



นเรศวรวิจัย ครั้งที่ 13

วิจัย และนวัตกรรม ขับเคลื่อนเศรษฐกิจและสังคม

การประเมินคุณภาพดิน และจำแนกชนิดแบคทีเรียเอนโดไฟท์ ผลิตกรดอินโดลอะซิติกที่คัดแยกได้จากข้าวเกษตรอินทรีย์อายุ 1 ปี

Soil Quality Assessment and Identification of Indole Acetic Acid Producing
by Endophytic Bacteria Isolated from One Year Organic Rice Farming

สมคิด ตีจิง¹ และ วีรพงศ์ พันธุ์มิตร²

^{1,2} คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ. เชียงใหม่ 50290 E-mail : kittydeejing@gmail.com

จุลินทรีย์มีความสำคัญต่อคุณภาพดิน การประเมินคุณภาพดินมีประโยชน์อย่างยิ่งต่อการจัดการทางการเกษตร ซึ่งแบคทีเรียผลิตกรดอินโดลอะซิติกเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่มีบทบาทสำคัญช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ งานวิจัยนี้ ได้วิเคราะห์คุณภาพดิน คัดเลือก รวมทั้งจำแนกชนิดของแบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่ผลิตกรดอินโดลอะซิติกจากข้าวเกษตรอินทรีย์อายุ 1 ปี พบว่า ดินมีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 1.50 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม 3.90 และ 34.00 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ มีค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.30 มีค่าความหนาแน่นดิน ปริมาณน้ำในภาคสนาม และการนำน้ำของดินในสภาพที่มีน้ำท่วมขัง 1.47 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร 22.70 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และ 0.46 เซนติเมตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งผลการแยกแบคทีเรียเอนโดไฟท์จากข้าวและดินพบเชื้อชนิดต่าง ๆ พบว่า ได้แบคทีเรียเอนโดไฟท์จำนวน 84 ไอโซเลท โดยแบคทีเรีย ISP2RR1 สามารถผลิตกรดอินโดลอะซิติกในอาหารเหลว Nutrient broth ที่เติม tryptophan 0.2 เปอร์เซ็นต์ ได้ 53.29 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งแบคทีเรียชนิดนี้แบคทีเรียกลุ่ม Bacteria พบว่า ก่อน และการนำน้ำของดิน 16S rRNA ของแบคทีเรีย ISP2RR1 พบว่า เป็นแบคทีเรีย *Chryseobacterium kwangyangense* ที่ระดับความเหมือน 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผลการประเมินคุณภาพดินสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลและนำเกษตรกรเพื่อจัดการดิน ส่วนแบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่ผลิตกรดอินโดลอะซิติกจากข้าวมีศักยภาพสามารถใช้ในระบบเกษตรอินทรีย์ต่อไป

การวิเคราะห์คุณภาพดินจะช่วยให้เกษตรกรทราบถึงปัญหาของดินและสามารถนำข้อมูลไปใช้ในการปรับปรุงดิน เพื่อเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของพืชได้ โดยแบคทีเรียเอนโดไฟท์ มีบทบาทสำคัญที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช และเป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในพืชโดยไม่ก่อให้เกิดอันตราย (Mano and Morisaki, 2008) สุจิตรา และคณะ (2556) พบว่า แบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากข้าวเจ้าหอม สามารถผลิตฟอสเฟตและกรดอินโดลอะซิติกได้ 465.9 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม และ 12.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ นอกจากนี้ ยังมีการประยุกต์ใช้ประโยชน์ของแบคทีเรียเอนโดไฟท์ในด้านอื่น เช่น ใช้แบคทีเรียเอนโดไฟท์ *Bacillus* sp. ช่วยควบคุมเชื้อสาเหตุโรคราข้าว (Hossain et al., 2016) ใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพในข้าว และมีผลช่วยเพิ่มปริมาณดิน และน้ำหนักแห้งของข้าว (Vujan et al., 2016) ซึ่ง Xia et al., 2015 กล่าวว่า การทำการเกษตรในระบบเกษตรอินทรีย์มีผลทำให้แบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่มีจำนวนและความหลากหลายมากกว่าระบบเกษตรทั่วไป งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพดิน รวมทั้งการคัดแยก และจำแนกชนิดของแบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่ผลิตกรดอินโดลอะซิติกจากข้าวและดินในแปลงเกษตรอินทรีย์อายุ 1 ปี ซึ่งผู้วิจัยเห็นว่า แบคทีเรียเอนโดไฟท์น่าจะมีความสำคัญที่จะนำไปใช้ประโยชน์ร่วมกับจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่มีบทบาทส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช และยังมีศักยภาพในการผลิตกรดอินโดลอะซิติกจากข้าวและดินในแปลงเกษตรอินทรีย์ต่อไป ซึ่งจะนำไปสู่การพัฒนาระบบเกษตรอินทรีย์ให้เป็นแนวทางที่นำพาเกษตรกรไทยไปสู่ความยั่งยืนต่อไป

วิธีการทดลอง

วิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของดิน

- * ค่าความเป็นกรด-ด่าง
- * ปริมาณอินทรีย์วัตถุ (Walkley and Black, 1947)
- * ปริมาณฟอสฟอรัส (Bray and Kurtz, 1945)
- * ปริมาณโพแทสเซียม (Jackson, 1958)
- * ค่าความหนาแน่นดิน (Blake, 1965)
- * ปริมาณน้ำในภาคสนาม (Gardner, 1986)
- * ค่าการนำน้ำของดินในสภาวะที่มีน้ำท่วมขัง (Klute and Dirksen, 1986)

ผลการทดลอง

ตารางที่ 1 คุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของดินจากแปลงข้าวที่ทำการเกษตรอินทรีย์อายุ 1 ปี

อินทรีย์วัตถุ (%)	ฟอสฟอรัส (mg/kg)	โพแทสเซียม (mg/kg)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	ความหนาแน่น (g/cm ³)	ปริมาณน้ำในภาคสนาม (% by weight)	การนำน้ำของดิน (cm/hr)
1.50	3.90	34.00	5.30	1.47	22.70	0.46

การคัดแยกแบคทีเรียเอนโดไฟท์

เก็บตัวอย่างข้าว → ทำเชื้อบริเวณพื้นผิว → เพาะเลี้ยงบนอาหาร PCA, TSA, PVK, ISP2 → Streak ให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ → เก็บเชื้อบริสุทธิ์ไว้ศึกษา

การผลิตและการวิเคราะห์ปริมาณกรดอินโดลอะซิติก

เพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว → ทดสอบการผลิต IAA ขึ้นชั้นโดยใช้ Kovac's reagent → ผลบวกเกิดสีแดงที่ผิวหน้าอาหาร

การศึกษาลักษณะของแบคทีเรีย

คุณลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น ย้อมสีแบบแกรม

คุณลักษณะทางชีวเคมี

คุณลักษณะทางชีวโมเลกุล โดยหาลำดับเบส 16S rRNA

ภาพที่ 1 n) ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรีย ISP2RR1 ข) รูปร่างและการเรียงตัวของแบคทีเรีย ISP2RR1

ตารางที่ 3 ลักษณะทางสรีรวิทยา และชีวเคมีของแบคทีเรียที่ผลิตกรดอินโดลอะซิติก

ไอโซเลท	อะซิเลส	ออกซิเลส	ฟอสเฟต	ซูโครส	มอลโตส	กลูโคส	กาแลคโตส	ไซลิตอล	แลคโตส	แมนนิทอล
ISP2RR1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

การศึกษาลำดับเบส 16S rRNA

ตารางที่ 4 ผลการจำแนกแบคทีเรียเอนโดไฟท์โดยหาลำดับเบส 16S rRNA

ไอโซเลท	แบคทีเรีย	Accession number	Query Cover	Identities
ISP2RR1	<i>Chryseobacterium kwangyangense</i>	EU169291.1	100 %	800/800
				100%

สรุปผลการทดลอง

การประเมินคุณภาพดินจากแปลงข้าวเกษตรอินทรีย์อายุ 1 ปีพบว่า มีลักษณะทางเคมีและทางกายภาพอยู่ในระดับต่ำถึงปานกลาง ซึ่งสามารถใช้เป็นฐานข้อมูลในการแนะนำเกษตรกรให้ปรับปรุงบำรุงดินโดยใช้วิธีการทางชีวภาพเพื่อเพิ่มผลผลิตข้าวอินทรีย์ในด้านปริมาณและคุณภาพและแบคทีเรีย *Chryseobacterium kwangyangense* ที่สามารถผลิตกรดอินโดลอะซิติกได้ในการทดลองนี้ น่าจะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ร่วมกับเชื้อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มอื่นซึ่งอยู่ในรูปของเชื้อผสม หรือนำกรดอินโดลอะซิติกที่ผลิตได้ไปใช้เป็นสารกำจัดวัชพืช ซึ่งจะช่วยลดปริมาณการใช้สารเคมีทางการเกษตรที่ตกค้างในสิ่งแวดล้อม และยังมีความปลอดภัยทั้งผู้ผลิตและผู้บริโภคด้วย ในอนาคตผู้วิจัยจะตรวจสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์ ACC deaminase และการผลิตไซโตไคน์ของเชื้อข้าวต้น เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในระบบเกษตรอินทรีย์ต่อไป

20 - 21 กรกฎาคม 2560

ณ อาคารอภิศร มหาวิทยาลัยนเรศวร

Naresuan Research Conference

นิทรรศการ ครั้งที่ 13

วิจัย และนวัตกรรม ขับเคลื่อนเศรษฐกิจและสังคม



ขอมอบประกาศนียบัตรนี้เพื่อแสดงว่า

สมคิด ตีจรัส

เข้าร่วมนำเสนอผลงาน Poster Presentation

เรื่อง

การประเมินคุณภาพดิน การคัดแยกและการกำจัดของแบบที่รีเอนโดไฟฟ้าผลิตภัณฑ์อินโดละชะติ๊ก

ที่แยกได้จากข้าวเกษตรอินทรีย์ 1 ปี

ในการประชุมวิชาการระดับชาติ "นเรศวรวิจัย" ครั้งที่ 13: วิจัยและนวัตกรรม ขับเคลื่อนเศรษฐกิจและสังคม
ระหว่างวันที่ 20 - 21 กรกฎาคม 2560 ณ อาคารเอกาทศรถ มหาวิทยาลัยนเรศวร

h. n

(ศาสตราจารย์พิเศษ ดร.กาญจนา เวงรัมย์)

อธิการบดีมหาวิทยาลัยนเรศวร