รายงานฉบับสมบูรณ์

ความหลากหลายของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตร

Diversity of beneficial microorganisms for agricultural practice

ผู้ดำเนินการวิจัย

อัจฉรา เพ็งหนู ขนบพร พงศ์พรหม และ วานิด รอดเนียม

ภาควิชาธรณีศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ. สงขลา

รายงานฉบับสมบูรณ์

ความหลากหลายของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตร

Diversity of beneficial microorganisms for agricultural practice

บทคัดย่อ

การสำรวจปริมาณและคัดเลือกรวบรวมจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพตรึงไนโตรเจน เพิ่มความเป็นประโยชน์ฟอสฟอรัส และ/หรือย่อยสลายเซลลูโลส โดยเก็บตัวอย่างดินในพื้นที่แนวสำรวจ จำนวน 5 เส้นทาง ของพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชะประภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย ในเดือนมกราคม เมษายน มิถุนายนและสิงหาคม พ.ศ. 2553 โดยสุ่มเก็บตัวอย่างดินที่ระดับความลึกของดิน 0-15 เซนติเมตร ทั้งหมด 88 ตัวอย่าง จากนั้นนำมาเพื่อแยกจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธีการ dilution plate method บนอาหารเพื่อแยกจุลินทรีย์แต่ละชนิด โดยจุลินทรีย์ที่สามารถตรึงไนโตรเจนใช้อาหาร winogradsky's medium จุลินทรีย์ที่สามารถละลายฟอสฟอรัสใช้อาหาร Modified Pikovskaya's medium ที่มีฟอสฟอรัสในรูปไฟเทตและเหล็กฟอสเฟต ($FePO_4$) และจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลสใช้อาหาร carboxy methyl cellulose ผลการศึกษาพบว่ามีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งสามชนิดกระจายอยู่ทั่วในแต่ละเส้นทางที่เก็บตัวอย่างดิน โดยจุลินทรีย์ที่สามารถตรึงไนโตรเจนมีมากที่สุด ($4.98\pm3.27\times10^5$ cfu g^{-1} soil) รองลงมาคือ จุลินทรีย์ที่เพิ่มความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสรูปไฟเทต ($4.55\pm1.46\times10^5$ cfu g^{-1} soil) จุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสคือ ($1.29\pm0.08\times10^5$ g^{-1} soil) และจุลินทรีย์ที่เพิ่มความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสรูปเหล็กฟอสเฟต ($4.91\pm1.25\times10^4$ g^{-1} soil) ตามลำดับ และสามารถเก็บรวมรวบสายพันธุ์ที่จุลินทรีย์ที่มีศักยภาพตรึงไนโตรเจนได้มากที่สุดคือ 204 สายพันธุ์

คำสำคัญ : จุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจน จุลินทรีย์ที่เพิ่มความประโยชน์ฟอสฟอรัส จุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลส

Diversity of beneficial microorganisms for agricultural practice

Abstract

The surveying and screening of nitrogen fixing microorganisms, phosphate solubilizing microorganisms and / or cellulolytic microorganisms in 5 routes of Plant Geneties Protection Area of RSPG, Rajjaprabha Dam EGAT. Soil samples were collected in January, April , June and August 2010. Eighty-eight soil samples were collected at 0-15 cm depth. Then, beneficial microorganisms were isolated by dilution plate method using Winogradsky's medium, Modified Pikovskaya's medium and Carboxy methyl cellulose medium for nitrogen fixing microorganisms, phosphate solubilizing microorganisms and / or cellulolytic microorganisms respectively. The results indicated that the beneficial microorganisms were found all 5 routes of soil sampling area. The highest number of nitrogen fixing microorganisms were obtained ($4.98\pm3.27\times10^{5}$cfu g^{-1} soil), followed by phosphate solubilizing microorganisms in phyphate form ($4.55\pm1.46\times10^{5}g^{-1}$ soil), cellulolytic microorganisms (1.29 ± 0.08 g^{-1} soil)and phosphate solubilizing microorganisms in iron phosphate from ($4.91\pm1.25\times10^{4}g^{-1}$ soil) respectively. The nitrogen fixing microorganisms provided the highest number of potential isolates (204 isolates).

Key word : Nitrogen fixing microorganisms Phosphate solubilizing microorganisms

Cellulolytic microorganisms

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารีเขื่อนรัชชประภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทยที่มอบทุนอุดหนุนการวิจัย ขอขอบคุณ สำนักงานพัฒนาและวิจัย และภาควิชาธรณีศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่ให้การสนับสนุนด้าน สถานที่ อุปกรณ์ เครื่องมือ และขอขอบคุณ บุคลากรที่มีส่วนเกี่ยวข้องให้ความช่วยเหลือจนทำให้คณะผู้วิจัย สามารถดำเนินโครงการสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ผู้วิจัย

21 ตุลาคม 2553

สารบัญ

สารบัญ หน้า

รายการตาราง…… (5)

รายการภาพ…….. (7)

บทที่

1. บทนำ…….. 1
2. วัตถุประสงค์…… 3
3. วิธีการดำเนินงานวิจัย…….. 3
4. ผลการวิจัยและวิจารณ์……. 4
5. สรุปผลการวิจัย…… 23

เอกสารอ้างอิง…… 24

รายการตาราง

ตารางที่ หน้า

1. ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถตรึงไนโตรเจนที่แยกได้จากตัวอย่างดินในพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชประภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย จังหวัดสุราษฎร์ธานี..... 8
2. ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเพิ่มความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสที่แยกได้จากตัวอย่างดินในพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชประภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย จังหวัดสุราษฎร์ธานี..... 8
3. ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสที่แยกได้จากตัวอย่างดินในพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชประภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย จังหวัดสุราษฎร์ธานี..... 9
4. เปรียบเทียบปริมาณและการแพร่กระจายของจุลินทรีย์ที่สามารถตรึงไนโตรเจน เพิ่มความเป็นประโยชน์ฟอสฟอรัส และ/หรือย่อยสลายเซลลูโลสจากตัวอย่างดินที่เก็บในแต่ละครั้งในพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชประภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทยจังหวัดสุราษฎร์ธานี..... 9
5. ปริมาณและการแพร่กระจายของจุลินทรีย์ที่สามารถตรึงไนโตรเจนเพิ่มความเป็นประโยชน์ฟอสฟอรัส และ/หรือย่อยสลายเซลลูโลสจากตัวอย่างดินที่เก็บในแต่ละครั้งในพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชประภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิต แห่งประเทศไทย จังหวัดสุราษฎร์ธานี..... 10
6. จำนวนสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ศักยภาพตรึงไนโตรเจน เพิ่มความเป็นประโยชน์ฟอสฟอรัส และ/หรือย่อยสลายเซลลูโลสที่คัดแยกได้จากพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชประภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทยจังหวัดสุราษฎร์ธานี..... 12
7. ฐานข้อมูลสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจน จากพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชประภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย จังหวัดสุราษฎร์ธานี..... 12
8. ฐานข้อมูลสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่สามารถเพิ่มความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสรูปไฟเทต จากพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชประภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย จังหวัดสุราษฎร์ธานี..... 15

9. ฐานข้อมูลสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่สามารถเพิ่มความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสรูปเหล็กฟอสเฟต จากพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชประภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย จังหวัดสุราษฎร์ธานี…….. 17
10. ฐานข้อมูลสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายเซลลูโซล จากพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชประภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย จังหวัดสุราษฎร์ธานี…… 19

รายการภาพ

ภาพที่ หน้า

1. สภาพพื้นที่ที่เก็บตัวอย่างดินในเส้นทางที่ 1…….. 5
2. สภาพพื้นที่ที่เก็บตัวอย่างดินในเส้นทางที่ 2…….. 5
3. สภาพพื้นที่ที่เก็บตัวอย่างดินในเส้นทางที่ 3…….. 6
4. สภาพพื้นที่ที่เก็บตัวอย่างดินในเส้นทางที่ 4…….. 6
5. สภาพพื้นที่ที่เก็บตัวอย่างดินในเส้นทางที่ 5……... 7
6. ปริมาณเชื้อที่เจริญบนอาหารแต่ละชนิด……..... 11
7. ลักษณะโคโลนีของจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจน (ก) เพิ่มความเป็นประโยชน์ฟอสฟอรัสรูปไฟเทต (ข) เพิ่มความเป็นประโยชน์ฟอสฟอรัสรูปเหล็กฟอสเฟต (ค) ย่อยสลายเซลลูโลส (ง)…….. 12

1.บทนำ

ระหว่างปี พ.ศ. 2539 สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ทรงพระราชทานคอมพิวเตอร์พร้อมเครื่องสแกนเนอร์ ให้พิพิธภัณฑ์พืช คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และให้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) ร่วมกับพิพิธภัณฑ์พืช คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จัดถ่ายภาพตัวอย่างพรรณไม้แห้งที่รวบรวมไว้มากกว่า 20,000 ตัวอย่าง แล้วจัดบันทึกลงบนแผ่น CD-ROM พร้อมทั้งโปรดเกล้าฯ พระราชทานแผ่นบันทึกชุดนี้แก่มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ เมื่อวันที่ 21 มิถุนายน 2544 ในคราวเสด็จเป็นองค์ประทานในพิธีเปิดนิทรรศการ "ทรัพยากรไทย : อนุรักษ์และพัฒนาด้วยจิตสำนึกแห่งนักวิจัยไทย" 21-27 มิถุนายน 2544 ณ ศาลาพระเกี้ยว จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย นอกจากนี้มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ยังได้ส่งบุคลากรร่วมปฏิบัติงานสำรวจตามโครงการสำรวจหมู่เกาะและทะเลไทยในอ่าวไทยและทะเลอันดามัน โดยปฏิบัติงานร่วมกับโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชในพระราชดำริฯ สวนจิตรลดาและกองทัพเรือตั้งแต่ปี พ.ศ. 2542 เพื่อเป็นการสานต่อพระราชปณิธานแห่งองค์พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว และสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ในการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ได้ทำหนังสือขอพระราชทานพระราชวโรกาสขอสนองพระราชดำริในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ และได้รับพระราชานุญาตให้แต่งตั้งคณะกรรมการดำเนินงานโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ ฯ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ในพื้นที่ปกปักอนุรักษ์พันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชประภา การไฟฟ้าผลิตแห่งประเทศไทย เป็นดินป่าธรรมชาติที่มีความอุดมสมบูรณ์ ไม่มีการปนเปื้อนของสารเคมีทางการเกษตร จึงคิดว่าในพื้นที่มีความหลากหลายทางชีวภาพของจุลินทรีย์สูง โดยเฉพาะในกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถตรึงไนโตรเจน เพิ่มความเป็นประโยชน์ฟอสฟอรัส และ/หรือย่อยสลายเซลลูโลส ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ทางการเกษตร

การเปลี่ยนรูปไนโตรเจนจากก๊าซไนโตรเจน (N_2) ในบรรยากาศหรืออากาศในดินหรือในน้ำให้อยู่ในรูปสารประกอบอินทรียไนโตรเจน (orgenic nitrogen) โดยสารประกอบอินทรียไนโตรเจนที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นครั้งแรกส่วนใหญ่จะเป็นกรดอะมิโน (amino acid) ดังนั้น ในบรรยากาศมีก๊าซไนโตรเจนประมาณ 78 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ไนโตรเจนรูปนี้พืชและจุลินทรีย์ทั่วไปไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ยกเว้นจุลินทรีย์บางชนิดที่สามารถผลิตเอนไซม์ไนโตรจีเนส (nitrogenase) ทำให้เกิดการตรึงไนโตรเจนเช่น *Rhizobium* sp., (Shutsrirung, *et al*., 2002) *Azotobacter* sp., *Azospirillum* sp., *Azomonas* sp. เป็นต้น

จุลินทรีย์หลายชนิดที่สามารถเพิ่มความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปของสารประกอบต่างๆ ได้ เช่น *Acidocella* sp, . *Acidiphilium* sp., *Burkholderia* sp.และ*Ustilago* sp. ที่สามารถเจริญเติบโตในอาหารที่มีฟอสฟอรัสอยู่ในรูปอะลูมินัมฟอสเฟต (Pengnoo *et al*., 2007) *Ustilago* sp. สามารถเพิ่มความเป็นประโยชน์อินทรีย์ฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปของสารประกอบไฟเทต (phytate) (Pengnoo, 2005)

การเพิ่มความเป็นประโยชน์ฟอสฟอรัสโดยจุลินทรีย์นั้น เอนไซม์ในกลุ่มฟอสฟาเทสมีบทบาทสำคัญในการแปรสภาพอินทรียฟอสฟอรัสไปเป็นอนินทรียฟอสฟอรัสที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ และเอนไซม์ที่ผลิตขึ้นโดยจุลินทรีย์ดินจะมีบทบาทต่อความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารมากกว่า จากแหล่งของสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ในดิน เนื่องจากจุลินทรีย์ดินมีวงจรชีวิตที่สั้น และมีปริมาณมากที่สุดในดินการผลิตและปลดปล่อยเอนไซม์จึงเกิดขึ้นได้มากกว่า มีรายงานจุลินทรีย์ที่สามารถปลดปล่อยเอนไซม์ ในกลุ่มแอซิดฟอสฟาเทส เช่น *Penicillium*sp., *Aspergillus*sp., *Emmericella* sp. (Yadav and Tarafda, 2003)*Ustilago*sp.(Pengnoo*et al*., 2007) ซึ่งกิจกรรมของเอนไซม์จะแตกต่างตามชนิด สายพันธุ์จุลินทรีย์และสภาพแวดล้อม

จุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลส เป็นจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ต่างๆในดิน ทำให้ธาตุอาหารที่เป็นองค์ประกอบของวัสดุอินทรีย์เหล่านั้นถูกปลดปล่อยออกมาอยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืช โดยจุลินทรีย์กลุ่มนี้ สามารถผลิตเอนไซม์กลุ่ม intracellular enzyme เป็นเอนไซม์ที่ผลิตขึ้นแล้วปลดปล่อยออกมานอกเซลล์ เพื่อทำการย่อยสลายเนื่องจากสารประกอบที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส โพลีแซกคาไรด์ (polysaccharide) และสารอื่นๆซึ่งไม่สามารถผ่านผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ได้ โดยจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลส ได้แก่ *Bacillus, Achromobacter, Pseudomonas, Aspergillus, Chaetomium* เป็นต้น

ดินป่าไม้เป็นดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ ไม่มีการปนเปื้อนของสารเคมีทางการเกษตร ดังนั้นจึงมีความหลากหลายทางชีวภาพ พันธุ์พืช สัตว์ จุลินทรีย์ต่าง ๆ สูง การสำรวจ เก็บรวบรวมทรัพยากรเหล่านี้จึงมีความจำเป็นยิ่ง ในการวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาปริมาณและการแพร่กระจายจุลินทรีย์ที่สามารถตรึงไนโตรเจน เพิ่มความเป็นประโยชน์ฟอสฟอรัส และ/หรือย่อยสลายเซลลูโลสในพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชประภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทยตลอดจนเก็บรวบรวมจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพทางการเกษตร เพื่อใช้ในการศึกษาและพัฒนาในอนาคตสำหรับการใช้ประโยชน์ทางการเกษตร นอกจากนี้ข้อมูลปริมาณและการแพร่กระจายจุลินทรีย์จะจัดเป็นฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพจุลินทรีย์ อันเป็นประโยชน์ต่อการการพัฒนาและใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพอย่างยั่งยืนต่อไป

2. วัตถุประสงค์

2.1 เพื่อสนองพระราชดำริโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.) ในพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชประภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย

2.2 เพื่อศึกษาปริมาณและการแพร่กระจายของจุลินทรีย์ที่สามารถตรึงไนโตรเจน เพิ่มความเป็นประโยชน์ฟอสฟอรัส และ/หรือย่อยสลายเซลลูโลสในพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชประภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย

2.3 เพื่อเก็บรวบรวมสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีศักยภาพตรึงไนโตรเจน เพิ่มความเป็นประโยชน์ฟอสฟอรัส และ/หรือย่อยสลายเซลลูโลสของพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชประภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย

3. วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 การศึกษาปริมาณและการกระจายจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพตรึงไนโตรเจน เพิ่มความเป็นประโยชน์ฟอสฟอรัส และ/หรือย่อยสลายเซลลูโลส

3.1.1 การเก็บตัวอย่างดิน

ทำการเก็บตัวอย่างดินในพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชประภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย ต.เขาพัง อ. ตาขุนจังหวัดสุราษฎร์ธานี จำนวน 4 ครั้ง (ครั้งที่ 1 ระหว่างวันที่ 26 –29 มกราคม 2553, ครั้งที่ 2 ระหว่างวันที่ 18 – 21 เมษายน 2553, ครั้งที่ 3 ระหว่างวันที่ 15 – 18 มิถุนายน 2553 และครั้งที่ 4 ระหว่างวันที่ 24 – 27 สิงหาคม 2553)โดยสุ่มเก็บตัวอย่างดินในพื้นที่แนวสำรวจจำนวน 5 เส้นทาง ที่ระดับความลึกของดิน 0-15 เซนติเมตร ใส่ถุงพลาสติก ถุงละประมาณ 500 กรัมต่อจุด ปิดปากถุงให้สนิท แล้วนำกลับห้องปฏิบัติการเพื่อแยกเชื้อจุลินทรีย์ต่อไป

3.1.2 การแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจน เพิ่มความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัส และ/หรือย่อยสลายเซลลูโลส

นำตัวอย่างดินที่เก็บจากข้อ 3.1.1 มาแยกจุลินทรีย์ด้วยวิธีการ dilution plate method ตัวอย่างดินละ 3 ซ้ำ โดยชั่งตัวอย่างดิน 1 กรัมใส่ในขวดที่บรรจุน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 99 มิลลิลิตร แล้วนำไปวางเขย่าบนเครื่องเขย่าที่มีความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที และนำไปต้มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นทำ 10-fold dilution ให้ได้ระดับความเข้มข้น 10^{-3} และ 10^{-4}

แล้วทำการ drop plate บนอาหาร Winogradsky'smedium, ModifiedPikovskaya's medium และ Carboxy methyl cellulose เพื่อแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจน จุลินทรีย์เพิ่มความเป็นประโยชน์ฟอสฟอรัส และจุลินทรีย์ย่อยสลายเซลลูโลส ตามลำดับ สำหรับการแยกจุลินทรีย์เพิ่มความเป็นประโยชน์ฟอสฟอรัสจะใช้ฟอสฟอรัสในรูปไฟเทตและเหล็กฟอสเฟต จากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน และนับจำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้บนอาหารแต่ละชนิด และเปรียบเทียบปริมาณและการแพร่กระจายของจุลินทรีย์แต่ละกลุ่มในแต่ละเส้นทาง และจำนวนครั้งที่เก็บตัวอย่างดิน

3.2 การเก็บรวบรวมสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีศักยภาพของแต่ละกลุ่มเพื่อใช้ประโยชน์ในการวิจัยในอนาคต

ทำการคัดเลือกจุลินทรีย์แต่ละกลุ่มที่คัดแยกได้โดยเลือกจุลินทรีย์เดี่ยวๆ ที่มีลักษณะแตกต่างกันที่เจริญเติบโตได้ดีบนอาหารแต่ชนิดมา Streak บนอาหารแข็งแต่ละสูตรจนได้เป็นสายพันธุ์บริสุทธิ์ และเก็บรวบรวมสายพันธุ์ดังกล่าวไว้บนอาหาร PDA Slant สำหรับใช้ในการศึกษาในอนาคตต่อไป

นำข้อมูลปริมาณจุลินทรีย์และจำนวนสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่รวบรวมได้แต่ละกลุ่มที่แยกได้ในแต่ละเส้นทางและในแต่ละครั้งที่เก็บตัวอย่างดินมาจัดทำเป็นฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของจุลินทรีย์ในพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชประภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย

4. ผลการวิจัยและวิจารณ์

4.1 การศึกษาปริมาณและการกระจายจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพตรึงไนโตรเจน เพิ่มความเป็นประโยชน์ฟอสฟอรัส และ/หรือย่อยสลายเซลลูโลส

4.1.1 การเก็บตัวอย่างดิน

จากการลงพื้นที่ เพื่อเก็บตัวอย่างดินใน 5 เส้นทางของพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชประภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย จำนวน 4 ครั้ง พบว่าสามารถเก็บตัวอย่างดินได้ทั้งหมด 88 ตัวอย่าง (ครั้งที่ 1 เดือนมกราคม เก็บ 26 ตัวอย่าง ครั้งที่ 2 เดือนเมษายน เก็บ 22 ตัวอย่าง ครั้งที่ 3 เดือนมิถุนายน เก็บ 20 ตัวอย่าง ครั้งที่ 4 เดือนสิงหาคม เก็บ 20 ตัวอย่าง) ในการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 1 เดือนมกราคม หน้าดินจะมีสีคล้ำ ลักษณะดินนมีความชื้นเนื่องจากก่อนเก็บตัวอย่างดินเป็นช่วงฤดูฝน ครั้งที่ 2 เมษายน สภาพเนื้อดินมีลักษณะแห้งเนื่องจากจะเป็นช่วงฤดูแล้ง ส่วนในครั้งที่ 3 และ 4 ดินมีความชื้นเช่นกัน การเก็บตัวอย่างแต่ละครั้ง มีทั้งหมด 5 เส้นทาง ซึ่งแต่ละเส้นทางมีสภาพพื้นที่แตกต่างกันโดย เส้นทางที่ 1 เป็นพื้นที่ป่าธรรมชาติ มีพันธุ์ไม้ขนาดใหญ่และมีพวกต้นไผ่ ต้นหวาย สภาพดินโดยทั่วไปเป็นดินร่วนปนทราย (ภาพที่ 1) เส้นทางที่ 2 เป็นป่าธรรมชาติ แต่โปร่งกว่าเส้นทางที่ 1 สภาพดินเนื้อเป็นดินร่วนปนเหนียว (ภาพที่ 2) เส้นทางที่ 3 เป็นพื้นที่ป่าปลูกใหม่ใกล้

เส้นทางไหลของน้ำ สภาพเนื้อดินเป็นดินร่วนปนทราย (ภาพที่ 3) เส้นทางที่ 4 เป็นพื้นที่ป่าธรรมชาติและป่าปลูกใหม่ เนื้อดินเป็นดินร่วนปนทราย (ภาพที่ 4) ส่วนเส้นทางที่ 5 เป็นพื้นที่ป่าปลูกใหม่ มีความโปร่งมาก เนื้อดินเป็นดินร่วนปนเหนียว (ภาพที่ 5)

ภาพที่ 1 สภาพพื้นที่ที่เก็บตัวอย่างดินในเส้นทางที่ 1

ภาพที่ 2 สภาพพื้นที่ที่เก็บตัวอย่างดินในเส้นทางที่ 2

ภาพที่ 3 สภาพพื้นที่ที่ทำการเก็บตัวอย่างดินในเส้นทางที่ 3

ภาพที่ 4 สภาพพื้นที่ที่ทำการเก็บตัวอย่างดินในเส้นทางที่ 4

ภาพที่ 5 สภาพพื้นที่ที่ทำการเก็บตัวอย่างดินในเส้นทางที่ 5

4.1.2 การแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจน เพิ่มความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัส และ/หรือย่อยสลายเซลลูโลส

เมื่อนำตัวอย่างดินจากข้อ 4.1.1 ในแต่ละเส้นทางของการเก็บตัวอย่างดินแต่ละครั้งมาแยกจุลินทรีย์มีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจน เพิ่มความเป็นประโยชน์ฟอสฟอรัส และ/หรือย่อยสลายเซลลูโลส พบว่ามีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์แต่ละกลุ่มกระจายอยู่ในทุกเส้นทางที่ทำการเก็บตัวอย่างดิน (ตารางที่ 1-4) ทั้งนี้ภายใต้สภาพป่าที่อุดมสมบูรณ์ แร่ธาตุอาหารจะถูกดูดซับและอนุรักษ์ให้คงอยู่และหมุนเวียนในระบบอย่างสมดุล (นิวัติ,2546) ซึ่งในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์จะพบกลุ่มจุลินทรีย์ดินได้มากถึง10^9ต่อดินหนึ่งกรัม (สุบัณฑิต,2549)โดยที่การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง คือ อาหาร อุณหภูมิ ความชื้น ทำให้ปริมาณจุลิทรีย์ในแต่ละเดือน และแต่ละเส้นทางมีแนวโน้มพบปริมาณจุลินทรีย์ที่แตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเนื่องจากก่อนเก็บตัวอย่างดินในช่วงเดือนมกราคม เป็นช่วงฤดูฝนจึงมีผลให้ในพื้นที่มีอุณหภูมิ ความชื้น ที่แตกต่างจากเดือนอื่นที่เก็บตัวอย่างจึงพบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งสามชนิดมากที่สุด ส่วนในเดือนอื่นที่ก็บตัวอย่างดิน พบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งสามชนิดใกล้เคียงกัน

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดจากตัวอย่างดินในพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชประ-ภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทยจากการเก็บตัวอย่างดินทั้ง 4 ครั้ง พบว่า มีปริมาณจุลินทรีย์ที่สามารถตรึงไนโตรเจนมากที่สุด รองลงมาคือปริมาณจุลินทรีย์ที่เพิ่มความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัส (รูปไฟเทต) และปริมาณจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลส ปริมาณจุลินทรีย์ที่เพิ่มความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัส (รูปเหล็กฟอตเฟต) ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 1 ปริมาณจุลินทรีย์ที่สามารถตรึงไนโตรเจนที่แยกได้จากตัวอย่างดินในพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชประภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย จังหวัดสุราษฎร์ธานี

เดือน	ปริมาณจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจน (cfu g^{-1} soil)[1/]				
	เส้นทางที่ 1	เส้นทางที่ 2	เส้นทางที่ 3	เส้นทางที่ 4	เส้นทางที่ 5
มกราคม	$4.00\pm6.18\times10^{5}$a	$4.25\pm7.54\times10^{5}$a	$1.58\pm1.05\times10^{6}$a	$2.45\pm6.9\times10^{6}$a	$2.54\pm1.24\times10^{6}$a
เมษายน	$9.76\pm5.03\times10^{4}$b	$7.92\pm1.96\times10^{4}$b	$1.80\pm0.75\times10^{5}$b	$1.07\pm0.11\times10^{5}$b	$3.24\pm0.95\times10^{5}$b
มิถุนายน	$4.09\pm0.94\times10^{4}$b	$3.25\pm0.95\times10^{4}$b	$1.01\pm0.03\times10^{5}$a	$0.70\pm0.28\times10^{5}$b	$7.25\pm3.58\times10^{5}$b
สิงหาคม	$5.42\pm0.50\times10^{4}$b	$5.34\pm2.29\times10^{4}$b	$1.56\pm0.65\times10^{5}$b	$4.21\pm1.35\times10^{5}$b	$1.05\pm0.96\times10^{5}$b
F-Test	**	**	**	**	**
C.V	54.3	55.3	24.9	92.4	43.59

[1/] cfu g^{-1} soil : จำนวนเชื้อต่อน้ำหนักดินแห้ง

ตารางที่ 2 ปริมาณจุลินทรีย์ที่สามารถเพิ่มความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสรูปไฟเทตที่แยกได้จากตัวอย่างดินในพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชประภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย จังหวัดสุราษฎร์ธานี

เดือน	ปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสรูปไฟเทต (cfu g^{-1} soil)[1/]				
	เส้นทางที่ 1	เส้นทางที่ 2	เส้นทางที่ 3	เส้นทางที่ 4	เส้นทางที่ 5
มกราคม	$1.67\pm0.19\times10^{5}$ab	$2.74\pm0.75\times10^{5}$	$7.11\pm1.56\times10^{5}$a	$2.17\pm4.53\times10^{6}$a	$6.68\pm1.52\times10^{5}$b
เมษายน	$1.40\pm0.37\times10^{5}$ab	$1.55\pm0.23\times10^{5}$	$1.50\pm0.37\times10^{5}$b	$1.29\pm0.14\times10^{5}$b	$2.63\pm0.84\times10^{5}$b
มิถุนายน	$0.36\pm0.11\times10^{5}$b	$2.14\pm0.79\times10^{5}$	$1.98\pm0.76\times10^{5}$b	$2.54\pm0.33\times10^{5}$b	$2.26\pm7.09\times10^{6}$a
สิงหาคม	$2.16\pm0.50\times10^{5}$a	$2.07\pm0.54\times10^{5}$	$2.40\pm0.09\times10^{5}$b	$3.19\pm0.65\times10^{5}$b	$3.31\pm0.35\times10^{5}$b
F-Test	**	Ns	**	**	**
C.V	47.1	58.4	47.2	64.1	83.1

[1/] cfu g^{-1} soil : จำนวนเชื้อต่อน้ำหนักดินแห้ง

ตารางที่ 3 ปริมาณจุลินทรีย์ที่สามารถเพิ่มความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสรูปเหล็กฟอสเฟตที่แยกได้จากตัวอย่างดินในพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชประภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย จังหวัดสุราษฎร์ธานี

เดือน	ปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสรูปเหล็กฟอสเฟต (cfu g^{-1} soil)[1/]				
	เส้นทางที่ 1	เส้นทางที่ 2	เส้นทางที่ 3	เส้นทางที่ 4	เส้นทางที่ 5
มกราคม	$7.60\pm1.33\times10^{4}$a	$1.58\pm6.58\times10^{5}$	$0.57\pm0.31\times10^{5}$	$1.21\pm0.97\times10^{4}$	$3.92\pm0.39\times10^{4}$
เมษายน	$3.17\pm2.52\times10^{4}$ab	$3.42\pm1.25\times10^{4}$	$0.90\pm0.35\times10^{5}$	$1.28\pm0.41\times10^{4}$	$9.33\pm8.34\times10^{4}$
มิถุนายน	$9.27\pm2.43\times10^{4}$a	$6.58\pm2.56\times10^{4}$	$0.89\pm0.42\times10^{5}$	$2.23\pm1.87\times10^{4}$	$4.25\pm2.96\times10^{4}$
สิงหาคม	$0.08\pm0.08\times10^{4}$b	$1.75\pm1.06\times10^{4}$	$0.61\pm0.36\times10^{5}$	$2.43\pm1.52\times10^{4}$	$1.67\pm0.97\times10^{4}$
F-Test	**	Ns	ns	Ns	Ns
C.V	60.5	105.25	85.19	55.28	185.95

[1/] cfu g^{-1} soil : จำนวนเชื้อต่อน้ำหนักดินแห้ง

ตารางที่ 4 ปริมาณจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสที่แยกได้จากตัวอย่างดินในพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชประภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทยจังหวัดสุราษฎร์ธานี

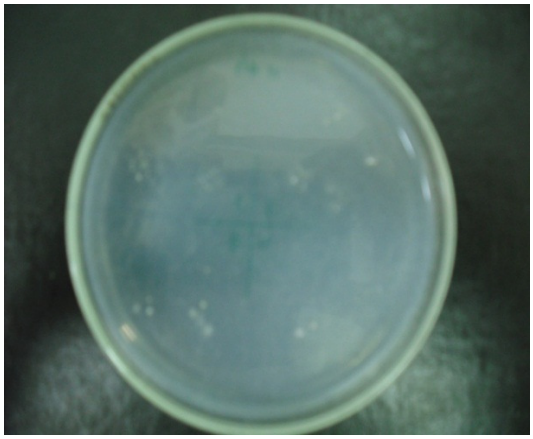
เดือน	ปริมาณจุลินทรีย์ย่อยสลายเซลลูโลส (cfu g^{-1} soil)[1/]				
	เส้นทางที่ 1	เส้นทางที่ 2	เส้นทางที่ 3	เส้นทางที่ 4	เส้นทางที่ 5
มกราคม	$2.00\pm1.13\times10^{4}$b	$1.20\pm5.19\times10^{5}$a	$2.00\pm0.47\times10^{5}$	$1.21\pm0.24\times10^{5}$	$3.11\pm0.27\times10^{5}$b
เมษายน	0.00 b	$1.64\pm4.00\times10^{5}$a	$1.47\pm0.34\times10^{5}$	$1.28\pm0.18\times10^{5}$	$5.43\pm9.52\times10^{6}$a
มิถุนายน	$7.99\pm0.57\times10^{4}$a	$6.92\pm2.01\times10^{4}$ab	$1.83\pm0.97\times10^{5}$	$2.23\pm0.46\times10^{5}$	$0.78\pm0.37\times10^{5}$b
สิงหาคม	0.00 b	0.00 b	$2.48\pm1.23\times10^{5}$	$2.42\pm0.81\times10^{5}$	$0.88\pm0.42\times10^{5}$b
F-Test	**	*	ns	Ns	**
C.V	50.3	77.7	74.6	55.3	64.7

[1/] cfu g^{-1} soil : จำนวนเชื้อต่อน้ำหนักดินแห้ง

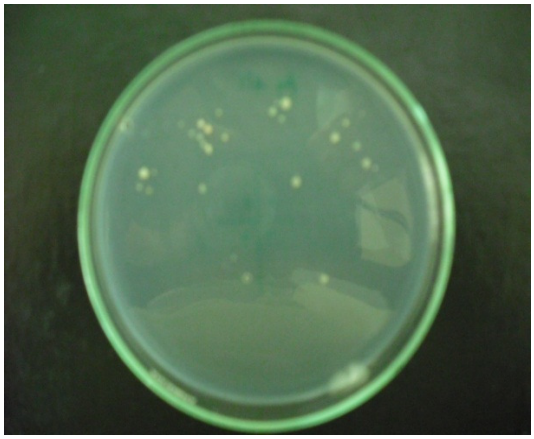
ตารางที่ 5 ปริมาณและการแพร่กระจายของจุลินทรีย์ที่สามารถตรึงไนโตรเจนเพิ่มความเป็นประโยชน์ฟอสฟอรัส และ/หรือย่อยสลายเซลลูโลสจากตัวอย่างดินที่เก็บในแต่ละครั้งในพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชประภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทยจังหวัดสุราษฎร์ธานี

เดือน	ปริมาณจุลินทรีย์ (cfu g^{-1} soil)[1/]				
	ตรึงไนโตรเจน	ละลายฟอสฟอรัส		ย่อยเซลลูโลส	เฉลี่ย
		ไฟเทต	เหล็กฟอสเฟต		
มกราคม	$1.48\pm0.47\times10^{6}$	$7.98\pm3.60\times10^{5}$	$6.85\pm2.48\times10^{4}$	$1.54\pm0.49\times10^{5}$	$6.25\pm3.28\times10^{5}$
เมษายน	$1.58\pm0.45\times10^{5}$	$1.67\pm0.24\times10^{5}$	$5.24\pm1.65\times10^{4}$	$1.17\pm10.67\times10^{6}$	$1.24\pm0.26\times10^{5}$
มิถุนายน	$1.94\pm1.34\times10^{5}$	$5.92\pm4.19\times10^{5}$	$6.25\pm1.35\times10^{4}$	$1.27\pm3.19\times10^{5}$	$2.44\pm1.19\times10^{5}$
สิงหาคม	$1.58\pm0.69\times10^{5}$	$2.63\pm0.26\times10^{5}$	$1.31\pm0.42\times10^{4}$	$1.16\pm0.55\times10^{5}$	$1.38\pm0.52\times10^{5}$
เฉลี่ย	$4.98\pm3.27\times10^{5}$	$4.55\pm1.46\times10^{5}$	$4.91\pm1.25\times10^{4}$	$1.29\pm0.08\times10^{5}$	$2.83\pm1.17\times10^{5}$

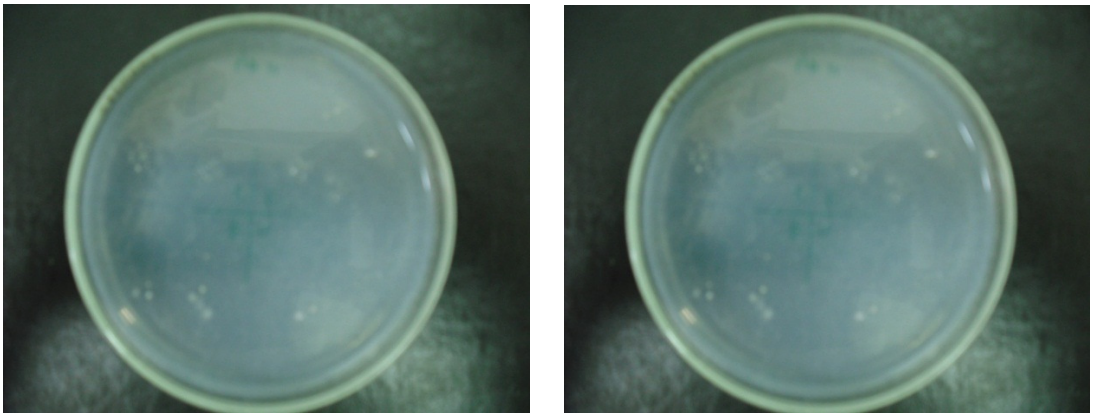
[1/] cfu g^{-1} soil : จำนวนเชื้อต่อน้ำหนักดินแห้ง



ก.



ข.



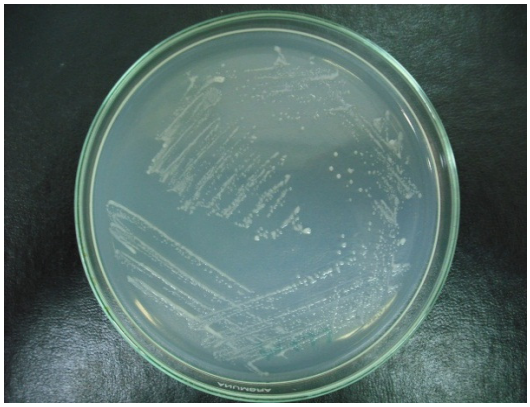
ค, **ง.**

ภาพที่ 6 ลักษณะโคโลนีของจุลินทรีย์ เมื่อแยกด้วยวิธี dilution plate method บนอาหาร Winogradsky'smedium, (ก) ModifiedPikovskaya's medium รูปไฟเทต (ข) ModifiedPikovskaya's medium รูปเหล็กฟอสเฟต (ค) และCarboxy methyl cellulose (ง)

4.2 **เก็บรวบรวมสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีศักยภาพของแต่ละกลุ่มเพื่อใช้ในการศึกษาและวิจัยการใช้ประโยชน์ในอนาคต**

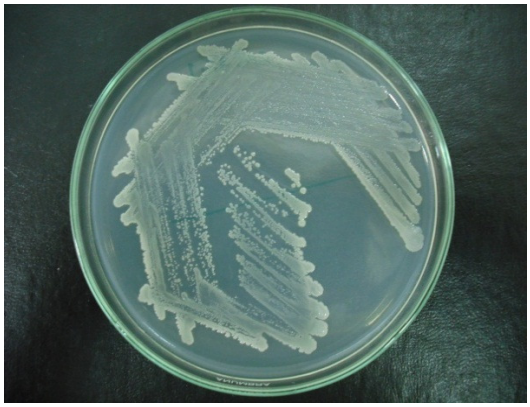
จากการคัดแยกจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพตรึงไนโตรเจน เพิ่มความเป็นประโยชน์ฟอสฟอรัส และ/หรือย่อยสลายเซลลูโลสของพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชประภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทยพบว่า ในแต่ละครั้งที่ทำการเก็บตัวอย่างปริมาณและการกระจายของจุลินทรีย์แต่ละกลุ่มมีจำนวนที่แตกต่างกัน โดยในครั้งที่ 1 จำนวนเชื้อที่เก็บรวบรวมจะมากกว่าทุกครั้งที่คัดแยกเชื้อ เนื่องจากจัดเก็บเชื้อทุกตัวที่มีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกันที่สามารถเจริญได้บนอาหารทั้ง 3 ชนิด แต่ในครั้งที่ 2- 4 นั้นจะเก็บเชื้อลักษณะโคโลนีเดี่ยวๆที่สามารถเจริญเติบโตดี โตเร็ว ในอาหารนั้นๆ ทำให้จำนวนสายพันธุ์ที่เก็บรวบรวมจะลดลง (ตารางที่ 6) และเมื่อแยกสายพันธุ์บริสุทธิ์ ได้แล้ว ซึ่งนำมาจัดทำฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของจุลินทรีย์ในพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชประภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย ดังแสดงในตารางที่ 7- 11

ก.



ข.

ค.



ง.

ภาพที่ 7 ลักษณะโคโลนีของจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจน(ก)เพิ่มความเป็นประโยชน์ฟอสฟอรัสรูปไฟเทต (ข) เพิ่มความเป็นประโยชน์ฟอสฟอรัสรูปเหล็กฟอสเฟต(ค) ย่อยสลายเซลลูโลส (ง)

ตารางที่ 6 จำนวนสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ศักยภาพตรึงไนโตรเจน เพิ่มความเป็นประโยชน์ฟอสฟอรัส และ/หรือ ย่อยสลายเซลลูโลสที่คัดแยกได้จากพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชประภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทยจังหวัดสุราษฎร์ธานี

เดือน	จำนวนสายพันธุ์			
	ตรึงไนโตรเจน	เพิ่มความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัส		ย่อยเซลลูโลส
		ไฟเทต	เหล็กฟอสเฟต	
มกราคม	100	59	40	64
เมษายน	33	33	21	29
มิถุนายน	37	46	36	35
สิงหาคม	34	42	16	16
รวม	**204**	**180**	**113**	**144**

ตารางที่ 7 ฐานข้อมูลสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจน จากพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชประภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย จังหวัดสุราษฎร์ธานี

เดือน	เส้นทาง	จำนวนสายพันธุ์	รหัสสายพันธุ์
มกราคม	1	30	NJa 1.1, NJa 1.2, NJa 1.3, NJa 1.4, NJa 1.5, NJa 1.6, NJa 1.7, NJa 1.8, NJa 1.9, NJa 1.10, NJa 1.11, NJa 1.12, NJa 1.13, NJa 1.14, NJa 1.15, NJa 1.16, NJa 1.17, NJa 1.18, NJa 1.19, NJa 1.20, NJa 1.21, NJa 1.22, NJa 1.23, NJa 1.24, NJa 1.25, NJa 1.26, NJa 1.27, NJa 1.28, NJa 1.29, NJa 1.30
	2	20	NJa 2.1, NJa 2.2, NJa 2.3, NJa 2.4, NJa 2.5, NJa 2.6, NJa 2.7, NJa 2.8, NJa 2.9, NJa 2.10, NJa 2.11, NJa 2.12, NJa 2.13, NJa 2.14, NJa 2.15, NJa 2.16, NJa 2.17, NJa 2.18, NJa 2.19, NJa 2.20

เดือน	เส้นทาง	จำนวนสายพันธุ์	รหัสสายพันธุ์
	3	9	NJa 3.1, NJa 3.2, NJa 3.3, NJa 3.4, NJa 3.5, NJa 3.6, NJa 3.7, NJa 3.8, NJa 3.9
	4	20	NJa 4.1, NJa 4.2, NJa 4.3, NJa 4.4, NJa 4.5, NJa 4.6, NJa 4.7, NJa 4.8, NJa 4.9, NJa 4.10, NJa 4.11, NJa 4.12, NJa 4.13, NJa 4.14, NJa 4.15, NJa 4.16, NJa 4.17, NJa 4.18, NJa 4.19, NJa 4.20
	5	21	NJa 5.1, NJa 5.2, NJa 5.3, NJa 5.4, NJa 5.5, NJa 5.6, NJa 5.7, NJa 5.8, NJa 5.9, NJa 5.10, NJa 5.11, NJa 5.12, NJa 5.13, NJa 5.14, NJa 5.15, NJa 5.16, NJa 5.17, NJa 5.18, NJa 5.19, NJa 5.20, NJa 5.21
เมษายน	1	4	NAp 1.1, NAp1.2, NAp 1.3, NAp 1.4
	2	8	NAp 2.1, NAp 2.2, NAp 2.3, NAp 2.4, NAp 2.5, NAp 2.6, NAp 2.7, NAp 2.8
	3	5	NAp 3.1, NAp 3.2, NAp 3.3, NAp 3.4, NAp 3.5
	4	10	NAp 4.1, NAp 4.2, NAp 4.3, NAp 4.4, NAp 4.5, NAp 4.6, NAp 4.7, NAp 4.8, NAp 4.9, NAp 4.10
	5	6	NAp 5.1, NAp 5.2, NAp 5.3, NAp 5.4, NAp 5.5, NAp 5.6
มิถุนายน	1	8	NJu 1.1, NJu 1.2, NJu 1.3, NJu 1.4, NJu 1.5, NJu 1.6, NJu 1.7, NJu 1.8
	2	6	NJu 2.1, NJu 2.2, NJu 2.3, NJu 2.4, NJu 2.5, NJu 2.6
	3	6	NJu 3.1, NJu 3.2, NJu 3.3, NJu 3.4, NJu 3.5, NJu 3.6

เดือน	เส้นทาง	จำนวนสายพันธุ์	รหัสสายพันธุ์
	4	9	NJu 4.1, NJu 4.2, NJu 4.3, NJu 4.4, NJu 4.5, NJu 4.6, NJu 4.7, NJu 4.8, NJu 4.9
	5	8	NJu 5.1, NJu 5.2, NJu 5.3, NJu 5.4, NJu 5.5, NJu 5.6, NJu 5.7, NJu 5.8
สิงหาคม	1	7	NAg 1.1, NAg 1.2, NAg 1.3, NAg 1.4, NAg 1.5, NAg 1.6, NAg 1.7
	2	7	NAg 2.1, NAg 2.2, NAg 2.3, NAg 2.4, NAg 2.5, NAg 2.6, NAg 2.7
	3	8	NAg 3 .1, NAg 3.2, NAg 3.3, NAg 3.4, NAg 3.5, NAg 3.6, NAg 3.7, NAg 3.8
	4	8	NAg 4 .1, NAg 4.2, NAg 4.3, NAg 4.4, NAg 4.5, NAg 4.6, NAg 4.7, NAg 4.8
	5	4	NAg 5 .1, NAg 5.2, NAg 5.3, NAg 5.4

N หมายถึง จุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจน

Ja, Ap, Ju, และAg หมายถึง เดือนมกราคม เดือนเมษายน เดือนมิถุนายน และเดือนสิงหาคม ตามลำดับ

1:1 หมายถึง ลำดับของตัวอย่างสายพันธุ์เชื้อที่เก็บ

ตารางที่ 8 ฐานข้อมูลสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่สามารถเพิ่มความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสรูปไฟเทต จากพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชประภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย จังหวัดสุราษฎร์ธานี

เดือน	เส้นทาง	จำนวนสายพันธุ์	รหัสสายพันธุ์
มกราคม	1	10	PhJa 1.1, PhJa 1.2, PhJa 1.3, PhJa 1.4, PhJa 1.5, PhJa 1.6, PhJa 1.7, PhJa 1.8, PhJa1.9, PhJa 1.10, PhJa1.11, PhJa1.12, PhJa 1.13, PhJa 1.14, PhJa 1.15, PhJa 1.16, PhJa 1.17, PhJa 1.18, PhJa 1.19, PhJa 1.20
	2	13	PhJa 2.1, PhJa 2.2, PhJa 2.3, PhJa 2.4, PhJa 2.5, PhJa 2.6, PhJa 2.7, PhJa 2.8, PhJa 2.9, PhJa 2.10, PhJa 2.11, PhJu 2.12, PhJu 2.13
	3	7	PhJa 3.1, PhJa 3.2, PhJa 3.3, PhJa 3.4, PhJa 3.5, PhJa 3.6, PhJa 3.7
	4	10	PhJa 4.1, PhJa 4.2, PhJa4.3, PhJa 4.4, PhJa 4.5, PhJa 4.6, PhJa 4.7, PhJa 4.8, PhJa 4.9, PhJa 4.10
	5	9	PhJa 5.1, PhJa 5.2, PhJa 5.3, PhJa 5.4, PhJa 5.5, PhJa 5.6, PhJa 5.7, PhJa 5.8, PhJa 5.9
เมษายน	1	5	PhAp 1.1, PhAp1.2, PhAp 1.3, PhAp 1.4, PhAp 1.5
	2	7	PhAp 2.1, PhAp2.2, PhAp 2.3, PhAp 2.4, PhAp 2.5, PhAp 2.6, PhAp 2.7
	3	6	PhAp 3.1, PhAp 3.2, PhAp 3.3, PhAp 3.4, PhAp 3.5, PhAp 3.6

เดือน	เส้นทาง	จำนวนสายพันธุ์	รหัสสายพันธุ์
	4	11	PhAp 4.1, PhAp 4.2, PhAp 4.3, PhAp 4.4, PhAp 4.5, PhAp 4.6 PhAp 4.7, PhAp 4.8, PhAp 4.9, PhAp 4.10, PhAp 4.11
	5	4	PhAp 5.1, PhAp5.2, PhAp 5.3, PhAp 5.4
มิถุนายน	1	5	PhJu 1.1, PhJu 1.2, PhJu 1.3, PhJu 1.4, PhJu 1.5
	2	9	PhJu 2.1, PhJu 2.2, PhJu 2.3, PhJu 2.4, PhJu 2.5, PhJu 2.6, PhJu 2.7, PhJu 2.8, PhJu 2.9
	3	9	PhJu 3.1, PhJu 3.2, PhJu 3.3, PhJu 3.4, PhJu 3.5, PhJu 3.6, PhJu 3.7, PhJu 3.8, PhJu 3.9
	4	13	PhJu 4.1, PhJu 4.2, PhJu 4.3, PhJu 4.4, PhJu 4.5, PhJu 4.6, PhJu 4.7, PhJu 4.8, PhJu 4.9, PhJu 4.10, PhJu 4.11, PhJu 4.12, PhJu 4.13
	5	10	PhJu 5.1, PhJu 5.2, PhJu 5.3, PhJu 5.4, PhJu 5.5, PhJu 5.6, PhJu 5.7, PhJu 5.8, PhJu 5.9, PhJu 5.10
สิงหาคม	1	6	PhAg 1.1, Phv 1.2, PhAg 1.3, PhAg 1.4, PhAg 1.5, PhAg 1.6
	2	9	PhAg 2.1, Phv 2.2, PhAg 2.3, PhAg 2.4, PhAg 2.5, PhAg 2.6, PhAg 2.7, PhAg 2.8, PhAg 2.9
	3	9	PhAg 3.1, Phv 3.2, PhAg 3.3, PhAg 3.4, PhAg 3.5, PhAg 3.6, PhAg 3.7, PhAg 3.8, PhAg 3.9
	4	10	PhAg 4.1, Phv 4.2, PhAg 4.3, PhAg 4.4, PhAg 4.5,

เดือน	เส้นทาง	จำนวนสายพันธุ์	รหัสสายพันธุ์
			PhAg 4.6, PhAg 4.7, PhAg 4.8, PhAg 4.9, PhAg 4.10
	5	8	PhAg 5.1, Phv 5.2, PhAg 5.3, PhAg 5.4, PhAg 5.5, PhAg 5.6, PhAg 5.7, PhAg 5.8

Ph หมายถึง จุลินทรีย์ที่สามารถเพิ่มความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสรูปไฟเทต
Ja, Ap, Ju, และAg หมายถึง เดือนมกราคม เดือนเมษายน เดือนมิถุนายน และเดือนสิงหาคม ตามลำดับ
1:1 หมายถึง ลำดับของตัวอย่างสายพันธุ์เชื้อที่เก็บ

ตารางที่ 9 ฐานข้อมูลสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่สามารถเพิ่มความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสรูปเหล็กฟอสเฟต จากพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชประภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย จังหวัดสุราษฎร์ธานี

เดือน	เส้นทาง	จำนวนสายพันธุ์	รหัสสายพันธุ์
มกราคม	1	6	FeJa 1.1, FeJa 1.2, FeJa 1.3, FeJa 1.4, FeJa 1.5, FeJa 1.6
	2	3	FeJa 2.1, FeJa 2.2, FeJa 2.3
	3	6	FeJa 3.1, FeJa 3.2, FeJa 3.3, FeJa 3.4, FeJa 3.5, FeJa 3.6
	4	10	FeJa 4.1, FeJa 4.2, FeJa 4.3, FeJa 4.4, FeJa 4.5, FeJa 4.6, FeJa 4.7, FeJa 4.8, FeJa 4.9, FeJa 4.10
	5	15	FeJa 5.1, FeJa 5.2, FeJa 5.3, FeJa 5.4, FeJa 5.5, FeJa 5.6, FeJa 5.7, FeJa 5.8, FeJa 5.9, FeJa 5.10, FeJa 5.11, FeJa 5.12, FeJa 5.13, FeJa 5.14, FeJa 5.15
เมษายน	1	2	FeAp 1.1, FeAp 1.2

เดือน	เส้นทาง	จำนวนสายพันธุ์	รหัสสายพันธุ์
	2	4	FeAp 2.1, FeAp 2.2, FeAp 2.3, FeAp 2.4
	3	5	FeAp 3.1, FeAp 3.2, FeAp 3.3, FeAp 3.4, FeAp 3.5
	4	7	FeAp 4.1, FeAp 4.2, FeAp 4.3, FeAp 4.4, FeAp 4.5, FeAp 4.6, FeAp 4.7
	5	2	FeAp 5.1, FeAp 5.2
มิถุนายน	1	8	FeJu 1.1, FeJu 1.2, FeJu 1.3, FeJu 1.4, FeJu 1.5, FeJu 1.6, FeJu 1.7, FeJu 1.8
	2	9	FeJu 2.7, FeJu 2.8, FeJu 2.9
	2	9	FeJu 2.1, FeJu 2.2, FeJu 2.3, FeJu 2.4, FeJu 2.5, FeJu 2.6, FeJu 2.7, FeJu 2.8, FeJu 2.9
	3	5	FeJu 3.1, FeJu 3.2, FeJu 3.3, FeJu 3.4, FeJu 3.5
	4	7	FeJu 4.1, FeJu 4.2, FeJu 4.3, FeJu 4.4, FeJu 4.5, FeJu 4.6, FeJu 4.7
	5	7	FeJu 5.1, FeJu 5.2, FeJu 5.3, FeJu 5.4, FeJu 5.5, FeJu 5.6, FeJu 5.7
สิงหาคม	1	1	FeAg 1.1
	2	1	FeAg 2.1
	3	5	FeAg 3.1, FeAg 3.2, FeAg 3.3, FeAg 3.4, FeAg 3.5
	4	7	FeAg 4.1, FeAg 4.2, FeAg 4.3, FeAg 4.4, FeAg4.5, FeAg 4.6, FeAg 4.7

เดือน	เส้นทาง	จำนวนสายพันธุ์	รหัสสายพันธุ์
	5	2	FeAg 5.1, FeAg 5.2

Fe หมายถึง จุลินทรีย์ที่สามารถเพิ่มความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสรูปเฟล็กฟอสเฟต
Ja, Ap, Ju, และAg หมายถึง เดือนมกราคม เดือนเมษายน เดือนมิถุนายน และเดือนสิงหาคม ตามลำดับ
1:1 หมายถึง ลำดับของตัวอย่างสายพันธุ์เชื้อที่เก็บ

ตารางที่ 10 ฐานข้อมูลสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายเซลลูโซล จากพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชประภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย จังหวัดสุราษฎร์ธานี

เดือน	เส้นทาง	จำนวนสายพันธุ์	รหัสสายพันธุ์
มกราคม	1	6	cmcJa 1.1, v cmcJa 1.2, cmcJa 1.3, cmcJa 1.4, cmcJa 1.5, cmcJa 1.6
	2	12	cmcJa 2.1, v cmcJa 2.2, cmcJa 2.3, cmcJa 2.4, cmcJa 2.5, cmcJa 2.6, cmcJa 2.7, v cmcJa 2.8, cmcJa 2.9, cmcJa 2.10, cmcJa 2.11, cmcJa 2.12
	3	14	cmcJa 3.1, v cmcJa 3.2, cmcJa 3.3, cmcJa 3.4, cmcJa 3.5, cmcJa 3.6, cmcJa 3.7, v cmcJa 3.8, cmcJa 3.9, cmcJa 3.10, cmcJa 3.11, cmcJa 3.12, cmcJa 3.13, cmcJa 31.4
	4	15	cmcJa 4.1, v cmcJa 4.2, cmcJa 4.3, cmcJa 4.4, cmcJa 4.5, cmcJa 4.6, cmcJa 4.7, v cmcJa 4.8, cmcJa 4.9, cmcJa 4.10, cmcJa 4.11, cmcJa 4.12, cmcJa 4.13, cmcJa 4.14, cmcJa 4.15
	5	17	cmcJa 5.1, v cmcJa 5.2, cmcJa 5.3, cmcJa 5.4, cmcJa 5.5,

เดือน	เส้นทาง	จำนวนสายพันธุ์	รหัสสายพันธุ์
			cmcJa 5.6, cmcJa 5.7, v cmcJa 5.8, cmcJa 5.9, cmcJa 5.10, cmcJa 5.11, cmcJa 5.12, cmcJa 5.13, cmcJa 5.14, cmcJa 5.15, cmcJa 5.16, cmcJa 5.17
เมษายน	1	-	-
	2	7	cmcAp 2.1, cmcAp 2.2 cmcAp 2.3, cmcAp 2.4 cmcAp 2.5, cmcAp 2.6, cmcAp 2.7,
	3	6	cmcAp 3.1, cmcAp 3.2 cmcAp 3.3, cmcAp 3.4 cmcAp 3.5, cmcAp 3.6, cmcAp 3.7, cmcAp 3.8
	4	10	cmcAp 4.1, cmcAp 4.2 cmcAp 4.3, cmcAp 4.4, cmcAp 4.5, cmcAp 4.6, cmcAp 4.7, cmcAp 4.8, cmcAp 4.9, cmcAp 4.10
	5	6	cmcAp 5.1, cmcAp 5.2 cmcAp 5.3, cmcAp 5.4 cmcAp 5.5, cmcAp 5.6
มิถุนายน	1	7	cmcJu 1.1, cmcJu 1.2 cmcJu 1.3, cmcJu 1.4 cmcJu 1.5, cmcJu 1.6, cmcJu 1.7
	2	5	cmcJu 2.1, cmcJu 2.2 cmcJu 2.3, cmcJu 2.4 cmcJu 2.5,
	3	6	cmcJu 3.1, cmcJu 3.2, cmcJu 3.3, cmcJu 3.4, cmcJu 3.5, cmcJu 3.6
	4	9	cmcJu 4.1, cmcJu 4.2, cmcJu 4.3, cmcJu 4.4, cmcJu 4.5, cmcJu 4.6, cmcJu 4.7, cmcJu 4.8, cmcJu 4.9

เดือน	เส้นทาง	จำนวนสายพันธุ์	รหัสสายพันธุ์
	5	8	cmcJu 5.6, cmcJu 5.7, cmcJu 5.8
สิงหาคม	1	-	-
	2	-	-
	3	6	cmcAg 3.1, cmcAg 3.2, cmcAg 3.3, cmcAg 3.4, cmcAg 3.5, cmcAg 3.6
	4	8	cmcAg 4.1, cmcAg 4.2, cmcAg 4.3, cmcAg 4.4, cmcAg 4.5, cmcAg 4.6, cmcAg 4.7, cmcAg 4.8
	5	2	cmcAg 5.1, cmcAg 5.2

CMC หมายถึง จุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายเซลลูโซล

Ja, Ap, Ju, และAg หมายถึง เดือนมกราคม เดือนเมษายน เดือนมิถุนายน และเดือนสิงหาคม ตามลำดับ

1:1 หมายถึง ลำดับของตัวอย่างสายพันธุ์เชื้อที่เก็บ

6. สรุปผลการวิจัย

การศึกษาปริมาณและการกระจายของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตรที่มีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจน เพิ่มความเป็นประโยชน์ฟอสฟอรัส และ/หรือย่อยสลายเซลลูโลสของพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนรัชชประภา การไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทย พบว่ามีจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดกระจายอยู่ทั่วในแต่ละจุด ในแต่ละเส้นทางและในแต่ละเดือนที่เก็บตัวอย่างดิน โดยพบปริมาณจุลินทรีย์ในช่วงเดือนมกราคมมากที่สุด คือ ($6.25\pm3.28\times10^5$ cfu g^{-1} soil) รองลงมา คือช่วงเดือนมิถุนายน ($2.44\pm1.19\times10^5$ cfu g^{-1} soil) สิงหาคมและเมษายน ($1.38\pm0.52\times10^5$ cfu g^{-1} soil, $1.24\pm0.26\times10^5$ cfu g^{-1} soil) ตามลำดับ และการเก็บรวบรวมสายพันธุ์บริสุทธิ์มีลักษณะโคโลนีเดี่ยวๆ โตดีและโตเร็วของจุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจน 204 สายพันธุ์ จุลินทรีย์เพิ่มความเป็นประโยชน์ฟอสฟอรัสรูปไฟเทต 180 สายพันธุ์ รูปเหล็กฟอสเฟต 113 สายพันธุ์ และ/หรือจุลินทรีย์ย่อยสลายเซลลูโลส 144 สายพันธุ์

เอกสารอ้างอิง

นิวัติ เรืองพาริช. 2546. นิเวศวิทยาทรัพยากรธรรมชาติ. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุบัณฑิตนิ่มรัตน์. 2549. จุลชีววิทยาทางดิน. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

Pengnoo, A. 2005. Functions of Phosphate-Solubilizing Microorganism in Tropical Acidic and Low Phosphorus Soils.Ph.D Thesis, Hokkaido University.Japan.

Pengnoo, A., Hashidoko, Y., Onthong, J., Gimsanguan, S., Sae-ong, M., Shinano, T., Watanabe,T.,Osaki, M., 2007. Screening of phosphate-solubilizing microorganisms in rhizosphere and rhizoplane of adverse soil-adapting plants in Southern Thailand. TROPICS, 16 : 1-7.

Shutsrirung, A., Pengnoo, A., Bhromsiri, A., Senoo. K.,Tajima, S. and Hisamatsu, M. 2002. Symbiotic efficiency and compatability of native rhizobia in Northern Thailand with different soybean cultivars. III. Laboratory experiment using native isolates from upland rainfed soybean-growing area. Soil Sci. Plant Nutri.48 : 511-520.

Yadav, R.S. and Tarafdar, J.C. 2003.Phytase and phosphatase producing fungi and semi-arid soil and their efficiency in hydrolyzing different organic P compounds. Soil Biol. Biochem., 35 : 1-7.