การศึกษาจุลินทรีย์ในดินไร่อ้อยที่มีบทบาทในการย่อยสลายเศษใบอ้อย

Study on Soil Microorganisms from Sugarcane Field on Sugarcane Leaves Decomposition

พิทักษ์พงศ์ ป้อมปราณี
โปรแกรมวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม อ.เมือง จ.นครปฐม 73000

บทคัดย่อ

การแยกจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากตัวอย่างดินในไร่อ้อย 3 แหล่ง คือ นครปฐม ราชบุรี และสุพรรณบุรี บนอาหาร carboxymethyl cellulose agar ที่อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ผลการศึกษาสามารถแยกจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส ได้ทั้งหมด 78 ไอโซเลต และแยกที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ทั้งหมด 18 ไอโซเลต เมื่อนำจุลินทรีย์ที่แยกได้ไปทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดยวิธี congo red test จุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส ทั้งหมด 78 ไอโซเลต พบว่ามี 11 ไอโซเลตที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลส และจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ทั้งหมด 18 ไอโซเลต พบว่ามีเพียง 3 ไอโซเลต สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้ จากการทดสอบความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิ 30 - 32 , 45, 50 และ 55 องศาเซลเซียสบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC agar เป็นเวลา 5 วัน พบว่า แหล่งดินสุพรรณบุรี พบเชื้อราที่อุณหภูมิ 30 -32 องศาเซลเซียส จำนวน 5 ชนิด คือ *Trichoderma harzianum, Aspergillus terreus, Aspergillus flavus, Fusarium semitectum* และ *Penicillium citrinum* และที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส พบแอคติโนมัยซิส 2 ชนิด คือ *Streptomyces* sp. และ *Nocardia* sp. ส่วนแหล่งดินนครปฐมพบเชื้อราที่อุณหภูมิ 30 - 32 องศาเซลเซียส จำนวน 4 ชนิด คือ *Penicillium citrinum, Mucor ramosissimus, Aspergillus penicillioides* และ *Bipolaris spicifera* และที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส พบ 1 ชนิด คือ *Penicillium purpurogenum* และแหล่งดินราชบุรี พบเชื้อราที่อุณหภูมิ 30 - 32 องศาเซลเซียส เพียงชนิดเดียว คือ *Aspergillus niger* เมื่อศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยเศษใบอ้อยของเชื้อราคัดเลือกที่อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส ภายในห้องปฏิบัติการ พบว่า เชื้อรา *Penicillium citrinum.* มีประสิทธิภาพในการย่อยเศษใบอ้อยสูงสุด รองลงมาคือเชื้อรา *Aspergillus terreus, Aspergillus flavus* และ *Bipolaris spicifera* ส่วนเชื้อราที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ทุกไอโซเลต ประสิทธิภาพในการย่อยเศษใบอ้อยต่ำมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Abstract

Soil microorganisms of 3 various samples from soil in sugarcane field were isolated on carboxy methyl cellulose agar at 30 - 32 ^{0}C and 45 ^{0}C. The result could selected that 78 isolates at 30-32 ^{0}C and 18 isolates at 45 ^{0}C. All of them were examined for cellulase production activity by stain with congo red on Cellulose agar. The result showed that 11 out of 78 isolates could produce cellulase at 30 – 32 ^{0}C and the result was showed that 3 out of 18 isolates could produce cellulase at 45^{0}C. The results of studied about factors and condition on growth of fungi at 30 – 32 ^{0}C optimum temperature showed that 5 species of *Trichoderma harzianum, Aspergillus terreus, Aspergillus flavus, Fusarium semitectum* and *Penicillium citrinum* in Suphanburi, *Penicillium citrinum, Mucor ramosissimus, Aspergillus penicillioides* and *Bipolaris spicifera* in Nakhon Pathom and *Aspergillus niger* in Ratchburi. At 45^{0}C were founded *Streptomyces* sp. and *Nocardia* sp. in Suphanburi and *Penicillium purpurogenum* in Nakhon Pathom. When studied potential of digestion sugarcane leaves from selected fungi at 30 - 32 ^{0}C in laboratory, the *Penicillium citrinum* gave the highest digest and *Aspergillus terreus, Aspergillus flavus* and *Bipolaris spicifera* respectively. Every isolates at 45^{0}C gave the lowest digestion.

คำสำคัญ (Keywords) : Soil microorganisms, Sugarcane Leaves Decomposition

1. บทนำ

ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกอ้อยประมาณ 7 ล้านไร่ พื้นที่ส่วนใหญ่ขาดความอุดมสมบูรณ์ของดิน ส่วนหนึ่งมีสาเหตุมาจากการเผาเศษใบอ้อยทำให้ปริมาณอินทรียวัตถุในดินลดลง โดยทั่วไปหลังจากการตัดอ้อยสดจะมีเศษใบอ้อยเหลือตกค้างอยู่ในไร่จำนวนมาก เกษตรกรนิยมทำการเผาทิ้งด้วยเหตุผล 2 ประการ คือ เพื่อความสะดวกในการไถพรวนแต่งตอ และป้องกันมิให้เศษใบอ้อยเป็นเชื้อเพลิงไหม้อ้อยตอที่งอกขึ้นมาใหม่ เศษยอดและใบอ้อยที่เหลือตกค้างอยู่ในไร่จะมีปริมาณธาตุอาหารหลักโดยประมาณ ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียม เท่ากับ 8.61, 1.69 และ 15.51 กิโลกรัมต่อไร่ตามลำดับ [1,2] จึงนับว่าเป็นแหล่งของอินทรียวัตถุและธาตุอาหารที่สำคัญสามารถกลับคืนสู่ดิน ซึ่งน่าเสียดายอย่างยิ่งหากต้องถูกเผาทิ้ง นอกจากจะเป็นการสูญเสียอินทรียวัตถุออกไปจากดินแล้ว ยังมีรายงานว่าถ้าไม่เผาเศษใบอ้อย ก็จะช่วยปรับปรุงสมบัติทางกายภาพของดิน ลดการอัดตัวแน่นของดิน ทำให้อ้อยมีเปอร์เซ็นต์กออ้อยที่ล้มลดลง [3] นอกจากนี้การเผายังเป็นตัวการที่ก่อให้เกิดมลภาวะโลกร้อน และส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในดิน [4] ดังนั้นหากได้มีการจัดการกับเศษเหลือดังกล่าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพก็จะก่อให้เกิดประโยชน์ตามมาอย่างมากมาย

การสลายตัวในสภาพธรรมชาติของเศษอินทรียวัตถุที่ตกค้างในไร่อ้อย จุลินทรีย์นับเป็นปัจจัยสำคัญที่ควบคุมอัตราการย่อยสลายอินทรียวัตถุ นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยสภาพแวดล้อมต่างๆ เช่น อุณหภูมิ ความชื้น ความเป็นกรดด่าง รวมทั้งสมบัติทางเคมีและกายภาพของวัสดุแต่ละชนิด อินทรียวัตถุมีองค์ประกอบที่สำคัญ คือ สารประกอบลิกโนเซลลูโลส ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของเศษวัสดุพืช กระบวนการย่อยสลายแบ่งได้เป็น 2 ขั้นตอน คือ ในช่วงแรกเอนไซม์ที่ผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์จะยึดเกาะผิวของสารประกอบเซลลูโลส และในช่วงที่สองเกิดการย่อยสลายโดยการทำงานของเอนไซม์ ทำให้เซลลูโลสมีขนาดเล็กลง ดังนั้นเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสสูงจะมีบทบาทอย่างมากต่อการย่อยสลายเศษซากพืช [5]

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ในดินในไร่อ้อยโดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อรา เนื่องจากเป็นจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการย่อยสลายเศษพืช ซึ่งจะเป็นแนวทางในการคัดเลือกเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเศษใบอ้อยและการจัดการเศษเหลือจากใบอ้อยในสภาพไร่เพื่อคืนความอุดมสมบูรณ์ของดินสู่ไร่อ้อยต่อไป

2. วิธีการวิจัย

2.1 การแยกจุลินทรีย์จากดินในไร่อ้อย

ทำการเก็บตัวอย่างดินในไร่อ้อยจากบริเวณที่มีเศษใบอ้อยที่ผุพังตามธรรมชาติ ในไร่อ้อยจากจังหวัดราชบุรี สุพรรณบุรี และนครปฐม โดยการ spread ลงบนอาหาร CMC agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 สัปดาห์ ทำให้บริสุทธิ์ต่อโดยวิธีการ point inoculation จนกระทั่งได้เชื้อบริสุทธิ์ เก็บเชื้อราที่แยกได้บนอาหารแข็งชนิดเดิมแบบผิวเอียง (slant agar) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2.2 การวัดความสามารถของเชื้อราในการสร้างเซลลูเลส

การเตรียมสารละลายเอนไซม์ (crude enzyme) นำเชื้อราที่แยกได้จานเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC agar ที่อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน ใช้ที่เจาะจุกคอร์ก เจาะอาหารเลี้ยงเชื้อนั้น จำนวน 3 ชิ้น ใส่ในอาหาร carboxymethyl cellulose broth ปริมาตร 50 มิลลิลิตร บ่มบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็ว 250 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ทำการเก็บเกี่ยวเอนไซม์ โดยกรองอาหารเหลวนั้นด้วยกระดาษกรอง นำส่วนใสที่ได้เหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ด้วยอัตราเร็ว 5,500 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เก็บส่วนใส (supernatant) ซึ่งเป็น crude enzyme ไว้ทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส ใช้วิธีทดสอบที่ดัดแปลงมาจากวิธีของ Teacher and wood (1982) เตรียม cellulose agar assay plate โดยการเตรียมอาหาร cellulose agar ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ สุ่มเจาะชิ้นวุ้นจากจานอาหาร จำนวน 6 ตำแหน่งต่อหนึ่งจานอาหาร ใช้เข็มเขี่ยชิ้นวุ้นออกทิ้ง แล้วทำการทดสอบ โดยการใช้ปิเปตดูด crude enzyme จำนวน 10 ไมโครลิตร หยดลงในหลุมบน cellulose assay plate ที่เตรียมไว้ (crude enzyme 1 ตัวอย่าง/หลุม) ใช้ CMC broth เป็นตัวควบคุม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส และ 45 องศาเซลเซียส นาน 16 ชั่วโมง นำมาทดสอบด้วย congo red โดยการเท 0.1% congo red ให้ท่วมอาหารทิ้งไว้ 10-15 นาที แล้วเทสารละลาย congo red ออก จากนั้นราดทับด้วย 1 M. NaCl นาน 10 นาที เทสารละลายส่วนเกินทิ้ง จะเห็นวงใสที่เกิดจากการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส

2.3 การศึกษาการเจริญของเชื้อราคัดเลือกที่อุณหภูมิต่างๆ

เลี้ยงเชื้อราคัดเลือกในอาหาร CMC agar บ่มที่อุณหภูมิ 30 - 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน ใช้คอร์ก เบอร์ 3 ที่ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์เจาะเส้นใยราไปวางตรงกลางอาหาร CMC agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 -32 , 45 และ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ตรวจผลโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อราหน่วยเป็นเซนติเมตร จากนั้นนำเชื้อราที่คัดแยกได้ส่งไปตรวจสอบจัดจำแนกในระดับชนิดที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

2.4 การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราคัดเลือกในการย่อยสลายเศษใบอ้อย

ศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลส และนำมาทดสอบกับเศษใบอ้อย ในสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญ โดยชั่งเศษใบอ้อย 10 กรัม ใส่ในกล่องพลาสติก นำเชื้อรามาละลายในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร โดยสเปรย์ให้ทั่วจานเลี้ยงเชื้อ สังเกตการเปลี่ยนแปลงทุกวันเป็นเวลา 1-2 สัปดาห์

3. ผลการทดลองและวิจารณ์

3.1 ตัวอย่างจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้

จากตัวอย่างดินในไร่อ้อยทั้ง 3 แหล่ง สามารถคัดแยกจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 30 - 32 องศาเซลเซียสได้ทั้งหมด 78 ไอโซเลท โดยแยกได้จากตัวอย่างดินจังหวัดสุพรรณบุรี 33 ไอโซเลท รองลงมาคือจังหวัดนครปฐมแยกได้ 24 ไอโซเลท และจังหวัดราชบุรีแยกได้ 21 ไอโซเลท

ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส สามารถแยกได้ทั้งหมด 18 ไอโซเลท โดยแยกได้จากจังหวัดสุพรรณบุรีและราชบุรีเท่ากันคือ 7 ไอโซเลท และตัวอย่างดินจากจังหวัดนครปฐมแยกได้ 4 ไอโซเลท (Table 1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 1 Screening isolates of soil microorgarnisms from soil samples on CMC agar media at 30 - 32 °C and 45 °C

Source of soils	Isolated numbers of soil microorgarnisms	
	30 -32 °C	45 °C
Suphanburi	33	7
Nakhon Pathom	24	4
Ratchburi	21	7
Total	78	18

จากผลการคัดแยกเชื้อราจากดินทั้ง 3 แหล่ง จะเห็นได้ว่าดินทุกแหล่งมีความหลากหลายของเชื้อราค่อนข้างมากโดยเฉพาะดินจากแปลงอ้อยจังหวัดสุพรรณบุรี ทั้งนี้เมื่อสืบประวัติจากเกษตรกรเจ้าของที่ดินถึงอายุการใช้ที่ดินในการปลูกอ้อยพบว่าแหล่งปลูกอ้อยในสุพรรณบุรีมีอายุการใช้ที่ดินมานานมากกว่า 15 ปี และมีการปลูกอ้อยอย่างต่อเนื่อง ไม่มีการสลับไปปลูกพืชอื่น นอกจากนี้ยังพบว่าพื้นที่ปลูกอ้อยทุกแหล่งไม่มีประวัติการใช้สารเคมีกำจัดโรคพืชและแมลงศัตรูพืช แต่มีการใช้สารเคมีกำจัดวัชพืช จึงอาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้พบความหลากหลายของเชื้อราเป็นจำนวนมาก

3.2 การวัดความสามารถของเชื้อราในการสร้างเซลลูเลส

จากการนำตัวอย่างดินในไร่อ้อย 3 แหล่ง มาทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสโดยวิธี congo red test จำนวน 11 ไอโซเลต ที่อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส พบว่ามีการเกิดวงใส (clear zone) บนจานอาหารทดสอบ (cellulose agar) พบในดินจากไร่อ้อยจากสุพรรณบุรี 5 ไอโซเลต นครปฐม 4 ไอโซเลต และราชบุรี 2 ไอโซเลต และยังพบเชื้อราจำนวน 3 ไอโซเลต ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ที่สามารถทำให้เกิดวงใสบนจานอาหารทดสอบได้เช่นกัน โดยแยกเป็นดินจากไร่อ้อยจากสุพรรณบุรี 2 ไอโซเลต นครปฐม 1 ไอโซเลต ส่วนที่ราชบุรีไม่พบ (Table 2)

Table 2 Isolated numbers of soil microorgarnisms able to produce cellulase by congo red test method

Source of soils	Isolated numbers of soil microorgarnisms to produce cellulase	
	30 - 32 °C	45 °C
Suphanburi	5	2
Nakhon Pathom	4	1
Ratchburi	2	0
Total	11	3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 การศึกษาการเจริญของจุลินทรีย์คัดเลือกที่อุณหภูมิต่างๆ

จากการนำจุลินทรีย์ที่มีสมบัติในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสทั้ง 14 ไอโซเลต ทดสอบความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิ 30 - 32 , 45, 50 และ 55 องศาเซลเซียสบนอาหารเลี้ยงเชื้อ CMC agar เป็นเวลา 5 วัน ผลการจำแนกชนิดของเชื้อราพบว่า แหล่งดินสุพรรณบุรีมีเชื้อราที่สามารถเจริญ ณ. อุณหภูมิ 30 - 32 องศาเซลเซียส จำนวน 5 ชนิด คือ *Trichoderma harzianum, Aspergillus terreus, Aspergillus flavus, Fusarium semitectum* และ *Penicillium citrinum* และที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส พบแอคติโนมัยซิส 2 ชนิด คือ *Streptomyces* sp. และ *Nocardia* sp. ส่วนแหล่งดินนครปฐมพบเชื้อราที่สามารถเจริญได้ ณ. อุณหภูมิ 30 - 32 องศาเซลเซียส จำนวน 4 ชนิด คือ *Penicillium citrinum, Mucor ramosissimus, Aspergillus penicillioides* และ *Bipolaris spicifera* และที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส พบ 1 ชนิด คือ *Penicillium purpurogenum* และแหล่งดินราชบุรี พบเชื้อราที่สามารถเจริญ ณ. อุณหภูมิ 30 - 32 องศาเซลเซียส เพียงชนิดเดียว คือ *Aspergillus niger* (Table 3)

Table 3 Species of cellulolytic selected microorgarnisms at temperature 30 - 32 °C and 45 °C

	Species of cellulolytic selected microorgarnisms	
Source of soils	**30 - 32 °C**	**45 °C**
Suphanburi	*Trichoderma harzianum* *Aspergillus terreus* *Aspergillus flavus* *Fusarium semitectum* *Penicillium citrinum*	*Streptomyces* sp. *Nocardia* sp.
Nakhon Pathom	*Penicillium citrinum* *Mucor ramosissimus* *Aspergillus penicillioides* *Bipolaris spicifera*	*Penicillium purpurogenum*
Ratchburi	*Aspergillus niger*	

เชื้อราที่พบในดินจากไร่อ้อยในครั้งนี้ หลายชนิดมีรายงานว่าเคยพบจากแหล่งดินที่ทำการเกษตรและดินจากป่าแหล่งต่างๆ เช่น ราในสกุล *Aspergillus* spp. , *Fusarium* sp. , *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp., และ *Mucor* sp. เป็นต้น [6] สำหรับเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ที่พบในแหล่งดินจังหวัดสุพรรณบุรี มีรายงานว่าเชื้อราชนิดนี้มีบทบาทเป็นเชื้อราปฏิปักษ์และมีศักยภาพในการควบคุมเชื้อราสกุล *Fusarium* spp. สาเหตุโรคเหี่ยวในมะเขือเทศและพืชตระกูลแตง [7]

นอกจากนี้เชื้อรา *Aspergillus* spp. , *Penicillium* sp. และ *Trichoderma* sp. มีรายงานว่าพบมากในดินสวนส้ม รังสิต หลังจากมีการใส่ปุ๋ยอินทรีย์ที่มีธาตุไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ [8] ในแหล่งดิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ปลูกอ้อยส่วนใหญ่เกษตรกรจะใส่ปุ๋ยเคมีเพื่อเร่งการเจริญเติบโตของอ้อยในระยะแตกกอ ปุ๋ยที่ใช้ได้แก่ แอมโมเนียมไนเตรท และยูเรีย เป็นต้น ซึ่งเป็นปุ๋ยที่ให้ธาตุไนโตรเจนเป็นหลัก จึงมีความเป็นไปได้ว่าธาตุไนโตรเจนที่ตกค้างอยู่ในดินจะเป็นแหล่งอาหารของเชื้อราที่พบในดินและช่วยเพิ่มปริมาณของเชื้อราในดินด้วย ซึ่งมีรายงานว่าไนโตรเจนเป็นแหล่งอาหารสำคัญของจุลินทรีย์เพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ให้มากขึ้น ทำให้มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายวัสดุเพิ่มขึ้น [9] ดังนั้นการใส่ปุ๋ยของเกษตรกรนอกจากจะเป็นการเร่งการเจริญเติบโตของอ้อยแล้ว ยังมีผลต่อกิจกรรมและปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ดินด้วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งจุลินทรีย์ที่ใช้ไนโตรเจนเป็นแหล่งอาหารคาร์บอน

3.4 การวิเคราะห์ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์คัดเลือกในการย่อยเศษใบอ้อยในสภาพห้องปฏิบัติการ

จากการศึกษาประสิทธิภาพของการย่อยเศษใบอ้อยในห้องปฏิบัติการ พบเชื้อราที่ได้จากการคัดเลือกที่อุณหภูมิ 30 - 32 องศาเซลเซียส คือ *Penicillium citrinum* มีประสิทธิภาพในการย่อยเศษใบอ้อยดีที่สุด รองลงมาคือ *Aspergillus terres* , *Aspergillus flavus* และ *Bipolaris spicifera* ส่วนจุลินทรีย์คัดเลือกที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส พบ 3 ชนิด แต่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเศษใบอ้อยต่ำ (Table 4)

มีรายงานวิจัยที่ชี้ให้เห็นว่าเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสสูง และมีบทบาทอย่างมากต่อการย่อยสลายสารประกอบจำพวกเซลลูโลส ซึ่งพบว่าเชื้อราที่มีประสิทธิภาพดีในการย่อยสลายเซลลูโลส ได้แก่ เชื้อราพวก *Penicillium* sp. และ *Aspergillus* sp. [10] และมีรายงานว่าจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สูง ได้แก่ *Aspergillus* sp. และ *Streptomyces* sp. [11] ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาครั้งนี้ที่พบเชื้อรา *Penicillium* sp. และ *Aspergillus* sp. สร้างเอนไซม์เซลลูเลสสูงและมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเศษใบอ้อยได้ในระดับดี จุลินทรีย์ 2 ชนิดดังกล่าวนี้พบว่าเป็นชนิดที่มักพบอยู่เสมอในกองปุ๋ยหมัก [12]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 4 Efficiency of cellulolytic selected fungi to digest bits sugarcanes leaves in vitro at temperature 30 – 32 °C and 45 °C

Species	Efficiency of cellulolytic selected fungi to digest bits sugarcanes leaves	
	30 - 32 °C	45 °C
Trichoderma harzianum	+	
Penicillium citrinum	+++	
Aspergillus terreus	++	
Aspergillus flavus	++	
Bipolaris spicifera	++	
Fusarium semitectum	+	
Mucor ramosissimus	+	
Aspergillus niger	+	
Penicillium citrinum	+	
Aspergillus penicillioides	+	
Streptomycetes sp.		+
Penicillium purpurogenum.		+
Nocardia sp.		+

\+ vegetative evaluation score level

+++ = very good about 80 - 100 %

++ = good about 60 - 79 %

\+ = medium about 1 - 59 %

4. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

4.1 การแยกจุลินทรีย์จากดินในไร่อ้อย พบจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญเติบโต ณ. อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส ทั้งหมด 78 ไอโซเลต ในจำนวนนี้มี 11 ไอโซเลตที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลส คือ *Trichoderma harzianum.* ,*Penicillium citrinum* , *Aspergillus terreus.* ,*Aspergillus flavus* ,*Bipolaris spicifera.* ,*Fusarium semitectum.* ,*Mucor ramosissimus*, *Aspergillus terreus* , *Aspergillus niger* , *Penicillium citrinum* และ *Aspergillus penicillioides* และพบจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญเติบโต ณ. อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ทั้งหมด 18 ไอโซเลต ในจำนวนนี้มี 3 ไอโซเลตที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลส คือ *Streptomyces* sp. , *Penicillium purpurogenum* และ *Nocardia* sp.

4.2 เชื้อราทุกชนิดที่อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส และสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส 2 ชนิด คือ *Aspergillus terreus* และ *Trichoderma harzianum* แต่ไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ส่วนเชื้อราทุกชนิดที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส แต่ไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

4.3 ประสิทธิภาพของการย่อยเศษใบอ้อยของเชื้อราคัดเลือกที่อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส ภายในห้องปฏิบัติการ พบว่า เชื้อรา *Penicillium citrinum* มีประสิทธิภาพในการย่อยเศษใบอ้อยสูงสุด รองลงมาคือเชื้อรา *Aspergillus terreus. Aspergillus flavus* และ *Bipolaris spicifera* ซึ่งเชื้อรา *Aspergillus terreus* น่าจะมีความเหมาะสมที่สุดในการนำไปย่อยเศษใบอ้อยในสภาพธรรมชาติ เนื่องจากสามารถสร้างเอนไซม์ได้ดี และสามารถเจริญที่อุณหภูมิสูงได้ ส่วนเชื้อราที่อุณหภูมิ 45 ทุกไอโซเลต ประสิทธิภาพในการย่อยเศษใบอ้อยต่ำมาก

เอกสารอ้างอิง

[1] กลุ่มบริษัทน้ำตาลมิตรผล. 2540.คู่มือการทำไร่อ้อย. เอกสารวิชาการ บริษัทมิตรผลวิจัยพัฒนาอ้อยและน้ำตาล จำกัด, 63 หน้า.

[2] สุรเดช จินตกานนท์, เกษม สุขสถาน และ ผกาทิพย์ จินตกานนท์. 2542. การศึกษาผลผลิตและองค์ประกอบธาตุอาหารพืชของอ้อย .ว. เกษตรศาสตร์ (วิทย.) 33: 10 -20

[3] อรรถสิทธิ์ บุญธรรม , ปรีชา พราหมณีย์, ธงชัย ตั้งเปรมศรี และ เฉลิมพล ไหลรุ่งเรือง. 2541.ผลของการอนุรักษ์ดินโดยการไม่เผาเศษซากอ้อยร่วมกับการใช้ปุ๋ยเคมีในการเพิ่มผลผลิตอ้อยตอ.ในการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 36 วันที่ 3 - 5 กุมภาพันธ์ 2541. หน้า 28 -34

[4] พิทักษ์พงศ์ ป้อมปราณี, จุฑารัตน์ อรรถจารุสิทธิ์ และเดชา วิวัฒน์วิทยา. 2546. มดตัวห้ำที่มีบทบาทควบคุมหนอนกออ้อยในสภาพแปลงอ้อยที่ต่างกัน. ว.เทคโนโลยีสุรนารี. 10 (4) : 339 – 349

[5] Goel, S.C. and K.B. Ramachandran. 1983. Studies on the adsorption of cellulase on lignocellulosics. J. Ferment. Technol. 61 (3) : 329 - 332

[6] เลขา มาโนช. 2535. รา Pythiaceae, Zygomycetes, Ascomycetes และ Hyphomycetes บางชนิดจากดินในประเทศไทย. ในรายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 30 สาขาพืช วันที่ 29 มกราคม – 1 กุมภาพันธ์ 2535 หน้า 739 – 752

[7] มาลัยพร เชื้อบัณฑิต, วีระศักดิ์ ศักดิ์ศิริรัตน์, พิศาล ศิริธร และ นิวัฒน์ เสนาะเมือง. 2546. ความหลากชนิดของเชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma* spp. จากแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ และศักยภาพในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรค Fusarium wilt ของมะเขือเทศและพืชตระกูลแตง. ใน การประชุมอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 6 วันที่ 24 - 27 พฤศจิกายน 2546 ณ โรงแรมโซฟิเทลราชาออคิด จ. ขอนแก่น หน้า 933 - 944

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[8] รุ่งนภา ก่อประดิษฐ์สกุล, ปราณี ผลยังส่ง, อำไพวรรณ ภราดร์นุวัฒน์ และวิชัย ก่อประดิษฐ์สกุล . 2542. ผลของปุ๋ยอินทรีย์ Fero ที่มีต่อเชื้อราปฏิปักษ์ และ nitrifying bacteria ในดินสวนส้ม รังสิต. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 37 สาขาพืช วันที่ 3 - 5 กุมภาพันธ์ 2542 หน้า 241 -247

[9] กรมพัฒนาที่ดิน. 2552. ปัจจัยสำคัญบางประการในกระบวนการผลิตปุ๋ยหมัก. [Online]. Available : http://www.ldd.go.th/pldweb/tech/p.1.html

[10] พิทยากร ลิ่มทอง . 2543. เทคโนโลยีชีวภาพกับปุ๋ยอินทรีย์ในการเพิ่มผลผลิตพืช. เอกสารวิชาการ ใน การประชุมวิชาการงานมหกรรมการเกษตร 2000 วันที่ 12 -14 พฤษภาคม 2543 ณ. ศูนย์แสดงสินค้านานาชาติอิมแพค เมืองทองธานี

[11] นงลักษณ์ สายเทพ, ชัยวัฒน์ จาติเสถียร และ อารยา จาติเสถียร. 2551. การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ทนร้อนที่มีกิจกรรม เซลลูเลส อะไมเลส โปรติเอส และไลเปสสำหรับกระบวนการหมักปุ๋ย. ว. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีภาคเหนือ. 2 (1) : 11-17

[12] Romanelli, R.A., Houston, C.W. and Barnett, S.M. 1975. Studies on thermophillic cellulolytic fungi. Appl. Microbiol., Vol.32 : 276 -284

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้