

การศึกษาปริมาณของน้ำสกัดจากดินในอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อหาปริมาณของแบคทีเรียในดิน

A Study of the Composition of Soil Extract Media for Determining Total Bacterial Count of Soil

วารกรณ์ เกษมสันต์ สันตนิษฐ์ อยู่เย็น สุจิตรา ชาเวช และ นรินทร์ สิงห์บุตร
Varaporn Kasemsanti, Santani Yooyen, Suchitra Chauchvej
and Neerun Singhabootra

ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ABSTRACT

Total bacterial counts were determined by dilution plate method with the use of soil extract media. The media were prepared from different quantities of soil extract obtained from upland, orchard and paddy soils. Highest total bacterial counts were observed in the media containing low quantity of soil extract. The quantity of soil extract in the media that yielded highest total bacterial counts was found to vary with soil type.

ในการหาปริมาณของแบคทีเรียในดินโดยวิธี dilution plate method นั้นปริมาณของแบคทีเรียที่ขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ (media) จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นๆ อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้โดยมากมักได้แก่ soil extract media ซึ่งได้จากดินที่มีความอุดมสมบูรณ์สูง แต่อาจไม่เหมาะแก่การเจริญหรือการเกิด colony ของแบคทีเรียในอาหารนั้นก็ได้ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะแบคทีเรียในดินทั่วไปนั้น ไม่สามารถปรับตัวให้เข้ากับ soil solution ของดินนั้น แต่ถ้านำดินที่ต้องการหาปริมาณแบคทีเรียนั้นมาทำ soil extract แล้วใช้เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและใช้ปริมาณ soil extract ที่เหมาะสม อาจจะทำให้ได้ปริมาณของแบคทีเรียที่ขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นใกล้เคียงกับปริมาณที่มีอยู่ในดิน

การศึกษานี้เป็นการศึกษาปริมาณของ soil extract ของดินจากที่ต่าง ๆ กัน 3 แห่งในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อให้ทราบว่าใช้ soil extract ในอัตราใดจึงจะได้ปริมาณที่น้ำจะถูกต้องที่สุดของแบคทีเรียในดินแต่ละอย่าง

อุปกรณ์และวิธีการ

ดิน ดินที่ใช้ในการทดลองนี้ เป็นดินที่เก็บตามวิธีการเก็บเพื่อหาปริมาณของจุลินทรีย์ในดิน ดินที่เก็บมานี้เก็บไว้ในถุงพลาสติก เพื่อรักษาความชื้นและเก็บไว้ในห้องอุณหภูมิต่ำ ตลอดการทดลองนี้เก็บมาจาก 3 แห่งคือ

1. ดินจากไร่สุวรรณจากกสกิจ อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา เป็นดินร่วนเหนียว มีสีแดง pH 7.3, organic matter content 1.95% วิเคราะห์ตามวิธีของ Walkey and Black (2) ขณะเก็บมีความชื้น 34.83% โดยน้ำหนัก

2. ดินจากสวนไม้ผล อำเภอภาษีเจริญ นครหลวงกรุงเทพมหานคร เป็นดินเหนียว มีสีดำ pH 6.8, organic matter content 2.1% ขณะเก็บมีความชื้น 37.83% โดยน้ำหนัก

3. ดินจากนาทดลองของกรมการข้าว อำเภอบางเขน นครหลวงกรุงเทพมหานคร เป็นดินเหนียว สีค่อนข้าง

ข้างดำ มี pH 6.2, organic matter content 2.07% เก็บ
ขณะที่มีความชื้น 36.57% โดยน้ำหนัก

น้ำสกัดจากดิน (soil extract) : ใช้ดินแห้ง 1000
กรัม น้ำ 1000 มล. และ CaCO_3 6 กรัม เขย่าให้เข้ากัน
ดี sterilize ที่อุณหภูมิ 121°ซ. ความดัน 15 ปอนด์ ต่อ
หนึ่งตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที หลังจาก sterilize –
แล้วปล่อยให้เย็นแล้วจึงกรอง สิ่งที่กรองได้
เป็น soil extract สำหรับใช้เตรียม media

อาหารเลี้ยงเชื้อ (media) : เป็น soil extract media
(1) โดยมีส่วนประกอบดังนี้ agar 15 gm, K_2HPO_4
0.50 gm, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 gm, CaCl_2 0.01 gm, FeCl_3
0.01 gm, peptone 1.00 gm, yeast extract 0.1 gm, soil
extract และน้ำในอัตราส่วนต่างๆกัน ให้อยู่ในระหว่าง
6.5 ถึง 7 sterilize ที่อุณหภูมิ 121°ซ. ความดัน 15
ปอนด์ต่อหนึ่งตารางนิ้ว เป็นเวลานาน 20 นาที

การหาปริมาณแบคทีเรีย (total count) : หาโดยวิธี
dilution plate method ใช้ media 10 มล. และ incubate
ที่อุณหภูมิ 28°ซ. เป็นเวลา 7 วันแล้วนับปริมาณ colony
ของแบคทีเรียที่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า

อัตราส่วนของน้ำและน้ำสกัดจากดิน ทำสองระยะ
ระยะแรกผสมน้ำกับน้ำสกัดจากดินของดินทั้ง 3 ใน
สัดส่วนเดียวกัน ดังนี้

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณแบคทีเรียเป็น logarithm
media ชุดแรก

Media	ส่วนประกอบของ ml.	
	Soil Extract	Water
A	100	900
B	200	800
C	300	700
D	400	600
E	500	500
F	1000	—

ระยะที่สองได้ผสมน้ำกับน้ำสกัดจากดิน หลังจาก
ผลของการทดลองจากระยะแรก และส่วนผสมของ
น้ำกับน้ำสกัดจากดินแต่ละแห่งมีสัดส่วนไม่เหมือนกัน
โดยดูผลจากสัดส่วนระดับที่มีแนวโน้มทำให้ได้ปริมาณ
แบคทีเรียมาก เป็นหลักในการเตรียมสัดส่วนของ
อาหารเลี้ยงเชื้อชุดที่สองของดินแต่ละชนิด

ผลการทดลอง

ปริมาณของแบคทีเรียที่หาได้โดยวิธี dilution plate
method โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อจาก soil extract media
ของดินไร่มีแนวโน้มที่จะมากเมื่อ media ที่ใช้มี soil
extract 200—300 มล. ดังตารางที่ 1 และหลังจากนั้น
ได้ใช้ส่วนผสมระหว่างน้ำกับ soil extract ในอัตราส่วน
ต่าง ๆ กัน ในช่วง 200—300 มล. ผลปรากฏว่า media
ที่ใช้ soil extract 200—240 มล. ให้ปริมาณของแบค-
ทีเรียมากที่สุด ดังตารางที่ 2

ของดินจากไร่หลวงสุวรรณ ต่อดินหนัก 1 กรัม เมื่อใช้

No	Composition of Media		Replication				Average
	Soil Extract ml.	Water ml.	1	2	3	4	
1	100	900	6.063	6.274	6.058	6.406	6.200
2	200	800	6.156	6.663	6.737	6.092	6.412
3	300	700	6.236	6.162	7.031	6.825	6.563
4	400	600	5.935	6.136	6.328	5.861	6.065
5	500	500	6.162	6.387	6.654	6.367	6.365
6	1000	-	6.208	6.161	6.299	6.259	6.232

Media = non significant

Replication = significant

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณของแบคทีเรียที่เป็น logarithm ของดินจากไร่หลวงสุวรรณ ต่อดินหนัก 1 กรัม เมื่อใช้ media ชุดที่สอง

No	Composition of Media		Replication				Average
	Soil Extract	Water	1	2	3	4	
	ml.	ml.					
1	200	800	6.278	6.385	6.384	6.324	6.342
2	220	780	6.069	6.199	6.350	6.229	6.212
3	240	760	6.134	6.501	6.357	6.362	6.338
4	260	740	6.218	6.285	6.214	6.098	6.204
5	280	720	5.942	6.107	6.036	6.018	6.025
6	300	700	6.171	6.249	6.378	6.197	6.249

L.S.D. 5% Media = 0.87, replication = 0.072

L.S.D. 1% Media = 1.21, replicaton = 0.100

ปริมาณของแบคทีเรียที่ใช้ soil extract จากดินสวนไม้ผลมากที่สุดเมื่อใช้ media ที่มี soil extract 100—200 มล. ดังตารางที่ 3 และหลังจากนี้ได้ใช้ส่วนผสมระหว่างน้ำกับ soil extract ย่อยลงไปอีก โดยให้อัตราส่วนของ soil extract อยู่ในช่วง 100—200 มล. และปรากฏว่า media ที่มี soil extract 180 มล. ให้ปริมาณของแบคทีเรียมากที่สุด ดังตารางที่ 4

ปริมาณของแบคทีเรียที่ใช้ soil extract จากดินนาทดลองข้าวบางเขนมากที่สุดเมื่อใช้ media ที่มี soil extract 300—400 มล. ดังตารางที่ 5 และหลังจากนี้ได้ใช้ส่วนผสมน้ำกับ soil extract ย่อยลงไปอีก โดยให้อัตราส่วนของ soil extract อยู่ในช่วง 300—400 มล. และปรากฏว่า media ที่มี soil extract 360—380 มล. มีแนวโน้มที่จะให้ปริมาณของแบคทีเรียมากที่สุด ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 3 แสดงปริมาณของแบคทีเรียที่เป็น logarithm ของดินจากสวนไม้ผลต่อดินหนัก 1 กรัม เมื่อใช้ media ชุดแรก

No	Composition of Media		Replication				Average
	Soil Extract	Water	1	2	3	4	
	ml.	ml.					
1	100	900	6.883	6.783	6.698	6.580	6.736
2	200	800	6.064	6.219	6.283	6.306	6.218
3	300	700	6.606	6.507	6.495	6.380	6.497
4	400	600	6.531	6.591	6.513	6.589	6.556
5	500	500	6.609	6.655	6.518	6.594	6.594
6	1000	-	6.561	6.647	6.712	6.516	6.609

Media = highly significant, L.S.D. 5% = 0.142

1% = 0.197

ตารางที่ 4 แสดงปริมาณของแบคทีเรียเป็น logarithm ของดินจากสวนไม้ผลต่อดินหนัก 1 กรัม เมื่อใช้ media ชุดที่สอง

No	Composition of Media		Replication				Average
	Soil Extract	Water	1	2	3	4	
	ml.	ml.					
1	100	900	7.102	7.013	7.033	7.128	7.069
2	120	880	6.986	7.004	7.001	6.978	6.993
3	140	860	7.067	7.049	6.965	6.952	7.002
4	160	840	7.016	6.952	6.944	6.955	6.960
5	180	820	7.106	7.138	7.119	7.058	7.130
6	200	800	7.049	7.077	6.943	7.051	7.030

Media = significant L.S.D. 5% = 0.079

1% = 0.109

ตารางที่ 5 แสดงปริมาณของแบคทีเรียเป็น logarithm ของดินนาทดลองข้าวบางเขนต่อดินหนัก 1 กรัม เมื่อใช้ ชุดแรก

No	Composition of Media		Replication				Average
	Soil Extract	Water	1	2	3	4	
	ml.	ml.					
1	100	900	6.585	6.634	6.659	6.677	6.639
2	200	800	6.564	6.666	6.635	6.603	6.617
3	300	700	6.583	6.544	6.563	6.643	6.583
4	400	600	6.646	6.666	6.732	6.562	6.652
5	500	500	6.536	6.621	6.610	6.560	6.582
6	1000	-	6.427	6.359	6.345	6.298	6.359

Media = highly significant, L.S.D. 5% = 0.068

1% = 0.094

ตารางที่ 6 แสดงปริมาณของแบคทีเรียเป็น logarithm ของดินนาทดลองข้าวบางเขนต่อดินหนัก 1 กรัม เมื่อใช้ media ชุดที่สอง

No	Composition of Media		Replication				Average
	Soil Extract	Water	1	2	3	4	
	ml.	ml.					
1	300	700	7.027	6.972	7.059	7.029	7.022
2	320	680	7.132	7.046	7.004	6.978	7.040
3	340	660	6.991	7.062	7.085	6.995	7.033
4	360	640	7.056	7.047	7.237	7.173	7.128
5	380	620	7.177	7.202	7.176	7.018	7.144
6	400	600	7.040	7.045	6.996	6.983	7.016

Non significant difference

วิจารณ์

Media ที่ประกอบด้วย soil extract ทั้งหมด โดยไม่มีน้ำผสมเลยนั้นทั้งดินจากไร่ ดินจากนา และดินจากสวนไม้ผล แทนที่จะให้ปริมาณของแบคทีเรียมากที่สุด เพราะเป็นน้ำที่สกัดจากดิน ย่อมมีอาหารธาตุสำหรับแบคทีเรียปนอยู่เป็นจำนวนมาก กลับให้ปริมาณของแบคทีเรียน้อยกว่า media ที่ใช้น้ำผสมกับ soil extract และยิ่งใช้ soil extract ในอัตราต่ำ ยิ่งทำให้แบคทีเรียเจริญได้ดีขึ้น ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะใน soil extract นั้นอาจมีสารบางชนิดที่จำกัดการเจริญของแบคทีเรียละลายออกมา เมื่อใช้ soil extract เป็นปริมาณน้อยนั้น สารที่จำกัดการเจริญของแบคทีเรียที่ละลายออกมา อาจไม่เข้มข้นมากพอที่จะจำกัดการเจริญ

ของแบคทีเรียได้ ตรงกันข้ามสารที่ extract ออกมาจากดิน ถ้าใช้เป็นปริมาณน้อยกลับเป็นตัวเสริมให้แบคทีเรียเจริญได้ดีขึ้น และสัดส่วนของ soil extract ใน media ที่ให้การเจริญที่ดีที่สุดของแบคทีเรียแตกต่างกันสำหรับดิน 3 ชนิดที่ใช้ในการศึกษานี้

เอกสารอ้างอิง

1. BUNT, J. S. and A. D. ROVIRA. 1955 Microbiological studies of some subantarctic soil. Jour. Soil Sci 6:119-128.
2. JACKSON, M. L. 1958. Soil chemical analysis. Constable & Co. Ltd., London. 498 p.