หัวข้อวิจัย	การส่งเสริมการดูดใช้ธาตุโพแทสเซียมจากดินดาน โดย Potassium solubilizing bacteria เพื่อเพิ่มผลผลิตมันสำปะหลัง ในพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา ประเทศไทย
ผู้ดำเนินงานวิจัย	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐบดี วิริยาวัฒน์[1] ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรชาติ สินวรณ์[1] อาจารย์ ดร. กันต์ ปานประยูร[2]
หน่วยงาน	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต[1] คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล[2]
ปี พ.ศ.	2561

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกแบคทีเรีย KSB ในดินบริเวณรอบรากมันสำปะหลังที่มีศักยภาพในการละลายแร่โพแทสเซียมออกจากดินดาน และทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียในการส่งเสริมการดูดใช้ธาตุโพแทสเซียมจากดินดาน ในห้องปฏิบัติการและกระถางทดสอบ โดยเก็บตัวอย่างดินจำนวน 80 ตัวอย่างจากพื้นที่ปลูกมันสำปะหลัง ในเขตจังหวัดนครราชสีมา ซึ่งเป็นพื้นที่ที่ไม่มีประวัติดินดาน ผลการคัดแยกพบแบคทีเรีย 5 strains ที่สามารถละลายแร่โพแทสเซียมในอาหาร modified aleksandrov medium ได้แก่ strain SS 011, SS 030, SS 040, SS 045 และ SS 046 เมื่อศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ 16S rRNA ของแบคทีเรียทั้ง 7 strain พบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rRNA เหมือนกับ *Bacillus kochii* strain SBCYB2 (98%) *Bacillus megaterium* NBRC 15308 (96%) *Bacillus aryabhattai* strain P10 (98%) *Bacillus safensis* strain SHR3-1 (97%) และ *Bacillus megaterium* strain AVMB3 (97%) ตามลำดับ

Research Title	Promoting the Uptake of Potassium from Subsoil by Potassium Solubilizing Bacteria to Increase Cassava Yields in the Nakronrachasima province, Thailand
Resaercher	Assistant Professor Dr. Nuttabodee Viriyawattana[1] Assistant Professor Dr. Surachat Sinworn[1] Dr. Gunn Panprayun[2]
Organization	Faculty of Science and Technology, Suan Dusit University[1] Faculty of Environmental and Resource Studies, Mahidol University[2]
Year	2018

The purpose of this research was to select KSB bacteria in soil surrounding cassava roots with the potential to dissolve potassium from compact soil and bacteria were tested for solubility of potassium in the laboratory and in the pot. The 80 soil samples were collected from cassava planting areas in Nakhon Ratchasima Province. This is an area with no history of compact soil. The results showed that the 5 strains were able to dissolve potassium minerals in modified aleksandrov medium such as strain SS 011, SS 030, SS 040, SS 045 and SS 046. The 5 strain of 16S rRNA was identified as the nucleotide sequence of 16S rRNA, similar to *Bacillus kochii* strain SBCYB2 (98%) *Bacillus megaterium* NBRC 15308 (96%) *Bacillus aryabhattai* strain P10 (98%) *Bacillus safensis* strain SHR3-1 (97%) and *Bacillus megaterium* strain AVMB3 (97%), respectively.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ด้วยความร่วมมือและความอนุเคราะห์จากหลายฝ่ายในคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยสวนดุสิตที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการดำเนินการวิจัยในครั้งนี้และงานวิจัยนี้จะเกิดขึ้นไม่ได้เลย หากไม่ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ ในปีงบประมาณ 2560 ซึ่งเล็งเห็นความสำคัญของการวิจัยนี้ ทางคณะผู้วิจัยขอขอบคุณเป็นอย่างยิ่ง

ประโยชน์อันเนื่องมาจากงานวิจัยฉบับนี้จะพึงมีเพียงใด ขอมอบแด่บิดา มารดาและคณาจารย์ทุกท่านที่ได้เมตตาอบรมสั่งสอนให้มีความรู้จนถึงปัจจุบัน

คณะผู้วิจัย

2561

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ข
กิตติกรรมประกาศ ค
สารบัญ ง
สารบัญตาราง ฉ
สารบัญภาพ ช

บทที่ 1 บทนำ 1
ความเป็นมาและความสำคัญ 1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย 2
ขอบเขตการวิจัย 3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4
มันสำปะหลัง 4
ลักษณะพฤกษศาสตร์ของมันสำปะหลัง 4
แหล่งปลูก 5
การเตรียมดิน 5
การเตรียมท่อนพันธุ์ 6
ระยะปลูกและวิธีปลูก 6
การกำจัดวัชพืช 6
การปรับปรุงดูแลรักษาดินเพื่อเพิ่มผลผลิตมันสำปะหลัง 7
การปรับปรุงและจัดการดิน 8
การใช้ปุ๋ยเคมี 10
โพแทสเซียมในดินและการใช้ปุ๋ยโพแทสเซียม 13
ชนิดและปริมาณของโพแทสเซียมในดิน 14

การขาดโพแทสเซียมในพืช 16
การเปลี่ยนแปลงของปุ๋ยโพแทสในดิน 16
การผุผังสลายตัวทางชีวภาพของกลุ่มแร่ซิลิเกต 18
เชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการปลดปล่อยธาตุโพแทสเซียมในดิน 19
การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (Information) ที่เกี่ยวข้อง 21
กรอบแนวคิดในการวิจัย 24

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 25
การเก็บรวบรวมข้อมูล 25
เครื่องมือในการวิจัยและการตรวจสอบคุณภาพเครื่องมือ 25
สถิติที่ใช้ในการทดลอง 26

บทที่ 4 ผลการวิจัย 27
การคัดแยกแบคทีเรีย KSB 27
การทดสอบคุณสมบัติการละลายโพแทสเซียมออกจากแร่ธรรมชาติ (Potassium Solubilizing Activities) ของแบคทีเรียที่แยกจากดินรอบรากพืช 27
การจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรีย KSB โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการทดสอบทางชีวเคมี 29
การจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรีย KSB ด้วยวิธีทางอณูชีววิทยา 35
การศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยโพแทสเซียมของแบคทีเรีย KSB ในดินดาน 37

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ 42
สรุปผลการวิจัย 42
อภิปรายผล 44
ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยครั้งต่อไป 45

บรรณานุกรม 46
บรรณานุกรมภาษาไทย 46
บรรณานุกรมภาษาต่างประเทศ 47

ประวัติผู้วิจัย 51

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ผลของการใช้ปุ๋ย N P K ปุ๋ยหมัก และการไถกลบเศษซากต้นมันสำปะหลังที่มีต่อผลผลิตของมันสำปะหลังในระยะ 7 ปี	10
2.2	น้ำหนักหัวมันสดเมื่อใส่ปุ๋ย N P K อัตราอย่างละ 8 กิโลกรัมต่อไร่ต่อปีอย่างต่อเนื่องในดินชุดยโสธร	13
4.1	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโซนใสจากการละลายโพแทสเซียมบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Aleksandrov agar	28
4.2	ลักษณะเซลล์ของแต่ละไอโซเลทแบคทีเรียที่แยกได้จากดินซึ่งสามารถละลายโพแทสเซียม	30
4.3	การทดสอบทางชีวเคมีของแต่ละไอโซเลทแบคทีเรียที่แยกได้จากดิน	31
4.4	ผลการเปรียบเทียบลำดับเบส 16S rRNA ยีนของแบคทีเรียแต่ละไอโซเลทกับลำดับเบสอื่น ๆ ในฐานข้อมูล GenBank ของ NCBI	36
4.5	ผลการวิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมในดินทดสอบ	38
4.6	ผลการวิเคราะห์ปริมาณการย่อยโพแทสเซียมแต่ละวิธีต่อจำนวนวัน	40

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	โพแทสเซียมที่เป็นองค์ประกอบของส่วนต่าง ๆ ในดิน และส่วนความเป็นประโยชน์ของโพแทสเซียมในดินต่อพืช	14
2.2	โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้โดยเกาะอยู่บนพื้นผิวของแร่ดินเหนียวชนิดต่าง ๆ โดยโพแทสเซียมที่เกาะอยู่บนพื้นผิวของแร่มอลิโคไนต์ (2:1 clay) สามารถถูกแลกเปลี่ยนได้	15
2.3	การเปลี่ยนแปลงของปุ๋ยโพแทสในดิน	17
2.4	กรอบแนวคิดในการวิจัย	24
4.1	แปลงมันสำปะหลังในพื้นที่เก็บตัวอย่างดิน	27
4.2	โคโลนีของไอโซเลทแบคทีเรียที่แยกได้จากดิน ซึ่งสามารถละลายโพแทสเซียม โดยเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Aleksandrov agar และบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24-48 ชั่งโมง	28
4.3	ลักษณะเซลล์ของไอโซเลทแบคทีเรียที่แยกได้จากดิน ซึ่งสามารถละลายโพแทสเซียม โดยเซลล์ติดสีแกรมบวกและรูปร่างท่อน	30
4.4	การทดสอบ Indole production ของไอโซเลทแบคทีเรียที่แยกได้จากดิน ให้ผลลบ ไม่เกิดวงสีแดงที่ผิวบนของอาหารเลี้ยงเชื้อ หลังจากหยดน้ำยาทดสอบ Kovac's reagent แสดงว่า แบคทีเรียไม่สามารถสร้างเอนไซม์ Tryptophanase	31
4.5	การทดสอบ Voges-Proskauer ของไอโซเลทแบคทีเรียที่แยกได้จากดิน ให้ผลลบ ไม่เกิดสีแดงที่ชั้นบนของอาหารเลี้ยงเชื้อ แสดงว่า แบคทีเรียไม่สามารถสร้าง acetylmethylcarbinol (acetoin) ซึ่งเกิดจากการย่อยกลูโคส	32
4.6	การทดสอบ Catalase ของไอโซเลทแบคทีเรียที่แยกได้จากดิน ให้ผลบวก เนื่องจากเกิดฟองก๊าซ O_2 ทันทีหลังจากหยด H_2O_2 แสดงว่า แบคทีเรียสามารถสร้างเอนไซม์ catalase	32
4.7	การทดสอบ Ornithine utilization ของไอโซเลทแบคทีเรียที่แยกได้จากดิน ให้ผลบวก แสดงว่าแบคทีเรียมีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ decarboxylate amino acid ซึ่งไปแยก carboxyl group ออกจากกรดอะมิโน ornithine เกิดเป็น amine ซึ่งมีสภาพเป็นด่าง ทำให้ indicator bromocresol purple เปลี่ยนเป็นสีม่วง	33
4.8	การทดสอบ Lysine utilization ของไอโซเลทแบคทีเรียที่แยกได้จากดิน ให้ผลบวก	34

	แสดงว่า แบคทีเรียมีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ decarboxylate amino acid ซึ่งไปแยก carboxyl group ออกจากกรดอะมิโน lysine เกิดเป็น amine ซึ่งมีสภาพเป็นด่าง ทำให้ indicator bromocresol purple เปลี่ยนเป็นสีม่วง	
4.9	การทดสอบ Nitrate reduction ของไอโซเลทแบคทีเรียที่แยกได้จากดิน ให้ผลบวก สีของอาหารเลี้ยงเชื้อจะเปลี่ยนเป็นสีแดง แสดงว่า แบคทีเรียมีความสามารถในการเปลี่ยนไนเตรตเป็นไนไตรท์ได้	34
4.10	ผลการเพิ่มปริมาณ DNA ส่วน Conserved regions ของ 16S ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะ เลน M 100 bp DNA ladder; เลน 1 ถึง 10 PCR product ขนาด 1500 bp จากดีเอ็นเอของแบคทีเรียรอบรากมันสำปะหลังไอโซเลทที่ SS 011, SS 030, SS 040, SS 045 และ SS 046 ตามลำดับ	36