



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการจัดการทางดิน)

ปริญญา

วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการจัดการทางดิน

ปฐพีวิทยา

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง ความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมไนโตรจีเนสและปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้ของเชื้อ
อะซิโตแบคทีเรียและอะซิโตสปิริลลัมที่เจริญร่วมกับข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในชุดดินกำแพงแสน
The Correlation between Nitrogenase Activity and Fixed Nitrogen of Azotobacter and
Azospirillum Grown with Maize in Kamphaeng Saen Soil Series

نامผู้วิจัย นางสาวอัจฉิมา แยมพราย

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์ชงชัย มาลา, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(อาจารย์กนกกร สีนมา, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์อรรณพ วังศ์มณีโรจน์, วท.ม.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมไนโตรจีเนสและปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้ของเชื้อ
อะโซโตแบคทีเรียและอะโซสไปริลลัมที่เจริญร่วมกับข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในชุดดินกำแพงแสน

The Correlation between Nitrogenase Activity and Fixed Nitrogen of Azotobacter and
Azospirillum Grown with Maize in Kamphaeng Saen Soil Series

โดย

นางสาวอัจจิมา เข้มพราย

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรและเทคโนโลยีการจัดการทางดิน)

พ.ศ. 2557

Audjima Yamprai 2014: The Correlation between Nitrogenase Activity and Fixed Nitrogen of Azotobacter and Azospirillum Grown with Maize in Kamphaeng Saen Soil Series. Master of Science (Soil Science and Management Technology), Major Field: Soil Science and Management Technology, Department of Soil Science. Thesis Advisor: Associate Professor Thongchai Mala, Ph.D. 74 pages.

This research aimed to determine not only the activity of the nitrogenase enzyme, the fixed nitrogen in the day-round of Suwan 5 maize, but also to compare the correlation between the nitrogenase activity and total fixed nitrogen. The research was divided into 2 experiments. The first experiment, study on the total fixed nitrogen and nitrogenase activity in the day-round of azotobacter and azospirillum, was 3×4 factorial in completely randomized design with 4 replications. The first factor, inoculation, consisted of non-inoculation (control), *Azotobacter chroococcum* and *Azospirillum lipoferum*, while the second factor was the observation time of nitrogenase activity (6:00, 12:00, 18:00 and 24:00 hr). The results showed that the different time in a day-round did not affect the total nitrogen and nitrogenase activity, but the different inoculations significantly affected the total fixed nitrogen and the nitrogenase activity. Inoculation of azotobacter gave the highest total soil nitrogen and nitrogenase activity in soil. While, inoculation of azospirillum gave the highest total plant nitrogen and nitrogenase activity in root. The second experiment was the study on the total fixed nitrogen and total nitrogenase activity of azotobacter and azospirillum grown with maize. The randomized complete block experiment was conducted with 4 replications and consisted 3 treatments (non-inoculation, *Azotobacter chroococcum* and *Azospirillum lipoferum* inoculations). The datas were collected every 2 weeks after planting. The results showed that inoculation of azotobacter and azospirillum had higher standard ears and seed yield than that of control treatment (1,004.50 1,068.20 and 832 kg/rai respectively). Inoculation with both strains stimulated to gain higher seed yield than that of non-inoculation about 200 kg/rai, approximately. Total fixed nitrogen of both microbes had a positive relation yield with total nitrogenase activity. The approximately amount of total fixed nitrogen of azotobacter and azospirillum can be estimated by the equation of $y = 25.039x + 49.332$ with $R^2 = 0.85$ and $y = 27.262x + 264.06$ with $R^2 = 0.83$, respectively.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รศ. ดร. ธงชัย มาลา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก อาจารย์ ดร. กนกกร สีนมา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม อาจารย์ ดร. ศุภชัย อัมภา ประธาน การสอบ และผศ. ดร. ขวัญชัย กุเจริญไพศาล ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและ คำปรึกษาในด้านการเรียน การค้นคว้าวิจัย รวมถึงอบรมสั่งสอนระหว่างการทำนิพนธ์วิจัย ตลอดจนการตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์เล่มนี้จนกระทั่งเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้ทุนวิจัยในครั้งนี้ และ ขอขอบคุณบุคลากรของภาควิชาปฐพีวิทยาทุกท่านที่ได้ช่วยเหลือในการทำงานต่างๆให้สำเร็จลุล่วง ไปด้วยดี ขอขอบคุณสำหรับพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ที่ได้ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจแก่ ข้าพเจ้าด้วยดีตลอดมา

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ และทุกคนในครอบครัว ที่ได้อบรมสั่งสอน สนับสนุนและคอยเป็นกำลังใจ ให้คำปรึกษาเสมอ ข้าพเจ้าขอขอบคุณประโยชน์และความดีของ วิทยานิพนธ์นี้แก่ บิดา-มารดา ครอบครัว ครู อาจารย์ทุกท่าน ที่เคยอบรมสั่งสอนข้าพเจ้า

อัจจิมา แยมพราย

ธันวาคม 2557

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	21
อุปกรณ์	21
วิธีการ	22
ผลและวิจารณ์	31
สรุป	65
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	66
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	74

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 สมบัติทางประการของดินก่อนปลูก	28
2 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน (มิลลิกรัมต่อดิน 10 กิโลกรัม) เมื่อปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 ที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์	32
3 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 (มิลลิกรัมต่อดิน) ที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์	33
4 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้ (มิลลิกรัมต่อกระถาง) เมื่อปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 ที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์	34
5 ปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจิเนสในดิน (มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อดิน 10 กิโลกรัม) เมื่อปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 ที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์	36
6 ปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจิเนสในรากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 (มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อดิน) ที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์	37
7 ปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจิเนสทั้งหมดที่เกิดขึ้น (มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อกระถาง) เมื่อปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 ที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์	38
8 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) เมื่อปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 ที่อายุ 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 สัปดาห์	43
9 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ที่อายุ 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 สัปดาห์	43
10 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) เมื่อปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 ที่อายุ 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 สัปดาห์	44
11 ปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจิเนสในดิน (มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อกิโลกรัม) เมื่อปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 ที่อายุ 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 สัปดาห์	46
12 ปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจิเนสในรากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 (มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อดิน) ที่อายุ 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 สัปดาห์	46

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
13 ปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสทั้งหมดที่เกิดขึ้น (มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อกิโลกรัมต่อต้น) เมื่อปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 ที่อายุ 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 สัปดาห์	47
14 น้ำหนักแห้งของรากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 (กรัมต่อต้น) ที่อายุ 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 สัปดาห์	51
15 น้ำหนักแห้งส่วนเหนือดินของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 (กรัมต่อต้น) ที่อายุ 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 สัปดาห์	52
16 น้ำหนักฝักทั้งเปลือก น้ำหนักฝักเปลือกและผลผลิตเมล็ดของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 (กิโลกรัมต่อไร่) ที่อายุ 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 สัปดาห์	52

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 ปริมาณประชากรของเชื้ออะโซโตแบคทีเรียและเชื้ออะโซสไปริลัมระหว่างการเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5	41
2 ความสูงของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 ที่อายุ 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 สัปดาห์	49
3 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน (N_t) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสในดิน (SNA) ของเชื้ออะโซโตแบคทีเรียที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์	54
4 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน (N_t) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสในดิน (SNA) ของเชื้ออะโซสไปริลัมที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์	54
5 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพด (N_p) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสในราก (RNA) ของเชื้ออะโซโตแบคทีเรียที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์	55
6 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพด (N_p) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสในราก (RNA) ของเชื้ออะโซสไปริลัมที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์	56
7 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้ (N_f) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสที่เกิดขึ้นทั้งหมด (TNA) ของเชื้ออะโซโตแบคทีเรียที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์	57
8 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้ (N_f) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสที่เกิดขึ้นทั้งหมด (TNA) ของเชื้ออะโซสไปริลัมที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์	57
9 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน (N_t) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสในดิน (SNA) ของเชื้ออะโซโตแบคทีเรียตลอดฤดูกาลปลูก	59

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
10 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน (N_t) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสในดิน (SNA) ของเชื้ออะโซสไปริลัมตลอดฤดูกาลปลูก	59
11 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพด (N_p) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสในราก (RNA) ของเชื้ออะโซโตแบคทีเรียตลอดฤดูกาลปลูก	60
12 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพด (N_p) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสในราก (RNA) ของเชื้ออะโซสไปริลัมตลอดฤดูกาลปลูก	61
13 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้ (N_f) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสที่เกิดขึ้นทั้งหมด (TNA) ของเชื้ออะโซโตแบคทีเรียตลอดฤดูกาลปลูก	62
14 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้ (N_f) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสที่เกิดขึ้นทั้งหมด (TNA) ของเชื้ออะโซสไปริลัมตลอดฤดูกาลปลูก	62

ความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมไนโตรจีเนสและปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้ของ
เชื้ออะซิโตแบคเตอร์และอะซิโตสปิริลลัมที่เจริญร่วมกับข้าวโพดเลี้ยงสัตว์
ในชุดดินกำแพงแสน

The Correlation between Nitrogenase Activity and Fixed Nitrogen of *Azotobacter*
and *Azospirillum* Grown with Maize in Kamphaeng Saen Soil Series

คำนำ

ไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารที่พืชต้องการในปริมาณมาก มีบทบาทในการเจริญเติบโตของพืชอย่างเห็นได้ชัดเจนที่สุด และเป็นส่วนประกอบสำคัญในเอนไซม์ต่างๆ ทำหน้าที่ช่วยเร่งและควบคุมปฏิกิริยาต่างๆ ในพืชให้ดำเนินไปอย่างเป็นปกติ ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและคุณภาพของพืช แหล่งที่มาของไนโตรเจนในดินได้จากการใส่ปุ๋ยให้แก่ดินและพืช น้ำฝน การเกิดฟ้าแลบ (lightning) แต่โดยส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของแก๊สไนโตรเจน (N_2) ประมาณร้อยละ 78 เป็นรูปที่พืชไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้โดยตรง จึงต้องอาศัยจุลินทรีย์ดินบางชนิดที่มีความสามารถเปลี่ยนแก๊สให้เป็นสารประกอบอนินทรีย์ที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ สำหรับเชื้อจุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจนอิสระหลายชนิดในดินและได้ผ่านการทดสอบประสิทธิภาพแล้วว่ามีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตกับพืชหลายชนิด จุลินทรีย์ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรีย ได้แก่ อะซิโตแบคเตอร์ และอะซิโตสปิริลลัม แบคทีเรียทั้งสองนี้มีความสามารถตรึงไนโตรเจน และมีกิจกรรมที่ดีร่วมกับพืชเมืองร้อน เช่น ข้าวโพด อะซิโตแบคเตอร์ส่วนใหญ่จะอยู่ในเขตอภิพลากรพืชมากกว่าเข้าสู่ภายในราก ในขณะที่อะซิโตสปิริลลัมชอบที่จะเจริญอยู่ในเซลล์ชั้นคอร์เท็กซ์ของรากพืชมากกว่าอยู่ในดิน ได้รับคาร์โบไฮเดรตผ่านท่อลำเลียงอาหารโดยตรง เป็นแหล่งคาร์บอนที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของอะซิโตสปิริลลัม (Olivera *et al.*, 2004) การใช้อะซิโตสปิริลลัมสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้า ภายใต้สภาวะปกติและสภาวะแห้งแล้งได้ (Alejandra *et al.*, 2009) และทำให้ผนังเซลล์ของพืชมีความยืดหยุ่นสูงขึ้นช่วยในการส่งเสริมการเจริญเติบโตได้ (Cintia *et al.*, 2011) และช่วยเพิ่มผลผลิตของข้าวสาลีในสภาพแปลงที่แห้งแล้งได้ (Martin and Maria, 2009) นอกจากนี้การใช้อะซิโตสปิริลลัมส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนบริเวณรากข้าวโพดหวานมากที่สุดและจะมีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนบริเวณรากสูงที่สุดในสัปดาห์ที่ 4 เท่ากับ 0.20 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อชั่วโมงต่อตารางเมตร (ศิวาพร, 2553) และ

สามารถสร้างสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพดคือ สารออกซินได้มากถึง 53.57 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม (ชรินทร์, 2554) ปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้อาจแตกต่างกันไปตามชนิดของจุลินทรีย์ และสภาพแวดล้อมของดิน

การวัดการตรึงไนโตรเจนนั้นสามารถทำได้หลายวิธี เช่น วัดการเจริญของแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากไนโตรเจน เพื่อดูความสามารถในการตรึงไนโตรเจน (Tate, 2000) หรือวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน โดยวิธีของ Kjeldahl โดยวัดความแตกต่างของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ก่อนและหลังการเจริญในสภาพที่มีไนโตรเจน (Burns and Hardy, 1975) การติดตามธาตุไนโตรเจนด้วย ^{15}N และวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนโดยวิธีอะเซทิลีนรีดักชัน (acetylene reduction assay) เป็นวิธีการวัดปริมาณการตรึงไนโตรเจนทางอ้อม โดยใช้การวัดกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจิเนสที่สามารถรีดิวซ์แก๊สไนโตรเจนให้เปลี่ยนเป็นแอมโมเนีย (Bergersen, 1970) และสามารถตรวจสอบได้โดยใช้เครื่อง gas chromatography ซึ่งวิธีนี้ถือเป็นวิธีที่เร็วมากที่สุดในปัจจุบัน วิธีการต่างๆเหล่านี้จะมีข้อจำกัดที่แตกต่างกันออกไป การวัดการตรึงไนโตรเจนโดยวิธีอะเซทิลีนรีดักชันจะบอกปริมาณไนโตรเจนของเอนไซม์ขณะนั้นแล้ว ควรบอกถึงปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้ด้วย

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ใน ไตรจินเนสที่เกิดขึ้น และปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ จุลินทรีย์ตรึงได้ตลอดทั้งฤดูกาลปลูกของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์
2. เปรียบเทียบหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ใน ไตรจินเนสและ ปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้



การตรวจเอกสาร

1. การตรึงไนโตรเจน

ไนโตรเจนเป็นธาตุที่สำคัญสำหรับสิ่งมีชีวิต เป็นองค์ประกอบของกรดอะมิโน โปรตีน กรดนิวคลีอิก คลอโรฟิลล์ และสารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบอื่นๆ สิ่งมีชีวิตไม่สามารถเจริญเติบโตได้ถ้าขาดธาตุไนโตรเจน (ยงยุทธ, 2552) แหล่งสะสมไนโตรเจนในชั้นบรรยากาศ มีแก๊สไดไนโตรเจน (N_2) มากถึง 78 % ซึ่งพืชและสัตว์ไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ ไนโตรเจนจะเข้าสู่ระบบของสิ่งมีชีวิตโดยแก๊สไดไนโตรเจนจากชั้นบรรยากาศถูกแบคทีเรียตรึงไนโตรเจน (nitrogen-fixing bacteria) เปลี่ยนแก๊สไดไนโตรเจนให้อยู่ในรูปของแอมโมเนีย โดยกระบวนการตรึงไนโตรเจน (nitrogen fixation)

1.1 การตรึงไนโตรเจนในธรรมชาติ (natural nitrogen fixation)

การตรึงไนโตรเจนในธรรมชาติ เกิดขึ้นอยู่ตลอดเวลา ประกอบด้วย การตรึงไนโตรเจน 2 แบบ คือ การตรึงไนโตรเจนโดยอาศัยพลังงานจากฟ้าแลบ และการตรึงไนโตรเจนโดยวิธีทางชีวภาพ

1.1.1 การตรึงไนโตรเจนโดยอาศัยพลังงานจากฟ้าแลบ พลังงานจำนวนมากจากฟ้าแลบสามารถแยกโมเลกุล N_2 ในบรรยากาศและทำปฏิกิริยากับแก๊สออกซิเจนเกิดไนโตรเจนออกไซด์ ซึ่งสามารถละลายในน้ำฝน ก่อรูปเป็นไนไตรต์ (NO_2) และไนเตรต (NO_3) กลับสู่ผิวโลก แม้ว่าจะมีปริมาณฟ้าแลบเกิดขึ้นรอบโลกมากมาย แต่ปริมาณสารประกอบไนโตรเจนอนินทรีย์ที่เกิดขึ้นโดยวิธีนี้ก็มีไม่มากนัก การตรึงไนโตรเจนจากบรรยากาศโดยวิธีนี้จึงอาจส่งเสริมได้มากที่สุดแค่ 10 % ของไนโตรเจนที่ตรึงได้แต่ละปีเท่านั้น (ธงชัย, 2557)

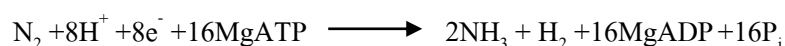
1.1.2 การตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพ เป็นกระบวนการที่เกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งแบคทีเรียบางชนิดที่มีอยู่อย่างหลากหลายในดิน ไนโตรเจนอนินทรีย์ที่เป็นผลลัพธ์จากการตรึงนี้คือแอมโมเนีย (NH_3) และเมื่อได้รับโปรตอนจะเป็นไอออนแอมโมเนียม (NH_4^+) ประกอบด้วย การตรึงไนโตรเจน 2 แบบ คือ การตรึงไนโตรเจนแบบพึ่งพา และการตรึงไนโตรเจนแบบไม่พึ่งพา (ธงชัย, 2557)

1) การตรึงไนโตรเจนแบบพึ่งพา ส่วนใหญ่เป็นการร่วมอาศัยกับพืชชั้นสูงแบบพึ่งพาอย่างแท้จริง (true symbiosis) เป็นการตรึงไนโตรเจนที่เกิดจากสิ่งมีชีวิตอย่างน้อยสองชนิด อาศัยอยู่ร่วมกันต่างฝ่ายต่างช่วยเหลือให้ประโยชน์ซึ่งกันและกัน เช่น *Rhizobium* sp. และ *Bradyrhizobium* sp. ซึ่งทำให้เกิดปม (nodule) ที่รากของพืชตระกูลถั่ว ไรโซเบียมแต่ละชนิดมีความสามารถในการสร้างปมจากพืชตระกูลถั่วได้อย่างเฉพาะเจาะจง (host specificity) และตรึงไนโตรเจนได้ในปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืช (สมศักดิ์, 2541) ยังมีการตรึงไนโตรเจนแบบพึ่งพาอาศัยในพืชที่ไม่ใช่พืชตระกูลถั่ว (nonleguminous plant) เช่น แอคติโนไมซีต *Frankia* sp. ที่อยู่ร่วมกับต้น alder แล้วทำให้เกิดปมรากที่ตรึงไนโตรเจน นอกจากนี้ยังมีไลเคนส์อยู่ร่วมกันระหว่างรากกับไซยาโนแบคทีเรียรวมทั้ง *Anabaena azollae* ซึ่งเป็นไซยาโนแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในโพรงใบเหินแดง เป็นต้น กรณีนี้พืชจะให้แหล่งอาหารและพลังงานแก่แบคทีเรีย ส่วนแบคทีเรียก็ส่งไนโตรเจนที่ตรึงได้แก่พืช

2) การตรึงไนโตรเจนแบบไม่พึ่งพา เป็นการตรึงไนโตรเจนโดยจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่อย่างอิสระในธรรมชาติ ทั้งในดิน ในน้ำ บริเวณใบ (phyllosphere) และในบริเวณรากพืช (rhizosphere) พบในแบคทีเรีย และไซยาโนแบคทีเรีย ทั้งพวกแบคทีเรีย ที่ต้องการออกซิเจน (aerobe) ไม่ต้องการออกซิเจน (anaerobe) และพวกที่เจริญเติบโตได้ทั้ง 2 สภาพ (facultative anaerobe) โดยได้พลังงานจากสารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ หรือจากแสงโดยตรง (Tate, 2000) จุลินทรีย์อิสระที่ตรึงไนโตรเจนได้ เช่น *Azotobacter* sp., *Azospirillum* sp., *Anabaena* sp. และ *Thiobacillus* sp. เป็นต้น แบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจนได้สามารถอาศัยอยู่อย่างอิสระในดินและใช้สารอินทรีย์ในดินเป็นแหล่งอาหาร ไนโตรเจนที่ตรึงได้ส่วนใหญ่จะปลดปล่อยลงสู่ดินและเป็นประโยชน์ต่อพืชเมื่อแบคทีเรียตายและถูกย่อยสลาย

1.2 ชีวิตเคมีของการตรึงไนโตรเจน

เป็นการรีดักชัน N_2 ไปสู่รูปแอมโมเนีย (NH_3) แต่เนื่องจากแก๊สไดไนโตรเจนมีความเสถียรมาก ปฏิกริยารีดักชันนี้จึงต้องใช้พลังงานค่อนข้างสูง (16 ATP) โดยถูกกระตุ้นจากการทำงานของเอนไซม์ไนโตรจิเนส แก๊สไดไนโตรเจนจะถูกรีดิวซ์ไปเป็นแอมโมเนีย ดังสมการ



การตรึงไนโตรเจนเป็นกระบวนการที่ต้องการพลังงานเป็นอย่างมาก ในสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม จุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนจะต้องใช้พลังงานเกือบทั้งหมดในการรีดิวซ์แก๊สไดไนโตรเจน 1 โมเลกุล ไปเป็นแอมโมเนียไอออน 2 โมเลกุล เมื่อพิจารณาเฉพาะการเกิด 2NH_3 จะใช้ 6 โปรตอน และ 6 อิเล็กตรอนเท่านั้นที่จัดสรรให้แก่ N_2 ในปฏิกิริยานี้จะมีการรีดักชันหรือให้อิเล็กตรอน 2 ตัวแก่โปรตอน 2 ตัว เพื่อเกิด H_2 ด้วยเสมอ รวมทั้งหมดแล้วปฏิกิริยารีดักชัน N_2 จำนวน 1 โมเลกุล ใช้ อิเล็กตรอน 8 ตัว และพลังงาน 16 ATP (ใช้ 2 ATP ต่ออิเล็กตรอน 1 ตัว) (ธงชัย, 2557) ซึ่งความต้องการพลังงานสูง เป็นตัวจำกัดปริมาณแก๊สไดไนโตรเจนที่จะถูกรีดิวซ์โดยจุลินทรีย์ดินซึ่งได้พลังงานจากการย่อยสลายสารอินทรีย์ การเปลี่ยนแก๊สไดไนโตรเจนไปเป็นแอมโมเนียให้เกิดขึ้นสูงสุด จำเป็นต้องมีแหล่งพลังงานที่มากพอและคงที่ เช่นที่เกิดขึ้นในธรรมชาติบริเวณรอบรากพืช ซึ่งแบคทีเรียได้พลังงานจากสารที่ปลดปล่อยออกมาจากราก หรือจากการอยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตอื่น โดยทั่วไปในธรรมชาติสารอินทรีย์ที่จำเป็นต่อแบคทีเรียมักไม่เพียงพอที่จะทำให้เกิดการตรึงไนโตรเจนได้มาก ยกเว้นพวกที่ตรึงไนโตรเจนแบบพึ่งพาอาศัยกับพืชโดยจะได้รับพลังงานจากการย่อยสลายสารอาหารที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยแสง

2. เอนไซม์ไนโตรจีเนส

ไนโตรจีเนสเป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยารีดักชันของแก๊สไดไนโตรเจนไปเป็นแอมโมเนีย ประกอบด้วยโปรตีนที่ต่างกัน 2 ส่วนคือ ไดไนโตรจีเนส (dinitrogenase) หรือ Protein I และ ไดไนโตรจีเนสรีดักเทส (dinitrogenase reductase) หรือ protein II (Tate, 2000) โดยกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสมีลำดับการดำเนินการง่าย ๆ ดังนี้

- 1) การได้รับอิเล็กตรอนของไดไนโตรจีเนสรีดักเทสจากตัวให้อิเล็กตรอน (electron donor) ซึ่งตัวให้อิเล็กตรอนที่สำคัญแก่ไนโตรจีเนสเป็นโปรตีน 2 กลุ่ม คือ เฟอรัรีดอกซิน (ferredoxin) และฟลาโวด็อกซิน (flavodoxin) กิจกรรมไนโตรจีเนสเกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมโดยทั่วไปของเซลล์สามารถก่อให้เกิดอิเล็กตรอนแล้วถ่ายทอดให้แก่เฟอรัรีดอกซินหรือฟลาโวด็อกซิน จากนั้นจะส่งต่อให้แก่ไดไนโตรจีเนสรีดักเทส

- 2) อิเล็กตรอนจากไดไนโตรจีเนสรีดักเทสจะถ่ายทอดไปสู่ไดไนโตรจีเนส ในส่วนของไดไนโตรจีเนสรีดักเทสจะมี MgATP จำนวน 2 โมเลกุลเกาะอยู่ด้วย โปรตีนในสภาพรีดิวซ์พร้อมที่จะถ่ายทอดอิเล็กตรอนนี้จะเกาะเข้ากับไดไนโตรจีเนส หลังจากเกาะกันเป็นสารเชิงซ้อนแล้ว

อิเล็กตรอนก็ถูกถ่ายทอดจากไดโนโตรจีนีสรีดักเตสสู่ไดโนโตรจีนีส โดยมีการแตกตัวของทั้งสองโมเลกุลของ ATP เป็น ADP และโปรตีนทั้งสองก็แยกจากกัน

3) การถ่ายทอดอิเล็กตรอนแก่แก๊สไดโนโตรเจน ปฏิกริยารีดักชันนี้ต้องการจำนวนโปรตอนที่เท่ากับอิเล็กตรอนและมีการเกิด H_2 จำนวน 1 โมเลกุลเสมอ ซึ่งต้องใช้อิเล็กตรอน 2 ตัว ผลท้ายสุดของปฏิกริยาจึงจะได้แอมโมเนีย 2 โมเลกุล (ธงชัย, 2557)

เมื่อพิจารณาลำดับการดำเนินการของกิจกรรมไนโตรจีเนสแล้ว จะเห็นได้ว่า การตรึงไนโตรเจนจะเกิดขึ้นได้นั้นต้องมีองค์ประกอบขั้นต่ำสุดของกระบวนการ ดังนี้

- 1) โปรตีนไดโนโตรจีนีสรีดักเตส และไดโนโตรจีเนส
- 2) ตัวรีดิวซ์หรือตัวให้อิเล็กตรอน (reductant, electron donor) ได้แก่ เฟอร์รีดอกซิน ฟลาโวกซิน
- 3) แหล่งพลังงาน ซึ่งได้แก่ MgATP และระบบการผลิตพลังงาน
- 4) สภาพอับอากาศ (anaerobic environment)

เอนไซม์ไนโตรจีเนสมีความไวต่อออกซิเจนเป็นอย่างมาก (oxygen sensitive) จะไม่ทำงานเมื่อมีออกซิเจน กระบวนการตรึงไนโตรเจนจึงไม่ต้องการออกซิเจน การตรึงไนโตรเจนจะเกิดขึ้นได้ในตำแหน่งที่ไม่มีออกซิเจน แบคทีเรียที่สามารถรีดิวซ์แก๊สไดโนโตรเจนส่วนใหญ่มีกลไกในการหลีกเลี่ยงหรือจำกัดออกซิเจน ซึ่งวิธีที่จะป้องกันเอนไซม์ไนโตรจีเนสที่จะสัมผัสกับออกซิเจนมีดังนี้ (Tate, 2000)

- 1) การหลีกเลี่ยงที่จะสัมผัสกับออกซิเจน (avoidance of oxygen contact)

ในแบคทีเรียพวกที่ไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ เช่น *Clostridium pasteurianum* พวกที่เจริญทั้งสภาพที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobes) เช่น *Klebsiella* sp. มี

ลักษณะทางพันธุกรรมเป็นตัวควบคุมให้สังเคราะห์เอนไซม์ไนโตรจีเนส ภายใต้สภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำเท่านั้น

2) การป้องกันโดยการหายใจ (respiratory protection)

การเพิ่มอัตราการหายใจ ทำให้ปริมาณออกซิเจนลดลง เช่น *Azotobacter* sp. ในสภาพที่มีออกซิเจนจะมีการออกซิไดซ์แหล่งคาร์บอนเพิ่มมากขึ้น วิธีนี้จะพบในแบคทีเรียที่อยู่อย่างอิสระทั้งหลายและไซยาโนแบคทีเรีย

3) การป้องกันโดยการเปลี่ยนรูปแบบ (conformational protection)

พบใน *Azotobacter* sp. โดยการจับกับโปรตีนขนาดเล็ก (protective protein) ทำให้รูปแบบของเอนไซม์เปลี่ยนไปอยู่ในรูปที่ไม่ทำงานแต่สามารถทนทานต่อออกซิเจนได้ เมื่อปริมาณออกซิเจนลดลงอยู่ในระดับที่ยอมรับได้ เอนไซม์ไนโตรจีเนสก็จะมีกิจกรรมได้เหมือนเดิม

4) การสร้างสารเมือก (gum or slime production)

เมือกหรือสารโพลีแซคคาไรด์ที่สะสมอยู่รอบนอกผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ทำให้เซลล์ใหญ่ขึ้น และช่วยเป็นผนังกันลดอัตราการแพร่ของออกซิเจนเข้าสู่เซลล์ พบใน *Azotobacter* sp.

5) การสร้างเซลล์เฮเทอโรซิสต์ (heterocyst production)

พบในแบคทีเรียที่สังเคราะห์แสงและไซยาโนแบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจน เอนไซม์ไนโตรจีเนสจะแยกไปอยู่ในโครงสร้างที่มีผนังหนา (heterocyst) เพื่อลดการสัมผัสกับออกซิเจน

6) การสร้างเล็ฮีโมโกลบิน (leghemoglobin production)

การสร้างเล็ฮีโมโกลบินที่มีความสามารถในการจับออกซิเจนได้สูง ช่วยลดปริมาณออกซิเจนที่จะสัมผัสกับเอนไซม์ไนโตรจีเนสได้

7) การย้ายไปอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม (migration to suitable environment)

แบคทีเรียที่เคลื่อนที่ได้จะหลีกเลี่ยงออกซิเจนโดยการย้ายไปอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมกับการตรึงไนโตรเจน อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม หรืออยู่ร่วมกับพวกที่ต้องการออกซิเจน ซึ่งสามารถหลีกเลี่ยงการถูกทำลายจากออกซิเจนได้

Giller and Wilson (2001) กล่าวว่า นอกจากต้นทุนแหล่งพลังงาน (energy cost) ในการรีดิวซ์แก๊สไนโตรเจนและความไว (sensitivity) ของเอนไซม์ไนโตรจิเนสต่อออกซิเจนแล้ว สารประกอบไนโตรเจนก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการตรึงไนโตรเจน ในแบคทีเรียอิสระที่ตรึงไนโตรเจน กิจกรรมเอนไซม์ไนโตรจิเนสจะไม่เกิดขึ้น ถ้ามีสารประกอบไนโตรเจนปริมาณที่เพียงพออยู่ในเซลล์ของแบคทีเรียแล้ว การขาดแคลนสารประกอบไนโตรเจน และลักษณะทางพันธุกรรมการควบคุมการสร้างเอนไซม์ไนโตรจิเนสในสภาวะที่มีออกซิเจนปริมาณต่ำจะเป็นตัวควบคุมและชักนำให้เกิดกิจกรรมเอนไซม์ไนโตรจิเนส

เอนไซม์ไนโตรจิเนสจะหยุดทำงานชั่วคราวในสภาวะที่มีแอมโมเนีย เนื่องจากเอนไซม์ถูกทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงจากเอนไซม์ 2 ชนิด คือ เอนไซม์ DART (dinitrogenase reductase ADP-ribosyl transferase) ในสภาพที่มีแอมโมเนียจะเติม ADP ให้กับเอนไซม์ dinitrogenase reductase ทำให้เอนไซม์ไนโตรจิเนสหยุดทำงานชั่วคราว และเมื่อความเข้มข้นของแอมโมเนียลดลงเอนไซม์ DRAG (dinitrogenase reductase activating glycohydrolase) จะทำให้เกิดปฏิกิริยาย้อนกลับของ ADP-ribosylation ทำให้เอนไซม์ไนโตรจิเนสทำงานได้ตามปกติพบใน *Rhodospirillum rubrum* *Azorhizobium caulinodans* อย่างไรก็ตามการหยุดการทำงานชั่วคราวของเอนไซม์ไนโตรจิเนสไม่ได้พบทั่วไปในแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนทั้งหมด เช่น ไม่พบใน *Azotobacter* sp.

3. การวัดการตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพ

วิธีการวัดการตรึงของไนโตรเจนมีหลายวิธีด้วยกัน เช่น วัดการเจริญของแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปราศจากไนโตรเจน เพื่อดูความสามารถในการตรึงไนโตรเจน วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน โดยวิธีของ Kjeldahl โดยวัดความแตกต่างของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ก่อนและหลังการเจริญในสภาพที่มีไนโตรเจน (Burns and Hardy, 1975) ติดตามธาตุไนโตรเจนด้วย ^{15}N และใช้

วิธีการรีดิวซ์แก๊สอะเซทิลีนเป็นตัวบ่งชี้ความสามารถในการตรึงไนโตรเจน แต่ละวิธีต่างมีข้อบกพร่องแตกต่างกันออกไป

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

2) Nitrogen balance วิธีนี้เป็นการวัดปริมาณการตรึงไนโตรเจนทางตรง ซึ่งเป็นการวัดความเข้มข้นของไนโตรเจนในดินที่ได้จากการตรึงไนโตรเจน โดยใช้วิธีการสกัดแอมโมเนียมจากดิน จากนั้นทำการกลั่นและไตเตรต โดยต้องทำให้ไนโตรเจนอินทรีย์ในดินเปลี่ยนเป็นแอมโมเนียมเสียก่อน โดยใช้วิธีการของ Kjeldahl digestion จากนั้นวัดปริมาณแอมโมเนียมที่มีในดิน การประเมินปริมาณการตรึงไนโตรเจนโดยวิธีนี้อาจมีข้อผิดพลาดที่เกิดขึ้นจากการประเมินปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้ เนื่องจากไนโตรเจนในดินบางส่วนจะสูญเสียไปกับกระบวนการดีไนตริฟิเคชัน และการกร่อนดิน สำหรับการได้มาของไนโตรเจนจากบรรยากาศอาจไม่ได้มาจากการตรึงไนโตรเจนเพียงอย่างเดียว นอกจากความผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้นได้จากดั่งที่กล่าวมาข้างต้น ยังพบว่าการใช้วิธีนี้อาจเกิดข้อผิดพลาดได้จากการประมาณค่าข้อมูลที่เกิดจากการเก็บตัวอย่างที่ไม่ได้มาตรฐาน อีกทั้งระบบของการวัดปริมาณการตรึงไนโตรเจนด้วยวิธีนี้ต้องเป็นระบบปิดเท่านั้น (People *et.al.*, 1989)

3) วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนโดยวิธีไนโตรเจน-15 ($^{15}\text{N}_2$ method) เป็นวิธีวัดการตรึงไนโตรเจนทางตรง โดยใช้ไอโซโทปที่เสถียรของไนโตรเจน วิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้ สามารถติดตามแหล่งไนโตรเจนได้แน่นอนและถูกต้องที่สุด โดยใช้ไอโซโทป ^{15}N เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียภายใต้บรรยากาศที่มี ^{15}N แล้วตรวจหาปริมาณ ^{15}N ในเซลล์ของแบคทีเรียด้วยเครื่อง mass spectrometer ซึ่งวิธีนี้มีความไวกว่าวิธี Kjeldahl ถึง 1000 เท่า ให้ผลแม่นยำเที่ยงตรง แต่มีข้อเสีย คือต้องใช้เทคนิคค่อนข้างสูง และมีค่าใช้จ่ายมาก

4) วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนโดยวิธีอะเซทิลีนรีดักชัน (acetylene reduction assay) เป็นวิธีการวัดปริมาณการตรึงไนโตรเจนทางอ้อม โดยใช้การวัดกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจิเนส ที่สามารถรีดิวซ์แก๊สไนโตรเจนให้เปลี่ยนเป็นแอมโมเนีย (การตรึงไนโตรเจน) ซึ่งคล้ายกับการ

เปลี่ยนแก๊สอะเซทิลีนไปเป็นแก๊สเอทิลีน (Bergersen, 1970) และสามารถตรวจสอบได้โดยใช้เครื่อง gas chromatography วิธีนี้ถือเป็นวิธีที่เร็วมากที่สุดในปัจจุบัน

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

อย่างไรก็ตามการใช้วิธีการวัดปริมาณการตรึงไนโตรเจนด้วยวิธี acetylene reduction ในแปลงสามารถใช้ผลจากการสร้างเอทิลีนด้วยเอนไซม์ไนโตรจีเนสได้ เนื่องจากมีการตรวจสอบแล้ว พบว่าการวัดกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสในการรีดิวซ์แก๊สอะเซทิลีนเป็นแก๊สเอทิลีนนั้นมีความแม่นยำสูง สำหรับข้อดีของการใช้แก๊สอะเซทิลีนคือในภาวะปกติจะไม่พบแก๊สอะเซทิลีนในบรรยากาศ และแก๊สอะเซทิลีนมีราคาไม่แพง สามารถวิเคราะห์ได้ด้วยเครื่อง gas chromatography ซึ่งสามารถตรวจสอบแก๊สทั้งสองชนิดได้ แม้ในปริมาณต่ำๆ ข้อดีของวิธีนี้คือ มีความไวสูง ไวกว่าวิธี ^{15}N ถึง 10^3 - 10^4 เท่า เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว ใช้เทคนิคง่ายๆ ใช้เครื่องมือไม่ยาก และราคาไม่แพง

4. จุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจน

ไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารพืชที่มีความสำคัญ โดยปริมาณไนโตรเจนในดินจะถูกรักษาไว้โดยจุลินทรีย์ประจำถิ่นที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้ (Lakshmanan, 2000) และไนโตรเจนยังเป็นธาตุอาหารพืชที่จำกัดการเจริญเติบโตของพืชในเขตแห้งแล้งและกึ่งแห้งแล้ง (Hooper and Johnson, 1999) มีการทดสอบแล้ว พบว่ามีจุลินทรีย์ในดินที่สามารถตรึงแก๊สไนโตรเจนที่มีมากในอากาศมา

เปลี่ยนให้อยู่ในรูปสารประกอบไนโตรเจนโดยใช้เอนไซม์ไนโตรจีเนส ที่จุลินทรีย์เหล่านั้นสามารถผลิตขึ้นมาได้เอง

Mulonoy *et al.* (1992) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับแบคทีเรียอิสระในดิน พบว่าสามารถตรึงไนโตรเจนได้เล็กน้อยเพียง 15 กิโลกรัมต่อเฮกแตร์ต่อปี และ Esmail *et al.* (2008) พบว่าจุลินทรีย์อิสระในดินสามารถตรึงไนโตรเจนได้ 10-20 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อเฮกแตร์ต่อฤดูปลูก ไม่เพียงแต่ปริมาณไนโตรเจนเท่านั้นที่จะได้จากจุลินทรีย์เหล่านี้ ยังมีการค้นพบแบคทีเรียอิสระในดินแบคทีเรียที่อาศัยบริเวณรากพืช และแบคทีเรียพวกเอนโดไฟต์รวมถึงแบคทีเรียบริเวณผิวใบของพืชสามารถสร้างสารส่งเสริมการเจริญเติบโต (plant growth-promoting) ซึ่งจะส่งเสริมให้พืชเจริญเติบโตและมีผลผลิตเพิ่มขึ้น (Bashan and De-Bashan, 2005)

แบคทีเรียอิสระในดินที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้ที่มักพบอาศัยอยู่บริเวณเขตรากพืช (rhizosphere) ได้แก่ *Azotobacter* sp., *Azospirillum* sp., *Beijerinckia* sp. เป็นต้น ซึ่งนอกจากจะเพิ่มไนโตรเจนให้กับดินแล้ว จุลินทรีย์เหล่านี้ยังสามารถช่วยเพิ่มปริมาณผลผลิตให้กับพืชไร่บางชนิดได้อีกด้วย (Dobereiner, 1997) โดยทั่วไปแล้วสภาพของการปลูกพืชไร่่นั้นเป็นสภาพดินที่มีอากาศ จุลินทรีย์อิสระในดินที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจน ที่มักพบในสภาพการปลูกเช่นนี้ ได้แก่ *Azotobacter chroococcum*, *Azotobacter beijerinckia* (Tate, 2000)

4.1 อะโซโตแบคเตอร์ (azotobacter)

อะโซโตแบคเตอร์ เป็นแบคทีเรียที่สามารถพบได้ทั่วไปในดินบริเวณเขตรากพืช มีรูปร่างเป็นแท่ง รูปไข่ สามารถตรึงไนโตรเจนจากบรรยากาศได้ จัดอยู่ในวงศ์ Azotobacteraceae แบคทีเรียในวงศ์นี้มีอยู่ 2 จินัส คือ *Azotobacter* และ *Azomonas* อะโซโตแบคเตอร์จะมีเซลล์เป็นรูปไข่ขนาดใหญ่ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5-2.0 ไมโครเมตร หรือใหญ่กว่ารูปร่างอาจเปลี่ยนแปลงได้ ตั้งแต่เป็นแท่งกลมรี อยู่เป็นเซลล์เดี่ยว เป็นคู่ หรือเป็นกลุ่ม บางครั้งอาจพบว่าเกาะกันเป็นเส้นยาว แตกต่างกันไป ไม่สร้างเอนโดสปอร์ (endospore) แต่สร้างโครงสร้างพิเศษที่เรียกว่า ซีสต์ (cyst) ติดสีแกรมลบ เคลื่อนที่ได้โดยแส้รอบเซลล์ (peritrichous flagella) หรือบางชนิดไม่เคลื่อนที่ ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต ทั้งสายพันธุ์ที่สร้างเม็ดสีละลายน้ำได้ และสายพันธุ์ที่สร้างเม็ดสีที่ไม่ละลายน้ำ จัดเป็นพวกเคมีออแกโนโทรฟ (chemoorganotroph) ใช้น้ำตาล แอลกอฮอล์ และเกลือของกรดอินทรีย์ในการเจริญเติบโตได้ สามารถตรึงไนโตรเจนได้ pH ของดินที่เหมาะสมต่อการ

เจริญเติบโตที่มีเกลือไนโตรเจนด้วยอยู่ในช่วง 4.8 ถึง 8.5 แต่ pH ที่เหมาะสมต่อการตรึงไนโตรเจนอยู่ระหว่าง 7.0 ถึง 7.5 พบในดินและน้ำ (ธงชัย, 2550) อะซิโตแบคเตอร์สามารถสร้างสารส่งเสริมการเจริญเติบโต วิตามิน สารป้องกันเชื้อราและสารยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืช (Kapoor and Kar, 1989) นอกจากนี้อะซิโตแบคเตอร์ยังสามารถเพิ่มผลผลิตให้แก่พืชไร่บางชนิดได้ เช่น ข้าวโพด อีกทั้งยังช่วยเพิ่มไนโตรเจนให้กับดินได้อีกด้วย (Shabaev *et al.*, 1991)

อะซิโตแบคเตอร์เป็นแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่ดำรงชีวิตแบบอิสระ ยกเว้นบางสปีชีส์ คือ *Azotobacter paspali* ที่เข้าอาศัยอยู่ในรากหญ้า *Paspalum* sp. การตรึงไนโตรเจนจะลดลงเมื่อในดินมีแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ ได้แก่ แอมโมเนียมและไนเตรต อะซิโตแบคเตอร์มีเอนไซม์เสริมกำตังการตรึงไนโตรเจนคือ เฟอร์รีดอกซิน ไฮโดรจีเนส (ferredoxin hydrogenase) และเอนไซม์ไนโตรจีเนส เนื่องจากการตรึงไนโตรเจนไวต่อออกซิเจน และต้องการพลังงานในรูป ATP จำนวนมาก อะซิโตแบคเตอร์จึงพัฒนากลไกพิเศษเพื่อป้องกันอันตรายจากออกซิเจน โดยการเร่งให้มีความเข้มข้นของการเผาผลาญเพื่อลดความเข้มข้นของออกซิเจนภายในเซลล์ (Shank *et al.*, 2005)

Dobereiner *et al.* (1997) รายงานว่า การปลูกหญ้า *Paspalum notatum* โดยใช้เชื้อ *Azotobacter paspali* มีการตรึงไนโตรเจนประมาณ 90 กิโลกรัมต่อเฮกแตร์ต่อปี และต่อมาในปี ค.ศ. 1998 ได้มีผลการวิจัยของ Pandey *et al.* (1998) พบว่า การใช้เชื้อ *Azotobacter chroococcum* strain W5 สามารถเพิ่มผลผลิตเมล็ดจาก 53 ± 07 กรัมต่อตารางเมตร เป็น 62 ± 10 กรัมต่อตารางเมตร ในขณะที่ Biari *et al.* (2008) ศึกษาผลของแบคทีเรียที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ *Azotobacter* sp. strain 5, *Azotobacter chroococcum* strain DSM 2286, *Azospirillum* sp. strain 21 และ *Azospirillum lipoferum* strain DSM 1691 ที่มีต่อการสร้างสารส่งเสริมการเจริญเติบโตและช่วยกระตุ้นการดูดกินธาตุอาหารในข้าวโพด พบว่า การใช้แบคทีเรียดังกล่าวช่วยเพิ่มมวลแห้งฝักได้ 141 % และเพิ่มปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม ในเมล็ดได้ 130, 113 และ 100 % ตามลำดับ

เชื้ออะซิโตแบคเตอร์จัดเป็นปุ๋ยชีวภาพอีกชนิดหนึ่งสำหรับการเกษตรในปัจจุบัน ผลจากการตรึงไนโตรเจนในข้าวโพดของจุลินทรีย์ดังกล่าวไม่เพียงแต่เพิ่มผลผลิตเท่านั้น ยังช่วยให้ข้าวโพดมีความสูง มวล และปริมาณไนโตรเจนในพืชเพิ่มมากขึ้นด้วย ซึ่งจะมากหรือน้อยขึ้นกับชนิดของจุลินทรีย์และพืชอาศัย (Govedarica *et al.*, 1993)

การใส่เชื้ออะโซโตแบคทีเรียและเชื้ออะโซสไปริลัมส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนมากที่สุด และการใช้ถั่วเขียวเป็นปุ๋ยพืชสดรวมกับการใส่เชื้ออะโซโตแบคทีเรียและเชื้ออะโซสไปริลัม สามารถส่งเสริมให้ข้าวโพดมีปริมาณผลผลิตเทียบเท่ากับการใช้ปุ๋ยเคมีอัตราครึ่งหนึ่งของอัตราปกติ (9.5 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่) (อรุณี และคณะ, 2553)

4.2 อะโซสไปริลัม (*azospirillum*)

การปลูกพืชไร่จำพวกข้าวโพดนั้นมักพบเชื้ออะโซสไปริลัม ซึ่งเป็นจุลินทรีย์อิสระที่ตรึงไนโตรเจนได้มีอาศัยอยู่อย่างใกล้ชิดกับพืชไร่ มีศักยภาพในการเพิ่มผลผลิตให้กับพืชที่สำคัญและหญ้าภายใต้สภาพอากาศที่แตกต่างกันได้ (Osmar *et al.*, 2004) ส่วนใหญ่มักพบอะโซสไปริลัมในดินเขตร้อน (Baldani, 1987) และในเขตอบอุ่น (Germida, 1986) โดยอาศัยอยู่บริเวณรอบรากพืช (rhizosphere) และพบว่าอะโซสไปริลัมมีอัตราการรอดชีวิตต่ำในดินและเป็นไปได้อย่างยากที่จะมีชีวิตอยู่ข้ามไปถึงฤดูถัดไป (Harris, 1989) อะโซสไปริลัมจัดอยู่ในอันดับ Pseudomonadales วงศ์ Spirillaceae เซลล์มีลักษณะอวบอ้วน โค้งเล็กน้อย และเป็นแท่งตรง เส้นผ่านศูนย์กลางกว้างประมาณ 1.0 ไมโครเมตร ยาว 2.1-3.8 ไมโครเมตร ภายในเซลล์มีเม็ด poly-β-hydroxybutyrate บรรจุอยู่ เชื้อที่มีอายุมากที่อยู่ในอาหารที่เป็นด่างหรือที่มีสภาพที่มีออกซิเจนมากๆ เซลล์จะมีรูปร่างหลายแบบและใหญ่ขึ้น ดัดสีแกรมลบ เคลื่อนที่ได้ในอาหารเหลวโดยเส้นเดียวที่ขั้วเซลล์ อะโซสไปริลัมเป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ในสภาพที่มีออกซิเจนเล็กน้อย (microaerobic condition) เจริญได้ดีในบรรยากาศปกติเมื่อมีเกลือของไนโตรเจนอยู่ด้วย ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต หรืออาจใช้ในเตรตเป็นตัวรับอิเล็กตรอนได้ แต่อาจเกิดการหมักได้เล็กน้อย เมื่อออกซิเจนจำกัดอย่างรุนแรง ในเตรตจะเปลี่ยนเป็นไนไตรต์หรือไนตรัสออกไซด์ หรือแก๊สไนโตรเจน อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 35 ถึง 37 องศาเซลเซียส อาศัยอยู่อย่างอิสระในดิน หรืออาศัยอยู่ที่รากของพืช หญ้า และพืชหัว โดยไม่ชักนำให้เกิดปม (ธงชัย, 2550) มีรายงานว่าการใช้เชื้ออะโซสไปริลัม สามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้า ภายใต้สภาวะปกติและสภาวะแห้งแล้งได้ (Alejandra, 2009) และทำให้ผนังเซลล์ของพืชมีความยืดหยุ่นสูงขึ้นได้ ช่วยในการส่งเสริมการเจริญเติบโตได้ (Cintia *et al.*, 2011)

Fulchieri and Frion (1994) ศึกษาผลของการใช้เชื้ออะโซสไปริลัมที่มีต่อผลผลิตข้าวโพด โดยใช้ *Azospirillum brasilense* (AZ 39), *A. lipoferum* (AZ 30) พบว่าเชื้อ *Azospirillum*

brasilense สามารถเพิ่มน้ำหนักแห้งของต้นข้าวโพดที่ปลูกในภาชนะปลูก เป็นระยะเวลา 50 วันได้จาก 380 มิลลิกรัมต่อกระถาง เป็น 523 มิลลิกรัมต่อกระถาง จากนั้นทำการทดลองในสภาพแปลงโดยใช้เชื้อ *Azospirillum brasilense* (AZ 39), *A. brasilense* ATCC 29745 strain Sp 7 และ *A. lipoferum* (AZ 30) พบว่า เชื้ออะโซสไปริลลัมสามารถเพิ่มน้ำหนักเมล็ดข้าวโพดจาก 2,792 กิโลกรัมต่อเฮกแตร์ (ไม่ใส่เชื้อและปุ๋ย) เป็น 4,447 กิโลกรัมต่อเฮกแตร์ ซึ่งมีค่าเทียบเท่ากับผลผลิตที่ได้จากการใส่ปุ๋ยยูเรีย 60 กิโลกรัมในโตรเจนต่อเฮกแตร์ ที่มีผลผลิตเท่ากับ 4,122 กิโลกรัมในโตรเจนต่อเฮกแตร์ หลังจากนั้นได้มีการศึกษาเกี่ยวกับเชื้ออะโซสไปริลลัมมากขึ้นอย่างต่อเนื่อง ซึ่ง Osmar *et al.* (2004) ได้ศึกษาผลของเชื้ออะโซสไปริลลัมที่มีต่อข้าวโพดในสภาพแปลง โดยใช้ *Azospirillum* sp. RAM-7 และ *Azospirillum* RAM-5 พบว่า เชื้อดังกล่าวสามารถช่วยลดการใช้ปุ๋ยในโตรเจนได้ 40 % ในขณะที่ สีวาพร (2553) พบว่า การใช้เชื้ออะโซสไปริลลัมส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนบริเวณรากข้าวโพดหวานมากที่สุดและจะมีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนบริเวณรากสูงที่สุดในสัปดาห์ที่ 4 เท่ากับ 0.20 มิลลิกรัมในโตรเจนต่อชั่วโมงต่อตารางเมตร และต่อมา ชรินทร์ (2554) ศึกษาผลของเชื้ออะโซสไปริลลัมที่มีต่อการตรึงไนโตรเจนและการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพด พบว่า การใส่เชื้ออะโซสไปริลลัมไอโซเลตต่างๆทำให้มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพดสูงกว่าค่ารับที่ไม่ใส่เชื้ออะโซสไปริลลัมทั้งที่มีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตราเดียวกัน และยังพบว่า ความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบข้าวโพดมีความสัมพันธ์กับค่าความเขียวของใบข้าวโพดที่อายุต่างๆ กิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสในดินไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่กิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนส บริเวณรากข้าวโพดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การใช้เชื้ออะโซสไปริลลัมนั้นส่งผลให้มีกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสทั้งในดินและบริเวณรากพืชเพิ่มมากขึ้น

5. ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

ข้าวโพด (maize หรือ corn, *Zea mays* L.) จัดเป็นธัญญาพืชที่มีความสำคัญเป็นอันดับที่ 3 ของโลก รองจาก ข้าวสาลีและข้าว (คณาจารย์ภาควิชาพืชไร่นา, 2542) การผลิตโดยทั่วไปทั้งในเขตอากาศอบอุ่น (temperate) เขตอากาศร้อนกึ่งร้อนชื้น (subtropic) และพื้นที่ราบเขตร้อน (lowland tropic) เมล็ดข้าวโพดมีแบ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญ มีการใช้ประโยชน์หลายด้าน ได้แก่ อาหารของมนุษย์ อาหารสัตว์ วัตถุดิบในโรงงานผลิตแป้ง น้ำตาลและน้ำมัน ส่วนของต้นข้าวโพด นำมาใช้เป็นพืชอาหารสัตว์ (forage crop) ในรูปหญ้าสด (fodder) หญ้าแห้ง (hay) และหญ้าหมักข้าวโพด

(silage) ในประเทศไทยเมล็ดข้าวโพดที่ผลิตได้มากกว่าร้อยละ 80 จะใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ ส่วนที่เหลือจะส่งออกไปยังประเทศเพื่อนบ้าน (เฉลิมชาติ, 2547)

ช่วงเดือนกันยายน 2555 ทั่วโลกมีพื้นที่เพาะปลูกทั้งหมด 1,091.88 ล้านไร่ เพิ่มขึ้นจากปีที่ผ่านมาร้อยละ 3.69 แต่ได้ผลผลิต 841.06 ล้านตัน ลดลงจากปีที่ผ่านมาร้อยละ 4.06 สาเหตุเกิดจากภัยแล้งที่คุกคามทั่วโลก โดยเฉพาะในสหรัฐอเมริกา ในขณะที่อาเซียนมีพื้นที่เพาะปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ทั้งหมด 56.39 ล้านไร่ เพิ่มขึ้นจากปีที่ผ่านมาร้อยละ 2.97 มีผลผลิตรวม 30.55 ล้านตัน เพิ่มขึ้นจากปีที่ผ่านมาร้อยละ 4.22 แต่มีความต้องการใช้ 36 ล้านตัน เพิ่มขึ้นจากปีที่ผ่านมาร้อยละ 3.45 ทั้งนี้ความต้องการใช้ในอาเซียนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง จากการขยายโรงงานอาหารสัตว์ และการเติบโตของอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ในอาเซียน ทำให้มีการขยายพื้นที่เพาะปลูก (สำนักนโยบายและยุทธศาสตร์การค้า สันค้ำเกษตร, 2555) ซึ่งประเทศไทยมีพื้นที่เก็บเกี่ยวข้าวโพดประมาณ 7,187,560 ไร่ มีผลผลิตรวม 4,687,910 ตัน และมีผลผลิตต่อไร่เฉลี่ยที่ 652 กิโลกรัมต่อไร่ โดยพื้นที่เพาะปลูกข้าวโพดจะมีการกระจายอยู่ทุกส่วนของประเทศ แต่บริเวณเพาะปลูกข้าวโพดที่สำคัญคือ ภาคเหนือตอนล่าง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลางตอนบน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2555)

5.1 ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ พันธุ์สุวรรณ 5 (มก.)

ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 จัดเป็นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์รับรอง จากกรมวิชาการเกษตรซึ่งได้รับการรับรองวันที่ 19 เมษายน พ.ศ. 2537

ลักษณะดีเด่นของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ พันธุ์สุวรรณ 5

- 1) ให้ผลผลิตเมล็ดสูง เฉลี่ยอยู่ในช่วง 907-945 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งสูงกว่าพันธุ์สุวรรณ 1 (7 %) สุวรรณ 3 (4 %) และพันธุ์นครสวรรค์ 1 (16 %)
- 2) ให้ผลผลิตน้ำหนัสด้านสดและน้ำหนักร้างสูง เหมาะในการทำเป็นพืชอาหารสัตว์
- 3) สามารถปรับตัวได้ดีในสภาพแวดล้อมทั่วไป

4) มีลักษณะทางการเกษตรอื่นๆที่ดี เช่น มีระบบราก และลำต้นแข็งแรง ไม่หักล้มง่าย และต้านทานโรคน้ำค้าง และโรคทางใบอื่นๆด้วย

5) เกษตรกรสามารถเก็บเมล็ดไว้ใช้ทำพันธุ์ได้นาน 1-3 ชั่วโมง โดยปฏิบัติตามคำแนะนำของนักวิชาการ

ลักษณะทางการเกษตรของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ พันธุ์สุวรรณ 5

ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ พันธุ์สุวรรณ 5 มีผลผลิตเฉลี่ย 907-945 กิโลกรัมต่อไร่ อายุเก็บเกี่ยว 110-120 วัน จำนวนวันออกดอก 55 วัน ความสูงของต้นเฉลี่ย 192 เซนติเมตร ตำแหน่งความสูงของฝัก 109 เซนติเมตร ซึ่งมีการเป็นโรคน้ำค้าง 0.41 % ความแข็งแรงของระบบราก 2.0 (1 = ดีที่สุด, 5 = ดิน้อยที่สุด) จำนวนต้นหักล้ม 0.6 % การหุ้มของเปลือกฝัก 1.2 % และมีความต้านทานโรคทางใบ 2.3 % สีของช่ขาว สีและชนิดของเมล็ด ส้ม เหลือง หั่วแข็งถึงกึ่งหั่วแข็ง (สถาบันวิจัยพืชไร่, 2555)

5.2 ความสำคัญของไนโตรเจนต่อข้าวโพด

ไนโตรเจน จัดอยู่ในกลุ่มธาตุอาหารมหัพภาค (macronutrient elements) พืชต้องการใช้ในปริมาณมากและตลอดระยะเวลาการเจริญเติบโตของพืช หน้าที่และอิทธิพลของไนโตรเจนที่มีต่อพืชอาจแบ่งได้เป็น 5 กลุ่ม ดังนี้ 1) เป็นส่วนประกอบสำคัญของโปรตีน 2) เป็นส่วนประกอบสำคัญอยู่ในเอนไซม์ต่างๆ 3) เป็นส่วนประกอบในนิวคลีอัส 4) สารประกอบไนโตรเจนอื่นๆ เช่น อะดีโนซีนไดรฟอสเฟต และ 5) สารประกอบไนโตรเจนที่พืชสะสมไว้ หรือทำหน้าที่ป้องกัน (protective compound) เช่น นิโคตินจากใบยาสูบ (ขงยุทธ, 2552) ความต้องการไนโตรเจนของข้าวโพดจะเริ่มตั้งแต่เริ่มงอกและมีความต้องการสูงสุดในช่วงสัปดาห์ที่ 6-8 หลังจากงอก โดยความต้องการไนโตรเจนจะยังคงสูงขึ้นจนถึงระยะข้าวโพดแก่ สำหรับปริมาณไนโตรเจนในข้าวโพดจะผันแปรไปตามปัจจัยหลายอย่าง เช่น ปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจนที่ให้แก่ข้าวโพด ลักษณะทางพันธุกรรมของข้าวโพด อัตราการปลูก สภาพดินฟ้าอากาศ ระยะการเจริญเติบโต และส่วนต่างๆของข้าวโพดจะมีปริมาณไนโตรเจนแตกต่างกันออกไป โดยข้าวโพดที่อายุเก็บเกี่ยวมีระดับไนโตรเจนในส่วนต่างๆ ของข้าวโพดสามารถเรียงลำดับจากมากไปน้อยได้ดังนี้ เมล็ด > ใบ > ช่

และกาบใบ > ต้น และก้านดอกตัวผู้ เมื่อข้าวโพดแก่ในโตรเจน 2 ใน 3 ที่อยู่ในต้น (ส่วนเหนือดิน) จะเคลื่อนย้ายไปสะสมในเมล็ด คงเหลือไว้ภายในต้นเพียง 1 ใน 3 (Curtis and Clark, 1950)

5.3 ความต้องการน้ำและธาตุในโตรเจนของข้าวโพด

ข้าวโพดต้องการธาตุอาหารหลัก คือ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในปริมาณมาก โดยไนโตรเจนจะมีบทบาทต่อข้าวโพดตลอดอายุการเจริญเติบโต ซึ่งระยะที่ข้าวโพดฝักสดต้องการไนโตรเจนมากที่สุด คือ ระยะออกดอกตัวผู้ และตัวเมีย จากการวิเคราะห์เนื้อเยื่อข้าวโพดในช่วง 18-30 วัน และ 39-65 วัน พบว่า ปริมาณการใช้ไนโตรเจนสูงถึง 7 และ 50 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ส่วนฟอสฟอรัสนั้นข้าวโพดตอบสนองตลอดระยะเวลาปลูกแต่ต้องการมากในระยะ 2 สัปดาห์หลังงอก ซึ่งเป็นระยะที่ข้าวโพดมีระบบรากค่อนข้างเล็กและสามารถดูดฟอสฟอรัสจากปุ๋ยได้มากกว่าดิน แต่ในระยะ 3-4 สัปดาห์หลังงอกก็จำเป็นเช่นเดียวกัน เนื่องจากฟอสฟอรัสมีบทบาทสำคัญในการช่วยเสริมสร้างความอุดมสมบูรณ์ให้กับต้นและเมล็ด สำหรับโพแทสเซียมนั้นมีบทบาทในการสร้างการเจริญเติบโตและความแข็งแรงของลำต้น และการสร้างเมล็ด แต่ในสภาพดินปลูกข้าวโพดในประเทศไทยมีธาตุโพแทสเซียมสูง จึงไม่ค่อยพบปัญหาหารขาดธาตุโพแทสเซียมของข้าวโพด โดยทั่วไปดินที่เหมาะสมสำหรับการปลูกข้าวโพดฝักสด ควรมีคุณสมบัติดังนี้ ปรากฏิยาดิน 6.5-7.5 อินทรีย์วัตถุมากกว่า 3 % ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ มากกว่า 20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ มากกว่า 60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และมีความสามารถในการแลกเปลี่ยนประจุบวก มากกว่า 25 me ต่อดิน 100 กรัม (กรมวิชาการเกษตร, 2553)

ข้าวโพดมีความต้องการน้ำในระยะต่างๆ ไม่เท่ากัน โดยในระยะแรกของการเจริญเติบโตนั้น ข้าวโพดจะต้องการน้ำไม่มากนัก และต้องการมากขึ้นตามอายุ โดยมีความต้องการน้ำสูงสุดในช่วงออกดอกและช่วงต้นของการสร้างเมล็ด หลังจากนั้นการใช้น้ำจะค่อยๆ ลดลง ดังนั้นถ้าข้าวโพดขาดน้ำในช่วงออกดอกจะทำให้ผลผลิตลดลงอย่างมาก การให้น้ำ ควรให้น้ำทันทีหลังปลูกและหลังให้ปุ๋ยทุกครั้ง โดยให้จนเต็มร่อง เพื่อให้เมล็ดข้าวโพดงอกได้ สม่าเสมอ และเพื่อให้ปุ๋ยละลายได้หมด จากนั้นให้น้ำอย่างสม่ำเสมอ สูงระดับ 3 ใน 4 ส่วนของความลึกร่อง ไม่ปล่อยให้ดินแห้งในแปลงนานเกิน 24 ชั่วโมง เพราะจะทำให้ต้นข้าวโพดชะงักการเจริญเติบโตหรือตายได้ (กรมวิชาการเกษตร, 2553)

5.4 การใช้ประโยชน์ของข้าวโพด

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

2) ใช้เป็นอาหารสัตว์ เมล็ดข้าวโพดเป็นธัญพืชที่มีคุณค่าอาหารสูง เป็นที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมเลี้ยงสัตว์ในหลายประเทศ เช่น อเมริกา ออสเตรเลีย เดนมาร์ก สำหรับประเทศที่มีพลเมืองหนาแน่นทำให้ไม่มีพื้นที่ว่างพอที่จะปลูกข้าวโพด แต่ต้องการเนื้อสัตว์มากจึงจำเป็นต้องสั่งเมล็ดข้าวโพดจากประเทศที่ปลูกข้าวโพดได้มากเพื่อเอาไปเลี้ยงสัตว์ประเทศเหล่านี้ ได้แก่ ญี่ปุ่น สิงคโปร์ ไต้หวัน และประเทศทางตะวันออกกลาง เป็นต้น สำหรับประเทศที่ปลูกข้าวโพดเองสามารถใช้ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในรูปแบบต่างๆ กันคือ เมล็ด ชัง ต้นสด ต้นแก่ และผลพลอยได้อื่นๆ จากโรงงานอุตสาหกรรมข้าวโพด ได้แก่ เปลือกเมล็ด กาก และรำ เป็นต้น ในประเทศไทยปัจจุบันมีโรงงานอาหารสัตว์ได้ใช้ข้าวโพดเป็นส่วนประกอบส่วนใหญ่ของอาหารสัตว์ ฉะนั้นความต้องการข้าวโพดของโรงงานเหล่านี้จึงมีปริมาณสูงมาก

3) ใช้ในอุตสาหกรรม แป้งข้าวโพดเป็นแป้งที่มีคุณภาพดีและนิยมใช้เป็นอุตสาหกรรมในการประกอบอาหารในรูปแบบต่างๆ ได้มากมายหลายชนิด สำหรับผลพลอยได้จากเมล็ดข้าวโพดได้ถูกนำไปใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น อาหารกระป๋อง อาหารแห้ง น้ำมัน น้ำเชื่อม แอลกอฮอล์ น้ำส้ม เวชภัณฑ์ น้ำหอม น้ำมันใส่ผม แบตเตอรี่อุปกรณ์กันความร้อน เครื่องเคลือบสี ย้อมหมึก พรม น้ำมันน้ำยาซักเงา สารแทนพวกยาง สารเคมี สารระเบิด อุตสาหกรรมกระดาษแผ่นใยอัดแน่น ซึ่งใช้ทำลูกกอล์ฟและกล่องสุบยา วัตถุดิบวนไฟฟ้า (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2555)

6. ลักษณะและสมบัติทั่วไปของชุดดินกำแพงแสน

ชุดดินกำแพงแสน จัดอยู่ในกลุ่มดิน Non Calcic Brown Soils ซึ่งในปัจจุบันได้จัดไว้เป็น silty, Haplustalfs พบมากในภาคกลางบริเวณสันดินริมน้ำสองฝั่งของลำน้ำต่างๆ (กองสำรวจดิน, 2525) เกิดจากการทับถมของตะกอนลำน้ำค่อนข้างใหม่ มีความลาดชัน 2-3 % เป็นดินลึกมาก การระบายน้ำดี การไหลบ่าของน้ำบนผิวดินค่อนข้างช้า (โรจน์, 2525) ในชั้นไทรพรวนมีเนื้อดินประเภท

silty clay loam ประกอบด้วยอนุภาคทราย (sand) ทรายแป้ง (silt) และดินเหนียว (clay) เท่ากับ 17.48, 54.61 และ 27.91 % ตามลำดับ (Kheoruenromne *et al.*, 1985) สภาพที่ผิวหน้าดินมีอนุภาค ทรายแป้งสูงมากและมีอินทรีย์วัตถุต่ำ น่าจะเป็นสาเหตุทำให้เกิดแผ่นแข็งปิดผิวหน้าดิน (soil crust) ง่ายขึ้น (จรวย, 2519) เมื่อเกิดแรงปะทะของเม็ดฝนจะทำให้เม็ดดินแตกและฟุ้งกระจาย อนุภาคทราย แป้งซึ่งมีลักษณะแบนจะเรียงตัวเป็นชั้นแผ่นแข็งบางๆ ก่อให้เกิดผลเสียต่างๆ เช่น การแทรกซึม น้ำ ของดินลดลง (Tackett and Pearson, 1965) เพิ่มปริมาณน้ำไหลบ่าทำให้เกิดการกัดกร่อนดิน (soil erosion) ความหนาแน่นรวมของดินสูงขึ้น และทำให้ความต้านทานของดินต่อการชอนไชของราก พืชเพิ่มขึ้น (Epstein and Grant, 1967)

ชุดดินกำแพงแสนมีความอุดมสมบูรณ์ค่อนข้างสูง โดยมีธาตุฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม อยู่ในเกณฑ์สูง ในชั้นไทรพรวนมีอินทรีย์วัตถุ 2.28 % มีธาตุฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมที่เป็น ประโยชน์เท่ากับ 186.25 และ 363.68 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของ P และ K ตามลำดับ มี pH ประมาณ 7.43 (ดิน:น้ำ เท่ากับ 1:1) ความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออน (CEC) เท่ากับ 21.34 เซนติโมลต่อกิโลกรัม ต่อดิน 100 กรัม และมีค่าการอิ่มตัวด้วยด่าง (base saturation) เท่ากับ 95.82 % (Kheoruenromne *et al.*, 1985) ดินชุดนี้ส่วนใหญ่เหมาะสำหรับการทำสวนผัก ปลูกพืชไร่ และทำสวนผลไม้ (กองสำรวจ ดิน, 2525)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เชื้อ *Azospirillum lipoferum* และ *Azotobacter chroococcum* ชนิดผง จากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาของดิน ภาควิชาปฐพีวิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน
2. เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ พันธุ์สุวรรณ 5 จากศูนย์วิจัยข้าวโพดข้าวฟ่างแห่งชาติ
3. ปุ๋ยเคมีที่ใช้ในการทดลองได้แก่ ปุ๋ยยูเรีย (46 % N) ปุ๋ยทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต (46 % P_2O_5) และ ปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ (60 % K_2O)
4. แปลงปลูกข้าวโพดของเกษตรกร ต.รางพิบูล อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม
5. อุปกรณ์ในการเตรียมแปลง ได้แก่ เทปวัดความยาว เครื่องมือไถพรวน โดยใช้รถแทรกเตอร์ คราด จอบ และเครื่องหยอดแบบกระทุ้ง (jab seeder) และสารป้องกันและกำจัดศัตรูพืช
6. อุปกรณ์ในการเก็บเกี่ยวผลผลิต ได้แก่ มีดสำหรับเก็บตัวอย่างพืช ถุงสำหรับเก็บตัวอย่างผลผลิต ไม้เมตรสำหรับวัดความสูง เครื่องชั่งน้ำหนักในสนาม
7. อุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างดิน ได้แก่ พลั่วตักดินหรือชุดดิน (spades) ถุงเก็บตัวอย่างดิน (sample bags) พลั่วตักดินขนาดเล็ก (minispades)
8. กระจกพลาสติก สำหรับการปลูกข้าวโพดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 เซนติเมตร สูง 25 เซนติเมตร พร้อมจานรอง
9. อุปกรณ์และสารเคมีที่จำเป็นในการวิเคราะห์ตัวอย่างดินและพืช และปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการ

วิธีการ

การศึกษานี้แบ่งออกเป็น 2 การทดลองย่อย คือ

1. การศึกษาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดและกิจกรรมของไนโตรจีเนสในรอบวันของเชื้อ อะโซโตแบคทีเรียและอะโซสไปริลลัมในดินและในรากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

1.1 แผนการทดลอง

ทำการทดลองในโรงเรือนทดลอง ปลูกพืชทดลองในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 เซนติเมตร สูง 25 เซนติเมตร วางแผนการทดลองแบบ 3×4 แฟคทอเรียลแบบสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 4 ซ้ำ ประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยที่ 1 การใส่เชื้อจุลินทรีย์ (I) มี 3 ชนิด ได้แก่ ไม่ใส่เชื้อ (ตัวควบคุม) (NI) ใส่เชื้ออะโซโตแบคทีเรีย (AB) และ ใส่เชื้ออะโซสไปริลลัม (AS) ปัจจัยที่ 2 เวลาในการเก็บตัวอย่าง (T) 4 ช่วง ได้แก่ เช้า (6:00 น.) กลางวัน (12:00 น.) เย็น (18:00 น.) และ เทียนคืน (24:00 น.)

1.2 การเตรียมผงเชื้อ *Azospirillum lipoferum* และ *Azotobacter chroococcum*

การทดลองครั้งนี้ใช้ผงเชื้ออะโซสไปริลลัมและผงเชื้ออะโซโตแบคทีเรีย จากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาของดิน ภาควิชาปฐพีวิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน โดยมีวิธีการเตรียมดังนี้

การเตรียมผงเชื้ออะโซโตแบคทีเรีย ใช้เชื้อบริสุทธิ์ของ *Azotobacter chroococcum* 20AS3 จากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาของดิน ภาควิชาปฐพีวิทยา เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่บรรจุอยู่ในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุ Modified Ashby's Medium (อาหารเหลว 1 ลิตร ประกอบด้วย Mannitol 20 กรัม K_2HPO_4 0.2 กรัม NH_4Cl 1.0 กรัม $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2 กรัม $NaCl$ 0.2 กรัม K_2SO_4 0.1 กรัม $CaCO_3$ 5.0 กรัม $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ 0.002 กรัม และน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 1 สัปดาห์ ให้อากาศโดยเขย่าบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที นำเชื้อที่ได้ผสมลงในวัสดุรองรับ ในการทดลองนี้จะใช้พีตแห้งบดละเอียดที่นำมาเชื้อแล้วเป็นวัสดุรองรับ โดยผสมในอัตราส่วนเชื้อในอาหารเหลว 100 มิลลิลิตรต่อพีต 250 กรัม แล้ว

นำมาบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 สัปดาห์ หลังจากนั้นนำมาผสมกับฟิตที่บดละเอียดและนึ่งฆ่าเชื้อแล้วอีกจำนวน 250 กรัม เข้าด้วยกัน รวมเป็น 500 กรัม และบ่มต่ออีก 1 สัปดาห์ เมื่อได้เวลาตามที่กำหนด นับปริมาณเชื้อในสารผสม โดยวิธี spread plating method บนอาหารวุ้น Modified Ashby's Medium แล้วนำผงเชื้อมาบรรจุไว้ในถุงพลาสติกอ่อนสีดำ แล้วปิดปากถุง เขียนฉลากกำกับ จากนั้นเก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป (ดัดแปลงจาก Mishustin and Shilnikova, 1969)

การเตรียมผงเชื้ออะโซสไปริลลัม ใช้เชื้อ *Azospirillum lipoferum* LB₁₀ จากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาของดิน ภาควิชาปฐพีวิทยา ใช้วิธีการเดียวกับการเตรียมเชื้ออะโซโดแบคเตอร์ แต่ใช้อาหารเหลวตามวิธีการของ Okon *et al.* (1977) โดยในอาหารเหลว 1 ลิตร ประกอบด้วย 1) สารละลาย (A) K₂HPO₄ 6 กรัม KH₂PO₄ 4 กรัม และน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร 2) สารละลาย (B) MgSO₄·7H₂O 0.2 กรัม NaCl 0.1 กรัม CaCl₂ 0.02 กรัม NH₂Cl 1.0 กรัม Malic acid 5.0 กรัม NaOH 3.0 กรัม yeast extract 0.05 กรัม Na₂MoO₄·2H₂O 0.002 กรัม MnSO₄·2H₂O 0.001 กรัม H₃BO₃ 0.0014 กรัม Cu(NO₃)₂ 0.0004 กรัม ZnSO₄ 0.0021 กรัม FeCl₃ 0.002 กรัม Bromothymol blue 2 มิลลิลิตร (0.5 % alcoholic solution) และน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อสารละลาย A และ B แยกกัน และผสมกันในขณะที่ยังร้อนอยู่ เติบเชื้ออะโซสไปริลลัมในอาหารเหลวปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่บรรจุอยู่ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร เป็นเวลา 1 สัปดาห์ ให้อากาศโดยเขย่าบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที นำเชื้อที่ได้ผสมลงในวัสดุรองรับ ในการทดลองนี้จะใช้ฟิตแห้งบดละเอียดที่ฆ่าเชื้อแล้วเป็นวัสดุรองรับ โดยผสมในอัตราส่วน เชื้อในอาหารเหลว 100 มิลลิลิตร ต่อฟิต 250 กรัม แล้วนำมาบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 สัปดาห์ หลังจากนั้นนำมาผสมกับฟิตที่บดละเอียดและนึ่งฆ่าเชื้อแล้วอีกจำนวน 250 กรัม เข้าด้วยกัน รวมเป็น 500 กรัม และบ่มต่ออีก 1 สัปดาห์ เมื่อได้เวลาตามที่กำหนด นับปริมาณเชื้อในวัสดุรองรับ โดยวิธี spread plating method บนอาหารวุ้น บรรจุผงเชื้อในถุงพลาสติกอ่อนสีดำ แล้วปิดปากถุง เขียนฉลากกำกับ จากนั้นเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป (ดัดแปลงจาก Lakshmi-Kumari *et al.*, 1977)

1.3 การเตรียมดิน

เก็บตัวอย่างดิน ได้แก่ ชุดดินกำแพงแสน ในช่วงระดับความลึก 15 เซนติเมตร จากผิวดิน โดยการสุ่มเก็บตัวอย่างให้ทั่วแปลง เลือกก้อนหินและเศษซากพืชขนาดใหญ่ออก นำไปตากแดดเป็นเวลาประมาณ 3 วัน บรรจุลงกระถางๆละ 10 กิโลกรัม ใส่ปุ๋ยเคมีตามตำรับการทดลอง ใส่

ปุ๋ยทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟตอัตรา 5 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ และปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์อัตรา 5 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ เท่ากันทุกการทดลอง

1.4 การปลูกข้าวโพด

1) นำเมล็ดข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ 5 มาล้างฆ่าเชื้อที่ผิวโดยการแช่ใน 5 % sodium hypochlorite เป็นเวลา 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำสะอาด เมื่อเมล็ดข้าวโพดสะอาดและแห้งจึงนำมาคลุกกับผงเชื้อโดยใช้ gum acacia 40 % ในน้ำเป็นสารเหนียว (sticker) ใช้วิธีการคลุกเชื้อแบบ seed inoculation โดยชั่งผงเชื้อจำนวน 100 กรัม ตวงสารเหนียว จำนวน 75 มิลลิลิตรใส่ลงไป ผสมให้เข้ากันพอดีกับผงเชื้อ แล้วชั่งเมล็ดข้าวโพด 500 กรัม เทลงไปผสมกับส่วนผสม คลุกเคล้าให้ผงเชื้อติดกับเมล็ดให้หมด (ชัชฎาพร, 2556)

2) หยอดเมล็ดข้าวโพดที่คลุกเมล็ดด้วยผงเชื้อแต่ละชนิดแล้ว จำนวน 4 เมล็ดต่อกระถาง ที่ระดับความลึก 2-3 เซนติเมตร รดน้ำให้ความชื้นในประมาณที่เท่ากันทุกกระถาง ทำการถอนแยกให้เหลือกระถางละ 1 ต้น เมื่อข้าวโพดอายุได้ 2 สัปดาห์ ดูแลป้องกันกำจัดวัชพืชจนถึงวันเก็บผล

1.5 การเก็บข้อมูล

บันทึกและวิเคราะห์ข้อมูล ที่ระยะเวลา 4 และ 6 สัปดาห์หลังปลูก ดังต่อไปนี้

1) ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินและในพืช ด้วยวิธีของ ทศนีย์และจรงค์ (2542) ดังนี้

วัดปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน โดยชั่งตัวอย่างดิน 1 กรัม ลงใน Micro-Kjeldahl flask เติม digestion mixture ลงไป 5 มิลลิลิตร นำไปวางบน Kjeldahl heater ย่อยจนได้สารละลายใส ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น เขย่าและกรองด้วยกระดาษกรอง แล้วเก็บสารละลายไว้ในขวดพลาสติก จากนั้นนำไปหาปริมาณไนโตรเจนต่อไป โดยการดูดสารละลาย จำนวน 10 มิลลิลิตร ลงใน distillation flask เติม 10N NaOH ลงไป 5 มิลลิลิตร และ

Boric acid indicator 5 มิลลิลิตร กลั่นจนได้สารละลายประมาณ 30 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปไตเตรตด้วย 0.01N H_2SO_4 จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วง

วัดปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพด โดยนำตัวอย่างใบข้าวโพดไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ แล้วนำตัวอย่างของพืชมาบด จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด โดยย่อยตัวอย่างพืชด้วย digestion mixture (H_2SO_4 - Na_2SO_4 -Se mixture) แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด โดยการกลั่น

คำนวณปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้ (total fixed nitrogen; N_f) ด้วยสมการ

$$N_f = (N_{sa} + N_p) - N_{sb}$$

เมื่อ N_f = ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)
 N_{sa} = ปริมาณไนโตรเจนในดินหลังเก็บเกี่ยว (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)
 N_p = ปริมาณไนโตรเจนในพืชหลังเก็บเกี่ยว (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)
 N_{sb} = ปริมาณไนโตรเจนในดินก่อนปลูก (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)

2) กิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสในดินและรากข้าวโพด ด้วยวิธี acetylene reduction (Hardy *et al.*, 1973) ดังนี้

วัดกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสในดิน โดยเก็บตัวอย่างดินรอบรากพืช ปริมาณ 150 กรัม โดยใช้พลั่วตักดินใส่ลงในขวดแก้วขนาด 24 ออนซ์ (682 มิลลิลิตร) ปิดด้วยฝาที่มีแผ่นยางกันรั่ว ใช้เข็มฉีดยา (syringe) ดูดอากาศออกจากขวดแก้วผ่านทางจุกยางที่ติดอยู่ที่ฝาขวด 50 มิลลิลิตร จากนั้นฉีดแก๊สอะเซทิลีน 50 มิลลิลิตร เข้าไปในขวดโดยเข็มฉีดยา บ่มขวดแก้วไว้ใต้ดินในกระถางทดลองนาน 3 ชั่วโมง จากนั้นใช้เข็มฉีดยาขนาด 10 มิลลิลิตร ดูดแก๊สในขวดแก้วแล้วนำมาเก็บในหลอดเก็บแก๊ส จากนั้นนำมาวัดปริมาณแก๊สเอทิลีนที่เกิดขึ้นด้วยเครื่อง gas chromatography

วัดกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสในรากข้าวโพด โดยเก็บตัวอย่างรากข้าวโพดทั้งต้นใส่ลงในขวดแก้วขนาด 24 ออนซ์ (682 มิลลิลิตร) ปิดด้วยฝาที่มีแผ่นยางกันรั่ว หลังจากนั้นปฏิบัติเช่นเดียวกันกับการวัดกิจกรรมไนโตรจีเนสในดิน

คำนวณปริมาณไนโตรเจนจากกิจกรรมไนโตรจีเนส (ศิวาพร, 2553) โดย

$$\text{Nitrogenase activity in soil} = \frac{n\text{C}_2\text{H}_4 \times \text{MWN}_2 \times \text{ms}}{c}$$

$$\text{Nitrogenase activity in root} = \frac{n\text{C}_2\text{H}_4 \times \text{MWN}_2 \times \text{Np}}{c}$$

เมื่อ $n\text{C}_2\text{H}_4$ = จำนวนเอทรีลินที่เกิดขึ้น (โมลเอทรีลินต่อชั่วโมง)
 MWN_2 = มวลโมเลกุลของแก๊สไนโตรเจน (28 กรัมต่อโมลไนโตรเจน)
 ms = มวลของดินที่บ่ม (100 กรัม)
 Np = มวลของรากที่บ่ม (กรัมต่อต้น)
 c = ค่าที่ใช้ในการเปลี่ยนจำนวนโมลของเอทรีลินที่เกิดขึ้นจากกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสไปเป็นจำนวนโมลของไนโตรเจนที่ตรงได้ตามทฤษฎี (3 โมลเอทรีลินต่อโมลไนโตรเจน)

คำนวณกิจกรรมไนโตรจีเนสทั้งหมด (total nitrogenase activity; TNA) ด้วยสมการ

$$\text{TNA} = \text{SNA} + \text{RNA}$$

เมื่อ TNA = Total Nitrogenase Activity (มิลลิลิตรไนโตรเจนต่อกิโลกรัมต่อต้น)

SNA = Soil Nitrogenase Activity (มิลลิลิตรไนโตรเจนต่อกิโลกรัม)

RNA = Root Nitrogenase Activity (มิลลิลิตรไนโตรเจนต่อต้น)

2. การศึกษาปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้และกิจกรรมไนโตรจีเนสที่ระยะเวลาต่างๆกันของเชื้ออะโซโตแบคทีเรียและอะโซสไปริลัมที่เจริญร่วมกับข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ปลูกในชุดดินกำแพงแสน

2.1 แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบบล็อกสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 4 ซ้ำ ประกอบด้วย มี 3 ดำรับการทดลอง คือ ไม่ใส่เชื้อ (ดำรับควบคุม) (NI) ใส่เชื้ออะโซโตแบคทีเรีย (AB) และใส่เชื้ออะโซสไปริลัม (AS)

2.2 การเตรียมผงเชื้อ *Azospirillum lipoferum* และ *Azotobacter chroococcum*

ใช้วิธีการเดียวกันกับการเตรียมผงเชื้อ *Azospirillum lipoferum* และ *Azotobacter chroococcum* ในข้อ 1.2

2.3 การเตรียมแปลงทดลอง

บริเวณที่ใช้ทดลอง คือ แปลงปลูกข้าวโพดของเกษตรกร ต.รางพิกุล อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม

การเตรียมตัวอย่างดิน เก็บตัวอย่างดินในพื้นที่แปลงทดลอง ช่วงระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร โดยการสุ่มเก็บตัวอย่างให้ทั่วแปลง จากนั้นนำตัวอย่างดินมาผึ่งให้แห้งในที่ร่ม แลือกก้อนหินและเศษซากพืชขนาดใหญ่ออก บดให้ละเอียด แล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาดมาตรฐาน ขนาด 2.0 และ 0.5 มิลลิเมตรโดยมีสมบัติบางประการของดินก่อนปลูก ดังตารางที่ 1

การเตรียมแปลงทดลอง เตรียมพื้นที่โดยการแบ่งแปลงออกเป็นแปลงย่อยขนาด 4×6 ตารางเมตร ใส่ปุ๋ยเคมีตามดำรับการทดลอง ใส่ปุ๋ยทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟตอัตรา 5 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ และปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์อัตรา 5 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ เท่ากันทุกดำรับการทดลอง

ตารางที่ 1 สมบัติบางประการของดินก่อนปลูก

รายการที่วิเคราะห์	ค่าที่วิเคราะห์ได้	ความหมาย*
pH (soil:H ₂ O; 1:1) ^{1/}	7.2	กรดปานกลาง
Electrical conductivity (dS/m) ^{2/}	0.04	ไม่เค็ม
Organic matter (%) ^{3/}	0.74	ต่ำมาก
Total nitrogen (%) ^{4/}	0.04	ต่ำมาก
Available phosphorus (mg/kg) ^{5/}	37.56	สูง
Exchangeable potassium (mg/kg) ^{6/}	72.67	ปานกลาง

^{1/} 1:1 water/soil measurement by pH meter; ^{2/} saturation extract ^{3/} Walkley and Black method; ^{4/} Kjeldahl method; ^{5/} Bray II extraction; ^{6/} extract with 1N ammonium acetate pH 7.0; *FAO (1973)

2.4 การปลูกข้าวโพด

เตรียมเมล็ดข้าวโพดด้วยวิธีการในข้อ 1.4 แล้วนำเมล็ดที่กลุ่กเชื้อแต่ละชนิดแล้ว ปลูกด้วยเครื่องหยอดแบบกระทุ้ง (jab seeder) โดยใช้ระยะ 0.25×0.75 ตารางเมตร หยอดเมล็ดข้าวโพด 3 เมล็ด ต่อหลุม แล้วถอนแยกให้เหลือ 1 ต้น หลังปลูกได้ 14 วัน ให้น้ำด้วยวิธีให้ไปตามร่อง สัปดาห์ละ 1 ครั้ง จนถึงระยะการเก็บเกี่ยวผลผลิต

2.5 การเก็บข้อมูล

บันทึกและวิเคราะห์ข้อมูล ที่ระยะเวลา 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 สัปดาห์หลังปลูกดังต่อไปนี้

1) วัดปริมาณเชื้ออะโซโตแบคทีเรียบนอาหารสูตร Ashby's medium และปริมาณเชื้ออะโซสไปริลลัมบนอาหารสูตร Okon (1997) ด้วยวิธี dilution plate count (ธงชัย, 2551) โดยใส่

ดิน 10 กรัม ลงไปในพลาสติกที่มีน้ำปราศจากเชื้อปริมาตร 90 มิลลิลิตร แล้วเขย่าประมาณ 5 นาที ใช้ปิเปตดูดสารแขวนลอยดิน 10 มิลลิลิตร แล้วเจือจาง โดยทำสารแขวนลอยดินให้ได้ความเข้มข้น 10^{-4} , 10^{-5} และ 10^{-6} แล้วใส่ลงไปในจานเพาะเชื้อ ใบละ 1 มิลลิลิตร และกระจายเชื้อให้ทั่ว นำจานเพาะเชื้อไปบ่มในที่มืด อุณหภูมิ 24-30 องศาเซลเซียส จากนั้นอีกประมาณ 1-2 สัปดาห์ ทำการนับโคโลนีของเชื้อที่เจริญในจานเพาะเชื้อนั้นๆ และบันทึกผล

2) การเจริญเติบโตของข้าวโพด ใช้น้ำหนักแห้งราก น้ำหนักแห้งส่วนเหนือดิน และความสูงของต้นข้าวโพด จากข้อล่างสุดของลำต้นเหนือดินถึงคอใบ (leaf collar) ที่อยู่บนสุดของลำต้น

3) กิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสในดินและรากข้าวโพด ด้วยวิธี acetylene reduction (Hardy *et al.*, 1973) ใช้วิธีการเดียวกันกับข้อ 1.5

4) ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินและในข้าวโพด (ทศนีย์และจรงค์, 2542) ใช้วิธีการเดียวกันกับข้อ 1.5

2.6 การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูล โดยวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลด้วยวิธีการของ Duncan's new multiple range test (DMRT) และศึกษาความสัมพันธ์ของค่าวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสและปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้เป็นระบบสมการเชิงเส้น

3. สถานที่ทำการทดลอง

1) โรงเรือนทดลองภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

2) ห้องปฏิบัติการเคมีและความอุดมสมบูรณ์ของดิน ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

3) ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาของดิน ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร กำแพงแสน
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

4) แปลงทดลองของเกษตรกร ต.รางพิกุล อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม

4. ระยะเวลาทำการทดลอง

เริ่มดำเนินการทดลองตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ 2556 ถึง เมษายน 2557



ผลและวิจารณ์

1. การศึกษาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดและกิจกรรมของไนโตรเจนในรอบวันของเชื้ออะโซโตแบคทีเรียและอะโซสไปริลลัมในดินและในรากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ (การทดลองที่ 1)

1.1 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินและในข้าวโพดเมื่อปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ พันธุ์สุวรรณ 5

จากผลการทดลองพบว่า ช่วงเวลาเก็บตัวอย่างไม่มีผลต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินและในข้าวโพดทั้งสัปดาห์ที่ 4 และ 6 (ตารางที่ 2, 3) แต่การปลูกเชื้อจุลินทรีย์มีผลต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คำรับที่มีการปลูกเชื้ออะโซโตแบคทีเรียและอะโซสไปริลลัมมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินมากกว่าคำรับที่ไม่ปลูกเชื้อ โดยการปลูกเชื้ออะโซโตแบคทีเรียมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินมากที่สุดทั้งในสัปดาห์ที่ 4 และ 6 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 729.77 และ 750.47 มิลลิกรัมต่อดิน 10 กิโลกรัม การปลูกเชื้ออะโซสไปริลลัมมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินรองลงมา มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 610.73 และ 631.43 มิลลิกรัมต่อดิน 10 กิโลกรัม ส่วนคำรับที่ไม่ปลูกเชื้อมีปริมาณไนโตรเจนในดินน้อยที่สุด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 502.04 และ 507.21 มิลลิกรัมต่อดิน 10 กิโลกรัม (ตารางที่ 2)

สำหรับปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพดให้ผลการศึกษาดังกล่าวแตกต่างกันออกไป กล่าวคือ การปลูกเชื้ออะโซสไปริลลัมมีผลให้ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพดมากที่สุด ในสัปดาห์ที่ 4 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 159.11 มิลลิกรัมต่อดิน และในสัปดาห์ที่ 6 ข้าวโพดมีการเจริญเติบโตเพิ่มมากขึ้นทำให้ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในพืชเพิ่มมากขึ้นตามไปด้วย มีค่าเฉลี่ยเป็น 840.35 มิลลิกรัมต่อดิน การปลูกเชื้ออะโซโตแบคทีเรียมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพด รองลงมา มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 132.20 และ 713.91 มิลลิกรัมต่อดิน ในสัปดาห์ที่ 4 และ 6 ตามลำดับ และคำรับที่ไม่ปลูกเชื้อมีปริมาณไนโตรเจนในข้าวโพดน้อยที่สุด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 60.79 และ 553.63 มิลลิกรัมต่อดินตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ช่วงเวลาเก็บตัวอย่างไม่มีผลต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้ (N_p) เช่นกัน ทั้งสัปดาห์ที่ 4 และ 6 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่การปลูกเชื้อมีผลต่อปริมาณ N_f แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามคำรับที่ปลูกเชื้ออะโซโตแบคทีเรียและอะโซสไปริลลัมมี

ปริมาณ N_f ไม่แตกต่างกันทางสถิติแต่มีปริมาณ N_f มากกว่าดำรับที่ไม่คลุกเชื้อ ในสัปดาห์ที่ 4 การคลุกเชื้ออะโซโตแบคเตอร์และอะโซสไปริลัมมีปริมาณ N_f เฉลี่ยเท่ากับ 365.10 และ 272.97 มิลลิกรัมต่อกระถาง ตามลำดับ และมีปริมาณ N_f เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 6 มีค่าเท่ากับ 967.52 และ 974.91 มิลลิกรัมต่อกระถาง ตามลำดับ ในขณะที่ดำรับที่ไม่คลุกเชื้อมีปริมาณ N_f เฉลี่ย เท่ากับ 81.78 และ 563.97 มิลลิกรัมต่อกระถาง ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 2 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน (มิลลิกรัมต่อดิน 10 กิโลกรัม) เมื่อปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 ที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์

Times (T)	Week 4				Week 6			
	Inoculation (I)			Average	Inoculation (I)			Average
	NI	AB	AS		NI	AB	AS	
6.00 am.	434.76	724.59	621.08	593.48	517.57	745.30	621.08	627.98
12.00 pm.	538.27	745.30	641.78	641.78	455.46	766.00	683.19	634.88
6.00 pm.	538.27	724.59	579.67	614.18	496.86	766.00	600.38	621.08
12.00 am.	496.86	724.59	600.38	607.28	558.97	724.59	621.08	634.88
Average	502.04c	729.77a	610.73b		507.21c	750.47a	631.43b	
F-test								
I		**				**		
T		ns				ns		
I×T		ns				ns		
%CV		18.41				18.74		

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธีของ DMRT

ตารางที่ 3 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 (มิลลิกรัมต่อต้น) ที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์

Times (T)	Week 4				Week 6			
	Inoculation (I)			Average	Inoculation (I)			Average
	NI	AB	AS		NI	AB	AS	
6.00 am.	49.09	103.24	140.82	97.72	455.12	682.12	824.01	653.75
12.00 pm.	53.25	140.91	171.06	121.74	492.77	756.20	772.89	673.95
6.00 pm.	62.63	133.13	149.99	115.25	541.67	717.43	875.63	711.58
12.00 am.	78.16	151.51	174.58	134.75	724.94	699.91	888.85	771.23
Average	60.79c	132.20b	159.11a		553.63c	713.91b	840.35a	
F-test								
I		**				**		
T		ns				ns		
I×T		ns				ns		
%CV		20.41				22.46		

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
 ** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
 ตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธีของ DMRT

ตารางที่ 4 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้ (มิลลิกรัมต่อกระถาง) เมื่อปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ พันธุ์สุวรรณ 5 ที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์

Times (T)	Week 4				Week 6			
	Inoculation (I)			Average	Inoculation (I)			Average
	NI	AB	AS		NI	AB	AS	
6.00 am.	48.33	330.97	265.04	214.78	475.82	930.55	948.23	784.87
12.00 pm.	94.66	389.34	315.97	266.66	451.36	1025.33	959.22	811.97
6.00 pm.	88.36	360.86	232.80	227.34	541.67	986.57	979.14	835.79
12.00 am.	95.77	379.24	278.10	251.03	787.05	927.64	1013.06	909.25
Average	81.78b	365.10a	272.97a		563.97b	967.52a	974.91a	
F-test								
I		**				**		
T		ns				ns		
I×T		ns				ns		
%CV		20.45				27.46		

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
 ** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
 ตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธีของ DMRT

1.2 ปริมาณไนโตรเจนจากกิจกรรมไนโตรจีเนสในดิน (SNA) และปริมาณไนโตรเจนจากกิจกรรมไนโตรจีเนสในรากข้าวโพด (RNA) เมื่อปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5

จากการศึกษา SNA เมื่อปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 พบว่าช่วงเวลาเก็บตัวอย่างไม่มีผลต่อ SNA ทั้งสัปดาห์ที่ 4 และ 6 โดย SNA ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่การคลุกเชื้อจุลินทรีย์มีผลให้ SNA แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดำริบที่มีการคลุกเชื้ออะไซโตแบคเตอร์และอะไซสไปริลลัมมี SNA มากกว่าดำริบที่ไม่คลุกเชื้อ ในสัปดาห์ที่ 4 การคลุกเชื้ออะไซโตแบคเตอร์และการคลุกเชื้ออะไซสไปริลลัมมี SNA ในระดับใกล้เคียงกันแต่มากกว่าดำริบที่ไม่คลุกเชื้อ โดยมี SNA เท่ากับ 17.52, 16.90 และ 14.38 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อดิน 10 กิโลกรัม ตามลำดับ ส่วนในสัปดาห์ที่ 6 การคลุกเชื้อจุลินทรีย์มีความแตกต่างกันทางสถิติ มี SNA จากการคลุกเชื้ออะไซโตแบคเตอร์มากที่สุด รองลงมาเป็นเชื้ออะไซสไปริลลัมและดำริบที่ไม่คลุกเชื้อมี SNA น้อยที่สุด (18.38, 17.62 และ 15.61 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อดิน 10 กิโลกรัม) (ตารางที่ 5)

RNA ในสัปดาห์ที่ 4 และ 6 แสดงใน ตารางที่ 6 การคลุกเชื้อมีผลต่อ RNA ในสัปดาห์ที่ 4 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เชื้ออะไซสไปริลลัมมีผลต่อ RNA มากที่สุด รองลงมาเป็นเชื้ออะไซโตแบคเตอร์ และดำริบที่ไม่คลุกเชื้อมี RNA น้อยที่สุด (8.57, 7.89 และ 4.98 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อดิน) ส่วนในสัปดาห์ที่ 6 มีค่า RNA ใกล้เคียงกับสัปดาห์ที่ 4 คือ 8.71, 7.85 และ 4.90 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อดิน ตามลำดับ

ช่วงเวลาเก็บตัวอย่างไม่มีผลต่อปริมาณไนโตรเจนจากกิจกรรมไนโตรจีเนสทั้งหมด (TNA) ทั้งสัปดาห์ที่ 4 และ 6 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่การคลุกเชื้อจุลินทรีย์มีผลต่อ TNA ในสัปดาห์ที่ 4 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดำริบที่คลุกเชื้ออะไซโตแบคเตอร์และอะไซสไปริลลัมมี TNA มากกว่าดำริบที่ไม่คลุกเชื้อ โดยมี TNA ใกล้เคียงเท่ากับ 25.40 และ 25.47 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อกระถาง ตามลำดับ ในขณะที่ดำริบที่ไม่คลุกเชื้อมี TNA น้อยที่สุด เท่ากับ 19.36 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อกระถาง และมี TNA เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 6 เป็นเท่ากับ 26.23, 26.33 และ 20.52 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อกระถาง ตามลำดับ (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 5 ปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจิเนสในดิน (มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อดิน 10 กิโลกรัม) เมื่อปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 ที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์

Times (T)	Week 4				Week 6			
	Inoculation (I)			Average	Inoculation (I)			Average
	NI	AB	AS		NI	AB	AS	
6.00 am.	14.92	17.54	17.22	16.56	15.79	19.73	17.83	17.79
12.00 pm.	14.05	17.56	16.63	16.08	16.61	18.32	17.66	17.53
6.00 pm.	14.11	17.35	16.55	16.01	14.80	17.94	17.56	16.77
12.00 am	14.42	17.62	17.19	16.41	15.25	17.53	17.42	16.73
Average	14.38b	17.52a	16.90a		15.61c	18.38a	17.62b	
F-test								
I		**				**		
T		ns				ns		
I×T		ns				ns		
%CV		10.78				8.77		

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
 ** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
 ตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธีของ DMRT

ตารางที่ 6 ปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจิเนสในรากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์
สุวรรณ 5 (มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อดิน) ที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์

Times (T)	Week 4				Week 6			
	Inoculation (I)			Average	Inoculation (I)			Average
	NI	AB	AS		NI	AB	AS	
6.00 am.	4.34	7.07	8.59	6.67	4.33	7.72	9.09	7.05
12.00 pm.	4.78	8.43	9.09	7.43	5.17	8.12	8.58	7.29
6.00 pm.	5.44	8.06	8.67	7.39	4.91	7.79	8.80	7.17
12.00 am.	5.38	7.98	7.94	7.10	5.21	7.79	8.38	7.13
Average	4.98c	7.89b	8.57a		4.90c	7.85b	8.71a	
F-test								
I		**				**		
T		ns				ns		
I×T		ns				ns		
%CV		24.99				25.25		

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
 ** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
 ตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่
 ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธีของ DMRT

ตารางที่ 7 ปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจิเนสทั้งหมดที่เกิดขึ้น (มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อกระถาง) เมื่อปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 ที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์

Times (T)	Week 4				Week 6			
	Inoculation (I)			Average	Inoculation (I)			Average
	NI	AB	AS		NI	AB	AS	
6.00 am.	19.26	24.61	25.81	23.23	20.12	27.44	26.93	24.83
12.00 pm.	18.83	26.00	25.72	23.52	21.78	26.44	26.24	24.82
6.00 pm.	19.56	25.41	25.22	23.40	19.70	25.73	26.36	23.93
12.00 am	19.80	25.60	25.13	23.51	20.46	25.32	25.80	23.86
Average	19.36b	25.40a	25.47a		20.52b	26.23a	26.33a	
F-test								
I		**				**		
T		ns				ns		
I×T		ns				ns		
%CV		13.81				12.31		

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธีของ DMRT

จากผลการศึกษาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสทั้งหมดที่เกิดขึ้นในรอบวันของเชื้ออะโซแบคเตอร์และอะโซสไปริลลัมในสัปดาห์ที่ 4 และ 6 พบว่า ช่วงเวลาในรอบวันของการเก็บตัวอย่างไม่มีผลต่อปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินและในข้าวโพด อาจเป็นเพราะการตรึงไนโตรเจนจะเกิดขึ้นได้ดี ถ้ามีปริมาณออกซิเจนต่ำ เนื่องจากคาร์บอนอินทรีย์เป็นแหล่งที่สำคัญสำหรับการเจริญเติบโตและการตรึงไนโตรเจนของจุลินทรีย์ เชื้อแบคทีเรียทั้งสองได้รับการบ่มและแหล่งพลังงานส่วนใหญ่มาจากสารที่รากปลดปล่อยออกมา (root exudate) และเศษรากในระหว่างการเจริญเติบโตของพืช ดังนั้นชนิดและปริมาณของสารอินทรีย์จึงเป็นส่วนควบคุมสารหลังของรากเจริญเติบโตและกิจกรรมของแบคทีเรีย (นงลักษณ์และปรีชา, 2554) การตรึงไนโตรเจนจะใช้ปริมาณของคาร์บอนอินทรีย์นี้ ดังนั้นระดับและรูปแบบของคาร์บอนอินทรีย์ในดินจึงมีบทบาทสำคัญในการควบคุมกิจกรรมของไนโตรจีเนส

ในกรณีนี้ช่วงเวลาในรอบวัน การหลั่งอินทรีย์สารจากรากอาจไม่แตกต่างกัน เพราะอาจจะเพียงพอในการกระตุ้นการเจริญเติบโตและกิจกรรมของแบคทีเรีย ซึ่งแบคทีเรียทั้งสองชนิดจัดเป็น hetero-aerobes สามารถใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนในการเจริญเติบโตได้ แต่ในการตรึงไนโตรเจนจะต้องอยู่ในสภาพที่ไม่ต้องการออกซิเจน อะโซโตแบคเตอร์จึงรักษาสภาพสำหรับการตรึงไนโตรเจนโดยกลไกการหลีกเลี่ยงที่จะสัมผัสกับออกซิเจน (avoidance of oxygen contract) การป้องกันโดยการหายใจ (respiration protection) การป้องกันโดยการเปลี่ยนรูปแบบ (conformation protection) การสร้างเมือก (slime production) และการป้องกันอัตโนมัติ (autoprotection) (Bais *et al.*, 2006) ในขณะที่อะโซสไปริลลัมตรึงไนโตรเจนในสภาพมีออกซิเจนน้อย (microaerophily) ที่ออกซิเจนจะไม่ทำให้เกิดความเสียหายต่อเอนไซม์ไนโตรจีเนส การตรึงไนโตรเจนและการเจริญเติบโตของอะโซโตแบคเตอร์จะพบมากบริเวณเขตอิทธิพลรากพืช

อย่างไรก็ตามปริมาณของแบคทีเรียบางส่วนสามารถเข้าสู่ผิวหนังชั้นนอกของรากพืชและมีผลต่อกิจกรรมไนโตรจีเนสใน aerenchyma และ intercellular ของรากพืชได้ (Tate, 2000; Giller and Wilson, 2001) อะโซสไปริลลัมจึงมีการตรึงไนโตรเจนในพืชสูงกว่าในดินบริเวณรอบรากเนื่องจากมีสภาพ microaerophily ในบริเวณนี้ (Osmar *et al.*, 2004)

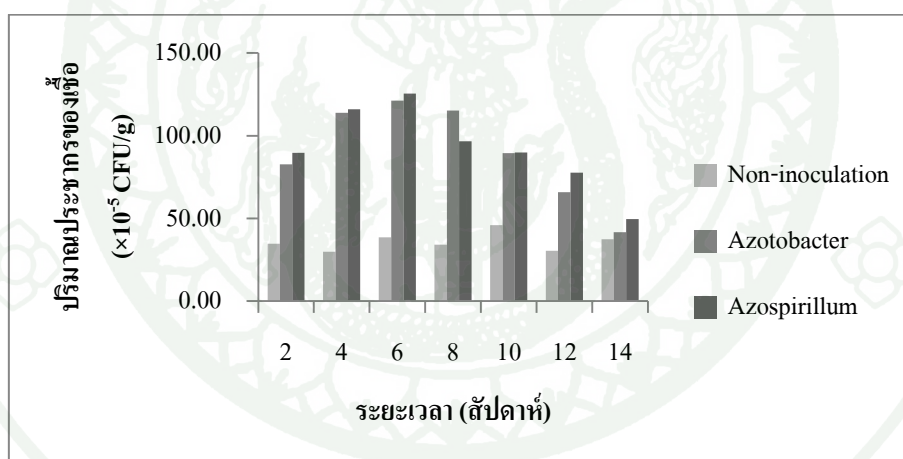
2. การศึกษาปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้และกิจกรรมไนโตรจีเนสของเชื้ออะไซโตแบคเตอร์และอะไซสไปริลัมที่เจริญร่วมกับข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ตลอดฤดูกาลปลูก (การทดลองที่ 2)

2.1 ปริมาณเชื้ออะไซโตแบคเตอร์และอะไซสไปริลัมในดินที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

จากการศึกษาปริมาณเชื้ออะไซโตแบคเตอร์และอะไซสไปริลัมในดินที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 โดยเก็บตัวอย่างดินบริเวณเขตอิทธิพลรอบรากพืช (rhizosphere) ทุก 2 สัปดาห์ เพื่อศึกษาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าการคลุกเมล็ดด้วยเชื้ออะไซโตแบคเตอร์และอะไซสไปริลัมทำให้ในดินมีปริมาณของเชื้อทั้งสองชนิดเพิ่มมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับค่าควบคุม จากภาพที่ 1 แสดงปริมาณประชากรของเชื้ออะไซโตแบคเตอร์และเชื้ออะไซสไปริลัมระหว่างการเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 จนถึงสัปดาห์ที่ 14 จะเห็นได้ว่าปริมาณของเชื้ออะไซโตแบคเตอร์เพิ่มขึ้นหลังจากการปลูกข้าวโพด 2 สัปดาห์ หลังจากนั้นจะมีปริมาณค่อนข้างคงที่จนถึงสัปดาห์ที่ 8 และเริ่มลดลงในสัปดาห์ที่ 10 มีจำนวนเท่ากับ 82.69×10^5 , 113.88×10^5 , 121.26×10^5 , 115.17×10^5 , 89.52×10^5 , 65.81×10^5 , 41.77×10^5 CFU/g ตามลำดับ ในขณะที่เชื้ออะไซสไปริลัมมีปริมาณประชากรเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในสัปดาห์ที่ 2 ถึงสัปดาห์ที่ 6 หลังปลูกข้าวโพด และมีจำนวนลดลงอย่างรวดเร็วในสัปดาห์ที่ 8 มีปริมาณเท่ากับ 89.63×10^5 , 116.0×10^5 , 125.42×10^5 , 96.68×10^5 , 89.95×10^5 , 77.77×10^5 , 49.57×10^5 CFU/g ตามลำดับ แสดงว่าปริมาณประชากรของเชื้ออะไซโตแบคเตอร์และอะไซสไปริลัมเพิ่มขึ้นในระยะแรกของการเจริญเติบโตของข้าวโพด และเริ่มลดลงในช่วงสัปดาห์ที่ 8 ซึ่งเป็นระยะที่ข้าวโพดมีการเจริญเติบโตทางลำต้นเต็มที่แล้วและใกล้ถึงระยะเก็บเกี่ยว จึงทำให้อิทธิพลของพืชที่มีต่อปริมาณประชากรของเชื้อจุลินทรีย์บริเวณเขตรากพืชลดลงตามไปด้วย

ในระยะแรกของการเจริญเติบโตของพืชนั้นจุลินทรีย์จะได้ประโยชน์จากสารที่รากพืชปลดปล่อยออกมามากกว่าเนื้อเยื่อพืชที่ตายแล้วรวมถึงรากพืชที่พืชสลัดออกมา สารอินทรีย์ที่พืชปลดปล่อยออกมานั้น อะไซโตแบคเตอร์และอะไซสไปริลัมสามารถใช้เป็นแหล่งอาหารและพลังงาน ช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตและกิจกรรมของจุลินทรีย์นี้ได้อีกด้วย (Liste and Alexander, 2000) ส่วนในช่วงสัปดาห์ที่ 10-14 หลังปลูก เป็นระยะที่พืชเริ่มแก่และใกล้เก็บเกี่ยวผลผลิต การปลดปล่อยสารออกมาทางรากจึงเปลี่ยนแปลงทั้งชนิดและปริมาณ โดยมีการปลดปล่อยสารในปริมาณที่ลดลง ทำให้จุลินทรีย์ที่อยู่บริเวณเขตอิทธิพลรากพืชจะได้รับสารอินทรีย์จากเนื้อเยื่อพืชที่ตายแล้วรวมถึงรากพืชที่พืชสลัดออกมามากกว่าสารที่รากพืชปลดปล่อยจึงถูกจุลินทรีย์ใช้

หมดได้อย่างรวดเร็ว ส่งผลให้แหล่งพลังงานและอาหารของจุลินทรีย์ขาดแคลนและจุลินทรีย์บางส่วนอาจตายไปในที่สุด จึงเป็นผลให้ช่วงสัปดาห์ที่ 10-14 มีปริมาณประชากรของจุลินทรีย์ลดลงอย่างรวดเร็ว (วารุณี, 2544) สอดคล้องกับการศึกษาปริมาณเชื้ออะซิโตแบคเตอร์ร่วมกับการปลูกข้าวโพดในดิน Egyptian พบว่าหลังจากปลูกข้าวโพด 9 และ 12 สัปดาห์ ประชากรของเชื้ออะซิโตแบคเตอร์มีปริมาณลดลงจาก 19.70×10^4 CFU/g และ 13.30×10^4 CFU/g ทั้งนี้เนื่องจากในระยะสัปดาห์ที่ 9 และ 12 เป็นระยะที่ข้าวโพดเริ่มแก่ (Hegazin *et. al.*, 1979) และยังสอดคล้องกับ ศิวาพร (2553) ที่ศึกษาปริมาณเชื้ออะซิโตแบคเตอร์และอะซิโสปิริลลัมในดินที่ปลูกข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2 พบว่าปริมาณประชากรของเชื้ออะซิโตแบคเตอร์และอะซิโสปิริลลัมมีปริมาณเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 2 และ 4 หลังปลูกและเริ่มลดลงอย่างรวดเร็วหลังจากสัปดาห์ที่ 8 มีปริมาณเท่ากับ 10.50×10^4 , 11.38×10^4 , 7.75×10^4 CFU/g ซึ่งมีแนวโน้มในการเพิ่มขึ้นในช่วงระยะแรกของการเจริญเติบโตของข้าวโพดและมีปริมาณลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงที่ข้าวโพดใกล้จะเก็บเกี่ยวเช่นเดียวกัน



ภาพที่ 1 ปริมาณประชากรของเชื้ออะซิโตแบคเตอร์และเชื้ออะซิโสปิริลลัมระหว่างการเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5

2.2 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินและในข้าวโพด ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้ตลอดฤดูกาลปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5

จากการศึกษาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินตลอดฤดูกาลปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 เป็นระยะเวลาทั้งหมด 14 สัปดาห์ พบว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินมีปริมาณเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ในช่วงสัปดาห์ที่ 4 จนถึงสัปดาห์ที่ 10 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยตลอดฤดูกาลปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่มีการคลุมเมล็ดด้วยเชื้ออะซิโตแบคเตอร์ จะมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินสูงที่สุดอยู่ในช่วงระหว่าง 1,242.15-1,925.35 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม รองลงมาคือการคลุมด้วยเชื้ออะซิโตแบคเตอร์ มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินอยู่ในช่วงระหว่าง 1,159.34-1,842.54 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในขณะที่ดำรับควบคุมที่ไม่มีการคลุมเชื้อมีผลต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินน้อยที่สุด มีค่าอยู่ระหว่าง 993.73-1,759.72 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 8)

จากตารางที่ 9 แสดงปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพด (N_p) ตลอดทั้งฤดูกาลปลูก จะเห็นได้ว่าการคลุมเมล็ดด้วยเชื้ออะซิโตแบคเตอร์และอะซิโตแบคเตอร์มีผลต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพดในระดับใกล้เคียงกัน แต่เมื่อเปรียบเทียบกับดำรับที่ไม่คลุมเชื้อ พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยในช่วงสัปดาห์ที่ 4-10 ดำรับที่คลุมด้วยเชื้ออะซิโตแบคเตอร์มีค่า N_p เท่ากับ 556.49-3,714.62 มิลลิกรัมต่อต้น ส่วนอะซิโตแบคเตอร์มีค่า N_p เท่ากับ 643.73-3,823.81 มิลลิกรัมต่อต้น ในขณะที่ดำรับควบคุมมีค่า N_p เท่ากับ 543.37-3,369.32 มิลลิกรัมต่อต้น เมื่อข้าวโพดมีอายุใกล้เคียงเก็บเกี่ยว ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพดที่มีการคลุมเชื้อมีค่าไม่แตกต่างกันกับดำรับที่ไม่ใส่เชื้อ

สำหรับการศึกษาผลของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้ (N_f) ของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ตลอดทั้งฤดูกาลปลูก พบว่า การตรึงไนโตรเจนของข้าวโพดมีการตรึงเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงสัปดาห์ที่ 8-10 และเริ่มลดลงเมื่อข้าวโพดมีอายุใกล้เคียงเก็บเกี่ยวในสัปดาห์สุดท้าย โดยการคลุมเมล็ดด้วยเชื้ออะซิโตแบคเตอร์มีผลต่อการตรึงไนโตรเจนทั้งหมดของข้าวโพดอยู่ในระดับเดียวกับการคลุมด้วยเชื้ออะซิโตแบคเตอร์ มีค่า N_f เท่ากับ 791.41-4,806.48 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ 724.77- 4,807.37 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และดำรับควบคุมมีค่า N_f เท่ากับ 628.46-4,494.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 8 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) เมื่อปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 ที่อายุ 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 สัปดาห์

Trt	week 2	week 4	week 6	week 8	week 10	week 12	week 14
NI	993.73	1055.83b	1097.24b	1083.56b	1262.86b	1511.29	1759.72
AB	1283.56	1242.15a	1324.97a	1304.26a	1449.18a	1656.21	1925.35
AS	1262.86	1159.34a	1283.56a	1324.97a	1407.77ab	1635.51	1842.54
F-test	ns	**	**	**	**	ns	ns
CV (%)	24.24	10.79	13.10	11.43	11.51	13.87	11.03

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
 ** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
 ตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธีของ DMRT

ตารางที่ 9 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ที่อายุ 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 สัปดาห์

Trt	week 2	week 4	week 6	week 8	week 10	week 12	week 14
NI	25.23	543.37b	1763.32b	2163.76b	3369.32b	3479.59	2213.47
AB	28.74	556.49ab	2418.24a	2470.27a	3714.62a	3667.83	2923.51
AS	28.58	643.73a	2043.13ab	2611.67a	3823.81ab	3648.02	2285.15
F-test	ns	**	**	**	**	ns	ns
CV (%)	12.25	18.28	20.84	13.88	14.02	12.22	16.24

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
 ** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
 ตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธีของ DMRT

ตารางที่ 10 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) เมื่อปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์
พันธุ์สุวรรณ 5 ที่อายุ 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 สัปดาห์

Trt	week 2	week 4	week 6	week 8	week 10	week 12	week 14
NI	628.46	1080.86b	2399.84b	3351.49b	4160.04b	4494.02	3461.935
AB	791.41	1203.42a	3279.59a	3833.85a	4310.41a	4806.48	4213.903
AS	724.77	1362.08a	2829.83a	3834.32a	4745.21a	4807.37	4002.09
F-test	ns	**	**	**	**	ns	ns
CV (%)	21.62	14.76	16.23	17.89	19.71	24.15	18.11

หมายเหตุ

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธีของ DMRT

2.3 ปริมาณไนโตรเจนจากกิจกรรมไนโตรจีเนสในดิน (SNA) และในรากข้าวโพด (RNA) และปริมาณไนโตรเจนจากกิจกรรมไนโตรจีเนสทั้งหมดที่เกิดขึ้น (TNA) ตลอดฤดูกาลปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5

จากผลการศึกษาแสดงดังตารางที่ 11 พบว่าในดินมีกิจกรรมไนโตรจีเนสเพิ่มมากขึ้นตลอดทั้งฤดูกาล และตำรับที่มีการคลุกเมล็ดด้วยเชื้ออะซิโตแบคเตอร์และอะซิโตสปิริลล์มีผลต่อ SNA มากกว่าตำรับควบคุม ซึ่งตำรับที่คลุกด้วยเชื้ออะซิโตแบคเตอร์มีค่า SNA มากที่สุด (24.83-175.79 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อกิโลกรัม) รองลงมาคือการคลุกด้วยเชื้ออะซิโตสปิริลล์ (24.58-161.32 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อกิโลกรัม) ในขณะที่ปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสในรากให้ผลแตกต่างกัน กล่าวคือ การคลุกด้วยเชื้ออะซิโตสปิริลล์มีผลทำให้ RNA มีค่ามากที่สุด (22.69-38.38 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อดิน) และรองลงมาคือ การคลุกเชื้ออะซิโตแบคเตอร์ มีค่า RNA เท่ากับ 19.65-38.04 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อดิน จากตารางที่ 12 จะเห็นได้ว่า RNA มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อข้าวโพดอยู่ในช่วงที่มีการเจริญเติบโตเต็มที่ ในช่วงที่ข้าวโพดเริ่มออกดอกจนถึงช่วงสะสมน้ำหนักรากเมล็ด ในสัปดาห์ที่ 6-10 และหลังจากสัปดาห์ที่ 10 นั้นเมื่อข้าวโพดเริ่มสุกแก่ RNA มีค่าลดลงและคงที่จนเข้าสู่ระยะเก็บเกี่ยว ซึ่งสอดคล้องกับค่า TNA ในตารางที่ 13 ที่มีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน คือ การคลุกเชื้ออะซิโตแบคเตอร์และเชื้ออะซิโตสปิริลล์มีผลต่อ TNA ในระดับใกล้เคียงกัน มีค่าเท่ากับ 44.47-201.81 และ 47.26-197.28 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อกิโลกรัมต่อดิน ตามลำดับ และมีค่าสูงกว่าตำรับควบคุม (39.15-182.84 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อกิโลกรัมต่อดิน)

เมื่อเปรียบเทียบทั้ง 3 ตำรับการทดลองจากตารางที่ 11, 12 และ 13 พบว่า ในช่วงสัปดาห์ที่ 10 จนถึงระยะเก็บเกี่ยวไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องจากปริมาณกิจกรรมไนโตรจีเนสที่เกิดขึ้นนั้นมีการสะสมเพิ่มขึ้นตั้งแต่ช่วงแรกของการเจริญเติบโตจนถึงระยะเก็บเกี่ยวจึงทำให้เกิดกิจกรรมไนโตรจีเนสมากขึ้น ส่งผลให้มีปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้มากขึ้นตามไปด้วย

ตารางที่ 11 ปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรเจนในดิน (มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อกิโลกรัม) เมื่อปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 ที่อายุ 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 สัปดาห์

Trt	week 2	week 4	week 6	week 8	week 10	week 12	week 14
NI	22.79	42.23	70.20b	77.42b	100.33b	118.01b	157.14
AB	24.83	48.69	77.21a	96.58a	130.43a	141.12a	175.79
AS	24.58	48.07	74.73a	94.50a	112.19ab	140.18a	161.32
F-test	ns	ns	**	**	**	**	ns
CV (%)	6.48	9.09	8.94	15.16	13.71	19.40	18.15

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
 ** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
 ตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธีของ DMRT

ตารางที่ 12 ปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรเจนในรากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 (มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อดิน) ที่อายุ 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 สัปดาห์

Trt	week 2	week 4	week 6	week 8	week 10	week 12	week 14
NI	16.36	20.12c	24.84b	27.73b	29.74b	25.76b	25.70b
AB	19.65	25.94b	29.74a	38.04a	35.25a	34.66a	32.02a
AS	22.69	27.70a	31.96a	38.38a	36.63a	37.14a	35.96a
F-test	ns	**	**	**	**	**	**
CV (%)	15.66	10.40	17.98	13.86	15.73	22.25	16.26

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
 ** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
 ตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธีของ DMRT

ตารางที่ 13 ปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสทั้งหมดที่เกิดขึ้น (มิลลิกรัม ไนโตรเจนต่อกิโลกรัมต่อต้น) เมื่อปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 ที่อายุ 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 สัปดาห์

Trt	week 2	week 4	week 6	week 8	week 10	week 12	week 14
NI	39.15b	62.35b	95.04b	105.15b	130.07b	143.77	182.84
AB	44.478a	74.63a	106.95a	134.62a	165.68a	175.78	207.81
AS	47.26a	75.76a	106.69a	132.88a	148.82ab	177.32	197.28
F-test	**	**	**	**	**	ns	ns
CV (%)	14.53	22.71	13.04	12.10	12.44	18.81	15.75

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
 ** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
 ตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธีของ DMRT

จากผลการศึกษาพบว่า การคลุกเชื้ออะโซโตแบคเตอร์และอะโซสไปริลลัมมีผลต่อกิจกรรมไนโตรจีเนสทั้งหมดและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินและในข้าวโพด การคลุกเชื้ออะโซโตแบคเตอร์มีผลทำให้มีกิจกรรมไนโตรจีเนสและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินมากที่สุด ส่วนการคลุกเชื้ออะโซสไปริลลัมมีผลทำให้มีกิจกรรมไนโตรจีเนสในรากและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพดมากที่สุด จะเห็นได้ว่าการคลุกเชื้ออะโซโตแบคเตอร์และอะโซสไปริลลัมมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินและในข้าวโพดมากกว่าดำรับที่ไม่คลุกเชื้อ เนื่องจากอะโซโตแบคเตอร์และอะโซสไปริลลัมเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจนได้อย่างอิสระ ส่งเสริมให้เกิดการตรึงไนโตรเจนในดินมากขึ้นจึงทำให้ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินและในข้าวโพดเพิ่มขึ้นตามไปด้วย (Shabaev, 1991) และสามารถสร้างสารส่งเสริมการเจริญเติบโตแก่พืชจึงช่วยให้พืชอาศัยได้รับประโยชน์จากสารนั้นได้อีกด้วย

จากผลการศึกษาของ Farah *et al.* (2008) พบว่าอะโซโตแบคเตอร์ 47 สายพันธุ์จาก 72 สายพันธุ์ที่ศึกษา สามารถผลิต Indole acetic acid (IAA) มีผลต่อการเติบโตของพืชได้ 83.3 % ของ

ทั้งหมด ส่งผลให้พืชมีการเจริญเติบโตและมีปริมาณไนโตรเจนเพิ่มมากขึ้น ในขณะที่อะโซสไปริลัมก็สามารถช่วยในการสังเคราะห์ออกซินได้ จากการศึกษาของ ชรินทร์ (2554) พบว่าอะโซสไปริลัมไอโซเลตต่างๆสามารถสร้างออกซินได้ในปริมาณสูงสุด 53.75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ช่วยส่งเสริมให้ข้าวโพดมีการเจริญเติบโตมากกว่าตำรับที่ไม่คลุกเชื้อ การสร้างสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเหล่านี้ ถือว่าเป็นกระบวนการต่อเนื่องจากการที่จุลินทรีย์มีความสามารถในการผลิตสารกระตุ้นการเจริญเติบโตทำให้ช่วยกระตุ้นให้ข้าวโพดมีการดูดกินธาตุอาหารและปลดปล่อยสารออกมาจากรากเพิ่มขึ้น มีผลให้จุลินทรีย์ที่อยู่บริเวณอิทธิพลของรากจึงมีแหล่งพลังงานเพิ่มขึ้นทำให้สามารถตรึงไนโตรเจนได้มากขึ้นตามไปด้วย โดยส่วนใหญ่อะโซโตแบคเตอร์จะอยู่ในเขตอิทธิพลรากพืชมากกว่าเข้าอาศัยภายในราก (Olivera *et al.*, 2004) ส่วนอะโซสไปริลัมมีความสัมพันธ์มากในระบบรากของพืชอาศัย ในบริเวณรากจะมีการเคลื่อนย้ายสารอาหารจากรากสู่ดินโดยรอบและจะขับสารออกมารากพืช ช่วยให้แบคทีเรียอยู่บริเวณรอบรากพืชได้รับประโยชน์จากสารที่ขับออกมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน (Steenhoudt and Vanderleyden, 2000) สอดคล้องกับการศึกษาของ Tejera (2005) พบว่า สามารถคัดเลือกสายพันธุ์ของอะโซโตแบคเตอร์ได้จากดิน 60 % และคัดเลือกจากบริเวณรากอ้อยได้ 40 % แสดงให้เห็นว่าอะโซโตแบคเตอร์มีความสัมพันธ์ที่ใกล้ชิดโดยตรงกับบริเวณรากอ้อยน้อยกว่าในดิน เพราะอะโซโตแบคเตอร์ส่วนใหญ่จะอาศัยอยู่อย่างอิสระและพบทั่วไปในดิน ที่มีอุณหภูมิเหมาะสม (30 °C) และสอดคล้องกับงานวิจัยของอรุณี (2553) ที่ศึกษาพบว่า การใส่เชื้ออะโซโตแบคเตอร์และอะโซสไปริลัมส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนมากที่สุดแต่มีการตรึงไนโตรเจนในรากน้อยกว่าการตรึงไนโตรเจนในดิน การใส่เชื้ออะโซโตแบคเตอร์มีการตรึงไนโตรเจนในดินมากที่สุดในสัปดาห์ที่ 4 และ 8 เท่ากับ 3.30 และ 3.35 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อชั่วโมงต่อตารางเมตร และการใส่อะโซสไปริลัมมีการตรึงไนโตรเจนบริเวณรากพืชมากที่สุด เท่ากับ 0.20 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อชั่วโมงต่อตารางเมตร เนื่องจากจุลินทรีย์อิสระส่วนใหญ่อาศัยอยู่ในดินทำให้มีปริมาณไนโตรเจนมากกว่าในราก สอดคล้องกับ ศิวพร (2553) ที่ศึกษาแล้วพบว่า อะโซสไปริลัมสามารถส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนบริเวณรากข้าวโพดหวานมากที่สุด เท่ากับ 0.046 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อชั่วโมงต่อตารางเมตร

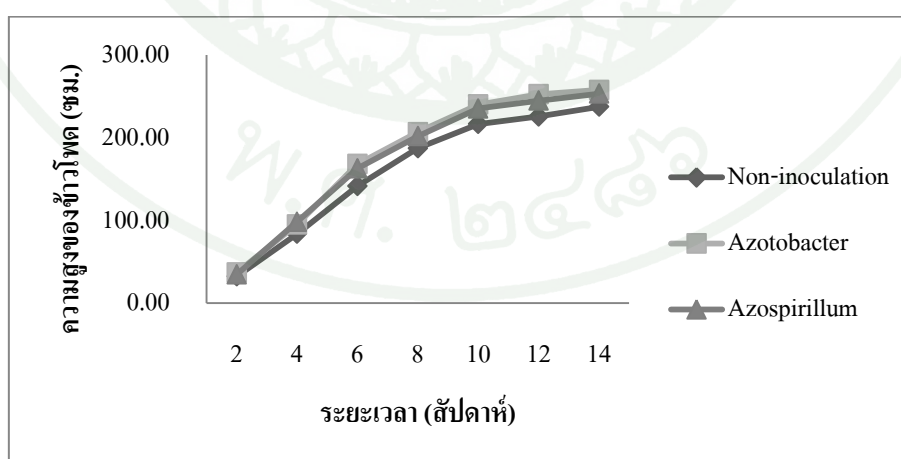
งานวิจัยนี้มีผลการศึกษาที่สอดคล้องเช่นเดียวกัน กล่าวคือ การคลุกด้วยเชื้ออะโซโตแบคเตอร์มีผลทำให้มีกิจกรรมไนโตรจิเนสและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินมากที่สุด และการคลุกเชื้ออะโซสไปริลัมมีกิจกรรมไนโตรจิเนสในรากและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพดมากที่สุด อย่างไรก็ตาม พบว่ามีกิจกรรมไนโตรจิเนสและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเกิดขึ้นในตำรับ

ที่ไม่มีการคลุกเชื้อเช่นกัน นั้นแสดงว่าในดินที่ใช้ศึกษาในครั้งนี้อาจมีจุลินทรีย์จำนวนหนึ่งที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้อยู่แต่ปริมาณจุลินทรีย์พวกนี้ในดินอาจมีไม่มากนัก ปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้จึงมีปริมาณน้อยและไม่ค่อยเพียงพอกับความต้องการของข้าวโพด และเมื่อคลุกเมล็ดด้วยเชื้ออะไซโตแบคเตอร์และอะไซสไปริลลัมจึงเป็นส่วนช่วยให้จุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจนในดินได้เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนมีมากขึ้นตามไปด้วย

2.4 การเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวโพด

1) ความสูงของต้นข้าวโพด

การปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ร่วมกับการใส่เชื้ออะไซโตแบคเตอร์และอะไซสไปริลลัมที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 พบว่า การใช้เชื้อจุลินทรีย์มีผลต่อความสูงของข้าวโพด ข้าวโพดมีความสูงเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วหลังจากปลูก 6 สัปดาห์ และเริ่มมีความสูงคงที่ในสัปดาห์ที่ 10 จนถึงระยะเก็บเกี่ยว เมื่อพิจารณาการใส่เชื้อที่แตกต่างกัน จะเห็นได้ว่าความสูงของข้าวโพดที่คลุกเชื้ออะไซโตแบคเตอร์และอะไซสไปริลลัมมีความสูงอยู่ในระดับใกล้เคียงกัน โดยการคลุกด้วยเชื้ออะไซโตแบคเตอร์ มีความสูงเท่ากับ 37.50-257.80 เซนติเมตร ส่วนอะไซสไปริลลัม มีความสูงเท่ากับ 34.70-253.35 เซนติเมตร ในขณะที่ดำรับควบคุมที่ไม่มีการใส่เชื้อ มีค่าเท่ากับ 32.38-237.60 เซนติเมตร (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 ความสูงของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 ที่อายุ 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 สัปดาห์

2) น้ำหนักแห้งของรากและน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือดินของข้าวโพด

สำหรับน้ำหนักแห้งของรากและน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือดิน ซึ่งประกอบด้วยต้น ใบ และฝัก พบว่า มีผลการทดลองที่สอดคล้องกับความสูงของข้าวโพดตลอดทั้งฤดูกาลปลูก กล่าวคือ การใส่เชื้ออะโซโตแบคทีเรียและอะโซสไปริลลัมทำให้ข้าวโพดมีน้ำหนักของรากสูงกว่า ดำรับที่ไม่มีการใส่เชื้อ และมีน้ำหนักแห้งของรากเพิ่มขึ้นตั้งแต่สัปดาห์ที่ 6 หลังปลูก โดยดำรับที่มีการใส่เชื้ออะโซสไปริลลัมมีผลต่อน้ำหนักแห้งของรากมากที่สุด คือ 21.73 กรัมต่อดัน รองลงมาคือ การคลุกด้วยเชื้ออะโซโตแบคทีเรีย (20.98 กรัมต่อดัน) และดำรับควบคุม (15.28 กรัมต่อดัน) ตามลำดับ (ตารางที่ 14) ส่วนน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือดินก็เช่นเดียวกัน คือ การคลุกเมล็ดด้วย เชื้ออะโซโตแบคทีเรียและอะโซสไปริลลัมมีผลต่อน้ำหนักแห้งส่วนเหนือดิน มีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 159.51 และ 158.01 กรัมต่อดัน ตามลำดับ ในขณะที่ดำรับควบคุมมีน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือดิน เท่ากับ 127.51 กรัมต่อดัน (ตารางที่ 15)

3) น้ำหนักฝักทั้งเปลือก น้ำหนักฝักปอกเปลือก และผลผลิตเมล็ดของข้าวโพด

การใส่เชื้อจุลินทรีย์ที่แตกต่างกันมีผลต่อน้ำหนักฝักทั้งเปลือก น้ำหนักฝักปอกเปลือก และผลผลิตเมล็ดของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยดำรับที่มีการใส่ เชื้ออะโซสไปริลลัมมีผลต่อน้ำหนักฝักทั้งเปลือก น้ำหนักฝักปอกเปลือก และผลผลิตเมล็ดของ ข้าวโพดมีค่าสูงที่สุด เท่ากับ 1,433.33, 1,271.66 และ 1,068.20 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 16) ส่วนอะโซโตแบคทีเรียมีค่าเท่ากับ 1,388.88, 1,225.0 และ 1,004.50 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ในขณะที่ดำรับควบคุมมีผลผลิตอยู่ที่ 1,178.33, 1,040.00 และ 832 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการคลุกเมล็ดด้วยเชื้ออะโซโตแบคทีเรียและอะโซสไปริลลัมส่งผลต่อการเจริญเติบโต และผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เป็นอย่างมากเพราะทำให้ผลผลิตเมล็ดของข้าวโพดเพิ่มสูงขึ้นกว่า ปกติได้ประมาณ 200 กิโลกรัมต่อไร่

สาเหตุที่ทำให้การเจริญเติบโตและปริมาณผลผลิตของข้าวโพดในดำรับที่มีการใส่ เชื้ออะโซโตแบคทีเรียและอะโซสไปริลลัมมีระดับสูงกว่าปกติ (ดำรับที่ไม่ใส่เชื้อ) อาจเนื่องจาก ปริมาณไนโตรเจนที่ข้าวโพดได้รับมีปริมาณค่อนข้างสูงเพราะเชื้ออะโซโตแบคทีเรียและอะโซ สไปริลลัมเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถเพิ่มปริมาณไนโตรเจนให้แก่ดินได้ นอกจากนั้นการเจริญเติบโต และผลผลิตที่เพิ่มมากขึ้นนั้นอาจไม่ได้เป็นผลจากการตรึงไนโตรเจนได้อย่างอิสระทำให้มีปริมาณ

ไนโตรเจนเพิ่มขึ้นเพียงอย่างเดียว แต่เนื่องจากเชื้ออะซิโตนแบคทีเรียและอะซิโตนไปริลัมยังสามารถสร้างสารส่งเสริมการเจริญเติบโตให้แก่พืชได้ (Lambrecht *et al.*, 2000) และยังพบว่าอะซิโตนไปริลัมสามารถช่วยให้รากพืชสามารถหาน้ำและธาตุอาหารได้ดีขึ้น ช่วยรีดิวซ์ไนเตรตและละลายฟอสฟอรัสได้อีกด้วย (Steenhoudt *et al.*, 2000) ซึ่งผลผลิตของข้าวโพดในการทดลองนี้มีความสอดคล้องกับลักษณะดีเด่นของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 คือ ให้ผลผลิตเมล็ดสูงเฉลี่ยอยู่ในช่วง 832-1,068 กิโลกรัมต่อไร่ และให้น้ำหนักต้นสดและน้ำหนักแห้งสูงเหมาะในการทำเป็นพืชอาหารสัตว์

ตารางที่ 14 น้ำหนักแห้งของรากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 (กรัมต่อต้น) ที่อายุ 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 สัปดาห์

Trt	week 2	week 4	week 6	week 8	week 10	week 12	week 14
NI	0.11b	0.62	4.16b	9.95b	15.28b	14.99b	13.77b
AB	0.20a	1.06	5.08a	14.78a	20.01a	20.98a	18.94a
AS	0.23a	1.15	5.20a	15.99a	21.73a	21.40a	19.28a
F-test	**	ns	**	**	**	**	**
CV (%)	13.14	15.02	20.60	20.97	14.08	11.57	12.41

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธีของ DMRT

ตารางที่ 15 น้ำหนักแห้งส่วนเหนือดินของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 (กรัมต่อต้น) ที่อายุ 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 สัปดาห์

Trt	week 2	week 4	week 6	week 8	week 10	week 12	week 14
NI	0.35	8.60b	44.05c	101.98b	127.51b	114.62b	94.85
AB	0.44	10.47a	80.34a	122.08a	156.10a	159.51a	119.49
AS	0.38	10.28a	69.87b	120.43a	158.01a	155.97a	119.22
F-test	ns	**	**	**	**	**	ns
CV (%)	17.24	14.58	12.67	9.25	10.29	15.44	13.48

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
 ** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
 ตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธีของ DMRT

ตารางที่ 16 น้ำหนักฝักทั้งเปลือก น้ำหนักฝักปอกเปลือกและผลผลิตเมล็ดของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 (กิโลกรัมต่อไร่) ที่อายุ 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 สัปดาห์

Trt	Ear with husk	Ear without husk	Seed yield
NI	1178.33b	1040.00b	832.0b
AB	1388.33a	1225.00a	1004.50a
AS	1433.33a	1271.66a	1068.20a
F-test	**	**	**
CV (%)	9.87	9.63	11.60

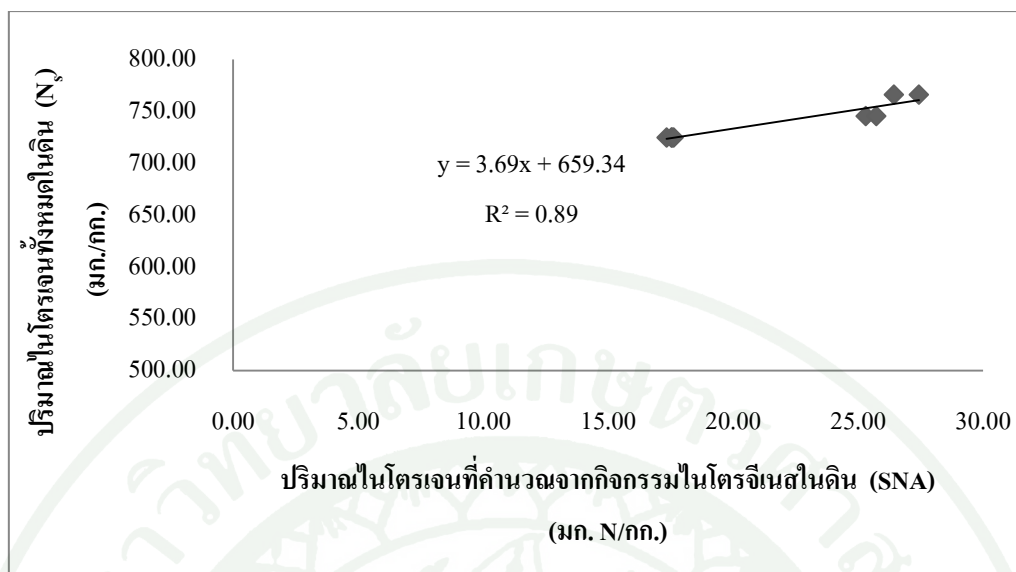
หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
 ** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
 ตัวอักษรที่เหมือนกันและอยู่ในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธีของ DMRT

3. ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้ (N_t) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสทั้งหมด (TNA) เมื่อปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5

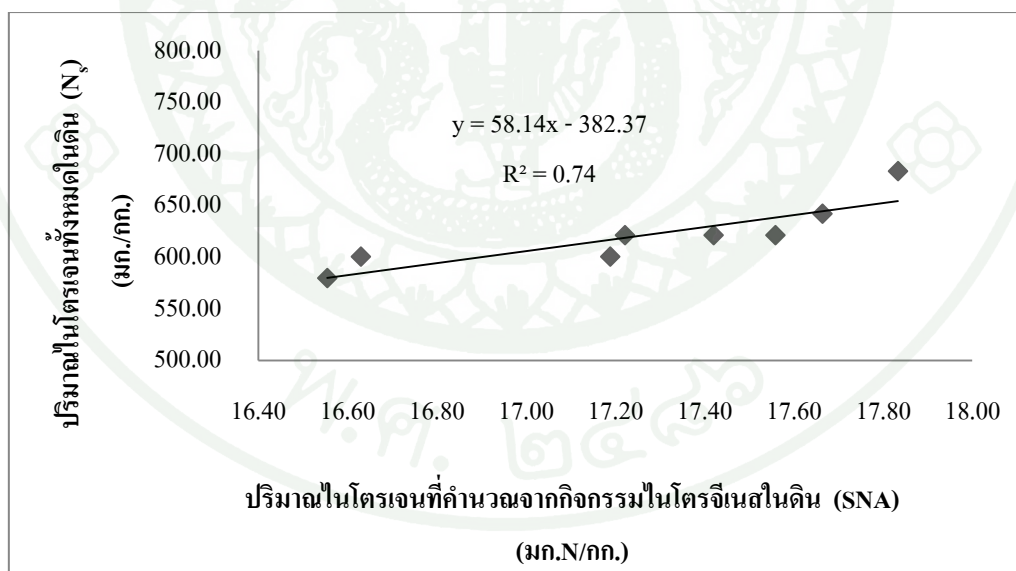
3.1 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสทั้งหมด เมื่อปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 ที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์ (การทดลองที่ 1)

1) ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน (N_s) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสในดิน (SNA) ของเชื้ออะซิโตแบคเตอร์และอะซิโตปรีลัม ที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์

จากภาพที่ 3 และภาพที่ 4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินบนแกน y และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสในดิน บนแกน x ของเชื้ออะซิโตแบคเตอร์และอะซิโตปรีลัม แนวโน้มความสัมพันธ์เป็นแบบแปรผันตรง จากการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี regression พบว่า N_s สัมพันธ์กับ SNA โดยมีค่า $y = 3.69x + 659.34$ และ $y = 58.14x - 382.37$ ตามลำดับ แสดงว่ามีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อ y = ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) x = ปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสในดิน (มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อกิโลกรัม) กล่าวคือ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินจะเปลี่ยนแปลงตามกิจกรรมไนโตรจีเนสในดิน



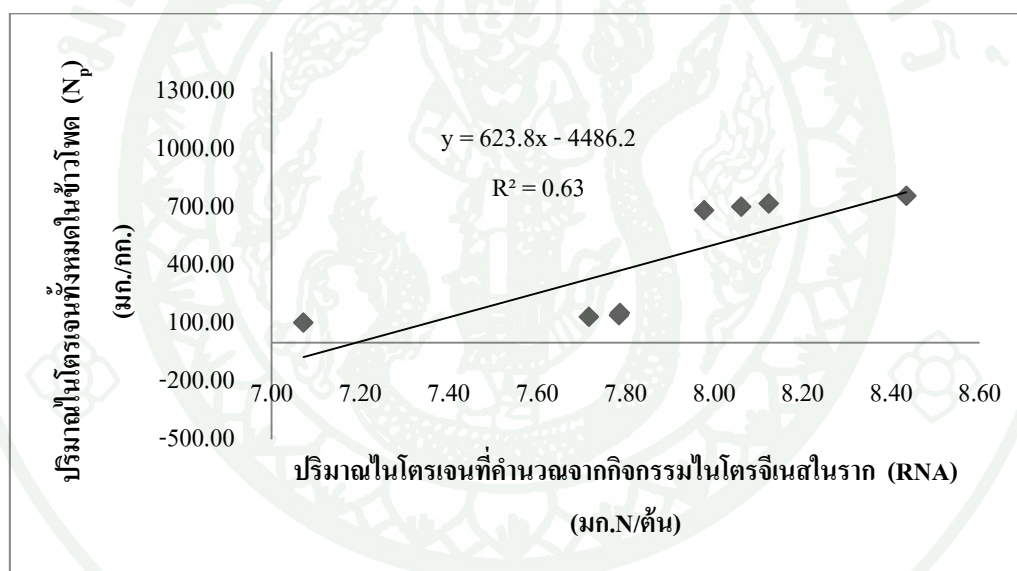
ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน (N_t) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจิเนสในดิน (SNA) ของเชื้ออะโซโตแบคทีเรียที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์



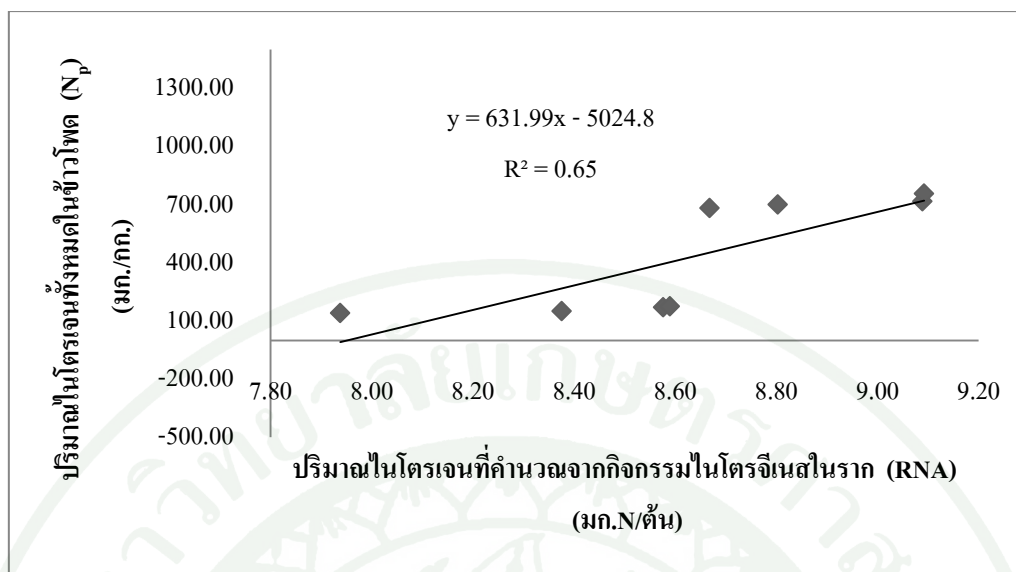
ภาพที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน (N_t) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจิเนสในดิน (SNA) ของเชื้ออะโซสไปริลลัมที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์

2) ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพด (N_p) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสในราก (RNA) ของเชื้ออะโซโตแบคทีเรียและอะโซสไปริลลัมที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์

จากภาพที่ 5 และภาพที่ 6 แสดงปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพดบนแกน y สัมพันธ์กับปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสในรากข้าวโพด บนแกน x ของเชื้ออะโซโตแบคทีเรียและอะโซสไปริลลัม แนวโน้มความสัมพันธ์เป็นแบบแปรผันตรง โดยมีค่า $y = 623.8x - 4486.2$ และ $y = 631.99x + 5024.8$ ตามลำดับ เมื่อ y = ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพด (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) x = ปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสในรากข้าวโพด (มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อดิน)



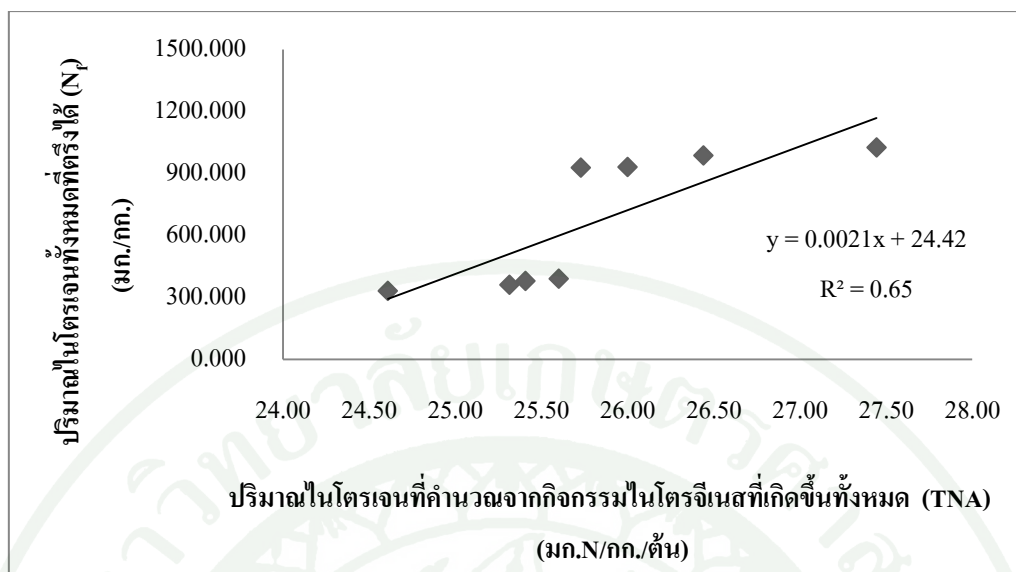
ภาพที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพด (N_p) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสในราก (RNA) ของเชื้ออะโซโตแบคทีเรียที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์



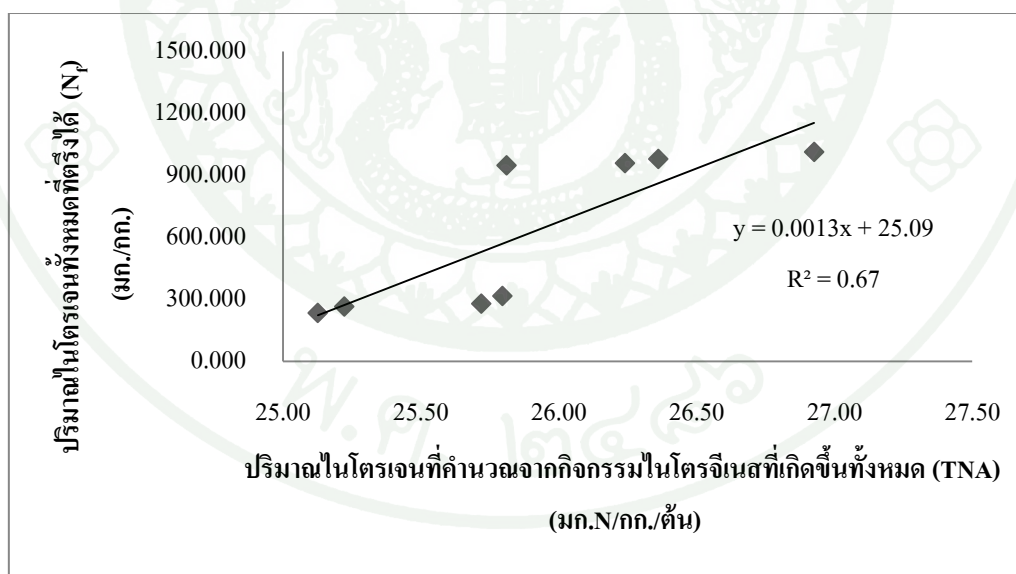
ภาพที่ 6 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพด (N_p) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสในราก (RNA) ของเชื้ออะโซสไปริลลัมที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์

3) ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้ (N_f) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสในราก (TNA) ของเชื้ออะโซโดแบคเตอร์และอะโซสไปริลลัมที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์

จากภาพที่ 7 และภาพที่ 8 แสดงปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้บนแกน y สัมพันธ์กับปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสทั้งหมดที่เกิดขึ้น บนแกน x ของเชื้ออะโซโดแบคเตอร์และอะโซสไปริลลัม แนวโน้มความสัมพันธ์แบบแปรผันตรง จากการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี regression พบว่า N_f สัมพันธ์กับ TNA โดยมีค่า $y = 0.0021x + 24.42$ และ $y = 0.0013x + 25.09$ ตามลำดับ แสดงว่ามีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อ y = ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) x = ปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสทั้งหมดที่เกิดขึ้น (มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อกิโลกรัมต่อต้น) กล่าวคือ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้จะเปลี่ยนแปลงตามปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสทั้งหมดที่เกิดขึ้น ดังสมการ



ภาพที่ 7 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้ (N_p) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสที่เกิดขึ้นทั้งหมด (TNA) ของเชื้ออะซิโดแบคเตอร์ที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์

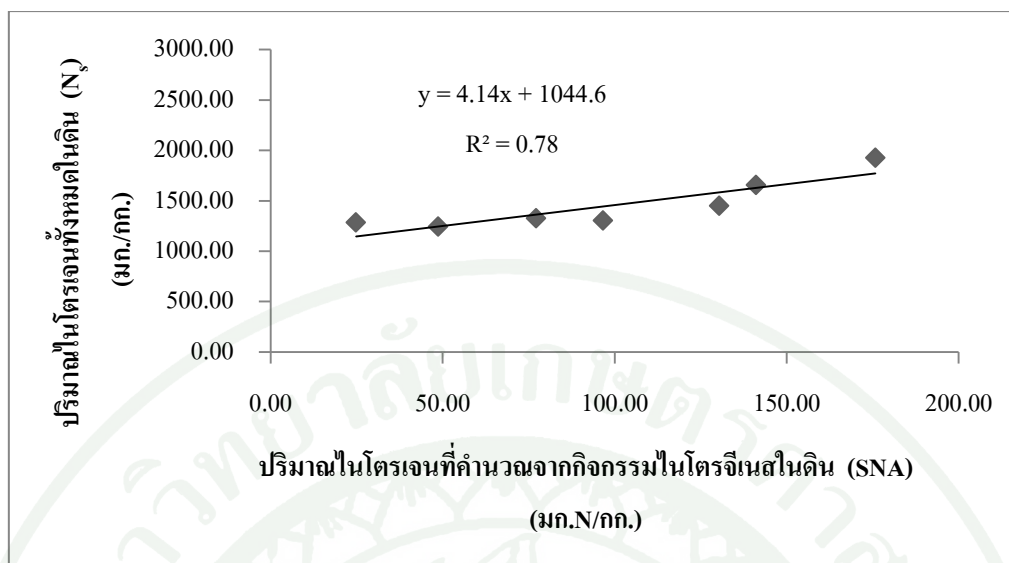


ภาพที่ 8 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้ (N_p) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสที่เกิดขึ้นทั้งหมด (TNA) ของเชื้ออะซิโดแบคเตอร์ที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์

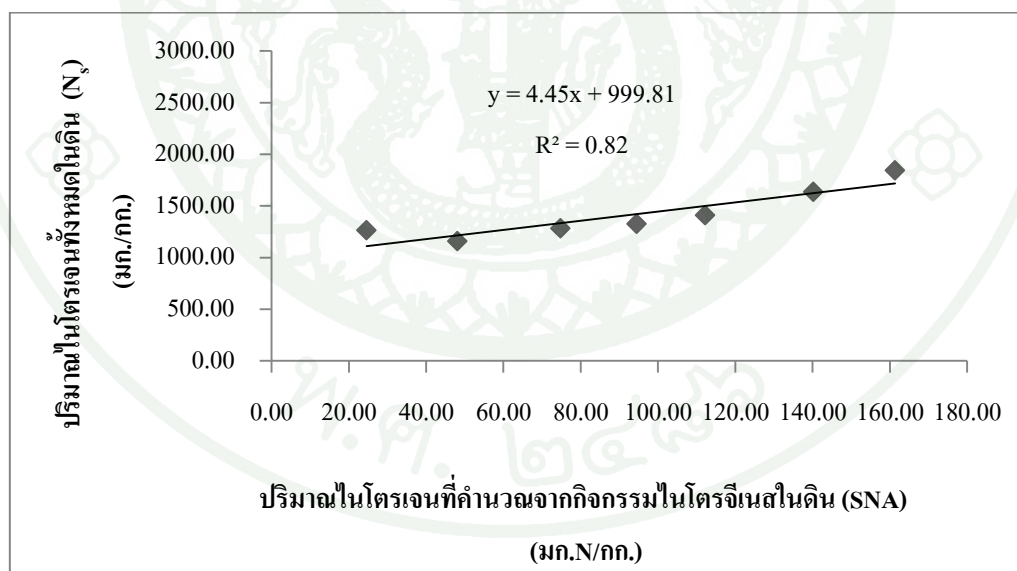
3.2 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้ และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสทั้งหมดตลอดฤดูกาลปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 (การทดลองที่ 2)

1) ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน (N_t) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสในดิน (SNA) ของเชื้ออะซิโตนแบคทีเรียและอะซิโตนไพรอลัมตลอดฤดูกาลปลูก

จากภาพที่ 9 และภาพที่ 10 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินบนแกน y และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสในดิน บนแกน x ของเชื้ออะซิโตนแบคทีเรียและอะซิโตนไพรอลัม แนวโน้มความสัมพันธ์เป็นแปรผันตรงจากการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี regression พบว่า N_t สัมพันธ์กับ SNA โดยมีค่า $y = 4.14x + 1044.6$ และ $y = 4.45x + 999.81$ ตามลำดับ แสดงว่ามีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อ y = ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน x = ปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสในดิน กล่าวคือ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินจะเปลี่ยนแปลงตามปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสในดิน



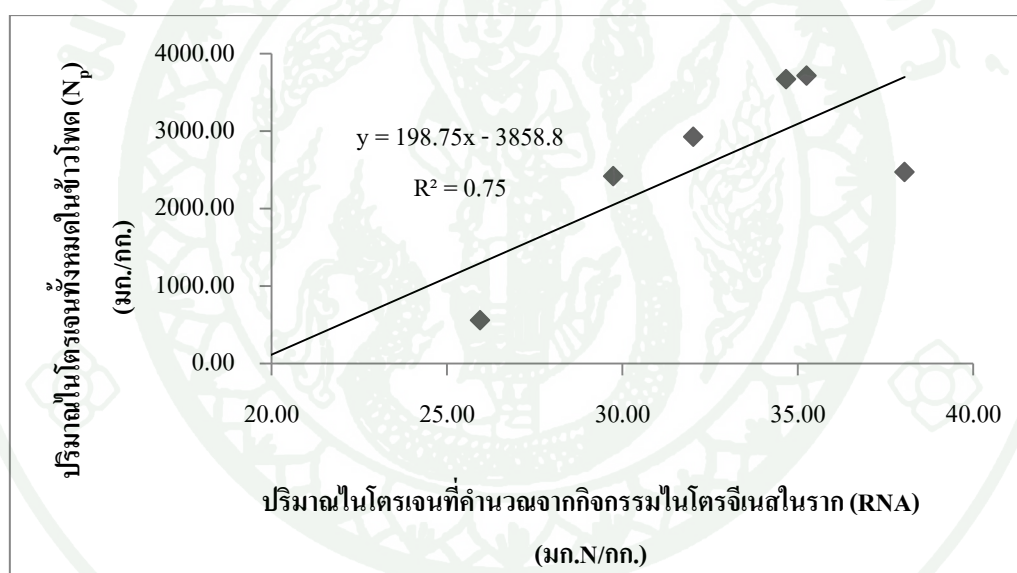
ภาพที่ 9 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน (N_t) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจิเนสในดิน (SNA) ของเชื้ออะโซโตแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนในดิน



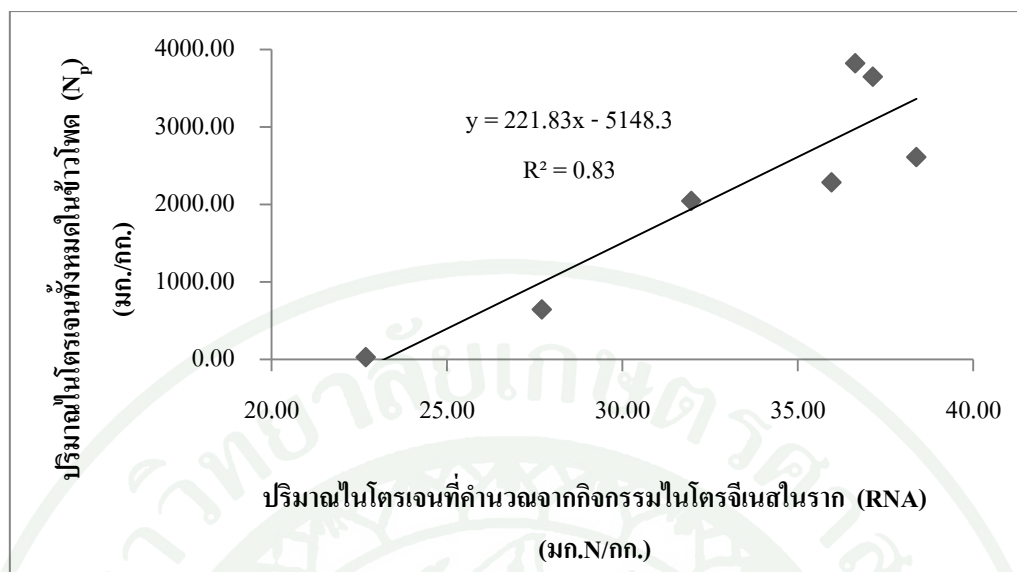
ภาพที่ 10 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน (N_t) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจิเนสในดิน (SNA) ของเชื้ออะโซสไปริลลัมตรึงไนโตรเจนในดิน

2) ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพด (N_p) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสในราก (RNA) ของเชื้ออะซิโตแบคเตอร์และอะซิโตปรีลัมตลอดฤดูกาลปลูก

จากภาพที่ 11 และภาพที่ 12 แสดงปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพดบนแกน y สัมพันธ์กับปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสในรากข้าวโพด บนแกน x ของเชื้ออะซิโตแบคเตอร์และอะซิโตปรีลัม แนวโน้มความสัมพันธ์เป็นเชิงบวก จากการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี regression พบว่า N_p สัมพันธ์กับ RNA โดยมีค่า $y = 198.75x - 3858.8$ และ $y = 221.83x + 5148.83$ ตามลำดับ แสดงว่ามีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อ y = ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพด x = ปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสในรากข้าวโพด



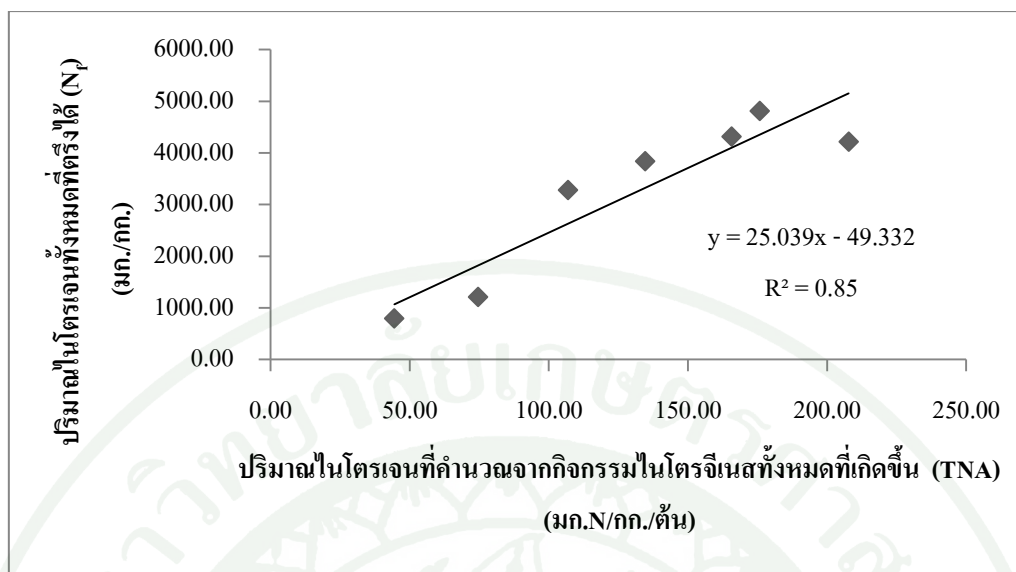
ภาพที่ 11 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพด (N_p) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสในราก (RNA) ของเชื้ออะซิโตแบคเตอร์ตลอดฤดูกาลปลูก



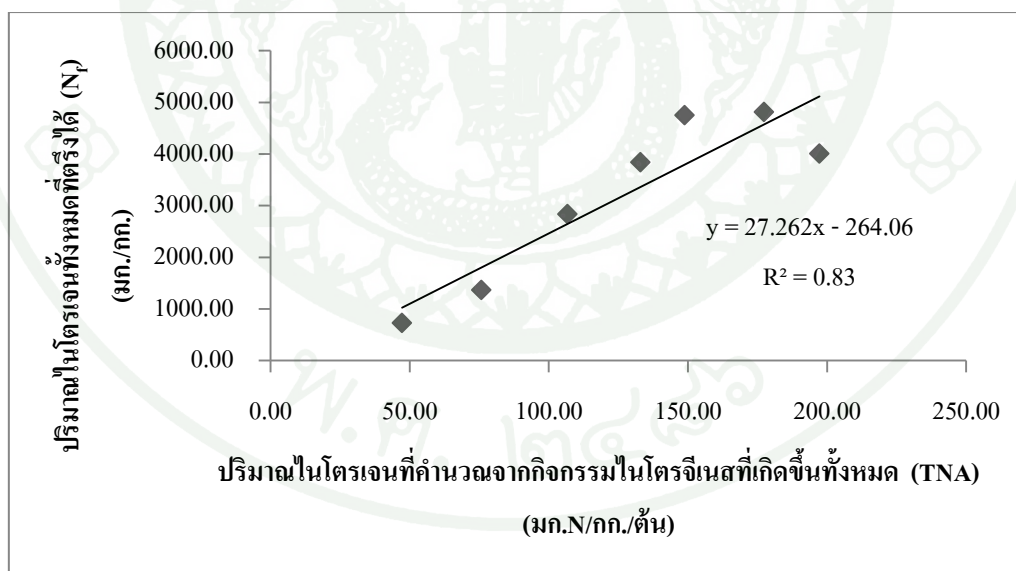
ภาพที่ 12 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพด (N_p) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสในราก (RNA) ของเชื้ออะซิโบลัมตลอดฤดูกาลปลูก

3) ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้ (N_f) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสในราก (TNA) ของเชื้ออะซิโบลัมและอะซิโบลัมตลอดฤดูกาลปลูก

จากภาพที่ 13 และภาพที่ 14 แสดงปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้บนแกน y สัมพันธ์กับปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสทั้งหมดที่เกิดขึ้น บนแกน x ของเชื้ออะซิโบลัมและอะซิโบลัม แนวโน้มความสัมพันธ์เป็นเชิงบวก จากการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี regression พบว่า N_f สัมพันธ์กับ TNA โดยมีค่า $y = 25.039x + 49.332$ และ $y = 27.262x + 264.06$ ตามลำดับ แสดงว่ามีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อ y = ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้ x = ปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสทั้งหมดที่เกิดขึ้น กล่าวคือ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้จะเปลี่ยนแปลงตามปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสทั้งหมดที่เกิดขึ้น



ภาพที่ 13 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้ (N_p) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสที่เกิดขึ้นทั้งหมด (TNA) ของเชื้ออะซิโตแบคเตอร์ตลอดฤดูกาลปลูก



ภาพที่ 14 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้ (N_p) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสที่เกิดขึ้นทั้งหมด (TNA) ของเชื้ออะซิโตแบคเตอร์ตลอดฤดูกาลปลูก

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน (N_t) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจิเนสในดิน (SNA) ของเชื้ออะซิโตนแบคทีเรียและอะซิโตนไพรอลัมของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์เปรียบเทียบกับความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพด (N_p) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจิเนสในรากข้าวโพด (RNA) ของเชื้ออะซิโตนแบคทีเรียและอะซิโตนไพรอลัม พบว่าความสัมพันธ์ระหว่าง N_t และ SNA ของเชื้ออะซิโตนแบคทีเรีย มีค่าสหสัมพันธ์กำลังสอง (R^2) = 0.89 (ภาพที่ 3) ซึ่งมากกว่าความสัมพันธ์ระหว่าง N_p และ RNA ของเชื้ออะซิโตนแบคทีเรีย มีค่า R^2 = 0.63 (ภาพที่ 5) ส่วนความสัมพันธ์ระหว่าง N_t และ SNA ของเชื้ออะซิโตนไพรอลัม มีค่า R^2 = 0.74 (ภาพที่ 4) มีค่ามากกว่าความสัมพันธ์ระหว่าง N_p และ RNA ของเชื้ออะซิโตนไพรอลัม มีค่า R^2 = 0.65 (ภาพที่ 6) และเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้ (N_f) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจิเนสทั้งหมดที่เกิดขึ้น (TNA) ของเชื้ออะซิโตนแบคทีเรียและอะซิโตนไพรอลัม พบว่า มีค่า R^2 = 0.65 และ R^2 = 0.67 ตามลำดับ จากค่าสหสัมพันธ์กำลังสองของความสัมพันธ์ดังที่กล่าว แสดงให้เห็นว่าการปลูกด้วยเชื้ออะซิโตนแบคทีเรียส่งผลให้ความสัมพันธ์ของปริมาณไนโตรเจนและปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจิเนสในดินสูงกว่าการปลูกด้วยเชื้ออะซิโตนไพรอลัม และในขณะที่ยังการปลูกด้วยเชื้ออะซิโตนไพรอลัมมีความสัมพันธ์ของปริมาณไนโตรเจนในข้าวโพดและปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจิเนสในรากสูงกว่าการปลูกด้วยเชื้ออะซิโตนแบคทีเรีย

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน (N_t) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจิเนสในดิน (SNA) ของเชื้ออะซิโตนแบคทีเรียและอะซิโตนไพรอลัมตลอดฤดูกาลปลูกเปรียบเทียบกับความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดและปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจิเนสในรากข้าวโพด (RNA) ของเชื้ออะซิโตนแบคทีเรียและอะซิโตนไพรอลัม พบว่า ความสัมพันธ์ระหว่าง N_t และ SNA ของเชื้ออะซิโตนแบคทีเรีย มีค่า R^2 = 0.78 (ภาพที่ 9) ซึ่งมากกว่าความสัมพันธ์ระหว่าง N_p และ RNA ของเชื้ออะซิโตนแบคทีเรีย มีค่า R^2 = 0.75 (ภาพที่ 11) ในทางตรงกันข้าม ความสัมพันธ์ระหว่าง N_t และ SNA ของเชื้ออะซิโตนไพรอลัม มีค่า R^2 = 0.82 (ภาพที่ 10) มีค่าน้อยกว่าความสัมพันธ์ระหว่าง N_p และ RNA ของเชื้ออะซิโตนไพรอลัม มีค่า R^2 = 0.83 (ภาพที่ 12) และเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้ (N_f) และปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจิเนสทั้งหมดที่เกิดขึ้น (TNA) ของเชื้ออะซิโตนแบคทีเรียและอะซิโตนไพรอลัม พบว่า มีค่า R^2 = 0.85 และ R^2 = 0.83 ตามลำดับ ค่าความสัมพันธ์ของทั้งสองต่างก็มีความสัมพันธ์กัน

เมื่อเปรียบเทียบกับกราฟทดลองที่ 1 จะเห็นได้ว่าค่าสหสัมพันธ์กำลังสองมีค่าเพิ่มขึ้น ทำให้ช่วยสร้างความเชื่อมั่นในการตัดสินใจเลือกใช้สมการในการคาดคะเนปริมาณไนโตรเจนที่ตรงได้ของเชื้ออะซิโตแบคเตอร์และอะซิโสปิริลัม กล่าวคือ หากต้องการวัดกิจกรรมไนโตรเจนแล้วสามารถนำมาประมาณค่าปริมาณไนโตรเจนที่ตรงได้ของเชื้ออะซิโตแบคเตอร์ ณ เวลาใดเวลาหนึ่ง สามารถประมาณค่าได้จากสมการ $y = 25.039x - 49.332$, $R^2 = 0.85$ และเชื้ออะซิโสปิริลัมสามารถประมาณค่าปริมาณไนโตรเจนที่ตรงได้จากสมการ $y = 27.262x - 264.06$, $R^2 = 0.83$ เนื่องจากผลของค่าความสัมพันธ์โดยภาพรวมแล้ว ทำให้ทราบว่า การคลุกเมล็ดด้วยเชื้ออะซิโตแบคเตอร์มีผลต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินและกิจกรรมไนโตรเจนในดิน ในขณะที่การคลุกเมล็ดด้วยเชื้ออะซิโสปิริลัมจะมีผลต่อปริมาณไนโตรเจนในข้าวโพดและกิจกรรมไนโตรเจนในราก ถึงอย่างไรก็ตามการคลุกเมล็ดด้วยเชื้ออะซิโตแบคเตอร์และอะซิโสปิริลัม ทั้งสองเชื้อนี้สามารถเจริญร่วมกับข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ได้เป็นอย่างดี ส่งเสริมการเจริญเติบโตและกิจกรรมต่างๆของข้าวโพดให้เกิดประโยชน์มากขึ้น ซึ่งทั้งหมดนี้สอดคล้องกันกับผลการทดลองที่ได้รับและผลการศึกษาความสัมพันธ์ต่างๆนี้ สามารถนำมาใช้เพื่อการคาดคะเนปริมาณไนโตรเจนและกิจกรรมไนโตรเจนที่เกิดขึ้นของเชื้ออะซิโตแบคเตอร์และอะซิโสปิริลัมที่เจริญร่วมกับข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 ได้อย่างรวดเร็วขึ้น

สรุป

ช่วงเวลาในรอบวันของการเก็บตัวอย่างทั้ง 4 ช่วง ได้แก่ เช้า (6.00 น.) กลางวัน (12.00 น.) เย็น (18.00 น.) และเที่ยงคืน (24.00 น.) ไม่มีผลต่อปริมาณไนโตรเจนและกิจกรรมไนโตรจีเนสทั้งหมด โดยปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินและในข้าวโพด กิจกรรมไนโตรจีเนสในดินและในรากของแต่ละช่วงเวลาไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

การคลุกเมล็ดด้วยเชื้อจุลินทรีย์ต่างชนิดกันมีผลต่อปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้และกิจกรรมไนโตรจีเนสที่เกิดขึ้นทั้งหมด การคลุกด้วยเชื้ออะซิโตแบคเตอร์ส่งผลให้ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดและกิจกรรมไนโตรจีเนสในดินสูงที่สุด ส่วนการคลุกด้วยเชื้ออะซิโตแบคเตอร์ทำให้ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพดและกิจกรรมไนโตรจีเนสในรากสูงที่สุด ในขณะที่การควบคุมมีผลต่อปริมาณไนโตรเจนและกิจกรรมไนโตรจีเนสต่ำที่สุด

ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้แปรผันตรงกับปริมาณไนโตรเจนที่คำนวณจากกิจกรรมไนโตรจีเนสทั้งหมดที่เกิดขึ้นของเชื้ออะซิโตแบคเตอร์และเชื้ออะซิโตแบคเตอร์ อาจประมาณค่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้ของเชื้ออะซิโตแบคเตอร์ ได้จากสมการ $y = 25.039x + 49.332$ ซึ่งมีค่า $R^2 = 0.85$ ส่วนของเชื้ออะซิโตแบคเตอร์สามารถประมาณค่าได้ จากสมการ $y = 27.262x + 264.06$ มีค่า $R^2 = 0.83$ สมการความสัมพันธ์ที่ได้สามารถนำไปใช้ในการคาดคะเนประมาณค่าปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้จริงในการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5

การคลุกเมล็ดด้วยเชื้ออะซิโตแบคเตอร์และเชื้ออะซิโตแบคเตอร์สามารถเจริญเติบโตร่วมกับข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 ได้เป็นอย่างดี ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและกิจกรรมต่างๆของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ส่งผลให้ข้าวโพดมีผลผลิตสูง น้ำหนักแห้งส่วนเหนือดินและส่วนใต้ดิน น้ำหนักฝักสด และน้ำหนักเมล็ดเพิ่มมากขึ้น เมื่อเทียบกับการควบคุม การคลุกด้วยเชื้อทั้งสองชนิดนี้สามารถทำให้น้ำหนักเมล็ดของข้าวโพดเพิ่มสูงขึ้นกว่าปกติได้ประมาณ 200 กิโลกรัมต่อไร่

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2553. ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์. แหล่งที่มา:

http://www.doae.go.th/library/html/2549/0709/Corn_Maize/P1.htm, 27 มีนาคม 2556.

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2555. ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์. แหล่งที่มา:

<http://www.doae.go.th/plant/corn1.htm>, 27 มีนาคม 2556.

กองสำรวจดิน. 2525. ชุดดินที่สำคัญในประเทศไทย, ใน รายงานประจำปี 2525. กรมพัฒนาที่ดิน, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

คณาจารย์ภาควิชาพืชไร่. 2542. พืชเศรษฐกิจ. ภาควิชาพืชไร่ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

จรรยา อิ่มอมกมล. 2519. การศึกษาเบื้องต้นเพื่อทำให้เกิดเม็ดดินในชุดดินกำแพงแสน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เฉลิมชาติ วงศ์เจริญ. 2547. ประสิทธิภาพของการใช้น้ำเสียจากฟาร์มเลี้ยงสุกรเป็นปุ๋ยสำหรับข้าวโพดที่ปลูกบนดินร่วนปนทราย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชรินทร์ พุกเกษม. 2554. ผลของเชื้ออะโซสไปริลัมที่มีต่อการตรึงไนโตรเจนและการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชัชฎากร แก้วเมือง. 2556. การใช้เชื้ออะโซสไปริลัมเพื่อเป็นแหล่งไนโตรเจนทางเลือกในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพดหวานในชุดดินกำแพงแสน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ทัศนีย์ อัดตะนันท์ และจรงค์ จันทน์เจริญสุข. 2542. แบบฝึกหัดและคู่มือปฏิบัติการวิเคราะห์ดินและพืช. ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ธงชัย มาลา. 2550. **ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ: เทคนิคการผลิตและการใช้ประโยชน์**. พิมพ์ครั้งที่ 2. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ธงชัย มาลา. 2557. **การตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพ**. สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ธงชัย มาลา, ขวลิต สงประยูร, สิริรณภา ช่วงโอภาส, วันทนีย์ พึ่งแสง. 2551. **คู่มือปฏิบัติจุลชีววิทยาทางดิน**. ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ. 2554. **จุลชีววิทยาทั่วไป**. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

ขงยุทธ โอสธสกา. 2552. **ธาตุอาหารพืช**. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

โรจน์ เทพพูลผล. 2525. รายงานการสำรวจดินจังหวัดนครปฐม. ใน รายงานการสำรวจดินฉบับที่ 311. กองสำรวจดิน, กรมพัฒนาที่ดิน, กรุงเทพฯ.

วารุณี ภู่อัจจงพงษ์. 2544. การศึกษาชนิดและปริมาณน้ำตาลและกรดอินทรีย์บางชนิดในสารที่หลั่งจากจากราก (root exudates) ของข้าว 5 พันธุ์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยพระจอมเกล้าธนบุรี.

สถาบันวิจัยพืชไร่. 2556. **ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 (มก.)**. แหล่งที่มา: http://www.arda.or.th/kasetinfo/north/plant/fcorn_kind.html, 5 เมษายน 2556.

สมศักดิ์ วังใน. 2541. **การตรึงไนโตรเจน: ไรโซเบียม-พืชตระกูลถั่ว**. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2555. สถานการณ์สินค้าเกษตรที่สำคัญและแนวโน้ม ปี 2555.

แหล่งที่มา: www2.oae.go.th/mis/Forecast/02_journal/forecast3-2555.pdf, 27 มีนาคม 2556.

ศิวาพร ทุปคันโท. 2553. การตรึงไนโตรเจนของจุลินทรีย์อิสระในดินในระบบการปลูกข้าวโพดแบบไม่ไถพรวน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อรุณี คงสอน, ธงชัย มาลา, ศิวาพร ทุปคันโท และสุกัญญา อ่ำคา. 2553. การตรึงไนโตรเจนของจุลินทรีย์อิสระในดินและผลกระทบที่มีต่อผลผลิตของข้าวโพดหวานในระบบการปลูกแบบไม่ไถพรวน. น. 204-213. ใน การประชุมเชิงปฏิบัติการโครงการวิจัยแม่บทข้าวโพดและข้าวฟ่าง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 4.

Alejandra, P.M., F.M. Ballesteros, C.M. Creus, R.J. Sueldo and C.A. Barassi. 2009. Seedlings growth promotion by *Azospirillum brasilense* under normal and drought conditions remains unaltered in Tebuconazole-treated wheat seeds. **Eur. J. Soil Biol.** 45: 20-27.

Bais, H. P., T. L. Weir, L. G. Perry, S. Gilroy and J. M. Vivanco. 2006. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. **Annu. Rev. Plant Biol.** 57: 233-266.

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.

Bashan, Y. and L.E. De-Bashan. 2005. Bacteria Plant growth-promotion. In: **Encyclopedia of Soils in the Environment**. Eds. D. Hillel, Elsevier, Oxford, U.K.

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

- Biari, A., A. Glolami and H. Ruhmani. 2008. Growth promoting and enhanced nutrient uptake of maize (*Zea mays* L.) by application of plant growth promoting rhizobacteria in arid region of Iran. **Biol. Sci.** 8(6): 1015-1025.
- Burns, R.C. and R.W.F. Hardy. 1975. **Nitrogen Fixation in Bacteria and Higher Plants.** Springer-Verlag, Berlin.
- Cintia M.P., N.A. Ramella, M.A. Pereyra, C.A. Barassi and C.M. Creus. 2011. Changes in cucumber hypocotyl cell wall dynamics caused by *Azospirillum brasilense* inoculation. **Plant Physiol. Biochem.** 48: 62-69.
- Curtis, O.F. and D.G. Clark. 1950. **An Introduction to Plant Physiology.** 1st ed. McGraw-Hill Book Co. Inc., New York.
- Dobereiner, J. 1997. Biological nitrogen fixation in the tropics: social and economic contributions. **Soil Biol. Biochem.** 29: 771-774.
- Epstein, E. and W.J. Grant. 1967. Soil losses and crust formation as related to some soil physical properties. **Soil Sci. Soc. Amer. Proc.** 31: 547-550.
- Esmail, Y., A.M.E. Azadgoleh, H. Pirdashti and S. Mozafari. 2008. Azotobacter and Azospirillum inoculants as biofertilizer in canola (*Brassica napus* L.) cultivation. **Asian Plant Sci.** 7(5): 490-494.
- Farah, I. A. and M. S. Khan. 2008. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. **Microbiol. Res.** 163: 173-181.
- 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(7): 921-923.

Germida, J.J. 1986. Population dynamics of *Azospirillum brasilense* and its bacteriophage in soil. **Plant Soil** 90: 117-128.

Giller, K.E. and K.F. Wilson. 2001. **Nitrogen Fixation in Tropical Cropping Systems**. UK:CAB international.

Govedarica, M. 1993. *Azotobacter* frequency and its effect on some maize hybrids.

Microbiologiya Yugoslavia 29(2): 129-138.

Hardy, R.W.F., R.C. Burn 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* inoculants in the rhizosphere of winter wheat. **Soil Biol. Biochem.** 21: 59-64.

Heagazin, N. A., M. Monib and K. Vlassak. 1979. Effect of Inoculation with N₂-Fixing *Spirilla* and *Azotobacter* on Nitrogenase Activity on Root of Maize Grown Under Subtropical Conditions. **Appl. Environ. Microbiol.** 38(4): 621-625.

Hopper, D.U. and L. Johnson. 1990. Nitrogen limitation in dryland ecosystems responses to geographical and temporal variation in precipitation. **Biogeochem.** 46: 247-293.

Kheoruenromne, I., A. Suddhiprakarn, A. Eiumnoh and P. Srijantr. 1985. Suitability and potential of Alfisols and Inceptisols for economic crops in Mae Klong basin, pp. 11- 44. In Gavinlertvatana, P., I. Kheoruenromne, V. Korpraditskul, A. Sukthumrong, S. Nilnond, S. Jamornmarn and S. Faungfupong. (eds.). **KU-ACNARP Cropping Programmes Technical Report 1984-1985**. Faculty of Agriculture, Kasetsart Univ., Bangkok.

Lakshmi, V., Satyanarayana, M. Biajayalakshmi, M. Lakshmi Kumari, K.V.B.R. Tilak and N.S.

Subba Rao. 1977. Establishment and survival of *Spirillum lipoferum*. Proc. **Indian Acad. Sci.** 86: 397-404.

Lakshmanan, M. 2000. **Azotorbacter in Sustainable Agriculture**. Etd. Neeru Narula. New Delhi: CBS.

Lambrecht, M., Y. Okon, A.V. Broek and J. Vanderleyden. 2000. Indole-3-acetic acid: a reciprocal signaling molecule in bacteria-plant interactions. **Trends in Microbiol.** 8: 298-330.

Liste, H.H., and M. Alexander. 2000. Plant-promoted pyrene degradation in soil. **Chemosphere** 40: 7-10.

Martin, D.Z. and M.V.F. Canigiab. 2008. Field performance of a liquid foemulation of *Azospirillum brasilense* on dryland wheat productivity. **Eur. J. Soil Biol.** 45: 3-11.

Mishustin, E.N. and V.K. Shilinkova. 1969. Free-living nitrogen fixing bacteria of the genus *Azotobacter*. **Soil Biology**. UNESCO Publication, 72-142.

Mulonoy, K., M. Gueye and D.S.C. Spencer. 1992. **Biological Nitrogen Fixation and Sustainability of Tropical Agriculture**. John Wiley and Sons, United Kingdom. 488p.

Okon, Y. 1994. **Azospirillum/Plant Associations**. CRC Press. 175 p.

Olivera, M., N. Tejera, C. Iribarna, A. Ocana and C. L. Luch. 2004. Growth, nitrogen fixation and ammonium assimilation in common bean (*Phaseolus vulgaris*): effect of phosphorus. **Physiol. Plant** 121: 498-505.

- Osmar, R., S. Dalla, R.P. Ronzelli, H. Ramona, L. Georgina and P. Ashok. 2004. Effect of inoculation of *Azospirillum* sp. in maize seeds under field conditions. **Food Agri. Environ.** 2(1): 238-242.
- Pandey, A., E. Sharma and L.M.S. Palni. 1998. Influence of bacterial inoculation on maize in upland farming systems of the Sikkim Himalaya. **Soil Biol. Biochem.** 30: 379-384.
- People, M.E., A.W. Faizah, B. Rerkasem and D.F. Harridge. 1989. **Method for Evaluating Nitrogen Fixation by Nodulated Legumes in the Field.** Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra, Australia.
- Pereyra, C.M., N.A. Ramella, M.A. Pereyra., C.A. Barassi and C.M. Creus. 2010. Changes in cucumber hypocotyl cell wall dynamics caused by *Azospirillum brasilense* inoculation. **Plant Physiol. Biochem.** 48: 62-69.
- Shabaev, V.P., V.Smoolin Yu and V.D. Strekozova. 1991. Effect of *Azospirillum brasilense* and *Azotobacter chroococcum* on nitrogen balance in soil under cropping with oats (*Avena sativa* L.). **Biol. Fertil. Soils** 10: 290-292.
- Shank Yu, O. Demin, A. V.Bogachev. 2005. Respiratory Protection nitrogenase complex in *Azotobacter vinelandii*. **Success Boil. Chem.** 45: 205-234.
- Steenhoudt, O. and J. Vanderleyden. 2000. *Azospirillum*, a free-living nitrogen fixation bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. **FEMS Microbiol. Rev.** 24: 487-506.
- Tackett, J.L. and R.W. Pearson. 1965. Some characteristics of soil crusts formed by stimulated rainfall. **Soil Sci.** 99: 407-413.
- Tate, R. L. 2000. **Soil Microbiology.** 2nd ed. John Wiley and Sons, New York.

อัจฉิมา แยมพราย 2557: ความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมไนโตรเจนและปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้ของเชื้ออะไซโตแบคเตอร์และอะไซสไปริลัมที่เจริญร่วมกับข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในชุดดินกำแพงแสน
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการจัดการทางดิน) สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการจัดการทางดิน ภาควิชาปฐพีวิทยา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก:
รองศาสตราจารย์ธัชชัย มาลา, Ph.D. 74 หน้า

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจิเนสที่เกิดขึ้นและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่จุลินทรีย์ตรึงได้ในช่วงการเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์สุวรรณ 5 และเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจิเนสและปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้ โดยแบ่งงานวิจัยออกเป็น 2 การทดลอง 1) การศึกษาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดและกิจกรรมของไนโตรจิเนสในรอบวันของเชื้ออะไซโตแบคเตอร์และอะไซสไปริลัม วางแผนการทดลองแบบ 3×4 แฟกทอเรียลแบบสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 4 ซ้ำ ประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยที่ 1 การใส่เชื้อจุลินทรีย์ (ไม่ใส่เชื้อ ใส่เชื้ออะไซโตแบคเตอร์ และใส่เชื้ออะไซสไปริลัม) ปัจจัยที่ 2 ช่วงเวลาในการเก็บตัวอย่าง (6:00 น., 12:00 น., 18:00 น. และ 24:00 น.) พบว่า ช่วงเวลาในการเก็บตัวอย่างไม่มีผลต่อปริมาณไนโตรเจนและกิจกรรมไนโตรจิเนสทั้งหมด แต่การคลุกเชื้อจุลินทรีย์ต่างชนิดกันมีผลต่อปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้และกิจกรรมไนโตรจิเนส การคลุกด้วยเชื้ออะไซโตแบคเตอร์ส่งผลให้ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดและกิจกรรมไนโตรจิเนสในดินสูงที่สุด ส่วนการคลุกด้วยเชื้ออะไซสไปริลัมทำให้ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในข้าวโพดและกิจกรรมไนโตรจิเนสในรากสูงที่สุด 2) การศึกษาปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้และกิจกรรมไนโตรจิเนสทั้งหมดของเชื้ออะไซโตแบคเตอร์และอะไซสไปริลัมที่เจริญร่วมกับข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ วางแผนการทดลองแบบบล็อกสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 4 ซ้ำ ประกอบด้วย มี 3 ดำรับการทดลอง (ไม่ใส่เชื้อ ใส่เชื้ออะไซโตแบคเตอร์ และใส่เชื้ออะไซสไปริลัม) เก็บข้อมูลทุก 2 สัปดาห์ พบว่าการคลุกเชื้ออะไซโตแบคเตอร์และอะไซสไปริลัม ส่งผลให้ผลผลิตของข้าวโพดมีน้ำหนักฝัก และผลผลิตเมล็ดมากกว่าดำรับควบคุม (1,004.50 1,068.20 และ 832 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ) การคลุกด้วยเชื้อทั้งสองชนิดนี้สามารถทำให้ผลผลิตเมล็ดของข้าวโพดสูงกว่าการไม่คลุกเชื้อประมาณ 200 กิโลกรัมต่อไร่ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้แปรผันตรงกับกิจกรรมไนโตรจิเนสทั้งหมดที่เกิดขึ้น สามารถประมาณค่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้ของเชื้ออะไซโตแบคเตอร์ ได้จากสมการ $y = 25.039x + 49.332$ ซึ่งมีค่าสหสัมพันธ์กำลังสอง (R^2) = 0.85 ส่วนเชื้ออะไซสไปริลัมสามารถประมาณค่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้ จากสมการ $y = 27.262x + 264.06$ มีค่า $R^2 = 0.83$

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

Tejera, N., C. Lluch, M.V. Martinez-Toledo, and J. Gonzalez-Lopez. 2005. Isolation and characterization of *Azotobacter* and *Azospirillum* strains from the sugarcane rhizosphere. **Plant Soil** 270: 223-232.



ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวอัจจิมา แยมพราย
วัน เดือน ปี ที่เกิด	5 มกราคม พ.ศ. 2533
สถานที่เกิด	จังหวัดนครปฐม
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (เกษตรศาสตร์) เกียรตินิยมอันดับหนึ่ง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา เพื่อการตีพิมพ์ผลงานใน วารสารวิชาการระดับนานาชาติ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 2555