

การศึกษาจุลินทรีย์ในดินบริเวณไรโซสเฟียร์

ไรโซสเฟียร์หมายถึงบริเวณรอบ ๆ รากพืชซึ่งรากชนอ่อน, ของเหลวที่รากขับออกมา (root exudate) และสารจากเซลล์รากที่ฉีกขาดหรือสลายตัวแล้วออกไปถึงจะมีบริเวณกว้างเพียงใดขึ้นอยู่กับชนิดและอายุของพืช ชนิดของดิน และปัจจัยอื่น ๆ

ดินในบริเวณไรโซสเฟียร์จะมีอิทธิพลต่อจุลินทรีย์เรียกว่าไรโซสเฟียร์เอฟเฟกต์ (rhizosphere effect) เกิดแตกต่างกันตามชนิดของพืชและสภาพแวดล้อมในดิน จุลินทรีย์ในบริเวณไรโซสเฟียร์มักจะมีชนิด, จำนวน และกิจกรรมต่าง ๆ สูงกว่าจุลินทรีย์ภายนอกบริเวณไรโซสเฟียร์ ปริมาณจุลินทรีย์ในไรโซสเฟียร์ไม่อยู่ในสมดุลที่คงที่ จะเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ในไรโซสเฟียร์ เช่น ชนิดและปริมาณของของเหลวที่ขับออกมาจากราก ความชื้น การถ่ายเทอากาศ และธาตุอาหารต่าง ๆ เป็นต้น ขณะเดียวกันจุลินทรีย์ในไรโซสเฟียร์ก็มีอิทธิพลต่อพืช เช่น เจริญอยู่ร่วมกับรากพืชแบบพึ่งพาอาศัยกัน โดยช่วยสลายอินทรีย์วัตถุหรือเปลี่ยนธาตุอาหารให้อยู่ในรูปที่พืชนำไปใช้ประโยชน์ได้ สร้างสารที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ ฮอโมน, วิตามินต่าง ๆ หรือทำให้รากพืชเจริญเติบโตลดลง โดยแย่งปัจจัยต่าง ๆ ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช เช่น ปริมาณกาซออกซิเจน สารอาหารและอิออนต่าง ๆ หรือทำให้สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช เช่น มีกาซคาร์บอนไดออกไซด์, ไฮโดรเจนซัลไฟด์สูง เปลี่ยนธาตุอาหารให้อยู่ในรูปที่พืชนำไปใช้ประโยชน์ไม่ได้ หรือเป็นสาเหตุของโรคพืชโดยเข้าทำลายเนื้อเยื่อของรากพืชหรือสร้างสารไปยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ราก เช่น สารปฏิชีวนะ กรดอินทรีย์บางชนิด เป็นต้น

## วัตถุประสงค์

ศึกษาปริมาณแบคทีเรียในบริเวณไรโซสเฟียร์ด้วยวิธีล้างราก เปรียบเทียบกับ  
ดินนอกบริเวณไรโซสเฟียร์

## อุปกรณ์

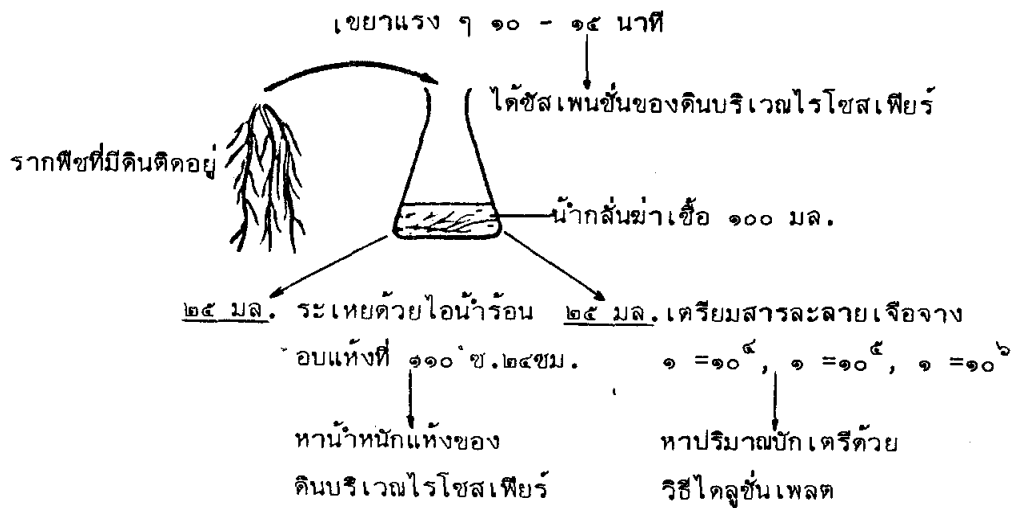
1. ดินตัวอย่างจากบริเวณเดียวกัน 3 จุด
  - 1.1 ดินชั้นบน (surface soil) หรือดินชั้นเอ ในช่วง 0 - 20 ซม.
  - 1.2 ดินชั้นล่าง (sub soil) หรือดินชั้นบี ในช่วง 20 - 35 ซม.
  - 1.3 ดินที่ติดอยู่รอบ ๆ รากพืช (rhizosphere soil)
2. ภาชนะบรรจุน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 100 มล. 1 ขวด, 225 1 ขวด และขวด  
ฝาเกลียวบรรจุกลั่นฆ่าเชื้อ 90 มล. 11 ขวด, 100 มล. 4 ขวด
3. บีเปต 1 มล., 10 มล.
4. จานเลี้ยงเชื้อ
5. บีกเกอร์ 50 มล. อมแห้ง 3 ใบ
6. ทัพพ
7. เครื่องชั่ง
8. อาหารรุ้น Soil Extract Agar

## วิธีปฏิบัติ

### การหาปริมาณแบคทีเรียในดินบริเวณไรโซสเฟียร์

1. เขย่ารากพืชให้ดินขนาดใหญ่ที่ติดอยู่ตามนอกหลุดออกก่อน
2. นำรากไปใส่ในภาชนะที่บรรจุน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 100 มล. เขย่าแรง ๆ  
10 - 15 นาที

3. แบ่งน้ำละลายดินจากข้อ 2. 25 มล. ไปเตรียมให้ความเจือจางที่  $1 : 10^4$ ,  $1 : 10^5$ ,  $1 : 10^6$
4. คุบน้ำละลายดินความเจือจางละ 1 มล. ใส่ลงในจานเลี้ยงเชื้อ ทำทุกความเจือจาง ความเจือจางละ 5 ซ้ำ
5. ทำจานคุม 3 จาน โดยใช้น้ำกลั่นฆ่าเชื้อแทนน้ำละลายดิน
6. เทอาหารวุ้น Soil Extract Agar ที่ลอมเหลวอุณหภูมิประมาณ 45° ซ. ลงในจานเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้จากข้อ 4. และ 5. ทุบจานให้น้ำละลายดินกระจายในอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างสม่ำเสมอ เมื่ออาหารแข็งตัวกลับจานเลี้ยงเชื้อ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 - 5 วัน จึงตรวจนับโคโลนี
7. หาน้ำหนักแห้งของดินบริเวณไรโซสเฟียร์ โดยแบ่งน้ำละลายดินจากข้อ 2. 25 มล. ใส่ในมีคเกอร์ที่รูน้ำหนักแห้งแล้วใบที่ 1. นำไประเหยบนไอน้ำร้อน แล้วอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 105 - 110° ซ. นาน 24 ชม. ปล่อยให้เย็นเท่ากับอุณหภูมิห้องในภาชนะที่กำจัดความชื้นได้แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก
8. คำนวณหาค่าความเจือจางจริงของน้ำละลายดินในข้อ 3. โดยใช้น้ำหนักแห้งของดินในข้อ 7.
9. คำนวณหาปริมาณมักเรีคอคดินแห้ง 1 กรัม



### การหาปริมาณจุลินทรีย์ในดินไรโซสเฟียร์

#### การหาปริมาณแบคทีเรียในดินชั้นเอและชั้นบี

1. เตรียมน้ำละลายดินของดินชั้นเอที่ความเจือจาง  $1 : 10^4$ ,  $1 : 10^5$ ,  $1 : 10^6$  และของดินชั้นบีที่ความเจือจาง  $1 : 10^3$ ,  $1 : 10^4$ ,  $1 : 10^5$
2. ทุบน้ำละลายดินความเจือจางละ 1 มล. ใส่ในจานเลี้ยงเชื้อ ทำทุกความเจือจาง ความเจือจางละ 5 ซ้ำ (ทำเช่นเดียวกันทั้งดินชั้นเอและชั้นบี)
3. เทอาหารร่วน Soil Extract Agar ที่หอมเหลวอุณหภูมิประมาณ  $45^{\circ}\text{C}$ . ลงในจานเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้จากข้อ 2. หมุนจานให้น้ำละลายดินกระจายในอาหารอย่างสม่ำเสมอ

4. เมื่ออาหารแข็งตัว กลับจานเลี้ยง เชื้อ บนที่อุณหภูมิห้อง 2 - 5 วัน

จึงตรวจนับโคโลนี

5. ชั่งกินชั้่นเอ 10 กรัมใส่ในเม็ดเคออร์ที่รูน้าหนักแห้งแล้วใบที่ 2 ชั่งกินชั้่นมี 10 กรัมใส่ในเม็ดเคออร์ที่รูน้าหนักแห้งแล้วใบที่ 3 อบที่อุณหภูมิ 105 - 110 °ซ. 24 ชม. ตั้งให้เย็นเท่าอุณหภูมิห้องในภาชนะกำจัดความชื้นได้แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก

6. คำนวณหาค่าปริมาณมักเคอรีในกินชั้่นเอและชั้่นมี ค่อกินแห้ง 1 กรัม

### คำถาม

1. จงบอกถึงประโยชน์และโทษของจุลินทรีย์ในเมรีเวอไรโซสเพียร์ที่มีต่อพืช?
2. ปริมาณของจุลินทรีย์ในเมรีเวอไรโซสเพียร์และภายนอกไรโซสเพียร์ มีความแตกต่างกันหรือไม่อย่างไร เพราะเหตุใด?

รายงานผลปฏิบัติการที่ 23

ชื่อ \_\_\_\_\_ รหัสประจำตัว \_\_\_\_\_

วันที่ \_\_\_\_\_ กลุ่มที่ \_\_\_\_\_ ผู้ร่วมงาน \_\_\_\_\_

บันทึกผลการหาน้ำหนักแห้งของคิมริ เวลโรโซสเพียร์, ชั้นเอและชั้นบี

1. น้ำหนักแห้งบีกเกอร์ใบที่ 1 \_\_\_\_\_
2. น้ำหนักแห้งของคิมริ เวลโรโซสเพียร์และบีกเกอร์ใบที่ 1 \_\_\_\_\_
3. น้ำหนักแห้งของคิมริ เวลโรโซสเพียร์ (ข้อ 2. - 1.) \_\_\_\_\_
4. น้ำหนักแห้งบีกเกอร์ใบที่ 2 \_\_\_\_\_
5. น้ำหนักแห้งของคิมชั้นเอ 10 กรัมและบีกเกอร์ใบที่ 2 \_\_\_\_\_
6. น้ำหนักแห้งของคิมชั้นเอ (ข้อ 5. - 4.) \_\_\_\_\_
7. น้ำหนักแห้งบีกเกอร์ใบที่ 3 \_\_\_\_\_
8. น้ำหนักแห้งของคิมชั้นบี 10 กรัม และบีกเกอร์ใบที่ 3 \_\_\_\_\_
9. น้ำหนักแห้งของคิมชั้นบี (ข้อ 8. - 7.) \_\_\_\_\_

