ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์

วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตข้าว

Research and Development Production of Bio-fertilizer for rice Cultivation to Growth Promotion and increasing Rice Yield

โดย

นางสาวพนิดา ปรีเปรมโมทย์
นางสาวดารารัตน์ โฮตาก้า
นางสาวพิมพ์ธิดา เรืองไพศาล
นางสาวทิพวรรณ สุพรรณ์
นางสาววรรณา สุวรรณวิจิตร
นางสาวนิภาพร ไชยศรี
นายเทอดศักดิ์ อนากาศ
นางสาวนิภาพร ชูกิจ

ทะเบียนวิจัยเลขที่ 58-63-17-09-20000-005-104-01-11

กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีการผลิตและเก็บรักษาจุลินทรีย์
กองเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน
กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์
กรกฎาคม 2564

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

แบบ วจ.3

แบบรายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ทะเบียนวิจัยเลขที่ 58-63-17-09-20000-005-104-01-11

ชื่อแผนงานวิจัย/โครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่ม ผลผลิตข้าว

ชื่อผู้รับผิดชอบ นางสาวพนิดา ปรีเปรมโมทย์

หน่วยงาน กองเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน

ปรึกษาโครงการ ดร. ฉวีวรรณ เหลืองวุฒิวิโรจน์ หน่วยงาน กรมพัฒนาที่ดิน

ผู้ร่วมดำเนินการ นางสาวดารารัตน์ โฮตาก้า หน่วยงาน กองเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน

นางสาวพิมพ์ธิดา เรืองไพศาล หน่วยงาน กองเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน

นางสาวทิพวรรณ สุพรรณ์ หน่วยงาน สถานีพัฒนาที่ดินศรีสะเกษ

นางสาววรรณา สุวรรณวิจิตร หน่วยงาน สำนักงานพัฒนาที่ดินเขต 4

นางสาวนิภาพร ไชยศรี หน่วยงาน สถานีพัฒนาที่ดินสุรินทร์

นายเทอดศักดิ์ อนาถาศ หน่วยงาน สำนักงานพัฒนาที่ดินเขต 8

นางสาวนิภาพร ชูกิจ หน่วยงาน สถานีพัฒนาที่ดินพัทลุง

เริ่มต้น เดือน ตุลาคม พ.ศ. 2557 **สิ้นสุดเดือน** กันยายน พ.ศ. 2563

รวมระยะเวลาทั้งสิ้น 5 ปี - เดือน

สถานที่ดำเนินการ	พิกัด	ชุดดิน	กลุ่มชุดดิน	ชนิดดิน
กองเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน กรมพัฒนาที่ดิน	-	-	-	-
แปลงเกษตรกร หมู่ที่ 4 บ้านท่าคอย ต.บางงาม อ.ศรีประจันต์ จ.สุพรรณบุรี	UTM E613474 N1613934	ชัยนาท (Cn)	4	ดินเหนียว
แปลงเกษตรกร หมู่ที่ 2 บ้านโคก ต.โคกจาน อ.อุทุมพรพิสัย จ.ศรีสะเกษ	UTM E402788 N1655089	ร้อยเอ็ด (Re)	17	ดินร่วนปนทราย
แปลงเกษตรกร หมู่ที่ 17 บ้านข่า ต.สระคู อ.สุวรรณภูมิ จ.ร้อยเอ็ด	UTM E373294 N1730624	โนนแดงที่มีศิลาแลงอ่อน (Ndg-pic-lsB)	40	ดินร่วนปนทราย
แปลงเกษตรกร หมู่ที่ 2 บ้านฮ็อง ต.เพี้ยราม อ.เมือง จ. สุรินทร์	UTM E335815 N1668417	ชำนิ (Cni-slA)	15	ดินร่วนปนทราย
แปลงเกษตรกร หมู่ที่ 6 บ้านกอก ต.บ้านกร่าง อ.เมือง จ.พิษณุโลก	UTM E624987 N1866513	อุตรดิตถ์ (Utt)	7	ดินเหนียว
แปลงเกษตรกร หมู่ที่ 6 บ้านหน้าควน ต.ตะแพน อ.ศรีบรรพต จ.พัทลุง	UTM E605747 N0846123	แกลง (Kl)	6	ดินเหนียว

ค่าใช้จ่ายในการดำเนินงานทั้งสิ้น

ปีงบประมาณ	งบบุคลากร	งบดำเนินงาน	รวม
2558	-	600,000	600,000
2559	-	650,000	650,000
2560	-	150,000	150,000
2561	-	720,000	720,000
2562	-	718,000	718,000
2563	-	931,300	931,300

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

แหล่งงบประมาณที่ใช้ กรมพัฒนาที่ดิน

พร้อมนี้ได้แนบรายละเอียดประกอบตามแบบฟอร์มที่กำหนดมาด้วยแล้ว

ลงชื่อ .....

(นางสาวพนิดา ปรีเปรมโมทย์)

ผู้รับผิดชอบโครงการ

ลงชื่อ .....

(.....)

ประธานกรรมการกลั่นกรองผลงานวิชาการของหน่วยงานต้นสังกัด

วันที่ .....เดือน.....พ.ศ. .....

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ทะเบียนวิจัยเลขที่ 58-63-17-09-20000-005-104-01-11

ชื่อโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตข้าว
Research and Development Production of Bio-fertilizer for rice cultivation to Growth Promotion and increasing Rice Yield

กลุ่มชุดดินที่ 4	ชุดดินชัยนาท (Cn)
กลุ่มชุดดินที่ 17	ร้อยเอ็ด (Re)
กลุ่มชุดดินที่ 40	โนนแดงที่มีศิลาแลงอ่อน (Ndg-pic-lsB
กลุ่มชุดดินที่ 15	ชำนิ (Cni-slA)
กลุ่มชุดดินที่ 7	อุตรดิตถ์ (Utt)
กลุ่มชุดดินที่ 6	แกลง (Kl)
สถานที่ดำเนินการ	1) กองเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน กรมพัฒนาที่ดิน
	2) แปลงเกษตรกร หมู่ที่ 4 บ้านท่าคอย ต.บางงาม อ.ศรีประจันต์ จ.สุพรรณบุรี
	3) แปลงเกษตรกร หมู่ที่ 2 บ้านโคก ต.โคกจาน อ.อุทุมพรพิสัย จ.ศรีสะเกษ
	4) แปลงเกษตรกร หมู่ที่ 17 บ้านข่า ต.สระคู อ.สุวรรณภูมิ จ.ร้อยเอ็ด
	5) แปลงเกษตรกร หมู่ที่ 2 บ้านฮ็อง ต.เพี้ยราม อ.เมือง จ. สุรินทร์
	6) แปลงเกษตรกร หมู่ที่ 6 บ้านกอก ต.บ้านกร่าง อ.เมือง จ.พิษณุโลก
	7) แปลงเกษตรกร หมู่ที่ 6 บ้านหน้าควน ต.ตะแพน อ.ศรีบรรพต จ.พัทลุง

ผู้ดำเนินการ	นางสาวพนิดา ปรีเปรมโมทย์	Miss Panida Preepremmot
ผู้ร่วมดำเนินการ	นางสาวดารารัตน์ โฮตาก้า	Miss Dararat Hotaka
	นางสาวพิมพ์ธิดา เรืองไพศาล	Miss Pimtida Reangpisan
	นางสาวทิพวรรณ สุพรรณ์	Miss Thipawan Supan
	นางสาววรรณา สุวรรณวิจิตร	Miss Wanna Suwannawijit
	นางสาวนิภาพร ไชยศรี	Miss Nipaporn Chaisri
	นายเทอดศักดิ์ อนากาศ	Mr. Therdsak Anakad
	นางสาวนิภาพร ชูกิจ	Miss Nipaporn Chookit

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือก *Azospirillum* ที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน สร้างฮอร์โมนพืช แบคทีเรียละลายซิลิเกต และ endophytic fungi ควบคุมโรค และแมลงศัตรูข้าว สำหรับพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าว ศึกษาวัสดุรองรับและรูปแบบผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าว ต่อการมีชีวิตรอดของเชื้อจุลินทรีย์ และระยะเวลาในการเก็บรักษา รวมทั้งศึกษาวิธีการใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวในสภาพโรงเรือนกระจกและภาคสนาม ดำเนินการโดยเก็บตัวอย่างดิน และรากข้าว แล้วนำมาคัดแยกจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดในอาหารเชื้อจำเพาะ โดยการคัดเลือก *Azospirillum* พบ *Azospirillum brasillense* มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน และ ผลิต IAA ได้สูงสุด และช่วยส่งเสริมให้ข้าวมีการเจริญเติบโต ไม่แตกต่างจากการใส่ปุ๋ยเคมีอัตราตามค่าวิเคราะห์ดิน สำหรับการคัดเลือกแบคทีเรียละลายซิลิเกต พบ *Bacillus megaterium* สามารถปลดปล่อยซิลิกอนได้สูง 23 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ผลิตฮอร์โมนออกซินได้ 27 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และช่วยส่งเสริมการงอกของเมล็ด ส่วนการคัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟต์ พบ *Purpureocillium lilacinum* P11 สามารถยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคข้าว *Cercospora oryzae Curvularia lunata* และ *Colettotrichum gloeosporiodes* ได้ และมีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยพบว่าที่ความเข้มข้นของสารละลายสปอร์ $1x10^6$ และ $1x10^7$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีผลให้ค่าเปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ย (% Mortality) ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำจุลินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดที่คัดเลือกมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพ พบว่า รูปแบบผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวที่เหมาะสมสำหรับจุลินทรีย์แต่ละชนิด คือ *A. brasillense* และ *B. megaterium* รูปแบบผงแห้งใช้ skimmed milk

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

วัสดุรองรับ สามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ได้นาน 12 เดือน และรูปแบบน้ำโดยเชื้อทั้ง 2 ชนิด เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติม trehalose 10 mM สามารถเก็บรักษาได้นาน 8 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในขณะที่ผลิตภัณฑ์ *P. lilacinum* รูปแบบผงแห้งละลายน้ำ การใช้ maltodextrin เป็นวัสดุรองรับ สามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ได้นาน 12 เดือน สำหรับการใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าว ในการปลูกข้าวปทุมธานี 1 และ กข 41 ในพื้นที่นาดินเหนียว พบว่า การใช้ผลิตภัณฑ์ *A. brasillense* และ *B. megaterium* ทั้งรูปแบบน้ำ และผงละลายน้ำ ร่วมกับผลิตภัณฑ์ *P. lilacinum* รูปแบบผงละลายน้ำ และปุ๋ยเคมี 50 และ 70 เปอร์เซ็นต์ ตามค่าวิเคราะห์ดิน มีผลให้การเจริญเติบโตและผลผลิตข้าวไม่แตกต่างกับการใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา ตามค่าวิเคราะห์ดิน ส่วนการใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวในการปลูกข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในพื้นที่นาดินร่วนปนทราย พบว่า การใส่ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวรูปแบบผงละลายน้ำทั้ง 3 ชนิดร่วมกับปุ๋ยเคมี 50 เปอร์เซ็นต์ ตามค่าวิเคราะห์ดิน มีผลให้ผลผลิตข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในพื้นที่นาดินร่วนปนทราย จ. สุรินทร์ สูงสุด ในปีที่ 1 2 และ 3 มีค่าเท่ากับ 386.1 870.9 และ 814.4 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ

Abstract

The objectives of this study were to isolate *Azospirillum* with nitrogen fixation efficiency and phytohormone production, silicate solubilizing bacteria and endophytic fungi control disease and rice pests, to development of biofertilizer products and to study the effect of biofertilizer product for paddy field on growth and yield in greenhouse and field conditions. These microorganisms were selected on the specific culture medium. The results found that *Azospirillum brasilence* was performed the highest N_2 fixation and IAA production and it showed effect on rice growth in greenhouse condition not significantly difference with chemical fertilizer usage. Silicate solubilizing bacteria selection found that *Bacillus megaterium* released silicon 23 µg/ml, produced IAA 27 mg/ml and promoted rice seed germination. For endophytic fungi selection found that *Purpureocillium lilacinum* P1 had antagonistic capacity to inhibit growth *Cercospora oryzae, Curvularia lunata* and *Colettotrichum gloeosporiodes*. %Mortality of brown plant hopper at $1x10^6$ and $1x10^7$ concentration of endophytic fungi was 100%. Bio-fertilizer production found that *A. brasilense* and *B. megaterium* was developed as liquid formulation by culture in broth added 10 mM trehalose. Shelf life and survival times were 8 months at 4 °C. For wettable powder, skimmed milk was used as carrier. Shelf life and survival times were 12 months at 30 °C. While *P. lilacinum* was developed as wettable powder product by using maltodextrin as carrier. Shelf life and survival times were for 12 months at 30 °C. For the use of bio-fertilizer products for Pathum Thani 1 and RD 41 rice planting in clay soil areas was found that using both *A. brasillense* and *B. megaterium* products in liquid and wettable powder formulation supplemented with *P. lilacinum* in wettable powder formulation and chemical fertilizer 50 and 70 percent according to soil analysis gave rice growth and yield were not different from chemical fertilizer application at the rate of soil analysis. While, the use of biofertilizer products for Khao Dok Mali 105 rice planting in sandy loam fields of Surin province was found that the application of *A. brasillense*, *B. megaterium* and *P. lilacinum* in water soluble powder biofertilizers supplemented with chemical fertilizers was 50% based on soil analysis. soil gave the highest rice yield in the 1st, 2nd and 3rd years was 386.1, 870.9 and 814.4 kg/rai, respectively.

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

หลักการและเหตุผล

ข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจหลักของประเทศไทย ซึ่งปัจจุบันเกษตรกรผู้ประกอบอาชีพทำนามีรายได้ต่ำเนื่องจากมีต้นทุนในการผลิตสูง โดยเฉพาะต้นทุนของปุ๋ยเคมี และสารเคมีทางการเกษตรซึ่งมีราคาแพง นอกจากนี้การใช้สารเคมีทางการเกษตรในการกำจัดศัตรูข้าวในปริมาณมากทำให้ข้าวไทยไม่เหมาะแก่การบริโภคมากนัก และอาจมีปัญหาเรื่องการตลาด เพราะตลาดโลกเข้มงวดกับผลผลิตทางการเกษตรที่เป็นเกษตรเคมี ประกอบกับประเทศเพื่อนบ้านของไทย เช่น ลาว เวียดนาม กำลังส่งเสริมการผลิตข้าวที่ไม่ใช้ปุ๋ยเคมี และสารเคมีทางการเกษตร โดยเน้นการใช้เทคนิคเกษตรธรรมชาติ ซึ่งเน้นจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพเป็นหลัก ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวจึงเป็นที่น่าสนใจ และจะเป็นทางเลือกหนึ่งของเกษตรกรในการลดต้นทุนการผลิต และสารเคมีตกค้างในผลผลิตข้าว ดังนั้นควรมีการวิจัยและพัฒนาปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าว โดยการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่ให้ธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับข้าว สร้างสารเสริมการเจริญเติบโต ควบคุมโรคและแมลงศัตรูข้าว นำมาผลิตรูปแบบผลิตภัณฑ์ และวิธีการใช้ที่เหมาะสม เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโต เพิ่มผลผลิตและสร้างความทนทานต่อโรคและแมลงของข้าวต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อคัดเลือก *Azospirillum* sp. ที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน สร้างฮอร์โมนพืช และสารไซเดอโรฟอร์ แบคทีเรียละลายซิลิเกต และ endophytic fungi ควบคุมโรค และแมลงศัตรูข้าว สำหรับพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าว
2. ศึกษาวัสดุรองรับและรูปแบบผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าว ต่อการมีชีวิตรอดของเชื้อจุลินทรีย์และระยะเวลาในการเก็บรักษา
3. ศึกษาผลการใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตข้าวในสภาพโรงเรือนกระจกและภาคสนาม

การตรวจเอกสาร

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมที่มีการเพาะปลูกข้าวติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน ทำให้ดินมีปัญหาขาดความอุดมสมบูรณ์ เกษตรกรจึงมีความจำเป็นต้องใช้ปุ๋ยเคมีเพื่อให้ต้นข้าวได้รับธาตุอาหารที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตสูง (อรพิน, 2551) โดยเฉพาะปุ๋ยไนโตรเจนซึ่งเป็นธาตุที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืช ปัจจุบันมีการใช้ปุ๋ยเคมีไนโตรเจนในปริมาณมากทำให้มีต้นทุนทางการเกษตรสูงขึ้น ซึ่งไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารพืชที่ขาดแคลนในดินนาโดยทั่วไป ดังนั้นการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนจึงเป็นทางหนึ่งที่ช่วยเพิ่มผลผลิตข้าว โดยไนโตรเจนมีบทบาทในการเจริญเติบโตของข้าวเนื่องจากประมาณ 75% ของธาตุซึ่งมีในใบข้าวอยู่ที่คลอโรฟิลล์ อันเป็นออร์แกเนลล์ซึ่งมีหน้าที่ในการสร้างมวลชีวภาพด้านการสังเคราะห์แสง ช่วยเพิ่มความสูง จำนวนรวง ขนาดใบ จำนวนดอกย่อย จำนวนเมล็ดเต็ม และเป็นธาตุที่กำหนดศักย์ผลผลิตของข้าว (Mae, 1997; ยงยุทธ, 2558) นอกจากไนโตรเจนแล้ว ยังมีธาตุเสริมประโยชน์บางธาตุ เช่น ซิลิกอน ซึ่งเป็นธาตุที่มีประโยชน์ทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อข้าว โดยมีบทบาทที่สำคัญเกี่ยวกับสรีระวิทยาของข้าว ช่วยให้ใบข้าวตั้งชัน ช่วยให้ข้าวมีลำต้นแข็งแรงไม่ล้มง่าย ป้องกันเชื้อราเข้าในรากและใบ ลดความเป็นพิษของแมงกานีส เหล็ก และอลูมินัม (ยงยุทธ, 2543) บทบาทของไนโตรเจนและซิลิกอนต่อข้าวเป็นดังนี้

ไนโตรเจนต่อการเจริญเติบโตของข้าว

1. ระยะการเจริญเติบโตทางต้น และทางใบ ไนโตรเจนจะถูกดูดใช้ในระหว่างช่วงการเจริญ ทางต้น และทางใบ โดยจะช่วยส่งเสริมการเติบโตของราก ทำให้ศักยภาพของรากในการดูดน้ำ และ ธาตุอาหารได้มากขึ้น เพิ่มความสูงของลำต้น และเพิ่มจำนวนแขนงซึ่งจะส่งผลให้เพิ่มจำนวนช่อดอกหรือจำนวนรวงด้วย
2. ระยะการเจริญเติบโตทางการสืบพันธุ์ ไนโตรเจนจะช่วยในการเติบโตของดอก ดังนั้นจำนวนดอกซึ่งจะไปพัฒนาไปเป็นเมล็ดจึงขึ้นอยู่กับความพอเพียงของไนโตรเจนที่ข้าวได้รับ และยังทำให้จำนวนรวงต่อกอและความยาวรวงเพิ่มขึ้นด้วย

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

3. ระยะเติมเต็มเมล็ด โดยไนโตรเจนจะส่งเสริมการสร้างโปรตีนและเพิ่มน้ำหนักเมล็ดข้าว

ซิลิกอนต่อสรีระวิทยาของข้าว

1. ช่วยให้ใบข้าวตั้งชัน (erectness) แปลงที่มีต้นข้าวค่อนข้างหนาแน่นหรือใช้ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราสูง ใบข้าวส่วนปลายมีแนวโน้มที่โค้งลงบังแสงกันเอง การใส่ซิลิกอนมีผลให้ใบข้าวตั้งชันสังเคราะห์แสงได้ดี ผลผลิตเพิ่มขึ้น

2. ช่วยให้ข้าวมีลำต้นแข็งแรงไม่ล้มง่าย ข้าวที่ได้รับปุ๋ยไนโตรเจนอัตราสูงมักมีลำต้นอ่อนและหักล้มง่าย ซิลิกอนช่วยให้ลำต้นแข็งแรงขึ้นและล้มน้อยลง

3. ป้องกันเชื้อราเข้าในรากและใบ เนื่องจากความแข็งแรงของผนังเซลล์ที่มีซิลิกอนสูงและแมลงกัดกินใบน้อยลง

4. ลดความเป็นพิษของแมงกานีส เหล็ก และอลูมินัม โดยช่วยให้ข้าวทนต่อความเป็นพิษของแมงกานีส เหล็ก และอลูมินัมได้มากขึ้น รากข้าวมี oxidizing power เพิ่มขึ้น ซิลิกอนช่วยลดการสะสมเหล็กและแมงกานีสในพืชด้วยการลดการคายน้ำ ทำให้การดูดเหล็กและแมงกานีสในพืชลดลง

5. ผลในด้านอื่นๆ อาทิ ลดการคายน้ำผ่านผิวเคลือบคิวทินของใบข้าว Dobermann and Fairhust (2000) ได้กล่าวถึงวิธีการจัดการดินเพื่อไม่ให้ดินขาดซิลิกอนดังนี้

5.1 โดยการให้น้ำชลประทานที่มีซิลิกอนแก่พืช

5.2 โดยการไถกลบตอซังข้าวเพราะในฟางข้าวมีซิลิกอนประมาณ 5-6 % SiO_2

5.3 ใส่ซิลิกอนร่วมกับการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน

5.4 การจัดการหลังการเก็บเกี่ยวนำแกลบหรือขี้เถ้าแกลบมาใช้เพิ่มซิลิกอนให้กับดิน โดยในแกลบมีซิกอนประมาณ 15 %SiO_2

โดยการใช้จุลินทรีย์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวจึงเป็นที่น่าสนใจ และจะเป็นทางเลือกหนึ่งของเกษตรกรในการลดต้นทุนการผลิต และสารเคมีตกค้างในผลผลิตข้าว ซึ่งปุ๋ยชีวภาพตรึงไนโตรเจน และละลายซิลิเกต ที่นำมาใช้ในนาข้าว เช่น

แบคทีเรียอะโซสไปริลลัม

อะโซสไปริลลัม (*Azospirillum* spp.) เป็นแบคทีเรียแกรมลบ อยู่ใน phylum α-proteobacteria ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต สามารถตรึงไนโตรเจนได้ในสภาพที่มีออกซิเจนน้อย (microaerophilic nitrogen fixing bacteria) โดยทั่วไปจะพบ *Azospirillum* สปีชีส์ใหม่ๆ ในสภาพแวดล้อมและพืชที่มีความหลากหลาย ไม่เฉพาะร่วมอาศัยกับพืชไร่ที่มีความสำคัญ เช่น ธัญพืช อ้อย หญ้าอาหารสัตว์ แต่สามารถพบร่วมอาศัยในพืชอื่นๆ อีกหลายชนิด เช่น กาแฟ ไม้ผล และกล้วยไม้ (Reis *et. al*., 2011; ธงชัย, 2557) ปัจจุบันพบ 19 สปีชีส์ (Rodrigues *et. al*., 2015; Young *et al.*, 2015; Lin *et al*., 2016) ซึ่ง *Azospirillum* เป็นปุ๋ยชีวภาพที่สำคัญ โดยเฉพาะบทบาทหลักการตรึงไนโตรเจนสำหรับการส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตพืช ซึ่งมีความสัมพันธ์แบบร่วมอาศัยกับข้าว ข้าวโพด ข้าวฟ่าง และข้าวสาลี (Sivasakthivelan and Saranraj, 2013) นอกจากนี้ Azospirillum ยังสามารถผลิตฮอร์โมนพืช เช่น ออกซิน (Indole-3-acetic acid (IAA), Indole-3-butyric acid (IBA)) ไซโตไคนิน จิบเบอเรลลิน (gibberellic acid (GA3)) เอทีลีน และซีเอทิน สารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดอื่น เช่น abscisic acid, nitric oxide putrescine, spermine, spermidine, cadaverine และ polyamine เป็นต้น สามารถละลายฟอสเฟตในรูปที่ไม่เป็นประโยชน์ต่อพืชให้เป็นประโยชน์ต่อพืชได้ สร้างสารไซเดอโรฟอร์ เช่น HCN และ salicylic acid ผลิต ACC deaminase สามารถควบคุมโรคพืช และปกป้องพืชต่อสภาพดินเค็ม และสารพิษตกค้างในดินได้ (Cassán and Diaz-Zorita, 2016) จากประสิทธิภาพของ *Azospirillum* ดังกล่าวทำให้มีนักวิจัยสนใจที่จะคัดแยกเชื้อจากดินและพืชต่างๆ เพื่อคัดเลือกชนิดที่มีประสิทธิภาพสูง นำไปใช้ประโยชน์ทางเกษตรเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตและผลผลิตพืชเศรษฐกิจหลายชนิด ทั้งต่างประเทศและในประเทศ

สำหรับงานวิจัย *Azospirillum* ในข้าว มีการศึกษากันมากเช่นกัน มีการแยกเชื้อจากดินและรากข้าว มีรายงานวิจัยปลูกเชื้อ *Azospirillum* ให้กับข้าวพบว่าสามารถเพิ่มการเจริญเติบโตทางด้านความสูง จำนวนใบต่อต้น ความยาวและความกว้างใบ น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นข้าวได้อย่างมีนัยสำคัญ (Hossain *et al*., 2015)

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ในขณะที่ Nayak *et al*. (2003) ทดสอบผลของการใส่เชื้อ *Azospirillum* ร่วมกับปุ๋ยเคมีไนโตรเจนอัตราแนะนำในการปลูกข้าว พบว่าการใส่ปุ๋ยอัตรา 75% และ 100% ของอัตราแนะนำร่วมกับใส่เชื้อ *Azospirillum* ให้ผลผลิตข้าว 7,194 และ 7,249 กก./เฮกตาร์ ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าตำรับทดลองที่ไม่ใส่เชื้อ Anandan *et al*. (2015) ศึกษาประสิทธิภาพของ *A. lipoferum* 2 ไอโซเลต คือ Asp7 และ Asp9 ที่มีประสิทธิภาพสูงในการผลผลิต IAA exopolysaccharide (EPS) สารไซเดอโรฟอร์ (HCN) และสร้างความทนทานให้กับพืชในสภาพแห้งแล้งได้ ในสภาพโรงเรือนทดลอง พบว่า *A. lipoferum* Asp9 มีผลให้ความยาวต้นและรากข้าวสูงกว่า *A. lipoferum* Asp7 และเมื่อนำมาทดสอบในสภาพแปลง พบว่า การดูดใช้ธาตุอาหาร การเจริญเติบโต และเพิ่มผลผลิตเมล็ดของข้าวเพิ่มขึ้น García de Salamone *et al*. (2010) รายงานว่าการใส่เชื้อ Azospirillum มีผลต่อการเพิ่มมวลชีวภาพของข้าวในระยะการแตกกอ และการสร้างเมล็ดเติม และพบการเพิ่มขึ้นของการสะสมไนโตรเจนในใบข้าวอยู่ในช่วง 16-60 กก. N/เฮกตาร์

ส่วนรายงานการวิจัยในประเทศไทย มีการศึกษาการใช้ *Azospirillum sp.* TS8 ผลิต IAA สำหรับการทดสอบปลูกข้าวในกระถาง มีผลให้น้ำหนักแห้งราก และ น้ำหนักแห้งรวมเพิ่มขึ้น 37 และ 24% ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับการใส่ปุ๋ยไม่ใส่เชื้อ และการใส่ *Azospirillum sp.* TS8, TS13, TS29 เพิ่มการดูดใช้ฟอสฟอรัส และเพิ่มประสิทธิภาพการใส่ปุ๋ยเคมี (Meunchang *et al*., 2006) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการใช้ Azospirillum ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพชนิดอื่นๆ ในนาข้าวด้วย ซึ่งพบว่า การใช้ Azospirillum ร่วมกับ Azotobacter ระบบการปลูกข้าวแบบประณีตให้ผลผลิตสูงกว่าระบบดั้งเดิม โดยการใส่เชื้อ *Azospirillum largimobile* ร่วมกับ *Azotobacter vinelandii* ให้ผลผลิตสูงที่สุดในระดับแปลง (อาภากร, 2553) แต่สำหรับการวิจัยในด้านการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวยังมีรายงานอยู่น้อย ดังนั้นงานวิจัยพื้นฐานด้านการแยกและคัดเลือก *Azospirillum* ที่มีประสิทธิภาพสูงในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวจึงมีความสำคัญ และจะส่งผลให้การผลิตผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพมีประสิทธิภาพสูงด้วย

แบคทีเรียละลายซิลิเกต

เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถละลายซิลิเกตซึ่งเป็นองค์ประกอบที่พบอยู่บนเปลือกโลกมากที่สุดประมาณร้อยละ 96 โดยน้ำหนัก เพื่อให้อยู่ในรูปที่พืชนำไปใช้ประโยชน์ได้ กลไกสำคัญของจุลินทรีย์ คือ การผลิตกรดอินทรีย์ ได้แก่ oxalate citrate succinate pyruvate และ 2-ketoglutamate (Welch and Ulman, 1992) การขับสาร polysaccharide และการผลิตสาร gluconate ซึ่งเป็นสารประกอบที่ละลายน้ำได้ และเกิดปฏิกิริยา chelation gluconate (Vandevivere *et al*., 1994) และการสร้างสารเสริมการเจริญเติบโตให้กับพืช

มีการใช้ซิลิเกตแบคทีเรียในรูปปุ๋ยชีวภาพ เช่น *Bacillus exlorrguen* ละลายแร่ซิลิเกต เช่น pegmatite และ kietyolite ได้ และพบว่า *Bacillus Circulants* สามารถละลายแร่ pegmatite ให้โพแทสเซียมออกมาในรูป K_2O ได้ 27% อะลูมิเนียมในรูป Al_2O_3 ได้ 23% และซิกอนในรูป Si_2O_3 ได้ 13% ส่วน mica ให้โพแทสเซียมออกมาในรูป K_2O ได้ 51.3% อะลูมิเนียมในรูป Al_2O_3 WFH 57.8% และซิลิกอนในรูป Si_2O_3 ได้ 50.3% จากประสิทธิภาพดังกล่าวทำให้ประเทศจีนได้พัฒนาเชื้อในรูปหัวเชื้อปุ๋ยชีวภาพซิลิเกต ซึ่งสามารถผลิตสารกระตุ้นการเจริญเติบโตให้กับพืช เช่น ออกซิน จิบเบอเรลลิน สามารถป้องกันและควบคุมโรคให้กับพืช เช่น โรคใบไหม้ในข้าวโพดและข้าว โรคเหี่ยวเหลืองของข้าวสาลี ราสนิมและลำต้นเน่าของข้าวสาลี

นอกจากธาตุอาหารดังที่กล่าวมาข้างต้นแล้ว ศัตรูข้าวก็ยังมีความสำคัญที่ทำให้ผลผลิตข้าวลดลง เช่น เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยไฟ หนอนกอข้าว โรคถอดฝักดาบ โรคใบไหม้ เป็นต้น (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2561) การใช้สารเคมีกำจัดศัตรูข้าว อาจมีผลตกค้างในผลผลิต ดังนั้นแนวทางหนึ่งที่จะช่วยลดปัญหาดังกล่าวได้คือการใช้จุลินทรีย์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตให้กับข้าว ควบคุมโรคข้าว เช่น จุลินทรีย์เอ็นโดไฟต์ เป็นต้น

เชื้อราเอนโดไฟต์ในข้าว และคุณสมบัติการควบคุมเชื้อโรคพืช

สายทอง (2557) ได้มีการศึกษาเชื้อราเอนโดไฟต์ในข้าว โดยแยกเชื้อราเอนโดไฟต์จากใบของข้าวหอมกระดังงา และนำมาศึกษาการเป็นปฏิปักษ์ของเชื้อราเอนโดไฟต์ต่อเชื้อรา *Pyricularia grisea* สาเหตุโรคไหม้ของข้าว โดยแยกเชื้อราเอนโดไฟต์จากใบข้าว สามารถแยกเชื้อรา *Chaetomium* sp. (10.75%) *Penicillium* sp.

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

(8.62%) *Aspergillus* sp. (6.45%) *Trichoderma* sp. (2.15%) และ *Xylaria* sp. (1.07%), *Fusarium* sp. (1.07%) และ *Colletotrichum* sp. (1.07%)

อนันต์ (2557) แยกเชื้อราเอนโดไฟต์จากข้าวในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และศึกษาผลการยับยั้งเชื้อราสาเหตุโรคข้าว 6 ชนิด ได้แก่ *Magnaporthe grisea*, *Fusarium* sp. FSK1, *Fusarium* sp. FSK2, *Bipolaris oryzae*, *Curvularia lunata* และ *Rhizoctonia solani* ด้วยเทคนิค dual culture โดยสามารถคัดแยกเชื้อราเอนโดไฟต์ *Trichoderma harzianum* ได้ และสามารถยับยั้งราสาเหตุโรคข้าวทดสอบได้ทุกชนิดโดยมีประสิทธิภาพมากกว่า 75% ขึ้นไป

กานต์ และอนันต์ (2559) แยกเชื้อราเอนโดไฟต์จากแปลงข้าวในมหาวิทยาลัยขอนแก่น และนำมาทดสอบการยับยั้งเชื้อ *Magnaporthe oryzae* ด้วยวิธี dual culture พบว่าเชื้อราเอนโดไฟต์ *Daldinia eschscholtzii* เป็นเชื้อราเอนโดไฟต์ของข้าว ที่สามารถควบคุมโรคไหม้ของกล้าข้าวภายใต้สภาพโรงเรือนได้

Zakaria *et al.* (2010) คัดแยกเชื้อราเอนโดไฟต์จากข้าว (*Oryza sativa*) พบเชื้อราเอนโดไฟต์ *Fusarium*, *Aspergillus*, *Curvularia*, *Penicillium*, *Gilmaniella* และ *Arthrobotrys foliicola* เช่นเดียวกับ Leewijit *et al.* (2016) คัดแยกเชื้อราเอนโดไฟต์จากตัวอย่างดินบริเวณรากข้าว (*Oryza sativa*) ได้เชื้อราเอนโดไฟต์ *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Trichoderma* spp., *Chaetomium* spp., *Curvularia* spp., *Fusarium* spp., *Gliocladium* sp., *Phytopthora* spp., *Rhizoctonia* spp., *Rhizopus* spp. *Xylaria* sp และคัดแยกเชื้อราเอนโดไฟต์จากส่วนต่างๆของข้าว ได้เชื้อราเอนโดไฟต์ *Aspergillus* spp., *Chaetomium* spp., *Colletotrichum* spp., *Curvularia* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp., *Phytophthora* spp., *Rhizopus* spp. และ *Trichoderma* spp. ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้อโรคพืชที่มีปริมาณน้อย สามารถเป็นเชื้อราเอนโดไฟต์ได้

การพัฒนาปุ๋ยชีวภาพ

การพัฒนารูปแบบปุ๋ยชีวภาพให้มีอายุการเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลานาน โดยไม่สูญเสียประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ที่จะนำไปใช้กับพืชหรือใส่ลงไปในดิน ซึ่งมีหลาย เช่น การแช่แข็งแล้วทำให้อาหารที่เลี้ยงจุลินทรีย์แห้ง การผสมเซลล์ลงในวัสดุรองรับ เช่น ดินเหนียว หรือ ผงแป้ง การเปลี่ยนแปลงชีวมวล หรือการหุ้มด้วยสาร alginate polymer การเพิ่มแหล่งอาหารลงไป ซึ่งจะไม่มีผลเฉพาะวัสดุรองรับเท่านั้น แต่จะไปปลดปล่อยสารอาหารที่จะไปส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ด้วย Jones and Burges (1998) ได้ให้ความหมายของสูตรส่วนผสมใช้เพื่อวัตถุประสงค์ในการถนอมรักษาสิ่งมีชีวิตที่จะใส่ลงไปที่บริเวณเป้าหมายเพื่อปรับปรุงกิจกรรมให้ดีขึ้น ความเข้มข้นของสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในส่วนผสมหรือผลิตภัณฑ์ที่จะเก็บรักษาหรือจะใช้เพื่อการค้า นอกจากนั้นแล้วยังเพื่อความเหมาะสมที่จะนำไปใช้กับพืช การเสริมสารเติมแต่งในช่วงกว้างๆเป็นการปรับปรุงประสิทธิภาพและการอยู่รอดในระหว่างการการเก็บรักษาและการนำไปใช้ สูตรส่วนผสมของแบคทีเรียที่ใช้ทางการค้าที่ได้จดทะเบียนกับ Environmental ProtectionAgency (EPA) เป็นรูปแบบของเม็ดของพีทมอสที่มีส่วนของแบคทีเรีย *P. fluorescens* ไม่น้อยกว่า10^5 CFU/กรัม ส่วนผสมในรูปของผงแป้งเพื่อใช้ในการควบคุมโรคพืชที่เกิดเชื้อสาเหตุโรคพืชที่อาศัยอยู่ในดินก็มีรายงานในการใช้การพัฒนาผลิตภัณฑ์นั้นไม่ยากด้วยคุณสมบัติของสาร adjuvant และรูปเปียก หรือสารแขวนลอย วัตถุดิบเหล่านี้จะใช้ในเซลล์พืช เซลล์สัตว์ และเอนไซม์ alginase จะมีการนำไปใช้ค่อนข้างมากได้ผลดีในห้องปฏิบัติการสารควบคุมโรคพืชโดยวิธีชีวภาพ

ชนิดของสูตรอาหารเพื่อเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ปุ๋ยชีวภาพ

Liquid formulation วัตถุดิบที่นำมาใช้ในการทำอาหารควรมีราคาไม่แพง เช่น โมลาส และ brewer's yeast เป็นต้น ข้อดีของการเลี้ยงเพิ่มปริมาณเชื้อในอาหารเหลวคือ ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณเชื้อ และคุณภาพ เนื่องจากสามารถควบคุมปริมาณธาตุอาหาร pH อุณหภูมิ และปัจจัยอื่นๆ ได้

Solid formulation วัตถุดิบที่นำมาใช้มักจะเป็นวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร เช่น ขี้เลื่อย ฟางข้าว กากอ้อย และรำข้าว เป็นต้น หรือเมล็ดธัญพืชต่างๆ เช่น ข้าว ข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าวฟ่าง และถั่วเหลือง เป็นต้น ซึ่งเป็นวิธีที่เหมาะต่อการขยายปริมาณ *Trichoderma* วิธีนี้เป็นวิธีที่มีต้นทุนต่ำในการผลิตขนาดเล็ก ต้นทุนจะเพิ่มขึ้นเมื่อเป็น

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

การผลิตขนาดใหญ่ ที่ต้องใช้พื้นที่ขนาดใหญ่ มีการเลี้ยงเชื้อ การเก็บรักษา ประกอบด้วย การทำแห้ง และการบด เป็นต้น

ทั้งสองสูตรอาหารเพื่อเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ จำเป็นต้องมีการทำแห้ง (drying) เพื่อที่จะเก็บรักษาจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ให้อยู่รอดเป็นระยะเวลานาน การทำแห้งโดยวิธี spray drying เป็นอีกวิธีหนึ่งที่นิยมในการผลิตขนาดใหญ่ เพื่อเก็บรักษาจุลินทรีย์ในรูปผงแห้ง เนื่องจากมีต้นทุนต่ำ (Cumagun, 2014)

วัสดุรองรับ (Carrier)

วัสดุรองรับเป็นองค์ประกอบหลักโดยปริมาตร หรือน้ำหนักของผลิตภัณฑ์ ที่จะช่วยรักษาสภาพของเชื้อและปริมาณ ให้อยู่รอด คงประสิทธิภาพได้นานที่สุด วัตถุดิบที่จะใช้เป็นวัสดุรองรับเป็นได้ทั้ง สารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ หรือสารสังเคราะห์ มีความเหมาะสมต่อเชื้อ (รักษาสภาพทางเคมี และกายภาพให้กับเชื้อได้ดี) และราคาเป็นปัจจัยหลักในการเลือกใช้วัสดุรองรับ การรักษาเชื้อให้อยู่รอดในทางการค้า ควรจะมีระยะเวลาอย่างน้อยที่สุด 2-3 เดือน ที่อุณหภูมิห้อง วัสดุรองรับที่ดีควรดูดซับความชื้นได้ดี นำมาขึ้นรูปได้ง่าย มีความสะอาดใกล้เคียงการ sterile หรือง่ายต่อการนำไป sterile ด้วยวิธีต่างๆ ได้แก่ autoclave การฉายรังสีแกมมา หรืออุลตราไวโอเลต เป็นต้น สามารถผสมกับสารอื่นๆได้ เช่น ธาตุอาหาร หรือสารจับใบ (adjuvants) ชนิดของวัสดุรองรับ เช่น

soil materials : peat, coal, clay, inorganic soil

organic materials : ปุ๋ยหมัก, กากถั่วเหลือง, ขี้เลื่อย

inert materials : vermiculite, perelite, kaolin, bentonite, silicate

อาหารเหลว (liquid formulation) สามารถใช้ในการเก็บรักษาเชื้อได้ เมื่อมีการเติม mineral oil, organic oil หรือ สารละลายน้ำมันในน้ำ (oil-in-water suspension) เป็นต้น

วัสดุรองรับที่เป็นของแข็งจะมีขนาดมาตรฐานประมาณ 75μm - 0.25 mm สำหรับเม็ด granule หรือ bead จะมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางตั้งแต่ 100-200 μm ไปจนถึง 3-4 mm วัสดุรองรับชนิดรูปแบบผงควรจะสามารถนำมาเคลือบเมล็ด หรือละลายในน้ำได้ แบคทีเรียสามารถเก็บรักษาด้วยวิธี การทำแห้งแบบเยือกแข็งภายใต้สภาวะสุญญากาศ (lyophilization/freeze drying) ซึ่งจะเพิ่มประสิทธิภาพการอยู่รอดแม้ว่าจะไม่มีวัสดุรองรับใดๆเลย แต่อย่างไรก็ตามในขั้นตอนของการรักษาสภาพเซลล์จากความเย็น (cryoprotectant) จำเป็นต้องเติมวัสดุรองรับ เพื่อปกป้องเยื่อหุ้มเซลล์ และไซโตพลาสซึมจากการระเหยของน้ำ mannitol และ microcrystalline cellulose ถือเป็น cryoprotectant ที่ดี นอกจากนี้การเติมแหล่งคาร์บอน เช่น skimmed milk หรือ maltodextrin จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการเก็บรักษา (Cumagun, 2014)

ซึ่งก่อนนำปุ๋ยชีวภาพที่ผลิตขึ้นไปใช้ควรมีการทดสอบประสิทธิภาพและอัตราการใช้ทั้งในสภาพโรงเรือนและภาคสนาม กับข้าวพันธุ์ต่างๆ เพื่อให้ครอบบคลุมการใช้ประโยชน์

ข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1

พันธุ์ปทุมธานี 1 (Pathum Thani 1) เป็นข้าวเจ้า ที่ได้จากการผสมพันธุ์ระหว่างสายพันธุ์ BKNA6-18-3-2 กับสายพันธุ์ PTT85061-86-3-2-1 มีลักษณะประจำพันธุ์ คือ เป็นข้าวเจ้า ต้นสูงประมาณ 104 - 133 เซนติเมตร ไม่ไวต่อช่วงแสง อายุเก็บเกี่ยวประมาณ 104 - 126 วัน ทรงกอตั้ง ใบสีเขียวมีขน กาบใบและปล้องสีเขียว ใบธงยาวทำมุม 45 องศากับคอรวง รวงอยู่ใต้ใบธง เมล็ดข้าวเปลือกสีฟาง มีขน มีหางยาวเล็กน้อย ระยะพักตัวของเมล็ดประมาณ 3 - 4 สัปดาห์ เมล็ดข้าวกล้องกว้าง × ยาว × หนา เท่ากับ 2.1 × 7.6 × 1.7 มิลลิเมตร ปริมาณอมิโลส 15 - 19 เปอร์เซ็นต์ คุณภาพข้าวสุกนุ่มเหนียว มีกลิ่นหอมอ่อน ผลผลิตสูงประมาณ 650 - 774 กิโลกรัมต่อไร่ คุณภาพเมล็ดคล้ายพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 ต้านทานโรคไหม้และโรคขอบใบแห้ง ค่อนข้างอ่อนแอเพลี้ยจักจั่นสีเขียว โรคใบหงิก และโรคใบสีส้ม ปลูกมากในเขตชลประทานในภาคกลาง (กองวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว, มปป.)

ข้าวพันธุ์ กข 41

พันธุ์กข 41 (RD41) เป็นข้าวเจ้า ที่ได้จากการผสมพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 ของ CNT85059-27-1-3-2 และสุพรรณบุรี 60 นำไปผสมพันธุ์กับ RP217-635-8 มีลักษณะประจำพันธุ์ คือ เป็นข้าวเจ้าไม่ไวต่อช่วงแสง ความสูง

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ประมาณ 104 เซนติเมตร อายุเก็บเกี่ยว 105 วัน กอตั้ง ต้นแข็ง ใบและกาบใบสีเขียว ใบธงตั้งตรง คอรวงโผล่พ้นจากกาบใบธงเล็กน้อย ยอดเกสรตัวเมียสีขาว เมล็ดข้าวเปลือกสีฟาง เปลือกเมล็ดมีขนสั้น รูปร่างเรียว เมล็ดข้าวเปลือก ยาว x กว้าง x หนา = 10.40 x 2.5 x 2.0 มิลลิเมตร เมล็ดข้าวกล้อง ยาว x กว้าง x หนา = 7.7 x 2.2 x 1.8 มิลลิเมตร ปริมาณอมิโลสสูง (27.15%) คุณภาพการสีดีได้ข้าวเต็มเมล็ด ระยะพักตัวของเมล็ดพันธุ์ประมาณ 9-10 สัปดาห์ ผลผลิต ประมาณ 722 กิโลกรัมต่อไร่ ลักษณะเด่น คือ ผลผลิตสูง มีเสถียรภาพดี ให้ผลผลิตเฉลี่ย 722 กก./ไร่ สูงกว่าสุพรรณบุรี 1 (645 กก./ไร่) และชัยนาท 1 (640 กก./ไร่) คิดเป็นร้อยละ 12 และ 13 ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างจากพิษณุโลก 2 (719 กก./ไร่) ค่อนข้างต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และโรคไหม้ คุณภาพเมล็ดทางกายภาพดีเป็นข้าวเจ้าเมล็ดยาวเรียว ท้องไข่น้อย คุณภาพการสีดี สามารถสีเป็นข้าวสาร 100 เปอร์เซ็นต์ได้ ข้อควรระวัง อ่อนแอต่อโรคขอบใบแห้ง ไม่ควรใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในระดับสูงเกินไปจะทำให้เกิดโรครุนแรง อ่อนแอต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในเขตจังหวัดนครปฐมและปทุมธานีการปลูกในช่วงกลางเดือนกันยายน – พฤศจิกายน จะกระทบอากาศเย็นทำให้ผลผลิตต่ำกว่าปกติ พื้นที่แนะนำ เหมาะสำหรับปลูกในพื้นที่นาชลประทาน ภาคเหนือตอนล่าง สำหรับเป็นทางเลือกของเกษตรกรในการป้องกันการแพร่ระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (กองวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว, มปป.)

ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

ชื่อพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (Khao Dawk Mali 105) เป็นข้าวเจ้าหอม มีลักษณะประจำพันธุ์ เป็นข้าวเจ้า สูงประมาณ 140 เซนติเมตร ไวต่อช่วงแสง ลำต้นสีเขียวจาง ใบสีเขียวยาวค่อนข้างแคบ ฟางอ่อน ใบธงทำมุมกับคอรวง เมล็ดข้าวรูปร่างเรียวยาว ข้าวเปลือกสีฟาง อายุเก็บเกี่ยว ประมาณ 25 พฤศจิกายน เมล็ดข้าวเปลือก ยาว x กว้าง x หนา = 10.6 x 2.5 x 1.9 มิลลิเมตร เมล็ดข้าวกล้อง ยาว x กว้าง x หนา = 7.5 x 2.1 x 1..8 มิลลิเมตร ปริมาณอมิโลส 12-17 % คุณภาพข้าวสุก นุ่ม มีกลิ่นหอม ผลผลิตประมาณ 363 กิโลกรัมต่อไร่ ลักษณะเด่นทนแล้งได้ดีพอสมควร เมล็ดข้าวสารใส แกร่ง คุณภาพการสีดี คุณภาพการหุงต้มดี อ่อนนุ่ม มีกลิ่นหอม ทนต่อสภาพดินเปรี้ยวและดินเค็ม ข้อควรระวัง ไม่ต้านทานโรคใบสีส้ม โรคขอบใบแห้ง โรคไหม้ และโรคใบหงิก ไม่ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยจักจั่นสีเขียว และหนอนกอ พื้นที่แนะนำ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือตอนบน (กองวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว, มปป.)

ข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง

พันธุ์สังข์หยดพัทลุง (Sang Yod Phattalung) เป็นข้าวเจ้า มีลักษณะประจำพันธุ์ เป็นข้าวเจ้า ไวต่อช่วงแสงอ่อน อายุเก็บเกี่ยวประมาณวันที่ 10 กุมภาพันธ์ เมื่อปลูกตามฤดูนาปีภาคใต้ (ปักดำกลางเดือนกันยายน) ทรงกอตั้ง ใบเขียว เมล็ดข้าวเปลือกสีฟาง ข้าวซ้อมมือมีสีแดงปนสีขาว ข้าวจากรวงเดียวกันเมื่อขัดสีแล้วบางเมล็ดมีสีขาวใส แต่ส่วนใหญ่มีลักษณะขาวขุ่น ระยะพักตัวของเมล็ดพันธุ์ประมาณ 8 สัปดาห์ เมล็ดข้าวเปลือก ยาว x กว้าง x หนา = 9.3 x 2.1 x 1.7 มิลลิเมตร เมล็ดข้าวกล้องมีสีแดง ยาว x กว้าง x หนา = 6.7 x 1.8 x 1.6 มิลลิเมตร ปริมาณอมิโลสต่ำ (15±2 %) ผลผลิตเฉลี่ย 330 กิโลกรัมต่อไร่ ลักษณะเด่น มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง ข้าวกล้องเมื่อหุงสุกนุ่มเล็กน้อย ส่วนข้าวซ้อมมือเมื่อหุงสุกนุ่ม ข้าวกล้อง มีคุณค่าทางโภชนาการสูง จากตัวอย่างข้าวกล้อง 100 กรัม มีปริมาณไนอาซิน (Niacin) 6.46 มิลลิกรัม ใยอาหาร 4.81 กรัม และธาตุเหล็ก 0.52 มิลลิกรัม ข้อควรระวัง ไม่ต้านทานโรคไหม้ ไม่ควรปลูกใกล้เคียงกับแปลงปลูกข้าวขาว และควรแยกเก็บเมล็ดพันธุ์ไว้โดยเฉพาะ พื้นที่แนะนำ พื้นที่ปลูกข้าวนาปี จังหวัดพัทลุง (กองวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว, มปป.)

ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินการ

ระยะเวลาดำเนินการ	เริ่มต้นเดือน ตุลาคม พ.ศ. 2557 สิ้นสุดเดือน กันยายน พ.ศ. 2563
สถานที่ทำการทดลอง	ห้องปฏิบัติการจุลินทรีย์ทางการเกษตร และโรงเรือนทดลอง กองเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน กรมพัฒนาที่ดิน แปลงเกษตรกร จ. สุพรรณบุรี พิษณุโลก สุรินทร์ ร้อยเอ็ด ศรีสะเกษ และพัทลุง

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัสดุและอุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างรากข้าว เช่น พลั่วมือ ถุงพลาสติก ถังน้ำแข็ง GPS เป็นต้น
2. สารเคมี วัสดุ และอุปกรณ์ทางด้านจุลชีววิทยาและชีวเคมี ได้แก่ สารเคมีในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและทดสอบกิจกรรมของจุลินทรีย์ สารเคมีสำหรับผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพรูปแบบน้ำ และผงแห้ง หลอดทดลอง จานเลี้ยงเชื้อ เป็นต้น
3. สารเคมี วัสดุ และอุปกรณ์ทางด้านชีวโมเลกุล เช่น ชุดสกัดดีเอ็นเอ สารเคมีสำหรับทำปฏิกิริยา PCR หลอด PCR เป็นต้น
4. เมล็ดพันธุ์ข้าวปทุมธานี 1 ข้าว กข 41 ข้าวขาวดอกมะลิ 105 และข้าวสังข์หยด
5. ปุ๋ยเคมี
6. วัสดุ และอุปกรณ์สำหรับการศึกษาในสภาพโรงเรือนทดลอง เช่น กระถาง
7. วัสดุ และอุปกรณ์สำหรับการศึกษาในภาคสนาม
8. เครื่องทำระเหยเยือกแข็งภายใต้สภาวะสุญญากาศ (freeze dryer)

วิธีการ

1. การแยกและคัดเลือก *Azospirillum* spp. ที่มีประสิทธิภาพสูงในการตรึงไนโตรเจน สร้างออกซิน จิบเบอเรลลิน และสารไซเดอโรฟอร์ จุลินทรีย์ละลายซิลิเกต และเชื้อราเอนโดไฟต์ควบคุมโรค และแมลงในนาข้าว

1. การเก็บตัวอย่างดินบริเวณรากพืช รากพืช ดินบริเวณรากข้าว รากข้าว และใบข้าว โดยตัวอย่างดินเก็บที่ระดับความลึก 0-15 เซนติเมตร ทั้งตัวอย่างดิน รากข้าว และใบข้าว ที่เก็บใส่ถุงพลาสติกแล้วนำมาแช่ในถังน้ำแข็งทันที จากนั้นนำมาเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4°C จนกระทั่งทำการคัดแยกจุลินทรีย์

2. การแยกและคัดเลือก *Azospirillum* spp. ที่มีประสิทธิภาพสูงในการตรึงไนโตรเจน สร้างออกซิน จิบเบอเรลลิน และสารไซเดอโรฟอร์ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตข้าว

2.1 แยก *Azospirillum* spp. จากตัวอย่างรากข้าว ตามวิธีการของ Akbari *et al.* (2007) โดยใช้อาหาร N-free semi-solid malate medium บ่มที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30-33°C) เป็นเวลา 3-5 วัน นำตัวอย่างที่เกิดฝ้าสีขาวบนอาหาร N-free semi-solid medium มาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์โดยการ streak บนอาหาร Congo Red Agar (CRA) medium คัดเลือกโคโลนีสีแดง มาเลี้ยงในอาหาร N-free semi-solid medium อีกครั้งเพื่อทดสอบการเกิดฝ้า จากนั้นแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ แล้วย้ายลงอาหาร nutrient agar เพื่อเก็บไว้ทำการทดลองต่อไป

2.2 การคัดแยกด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล โดยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค polymerase chain reaction (PCR) โดยใช้ไพรเมอร์ที่มี ความจำเพาะกับจีนัส Azospirillum ปฏิกิริยา PCR ในปริมาตรรวม 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วย ดีเอ็นเอของเชื้อให้บริสุทธิ์, 0.2 mM dNTPs (dATP, dCTP, dTTP, dGTP), 10 pmol genus specific primer (Azo494-F และ Azo756-R และ 2 units Taq DNA polymerase ปฏิกิริยาสังเคราะห์ดีเอ็นเอทำที่ initiation denaturation 95 องศา เซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที denaturing 94 องศาเซลเซียส 1 นาที annealing 68 องศาเซลเซียส 1.5 นาที และ extension 72 องศาเซลเซียส 0.5 นาที จำนวน 35 รอบ และตามด้วยอุณหภูมิที่ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 นาที โดยใช้เครื่อง DNA thermal cycle ผลผลิต PCR ที่ได้ 5 ไมโครลิตร นำมาตรวจสอบด้วยเทคนิค gel electrophoresis บน 1.5% agarose gel ใน 1X TAE buffer

2.3 การจำแนกชนิดของ *Azospirillum* spp. ที่คัดแยกได้ ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยการย้อมแกรม และจำแนกชนิดของ *Azospirillum* spp. ด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล

2.4 การทดสอบประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนไนโตรเจน โดยวิธี Acetylene reduction technique (ARA) ตามวิธีการของ Boddey (1987) และตรวจสอบยีน *nifH* ของ *Azospirillum* spp. ที่คัดแยกได้ ทดสอบการสร้างฮอร์โมนออกซิน โดยวิเคราะห์หาปริมาณฮอร์โมนออกซิน (IAA) วัดด้วย spectrophotometer ตามวิธีของ Sarwar *et al.* (1992) การวิเคราะห์หาปริมาณจิบเบอร์เรลลิน (gibberellic acid; GA3) ด้วย spectrophotometer

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ตามวิธีของ Holbrook *et al.* (1961) และทดสอบประสิทธิภาพการสร้างสารไซเดอโรฟอร์ด้วยเทคนิค Chrome Azurol Sulfonate (CAS) Assay (Schwyn and Neilands, 1987)

2.5 การทดสอบประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน การสร้างฮอร์โมนออกซิน จิบเบอร์เรลลิน และสารไซเดอโรฟอร์ ต่อการเจริญเติบโตของข้าวในห้องปฏิบัติการ และโรงเรือนทดลอง

2.5.1 การทดสอบประสิทธิภาพของ *Azospirillum* ต่อการงอกของเมล็ดข้าวปทุมธานี 1

1) วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 11 ตำรับการทดลอง 3 ซ้ำ ดังนี้

ตำรับ 1 = ควบคุม (ไม่ใส่เชื้อ ใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน)
ตำรับ 2 = Azospirillum ไอโซเลต T4
ตำรับ 3 = Azospirillum ไอโซเลต T12
ตำรับ 4 = Azospirillum ไอโซเลต KP6/1
ตำรับ 5 = Azospirillum ไอโซเลต KP6/2
ตำรับ 6 = Azospirillum ไอโซเลต T6/1
ตำรับ 7 = Azospirillum ไอโซเลต T6/2
ตำรับ 8 = Azospirillum ไอโซเลต CN4/1
ตำรับ 9 = Azospirillum ไอโซเลต CN4/2
ตำรับ 10 = Azospirillum ไอโซเลต NW1

2) ขั้นตอนการดำเนินงาน

ทำการเลี้ยง *Azospirillum* แต่ละไอโซเลต ในอาหารเหลว NFB ที่เติม yeast extract 0.5 กรัม เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อนำมาทดสอบ สำหรับเมล็ดข้าวทำการฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย Clorox เป็นเวลา 5 นาที แล้ว ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 4 ครั้ง แช่เมล็ดในสารละลายเชื้อ (ปรับความขุ่นให้มีค่า OD540 เท่ากับ 1.0 ซึ่งจะได้ปริมาณเชื้อ 10^9 CFU/ml (Bashan and Levanony, 1985))เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเพาะลงในจานเลี้ยงเชื้อที่บรรจุกระดาษเพาะเมล็ดที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จานละ 25 เมล็ด (Hossin *et al*, 2015) ทำการทดลอง 3 ซ้ำต่อไอโซเลต บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน

3) การเก็บข้อมูลเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ด และการวิเคราะห์ข้อมูล วิเคราะห์ ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ด และความยาวราก โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

2.5.2 ทดสอบการเจริญเติบโตของข้าวปทุมธานี 1 ในสารละลายธาตุอาหาร

1) วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 11 ตำรับการทดลอง 3 ซ้ำ ดังนี้

ตำรับ 1 = ควบคุม (ไม่ใส่เชื้อ ใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน)
ตำรับ 2 = Azospirillum ไอโซเลต T4
ตำรับ 3 = Azospirillum ไอโซเลต T12
ตำรับ 4 = Azospirillum ไอโซเลต KP6/1
ตำรับ 5 = Azospirillum ไอโซเลต KP6/2
ตำรับ 6 = Azospirillum ไอโซเลต T6/1
ตำรับ 7 = Azospirillum ไอโซเลต T6/2
ตำรับ 8 = Azospirillum ไอโซเลต CN4/1
ตำรับ 9 = Azospirillum ไอโซเลต CN4/2
ตำรับ 10 = Azospirillum ไอโซเลต NW1

2) ขั้นตอนการดำเนินงาน

ทำการเพาะเมล็ดข้าวที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิวในจานเลี้ยงเชื้อที่บรรจุกระดาษเพาะเมล็ดที่ผ่านการ ฆ่าเชื้อแล้วจนงอก จากนั้นนำมาวางในหลอดทดลอง (ขนาด 20x150 มม.) อบฆ่าเชื้อแล้ว ที่ใส่สารละลายธาตุอาหาร N-free Nutrient Solution (Somasegaran and Hoben 1985) และแผ่นโฟมตัดขนาดเล็กเพื่อพยุง

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

เมล็ดข้าว หลังจากข้าวมีรากดำเนินการปลูกเชื้อ *Azospirillum* แต่ละไอโซเลต (ที่เลี้ยงในอาหารเหลว NFB ที่เติม yeast extract 0.5 กรัม เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และปรับความขุ่นให้มีค่า OD540 เท่ากับ 1.0 ซึ่งจะได้ปริมาณเชื้อ 10^9 CFU/ml (Bashan and Levanony, 1985) ไอโซเลตละ 3 ซ้ำ ทำการทดลองเป็นเวลา 15 วัน

3) เก็บข้อมูลความสูงต้น ความยาวราก และประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน วิเคราะห์ข้อมูลวิเคราะห์ ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความสูงต้น ความยาวราก และประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

5.2.3 การทดสอบประสิทธิภาพของ *Azospirillum* ต่อการเจริญเติบโตของข้าวปทุมธานี 1 ที่ระยะ 60 วัน ในสภาพโรงเรือนทดลอง

1) วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 11 ตำรับการทดลอง 3 ซ้ำ ดังนี้

ตำรับ 1 = ควบคุม (ไม่ใส่เชื้อ ใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน)
ตำรับ 2 = Azospirillum ไอโซเลต T4
ตำรับ 3 = Azospirillum ไอโซเลต T12
ตำรับ 4 = Azospirillum ไอโซเลต KP6/1
ตำรับ 5 = Azospirillum ไอโซเลต KP6/2
ตำรับ 6 = Azospirillum ไอโซเลต T6/1
ตำรับ 7 = Azospirillum ไอโซเลต T6/2
ตำรับ 8 = Azospirillum ไอโซเลต CN4/1
ตำรับ 9 = Azospirillum ไอโซเลต CN4/2
ตำรับ 10 = Azospirillum ไอโซเลต NW1
ตำรับ 11 = Azospirillum ไอโซเลต AY16

2) ขั้นตอนการดำเนินงาน

2.1) ทำการเพาะกล้าข้าวปทุมธานี 1 โดยฆ่าเชื้อที่เมล็ดข้าวด้วย 10% Clorox เป็นเวลา 5 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3-5 ครั้ง แช่เมล็ดในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อข้ามคืน และเพาะจนเมล็ดข้าวงอก จากนั้นมา เมล็ดข้าวมาเพาะในภาชนะสำหรับเพาะกล้าที่เตรียมไว้ซึ่งบรรจุดินที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ใส่ Azospirillum แต่ละไอโซเลตตามตำรับการทดลอง เพาะกล้าเป็นเวลา 8 วัน (ตามวิธีการของอาภากร (2553))

2.2) ปลูกข้าวในกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 นิ้ว โดยใส่ดินที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 กิโลกรัม นำต้นกล้าอายุ 8 วัน ย้ายลงกระถาง กระถางละ 3 ต้น ตามตำรับการทดลอง ควบคุมการให้ระดับน้ำมีความสม่ำเสมอตั้งแต่ระยะย้ายปลูกจนถึงระยะ 60 วัน

3) การเก็บข้อมูล

3.1) เก็บตัวอย่างดินบริเวณรากกระถางละ 10 กรัม เพื่อวิเคราะห์ปริมาณเชื้อในดิน

3.2) เก็บข้อมูลการเจริญเติบโตของข้าว ได้แก่ ความสูงต้น จำนวนต้นต่อกอ น้ำหนักแห้งต้น ความยาวราก และน้ำหนักแห้งราก

3.3) ปริมาณการตรึงไนโตรเจนในรากข้าว ด้วยวิธี Acetylene reduction technique (ARA)

3.4) วิเคราะห์เชื้อในรากด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล

3. การคัดเลือกจุลินทรีย์ละลายซิลิเกตที่มีประสิทธิภาพสูงในการละลายซิลิเกตส่งเสริมการเจริญเติบโต และสร้างความทนทานให้กับข้าว

3.1 การคัดแยกเชื้อซิลิเกตแบคทีเรียในดินจากแหล่งที่มีแร่ไมก้าและเฟลสปาร์เป็นองค์ประกอบ

ชั่งตัวอย่างดิน 10 กรัมใส่ในขวดที่มีน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 90 มิลลิลิตรเขย่าเป็นเวลา 15 นาที เจือจาง soil suspension ที่ได้ซึ่งมีความเข้มข้นเป็น 10^{-1} ให้มีความเข้มข้นตั้งแต่ 10^{-2} - 10^{-6} แต่ในการแยกเชื้อใช้ความเข้มข้น 10^{-3} - 10^{-6} แยกเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Glucose agar (glucose 10.0g; agar 20.0g; distilled water

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

1000 ml; pH 7.0) ที่มี 0.25% magnesium trisilicate เป็นองค์ประกอบ โดยบ่มที่ตู้บ่มเชื้อ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน สังเกตการเจริญเติบโต การเกิด clear zone ในอาหารและวัดผล

3.2 ทดสอบประสิทธิภาพการละลาย magnesium trisilicate โดยนำจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้มาเลี้ยงในอาหารเหลวที่ใส่ magnesium trisilicate แทนสารเคมีโพแทสเซียมในตู้บ่มเชื้อชนิดเขย่า ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน ตรวจสอบหาปริมาณซิลิเกตที่ละลายปลดปล่อยออกมา

4. การคัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟต์ และศึกษาคุณสมบัติการควบคุมโรค และแมลงในนาข้าว

4.1 คัดเลือก endophytic fungi จากตัวอย่างดินบริเวณรากข้าว รากพืช ตัวอย่างดินบริเวณรอบรากพืชจากตัวอย่างข้าว ส่วนใบและราก โดยวิธี dilution plate count บนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) + streptomycin คัดแยกตัวอย่างราที่เจริญ โดยการใช้เข็มเขี่ย เขี่ยเส้นใยเชื้อราใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน หากเชื้อราที่ได้ยังไม่บริสุทธิ์ ให้ทำการคัดแยกเชื้ออีกครั้ง จนกว่าจะได้เชื้อราที่บริสุทธิ์

4.2 ทดสอบคุณสมบัติการ translocate ในข้าวนำเมล็ดข้าว ตรวจดูด้วย light microscope และ transmission electron microscope Hitachi HT 7700 ค่าศักย์ไฟฟ้า 80 kV คำนวณค่า Colonization frequency (%CF) จากสมการ

$$\%CF = \frac{\text{จำนวนชิ้นส่วนพืชที่พบเชื้อราเอนโดไฟต์} \times 100}{\text{จำนวนชิ้นส่วนพืชทั้งหมด}}$$

4.3 ทดสอบคุณสมบัติ antagonist กับโรคข้าว ตามวิธีการของ Blumenstein (2015)

4.4 จำแนกระดับ Genus และจำแนกระดับ species

4.5 ศึกษาคุณสมบัติความเป็น entomopathogenic fungi ของ endophytic fungi

1) ทดสอบการเข้าทำลายแมลงศัตรูข้าว คือ เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยเพาะเลี้ยงเชื้อราเอนโดไฟต์ที่คัดเลือกได้ และจำแนก Genus และ species แล้ว 2 ชนิด มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร PDA

2) ทำสารละลายสปอร์ (spore suspension) โดยการขูดสปอร์มาละลายในน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว ปรับให้มีความเข้มข้นที่ 0 $1x10^5$ $1x10^6$ $1x10^7$ และ $1x10^8$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร

3) ปลูกข้าวในถ้วยพลาสติก ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร สูง 2 เซนติเมตร เมื่อข้าวอายุประมาณ 7 วัน นำมาใส่กระบอกพลาสติกทรงสูงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร สูง 25 เซนติเมตร

4) ใส่เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลวัย 3 ลงในกระบอกพลาสติกกระบอกละ 5 ตัว สเปรย์สารละลายสปอร์ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ปิดด้วยผ้าขาวบาง

5) ตรวจผลวันที่ 3 5 7 และ 9 หลังจากสเปรย์สารละลายสปอร์ นับจำนวนและบันทึกจำนวนเพลี้ยกระโดดที่ตาย แล้วนำมาล้างด้วย sodium hypochloride 0.1% 2 ครั้ง และล้างน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 1 ครั้ง ผึ่งให้แห้ง แล้วนำมาวางบนอาหาร PDA

6) นับ และบันทึกจำนวนซากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่มีเชื้อราเอนโดไฟต์เจริญ

7) คำนวณ %mortality และหาค่า Lethal Concentration (LC_{50}) โดยใช้โปรแกรม Probit Analysis (Finney, 1952 ; Hayes *et al.*, 2014)

4.6 การศึกษาอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญและเพิ่มปริมาณของจุลินทรีย์ endophytic fungi ซึ่งสูตรอาหารประกอบด้วย Potato Dextrose Agar (PDA) Malt Extract Agar (MEA) Sabouraud's Dextrose Agar (SDA) และ Czapek Dextrose Agar (CDA) ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อราในอาหารแข็ง PDA เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 13 วัน บันทึกลักษณะการเจริญของจุลินทรีย์ ระยะเวลาการเจริญของเส้นใย โดยการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนี วันที่ 3 5 7 9 11 และ 13

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

2. วิจัยรูปแบบผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวให้มีประสิทธิภาพเพื่อเพิ่มการเจริญเติบโตและผลผลิตข้าว

2.1. ศึกษารูปแบบผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวให้มีประสิทธิภาพเพื่อเพิ่มการเจริญเติบโตและผลผลิตข้าว

2.1.1 ศึกษาอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญและขยายเชื้อของจุลินทรีย์ปุ๋ยชีวภาพนาข้าวที่มีประสิทธิภาพ

ศึกษาจุลินทรีย์สำหรับปุ๋ยชีวภาพนาข้าว 3 ชนิด ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Azospirillum* สายพันธุ์ 42 ที่คัดเลือกได้จากโครงการวิจัยเรื่อง การแยกและคัดเลือก *Azospirillum* sp. ที่มีประสิทธิภาพสูงในการตรึงไนโตรเจน สร้างออกซิน จิบเบอเรลลิน และสารไซเดอโรฟอร์ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตข้าว ซึ่งจำแนกชนิดตามสัณฐานวิทยาแล้วเป็น *A. brasilense* (พนิดา, 2560) เชื้อแบคทีเรียละลายซิลิเกตสายพันธุ์ CP31/1 ที่คัดเลือกได้จากโครงการวิจัยเรื่อง วิจัยคัดเลือกแบคทีเรียละลายซิลิเกตที่มีประสิทธิภาพสูงในการละลายซิลิเกตส่งเสริมการเจริญเติบโต และสร้างความทนทานให้กับข้าว ซึ่งจำแนกชนิดตามสัณฐานวิทยาแล้วเป็น *Bacillus megaterium* (พิมพ์ธิดา, 2560) และเชื้อราเอนโดไฟต์สายพันธุ์ P11 ที่คัดเลือกได้จากโครงการวิจัยเรื่อง วิจัยคัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟต์ และศึกษาคุณสมบัติการควบคุมโรค และแมลงในนาข้าว ซึ่งจำแนกชนิดตามสัณฐานวิทยาแล้วเป็น *Purpureocillium lilacinum* (ดารารัตน์, 2560)

1) คัดเลือกอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณมวลชีวภาพของ *A. brasilense* ประกอบด้วย TYG broth ABRA broth NFb broth NB และ LB

2) คัดเลือกอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณมวลชีวภาพของ *B. megaterium* ประกอบด้วย Silicate broth NB LB และ TGYE broth

3) คัดเลือกอาหารเลี้ยงเชื้อราที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และการสร้างสปอร์ของ *P. lilacinum* ประกอบด้วย Potato Dextrose Agar (PDA) Malt Extract Agar (MEA) Sabouraud's Dextrose Agar (SDA) และ Czapek Dextrose Agar (CDA)

2.1.2 ศึกษาวัสดุรองรับและรูปแบบผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสมต่อการเจริญและขยายเชื้อของจุลินทรีย์ควบคุมโรคพืชที่มีประสิทธิภาพ

1) ศึกษาวัสดุรองรับชนิดผงแห้งและผงแห้งละลายน้ำ สำหรับ *P. lilacinum A. brasilense* และ *B. megaterium* ดังนี้

ผงแห้ง

1.1) ปุ๋ยหมัก

1.2) kaolinite + Carboxymethyl Cellulose (CMC)

1.3) talcum + Carboxymethyl Cellulose (CMC)

ผงแห้งละลายน้ำ

1.4) maltodextrin (food grade)

1.5) skimmed milk (food grade)

วัสดุรองรับ 3 ชนิด ประกอบด้วย ปุ๋ยหมัก kaolinite และ talcum นำมานึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส 15 psi นาน 1 ชั่วโมงสำหรับปุ๋ยหมัก และ 30 นาทีสำหรับ kaolinite และ talcum นำเชื้อรา *P. lilacinum* จากข้อ 1.2-1.3 ที่เจริญดีที่สุด คือการเพาะในข้าวฟ่าง ละลายน้ำนำมาผสมในวัสดุรองรับ อัตราสารละลายเชื้อรา : วัสดุรองรับ (v/w) เท่ากับ 1 : 1.5 ส่วนแบคทีเรียเลี้ยงเพิ่มปริมาณ *A. brasilense* และ *B. megaterium* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เพิ่มปริมาณได้ดีที่สุดจากข้อ 5.1 เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง นำไปผสมกับวัสดุรองรับ วัสดุรองรับที่ผสมเชื้อกับ ปุ๋ยหมัก kaolinite และ talcum ผึ่งให้แห้งในถาด ความชื้นต่ำกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ ส่วนวัสดุรองรับที่ผสมเชื้อกับ skimmed milk และ maltodextrin ทำให้แห้งโดยการระเหิดแห้งภายใต้ระบบความดันสุญญากาศ (freeze drying) ด้วย freeze dryer รุ่น coolsafe 100-9 touch เก็บผลิตภัณฑ์ในที่แห้งอุณหภูมิห้อง (30 ± 2 องศาเซลเซียส) การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ตัวอย่าง ได้แก่ เก็บตัวอย่างจุลินทรีย์จากแต่ละ

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

รูปแบบการผลิต ทุก 1 สัปดาห์เป็นเวลา 1 เดือน และทุก 1 เดือน เป็นเวลา 1 ปี และ วิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์โดยวิธี dilution plate count method

5.3 ศึกษาสูตรอาหารชนิดเหลวที่ใส่สารรักษาเซลล์ (cryoprotectant) สำหรับ *A. brasillense* และ *B. megaterium*

สูตรอาหารชนิดเหลวที่ใส่สารรักษาเซลล์ประกอบด้วย Glycerol 10 เปอร์เซ็นต์ Trehalose 10 mM carrageenan 3 เปอร์เซ็นต์ polyvinylpyrollidine (PVP) 2 เปอร์เซ็นต์ และ mineral oil เตรียมใส่ flask ขวดละปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทำการนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส 15 psi นาน 30 นาที นำมาเก็บที่อุณหภูมิเก็บรักษาตู้เย็น (5 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิห้อง (30 ± 2 องศาเซลเซียส) การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ตัวอย่างเก็บตัวอย่างจุลินทรีย์จากแต่ละรูปแบบการผลิต ทุก 1 สัปดาห์เป็นเวลา 1 เดือน และทุก 1 เดือน เป็นเวลา 1 ปี วิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ โดยวิธี dilution plate count method

5.4 ศึกษาการยับยั้งโรคกล้าเน่า (*Curvularia lunata*) ในห้องปฏิบัติการ ดัดแปลงจากวิธี blotter test method (Gambogi, 1987)

ตำรับทดลองที่ 1 ใส่น้ำกลั่น

ตำรับทดลองที่ 2 ใส่สารละลายสปอร์ของ *C. Lunata* ความเข้มข้น $1x10^7$ spores/ml 5 มิลลิลิตร + น้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร

ตำรับทดลองที่ 3 ใส่สารละลายสปอร์ของ P11 ความเข้มข้น $1x10^7$ spores/ml 5 มิลลิลิตร + น้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร

ตำรับทดลองที่ 4 ใส่สารละลายผลิตภัณฑ์รูปแบบผง (talcum) ของ P11 ความเข้มข้น $1x10^7$ spores/ml 5 มิลลิลิตร + น้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร

ตำรับทดลองที่ 5 ใส่สารละลายผลิตภัณฑ์รูปแบบผง (maltodextrin) ของ P11 ความเข้มข้น $1x10^7$ spores/ml 5 มิลลิลิตร + น้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร

ตำรับทดลองที่ 6 ใส่สารละลายสปอร์ของ *C. Lunata* + P11

ตำรับทดลองที่ 7 ใส่สารละลายสปอร์ของ *C. Lunata* + สารละลายผลิตภัณฑ์รูปแบบผง (talcum) ของ P11

ตำรับทดลองที่ 8 ใส่สารละลายสปอร์ของ *C. Lunata* + สารละลายผลิตภัณฑ์รูปแบบผง (maltodextrin) ของ P11

การทดสอบการควบคุมกำจัดโรคกล้าเน่า *C. Lunata* ในข้าว และยับยั้งการก่อโรค ทำโดยเพาะเมล็ดข้าวใน petri-dish ขนาด 15 เซนติเมตร เพลทละ 100 เมล็ด เพาะให้เมล็ดมีรากงอกออกมาระยะเวลาประมาณ 3 วัน จึงทำการทดลองตามตำรับการทดลอง โดยหยดโรคกล้าเน่า 5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 30 นาที จากนั้นหยดผลิตภัณฑ์ *P. lilacinum* 5 มิลลิลิตร ตรวจนับจำนวนกล้าข้าวที่ติดโรค ต้นที่ติดโรคไม่ตาย และยังสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ และต้นที่ตาย คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 วัน

5.5 การศึกษารูปแบบการใช้ประโยชน์ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพนาข้าวในสภาพโรงเรือน

1) ทดสอบรูปแบบผลิตภัณฑ์ที่ดีที่สุดจากข้อ 5.2 วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) 3 ซ้ำ ประกอบด้วย

ตำรับทดลองที่ 1 ตำรับควบคุมไม่ใส่เชื้อ ฉีดพ่นน้ำเปล่า 300 มล.

ตำรับทดลองที่ 2 ปุ๋ยเคมี ยูเรีย 12 กก./ไร่ แบ่งใส่ 2 ครั้ง ครั้งที่ 1 ช่วงปักดำ 6 กก./ไร่ ช่วงที่ 2 ช่วงระยะข้าวตั้งท้อง 6 กก./ไร่

ตำรับทดลองที่ 3 แช่รากในผลิตภัณฑ์ *P. lilacinum* 100 กรัม/20 ลิตร/ไร่ ใส่เชื้อ *A. brasilense* อัตรา 150 มล./น้ำ 50 ลิตร/ไร่ และ *B. megaterium* อัตรา 150 มล./น้ำ 50 ลิตร/ไร่

ตำรับทดลองที่ 4 แช่รากในผลิตภัณฑ์ *P. lilacinum* 100 กรัม/20 ลิตร/ไร่ ใส่เชื้อ *A. brasilense* อัตรา 250 มล./น้ำ 50 ลิตร/ไร่ และ *B. megaterium* อัตรา 250 มล./น้ำ 50 ลิตร/ไร่

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ตำรับทดลองที่ 5 แช่รากในผลิตภัณฑ์ *P. lilacinum* 100 กรัม/20 ลิตร/ไร่ ใส่เชื้อ *A. brasilense* อัตรา 350 มล./น้ำ 50 ลิตร/ไร่ และ *B. megaterium* อัตรา 350 มล./น้ำ 50 ลิตร/ไร่

ตำรับทดลองที่ 6 แช่รากในผลิตภัณฑ์ *P. lilacinum* 100 กรัม/20 ลิตร/ไร่ ใส่เชื้อ *A. brasilense* อัตรา 500 มล./น้ำ 50 ลิตร/ไร่ และ *B. megaterium* อัตรา 500 มล./น้ำ 50 ลิตร/ไร่

ตำรับทดลองที่ 7 ใส่เชื้อ *A. brasilense* อัตรา 150 มล./น้ำ 50 ลิตร/ไร่ และ *B. megaterium* อัตรา 150 มล./น้ำ 50 ลิตร/ไร่ ฉีดพ่น *P. lilacinum* 100 กรัม/20 ลิตร/ไร่ ระยะปักดำ และอายุ 60 วัน

ตำรับทดลองที่ 8 ใส่เชื้อ *A. brasilense* อัตรา 250 มล./น้ำ 50 ลิตร/ไร่ และ *B. megaterium* อัตรา 250 มล./น้ำ 50 ลิตร/ไร่ ฉีดพ่น *P. lilacinum* 100 กรัม/20 ลิตร/ไร่ ระยะปักดำ และอายุ 60 วัน

ตำรับทดลองที่ 9 ใส่เชื้อ *A. brasilense* อัตรา 350 มล./น้ำ 50 ลิตร/ไร่ และ *B. megaterium* อัตรา 350 มล./น้ำ 50 ลิตร/ไร่ ฉีดพ่น *P. lilacinum* 100 กรัม/20 ลิตร/ไร่ ระยะปักดำ และอายุ 60 วัน

ตำรับทดลองที่ 10 ใส่เชื้อ *A. brasilense* อัตรา 500 มล./น้ำ 50 ลิตร/ไร่ และ *B. megaterium* อัตรา 500 มล./น้ำ 50 ลิตร/ไร่ ฉีดพ่น *P. lilacinum* 100 กรัม/20 ลิตร/ไร่ ระยะปักดำ และอายุ 60 วัน

2) การเตรียมดินและพืช

2.1) เก็บตัวอย่างดินที่ อ.หนองหญ้าไซ จ.สุพรรณบุรี ซึ่งเป็นกลุ่มชุดดินที่ 7 ชุดดินเดิมบาง ซึ่งมีสมบัติทางเคมีดินก่อนการทดลอง คือ ปริมาณอินทรียวัตถุอยู่ในระดับต่ำ 1.26 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์สูง 41.4 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้สูง 91.47 มิลลิกรัม/กิโลกรัม โดยตัวอย่างดินที่นำมาทำการทดลองจะนำมาตากแห้ง ร่อนด้วย sieve ขนาด 250 mesh นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 2 ครั้ง รอให้เย็น ใส่ในกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 20 นิ้ว

2.2) ปักดำกล้าข้าวอายุประมาณ 20 วัน ลงในกระถาง

2.3) การใส่เชื้อ และปุ๋ยตามอัตราแนะนำ ตามตำรับการทดลอง

ตำรับทดลองที่ 2 ใส่ปุ๋ยยูเรียเพียงอย่างเดียวอัตรา 12 กิโลกรัม/ไร่

ตำรับทดลองที่ 3-6 แช่กล้าข้าวอายุ 20 วัน ก่อนปักดำ ในผลิตภัณฑ์ *P. lilacinum* (ละลายผลิตภัณฑ์ในน้ำ อัตรา100 กรัม/20 ลิตร) เป็นเวลา 30 นาที และใส่ผลิตภัณฑ์ *A. brasilense* และ *B. megaterium* รูปแบบน้ำ อัตราอย่างละ 150 -350 มล./น้ำ 50 ลิตร/ไร่ (ตามตำรับการทดลอง) ใส่ในระยะปักดำ

ตำรับทดลองที่ 7-10 ใส่เชื้อ (เชื้อสด) *A. brasilense* และ *B. megaterium* อัตราอย่างละ 150 -350 มล./น้ำ 50 ลิตร/ไร่ (ตามตำรับการทดลอง) ใส่ในระยะปักดำ และฉีดพ่นผลิตภัณฑ์ *P. lilacinum* 2 ครั้ง คือหลังปักดำ และช่วงอายุ 60 วัน

3) เก็บข้อมูลการเจริญเติบโตของข้าว และองค์ประกอบผลผลิต ได้แก่ ความสูง จำนวนต้น จำนวนรวงต่อกอ น้ำหนักเมล็ด เปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบและผลผลิตข้าวที่ระดับความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์ ค่าความเขียวของใบด้วยเครื่อง Chlorophyll meter SPAD-502 ทำการวิเคราะห์ ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Tukey's range test

4) เก็บตัวอย่างดิน และใบข้าววิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหาร ส่งวิเคราะห์ที่โครงการพัฒนาวิชาการดิน-ปุ๋ย และสิ่งแวดล้อม ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5) เก็บตัวอย่างดินวิเคราะห์ปริมาณ *A. brasilense* และ *B. megaterium*

6) วิเคราะห์ปริมาณกรดจัสมอนิค ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องต่อระบบภูมิคุ้มกันของพืชแบบ ISR ด้วยวิธี Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) แบบ Indirect ELISA โดยใช้ชุดวิเคราะห์สำเร็จรูป Plant Jasmonic Acid (JA) ELISA Kit ของบริษัท MyBiosource, Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร และคำนวณปริมาณกรดจัสมอนิคในตัวอย่างจากสมการเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานกรดจัสมอนิค

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

3. การศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตข้าวในสภาพแปลงทดลอง

โดยดำเนินการการศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวพันธุ์ต่างๆ 6 จังหวัด ได้แก่ จ. สุพรรณบุรี (พันธุ์ปทุมธานี 1) จ. พิษณุโลก (พันธุ์ กข 41) จ. ศรีสะเกษ (พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105) จ. สุรินทร์ (พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105) จ. ร้อยเอ็ด (พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105) และ จ. พัทลุง (พันธุ์สังข์หยดพัทลุง)

6.1 วางแผนการทดลองโดยใช้แผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) 8 ตำรับทดลอง 3 ซ้ำ ดังนี้

ตำรับที่ 1 ตำหรับควบคุม
ตำรับที่ 2 ปุ๋ยเคมี N+P+K (ตามค่าวิเคราะห์ดิน)
ตำรับที่ 3 ใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวรูปแบบน้ำ
ตำรับที่ 4 ใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวรูปแบบน้ำ+ปุ๋ยเคมี 50%
ตำรับที่ 5 ใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวรูปแบบน้ำ+ปุ๋ยเคมี 70%
ตำรับที่ 6 ใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวรูปแบบผง
ตำรับที่ 7 ใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวรูปแบบผง+ปุ๋ยเคมี50%
ตำรับที่ 8 ใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวรูปแบบผง+ปุ๋ยเคมี 70%

6.2 ขั้นตอนการดำเนินงาน

1) คัดเลือกพื้นที่แปลงนาเกษตรกร ที่มีดินเป็นดินเหนียว

2) เตรียมแปลงโดยการไถดะ ไถแปร และแบ่งแปลงย่อยขนาดแปลง 4X6 เมตร จำนวน 24 แปลงย่อย คันดินขอบนอกกว้าง 50 ซม. คันดินด้านในกว้าง 25 ซม. ทำร่องระบายน้ำกว้าง 1 เมตร โดยไม่ให้น้ำผ่านแต่ละแปลงย่อย

3) การปลูกข้าว

3.1) ใช้เมล็ดพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์การงอกไม่ต่ำกว่า 80%

3.2) เพาะกล้าข้าว โดยไถดะแปลงเพาะกล้าทิ้งไว้ประมาณ 7-15 วัน ไถแปร ระบายน้ำเข้าคราดปรับระดับผิวดินแล้วทำเทือก หว่านเมล็ดข้าวที่เตรียมไว้บนแปลงให้สม่ำเสมอ ใช้อัตราเมล็ดพันธุ์ 100 กรัมต่อตารางเมตร ให้แปลงเพาะกล้ามีความชื้นเพียงพอสำหรับการงอก เพิ่มระดับน้ำตามการเจริญเติบโตของต้นข้าว โดยแปลงเพาะกล้าจะแบ่งออกเป็น 2 แปลงย่อย คือ แปลง 1 ไม่ใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพนาข้าว *P. lilacinum* (ใช้ในตำรับที่ 1 และ 2) และ แปลง 2 ใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพนาข้าว *P. lilacinum* รูปแบบผงละลายน้ำ อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร ต่อพื้นที่ 1 ไร่ ใส่ลงในแปลงเพาะกล้า เมื่อข้าวเริ่มงอกแล้วอายุ 3 วัน (ใช้ในตำรับที่ 3 - 8) เพาะกล้าเป็นเวลา 30 วัน

3.3) การปลูกข้าว ปลูกโดยวิธีการปักดำ ในระยะห่าง 25 X 25 จำนวน 3 ต้นต่อจับ

3.4) การใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพนาข้าว *A. brasilense* และ *B. megaterium* ในระยะปักดำ

ตำรับที่ 3-5 ใส่ผลิตภัณฑ์ *A. brasilense* และ *B. megaterium* รูปแบบน้ำ อย่างละ 250 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 50 ลิตร ต่อพื้นที่ 1 ไร่

ตำรับที่ 6-8 ใส่ผลิตภัณฑ์ *A. brasilense* และ *B. megaterium* รูปแบบผงละลายน้ำ อย่างละ 225 มิลลิลิตร ต่อน้ำ 50 ลิตร ต่อพื้นที่ 1 ไร่

3.5) การใส่ปุ๋ยเคมี ใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดินตามตำรับทดลองที่กำหนด แบ่งใส่ 2 ครั้ง ครั้งที่ 1 ระยะปักดำข้าว ครั้งที่ 2 ระยะกำเนิดช่อดอก

3.6) การเก็บข้อมูล ข้อมูลพืช วัดความสูง การแตกกอ ความเข้มสีใบ ผลผลิตข้าวที่ 14% องค์ประกอบของผลผลิต ได้แก่ จำนวนรวงต่อกอ จำนวนเมล็ดต่อรวง น้ำหนัก 1000 เมล็ด และเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีเมล็ดลีบ เก็บตัวอย่างต้นข้าวเพื่อวิเคราะห์หาไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม โดยแยกส่วนของเมล็ดและฟางข้าว การเก็บข้อมูลดิน เก็บตัวอย่างดินก่อนและหลังการที่ความลึก 0-15 เซนติเมตร เพื่อวิเคราะห์หา pH, EC, Organic Matter, Available Phosphorus, Exchangeable K

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

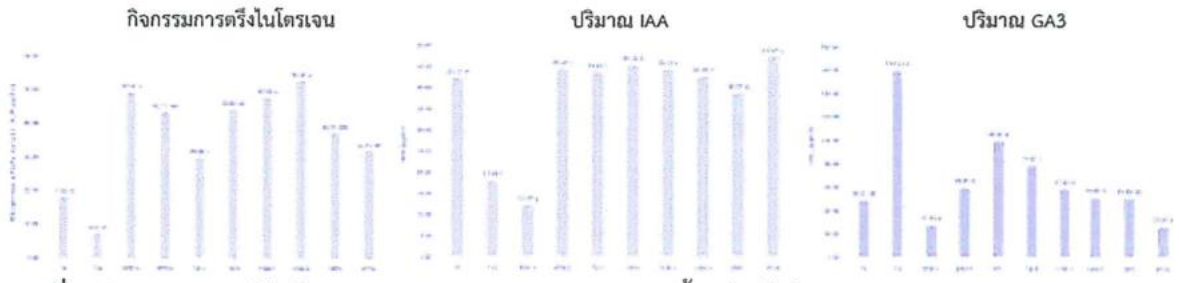
4) การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูล ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการวิจัยและวิจารณ์

1. การแยกและคัดเลือก *Azospirillum* spp. ที่มีประสิทธิภาพสูงในการตรึงไนโตรเจน สร้างออกซิน จิบเบอเรลลิน และสารไซเดอโรฟอร์ จุลินทรีย์ละลายซิลิเกต และเชื้อราเอนโดไฟต์ควบคุมโรค และแมลงในนาข้าว

1.1 การแยกและคัดเลือก *Azospirillum* spp. ที่มีประสิทธิภาพสูงในการตรึงไนโตรเจน สร้างออกซิน จิบเบอเรลลิน และสารไซเดอโรฟอร์

การคัดแยกเชื้อจากตัวอย่างรากข้าว 106 ตัวอย่าง ได้ *Azospirillum* จำนวน 10 ไอโซเลต (T4, T12, T6/1, T6/2, KP6/1, KP6/2, CN4/1, CN4/2, NW1, AY16) และเมื่อตรวจสอบเชื้อด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุลในระดับดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะกับจีนัส *Azospirillum* พบแถบดีเอ็นเอขนาด 263 bp สอดคล้องกับรายงานของ Lin *et al*. (2011) การจำแนกชนิดของเชื้อที่แยกได้ พบว่า ไอโซเลต T4, T12, KP6/1, KP6/2, T6/1, NW1, CN4/1 และ CN4/2 มีลำดับเบสเหมือนกับ *Azospirillum brasilence* T6/1 มีลำดับเบสเหมือนกับ *Azospirillum formosence* และ AY16 มีลำดับเบสเหมือนกับ *Azospirillum* sp. โดย *Azospirillum* 10 ไอโซเลตดังกล่าว มีค่าการตรึงไนโตรเจนแตกต่างกันอยู่ในช่วง 6.97 - 52.49 µmol C_2H_4/l/h ซึ่งเมื่อตรวจสอบในระดับดีเอ็นเอสำหรับยีนที่เกี่ยวข้องกับการตรึงไนโตรเจน ยีน *NifH* พบแถบดีเอ็นเอขนาด 360 bp ทั้ง 10 ไอโซเลต ผลิต IAA ได้ในช่วง 12.28 - 47.29 ppm ผลิต GA_3 ได้ในช่วง 25.80 – 159.13 ppm *Azospirillum* ไอโซเลต CN4/2 AY16 และ T12 มีกิจกรรมการตรึงไนโตรเจน ผลิต IAA และ ผลิต GA_3 ได้สูงสุด ตามลำดับ และทั้ง 10 ไอโซเลต ไม่สร้างสารไซเดอโรฟอร์ ส่วนการทดสอบประสิทธิภาพต่อการเจริญเติบโตของข้าวปทุมธานี 1 ในห้องปฏิบัติการ พบว่า ไม่ทำให้เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดข้าวปทุมธานีแตกต่างกัน แต่อย่างไรก็ตามการใส่เชื้อไอโซเลต T4 T12 KP6/1 T6/1 T6/2 CN4/1 CN4/2 และ NW1 มีผลให้ความสูงต้นมีค่าสูงกว่าตำรับควบคุม และการใส่ไอโซเลต AY16 มีค่าการตรึงไนโตรเจนในรากข้าวสูงสุด 390.33 nmol C_2H_4/plant/h สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพ *Azospirillum* 10 ไอโซเลต ต่อการเจริญเติบโตของข้าวปทุมธานี 1 ในโรงเรือนทดลอง พบว่าการใส่ *Azospirillum* ทั้ง 10 ไอโซเลต มีผลให้ความสูง จำนวนต้น/กอ ความยาวราก น้ำหนักแห้งต้น และน้ำหนักแห้งราก ไม่แตกต่างจากตำรับควบคุมที่มีการใส่ปุ๋ยเคมีไนโตรเจน และการใส่ *Azospirillum* ไอโซเลต T4 KP6/1 KP6/2 T6/1 NW1 และ Y16 มีผลให้ค่าความเขียวของใบสูงไม่แตกต่างจากตำรับควบคุม



ภาพที่ 1 กิจกรรมการตรึงไนโตรเจน ปริมาณ IAA และ GA_3 ของเชื้อแต่ละไอโซเลต

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ตารางที่ 1 ผลของ *Azospirillum* ไอโซเลตต่างๆ ต่อความสูงต้น ความยาวราก และกิจกรรมการตรึงไนโตรเจนของข้าวปทุมธานี 1 เมื่อปลูกโดยใช้สารละลายธาตุอาหารเป็นเวลา 15 วัน ในห้องปฏิบัติการ

ตำรับการทดลอง	ความสูงต้น (cm)	ความยาวราก (cm)	กิจกรรมการตรึงไนโตรเจน (nmol C_2H_4/ต้น /h)
T1 ควบคุม	14.17 b	8.03	327.00 e
T2 T4	21.17 a	9.87	354.00 cd
T3 T12	21.80 a	10.83	331.67 e
T4 KP6/1	21.33 a	10.23	366.00 bc
T5 KP6/2	18.17 ab	8.53	339.67 de
T6 T6/1	22.00 a	9.37	359.67 bcd
T7 T6/2	20.00 a	8.57	370.33 abc
T8 CN4/1	21.33 a	10.30	366.67 bc
T9 CN4/2	22.70 a	12.87	377.00 ab
T10 NW1	21.33 a	9.47	332.67 e
T11 AY16	22.33 a	9.53	390.33 a
F-test	*	ns	**
CV	15.42	15.51	6.32

ตารางที่ 2 ค่าความเขียวของใบข้าว และกิจกรรมการตรึงไนโตรเจน ที่อายุ 60 วัน เมื่อมีการใส่ *Azospirillum* ไอโซเลตต่างๆ

ตำรับการทดลอง	ค่าความเขียวของใบ (SPAD Reading)	กิจกรรมการตรึงไนโตรเจน (nmol C_2H_4/pot/h)
T1 ควบคุม	33.93 a	204.67
T2 T4	31.77 ab	255.00
T3 T12	29.57 bc	326.67
T4 KP6/1	30.90 ab	275.00
T5 KP6/2	32.63 a	289.00
T6 T6/1	30.77 ab	247.00
T7 T6/2	29.10 bc	279.33
T8 CN4/1	29.33 bc	219.00
T9 CN4/2	27.63 c	315.67
T10 NW1	30.57 abc	262.33
T11 AY16	31.30 ab	205.76
F-test	**	ns
CV	7.00	20.35

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

1.2 การคัดเลือกจุลินทรีย์ละลายซิลิเกตที่มีประสิทธิภาพสูงในการละลายซิลิเกตส่งเสริมการเจริญเติบโตและสร้างความทนทานให้กับข้าว

การคัดแยกแบคทีเรียละลายซิลิเกตในดินจากแหล่งที่มีแร่ไมก้าและเฟลสปาร์เป็นองค์ประกอบ ได้แบคทีเรียจำนวน 168 ไอโซเลต พบว่า ไอโซเลต B01 และ B04 มี Clear zone กว้างที่สุด 4.72 และ 5.83 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนทดสอบประสิทธิภาพในการผลิต IAA พบ 59 ไอโซเลต มีประสิทธิภาพการผลิต IAA มีค่าอยู่ระหว่าง 10-69 มก./ลิตร สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพการละลาย magnesium trisilicate แบบ deep tube พบว่า มี 3 Isolates สามารถละลาย magnesium trisilicate ได้สูง 446 232 และ 171 mg kg^{-1} ตามลำดับ และแบคทีเรียละลายซิลิเกตที่มีประสิทธิภาพสูงจำแนกได้เป็น *Bacillus megaterium* สามารถปลดปล่อยซิลิกอนได้ 23 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ผลิตฮอร์โมนออกซินเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตได้ 27 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และการทดสอบการเจริญเติบโตของข้าว ช่วยส่งเสริมการงอกของเมล็ดข้าว 100% ส่งเสริมความสูงของข้าวในห้องปฏิบัติการ 0.62 เซนติเมตร และความยาวรากสูงสุด 4.02 เซนติเมตร

1.3 การคัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟต์ และศึกษาคุณสมบัติการควบคุมโรค และแมลงในนาข้าว

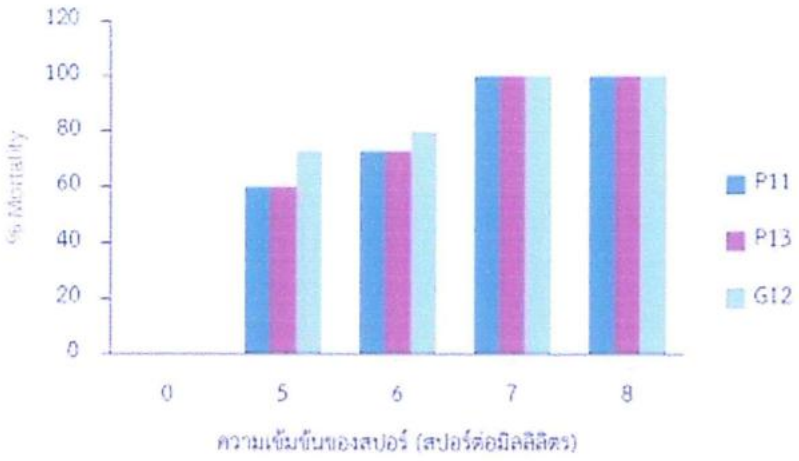
จากการเก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบต้นข้าว ไม้ยืนต้น ไม้ผล และพืชสมุนไพร และจากตัวอย่างพืช เพื่อคัดแยกเชื้อราเอนโดไฟต์ ที่สถานีพัฒนาที่ดิน จังหวัดอุทัยธานี และ บ้านป่าอ้อ ตำบลป่าอ้อ อำเภอลานสัก จังหวัดอุทัยธานี รวมทั้งหมดจำนวน 50 ตัวอย่าง ได้เชื้อราทั้งหมดจำนวน 4 ไอโซเลต ได้แก่ P11 P13 G12 และ W12 ที่นำมาทดสอบการเคลื่อนย้ายเข้าสู่พืช และคุณสมบัติ antagonist โดยการทดสอบการเคลื่อนย้ายเข้าสู่พืช พบว่า P11 P13 G12 สามารเคลื่อนย้ายเข้าสู่เซลล์รากข้าว ส่วนใหญ่จะพบเส้นใยจำนวนมาก และสปอร์ใน parenchyma cell ที่อยู่บริเวณใกล้เคียง กับ xylem และ phloem โดยมีค่า Colonization frequency (%CF) เท่ากับ 83.33 80.00 และ 66.67% ตามลำดับ ในขณะที่ W12 พบเพียงเล็กน้อยมีค่า %CF เท่ากับ 20.00% สำหรับการทดสอบคุณสมบัติ antagonist พบว่า P11 P13 G12 และ W12 มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืช *Cercospora oryzae* และ *Colletotrichum gloeosporiodes* มากกว่า 50.00% ซึ่งจัดอยู่ในระดับปานกลาง ในขณะที่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืช *Curvularia lunata* มากกว่า 60.00% ซึ่งจัดอยู่ในระดับสูง โดย P11 P13 และ G12 มี antagonistic activity เป็นแบบ mycoparasite ซึ่งจะเข้าทำลายเชื้อโรคพืชทำให้เชื้อโรคพืชตายทั้งหมด ส่วน W12 มี antagonist activity เป็นแบบ competition เจริญได้รวดเร็ว แก่งแย่งพื้นที่อาศัยและอาหารได้ดีกว่า ทำให้เชื้อราโรคพืชถูกจำกัดการเจริญ เนื่องจากคุณสมบัติการเคลื่อนย้ายเข้าสู่รากข้าวได้ดี และ antagonist จึงเลือกเชื้อรา P11 P13 และ G12 ใช้เป็นจุลินทรีย์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับข้าว และจัดจำแนกชนิดโดยการวิเคราะห์ลำดับเบสในส่วน ITS P11 และ P13 จำแนกเป็น *Purpureocillium lilacinum* และ G12 จำแนกเป็น *Penicillium citrinum* ซึ่งเชื้อราเอนโดไฟต์ทั้ง 3 ชนิด เมื่อมีการใช้ในอัตราความเข้มข้นของสารละลายสปอร์ $1x10^7$ และ $1x10^8$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พบว่า มีค่าเปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ย (% Mortality) ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล 100 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 3) โดย*Purpureocillium lilacinum* P11 มีค่า LC50 เท่ากับ $3.39x10^5$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร *Purpureocillium lilacinum* P13 มีค่า LC50 เท่ากับ $7.24x10^5$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร และ *Penicillium citrinum* G12 มีค่า LC50 เท่ากับ $1.51x10^5$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ทั้งนี้เชื้อราทั้ง 3 ชนิด สามารถเจริญบนอาหาร Malt Extract Agar (MEA) ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ Sabouraud's Dextrose Agar (SDA) Potato Dextrose Agar (PDA) และ Czapek Dextrose Agar (CZA) ตามลำดับ

จากผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับหลายๆ งานวิจัย พบว่า เชื้อรา *Penicillium citrinum* จัดเป็นเชื้อรา entomopathogenic fungi สามารถเข้าทำลายแมลงศัตรูพืชได้ เช่น ไรแมงมุมแดง (Mazid *et al.*, 2016) และยังเป็น antagonist ยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคพืชหลายชนิด เช่น *Botrytis cinera*, *Clavicep Africana*, *Macrophomina phaseolina* และ *Sclerotinia minor* (Sreevidya *et al.*, 2015; Gnanamanickam, 2002) และ *P. Citrinum* เป็นเชื้อราเอนโดไฟต์ ที่พบได้ในพืชพวกธัญพืช ในส่วนต่างๆของพืช สภาพแวดล้อมหลากหลาย (Khan, 2008; Lai, 2013)

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ตารางที่ 3 ผลของเชื้อราเอนโดไฟต์ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคข้าว และ antagonistic activity

เชื้อราโรคพืช	รหัสเชื้อรา เอนโดไฟต์	%PIGR	ระดับการยับยั้ง	Spearical index	Antagonistic activity
Cercospora oryzae	P11	55.00%	++	1.79	Mycoparasite
	P13	53.57%	++	1.04	Mycoparasite
	G12	57.14%	++	1.58	Mycoparasite
	W12	52.86%	++	0.97	Competition
Curvularia lunata	P11	60.63%	+++	1.97	Mycoparasite
	P13	60.00%	+++	1.95	Mycoparasite
	G12	65.00%	+++	1.61	Mycoparasite
	W12	60.00%	+++	1.94	Competition
Colletotrichum gloeosporiodes	P11	55.71%	++	1.98	Mycoparasite
	P13	56.43%	++	1.46	Mycoparasite
	G12	56.43%	++	1.43	Mycoparasite
	W12	50.71%	++	1.84	Competition



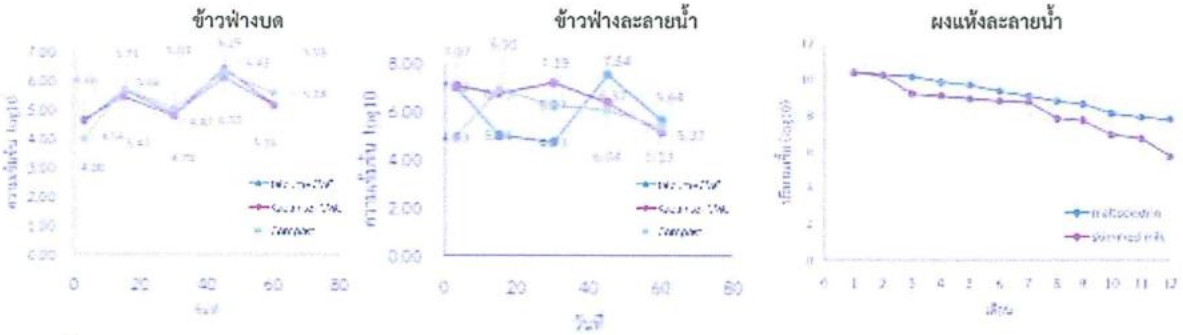
ภาพที่ 2 ค่าเปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ความเข้มข้นของสปอร์ $1x10^5$ $1x10^6$ $1x10^7$ และ $1x10^8$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร

2. วิจัยรูปแบบผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวให้มีประสิทธิภาพเพื่อเพิ่มการเจริญเติบโตและผลผลิตข้าว

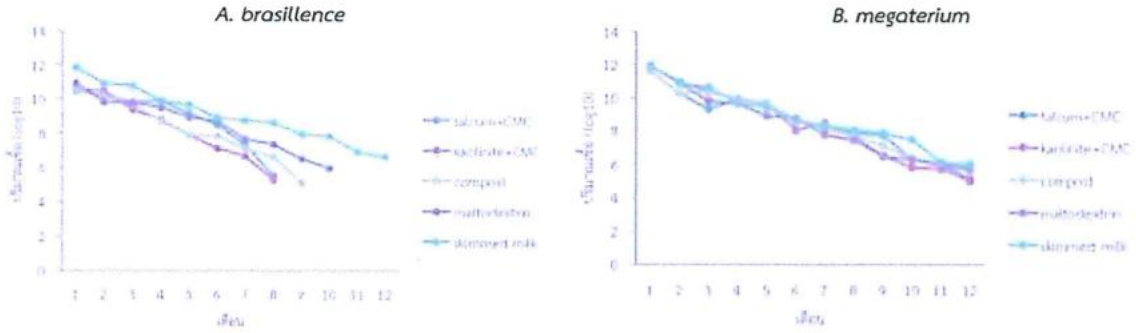
ศึกษาจุลินทรีย์ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Azospirillum brasilense* และ *Bacillus megaterium* CP31/1 เพื่อนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพเพิ่มการเจริญเติบโตและผลผลิตข้าว และ *Purpureocillium lilacinum* P11 เพื่อนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพป้องกันโรคและแมลงในข้าว ทดสอบอาหารสำหรับเพิ่มมวลชีวภาพสำหรับ *A. brasilense* พบว่าเจริญได้ดีในอาหาร TYG broth มีปริมาณเซลล์เท่ากับ $1.42 x10^{12}$ cfu/g *B. megaterium* เจริญได้ดีในอาหาร Silicate broth $9.35 x10^{13}$ cfu/g และ *P. lilacinum* เจริญและสร้างสปอร์ชนิด conidia ได้ดีบนข้าวฟ่าง ระยะเวลา 7 วัน จำนวนสปอร์เท่ากับ $3.12 x10^9$ สปอร์/มล. และทดสอบผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบน้ำ โดย *A. brasilense* สามารถอยู่รอดได้ใน TYG broth ผสม trehalose 10 mM และ *B. megaterium* สามารถอยู่รอดได้ใน Silicate broth ผสม trehalose 10 mM ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 เดือน มีปริมาณเชื้อ $10^{13} - 10^6$ cfu/g และรูปแบบผงละลายน้ำ วัสดุรองรับที่เหมาะสมคือ skimmed milk เก็บรักษาในระยะเวลา 12

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

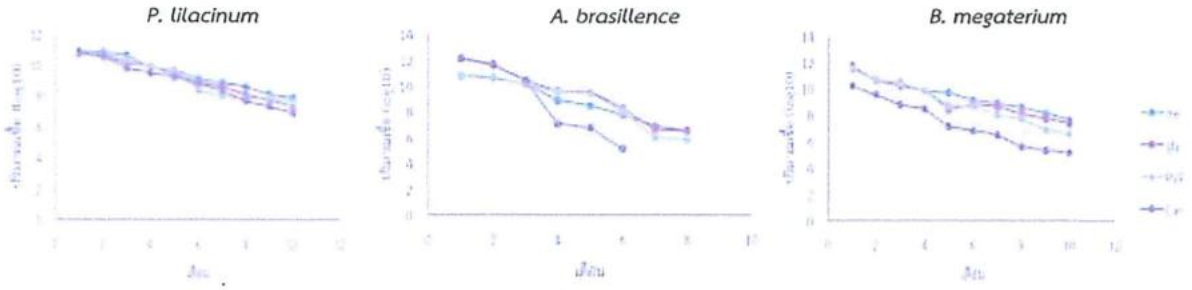
เดือน มีปริมาณเชื้อ 10^{10} – 10^{6} cfu/g ขณะที่ *P. lilacinum* ผลิตเป็นรูปแบบผงละลายน้ำในวัสดุรองรับที่เหมาะสม คือ maltodextrin ใช้วิธีการละลายสปอร์บนข้าวฟ่างในน้ำ มาผสมกับ maltodextrin โดยอัตราสารละลายจุลินทรีย์กับวัสดุรองรับเท่ากับ 1:1.5 ทำให้เป็นผงแห้งด้วยเครื่องทำระเหยเยือกแข็งภายใต้สภาวะสุญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ซึ่ง *P. lilacinum* เก็บรักษาในระยะเวลา 12 เดือน สามารถอยู่รอดที่ปริมาณ 10^{10} – 10^{7} cfu/g (ภาพที่ 3 4 และ 5)



ภาพที่ 3 shelf life ของ *P. lilacinum* รูปแบบผลิตภัณฑ์แบบผงแห้ง (ข้าวฟ่างบดผสม carrier 3 ชนิด และข้าวฟ่างละลายน้ำนำมากรองผสม carrier 3 ชนิด) และผงแห้งละลายน้ำ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 4 shelf life ของ *A. brasillense* และ *B. megaterium* รูปแบบผลิตภัณฑ์แบบผงแห้ง และผงแห้งละลายน้ำ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 5 แสดง shelf life *P. lilacinum A. brasillense* และ *B. megaterium* ในรูปแบบผลิตภัณฑ์แบบน้ำ 4 ชนิด ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

สำหรับการศึกษาการยับยั้งโรคกล้าเน่า (*Curvularia lunata*) ในห้องปฏิบัติการ ดัดแปลงจากวิธี blotter test method พบว่า ตำรับที่ปลูกเชื้อโรคกล้าเน่า และใช้ผลิตภัณฑ์ *P. lilacinum* รูปแบบผงแห้ง (talcum) และ

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

รูปแบบผงแห้งละลายน้ำ (maltodextrin) มีผลให้กล้าข้าวติดโรคเพียง 22 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับที่ปลูกเชื้อโรคกล้าเน่าอย่างเดียวซึ่งมีเปอร์เซ็นต์กล้าข้าวที่ตายมากถึง 90 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้การใช้ผลิตภัณฑ์ *P. lilacinum* ยังมีผลให้กล้าข้าวที่ติดโรคไม่ตาย และสามารถเจริญเติบโตได้ 18 – 20 เปอร์เซ็นต์ และมีเปอร์เซ็นต์กล้าที่ตายต่ำ 2 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของกล้าข้าวระยะเวลา 15 วัน

ตำรับการทดลอง	เปอร์เซ็นต์กล้าข้าวที่ติดโรค	กล้าข้าวที่ติดโรคไม่ตาย และสามารถเจริญเติบโตได้	เปอร์เซ็นต์กล้าข้าวที่ตาย
1. น้ำกลั่น	0	0	0
2. *C. Lunata* $1x10^7$ spores/ml	90	0	90
3. *P. lilacinum* (เชื้อสด) $1x10^7$ spores/ml	0	0	0
4. *P. lilacinum* รูปแบบผงแห้ง (talcum) $1x10^7$ cfu/g	0	0	0
5. *P. lilacinum* รูปแบบผงแห้งละลายน้ำ (maltodextrin) $1x10^7$ cfu/g	0	0	0
6. *C. Lunata* + *P. lilacinum* (เชื้อสด)	20	19	1
7. *C. Lunata* + *P. lilacinum* รูปแบบผงแห้ง(talcum)	22	20	2
8. *C. Lunata* + *P. lilacinum* รูปแบบผงแห้งละลายน้ำ (maltodextrin)	20	18	2

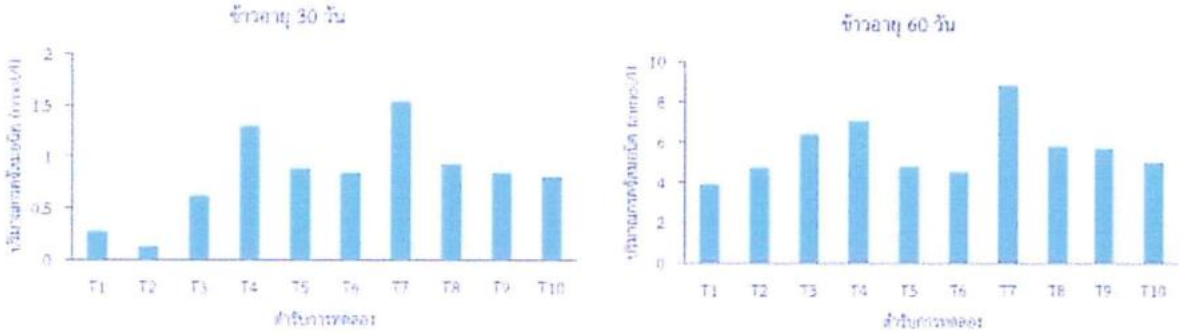
ส่วนการศึกษารูปแบบการใช้ประโยชน์ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพนาข้าวในสภาพโรงเรือน โดยทดสอบผลิตภัณฑ์รูปแบบน้ำ *A. brasilense* และ *B. megaterium* ต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตข้าว และทดสอบผลิตภัณฑ์รูปแบบผงแห้งละลายน้ำ *P. lilacinum* ต่อการเหนี่ยวนำกรดจัสมอนิคซึ่งเป็นฮอร์โมนในข้าว กระตุ้นการตอบสนองของภูมิคุ้มกันแบบ ISR โดยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay พบว่า การใช้ผลิตภัณฑ์รูปแบบน้ำ *A. brasilense* และ *B. megaterium* ที่อัตราอย่างละ 150-350 มิลลิลิตร ผสมน้ำ 50 ลิตร/ไร่ ใส่ในระยะปักดำ มีให้การเจริญเติบโตและผลผลิตข้าวไม่แตกต่างกันการใส่ปุ๋ยเคมี โดยความสูงต้นอยู่ระหว่าง 122-130 ซม. จำนวนต้นอยู่ระหว่าง 7-11 ต้น/กอ จำนวนรวงอยู่ระหว่าง 7-11 รวง/กอ มีค่าน้อยกว่าการใช้ปุ๋ยเคมีเพียงเล็กน้อย แต่มีค่ามากกว่าตำรับควบคุม (ตารางที่ 5) ซึ่งแสดงว่าการใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ *A. brasilense* และ *B. megaterium* ทำให้ข้าวสามารถเจริญเติบโตได้ โดย *A. brasilense* ช่วยตรึงไนโตรเจนจากบรรยากาศทำให้ข้าวไม่ขาดไนโตรเจน สามารถนำไปสร้างเป็นกรดอะมิโนเพื่อใช้เป็นองค์ประกอบของเซลล์ ทำให้ข้าวเจริญเติบโตได้ และจากผลการทดลองพบเชื้อ *A. brasilense* และ *B. megaterium* ที่อยู่รอดในดินหลังจากเก็บผลผลิตแล้วมีค่าประมาณ $1x10^4$ cfu/g สำหรับการใช้ผลิตภัณฑ์ *P. lilacinum* ทั้งแบบแช่กล้าข้าวก่อนปักดำ และการฉีดพ่นในระยะปักดำ และระยะกำเนิดช่อดอก (อายุประมาณ 60 วัน) พบว่าสามารถเหนี่ยวนำการสร้างกรดจัสมอนิคได้มากกว่าตำรับควบคุม และตำรับใส่ปุ๋ยเคมี โดยต้น

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ข้าวในตำรับการทดลองที่มีการฉีดพ่น 2 ครั้งมีแนวโน้มที่จะผลิตกรดจัสมอนิคมากกว่าต้นข้าวในตำรับการทดลองที่แช่กล้าข้าวก่อนปักดำ มีค่าปริมาณกรดจัสมอนิคมากที่สุดเท่ากับ 1.31 nmol l^{-1} mg^{-1} (ภาพที่ 6) แต่อย่างไรก็ตามการใส่ผลิตภัณฑ์ *A. brasillense* และ *B. megaterium* มีส่วนช่วยในการเหนี่ยวนำกรดจัสมอนิคด้วยเช่นกัน

ตารางที่ 5 การเจริญเติบโต และองค์ประกอบผลผลิตข้าวในโรงเรือนทดลอง

ตำรับ	ความสูง (ซม.)	ความเขียว (SPAD unit)	จำนวนต้น (ต้น/กอ)	จำนวนรวง (รวง/กอ)	%เมล็ดลีบ (เปอร์เซ็นต์)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)
T1	93.95 b	37.2	10b	7.3b	61.08	11.96 c
T2	95.60 ab	40.7	13a	13.5a	72.15	29.53 a
T3	106.78 ab	37.37	9b	9b	51.01	18.6 bc
T4	101.37 ab	38.13	7b	9.17b	50.27	23.66 ab
T5	97.16 ab	33.7	8b	9.5ab	56.28	23.17 ab
T6	109.32 ab	37.07	7bb	8.83b	55.24	17.78 bc
T7	111.61 a	36.03	10b	8.5b	51.27	21.42 abc
T8	100.13 ab	39.03	9b	10.5ab	57.52	21.73 abc
T9	107.12 ab	38.07	9b	9.67ab	57.11	24.14 ab
T10	104.88 ab	35.47	7b	8.17b	40.38	23.76 ab



ภาพที่ 6 ปริมาณกรดจัสมอนิคในใบข้าวอายุ 30 และ 60 วัน

3. การศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตข้าวในสภาพแปลงทดลอง

3.1 ประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตข้าวไม่ไวแสง (ปทุมธานี 1 และ กข.41) ในพื้นที่นาดินเหนียว

ผลการทดสอบประสิทธิภาพปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตข้าวปทุมธานี 1 จ. สุพรรณบุรี พบว่า การใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวมีผลให้ผลผลิตข้าวมีความแตกต่างกันในปีที่ 1 โดยการใส่ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวทั้งรูปแบบน้ำและผงละลายน้ำร่วมกับปุ๋ยเคมี 50 และ 70 เปอร์เซ็นต์ ตามค่าวิเคราะห์ดิน (ตำรับที่ 4 5 7 และ 8) ให้ผลผลิตข้าวสูง 791.1 768.9 777.8 และ 762.2 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างจากการใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน (ตำรับที่ 2) แต่ในปีที่ 2 และ 3 ผลผลิตข้าวทุกตำรับการทดลองไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยของผลิตข้าวทั้ง 3 ปี พบแนวโน้มว่า การใส่ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวทั้งรูปแบบน้ำและผงละลายน้ำร่วมกับปุ๋ยเคมี 50 และ 70 เปอร์เซ็นต์ ตามค่าวิเคราะห์ดิน (ตำรับที่ 4 5 7 และ 8) ให้ผลผลิตสูงไม่แตกต่างจากการใส่ปุ๋ยเคมี (ตารางที่ 6) และมีผลผลิตสูงกว่าตำรับควบคุม 10.23-13.09 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตข้าว กข.41 จ. พิษณุโลก พบว่าการใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวมีผลให้ผลผลิตข้าวมีความแตกต่างกันในปีที่ 1 โดยการใส่ปุ๋ยชีวภาพ

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

สำหรับนาข้าวทั้งรูปแบบน้ำและผงละลายน้ำร่วมกับปุ๋ยเคมี 70 เปอร์เซ็นต์ ตามค่าวิเคราะห์ดิน มีผลให้ผลผลิตข้าว 859.0 และ 784.0 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 6) ซึ่งสูงกว่าตำรับควบคุมคิดเป็น 19.31 และ 8.89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และตำรับใส่ปุ๋ยเคมีคิดเป็น 23.95 และ 13.13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ตารางที่ 6 ผลผลิตข้าวปทุมธานี 1 และ กข 41 ในการทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตข้าว

ตำรับทดลอง	ผลผลิตข้าว (กิโลกรัมต่อไร่)							
	ปทุมธานี 1				กข 41			
	ปีที่ 1	ปีที่ 2*	ปีที่ 3*	เฉลี่ย	ปีที่ 1	ปีที่ 2	ปีที่ 3	เฉลี่ย
T1 ควบคุม	662.2 c	311.1	266.7	413.3	640.0	720.0 bc	820	730.0
T2 ปุ๋ยเคมี (อัตราตามค่าวิเคราะห์ดิน)	822.2 a	455.6	277.8	518.5	619.0	693.0 c	837	728.0
T3 ใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวรูปแบบน้ำ	662.2 c	311.1	211.1	394.8	683.0	720.0 bc	860	771.5
T4 ใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวรูปแบบน้ำ + ปุ๋ยเคมี 50%	791.1 ab	344.4	266.7	467.4	640.0	677.0 c	850	745.0
T5 ใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวรูปแบบน้ำ + ปุ๋ยเคมี 70%	768.9 abc	377.8	233.3	460.0	816.0	859.0 a	607	711.5
T6 ใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวรูปแบบผง	688.9 bc	400.0	222.2	437.0	672.0	677.0 d	783	727.5
T7 ใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวรูปแบบผง + ปุ๋ยเคมี 50%	777.8 ab	333.3	255.6	455.6	715.0	816.0 c	783	749.0
T8 ใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวรูปแบบผง + ปุ๋ยเคมี 70%	762.2 abc	366.7	266.7	465.2	629.0	784.0 ab	747	688.0
F-test	*	ns	ns		ns	**	ns	
CV (%)	8.27	19.40	16.19		15.62	5.49	20.62	

หมายเหตุ: * ผลผลิตข้าวต่ำเนื่องจากประสบปัญหาขาดแคลนน้ำในการทำการเกษตร

สำหรับปริมาณจุลินทรีย์ *A. brasillense* และ *B. megaterium* ในดินพื้นที่นาดินเหนียว เมื่อมีการทดสอบการใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพนาข้าว พบว่า มีปริมาณ *A. brasillense* อยู่ในช่วง 10^6-10^7 เซลล์ต่อกรัมดินแห้ง และ *B. megaterium* อยู่ในช่วง 10^5-10^7 เซลล์ต่อกรัมดินแห้ง

3.2 ประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตข้าวไวแสง (ขาวดอกมะลิ 105) ในพื้นที่นาดินร่วนปนทราย จ. ร้อยเอ็ด จ.สุรินทร์ และ จ.ศรีสะเกษ

การทดสอบประสิทธิภาพปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตข้าวขาวดอกมะลิ 105 จ. ร้อยเอ็ด พบว่า ผลผลิตข้าวทุกตำรับการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทั้ง 3 ปี เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยของผลิตข้าวทั้ง 3 ปี พบแนวโน้มว่า การใส่ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวรูปแบบน้ำร่วมกับปุ๋ยเคมี 70 เปอร์เซ็นต์ ตามค่าวิเคราะห์ดิน และการใส่ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวรูปแบบผงละลายน้ำร่วมกับปุ๋ยเคมี 50 เปอร์เซ็นต์ ตามค่าวิเคราะห์ดิน (ตำรับที่ 4 และ 7) ให้ผลผลิตสูง 402.3 และ 407.3 กิโลกรัมต่อไร่ ใกล้เคียงกับการใส่ปุ๋ยเคมีซึ่งมีผลผลิตเฉลี่ยเท่ากับ 416.0 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 7) และเมื่อเปรียบกับตำรับควบคุม พบว่า มีผลผลิตสูงกว่าตำรับควบคุม 11.75 และ 13.18 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่การทดสอบประสิทธิภาพปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวต่อการเจริญเติบโตและผลผลิต

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ข้าวขาวดอกมะลิ 105 จ. สุรินทร์ พบว่า การใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวมีผลให้ผลผลิตข้าวมีความแตกต่างกันทั้ง 3 ปี โดยการใส่ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวรูปแบบผงละลายน้ำร่วมกับปุ๋ยเคมี 50 เปอร์เซ็นต์ ตามค่าวิเคราะห์ดิน มีผลให้ผลผลิตข้าวขาวดอกมะลิ 105 สูงสุดในปีที่ 1 2 และ 3 มีค่าเท่ากับ 386.1 870.9 และ 814.4 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (ตารางที่ 7) เมื่อพิจารณาผลผลิตเฉลี่ยทั้ง 3 ปี พบว่าการใส่ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวรูปแบบผงละลายน้ำร่วมกับปุ๋ยเคมี 50 เปอร์เซ็นต์ มีผลให้ผลผลิตข้าวสูงกว่าตำรับควบคุมและตำรับใส่ปุ๋ยเคมีคิด เป็น 53.48 และ 10.93 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ตารางที่ 7 ผลผลิตข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในการทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตข้าว

ตำรับทดลอง	ผลผลิตข้าว (กิโลกรัมต่อไร่)							
	จ. ร้อยเอ็ด				จ. สุรินทร์			
	ปีที่ 1	ปีที่ 2	ปีที่ 3	เฉลี่ย	ปีที่ 1	ปีที่ 2	ปีที่ 3	เฉลี่ย
T1 ควบคุม	414	259	407	360.0	248.5 f	611.7 b	489.6 b	449.9
T2 ปุ๋ยเคมี (อัตราตามค่าวิเคราะห์ดิน)	462	326	460	416.0	403.2 a	859.2 a	603.7 ab	622.0
T3 ใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวรูปแบบน้ำ	488	310	367	388.3	263.1 ef	682.1 ab	744.0 ab	563.1
T4 ใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวรูปแบบน้ำ + ปุ๋ยเคมี 50%	376	270	380	342.0	351.6 b	778.7 ab	746.7 ab	625.7
T5 ใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวรูปแบบน้ำ + ปุ๋ยเคมี 70%	557	277	373	402.3	328.5 c	853.3 ab	607.5 ab	596.4
T6 ใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวรูปแบบผง	464	229	293	328.7	287.3 d	698.7 ab	571.7 ab	519.2
T7 ใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวรูปแบบผง + ปุ๋ยเคมี 50%	472	343	407	407.3	386.1 a	870.9 a	814.4 a	690.5
T8 ใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวรูปแบบผง + ปุ๋ยเคมี 70%	402	291	447	380.0	270.6 de	621.9 b	744.0 ab	545.5
F-test	ns	ns	ns		*	*	*	
CV (%)	17.90	14.25	19.13		3.78	16.34	24.87	

สำหรับปริมาณจุลินทรีย์ *A. brasillense* และ *B. megaterium* ในดินพื้นที่นาดินร่วนปนทราย เมื่อมีการทดสอบการใส่ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพนาข้าว พบว่า มีปริมาณ *A. brasillense* และ *B. megaterium* อยู่ในช่วง 10^5-10^7 เซลล์ต่อกรัมดินแห้ง

3.3 ประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตข้าวสังข์หยดพัทลุง จ.พัทลุง

ผลการทดลองพบว่า ผลผลิตข้าวทุกตำรับการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทั้ง 3 ปี เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยของผลิตข้าวทั้ง 3 ปี พบว่า มีผลผลิตเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 388.7-481.1 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งการใส่ปุ๋ยเคมีอัตราตามค่าวิเคราะห์ดิน มีผลให้ผลผลิตข้าวสังข์หยดสูงกว่าตำรับการทดลองอื่นๆ (ตารางที่ 8)

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ตารางที่ 8 ผลผลิตข้าวสังข์หยดในการทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตข้าว

ตำรับการทดลอง	ผลผลิตข้าว (กิโลกรัมต่อไร่)			
	ปีที่ 1	ปีที่ 2	ปีที่ 3	เฉลี่ย
T1 ควบคุม	454.15	388.97	449.73	431.0
T2 ปุ๋ยเคมี (อัตราตามค่าวิเคราะห์ดิน)	522.37	496.07	424.95	481.1
T3 ใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวรูปแบบน้ำ	475.63	332.60	406.56	404.9
T4 ใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวรูปแบบน้ำ + ปุ๋ยเคมี 50%	480.15	359.37	409.93	416.5
T5 ใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวรูปแบบน้ำ + ปุ๋ยเคมี 70%	503.52	322.73	421.20	415.8
T6 ใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวรูปแบบผง	491.47	328.37	408.81	409.6
T7 ใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวรูปแบบผง + ปุ๋ยเคมี 50%	460.56	360.78	414.44	411.9
T8 ใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวรูปแบบผง + ปุ๋ยเคมี 70%	500.51	264.95	400.55	388.7
F-test	ns	ns	ns	
CV %	9.56	20.26	15.90	

จากผลการทดลองการใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าว *A. brasillense B. megaterium* และ *P. lilacinum* ต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตข้าวในแปลงทดลองจังหวัดต่างๆ แสดงให้เห็นว่า การใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพทั้งในรูปแบบน้ำ และรูปแบบผงแห้งละลายน้ำ อาจช่วยลดการใช้ปุ๋ยเคมีได้ 30 - 50 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากมีผลผลิตข้าวไม่แตกต่างกับการใส่ปุ๋ยเคมี 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Islam *et al.* (2012) รายงานว่าการใช้ *Azospirillum* สายพันธุ์ BM9 และ BM 11 ร่วมกับปุ๋ยไนโตรเจน 80% ส่งผลให้ผลผลิตข้าวและตอซัง มีผลผลิตในระดับเดียวกับการใช้ปุ๋ย 100% แสดงให้เห็นว่าสามารถลดการใช้ปุ๋ยเคมีไนโตรเจนลงได้ 20 เปอร์เซ็นต์ เมื่อมีการใช้ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพ *Azospirillum* ในขณะที่ Banayo *et al.* (2012) พบว่า การใช้ปุ๋ยชีวภาพ *Azospirillum* ร่วมกับปุ๋ยไนโตรเจน อัตรา 25 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้ปุ๋ยไนโตรเจนมีประสิทธิภาพสูง และให้ผลผลิตข้าวเพิ่มขึ้น และการใช้ปุ๋ยชีวภาพ *Azospirillum* ร่วมกับปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 50 เปอร์เซ็นต์ ช่วยเพิ่มผลผลิตข้าวได้ในระดับเดียวกับอัตราปุ๋ยไนโตรเจน 100 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ แบคทีเรียละลายซิลิเกต อาจมีผลช่วยเพิ่มผลผลิตข้าวเช่นเดียวกันเนื่องจาก ซิลิกอนที่แบคทีเรียละลายออกมาจะส่งผลให้ใบข้าวตั้งชันสังเคราะห์แสงได้ดี ช่วยให้ข้าวมีลำต้นแข็งแรงไม่ล้มง่าย ป้องกันเชื้อราเข้าในรากและใบ จึงช่วยให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น (ยงยุทธ, 2543) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Pedda Ghouse Peera *et al.* (2012) พบว่า การใช้ปุ๋ยชีวภาพละลายซิลิเกตร่วมกับปุ๋ยคอกช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต องค์ประกอบผลผลิต และผลผลิตข้าวที่ปลูกในพื้นที่ดินร่วนปนทราย สูงการกว่าการไม่ใช้ปุ๋ยชีวภาพละลายซิลิเกต รวมทั้งราเอนโดไฟต์ *P. lilacinum* ซึ่งมีประสิทธิภาพในการช่วยควบคุมโรค และแมลงศัตรูข้าว ช่วยทำให้ต้นข้าวแข็งแรง ช่วยเพิ่มผลผลิตข้าวได้ แต่อย่างไรก็ตามการทดสอบประสิทธิภาพปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้างในบางพื้นที่ยังเห็นผลไม่ชัดเจนนัก อาจเป็นเพราะการใช้ปุ๋ยชีวภาพอาจให้ผลดีชัดเจนเมื่อทดสอบภายใต้ห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลอง แต่อาจไม่เห็นผลชัดเจนในภาคสนามอาจมาจากสาเหตุหนึ่งคือความยากที่จะทำให้จุลินทรีย์อยู่รอดและมีประสิทธิภาพดีในสภาพแวดล้อม (FAO *et al.*, 2020) ดังนั้นการจัดการปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวที่เหมาะสมในแต่ละพื้นที่จึงช่วยลดการใช้ปุ๋ยเคมี และช่วยเพิ่มผลผลิตข้าวได้

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

1. การแยกและคัดเลือก *Azospirillum* spp. ที่มีประสิทธิภาพสูงในการตรึงไนโตรเจน สร้างออกซิน จิบเบอเรลลิน และสารไซเดอโรฟอร์ จุลินทรีย์ละลายซิลิเกต และเชื้อราเอนโดไฟต์ควบคุมโรค และแมลงในนาข้าว

1.1 การคัดเลือก *Azospirillum* พบ 10 ไอโซเลต ได้แก่ T4, T12, T6/1, T6/2, KP6/1, KP6/2, CN4/1, CN4/2, NW1, AY16 ซึ่งส่วนใหญ่จำแนกชนิดได้เป็น *A. brasillense* มีค่าการตรึงไนโตรเจนอยู่ในช่วง 6.97 - 52.49 µmol C_2H_4/l/h ผลิต IAA ได้ในช่วง 12.28 - 47.29 ppm ผลิต GA_3 ได้ในช่วง 25.80 – 159.13 ppm.

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ไอโซเลต CN4/2 AY16 และ T12 มีกิจกรรมการตรึงไนโตรเจน ผลิต IAA และ ผลิต GA_3 ได้สูงสุด ตามลำดับ และทั้ง 10 ไอโซเลตไม่สร้างสารไซเดอโรฟอร์ การทดสอบประสิทธิภาพต่อการเจริญเติบโตของข้าวปทุมธานี 1 ในโรงเรือนทดลอง พบว่าการใส่ *Azospirillum* ทั้ง 10 ไอโซเลต มีผลให้ความสูง จำนวนต้น/กอ ความยาวราก น้ำหนักแห้งต้น และน้ำหนักแห้งราก ไม่แตกต่างจากตำรับที่มีการใส่ปุ๋ยเคมีไนโตรเจนอัตราตามค่าวิเคราะห์ดิน

1.2 การคัดเลือกแบคทีเรียละลายซิลิเกต พบไอโซเลต B01 และ B04 มี Clear zone กว้างที่สุด 4.72 และ 5.83 เซนติเมตร ตามลำดับ 59 ไอโซเลต มีประสิทธิภาพการผลิต IAA มีค่าอยู่ระหว่าง 10-69 มก./ลิตร พบ 3 ไอโซเลต สามารถละลาย magnesium trisilicate ได้สูง 446 232 และ 171 mg kg^{-1} ตามลำดับ และแบคทีเรียละลายซิลิเกตที่มีประสิทธิภาพสูงจำแนกได้เป็น *Bacillus megaterium* สามารถปลดปล่อยซิลิกอนได้ 23 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ผลิตฮอร์โมนออกซินเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตได้ 27 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และการทดสอบการเจริญเติบโตของข้าว ช่วยส่งเสริมการงอกของเมล็ดข้าว 100% ส่งเสริมความสูงของข้าวในห้องปฏิบัติการ 0.62 เซนติเมตร และความยาวรากสูงสุด 4.02 เซนติเมตร

1.3 การคัดเลือกคัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟต์ พบไอโซเลต P11 P13 G12 และ W12 ที่สามารถเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ สามารถยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคข้าว *Cercospora oryzae Curvularia lunata* และ *Colettotrichum gloeosporiodes* ได้ โดยเชื้อรา P11 P13 และ G12 สามารถยับยั้งได้สูง เมื่อจำแนกชนิดของเชื้อ P11 และ P13 คือ *Purpureocillium lilacinum* และ G12 คือ *Penicillium citrinum* นอกจากนี้เชื้อราเอนโดไฟต์ทั้ง 3 ชนิด มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยพบว่าที่ความเข้มข้นของสารละลายสปอร์ $1x10^6$ และ $1x10^7$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร มีผลให้ค่าเปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ย (% Mortality) ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล 100 เปอร์เซ็นต์

2. วิจัยรูปแบบผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวให้มีประสิทธิภาพเพื่อเพิ่มการเจริญเติบโตและผลผลิตข้าว

รูปแบบผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวที่เหมาะสมสำหรับจุลินทรีย์แต่ละชนิด ได้แก่ *P. lilacinum* รูปแบบผงแห้งละลายน้ำโดยใช้ maltodextrin เป็นวัสดุรองรับ ซึ่งสามารถเก็บรักษาได้นาน 12 เดือน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สำหรับ *A. brasillense* และ *B. megaterium* รูปแบบผงแห้งใช้ skimmed milk วัสดุรองรับ สามารถเก็บรักษาได้นาน 12 เดือน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และรูปแบบน้ำโดยเชื้อทั้ง 2 ชนิด เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติม trehalose 10 mM สามารถเก็บรักษาได้นาน 8 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยการใช้ผลิตภัณฑ์ *A. brasillense* และ *B. megaterium* รูปแบบน้ำ อัตราอย่างละ 150 – 350 มิลลิลิตร/น้ำ 50 ลิตร/ไร่ และผลิตภัณฑ์ *P. lilacinum* ผงแห้งละลายน้ำ 100 กรัม/20 ลิตร/ไร่ ส่งผลให้การเจริญเติบโตของข้าวสูงไม่แตกต่างจาการใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน นอกจากนี้ *P. lilacinum* สามารถเหนี่ยวนำการสร้างกรดจัสมอนิคในข้าวได้ทั้งการแช่กล้าข้าว และการฉีดพ่นในระยะปักดำ และข้าวอายุที่ 60 วัน

3. การศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตข้าวในสภาพแปลงทดลอง

การใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวในการปลูกข้าวปทุมธานี 1 และ กข 41 ในพื้นที่นาดินเหนียว พบว่า การใช้ผลิตภัณฑ์ *A. brasillense* และ *B. megaterium* ทั้งรูปแบบน้ำ และผงละลายน้ำ และผลิตภัณฑ์ *P. lilacinum* รูปแบบผงละลายน้ำ ร่วมกับการลดใช้ปุ๋ยเคมี 30 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามค่าวิเคราะห์ดิน มีผลให้การเจริญเติบโตและผลผลิตข้าวไม่แตกต่างกับการใส่ปุ๋ยเคมีอัตราตามค่าวิเคราะห์ดิน ส่วนการใช้ผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวในการปลูกข้าวขาวดอกมะลิ 105 พบว่าการใส่ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวรูปแบบผงละลายน้ำทั้ง 3 ชนิด ร่วมกับปุ๋ยเคมี 50 เปอร์เซ็นต์ ตามค่าวิเคราะห์ดิน มีผลให้ผลผลิตข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในพื้นที่นาดินร่วนปนทราย จ. สุรินทร์ สูงสุด 690.5 กิโลกรัมต่อไร่ โดยสูงกว่าตำรับควบคุมและตำรับใส่ปุ๋ยเคมีอัตราตามค่าวิเคราะห์ดินคิดเป็น 53.48 และ 10.93 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ประโยชน์ที่ได้รับ

1. ได้จุลินทรีย์สำหรับผลิตผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพสำหรับนาข้าวเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตข้าว
2. ได้รูปแบบผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์และวิธีการใช้ที่เหมาะสมในการปลูกข้าว
3. ได้องค์ความรู้ที่สามารถนำไปพัฒนางานทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพในการเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน
4. เผยแพร่ข้อมูลเกี่ยวกับผลงานวิจัยในการประชุม สัมมนาวิชาการ การจัดนิทรรศการ สู่นักวิชาการเพื่อนำไปศึกษาต่อยอดงานวิจัยจุลินทรีย์ที่สามารถพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตรต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2561. โรค-แมลงศัตรูข้าวและการป้องกัน. แหล่งที่มา https://esc.doae.go.th/wp-content/uploads/2018/12/.pdf, 15 กรกฎาคม 2564.

กองวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว, มปป. องค์ความรู้เรื่องข้าว. แหล่งที่มา http://www.ricethailand.go.th/rkb3/Varieties.htm, 22 กรกฎาคม 2564

กานต์ จิตสุวรรณรักษ์ และ อนันต์ วงเจริญ. 2559. ผลของเชื้อราเอนโดไฟต์ต่อการควบคุมโรคไหม้ของข้าว (Oryza sativa L.). แก่นเกษตร 44 ฉบับพิเศษ 1: 232-237.

ธงชัย มาลา. 2557. การตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพ. คณะเกษตรกำแพงแสน. สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพ ฯ.

ดารารัตน์ โฮตาก้า. 2560. รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์: วิจัย คัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟต์ และศึกษาคุณสมบัติการควบคุมโรคและแมลงในนาข้าว. กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

พนิดา ปรีเปรมโมทย์ พิกุล เกตุชาญวิทย์ และสิรินภา ชินอ่อน. 2560. รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์: การแยกและคัดเลือก *Azospirillum* spp. ที่มีประสิทธิภาพสูงในการตรึงไนโตรเจน สร้างออกซิน จิบเบอเรลลิน และสารไซเดอโรฟอร์ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตข้าว. กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

พิมพ์ธิดา เรืองไพศาล พนิดา ปรีเปรมโมทย์ และดารารัตน์ โฮตาก้า. 2560. รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์: การวิจัยคัดเลือกจุลินทรีย์ละลายซิลิเกตที่มีประสิทธิภาพสูงในการละลายซิลิเกตส่งเสริมการเจริญเติบโต และสร้างความทนทานให้กับข้าว. กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

ยงยุทธ โอสถสภา. 2543. ธาตุอาหารพืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพ ฯ.

ยงยุทธ โอสถสภา. 2558. ดิน ธาตุอาหาร และปุ๋ยข้าว. สมาคมดินและปุ๋ยแห่งประเทศไทย. กรุงเทพ ฯ.

สายทอง แก้วฉาย. 2557. การศึกษาเชื้อราเอนโดไฟท์จากใบข้าวหอมกระดังงาและคุณสมบัติการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์. วารสารมหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์. 6(3): 112-120.

อนันต์ วงศ์เจริญ. 2557. การคัดเลือกเชื้อราเอนโดไฟต์จากข้าว (*Oryza sativa* L.) ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งราสาเหตุโรคข้าว. แก่นเกษตร. 42 (3): 385-396.

อรพิน โปกุล. 2551. ปุ๋ยอินทรีย์. สาขาพืชศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตนครศรีธรรมราช.

อาภากร หล่องทองหลาง. 2553. ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของ *Azospirillum largimobile* และ *Azotobacter vinelandii* ในการปลูกข้าวระบบประณีต. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

Akbari, G. A., S. M. Arab, H.A. Alikhani, I. Allahdadi and M.H. Arzanesh. 2007.Isolation and Selection of Indigenous *Azospirillum* spp. and the IAA of Superior Strains Effects on Wheat Roots. World Journal of Agricultural Sciences 3 (4): 523-529.

Anandan, R., D. Lakshmipriya, V. Karthiga and P. Rajendran. 2015. Randomized field trials of *Azospirillum lipoferum* with enhanced properties of desiccation tolerance and plant

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

growth promoting traits on drought prone paddy fields of Dharmapuri. Int. J. Innov. Appl. Res. 3(5):1-11.

Banayo, N.P.M., P.C. Cruz, E.A. Aguilar, R.B. Badayos and S.M. Haefele. 2012. Evaluation of Biofertilizers in Irrigated Rice: Effects on Grain Yield at Different Fertilizer Rates. Agriculture. 2(1): 73-86.

Bashan, Y. and H. Levanony. 1985. An improved selection technique and medium for the isolation and enumeration of *Azospirillum brasilense*. Can. J. Microbiol. 31: 947-952.

Boddey, R. 1987. Method for quantification of nitrogen fixation associated with gramineae. CRC. Crit. Rev. Plant Sci. 6: 209-266.

Blumenstein, K. 2015.: Endophytic Fungi in Elms Implications for the Integrated Management of Dutch Elm Disease. Doctoral Thesis, Bangor University, UK.

Cassán, F. and M. Diaz-Zorita. 2016. *Azospirillum* sp. in current agriculture: From the laboratory to the field. Soil Biol. Biochem. 103: 117-130.

FAO, ITPS, GSBI, SCBD and EC. 2020. State of knowledge of soil biodiversity – Status, challenges and potentialities, Summary for policy makers. Rome, FAO. https://doi.org/10.4060/cb1929en.

García de Salamone, I.E., L.P. Di Salvo, J.S. Escobar Ortega, P.M.F. Boa Sorte, S. Urquiaga and K.R.S. Teixeira. 2010. Field Response of Rice Paddy Crop to Azospirillum Inoculation: Physiology of Rhizosphere Bacterial Communities and the Genetic Diversity of Endophytic Bacteria in Different Parts of the Plants. Plant and Soil. 336(1): 351-362.

Gnanamanickam, S. 2002. Biological Control of Crop Disease. CRC Press. 480p.

Holbrook A.A., W.J.W. Edge and T.R. Fermor. 1961. Spectrophotometric method for determination of gibberllin acid. In: Gibberellins 159-167. ACS Washington DC.

Hossain, M.M., I. Jahan, S. Akter, M.N. Rahman and S.M.B. Rahman. 2015. Effects of *Azospirillum* isolates isolated from paddy fields on the growth of rice plants. Res. Biotechnol. 6(2): 15-22.

Islam, M. Z., M. A. Sattar, M. Ashrafuzzaman, H.M. Saud and M. K. Uddin. 2012. Improvement of yield potential of rice through combined application of biofertilizer and chemical nitrogen. Afr. J. Microbiol. Res. 6(4):745-750.

Jones, K.A. and H.D. Burges. (1998) Technology of Formulation and Application. In: Burges, H.D., Ed., Formulation of Microbial Pesticides—Beneficial Microorganisms, Nematodes and Seed Treatments, Kluwer Academic, Dordrecht, 7-30.

Khan, S.A., M. Hamayun, H. Yoon, K. Ho-Youn, S. Seok-Jong, H. Seon-Kap, K. Jong-Myeong, L. In-Jung, C. Yeon-Sik, Y. Ung-Han, K. Won-Sik, L. Byung-Moo and K. Jong-Guk. 2008. Plant growth promotion and *Penicillium citrinum*. BMC Microbiology. 8: 231.

Lai, D., H. Brotz-Oesterhelt, E.G. Werner, M.V. Wray and P. Proksch. 2013. Bioactive polyketides and alkaloids from *Penicillium citrinum*, a fungal endophyte isolated from *Ocimum tenuiflorum*. Fitoterapia. 91: 100-106.

Leewijit, T., W. Pongnak, K. Soytong and S. Poeaim. 2016. Isolation of Soil and Endophytic Fungi from Rice (Oryza sativa L.). Journal of Agricultural Technology. 12(7.2):2191-2202.

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

Lin, S.Y., Y.C. Liu, A. Hameed, Y.H. Hsu, H.I. Huang, W.A. Lai, and C.C. Young. 2016. *Azospirillum agricola* sp. nov., a nitrogen-fixing species isolated from cultivated soil. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 66: 1453–1458.

Mae, T. 1997. Physiological Nitrogen Efficiency in Rice: Nitrogen Utilization, Photosynthesis, and Yield Potential. Plant and Soil. 196(2): 201-210.
rhizosphere of rice. Can J Microbiol 47,110–117.

Mazid, S., J.C. Kalita and R.C. Rajkowa. 2016. Biocontrol potential of *Penicillium citrinum* and *Penicillium chrysogenum* against red spider mite, *Oligonychus coffeae* Nietner infesting tea. *Journal of Entomological Resesrch*. 40(1): 43.-47.

Meunchang, S, P. Thongra-ar, S. Sanoh, S. Kaewsuralikhit and S. Ando. 2006. Development of rhizobacteria as a biofertilizer for rice production, pp. 1-7. *In* International Workshop on Sustained Management of the Soil-Rhizosphere System for Efficient Crop Production and Fertilizer Use. 16 – 20 October 2006, Land Development Department, Bangkok, Thailand.

Nayak, G.V., J.H. Kulkarni and M. Shivaorasad. 2003. Effect of *Azospirillum* inoculation at different levels of nitrogen on paddy yield under hilly zone of Karnataka. Karnataka J. Agric. Sci. 16 (4): 510-513.

Pedda Ghouse Peera, S. K., P. Balasubramaniam and P. P. Mahendran.2016. Effect of silicate solubilizing bacteria and fly ash on silicon uptake and yield of rice under lowland ecosystem. Journal of Applied and Natural Science 8 (1) : 55 – 59.

Reis, V. M., K. R. S. Teixeira, and R. O. Pedraza. 2011. Chapter 6 What Is Expected from the Genus *Azospirillum* as a Plant Growth-Promoting Bacteria?. D.K. Maheshwari (ed.), p 123-138. *In* Bacteria in Agrobiology: Plant Growth Responses. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Rodrigues, A. C., A. Bonifacio, F. F. de Araujo, M. A. L. Junior and M. d. V. B. Figueiredo. 2015. *Azospirillum* sp. As a Challenge for Agriculture, p 29-51. D. K. Maheshwari (ed). *In* Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem. Springer.

Sarwar, M., D.A. Arshad, W.T. Martens and J.R. Frankenberger. 1992. Tryptophan dependent biosynthesis of auxins in soil. Plant Soil 147: 207-215.

Sivasakthivelan, P. and P. Saranraj. 2013. Azospirillum and its formulations: A Review. International Journal of Microbiological Research 4 (3): 275-287.

Schwyn, B. and Neilands, J. B. (1987). Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. Analytical Biochemistry, 160:47-56.

Somasegaran, P. and H.J. Hoben. 1985. Methods in Legume-Rhizobium Technology. Niftal Project and Mircen, University of Hawaii, Hawaii.

Sreevidya, M., S. Gopalakrishnan, T.M. Melo, S. N. Simic, S. Mamta, V. Srinivas and G. Alekya. 2015. Biological control of Botrytis cinerea and plant growth promotion potential by *Penicillium citrinum* in chickpea (*Cicer arietinum* L.). Biocontrol Science and Technology. 25(7): 739-755.

Vandevivere, P., S.A. Welch, W.J. Ullman and D.L. Kirchman. 1994. Enhanced dissolution of silicate minerals by bacteria at near-neutral pH. Microb. Ecol.27: 241-251.

Welch, S.A. and W.J. Ullman. 1992. The effect of soluble organic acids on feldspar dissolution rates andstoichiometry.Geochimica et Cosmochimica Acta57: 2725–2736.

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

Young, C.C., S.Y. Lin, F.T. Shen and W.A. Lai. 2015. Molecular tools for identification and characterization of plant growth promoting rhizobacteria with emphasis in *Azospirillum* spp., pp. 27–44. *In* F.D. Cassan, Y. Oken and C. M. Creus, eds. Handbook for Azospirillum: Technical Issues and Protocols. Springer International Publishing, Switzerland.

Zakaria, L., A.S. Yaakop, B. Salleh and M. Zakaria. 2010. Endophytic Fungi from Paddy. Tropical Life Sciences Research. 21(1): 101–107.

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน

ห้องสมุดกรมพัฒนาที่ดิน