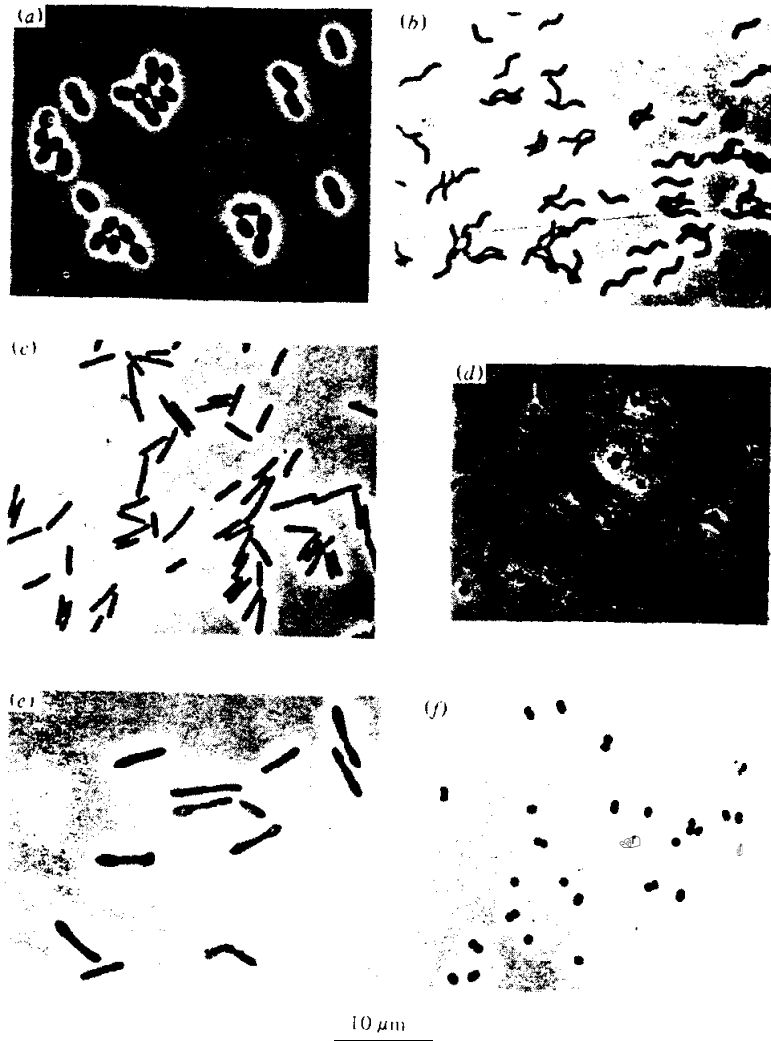


การตรึงกาซไนโตรเจนแบบอิสระโดยจุลินทรีย์ในดิน

จุลินทรีย์ในดินที่สามารถตรึงกาซไนโตรเจนจากอากาศเปลี่ยนเป็นสารประกอบไนโตรเจนเมื่ออยู่หลายชนิด ซึ่งมักจะเกิดขึ้นได้ก็ในสภาพที่มีสารประกอบไนโตรเจนในรูปที่นำไปใช้ประโยชน์ได้อยู่ในปริมาณน้อย พวกที่อาศัยแหล่งพลังงานจากอินทรีย์วัตถุในดิน (เดเทอโรโทรฟ) ได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย Azotobacter, Azomonas, Azotococcus, Beijerinckia, Derxia และเชื้อราบางชนิด พวกออกโตโทรฟที่อยู่ในสภาพแอนแอโรบ ได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย Clostridium, Bacillus พวกซัลเฟรีคิวริงแบคทีเรีย ได้แก่ Desulfotomaculum, Desulfovibrio และพวกไซยาโนแบคทีเรีย (Cyanobacteria) เป็นต้น

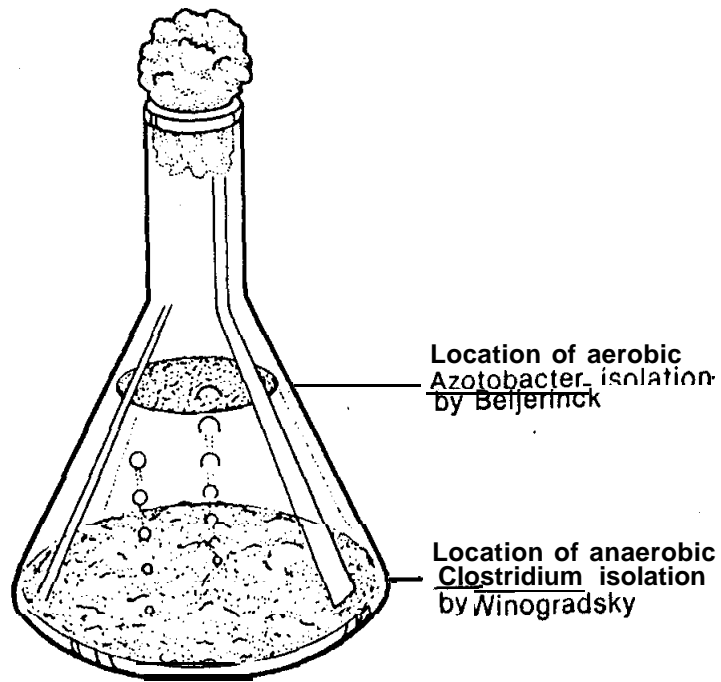


marker 10 μm .) (a) *Azotobacter vinelandii*. (b) *Rhodospirillum rubrum*. (c) *Bacillus polymyxa*. (d) *Rhizobium* sp. (e) *Clostridium pasteurianum*. (f) *Methylococcus capsulatus*. The photo of *C. pasteurianum* shows sporulating forms.

รูปร่างลักษณะของแบคทีเรียบางชนิดที่สามารถตรึงก๊าซไนโตรเจนได้ถูกจากกล้องจุลทรรศน์

จุลินทรีย์เหล่านี้จะมีปริมาณ, การกระจาย และกิจกรรมมากน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับลักษณะทางเคมีของดิน สภาพแวดล้อมในดิน และลักษณะในการใช้ดินหรือชนิดของพืชที่เจริญอยู่ในบริเวณนั้น เช่นพวกไซยาโนแบคทีเรียจะมีบทบาทสำคัญในการตรึงก๊าซไนโตรเจนในดินทุ่งนา, ดินที่ปลูกข้าว, ดินที่มีน้ำท่วมขัง เชื้อแบคทีเรีย Clostridium pasteurianum มีบทบาทสำคัญในดินที่ซากพืชซากสัตว์เน่า เพราะเป็นพวกแอนแอโรบิกแบคทีเรียและเจริญได้ดีในช่วงพีเอช 5-9 ส่วน Azotobacter และ Beijerinckia เป็นแอโรบิกแบคทีเรียจึงมีบทบาทสำคัญในดินที่มีการถ่ายเทอากาศดี โดย Beijerinckia ทนกรดได้สูง สามารถเจริญได้พีเอชต่ำกว่า 3 ส่วน Azotobacter ไม่สามารถตรึงก๊าซไนโตรเจนที่พีเอชต่ำกว่า 6 เป็นต้น

Azotobacter หลายชนิดมีบทบาทสำคัญในการตรึงก๊าซไนโตรเจน โดยใช้สารประกอบอินทรีย์ เช่น น้ำตาล เป็นแหล่งพลังงานในสภาพแอโรบซึ่งเป็นสภาพในการทำกิจกรรมทั่ว ๆ ไป จึงมีการนำเชื้อ Azotobacter มาผสมกับซากพืชหรือมูลสัตว์แล้วคลุกกับเมล็ดพืชก่อนนำไปปลูก Azotobacter จะช่วยเพิ่มธาตุไนโตรเจนให้กับพืชโดยตรงจากอากาศ จึงใช้เชื้อนี้เป็นปุ๋ยไนโตรเจน เรียกว่าอะโซโตแบคทีรีน (Azotobacterin)



ลักษณะการเจริญของจุลินทรีย์จากดินใน N-Free Medium 2-4 สัปดาห์

วัตถุประสงค์

ศึกษาลักษณะจุลินทรีย์ที่สามารถตรึงก๊าซไนโตรเจนได้อย่างอิสระ และการแยกเชื้อแบคทีเรีย Azotobacter

อุปกรณ์

1. กิ่งตัวอย่าง
2. ชวคบรรจุอาหาร Nitrogen - Free **Julture Medium** ขนาด 25 มล.
3. จานเลี้ยง เชื้อบรรจุ Alkaline Nitrogen • Free Agar
4. หลอดอาหารวุ้นเลี้ยงบรรจุ Alkaline Nitrogen • Free Agar
5. สไลด์และกระจกปกสไลด์
6. สไลด์หลุม
7. ลีเยียมแกรม

วิธีปฏิบัติ

1. ชั่งกิ่งตัวอย่าง 2 กรัม ใส่ในชวคอาหาร Nitrogen - Free Culture Medium และทำชวคคุมโดยไมทองใส่กิ่ง
2. เขย่าชวคอาหาร บ่มที่อุณหภูมิห้อง 1-2 สัปดาห์จึงตรวจผล

การตรวจผล

1. เปรียบเทียบลักษณะการเปลี่ยนแปลงในชวคอาหารเลี้ยง เชื้อกับชวคคุม
ดูที่ผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ บริเวณก้นชวคและช่องเหลวในชวคอาหาร
2. ศึกษาลักษณะของจุลินทรีย์จากผิวหน้าอาหารและก้นชวคอาหาร ดังนี้
 - 2.1 ย้อมแกรม เพื่อดูการติดสีแกรม รูปร่าง และการสร้างสปอร์
 - 2.2 ทำเทคนิคหยดแขวน ศึกษารูปร่าง และการเคลื่อนที่
3. ใช้นางเลี้ยงเชื้อจุ่มเชื้อจากบริเวณผิวหน้าชวคอาหาร นำมาตากบนผิว
ของ Alkaline Nitrogen-Free Agar Plate เพื่อแยกเชื้อบริสุทธิ์โดยวิธีสตรีค
ให้โคโคไลนีเดี่ยว ๆ เลือกโคโคไลนีลักษณะกลม เย็บใส ผิวหน้าเรียบเป็นมันไปแยกเชื้อ
บริสุทธิ์โดยวิธีสตรีคต่อไปอีก 2-3 ครั้ง เก็บเชื้อบริสุทธิ์ไว้ในหลอดอาหารวุ้นเลี้ยง

Alkaline Nitrogen • Free Agar

4. ศึกษาลักษณะของ เชื้อบริสุทธิ์จากข้อ 3. โดยทำเช่นเดียวกับข้อ 2.

คำถาม

1. เชื้อจุลินทรีย์ที่ศึกษาสามารถเจริญใน Nitrogen-Free Culture Medium มีอะไรบ้าง?
2. ในการศึกษาจุลินทรีย์จากขบวนการอาหารที่ใช้ทดสอบ ควรจะพบจุลินทรีย์ชนิดใดบ้างที่หน้าอาหาร และที่ก้นขวดอาหาร?
3. มักจะพบจุลินทรีย์ที่ไม่สามารถตรึงก๊าซไนโตรเจนได้เจริญอยู่ด้วยคืออะไร
จงให้เหตุผลที่จุลินทรีย์นั้นสามารถเจริญได้?

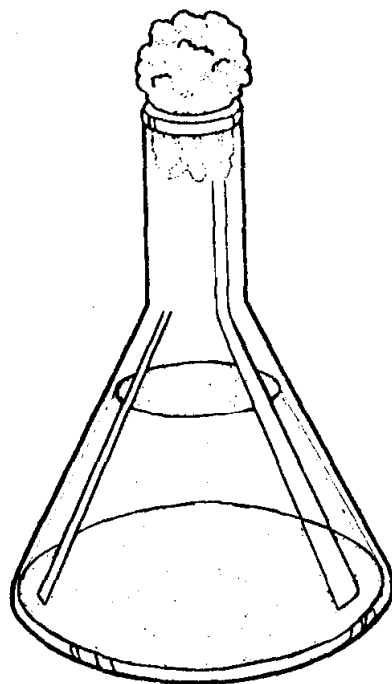
รายงานผลปฏิบัติการที่ 18

ชื่อ _____ รหัสประจำตัว _____

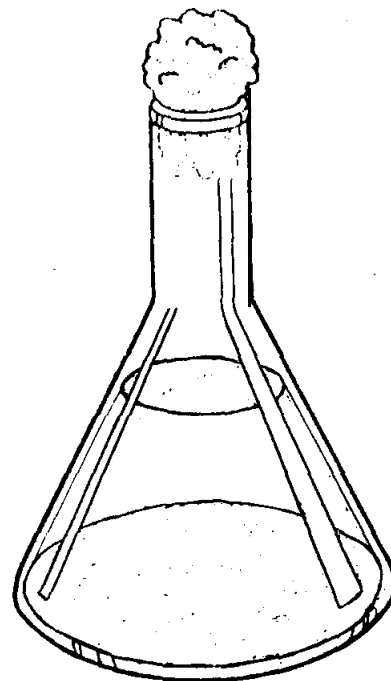
วันที่ _____ กลุ่มที่ _____ ปี _____
บูรณงาน _____

แสดงลักษณะ เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงในชวคอาหาร Nitrogen - Free Culture

Medium



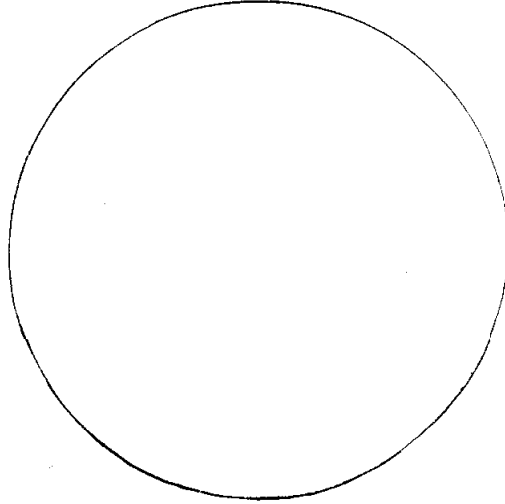
ใส่คิน



ไม่ใส่คิน

วาทภาพแสดงลักษณะของมัก เตรีที่พบในการขอมแกรม

1. จุลินทรีย์จากนิเวศน์อาหาร

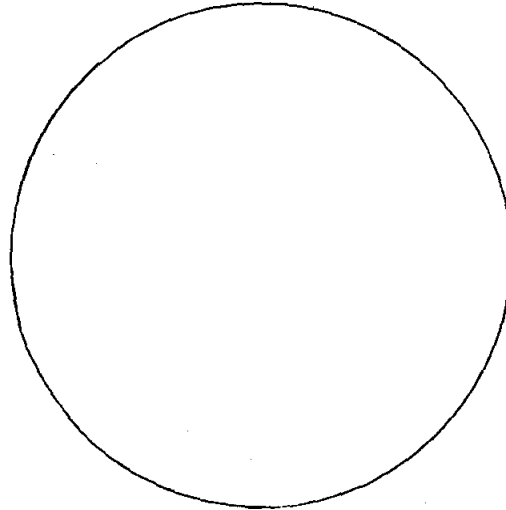


ขอมสีแกรมคิคสี _____

กำลังขยาย _____

การเคลื่อนที่ _____

2. จุดยืนที่มาจากทัศนคติ

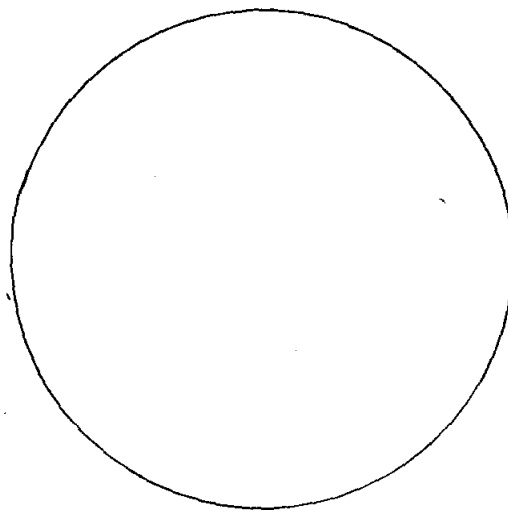


ข้อดีที่เกรงกลัว _____

กำลังขยาย _____

การเคลื่อนที่ _____

3. จุดยืนที่ได้จากการแยกแยะข้อดี



ข้อดีที่เกรงกลัว _____

กำลังขยาย _____

การเคลื่อนที่ _____