การสำรวจปริมาณของจุลินทรีย์ดินที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตรในพื้นที่ปลูกมันสำปะหลัง จังหวัดชลบุรี

Survey on population of beneficial soil microorganisms for agriculture from cassava fields in Chonburi province

บุษราพร ไชยพันธ์ กรรณิกา มาลา และภัทรารัตน์ เทียมเก่า

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทนำ

มันสำปะหลัง

ชื่อสามัญ : **Cassava หรือ Tapioca**

ชื่อวิทยาศาสตร์ : ***Manihot esculenta*** **L.Crantz**

- ปลูกได้ง่ายในพื้นที่เขตร้อนและเขตร้อนชื้น
- นิยมปลูกมากในประเทศไทยโดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
- **ข้อดี** สามารถปลูกให้ขึ้นและลงหัวได้ในดินดอนเกือบทุกประเภท
- ผลิตภัณฑ์มันสำปะหลัง เช่น มันเส้น มันอัดเม็ด และแป้งมันสำปะหลัง

- ปัจจุบันประเทศไทยเป็นผู้ส่งออกผลิตภัณฑ์มันสำปะหลังรายใหญ่ของโลก

- อันดับ 3 ของโลก (รองจากประเทศบราซิลและไนจีเรีย)

พื้นที่เพาะปลูก	8.90	ล้านไร่
ผลผลิต / ปี	31.81	ล้านตัน

(สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2559)

มูลค่าส่งออก / ปี	7.07	แสนล้านบาท

(กระทรวงพาณิชย์, 2558)

ปริมาณและกลุ่มจุลินทรีย์ในดิน ขึ้นอยู่กับ . . .

- ลักษณะของดิน
- พืชปลูก
- สภาพแวดล้อม
- ระบบนิเวศ

บทบาทของจุลินทรีย์ดิน

- ย่อยสลายสารอินทรีย์
- เปลี่ยนรูปของธาตุอาหาร
- หมุนเวียนธาตุอาหารในดิน
- ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

การเกษตรแบบเชิงเดี่ยว

สถานการณ์ความหลากหลายทางชีวภาพ
ในระบบนิเวศเสื่อมโทรม

โดยเฉพาะจุลินทรีย์ดินซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีบทบาทสำคัญ
ต่อการอนุรักษ์ การจัดการ และการใช้ประโยชน์ของระบบนิเวศเกษตร

วัตถุประสงค์

ศึกษาปริมาณของจุลินทรีย์ดินที่อยู่ในระบบการเกษตร รวมถึงความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารในดิน และความอุดมสมบูรณ์ของดินที่มีผลต่อปริมาณของจุลินทรีย์ดินในพื้นที่ปลูกมันสำปะหลัง

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

สำรวจและเก็บตัวอย่างดินในแปลงมันสำปะหลังพันธุ์เกษตรศาสตร์ 50 ในชุดดินบางละมุง เขตจังหวัดชลบุรี

- วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design; CRD) ปัจจัยที่ศึกษาคืออายุมันสำปะหลัง
- เก็บดินที่ความลึก 0-30 เซนติเมตร บริเวณรอบรากพืชโดยใช้ soil tube
- บันทึกข้อมูลเบื้องต้น ได้แก่ จุดพิกัดเก็บตัวอย่างดิน ข้อมูลการใส่ปุ๋ย ประวัติการปลูกพืช และการจัดการแปลง จากเกษตรกร

1. การวิเคราะห์ดินทางเคมี

Parameters	Method
pH	pH meter 1:1 ดิน/น้ำ
EC	EC meter 1:5 ดิน/น้ำ
Organic matter	Lost on ignition
Cation exchange capacity (CEC)	ammonium acetate pH 7.0 method-centrifuge modification
Available P	Bray II
Total N	Kjeldahl method
Extractable K	น้ำยาสกัด NH_4OAc ด้วยเครื่อง Atomic absorption spectrophotometry (AAS)

2. การศึกษาจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตร

ใช้วิธีการเจือจางลำดับส่วน (serial dilution) และแผ่กระจายเชื้อจุลินทรีย์ให้ทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยแท่งแก้ว (spread plate)

Table 1 Culture media used for cultivation of beneficial microorganisms.

Microorganisms	Media
Nitrogen fixing bacteria	Nitrogen free agar medium
Cellulolytic fungi	Carboxyl methyl cellulose agar medium
Cellulolytic bacteria	Rivere agar medium
Phosphate solubilizing microorganisms	Pikovskaya's agar medium
Potassium solubilizing microorganisms	Aleksandrov's agar medium

ตรวจนับปริมาณแบคทีเรียที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดเมื่อครบ 3 วัน

ตรวจนับปริมาณเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดเมื่อครบ 7 วัน

3. การศึกษาเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา

❑ การตรวจนับสปอร์เชื้อราในดิน

ใช้วิธี Wet sieving and decanting method (Gerdeman and Nicolsan, 1963) และ modified sucrose centrifugation (Daniels and Skipper, 1982)

❑ การประเมินการเข้าอยู่อาศัยของเชื้อราในรากพืช

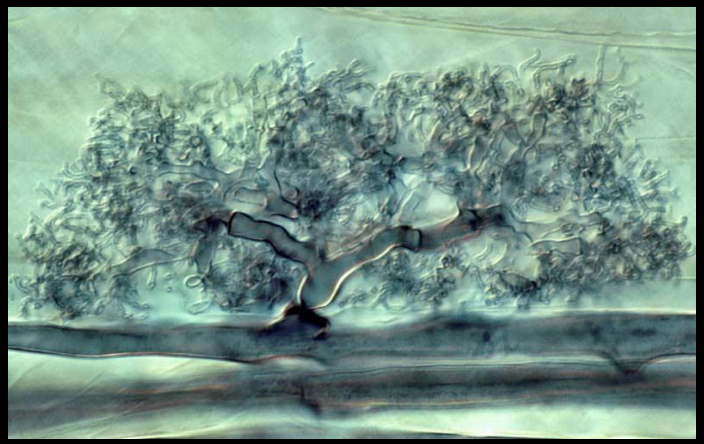
ใช้วิธีการของ Phillip and Hayman (1970) และ Trouvelot's method (1986)

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

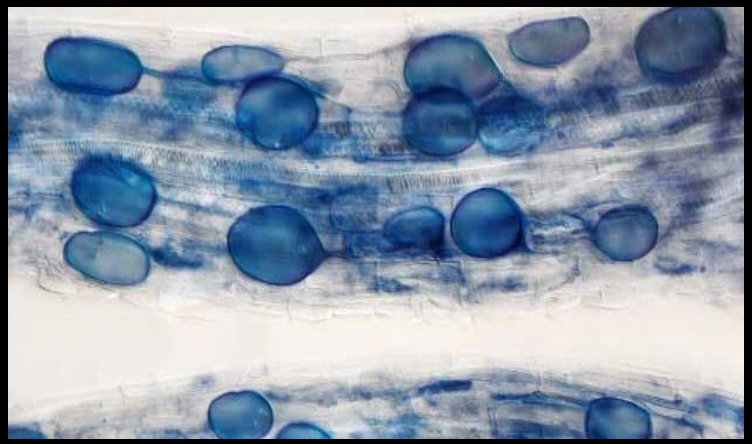
วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA)ประเมินความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Ducan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

การประเมินการเข้าอยู่อาศัยของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในรากพืช

- ลักษณะของเส้นใยภายในเซลล์ 2 ลักษณะ คือ Arbuscule และ Vesicle



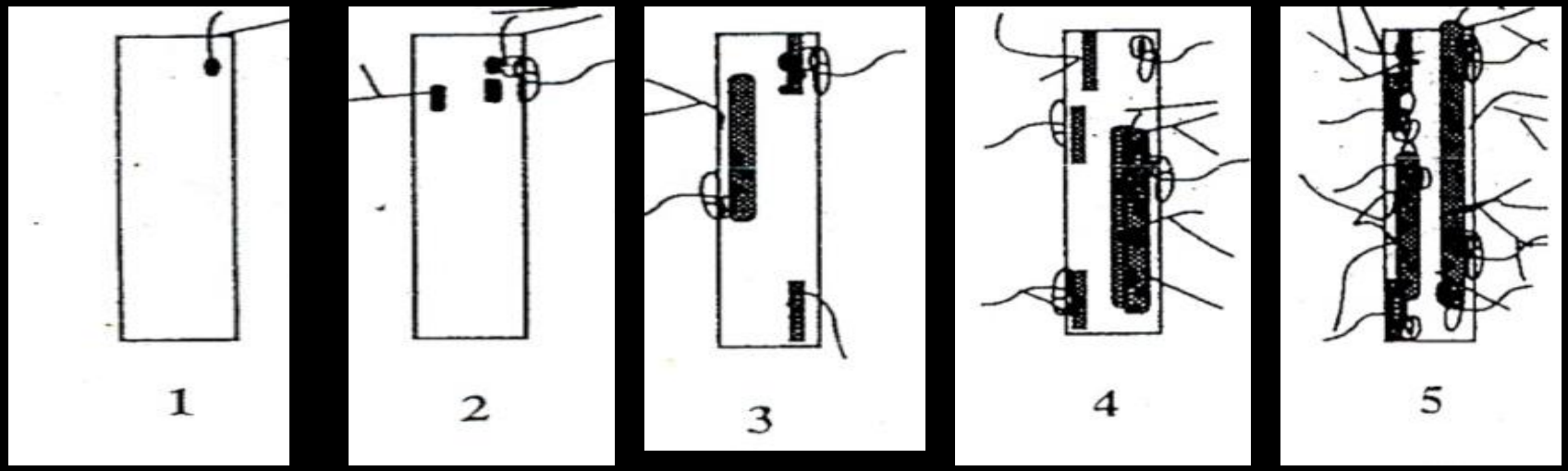
Arbuscule



Vesicle

ภาพตัวอย่างโครงสร้างของเส้นใยเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาภายในเซลพืช

การประเมินการเข้าอยู่อาศัยของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในรากพืช



<1%(n_1) <10%(n_2) 11–50% (n_3) 51–90%(n_4) >90%(n_5)

สมการคำนวณ % colonization

$$\%\text{colonization (M)} = \frac{95(n5)+70(n4)+30(n3)+5(n2)+(n1)}{n}$$

ที่มา http://file.scirp.org/Html/10-7300763_42359.htm

ผลและวิจารณ์การทดลอง

ผลการวิเคราะห์ดินทางเคมี

Table 2 Chemical properties of soil in each field of study.

Stage (month)	pH	EC (dS/m)	CEC (cmol/kg)	OM (%)	N (%)	Avai. P (mg/kg)	K (mg/kg)
1	3.66	0.03 c	7.88	0.33	0.02	2.35 b	10.65 b
5	3.57	0.07 b	12.38	0.25	0.01	75.57 a	71.25 a
8	3.77	0.06 b	11.25	0.21	0.01	76.72 a	59.97 a
11	3.59	0.13 a	11.25	0.21	0.01	71.39 a	57.3 a
F- test	ns	**	ns	ns	ns	**	*
CV (%)	5.38	13.6	26.32	49.66	49.63	8.29	58.36

แปลงมันสำปะหลังทั้ง 4 ช่วงอายุมีความอุดมสมบูรณ์ต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับเกณฑ์ที่เหมาะสมของธาตุอาหารในดินสำหรับการปลูกมันสำปะหลังทางภาคตะวันออกของไทย (กรมวิชาการเกษตร, 2537)

ผลการศึกษาจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตร

Table 3 The amount of beneficial fungi in the field of study.

Stage (month)	Amount of microorganisms (CFU/g)		
	Cellulolytic fungi	Potassium solubilizing fungi	Phosphate solubilizing fungi
1	1.8×10^{5} ab	5.0×10^{4} c	4.9×10^{3} b
5	1.0×10^{5} b	6.7×10^{4} bc	9.3×10^{3} b
8	1.4×10^{5} b	1.0×10^{5} ab	6.2×10^{3} b
11	2.5×10^{5} a	1.2×10^{5} a	3.2×10^{4} a
F- test	*	*	**
CV (%)	42.35	38.82	29.66

**significant at $p<0.01$ *Significant at $p<0.05$ ns= non significant values followed by the same lowercase letter in the same column are not significantly difference at $p<0.05$

Table 4 The amount of beneficial bacteria in the field of study.

Stage (month)	Amount of microorganisms (CFU/g)			
	Cellulolytic bacteria	Potassium solubilizing bacteria	Phosphate solubilizing bacteria	Nitrogen fixing bacteria
1	8.0×10^4 b	4.0×10^4	2.9×10^4 c	9.3×10^4 b
5	8.0×10^4 b	4.1×10^4	6.3×10^4 bc	7.4×10^4 b
8	9.1×10^4 b	1.4×10^4	1.2×10^5 b	8.2×10^4 b
11	2.6×10^5 a	3.3×10^4	2.1×10^5 a	1.1×10^5 a
F- test	**	ns	*	*
CV (%)	35.60	54.15	46.04	19.44

การศึกษาของ วรรณลดา (2558) ศึกษาปริมาณของจุลินทรีย์ดินบริเวณรอบรากหญ้าแฝกที่มีอายุ 1 ปี และไม่มีการปลูกหญ้าแฝก แสดงให้เห็นว่า **ปริมาณของจุลินทรีย์ในดินเปลี่ยนแปลงตามปัจจัยด้านพืช** สอดคล้องกับดินที่ศึกษาพบว่าแปลงอายุ 11 เดือน พบปริมาณจุลินทรีย์ดินมากที่สุด (มากกว่าแปลงอายุ 8 เดือน 5 เดือน และ 1 เดือน ตามลำดับ)

ผลการศึกษาเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา

Table 5 Percentage of AMF colonization in plant roots and spores of AMF in soil.

Stage (month)	Number of spore (spore/g soil)	Colonization in root (%)
1	0.73 c	2.23 b
5	0.79 c	2.31 b
8	1.02 b	3.56 a
11	1.24 a	3.72 a
F- test	**	**
CV (%)	7.82	10.56

ปัจจัยที่ส่งเสริมให้สปอร์ของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซางอกและเจริญเข้าสู่รากพืช ได้แก่ ความชื้นของดิน (สมจิต, 2549) ปริมาณอินทรียวัตถุ (Guar *et at*.,1998) และสารที่รากพืชปลดปล่อยออกมา (root exudate)

สรุปผลการทดลอง

1. ดินบริเวณที่ศึกษา มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ ซึ่งไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ดิน จึงพบจุลินทรีย์ดินในปริมาณที่ต่ำ แต่ปริมาณจุลินทรีย์ดินเพิ่มมากขึ้นเมื่อพืชมีอายุมากขึ้น

2. แปลงมันสำปะหลังที่มีอายุ 11 เดือน พบปริมาณเชื้อราและแบคทีเรียย่อยสลายเซลลูโลส เชื้อราละลายโพแทสเซียม เชื้อราและแบคทีเรียละลายฟอสเฟต และแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอิสระพบมากที่สุด

3. แปลงมันสำปะหลังที่มีอายุ 11 เดือน พบจำนวนสปอร์และการเข้าอยู่อาศัยในรากพืชของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซามากที่สุด

4. สามารถนำข้อมูลไปปรับใช้กับการทำการเกษตร

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก
ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

THANK YOU

ข้อมูลการจัดการแปลงและการใช้ที่ดิน

- **การใช้ปุ๋ย**

✓ ใช้ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15, 21-0-0, 15-5-20

✓ อัตรา 50 กก./ไร่

✓ ใส่หลังปลูกประมาณ 2-3 เดือน

- **การปลูกพืช**

✓ ปลูกสับปะรด สลับกับการปลูกมันสำปะหลัง

- **การให้น้ำ**

✓ พืชได้รับน้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติ (น้ำฝน)

วิธีการศึกษาจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตร

- นำตัวอย่างดินมาทำการเจือจางลำดับส่วน (dilution)
- ใช้ความเข้มข้นที่ 10^{-3} และ 10^{-4} ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร
- Spread ลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อที่จำเพาะกับจุลินทรีย์แต่ละชนิด (ที่ผ่านการการฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที)
- บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 30–35 องศาเซลเซียส

ตรวจนับปริมาณเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดเมื่อครบ 7 วัน

ตรวจนับปริมาณแบคทีเรียที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดเมื่อครบ 3 วัน

วิธีการศึกษาเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา

❑ การตรวจนับสปอร์เชื้อราในดิน

ใช้วิธี Wet sieving and decanting method (Gerdeman and Nicolsan, 1963) และ modified sucrose centrifugation (Daniels and Skipper, 1982)

นำดิน 200 กรัมใส่ในบีกเกอร์ เติมน้ำ 1000 มิลลิลิตร

↓

คนให้ดินแตกตัว ทิ้งไว้ 10 วินาที

↓

เทผ่านตะแกรงร่อนขนาด 40, 60, 150, และ 230 mesh ตามลำดับ

ตะกอนดินบนตะแกรงร่อนขนาด 40 mesh ใส่ในจานเลี้ยงเชื้อเพื่อตรวจนับใต้กล้องจุลทรรศน์

ตะกอนดินบนตะแกรงร่อนขนาด 60, 150, และ 230 mesh ใส่ในหลอดพลาสติก

ปั่นเหวี่ยง ที่ 4000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที

เทน้ำใสเหนือตะกอนทิ้ง และเติมสารละลายซูโครส 40%

ปั่นเหวี่ยงที่ 4000 รอต่อนาที เป็นเวลา 2 นาทีตรวจนับภายใต้กล้องจุลทรรศน์

❑ การประเมินการเข้าอยู่อาศัยของเชื้อราในรากพืช

ใช้วิธีการของ Phillip and Hayman (1970) และ Trouvelot's method (1986)

เก็บตัวอย่างรากและล้างให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น

↓

ต้มใน KOH 5–10 % ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5–10 นาที

↓

ต้มในกรด HCl 1 % เป็นเวลา 3–4 นาที

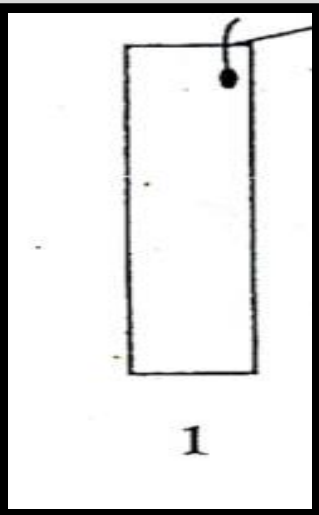
↓

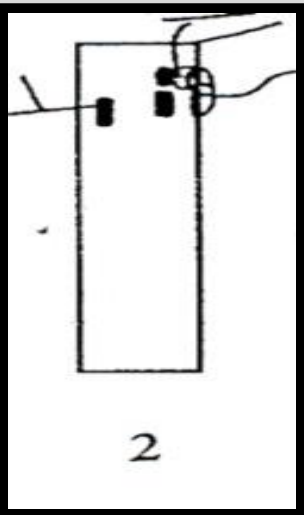
ย้อมสีด้วย trypan blue เป็นเวลา 10–20 นาที

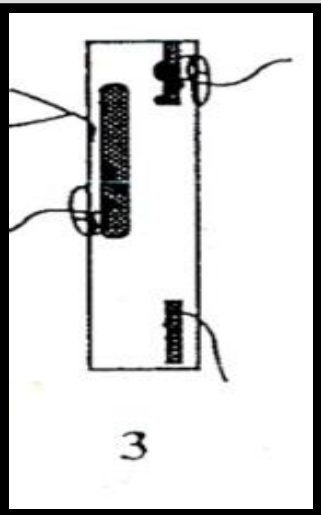
↓

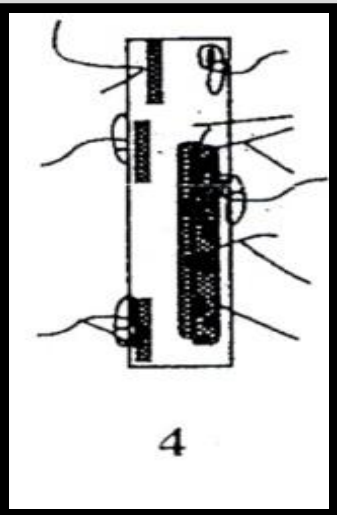
ตรวจนับเปอร์เซ็นต์การเข้าอยู่อาศัยของเชื้อราใต้กล้องจุลทรรศน์

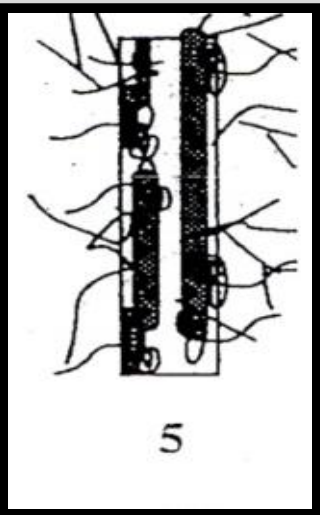
- จำนวน 30 ราก /ตัวอย่าง ตัดรากให้มีความยาว 1 เซนติเมตร
- ประเมินจากพื้นที่ทั้งหมดของราก (1 cm.)











<1%(n_1) <10%(n_2) 11–50% (n_3) 51–90%(n_4) >90%(n_5)

สมการคำนวณ % colonization

$$\%\text{colonization (M)} = \frac{95(n5)+70(n4)+30(n3)+5(n2)+(n1)}{n}$$

ที่มา http://file.scirp.org/Html/10-7300763_42359.htm

ความต้องการธาตุอาหารของมันสำปะหลัง

10-12 เดือน

- ทำการเก็บเกี่ยว

- ระยะสะสมแป้งของมันสำปะหลัง
- จะเริ่มดึงธาตุอาหารจากใบ ลำเลียงผ่านทางลำต้นเพื่อนำไปสะสมเป็นหัวมันสำปะหลัง
- ต้องการโปแตสเซียมสูง
- โปแตสเซียมมีส่วนช่วยในการขยายท่อลำเลียงอาหาร และทำให้ขบวนการลำเลียงอาหารมาสะสมที่หัวมันสำปะหลังเป็นไปได้อย่างสมบูรณ์ ส่งผลให้มันสำปะหลังมีขนาดหัวใหญ่ขึ้น
- K, Ca และ B สูง ส่งเสริมให้มันสำปะหลังมีหัวขนาดใหญ่และมีเปอร์เซ็นต์แป้งสูง

ดินในพื้นที่ปลูกมันสำปะหลังของไทย

- ดินมีคุณภาพต่ำ (ปริมาณอินทรียวัตถุต่ำ และธาตุอาหารพืชในดินต่ำ)
- ทำให้ปลูกมันสำปะหลังแล้วได้ผลผลิตต่ำถึงต่ำมาก
- หรือเป็นดินเสื่อมโทรมที่เกิดจากการปลูกมันสำปะหลังเป็นเวลานาน