

โพรโทซัวและแบคทีเรียในดินบริเวณรากพุทธรักษา แสม และสน

Soil Protozoa and Bacteria Near *Canna* sp., *Avicennia* sp., and *Casuarina* sp. Root

ปทุมพร เมืองพระ และ อรุณี สมมณี¹

Ptumporn Muangphra and Arunee Sommani

ABSTRACT

Bacteria and Protozoa from three soil sources; first from *Canna* sp. near the Faculty of Science, Silpakorn University, Nakhon Pathom, second and third from *Avicennia* sp. and *Casuarina* sp. at Samutsakorn Province were analyzed. Each soil source was collected from rhizosphere and bare soil. The quantity of bacteria and protozoa were carried out by plate count method and standard dilution method respectively.

The result showed that, in each soil source, protozoa and bacteria from rhizosphere were highly significant difference from the bare soil. Each rhizosphere gave the different growth for protozoa. The *Canna* root stimulated amoeba growth better than flagellate and ciliate. The *Avicennia* and *Casuarina* root stimulated ciliate growth better than flagellate and amoeba.

บทคัดย่อ

ศึกษาปริมาณแบคทีเรียและโพรโทซัวในดิน 3 แหล่ง คือ ดินบริเวณต้นพุทธรักษาข้างคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร นครปฐม และดินบริเวณต้นแสมและสน ที่จังหวัดสมุทรสาคร โดยแต่ละแหล่งเก็บดินที่อยู่ติดกับราก และดินที่อยู่ห่างราก หาจำนวนแบคทีเรีย โดยวิธี plate count method และหาจำนวนโพรโทซัวโดยวิธี standard dilution method พบว่าดินแต่ละแหล่งมีจำนวนแบคทีเรีย และโพรโทซัว ที่รากและที่ห่างราก แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง รากพืช

แต่ละชนิดกระตุ้นการเจริญของโพรโทซัวได้ไม่เท่ากัน รากพุทธรักษากระตุ้นการเจริญของ amoeba มากกว่า flagellate และ ciliate ในขณะที่รากแสมและสนกระตุ้นการเจริญของ ciliate มากกว่า flagellate และ amoeba

คำนำ

ปัญหาที่สำคัญของเกษตรกรในการเพาะปลูกคือ ปัญหาผลผลิตต่อไร่ต่ำ อันเนื่องมาจากดินขาดความอุดมสมบูรณ์ การเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดินมีหลายวิธี แต่วิธีที่นิยมและสะดวกต่อการบำรุงดินคือการใส่ปุ๋ย และการปลูกพืชหมุนเวียน เช่น ปลูกข้าวสลับกับการ

¹ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร นครปฐม 73000

Dept. of Biology, Faculty of Science, Silpakorn University, Nakhon Pathom 73000, Thailand.

ปลูกถั่ว เพราะรากถั่วมีแบคทีเรียจีนัส *Rhizobium* ซึ่งสามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ ดินที่มีอินทรีย์วัตถุในดินหรือฮิวมัสมาก จัดว่าเป็นดินดี มักจะมีแบคทีเรียเห็ด รา แอคติโนไมซีต และโพรโทซัวเป็นผู้ย่อยสลายซากพืช ซากสัตว์ ให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ สิ่งมีชีวิตเล็ก ๆ เหล่านี้จะมีปริมาณและชนิดแตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับคุณภาพของดินเช่น อุณหภูมิ ความชื้น ความเป็นกรดเป็นด่าง การถ่ายเทอากาศ การระบายน้ำ ปริมาณอินทรีย์วัตถุ และพืชที่ปลูก แบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตที่พบมากที่สุดในดินเมื่อเทียบกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น ๆ แบคทีเรียที่พบมีรูปร่างหลายแบบ ส่วนใหญ่มักมีรูปร่างแบบแท่งมากที่สุด (Buckman, 1968) มีขนาดตั้งแต่ $4 - 5 \mu$ จนถึงขนาดใหญ่มากกว่าขนาดดินเหนียว แบคทีเรียเพิ่มปริมาณได้อย่างรวดเร็วช่วยให้ดำรงชีวิตอยู่ในดินได้เป็นอย่างดี แบคทีเรียที่พบ ได้แก่ จีนัส *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Achromobacter*, *Bacillus*, *Clostridium* และ *Mycobacterium* เป็นต้น ในสภาพที่ดินเปรี้ยวจัดหรือเค็มจัดจะมีชนิดและปริมาณแบคทีเรียที่แตกต่างจากดินโดยทั่ว ๆ ไป เพราะต้องเป็นพวกที่ใช้ประโยชน์หรือทนต่อสมบัติของดินนั้นได้ดี ปริมาณแบคทีเรียที่พบในดินซึ่งหาโดยวิธี plating method มีตั้งแต่ $0.3 \times 10^6 - 9.5 \times 10^7$ เซลล์/ดิน 1 กรัม (สมศักดิ์, 2524) ในดินแต่ละสถานที่จะมีปริมาณแบคทีเรียแตกต่างกันไป เช่น ในทุ่งหญ้ามีแบคทีเรีย $10^5 - 10^6$ เซลล์/ดิน 1 กรัม ดินบริเวณเพาะปลูกมีประมาณ $5 \times 10^5 - 5 \times 10^6$ เซลล์/ดิน 1 กรัม และดินในป่ามีปริมาณ $10^6 - 10^7$ เซลล์/ดิน 1 กรัม (Bamforth, 1971) ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณแบคทีเรียมากที่สุดคืออาหารในดิน

ดินที่มีความอุดมสมบูรณ์จะมีจำนวนแบคทีเรียปริมาณในเตรด และ ปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์สูงกว่าในดินที่ไม่อุดมสมบูรณ์ แต่จะใช้เวลาปริมาณแบคทีเรียเป็นเครื่องชี้ความอุดมสมบูรณ์เสียทั้งหมดไม่ได้ เพราะ

ยังมีปัจจัยอื่น ๆ อีกหลายอย่างนอกจากอาหารเป็นเครื่องกำหนดกิจกรรมของแบคทีเรียในดิน

โพรโทซัวที่พบในดินแบ่งตามลักษณะการกินอาหารเป็น 2 พวกคือ saprozoic feeder ซึ่งเป็นพวกที่ดูดซึมอินทรีย์วัตถุที่ย่อยสลายในดิน และพวก holozoic feeder ซึ่งเป็นพวกที่กินแบคทีเรียเป็นอาหาร มักกินแบคทีเรียในจีนัส *Acrobacter*, *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Escherichia*, *Micrococcus* และ *Pseudomonas* เนื่องจากสภาวะในดินมีการเปลี่ยนแปลงอยู่เสมอ โพรโทซัวที่พบจึงมักเป็นชนิดที่ทนต่อสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วได้เป็นอย่างดี เช่น amoeba ชนิดที่มีเปลือกหุ้ม flagellates และ ciliates พวกที่เข้าเกาะได้เร็ว เช่น *Colpoda cuculus*, *Colpoda steni*, *Balantiophorus*, *Colpidium*, *Gastrostyla* และ *Halteria* ปริมาณโพรโทซัวในดินมีตั้งแต่ $10^4 - 3 \times 10^5$ เซลล์/ดิน 1 กรัม มักพบว่าเป็นพวก flagellates มากที่สุด รองลงมาคือ rhizopods และ ciliates น้อยที่สุด ปริมาณ flagellates และ rhizopods ที่มักพบคือ $5 \times 10^3 - 2 \times 10^5$ เซลล์/ดิน 1 กรัม ส่วน ciliates มักพบไม่เกิน 10^3 เซลล์/ดิน 1 กรัม (สมศักดิ์, 2524) โพรโทซัวส่วนใหญ่อาศัยอยู่บนผิวหน้าดิน มักพบโพรโทซัวในฤดูที่มีความชื้นสูงมากกว่าในฤดูที่มีความชื้นต่ำ

แบคทีเรียและโพรโทซัวที่อยู่ร่วมกันในดิน มักอยู่ที่บริเวณที่มีรากพืชมากกว่าบริเวณข้างเคียงที่ไม่มีรากพืช เพราะบริเวณรากมีความชื้น และมีอาหารสมบูรณ์กว่าบริเวณข้างเคียง รากจะดูดน้ำและธาตุอาหารเข้าสู่ลำต้น และปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์และออกซิเจนออกมา แบคทีเรียและโพรโทซัวสามารถเพิ่มจำนวนควบคู่ไปกับการเจริญเติบโตของรากพืช และช่วงต้นของการเจริญเติบโตของพืช จำนวนแบคทีเรียและโพรโทซัวบริเวณราก จะสูงกว่าบริเวณที่ไม่มีพืชขึ้นอยู่ (Darbyshire and Greaves, 1967) กระบวน

การทางเคมีรอบ ๆ รากพืชจะลดลงในช่วงที่อากาศแห้งแล้ง หรือเย็นจัด เพราะรากจะลดการทำงานลง จึงมีผลทำให้จำนวนประชากรของแบคทีเรียและโพรโทซัวที่อยู่รอบ ๆ รากจะลดลงด้วย

แบคทีเรียมีความสำคัญต่อพืช คือ บางชนิดสามารถกระตุ้นรากพืชให้ผลิต phosphatase ได้ แต่จะเกิดขึ้นได้เร็วขึ้นเมื่อมีทั้งแบคทีเรีย และ amoeba ร่วมด้วย นอกจากนี้จุลินทรีย์บริเวณรากพืชสามารถผลิตฮอร์โมนได้ เช่น indolyls - 3 - acetic acid และ gibberellins ซึ่งกระตุ้นให้พืชเจริญเติบโตได้ (Coleman *et al*, 1979) เคยมีผู้เข้าใจว่าโพรโทซัวมีอันตรายต่อแบคทีเรีย เพราะกินแบคทีเรียเป็นอาหารและจะลดความอุดมสมบูรณ์ของดินลง แต่ในปัจจุบันมีผู้พบว่าการทำงานของแบคทีเรีย จะมีประสิทธิภาพมากขึ้นถ้ามีโพรโทซัวร่วมด้วย Laybourn - Parry (1984) ศึกษาการจับไนโตรเจนโดย *Azotobacter* พบว่าการผลิตแอมโมเนียจะเพิ่มขึ้นเมื่อมี *Colpoda* อยู่ร่วมด้วย โพรโทซัวกระตุ้นการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย โดยจะเลือกกินแบคทีเรียที่มีอายุมาก มีผลทำให้แบคทีเรียที่ยังอ่อนอยู่พัฒนาตัวเองให้ทำงานอย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้นเพื่อการอยู่รอด Napolinato และ Flanagan (1981) เปรียบเทียบ amoeba ในทรายบริเวณโคนของเห็ดกับทรายที่ไม่มีเห็ดขึ้น พบว่าปริมาณของ amoeba ในทรายที่มีเห็ดขึ้นมีมากกว่าที่ไม่มีเห็ดขึ้น และ amoeba ที่พบทั้ง 2 บริเวณเป็นชนิดเดียวกัน และ Napolinato (1983) ได้เปรียบเทียบจำนวน amoeba ในทรายบริเวณรากของ beach grass จีนัส *Panicum* กับทรายที่ไม่มีรากของ *Panicum* ผลการทดลองพบว่า ทรายบริเวณรากมี amoeba มากกว่า

การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ดังนี้

1. เพื่อต้องการทราบว่ามีปริมาณแบคทีเรีย และโพรโทซัวในดิน บริเวณรากพืชชนิดต่าง ๆ เช่น พุทธรักษา แสม และสน แตกต่างจากปริมาณแบคทีเรีย

และโพรโทซัวในบริเวณข้างเคียงซึ่งพันธิพลของเขตรากหรือไม่

2. ศึกษาว่ารากพืชแต่ละชนิดมีผลต่อ amoeba, flagellate และ ciliate อย่างไร

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ตัวอย่างดินจากบริเวณรากพืช และดินที่ห่างจากรากซึ่งพันธิพลของเขตราก จำนวน 6 แห่ง คือ ดินที่รากพุทธรักษา และที่ห่างจากรากพุทธรักษา จากข้างสระน้ำหน้าเรือนเพาะชำ มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ จังหวัดนครปฐม ดินที่รากสนและที่ห่างจากรากสน ดินรอบรากแสม และที่ห่างจากรากแสม จากเขตอำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสาคร ซึ่งมีลักษณะของดินที่เก็บตัวอย่างดังนี้

1.1 ดินที่รากพุทธรักษา อยู่ริมสระในบริเวณที่แสงส่องถึงตลอดวัน ลักษณะเป็นดินแฉะ อุดมน้ำเหนียวเล็กน้อย สีน้ำตาล อนุภาคดินรวมเป็นเนื้อเดียวกัน มีซากใบไม้และรากพืชปะปนอยู่

1.2 ดินที่ห่างจากรากพุทธรักษา อยู่ในที่โล่งแจ้ง ลักษณะเป็นดินร่วนซุย สีน้ำตาลปนดำ ค่อนข้างเปื่อย

1.3 ดินที่รากสน เป็นดินร่วนแห้งเล็กน้อย เกาะกันเป็นก้อน สีน้ำตาล มีซากใบสน และรากสนปะปนอยู่เป็นจำนวนมาก

1.4 ดินที่ห่างจากรากสน เป็นดินที่มีลักษณะคล้ายดินที่รากสน แต่แห้งกว่า และเกาะกันเป็นก้อนมากกว่า สีน้ำตาล ไม่มีซากใบสนคลุมดิน

1.5 ดินที่รากแสม ลักษณะเป็นดินร่วน และมีน้ำขังอยู่โดยรอบ มีซากใบไม้เน่าเปื่อยมาก สีดำ

1.6 ดินที่ห่างจากรากแสม เป็นดินและสีดำ ไม่มีราก และใบไม้เน่าเปื่อย

2. เชื้อแบคทีเรีย *Aerobacter aerogenes* เพื่อ

เป็นอาหารของโปรโตซัว โดยนำเชื้อจาก stock culture ลงเลี้ยงใน Penassary Broth 30 มิลลิลิตร นำไป incubate ที่ 30°ซ. เป็นเวลา 24 – 36 ชั่วโมง นำไป centrifuge ให้ตกตะกอน แล้วเท Penassary Broth ออก ใส่ 2 mM Tris buffer pH 7.2 ลงไป เขย่าแล้วนำไป centrifuge จากนั้นเท Tris bufferทิ้งไป ทำเช่นนี้ 3 ครั้งเพื่อเป็นการล้าง Penassary broth เดิม 2 mM Tris burre pH 7.2 3 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่เท Tris buffer ที่ล้างครั้งสุดท้ายออก แล้วเขย่าให้เข้ากันจะได้ bacteria suspension

3. งานเพาะเลี้ยง
4. ถ้วยพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร
5. กล้องจุลทรรศน์

วิธีการทดลอง

เก็บตัวอย่างดินทดลองจาก 6 แหล่ง ดินรอบรากพืชจะเก็บดินที่ใกล้ชิดผิวรากพืช และลึกไม่เกิน 15 เซนติเมตร และดินที่ห่างจากรากพืช เก็บจากดินที่พื้นเขตอิทธิพลของรากพืช ลึกไม่เกิน 15 เซนติเมตร แต่ละแหล่งเก็บ 3 ตัวอย่าง และนำมาคลุกให้เข้ากัน เก็บตัวอย่าง 3 ครั้ง ทุก ๆ 15 วัน ระยะเวลาที่เก็บตัวอย่าง 1 มิถุนายน 2530 – 15 กรกฎาคม 2530 ตรวจหาปริมาณแบคทีเรียในดินโดยวิธี plating method

1. ชั่งดิน 1 กรัม ใส่ flask ที่มีน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 100 มิลลิลิตร อัตราส่วนของดินต่อสารละลายเป็น 1 : 100 นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าเป็นเวลาประมาณ 15 นาที
2. ใช้ปิเปตที่ฆ่าเชื้อแล้วดูดสารละลายดินจาก flask อัตราส่วน 1 : 100 จำนวน 1 มิลลิลิตรใส่ใน flask ที่มีน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 99 มิลลิลิตร อัตราส่วนของดินต่อสารละลายเป็น 1 : 10,000 เขย่าให้เข้ากัน
3. ใช้ปิเปตอันใหม่ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ดูดสารละลาย

ดินจาก flask อัตราส่วน 1 : 10,000 จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 99 มิลลิลิตร อัตราส่วนของดินต่อสารละลายเป็น 1 : 1,000,000 เขย่าให้เข้ากัน

4. ใช้ปิเปตอันใหม่ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ดูดสารละลายดินจาก flask อัตราส่วน 1 : 100 จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ไปในจานเพาะเลี้ยงที่ 1 แล้วใช้ปิเปตที่ฆ่าเชื้อแล้วอันใหม่ดูดสารละลายดินจาก flask อัตราส่วน 1 : 10,000 จำนวน 1 มิลลิลิตรใส่ไปในจานเพาะเลี้ยงที่ 2 และใช้ปิเปตอันเดิมดูดสารละลายดินจาก flask อัตราส่วน 1 : 10,000 จำนวน 0.1 มิลลิลิตร ใส่ในจานเพาะเลี้ยงที่ 3 ส่วนในจานเพาะเลี้ยงที่ 4 จะมีสารละลายดินจำนวน 1 มิลลิลิตรที่ดูดจากสารละลายดินใน flask อัตราส่วน 1 : 1,000,000 และจานเพาะเลี้ยงที่ 5 มีสารละลายดินจำนวน 0.1 มิลลิลิตรที่ดูดจากสารละลายดินใน flask อัตราส่วน 1 : 1,000,000

5. ดังนั้นมีจานเพาะเลี้ยงทั้งหมด 5 อัน แต่ละอันมีอัตราส่วนของสารละลายเป็น
 - งานที่ 1 อัตราส่วนของดินต่อสารละลาย เป็น 1 : 100
 - งานที่ 2 อัตราส่วนของดินต่อสารละลาย เป็น 1 : 10,000
 - งานที่ 3 อัตราส่วนของดินต่อสารละลาย เป็น 1 : 100,000
 - งานที่ 4 อัตราส่วนของดินต่อสารละลาย เป็น 1 : 1,000,000
 - งานที่ 5 อัตราส่วนของดินต่อสารละลาย เป็น 1 : 10,000,000

6. เติม sodium caseinate agar ที่ฆ่าเชื้อแล้วลงในแต่ละจานเพาะเลี้ยง ประมาณ 1 ใน 3 ของจานผสมให้เข้ากัน ปล่อยให้แข็งตัว นำไป incubate ในตู้ incubater อุณหภูมิ 35°ซ. ประมาณ 5 วัน โดยคว่ำจานเพาะเลี้ยงลง

7. นับจำนวนโคโลนีด้วยเครื่องนับโคโลนี

ตามลำดับ

การตรวจสอบปริมาณโปรโตซัวในดินโดยวิธี Standard dilution technique (Stout, 1962)

1. นำดินแต่ละชนิดจำนวน 10 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตรให้เข้ากันดี ใน flask เขย่าด้วยเครื่องเขย่าเป็นเวลา 2 ชั่วโมง มีอัตราส่วนของดินต่อสารละลายเป็น 1 : 5

2. ใส่ Tris buffer 5 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง จำนวน 14 หลอด แล้วดูดสารละลายดินจำนวน 5 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองที่ 1 ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex จะมีอัตราส่วนของดินต่อสารละลายเป็น 1 : 10

3. ดูดสารละลายดินจากหลอดที่ 1 จำนวน 5 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองที่ 2 ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex จะมีอัตราส่วนของดินต่อสารละลายเป็น 1 : 20 เจือจางสารละลายดินต่อ ๆ กันลงในหลอดทดลองจนครบ 14 หลอด ให้มีอัตราส่วนของดินต่อสารละลาย เป็น 1 : 10 1 : 20 1 : 40 1 : 80 1 : 160 1 : 320 1 : 640 1 : 1,280 1 : 2,560 1 : 5,120 1 : 10,240 1 : 20,480 1 : 40,960 1 : 81,920

4. นำถ้วยพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร จำนวน 10 อัน วางลงในจานเพาะเลี้ยงที่ฆ่าเชื้อแล้ว ใช้จานเพาะเลี้ยงทั้งหมด 16 จาน (เป็น control 1 จาน)

5. ใส่ 1.5% bacto agar ลงในถ้วยพลาสติกประมาณ 1 มิลลิลิตร เติม *Aerobacter aerogenes* ที่เตรียมไว้ 0.3 มิลลิลิตร บน bacto agar

6. ใส่สารละลายดินที่ได้จาก flask และหลอดทดลอง 14 หลอด ลงในถ้วยพลาสติกทั้ง 10 อันที่อยู่ในจานเพาะเลี้ยงถ้วยละ 0.1 มิลลิลิตร จานเพาะเลี้ยงละ 1 ความเข้มข้น

7. เติมน้ำกลั่นลงในจานเพาะเลี้ยงทุกจานประมาณให้น้ำกลั่นเป็น 1 ใน 3 ของถ้วยพลาสติก เพื่อป้องกันการระเหยของน้ำในถ้วยพลาสติก เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง หมั่นเติมน้ำกลั่นอย่าให้แห้ง

8. ตรวจสอบปริมาณโปรโตซัวในวันที่ 5 หลังจากใส่สารละลายดินลงไป และทุก ๆ 5 วันจนครบ 1 เดือน จากนั้นนำไปคำนวณหาปริมาณโปรโตซัวในดิน 1 กรัม โดยคำนวณจากสูตร (Fisher and Yates, 1963)

$$\log \lambda = x \log a - K$$

λ = จำนวนโปรโตซัวโดยประมาณในขณะที่ยังไม่ถูกด้วยความเข้มข้นเริ่มต้น

x = ผลรวมของจำนวนถ้วยที่พบโปรโตซัวในทุกความเข้มข้น ทารด้วยจำนวนถ้วยพลาสติกทั้งหมดใน 1 ความเข้มข้น

a = ความต่างกันของแต่ละความเข้มข้นของสารละลาย

K = tubular value ที่ได้จากการนำค่า x ไปเปิดตาราง (Fisher and Yates, 1963)

จากนั้นนำแต่ละค่ามาแทนค่าในสูตร ถอด $\log \lambda$ นำ λ ไปคูณกับความเข้มข้นเริ่มต้น จะได้จำนวนโปรโตซัวโดยประมาณต่อดิน 1 กรัม

ผล

จากการวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่างของดินบริเวณรากต้นพุทธรักษา แสม และสน และดินที่ห่างรากพุทธรักษา แสม และสน 3 ครั้ง ด้วย pH meter พบว่ามีความเป็นกรดเป็นด่างเป็น 7.3, 6.2, 5.8 และ 7.3, 6.1, 5.8 ในครั้งแรก ครั้งที่สองเป็น 7.4, 6.1, 5.8 และ 7.3, 6.1, 5.9 ครั้งที่สามเป็น 7.4, 6.2, 5.7 และ 7.4, 6.2, 5.8 ตามลำดับ

ปริมาณแบคทีเรียบริเวณรากพืชทั้ง 3 ชนิดและบริเวณที่ห่างรากพืช

จากการศึกษาดิน 6 บริเวณ 3 ครั้ง พบว่าดินบริเวณรากต้นพุทธรักษามีปริมาณแบคทีเรียโดยเฉลี่ยมากที่สุดคือ 151.7×10^6 เซลล์/ดิน 1 กรัม และดินที่ไม่มีรากต้นพุทธรักษา มีแบคทีเรีย 66.33×10^6 เซลล์/ดิน 1 กรัม ดินบริเวณรากแสมมีแบคทีเรีย 112×10^5 เซลล์/ดิน 1 กรัม และดินที่ไม่มีรากแสมมีแบคทีเรียน้อยที่สุดคือ 42.33×10^5 เซลล์/ดิน 1 กรัม ดินบริเวณรากสนมีแบคทีเรีย 51.33×10^6 เซลล์/ดิน 1 กรัม และดินที่ไม่มีรากสนมีแบคทีเรีย 10×10^6 เซลล์/ดิน 1 กรัม (Table 1)

ปริมาณโพรโทซัวบริเวณรากพืชทั้ง 3 ชนิดและบริเวณที่ห่างรากพืช

จากการศึกษาพบว่า พบโพรโทซัวมากที่สุดในดินบริเวณรากพุทธรักษา โดยในดิน 1 กรัม พบ amoeba 10,934.57 เซลล์ flagellate 5,927.49 เซลล์ และ ciliate 875.07 เซลล์ และพบโพรโทซัวน้อยที่สุดจากดินที่อยู่ห่างรากสน โดยในดิน 1 กรัม พบ amoeba 875.07 เซลล์ flagellate 22.53 เซลล์ และ ciliate 8.78 เซลล์ (Table 2) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณโพรโทซัวในดินที่ราก และที่ห่างราก จะพบว่าโพรโทซัวในดินที่รากจะมีมากกว่าในดินที่ห่างราก

วิจารณ์

พบว่าปริมาณแบคทีเรียและโพรโทซัวในดินบริเวณรากพุทธรักษามีค่ามากกว่าดินบริเวณอื่น ๆ อีก 5 บริเวณ อาจเป็นเพราะดินบริเวณรากพุทธรักษาเป็นดินร่วน อยู่ริมสระน้ำ มีค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 7.4 ซึ่งสูงมากกว่าแสมและสน มีความชื้นสูง และมีซากพืชเน่าเปื่อยทับถมกันซึ่งเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและโพรโทซัว (Bamforth, 1980) ดินที่มีแบคทีเรียน้อยที่สุดคือดินที่อยู่ห่างรากแสมอาจเป็น

Table 1 The quantity of bacteria from each soil.

Source	Bacteria (cells/1 gm soil)			Mean
	1	2	3	
Soil near <i>Canna</i> sp. root	123×10^6	250×10^6	82×10^6	151.7×10^6
Bare soil near <i>Canna</i> sp. root	64×10^6	95×10^6	40×10^6	66.33×10^6
Soil near <i>Avicennia</i> sp. root	91×10^5	115×10^5	130×10^5	112×10^5
Bare soil near <i>Avicennia</i> sp. root	7×10^5	32×10^5	88×10^5	42.33×10^5
Soil near <i>Casuarina</i> sp. root	38×10^6	73×10^6	43×10^6	51.33×10^6
Bare soil near <i>Casuarina</i> sp. root	7×10^6	6×10^6	17×10^6	10×10^6

Table 2 Rhizosphere effect.

Source	Protozoa	Rhizosphere (cells/1 gm soil)	Bare soil (cells/1 gm soil)	R/S
<i>Canna</i> sp.	amoeba	10,934.57	2,587.69	4.2/1
	flagellate	5,927.49	3,625.26	1.6/1
	ciliate	875.07	395.58	2.2/1
<i>Avicennia</i> sp.	amoeba	3,842.18	1,189.57	3.2/1
	flagellate	2,560.63	562.93	4.5/1
	ciliate	465.06	65.47	7.1/1
<i>Casuarina</i> sp.	amoeba	1,008.78	875.07	1.1/1
	flagellate	328.8	22.53	14.6/1
	ciliate	160.67	8.78	18.3/1

เพราะดินมีน้ำท่วมขัง การถ่ายเทอากาศไม่ดี การย่อยสลายอินทรีย์วัตถุจะเกิดขึ้นไม่สมบูรณ์ C ถูกเปลี่ยนเป็น CO₂ คาร์บอนของเซลล์จุลินทรีย์ CH₄ และเกิด H₂ พลังงานที่เกิดขึ้นน้อย ซึ่งเป็นผลให้การเจริญของแบคทีเรียต่ำ มีแบคทีเรียพวก anaerobes บางชนิดอาศัยอยู่เท่านั้น (สมศักดิ์, 2524) ดินที่อยู่ห่างจากรากสนพบโพรโทซัวน้อยที่สุดเพราะเป็นดินแห้งที่สุดไม่มีซากใบไม้เน่าเปื่อย ความเป็นกรดมากกว่าบริเวณอื่น ๆ เพราะในธรรมชาติโพรโทซัวมักอยู่ในดินที่มีความเป็นกรดเป็นด่าง 6 - 8 จึงมีเพียงโพรโทซัวจำนวนน้อยที่อาศัยอยู่ในสภาพนี้ได้ (Alexander, 1976)

1) การเปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียและโพรโทซัวในดินที่รากพุทธรักษา แสม และสน กับปริมาณแบคทีเรียและโพรโทซัวในดินที่ห่างจากรากได้ผลตาม Table 3 and 4 ผลจากการวิเคราะห์แสดงว่ามีความแตกต่างระหว่างปริมาณแบคทีเรีย และ โพรโทซัวในดินที่มีรากพืชทั้ง 3 ชนิด (พุทธรักษา แสม และสน) กับดินที่ห่างจากรากพืชอย่างมีนัยสำคัญยิ่งเช่นเดียวกับการทดลองของ Napolinato and Flanagan (1981) และ Napolinato (1983) ทั้งนี้แสดงว่ารากพืชมีผล

ส่งเสริมการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและโพรโทซัว เพราะรอบรากพืชมีกรดอะมิโน พวก glutamic acid, aspartic acid, proline, leucine, alanine, cysteine, glycine, lysine และ phenylalanine สะสมอยู่ซึ่งเป็น growth factor ของจุลินทรีย์ กรดอะมิโนเหล่านี้มาจากการปลดปล่อยจากรากพืช จากการเน่าสลายของชิ้นส่วนของพืชที่หลุดออกมา และจากการสังเคราะห์ขึ้นโดยจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ growth factor ที่มีอยู่ในดินบริเวณราก (Starkey, 1958)

2) การศึกษา amoeba, flagellate และ ciliate ที่รากพืชและที่ห่างรากได้ผลตาม Table 2 จากการศึกษากครั้งนี้ไม่พบข้อแตกต่างของชนิดโพรโทซัวในดินบริเวณรากและที่ห่างจากราก และความเฉพาะเจาะจงของชนิดโพรโทซัวต่อรากพุทธรักษา แสม และสน แต่ผลการกระตุ้นของราก (rhizosphere effect) แสดงโดยค่า R/S ratio (R/S หมายถึง อัตราส่วนของโพรโทซัวในดินเขตรากพืชต่อเขตที่พื้นอิทธิพลรากพืช) พบว่ารากพุทธรักษากระตุ้นการเจริญของ amoeba มากกว่า ciliate และ flagellate รากแสมและรากสนกระตุ้น ciliate มากกว่า flagellate และ amoeba แต่

Table 3 Analysis of variance of bacteria near *Canna* sp., *Avicennia* sp. and *Casuarina* sp. roots and their bare soils.

Source	d.f.	Sum of squares	Mean squares	F ratio	F prob
Between groups	5	47438.38	9487.67	6.43	0.004
Within groups	12	17698.01	1474.83		
Total	17	65136.39			

Table 4 Analysis of variance of protozoa near *Canna* sp., *Avicennia* sp. and *Casuarina* sp. roots and their bare soils.

Source	d.f.	Sum of squares	Mean squares	F ratio	F prob
Between groups	2	24.764	12.382	12.72	0.000
Within groups	24	23.356	0.973		
Total	26	48.120			

อย่างไรก็ตามอัตราการกระตุ้นของรากแสมและสนก็ไม่ได้เท่ากัน ทั้งนี้แสดงว่ารากพืชต่างชนิดกันกระตุ้นการเจริญของโพรโทซัวแต่ละชนิดได้ต่างกัน (สมศักดิ์, 2524) ยังไม่มีผู้ทำการทดลองว่าสิ่งที่รากปลดปล่อยชนิดใด มีผลต่อการเจริญของโพรโทซัว เชื่อกันว่า growth factor เป็นตัวเร่งการเจริญ เพราะจุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญได้ดีเท่าที่ควรถึงแม้จะมีอาหารมากเพียงพอถ้าไม่มี growth factor

ในการศึกษาครั้งนี้ amoeba ที่พบมีทั้งจีสที่มีเปลือกและไม่เปลือก จีสที่ไม่มีเปลือก เช่น *Acanthamoeba*, *Thecamoeba*, *Hartmanella* และ *Vahlkampfi* จีสที่มีเปลือก เช่น *Diffugia* และ *Cyclopyxis* flagellate ที่พบเป็นจีส *Bodo*, *Tetramitus* และ *Oikomonas* Ciliate ที่พบเป็นจีส *Colpoda* และ *Uroleptus*

จากผลการทดลองสรุปได้ว่าดินบริเวณรากพืช

ทั้ง 3 ชนิด (พุทธรักษา แสม และสน) มีปริมาณแบคทีเรียและโพรโทซัวมากกว่าดินที่อยู่ห่างราก อีกทั้งรากของพืชแต่ละชนิดก็มีผลต่อการเจริญของ amoeba, flagellate และ ciliate ได้ไม่เท่ากัน

เอกสารอ้างอิง

- สมศักดิ์ วังใน. 2524. จุลินทรีย์และกิจกรรมในดิน. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Alexander, M. 1976. Introduction to soil microbiology 2nd ed. John Wiley & Sons, New York, 472 pp.
- Bamforth, S.S. 1971. The numbers and proportions of testacea and ciliates in litters and soils. The Journal of Protozoology. 18 (1) : 24 - 28.

- Bamforth, S.S. 1980. Terrestrial protozoa. The Journal of Protozoology. 27 (1) : 33 - 36.
- Buckman, H.O. 1968. The nature and property of soils. 7th ed. Macmillan Publishing Co. Inc., New York. 653 pp.
- Coleman, D.C., W.D. Gould and A.J. Rubink. 1979. Effect of bacteria and amoebae on rhizosphere phosphatase activity. Applied and Environmental Microbiology. 37 (5) : 943 - 946.
- Darbyshire, J.F. and M.P. Greaves. 1967. Protozoa and bacteria in the rhizosphere of *Sinapis alba* L., *Trifolium repens* L., and *Lolium perenne* L. Canadian Journal of Microbiology 13 : 1057 - 1068.
- Fisher, R.A. and F. Yates. 1963. Statistical tables for biological agricultural and medical research 6th ed. Hafner Publishing Company Inc., New York, 146 pp.
- Laybourn - Parry, J. 1984. A functional biology of free living protozoa. Croom, London. 224 pp.
- Napolinato, J.J. 1983. Presence of *Amoeba* in the rhizosphere of a beach grass. Journal of Protozoology, 30 : 540 - 541.
- Napolinato, J.J. and V.D. Flanagan. 1981. Occurrence of *Amoeba* in and around the mushroom *Laccaria trullisata*. Journal of Protozoology 28 (4) : 494 - 497.
- Starkey, R.L. 1958. Interrelations between microorganisms and plant root in the rhizosphere. Bact. Rev. 22 : 441 - 492.
- Stout, J.D. 1962. An estimation of microfaunal populations in soils and forest litters J. Soil. Sc. 13 : 314 - 320.