

# การแยกและคัดเลือกจุลินทรีย์ย่อยสลายสารอินทรีย์ในพื้นที่พรุจังหวัดนราธิวาส

ฉวีวรรณ เหลืองวุฒิวิโรจน์ และเสาวลักษณ์ เมอร์เรลล์

สำนักเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน กรมพัฒนาที่ดิน

## บทคัดย่อ

การแยกและคัดเลือกจุลินทรีย์ย่อยสลายสารอินทรีย์ในพื้นที่พรุจังหวัดนราธิวาส ดำเนินการในปี พ.ศ. 2555-2556 โดยเก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบรากพืชจากพื้นที่เส้นทางศึกษาธรรมชาติป่าพรุสิรินธร ศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทอง และดินอินทรีย์บริเวณใจกลางพรุโต๊ะแดง มาคัดแยกจุลินทรีย์ทนกรดที่ย่อยสลายเซลลูโลส ย่อยโปรตีน และศึกษากิจกรรมเอนไซม์ย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์คาร์บอน อินทรีย์ไนโตรเจน และอินทรีย์ฟอสฟอรัส พบว่า ปริมาณ ชนิด และกิจกรรมของจุลินทรีย์ในพื้นที่พรุเส้นทางศึกษาธรรมชาติศูนย์วิจัยและศึกษาธรรมชาติป่าพรุสิรินธร มีมากกว่าพื้นที่ศูนย์ศึกษาพิกุลทอง โดยจุลินทรีย์ดินบริเวณรากต้นมะฮังไใหญ่ และต้นมะฮังไใหญ่เล็กซึ่งเป็นพืชเบิกนำมีความสามารถในการย่อยสลายอินทรีย์สารสูงกว่าดินบริเวณรากต้นดงหนไใหญ่ซึ่งเป็นพืชที่พัฒนาภายหลัง และจากการศึกษากิจกรรมจุลินทรีย์ย่อยสลายอินทรีย์สาร พบว่า เชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการย่อยเซลลูโลส ได้แก่ *Gliocladium viride* มีกิจกรรมเอนไซม์คาร์บอกซิเมทิลเซลลูเลสสูง 104.84 มิลลิยูนิตต่อมิลลิลิตร และ *Talaromyces* sp. สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสย่อยกระดาษกรองสูง 48.91 มิลลิยูนิตต่อมิลลิลิตร ในการย่อยอินทรีย์ฟอสฟอรัสพบเชื้อรา *Aspergillus* sp. ผลิตเอนไซม์ฟอสฟาเตสสูง 174.05 มิลลิยูนิตต่อมิลลิลิตร ส่วนจุลินทรีย์ย่อยโปรตีนผลิตเอนไซม์โปรตีเอสสูงที่ 5 วัน 15.19 มิลลิยูนิตต่อมิลลิลิตร เป็นแบคทีเรีย *Serratia marcescens*

คำสำคัญ : ดินเปรี้ยวจัด ดินอินทรีย์ จุลินทรีย์ย่อยสลายสารอินทรีย์

## หลักการและเหตุผล

จังหวัดนราธิวาส เป็นจังหวัดหนึ่งในภาคใต้ของประเทศไทย มีเนื้อที่ประมาณ 4,475.43 ตร.กม. หรือ 2,747,143.75 ไร่ พื้นที่ส่วนใหญ่เป็นป่าไม้และภูเขา มีพื้นที่พรุประมาณ 361,860 ไร่ เนื่องจากดินพรุเป็นดินที่เกิดจากการทับถมเน่าเปื่อยของซากพืชซากสัตว์ในพื้นที่น้ำท่วมขังเป็นเวลานานทำให้มีอินทรีย์วัตถุสะสมอยู่เป็นจำนวนมาก ถัดจากชั้นดินพรุลงไปเป็นชั้นดินเลนสีเทาปนน้ำเงิน (mud clay) ซึ่งมีส่วนประกอบของแร่ไพไรต์ (pyrite) ประมาณ 1-6 เปอร์เซ็นต์ สารประกอบไพไรต์เหล่านี้ เมื่อแห้งจะปลดปล่อยกรดกำมะถัน และแปรสภาพเป็นสารประกอบจาโรไซต์ (jarosite) (เจริญ, 2541) ทำให้ดินและน้ำเป็นกรดจัด ไม่เหมาะสมต่อการเกษตร โดยทั่วไปจะจัดการดินโดยใส่หินปูนฝุ่น หรือโดโลไมต์ เพื่อปรับ pH ของดินก่อน อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันได้มีการนำจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ มาใช้ประโยชน์เพิ่มขึ้น สำหรับภาคการเกษตรจุลินทรีย์ดินนับว่ามีบทบาทสำคัญในการสร้างสมดุลของระบบนิเวศ การควบคุมวัฏจักรการหมุนเวียนธาตุอาหารในดิน และการกักเก็บคาร์บอน โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่ดำรงชีวิตอยู่ในพื้นที่พรุจะต้องมีการปรับตัวเป็นพิเศษเพื่อให้อยู่อาศัยในสภาพที่ไม่เอื้ออำนวยนี้ จุลินทรีย์ที่อยู่ในพื้นที่ชนิดนี้จึงน่าจะมีคุณลักษณะที่พิเศษแตกต่างไปจากจุลินทรีย์ที่อยู่ในแหล่งทำธรรมชาติอื่น จึงควรมีการศึกษาการแยกและคัดเลือกจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในพื้นที่พรุ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ด้านการเกษตร เพื่อให้ได้เชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์และทราบคุณลักษณะ

ของจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้จากพื้นที่ป่าพรุ ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาจะเก็บรวบรวมไว้เป็นฐานข้อมูลทรัพยากรของประเทศ อีกทั้งยังเป็นประโยชน์ในการนำจุลินทรีย์เหล่านี้ไปพัฒนาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ โดยเฉพาะทางการเกษตรต่อไป วัตถุประสงค์ในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้เพื่อแยกและคัดเลือกจุลินทรีย์ทนกรดที่ย่อยสลายสารอินทรีย์เพื่อศึกษากิจกรรมเอนไซม์ที่จุลินทรีย์ที่ผลิตต่อการย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์คาร์บอน อินทรีย์ไนโตรเจน และอินทรีย์ฟอสฟอรัส กิจกรรมการตรึงไนโตรเจน และการผลิตฮอโมนและศึกษาคุณลักษณะของจุลินทรีย์ทนกรดที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ที่คัดเลือกได้ และจัดทำเป็นฐานข้อมูลเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ ต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

### 1. อุปกรณ์

- 1.1 อุปกรณ์เก็บตัวอย่างดิน
- 1.2 อุปกรณ์สำหรับการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

### 2. วิธีการ

#### 2.1 เก็บตัวอย่างดิน ในพื้นที่ศึกษา 3 พื้นที่ ได้แก่

- 1) พื้นที่เส้นทางศึกษาธรรมชาติศูนย์ฯ สิรินคร เก็บตัวอย่างดินอินทรีย์บริเวณรากพืชต้นสาละ ต้นสะเดา ต้นหว้า และต้นชอล์กแยกรา ต้นมะฮังใบใหญ่ ต้นมะฮังใบเล็ก และต้นตงหนใบใหญ่ รวมทั้งดินระหว่างต้นไม้ที่มีความลึก 3 ระดับ

- 2) พื้นที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทองฯ เก็บตัวอย่างดินในโครงการแก้มลิงดินแปลงที่ 1-6 ที่ความลึกระดับต่างๆ ตัวอย่างดิน Muck ในแปลงแปลงปาล์มน้ำมัน แปลงมะพร้าวกินยอด และดินเปรี้ยวตามธรรมชาติซึ่งเป็นพื้นที่นาร้างบริเวณพื้นที่ใกล้กับศูนย์พิกุลทองฯ

- 3) ดินอินทรีย์บริเวณใจกลางพรุโต๊ะแดง ที่ความลึกระดับต่างๆ 5 ระดับ ได้แก่ ผิวดิน ความลึก 0-20, 20-50, 50-70 และ 70-100 เซนติเมตร

#### 2.2 การแยกและคัดเลือกจุลินทรีย์ทนกรดที่ย่อยเซลลูโลส

- 1) การแยกเชื้อจุลินทรีย์ทนกรดที่ย่อยเซลลูโลสในอาหาร Selective media โดยใช้กระดาษกรองเป็นตัวแทนของเซลลูโลส เทสารละลายอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวที่ปรับ pH เป็นกรดแล้วให้ขุ่นกระดาษกรอง แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในตู้ควบคุมอุณหภูมิประมาณ 3-7 วัน จุลินทรีย์ที่เจริญเห็นเป็นโคโลนีบนกระดาษกรองจะทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็งที่มี Carboxymethyl cellulose (CMC) เป็นแหล่งคาร์บอน เก็บเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกจนเป็นเชื้อบริสุทธิ์ไว้ในอาหารเลี้ยงเชื้อของแต่ละชนิดเพื่อทำการคัดเลือกต่อไป

- 2) การคัดเลือกจุลินทรีย์ทนกรดที่ย่อยเซลลูโลส นำจุลินทรีย์ที่แยกเป็นเชื้อบริสุทธิ์มาทดสอบกิจกรรมการย่อยสลายเซลลูโลสในอาหาร walters cellulose โดยวัดความกว้างของแถบใสใต้ผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อทุกๆ สัปดาห์ เป็นเวลา 3 สัปดาห์ จุลินทรีย์ที่ปลดปล่อยเอนไซม์เซลลูเลสสูงจะเกิดความกว้างแถบใสมาก นำจุลินทรีย์ที่ผ่านการคัดเลือกขั้นแรก ทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสที่ย่อย CMC และย่อยกระดาษกรอง (Filter paper) ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว ที่ใช้ CMC และกระดาษกรองเป็น Substrate โดยบ่มในเครื่องเขย่าเชื้อ เก็บตัวอย่างทุก 2 วัน วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นระหว่างปฏิกิริยาของเอนไซม์กับ Substrate โดยวิธี DNS method นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร

#### 2.3. การแยกและคัดเลือกจุลินทรีย์ทนกรดที่ย่อยโปรตีน

1) การแยกเชื้อจุลินทรีย์ทนกรดที่ย่อยโปรตีน ตัวอย่างดินนำมาแยกเชื้อในอาหาร Gelatin agar ที่ปรับสภาพความเป็นกรดแล้ว บ่มเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เชื้อที่เจริญบนอาหาร Gelatin agar นำมา Cross streak บนอาหาร Skim's milk แยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ใน Slant เพื่อเก็บไว้คัดเลือกต่อไป

2) การคัดเลือกจุลินทรีย์ทนกรดที่ย่อยโปรตีน นำจุลินทรีย์ที่แยกได้ทดสอบการย่อยโปรตีน โดย Point inoculation ลงบนอาหาร Skim's milk วัดความกว้างของแถบใสที่เกิดขึ้น จุลินทรีย์ที่สามารถย่อยโปรตีนได้สูงจะเกิดแถบใสเป็นบริเวณกว้าง นำจุลินทรีย์ที่ผ่านการคัดเลือกขั้นแรกมาวิเคราะห์หากิจกรรมเอนไซม์ Protease โดยนำเชื้อเลี้ยงในอาหาร Tryptone-dextrose-yeast-extract broth นำไปเลี้ยงในตู้บ่มเชื้อชนิดเขย่า เก็บตัวอย่างสารละลายในระหว่างการเลี้ยงเป็นช่วงๆ นำมาเหวี่ยงแยกตะกอนและเก็บส่วนใสของสารละลายวิเคราะห์หากิจกรรมเอนไซม์ Protease

#### 2.4 การแยกและคัดเลือกจุลินทรีย์ทนกรดที่ย่อยอินทรีย์ฟอสฟอรัส

1) การแยกเชื้อจุลินทรีย์ย่อยอินทรีย์ฟอสฟอรัส โดยนำดินมา 1 กรัม ใส่ในน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วเจือจางสารละลายดินลงปฏิกิริยาละ 10 เท่า เป็น  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  ใส่สารละลายดินที่เจือจางแล้วลงในอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ Luria-Bertani agar แล้วเกลี่ยให้กระจายทั่วทั้งจานเลี้ยงเชื้อ (spread plate) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส หลังจาก 4 วันจะเกิดโคโลนีของเชื้อขึ้นบนผิวของอาหาร ทำการแยกเชื้อที่มีลักษณะที่แตกต่างกัน แต่ละโคโลนีที่เก็บไว้เป็นต้นต่อเชื้อจะเท่ากับ 1 สายพันธุ์

2) คัดเลือกแบคทีเรียที่ย่อยสลายอินทรีย์ฟอสฟอรัส ในอาหาร Phytate screening medium บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน ตรวจสอบประสิทธิภาพการย่อยสลายฟอสเฟต วัดส่วนใสที่เกิดขึ้นรอบโคโลนี นำจุลินทรีย์ที่ผ่านการคัดเลือกขั้นแรกมาวิเคราะห์หากิจกรรมเอนไซม์ Phytase

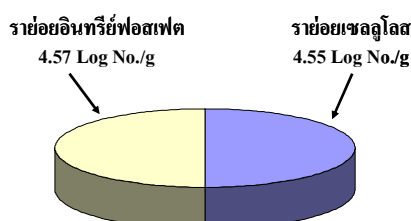
### ผลการศึกษาและวิจารณ์

จากการเก็บตัวอย่างดินจากพื้นที่ศูนย์ศึกษาการพัฒนาพิกุลทองฯ พื้นที่พรุสเส้นทางศึกษารวมชาติ ศูนย์ฯ สิรินคร และพื้นที่ใจกลางพรุสโตะแดง เพื่อศึกษาจุลินทรีย์ทนกรดในพื้นที่พรุ จ.นราธิวาส โดยดำเนินการแยกและคัดเลือกจุลินทรีย์ย่อยสลายสารอินทรีย์ ผลการศึกษา ดังนี้

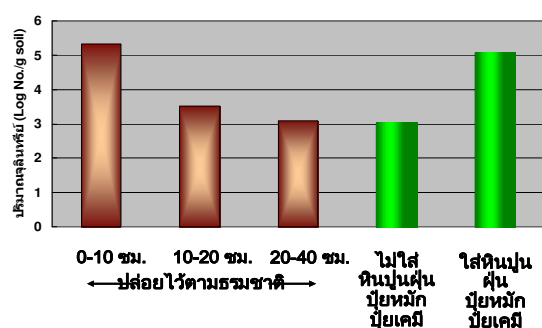
#### 1. ปริมาณจุลินทรีย์ย่อยอินทรีย์สาร

1.1 ปริมาณจุลินทรีย์ย่อยอินทรีย์สารพื้นที่ศูนย์ศึกษาพิกุลทอง พบเฉพาะเชื้อราเท่านั้น เป็นเชื้อราย่อยเซลลูโลสและเชื้อราย่อยอินทรีย์ฟอสเฟตมีปริมาณใกล้เคียงกัน 4.55 และ 4.57 Log No./g อาจเป็นเพราะดินมีความเป็นกรดจัด pH 4 เชื้อราซึ่งเป็นจุลินทรีย์ทนกรดและเจริญในช่วง pH กว้าง 4-8 จะเจริญได้ดีกว่าแบคทีเรียและแอคติโนมัยซิสซึ่งส่วนใหญ่จะเจริญในช่วง pH เป็นกลาง หรือด่างอ่อน (Brady and Weil, 2002; Alexander, 1977) และจากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อราย่อยเซลลูโลสในแปลงแก้งดินที่มีการจัดการดินแตกต่างกัน พบว่าแปลงที่ปล่อยไว้ตามธรรมชาติเชื้อราย่อยเซลลูโลสมีปริมาณลดลงเมื่อความลึกของดินมากขึ้น โดยที่ความลึก 0-10, 10-20 และ 20-40 เซนติเมตร มีปริมาณ 5.32, 3.51 และ 3.08 Log No./g ตามลำดับ จะเห็นว่าจุลินทรีย์ผิวดินมีปริมาณค่อนข้างสูง สำหรับแปลงที่มีการจัดการดินโดยใส่หินปูนฝุ่นปุ๋ยหมัก และปุ๋ยเคมี มีปริมาณเชื้อราย่อยเซลลูโลส 5.08 Log No./g สูงกว่าแปลงที่ไม่มีการจัดการ

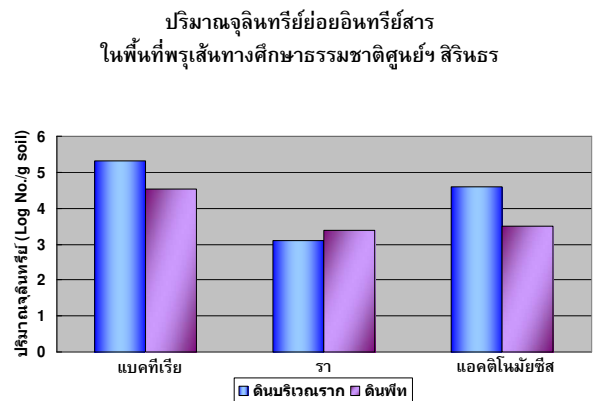
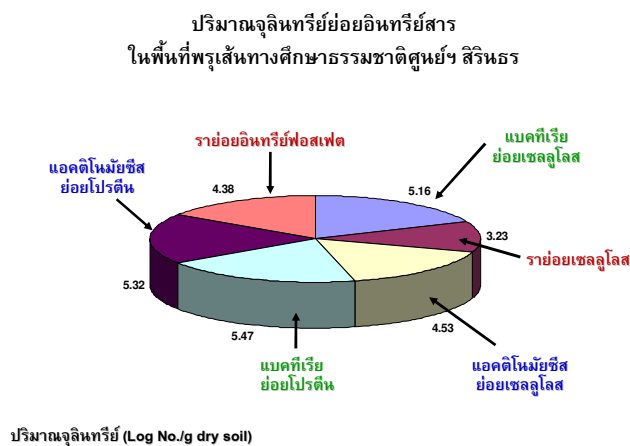
ปริมาณจุลินทรีย์ย่อยอินทรีย์สารพื้นที่ศูนย์ศึกษาพิกุลทอง



ปริมาณเชื้อราย่อยเซลลูโลสแปลงแก้งดินศูนย์ศึกษาพิกุลทอง

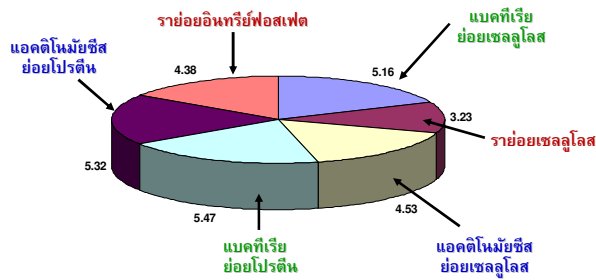


1.2 ปริมาณจุลินทรีย์ย่อยอินทรีย์สารในพื้นที่พุ่มเส้นทางศึกษาธรรมชาติศูนย์ฯ สิรินคร มีชนิดและปริมาณจุลินทรีย์มากกว่าพื้นที่ศูนย์ศึกษาพิบูลทอง ได้แก่จุลินทรีย์ย่อยเซลลูโลส พบทั้งแบคทีเรีย เชื้อรา และแอคติโนมัยซิส มีปริมาณ 5.16, 3.23 และ 4.53 Log No./g ตามลำดับ ส่วนจุลินทรีย์ย่อยโปรตีนพบแบคทีเรีย และแอคติโนมัยซิสมีปริมาณไม่แตกต่างกัน 5.47 และ 5.32 Log No./g ตามลำดับ สำหรับจุลินทรีย์ย่อยอินทรีย์ฟอสเฟตพบเพียงเชื้อราเท่านั้นมีปริมาณ 4.38 Log No./g และจากการเปรียบเทียบปริมาณจุลินทรีย์ย่อยเซลลูโลสบริเวณเส้นทางศึกษาธรรมชาติศูนย์ฯ สิรินคร พบว่าแบคทีเรียและแอคติโนมัยซิสบริเวณรากพืชมีปริมาณสูงกว่าดินที่เก็บนอกอาณาเขตรากพืช ทั้งนี้อาจเนื่องจากจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในดินบริเวณใกล้รากพืชซึ่งได้รับสารอาหารที่ถูกปลดปล่อยจากรากพืชตลอดเวลา กิจกรรมและปริมาณจุลินทรีย์ในบริเวณรากจึงสูงอย่างต่อเนื่อง และตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมมากกว่า (Kennedy, 2005)



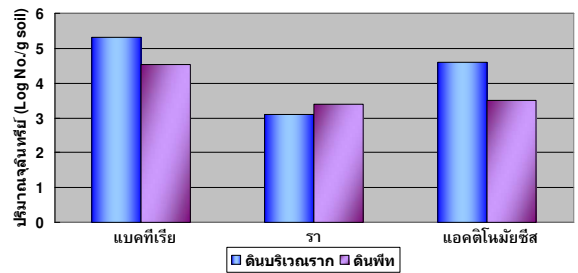
1.3 ปริมาณจุลินทรีย์ย่อยอินทรีย์สารพื้นที่พุ่มเส้นทางศึกษาธรรมชาติศูนย์ฯ สิรินคร มีชนิดและปริมาณจุลินทรีย์มากกว่าพื้นที่ศูนย์ศึกษาพิบูลทอง ได้แก่ จุลินทรีย์ย่อยเซลลูโลส พบทั้งแบคทีเรีย เชื้อรา และแอคติโนมัยซิส มีปริมาณ 5.16, 3.23 และ 4.53 Log No./g ตามลำดับ ส่วนจุลินทรีย์ย่อยโปรตีนพบแบคทีเรีย และแอคติโนมัยซิสมีปริมาณไม่แตกต่างกัน 5.47 และ 5.32 Log No./g ตามลำดับ สำหรับจุลินทรีย์ย่อยอินทรีย์ฟอสเฟตพบเพียงเชื้อราเท่านั้นมีปริมาณ 4.38 Log No./g และจากการเปรียบเทียบปริมาณจุลินทรีย์ย่อยเซลลูโลสบริเวณเส้นทางศึกษาธรรมชาติศูนย์ฯ สิรินคร พบว่า แบคทีเรียและแอคติโนมัยซิสบริเวณรากพืชมีปริมาณสูงกว่าดินที่เก็บนอกอาณาเขตรากพืช ทั้งนี้อาจเนื่องจากจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในดินบริเวณใกล้รากพืชซึ่งได้รับสารอาหารที่ถูกปลดปล่อยจากรากพืชตลอดเวลา กิจกรรมและปริมาณจุลินทรีย์ในบริเวณรากจึงสูงอย่างต่อเนื่อง และตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมมากกว่า (Kennedy, 2005)

ปริมาณจุลินทรีย์ย่อยอินทรีย์สาร  
ในพื้นที่พุ่มเส้นทางศึกษาธรรมชาติศูนย์ฯ สิรินคร



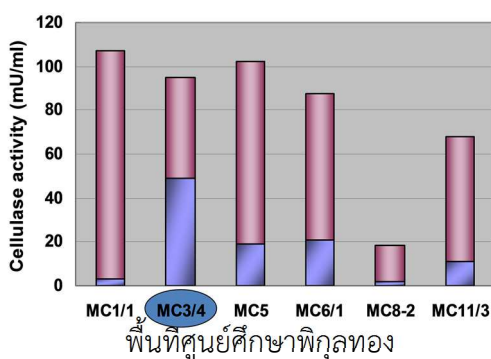
ปริมาณจุลินทรีย์ (Log No./g dry soil)

ปริมาณจุลินทรีย์ย่อยอินทรีย์สาร  
ในพื้นที่พุ่มเส้นทางศึกษาธรรมชาติศูนย์ฯ สิรินคร

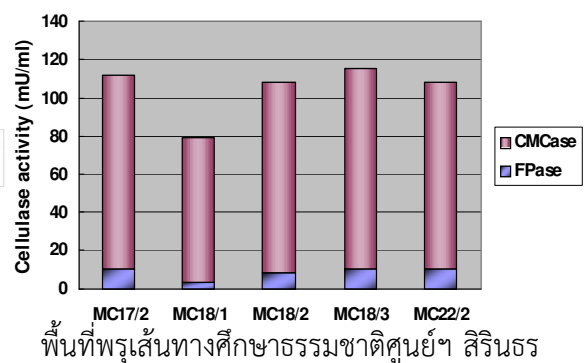


## 2. การคัดเลือกจุลินทรีย์ย่อยอินทรีย์สาร

2.1 การคัดเลือกจุลินทรีย์ย่อยเซลลูโลส ในพื้นที่ศูนย์ศึกษาพืชมงคลพบเชื้อราย่อยเซลลูโลสไอโซเลท MC1/1 ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสสูง 107.2 มิลลิยูนิตต่อมิลลิลิตร คัดเลือกได้จากแปลงแก้งดิน แปลงที่ 1 (ใช้น้ำชะล้าง) จำแนกเป็น *Penicillium janthinellum* รองลงมาได้แก่แปลงที่ 4 ปล่อยทิ้งร้างระดับความลึก 10-20 เซนติเมตร ไอโซเลท MC 5 ผลิตเอนไซม์เซลลูเลส 101.99 มิลลิยูนิตต่อมิลลิลิตร จำแนกเป็น *Trichoderma asperellum* ส่วนไอโซเลท MC 3/4 คัดเลือกได้จากแปลงที่ 3 (ใส่ปุ๋ย) จำแนกได้เป็น *Talaromyces* sp. ถึงแม้จะผลิตเอนไซม์เซลลูเลสรวมได้ 95.15 มิลลิยูนิตต่อมิลลิลิตร ไม่สูงเท่ากับ 2 ไอโซเลทแรก แต่เป็นเชื้อราที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสย่อยกระดาษกรอง (Filter paper cellulase - FPase activity) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ย่อยโครงสร้างเซลลูโลสที่ย่อยสลายยากในปริมาณสูง 48.91 มิลลิยูนิตต่อมิลลิลิตร ใกล้เคียงกับกิจกรรมเอนไซม์คาร์บอกซีเมทิลเซลลูเลส (Carboxymethyl cellulase - CMCase activity) ที่ย่อยโครงสร้างในส่วนที่ย่อยง่าย (Fan and Lee, 1983) โดยมีกิจกรรม 46.24 มิลลิยูนิตต่อมิลลิลิตร สำหรับเชื้อราย่อยเซลลูโลสที่คัดเลือกได้จากพื้นที่พุ่มเส้นทางศึกษาธรรมชาติศูนย์ฯ สิรินคร ได้แก่ ไอโซเลท MC 17/2 (*Trichoderma harzianum*) และไอโซเลท MC 18/3 (*Gliocladium viride*) ผลิตเซลลูเลสสูง 111.60 และ 114.74 มิลลิยูนิตต่อมิลลิลิตร คัดเลือกจากดินบริเวณรากต้นสะเดียว และบริเวณรากต้นหว้า ตามลำดับ Makoi-Joachim and Ndakidemi (2008) รายงานว่ามีปัจจัยสภาพแวดล้อมหลายประการที่มีผลต่อกิจกรรมเซลลูเลสในดิน เช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรดเป็นด่างของดิน ปริมาณน้ำ ออกซิเจน รวมถึงองค์ประกอบทางเคมีของอินทรีย์วัตถุ ชนิดของเศษซากพืช และแร่ธาตุในดิน เซลลูเลสสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้เริ่มแรกของการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพ และเคมีของดิน การย่อยสลายเซลลูโลสในดินช่วยปรับปรุงคุณภาพดิน และระบบนิเวศทางการเกษตรได้

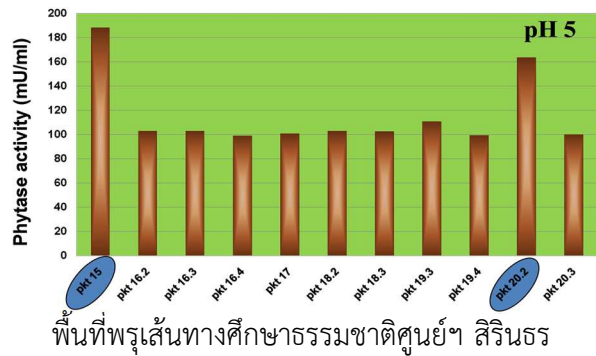
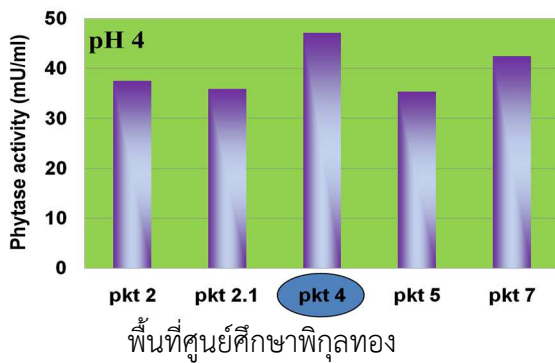


พื้นที่ศูนย์ศึกษาพืชมงคล

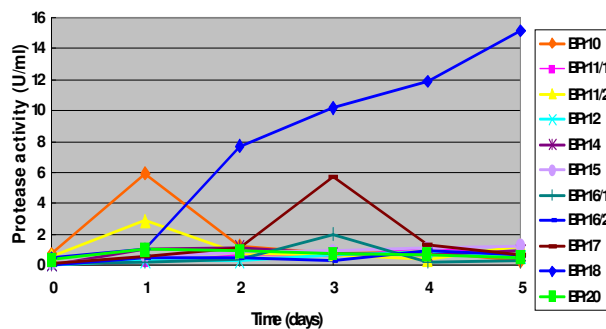
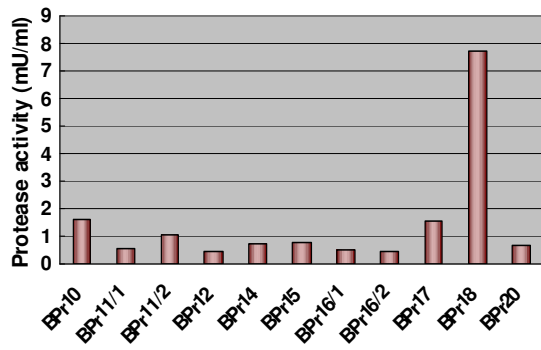


พื้นที่พุ่มเส้นทางศึกษาธรรมชาติศูนย์ฯ สิรินคร

2.2 การคัดเลือกจุลินทรีย์ย่อยอินทรีย์ฟอสฟอรัส ในพื้นที่ศูนย์ศึกษาพิกุลทองพบเชื้อรา ไอโซเลท pkt 4 จำแนกได้เป็น *Aspergillus* sp.ผลิตเอนไซม์ไฟเทสสูง 47.13 มิลลิยูนิตต่อมิลลิลิตร คัดเลือกได้จากแปลงแก้งดินแปลงที่ 4 ปล่อยทิ้งร้างระดับความลึก 0-10 เซนติเมตร ส่วนเชื้อราย่อยอินทรีย์ฟอสฟอรัสที่คัดเลือกจากพื้นที่พรุสเส้นทางศึกษาธรรมชาติศูนย์ฯ สิรินคร ได้แก่ไอโซเลท pkt 15 (*Aspergillus* sp.) และ pkt 20.2 (*Aspergillus fumigates*) ผลิตไฟเทสสูง 174.05 และ 150.39 มิลลิยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ คัดเลือกจากดินอินทรีย์บริเวณรากต้นสาละ และดินอินทรีย์ระหว่างต้นไม้ระดับความลึก 0-50 เซนติเมตร จะเห็นได้ว่าเชื้อราย่อยอินทรีย์ฟอสฟอรัสในพื้นที่พรุสเส้นทางศึกษาธรรมชาติศูนย์ฯ สิรินคร ผลิตเอนไซม์ไฟเทสสูงกว่าพื้นที่ศูนย์ศึกษาพิกุล ทั้งนี้อาจเนื่องจากไฟดินจะถูกยึดด้วยแรงมากที่สุดเมื่อความเป็นกรดเป็นด่างของดินอยู่ระหว่าง 3.5-4.5 และเกิดการรวมตัวเป็นสารประกอบกับออกไซด์และไฮดรอกไซด์ของเหล็กและอลูมิเนียมตกตะกอนในรูปเกลือที่ไม่ละลายในดินที่เป็นกรด (Turner *et al.*, 2002) ส่วนดินที่เป็นกลางและเป็นด่างอินทรีย์ฟอสฟอรัสจะถูกดูดซับน้อยที่สุด อัตราการย่อยสลายจะสูงขึ้นเมื่อความเป็นกรดเป็นด่างของดินสูงขึ้น

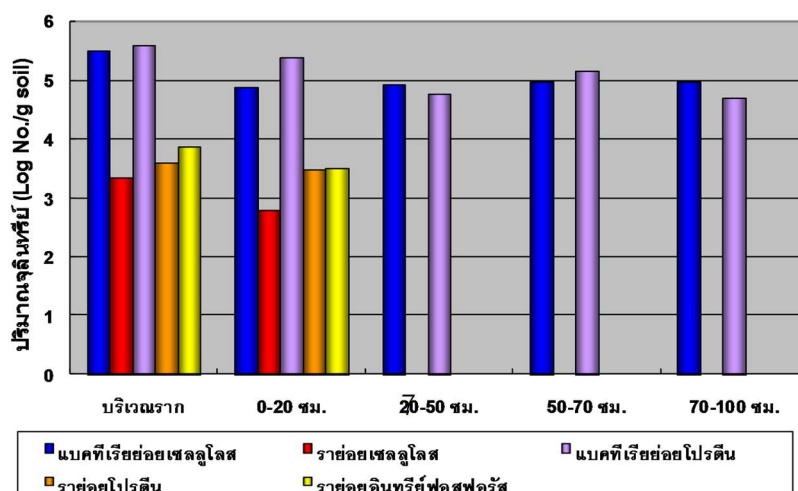


2.3 การคัดเลือกจุลินทรีย์ย่อยโปรตีน คัดเลือกได้เฉพาะแบคทีเรียย่อยโปรตีนในพื้นที่พรุสเส้นทางศึกษาธรรมชาติศูนย์ฯ สิรินครเท่านั้นจากดินบริเวณรากต้นหว้า โดยไอโซเลท Bpr 18 (*Serratia marcescens*) ผลิตเอนไซม์โปรตีเอสสูงสุดที่ 5 วัน มีค่า 15.19 มิลลิยูนิตต่อมิลลิลิตร เกลี่ยตลอดระยะเวลาการทดลอง 7.73 มิลลิยูนิตต่อมิลลิลิตร สูงกว่าไอโซเลทอื่นๆ

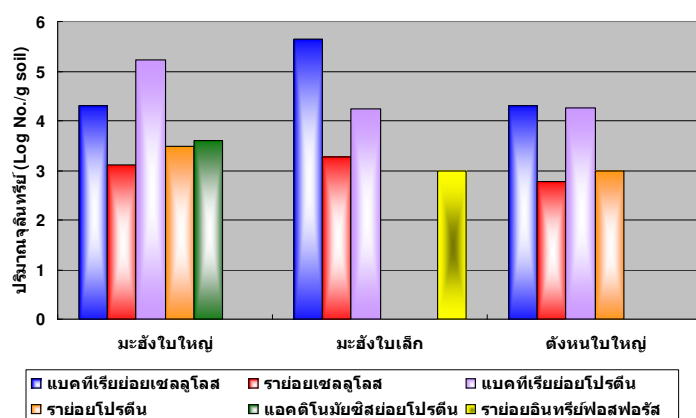


### 3. เปรียบเทียบจุลินทรีย์บริเวณรากพืชในพื้นที่กลางพรุโต๊ะแดงกับพืชเบิกนาในพื้นที่พรุเส้นทางศึกษาธรรมชาติ ศูนย์ฯ สิรินคร

3.1 ชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ย่อยอินทรีย์สารในพื้นที่กลางพรุโต๊ะแดง จากการศึกษาที่ระดับความลึกต่างๆ พบว่าบริเวณรากพืช และที่ความลึก 0-20 เซนติเมตร มีชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ไม่แตกต่างกันมากนัก กล่าวคือ พบแบคทีเรียและราย่อยเซลลูโลส 4.8-5.5 และ 2.8-3.36 Log No./g ตามลำดับ และพบแบคทีเรียและราย่อยโปรตีน 5.38-5.58 Log No./g ตามลำดับ ส่วนจุลินทรีย์ย่อยอินทรีย์ฟอสฟอรัสพบเฉพาะรากเท่านั้น มีปริมาณ 3.52-3.88 Log No./g สำหรับระดับความลึก 20-100 เซนติเมตรลงไป จะพบเฉพาะแบคทีเรียทั้งแบคทีเรียย่อยเซลลูโลส และแบคทีเรียย่อยโปรตีน เนื่องจากแบคทีเรียต้องการความชื้นสูงในการเจริญโดยปกติอยู่ในช่วง 50-75 เปอร์เซ็นต์ ของความจุความชื้นในดิน ส่วนเชื้อราต้องการความชื้นน้อยกว่าแบคทีเรียหากดินมีความชื้นประมาณ 85-100 เปอร์เซ็นต์ ของความจุความชื้นในดิน จะพบเชื้อราและแอคติโนมัยซีส์ได้ยากมาก (Brady and Weil, 2002) อย่างไรก็ตามปริมาณแบคทีเรียที่ 5 ระดับความลึกพบว่ามีค่าใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่าการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ในพื้นที่ป่าพรุที่มีการสะสมอินทรีย์สารในสภาพน้ำท่วมขังและเป็นกรดจัดจะเป็นบทบาทหน้าที่ของแบคทีเรียพวก Facultative anaerobe ซึ่งสามารถเจริญได้ทั้งสภาพที่มีและไม่มีออกซิเจน



3.2 ชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ย่อยอินทรีย์สารรากพืชเบิกนำพื้นที่พรุเส้นทางศึกษาธรรมชาติศูนย์ฯ สิริรินธร จากการศึกษาพบว่าจุลินทรีย์บริเวณรากมะฮังไใหญ่พบจุลินทรีย์ 5 ชนิด ขณะที่บริเวณรากมะฮังไเล็กและตั้งหนใบใหญ่พบจุลินทรีย์เพียง 4 ชนิด โดยพบแบคทีเรียในปริมาณสูงและมีความผันแปรมีค่าระหว่าง 4.23-5.65 Log No./g ส่วนเชื้อราามีปริมาณต่ำกว่าและค่อนข้างคงที่ 3-3.48 Log No./g และพบแอคติโนมัยซิสที่ย่อยโปรตีนเท่านั้น



3.3 ความสามารถของจุลินทรีย์ในการย่อยสารอินทรีย์ จากการคัดเลือกชั้นแรกพบว่าจุลินทรีย์ดินบริเวณรากต้นมะฮังไใหญ่และต้นมะฮังไเล็กซึ่งเป็นพืชเบิกนำมีความสามารถในการย่อยสลายอินทรีย์สารสูงกว่าจุลินทรีย์ดินบริเวณรากต้นตั้งหนใบใหญ่ซึ่งเป็นพืชที่พัฒนายาวหลัง ส่วนพื้นที่กลางพรุโต๊ะแดงพบว่าความสามารถของแบคทีเรียและราในการย่อยสลายเซลลูโลส และแบคทีเรียย่อยโปรตีนมีประสิทธิภาพปานกลาง ทั้งที่ผิวดินและทุกระดับความลึกของดิน 4 ระดับ ยกเว้นความสามารถในการย่อยสลายอินทรีย์ฟอสฟอรัสมีแนวโน้มลดลงเมื่อความลึกมากขึ้น และไม่พบร่ายย่อยโปรตีน

ตารางที่ 1 ชนิดจุลินทรีย์และความสามารถย่อยสลายสารอินทรีย์

| หมายเลข<br>จุดเก็บ<br>ตัวอย่าง       | รายละเอียด                  |                  | ย่อยเซลลูโลส |    | ร่ายย่อย<br>อินทรีย์<br>ฟอสฟอรัส | ย่อยโปรตีน |    |
|--------------------------------------|-----------------------------|------------------|--------------|----|----------------------------------|------------|----|
|                                      | ชื่อแปลง                    | ความลึก<br>(ซม.) | แบคทีเรีย    | รา |                                  | แบคทีเรีย  | รา |
| เส้นทางศึกษาธรรมชาติศูนย์ฯ สิริรินธร |                             |                  |              |    |                                  |            |    |
| 1                                    | ดินบริเวณรากต้นมะฮังไใหญ่   | -                | *            | *  | -                                | ***        | *  |
| 2                                    | ดินบริเวณรากต้นมะฮังไเล็ก   | -                | **           | -  | ***                              | **         | -  |
| 3                                    | ดินบริเวณรากต้นตั้งหนใบใหญ่ | -                | *            | -  | -                                | **         | ** |
| พื้นที่กลางพรุโต๊ะแดง                |                             |                  |              |    |                                  |            |    |
| 4                                    | ความลึกระดับต่างๆ           | ผิวดิน           | **           | ** | **                               | **         | -  |
| 5                                    |                             | 0-20             | **           | ** | **                               | **         | -  |

|   |        |    |    |   |    |   |
|---|--------|----|----|---|----|---|
| 6 | 20-50  | ** | ** | - | ** | - |
| 7 | 50-70  | ** | ** | * | ** | - |
| 8 | 70-100 | ** | ** | - | ** | - |

หมายเหตุ : \* หมายถึง ความสามารถย่อยสารอินทรีย์น้อย

\*\* หมายถึง ความสามารถย่อยสารอินทรีย์ปานกลาง

\*\*\* หมายถึง ความสามารถย่อยสารอินทรีย์สูง

### สรุป

1. ในพื้นที่พฤษภาคมเส้นทางศึกษาธรรมชาติศูนย์ฯ สิริธรมีปริมาณและชนิดจุลินทรีย์มากกว่าพื้นที่ศูนย์ศึกษาพิบูลทอง พบมากในดินบริเวณรากพืชสูงกว่านอกอาณาเขตรากพืช
2. การใส่ปุ๋ยต่างๆ ในการจัดการดิน เช่น การใส่หินปูนฝุ่นปรับความเป็นกรดเป็นด่างของดิน การใส่ปุ๋ยหมักเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานให้กับจุลินทรีย์ และการใส่ปุ๋ยเคมีเพิ่มธาตุอาหาร ส่งผลให้ปริมาณจุลินทรีย์ในดินเพิ่มขึ้น
3. จุลินทรีย์ย่อยอินทรีย์สารที่มีกิจกรรมสูงส่วนใหญ่เป็นเชื้อรา โดยที่เชื้อราย่อยเซลลูโลส ได้แก่ *Talaromyces* sp., *Penicillium janthinellum*, *Trichoderma asperellum*, *Trichoderma harzianum* และ *Gliocladium viride* เชื้อราย่อยอินทรีย์ฟอสฟอรัส ได้แก่ *Aspergillus* sp. และ *Aspergillus fumigates* ส่วนจุลินทรีย์ย่อยโปรตีนเป็นแบคทีเรีย *Serratia marcescens*
4. จุลินทรีย์ดินบริเวณรากต้นมะฮังไ้ใหญ่และต้นมะฮังไ้เล็กซึ่งเป็นพืชเบิกนำมีความสามารถในการย่อยสลายอินทรีย์สารสูงกว่าดินบริเวณรากต้นตังหนไ้ใหญ่ซึ่งเป็นพืชที่พัฒนากายหลัง
5. ความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส และโปรตีนของจุลินทรีย์ในพื้นที่กลางพรุโต๊ะแดงมีประสิทธิภาพปานกลางพบทุกระดับความลึกของดิน ยกเว้นความสามารถในการย่อยสลายอินทรีย์ฟอสฟอรัสมีแนวโน้มลดลงเมื่อความลึกมากขึ้น และไม่พบราย่อยโปรตีน

### เอกสารอ้างอิง

- เจริญ เจริญจำรัสชีพ และบรรเจิดลักษณ์ จินตฤทธิ์. 2541. การจัดการดินเชิงอินทรีย์เพื่อการเกษตรแบบยั่งยืน และการอนุรักษ์สิ่งแวดล้อมในพื้นที่พฤษภาคม. กรมพัฒนาที่ดิน, กรุงเทพฯ. 120 หน้า
- Caldwell, B.A. 2005. Enzyme activities as a component of soil biodiversity: A review. *Pedobiologia*. 49: 637-644.
- Cosgrove, D.J. 1977. Microbial transformations in the phosphorus cycle. *Advances in Microbial Ecology*. 1: 95-134.
- Dick, R.P., J.A. Sandor, and N.S. Eash. 1994. Soil enzyme activities after 1500 years of terrace agriculture in the Colca Valley, Peru. *Agric. Ecosyst. Environ.* 50: 123-131.
- Eivazi, F., and M.A. Tabatabai. 1977. Phosphates in soils. *Soil Biol. Biochem.* 9: 167-172.
- Makoi-Joachim, H.J.R., and P.A. Ndakidemi. 2008. Selected soil enzyme: Examples of their potential roles in the ecosystem. *African J. Biotech.* 7(3): 181-191.
- Milko, A. J., M. T. Hernandez, Z. Rengel, P. Marschner, and M. L. Mora. 2008 a. Isolation of culturable phosphobacteria with both phytate-mineralization and phosphate-

- solubilization activity from the rhizosphere of plants grown in a volcanic soil. *Biol Fertil Soils*. 44: 1025-1034.
- Milko, J., O. Martinez, F. Maruyama, P. Marshchner, and M. Mora. 2008 b. Current and future biotechnological applications of bacterial phytases and phytase-producing bacteria. *Microbes Environ*. 23: 182-191.
- Ladd, J.N. and R.B. Jackson. 1982. Nitrogen in agricultural soils, *In* Stevenson, F.J., (ed.), *Am. Soc. Agron.*, WI. pp. 173-228.
- Stemmer M, M.H Gerzabak and E. Kandeler. 1999. Invertase and xylanase activity of bulk soil and particle-size fractions during maize straw decomposition. *Soil Biology and Biochemistry*. 31: 9-18.
- Stevenson, F.J. 1986. Cycles of soil: Carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients. John Wiley and Sons, New York. 380 p.
- Sylvia, D.M., J.J. Fuhrmann, P.G. Hartel and D.A. Zuberer. 2005. Principles and Applications of Soil Microbiology (2nd ed.). Pearson Education Inc., 640 p.
- Paul, E. A. and F.E. Clark. 1989. Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press, INC. California. 275 p.