

บทที่ 2

แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ข้าว

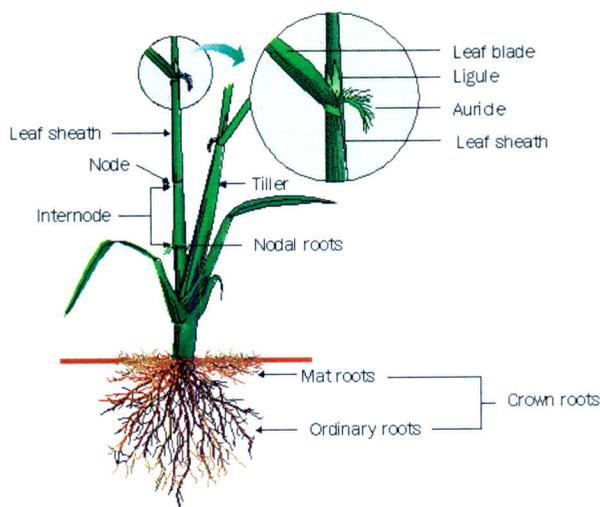
ข้าว (*Oryza sativa* L.) เป็นพืชล้มลุกตระกูลหญ้าที่สามารถกินเมล็ดได้ ถือเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว เช่นเดียวกับหญ้า มีการจัดลำดับทางอนุกรมวิธาน (Wikipedia, 2014) ดังนี้

Kingdom	: Plantae
Division	: Magnoliophyta
Class	: Liliopsida
Order	: Poales
Family	: Poaceae
Genus	: <i>Oryza</i>
Species	: <i>Oryza sativa</i>

ข้าวเป็นพืชตระกูลหญ้า (Gramineae) ซึ่งจัดอยู่ในสกุล (genus) *Oryza* สกุลนี้ ประกอบด้วย ชนิด (species) ต่าง ๆ ถึง 25 ชนิด แต่ชนิดที่เพาะปลูกเป็นอาหารนั้นแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ ข้าว *O. sativa* ปลูกในทวีปเอเชียและ *O. glaberrima* ปลูกในทวีปแอฟริกา แต่ข้าวที่ค้าขายกันในตลาดโลก เกือบทั้งหมดเป็นข้าวที่ปลูกจากแถบเอเชีย (Khush, 1997) ซึ่งข้าวชนิดดังกล่าวยังสามารถแบ่งได้ตาม แหล่งปลูกอีก คือข้าวอินดิกา (Indica) มีลักษณะเมล็ดยาวรี ต้นสูง เป็นข้าวที่ปลูกในเอเชียเขตร้อน ตั้งแต่ เวียดนาม ฟิลิปปินส์ ไทย อินโดนีเซีย อินเดีย และศรีลังกา ข้าวพันธุ์นี้ค้นพบครั้งแรกในอินเดีย และต่อมาได้พัฒนาไปปลูกที่ทวีปอเมริกา ข้าวจาปอนิกา (Japonica) เป็นข้าวที่ปลูกในเขตอบอุ่น เช่น จีน ญี่ปุ่น เกาหลี มีลักษณะเมล็ดป้อมกลมรี ต้นเตี้ย ข้าวจาวานิกา (Javanica) ปลูกในอินโดนีเซียและ ฟิลิปปินส์ มีเมล็ดป้อมใหญ่ แต่ไม่ได้รับความนิยมเพราะให้ผลผลิตต่ำ (Garris *et al.*, 2005) สำหรับ ข้าวที่ปลูกในไทยเป็นพันธุ์ข้าวเมล็ดยาว คือ ข้าวอินดิกา แต่ประกอบด้วยหลายพันธุ์ทั้งที่มีการพัฒนาขึ้น ใหม่ และข้าวพันธุ์พื้นเมืองซึ่งมีอยู่ประมาณ 3,500 พันธุ์ ซึ่งมีข้าวป่า ข้าวพื้นเมือง และข้าวที่ผสมโดย มนุษย์ขึ้นมาใหม่ แต่ข้าวพันธุ์ที่สร้างชื่อเสียงให้กับไทยมากที่สุด คือ ข้าวหอมมะลิ ซึ่งเป็นข้าวที่มีคุณภาพ การหุงต้มดีมาก เมื่อสุกจะนุ่มและมีกลิ่นหอมน่ารับประทาน (Thanananta, 2012)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของข้าว

1. ราก (Root) ต้นข้าวไม่มีรากแก้ว แต่มีรากเป็นระบบรากฝอย (fibrous root system) แยกแขนงกระจายแตกแขนงอยู่ใต้ผิวดิน
2. ลำต้น (Culm) ลำต้นของข้าวประกอบด้วยชูดของข้อ (node) และปล้อง (internode) ตรงส่วนของข้อจะเป็นที่เกิดของใบและตา ตาอาจจะเจริญขึ้นเป็นแขนง (tiller) ยึดที่อยู่ภายในข้อซึ่งเรียกว่า nodal septum จะแบ่งปล้องออกจากกัน ปล้องของลำต้นที่เจริญเติบโตเต็มที่แล้วจะกลวง ความยาวของปล้องจะแตกต่างกันโดยปล้องที่อยู่บน ๆ จะยาวกว่าปล้องที่อยู่ล่าง ๆ ปล้องล่าง ๆ หลายปล้องอยู่ติด ๆ กัน ทำให้ลำต้นส่วนล่างมีลักษณะตัน
3. ใบ (Leaf) ใบจะประกอบด้วยกาบใบ (sheath) และแผ่นใบ (blade) กาบใบจะหุ้มส่วนของลำต้นไว้ จุดที่ฐานของกาบใบซึ่งพองนูนออกเรียกว่า sheath pulvinus แผ่นใบจะอยู่ต่อจากกาบใบมีความยาว ความกว้าง รูปร่าง สี และขนบนใบแตกต่างกันไปตามพันธุ์ ใบที่อยู่บนสุด (ใบสุดท้าย) ที่อยู่ถัดลงมาจากรวงเรียกว่า ใบธง (flag leaf) ใบธงมักมีลักษณะผิดแผกไปจากใบอื่น ๆ ในต้น ในเรื่องของรูปร่าง ขนาด และมุมใบ พันธุ์ต่างกันมักมีจำนวนใบแตกต่างกันไปด้วย
4. ช่อดอก (Inflorescence, panicle) มีลักษณะช่อดอกแบบช่อดอกข้าวหรือรวงข้าวจะเกิดอยู่เหนือปล้องสุดท้ายของลำต้น
5. ดอกข้าว (Spikelet) ดอกข้าวมีขนาดเล็ก เรียกว่า spikelet จะเกิดอยู่บนก้านดอก (pedicel) ปลายของก้านดอกจะพองเป็นปมมูนซึ่งเป็นเปลือกนอก (glume)



ภาพที่ 2.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของข้าว

ที่มา : National Agriculture Research Institute (2001)

ระยะการเติบโตของข้าว

ระยะการเจริญเติบโตของต้นข้าว และความต้องการอาหารของต้นข้าวแต่ละระยะการเจริญเติบโตก่อนดังนี้

1.ระยะข้าวงอก ถึงระยะกล้า หลังจากหว่านแล้ว ข้าวจะใช้อาหารที่สะสมในเมล็ดตั้งแต่ข้าวเริ่มงอก จนถึงต้นกล้าอายุ 14-20 วัน

2.ระยะกล้า ต้นข้าวจะเริ่มใช้อาหารจากดิน โดยดูดธาตุอาหารผ่านราก คำแนะนำใส่ปุ๋ยให้ใส่ธาตุอาหารครบทั้ง 3 ธาตุ ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) และ โพแทสเซียม (K) ให้ใส่พร้อมกัน

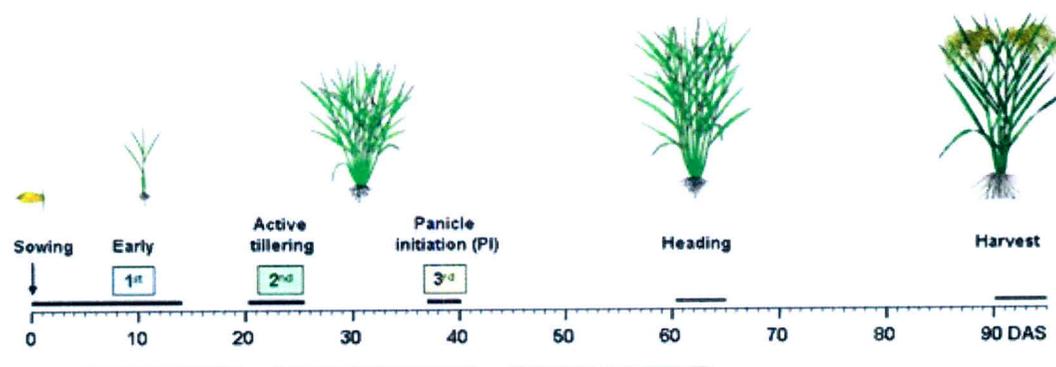
3.ระยะแตกกอ เป็นระยะที่ข้าวสร้างหน่อใหม่ หลังจากข้าวตั้งตัวได้ นาหว่านจะเห็นหน่อใหม่หลังใส่ปุ๋ยครั้งแรก 7-10 วัน นาปักดำ หลังข้าวตั้งตัวหรือหลังปักดำ 7-10 วัน

4.ระยะข้าวสร้างรวงอ่อน หรือ ก้านีตช่อดอก เป็นระยะที่สำคัญ ช่วงก่อนเก็บเกี่ยวข้าว 2 เดือน หรือ 60 วัน ข้าวจำเป็นต้องใช้อาหารเพื่อสร้างรวงให้สมบูรณ์แข็งแรงมีจำนวนเมล็ดต่อรวงมาก

5.ระยะข้าวตั้งท้อง เป็นระยะที่ข้าวกำลังจะออกรวงนับวันหลังจากระยะสร้างรวงอ่อน 5-7 วัน ลำต้นข้าวจะเปลี่ยนจากลักษณะแบน เป็นต้นกลม อวบ ระยะนี้ โดยทั่วไปข้าวจะมีการสะสมอาหารไว้ในลำต้นของแต่ละหน่อแล้ว ต้นข้าวสามารถดึงธาตุอาหารมาใช้ในการเจริญเติบโตของรวงได้ บางครั้งสำหรับพันธุ์ข้าวไม่ไวต่อช่วงแสง ที่มีการแตกกอมาก อาหารที่สะสมไว้อาจไม่เพียงพอ

6.ระยะข้าวออกดอก เป็นระยะการเจริญเติบโตเต็มที่ของต้นข้าว ซึ่งข้าวจะออกดอกก่อนเก็บเกี่ยวผลผลิต 30 วัน ช่วงนี้จำเป็นต้องมีน้ำอยู่ตลอดเวลา เพื่อให้ข้าวสร้างเมล็ดให้เต็ม ระยะนี้ข้าวจะดึงอาหารที่สะสมอยู่ที่ใบแก่(ส่วนล่าง) มาใช้

7.ระยะเก็บเกี่ยว เป็นระยะที่ข้าวสุกแก่เต็มที่ สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ เรียกว่าระยะพลับพลึง นับได้หลังจากข้าวออกดอกแล้ว 28-30 วัน สามารถสังเกตได้จาก รวงข้าวสามส่วนจากปลายรวงจะมีสีเหลืองฟางข้าว และที่โคนรวงยังมีสีเขียวอ่อนอยู่



ภาพที่ 2.2 ระยะการเจริญเติบโตของข้าว

ที่มา : <http://webapps.irri.org/nm/nmtutorial/gallery/GW/english/demotp.png>

พันธุ์ข้าวที่นิยมปลูกในพิษณุโลก

จังหวัดพิษณุโลก มีเขตพื้นที่ปกครองประกอบด้วย 9 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมือง ชาติตระการ นครไทย บางกระทุ่ม บางระกำ พรหมพิราม วังทอง วัดโบสถ์ เนินมะปราง มี 93 ตำบล 1,010 หมู่บ้าน จังหวัดพิษณุโลกมีลักษณะพื้นที่ที่มีความหลากหลายทางธรรมชาติ โดยพื้นที่ทางตอนเหนือ ทางตะวันออก และตอนกลางบางส่วนเป็นเขตภูเขาสูง ที่ราบสูงและที่ลาดเอียง ทางตอนกลาง ทางตะวันตก และตอนใต้เป็นพื้นที่ราบลุ่ม ทำให้สามารถประกอบอาชีพเกษตรกรรมได้ทุกสาขา เช่น ป่าไม้ ประมง ปศุสัตว์ โดยเฉพาะเขตรอบลุ่มแม่น้ำเขตพื้นที่อำเภอเมือง พรหมพิราม บางกระทุ่ม และบางระกำ จะเป็นแหล่งปลูกข้าวที่สำคัญมีพื้นที่ปลูกข้าวประมาณร้อยละ 33.5 ของพื้นที่ทางการเกษตร ดังนั้นข้าวจึงเป็นพืชเศรษฐกิจหลักของจังหวัด พันธุ์ข้าวที่เกษตรกรปลูกมีความหลากหลายถึง 17 พันธุ์ ส่วนใหญ่ร้อยละ 77 เป็นพันธุ์ข้าวที่ไม่ไวต่อแสง พันธุ์ที่เกษตรกรนิยมปลูกมากคือ สุพรรณบุรี 1 (33%) รองลงมาคือ ชัยนาท 1 (25%) ขาวดอกมะลิ 105 (10%) และพันธุ์อื่น ๆ นอกจากนี้ยังข้าวที่มีความไวต่อแสงที่ได้รับการพัฒนาสายพันธุ์จนมีความเหมาะสมสำหรับการปลูกในเขตพื้นที่ราบลุ่มของพิษณุโลก เช่นข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 พันธุ์พิษณุโลก 80 และพันธุ์ชัยนาท 80 เป็นต้น (Phitsanulok Rice Research Center, 2014)

ข้าวหอมมะลิหรือข้าวดอกมะลิ เป็นข้าวที่มีความไวต่อช่วงแสง หมายถึง พันธุ์ข้าวจะออกดอกในวันที่กลางคืนยาวกว่ากลางวันเท่านั้น คือ ช่วงฤดูหนาวทำให้สามารถปลูกได้เฉพาะนาปีเท่านั้น ลักษณะที่สำคัญของข้าวหอมมะลิ คือ เมื่อบูบหรือหุงแล้วเมล็ดข้าวสุกจะอ่อนนุ่มมากกว่าข้าวเจ้าทั่วไป แต่ร่วนน้อยกว่าและมีกลิ่นหอม ข้าวที่ปลูกเพื่อใช้เป็นข้าวหอมมะลิมิ 2 พันธุ์ ได้แก่ ข้าวขาวดอกมะลิ 105 และ กข.15 ซึ่งข้าว กข. 15 ก็คือข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่นำไปอาบรังสีแกมมาทำให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ประมาณ 4-6 % ซึ่งข้าวทั้งสองพันธุ์นี้มีลักษณะ คือ เมล็ดข้าวจะฟักตัวในเวลาประมาณ 8 สัปดาห์ เมล็ดมีเปลือกสีน้ำตาล ยาว 7.4 มม.รูปร่างเรียวยาว เมื่อข้าวสุกจะหอมนุ่ม มีอะมิโลส (amylose) 14-17 % ปลูกได้ในที่นาดอนทั่วไป ทนแล้ง ดินเปรี้ยว ดินเค็ม ด้านทานไส้เดือนฝอยรากปม ไม่ต้านทานโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และหนอนกอ (Bureau of Rice Research and Development, 2013)



ภาพที่ 2.3 ข้าวพันธุ์หอมมะลิ 105

ที่มา : (Bureau of Rice Research and Development, 2013)

ข้าวเจ้าพิษณุโลก 80 ได้จากการผสม 3 ทาง ระหว่างสุพรรณบุรี 90 กับ IR56 และ กข27 เป็นข้าวเจ้าไวต่อช่วงแสง อายุปานกลาง เก็บเกี่ยวประมาณต้นเดือนธันวาคม ลักษณะทรงกอตั้ง ต้นแข็ง ไม่ล้มง่าย ใบค่อนข้างยาวตั้งตรง สีเขียว แก่ข้า คอรวงยาว รวงแน่น ระแงถี่ ความสูงประมาณ 141 เซนติเมตร เปลือกเมล็ดสีฟาง ขนาดข้าวเปลือก ยาว 10.4 มิลลิเมตร กว้าง 2.65 มิลลิเมตร หนา 2.09 มิลลิเมตร ขนาดข้าวกล้องยาว 7.47 มิลลิเมตร กว้าง 2.17 มิลลิเมตร หนา 1.85 มิลลิเมตร น้ำหนัก 10.6 กิโลกรัมต่อถัง น้ำหนัก 1,000 เมล็ด 29.2 กรัม มีระยะพักตัว 7 สัปดาห์ เหมาะสำหรับพื้นที่ลุ่มในเขตภาคเหนือตอนล่างและภาคกลาง สำหรับเกษตรกรที่ต้องการข้าวอายุปานกลางที่มีคุณภาพการหุงต้มและรับประทานอ่อนนุ่มแทนพันธุ์ข้าว กข27 และขาวตาแห้ง 17 (Burea of Rice Research and Development, 2013)

พันธุ์ข้าวชัยนาท 80 หรือพันธุ์ กข 29 ได้จากการผสม 3 ทางระหว่างลูกผสมชั่วที่ 1 ของพันธุ์ข้าวสุพรรณบุรี 60 และสายพันธุ์ IR29692-99-3-2-1 กับสายพันธุ์ IR11418-19-2-3 ที่สถานีทดลองข้าวชัยนาท ในปี 2532 เป็นข้าวเจ้า ไหมไวต่อช่วงแสง อายุ 103 วัน ในฤดูนาปี และ 99 วัน ในฤดูนาปรังเมื่อปลูกโดยหว่านน้ำตม กอตั้ง สูงประมาณ 104 เซนติเมตร ใบเขียวเข้ม ใบธงตั้งตรง รวงแน่นปานกลาง คอรวงยาว ต้นแข็งไม่ล้มง่าย ข้าวกล้องรูปร่างเรียวยาว ยาว 7.34 มิลลิเมตร กว้าง 2.23 มิลลิเมตร หนา 1.80 มิลลิเมตร คุณภาพทางเคมีเป็นข้าวอมิโลสสูง (26.9 – 29.4 %) ข้าวเมื่อหุงสุกมีลักษณะร่วน แปะสีขาวนวล ไม่หอม เหมาะสำหรับปลูกในพื้นที่นาชลประทาน ภาคเหนือตอนล่างที่ต้องการข้าวอายุสั้นเพื่อปลูกปีละ 3 ครั้ง โดยเริ่มปลูกในเดือนสิงหาคม ธันวาคม และเมษายน หรือสำหรับปลูกหลังฤดูน้ำท่วมในฤดูฝนและสามารถปลูกและเก็บเกี่ยวได้ 2 ครั้งในฤดูนาปรังก่อนฤดูน้ำท่วม (Burea of Rice Research and Development, 2013)



ก ข้าวพันธุ์ พิษณุโลก 80



ข ข้าวพันธุ์ ชัยนาท 80

ภาพที่ 2.4 ข้าวพันธุ์ พิษณุโลก 80 และข้าวพันธุ์ ชัยนาท 80
ที่มา : (Burea of Rice Research and Development, 2013)

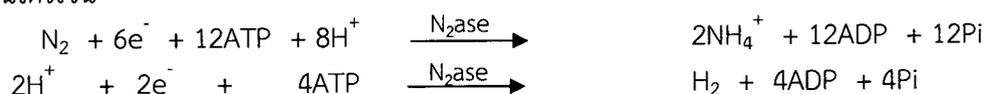
การตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพ

การตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพ (Biological Nitrogen Fixation) เป็นกระบวนการตรึงไนโตรเจนตามธรรมชาติอันเกิดจากกิจกรรมของสิ่งมีชีวิต ความสัมพันธ์ระหว่างพืชและจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนที่มีการศึกษากันอย่างดีมาแล้วคือพืชตระกูลถั่วและไรโซเบียม (Mylona *et al.* 1995) สำหรับพืชตระกูลอื่นที่ไม่ใช่พืชตระกูลถั่ว พบได้ในพืชตระกูลหญ้า (Grameneous plants) ที่มีบทบาทสำคัญในการเกษตร เช่น อ้อย ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ข้าวสาลี และข้าว เป็นต้น โดยจุลินทรีย์ที่อยู่อาศัยร่วมกับพืชเหล่านั้นจะเป็นจุลินทรีย์เอนโดไฟท์ ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ใช้ชีวิตทั้งหมดหรือบางช่วงชีวิตในพืชอาศัย แล้วไม่ทำให้เกิดโรค รวมทั้งสามารถตรึงไนโตรเจนและเป็นประโยชน์กับพืชอาศัยได้ด้วย (Ladha *et al.*, 1997) การอาศัยของแบคทีเรียกับพืชตระกูลหญ้าเหล่านั้นเป็นไปแบบไม่จำเพาะเจาะจง เมื่อสามารถเข้าไปยังพืชอาศัยในเนื้อเยื่อบริเวณไซเลมแล้วยังสามารถกระจายไปได้ทั่วต้นพืช (James and Olivares, 1998) ซึ่งจะแตกต่างจากไรโซเบียมที่ต้องอยู่เฉพาะบริเวณปมรากของพืชตระกูลถั่วจึงจะสามารถตรึงไนโตรเจนได้ (Roncato-Maccari *et al.*, 2003)

กระบวนการตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพ

กระบวนการผลิตไนโตรเจนที่เกิดจากปฏิกิริยาการรวมตัวกันกับไฮโดรเจนเพื่อให้เกิดเป็นสารประกอบแอมโมเนียม โดยอาศัยเอนไซม์ไนโตรจีเนสจากจุลินทรีย์และพลังงานในรูปของ ATP ที่มีอยู่ในสิ่งมีชีวิตเหล่านั้น ในสภาวะอุณหภูมิและความดันปกติ การตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพเป็นกระบวนการเกิด reduction กับก๊าซไนโตรเจน (N_2) โดยมีเอนไซม์ไนโตรจีเนส (nitrogenase, N_2ase) เป็นตัวกระตุ้น โดยทำหน้าที่เป็นตัวกลางส่งผ่านอิเล็กตรอนไปให้ N_2 กระบวนการดังกล่าวเกิดขึ้นภายใต้สมมติฐานที่ว่าไนโตรเจนเมื่อได้รับอิเล็กตรอนจากบริเวณเร่ง (active site) ของ N_2ase แล้วถูกไฮโดรไลซ์จนได้ hydroxylamine ซึ่งส่วนหนึ่งของ hydroxylamine จะถูก dehydrate จนได้แอมโมเนีย (NH_3)

เอนไซม์ไนโตรจีเนส (N_2ase) มีส่วนประกอบหลักสองส่วนคือ ส่วนที่เป็น Fe protein อาจเรียกได้ว่า AZOFER และอีกส่วนคือ Mo-Fe protein หรือเรียกว่า AZOFERMO โดยที่ AZOFER ทำหน้าที่รับอิเล็กตรอนจากตัวให้อิเล็กตรอน (reductant) จึงมีชื่อเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า nitrogenase reductase เมื่อรับอิเล็กตรอนเข้ามาแล้วทำให้สามารถทำปฏิกิริยากับ Mo-ATP เพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานเพื่อส่งต่ออิเล็กตรอนไปให้ส่วนของ AZOFERMO หรือ Mo-Fe protein โดยที่ Mo เป็นบริเวณเร่งที่ไนโตรเจนมารวมตัวกับเอนไซม์ จึงเรียกเอนไซม์ส่วนนี้ได้ชื่อว่า nitrogenase enzyme ในขณะที่มีการส่งผ่านอิเล็กตรอนจาก nitrogenase reductase ไปยัง nitrogenase อยู่ นั้นเอนไซม์ทั้งสองส่วนจะรวมตัวกันเป็นสารประกอบเชิงซ้อน หลังจากส่งผ่านอิเล็กตรอนไปแล้วส่วนประกอบทั้งสองจะแยกออกจากกัน การถ่ายเทอิเล็กตรอนผ่าน N_2ase นั้นใช้พลังงาน 2ATP เมื่ออิเล็กตรอนมาอยู่ในส่วน nitrogenase จะถูกส่งไปให้ N_2 ที่ตำแหน่งของ Mo ทำให้ N_2 ถูกรีดิวซ์ไปเป็นแอมโมเนีย (NH_3) ต่อไป ดังปฏิกิริยาการตรึงไนโตรเจน



จะเห็นได้ว่าในการตรึงไนโตรเจน 1 โมเลกุลต้องใช้พลังงาน 12 โมเลกุล และ e^- 6 ตัว จึงจะได้แอมโมเนีย 2 โมล ส่วนโปรตอน (H^+) ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาถูกกระตุ้นต่อด้วย N_2ase ให้ได้ก๊าซไฮโดรเจน (H_2) ปลดปล่อยออกมา เมื่อมีแอมโมเนียที่เกิดจากการตรึงไนโตรเจนแล้วจะเปลี่ยนเป็นกรดอะมิโน โดยรวมกับกรดอินทรีย์หรือสารอินทรีย์ที่จุลินทรีย์ได้มาจากกระบวนการเมแทบอลิซึม กรดอะมิโนเหล่านี้ เช่น α -ketoglutaric acid, oxaloacetic acid และ aspartic acid เป็นต้น กรดอะมิโนที่เกิดขึ้นเหล่านี้มีความสามารถในการถ่ายทอดหมู่อะมิโน (amino-group, $-NH_2$) ไปยังกรดอินทรีย์อื่นโดยกระบวนการ transamination ทำให้ได้กรดอะมิโนชนิดต่าง ๆ เพื่อใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนต่อไป

การประเมินประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน

การตรึงไนโตรเจนที่ตรึงได้จากบรรยากาศเป็นปฏิกิริยาที่เกิดจากเอนไซม์ไนโตรจีเนสที่มีอยู่ในภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ ประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนของจุลินทรีย์จะมากขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่างเช่นชนิดของพืช ชนิดของจุลินทรีย์ รวมทั้งสภาพแวดล้อมในดิน การวัดการตรึงไนโตรเจนมีอยู่ด้วยกันหลายวิธีทั้งโดยทางตรงและโดยทางอ้อม การเลือกใช้วิธีใดวิธีหนึ่งต้องคำนึงถึงความสะดวก ถูกต้องแม่นยำ ชนิดของจุลินทรีย์และสภาพแวดล้อมที่ทำการศึกษ ซึ่งแต่ละวิธีจะมีข้อดีและข้อจำกัดแตกต่างกัน วิธีการหนึ่งที่น่าิยมใช้ในการวัดการตรึงไนโตรเจนคือวิธีการวัดการลดลงของก๊าซอะเซทิลีน (Acetylene Reduction Assays: ARA)

การวัดการลดลงของก๊าซอะเซทิลีน (ARA) เป็นวิธีการที่ใช้คุณสมบัติของเอนไซม์ nitrogenase complex ที่นอกจากจะ reduce N_2 ให้เป็น NH_3 แล้วยังสามารถ reduce สารอื่นได้อีก โดยเฉพาะสารประกอบที่สามารถหาได้ไม่ยากและสะดวกที่จะใช้เช่น acetylene (C_2H_2) ให้เป็น ethylene (C_2H_4) โดยในขณะที่มีการตรึงไนโตรเจนจะมีอิเล็กตรอน 2 ตัวถ่ายทอดให้กับอะเซทิลีนแล้วเปลี่ยนเป็นเอทิลีนขึ้น (Giller and Wilson, 1991) แล้วอ่านค่าของ ethylene ที่เกิดขึ้นด้วยเครื่อง Gas chromatography (GC) ที่มี flame ionization detector (FID) เป็นเครื่องวิเคราะห์ โดยส่วนประกอบในเครื่อง Gas chromatography (GC) สำหรับวิเคราะห์ ethylene gas (C_2H_4) คือส่วนที่เป็นคอลัมน์ ที่บรรจุด้วยโพลีเมอร์ที่มีรูพรุน เช่น Porapak N มีรูพรุนขนาด 100-200 mesh โดยมี N_2 เป็น carrier gas ในการแยก acetylene (C_2H_2) และ ethylene (C_2H_4) ออกจากกันให้ได้ผลดีนั้น อุณหภูมิในคอลัมน์ต้องประมาณ 50-70 องศาเซลเซียส และ carrier gas มีอัตราการไหล 50 มิลลิลิตรต่อนาที ในส่วนของอากาศและก๊าซไฮโดรเจนใช้อัตราการไหล 300 มิลลิลิตรต่อนาที

วิธีการวัดการตรึงไนโตรเจนในตัวอย่างพืชหรือจุลินทรีย์ ทำได้โดยการบรรจุตัวอย่างพืชหรือเซลล์จุลินทรีย์ลงในภาชนะที่ไม่ให้อากาศผ่านเข้าออกด้วยจุกยาง (septum) เพื่อที่จะใช้เข็มฉีดยาเจาะผ่านเข้าไปได้ และดูดอากาศออกประมาณ 5-10% ของบรรยากาศภายในภาชนะ แล้วแทนที่ด้วย acetylene gas (C_2H_2) ในปริมาตรเดียวกัน เมื่อ incubate วัชระยะหนึ่ง (ขึ้นอยู่กับชนิดพืชหรือจุลินทรีย์ที่ใช้ศึกษา) เก็บก๊าซภายในขวด 1 มิลลิลิตร ฉีดเข้าเครื่อง Gas chromatography (GC) เพื่อหาปริมาณ ethylene (C_2H_4) ที่เกิดขึ้น โดยเทียบกับพื้นที่ของ peak ที่ออกมาจาก recorder ของก๊าซมาตรฐาน ethylene

แบคทีเรียเอนโดไฟท์ตรึงไนโตรเจน

จุลินทรีย์เอนโดไฟท์ (Endophytic Microorganism)

จุลินทรีย์เอนโดไฟท์ หมายถึงจุลินทรีย์บางจำพวกที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืช ที่อาจใช้ชีวิตทั้งหมดหรือบางช่วงอาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อพืช ที่ไม่ทำให้เกิดอันตรายและก่ออุปสรรคให้กับพืชอาศัย (Wilson, 1995; Bacon and White, 2000) พืชอาศัยหลายชนิดที่มีจุลินทรีย์เอนโดไฟท์อาศัยอยู่จะมีความต้านทานต่อเชื้อก่อโรคสูงขึ้น (Clay and Schardl, 2002; Arnold et al., 2003) ด้วยการผลิตสารปฏิชีวนะ (Ezra et al., 2004) ทั้งนี้จุลินทรีย์ส่วนใหญ่ผลิตสารเมทาโบไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolite) ซึ่งเป็นสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคเมื่อเจริญอยู่ในเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ของพืชอาศัยไม่ว่าจะเป็นเมล็ด ราก ลำต้นและใบ (Taechowism et al., 2005; Johri, 2006)

จุลินทรีย์เอนโดไฟท์ที่ค้นพบในช่วงแรกส่วนใหญ่เป็นพวกเชื้อราและในเวลาต่อมาจึงค้นพบพวกแอคติโนมัยซีทและแบคทีเรีย ตามลำดับ โดยมีแบคทีเรียเอนโดไฟท์มากกว่า 200 สกุลจาก 16 phyla ซึ่งมีทั้งพวกที่สามารถเพาะเลี้ยงได้และไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยพวกที่มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางจะจัดอยู่ใน 3 phyla คือ Actinobacteria, Proteobacteria และ Firmicutes รวมทั้ง *Azoarcus* (Krause et al., 2006), *Acetobacter* (bertalan et al., 2009), *Bacillus* (Deng et al., 2011), *Enterobacter* (Taghavi et al., 2010), *Burkholderia* (Weilharter et al., 2011), *Herbaspirillum* (Pedrosa et al., 2011), *Pseudomonas*, *Serratia* (Taghavi et al., 2009) และ *Streptomyces* (Suzuki et al., 2005)

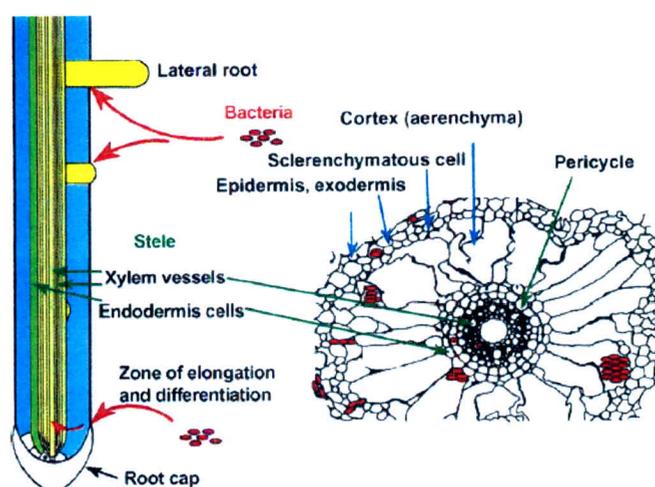
แบคทีเรียเอนโดไฟท์สามารถอยู่ร่วมกับพืชอาศัยได้หลากหลายชนิด (Sturz et al., 2000) แต่ทั้งนี้สามารถพบแบคทีเรียเอนโดไฟท์ในปริมาณที่น้อยกว่าจุลินทรีย์บริเวณรอบรากพืชอาศัยและจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดต่าง ๆ (Hallmann et al., 1997) นอกจากนี้ยังสามารถพบได้ตามช่องว่างภายในใบพืชลำต้น รวมถึงเมล็ด (Compant et al., 2010)

การแยกแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนเอนโดไฟท์ออกจากพืชเพื่อการศึกษา นั้น บางชนิดไม่สามารถทำได้ง่ายนักเนื่องจาก

1. แบคทีเรียที่สามารถแยกออกมาได้จากตัวอย่างพืชที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อที่บริเวณผิวแล้ว และใช้ N-deficient media พบว่าประมาณ 90% เป็นแบคทีเรียที่ไม่สามารถตรึงไนโตรเจนได้ (non-diazotrophs) (Barraquio et al., 1997)
2. แบคทีเรียบางกลุ่ม เช่น *Azoarcus* sp BH72 ไม่สามารถแยกและเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อได้ (unculturable)
3. ประชากรแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนเอนโดไฟท์ ที่แยกออกมา และเพาะเลี้ยงได้ มีหลากหลายมากและยังไม่มีจำแนก (uncharacterized) (Barraquio et al., 1997)

กระบวนการเข้าสู่รากพืชและลำต้นพืช

แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนเอนโดไฟท์ มีการเข้าสู่รากพืชคล้ายกับเชื้อที่ทำให้เกิดโรค Hurek และ Reinhold-Hurek (2003) ได้อธิบายตัวอย่างการเข้าสู่รากพืชของ *Azoarcus* sp. BH72 ที่เข้าสู่รากของหญ้า Kallar โดยจะเริ่มเพิ่มจำนวนที่บริเวณเยื่อเซลล์ด้านนอกที่เอ็กโซเดอมิส และ สเคอเรนโคมา และในช่วงเวลาประมาณ 2-3 สัปดาห์จะพบประชากรแบคทีเรียทั้งภายนอกและภายในเซลล์ของคอร์เท็กซ์ จากนั้นจะเคลื่อนตัวเข้าไปในส่วนเซลล์พาเรนโคมา และในระบบท่อลำเลียงน้ำ ซึ่งจะกระจายไปสู่บริเวณหน่อผ่านทางท่อลำเลียงเช่นกัน (แสดงในภาพที่ 2.5)



ภาพที่ 2.5 ตำแหน่งการเริ่มเข้าไปอยู่ของเชื้อ และบริเวณที่อยู่ของแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนเอนโดไฟท์ ในรากข้าว แสดงภาพตัดตามยาว (ซ้าย) และ ภาพตัดขวาง (ขวา)

ที่มา: Hurek and Reinhold-Hurek (2003)

การที่แบคทีเรียเอนโดไฟท์สามารถเข้าสู่รากพืชได้นั้นเนื่องจากมีเอนไซม์ที่ช่วยในการย่อยสลายผนังเซลล์ของพืชได้ เช่น endoglucanase ซึ่งเป็นเอนไซม์ในกลุ่ม cellulase ซึ่งทำหน้าที่ย่อยเซลลูโลส พบในแบคทีเรียเอนโดไฟท์หลายชนิด เช่น *Azoarcus* sp. BH72 (Reinhold-Hurek and Hurek, 1998) *Burkholderia vietnamiensis* ที่แยกได้จากข้าว (Govindarajan *et al.*, 2008) และ *Herbaspirillum seropediacae* Z67 ที่แยกได้จากข้าว (James *et al.*, 2002) เป็นต้น

แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนเอนโดไฟท์

แบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจน (Diazotroph bacteria) หมายถึง แบคทีเรียที่สามารถเปลี่ยน แก๊สไนโตรเจน (N_2) จากบรรยากาศไปเป็นแอมโมเนียจากกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ไนโตรจีเนส คอมเพล็กซ์ (Nitrogenase enzyme complex) ดังนั้น Endophytic diazotroph bacteria คือ แบคทีเรียที่ใช้ชีวิตทั้งหมดหรือบางช่วงอยู่ในเนื้อเยื่อพืช แล้วตรึงไนโตรเจนและเป็นประโยชน์แก่พืชอาศัยนั้นโดยไม่ทำอันตรายหรือก่อให้เกิดโรคแก่พืชอาศัย (Koomnok, 2006) แบคทีเรียเอนโดไฟท์ตรึงไนโตรเจนสามารถพบได้ในพืชหลากหลายชนิด โดยเฉพาะพืชตระกูลหญ้า ดังตัวอย่างในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนเอนโดไฟท์ที่พบในพืช

Endophytes	Plant species	References
<i>Azorhobium caulinodans</i>	Rice, Sugarcane, maize	Engelhard <i>et al.</i> (2000) Kannaiyan (2003)
<i>Azospirillum brasilense</i>	Banana	Weber <i>et al.</i> (1999)
<i>Azospirillum amazonnense</i>	Banana, pineapple	Weber <i>et al.</i> (1999)
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	Rice	Chatreuil <i>et al.</i> (2000)
<i>Gluconobacter diazotrophicus</i>	Sugarcane, coffee	Cavalcante and Dobereiner (1988) Silva (2009, Marcelo (2009)
<i>Rhizobium leguminosarum</i>	Rice	Yanni <i>et al.</i> (1997)
<i>Azoarcus</i> sp	Kallar grass, rice	Engelhard <i>et al.</i> (2000) Andrea Krause (2006) Reinhold-Hurek <i>et al.</i> (1993)
<i>Burkholderia pickettii</i>	Maize	McInroy and Kloepper (1995)
<i>Burkholderia cepacia</i>	Yellow lupine, citrus plants	Araujo <i>et al.</i> (2001); Barac <i>et al.</i> (2004)
<i>Burkholderia</i> sp.	Banana, rice	Weber <i>et al.</i> (1999);Engelhard <i>et al.</i> (2000)
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	Sugarcane	Munusamy <i>et al.</i> (2005)
<i>Chromobacterium violaceum</i>	Rice	Phillips <i>et al.</i> (2000)
<i>Herbaspirillum seropedicae</i>	Sugarcane, rice maize	Olivares <i>et al.</i> (1996); Weber <i>et al.</i> (1999)
<i>Herbaspirillum rubrisulbalbicans</i>	Sugarcane	Olivares <i>et al.</i> (1996)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Soybean	Kuklinsky-Sobral <i>et al.</i> (2004)
<i>Plantoea</i> sp.	Rice, soybean	Kuklinsky-Sobral <i>et al.</i> (2004) Verma <i>et al.</i> (2004)
<i>Bacillus</i> spp.	Citrus plants	Araujo <i>et al.</i> (2001); Araujo <i>et al.</i> (2002)
<i>Bacillus megaterium</i>	Maize, carrot, citrus plants	Araujo <i>et al.</i> (2001); Kloepper (1995) Surette <i>et al.</i> (2003)

ที่มา : Mohanta *et al.* (2010)

แบคทีเรียเอนโดไฟต์ตรึงไนโตรเจน สามารถแบ่งตามความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียและพืชอาศัยเป็น 2 กลุ่มใหญ่ได้แก่ กลุ่ม Associative หมายถึง แบคทีเรียที่ใช้ชีวิตส่วนมากอาศัยอยู่ที่บริเวณผิวนอกของเซลล์ และบางครั้งจะอาศัยอยู่ที่บริเวณช่องว่างระหว่างเซลล์ ส่วนกลุ่ม Symbiosis หมายถึง แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนที่ใช้ชีวิตส่วนใหญ่อยู่ภายในเซลล์ของพืช การอยู่ร่วมกันระหว่างแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนและพืชอาศัยไม่ว่าจะเป็นแบบ Associative หรือ Symbiosis นั้นไม่มีความจำเพาะเจาะจง อาจพบแบคทีเรียตรึงเอนโดไฟต์ไนโตรเจนทั้งในเนื้อเยื่อหลายชนิดภายในพืชเดียวกันได้

การศึกษาตำแหน่งอาศัยของแบคทีเรียเอนโดไฟต์ที่ตรึงไนโตรเจนในเนื้อเยื่อข้าว ของแบคทีเรียเอนโดไฟท์ไอโซเลท VFR5-3 พบว่าแบคทีเรียสามารถผลิตเอนไซม์ cellulose และ pectinase ซึ่งสามารถช่วยในการเข้าสู่เนื้อเยื่อพืช โดยเข้าไปในส่วนของรากและเจริญจนมีความหนาแน่นบริเวณปลายรากและส่วนต่อของราก ทั้งนี้เนื่องจากแบคทีเรียเริ่มเข้าสู่พืชบริเวณรอยต่อของรากอ่อนและรากแขนง ซึ่งเป็นจุดเริ่มต้นในการที่แบคทีเรียเข้าสู่รากแก้วผ่านรอยแยกแล้วขยายเข้าสู่รากฝอย เช่นเดียวกับแบคทีเรียเอนโดไฟท์อื่น เช่น *Gluconacetobacter diazotrophicus* ในอ้อย (James and Olivares, 1998) *Azoarcus* spp. ในข้าวและหญ้า Kallar (Hurek et al., 1991) *Herbaspirillum* spp. ในอ้อยและข้าว (James et al., 2002) เป็นต้น

ตารางที่ 2.2 ตัวอย่างบริเวณที่อยู่ของแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนเอนโดไฟท์

ชนิดของแบคทีเรีย	บริเวณที่แยกเชื้อออกมาได้	อ้างอิง
<i>Azospirillum brasilense</i> Sp245	รากของข้าวสาลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่บริเวณผิวแล้ว, บราซิล	Baldani et. al (1986)
<i>Azospirillum halopraeferens</i>	รากของหญ้า Kallar, ปากีสถาน	Reinhold-Hurek et al. (1987)
<i>Acetobacter diazotrophicus</i>	รากและ ลำต้นของอ้อย, บราซิล	Cavalcante and Do´ bereiner (1988)
<i>Serratia marcesens</i>	ช่องว่างระหว่างเซลล์ และ aerenchyma ในราก ใบ และลำต้นของข้าว	Gyaneshwar et al. (2001)
<i>Herbaspirillum seropedicae</i>	รากของ Cereal (ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ข้าว), บราซิล	Roncato-Maccari, et al. (2003)
<i>Azoarcus</i> sp.BH72	Intercellular ในรากหญ้าKallar, ปากีสถาน	Hurek and Reinhold-Hurek (2003)

ที่มา : Koomnok (2006)

การศึกษาแบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่ตรึงไนโตรเจน

การศึกษาการตรึงไนโตรเจนของจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อของพืชอาศัยเริ่มจากการศึกษาในพืชตระกูลถั่ว โดยเป็นการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อไรโซเบียมกับพืชตระกูลถั่ว ซึ่งเป็นความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยต่างฝ่ายต่างได้รับประโยชน์ โดยเชื้อไรโซเบียมอาศัยอยู่ภายในเนื้อเยื่อพืชบริเวณปมราก แต่การศึกษาแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนในพืชอาศัยอื่นเริ่มจากปี ค.ศ. 1958 Döbereiner ได้รายงานถึงจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนบริเวณรากอ้อย พบว่ามีเชื้อตระกูล *Beijerinckia* อยู่เป็นจำนวนมาก และยังพบจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนอีกหลายชนิด แต่ยังไม่พบว่ามีจุลินทรีย์ชนิดใดที่มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนได้เพียงพอต่อความต้องการของพืช จนกระทั่งในอีก 20 ปีต่อมาจึงพบว่ามีจุลินทรีย์หลายกลุ่มที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้มากขึ้น

แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนเอนโดไฟท์หลายชนิด เช่น *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Acaligenase* และ *Serratia marcescens* สามารถแยกได้จากบริเวณรอกของข้าว ในขณะที่ *Acetobacter diazotrophicus* มักพบในพืชที่มีน้ำตาลมากเช่นอ้อย มันเทศและหญ้า Cameroon นอกจากนี้ยังพบในลำต้นและรากของกาแฟด้วย โดยพบในท่อลำเลียงน้ำ ระบบลำเลียง ลำต้น และส่วนระหว่างเซลล์ของปลายราก (Boddey *et al.*, 1995) *Azoarcus sp.* แยกได้จากหญ้า Kallar ที่เจริญเติบโตในบริเวณดินเค็มของประเทศปากีสถาน พบว่าอาศัยที่บริเวณปลายรากในส่วนที่เกิดการยึดและบริเวณที่แยกออกทั้งในบริเวณปลายเซลล์และระหว่างเซลล์ นอกจากนี้ยังพบ *Azoarcus sp.* ที่รากของข้าวด้วย (Hurek and Reinhold-Hurek, 2003) สำหรับ *Herbaspirillum seropedicae* มีพืชเจ้าบ้านที่หลากหลายมากกว่า แยกได้จากพืชตระกูลหญ้า เช่น ข้าวโพด ข้าวฟ่าง อ้อย และหญ้าอาหารสัตว์ มักพบที่บริเวณเนื้อเยื่อลำเลียงของราก ลำต้น และใบของกลุ่มพืชดังกล่าว (Ronaco-Maccari, *et al.*, 2003) Elbaltagy *et al.* (2001) ได้แยกเชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนจากลำต้นของข้าวป่าและข้าวพันธุ์การค้าใน modified Rennie medium ได้แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนได้ 4 สกุล คือ *Herbaspirillum*, *Ideonella*, *Enterobacter* และ *Azospirillum* และศึกษาการเข้าอาศัยในเนื้อเยื่อพืชของ *Herbaspirillum* ที่แยกได้โดยใช้ Green Fluorescent protein (GFP) และพบว่าแบคทีเรียนี้อาศัยอยู่บริเวณช่องว่างระหว่างเซลล์ภายในใบของข้าวป่า ในปี 2001 มีการศึกษาแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนในข้าวไทย โดยทำการแยกและเลี้ยงเชื้อในอาหารที่ปราศจากไนโตรเจน และตรวจสอบประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนด้วยวิธี Acetylene Reduction Assay (ARA method) พบว่าเชื้อส่วนใหญ่ที่แยกได้เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างแท่ง และยังสามารถสร้างกรดอินโดอะซีติก (IAA) ซึ่งช่วยในการส่งเสริมการเจริญของพืชด้วย (Teaumrong *et al.*, 2001) และ Koomnok (2006) แยกเชื้อแบคทีเรียเอนโดไฟท์จากข้าวป่า 3 สายพันธุ์ *O. rufipogon* *O. granulate* และ *O. nivara* จากส่วนใบ ลำต้น และราก พบแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนเอนโดไฟท์ 4 ชนิดคือ *Azospirillum sp.*, *Herbaspirillum sp.* *Beijerinckia sp.* และ *Pseudomonas sp.* โดยพบแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนในส่วนรอกมากที่สุด รองลงมาได้แก่ลำต้น และใบตามลำดับ

แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืช

แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืช (Plant growth promoting rhizobacteria : PGPR) เป็นแบคทีเรียที่ส่วนใหญ่อยู่บริเวณรอบรากพืชและส่งเสริมการเจริญของพืชด้วยกลไกต่าง ๆ เช่น เพิ่มอัตราการงอกของเมล็ด การเจริญของราก น้ำหนักแห้งของลำต้นและราก พื้นที่ผิวของใบ ปริมาณคลอโรฟิลล์ การดูดซับธาตุอาหาร และผลผลิตของพืช (Adesemoye and Kloepper, 2009; Okon and Labandera-Gonzalez, 1994; Yanni *et al.*, 2001) รวมถึงการตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพให้กับพืชอาศัย (James, 2000; Martinez *et al.*, 2003) การสร้างฮอร์โมนที่สำคัญต่อการเจริญเติบโต เช่น auxins และ gibberellins เป็นต้น (Cassan *et al.*, 2001; Mehnaz and Lazarovits, 2006)

แบคทีเรียที่มีการศึกษาศักยภาพการส่งเสริมการเจริญของพืช เช่น แบคทีเรียในสกุล *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Alcaligenes*, *Burkholderia*, *Bacillus* และ *Serratia* เป็นต้น (Okon *et al.*, 1994; Glick, 1995)

การปลูกถ่ายเชื้อแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญให้กับพืชทำให้เข้าไปอยู่อาศัยในรากพืชแล้วส่งเสริมการเจริญของพืชได้ (Compant *et al.*, 2005) ซึ่งอาจมีความสัมพันธ์กับพืชอาศัยในสถานะต่าง ๆ ดังตัวอย่างในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ตัวอย่างแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืช (Vessey, 2003)

แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญพืช	ความสัมพันธ์กับพืชอาศัย	พืชอาศัย	อ้างอิง
<i>Azospirillum</i> sp.	Rhizospheric	ข้าวโพด ข้าว ข้าวสาลี	De Salamone <i>et al.</i> , 1996 Malik <i>et al.</i> , 1997 Boddey <i>et al.</i> , 1986
<i>Azoarcus</i> sp.	Endophytic	หญ้า Kallar ข้าวฟ่าง ข้าว	Hurek <i>et al.</i> , 2002 Stein <i>et al.</i> , 1997 Egener <i>et al.</i> , 1999
<i>Azotobacter</i> sp.	Rhizospheric	ข้าวโพด ข้าวสาลี	Pandy <i>et al.</i> , 1998 Mrkovacki and Milic, 2001
<i>Burkholderia</i> sp.	Endophytic	ข้าว	Baldani <i>et al.</i> , 2001
<i>Herbaspirillum</i> sp.	Endophytic	ข้าว ข้าวฟ่าง อ้อย	James <i>et al.</i> , 2002 James <i>et al.</i> , 1997 Pimentel <i>et al.</i> , 1991
<i>Gluconobacter diazotrophicus</i>	Endophytic	ข้าวฟ่าง อ้อย	Isopi <i>et al.</i> , 1995 Boddey <i>et al.</i> , 2001

แบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่ตรึงไนโตรเจนที่ส่งเสริมการเจริญของข้าว

แบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่ตรึงไนโตรเจนได้ยังมีคุณสมบัติยังช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชได้ (James, 2000; Martinez *et al.*, 2003; Gasser *et al.*, 2011) แบคทีเรียเอนโดไฟท์ที่ตรึงไนโตรเจนที่ส่งเสริมการเจริญของพืชที่มีการศึกษากันอย่างแพร่หลายเช่นแบคทีเรียสกุล *Azoarcus*, *Burkholderia*, *Gluconobacter*, *Herbaspirillum* และ *Klebsiella* เป็นต้น (James, 2000) แบคทีเรียเหล่านี้ส่งเสริมการเจริญของพืชได้เพราะช่วยให้พืชหลังฮอร์โมนพืช (Phytohormones) ไปสู่พื้นผิวรากทำให้ช่วยเพิ่มการดูดซึมธาตุอาหาร (Okon and Labandera-Gonzalez, 1994; Yanni *et al.*, 2001) หรือช่วยในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคได้ (Bashan and de Bashan, 2002) การตอบสนองของพืชต่อแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืช (Plant growth promoting bacteria) นั้นซับซ้อนซึ่งอาจเกิดจากกลไกการควบคุมหลายชนิดร่วมกันเพื่อให้มีการพัฒนาระบบรากให้สามารถดูดซับสารอาหารได้ดีขึ้น (Compant *et al.*, 2010)

แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญของพืช เช่น *Azospirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas* และ *Enterobacter* แยกได้จากพืชตระกูลหญ้า (El-Khawas and Adachi, 1999; Hoflich *et al.*, 1994) การคลุกเชื้อ *Azospirillum* sp. ให้กับข้าวพบว่ามีความหนาแน่นและความยาวของรากฝอยและรากแขนงมากขึ้น เป็นการช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสในการดูดซับอาหาร (Dubrovsky *et al.*, 1994) อันเป็นผลเนื่องจากการสังเคราะห์ฮอร์โมนพืช เช่น Auxin Gibberellins และ Cytokinins ฮอร์โมนพืชในกลุ่มของ Auxin นั้น Indole acetic acid (IAA) มีบทบาทในการทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของรากพืชมากที่สุด (Beyeler *et al.*, 1997)

Baldani และคณะ (2000) รายงานผลการตอบสนองในด้านการเจริญเติบโตของพืชที่ได้รับการปลูกถ่ายเชื้อ *Herbaspirillum seropediae* และ *Burkholderia* spp. ในข้าว ข้าวฟ่าง และข้าวโพด ซึ่งทำให้พืชมีน้ำหนักรากเพิ่มขึ้นมากกว่า 100% และน้ำหนักต้นและใบเพิ่มขึ้น 12-20%

นอกจากนี้ Koomnok (2006) ใช้แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากข้าวป่าในประเทศไทย คัดเลือกสายพันธุ์ที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้ดีและผลิต IAA ได้สูง จำนวน 5 สายพันธุ์คือ *Azospirillum*CM15, *Azospirillum*CM23, *Azospirillum*CM44, *Beijerinckia*CM12 และ *Beijerinckia*CM35 เพื่อศึกษาความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของข้าวขาวดอกมะลิ 105 พบว่าข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่ถูกเพาะเชื้อด้วยแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนเอนโดไฟท์ทั้ง 5 สายพันธุ์ มีความสูงของลำต้นและน้ำหนักแห้งของรากที่อายุ 45 วันหลังย้ายปลูก มากกว่าชุดควบคุม โดยที่ *Azospirillum*CM15 และ *Azospirillum*CM44 ถูกคัดเลือกไปเพื่อศึกษาการส่งเสริมการเจริญของข้าวขาวดอกมะลิต่อไป