเชื้อรา isolate ที่สามารถทำให้เกิดโซนในสไลงเลี้ยงเพิ่มจำนวนในอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์ Potato Dextrose Broth นำไปตั้งบนเครื่องเขย่า

การทดสอบขั้นนี้ประกอบด้วย

- ดำรับการทดลองที่ไม่ใส่จุลินทรีย์
- ดำรับการทดลองที่ใส่จุลินทรีย์ที่สามารถทำให้เกิดโซนในสไลง

ซึ่งวางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) แต่ละตำรับมี 5 ซ้ำ โดยใช้อาหารเหลว Pikovskaya ใส่จุลินทรีย์แต่ละชนิดให้มีปริมาณสปอร์  $6 \times 10^8$  สปอร์ ต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 300 มล. นำไปตั้งบนเครื่องเขย่า

บันทึกผลค่า pH และปริมาณฟอสฟอรัสในสารละลายภายหลังจากใส่เชื้อ 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 วัน โดยดูดสารละลายตัวอย่างมา 10 มล. กรองเพื่อแยกสารละลายออกจากตะกอนด้วยกระดาษกรอง Whatman No.42 ถ้าพบว่ามีสารละลายมีสีเนื่องมาจากการสร้าง pigment ของเชื้อรา เติม activated carbon ประมาณ 1 กรัม เขย่าแล้วนำมากรองอีก ทำซ้ำจนกว่าจะได้สารละลายใส นำสารละลายที่ได้มาวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่างด้วย pH meter แล้วนำสารละลายมาวัดปริมาณฟอสฟอรัสโดยการทำให้เกิดสีเหลืองด้วยสารประกอบ molybdate-vanadate และวัดความเข้มข้นของสีด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 nm.

3. การทดสอบความสามารถในการละลายหินฟอสเฟต โดยเชื้อราที่แยกได้ เมื่อทดสอบร่วมกับการปลูกพืช

อุปกรณ์และสารเคมี

- กระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 นิ้ว
- ดินชุดโคราช จากพื้นที่ว่างเปล่า อ.ห้วยทับทัน จ.ศรีสะเกษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และสารเคมี (ต่อ)

- filler ชนิดเดียวกับที่ใช้รักษาเชื้อ Rhizobium ของกรมวิชาการเกษตร
- ปุ๋ยยูเรีย
- ปุ๋ยทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต
- ปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์
- หินฟอสเฟตขนาด 100 mesh
- เมล็ดข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ 2
- เชื้อราที่สามารถละลายหินฟอสเฟต
- ตู้อบ Hot-air oven
- เครื่องบดตัวอย่างพืช
- Kjeldahl flask
- เตาให้ความร้อนใช้กับ Kjeldahl flask
- กรดผสม conc.  $\text{HNO}_3 : \text{H}_2\text{SO}_4 : \text{HClO}_4 = 5:1:2$
- สารเคมีเทียบสีฟอสฟอรัส molybdate-vanadate

วิธีปฏิบัติ

สถานที่ทำการทดลอง ใช้พื้นที่ดาดฟ้าชั้น 5 ตึกคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โดยแยกเป็นตำรับการทดลองได้ดังนี้คือ

- ตำรับการทดลองที่ 1 ใส่หินฟอสเฟตอัตรา 200 กก./ไร่ (PR)
- ตำรับการทดลองที่ 2 ใส่ปุ๋ยทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟตอัตรา 9 กก. $\text{P}_2\text{O}_5$  /ไร่ ( $\text{P}_9$ )
- ตำรับการทดลองที่ 3 ใส่ปุ๋ยทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟตอัตรา 18 กก. $\text{P}_2\text{O}_5$  /ไร่ ( $\text{P}_{18}$ )
- ตำรับการทดลองที่ 4 ใส่หินฟอสเฟตอัตรา 200 กก./ไร่ และเชื้อ Aspergillus niger ให้มีจำนวนสปอร์  $10^5$  สปอร์/ดิน 1 กรัม ( $\text{PR}_{An}$ )
- ตำรับการทดลองที่ 5 ใส่หินฟอสเฟตอัตรา 200 กก./ไร่ และเชื้อ Aspergillus aculeatus ให้มีจำนวนสปอร์  $10^5$  สปอร์/ดิน 1 กรัม ( $\text{PR}_{Aa}$ )
- ตำรับการทดลองที่ 6 ใส่หินฟอสเฟตอัตรา 200 กก./ไร่ และเชื้อ Penicillium citrinum ให้มีจำนวนสปอร์  $10^5$  สปอร์/ดิน 1 กรัม ( $\text{PR}_{Pc}$ )

ทุกตำรับการทดลอง ได้รับปุ๋ยยูเรียอัตรา 24 กก.N/ไร่ ปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์อัตรา 10 กก. $\text{K}_2\text{O}$ /ไร่ filler 5 กรัม และใส่ดินกระถางละ 5 กก.

ดินชุดโคราชที่ใช้ในการทดลองมีเนื้อดินแบบ silty clay ค่า pH (ดิน:น้ำ = 1:1)  
5.58 ความจุในการแลกเปลี่ยนประจุบวก (CEC) < 1 meq/ดิน 100 กรัม ปริมาณอินทรีย์  
คาร์บอน (organic C) 0.64 % และมีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 32.0 ppm (สกัด  
โดยวิธี Bray II)

หินฟอสเฟตที่ใช้ในการทดลองมีปริมาณฟอสฟอรัสที่ละลายได้ในน้ำ 0.00 % ละลายได้  
ใน 1 N ammonium citrate 3.54 %P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> มีปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด 21.12 %P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>

การทดลองนี้วางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) แต่  
ละตัวรับทำการทดลอง 5 ซ้ำ ในแต่ละกระถางปลูกข้าวโพดให้มีข้าวโพดเจริญเติบโตกระถางละ  
2 ต้น เพื่อเก็บเกี่ยวเมื่ออายุ 20 วัน และ 40 วัน

การบันทึกผลในการเก็บเกี่ยวแต่ละครั้ง เก็บเกี่ยวลำต้นส่วนเหนือดินโดยตัดสูงจากพื้นดิน  
2 เซนติเมตร หลังจากทำความสะอาดแล้วนำไปใส่ถุงกระดาษ นำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศา  
เซลเซียส จนตัวอย่างแห้ง แล้วบันทึกผลน้ำหนักแห้ง

การวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสทำโดยการ นำตัวอย่างที่บดแล้วมาย่อยสลายด้วยวิธี  
wet oxidation โดยใช้ conc.HNO<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-HClO<sub>4</sub> จากนั้นนำสารละลายที่ได้มาวิเคราะห์  
ปริมาณฟอสฟอรัสโดยวิธี Molybdate yellow color แล้วนำมาคำนวณหาปริมาณ uptake P

ผลการทดลอง

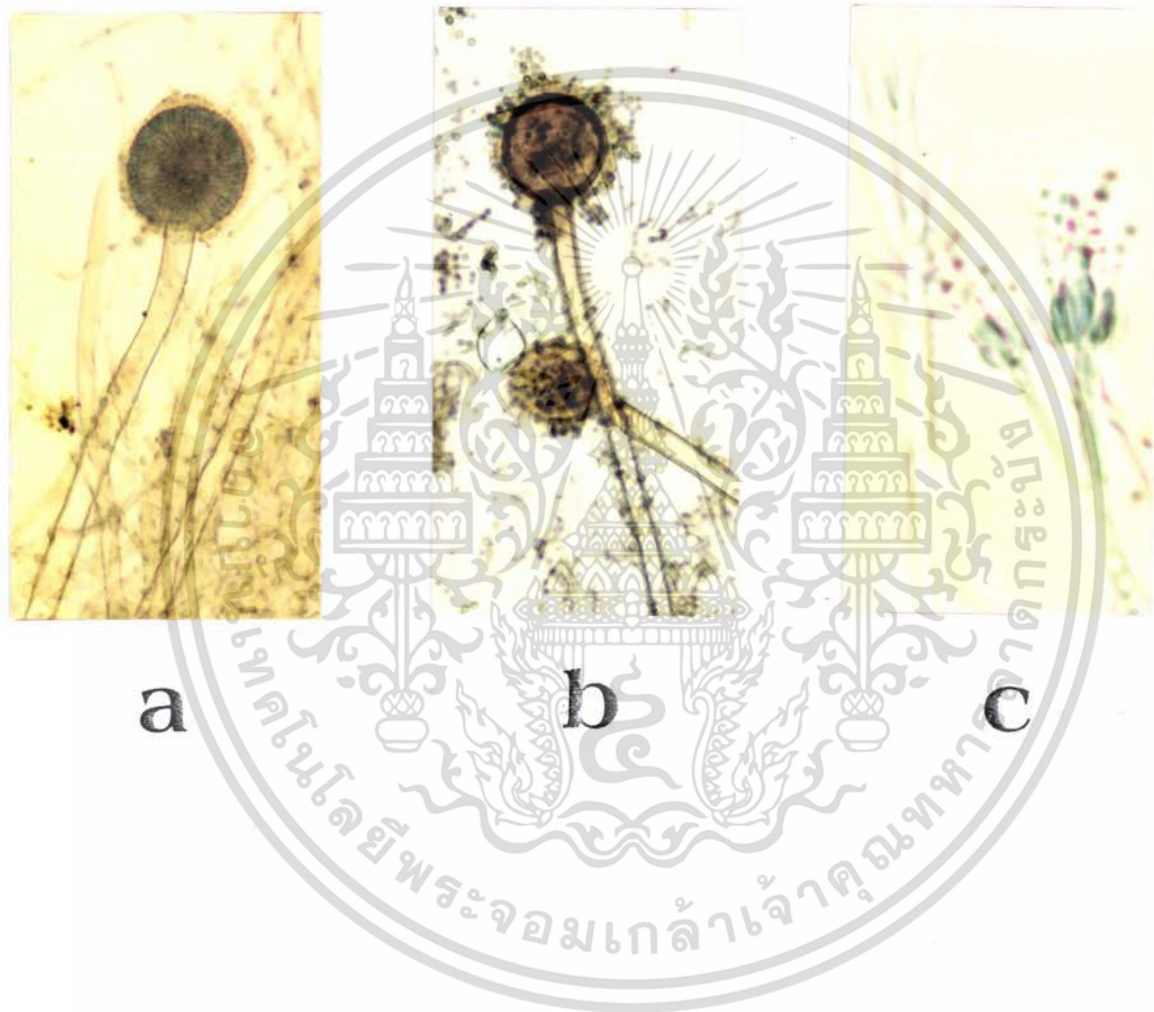
1) ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์

การแยกเชื้อราจากดินโดยวิธี soil plate ร่วมกับอาหารเลี้ยงเชื้อรา Rose Bengal Agar ปรากฏว่ามีเชื้อราสามารถเจริญเติบโตได้จำนวน 18 isolates เมื่อนำเชื้อราเหล่านี้มาเลี้ยงทดสอบในอาหาร Soil Extract Agar เพื่อตรวจสอบการเกิดไซนัส (รูปที่ 1) พบว่ามีเชื้อราเพียง 3 isolates เท่านั้นที่สามารถทำให้เกิดไซนัสในอาหารนี้ได้ จากการจำแนกเชื้อราตามวิธีของ Raper et al. (1965) และ Raper et al. (1949) พบว่าเชื้อราดังกล่าวคือ Aspergillus niger, Aspergillus aculeatus และ Penicillium citrinum (รูปที่ 2) โดยเชื้อราที่เลี้ยงในอาหาร Soil Extract Agar นี้มีอัตราการเจริญเติบโตช้ามาก



รูปที่ 1 ลักษณะไซนัสที่เกิดขึ้นในอาหารทดสอบ Soil Extract Agar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



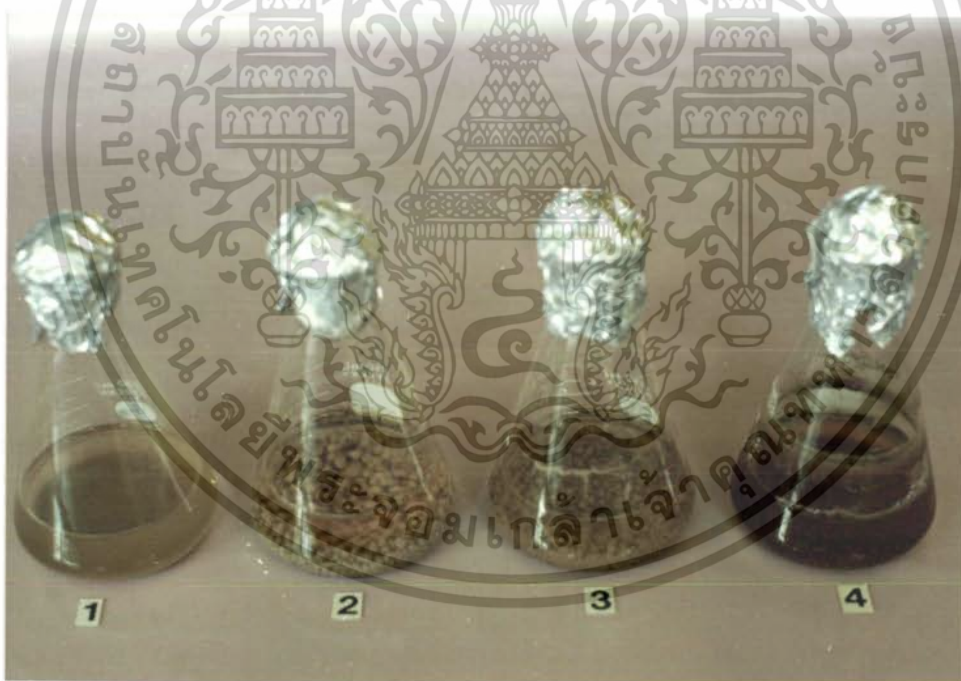
รูปที่ 2 แสดงลักษณะสัณฐานของเชื้อราที่สามารถละลายโพลีเอสเตอร์ ซึ่งแยกได้จากดินตัวอย่าง

- a) Aspergillus niger ภาพขยาย 100 เท่า
- b) Aspergillus aculeatus ภาพขยาย 100 เท่า
- c) Penicillium citrinum ภาพขยาย 400 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2) ปริมาณฟอสฟอรัสที่ละลายได้

เมื่อนำเชื้อทั้ง 3 ชนิดนี้มาทดสอบในอาหารเหลว Pikovskaya พบว่า หลังจากใส่เชื้อ ราลงไปในอาหารเหลวได้ 24 ชั่วโมง เส้นใยเชื้อจะมีการเจริญก่อหุ้มอนุภาคหินฟอสเฟตไว้ทั้งหมด (รูปที่ 3) และจากการวัดปริมาณฟอสฟอรัสที่ละลายได้ในอาหารเหลวทุก 2 วัน ปรากฏว่า ตัวรับการทดลองที่ใส่เชื้อ *A.niger* ให้ค่าปริมาณฟอสฟอรัสเฉลี่ยสูงสุด 304.02 ppm ที่เวลา 8 วัน ส่วนตัวรับการทดลองที่ใส่เชื้อ *A.aculeatus* ให้ค่าปริมาณฟอสฟอรัสเฉลี่ยสูงสุด 12.67 ppm ที่เวลา 6 วัน และตัวรับการทดลองที่ใส่เชื้อ *P.citrinum* ให้ค่าปริมาณฟอสฟอรัสเฉลี่ยสูงสุด 18.72 ppm ที่เวลา 2 วัน ขณะที่ตัวรับที่ไม่ได้ใส่จุลินทรีย์ ให้ค่าปริมาณฟอสฟอรัสเฉลี่ยสูงสุด 5.23 ppm ที่เวลา 2 วัน (ตารางที่ 3 และรูปที่ 4) ซึ่งค่าปริมาณการละลายของฟอสฟอรัสนี้ไม่มีความสัมพันธ์โดยตรงกับค่า pH ในสารละลาย ทั้งนี้เพราะค่า pH จะลดลงในช่วง 2 วันแรก หลังจากนั้นค่า pH จะสูงขึ้นจนถึงระดับหนึ่ง ต่อจากนั้นค่า pH ส่วนใหญ่จะค่อนข้างคงที่ อาจเพิ่มหรือลดลงบ้าง โยบางตัวรับการทดลอง แต่ไม่มีแนวโน้มที่ชัดเจน (ตารางที่ 4)



รูปที่ 3 แสดงเชื้อราที่เลี้ยงในอาหารทดสอบ Pikovskaya

- 1) ตัวรับที่ไม่มีการใส่เชื้อจุลินทรีย์
- 2) ตัวรับที่ใส่เชื้อ *Aspergillus niger*
- 3) ตัวรับที่ใส่เชื้อ *Aspergillus aculeatus*
- 4) ตัวรับที่ใส่เชื้อ *Penicillium citrinum*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 ปริมาณฟอสฟอรัสเฉลี่ยในอาหารเหลวที่เวลา 0-20 วัน

ตำรับการทดลอง	ปริมาณฟอสฟอรัสเฉลี่ยในอาหารเหลว (ppm) ที่เวลา.....วัน										
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
ไม่ใส่จุลินทรีย์	2.66	5.23*	2.63	3.40	3.24	3.07	2.35	2.93	2.00	4.47	2.88
ใส่เชื้อ <u>A.niger</u>	2.67	235.35	185.20	165.88	304.02*	231.64	226.54	241.98	227.39	280.53	284.50
ใส่เชื้อ <u>A.aculeatus</u>	2.55	6.16	6.20	12.67*	10.41	3.11	3.50	3.52	2.84	5.77	6.10
ใส่เชื้อ <u>P.citrinum</u>	2.60	18.72*	3.75	7.63	5.36	2.83	2.55	2.51	2.19	4.65	6.70

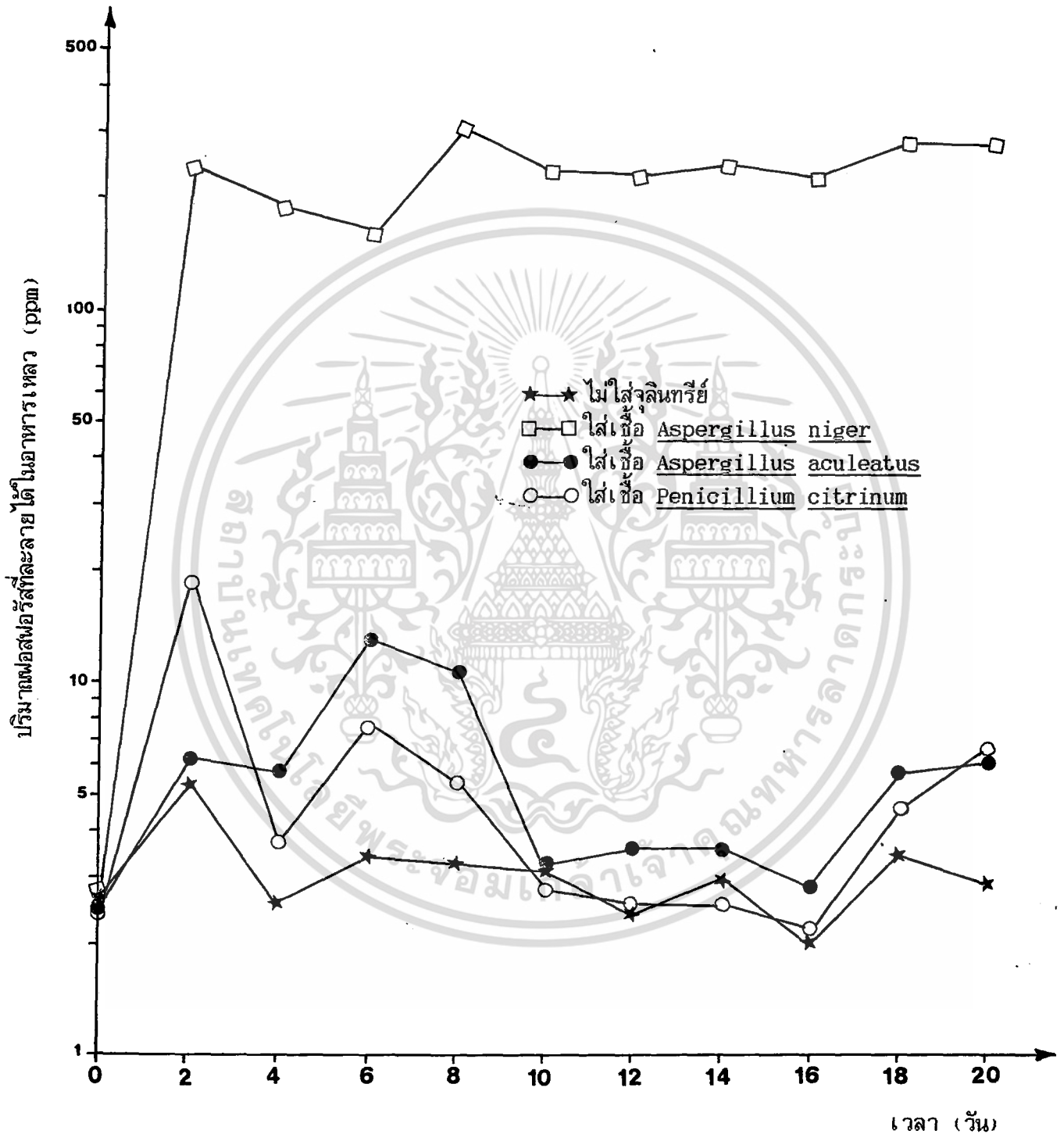
\* หมายถึง ปริมาณฟอสฟอรัสเฉลี่ยสูงสุดในแต่ละตำรับการทดลอง

ตารางที่ 4 ค่า pH เฉลี่ยในอาหารเหลวที่เวลา 0-20 วัน

ตำรับการทดลอง	ค่า pH เฉลี่ยในอาหารเหลว ที่เวลา.....วัน										
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
ไม่ใส่จุลินทรีย์	6.13	6.10*	6.23	5.66	6.81	5.81	5.77	5.83	6.05	4.84	5.78
ใส่เชื้อ <u>A.niger</u>	5.77	4.20	5.25	5.91	5.29*	5.52	5.94	6.25	5.85	5.60	5.76
ใส่เชื้อ <u>A.aculeatus</u>	6.04	5.38	5.57	5.98*	6.65	6.69	6.38	6.63	7.01	5.71	6.75
ใส่เชื้อ <u>P.citrinum</u>	5.91	4.25*	5.49	6.84	7.12	7.09	6.71	6.57	7.25	6.41	7.10

\* หมายถึง วันที่สามารถวัดปริมาณฟอสฟอรัสเฉลี่ยสูงสุดในแต่ละตำรับการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4 ปริมาณฟอสฟอรัสที่ละลายได้ในอาหารเหลว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3) อิทธิพลของการใช้หินฟอสเฟตร่วมกับเชื้อราต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพด

อิทธิพลของปุ๋ยฟอสฟอรัสอัตราต่าง ๆ และการใช้จุลินทรีย์ร่วมกับหินฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพดที่อายุ 20 วัน ปรากฏว่าดำรับการทดลอง  $P_{18}$  มีน้ำหนักต้นแห้งเฉลี่ย 6.25 กรัมต่อต้น ซึ่งสูงกว่าน้ำหนักต้นแห้งเฉลี่ยในดำรับการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 5) ขณะที่ในดำรับการทดลองอื่นนั้นได้แก่  $PR_{An}$ ,  $P_9$ ,  $PR$ ,  $PR_{Aa}$  และ  $PR_{Pc}$  มีน้ำหนักต้นแห้งเฉลี่ย 3.88, 3.20, 3.15, 3.03 และ 2.85 กรัมต่อต้นตามลำดับ ซึ่งค่าที่ได้นี้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ในส่วนของปริมาณ uptake P เมื่อเก็บเกี่ยว (ตารางที่ 5) ให้ค่าสอดคล้องกับน้ำหนักแห้ง คือ มีเพียงดำรับการทดลอง  $P_{18}$  ที่มีปริมาณ uptake P สูงกว่าดำรับการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีปริมาณ uptake P เฉลี่ย 11.05 มิลลิกรัมต่อต้น ขณะที่ในดำรับการทดลองอื่นที่มีปริมาณ uptake P ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยในดำรับการทดลอง  $P_9$ ,  $PR_{An}$ ,  $PR$ ,  $PR_{Aa}$  และ  $PR_{Pc}$  มีปริมาณ uptake P เฉลี่ย 5.98, 5.93, 5.70, 5.01 และ 4.09 มิลลิกรัมต่อต้นตามลำดับ

สำหรับอิทธิพลของปุ๋ยฟอสฟอรัสอัตราต่าง ๆ และการใช้จุลินทรีย์ร่วมกับหินฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพดที่อายุ 40 วัน พบว่า น้ำหนักต้นแห้งของข้าวโพดเมื่อเก็บเกี่ยว (ตารางที่ 6) ในดำรับการทดลอง  $P_{18}$  และ  $PR_{Pc}$  มีน้ำหนักต้นแห้งเฉลี่ยสูงกว่าน้ำหนักต้นแห้งเฉลี่ยในดำรับการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ดำรับการทดลอง  $P_{18}$  และ  $PR_{Pc}$  ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยในแต่ละดำรับการทดลอง  $P_{18}$ ,  $PR_{Pc}$ ,  $P_9$ ,  $PR_{An}$ ,  $PR$  และ  $PR_{Aa}$  มีน้ำหนักต้นแห้งเฉลี่ยตามลำดับดังนี้ 12.53, 12.06, 9.45, 9.01, 7.95 และ 7.03 กรัมต่อต้น ส่วนปริมาณ uptake P (ตารางที่ 6) ในดำรับการทดลอง  $P_{18}$ ,  $PR_{Pc}$ ,  $P_9$ ,  $PR_{An}$ ,  $PR$  และ  $PR_{Aa}$  มีปริมาณ uptake P เฉลี่ย 23.27, 22.99, 19.57, 17.35, 16.57 และ 14.73 มิลลิกรัมต่อต้นตามลำดับ โดยที่ปริมาณ uptake P ในดำรับการทดลอง  $P_{18}$  และ  $PR_{Pc}$  มีค่าสูงกว่าปริมาณ uptake P ในดำรับการทดลอง  $PR_{An}$ ,  $PR$  และ  $PR_{Aa}$  อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่ปริมาณ uptake P ในดำรับการทดลอง  $P_9$  เมื่อเทียบกับปริมาณ uptake P ในดำรับการทดลองใด ๆ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ดำรับการทดลอง PR	ใส่หินฟอสเฟต 200 กก./ไร่
ดำรับการทดลอง $P_9$	ใส่ปุ๋ยทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต 9 กก. $P_2O_5$ /ไร่
ดำรับการทดลอง $P_{18}$	ใส่ปุ๋ยทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต 18 กก. $P_2O_5$ /ไร่
ดำรับการทดลอง $PR_{An}$	ใส่หินฟอสเฟต 200 กก./ไร่ + เชื้อ <u>A.niger</u>
ดำรับการทดลอง $PR_{Aa}$	ใส่หินฟอสเฟต 200 กก./ไร่ + เชื้อ <u>A.aculeatus</u>
ดำรับการทดลอง $PR_{Pc}$	ใส่หินฟอสเฟต 200 กก./ไร่ + เชื้อ <u>P.citrinum</u>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

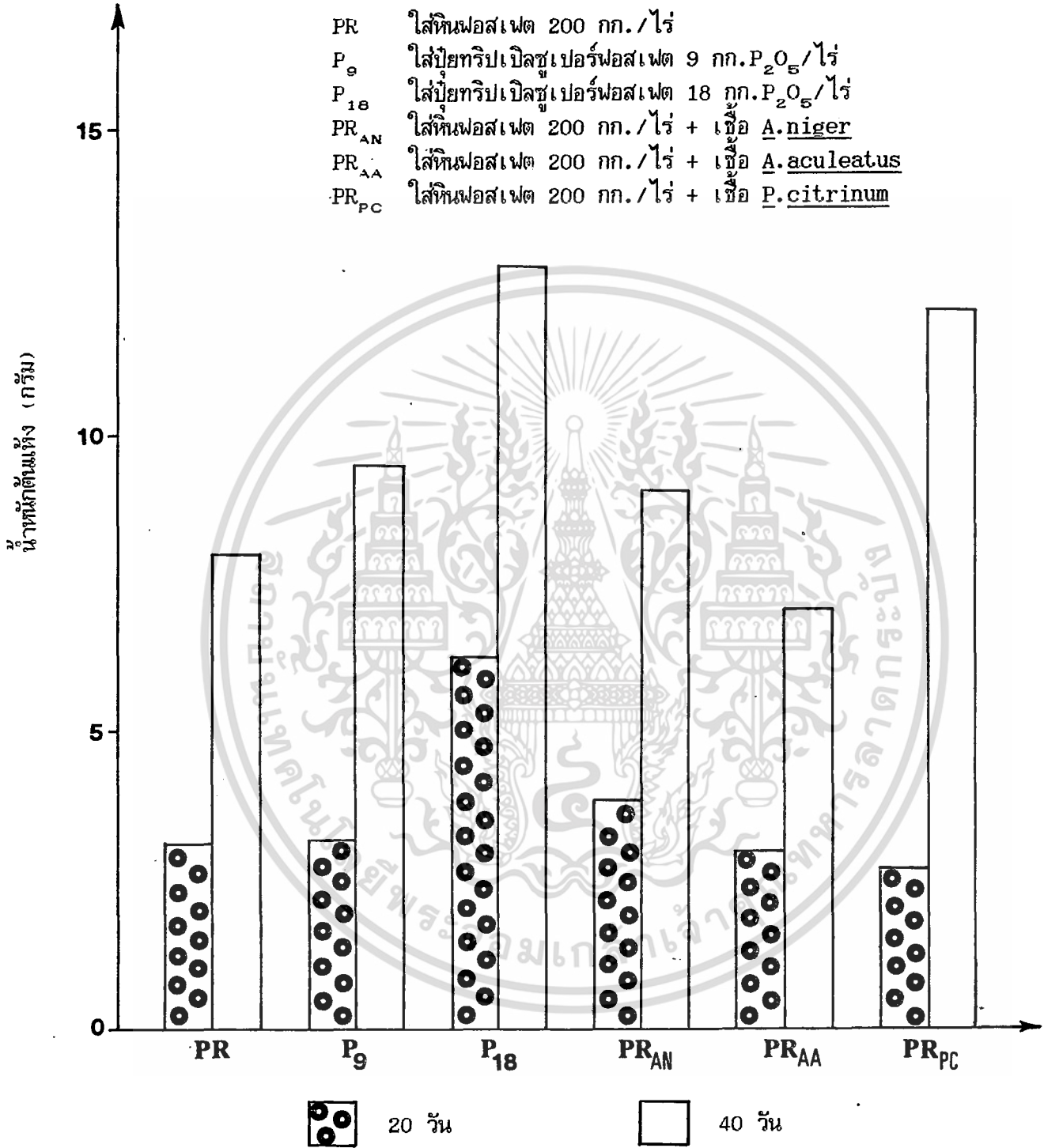
ตารางที่ 5 น้ำหนักต้นแห้งและปริมาณ uptake P เจลลี่ของข้าวโพดเก็บเกี่ยวที่อายุ 20 วัน

ตัวรับการทดลอง	น้ำหนักแห้งเจลลี่(กรัม/ต้น)	ปริมาณ uptake P เจลลี่(มิลลิกรัม/ต้น)
PR	3.15 <sup>b</sup>	5.70 <sup>b</sup>
P <sub>9</sub>	3.20 <sup>b</sup>	5.98 <sup>b</sup>
P <sub>18</sub>	6.25 <sup>a</sup>	11.05 <sup>a</sup>
PR <sub>An</sub>	3.88 <sup>b</sup>	5.93 <sup>b</sup>
PR <sub>Aa</sub>	3.03 <sup>b</sup>	5.01 <sup>b</sup>
PR <sub>Pc</sub>	2.85 <sup>b</sup>	4.09 <sup>b</sup>

ตารางที่ 6 น้ำหนักต้นแห้งและปริมาณ uptake P เจลลี่ของข้าวโพดเก็บเกี่ยวที่อายุ 40 วัน

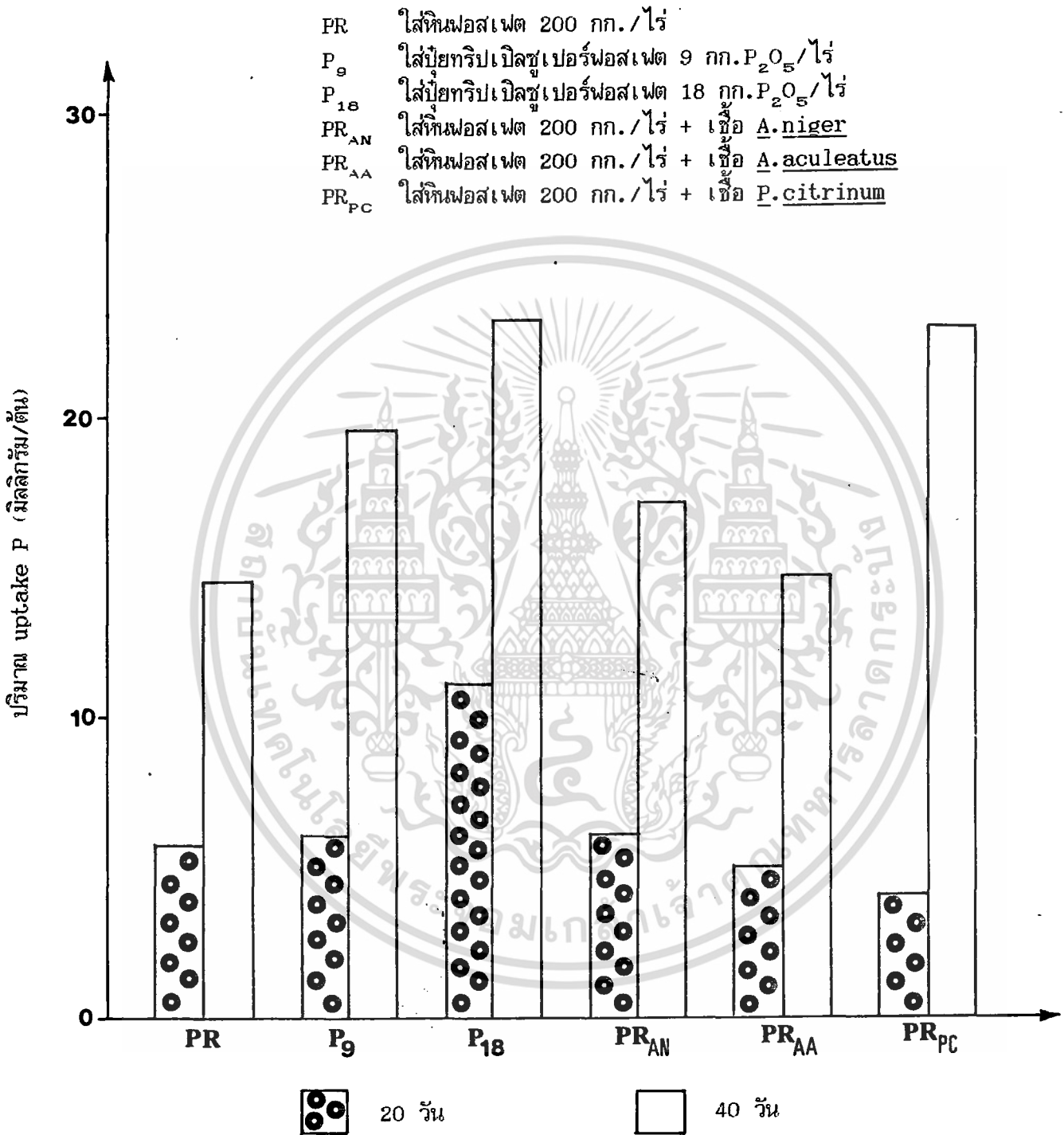
ตัวรับการทดลอง	น้ำหนักแห้งเจลลี่(กรัม/ต้น)	ปริมาณ uptake P เจลลี่(มิลลิกรัม/ต้น)
PR	7.95 <sup>c</sup>	16.57 <sup>c</sup>
P <sub>9</sub>	9.45 <sup>bc</sup>	19.57 <sup>bc</sup>
P <sub>18</sub>	12.53 <sup>a</sup>	23.27 <sup>ab</sup>
PR <sub>An</sub>	9.01 <sup>c</sup>	17.35 <sup>c</sup>
PR <sub>Aa</sub>	7.03 <sup>c</sup>	14.73 <sup>c</sup>
PR <sub>Pc</sub>	12.06 <sup>ab</sup>	22.99 <sup>ab</sup>

\* ตัวอักษรต่างกันใน column แสดงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95.0 %  
โดยวิธี DMRT



รูปที่ 5 กราฟเปรียบเทียบน้ำหนักต้นแห้งเฉลี่ยของข้าวโพดที่เก็บเกี่ยวเมื่ออายุ 20 วัน และ 40 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 6 กราฟเปรียบเทียบปริมาณ uptake P เฉลี่ยของข้าวโพดที่เก็บเกี่ยวเมื่ออายุ 20 วัน และ 40 วัน เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดสอบการละลายหินฟอสเฟตในอาหาร Soil Extract Agar สามารถที่จะสังเกตเห็นโซลในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่เชื้อราสามารถละลายหินฟอสเฟตได้จริง แต่เชื้อรามีการเจริญช้ามาก ทั้งนี้อาจเนื่องจากในอาหารรุ้นมีปริมาณธาตุอาหารไม่เพียงพอสำหรับเชื้อรา เพราะปริมาณธาตุอาหารใน Soil Extract Agar ขึ้นกับดินที่นำมาผลิต Soil Extract ว่าดินนั้นมีความอุดมสมบูรณ์เพียงใด ดังนั้นการใช้อาหารรุ้น Soil Extract Agar เพื่อตรวจสอบการละลายหินฟอสเฟตของจุลินทรีย์ โดยการวัดขนาดโซลในจานจึงไม่ค่อยเหมาะสม แต่ควรจะใช้อาหารรุ้น Soil Extract Agar ร่วมกับวิธี soil plate เพื่อแยกจุลินทรีย์ที่สามารถละลายหินฟอสเฟตจากดินโดยตรงด้วยคุณสมบัติที่ว่าจุลินทรีย์มีการเจริญในอาหารรุ้น Soil Extract Agar ได้ช้ามากนั่นเอง

ผลการทดสอบในอาหารเหลว Pikovskaya แสดงให้เห็นว่าเชื้อ A.niger มีศักยภาพในการละลายหินฟอสเฟตมากที่สุด ซึ่งจากการตรวจเอกสาร ข้อมูลส่วนใหญ่ชี้ให้เห็นว่าน่าจะเป็นอิทธิพลจากการดิวไนโตรที่จุลินทรีย์สร้างขึ้น แล้วไฮโดรเนียมไอออน ( $H^+$ ) ทำปฏิกิริยากับหินฟอสเฟต ดังสมการข้างล่าง (Kanabo and Gilkes, 1986)



แต่ในการทดลองนี้พบว่า ค่า pH ของสารละลายที่วัดได้ไม่สัมพันธ์กับปริมาณฟอสฟอรัสในสารละลาย ดังตัวอย่างการวัดผลที่เวลา 2 วัน ในตำรับที่ใส่เชื้อ A.niger มี pH เฉลี่ย 4.20 มีปริมาณฟอสฟอรัสเฉลี่ย 235.35 ppm ส่วนตำรับที่ใส่เชื้อ P.citrinum มี pH เฉลี่ย 4.25 แต่มีปริมาณฟอสฟอรัสเฉลี่ยเพียง 18.72 ppm แสดงให้เห็นถึงปริมาณฟอสฟอรัสที่ต่างกันมากกว่า 10 เท่า ขณะที่ค่า pH มีค่าใกล้เคียงกัน ลักษณะนี้อาจจะเนื่องมาจากการดูดใช้ฟอสฟอรัสของเชื้อราประเภทหนึ่ง โดย Naplekov (1967) ได้ทำการทดสอบการละลายหินฟอสเฟตโดยเชื้อราและแอคติโนมัยซีท จำนวน 32 isolates (จำนวน 32 isolates นี้ไม่มีเชื้อราใน genus Aspergillus และ Penicillium รวมอยู่) โดยได้วัดปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกตรึงโดยจุลินทรีย์เหล่านั้นด้วย ผลการทดลองรายงานว่า Rhizopus มีการตรึงฟอสฟอรัสไว้ในเซลล์สูงสุด มีค่า 16.89 ppm (เมื่อเทียบในสารละลาย) ซึ่งผลดังกล่าวไม่สามารถสนับสนุนผลการทดลองในครั้งนี้ได้อย่างชัดเจน ดังนั้นอาจประเมินได้อีกประการหนึ่งว่า การละลายของหินฟอสเฟตในการทดลองนี้มีใช่เพียงเพราะอิทธิพลของกรดที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นเท่านั้น แต่อาจประกอบด้วยปัจจัยอื่น (ซึ่งไม่มีผลต่อ pH ของสารละลาย) ที่สามารถเพิ่มการละลายของหินฟอสเฟตได้เช่นกัน อย่าง



โรก็ตาม ควรพิจารณาประกอบกับผลการวัดปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกตรึงไว้ในเซลล์ของเชื้อราอีกครั้งหนึ่ง (ซึ่งในที่นี้มิได้บันทึกผลไว้)

ค่าบันทึกผลต้นข้าวโพดเกี่ยวที่อายุ 20 วัน แสดงให้เห็นว่ามีเพียงตำรับการทดลอง P<sub>18</sub> ที่ต้นข้าวโพดมีการเจริญเติบโตและดูดใช้ธาตุฟอสฟอรัสได้ดีกว่าตำรับการทดลองอื่น ส่วนในตำรับการทดลองอื่นพบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องจากว่าในดินที่ใช้ในการทดลองมีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชค่อนข้างสูงคือ 32 ppm พืชจึงสามารถดูดใช้ฟอสฟอรัสในส่วนดังกล่าว อีกทั้งเชื้อราที่ใส่ลงไปในดินอาจจะยังมีปริมาณไม่มากพอที่จะส่งผลการละลายหินฟอสเฟตได้อย่างชัดเจน

ค่าบันทึกผลต้นข้าวโพดเกี่ยวที่อายุ 40 วัน แสดงให้เห็นถึงน้ำหนักต้นแห้งและปริมาณ uptake P ในตำรับ PR<sub>Pc</sub> ที่มีค่าสูงกว่าในตำรับ PR อย่างมีนัยสำคัญ และยังมีค่าใกล้เคียงกับในตำรับ P<sub>18</sub> นอกจากนี้ยังมีแนวโน้มว่าจะให้ค่าสูงกว่าในตำรับ P<sub>18</sub> หากเก็บเกี่ยวที่อายุมากกว่านี้ ซึ่งผลที่ได้ไม่สอดคล้องกับการละลายหินฟอสเฟตในสารละลาย เพราะในสารละลายเชื้อ A.niger ปลดปล่อยฟอสฟอรัสจากหินฟอสเฟตได้มากกว่าเชื้อ P.citrinum แต่เมื่อใส่ลงในดินร่วมกับการปลูกข้าวโพดกลับไม่ส่งผลดังกล่าว ทั้งนี้เนื่องจากว่าเชื้อ A.niger ไม่สามารถเจริญเพิ่มปริมาณในดินที่ใช้ทดลองได้มากพอที่จะช่วยปลดปล่อยธาตุฟอสฟอรัสจากหินฟอสเฟตได้หรืออีกกรณีหนึ่งที่น่าจะเป็นไปได้มากที่สุด คือปฏิกริยาการดำรงอยู่ของเชื้อจุลินทรีย์ในบริเวณรากพืชโดยจุลินทรีย์จะใช้ประโยชน์จากสารขับจากราก แต่สารขับจากรากพืชชนิดหนึ่ง ๆ จะเหมาะแก่การเจริญของจุลินทรีย์บางชนิดเท่านั้น ดังที่ Alexander (1977) ได้รายงานผลการสำรวจปริมาณเชื้อราในบริเวณรากพืช ซึ่งผลที่รายงานไว้สนับสนุนผลการทดลองในครั้งนี้ได้เป็นอย่างดี คือ ในบริเวณรากข้าวโพดพบเชื้อ Penicillium sp. มีปริมาณมากที่สุด แสดงว่าบริเวณรากข้าวโพดมีสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญและเพิ่มจำนวนของเชื้อ Penicillium sp. โดยพบเชื้อ Aspergillus sp. มากในบริเวณรากข้าวโพด

ส่วนในกรณีที่ต้นข้าวโพดแสดงอาการแคระแกรนในทุกตำรับการทดลอง อาจมีสาเหตุมาจากดินที่ใช้ในการทดลองมีเนื้อดินแบบ silty clay เมื่อแห้งเนื้อดินจะแข็งและอัดแน่น มีโครงสร้างไม่เหมาะสมต่อการเจริญของรากพืช

- ตำรับการทดลอง PR ใส่หินฟอสเฟต 200 กก./ไร่
- ตำรับการทดลอง P<sub>0</sub> ใส่ปุ๋ยทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต 9 กก.P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/ไร่
- ตำรับการทดลอง P<sub>18</sub> ใส่ปุ๋ยทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต 18 กก.P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/ไร่
- ตำรับการทดลอง PR<sub>An</sub> ใส่หินฟอสเฟต 200 กก./ไร่ + เชื้อ A.niger
- ตำรับการทดลอง PR<sub>Ab</sub> ใส่หินฟอสเฟต 200 กก./ไร่ + เชื้อ A.aculeatus
- ตำรับการทดลอง PR<sub>Pc</sub> ใส่หินฟอสเฟต 200 กก./ไร่ + เชื้อ P.citrinum

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ในเพื่อการศึกษาเท่านั้น มิใช่เพื่อประโยชน์ทางการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร**  
**สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง**

### สรุปผลการทดลอง

1. เชื้อราที่แยกจากดินตัวอย่าง มีเพียง 3 จาก 18 isolates ที่สามารถละลายหินฟอสเฟตได้ ได้แก่ Aspergillus niger , Aspergillus aculeatus และ Penicillium citrinum
2. การทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ เชื้อ Aspergillus niger สามารถละลายหินฟอสเฟตได้ดีที่สุด
3. การทดสอบร่วมกับการปลูกข้าวโพด เชื้อ Penicillium citrinum สามารถละลายหินฟอสเฟตได้ดีที่สุด
4. การเก็บเกี่ยวข้าวโพดที่อายุ 20 วัน มีเพียงตำรับการใส่ปุ๋ยทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต 18 กก. $P_2O_5$ /ไร่ ที่ให้ผลผลิตน้ำหนักแห้งและปริมาณ uptake P สูงกว่าตำรับการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
5. การเก็บเกี่ยวข้าวโพดที่อายุ 40 วัน พบว่า การใช้เชื้อ Penicillium citrinum ร่วมกับหินฟอสเฟต อัตรา 200 กิโลกรัม/ไร่ สามารถให้ผลผลิตน้ำหนักแห้งและปริมาณ uptake P ใกล้เคียงกับการใส่ปุ๋ยทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต อัตรา 18 กิโลกรัม  $P_2O_5$ /ไร่ และมีแนวโน้มว่าจะให้ผลดียิ่งขึ้นไปอีก

เอกสารอ้างอิง

- ประดิษฐ์ บุญอำพล 2527 ข้อควรรู้ในการใช้หินฟอสเฟต วารสารดินและปุ๋ย 6(3):183-186.
- ปรีดา พากเพียร 2532 ฟอสฟอรัส เอกสารประกอบคำบรรยายวิชาเคมีของดิน กองปฐพีวิทยา  
กรมวิชาการเกษตร บางเขน กรุงเทพฯ (เอกสารมิได้เผยแพร่)
- พงศ์เทพ อันตะริกาหนก ประเสริฐ อมะมริต และนวรรตน์ เหล่าชวลิตกุล 2531 การละลาย-  
ของหินฟอสเฟตโดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตร-  
ศาสตร์ ครั้งที่ 26 ระหว่างวันที่ 3-5 กุมภาพันธ์ 2531 หน้า 83
- มนัส สุจิวินท์ 2525 ธาตุอาหารของพืช ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย-  
เกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ 82 หน้า
- ยงยุทธ โอสถสภา 2528 หลักการผลิตและการใช้ปุ๋ย คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
บางเขน กรุงเทพฯ 274 หน้า
- ศุภมาส พนิชศักดิ์พัฒนา 2529 จุลชีววิทยาของดินเพื่อผลิตผลทางการเกษตร ภาควิชาปฐพีวิทยา  
คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ 335 หน้า
- สุธรรม แยมนิยม 2521 ฟอสเฟต รายงานการสัมมนาอุตสาหกรรมกับการเกษตร ณ สภาวิจัย  
แห่งชาติ กรุงเทพฯ
- สมิตรา กูว์โรดม 2532 ปุ๋ยชีวภาพเพื่อการเกษตร ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 179 หน้า
- สุนทร พูนพิพัฒน์ 2526 เทคโนโลยีการผลิตและการใช้ปุ๋ยวิทยาศาสตร์ เล่มที่ 1 ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร  
ลาดกระบัง กรุงเทพฯ 369 หน้า
- สุนทร มณีสวัสดิ์ 2528 การละลายของหินฟอสเฟตโดยกิจกรรมของ Thiobacillus  
วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ 186 หน้า
- Alexander, M. 1977. Introduction to Soil Microbiology. John Wiley &  
Sons, Inc. USA. 467 pp.
- Barea, J.M., Azcon, R. and D.S.Hayman. 1975. Possible Synergistic  
Interaction between Endogone and Phosphate Solubilizing Bacteria  
in Low Phosphate Soil in Endomycorrhiza. Proc.Symp.Univ.Leed,  
July 1974.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Kanabo, I.A.K. and R.J.Gilkes. 1986. The Role of Soil pH in the Dissolution of Phosphate Rock Fertilizers. Fertilizer Research. Vol.10:165-174.
- Khan, J.A. and R.M.Bhatnagar. 1977. Study on Solubilization of Insoluble Phosphates by Microorganisms:Part I - Solubilization of Indian Phosphate Rocks by Aspergillus niger and Penicillium sp. Fertilizer Technology. 14(4):329-333.
- Lindsay, W.L. 1979. Chemical Equilibria in Soils. John Wiley & Sons, New York, USA. 449 pp.
- Naplekova, N.N. 1967. Release of Relatively Immobile Phosphates by Fungi and Actinomycetes Growing on Cellulose. Soviet Soil Science. No.11:1495-1503.
- Raper, K.B., Fennell, D.I. and P.K.C.Austwick. 1965. The Genus Aspergillus. The Williams & Wilkins company, Baltimore, USA. 686 pp.
- Raper, K.B., Thom, C. and K.I.Fennell. 1949. A Manual of the Penicillia. The Williams & Wilkins company, Baltimore, USA. 875 pp.
- Subba Rao, N.S. 1982. Biofertilizers in Agriculture. Oxford & IBH Publishing Co., New delhi, India. 186 pp.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 ปริมาณฟอสฟอรัสที่ละลายได้ในอาหารเหลวที่เวลา 0-20 วัน

ตัวรับการทดลอง	ซ้ำที่	ปริมาณฟอสฟอรัสที่ละลายได้ในอาหารเหลว(ppm) ที่เวลา...วัน										
		0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
ไม้ใส่จุลินทรีย์	1	2.75	5.60	2.60	2.82	4.26	2.99	2.54	2.07	2.35	3.57	2.83
	2	2.46	5.88	2.96	3.76	2.38	2.36	2.28	2.87	1.81	3.98	3.19
	3	3.06	5.05	2.82	4.78	4.78	2.75	2.36	2.99	1.81	5.85	2.83
	4	2.88	5.88	2.38	2.82	2.38	3.55	2.28	4.34	1.82	3.11	2.76
	5	2.16	3.76	2.38	2.82	2.38	3.70	2.28	2.36	2.20	5.85	2.77
ใส่เชื้อ <u>A.niger</u>	1	2.51	200.23	132.11	100.96	223.87	143.39	142.07	185.56	265.41	309.01	309.79
	2	3.18	242.44	183.32	177.85	274.95	209.31	183.84	209.31	196.36	261.01	273.17
	3	2.50	285.09	242.44	211.89	424.77	366.81	371.22	353.76	250.75	299.09	309.01
	4	2.62	248.78	206.22	194.52	331.09	265.41	258.03	269.15	240.03	306.71	305.18
	5	2.55	200.23	161.89	144.17	265.40	173.27	177.52	192.11	184.41	226.85	225.37
ใส่เชื้อ <u>A.aculeatus</u>	1	2.73	6.22	6.53	15.04	13.12	1.89	1.84	1.86	2.36	4.87	5.11
	2	2.36	6.22	5.44	13.12	9.51	3.87	4.04	3.87	2.99	5.60	7.22
	3	2.50	5.91	5.44	14.07	9.51	2.99	3.55	3.87	1.81	3.19	2.83
	4	2.82	6.22	5.44	11.28	10.38	3.55	4.21	4.47	2.45	5.11	5.60
	5	2.36	6.22	5.14	9.83	9.51	3.26	3.87	3.55	4.59	10.06	9.72
ใส่เชื้อ <u>P.citrinum</u>	1	2.41	21.22	4.26	7.06	6.00	2.99	2.20	2.36	2.20	4.89	7.23
	2	2.55	20.27	4.52	8.32	4.26	2.99	2.54	2.54	2.07	4.75	6.49
	3	2.51	14.14	2.82	8.00	4.78	2.20	2.27	2.28	2.64	5.21	7.11
	4	2.55	19.65	4.26	6.46	6.46	3.14	2.93	2.77	2.01	4.02	4.87
	5	3.00	18.32	2.91	8.32	5.32	2.85	2.81	2.62	2.01	4.37	7.80

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 ค่า pH ที่วัดได้ในอาหารเหลวที่เวลา 0-20 วัน

ตัวรับการทดลอง	ซ้ำที่	ค่า pH ที่วัดได้ในอาหารเหลว ที่เวลา...วัน										
		0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
ไม้ใส่จุลินทรีย์	1	5.96	6.17	6.05	5.94	7.20	5.67	5.74	5.77	5.75	4.88	5.75
	2	6.16	6.05	6.15	5.68	6.82	5.81	5.73	5.85	6.11	4.96	6.09
	3	6.18	6.06	6.41	5.33	6.43	5.84	5.83	5.50	6.15	4.79	5.81
	4	6.13	6.09	6.32	5.70	6.91	5.90	5.81	6.03	6.12	4.85	5.57
	5	6.22	6.14	6.23	5.67	6.67	5.85	5.76	6.02	6.10	4.71	5.66
ใส่เชื้อ <u>A. niger</u>	1	5.74	4.49	5.42	6.28	5.63	5.83	7.27	8.19	5.85	5.58	5.72
	2	5.65	4.27	5.25	6.07	5.40	5.58	5.87	6.01	5.97	5.30	5.89
	3	5.83	3.99	5.05	5.64	5.95	6.13	6.18	6.37	5.72	5.54	5.60
	4	5.72	3.96	5.29	5.82	5.32	5.54	5.58	5.80	5.77	5.64	5.72
	5	5.92	4.28	5.23	5.74	4.13	4.51	4.18	4.87	5.93	5.96	5.87
ใส่เชื้อ <u>A. aculeatus</u>	1	6.03	5.22	5.67	6.14	6.59	7.41	7.15	7.34	6.97	5.84	6.73
	2	6.11	5.29	5.76	6.05	6.40	6.76	6.52	6.74	6.81	5.76	6.71
	3	5.95	5.36	5.51	6.04	6.60	6.45	6.02	6.40	7.47	6.17	7.09
	4	6.10	5.77	5.49	6.11	6.52	6.27	6.01	6.12	7.09	5.51	6.79
	5	6.00	5.28	5.40	5.54	6.68	6.58	6.21	6.56	6.73	5.26	6.44
ใส่เชื้อ <u>P. citrinum</u>	1	5.93	4.15	5.65	6.95	6.91	7.19	6.76	6.70	7.31	6.60	7.02
	2	5.81	3.92	5.15	6.74	7.13	7.08	6.88	6.86	7.37	6.55	6.87
	3	5.90	4.44	5.44	6.92	7.21	7.11	6.58	6.20	7.30	6.32	7.37
	4	6.02	4.24	5.49	6.84	7.13	7.15	6.82	6.77	7.10	6.24	7.45
	5	5.87	4.52	5.74	6.75	7.20	6.93	6.51	6.31	7.17	6.35	6.83

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 ผลการวิเคราะห์ดินข้าวโพดเก็บเกี่ยวเมื่ออายุ 20 วัน

ตัวรับการทดลอง	ซ้ำที่	น้ำหนักแห้ง(กรัม)	ปริมาณฟอสฟอรัส(%)	ปริมาณ uptake P(มก.)
PR	1	4.60	0.20	9.17
	2	3.35	0.20	6.66
	3	2.62	0.17	4.57
	4	3.26	0.14	4.65
	5	1.93	0.18	3.43
P <sub>o</sub>	1	2.15	0.24	5.32
	2	3.78	0.19	7.23
	3	1.89	0.17	3.27
	4	2.60	0.13	3.52
	5	5.60	0.19	10.54
P <sub>18</sub>	1	5.46	0.16	8.83
	2	9.68	0.17	16.44
	3	4.42	0.20	8.84
	4	8.50	0.17	14.64
	5	3.12	0.21	6.51
PR <sub>An</sub>	1	6.66	0.17	11.06
	2	4.40	0.14	5.97
	3	2.40	0.16	3.97
	4	2.60	0.16	4.14
	5	3.33	0.13	4.50
PR <sub>Aa</sub>	1	2.83	0.16	4.46
	2	3.14	0.20	6.42
	3	4.86	0.17	8.17
	4	1.52	0.13	1.91
	5	2.79	0.15	4.11
PR <sub>Pc</sub>	1	3.21	0.15	4.71
	2	3.59	0.14	4.90
	3	2.69	0.15	4.08
	4	2.57	0.15	3.96
	5	2.19	0.13	2.81

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 ผลการวิเคราะห์ดินข้าวโพดเก็บเกี่ยวเมื่ออายุ 40 วัน

ตัวรับการทดลอง	ซ้ำที่	น้ำหนักแห้ง(กรัม)	ปริมาณฟอสฟอรัส(%)	ปริมาณ uptake P(มก.)
PR	1	7.89	0.24	18.92
	2	8.08	0.22	17.87
	3	8.60	0.24	20.35
	4	4.54	0.25	11.48
	5	6.02	0.24	14.25
P <sub>g</sub>	1	8.99	0.21	19.10
	2	6.83	0.25	16.96
	3	9.19	0.20	18.02
	4	14.5	0.17	25.41
	5	7.69	0.24	18.37
P <sub>18</sub>	1	14.90	0.19	28.38
	2	9.11	0.21	19.45
	3	14.55	0.18	26.26
	4	11.79	0.16	18.49
	5	12.32	0.19	23.78
PR <sub>An</sub>	1	9.31	0.25	22.30
	2	7.55	0.23	17.16
	3	9.49	0.15	14.35
	4	6.44	0.17	10.83
	5	12.24	0.17	21.42
PR <sub>Ab</sub>	1	7.43	0.19	13.88
	2	7.34	0.21	15.36
	3	6.94	0.25	17.46
	4	7.12	0.15	10.40
	5	10.94	0.15	16.56
PR <sub>Pc</sub>	1	12.02	0.19	22.88
	2	11.12	0.20	22.80
	3	10.90	0.18	19.57
	4	13.27	0.18	23.98
	5	12.98	0.20	25.71

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณฟอสฟอรัสในอาหารเหลว Pikovskaya  
(คำนวณจากปริมาณฟอสฟอรัสเฉลี่ยสูงสุดของแต่ละตัวรับการทดลอง)

Source of variation	df	SS	MS	F-ratio
Treatment	3	319777.39	106592.46	70.69**
Error	16	24125.54	1507.85	
Total	19	343902.93		

CV. (%) = 45.60

\*\* มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 99.0 %

ตารางที่ 12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักต้นแห้งข้าวโพด เก็บเกี่ยวที่อายุ 20 วัน

Source of variation	df	SS	MS	F-ratio
Treatment	5	40.90	8.18	3.12*
Error	24	62.87	2.62	
Total	29	103.77		

CV.(%) = 43.44

\* มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95.0 %

ตารางที่ 13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณ uptake P ในต้นข้าวโพด เก็บเกี่ยวที่อายุ 20 วัน

Source of variation	df	SS	MS	F-ratio
Treatment	5	148.59	29.72	3.77*
Error	24	189.85	7.91	
Total	29	338.44		

CV.(%) = 44.69

\* มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95.0 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนน้ำหนักต้นแห้งข้าวโพด เก็บเกี่ยวที่อายุ 40 วัน

Source of variation	df	SS	MS	F-ratio
Treatment	5	121.65	24.33	5.56**
Error	24	105.08	4.38	
Total	29	226.73		

CV. (%) = 21.63

\*\* มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 99.0 %

ตารางที่ 15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณ uptake P ในต้นข้าวโพด เก็บเกี่ยวที่อายุ 40 วัน

Source of variation	df	SS	MS	F-ratio
Treatment	5	306.21	61.24	4.57**
Error	24	321.25	13.38	
Total	29	627.46		

CV. (%) = 19.17

\*\* มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 99.0 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 16. สูตรอาหารแยกเชื้อรา Martin's Rose Bengal Agar

ส่วนประกอบ	ปริมาณ
Dextrose	10 กรัม
Peptone	5 กรัม
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	1 กรัม
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	4.5 กรัม
Yeast Extract	20 กรัม
Agar	20 กรัม
Streptomycin sulfate	50 มก.
Rose Bengal	25 มก.
Distilled water	1000 มล.

ตารางที่ 17 สูตรอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์ Potato Dextrose Agar

ส่วนประกอบ	ปริมาณ
Potato	200 กรัม
Dextrose	20 กรัม
Agar	17 กรัม
Distilled water	1000 มล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 18 สูตรอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์เพื่อทดสอบการเกิดโซล Soil Extract Agar

ส่วนประกอบ	ปริมาณ
Soil extract	100 มล.
Glucose	1.0 กรัม
Agar	2.0 กรัม

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 ° ซ. เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้อุ่น แล้วเติมสารละลาย 10%  $K_2HPO_4$  5 มล. และ 10%  $CaCl_2$  10 มล. (สารละลายทั้งสองผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว) ปรับ pH ให้มีค่า 7.0 ด้วย 0.1 NaOH ที่ฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นเทใส่ plate ที่นึ่ง

ตารางที่ 19 สูตรอาหารเหลวเลี้ยงจุลินทรีย์เพื่อวัดการละลายฟอสเฟต Pikovskaya

ส่วนประกอบ	ปริมาณ
Glucose	10.0 กรัม
$Ca_3(PO_4)_2$ *	5.0 กรัม
$(NH_4)_2SO_4$	0.5 กรัม
KCl	0.2 กรัม
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.1 กรัม
$MnSO_4$	trace
$FeSO_4$	trace
Yeast extract	0.5 กรัม
Distilled water	1000 มล.

\* ในที่นี้ใช้ Rock phosphate 10.0 กรัม แทน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้นไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และตีพิมพ์ซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต การทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

