



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ปฐพีวิทยา)

ปริญญา

ปฐพีวิทยา สาขา ปฐพีวิทยา
ปฐพีวิทยา ภาควิชา

เรื่อง ผลของเชื้ออะโซสไปริลัมที่มีต่อการตรึงไนโตรเจนและการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพด

Effects of Azospirillum on Nitrogen Fixation and Growth Enhancement of Maize

นามผู้วิจัย นายชรินทร์ พุกเกษม

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์รัชชัย มาลา, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(อาจารย์ศุภชัย อ่ำกา, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์อรรถศิษฐ์ วงศ์มณีโรจน์, วท.ม.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญจนา วีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของเชื้ออะโซสไปริลลัมที่มีต่อการตรึงไนโตรเจนและ
การส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพด

Effects of Azospirillum on Nitrogen Fixation and
Growth Enhancement of Maize

โดย

นายชรินทร์ พุกเกษม

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ปฐพีวิทยา)

พ.ศ. 2554

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ชรินทร์ พุกเกษม 2554: ผลของเชื้ออะโซสไปริลลัมที่มีต่อการตรึงไนโตรเจนและการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพด ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ปฐพีวิทยา) สาขาปฐพีวิทยา ภาควิชาปฐพีวิทยา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์รัชชัย มาลา, Ph.D.
97 หน้า

การศึกษานี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของเชื้ออะโซสไปริลลัมในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ โดยแบ่งเป็น 2 การทดลองคือ 1) การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้ออะโซสไปริลลัมในการตรึงไนโตรเจน การสร้างออกซิน และการละลายฟอสเฟต โดยวางแผนการทดลองแบบ completely randomized design จำนวน 4 ซ้ำ ประกอบด้วยเชื้ออะโซสไปริลลัมจำนวน 15 ไอโซเลตและมีคำรับที่ไม่ใส่เชื้ออะโซสไปริลลัม (คำรับควบคุม) รวม 16 คำรับ เลี้ยงเชื้ออะโซสไปริลลัมแต่ละไอโซเลตในอาหารเหลว N free Bromthymol blue เพื่อทดสอบประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน (3 และ 7 วัน) และการสร้างออกซิน (1, 2 และ 3 วัน) และใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya's broth เพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟต (ทุก 8 ชั่วโมง) ผลการทดลองพบว่าเชื้อ ไอโซเลต LB₃ และ LB₁₀ มีการตรึงไนโตรเจนในอาหารเหลวที่ 3 วันหลังการเลี้ยงเชื้อสูงที่สุด (1.84 mg N/l) และไอโซเลต LB₅ และ LB₁₀ มีปริมาณการตรึงไนโตรเจนสูงที่สุด (2.64 mg N/l) หลังการเลี้ยงเชื้อ 7 วัน เชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลต LB₁₀ มีกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสหลังการเลี้ยงเชื้อ 7 วัน สูงสุด (100.24 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/100 \text{ ml/hr}$) เชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลต S₂₃ สามารถสร้างออกซินได้มากที่สุด ทั้งในวันที่ 1, 2 และ 3 หลังการเลี้ยงเชื้อ โดยมีออกซินในอาหารเลี้ยงเชื้อในปริมาณ 53.75, 31.85 และ 22.57 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ เชื้ออะโซสไปริลลัมแต่ละไอโซเลตมีความสามารถละลายฟอสเฟตได้แตกต่างกัน โดยไอโซเลตที่มีแนวโน้มว่าละลายฟอสเฟตได้ดีกว่าไอโซเลตอื่น คือ LB₇, LB₉, S₄₂, LB₆ และ LB₈ ตามลำดับ และ 2) การศึกษาผลของเชื้ออะโซสไปริลลัมในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพด โดยวางแผนการทดลองแบบ 2x5x4 factorial experiment in completely randomized design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ ประกอบด้วย 3 ปัจจัยคือ 1) การอบดิน 2) ไอโซเลตของเชื้ออะโซสไปริลลัม และ 3) อัตราปุ๋ยไนโตรเจน การอบดินร่วมกับการใช้เชื้ออะโซสไปริลลัม ไอโซเลตต่างๆ และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนมีผลต่อความสูงของข้าวโพดในสัปดาห์ที่ 4 และ 6 การใช้เชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลต LB₃ และ LB₁₀ ร่วมกับอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ 5 kg N /rai มีแนวโน้มที่จะมีความสูงมากกว่าคำรับที่ได้รับอัตราปุ๋ยไนโตรเจนในอัตราที่สูงกว่า การใช้เชื้ออะโซสไปริลลัมนั้นส่งผลให้กิจกรรมเอนไซม์ไนโตรจีเนสทั้งในดินและบริเวณรากพืชเพิ่มมากขึ้น กิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสสูงสุดพบในคำรับที่ใช้ดินไม่ฆ่าเชื้อร่วมกับเชื้อ LB₃ ร่วมกับปุ๋ยไนโตรเจน 5 kg N /rai (0.62 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/100 \text{ g root/hr}$) การใส่เชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลตต่างๆทำให้มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพดสูงกว่าคำรับที่ไม่ใส่เชื้อ คำรับการทดลองที่ใส่เชื้ออะโซสไปริลลัมเพียงอย่างเดียวทำให้มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพดใกล้เคียงกับคำรับการทดลองที่มีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตรา 10 kg N /rai

Charin Phookkasem 2011: Effects of Azospirillum on Nitrogen Fixation and Growth Enhancement of Maize. Master of Science (Soil Science), Major Field: Soil Science, Department of Soil Science. Thesis Advisor: Associate Professor Thongchai Mala, Ph.D. 97 pages.

This study aimed to determine the efficiency of various azospirillum isolates on nitrogen fixation, auxin production and phosphate solubilization. The experiment was divided into 2 experiments. 1) The efficiency of various azospirillum isolates on nitrogen fixation, auxin production and phosphate solubilization was determined. The experiment was laid out in completely randomized design consisting of 16 treatments (15 isolates of azospirillum and a control) with 4 replications. The efficiencies of nitrogen fixation (at 3 and 7 days after incubation) and auxin production (at 1, 2 and 3 days after incubation) were determined in N free Bromthymol blue medium, but that of phosphate solubilization (every 8 hours) was evaluated in Pikovskaya's broth. The result revealed that the ability of various isolates on nitrogen fixation, nitrogenase activity, auxin production and phosphate solubilization were significant, statistically. The two isolates (LB₃ and LB₁₀) expressed outstanding the nitrogen fixation as much as 1.84 mg N/L at 3 day after incubation. Later, at 7 day after incubation, the LB₅ and LB₁₀ showed the highest nitrogen fixation as much as 2.64 mg N/l. The nitrogenase activity of LB₁₀ at 7 day after incubation was the highest (100.24 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/100 \text{ ml/hr}$). The auxin production of S₂₃ was pronounced at 53.74, 31.85 and 22.57 $\mu\text{g/ml}$ at the first, second and third days after incubation, respectively. The abilities of various azospirillum isolates on phosphate solubilization were significant. The 5 isolates that showed higher phosphate solubilizing abilities were LB₇, LB₉, S₄₂, LB₆ and LB₈. 2) Effect of azospirillum in promoting the growth of maize. The 2 \times 5 \times 4 factorial in CRD was carried out with 4 replications. The first factor was soil preparation (sterile and non sterile soil), the second factor was various azospirillum isolates (LB₅, LB₈, LB₉, LB₁₀ and control) and the last factor was rates of nitrogen fertilizer (0, 5, 10 and 20 kg N/rai). The results demonstrated that soil preparation azospirillum isolates and rates of nitrogen fertilizer affected the height of maize at 4 and 6 weeks. Inoculation of LB₅ and LB₁₀ with 5 kg N/rai tended to give higher plant than other rates. Inoculation of azospirillum affected the nitrogenase activity both from soil and within root. The maximum nitrogenase activity (0.62 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/100 \text{ g root/hr}$) was found in non sterilized soil +LB₅+5 kg N/rai. Inoculation of azospirillum gave higher N content than that of non inoculation. Sole azospirillum application gave N to the plant as much as that from 10 kgN/rai.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ชงชัย มาลา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และ อาจารย์ ดร.ศุภชัย อัมภา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้คำปรึกษา แนะนำ ช่วยเหลือ ทั้งในด้านการเรียน การค้นคว้าวิจัย การทำวิทยานิพนธ์ ตลอดจนการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นอย่างดี และกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชัยสิทธิ์ ทองจู ประธานการสอบ และ อาจารย์ ดร.วิสุทธิ วีรสาร ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา และคำแนะนำเพิ่มเติม แก่ไขให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้ให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณสำหรับพี่ ๆ เพื่อนๆ และน้อง ๆ ในภาควิชาปฐพีวิทยา ที่ได้ให้ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจแก่ข้าพเจ้าด้วยดีตลอดมา

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อบุญช่วย คุณแม่ทองหล่อ น้องเอกพจน์ พุกเกษม และคุณป้าจรัส ตรีศยอดสกุล ซึ่งคอยสนับสนุน และยังเป็นกำลังใจที่สำคัญตลอดมา ทำให้สามารถผ่านพ้นอุปสรรคมา นับประการมาได้ ข้าพเจ้าขอขอบคุณประโยชน์และความดีของ วิทยานิพนธ์นี้ แก่ บิดา-มารดา ครอบครัว ครู อาจารย์ทุกท่าน ที่เคยอบรมสั่งสอนข้าพเจ้า

ชรินทร์ พุกเกษม
เมษายน 2554

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(6)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	23
อุปกรณ์	23
วิธีการ	25
ผลและวิจารณ์	34
สรุปและข้อเสนอแนะ	82
สรุป	82
ข้อเสนอแนะ	83
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	84
ภาคผนวก	93
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	97

สารบัญตาราง

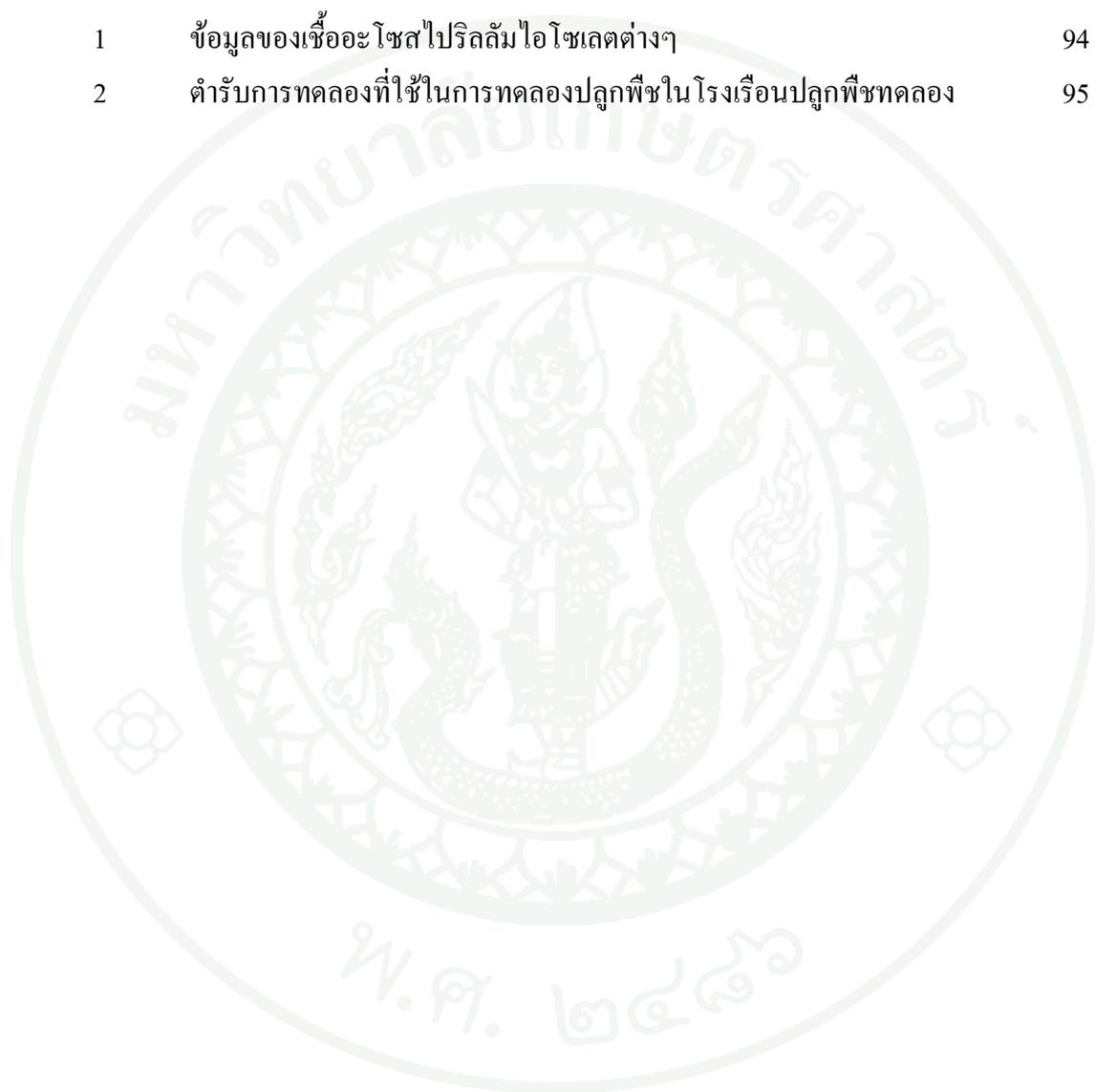
ตารางที่		หน้า
1	ความต้องการธาตุอาหารของข้าวโพด	19
2	ค่าวิเคราะห์ดินก่อนปลูก	30
3	ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และกิจกรรมของเอนไซม์ในโตรจีเนสของเชื้ออะโซสไปริลลัมในไอโซเลตต่างๆ ในอาหารเหลว	36
4	ปริมาณการสร้างออกซิเจนของเชื้ออะโซสไปริลลัมในไอโซเลตต่างๆ ที่ระยะเวลา 1, 2 และ 3 วัน	38
5	ปริมาณของฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำได้จากเชื้ออะโซสไปริลลัมในไอโซเลตต่างๆ ที่ช่วงเวลาที่แตกต่างกัน	41
6	ความสูงของต้นข้าวโพดที่อายุ 2 สัปดาห์ เมื่อใช้ดิน อะโซสไปริลลัม และ อัตราปุ๋ยในโตรเจนที่ต่างกัน	43
7	ความสูงของต้นข้าวโพดที่อายุ 4 สัปดาห์ เมื่อใช้ดิน อะโซสไปริลลัม และ อัตราปุ๋ยในโตรเจนที่ต่างกัน	45
8	ความสูงของต้นข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์ เมื่อใช้ดิน อะโซสไปริลลัม และ อัตราปุ๋ยในโตรเจนที่ต่างกัน	47
9	มวลสดของรากข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์ เมื่อใช้ดิน อะโซสไปริลลัม และ อัตราปุ๋ยในโตรเจนที่ต่างกัน	49
10	มวลสดของส่วนเหนือดินของข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์ เมื่อใช้ดิน อะโซสไปริลลัม และอัตราปุ๋ยในโตรเจนที่ต่างกัน	50
11	มวลแห้งของรากข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์ เมื่อใช้ดิน อะโซสไปริลลัม และ อัตราปุ๋ยในโตรเจนที่ต่างกัน	52
12	มวลแห้งของส่วนเหนือดินของข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์ เมื่อใช้ดิน อะโซสไปริลลัม และอัตราปุ๋ยในโตรเจนที่ต่างกัน	54
13	ความเขียวของใบข้าวโพดที่อายุ 4 สัปดาห์ เมื่อใช้ดิน อะโซสไปริลลัม และ อัตราปุ๋ยในโตรเจนที่ต่างกัน	58
14	ความเขียวของใบข้าวโพดที่อายุ 5 สัปดาห์ เมื่อใช้ดิน อะโซสไปริลลัม และ อัตราปุ๋ยในโตรเจนที่ต่างกัน	60

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
15	ความเขียวของใบข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์ เมื่อใช้ดิน อะโซสปิริลลัม และ อัตราน้ำใน ไตรเจนที่ต่างกัน	62
16	ความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดที่อายุ 4 สัปดาห์ เมื่อใช้ดิน อะโซสปิริลลัม และอัตราน้ำใน ไตรเจนที่ต่างกัน	64
17	ความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดที่อายุ 5 สัปดาห์ เมื่อใช้ดิน อะโซสปิริลลัม และอัตราน้ำใน ไตรเจนที่ต่างกัน	67
18	ความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์ เมื่อใช้ดิน อะโซสปิริลลัม และอัตราน้ำใน ไตรเจนที่ต่างกัน	68
19	กิจกรรมของเอนไซม์ในโตรจีนในดินที่ปลูกข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์ เมื่อ ใช้ดิน อะโซสปิริลลัม และอัตราน้ำใน ไตรเจนที่ต่างกัน	72
20	กิจกรรมของเอนไซม์ในโตรจีนในรากข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์ เมื่อใช้ดิน อะโซสปิริลลัม และอัตราน้ำใน ไตรเจนที่ต่างกัน	73
21	ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์เมื่อใช้ดิน อะโซสปิริลลัม และอัตราน้ำใน ไตรเจนที่ต่างกัน	76
22	ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์เมื่อใช้ดิน อะโซสปิริลลัม และอัตราน้ำใน ไตรเจนที่ต่างกัน	78
23	ปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมดในข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์เมื่อใช้ดิน อะโซสปิริลลัม และอัตราน้ำใน ไตรเจนที่ต่างกัน	79
24	ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินหลังการปลูกข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์เมื่อ ใช้ดิน อะโซสปิริลลัม และอัตราน้ำใน ไตรเจนที่ต่างกัน	81

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
1	ข้อมูลของเชื้ออะโซสไปริลัมไอโซเลตต่างๆ	94
2	ตำรับการทดลองที่ใช้ในการทดลองปลูกพืชในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง	95



สารบัญภาพ

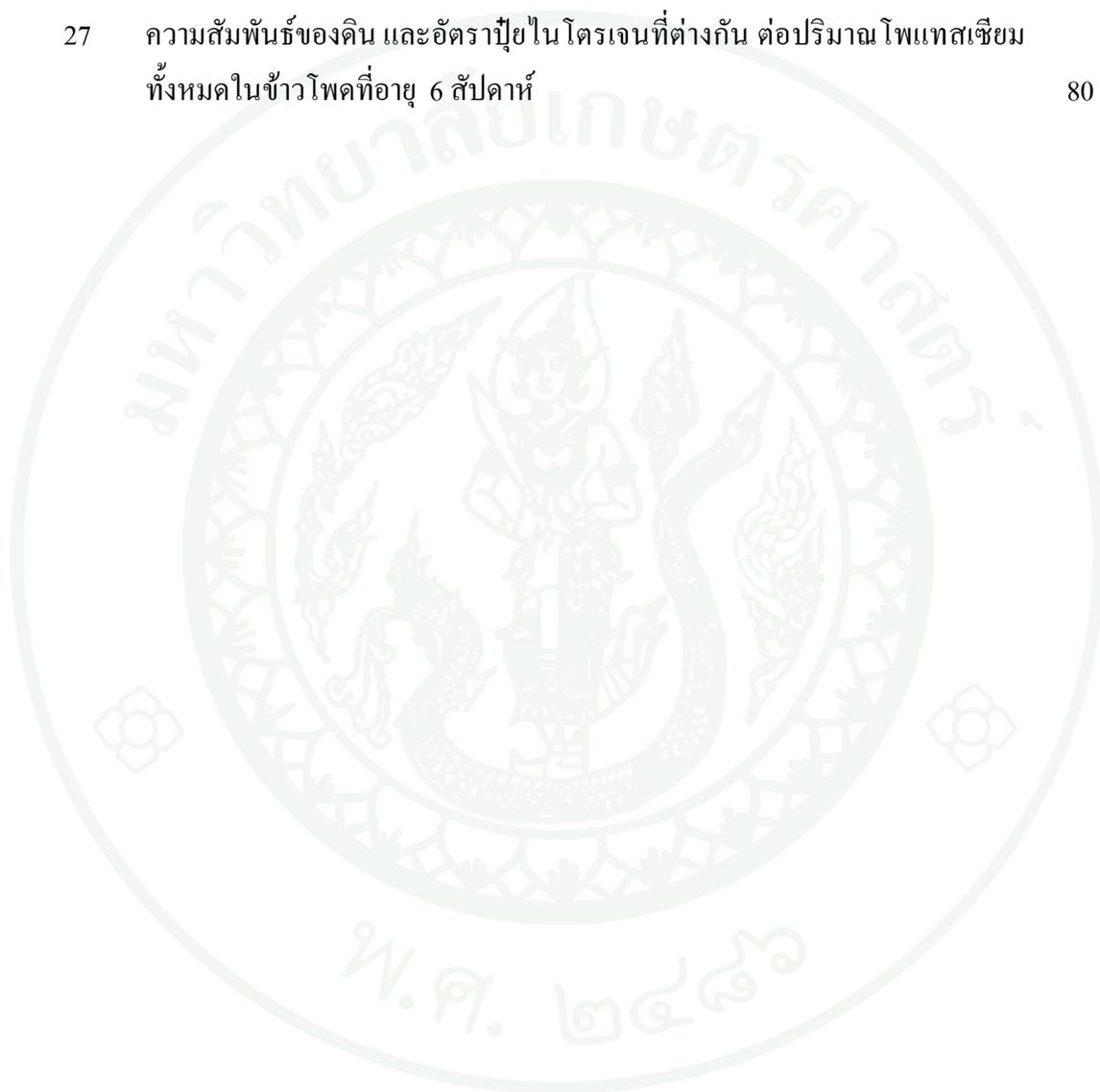
ภาพที่		หน้า
1	ปริมาณฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำได้จากกิจกรรมของอะโซสไปริลัม 5 ไอโซเลตใน เวลาบ่มเชื้อต่างๆกัน	40
2	ความสัมพัทธ์ของดิน และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน ต่อความสูงของต้น ข้าวโพดที่อายุ 2 สัปดาห์	44
3	ความสัมพัทธ์ของอะโซสไปริลัม และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน ต่อความสูง ของต้นข้าวโพดที่อายุ 4 สัปดาห์	46
4	ความสัมพัทธ์ของดินและอะโซสไปริลัม ต่อความสูงของต้นข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์	47
5	ความสัมพัทธ์ของดินและอะโซสไปริลัม ต่อความสูงของต้นข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์	48
6	ความสัมพัทธ์ของดินและอะโซสไปริลัม ต่อมวลสดของส่วนเหนือดินของ ข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์	50
7	ความสัมพัทธ์ของอะโซสไปริลัม และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน ต่อมวลสด ของส่วนเหนือดินของข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์	51
8	ความสัมพัทธ์ของอะโซสไปริลัม และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน ต่อมวลแห้ง ของรากของข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์	53
9	ความสัมพัทธ์ของดินและอะโซสไปริลัม ต่อมวลแห้งของส่วนเหนือดินของ ข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์	55
10	ความสัมพัทธ์ของอะโซสไปริลัม และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน ต่อมวลแห้ง ของ ส่วนเหนือดินของข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์	55
11	ความสัมพัทธ์ของดินและอะโซสไปริลัม ต่อความเขียวของใบข้าวโพดที่อายุ 4 สัปดาห์	59
12	ความสัมพัทธ์ของอะโซสไปริลัม และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน ต่อความ เขียวของใบข้าวโพดที่อายุ 4 สัปดาห์	59
13	ความสัมพัทธ์ของดินและอะโซสไปริลัม ต่อความเขียวของใบข้าวโพดที่อายุ 5 สัปดาห์	61

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
14	ความสัมพันธ์ของอะโซสไปริลลัม และอัคราปฏิยในโตรเจนที่ต่างกัน ต่อความเขียวของใบข้าวโพดที่อายุ 5 สัปดาห์	61
15	ความสัมพันธ์ของอะโซสไปริลลัม และอัคราปฏิยในโตรเจนที่ต่างกัน ต่อความเขียวของใบข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์	63
16	ความสัมพันธ์ของดิน และอะโซสไปริลลัม ต่อความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดที่อายุ 4 สัปดาห์	64
17	ความสัมพันธ์ของดิน และอัคราปฏิยในโตรเจนที่ต่างกัน ต่อความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดที่อายุ 4 สัปดาห์	65
18	ความสัมพันธ์ของอะโซสไปริลลัม และอัคราปฏิยในโตรเจนที่ต่างกัน ต่อความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดที่อายุ 4 สัปดาห์	65
19	ความสัมพันธ์ของอะโซสไปริลลัม และอัคราปฏิยในโตรเจนที่ต่างกัน ต่อความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์	69
20	ความสัมพันธ์ระหว่างเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดกับค่าความเขียวใบข้าวโพด ที่อายุต่างๆ	70
21	ความสัมพันธ์ของดิน และอะโซสไปริลลัม ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสในรากข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์	73
22	ความสัมพันธ์ของดิน และอัคราปฏิยในโตรเจนที่ต่างกัน ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสในรากข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์	74
23	ความสัมพันธ์ของอะโซสไปริลลัม และอัคราปฏิยในโตรเจนที่ต่างกัน ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสในรากข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์	74
24	ความสัมพันธ์ของดิน และอะโซสไปริลลัม ต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์	77
25	ความสัมพันธ์ของดิน และอัคราปฏิยในโตรเจนที่ต่างกัน ต่อปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์	78
26	ความสัมพันธ์ของดิน และอะโซสไปริลลัม ต่อปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมดในข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์	79

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
27	ความสัมพันธ์ของดิน และอัตราปุ๋ยในโตรเจนที่ต่างกัน ต่อปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมดในข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์	80



ผลของเชื้ออะโซสไปริลลัมที่มีต่อการตรึงไนโตรเจนและ
การส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพด

Effects of Azospirillum on Nitrogen Fixation and
Growth Enhancement of Maize

คำนำ

ปุ๋ยเคมีเป็นปัจจัยการผลิตที่มีความสำคัญและมีความจำเป็นต้องใช้ในการผลิตพืช แต่ปุ๋ยเคมีมีราคาแพง เนื่องจากน้ำมันเชื้อเพลิงมีราคาสูง ปุ๋ยเคมีจึงมีราคาสูงตามไปด้วย ทำให้เป็นการเพิ่มต้นทุนในการผลิตของเกษตรกร แนวทางในการลดต้นทุนการผลิตอย่างหนึ่งคือการใช้จุลินทรีย์บางชนิดที่สามารถช่วยส่งเสริมการงอกของเมล็ด การเจริญเติบโตของราก และสามารถเพิ่มความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารให้มากขึ้น ไนโตรเจนเป็นธาตุหลักที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช ในโตรเจนในบรรยากาศที่อยู่ในรูปของ N_2 มีอยู่ถึง 78 % การตรึงไนโตรเจนเป็นการเปลี่ยนไนโตรเจนจากชั้นบรรยากาศให้อยู่ในรูปของแอมโมเนีย ที่พืชสามารถนำไปใช้ได้

อะโซสไปริลลัม (*azospirillum*) เป็นแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้ มักอาศัยอยู่อย่างใกล้ชิดกับพืชจำพวกพืชไร่ (Osmar *et al.*, 2004) ส่วนใหญ่พบอะโซสไปริลลัมในดินเขตร้อน (Baldani, 1987) และในเขตอบอุ่น (Germida, 1986) โดยอาศัยอยู่ในเขตอภิวรรณของพืช (rhizosphere) จึงก่อให้เกิดศักยภาพในการเพิ่มผลผลิตให้กับพืชที่สำคัญและหญ้าภายใต้สภาพอากาศที่แตกต่างกันได้ และมีรายงานว่าเชื้ออะโซสไปริลลัมมีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้เป็นอย่างดี โดยเฉพาะในช่วงระยะแรกของการเจริญเติบโต โดยการสร้างและปลดปล่อยสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช เชื้ออะโซสไปริลลัมที่อยู่ในดินนั้นมีทั้งชนิดที่มีประสิทธิภาพสูงและต่ำในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช โดยส่วนใหญ่จะตรึงไนโตรเจนได้ในปริมาณน้อยในดินที่มีปริมาณไนโตรเจนอนินทรีย์อยู่สูง (ธงชัย, 2550) รวมทั้งชนิดของพืชที่แตกต่างกัน และสภาพแวดล้อมในแต่ละพื้นที่ที่มีผลต่อการตรึงไนโตรเจนของเชื้อ อะโซสไปริลลัม แต่พบว่าอะโซสไปริลลัมมีอัตราการมีชีวิตรอดต่ำในดินและมีชีวิตอยู่ข้ามไปถึงฤดูถัดไปได้น้อย (Harris, 1989) ดังนั้นการคัดเลือกเชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนเพื่อนำเชื้อมาใช้ประโยชน์สำหรับเป็นแหล่งสำคัญของไนโตรเจน และลดปริมาณไนโตรเจนที่มาจากปุ๋ยเคมี จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ ในการเกษตรปัจจุบัน Maria (2002) ได้ทำการทดสอบกับข้าวสาลีโดยใส่เชื้อ *Azospirillum brasilense* พบว่ามวลชีวภาพ ผลผลิต และ

ความเข้มข้นของไนโตรเจน สูงกว่าการไม่ใส่เชื้อ แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *A. brasilense* ส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวสาลีโดยการกระตุ้นการดูดใช้ในโตรเจนโดยราก นอกจากความสามารถในการตรึงไนโตรเจนแล้ว อะโซสไปริลลัม ยังสามารถสร้างฮอร์โมนส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ Akbari *et al.* (2007) พบว่าฮอร์โมนออกซิน ที่ผลิตโดย *Azospirillum* spp. สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของรากข้าวสาลี ที่ปลูกด้วยเมล็ด โดยการใส่เชื้อทำให้มีความยาวราก น้ำหนักแห้งของราก และขนรากเพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงต้องมีการคัดเลือก และทดสอบประสิทธิภาพเพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่เหมาะสมในการนำมาใช้ส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพดเพื่อที่จะเป็นการลดต้นทุนการผลิต



วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน การสร้างออกซินและการละลายฟอสเฟตของเชื้ออะโซสไปริลัมไอโซเลตต่างๆ
2. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบผลของเชื้ออะโซสไปริลัมไอโซเลตต่างๆในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพด



การตรวจเอกสาร

1. อะโซสปิริลลัม (*azospirillum*)

อะโซสปิริลลัมเป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ในสภาพที่มีไนโตรเจนเล็กน้อย (microaerobic condition) เจริญได้ดีในบรรยากาศปกติเมื่อมีเกลือของไนโตรเจนอยู่ด้วย ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต หรืออาจใช้ในเตรตเป็นตัวรับอิเล็กตรอนได้ แต่อาจเฟอร์เมนต์ได้เล็กน้อย เมื่อออกซิเจนจำกัดอย่างรุนแรง ไนเตรตจะเปลี่ยนเป็นไนไตรต์หรือไนตรัสออกไซด์ หรือแก๊สไนโตรเจน อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 35 ถึง 37 °C อาศัยอยู่อย่างอิสระในดิน หรืออาศัยอยู่ที่รากของธัญพืช หญ้า และพืชหัว โดยไม่ชักนำให้เกิดปม (ธงชัย, 2550)

Akbari *et al.* (2007) รายงานว่าฮอร์โมน IAA ที่ผลิตโดยเชื้ออะโซสปิริลลัม สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของรากข้าวสาลี ที่ปลูกด้วยเมล็ด โดยการใส่เชื้อดังกล่าวมีผลทำให้ความยาวราก น้ำหนักแห้งของราก และขนรากเพิ่มขึ้น

Maria *et al.* (2002) ทดสอบกับข้าวสาลีโดยการใส่เชื้อ *A. brasilense* พบว่ามวลชีวภาพ ผลผลิต และความเข้มข้นของไนโตรเจน สูงกว่าการไม่ใส่เชื้อ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า *A. brasilense* ส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวสาลีโดยกระตุ้นการดูดใช้ในโตรเจนโดยราก

Fulchieri and Frion (1994) ศึกษาผลของการใช้เชื้ออะโซสปิริลลัมที่มีต่อผลผลิตข้าวโพด โดยใช้ *Azospirillum brasilense* (AZ 39), *A. lipoferum* (AZ 30) and *A. brasilense* ATCC 29745 strain Sp 7 พบว่าเชื้อ *Azospirillum brasilense* สามารถเพิ่มน้ำหนักแห้งของต้นข้าวโพดที่ปลูกใน chamber เป็นระยะเวลา 50 วันได้ จาก 380 mg/plant เป็น 523 mg/plant และสามารถเพิ่มน้ำหนักเมล็ดข้าวโพดจาก 2,792 kg/ha (ไม่ใส่เชื้อและปุ๋ย) เป็น 4,447 kg/ha ซึ่งมีค่าเทียบเท่ากับผลผลิตที่ได้จากการใส่ปุ๋ยยูเรีย 60 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อเฮกแตร์ ที่มีผลผลิตเท่ากับ 4,122 kg/ha

Osmar *et al.* (2004) ศึกษาผลของเชื้ออะโซสปิริลลัมที่มีต่อข้าวโพดในสภาพแปลง โดยใช้ *Azospirillum* sp. RAM-7 และ *Azospirillum* RAM-5 พบว่า เชื้อดังกล่าวสามารถช่วยลดการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนได้ 40 %

Biari *et al.* (2008) ศึกษาผลของแบคทีเรียที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ *Azotobacter* sp. strain 5, *Azotobacter chroococcum* strain DSM 2286 และ *Azospirillum* sp. strain 21, *Azospirillum lipoferum* strain DSM 1691 ต่อการสังเคราะห์ส่งเสริมการเจริญเติบโตและช่วยกระตุ้นการดูดกินธาตุอาหารในข้าวโพด พบว่าการใช้แบคทีเรียดังกล่าวช่วยเพิ่มน้ำหนักแห้งฝักได้ 141 % และเพิ่มปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ในเมล็ด ได้ 130, 113 และ 100 % ตามลำดับ

ศิวาพร (2553) การใช้เชื้ออะโซสไปริลัมส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนบริเวณรากข้าวโพดหวานมากที่สุดและจะมีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนบริเวณรากสูงที่สุดในสัปดาห์ที่ 4 เท่ากับ 0.20 mgN/hr/m³

1.1 การจัดจำแนกชนิดของเชื้ออะโซสไปริลัม

ตามการจัดจำแนกของ Jame *et al.* (2001) ได้จำแนกเชื้ออะโซสไปริลัมไว้ดังนี้

Phylum Proteobacteria phy. Nov.

Class Alphaproteobacteria

Order Rhodospirillales

Family Rhodospirillaceae

Genus *Azospirillum*

แบ่งออกได้ 5 species ได้แก่ *A. amazonense* *A. brasilense* *A. halopraeferns* *A. irakense*
A. lipoferum

จากรายงานของ Okon (1994) ได้รายงานเกี่ยวกับลักษณะของเชื้ออะโซสไปริลัมแต่ละชนิดไว้ดังนี้

1. *A. amazonense* เซลล์มีขนาด 0.9-1.0 μm ไม่สร้างแส้รอบเซลล์ (lateral flagella) เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 35 °C ไม่ต้องการไบโอติน (biotin) ในการเจริญเติบโต และไม่สามารถใช้ ซิเตรต (citrate) กลีเซอรอล แมนนิทอล และซอบิทอลเป็นแหล่งคาร์บอนได้

2. *A. brasilense* รูปร่างแบบ vibrioid สร้างแสร้งเซลล์ เซลล์มีขนาด 1.0-1.2 μm เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 37 °C *A. brasilense* ไม่สามารถใช้ซีเตรต กลูโคส แมนนิทอล แมนโนส (mannose) ไรโบส (ribose) ซอบิทอล และซูโครสเป็นแหล่งของคาร์บอนในการเจริญเติบโตบนอาหารปลอดไนโตรเจนกึ่งแข็ง และไม่ต้องการไบโอตินในการเจริญเติบโต พบอาศัยอยู่มากกับพืช C_3 เช่น ข้าวสาลี ข้าวบาร์เลย์ ข้าว ข้าวโอ๊ต ข้าวไรย์ เป็นต้น (ธงชัย, 2550)

3. *A. halopraeferens* เซลล์มีขนาด 0.7-1.4 μm ไม่สร้างแสร้งเซลล์ เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 41 °C ไม่สามารถใช้ กาแลกโตส (galactose) กลูโคสซอบิทอล และซูโครส เป็นแหล่งคาร์บอนได้ ต้องการไบโอตินในการเจริญเติบโต

4. *A. irakense* เซลล์มีขนาด 0.6-0.9 μm สร้างแสร้งเซลล์ เจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 33 °C ไม่สามารถใช้ฟรุกโตส (fructose) กลีเซอรอล แมนนิทอลและซอบิทอล เป็นแหล่งคาร์บอนได้ และไม่ต้องการไบโอตินในการเจริญเติบโต

5. *A. lipoferum* เป็นแบคทีเรีย gram negative รูปร่างแบบ vibrioid มีขนาดประมาณ 1.0 μm เมื่อมีอายุมากจะมีรูปร่างได้หลายแบบ (pleomorphism) เมื่อเลี้ยงในสภาวะที่มีออกซิเจน และมีสภาพเป็นด่าง เคลื่อนที่โดยใช้เส้นที่ขั้วเซลล์ (polar flagella) เส้นเดียว บนอาหารแข็งเคลื่อนที่โดยใช้เส้นบริเวณด้านข้าง เป็นพวก chemoorganotroph (ศุภยงค์, 2547) สามารถใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนในอาหารปลอดไนโตรเจนกึ่งแข็ง (semi solid N-free medium) ที่มีไบโอติน เนื่องจากต้องการไบโอตินในการเจริญเติบโต โดย *A. lipoferum* พบอาศัยอยู่มากกับพืช C_4 เช่น ข้าวโพด เป็นต้น (ธงชัย, 2550) Enrique (1982) พบว่าโคโลนิของ *Azospirillum* spp. แตกต่างจากโคโลนิของ diazotrophs อื่น ๆ โดยจะมีสีแดงสดในอาหารที่มี congo red ผสมอยู่

2. การตรึงไนโตรเจน

ไนโตรเจนเป็นธาตุที่สำคัญสำหรับสิ่งมีชีวิต เป็นองค์ประกอบของกรดอะมิโน โปรตีน กรดนิวคลีอิก คอโรฟิลล์ และสารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบอื่น ๆ สิ่งมีชีวิตไม่สามารถเจริญเติบโตได้ถ้าขาดธาตุไนโตรเจน (ยงยุทธ, 2552) แหล่งสะสมไนโตรเจนในชั้นบรรยากาศ มีก๊าซไนโตรเจน (N_2) มากถึง 78% ซึ่งพืชและสัตว์ไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ ไนโตรเจนจะเข้าสู่ระบบของสิ่งมีชีวิตโดยก๊าซไนโตรเจนจากชั้นบรรยากาศถูกแบคทีเรียตรึงไนโตรเจน (nitrogen-fixing bacteria) เปลี่ยนก๊าซไนโตรเจนให้อยู่ในรูปของแอมโมเนีย โดยกระบวนการตรึงไนโตรเจน

(nitrogen fixation) ซึ่งแอมโมเนียที่เกิดขึ้นนี้พืชสามารถนำไปใช้ได้โดยตรง หรือละลายน้ำร่วมกับไฮโดรเจนไอออน กลายเป็นแอมโมเนียมไอออน ซึ่งแบคทีเรียและพืชสามารถนำไปใช้ในการสังเคราะห์กรดอะมิโน สร้างโปรตีนได้ แบคทีเรียพวกไนตริฟายอิง (nitrifying bacteria) ที่ได้พลังงานจากการออกซิไดส์แอมโมเนีย ก็จะเปลี่ยนแอมโมเนียไปเป็นไนไตรต์และเปลี่ยนไนไตรต์ไปเป็นไนเตรท โดยกระบวนการไนตริฟิเคชัน (nitrification) พืชจะดูดซึมไนเตรทไปใช้ สัตว์ได้รับไนโตรเจนโดยการกินพืชและสัตว์อื่นๆ ผ่านทางสายใยอาหาร สิ่งขับถ่ายของเสียจากสัตว์ พืชสัตว์ และจุลินทรีย์ที่ตายลง ก็จะมีจุลินทรีย์มาทำหน้าที่ย่อยสลายของเสีย ซากพืช ซากสัตว์ และซากจุลินทรีย์ โปรตีนจะถูกย่อยสลาย และปลดปล่อยไนโตรเจน ออกมาในรูปของแอมโมเนีย และยังมีแบคทีเรียพวกดีไนตริฟายอิง (denitrification bacteria) ซึ่งจะรีดิวซ์ไนเตรทไปเป็นก๊าซไนโตรเจน กลับคืนสู่ชั้นบรรยากาศ วัฏจักรไนโตรเจนก็สมบูรณ์ (Brock and Brock, 1978; อ้างโดย กัญญา ม่วงแก้ว, 2544)

2.1 การตรึงแก๊สไนโตรเจน

การตรึงแก๊สไนโตรเจนมีอยู่ด้วยกัน 2 กระบวนการใหญ่ ๆ คือ การตรึงไนโตรเจนที่ไม่ใช่ขบวนการทางชีวภาพ เช่น ไฟแลบ ทำให้เกิดสารประกอบออกไซด์ของไนโตรเจน การเผาไหม้น้ำมันเชื้อเพลิง และฝนจะชะล้างสารประกอบออกไซด์ของไนโตรเจนเหล่านี้ลงสู่ดินในรูปไนเตรท ในอุตสาหกรรมการผลิตปุ๋ย โดยกระบวนการ Haber-Bosch Process ขบวนการนี้เป็นการนำก๊าซไนโตรเจนไปทำปฏิกิริยากับก๊าซไฮโดรเจน เกิดผลิตภัณฑ์เป็นแอมโมเนีย (ชงชัย, 2550) และการตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพ (biological nitrogen fixation) เป็นกระบวนการรีดิวส์แก๊สไนโตรเจนให้เกิดแอมโมเนียโดยเอ็นไซม์ไนโตรจีเนส (nitrogenase) กระบวนการนี้เกิดในปมรากถั่ว หรือในโครงสร้างพิเศษที่แบคทีเรียสร้างขึ้นมาเพื่อควบคุมปริมาณออกซิเจนไม่ให้รบกวนกระบวนการทำงานของเอ็นไซม์ไนโตรจีเนส และบังคับให้เกิดสภาพรีดักชัน แต่ต้องมีออกซิเจนอยู่ในระดับพอเพียงต่อการหายใจของจุลินทรีย์

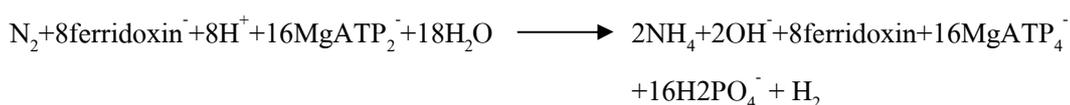
การตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพที่เกิดจากสิ่งมีชีวิตเกิดขึ้นประมาณ 175×10^6 ton/year คิดเป็นประมาณ 60 % ของการตรึงไนโตรเจนโดยสิ่งมีชีวิตนั้น พบเฉพาะในกลุ่มของจุลินทรีย์ การตรึงไนโตรเจนจากอากาศโดยจุลินทรีย์แบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ การตรึงไนโตรเจนโดยจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่อย่างอิสระในธรรมชาติ (free living หรือ non-symbiosis nitrogen fixation) และการตรึงไนโตรเจนโดยจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น (symbiotic nitrogen fixation)

2.1.1 การตรึงไนโตรเจนโดยจุลินทรีย์ที่เจริญอยู่อย่างอิสระในธรรมชาติ เป็นการตรึงไนโตรเจนโดยจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่อย่างอิสระในดิน ในน้ำ บริเวณใบ (phyllosphere) และในบริเวณรากพืช (rhizosphere) พบในแบคทีเรีย และไซยาโนแบคทีเรีย ทั้งพวกแบคทีเรีย ที่ต้องการออกซิเจน (aerobe) ต้องการออกซิเจนต่ำ (facultative Anaerobe) และไม่ต้องการออกซิเจน (anaerobe) โดยได้พลังงานจากสารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ หรือจากแสงโดยตรง (Tate, 2000) จุลินทรีย์อิสระที่ตรึงไนโตรเจนได้ เช่น *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Anabaena* และ *Thiobacillus* เป็นต้น

2.1.2 การตรึงไนโตรเจนโดยจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น (symbiotic nitrogen fixation) เป็นการตรึงไนโตรเจนที่เกิดจากสิ่งมีชีวิตอย่างน้อยสองชนิด อาศัยอยู่ร่วมกันต่างฝ่ายต่างช่วยเหลือให้ประโยชน์ซึ่งกันและกัน เช่น แบคทีเรีย *Rhizobium* และ *Bradyrhizobium* ซึ่งทำให้เกิดปม (nodule) ที่รากของพืชตระกูลถั่ว (leguminous plant) ไรโซเบียมแต่ละชนิดมีความสามารถในการสร้างปมจากพืชตระกูลถั่วได้อย่างเฉพาะเจาะจง (host specificity) และตรึงไนโตรเจนได้ในปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืช (สมศักดิ์ วั่งใน, 2541) ยังมีการตรึงไนโตรเจนแบบพึ่งพาอาศัยในพืชที่ไม่ใช่พืชตระกูลถั่ว (nonleguminous plant) เช่น แอคติโนมัยซีต *Fankia* ที่อยู่ร่วมกับต้น alder แล้วทำให้เกิดปมรากที่ตรึงไนโตรเจน นอกจากนี้ยังมีไลเคนส์ การอยู่ร่วมกันระหว่างรากกับสาหร่ายหรือไซยาโนแบคทีเรีย *Anabaena azollae* ที่อาศัยอยู่ในช่องว่างที่มีอยู่บนใบของพืชอวบน้ำพวกเฟิร์น เช่น แหนแดง เป็นต้น

2.2 ชีวิตเคมีของการตรึงไนโตรเจน

กระบวนการลดออกซิเจนของแก๊สไนโตรเจน ไปเป็นแอมโมเนียโดยจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนเกิดขึ้นโดยการกระตุ้นของเอนไซม์ไนโตรจีเนส แก๊สไนโตรเจนจะถูกรีดิวซ์ไปเป็นแอมโมเนียดังสมการ



การตรึงไนโตรเจนเป็นกระบวนการที่ต้องการพลังงานเป็นอย่างมาก ในสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม จุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนจะต้องใช้พลังงานเกือบทั้งหมดในการรีดิวซ์แก๊สไนโตรเจน 1 โมเลกุล ไปเป็นแอมโมเนียมไอออน 2 โมเลกุล ซึ่งความต้องการพลังงานสูง เป็นตัว

จำกัดปริมาณแก๊สไนโตรเจนที่จะถูกรีดิวซ์โดยจุลินทรีย์ดินซึ่งได้พลังงานจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ การเปลี่ยนแก๊สไนโตรเจนไปเป็นแอมโมเนียมให้เกิดขึ้นสูงสุด จำเป็นต้องมีแหล่งพลังงานที่มากพอและคงที่ เช่นที่เกิดขึ้นในธรรมชาติบริเวณรอบรากพืช ซึ่งแบคทีเรียได้พลังงานจากสารที่ปลดปล่อยออกมาจากราก หรือจากการอยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตอื่น โดยทั่วไปในธรรมชาติ สารอินทรีย์ที่จำเป็นต่อแบคทีเรียมักไม่เพียงพอที่จะทำให้เกิดการตรึงไนโตรเจนได้มาก ยกเว้นพวกที่ตรึงไนโตรเจนแบบพึ่งพาอาศัยกับพืชโดยจะได้รับพลังงานจากการย่อยสลายสารอาหารที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยแสงของ

2.3 เอนไซม์ไนโตรจีเนส

ไนโตรจีเนสเป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการลดออกซิเจนของ แก๊สไนโตรเจนไปเป็นแอมโมเนีย ประกอบด้วยโปรตีนที่ต่างกัน 2 ส่วนคือ dinitrogenase หรือ MoFe protein หรือ protein I และ dinitrogenase reductase หรือ Fe protine หรือ protein II สำหรับ dinitrogenase เป็นโปรตีนขนาดใหญ่ประมาณ 220-240 Kdalton ซึ่งจะจับและรีดิวซ์แก๊สไนโตรเจน ขณะที่ dinitrogenase reductase จะเป็นตัวส่งผ่านอิเล็กตรอนให้กับเอนไซม์ dinitrogenase (Tate, 2000) ปฏิกริยาโดยทั่วไปอาจเขียนได้ดังนี้ (Simpson and Burris, 1984 อ้างถึงใน Kim and Rees, 1994 อ้างถึงใน กัญญา ม่วงแก้ว, 2544)

เอนไซม์ไนโตรจีเนสมีความไวต่อออกซิเจนเป็นอย่างมาก (oxygen sensitive) จะไม่ทำงานเมื่อมีออกซิเจน กระบวนการตรึงไนโตรเจนจึงไม่ต้องการออกซิเจน การตรึงไนโตรเจนจะเกิดขึ้นได้ในตำแหน่งที่ไม่มีออกซิเจน แบคทีเรียที่สามารถรีดิวซ์แก๊สไนโตรเจนส่วนใหญ่มีกลไกในการหลีกเลี่ยงหรือจำกัดออกซิเจน เพื่อป้องกันเอนไซม์ไนโตรจีเนส ซึ่งวิธีที่จะป้องกันเอนไซม์ไนโตรจีเนสที่จะสัมผัสกับออกซิเจน

เอนไซม์ไนโตรจีเนสมีความไวต่อออกซิเจนเป็นอย่างมาก (oxygen sensitive) จะไม่ทำงานเมื่อมีออกซิเจน กระบวนการตรึงไนโตรเจนจึงไม่ต้องการออกซิเจน การตรึงไนโตรเจนจะเกิดขึ้นได้ในตำแหน่งที่ไม่มีออกซิเจน แบคทีเรียที่สามารถรีดิวซ์แก๊สไนโตรเจนส่วนใหญ่มีกลไกในการหลีกเลี่ยงหรือจำกัดออกซิเจน เพื่อป้องกันเอนไซม์ไนโตรจีเนส ซึ่งวิธีที่จะป้องกันเอนไซม์ไนโตรจีเนสที่จะสัมผัสกับออกซิเจนมีดังนี้ (Giller and Wilson, 1991; Tate, 2000)

1) การหลีกเลี่ยงที่จะสัมผัสกับออกซิเจน (avoidance of oxygen contact)

ในแบคทีเรียพวกที่ไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ เช่น *Clostridium pasteurianum* พวกที่ต้องการออกซิเจนเพียงเล็กน้อย (facultative anaerobes) เช่น *Klebsiella pneumonia* มีลักษณะทางพันธุกรรมเป็นตัวควบคุมให้สังเคราะห์เอนไซม์ไนโตรจีเนส ภายใต้สภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำเท่านั้น (Giller and Wilson, 1991)

2) การป้องกันโดยการหายใจ (respiratory protection)

การเพิ่มอัตราการหายใจ ทำให้ปริมาณออกซิเจนลดลง เช่น *Azotobacter* sp. ในสภาพที่มีออกซิเจนจะออกซิไดซ์แหล่งคาร์บอนเพิ่มขึ้น การป้องกันออกซิเจนวิธีนี้พบได้ในแบคทีเรียที่อยู่อย่างอิสระทั้งหลายและไซยาโนแบคทีเรีย

3) การป้องกันโดยการเปลี่ยนรูปแบบ (conformational protection)

พบใน *Azotobacter* spp. โดยจับกับโปรตีนขนาดเล็ก (protective protein) ซึ่งมีมวลโมเลกุลประมาณ 24,000 dalton การจับกับ protective protein ทำให้รูปแบบของเอนไซม์เปลี่ยนไปอยู่ในรูปที่ไม่ทำงานแต่สามารถทนทานต่อออกซิเจนได้ เมื่อปริมาณออกซิเจนลดลงอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ เอนไซม์ไนโตรจีเนสก็จะมิกิจกรรมได้เหมือนเดิม

4) การสร้างเมือก (gum or slime production)

เมือกหรือสารโพลีแซคคาไรด์ที่สะสมอยู่รอบนอกผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ทำให้เซลล์ใหญ่ขึ้น และช่วยเป็นผนังกั้นลดอัตราการแพร่ของออกซิเจนเข้าสู่เซลล์ พบในพวก *Azotobacter* spp. และ *Derxia gummosa*

5) การสร้างเซลล์ที่มีผนังหนา (heterocyst production)

พบในแบคทีเรียที่สังเคราะห์แสงและไซยาโนแบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจน เอนไซม์ไนโตรจีเนสจะแยกไปอยู่ในโครงสร้างที่มีผนังหนา (heterocyst) เพื่อลดการสัมผัสกับออกซิเจน

6) การสร้างเล็กฮีโมโกลบิน (leghemoglobin production)

ในปมรากพืชตระกูลถั่ว จะมีโมเลกุลที่คล้ายกับฮีโมโกลบิน เรียกว่า เลกฮีโมโกลบินอยู่ในปมราก เลกฮีโมโกลบินมีความสามารถในการจับออกซิเจนได้สูง ช่วยลดปริมาณออกซิเจนที่จะสัมผัสกับเอนไซม์ไนโตรจีเนส

7) การย้ายไปอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม (migration to suitable environment)

แบคทีเรียที่เคลื่อนที่ได้ จะหลีกเลี่ยงออกซิเจนโดยการย้ายไปอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการตรึงไนโตรเจน อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม หรืออยู่ร่วมกับพวกที่ต้องการออกซิเจน (aerobic heterotroph) ซึ่งสามารถหลีกเลี่ยงการถูกทำลายจากออกซิเจนได้ เช่น *Azospirillum Brasilens* จะหลีกเลี่ยงออกซิเจนโดยการเคลื่อนตัวไปอยู่ในบริเวณที่มีแรงดันออกซิเจนต่ำ และพบในไซยาโนแบคทีเรียที่อยู่เป็นเซลล์เดี่ยว และ *Derxia gummosa*

Giller and Wilson, 1991 กล่าวว่า นอกจากต้นทุนแหล่งพลังงาน (energy cost) ในการรีดิวซ์แก๊สไนโตรเจนและความไว (sensitivity) ของเอนไซม์ไนโตรจีเนสต่อออกซิเจนแล้ว สารประกอบไนโตรเจนก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการตรึงไนโตรเจน ในแบคทีเรียอิสระที่ตรึงไนโตรเจน กิจกรรมเอนไซม์ไนโตรจีเนสจะไม่เกิดขึ้นถ้ามีสารประกอบไนโตรเจนปริมาณที่เพียงพออยู่ในเซลล์ของแบคทีเรียแล้ว การขาดแคลนสารประกอบไนโตรเจน และลักษณะทางพันธุกรรมการควบคุมการสร้างเอนไซม์ไนโตรจีเนสในสภาวะที่มีออกซิเจนปริมาณต่ำจะเป็นตัวควบคุมและชักนำให้เกิดกิจกรรมเอนไซม์ไนโตรจีเนส

เอนไซม์ไนโตรจีเนสจะหยุดทำงานชั่วคราวในสภาวะที่มีแอมโมเนีย เนื่องจากเอนไซม์ถูกทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงจากเอนไซม์ 2 ชนิด คือ เอนไซม์ DART (dinitrogenase reductase ADP-ribosyl transferase) ในสภาวะที่มีแอมโมเนียจะเติม ADP ให้กับเอนไซม์ dinitrogenase reductase ทำให้เอนไซม์ไนโตรจีเนสหยุดทำงานชั่วคราว และเมื่อความเข้มข้นของแอมโมเนียลดลงเอนไซม์ DRAG (dinitrogenase reductase activating glycohydrolase) จะทำให้เกิดปฏิกิริยาย้อนกลับของ ADP-ribosylation ทำให้เอนไซม์ไนโตรจีเนสทำงานได้ตามปกติพบใน *Rhodospirillum rubrum*, *Azorhizobium caulinodans* อย่างไรก็ตามการหยุดการทำงานชั่วคราวของเอนไซม์ไนโตรจีเนสไม่ได้พบทั่วไปในแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนทั้งหมด เช่นไม่พบใน *Azotobacter* spp.

2.4 การวัดการตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพในสิ่งมีชีวิต

วิธีการวัดการตรึงของไนโตรเจนมีหลายวิธีด้วยกัน เช่น วัดการเจริญของแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากไนโตรเจน เพื่อดูความสามารถในการตรึงไนโตรเจน (Tate, 2000) วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน (N-analysis) โดยวิธีของ Kjeldahl โดยวัดความแตกต่างของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ก่อนและหลังการเจริญในสภาพที่มีไนโตรเจน (Burns and Hardy, 1975) ติดตามธาตุไนโตรเจนด้วย ^{15}N และใช้วิธีการรีดิวซ์ก๊าซอะเซทิลีนเป็นตัวบ่งชี้ความสามารถในการตรึงไนโตรเจน ไม่มีวิธีที่สมบูรณ์แบบ (Hardy *et al.*, 1973) แต่ละวิธีต่างมีข้อบกพร่องแตกต่างกันออกไป วิธีวัดการตรึงไนโตรเจนมีดังนี้

2.4.1 วัดการตรึงไนโตรเจนโดยตรวจสอบการเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากแหล่งไนโตรเจน (nitrogen-free cultivation) ตรวจสอบการเจริญของแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากไนโตรเจน เป็นวิธีที่ง่ายที่สุด วัดการเจริญจากการเพิ่มขึ้นของมวลชีวภาพ (biomass) หรือ (optical density) ของอาหารเลี้ยงเชื้อเนื่องจากการเจริญของแบคทีเรีย

2.4.2 Nitrogen balance วิธีนี้เป็นการวัดปริมาณการตรึงไนโตรเจนทางตรง ซึ่งเป็นการวัดความเข้มข้นของไนโตรเจนในดินที่ได้จากการตรึงไนโตรเจน โดยใช้วิธีการสกัดแอมโมเนียจากดิน จากนั้นทำการกลั่นและไตเตรท โดยต้องทำให้ไนโตรเจนอินทรีย์ในดินเปลี่ยนเป็นแอมโมเนียเสียก่อน โดยใช้วิธีการของ Kjeldahl digestion จากนั้นวัดปริมาณแอมโมเนียที่มีในดิน การประเมินปริมาณการตรึงไนโตรเจนโดยวิธีนี้อาจมีข้อผิดพลาดที่เกิดขึ้นจากการการประเมินปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้ เนื่องจากไนโตรเจนในดินบางส่วนจะสูญเสียไปกับกระบวนการดีไนตริฟิเคชัน และการกร่อนดิน สำหรับการได้มาของไนโตรเจนจากบรรยากาศอาจไม่ได้มาจากการตรึงไนโตรเจนเพียงอย่างเดียว นอกจากความผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้นได้จากดังที่กล่าวมาข้างต้น ยังพบว่าการใช้วิธีการนี้อาจเกิดข้อผิดพลาดได้จากการประมาณค่าข้อมูลที่เกิดจากการเก็บตัวอย่างที่ไม่ได้มาตรฐาน อีกทั้งระบบของการวัดปริมาณการตรึงไนโตรเจนด้วยวิธีนี้ต้องเป็นระบบปิดเท่านั้น (Tate, 2000)

2.4.3 วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนโดยวิธีไนโตรเจน- $^{15}\text{N}_2$ method) เป็นวิธีวัดการตรึงไนโตรเจนทางตรง โดยใช้ไอโซโทปที่เสถียรของไนโตรเจน วิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้ สามารถติดตามแหล่งไนโตรเจนได้แน่นอนและถูกต้องที่สุด โดยใช้ไอโซโทป ^{15}N เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียภายใต้บรรยากาศที่มี ^{15}N แล้วตรวจหาปริมาณ ^{15}N ในเซลล์ของ

แบบที่เรียกว่าเครื่อง Mass Spectrometer ซึ่งวิธีนี้มีความไวกว่าวิธีเจลาตถึง 1000 เท่า ให้ผลแม่นยำเที่ยงตรง แต่มีข้อเสีย คือต้องใช้เทคนิคขั้นสูง และมีค่าใช้จ่ายมาก

2.4.4 วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนโดยวิธีอะเซทิลีนรีดักชัน (acetylene reduction assay) เป็นวิธีการวัดปริมาณการตรึงไนโตรเจนทางอ้อม โดยใช้การวัดกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนส ที่สามารถรีดิวซ์แก๊สไนโตรเจนให้เปลี่ยนเป็นแอมโมเนีย (การตรึงไนโตรเจน) ซึ่งคล้ายกับการเปลี่ยนแก๊สอะเซทิลีนไปเป็นแก๊สเอทิลีน (Bergersen, 1970) และสามารถตรวจสอบได้โดยใช้เครื่อง gas chromatography วิธีนี้ถือเป็นวิธีที่เร็วมากที่สุดในปัจจุบัน

การรีดิวซ์แก๊สอะเซทิลีนโดยเอนไซม์ไนโตรจีเนสมีความคล้ายคลึงกับการรีดิวซ์แก๊สไนโตรเจนไปเป็นสารประกอบอินทรีย์ในโตรเจนเป็นอย่างมาก โดยเอนไซม์ไนโตรจีเนสจะจับแก๊สอะเซทิลีนที่ active site เดียวกันกับการรีดิวซ์แก๊สไนโตรเจน แต่การที่เอนไซม์ไนโตรจีเนสรีดิวซ์แก๊สอะเซทิลีน 1 mol ไปเป็นแก๊สเอทิลีนต้องใช้อิเล็กตรอนในการเปลี่ยนแปลง (electron transfer) 2 ตัว ในขณะที่การรีดิวซ์แก๊สไนโตรเจน 1 mol ไปเป็นแอมโมเนียจะใช้อิเล็กตรอนในการเปลี่ยนแปลง 8 ตัว (Hardy *et al.*, 1973)

การแปลค่าปริมาณแก๊สอะเซทิลีนที่ถูกรีดิวซ์ไปเป็นค่าปริมาณการตรึงไนโตรเจนนั้นควรจะมีค่า C_2H_2/N_2 conversion factor ซึ่งตามทฤษฎีเป็น 3:1 เนื่องจากการเปลี่ยนแก๊สอะเซทิลีน 3 โมเลกุลให้เป็นแก๊สเอทิลีน 3 โมเลกุลนั้นจะสมมูลกับการเปลี่ยนแก๊สไนโตรเจน 1 โมเลกุลเป็นแอมโมเนีย 2 โมเลกุล แต่ในความเป็นจริงแล้วค่าดังกล่าวอาจอยู่ในช่วง 0.75-4.5 หรืออาจมากกว่านี้ก็ได้ อย่างไรก็ตามการใช้วิธีการวัดปริมาณการตรึงไนโตรเจนด้วยวิธี acetylene reduction ในแปลงสามารถใช้ผลจากการสร้างเอทิลีนด้วยเอนไซม์ไนโตรจีเนสได้ เนื่องจากมีการตรวจสอบแล้ว พบว่าการวัดกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสในการรีดิวซ์แก๊สอะเซทิลีนเป็นแก๊สเอทิลีนนั้นมีความแม่นยำสูง สำหรับข้อดีของการใช้แก๊สอะเซทิลีนคือในภาวะปกติจะไม่พบแก๊สอะเซทิลีนในบรรยากาศ และแก๊สอะเซทิลีนมีราคาไม่แพง สามารถวิเคราะห์ได้ด้วยเครื่อง gas chromatography ซึ่งสามารถตรวจสอบแก๊สทั้งสองชนิดได้ แม้ในปริมาณต่ำ ๆ ข้อดีของวิธีนี้คือ มีความไวสูง ไวกว่าวิธี ^{15}N ถึง 10^3-10^4 เท่า เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว ใช้เทคนิคง่าย ๆ ใช้เครื่องมือไม่ยาก และราคาไม่แพง

3. การสร้างฮอร์โมนส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) เป็นแบคทีเรียที่อาศัยบริเวณดินรอบรากพืช มีประโยชน์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มความต้านทานต่อโรคต่างๆของพืช ซึ่งจะสามารถเพิ่มจำนวนปมรากพืช Kloepper and Schroth (1978), Glick *et al.* (1999) ซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นอย่างดีในด้านการเกษตร PGPR เป็นกลุ่มของแบคทีเรียหลากหลายสกุล และหลากหลายสายพันธุ์ ซึ่งกลุ่มของ PGPR ส่วนใหญ่อยู่ในสกุล *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia* *Pseudomonas*, และ *Serratia* เป็นต้น Kloepper *et al.* (1989), Glick *et al.* (1999) การเจริญของรากได้รับผลอย่างมากจากการอาศัยร่วมกันระหว่างรากและ PGPR Karadeniz *et al.* (2006) โดย PGPR จะสามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภทตามการอาศัยกับพืชคือ

พวกที่มีความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยกันกับพืช (symbiosis) คือแบคทีเรียจำพวกที่สามารถเข้าสู่รากพืชแล้วเกิดกระบวนการต่างๆที่จะช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชได้

พวกที่อาศัยแบบอิสระในดิน (free-living form) และจะพบอยู่ใกล้ๆบริเวณรากพืช โดยแบคทีเรียจำพวก PGPR จะช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช ช่วยให้ผลผลิตของพืชสูงขึ้น

กระบวนการในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชมีได้ 2 ทางคือ โดยทางตรงและทางอ้อม ดังนี้

1) กระบวนการในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชโดยตรง ได้แก่

1.1 ตรึงไนโตรเจนให้กับพืช

1.2 ย่อยสลายธาตุฟอสฟอรัสในดินให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ทำให้พืชสามารถนำไปใช้ได้

1.3 ผลิตฮอร์โมนพืชเช่น auxin, cytokinin, gibberelin เป็นต้น

1.4 สามารถผลิตซิเดอโรฟอรัส (Siderophores) ช่วยนำธาตุเหล็กไปให้พืชใช้ประโยชน์ได้ง่ายขึ้น

2) กระบวนการในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชโดยทางอ้อม คือช่วยในการควบคุมโรคพืช ทั้งโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราสาเหตุโรคพืช และเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช โดยจำกัดปริมาณ

ธาตุเหล็กที่เป็นประโยชน์ของเชื้อโรคพืช ทำให้สามารถป้องกันการเพิ่มจำนวน และการขยายจำนวนของเชื้อโรคพืชได้

3.1 ฮอโมนพืช (phytohormones)

การผลิตฮอโมนพืชนั้นเป็นกลไกที่สำคัญในการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพ ในการเจริญเติบโตของพืช โดยรายงานเกี่ยวกับการผลิตฮอโมนพืชส่วนใหญ่จะมุ่งเน้นไปที่บทบาทของฮอโมนพืช กลุ่มที่เรียกว่า ออกซิน ซึ่ง ฮอโมนพืชในกลุ่มของ ออกซิน ก็ได้แก่ indole-3-acetic acid (IAA) ซึ่งจะช่วยกระตุ้นการยืดตัวของเซลล์ (cell elongation), การแบ่งเซลล์ (cell division) และการเปลี่ยนแปลงสภาพของเซลล์ (cell differentiation)

ออกซิน (auxin) เป็นฮอโมนชนิดแรกที่ค้นพบในพืช ทำให้ส่วนยอดต้นกล้าโค้งงอเบนเข้าหาแสงและเป็นกลุ่มสารที่เกี่ยวข้องกับการขยายขนาดของเซลล์ ทำให้พืชมีการเติบโตที่ยืดยาวขึ้นเฉพาะที่จนพืชเบนเข้าหาแสงและตอบสนองต่อแรงดึงดูดของโลก ออกซินที่พืชสร้างขึ้นส่วนใหญ่อยู่ในรูปสารเคมีที่เรียกว่า กรดอินโดล-3-แอซิดิก (indole-3-acetic acid, IAA) โดยพืชสังเคราะห์จากกรดอะมิโนทริปโทแฟน (tryptophan) ยังมีสารสังเคราะห์ที่สร้างขึ้นมา ซึ่งมีคุณสมบัติคล้ายออกซิน เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ทางการเกษตร ได้แก่ NAA (1-naphthylacetic acid), IBA (4-(Indole-3-yl)Butyric acid), 2,4-D (2, 4-dichlorophenoxyacetic acid), IPA (indolepropionic acid) และ 2,3,6-T (2,3,6-trichlorobenzoic acid)

ผลการกระตุ้นการเจริญของรากจากการบันทึกผลการเปลี่ยนแปลงทางสรีระวิทยาของรากพืชหลังจากการปลูกเชื้ออะโซสไปริลลัม ซึ่งน่าจะมาจากการผลิตสารส่งเสริมการเจริญเติบโตจากแบคทีเรีย ซึ่งจะแสดงให้เห็นว่า เชื้ออะโซสไปริลลัมสามารถสร้างสารออกซินได้ Crozier *et al.*(1988), Zimmer and Bothe (1988) และยังมีการสร้างไซโตคินิน และ จิบเบอเรลลิน Spaepen *et al.*(2008)

อะโซสไปริลลัมมีความสามารถในการผลิตฮอโมนพืช รวมทั้ง โพลีเอมีน และ กรดอะมิโนในเซลล์ (Thuler *et al.*, 2003) สำหรับ *A. brasilense* สามารถสร้างฮอโมนออกซินที่เพิ่มความยาวของราก พื้นที่ผิวของราก และน้ำหนักแห้งของราก (El-Khawas and Adachi, 1999; Molla *et al.*, 2001) และมีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพ และเพิ่มกิจกรรมของ glutamate dehydrogenase และ glutamine synthetase (Ribaud *et al.*, 2001) อะโซสไปริลลัม

สามารถสร้างฮอร์โมนพวกออกซิน (Lambrecht *et al.*, 2000) และในบางครั้งสร้างไซโตไคนินและ จิบเบอรลินด้วย (Bottini *et al.*, 1989) นอกจากนี้ Fallik *et al.* (1994) รายงานว่าการใส่เชื้อ อะโซสไปริลัมในการปลูกพืชจะช่วยทำให้พืชมีความหนาแน่นและความยาวของขนรากมากขึ้น เป็นผลให้รากมีพื้นที่ผิวสัมผัสเพิ่มมากขึ้น

Pedraza *et al.* (2004) ทำการศึกษาถึงปริมาณของออกซินที่เชื้ออะโซสไปริลัม สามารถสร้างได้ว่ามีค่าอยู่ที่ 16.5 - 38 $\mu\text{g IAA/mg protein}$

Akbari *et al.* (2007) รายงานว่าฮอร์โมน indole acetic acid (IAA) ที่ผลิตโดยเชื้อ อะโซสไปริลัม ส่งเสริมการเจริญเติบโตของรากข้าวสาลีที่ปลูกด้วยเมล็ด โดยการใส่เชื้อดังกล่าวมี ผลทำให้ความยาวราก น้ำหนักแห้งของราก และขนรากเพิ่มขึ้น

การสังเคราะห์ กรดอินโดล-3-แอซิดิก ในพืชและเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิดพบว่ามี กระบวนการคล้ายคลึงกัน มีสารเริ่มต้นคือ กรดอะมิโน L-tryptophan แบคทีเรียจะเปลี่ยน tryptophan ให้เป็น indole ethanol ซึ่งสารชนิดนี้สามารถแสดงคุณสมบัติเป็นออกซินได้ เพราะพืช จะเปลี่ยน indole ethanol ให้เป็น indoleacetaldehyde และกรดอินโดล-3-แอซิดิก

4. การละลายฟอสเฟต

ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารพืชที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตและความแข็งแรงของพืช ทั้งส่วน ที่อยู่เหนือดินและราก (คณาจารย์ภาควิชาปฐพี, 2548) เนื่องจากฟอสฟอรัสมีบทบาทสำคัญในการ สะสมและถ่ายทอดพลังงานของเซลล์สิ่งมีชีวิตทุกชนิด และเป็นองค์ประกอบของเซลล์ พืชที่ขาด แคลนธาตุฟอสฟอรัสไม่ว่าระยะใดของวงชีวิตจะแสดงความผิดปกติ เจริญเติบโตช้า ลำต้นแคระแกรน การติดดอกติดผลต่ำ คุณภาพของเมล็ดลดลง (Brady and Weil, 2002; Tisdale *et al.*, 1985) ฟอสฟอรัสเกือบทั้งหมดที่พบในพืชมาจากดิน แต่พบว่าปริมาณฟอสฟอรัสในดินที่อยู่ในรูปที่เป็น ประโยชน์สำหรับพืชมีอยู่น้อยมาก เมื่อเทียบกับปริมาณทั้งหมดในดิน เนื่องจากฟอสฟอรัสในดินมี ความสามารถในการเคลื่อนที่ต่ำ ถูกตรึงและตกตะกอนโดยปฏิกิริยาเคมีได้ง่าย ปลดปล่อยออกมาได้ ยาก โดยปกติแล้วในดินจะมีปริมาณฟอสฟอรัสในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืชอยู่น้อย ส่วนใหญ่ ฟอสฟอรัสในดินจะถูกตรึงโดยแร่ดินเหนียวและตกตะกอนกับเหล็ก อลูมิเนียม แคลเซียมหรือ แมกนีเซียมซึ่งละลายได้น้อยมาก

จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตคือ จุลินทรีย์ที่มีความสามารถละลายไตรแคลเซียม อลูมินัมและเหล็กฟอสเฟต เช่นเดียวกับที่สามารถละลายหินฟอสเฟต และปลดปล่อยอินทรีย์ฟอสฟอรัส เป็นผลให้มีฟอสฟอรัสในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืช โดยจุลินทรีย์ที่สามารถละลายฟอสเฟตได้มีหลายชนิด ทั้งที่เป็นแบคทีเรีย เชื้อรา และแอกติโนมัยซีต ธงชัย (2550) กล่าวว่าในดินต่างๆ จะพบจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตได้ในปริมาณที่แตกต่างกัน และพบว่าแบคทีเรียเหล่านี้พบได้มากในบริเวณรากพืช ปริมาณแบคทีเรียละลายฟอสเฟตจะได้รับอิทธิพลจากชนิดของดินและกระบวนการเขตกรรมที่แตกต่างกันมากกว่าสภาพทางกายภาพของดินปริมาณฮิวมัส ไนโตรเจน และฟอสฟอรัสในดิน Albrecht *et al.* (1981) และ Patriquin *et al.* (1983) พบว่า เชื้ออะโซสไปริลัมสามารถเพิ่มการละลายของฟอสเฟต

4.1 กลไกการละลายฟอสเฟตของจุลินทรีย์

กลไกการละลายฟอสเฟตของจุลินทรีย์ส่วนใหญ่จะเกิดจากการสร้างและปลดปล่อยกรดอินทรีย์ (organic acid) ออกนอกเซลล์ เพื่อมาละลายฟอสเฟตในดิน ดังนี้

4.1.1 การสร้างกรดอินทรีย์ (organic acid) กรดอินทรีย์ที่พบเสมอๆว่าจุลินทรีย์สามารถสร้างและปลดปล่อยออกมาได้แก่ ฟอรั่มิก อะซีติก โพรปีโอนิก แลคติก โกลโคลิก ฟูมาริก และซักซินิก เป็นต้น ส่วนมากกลุ่มเฮเทอโรโทรฟ (heterotroph) จะปลดปล่อยกรดอินทรีย์ออกมาจำนวนหนึ่งเสมอในระหว่างที่มีการย่อยสารอินทรีย์แต่มีความแตกต่างกันทั้งชนิดและปริมาณ (ธงชัย, 2550)

4.1.2 การสร้างกรดอนินทรีย์ (inorganic acid) จุลินทรีย์บางชนิดสร้างและปลดปล่อยกรดอินทรีย์ออกมาได้แก่ กรดไนตริก และซัลฟูริก จากกิจกรรมของจุลินทรีย์ *Nitrobacter sp.* และ *Thiobacillus sp.* ตามลำดับ กรดต่างๆที่เกิดขึ้นเหล่านี้ส่งผลให้ค่าปฏิกิริยา (pH) ลดลงและเกิดการละลายฟอสฟอรัสมากขึ้น

กรดอินทรีย์บางชนิดอาจเกิดคีเลตกับแคลเซียมและเหล็ก ทำให้การละลายและการใช้ฟอสเฟตมากขึ้น อย่างไรก็ตามปริมาณการละลายฟอสเฟตจะแตกต่างกันตามความสามารถในการละลายของจุลินทรีย์แต่ละชนิด รวมทั้งลักษณะ และรูปของฟอสเฟต โดยทั่วไปเชื้อราจะมีความสามารถสูงกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ

Kucey *et al.* (1989), Otero *et al.* (1995), Stamford *et al.* (2003) รายงานว่าการละลายฟอสเฟตจากแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดอินทรีย์บางชนิด เช่น กรดซัลฟูริกของเชื้อ *Thiobacillus* ซึ่งส่งผลต่อสภาพความเป็นกรดต่างของดิน ทำให้ดินมีสภาพเป็นกรด และเหมาะสมต่อการละลายของธาตุฟอสฟอรัส

5. ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

5.1 ความสำคัญของข้าวโพด

ข้าวโพด (maize หรือ corn, *Zea mays* L.) จัดเป็นธัญญาพืชที่มีความสำคัญเป็นอันดับที่ 3 ของโลก รองจาก ข้าวสาลีและข้าว (คณาจารย์ภาควิชาพืชไร่นา, 2542; Fageria *et al.*, 1997) การผลิตโดยทั่วไปทั้งในเขตอากาศอบอุ่น (temperate) เขตอากาศร้อนถึงร้อนชื้น (subtropic) และพื้นที่ราบเขตร้อน (lowland tropic) ข้าวโพดเป็นพืชที่สามารถปรับตัวได้ดีกับสภาพแวดล้อมที่กว้างขวาง ตั้งแต่เขตละติจูด 55 ° เหนือถึง 40 ° ใต้ เมล็ดข้าวโพดมีแป้งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญ มีการใช้ประโยชน์หลายด้าน ได้แก่ อาหารของมนุษย์ อาหารสัตว์ วัตถุดิบในโรงงานผลิตแป้ง น้ำตาล และน้ำมัน ส่วนของต้นข้าวโพด นำมาใช้เป็นพืชอาหารสัตว์ (forage crop) ในรูปหญ้าสด (fodder) หญ้าแห้ง (hay) และหญ้าหมักข้าวโพด (silage) (ราเชนทร์, 2539) ในไทยเมล็ดข้าวโพดที่ผลิตได้มากกว่าร้อยละ 80 จะใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ ส่วนที่เหลือจะส่งออกไปยังประเทศเพื่อนบ้าน (เฉลิมชาติ, 2547)

ในปี พ.ศ. 2544 พื้นที่เก็บเกี่ยวข้าวโพดทั่วโลกมีประมาณ 861.1 ล้านไร่ มีผลผลิตรวม 604.1 ล้านตัน ประเทศผู้ผลิตรายใหญ่ที่สุดของโลก คือ สหรัฐอเมริกา รองลงมาได้แก่ จีน บราซิล เม็กซิโก ฝรั่งเศส อาร์เจนตินา อินเดีย อิตาลี อินโดนีเซีย และไทย ตามลำดับ ประเทศไทยมีพื้นที่เก็บเกี่ยวข้าวโพดประมาณ 7.4 ล้านไร่ มีผลผลิตรวม 4.4 ล้านตัน และมีผลผลิตต่อไร่เฉลี่ยที่ 598 kg/rai (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2545) โดยพื้นที่เพาะปลูกข้าวโพดจะมีการกระจายอยู่ทุกส่วนของประเทศ แต่บริเวณเพาะปลูกข้าวโพดที่สำคัญคือ ภาคเหนือตอนล่าง, ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคกลางตอนบน (Wuttanutchariya, 2001)

5.2 ความต้องการธาตุอาหารของข้าวโพด

ความต้องการธาตุอาหารของข้าวโพดตลอดช่วงการเจริญเติบโต โดยมีระดับของผลผลิตที่ได้คือ 11.8 ton/ha (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ความต้องการธาตุอาหารของข้าวโพด

ความต้องการธาตุอาหารของข้าวโพดตลอดช่วงการเจริญเติบโต ที่ผลผลิต 11.8 ton/ha			
อายุของข้าวโพด (วัน)	การดูดใช้ธาตุอาหาร (kg/ha/day)		
	N	P	K
20-30	1.70	0.39	1.70
30-40	6.70	1.55	9.95
40-50	8.30	2.32	11.56
50-60	5.30	2.06	4.42

ที่มา: Hoefit (1992)

5.3 ความสำคัญของไนโตรเจนต่อข้าวโพด

ไนโตรเจน จัดอยู่ในกลุ่มธาตุอาหารมหัพภาค (macronutrient elements) พืชต้องการใช้ในปริมาณมากและตลอดระยะเวลาการเจริญเติบโตของพืช หน้าที่และอิทธิพลของไนโตรเจนที่มีต่อพืชอาจแบ่งได้เป็น 5 กลุ่ม ดังนี้ 1) เป็นส่วนประกอบสำคัญของโปรตีน 2) เป็นส่วนประกอบสำคัญอยู่ในเอนไซม์ต่างๆ 3) เป็นส่วนประกอบในนิวคลีอัส 4) สารประกอบไนโตรเจนอื่น ๆ เช่น อะดีโนซีนไตรฟอสเฟต และ 5) สารประกอบไนโตรเจนที่พืชสะสมไว้ (reserves) หรือทำหน้าที่ป้องกัน (protective compound) เช่น นิโคติน (nicotine) จากใบยาสูบ (ขงยุทธ, 2552:มุกดา, 2544) ความต้องการไนโตรเจนของข้าวโพดจะเริ่มตั้งแต่เริ่มงอกและมีความต้องการสูงสุดในช่วงสัปดาห์ที่ 6-8 หลังจากงอก โดยความต้องการไนโตรเจนจะยังคงสูงขึ้นจนถึงระยะข้าวโพดแก่ (ราเชนทร์, 2539) สำหรับปริมาณไนโตรเจนในข้าวโพดจะผันแปรไปตามปัจจัยหลายอย่าง เช่น ปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจนที่ให้แก่ข้าวโพด ลักษณะทางพันธุกรรมของข้าวโพด อัตราการปลูก สภาพดินฟ้าอากาศ ระยะการเจริญเติบโต และส่วนต่าง ๆ ของข้าวโพดจะมีปริมาณไนโตรเจนแตกต่างกันออกไป โดยข้าวโพดที่อายุเก็บเกี่ยวมีระดับไนโตรเจนในส่วนต่างๆ ของข้าวโพดสามารถเรียงลำดับจากมากไปน้อยได้ดังนี้ เมล็ด > ใบ > ชัง และกาบใบ > ต้น และก้านดอกตัวผู้ เมื่อข้าวโพดแก่

ไนโตรเจน 2 ใน 3 ที่อยู่ในดิน (ส่วนเหนือดิน) จะเคลื่อนย้ายไปสะสมในเมล็ด คงเหลือไว้ภายในดินเพียง 1 ใน 3 (Curtis and Clark, 1950)

5.4 ความสำคัญของฟอสฟอรัสต่อข้าวโพด

ฟอสฟอรัสจัดอยู่ในกลุ่มธาตุอาหารมหัพภาค (macronutrient elements) พืชต้องการใช้ในปริมาณมากและตลอดระยะเวลาการเจริญเติบโตของพืช แต่ในดินมีปริมาณฟอสฟอรัสค่อนข้างจำกัด โดยเฉพาะในดินที่การใช้ในการเกษตรจะมีปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดต่ำ ฟอสฟอรัสอาจอยู่ในรูปของสารประกอบที่พืชนำไปใช้ประโยชน์ได้ยาก ต้องสลายตัวหรือเปลี่ยนรูปเสียก่อนจึงจะเป็นประโยชน์ต่อพืช ฟอสฟอรัสในดินเกือบทั้งหมดปรากฏอยู่ในรูปของออร์โทฟอสเฟตหรือที่เปลี่ยนแปลงมาจากกรดออร์โทฟอสฟอริก (H_3PO_4) เกือบทั้งสิ้น (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2548) โดยพืชจะดูดใช้ในรูปของโมโนฟอสเฟตไอออน ($H_2PO_4^-$) ได้ดีกว่าไดฟอสเฟตไอออน (HPO_4^{2-}) ประมาณ 10 เท่า (Tisdale *et al.*, 1985) ฟอสฟอรัสทั้งสองรูปเมื่อพืชดูดเข้าไปแล้วจะถูกเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของสารอินทรีย์และอนินทรีย์ฟอสเฟต ฟอสเฟตอิสระจะอยู่ในน้ำในท่อลำเลียงน้ำ (xylem) และอยู่ในน้ำในเซลล์พืชโดยมีหน้าที่เป็นตัวควบคุมระดับความเป็นกรดเป็นด่างภายในพืชให้คงที่ขณะเดียวกันก็เป็นวัตถุดิบของกระบวนการสร้างสารต่างๆ เช่น 1) เป็นองค์ประกอบสำคัญในกรดนิวคลีอิก เช่น DNA และ RNA 2) เป็นองค์ประกอบของสารประกอบฟอสเฟต เช่น อะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (ATP) ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญของกระบวนการถ่ายทอดพลังงานในพืช 3) เป็นองค์ประกอบในโครงสร้างฟอสโฟลิพิด (phospholipids)

โดยอิทธิพลของฟอสเฟตที่มีต่อการเจริญเติบโตของพืช

- 1) ฟอสฟอรัสช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของราก การแตกแขนงของรากฝอย และลำต้นแข็งแรงป้องกันการหักล้ม
- 2) ฟอสฟอรัสเป็นตัวช่วยให้พืชเข้าสู่ระยะสืบพันธุ์ (reproductive stage) ช่วยให้พืชพัฒนาการเจริญเติบโตในระยะต่างๆ ตามปกติ มีการออกดอกและพัฒนาเป็นผลในระยะที่เหมาะสม
- 3) ฟอสฟอรัสช่วยห้ามการพัฒนาด้านการสุกแก่เร็วขึ้น เมื่อข้าวโพดได้รับฟอสฟอรัสเหมาะสมจะออกใหม่เร็วกว่าต้นที่ไม่ได้รับฟอสฟอรัส แต่ถ้าได้รับฟอสฟอรัสมาก

เกินไป จะทำให้ผลผลิตลดลงได้เช่นกัน โดยจะเกิดการส่งเสริมให้พืชแก่เร็ว และลดการเจริญเติบโตทางลำต้น

5.5 ปัจจัยหลักในการเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

5.5.1 การจัดการเพื่อเสริมความสมบูรณ์ของดิน

การใส่ปุ๋ย หลังจากถอนแยกแล้ว หรือเมื่อต้นข้าวโพดอายุ 20 วัน ใส่ปุ๋ยเคมีทางดินสูตร 46-0-0 อัตรา 50 kg/rai หรือสูตร 21-0-0 อัตรา 100 kg/rai โดยโรยข้างต้นหรือข้างแถวแล้วพรวนดินกลบโคนต้น

การให้น้ำ ควรให้น้ำทันทีหลังปลูกและหลังให้ปุ๋ยทุกครั้ง โดยให้จนเต็มร่อง เพื่อให้เมล็ดข้าวโพดงอกได้ สม่าเสมอ และเพื่อให้ปุ๋ยละลายได้หมด จากนั้นให้น้ำอย่างสม่ำเสมอ สูงระดับ 3 ใน 4 ส่วนของความลึกร่อง ไม่ปล่อยให้ดินแห้งในแปลงนานเกิน 24 ชั่วโมง เพราะจะทำให้ต้นข้าวโพดชะงักการเจริญเติบโตหรือตายได้ (กรมวิชาการเกษตร, 2550)

5.6 การใช้ประโยชน์

5.6.1 ใช้เป็นอาหารมนุษย์ ได้แก่ การใช้เมล็ดข้าวโพดเป็นอาหารประจำวัน เช่น การทูปเมล็ดให้แตกแล้วหุงต้มรับประทานหรือใช้แป้งข้าวโพดทำเป็นขนมปังโรตี ประชาชนที่รับประทานข้าวโพดในรูปเมล็ดและแป้ง ได้แก่ ประเทศอินเดีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ ปากีสถาน เม็กซิโก สเปน อิตาลี อเมริกาใต้ และหลายประเทศในยุโรป

5.6.2 ใช้เป็นอาหารสัตว์ เมล็ดข้าวโพดเป็นธัญพืชที่มีคุณค่าอาหารสูง เป็นที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมเลี้ยงสัตว์ในหลายประเทศ เช่น อเมริกา ออสเตรเลีย เดนมาร์ก สำหรับประเทศที่มีพลเมืองหนาแน่นทำให้ไม่มีพื้นที่ว่างพอที่จะปลูกข้าวโพด แต่ต้องการเนื้อสัตว์มากจึงจำเป็นต้องสั่งเมล็ดข้าวโพดจากประเทศที่ปลูกข้าวโพดได้มากเพื่อเอาไปเลี้ยงสัตว์ประเทศเหล่านี้ ได้แก่ ญี่ปุ่น สิงคโปร์ ใต้หวัน และประเทศทางตะวันออกกลาง เป็นต้น สำหรับประเทศที่ปลูกข้าวโพดเองสามารถใช้ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในรูปแบบต่าง ๆ กันคือ เมล็ด ชัง ดันสด ดันแก่ และผลพลอยได้อื่น ๆ จากโรงงานอุตสาหกรรมข้าวโพด ได้แก่ เปลือกเมล็ด กาก และรำ เป็นต้น ในประเทศไทยปัจจุบันมี

โรงงานอาหารสัตว์ได้ใช้ข้าวโพดเป็นส่วนประกอบส่วนใหญ่ของอาหารสัตว์ ฉะนั้น ความต้องการข้าวโพดของโรงงานเหล่านี้จึงมีปริมาณสูงมาก

5.6.3 ใช้ในอุตสาหกรรม แป้งข้าวโพดเป็นแป้งที่มีคุณภาพดีและนิยมใช้เป็นอุตสาหกรรมในการประกอบอาหารในรูปแบบต่าง ๆ ได้มากมายหลายชนิด สำหรับผลพลอยได้จากเมล็ดข้าวโพดได้ถูกนำไปใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น อาหารกระป๋อง อาหารแห้ง น้ำมัน น้ำตาล น้ำเชื่อม แอลกอฮอล์ น้ำส้ม เวชภัณฑ์ น้ำหอม น้ำมันใส่ผม แบตเตอรี่อุปกรณ์กันความร้อน เครื่องเคลือบ สีซ่อมหมึก พรม น้ำมันน้ำยาซักเงา สารแทนพวกยาง สารเคมี สารระเบิด อุตสาหกรรมกระดาษแผ่นใยอัดแน่น ซึ่งใช้ทำจุกก๊อกและกล่องสูบบุหรี่ วัตถุดิบนวนไฟฟ้า (กรมส่งเสริมการเกษตร,2553)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์และเครื่องมือในห้องปฏิบัติการ

- 1.1 งานสำหรับการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์
- 1.2 ขวดรูปชมพู่ขนาด 125 และ 250 ml
- 1.3 หม้อนึ่งความดันไอ
- 1.4 กล้องจุลทรรศน์
- 1.5 เครื่องปั่นเหวี่ยง
- 1.6 เครื่อง spectrophotometer
- 1.7 เครื่องกลั่น
- 1.8 เครื่องเขย่า
- 1.9 เครื่อง gas chromatography
- 1.10 เครื่องซั่งสารเคมีทศนิยม 3 ตำแหน่ง
- 1.11 เครื่อง atomic absorption spectrophotometer
- 1.12 เครื่องบดตัวอย่างดิน และเครื่องบดตัวอย่างพืช
- 1.16 ตะแกรงร่อนดิน ขนาด 2 และ 0.5 mm

2. เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ สุวรรณ 4452 ของศูนย์วิจัยข้าวโพดข้าวฟ่างแห่งชาติ

3. ปุ๋ยเคมี

- 3.1 ปุ๋ยยูเรีย (46 % N)
- 3.2 ปุ๋ยทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต (46% P₂O₅)
- 3.3 ปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ (60% K₂O)

4. อุปกรณ์ที่ใช้ในการปลูกข้าวโพด

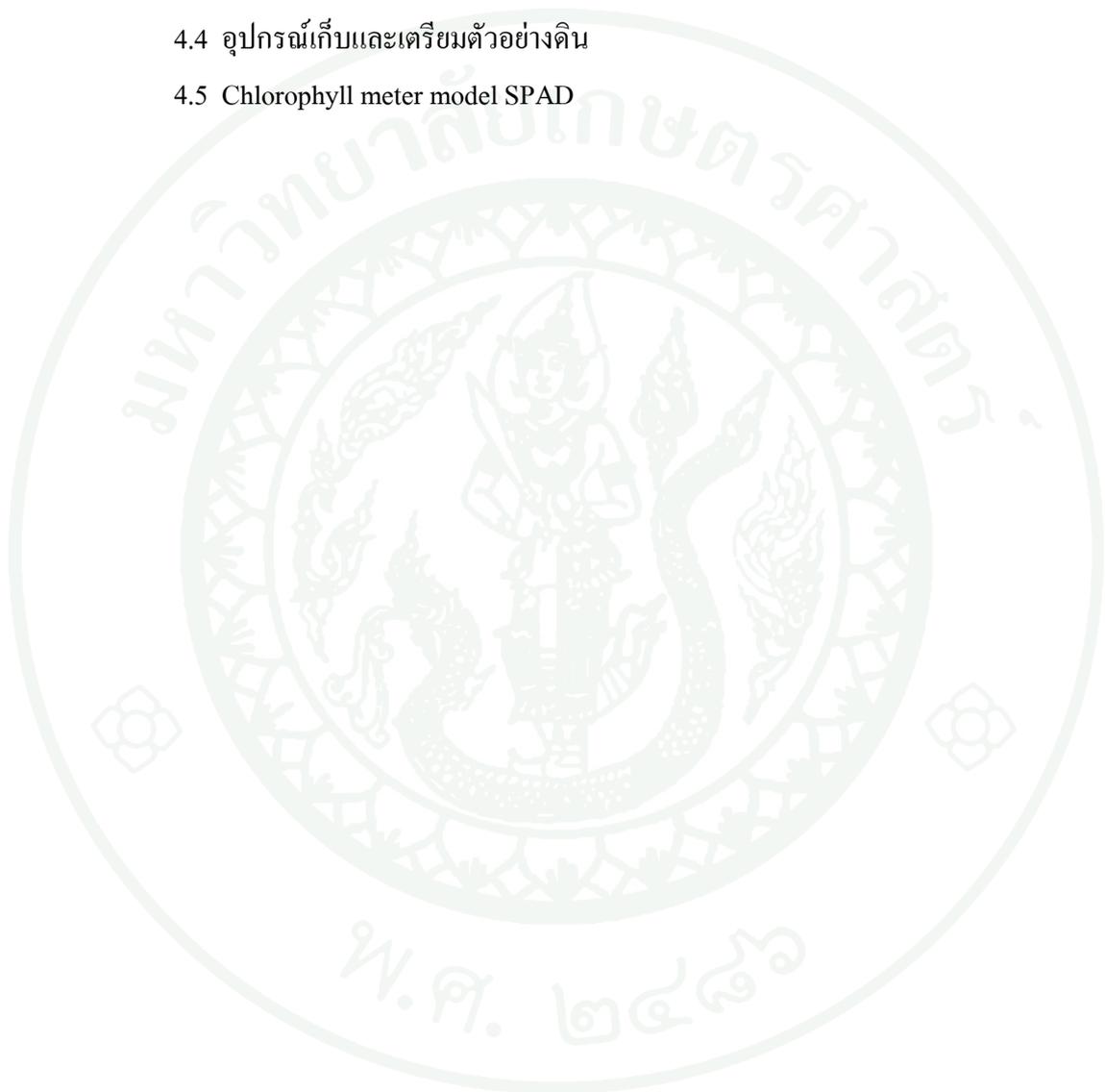
4.1 ดินในแปลงของเกษตรกร ในตำบลด่านมะขามเตี้ย อำเภอด่านมะขามเตี้ย จังหวัดกาญจนบุรี (ชุดดินยางตลาด)

4.2 กระจกพลาสติก สำหรับการปลูกข้าวโพดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 cm สูง 24 cm พร้อมจานรอง

4.3 เครื่องชั่ง

4.4 อุปกรณ์เก็บและเตรียมตัวอย่างดิน

4.5 Chlorophyll meter model SPAD



วิธีการ

การศึกษานี้แบ่งออกเป็น 2 การทดลอง คือ

1. การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้ออะโซสไปริลัมในการตรึงไนโตรเจน การสร้างออกซินและการละลายฟอสเฟต

1.1 แผนการทดลอง

ใช้แผนการทดลองแบบ completely randomized design จำนวน 4 ซ้ำ ประกอบด้วยเชื้ออะโซสไปริลัมจำนวน 15 ไอโซเลต และมีดำรับที่ไม่ใส่เชื้ออะโซสไปริลัม (ดำรับควบคุม) อีกหนึ่งดำรับการทดลอง รวมทั้งหมด 16 ดำรับการทดลอง

1.2 การแยกเชื้อบริสุทธิ์

เก็บตัวอย่างรากข้าวโพดจากแปลงปลูกของเกษตรกรเพื่อนำมาทำการแยกเชื้อบริสุทธิ์ของอะโซสไปริลัม โดยล้างดินออกจากรากข้าวโพดให้สะอาด และตัดรากออกเป็นท่อนยาวประมาณ 2 – 3 mm ด้วยมีดที่คมและสะอาด นำรากที่ตัดมาล้างในน้ำ อีกครั้ง ซ้ำเชื้อที่ผิวรากแล้วนำรากมาแช่ใน 95 % แอลกอฮอล์ เป็นเวลา 30 วินาที ใช้เข็มคีบรากออกมาล้างด้วยน้ำกลั่นซ้ำเชื้ออีก 2 ครั้ง ใส่รากลงในหลอดทดลองที่บรรจุอาหารสูตร semi-soid N-free Bromothymol blue medium ตามสูตรอาหารของ Dobereiner *et al.*, (1976) (อาหารเหลว 1 l ประกอบด้วย Malic acid 5.00 g, KOH 4.00 g, K_2HPO_4 0.50 g, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05 g, $MnSO_4 \cdot H_2O$ 0.01 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.10 g, NaCl 0.02 g, $CaCl_2$ 0.01 g, $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ 0.002 g, ู้น 5 g, น้ำกลั่น 1 l, pH 6.6 – 7.0) และบ่มที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการเกิดเพลลิเคิล (pellicle) แล้วถ่ายเชื้อลงใน semi-soid N-free medium อีกครั้งหนึ่ง หลังจากนั้นถ่ายเชื้อลงใน soid N-free medium (ู้น 15 g) เขี่ยเชื้อจนได้โคโลนี (colony) เดี่ยว โดยเลือกโคโลนีเดี่ยว ถ่ายเชื้อลงในอาหารอีกครั้งหนึ่ง จนได้เชื้อบริสุทธิ์ โดยแยกเชื้อจากตัวอย่างรากละ 1 ไอโซเลต

1.3 การทดสอบการตรึงไนโตรเจนในอาหารเหลว

1.3.1 นำเชื้อบริสุทธิ์แต่ละไอโซเลตจาก slant agar จำนวน 1 ลูบ มาใส่ในอาหารเหลว สูตร Okon (Okon *et al.*, 1977) (อาหารเหลว 1 l ประกอบด้วย 1) สารละลาย (A) K_2HPO_4 6 g, KH_2PO_4 4 g น้ำกลั่น 500 ml 2) สารละลาย (B) $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2 g, NaCl 0.1 g, $CaCl_2$ 0.02 g, NH_4Cl 1.0 g, Malic acid 5.0 g, NaOH 3.0 g, yeast extract 0.05 g, $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ 0.002 g, $MnSO_4 \cdot 2H_2O$ 0.001 g, H_3BO_3 0.0014 g, $Cu(NO_3)_2$ 0.0004 g, $ZnSO_4$ 0.0021 g, $FeCl_3$ 0.002 g และ น้ำกลั่น 500 ml นึ่งฆ่าเชื้อสารละลาย A และ B แยกกัน และผสมกันในขณะที่ยังร้อน) อยู่ปริมาตร 50 ml ที่บรรจุใน ขวดรูปชมพู่ ขนาด 125 ml ให้อากาศด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 130 rpm เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,000 rpm เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ $5^\circ C$ แล้วนำตะกอน เซลล์ที่ได้มาล้างด้วย 0.85 % NaCl ละลายตะกอนด้วย phosphate buffer pH 7 วัดค่า optical density₆₀₀ (OD_{600}) ให้ทุกไอโซเลตมีค่าเท่ากับที่ 0.2 เพื่อนำไปใช้ในการทดสอบต่อไป

1.3.2 การตรึงไนโตรเจนของเชื้ออะไซสไปริลลัมแต่ละไอโซเลตในอาหารเหลว

ถ่ายเชื้อแต่ละไอโซเลต จำนวน 1 ml ลงในอาหารเหลวสูตร N free Brothymol blue medium ตามสูตรอาหารของ Dobereiner *et al.*, (1976) (อาหารเหลว 1 l ประกอบด้วย Malic acid 5.00 g, KOH 4.00 g, K_2HPO_4 0.50 g, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05 g, $MnSO_4 \cdot H_2O$ 0.01 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.10 g, NaCl 0.02 g, $CaCl_2$ 0.01 g, $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ 0.002 g, น้ำกลั่น 1 l, pH 6.6 – 7.0) จำนวน 50 ml ที่บรรจุอยู่ใน ขวดรูปชมพู่ ขนาด 125 ml ให้อากาศโดยการ ใช้เครื่องเขย่าที่ความเร็ว 100 rpm ที่อุณหภูมิห้อง วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ที่ 3 และ 7 วัน โดยวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดด้วยวิธีการของ Kjeldahl method (Jackson, 1965; ทัศนีย์ และ จงรักษ์, 2542)

ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ digestion เป็นการย่อยตัวอย่างด้วยกรดซัลฟิวริก เข้มข้น ที่อุณหภูมิ $320^\circ C$ และ distillation เป็นขั้นตอนการกลั่นสารละลายที่ได้จากการย่อย และดักจับไนโตรเจนด้วย H_3BO_3 indicator

การคำนวณ

$$\%N = \frac{\text{ml H}_2\text{SO}_4 \text{ used (sample-blank titration)} \times \text{normality H}_2\text{SO}_4 \times 1.4}{\text{volume of sample (ml)}}$$

1.3.3 การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสของอะโซสไปริลัมไอโซเลตต่างๆ ที่ 7 วัน วัดกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสด้วยวิธี acetylene reduction (Hardy *et al.*, 1968; Hardy *et al.*, 1973) เปลี่ยนจุกสำลีเป็นจุกยางเพื่อป้องกันการซึมเข้าออกของอากาศภายใน และภายนอกขวดรูปชมพู่ ดึงอากาศออกจากขวดปริมาณ 10 ml และฉีดอะเซทิลีน ปริมาณ 10 ml บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วดูดแก๊ส 10 ml ใน ขวดรูปชมพู่ แล้วนำมาเก็บในหลอดเก็บแก๊ส จากนั้นนำมาวัดปริมาณแก๊สเอทิลีนที่เกิดขึ้นด้วยเครื่อง gas chromatograph

1.4 การทดสอบประสิทธิภาพการสร้างออกซิน

ถ่ายเชื้อแต่ละไอโซเลตจำนวน 1 ml ใส่ลงในอาหารเหลวปลอดไนโตรเจน ตามสูตรของ Dobereiner *et al.*, (1976) (อาหารเหลว 1 l เติม tryptophan 50 mg/ml โดยเติมเพื่อเป็นสารตั้งต้นในการสร้างฮอร์โมนออกซิน) ปริมาตร 50 ml ที่บรรจุใน ขวดรูปชมพู่ ขนาด 125 ml ให้อากาศด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 100 rpm เป็นเวลา 3 วัน เก็บตัวอย่างทุกวัน เพื่อศึกษาปริมาณออกซินด้วยวิธี Salkowski colouring reagent (Fernando *et al.*(2007), Ravikumar *et al.*(2004)) โดยนำตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,000 rpm เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 5 °C เก็บส่วนใส 3 ml เติม reagent 2 ml (0.5M FeCl₃ ละลายใน 35% HClO₄) จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาทีในที่มืด แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 535 nm

1.5 การทดสอบประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟต

ถ่ายเชื้อแต่ละไอโซเลตจำนวน 1 ml ใส่ลงในอาหารสูตร Pikovskaya's media (อาหารเหลว 1 l ประกอบด้วย Glucose 10 g, Ca₃(PO₄)₂ 5 g, (NH₄)₂SO₄ 0.5 g, KCL 0.2 g, MgSO₄·7H₂O 0.1 g, MnSO₄ เล็กน้อย, FeSO₄ เล็กน้อย, Yeast extract 0.5 g และน้ำกลั่น 1 l) ปริมาตร 50 ml ที่บรรจุใน ขวดรูปชมพู่ขนาด 125 ml ให้อากาศด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 130 rpm และเก็บตัวอย่างทุก 8 ชั่วโมงเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำ (water soluble P) โดยวิธี colorimetric (ทัสนีย์ และจรงค์, 2542)

1.6 วิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลด้วยวิธีการของ Duncan ' s new multiple range test (DMRT)



2. การศึกษาผลของเชื้ออะโซสไปริลลัมในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพด

2.1 แผนการทดลอง

ใช้แผนการทดลองแบบ $2 \times 5 \times 4$ factorial experiment in completely randomized design จำนวน 4 ซ้ำ

ปัจจัยที่ 1 การอบดิน มี 2 ชนิด ได้แก่ ดินธรรมดา และ ดินอบฆ่าเชื้อ

ปัจจัยที่ 2 ไอโซเลตของอะโซสไปริลลัม 5 ไอโซเลต ได้แก่ LB₅, LB₈, LB₉, LB₁₀ และ ไม่ใส่เชื้อ

ปัจจัยที่ 3 อัตราปุ๋ยในโตรเจน มี 4 ระดับ ได้แก่ 0, 5, 10 และ 20 kg N/rai

2.2 การผลิตผงเชื้อ

การทดลองครั้งนี้ใช้ผงเชื้ออะโซสไปริลลัม จากการแยกเชื้อจากรากข้าวโพด ที่ผ่านการทดสอบประสิทธิภาพแล้วในการทดลองที่ 1.3 โดยมีวิธีการทำดังนี้

การเตรียมผงเชื้ออะโซสไปริลลัม นำเชื้อบริสุทธิ์แต่ละไอโซเลตจาก slant agar จำนวน 1 หลบ ในอาหารเหลวสูตร Okon *et al.*, (1977) มิลลิลิตร จำนวน 100 ml ที่บรรจุอยู่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 ml เป็นเวลา 3 วัน ให้อากาศโดยการเขย่าบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 130 รอบต่อ นาที นำเชื้อที่ได้ผสมกับสารผสมคือ พีทแห้ง บดละเอียด และฆ่าเชื้อแล้ว ผสมในอัตราส่วน เชื้อในอาหารเหลว 100 ml ต่อพีทแห้ง 250 g แล้วบ่มไว้ในตู้หมักหึ่งเป็นเวลา 3 วัน หลังจากนั้นนำมาผสมกับพีทที่บดละเอียดและนึ่งฆ่าเชื้อแล้วอีกจำนวน 250 g เข้าด้วยกัน รวม เป็น 500 g แล้วนำมาบ่มต่ออีก 1 สัปดาห์ เมื่อได้เวลาตามที่กำหนด นับปริมาณเชื้อในสารผสม โดยวิธี spread plating method บนอาหารวุ้น ตามสูตรของ Okon *et al.*, (1977) หลังจากนั้นนำผงเชื้อมาบรรจุไว้ในถุงพลาสติกอ่อน สีดำ ปิดปากถุง เขียนฉลากกำกับ แล้วเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 °C

2.3 การเตรียมดิน

การเตรียมตัวอย่างดินโดยเก็บตัวอย่างดินที่ความลึก 0 – 15 cm ในแปลงของเกษตรกร ในตำบลด่านมะขามเตี้ย อำเภอด่านมะขามเตี้ย จังหวัดกาญจนบุรี นำมาผึ่งให้แห้งในที่ร่ม เลือก

ก้อนหินและเศษซากพืชขนาดใหญ่ออก ผสมดินให้เป็นเนื้อเดียวกันเพื่อให้เกิดความสม่ำเสมอ และนำดินบางส่วนไปอบฆ่าเชื้อในดินด้วยตู้อบดินแบบไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 100 °C นาน 1 ชั่วโมง ที่ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

2.3.1 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (total nitrogen) ย่อยสลายด้วย $H_2SO_4-Na_2SO_4-Se$ mixture และวัดปริมาณโดยวิธี Kjeldahl method (ทัศนีย์ และจรงค์, 2542)

2.3.2 ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (available phosphorus) สกัดโดยวิธี Bray II (Bray and Kurt, 1945) และวิเคราะห์ปริมาณโดยวิธี colorimetric method (ทัศนีย์ และจรงค์, 2542)

2.3.3 ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (exchangeable potassium) โดยการสกัดดินด้วยสารละลาย 1 N แอมโมเนียมอะซิเตต (NH_4OAc) ที่เป็นกลาง (pH 7.0) แล้วนำไปวัดหาปริมาณโพแทสเซียมด้วย atomic absorption spectrophotometer (ทัศนีย์ และจรงค์, 2542)

ตารางที่ 2 ค่าวิเคราะห์ดินก่อนปลูก

สมบัติของดินที่ศึกษา	ค่าการวิเคราะห์
ดินไม่อบฆ่าเชื้อ	
Total N, % (Kjeldahl method)	0.022
Available P, mg/kg (Bray II)	10.756
Exchangeable K, mg/kg (NH_4OAc pH 7.0)	20.250
ดินอบฆ่าเชื้อ	
Total N, % (Kjeldahl method)	0.020
Available P, mg/kg (Bray II)	10.601
Exchangeable K, mg/kg (NH_4OAc pH 7.0)	20.620

2.4 การปลูกพืชทดลอง

2.4.1 การคลุกเมล็ด (seed inoculation) นำเมล็ดข้าวโพดมาล้างฆ่าเชื้อที่ผิวเมล็ด และคลุกกับผงเชื้อ โดยใช้ gum acasia เป็น sticker แต่ละเมล็ดจะมีผงเชื้อ 0.05 g

2.4.2 นำตัวอย่างดินที่เตรียมไว้ บรรจุในกระถางๆ ละ 10 kg ใส่ปุ๋ยเคมีตามตำรับการทดลองและใส่ปุ๋ยทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟตอัตรา 10 kg P_2O_5 /rai และปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์อัตรา 10 kg K_2O /rai เท่ากันในทุกกระถาง ปลูกข้าวโพดที่คลุกเมล็ดด้วยผงเชื้ออะโซสไปริลัมจำนวน 4 เมล็ด ต่อกระถาง ที่ระดับความลึก 2-3 cm รดน้ำให้ความชื้นในปริมาณที่เท่ากันทุกกระถางเมื่อข้าวโพดอายุได้ 14 วัน ทำการถอนแยกให้เหลือกระถางละ 1 ต้น โดยเลือกต้นที่สมบูรณ์ที่สุดไว้ดูแลป้องกันกำจัดวัชพืชจนถึงวันเก็บผล

2.5 การเก็บข้อมูล

2.3.1 การเจริญเติบโตของข้าวโพด วัดความสูงของต้นข้าวโพด จากข้อล่างสุดของลำต้นเหนือดินถึงคอใบ (leaf collar) ที่อยู่บนสุดของลำต้น โดยวัดที่ข้าวโพดอายุ 2, 4 และ 6 สัปดาห์

2.3.2 ค่าความเขียวของใบ โดยวัดเมื่อข้าวโพดอายุ 4, 5 และ 6 สัปดาห์

2.3.3 วิเคราะห์ความเข้มข้นของไนโตรเจนทั้งหมดในใบข้าวโพดที่อายุ 4, 5 และ 6 สัปดาห์ นำตัวอย่างใบไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 70 °C จนกระทั่งมวลคงที่ แล้วนำตัวอย่างของพืชมาบด จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหารในพืช คือ การหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมด โพแทสเซียมทั้งหมด โดยย่อยตัวอย่างพืชด้วย digestion mixture ($H_2SO_4 - Na_2SO_4 - Se$ mixture) แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด โดยการกลั่น

2.3.4 วัดกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสโดยใช้วิธี acetylene reduction (Hardy *et al.*, 1968; Hardy *et al.*, 1973)

2.3.4.1 วัดกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสในดิน เมื่อข้าวโพด 6 สัปดาห์ เก็บตัวอย่างดินรอบรากพืชปริมาณ 150 g โดยใช้พลั่วตัดดินใส่ขวดแก้วขนาด 24 ออนซ์ (682 ml) ปิดด้วยฝาที่มีแผ่นยางกันรั่ว ใช้เข็มฉีดยา (syringe) ดูดอากาศออกจากขวดแก้วผ่านทางจุกยางที่ติด

อยู่ที่ฟาสวด 50 ml จากนั้นฉีดแก๊สอะเซทิลีน 50 ml เข้าไปในขวด โดยเข็มฉีดยา บ่มขวดแก้วไว้ใน
 โรงเรือนทดลองนาน 3 ชั่วโมง จากนั้นใช้เข็มฉีดยาขนาด 10 ml ดูดแก๊สในขวดแก้วแล้วนำมาเก็บ
 ในหลอดเก็บแก๊ส จากนั้นนำมาวัดปริมาณแก๊สเอทิลีนที่เกิดขึ้นด้วยเครื่อง gas chromatograph

2.3.4.2 วัดกิจกรรมของเอนไซม์ในโตรเจนสบริเวณรากข้าวโพดสำหรับใช้
 วิธีการเดียวกันกับการเก็บตัวอย่างดินแต่เปลี่ยนจากดินในข้อ 2.5.4.1 มาเป็นรากข้าวโพด

2.6 มวลสดและแห้งของราก และส่วนเหนือดินของข้าวโพด ที่อายุ 6 สัปดาห์

2.7 ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในพืช ที่อายุ 6 สัปดาห์

นำตัวอย่างพืชไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 70 °C จนกระทั่งมวลคงที่ แล้วนำตัวอย่างของ
 พืชมาบด จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหารในพืช คือ การหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด
 ฟอสฟอรัสทั้งหมด โพแทสเซียมทั้งหมด โดยย่อยตัวอย่างพืชด้วย digestion mixture ($H_2SO_4 -$
 $Na_2SO_4 - Se$ mixture) แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด โดยการกลั่น วิเคราะห์
 ปริมาณฟอสฟอรัสโดยวิธี colorimetric method (vanado – molybdate yellow color) และวิเคราะห์
 ปริมาณโพแทสเซียมโดยวิธี atomic emission spectrophotometry (ทัศนีย์และจรงค์, 2542)

2.8 ปริมาณไนโตรเจนในดินหลังการปลูก

นำตัวอย่างดินมาผึ่งให้แห้งในที่ร่ม เลือกวัสดุที่ไม่ใช่ดินออก นำตัวอย่างไปบดให้
 ละเอียด ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด
 โดยย่อยตัวอย่างดินด้วย digestion mixture ($H_2SO_4 - Na_2SO_4 - Se$ mixture) แล้วนำไปวิเคราะห์
 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด โดยการกลั่น

2.9 วิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลด้วยวิธีการของ
 Duncan ' s new multiple range test (DMRT)

3. สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยาทางดิน ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร กำแพงแสน
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

ห้องปฏิบัติการเคมีและความอุดมสมบูรณ์ของดิน ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร
กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

โรงเรียนปลูกพืชทดลองภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร กำแพงแสน
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

4. ระยะเวลาทำการทดลอง

ดำเนินการทดลองในช่วงเดือนเมษายน พ.ศ. 2553 ถึงเดือนมกราคม พ.ศ.2554

ผลและวิจารณ์

1. การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้ออะโซสไปริลลัมในการตรึงไนโตรเจน การสร้างออกซิเจนและการละลายฟอสเฟต

1.1 การตรึงไนโตรเจนของเชื้ออะโซสไปริลลัมแต่ละไอโซเลตในอาหารเหลว

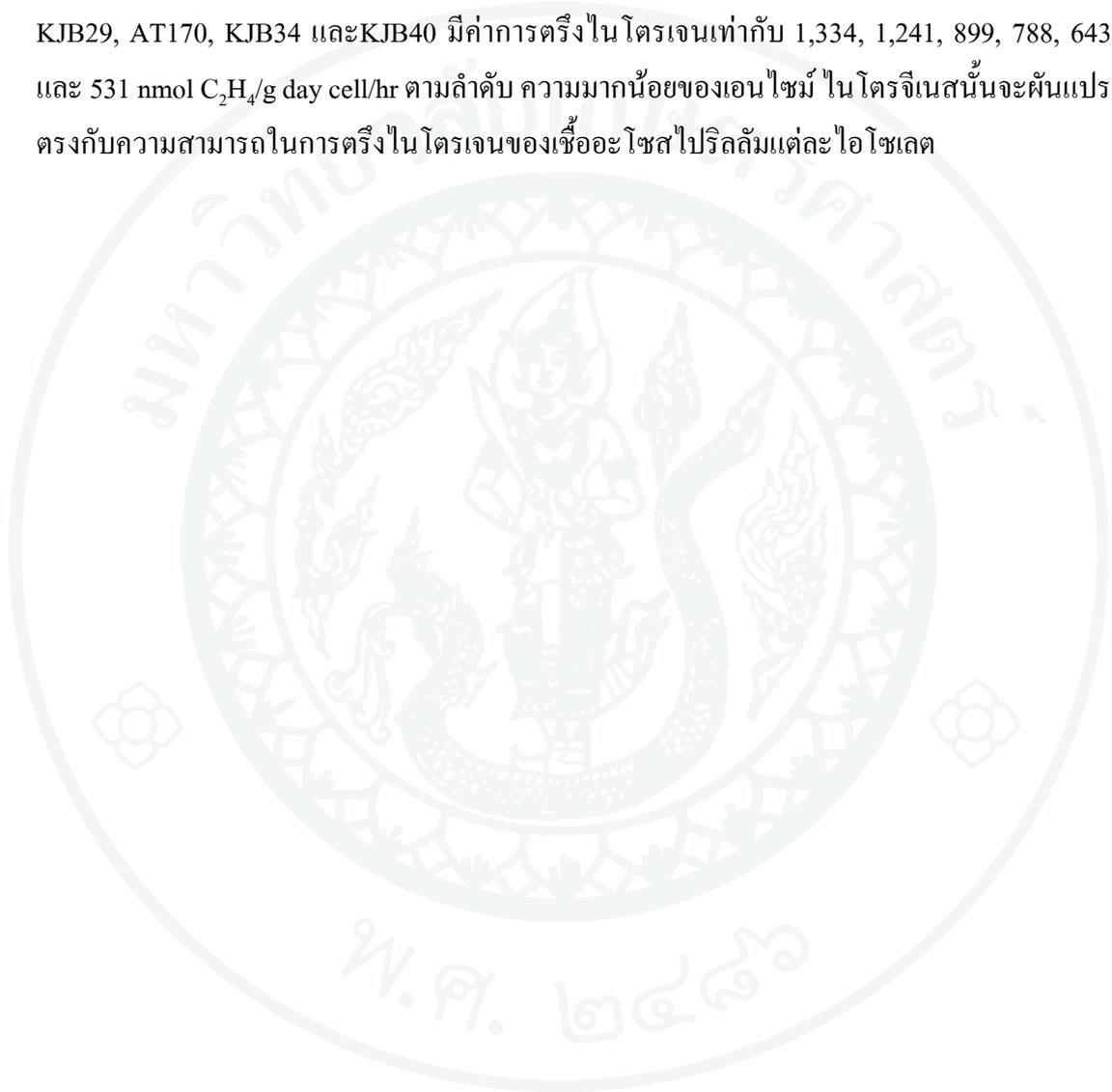
ผลการทดลองแสดงใน (ตารางที่ 3) พบว่าปริมาณไนโตรเจนที่ 3 วันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยตัวรับที่มีเชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลต LB₃ และ LB₁₀ มีปริมาณการตรึงไนโตรเจนสูงที่สุด 1.84 mg N/l รองลงมาคือไอโซเลต LB₂, LB₄, LB₅ และ LB₇ โดยมีปริมาณไนโตรเจนเท่ากันที่ 1.58 mg N/l เมื่อทดสอบหลังการเลี้ยงเชื้อ 7 วันพบว่าปริมาณไนโตรเจนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติเช่นกัน โดยตัวรับที่มีเชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลต LB₅ และ LB₁₀ มีปริมาณไนโตรเจนสูงที่สุด 2.64 mg N/l รองลงมาคือไอโซเลต LB₈ และ LB₉ โดยมีปริมาณไนโตรเจน 2.27 mg N/l ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ อรุณี (2553) ศึกษาถึงการตรึงไนโตรเจนในอาหารเหลวของ *Azospirillum brasilense* และ *A. lipoferum* โดยพบว่า *A. brasilense* มีการตรึงไนโตรเจนได้สูงสุด 16.88 µg/100 ml และ *A. lipoferum* 14.47 µg/100 ml *A. lipoferum* มีการเจริญเติบโตแบบใช้ออกซิเจนในอาหารเหลว ส่งผลให้ตรึงไนโตรเจนได้มาก แต่ไม่เจริญเติบโตในสภาพอับอากาศ และไม่ตรึงไนโตรเจน นอกจากนี้การตรึงไนโตรเจนสามารถเกิดขึ้นได้ในอาหารเหลวที่มีกลูตามัต (Brenner *et al.*, 2005)

โดยเชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลตที่ LB₁₀ มีการตรึงไนโตรเจนสูงทั้งที่ 3 และ 7 วัน ซึ่งมีของประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนสม่ำเสมอมากกว่าเชื้อไอโซเลตอื่น ๆ

1.2 การศึกษากิจกรรมเอนไซม์ไนโตรจีเนสของเชื้ออะโซสไปริลลัมในไอโซเลตต่างๆ

จากการศึกษาพบว่ากิจกรรมเอนไซม์ไนโตรจีเนสของเชื้ออะโซสไปริลลัมแต่ละไอโซเลตไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 3) เชื้ออะโซสไปริลลัม 5 ไอโซเลตที่มีกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสโคเดเค้น ได้แก่ LB₁₀, LB₈, LB₉, LB₂ และ S₂ ซึ่งมีกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนส 100.24, 92.91, 92.80, 92.01 และ 91.35 µmol C₂H₄/100 ml/hr ตามลำดับ เนื่องจากการตรึงไนโตรเจนของเชื้ออะโซสไปริลลัมนั้นมีความซับซ้อน โดยจะมียีน *nifA* ที่ควบคุมและมีผลต่อการตอบสนองต่อสภาพแวดล้อมที่มีต่อการตรึงไนโตรเจนของเชื้อ อะโซสไปริลลัม เช่นปริมาณ

ไนโตรเจนอนินทรีย์ที่มีอยู่เดิม และปริมาณออกซิเจน (Steenhoudt and Vanderleyden, 2000) ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับผลการทดลองของ พิกุล และดารารัตน์ (2550) ที่ศึกษาประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของอะไซโตแบคทีเรียด้วยวิธี acetylene reduction ในอาหารเหลว พบว่าสายพันธุ์อะไซโตแบคทีเรียที่คัดเลือกมา มีการตรึงไนโตรเจนที่แตกต่างกันและพบว่ายู่ในช่วง 322-1,334 nmol C₂H₄/g day cell/hr โดยสายพันธุ์ที่มีค่าการตรึงสูงที่สุดคือ At171 รองลงมาคือ At172, KJB29, AT170, KJB34 และ KJB40 มีค่าการตรึงไนโตรเจนเท่ากับ 1,334, 1,241, 899, 788, 643 และ 531 nmol C₂H₄/g day cell/hr ตามลำดับ ความมากน้อยของเอนไซม์ไนโตรจีเนสนั้นจะผันแปรตรงกับความสามารถในการตรึงไนโตรเจนของเชื้ออะไซโตแบคทีเรียแต่ละไอโซเลต



ตารางที่ 3 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสของเชื้ออะโซสไปริลัมในไอโซเลตต่างๆ ในอาหารเหลว

อะโซสไปริลัม	ไนโตรเจนทั้งหมด		กิจกรรมเอนไซม์ไนโตรจีเนส
	3 วัน (mg N/l)	7 วัน (mg N/l)	7 วัน ($\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/100 \text{ ml/hr}$)
Control	0.39b	0.52d	21.71b
LB ₁	1.18a-b	2.11a-b	88.13a
LB ₂	1.58 a	2.24a	92.01a
LB ₃	1.84 a	2.24a	75.68a
LB ₄	1.58 a	2.24a	79.38a
LB ₅	1.58 a	2.64a	86.77a
LB ₆	1.05 a-b	1.98a-b	83.73a
LB ₇	1.58 a	2.11a-b	76.59a
LB ₈	1.32 a-b	2.37a	92.91a
LB ₉	1.05 a-b	2.37a	92.80a
LB ₁₀	1.84 a	2.64a	100.24a
S ₂	1.05 a-b	1.58b-c	91.35a
S ₁₇	1.05 a-b	1.32c	89.04a
S ₂₃	1.32 a-b	1.84a-b	90.97a
S ₃₂	1.32 a-b	1.05c	89.95a
S ₄₂	1.05 a-b	1.05c	90.65a
F-test	**	**	**
P-value	0.00	0.00	0.00
CV (%)	20.64	20.45	27.64

หมายเหตุ ** หมายถึง แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % โดยวิธีของ DMRT

1.3 การสร้างออกซินของเชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลตต่างๆกันในอาหารเหลว

จากการทดลองพบว่าปริมาณของออกซินที่สร้างขึ้นโดยเชื้ออะโซสไปริลลัมแต่ละไอโซเลตมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 4) วันแรกของการเก็บตัวอย่างพบว่าดำเนินการทดลองที่มีเชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลต S₂₃ สามารถสร้างปริมาณออกซินได้สูงที่สุด 53.75 µg/ml รองลงมาคือไอโซเลต S₂ และ LB₅ มีปริมาณออกซินในอาหารเหลว 51.89 และ 46.93 µg/ml ตามลำดับ สำหรับวันที่ 2 ดำเนินการทดลองที่มีเชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลต S₂₃ ยังคงมีปริมาณออกซินได้สูงที่สุดที่ 31.85 µg/ml รองลงมาคือไอโซเลต LB₃ และ LB₁₀ มีปริมาณออกซิน 28.78 และ 28.68 µg/ml ตามลำดับ ในขณะที่ไอโซเลต S₂ และ LB₅ มีปริมาณออกซิน ลดลงในวันที่ 3 ดำเนินการทดลองที่มีเชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลต S₂₃ ก็ยังคงมีออกซินในปริมาณสูงสุดอยู่ 22.57 µg/ml รองลงมาคือไอโซเลต LB₆ และ LB₁₀ มีปริมาณออกซิน 19.79 และ 18.06 µg/ml ตามลำดับ

ในการเก็บตัวอย่างวิเคราะห์ปริมาณออกซินที่สร้างขึ้นโดยเชื้ออะโซสไปริลลัมในไอโซเลตต่างๆ ตั้งแต่วันที่ 1-3 พบว่าปริมาณออกซินจะมีปริมาณสูงที่สุดในวันแรก และพบการลดลงในวันที่ 2 และวันที่ 3 จากรายงานของ Ositadinma *et al.* (2005) ศึกษาเชื้ออะโซสไปริลลัมกับการเจริญเติบโตและผลิตออกซิน ที่อุณหภูมิ 20-30 °C ในอาหารเหลวที่มี L-malate 2.5 g/l และมี tryptophan 50 µg/ml พบว่าในการสังเคราะห์ออกซินของอะโซสไปริลลัมแต่ละไอโซเลตมีความแตกต่างกัน และการสังเคราะห์แต่ละครั้งต้องสูญเสียแหล่งคาร์บอนจากอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งส่งผลให้มีการชะงักการเจริญเติบโตของเซลล์จุลินทรีย์ และในสภาพที่มีอากาศจะยับยั้งการสังเคราะห์ออกซิน โดยการสังเคราะห์ออกซินจะขึ้นกับการทำงานของยีน indole-3-pyruvate decarboxylase gene (*lipdc*) เป็นรหัสที่สำคัญของการสร้างเอ็นไซม์ในการสังเคราะห์ออกซินของเชื้ออะโซสไปริลลัม ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Pedraza *et al.* (2004) ที่ศึกษาถึงปริมาณของออกซินที่เชื้ออะโซสไปริลลัมสามารถสร้างได้มีค่าอยู่ที่ 16.5 – 38.0 µg/mg protein นอกจากนี้การลดลงของปริมาณออกซินในช่วงวันหลังๆ อาจมีสาเหตุมาจากการนำไปใช้ในการเจริญเติบโตของเซลล์จุลินทรีย์ และการลดลงของแหล่งคาร์บอนที่เป็นวัตถุดิบในการสร้างออกซิน ที่นำไปใช้ในการเจริญเติบโตของเซลล์จุลินทรีย์ (Ositadinma *et al.*, 2005) และยังสอดคล้องกับผลการทดลองของ พิมพิธดาและคณะ (2550) ที่ศึกษาการสังเคราะห์ออกซินของแบคทีเรียแต่ละไอโซเลต โดยพบว่ามีความสามารถสังเคราะห์ออกซินในปริมาณที่แตกต่างกัน มีการสังเคราะห์ออกซินได้สูงสุด ได้แก่ KJB29/2 PJK11/1 และ UD8/1 ปริมาณออกซินที่สังเคราะห์ได้คือ 29.36, 28.83 และ 28.40 mg/ml ตามลำดับ และความสามารถในการสังเคราะห์ออกซินจะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงวันที่ 2 ถึงวันที่ 4 ของการทดลองอีกด้วย

ตารางที่ 4 ปริมาณการสร้างออกซินของเชื้ออะโซสไปริลัมในไอโซเลตต่างๆ ที่ระยะเวลา 1, 2 และ 3 วัน ($\mu\text{g/ml}$)

อะโซสไปริลัม	1 วัน	2 วัน	3 วัน
Control	0.02h	0.03i	0.01j
LB ₁	42.53c	21.35d-e	12.50f
LB ₂	44.11b-c	19.47e	13.90e-f
LB ₃	44.79b-c	28.78a-b	17.80b-c
LB ₄	8.80g	10.13g	7.94h-i
LB ₅	46.93b	23.14c-d	15.76c-e
LB ₆	35.88d	26.73b	19.79a-b
LB ₇	46.59b-c	25.42b-c	17.10b-d
LB ₈	26.37e	10.24g	9.20g-h
LB ₉	28.63e	19.08e	14.59d-f
LB ₁₀	46.18b-c	28.68a-b	18.06b-c
S ₂	51.89a	20.28d-e	18.05b-c
S ₁₇	22.00f	11.36f-g	10.20g
S ₂₃	53.57a	31.85a	22.57a
S ₃₂	8.78g	7.63h	6.19i
S ₄₂	36.71d	12.95f	7.26h-i
F-test	**	**	**
P-value	0.00	0.00	0.00
CV (%)	35.19	33.10	32.15

หมายเหตุ ** หมายถึง แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % โดยวิธีของ DMRT

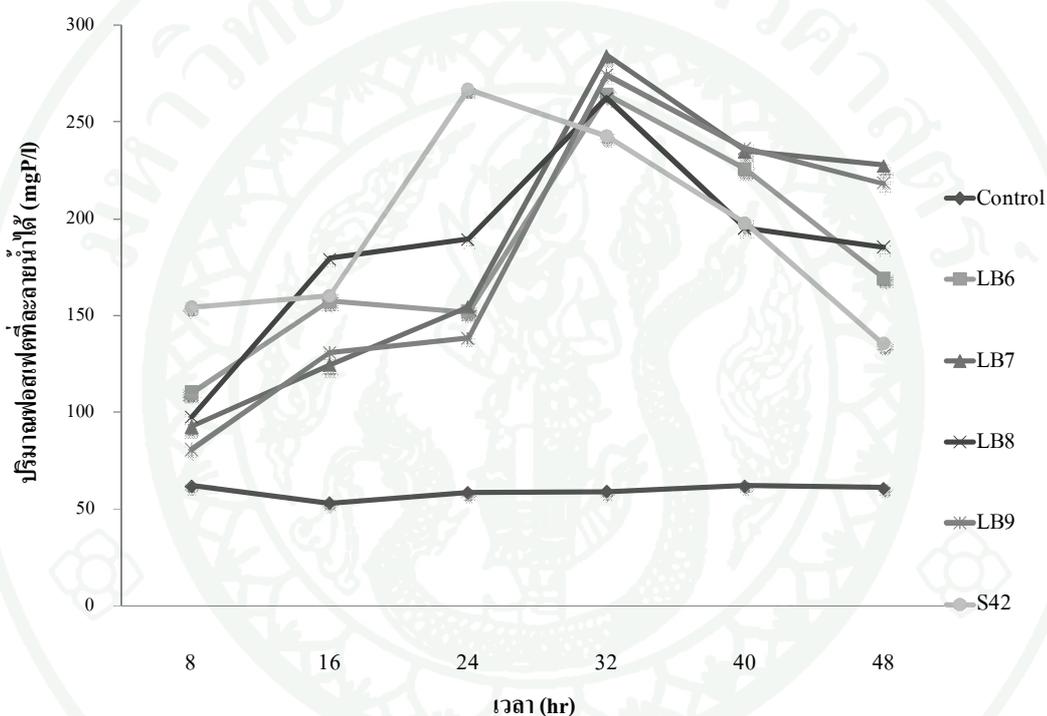
1.4 การละลายฟอสเฟตของเชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลตต่างๆในอาหารเหลว

กลไกหลักในการละลายสารฟอสเฟตอนินทรีย์ของจุลินทรีย์ เป็นการปลดปล่อยกรดอินทรีย์ออกมาภายนอกเซลล์ ในการศึกษาพบว่า การละลายฟอสเฟตของเชื้ออะโซสไปริลลัมแต่ละไอโซเลตมีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 5) จากการศึกษาที่ 8 ชั่วโมง หลังการเลี้ยงเชื้อ พบว่าค่ารับการทดลองที่มีเชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลต S₄₂ มีปริมาณฟอสเฟตละลายน้ำได้สูงที่สุด รองลงมาคือไอโซเลต S₂₃ โดยมีปริมาณฟอสเฟตละลายได้ 154.16 และ 151.66 mg P/l ตามลำดับ ส่วนการศึกษาที่ 16 ชั่วโมง พบว่าค่ารับที่มีเชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลต LB₈ สามารถละลายฟอสเฟตได้สูงที่สุด รองลงมาคือไอโซเลต S₂₃ โดยมีปริมาณฟอสเฟตละลายได้ 179.37 และ 170.00 mg P/l ตามลำดับ ซึ่งเชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลต S₄₂ สามารถละลายฟอสเฟตได้สูงที่สุดที่ 24 ชั่วโมง รองลงมาคือไอโซเลต LB₁ โดยมีปริมาณฟอสเฟตละลายได้ 266.87 และ 226.25 mg P/l ตามลำดับ ในขณะที่เชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลต LB₇ สามารถละลายฟอสเฟตได้สูงที่สุดที่ 32 ชั่วโมง รองลงมาคือไอโซเลต LB₉ โดยมีปริมาณฟอสเฟตละลายได้ 284.37 และ 274.37 mg P/l ตามลำดับ เมื่อเลี้ยงเชื่อนานมากขึ้นถึง 40 ชั่วโมง เชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลต LB₁₀ สามารถละลายฟอสเฟตได้สูงที่สุด รองลงมาคือไอโซเลต LB₉ โดยมีปริมาณฟอสเฟตละลายได้ 240.62 และ 236.25 mg P/l ตามลำดับ และในที่สุดเมื่อเลี้ยงเชื้อ 48 ชั่วโมง พบว่าค่ารับการทดลองที่มีเชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลต LB₇ สามารถละลายฟอสเฟตได้สูงที่สุด รองลงมาคือไอโซเลต LB₉ โดยมีปริมาณฟอสเฟตละลายได้ 227.50 และ 218.12 mg P/l ตามลำดับ

จากการศึกษาพบว่าปริมาณฟอสเฟตที่ละลายได้จากเชื้ออะโซสไปริลลัมแต่ละไอโซเลต มีค่าแตกต่างการละลายฟอสเฟตจะมีการเพิ่มสูงขึ้นและสูงสุดที่ 32 ชั่วโมง หลังจากนั้นจะลดลง การลดลงของปริมาณฟอสเฟตละลายน้ำได้นั้น อาจเกิดเนื่องจากการนำฟอสเฟตไปใช้ของเซลล์จุลินทรีย์ และมีปริมาณฟอสเฟตอนินทรีย์ในอาหารลดลงอีกด้วยซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ El-Komy (2005) รายงานว่า *Pseudomonas fluorescens* และ *Bacillus megaterium* สามารถละลายฟอสเฟตในอาหารเหลวสูตร Pikovskaya's media หลังการเลี้ยงเชื่อนาน 6 วัน มีค่าเท่ากับ 126.6 และ 106.5 mg P/l ตามลำดับ และผลการทดลองของ นิจกาล (2550) ศึกษาประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตในอาหารเหลวสูตร PVK และ NBRIP ที่ 7 วัน พบว่าแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ N11 ละลายฟอสเฟตได้ปริมาณสูงสุด 450.6 และ 595.9 mg P/l ตามลำดับ *B. megaterium* สายพันธุ์ C411 สามารถละลายฟอสเฟตได้สูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับในกลุ่มของ *B. megaterium* และ *Bacillus* sp. ที่เลือกมาทดสอบ และมีค่าเท่ากับ 216.4 และ 453.8 mg P/l ตามลำดับ อย่างไรก็ตามการละลาย

ฟอสเฟตอาจไม่ใช่ข้อเด่นของเชื้ออะโซสไปริลลัม ซึ่งจะเห็นได้ว่าปริมาณฟอสเฟตที่ละลายได้นั้นไม่มากนักเมื่อนำมาเทียบกับจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตซึ่งสามารถละลายฟอสเฟตได้มากกว่า

เมื่อพิจารณาถึงข้อมูลการละลายฟอสเฟตนี้แล้วพบว่าอะโซสไปริลลัมจำนวน 5 ไอโซเลตที่มีความโดดเด่นในการละลายฟอสเฟตได้แก่ LB₇, LB₉, S₄₂, LB₆ และ LB₈ ซึ่งสามารถละลายฟอสเฟตเมื่อเลี้ยงเชื้อได้ 24 และ 32 ชั่วโมง เป็นจำนวน 284.37, 274.37, 266.87, 264.37 และ 262.50 mg P/l ตามลำดับ (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 ปริมาณฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำได้จากกิจกรรมของอะโซสไปริลลัม 5 ไอโซเลตในเวลาบ่มเชื้อต่างๆกัน

ตารางที่ 5 ปริมาณของฟอสฟอรัสที่ละลายน้ำได้จากเชื้ออะโซสไปริลัมในไอโซเลตต่างๆที่
ช่วงเวลาที่แตกต่างกัน (mg P/l)

อะโซสไปริลัม	8 hr	16 hr	24 hr	32 hr	40 hr	48 hr
Control	61.87e	53.12g	58.12j	58.75g	61.87g	60.62i
LB ₁	140.62a-b	147.50 a-d	226.25b	205.00f	176.25e	158.75e-g
LB ₂	135.62a-c	153.75 a-d	184.37c-e	248.12b-e	221.25a-b	203.75a-b
LB ₃	133.75a-c	181.25a	195.00 c-d	238.75c-e	161.87e-f	151.87fg-h
LB ₄	88.75d	92.50f	108.12i	197.50f	174.37e	185.00b-c
LB ₅	91.87d	139.37b-d	165.62e-g	256.25a-d	201.25c	160.62d-g
LB ₆	110.00b-d	157.50 a-d	151.87f-h	264.37a-c	225.62a-b	169.37c-f
LB ₇	92.50d	124.37de	154.37f-h	284.37a	235.00a	227.50a
LB ₈	97.50d	179.37a	189.37c-e	262.50a-c	195.00cd	185.62b-c
LB ₉	80.62de	130.62c-e	138.12h	274.37a-b	236.25a	218.12a
LB ₁₀	111.25b-d	166.25a-c	174.37d-f	219.37e-f	240.62a	169.37c-f
S ₂	107.50b-d	154.16 a-d	209.16b-c	206.66f	170.00e	175.83c-e
S ₁₇	104.16c-d	136.66a-c	149.16g-h	224.16d-f	178.33d-e	167.50cd-f
S ₂₃	151.66a	170.0a-b	205.00b-c	219.16e-f	148.33f	140.83g-h
S ₃₂	94.16d	105.83ef	145.83g-h	260.00a-c	210.00b-c	183.33b-d
S ₄₂	154.16a	160.00a-d	266.87a	242.50b-e	197.50c	135.00h
F-test	**	**	**	**	**	**
P-value	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
%CV	13.51	14.15	15.48	14.15	13.37	12.83

หมายเหตุ ** หมายถึง แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความ
แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 % โดยวิธีของ DMRT

2. การศึกษาผลของเชื้ออะโซสไปริลลัมในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพด

2.1 การเจริญเติบโตของพืช

ศึกษาผลการอบดินที่ต่างกันร่วมกับการใช้เชื้ออะโซสไปริลลัมในไอโซเลตต่างๆในการส่งเสริมการเจริญเติบโต และอัตราปุ๋ยในโตรเจนที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพด

2.1.1 ความสูงของข้าวโพด

ความสูงของข้าวโพดที่อายุ 2 สัปดาห์ พบว่าการอบดินร่วมกับการใช้เชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลตต่างๆ และอัตราปุ๋ยในโตรเจน ไม่มีผลให้ความสูงของข้าวโพดที่อายุ 2 สัปดาห์แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 6) แต่พบปฏิสัมพันธ์ระหว่างการอบดินและอัตราปุ๋ยในโตรเจน โดยในการอบดินที่ใช้น้ำมันเชื้อเพลิงทำให้ความสูงเฉลี่ยของข้าวโพดสูงกว่าในการอบดินที่ใช้น้ำมันเชื้อเพลิงคือ 16.26 และ 15.11 cm ตามลำดับ โดยอัตราปุ๋ยในโตรเจนที่ 5 และ 10 kg N/rai ทำให้ความสูงเฉลี่ยของข้าวโพดสูงที่สุด คือ 16.58 และ 16.46 cm ตามลำดับ

พบว่าการอบดินร่วมกับการใช้เชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลตต่างๆและอัตราปุ๋ยในโตรเจนมีผลให้ความสูงของข้าวโพดที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์ มีแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 7 และ 8) ยังพบปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้ออะโซสไปริลลัมกับอัตราปุ๋ยในโตรเจน ทั้งที่ระยะ 4 และ 6 สัปดาห์ และที่ 6 สัปดาห์ พบปฏิสัมพันธ์ระหว่างการอบดินและอัตราปุ๋ยในโตรเจน ความสูงที่อายุ 4 สัปดาห์ ชนิดของดินที่ต่างกัน โดยในการอบดินที่ใช้น้ำมันเชื้อเพลิงมีผลให้ความสูงเฉลี่ยของข้าวโพดสูงกว่าในการอบดินที่ใช้น้ำมันเชื้อเพลิงในทุกการอบดินคือ 44.00 และ 36.39 cm ตามลำดับ การใช้เชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลต LB₅ มีผลให้ความสูงเฉลี่ยของข้าวโพดสูงที่สุด 43.06 cm รองลงมาคือการใช้เชื้อไอโซเลต LB₁₀ มีความสูงของข้าวโพด 40.94 cm และอัตราปุ๋ยในโตรเจนมีผลต่อความสูงของข้าวโพดที่อายุ 4 สัปดาห์ โดยการใส่ปุ๋ยในโตรเจนมีผลให้ความสูงของข้าวโพดสูงกว่าการไม่ใส่ปุ๋ย โดยอัตราปุ๋ยในโตรเจนที่ 10 kg N/rai ให้ความสูงเฉลี่ยของข้าวโพดสูงที่สุดคือ 43.70 cm ในการอบดินที่ใช้น้ำมันเชื้อเพลิงร่วมกับการใช้เชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลต LB₅ และอัตราปุ๋ยในโตรเจน 20 kg N/rai ให้ความสูงของข้าวโพดสูงที่สุด 59.75 cm ในการอบดินที่ใช้น้ำมันเชื้อเพลิงไอโซเลต LB₅ และ LB₁₀ ร่วมกับอัตราปุ๋ยในโตรเจนที่ 5 kg N/rai มีแนวโน้มที่จะมีความสูงมากกว่า

ตำรับที่ได้รับอัตราปุ๋ยไนโตรเจนในอัตราที่สูงกว่าทั้งในตำรับการทดลองที่ใช้ดินไม่อบฆ่าเชื้อ และในตำรับการทดลองที่ใช้ดินอบฆ่าเชื้อ

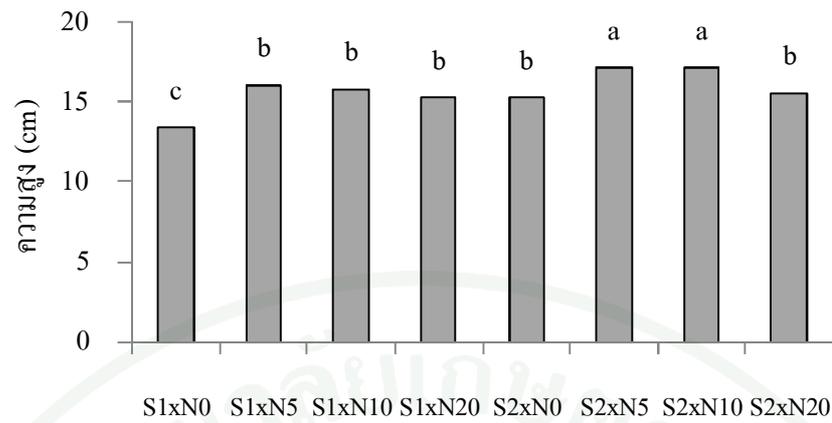
ตารางที่ 6 ความสูงของต้นข้าวโพดที่อายุ 2 สัปดาห์ เมื่อใช้ดิน อะโซสไปริลลัม และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน (cm)

การอบดิน (S)	อะโซสไปริลลัม (A)	อัตราปุ๋ยไนโตรเจน (kg N/rai) (N)				เฉลี่ย (S)	เฉลี่ย (A)
		0	5	10	20		
ดินไม่อบฆ่าเชื้อ (S1)	Control	12.45	15.35	15.25	13.63		Control
	LB ₅	14.00	15.70	15.68	15.00		10.52b
	LB ₈	13.13	15.88	15.75	15.75	15.11b	LB ₅
	LB ₉	14.38	17.20	16.38	16.05		12.61a
	LB ₁₀	12.88	16.00	16.00	15.75		LB ₈
ดินอบฆ่าเชื้อ (S2)	Control	14.75	17.13	16.63	15.00		12.84a
	LB ₅	14.63	16.05	17.00	17.50		LB ₉
	LB ₈	15.75	17.00	16.98	15.63	16.26a	13.64a
	LB ₉	15.88	17.13	17.63	15.25		LB ₁₀
	LB ₁₀	15.13	18.38	17.38	14.50		13.26a
	เฉลี่ย (N)	14.29c	16.58a	16.46a	15.40b		
F-test	S*, A*, N*, S×A ^{ns} , S×N*, A×N ^{ns} , S×A×N ^{ns}						
CV (%)	10.70						

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 %

* หมายถึง แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธีของ DMRT



ภาพที่ 2 ความสัมพันธ์ของดิน และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน ต่อความสูงของต้นข้าวโพดที่อายุ 2 สัปดาห์

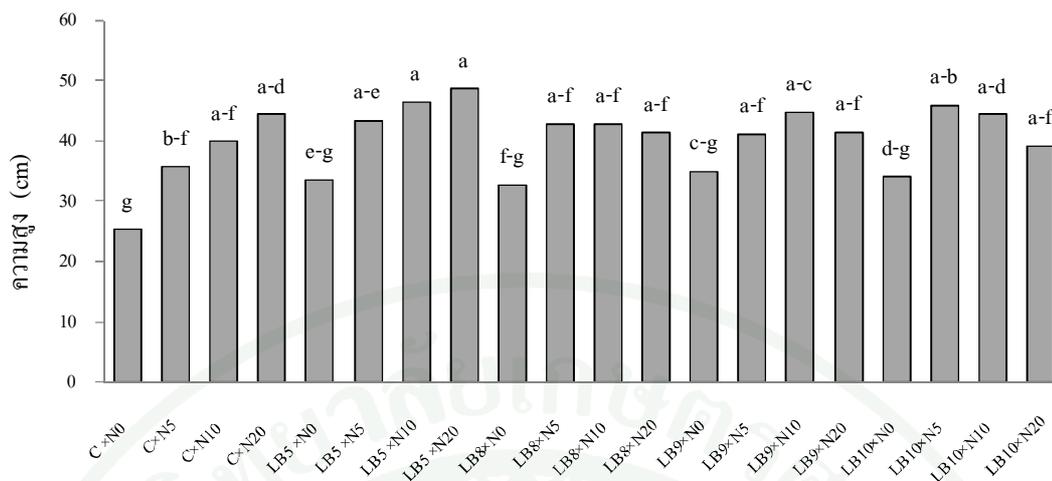
ตารางที่ 7 ความสูงของต้นข้าวโพดที่อายุ 4 สัปดาห์ เมื่อใช้ดิน อะโซสไปริลลัม และอัตราปุ๋ย
ไนโตรเจนที่ต่างกัน (cm)

การอบดิน (S)	อะโซสไปริลลัม(A)	อัตราปุ๋ยไนโตรเจน (kg N/rai) (N)				เฉลี่ย (S)	เฉลี่ย (A)
		0	5	10	20		
ดินไม่อบฆ่าเชื้อ (S1)	Control	21.75l	33.75h-k	38.25e-j	43.75b-h		Control
	LB ₅	30.75i-l	43.00b-h	43.50b-h	37.50f-j		36.34c
	LB ₈	27.00k-l	38.75d-j	42.50b-h	36.25f-k	36.39b	LB ₅
	LB ₉	31.50i-l	39.00d-j	37.50f-j	34.50g-h		43.06a
	LB ₁₀	27.00k-l	41.00c-i	39.25d-j	41.25c-i		LB ₈
ดินอบฆ่าเชื้อ (S2)	Control	29.00j-l	37.75e-j	41.50c-i	45.00b-g		39.97a-b
	LB ₅	36.50f-k	44.00b-h	49.50b-e	59.75a		LB ₉
	LB ₈	38.50e-j	47.00b-g	43.25b-h	46.50b-f	44.00a	40.66a-b
	LB ₉	38.50e-j	43.50b-h	52.25a-b	48.50b-e		LB ₁₀
	LB ₁₀	41.25c-i	51.00b-d	49.50b-d	37.25f-k		40.94a
	เฉลี่ย (N)	32.18b	41.88a	43.70a	43.03a		
F-test	S*, A*, N*, S×A ^{ns} , S×N ^{ns} , A×N*, S×A×N*						
CV (%)	21.22						

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 %

* หมายถึง แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธีของ DMRT



ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ของอะโซสปิริลลัม และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน ต่อความสูงของต้นข้าวโพดที่อายุ 4 สัปดาห์

และความสูงของข้าวโพดเมื่ออายุ 6 สัปดาห์ ชนิดของดินมีผลต่อความสูงของข้าวโพด โดยในตำรับการทดลองที่ใช้ดินอบฆ่าเชื้อจะทำให้ความสูงเฉลี่ยของข้าวโพดสูงกว่าในตำรับการทดลองที่ใช้ดินไม่อบฆ่าเชื้อคือ 74.56 และ 59.45 cm ตามลำดับ ในการใช้เชื้ออะโซสปิริลลัมไอโซเลต LB₅ มีผลทำให้ความสูงเฉลี่ยของข้าวโพดสูงที่สุด 65.98 cm ซึ่งอัตราปุ๋ยไนโตรเจนมีผลต่อความสูงของข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์ โดยการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนมีผลให้ความสูงของข้าวโพดสูงกว่าการไม่ใส่ปุ๋ย การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราที่สูงขึ้นก็จะทำให้ความสูงของข้าวโพดเพิ่มสูงขึ้นไปด้วยเช่นกัน โดยอัตราปุ๋ยไนโตรเจน 20 kg N/rai ให้ความสูงเฉลี่ยของข้าวโพดสูงที่สุด 79.33 cm และตำรับการทดลองที่ใช้ดินอบฆ่าเชื้อ ร่วมกับการใช้เชื้ออะโซสปิริลลัมไอโซเลต LB₅ และอัตราปุ๋ยไนโตรเจน 20 kg N/rai ก็เป็นตำรับการทดลองที่ทำให้ความสูงของข้าวโพดสูงที่สุด 110.00 cm ในตำรับการทดลองที่ใช้เชื้ออะโซสปิริลลัมไอโซเลต LB₅ และ LB₁₀ ร่วมกับอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ 5 kg N/rai มีแนวโน้มที่จะมีความสูงมากกว่าตำรับที่ได้รับอัตราปุ๋ยไนโตรเจนในอัตราที่สูงกว่าทั้งในตำรับการทดลองที่ใช้ดินไม่อบฆ่าเชื้อ และตำรับการทดลองที่ใช้ในดินอบฆ่าเชื้อเช่นกันกับในสัปดาห์ที่ 4 เนื่องจากการใช้จุลินทรีย์ จะได้ธาตุอาหารพืชจากจุลินทรีย์นั้นต้องใช้เวลาเพราะจุลินทรีย์จะค่อยๆปลดปล่อยธาตุอาหารอย่างช้าๆแต่พืชจะได้ธาตุอาหารอย่างต่อเนื่อง อย่างไรก็ตามตำรับที่มีการใช้เชื้ออะโซสปิริลลัมให้ต้นข้าวโพดมีความสูงมากกว่าตำรับที่ไม่ใส่ปุ๋ย สอดคล้องกับผลการทดลองของ ศิวาพร (2553) ที่พบว่าการใช้เชื้อจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจน การใช้เชื้ออะโซสปิริลลัมมีผลให้ความสูงของต้นข้าวโพดสูงมากกว่าตำรับที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ยและเชื้อจุลินทรีย์

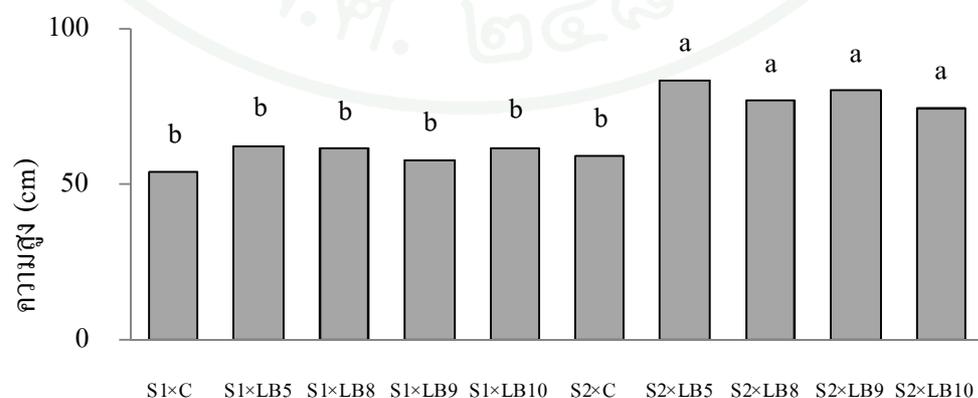
ตารางที่ 8 ความสูงของต้นข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์ เมื่อใช้ดิน อะโซสปิริลลัม และอัตราปุ๋ย
ไนโตรเจนที่ต่างกัน (cm)

การอบดิน (S)	อะโซสปิริลลัม (A)	อัตราปุ๋ยไนโตรเจน (kg N/rai) (N)				เฉลี่ย (S)	เฉลี่ย (A)
		0	5	10	20		
ดินไม่อบฆ่าเชื้อ (S1)	Control	31.25p	46.50n-p	59.25k-o	78.75b-i		Control
	LB ₅	47.00n-p	67.50f-m	73.50d-l	62.00h-n		55.45c
	LB ₈	47.50n-p	60.00j-n	71.00e-m	66.75f-m	59.45b	LB ₅
	LB ₉	46.50n-p	60.25j-n	65.75f-m	58.50k-o		65.98a
	LB ₁₀	42.00o-p	61.25h-n	61.00h-n	82.75b-f		LB ₈
ดินอบฆ่าเชื้อ (S2)	Control	36.25p	55.25m-o	63.75g-n	80.75b-g		63.8b-c
	LB ₅	56.25l-o	73.00d-m	94.25b	110.00a		LB ₉
	LB ₈	62.50h-n	78.00b-j	79.00b-h	87.50b-e	74.65a	61.44b-c
	LB ₉	63.75g-n	74.50c-l	89.75b-d	91.50b-c		LB ₁₀
	LB ₁₀	60.50i-n	83.75b-f	78.00b-j	74.75c-k		63.83b
	เฉลี่ย (N)	49.35d	66.00c	73.53b	79.33a		
F-test	S*, A*, N*, S×A*, S×N ^{ns} , A×N*, S×A×N*						
CV (%)							26.71

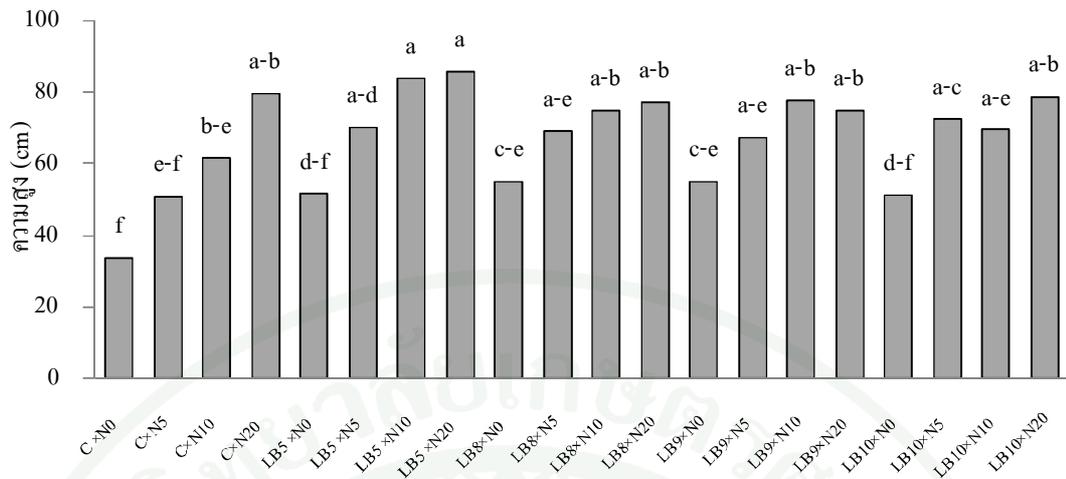
หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 %

* หมายถึง แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่าง
กันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธีของ DMRT



ภาพที่ 4 ความสัมพันธ์ของดินและอะโซสปิริลลัม ต่อความสูงของต้นข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์



ภาพที่ 5 ความสัมพันธ์ของดินและอะโซสไปริลลัม ต่อความสูงของต้นข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์

2.1.2 มวลสดของรากและส่วนเหนือดิน

สำหรับมวลสดของรากและมวลสดของส่วนเหนือดินซึ่งประกอบด้วย ต้น และ ใบ ที่อายุ 6 สัปดาห์ พบว่าการอบดินร่วมกับการใช้เชื้ออะโซสไปริลลัม ไอโซเลตต่างๆและอัตราปุ๋ย ในโตรเจนไม่มีผลทำให้มวลสดของราก (ตารางที่ 9) และมวลสดของส่วนเหนือดินของข้าวโพด (ตารางที่ 10) แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งอัตราปุ๋ยในโตรเจนมีผลต่อมวลสดของรากข้าวโพด โดยการใส่ปุ๋ยในโตรเจนมีผลให้มวลสดของรากข้าวโพดสูงกว่าการไม่ใส่ปุ๋ย อัตราปุ๋ยในโตรเจนที่อัตรา 10 kg N/rai ทำให้มวลสดเฉลี่ยของรากข้าวโพดสูงที่สุดและ รองลงมาคืออัตราปุ๋ยในโตรเจน 5 kg N/rai ทำให้มีมวลสดของรากเท่ากับ 90.76 และ 90.56 g ตามลำดับ

ในส่วนของมวลสดของส่วนเหนือดินของข้าวโพดนั้น พบปฏิสัมพันธ์ระหว่างการอบดิน กับการใช้เชื้ออะโซสไปริลลัม ไอโซเลตต่างๆ และการใช้เชื้ออะโซสไปริลลัม ไอโซเลตต่างๆกับอัตราปุ๋ยในโตรเจนด้วย การใช้เชื้ออะโซสไปริลลัม ไอโซเลต LB₁₀ ทำให้มวลสดเฉลี่ยของส่วนเหนือดินของข้าวโพดสูงที่สุด รองลงมาคือไอโซเลต LB₅ และ LB₈ มีมวลสดของส่วนเหนือดินเท่ากับ 202.03, 197.76 และ 195.31 g ตามลำดับ การอบดินตำรับการทดลองที่ใช้ดินอบฆ่าเชื้อทำให้มวลสดเฉลี่ยของส่วนเหนือดินของข้าวโพดสูงกว่าในตำรับการทดลองที่ใช้ดินไม่อบฆ่าเชื้อ โดยมีมวลของส่วนเหนือดินเท่ากับ 217.35 และ 165.25 g ตามลำดับ และอัตราปุ๋ยในโตรเจนมีผลต่อมวลสดของส่วนเหนือดินของข้าวโพด โดยการใส่ปุ๋ยในโตรเจนมีผลให้มวลสดของส่วนเหนือดินของข้าวโพดสูงกว่าการไม่ใส่ปุ๋ย การใส่ปุ๋ยในโตรเจนอัตราที่สูงขึ้นก็จะทำให้มวลสดของส่วนเหนือดินของข้าวโพดเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย อัตราปุ๋ยในโตรเจนที่ 20 kg N/rai มีผลให้มวลสด

เฉลี่ยของส่วนเหนือดินของข้าวโพดสูงที่สุด รองลงมาคืออัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ 10 kg N/rai โดยมีผลให้มวลสดของส่วนเหนือดินเท่ากับ 257.75 และ 221.25 g ตามลำดับ

ตารางที่ 9 มวลสดของรากข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์ เมื่อใช้ดิน อะโซสไปริลลัม และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน (g/plant)

การอบดิน (S)	อะโซสไปริลลัม(A)	อัตราปุ๋ยไนโตรเจน (kg N/rai) (N)				เฉลี่ย (S)	เฉลี่ย (A)
		0	5	10	20		
ดินไม่อบฆ่าเชื้อ (S1)	Control	13.91	87.50	81.92	86.97		Control
	LB ₅	69.00	88.34	91.04	102.31		77.60
	LB ₈	67.75	89.29	98.92	56.59	83.94	LB ₅
	LB ₉	79.63	117.84	95.75	79.21		86.18
	LB ₁₀	93.90	94.14	94.50	90.33		LB ₈
ดินอบฆ่าเชื้อ (S2)	Control	87.50	85.76	91.00	86.25		77.13
	LB ₅	71.11	78.17	98.27	91.21		LB ₉
	LB ₈	68.42	88.18	62.57	85.34	83.54	87.18
	LB ₉	72.56	86.59	84.90	81.00		LB ₁₀
	LB ₁₀	74.88	89.82	108.75	78.32		90.58
	เฉลี่ย (N)	69.86b	90.56a	90.76a	83.75a		
F-test	S ^{ns} , A ^{ns} , N [*] , S×A ^{ns} , S×N ^{ns} , A×N ^{ns} , S×A×N ^{ns}						
CV (%)	28.31						

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 %

* หมายถึง แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธีของ DMRT

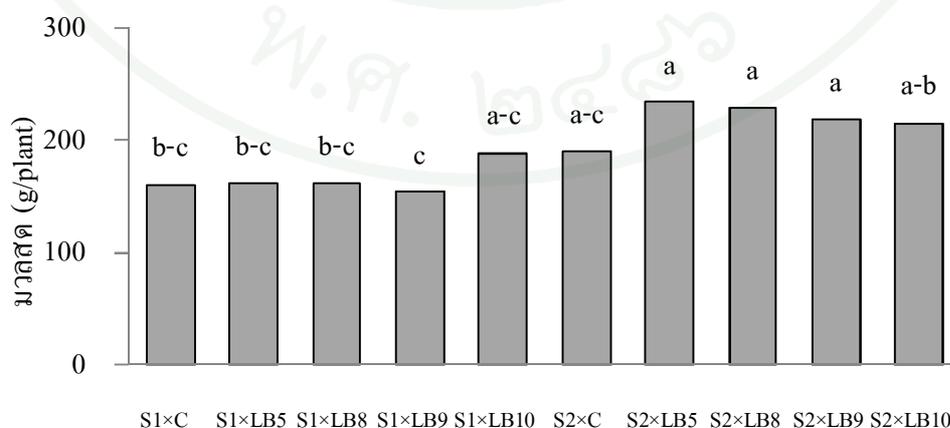
ตารางที่ 10 มวลสดของส่วนเหนือดินของข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์ เมื่อใช้ดิน อะโซสไปริลลัม และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน (g/plant)

การอบดิน (S)	อะโซสไปริลลัม(A)	อัตราปุ๋ยไนโตรเจน (kg N/rai) (N)				เฉลี่ย (S)	เฉลี่ย (A)
		0	5	10	20		
ดินไม่อบฆ่าเชื้อ (S1)	Control	28.75	127.50	186.25	298.75		Control
	LB ₅	82.50	166.25	191.25	207.50		175.16b
	LB ₈	86.25	153.75	200.00	207.50	165.25b	LB ₅
	LB ₉	85.00	156.25	180.00	193.75		197.76a
	LB ₁₀	87.50	196.25	186.25	283.75		LB ₈
ดินอบฆ่าเชื้อ (S2)	Control	65.00	163.75	235.00	296.25		195.31a
	LB ₅	147.50	203.33	275.00	308.75		LB ₉
	LB ₈	155.00	232.50	248.75	278.75	217.35a	186.25a-b
	LB ₉	135.00	227.50	258.75	253.75		LB ₁₀
	LB ₁₀	145.00	217.50	251.25	248.75		202.03a
	เฉลี่ย (N)	101.75d	184.46c	221.25b	257.75a		
F-test	S*, A*, N*, S×A*, S×N ^{ns} , A×N*, S×A×N ^{ns}						
CV (%)	30.77						

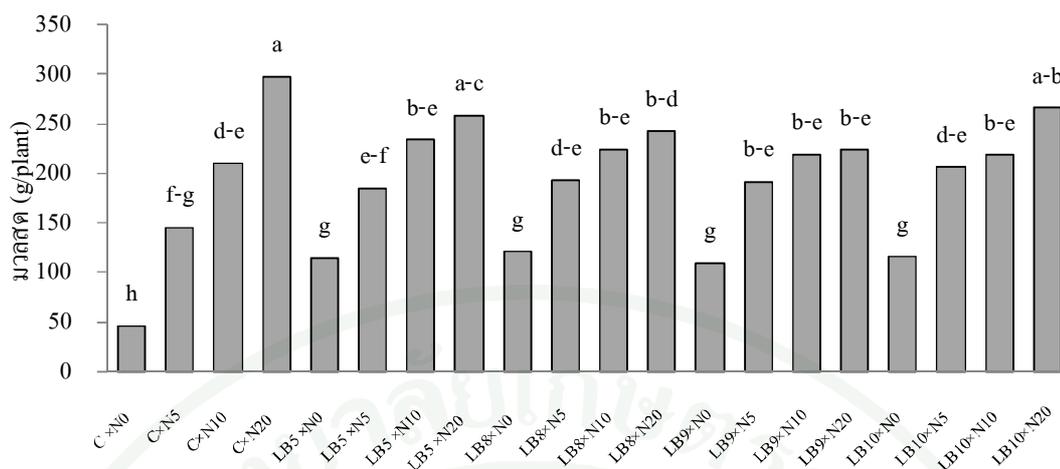
หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 %

* หมายถึง แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธีของ DMRT



ภาพที่ 6 ความสัมพันธ์ของดินและอะโซสไปริลลัม ต่อมวลสดของส่วนเหนือดินของข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์



ภาพที่ 7 ความสัมพันธ์ของอะโซสไปริลลัม และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน ต่อมวลสดของส่วนเหนือดินของข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์

2.1.3 มวลแห้งของรากและส่วนเหนือดิน

พบว่ากรอบดินร่วมกับการใช้เชื้ออะโซสไปริลลัมและอัตราปุ๋ยไนโตรเจนไม่มีผลให้มวลแห้งของรากข้าวโพดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 11) แต่พบปฏิสัมพันธ์ระหว่างการใช้เชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลตต่างๆกับอัตราปุ๋ยไนโตรเจน ในการอบดิน ดำรับการทดลองที่ใช้ดินอบฆ่าเชื้อทำให้มวลแห้งเฉลี่ยของรากของข้าวโพดสูงกว่าในดำรับการทดลองที่ใช้ดินไม่อบฆ่าเชื้อคือ 8.93 และ 7.81 g ตามลำดับ โดยเชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลต LB₁₀ มีผลให้ทำให้มวลแห้งเฉลี่ยของรากข้าวโพดสูงที่สุด รองลงมาคือไอโซเลต LB₉ มีผลให้มวลแห้งของรากเท่ากับ 9.84 และ 9.54 g ตามลำดับ และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนผลให้มวลแห้งของรากข้าวโพด โดยการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนมีผลให้มวลแห้งของรากข้าวโพดสูงกว่าการไม่ใส่ปุ๋ย อัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ 5 kg N/rai มีผลให้มวลแห้งเฉลี่ยของส่วนเหนือดินของข้าวโพดสูงที่สุด รองลงมาคืออัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ 10 kg N/rai โดยมีผลให้มวลแห้งของส่วนเหนือดินเท่ากับ 9.53 และ 8.70 g ตามลำดับ ในดำรับการทดลองที่มีใช้เชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลตต่างๆร่วมกับปุ๋ยไนโตรเจนในอัตรา 5 kg N/rai มีผลทำให้มวลแห้งของรากข้าวโพดสูงกว่าในดำรับการทดลองที่มีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนที่สูงกว่าคืออัตราปุ๋ยไนโตรเจน 10 และ 20 kg N/rai

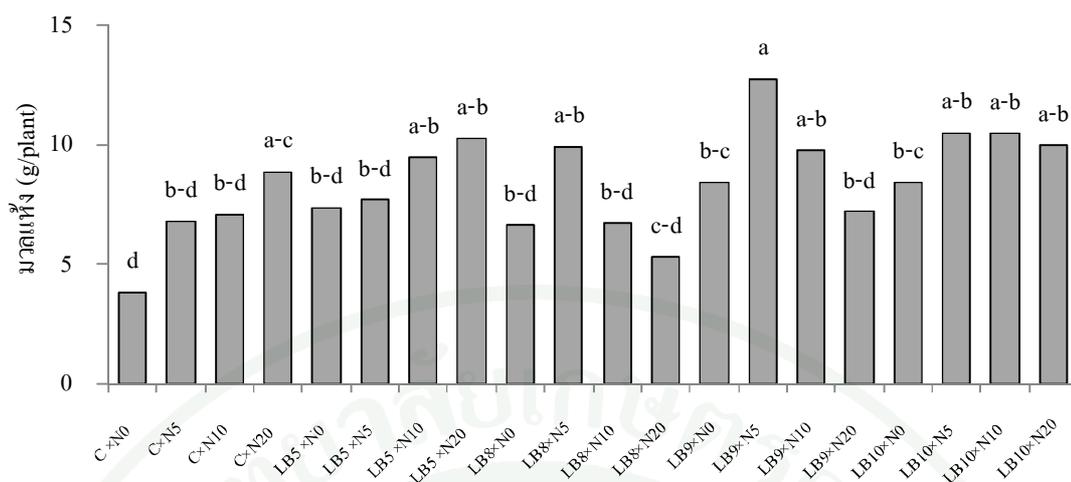
ตารางที่ 11 มวลแห้งของรากข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์ เมื่อใช้ดิน อะโซสไปริลลัม และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน (g/plant)

การอบดิน (S)	อะโซสไปริลลัม(A)	อัตราปุ๋ยไนโตรเจน (kg N/rai) (N)				เฉลี่ย (S)	เฉลี่ย (A)
		0	5	10	20		
ดินไม่อบฆ่าเชื้อ (S1)	Control	1.36	7.05	5.39	8.68		Control
	LB ₅	6.62	7.98	9.26	10.31		6.65c
	LB ₈	6.18	8.83	8.04	6.82	7.81b	LB ₅
	LB ₉	6.48	12.32	10.03	7.43		8.69a-b
	LB ₁₀	10.06	8.30	8.37	9.70		LB ₈
ดินอบฆ่าเชื้อ (S2)	Control	6.35	6.57	8.77	9.04		7.13b-c
	LB ₅	8.09	7.39	9.66	10.20		LB ₉
	LB ₈	7.07	10.96	5.43	6.74	8.93a	9.53a
	LB ₉	10.37	13.18	9.52	6.94		LB ₁₀
	LB ₁₀	6.78	12.71	12.57	10.27		9.84a
	เฉลี่ย (N)	6.94b	9.53a	8.70a	8.31a-b		
F-test	S [*] , A [*] , N [*] , S×A ^{ns} , S×N ^{ns} , A×N [*] , S×A×N ^{ns}						
CV (%)	35.79						

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 %

* หมายถึง แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธีของ DMRT



ภาพที่ 8 ความสัมพันธ์ของอะโซสไปริลลัม และอัตราปุ๋ยใน ไตรเจนที่ต่างกัน ต่อมวลแห้งของรากของข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์

การอบดินร่วมกับการใช้เชื้ออะโซสไปริลลัมและอัตราปุ๋ยใน ไตรเจนมีผลให้มวลแห้งของส่วนเหนือดินของข้าวโพดซึ่งประกอบด้วย ต้น และ ใบ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 12) และพบปฏิสัมพันธ์ระหว่างการใช้เชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลตต่าง ๆ กับการอบดิน และการใช้เชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลตต่าง ๆ กับอัตราปุ๋ยใน ไตรเจน ด้วย โดยเชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลต LB₁₀ ส่งผลทำให้มวลแห้งเฉลี่ยของส่วนเหนือดินของข้าวโพดสูงที่สุด รองลงมาคือไอโซเลต LB₅ มีผลให้มวลแห้งของส่วนเหนือดินเท่ากับ 48.42 และ 45.77 g ตามลำดับ การอบดินมีผลให้ดำรับการทดลองที่ใช้ดินอบฆ่าเชื้อมีมวลแห้งเฉลี่ยของส่วนเหนือดินของข้าวโพดสูงกว่ามวลแห้งของส่วนเหนือดินในดำรับการทดลองที่ใช้ดินไม่อบฆ่าเชื้อ โดยมีมวลแห้งของส่วนเหนือดิน 50.44 และ 37.19 g ตามลำดับ และอัตราปุ๋ยใน ไตรเจนมีผลต่อมวลแห้งของส่วนเหนือดินของข้าวโพด โดยการใส่ปุ๋ยใน ไตรเจนมีผลให้มวลแห้งของส่วนเหนือดินของข้าวโพดสูงกว่าการไม่ใส่ปุ๋ย การใส่ปุ๋ยใน ไตรเจนอัตราที่สูงขึ้นก็จะทำให้มวลแห้งของส่วนเหนือดินของข้าวโพดเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วยเช่นเดียวกับในมวลสด โดยที่อัตราปุ๋ยใน ไตรเจนที่ 20 kg N/rai มีผลให้มวลแห้งของส่วนเหนือดินสูงที่สุด 57.75 g การใช้เชื้ออะโซสไปริลลัมมีผลทำให้น้ำหนักแห้งของส่วนเหนือดินสูงกว่าการไม่ใส่ปุ๋ย ซึ่งสอดคล้องกับ Fulchieri and Frion (1994) ที่ศึกษาผลของการใช้เชื้ออะโซสไปริลลัมที่มีต่อผลผลิตข้าวโพดโดยใช้ *A. brasilense* (AZ 39), *A. lipoferum* (AZ 30) และ *A. brasilense* ATCC 29745 strain Sp 7 พบว่าเชื้อ *A. brasilense* สามารถเพิ่มน้ำหนักแห้งของต้นข้าวโพดที่ปลูกในภาชนะปลูก เป็นระยะเวลา 50 วันได้ จาก 380 mg/plant เป็น 523 mg/plant และสามารถเพิ่มน้ำหนักเมล็ดข้าวโพดจาก 446.72 kg/rai (ไม่ใส่เชื้อและปุ๋ย)

เป็น 711.52 kg/rai ซึ่งมีค่าเทียบเท่ากับผลผลิตที่ได้จากการใส่ปุ๋ยยูเรีย 9.6 kg/rai ที่มีผลผลิตเท่ากับ 659.52 kg/rai

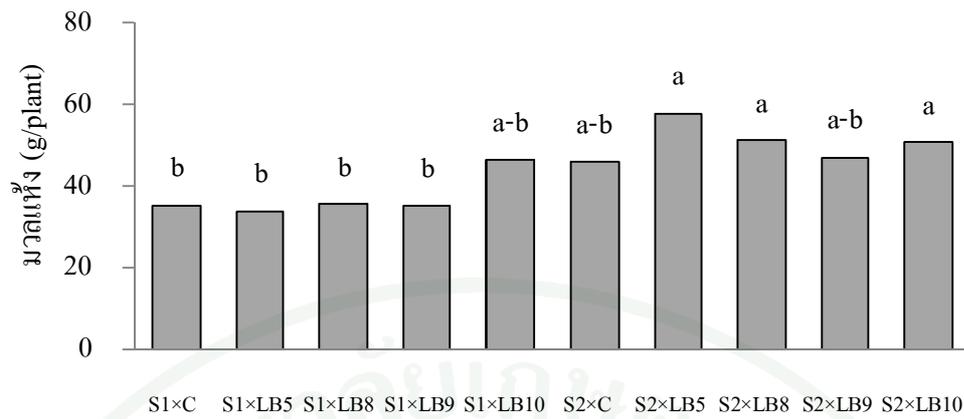
ตารางที่ 12 มวลแห้งของส่วนเหนือดินของข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์ เมื่อใช้ดิน อะโซสไปริลลัม และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน (g/plant)

การอบดิน (S)	อะโซสไปริลลัม (A)	อัตราปุ๋ยไนโตรเจน (kg N/rai) (N)				เฉลี่ย (S)	เฉลี่ย (A)
		0	5	10	20		
ดินไม่อบฆ่าเชื้อ (S1)	Control	3.96r	25.62n-q	46.82f-k	64.63a-e		Control
	LB ₅	16.14p-r	37.99h-n	40.38g-n	40.70g-n		40.54b
	LB ₈	16.08p-r	34.50j-o	47.01f-k	43.96f-m	37.19b	LB ₅
	LB ₉	19.24o-r	36.81i-n	44.94f-l	39.65g-n		45.77a-b
	LB ₁₀	17.00p-r	52.09e-i	44.59f-m	71.71a-c		LB ₈
ดินอบฆ่าเชื้อ (S2)	Control	14.88q-r	40.05g-n	58.16b-f	70.20a-d		43.23b
	LB ₅	28.12m-q	50.56e-j	73.33a-b	78.93a		LB ₉
	LB ₈	32.33k-p	58.09b-f	56.04c-g	57.83b-f	50.44a	41.11b
	LB ₉	26.58n-q	51.04e-j	55.60c-g	55.02d-h		LB ₁₀
	LB ₁₀	28.79l-q	54.12d-h	64.16a-e	54.94d-h		48.42a
	เฉลี่ย (N)	20.31d	44.09c	53.10b	57.75a		
F-test	S*, A*, N*, S×A*, S×N ^{ns} , A×N*, S×A×N*						
CV (%)					35.71		

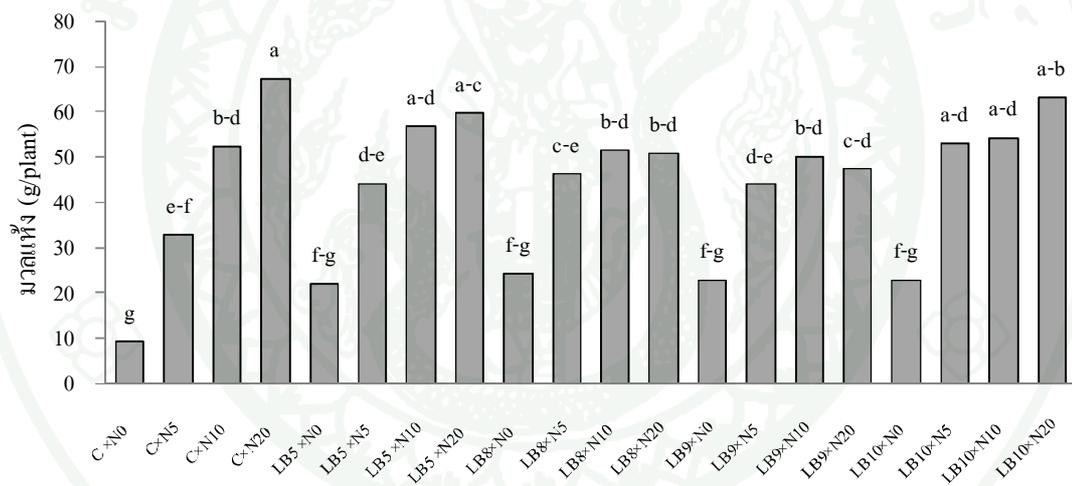
หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 %

* หมายถึง แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธีของ DMRT



ภาพที่ 9 ความสัมพันธ์ของดินและอะโซสไปริลลัม ต่อมวลแห้งของส่วนเหนือดินของข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์



ภาพที่ 10 ความสัมพันธ์ของอะโซสไปริลลัม และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน ต่อมวลแห้งของส่วนเหนือดินของข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์

2.2 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดกับค่าความเขียวของใบข้าวโพดที่อายุต่างๆ

2.2.1 ค่าความเขียวของใบข้าวโพดที่อายุ 4, 5 และ 6 สัปดาห์

การอบคินร่วมกับการใช้เชื้ออะโซสไปริลัมและอัตราปุ๋ยไนโตรเจนมีผลให้ค่าความเขียวของใบข้าวโพดที่อายุ 4 สัปดาห์ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 13) โดยพบปฏิสัมพันธ์ระหว่างการใช้เชื้ออะโซสไปริลัมไอโซเลตต่างๆ การอบคินและการใช้เชื้ออะโซสไปริลัมไอโซเลตต่างๆกับอัตราปุ๋ยไนโตรเจนด้วย โดยเชื้ออะโซสไปริลัมไอโซเลต LB₈ มีผลให้ค่าความเขียวของใบข้าวโพดที่อายุ 4 สัปดาห์ เข้มที่สุด รองลงมาคือไอโซเลต LB₅ และ LB₉ มีค่าความเขียวเฉลี่ยของใบ 39.64, 39.08 และ 38.19 ตามลำดับ ในคำรับการทดลองที่ใช้ดินอบฆ่าเชื้อมีค่าความเขียวของใบข้าวโพดเฉลี่ยเข้มกว่าค่าความเขียวของใบข้าวโพดในคำรับการทดลองที่ใช้ดินไม่อบฆ่าเชื้อ 38.13 และ 37.69 ตามลำดับ และปุ๋ยไนโตรเจนที่อัตรา 20 kg N/rai ให้ค่าความเขียวของใบสูงที่สุด 43.25 คำรับการทดลองที่ให้ค่าความเขียวของใบข้าวโพดสูงที่สุด คือ คำรับการทดลองที่ใช้ดินอบฆ่าเชื้อร่วมกับการใช้เชื้ออะโซสไปริลัมไอโซเลต LB₉ และอัตราปุ๋ยไนโตรเจน 20 kg N/rai พบว่าคำรับการทดลองที่ใส่เชื้ออะโซสไปริลัมไอโซเลตต่างๆเพียงอย่างเดียวทั้งในดินอบฆ่าเชื้อและในดินไม่อบฆ่าเชื้อ มีแนวโน้มที่จะทำให้ค่าความเขียวของใบเข้มกว่าในคำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 5 และ 10 kg N/rai

ค่าความเขียวของใบข้าวโพดที่อายุ 5 และ 6 สัปดาห์ พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 14 และ 15) โดยค่าความเขียวของใบที่อายุ 5 สัปดาห์ จะพบปฏิสัมพันธ์ระหว่างการใช้เชื้ออะโซสไปริลัมไอโซเลตต่างๆกับการอบคิน และการใช้เชื้ออะโซสไปริลัมไอโซเลตต่างๆร่วมกับอัตราปุ๋ยไนโตรเจน โดยที่เชื้ออะโซสไปริลัมไอโซเลต LB₈ มีผลทำให้ค่าความเขียวของใบข้าวโพดเข้มกว่า และรองลงมาคือไอโซเลต LB₉ และ LB₁₀ มีค่าความเขียวของใบเฉลี่ย 34.48, 31.09 และ 31.09 ตามลำดับ โดยที่อัตราปุ๋ยไนโตรเจน 20 kg N/rai ทำให้ค่าความเขียวของใบเฉลี่ยเข้มที่สุด 37.78 พบว่าคำรับการทดลองที่ใช้เชื้ออะโซสไปริลัมไอโซเลตต่างๆ เพียงอย่างเดียวทั้งในดินอบฆ่าเชื้อและในดินไม่อบฆ่าเชื้อ มีแนวโน้มที่จะทำให้ค่าความเขียวของใบเข้มกว่าในคำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 5 และ 10 kg N/rai เช่นเดียวกับในสัปดาห์ที่ 4

และค่าความเขียวของใบข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์ พบปฏิสัมพันธ์ระหว่างการใช้เชื้ออะโซสไปริลัมไอโซเลตต่างๆร่วมกับอัตราปุ๋ยไนโตรเจน เชื้ออะโซสไปริลัมไอโซเลต

LB₁₀ มีผลทำให้ความเขียวของใบข้าวโพดเข้มกว่า รองลงมาคือไอโซเลต LB₈ มีค่าความเขียวของใบ 30.37 และ 29.34 ตามลำดับ และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนมีผลต่อค่าความเขียวของใบข้าวโพด โดยการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนมีผลให้ค่าความเขียวของใบข้าวโพดเข้มกว่าการไม่ใส่ปุ๋ย การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราที่สูงขึ้นก็จะทำให้ค่าความเขียวของใบข้าวโพดเข้มมากขึ้นตามไปด้วย โดยปุ๋ยไนโตรเจนในอัตรา 20 kg N/rai ทำให้ค่าความเขียวเฉลี่ยของใบเข้มที่สุด 37.78 และพบว่าค่ารับการทดลองที่ใส่เชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลตต่างๆ เพียงอย่างเดียวทั้งในดินอบฆ่าเชื้อและในดินไม่อบฆ่าเชื้อ ทำให้ค่าความเขียวของใบข้าวโพดใกล้เคียงกับค่าความเขียวของใบในค่ารับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 5 และ 10 kg N/rai จากผลการทดลองพบการลดลงของค่าความเขียวของใบข้าวโพดในสัปดาห์ที่ 5 และ 6 สัปดาห์ โดยในโตรเจนมีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับคลอโรฟิลในใบ ดังนั้นการอ่านด้วยคลอโรฟิลมิเตอร์ของใบข้าวโพดจะเป็นการให้ข้อมูลเกี่ยวกับสถานะของไนโตรเจนของข้าวโพด สอดคล้องกับผลการทดลองของ Peterson *et al.* (1993) กล่าวว่า การสร้างคลอโรฟิลล์ขึ้นกับปริมาณธาตุไนโตรเจนที่มีอยู่ในพืชนั้นค่าความเข้มของสีเขียวที่วัดได้มีความสัมพันธ์เชิงเส้นกับค่า Weight base leaf N concentration ในทุกระยะการเจริญเติบโต เนื่องจากการใช้เชื้ออะโซสไปริลลัม จะได้ธาตุอาหารพืชจากจุลินทรีย์จะค่อยๆปลดปล่อยธาตุอาหารอย่างช้าๆแต่พืชจะได้ธาตุอาหารอย่างต่อเนื่อง อย่างไรก็ตามค่ารับที่มีการใช้เชื้ออะโซสไปริลลัมทำให้ค่าความเขียวของใบข้าวโพดเข้มกว่าค่ารับที่ไม่ใส่ปุ๋ย

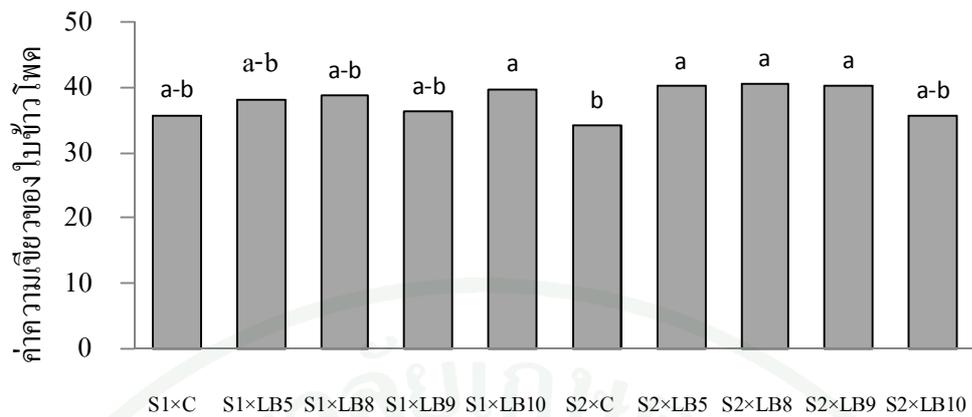
ตารางที่ 13 ความเขียวของใบข้าวโพดที่อายุ 4 สัปดาห์ เมื่อใช้ดิน อะโซสปิรลิคัม และอัตราปุ๋ย
ไนโตรเจนที่ต่างกัน

การอบดิน (S)	อะโซสปิรลิคัม (A)	อัตราปุ๋ยไนโตรเจน (kg N/rai) (N)				เฉลี่ย (S)	เฉลี่ย (A)
		0	5	10	20		
ดินไม่อบฆ่าเชื้อ (S1)	Control	27.95j	31.40h-j	37.70b-h	46.15a		Control
	LB ₅	35.25e-i	35.45d-i	38.90b-g	42.55a-d		34.91c
	LB ₈	40.95a-f	35.20e-i	35.95c-i	42.65a-c	37.69b	LB ₅
	LB ₉	35.90c-i	32.10g-j	36.25c-i	40.55a-f		39.08a-b
	LB ₁₀	43.40a-b	36.15c-i	36.55b-h	42.85a-c		LB ₈
ดินอบฆ่าเชื้อ (S2)	Control	25.70j	31.85g-j	37.60b-h	40.95a-f		39.64a
	LB ₅	39.25a-f	36.05c-i	42.65a-c	42.50a-d		LB ₉
	LB ₈	35.45d-i	39.90a-f	41.10a-f	45.95a	38.13a	38.19a-b
	LB ₉	40.40a-f	36.05c-i	38.15b-h	46.15a		LB ₁₀
	LB ₁₀	34.75f-i	29.40i-j	36.45b-h	42.20a-e		37.72b
	เฉลี่ย (N)	35.90c	34.36d	38.13b	43.25a		
F-test	S*, A*, N*, S×A*, S×N ^{ns} , A×N*, S×A×N*						
CV (%)					13.27		

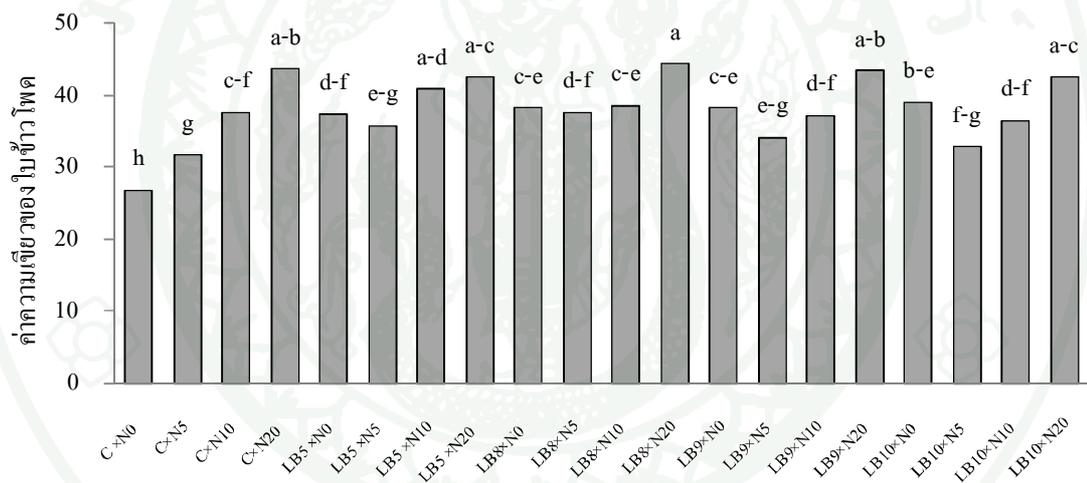
หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 %

* หมายถึง แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่าง
กันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธีของ DMRT



ภาพที่ 11 ความสัมพันธ์ของดินและอะโซสไปริลลัม ต่อความเขียวของใบข้าวโพดที่อายุ 4 สัปดาห์



ภาพที่ 12 ความสัมพันธ์ของอะโซสไปริลลัม และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน ต่อความเขียวของใบข้าวโพดที่อายุ 4 สัปดาห์

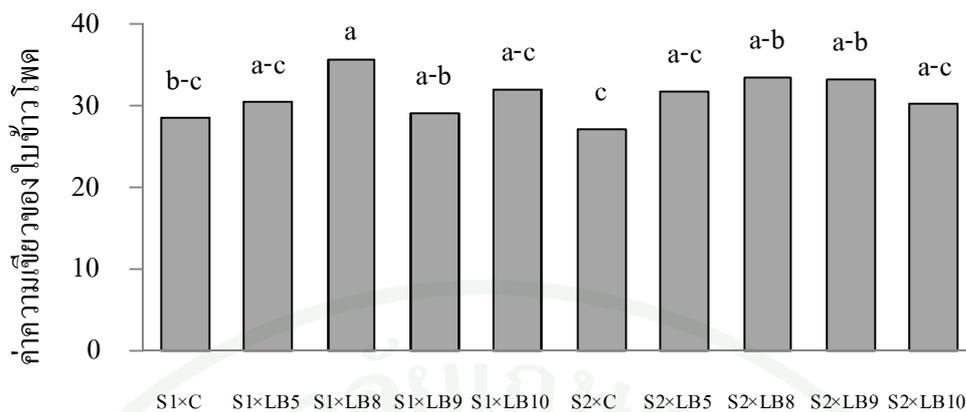
ตารางที่ 14 ความเขียวของใบข้าวโพดที่อายุ 5 สัปดาห์ เมื่อใช้ดิน อะโซสปิรลิคัม และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน

การอบดิน (S)	อะโซสปิรลิคัม (A)	อัตราปุ๋ยไนโตรเจน (kg N/rai) (N)				เฉลี่ย (S)	เฉลี่ย (A)
		0	5	10	20		
ดินไม่อบฆ่าเชื้อ (S1)	Control	23.95	23.60	27.85	38.45		Control
	LB ₅	29.40	28.30	27.80	36.30		27.78c
	LB ₈	32.15	33.95	31.95	44.15	31.09	LB ₅
	LB ₉	29.35	26.90	29.90	30.00		31.09b
	LB ₁₀	29.60	27.65	33.55	37.00		LB ₈
ดินอบฆ่าเชื้อ (S2)	Control	20.45	22.60	30.45	34.90		34.48a
	LB ₅	32.65	27.15	29.30	37.85		LB ₉
	LB ₈	28.70	31.75	33.40	39.75	31.13	31.11b
	LB ₉	30.25	30.60	31.45	40.40		LB ₁₀
	LB ₁₀	29.40	25.70	26.85	39.00		31.09b
	เฉลี่ย (N)	28.59b-c	27.82c	30.25b	37.78a		
F-test	S ^{ns} , A*, N*, S×A*, S×N ^{ns} , A×N*, S×A×N ^{ns}						
CV (%)	17.65						

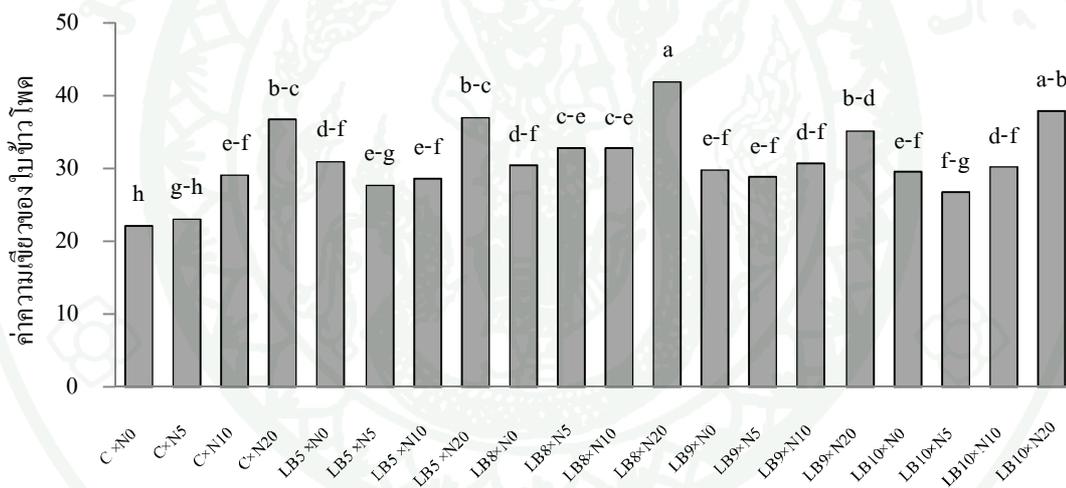
หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 %

* หมายถึง แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธีของ DMRT



ภาพที่ 13 ความสัมพันธ์ของดินและอะโซสไปริลลัม ต่อความเขียวของใบข้าวโพดที่อายุ 5 สัปดาห์



ภาพที่ 14 ความสัมพันธ์ของอะโซสไปริลลัม และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน ต่อความเขียวของใบข้าวโพดที่อายุ 5 สัปดาห์

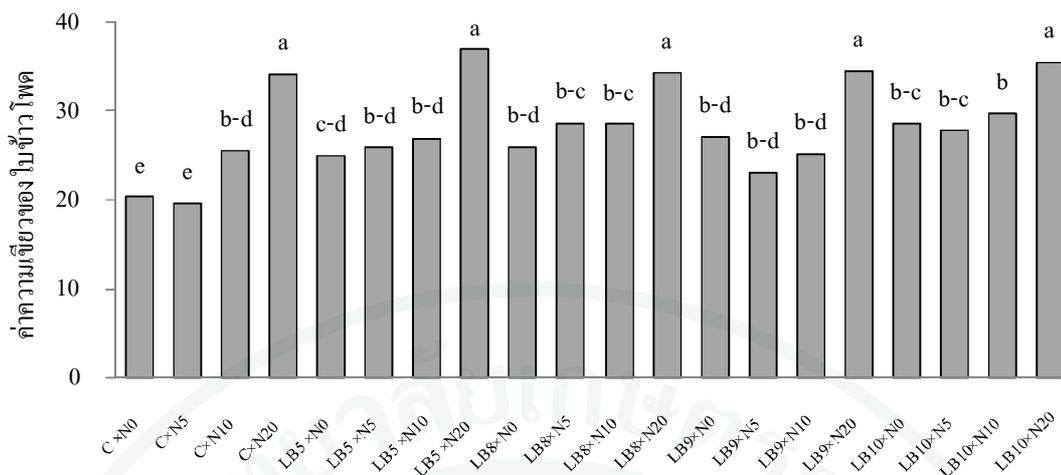
ตารางที่ 15 ความเขียวของใบข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์ เมื่อใช้ดิน อะโซสไปริลลัม และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน

การอบดิน (S)	อะโซสไปริลลัม (A)	อัตราปุ๋ยไนโตรเจน (kg N/rai) (N)				เฉลี่ย (S)	เฉลี่ย (A)
		0	5	10	20		
ดินไม่อบฆ่าเชื้อ (S1)	Control	22.50	21.00	26.20	32.30		Control
	LB ₅	24.40	26.15	25.25	36.50		24.91c
	LB ₈	27.50	27.55	26.45	33.10	27.69	LB ₅
	LB ₉	24.15	21.60	23.45	33.65		28.68a-b
	LB ₁₀	30.05	30.15	28.60	33.25		LB ₈
ดินอบฆ่าเชื้อ (S2)	Control	18.15	18.20	24.90	36.05		29.34a-b
	LB ₅	25.55	25.55	28.65	37.40		LB ₉
	LB ₈	24.40	29.65	30.55	35.50	28.61	27.46b
	LB ₉	29.95	24.60	26.95	35.30		LB ₁₀
	LB ₁₀	27.10	25.35	30.80	37.65		30.37a
	เฉลี่ย (N)	25.38c	24.98c	27.18b	35.07a		
F-test	S ^{ns} , A [*] , N [*] , S×A ^{ns} , S×N ^{ns} , A×N [*] , S×A×N ^{ns}						
CV (%)			18.94				

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 %

* หมายถึง แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธีของ DMRT



ภาพที่ 15 ความสัมพันธ์ของอะโซสไปริลลัม และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน ต่อความเขียวของใบข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์

2.2.2 ความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดที่อายุ 4, 5 และ 6 สัปดาห์

การอบคินร่วมกับการใช้เชื้ออะโซสไปริลลัมและอัตราปุ๋ยไนโตรเจน มีผลให้ความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดที่อายุ 4 สัปดาห์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 16) และพบปฏิสัมพันธ์ระหว่างการใช้เชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลตต่างๆกับการอบคิน การใช้เชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลตต่างๆร่วมกับอัตราปุ๋ยไนโตรเจน เชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลต LB₈ มีผลให้ความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดเฉลี่ยสูงที่สุด รองลงมาคือไอโซเลต LB₅ มีความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบ 2.788 และ 2.749 % ตามลำดับ และอัตราปุ๋ยไนโตรเจน ทำให้ความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบเฉลี่ยสูงที่สุดคือ อัตราปุ๋ยไนโตรเจน 20 kg N/rai มีความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบ 3.07 % และดำเนินการทดลองที่ทำให้ความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบสูงที่สุดคือ ดำรับการทดลองที่ใช้ดินไม่อบฆ่าเชื้อ ร่วมกับการใช้เชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลต LB₅ และปุ๋ยไนโตรเจนในอัตรา 10 kg N/rai มีความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบ 4.280 % และ ยังพบว่าในดำรับการทดลองที่ใช้เชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลตต่างๆ เพียงอย่างเดียวทั้งในดินอบฆ่าเชื้อและในดินไม่อบฆ่าเชื้อ มีแนวโน้มที่จะทำให้ค่าความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดที่อายุ 4 สัปดาห์มีค่าใกล้เคียงกับในดำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 5 และ 10 kg N/rai

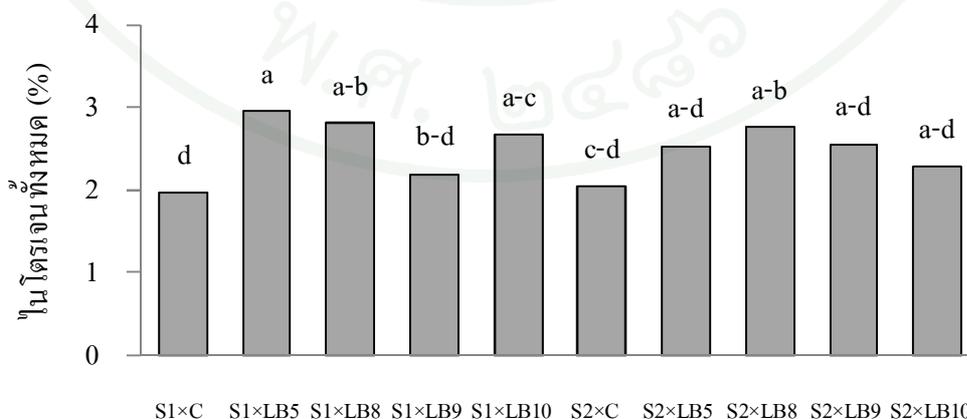
ตารางที่ 16 ความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดที่อายุ 4 สัปดาห์ เมื่อใช้ดินอะโซสไปริลลัม และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน (%)

การอบดิน (S)	อะโซสไปริลลัม (A)	อัตราปุ๋ยไนโตรเจน (kg N/rai) (N)				เฉลี่ย (S)	เฉลี่ย (A)
		0	5	10	20		
ดินไม่อบฆ่าเชื้อ (S1)	Control	1.420l-m	1.520k-m	2.240d-m	2.740b-j		Control
	LB ₅	2.240d-m	2.140f-m	4.280a	3.170b-e		2.018c
	LB ₈	3.070b-f	2.760b-i	2.240d-m	3.170b-e	2.526	LB ₅
	LB ₉	2.400c-l	1.780i-m	1.960g-m	2.655b-j		2.749a
	LB ₁₀	3.200b-e	2.065g-m	2.395c-l	3.070b-f		LB ₈
ดินอบฆ่าเชื้อ (S2)	Control	1.340m	1.750j-m	2.215e-m	2.915b-g		2.788a
	LB ₅	2.215e-m	2.065g-m	2.320d-m	3.560a-b		LB ₉
	LB ₈	2.500c-k	2.630b-j	2.710b-j	3.225b-d	2.445	2.383b
	LB ₉	2.865b-h	1.885h-m	2.165f-m	3.350b-c		LB ₁₀
	LB ₁₀	2.270d-m	2.040g-m	1.990g-m	2.885b-h		2.489b
	เฉลี่ย (N)	2.352b	2.064c	2.452b	3.074a		
F-test	S ^{ns} , A*, N*, S×A*, S×N*, A×N*, S×A×N*						
CV (%)			26.330				

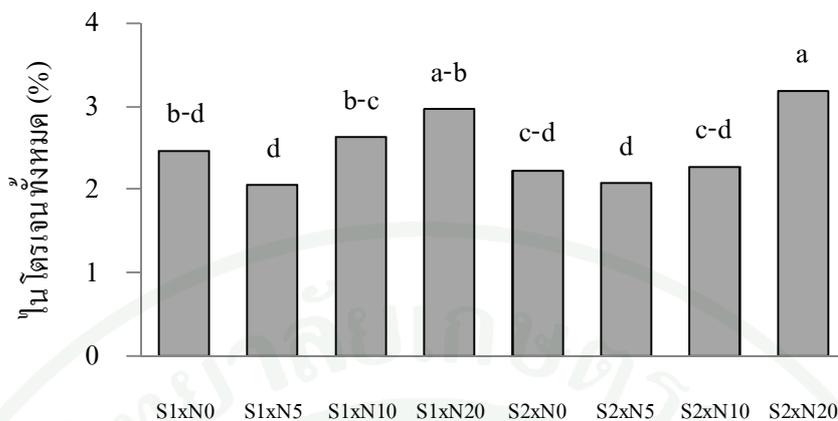
หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 %

* หมายถึง แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

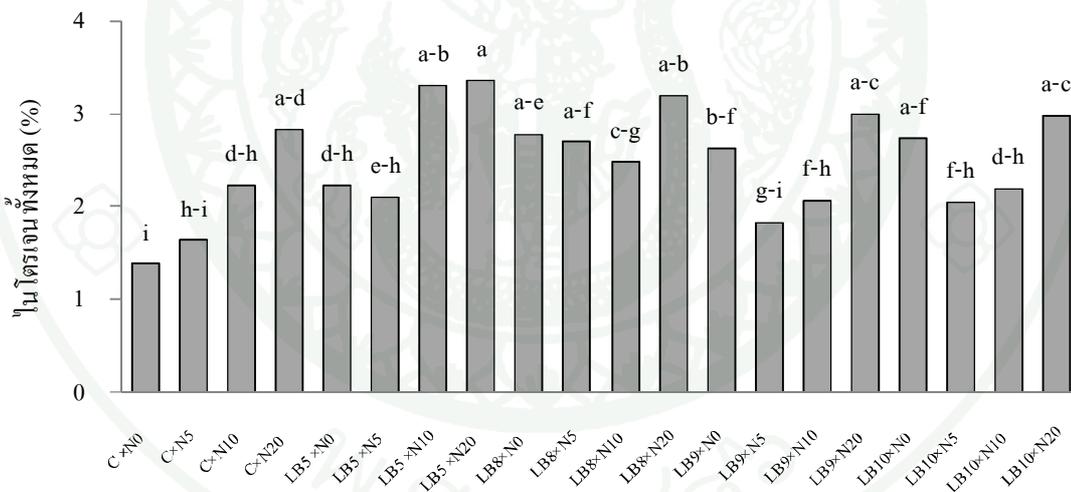
ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธีของ DMRT



ภาพที่ 16 ความสัมพันธ์ของดิน และอะโซสไปริลลัม ต่อความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดที่อายุ 4 สัปดาห์



ภาพที่ 17 ความสัมพันธ์ของดิน และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน ต่อความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดที่อายุ 4 สัปดาห์



ภาพที่ 18 ความสัมพันธ์ของอะโซสไปริลลัม และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน ต่อความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดที่อายุ 4 สัปดาห์

ในสัปดาห์ที่ 5 การอบดินร่วมกับการใช้เชื้ออะโซสไปริลัมและอัตราปุ๋ยไนโตรเจน ไม่มีผลให้ความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดมีความแตกต่างกัน (ตารางที่ 17) โดยเชื้ออะโซสไปริลัมไอโซเลต LB₈ ให้ความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบเฉลี่ยสูงสุดที่ 1.857 % รองลงมาคือไอโซเลต LB₉ มีความเข้มข้นของไนโตรเจนเฉลี่ยเท่ากับ 2.151% และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ 20 kg N/rai ทำให้มีความเข้มข้นของไนโตรเจนสูงสุดที่ 2.631 % และยังพบการลดลงของความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดในทุกตำรับการทดลองเมื่อเทียบกับความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดที่อายุ 4 สัปดาห์

การอบดินร่วมกับการใช้เชื้ออะโซสไปริลัมและอัตราปุ๋ยไนโตรเจน ไม่มีผลให้ความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 18) และพบปฏิสัมพันธ์ระหว่างการใช้เชื้ออะโซสไปริลัมไอโซเลตต่างๆกับอัตราปุ๋ยไนโตรเจน โดยเชื้ออะโซสไปริลัมไอโซเลต LB₈ มีผลทำให้ค่าความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือไอโซเลต LB₉ และ LB₅ มีความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบ 1.828, 1.745 และ 1.744 % ตามลำดับ อัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ 20 kg N/rai ให้ความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดเฉลี่ยสูงสุดที่ 2.115 % โดยตำรับการทดลองที่มีผลทำให้ความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดสูงสุดคือตำรับการทดลองที่ใช้ดินไม่อบฆ่าเชื้อ ร่วมกับเชื้ออะโซสไปริลัมไอโซเลต LB₈ กับปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 20 kg N/rai ทำให้มีความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพด 2.606 % พบว่าตำรับการทดลองที่ใช้เชื้ออะโซสไปริลัมไอโซเลตต่างๆเพียงอย่างเดียวทำให้ความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดสูงกว่าในตำรับการทดลองที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนที่ 5 และ 10 kg N/rai และยังพบว่ามีการลดลงของความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดในทุกตำรับการทดลองจากสัปดาห์ที่ 4 และ 5

ตารางที่ 17 ความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดที่อายุ 5 สัปดาห์ เมื่อใช้ดิน
อะโซสไปริลลัม และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน (%)

การอบดิน (S)	อะโซสไปริลลัม (A)	อัตราปุ๋ยไนโตรเจน (kg N/rai) (N)				เฉลี่ย (S)	เฉลี่ย (A)
		0	5	10	20		
ดินไม่อบฆ่าเชื้อ (S1)	Control	1.316	1.161	1.599	2.116		Control
	LB ₅	2.012	1.522	1.858	1.806		1.602d
	LB ₈	1.625	2.219	2.270	2.322	1.939	LB ₅
	LB ₉	2.115	2.115	1.909	3.147		1.857c-d
	LB ₁₀	1.832	1.471	1.574	2.786		LB ₈
ดินอบฆ่าเชื้อ (S2)	Control	1.238	1.238	1.496	2.657		2.351a
	LB ₅	1.729	1.522	1.677	2.734		LB ₉
	LB ₈	2.193	2.322	2.141	3.715	2.046	2.151a-b
	LB ₉	1.857	1.548	1.935	2.580		LB ₁₀
	LB ₁₀	2.167	1.522	2.193	2.451		1.999b-c
	เฉลี่ย (N)	1.808b	1.664b	1.865b	2.631a		
F-test	S ^{ns} , A [*] , N [*] , S×A ^{ns} , S×N ^{ns} , A×N ^{ns} , S×A×N ^{ns}						
CV (%)	30.320						

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 %

* หมายถึง แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่าง
กันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธีของ DMRT

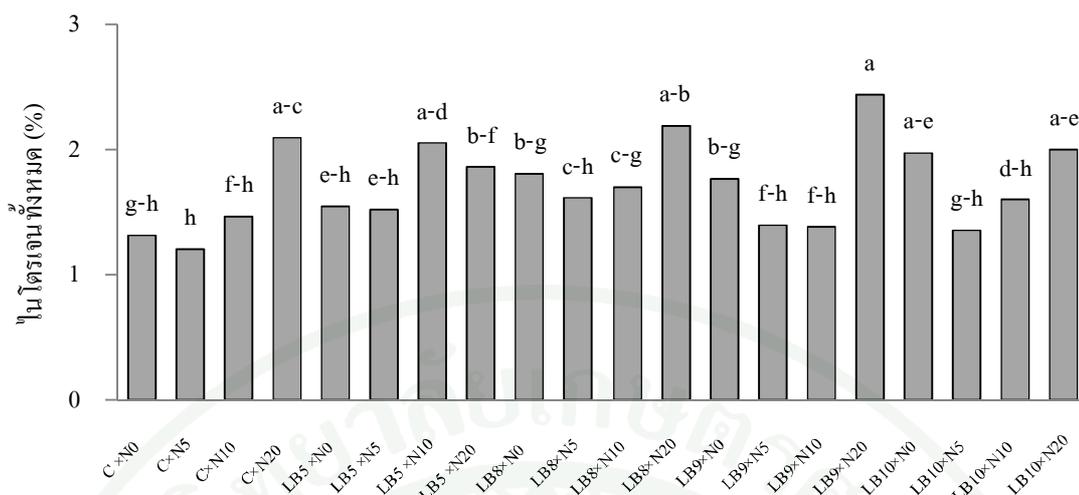
ตารางที่ 18 ความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์ เมื่อใช้ดินอะโซสไปริลลัม และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน (%)

การอบดิน (S)	อะโซสไปริลลัม (A)	อัตราปุ๋ยไนโตรเจน (kg N/rai) (N)				เฉลี่ย (S)	เฉลี่ย (A)
		0	5	10	20		
ดินไม่อบฆ่าเชื้อ (S1)	Control	1.496b-g	1.239f-g	1.548b-g	2.038a-f		Control
	LB ₅	1.548b-g	1.470b-g	1.497b-g	2.064a-f		1.520b
	LB ₈	1.806a-g	1.677b-g	1.651b-g	2.193a-d	1.703	LB ₅
	LB ₉	1.471b-g	1.238f-g	1.393c-g	2.606a		1.744a
	LB ₁₀	2.245a-c	1.316e-g	1.625b-g	1.935a-g		LB ₈
ดินอบฆ่าเชื้อ (S2)	Control	1.135g	1.174g	1.393c-g	2.141a-e		1.828a
	LB ₅	1.548b-g	1.574b-g	2.606a	1.651b-g		LB ₉
	LB ₈	1.806a-g	1.548b-g	1.755b-g	2.193a-d	1.725	1.745a
	LB ₉	2.064a-f	1.548b-g	1.368d-g	2.270a-b		LB ₁₀
	LB ₁₀	1.703b-g	1.393c-g	1.574b-g	2.064a-f		1.732a
	เฉลี่ย (N)	1.682b	1.418c	1.641b	2.115a		
F-test	S ^{ns} , A*, N*, S×A ^{ns} , S×N ^{ns} , A×N*, S×A×N*						
CV (%)			24.141				

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 %

* หมายถึง แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธีของ DMRT



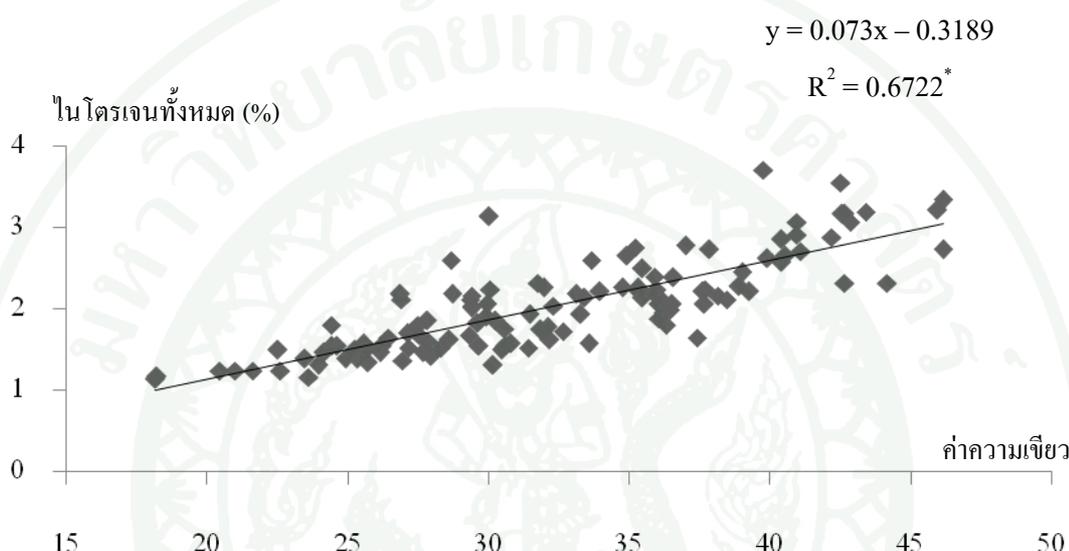
ภาพที่ 19 ความสัมพันธ์ของอะโซสไปริลลัม และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน ต่อความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์

2.2.3 ความสัมพันธ์ระหว่างเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดกับค่าความเขียวใบข้าวโพดที่อายุต่างๆ

จากภาพที่ 20 แสดงปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในใบข้าวโพดบนแกน y สัมพันธ์กับค่า SPAD หรือค่าความเขียวที่อ่านได้จากเครื่อง chlorophyll meter บนแกน x แนวโน้มของความสัมพันธ์เป็นเชิงบวก จากการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี regression พบว่าปริมาณไนโตรเจนในใบมีความสัมพันธ์เป็นเชิงเส้นตรง โดยสมการเชิงเส้นตรงมีค่า $y = 0.073x - 0.3189$, $r^2 = 0.6722^*$ แสดงว่ามีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญ

ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนในใบกับค่าที่อ่านได้จากเครื่อง chlorophyll meter ในใบข้าวโพด สอดคล้องกับผลการทดลองของ สุทธิญา (2553) ศึกษาค่าความเขียวของใบกับปริมาณไนโตรเจนในใบ พบว่าค่าความเขียวมีความสอดคล้องกันกับความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบที่อายุต่างๆ มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน ไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารมหัพภาคเป็นธาตุอาหารที่มีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโต ของพืช โดยทั่วไปเป็นธาตุอาหารตัวแรกที่จำกัดผลผลิตของพืช (ยงยุทธ, 2552) ไนโตรเจนมีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับคลอโรฟิลล์ในใบ สอดคล้องกับผลการทดลองของ Peterson *et al.* (1993) กล่าวว่า การสร้างคลอโรฟิลล์ขึ้นกับปริมาณธาตุไนโตรเจนที่มีอยู่ในพืชนั้นค่าความเข้มของสีเขียวที่วัดได้มีความสัมพันธ์เชิงเส้นกับค่า Weight base leaf N concentration ในทุกระยะการเจริญเติบโต Waskom *et al.* (1996) ศึกษาการใช้ chlorophyll meters ประเมินสถานะของไนโตรเจนอย่างรวดเร็ว

ในระหว่างการเจริญเติบโต เพื่อช่วยในการจัดการธาตุอาหารพืชให้แก่ข้าวโพดในเขตชลประทานอย่างมีประสิทธิภาพ พบว่า chlorophyll meters สามารถที่จะแยกการตอบสนองต่อไนโตรเจนได้ แต่จะพบว่ามีความแตกต่างของค่าความเขียวในใบที่หกของข้าวโพดพันธุ์ลูกผสม ช่วงเวลาที่เหมาะสมที่สุดในการวัดเพื่อการจัดการไนโตรเจน อยู่ในช่วง V10 และ VT ในการลดความแปรปรวนการวัดต้องใช้เทคนิคการสุ่มตัวอย่างระมัดระวังและใช้หน่วยทดลองประมาณ 30 ใบต่อพื้นที่เพื่อประเมินการตอบสนองของไนโตรเจนได้อย่างถูกต้อง



ภาพที่ 20 ความสัมพันธ์ระหว่างเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดกับค่าความเขียวใบข้าวโพดที่อายุต่างๆ

2.3 กิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสในดินและรากของข้าวโพด

การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสของเชื้ออะโซสไปริลัมในดินที่มีการปลูกข้าวโพด เก็บข้อมูลในสัปดาห์ที่ 6 หลังการปลูกข้าวโพด ซึ่งเป็นช่วงที่ข้าวโพดกำลังเจริญเติบโต และอยู่ในระยะสร้างช่อดอก เปรียบเทียบการกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสในดินและบริเวณรากของข้าวโพด ระหว่างการอบดินร่วมกับการใช้เชื้ออะโซสไปริลัมและอัตราปุ๋ยไนโตรเจน มีผลให้กิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสในดินที่ปลูกข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์ มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสในดินมีค่าอยู่ระหว่าง $0.14 - 0.56 \mu\text{mol C}_2\text{H}_4/100 \text{ g soil/hr}$ (ตารางที่ 19) และกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสของรากข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสในรากมีค่าอยู่ระหว่าง $0.29-0.62 \mu\text{mol C}_2\text{H}_4/100 \text{ g root/hr}$ (ตารางที่ 20)

เชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลตต่างๆมีผลทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสในดินที่ปลูกข้าวโพดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยได้รับการทดลองที่ใช้เชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลต LB₅ มีกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสในดินเฉลี่ยสูงที่สุด รองลงมาคือไอโซเลต LB₆ มีการกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสเท่ากับ 0.49 และ 0.46 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/100 \text{ g root/hr}$ ตามลำดับ เห็นได้ว่าคาร์บที่ใช้เชื้ออะโซสไปริลลัมมีผลให้ดินมีกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสมากกว่าคาร์บที่ไม่ใช้เชื้ออะโซสไปริลลัม สอดคล้องกับ Barber *et al.* (1976) ที่ศึกษาพบว่าข้าวโพดที่ปลูกโดยใช้เชื้ออะโซสไปริลลัม 16 สายพันธุ์จะมีปริมาณการตรึงไนโตรเจนมากกว่าการไม่ใช้เชื้อดังกล่าว คือมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 16 g N/ha/day ขณะที่การไม่ใช้เชื้ออะโซสไปริลลัมมีการตรึงไนโตรเจน 3 g N/ha/day การใช้เชื้ออะโซโตแบคทีเรียและเชื้ออะโซสไปริลลัมนั้นส่งผลให้มีการตรึงไนโตรเจนทั้งในดินและบริเวณรากพืชเพิ่มมากขึ้น จึงทำให้ดินมีปริมาณไนโตรเจนเพิ่มขึ้นตามไปด้วย (Shabaev, 1991) และสอดคล้องกับ ศิวาพร (2553) ศึกษาถึงการตรึงไนโตรเจนของเชื้ออะโซสไปริลลัมในดินที่ปลูกข้าวโพดหวานที่ 4 และ 8 สัปดาห์ พบว่าการตรึงไนโตรเจนของเชื้ออะโซสไปริลลัมมีค่าเท่ากับ 5.422 และ 5.454 $\text{mg/cm}^3/\text{hr}$ ตามลำดับ

สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสบริเวณรากข้าวโพด พบว่าเชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลต LB₆ มีกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสบริเวณรากข้าวโพดเฉลี่ยสูงที่สุด รองลงมาคือไอโซเลต LB₅ และ LB₈ มีกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนส 0.45, 0.44 และ 0.44 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/100 \text{ g root/hr}$ ตามลำดับ โดยได้รับการทดลองที่ใช้ดินไม่อบฆ่าเชื้อ พบว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสบริเวณรากสูงกว่าในการทดลองที่ใช้ดินอบฆ่าเชื้อ และการไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนทำให้มีกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสบริเวณรากเฉลี่ยสูงที่สุด รองลงมาคือได้รับการทดลองที่มีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 5 kg N/rai 0.44 และ 0.43 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/100 \text{ g root/hr}$ ตามลำดับ และพบว่าเมื่อมีปริมาณการปุ๋ยไนโตรเจนสูงขึ้นก็จะพบกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสในบริเวณรากข้าวโพดลดลง เพราะปริมาณไนโตรเจนในดินสูงจะทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสของจุลินทรีย์ลดลง (ธงชัย, 2550) พบว่าในรากมีปริมาณการตรึงไนโตรเจนสูงกว่าในดิน เนื่องจากเชื้ออะโซสไปริลลัมส่วนใหญ่อาศัยอยู่ใกล้ชิดกับรากข้าวโพด (Osmar *et al.*, 2004) จึงทำให้อัตราการตรึงไนโตรเจนในบริเวณรากสูงกว่าอัตราการตรึงไนโตรเจนในดิน และสอดคล้องกับ ศิวาพร (2553) พบว่าใช้เชื้ออะโซสไปริลลัมจะส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนบริเวณรากข้าวโพดหวานมากที่สุด มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนบริเวณรากสูงที่สุดในสัปดาห์ที่ 4 เท่ากับ 0.20 $\text{mg N/cm}^3/\text{hr}$ และสูงกว่าการใช้เชื้ออะโซโตแบคทีเรีย และพบการลดลงของการตรึงไนโตรเจนในบริเวณรากในสัปดาห์ที่ 8 การใช้เชื้ออะโซสไปริลลัมนั้นส่งผลให้

มีการตรึงไนโตรเจนทั้งในดินและบริเวณรากพืชเพิ่มมากขึ้น จึงทำให้ดินมีปริมาณไนโตรเจนเพิ่มขึ้นตามไปด้วย (Shabaev, 1991) ซึ่งไนโตรเจนที่เพิ่มขึ้นนี้พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ เช่นเดียวกับกับไนโตรเจนที่ได้จากปุ๋ยเคมี โดยไนโตรเจนที่ได้เพิ่มมานี้สามารถช่วยให้พืชเจริญเติบโตและมีผลผลิตเพิ่มมากขึ้นได้ ดังนั้นการใช้เชื้ออะโซสไปริลัมจึงสามารถช่วยลดการใช้ปุ๋ยเคมีในโตรเจนลงได้ (ธงชัย, 2550; Osmar *et al.*, 2004) สอดคล้องกับ Osmar *et al.* (2004) ที่รายงานว่า การใช้เชื้ออะโซสไปริลัมสามารถช่วยลดการใช้ปุ๋ยเคมีได้ 40 %

ตารางที่ 19 กิจกรรมของเอนไซม์ในโตรเจนในดินที่ปลูกข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์ เมื่อใช้ดินอะโซสไปริลัม และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน ($\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/100 \text{ g soil/hr}$)

การอบดิน (S)	อะโซสไปริลัม (A)	อัตราปุ๋ยไนโตรเจน (kg N/rai) (N)				เฉลี่ย (S)	เฉลี่ย (A)
		0	5	10	20		
ดินไม่อบฆ่าเชื้อ (S1)	Control	0.15	0.14	0.27	0.33		Control
	LB ₅	0.55	0.48	0.42	0.39		0.32c
	LB ₈	0.56	0.56	0.30	0.36	0.37	LB ₅
	LB ₉	0.45	0.49	0.20	0.50		0.49a
	LB ₁₀	0.28	0.31	0.31	0.40		LB ₈
ดินอบฆ่าเชื้อ (S2)	Control	0.48	0.50	0.49	0.35		0.46a-b
	LB ₅	0.51	0.53	0.51	0.57		LB ₉
	LB ₈	0.55	0.52	0.47	0.38	0.44	0.37b-c
	LB ₉	0.40	0.25	0.21	0.44		LB ₁₀
	LB ₁₀	0.40	0.42	0.35	0.40		0.36b-c
	เฉลี่ย (N)	0.43	0.42	0.35	0.41		
F-test	S ^{ns} , A [*] , N ^{ns} , S×A ^{ns} , S×N ^{ns} , A×N ^{ns} , S×A×N ^{ns}						
CV (%)	23.36						

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 %

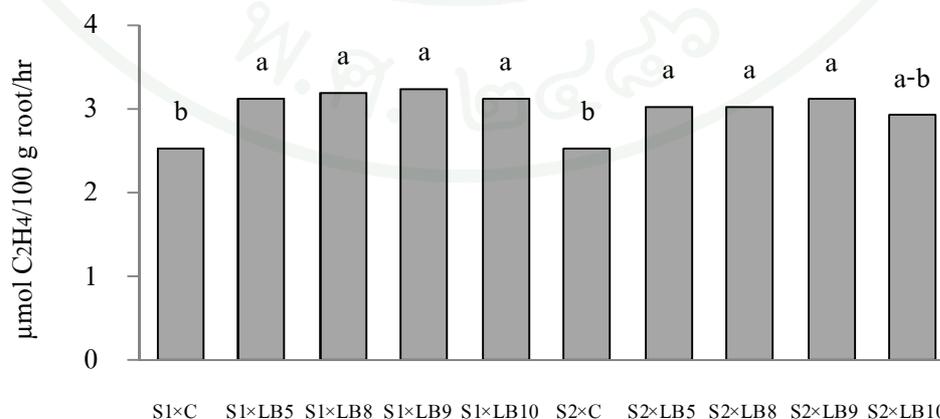
* หมายถึง แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธีของ DMRT

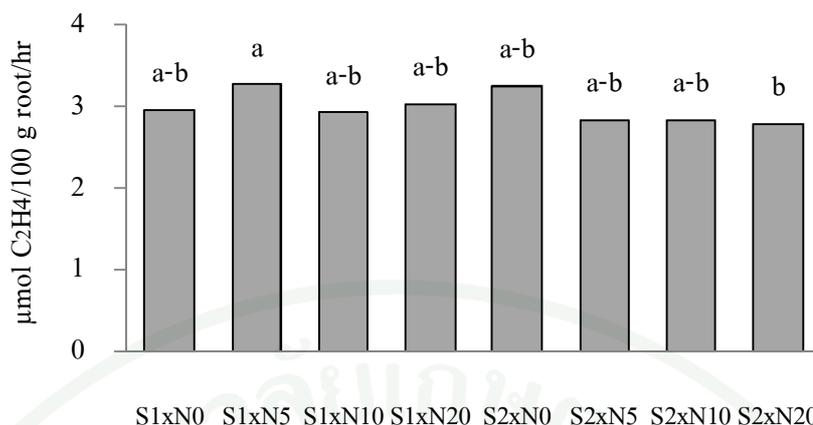
ตารางที่ 20 กิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสในรากข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์ เมื่อใช้ดิน
อะโซสไปริลลัม และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน ($\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/100 \text{ g root/hr}$)

การอบดิน (S)	อะโซสไปริลลัม (A)	อัตราปุ๋ยไนโตรเจน (kg N/rai) (N)				เฉลี่ย (S)	เฉลี่ย (A)
		0	5	10	20		
ดินไม่อบฆ่าเชื้อ (S1)	Control	0.29t	0.36r	0.41l-m	0.38n-o		Control
	LB ₅	0.41l-m	0.45j	0.45j	0.48g		0.36d
	LB ₈	0.51d-e	0.48g	0.41l-m	0.43k	0.43a	LB ₅
	LB ₉	0.34s	0.62a	0.37p-q	0.51c-d		0.44b
	LB ₁₀	0.56b	0.42k-l	0.45j	0.36r		LB ₈
ดินอบฆ่าเชื้อ (S2)	Control	0.34s	0.37p	0.35s	0.38o-p		0.44b
	LB ₅	0.50e	0.45j	0.38o-p	0.40m		LB ₉
	LB ₈	0.46i	0.42k-l	0.49f	0.35r	0.40b	0.45a
	LB ₉	0.52l-c	0.36q-r	0.42k-l	0.47h		LB ₁₀
	LB ₁₀	0.49f	0.42k-l	0.39n	0.38n-8		0.43c
	เฉลี่ย (N)	0.44a	0.43b	0.41c	0.41c		
F-test	S*, A*, N*, S×A*, S×N*, A×N*, S×A×N*						
CV (%)	17.72						

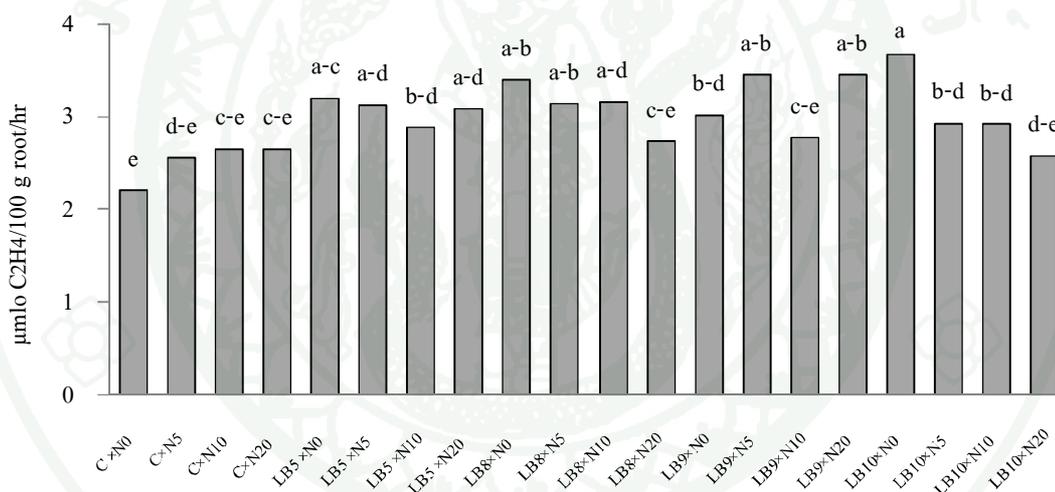
หมายเหตุ * หมายถึง แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความ
แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธีของ DMRT



ภาพที่ 21 ความสัมพันธ์ของดิน และอะโซสไปริลลัม ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสในราก
ข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์



ภาพที่ 22 ความสัมพันธ์ของดิน และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจิเนสในรากข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์



ภาพที่ 23 ความสัมพันธ์ของอะซิโอสไพริลลิ้ม และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจิเนสในรากข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์

2.4 ปริมาณธาตุอาหารหลักในข้าวโพด

ในการศึกษาปริมาณธาตุอาหารหลักในข้าวโพดซึ่งประกอบด้วย ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสทั้งหมด และโพแทสเซียมทั้งหมดที่มีในข้าวโพดโดยใช้การอบดินร่วมกับเชื้ออะซิโอสไพริลลิ้มไอโซเลตต่างๆและอัตราปุ๋ยไนโตรเจนไม่มีผลทำให้ปริมาณธาตุอาหารหลักในข้าวโพดแตกต่างกันทางสถิติ

ปริมาณไนโตรเจนที่มีทั้งหมดในข้าวโพด (ตารางที่ 21) พบว่าเชื้ออะโซสไปริลัม ไอโซเลต LB₉ มีผลทำให้ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือไอโซเลต LB₁₀ มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพด 1.247 และ 1.174 % ตามลำดับ โดยอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่มีผลให้ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพดสูงสุดคือ อัตราปุ๋ยไนโตรเจน 20 kg N/rai และไม่พบความแตกต่างในค่ารับการทดลองที่มีอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่ำกว่า พบว่าในค่ารับการทดลองที่ได้เชื้ออะโซสไปริลัมไอโซเลตต่างๆมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพดสูงกว่าค่ารับที่ไม่ได้เชื้ออะโซสไปริลัมทั้งที่มีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตราเดียวกัน และยังพบว่าค่ารับการทดลองที่ได้เชื้ออะโซสไปริลัมในไอโซเลตต่างๆเพียงอย่างเดียวทำให้มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพดใกล้เคียงกับค่ารับการทดลองที่มีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตรา 5 และ 10 kg N/rai

ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในข้าวโพด (ตารางที่ 22) พบว่าเชื้ออะโซสไปริลัม ไอโซเลต LB₉ มีผลทำให้ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือไอโซเลต LB₈ มีปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในข้าวโพด 0.185 และ 0.170 % ตามลำดับ โดยอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่มีผลให้ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในข้าวโพดสูงสุดคือ ค่ารับการทดลองที่ไม่มีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และไม่พบความแตกต่างในค่ารับการทดลองที่มีอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่สูงกว่า และปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมดในข้าวโพด (ตารางที่ 23) ค่ารับการทดลองที่ใช้ดินอบฆ่าเชื้อมีผลให้ปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมดในข้าวโพดสูงกว่าในค่ารับการทดลองที่ใช้ดินไม่อบฆ่าเชื้อและเชื้ออะโซสไปริลัมไอโซเลต LB₉ ทำให้มีปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมดเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือไอโซเลต LB₈ มีปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมด 2.503 และ 2.460 % ตามลำดับ และโดยอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่มีผลให้ปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมดในข้าวโพดสูงสุดคือ ค่ารับการทดลองที่ไม่มีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และพบการลดลงของโพแทสเซียมทั้งหมดในค่ารับการทดลองที่มีอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่สูงขึ้น

ปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมทั้งหมดในพืชชี้ให้เห็นถึงการดูดใช้ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ที่มีอยู่ในดิน (Prasad and Power, 1997) ถ้าพืชดูดใช้ธาตุอาหารได้มากแสดงว่าดินมีปริมาณธาตุอาหารมากด้วย ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าค่ารับการทดลองที่มีใช้เชื้ออะโซสไปริลัม มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเทียบเท่ากับการใช้ปุ๋ยเคมีอัตรา 10 kg N/rai (ตารางที่ 21) เนื่องจากเชื้ออะโซสไปริลัมสามารถตรึงไนโตรเจนจึงสามารถเพิ่มไนโตรเจนให้แก่ดินได้ และสอดคล้องกับผลการทดลองของ Maria *et al.* (2002) รายงานว่าการใส่เชื้อ *A. brasilense* ทำให้ข้าวสาลี มีมวลชีวภาพ ผลผลิต และความเข้มข้นของไนโตรเจนสูงกว่าการไม่ได้เชื้อ และยังส่งเสริมการดูดใช้ไนโตรเจนของราก (Shabaev, 1991) ซึ่งส่งผลให้พืชมีปริมาณ

ไนโตรเจนเพิ่มมากขึ้น Pandey *et al.* (1998) พบว่า การปลูกข้าวโพดร่วมกับเชื้ออะโซโตแบคทีเรีย และอะโซสไปริลลัมทำให้ข้าวโพดมีปริมาณไนโตรเจนเท่ากับ 33.68 และ 16.98 g/cm³ ตามลำดับ สูงกว่าการไม่ใช้เชื้ออะโซโตแบคทีเรียและอะโซสไปริลลัมที่มีปริมาณไนโตรเจนในข้าวโพดเพียง 15.86 g/cm³

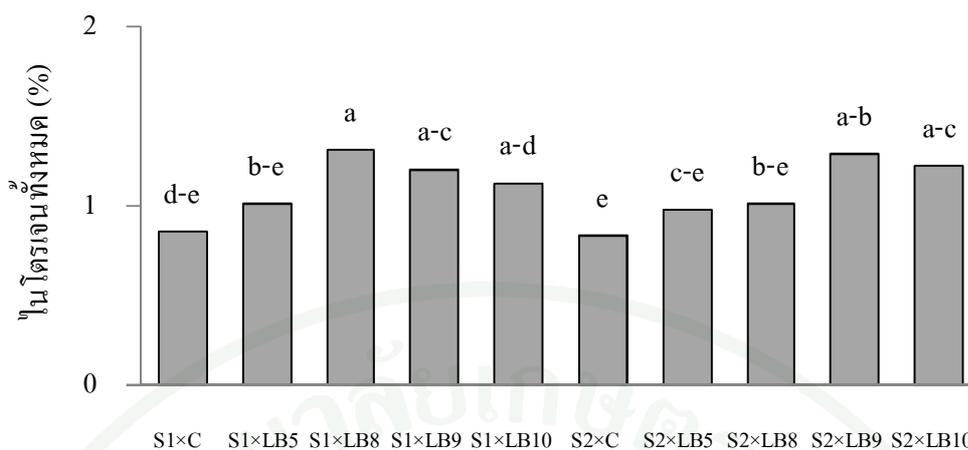
ตารางที่ 21 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์เมื่อใช้ดิน อะโซสไปริลลัม และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน (%)

การอบดิน (S)	อะโซสไปริลลัม (A)	อัตราปุ๋ยไนโตรเจน (kg N/rai) (N)				เฉลี่ย (S)	เฉลี่ย (A)
		0	5	10	20		
ดินไม่อบฆ่าเชื้อ (S1)	Control	0.860	0.765	0.825	0.980		Control
	LB ₅	0.971	0.860	0.912	1.307		0846c
	LB ₈	1.135	1.032	1.462	1.599	1.101	LB ₅
	LB ₉	1.135	0.946	0.929	1.806		0.994b
	LB ₁₀	1.531	0.963	0.929	1.083		LB ₈
ดินอบฆ่าเชื้อ (S2)	Control	0.757	0.722	0.826	1.032		1.161a
	LB ₅	0.774	0.894	0.929	1.307		LB ₉
	LB ₈	0.980	0.894	1.084	1.101	1.067	1.247a
	LB ₉	1.049	1.187	1.324	1.599		LB ₁₀
	LB ₁₀	1.101	0.894	1.169	1.720		1.174a
	เฉลี่ย (N)	1.029b	0.916b	1.039b	1.353a		
F-test	S ^{ns} , A*, N*, S×A*, S×N ^{ns} , A×N ^{ns} , S×A×N ^{ns}						
CV (%)			31.099				

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 %

* หมายถึง แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธีของ DMRT



ภาพที่ 24 ความสัมพันธ์ของดิน และอะโซสไปริลัม ต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์

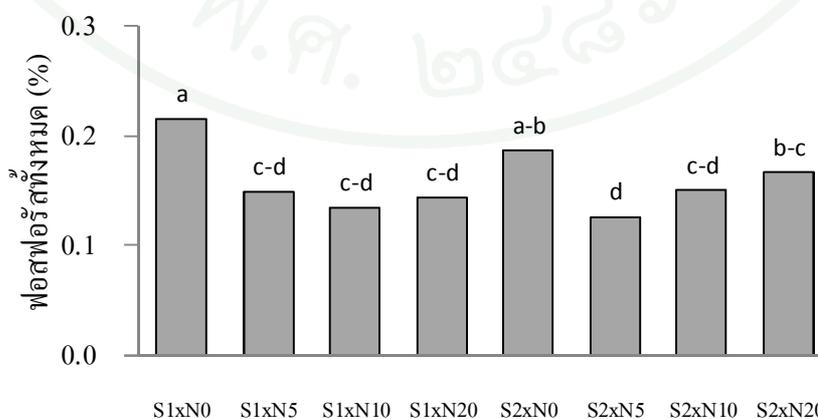
ตารางที่ 22 ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์เมื่อใช้ดิน อะโซสไปริลัม และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน (%)

การอบดิน (S)	อะโซสไปริลัม (A)	อัตราปุ๋ยไนโตรเจน (kg N/rai) (N)				เฉลี่ย (S)	เฉลี่ย (A)
		0	5	10	20		
ดินไม่อบฆ่าเชื้อ (S1)	Control	0.080	0.130	0.090	0.093		Control
	LB ₅	0.207	0.140	0.137	0.157		0.109c
	LB ₈	0.243	0.163	0.153	0.150	0.155	LB ₅
	LB ₉	0.220	0.160	0.143	0.203		0.159b-c
	LB ₁₀	0.223	0.153	0.147	0.113		LB ₈
ดินอบฆ่าเชื้อ (S2)	Control	0.110	0.10	0.141	0.137		0.170a-b
	LB ₅	0.187	0.187	0.120	0.140		LB ₉
	LB ₈	0.193	0.140	0.147	0.167	0.158	0.185a
	LB ₉	0.177	0.180	0.190	0.207		LB ₁₀
	LB ₁₀	0.183	0.143	0.157	0.173		0.162a-b
	เฉลี่ย (N)	0.190a	0.158b	0.142b	0.155b		
F-test	S ^{ns} , A*, N*, S×A ^{ns} , S×N*, A×N ^{ns} , S×A×N ^{ns}						
CV (%)	32.780						

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 %

* หมายถึง แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธีของ DMRT



ภาพที่ 25 ความสัมพันธ์ของดิน และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน ต่อปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดในข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์

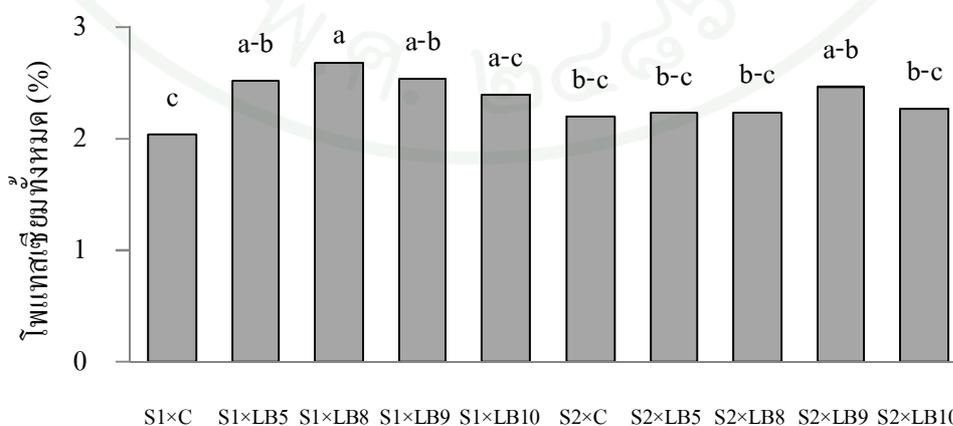
ตารางที่ 23 ปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมดในข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์เมื่อใช้ดิน อะโซสปิริลลัม และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน (%)

การอบดิน (S)	อะโซสปิริลลัม (A)	อัตราปุ๋ยไนโตรเจน (kg N/rai) (N)				เฉลี่ย (S)	เฉลี่ย (A)
		0	5	10	20		
ดินไม่อบฆ่าเชื้อ (S1)	Control	1.907	1.977	1.770	1.700		Control
	LB ₅	2.943	2.243	2.257	2.633		1.878b
	LB ₈	2.950	2.753	2.640	2.380	2.409a	LB ₅
	LB ₉	3.087	2.567	2.367	2.133		2.373a
	LB ₁₀	2.593	2.930	2.080	2.267		LB ₈
ดินอบฆ่าเชื้อ (S2)	Control	1.967	1.900	1.897	1.913		2.460a
	LB ₅	2.600	2.007	2.257	2.043		LB ₉
	LB ₈	2.733	2.023	2.133	2.070	2.305b	2.503a
	LB ₉	2.617	2.403	2.317	2.537		LB ₁₀
	LB ₁₀	2.843	1.907	2.230	2.080		2.366a
	เฉลี่ย (N)	2.624a	2.271b	2.194b-c	2.175c		
F-test	S*, A*, N*, S×A*, S×N*, A×N ^{ns} , S×A×N ^{ns}						
CV (%)	18.641						

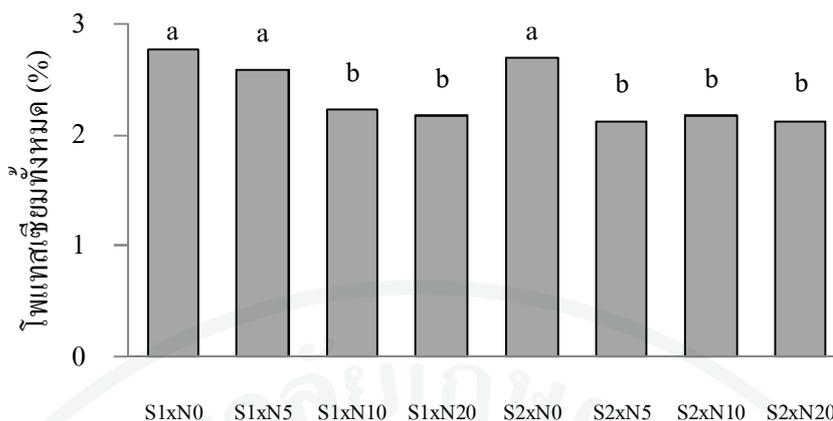
หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 %

* หมายถึง แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ค่าเฉลี่ยที่ตามหลังด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธีของ DMRT



ภาพที่ 26 ความสัมพันธ์ของดิน และอะโซสปิริลลัม ต่อปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมดในข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์



ภาพที่ 27 ความสัมพันธ์ของดิน และอัตราปุ๋ยในโตรเจนที่ต่างกัน ต่อปริมาณ โปแตสเซียมทั้งหมด ในข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์

2.5 ปริมาณไนโตรเจนในดินหลังการปลูกข้าวโพด

หลังจากการเก็บเกี่ยวข้าวโพดแล้วได้เก็บตัวอย่างดินมาวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินหลังการปลูก โดยปริมาณไนโตรเจนในดินหลังการปลูกไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 24) และไม่พบปฏิสัมพันธ์ระหว่างการใช้เชื้ออะโซสไปริลลัม ไอโซเลตต่างๆกับการอบดิน และการใช้เชื้ออะโซสไปริลลัม ไอโซเลตต่างๆกับอัตราปุ๋ยไนโตรเจนด้วย โดยมีปริมาณไนโตรเจนในดินหลังปลูกอยู่ในช่วง 0.020 – 0.030 % ซึ่งอาจเนื่องมาจากปริมาณไนโตรเจนที่ได้รับจากการตรึงไนโตรเจนโดยเชื้ออะโซสไปริลลัม และไนโตรเจนจากปุ๋ย ถูกนำไปใช้ในการเจริญเติบโตของข้าวโพด ทำให้ปริมาณไนโตรเจนในดินหลังปลูกไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ ธงชัยและคณะ (2553) ที่ทำการศึกษผลของการใช้ถั่วพุ่ม อะโซโตแบคเตอร์และอะโซสไปริลลัม และจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตกับสมบัติของดินและการเจริญเติบโตของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2 ในชุดดินกำแพงแสน ซึ่งพบว่าปริมาณไนโตรเจนในดินหลังการปลูกไม่มีความแตกต่างทางสถิติเช่นกัน และ ศิวาพร (2553) พบว่าปริมาณของไนโตรเจนทั้งหมด ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโปแตสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินหลังการปลูกข้าวโพดหวานไม่มีความแตกต่างทางสถิติ และพบว่าตำรับที่มีการใช้เชื้ออะโซโตแบคเตอร์ ใช้เชื้ออะโซสไปริลลัม ใช้ถั่วเขียวและถั่วเหลืองเป็นปุ๋ยพืชสดก็ยังมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินมากกว่าตำรับที่มีการใส่ปุ๋ยเคมีและการไม่ใส่ปุ๋ยและเชื้อจุลินทรีย์

ตารางที่ 24 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินหลังการปลูกข้าวโพดที่อายุ 6 สัปดาห์เมื่อใช้ดิน
อะโซสไปริลลัม และอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ต่างกัน (%)

การอบดิน (S)	อะโซสไปริลลัม (A)	อัตราปุ๋ยไนโตรเจน (kg N/rai) (N)				เฉลี่ย (S)	เฉลี่ย (A)
		0	5	10	20		
ดินไม่อบฆ่าเชื้อ (S1)	Control	0.020	0.025	0.023	0.024		Control
	LB ₅	0.023	0.020	0.023	0.024		0.023
	LB ₈	0.023	0.023	0.023	0.025	0.023	LB ₅
	LB ₉	0.025	0.025	0.023	0.022		0.022
	LB ₁₀	0.023	0.030	0.028	0.023		LB ₈
ดินอบฆ่าเชื้อ (S2)	Control	0.020	0.028	0.020	0.025		0.023
	LB ₅	0.020	0.023	0.023	0.023		LB ₉
	LB ₈	0.022	0.025	0.027	0.020	0.023	0.024
	LB ₉	0.023	0.025	0.020	0.028		LB ₁₀
	LB ₁₀	0.023	0.025	0.023	0.020		0.024
	เฉลี่ย (N)	0.022	0.025	0.023	0.023		
F-test	S ^{ns} , A ^{ns} , N ^{ns} , S×A ^{ns} , S×N ^{ns} , A×N ^{ns} , S×A×N ^{ns}						
CV (%)	14.812						

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 %

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. อะโซสไปริลลัมแต่ละไอโซเลตมีความสามารถตรึงไนโตรเจน สร้างออกซิน และละลายฟอสเฟตในอาหารเหลวได้แตกต่างกัน ไอโซเลตที่มีความสามารถสูงในการตรึงไนโตรเจน 5 ไอโซเลต ได้แก่ LB₁₀, LB₅, LB₈, LB₉ และ LB₃ ซึ่งสามารถตรึงไนโตรเจนได้ 2.64, 2.64, 2.37, 2.37 และ 2.24 mg N/1 ตามลำดับ ไอโซเลตที่มีกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสโคเด้น ได้แก่ LB₁₀, LB₈, LB₉, LB₂ และ S₂ ซึ่งมีกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนส 100.24, 92.91, 92.80, 92.01 และ 91.35 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/100 \text{ ml/hr}$ ตามลำดับ ไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพในการสร้างออกซิน 5 ไอโซเลตแรก ได้แก่ S₂₃, S₂, LB₅, LB₇ และ LB₁₀ ซึ่งสามารถสร้างออกซินได้ 53.57, 51.89, 46.93, 46.59 และ 46.18 $\mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ ส่วนไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตในอาหารเหลว ได้แก่ LB₇, LB₉, S₄₂, LB₆ และ LB₈ ซึ่งสามารถละลายฟอสเฟตได้ 284.37, 274.37, 266.87, 264.37 และ 262.50 mg P/1 ตามลำดับ และยังพบอีกว่าการละลายฟอสเฟตจะเพิ่มสูงขึ้นและสูงที่สุดที่ 32 ชั่วโมง ในตำรับที่มีเชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลต LB₇ มีปริมาณการละลายฟอสเฟตสูงที่สุดที่ 284.37 mg P/1 หลังจากนั้นการละลายจะลดลง

2. การอบดินร่วมกับการใช้เชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลตต่างๆ และอัตราปุ๋ยในโตรเจนทำให้ความสูงของข้าวโพดไม่มีความแตกต่างกันในสัปดาห์ที่ 2 แต่พบว่ามี ความแตกต่างทางสถิติในสัปดาห์ที่ 4 และ 6 การใช้เชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลต LB₅ และ LB₁₀ ร่วมกับอัตราปุ๋ยในโตรเจนที่ 5 kg N/rai มีแนวโน้มที่จะมีความสูงมากกว่าตำรับที่ได้รับอัตราปุ๋ยในโตรเจนในอัตราที่สูงกว่า โดยมวลสดของรากและส่วนเหนือดินไม่มีความแตกต่างกัน และทำให้มวลแห้งของรากข้าวโพดไม่มีความแตกต่างกัน พบปฏิสัมพันธ์ระหว่างการใช้เชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลตต่างๆกับอัตราปุ๋ยในโตรเจน แต่มีผลให้มวลแห้งของส่วนเหนือดินของข้าวโพดซึ่งประกอบด้วย ต้น และ ใบ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ พบว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดกับค่าความเขียวของใบข้าวโพดที่อายุต่างๆ กิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสในดินไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่กิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสบริเวณรากข้าวโพดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การใช้เชื้ออะโซสไปริลลัมนั้นส่งผลให้มีกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสทั้งในดินและบริเวณรากพืชเพิ่มมากขึ้น

ปริมาณธาตุอาหารหลักในข้าวโพดประกอบด้วย ปริมาณไนโตรเจน ทั้งหมด ฟอสฟอรัส ทั้งหมด และโพแทสเซียมทั้งหมดไม่มีความแตกต่างกัน แต่การใส่เชื้ออะโซสไปริลัมไอโซเลต ต่างๆทำให้มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพดสูงกว่าตำรับที่ไม่ใส่เชื้ออะโซสไปริลัมทั้งที่มี การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตราเดียวกัน และยังพบว่าตำรับการทดลองที่ใส่เชื้ออะโซสไปริลัมใน ไอโซเลตต่างๆเพียงอย่างเดียวทำให้มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพดใกล้เคียงกับตำรับการ ทดลองที่มีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตรา 10 kg N/rai และปริมาณไนโตรเจนในดินหลังการปลูกไม่ มีความแตกต่างทางสถิติ

ข้อเสนอแนะ

ควรจะศึกษาการละลายฟอสเฟตของเชื้ออะโซสไปริลัมโดยการให้หินฟอสเฟตเป็นแหล่ง ของฟอสฟอรัสในดิน และยังไม่ได้ทำการศึกษาทดลองในระดับแปลงปลูกจริง

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2553. ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์. แหล่งที่มา :

http://www.doae.go.th/library/html/2549/0709/Corn_Maize/P1.htm, 2 พฤษภาคม 2553.

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2553. ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์. แหล่งที่มา :

<http://www.doae.go.th/plant/corn1.htm>, 6 พฤษภาคม 2553.

กัญญา ม่วงแก้ว. 2544. การปรับปรุงคุณภาพปุ๋ยหมักโดยเชื้อจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายเซลลูโลสและตรึงไนโตรเจน. บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2548. ปฐพีวิทยาเบื้องต้น. พิมพ์ครั้งที่ 10. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

คณาจารย์ภาควิชาพืชไร่. 2542. พืชเศรษฐกิจ. ภาควิชาพืชไร่ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เฉลิมชาติ วงศ์เลิศเจริญ. 2547. ประสิทธิภาพของการใช้น้ำเสียจากฟาร์มเลี้ยงสุกรเป็นปุ๋ยสำหรับข้าวโพดที่ปลูกบนดินร่วนปนทราย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ทัศนีย์ อัดตะนันท์ และ จงรัช จันทรเจริญสุข. 2542. แบบฝึกหัดและคู่มือปฏิบัติการวิเคราะห์ดินและพืช. ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ธงชัย มาลา. 2550. ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ: เทคนิคการผลิตและการใช้ประโยชน์. พิมพ์ครั้งที่ 1. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 300 น.

ธงชัย มาลา, สิริรักษา ช่วงโสภาส, วันทนีย์ พิงแสง, อรุณี คงสอน, จิรวัดน์ พุ่มเพชร และ สุขุม โชติช่วงมณีรัตน์. 2553. ผลของการใช้ถั่วพุ่ม อะโซโตแบคทีเรีย อะโซสไปริลลัม และจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตที่มีต่อสมบัติบางประการของดินและการเจริญเติบโตของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรีย์ 2 ในชุดดินกำแพงแสน. การประชุมเชิงปฏิบัติการโครงการวิจัยแม่บทข้าวโพดและข้าวฟ่าง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 4. 181-203 น.

นิจกาล การอำนวยการ. 2550. การศึกษาความหลากหลายและประสิทธิภาพของเชื้อ *Bacillus* sp. ในการ
ละลายฟอสเฟตอินทรีย์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,
กรุงเทพฯ.

พิกุล ธรรมานิมิตกุล และดารารัตน์ โฮตาค้า. 2550. การคัดเลือกจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนแบบอิสระ
(อะไซโตแบคเตอร์) จากดินที่มีประสิทธิภาพสูงเพื่อลดการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนและเพิ่ม
ผลผลิตทางการเกษตร. กรมพัฒนาที่ดิน. 29 น.

พิมพ์ธิดา เรืองไพศาล, จวีวรรณ เหลืองวุฒิวโรจน์ และดารารัตน์ โฮตาค้า. 2550. การพัฒนา
ผลิตภัณฑ์เชื้อจุลินทรีย์ที่สร้างฮอโมนเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช กรมพัฒนา
ที่ดิน. 33 น.

มุกดา สุขสวัสดิ์. 2544. ความอุดมสมบูรณ์ของดิน. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

ขงยุทธ โอสภสภา. 2552. ธาตุอาหารพืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
529 น.

ราชนทร์ ธีรพร. 2539. ข้าวโพด. ภาควิชาพืชไร่นา สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,
กรุงเทพฯ. 274 น.

ศิวาพร ทูปคันโท. 2553. การตรึงไนโตรเจนของจุลินทรีย์อิสระในดินในระบบการปลูกข้าวโพด
แบบไม่ไถพรวน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ

ศุภยงค์ วรวุฒิกุลชัย. 2547. การพิสูจน์เอกลักษณ์ของแบคทีเรียกรัมบวกและกรัมลบ. สำนักพิมพ์
แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. 203 น.

สมศักดิ์ วั่งไฉ. 2541. การตรึงไนโตรเจน : ไโรโซเบียม – พืชตระกูลถั่ว. สำนักพิมพ์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ศุขัญญา เจริญเส็ง. 2553. ความแม่นยำของคำแนะนำปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดินที่มีผลต่อผลผลิต
 อ้อยและความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเขียวใบกับปริมาณไนโตรเจนในใบของอ้อยปลูก
 ในชุดดินกำแพงเพชร. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อรุณี คงสอน. 2553. การศึกษาประสิทธิภาพของอาหารที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเชื้อ *Azospirillum*
brasilense และ *A. lipoferum*. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,
 กรุงเทพฯ.

Akbari, A. G., S. M. Arab, H. A. Alikhani, I. Allahdadi and M.H. Arzanesh. 2007. Isolation and
 selection of indigenous *Azospirillum* spp. and the IAA of superior strains effects on
 wheat roots. **World J. Agri. Sci.** 3: 523-529.

Albrecht, S. L., Y. Okon, L. Lonquist, and R. H. Burris. 1981. Nitrogen fixation by corn-
Azospirillum association in a temperate climate. **Crop Sci.** 21: 301-306.

Biari A., A. Glolami and H. Ruhmani. 2008. Growth promoting and enhanced nutrient up take
 of maize (*Zea mays* L.) by application of plant growth promoting rhizobacteria in arid
 region of Iran. **Biol. Sci.** 8: 1015-1020.

Baldani, V. L. D., J. I. Baldani and J. Dobereiner. 1987. Inoculation of field-grown wheat
 (*Triticum aestivum*) with *Azospirillum* spp. in Brazil. **Biol. Fertil. Soils** 4: 37-40.

Barber L. E., J. D., Tjepkema, S. A. Russell and H. J. Evans. 1976. Acetylene reduction
 (nitrogen fixation) associated with corn inoculated with *Spirillum*. **Appl. Environ.**
Microbiol. 3: 108-113.

Bergersen, F. J. 1970. The quantitative relationship between nitrogen fixation and the acetylene-
 reduction assay. **Biol. Sci.** 23: 1015-1025.

Bottini, R., M. Fulchieri, D. Pearce and R. P. Pharis. 1989. Identification of gibberellins A1,
 A3 and iso-A3 in culture of *Azospirillum lipoferum*. **Plant Physiol.** 89: 1-3.

- Brady, N.C. and R.R. Weil. 2002. **The Nature and Properties of Soils**. 13rd ed. Pearson Education, Inc., New Jersey.
- Brenner, D. J. and J. T. Staley. 2005. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. Springer. Vol. 2. 1390 p.
- Burns, R. C. and R. W. F. Hardy. 1975. Nitrogen Fixation in Bacteria and Higher Plants. Berlin:Springer-Verlag.
- Crozier A, P. Arruda, J.M. Jasmim, A.M. Moteiro, G. Sandberg , 1988, Analysis of indole-3-acetic acid and related indoles in culture medium from *Azospirillum lipoferum* and *Azospirillum brasilense*. **Appl. Environ. Microbiol.** 54: 2833-2837
- Curtis, O. F. and D. G. Clark. 1950. **An Introduction to Plant Physiology**. 1st ed. McGraw-Hill Book Co. Inc., New York.
- Dobereiner, J., I. E. Marriel and M. Nery. 1976. Ecological distribution of *Spirillum lipoferum* Beijerinck. **Can. J. Microbiol.** 22: 1464-1473.
- El-Khawas, H. and K. Adachi. 1999. Identification and quantification of auxins in culture media of *Azospirillum* and *Klebsiella* and their effect on rice roots. **Biol. Fertil. Soils** 28: 377-381.
- El-Komy, H. M. A. 2005. Coimmobilization of *Azospirillum lipoferum* and *Bacillus megaterium* for successful phosphorus and nitrogen nutrition of wheat plants. **Food Technol. Biotechnol.** 43: 19-27.
- Enrique, A. R. C. 1982. Improved Medium for Isolation of *Azospirillum* spp. **Appl. Environ. Microbiol.** 44: 990-991.

- Fallik, E., S. Sarig and Y. Okon. 1994. Morphology and physiology of plant roots associated with *Azospirillum*. In *Azospirillum/Plant Associations*. ed. Y. Okon, pp. 77-86. CRC Press: Boca Raton, FL.
- Fageria, N. K., V. C. Baligar, C.A. Jones. 1997. **Growth and Mineral Nutrition of Field Crops**. Marcel Dekker, Inc. Madison Avenue, New York.
- Fernando, L. W. R., P. D. Quadros, F. A. O. Camargo and E. W. Triplett. 2007. Screening of diazotrophic bacteria *Azospirillum* spp. for nitrogen fixation and auxin production in multiple field sites in southern Brazil. **J. Microbiol. Biotechnol.** 23: 1377–1383.
- Fulchieri, M and L. Frion. 1994. *Azospirillum UA4* inoculation on maize (*Zea mays*): effect on yield in a field experiment in central Argentina. **Soil Biol. Biochem.** 26: 921-923
- Germida, J. J. 1986. Population dynamics of *Azospirillum brasilense* and its bacteriophage in soil. **Plant and Soil** 90: 117-128.
- Giller, K. E., and Wilson, K. F. 1991. **Nitrogen Fixation in Tropical Cropping Systems**. UK: CAB international.
- Glick, B. R., C. L. Patten, G. Holguin and D.m. Penrose. 1999. **Biochemical and Genetic Mechanisms Used by Plant Growth Promoting Bacteria**. Imperial College Press. Waterloo, Ontario, Canada.
- Hardy, R. W. F., R. S. Holsten, E. K. Johnson and R. C. Burns. 1968. The acetylene-ethylene assay for N_2 fixation laboratory and field evaluation. **Plant Physiol.** 43: 1185-1270.
- Hardy, R. W. F., R. C. Burns and R. S. Holsten. 1973. Application of acetylene-ethylene assay for measurement of nitrogen fixation. **Soil Biol. Biochem.** 5: 47-48.

- Harris, J. M., J. A. Lucas, M. R. Davey, G. Lethbridge and K. A. Powel. 1989. Establishment of *Azospirillum* inoculant in the rhizosphere of winter wheat. **Soil Biol. Biochem.** 21: 59-64.
- Hoef, R.G. 1992. Maize (*Zea mays* L.), 55-64. In D.J. Halliday and M.E. Trenkel, eds. **IFA World Fertilizer Use Manure**. International Fertilizer Industry Association, Paris
- Jackson, M. L. 1965. **Soil Chemical Analysis -Advanced Course**. Department of Soils, University of Wisconsin.
- Jame, T. S., Chairman, D. R. Boone, V. Chairman, D. J. Brenner, R. W. Castenholz, G. M. Garrity, M. Goodfellow, N. R. Krieg, F. A. Rainey and K. Schleifer. 2001. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. Springer. Vol. 1. 721 p.
- Karadeniz S.F. Topcuog and S. Inan, 2006, Auxin, gibberellin, cytokinin and abscisic acid production in some bacteria. **World J. Microbiol. Biotechnol.** 22: 1061–1064
- Kloepper, J. W. and M. N. Schroth. 1978. Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. Pro. Int. Conf. Plant Pathol. **Bacteria Angers France** 2: 879-882.
- Kucey, R.M.N. 1983. Phosphate-solubilizing bacteria and fungi in various cultivated and virgin Alberta soils. **Can. J. Soil Sci.** 63: 671-678.
- Lambrecht, M., Y. Okon, A. V. Broek and J. Vanderleyden. 2000. Indole-3-acetic acid: a reciprocal signalling molecule in bacteria-plant interactions. **Trends in Microbiol.** 8: 298–300.
- Maria, I. S, Nora Fatta and Atilio J. Barneix. 2002. The effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on growth and nitrogen utilization by wheat plants. **Plant and Soil** 245: 215–222.

- Molla, A. H., Z. H. Shamsuddin and H. M. Saud. 2001. Mechanism of root growth and promotion of nodulation in vegetable soybean by *Azospirillum brasilense*. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 32: 2177–2187.
- Okon, Y. 1994. **Azospirillum/Plant Associations**. CRC Press. 175 p.
- Okon, Y., S. L. Albrecht and R. H. Burris. 1977. Methods for growing *Sprillum lipoferum* for counting it in pure cultures and in association with plants. **Appl. Environ. Microbiol.** 35: 85.
- Osmar R., S Dalla, R. P. Ronzelli, H. Ramona, L. Georgina, and P. Ashok. 2004. Effects of inoculation of *Azospirillum* sp. in maize seeds under field conditions. **Food Agri. Environ.** 2: 238-242.
- Ositadinma O., J. V. Impe , E. Prinsen and J. Vanderleyden. 2005. Growth and indole-3-acetic acid biosynthesis of *Azospirillum brasilense* Sp245 is environmentally controlled. **FEMS Microbiol.** 246: 125-132.
- Otero, A. P., G. Curutchet., E. Donati and P. Tedesco. 1995. Action of *Thiobacillus thiooxidans* on sulphur in the presence of a surfactant agent and its application in the indirect dissolution of phosphorus. **Proc. Biochem.** 30: 747-750.
- Patriquin, D. G., J. Dobereiner, and D. K. Jain. 1983. Sites and process of association between diazotrophs and grasses. **Can. J. Microbiol.** 29: 900-915.
- Pedraza, R.O., Ramirez-Mata, A., Xiqui, M.L. & Baca, B.E. 2004 Aromatic amino acid aminotranferase activity and indole-3-acetic acid production by associative nitrogen-fixing bacteria. **FEMS Microbiol. Letters** 233: 15–21.

- Prasad, R. and J. F. Power. 1997. **Soil Fertility Management for Sustainable Agriculture**. CRC Lewis Publishers, Boca raton, New York.
- Ravikumar S., K. Kathiresan, T. M. Ignatiammal, M. B. Selvam and S. Shanthly. 2004. Nitrogen-fixing azotobacters from mangrove habitat and their utility as marine biofertilizers. **J. Exp. Marine Biol. Ecol.** 312: 5–17.
- Ribaudo, C. M., D. P. Rondanini, J. A. Cura and A. A. Frascina. 2001. Response of Zea mays to the inoculation with *Azospirillum* on nitrogen metabolism under greenhouse conditions. **Biol. Plant** 44: 631–634.
- Shabaev, V. P., V. Smoolin Yu and V. D. Strekozova. 1991. Effect of *Azospirillum Brasilense* and *Azotobacter choococum* on nitrogen balance in soil under cropping with oats (*Avena sativa* L.). **Biol. Fertil. Soils** 10: 290-292.
- Spaepen S., S. Dobbelaere, A. Croonenborghs and J. Vanderleyden. 2008. Effects of *Azospirillum brasilense* indole-3-acetic acid production on inoculated wheat plants. **Plant and Soil** 312: 15-23
- Stamford, N.P., P.R. Santos., A.M.M.F. Moura., C.E.R.S. Santos and A.D.S. Freitas. 2003. Biofertilizers with natural phosphate, sulphur and *Acidithiobacillus* in a soil with low available-P. **Scientia Agricola** 60: 767-773.
- Steenhoudt, O. and J. Vanderleyden, 2000. *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. **FEMS Microbiol.** 24: 487-506.
- Tate, R. L. 2000. **Soil microbiology**. 2 nd ed. 346-372. New York: John Wiley and Sons.

Thuler, D. S., E. I. S. Floh, W. Handro and H. R. Barbosa. 2003. Plant growth regulators and amino acids released by *Azospirillum* sp. in chemically defined media. **Lett. Appl. Microbiol.** 37: 174–178.

Tisdale, S.L., W.L. Nelson and J.D. Beaton 1985. **Soil Fertility and Fertilizers**. 4th ed. Macmillan Company, New York.

Waskom R. M., D. G. Westfall, D. E. Spellman and P. N. Soltanpour. 1996. Monitoring nitrogen status of corn with a portable chlorophyll meter. **Soil Sci. Plant Anal.** 27: 545 – 560

Wattanuchariya, S. 2001. Corn Production in Thailand, pp. 55-92. In K.J. Park, ed. **Corn Production In Asia**. Food and Fertilizer Technology Center, Taipei.

Zimmer W, Bothe H. 1988, The phytonormonal interactions between *Azospirillum* and wheat. **Plant and Soil.** 110: 239-247



ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 ข้อมูลของเชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลตต่างๆ

อะโซสไปริลลัม	พื้นที่เก็บตัวอย่าง	ตัวอย่างรากพืช
LB ₁	จุดที่ 1 ต. โคนาม อ.เมือง จ.ลพบุรี	รากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ แปซิฟิก 984
LB ₂	จุดที่ 2 ต. โคนาม อ.เมือง จ.ลพบุรี	รากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ แปซิฟิก 888
LB ₃	จุดที่ 3 ต. โคนาม อ.เมือง จ.ลพบุรี	รากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ แปซิฟิก 999
LB ₄	จุดที่ 4 ต. โคนาม อ.เมือง จ.ลพบุรี	รากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ ไพโอเนีย 96
LB ₅	จุดที่ 5 ต. นิคมสร้างตนเอง อ.เมือง จ.ลพบุรี	รากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ แปซิฟิก 984
LB ₆	จุดที่ 6 ต. นิคมสร้างตนเอง อ.เมือง จ.ลพบุรี	รากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ NK 48
LB ₇	จุดที่ 7 ต. นิคมสร้างตนเอง อ.เมือง จ.ลพบุรี	รากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ ไพโอเนีย 99
LB ₈	จุดที่ 8 ต. นิคมสร้างตนเอง อ.เมือง จ.ลพบุรี	รากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ แปซิฟิก 999
LB ₉	จุดที่ 9 ต. นิคมสร้างตนเอง อ.เมือง จ.ลพบุรี	รากข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ บักไวท์ 584
LB ₁₀	จุดที่ 10 ต. นิคมสร้างตนเอง อ.เมือง จ.ลพบุรี	รากข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ บักไวท์ 584
S ₂	ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางดิน	-
S ₁₇	ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางดิน	-
S ₂₃	ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางดิน	-
S ₃₂	ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางดิน	-
S ₄₂	ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางดิน	-

ตารางผนวกที่ 2 คำรับการทดลองที่ใช้ในการทดลองปลูกพืชในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง

คำรับการทดลอง	การอบดิน	เชื้ออะโซสไปรillum	อัตราปุ๋ยไนโตรเจน
1	ดินไม่อบฆ่าเชื้อ	ไม่ใส่เชื้อ	ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน
2	ดินไม่อบฆ่าเชื้อ	ไม่ใส่เชื้อ	5 kg N/rai
3	ดินไม่อบฆ่าเชื้อ	ไม่ใส่เชื้อ	10 kg N/rai
4	ดินไม่อบฆ่าเชื้อ	ไม่ใส่เชื้อ	20 kg N/rai
5	ดินไม่อบฆ่าเชื้อ	LB ₅	ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน
6	ดินไม่อบฆ่าเชื้อ	LB ₅	5 kg N/rai
7	ดินไม่อบฆ่าเชื้อ	LB ₅	10 kg N/rai
8	ดินไม่อบฆ่าเชื้อ	LB ₅	20 kg N/rai
9	ดินไม่อบฆ่าเชื้อ	LB ₈	ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน
10	ดินไม่อบฆ่าเชื้อ	LB ₈	5 kg N/rai
11	ดินไม่อบฆ่าเชื้อ	LB ₈	10 kg N/rai
12	ดินไม่อบฆ่าเชื้อ	LB ₈	20 kg N/rai
13	ดินไม่อบฆ่าเชื้อ	LB ₉	ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน
14	ดินไม่อบฆ่าเชื้อ	LB ₉	5 kg N/rai
15	ดินไม่อบฆ่าเชื้อ	LB ₉	10 kg N/rai
16	ดินไม่อบฆ่าเชื้อ	LB ₉	20 kg N/rai
17	ดินไม่อบฆ่าเชื้อ	LB ₁₀	ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน
18	ดินไม่อบฆ่าเชื้อ	LB ₁₀	5 kg N/rai
19	ดินไม่อบฆ่าเชื้อ	LB ₁₀	10 kg N/rai
20	ดินไม่อบฆ่าเชื้อ	LB ₁₀	20 kg N/rai
21	ดินอบฆ่าเชื้อ	ไม่ใส่เชื้อ	ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน
22	ดินอบฆ่าเชื้อ	ไม่ใส่เชื้อ	5 kg N/rai
23	ดินอบฆ่าเชื้อ	ไม่ใส่เชื้อ	10 kg N/rai
24	ดินอบฆ่าเชื้อ	ไม่ใส่เชื้อ	20 kg N/rai
25	ดินอบฆ่าเชื้อ	LB ₅	ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน
26	ดินอบฆ่าเชื้อ	LB ₅	5 kg N/rai
27	ดินอบฆ่าเชื้อ	LB ₅	10 kg N/rai
28	ดินอบฆ่าเชื้อ	LB ₅	20 kg N/rai
29	ดินอบฆ่าเชื้อ	LB ₈	ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน
30	ดินอบฆ่าเชื้อ	LB ₈	5 kg N/rai

ตารางผนวกที่ 2 (ต่อ) คำรับการทดลองที่ใช้ในการทดลองปลูกพืชในโรงเรือนปลูกพืชทดลอง

คำรับการทดลอง	การอบดิน	เชื้ออะโซสไปริลัม	อัตราปุ๋ยไนโตรเจน
31	ดินอบฆ่าเชื้อ	LB ₈	10 kg N/rai
32	ดินอบฆ่าเชื้อ	LB ₈	20 kg N/rai
33	ดินอบฆ่าเชื้อ	LB ₉	ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน
34	ดินอบฆ่าเชื้อ	LB ₉	5 kg N/rai
35	ดินอบฆ่าเชื้อ	LB ₉	10 kg N/rai
36	ดินอบฆ่าเชื้อ	LB ₉	20 kg N/rai
37	ดินอบฆ่าเชื้อ	LB ₁₀	ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน
38	ดินอบฆ่าเชื้อ	LB ₁₀	5 kg N/rai
39	ดินอบฆ่าเชื้อ	LB ₁₀	10 kg N/rai
40	ดินอบฆ่าเชื้อ	LB ₁₀	20 kg N/rai

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นายชรินทร์ พุกเกษม
วัน เดือน ปี ที่เกิด	วันที่ 22 กันยายน พ.ศ. 2528
สถานที่เกิด	โรงพยาบาลสมเด็จพระนารายณ์มหาราช อำเภอเมือง จังหวัดลพบุรี
ประวัติการศึกษา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาปฐพีวิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (พ.ศ. 2551)
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-