ผลของแกมม่าพอลีกลูตามิกแอซิดและเซลล์ *Bacillus subtilis* ต่อการปรับปรุงคุณภาพดินและการเจริญเติบโตของข้าว

คณวิชช์ ศรีปินตา

วิทยานิพนธ์เสนอมหาวิทยาลัยพะเยา เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
ปีการศึกษา 2560
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยพะเยา

ผลของแกมม่าพอลีกลูตามิกแอซิดและเซลล์ *Bacillus subtilis* ต่อการปรับปรุงคุณภาพดินและการเจริญเติบโตของข้าว

คณวิชช์ ศรีปินตา

วิทยานิพนธ์เสนอมหาวิทยาลัยพะเยา เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
ปีการศึกษา 2560
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยพะเยา

EFFECTS OF γ-POLYGLUTAMIC ACID AND *BACILLUS SUBTILIS* CELLS ON SOIL QUALITY IMPROVEMENT AND GROWTH OF RICE

KHANNAWIT SEEPHINTA

A Thesis Submitted to University of Phayao

in partial Fulfillment of Requirements

for Master of Science in Environmental Science

Academic year 2017

Copyright 2017 by University of Phayao

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของแกมม่าพอลีกลูตามิกแอซิดและเซลล์ *Bacillus subtilis* ต่อการปรับปรุงคุณภาพดินและการเจริญเติบโตของข้าว

ของ คณวิชช์ ศรีปินตา

ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม
ของมหาวิทยาลัยพะเยา

---------- ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์
(ดร. ปิยะมาศ ศรีรัตน์)

---------- ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กฤตชญา อิสกุล)

---------- กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์
(ดร. เนติ เงินแพทย์)

---------- กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรวรรณ ชุณหชาติ)

---------- อาจารย์บัณฑิตศึกษามหาวิทยาลัยพะเยา
(ดร. ภูมิศร์ ทับทิมแดง)

---------- คณบดีวิทยาลัยพลังงานและสิ่งแวดล้อม
(รองศาสตราจารย์ ดร. วัฒนพงศ์ รักษ์วิเชียร)

เรื่อง: ผลของแกมม่าพอลีกลูตามิกแอซิดและเซลล์ *Bacillus subtilis* ต่อการปรับปรุงคุณภาพดินและการเจริญเติบโตของข้าว

ผู้วิจัย: คณวิชช์ ศรีปินตา วิทยานิพนธ์: วท.ม. (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม), มหาวิทยาลัยพะเยา, 2560

ประธานที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กฤตชญา อิสกุล , กรรมการที่ปรึกษา: ดร. เนติ เงินแพทย์ , ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรวรรณ ชุณหชาติ

คำสำคัญ : แกมม่าพอลีกลูตามิกแอซิด, การปรับปรุงคุณภาพดิน, ข้าว

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารแกมม่าพอลีกลูตามิกแอซิดและเซลล์ *Bacillus subtilis* ต่อการปรับปรุงคุณภาพดินและการเจริญเติบโตของข้าวทั้งในระดับห้องปฏิบัติการและโรงเรือน จากการศึกษาผลของสารทดสอบต่อการงอก การเจริญเติบโตและปริมาณสารชีวเคมีในต้นกล้าข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่า PGA และเซลล์ *B. subtilis* ไม่ส่งผลกระทบต่อเปอร์เซ็นต์การงอก พลังงานในการงอกและความเร็วในการงอก อย่างไรก็ตามสารดังกล่าวมีแนวโน้มในการเพิ่มความแข็งแรงของต้นกล้าข้าวเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวที่อายุ 21 วัน พบว่า PGA ที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลให้ความยาวลำต้นสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) สำหรับความยาวรากพบว่าความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของทั้ง PGA และเซลล์ *B. subtilis* ส่งผลให้ความยาวรากมีแนวโน้มในการลดลงอย่างชัดเจน อย่างไรก็ตามการเติม PGA และเซลล์ *B. subtilis* ส่งผลให้ต้นกล้าข้าวมีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) นอกจากนั้น PGA และเซลล์ *B. subtilis* ยังส่งผลให้ปริมาณน้ำตาล ปริมาณกรดอะมิโนอิสระรวม ปริมาณคลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ($P \leq 0.05$) จากการศึกษาการเจริญเติบโตของข้าวในระดับโรงเรือน พบว่า PGA และเซลล์ *B. subtilis* ส่งผลให้ข้าวมีความสูง จำนวนการแตกกอและน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของข้าวเพิ่มสูงขึ้น โดยเฉพาะที่ความเข้มข้นของ PGA 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม นอกจากนี้ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ยังส่งผลในเชิงบวกต่อพารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องกับผลผลิต ได้แก่ จำนวนรวง จำนวนเมล็ดต่อกระถาง น้ำหนักเมล็ดต่อกระถาง และน้ำหนัก 100 เมล็ด เมื่อพิจารณาคุณสมบัติทางด้านเคมีของดินพบว่า PGA และเซลล์ *B. subtilis* ส่งผลทำให้คุณภาพของดินดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ($P \leq 0.05$) โดยพบปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม โซเดียม ค่าการนำไฟฟ้าและ pH

ของดินเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของการให้สารทดสอบ โดยเฉพาะ PGA ที่ระดับความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม นอกจากนี้ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ยังมีแนวโน้มในการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางด้านกายภาพของดินดีขึ้น คือ ความชื้นของดิน ความหนาแน่นรวมของดินและความพรุนรวมของดิน จากผลการทดลองดังกล่าวจึงสรุปได้ว่า PGA และเซลล์ *B. subtilis* มีศักยภาพที่ดีและเป็นทางเลือกหนึ่งของสารจากธรรมชาติในการเป็นสารปรับปรุงดินและส่งเสริมการเพิ่มผลผลิตของข้าว

Title: Effects of γ–polyglutamic acid and *Bacillus subtilis* cells on soil quality improvement and growth of rice

Author: Khannawit Seephinta Thesis: M.S. (Environmental Science), University of Phayao, 2017

Advisor: Assistant Professor Kritchaya Issakul , Dr.sc.agr, Co–advisor: Neti Ngearnpat , Ph.D. , Assistant Professor Orawan Chunhachart , Ph.D.

Keyword : γ–polyglutamic acid (PGA); soil quality improvement; rice

ABSTRACT

The objective of this research was to study the effects of γ– polyglutamic acid (PGA) and *Bacillus subtilis* cells on soil quality improvement and growth of rice in both laboratory and greenhouse scale. From the germination, growth and biochemical contents of Khao Dawk Mali 105 rice seedling in laboratory scale tests, the results showed that the germination percentage, germination energy and germination speed were not affected by PGA and *B. subtilis* cells. However, those test substances tended to increase the seedling vigor index compared with the control. Considering the 21 days old rice seedlings, PGA at the concentration of 500 mg•kg^{-1}sand resulted in the significantly highest shoot length ($P \leq 0.05$). Whereas, the root length was gradually reduced with increasing the PGA and *B. subtilis* cell concentration. However, the addition of PGA and *B. subtilis* cells significantly increased both shoot and root in terms of fresh and dry weight ($P \leq 0.05$). Moreover, PGA and *B. subtilis* cells significantly influenced the increase in sugar content, total free amino acid, total chlorophyll and carotenoids contents compared with the control ($P \leq 0.05$). Additionally, the study of rice growth on greenhouse scale showed that PGA and *B. subtilis* cells resulted in higher rice yield, number of tillers and increased both shoot and root in terms of fresh and dry weight especially at the PGA concentration of 50 mg•kg^{-1}. Moreover, the crop yield parameters i.e. number of panicles, number of grains, grain weight and 100–grain weight were positively affected by the addition of PGA and *B. subtilis* cells. Considering the soil chemical properties, PGA and *B. subtilis* cells significantly improved soil quality compared with the control ($P \leq 0.05$). Soil contents of nitrogen, phosphorus, potassium, calcium, magnesium, sodium, soil conductivity and soil pH increased with

increasing test substances, particularly for the 500 mg•kg^{-1}. In addition, PGA and *B. subtilis* showed a tendency to improve soil physical properties i.e. soil moisture, total soil density and total porosity. From those results, it indicates that PGA and *B. subtilis* cells could be one of the potentially natural resources used as soil conditioner and growth promoting substances for the soil quality and rice yield improvement.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี ผู้ทำการวิจัยขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.กฤตชญา อิสกุล อาจารย์ที่ปรึกษา เป็นอย่างยิ่งที่ได้ให้ความกรุณาให้คำปรึกษาในการทำการวิจัยในครั้งนี้ รวมถึงให้การสนับสนุนในด้านวัสดุอุปกรณ์ต่างๆ จนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.อรวรรณ ชุณหชาติ ดร.เนติ เงินแพทย์ และดร. นุชนภา โคตะบิน ที่ให้คำปรึกษาแนะนำ อีกทั้งยังช่วยแก้ปัญหาต่างๆที่เกิดขึ้นอันเป็นอุปสรรคในการทำการวิจัย จนทำให้งานวิจัยครั้งนี้เสร็จสมบูรณ์ลงด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ คุณตา คุณยาย ตลอดจนญาติพี่น้องทุกคนที่ได้ให้การส่งเสริมและสนับสนุนการศึกษาและการทำการวิจัยวิจัย รวมทั้งให้กำลังใจและให้คำปรึกษามาโดยตลอด

ขอขอบคุณสายวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน สำหรับสถานที่และอุปกรณ์ที่ใช้ในการทำการวิจัยในครั้งนี้และทำให้งานวิจัยของข้าพเจ้าสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณเพื่อนๆ ทุกคนที่มีน้ำใจในการให้คำปรึกษาและคำแนะนำที่ดี ช่วยเหลืองานวิจัยและให้กำลังใจจนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

คณวิชช์ ศรีปินตา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ฉ

กิตติกรรมประกาศ ..... ช

สารบัญ ..... ฌ

สารบัญตาราง ..... ฒ

สารบัญภาพ ..... ณ

บทที่ 1 บทนำ 1

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

วัตถุประสงค์ของการวิจัย 3

ขอบเขตของการวิจัย 3

ขอบเขตของพื้นที่ 3

ขอบเขตของเนื้อหา 3

ขอบเขตของระยะเวลา 4

ประโยชน์ที่จะได้รับจากการวิจัย 4

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 5

2.1 แกมม่าพอลิกลูตามิกแอซิด (γ-polyglutamic acid, PGA) 5

2.1.1 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิต PGA 6

2.1.1.1 ความต้องการสารอาหาร 6

2.1.1.2 สภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย 7

2.1.1.3 การย่อยสลายของ PGA 8

2.1.2 การสังเคราะห์ PGA ของแบคทีเรียสายพันธุ์ Bacillus sp. 9

2.2 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช 11
2.2.1 กลุ่มออกซิน (Auxins) 11
2.2.2 กลุ่มจิบเบอเรลลิน (Gibberellins) 12
2.2.3 กลุ่มไซโตไคนิน (Cytokinins) 12
2.2.4 กลุ่มเอทิลินและสารปลดปล่อยเอทิลีน (Ethylene and ethylene releasing compounds) 12
2.2.5 กรดแอบซิสิค (Abscisic acid) 13
2.2.6 กลุ่มสารชะลอการเจริญเติบโตของพืช (Plant growth retardants) 13
2.2.7 กลุ่มสารยับยั้งการเจริญเติบโต (Plant growth inhibitors) 13
2.3 บทบาทของจุลลินทรีย์ต่อการเจริญเติบโตของพืช 14
2.3.1 จุลินทรีย์เพิ่มธาตุอาหารพืช 14
2.3.2 จุลินทรีย์ที่ช่วยให้ธาตุอาหารเป็นประโยชน์กับพืช 14
2.3.3 จุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Plant Growth Promoting Rhizobacteria; PGPR) 15
2.3.4 จุลินทรีย์เร่งปุ๋ยหมัก 15
2.3.5 จุลินทรีย์ย่อยสลายสารพิษในดิน 15
2.4 สารปรับปรุงชีวภาพ 16
2.4.1 ความสำคัญของปุ๋ยอินทรีย์ในการปรับปรุงดิน 16
2.4.2 ผลของปุ๋ยอินทรีย์ต่อคุณสมบัติของดิน 17
2.4.2.1 ผลของปุ๋ยอินทรีย์ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางด้านเคมีของดิน 17
2.4.2.2 ผลของปุ๋ยอินทรีย์ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางด้านชีวภาพของดิน 18
2.4.2.3 ผลของปุ๋ยอินทรีย์ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางด้านกายภาพ ของดิน 20
2.4.2.4 ผลของปุ๋ยอินทรีย์ต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตพืช 21

2.5 ข้าว 22
2.5.1 ข้าวขาวดอกมะลิ 24
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 27
3.1 วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย 27
3.1.1 วัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือ 27
3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับวิเคราะห์ทางด้านสรีรวิทยาของพืชและทางเคมี 28
3.1.3 อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับวิเคราะห์ดินทางด้านกายภาพและเคมี 28
3.1.4 อุปกรณ์และเครื่องมือในโรงเรือน 29
3.1.5 อาหารเลี้ยงเชื้อ 29
3.1.6 ตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง 29
3.1.7 ตัวอย่างพันธุ์ข้าว 29
3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย และสถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล 29
3.2.1 การเตรียมและเก็บรักษาเชื้อทดสอบ 29
3.2.1.1 การเตรียม Stock culture 29
3.2.1.2 การเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ 30
3.2.2 การเตรียมสารทดสอบ 32
3.2.2.1 การผลิต PGA 32
3.2.2.2 การเตรียมเซลล์ B. subtilis 32
3.2.3 การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของ PGA และเซลล์ B. subtilis ในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในระดับห้องปฏิบัติการ 32
3.2.3.1 การเตรียมเมล็ดข้าวสำหรับทดสอบ 32
3.2.3.2 การเตรียมทรายสำหรับทดสอบ 33
3.2.3.3 การทดสอบ PGA และเซลล์ B. subtilis ต่อการงอกและการเจริญของต้นกล้าข้าวในระดับห้องปฏิบัติการ ระยะเวลา 7 วัน 33

3.2.3.4 การทดสอบผลของ PGA และเซลล์ B. subtilis ต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นกล้าข้าวในระดับห้องปฏิบัติการ ระยะ 21 วัน 34
3.2.3.5 การตรวจผลการทดลอง 34
3.2.3 การศึกษาเปรียบเทียบผลของ PGA และเซลล์ B. subtilis ต่อคุณลักษณะของดินและการเจริญเติบโตของต้นข้าวในระดับโรงเรือน.....36
3.2.3.1 การเตรียมตัวอย่างดินเพื่อทดสอบ 36
3.2.4.2 การจัดชุดการทดลอง 36
3.2.4.2.1 ชุดการทดลองที่ใช้ PGA 36
3.2.4.2.2 ชุดการทดลองที่ใช้เซลล์ B. subtilis 37
3.2.4.3 การเตรียมกล้าข้าว.....37
3.2.4.4 การให้สารทดสอบ.....37
3.2.4.5 การวิเคราะห์คุณสมบัติดิน 38
3.2.4.6 การตรวจผลการเจริญเติบโตและผลผลิตข้าว 39
3.2.4.7 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ.....39
บทที่ 4 ผลการทดลอง 40
4.1 ผลของ PGA และเซลล์ B. subtilis ต่อการงอกและความแข็งแรงของต้นกล้าข้าว ระยะเวลา 7 วัน.....40
4.1.1 การประเมินผลการงอกของเมล็ดพันธุ์.....40
4.1.2 การประเมินผลการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าว 41
4.2 ผลของ PGA และเซลล์ B. subtilis ต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นกล้าข้าวในระดับห้องปฏิบัติการ ระยะเวลา 21 วัน 46
4.2.1 การเจริญเติบโตของต้นการข้าว 46
4.2.2 สารชีวเคมีของต้นกล้าข้าว 51
4.3 ผลของ PGA และเซลล์ B. subtilis ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางด้านเคมี และกายภาพของดิน.....54

4.3.1 คุณสมบัติทางด้านเคมี....54
4.3.1.1 ดินก่อนการทดลอง....54
4.3.1.2 ดินหลังการทดลอง....56
4.5.2 คุณสมบัติทางด้านกายภาพ....59
4.4 ผลของ PGA และเซลล์ B. subtilis ต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในระดับโรงเรือน....62
4.4.1 การเจริญเติบโตของข้าว....62
4.5 ผลของ PGA และเซลล์ B. subtilis ต่อผลผลิตของต้นข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในระดับโรงเรือน....75
4.5.1 ผลผลิตข้าว....75
บทที่ 5 อภิปรายผลการทดลองและบทสรุป....79
5.1 อภิปรายผลการวิจัย....79
5.1.1 ผลของ PGA และเซลล์ B. subtilis ต่อการงอกและความแข็งแรงของต้นกล้าข้าว ระยะเวลา 7 วัน....79
5.1.2 ผลของ PGA และเซลล์ B. subtilis ต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นกล้าข้าวในระดับห้องปฏิบัติการ ระยะเวลา 21 วัน....80
5.1.2.1 การเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าว....80
5.1.2.2 สารชีวเคมีของต้นกล้าข้าว....83
5.1.3 ผลของ PGA และเซลล์ B. subtilis ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางด้านเคมีและกายภาพของดิน....84
5.1.3.1 คุณสมบัติทางด้านเคมีของดิน....84
5.1.3.2 คุณสมบัติทางด้านกายภาพของดิน....86
5.1.4 ผลของ PGA และเซลล์ B. subtilis ต่อการเจริญ พัฒนาการ และผลผลิตของต้นข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในระดับโรงเรือน....87
5.1.4.1 การเจริญเติบโตของข้าว....87

5.1.4.2 ผลผลิตข้าว.....89
5.2 บทสรุป.....90
5.3 ข้อเสนอแนะ.....91
บรรณานุกรม.....92
ประวัติผู้เขียน.....103
ภาคผนวก ก.....104
การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ.....104
ภาคผนวก ข.....106
การเตรียมสารอาหารพืช.....106
ภาคผนวก ค.....108
การวิเคราะห์คุณสมบัติทางด้านเคมีและกายภาพของดิน.....108

สารบัญตาราง

ตาราง **หน้า**

ตาราง 1 ผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ต่อการงอกและความแข็งแรงของต้นกล้าข้าว....43

ตาราง 2 ผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นกล้าข้าว.....48

ตาราง 3 ผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ต่อพารามิเตอร์ทางชีวเคมีของต้นกล้าข้าว.....53

ตาราง 4 ผลองค์ประกอบทางเคมีของดิน.....55

ตาราง 5 ผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ต่อองค์ประกอบทางเคมีของดิน 58

ตาราง 6 ผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ต่อองค์ประกอบทางกายภาพของดิน..... 61

ตาราง 7 ผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในระดับโรงเรือน 67

ตาราง 8 ผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในระดับโรงเรือน (ต่อ).....68

ตาราง 9 ผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ต่อผลผลิตของข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในระดับโรงเรือน.....78

สารบัญภาพ

ภาพ **หน้า**

ภาพ 1 สูตรโครงสร้างของสาร PGA 5

ภาพ 2 การสังเคราะห์ PGA..... 9

ภา**พ 3** วิธีการทดลองโดยรวมของการใช้ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ในการทดสอบ 31

ภาพ 4 ผลของ PGA ความเข้มข้นต่างๆต่อการงอกของต้นกล้าข้าว ระยะเวลา 7 วัน ในระดับห้องปฏิบัติการ 44

ภาพ 5 ผลของเซลล์ *B. subtilis* ความเข้มข้นต่างๆต่อการงอกของต้นกล้าข้าว ระยะเวลา 7 วัน ในระดับห้องปฏิบัติการ..... 45

ภาพ 6 ผลของ PGA ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นกล้าข้าว ระยะเวลา 21 วัน ในระดับห้องปฏิบัติการ 49

ภาพ 7 ผลของเซลล์ *B. subtilis* ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นกล้าข้าว ระยะเวลา 21 วัน ในระดับห้องปฏิบัติการ 50

ภาพ 8 ผลของ PGA ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นกล้าข้าว ระยะเวลา 20 วัน ในระดับโรงเรือน 69

ภาพ 9 ผลของ PGA ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นข้าว ระยะเวลา 40 วัน ในระดับโรงเรือน..... 70

ภาพ 10 ผลของ PGA ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นข้าว ระยะเวลา 60 วัน ในระดับโรงเรือน..... 71

ภาพ 11 ผลของเซลล์ *B. subtilis* ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นกล้าข้าว ระยะเวลา 20 วัน ในระดับโรงเรือน..... 72

ภาพ 12 ผลของเซลล์ *B. subtilis* ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นข้าว ระยะเวลา 40 วัน ในระดับโรงเรือน..... 73

ภาพ 13 ผลของเซลล์ *B. subtilis* ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นข้าว ระยะเวลา 60 วัน ในระดับโรงเรือน 74

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันการพัฒนาเทคโนโลยีทางการเกษตร เพื่อมุ่งเน้นการเพิ่มปริมาณผลผลิตต่อหน่วยพื้นที่ให้มากขึ้นได้รับความสนใจ อาทิเช่น การพัฒนาด้านพันธุ์พืช การใช้สารกำจัดศัตรูพืช และการใช้ปุ๋ยเคมีให้มีประสิทธิภาพสูงสุด เป็นต้น การใช้ปุ๋ยเคมีถือเป็นปัจจัยสำคัญในการช่วยเพิ่มผลผลิต ส่งผลให้ปริมาณการใช้ปุ๋ยเคมีสูงขึ้นทุกปี จากข้อมูลการนำเข้าปุ๋ยเคมีในปี 2558-2559 พบว่ามีอัตราการนำเข้าเพิ่มขึ้นเฉลี่ย 229,863 ตัน (สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร, 2560) เนื่องจากการใช้สะดวก มีสูตรต่างๆ ให้เลือกใช้มากมายและเห็นผลรวดเร็ว อย่างไรก็ตามการใช้ปุ๋ยเคมีมีข้อจำกัดและสามารถสร้างผลกระทบทางสิ่งแวดล้อมได้เช่นกัน โดยเฉพาะการขาดความรู้ ความเข้าใจในการใช้ปุ๋ยเคมีที่ถูกต้องของเกษตรกร เมื่อประกอบกับพื้นที่เกษตรกรรมของเกษตรส่วนใหญ่ขาดอินทรียวัตถุ มีการใช้ปุ๋ยเคมีติดต่อกันเป็นเวลานาน ส่งผลกระทบต่อคุณภาพดิน เกิดปัญหาดินแน่น ดินแข็ง ดินเป็นกรดจัด โครงสร้างทางกายภาพชีวภาพของดินเสียสมดุล ทำให้เกษตรกรต้องลงทุนใช้ปุ๋ยเคมีเพิ่มขึ้นเพื่อรักษาระดับผลผลิต กระทบต่อต้นทุนการผลิต เกษตรกรจึงมีความเสี่ยงต่อการลงทุนสูงโดยเฉพาะเมื่อเกิดวิกฤติปุ๋ยเคมีราคาแพงอันมีสาเหตุมาจากปัจจัยต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นราคาวัตถุดิบและราคาน้ำมันในตลาดโลกปรับตัวสูงขึ้น สาเหตุต่างๆเหล่านี้ทำให้เกษตรกรต้องเผชิญปัญหาปุ๋ยเคมีที่มีราคาแพง การแนะนำให้เกษตรกรหันมาใช้ปุ๋ยอินทรีย์ และปุ๋ยชีวภาพ นอกจากจะลดต้นทุนการผลิตให้ต่ำลง ยังสามารถช่วยในการเพิ่มปริมาณผลผลิตให้มากขึ้นได้ โดยปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพที่มีรายงานการนำมาใช้ในการปรับปรุงดินได้แก่ ปุ๋ยพืชสด ปุ๋ยคอก ปุ๋ยหมัก ขี้เถ้าแกลบและขุยมะพร้าว เป็นต้น เนื่องจากไม่ทำลายคุณภาพดิน และไม่ทำลายสิ่งแวดล้อมยังเป็นแหล่งเพิ่มปริมาณสารอินทรีย์วัตถุให้แก่ดินด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าจุลินทรีย์บางกลุ่มสามารถผลิตไบโอพอลิเมอร์ในกลุ่มของโพลีแซกคาไรด์ ซึ่งช่วยกระตุ้นการเจริญของพืช การสะสมแร่ธาตุ การแพร่กระจายของแร่ธาตุและสารอาหารในดินได้ ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะใช้สารไบโอพอลิ

เมอร์ γ-polyglutamic acid (PGA) ซึ่งเป็นสารผสมระหว่าง polyglutamic acid และ fructan (Fujii, 1963) เป็นสารที่แบคทีเรียปล่อยมาสู่ภายนอกเซลล์ โดย PGA เป็นสารที่มีประจุลบจึงมีคุณสมบัติในการดูดจับอิออนที่มีประจุบวกและสามารถดูดซับน้ำไว้ได้ดี ละลายน้ำได้ สลายตัวได้โดยกระบวนการทางชีวภาพ รับประทานได้โดยไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกายและไม่เป็นพิษต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม (รัศมิกร, 2544) ซึ่ง PGA สามารถย่อยสลายได้ในธรรมชาติ แต่อย่างไรก็ตามการย่อยสลายโมเลกุลดังกล่าวก็ต้องอาศัยเอนไซม์ที่จำเพาะ เช่น γ-glutamyl hydrolase และ γ-glutamyl transferase ซึ่งเอนไซม์เหล่านี้จะพบได้ในแบคทีเรีย *Bacillus* sp. และจุลินทรีย์บางชนิดเท่านั้น (Chunhachart *et al.*, 2006)

นอกจาก PGA ที่ช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของพืชได้ ยังมีจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและเพิ่มผลผลิต โดยเฉพาะแบคทีเรียบริเวณเขตรากพืชที่มีปฏิสัมพันธ์กับพืชโดยมีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตพืช (PGPR, plant growth promoting rhizobacteria) (Xie *et al.*, 2014) เช่น *B. subtilis* OKB105 โดยพืชจะผลิตสารประกอบต่างๆ ที่ PGPR สามารถนำไปใช้ประโยชน์เป็นแหล่งพลังงานได้ เช่น คาร์โบไฮเดรตและกรดอะมิโนต่างๆ ส่วน PGPR จะผลิตฮอร์โมนพืชและเพิ่มปริมาณธาตุอาหารพืชในดิน (Idriss *et al.*, 2002) ทำให้พืชสามารถเจริญเติบโตได้ดี ซึ่ง PGPR สายพันธุ์ OKB105 มียีน *yecA* (ทำหน้าที่ผลิต putative amino acid/ polyamine permease) และ *speB* (ทำหน้าที่ผลิต agmatinase) ซึ่ง polyamine ที่มีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นให้พืชทนต่อสภาวะเครียดต่างๆ เช่น acidic และ oxidative stresses รวมทั้งมีผลในการยับยั้งการผลิตเอทิลีนซึ่งทำหน้าที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช (Xie *et al.*, 2014) เป็นต้น

ดังนั้นในงานวิจัยในครั้งนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาผลของสาร γ-polyglutamic acid (PGA) และเซลล์ *B. subtilis* NBRC16449 ในการเป็นสารปรับปรุงดิน และส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว อีกทั้งเพื่อเพิ่มความสมบูรณ์ให้กับดิน เป็นทางเลือกหนึ่งของเกษตรกรในการลดการใช้ปุ๋ยเคมีและลดปัญหาการปนเปื้อนของสารเคมีทางการเกษตรในสิ่งแวดล้อม

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของสาร γ–polyglutamic acid (PGA) และเซลล์ *B. subtilis* NBRC16449 ต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของต้นข้าวในเรือนทดลอง

2. เพื่อศึกษาผลของสาร γ–polyglutamic acid (PGA) และเซลล์ *B. subtilis* NBRC16449 ต่อคุณภาพดิน

ขอบเขตของการวิจัย

ขอบเขตของพื้นที่

ศึกษาและทดลองกับสายพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 และใช้ตัวอย่างดินจากพื้นที่นา อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม ในระดับความลึก 0–20 เซนติเมตร

ขอบเขตของเนื้อหา

ศึกษาผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* NBRC16449 ต่อการปรับปรุงคุณภาพดินและการเจริญเติบโตของข้าว โดยการผลิต PGA จาก *B. subtilis* NBRC16449 วิเคราะห์ปัจจัยการเปลี่ยนแปลงดิน ได้แก่ สมบัติทางด้านกายภาพของดิน เช่น ความหนาแน่นรวมของดิน (bulk density) ความพรุนรวมทั้งหมดของดิน (total porosity) และความชื้นของดิน (soil moisture) สมบัติทางด้านเคมีของดิน เช่น pH ของดิน ค่าการนำไฟฟ้า (electrical conductivity–EC) ปริมาณอินทรียวัตถุ (organic metter–OM) ผลรวมของแคลไอออนที่แลกเปลี่ยนได้ (cation exchange capacity–CEC) ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน (total–N) ปริมาณเหล็กทั้งหมดในดิน (total Fe) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ได้ (available–P) ปริมาณโพแทสเซียมที่สามารถแลกเปลี่ยนได้ (exchangeable–K^+) ปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียมและโซเดียมที่สามารถแลกเปลี่ยนได้ (exchangeable Ca^{2+}, Mg^{2+} and Na^+)

อีกทั้งยังพิจารณาพารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวทั้งในระดับห้องปฏิบัติการและในระดับโรงเรือน ได้แก่ เปอร์เซ็นต์การงอก ดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้า พลังงานในการงอกและความเร็วในการงอก ความยาวรากและลำต้น จำนวนกอต่อต้น (number of tiller) จำนวนรวงต่อต้น (number of panicle) ขนาดของรวง (size of panicle) จำนวนเมล็ด (number of grain) จำนวนเมล็ดลีบต่อรวง (number of unfilled grains) น้ำหนักเมล็ด (grain weight) น้ำหนักเมล็ด 100 เมล็ด (100–grain weight) น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง

รวมของต้นข้าวและของรวงข้าว และจำนวนเมล็ดต่อกระถางเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (increment of over control)

ขอบเขตของระยะเวลา

ตั้งแต่ 1 มกราคม 2558–31 มีนาคม 2560

ประโยชน์ที่จะได้รับจากการวิจัย

1. ทราบผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* NBRC16449 ต่อคุณภาพดิน การเจริญเติบโตและผลผลิตข้าว

2. สามารถนำผลวิเคราะห์ดินไปใช้ในการปรับปรุงดิน และจัดการปุ๋ยได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้นกว่าเดิม

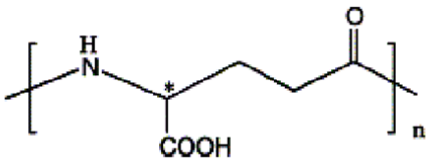
3. สามารถเผยแพร่องค์ความรู้ต่อชุมชนที่เกิดปัญหาดินในพื้นที่ที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แกมม่าพอลิกลูตามิกแอซิด (γ-polyglutamic acid, PGA)

PGA เป็นสารพอลิเมอร์ที่มีโครงสร้างเป็นแบบโฮโมพอลิเมอร์ของ glutamic acid ที่มี amide linkage เป็นตัวเชื่อมระหว่าง α-amino groups และ γ-carboxylic acid groups ดังแสดงในภาพ 1 ที่ประกอบด้วย D-glutamic acid (D-form) และ L-glutamic acid (L-form) (Shin and Van, 2001) ซึ่งเป็น extracellular biopolymer ทั่วไปแล้วพบว่า *Bacillus* sp. สามารถผลิต PGA ซึ่งเป็นสารที่แบคทีเรียปล่อยออกมาสู่ภายนอกเซลล์ทำให้เกิดความเหนียวหนืดเมื่อเจริญเติบโตเข้าสู่ระยะการเจริญที่คงที่ (stationary phase) (Ashiuchi and Misono, 2002)



ภาพ 1 สูตรโครงสร้างของสาร PGA (Goto and Kunioka, 1992)

PGA ถูกค้นพบเป็นครั้งแรกเมื่อปี 1937 โดยคณะของ Ivanovics พบว่าเป็นส่วนประกอบที่มีอยู่ในแคปซูลของ *B. anthracis* เมื่อหลั่งออกสู่สิ่งแวดล้อมจะมีลักษณะเหนียวหนืด และจะปล่อยออกมาในอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเซลล์แก่หรือเซลล์แตก PGA สามารถแยกหรือสกัดได้จากสิ่งมีชีวิตหลายชนิด เช่น แบคทีเรีย ไซยาโนแบคทีเรีย และเมล็ดพืช ที่พบเห็นได้ง่ายได้แก่ สารเหนียวหนืดที่มีอยู่ในถั่วเน่า (natto) ซึ่งเป็นอาหารพื้นเมืองของชาวญี่ปุ่นที่เรารู้จักกันดี โดยสารที่ทำให้เกิดความเหนียวและหนืดนั้นประกอบไปด้วยฟรุคแทน และพอลิกูลตามิคแอซิดเป็นองค์ประกอบหลัก

ในปี 1994 คณะของ Bovarnick ได้ค้นพบวิธีการหมักโดยใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ของ *B. subtilis* ที่มีความสามารถในการปล่อย PGA ออกมาได้อย่างอิสระในอาหารเลี้ยงเชื้อและยังพบว่า *Bacillus* หลายสปีชีส์มีความสามารถในการผลิต PGA ได้โดยการปล่อยสารออกมานอกเซลล์ (Extracellular Biopolymer) (Goto and Kunioka, 1992)

คุณสมบัติที่น่าสนใจของ PGA คือเป็นสารที่มีประจุลบ ย่อยสลายได้โดยวิธีทางชีวภาพ (biodegradable) รับประทานได้ (edible) ละลายน้ำได้ และไม่เป็นพิษต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อมจึงมีแนวโน้มที่จะนำไปประยุกต์ใช้ทางด้านต่างๆ (Shin and Van, 2001) เช่น การบำบัดน้ำเสีย การผลิตน้ำดื่ม กระบวนการเก็บเกี่ยวผลิตภัณฑ์ทางด้านอุตสาหกรรมอาหารและอุตสาหกรรมการหมัก สารเพิ่มความเหนียวหนืด (thickener) สารรักษาความชื้น (humectants) สารช่วยลดการรับน้ำหนัก กาวทางชีวภาพเป็นเส้นใยที่ย่อยสลายได้เองและตัวดูดซับสารโลหะหนัก

นอกจากนี้ยังมีการนำเอาของเสียจากอุตสาหกรรมและการเกษตรมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อเป็นการลดมลภาวะและเปลี่ยนของเสียจากอุตสาหกรรมและการเกษตรมาใช้ให้เกิดประโยชน์ โดยมีแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนครบตามที่เชื้อต้องการใช้ในการเจริญเติบโตและผลิต PGA ได้

PGA ที่ถูกผลิตโดยเชื้อ *Bacillus* sp. จะมีน้ำหนักมวลโมเลกุลสูง โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 100–8,000 กิโลดาลตัน โดยมวลโมเลกุลที่สูงนั้นจะไม่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในด้านอื่นๆได้เท่าที่ควร อันเนื่องมาจากสารมีความเหนียวและหนืดค่อนข้างมาก ยากต่อการควบคุมการไหลของของเหลวและยากต่อการดัดแปลงโดยการใช้สารเคมี

2.1.1 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิต PGA

การผลิต PGA นั้น ต้องอาศัยปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิตที่ให้ได้ปริมาณ PGA สูงที่สุด เพื่อที่จะนำไปใช้ประโยชน์ทางต่างๆ โดยปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตได้แก่ ความต้องการสารอาหาร สภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง สายพันธุ์แบคทีเรียที่ใช้ในการผลิต PGA และการย่อยสลาย PGA

2.1.1.1 ความต้องการสารอาหาร

โดยความต้องการสารอาหารเป็นปัจจัยที่สำคัญประการแรกของการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียเพื่อการเจริญเติบโตและใช้ในการผลิตสารผลิตภัณฑ์ตามที่ต้องการ จัดได้ว่าเป็นสารตั้งต้นของกระบวนการสังเคราะห์ PGA ให้ได้ตามที่ต้องการ ซึ่งสารอาหารหลักที่สำคัญได้แก่ แหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน และยังรวมไปถึงวิตามินหรือเกลือแร่ต่างๆ ที่จะเป็นตัวช่วยในการส่งเสริมให้การเจริญของแบคทีเรียเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ อีกทั้งยังช่วยในการผลิต

PGA ให้ได้ปริมาณที่สูงตามต้องการ และได้มีการคิดค้นปรับปรุงสูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงให้เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตและการผลิต PGA ให้ได้ปริมาณมาก

ในการผลิต PGA นั้นส่วนมากจะใช้สารอาหารที่สังเคราะห์ขึ้นมา ส่งผลให้การผลิต PGA ที่จะนำไปใช้เพื่อประโยชน์ในระดับอุตสาหกรรมมีราคาแพง ดังนั้น จึงต้องหาแหล่งของสารอาหารที่จะนำไปใช้ในการผลิต PGA ให้มีราคาถูกลง

งานวิจัยของ Potter *et al.* (2001) ได้มีความสอดคล้องกับวัตถุประสงค์ข้างต้นและยังเป็นการลดปัญหาสิ่งแวดล้อมได้เป็นอย่างดี โดยการเปลี่ยนแอมโมเนีย (NH_3) ที่มีอยู่ในปุ๋ยคอกให้เป็นแหล่งไนโตรเจนเพื่อใช้ในการสร้าง PGA และยังเป็นการลดปริมาณแอมโมเนียอิสระ อีกทั้งยังมีการใช้เป็นแหล่งสารอาหารให้กับพืชโดย PGA จะช่วยจับกับ Ca^{2+} และ Mg^{2+} เพื่อเข้าสู่ระบบรากของพืชได้โดยใช้ *B. licheniformis* ATCC 9945A และ *B. subtilis* 1551 ซึ่งใช้แหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนที่มีอยู่ในปุ๋ยคอกเหลว โดยเปลี่ยนให้เป็น PGA ได้ในปริมาณ 0.85 และ 0.79 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แต่ในการผลิต PGA ให้ได้ปริมาณสูงจะใช้ปุ๋ยคอกเหลวผสมกับ medium E ที่มีโซเดียมกลูโคเมต กลูโคส และซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน เป็นต้น

2.1.1.2 สภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย

ในการผลิต PGA ในระดับอุตสาหกรรมนั้น จำเป็นต้องมีการผลิต PGA เพื่อให้ได้ปริมาณมากๆ ดังนั้นจำเป็นต้องหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิต PGA ซึ่งนักวิจัยชาวเกาหลีได้มีการคิดค้นวิธีการเพาะเลี้ยง *B. licheniformis* ATCC 9945A แบบ fed-batch culture ในถังหมักขนาด 2.5 ลิตร ที่มี medium E 950 มิลลิลิตร pH 6.5 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีอัตราการให้อากาศ 1,000 รอบต่อนาที โดยมีการเติมกรดอะซีติก 2 มิลลิลิตรต่อนาที และกรดกลูตามิก (L-glutamic acid: L-Glu) 2.4 กรัมต่อลิตร ซึ่งผลิต PGA ได้สูงสุด 35 กรัมต่อลิตร อัตราการผลิต 1 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง (Yoon *et al.*, 2000)

Cromwick and Gross (1996) ได้ใช้ *B. licheniformis* ATCC 9945A ที่เจริญใน medium E แบบ batch fermenter ได้ศึกษาผลของ pH และอัตราการให้อากาศที่เหมาะสมต่อการผลิต PGA ซึ่ง pH ที่ใช้ในการศึกษามีดังนี้ 5.5, 6.5, 7.4 และ 8.25 ที่มีผลต่อการเจริญของเซลล์รวมไปถึงแหล่งคาร์บอนและ L-glutamate มีผลต่อการผลิต PGA ซึ่งแหล่งคาร์บอนที่มีผลต่อการผลิต PGA คือกรดซิตริกที่ pH 6.5 อัตราการให้อากาศ 0.5-2.01 ลิตรต่อนาที โดยจะมีผลต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมและการผลิต PGA ได้สูงสุด 15 กรัมต่อลิตร

โดยจะเห็นได้ว่าสายพันธุ์ของแบคทีเรียมีความสำคัญอย่างมากต่อการสร้างและผลิต PGA เพราะการได้มาของแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์จะส่งผลต่อการใช้สารอาหารและสภาวะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง อีกทั้งรวมไปถึงปริมาณ PGA ที่สามารถผลิตได้

2.1.1.3 การย่อยสลายของ PGA

ในการผลิต PGA นั้นจะต้องอาศัยปัจจัยต่างๆ อีกทั้งยังต้องมีการอาศัยเอนไซม์มาเป็นตัวส่งเสริมการเจริญหรือการผลิต PGA แต่ก็ยังมีเอนไซม์บางตัวที่ไปมีผลต่อการย่อยสลาย PGA เช่น เอนไซม์ γ-polyglutamic acid hydrolase Tanaka *et al.* (1993) ได้ศึกษาผลของเอนไซม์ต่อการย่อยสลาย PGA โดยเอนไซม์ γ-polyglutamic acid hydrolase ผลิตจากเชื้อรา *Myrothecium* sp. TM-4222 ซึ่งจะมีผลต่อพันธะ γ-glutamyl ของ PGA และสามารถทำงานได้ดีที่ pH 5.0 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นอกจากนี้เอนไซม์ PGA hydrolase ยังมีความสามารถที่จะย่อยสลาย PGA ได้ ซึ่งจะไปทำให้มีผลต่อการสร้าง PGA โดยจะทำให้กลายเป็นเปบไทด์สายสั้นๆแทน และยังพบว่า *Myrothecium* sp. TM-4222 สามารถที่จะสร้างเอนไซม์ที่ไปลดความเหนียวหนืดของ PGA ได้

เอนไซม์ที่สามารถย่อยสลาย PGA ได้นั้น นอกจากจะผลิตโดยเชื้อราแล้วก็ยังพบว่ามีแบคทีเรียที่มีเอนไซม์ชนิดที่เรียกว่า exo-type specificity ก็มีความสามารถที่จะย่อยสลาย PGA ได้ซึ่ง Valcani and Margallith (1957) ได้ศึกษาแบคทีเรียโดยแยกเชื้อ *Flavobacterium polyglutamicum* จากดิน และทำการเลี้ยงแบคทีเรียใน γ-polyglutamic acid hydrolyzate (PGAH) medium พบว่า *F. polyglutamicum* สร้างเอนไซม์มาย่อยสลาย PGA โดย hydrolyze พันธะ γ-glutamyl peptide เช่นเดียวกับ Goto and Kunioka (1992) ได้ทำการศึกษาผลของอุณหภูมิที่สามารถย่อยสลาย PGA ในอุณหภูมิต่างๆ คือ 80, 100 และ 120 องศาเซลเซียส และทำการศึกษาในเวลาต่างๆกัน แล้วทำการวัดประสิทธิภาพการย่อยสลาย PGA ที่ละลายน้ำด้วยการวัดน้ำหนักโมเลกุลของ PGA พบว่าที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เวลานาน 60 นาที เป็นอุณหภูมิและช่วงเวลาที่ทำให้ PGA ถูกย่อยสลายเร็วที่สุด ทำให้ PGA ถูกตัดอย่างสุ่มๆเป็นสายโพลีเปปไทด์สายสั้นๆ

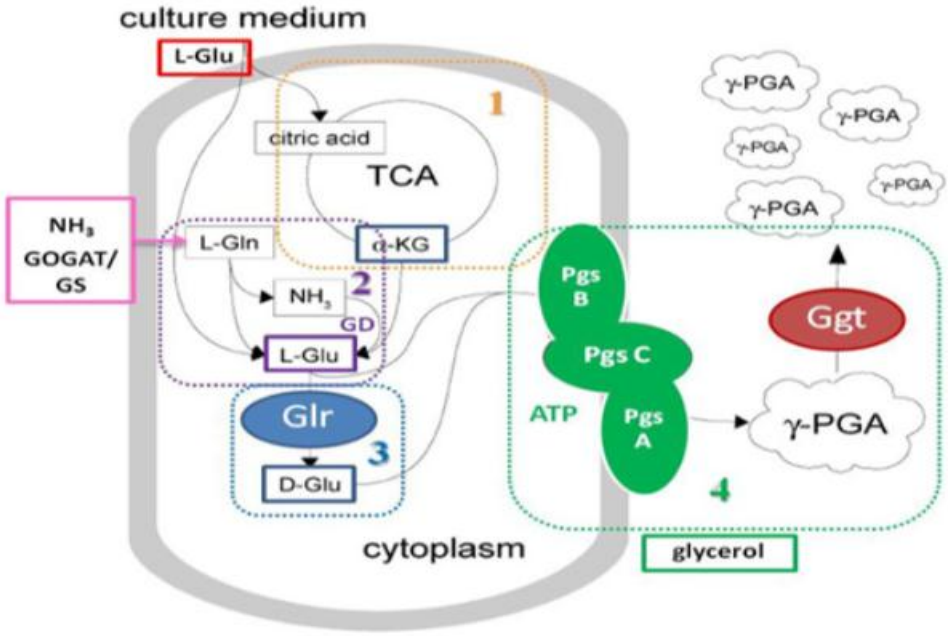
Goto and Kunioka (1992) ได้พบว่าปริมาณของแอมโมเนียมซัลเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อมีผลต่อการย่อยสลายของ PGA ได้ โดยทำการเติมแอมโมเนียมซัลเฟตในปริมาณต่างๆ ดังนี้

0.25, 0.5, 0.75, 1.0 และ 2.0 กรัม ในปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อ 100 มิลลิลิตร ที่ประกอบไปด้วยกรดกลูตามิก (L-Glu) 3 กรัม และกรดซิตริก 2 กรัม พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณของแอมโมเนียมซัลเฟต 0.25 และ 0.5 กรัม ส่งผลต่อการย่อยสลายของ PGA อย่างรวดเร็ว

2.1.2 การสังเคราะห์ PGA ของแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus* sp.

การสังเคราะห์ PGA นั้นมีปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง ซึ่งได้แก่ สารอาหาร สภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง สายพันธุ์แบคทีเรียที่ใช้ในการผลิต PGA และการย่อยสลาย PGA

Buescher and Margaritis (2007) พบว่าการสังเคราะห์ PGA ของแบคทีเรียส่วนใหญ่จะเป็นกลุ่มที่ต้องเติมกรดกลูตามิก (L-Glu) เช่น การสังเคราะห์ PGA ของ *B. anthracis*, *B. licheniformis* ATCC9945A, *B. subtilis* IFO3335 และ *B. subtilis* F-2-01 ในขณะที่กลุ่มไม่เติมกรดกลูตามิก (L-Glu) มีรายงานการศึกษาการสังเคราะห์ PGA จำนวนน้อยมาก เช่น การสังเคราะห์ PGA ของแบคทีเรียสายพันธุ์ *B. subtilis* 5E, *B. subtilis* TAM-4 และ *B. licheniformis* A35 เป็นต้น



ภาพ 2 การสังเคราะห์ PGA (ดัดแปลงมาจาก ณัฐวุฒิ และคณะ, 2555)

การสังเคราะห์ PGA ของแบคทีเรียในกลุ่มที่มีการเติมกรดกลูตามิก (L-Glu) ในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ ภาพ 2 โดยสามารถแบ่งออกเป็น 4 ส่วน (Fujii, 1963) ซึ่งได้แก่

ส่วนที่ 1 การสังเคราะห์ α–ketoglutarate (α–KG) ในวัฏจักรกรดไตรคาร์บอกซิลิก (TCA cycle) โดยใช้กรดซิตริกเป็นซับสเตรต

ส่วนที่ 2 α–KG เป็นการสร้างกรดกลูตามิก (L–Glu) โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ Glutamate dehydrogenase (GD) ร่วมกับการเติมแอมโมเนียมซัลเฟต และอีกกรณีหนึ่งคือ มีการสร้างกรดกลูตามิก (L–Glu) จากกลูตามีน (L–Gln) ร่วมด้วย โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ Glutamate 2–oxoglutarate (α–ketoglutarate) aminotransferase (GOGAT) เอนไซม์ Glutamine–synthetase (GS) และการเติมแอมโมเนียมซัลเฟต ซึ่งกรดกลูตามิก (L–Glu) ที่สร้างได้ทั้งหมดนี้ส่วนหนึ่งจะเข้าสู่ส่วนที่ 3 และกรดกลูตามิก (L–Glu) ที่เหลือจะเข้าสู่ส่วนที่ 4

ส่วนที่ 3 เปลี่ยนโครงสร้างกรดกลูตามิก (L–Glu) ให้เป็นกรดกลูตามิก (D–Glu) โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ Glutamic acid racemase (Glr)

ส่วนที่ กรดกลูตามิก (L–Glu) จะเข้าสู่ส่วนที่ 4 โดยตรงเพื่อสังเคราะห์ PGA ที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์โดยการทำงานของกลุ่มเอนไซม์ Poly (glutamic acid) synthetase (PgsBCA) ร่วมกับ ATP และปลดปล่อย PGA ออกสู่ภายนอกเซลล์ต่อไป

สำหรับแบคทีเรียที่ผลิต PGA กลุ่มที่ต้องมีการเติมกรดกลูตามิก (L–Glu) เพื่อช่วยเพิ่มปริมาณ PGA พบว่าในการสังเคราะห์ PGA จะต้องมีการเติมกรดกลูตามิก (L–Glu) จากภายนอกเซลล์ร่วมด้วย โดยกรดกลูตามิก (L–Glu) ที่เติมลงไปจะเข้าไปร่วมกับกรดกลูตามิก (L–Glu) สังเคราะห์ได้จากส่วนที่ 2 และพบว่าโดยส่วนมากแล้วแบคทีเรียจะสามารถใช้กรด กลูตามิก (D–Glu) เป็นซับเตรตในขั้นตอนของการสังเคราะห์ PGA โดยการทำงานของเอนไซม์ PgsBCA ได้ดีกว่ากรดกลูตามิก (L–Glu) นอกจากนี้ยังพบว่าการเติมกลีเซอรอลลงไปในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจะช่วยในการเปลี่ยนแปลงส่วนประกอบของฟอสโฟลิพิดที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ให้สามารถขับ PGA ออกสู่ภายนอกเซลล์ได้ดีขึ้น

อย่างไรก็ตามภายหลังงจากการขับ PGA ออกสู่นอกเซลล์แล้ว พบว่ามีการทำงานของเอนไซม์ γ–glutamyl peptidase (Ggt) ซึ่งผลิตขึ้นจากเซลล์ของแบคทีเรียเอง ทำหน้าที่ย่อย PGA ที่เป็นพอลิเมอร์สายยาวให้มีขนาดเล็กลงเหลือ 105 ดาร์ตันถึง 105 กิโลดาร์ตัน แต่ไม่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ PGA ภายในเซลล์ (รัศมิกร, 2544) ดังนั้นการผลิต PGA เพื่อให้ได้ผลและได้ขนาดของ PGA ยาวมากพอที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมได้นั้น จำเป็นต้องควบคุมกระบวนการผลิต PGA ไม่ให้ถูกย่อยโดยเอนไซม์ภายหลังจากที่ถูกขับออกมานอกเซลล์แล้ว

เช่น การปรับปรุงวิธีการเพาะเลี้ยงที่เกี่ยวข้องกับวิถีการสังเคราะห์ PGA ที่มีการบูรณาการกับวิธีการเก็บเกี่ยวผลิตภัณฑ์ PGA เข้าด้วยกัน เป็นต้น

การเจริญเติบโต และพัฒนาการของพืช นอกจากจะต้องอาศัยผลที่ได้จากขบวนการทางสรีรวิทยาต่างๆ เช่น การสร้างคาร์โบไฮเดรทจากการสังเคราะห์แสง และการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรทโดยการหายใจเป็นน้ำตาล หรือขบวนการสร้างสารประกอบอื่นๆ เช่น โปรตีน ไขมัน การเจริญเติบโต และพัฒนาการของพืชตลอดจนสิ่งมีชีวิตทุกชนิด ยังต้องอาศัยสารประกอบอินทรีย์อีกมากมายหลายชนิด ซึ่งสารประกอบอินทรีย์เหล่านี้จะมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโต และพัฒนาการเป็นอย่างมาก สารเหล่านี้อาจเรียกรวมๆ กันว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต (Plant Growth Regulators)

2.2 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

สารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นสารที่ได้มาจากปฏิกิริยาของสารประกอบที่เกิดขึ้นในระหว่างการดำเนินขบวนการทางสรีรวิทยาหรือสารที่ได้จากขบวนการทางสรีรวิทยา โดยที่สารควบคุมการเจริญเติบโตจะไม่เป็นสารอาหาร (Nutrients) สารให้พลังงาน (Energy releaser, Energy carrier) วิตามิน และเอนไซม์หรือส่วนประกอบของเอนไซม์ใดๆ สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชชนิดหนึ่งๆ อาจมีบทบาทเป็นได้ทั้งสารกระตุ้น และสารยับยั้งการเจริญเติบโต ทั้งนี้จะต้องขึ้นอยู่กับว่า กำลังพิจารณาถึงบทบาทในด้านใดเป็นหลัก ซึ่งสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช มีอยู่ 2 ประเภท คือ

Plant hormone หรือ Phytohormone หมายถึง สารประกอบอินทรีย์ที่พืชชั้นสูงสร้างขึ้น ซึ่งในปริมาณเพียงเล็กน้อยจะสามารถควบคุมการเจริญเติบโต และพัฒนาการของพืชได้ แบ่งออกได้เป็น 6 กลุ่ม คือ (นพดล, 2537)

2.2.1 กลุ่มออกซิน (Auxins)

ออกซินเป็นกลุ่มของสารที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการขยายขนาดของเซลล์ (Cell enlargement) การแบ่งตัวของเซลล์ในแคมเบี่ยม การขยายขนาดของใบ การเกิดราก การขยายขนาดของผล ป้องกันการหลุดร่วงของใบ ดอก ผล ยับยั้งการแตกตาข้าง ฮอร์โมนที่พืชสร้างขึ้นก็คือ IAA (Indole–3–acetic acid) โดยสร้างมากที่บริเวณปลายยอด ปลายราก ผลอ่อน และบริเวณที่มีเนื้อเยื่อเจริญ (Meristematic tissue) อยู่มาก ปริมาณ IAA ภายในเนื้อเยื่อพืชแต่ละส่วนมีมากน้อยแตกต่างกันไป โดยจะมีอยู่มากในส่วนที่กำลังเจริญเติบโต การรักษาระดับปริมาณภายในเนื้อเยื่อพืชถูกควบคุมโดยระบบการสร้าง และการทำลายพร้อมๆกันไป ถ้าเป็นเนื้อเยื่อที่กำลังเจริญเติบโตจะมีการสร้างมากกว่าการทำลาย และในทางตรงกันข้าม ในเนื้อเยื่อ

ที่มีอายุมากขึ้นจะมีการทำลายมากกว่าการสร้าง สารสังเคราะห์ที่จัดอยู่ในกลุ่มออกซินที่ใช้กันมากได้แก่ NAA (1–Naphthylacetic acid), IBA (4–(Indol–3–yl) butyric acid), 4–CPA (4–Chlorophenoxyacetic acid) และ 2, –4–D (2,4–Dichlorophenoxyacetic acid)

2.2.2 กลุ่มจิบเบอเรลลิน (Gibberellins)

จิบเบอเรลลินเป็นสารที่เกี่ยวข้องกับการยืดตัวของเซลล์ (Cell elongation) ทำลายการพักตัวของพืช กระตุ้นการออกดอกของพืชบางชนิด และยับยั้งการออกดอกของพืชบางชนิด สารกลุ่มนี้มีทั้งที่พืชสร้างขึ้นเอง และเชื้อราบางชนิดสร้างขึ้น ในปัจจุบันพบจิบเบอเรลลินทั้งหมด 71 ชนิด โดยที่ทุกชนิดเรียกชื่อเหมือนกันคือ จิบเบอเรลลินเอ (Gibberellins A) หรือจีเอ (GA) แต่มีหมายเลขตามหลังตั้งแต่ 1 ถึง 71 เช่น GA_3, GA_4 และ GA_7 สาร GA_3 เป็นจิบเบอเรลลินที่นำมาใช้มากทางการเกษตร โดยมีชื่อเรียกเฉพาะของสาร GA_3 ว่ากรดจิบเบอเรลลิก (Gibberellic acid) พืชสามารถสร้าง GA_3 ได้โดยมีปริมาณน้อยมาก ซึ่ง GA_3 ที่นำมาใช้ทางการเกษตรนั้นได้มาจากการเพาะเลี้ยงเชื้อราบางชนิดแล้วสกัด GA_3 ออกมาเนื่องจากปัจจุบันยังไม่สามารถสังเคราะห์ GA_3 ได้ด้วยวิธีทางเคมี

2.2.3 กลุ่มไซโตไคนิน (Cytokinins)

ไซโตไคนินเกี่ยวข้องกับการแบ่งเซลล์ของพืช ชะลอการแก่ชรา และกระตุ้นการแตกตาข้าง พบมากในบริเวณเนื้อเยื่อเจริญและในเอ็มบริโอส่วนใหญ่แล้วไซโตไคนินมีการเคลื่อนย้ายน้อย แต่มีคุณสมบัติสำคัญในการดึงสารอาหารต่างๆ มายังแหล่งที่มีไซโตไคนินสะสมอยู่ (Cytokinin–induced translocaton) ฮอร์โมนที่พบในพืช ได้แก่ ซีอาติน (Zeatin) ส่วนการสังเคราะห์ที่อยู่ในกลุ่มไซโตไคนิน ได้แก่ บีเอพี (BAP) และไคเนติน (Kinetin)

2.2.4 กลุ่มเอทิลินและสารปลดปล่อยเอทิลีน (Ethylene and ethylene releasing compounds)

เอทิลีนเป็นก๊าซชนิดหนึ่งและจัดเป็นฮอร์โมนพืช เนื่องจากพืชสร้างขึ้นมาได้โดยมีผลควบคุมการแก่ชรา การสุก รวมทั้งการออกดอกของพืชบางชนิด และเกี่ยวของกับการหลุดร่วงของใบ ดอก ผล การเหลืองของใบ การงอกของหัวพืช และเมล็ดพืชบางชนิด เอทิลีนจะสร้างมากในส่วนของพืชที่กำลังเข้าสู่ระยะชราภาพ (Senescence) เช่น ในผลแก่หรือใบแก่ใกล้หลุดร่วง เนื่องจากเอทิลีนเป็นก๊าซ ดังนั้นจึงฟุ้งกระจายไปได้ทั่ว จึงไม่มีการเคลื่อนย้ายเหมือนกับฮอร์โมนในกลุ่มอื่นๆ สารอินทรีย์บางชนิดมีคุณสมบัติคล้ายเอทิลีน เช่น อะเซทิลีน (Acetylene) และโปรปิลิน (Propylene) ดังนั้นจึงอาจนำสารเหล่านี้มาใช้ประโยชน์ทางการเกษตรได้เช่นกัน ยกตัวอย่างได้แก่ การใช้อะเซทิลีนในการบ่มผลไม้ และเร่งการออกดอกของสับปะรด เป็นต้น แต่เนื่องจากว่าสารที่กล่าวมานี้เป็นก๊าซจึงมีความยุ่งยากในการใช้ และไม่สามารถควบคุมความ

เข้มข้นได้แน่นอน โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้ในแปลงปลูกพืช ดังนั้นจึงได้มีการสังเคราะห์สารบางชนิด ซึ่งเป็นของเหลวแต่สามารถปลดปล่อยหรือสลายตัวได้ ก๊าซเอทิลีนซึ่งได้แก่ เอทีฟอน (Ethephon) และเอตาเซลาซิล (Etacelasil) ซึ่งสารเอทีฟอนจัดว่าเป็นสารที่นำมาใช้ประโยชน์มากที่สุดในโลกชนิดหนึ่ง และในปัจจุบันใช้กันอย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมสับปะรด

2.2.5 กรดแอบซิสิค (Abscisic acid)

กรดแอบซิสิคเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตประเภทชะลอหรือยับยั้งการเจริญเติบโต ในระยะแรกๆ ของการศึกษา สามารถสกัดสารนี้ได้จากอวัยวะที่กำลังจะร่วง ต่อมายังสกัดได้จากตาที่กำลังพักตัวอยู่ สารชนิดนี้เชื่อว่าสังเคราะห์โดยตรงจากเมวาโลนิกแอซิดซึ่งเป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน ซึ่งมีผลทางสรีรวิทยา ดังนี้ การร่วงของอวัยวะ การพักตัวของอวัยวะ การงอกของเมล็ด ควบคุมการปิดของปากใบในสภาพน้ำท่วมและในสภาพแล้ง ยับยั้งกิจกรรมของจิบเบอเรลลินเอในการสังเคราะห์เอนไซม์ในการย่อยสลายอาหารสะสม ชักนำเมล็ดให้สังเคราะห์โปรตีนเพื่อการสะสม ชักนำให้เมล็ดมีการพักตัว และชักนำการสังเคราะห์เอนไซม์โปรติเนส (Proteinase) เพื่อยับยั้งการแพร่ของเชื้อโรคในบาดแผลในระดับยีนส์ (Gene transcription)

2.2.6 กลุ่มสารชะลอการเจริญเติบโตของพืช (Plant growth retardants)

สารกลุ่มนี้ไม่จัดเป็นฮอร์โมนพืช แต่เป็นสารสังเคราะห์ทั้งหมด มีคุณสมบัติสำคัญ คือ ยับยั้งการสร้างหรือยับยั้งการทำงานของฮอร์โมนจิบเบอเรลลินในพืช จึงมีผลในการลดการยืดตัวของเซลล์ทำให้ปล้องสั้น ใบหนา เขียวเข้ม กระตุ้นการออกดอกของพืชบางชนิด และมีคุณสมบัติอื่นๆ ได้แก่ ทำให้พืชทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ร้อนจัด เย็นจัด ดินแห้ง ดินเกลือ เพิ่มผลผลิตในพืชบางชนิด และเพิ่มการติดผลของพืชบางชนิด สารชะลอการเจริญเติบโตที่สำคัญได้แก่ แอนซิมิดอล (Ancymidol) คลอมีควอน (Chlormequat) แดมิโนไซด์ (Daminozide) และพาโคลบิวทราโซล (Paclobutrazol)

2.2.7 กลุ่มสารยับยั้งการเจริญเติบโต (Plant growth inhibitors)

สารกลุ่มนี้มีหน้าที่ในการถ่วงดุลกับสารเร่งการเจริญเติบโตพวกออกซิน จิบเบอเรลลิน และไซโตไคนิน เพื่อให้การเติบโตเป็นไปอย่างพอเหมาะพอดี ส่วนใหญ่มีหน้าที่ยับยั้งการแบ่งเซลล์ และการเติบโตของเซลล์ ทำให้เกิดการพักตัว (Dormancy) และเกี่ยวข้องกับการหลุดร่วงของอวัยวะพืชฮอร์โมนในกลุ่มนี้มีพบในพืชมีมากกว่า 200 ชนิด แต่ที่สำคัญที่สุด และรู้จักกันดีคือ เอบีเอ (Abscisic acid) ในทางการเกษตรมีการใช้ประโยชน์จากสารกลุ่มนี้น้อยมาก อย่างไรก็ตามมีการใช้สารสังเคราะห์เพื่อประโยชน์บางอย่าง เช่น ยับยั้งการงอกของหัวมันฝรั่งและหอมหัวใหญ่ในระหว่างการเก็บรักษาใช้แทนการเด็ดยอด (Pinching) เพื่อกระตุ้นให้แตกตา

ข้างรวมทั้งยับยั้งการเติบโตทางกิ่งใบ ซึ่งมีผลในการกระตุ้นดอกได้ในพืชบางชนิด สารสังเคราะห์ที่สำคัญได้แก่ คลอฟลูรีนอล (Chlorflurenol) ไดกูแลกโซเดียม (Dikegulac sodium) มาเลอิกไฮดราไซด์ (Maleic hydrazide) และทีไอบีเอ (TIBA)

2.3 บทบาทของจุลลินทรีย์ต่อการเจริญเติบโตของพืช

จุลินทรีย์มีบทบาทอย่างมากในกระบวนการแปรสภาพอินทรียวัตถุในดิน (Soil organic matter) ให้กลายเป็นธาตุอาหาร จุลินทรีย์ในดินที่มีศักยภาพแบ่งออกได้เป็น 5 ประเภทคือ

2.3.1 จุลินทรีย์เพิ่มธาตุอาหารพืช

จุลินทรีย์เพิ่มธาตุอาหารพืช ได้แก่ กลุ่มจุลินทรีย์แปรสภาพไนโตรเจน ซึ่งผลิตเอนไซม์โปรตีเอส เพื่อย่อยสลายอินทรีย์ไนโตรเจนที่สะสมอยู่ในดิน ให้อยู่ในรูปของไนโตรเจนที่พืชนำไปใช้ได้ ได้แก่ ฟอสเฟตไอออน ($H_2PO^-_4$, HPO^-_4) จุลินทรีย์ในดินที่มีบทบาทในการย่อยได้แก่ กลุ่ม *Bacillus* sp., *Arthrobacter* sp., *Streptomyces* sp., *Aspergillus* sp., *Nitrobacter* sp. และ *Nitrosomonas* sp. เป็นต้น นอกจากนี้จุลินทรีย์ในดินบางชนิดสามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศเปลี่ยนให้เป็นสารประกอบไนโตรเจนที่มีประโยชน์ต่อพืชได้ (สุวรรณี, 2555)

2.3.2 จุลินทรีย์ที่ช่วยให้ธาตุอาหารเป็นประโยชน์กับพืช

กลุ่มที่ 1 คือ จุลินทรีย์แปรสภาพฟอสฟอรัสที่สร้างกรดอินทรีย์หรือเอนไซม์แปรสภาพฟอสฟอรัสย่อยสารประกอบกลุ่มอินทรีย์ฟอสฟอรัสให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ ได้แก่ ฟอสเฟตไอออน ($H_2PO^-_4$, HPO^-_4) นอกจากนี้ยังสามารถย่อยสารประกอบอนินทรีย์ฟอสฟอรัส เช่น หินฟอสเฟตหรือตะกอนของสารประกอบฟอสเฟต ซึ่งเกิดจากการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตอย่างต่อเนื่อง และถูกตรึงไว้ในดิน การใส่จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตในดินได้ จุลินทรีย์แปรสภาพฟอสฟอรัส ได้แก่ เชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Thiobacillus* sp. และเชื้อราในกลุ่ม *Aspergillus* sp. และ *Penicillium* sp.

กลุ่มที่ 2 คือ จุลินทรีย์ช่วยเพิ่มศักยภาพในการดูดซึมธาตุอาหารพืช ได้แก่ เชื้อราไมคอร์ไรซา ซึ่งมีความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยกันกับรากพืชชั้นสูง โดยเชื้อราจะได้รับอาหารจากพืชและพืชก็ได้รับประโยชน์จากราในการดูดน้ำ และธาตุอาหารให้แก่พืช เชื้อราไมคอร์ไรซาที่พบโดยทั่วไปมี 2 ชนิด คือ เอ็คโตไมคอร์ไรซา ซึ่งจะสร้างเส้นใยอัดตัวแน่นรอบรากพืชคล้ายเป็นเปลือกรากอีกชั้นหนึ่ง และเอ็นโดไมคอร์ไรซา เป็นเชื้อราที่สร้างเส้นใยแบบหลวมๆรอบราก พืช บางส่วนเจริญเข้าไปในราก และสร้างเป็นโครงสร้างแตกแขนงเรียกว่า อาร์บัสคูล และแบบกลมคล้ายรูปไข่เรียกว่า เวสิเคิล การใช้เชื้อราประเภทนี้นิยมใช้กับพืชยืนต้น เพื่อช่วยให้พืชดูด

ธาตุอาหารได้ง่ายขึ้น ช่วยให้ความชุ่มชื้น ช่วยควบคุมโรคพืช และลดความเป็นพิษของสารเคมีและโลหะหนักในดิน (สุวรรณี, 2555)

2.3.3 จุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Plant Growth Promoting Rhizobacteria; PGPR)

เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในดินรอบรากพืช (Rhizosphere) และช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช โดยการสร้างสารกระตุ้นการเจริญของพืช เช่น ซิเดอร์โรฟอร์ (Siderophore) ซึ่งมีสมบัติเพิ่มการนำธาตุเหล็กเข้าสู่เซลล์พืช โดยการแย่งจับธาตุเหล็กบริเวณรอบรากพืช ทำให้เชื้อราโรคพืชไม่สามารถนำธาตุเหล็กไปใช้ได้ นอกจากนี้เชื้อจุลินทรีย์ยังสามารถสร้างฮอร์โมนพืช เช่น ฮอร์โมนกลุ่มออกซิน ซึ่งกระตุ้นการยืดตัวของเซลล์ การแบ่งเซลล์ และการเปลี่ยนสภาพของเซลล์ สร้างเอนไซม์ไคติเนส (Chitinase) และลามินาริเนส (Laminarinase) ย่อยเส้นใยเชื้อราโรคพืชสร้างสารปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ เชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ในกลุ่มพีจีพีอาร์ ได้แก่ *Azospirillum* sp., *Streptomyces* sp., *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp. และ *Trichoderma* sp. เป็นต้น

2.3.4 จุลินทรีย์เร่งปุ๋ยหมัก

ปุ๋ยหมัก (Compost) คือปุ๋ยที่ได้จากการหมักซากพืช ซากสัตว์ ตลอดจนมูลสัตว์ เพื่อให้อินทรีย์สารสลายตัวผุพังจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ ซึ่งใช้เวลานาน จึงมีการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงประกอบด้วย เชื้อรา แบคทีเรีย และแอคติโนมัยสีท เพื่อเร่งกระบวนการย่อยสลายให้เกิดขึ้นได้เร็ว

2.3.5 จุลินทรีย์ย่อยสลายสารพิษในดิน

การใช้สารเคมีเพื่อควบคุมโรค แมลงและศัตรูพืช รวมทั้งวัชพืชในพื้นที่การเกษตร หากใช้ในปริมาณสูง และไม่ถูกวิธีจะก่อให้เกิดสารพิษตกค้างทั้งในผลผลิตทางการเกษตร ตัวเกษตรกรผู้ใช้รวมไปถึงสิ่งแวดล้อม ในธรรมชาติจะมีจุลินทรีย์บางชนิดที่สามารถปรับตัวให้ทนต่อสารเคมี และสามารถใช้สารเคมีที่ตกค้างเพื่อเป็นแหล่งอาหารและพลังงานได้ ตัวอย่างเช่น จุลินทรีย์ย่อยสลายอาทราซีน ซึ่งเป็นสารกำจัดวัชพืช ซึ่งมีทั้งเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย หนึ่งในจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายสารอาทราซีนได้คือ *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ ADP ที่สามารถย่อยอาทราซีนให้เป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์กับแอมโมเนีย ปัจจุบันมีการศึกษาจุลินทรีย์เหล่านี้ในรายละเอียดทั้งด้านพันธุกรรม และเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสารพิษเพื่อนำไปถ่ายโอนให้แก่พืช และใช้ในการบำบัดดินหรือแหล่งปนเปื้อนอาทราซีนต่อไป (สุวรรณี, 2555)

2.4 สารปรับปรุงชีวภาพ

สารที่ใช้ในการปรับปรุงดินในธรรมชาติมีอยู่หลายชนิด เช่น ปุ๋ยอินทรีย์ ปุ๋ยชีวภาพ และปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพ เป็นต้น โดยปุ๋ยอินทรีย์เป็นปุ๋ยที่ได้มาเองตามธรรมชาติจากผลพลอยได้ของการปลูกพืช เลี้ยงสัตว์ การแปรสภาพผลผลิต ตลอดจนของเหลือทิ้งจากชุมชน ในรูปของเหลวและขยะมูลฝอย ส่วนใหญ่ปุ๋ยอินทรีย์มีปริมาณธาตุอาหารค่อนข้างต่ำแต่มีบทบาทมากในการช่วยปรับปรุงสมบัติของดิน ตัวอย่างของปุ๋ยอินทรีย์ ได้แก่ ปุ๋ยหมัก ปุ๋ยคอก ปุ๋ยพืชสด (สมนึก, 2545)

2.4.1 ความสำคัญของปุ๋ยอินทรีย์ในการปรับปรุงดิน

ปุ๋ยอินทรีย์มีความสำคัญต่อการปรับปรุงดินมาก เพราะเป็นแหล่งของอินทรียวัตถุที่จะทำให้สภาพต่างๆ ของดินดีขึ้น ความสำคัญของปุ๋ยอินทรีย์ในการปรับปรุงดิน สามารถสรุปได้ดังนี้ (ภาควิชาพืชศาสตร์, 2551)

1. ปุ๋ยอินทรีย์โดยทั่วไปจะมีธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมน้อย แต่จะมีธาตุรองและจุลธาตุพอเพียงหรือเกือบพอเพียงตามความต้องการของพืช

2. ในระยะแรกๆ ปุ๋ยอินทรีย์อาจทำให้พืชมีผลผลิตไม่สูงมากนัก แต่ถ้าพิจารณาในระยะยาวแล้วผลผลิตของพืชสูงมาก เนื่องจากคุณสมบัติของดินดีขึ้นเรื่อยๆ

3. ปุ๋ยอินทรีย์จะช่วยให้ความเป็นกรดเป็นด่างของดินเปลี่ยนแปลงได้ยากขึ้น รวมทั้งช่วยดูดยึดธาตุอาหารต่างๆเอาไว้ไม่ให้สูญเสียไปจากดินได้โดยง่าย

4. ส่งเสริมให้อนุภาคของดินจับตัวเป็นก้อนหรือเป็นเม็ดดิน ดินไม่อัดตัวกันแน่น มีการถ่ายเทอากาศดี การอุ้มน้ำและการไหลซึมของน้ำในดินดีขึ้น

5. ส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในดิน จุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่มีประโยชน์ในดินเป็นพวกเฮทเทอโรโทรฟ ซึ่งต้องใช้สารอินทรีย์จากดินเป็นแหล่งสารอาหาร การเติมปุ๋ยอินทรีย์ลงไปในดินจึงเป็นการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อความอุดมสมบูรณ์ของดินด้วย

6. สามารถหาปุ๋ยอินทรีย์ได้ตามท้องถิ่นตามฟาร์มทั่วไป บางกรณีอาจไม่ต้องซื้อหรือซื้อในราคาถูก

7. วิธีการใส่ปุ๋ยอินทรีย์ไม่ยุ่งยาก ใช้วิธีการเช่นเดียวกันกับปุ๋ยเคมี

8. ธาตุอาหารในปุ๋ยอินทรีย์จะมีโอกาสสูญเสียน้อย เพราะธาตุอาหารบางส่วนเป็นองค์ประกอบของอินทรีย์สารในปุ๋ยและบางส่วนจะถูกยึดในปุ๋ยอินทรีย์ในรูปของคีเลต

2.4.2 ผลของปุ๋ยอินทรีย์ต่อคุณสมบัติของดิน

จากที่กล่าวข้างต้นจะเห็นได้ว่าปุ๋ยอินทรีย์มีประโยชน์ต่อการปรับปรุงบำรุงดินทั้งทางตรงและทางอ้อม ซึ่งสามารถประมวลผลต่างๆ ของปุ๋ยอินทรีย์ต่อคุณสมบัติของดินสามารถสรุปได้ ดังนี้

2.4.2.1 ผลของปุ๋ยอินทรีย์ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางด้านเคมีของดิน

การใส่ปุ๋ยอินทรีย์จะเป็นการเพิ่มธาตุอาหารให้แก่ดินโดยตรงถึงแม้จะไม่มาก เมื่อเปรียบเทียบกับปุ๋ยเคมี แต่จะค่อยๆ ปลดปล่อยให้เป็นประโยชน์ต่อพืชในระยะยาว ปุ๋ยอินทรีย์ที่ทำจากวัสดุเศษพืชต่างๆ ซึ่งมีธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองครบถ้วนที่พืชจะใช้ในการเจริญเติบโต รวมถึงธาตุอาหารที่พืชต้องการในปริมาณน้อยที่สำคัญ เช่น เหล็ก ทองแดง สังกะสี โบรอน โมลิบดินัมและอื่นๆ

ปุ๋ยอินทรีย์มีความสามารถในการแลกเปลี่ยนแคตไอออน (CEC) ค่อนข้างสูง ซึ่งจะมีส่วนให้ปุ๋ยเคมีที่มีอยู่ในรูปของแคตไอออนบางชนิดถูกดูดซึมไม่สูญเสียไป และพืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ดังนั้น การใส่ปุ๋ยร่วมกับปุ๋ยเคมีจะเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของปุ๋ยเคมีและเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารมาก เช่น การใส่ปุ๋ยหมักในดินกรดสามารถช่วยลดความเป็นพิษของอลูมิเนียมและแมงกานีส ซึ่งช่วยดูดยึดธาตุทั้งสองไว้ทำให้ละลายสารละลายดินลดลง และการใช้ปูนร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์จะสามารถลดความเป็นพิษของอลูมิเนียมและแมงกานีสได้ดีที่สุด โดยเหตุที่ปุ๋ยอินทรีย์มีปริมาณเกลือที่ละลายน้ำได้อยู่ต่ำและสลายตัวให้ฮิวมัส ซึ่งมีความจุแลกเปลี่ยนแคตไอออนสูง จึงมักปรากฏผลต่อคุณสมบัติทางเคมีของดินในลักษณะเอื้ออำนวยต่อการเจริญเติบโตของพืชดีขึ้น เนื่องจากในปุ๋ยอินทรีย์ที่มีตำแหน่งของการแลกเปลี่ยนแคตไอออนในปริมาณสูงมาก จึงช่วยเจือจางความเข้มข้นของไอออนที่อยู่บริเวณรอบๆ และควบคุมปฏิกิริยาทางเคมีในดินให้เป็นไปอย่างสม่ำเสมอไม่เปลี่ยนแปลงไปมาอย่างฉับพลัน จึงช่วยให้พืชเจริญเติบโตสม่ำเสมอดีขึ้น (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2544)

ผลการใส่ปุ๋ยคอกอัตรา 1.6 ตันต่อไร่ต่อปีเป็นเวลา 10 ปี ในดินร่วนปนทรายแป้งซึ่งปลูกฝ้ายและดินร่วนปนทรายที่ใช้ปลูกข้าวสาลี ทำให้ CEC ของดินทั้งสองเพิ่มขึ้น 1.10 และ 0.4 เซนติโมลต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ส่วนการใส่ปุ๋ยคอกอัตรา 3.5, 7.0 และ 10.5 ตันต่อไร่เป็น

เวลา 5 ปี ในดินเหนียวซึ่งมีค่า CEC เดิม 20.02 เซนติโมลต่อกิโลกรัม และใช้ปลูกข้าวโพดโดยตลอด ปรากฏว่าปุ๋ยคอกช่วยให้ค่า CEC ของดินเพิ่มจากแปลงที่ไม่ใช่ปุ๋ยคอก 0.38, 0.76 และ 0.78 เซนติโมลต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (Sequi and Calcinai, 1987)

จากการศึกษาของชูศรี และฉวีวรรณ (2544) เรื่อง ผลของปุ๋ยอินทรีย์ต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีของดินชุดรังสิตและผลผลิตของข้าวพันธุ์ชัยนาท พบว่าการใช้ประโยชน์จากปุ๋ยอินทรีย์เพื่อปรับปรุงสมบัติบางประการของดินชุดรังสิต มีความจำเป็นอย่างยิ่งต่อการเพิ่มศักยภาพของดิน ทั้งในด้านการปรับปรุงลักษณะโครงสร้างของดิน เพิ่มประสิทธิภาพความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารแก่พืชในดิน และประหยัดในการใช้ปุ๋ยเคมีสอดคล้องกับการศึกษาของ Melero *et al.* (2005) ซึ่งได้ศึกษาผลของการทำการเกษตรแบบอินทรีย์โดยใช้ปุ๋ยอินทรีย์และการทำการเกษตรโดยใช้ปุ๋ยเคมี ในปี 2000–2001 พบว่า ในดินระดับความลึก 0–15 เซนติเมตร ปลูกถั่ว และแตงโม มีค่าปริมาณอินทรีย์คาร์บอนทั้งหมด ไนโตรเจนทั้งหมด และฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์มากกว่าการปลูกพืชโดยใช้ปุ๋ยเคมีและสารเคมีอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากการใส่ปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพมีผลต่อการปรับปรุงคุณสมบัติของดินให้ดีขึ้น โดยทำให้อินทรียวัตถุเพิ่มขึ้นซึ่งเป็นแหล่งอาหารสำคัญของจุลินทรีย์จึงทำให้ดินมีปริมาณ และกิจกรรมในการย่อยสลายและปลดปล่อยธาตุอาหารในดินเพิ่มขึ้น สำหรับปฏิกิริยาดิน และค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายดินในการปลูกพืชทั้ง 2 รูปแบบ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (อ้างโดย สมศักดิ์, 2541)

2.4.2.2 ผลของปุ๋ยอินทรีย์ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางด้านชีวภาพของดิน

การใส่ปุ๋ยอินทรีย์ในดินเป็นการเพิ่มแหล่งอาหารของจุลินทรีย์ดินทำให้จุลินทรีย์ดินเพิ่มปริมาณมากขึ้นและพบว่ากิจกรรมของจุลินทรีย์ดินเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงธาตุอาหารในดิน ได้แก่ กระบวนการย่อยสลายสารอินทรีย์ กระบวนการแปรสภาพของสารอินทรีย์จากรูปที่ไม่เป็นประโยชน์ให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืช เช่น การเปลี่ยนรูปอนุมูลแอมโมเนียส ซึ่งเป็นรูปที่พืชดูดนำไปใช้ได้ยากให้อยู่ในรูปไนเตรท ซึ่งพืชสามารถดูดนำไปใช้ได้ง่ายและกระบวนการตรึงไนโตรเจน เป็นต้น รวมถึงกิจกรรมของจุลินทรีย์พวกไมคอโรซาที่บริเวณรากพืชด้วย นอกจากนั้นยังพบว่าการใส่ปุ๋ยอินทรีย์ทำให้ปริมาณแบคทีเรียเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเจน การใส่ปุ๋ยหมักทำให้ปริมาณแบคทีเรียที่มี

ประโยชน์ต่อความอุดมสมบูรณ์ของดินเพิ่มขึ้น เช่น *Azotobacter* sp. จะมีในปริมาณมาก (Marchesini *et al.*, 1986) การเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียมีผลช่วยยังยั้งการเจริญและความสามารถในการก่อให้เกิดโรคพืชของเชื้อโรคโดยเฉพาะบริเวณที่อยู่ใกล้รากพืช ปุ๋ยหมักเป็นธาตุอาหารที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อโรคบางชนิดในดินและทำให้พืชเกิดโรคน้อยลง นอกจากนี้แล้วจุลินทรีย์บางชนิดที่เจริญเติบโตอยู่สามารถขับสารปฏิชีวนะรวมทั้งสารยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆได้หลายชนิด เป็นการลดการระบาดและความรุนแรงของโรคพืชบางชนิดลงได้ (Hoitink, 1986)

การเจริญของจุลินทรีย์ดินทำให้เกิดกรดอินทรีย์หลายชนิด ซึ่งกรดอินทรีย์บางชนิดพืชสามารถนำไปใช้ได้โดยตรง บางชนิดมีผลต่อการปลดปล่อยและเปลี่ยนแปลงธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อพืชอีกทีหนึ่ง นอกจากนี้การใส่ปุ๋ยอินทรีย์มีผลต่อการควบคุมไส้เดือนฝอย (nematode) ในดิน จากผลการทดลองพบว่า การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตรามากขึ้น จะทำให้ปริมาณไส้เดือนฝอยในดินเพิ่มขึ้น การใส่ปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับปุ๋ยเคมี พบว่าช่วยทำให้ปริมาณของไส้เดือนฝอยลดน้อยลง (กรมพัฒนาที่ดิน, 2551)

จากการศึกษาของวรรลดา และฉวีวรรณ (2541) เรื่องผลของกิจกรรมจุลินทรีย์ดินต่อเชื้อโรคบางชนิดในระหว่างกระบวนการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุแต่ละชนิดในดินชุดวารินและร้อยเอ็ดโดยใช้วัสดุอินทรีย์ ได้แก่ ฟางข้าว ปุ๋ยหมัก ปุ๋ยพืชสด วัสดุตอซังและปุ๋ยคอก พบว่าในสภาพที่ไม่ใส่วัสดุอินทรีย์จะมีผลต่อการเพิ่มจำนวนประชากรของเชื้อสาเหตุโรคพืช กิจกรรมและจุลินทรีย์ในดินลดลง ค่า pH ของดิน รวมถึงปริมาณธาตุอาหารและอินทรียวัตถุดินลดลงด้วย ในขณะที่การเพิ่มอินทรีย์วัตถุโดยการใส่วัสดุแต่ละชนิดลงไปมีผลทำให้จำนวนประชากรแบคทีเรียเพิ่มขึ้น ส่งเสริมกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ ได้แก่ กิจกรรมเซลลูเลส ไซแลนเนส และฟอสฟาเทส โดยวัสดุอินทรีย์เหล่านี้จะเป็นแหล่งพลังงานและธาตุอาหารแก่เชื้อจุลินทรีย์ ทำให้เกิดสภาวะการแก่งแย่งหรือแข่งขันเพื่อการดำรงชีพของจุลินทรีย์ในดิน ส่งผลกระทบทำให้ประชากรของเชื้อสาเหตุโรคพืชลดลงด้วย

สอดคล้องกับการศึกษาของ Wu *et al.* (2005) พบว่าตำรับที่ใส่ปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพและตำรับที่ใส่ปุ๋ยอินทรีย์เพียงอย่างเดียว ทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนในดินมากกว่าตำรับที่ไม่ใส่ปุ๋ยและใส่ปุ๋ยเคมีอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ตำรับที่ใส่ปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับ

ปุ๋ยชีวภาพยังมีผลทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจน จุลินทรีย์ย่อยสลายฟอสฟอรัส และจุลินทรีย์ละลายโพแทสเซียมมากกว่าตำรับที่ไม่ใส่ปุ๋ยอินทรีย์และตำรับที่ใส่ปุ๋ยเคมีอย่างมีนัยสำคัญ การที่ดินมีปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นทำให้อัตราการย่อยสลายธาตุอาหารและพืชดูดใช้ธาตุอาหารพืชในดินและปริมาณการดูดใช้ธาตุอาหารของพืชเพิ่มขึ้น และจุลินทรีย์ดินยังช่วยส่งเสริมการกระจายของรากพืชส่งผลให้พืชดูดใช้ธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

เช่นเดียวกับรายงานของ Gunapala and Scow (1998) ได้ศึกษากิจกรรมของจุลินทรีย์ดินจากพื้นที่ทำการเกษตรที่มีการใช้ปุ๋ยเคมีและสารเคมี และพื้นที่ทำการเกษตรแบบอินทรีย์ (organic farming) ที่ใช้ปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพ พบว่าดินที่ใช้ในการทำเกษตรแบบอินทรีย์มีมวลชีวภาพ คาร์บอนและไนโตรเจนของจุลินทรีย์ดิน และความสามารถในการย่อยสลายอินทรีย์ไนโตรเจนมากกว่าดินที่ใช้ทำการเกษตรแบบใช้ปุ๋ยเคมีและสารเคมีอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งมวลชีวภาพของจุลินทรีย์ดินเป็นตัวบ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงของดินจากการทำการเกษตร (Doran, 1987) โดยมวลชีวภาพของดินที่เกี่ยวข้องกับกิจกรรมของจุลินทรีย์ การเพิ่มอินทรียวัตถุในดินช่วยกระตุ้นให้กิจกรรมของจุลินทรีย์ดินเกิดมากขึ้นและกิจกรรมของจุลินทรีย์ดินมีผลต่อการสร้างธาตุอาหารพืชในดิน (Stevenson and Elliott, 1989)

2.4.2.3 ผลของปุ๋ยอินทรีย์ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางด้านกายภาพของดิน

อินทรียวัตถุเป็นสารที่มีประสิทธิภาพสูงในการปรับปรุงสมบัติทางกายภาพของดิน ซึ่งรวมถึงความหนาแน่นหรือความพรุนของดิน ความร่วนซุย ความสามารถในการอุ้มน้ำ และการถ่ายเทอากาศในดิน ปุ๋ยอินทรีย์จึงเป็นปุ๋ยที่ช่วยปรับปรุงสมบัติทางกายภาพของดินได้มากกว่าปุ๋ยเคมี

จากรายงานของ Reganold and Palmer (1995) ได้ศึกษาผลของการทำเกษตรอินทรีย์โดยใช้ปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพ และการทำเกษตรโดยใช้ปุ๋ยเคมีต่อคุณสมบัติทางด้านกายภาพของดินในพื้นที่ทดสอบ 16 แปลง พบว่าการทำเกษตรโดยใช้ปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพมีผลทำให้ความหนาแน่นรวมของดิน ความต้านทานในการซึมผ่านของน้ำลงไปในดินในระดับความลึก 0–20 เซนติเมตร ต่ำกว่าการทำการเกษตรแบบใช้ปุ๋ยเคมีอย่างมีนัยสำคัญ

ส่วนความลึกของดิน และดัชนีชี้วัดคุณสมบัติของโครงสร้างดินของพื้นที่ทำการเกษตรโดยใช้ปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพมีค่าสูงกว่าการทำเกษตรโดยใช้ปุ๋ยเคมีอย่างมีนัยสำคัญ

จากรายงานของ Ghildyal, (1969) อ้างโดยสมศักดิ์, (2541) ที่ศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพของดินเมื่อได้รับอินทรียวัตถุจากปุ๋ยพืชสด พบว่าความสามารถในการอุ้มน้ำ ความพรุนของดิน การซึมผ่านของน้ำลงในดิน เมื่อได้รับปุ๋ยพืชสดโดยใช้โสน และปอเทือง ทั้งในระยะไถกลบและระยะเก็บเกี่ยวสูงกว่าดินที่ไม่ได้รับปุ๋ยพืชสดอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ความหนาแน่นรวมของดินจากการได้รับปุ๋ยพืชสดทั้งในระยะไถกลบและเก็บเกี่ยวมีแนวโน้มดีกว่าดินที่ไม่ได้รับปุ๋ยพืชสด จากการวิจัยดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการเพิ่มอินทรียวัตถุลงไปในดินในรูปแบบต่างๆ (ปุ๋ยอินทรีย์ ปุ๋ยชีวภาพและปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพ) ส่งผลให้คุณสมบัติทางด้านกายภาพของดินดีขึ้นกว่าการไม่ใส่ปุ๋ยหรือการทำการเกษตรโดยใช้ปุ๋ยเคมี เนื่องจากอินทรียวัตถุที่มีในปุ๋ยอินทรีย์ช่วยทำให้อนุภาคดินจับตัวกันเป็นก้อน (aggregation) ซึ่งการจับตัวเป็นเม็ดหรือเป็นก้อนของดินทำให้คุณสมบัติทางกายภาพของดิน เช่น โครงสร้างของดิน (soil structure) ความหนาแน่น (bulk density) ความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity) การระบายน้ำ ความพรุน (porosity) และการซึมผ่านของน้ำลงไปในดิน (permeability) ของดินดีขึ้น (Gosling and Shepherd, 2005) นอกจากนั้นสมบัติทางกายภาพดังกล่าวยังมีความสัมพันธ์กับประชากรของจุลินทรีย์ในดินอีกด้วย

2.4.2.4 ผลของปุ๋ยอินทรีย์ต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตพืช

จากรายงานของ Wu *et al.*, (2005) ได้ศึกษาการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของข้าวโพดภายใต้สภาพการปลูกในโรงเรือน โดยการให้ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพ เปรียบเทียบกับการใส่ปุ๋ยเคมีและไม่ใส่ปุ๋ย พบว่าตำรับที่ใส่ปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชในด้านความสูงและน้ำหนักแห้งของข้าวโพดมากกว่าตำรับที่ใส่ปุ๋ยเคมีและไม่ใส่ปุ๋ยอย่างมีนัยสำคัญ โดยตำรับที่ใส่ปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพนั้น ปุ๋ยอินทรีย์ใช้ปุ๋ยคอกและปุ๋ยชีวภาพใช้จุลินทรีย์ในกลุ่มของแบคทีเรียตรึงไนโตรเจน แบคทีเรียย่อยสลายฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และการใส่เชื้อ *Glomus mosseae* ทำให้น้ำหนักแห้งของผลผลิตข้าวโพดสูงที่สุด คือ 9.04 กรัมต่อกระถาง ขณะที่ตำรับที่ใส่ปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพ ชนิดกลุ่มของแบคทีเรียตรึงไนโตรเจน แบคทีเรียย่อยสลายฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และการใส่เชื้อ *Glomus intraradices* ทำให้ความสูงของข้าวโพดสูงสุด คือ 102 เซนติเมตร นอกจากนี้ยังพบว่า

การได้มาของธาตุอาหารพืชไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ ปริมาณอินทรียวัตถุ โดยพบว่าตำรับที่ใส่ปุ๋ยอินทรีย์ในระดับสูงร่วมกับปุ๋ยชีวภาพในกลุ่มแบคทีเรียร่วมด้วยเชื้อไมโคไรซา หรือการใส่ปุ๋ยอินทรีย์ในระดับสูงร่วมกับการใส่เชื้อไมโคไรซาทำให้ค่าการดูดใช้ธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับที่ไม่ใส่ปุ๋ยชีวภาพและตำรับที่ไม่ใส่ปุ๋ย สอดคล้องกับรายงานของ Melero *et al.* (2005) ซึ่งได้ศึกษาผลของการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพ และการทำเกษตรโดยใช้ปุ๋ยเคมีต่อผลผลิตของพืชที่ปลูก พบว่าการปลูกพืชแบบเกษตรอินทรีย์โดยใช้ปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพทำให้ผลผลิตของถั่วในปี ค.ศ. 2000 แตงไทยและแตงโมในปี ค.ศ. 2001 สูงกว่าการปลูกพืชแบบเกษตรโดยใช้ปุ๋ยเคมีอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ยุพิน และคณะ (2531) ได้ใช้ปุ๋ยอินทรีย์ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพที่เตรียมได้จากการใส่หินฟอสเฟต 1 ส่วนต่อปุ๋ยหมักจากบ่อก๊าซชีวภาพ 20 ส่วน ทำให้ความเป็นประโยชน์ของหินฟอสเฟตเพิ่มขึ้นสูงสุดภายใน 1 เดือน โดยฟอสเฟตที่เป็นประโยชน์ละลายออกมาตั้งแต่ร้อยละ 29–71 ของหินฟอสเฟตจากแหล่งต่างๆในประเทศไทย และเมื่อนำไปใส่ในดินแล้วปลูกข้าวโพดทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นเท่ากับการใส่ปุ๋ยซุปเปอร์ฟอสเฟต แสดงว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในปุ๋ยหมักปลดปล่อยกรดอินทรีย์ออกมาช่วยละลายหินฟอสเฟตได้

2.5 ข้าว

ข้าวจัดเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวในตระกูลหญ้า โดยเป็นพืชล้มลุกที่มีใบยาวและบาง สามารถจำแนกกลุ่มของข้าวได้ดังนี้

Kingdom Plantae
Division Magnoliophyta
Class Liliopside
Order Poales
Family Poaceae (Gramineae)
Subfamily Oryzoideae
Tribe Oryzae
Genus *Oryza*

Specie *Oryza sativa*

ข้าวที่ปลูกในปัจจุบันแบ่งออกเป็น 2 พวกใหญ่ๆ คือ 1. Japonica มีลักษณะเตี้ย ใบชี้และต้นตรง เมล็ดข้าวป้อมสั้น เมื่อหุงแล้วมีลักษณะเหนียวอ่อนและเมล็ดเกาะกัน เป็นข้าวที่ปลูกและใช้รับประทานกันอย่างแพร่หลายในประเทศญี่ปุ่น เกาหลี และไต้หวัน 2. Indica มีลักษณะเม็ดยาว หุงแล้วข้าวร่วนซุย ไม่เกาะกัน ลักษณะต้นจะสูง และไม่ตั้งชี้เหมือน Japonica นิยมปลูกและรับประทานกันอย่างแพร่หลายในประเทศเอเชียอาคเนย์ เช่น ไทย พม่า มาเลเซีย อินโดนิเซียและฟิลิปปินส์

Tanaka (1968) อ้างโดยเอกธิดา (2545) ได้แบ่งการเจริญเติบโตของข้าวพันธุ์ indica ออกเป็น 4 ระยะ คือ

1. ระยะการเจริญเติบโตทางด้านลำต้นที่เป็นไปอย่างรวดเร็ว (active vegetative stage) โดยเริ่มจากระยะปักดำจนถึงระยะข้าวมีการแตกกอสูงสุด ซึ่งในระยะนี้ความสูง การแตกกอและน้ำหนักของฟางจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว

2. ระยะการเจริญเติบโตทางด้านลำต้นเป็นไปอย่างช้า (vegetative lag phase) เริ่มต้นตั้งแต่ระยะที่ข้าวมีการแตกกอสูงสุด จนถึงระยะที่ข้าวเริ่มกำเนิดช่อดอกหรือสร้างรวงอ่อน

3. ระยะการเจริญเติบโตทางด้านการสืบพันธุ์ (reproductive phase) ระยะนี้เริ่มตั้งแต่ระยะที่ข้าวเริ่มสร้างรวงอ่อน จนถึงระยะข้าวเริ่มออกดอก

4. ระยะสุกแก่ของเมล็ด (ripening phase) เริ่มตั้งแต่ระยะที่ข้าวออกดอก จนถึงระยะเก็บเกี่ยวโดยที่น้ำหนักของรวงจะเพิ่มขึ้นแต่น้ำหนักของฟางจะลดลงหรือคงที่

Mikkelsen (1970) อ้างโดยเอกธิดา (2545) รายงานว่า ทั้ง 4 ระยะนี้ เป็นระยะที่ข้าวต้องการปุ๋ยไนโตรเจนเป็นปริมาณมาก โดยระยะที่ 1 นั้น ข้าวส่วนมากจะมีอายุประมาณ 25–65 วัน สำหรับระยะที่ 2 นั้น มักจะเปลี่ยนแปลงไปตามความยาวของช่วงแสง โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับข้าวที่ไวต่อช่วงแสง ส่วนระยะที่ 3 และ 4 ข้าวจะใช้เวลาในการเจริญเติบโตประมาณ 25–35 วัน ในข้าวเกือบทุกสายพันธุ์

ข้าวที่ปลูกทางภาคเหนือส่วนใหญ่เป็นข้าวนาสวนไวต่อช่วงแสง (Photosensitive lowland rice) เป็นข้าวที่ปลูกในนาที่มีน้ำขังหรือกักเก็บน้ำได้ระดับน้ำลึกไม่เกิน 50 เซนติเมตร

ปลูกได้ทั้งวิธีปักดำหรือหว่าน มี 2 ประเภทคือ ข้าวนาสวนนาน้ำฝน และข้าวนาสวนนาชลประทาน เป็นพันธุ์ข้าวที่ต้องการช่วงแสงหรือช่วงระยะเวลากลางวันสั้น เพื่อเปลี่ยนการเจริญเติบโตทางลำต้นและใบมาเป็นการเจริญทางสืบพันธุ์เพื่อสร้างช่อดอกและเมล็ด พันธุ์ข้าวชนิดนี้จะกำเนิดช่อดอกเมื่อมีช่วงแสงสั้นกว่า 12 ชั่วโมง ความต้องการช่วงแสงของข้าวแต่ละพันธุ์จะแตกต่างกัน ได้แก่ ข้าวขาวดอกมะลิ 105

2.5.1 ข้าวขาวดอกมะลิ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Oryza sativa* L.

ชื่อสามัญ : Jasmin rice, ข้าวหอม

ชื่อพันธุ์ : ขาวดอกมะลิ 105 (Khao Dawk Mali 105)

พบครั้งแรกในท้องที่แหลมประดู่ อำเภอพนัสนิคม จังหวัดชลบุรี โดย นายจรูญ ตันฑวุฒ ได้นำมาปลูกไว้ตั้งแต่ปี พ.ศ.2488 เนื่องจากเป็นข้าวหอมที่ขายได้ราคาสูง จึงได้แบ่งเมล็ดบางส่วนไปปลูกที่ท่าทองหลาง อำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทราจนกระทั่งปี พ.ศ. 2498–2510 กรมการข้าว กระทรวงเกษตรฯ ได้มีการรวบรวมพันธุ์ข้าวปลูกใน 71 จังหวัดของประเทศเพื่อปลูกคัดเลือกพันธุ์ให้บริสุทธิ์ และประเมินผลผลิต ซึ่งนายสุทร สีหะเนิน อดีตผู้อำนวยการสำนักงานส่งเสริมการเกษตรภาคเหนือ ที่มีตำแหน่งเป็นพนักงานข้าวอำเภอบางคล้า ในขณะนั้นได้รวบรวมรวงข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ จากอำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทราจำนวน 199 รวง แล้วส่งไปปลูกคัดพันธุ์ให้บริสุทธิ์ที่สถานีทดลองข้าวโคกสำโรงเมื่อ พ.ศ. 2498 หลังจากนั้นในปี 2500 ได้นำไปปลูกเปรียบเทียบกับพันธุ์รับรองและแนะนำที่สถานีทดลองข้าวโคกสำโรง ร่วมกับการปลูกเปรียบเทียบกับพันธุ์ท้องถิ่นในนาเกษตรกรภาคเหนือ ภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จนกระทั่งปี 2502 คณะกรรมการพิจารณาพันธุ์จึงได้ออกประกาศให้พันธุ์ข้าว "ขาวดอกมะลิ 4–2–105" (เลข 4 หมายถึง ท้องถิ่นที่เก็บรวบรวม คืออำเภอบางคล้า เลข 2 หมายถึงหมายเลขประจำพันธุ์ คือ พันธุ์ข้าวพันธุ์ที่ 2 (ขาวดอกมะลิ) และ 105 หมายถึง รวงที่ 105) และแนะนำให้ขยายพันธุ์ เมื่อวันที่ 25 พฤษภาคม 2502 โดยให้ชื่อว่า "ขาวดอกมะลิ 105" ซึ่งมักนิยมเรียกกันทั่วไปว่า "ข้าวหอมมะลิ" เป็นพันธุ์ข้าวประเภทพืชล้มลุก วงศ์หญ้า พวกข้าวเจ้านาสวน ไวต่อช่วงแสง ต้นสูงประมาณ 138 เซนติเมตร ทรงกอตั้ง ปล้องสีเขียว การล้มของลำต้นปานกลาง ใบและกาบใบสีเขียว ใบมีขน ใบธงตั้งตรง การแก่

ของใบปานกลาง ดอกหรือช่อดอก กลีบรองดอกสีฟาง ความยาวกลีบรองดอกสั้น (1.5 มิลลิเมตร) รวงยาวปานกลาง การยืดของคอรวงยาว จำนวนรวงต่อตารางเมตร 166 รวง จำนวนเมล็ดดีต่อรวง 132 เมล็ด เมล็ดยาวเรียวมีเปลือกสีฟางและมีขนยอดเมล็ดสี ฟางขนาดเมล็ดเฉลี่ยยาว 10.37 มิลลิเมตร กว้าง 2.48 มิลลิเมตร และหนา 1.96 มิลลิเมตร น้ำหนัก 1,000 เมล็ด เฉลี่ย 27.7 กรัม คิดเป็นน้ำหนักข้าวเปลือก 10.64 กิโลกรัมต่อถัง ข้าวกล้องสีขาว ขนาดเฉลี่ยยาว 7.5 มิลลิเมตร กว้าง 2.1 มิลลิเมตร และหนา 1.8 มิลลิเมตร และที่ลักษณะเด่นสำคัญ คือ ทนแล้งได้ดีพอสมควร ปลูกเป็นข้าวไร่ได้ ทนต่อสภาพดินเปรี้ยวและดินเค็ม เป็นข้าวต้นสูง อายุค่อนข้างเบา จึงเก็บเกี่ยวได้ง่ายและเร็ว เมล็ดนวดง่าย มีคุณภาพเมล็ดในเรื่องการขัดสีดีได้เมล็ดข้าวสารใสและแข็งแรง คุณภาพการหุงต้มดี เมล็ดข้าวสุกมีกลิ่นหอม และอ่อนนิ่ม (สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว, 2555)

ดินที่เหมาะสมที่ใช้ปลูกพืชจะต้องประกอบด้วยแร่ธาตุอาหารร้อยละ 45 อากาศร้อยละ 25 น้ำร้อยละ 25 และอินทรีย์วัตถุร้อยละ 5 ส่วนที่เป็นอินทรีย์วัตถุนี้แม้จะเป็นส่วนประกอบที่ต้องการเป็นจำนวนน้อยแต่มีความสำคัญยิ่ง เพราะจะเป็นตัวควบคุมส่วนประกอบอื่นๆของดิน ทั้งทางตรงและทางอ้อมให้อยู่ในสภาพที่จะเป็นประโยชน์ต่อพืชสูงสุด โดยการสลายตัวและปลดปล่อยให้ธาตุอาหารพืชที่สำคัญ ได้แก่ ไนโตรเจนช่วยทำให้ดินมีความสามารถในการดูดซับธาตุอาหารพืชได้สูง และถูกปลดปล่อยออกมาให้พืชอย่างช้าๆ ช่วยให้อนุภาคดินจับตัวกันเป็นก้อนและเกิดเป็นโครงสร้างที่ดีมีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช ช่วยทำให้จุลินทรียที่มีประโยชน์ทำงานได้ดีและมีปริมาณมากขึ้น ช่วยรักษาสมบัติความเป็นกรดเป็นด่างของดิน ช่วยลดความเค็มของดิน ช่วยแก้ปัญหาโรคพืช เนื่องจากจุลินทรีย์ที่ย่อยสลายอินทรีย์วัตถุจะปลดปล่อยสารที่ทำลายเชื้อโรคและช่วยลดการชะล้างพังทะลายของดิน (ปรัชญา และคณะ, 2537) นอกจากสารอินทรีย์จะมีความสำคัญแล้ว การใช้ปุ๋ยเคมีก็มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของข้าวเช่นกัน โดยสถาบันวิจัยข้าว (2543) แนะนำว่าการใช้ปุ๋ยเคมีในนาข้าวมีความสำคัญเช่นกัน เนื่องจากปุ๋ยเคมีสามารถสลายตัวและปลดปล่อยให้ธาตุอาหารพืชได้อย่างรวดเร็วทันต่อความต้องการของพืช โดยเฉพาะปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม เมื่อพิจารณาถึงปริมาณหรือความเข้มข้นของธาตุอาหารแต่ละชนิดที่มีความเพียงพอต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตข้าว ข้าวจะมีความต้องการธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และ

โพแทสเซียมเฉลี่ยร้อยละ 3.55, 0.22 และ 0.11 ตามลำดับ ปริมาณธาตุอาหารของแคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถันเฉลี่ยร้อยละ 0.20, 0.20 และ 0.11 ตามลำดับ มีความต้องการทองแดง สังกะสี แมงกานีส เหล็ก โบรอน และโมลิบดินั่มในปริมาณ 6.5, 30, 45, 10.5 และ 0.40 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ (พิชิต และปรีดา, 2532) ซึ่งพันธุ์ข้าวที่ใช้ปลูกและมีการตอบสนองต่อปุ๋ยเคมีแตกต่างกกันมีอยู่ 2 กลุ่ม ได้แก่ พันธุ์ข้าวไม่ไวต่อช่วงแสงและพันธุ์ข้าวไวต่อช่วงแสง ข้าวพันธุ์ไม่ไวต่อช่วงแสงจะตอบสนองต่อปุ๋ยโดยเฉพาะไนโตรเจนได้ดี ปุ๋ยที่แนะนำคืออัตรา 12–12–12 กิโลกรัมต่อไร่ (สำหรับนาดินร่วนหรือดินทราย) และอัตรา 12–12–0 กิโลกรัมต่อไร่ (สำหรับนาดินเหนียว) อย่างไรก็ตาม ปุ๋ยไนโตรเจนซึ่งจะสูญเสียได้ง่ายในดินนาทำให้อัตราที่แนะนำนั้นอาจจะสูงได้ถุง 18–24 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่ และยังขึ้นอยู่กับลักษณะของพันธุ์ข้าวที่ตอบสนองต่อปุ๋ยมากน้อยต่างกันมาก สำหรับหรับพันธุ์ข้าวไวต่อช่วงแสง ส่วนใหญ่เป็นพันธุ์พื้นเมืองจะตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจนต่ำปุ๋ยที่แนะนำคืออัตรา 6–6–6 กิโลกรัมต่อไร่ (สำหรับนาดินร่วนหรือดินทราย) และอัตรา 6–6–0 กิโลกรัมต่อไร่ (สำหรับนาดินเหนียว) และเช่นเดียวกันสามารถเพิ่มปริมาณปุ๋ยไนโตรเจนได้จนถึง 8–12 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่ กรมส่งเสริมการเกษตร (2542) ได้แนะนำให้ใส่ปุ๋ยข้าวตามระยะเวลาต่างๆ คือ ระยะปลูกข้าว เป็นการใส่ปุ๋ยครั้งแรกเมื่อเริ่มปลูกข้าว เรียกว่าการใส่ปุ๋ยรองพื้นที่ นาดำใส่หลังปักดำประมาณ 7 วัน โดยใส่ปุ๋ยไนโตรเจนครึ่งหนึ่งของอัตราแนะนำ ปุ๋ยฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมใส่ทั้งหมดของอัตราแนะนำ นาหว่านใส่ปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมหลังจากหว่านข้าวและข้าวงอกแล้วประมาณ 1 เดือน

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

3.1.1 วัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือ

1. จานอาหารเลี้ยงเชื้อ (Petri dish)
2. หลอดทดลอง ขนาด 16 x 150 มิลลิเมตร (Test tube)
3. ตะเกียงแอลกอฮอร์ (Alcohol burner)
4. ขวดอาหารเลี้ยงเชื้อ (Laboratory bottle)
5. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 125, 250 และ 500 มิลลิลิตร (Erlenmeyer flask)
6. ปิเปต ขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร (Pipette)
7. Micropipette ขนาด 200 ไมโครลิตร
8. หลอดปั่นตกตะกอน ขนาด 50 มิลลิลิตร (Centrifuge tube)
9. บีกเกอร์ ขนาด 50, 100, 500, 1,000 และ 5,000 มิลลิลิตร (Beaker)
10. กระบอกตวง ขนาด 10, 20, 50 และ 100 มิลลิลิตร (Cylinder)
11. หลอดเก็บสารละลาย (Eppendorf)
12. เครื่องเขย่าสาร (Vortex mixer)
13. หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave)
14. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)
15. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
16. เครื่องบ่มเขย่า (Shaker incubator)
17. ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar air flow)
18. UV-Visible spectrophotometer

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับวิเคราะห์ทางด้านสรีรวิทยาของพืชและทางเคมี

1. ไม้บรรทัด (Ruler)
2. โกร่งบดสาร (Mortar and pestle)
3. ตะแกรงใส่หลอดทดลอง (Rack)
4. เครื่องชั่งทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง (Analytical balances)
5. เครื่องวัดความเข้มแสง (Lux meter)
6. เครื่องวัดชื้นในอากาศ (Humidity meter)
7. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
8. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)

3.1.3 อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับวิเคราะห์ดินทางด้านกายภาพและเคมี

1. กระดาษกรอง (Filter paper) No.1, 5
2. Vernier caliper
3. Kjeldahl flask 500 มิลลิลิตร
4. ขวดวัดปริมาตร ขนาด 25, 100, 1,000 มิลลิลิตร (Volumetric flask)
5. กรวยกรอง (Funnel)
6. Volumetric pipette ขนาด 1, 2, 3, 4, 5, 10, 25, 50 มิลลิลิตร
7. Burette ขนาด 50 มิลลิลิตร และฐาน
8. ปั๊มลมสุญญากาศ (Vacuum pump)
9. เครื่องให้ความร้อน (Hot plate)
10. เครื่องวัดการนำไฟฟ้า (Conductivity meter)
11. เครื่องวัดอุณหภูมิ (Thermometer)
12. เครื่องย่อย (Digestion apparatus)
13. เครื่องกลั่น (Distillation apparatus)
14. Atomic Absorption Spectrophotometer
15. Kjeldahl distillation apparatus
16. Flame photometer

3.1.4 อุปกรณ์และเครื่องมือในโรงเรือน

1. กระถางพลาสติกขนาด 30x30x45 เซนติเมตร
2. พลั่วตักดิน
3. ตะแกรงร่อน (sieve) ขนาด 0.5 และ 2 มิลลิเมตร
4. กระบอกตวงพลาสติก
5. เครื่องชั่งสปริง

3.1.5 อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Luria–Bertani (LB) broth
2. Luria–Bertani (LBA) agar
3. PGA production medium

3.1.6 ตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง

1. *B. subtilis* สายพันธุ์ NBRC16449

3.1.7 ตัวอย่างพันธุ์ข้าว

1. ข้าวขาวดอกมะลิ 105 (ศูนย์เมล็ดพันธุ์ข้าวพะเยา)

3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย และสถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

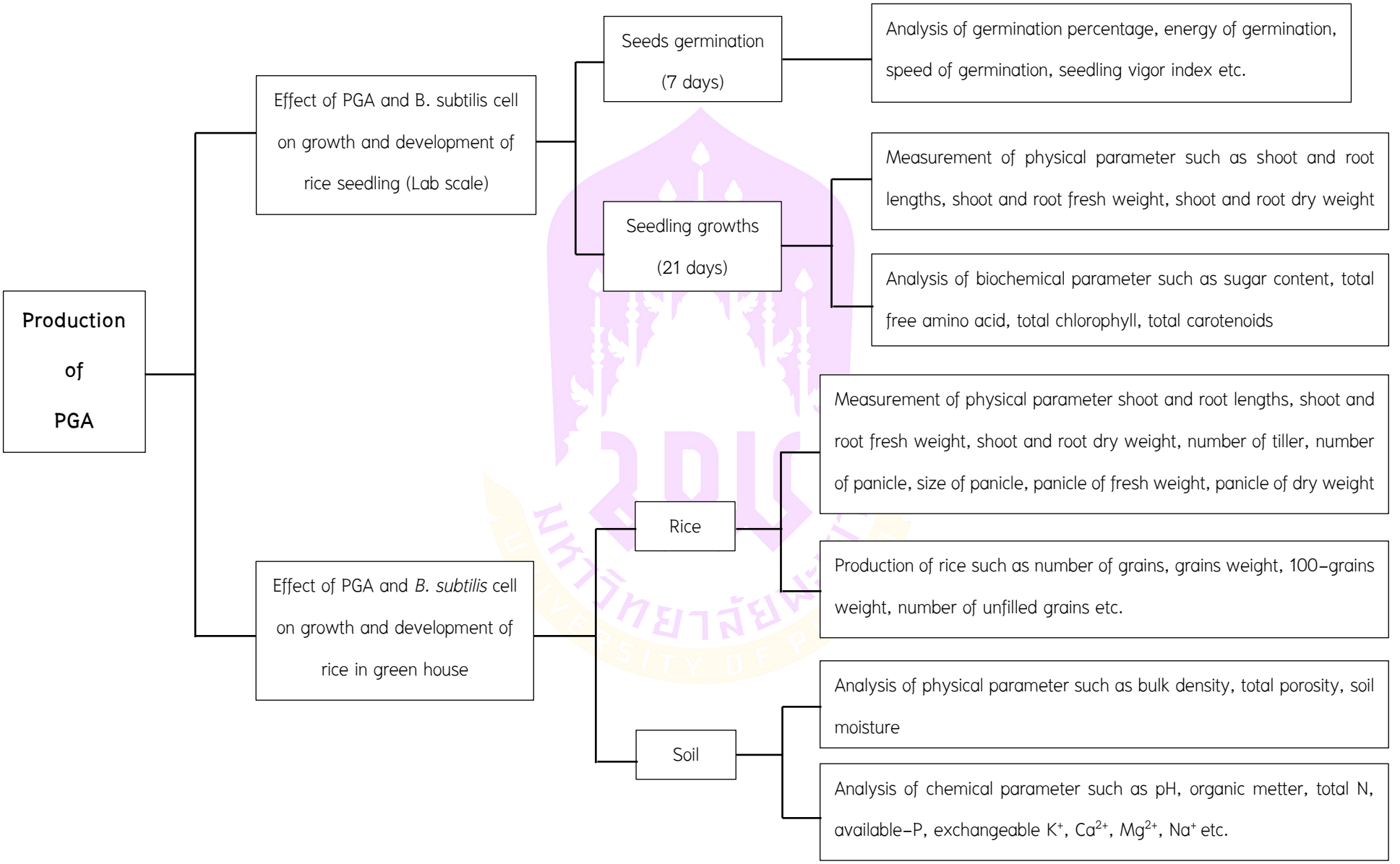
3.2.1 การเตรียมและเก็บรักษาเชื้อทดสอบ

3.2.1.1 การเตรียม Stock culture

ทำการถ่ายเชื้อบริสุทธิ์ *B. subtilis* NBRC16449 ที่ได้รับความอนุเคราะห์จาก Prof. Yasutaka Tahara มหาวิทยาลัย Shizuoka ประเทศญี่ปุ่น ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อลงบนอาหาร Luria–Bertani (LB) agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ไว้ในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พร้อมทั้งทำการเก็บเชื้อบริสุทธิ์ในอาหาร Luria–Bertani (LB) broth ที่มีกลีเซอรอลร้อยละ 5 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

3.2.1.2 การเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์

ทำการถ่ายเชื้อ *B. subtilis* NBRC16449 ปริมาณ 1-2 ลูป ลงในอาหาร LB broth ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปเขย่าให้อากาศในความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นทำการปิเปตสารละลายเชื้อ 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดเก็บสารละลาย นำมาปั่นเหวี่ยงโดยใช้ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเทส่วนใสทิ้ง พร้อมทั้งปิเปตสารละลายเชื้อเพิ่มอีก 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดเก็บสารละลายเดิม นำมาปั่นเหวี่ยงอีกครั้งโดยใช้ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นปิเปตส่วนใสออกปริมาณ 150 ไมโครลิตร และทำการเติมกลีเซอรอลปริมาณ 150 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป



ภาพ 3 วิธีการทดลองโดยรวมของการใช้ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ในการทดสอบ

3.2.2 การเตรียมสารทดสอบ

3.2.2.1 การผลิต PGA

ทำการถ่ายเชื้อ *B. subtilis* NBRC16449 ปริมาณ 1–2 ลูป ลงในอาหาร LB broth นำไปเขย่าให้อากาศในอัตราความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 18 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำหัวเชื้อร้อยละ 5 ใส่ในอาหาร PGA production medium (ภาคผนวก ก) แล้วนำอาหารไปเขย่าให้อากาศในอัตราความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำส่วนใสไปตกตะกอนด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ในอัตราส่วน 1 : 4 (ส่วนใส : ethanol) แล้วทำการละลายตะกอน PGA โดยค่อยๆละลายในน้ำปราศจากอิอออน นำ PGA ไป dialysis โดยใช้น้ำปราศจากอิอออนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง และทำให้แห้งโดยเครื่อง Freeze drier

3.2.2.2 การเตรียมเซลล์ *B. subtilis*

เซลล์ที่ได้จากการเตรียม PGA นำตะกอนเซลล์ไปล้างด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ที่ pH 7.5 โดยการปั่นเหวี่ยงในอัตราความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จำนวน 2 รอบ เทส่วนใสทิ้งและเก็บตะกอนเซลล์นำไปเจือจางด้วยเปบโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ให้ได้ความเข้มข้นของเซลล์ 10^9 cfu ต่อมิลลิลิตร โดยนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร ให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 0.8–1.0 จากนั้นทำการเจือจางลำดับส่วนแบบ 10–fold dilution ให้ได้ความเข้มข้นของเซลล์ 10^2, 10^4, 10^6 และ 10^8 cfu ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

3.2.3 การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในระดับห้องปฏิบัติการ

3.2.3.1 การเตรียมเมล็ดข้าวสำหรับทดสอบ

นำเมล็ดข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ทำความสะอาดเบื้องต้นโดยการแช่ในน้ำกลั่นเพื่อกำจัดสิ่งสกปรกที่ลอยน้ำออก แล้วทำความสะอาดผิวเมล็ดด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปรคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 10 เป็นเวลานาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นจำนวน 2 ครั้ง จากนั้นนำเมล็ดข้าวแช่ในน้ำกลั่นเป็นเวลานาน 1 คืน

3.2.3.2 การเตรียมทรายสำหรับทดสอบ

นำทรายมาร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร จากนั้นล้างด้วยน้ำประปาจำนวน 7 ครั้ง นำทรายที่ผ่านการล้างแล้วไปอบฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมงแล้วนำทรายที่ผ่านการอบใส่ในกระบะทรายปริมาณ 1 กิโลกรัมต่อ 1 กระบะ นำสารละลาย Hoagland's nutrient เติมให้ไหลผ่านทรายในอัตราส่วนครึ่งหนึ่งของปริมาณความเข้มข้นจริง จะทำการเติมสารละลายดังกล่าวอาทิตย์ละครั้ง โดยจะเติมน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อทุกๆ 2 วัน ทำการบันทึกผลเมื่อการเจริญเติบโตครบ 21 วัน

3.2.3.3 การทดสอบ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ต่อการงอกและการเจริญของต้นกล้าข้าวในระดับห้องปฏิบัติการ ระยะเวลา 7 วัน

นำสารละลาย PGA และเซลล์ *B. subtilis* คลุกผสมกับทรายให้ทั่ว โดยให้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารละลาย PGA เท่ากับ 50, 100, 300 และ 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมทราย สำหรับชุดการทดลองที่เป็นเซลล์ นำเซลล์ที่เจือจางได้ในแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 25 มิลลิลิตร มาเติมผสมกับทรายให้เข้ากัน ซึ่งจะได้ความเข้มข้นของเซลล์สุดท้ายเป็น 10^2, 10^4, 10^6 และ 10^8 cfu ต่อกิโลกรัมทราย นำเมล็ดข้าวที่เตรียมไว้ฝังลงในแก้วพลาสติก แก้วละ 10 เมล็ด ในระดับความลึก 0.5 เซนติเมตรจากผิวทราย ปิดปากแก้วด้วยแผ่นพลาสติกแล้วเจาะรู 8 รู บนแผ่นพลาสติก นำแก้วพลาสติกไปวางไว้ใน growth chamber ที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส โดยให้แสง 12 ชั่วโมงและไม่ให้แสง 12 ชั่วโมง (Vibhuti *et al.*, 2015) โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เมื่อครบ 7 วัน ทำการบันทึกผลการทดลอง ดังนี้

1. ลักษณะทางกายภาพของพืช

ทำการเก็บตัวอย่างพืช โดยนำต้นกล้าข้าวจำนวน 10 ต้น จากแต่ละกลุ่ม นำมาวัดความยาวลำต้น ความยาวราก จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักสดของลำต้นและราก และนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาชั่งน้ำหนักแห้งของลำต้นและราก

2. เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด (germination percentage) (Abdul and Anderson, 1973)

$$\text{Germination (\%)} = \frac{\text{Number of seed germination}}{\text{Total number of seeds set for test}} \times 100$$

3. ดัชนีความแข็งแรงของเมล็ด (seedling vigor index) (Abdul and Anderson, 1973)

Seedling Vigor Index = Germination (%) x (Shoot length + Root length)

4. พลังงานในการงอกของเมล็ด (energy of germination) (Bam *et al.*, 2006)

Germination energy = Percentage of seeds germination at 72 h

5. ความเร็วในการงอกของเมล็ด (speed of germination) (Bam *et al.*, 2006)

$$\text{Speed of germination (\%)} = \frac{\text{Number of seeds germination at 72 h}}{\text{Number of seeds germination at 168 h}} \times 100$$

3.2.3.4 การทดสอบผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นกล้าข้าวในระดับห้องปฏิบัติการ ระยะ 21 วัน

เตรียม PGA และเซลล์ *B. subtilis* ผสมกับทรายเช่นเดียวกับการทดลองในข้อ 3.2.3.3 เมื่อฝังเมล็ดข้าวลงในทรายที่ผสมไว้ ทำการเติมสารละลาย Hoagland's nutrient ที่มีความเข้มข้นครึ่งหนึ่งของความเข้มข้นปกติ ปริมาตร 25 มิลลิลิตรต่อแก้ว ปิดปากแก้วด้วยแผ่นพลาสติกแล้วเจาะรู 8 รูบนแผ่นพลาสติก นำแก้วพลาสติกไปวางไว้ใน growth chamber ที่อุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส โดยการให้แสง 12 ชั่วโมงและไม่ให้แสง 12 ชั่วโมง (Vibhuti *et al.*, 2015) โดยจะเติมสารละลายดังกล่าวอาทิตย์ละครั้ง และจะเติมน้ำกลั่นทุกๆ 2 วัน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทำการบันทึกผลเมื่อต้นกล้าอายุครบ 21 วัน

3.2.3.5 การตรวจผลการทดลอง

ทำการเก็บตัวอย่างต้นกล้าข้าวล้างด้วยน้ำสะอาด วัดขนาดของความยาวลำต้นและราก น้ำหนักสดของลำต้นและราก โดยวัดขนาดความยาวลำต้นและราก น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของลำต้นและราก จากนั้นทำการวิเคราะห์ผลทางชีวเคมีของต้นกล้าข้าว ดังนี้

1. การวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนอิสระทั้งหมดในใบข้าว (total free amino acid contents) (Hamilton and Slyke. 1943)

นำตัวอย่างใบข้าวหนักประมาณ 1.0 กรัม บดด้วยไนโตรเจนเหลวในโกร่งบดให้ละเอียด จากนั้นนำตัวอย่างใบข้าวที่บดละเอียดใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ทำการตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็น

เวลานาน 20 นาที (เขย่าเป็นครั้งคราว) หลังจากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1

การวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนอิสระทั้งหมด ทำโดยการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนอิสระทั้งหมดในใบข้าว โดยวิธี Ninhydrin โดยนำสารละลายที่สกัดจากใบปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลายไพลีดีนความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และสารละลายนินไฮดรินความเข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไปแช่ในอ่างน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 70–80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำออกมาตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอีก 10 นาที ปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตรโดยใช้น้ำปราศจากอิออน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร หาปริมาตรกรดอะมิโนอิสระทั้งหมดในใบข้าวโดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานลูซีน

2. การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลในใบข้าว (sugar estimation)

(Dubois *et al.*, 1956)

นำตัวอย่างใบข้าวหนักประมาณ 0.1 กรัม บดด้วยไนโตรเจนเหลวในโกร่งบดให้ละเอียด จากนั้นนำตัวอย่างใบข้าวที่บดละเอียดใส่ในหลอดทดลอง สกัดน้ำตาลออกจากเนื้อเยื่อใบโดยการเติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร นำไปต้มในน้ำเดือด เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำไปแช่ในอ่างน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อสกัดน้ำตาลออกจากตัวอย่างใบ เก็บสารละลายที่ได้แล้วเติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร สกัดซ้ำ 3 ครั้ง กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำสารละลายน้ำตาลที่สกัดได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลที่อยู่ในใบข้าว

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล ทำโดยการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในใบข้าว โดยวิธี phenol–sulfuric โดยนำสารละลายที่สกัดจากใบปริมาตร 500 ไมโครลิตร เติมสารละลายฟีนอลความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 500 ไมโครลิตรและซัลฟูริคแอซิดเข้มข้นปริมาตร 1 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้อีก 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในใบข้าว โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

3. **การวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ในใบข้าว**

(Iqbal *et al.*, 2013)

นำตัวอย่างใบข้าวหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ หนักประมาณ 100 มิลลิกรัม บดให้ละเอียด จากนั้นนำไปสกัดด้วยเมทีลแอลกอฮอร์ความเข้มข้นร้อยละ 96 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จนเนื้อเยื่อเปลี่ยนเป็นสีขาวใส แล้วเทส่วนผสมดังกล่าวลงในหลอดทดลอง จากนั้นหุ้มภาชนะบรรจุ

สารละลายคลอโรฟิลล์ด้วยแผ่นอลูมิเนียมฟรอยด์ เพื่อป้องกันการสูญเสียคลอโรฟิลล์จากการโดนแสง จากนั้นทิ้งไว้ 15 นาที นำส่วนใสไปกรองหรือปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 2,500 รอบต่อนาที นาน 10 นาที แล้วนำสารละลายคลอโรฟิลล์ที่สกัดได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวช่วงคลื่น 666, 653 และ 470 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer และนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี คลอโรฟิลล์รวมและแคโรทีนอยด์

คลอโรฟิลล์เอ (C_a) = $(15.65 \times Asb_{666}) - (7.34 \times Asb_{653})$

คลอโรฟิลล์บี (C_b) = $(27.05 \times Asb_{653}) - (11.21 \times Asb_{666})$

คลอโรฟิลล์รวม = คลอโรฟิลล์เอ + คลอโรฟิลล์บี

แคโรทีนอยด์ = $\dfrac{\{1{,}000 \times Asb_{470} - 2.86 \times C_a - 129.20 \times C_b\}}{245}$

เมื่อ Abs = ค่าการดูดกลืนแสง

จากนั้นนำค่า Abs มาคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ โดยใช้สูตร

จากสูตร ปริมาณคลอโรฟิลล์ (µg/g) = (Abs x V) / g

เมื่อ Abs = ค่าการดูดกลืนแสง

V = ปริมาตรของเมทานอล

g = น้ำหนักพืช

3.2.3 การศึกษาเปรียบเทียบผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ต่อคุณลักษณะของดินและการเจริญเติบโตของต้นข้าวในระดับโรงเรือน

3.2.3.1 การเตรียมตัวอย่างดินเพื่อทดสอบ

เก็บตัวอย่างดินจากพื้นที่นาโดยใช้ดินจากกำแพงแสน จ.นครปฐม ความลึก 0–20 เซนติเมตร ตากดินในที่ร่มและร่อนดินผ่านตะแกรงร่อนขนาด 2 มิลลิเมตร จากนั้นบรรจุลงในกระถางขนาด 30x30x45 เซนติเมตร กระถางละ 5 กิโลกรัม ก่อนทำการทดลองจะทำการขังน้ำในกระถางไว้เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง

3.2.4.2 การจัดชุดการทดลอง

แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุดการทดลองเพื่อดูประสิทธิภาพการปรับปรุงคุณลักษณะของดิน

3.2.4.2.1 ชุดการทดลองที่ใช้ PGA

นำตัวอย่างดินที่เตรียมไว้ตัวอย่างละ 5 กิโลกรัม ใส่ลงในกระถางขนาด 30×30×45 เซนติเมตร ทำให้ชุ่มด้วยน้ำกลั่น จากนั้นนำ PGA ที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.2.1 คลุกลงในกระถาง

ให้ทั่วให้ได้ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ 50, 100, 300 และ 500 มิลลิกรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม มีชุดควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นและปุ๋ยเคมีแทน PGA วางแผนแบบการทดลองแบบบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design หรือ RCB) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.2.4.2.2 ชุดการทดลองที่ใช้เซลล์ *B. subtilis*

นำตัวอย่างดินที่เตรียมไว้ตัวอย่างละ 5 กิโลกรัม ใส่ลงในกระถางขนาด 30×30×45 เซนติเมตร ทำให้ชุ่มด้วยน้ำกลั่น นำเซลล์ *B. subtilis* ที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.2.2 เติมลงในกระถางให้ทั่วให้ได้ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ 10^2, 10^4, 10^6 และ 10^8 cfu ต่อดิน 1 กิโลกรัม มีชุดควบคุมที่ใช้น้ำกลั่นและปุ๋ยเคมีแทนเซลล์แบคทีเรีย วางแผนแบบการทดลองแบบบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design หรือ RCB) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.2.4.3 การเตรียมกล้าข้าว

นำเมล็ดข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ทำความสะอาดเบื้องต้นโดยการแช่ในน้ำกลั่นเพื่อกำจัดสิ่งสกปรกที่ลอยน้ำออก แล้วทำความสะอาดผิวเมล็ดด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปรคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 10 เป็นเวลานาน 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นจำนวน 2 ครั้ง จากนั้นนำเมล็ดข้าวแช่ในผ้าขาวบางเป็นเวลานาน 1 คืน นำเมล็ดที่งอกจำนวน 10 เมล็ดไปเพาะปลูกในกระถาง จนการเจริญเติบโตครบ 7 วัน ทำการคัดต้นกล้าให้เหลือ 5 ต้น

3.2.4.4 การให้สารทดสอบ

ทำการคลุกดินด้วยสารทดสอบในกระถาง แล้วใส่เมล็ดข้าวที่ได้จากข้อ 3.2.4.3 กระถางละ 10 เมล็ด จนการเจริญเติบโตครบ 7 วัน ทำการคัดต้นกล้าให้เหลือ 5 ต้น จากนั้นแบ่งการทดลองออกเป็น 12 ทรีตเมนต์ ดังนี้

- ชุดควบคุมที่ได้รับน้ำกลั่น (DI)
- ชุดควบคุมที่ได้รับสารละลายเปปโตนร้อยละ 0.1 (Peptone 0.1 %)
- ชุดควบคุมที่ได้รับปุ๋ยเคมีครึ่งหนึ่งของปริมาณที่ควรใช้จริง
- ชุดควบคุมที่ได้รับปุ๋ยเคมีปริมาณที่ควรใช้จริง
- ชุดที่ได้รับ PGA ความเข้มข้นต่างๆ 4 ระดับ ดังนี้

  50 $mg \cdot kg^{-1}$ 100 $mg \cdot kg^{-1}$

  300 $mg \cdot kg^{-1}$ 500 $mg \cdot kg^{-1}$

- ชุดที่ได้รับเซลล์ *B. subtilis* ความเข้มข้นต่างๆ 4 ระดับ ดังนี้

  10^2 cfu•kg^{-1} 10^4 cfu•kg^{-1}

  10^6 cfu•kg^{-1} 10^8 cfu•kg^{-1}

ทำการจำลองสภาวะการปลูกจริง ทำการใส่ปุ๋ยตามกรรมวิธีการทดลอง โดยวางแผนแบบการทดลองแบบบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design หรือ RCB) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ซึ่งจะแบ่งการใส่ปุ๋ยออกเป็น 3 ช่วงเวลา ดังนี้

ช่วงระยะเวลาที่ 1 ใส่ปุ๋ยสูตร 16-20-0 ในอัตราส่วน 0.4 กรัมต่อกระถาง หลังจากต้นกล้าข้าวอายุ 20 วัน

ช่วงระยะเวลาที่ 2 ใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 ในอัตราส่วน 0.1 กรัมต่อกระถาง หลังจากต้นข้าวอายุ 40 วัน

ช่วงระยะเวลาที่ 3 ใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 ในอัตราส่วน 0.1 กรัมต่อกระถาง หลังจากต้นข้าวอายุ 90 วัน

รักษาระดับการให้น้ำในกระถางทดลอง ไว้สูงจากผิวหน้าดินประมาณ 2-4 เซนติเมตร ตลอดการทดลองประมาณ 120 วัน ดูแลป้องกันโรคและกำจัดศัตรูพืชตามความเหมาะสม

3.2.4.5 การวิเคราะห์คุณสมบัติดิน

ก่อนการใส่ปุ๋ยและปลูกข้าวในแต่ละชุดการทดลอง ได้ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างดินเพื่อนำไปวิเคราะห์หาคุณสมบัติของดิน สำหรับใช้ประเมินความอุดมสมบูรณ์ของดิน โดยก่อนและหลังการทดสอบจะทำการวิเคราะห์คุณสมบัติของดิน ดังนี้

1. สมบัติทางด้านกายภาพของดิน ได้แก่ ความหนาแน่นรวมของดิน (bulk density) ความพรุนรวมทั้งหมดของดิน (total porosity) และความชื้นของดิน (soil moisture)

2. สมบัติทางด้านเคมีของดิน ได้แก่ pH ของดิน ค่าการนำไฟฟ้า (Electrical Conductivity-EC) ปริมาณอินทรียวัตถุ (Organic matter) ผลรวมของแคลไอออนที่แลกเปลี่ยนได้ (Cation Exchange Capacity-CEC) ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน (Total-N) ปริมาณเหล็กทั้งหมดในดิน (Total Fe) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ได้ (Available-P) ปริมาณโพแทสเซียมที่สามารถแลกเปลี่ยนได้ (Exchangeable-K) ปริมาณแคลเซียม แมกนีเซียมและ

โซเดียมที่สามารถแลกเปลี่ยนได้ (Exchangeable Ca^{2+}, Mg^{2+} and Na^{+}) (วิธีการวิเคราะห์ภาคผนวก ข)

3.2.4.6 การตรวจผลการเจริญเติบโตและผลผลิตข้าว

1. วัดความสูงของต้นข้าว โดยวัดจากผิวดินจนถึงปลายใบ หรือปลายรวงที่ยืดให้ตรง วัดเป็นเซนติเมตร

2. วัดความยาวราก โดยวัดจากโคนต้นจนถึงปลายราก ยืดให้ตรงวัดเป็นเซนติเมตร

3. จำนวนกอต่อต้นและจำนวนรวงต่อต้น ทำการนับจำนวนต้นหรือรวงต่อกอของแต่ละกระถาง

4. ขนาดของรวงข้าว โดยวัดจากโคนของรวงจนถึงปลายรวง ยืดให้ตรงวัดเป็นเซนติเมตร

5. จำนวนเมล็ดดีต่อรวงและจำนวนเมล็ดลีบต่อรวง โดยเมื่อนับจำนวนเมล็ดทั้งหมดแล้ว นำมาแยกเมล็ดดีและลีบออกจากกัน และนับจำนวนเมล็ดดีทั้งหมด จากนั้นมาคำนวณเป็นจำนวนเมล็ดดีและจำนวนเมล็ดลีบต่อรวง

6. น้ำหนักสดรวมของต้นและรากข้าว และน้ำหนักสดรวงข้าว โดยเมื่อทำความสะอาดรากและลำต้น รวงข้าวแล้ว นำมาชั่งหาน้ำหนักสดรวมของต้นและรากข้าว และรวงข้าว

7. น้ำหนักแห้งรวมของต้นและรากข้าว รวงข้าว น้ำหนักของเมล็ดจำนวน 100 เมล็ด และน้ำหนักเมล็ดต่อกระถาง หลังจากเก็บตัวอย่างและนำไปล้างน้ำให้สะอาดแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง นำตัวอย่างมาชั่งหาน้ำหนักแห้ง

8. น้ำหนักเมล็ดต่อกระถางเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

3.2.4.7 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

นำข้อมูลดิบที่ได้จากการทดลองทั้งหมดวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance : ANOVA) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มของชุดการทดลองโดยใช้วิธีพิสัยพหุของดันแคน (Duncan's multiple Range test : DMRT)

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ต่อการงอกและความแข็งแรงของต้นกล้าข้าว ระยะเวลา 7 วัน

4.1.1 การประเมินผลการงอกของเมล็ดพันธุ์

ร้อยละการงอก (germination percentage)

ผลการทดสอบการงอกมาตรฐาน (germination percentage) ของเมล็ดพันธุ์ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 โดยใช้ PGA และเซลล์ *B. subtilis* แสดงไว้ในตาราง 1 โดยพบว่าการเติม PGA ทุกระดับความเข้มข้นทำให้เมล็ดพันธุ์มีร้อยละการงอกอยู่ในระดับมาตรฐาน คือตั้งแต่ร้อยละ 95.00–100.00 ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุม ค่าเฉลี่ยร้อยละการงอกมาตรฐานของเมล็ดพันธุ์ข้าวที่เติม PGA ทั้ง 4 ความเข้มข้น 50, 100, 300 และ 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เท่ากับ 98.34 และเมล็ดพันธุ์ที่ถูกทดสอบโดยการเติมเซลล์ *B. subtilis* พบว่าค่าเฉลี่ยร้อยละการงอกไม่แตกต่างกันทางสถิติกับชุดควบคุมเช่นกัน โดยมีช่วงร้อยละการงอกในกระถางปลูกระหว่างร้อยละ 95.00–100.00 โดยมีค่าเฉลี่ยร้อยละ 98.34 โดยเมล็ดข้าวเมื่อผ่านกระบวนการงอกจะแสดงให้เห็นในส่วนของปลอกหุ้มตัวอ่อน (coleoptiles) ซึ่งสามารถเห็นชัดเจนที่ระยะเวลาการงอก 36 ชั่วโมง และจะเห็นชัดเจนยิ่งขึ้นเมื่อระยะเวลาการงอกเพิ่มขึ้น จากการสังเกตพบว่าการงอกด้วยน้ำ จะมีส่วนของปลอกหุ้มต้นอ่อนยาวกว่าการงอกโดยการแช่ด้วยสารละลาย PGA และเซลล์ *B. subtilis* ที่ระยะเวลาเดียวกัน

พลังงานในการงอก (germination energy) และความเร็วในการงอก (germination speed)

เมื่อพิจารณาถึงพลังงานในการงอก (germination energy) และความเร็วในการงอก (germination speed) พบว่าทุกชุดการทดลองให้ผลการทดลองที่ไม่แตกต่างกันกับชุดควบคุม อย่างไรก็ตาม พบว่าทุกชุดการทดลองของ PGA ที่ระดับความเข้มข้น 300 และ 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และเซลล์ *B. subtilis* ที่ระดับความเข้มข้น 10^6 และ 10^8 cfu ต่อกิโลกรัม มีแนวโน้มส่งผลให้พลังงานในการงอก และความเร็วในการงอกเพิ่มขึ้นเฉลี่ยร้อยละ 100 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งพบพลังงานในการงอกและความเร็วในการงอกเพียงร้อยละ 88.34 และ 95.55 ตามลำดับ

ดัชนีความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ (seedling vigor index)

ในส่วนของดัชนีความแข็งแรง (seedling vigor index) ของเมล็ดพันธุ์ ซึ่งเป็นการคำนวณจากความยาวรากและความยาวลำต้นของกล้าข้าว (length basis) พบว่าทุกชุดการทดลองที่มีการเติม PGA และเซลล์ *B. subtilis* ส่งผลให้ความแข็งแรงของต้นกล้าข้าวเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะความเข้มข้นของ PGA ที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลให้ความดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้าข้าวสูงที่สุด เฉลี่ย 2.35 ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมถึงร้อยละ 95 เช่นเดียวกับผลการทดลองของเซลล์ *B. subtilis* ที่พบว่าทุกระดับความเข้มข้นมีแนวโน้มส่งผลให้ดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้าข้าวเพิ่มสูงขึ้น โดยเฉพาะที่ความเข้มข้น 10^8 cfu ต่อกิโลกรัม สูงที่สุด เฉลี่ย 2.11 ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมถึงร้อยละ 75 (ตาราง 1)

4.1.2 การประเมินผลการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าว

การประเมินผลการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวในระยะเวลา 7 วัน ทำโดยการวัดความยาวลำต้น ความยาวราก น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งรวมของรากและลำต้นต้นกล้าพันธุ์ข้าว ได้รายงานข้อมูลไว้ในตาราง 1 และภาพถ่ายดังภาพ 4 และ 5 ซึ่งพบว่า ค่าเฉลี่ยความยาวลำต้น ความยาวราก น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งรวมของรากและลำต้นต่อความเข้มข้นของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

ความสูงของต้นกล้าพันธุ์ข้าว (shoot length)

จากการวัดความสูงของต้นกล้าพันธุ์ข้าวในระยะการงอกเริ่มต้นจากเมล็ดพันธุ์ พบว่าทุกชุดการทดลองส่งผลให้ความยาวลำต้นเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยเฉพาะชุดการทดลองที่เติม PGA ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลให้ความยาวลำต้นเฉลี่ยสูงที่สุด 6.04 เซนติเมตร ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมถึงร้อยละ 18.66 ในขณะที่ชุดการทดลองที่เติมเซลล์ *B. subtilis* ที่ระดับความเข้มข้น 10^8 cfu ต่อกิโลกรัม พบว่าต้นกล้ามีความยาวลำต้นเพิ่มขึ้น โดยมีความยาวเฉลี่ย 5.83 เซนติเมตร ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมร้อยละ 14.53

ความยาวของรากต้นกล้าข้าว (root length)

พบว่า PGA และเซลล์ *B. subtilis* ยังส่งผลต่อความยาวรากของต้นกล้าพันธุ์ข้าว โดยพบว่าเมื่อเพิ่มเข้มข้นของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* มากขึ้น จะส่งผลให้ความยาวรากลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยเฉพาะชุดการทดลองที่มีการเติมเซลล์ *B. subtilis* ที่ความเข้มข้น 10^8 cfu ต่อกิโลกรัม ส่งผลให้ความยาวรากลดลงมากที่สุด โดยมีความยาวเฉลี่ย 6.51 เซนติเมตร ซึ่งน้อยกว่าชุดควบคุมถึงร้อยละ 36 ส่วนในชุดการทดลองที่มีการเติม PGA ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ความยาวรากลดลงโดยมีความยาวเฉลี่ย 7.15 เซนติเมตร (ตาราง 1) อย่างไรก็ตามจะเห็นได้อย่างชัดเจนว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* มากขึ้นจะส่งเสริมให้มีการแตกรากแขนงมากขึ้น (ภาพ 4 และ 5)

น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นกล้าข้าว (fresh weight and dry weight)

เมื่อตรวจวัดน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นกล้าข้าว พบว่าทั้ง PGA และเซลล์ *B. subtilis* มีอิทธิพลส่งเสริมให้น้ำหนักต้นกล้าข้าวเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยพบว่า PGA ที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นกล้าข้าวสูงที่สุด โดยมีน้ำหนักเฉลี่ย 0.0842 และ 0.0235 กรัม ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมถึงร้อยละ 27 และ 86 ตามลำดับ เช่นเดียวกับการเติมเซลล์ *B. subtilis* ที่พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเซลล์ *B. subtilis* มากขึ้น จะส่งผลให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้น ซึ่งเซลล์ *B. subtilis* ที่ความเข้มข้น 10^4 cfu ต่อกิโลกรัม ส่งผลให้น้ำหนักสดเพิ่มสูงขึ้น โดยมีน้ำหนักเฉลี่ย 0.0931 กรัม ในขณะที่เซลล์ *B. subtilis* ความเข้มข้น 10^8 cfu ต่อกิโลกรัม ส่งผลให้น้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้น เฉลี่ย 0.0211 กรัม ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมร้อยละ 67.46 (ตาราง 1)

ตาราง 1 ผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ต่อการงอกและความแข็งแรงของต้นกล้าข้าว

Treatment	GP	GE	GS	Mean±SD				Seedling Vigor Index
				Shoot length	Root length	Fresh weight	Dry weight	
	%			cm		g		
Control DI[1)]	95.00a*	88.34a	96.55a	5.09±0.03b	10.29±0.07a	0.0662±0.0014b	0.0126±0.0002ab	1.20±0.02b
Peptone 0.1%	95.00a	86.67a	96.55a	5.11±0.11b	9.80±0.13ab	0.0901±0.0067a	0.0125±0.0014b	1.19±0.13b
PGA 50 $mg \cdot kg^{-1}$	95.00a	93.34a	94.23a	5.30±0.08ab	8.99±0.10b	0.0836±0.0038a	0.0183±0.0020ab	1.74±0.19ab
PGA 100 $mg \cdot kg^{-1}$	98.34a	95.00a	94.23a	5.58±0.02ab	7.80±0.60cd	0.0851±0.0015a	0.0209±0.0047ab	2.06±0.46ab
PGA 300 $mg \cdot kg^{-1}$	100.00a	100.00a	100.00a	5.51±0.14ab	7.63±0.42cd	0.0842±0.0034a	0.0235±0.0062a	2.35±0.62a
PGA 500 $mg \cdot kg^{-1}$	100.00a	100.00a	100.00a	6.04±0.15a	7.15±0.18cde	0.0840±0.0017a	0.0223±0.0009ab	2.24±0.09ab
10^2 cfu[2)]$\cdot kg^{-1}$	95.00a	91.67a	94.76a	5.33±0.20ab	9.36±0.14ab	0.0924±0.0004a	0.0140±0.0006ab	1.33±0.06ab
10^4 $cfu \cdot kg^{-1}$	98.34a	91.67a	96.55a	5.74±0.07ab	8.09±0.33c	0.0931±0.0003a	0.0181±0.0030ab	1.78±0.29ab
10^6 $cfu \cdot kg^{-1}$	100.00a	100.00a	100.00a	5.70±0.07ab	6.97±0.25de	0.0861±0.0074a	0.0202±0.0043ab	2.02±0.43ab
10^8 $cfu \cdot kg^{-1}$	100.00a	100.00a	100.00a	5.83±0.61ab	6.51±0.06e	0.0877±0.0066a	0.0211±0.0007ab	2.11±0.07ab

หมายเหตุ – * Values in a column with different letters are significantly different at $P<0.05$.

– [1)]Deionized water, [2)]Colony forming unit

– GP; Germination percentage, GE; Energy of germination, GS; Speed of germination

ภาพ 4 ผลของ PGA ความเข้มข้นต่างๆต่อการงอกของต้นกล้าข้าว ระยะเวลา 7 วัน ในระดับห้องปฏิบัติการ

1 : Deionized water 2 : PGA 50 $mg \cdot kg^{-1}$ 3 : PGA 100 $mg \cdot kg^{-1}$

4 : PGA 300 $mg \cdot kg^{-1}$ 5 : PGA 500 $mg \cdot kg^{-1}$

ภาพ 5 ผลของเซลล์ *B. subtilis* ความเข้มข้นต่างๆต่อการงอกของต้นกล้าข้าว ระยะเวลา 7 วัน ในระดับห้องปฏิบัติการ

1 : 0.1 % Peptone 2 : Deionized water 3 : Cell 10^2 cfu•kg^{-1}

4 : Cell 10^4 cfu•kg^{-1} 5 : Cell 10^6 cfu•kg^{-1} 6 : Cell 10^8 cfu•kg^{-1}

4.2 ผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นกล้าข้าวในระดับห้องปฏิบัติการ ระยะเวลา 21 วัน

ผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นกล้าพันธุ์ข้าวในระยะเวลา 21 วัน ซึ่งได้แก่ การวัดความยาวลำต้น ความยาวราก ปริมาณน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งรวมของรากและลำต้นต้นกล้าพันธุ์ข้าว ได้รายงานข้อมูลไว้ในตาราง 2 และภาพถ่ายดังภาพ 6 และ 7 โดยพบว่าค่าเฉลี่ยความยาวลำต้น ความยาวราก น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งรวมของรากและลำต้นต้นกล้าพันธุ์ข้าว แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.05$)

4.2.1 การเจริญเติบโตของต้นการข้าว

ความสูงของต้นกล้าข้าว (shoot length)

จากการวัดความสูงของต้นกล้าข้าวที่ระยะเวลา 21 วัน (ตาราง 2) พบว่าชุดการทดลองที่มีการเติม PGA ทุกระดับความเข้มข้นส่งผลให้ความยาวลำต้นเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดย PGA ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลให้ความยาวลำต้นสูงที่สุด โดยมีความยาวเฉลี่ย 11.51 เซนติเมตร ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมถึงร้อยละ 41 นอกจากนี้ PGA ที่ความเข้มข้น 100, 300 และ 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ยังมีแนวโน้มส่งผลให้ความยาวลำต้นเพิ่มสูงขึ้นเช่นกัน ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมร้อยละ 34, 36 และ 40 ตามลำดับ ในขณะที่ชุดการทดลองที่มีการเติมเซลล์ *B. subtilis* ส่งผลให้ความยาวลำต้นไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (ภาพ 6 และ 7)

ความยาวของรากต้นกล้าข้าว (root length)

จากการวัดความยาวราก พบว่าทุกชุดการทดลองที่มีการเติม PGA และเซลล์ *B. subtilis* ทุกระดับความเข้มข้น ผลการทดลองสอดคล้องกับผลต่อต้นกล้าข้าวที่ระยะเวลา 7 วัน กล่าวคือ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ส่งผลต่อความยาวรากของต้นกล้าข้าว โดยเฉพาะความเข้มข้นของเซลล์ *B. subtilis* ที่ความเข้มข้น 10^8 cfu ต่อกิโลกรัม ส่งผลให้ความยาวรากลดลงมากที่สุด โดยพบความยาวเฉลี่ย 8.50 เซนติเมตร ซึ่งน้อยกว่าชุดควบคุมถึงร้อยละ 28 เช่นเดียวกับความเข้มข้นของ PGA ที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลให้ความยาว

รากลดลง ซึ่งน้อยกว่าชุดควบคุมถึงร้อยละ 26 โดยลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณารากแขนง พบว่า PGA ความเข้มข้นต่ำ (50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) มีประสิทธิภาพสูงสุดในการส่งเสริมให้ต้นกล้าข้าวแตกรากแขนง อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มเข้มข้นขึ้น พบว่าความยาวราก และปริมาณรากแขนงลดลงอย่างชัดเจน (ภาพ 6 และ 7)

น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งรวมของต้นกล้าข้าว (fresh weight and dry weight)

จากการตรวจวัดน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นกล้าข้าวที่ระยะเวลา 21 วัน พบว่า PGA และเซลล์ *B. subtilis* ทุกระดับความเข้มข้นส่งผลให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของรากและลำต้นเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยพบว่า PGA ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลต้นกล้าข้าวมีน้ำหนักสดเฉลี่ยสูงที่สุด 0.1697 กรัม ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมถึงร้อยละ 10

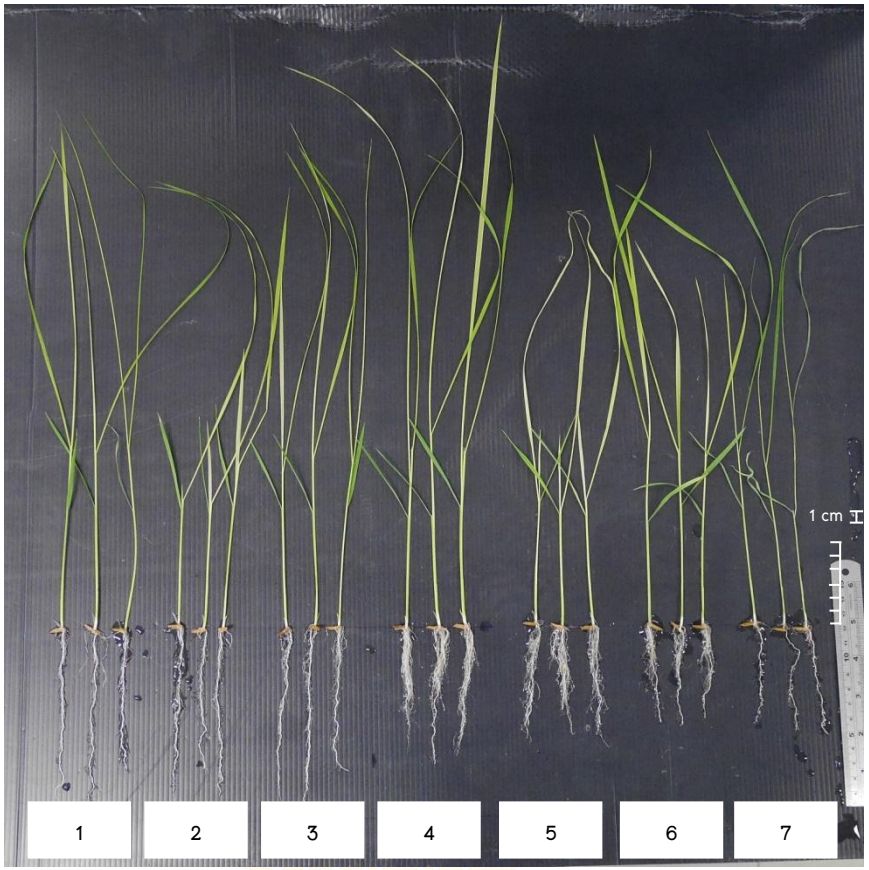
ในขณะที่ PGA ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลให้ต้นกล้าข้าวมีน้ำหนักแห้งเฉลี่ยสูงที่สุด 0.0303 กรัม ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมถึงร้อยละ 48.53 ในส่วนผลของเซลล์ *B. subtilis* พบว่าเซลล์ *B. subtilis* ที่ความเข้มข้น 10^6 cfu ต่อกิโลกรัม ส่งผลให้น้ำหนักสดเพิ่มสูงขึ้น โดยมีน้ำหนักเฉลี่ย 0.1554 กรัม ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมร้อยละ 1.37 เช่นเดียวกับปริมาณน้ำหนักแห้งรวมของรากและลำต้นที่เซลล์ *B. subtilis* ทุกระดับความเข้มข้นส่งผลให้น้ำหนักแห้งเพิ่มสูงขึ้น (ตาราง 2)

ตาราง 2 ผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นกล้าข้าว

Treatment	Mean±SD			
	Shoot length	Root length	Shoot + Root fresh weight	Shoot + Root dry weight
	cm		g	
Control DI[1)]	8.14±0.25f*	11.95±0.17ab	0.1533±0.0119ab	0.0204±0.0005c
Peptone 0.1%	9.06±0.15cd	11.26±0.05bc	0.1513±0.0083abc	0.0213±0.0002c
½ HS[2)]	9.63±0.23bc	11.91±0.08ab	0.1380±0.0050bc	0.0213±0.0010c
FHS[3)]	9.84±0.05b	12.42±0.03a	0.1404±0.0007bc	0.0213±0.0022c
PGA 50 $mg \cdot kg^{-1}$	11.51±0.16a	10.83±0.60cd	0.1697±0.1355a	0.0292±0.0002a
PGA 100 $mg \cdot kg^{-1}$	10.94±0.16a	9.46±0.11e	0.1634±0.0055ab	0.0294±0.0005a
PGA 300 $mg \cdot kg^{-1}$	11.15±0.17a	8.97±0.13ef	0.1532±0.0123ab	0.0303±0.0008a
PGA 500 $mg \cdot kg^{-1}$	11.40±0.04a	8.83±0.06ef	0.1587±0.0044ab	0.0299±0.0012a
10^2 cfu[4)]$\cdot kg^{-1}$	8.51±0.40def	11.11±0.10c	0.1429±0.0001abc	0.0267±0.0008ab
10^4 $cfu \cdot kg^{-1}$	8.78±0.23def	10.28±0.06d	0.1476±0.0045abc	0.0233±0.0003bc
10^6 $cfu \cdot kg^{-1}$	8.84±0.25de	9.46±0.35e	0.1554±0.0085ab	0.0267±0.0004ab
10^8 $cfu \cdot kg^{-1}$	8.16±0.05ef	8.50±0.09f	0.1244±0.0102c	0.0236±0.0021bc

หมายเหตุ – * Values in a column with different letters are significantly different at $P<0.05$.

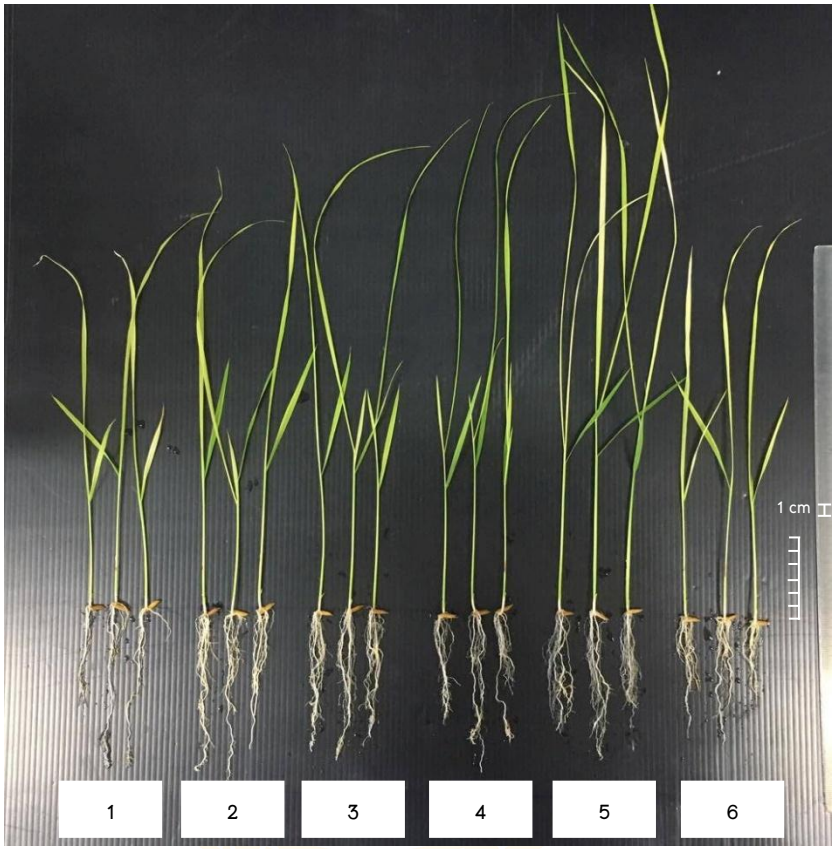
– [1)]Deionized water, [2)]½ Hoagland solution , [3)]Full hoagland solution, [4)]Colony forming unit



ภาพ 6 ผลของ PGA ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นกล้าข้าว ระยะเวลา 21 วัน ในระดับห้องปฏิบัติการ

1 : Deionized water 2 : Full Hoagland solution 3 : ¼ Hoagland solution 4 : PGA 50 $mg \cdot kg^{-1}$

5 : PGA 100 $mg \cdot kg^{-1}$ 6 : PGA 300 $mg \cdot kg^{-1}$ 7 : PGA 500 $mg \cdot kg^{-1}$



ภาพ 7 ผลของเซลล์ *B. subtilis* ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นกล้าข้าว ระยะเวลา 21 วัน ในระดับห้องปฏิบัติการ

1 : 0.1 % Peptone 2 : Deionized water 3 : Cell 10^2 cfu•kg^{-1}

4 : Cell 10^4 cfu•kg^{-1} 5 : Cell 10^6 cfu•kg^{-1} 6 : Cell 10^8 cfu•kg^{-1}

4.2.2 สารชีวเคมีของต้นกล้าข้าว

ปริมาณน้ำตาล (sugar estimation)

การศึกษาผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ต่อปริมาณน้ำตาลในต้นกล้าข้าว (ตาราง 3) พบว่าทุกชุดการทดลองที่มีการเติม PGA และเซลล์ *B. subtilis* ทุกระดับความเข้มข้นส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลเพิ่มสูงขึ้น พบว่า PGA ที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลสูงที่สุด โดยมีปริมาณเฉลี่ย 6.47 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมถึงร้อยละ 108 นอกจากนี้ PGA ที่ความเข้มข้น 50, 100 และ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ยังมีแนวโน้มในการเพิ่มปริมาณน้ำตาล ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญร้อยละ 84, 105 และ 101 ตามลำดับ นอกจากนี้การเติมเซลล์ *B. subtilis* ที่ความเข้มข้น 10^6 cfu ต่อกิโลกรัม ยังส่งผลต่อปริมาณน้ำตาล ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมถึงร้อยละ 88

ปริมาณกรดอะมิโนอิสระทั้งหมด (total free amino acid)

จากการวัดปริมาณกรดอะมิโนอิสระทั้งหมด (ตาราง 3) พบว่า PGA มีผลต่อปริมาณกรดอะมิโนอิสระทั้งหมดอย่างเห็นได้ชัด โดยมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดอะมิโนอิสระทั้งหมดตั้งแต่ PGA ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยมีค่าเฉลี่ย 2.48 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด และเพิ่มสูงสุดที่ PGA ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด โดยเพิ่มสูงขึ้น 3.94 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ซึ่งเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม ในขณะที่เซลล์ *B. subtilis* ที่ความเข้มข้น 10^2 และ 10^4 cfu ต่อกิโลกรัม ส่งผลต่อปริมาณกรดอะมิโนอิสระทั้งหมดไม่ต่างจากชุดควบคุม อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเซลล์เป็น 10^6 และ 10^8 cfu ต่อกิโลกรัม พบว่าเซลล์ *B. subtilis* ส่งผลให้ปริมาณกรดอะมิโนอิสระทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น

ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและบี (chlorophyll a and b) และปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด (total chlorophyll)

การเติม PGA และเซลล์ *B. subtilis* ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณคลอโรฟิลล์เอและบี โดยเมื่อเติม PGA ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตรวจพบปริมาณคลอโรฟิลล์เอสูงที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ย 23.98 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด นอกจากนี้ปริมาณคลอโรฟิลล์บี

พบว่าชุดการทดลองที่มีการเติม PGA และเซลล์ *B. subtilis* เกือบทุกระดับความเข้มข้นให้ปริมาณคลอโรฟิลล์บีเฉลี่ยมากกว่า 17 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ในขณะที่ชุดควบคุมมีปริมาณคลอโรฟิลล์บีเฉลี่ยเพียง 12.46 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด

เมื่อมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณคลอโรฟิลล์เอและบีในชุดการทดลองที่มีการเติมสารทดสอบ จึงส่งผลให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย โดย PGA ที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดเฉลี่ยสูงที่สุด 42.77 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด เช่นเดียวกับการเติมเซลล์ *B. subtilis* ที่ความเข้มข้น 10^8 cfu ต่อกิโลกรัม ส่งผลให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้นเช่นกัน โดยมีปริมาณเฉลี่ย 42.43 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ในขณะที่สารละลาย Hoagland nutrient ให้ปริมาณคลอโรฟิลล์รวมที่ต่ำกว่าคือ 38.10 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด

ปริมาณแคโรทีนอยด์ (carotenoid)

ปริมาณแคโรทีนอยด์ (ตาราง 3) เมื่อมีการเติม PGA และเซลล์ *B. subtilis* พบว่าในทุกระดับความเข้มข้น ส่งผลให้ปริมาณแคโรทีนอยด์เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมสารใด ๆ โดยการทดลองที่มีการเติม PGA ที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลให้ปริมาณแคโรทีนอยด์สูงที่สุด โดยเฉลี่ยถึง 1.59 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด และในชุดการทดลองที่มีการเติมเซลล์ *B. subtilis* นั้น พบว่ามีปริมาณการเพิ่มขึ้นตั้งแต่ความเข้มข้น 10^2 cfu ต่อกิโลกรัม โดยมีปริมาณเฉลี่ยอยู่ที่ 1.33 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด สิ่งที่น่าสนใจคือการเติม PGA และเซลล์ *B. subtilis* เมื่อเปรียบเทียบกับการเติมสารละลาย Hoagland nutrient จะเห็นได้อย่างชัดเจนว่าทั้ง PGA และเซลล์ *B. subtilis* มีแนวโน้มอย่างชัดเจนในการเพิ่มปริมาณแคโรทีนอยด์ ซึ่งการเติมสารละลาย Hoagland nutrient ให้ปริมาณแคโรนอยด์เฉลี่ยเพียง 0.78 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด

ตาราง 3 ผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ต่อพารามิเตอร์ทางชีวเคมีของต้นกล้าข้าว

Treatment	Mean±SD					
	Sugar Estimation	Total Free Amino acid	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Total Chlorophyll	Carotenoids
	mg•g^{-1} FW		μg•g^{-1} FW			
Control DI[1)]	3.10±0.05d*	0.63±0.14c	16.44±0.77f	12.46±0.55f	28.90±0.22d	0.42±0.01e
Peptone 0.1%	3.22±0.11d	0.42±0.05c	17.04±0.06ef	14.16±0.28def	31.21±0.22cd	0.58±0.04de
½ HS[2)]	4.03±0.25cd	0.81±0.36c	19.24±0.91cdef	13.77±0.43ef	33.01±0.47bcd	0.56±0.08de
FHS[3)]	4.88±0.34bc	1.29±0.18bc	21.68±0.34abc	16.42±0.75cde	38.10±1.09ab	0.78±0.01d
PGA 50 mg•kg^{-1}	5.72±0.39ab	1.39±0.16bc	23.98±0.77a	14.67±0.64def	38.66±0.13ab	1.12±0.11bc
PGA 100 mg•kg^{-1}	6.37±1.08a	2.48±0.14b	17.88±1.46def	19.21±0.77abc	37.09±2.23abc	1.06±0.05c
PGA 300 mg•kg^{-1}	6.24±5.57ab	3.89±0.67a	17.69±1.73def	20.28±0.95ab	37.97±2.68ab	1.39±0.17ab
PGA 500 mg•kg^{-1}	6.47±0.09a	3.94±1.27a	19.72±0.38cdef	23.04±0.93a	42.77±1.32a	1.59±0.14a
10^2 cfu[4)] •kg^{-1}	5.39±0.05ab	0.59±0.03c	21.22±0.11abcd	17.76±0.46bcd	38.98±0.34ab	1.33±0.10abc
10^4 cfu•kg^{-1}	5.57±0.10ab	0.74±0.03c	23.31±0.90ab	16.11±1.77cdef	39.42±2.67ab	1.27±0.06bc
10^6 cfu•kg^{-1}	5.83±0.13ab	1.11±0.08bc	20.16±1.95bcde	19.22±2.88abc	39.38±4.83ab	1.32±0.01abc
10^8 cfu•kg^{-1}	5.68±0.30ab	1.28±0.16bc	20.16±0.95bcde	22.27±0.05a	42.43±1.00a	1.16±0.05bc

หมายเหตุ – * Values in a column with different letters are significantly different at $P<0.05$.

– [1)]Deionized water, [2)]½ Hoagland solution, [3)]Full hoagland solution, [4)]Colony forming unit

4.3 ผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางด้านเคมี และกายภาพของดิน

4.3.1 คุณสมบัติทางด้านเคมี

4.3.1.1 ดินก่อนการทดลอง

จากการตรวจวัดคุณสมบัติทางเคมีของดินก่อนการทดลองเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานของกรมพัฒนาที่ดินสำหรับดินทั่วไปที่ใช้ในการเกษตร พบว่าดินก่อนปลูกมีค่า pH ของดินในระดับ pH ปานกลาง โดยมีค่าอยู่ในช่วง 7.32–7.34 มีค่าการนำไฟฟ้าของดินอยู่ในระดับต่ำที่ต่ำกว่าค่ามาตรฐาน 3.78 เดซิซีเมนส์ต่อเมตร มีค่าผลรวมของแคทไอออนที่แลกเปลี่ยนได้อยู่ในระดับปานกลาง 18.63 Me•100 กรัม ในขณะที่ระดับความเป็นประโยชน์ต่อพืชของอินทรียวัตถุในดินอยู่ในระดับต่ำกว่าค่ามาตรฐาน ร้อยละ 1.65 มีปริมาณผลรวมของไนโตรเจนต่ำกว่าค่ามาตรฐาน ร้อยละ 0.11 ปริมาณผลรวมของเหล็กร้อยละ 3.45 ในส่วนของระดับปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ได้ในดิน มีระดับที่สูงกว่าค่ามาตรฐาน 31.44 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ขณะที่โพแทสเซียมที่สกัดได้มีปริมาณสูงมากคือ 127.68 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณแคลเซียมที่สกัดได้ของดินอยู่ในระดับสูงมาก 5,952.12 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แมกนีเซียมที่สกัดได้มีปริมาณสูง 651.94 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และปริมาณโซเดียมที่สกัดได้ของดินอยู่ในระดับสูง 1,707.82 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ตาราง 4)

ตาราง 4 ผลองค์ประกอบทางเคมีของดิน (ก่อนการวิเคราะห์สารทดสอบ)

Treatment	Chemical										
	pH	EC[1)]	CEC[2)]	OM[3)]	Total N	Total Fe	Available P	Exchangeable cation			
								K	Ca	Mg	Na
		ds•m	Me•100g	——	%	——	——	——	mg•kg^{-1}	——	
	7.32	3.78	18.63	1.65	0.11	3.45	31.44	127.68	5,952.12	651.94	1,707.82
***Standard value**	7.00	≥4 (saline)	18.50	2.00	0.45		12.5	75.00	1,500.00	240.00	

หมายเหตุ – * Standard values in a column is derived from Land development department, Ministry of agriculture and cooperatives

– [1)] Electrical Conductivity, [2)] Cation Exchange Capacity, [3)] Organic metter

4.3.1.2 ดินหลังการทดลอง

pH ของดินและค่าการนำไฟฟ้า (electrical conductivity)

การใช้ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ให้ผลที่ไม่แตกต่างกันของ pH ของดิน โดยพบว่าสารทดสอบทั้ง 2 ชนิด ส่งผลให้ pH ของดิน มีค่าระหว่าง 7.72–7.79 ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่าระดับค่า pH ของดิน มีค่าระหว่าง 7.78–7.80 ในขณะที่ชุดการทดลองที่มีการเติม PGA ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลให้ค่าการนำไฟฟ้าของดินสูงที่สุดเท่ากับ 3.45 เดซิซีเมนส์ต่อเมตร เช่นเดียวกับผลของเซลล์ *B. subtilis* ที่มีแนวโน้มส่งผลให้ค่าการนำไฟฟ้าเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ตาราง 5) ในขณะที่ชุดควบคุมที่มีการเติมปุ๋ยเคมี มีค่าการนำไฟฟ้าของดิน คือ 3.33 เดซิซีเมนส์ต่อเมตร

ผลรวมของแคตไอออนที่แลกเปลี่ยนได้ (cation exchange capacity) และสารอินทรีย์วัตถุ (organic metter)

เมื่อพิจารณาผลของผลรวมของแคตไอออนที่แลกเปลี่ยนได้ พบว่าทุกชุดการทดลองที่มีการเติม PGA และเซลล์ *B. subtilis* ทุกระดับความเข้มข้น ส่งผลให้ผลรวมของแคตไอออนที่แลกเปลี่ยนได้ในดินมีแนวโน้มลดลง อย่างไรก็ตามไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และชุดควบคุมผลรวมของแคตไอออนที่แลกเปลี่ยนได้ของดินชุดควบคุม มีเฉลี่ยที่สูง คือ 22.14 Me•100 กรัม ในขณะที่ดินจากชุดควบคุมที่มีการเติมปุ๋ยเคมี มีผลรวมของแคตไอออนที่แลกเปลี่ยนได้ของดินเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 26.12 Me•100 กรัม

นอกจากนี้ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ส่งผลให้ปริมาณสารอินทรียวัตถุมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นในทุกระดับความเข้มข้น ซึ่งในชุดการทดลองที่มีการเติมเซลล์ *B. subtilis* ที่ระดับความเข้มข้น 10^8 cfu ต่อกิโลกรัม ส่งผลให้มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารอินทรียวัตถุในดินสูงที่สุดเท่ากับร้อยละ 3.23 ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมถึงร้อยละ 61

ปริมาณไนโตรเจน (total nitrogen) และปริมาณเหล็กทั้งหมดในดิน (total Fe)

การเติมเซลล์ *B. subtilis* ส่งผลให้ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินเพิ่มสูงขึ้น โดยให้ค่าปริมาณไนโตรเจนรวม คือร้อยละ 0.16 เช่นเดียวกับผลของ PGA ที่ระดับความเข้มข้น 50 และ 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลให้ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมร้อยละ 40 และ 50 ตามลำดับ และชุดควบคุมนั้นส่งผลให้ปริมาณไนโตรเจนรวมในดิน

น้อยที่สุด คือร้อยละ 0.10 ในขณะที่ชุดควบคุมที่มีการเติมปุ๋ยเคมีทำให้ปริมาณไนโตรเจนรวมในดินเพิ่มขึ้นเล็กน้อย คือร้อยละ 0.12 แต่อย่างไรก็ตาม PGA และเซลล์ *B. subtilis* ก็ส่งผลให้ปริมาณไนโตรเจนรวมในดินไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชุดควบคุม

เมื่อพิจารณาผลของสารทดสอบต่อปริมาณเหล็กทั้งหมดในดิน พบว่าการเติม PGA และเซลล์ *B. subtilis* ทุกระดับความเข้มข้น ส่งผลต่อปริมาณเหล็กไม่แตกต่างจากชุดควบคุม โดยเฉพาะ PGA ที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ส่งผลให้ปริมาณเหล็กทั้งหมดในดินสูงที่สุด คือร้อยละ 25.42 ใกล้เคียงกับชุดควบคุมที่มีปริมาณเหล็กร้อยละ 24.23 อย่างไรก็ตามเป็นที่น่าสังเกตว่าในชุดควบคุมที่มีการเติมสารละลายเปบโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 และชุดควบคุมที่มีการเติมปุ๋ยเคมีส่งผลให้มีการลดลงของเหล็กอย่างชัดเจน

ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ได้ในดิน (available-P) และปริมาณการแลกเปลี่ยนได้กับแคตไอออน (exchangeable K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+} และ Na^+)

จากการวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ได้ในดิน พบว่าปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินมีปริมาณที่ไม่แตกต่างกันกับชุดควบคุม โดยดินจากชุดควบคุมที่มีการเติมปุ๋ยเคมีมีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ได้ในดินสูงที่สุด เฉลี่ยคือ 43.39 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และดินจากชุดควบคุมมีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ได้ในดิน เฉลี่ย 39.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ในขณะที่ผลการทดสอบการหาปริมาณส่วนที่สามารถแลกเปลี่ยนได้กับแคตไอออน (exchangeable K, Ca^{2+}, Mg^{2+} และ Na^+) พบว่า PGA และเซลล์ *B. Subtilis* ส่งผลต่อปริมาณการแลกเปลี่ยนแคตไอออนของแคลเซียม โพแทสเซียม แมกนีเซียมและโซเดียม โดยพบว่ามีแนวโน้มที่เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญกับชุดควบคุม (ตาราง 5)

ตาราง 5 ผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ต่อองค์ประกอบทางเคมีของดิน (หลังการวิเคราะห์สารทดสอบ)

Treatment	Chemical										
	pH	EC[3)]	CEC[4)]	OM[5)]	Total N	Total Fe	Available P	Exchangeable cation K	Ca	Mg	Na
		ds•m	Me•100g	——	%	——	——	——	mg•kg^{-1} ——		
Control DI[1)]	7.80a*	3.11b	22.14ab	2.01a	0.10a	24.23ab	39.05cd	156.01a	5,607.50a	594.75a	88.75ef
Peptone 0.1%	7.78ab	3.22ab	24.53a	2.19a	0.11a	18.25c	39.31bcd	131.40a	5,520.00a	589.12a	110.95d
½ Chemical fertilizers	7.80a	3.01b	25.82a	2.47a	0.12a	19.12c	40.40b	126.10a	5,252.50a	550.50a	103.15e
Full Chemical fertilizers	7.80a	3.33ab	26.12a	2.55a	0.12a	20.72bc	43.39a	133.30a	4,435.00a	594.25a	76.37f
PGA 50 mg•kg^{-1}	7.77ab	3.54a	21.55ab	2.82a	0.14a	25.42a	35.23e	140.18a	5,645.00a	621.12a	137.95b
PGA 500 mg•kg^{-1}	7.79ab	3.28ab	21.59ab	2.90a	0.15a	24.20ab	38.14d	197.98a	5,942.50a	619.62a	162.00a
10^2 cfu[2)] •kg^{-1}	7 .72b	3.14b	17.92b	3.10a	0.16a	25.28a	39.82bc	182.50a	5,922.50a	628.62a	131.05bc
10^8 cfu•kg^{-1}	7 .77ab	3.40ab	22.83ab	3.23a	0.16a	21.25abc	39.01cd	319.89a	5,288.75a	626.75a	118.50cd

หมายเหตุ – * Values in a column with different letters are significantly different at $P<0.05$.

– [1)]Deionized water, [2)]Colony forming unit

– [3)] Electrical Conductivity, [4)] Cation Exchange Capacity, [5)] Organic metter

4.5.2 คุณสมบัติทางด้านกายภาพ

จากการวิเคราะห์คุณสมบัติทางด้านกายภาพของดินที่ได้รับ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ซึ่งทำการทดสอบหาความชื้นของดิน (soil moisture) ความหนาแน่นรวมของดิน (bulk density) และความพรุนรวมของดิน (total porosity) ปรากฏผลดังนี้

ความชื้นในดิน (soil moisture)

ทุกชุดการทดลองที่มีการเติม PGA และเซลล์ *B. subtilis* มีแนวโน้มส่งผลให้ความชื้นในดินเพิ่มสูงขึ้น โดยเฉพาะที่ความเข้มข้นของ PGA 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลให้ความชื้นในดินเฉลี่ยสูงที่สุดร้อยละ 52.18 ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมถึงร้อยละ 51.37 รองลงมาคือ ชุดการทดสอบของเซลล์ *B. subtilis* ที่ทุกระดับความเข้มข้นมีแนวโน้มส่งผลให้ความชื้นในดินเพิ่มสูงขึ้น โดยความเข้มข้นของเซลล์ *B. subtilis* ที่ความเข้มข้น 10^2 และ 10^8 cfu ต่อกิโลกรัม ส่งผลให้ความชื้นในดินสูงขึ้นจากชุดควบคุมเฉลี่ยร้อยละ 35.37 และ 38.33 ตามลำดับ (ตาราง 6)

ส่วนในชุดควบคุมนั้นส่งผลให้ความชื้นในดินน้อยที่สุด คือร้อยละ 34.47 ขณะที่ชุดควบคุมที่มีการเติมปุ๋ยเคมีทำให้ความชื้นในดินเพิ่มขึ้นเล็กน้อย คือร้อยละ 35.10

ความหนาแน่นรวมของดิน (bulk density)

ผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางด้านความหนาแน่นรวมของดิน (ตาราง 6) พบว่า PGA ส่งผลอย่างชัดเจนให้ดินมีความหนาแน่นรวมดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ปุ๋ยเคมีในโรงเรือนและชุดควบคุม โดยเฉพาะความเข้มข้นของ PGA 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ส่งผลให้ความหนาแน่นรวมของดินดีขึ้น เฉลี่ยคือ 1.12 กรัมต่อเซนติเมตร เช่นเดียวกับผลของเซลล์ *B. subtilis* ที่พบว่าทุกระดับความเข้มข้นมีแนวโน้มที่ทำให้ความหนาแน่นรวมของดินดีขึ้น อย่างไรก็ตามให้ผลการทดลองไม่แตกต่างกับชุดควบคุม คือมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 1.75–1.76 กรัมต่อเซนติเมตร ส่วนในชุดควบคุมนั้นส่งผลให้ความหนาแน่นรวมของดิน เฉลี่ย คือ 1.79 กรัมต่อเซนติเมตร ขณะที่ชุดควบคุมที่มีการเติมปุ๋ยเคมีทำให้ความหนาแน่นรวมของดินมีสภาพแย่ที่สุด คือ 1.83 กรัมต่อเซนติเมตร

ความพรุนรวมของดิน (total porosity)

PGA และเซลล์ *B. subtilis* ยังส่งผลให้ความพรุนรวมของดินดีขึ้นในทุกระดับความเข้มข้น โดยเฉพาะความเข้มข้นของ PGA 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลให้ความพรุนรวมของดินเฉลี่ยสูงขึ้นร้อยละ 62.76 ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมถึงร้อยละ 74.28 และในระดับความเข้มข้นของ PGA ที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลให้ความพรุนรวมของดินสูงกว่าชุดควบคุมร้อยละ 43.73

ขณะที่เซลล์ *B. subtilis* ที่ระดับความเข้นข้น 10^2 และ 10^8 cfu ต่อกิโลกรัม มีแนวโน้มทำให้ความพรุนรวมของดินเพิ่มขึ้นเช่นกัน เฉลี่ยร้อยละ 38.00 และ 40.12 ตามลำดับ และชุดควบคุมนั้นส่งผลให้ความพรุนรวมของดิน ค่อนข้างต่ำคือร้อยละ 36.01 และชุดควบคุมที่มีการเติมปุ๋ยเคมีส่งผลให้ความพรุนรวมของดินน้อยที่สุด คือร้อยละ 35.13 (ตาราง 6)

ตาราง 6 ผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ต่อองค์ประกอบทางกายภาพของดิน

Treatment	Soil Physical properties		
	Soil moisture	Bulk density	Total porosity
	%	$g \cdot cm^3$	%
Control DI[1)]	34.47±0.81b*	1.79±0.01a	36.01±0.90c
Peptone 0.1%	34.11±1.00b	1.82±0.06a	36.81±0.50bc
½ Chemical fertilizers	34.77±1.55b	1.80±0.03a	37.60±0.61bc
Full Chemical fertilizers	35.10±0.92b	1.83±0.10a	35.13±0.02c
PGA 50 $mg \cdot kg^{-1}$	40.07±1.04b	1.49±0.03b	43.73±0.52b
PGA 500 $mg \cdot kg^{-1}$	52.18±6.07a	1.12±0.12c	62.76±5.35a
10^2 cfu[2)] $\cdot kg^{-1}$	35.33±0.77b	1.75±0.06a	38.00±0.17bc
10^8 $cfu \cdot kg^{-1}$	38.33±3.34b	1.76±0.03a	40.12±0.88bc

หมายเหตุ – * Values in a column with different letters are significantly different at $P<0.05$.

– [1)]Deionized water, [2)]Colony forming unit

4.4 ผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในระดับโรงเรือน

จากการศึกษาผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในระดับโรงเรือน ระยะเวลาการปลูก 120 วัน โดยการตรวจสอบการเจริญเติบโตของข้าว ได้แก่ ค่าเฉลี่ยความยาวลำต้น ความยาวราก จำนวนการแตกกอ จำนวนรวงข้าว ขนาดของรวงข้าว น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งรวมของรากและลำต้นต้นข้าว และน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของรวงข้าว ปรากฏผลดังนี้

4.4.1 การเจริญเติบโตของข้าว

ความสูงของต้นข้าว (shoot length)

จากการวัดความสูงของต้นข้าวที่ระยะเก็บเกี่ยว ที่ระยะเวลา 120 วัน (ตาราง 7) พบว่าชุดการทดลองที่มีการเติม PGA และเซลล์ *B. subtilis* ในทุกระดับความเข้มข้น ส่งผลให้ชุดการทดลองที่มีการเติม PGA ในทุกระดับความเข้มข้นมีแนวโน้มส่งผลให้ต้นข้าวมีความสูงเฉลี่ยมากกว่าต้นข้าวในชุดการทดลองที่มีการเติมเซลล์ *B. subtilis* และชุดควบคุม โดย PGA ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลให้ความสูงของต้นข้าวสูงที่สุด โดยมีความสูงเฉลี่ย 136.27 เซนติเมตร ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมสารใดๆ ร้อยละ 12 รองลงมาคือต้นข้าวที่มีการเติม PGA ที่ความเข้มข้น 100, 300 และ 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลต่อความยาวลำต้นสูงเฉลี่ย 135.28, 129.43 และ 135.96 เซนติเมตร มากกว่าชุดควบคุมร้อยละ 11, 6 และ 12 ตามลำดับ

ส่วนชุดการทดลองที่เติมเซลล์ *B. subtilis* ความเข้มข้น 10^2, 10^4, 10^6 และ 10^8 cfu ต่อกิโลกรัม ทำให้ต้นข้าวมีความสูงโดยเฉลี่ย 129.29, 131.31, 128.97 และ 130.55 เซนติเมตร มากกว่าชุดควบคุมร้อยละ 6, 8, 6 และ 7 ตามลำดับ และชุดควบคุมนั้นต้นข้าวมีความสูงเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ 121.23 เซนติเมตร ในขณะที่ชุดควบคุมที่มีการเติมปุ๋ยเคมี ต้นข้าวมีความสูงเฉลี่ย 131.18 เซนติเมตร (ภาพ 10 และ 13)

ความยาวของรากต้นข้าว (root length)

จากการวัดความยาวราก (ตาราง 7) พบว่าทุกชุดการทดลองที่มีการเติม PGA และเซลล์ *B. subtilis* ทุกระดับความเข้มข้น ส่งผลต่อความยาวรากของต้นข้าว โดยเฉพาะPGA ที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลให้ความยาวรากลดลงเฉลี่ยมากที่สุด 26 เซนติเมตร ซึ่งน้อยกว่าชุดควบคุมถึงร้อยละ 7.27 รองลงมาคือ ต้นข้าวที่มีการเติม PGA ที่ความเข้มข้น 50, 100 และ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลต่อความยาวรากลดลงเฉลี่ย 27.34, 28.03 และ 27.06 เซนติเมตร ตามลำดับ

เช่นเดียวกับต้นข้าวที่เติมเซลล์ *B. subtilis* ที่ความเข้มข้น 10^8 cfu ต่อกิโลกรัม ส่งผลให้ความยาวรากมีแนวโน้มลดลง โดยมีค่าเฉลี่ย 26.38 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งมีความยาวรากเฉลี่ย 28.04 เซนติเมตร ในขณะที่ชุดควบคุมอื่นๆให้ค่าเฉลี่ยความยาวรากที่สูงเช่นเดียวกัน

น้ำหนักสดรวมของต้นข้าว (shoot and root fresh weight)

จากการวัดน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งในระยะเก็บเกี่ยวต้นข้าว (ตาราง 7) พบว่า PGA และเซลล์ *B. subtilis* ทุกระดับความเข้มข้นยังส่งผลให้น้ำหนักสดของต้นข้าวเพิ่มสูงขึ้น โดยเฉพาะ PGA ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลให้น้ำหนักสดต้นข้าวเฉลี่ยสูงสุด 16.79 กรัมต่อต้น ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมถึงร้อยละ 96.62 รองลงมาคือ ต้นข้าวที่มีการเติมสาร PGA ที่ความเข้มข้น 50, 300 และ 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลต่อน้ำหนักสดเฉลี่ย 14.12, 15.97 และ 15.16 กรัมต่อต้น ตามลำดับ

เช่นเดียวกับชุดการทดลองที่เติมเซลล์ *B. subtilis* ความเข้มข้น 10^2, 10^4, 10^6 และ 10^8 cfu ต่อกิโลกรัม ทำให้น้ำหนักสดเพิ่มขึ้น โดยมีค่าเฉลี่ย 16.67, 15.56, 16.65 และ 16.50 กรัมต่อต้น ตามลำดับ และชุดควบคุมนั้นต้นข้าวมีน้ำหนักสดเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ 8.54 กรัมต่อต้น

น้ำหนักแห้งรวมของต้นข้าว (shoot and root dry weight)

เมื่อพิจารณาถึงน้ำหนักแห้งของต้นข้าวในระยะเก็บเกี่ยวพบว่า การเติม PGA และเซลล์ *B. subtilis* ส่งผลอย่างชัดเจนต่อน้ำหนักแห้งของต้นข้าว โดยเฉพาะเมื่อเปรียบเทียบกับชุด

ควบคุมที่ไม่มีการเติมสารใดๆ โดยพบความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ชุดการทดลองที่มีการเติม PGA และ เซลล์ *B. subtilis* เกือบทุกความเข้มข้นให้น้ำหนักแห้งเฉลี่ยต่อต้นมากกว่า 6 กรัม ในขณะที่ชุดควบคุมมีน้ำหนักแห้งเฉลี่ยเพียง 3.69 กรัมต่อต้นเท่านั้น สิ่งที่น่าสนใจคือเมื่อเปรียบเทียบชุดการทดลองที่มีการเติม PGA และ เซลล์ *B. subtilis* กับชุดทดลองที่มีการเติมปุ๋ยเคมีจะเห็นได้อย่างชัดเจนว่า ทั้ง PGA และเซลล์ *B. subtilis* มีแนวโน้มอย่างชัดเจนในการเพิ่มน้ำหนักแห้งของต้นกล้าข้าว โดยเฉพาะ PGA ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมให้น้ำหนักแห้งเฉลี่ยมากที่สุด คือ 6.7553 กรัมต่อต้น ในขณะที่ปุ๋ยเคมีให้น้ำหนักแห้งต่อต้นของข้าวที่ต่ำกว่าคือ 5.256 กรัม (ตาราง 7)

จำนวนการแตกกอ (number of tiller)

เมื่อพิจารณาถึงการแตกกอของข้าว พบว่า PGA และเซลล์ *B. subtilis* มีผลต่อจำนวนการแตกกอ (number of tiller) ของต้นข้าว โดยเฉพาะ PGA ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลให้จำนวนการแตกกอสูงที่สุด เฉลี่ยจำนวน 3.80 กอต่อต้น ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมถึงร้อยละ 84 ในขณะที่ความเข้มข้นของสาร PGA 100, 300 และ 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลให้จำนวนการแตกกอ เฉลี่ยจำนวน 3.26, 3.46 และ 3.46 กอต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมร้อยละ 58, 67 และ 67 ตามลำดับ (ตาราง 8)

ในส่วนของเซลล์ *B. subtilis* ต่อจำนวนการแตกกอ พบว่าทุกระดับความเข้มข้นส่งผลต่อจำนวนการแตกกอที่เพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิต โดยที่ความเข้มข้นของเซลล์ *B. subtilis* 10^2, 10^4, 10^6, และ 10^8 cfu ต่อกิโลกรัม ส่งผลให้จำนวนการแตกกอ เฉลี่ยจำนวน 2.93, 3.00, 3.00 และ 3.06 กอต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมร้อยละ 42, 45, 45 และ 48 ตามลำดับ และชุดควบคุมนั้นต้นข้าวมีจำนวนการแตกกอเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ 2.06 กอต่อต้น ในขณะที่ชุดควบคุมที่มีการเติมปุ๋ยเคมีมีจำนวนการแตกกอ คือ 2.93 กอต่อต้น

จำนวนรวงข้าวต่อกระถาง (number of panicle)

เมื่อพิจารณาจำนวนรวงต่อกระถาง (number of panicle) ในระยะเก็บเกี่ยวข้าว (ตาราง 8) พบว่าการใส่สาร PGA ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทำให้ต้นข้าวมีจำนวนรวงข้าวมากกว่าต้นข้าวในชุดควบคุมและเซลล์ *B. subtilis* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ 19.66 รวงต่อกระถาง ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมถึงร้อยละ 96 รองลงมาคือ ต้นข้าวที่ใส่เซลล์ *B. subtilis* ที่ความเข้มข้น 10^8 cfu ต่อกิโลกรัม ที่มีจำนวนรวงข้าวเฉลี่ย 18.33 รวงต่อกระถาง ส่วนต้นข้าวที่ใส่ปุ๋ยเคมี ทำให้ต้นข้าวมีจำนวนรวงข้าวเฉลี่ย 15.33 รวงต่อต่อกระถาง และชุดควบคุมนั้นต้นข้าวมีจำนวนรวงข้าวต่อกระถางน้อยที่สุด คือ 10.00 รวงต่อกระถาง

ขนาดความยาวของรวงข้าว (size of panicle)

สำหรับขนาดความยาวของรวงข้าว (size of panicle) (ตาราง 8) พบว่า ทุกชุดการทดลองที่มีการเติมสาร PGA และเซลล์ *B. subtilis* ส่งผลให้รวงข้าวมีขนาดความยาวที่เพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะชุดการทดสอบที่มีการเติมสาร PGA ในทุกระดับความเข้มข้น ส่งผลให้รวงข้าวมีขนาดที่ยาวมากกว่าชุดควบคุมและชุดที่ได้รับปุ๋ยเคมีอย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะชุดทดสอบที่ได้รับสาร PGA ที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่ามีความยาวรวงข้าวเฉลี่ยถึง 23.24 เซนติเมตร

ในขณะที่เซลล์ *B. subtilis* ที่ความเข้มข้น 10^2, 10^4, 10^6 และ 10^8 cfu ต่อกิโลกรัม มีแนวโน้มส่งผลให้ความยาวของรวงข้าวเพิ่มขึ้น โดยมีค่าเฉลี่ย 20.62, 21.22, 21.99 และ 20.72 เซนติเมตร ตามลำดับ อย่างไรก็ตามผลที่ได้ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชุดทดสอบที่ได้รับปุ๋ยเคมี

น้ำหนักสดของรวงข้าว (fresh weight of panicle)

จากการตรวจวัดน้ำหนักสดของรวงข้าวในระยะเก็บเกี่ยวต้นข้าว (ตาราง 8) พบว่า PGA ที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลให้น้ำหนักสดของรวงเฉลี่ยสูงสุด 3.032 กรัมต่อรวง ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมถึงร้อยละ 39.05 อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ได้รับปุ๋ยเคมี พบว่าน้ำหนักสดของรวงข้าวไม่มีความแตกต่างกัน ส่วนชุดการทดลองที่

เติมเซลล์ *B. subtilis* พบว่าที่ความเข้มข้น 10^8 cfu ต่อกิโลกรัม ให้น้ำหนักสดของรวงข้าวสูงที่สุด คือ 2.818 กรัมต่อรวง

น้ำหนักแห้งของรวงข้าว (dry weight of panicle)

เมื่อนำรวงข้าวมาอบเพื่อหาน้ำหนักแห้ง พบว่าผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับน้ำหนักสดของรวงข้าว กล่าวคือสาร PGA ที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลให้น้ำหนักแห้งของรวงเฉลี่ยสูงสุด 2.263 กรัมต่อรวง ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมถึงร้อยละ 49.84 รองลงมาคือ ต้นข้าวที่มีการเติมสาร PGA ที่ความเข้มข้น 50, 100 และ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลต่อน้ำหนักแห้งของรวงข้าวเฉลี่ย 2.213, 2.136 และ 2.198 กรัมต่อรวง ตามลำดับ

ในขณะที่ชุดการทดลองที่เติมเซลล์ *B. subtilis* ความเข้มข้น 10^2 cfu ต่อกิโลกรัม ให้น้ำหนักแห้งของรวงข้าวเฉลี่ยไม่ต่างกับชุดการทดลองที่มีการเติมปุ๋ยเคมี คือ 2.145 และ 2.194 กรัมต่อรวง ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาชุดควบคุมพบว่าต้นข้าวมีน้ำหนักแห้งของรวงข้าวต่อกระถางน้อยที่สุด คือ 1.510 กรัมต่อรวง

ตาราง 7 ผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในระดับโรงเรือน

Treatment	Mean±SD			
	Shoot length	Root length	Shoot + Root fresh weight	Shoot + Root dry weight
	cm		g	
Control DI[1)]	121.23±4.14b*	28.04±0.90ab	8.54±0.05b	3.69±0.16d
Peptone 0.1%	135.18±2.64a	28.02±0.54ab	14.72±0.69a	5.55±0.23bc
½ Chemical fertilizers	130.38±0.97a	28.70±0.97a	13.83±0.19a	5.39±0.15bc
Full chemical fertilizers	131.18±1.26a	28.05±0.64ab	11.83±2.37ab	5.25±0.28c
PGA 50 $mg \cdot kg^{-1}$	136.27±1.37a	27.34±0.68abc	14.12±0.42a	6.75±0.14a
PGA 100 $mg \cdot kg^{-1}$	135.28±1.50a	28.03±0.54ab	16.79±3.52a	6.29±0.48ab
PGA 300 $mg \cdot kg^{-1}$	129.43±4.78a	27.06±0.76abc	15.97±0.50a	6.08±0.44abc
PGA 500 $mg \cdot kg^{-1}$	135.96±0.83a	26.00±0.16c	15.16±1.33a	6.04±0.23abc
10^2 cfu[2)]$\cdot kg^{-1}$	129.29±1.15a	26.77±0.23abc	16.67±0.83a	6.12±0.33abc
10^4 $cfu \cdot kg^{-1}$	131.31±1.95a	27.54±0.05abc	15.56±1.01a	6.03±0.21abc
10^6 $cfu \cdot kg^{-1}$	128.97±1.73a	27.26±0.42abc	16.65±0.39a	5.91±0.46abc
10^8 $cfu \cdot kg^{-1}$	130.55±3.34a	26.38±0.32bc	16.50±1.74a	6.02±0.05abc

หมายเหตุ – * Values in a column with different letters are significantly different at $P<0.05$.

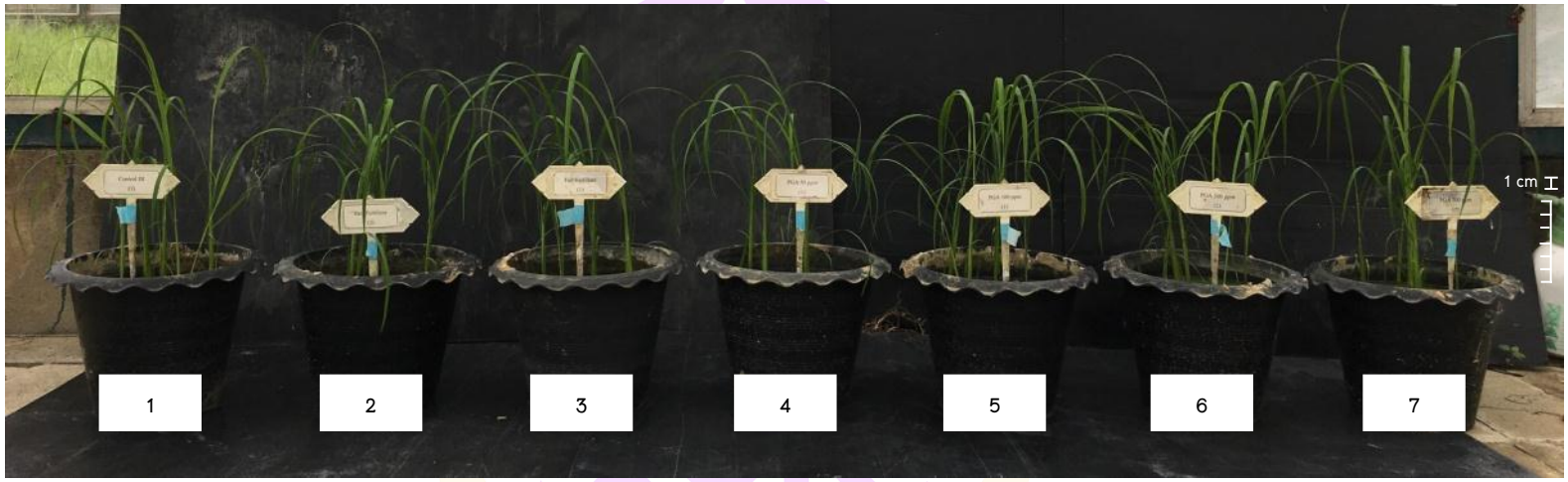
– [1)]Deionized water, [2)]Colony forming unit

ตาราง 8 ผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในระดับโรงเรือน (ต่อ)

Treatment	Number of tiller	Mean±SD			
		Panicle			
		Number of panicle	Size of panicle	Panicle of fresh weight	Panicle of dry weight
	$Plant^{-1}$	pot^{-1}	cm	g	
Control DI[1)]	2.06±0.06e*	10.00±0.57c	17.68±0.69e	2.180±0.058d	1.510±0.026b
Peptone 0.1%	2.80±0.11d	14.66±2.02b	18.94±0.35de	2.926±0.099abc	2.076±0.043a
½ Chemical fertilizers	2.93±0.13cd	15.00±1.00b	18.40±0.13e	2.681±0.168abc	1.917±0.159ab
Full chemical fertilizers	2.93±0.13cd	15.33±0.88b	20.27±0.39cd	2.874±0.053ab	2.194±0.039a
PGA 50 $mg \cdot kg^{-1}$	3.80±0.20a	19.66±2.33a	22.66±0.66a	2.812±0.152abc	2.213±0.022a
PGA 100 $mg \cdot kg^{-1}$	3.26±0.17bc	16.00±0.00ab	22.82±0.81a	2.692±0.059abc	2.136±0.162a
PGA 300 $mg \cdot kg^{-1}$	3.46±0.13ab	17.33±0.33ab	22.80±0.51a	3.010±0.071ab	2.198±0.050a
PGA 500 $mg \cdot kg^{-1}$	3.46±0.06ab	17.00±0.57ab	23.24±0.46a	3.032±0.188a	2.263±0.219a
10^2 cfu[2)]$\cdot kg^{-1}$	2.93±0.06cd	18.00±2.51ab	20.62±0.18bc	2.553±0.111c	2.145±0.234a
10^4 $cfu \cdot kg^{-1}$	3.00±0.00cd	15.00±0.00b	21.22±0.14bc	2.674±0.010abc	2.047±0.303a
10^6 $cfu \cdot kg^{-1}$	3.00±0.11cd	15.00±0.57b	21.99±0.37ab	2.613±0.169bc	2.072±0.167a
10^8 $cfu \cdot kg^{-1}$	3.06±0.06cd	18.33±0.88ab	20.72±0.20bc	2.818±0.131abc	2.028±0.187a

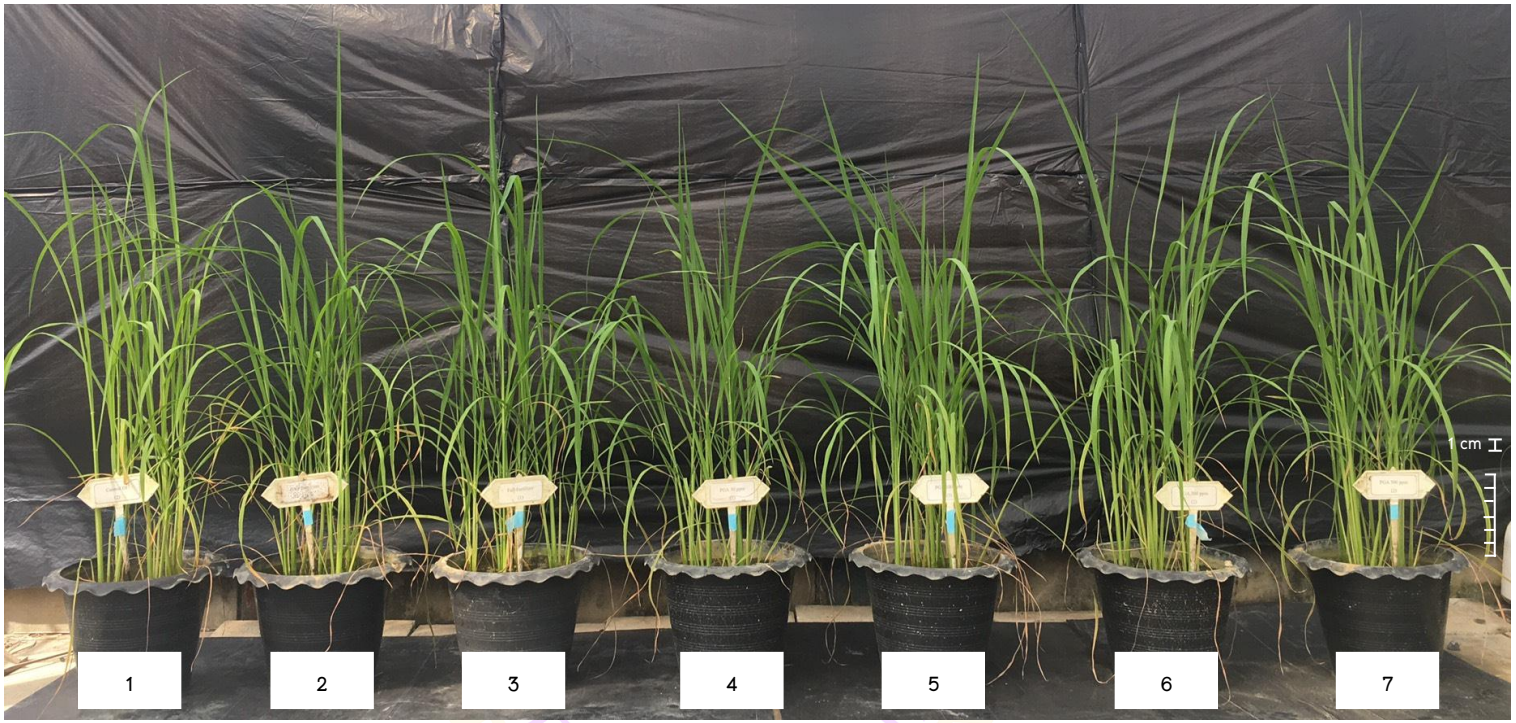
หมายเหตุ – * Values in a column with different letters are significantly different at $P<0.05$.

– [1)]Deionized water, [2)]Colony forming unit



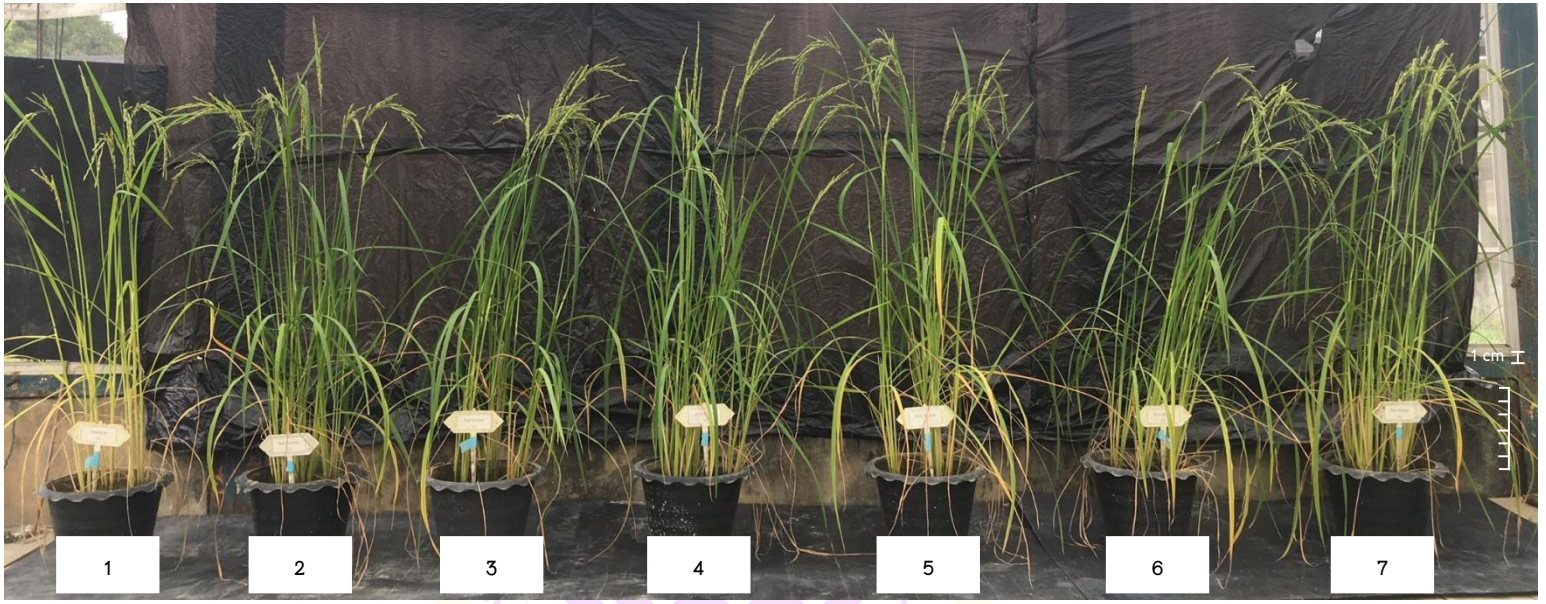
ภาพ 8 ผลของ PGA ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นกล้าข้าว ระยะเวลา 20 วัน ในระดับโรงเรือน

1 : Deionized water
2 : ½ Chemical fertilizer
3 : Full chemical fertilizer
4 : PGA 50 $mg \cdot kg^{-1}$
5 : PGA 100 $mg \cdot kg^{-1}$
6 : PGA 300 $mg \cdot kg^{-1}$
7 : PGA 500 $mg \cdot kg^{-1}$



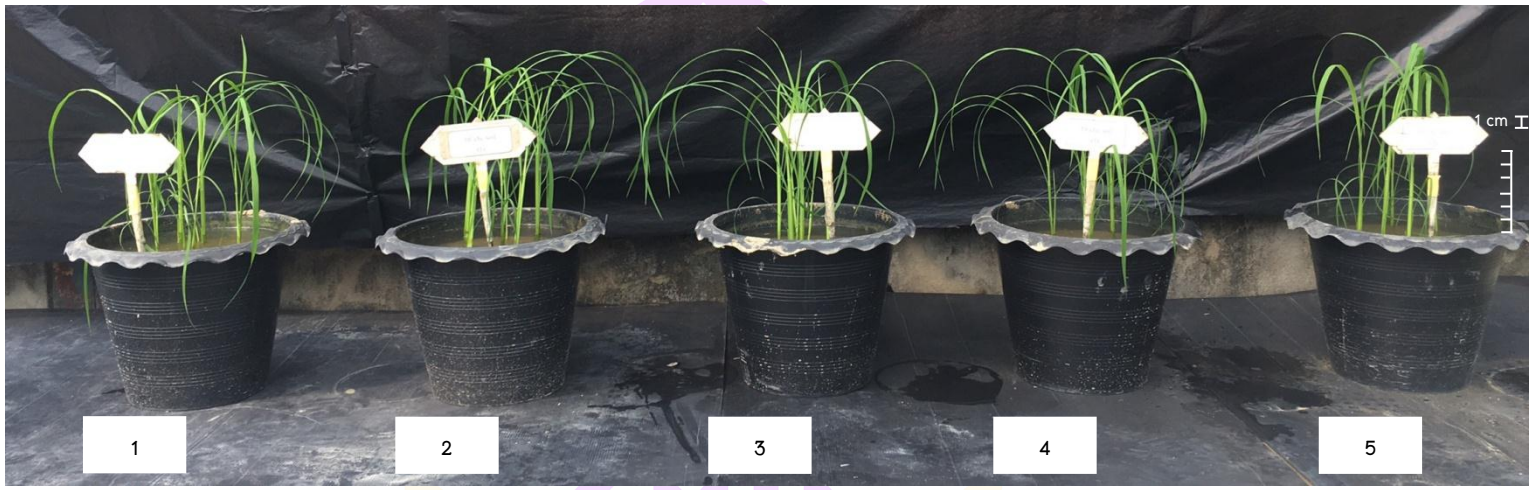
ภาพ 9 ผลของ PGA ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นข้าว ระยะเวลา 40 วัน ในระดับโรงเรือน

1 : Deionized water
2 : ½ Chemical fertilizer
3 : Full chemical fertilizer
4 : PGA 50 mg•kg^{-1}
5 : PGA 100 mg•kg^{-1}
6 : PGA 300 mg•kg^{-1}
7 : PGA 500 mg•kg^{-1}



ภาพ 10 ผลของ PGA ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นข้าว ระยะเวลา 60 วัน ในระดับโรงเรือน

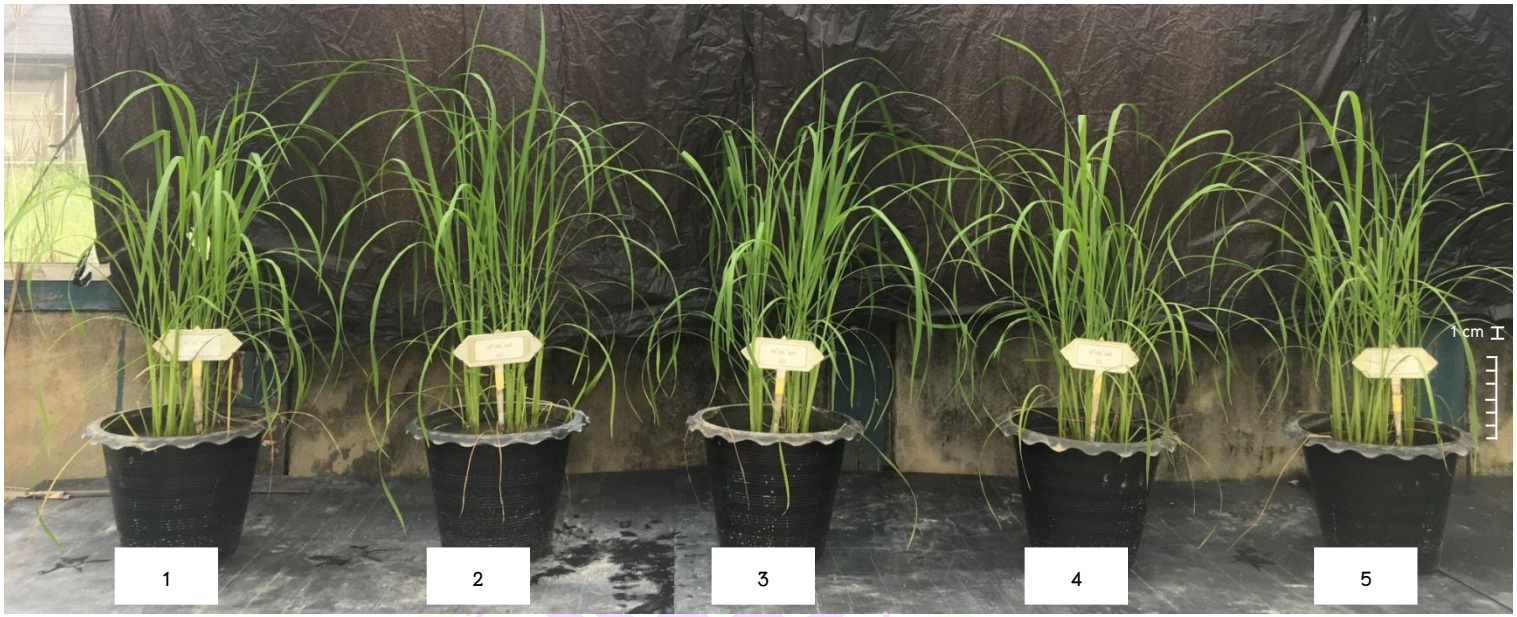
1 : Deionized water
2 : ½ Chemical fertilizer
3 : Full chemical fertilizer
4 : PGA 50 mg•kg^{-1}
5 : PGA 100 mg•kg^{-1}
6 : PGA 300 mg•kg^{-1}
7 : PGA 500 mg•kg^{-1}



ภาพ 11 ผลของเซลล์ *B. subtilis* ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นกล้าข้าว ระยะเวลา 20 วัน ในระดับโรงเรือน

1 : Deionized water 2 : Cell 10^2 cfu•kg^{-1} 3 : Cell 10^4 cfu•kg^{-1}

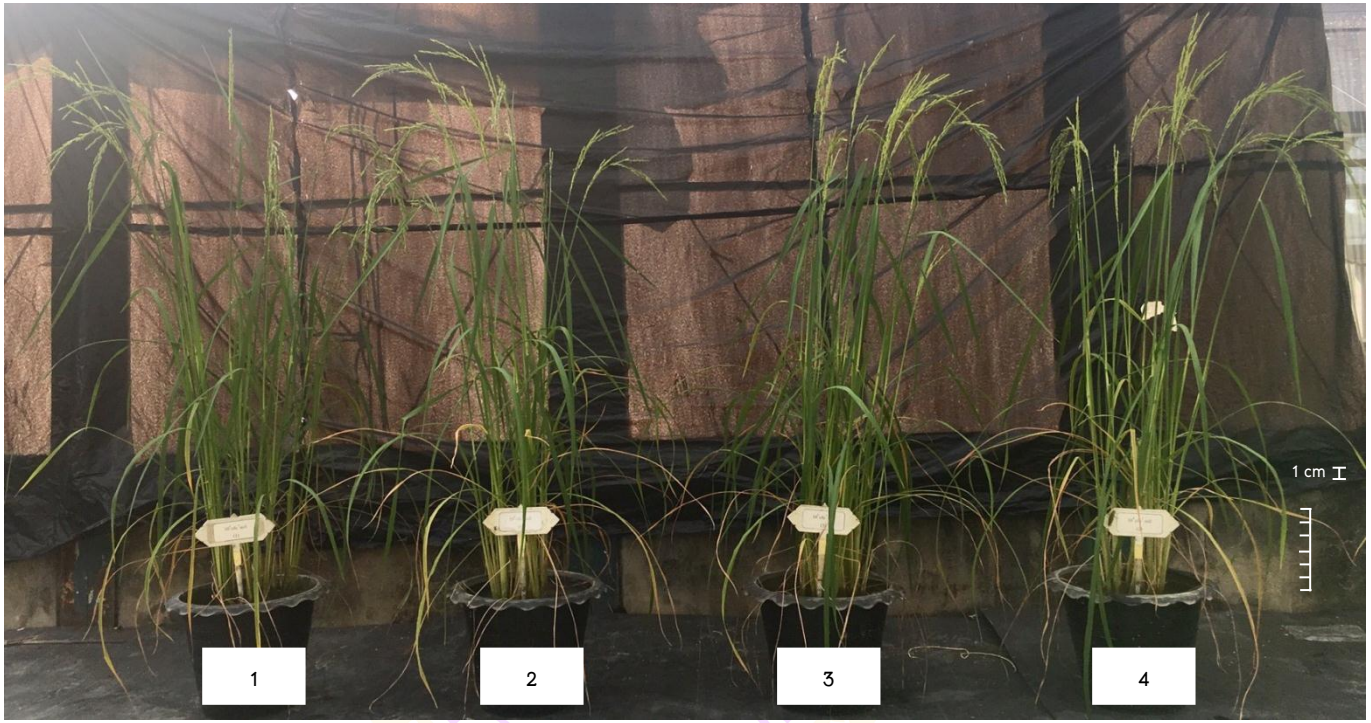
4 : Cell 10^6 cfu•kg^{-1} 5 : Cell 10^8 cfu•kg^{-1}



ภาพ 12 ผลของเซลล์ *B. subtilis* ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นข้าว ระยะเวลา 40 วัน ในระดับโรงเรือน

1 : Deionized water 2 : Cell 10^2 cfu•kg^{-1} 3 : Cell 10^4 cfu•kg^{-1}

4 : Cell 10^6 cfu•kg^{-1} 5 : Cell 10^8 cfu•kg^{-1}



ภาพ 13 ผลของเซลล์ *B. subtilis* ความเข้มข้นต่างๆต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นข้าว ระยะเวลา 60 วัน ในระดับโรงเรือน

1 : Cell 10^{2} cfu•kg^{-1} 2 : Cell 10^{4} cfu•kg^{-1} 3 : Cell 10^{6} cfu•kg^{-1}

4 : Cell 10^{8} cfu•kg^{-1}

4.5 ผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ต่อผลผลิตของต้นข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในระดับโรงเรือน

4.5.1 ผลผลิตข้าว

จำนวนเมล็ดข้าวต่อกระถาง (number of grains)

จากการทดสอบผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ต่อจำนวนเมล็ดข้าวต่อกระถาง (number of grains) พบว่าทุกชุดการทดลองส่งผลให้จำนวนเมล็ดข้าวต่อกระถางเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะที่ PGA ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลให้จำนวนเมล็ดข้าวต่อกระถางเฉลี่ยสูงที่สุด 2,032.38 เมล็ดต่อกระถาง ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมถึงร้อยละ 192 ในขณะที่ PGA ความเข้มข้น 100, 300 และ 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลให้จำนวนเมล็ดข้าวเฉลี่ย 1,732.64, 1,812.09 และ 1,820.03 เมล็ดต่อกระถาง มากกว่าชุดควบคุมร้อยละ 149, 160 และ 161 ตามลำดับ ส่วนต้นข้าวที่ใส่ปุ๋ยเคมีทำให้ต้นข้าวมีจำนวนเมล็ดข้าวต่อกระถางเฉลี่ย 1,441.91 เมล็ดต่อกระถาง และชุดควบคุมนั้นต้นข้าวมีจำนวนเมล็ดข้าวต่อกระถางน้อยที่สุด คือ 695.73 เมล็ดต่อกระถาง

ในส่วนของเซลล์ *B. subtilis* ทุกระดับความเข้มข้นมีแนวโน้มให้จำนวนเมล็ดข้าวเพิ่มมากขึ้นซึ่งมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่ง PGA และเซลล์ *B. subtilis* ยังส่งผลให้เมล็ดข้าวสมบูรณ์มากขึ้น จำนวนเมล็ดลีบลดลง (number of unfilled grains) โดยเฉพาะ PGA ที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ส่งผลให้จำนวนเมล็ดลีบลดลงเหลือเพียง 5.54 เมล็ดต่อรวงเช่นเดียวกับผลของเซลล์ *B. subtilis* ที่ทุกระดับความเข้มข้นส่งผลให้จำนวนเมล็ดลีบลดลง ส่วนต้นข้าวที่ใส่ปุ๋ยเคมี ทำให้ต้นข้าวมีจำนวนเมล็ดลีบต่อรวงเฉลี่ย 11.50 เมล็ดต่อรวง และชุดควบคุมนั้นต้นข้าวมีจำนวนเมล็ดลีบต่อกระถางมากที่สุด คือ 18.30 เมล็ดต่อรวง

น้ำหนักเมล็ดข้าวต่อกระถาง (grains weight)

เมื่อนำเมล็ดข้าวที่ได้จากการเก็บเกี่ยวมานับจำนวนที่ได้ต่อกระถางแล้ว จากนั้นก็นำเมล็ดข้าวไปอบเพื่อหาน้ำหนักเมล็ดข้าวต่อกระถาง (grains weight) พบว่า ชุดการทดลองที่มีการเติม PGA ในทุกระดับความเข้มข้นมีแนวโน้มส่งผลให้น้ำหนักเมล็ดข้าวต่อกระถางเฉลี่ยมากกว่าในชุดการทดลองที่มีการเติมเซลล์ *B. subtilis* และชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมสารทดสอบ

ใดๆ โดย PGA ที่ความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลให้น้ำหนักเมล็ดข้าวสูงที่สุด โดยมีน้ำหนักเฉลี่ย 527.40 กรัมต่อกระถาง ซึ่งมากกว่าชุดควบคุมถึงร้อยละ 170.83 รองลงมาคือต้นข้าวที่มีการเติม PGA ที่ความเข้มข้น 50, 100 และ 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลต่อน้ำหนักเมล็ดข้าวเฉลี่ย 517.83, 521.77 และ 517.00 กรัมต่อกระถาง ตามลำดับ อย่างไรก็ตามผลของความเข้มข้นของ PGA ทั้ง 4 ความเข้มข้นก็ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ให้ผลที่แตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุม

ส่วนชุดการทดลองที่เติมเซลล์ *B. subtilis* นั้นความเข้มข้น 10^2, 10^4, 10^6 และ 10^8 cfu ต่อกิโลกรัม ทำให้น้ำหนักเมล็ดข้าวเฉลี่ย 460.26, 419.33, 408.39 และ 463.94 กรัมต่อกระถาง ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมมีน้ำหนักเมล็ดข้าวต่อกระถางเพียง 194.73 กรัมต่อกระถางเท่านั้น เมื่อเปรียบเทียบชุดการทดลองที่มีการเติม PGA และเซลล์ *B. subtilis* กับชุดการทดลองที่มีการเติมปุ๋ยเคมีจะเห็นได้อย่างชัดเจนว่า ทั้ง PGA และเซลล์ *B. subtilis* มีแนวโน้มในการเพิ่มน้ำหนักเมล็ดข้าว ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการที่ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ส่งผลให้จำนวนรวงและจำนวนเมล็ดต่อกระถางเพิ่มขึ้นด้วย

น้ำหนัก 100 เมล็ดของข้าว (100-grains weight)

จากผลการตรวจวัดน้ำหนัก 100 เมล็ดของข้าวของทั้ง 2 ชุดการทดลอง คือชุดที่ได้รับ PGA และชุดที่ได้รับเซลล์ *B. subtilis* พบว่ามีน้ำหนักเมล็ดข้าวมีความแตกต่างทางสถิติกับชุดควบคุม โดยต้นข้าวในชุดการทดลองที่มีการเติม PGA ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมมีน้ำหนัก 100 เมล็ดมากที่สุด คือ 2.5127 กรัม ในขณะที่เซลล์ *B. subtilis* ความเข้มข้น 10^4 cfu ต่อกิโลกรัม ส่งผลให้น้ำหนัก 100 เมล็ดข้าวสูงรองลงมาเฉลี่ย 2.4311 กรัม นอกจากนี้ชุดควบคุมที่มีการเติมปุ๋ยเคมี มีน้ำหนัก 100 เมล็ดเฉลี่ย 2.3798 กรัม และชุดควบคุมนั้นน้ำหนัก 100 เมล็ดมีน้ำหนักเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ 2.3329 กรัม

จำนวนเมล็ดต่อกระถางเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (increment of grains over control)

จำนวนเมล็ดต่อกระถางเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (increment of grains over control) โดยคำนวณมาจากจำนวนเมล็ดทั้งหมดในกระถางเทียบกับชุดควบคุม จากผลการทดลอง พบว่า PGA และเซลล์ *B. subtilis* ทุกระดับความเข้มข้นมีผลต่อจำนวนเมล็ดของข้าว (ตาราง 9) โดยพบจำนวนเมล็ดลีบที่ลดลง โดยเฉพาะส PGA ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ที่ส่งผลให้จำนวนเมล็ดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญร้อยละ 192 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เช่นเดียวกับเซลล์ *B. subtilis* ความเข้มข้น 10^2, 10^4, 10^6 และ 10^8 cfu ต่อกิโลกรัม ส่งผลให้จำนวนเมล็ดเพิ่มขึ้นร้อยละ 149, 110, 109 และ 161 ตามลำดับ ขณะที่ชุดควบคุมที่มีการเติมปุ๋ยเคมี มีจำนวนดีเพิ่มขึ้นเช่นกัน เฉลี่ยร้อยละ 107

ตาราง 9 *ผลของ PGA และเซลล์ B. subtilis ต่อผลผลิตของข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในระดับโรงเรือน*

Treatment	Mean±SD				Increment of grains over control
	Grains			Number of unfilled grains	
	Number of grains	Grain weight	100–grain weight		
	grain no.pot^{-}1	g•pot^{-1}	g	grain no.plant^{-1}	%
Control DI[1)]	695.73±31.64e*	194.73±10.17e	2.3329±0.0130bc	18.30±1.53a	
Peptone 0.1%	1,316.79±221.41d	314.65±28.24d	2.3342±0.0121bc	15.12±1.64b	89
½ Chemical fertilizers	1,367.63±147.62cd	357.23±12.36cd	2.3322±0.0340bc	16.21±0.72ab	96
Full chemical fertilizers	1,441.91±61.17bcd	380.74±8.34bcd	2.3798±0.0273abc	11.50±0.61c	107
PGA 50 mg•kg^{-1}	2,032.38±184.30a	517.83±41.20a	2.4659±0.0461abc	6.06±0.36d	192
PGA 100 mg•kg^{-1}	1,732.64±35.30abc	521.77±12.40a	2.5127±0.0862a	6.41±0.48d	149
PGA 300 mg•kg^{-1}	1,812.09±34.86ab	527.40±23.92a	2.4773±0.0783ab	5.54±0.60d	160
PGA 500 mg•kg^{-1}	1,820.03±105.55ab	517.00±22.58a	2.4468±0.0431abc	5.62±0.43d	161
10^2 cfu[2)] •kg^{-1}	1,735.50±219.46abc	460.26±55.01ab	2.3062±0.0393c	9.72±0.20c	149
10^4 cfu•kg^{-1}	1,465.35±30.19bcd	419.33±32.29bc	2.4311±0.0713abc	9.54±0.49c	110
10^6 cfu•kg^{-1}	1,457.85±97.49bcd	408.39±26.50bc	2.3919±0.0139abc	10.24±0.55c	109
10^8 cfu•kg^{-1}	1,819.06±90.49ab	463.94±25.33ab	2.4123±0.0207abc	9.81±0.64c	161

หมายเหตุ – * Values in a column with different letters are significantly different at $P<0.05$.

– [1)]Deionized water, [2)]Colony forming unit

บทที่ 5

อภิปรายผลการทดลองและบทสรุป

5.1 อภิปรายผลการวิจัย

5.1.1 ผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ต่อการงอกและความแข็งแรงของต้นกล้าข้าว ระยะเวลา 7 วัน

จากการทดสอบหาร้อยละการงอก พลังงานในการงอกและความเร็วในการงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวที่มีการเติมสารทดสอบ PGA และเซลล์ *B. subtilis* พบว่าสารทดสอบทั้ง 2 ชนิด ให้ผลของร้อยละการงอกไม่แตกต่างกันกับชุดควบคุม เนื่องจากกระบวนการงอกของเมล็ดพันธุ์จะอาศัยน้ำ ออกซิเจน อุณหภูมิ และแสง เมื่อเมล็ดพันธุ์ถูกกระตุ้นให้ทำงานโดยการเข้าไปของน้ำ สาร amylopectin และเอนไซม์ glucosidase จะทำงานทันที รวมไปถึงเอนไซม์ amylase, ribonuclease, protease และ lipase จะถูกสร้างขึ้นด้วย หลังจากนั้นสารอาหารที่เมล็ดพันธุ์เก็บสะสมไว้ในส่วนเนื้อเยื่อสะสมอาหาร จะถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ที่สร้างขึ้นมา คาร์โบไฮเดรตจะถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ hydrolase จากรูปน้ำตาลที่ละลายไม่ได้เป็นรูปน้ำตาลที่ละลายได้ โปรตีนถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ protease ได้กรดอะมิโน ส่วนไขมันนั้นจะถูกย่อยโดยเอนไซม์ lipase ได้กรดไขมันและกลีเซอรอล (โสภิตา, 2546) ซึ่งในเมล็ดพันธุ์ข้าวนั้นสารอาหารจะถูกเก็บสะสมไว้ในเอนโดสเปิร์ม และจะถูกเคลื่อนย้ายไปยังเอ็มบริโอเพื่อสร้างพลังงาน และสร้างเอนไซม์เพื่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อน ดังนั้นการงอกของเมล็ดข้าวจึงอาศัยสารอาหารที่สะสมภายในเมล็ดในการเจริญของต้นอ่อนก่อนเป็นส่วนใหญ่ จึงทำให้ผลการงอกของเมล็ดไม่แตกต่างกัน

เมื่อพิจารณาความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ระหว่างชุดการทดลองที่เติม PGA และเซลล์ *B. subtilis* เปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่า PGA มีแนวโน้มทำให้ความแข็งแรงของต้นกล้าข้าวมีความแข็งแรงดีที่สุด ทั้งนี้อาจมีสาเหตุมาจากขณะเกิดการงอกของยอดอ่อนและแทงส่วนรากออกมา รากต้องดูดน้ำและแร่ธาตุรวมถึงสารอื่นๆที่อยู่บริเวณรอบรากจากภายนอกส่งไปยังใบเลี้ยงและยอดอ่อน ทำให้ PGA ซึ่งมีความสามารถในการดึงดูดประจุบวกและเป็นแหล่ง

ไนโตรเจนมีส่วนร่วมในการส่งเสริมการเจริญของต้นกล้าข้าว (Wang *et al.*, 2008) จึงทำให้เมล็ดที่ได้รับ PGA มีแนวโน้มได้รับการกระตุ้นให้ต้นกล้าข้าวเจริญเติบโตดีกว่าชุดทดสอบอื่นๆ

5.1.2 ผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นกล้าข้าวในระดับห้องปฏิบัติการ ระยะเวลา 21 วัน

5.1.2.1 การเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าว

PGA มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญและพัฒนาการของต้นกล้าข้าวสูงที่สุด ในขณะที่เซลล์ *B. subtilis* ถึงแม้จะมีประสิทธิภาพไม่มากเท่า PGA แต่ก็มีแนวโน้มที่ดีต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าว มีรายงานว่า *B. subtilis* หลายสายพันธุ์เป็นแบคทีเรียบริเวณเขตรากพืชที่มีปฏิสัมพันธ์กับพืชโดยมีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตพืช (PGPR, plant growth promoting rhizobacteria) (Xie *et al.*, 2014) เช่น *B. subtilis* OKB105 โดยพืชจะผลิตสารประกอบต่างๆ ที่ PGPR สามารถนำไปใช้ประโยชน์เป็นแหล่งพลังงานได้ เช่น คาร์โบไฮเดรตและกรดอะมิโนต่างๆ ส่วน PGPR จะผลิตฮอร์โมนพืชและเพิ่มปริมาณธาตุอาหารพืชในดิน (Idriss *et al.*, 2002) ทำให้พืชสามารถเจริญเติบโตได้ดี ซึ่ง PGPR สายพันธุ์ OKB105 มียีน *yecA* (ทำหน้าที่ผลิต putative amino acid/ polyamine permease) และ *speB* (ทำหน้าที่ผลิต agmatinase) ซึ่ง polyamine ที่มีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นให้พืชทนต่อสภาวะเครียดต่างๆ เช่น acidic และ oxidative stresses รวมทั้งมีผลในการยับยั้งการผลิตเอทิลีนซึ่งทำหน้าที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช (Xie *et al.*, 2014) อีกทั้ง *B. subtilis* ยังผลิตสารระเหย เช่น 3-hydroxy-2-butanone และ 2,3-butanediol ในระบบภูมิคุ้มกันพืช (Ryu *et al.*, 2003) นอกจากยีน *spe* ของ *B. subtilis* จะมีหน้าที่ในการผลิตหรือปลดปล่อยโพลีเอมีนให้พืชทนต่อสภาวะเครียดโดยตรงแล้ว ยังทำหน้าที่โดยอ้อมที่มีต่อการสร้างไบโอฟิมพ์ซึ่งเป็นโครงสร้างที่สามารถปกป้องพืชจากการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรค (Chen *et al.*, 2012) นอกจากนี้แบคทีเรียในกลุ่มของ *Bacillus* sp. จะผลิตสารในกลุ่มลิโปเปปไทด์ โดยมีไขมันจับอยู่กับสายเปปไทด์ เป็นสารลดแรงดึงผิวชีวภาพที่มีประสิทธิภาพสูง (Besson *et al.*, 1992) นอกจากสารในกลุ่มลิโปเปปไทด์แล้ว สารทุติยภูมิยังประกอบไปด้วยฮอร์โมนต่างๆ เช่น IAA โดยจุลินทรีย์สามารถสังเคราะห์ tryptophan จาก shikimic acid หรือ anthranilate ซึ่งเป็นที่ทราบโดยทั่วไปว่า tryptophan เป็นสารตั้งต้นที่สำคัญในการผลิตออกซิน บทบาทที่สำคัญของ IAA ต่อการ

เจริญเติบโตของพืช ได้แก่ กระตุ้นการแบ่งเซลล์ เร่งการขยายขนาดเซลล์ ควบคุมการแตกราก ยับยั้งการเจริญของตาข้าง ป้องกันการร่วงของใบ กิ่งและผล แบคทีเรียจะเปลี่ยน tryptophan ซึ่งเป็นสารประกอบที่มี indole nucleus ไปเป็น indole-3-pyruvic acid และ indole-3-acetaldehyde แล้วพืชจะเปลี่ยนสารนี้เป็น IAA อีกที (Gong *et al.*, 2015) ในขณะที่ PGA ให้ผลการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวดีกว่า เนื่องจากเป็นสารทุติยภูมิที่ *B. subtilis* เริ่มสร้างเมื่อเข้าสู่ระยะ stationary และปลดปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ในขณะที่ยังมีชีวิตอยู่ในรูปของสารประกอบ (พิชญ์นรี, 2549) ที่มีโครงสร้างที่แน่นอนจึงส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืชได้ง่าย โดย PGA จะกระตุ้นการแสดงออกของสาร Brassinosteroid (BRs) ในเมล็ดที่งอก โดยสาร BRs เป็นสารกลุ่มสเตอรอยด์ที่มีผลออกฤทธิ์ต่อการเจริญเติบโตของพืช มีการออกฤทธิ์ที่สัมพันธ์กับการสร้างออกซินในธรรมชาติ การกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของราก กระตุ้นการขยายขนาดตัวตามแนวยาวของเซลล์ ส่งผลให้มีการสร้างเซลล์ลำต้นที่ดีขึ้น โดย PGA จะไปควบคุมยีน *dwf4* ซึ่งเป็นยีนที่มีส่วนร่วมในการสังเคราะห์สาร BRs (Zongqi *et al.*, 2016) ซึ่งการกระตุ้นโดยสาร BRs สอดคล้องกับผลการทดลองในครั้งนี้กล่าวคือ PGA ส่งเสริมให้การเจริญเติบโตของลำต้นข้าวเพิ่มสูงขึ้น ในทางกลับกันทำให้ความยาวรากลดลง อย่างไรก็ตามจากการสังเกตุพบการกระตุ้นการเกิดรากแขนงมากขึ้นอย่างชัดเจน โดยเกิดจากสาร BRs และฮอร์โมนพืช auxin ทำงานร่วมกันในการส่งเสริมการเกิดรากแขนง โดยสาร BRs จะควบคุมการเคลื่อนย้ายของ auxin (Bao *et al.*, 2004)

นอกจาก PGA จะกระตุ้นการแสดงออกของสาร BRs และฮอร์โมนพืช auxin แล้วยังมีรายงานว่า PGA ช่วยในการเพิ่มการดูดซึมไนโตรเจนในพืช (Wang *et al.*, 2008) ซึ่งไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบที่สำคัญสำหรับพืชในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและเป็นสิ่งที่จำเป็นสำหรับพืชในการเพิ่มผลผลิต ทำให้ PGA สามารถเพิ่มปริมาณน้ำหนักแห้งของรากและลำต้นต้นกล้าแตงกวาได้ในสภาพแวดล้อมที่ขาดสารอาหาร (Xu *et al.*, 2013) โดยการดูดซึมไนโตรเจนไปใช้ถือว่าเป็นสิ่งสำคัญในการพัฒนา และการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งพืชจะไม่สะสมแอมโมเนียไอออนในเซลล์แต่จะเป็นแอมโมเนียไอออนให้เป็นสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจน โดยกระบวนการ ammonia assimilation จากรายงานของ Huangpu *et al.*, (1996) อาศัยการทำงานของเอนไซม์ 2 ชนิด เอนไซม์ชนิดแรก คือ glutamine synthetase ซึ่งพบในคลอโรพลาสต์ และไซโตซอลของเซลล์ใบและเซลล์ราก และ glutamate synthase (หรือ glutamine: 2-

oxoglutarate aminotransferase) พบในคลอโรพลาสต์ของเซลล์ใบและใน พลาสมิดของเซลล์ราก เริ่มจากแอมโมเนียทำปฏิกิริยากับกลูตาเมตโดยเอนไซม์ glutamine synthetase ได้กลูตามีนซึ่งปฏิกิริยานี้ต้องการพลังงานส่วนกลูตามีนที่เพิ่มขึ้นจะไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ glutamate synthase ทำหน้าที่ในการเคลื่อนย้ายหมู่เอไมด์จากกลูตามีนให้ 2-oxoglutarate ให้เป็นกลูตาเมต 2 โมเลกุล โดยมีสารที่ให้อิเล็กตรอน คือ ferredoxin (ในเซลล์ที่มีการสังเคราะห์แสง) หรือ NADH (ในเซลล์ที่ไม่มีการสังเคราะห์แสง) เอนไซม์ตัวที่สอง คือ glutamate dehydrogenase ซึ่งพบในคลอโรพลาสต์และไมโทคอนเดรีย โดยเร่งปฏิกิริยาการรวมตัวกันของแอมโมเนียกับ 2-oxoglutarate เปลี่ยนไปเป็นกลูตาเมต สารที่ให้อิเล็กตรอนคือ NADPH หรือ NADH (ศรีสม, 2549ข; Hopkins, 1999; Taiz and Zeiger, 2002) ซึ่งกลูตาเมตมีองค์ประกอบของไนโตรเจนจึงถูกนำไปใช้ในการเจริญเติบโตของข้าว

เนื่องจากองค์ประกอบของกรดอะมิโนสามารถเป็นทั้งแหล่งคาร์บอน และแหล่งไนโตรเจนที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยการเพิ่มขึ้นของกรดอะมิโนบางชนิด เช่น อาจีนีน แอสพาราจีน และกลูตามีนในดิน มีความสามารถที่จะไปขัดขวางกิจกรรมของ nitrate reductase ซึ่งมีผลอย่างมากต่อการเจริญเติบโตของรากในส่วนของโคนรากและปลายราก (Heimer and Filner, 1970; 1971) โดยการเพิ่มขึ้นของกรดอะมิโนมาจากการสังเคราะห์กลูตาเมต (ที่ได้จากกระบวนการ ammonia assimilation) ซึ่งกลูตาเมตจะถูกเปลี่ยนไปเป็นกลูตามีนโดยอาศัยเอนไซม์ glutamine synthetase จึงทำให้กลูตามีนมีปริมาณการสังเคราะห์ที่เพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้กลูตามีนยังเป็นแหล่งไนโตรเจนที่มีความสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์ฮอร์โมนออกซิน (Schubert, 1983) ที่มีคุณสมบัติเป็นสารเร่งการเจริญเติบโต มีผลกระตุ้นการขยายขนาดของเซลล์ การยืดตัวของเซลล์และยังมีผลกระตุ้นการเกิดราก รวมถึงมีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตในส่วนต่างๆ ของพืช เมื่อได้รับในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมจะกระตุ้นการเจริญของลำต้น ในขณะที่รากต้องการออกซินในปริมาณที่น้อยมาก เมื่อได้รับในปริมาณมากจะส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญของราก (นพดล, 2537) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Vassilev *et al.*, (1997) ที่พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของกลูตามีน (มากกว่า 1 มิลลิโมลาร์) ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการพัฒนาของระบบราก เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับผลการทดลองที่ได้ในครั้งนี้ที่พบว่าความเข้มข้นของ PGA ที่ระดับต่ำทำให้รากมีการเจริญเติบโตที่ดี แต่เมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นส่งผลให้เกิดการยับยั้งการพัฒนาของระบบราก ปรากฏการณ์นี้สอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Walch-Liu *et al.*, (1994) ซึ่งได้ศึกษาผลของสาร L-glutamate ซึ่งเป็นหน่อยย่อยของ PGA ต่อเนื้อเยื่อบริเวณภายนอกของต้น *Arabidopsis thaliana* พบว่าสาร L-glutamate มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของราก

ปฐมภูมิ (primary root) บริเวณปลายรากเนื่องจากบริเวณนี้เป็นบริเวณที่มีความสามารถในการขยายตัว (zone of elongation) จึงเป็นเป้าหมายแรกที่ L-glutamate จะไปยับยั้งและพบว่ามีความไวต่อรากที่เจริญเต็มที่ (ความยาวมากกว่า 5 มิลลิเมตร) โดยจากผลการทดลองในครั้งนี้ที่พบว่า PGA ทุกระดับความเข้มข้นส่งผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของรากปฐมภูมิในต้นกล้าข้าว ในขณะที่ Sivaguru *et al.,* (2003) ได้รายงานว่า L-glutamate 5 มิลลิโมลาร์ สามารถยับยั้งการยืดตัวของเซลล์ในบริเวณส่วนปลายของเซลล์ราก อย่างไรก็ตาม Kim *et al.,* (2010) ระบุว่าต้นกล้าที่ได้รับสารละลาย L-glutamate เพียง 0.4 มิลลิโมลาร์ จะทำให้รากหยุดการเจริญเติบโตถึงร้อยละ 60 โดยที่ความเข้มข้นของสารละลาย L-glutamate มากกว่า 1 มิลลิโมลาร์ จะมีความสามารถในการหยุดการเจริญเติบโตของราก *A. thaliana* ได้ถึงร้อยละ 100 มากไปกว่านั้น Sanchez-Calderon *et al.*, (2005) ยังรายงานว่ารากของ *A. thaliana* ที่ได้รับสารละลาย L-glutamate เป็นระยะเวลา 3 วัน จะไปหยุดการเจริญเติบโตของราก โดยทำให้เนื้อเยื่อปลายรากสูญเสียความสามารถในการเจริญเติบโต

นอกจากนั้น PGA จะทำหน้าที่เป็นสัญญาณส่งผลต่อไปยังการเจริญเติบโตของรากปฐมภูมิและเป็นสัญญาณที่ทำให้เกิดการกระตุ้นรากแขนงผ่านการเปลี่ยนแปลงในกระบวนการเมตาบอลิซึมของพืช โดยมีรายงานว่า L-glutamate สามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของรากแขนง (lateral root) ที่อยู่บริเวณใกล้ปลายรากปฐมภูมิ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองในครั้งนี้ โดยจากการสังเกตพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ PGA มากขึ้น จะมีผลต่อความยาว ความหนาแน่นของรากขนอ่อนและรากแขนงเพิ่มขึ้นด้วย

5.1.2.2 สารชีวเคมีของต้นกล้าข้าว

จากการทดลองข้างต้นพบว่า PGA และเซลล์ *B. subtilis* มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตต้นกล้าข้าวมากกว่าชุดควบคุมและชุดควบคุมที่เติมสารอาหาร Hoagland solution การตรวจวัดปริมาณสารชีวเคมีภายในเซลล์ของข้าวจึงมีความสำคัญเพื่อเป็นเครื่องพิสูจน์ว่าการเจริญเติบโตที่เพิ่มสูงขึ้นมาจากการเปลี่ยนแปลงของสารชีวเคมีภายในเซลล์ ผลการทดลองพบว่าปริมาณน้ำตาล ปริมาณกรดอะมิโนอิสระรวม ปริมาณคลอโรฟิลล์รวมและปริมาณแคโรทีนอยด์ในเซลล์ข้าวที่ได้รับ PGA และเซลล์ *B. subtilis* เพิ่มสูงขึ้น ทั้งนี้อาจมีสาเหตุหนึ่งมาจากการที่ PGA นั้นประกอบขึ้นด้วย L-glutamate ซึ่งเป็นแหล่งไนโตรเจนชั้นดีสำหรับการเจริญเติบโตของพืช ประกอบกับข้าวเป็นพืชที่ต้องการไนโตรเจนในปริมาณที่สูงเพื่อใช้ในการส่งเสริมการเจริญเติบโต อีกทั้งไนโตรเจนยังเป็นองค์ประกอบสำคัญของสารชีวโมเลกุลหลายชนิดในพืช และที่มีบทบาทต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพผลผลิตของข้าวคือ

การเป็นองค์ประกอบของคลอโรฟิลล์ (ยงยุทธ, 2552) ซึ่งสารสีเขียวที่พบในส่วนต่างๆ ของพืช เห็นได้จากผลการศึกษาเมื่อข้าวได้รับ PGA ทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์รวมที่เพิ่มสูงขึ้นอย่างชัดเจนแตกต่างจากต้นกล้าข้าวที่ไม่ได้รับ PGA เนื่องจากพืชสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรตจากกระบวนการสังเคราะห์แสง โดยมีคลอโรฟิลล์เป็นโมเลกุลที่ดูดซับพลังงานแสง ซึ่งอัตราการสังเคราะห์แสงที่ต่ำจะทำให้พืชมีการเจริญเติบโตช้า ซึ่งไกซีนและกรดกลูตามิกเป็นสารพื้นฐานในกระบวนการสร้างเนื้อเยื่อและการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ กล่าวคือ การสร้างคลอโรฟิลล์เริ่มจากการใช้กลูตาเมตซึ่งเป็นสารตั้งต้น โดยพืชจะเปลี่ยนกลูตาเมตให้เป็น 5-aminolevulinic acid (ALA) และเปลี่ยนไปเป็นคลอโรฟิลล์ อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าต้นกล้าข้าวสาลีที่ปลูกในสภาวะปกติจะตอบสนองต่อการสังเคราะห์แสงมากกว่าการใช้กรดอะมิโน (Cha-um *et al.* 2007; Azooz *et al.*, 2004)

นอกจากนี้การที่ PGA มีกรดอะมิโนเป็นองค์ประกอบที่สำคัญ ซึ่งกรดอะมิโนมีส่วนสำคัญในการส่งเสริมและกระตุ้นให้รากพืชแข็งแรง ด้วยเหตุนี้พืชที่จึงมีอัตราการสังเคราะห์แสงเพิ่มมากขึ้น และมีระบบรากที่แข็งแรง สามารถดูดซึมอาหารเข้าสู่ส่วนลำต้นและใบได้อย่างรวดเร็ว จึงส่งผลให้พืชมีอาหารสะสมเพื่อโครงสร้างส่วนต่างๆของพืช และสลายเป็นพลังงานเพื่อการเจริญเติบโต เมื่อมีอัตราการสังเคราะห์แสงที่เพิ่มขึ้น พืชจะมีการสะสมปริมาณน้ำตาลและกรดอะมิโนภายในเนื้อเยื่อเซลล์มากขึ้น (ยงยุทธ, 2552)

5.1.3 ผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางด้านเคมีและกายภาพของดิน

5.1.3.1 คุณสมบัติทางด้านเคมีของดิน

จากการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของดินหลังการใส่ PGA และเซลล์ *B. subtilis* พบว่าดินในกระถางที่ใส่ PGA และเซลล์ *B. subtilis* มีธาตุอาหารอยู่ในปริมาณที่พอเพียงต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยเฉพาะเซลล์ *B. subtilis* มีระดับ pH ของดินลดลงเล็กน้อย ซึ่งเกิดจากดินมีปริมาณการย่อยสลายของอินทรีย์วัตถุที่เพิ่มมากขึ้น โดยดินบริเวณที่มีการย่อยสลายของอินทรีย์วัตถุจะมี pH ต่ำกว่าดินปกติประมาณ 1-2 หน่วย pH (ปรัชญา และคณะ, 2537) การที่เซลล์ *B. subtilis* มีการย่อยสลายของอินทรียวัตถุที่สูงกว่า PGA นั้นอาจเกิดจากการเพิ่มจำนวนของเซลล์ที่เพิ่มมากขึ้น โดยจากการทดลองของบูรณี และคณะ (2553) ได้ทำการเติมเซลล์ *B. subtilis* ความเข้มข้น 1.0 x 10^8 cfu ต่อมิลลิลิตร ลงในกระถางดิน พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 15 วัน จำนวนเซลล์เพิ่มขึ้น 3.45 x 10^4 cfu ต่อดิน 1 กรัม และเวลาผ่านไป 30 วัน จำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นเป็น 5.34 x 10^5 cfu ต่อดิน 1 กรัม การเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์จึงส่งผลให้เกิดการย่อย

สลายของอินทรียวัตถุที่มากขึ้นด้วย ซึ่งอินทรียวัตถุในดินเกิดมาจากอินทรียสารทุกชนิดที่มีอยู่ในดิน รวมถึงอินทรีย์สารที่รากพืชปลดปล่อยออกมา และที่จุลินทรีย์ดินสังเคราะห์ขึ้นมา อินทรียวัตถุในดินจึงประกอบด้วยอินทรียสารหลายชนิด คือ สารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจน สารประกอบอินทรีย์ฟอสฟอรัส สารประกอบอินทรีย์กำมะถัน เป็นต้น เมื่ออินทรียวัตถุสลายตัวโดยจุลินทรีย์ถึงขั้นสุดท้ายจะได้ฮิวมัส ซึ่งเป็นสารประกอบอินทรีย์เชิงซ้อน ที่ประกอบขึ้นจากสารกลุ่มต่างๆ เช่น methyl, phenolic, quinone และ carboxylic groups ที่มีอยู่ในดิน เมื่ออินทรียวัตถุในดินมีการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ที่มากขึ้น ปริมาณไนโตรเจนก็ถูกปลดปล่อยออกมามากขึ้น (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2544) โดยทั่วไปอินทรียวัตถุในดินจะมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบประมาณร้อยละ 5 และมีเพียงร้อยละ 5 เท่านั้นที่จะเป็นประโยชน์ต่อพืช ซึ่งไนโตรเจนในอินทรียวัตถุของดินนี้ต้องผ่านกระบวนการ mineralization, ammonification และ nitrification ก่อน พืชจึงจะนำไปใช้ประโยชน์ได้ กระบวนการต่างๆ เหล่านี้จะเกิดเร็วหรือช้าก็ขึ้นอยู่กับปริมาณจุลินทรีย์ในดินและสภาพของดินที่เอื้อต่อการทำงานของจุลินทรีย์ ในขณะที่การใส่ PGA ให้ปริมาณไนโตรเจนไม่มากเท่า *B. subtilis* แต่ก็มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น เนื่องจาก PGA เป็นแหล่งไนโตรเจนที่สำคัญในกระบวนการเมตาลอลิซึมของพืช ถึงอย่างไรก็ตามก็ต้องอาศัยจุลินทรีย์ในดินในการเปลี่ยนรูปของไนโตรเจนให้อยู่ในรูปแอมโมเนียม (NH_4^+) เกิดจากกระบวนการ ammonification และในรูปของไนเตรท (NO_3^-) พืชถึงจะนำไปใช้ประโยชน์ได้

อีกทั้งการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารอินทรียวัตถุและปริมาณไนโตรเจนในดินนั้น เกิดจากที่ภายหลังดินแห้งได้รับความชื้น กระบวนการ N-minerelization จะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยส่วนหนึ่งของไนโตรเจนที่ปลดปล่อยเกิดจากเซลล์จุลินทรีย์ที่ตายแล้ว (Cessay and Uphoff, 2003) และประชากรของจุลินทรีย์ดินที่เพิ่มขึ้นมาใหม่ภายหลังที่ดินได้รับน้ำที่มีส่วนส่งเสริมให้ N-minerelization เกิดขึ้นได้ดี โดยการทำให้ดินอยู่ในสภาพเปียกและแห้งสลับกัน ทำให้ดินในประเทศญี่ปุ่นมีความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารในดินเพิ่มขึ้น Inubushi and Wada (1987) และยังทำให้สารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนที่ถูกยึดไว้ที่ผิวของอนุภาคดินถูกปลดปล่อยออกและเป็นประโยชน์ได้ง่ายขึ้น (Seneviratne and Wild, 1985) นอกจากนี้ยังทำให้พื้นผิวของสารอินทรีย์เพิ่มขึ้นอีกด้วย (Cabrera, 1993) จึงทำให้ปริมาณไนโตรเจนรวมไปถึงปริมาณสารอินทรีย์ในดินเพิ่มขึ้น

ปริมาณอินทรียวัตถุของดินมีปริมาณเพิ่มขึ้น และการเพิ่มขึ้นของอินทรียวัตถุยังส่งผลให้ค่าการแลกเปลี่ยนประจุบวกของดินมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากฮิวมัสมีค่าการแลกเปลี่ยนประจุบวกที่สูงมาก ดังนั้นดินที่มีอินทรียวัตถุสูงก็ส่งผลให้ค่าการแลกเปลี่ยนประจุ

บวกสูงไปด้วย เพราะมีประจุลบที่เกิดจากการสลายตัวอยู่เป็นจำนวนมาก จึงทำให้ฮิวมัสมีแคตไอออนต่างๆ ถูกดูดยึดไว้เป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะสามารถดูดยึดไอออนบวก เช่น Ca^{2+}, Mg^{2+}, K^{+} และ Na^{+} เอาไว้ที่ผิวได้ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองในครั้งนี้ที่พบว่าปริมาณอินทรียวัตถุสูงขึ้น และส่งผลให้ปริมาณของไอออนบวกที่ถูกดูดยึดไว้ที่ผิวดินสูงขึ้นด้วย นอกจากนี้ยังรวมถึงการขังน้ำ ซึ่งชูชาติ (2532) ได้อ้างถึงรายงานของ Ponnamperuma (1972) พบว่าเมื่อดินอยู่ในสภาพน้ำขัง ปริมาณของประจุบวกที่เป็นเบสทั้งหมดซึ่งประกอบด้วย Ca^{2+}, Mg^{2+}, K^{+} และ Na^{+} จะเพิ่มปริมาณขึ้น การที่ประจุบวกเบสเพิ่มขึ้น เม็ดดินอยู่ในสภาพรีดิวส์ เป็นผลทางอ้อมของอำนาจการทำละลายของ CO_2 ที่เกิดและสะสมอยู่ในดินเป็นจำนวนมาก ซึ่งทำให้ประจุบวกพวกเบสซึ่งเป็นองค์ประกอบของแร่ปฐมภูมิและทุติยภูมิต่างๆละลายออกมา นอกจากนี้จะมีปริมาณของ Fe^{2+} และ Mn^{2+} เพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมาก เมื่อดินอยู่ในสภาพรีดิวส์ก็สามารถไล่ที่ประจุบวกเบสที่อยู่ในรูปที่แลกเปลี่ยนได้ให้ออกมาอยู่ในสารละลายดินเพิ่มขึ้น โดยที่ธาตุอาหารในดินที่อยู่ในรูปของสารละลายดินจะถูกดูดไปโดยรากพืช ธาตุอาหารเหล่านี้ก็จะถูกทดแทนได้จากธาตุต่างๆ ที่ดูดซับอยู่ที่ผิวของอนุภาคดิน และที่ฮิวมัสโดยกระบวนการแลกเปลี่ยนประจุหรือโดยการสลายตัวอย่างช้าๆ ของแร่ธาตุในดิน และโดยการสลายตัวอย่างรวดเร็วของอินทรีย์วัตถุในดิน อย่างไรก็ตามอัตราการทดแทนของธาตุเหล่านี้ช้ากว่าอัตราที่พืชดูดไปจากดินเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตและสร้างผลผลิต การใส่ PGA และเซลล์ *B. subtilis* จึงเป็นการเพิ่มสารอินทรียวัตถุและเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ในการช่วยเร่งการย่อยสลายสารอินทรีย์ในดิน การเปลี่ยนแปลงธาตุอาหาร ทำให้ธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืชอยู่ในปริมาณและอัตราส่วนที่เหมาะสม ดินที่ให้ธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืชย่อมเป็นดินที่มีความอุดมสมบูรณ์สูง

5.1.3.2 คุณสมบัติทางด้านกายภาพของดิน

ดินที่ใช้ในการทดลองนี้คือดินจากพื้นที่นาชุดกำแพงแสน ผลจากการใส่สารปรับปรุงดินชนิดต่างๆ ได้แก่ การใส่ PGA ร่วมกับปุ๋ยเคมีครึ่งหนึ่งของปริมาณที่ควรใช้จริง การใส่เซลล์ *B. subtilis* ร่วมกับปุ๋ยเคมีครึ่งหนึ่งของปริมาณจริง และชุดควบคุมที่ไม่ใส่สารปรับปรุงดิน จะเห็นได้ว่าการใส่ PGA ร่วมกับปุ๋ยเคมีครึ่งหนึ่งของปริมาณจริง สามารถช่วยให้ดินมีความชื้นในดินเพิ่มขึ้นสูงขึ้น เนื่องจากเป็นสารพอลิเมอร์ มีสมบัติช่วยเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำของดินที่อุ้มน้ำได้น้อย โดยสารพอลิเมอร์แห้ง 1 กรัม จะอุ้มน้ำได้ประมาณ 500 มิลลิลิตร เมื่อให้เวลามากพอซึ่งการดูดน้ำจะเป็นไปอย่างรวดเร็วมากใน 5 นาทีแรกคือ ประมาณ 400 เท่า ส่วนที่เหลือจะดูดซึมอย่างช้าๆ แล้วพองขึ้นจนได้ประมาณ 500 เท่า และถึงแม้จะทิ้งไว้เป็นเวลานาน

มากกว่านี้ก็ไม่สามารถพองได้อีกนั่นคือถึงจุดอิ่มตัว พอลิเมอร์นั้นมีแรงยึดน้ำที่อุ้มไว้ต่ำกว่าแรงดึงจากรากพืช รากสามารถเจริญแทงผ่านทะลุเข้าไปในพอลิเมอร์ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานที่อ้างอิงโดย Zhang *et al.*, (2012) ศึกษาผลของ PGA ต่อคุณสมบัติในการเป็นเรซินในการกักเก็บน้ำในดิน จากผลการทดลองพบว่าปริมาณน้ำที่เก็บสะสมไว้ในดินมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างมากเมื่อมีการเติม PGA ทำให้น้ำที่สะสมอยู่ในดินที่มี PGA จะสามารถดูดซับน้ำได้ดีมากกว่าชุดควบคุม นั้นแสดงให้เห็นว่า PGA ไม่เพียงแต่จะช่วยเพิ่มปริมาณน้ำได้อย่างมีนัยสำคัญแต่ยังสามารถเก็บรักษาน้ำ ช่วยยับยั้งการระเหยของน้ำในดินและยืดระยะเวลาการกักเก็บน้ำของดิน อีกทั้งยังช่วยลดความหนาแน่นรวมของดิน และความพรุนรวมในดินเนื้อหยาบ ทำให้เนื้อดินมีเนื้อหยาบมากขึ้น ส่งผลให้ดินรับน้ำผ่านผิวได้ดีเช่นกัน เช่นเดียวกับรายงานของ Li *et al.* (2011) พบว่า PGA มีคุณสมบัติในการเปลี่ยนแปลงด้านกายภาพของดิน ทั้งความชื้นในดิน ความหนาแน่นรวมของดินและความพรุนรวมของดิน ซึ่งการปรับปรุงและรักษาคุณภาพของดิน จุลินทรีย์ในดินเป็นสิ่งสำคัญในการรักษาคุณสมบัติเหล่านี้ เช่น แบคทีเรีย แอคติโนมัยซีท รวมทั้งสัตว์ในดิน และในดินที่มีความหลายหลายทางชีวภาพของจุลินทรีย์สูงจะเป็นประโยชน์สำหรับการปรับปรุงเสถียรภาพของผลผลิตและความยั่งยืนของระบบนิเวศ โดย Ibekwe *et al.*, 2002; Setala and McLean, 2004 ได้ศึกษาความหลายของจุลินทรีย์ในดิน โดยพบว่าจุลินทรีย์ในดินมีปริมาณเพิ่มขึ้นหลังจากการเติม PGA ลงในดินซึ่งชี้ให้เห็นว่าความมั่งคงและเสถียรภาพของระบบนิเวศของดินดีขึ้นได้ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองครั้งนี้ที่พบว่าคุณสมบัติทางด้านกายภาพ และเคมีของดินมีแนวโน้มดีขึ้นหลังจากการเติม PGA และเซลล์ *B. subtilis* ลงไป ดังนั้น PGA และเซลล์ *B. subtilis* สามารถเป็นทางเลือกที่ดีสำหรับการเพิ่มผลผลิตของพืชและความมั่งคงของระบบนิเวศของดิน

5.1.4 ผลของ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ต่อการเจริญ พัฒนาการ และผลผลิตของต้นข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในระดับโรงเรือน

5.1.4.1 การเจริญเติบโตของข้าว

จากข้อมูลค่าเฉลี่ยความสูง ความยาวราก จำนวนการแตกกอ และน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของข้าว ในระยะข้าวแตกกอสูงสุด พบว่าการเติม PGA ลงไปในดินมีผลทำให้ข้าวมีความสูง ความยาวรากและจำนวนการแตกกอมากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งทำให้ต้นข้าวมีน้ำหนักแห้งมากที่สุดด้วย สอดคล้องกับการทดลองของ Sims *et al.*, (1967) ที่ได้รายงานว่าไนโตรเจนมีผลทำให้ข้าวมีลำต้นสูงขึ้นในระยะแรกๆ ของการเจริญเติบโต ทั้งนี้เพราะ

ไนโตรเจนช่วยเร่งการเจริญเติบโตของข้าว และการใส่ PGA ก็ทำให้ข้าวสามารถดูดซึมไนโตรเจนไปใช้ได้ง่ายและมากขึ้น เพราะ PGA เป็นแหล่งไนโตรเจนจะแตกตัวให้ NH_4^+ ซึ่งอยู่ในรูปที่พืชนำไปใช้ได้ทันที โดยอาศัยจุลินทรีย์ในดินช่วยในการปลดปล่อยธาตุอาหาร จึงส่งผลช่วยให้ระบบรากแข็งแรง กลไกการดูดน้ำและสารอาหารจึงมีประสิทธิภาพ ทำให้ข้าวเจริญเติบโตได้รวดเร็วและแข็งแรง ในขณะที่การใส่เซลล์จุลินทรีย์ลงไปในดิน ทำให้ในดินบริเวณนั้นมีความหนาแน่นของจุลินทรีย์เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งทำให้กิจกรรมในกระบวนการต่างๆ จากจุลินทรีย์มีประสิทธิภาพมากขึ้น ทำให้มีการปลดปล่อยธาตุอาหารในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของพืช (available form) เพิ่มขึ้นด้วย (Loehr, 1977) ซึ่งถือว่าเป็นการเพิ่มไนโตรเจนให้แก่ดินเช่นเดียวกัน แต่การที่พืชจะนำไนโตรเจนจากเซลล์จุลินทรีย์ไปใช้ได้ ต้องมีการเปลี่ยนรูปของสารประกอบไนโตรเจนในเซลล์จุลินทรีย์ให้เป็น NH_4^+ ก่อน อย่างไรก็ตามในระยะแรกๆ กิจกรรมของจุลินทรีย์ในการเปลี่ยนรูปสารประกอบไนโตรเจนอาจยังไม่มากนักจึงทำให้ปริมาณ NH_4^+ ในดินเพิ่มขึ้นไม่มาก ข้าวจึงอาจนำเอาไนโตรเจนจากเซลล์จุลินทรีย์ไปใช้ได้น้อย ทำให้การเจริญเติบโตของข้าวในชุดการทดลองที่ได้รับ PGA สูงกว่าชุดการทดลองที่ได้รับเซลล์ *B. subtilis*

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า หากในดินมีการเพิ่มไนโตรเจนที่เป็นประโยชน์ลงไปและอยู่ในรูปที่ข้าวสามารถดูดใช้ได้ง่าย จะทำให้ข้าวมีการเจริญเติบโตเร็ว เพิ่มความสูง เพิ่มจำนวนการแตกกอ เป็นผลให้ข้าวมีน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้นตามไปด้วย โดยข้าวที่ได้รับธาตุไนโตรเจนในระดับที่เพียงพอในช่วงระยะการตั้งตัวจนถึงการแตกกอจะทำให้ข้าวมีรากแขนงมากขึ้น (Dobermann and Fairhurst, 2000) ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัย Xu *et al.*, (2013) ที่ได้ศึกษาหาผลของ PGA ต่อผลผลิตประสิทธิภาพในการใช้ไนโตรเจน และจุลินทรีย์ในดิน โดยทำการศึกษาการปลูกข้าวสาลีในกระถางและแปลงนาในช่วงเวลาเดียวกัน จากผลการทดลองพบว่าการเติม PGA ทำให้ข้าวสาลีมีจำนวนกอ ปริมาณเมล็ดต่อรวง จุลินทรีย์ในดิน และเอนไซม์ในดินเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อทำการทดลองในระดับแปลงนาพบว่าการเติมสาร PGA ให้ผลผลิตสูงที่สุด 7,435.69 กิโลกรัมต่อเฮกเตอร์ ซึ่งปริมาณผลผลิตนี้สูงกว่าในชุดควบคุมที่ใช้ยูเรียถึงร้อยละ 7.17 อีกทั้ง PGA ยังมีประสิทธิภาพในการชักนำให้มีการดูดซึมไนโตรเจนเพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 11.81–14.00 และร้อยละ 11.30 –11.38 ในระดับกระถางและแปลงนา ตามลำดับ ในระยะที่มีการเติม PGA พบว่าธาตุไนโตรเจนในดินจะถูกตรึงโดยจุลินทรีย์ในช่วงแรกของการเจริญของข้าวสาลี และจะถูกปล่อยออกมาอย่างช้าๆ ในระยะหลังการเจริญเมื่อการเจริญเติบโตของข้าวอยู่ในช่วง vegetative growth–reproductive phase ต้นข้าวจะมี

การดูดไนโตรเจนไปใช้ในการเจริญเติบโตและสะสมไว้ในลำต้น ในระยะนี้จะมีการสะสมไนโตรเจนที่ใบสูงสุด โดยร้อยละ 70 จะสะสมที่ใบธงมากที่สุด

5.1.4.2 ผลผลิตข้าว

ภายหลังสิ้นสุดการทดลองสัปดาห์ที่ 16 ทำการเก็บผลผลิตข้าวที่ได้รับสารทดสอบชนิดต่างๆ พบว่าการใส่ PGA และเซลล์ *B. subtilis* ร่วมกับปุ๋ยเคมีในอัตราส่วนครึ่งหนึ่งของปริมาณจริง สามารถให้ผลผลิตสูงกว่าชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียวและชุดการทดลองที่ไม่ใส่ปุ๋ยเคมีอย่างมีนัยสำคัญ โดยเพิ่มขึ้นตั้งแต่ร้อยละ 28–46 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองในการทดลองที่ 4.3 ที่พบว่า PGA ส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวได้ดี จึงส่งผลต่อจำนวนการแตกกอ จำนวนรวง เมื่อข้าวมีจำนวนรวงมาก ข้าวย่อมมีโอกาสสร้างจำนวนดอกได้มาก โดย PGA มีความสามารถที่จะทำให้เกิดเมล็ดได้มากขึ้นตามจำนวนของดอกที่เพิ่มมากขึ้น ดังนั้นจึงทำให้อัตราจำนวนรวงและความยาวของรวงดีกว่า ซึ่งสอดคล้องกับ Zhang *et al.*, (2010) อ้างอิงโดย Zhang *et al.*, (2012) ได้ศึกษาผลของ PGA ต่อการเจริญเติบโตของต้นผักกาดกวางตุ้ง (pak choi) พบว่า PGA สามารถเพิ่มผลผลิตได้มากถึงร้อยละ 30 ในขณะที่ยังสามารถลดปริมาณการใช้ปุ๋ยลงถึงร้อยละ 30 เช่นกัน ดังนั้นแล้ว PGA จึงมีผลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของพืชอย่างมีนัยสำคัญ ในส่วนของน้ำหนัก 100 เมล็ด ซึ่งแสดงถึงขนาดของเมล็ดข้าวนั้น พบว่าทุกชุดการทดลองไม่ทำให้ข้าวมีขนาดเมล็ดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

เมื่อเปรียบเทียบในกลุ่มชุดการทดลองที่ใส่ปุ๋ยเพียงอย่างเดียว พบว่าการผสม PGA ร่วมกับปุ๋ยเคมีตามอัตราส่วนที่ศึกษา สามารถลดการใช้ปุ๋ยเคมีได้เป็นอย่างดี ซึ่งสอดคล้องกับทัศนีย์, (2543) พบว่าการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินโดยการเพิ่มหรือลดอัตราไม่มีผลทำให้ข้าวมีผลผลิตแตกต่างกัน จากการศึกษานี้ พบว่าการลดปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดินทำให้ผลผลิตข้าวเพิ่มขึ้นได้ แต่ต้องใช้ร่วมกับ PGA ซึ่ง PGA ที่ใส่ลงไปนั้นมีผลต่อระบบรากของข้าวทำให้การดูดธาตุอาหารที่ได้จากการปลดปล่อยจากปุ๋ยเคมีของข้าวดีขึ้น โดย PGA สามารถรวมกับธาตุอาหารที่มีประจุบวก ดูดซับและเก็บสะสมธาตุอาหาร เมื่อธาตุอาหารที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของพืชเก็บสะสมในดินมีมาก PGA หรือ L–glutamate จะปลดปล่อยธาตุอาหารออกมาอย่างช้าๆ เพื่อหลีกเลี่ยงการขาดธาตุอาหารของพืช (Wang *et al*, 2012)

5.2 บทสรุป

การเติม PGA และเซลล์ *B. subtilis* ไม่มีผลต่อร้อยละการงอก พลังงานในการงอก และความเร็วในการงอกของเมล็ดข้าวขาวดอกมะลิ 105 แต่มีผลต่อดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้าข้าว นอกจากนี้ PGA ที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ยังส่งผลให้ความยาวลำต้น น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของลำต้นและรากเพิ่มมากขึ้น ความยาวรากลดลงในทางกลับกัน การแตกรากแขนงมากขึ้น รวมถึงส่งผลให้ปริมาณสารชีวเคมีของข้าวเพิ่มขึ้น ได้แก่ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณกรดอะมิโนรวมทั้งหมด ปริมาณคลอโรฟิลล์รวมและปริมาณแคโรทีนอยด์ เป็นต้น

การเติม PGA และเซลล์ *B. subtilis* ลงไปในดิน ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางด้านเคมีของดิน ได้แก่ ค่าการนำไฟฟ้า ปริมาณอินทรียวัตถุในดิน ปริมาณไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม และโซเดียม เป็นต้น และการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางด้านกายภาพของดิน ได้แก่ ความชื้นของดิน ความหนาแน่นรวมของดิน และความพรุนรวมของดิน เป็นต้น

นอกจากนี้เมื่อคุณสมบัติของดินมีแนวโน้มที่ดีขึ้นจึงส่งผลต่อให้การเจริญเติบโตของข้าวดีขึ้นด้วย โดยเฉพาะ PGA ที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยพิจารณาจากความสูงของข้าว จำนวนการแตกกอ น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของข้าวดีขึ้น รวมไปถึงปริมาณผลผลิตที่มากขึ้นด้วย ได้แก่ จำนวนรวง จำนวนเมล็ดข้าว น้ำหนักเมล็ดข้าวมากขึ้น จำนวนเมล็ดลีบลดลง เป็นต้น

จากผลการทดลองดังกล่าวจึงสรุปได้ว่าการเติม PGA ที่ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่งผลต่อการปรับปรุงดินให้มีคุณภาพที่ดีขึ้น ทั้งคุณสมบัติทางด้านเคมีและกายภาพ ทำให้การเจริญเติบโตของต้นข้าวดีขึ้น ปริมาณผลผลิตเพิ่มขึ้น ส่วนเซลล์ *B. subtilis* ดูมีแนวโน้มต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางด้านเคมีและกายภาพของดิน รวมไปถึงการเจริญเติบโตของข้าว และปริมาณผลผลิตที่ดีขึ้นเช่นเดียวกันแต่อาจจะยังไม่ชัดเจน ดังนั้นการใช้ PGA และเซลล์ *B. subtilis* มีศักยภาพที่ดีและเป็นทางเลือกของสารจากธรรมชาติในการเป็นสารปรับปรุงดินและส่งเสริมการเพิ่มผลผลิตของข้าว

5.3 ข้อเสนอแนะ

1. การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ ในระหว่างรอการวิเคราะห์ควรเก็บให้พ้นแสง เนื่องจากรงควัตถุดังกล่าวมีความไวต่อแสง ซึ่งอาจทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนในการวัดผล

2. ในอนาคตควรมีการวิเคราะห์ปริมาณของ PGA ขั้นตอนสุดท้ายในกระถางทดสอบหลังจากการเก็บผลการทดลอง เพื่อประเมินปริมาณ PGA ที่พืชสามารถนำไปใช้ได้จริง

3. ในขั้นตอนการเติมเซลล์ *B. subtilis* ควรมีการวัดปริมาณเซลล์เริ่มต้นและสุดท้ายในกระถางทดสอบ เพื่อประเมินการเพิ่มขึ้นหรือลดจำนวนลงของเซลล์ในกระถางทดสอบ

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

กรมพัฒนาที่ดิน. 2551. การจัดการอินทรียวัตถุเพื่อปรับปรุงบำรุงดินและเพื่อเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน. สำนักงานเทคโนโลยีชีวภาพ กรมพัฒนาที่ดิน กรุงเทพฯ.

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2542. การปลูกข้าวขาวดอกมะลิ 105. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย กรุงเทพฯ.

คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2544. ปฐพีวิทยาเบื้องต้น. ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

ชูชาติ สันธทรัพย์. 2532. ความเป็นกรดของดินและความเป็นพิษของแมงกานีสจากกระบวนการเฟอโรไลซีส. วิทยานิพนธ์บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ชูศรี สุขวิวัฒน์ และฉวีวรรณ เหลืองวุฒิโรจน์. 2544. รวมผลงานวิจัย. สำนักวิจัยและพัฒนาการจัดการที่ดิน กรมพัฒนาที่ดิน กรุงเทพฯ.

ณัฐวุฒิ คงกล่อม, ชนิกา ชื่นแสงจันทร์ และสาโรจน์ ศิริศันสนียกุล. 2555. วิธีการสังเคราะห์แกมม่าพอลิกลูตามิกแอซิดของแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus* spp. สรรสาระเทคโนโลยีชีวภาพ 3(1): 9 น.

ทัศนีย์ อัตตะนันทน์. 2543. ดินที่ใช้ปลูกข้าว. ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 356 น.

นพดล จรัสสัมฤทธิ์. 2537. ฮอร์โมนและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช. พิมพ์ครั้งที่ 1. สหมิตรออฟเซท กรุงเทพฯ.

นันทนา อังกินันทน์ และศุภจิตรา ชัชวาลย์. 2542. คู่มือปฏิบัติการสรีรวิทยา. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยจุฬาลงกรณ์ราชวิทยาลัย กรุงเทพฯ.

บูรณี พั่ววงษ์แพทย์, ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล, นาตยา จันทร์ส่อง และวงศ์ บุญสืบสกุล. 2553. การคัดเลือกและทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *B. subtilis* ในการควบคุมเชื้อ *Rolstonia solanecearum* สาเหตุโรคเหี่ยวในพริก. งานวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพฯ.

ปรัชญา ธัญญาดี, เมธี มณีวรรณ และพิรัชฌา วาสนานุกูล. 2537. ความรู้เรื่องอินทรียวัตถุในคู่มือเจ้าหน้าที่ของรัฐ เรื่องการปรับปรุงบำรุงดินด้วยอินทรียวัตถุ โครงการปรับปรุงบำรุงดินด้วยอินทรียวัตถุ. กองอนุรักษดินและน้ำ กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ.

พิชญ์นรี สุวรรณสุโข. 2549. การทำให้บริสุทธิ์บางส่วนและการประยุกต์ใช้สารลดแรงตึงผิวชีวภาพจาก *Bacillus subtilis* MUV4. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 109 น.

พิชิต พงษสกุล และปรีดา พากเพียร. 2532. ธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืชในคู่มือการปรับปรุงดินและการใช้ปุ๋ย. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 157–190 น.

ภาควิชาพืชศาสตร์. 2551. ปุ๋ยอินทรีย์. เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการ ภาควิชาพืชศาสตร์ วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีนราธิวาส มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์.

ยงยุทธ โอสถสภา. 2552. ธาตุอาหารพืช. พิมพ์ครั้งที่ 3 ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

ยุพิน สรวิสูตร, เพ็ญศรี ชูวรเดช, ลัดดาวัลย์ มีสุข และเรวดี ดีมาก. 2531. ผลของปุ๋ยหมักจากบ่อก๊าซชีวภาพที่ผสมกับหินฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพด. ข่าวสารปฐพีวิทยา 4(1–3): 60–61 น.

รัศมิกร สิงห์เจริญ. 2544. การแยกและการคัดเลือกแบคทีเรียทนร้อนจากถั่วเน่าที่สามารถผลิตแกมม่าพอลิกลูตามิกแอซิด. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

วรรณลดา สุนันทพงศ์ศักดิ์ และฉวีวรรณ เหลืองวุฒิวิโรจน์. 2541. การผลิตปุ๋ยหมักแบบไร่นาในกลุ่มอินทรียวัตถุและวัสดุเหลือใช้ คู่มือเจ้าหน้าที่ของรัฐ เรื่อง การปรับปรุงบำรุงดินด้วยอินทรียวัตถุ. กองอนุรักษ์ดินและน้ำ กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ. 14–18 น.

ศรีสม สุวรรณวงศ์. 2549ข. ไนโตรเจนเมแทบอลิซึม ใน ลิลลี่ กาวีต๊ะ, มาลี ณ นคร, ศรีสม สุวรรณวงศ์ และสุรียา ตันติวิวัฒน์. ผู้รวบรวม. สรีรวิทยาของพืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 169-174 น.

สถาบันวิจัยข้าว. 2543. เทคโนโลยีการใช้ปุ๋ยในนาข้าว. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ.

สมนึก ศรีทองฉิม. 2545. การปรับปรุงดินทรายเพื่อปลูกข้าวอย่างยั่งยืนในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. กองอนุรักษ์ดินและน้ำ กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ.

สมศักดิ์ วังใน. 2541. การตรึงไนโตรเจน: ไรโซเบียม-พืชตระกูลถั่ว. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. ภาควิชาปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว. 2555. องค์ความรู้เรื่องข้าว. กรมการข้าว กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. วันที่ค้นข้อมูล 20 พฤษภาคม 2558. เว็บไซต์: http://www.ricethailand.go.th.

สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร. 2560. สถานการณ์สินค้าเกษตรที่สำคัญและแนวโน้ม ปี 2559. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ.

สุวรรณี แทนธานี. 2555. บทบาทของจุลินทรีย์ต่อการเจริญของพืช. กรมวิทยาศาสตร์บริการ 60(190): 36 น.

โสภิตา คำหาญ. 2546. การงอกของเมล็ดพันธุ์ (สรีรวิทยาเมล็ดพันธุ์). วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

เอกธิดา ไชยรินทร์. 2545. กระประเมินการดูดใช้ไนโตรเจนโดยต้นข้าวโดยใช้ไนโตรเจนที่ได้จากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

Abdul, A.A.B and J.D. Anderson. 1973. Vigor determinations in soybean seed multiple criteria. Crop Science 1(3): 630-633.

Ashiuchi, M. and Misono H., 2002. Biochemistry and molecular genetics of poly-gamma-glutamate synthesis. Applied Microbiology and Biotechnology 59: 91-94.

Azooz, M., M. A. Shaddad and A. A. Latef. 2004. The accumulation and compartmentation of proline in relation to salt tolerance of three sorghum cultivars. Indian Journal of Plant Physiology 9: 1–8.

Bam, R.K., F.K. Kumaga, K. Ofori and E.A. Asieudu. 2006. Germination, vigor and dehydrogenase activity of naturally aged rice (*Oryza sativa* L.) seeds soaked in potassium and phosphorous salts. Asian Journal of Plant Science 5: 948–955.

Bao, F., J. Shen, S. R. Brady, G. K. Muday, T. Asami and Z. Yang. 2004. Brassinosteroid interact with auxin it promotes lateral root development in *Arabidopsis*. Plant Physiology 134: 1624–1631.

Besson, F., I. Tenoux, L.M. Hourdou and G. Michel. 1992. Synthesis of β–hydroxy fatty acids and β–amino fatty acids by the strains of *Bacillus subtilis* producing iturinic antibiotics. Biochemical and Biophysical 1123: 51–58.

Buescher, J.M. and A. Margaritis. 2007. Microbial biosynthesis of polyglutamic acid biopolymer and applications in the biopharmaceutical, biomedical and food industries. Critical Reviews Biotechnology 27: 1–19.

Cabrera, M.L. 1993. Modeling the flush of nitrogen mineralization caused by drying and Rewetting soils. Soil Science Society of America Journal 57: 63–66.

Cavalcante, V.A. and J. Dobereiner. 1988. A new acid–tolerant nitrogen–fixing bacterium associated with sugarcane. Plant and Soil 108: 23–31.

Cessay, M.L. and N. Uphoff. 2003. The effects of repeated soil wetting and drying on rice and yield with system of rice intensification (SRI) methods. Cornell University. http://ciifed.cornell.edu/sri/countries/Gambia/nebpp.pdf สืบค้นเมื่อวันที่ 12 มกราคม 2560.

Cha–um, S., K. Supaibulwatana and V. Kirdmanee. 2007. Glycine betaine accumulation, physiological characterizations and growth efficiency in salt–tolerant and salt–sensitive lines of indica rice (*Oryza sativa* L.) in response to salt stress. Journal of Agronomy and Crop Science 193: 157–166.

Chen, Y., F. Yan, Y. Chai, H. Liu, R. Kolter, R. Losick and J.H. Guo. 2012. Biocontrol of tomato wilt disease by *Bacillus subtilis* isolates from natural environments depends on conserved genes mediating biofilm formation. Environmental and Microbiology 15: 848–864.

Chunhachart, O., T. Itoh, M. Sukchotiratana, H. Tanimoto and Y. Tahara. 2006. Characterization of gamma–glutamyl hydrolase produced by *Bacillus* sp. isolated from Thai Thua–nao. Biosciences Biotechnology and Biochemistry 70: 2779–2782.

Cromwick, A.M. and R.A Gross. 1996. Effect of pH and aeration on γ–poly (glutamic acid) formation by *Bacillus licheniformis* in controlled batch fermentor cultures. Biotechnology and Bioengineering 50: 222–227.

Dobermann, A. and T.H. Fairhurst. 2000. Rice: nutrient disorders and nutrient management. International Rice Research Institute 41–60.

Doran, J.W. 1987. Microbial biomass and minerelizable nitrogen distributions in no–tillage and plowed. Soil Biology and Fertility of Soil 5: 68–75.

Dubois, M., K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry 28: 350–356.

Fujii, H. 1963. On the formation of mucilage by *Bacillus nutto*. Parrlll. Chemical constitution of mucilage in natto. Nippon. Nogcikagaku Kaishi 37: 407–411.

Gong, A.D., H.P Li, Q.S. Yuan, X.S. Song, W. Yao, W.J. He, J.B. Zhang and Y.C. Liao. 2015. Antagonistic Mechanism of Iturin A and Plipastatin A from *Bacillus amyloliquefaciens* S76– 3 from Wheat Spikes against *Fusarium graminearum*. PLOS ONE 10(2).

Gosling, P. and M. Shepherd. 2005. Long–term changes in soil fertility in organicarable farming systems in England, with particular reference to phosphorus and potassium. Agriculture Ecosystems and Environment 105: 425–432.

Goto, A. and M. Kunioka. 1992. Biosynthesis and hydrolysis of poly (γ–glutamic acid) from *Bacillus subtilis* IFO 3335. Bioscience Biotechnology and Biochemistry 56: 1031–1035.

Gunapala, N. and K.M. Scow. 1998. Dynamics of soil microbial biomass and activity in conventional and organic farming. Soil Biology and Biochemistry 30: 805–816.

Hamilton, P. B. and D. D. V. Slyke. 1943. Amino acid determination and metal accumulation by *Brassica juncea* L. International Journal of Plant Production 3(1): 1735–8043.

Heimer, Y.M. and P. Filner. 1970. Regulation of the nitrate assimilation pathway of cultured tobacco cells. II. Properties of a variant line. Biochimica et Biophysica Acta 215: 152–165.

Heimer, Y.M. and P. Filner. 1971. Regulation of the nitrate assimilation pathway in cultured tobacco cells. III. The nitrate uptake system. Biochimica et Biophysica Acta 230: 362–372.

Hoitink, H. A. J. 1986. Basis for the control of soil borne plant pathogens with composts. Annual Review Phytopathology 24: 93–114.

Hopkins, W.G. 1999. Introduction to Plant Physiology. 2nd edition. John Wiley and Sons, Inc., New York.

Huangpu, J., J.H. Pak, C. Graham, S.A. Rickle and J.S. Graham. 1996. Purification and molecular of an extracellular γ– glutamyl hydrolase present in yang tissues of the soybean plant. Biochemical and Biophysical Research Communications 228: 1–6.

Ibekwe, A.M., A.C. Kennedy, P.S. Frohne, S.K. Papiernik, C.H. Yang and D.E. Crowley. 2002. Microbial diversity along a transect of agronomic zones. FEMS Microbiology Ecology 39: 183–191.

Idriss, E.E., O. Makarewicz, A. Farouk, K. Rosner, R. Greiner, H. Bochow, T. Richter and R. Borriss. 2002. Extracellular phytase activity of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB45 contributes to its plant growth-promoting effect. Microbiology 148: 2097-2109.

Inubushi, K. and H. Wada. 1987. Easily decomposable organic matte in paddy soil; VII: Effect of various pretreatment on N- mineralization in submerged soil. Journal of Soil Science and Plant Nutrition 33: 567-576.

Iqbal, H., A. Shamim, A.A. Muhammad, R. Rizwan, S.H. Ejaz and I. Muhammad. 2013. Response of maize seedlings to cadmium application after different time Intervals. International Scholarly Research Notices Agronomy 9: 169-610.

Kim, S.A., J.M. Kwak, S.K. Jae, M.H. Wang and H.G. Nam. 2010. Overexpression of the AtGluR2 gene encoding an Arabidopsis homolog of mammalian glutamate receptors impairs calcium utilization and sensitivity to ionic stress in transgenic plants. Plant and Cell Physiology 42: 74-84.

Li, Q.H., F.Z. Wu, Y. Yang and X.Z. Wang. 2011. Effects of rotation and interplanting on soil bacterial communities and cucumber yield. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B-Soil and Plant science 57: 733-747.

Loehr, R.C. 1977. Pollution control for agriculture. Academic Press. Inc. London, 383.

Marchesini, A., L. Allievi, E. Comotti and A. Ferrari. 1986. Long-term effects of quality-compost Treatment on soil. Plant and Soil 160: 253-261.

Melero, S., R. Herencia, J.F. Herencia and E. Madejon. 2005. Chemical and biochemical properties in a silty loam soil under conventional and organic management. Soil and Tillage Resrarch 81: 145-152.

Potter, M., B.F. Oppermann-Sanio and A. Steinbuchel. 2001. Cultivation of bacteria producing polyamino acid with liquid manure as carbon and nitrogen source. Applied Microbiology and Biotechnology 67: 617-622.

Reganold, J. and A. Palmer. 1995. Significance of gravimetric versus volumetric measurements of soil quality under biodynamic conventional and continuous grass management. Soil and Water Conservation 50: 298–305.

Ryu, C.M., M.A. Farag, C.H. Hu, M.S. Reddy, H.X. Wei, P.W. Paré and J.W. Kloepper. 2003. Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. Proceedings of the National Academy of Sciences (U.S.A) 100: 4927–4932.

Sanchez–Calderon, L., J. Lopez–Bucio, A. Chacon–Lopez, A. Cruz–Ramirez, F. Nieto–Jacobo, J.G. Dubrovsky and L. Herrera–Estrella. 2005. Phosphate starvation induces a determinate developmental program in the roots of *Arabidopsis thaliana*. Plant Cell Physiology 46: 174–184.

Schubert, K.R. 1983. The energetics of biological nitrogen fixation workshop summaries–1. Journal American Society Plant Physiology 1–30.

Seneviratne, R. and A. Wild. 1985. Effect of mild drying on the mineralization of soil nitrogen. Plant and Soil 84: 175–179.

Sequi, P. and M. Calcinai. 1987. Influence of long–term application of organic fertilizers on partition of exchangeable cations in soil. Agrochemical 22: 486–491.

Setala, H. and M.A. McLean. 2004. Decomposition rate of organic substrates in relation to the species diversity of soil saprophytic fungi. Oecologia 139: 98–107.

Shin, I.L. and V.T. Van. 2001. The production of poly–(γ–glutamic acid) from microorganisms and its various applications. Bioresource Technology 79: 207–225.

Sims, J.L., V.L. Hall and T.H. Hohnston. 1967. Timing of N–fertilization of rice. Journal of Agricultural 60: 692–696.

Sivaguru, M., S. Pike, W. Gassmann and T.I. Baskin. 2003. Aluminum rapidly depolymerizes cortical microtubules and depolarizes the plasma membrane: evidence that these responses are mediated by a glutamate receptor. Plant Cell Physiology 44: 667–675.

Stenvenson, F.J. and E.T. Elliott. 1989. Dynamic of Soil Methodologies for Assessing the Quantity and Quality of Soil Organic Matter in Tropical Ecosystems. University of Hawii Press. Hawaii. USA. 429–453.

Taiz, L. and E. Zeiger. 2002. Plant Physiology. 3rd Edition. Sinauer Associates, Inc., Massachusetts.

Tanaka, T., T. Yaguchi, O. Hiruta, T. Futamura, K. Uotani, A. Satoh, M. Taniguchi and S. Oi. 1993. Screening for microorganism having poly (γ–glutamic acid) endohydrolase activity and the enzyme production by *Myrothecium* sp. Tm–422. Bioscience Biotechnology and Biochemistry 57: 1809–1810.

Valcani, B.E. and P. Margallith. 1957. A new (*Flavobacterium polyglutamicum*) which hydrolyzes the γ–L–glutamyl bond in polypeptides, Journal of Bacteriology 74: 646–655.

Vassilev, A., I. Yordanov and T. Tsonv. 1997. Effects of Cd^{2+} on the physiological state and photosynthetic activity in young barely plants. Photosynthetica 34: 293–302.

Vibhuti, S. Charu, B. Kiran and S.S. Bargali. 2015. Seed germination and seedling growth parameter of rice (*Oryza sativa*) varieties as affected by salt and water stress. Agricultural Sciences 85(1): 102–108.

Walch–Liu, P., L.H. Liu, T. Remans, M. Tester and B.G. Forde. 1994. Evidence that L– glutamate can act as an exogenous signal to modulate root growth and branching in *Arabidopsis thaliana*. Plant Cell Physiology 47: 1045–1057.

Wang, J., X. Li, J. Zhang, T. Yao, D. Wei, Y. Wang and J. Wang. 2012. Effect of root exudates on beneficial microorganisms– evidence from a continuous soybean mono culture. Plant Ecology 213: 1883–1892.

Wang, Q.J., S.W. Chen, J.B. Zhang, M. Sun, Z.D. Liu and Z.N. Yu. 2008. Co–producing lipopeptides and poly– γ– glutamic acid by solid– state fermentation of *Bacillus*

subtilis using soybean and sweet potato residues and its biocontrol and fertilizer synergistic effects. Bioresource Technology 99: 3318–3323.

Wu, S.C., Z.H. Cao, Z.G. Li, K.C. Ceung and M.H. Womg. 2005. Effects of biofertilizer containing N–fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. Geoderma 125: 155–166.

Xie, S.S., H.J. Wu, H.Y. Zang, L.M. Wu, Q.Q. Zhu and X.W. Gao. 2014. Plant Growth Promotion by Spermidine Producing *Bacillus subtilis* OKB105. Molecular Plant–Microbe Interactions 27: 655–663.

Xu, Z., Ch. Wan, X. Xu, X. Feng and H. Xu. 2013. Effect of poly (γ–glutamic acid) on wheat productivity, nitrogen use efficiency and soil microbes. Journal of Soil Science and Plant Nutrition 13(3): 744–755.

Yoon, S.H., J.K. Do, S.Y. Lee and N.H. Chang. 2000. Production of poly–γ–glutamic acid by fed–batch culture of *Bacillus licheniformis*. Biotechnology Letters 22: 585–588.

Zhang, Q.C., I.H. Shamsi, D.T. Xu, G.H. Wang, X.Y. Lin, G. Jilani, N. Hussain and A.N. Chaudhry. 2012. Chemical fertilizer and organic manure inputs in soil exhibit a vice versa pattern of microbial community structure. Applied Soil Ecology 57: 1–8.

Zongqi, X., L. Peang, F. Xiaohai, L. Sha and X. Hong. 2016. Analysis of the metabolic pathways affected by poly (γ–glutamic acid) in *Arabidopsis thaliana* based on gene chip microarray. Agricultural and Food Chemistry 64: 6257–6266.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ–สกุล	คณวิชช์ ศรีปินตา
วัน เดือน ปี เกิด	21 มกราคม 2536
สถานที่เกิด	52 หมู่ 4 ต.น้ำโจ้ อ.แม่ทะ จ.ลำปาง 52150
วุฒิการศึกษา	วท.บ. สาขาวิชาจุลชีววิทยา ปีที่จบ 2557 มหาวิทยาลัยพะเยา
ที่อยู่ปัจจุบัน	52 หมู่ 4 ต.น้ำโจ้ อ.แม่ทะ จ.ลำปาง 52150
ผลงานตีพิมพ์	ผลของ γ–polyglutamic acid และเซลล์ Bacillus subtilis ต่อการเจริญและพัฒนาการของต้นกล้าข้าวขาวดอกมะลิ 105

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 Luria-Bertani (LB) broth

Peptone (ยี่ห้อ Merck)	8	กรัม
Yeast extract powder (ยี่ห้อ Himedia)	4	กรัม
Sodium chloride (ยี่ห้อ Univar)	4	กรัม
H_2O	800	มิลลิลิตร

1.2 Luria-Bertani (LB) agar

Peptone (ยี่ห้อ Merck)	4	กรัม
Yeast extract powder (ยี่ห้อ Himedia)	2	กรัม
Sodium chloride (ยี่ห้อ Univar)	2	กรัม
Agar	6	กรัม
H_2O	400	มิลลิลิตร

1.3 PGA-production medium

Solution I

Ammonium sulphate ($(NH_4)\ SO_4$) (ยี่ห้อ Univar)	1	กรัม
di-Sodium hydrogen orthophosphate dodecahydrate ($Na_2HPO_4.12H_2O$) (ยี่ห้อ Univar)	0.1	กรัม
Potasium phosphate monobasic (KH_2PO_4) (ยี่ห้อ Daejung)	0.1	กรัม
Sodium L-glutamate monohydrate (ยี่ห้อ Emprove)	2	กรัม
H_2O	75	มิลลิลิตร

Solution II

Dextrose (D-glucose) (ยี่ห้อ Daejung)	2	กรัม
H_2O	100	มิลลิลิตร

Solution III

Magnesium sulfate ($MgSO_4$) (ยี่ห้อ Wako)	1	กรัม
H_2O	100	มิลลิลิตร

Solution IV

Calcium chloride ($CaCl_2.2H_2O$) (ยี่ห้อ Univar)	0.2	กรัม
Manganese chloride ($MnCl_2$) (ยี่ห้อ Wako)	0.02	กรัม
Iron chloride ($FeCl_3$) (ยี่ห้อ Unilab)	0.05	กรัม
H_2O	100	มิลลิลิตร

ผสมสารละลายให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยผสมดังนี้

Solution I	75	มิลลิลิตร
Solution II	10	มิลลิลิตร
Solution III	5	มิลลิลิตร
Solution IV	10	มิลลิลิตร

จากนั้นเติมสารละลาย Biotin ปริมาตร 250 ไมโครลิตรต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 100 มิลลิลิตร นำอาหารเลี้ยงเชื้อไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารอาหารพืช

1. **การเตรียมสารละลายเข้มข้น (Stock solution)** (นันทนา และศุภจิตรา, 2542) สารละลาย 1 โมลาร์ คือสารละลายที่มีสาร 1 โมล ในตัวทำละลาย 1,000 มิลลิลิตร

1.1 สารละลายแคลเซียมไนเทรต (Calcium nitrate) 1 โมลาร์

Calcium nitrate ($Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$) 236.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร

1.2 สารละลายแมกนีเซียมซัลเฟต (Magnesium sulfate) 1 โมลาร์

Magnesium sulfate ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) 246.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร

1.3 สารละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Potassium dihydrogen phosphate) 1 โมลาร์

Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4) 136.09 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิต

1.4 สารละลายโพแทสเซียมไนเทรต (Potassium nitrate) 1 โมลาร์

Potassium nitrate (KHO_3) 101.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร

1.5 สารละลาย Fe-EDTA

เตรียม Disodium ethylenediaminetetraacetate ($C_{10}H_{14}O_8Na_2 \cdot 2H_2O$) 7.45 กรัม ในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร และเฟอริกซัลเฟต (Ferric sulfide) ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) 5.57 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร ค่อยๆ เทสารละลายทั้งสองผสมและปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร

1.6 สารละลาย Micronutrient ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ประกอบด้วย

โบริกแอซิด (Boric acid) (H_3BO_3) 2.86 กรัม

คอปเปอร์คลอไรด์ (Copper chloride) ($CuCl_2 \cdot 2H_2O$) 0.05 กรัม

แมงกานีสคลอไรด์ (Manganese chloride) ($MnCl_2 \cdot 4H_2O$) 1.81 กรัม

ซิงค์คลอไรด์ (Zinc chloride) ($ZnCl_2$) 0.11 กรัม

โซเดียมโมลิบดิเนส (Sodium molybdate) ($Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$) 0.025 กรัม

2. สารอาหารตามสูตรของ Hoagland (สำหรับเตรียมสารละลาย 1 ลิตร)

Stock solution	Complete (Fe–EDTA) (ml)
1 M ($Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$)	10
1 M (KHO_3)	10
1 M ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	4
1 M (KH_2PO_4)	2
Fe–EDTA	2
micronutrient	2

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์คุณสมบัติทางด้านเคมีและกายภาพของดิน

1.1 การวัดความเป็นกรด-ด่างของดิน (pH)

ชั่งดินจำนวน 20 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร ในบีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร ใช้แท่งแก้วคนให้ดินและน้ำเข้ากันก่อนวัด pH ประมาณ 30 นาที ในระหว่างที่วางทิ้งไว้ 30 นาทีนั้น ควรจะคนดินเป็นครั้งคราว ก่อนวัด pH จำเป็นต้อง standardize pH meter ด้วย buffer solution pH 7.0 และ 4.0 เสียก่อน ก่อนใช้ pH meter

1.2 การวัดความชื้นของดิน

ชั่งน้ำหนักของดินก่อนนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 110-150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วคำนวณปริมาณความชื้นที่หายไปจากการอบ ดังนี้

$$\% \text{ ความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักก่อนอบ} - \text{น้ำหนักหลังอบ}}{\text{น้ำหนักหลังอบ}} \times 100$$

1.3 การวัดความหนาแน่นรวมของดิน (bulk density)

ใช้กระบอกโลหะที่ทราบปริมาตรแล้วเจาะเก็บตัวอย่างดินโดยไม่ทำลายโครงสร้างของดิน เมื่อเก็บตัวอย่างดินแล้วก็ตัดตกแต่งดินในกระบอกให้เรียบร้อยพอดีกับปากกระบอก โดยพยายามให้ปริมาตรดินเท่ากับปริมาตรกระบอกเก็บดินพอดี จากนั้นก็ถ่ายตัวอย่างดินลงในภาชนะหรือกระป๋องนำไปอบให้แห้งสนิทโดยใช้อุณหภูมิ 105-110 องศาเซลเซียส แล้วคำนวณความหนาแน่นรวมของดินดังนี้

$$\text{ความหนาแน่นรวมของดิน} = \frac{\text{มวลของดินที่อบแห้งสนิท}}{\text{ปริมาตรกระบอกโลหะที่ใช้เก็บดิน}}$$

1.4 การวัดความพรุนรวมของดิน (Total porosity)

การคำนวณค่าความพรุนของดิน (Total porosity: E) ความพรุนของดินเป็นคุณสมบัติที่ถูกควบคุมโดยปริมาตรและขนาดของช่องว่างในดินคือ สัดส่วนระหว่างปริมาตรช่อง (V_p) และปริมาตรรวมของดิน (V_b) โดยมีสูตรการคำนวณ ดังนี้

$$E = \frac{V_p}{V_b}$$

1.5 การวัดอัตราส่วนของความต้องการน้ำของดิน (Water requirement rate)

อัตราความต้องการน้ำของดินจะบอกถึงความสามารถในการไหลซึมผ่าน (percolation rate) ของน้ำลงสู่เนื้อดินได้ ซึ่งทำการวัดปริมาณของน้ำที่ลดลง โดยการใช้ Soil core ตอกลงไปในบริเวณพื้นที่หน้าดินของดิน ในระดับ 0–5 เซนติเมตร จากผิวดิน โดยใช้ verneer caliper ทำการวัดเก็บข้อมูลระดับน้ำที่ลดลง พร้อมกับจับเวลาที่ใช้ในการลดลงของน้ำ

1.6 การวัดค่าการนำไฟฟ้าของดิน (Electrical Conductivity: EC)

ตักดิน (ที่ผึ่งให้แห้งในที่ร่มและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร) 300–400 กรัม ใส่บีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร ค่อยๆ ฉีดน้ำลงไป คนดินด้วย spatula จนกระทั่งดินอิ่มตัวด้วยน้ำ ถ่ายดินที่อิ่มตัวด้วยน้ำที่ได้นี้ลงใน Buchner funnel ที่มี suction flask รองรับจากนั้นเปิด vacuum pump เพื่อดูดส่วนที่เป็นของเหลวของดินออกมา นำของเหลวที่ได้ไปวัดค่าการนำไฟฟ้าด้วย conductivity meter โดยก่อนวัดให้ calibrate เครื่องด้วยสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.01 นอร์มอร์

1.7 การวัดปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ได้ของดิน (Available–P)

ชั่งดิน 2.5 กรัม ใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 125 มิลลิลิตร ใช้ volumetric pipette ขนาด 25 มิลลิลิตร ดูดสารละลาย Bray II เติมลงไปแล้วเขย่าด้วยมือเป็นเวลา 1 นาที หลังจากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 ดูดสารละลายที่กรองได้จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask ขนาด 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น แล้วดูดมาจำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร เติมสารละลาย Reagent B จำนวน 4 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 20 นาที นำไปอ่านค่าการส่องผ่านของแสง

เช่นเดียวกับ standard curve–P ที่มีความเข้มข้น 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณฟอสฟอรัสจากสมการ

$$P\ (\%) = \frac{C \times V_f \times V_e \times 100}{10^6 \times V_a \times W}$$

เมื่อ C : ความเข้มข้น P ในตัวอย่างเมื่อเปรียบเทียบกับ standard curve–P (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

V_f : ปริมาตรสุดท้ายที่นำมาวิเคราะห์เท่ากับ 25 มิลลิลิตร

V_e : ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการสกัดดินเท่ากับ 25 มิลลิลิตร

V_a : ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์เท่ากับ 25 มิลลิลิตร

W : น้ำหนักดินแห้งเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับดินชื้น 2.5 กรัม

1.8 การวัดแคลเซียม แมกนีเซียม โซเดียมและโพแทสเซียมที่สามารถแลกเปลี่ยนได้ของดิน (Exchangeable Ca^{++}, Mg^{++}, Na^{+}, K^{+})

ชั่งตัวอย่างดิน 4 กรัม ใส่ในหลอดเขย่าดิน เติมสารละลายแอมโมเนียมอะซีเทรตความเข้มข้น 1 นอร์มอร์ จำนวน 40 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 30 นาที แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 หลังจากนั้นดูดสารละลายที่กรองได้จำนวน 5 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask ขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น นำไปอ่านด้วยเครื่อง flame photometer บันทึกผลแล้วนำมาคำนวณหาปริมาณ Ca^{++}, Mg^{++}, Na^{+}, K^{+} ที่สามารถแลกเปลี่ยนได้ดังสมการ

$$K\ (ppm) = \frac{C \times V_f \times V_d}{V_a \times W}$$

เมื่อ C : ความเข้มข้น K ในตัวอย่างเมื่อเปรียบเทียบกับ standard curve–K (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)

V_f : ปริมาตรสุดท้ายที่นำมาวิเคราะห์เท่ากับ 25 มิลลิลิตร

V_d : ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างทั้งหมดที่ได้จากการย่อยเท่ากับ 40 มิลลิลิตร

V_a : ปริมาตรสารละลายตัวอย่างที่ใช้วิเคราะห์เท่ากับ 5 มิลลิลิตร

W : น้ำหนักดินแห้งเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับดินชื้น 4 กรัม

1.9 การวัดปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของดิน (Total N)

ชั่งดินที่บดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 0.5 มิลลิเมตร ชั่ง 1.00 กรัม ใส่ลงไปใน Kjeldahl flask 100 มิลลิลิตร ใส่โพแทสเซียมซัลเฟต 1.1 กรัม เติมซัลฟิวริกแอซิด 97 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 3 มิลลิลิตร หลังจากนั้นวางลงบนเตาย่อยเปิดสวิตช์แล้วปรับอุณหภูมิให้ร้อนอ่อนๆ จนกระทั่งฟองและการกระเด็นที่เกิดขึ้นใน flask มีน้อยมาก จึงปรับอุณหภูมิให้สูงขึ้นจนกระทั่งเห็นไอกรดกลั่นตัวอยู่แค่ประมาณ 1/3 ของคอ Kjeldahl flask และย่อยจนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนจากสีดำ เป็นสีเขียวหรือฟ้าใส แล้วย่อยต่อไปอีก 5 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งตัวอย่างให้เย็น แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปใน flask ประมาณ 20 มิลลิลิตร แกว่งให้เข้ากันถ่ายตัวอย่างใส่ขวดกลั่น ใช้น้ำประมาณ 9 มิลลิลิตร ล้าง flask แล้วถ่ายใส่ขวดกลั่นอีก 3 ครั้ง

ตวงโบริกแอซิด 5 มิลลิลิตร ใส่ใน erlenmeyer flask 125 มิลลิลิตร แล้วนำไปใส่ไว้ตรงปลายทางออกของ condenser ของเครื่องกลั่นน้ำ ขวดกลั่นที่มีตัวอย่างติดตั้งเข้ากับเครื่องกลั่น เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 10 โมลาร์ จำนวน 20 มิลลิลิตร แล้วเริ่มกลั่นจนกระทั่งสารละลายใน erlenmeyer flask ที่มีโบริกแอซิดเพิ่มขึ้นมาถึงประมาณ 50 มิลลิลิตร แล้วล้างปลายของ condenser ด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อย นำ erlenmeyer flask ออกจากเครื่องกลั่น แล้วหยุดเครื่องกลั่น (ถ้าหยุดเครื่องกลั่นก่อนนำ erlenmeyer flask ออกจากเครื่องกลั่น สารละลายใน erlenmeyer flask จะถูกดูดกลับเข้าไปในเครื่องกลั่น) ไตเตรทสารละลายใน erlenmeyer flask ด้วยสารละลายมาตรฐานไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ ที่บรรจุใน microburette จนกระทั่งสีของสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วงแดง ทำ blank โดยดำเนินการทุกอย่างเหมือนตัวอย่างปุ๋ยตั้งแต่เติมกรดเกลือและ catalyst ย่อยกลั่นและ ไตเตรทเหมือนตัวอย่างปุ๋ย

$$\% \text{ Total N} = \frac{\text{ความเข้มข้น } H_2SO_4 \times \text{ปริมาตรของ } H_2SO_4 \text{ ที่ใช้ไตเตรท} \times V \times 1.4007 \times 100}{V \times W}$$

เมื่อ v = ปริมาตรที่นำไปใช้กลั่น

V = ปริมาตรที่ปรับเริ่มต้น (หลังจากย่อยจนใส)

W = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

1.10 การวัดปริมาณรวมเหล็กของดิน (Total Fe)

ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการย่อยฟอสฟอรัสในข้อ 1.7 ให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วงสารละลายมาตรฐานที่เตรียมไว้ (0–5 ppm) ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากันนำไปอ่านค่าด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer เทียบกับสารละลายมาตรฐาน 0–5 ppm ที่เตรียมไว้ แล้วนำค่าที่วัดได้ไปคำนวณ

$$\text{Fe (\%)} = \text{ppm Fe} \times \text{dilution factor} \times 100 \times 10^{6}$$

1.11 การวัดปริมาณผลรวมของแคทไอออนที่แลกเปลี่ยนได้ของดิน (Cation exchange capacity–CEC)

ชั่งตัวอย่างดินที่ผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร 10 กรัม จากนั้นเติมแอมโมเนียมอะซีเทรตความเข้มข้น 1 นอร์มอร์ ปริมาตร 250 มิลลิลิตร เขย่าให้ดินและน้ำยาเข้ากัน ทิ้งไว้ค้างคืน กรองด้วย suction โดยใช้ Buchner funnels ชะดินด้วยแอมโมเนียมอะซีเทรตทีละน้อยๆ โดยอาศัย suction ในขณะที่ชะดินนี้ต้องระวังอย่าให้ดินแห้งและแตกระแหงเพื่อป้องกันดินแห้งขณะทำการชะ กระทำโดยการเพิ่มแอมโมเนียมอะซีเทรตลงไปอีกใน funnel เมื่อระดับของงน้ำยาลดต่ำลงจนเกือบจะถึงผิวดิน ทำการชะดินไปเรื่อยๆ ด้วยแอมโมเนียมอะซีเทรตจนกระทั่งไม่มีแคลเซียมออกมาใน solution (สำหรับการทดสอบแคลเซียมใช้แอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1 นอร์มอร์ แอมโมเนียมความเข้มข้นร้อยละ 10 และเจือจางแอมโมเนียมออกไซด์ อย่างละ 2–3 หยด ใส่ลงไปในอาหารที่จะทดสอบ นำไปทำให้ร้อนจนเกือบเดือด ถ้ามีแคลเซียมจะเห็นตะกอนขุ่นเกิดขึ้น) ปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร โดยใช้ volumetric flask จากนั้นสวม funnel เข้าที่ filtering flask ตามเดิม ล้างด้วยแอมโมเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 1 นอร์มอร์ 4 ครั้ง และแอมโมเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.25 นอร์มอร์ 1 ครั้ง หลังจากนั้นล้างดินด้วยแอลกอฮอร์ร้อยละ 99 จำนวนประมาณ 150 มิลลิลิตร การล้างก็ค่อยๆ กระทำทีละน้อยจนไม่มีคลอไรด์เหลืออยู่ ทิ้งไว้สักครู่เพื่อให้ดินหมาด ระวังอย่าให้แตกระแหง

ขั้นต่อไปทำการไล่แอมโมเนียมที่ดูดซับอยู่ที่ผิว clay ด้วยโซเดียมคลอไรด์ การไล่ที่ก็ต้องทำช้าๆ เช่นเดียวกันกับการไล่ที่ในตอนแรก จนกระทั่งได้ leachate ประมาณ 225 มิลลิลิตร

แล้วจึงหยุด ถ่าย leachate นี้ลงไปใน volumetric flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำลงไปใน flask ให้ครบ 250 มิลลิลิตร ปิดฝาจุกให้แน่น

การวิเคราะห์หาแอมโมเนียมที่ไล่ออกมานี้ กระทำได้โดยการแบ่ง aliquot 20 มิลลิลิตร ออกจาก flask โดยใช้ volumetric pipet ลงไปใน Kjeldahl flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ในขณะเดียวกันวาง Erlenmeyer flask 50 มิลลิลิตร ซึ่งมีโบริกแอซิด 5 มิลลิลิตร บรรจุอยู่ไว้ที่ปลายของก้าน condenser ของเครื่องกลั่นโดยให้ปลายของก้านของ condenser จุ่มอยู่ใต้ระดับของโบริกแอซิด เปิดน้ำให้เดินผ่าน condenser รินโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 นอร์มอร์ด้วยความระมัดระวังลงไปใน Kjeldahl flask ประมาณ 2 มิลลิลิตร แล้วต่อ flask นี้เข้ากับเครื่องกลั่นทันที ก่อนเปิดไฟต้ม flask ควรตรวจสอบรอยต่อต่างๆ ว่ายึดกันแน่นและไม่มีรอยรั่ว กลั่นจนกระทั่งได้ปริมาตรของสารละลายใน Erlenmeyer flask ประมาณ 30 มิลลิลิตร จากนั้นทำการไตเตรทด้วยซัลฟูริกแอซิด ความเข้มข้น 1 นอร์มอร์ จนกระทั่งสีเขียวเปลี่ยนเป็นสีม่วงแดง ควรทำ blank ไปด้วยกัน คำนวณหาปริมาตรของแอมโมเนียมเป็น cmol ต่อกิโลกรัม