การคัดเลือกแบคทีเรียในการปรับปรุงคุณภาพดินในการผลิตลำไย

กัลยวรรธน์ อินถา

วิทยานิพนธ์เสนอมหาวิทยาลัยพะเยา เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

เมษายน 2564

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยพะเยา

การคัดเลือกแบคทีเรียในการปรับปรุงคุณภาพดินในการผลิตลำไย

กัลยวรรธน์ อินถา

วิทยานิพนธ์เสนอมหาวิทยาลัยพะเยา เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

เมษายน 2564

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยพะเยา

SCREENING OF THE BACTERIA FOR SOIL IMPROVEMENT IN LONGAN (*DIMOCARPUS LONGAN* LOUR.) PRODUCTION

KANLAYAWAT IN-THA

A Thesis Submitted to University of Phayao

in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Master of Science Degree in Biotechnology

April 2021

Copyright 2020 by University of Phayao

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การคัดเลือกแบคทีเรียในการปรับปรุงคุณภาพดินในการผลิตลำไย

ของ กัลยวรรธน์ อินถา

ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ของมหาวิทยาลัยพะเยา

..... ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ดร.กิตติศักดิ์ โชติกเดชาณรงค์)

..... ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุภัค มหัทธนพรรค)

..... กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุภาพร ภัสสร)

..... อาจารย์บัณฑิตศึกษามหาวิทยาลัยพะเยา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุภาพร ภัสสร)

..... อาจารย์บัณฑิตศึกษามหาวิทยาลัยพะเยา
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุภัค มหัทธนพรรค)

..... คณบดีคณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. บุญฤทธิ์ สินค้างาม)

เรื่อง: การคัดเลือกแบคทีเรียในการปรับปรุงคุณภาพดินในการผลิตลำไย

ผู้วิจัย: กัลยวรรธน์ อินถา, วิทยานิพนธ์: วท.ม. (เทคโนโลยีชีวภาพ), มหาวิทยาลัยพะเยา, 2563

อาจารย์ที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์ ดร. สุภัค มหัทธนพรรค อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุภาพร ภัสสร

คำสำคัญ แบคทีเรีย, ละลายฟอสเฟส, ลำไย

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติการปรับปรุงดินในการผลิตลำไย โดยทำการทดสอบคุณสมบัติทางเคมีของดิน และทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของดินทั้งก่อน และหลังการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย โดยใช้อาหารแข็งทั้งหมด 7 ชนิด เพื่อคัดเลือกแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟต พบแบคทีเรีย 3 ไอโซเลท ได้แก่ SBP04, SBP109 และ SBP115 ที่สามารถสร้างวงใสรอบโคโลนี (Holo colony ratio) บนอาหาร Pikovskaya'agar นำแบคทีเรียไอโซเลท SBP04 ที่คัดเลือกได้ซึ่งมีการสร้างวงใสรอบโคโลนีสูงที่สุดบนอาหาร Pikovskaya'agar ที่ค่า 1.92 ± 0.01 จากนั้นนำแบคทีเรียไอโซเลท SBP04มาทดสอบคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตในอาหารเหลว พบแบคทีเรียไอโซเลท SBP04 แสดงค่าคุณสมบัติในการละลายฟอสฟอรัสได้สูงที่สุดที่ 90.12 ± 0.69 มิลลิกรัมฟอสเฟตต่อลิตร เมื่อทำการเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และทำการศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมี และคุณสมบัติทางชีวโมเลกุลของแบคทีเรียไอโซเลท SBP04 พบว่า แบคทีเรียไอโซเลท SBP04 มีความคล้ายคลึงกับเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* โดยมีค่า 99 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* (SBP04) มาทำการทดสอบในสภาวะกระถางและสภาวะสภาพแปลงปลูก พบว่า การทดลองที่มีการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* (SBP04) ผสมกับปุ๋ยชีวภาพ แสดงค่าความสามารถในการเพิ่มปริมาณความเป็นกรด – ด่าง ปริมาณอินทรียวัตถุ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ภายในดินซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Title: SCREENING OF THE BACTERIA FOR SOIL IMPROVEMENT IN LONGAN (*DIMOCARPUS LONGAN* LOUR.) PRODUCTION

Author: Kanlayawat In-tha, Thesis: M.Sc. (Biotechnology), University of Phayao, 2020

Advisor: Associate Professor Dr. Supuk Mahadtanapuk Co-advisor Assistant Professor Dr.Supaporn Passorn

Keyword Bacteria, Phosphate solubilization, Longan

ABSTRACT

This study aimed to selecting bacteria with soil improvement properties in longan (*Dimocarpus longan* Lour.) production by tested the chemical and physical properies of the soil before and after application of bacteria. Screening bacteria on agar 7 type were used for selected Phosphate solubilizing bacteria selection. There were 3 isolates gave the great phosphate solubilization activity with clear zone for the testing. The study showed that the most effective isolates SBP04, SBP109, and SBP115 gave the Halo : colony ratio. After that, the SBP04 isolation highest average of clear zone with 1.92 ± 0.01 on Pikovskaya agar testing was selected for test effectiveness of Phosphate solubilization in liquid media.The data showed that SBP04 presented highest average with 90.12 ± 0.69 mgP/L compared with control treatment. The isolate of SBP04 was analied and identified by biochemical test method and the nucleotides sequencing, the result revealed that the SBP04 was related *Bacillus subtilis* with 99 percen sequence identity. The *Bacillus subtilis* (SBP04) was tested in the pot and field condition. It was found that, the experiment that applied *Bacillus subtilis* (SBP04) mixed with biofertilizers was showed statistically significant of ability to increase pH value, organic matter, available phosphorus and exchangeable potassium in soil.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณโครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) สำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.) รหัสโครงการ MSD62I0014 ที่ให้งบประมาณในการสนับสนุนงบวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณวิสาหกิจชุมชนผู้ปลูกลำไยบ้านต๋ำใน ตำบลบ้านต๋ำ อำเภอเมือง จังหวัดพะเยา รวมไปถึงคุณตรง ท้าวล่า ประธานกลุ่มวิสาหกิจชุมชนผู้ปลูกลำไยบ้านต๋ำ และคุณวรรณภา ไชยยา ที่ให้ความอนุเคราะห์พื้นที่สวนลำไยและผลลำไยเพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณรองศาสตราจารย์ ดร. สุภัค มหัทธนพรรค อาจารย์ที่ปรึกษา ที่ให้คำปรึกษา คำแนะนำ ตรวจทานและแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ด้วยความเอาใจใส่ทุกขั้นตอน เพื่อให้ได้งานวิจัยที่ถูกต้อง และสมบูรณ์ที่สุด ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการ ศูนย์บริการเครื่องมือวิทยาศาสตร์และตรวจสอบคุณภาพมาตรฐานผลิตภัณฑ์ สถาบันนวัตกรรมและถ่ายทอดเทคโนโลยี ที่ให้เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำปฏิบัติการของงานวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณคุณครูวัลย์ กลิ่นบำรุง คุณอาณัติ ขัตติสะ คุณอมรรัตน์ ยาสมุทร คุณคงศักดิ์ สมเงิน คุณศักรินทร์ สุขสกล คุณภานุวัฒน์ เกตุแก้ว และคุณจิรภิญญา เลี่ยมไครต่วน ที่ให้ความช่วยเหลือในเรื่องต่างๆในการทำวิจัย รวมถึงข้อเสนอแนะ และข้อตักเตือน เพื่อให้งานวิจัยออกมาสมบูรณ์ที่สุด

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณครอบครัว คุณพ่อ และคุณแม่ ที่ผลักดัน ส่งเสริม สนับสนุน และให้กำลังใจในการทำวิจัยตลอดมา ขอขอบพระคุณทุกท่านมา ณ ที่นี้

กัลยวรรธน์ อินถา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ญ

สารบัญภาพ ..... ฎ

บทที่ 1 บทนำ 12

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 12

วัตถุประสงค์ของการวิจัย 13

สมมติฐานของการวิจัย 13

ประโยชน์ที่จะได้รับจากการวิจัย 13

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 14

ลำไย 14

ดินที่เหมาะสำหรับการปลูกลำไย 16

ลักษณะของดิน 16

ธาตุอาหารของพืชที่อยู่ในดิน 17

ธาตุฟอสฟอรัส 18

ฟอสฟอรัสภายในดิน 18

ดินกรด 19

ข้อจำกัดของดินกรดต่อการเจริญเติบโตของพืช 19

สาเหตุการเกิดดินกรด 19

การจัดการ และการแก้ไขปัญหาดินกรด 20
จุลินทรีย์ในดิน 21
ประโยชน์จากการปรับปรุงดินโดยใช้จุลินทรีย์ 22
กลไกการปรับปรุงคุณภาพดินของจุลินทรีย์ 24
การคัดเลือกแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟต 25
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 25
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 31
เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย 31
อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย 31
การวิเคราะห์ข้อมูล 33
วิธีการทำวิจัย 33
1. การตรวจสอบคุณสมบัติของดินในสวนลำไย 34
2. การแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในการปรับปรุงดิน 35
3. การทดสอบเชื้อแบคทีเรียที่มีผลต่อสภาพดินในสภาพกระถาง 37
4. การทดสอบเชื้อแบคทีเรียที่มีผลต่อสภาพดินในสภาพแปลงปลูกลำไย 38
บทที่ 4 ผลการทดลอง 39
การตรวจสอบคุณสมบัติของดินในสวนลำไย 39
ผลการศึกษาการแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในการปรับปรุงดิน 42
ลักษณะสัณฐานวิทยายาเบื้องต้นและการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี 44
การบ่งบอกสายพันธุ์แบคทีเรียด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล 46
ผลการทดสอบเชื้อแบคทีเรียที่มีผลต่อสภาพดินในสภาพกระถาง 50
ผลการทดสอบเชื้อแบคทีเรียที่มีผลต่อสภาพดินในสภาพแปลงปลูกลำไย 54
ผลการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของดินโดยการประยุกต์ใช้แบคทีเรียในสภาวะแปลงปลูก 57

บทที่ 5 บทสรุป 61
สรุปผลการทดลอง 61
อภิปรายผลการทดลอง 63
ข้อเสนอแนะในการทดลอง 69
บรรณานุกรม 70
ภาคผนวก 78
ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ 79
ภาคผนวก ข การเตรียมสารละลาย 83
ภาคผนวก ค การเตรียมสารเคมีเพื่อทดสอบคุณสมบัติทางเคมีของดิน 85
ภาคผนวก ง สูตรคำนวณ 88
ประวัติผู้วิจัย 89

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 1 คุณสมบัติทางเคมีของดินในสภาวะกระถางก่อนการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย 41

ตาราง 2 คุณสมบัติทางเคมีของดินในสภาพแปลงปลูกก่อนการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย 41

ตาราง 3 คุณสมบัติทางกายภาพของดินในสภาพแปลงปลูกก่อนประยุกต์การใช้แบคทีเรีย....42

ตาราง 4 ค่า Halo Colony ratio ของแบคทีเรียที่ละลายฟอสเฟต และการทดสอบคุณสมบัติการละลายฟอสเฟต.....44

ตาราง 5 คุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SBP04 47

ตาราง 6 คุณสมบัติความเป็นกรด-ด่าง ของดินในสภาวะกระถางหลังการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย 52

ตาราง 7 ปริมาณอินทรียวัตถุของดินในสภาวะกระถางหลังการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย.....53

ตาราง 8 ปริมาณฟอสฟอรัสของดินในสภาวะกระถางหลังการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย 54

ตาราง 9 ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในสภาวะกระถางหลังการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย 54

ตาราง 10 คุณสมบัติความเป็นกรด-ด่าง ของดินในสภาวะแปลงปลูกหลังการทดสอบ เชื้อแบคทีเรีย 56

ตาราง 11 ปริมาณอินทรียวัตถุของดินในสภาวะกระถางหลังการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย.....57

ตาราง 12 ปริมาณฟอสฟอรัสของดินในสภาวะแปลงปลูกหลังการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย.....58

ตาราง 13 ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในสภาวะแปลงปลูกหลังการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย 59

ตาราง 14 ความหนาแน่นของดินในสภาพแปลงปลูกหลังการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย 60

ตาราง 15 ปริมาณน้ำในภาคสนามในสภาพแปลงปลูกหลังการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย 60

ตาราง 16 การนำน้ำของดินในสภาพอิ่มตัวด้วยน้ำในสภาพแปลงปลูกหลังการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย 61

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพ 1 ลักษณะผลลำไยพันธุ์ดอ..... 15

ภาพ 2 แผนผังสรุปวิธีการทำวิจัย 34

ภาพ 3 แบคทีเรียที่มีการสร้างวงใสรอบโคโลนี (Clear zone) บนอาหาร Pikovskaya 44

ภาพ 4 ลักษณะแบคทีเรียไอโซเลท SBP04 ที่ย้อมติดสีม่วงของแบคทีเรียแกรมบวก มีลักษณะเป็นรูปร่างท่อน ภายใต้กำลังขยาย 1000 เท่า.....45

ภาพ 5 แบคทีเรียที่มีการสร้างสปอร์ภายในเซลล์โดยส่วนของสปอร์ 46

ภาพ 6 การตรวจ Genomic DNA ของแบคทีเรียไอโซเลท SBP04 เพื่อใช้เป็นดีเอ็นเอแม่แบบในการทำ PCR ด้วยวิธี Agarose gel electrophoresis 48

ภาพ 7 การวิเคราะห์ผล PCR product ของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SBP04 ด้วยวิธี Agarose gel electrophoresis.....48

ภาพ 8 ลำดับเบสของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SBP04 จากการวิเคราะห์ ด้วยวิธี Sanger DNA sequencing 49

ภาพ 9 ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการในรูปแบบ Phylogenetic tree ของแบคทีเรีย ไอโซเลท SBP04 ตรงกับเชื้อ Bacillus subtilis 50

ภาพ 10 การทดสอบเชื้อแบคทีเรียที่มีผลต่อสภาพดินในสภาพกระถาง..... 51

ภาพ 11 การทดสอบเชื้อแบคทีเรียที่มีผลต่อสภาพดินในสภาพแปลงปลูกลำไย โดยราดแบคทีเรียบริเวณพื้นที่รัศมีของต้นลำไย.....55

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ลำไย เป็นผลไม้ที่สร้างรายได้ให้กับประเทศไทยไม่ต่ำกว่าปีละหลายพันล้านบาท เป็นผลไม้สามารถส่งออกตลาดทั้งใน และต่างประเทศ ซึ่งลำไยที่ใช้ในการส่งออกมีทั้งลำไยในฤดูกาล และลำไยนอกฤดูกาล เขตพื้นที่ภาคเหนือถือเป็นพื้นที่ที่นิยมปลูกลำไยเป็นอย่างมาก โดยมีพื้นที่รวมทั้งหมด 851,814 ไร่ จากข้อมูลการศึกษาปี 2563 สำหรับการสำรวจไม้ผลเศรษฐกิจในพื้นที่แหล่งผลิตหลัก 8 จังหวัดภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ จังหวัดลำพูน จังหวัดเชียงราย จังหวัดพะเยา จังหวัดลำปาง จังหวัดตาก จังหวัดแพร่ และจังหวัดน่าน โดยมีผลผลิตรวม จำนวน 635,394 ตัน เมื่อเปรียบเทียบกับปี 2562 การปลูกลำไยในเขตภาคเหนือ เพิ่มสูงขึ้น 15,015 ตัน หรือคิดเป็นร้อยละ 2.42 (สำนักงานเศรษฐกิจที่ 1 จังหวัดเชียงใหม่, 2562)

จังหวัดพะเยา เป็นจังหวัดในภาคเหนือตอนบนของประเทศ ที่มีการปลูกลำไย และผลิตลำไยเพื่อจำหน่ายทั้งในประเทศ และต่างประเทศ เนื่องจากมีลักษณะภูมิอากาศ และภูมิประเทศที่เหมาะสมสำหรับการปลูกลำไยเป็นอันมาก นอกจากนี้ยังสามารถสร้างรายได้ให้แก่เกษตรกรได้เป็นอย่างดี เกษตรกรจึงนิยมปลูกลำไยเพิ่มขึ้นทุกๆ ปี จากการสำรวจปัญหาการปลูกลำไยในเขตพื้นที่จังหวัดพะเยา เกษตรกรมีการใช้ปุ๋ยเคมี และสารเคมีที่มากเกินความจำเป็น สาเหตุเกิดจากความต้องการของผลผลิตที่มากขึ้น จึงส่งผลให้มีการนำปัจจัยอื่น ๆ เพื่อมาช่วยเพิ่ม และเร่งผลผลิตมากขึ้นไปด้วย ทำให้ก่อให้เกิดปัญหาการใช้ปุ๋ยเคมีมากเกินความจำเป็นอย่างไม่สมดุล และส่งผลกระทบให้พื้นที่การปลูกลำไยมีปัญหาเรื่องดินเป็นกรด ทำให้จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ส่วนหนึ่งตายไป และอินทรียวัตถุส่วนหนึ่งหายไป

สภาพดินที่เป็นกรด เป็นลักษณะดินที่ขาดความอุดมสมบูรณ์ มีความเป็นพิษของอะลูมินัม เหล็ก แมงกานีส ซัลไฟด์ ขาดแคลนธาตุอาหารไนโตรเจน และธาตุอาหารฟอสฟอรัส อีกทั้งยังส่งผลให้ขาดธาตุแคลเซียม แมกนีเซียม และโมลิดินัม (ศิราณี วงศ์กระจ่าง และบัญชา รัตนีทู, 2557) (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548) ปัญหาเหล่านี้ส่งผลให้พืชถูกจำกัดในการดูดซึมอาหาร โดยความเป็นพิษ และไม่สามารถนำธาตุอาหารต่าง ๆ ไปใช้ในการเจริญเติบโต นอกจากนี้ยังส่งผลต่อกิจกรรมของจุลินทรีย์ในท้องถิ่นที่เป็นส่วนช่วยในการเจริญเติบโตของพืช

นั้น ถูกจำกัดในการสร้างกิจกรรม นำไปสู่ผลเสียในการได้ผลผลิตลำไยที่ด้อยคุณภาพ และจำหน่ายได้ในราคาที่ต่ำ

ปัจจุบันได้มีการแก้ไขปัญหาดินกรดโดยการใช้คุณสมบัติทางชีวภาพ เพื่อเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม จึงมีการนำจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์มาใช้ในการปรับปรุงดิน ซึ่งดินที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของลำไยนั้น จะต้องเป็นดินที่มีความเป็นกรดอ่อน หรือเป็นกลาง การปรับสภาพดิน จึงมีส่วนช่วยให้กิจกรรมของจุลินทรีย์ในดินที่เป็นประโยชน์ ดำเนินไปได้อย่างมีประสิทธิภาพ (เกษม จันทรุจิรากรและคณะ, 2527)

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการหาแนวทางการปรับปรุงคุณภาพดินโดยใช้เชื้อแบคทีเรีย เพื่อฟื้นฟูสภาพดินบริเวณแปลงปลูกลำไย เพื่อให้ดินมีคุณภาพที่ดีขึ้น อีกทั้งยังเป็นการลดการใช้ปุ๋ยเคมีที่ส่งผลให้ดินมีคุณภาพต่ำ และเพื่อให้เกษตรกรผลิตลำไยที่มีคุณภาพตรงตามความต้องการของตลาดต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียภายในดินจากบริเวณสวนลำไยอย่างน้อย 3 ไอโซเลท ที่เป็นประโยชน์ต่อการปรับปรุงคุณภาพดิน
2. ทดสอบคุณสมบัติเฉพาะของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ภายในดินที่มีประโยชน์ต่อการปรับปรุงคุณภาพดินในระดับห้องปฏิบัติการ
3. การศึกษาเชื้อแบคทีเรียในการปรับปรุงคุณภาพดิน และแนวทางการประยุกต์ใช้เชื้อในการใช้ปรับปรุงดินในแปลงปลูกลำไย

สมมติฐานของการวิจัย

เชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือกได้จากดินบริเวณแปลงปลูก มีคุณสมบัติต่อการปรับปรุงคุณภาพดินในระดับห้องทดลองและสภาพแปลงปลูก

ประโยชน์ที่จะได้รับจากการวิจัย

ได้เชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการปรับปรุงดินและแนวทางในการแก้ไขปัญหาดินกรดในการผลิตลำไยของกลุ่มวิสาหกิจชุมชนที่ร่วมวิจัย และอาจนำไปประยุกต์ใช้ในพื้นที่อื่นที่พบปัญหาดินกรด

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ลำไย

ลำไยเป็นพืชไม้ผลเขตร้อน และกึ่งเขตร้อน เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง ลำต้นสีน้ำตาล ออกดอกเป็นช่อ สีขาวครีม ผลทรงกลมเป็นช่อ ผลดิบเปลือกสีน้ำตาลอมเขียว ผลสุกมีสีน้ำตาล เนื้อลำไยสีขาวหรือสีชมพูอ่อน เมล็ดสีดำเป็นมัน เนื้อล่อนเม็ด ลักษณะเปลือกของต้นลำไยมีสีน้ำตาลอ่อนหรือเทา และมีรสฝาด ใช้ต้มเป็นยาหม้อแก้ท้องร่วง ลำต้นมีขนาดใหญ่ มีความสูงประมาณ 30–40 ฟุต เนื้อไม้มีสีแดงและแข็ง สามารถใช้ทำเครื่องใช้ประดับบ้านได้ เนื้อลำไยกินสดเป็นผลไม้ ทำเป็นอาหารหวาน หรือแปรรูปบรรจุกระป๋อง (สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร, 2562) ลำไยถือเป็นไม้ผลที่นับว่าเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ เนื่องจากมูลค่าการส่งออกหลายพันล้านบาท ลำไยเป็นไม้ผลที่ชอบดินที่มีความอุดมสมบูรณสูง หรือดินรวนปนทราย มีความสามารถในการละลายน้ำได้ดี ความลึกของหน้าดินมากกว่า 50 เซนติเมตร ระดับน้ำใต้ดินต้องมากกว่า 0.75 เมตร ความเปนกรด–ดาง (pH) 5.5–6.5 การเจริญเติบโตตองการอุณหภูมิชวง 20–35 องศาเซลเซียส ระยะออกดอกอุณหภูมิต้องต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานานติดต่อกัน 2 สัปดาห์ ปริมาณน้ำฝนต้องไม่ต่ำกว่า 1,000 ลูกบาศก์มิลลิเมตรตลอดปี

ภาพ 1 ลักษณะผลลำไยพันธุ์ดอ

พันธุ์ดอ เรียกอีกชื่อว่า อีดอ เป็นลำไยพันธุ์เบา แสดงดังภาพ 1 ลำไยพันธุ์ดอจะออกผลและเก็บผลก่อนพันธุ์อื่น ๆ เป็นพันธุ์ที่นิยมปลูก เพราะเก็บเกี่ยวได้ก่อนและให้ราคาสูง ตลาดต่างประเทศนิยมบริโภค ลำไยพันธุ์ดอ สามารถนำมาแปรรูปทั้งลำไยกระป๋อง และลำไยอบแห้ง นอกจากนี้ลำไยพันธุ์ดอ จะเจริญได้ดีในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ มีน้ำที่เพียงพอ ทนความแล้งและทนสภาวะน้ำท่วมได้ดีปานกลาง ลำไยพันธุ์ดอ สามารถแบ่งสีตามยอดอ่อนได้สองชนิด คือ

1.พันธุ์ดอยอดแดง ที่มีเปลือกลำต้นสีน้ำตาลปนแดง ใบอ่อนมีสีแดง ปัจจุบันไม่นิยมปลูกเนื่องจากออกดอกติดผลไม่ดี

2.พันธุ์ดอยอดเขียว ลักษณะจะมีความคล้ายคลึงกับพันธุ์ดอยอดแดง แต่ใบอ่อนมีสีเขียว ออกดอกและติดผลง่ายกว่าพันธุ์ดอยอดแดงนอกจากนี้ลำไยพันธุ์ดอ ยังสามารถแบ่งตามลักษณะของก้านช่อผลได้เป็น 2 ชนิด คือ

2.1. อีดอก้านอ่อน ที่มีลักษณะของก้านช่อผลอ่อน เปลือกของผลจะบาง

2.2. อีดอก้านแข็ง ที่มีลักษณะก้านช่อผลแข็ง เปลือกผลจะหนา

พันธุ์สีชมพู เป็นลำไยที่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ในช่วงของกลางฤดู ลำไยพันธุ์สีชมพูเป็นลำไยที่มีรสชาติดี นิยมบริโภคภายในประเทศ มีลำต้นที่สูง กิ่งเปราะ ไม่ทนแล้ง มีการติดดอกและติดผลที่ง่าย แต่ไม่สม่ำเสมอ ผลจะมีสีน้ำตาลอมแดง มีกระสีคล้ำตลอด มีเนื้อหนาปานกลาง เนื้อนิ่มและกรอบ ผลลำไยแก่ของพันธุ์สีชมพู จะมีสีเนื้อที่เข้ม เนื้อล่อน มีรสหวานและเม็ดเล็ก

พันธุ์แห้ว เป็นลำไยที่สามารถเก็บผลผลิตได้ช่วงปลายฤดู ลำต้นไม่ค่อยแข็งแรง หักง่าย เป็นพันธุ์ที่เจริญเติบโตได้ดีในสภาวะทนแล้ง ลำไยพันธุ์แห้วสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ พันธุ์แห้วยอดแดง และ พันธุ์แห้วยอดเขียว จะแตกต่างกันที่พันธุ์แห้วยอดแดง มีใบอ่อนและยอดเป็นสีแดง ลักษณะผลของลำไยพันธุ์แห้วจะมีผิวสีน้ำตาล มีกระสีคล้ำ สากมือ เปลือกหนา เนื้อแน่น แห้งและกรอบ มีรสหวานแหลม และเมล็ดค่อนข้างเล็ก พันธุ์แห้วยอดแดงจะออกดอกและมีเนื้อสีค่อนข้างขุ่นน้อยกว่า พันธุ์แห้วยอดเขียว พันธุ์แห้วยอดแดงจึงนิยมปลูกในปัจจุบันมากกว่า

พันธุ์เบี้ยวเขียว เรียกอีกชื่อหนึ่งว่า อีเบี้ยวเขียว เป็นลำไยที่เก็บผลผลิตได้ช้ากว่าพันธุ์อื่น ๆเจริญเติบโตได้ดี สามารถทนแล้งได้ พันธุ์เบี้ยวเขียวสามารถแบ่งออกได้ 2 ชนิด คือ เบี้ยวเขียวก้านแข็ง และเบี้ยวเขียวก้านอ่อน ซึ่งพันธุ์เบี้ยวเขียวก้านแข็งจะให้ผลน้อย ไม่ดก มีผลมีขนาดใหญ่ ผลจะมีสีเขียวอมน้ำตาล เปลือกหนา เนื้อแห้งกรอบ ล่อนง่าย มีรสหวานและเมล็ดค่อนข้างเล็ก

นอกจากนี้ยังมีลำไยพันธุ์อื่น ๆ อีกมากมายเช่น พันธุ์ดำ พันธุ์แดง พันธุ์เหลือง พันธุ์พวงทอง พันธุ์เพชรสาคร ฯลฯ ที่เป็นลำไยที่ปลูกในประเทศไทย ซึ่งแต่ละพันธุ์จะแตกต่างกันทั้งพื้นที่ปลูก สภาพอากาศ และสภาวะที่เหมาะสมของแต่ละภูมิประเทศ (ทินน์ พรหมโชติ)

ดินที่เหมาะสำหรับการปลูกลำไย

ลำไยเป็นไม้ผลที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีในดินแทบทุกชนิด หรือแม้แต่สามารถเจริญได้ในดินลูกรัง แต่ดินที่ลำไยชอบ และสามารถเจริญเติบโตได้มากสุด คือ ดินร่วนปนทราย และดินตะกอนซึ่งเกิดจากการที่ตะกอน กรวด หิน ดิน ทราย และอินทรียวัตถุ ที่มีน้ำเป็นตัวพามาทับถมกัน โดยสามารถสังเกตจากต้นลำไยที่ปลูกตามที่ราบลุ่มที่มีระดับน้ำใต้ดินที่สูง จะเจริญงอกงามและให้ผลผลิตได้ดีกว่าในที่ราบต่ำ มีระดับน้ำใต้ดินที่น้อย ซึ่งค่าความเป็นกรด–ด่าง (pH) ของดินที่เหมาะสมควรอยู่ระหว่าง 5.0 ถึง 7.0 จะทำให้ลำไยเจริญได้ดีกว่า (ทินน์ พรหมโชติ)

ดินที่มีค่าความเป็นกรดที่สูงนั้น อาจจะส่งผลให้การปลูกลำไย ได้ผลผลิตไม่ดีเท่าที่ควร เนื่องจาก ดินที่เป็นกรดเมื่อละลายอยู่ในน้ำจะมีการปล่อย H^+ ออกมา โดยจะปล่อย H^+ แต่สามารถปล่อยได้เพียงบางส่วนเท่านั้น โดย H^+ ส่วนใหญ่จะถูกดูดยึดอยู่ที่ผิวของอนุภาคดิน ส่วนของ H^+ ที่ถูกปลดปล่อยออกมานี้เรียกว่า กรดจริง (active acidity) ส่วน H^+ ที่ดูดยึดอยู่ที่ผิวอนุภาคดินเรียกว่า กรดแฝง (potential acidity) ดินกรดโดยทั่วไปจะเป็นดินที่ขาดความสมบูรณ์ ซึ่งผลกระทบเหล่านี้อาจจะนำไปสู่การได้ผลผลิตลำไยที่ด้อยคุณภาพ ส่งผลให้การจำหน่ายลำไยได้ในราคาที่ต่ำได้ (ทินน์ พรหมโชติ)

ลักษณะของดิน

ดิน ถือเป็นส่วนสำคัญสำหรับการเพาะปลูก ดินที่เหมาะสมสำหรับการเพาะปลูกนั้นจะต้องมีคุณสมบัติหลายประการที่สามารถแบ่งออกมาได้ 3 ประเภท คือ สมบัติทางเคมีของดิน คุณสมบัติทางกายภาพของดิน และคุณสมบัติทางชีวภาพของดิน

คุณสมบัติทางเคมีของดิน เป็นคุณสมบัติที่ไม่สามารถตรวจได้ด้วยตาเปล่า หรือใช้ความรู้สึก จะต้องอาศัยกระบวนการทางเคมีเป็นเครื่องบ่งชี้ ดินที่ดีหรือดินที่เหมาะสมต่อการเพาะปลูกนั้น จะต้องมีความสมดุลของแร่ธาตุอาหาร ซึ่งประกอบไปด้วยธาตุอาหารหลัก คือ ไนโตรเจน โพแทสเซียม และฟอสฟอรัส ธาตุอาหารรองประกอบไปด้วย แคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน และธาตุอาหารเสริม ที่มีเหล็ก สังกะสี ทองแดง โบรอน แมงกานีส และ

คลอรีน นอกจากนี้ยังมีปฏิกิริยาทางเคมีของดินรวมไปถึงค่าความเป็นกรด–ด่าง ของดินมีผลสำคัญทั้งทางตรง และทางอ้อมต่อการเจริญของพืชที่ปลูกในดินอีกด้วย ช่วงของพีเอช (pH) ของดินโดยทั่วไป จะมีค่าอยู่ระหว่างประมาณ 3 ถึง 9 ค่าพีเอช (pH) 7 บอกถึงสภาพความเป็นกลางของดิน กล่าวคือ ดินมีตัวที่ทำให้เป็นกรด และตัวที่ทำให้เป็นด่างอยู่เป็นปริมาณเท่ากันพอดี (สรสิทธิ์ วัชโรทยาน, 2537)

คุณสมบัติทางกายภาพของดิน เป็นคุณสมบัติที่สามารถตรวจสอบได้ด้วยการมองเห็นหรือจับต้องได้ เช่น ความหนาแน่นของเนื้อดิน ความโปร่งหรือทึบของดิน สีของดิน เนื้อดิน และความสามารถในการอุ้มน้ำของดิน ลักษณะทางกายภาพของดิน ดินต้องมีความสมดุลทั้งอากาศและน้ำที่อยู่ภายในดิน ภายในดินต้องมีลักษณะของดินที่ร่วนซุย อากาศถ่ายเทได้ดี เม็ดดินเกาะกันอย่างหลวมๆ เพื่อที่จะให้รากของพืชที่อยู่ภายในดินสามารถแผ่ขยายและชอนไชดูดซึมแร่ธาตุได้ง่าย

คุณสมบัติทางชีวภาพของดิน คือ คุณสมบัติดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ มีปริมาณและชนิดของธาตุอาหารที่จำเป็นต่อพืชที่อยู่ในดิน มีความสมดุลของจุลินทรีย์ และสิ่งมีชีวิตเล็ก ๆ ภายในดินมีจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ สามารถนำไปใช้ และสามารถสร้างกิจกรรมต่าง ๆ ที่ก่อให้เกิดประโยชน์ต่อพืชได้ดี เช่น สามารถย่อยแร่ธาตุในดินที่ยังไม่เป็นประโยชน์ หรือเป็นประโยชน์น้อย ก่อให้เกิดประโยชน์แก่พืชในปริมาณที่เพิ่มขึ้น ความสามารถในการตรึงธาตุอาหาร หรือมีความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะปราบโรคพืช และศัตรูพืชในดินได้เป็นอย่างดี

ธาตุอาหารของพืชที่อยู่ในดิน

ภายในดินมีธาตุอาหารที่สำคัญอยู่ 3 กลุ่ม ซึ่งถือว่าเป็นธาตุอาหารที่สำคัญในการเจริญของพืชแต่ละชนิด

กลุ่มแรก เป็นธาตุที่พืชมักต้องการในปริมาณมาก แต่มักจะไม่พอต่อความต้องการของพืชที่ปลูก จึงทำให้ต้องใส่ปุ๋ยเพิ่มเติม ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม

กลุ่มสอง เป็นธาตุอาหารที่พืชต้องการมากไม่น้อยไปกว่ากลุ่มแรก แต่เป็นธาตุอาหารที่พบมาก และพอต่อความต้องการของพืชที่ปลูก ได้แก่ แคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถัน

กลุ่มที่สาม เป็นธาตุอาหารที่พืชโดยทั่วไปมีความต้องการในปริมาณที่น้อยมาก จึงเรียกธาตุในกลุ่มนี้ว่า จุลธาตุอาหาร ได้แก่ เหล็ก โบรอน แมงกานิส ทองแดง โมลิบดินัม คอลรีน และสังกะสี

ธาตุอาหารของพืชที่อยู่ใน 3 กลุ่มนี้ จึงมีความสำคัญต่อพืชที่ปลูกมากน้อยกันไป แต่ไม่สามารถขาดและต้องการในปริมาณมาก คือ ธาตุอาหารหลักในกลุ่มแรก ซึ่งถือว่าเป็นธาตุที่สำคัญในการเจริญของพืชแต่ละชนิด

ธาตุฟอสฟอรัส

เป็นธาตุที่เกิดจากการสลายตัวของสารในกลุ่มอินทรียวัตถุ การสลายตัวผุพังของแร่บางชนิดในดิน กลุ่มเหล่านี้จะสามารถปล่อยธาตุฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชที่ปลูกได้ เช่นเดียวกับธาตุในกลุ่มธาตุไนโตรเจน ธาตุฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชที่ปลูกจะต้องอยู่ในรูปของอนุมูลสารประกอบ เรียกว่า ฟอสเฟตไอออน ($H_2PO_4^-$ และ HPO_4^-) ซึ่งจะต้องทำการละลายน้ำภายในดิน ดังนั้นสารที่เป็นสารประกอบฟอสฟอรัสส่วนใหญ่ที่อยู่ในดินจะละลายน้ำยาก จึงก่อให้เกิดปัญหาพืชขาดธาตุฟอสฟอรัส เพราะธาตุฟอสฟอรัสเป็นธาตุที่พบมากในดินแต่มีคุณสมบัติละลายน้ำยาก พืชที่ปลูกถ้าหากขาดธาตุฟอสฟอรัส จะส่งผลให้มีต้นแคระแกร็น ใบมีสีเขียวคล้ำ ใบล่างๆ จะมีสีม่วงตามบริเวณขอบใบ รากของพืชชะงักการเจริญเติบโต พืชไม่ออกดอก และผล พืชที่ได้รับฟอสฟอรัสอย่างเพียงพอ จะมีระบบรากที่แข็งแรง แพร่กระจายอยู่ในดินอย่างกว้างขวาง สามารถดึงดูดน้ำและธาตุอาหารได้ดี การออกดอกออกผลจะเร็วขึ้น (สรสิทธิ์ วัชโรทยาน, 2537)

ฟอสฟอรัสภายในดิน

วัฏจักรของฟอสฟอรัสที่อยู่ในดิน พืชจะดูดซับธาตุฟอสเฟตจากดิน ฟอสฟอรัสจะถูกนำออกเมื่อพืชมีการเก็บเกี่ยวออกจากพื้นที่นั้น การกินอาหารของสัตว์ ธาตุฟอสเฟตจะกลับมาภายในดินในรูปแบบของมูลสัตว์ และซากพืชซากสัตว์ที่เหลือจากการเก็บเกี่ยว จุลินทรีย์ที่อยู่ภายในดินจะทำการย่อยสลายสารอินทรีย์และฟอสเฟตจะถูกปลดปล่อยอย่างช้า ๆ เพื่อให้พืชทำการดูดซับและแปลงกลับไปสู่รูปแบบไปในลักษณะที่พืชไม่สามารถดูดซับได้ เนื่องจากการเกิดกระบวนการตรึงฟอสฟอรัสให้อยู่ในรูปแบบไม่ละลายน้ำเกิดขึ้น (Munees Ahemadและคณะ, 2009)

ดินกรด

ดินกรด หมายถึง ดินที่มีแคตไอออนส่วนใหญ่เป็นอะลูมินัมไอออน (Al^{3+}) และมีไฮโดรเจนไอออน (H^{+}) อยู่ภายในสารละลายดิน ซึ่งอยู่ในรูปที่สามารถแลกเปลี่ยนได้ (exchangeable cation) เมื่ออะลูมินัมไอออน (Al^{3+}) ทำปฏิกิริยากับน้ำ จะส่งผลให้ให้มีไฮโดรเจนไอออน (H^{+}) เกิดขึ้น ส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของดินที่วัดได้มีค่าต่ำกว่า 7 ดินที่มีไฮโดรเจนไอออนสูง ความเป็นกรดของดินนั้นจะยิ่งเพิ่มขึ้น (สมชาย พรุเพชรแก้ว, 2559)

ข้อจำกัดของดินกรดต่อการเจริญเติบโตของพืช

การเกิดดินกรดโดยทั่วไปเกิดเนื่องจากปัจจัย 2 ปัจจัยที่ก่อให้เกิดข้อจำกัดในการเจริญเติบโตของพืช คือ การขาดธาตุอาหาร ได้แก่ การขาดธาตุอาหารในกลุ่มฟอสฟอรัสและแคลเซียม และอีกปัจจัยหนึ่งคือธาตุอาหารของพืชบางชนิดอยู่ในระดับสูงจนเป็นพิษต่อพืช เช่น อะลูมินัม นอกจากนี้ดินที่มีสภาพความเป็นกรดสูงนั้น จะส่งผลให้ปริมาณของเหล็กและอะลูมินัมละลายออกมามากจนก่อให้เกิดผลเสีย และยังไปลดความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสอีกด้วย (กรมพัฒนาที่ดิน, 2532) ความเป็นพิษของอะลูมินัมจะส่งผลเสีย เมื่อพืชได้รับปริมาณมากเกิน โดยจะเกิดอาการกับราก โดยรากจะมีลักษณะที่ กุด หยาบ และสั้น ไม่มีการพัฒนารากจะไม่มีรากอ่อน และมีสีน้ำตาลเข้ม ส่วนความเป็นพิษในธาตุแมงกานีสนั้นเกิดจากธาตุแมงกานีสเป็นธาตุที่ละลายได้ดีในดินที่มีระดับความเป็นกรด-ด่าง ที่ต่ำกว่า 5.5 โดยจะละลายออกมาได้ดีในดินที่มีค่าความเป็นกรดสูงมากขึ้นกว่าเดิม (จำเป็น อ่อนทอง, 2550) เมื่อเกิดสภาวะดินกรดธาตุแมงกานีส ถือเป็นธาตุที่พืชต้องการปริมาณน้อย หากได้รับมากเกินความจำเป็น พืชจะมีการแสดงอาการที่เห็นได้ชัด เช่น ใบล่างจะมีจุดสีน้ำตาลเล็ก ๆ เกิดบริเวณท้องใบ ถ้าหากมีความเป็นพิษร้ายแรง อาจส่งผลให้เกิดอาการใบหดคล้ายถ้วย (สุมาลี สุทธิประดิษฐ์, 2563)

สาเหตุการเกิดดินกรด

ดินกรดเป็นดินที่เกิดจากสภาพดินที่มีการใช้ปุ๋ยเคมี หรือสารเคมีเกินความจำเป็นและใช้ระยะเวลาที่ยาวนาน ส่งผลให้ดินเกิดการพัฒนาการที่สูง ธาตุภายในดินที่มีประจุบวกมีค่าเป็นด่าง มีการถูกตรึงยึดไว้กับผืนดิน หรือเกิดการชะล้างออกไป (เจริญ เจริญจำรัสชีพ, กำชัย กาญจนธนเศรษฐ และเมธิน ศิริวงศ์, 2540) อีกสาเหตุหนึ่งเกิดจากการดูดซึมของ

อนุภาคดินที่มีการดูดซึมโดยน้ำฝน หรือฝนกรดที่ตกลงมา ไหลซึมผ่านชั้นดิน เกิดเป็นกรดคาร์บอนิค ทำให้น้ำที่ไหลผ่านดินมีปฏิกิริยาเป็นกรด รวมถึงไหล่ประจุด่างที่อยู่บริเวณผิวดินสูญหายไป (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548) จึงส่งผลให้ดินมีสภาพเป็นกรดเกิดขึ้น เหล็กและอะลูมินัมที่มีการชะล้างออกมาจะส่งผลความเป็นพิษต่อการเจริญของพืช และการใช้ประโยชน์ของธาตุอาหารภายในดินลดลง ก่อให้เกิดผลกระทบต่อพืชโดยตรง นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดปัญหาจากรากพืช ซึ่งปล่อยไฮโดรเจนไอออนออกมาเพื่อแลกเปลี่ยนเอาไอออนด่างที่เป็นธาตุอาหารพืช ($Ca2^{+}$, $Mg2^{+}$, K^{+}) เข้าไปในเซลล์ เนื่องจากธาตุอาหารบางชนิดภายในดินไม่อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืช หรือบางชนิดมักจะมีการละลายออกมาที่มากเกินไปอาจส่งผลต่อพืชได้ โดยปัจจุบันได้มีการใช้สารเคมีเพื่อช่วยลดปัญหาดังกล่าว และยกระดับค่าความเป็นกรด–ด่าง ของดินที่สูงขึ้น โดยการใช้ออกไซด์ ไฮดรอกไซด์ คาร์บอเนตของแคลเซียม และแมกนีเซียม (เจริญ เจริญจำรัสชีพ, กำชัย กาญจนธนเศรษฐ และเมธิน ศิริวงศ์, 2540) แต่การใช้สารเคมีก็มักจะเกิดปัญหาเรื้อรังที่ตามมาทีหลัง การใช้จุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตนั้นจะส่งผลดีมากกว่า เนื่องจากจุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตในธรรมชาติและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งมีความสามารถที่มีการผลิตกรดอินทรีย์ หรือกรดอนินทรีย์โดยการปลดปล่อยกรดอินทรีย์หรือกรดอนินทรีย์ออกมาในระหว่างที่มีการย่อยสลาย โดยจะส่งผลให้ค่าความเป็นกรด–ด่างภายในดินลดลง และเกิดการละลายของฟอสฟอรัสมากขึ้น (ภัทธนาวรรณ์ ฉันท์รัตนโยธิน, 2557)

การจัดการ และการแก้ไขปัญหาดินกรด

การแก้ไขปัญหาดินกรดนั้น มีการจัดการได้หลายวิธี ทั้งการปรับปรุงทั้งคุณสมบัติทางเคมี และคุณสมบัติทางกายภาพของดิน เช่น การใช้ปูน เพื่อปรับสภาพความเป็นกรดของดินอย่างมีประสิทธิภาพ และไม่ส่งผลเสียต่อพืช การใช้วัสดุอินทรีย์ การใช้ปุ๋ยหมัก หรีจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อการปรับปรุงคุณภาพดินในดินกรด ซึ่งถือเป็นการเพิ่มแหล่งอาหารที่สำคัญของจุลินทรีย์ ที่จะส่งผลให้มีการเพิ่มปริมาณ และเพิ่มกิจกรรมของจุลินทรีย์ เพื่อจะช่วยเพิ่มกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการปรับเปลี่ยนธาตุอาหารในดิน รวมถึงกิจกรรมของจุลินทรีย์ในบริเวณรากพืชได้อีกด้วย (ศิราณี วงศ์กระจ่าง และบัญชา รัตนีทู, 2557)

จุลินทรีย์ในดิน

จุลินทรีย์ในดินเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีบทบาทสำคัญต่อการเจริญของพืช สามารถแบ่งออกได้เป็นสองกลุ่ม คือ

1. จุลินทรีย์กลุ่ม Heterotroph เป็นจุลินทรีย์ที่ใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอนมีปริมาณสูงมาก มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายอินทรียวัตถุ

2. จุลินทรีย์กลุ่ม Autotroph เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่ใช้คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อสังเคราะห์สารอินทรีย์มาเป็นองค์ประกอบของเซลล์ มีบทบาทในการเพิ่มอินทรียวัตถุภายในดิน

แบคทีเรีย (Bacteria) เป็นจุลินทรีย์ที่พบมากที่สุดในดิน เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็ก มีความหลากหลายในรูปแบบการดำเนินชีวิต ยึดเกาะกับอนุภาคของดิน เพราะภายในดินมีอนุภาคที่มีประจุ นอกจากนี้ปัจจัยในการเจริญของแบคทีเรียยังขึ้นกับหลายปัจจัย เช่น ปริมาณน้ำในดิน การระบายอากาศภายในดิน อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด–ด่าง การไถพรวน ฤดูกาล และความลึกของดิน โดยแบคทีเรียมีบทบาทที่สำคัญหลายอย่าง ได้แก่ ช่วยในกระบวนการสลายสารอินทรีย์ กระบวนการตรึงไนโตรเจน การเปลี่ยนแปลงรูปธาตุอาหาร ฯลฯ ดินที่มีการปลูกพืชจะพบแบคทีเรียได้มากกว่าในดินที่ไม่มีการปลูกพืช เพราะภายในดินที่มีการปลูกพืชจะมีสารอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ที่รากพืชนำออกมา และสารที่ปล่อยออกมาเหล่านี้แบคทีเรียสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนต่อไป (สมคิด ดีจริง และวรางคณา สงวนพงษ์ 2556)

เชื้อรา (Fungi) เป็นจุลินทรีย์ที่มีจำนวนที่น้อยและชีวมวลที่มากสุดในดิน พบได้ทั้งราชั้นสูงและราชั้นต่ำ เชื้อรามีลักษณะแบบ Filamentous mycelium มีการเจริญที่ยาว เป็นพวก Aerobic heterotroph มีบทบาทในการย่อยสลายอินทรียวัตถุ และส่งเสริมการเกิดโครงสร้างของดิน เชื้อราเป็นจุลินทรีย์ที่ได้รับอาหารจากการเข้าย่อยสลายสารอินทรีย์ที่อยู่ภายในดิน ส่วนใหญ่เชื้อราที่พบในดิน ได้แก่ เชื้อรา และเห็ดรา เชื้อรามีคุณสมบัติหลายชนิด ซึ่งสามารถย่อยสลายสารประกอบของพืชที่ย่อยได้ยาก มีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนคาร์บอนในสารอินทรีย์เป็นคาร์บอนภายในเซลล์ ซึ่งเชื้อรามีคุณสมบัติในการอยู่ร่วมกันกับรากของพืชที่ปลูกภายในดิน ก่อให้เกิดประโยชน์ได้หลายอย่าง เช่น ช่วยย่อยสารอาหารให้แก่พืช เป็นตัวกลางที่นำพาสารอาหารที่อยู่ภายในดินเข้าสู่รากพืช และมีส่วนช่วยในการดูดน้ำและธาตุอาหารแก่รากพืช (สมคิด ดีจริง และวรางคณา สงวนพงษ์ 2556)

แอคติโนมัยซีส (Actinomycestes) เป็นแบคทีเรียที่มักพบและเจริญอยู่บริเวณผิวดิน มีลักษณะโคโลนีที่ค่อนข้างใหญ่ ผิวที่หยาบ มีลักษณะคล้ายเชื้อรา แต่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางน้อยกว่าเชื้อรา แบคทีเรียกลุ่มนี้ค่อนข้างทนต่อความแห้งแล้ง (สมคิด ดีจริง และวรางคณา

สงวนพงษ์ 2556)ซึ่งสามารถรอดชีวิตได้ในสภาวะที่แห้งแล้งแอคติโนมัยซีสมีบทบาทและกิจกรรมหลายอย่าง เช่น การใช้อินทรีย์คาร์บอน ย่อยสลายสารอนินทรียวัตถุได้ดีกว่าเชื้อรา แอคติโนมัยซีสบางชนิดสามารถตรึงไนโตรเจนได้ เปลี่ยนรูปสารอนินทรีย์ในอุณหภูมิที่สูง ก่อโรคในพืช คน และสัตว์ และมีการผลิตแอนตี้ไบโอติก (Antibiotic) (สมคิด ดีจริง และวรางคณา สงวนพงษ์ 2556)

ประโยชน์จากการปรับปรุงดินโดยใช้จุลินทรีย์

จุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญและเป็นประโยชน์ในดิน มีความสำคัญทั้งเกี่ยวกับการหมุนเวียนธาตุอาหารภายในดิน จุลินทรีย์จะทำหน้าที่ในการย่อยสลายอินทรียวัตถุให้เป็นธาตุอาหาร เกิดการหมุนเวียนธาตุ การเปลี่ยนรูปจากสารอินทรีย์เป็นอนินทรีย์ เพิ่มคุณประโยชน์ต่อธาตุอาหาร แปรสภาพสารจากรูปที่ไม่เป็นประโยชน์ให้มีประโยชน์ ช่วยในการส่งเสริมการเจริญ การช่วยให้ดินมีการจับตัวกันเป็นก้อน ฯลฯ นอกจากนี้กลุ่มจุลินทรีย์ก็สามารถให้โทษแก่พืช และทำความเสียหายให้แก่ผลผลิตทางการเกษตรได้เช่นกัน นอกจากนี้จุลินทรียในดินมีหลากหลายกลุ่ม หลากหลายชนิด มีการดำเนินกิจกรรมและมีบทบาทหน้าที่แตกต่างกันในระบบนิเวศของดิน ตามชนิดของจุลินทรีย์และสภาพแวดล้อมที่จุลินทรีย์ชนิดนั้น ๆ อาศัยอยู่ในความสัมพันธ์ทางระบบนิเวศ จุลินทรีย์ในดินบางประเภทจะเอื้ออำนวยซึ่งกันและกัน บางชนิดจะเกิดการแข่งขันซึ่งกันและกัน บางชนิดจะปลดปล่อยสารปฏิชีวนะเพื่อจำกัดการเจริญเติบโตของอีกชนิดหนึ่ง ความสัมพันธ์ทางระบบนิเวศดังกล่าวก่อให้เกิดผลมากมายทั้งทางด้านการปรับปรุงสมบัติของดินและมีส่วน ช่วยในการเพิ่มผลผลิต (NC BradyและRR Weil, 2001) (AC Kennedy, 2005) จุลินทรีย์ที่ช่วยในการเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ดิน สามารถแบ่งได้เป็นหลายกลุ่ม เช่น

1. กลุ่มจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยสลายอินทรียสาร เศษซากพืช ซากสัตว์ หรือส่วนต่าง ๆ ของพืชในการย่อยสลาย โดยกิจกรรมจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายอินทรียสาร เช่น การย่อยเซลลูโลส ย่อยโปรตีน และย่อยอินทรีย์ฟอสฟอรัส ซึ่งทำหน้าที่ในการเปลี่ยนจากโครงสร้างใหญ่ให้เป็นหน่วยย่อย และปลดปล่อยธาตุอาหารต่าง ๆ ออกจากองค์ประกอบของพืช เป็นการปลดปล่อยธาตุอาหารที่หมุนเวียนสู่ดิน และเพิ่มปริมาณธาตุอาหารภายในดิน ทั้งอาหารหลัก อาหารรอง และจุลธาตุที่เป็นประโยชน์ ได้แก่ น้ำตาล กรดอะมิโน แอมโมเนียม ฟอสเฟต โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน ทองแดง สังกะสี เหล็ก แมงกานีส โบรอน และโมลิบดินัม (Ed-Haun Chang, Ren-Shih Chungและ Yuong-How Tsai, 2007) (HW Dalzellและคณะ, 1987) โดยการอาศัยกิจกรรมเอนไซม์ต่าง ๆ

ที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นนั้นจะมีการต้องการเอนไซม์ที่มีความจำเพาะที่เข้ามาทำปฏิกิริยา ซึ่งจะเห็นได้ว่าจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการย่อยสลายอินทรีย์สาร ถือว่ามีบทบาทที่สำคัญในการเปลี่ยนธาตุคาร์บอน ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส สามารถบ่งบอกได้ถึงความอุดมสมบูรณ์ของดิน (Anna K BandickและRichard P Dick, 1999) (กรมพัฒนาที่ดิน, 2561)

2. กลุ่มจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนหรือเปลี่ยนรูปอนินทรียสารเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดกระบวนการเพิ่มความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารพืช ได้แก่

2.1) กลุ่มจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ในการเปลี่ยนก๊าซไนโตรเจนให้อยู่ในรูปของสารประกอบไนโตรเจน ซึ่งพืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ได้แก่ กลุ่มไรโซเบียม เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่สร้างความสัมพันธ์แบบพึ่งพา (Symbiotic association) กับถั่วชนิดต่างๆ กลุ่มไซยาโนแบคทีเรีย หรือสาหร่ายสีเขียวแกรมน้ำเงิน ซึ่งมีทั้งที่อาศัยอยู่อย่างอิสระ และชนิดที่อาศัยแบบพึ่งพากับพืชแอคติโนไมซีส ซึ่งพบเพียงจีนัสเดียวที่ตรึงไนโตรเจนได้ คือ *Frankia* sp. กลุ่มแบคทีเรียร่วมอาศัยกับพืชหรือพึ่งพาแบบเทียม เป็นแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้อย่างอิสระในดิน และสามารถเจริญอาศัยอยู่ภายในใบ ราก หรือลำต้นของพืชโดยไม่ก่อให้เกิดความเสียหายแก่พืช กลับส่งเสริมพืชให้ได้รับไนโตรเจนที่ตรึงได้ ซึ่งอาจเรียกแบคทีเรียพวกนี้ว่า Endophytic bacteria แบคทีเรีย รา และแอคติโนมัยซีส (กรมพัฒนาที่ดิน, 2561) เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ดำรงชีวิตแบบอิสระภายในดิน จะช่วยส่งเสริมความสมดุลของไนโตรเจนในระบบปลูกพืช เช่น *Azotobacter* sp., *Klebsiella* sp., และ *Clostridium* sp. (ธงชัย มาลา, 2557)

2.2) กลุ่มจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ในการเพิ่มความเป็นประโยชน์ของไนเตรท ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม ซัลเฟต แมงกานีส เหล็ก และสังกะสี โดยกิจกรรมของจุลินทรีย์บางชนิดในดิน เช่น การเปลี่ยนรูปอนุมูลแอมโมเนียม ซึ่งเป็นรูปที่พืชดูดนำไปใช้ประโยชน์ได้ยาก ให้อยู่ในรูปไนไตรท์ และเป็นไนเตรท ซึ่งพืชสามารถดูดไปใช้ได้ง่าย ซึ่งหากภายในดินมีธาตุอะลูมินัม เหล็ก และแมงกานีสที่มากเกินความจำเป็น จะละลายออกมามากจนเป็นพิษต่อพืชที่ปลูก ก่อให้เกิดปัญหาดินกรด ซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มนี้จะมีการแปรสภาพของสารอนินทรีย์ โดยจุลินทรีย์บางชนิดที่สามารถผลิตกรดขึ้นมาละลายธาตุอาหารในดินให้อยู่ในรูปของฟอสเฟตที่ละลายน้ำ พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้เป็นการเพิ่มธาตุอาหารในดินให้สูงขึ้น เช่น *Bacillus sp.* และ *Burkholderia sp.* (กรมพัฒนาที่ดิน, 2561) รวมทั้งเชื้อราไมคอร์ไรซา (Mycorrhiza) เข้าอยู่อาศัยแบบพึ่งพากันในรากพืช ช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวของราก ในการดูดใช้น้ำและธาตุอาหารเพิ่มขึ้น และมีกระบวนการทางเคมีในการเปลี่ยนรูปของธาตุอาหารจากรูปที่พืชใช้ประโยชน์ไม่ได้ มาอยู่ในรูปธาตุอาหารที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ดี เช่น ธาตุอาหารฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปของ Tricalciumphosphate และ Rock phosphate เป็นต้น (C Ll PowellและJeannette Daniel, 1978)

กลไกการปรับปรุงคุณภาพดินของจุลินทรีย์

สภาวะดินที่มีความที่มีความเป็นกรดสูงนั้น เกิดปัญหาจากภายในดินที่มีการปลดปล่อยธาตุอะลูมินัม และธาตุเหล็กที่มากเกินความจำเป็นจุลินทรีย์ภายในดินจึงนับว่ามีมีบทบาทสำคัญต่อการเปลี่ยนรูปของธาตุอาหารต่างๆ ในดิน รวมไปถึงกระบวนการเปลี่ยนรูปฟอสเฟต ซึ่งมีอิทธิพลต่อการปลดปล่อยฟอสเฟตให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืช และพืชสามารถดูดซึมธาตุอาหารไปใช้ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งจุลินทรีย์ในดินที่สามารถละลาย หรือปลดปล่อยฟอสเฟตจากรูปของสารอนินทรีย์หรืออินทรีย์ในดิน เนื่องจากธาตุฟอสฟอรัสนั้นถือเป็นธาตุอาหารที่สำคัญ และเป็นองค์ประกอบของกรดนิวคลีอิคแอซิด ฟอสโฟไลปิด โคเอนไซม์หลายชนิด ในการช่วยเร่งการเจริญเติบโตของรากพืช การออกดอก และการให้ผลต่อพืช หากพืชได้รับธาตุฟอสฟอรัสไม่เพียงพอจะมีผลต่อการเจริญเติบโต ธาตุฟอสฟอรัสนั้นถือเป็นธาตุที่ถูกตรึงได้ง่าย จึงทำให้ปริมาณของฟอสฟอรัสในดินต่ำลง ซึ่งมักเป็นผลมาจาก pH ของดินที่อยู่ในสภาวะกรดหรือด่าง จะมีผลทำให้ฟอสฟอรัสตกตะกอนในรูปของเหล็กฟอสเฟต อะลูมินัมฟอสเฟต และแคลเซียมฟอสเฟต (ซูไรยา มัชปอ, เพชรดา ปินใจ และเสาวนุช ถาวรพฤกษ์, 2562) จุลินทรีย์ในดินที่มีประโยชน์ต่อการปรับปรุงคุณภาพดินนั้น มักจะอยู่ในกลุ่มของแบคทีเรีย ที่มีความสามารถในการย่อยสลายอนินทรีย์ฟอสเฟตที่ไม่ละลายน้ำ (Prasadและคณะ, 2016) ให้อยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้ เรียกแบคทีเรียกลุ่มนี้ว่า แบคทีเรียละลายฟอสเฟต (Phosphate Solubilizing bacteria; PSB) โดยแบคทีเรียกลุ่มนี้ จะมีการสร้างกลไกในการละลายฟอสเฟตได้หลายกลไกล เช่น การผลิตกรดอินทรีย์ เช่น กรดซิตริก กรดอะซีติก และกรดแอสคอร์บริก โดยจากกระบวนการเมแทบอลิซึม (Organic acidic metabolites) หรือการผลิตเอมไซม์ฟอสฟาเตส ตัวอย่าง *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Alcaligenes* และ *Flavobacterium* เป็นต้น (JW Kloepper, MN SchrothและTD Miller, 1980) ซึ่งจะเปลี่ยนตะกอนฟอสฟอรัสในรูปของเหล็กฟอสเฟต อะลูมินัมฟอสเฟต และแคลเซียมฟอสเฟต กลายเป็นฟอสเฟตไอออน (H_2PO^{4-} และ HPO^{4-}) ซึ่งจะต้องละลายอยู่ในน้ำในดิน และพืชนำไปใช้ได้

การสร้างกรดและปลดปล่อยออกมาละลายฟอสเฟตในดินของเชื้อจุลินทรีย์จะมีทั้งการสร้างกรดอินทรีย์ และกรดอนินทรีย์ โดยมีรายละเอียด

1. การสร้างกรดอินทรีย์ (Organic acids) ได้แก่ กรดฟอร์มิค กรดอะซิติค กรดโปรปิโอนิค กรดแลคติค กรดไกลโคลิค กรดฟูมาริค และกรดซัคซินิค เป็นต้น โดยจุลินทรีย์กลุ่มเฮทเทอโรโทรพ (heterotroph) จะมีการปลดปล่อยกรดอินทรีย์ออกมาในระหว่างที่มีการย่อยสลายสารอินทรีย์ แต่มีความแตกต่างกันทั้งในส่วนของชนิดและปริมาณในการปลดปล่อยกรด (ธงชัย มาลา, 2557) (P Illmerและ F Schinner, 1995) พบว่าระหว่างการละลายฟอสเฟต

ของเชื้อจุลินทรีย์ *Penicillium* sp.และ *Pseudomonas* sp. มีการปลดปล่อยกรดไกลโคลิก (glycolic acid) และ กรดกลูโคนิก (gluconic acid) ซึ่งถือว่ากรดเหล่านี้มีส่วนช่วยในการละลายธาตุฟอสฟอรัสในดิน (ภัทธนาวรรณ์ ฉันท์รัตนโยธิน, 2557)

2. การสร้างกรดอนินทรีย์ (Inorganic acids) ได้แก่ กรดไนตริค และซัลฟูริคจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ *Nitrobacter* sp. และ *Thiobacillus* sp.ตามลำดับ โดยกรดต่างๆ เหล่านี้ที่เกิดขึ้นจะส่งผลให้ค่าความเป็นกรดเป็นด่างภายในดินลดลง และเกิดการละลายของฟอสฟอรัสมากขึ้น กรดอินทรีย์บางชนิดอาจเกิดปฏิกริยาคีเลตกับแคลเซียม และเหล็ก ทำให้การละลายและการนำใช้ฟอสเฟตไปใช้มากขึ้น โดยปริมาณการละลายฟอสเฟตจะแตกต่างกันตามความสามารถในการละลายของจุลินทรีย์แต่ละชนิด (ภัทธนาวรรณ์ ฉันท์รัตนโยธิน, 2557)

การคัดเลือกแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟต

จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต คือ จุลินทรีย์ที่สามารถเปลี่ยนรูปฟอสฟอรัสที่ไม่สามารถละลายน้ำให้อยู่ในรูปที่สามารถละลายน้ำได้ จุลินทรีย์ดินที่พบทั่วไปประกอบด้วย แบคทีเรีย เช่น *Burkholderia multivarant* (สุภาพร จันรุ่งเรือง, เบญจมาส รสโสภา และกรรณิการ์ สัจจาพันธ์, 2553) *Bacillus* sp. (นฤมล ศรีชัย)*Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Berholderia* (ธงชัย มาลา, 2557) *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococus*, *Aereobacter*, *Flavobacterium* และ *Erwinia* รวมถึงเชื้อรา และแอคติโนมัยซีส (สุพัตรา รักษ์วงษ์, 2558)

แบคทีเรียที่มีคุณสมบัติละลายฟอสเฟต เรียกว่า แบคทีเรียละลายฟอสเฟต (Phosphate Solubilizing bacteria; PSB โดยทำการคัดเลือกจากอาหาร Selective medium ที่ใช้ในการคัดเลือกแบคทีเรียในกลุ่มนี้ คืออาหาร Pikovskaya medium ที่มีไตรแคลเซียมฟอสเฟต ($Ca_3(PO_4)_2$) หินฟอสเฟต หรือ อะพาไทต ซึ่งเป็นฟอสเฟตรูปละลายยาก (insoluble inorganic phosphate) โดยสังเกตลักษณะโดยแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตจะมีการสร้างวงใสรอบโคโลนี (Clear zone) ที่เจริญบนอาหาร Pikovskaya medium

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ปัจจุบันการศึกษาการปรับปรุงคุณภาพดินโดยใช้จุลินทรีย์เริ่มมีบทบาท และการศึกษาอย่างแพร่หลายมากขึ้น เนื่องจากในกระบวนการการแปรสภาพของอินทรีย์วัตถุในดินให้กลายเป็นธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อพืช โดยจุลินทรีย์จะมีขั้นตอนของความหลากหลายในกระบวนการนำกลับมาใช้ใหม่ เพราะมีวงจรชีวิตที่สั้น และมีหลายชนิด แต่ละชนิดมีปริมาณ

ที่มาก ซึ่งมีหน้าที่และบทบาทต่อกระบวนการต่างๆ ในดินแตกต่างกันไป ทำให้เกิดการหมุนเวียนธาตุอาหารพืชในดิน ในปัจจุบันการทำการเกษตรมีการใช้ปุ๋ยเคมีกันมากเพราะความต้องการผลผลิตที่มากขึ้น เมื่อต้องการผลผลิตมากขึ้นก็จำเป็นต้องนำเอาปัจจัยการผลิตอื่นๆ ใส่เข้าไปเพิ่มมากขึ้น ทำให้เกิดปัญหาการใช้อย่างไม่สมดุล ซึ่งทำให้จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ส่วนหนึ่งตายไป และอินทรียวัตถุส่วนหนึ่งหายไป ดังนั้นระบบการเกษตรแผนปัจจุบันจึงเลือกที่จะใช้ปุ๋ยเคมีและสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในการแก้ปัญหานี้อันเป็นสาเหตุใหญ่ที่ทำให้ดินเสื่อมโทรมลงเรื่อยๆ เพราะดินเป็นกรด และแข็งกระด้างเนื่องจากปุ๋ยเคมีและสารเคมีที่ตกค้างในดิน การเพิ่มจุลินทรีย์ธรรมชาติเข้าไปช่วยในการการปรับปรุงดินให้มีโครงสร้างที่ดีและมีความอุดมสมบูรณ์ขึ้น จึงเป็นวิธีที่จะทำให้เกษตรกรลดการใช้ปุ๋ยเคมีและเป็นแนวทางในการแก้ไขปัญหาดินโดยใช้วิธีทางธรรมชาติ

จากการศึกษาในปัจจุบันพบแบคทีเรียหลายชนิดที่มีบทบาทในการรีดิวซ์สารอนินทรีย์ต่าง ๆ ในดิน โดยมีการรายงานการวิจัยว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus senegalensis*, *Bacillus* sp., และ *Sphingomonas* sp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่อยู่ในสกุล *Bacillus* และสกุล *Sphingomonas* มีความสามารถในการรีดิวซ์ไนเทรต (Luis EN Quadriและคณะ, 1998) (Jeroen Heyrmanและคณะ, 2004) และ *Anaeromyxobacter dehalogenans* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีกิจกรรมเกี่ยวกับรีดักชันของเหล็ก และสามารถรีดิวซ์ไนเทรตได้ (Marco Blötheและคณะ, 2008) ในขณะที่แบคทีเรียในไฟลัม *Acidobacteria* สามารถรีดิวซ์ไนเทรต และเหล็กได้ (Samuel R Wardและคณะ, 2009) และแบคทีเรียในสปีชีส์ *Myxococcale* เป็นแบคทีเรียที่อยู่ในคลาส Deltaproteobacteria ที่สามารถการรีดิวซ์ซัลเฟตได้ (Adrian Lussiและคณะ, 2011) นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้จุลินทรีย์ในการปรับคุณภาพดินกรดเช่น การใช้แบคทีเรีย *Thenmoanaerobacter ethanalicus* (X. Zhangและคณะ, 2013) และ*Desulfovibrio* sp. (Hailiang Dong, 2012) และมีรายงานว่าจุลินทรีย์ยังสามารถเปลี่ยนคุณสมบัติของดินด้านกายภาพและเคมีของดินโดยสอดคล้องกับงานวิจัยของ สมคิด และวิชญาพร ในปี 2562 ที่ได้ทำการศึกษาการแยก การคัดเลือก และการระบุชนิดของแบคทีเรียเอนโดไฟท์ละลายฟอสเฟตจากข้าวแปลงเกษตรอินทรีย์ 5 ปี โดยทำการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตจากข้าวในแปลงเกษตรอินทรีย์ โดยทำการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตบนอาหารแข็ง Pikovskaya agar (PVK) ได้พบแบคทีเรียที่มีการสร้างวงใสรอบโคโลนี (Clear zone) ได้แก่ *Burkholderia vietnamiensis, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter* sp.,และ *Bacillus* sp. (สมคิด ดีจริง และวิชญาพร ปาวงค์, 2562)

นอกจากนี้ในวารสารกรมพัฒนาที่ดิน ในปี 2561 ได้ทำการเผยแพร่ข้อมูลในเรื่องของการใช้จุลิทรีย์ที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตร พบว่า การใช้เชื้อจุลินทรีย์ในการใช้ประโยชน์ถือว่ามีบทบาทสำคัญในการเกษตรทั้งในส่วนของคุณภาพของดินในทางเคมี ทางกายภาพ รวมไปถึงการหมุนเวียนธาตุอาหารภายในดิน เพราะจุลินทรีย์จะทำหน้าที่ในการย่อยวัสดุสารอินทรีย์ต่างๆ ให้เป็นธาตุอาหาร เนื่องจากจุลินทรีย์ในระบบนิเวศนั้น ถือว่าเป็นหน้าที่ ผู้ย่อยสลาย โดยจะทำหน้าที่ย่อยสลายสาร หรือวัสดุที่มีขนาดใหญ่ให้กลายเป็นขนาดเล็ก เพื่อกลายเป็นธาตุอาหารที่มีประโยชน์ ทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงสารประกอบอินทรีย์ที่มีโครงสร้างซับซ้อนเปลี่ยนแปลงโมเลกุลหนึ่งไปเป็นอีกโมเลกุลหนึ่ง เช่น ย่อยสลายซากพืช ซากสัตว์ ให้กลายเป็นแร่ธาตุ เกิดการหมุนเวียนธาตุอาหารกลับมาใช้ใหม่ การเปลี่ยนรูปของสารหรือแร่ธาตุที่ก่อให้เกิดประโยชน์กับพืชได้มากที่สุด (กรมพัฒนาที่ดิน, 2561) ซึ่งคุณจตุพร และคณะ ในปี 2560 ทำการศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรียที่แยกจากดินบริเวณรอบรากข้าว และการคัดเลือกแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่มีประสิทธิภาพในการผลิตสารประกอบไนโตรเจน โดยการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากตัวอย่างดินรอบรากข้าวจากดินในพื้นที่ 4 จังหวัดภาคเหนือของไทย เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus altitudinis, Bacillus aryabhattai, Stenotrophomonas maltophilia* มีคุณสมบัติในการผลิตสารประกอบไนโตรเจนได้ในระดับสูง มีค่าเท่ากับ 15.6 มิลลิกรัมต่อลิตร (จตุพร บุณณดากุลและคณะ, 2560) คล้ายคลึงกับงานวิจัยของคุณประดับรัฐ, คุณสุทธวรรณ และคุณทายาท ในปี 2558 ที่ได้ทำการศึกษาการคัดแยกหัวเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนเพื่อการปรับปรุงคุณภาพดิน จากการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนอย่างอิสระ และมีความสามารถในการเจริญในอาหาร Nitrogen free medium พบว่าเชื้อ *Azotobacter tropicalis* มีความสามารถในการเจริญและตรึงไนโตรเจนได้ดีที่สุด นอกจากนี้ยังทำการศึกษาประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนเพื่อเพิ่มอาหารในดินที่เสื่อมสภาพ โดยการเติมหัวเชื้อ *Azotobacter tropicalis* เพียงครั้งเดียว สามารถให้ประสิทธิภาพในการเพิ่มไนโตรเจนในดินหลังการเติมเชื้อเป็นเวลา 24 วัน ซึ่งเชื้อ *Azotobacter tropicalis* แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการนำเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนมาใช้เป็นหัวเชื้อเพื่อใช้ในการปรับปรุงคุณภาพดิน (ประดับรัฐ ประจันเขตต์, สุทธวรรณ สุพรรณและทายาท ศรียาภัย, 2015)

ในปี พ.ศ 2556 คุณสมคิด และคุณวรางคณา ได้ทำการศึกษาคุณสมบัติของดินในแปลงข้าวเกษตรอินทรีย์ทั้งทางจุลชีววิทยา ทางเคมี และทางกายภาพ เพื่อการปรับปรุงคุณภาพการผลิตข้าว พบว่า จากการนำดินในแปลงนาข้าวมาศึกษาคุณสมบัติทางจุลชีววิทยา โดยนำมาเพาะเลี้ยงเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ต่างกัน 7 ชนิด เชื้อจุลินทรีย์ที่พบมากที่สุดเป็น

แบคทีเรีย โดยนำแบคทีเรียที่คัดแยกได้มาใช้ในการปรับปรุงดิน โดยการเพิ่มจุลินทรีย์ที่สามารถช่วยละลายฟอสเฟตลงไปในดินในรูปของปุ๋ยชีวภาพ จะทำให้ประสิทธิภาพของการใช้แบคทีเรียในการปรับปรุงดินได้ดียิ่งขึ้น (สมคิด ดีจริง และวรางคณา สงวนพงษ์ 2556) และในปีเดียวกัน คุณเกตน์ณนิภา ในปี 2556 ได้ทำการศึกษาการประยุกต์ใช้จุลินทรีย์ท้องถิ่นที่ตรึงอยู่บนวัสดุชนิดต่างๆ ในการปรับปรุงคุณภาพดิน นาข้าวที่เกิดอุทกภัย กรณีศึกษา อ.บางบาล จ.พระนครศรีอยุธยาได้คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตจากดินในนาข้าว และทดสอบผลของเชื้อจุลิทรีย์ที่ทำการคัดแยกได้จากการข้าวพันธ์ กข47 ที่ทำการคัดเลือกในอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya agar ได้พบว่าเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตที่สูงที่สุดจำนวน 2 ไอโซเลท ได้แก่ *Burkhoderia* sp. และ *Pantoea dispersa* ละลายฟอสเฟตได้ 179.8 และ 187.0 มิลลิกรัม.ฟอสเฟตต่อลิตร ตามลำดับ (เกตน์ณนิภา วันชัย, 2556)

การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตนั้นได้คล้ายกับงานวิจัยของ Karlidah H. และคณะ ในปี 2007 ที่ได้ทำการศึกษาผลของการใส่จุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจน และจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต พวก *Bacillus* sp.และ *Microbacterium* sp. ทั้งที่ใส่เชื้อจุลินทรีย์เดี่ยว ๆ หรือใช้ร่วมกัน พบว่าการใช้ร่วมกันทำให้ผลผลิตแอปเปิ้ลเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ การใส่หัว เชื้อจุลินทรีย์ให้กับรากทำให้น้ำหนักผลแอปเปิ้ลเพิ่มขึ้น 13.9–25.5 เปอร์เซ็นต์ ต้นแอปเปิ้ลสูงขึ้น 16.4–29.6 เปอร์เซ็นต์ และเส้นผ่าศูนย์กลางต้นเพิ่มขึ้น 15.9–18.4 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับแปลงควบคุม นอกจากนั้นการดูดใช้ธาตุอาหารไปสะสมที่ใบสูงขึ้นโดยใบแอปเปิ้ลมีปริมาณฟอสฟอรัส แคลเซียม โพแทสเซียม เหล็ก แมงกานีส ทองแดง และสังกะสีเพิ่มขึ้น (Karlidag H.และคณะ, 2007)

ปัจจุบันการคัดเลือกแบคทีเรียจีนัส *Bacillus* sp. ที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตเพิ่มมาขึ้น เช่นงานวิจัยของ สิรินภา และชัยสิทธิ์ ในปี 2563 ที่ได้ทำการศึกษาแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตในชุดดินปากช่อง ร่วมกับปุ๋ยเคมี เพื่อใช้ในการปลูกอ้อย จากการศึกษาพบว่า ผลของการทดสอบคุณสมบัติของปุ๋ยชีวภาพที่มีเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ในการละลายฟอสเฟต มีการใช้ปุ๋ยชีวภาพที่อัตรา 64 กรัมต่อกิโลกรัม ร่วมกับปุ๋ยเคมี ทำให้ดินที่ชุดดินปากช่องมีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในน้ำชะล้างสูงสุดถึง 31.10 มิลลิกรัมต่อลิตร และยังให้ผลผลิตของอ้อยสูงสุดเมื่อใช้ปุ๋ยเคมี 15–7.5–15 กิโลกรัมต่อไร่ร่วมกัน ซึ่งเห็นได้ว่าจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟต สามารถช่วยส่งเสริมผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตของพืชที่ปลูกในดินมีเพิ่มขึ้น (สิรินภา ช่วงโอภาส และชัยสิทธิ์ ทองจู, 2563) ซึ่งคล้ายคลึงกับงานวิจัยของ Sundara et al. ในปี 2002 ที่มีการนำแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติใน

การละลายฟอสเฟตนำมาผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพ โดยในปุ๋ยชนิดนั้นจะประกอบไปด้วยแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* ที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟต ผลการศึกษาพบว่าแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตมีประสิทธิภาพในการชะล้าง และเมื่อนำไปทดสอบร่วมกับปุ๋ยเคมีต่อการปลูกอ้อยในกระถาง ให้ผลผลิต และให้คุณภาพของดินที่สูงขึ้น นอกจากมีการทดสอบคุณสมบัติแบคทีเรียที่มีการละลายฟอสเฟตในสภาพกระถางแล้ว ยังมีการทดสอบคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตในสภาพดินปลูก ซึ่งการศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตต่อการศึกษาวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสในสภาพแปลงปลูกของดินที่ปลูกอ้อย (B Sundara, V Natarajanและ K Hari, 2002) ยังคล้ายคลึงกับงานวิจัยของซูไรยา และคณะ ในปี 2562 ที่มีการศึกษาการทดสอบแบคทีเรียละลายฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตและผลของอ้อยในสภาพดินปลูก เพื่อทดสอบการใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพ การศึกษาพบว่า การใช้แบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตให้ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ของดินในระดับปานกลาง โดยมีปริมาณฟอสฟอรัสภายในดินมีค่าเท่ากับ 26.86 มิลลิกรัมฟอสเฟตต่อกิโลกรัม และนอกจากนี้การที่ใช้ปุ๋ยที่มีแบคทีเรียละลายฟอสเฟตร่วมกับปุ๋ยชีวภาพที่มีใส่ตามอัตราของเกษตรกร จะส่งผลให้อ้อยมีความสูงที่เพิ่มขึ้นอีกด้วย (ซูไรยา มัชปอ, เพชรดา ปินใจ และเสาวนุช ถาวรพฤกษ์, 2562)

แบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตนั้นมีการนำมาศึกษากลับพืชหลายชนิด เช่น อ้อย และข้าว นอกจากนี้งานวิจัยของ วรวิทย์ และจีราภรณ์ ในปี 2560 ยังศึกษาผลของเชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของดิน และธาตุอาหารภายในดินข้าวโพดหวาน ผลการศึกษาพบว่า การนำแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตร่วมกับปุ๋ยหมัก และหินฟอสเฟต จะให้ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์สูงที่สุดเมื่อเทียบกับชุดการทดลองทั้งหมด 5 ชุดการทดลอง โดยให้ปริมาณฟอสฟอรัสสูงสุดอยู่ที่ 59 และ 650 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมในส่วนดินบน และส่วนดินล่าง ให้ปริมาณฟอสฟอรัสอยู่ที่ 14 และ 478 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (วรวิทย์ วิเชียรเขต และจีราภรณ์ อินทสาร, 2560)

การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียในการละลายฟอสเฟตที่มีประสิทธิภาพสูงนั้นยังมีการคัดเลือกจากดินในบริเวณรอบรากข้าวไร่ในงานวิจัยของคุณสุพัตรา ในปี 2558ที่มีการวิจัยเพื่อคัดแยกเชื้อแบคทีเรียในการละลายฟอสเฟตในบริเวณดินรอบรากข้าวไร่ โดยทำการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหาร Pikovskaya agar โดยสามารถแยกได้ทั้งหมด 18 ไอโซเลท เพื่อทำการเปรียบเทียบค่า Halo : Colony ratio ที่สูงที่สุด ซึ่งพบว่าแบคทีเรีย *Bacillus cereus* ให้ปริมาณฟอสเฟตที่ละลายได้สูงที่สุดอยู่ที่ 41.60 ± 4.09 มิลลิกรัมฟอสเฟตต่อลิตร (สุพัตรา รักษ์วงษ์, 2558)

ปัจจุบันมีการใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์ที่มีการใช้ปุ๋ยชีวภาพสำหรับทางการเกษตรที่มากขึ้นเพื่อความยั่งยืน และเป็นที่น่าสนใจในปัจจุบัน ในงานวิจัยของคุณไตรธานี และคณะ ในปี 2555 ที่มีการศึกษาประสิทธิภาพของการละลายฟอสเฟต เพื่อคัดเลือกแบคทีเรียที่มีกิจกรรมละลายฟอสเฟตสูงที่สุดจากดินบริเวณรอบรากอ้อย ที่ปลูกในสภาพแปลงในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยพบว่าแบคทีเรีย *Bacillus megaterium* SMS3, *Bacillus stratosphericus* GD65, *Bacillus aryabhattai* MDSR11 และ *Bacillus altitudinis* DYJK5-5 กิจกรรมในการละลายฟอสเฟตอยู่ที่ 179-196 ไมโครกรัมฟอสเฟตต่อมิลลิลิตร โดยแบคทีเรียที่มีการใช้งานร่วมกับปุ๋ยหินฟอสเฟตนั้น ส่งผลให้อ้อยมีการเจริญเติบโตในทุกด้าน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ไตรธานี เยี่ยมอ่อนและคณะ, 2555)

นอกจากอ้อยก็ยังมีงานวิจัยของคุณเกตน์นิภา และคุณสมาพร ในปี 2557ที่มีการศึกษาแบคทีเรียที่มีการละลายฟอสเฟตจากดินในนาข้าว ในเขตพื้นที่จังหวัดพระนครศรีอยุธยา เมื่อทำการวิเคราะห์สปีชีส์ของเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการละลายฟอสเฟตพบแบคทีเรีย *Burkhoderia* sp. และ *Pantoea dispersa* ที่สามารถละลายฟอสเฟตได้ 179.8 และ 187.0 มิลลิกรัมฟอสเฟตต่อลิตร ซึ่งผลการศึกษาได้นำเชื้อที่แยกได้มาตรึงบนเถ้าแกลบ พบว่าในระยะการปลูกข้าวที่ 30 วัน ข้าวที่มีการเติมเชื้อแบคทีเรียที่มีการละลายฟอสเฟตและตรึงบนขี้เถ้าแกลบมีการเจริญเติบโตทั้งในด้านความสูง จำนวนใบ ความยาวของราก และน้ำหนักแห้งของลำต้น ที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติสูงกว่าการเจริญเติบโตของข้าวที่ไม่มีการเติมเชื้อแบคทีเรีย (เกตน์ณนิภา วันชัย, 2557)

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1. หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)
2. เครื่องเครื่องอบลมร้อน (Hot air oven)
3. เครื่องให้ความร้อน (Hot plate)
4. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
5. ตู้ปลอดเชื้อ (Biosafety cabinet class II)
6. กล้องจุลทรรศน์ (Microscope)
7. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (Laboratory Balances)
8. เครื่องชั่งหยาบ 2 ตำแหน่ง (Laboratory Balances)
9. เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (PCR machine)
10. ตู้ทำความเย็นเก็บสารเคมี
11. เครื่องปั่นผสม (Vortex)
12. อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
13. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
14. ไมโครเวฟ (Microwave)
15. เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

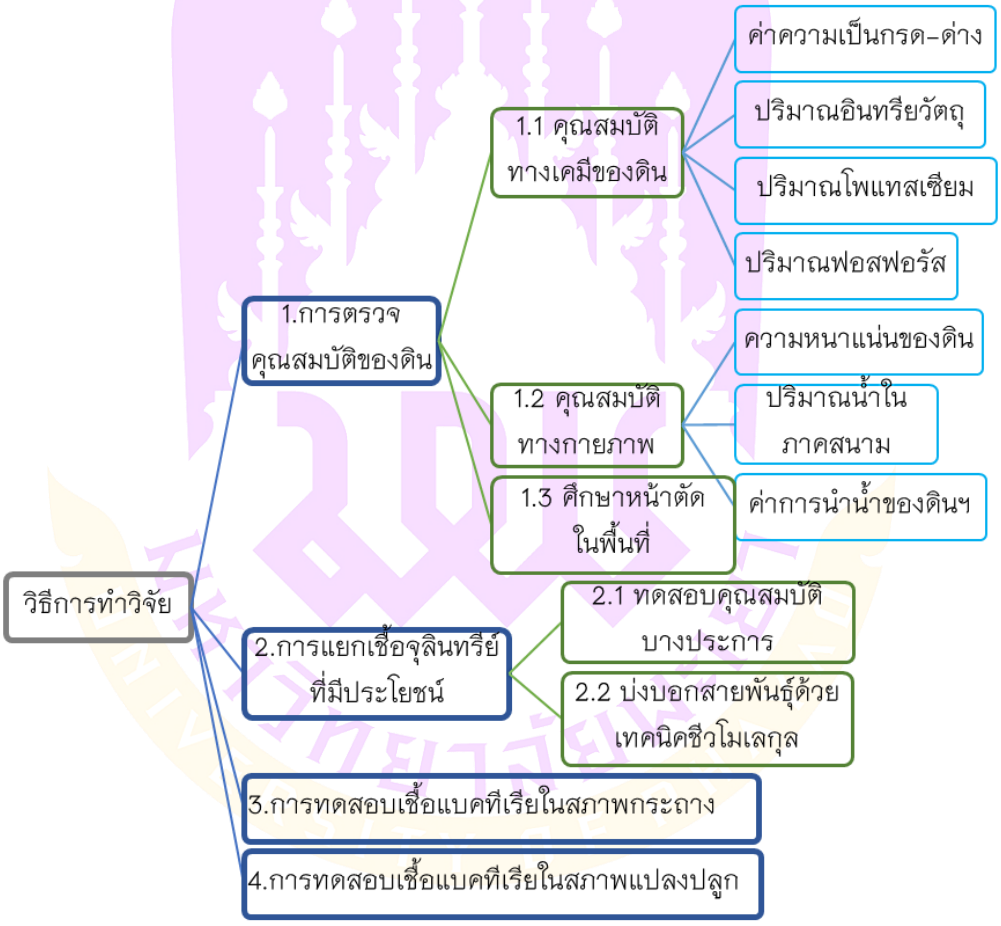
1. บีกเกอร์(Beaker)
2. แท่งแก้วคนสาร (Stirring rod)
3. กระจกปิดสไลค์ (Cover slide)
4. แผ่นสไลค์ (Microscope slide)
5. ขวดน้ำกลั่น (Plastic bottle)
6. คิวเวทท์ (Cuvette)
7. หลอดทดลอง (Test tube)
8. ปิเปตต์แบบปริมาตร (Volumetric pipette)

9. กรวยกรอง (Funnel)
10. จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
11. บิวเรตต์ (Burette)
12. ขวดแลปฝาเกลียว (Laboratory bottle)
13. กระบอกตวง (Cylinder)
14. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
15. ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask)
16. ตะเกียงแฮลกฮอล์อลูมิเนียม (Alcohol burner)
17. ช้อนตักสาร
18. เข็มเขี่ยเชื้อ (Needle & Loop)
19. เสาตั้งพร้อมฐาน (Stand & Base)
20. ที่จับบิวเรตต์ (Burette clamp)
21. กระดาษกรอง (Filter paper)
22. หลอดเซ็นตริฟิวส์ (Centrifuge Tube)

การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลในแต่ละชุดการทำลอง ในการทดลองจะใช้การวางแผนการทดลองแบบสุ่มแบบสุ่มตลอด Completely Randomized Design (CRD) ทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยวิธี DMRT (Duncan's new multiple range test) โดยนำข้อมูลไปวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS

วิธีการทำวิจัย



ภาพ 2 แผนผังสรุปวิธีการทำวิจัย

1. การตรวจสอบคุณสมบัติของดินในสวนลำไย

การทดลองดำเนินการเก็บตัวอย่างดินโดยนำดินบริเวณสวนลำไยกลุ่มวิสาหกิจชุมชนบ้านต๋ำใน ตำบลบ้านต๋ำ อำเภอเมือง จังหวัดพะเยาช่วงเดือนกันยายน พ.ศ 2562 ถึงเดือนสิงหาคม พ.ศ.2563 โดยทำการเก็บดินในช่วงหลังการเก็บเกี่ยวลำไย ตั้งแต่ผิวหน้าดินตามวิธีการของ (สมคิด ดีจริง และวรางคณา สงวนพงษ์ 2556) ทำการสุ่มเก็บกระจายทั่วสวนลำไย (โดยทำการเก็บตัวอย่างทั้งก่อนและหลังการทดลอง)

1.1) การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของดิน

1.1.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของดิน โดย pH meter โดยอ้างอิงตามวีธีของ (M. Peech, 1965)

ชั่งดิน (ที่ผึ่งให้แห้งในที่ร่มและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร) 10 กรัม ใส่บีกเกอร์(Beaker) ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายตัวกลาง 1M KCl 25 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่างดิน คนด้วยแท่งแก้ว ตั้งทิ้งไว้ โดยคนด้วยแท่งแก้วเป็นครั้งคราว ทำการ Calibrate pH meter ด้วย buffer pH 4 และ buffer pH 7 ก่อนวัด pH ตัวอย่างดิน

1.1.2 วิเคราะห์ปริมาณอินทรียวัตถุ (Organic matter) ตามวิธีการของ (A Walkleyและ I.A. Black, 1947)

ชั่งดิน (ที่ผึ่งให้แห้งในที่ร่มและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร) 2 กรัม ใส่ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer Flask) ขนาด 125 มิลลิลิตร ปิเปตต์ 1N KCr_2O_7 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ในตัวอย่างดิน แกว่งขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer Flask) เบา ๆ เพื่อให้น้ำยากับตัวอย่างดินผสมเข้ากันได้ดี โดยเติม conc.H_2SO_4 10 มิลลิลิตร ค่อย ๆ ปล่อยกรดลงในตัวอย่างเพื่อป้องกันการกระเด็นของอนุภาคดิน (ควรเติมกรดในตู้ดูดควัน) แล้วแกว่งเบา ๆ อีกครั้ง ทิ้งไว้ให้เย็น และทำการเติมน้ำกลั่นประมาณ 20 มิลลิลิตร หยด O-phenanthroline ferrous complex indicator 3-4 หยด นำมาไตเตรทกับ 0.5 N $FeSO_4$ ที่จุดยุติ suspension จะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาลแดงจดปริมาตร $FeSO_4$ ที่ใช้ไตเตรทแต่ละตัวอย่าง และทำการหาความเข้มข้นที่แท้จริง

1.1.3 วิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Available phosphorus) ตามวิธีการของ (Roger H Brayและ L Touby Kurtz, 1945)

ชั่งดิน (ที่ผึ่งให้แห้งในที่ร่มและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร) 5 กรัม ใส่ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer Flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร Pipet น้ำยาสกัด Bray II 50 มิลลิลิตร ใส่ในตัวอย่าง ปิดด้วยจุกยาง เขย่าด้วยมือ 60 วินาที แล้วกรองทันทีด้วยกระดาษกรอง No.5 เก็บสารละลายตัวอย่างไว้ในขวดพลาสติก ทำการปิเปตต์สารละลายตัวอย่าง 5 มิลลิลิตร

ใส่ปิเปตต์แบบปริมาตร (Volumetric pipet) ใส่ขวดวัดปริมาตร (Volumetric Flask) ขนาด 25 มิลลิลิตร เติม 2เปอร์เซ็นต์ H_3BO_3 5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดวัดปริมาตร (Volumetric Flask) เติม Murphy's reagent 2 มิลลิลิตร และเติม 2.5เปอร์เซ็นต์ Ascorbic acid solution 1 มิลลิลิตร หลังจากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 25 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ปิดจุก เขย่าสารละลายให้เข้ากัน จะได้สารละลายสีน้ำเงิน ทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที จึงนำไปอ่านค่าด้วยเครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 820 นาโนเมตร

1.1.4 วิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (Exchangeable potassium) ตามวิธีการของ (ML Jackson, 1958)

ชั่งดิน (ที่ผึ่งให้แห้งในที่ร่มและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร) 5 กรัม ใส่ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer Flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร ปิเปตต์น้ำยาสกัด 1N NH4OAc pH 7 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ปิดด้วยจุกยาง เขย่าด้วยเครื่อง 30 นาที แล้วนำกระดาษกรอง No.5 โดยเก็บสารละลายไว้ในขวดพลาสติก นำสารละลายที่กรองได้ ไปตรวจวัดความเข้มข้นของโพแทสเซียม โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน ด้วยเทคนิค Flame photometer

1.2) การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของดิน

นำตัวอย่างดินจากแปลงปลูกลำไย ส่งวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพของดิน ที่หน่วยวิเคราะห์ทางกายภาพดิน สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน กรมพัฒนาที่ดิน กรุงเทพฯ

1.2.1 วิเคราะห์ความหนาแน่นของดิน (Soil bulk density) ตามวิธีของ (G.R Blake, 1965)

1.2.2 วิเคราะห์ปริมาณน้ำในภาคสนาม (Field water content) ตามวิธีของ (Walter H Gardner, 1986)

1.2.3 วิเคราะห์ค่าการนำน้ำของดินในสภาพอิ่มตัวด้วยน้ำ (Saturated hydraulic conductivity) ตามวิธีของ (A Klute และC. Dirksen, 1986)

1.3) การศึกษาหน้าตัดในพื้นที่ที่ทำการศึกษา

โดยทำการขุดหลุมดินลึก 1–1.5 เมตร หรือถึงชั้นชั้นหินเพื่ออธิบายลักษณะหน้าตัดดินและลักษณะสัญฐานวิทยาของดินในพื้นที่ทำการศึกษา

2. การแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในการปรับปรุงดิน

2.1) การทดสอบคุณสมบัติบางประการของจุลินทรีย์

นำดินมาชั่ง 10 กรัม เติมน้ำ 100 มิลลิลิตร เพื่อเป็นหัวเชื้อที่จะนำไปทำการเจือจางในความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 10^1 – 10^{10} นำเชื้อมาทำการเจือจางตามลำดับด้วยสารละลายโซเดียม

คลอไรด์ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ปราศจากเชื้อ จากนั้นเลือกระดับความเจือจางที่เหมาะสมมาเพาะเลี้ยงเชื้อโดยวิธี spread plate ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ 7 ชนิด คือ

2.1.1 Plate count agar (PCA) ใช้ตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 24–48 ชั่วโมง

2.1.2 Czapek's medium ใช้สำหรับแยกเชื้อรา บ่มที่อุณหภูมิ 48–72 ชั่วโมง

2.1.3. Internation strepomyces project 2 (ISP2) ใช้สำหรับแยกแอคติโนมัยซีส บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 1 สัปดาห์

2.1.4 Carboxymethylcellulose agar (CMC) ใช้แยกจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลส บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 24–28 ชั่วโมง

2.1.5 Nitrogen free medium (NFM) ใช้แยกจุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 48–72 ชั่วโมง

2.1.6 Pikovskaya 's medium ใช้แยกจุลินทรีย์ที่ละลายฟอสเฟต บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 48–72 ชั่วโมง

2.1.7 Aleksandrov medium ใช้แยกจุลินทรีย์ที่ละลายโพแทสเซียมในดิน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 48–72 ชั่วโมง

ในงานทดลองนี้เลือกเฉพาะแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตและสามารถเจริญในอาหาร Pikovskaya's medium ศึกษาคุณลักษณะเบื้องต้น โดยทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphological characteristic) ของแบคทีเรีย นำแบคทีเรียที่แยกได้ทั้งหมดมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยเพาะเลี้ยงแบคทีเรียบนอาหารวุ้นเอียงตามคุณสมบัติของแบคทีเรียที่คัดเลือก ได้แก่อาหาร Pikovskaya's medium ระยะเวลา 24–48 ชั่วโมง นำแบคทีเรียนั้นมาตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และทำการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี ตามหนังสือ Bergey's Manual of Systemic Bacteriology (J. G. Holtและคณะ, 1994)

2.2) การบ่งบอกสายพันธุ์แบคทีเรียด้วยเทคนิคชีวโมเลกุล

นำเชื้อแบคทีเรียจากข้อ 2.1) กับแบคทีเรียที่นักวิจัยคัดเลือกได้แล้วส่วนหนึ่งทำการสกัดดีเอ็นเอของเชื้อโดยนำเชื้อบริสุทธิ์เพาะเลี้ยงในอาหาร NA แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 1–3 วัน จากนั้นทำการสกัดดีเอ็นเอของเชื้อด้วยชุดสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป Genomic DNA Mini Kit Blood/Cultured Cell) ทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR (Polymerase chain reaction) และตรวจสอบ PCR product ด้วยอะกาโรเจลอิเล็กโทรโฟริซีส (Agarose gel electrophoresis) นำส่วนดีเอ็นเอของแบคทีเรียมาเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค PCR ด้วยเครื่อง PCR Mastercycler Personal

โดยใช้ primer ที่ออกแบบจาก 16s rDNA gene primer โดยมีการเลือกใช้ primer 8F [5'–AGAGTTTG ATCMTGGCTCAG–3'] และ 1522R [5'AAGGAGGTGATCCRCCGCA–3'] (Eduardo J Gudiñaและคณะ, 2015) จากนั้นตรวจสอบ PCR product ด้วย Agarose gel electrophoresis หลังจากนั้นนำชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากขบวนการ PCR ไปหาลำดับเบสโดยวิธีการ Sanger DNA sequencing ที่บริษัท First BASE Laboratories Sdn Bhd. ประเทศมาเลเซีย และนำไปเทียบข้อมูลกับฐานข้อมูล GenBank โดยใช้โปรแกรม BLAST analysis

3. การทดสอบเชื้อแบคทีเรียที่มีผลต่อสภาพดินในสภาพกระถาง

นำต้นลำไยพันธุ์ดอก้านอ่อน ที่มีการขยายพันธุ์แบบกิ่งเสียบ ตามวิธีการขยายพันธุ์ของ (พาวิน มะโนชัยและคณะ, 2547) ควรตรวจสอบการเชื่อมติดของรอยแผลให้สมบูรณ์ และใช้มีดกรีดพลาสติกพันแผลออกก่อนนำไปปลูก เลือกต้นลำไยที่มีความสูงที่อยู่ระหว่าง 30 ± 2 เซนติเมตร มีอายุการปลูก 6 เดือน ปลูกในกระถางพลาสติกสีดำ โดยนำดินจากแปลงปลูกลำไยมาใช้เป็นดินปลูก มาผสมให้เข้ากันกับดินปลูกแบบสำเร็จ และบรรจุดินผสม 10 กิโลกรัมต่อกระถาง จัดวางในสถานที่มีแสงสว่างส่องถึง มีการดูแล และรดน้ำที่เหมือนกันทุกกรรมวิธี แบ่งเป็น 4 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 5 ต้น รวมทั้งสิ้น 20 กระถาง

3.1) ทำการวัดคุณสมบัติทางเคมีของดินก่อนทำการทดสอบด้วยเชื้อแบคทีเรีย ได้แก่ วัดคุณสมบัติความเป็นกรด–ด่าง วิเคราะห์ปริมาณอินทรียวัตถุ วิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้

3.2) ทำการเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่มีความเข้มข้นของเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียจนมีค่าที่ต้องการ optical density (O.D.) เท่ากับ 0.2 หรือความเข้มข้นของแบคทีเรียประมาณ 10^8 cfu/mL ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่มีความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร

3.3) การทดสอบเชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ในกระถางปลูก โดยแต่ละชุดการทดลองใช้จำนวน 5 ต้นต่อกรรมวิธีโดยวิธีการพื้นที่รัศมีปริมาณ 500 มิลลิลิตร ต่อสัปดาห์ เป็นเวลา 1 เดือน โดยแบ่งชุดการทดลองคือ

1. ชุดที่ราดด้วยน้ำกลั่น
2. ชุดที่ราดด้วยเชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือกได้
3. ชุดที่ราดด้วยเชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือก ผสมปุ๋ยชีวภาพที่เกษตรกรใช้
4. ชุดที่ราดด้วยปุ๋ยชีวภาพที่เกษตรกรใช้

ปุ๋ยชีวภาพที่เกษตรกรใช้มีส่วนผสมของ ใบลำไย และมูลวัว ในอัตราส่วนเท่ากับ 1:1 หลังจากนั้นทำการดูแล รดน้ำ นำไปวางในที่มีแสงอาทิตย์ เป็นระยะเวลา 90 วัน ทำการวัด

คุณสมบัติทางเคมีของดินปลูกอีกครั้ง เพื่อทำการศึกษาคุณสมบัติของแบคทีเรียในการปรับปรุงคุณภาพดิน

หมายเหตุ* ในการทดสอบในกระถางปลูก มีการรดน้ำดูแล การรับแสง และบำรุงรักษาเหมือนกันทุกต้น

4. การทดสอบเชื้อแบคทีเรียที่มีผลต่อสภาพดินในสภาพแปลงปลูกลำไย

4.1) การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย นำเชื้อแบคทีเรียที่ผ่านการคัดเลือก มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA (Nutrient agar) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 วัน เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ นำแบคทีเรียเลี้ยงในอาหารเหลว NB (Nutrient broth) เพื่อเพิ่มปริมาณเชื้อ นำเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร และปรับความเข้มข้นของเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียจนมีค่าที่ต้องการปริมาณของแบคทีเรียประมาณ 10^8 cfu/mL เก็บเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียที่เตรียมได้ไว้ใช้ในการทดลองต่อไป

4.2) การทดสอบเชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ในพื้นที่เกษตรกร โดยแต่ละชุดการทดลองใช้ต้นลำไยอายุประมาณ 10 ปี จำนวน 5 ต้น ต่อกรรมวิธี โดยวิธีการราดเชื้อแบคทีเรีย จะทำการราดบริเวณโคนต้น และพื้นที่รัศมีทรงพุ่มปริมาณ 10 ลิตรต่อสัปดาห์ โดยแบ่งชุดการทดลองคือ

1. ชุดที่ราดด้วยน้ำกลั่น
2. ชุดที่ราดด้วยเชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือกได้
3. ชุดที่ราดด้วยเชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือกผสมปุ๋ยชีวภาพที่เกษตรกรใช้*
4. ชุดที่ราดด้วยปุ๋ยชีวภาพที่เกษตรกรใช้*

หลังจากนั้นทำการดูแล รดน้ำ นำไปวางในที่มีแสงอาทิตย์ เป็นระยะเวลา 90 วัน ทำการวัดคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของดิน

หมายเหตุ * ปุ๋ยชีวภาพที่เกษตรกรใช้ มีส่วนผสมของใบลำไย และมูลวัว อัตราส่วน 1:1 ซึ่งในการทดลองจะใช้ปุ๋ยชีวภาพที่ผลิตเหมือนกันทุกการทดลอง ต้นลำไยทุกต้นมีการดูแลและบำรุงรักษาเหมือนกันทุกต้น ตามวิธีที่เกษตรกรทำอยู่

4.3) การประเมินคุณสมบัติของดินจากผลของกรรมวิธีต่างๆ ตามข้อ 1.1 และ 1.2 โดยการวัดคุณสมบัติของดินก่อน และหลังการประยุกต์ใช้แบคทีเรียที่คัดแยกได้ โดยการราดสารผสมชนิดต่างๆ ในชุดการทดลอง โดยทำการตรวจวัดคุณสมบัติทางเคมี และกายภาพของดิน เช่นเดียวกับวิธีการในข้อ 1

บทที่ 4

ผลการทดลอง

การตรวจสอบคุณสมบัติของดินในสวนลำไย

การเก็บตัวอย่างดินจากสวนลำไยตั้งแต่ผิวหน้าดินตามวิธีการของ (สมคิด ดีจริง และวรางคณา สงวนพงษ์ 2556) ทำการสุ่มเก็บกระจายทั่วสวนลำไย ซึ่งทำการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพ ก่อนมีการประยุกต์ใช้แบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ การศึกษาคุณสมบัติทางเคมี 4 คุณสมบัติ ได้ทำการศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่างของดิน วิเคราะห์ปริมาณอินทรียวัตถุ วิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพได้ศึกษา 3 คุณสมบัติ ได้แก่ วิเคราะห์ความหนาแน่นของดิน วิเคราะห์ปริมาณน้ำในภาคสนาม และวิเคราะห์ค่าการนำน้ำของดินในสภาพอิ่มตัวด้วยน้ำ ก่อนการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย

คุณสมบัติทางเคมีของดินในสภาวะกระถางมีค่าปริมาณความเป็นกรด – ด่างที่ 5.66 ± 0.00 ค่าวิเคราะห์ปริมาณอินทรียวัตถุ มีค่าเปอร์เซ็นต์อินทรียวัตถุอยู่ที่ 3.20 ± 0.01 ค่าวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์อยู่ที่ 107.65 ± 0.03 มิลลิกรัมฟอสเฟตต่อกิโลกรัม และการวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ มีค่าปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้มีค่า 140.87 ± 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งการวิเคราะห์ทั้งหมดนี้ยังไม่มีการประยุกต์ใช้แบคทีเรียที่คัดเลือกได้ในดินถือว่าไม่มีค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแสดงดังตาราง 1 จากข้อมูลของกรมพัฒนาที่ดิน (กรมพัฒนาที่ดิน, 2553) ในส่วนของการตรวจสอบคุณสมบัติดินทางเคมี โดยถือว่าองค์ประกอบโดยรวมคุณสมบัติทางเคมีของดิน มีค่าความเป็นกรดปานกลาง วิเคราะห์ปริมาณอินทรียวัตถุอยู่ในระดับปานกลาง วิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมมีค่าที่ต่ำ

การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของดินในสภาพแปลงปลูกพบว่า การศึกษาคุณสมบัติกรด-ด่าง มีค่าปริมาณความเป็นกรด-ด่างเฉลี่ยที่ 3.42 ± 0.03 ค่าวิเคราะห์ปริมาณอินทรียวัตถุ มีค่าเปอร์เซ็นต์อินทรียวัตถุอยู่ที่ 2.07 ± 0.06 ค่าวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์อยู่ที่ 105.13 ± 0.34 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และการวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ มีค่าปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้มีค่า 154.12 ± 1.33 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งการวิเคราะห์ทั้งหมดนี้

ยังไม่มีการประยุกต์ใช้แบคทีเรียภายในสภาพแปลงปลูกของดิน แสดงดังตาราง 2 จากข้อมูลของกรมพัฒนาที่ดิน (กรมพัฒนาที่ดิน, 2553) ในส่วนของการตรวจสอบดินทางเคมีของดินในสภาพแปลงปลูก โดยถือว่าองค์ประกอบโดยรวมคุณสมบัติทางเคมีของดินมีค่าความเป็นกรดรุนแรงมากสุด ที่มีค่า pH น้อยกว่า 3.5 มีปริมาณอินทรียวัตถุอยู่ในระดับปานกลาง ปริมาณฟอสฟอรัส และปริมาณโพแทสเซียมที่มีค่าปานกลาง

ตาราง 1 คุณสมบัติทางเคมีของดินในสภาวะกระถางก่อนการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย

การทดลอง	กรด–ด่าง	อินทรียวัตถุ (%)	ปริมาณฟอสฟอรัส (mg/kg)	ปริมาณโพแทสเซียม (mg/kg)
ก่อนการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย	5.66 ± 0.01	3.20 ± 0.01	107.65 ± 0.03	140.87 ± 0.03

หมายเหตุ: การทดสอบค่าวิเคราะห์เฉลี่ยการทดลอง 5 ซ้ำ

ตาราง 2 คุณสมบัติทางเคมีของดินในสภาพแปลงปลูกก่อนการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย

การทดลอง	กรด–ด่าง	อินทรียวัตถุ (%)	ปริมาณฟอสฟอรัส (mg/kg)	ปริมาณโพแทสเซียม (mg/kg)
ก่อนการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย	3.42 ± 0.03	2.07 ± 0.06	105.13 ± 0.34	154.12 ± 1.33

หมายเหตุ: การทดสอบค่าวิเคราะห์เฉลี่ยการทดลอง 5 ซ้ำ

การทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของดินในสภาพแปลงปลูกก่อนการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย โดยทำการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของดินในสภาวะแปลงปลูกก่อนการประยุกต์ใช้แบคทีเรียทั้ง 3 การทดสอบ ได้แก่ การทดสอบความหนาแน่นของดิน การทดสอบปริมาณน้ำในภาคสนาม และการนำน้ำของดินในสภาพอิ่มตัวด้วยน้ำ โดยการทดสอบความหนาแน่นของดิน มีค่าความหนาแน่นดินอยู่ที่ 1.22 ± 0.01 การทดสอบปริมาณน้ำในภาคสนามมีค่าปริมาณน้ำในภาคสนามอยู่ที่ 23.74 ± 0.34 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และการวิเคราะห์การนำน้ำของดินในสภาพอิ่มตัวด้วยน้ำมีค่าอยู่ที่ 6.57 ± 0.01 เซนติเมตรต่อชั่วโมง ดังแสดงตาราง 3

ตาราง 3 คุณสมบัติทางกายภาพของดินในสภาพแปลงปลูกก่อนประยุกต์การใช้แบคทีเรีย

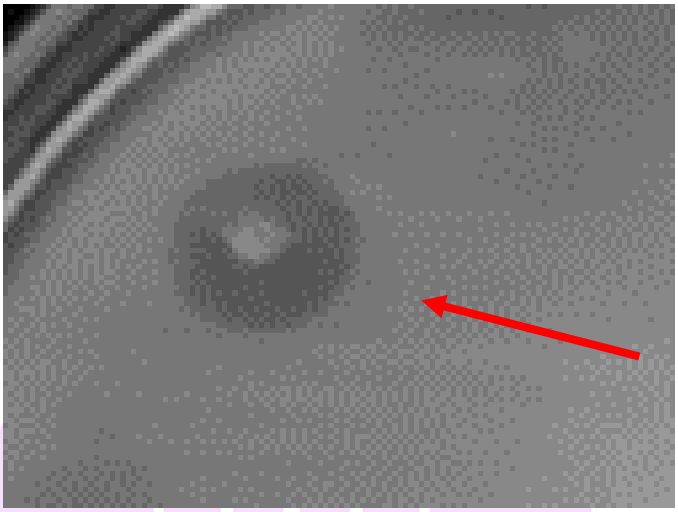
การทดลอง	ความหนาแน่น (g.cm-3)	ปริมาณน้ำในภาคสนาม (% by wt)	การนำน้ำของดินในสภาพอิ่มตัวด้วยน้ำ (cm/hr)
ก่อนการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย	1.22 ± 0.01	23.74 ± 0.34	6.57 ± 0.01

หมายเหตุ: การทดสอบค่าวิเคราะห์เฉลี่ยการทดลอง 5 ซ้ำ

การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพของดิน โดยทำการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของดินในสภาวะแปลงปลูกก่อนการประยุกต์ใช้แบคทีเรียทั้ง 3 การทดสอบ ได้แก่ การทดสอบความหนาแน่นของดิน การทดสอบปริมาณน้ำในภาคสนาม และการนำน้ำของดินในสภาพอิ่มตัวด้วยน้ำ โดยการทดสอบความหนาแน่นของดิน มีค่าความหนาแน่นดินอยู่ที่ 1.22 ± 0.01 การทดสอบปริมาณน้ำในภาคสนาม มีค่าปริมาณน้ำในภาคสนามอยู่ที่ 23.74 ± 0.34 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และการวิเคราะห์การนำน้ำของดินในสภาพอิ่มตัวด้วยน้ำมีค่าอยู่ที่ 6.57 ± 0.01 เซนติเมตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ แสดงดังตาราง 3 และศึกษาลักษณะทางกายภาพของดิน โดยทำการศึกษาหน้าตัดของดินในพื้นที่ที่ทำการศึกษา โดยทำการขุดหลุมลึกขนาด 1.5 เมตร โดยลักษณะหน้าตัดของพื้นที่ดินที่ทำการศึกษา พบว่า ลักษณะสัณฐานวิทยาของดินเบื้องต้น ดินบนเป็นดินร่วนปนทราย มีสีน้ำตาล มีปริมาณอินทรียวัตถุในระดับที่ต่ำ เมื่อนำไปทดสอบความเป็นกรดด่าง ดินที่ทำการศึกษามีค่าความเป็นกรด-ด่าง อยู่ในช่วง 3.4-4.4 ซึ่งถือเป็นกรดรุนแรงมาก บริเวณดินล่างตอนบน จากการศึกษาลักษณะของดินจะสังเกตเห็นเป็นลักษณะดินร่วนเหนียวปนดินทราย มีสีแดงปนน้ำตาลอ่อน ปฏิกิริยาดินเป็นกรดจัดมากถึงเป็นกรดจัด มีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ที่ 4.5-5.5 ส่วนดินใต้ชั้นดินล่างตอนบนจะเป็นชั้นดินที่มีลักษณะดินร่วนเหนียวปนดินทราย หรือดินร่วนปนดินเหนียว ลักษณะดินใต้ชั้นลูกรัง จะเป็นลักษณะชั้นดินเหนียวสีน้ำตาลเข้ม ปฏิกิริยาดินเป็นกรดจัดมากถึงเป็นกรดจัด มีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ที่ 4.5-5.5

ผลการศึกษาการแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในการปรับปรุงดิน

จากการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ในพื้นที่ที่ทำการศึกษา ณ สวนลำไยของกลุ่มวิสาหกิจชุมชนบ้านต๋ำใน ตำบลบ้านต๋ำ อำเภอเมือง จังหวัดพะเยา ในช่วงเดือนธันวาคม 2563 ซึ่งเป็นช่วงหลังการเก็บเกี่ยวลำไยของเกษตรกร โดยทำการเก็บดินภายในสวนลำไยโดยอ้างอิงวิธีการเก็บดินของพืชไม้ผล ตามวิธีการของกรมพัฒนาที่ดิน (กรมพัฒนาที่ดิน, 2551) และนำมาทำการ Spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Selective medium ทั้งหมด 7 ชนิด โดยทำการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด ในอาหาร Plate count agar ได้เชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด 247 ไอโซเลท คัดเลือกบนอาหาร Czapek's medium ได้เชื้อราทั้งหมด 37 ไอโซเลท คัดเลือกบนอาหาร Intermation strepomyces project 2 (ISP2) พบแอคติโนมัยซีสทั้งหมด 49 ไอโซเลท และได้ทำการคัดเลือกเฉพาะแบคทีเรียมาทำการศึกษา เนื่องจากแบคทีเรียพบภายในดินมากที่สุด และมีกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่เหมาะสมในการปรับปรุงคุณภาพดิน โดยใช้แบคทีเรียทั้งหมด 121 ไอโซเลท นำมาทดสอบในอาหารทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ อาหาร Pikovskaya's medium เป็นคุณสมบัติแรก หลังจากนั้นนำมาศึกษาคุณสมบัติรองใน Carboxymethycellulose agar (CMC), อาหาร Nitrogen free medium (NFM), และอาหาร Aleksandrov medium ตามลำดับ โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24–48 ชั่วโมง เพื่อคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียในการละลายฟอสเฟต หรือมีคุณสมบัติละลายธาตุอาหารของพืช เพื่อใช้ในการการปรับปรุงดิน เนื่องจากปัญหาดินส่วนใหญ่ที่พบมักเกิดจากดินขาดธาตุอาหาร ทำให้พืชไปใช้ประโยชน์ในดินไม่ได้ ธาตุอาหารฟอสฟอรัสถูกตรึง ก่อให้เกิดผลกระทบต่อการปลูกพืช พบแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟต และสามารถเจริญในอาหาร Pikovskaya's medium ซึ่งเป็นอาหารที่ใช้คัดเลือกแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติละลายฟอสเฟตที่มีไตรแคลเซียมฟอสเฟต ($Ca_3(PO_4)_2$) หินฟอสเฟต หรือ อะพาไทต ซึ่งเป็นฟอสเฟตรูปละลายยาก (insoluble inorganic phosphate) ผสมอยู่ พบแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟต โดยมีการสร้างวงใสรอบโคโลนี (Clear zone) บนอาหาร Pikovskaya's Agar เกิดขึ้น การสร้างวงใสรอบโคโลนี (Clear zone) จะให้ค่า Halo : Colony ratio คำนวณจากวัดรัศมีของบริเวณใส และรัศมีของโคโลนี เพื่อหาค่าเฉลี่ยของแต่ละเชื้อ พบแบคทีเรียที่มีค่า Halo : Colony ratio สูงที่สุด 3 ไอโซเลท ได้แก่ SBP04 ,SBP109 และ SBP115 โดยให้ค่า Halo : Colony ratio มีค่าเท่ากับเฉลี่ย 1.92 ± 0.01, 1.42 ± 0.01 และ 0.86 ± 0.05 ตามลำดับ แสดงดังตาราง 4 เพื่อทำการทดสอบคุณสมบัติในการละลายฟอสฟอรัส เพื่อทำการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมี และศึกษาคุณสมบัติทางชีวโมเลกุลต่อไป



ภาพ 3 แบคทีเรียที่มีการสร้างวงใสรอบโคโลนี (Clear zone) บนอาหาร Pikovskaya ดังลูกศรสีแดงชี้บริเวณการสร้างวงใสมีค่า Halo : Colony ratio ที่ 1.92 ± 0.01

ตาราง 4 ค่า Halo Colony ratio ของแบคทีเรียที่ละลายฟอสเฟต และการทดสอบคุณสมบัติการละลายฟอสเฟต

ไอโซเลท	Halo : Colony ratio	ละลายฟอสเฟต (mgP/L)
SBP04	1.92 ± 0.01[a]	90.12 ± 0.69[a]
SBP109	1.42 ± 0.01[b]	86.74 ± 0.79[b]
SBP115	0.86 ± 0.05[c]	77.52 ± 0.76[c]

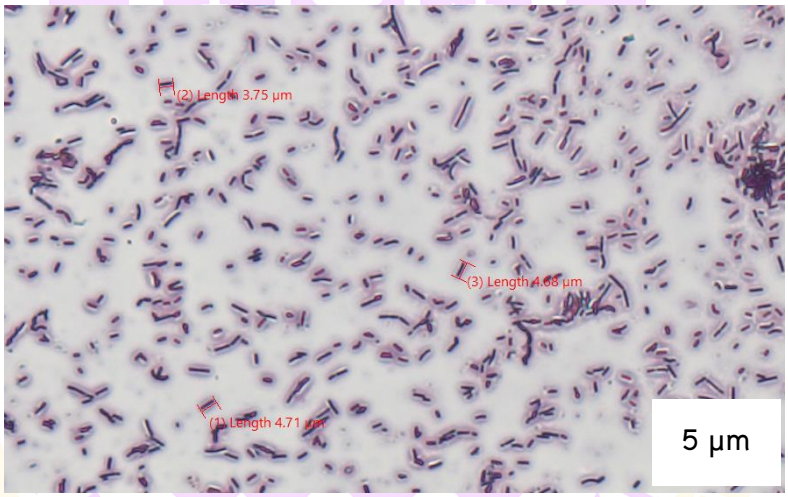
หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยผลของค่า SE ตามด้วยอักษรในคอลัมน์ที่แตกต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ทำการศึกษาประสิทธิภาพแบคทีเรียในการละลายฟอสเฟตโดยนำแบคทีเรียที่ให้ค่า Halo : Colony ratio ทั้ง 3 ไอโซเลท ได้แก่ SBP04, SBP109 และ SBP115 มาทำการศึกษาประสิทธิภาพโดยวิธี Vanado molybdenum blue method (J Murphyและ J.P Riley, 1985) ซึ่งหลักการในการทำปฏิกิริยากับฟอสฟอรัส Ammonium molybdate และ antimony potassium tartate จะทำปฏิกิริยากับฟอสฟอรัสในสารละลายโดยมีตัวกลางที่มีฤทธิ์เป็นกรดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน antimony–phospho–molydate ถูก reduce ได้สารละลายสีฟ้า เพื่อนำสารละลายความเข้มข้นอ่านค่าด้วยเครื่อง Spectrophotometer เปรียบเทียบความเข้มข้นกับสารละลายตัวอย่าง มีค่าปริมาณฟอสฟอรัสอยู่ที่ 90.12 ± 0.69, 86.74 ± 0.79 และ 77.52 ±

0.76 มิลลิกรัมฟอสเฟตต่อลิตร ตามลำดับ แสดงดังตาราง 5 โดยคัดเลือกแบคทีเรียที่มีการสร้างวงใสรอบโคโลนีสูงที่สุด ดังแสดงภาพ 3 และค่าการละลายฟอสเฟตสูงที่สุดที่ 90.12 ± 0.69 คือไอโซเลท SBP04 มาทำการศึกษาลักษณะภายใต้กล้อง เพื่อทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี และคุณสมบัติทางชีวโมเลกุลต่อไป

ลักษณะสัณฐานวิทยายาเบื้องต้นและการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี

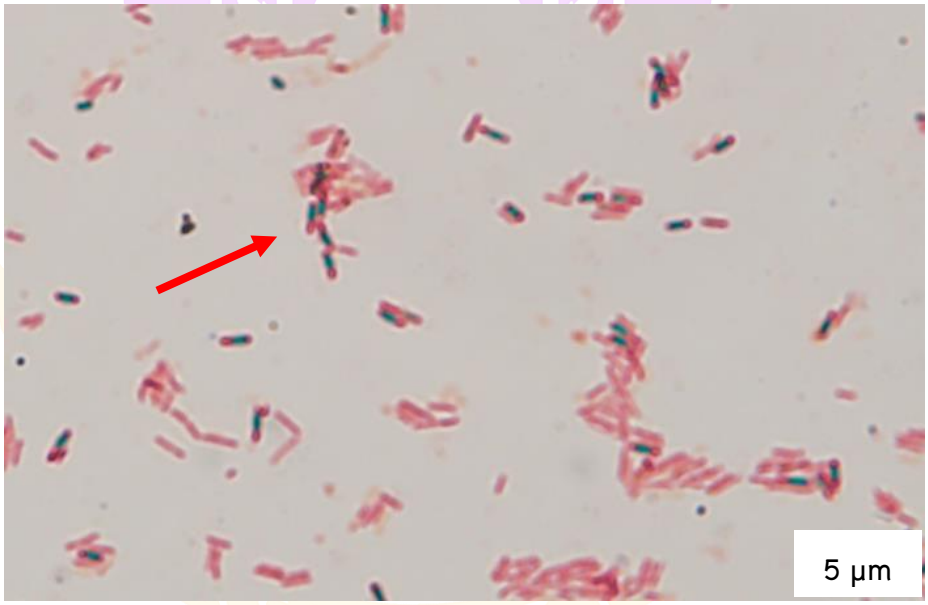
การทดสอบแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติละลายฟอสเฟตสูงที่สุดคือ ไอโซเลท SBP04 ได้นำมาศึกษาลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่า แบคทีเรียไอโซเลท SBP04 เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างท่อน แสดงดังภาพ 4



ภาพ 4 ลักษณะแบคทีเรียไอโซเลท SBP04 ที่ย้อมติดสีม่วงของแบคทีเรียแกรมบวก มีลักษณะเป็นรูปร่างท่อน ภายใต้กำลังขยาย 1000 เท่า

จากนั้นจึงทำการทดสอบ Spore forming โดยย้อมเอนโดสปอร์ (Endospore) ด้วยสาร Malachite green พบว่า เอนโดจะติดสีม่วง ส่วนสปอร์จะติดสีเขียว แบคทีเรียมีการสร้างสปอร์ภายในเซลล์ (Spore forming bacteria) แสดงดังภาพ 5 และนำมาทำการทดสอบ Strict anaerobes ใน Anaerobes jar ซึ่งเป็นการทดสอบการเจริญในสภาวะไร้ออกซิเจน โดยทำการเลี้ยงเชื้อบนอาหาร NA (Nutrient Agar) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า แบคทีเรียไอโซเลท SBP04 ไม่มีการเจริญในสภาวะ Anaerobe เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการย่อยแป้ง (Starch Hydrolysis) มีการสร้างวงใสรอบ ๆ แบคทีเรียให้ผลเป็นบวก สามารถย่อยสลายแป้งได้ จึงนำไปทดสอบ Voges–Proskauer test (VP test)

เพื่อทดสอบคุณสมบัติในการสร้างสาร acetoin จากกลูโคสได้หรือไม่ ผลการทดสอบให้ผลเป็นบวก เกิดเป็น Complex สีแดงส้มขึ้น ซึ่งจากการทดสอบได้มีการศึกษาขนาดของเซลล์แบคทีเรีย พบว่า แบคทีเรียไอโซเลท SBP04 มีขนาดของเซลล์กว้าง 0.8 µm จึงนำไปทดสอบความสามารถของแบคทีเรียในการใช้ Citrate ที่มีการใช้คาร์บอนเพียงอย่างเดียวในกระบวนการเมตาบอลิซึม พบว่าให้ผล Citrate test เป็นบวก สามารถเปลี่ยนสีอาหารจากสีเขียวเป็นสีน้ำเงิน แล้วนำไปทดสอบคุณสมบัติในการเจริญใน NaCl 6.5 เปอร์เซ็นต์แบคทีเรียไอโซเลท SBP04 มีคุณสมบัติในการใช้กลูโคส สามารถเจริญในสภาวะ NaCl 6.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเปลี่ยนสี Bromcresol purple จากสีม่วงเป็นสีเหลือง ให้ผลเป็นบวก เมื่อศึกษาลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และคุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียไอโซเลท SBP04 ทำการเปรียบเทียบกับคุณสมบัติทางชีวเคมี และสรีรวิทยาของแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* จัดได้ว่า แบคทีเรียไอโซเลท SBP04 มีความคล้ายคลึงกับแบคทีเรียสกุล *Bacillus* sp. สรุปดังตาราง 5



ภาพ 5 แบคทีเรียที่มีการสร้างสปอร์ภายในเซลล์โดยส่วนของสปอร์จะติดสีเขียวภายในเซลล์ ดังลูกศรสีแดงชี้ ภายใต้กำลังขยาย 1000 เท่า

ตาราง 5 คุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SBP04

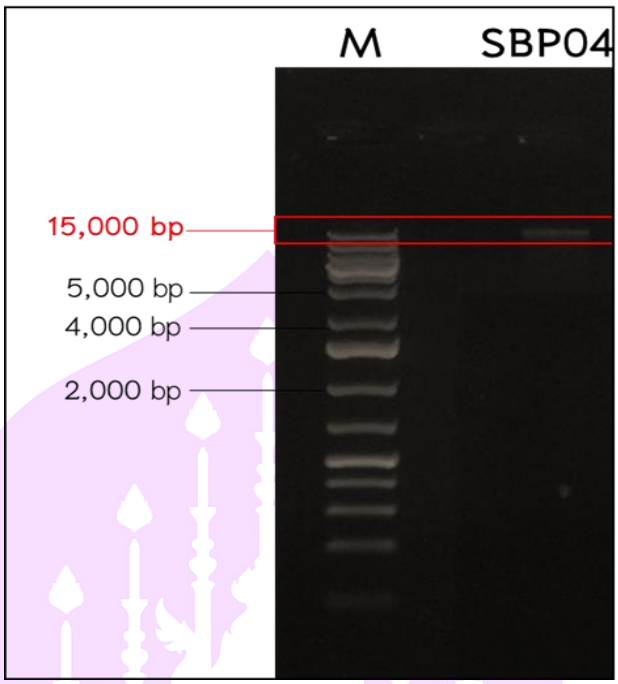
คุณสมบัติ	*B.subtilis*	SBP04
Endospore	+	+
Anaerobic Agar	–	–
Starch Hydrolysis	+	+
VP Test	+	+
Citrate Test	+	+
6.5% NaCl	+	+

หมายเหตุ : + (ให้ผลเป็น Positive) – (ให้ผลเป็น Negative)

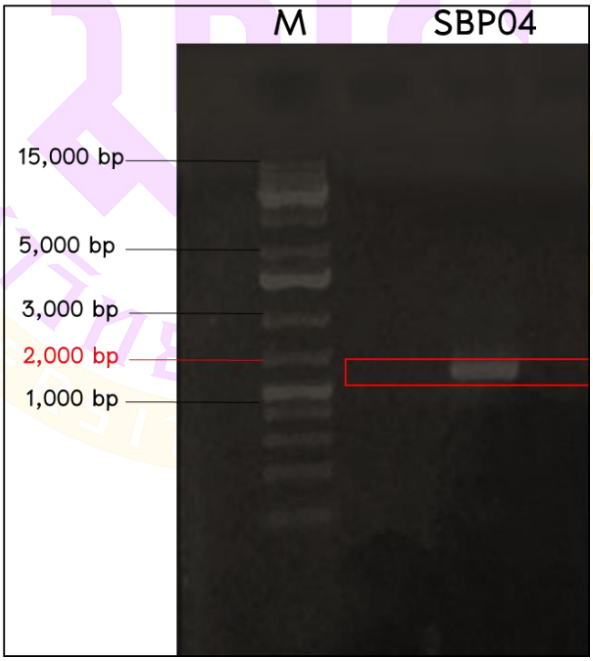
การบ่งบอกสายพันธุ์แบคทีเรียด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล

เมื่อทำการศึกษาลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียไอโซเลท SBP04 แล้วอยู่ในกลุ่มจีนัสของ *Bacillus* sp. นำแบคทีเรียมาสกัด Genomic DNA แสดงดังภาพ 6 เพื่อใช้เป็น DNA แม่แบบ หรือ DNA Template สำหรับการทำ Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยการนำ Genomic DNA ของแบคทีเรียไอโซเลท SBP04 มาเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ DNA Template ความเข้มข้น 10 ng/µl และใช้เส้น primer ที่ออกแบบจาก 16S rDNAgene primer โดยใช้เส้น Forward primer 8F [5'–AGAGTTTG ATCMTGGCTCAG–3'] และเส้น Reverse primer 1522R [5'AAGGAGGTGATCCRCCGCA–3'] (Eduardo J Gudiñaและคณะ, 2015) โดยมีความจำเพาะกับเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* ซึ่งมีลำดับขั้นตอนตามลำดับดังนี้ Intial denature 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที 1 รอบ Denature 94 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 นาที Annealing 69 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที Extension 72 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 นาที ตั้งแต่เริ่มต้นขั้นตอน Denature จนถึงขั้นตอนของ Extension ทำซ้ำทั้งหมด 35 รอบ และ Final Extension 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที 1 รอบ ตรวจสอบ PCR Product ด้วยวิธี Electrophoresis

เมื่อ PCR Product นำไปวิเคราะห์ผลโดยใช้ Agarose gel electrophoresis ที่มีความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ agarose gel จากการตรวจสอบผลพบว่า PCR product มีขนาด 1,500 bp แสดงดังภาพ 7



ภาพ 6 การตรวจ Genomic DNA ของแบคทีเรียไอโซเลท SBP04 เพื่อใช้เป็นดีเอ็นเอแม่แบบในการทำ PCR ด้วยวิธี Agarose gel electrophoresis



ภาพ 7 การวิเคราะห์ผล PCR product ของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SBP04 ด้วยวิธี Agarose gel electrophoresis

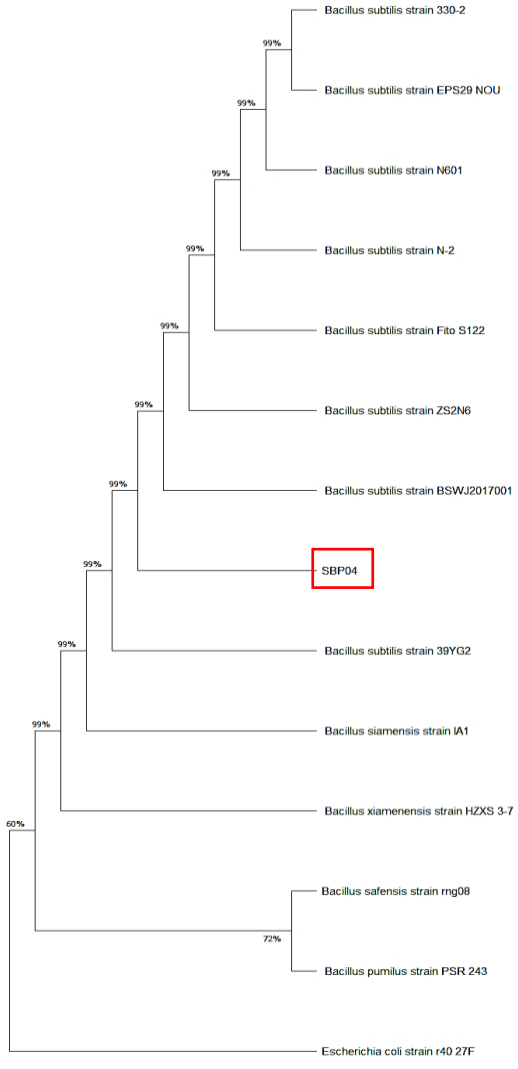
หลังจากที่ทำการตรวจสอบ PCR Product จากนั้นนำชิ้นส่วน DNA นำมาวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทล์ที่สังเคราะห์ โดยอาศัยเครื่องที่สามารถหาลำดับเบสได้อัตโนมัติด้วยเครื่อง Automated DNA sequencer ด้วยวิธี Sanger DNA sequencing โดยส่งบริษัท First BASE Laboratories Sdn Bhd. เพื่อนำส่งวิเคราะห์ ณ ประเทศมาเลเซีย โดยได้ลำดับเบสของDNA แสดงดังภาพ 8

AGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTCTCT
GGTCTGTAACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGT
AAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTCCGCCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGG
GGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAA
TTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACATCCTAGANATAGGACGTCCCCTTCGGG
GGCAGAGT

ภาพ 8 ลำดับเบสของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SBP04 จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี Sanger DNA sequencing

จากนั้นนำข้อมูลบางส่วนของลำดับเบสนิวคลีโอไทล์ของแบคทีเรียไอโซเลท SBP04 ขนาด 377 bp ในภาพ 8 ไปเปรียบเทียบกับฐานลำดับข้อมูลนิวคลีโอไทล์ที่มีอยู่ในฐานข้อมูล GenBank จาก National Center for Biotechnology Information (NCBI) โดยใช้โปรแกรม Blastn เพื่อเปรียบเทียบลำดับความเหมือนของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* และแบคทีเรียไอโซเลท SBP04 พบว่า แบคทีเรีย ไอโซเลท SBP04 มีความเหมือนกับ *Bacillus subtilis* โดยมีค่าความเชื่อมั่น (Identity) ที่ค่าเท่ากับ 99 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทล์ มาทำการวิเคราะห์และศึกษาหาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) โดยใช้ลำดับนิวคลีโอไทล์ 16s rDNA โดยใช้วิธีการ clustalW multiple alignment และทำการตัดแต่งความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการด้วยโปรแกรม BioEdit และนำไปทำการวิเคราะห์สายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการด้วยโปรแกรม MEGA version 10.0 ด้วยวิธี Neighbor–Joining โดยใช้แบคทีเรีย *Escherichia coli* Strain r40 เป็น Outgroup และได้แสดงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการในรูปแบบ Phylogenetic tree ซึ่งแบคทีเรียไอโซเลท SBP04 มีความเหมือนกับแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* strain BSWJ17001 (GenBank : KY996496), *Bacillus subtilis* srtain ZS2N6 GenBank: MF136418.1), *Bacillus subtilis* srtain Fito S122 (GenBank: MG836670.1) , *Bacillus subtilis* srtain N–2

(GenBank: MK027094.1), *Bacillus subtilis* srtain N601 (GenBank: MK629827.1), *Bacillus subtilis* srtain EPS29 NOU (GenBank: MT013386) และ *Bacillus subtilis* srtain 330-2 (GenBank: MN447412.1) แสดงดังภาพ 9 ซึ่งมีค่า Bootstrap ที่ 99 เปอร์เซ็นต์ แสดงถึงลำดับความเชื่อมั่นของผลการวิเคราะห์สายสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการที่มีความเชื่อมั่นระดับสูง โดยค่า Bootstrap นั้นมีความสัมพันธ์กับค่าความเชื่อมั่นในการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทล์ในความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ โดยค่า 85–100 เปอร์เซ็นต์ แสดงถึงความเชื่อมั่นระดับสูง ค่า 71–84 เปอร์เซ็นต์ แสดงถึงค่าความเชื่อมั่นระดับปานกลาง และค่า 50–70 เปอร์เซ็นต์ แสดงถึงค่าความเชื่อมั่นระดับต่ำของสายสัมพันธ์ที่ได้ตามลำดับ (James E Richardsonและคณะ, 2000)



ภาพ 9 ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการในรูปแบบ Phylogenetic tree ของแบคทีเรียไอโซเลท SBP04 ตรงกับเชื้อ *Bacillus subtilis*

ผลการทดสอบเชื้อแบคทีเรียที่มีผลต่อสภาพดินในสภาพกระถาง

จากการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SBP04 และได้ทำการระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรียด้วยเทคนิคทางชีวเคมี และเทคนิคทางชีวโมเลกุล พบว่าแบคทีเรียไอโซเลท SBP04 ตรงกับแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* โดยมีค่าความเชื่อมั่น (Identity) ที่ค่าเท่ากับ 99 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นนำแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* มาทำการประยุกต์ใช้ในสภาวะกระถางกับดินต้นลำไย โดยคัดเลือกต้นลำไยที่มีความสูง 30±2 เซนติเมตร อายุ 6 เดือน แบ่งเป็น 4 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 5 ต้น รวมการปลูกลำไยลงในกระถาง 20 กระถาง แบ่งการทดลองออกเป็นทั้งหมด 4 การทดลอง ได้แก่ ชุดที่ราดด้วยน้ำกลั่น ชุดที่ราดด้วยเชื้อแบคทีเรีย ชุดที่ราดแบคทีเรีย ผสมปุ๋ยชีวภาพ และชุดที่ราดด้วยปุ๋ยชีวภาพ แสดงดังภาพ 10

ภาพ 10 การทดสอบเชื้อแบคทีเรียที่มีผลต่อสภาพดินในสภาพกระถาง

เริ่มจากการเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่มีความเข้มข้นของเซลล์แขวนลอยประมาณ 10^8 cfu/mL มาทดสอบเชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ภายในกระถางปลูก โดยแต่ละชุดการทดลองใช้ปริมาณ 500 มิลลิลิตรต่อต้น เป็นเวลาทั้งหมด 4 สัปดาห์ หลังจากนั้นทำการรดน้ำ นำไปวางในที่มีแสงอาทิตย์ และดูแลเหมือนกันทุกต้นเป็นระยะเวลา 90 วัน (Noel Ortuñoและคณะ, 2013) เพื่อนำไปศึกษาคุณสมบัติทางเคมีหลังการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย

หลังจากนำดินที่ทำการทดสอบการประยุกต์ใช้ด้วยแบคทีเรีย ทดสอบในสภาวะกระถาง จึงนำดินในกระถางมาทำการศึกษาคุณสมบัติทางเคมี พบว่า หลังจากการประยุกต์ใช้แบคทีเรียดินในกระถางทั้งหมด 4 ชุดการทดลอง ได้แก่ ชุดที่ราดด้วยน้ำกลั่น ชุดที่ราดด้วยเชื้อแบคทีเรีย ชุดที่ราดแบคทีเรีย ผสมปุ๋ยชีวภาพ และชุดที่ราดด้วยปุ๋ยชีวภาพ มีค่าความเป็นกรด–ด่างของดินเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนการประยุกต์ใช้แบคทีเรียดินมีค่าปริมาณกรด–ด่างอยู่ที่ 5.68 ± 0.01, 5.72 ± 0.01, 6.41 ± 0.02 และ 5.68 ± 0.02 ตามลำดับ ซึ่งในชุดการทดลองที่มีการราดด้วยชุดแบคทีเรียเพียงอย่างเดียว และชุดการทดลองที่ราดด้วยแบคทีเรียผสมกับปุ๋ยชีวภาพนั้น มีคุณสมบัติในการเพิ่มปริมาณกรด–ด่าง ในดินสูงขึ้น โดยมีค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงตาราง 6

ตาราง 6 คุณสมบัติความเป็นกรด–ด่าง ของดินในสภาวะกระถางหลังการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย

สภาวะกระถาง		**คุณสมบัติความเป็นกรด–ด่าง ; pH**				
ก่อนการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย		ชุดการทดสอบ	หลังการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย		t	Sig.
ค่า pH	S.D.		ค่า pH	S.D.		
5.66	0.01	ชุดน้ำกลั่น	5.68	0.01	–2	0.18
		ชุดแบคทีเรีย	5.72	0.01	–5.27	0.03
		ชุดแบคทีเรีย+ปุ๋ยชีวภาพ	6.41	0.02	38.00	0.00
		ชุดปุ๋ยชีวภาพ	5.68	0.02	–2.65	0.12

หมายเหตุ ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p \leq 0.05$)

การทดสอบปริมาณอินทรีย์วัตถุทั้ง 4 ชุดการทดลอง มีเปอร์เซ็นต์อินทรียวัตถุของดินเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย มีปริมาณอินทรียวัตถุอยู่ที่ 3.30 ± 0.02, 3.53 ± 0.01, 3.81 ± 0.02 และ 4.03 ± 0.03 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยพบว่าชุดการทดลองที่มีการราดด้วยแบคทีเรีย ชุดการทดลองที่มีการราดด้วยแบคทีเรียผสมปุ๋ยชีวภาพ และชุดการทดลองที่มีการราดด้วยปุ๋ยชีวภาพ มีปริมาณอินทรียวัตถุโดยมีค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงตาราง 7

ตาราง 7 ปริมาณอินทรียวัตถุของดินในสภาวะกระถางหลังการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย

สภาวะกระถาง		**วิเคราะห์ปริมาณอินทรียวัตถุ ; OM (%)**				
ก่อนการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย		ชุดการทดสอบ	หลังการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย		t	Sig.
ค่า OM	S.D.		ค่า OM	S.D.		
3.29	0.01	ชุดน้ำกลั่น	3.30	0.02	-0.866	0.478
		ชุดแบคทีเรีย	3.53	0.01	-50.00	0.00
		ชุดแบคทีเรีย+ปุ๋ยชีวภาพ	3.81	0.02	-49.65	0.00
		ชุดปุ๋ยชีวภาพ	4.03	0.03	-24.77	0.00

หมายเหตุ ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p \leq 0.05$)

การทดสอบวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ของดิน พบปริมาณฟอสฟอรัสของดิน หลังการประยุกต์ใช้แบคทีเรียนั้นมีค่าอยู่ที่ 107.89 ± 0.11, 123.04 ± 0.06, 156.72 ± 0.49 และ 111.94 ± 0.09 มิลลิกรัมฟอสเฟตต่อกิโลกรัม ตามลำดับ โดยชุดการทดลองที่ราดด้วยแบคทีเรีย ชุดการทดลองที่มีการราดด้วยแบคทีเรียผสมปุ๋ยชีวภาพ และชุดที่มีการราดด้วยปุ๋ยชีวภาพ มีคุณสมบัติในการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินสูงที่สุด โดยมีค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงตาราง 8

การทดสอบปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ พบปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้อยู่ที่ 141.29 ± 0.72, 161.73 ± 6.02, 169.35 ± 0.71 และ 168.04 ± 0.16 มิลลิกรัมโพแทสเซียมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ พบชุดที่ราดด้วยแบคทีเรีย ชุดการทดลองที่มีการราดด้วยแบคทีเรียผสมปุ๋ยชีวภาพ และชุดที่ราดด้วยปุ๋ยชีวภาพ มีคุณสมบัติในการเพิ่มปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน โดยมีค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงตาราง 9

ตาราง 8 ปริมาณฟอสฟอรัสของดินในสภาวะกระถางหลังการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย

สภาวะกระถาง		วิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ ; P (mgP/L)				
ก่อนการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย		ชุดการทดสอบ	หลังการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย		t	Sig.
ค่า P	S.D.		ค่า P	S.D.		
107.05	0.04	ชุดน้ำกลั่น	107.89	0.11	-4.33	0.06
		ชุดแบคทีเรีย	123.00	0.03	-467.47	0.00
		ชุดแบคทีเรีย+ปุ๋ยชีวภาพ	156.42	0.49	-220.74	0.00
		ชุดปุ๋ยชีวภาพ	111.94	0.10	-47.59	0.00

หมายเหตุ ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p \leq 0.05$)

ตาราง 9 ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในสภาวะกระถางหลังการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย

สภาวะกระถาง		วิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ ; K (mgK/L)				
ก่อนการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย		ชุดการทดสอบ	หลังการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย		t	Sig.
ค่า K	S.D.		ค่า K	S.D.		
140.87	0.34	ชุดน้ำกลั่น	141.29	0.72	-1.47	0.28
		ชุดแบคทีเรีย	161.73	6.02	-5.87	0.03
		ชุดแบคทีเรีย+ปุ๋ยชีวภาพ	169.35	0.71	-48.33	0.00
		ชุดปุ๋ยชีวภาพ	148.04	0.61	-25.16	0.00

หมายเหตุ ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p \leq 0.05$)

ผลการทดสอบเชื้อแบคทีเรียที่มีผลต่อสภาพดินในสภาพแปลงปลูกลำไย

เมื่อทำการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของดินในสภาวะกระถางทั้งก่อนและหลังประยุกต์ใช้แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* แล้วจึงนำเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* มาทดสอบคุณสมบัติทางเคมีของดินในสภาวะแปลงปลูก เพื่อทำการศึกษาและเปรียบเทียบ โดยการเตรียมเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 วัน ก่อนเติมนำหัวเชื้อแบคทีเรียอยู่มาขยายเพื่อเพิ่มปริมาณเชื้อในสูตรอาหารเหลว (NB) นำเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร และปรับความเข้มข้นของเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียจนมีค่าที่ต้องการปริมาณของแบคทีเรียประมาณ 10^8 cfu/mL โดยในสภาวะแปลงปลูกจะใช้ต้นลำไยอายุ 10 ปีขึ้นไป จำนวน 5 ต้นต่อกรรมวิธี ทั้งหมด 4 กรรมวิธี รวมทั้งสิ้น 20 ต้น โดยวิธีการราดบริเวณพื้นที่รัศมีของต้น แสดงดังภาพ 11 ปริมาตร 10 ลิตรต่อสัปดาห์ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ หลังจากนั้นทำการรดน้ำ และดูแลเหมือนกันทุกต้นเป็นระยะเวลา 90 วัน (Noel Ortuño et.al,2013) และเก็บดินเพื่อนำไปศึกษาคุณสมบัติทางเคมีหลังการประยุกต์ใช้แบคทีเรียไอโซเลท SBP04

ภาพ 11 การทดสอบเชื้อแบคทีเรียที่มีผลต่อสภาพดินในสภาพแปลงปลูกลำไย โดยราดแบคทีเรียบริเวณพื้นที่รัศมีของต้นลำไย

หลังจากกการนำดินที่ทำการทดสอบการประยุกต์ใช้ด้วยแบคทีเรีย เพื่อทดสอบในสภาวะแปลงปลูก เมื่อครบระยะเวลา 90 ที่มีการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย จึงทำการเก็บดินมาทำการศึกษาคุณสมบัติทางเคมี พบว่า หลังจากการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย ดินในกระถางทั้งหมด 4 ชุดการทดลองได้แก่ ชุดที่ราดด้วยน้ำกลั่น ชุดที่ราดด้วยเชื้อแบคทีเรีย ชุดที่ราดด้วยเชื้อแบคทีเรียผสมกับปุ๋ยชีวภาพ และชุดที่ราดด้วยปุ๋ยชีวภาพ พบค่าความเป็นกรด–ด่างอยู่ที่ 3.42± 0.02, 4.33 ± 0.01, 4.36 ± 0.01 และ 3.48 ± 0.19 ตามลำดับ ซึ่งในชุดการทดลองที่มีการราดด้วยแบคทีเรีย และชุดการทดลองที่มีการราดด้วยเชื้อแบคทีเรีย ผสมกับปุ๋ยชีวภาพมีการแสดงค่าคุณสมบัติในการเพิ่มปริมาณกรดในดินสูงขึ้น โดยมีค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงดังตาราง 10

ตาราง 10 คุณสมบัติความเป็นกรด–ด่าง ของดินในสภาวะแปลงปลูกหลังการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย

สภาวะแปลงปลูก		**คุณสมบัติความเป็นกรด–ด่าง ; pH**			
ก่อนการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย		ชุดการทดสอบ	หลังการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย	t	Sig.
ค่า pH	S.D.		ค่า pH S.D.		
3.42	0.03	ชุดน้ำกลั่น	3.42 0.02	1.00	0.42
		ชุดแบคทีเรีย	4.33 0.01	–102.81	0.03
		ชุดแบคทีเรีย+ปุ๋ยชีวภาพ	4.36 0.01	–80.54	0.00
		ชุดปุ๋ยชีวภาพ	3.48 0.19	–0.59	0.61

หมายเหตุ ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p \leq 0.05$)

การทดสอบปริมาณอินทรีย์วัตถุทั้ง 4 ชุดการทดลอง คือ ชุดการทดลองที่ราดด้วยน้ำกลั่น ชุดการทดลองที่ราดด้วยแบคทีเรีย ชุดการทดลองที่ราดด้วยแบคทีเรียผสมกับปุ๋ยชีวภาพ และชุดการทดลองที่ราดด้วยปุ๋ยชีวภาพ มีเปอร์เซ็นต์อินทรียวัตถุของดินอยู่ที่ 2.13 ± 0.02, 2.15 ± 0.02, 2.72 ± 0.02 และ 2.91 ± 0.02 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยชุดการทดลองที่มีการราดด้วยปุ๋ยชีวภาพนั้น ให้ปริมาณอินทรียวัตถุของดินในสภาวะแปลงปลูกสูงที่สุด โดยมีค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงดังตาราง 11

ตาราง 11 ปริมาณอินทรียวัตถุของดินในสภาวะกระถางหลังการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย

สภาวะแปลงปลูก		วิเคราะห์ปริมาณอินทรียวัตถุ ; OM (%)				
ก่อนการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย		ชุดการทดสอบ	หลังการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย		t	Sig.
ค่า OM	S.D.		ค่า OM	S.D.		
2.07	0.06	ชุดน้ำกลั่น	2.13	0.02	-1.46	0.28
		ชุดแบคทีเรีย	2.16	0.03	-3.33	0.08
		ชุดแบคทีเรีย+ปุ๋ยชีวภาพ	2.72	0.02	-16.08	0.00
		ชุดปุ๋ยชีวภาพ	2.91	0.02	-20.03	0.00

หมายเหตุ ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p \leq 0.05$)

การทดสอบปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ของดินทั้ง 4 ชุดการทดลอง คือ ชุดการทดลองที่ราดด้วยน้ำกลั่น ชุดการทดลองที่ราดด้วยแบคทีเรีย ชุดการทดลองที่ราดด้วยแบคทีเรียผสมกับปุ๋ยชีวภาพ และชุดการทดลองที่ราดด้วยปุ๋ยชีวภาพ วิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ของดินเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ภายในดินหลังการประยุกต์ใช้แบคทีเรียอยู่ที่ 104.08 ± 1.53, 112.42 ± 0.40, 146.76 ± 0.10 และ 100.71 ± 1.22 มิลลิกรัมฟอสเฟตต่อกิโลกรัม ตามลำดับ โดยชุดการทดลองที่มีการราดด้วยแบคทีเรีย ชุดการทดลองที่มีการราดด้วยแบคทีเรียผสมปุ๋ยชีวภาพ และชุดที่มีการราดด้วยปุ๋ยชีวภาพ มีคุณสมบัติในการเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินสูงที่สุด โดยมีค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงดังตาราง 12

ตาราง 12 ปริมาณฟอสฟอรัสของดินในสภาวะแปลงปลูกหลังการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย

สภาวะแปลงปลูก		วิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ ; P (mgP/L)				
ก่อนการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย		ชุดการทดสอบ	หลังการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย		t	Sig.
ค่า P	S.D.		ค่า P	S.D.		
105.13	0.34	ชุดน้ำกลั่น	104.08	1.53	1.497	0.27
		ชุดแบคทีเรีย	112.42	0.40	-18.25	0.00
		ชุดแบคทีเรีย+ปุ๋ยชีวภาพ	146.76	0.10	-3126.25	0.00
		ชุดปุ๋ยชีวภาพ	100.71	1.22	7.02	0.02

หมายเหตุ ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p \leq 0.05$

การทดสอบปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ทั้ง 4 ชุดการทดลอง คือ ชุดการทดลองที่ราดด้วยน้ำกลั่น ชุดการทดลองที่ราดด้วยแบคทีเรีย ชุดการทดลองที่ราดด้วยแบคทีเรียผสมกับปุ๋ยชีวภาพ และชุดการทดลองที่ราดด้วยปุ๋ยชีวภาพ มีปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ของดิน เมื่อเปรียบเทียบกับก่อนการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย ดินหลังการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย มีปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้อยู่ที่ 154.33 ± 1.14, 190.41 ± 0.26, 194.41 ± 0.32 และ 153.66 ± 0.70 มิลลิกรัมโพแทสเซียมต่อกิโลกรัม ตามลำดับนั้น โดยชุดการทดลองที่มีการราดด้วยแบคทีเรีย และการทดลองที่มีการราดด้วยแบคทีเรียผสมปุ๋ยชีวภาพ มีคุณสมบัติในการเพิ่มปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินสูงที่สุด โดยมีค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงดังตาราง 13

ผลการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของดินโดยการประยุกต์ใช้แบคทีเรียในสภาวะแปลงปลูก

การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพของดิน โดยทำการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของดินในสภาวะแปลงปลูกหลังการประยุกต์ใช้แบคทีเรียทั้ง 3 การทดสอบ ได้แก่ การทดสอบความหนาแน่นของดิน การทดสอบปริมาณน้ำในภาคสนาม และการนำน้ำของดินในสภาพอิ่มตัวด้วยน้ำ โดยการทดสอบความหนาแน่นของดินทั้งหมด 4 ชุดการทดลองคือ ชุดการทดลองที่ราดด้วยน้ำกลั่น ชุดการทดลองที่ราดด้วยแบคทีเรีย ชุดการทดลองที่ราดด้วยแบคทีเรียผสมปุ๋ยชีวภาพ และชุดการทดลองที่ราดด้วยปุ๋ยชีวภาพ

ตาราง 13 ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในสภาวะแปลงปลูกหลังการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย

สภาวะแปลงปลูก		วิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ ; K (mgK/L)				
ก่อนการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย		ชุดการทดสอบ	หลังการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย		t	Sig.
ค่า K	S.D.		ค่า K	S.D.		
154.12	1.33	ชุดน้ำกลั่น	154.33	1.14	-0.62	0.60
		ชุดแบคทีเรีย	190.41	0.26	-121.13	0.00
		ชุดแบคทีเรีย+ปุ๋ยชีวภาพ	194.41	0.32	-76.46	0.00
		ชุดปุ๋ยชีวภาพ	153.66	0.70	0.66	0.58

หมายเหตุ ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p \leq 0.05$)

สภาพดินในแปลงปลูก มีค่าความหนาแน่นหลังการประยุกต์ใช้แบคทีเรียมีความหนาแน่นดินอยู่ที่ 1.23 ± 0.01, 1.40 ± 0.01, 1.49 ± 0.01 และ 1.35 ± 0.01 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ตามลำดับ โดยชุดการทดลองที่มีการราดด้วยแบคทีเรีย ชุดการทดลองที่มีการราดด้วยแบคทีเรียผสมกับปุ๋ยชีวภาพ และชุดที่ราดด้วยปุ๋ยชีวภาพ สามารถเพิ่มความหนาแน่นของดินในสภาวะแปลงปลูกได้ โดยมีค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงดังตาราง 14

การทดสอบปริมาณน้ำในภาคสนามทั้งหมด 4 การทดลอง คือ ชุดการทดลองที่ราดด้วยน้ำกลั่น ชุดการทดลองที่ราดด้วยแบคทีเรีย ชุดการทดลองที่ราดด้วยแบคทีเรียผสมปุ๋ยชีวภาพ และชุดการทดลองที่ราดด้วยปุ๋ยชีวภาพ หลังจากมีการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย ดินให้ค่าปริมาณน้ำในภาคสนามอยู่ที่ 24.04 ± 0.04, 24.09 ± 0.02, 26.05 ± 0.07 และ 24.13 ± 0.04 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ตามลำดับนั้น พบว่า การทดลองที่มีการราดด้วยแบคทีเรียผสมกับปุ๋ยชีวภาพ และชุดการทดสอบที่มีการราดด้วยปุ๋ยชีวภาพนั้น ให้ค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของปริมาณน้ำในภาคสนาม แสดงดังตาราง 15

ตาราง 14 ความหนาแน่นของดินในสภาพแปลงปลูกหลังการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย

สภาวะแปลงปลูก		ความหนาแน่นของดิน; Density of soil (g/cm^{-3})			
ก่อนการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย		ชุดการทดสอบ	หลังการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย		t	Sig.
Density	S.D.		Density	S.D.		
1.22	0.01	ชุดน้ำกลั่น	1.23	0.01	−2	0.18
		ชุดแบคทีเรีย	1.40	0.01	−53	0.00
		ชุดแบคทีเรีย+ปุ๋ยชีวภาพ	1.49	0.01	−40	0.00
		ชุดปุ๋ยชีวภาพ	1.35	0.01	−37	0.00

หมายเหตุ ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p \leq 0.05$)

ตาราง 15 ปริมาณน้ำในภาคสนามในสภาพแปลงปลูกหลังการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย

สภาวะแปลงปลูก		ปริมาณน้ำในภาคสนาม ; Water content (% by wt)				
ก่อนการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย		ชุดการทดสอบ	หลังการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย		t	Sig.
Water content	S.D.		Water content	S.D.		
23.74	0.34	ชุดน้ำกลั่น	24.04	0.04	−1.49	0.28
		ชุดแบคทีเรีย	24.09	0.02	−3.64	0.07
		ชุดแบคทีเรีย+ปุ๋ยชีวภาพ	26.05	0.07	−60.09	0.00
		ชุดปุ๋ยชีวภาพ	24.13	0.04	−15.60	0.00

หมายเหตุ ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p \leq 0.05$)

การวิเคราะห์การนำน้ำของดินในสภาพอิ่มตัวด้วยน้ำหลังการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย แสดงค่าการนำน้ำของดินในสภาพอิ่มตัวด้วยน้ำที่ 6.57 ± 0.02, 6.62 ± 0.01, 6.62 ± 0.02 และ 6.60 ± 0.01 เซนติเมตรต่อชั่วโมง มีค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงดังตาราง 16

ตาราง 16 การนำน้ำของดินในสภาพอิ่มตัวด้วยน้ำในสภาพแปลงปลูกหลังการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย

สภาวะแปลงปลูก		การนำน้ำของดินในสภาพอิ่มตัวด้วยน้ำ ; SHC (cm/hr)				
ก่อนการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย		ชุดการทดสอบ	หลังการทดสอบเชื้อแบคทีเรีย		t	Sig.
ค่า SHC	S.D.		ค่า SHC	S.D.		
6.57	0.01	ชุดน้ำกลั่น	6.57	0.02	-3.02	0.09
		ชุดแบคทีเรีย	6.62	0.02	-31.00	0.00
		ชุดแบคทีเรีย+ปุ๋ยชีวภาพ	6.62	0.03	-5.48	0.03
		ชุดปุ๋ยชีวภาพ	6.60	0.01	-3.78	0.06

หมายเหตุ ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p \leq 0.05$)

บทที่ 5
บทสรุป

สรุปผลการทดลอง

จากการวิจัยได้ทำการเก็บตัวอย่างดินจากสวนลำไยของกลุ่มวิสาหกิจชุมชนผู้ปลูกลำไยบ้านต๋ำใน ตำบลบ้านต๋ำ อำเภอเมืองพะเยา จังหวัดพะเยา เพื่อมาทำการตรวจสอบคุณสมบัติของดินโดยทำการทดสอบคุณสมบัติทางเคมีของดิน คุณสมบัติทางกายภาพของดิน และศึกษาบริเวณหน้าตัดของดิน พบว่าการตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมีของดินก่อนการประยุกต์ใช้แบคทีเรียในสภาวะกระถางมีค่าความเป็นกรด – ด่าง อยู่ที่ 5.66 ± 0.01 ปริมาณอินทรียวัตถุอยู่ที่ 3.20 ± 0.01 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์อยู่ที่ 107.65 ± 0.03 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อกิโลกรัม และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้อยู่ที่ 140.87 ± 0.03 มิลลิกรัมโพแทสเซียมต่อกิโลกรัม คุณสมบัติของดินในสภาพแปลงปลูกมีค่าความเป็นกรด–ด่าง อยู่ที่ 3.42 ± 0.03 ปริมาณอินทรียวัตถุอยู่ที่ 2.07 ± 0.06 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์อยู่ที่ 105.13 ± 0.34 มิลลิกรัมฟอสฟอรัสต่อกิโลกรัม และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้อยู่ที่ 154.12 ± 1.33 มิลลิกรัมโพแทสเซียมต่อกิโลกรัม ส่วนการตรวจสอบคุณสมบัติทางกายภาพของดินในสภาพแปลงปลูกก่อนการประยุกต์ใช้แบคทีเรียมีค่าความหนาแน่นของดินอยู่ที่ 1.22 ± 0.01 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ปริมาณน้ำในภาคสนามมีค่า 23.74 ± 0.34 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และการนำน้ำของดินในสภาพอิ่มตัวด้วยน้ำที่ 6.57 ± 0.01 เซนติเมตรต่อชั่วโมง นอกจากนี้การแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในการปรับปรุงโดยทำการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์สามารถคัดแยกเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งหมด 247 ไอโซเลท เชื้อรา 37 ไอโซเลท และแอคติโนมัยซีส 49 ไอโซเลท โดยคัดเลือกเฉพาะแบคทีเรียเพื่อศึกษาคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟต โดยทำการคัดเลือกแบคทีเรียที่สามารถเจริญบนอาหาร Pikovskaya medium และสร้างวงใสรอบโคโลนี พบแบคทีเรียที่มีการสร้างวงใสรอบโคโลนีที่สูงที่สุด 3 ไอโซเลท ได้แก่ SBP04 SBP109 และ SBP115 มีค่าอยู่ที่ 1.92 ± 0.01 1.42 ± 0.01 และ 0.86 ± 0.05 ตามลำดับ เมื่อนำไปทดสอบคุณสมบัติการละลายฟอสเฟตด้วยวิธี Vanado molybdenum blue method มีปริมาณฟอสฟอรัสอยู่ที่ 90.12 ± 0.69 86.74 ± 0.79 และ 77.52 ± 0.76 ตามลำดับ เลือกแบคทีเรียที่มีการสร้างวงใสรอบโคโลนีและคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตสูงที่สุด ได้แก่ เชื้อแบคทีเรียไอโซเลท SBP04 เมื่อไปทดสอบคุณสมบัติ

ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมี และคุณสมบัติทางชีวโมเลกุล พบว่า แบคทีเรียไอโซเลท SBP04 มีค่าเปอร์เซ็นต์ความเหมือนเชื้อ *Bacillus subtilis* ที่ 99 เปอร์เซ็นต์

หลังจากการทดสอบคุณสมบัติทางเคมีของดินโดยการประยุกต์ใช้แบคทีเรียในสภาวะกระถางมีวิธีการโดยการนำเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ที่คัดเลือกได้มาทำการทดสอบทั้งหมด 4 ชุดการทดลอง คือ ชุดที่ราดด้วยน้ำกลั่น ชุดที่ราดด้วยแบคทีเรีย ชุดที่ราดด้วยแบคทีเรียผสมกับปุ๋ยชีวภาพ และชุดการทดลองที่ราดด้วยปุ๋ยชีวภาพ พบว่าการทดสอบคุณสมบัติทางเคมีหลังการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย ค่าความเป็นกรด–ด่างของดิน ปริมาณอินทรียวัตถุ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้นั้น ในชุดการทดลองที่มีการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย ชุดการทดลองที่ราดด้วยแบคทีเรียผสมปุ๋ยชีวภาพ นั้นสามารถเพิ่มปริมาณคุณสมบัติทางเคมีของดินในทุกชุดการทดลอง โดยมีค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อทดสอบคุณสมบัติทางเคมีของดินโดยการประยุกต์ใช้แบคทีเรียที่มีผลต่อสภาพดินปลูก โดยวิธีการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ที่คัดเลือกได้มาทำการทดสอบ ทั้งหมด 4 ชุดการทดลอง คือ ชุดที่ราดด้วยน้ำกลั่น ชุดที่ราดด้วยแบคทีเรีย ชุดที่ราดด้วยแบคทีเรียผสมกับปุ๋ยชีวภาพ และชุดการทดลองที่ราดด้วยปุ๋ยชีวภาพ พบว่า เมื่อนำดินไปศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของดินในสภาพดินปลูกนั้น พบว่าค่าความเป็นกรด–ด่างของดิน ปริมาณอินทรียวัตถุ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกได้นั้น ในชุดการทดลองที่มีการราดด้วยแบคทีเรีย และชุดการทดลองที่มีการราดด้วยแบคทีเรียผสมปุ๋ยชีวภาพนั้น สามารถเพิ่มปริมาณคุณสมบัติทางเคมีของดินในทุกชุดการทดลอง เช่นเดียวกับการทดสอบในสภาวะกระถาง โดยมีค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของดินโดยการประยุกต์ใช้แบคทีเรียที่มีผลต่อสภาพดินปลูกในแปลงทดลอง โดยวิธีการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ที่คัดเลือกได้มาทำการทดสอบ ทั้งหมด 4 ชุดการทดลอง คือ ชุดที่ราดด้วยน้ำกลั่น ชุดที่ราดด้วยแบคทีเรีย ชุดที่ราดด้วยแบคทีเรียผสมกับปุ๋ยชีวภาพ และชุดการทดลองที่ราดด้วยปุ๋ยชีวภาพ พบว่า เมื่อนำดินไปศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของดิน ค่าความหนาแน่นของดิน ปริมาณน้ำในภาคสนาม และค่าการนำน้ำของดินในสภาพอิ่มตัวด้วยน้ำ ในชุดการทดลองที่มีการราดด้วยแบคทีเรีย ชุดการทดลองที่ราดด้วยแบคทีเรียผสมปุ๋ยชีวภาพ และชุดการทดลองที่ราดด้วยปุ๋ยชีวภาพ สามารถเพิ่มปริมาณคุณสมบัติทางกายภาพของดินในทุกชุดการทดลอง โดยมีค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

อภิปรายผลการทดลอง

งานวิจัยนี้เป็นการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียภายในดิน เพื่อหาแนวทางนำไปประยุกต์ใช้ในการแก้ไขปัญหาดินพื้นที่วิสาหกิจชุมชนผู้ปลูกลำไยบ้านต๋ำใน ตำบลบ้านต๋ำ อำเภอเมือง จังหวัดพะเยา โดยทำการเก็บดินบริเวณสวนลำไย ช่วงเดือนกันยายน พ.ศ 2562 ถึงเดือนสิงหาคม พ.ศ.2563 เพื่อนำมาตรวจสอบคุณสมบัติของดินทั้งคุณสมบัติทางเคมีและคุณสมบัติทางกายภาพ ศึกษาคุณสมบัติทางเคมี ได้แก่ ศึกษาความเป็นกรด–ด่างของดิน ปริมาณอินทรียวัตถุ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของดิน ได้แก่ ความหนาแน่นดิน วิเคราะห์ปริมาณน้ำในภาคสนาม และวิเคราะห์ค่าการนำน้ำของดินในสภาพอิ่มตัวด้วยน้ำ โดยทำการศึกษาทั้งก่อนการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย และหลังการประยุกต์ใช้แบคทีเรียจากผลการทดลอง โดยวิธีการดังกล่าวมีขั้นตอนคล้ายกับรายงานการประเมินประสิทธิภาพของดินจากแปลงข้าวเกษตรอินทรีย์ โดยศึกษาทั้งคุณสมบัติทางกายภาพของดิน และคุณสมบัติทางเคมีของดินโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ เพื่อใช้ข้อมูลคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของดินแนะนำเกษตรกรไปใช้ในการจัดการดิน รวมทั้งการตรวจติดตามคุณภาพดิน เพื่อมีส่วนช่วยในการเพิ่มผลผลิตด้านคุณภาพและปริมาณในการผลิตข้าวอินทรีย์ (สมคิด ดีจริง และวรางคณา สงวนพงษ์, 2558)

การแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในการปรับปรุงดินของงานวิจัยนี้ ได้ทดสอบคุณสมบัติบางประการของเชื้อจุลินทรีย์ โดยคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร Plate count agar (PCA) เพื่อคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด สอดคล้องกับงานวิจัยของ Xu Lui และคณะในปี 2004 ได้มีการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร และสิ่งแวดล้อมโดยใช้อาหาร PCA เพื่อคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ 30–300 โคโลนีขึ้นไป (Xu Liuและคณะ, 2004) งานวิจัยนี้มุ่งเน้นในการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตในพื้นที่สวนลำไย เพื่อใช้ในการปรับปรุงคุณภาพดิน สอดคล้องกับงานวิจัยของ S. Brugger และคณะในปี 2012 ได้คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟต โดยกล่าวว่าจุลินทรีย์ในดินถือเป็นส่วนสำคัญต่อการนำธาตุอาหารฟอสฟอรัสในดินไปใช้ในพืช โดยเกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ในกระบวนการต่างๆ ซึ่งแบคทีเรียนับว่าเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีบทบาทสำคัญในการเปลี่ยนรูปของสารประกอบฟอสเฟตที่พืชจะสามารถนำไปใช้ได้ (Silvio D Bruggerและคณะ, 2012) ซึ่งสอดคล้องกับทฤษฎีงานวิจัยของ Salehrastin N. ในปี 1998 กล่าวว่า แบคทีเรียมีกลไกที่สำคัญที่เกี่ยวข้องกับการละลายฟอสเฟต คือ การสร้างกรดอินทรีย์ กระบวนการคีเลต และกระบวนการแลกเปลี่ยนไอออน (N. Salehrastin, 1998) นอกจากนี้งานวิจัยของ Dadarwal ในปี 1997 และงานวิจัยของ Vikram และคณะในปี 2007 ที่พบกลไกที่สำคัญของแบคทีเรียที่มี

คุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตในการสร้างกรดอินทรีย์ โดยการสร้างกรดอินทรีย์นั้นมีกระบวนการสร้าง และปลดปล่อยกรดออกมาภายนอกเซลล์จึงส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของสภาพแวดล้อมในดินลดลง (DadarwalK.R., 1997) (A Vikram, PU Krishnarajและ KS Jagadeesh, 2000) และทฤษฎีงานวิจัยของ Kanamnuay ในปี 2007 และงานวิจัยของ Mala ในปี 2007 กล่าวว่า จุลินทรีย์บางชนิดที่มีการสร้างคีเลตแคลเซียม และเหล็กจะส่งผลให้ธาตุฟอสเฟตภายในดินละลายน้ำได้มากขึ้น โดยกรดอินทรีย์ที่มีการปล่อยออกมามีหลายชนิด เช่น ไนตริก ซัลฟูริก เป็นต้น (N. Kanamnuay, 2007),(T Mala, 2007)

จากผลการศึกษาจึงได้คัดเลือกแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตในอาหาร Pikovskaya medium และมีการสร้างวงใสรอบโคโลนี ซึ่งทฤษฎีงานวิจัยของวิไลวรรณ ในปี 2017 กล่าวว่า การสร้างวงใสรอบโคโลนีของแบคทีเรียนั้น เกิดจากภายในองคประกอบของอาหาร Pikovskaya medium ประกอบดวย กลูโคส 7.5 g/L เปนแหลงคารบอน$(NH_4)_2SO_4$ 6 g/L เปนแหลงไนโตรเจน ยีสตสกัด 2.5 g/L และอื่นๆ (วิไรวรรณ ไชยศร, 2017) นอกจากนี้งานวิจัยของสมคิด และวิชญาพร ในปี 2562 ยังพบว่าในอาหาร Pikovskaya medium มีไตรแคลเซียมฟอสเฟต ($Ca_3(PO_4)_2$ เฟอร์ริกฟอสเฟต ($FePO_4$) และอลูมินัมฟอสเฟต ($AlPO_4$) ให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ได้เป็นส่วนประกอบอยู่ หากเชื้อแบคทีเรียมีการสร้างกรดอินทรีย์ขึ้นมาละลายแคลเซียมฟอสเฟต เชื้อแบคทีเรียชนิดนั้นจะเกิดบริเวณใสรอบโคโลนี (สมคิด ดีจริง และวิชญาพร ปาวงค์, 2562) ซึ่งแตกต่างกับงานวิจัยของสุภาพร และคณะ ในปี 2553 ที่มีการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ในการละลายฟอสเฟตโดยใช้อาหารที่แตกต่างกันคือ National Botanical Research Institue Phosphate growth medium(NBRIP) (สุภาพร จันรุ่งเรือง, เบญจมาส รสโสภา และกรรณิการ์ สัจจาพันธ์, 2553) ซึ่งงานวิจัยของ Anand และคณะในปี 2016 กล่าวว่าอาหารทั้งสองชนิดที่ใช้ในการคัดเลือกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตนั้นทั้ง Pikovskaya medium และ National Botanical Research InstituePhosphate growth medium สามารถคัดแยกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตได้เช่นเดียวกัน รวมทั้งเป็นผลมาจากกิจกรรมของเอนไซม์ฟอสฟาเตส ที่จะทำหน้าที่ในการเปลี่ยนฟอสเฟตในรูปสารอินทรีย์ให้เป็นสารอนินทรีย์หรืออยู่ในรูปแบบฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำที่ช่วยให้พืชสามารถนำไปใช้ในการดูดซึมได้ง่ายขึ้น (K. Anand, B. Kumari และM.A. Mallick, 2016)

จากการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตแล้ว จึงนำแบคทีเรียที่ได้มาศึกษาลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และทำการย้อมแกรมแบคทีเรียพบลักษณะแบคทีเรียภายใต้กล้องเป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างท่อน มีการสร้าง Endospore ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของภัทธนาวรรณ์ ในปี 2557 กล่าวว่าในการคัดเลือก

แบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตโดยส่วนใหญ่นั้น จะเป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่าง-ท่อน และมีการสร้างเอนโดสปอร์ (ภัทธนาวรรณ์ ฉันท์รัตนโยธิน, 2557) หลังนั้นจึงทดสอบคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยาของแบคทีเรีย การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี และคุณสมบัติทางชีวโมเลกุล พบว่า แบคทีเรียไอโซเลท SBP04 นั้นมีความคล้ายคลึงกับเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* โดยมีความเหมือนที่ 99 เปอร์เซ็นต์ นั้น สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Djordjevic และคณะในปี 2000 โดยพบว่าเชื้อแบคทีเรียที่ละลายฟอสเฟตได้ดีนั้นเป็นเชื้อ *P.favisporus,B.cenocepacia,B.subtilis, R. pickettii, P. alevei* และ *B.thuringiensis* (Steven P Djordjevicและคณะ, 2000) และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Costa, L.E.D.O. และคณะในปี 2012 ที่มีการศึกษาแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติละลายฟอสเฟตจากดินรอบรากพืชโดยแบคทีเรียกลุ่มที่พบเป็นแบคทีเรียกลุ่ม *Aromyces, Bacillus, Brevibacillus* เป็นต้น (Leonardo Emanuel de Oliveira Costaและคณะ, 2012) นอกจากนี้งานวิจัยของ Saeid และคณะในปี 2018 ได้มีการทดสอบคุณสมบัติของเชื้อแบคทีเรีย *B.megaterium, B.cereus* และ *B.subtilis* พบว่าแบคทีเรียสองชนิดนี้มีความสามารถในการละลายฟอสเฟต และมีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตถึง 483 มิลลิกรัมฟอสเฟตต่อลิตร (Agnieszka Saeid, Ewelina Prochownikและ Justyna Dobrowolska-Iwanek, 2018) โดยงานวิจัยของวรวิทย์ และจีราภรณ์ ในปี 2560 กล่าวว่าจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตที่มากหรือน้อยนั้น อาจสาเหตุมาจากคุณภาพของดินที่ทำการคัดเลือกแบคทีเรีย หากดินมีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์น้อยมากน้อยเพียงใด จะส่งผลให้แบคทีเรียที่คัดเลือกได้ มีคุณสมบัติละลายฟอสเฟตน้อยเช่นเดียวกัน (วรวิทย์ วิเชียรเขต และจีราภรณ์ อินทสาร, 2560) นอกจากนี้งานวิจัยของ Midekssa และคณะในปี 2015 พบว่าแบคทีเรียเอนโดไฟท์ในกลุ่ม *Burkholderia* sp.และ *Bacillus subtilis* นอกจากจะผลิตกรดอินโดลอะซิติกได้แล้วยังสามารถยับยั้งเชื้อรา *Fusarium oxysporum* ที่ก่อโรคพืชได้อีกด้วย (Mulissa J Midekssaและคณะ, 2015) สอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Perez-Garcia และคณะในปี 2011 พบว่าเชื้อในสกุล *Bacillus* ลายสปีชีส์ มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรคพืช กระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช และมีศักยภาพในการนำน้ำไปใช้ในแปลงได้ดี (Alejandro Pérez-García, Diego Romeroและ Antonio De Vicente, 2011) คล้ายคลึงกับงานวิจัยของ Shrestha และคณะในปี 2016 ที่พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus methylotrophicus* ที่แยกได้ยังมีศักยภาพในการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* (Bishnu K Shresthaและคณะ, 2016) และงานวิจัยของ De Souza และคณะในปี 2015 ยังพบว่าเชื้อ *Bacillus subtilis* ยังช่วยในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชโดยมีประโยชน์ใน 3 ด้าน คือ ช่วยให้พืชทนทานต่อสภาวะเครียด ช่วยให้พืชทนทานต่อเชื้อก่อโรค

และเป็นปุ๋ยชีวภาพที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของพืช (Rocheli de Souza, Adriana Ambrosiniและ Luciane MP Passaglia, 2015)

การนำเชื้อแบคทีเรียมาประยุกต์ใช้ในสภาวะกระถางและสภาพแปลงปลูก โดยงานวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 4 ชุดการทดลอง คือ ชุดที่ราดด้วยน้ำกลั่น ชุดที่ราดด้วยแบคทีเรีย ชุดที่ราดด้วยแบคทีเรียร่วมกับปุ๋ยชีวภาพ และชุดที่ราดด้วยปุ๋ยชีวภาพ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Noel Ortuño และคณะ ในปี 2013 ที่มีการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* เป็นผลิตภัณฑ์ทางชีวภาพที่ส่งเสริมการเจริญ และการเพิ่มผลผลิตในพืชคีนัวในสภาพแปลงปลูกโดยมีการแบ่งเป็น 4 ชุดการทดลอง ได้แก่ ชุดควบคุม, ชุดเชื้อแบคทีเรีย *B. subtillis,* ชุดเชื้อแบคทีเรีย *B.subtillis* ร่วมกับ *T. koningiopsisy T. harzianum* และชุดการทดลอง*T. Koningiopsisy T.harzianum* (Noel Ortuñoและคณะ, 2013) สอดคล้องกับงานวิจัยของสิรินภา และชัยสิทธิ์ ในปี 2563 ที่มีการแบ่งชุดการทดลองในศึกษาประสิทธิภาพของการใช้ปุ๋ยชีวภาพผสมกับแบคทีเรียละลายฟอสเฟต ร่วมกับปุ๋ยเคมี โดยทำการทดสอบอ้อยพันธุ์ลำปางปลูกในกระถาง และการทดสอบในโรงเรือนการทดลอง (สิรินภา ช่วงโอภาส และชัยสิทธิ์ ทองจู, 2563) ซึ่งงานวิจัยชิ้นนี้ได้นำเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากสวนลำไยไอโซเลท SBP04 ไปประยุกต์ใช้ในการทดลองคือ เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* เป็นระยะเวลา 90 วัน คล้ายคลึงกับงานวิจัยของไตรธานี และคณะ ในปี 2555 ได้มีการคัดแยกเชื้อแบคทีละลายฟอสเฟต *Bacillus megaterium* SM53, *Bacillus stratosphericus* GD65,*Bacillus arybhattai* MDSR11 และ *Bacillus altitudinis* DYJK5-5 มาประยุกต์ใช้กับดินรอบรากอ้อย ทำการทดสอบผลการทดลองภายใต้สภาพเรือนทดลอง และการทดสอบภายใต้สภาวะกระถาง เป็นระยะเวลา 90 วันเช่นเดียวกัน (ไตรธานี เยี่ยมอ่อนและคณะ, 2555) คล้ายคลึงกับงานวิจัยของ Richa ในปี 2013 ที่มีการนำเชื้อจุลินทรีย์ใช้ร่วมกับหินฟอสเฟตพบว่าเชื้อจุลินทรีย์สามารถย่อยสลายฟอตเฟส และส่งเสริมให้ปริมาณธาตุอาหารภายในดินสูงขึ้น รวมถึงปริมาณโพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม จะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นได้ดีที่สุดในการทดสอบเชื้อแบคทีเรียช่วงระยะ 3 เดือน หรือ 90 วันหลังทำการทดลอง (G. Richa, 2003) สอดคล้องกับงานวิจัยของ นพเดช และจีราภรณ์ ในปี 2557 ที่ได้ศึกษาอิทธิพลการเติมเชื้อจุลินทรีย์ในดินเป็นระยะเวลา 90 วัน พบจุลินทรีย์ในกลุ่มของแบคทีเรีย *Bacillus* sp.มีผลต่อคุณสมบัติทางเคมีของดิน และปริมาณธาตุอาหารในใบพริกขี้หนู ในพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทย มีค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณอินทรียวัตถุ มีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้น 6.7 เปอร์เซ็นต์ และ 3.9 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อเทียบกับชุดการทดลองที่เป็นชุดควบคุม ซึ่งการทดลองนี้พบว่าการใช้เชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* sp.ในการปรับปรุงคุณภาพดิน และเก็บผลการศึกษาในช่วง 90 วันนั้น ส่งผลให้คุณสมบัติทางเคมี และปริมาณธาตุอาหารเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ

ทางสถิติ (นพเดช แหวนเพ็ชร และจีราภรณ์ อินทสาร, 2557) สอดคล้องกับงานวิจัยของจิราภรณ์ และคณะ ในปี 2556 ได้ทำการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยฟอสเฟตไปปรับปรุงคุณสมบัติของดินใต้ทรงพุ่มลำไยอินทรีย์ มีผลทำให้ค่าความเป็นกรด–ด่างของดินใต้ทรงพุ่มลำไยเพิ่มสูงขึ้น รวมไปถึงความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสของดินหลังการเก็บเกี่ยวลำไยอินทรีย์ นอกจากนี้ธาตุอาหารอื่น ๆ เช่น โพแทสเซียม และแคลเซียมในดินพบค่าที่เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (จีราภรณ์ อินทสาร, ปฏิภาณ สุทธิกุลบุตร และจักรพงษ์ ไชยวงศ์, 2556) เมื่อเทียบกับการทดลองในงานวิจัยนี้ ชุดการทดลองที่มีการราดด้วยแบคทีเรีย และชุดการทดลองที่มีการราดด้วยแบคทีเรียผสมปุ๋ยชีวภาพนั้น สามารถเพิ่มธาตุอาหาร ทั้งฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน

จากผลการทดลองหลังประยุกต์ใช้แบคทีเรียของงานวิจัยนี้เป็นระยะเวลา 90 วัน ในสภาวะกระถางและสภาพแปลงปลูก พบว่าคุณสมบัติทางเคมีของดิน ทั้งค่าความเป็นกรด– ด่าง มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในชุดการทดลองที่มีการราดด้วยแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* และชุดการทดลองที่ราดด้วยแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ผสมกับปุ๋ยชีวภาพ สอดคล้องกับงานวิจัย Babana and Antoun ในปี 2007 ที่มีการทดสอบในสภาพแปลงปลูกข้าวสาลี โดยใช้เชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตร่วมกับการใส่ปุ๋ย Tilemsi phosphate rock พบว่าจากผลการทดสอบการประยุกต์ใช้แบคทีเรียนั้น ส่งผลให้ความสูงและน้ำหนักแห้งของต้นข้าวสาลี มีค่ามากกว่าข้าวสาลีที่มีการใส่ปุ๋ย RP เพียงชนิดเดียว (A. Babanaและ H. Antoun, 2007) และยังสอดคล้องกับทฤษฎีงานวิจัยของสมบูรณ์ และคณะ ในปี 2553 กล่าวว่าการศึกษาค่าความเป็นกรด–ด่าง ของดินนั้น มีความสำคัญต่อการใช้ประโยชน์ในธาตุอาหารภายในดิน หากดินที่มีกรดหรือมีด่างมากเกินไปนั้น จะทำให้ธาตุอาหารพืชในดินนั้นมีประโยชน์น้อยลดน้อยลง การเติมธาตุอาหารของพืชทั้งสารอินทรีย์ หรือสารอนินทรีย์ในปริมาณที่เหมาะสม จะสามารถส่งเสริมค่าความเป็นกรด–ด่างของดินที่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของพืชได้ (สมบูรณ์ มั่นความดี, ผจงจิตต์ ศรีสุข และสุภัทตรา นุชนารถ, 2553) ในการเตรียมเชื้อแบคทีเรียก่อนการประยุกต์ใช้ในสภาพกระถางและสภาพแปลงปลูกนั้นผู้วิจัยได้ทำการเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวเป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมงก่อนการทดสอบ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Srivastana และคณะ ในปี 2003 พบว่าแบคทีเรียกลุ่ม phosphate solubilizing จะทำให้ค่าความเป็นกรด – ด่าง ของดินเพิ่มขึ้นเล็กน้อยหลังมีเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง แต่กลับเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง เมื่อเทียบกับงานวิจัยนี้ได้มีการบ่มเชื้อเป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมงก่อนการนำไปประยุกต์ใช้ สามารถเพิ่มค่าความเป็นกรด–ด่าง ของดินทั้งการทดสอบในกระถางและสภาพแปลงปลูกเพิ่มขึ้น (S Srivastavaและคณะ, 2007) การศึกษาปริมาณอินทรียวัตถุ

หลังการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย พบว่ามีปริมาณอินทรียวัตถุที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในชุดการทดลองที่มีการราดด้วยปุ๋ยชีวภาพ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Huimin Xiang และคณะในปี 2018 ได้ทำการศึกษาปริมาณอินทรียวัตถุภายในดิน ซึ่งทฤษฎีงานวิจัยกล่าวว่าปริมาณอินทรียวัตถุนั้นถือเป็นส่วนสำคัญในการเจริญของพืชที่มักพบตามธรรมชาติ เช่น เศษซากพืชในบริเวณพื้นที่ที่ทำการศึกษาจะเป็นส่วนสำคัญที่จะช่วยในการปรับปรุงพัฒนาดินส่วนหนึ่ง เมื่อมีการนำสารอินทรีย์มาใช้ร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์ จะสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตและกิจกรรมของจุลินทรีย์ในดินให้มีการนำธาตุอาหารภายในดินที่เป็นประโยชน์มาใช้ได้ดีขึ้น (Huimin Xiangและคณะ, 2018) จากการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของดินของงานวิจัยนี้พบปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Han xu และคณะในปี 2020 ได้ศึกษาปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และการศึกษาปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้สำหรับการปลูกลำไย ผลงานวิจัยพบว่า ปริมาณฟอสฟอรัสและปริมาณโพแทสเซียมทั้งสองส่วนนี้ถือเป็นปริมาณธาตุอาหารที่สำคัญในการเจริญเติบโตของพืชโดยมีกรดอะมิโนต่าง ๆ เป็นส่วนประกอบ โดยคุณสมบัติของธาตุอาหารเหล่านี้มีผลต่อการออกดอกของลำไย ความแข็งแรงของรากในการดูดธาตุอาหารไปใช้ รวมไปถึงการสร้างคาร์โบไฮเดรต น้ำตาล และโปรตีนในลำไยได้อีกด้วย (Han Xuและคณะ, 2020) นอกจากนี้งานวิจัยของ Rodriguez and Frage ในปี 1999 กล่าวว่าพืชที่มีแบคทีเรีย Phosphate solubilizing bacteria หรือแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตผสมอยู่ จะสามารถเจริญเติบโตได้ดีสาเหตุมาจากการที่เชื้อแบคทีเรียช่วยละลายฟอสเฟตที่จากเดิมอยู่ในรูปไม่ละลายน้ำ เปลี่ยนเป็นอยู่ในรูปแบบละลายน้ำ ทำให้พืชสามารถดูดธาตุอาหารไปใช้ในการเจริญเติบโตได้ดี และยังส่งผลให้ธาตุอาหารอื่นๆ รวมถึงความสูง และผลผลิต มีค่าเพิ่มขึ้นอีกด้วย (Hilda Rodrı´guezและ Reynaldo Fraga, 1999)

เมื่อทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของดินหลังการประยุกต์ใช้แบคทีเรียในสภาพแปลงปลูกพบว่าการทดลองที่มีการราดด้วยแบคทีเรีย การทดลองที่มีการราดแบคทีเรียผสมปุ๋ยชีวภาพ และการทดลองที่มีการราดด้วยปุ๋ยชีวภาพนั้น สามารถเพิ่มคุณสมบัติทางกายภาพของดินทั้ง 3 การทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติคือ การศึกษาค่าความหนาแน่นของดิน (soil bulk density) พบว่างานวิจัยนี้มีค่าความหนาแน่นของดินที่ปานกลาง โดยทฤษฎีงานวิจัยของสมคิด และวรางคณา ในปี 2558 ที่มีการศึกษาค่าความหนาแน่นดินในแปลงข้าวเกษตรอินทรีย์จากการศึกษาดินมีความหนาแน่นดินที่สูงหรือต่ำนั้น อาจมีสาเหตุจากปริมาณอินทรียวัตถุของดิน ที่ส่งผลทำให้รากพืชเจริญลงไปในดินที่ยาก การศึกษาความหนาแน่นของดินนี้จึงมีผล

สอดคล้องกับปริมาณอินทรียวัตถุที่อยู่ในดิน เนื่องจากดินสภาพแปลงปลูกที่ทำการศึกษาก่อนการประยุกต์ใช้แบคทีเรียนั้น มีปริมาณอินทรียวัตถุที่น้อย จึงส่งผลให้การศึกษาความหนาแน่นของดินน้อยไปด้วย (สมคิด ดีจริง และวรางคณา สงวนพงษ์, 2558) นอกจากนี้การทดสอบการวิเคราะห์ปริมาณน้ำในภาคสนาม (field water content) และค่าการนำน้ำของดินในสภาพอิ่มตัวด้วยน้ำ (saturated hydraulic conductivity) ในงานวิจัยนี้พบว่าปริมาณน้ำในภาคสนามและค่าการนำน้ำของดินในสภาพอิ่มต้วด้วยน้ำเป็นค่าระดับปานกลางถึงระดับสูง โดยสอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhang และคณะ ในปี 2013 ได้ศึกษาค่าการนำน้ำของดินในสภาพอิ่มตัวด้วยน้ำในการเพิ่มธาตุอาหารของดินในระบบนิเวศ พบว่าการเพิ่มปริมาณสารอาหารลงในดิน ทั้งจุลินทรีย์ สารอินทรีย์ และสารอนินทรีย์จะส่งผลให้ดินนั้นมีสารคาร์บอนอินทรีย์ ปริมาณไนโตรเจน จะส่งผลให้ดินมีการปลดปล่อยธาตุฟอสฟอรัสที่เพิ่มขึ้น มีการนำไฟฟ้าดีขึ้น และจะส่งผลให้ดินมีค่าการนำน้ำของดินในขณะอิ่มตัวด้วยน้ำสูงขึ้นเช่นเดียวกัน (X. Zhangและคณะ, 2013)

ข้อเสนอแนะในการทดลอง

ผลการทดลองครั้งนี้ชี้ให้เห็นถึงคุณสมบัติบางประการของจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตให้อยู่ในรูปละลายน้ำ และพืชสามารถนำไปใช้ในการดูดซึมซึมได้ง่าย และยังส่งผลให้คุณสมบัติทางเคมีของดิน และคุณสมบัติทางกายภาพของดินมีเพิ่มขึ้นนั้น อย่างไรก็ตามในการเพิ่มประสิทธิภาพของการประยุกต์ใช้แบคทีเรียในการปรับปรุงดินในการศึกษาวิจัยครั้งต่อไปควรเพิ่มประเด็นต่างๆ ดังนี้

1. ควรมีการศึกษาคุณสมบัติ (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) PGPR ของพืชเพื่อดูการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของพืชในอนาคต

2. ควรมีการศึกษากิจกรรมของจุลินทรีย์ในด้านอื่น ๆ เพิ่ม เช่น กิจกรรมเอนไซม์ที่สามารถช่วยย่อยสลายธาตุอาหารที่อยู่ในดิน

3. ควรมีการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่คัดแยกจากเชื้อจุลินทรียที่มีคุณสมบัติในการปรับปรุงดินเพิ่มเติม เพื่อสะดวกต่อการนำไปใช้งาน เช่น รูปแบบผง รูปแบบอัดเม็ด หรือรูปแบบน้ำ

4. ควรมีการศึกษา และทำการเปรียบเทียบกับปุ๋ยเคมีที่ใช้ในการเพิ่มธาตุอาหาร เช่น ปุ๋ยไนโตรเจน หรือปุ๋ยฟอสฟอรัส เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ และปุ๋ยเคมี ว่ามีประสิทธิภาพเท่าเทียมกันหรือไม่

บรรณานุกรม

Ahemad Munees, Zaidi Almas, Khan Mohd Saghir และOves Mohammad. (2009). Biological importance of phosphorus and phosphate solubilizing microbes–An overview. **Phosphate Solubilising Microbes for Crop Improvement**, 1–14.

Anand K., B. Kumari และM.A. Mallick. (2016). Phosphate solubilizing microbes: An effective and alternative approach as biofertilizers. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, 8(2), 37–40.

Babana A. และH. Antoun. (2007). Biological system for improving the availability of Tilemsi phosphate rock for wheat (Triticum aestivum L.) cultivated in Mail. **Nurt. Cycl. Agroecosys.**, 72(2), 147–157.

Bandick Anna Kและ Dick Richard P. (1999). Field management effects on soil enzyme activities. **Soil Biology and Biochemistry**, 31(11), 1471–1479.

Blake G.R. (1965). Particle density. Methods soil analysis. **American society of agronomy monograph**, 9, 371–373.

Blöthe Marco, Akob Denise M, Kostka Joel E, Göschel Kathrin, Drake Harold L และKüsel Kirsten. (2008). pH gradient–induced heterogeneity of Fe (III)–reducing microorganisms in coal mining–associated lake sediments. **Applied and environmental microbiology**, 74(4), 1019–1029.

Brady NC และWeil RR. (2001). The Nature and Properties of Soils, 13th edit: Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey.

Bray Roger H และKurtz L Touby. (1945). Determination of total, organic, and available forms of phosphorus in soils. **Soil science**, 59(1), 39–46.

Brugger Silvio D, Baumberger Christian, Jost Marcel, Jenni Werner, Brugger Urs และ Mühlemann Kathrin. (2012). Automated counting of bacterial colony forming units on agar plates. **PloS one**, 7(3), e33695.

Chang Ed–Haun, Chung Ren–Shih และTsai Yuong–How. (2007). Effect of different application rates of organic fertilizer on soil enzyme activity and microbial population. **Soil Science and Plant Nutrition**, 53(2), 132–140.

Costa Leonardo Emanuel de Oliveira, Queiroz Marisa Vieira de, Borges Arnaldo Chaer, Moraes Celia Alencar deและAraújo Elza Fernandes de. (2012). Isolation and characterization of endophytic bacteria isolated from the leaves of the common bean (Phaseolus vulgaris). **Brazilian Journal of Microbiology**, 43(4), 1562-1575.

DadarwalK.R. (1997). Microorganisms for Sustainable Crop production. **Jodhpur**, 293-308.

Dalzell HW, Bidlestone AG, Gray KRและThurairajan K. (1987). Compost production and use in Tropical and Subtropical Environments. **FAO,"Soil Management" Bulletin**, 49, 18-36.

Djordjevic Steven P, Forbes Wendy A, Smith Lisa Aและ Hornitzky Michael A. (2000). Genetic and Biochemical Diversity among Isolates ofPaenibacillus alvei Cultured from Australian Honeybee (Apis mellifera) Colonies. **Applied and environmental microbiology**, 66(3), 1098-1106.

Dong Hailiang. (2012). Clay–microbe interactions and implications for environmental mitigation. **Elements**, 8(2), 113-118.

Gardner Walter H. (1986). Water content. **Methods of Soil Analysis: Part** 1 **Physical and Mineralogical Methods**, 5, 493-544.

Gudiña Eduardo J, Fernandes Elisabete C, Rodrigues Ana I, Teixeira José A และRodrigues Lígia R. (2015). Biosurfactant production by *Bacillus subtilis* using corn steep liquor as culture medium. **Frontiers in microbiology**, 6, 59.

Heyrman Jeroen, Vanparys Bram, Logan Niall A, Balcaen An, Rodríguez-Díaz Marina, Felske Andreas และคณะ. (2004). *Bacillus novalis* sp. nov., *Bacillus vireti* sp. nov., *Bacillus* soli sp. nov., *Bacillus bataviensis* sp. nov. and *Bacillus drentensis* sp. nov., from the Drentse A grasslands. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, 54(1), 47-57.

Holt J. G., Krieg N. R., Sneath P. H. A., Staley J. T. และWilliams S. T. (1994). **Bergey's manual of determinative bacteriology** (พิมพ์ครั้งที่ 9). New York Williams and Wikins interlayer space. จาก http://dx.doi.org/10.1155/2014/656287

Illmer P และSchinner F. (1995). Solubilization of inorganic calcium phosphates—solubilization mechanisms. **Soil Biology and Biochemistry**, 27(3), 257-263.

Jackson ML. (1958). Soil chemical analysis prentice Hall. **Inc., Englewood Cliffs, NJ**, 498, 183–204.

Kanamnuay N. (2007). **Diversity and efficiency of Bacillus sp. on inorganic phosphate solubilization**. master science Science, Kasetsart University, Bangkok.

Karlidag H., A. Esitken, M. Turan และF. Sahin. (2007). Effects of root inoculation of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient element contents of leaves of apple. **Scientia Horticulture**, 114 (1), 16–20.

Kennedy AC. (2005). Soil biota in the rhizosphere. **Principles and applications of soil microbiology. Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall**, 242–262.

Kloepper JW, Schroth MN และMiller TD. (1980). Effects of rhizosphere colonization by plant growth–promoting rhizobacteria on potato plant development and yield. **Phytopathology**, 70(11), 1078–1082.

Klute A และDirksen C. (1986). Hydraulic conductivity and diffusivity: Laboratory methods. In A. Klute et al. (eds.). Method of soil analysis. Part I. **American society of agronomy monograph**, No. 9, 687–734.

Liu Xu, Wang Su, Sendi Lisa และCaulfield Michael J. (2004). High–throughput imaging of bacterial colonies grown on filter plates with application to serum bactericidal assays. **Journal of immunological methods**, 292(1–2), 187–193.

Lussi Adrian, Schlüter Nadine, Rakhmatullina Ekaterina และGanss C. (2011). Dental erosion–an overview with emphasis on chemical and histopathological aspects. **Caries research**, 45(Suppl. 1), 2–12.

Mala T. (2007). Organic Fertilizers and Biofertilizers : Biofertilizerion Techniques and Use. **Kasetsart University Press**, 2nd, 300.

Midekssa Mulissa J, Loscher Carolin R, Schmitz Ruth Aและ Assefa Fassil. (2015). Characterization of phosphate solubilizing rhizobacteria isolated from lentil growing areas of Ethiopia. **African Journal of Microbiology Research**, 9(25), 1637–1648.

Murphy J และJ.P Riley. (1985). A single solution method for the determination of soluble phosphate in sea water. **J. Mar. Biol.Assoc.UK**, 37, 9–14.

Ortuño Noel, Castillo José Antonio, Claros Mayra, Navia Oscar, Angulo Marlene, Barja Daniel และคณะ. (2013). Enhancing the sustainability of quinoa production and soil resilience

by using bioproducts made with native microorganisms. **Agronomy**, 3(4), 732–746.

Peech M. (1965). Soil pH by glass electrod pH meter. Methods of soil analysis. **Amer. Soc. Sgro**, 9(2), 60: 914–925.

Pérez–García Alejandro, Romero Diego และDe Vicente Antonio. (2011). Plant protection and growth stimulation by microorganisms: biotechnological applications of *Bacilli* in agriculture. **Current opinion in biotechnology**, 22(2), 187–193.

Powell C Ll และDaniel Jeannette. (1978). Mycorrhizal fungi stimulate uptake of soluble and insoluble phosphate fertilizer from a phosphate-deficient soil. **New Phytologist**, 80(2), 351–358.

Prasad, Kanaka Durga Veera, Vaidya Rajesh Waman และKumar Vemula Anil (2016). An empirical analysis of the training program characteristics on training program effectiveness: A case study with reference to International Agricultural Research Institute, Hyderabad. **Journal of Human Resource and Sustainability Studies**, 4(3), 143–154.

Quadri Luis EN, Weinreb Paul H, Lei Ming, Nakano Michiko M, Zuber Peter และWalsh Christopher T. (1998). Characterization of Sfp, a *Bacillus subtilis* phosphopantetheinyl transferase for peptidyl carrier protein domains in peptide synthetases. **Biochemistry**, 37(6), 1585–1595.

Richa G. (2003). **Rock Phosphate and Phosphate solubilizing microbes as asource of** 390 **nutrients for crop**. Master dissertation Thapar University,

Richardson James E, Fay Michael F, Cronk Quentin CB, Bowman Diane และChase Mark W. (2000). A phylogenetic analysis of Rhamnaceae using rbcL and trnL-F plastid DNA sequences. **American Journal of Botany**, 87(9), 1309–1324.

Rodrı´guez Hilda และFraga Reynaldo. (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnology advances**, 17(4–5), 319–339.

Saeid Agnieszka, Prochownik Ewelina และDobrowolska–Iwanek Justyna. (2018). Phosphorus solubilization by Bacillus species. **Molecules**, 23(11), 2897.

Salehrastin N. (1998). Biofertilizer and Their Roles in Sustainable Agriculture. **Journal of Soil and Water**, 3, 128–137.

Shrestha Bishnu K, Karki Hari Sharan, Groth Donald E, Jungkhun Nootjarin และHam Jong Hyun. (2016). Biological control activities of rice–associated Bacillus sp. strains against sheath blight and bacterial panicle blight of rice. **PloS one**, 11(1).

Souza Rocheli de, Ambrosini AdrianaและPassaglia Luciane MP. (2015). Plant growth–promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. **Genetics and molecular biology**, 38(4), 401–419.

Srivastava S, Kausalya MT, Archana G, Rupela OP และNaresh–Kumar G. (2007). Efficacy of organic acid secreting bacteria in solubilization of rock phosphate in acidic alfisols. ใน **Paper presented at the First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization** (หน้า 117–124).

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

Vikram A, Krishnaraj PU และJagadeesh KS. (2000). Growth promotional potential of Pseudomonas fluorescens EPD–10 on groundnut. **Karnataka Journal of Agricultural Sciences**, 13(1), 203–206.

Walkley Aและ I.A. Black. (1947). Chromic acid titration method for determination of soil organic matter. **Soil Sci. Amer. Pro**, 63, 257.

Ward Samuel R, Tomiya Akihito, Regev Gilad J, Thacker Bryan E, Benzl Robert C, Kim Choll W และคณะ. (2009). Passive mechanical properties of the lumbar multifidus muscle support its role as a stabilizer. **Journal of biomechanics**, 42(10), 1384–1389.

Xiang Huimin, Zhang Yuan, Wei Hui, Zhang Jia–enและZhao Benliang. (2018). Soil properties and carbon and nitrogen pools in a young hillside longan orchard after the introduction of leguminous plants and residues. **PeerJ**, 6, e5536.

Xu Han, Bai Cuihua, Wang Wei, Zhou Changmin, Zhu Luwei และYao Lixian. (2020). Prediction of Fruit Free Amino Acids by Foliar Nutrient Diagnosis in Longan (*Dimocarpus longan* Lour.). **HortScience**, 55(9), 1515–1521.

Zhang X., Chen L., Li Q., Qi X.และYang S. (2013). Increase in soil nutrients in intensively managed cashcrop agricultural ecosystem in the Guanting Reservoir catchment.

Geoderma, 102–108.

กรมพัฒนาที่ดิน. (2532). การจัดการดินและพืชเพื่อปรับปรุงดินอินทรียวัตถุต่ำ. Retrieved from กรมพัฒนาที่ดิน กรุงเทพฯ:

กรมพัฒนาที่ดิน. (2551). โปรแกรมดินไทยและธาตุอาหารพืชและการจัดการดินและปุ๋ยรายแปลง. Retrieved from กรมพัฒนาที่ดิน กรุงเทพฯ:

กรมพัฒนาที่ดิน. (2553). กระบวนการวิเคราะห์ตรวจสอบทางเคมี. Retrieved from กรมพัฒนาที่ดิน กรุงเทพฯ:

กรมพัฒนาที่ดิน. (2561). จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตร. Retrieved from กรมพัฒนาที่ดิน, กรุงเทพฯ:

เกตน์ณนิภา วันชัย. (2556). การประยุกต์ใช้จุลินทรีย์ท้องถิ่นที่ตรึงอยู่บนวัสดุชนิดต่างๆ ในการปรับปรุงคุณภาพดินนาข้าวที่เกิดอุทกภัย กรณีศึกษา : อ.บางบาล พระนครศรีอยุธยา. Retrieved from มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา,พระนครศรีอยุธยา:

เกตน์ณนิภา วันชัย. (2557). ผลของแบคทีเรียละลายฟอสเฟตที่ตรึงอยู่บนขี้เถ้าแกลบต่อการเจริญเติบโตของข้าวพันธุ์ กข47. ว.วิทยาศาสตร์เกษตร, 45(2) พิเศษ(พฤษภาคม – สิงหาคม 2557).

เกษม จันทรุจิรากร, สุวพัน รัตนะรัต, บัณฑิต ชมศิริ และประณีต ไทยอุทัย. (2527). อิทธิพลและผลตกค้างของปูนขาว ปุ๋ยเคมีและปุ๋ยมูลไก่ ต่อปอแก้วไทยที่ปลูกในดินชุดร้อยเอ็ด. Retrieved from กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร:

คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. (2548). ปฐพีวิทยาเบื้องต้น. Retrieved from ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์:

จตุพร บุณณดากุล, ฐปน ชื่นบาล, ศิราภรณ์ ชื่นบาล, ศรีกาญจนา คล้ายเรืองและศุภธิดา อ่าทอง. (2560). ความหลากหลายของแบคทีเรียที่แยกจากดินบริเวณรอบรากข้าว และการคัดเลือกแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่มีประสิทธิภาพในการผลิตสารประกอบไนโตรเจน. ใน **Paper presented at the** การนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ เครือข่ายบัณฑิตศึกษา (หน้า 2609–2618).

จำเป็น อ่อนทอง. (2550). ดินมีปัญหาและการจัดการ. Retrieved from คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์:

จีราภรณ์ อินทสาร, ปฏิภาณ สุทธิกุลบุตร และจักรพงษ์ ไชยวงศ์. (2556). การใช้ประโยชน์จากจุลินทรีย์สามารถละลายฟอสเฟตได้ภายใต้การผลิตลำไยอินทรีย์ในพื้นที่ภาคเหนือตอนบน. รายงานผลการวิจัย, 58.

เจริญ เจริญจำรัสชีพ, กำชัย กาญจนธนเศรษฐ และเมธิน ศิริวงศ์. (2540). การจัดการดินกรดในประเทศไทย. Retrieved from กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์:

ซูไรยา มัชปอ, เพชรดา ปินใจ และเสาวนุช ถาวรพฤกษ์. (2562). ประสิทธิภาพของแบคทีเรียละลายฟอสเฟตต่อความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสในดิน และการส่งเสริมการเจริญเติบโตของอ้อยตามศักย์ผลิต

ภาพดินในจังหวัดสระแก้ว. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ ปีที่ 6, ฉบับที่ 3 (กรกฎาคม – กันยายน), 77–88.

ไตรธานี เยี่ยมอ่อน, นันทวัน ฤทธิ์เดช, ประสิทธิ์ ใจศิล และโสภณ บุญลือ. (2555). การส่งเสริมการเจริญเติบโตของอ้อยด้วยแบคทีเรียละลายฟอสเฟตในสภาพเรือนทดลอง. วารสารแก่นเกษตร 40, ฉบับพิเศษ 3, 185–193

ทินน์ พรหมโชติ. ลำไย. Retrieved from ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี:

ธงชัย มาลา. (2557). การตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพ. Retrieved from คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์:

นพเดช แหวนเพ็ชร และจีราภรณ์ อินทสาร. (2557). อิทธิพลของจุลินทรีย์ต่อคุณสมบัติทางเคมีดินและปริมาณธาตุอาหารในพริกขี้หนู (*Capsicum annuum* L.) ในพื้นที่ภาคเหนือประเทศไทย. วารสารและวิจัยส่งเสริมการเกษตรี ที่ 31 ฉบับที่ 3 กันยายน – ธันวาคม 24–34.

นฤมล ศรีชัย. การแยกและการคัดเลือกจุลินทรีย์ในดินที่สามารถสลายฟอสเฟต.

ประดับรัฐ ประจันเขตต์, สุทธวรรณ สุพรรณ และทายาท ศรียาภัย. (2015). การคัดแยก และใช้หัวเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนเพื่อการปรับปรุงคุณภาพดิน. **Srinakharinwirot Science Journal**, 31(1), 189–203.

พาวิน มะโนชัย, ยุทธนา เขาสุเมรุ, ชิติ ศรีตนทิพย์ และสันติ ช่างเจรจา. (2547). เทคโนโลยีการผลิตลำไย (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ฟิสิกส์เซ็นเตอร์.

ภัทธนาวรรณ์ ฉันท์รัตนโยธิน. (2557). การคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการสลายฟอสเฟตจากดินรอบรากของข้าวหอมมะลิแดง. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์, 55.

วรวิทย์ วิเชียรเขต และจีราภรณ์ อินทสาร. (2560). ผลของเชื้อแบคทีเรียย่อยสลายฟอสเฟตต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของดินบางประการและปริมาณธาตุอาหารในข้าวโพดหวานพันธุ์หวานแม่โจ้ 80. วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร, 34(1), 13–24.

วิไรวรรณ ไชยศร. (2017). การคัดเลือกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตจากดินและสภาวะที่เหมาะสมตอการเจริญและการละลายฟอสเฟต. วารสารวิชชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช, Vol. 36 No.2 July – December.

ศิราณี วงศ์กระจ่าง และบัญชา รัตนีทู. (2557). การจัดการดินกรดโดยใช้ปูนและอินทรียวัตถุ วารสารมหาวิทยาลัยนราธิวาสนครินทร์, ปีที่ 6 ฉบับที่ 1 เดือนมกราคม–เมษายน, 103–111.

สมคิด ดีจริง และวรางคณา สงวนพงษ์ (2556). รายงานผลการวิจัยเรื่องการศึกษาคุณภาพดินในแปลงข้าวเกษตรอินทรีย์และเกษตรแบบเดิม เพื่อการปรับปรุงคุณภาพการผลิตข้าวอินทรีย์. Retrieved from มหาวิทยาลัยแม่โจ้:

สมคิด ดีจริง และวรางคณา สงวนพงษ์. (2558). การประเมินคุณภาพดินในแปลงข้าวเกษตรอินทรีย์. วารสารนเรศวรวิจัย ครั้งที่ 11, กลุ่มวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 150–156.

สมคิด ดีจริง และวิชญาพร ปาวงค์. (2562). การศึกษาการแยก การคัดเลือก และการระบุชนิดของแบคทีเรียเอนโดไฟท์ละลายฟอสเฟตจากข้าวแปลงเกษตรอินทรีย์ 5 ปี. ใน **Paper presented at the** การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 55 (หน้า 145-151). กรุงเทพฯ.

สมชาย พรุเพชรแก้ว. (2559). การจัดการดินกรด ดินเปรี้ยวเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพืช. Retrieved from สำนักงานส่งเสริมและพัฒนาการเกษตรที่ 5, สงขลา:

สมบูรณ์ มั่นความดี, ผจงจิตต์ ศรีสุข และสุภัทตรา นุชนารถ. (2553). การบริหารจัดการคุณภาพน้ำชลประทานเพื่อรักษาพื้นที่ชลประทานให้มีศักยภาพสูง กรณีศึกษาที่ 1 การปรับปรุงคุณสมบัติทางเคมีของน้ำชลประทานและแก้ปัญหาการแพร่กระจายของดินด่างในเขตโครงการชลประทาน. รายงานผลการวิจัยของสำนักวิจัยและพัฒนา.

สรสิทธิ์ วัชโรทยาน. (2537). ดินและปุ๋ย สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน (เล่มที่ 18) (Vol. 8, pp. 6914-6918). กรุงเทพฯ: โครงการสารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน โดยพระประสงค์.

สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร. (2562). ลำไย. สืบค้นเมื่อ 28 กรกฎาคม 2562, จาก http://agknowledge.arda.or.th/longan

สำนักงานเศรษฐกิจที่ 1 จังหวัดเชียงใหม่. (2562). ผลผลิตลำไย-ลิ้นจี่ปี 2562. สืบค้นเมื่อ 6 กรกฎาคม 2562, จาก http://www.oag.go.th/view/ผลผลิตลำไย-ลิ้นจี่

สิรินภา ช่วงโอภาส และชัยสิทธิ์ ทองจู. (2563). ผลของการใช้บาซิลัสละลายฟอสเฟตร่วมกับปุ๋ยเคมีต่อผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตของอ้อยในชุดดินปากช่อง. วารสารเกษตร 36(2), 187-196.

สุพัตรา รักษ์วงษ์. (2558). การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตประสิทธิภาพสูงจากดินรอบรากข้าวไร่ที่ปลูกในตำบลปรังเผล อำเภอสังขละบุรี จังหวัดกาญจนบุรี. วิทยานิพนธ์ มหาวิทยาลัยราชภัฏกาญจนบุรี,

สุภาพร จันรุ่งเรือง, เบญจมาส รสโสภา และกรรณิการ์ สัจจาพันธ์. (2553). ผลของแบคทีเรียละลายฟอสเฟต *Burkholderia* sp. สายพันธุ์ Rs01 ต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี2. วารสารกำแพงแสน 8(1), 1-14

สุมาลี สุทธิประดิษฐ์. (2563). ความอุดมสมบูรณ์ของดิน. Retrieved from มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์:

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.Aleksandrov Agar

Magnesium sulphate	0.50	กรัม
Calcium carbonate	0.10	กรัม
Potassium alumino silicate	2.00	กรัม
Dextrose (Glucose)	5.00	กรัม
Ferric chloride	0.005	กรัม
Calcium phosphate	2.00	กรัม
Agar	20.00	กรัม
Distilled water	1,000.00	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมให้เข้ากัน ปรับค่า pH ให้ได้ประมาณ 7.2±0.2 ปรับปริมาตรด้วย Distilled water ให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร นำไปต้มจนเดือด เติมผงวุ้นจนวุ้นสุก และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที

2.CarboxylMethyl Cellulose Agar (CMC)

Ammonium dihydrogen phosphate	1.00	กรัม
Potassium Chloride	0.20	กรัม
Magnesium Sulfate Heptahydrate	1.00	กรัม
Yeast extract	1.00	กรัม
Carboxymethyl cellulose	26.00	กรัม
Agar	3.00	กรัม
Distilled water	1,000.00	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมให้เข้ากัน ปรับค่า pH ให้ได้ประมาณ 7.0±0.2 ปรับปริมาตรด้วย Distilled water ให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร นำไปต้มจนเดือด เติมผงวุ้นจนวุ้นสุก และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที

3. Czapek's Agar

Sucrose	30.00	กรัม
Sodium nitrate	2.00	กรัม
Dipotassium phosphate	1.00	กรัม

Magnesium sulphate	0.50	กรัม
Potassium chloride	0.50	กรัม
Ferrous sulphate	0.01	กรัม
Agar	15.00	กรัม
Distilled water	1,000.00	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมให้เข้ากัน ปรับค่า pH ให้ได้ประมาณ 7.3 ±0.2 ปรับปริมาตรด้วย Distilled water ให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร นำไปต้มจนเดือด เติมผงวุ้นจนวุ้นสุก และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที

4. Internation Strepomyces Project 2

Starch, soluble	10.00	กรัม
Dipotassium phosphate	1.00	กรัม
Magnesium sulphate. heptahydrate	1.00	กรัม
Sodium chloride	1.00	กรัม
Ammonium sulphate	2.00	กรัม
Calcium carbonate	2.00	กรัม
Ferrous sulphate, heptahydrate	0.0010	กรัม
Manganous chloride, $7H_2O$	0.0010	กรัม
Zinc sulphate, $7H_2O$	0.0010	กรัม
Agar	20.00	กรัม
Distilled water	1,000.00	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมให้เข้ากัน ปรับค่า pH ให้ได้ประมาณ 7.2 ±0.2 ปรับปริมาตรด้วย Distilled water ให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร นำไปต้มจนเดือด เติมผงวุ้นจนวุ้นสุก และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที

5.Nitrogen Free Medium (NFM)

Glucose	10.00	กรัม
Dipotassium phosphate	1.00	กรัม
Magnesium sulphate	0.20	กรัม
Calcium carbonate	1.00	กรัม
Sodium chloride	0.20	กรัม

Sodium molybdate	0.0050 กรัม
Ferrous sulphate	0.10 กรัม
Distilled water	1,000.00 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมให้เข้ากัน ปรับค่า pH ให้ได้ประมาณ 7.0 ± 0.2 ปรับปริมาตรด้วย Distilled water ให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร นำไปต้มจนเดือด เติมผงวุ้นจนวุ้นสุก และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที

6.Nutrient broth

Peptic digest of animal tissue	5.00 กรัม
Sodium chloride	5.00 กรัม
Beef extract	1.50 กรัม
Yeast extract	1.50 กรัม
Distilled water	1,000.00 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมให้เข้ากัน ปรับค่า pH ให้ได้ประมาณ 7.4 ± 0.2 ปรับปริมาตรด้วย Distilled water ให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร นำไปต้มจนเดือด เติมผงวุ้นจนวุ้นสุก และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที

7.Plate Count Agar

Tryptone	5.00 กรัม
Yeast extract	2.50 กรัม
Dextrose (Glucose)	1.00 กรัม
Agar	15.00 กรัม
Distilled water	1,000.00 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมให้เข้ากัน ปรับค่า pH ให้ได้ประมาณ 7.0 ± 0.2 ปรับปริมาตรด้วย Distilled water ให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร นำไปต้มจนเดือด เติมผงวุ้นจนวุ้นสุก และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที

8.Pikovskaya's medium

Yeast extract	0.50 กรัม
Dextrose	10.00 กรัม
Calcium phosphate	5.00 กรัม
Ammonium sulphate	0.50 กรัม

Potassium chloride	0.20 กรัม
Magnesium sulphate	0.10 กรัม
Manganese sulphate	0.0001 กรัม
Ferrous sulphate	0.0001 กรัม
Distilled water	1,000.00 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมให้เข้ากัน ปรับปริมาตรด้วย Distilled water ให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร นำไปต้มจนเดือด และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที

9. Starch Agar

Beef extract	3.00 กรัม
Starch, soluble	10.00 กรัม
Agar	12.00 กรัม
Distilled water	1,000.00 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมให้เข้ากัน ปรับค่า pH ให้ได้ประมาณ 7.5 ± 0.2 ปรับปริมาตรด้วย Distilled water ให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร นำไปต้มจนเดือด เติมผงวุ้นจนวุ้นสุก และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที

10.Simmons Citrate Agar

HM Peptone B#	3.00 กรัม
Peptone	30.00 กรัม
Peptonized iron	0.20 กรัม
Sodium thiosulphate	0.0250 กรัม
Agar	3.00 กรัม
Distilled water	1,000.00 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมให้เข้ากัน ปรับค่า pH ให้ได้ประมาณ 7.3 ± 0.2 ปรับปริมาตรด้วย Distilled water ให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร นำไปต้มจนเดือด เติมผงวุ้นจนวุ้นสุก และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที

ภาคผนวก ข การเตรียมสารละลาย

1. สารละลาย Crystal violet

Stock Crystal violet solution

Crystal violet (85% dye)	20.00 กรัม
Ethanol 95 เปอร์เซ็นต์	100.00 มิลลิลิตร

ละลายผง Crystal violet (85% dye) จำนวน 20.00 กรัม ใน Ethanol 95% ปริมาตร 100.00 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

Stock oxalate solution

Ammonium oxalate	1.00 กรัม
Distilled water	100.00 มิลลิลิตร

ละลายผง Ammonium oxalate จำนวน 1.00 กรัม ใน Distilled water ปริมาตร 100.00 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

Working solution

Stock Crystal violet solution (1.1)	10.00 มิลลิลิตร
Stock oxalate solution (1.2)	40.00 มิลลิลิตร
Distilled water	90.00 มิลลิลิตร

นำ Stock Crystal violet solution ปริมาตร 10.00 มิลลิลิตร ผสมกับ Distilled water 90.00 มิลลิลิตร จากนั้นเติม Stock oxalate solution 40.00 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง ใส่ในขวดสีชา 24 ชั่วโมงก่อนนำไปใช้

2. สารละลาย Safranin O ย้อมสีเอนโดสปอร์

Safranin O	0.25 กรัม
Ethanol 95 เปอร์เซ็นต์	10.00 มิลลิลิตร
Distilled water	100.00 มิลลิลิตร

ละลาย Safranin O จำนวน 0.25 กรัม ใน 95% แอลกฮอล์ 10.00 มิลลิลิตร ให้เข้ากันก่อนเติม Distilled water 100.00 มิลลิลิตร เก็บใส่ขวดสีชา

3.Gram's Iodine

Iodine	1.00 กรัม
Potassium iodine	2.00 กรัม
Distilled water	300.00 มิลลิลิตร

ละลาย Iodine จำนวน 1.00 กรัม และ Potassium iodine จำนวน 2.00 กรัม ผสมให้เข้ากันใน Distilled water 300.00 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดสีชา

4.สารละลาย Malachite Green

Malachite green	1.00 กรัม
Distilled water	20.00 มิลลิลิตร

ละลายผง malachite green จำนวน 1.00 กรัม ใน Distilled water 20.00 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันเก็บไว้ในขวดแก้ว

5.สารละลาย NaCl 0.85 เปอร์เซ็นต์

Sodium Chloride	8.50 กรัม
Distilled water	1,000.00 มิลลิลิตร

ละลาย Sodium Chloride 8.50 กรัม ใน Distilled water 1,000.00 มิลลิลิตร คนจนละลาย ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวด Duran

ภาคผนวก ค การเตรียมสารเคมีเพื่อทดสอบคุณสมบัติทางเคมีของดิน

1. สารเคมีเพื่อใช้วิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่าง ของดิน

1.1 การเตรียมสารเคมี buffer solution pH 4

ชั่ง Potassium hydrogen phthalate ($KHC_8H_4O_4$) 10.21 กรัม อบที่อุณหภูมิ 105 – 110 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 2 ชั่วโมง และเก็บไว้ใน Desiccator ให้เย็นก่อน) ใส่ beaker ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วใช้ขวดฉีดน้ำกลั่น ฉีดล้างสารที่ติดค้างใน Beaker ผ่านกรวยกรองลง Volumetric flask ขนาด 1000 ml ปรับปริมาตร

1.2 การเตรียมสารเคมี buffer solution pH 7

ชั่ง Potassium di-hydrogen phosphate (KH_2PO_4) 1.361 กรัม และ di-Sodium hydrogen phosphate (Na_2HPO_4) 1.420 กรัม (สารทั้งสองชนิดต้องอบที่อุณหภูมิ 105-110 องศาเซลเซียส) ระยะเวลา 2 ชั่วโมง และเก็บไว้ใน Desiccator ให้เย็นก่อน ใส่ Beaker ละลายด้วยน้ำกลั่นที่ต้มเป็นเวลา 15 นาที และทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วเทผ่านกรวยกรองลง Volumetric flask ขนาด 1000 ml ปรับปริมาตร

1.3 สารละลาย 0.01 M $CaCl_2$

ชั่ง $CaCl_2 . 2H_2O$ 1.47 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร

1.4 สารละลาย 1 M KCL

ชั่ง KCL 74.5 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 1 ลิตร

2. สารเคมีเพื่อใช้วิเคราะห์หาอินทรียวัตถุในดิน (Organic Matter)

2.1 Std. 1 N $K_2Cr_2O_7$

ชั่ง $K_2Cr_2O_7$ (A.R. grade อบที่อุณหภูมิ 105 – 110 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง และเก็บไว้ใน Desiccator ให้เย็นก่อน) 49.04 กรัม ใส่ Beaker ขนาด 100 ml ละลายด้วยน้ำกลั่น เทผ่านกรวยกรองลง Volumetric flask ขนาด 1000 ml ใช้ขวดฉีดน้ำกลั่นฉีดล้างสารที่ค้างใน Beaker ลง Volumetric Flask ปิดจุก เขย่าให้ละลาย และปรับปริมาตร

2.2 0.5 N Ferrous sulfate

ชั่ง $FeSO_4.7H_2O$ (A.R. grade) 140 กรัม (หรืออาจใช้ $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2.6H_2O$ 196 กรัม) ใส่ Beaker ขนาด 1000 ml ละลายด้วยน้ำกลั่นประมาณ 800 ml เติม conc. H_2SO_4 20 ml เพื่อป้องกันไม่ให้ Fe^{2+} ถูก Oxidized เป็น Fe^{3+} ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร เก็บไว้ในขวดสีชาเพื่อป้องกันแสง

2.3 O-phenanthroline ferrous complex indicator (ferroin indicator)

ชั่ง O-phenanthroline 3.00 กรัม และ $FeSO_4.7H_2O$ 1.40 กรัม ใส่ Beaker ละลายด้วยน้ำกลั่น 200 ml เก็บไว้ในขวดสีชา

หมายเหตุ : การเตรียมสารละลาย 0.5 N $FeSO_4$ ไม่สามารถเตรียมให้มีความเข้มข้นที่แน่นอนได้ เนื่องจาก Fe^{2+} ในสารละลายจะถูก Oxidize ระหว่างการเตรียม และระหว่างการเก็บรักษา การนำสารละลาย $FeSO_4$ มาใช้ในการวิเคราะห์แต่ละครั้งจึงต้องทำการ standardize กับสารละลายมาตราฐาน $K_2Cr_2O_7$ เพื่อหาความเข้มข้นที่แน่นอน ณ เวลานั้น ๆ

3. สารเคมีเพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์

3.1 1N NH_4F

ละลาย NH_4F 37 กรัม ด้วยน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร เก็บไว้ในขวด Polyethylene

3.2 0.5 N HCL

เจือจาก cone. HCL (A.R. grade) 41.7 ml ด้วยน้ำกลั่น ทำการเท cone. HCL ลงในน้ำกลั่น (ทำในตู้ดูดควัน) แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

3.3 น้ำยาสกัด Bray II (0.03 N NH_4F + 0.1 N HCL)

ละลาย 30 ml 1 N NH_4F + 200 ml 0.5 N HCL ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

3.4 2% H_3BO_3

ชั่ง H_3BO_3 40 กรัม ใส่ Beaker ขนาด 100 ml ละลายด้วยน้ำกลั่น เทผ่านกรวยกรองลง Volumetric flask ขนาด 2000 ml แล้วใช้ขวดฉีดน้ำกลั่น ฉีดล้างสารที่ค้างใน Beaker ผ่านกรวยกรองลง Volumetric flask เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรปริมาณ 1,600 – 1,800 ml ปิดจุก เขย่าให้สารละลายแล้วปรับปริมาตร

3.5 Murphy's reagent

3.5.1 ชั่ง Ammonium molybdate $\{(NH_4)_6.Mo_7O_{24}.4H_2O\}$ 12 กรัม และ Antimony potassium tartate ($KSbO.C_4H_4O_4$) 0.291 กรัม ใส่ Beaker ขนาด 100 ml เติมน้ำกลั่นพอประมาณ

3.5.2 เทสารละลายในข้อ 3.5.1 ผ่านกรวยกรองลงใน Volumetric flask ขนาด 2000 ml ใช้ขวดฉีดน้ำกลั่นฉีดล้างสารที่ติดค้างใน Beaker ผ่านกรวยกรองลง Volumetric flask เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรประมาณ 1500 ml

3.5.3 ค่อยๆเติม cone. H_2SO_4 148 ml ผ่านกรวยกรองลงในสารละลายข้อ 3.5.2 (เท cone. H_2SO_4) ลงในสารละลาย (ทำในตู้ดูดควัน) สารละลายมีความร้อน ควรทิ้งไว้ให้เย็น ปรับปริมาตรเป็น 2 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

3.6 2.5% Ascorbic acid solution

ละลาย Ascobic acid 2.5 กรัม ในน้ำกลั่น 100 ml (สารละลายนี้เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องได้ไม่เกิน 24 ชั่วโมง และหากแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จะเก็บได้ประมาณ 2 สัปดาห์)

3.7 std. 100 ppm Phosphorus

ชั่ง KH_2PO_4 (A.R. grade) ซึ่งผ่านการอบที่อุณหภูมิ 105–110 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง และเก็บไว้ใน Desiccator ให้เย็นก่อน ชั่ง 0.4394 กรัม ใส่ Beaker ขนาด 50 ml ละลายด้วยน้ำกลั่นเทผ่านกรวยกรองลง Volumetric flask ขนาด 1000 ml ใช้ขวดฉีดน้ำกลั่นฉีดล้างสารที่ติดค้างใน Beaker ผ่านกรวยกรองลง Volumetric flask เพื่อปรับปริมาตร

4. สารเคมีเพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้

4.1 1N NH_4OAc pH 7

ชั่ง NH_4OAc 77 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร หรืออาจเตรียมโดยใช้ cone. CH_3COOH 57 ml ใส่ในน้ำกลั่นประมาณ 600 ml เติม cone. NH_4OH 69 ml (เตรียมในตู้ดูดควัน) เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 900–950 ml ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นจึงปรับให้เป็น pH 7.0 โดยใช้ CH_3COOH และ NH_4OH แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

4.2 Stock standard solutions

4.2.1 std. 1000 ppm K

ชั่ง KCL (A.R. grade อบที่อุณหภูมิ 105–110 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง และเก็บไว้ใน Desiccator ให้เย็นก่อน) 1.9066 กรัม ใส่ Beaker ขนาด 50 ml ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วเทผ่านกรวยกรองลง Volumetric flask ขนาด 1000 ml ใช้ขวดฉีดน้ำกลั่นฉีดล้างสารที่ติดค้างใน Beaker ผ่านกรวยกรองลง Volumetric flask ปรับปริมาตร

ภาคผนวก ง สูตรคำนวณ

1.การคำนวณแบคทีเรียที่มีลักษณะการสร้างวงใสรอบโคโลนี

$$\text{Halo: Colony ratio} = \frac{\text{รัศมีบริเวณใสรอบโคโลนี}}{\text{รัศมีโคโลนี}}$$

2.การคำนวณปริมาณอินทรียวัตถุภายในดิน

$$\%OM = \{(\text{ml } K_2Cr_2O_7 \times N K_2Cr_2O_7) - (\text{ml } FeSO_4 \times N\ FeSO_4)\} \times \frac{0.003 \times 100}{\text{Wt. of Soil}} \times \frac{100}{77} \times \frac{100}{58}$$

3.การคำนวณวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์

$$\text{Extr.P (ppm)} = \frac{(\text{ppm from curve} \times \text{Final volume (ml)} \times \text{Extractant (ml)})}{\text{Aliq. (ml)} \times \text{wt. of soil (g)}}$$

4.การคำนวณวิเคราะห์หาปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้

$$\text{Extr.K} = \frac{\text{ppm from curve} \times (\text{Final volume (ml)} \times \text{Extraclant (ml)})}{(\text{aliq.(ml)} \times \text{wt. of Soil (g)})}$$

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	กัลยวรรธน์ อินถา
วัน เดือน ปี เกิด	7 สิงหาคม 2538
สถานที่เกิด	อุตรดิตถ์
วุฒิการศึกษา	พ.ศ. 2560 วท.บ. (จุลชีววิทยา), มหาวิทยาลัยพะเยา, จังหวัดพะเยา
ที่อยู่ปัจจุบัน	48/4 หมู่ 4 ต.ป่าคาย อ.ทองแสนขัน จ.อุตรดิตถ์ 53230
ผลงานตีพิมพ์	กัลยวรรธน์ อินถา และ สุภัค มหัทธนพรรค.(2564).การคัดเลือกและการระบุเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตจากดินในสวนลำไย จังหวัดพะเยา.งานประชุมวิชาการระดับชาติ พะเยาวิจัย ครั้งที่ 10, (2309-2318) กัลยวรรธน์ อินถา และ ศิริลักษณ์ สันพา. (2561). การใช้น้ำส้มควันไม้เพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อราบนผลิตภัณฑ์ไม้.งานประชุมวิชาการระดับชาติ พะเยาวิจัยครั้งที่ 7, (637-646)
รางวัลที่ได้รับ	2562 รางวัลนิสิตเกียรติยศ ด้านกิจกรรมเสริมหลักสูตร กิจกรรมบำเพ็ญประโยชน์และรักษาสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยพะเยา 2561 รางวัลนิสิตเกียรติยศ ด้านกิจกรรมเสริมหลักสูตร กิจกรรมบำเพ็ญประโยชน์และรักษาสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยพะเยา 2560 รางวัลนิสิตเกียรติยศ ด้านกิจกรรมเสริมหลักสูตร กิจกรรมบำเพ็ญประโยชน์และรักษาสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยพะเยา 2559 นิสิตดีเด่น ด้านกิจกรรมเสริมหลักสูตร ประเภทกิจกรรมบำเพ็ญประโยชน์และรักษาสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยพะเยา