

ปุ๋ยน้ำหมักจาวปลวกกับแบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจนที่ใช้ประโยชน์ทางการเกษตร

Liquid Organic Anthill Fertilizer with Beneficial Nitrogen fixing Bacteria for Agriculture

เมทินี วสุนธราวัฒน์¹ ศกุนตลา ศิริอุดม¹ ปาหนัน เวชสาน²

E-mail: metinee.wa@udru.ac.th

บทคัดย่อ

ไนโตรเจนมีบทบาทต่อการเพิ่มผลผลิตของพืช การกระตุ้นการเจริญของพืช และการมีสุขภาพที่ดีของพืช การเพิ่มปริมาณแบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจนในรูปของปุ๋ยชีวภาพ เป็นการเพิ่มแหล่งไนโตรเจนที่ยั่งยืนต่อการเจริญของพืช ปุ๋ยน้ำจาวปลวกสามารถเพิ่มผลผลิตพืชทั้งใบ ดอก และผล รวมทั้งการบำรุงสภาพดินให้เหมาะต่อการเจริญของพืช งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบการมีอยู่ของแบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจนในปุ๋ยน้ำหมักจาวปลวกด้วยการเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็ง yeast extract manitol agar อาหารแข็ง Manitol Ashby's Azotobacter medium และอาหารแข็ง Azospirillum medium สำหรับคัดแยก อะโซโตแบคทีเรีย (*Azotobacter* sp.) และอะโซสไปริลลัม (*Azospirillum* sp.) เรียง ตามลำดับ นอกจากนี้ไอโซเลตของแบคทีเรียเหล่านี้ได้ถูกทดสอบความสามารถในการย่อยเซลลูโลสและย่อยฟอสเฟตด้วยการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง carboxyl methyl cellulose medium และอาหารแข็ง Pikovskaya medium ผลการทดลองพบว่า สามารถคัดแยกแบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจน ได้แก่ ไรโซเบียมที่ดำรงชีวิตอย่างอิสระ อะโซโตแบคทีเรีย และอะโซสไปริลลัมได้ในปุ๋ยน้ำหมักจาวปลวก ไอโซเลตของแบคทีเรียเหล่านี้สามารถย่อย carboxyl methyl cellulose และ calcium phosphate ได้ บางไอโซเลตสร้างสาร indole acetic acid ได้ซึ่งเป็นฮอร์โมนพืชที่ช่วยกระตุ้นการเจริญของพืช ดังนั้น สรุปได้ว่า ปุ๋ยน้ำจาวปลวกประกอบด้วยแบคทีเรียกลุ่มที่ตรึงไนโตรเจนและสามารถส่งเสริมการเจริญของพืชได้

คำสำคัญ: ปุ๋ยชีวภาพ จาวปลวก แบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจน การกระตุ้นการเจริญของพืช

Abstract

Nitrogen plays an important role in increasing the yield of plants, promoting rapid vegetative growth and giving the healthy plant. Increasing amount of nitrogen fixing bacteria in bio-fertilizer form into agricultural soil offers good alternative sources of nitrogen supply to the growth of crop plants. Liquid organic anthill fertilizer is ability for promoting growth and development of plant, raising in the yield of leave number, flower number and product number and improving soil structure for plant growth. The aim of this work was to investigate the presence of nitrogen fixing bacteria in the liquid organic anthill fertilizer by culturing on yeast extract manitol agar, Manitol Ashby's Azotobacter medium, and Azospirillum medium for isolation of free living *Rhizobium* sp., *Azotobacter* sp., and *Azospirillum* sp., respectively. These isolates were also investigated for their ability to degrade cellulose and phosphate by culturing on carboxyl methyl cellulose medium and Pikovskaya medium. The result showed that the nitrogen fixing bacteria including free living rhizobium, *Azotobacter* and *Azospirillum* had been isolated from the organic anthill fertilizer. These isolates exhibited the ability to degrade carboxymethyl cellulose and calcium phosphate. Some isolates produced indole acetic acid as plant hormone for promoting growth. It is conclude that the liquid organic anthill fertilizer consisted of the nitrogen fixing bacteria and was able to enhance the growth of plant.

Keywords: biofertilizer, anthill, nitrogen fixing bacteria, plant growth promoting

ความเป็นมาของปัญหา

ไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของโครงสร้างพืช สารพันธุกรรม สารอินทรีย์และสารเมตาบอไลต์ในเซลล์พืช ไนโตรเจนมีบทบาทต่อการเพิ่มผลผลิตของพืช การกระตุ้นการเจริญของพืช และการมีสุขภาพที่ดีของพืช แบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจนและอยู่อย่างอิสระ (free living nitrogen-fixing bacteria) ดำรงชีวิตด้วยการตรึงไนโตรเจนในอากาศและแก่งแย่งอาหารจากสภาพแวดล้อมกับจุลินทรีย์อื่น (Oliveri & Frank, 2009) แบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจนที่ศึกษาในงานวิจัยนี้ ได้แก่ ไรโซเบียมที่ดำรงชีวิตอย่างอิสระ (free living nitrogen-fixing bacteria) อะโซโตแบคทีเรีย (*Azotobacter*) และอะโซสไปริลลัม (*Azospirillum*) โดยทั่วไปไรโซเบียมเป็น

¹ อาจารย์ประจำสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี

² เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี

แบคทีเรียแกรมลบ มีรูปร่างเซลล์แบบแท่งยาว พบได้ทั้งกระจายในดิน (Yoon et al., 2010) และมีรูปร่างเซลล์แบบเอกซ์ แบบววยหรือแบบสตาร์ เมื่ออาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืชบริเวณปมที่ปลายรากพืช (Sahgal and Johri, 2003) มีกลไกการตรึงไนโตรเจนในอากาศให้อยู่ในรูปแอมโมเนียหรือรูปสารประกอบไนโตรเจนซึ่งพืชสามารถนำไปใช้ได้ (Peng et al., 2008) อะโซโตแบคเตอร์ (*Azotobacter* sp.) เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีเซลล์รูปร่างท่อน ดำรงชีวิต อย่างอิสระในดิน ต้องการออกซิเจนสำหรับการเจริญ มีการสร้างเมือกเพื่อป้องกันก๊าซออกซิเจนไม่ให้ทำลายเอนไซม์ไนโตรจีเนส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการตรึงก๊าซไนโตรเจนในอากาศให้อยู่ในรูปแอมโมเนีย การเพิ่มจำนวนของอะโซโตแบคเตอร์ในดินแปลงนา มีผลต่อการเพิ่มน้ำหนักแห้งและผลผลิตข้าวประมาณ 7-20 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับดินแปลงนาที่ไม่ใส่อะโซโตแบคเตอร์ในดิน (Kanungo et al., 1995) และส่งเสริมการเจริญของรากและใบ โดยเฉพาะในระยะต้นกล้า (Yanni & El-Fattah, 1999) ทั้งนี้เพราะความสามารถของอะโซโตแบคเตอร์ในการตรึงไนโตรเจนได้ 1.6-3.2 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่ต่อฤดูปลูก (Esmail et al., 2008) และการสร้างฮอริโมนออกซินซึ่งช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Thazin et al., 2011; อรุณี คงสอน, ศศิธร บุญกอง และ ศุภชัย อ่ำคา, 2014) สุดท้ายอะโซสไปริลลัม เป็นแบคทีเรียแกรมลบ เซลล์มีรูปร่างท่อน เจริญได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจนมากกว่าสภาพที่ไม่มีออกซิเจน สามารถเพิ่มผลผลิตข้าวได้ 32-81 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากความสามารถของเชื้อต่อการยึดเกาะรากข้าวได้ดี (Ladha et al., 1987) และความสามารถในการส่งเสริมให้มีกิจกรรมไนโตรจีเนสในดินและในรากได้มากขึ้น (ชัชฎากร แก้วเมือง, ศุภชัย อ่ำคา และ ธงชัย มาลา, 2556)

ดินจาวปลวก คือ ส่วนของสวนเห็ด (fungus garden, fungus comb) ที่อยู่ห้องเห็ด (fungus chamber) ภายในรังปลวก ดินจาวปลวกมีลักษณะครึ่งวงกลม มีรอยหยักคล้ายมันสมองหรือปะการังสมอง มีเส้นใยของเห็ดกระจายอยู่ทั่วทั้งจาวปลวก ทั้งนี้เพื่อเป็นแหล่งอาหารให้กับตัวอ่อนของปลวก (กลุ่มงานความหลากหลายทางชีวภาพด้านป่าไม้ กรมป่าไม้, 2552; Wasoontharawat, M., Jatarasa, R. & Duangpaeng, A., 2017) จากความรู้ในการผลิตปุ๋ยน้ำหมักจาวปลวกในพื้นที่ทำเกษตรอินทรีย์บริเวณอำเภอบ้านดุง จังหวัดอุดรธานี และสิ่งที่ประจักษ์ต่อการใช้ปุ๋ยน้ำหมักจาวปลวกสำหรับปลูกพืช คือ รสชาติที่หวานและความกรอบของเนื้อสัมผัสของผัก อายุการเก็บของผักที่นานกว่าผักที่บำรุงด้วยปุ๋ยเคมี ปริมาณผลผลิตข้าวหลังการเก็บเกี่ยว ซึ่งแม้ว่าในระยะแรกของการใช้ปุ๋ยน้ำหมักจาวปลวก ปริมาณผลผลิตข้าวอาจเทียบไม่ได้เท่ากับแปลงนาที่ปลูกด้วยปุ๋ยเคมี ทั้งนี้เพราะเป็นระยะที่ปุ๋ยอินทรีย์กำลังปรับเปลี่ยนโครงสร้างดินที่เสียสภาพอันเป็นผลจากการใช้ปุ๋ยเคมีในแปลงนาเป็นระยะเวลานาน แต่สังเกตได้ว่าการใช้ปุ๋ยจาวปลวกเป็นระยะเวลาหนึ่งจะได้ปริมาณผลผลิตข้าวเพิ่มขึ้นคิดเป็น 80-85% เมื่อเทียบกับผลผลิตข้าวในแปลงนาเคมี และสังเกตได้ว่าลักษณะของดินนามีความร่วนซุย ดินมีสีดีเหมาะสมแก่การเพาะปลูกพืช จากสุขภาพของต้นพืชและดินและคุณภาพของผลผลิตพืชทั้งในด้านรสชาติและชีวมวล เป็นการยืนยันถึงประสิทธิภาพของปุ๋ยน้ำหมักจาวปลวกในด้านการบำรุงดิน ส่งเสริมการเจริญและการเพิ่มผลผลิตของพืช ข้อมูลจากเกษตรกรในพื้นที่ดังกล่าวนี้เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการทดสอบใส่ดินจอมปลวกผสมรวมกับปุ๋ยอินทรีย์ลงต้นกล้ามะละกอมีผลส่งเสริมการเจริญเติบโตทั้งความสูงของต้น จำนวนใบ การเพิ่ม ชีวมวลและการเพิ่มผลผลิตของมะละกอพันธุ์รุ่งเรืองเนื้อเหลืองรวมถึงมีผลในการลดต้นทุนการใช้ปุ๋ยและการเพิ่มกำไรจากผลผลิตของมะละกอที่เพิ่มขึ้น (รภัศสา จันทาศรี, ทวีทรัพย์ ไชยรักษ์ และ สุนทร โชคสวัสดิ์ธนะกิจ, 2563; Janthasri & Atiwetin, 2005) ทั้งนี้เพราะดินจอมปลวกมีอินทรีย์สารที่ตัวปลวกปล่อยสารเชื่อมประสานเม็ดดินซึ่งเป็นสารอินทรีย์วัตถุที่ได้จากการย่อยเซลลูโลสจากเนื้อเยื่อพืชและใช้สำหรับการก่อสร้างหรือซ่อมแซมรังหรือโพรงปลวก สารเชื่อมประสานนี้ในดินจอมปลวกจึงประกอบด้วยธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของพืช (Kaewfoo et al., 2010) จากบทบาทของแบคทีเรียกลุ่มที่ตรึงไนโตรเจนดังกล่าวข้างต้นและความรู้เกี่ยวกับจุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจนในปุ๋ยน้ำหมักจาวปลวกที่ยังไม่มีรายงานการศึกษา งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบการมีอยู่ของแบคทีเรียกลุ่มที่ตรึงไนโตรเจนในปุ๋ยน้ำหมักจาวปลวกและทดสอบความสามารถของแบคทีเรียกลุ่มนี้ต่อการย่อยเซลลูโลสและย่อยฟอสเฟต ซึ่งเป็นปัจจัยที่ช่วยเพิ่มธาตุคาร์บอนและฟอสฟอรัสในรูปที่พืชนำไปใช้ในการเจริญ ข้อมูลจากงานวิจัยนี้จะช่วยเพิ่มความเข้าใจในประสิทธิภาพของปุ๋ยน้ำหมักจาวปลวกต่อการส่งเสริมการเจริญของพืช การสนับสนุนให้มีการผลิตและใช้ปุ๋ยในพื้นที่การเกษตรรวมถึงการผลิตเพื่อจำหน่าย ซึ่งเป็นแนวทางต่อการลดรายจ่ายจากการซื้อปุ๋ยและเพิ่มรายได้จากการจำหน่ายให้กับเกษตรกร

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ตรวจสอบการมีอยู่ของแบคทีเรียกลุ่มที่ตรึงไนโตรเจนในปุ๋ยน้ำหมักจาวปลวก
2. ทดสอบความสามารถของไอโซเลตแบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจนที่คัดเลือกได้ต่อการย่อยเซลลูโลสและย่อยฟอสเฟต

วิธีดำเนินการวิจัย

1. ประเภทของงานวิจัย
งานวิจัยประเภทเชิงการทดลอง
2. ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง
ตัวอย่างดินจาวปลวกทั้งหมด 11 ตัวอย่าง ในเขตพื้นที่ศูนย์กิจกรรมธรรมชาติสวนป่าตะวัน อำเภอบ้านดุง จังหวัด

อุปกรณ์

3. เครื่องมือที่ใช้ในการเก็บข้อมูล
 - 3.1 อาหารแข็ง yeast extract mannitol agar (YEMA) medium
 - 3.2 อาหารแข็ง Manitol Ashby's Azotobacter medium
 - 3.3 อาหารแข็ง Azospirillum medium
 - 3.4 อาหารแข็ง carboxyl methyl cellulose (CMC) medium
 - 3.5 อาหารแข็ง Pikovskaya (PVK) medium
 - 3.6 ตูบมเพาะเลี้ยงเชื้อ
 - 3.7 เครื่องนับจำนวนโคโลนีแบคทีเรีย
 - 3.8 pH meter
 - 3.9 เวอร์เนีย

4. วิธีการดำเนินงานวิจัย

4.1 การผลิตปุ๋ยน้ำหมักจาวปลวก ตัวอย่างดินจาวปลวกแต่ละตัวอย่างจะถูกนำมาผลิตปุ๋ยน้ำหมักจาวปลวกโดยเริ่มจากการผสมส่วนประกอบของดินจาวปลวก ข้าวเหนียว รำข้าวและน้ำสะอาดในอัตราส่วน 1:1:1:5 ส่วนโดยน้ำหนักต่อปริมาตรน้ำ ปล่อยให้กระบวนการหมักเกิดขึ้นที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน วัดค่าความเป็นกรดต่างของน้ำหมักปุ๋ยจาวปลวกในแต่ละตัวอย่าง จึงนำไปตรวจสอบการมีอยู่ของแบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจน (เมทีนี วสุนธราวัฒน์; 2560)

4.2 การตรวจสอบการมีอยู่ของแบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจน ให้นำปุ๋ยน้ำหมักจาวปลวกที่ได้ในข้อ 4.1 แต่ละตัวอย่างปุ๋ยมาเจือจางให้มีระดับการเจือจาง 10^{-5} ด้วยน้ำกลั่นและใช้เทคนิค ten fold serial dilution จากนั้นคัดแยกเชื้อ free living *Rhizobium* sp., *Azotobacter* sp., and *Azospirillum* sp. บนอาหารแข็ง YEMA medium Manitol Ashby's Azotobacter medium และ Azospirillum medium เรียงตามลำดับ ด้วยเทคนิค spread plate technique เพาะเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 5 วัน นับจำนวนโคโลนีแบคทีเรียทั้งหมดที่เจริญบนผิวหน้าอาหารแข็งแต่ละชนิดในหน่วย colony forming unit (CFU/mL)

4.3 การทดสอบความสามารถของไฮซเลตแบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจนที่คัดแยกได้ต่อการย่อยเซลลูโลสและย่อยฟอสเฟต นำแต่ละไฮซเลตที่คัดแยกได้ในข้อที่ 4.2 มา spot โคโลนีบนอาหารแข็ง CMC medium และบน PVK medium เพาะเลี้ยงเชื้อ ณ อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 2-3 วัน และ 3-7 วัน เรียงตามชนิดอาหาร โคโลนีของไฮซเลตบนอาหาร CMC medium ที่ย่อยเซลลูโลสได้จะแสดงบริเวณใสรอบโคโลนี (clear zone) หลังการรดด้วยสารละลาย 1% congo red ส่วนโคโลนีของไฮซเลตบนอาหาร PVK medium ที่ย่อยฟอสเฟตได้จะแสดงบริเวณใสรอบโคโลนีปรากฏให้เห็นชัดเจน จากนั้นบันทึกเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสรอบโคโลนี (clear zone) ของแบคทีเรียในอาหารแต่ละชนิดด้วยเวอร์เนีย คำนวณค่า Hydrolysis Capacity (HC) จากอัตราส่วนของเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone ต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี (Akaracharanya et al., 2014)

ผลการวิจัย

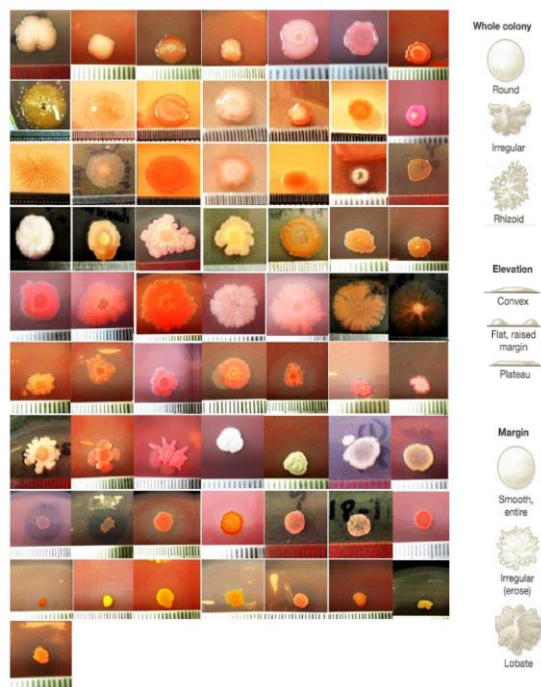
ปุ๋ยจาวปลวกในรูปน้ำหมักชีวภาพทุกตัวอย่างที่ผ่านการหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน มีค่าความเป็นกรดต่าง (pH) เท่ากับ 5 (ไม่ได้แสดงผลการทดลองไว้) จากนั้นนำน้ำหมักปุ๋ยจาวปลวกมาตรวจสอบการมีอยู่ของแบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจนในกลุ่มไรโซเบียมที่ดำรงชีวิตแบบอิสระ (free living rhizobium) อะโซโตแบคเตอร์ (*Azotobacter* sp.) และอะซอสไพริลลัม (*Azospirillum* sp.) ด้วยการเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็ง yeast extract mannitol agar (YEMA) อาหารแข็ง Manitol Ashby's Azotobacter medium และอาหารแข็ง Azospirillum medium ตามลำดับ แบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจนในแต่ละกลุ่มได้ถูกนับจำนวนประชากรทั้งหมด จากนั้นไฮซเลตของแบคทีเรียที่คัดแยกได้และมีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกันจะถูกนำไปศึกษาคุณสมบัติในการย่อยเซลลูโลสและฟอสเฟต ผลการตรวจสอบการมีอยู่ของแต่ละกลุ่มแบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจนในปุ๋ยน้ำหมักจาวปลวกและคุณสมบัติในการย่อยเซลลูโลสและฟอสเฟตของไฮซเลตแบคทีเรีย มีรายละเอียดดังนี้

1. ไรโซเบียมที่ดำรงชีวิตแบบอิสระจากปุ๋ยน้ำหมักจาวปลวก มีจำนวนประชากรทั้งหมดอยู่ในช่วง $1.0 \times 10^5 - 3.0 \times 10^6$ CFU/mL ของน้ำหมักปุ๋ยจาวปลวก คัดแยกไอโซเลตไรโซเบียมได้ทั้งหมด 101 ไอโซเลต ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 จำนวนโคโลนีของไรโซเบียมทั้งหมดบนผิวหน้าอาหารแข็ง YEMA medium และจำนวนไอโซเลตของไรโซเบียมที่คัดแยกได้จากปุ๋ยจาวปลวก

Sampling area	pH of fertilizer	Total of <i>Rhizobium</i> sp. on YEMA medium (CFU/mL) $\times 10^5$	Total of <i>Rhizobium</i> sp. isolate
1	5	18.7	7
2	5	14.8	12
3	5	30.3	9
4	5	3.8	7
5	5	4.3	8
6	5	10.1	8
7	5	3.2	6
8	5	3.9	10
9	5	1.0	8
10	5	1.3	11
11	5	1.4	9
ช่วง/รวม	5	1.2-7.5	101

โคโลนีของไอโซเลตของไรโซเบียมทั้งหมดบนอาหารแข็ง YEMA medium บางไอโซเลตสร้างเมือก โคโลนีมีสีขาว เหลือง และชมพู รูปแบบของโคโลนีมีแบบ round แบบ irregular และแบบ rhizoid ความนูนของโคโลนีมีแบบ convex แบบ flat raised margin และแบบ plateau ขอบของโคโลนีมีแบบ entire แบบ erose และแบบ lobate เซลล์มีรูปร่างตรงแท่ง (rod) ไม่มีการสร้างสปอร์ (non-sporing) และมีการสร้างกรด ซึ่งสอดคล้องกับคุณลักษณะของไรโซเบียมที่ดำรงชีวิตอย่างอิสระที่คัดแยกได้ของ Malisorn and Prasarn (2014) และ สุจิตกัลยา มฤครัฐอินแปลง (2014) ซึ่งศึกษาความหลากหลายของไรโซเบียมในรากของถั่วและดิน ความสามารถของไรโซเลียมต่อการสร้างสารหุตุยภูมิและความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค สารเมือกที่ไรโซเบียมสร้างเป็นสารพวก exopolysaccharide (EPS) ซึ่งทำหน้าที่ป้องกันเซลล์จากความแห้งแล้งของสภาพแวดล้อม (desiccation) ป้องกันเซลล์จากการล่า (predation) จากจุลินทรีย์ชนิดอื่นและป้องกันเซลล์ต่อการถูกทำลายโดยโมเลกุลออกซิเจนในสภาพที่มีออกซิเจนมาก (Carmen et al., 2009) ความหลากหลายของรูปแบบโคโลนีของ ไอโซเลตไรโซเบียมที่คัดแยกได้จากปุ๋ยน้ำหมักจาวปลวกแสดงถึงความหลากหลายของชนิดไรโซเบียมที่ดำรงชีวิตแบบอิสระ ดังแสดงลักษณะโคโลนีไว้ในภาพประกอบที่ 1



ภาพประกอบที่ 1 ความหลากหลายของลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจนและดำรงชีวิตแบบอิสระจากปุ๋ยน้ำหมัก จาวปลวก

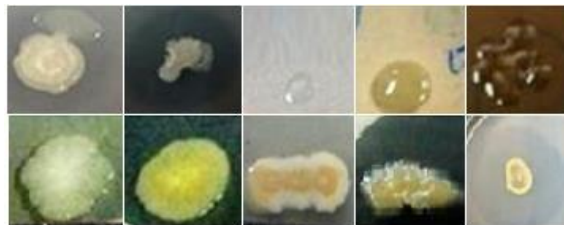
ไอโซเลตของไรโซเบียมบางส่วนได้ถูกตรวจหาปริมาณสารอินโดอะซิติกแอซิด (indole acetic acid, IAA) เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว YEMA broth ที่เติม tryptophan ซึ่งไม่ได้แสดงผลการตรวจวิเคราะห์ให้ พบว่า ไอโซเลตของไรโซเบียมสร้างสาร IAA ได้ ซึ่งผลทดสอบนี้ให้ผลสอดคล้องกับ Al-Mujahidy et al. (2013) ซึ่งรายงานว่า ไรโซเบียมสามารถสร้างสาร IAA ที่สนับสนุนการเจริญของพืชได้

2. อะโซโตแบคทีเรียจากปุ๋ยน้ำหมักจาวปลวก มีจำนวนประชากรทั้งหมดอยู่ในช่วง 2.2×10^5 - 2.3×10^6 CFU/mL ของน้ำหมักปุ๋ยจาวปลวก คัดแยกไอโซเลตอะโซโตแบคทีเรียได้ทั้งหมด 20 ไอโซเลต ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 จำนวนโคโลนีของอะโซโตแบคทีเรียบนอาหารแข็ง Manitol Ashby's Azotobacter medium และจำนวนไอโซเลตอะโซโตแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากปุ๋ยจาวปลวก

Sampling area	pH of fertilizer	Total of Azotobacter sp. on Manitol Ashby's Azotobacter medium (CFU/mL) $\times 10^5$	Total of Azotobacter sp. isolate
1	5	10.7	2
2	5	11.8	1
3	5	7.6	3
4	5	14.8	2
5	5	13.3	2
6	5	4.9	2
7	5	7.5	1
8	5	2.2	2
9	5	23.5	2
10	5	17.5	2
11	5	11.1	1
ช่วง/รวม	5	2.2-23.5	20










โคโลนีของไอโซเลตอะโซโตแบคทีเรียมีลักษณะแตกต่างกัน 8 รูปแบบ มีการสร้างเมือกมากกว่าโคโลนีไรโซเบียม โคโลนีมีลักษณะใสไม่มีสี มีเมือก และโคโลนีสีขาว มีเมือก เซลล์มีรูปร่างท่อนสั้นและติดสีแกรมลบ ความหลากหลายของลักษณะโคโลนีของอะโซโตแบคทีเรียจากปุ๋ยน้ำหมักจาวปลวกแสดงไว้ในภาพประกอบที่ 2



ภาพประกอบที่ 2 ความหลากหลายของลักษณะโคโลนีของอะโซโตแบคทีเรียจากปุ๋ยน้ำหมักจาวปลวก

ไอโซเลตของอะโซโตแบคทีเรีย ได้ถูกตรวจสอบคุณสมบัติในการย่อยเซลลูโลสและฟอสเฟต พบว่า ไอโซเลตของอะโซโตแบคทีเรียที่คัดแยกจากปุ๋ยน้ำหมักจาวปลวกจำนวน 3 ไอโซเลต ได้แก่ ไอโซเลตรหัส AZ24 AZ25 และ AZ26 ย่อยเซลลูโลสและย่อยฟอสเฟตได้ โดยไอโซเลตเหล่านี้สามารถย่อยเซลลูโลสในรูปคาร์บอกซิล เมทิลเซลลูโลส (carboxyl methyl cellulose, CMC) ในอาหาร CMC medium ได้ แสดงบริเวณใส (clear zone) อยู่ในช่วง 18-36 มิลลิเมตร และมีค่า hydrolytic capacity อยู่ในช่วง 1.8 - 4.0 และย่อยฟอสเฟตในรูปแคลเซียมฟอสเฟต ($Ca_3[PO_4]_2$) ในอาหาร PVK medium ได้ แสดงบริเวณใส 20 มิลลิเมตร และมีค่า hydrolytic capacity อยู่ในช่วง 2.7 - 4.0 ดังแสดงในตารางที่ 3 ความสามารถของไอโซเลตอะโซโตแบคทีเรียในการย่อยเซลลูโลสและย่อยฟอสเฟตได้ในงานวิจัยนี้สอดคล้องกับรายงานของ Al-Mujahidy et al. (2013) ซึ่งคัดแยกไอโซเลตอะโซโตแบคทีเรียได้จากดินรอบรากพืช ไอโซเลตดังกล่าวแสดงคุณสมบัติในการย่อยสารประกอบทั้งสองและแสดงความสามารถในการสร้างสาร IAA ได้

ตารางที่ 3 ความสามารถในการย่อยเซลลูโลสและฟอสเฟตของไอโซเลตอะโซสไปริลัมที่คัดแยกได้จากปุ๋ยจาวปลวกด้วยอาหารทดสอบ CMC medium และ PVK medium

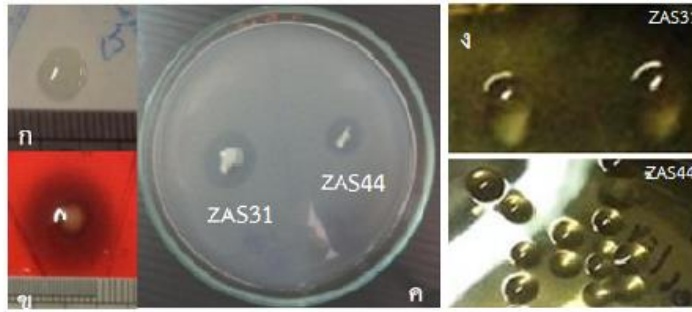
ไอโซเลต รหัส	เส้นผ่านศูนย์กลาง (mm) ของโคโลนี, บริเวณไฮรอปโคโลนี, ค่า HC		ภาพโคโลนีของไอโซเลต		
	สำหรับการย่อยเซลลูโลส	สำหรับการย่อยฟอสเฟต	ลักษณะโคโลนี	หลังราด Congo	ย่อยฟอสเฟต
AZ24	10, 18, 1.8	8, 20, 2.7			
AZ25	8, 22, 2.7	7, 20, 2.8			
AZ26	8, 36, 4.0	5, 20, 4.0			

3. อะโซสไปริลัมจากปุ๋ยน้ำหมักจาวปลวก มีจำนวนประชากรทั้งหมดอยู่ในช่วง 3.5×10^5 - 1.9×10^6 CFU/mL ของน้ำหมักปุ๋ยจาวปลวก คัดแยกไอโซเลตอะโซสไปริลัมได้ทั้งหมด 59 ไอโซเลต ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 จำนวนโคโลนีของ *Azospirillum* sp. บนอาหารแข็ง *Azospirillum* medium และจำนวนไอโซเลต *Azospirillum* ที่คัดแยกได้จากปุ๋ยน้ำหมักจาวปลวก

Sampling area	pH of fertilizer	Total of <i>Azospirillum</i> sp. on <i>Azospirillum</i> medium (CFU/mL) x 10 ⁵	Total of <i>Azospirillum</i> sp. Isolate
1	5	19.3	5
2	5	4.5	4
3	5	6.4	4
4	5	5.0	5
5	5	4.4	5
6	5	3.5	4
7	5	14.8	5
8	5	8.0	7
9	5	8.1	8
10	5	4.2	8
11	5	6.6	4
ช่วง/รวม	5	3.5-19.3	59

เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง *Azospirillum* medium โคโลนีของอะโซสไปริลัมมีลักษณะนูนใสคล้ายหยดน้ำ มีเมือกเยิ้ม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางต่างกัน สร้างเมือกมากกว่าโคโลนีไรโซเบียมและไอโซเลตอะโซสไปริลัมที่คัดแยกได้จากปุ๋ยจาวปลวก ซึ่งลักษณะเช่นนี้ตรงกับรายงานของ Lakshmi-Kumari et al. (1980) ในการคัดแยกอะโซสไปริลัมด้วยอาหารแข็ง *Azospirillum* medium โคโลนีบนอาหารแข็ง NA medium และ CMC medium มีลักษณะขาวขุ่น ยังคงสร้างเมือก เซลล์มีรูปร่างท่อนสั้นและติดสีแกรมลบ ไอโซเลตอะโซสไปริลัมแสดงความสามารถในการย่อยเซลลูโลสและฟอสเฟตบนอาหาร CMC medium และ PVK medium รายงานของ Al-Mujahidy et al. (2013) ได้สนับสนุนความสามารถในการย่อยเซลลูโลสและฟอสเฟตของอะโซสไปริลัมในการส่งเสริมการเจริญของพืช นอกจากนี้ ฟัวไฟลิน และอรวรรณ (2556) ยังได้แสดงให้เห็นว่าการใส่ *Azospirillum* ผสมกับ *Azotobacter* และ *Beijerinckia* ในดินที่ปลูกคะน้าฮ่องกง ส่งเสริมให้กล้าคะน้าฮ่องกงเพิ่มการดูดใช้ธาตุอาหารพวกไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียมและแมกนีเซียม ลักษณะโคโลนีของอะโซสไปริลัมจากปุ๋ยน้ำหมักจาวปลวกบนอาหารต่างชนิดกันแสดงไว้ในภาพประกอบที่ 3



ภาพประกอบที่ 3 ลักษณะโคโลนีของไอโซเลตอะโซสไปริลลัมรหัส ZAS31 และ ZAS44 บนอาหารแข็ง (ก) NA medium; (ข) CMC medium; (ค) PVK medium; (ง) Azospirillum medium

บทสรุป

ปุ๋ยน้ำหมักจาวปลวกตรวจพบแบคทีเรียกลุ่มที่ตรึงไนโตรเจน ได้แก่ ไรโซเบียมที่ดำรงชีวิตอย่างอิสระ อะซิโตแบคเตอร์ และอะโซสไปริลลัม ไอโซเลตของแบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจนเหล่านี้แสดงคุณสมบัติในการย่อยเซลลูโลสและฟอสฟอรัสในดินได้ ซึ่งคุณสมบัตินี้จะช่วยเพิ่มธาตุคาร์บอนและฟอสฟอรัสในรูปที่พืชนำไปใช้สำหรับการเจริญ นอกจากนี้บางไอโซเลตของแบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจนยังแสดงความสามารถในการสร้างสาร indole acetic acid ซึ่งเป็นกลุ่มฮอร์โมนออกซินที่กระตุ้นการแบ่งเซลล์บริเวณเนื้อเยื่อเจริญของพืช จากการศึกษาวิจัยในงานนี้จึงควรสนับสนุนและส่งเสริมเกษตรกรให้ผลิตและใช้ปุ๋ยน้ำหมักจาวปลวกในพื้นที่เกษตรกรรมของตนเองเพื่อลดรายจ่ายจากการซื้อปุ๋ย บำรุงดิน เพิ่มแร่ธาตุและจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในดิน

เอกสารอ้างอิง

- กลุ่มงานความหลากหลายทางชีวภาพด้านป่าไม้ สำนักวิจัยและพัฒนาการป่าไม้ กรมป่าไม้. (2552). รายงานแผนงานวิจัยความหลากหลายทางชีวภาพและภูมิปัญญาท้องถิ่นในพื้นที่ป่าชุมชน: Biodiversity and indigenous knowledge in community forest. ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจาก สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ.
- ชัชฎาภรณ์ แก้วเมือง, ศุภชัย อำคา และ ธงชัย มาลา. (2556). การใส่เชื้ออะโซสไปริลลัมลงในดินเพื่อเป็นแหล่งไนโตรเจนทางเลือกในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพดหวานในชุดดินกำแพงแสน: The effects of Azospirillum Inoculations as Alternative Nitrogen Source for Sweet Corn Growth Promotion in Kamphaengsaen Soil. Series. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 2(2), 25-45.
- ฟ้าไพหลิน ไชยวรรณ และ อรวรรณ ฉัตรสีรุ่ง. (2556). ประสิทธิภาพของการใช้เชื้อจุลินทรีย์ชนิดเดียวและชนิดเชื่อมผสมต่อการเจริญเติบโตและการดูดใช้ธาตุอาหารและกล้าคะน้าฮ่องกง. วารสารวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 41(1), 158-165.
- เมทินี วสุนธราวัฒน์. (2560). การคัดแยกจุลินทรีย์ที่ใช้ประโยชน์ด้านการเกษตรในปุ๋ยจาวปลวกในเขตพื้นที่ศูนย์กสิกรรมธรรมชาติส่วนป่าตะวัน จังหวัดอุดรธานี. รายงานฉบับสมบูรณ์ประจำปีงบประมาณ 2558. ทุนสนับสนุนจากสำนักบริหารโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยแห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา.
- รภัสสา จันทาศรี, ทวีทรัพย์ ไชยรักษ์ และ สุนทร โชคสวัสดิ์ธนะกิจ. (2563). ผลของดินจอมปลวกต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพผลผลิตมะละกอพันธุ์ครั้งเนื้อเหลืองในประเทศไทย. วารสารเกษตรพระวรุณ. 17(1), 41-51.
- สุจิตรา กัลยา มฤครัฐอินแปลง. (2014). ความหลากหลายของไรโซเบียมในจังหวัดพระนครศรีอยุธยา. วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น. 19(5), 656-669.
- อรุณี คงสอน, ศศิธร บุญกอง และ ศุภชัย อำคา. (2014). การศึกษาการสร้างฮอร์โมนออกซินและการตรึงไนโตรเจนโดยเชื้อ อะซิโตแบคเตอร์: The study of auxin production and nitrogen fixation by azotobacter. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ. 2(1), 1-8.
- Akaracharanya, A., Taprig, T., Sitdhipol, J., & Tanasupawat, S. (2014). Characterization of cellulose producing *Bacillus* and *Paenibacillus* strains from Thai soils. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 4(5), 6-11.
- Al-Mujahidy, S.M.J., Hassan, M.M., Rahman, M.M., & Mamun-or-Rashid, A. (2013). Study on measurement and statistical analysis of adherent soil chemical compositions of leguminous plants and their impact on nitrogen fixation. *International Journal of Biosciences*. 3, 112-119.
- Carmen, B., Esther, I., & Roberto, D. (2009). Legumes like more IAA. *Plant signaling and behavior*. 4, 763-765.

- Esmail, Y.A., Azadgoleh, M.E., Pirdashti, H., & Mozafari, S. (2008). Azotobacter and Azospirillum inoculants as biofertilizer in canola (*Brassica napus* L.) cultivation. **Asian Journal of Plant Sciences**. 7, 490-494.
- Janthasri, R., & Atiwetin, P. (2005). **Effects of 3 kinds of fertilizer on the growth of papaya for unripe consumption in Maha Sarakham Province**. Research report of Rajabhat Maha Sarakham University, Maha Sarakham.
- Kaewfoo, M., Marod, D., Wiwatwittaya, D., & Bunyavejchewin, S. (2010). Effects of some properties of soils from large termite mounds on the vegetation pattern in dry dipterocarp forest at Mae Ping National Park, Lumphun Province. **Thai Journal Forestry**. 29(2), 26-36.
- Kanungo, P.K., Adhya, T.K., & Rao, V.R. (1995). Influence of repeated applications of carbofuran on nitrogenase activity and nitrogen-fixing bacteria associated with rhizosphere of tropical rice. **Chemosphere**. 31(5), 3249-3257.
- Ladha, J.K., So, R.B., & Watanabe, I. (1987a). Composition of *Azospirillum* species associated with wetland rice plant grown in different soils. **Plant Soil**. 102, 127-129.
- Lakshmi-Kumari, M., Lakshmi, V., Nalimi, P.A., & Subba Rao, N.S. (1980). Reactions of Azospirillum to certain dyes and their usefulness in enumeration of the organism. **Cuurent Science**. 49(11), 438-439.
- Malisorn, K., & Prasarn, C. (2014). Isolation and characterization of Rhizobium spp. from root of legume plants species. **Khon Kaen Agriculture Journal**. 42(4), 157-160.
- Oliveri, I., & Frank, S.A. (2009). The evolution of nodulation in Rhizosphere. *Journal of Heredity*. 8(85), 46-47.
- Peng, G., Yuan, Q., Li, H., Zhang, W., & Tan, Z. (2008). *Rhizobium oryzae* sp. nov., isolated for the wild rice *Oryza alta*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 58, 2158-2163.
- Sahgal, M., & Johri, B.N. (2003). The changing face of rhizobial systematics. **Cuurent Science**. 84(1), 43-48.
- Thazin, N.A., Nourmohammadi, S., Sunitha, E.M., & Myint, M. (2011). Isolation of endophytic bacteria from green gram and study on their plant growth promoting activities. **International journal of applied biology and pharmaceutical technology**. 2, 525-537.
- Wasoontharawat, M., Jatarasa, R., & Duangpaeng, A. (2017). Isolation and screening phosphoric solubilizing bacteria from organic anthill fertilizer and phosphorus release capacity. **SNRU Journal of Science and Technology**. 9(2), 454-464.
- Yanni, Y.G., & El-Fattah, F.K.A. (1999). Towards intergrated biofertilization management with free living and associative dinitrogen fixers for enhancing rice performance in the Nile delta. **Symbiosis Journal**. 27, 329-331.
- Yoon, J. H., Kang, S.J., Yi, H.S., Oh, T.K., & Ryu, C.M. (2010). *Rhizobium soli* sp. nov., isolated from soil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. 60, 1387-1393.