การศึกษาผลของระบบผลิตพืชต่อชนิดและจำนวนจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในดิน: กรณีศึกษา ตำบลห้วยหมอนทอง จังหวัดนครปฐม

Study on the effect of crop production systems on beneficial soil microorganisms: the case study of Sub-District Huaymonthong Kamphaeng Sean District, Nakhon Pathom Province

อานนท์ เรียงหมู่ พงษ์นาถ นาถวรานันท์ และกัญญา สอนสนิท*

ศูนย์วิจัยเพื่อการพัฒนาพืชเกษตรหลักนครปฐม สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม
**jkanya@windowslive.com*

บทคัดย่อ

ผลของระบบผลิตพืชต่อชนิดและจำนวนจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในดินจากแปลงระบบผลิตพืชที่แตกต่างกัน 3 ระบบ (ระบบเกษตรอินทรีย์ ระบบเกษตรดีที่เหมาะสม (good agricultural practice, GAP) และระบบเกษตรใช้สารเคมี) พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ในดินที่ตรวจนับได้จากระบบผลิตพืชทั้งสามระบบ เป็น $3.5x10^6$, $8.5x10^5$ และ $7.6x10^5$ cfu/g ตามลำดับ แบคทีเรียที่ตรวจพบส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียที่สร้างเอนโดสปอร์และแอคติโนมัยสีท เมื่อนำจุลินทรีย์ที่แยกได้ทั้งหมดมาตรวจหาความสามารถในการตรึงไนโตรเจนอย่างอิสระ ความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส และความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรคพืช (Phytopthora parasitica, Pythium sp., Colletotricum sp. และ Phytopthora sp.) พบว่าจำนวนไอโซเลทที่สามารถตรึงไนโตเจนได้อย่างอิสระ และที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสจากทั้งสามระบบผลิตพืชเป็น 100, 38 และ 20 ไอโซเลต และจำนวน 103, 85 และ 21 ไอโซเลต ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่ามีแบคทีเรียที่สร้างเอนโดสปอร์ จำนวน 8 ไอโซเลต (OF113, OB203, OF401, OF410, GF107, GF204, GB307 และ GB409) และแอคติโนมัยสีท 12 ไอโซเลท (OFA116, OFA301, GFA107, GFA114, GFA123, GBA205, GFA304, GFA310, GBA301, GBA305, GBA306 และ GFA405) ที่สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคพืชได้ จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์เหล่านี้ส่วนใหญ่แยกได้จากระบบ GAP และระบบเกษตรอินทรีย์

คำสำคัญ: จุลินทรีย์ดิน ระบบการผลิตพืช ระบบเกษตรอินทรีย์ ระบบ GAP ระบบเกษตรใช้สารเคมี

Abstract

Effects of three difference crop production systems (organic farming, GAP and traditional methods) on beneficial soil microorganisms were investigated. The results showed that number of soil microorganisms from organic farming, GAP and traditional methods were $3.5x10^6$, $8.5x10^5$ and $7.6x10^5$ cfu/g, respectively. Moreover, It also found that the bacteria isolated from soil on three crop production systems were spore forming bacteria and Actinomycetes. All of the isolates were examined for the ability of non-symbiotic nitrogen fixation, cellulose degradation and pathogenic plants inhibition (Phytopthora parasitica, Pythium sp., Colletotricum sp. and Phytopthora sp.). The results showed that the number of non-

symbiotic nitrogen fixing bacteria and cellulolytic bacteria from three crop production systems were 100, 38 and 20 isolates and 103, 85 and 21 isolates, respectively. Moreover, there were 8 isolates of spore forming bacteria (OF113, OB203, OF401, OF410, GF107, GF204, GB307 and GB409) and 12 isolates of Actinomycetes (OFA116, OFA301, GFA107, GFA114, GFA123, GBA205, GFA304, GFA310, GBA301, GBA305, GBA306 and GFA405) which were able to inhibit plant pathogens. Mostly of these beneficial bacteria were isolated from GAP and organic farming.

Keywords: soil microorganisms, crop production systems, organic farming, GAP, traditional methods

1. บทนำ

การเพาะปลูกโดยใช้ระบบผลิตพืชบางระบบหลาย ๆ รอบ สามารถทำให้ดินเสื่อมโทรม ขาดความอุดมสมบูรณ์ ซึ่งส่งผลกระทบโดยตรงต่อจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในดิน จุลินทรีย์ดินหลายชนิดสามารถเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ให้กับดินได้โดยมีกิจกรรมเพียงลำพังของจุลินทรีย์เอง หรือมีกิจกรรมร่วมกับพืช ซึ่งเป็นการช่วยลดปริมาณการใช้ปุ๋ยที่ต้องเติมลงไปในดิน เช่น เชื้อไรโซเบียม และไมคอไรซา (สายพิณ ไชยนันท์, 2547) นอกจากนี้แบคทีเรียกลุ่มอื่น เช่น บาซิลลัส และแอคติโนมัยสีทยังสามารถสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคพืชบางชนิดได้อีกด้วย

ตำบลห้วยหมอนทอง อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม นับเป็นตำบลหนึ่งที่เป็นชุมชนเกษตรกรรม พื้นที่เพาะปลูกในชุมชนมีความหลากหลาย ทั้งในแง่ของชนิดพืชที่ปลูก และระบบการผลิตพืช จากการศึกษาข้อมูลเบื้องต้นพบว่า พื้นที่ปลูกพืชในตำบลห้วยหมอนทองแบ่งออกได้เป็น 3 ระบบผลิตพืช คือ ระบบเกษตรอินทรีย์ ระบบเกษตรดีที่เหมาะสม (good agricultural practice, GAP) และระบบเกษตรใช้สารเคมี เกษตรกรส่วนใหญ่ใช้ระบบเกษตรที่ใช้สารเคมีเป็นหลัก จากการใช้ระบบการผลิตพืชที่แตกต่างกันนี้ นอกจากจะมีผลต่อพืช และการตลาดแล้ว ยังมีผลต่อชนิดและจำนวนของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในดินด้วย เพราะจุลินทรีย์เป็นกุญแจสำคัญของระบบนิเวศ การเกษตรกรรมจำเป็นต้องอาศัยกิจกรรมของจุลินทรีย์ช่วยย่อยอินทรียวัตถุให้เป็นแร่ธาตุอาหาร ซึ่งต้องให้อยู่ในรูปสารอนินทรีย์เพื่อจะละลายน้ำได้ง่าย และพืชสามารถดูดซึมเอาไปใช้ได้ทันที หากดินเสื่อมคุณภาพจะส่งผลให้ปริมาณจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในดินน้อยลง จนไม่สามารถสร้างความสมดุลให้กับระบบนิเวศในดินได้

ดังนั้นการศึกษาถึงผลของระบบการผลิตพืชที่แตกต่างกันในตำบลห้วยหมอนทองที่มีต่อชนิดและจำนวนจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในดิน จึงเป็นประเด็นที่น่าสนใจ ทั้งนี้ นอกจากที่จะสามารถทราบความแตกต่างกันของชนิดและจำนวนจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในดินที่มีการใช้ระบบผลิตพืชที่แตกต่างกันแล้ว ข้อมูลที่ได้ยังสามารถใช้เป็นดัชนีเพื่อบ่งบอกถึงความอุดมสมบูรณ์ของดินด้วย และจากข้อมูลดังกล่าว สามารถใช้เป็นองค์ความรู้เพื่อยืนยันต่อเกษตรกร หรือผู้นำในชุมชน ครู นักเรียน เพื่อสร้างความเชื่อมั่นในการปรับเปลี่ยนระบบการผลิตพืชจากระบบเดิม คือ การใช้สารเคมีมาสู่ระบบอื่นที่มีความเป็นมิตรต่อเกษตรกร ต่อผู้บริโภค และต่อสิ่งแวดล้อมได้ และยังสามารถนำจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ที่แยกได้จากพื้นที่มาประยุกต์ใช้แก้ไขปัญหาในระบบการผลิตพืชของท้องถิ่นต่อไป ทั้งนี้เพื่อเป็นการสร้างความผาสุกอย่างยั่งยืนในทุกๆ ด้านให้แก่ชุมชนนั่นเอง

2. วิธีการทดลอง

2.1 เก็บตัวอย่างดิน

การเก็บตัวอย่างดินนั้นจะเก็บดินจากแต่ละระบบผลิตพืช แบ่งเป็นระบบละ 4 แปลง เก็บตัวอย่างดินแปลงละ 2 ครั้ง โดยเวลาห่างกัน 4 สัปดาห์ ในแต่ละครั้งจะสุ่มเก็บตัวอย่างดินแปลงละ 15 จุด เก็บโดยการสุ่ม (random sampling) จากนั้นนำดินมารวมกันเป็น 1 ตัวอย่าง โดยแบ่งเก็บดินบน (ความลึก 0-6 นิ้ว) 1 ตัวอย่าง และดินล่าง (ความลึก 6-12 นิ้ว) 1 ตัวอย่าง

2.2 การศึกษาจุลินทรีย์

2.2.1 การศึกษาจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างดินในแต่ละระบบผลิตพืช (total plate count)

นำตัวอย่างดินที่เก็บจากระบบผลิตพืชต่างๆ ได้แก่ เกษตรอินทรีย์ GAP และระบบเกษตรใช้สารเคมี มาทำการศึกษาเพื่อตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างดิน โดยมีวิธี spread plate technique บนอาหาร PCA บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับจำนวนที่ 30-300 โคโลนี แล้วหาค่า CFU ต่อกรัมดิน จากนั้นเลือกโคโลนีที่เจริญ แยกเชื้อให้บริสุทธิ์ นำไปทดสอบต่อไป

2.2.2 การคัดแยกแอคติโนมัยสีทในดิน

นำดินที่ผึ่งไว้แล้วบดละเอียดแล้วมาทำการคัดแยกเพื่อหาแอคติโนมัยสีท โดยวิธี spread plate technique บนอาหาร soil extract agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลานาน 7-14 วัน เลือกโคโลนีของแอคติโนมัยสีทที่เจริญ แยกเชื้อให้บริสุทธิ์ นำไปทดสอบต่อไป

2.2.3 การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในดินจากระบบผลิตพืชต่างๆ

นำเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้ทั้งหมดมาตรวจหาความสามารถในการตรึงไนโตรเจนแบบอิสระ โดยนำเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้ทั้งหมดมา sub culture ใหม่ โดยการจุดเชื้อ (point inoculation) ลงบนจานอาหาร NA agar จานละประมาณ 25 ไอโซเลต จากนั้นบ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วจึงทำการตรวจหาความสามารถในการตรึงไนโตรเจนแบบอิสระ ซึ่งมีวิธีการดังต่อไปนี้

1) การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถตรึงไนโตรเจนแบบอิสระ

นำเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้มาทดสอบโดยวิธี point inoculation ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Norris Glucose Nitrogen Free Medium จานละ 25 ไอโซเลต บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วัน สังเกตและนับไอโซเลตที่สามารเจริญได้

2) การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส

นำเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้มาทดสอบโดยวิธี point inoculation ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC agar จานละ 25 ไอโซเลต บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 72 ชั่วโมง เท Gram's Iodine สังเกตโซนใสรอบโคโลนี นับจำนวน และบันทึกไอโซเลตที่เกิดโซนใส (เสาวภา สุราวุธ และคณะ, 2554)

3) การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

นำเชื้อแบคทีเรียและแอคติโนมัยสีทที่แยกได้ทั้งหมด มาตรวจหาความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรคพืช โดยสำหรับเชื้อแบคทีเรียใช้วิธี agar well diffusion และสำหรับแอคติโนมัยสีทใช้วิธี point inoculation ซึ่งแต่ละวิธีมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

(1) วิธี Agar well diffusion

นำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ทั้งหมดมาเลี้ยงลงในอาหาร NB บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 – 72 ชั่วโมง ปิเปตเชื้อปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่หลอดเซนตริฟิวจ์ที่ปราศจากเชื้อ นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 8,000 รอบต่อนาที (rpm) อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เจาะวุ้นอาหารบนจานอาหาร PDA โดยใช้ cork borer ปราศจากเชื้อ ซึ่งเจาะจานละ 4 หลุม แต่ละหลุมห่างจากจุดศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร ปิเปตส่วนใส (supernatant) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลุมที่เจาะแล้ว โดยปิเปตใส่ลงไปไอโซเลตละ 4 จาน (ทดสอบกับเชื้อก่อโรค 4 เชื้อ) จานละ 1 หลุม จากนั้นใช้ cork borer เจาะเชื้อราก่อโรคพืชแล้วใช้เข็มเขี่ยเชื้อล่นไฟมาเขี่ย จากนั้นนำมาวางลงตรงกลางจาน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 -7 วัน ตรวจผลโดยการสังเกตบริเวณยังยังเชื้อราก่อโรค

(2) วิธี Point inoculation

นำเชื้อแอคติโนมัยสีทมาขีดเชื้อลงบนจานอาหาร ISP2 บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน ใช้ cork borer เจาะเชื้อแอคติโนมัยสีท แล้วใช้เข็มเขี่ยเชื้อ เขี่ยเชื้อแอคติโนมัยสีทวางลงบนจานอาหาร PDA จานละ 4 – 5 ไอโซเลท ไอโซเลตละ 4 จานเพื่อทดสอบเชื้อก่อโรค 4 ชนิด บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน จากนั้นใช้ cork borer เจาะเชื้อราก่อโรคพืชที่ใช้ทดสอบ วางลงตรงกลางจาน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 – 7 วัน ตรวจผลโดยสังเกตบริเวณยับยั้งเชื้อราก่อโรค จากนั้นบันทึกไอโซเลตนั้นเพื่อทำการหาประสิทธิภาพโดยวิธี Dual culture ต่อไป

4) การหาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อก่อโรคพืชของแอคติโนมัยสีท

นำเชื้อแอคติโนมัยสีทที่สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ มาทดสอบหาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรคพืชโดยวิธี dual culture method ใช้ cork borer เจาะเชื้อแอคติโนมัยสีทแต่ละชนิดมาวางบนจานอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน จากนั้นใช้ cork borer เจาะเชื้อราก่อโรคแต่ละชนิด และวางลงบนจาน โดยห่างจากเชื้อแอคติโนมัยสีท 3 เซนติเมตร บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 3 – 7 วัน ตรวจผลโดยการวัดขนาดบริเวณยับยั้ง และขนาดโคโลนีของเชื้อราก่อโรคที่เป็นจานควบคุม จากนั้นคำนวณร้อยละของการยับยั้ง

3. ผลการทดลอง

3.1 การศึกษาและคัดแยกจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างดิน (total plate count)

จากการตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในดินของระบบผลิตพืชทั้งสามระบบ โดยแต่ละระบบเก็บดิน 4 แปลง และแต่ละแปลงเก็บแยกดินบน และดินล่าง โดยได้ผลการตรวจนับจุลินทรีย์ทั้งหมดในดินชั้นบนและดินชั้นล่าง (cfu/g) ของแต่ละระบบผลิตพืช ดังนี้ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (cfu/g) ในดินชั้นบนและดินชั้นล่างของระบบผลิตพืชแบบอินทรีย์ GAP และระบบเกษตรเคมีเป็น 10^6, 10^5 และ 10^5 ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าจำนวนจุลินทรีย์ในดินชั้นบนและดินชั้นล่างของระบบเกษตรอินทรีย์นั้นมีจำนวนมากกว่าระบบ GAP และระบบเกษตรใช้สารเคมีอย่างเห็นได้ชัด ในขณะที่จำนวนจุลินทรีย์ในดินชั้นบนกับดินชั้นล่างนั้นไม่มีความแตกต่างกัน เนื่องจากความลึกของดินชั้นบนและดินชั้นล่าง คือ 1 – 6 นิ้ว และ 6 – 12 นิ้ว ตามลำดับ ซึ่งเป็นระดับความลึกของบริเวณไรโซสเฟียร์ที่รากพืชสามารถหยั่งรากถึงดินชั้นดังกล่าว เมื่อนำมาแยกเชื้อบริสุทธิ์จากดินในแต่ละระบบสามารถแยกจำนวนเชื้อบริสุทธิ์ได้ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 จำนวนไอโซเลตที่แยกได้จากดินชั้นบนและดินชั้นล่างในแต่ละระบบผลิตพืช

ชั้นดิน	จำนวนไอโซเลตที่แยกได้จากดิน		
	อินทรีย์	GAP	เคมี
ดินบน	68	60	18
ดินล่าง	67	49	41
รวม	**135**	**109**	**59**

จากตารางที่ 1 จะเห็นได้ว่าจำนวนไอโซเลตรวมของเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้จากดินชั้นบนและดินชั้นล่างในแต่ละระบบผลิตพืชเรียงจากมากไปหาน้อย คือ ระบบเกษตรอินทรีย์ GAP และระบบใช้สารเคมี ตามลำดับ

นำเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้เก็บไว้ เพื่อนำไปทดสอบความสามารถในด้านต่างๆ ได้แก่ ความสามารถในการตรึงไนโตรเจนแบบอิสระ ความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส และความสามารถในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพืช

3.2 การตรวจนับและคัดแยกแอคติโนมันสีท

จากการตรวจนับจำนวนแอคโนมัยสีทในดินของแต่ละระบบผลิตพืชพบว่า จำนวนแอคติโนมัยสีทที่นับได้ทุกระบบผลิตพืชนั้น มีปริมาณน้อยกว่าช่วง 30-300 โคโลนี และเมื่อนำไปแยกเชื้อบริสุทธิ์สามารถแยกจำนวนไอโซเลตได้ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 จำนวนไอโซเลตที่แยกได้จากระบบผลิตพืชแต่ละระบบ

ชั้นดิน	จำนวนไอโซเลตที่แยกได้		
	อินทรีย์	GAP	เคมี
ดินชั้นบน	37	43	19
ดินชั้นล่าง	9	18	10
รวม	**46**	**61**	**29**

เมื่อทำการแยกเชื้อบริสุทธิ์แล้วจึงนำไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพืชทั้ง 4 ชนิด

3.3 การตรวจหาความสามารถตรึงไนโตรเจนแบบอิสระ

นำเชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรียที่แยกได้มาตรวจหาความสามารถในการตรึงไนโตรเจนแบบอิสระโดยเลี้ยงบนอาหาร Norris glucose nitrogen free medium ซึ่งตรวจผลโดยการสังเกตการเจริญหากเชื้อที่มีการเจริญเกิดขึ้นได้แสดงว่าสามารถตรึงไนโตรเจนจากบรรยากาศได้ ผลการตรวจหาจุลินทรีย์ที่สามารถตรึงไนโตรเจนแบบอิสระของแต่ละระบบผลิตพืชแสดง ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 จำนวนแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนแบบอิสระในแต่ละระบบผลิตพืช

ชั้นดิน	**จำนวนแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนแบบอิสระ**		
	อินทรีย์	**GAP**	**เคมี**
ดินชั้นบน	49	25	11
ดินชั้นล่าง	51	13	9
รวม	**100**	**38**	**20**

จากตารางพบว่าจำนวนแบคทีเรียที่สามารถตรึงในโตรเจนแบบอิสระได้นั้น ในระบบเกษตรอินทรีย์พบมากที่สุดคือ 100 ไอโซเลต ต่อมาเป็นระบบ GAP และระบบเกษตรใช้สารเคมี คือ 38 และ 20 ไอโซเลต ตามลำดับ

3.4 การตรวจหาความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส

นำเชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรียที่แยกได้จากดินในระบบผลิตพืชแบบเกษตรอินทรีย์ GAP และแบบใช้สารเคมีมาตรวจหาความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส โดยเลี้ยงเชื้อบนอาหาร CMC agar แล้วตรวจผลด้วยการเทสารละลาย Gram's iodine แล้วตรวจนับจำนวนเชื้อที่เกิดบริเวณใสรอบโคโลนี และสังเกตขนาดของบริเวณใสหากมีช่วงที่กว้างแสดงว่าเชื้อไอโซเลตนั้นสามารถย่อยสลายเซลลูโลสได้ดี ซึ่งผลการตรวจหาแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 จำนวนแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสในแต่ละระบบผลิตพืช

ชั้นดิน	จำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยเซลลูโลส		
	อินทรีย์	GAP	เคมี
ดินชั้นบน	53	49	9
ดินชั้นล่าง	50	36	12
รวม	103	85	21

จากตารางพบว่าจำนวนแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสบนอาหาร CMC agar ได้นั้น ในระบบเกษตรอินทรีย์พบมากที่สุดคือ 50 ไอโซเลต ต่อมาเป็นระบบ GAP และแบบใช้สารเคมี คือ 36 และ 12 ไอโซเลต ตามลำดับ

3.5 การศึกษาความสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคพืช

3.5.1 วิธี Agar well Diffusion

เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้มาปั่นเหวี่ยง แล้วนำส่วนใสมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรคพืช ทั้ง 4 ชนิด ดังตารางที่ 5 โดยผลการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพืชของแต่ละไอโซเลต

ตารางที่ 5 ไอโซเลตของแบคทีเรียที่สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคพืชได้

ไอโซเลต	**ความสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคพืช**			
	Phytopthora parasitica	*Pythium*	*Colletttotricum*	*Phytopthera*
OF113			√	√
OB203		√		√
OF401			√	
OF410	√			
GF107			√	
GF204		√		
GB307			√	
CB409			√	

3.5.2 วิธี Point inoculation

นำเชื้อแอคติโนมัยสีทมาหาความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรคพืช โดยการนำเชื้อแอคติโนมัยสีทมาวางให้ห่างจากเชื้อก่อโรคพืช 2 เซนติเมตร นำไปบ่ม 5 ถึง 7 วัน พบเชื้อที่สามารถยับยั้งเชื่อก่อโรคพืชได้ ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ไอโซเลตของแอคติโนมัยสีทที่สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคพืชได้

ไอโซเลต	ความสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคพืช			
	Phytopthora parasitica	*Pythium*	*Colletttotricum*	*Phytopthora* sp.
OFA116			√	
OFA301	√		√	
GFA107			√	√
GFA114			√	
GFA123			√	
GBA205			√	
GFA304	√		√	
GFA310			√	
GBA301			√	
GBA305			√	
GBA306			√	
GFA405			√	√
				√

3.5.3 การหาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อก่อโรคพืชโดยวิธี Dual culture

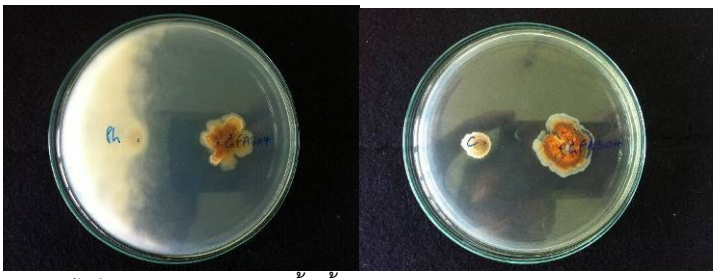
เมื่อหาเชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีความสามารถการยับยั้งเชื้อก่อโรคพืชแล้ว จากนั้นนำเชื้อดังกล่าวมาหาประสิทธิภาพได้ ดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ร้อยละของประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อก่อโรคโดยวิธี Dual culture

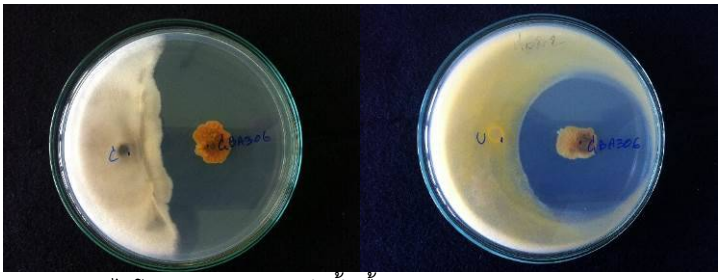
ไอโซเลต	**ประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อก่อโรคพืช (ร้อยละ)**			
	Phytopthora parasitica	*Pythium*	*Colletttotricum*	*Phytopthora* sp.
OFA116			33.3	
OFA301	38.8		44.4	
GFA107			38.8	33.3
GFA114			22.2	
GFA123			22.2	
GBA205			11.1	
GFA304	42.2		62.2	
GFA310			35.5	
GBA301			33.3	
GBA305			40	
GBA306			44.4	57.7
GFA405			31.1	35.5

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าเชื้อแอคติโนมันสีทที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งเชื้อราก่อโรค *Phytopthora parasitica* และ *Colletotricum* sp. ได้แก่ ไอโซเลต GFA304 โดยมีประสิทธิภาพการยับยั้งคิดเป็นร้อยละ 42.2 และ 62.2 ตามลำดับ ส่วนไอโซเลท GBA306 มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้ง *Phytopthora* sp. คิดเป็นร้อยละ 57.7 โดยไอโซเลตทั้ง 2 นี้แยกได้จากดินระบบ GAP ภาพผลการยับยั้งเชื้อราโรคพืชดังแสดงในภาพที่ 1 – 4

ภาพที่ 1 ประสิทธิภาพไอโซเลต GFA114 ยับยั้งเชื้อ *Colletotricum* sp.



ภาพที่ 2 ประสิทธิภาพไอโซเลต GFA304 ยับยั้งเชื้อ *Phytopthora parasitica และ Colletotricum* sp.



ภาพที่ 3 ประสิทธิภาพไอโซเลต GBA306 ยับยั้งเชื้อ *Colletotricum* sp. และ *Phytopthora* sp.

ภาพที่ 4 ประสิทธิภาพไอโซเลต GFA405 ยับยั้งเชื้อ *Colletotricum* sp. และ *Phytopthora* sp.

4. สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาชนิดและจำนวนของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในดินจากระบบผลิตพืชสามระบบ ได้แก่ ระบบเกษตรอินทรีย์ ระบบ GAP และระบบเกษตรแบบใช้สารเคมีพบว่า จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด (total count) จากระบบเกษตรอินทรีย์มีจำนวนสูงที่สุด คือ $3.5x10^6$ cfu/g ส่วนจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดที่พบในระบบ GAP และ แบบใช้สารเคมีได้เท่ากับ $8.5x10^5$

และ 7.6x 10^5 cfu/g ตามลำดับ ในขณะที่จำนวนแอคติโนมัยสีทที่พบมากที่สุดจากระบบผลิตพืชทั้งสามแบบ คือ ระบบ GAP เมื่อนำแบคทีเรียทั้งหมดที่แยกได้มาศึกษาความสามารถตรึงไนโตรเจนแบบอิสระพบว่าระบบผลิตพืชที่พบแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนอิสระได้จำนวนมากที่สุดเรียงจากมากไปน้อย ได้แก่ ระบบเกษตรอินทรีย์ ระบบ GAP และระบบเกษตรใช้สารเคมี โดยมีจำนวนไอโซเลตที่สามารถตรึงไนโตรเจนอิสระได้เป็น 100, 38 และ 20 ไอโซเลต ตามลำดับ ซึ่งผลการทดลองการศึกษาความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสก็มีผลการศึกษาเช่นเดียวกับการศึกษาความสามารถตรึงไนโตรเจนแบบอิสระนั่นคือ ระบบเกษตรอินทรีย์ ระบบ GAP และระบบเกษตรใช้สารเคมี โดยมีจำนวนไอโซเลตที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสเรียงจากมากไปหาน้อยได้ 103, 85 และ 21 ไอโซเลต ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้มาปั่นเหวี่ยง แล้วนำส่วนใสมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรคพืช 4 ชนิดโดยวิธี agar well diffusion ได้แก่ *Phytopthora parasitica*, *Pythium* sp., *Colletotricum* sp. และ *Phytopthora* sp. พบว่ามี 8 ไอโซเลตที่สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคพืชได้ ได้แก่ ไอโซเลต OF113, OB203, OF401, OF410, GF107, GF204, GB307 และ GB409 โดยพบว่าเป็นแบคทีเรียที่สร้างเอนโดสปอร์ได้ เมื่อนำเชื้อแอคติโนมัยสีทมาหาความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรคพืชโดยวิธี point inoculation พบว่ามีแอคติโนมัยสีท 12 ไอโซเลตที่สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคพืชได้ ได้แก่ ไอโซเลต OFA116, OFA301, GFA107, GFA114, GFA123, GBA205, GFA304, GFA310, GBA301, GBA305, GBA306, GFA405 โดยพบว่า เชื้อแอคติโนมันสีทที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้งเชื้อราก่อโรค *Phytopthora parasitica* และ *Colletotricum* sp. ได้แก่ ไอโซเลต GFA304 โดยมีประสิทธิภาพการยับยั้งคิดเป็นร้อยละ 42.2 และ 62.2 ตามลำดับ ส่วนไอโซเลท GBA306 มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการยับยั้ง *Phytopthora* sp. คิดเป็นร้อยละ 57.7 ซึ่งแยกได้จากดินระบบ GAP

5. อภิปรายผลการทดลอง

จะเห็นได้ว่าเมื่อนำดินจากระบบผลิตพืชทั้งสามระบบ ได้แก่ ระบบเกษตรอินทรีย์ ระบบ GAP และระบบเกษตรแบบใช้สารเคมีมาศึกษาจำนวนจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ด้านต่างๆ เช่น ความสามารถในการตรึงไนโตรเจน การย่อยสบายเซลลูโลสและความสามารถในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพืชพบว่า จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่พบมากที่สุด คือ ในดินจากระบบการผลิตพืชแบบเกษตรอินทรีย์ ทั้งนี้เนื่องจากเป็นระบบที่หลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีสังเคราะห์ เช่น ปุ๋ยเคมี สารเคมีกำจัดศัตรูพืชและเวชภัณฑ์สำหรับสัตว์ อีกทั้งยังเป็นระบบที่พยายามประยุกต์กลไก และวัฏจักรธรรมชาติในการเพิ่งผลผลิต ดังนั้นดินในระบบเกษตรอินทรีย์จึงนับได้ว่าเป็นดินที่มีความสมบูรณ์ ไม่มีสารเคมีปนเปื้อน ในขณะที่จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ตรวจนับได้ในดินจากระบบ GAP จะพบจำนวนน้อยกว่าจากระบบเกษตรอินทรีย์ แต่จำนวนจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ที่พบในดินของระบบ GAP พบจำนวนใกล้เคียงกันกับดินในระบบเกษตรอินทรีย์ นอกจากนี้ยังพบว่าดินจากระบบ GAP สามารถแยกเชื้อแอคติโนมัยสีทที่มีประสิทธิภาพดีในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคได้ดีกว่าเชื้อที่แยกได้จากแปลงระบบเกษตรอินทรีย์ ซึ่งระบบ GAP นั้นจัดเป็นระบบผลิตพืชดีที่มีความเหมาะสม จึงทำให้มีจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์เจริญอยู่ได้เป็นอย่างดี สำหรับระบบเกษตรใช้สารเคมี พบว่าจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์พบน้อยที่สุด ดังนั้นระบบผลิตพืชแบบระบบเกษตรอินทรีย์ และระบบ GAP ส่งผลให้ดินมีคุณภาพดีมีความอุดมสมบูรณ์ ซึ่งหมายถึงเป็นแหล่งอาศัยที่ดีสำหรับจุลินทรีย์ต่างๆ

6. เอกสารอ้างอิง

นิศรา กุดเสนา ,จุรีย์รัตน์ ลีสมิทธิ์ ,ลลิตา สนองบุญ ,กิติธัช พบูประภาพ ,สมพร สัมโย และขวัญชัย นิ่มอนันต์. (2553). **การคัดเลือกจุลินทรีย์จากแหล่งธรรมชาติที่มีประสิทธิภาพสูงในการตรึงไนโตรเจน.** การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ครั้งที่ 7. นครปฐม : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

มาริสา จาตุพรพิพัฒน์, อารี ฤทธิบูรณ์ และชลิต นพรัตน์. (2554). **การทดสอบประสิทธิภาพการไนโตรเจนของแบคทีเรียที่แยกได้จากดินด้วยวิธี acetylene reduction assay**. การประชุมวิชาการนานาชาติวิศวกรรมเคมีและเคมีประยุกต์แห่งประเทศไทย ครั้ง ที่ 21. กรุงเทพฯ : คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

รัตนาภรณ์ ศรีวิบูลย์. 2548. **แอคติโนมัยซีท.** สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล. มหาวิทยาลัยบูรพา จ. ชลบุรี. Success Advertising design Partnership. ศรีราชา. ชลบุรี. 100 หน้า.

ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. (2544). **โรคพืช มข. ปริทรรศน์** ขอนแก่น : ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

สายพิณ ไชยนันท์. (2547). **จุลินทรีย์ดิน** (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพ : ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

สืบศักดิ์ สนธิรัตน. (2551**). การจัดการโรคพืช** (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ :มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เสาวภา สุราวุธ, ประสาน แสงไพบูลย์, วิญญู ภักดี, เดือนเต็ม ทองเผือก, กาญจนา ราชสุวรรณ และวิระ ศรีมาลา. (2554). การคัดแยกเชื้อราที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสในพื้นที่ป่าโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดาริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารีมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี. **การประชุมวิชาการทรัพยากรไทย : ก้าวสู่โลกกว้างอย่างมั่นใจ**. จันทบุรี : มหาวิทยาลัยราชภัฏราไพพรรณี