รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. **แผนงานวิจัย** : วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการเพิ่มประสิทธิภาพดิน ปุ๋ยและน้ำทางการเกษตรอย่างสมดุลและยั่งยืน

2. **โครงการวิจัย** : วิจัยและพัฒนาการเพิ่มประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพและจุลินทรีย์ดินเพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร

3. **ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)** : การศึกษาการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตร่วมกับจุลินทรีย์ที่ผลิตสารคล้ายฮอร์โมนพืชในการผลิตอ้อย

   ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Study of Phosphate Solubilizing and Plant Hormone Like Producer microbes in Production of Sugarcane.

4. **คณะผู้ดำเนินงาน**

หัวหน้าการทดลอง นายอธิปัตย์ คลังบุญครอง กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยากองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผู้ร่วมงาน นางสุปรานี มั่นหมาย กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยากองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

นางสาธิดา โพธิ์น้อย กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยากองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

นายสนธยา ขำติ๊บ กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยากองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

5. **บทคัดย่อ**

คัดเลือกแบคทีเรีย *Pantoea dispersa* ซึ่งมีสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารคล้ายฮอร์โมนพืช indole acetic acid (IAA) คือ สามารถผลิต IAA ได้สูงที่สุดในช่วง 30 ถึง 36 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีสภาวะที่เหมาะในการผลิต คือ เพาะเลี้ยงแบบเขย่าในอาหาร nutrient broth ที่เติม L-tryptophan ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร pH เท่ากับ 7 จากการใช้แบคทีเรีย *Pantoea dispersa* ร่วมกับจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตคือ *Taralomyces macrosporus* และแบคทีเรียที่มีความสามารถทั้งละลายฟอสเฟตและผลิตสารคล้ายฮอร์โมนพืช *Burkhoderia* sp. ในการผลิตอ้อย พบว่า *Pantoea dispersa* และ *Burkhoderia* sp. สามารถครอบครองรากอ้อย พันธุ์ขอนแก่น 3 ได้ โดยรากสามารถแสดงกิจกรรมการละลายฟอสเฟตได้ และการใช้จุลินทรีย์ 3 ไอโซเลทร่วมกัน สามารถผลิตอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ได้ในช่วง 15.09-16.01 ตันต่อไร่ ซึ่งสูงกว่าการไม่ใช้จุลินทรีย์ การใช้จุลินทรีย์ในรูปแบบปุ๋ยชีวภาพใส่พร้อมท่อนพันธุ์อ้อยในร่องปลูก กับการแช่ท่อนพันธุ์ให้ผลผลิตอ้อยไม่แตกต่างกัน โดยอ้อยมีปริมาณฟอสฟอรัสในต้น

กรมวิชาการเกษตร

เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ใช้จุลินทรีย์ การใช้จุลินทรีย์เหล่านี้จึงมีความน่าสนใจในการใช้เพิ่มผลผลิตอ้อย หรือใช้พัฒนาระบบเกษตรยั่งยืน ด้วยการลดการใช้ปุ๋ยเคมี

Abstract

Pantoea dispersa was selected to be plant hormone like producer for indole acetic acid (IAA) production, optimal conditions are culture in shaking nutrient broth contained L-tryptophan 5 mg/l pH 7. Study of *Burkhoderia* sp. That show both phosphate solubilizing and plant hormone like production activities and *Pantoea dispersa* in sugarcane root colonization, both of bacteria can colonize on sugarcane (Khonkhan 3) root and still perform phosphate solubilization activity. Application of phosphate solubilizing fungi *Taralomyces macrosporus*, *Burkhoderia* sp. and *Pantoea dispersa* show sugarcane (Khonkhan 3) yield 15.09-16.01 ton/rai which higher than non-inoculation treatment. Inoculation method by use as biofertilizer that add together with cane cultivar and soak cultivar with cell suspension show no different yield, however phosphorus content in cane higher when compare to non-inoculation treatment. Therefore this microorganism are the interest microbes to use in sustainable agriculture by reduce chemical fertilizer dose.

กรมวิชาการเกษตร

6. คำนำ

อ้อยเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ เป็นพืชอาหารสำหรับการผลิตน้ำตาล และเป็นพืชสำหรับการผลิตพลังงานทดแทน ดังนั้นการส่งเสริมการผลิตอ้อยให้ได้ผลผลิตสูง ลดต้นทุน พื้นที่ปลูกอ้อยมีความอุดมสมบูรณ์ จึงเป็นสิ่งที่สำคัญ และช่วยส่งเสริมเศรษฐกิจของประเทศไทยได้

จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต มีความสามารถในการปลดปล่อยฟอสฟอรัสในรูปที่พืชใช้ได้ออกมา ดังนั้นจึงสามารถส่งเสริมการปลูกอ้อย และลดการใช้ปุ๋ยเคมีฟอสเฟตได้ (Sundara *et al*., 2002) แต่อย่างไรก็ตามหากมีการช่วยส่งเสริมให้กิจกรรมการละลายฟอสเฟตดีขึ้น หรือพืชนำฟอสฟอรัสที่ถูกปลดปล่อยออกมาไปใช้ได้มากขึ้น ย่อมเป็นการช่วยให้การผลิตอ้อยดีขึ้นด้วย ดังนั้นการใช้จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ทางการเกษตรอื่นๆ ที่สามารถดำรงชีวิต และส่งเสริมกิจกรรมการละลายฟอสเฟต หรือการนำฟอสเฟตไปใช้โดยพืชได้ ย่อมจะส่งผลดีต่อการผลิตอ้อย จุลินทรีย์ที่ผลิตสารคล้ายฮอร์โมนพืชเป็นจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่น่าสนใจ เพราะสามารถส่งเสริมการเจริญส่วนต่างๆ ของพืชได้ เช่น การเพิ่มของราก การเจริญในส่วนลำต้นที่ดี ซึ่งจะส่งผลให้พืชมีการดูดธาตุ

อาหาร รวมทั้งฟอสฟอรัสไปใช้ได้มากยิ่งขึ้น หากจุลินทรีย์ที่ผลิตสารคล้ายฮอร์โมนพืชนั้น ส่งเสริมจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตในด้านต่างๆ เช่น กระตุ้นให้ละลายฟอสเฟตได้มากขึ้น กระตุ้นให้เซลล์อยู่ในรูปที่มีชีวิตยาวนานขึ้น หรือในทางกลับกันจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตสามารถส่งเสริมให้จุลินทรีย์ที่ผลิตสารคล้ายฮอร์โมนพืชทำงานได้อย่างเหมาะสมกับพืชมากขึ้น เช่น ช่วยควบคุมระดับฮอร์โมนไม่ให้สูงเกินไป ย่อมเป็นแนวทางที่ดีต่อการผลิตอ้อย ซึ่งเป็นการส่งเสริมพืชเศรษฐกิจของไทย

จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต สามารถเปลี่ยนรูปของฟอสฟอรัสที่พืชใช้ไม่ได้ให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถใช้ได้ ดังนั้นจึงเป็นการเพิ่มฟอสฟอรัสให้แก่พืช ช่วยให้พืชมีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น เมื่อใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตในการผลิตอ้อย จึงเป็นการส่งเสริมให้อ้อยเจริญเติบโตดีขึ้นเช่นกัน และเป็นแนวทางที่สามารถลดการใช้ปุ๋ยเคมีฟอสเฟตอีกด้วย Sundara *et al*. (2002) ใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต *Bacillus megatherium* var. Phosphaticum 10 kg/ha ในการเพิ่มผลผลิตอ้อย พบว่าฟอสฟอรัสที่พืชนำไปใช้ได้ และปริมาณจุลินทรีย์ที่ใส่ลงไปมีค่าเพิ่มสูงขึ้นบริเวณรอบรากอ้อย ส่งผลให้ผลผลิตอ้อยเพิ่มสูงขึ้น 12.6% เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ใส่เชื้อ และช่วยลดการใช้ปุ๋ยเคมีฟอสเฟตลงได้ถึง 25% Indi *et al*. (2014) ได้ศึกษาการใช้จุลินทรีย์ *Gluconacetobacter diazotrophicus* ร่วมกับจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตในการผลิตอ้อย พบว่าการแช่ตาอ้อยที่เติม *Gluconacetobacter diazotrophicus* 10 kg กับจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต 1.25 kg ในน้ำ 100 ลิตร เป็นเวลา 30 นาที จะช่วยลดปริมาณการใส่ไนโตรเจนเหลือเพียง 50% ของค่าแนะนำ และลดฟอสฟอรัสเหลือเพียง 75% ของค่าแนะนำ โดยอ้อยที่ได้มีผลผลิตที่ดี

จะเห็นได้ว่าจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตเป็นจุลินทรีย์ที่ช่วยลดการใช้ฟอสฟอรัสได้ ช่วยเพิ่มผลผลิตอ้อยได้ และยังสามารถใช้ร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์อื่นเพื่อการผลิตอ้อยได้ ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ในการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตร่วมกับจุลินทรีย์ที่ส่งเสริมการเจริญของพืชด้านการสร้างสารคล้ายฮอร์โมนพืช แต่อย่างไรก็ตามสารคล้ายฮอร์โมนเอง อาจส่งผลบางประการต่อการอยู่ร่วมกันของจุลินทรีย์ เช่น indole-3-acetic acid (IAA) นอกจากช่วยส่งเสริมการเจริญของพืชแล้ว ยังส่งผลบางประการต่อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ ด้วย เมื่อเติม IAA ลงในอาหารเพาะเลี้ยงยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* พบว่าเซลล์ยีสต์มีการเกาะกลุ่มกันมากขึ้น และเซลล์อยู่ในรูปของเส้นใย (filament) ซึ่งเป็นรูปแบบพร้อมที่จะแผ่ขยาย (invasion form) มากขึ้นแต่เมื่อมีความเข้มข้นของ IAA สูงมาก (EC50 = 250 μM) IAA จะยับยั้งการเจริญของยีสต์ (Prusty *et al*., 2004) ใน *Escherichia coli* พบว่า IAA จะเหนี่ยวนำให้เซลล์ทนต่อสารต่างๆ ได้มากขึ้น โดยเซลล์จะมีการสร้าง trehalose, lipopolysaccharides, exopolysaccharides และ biofilm เพิ่มมากขึ้น (Bianco *et al*., 2006) Leveau and Lindow (2005) พบว่าเชื้อ *Pseudomonas putida* ซึ่งคัดแยกจาก Bartlett pear สามารถใช้ IAA เป็นแหล่งของ คาร์บอน, ไนโตรเจน และพลังงานได้เมื่อทดสอบเชื้อกับรากหัวไชเท้าที่เติม IAA

กรมวิชาการเกษตร

ระดับต่างๆ พบว่าเชื้อสามารถส่งเสริมความยาวของรากที่ความเข้มข้นของ IAA ระดับ micromoler และ millimolar ให้ยาวมากกว่าการทดลองที่ไม่ใส่เชื้อ และเมื่อนำมาเพาะเลี้ยงร่วมกับจุลินทรีย์ที่ผลิตสารคล้ายฮอร์โมนพืชส่งผลให้การงอกรากสูงกว่าการใช้จุลินทรีย์ที่ผลิตสารคล้ายฮอร์โมนพืชเพียงอย่างเดียว จากที่กล่าวมาพบว่า IAA ส่งผลต่อจุลินทรีย์ในรูปแบบที่แตกต่างกัน แต่ก็มีรูปแบบที่ส่งเสริมการเจริญของพืชได้

จุลินทรีย์บริเวณรอบรากพืชกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ สามารถผลิต IAA ได้ โดยมีสารตั้งต้นคือ tryptophan การใส่ tryptophan ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อจะช่วยให้จุลินทรีย์บางชนิดผลิต IAA ออกมาได้มากขึ้น (Spaepen and Vanderleyden, 2011) ซึ่ง IAA สามารถกระตุ้นให้รากพืชหลั่งสาร (root exudation) ออกมา ช่วยให้บริเวณรากพืชมีความอุดมสมบูรณ์ จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตรสายพันธุ์อื่นๆ สามารถดำรงชีพอยู่ได้ และก่อให้เกิดกลไกการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในด้านอื่นๆ ขึ้น เช่น การสร้าง siderophore การละลายฟอสเฟต นอกจากนี้ IAA ยังช่วยเพิ่มการเจริญของราก ช่วยให้พืชดูดใช้สารอาหารได้มากขึ้นด้วย (Hassan *et al*., 2015) นอกจากนี้เมื่อเกิดความเครียดพืชจะใช้กลไกต่างๆ เพื่อผลิต IAA และ ethylene เพื่อให้พืชสามารถทนความเครียดได้ ด้วยเหตุนี้ การส่งเสริมให้จุลินทรีย์สามารถเกิดกลไกการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในด้านต่างๆ จึงเป็นสิ่งที่สำคัญต่อการใช้จุลินทรีย์ในการเกษตร

ดังนั้นการศึกษาการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตร่วมกับการใช้จุลินทรีย์ที่สร้างสารคล้ายฮอร์โมนพืชในการผลิตอ้อยจึงมีความน่าสนใจเป็นอย่างยิ่งต่อการผลิตอ้อย

กรมวิชาการเกษตร

7. วิธีดำเนินการ :

- อุปกรณ์

1. เครื่องแก้ว ได้แก่ บีกเกอร์ กระบอกตวง แท่งแก้วคนสาร จานเพาะเชื้อ หลอดทดลอง ฟลาส์ก
2. สารเคมีได้แก่ แอมโมเนียมซัลเฟต อาหารเลี้ยงเชื้อนิวเทรียนท์บรอท (Nutrient broth) และนิวเทรียนท์เอการ์ (Nutrient agar) อาหาร aleksandrov อาหาร pikovskaya อาหารทดสอบการสร้าง siderophore ortho-phosphoric acid Salkowski’s reagent L-tryptophan
3. เครื่องมือ ได้แก่ เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง ตู้อบ เครื่องเขย่าขวดเลี้ยงเชื้อ เครื่องกวนสาร เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ ตู้ปลอดเชื้อ รถไถ

- วิธีการ

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพิ่มประสิทธิภาพจุลินทรีย์ในการผลิตสารคล้ายฮอร์โมนพืช

1.1 ศึกษาปริมาณ L-tryptophan ที่เหมาะสมต่อการผลิตสารคล้ายฮอร์โมนพืช (IAA) เพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหาร nutrient broth ที่เติม L-tryptophan ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ 0 1 3 5 และ 7 มิลลิกรัมต่อลิตร ปรับค่า pH เท่ากับ 7 บ่มที่อุณหภูมิห้อง ด้วยความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 9 วัน เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ปริมาณ IAA ที่เกิดขึ้นโดยการปั่นเหวี่ยง 10,000 รอบต่อนาที เก็บส่วนใสมาผสมกับสาร ortho-phosphoric acid และ Salkowski's reagent บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จนกระทั่งเกิดสีชมพู ทำการวัดด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร

1.2 ศึกษาผลของ pH ที่เหมาะสมต่อการผลิตสารคล้ายฮอร์โมนพืช โดยเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหาร nutrient broth ที่เติม L-tryptophan ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ปรับค่า pH เท่ากับ 4 5 6 7 และ 8 บ่มที่อุณหภูมิห้อง ด้วยความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 9 วัน เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ปริมาณ IAA

1.3 ศึกษาผลของการบ่มเขย่าต่อการผลิตสารคล้ายฮอร์โมนพืช โดยเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหาร nutrient broth ที่เติม L-tryptophan ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ปรับค่า pH เท่ากับ 7 บ่มที่อุณหภูมิห้อง ด้วยความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที เปรียบเทียบกับการไม่เขย่า เป็นเวลา 9 วัน จากนั้นเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ปริมาณ IAA

2. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ที่ผลิตสารคล้ายฮอร์โมนพืช

2.1 ศึกษาความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ โดยการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหาร nutrient broth ที่ปรับ pH เป็น 7 และเติมแอมโมเนียมซัลเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์ โดยปรับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่ระดับต่างๆ คือ 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เปอร์เซ็นต์ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง เก็บผลการเจริญของจุลินทรีย์ที่เวลา 0 3 5 7 และ 9 วัน

2.2 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ โดยการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหาร nutrient broth ที่ปรับ pH เป็น 7 และเติมแอมโมเนียมซัลเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์ โดยเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง 30 40 และ 50 องศาเซลเซียส เก็บผลการเจริญของจุลินทรีย์ที่เวลา 0 3 5 7 และ 9 วัน

กรมวิชาการเกษตร

3. ศึกษาการครอบครองรากของแบคทีเรีย

ชักนำให้แบคทีเรียทนต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ความเข้มข้น 100 ppm ตามวิธีการทดลองของศุภลักษณ์ และคณะ (2551) โดยการเขี่ยเชื้อบนอาหารวุ้น (nutrient agar) ที่เติมสารปฏิชีวนะ rifampicin ความเข้มข้น 100 ppm จนกระทั่งเกิดโคโลนีที่สามารถเจริญบนอาหารดังกล่าวได้ นำแบคทีเรียดังกล่าวมาแขวนลอยจนมีเซลล์ความเข้มข้น 10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ แช่ท่อนอ้อย พันธุ์ขอนแก่น 3 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพาะเลี้ยงท่อนพันธุ์อ้อยด้วยการเติมน้ำกลั่นปราศจากเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร ทุก 3 วัน จนกระทั่งท่อนอ้อยเกิดการงอกรากชัดเจน ทำการตัดรากมาวางบนอาหารวุ้น pikovskaya ที่เติมสารปฏิชีวนะ rifampicin ความเข้มข้น 100 ppm เพื่อตรวจสอบการครอบครองราก จากการเจริญบนอาหาร และการเกิดวงใสของการละลายฟอสเฟต

4. ทดสอบการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตร่วมกับจุลินทรีย์ที่ผลิตสารคล้ายฮอร์โมนพืชในการผลิตอ้อย

4.1 นำจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต จุลินทรีย์ที่ผลิตสารคล้ายฮอร์โมนพืช และจุลินทรีย์ที่มีความสามารถทั้งละลายฟอสเฟตและผลิตสารคล้ายฮอร์โมนพืช มาใช้ในการผลิตอ้อย โดยเพาะท่อนพันธุ์อ้อยในแปลงทดสอบขนาด 6 x 8 เมตร ระยะห่างระหว่างแถว 1.5 เมตร ระยะระหว่างต้น 40 เซนติเมตร ใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตร วางแผนการทดลองแบบ RCB 8 กรรมวิธี จำนวน 3 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ยชีวภาพ
กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต
กรรมวิธีที่ 3 ใส่ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต ร่วมกับจุลินทรีย์ที่สร้างสารคล้ายฮอร์โมนพืช
กรรมวิธีที่ 4 ใส่ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟต ร่วมกับจุลินทรีย์ที่สร้างสารคล้ายฮอร์โมนพืชและละลายฟอสเฟต
กรรมวิธีที่ 5 ใส่ปุ๋ยชีวภาพจุลินทรีย์ที่สร้างสารคล้ายฮอร์โมนพืช
กรรมวิธีที่ 6 ใส่ปุ๋ยชีวภาพจุลินทรีย์ที่สร้างสารคล้ายฮอร์โมนพืช ร่วมกับจุลินทรีย์ที่สร้างสารคล้ายฮอร์โมนพืชและละลายฟอสเฟต
กรรมวิธีที่ 7 ใส่ปุ๋ยชีวภาพจุลินทรีย์ที่สร้างสารคล้ายฮอร์โมนพืชและละลายฟอสเฟต
กรรมวิธีที่ 8 ใส่ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตร่วมกับปุ๋ยชีวภาพจุลินทรีย์ที่สร้างสารคล้ายฮอร์โมนพืช และปุ๋ยชีวภาพจุลินทรีย์ที่สร้างสารคล้ายฮอร์โมนพืชและละลายฟอสเฟต

กรมวิชาการเกษตร

4.2 ศึกษารูปแบบการนำจุลินทรีย์ มาใช้ในการผลิตอ้อย โดยเพาะท่อนพันธุ์อ้อยในแปลงทดสอบขนาด 6 x 8 เมตร ระยะห่างระหว่างแถว 1.5 เมตร ระยะระหว่างต้น 40 เซนติเมตร ใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตร วางแผนการทดลองแบบ RCB 8 กรรมวิธี จำนวน 3 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปัจจัยใดๆ
กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน (N P K)
กรรมวิธีที่ 3 ใส่จุลินทรีย์ในร่องปลูก (ไม่ใส่ N P K)
กรรมวิธีที่ 4 แช่ท่อนพันธุ์ด้วยจุลินทรีย์แล้วปลูก (ไม่ใส่ N P K)
กรรมวิธีที่ 5 ใส่จุลินทรีย์ในร่องปลูก ใส่ N P K (ปริมาณเท่ากับกรรมวิธีที่ 2)
กรรมวิธีที่ 6 ใส่จุลินทรีย์ในร่องปลูก ใส่ N P K (ปริมาณเท่ากับกรรมวิธีที่ 2 แต่ลด P ลงครึ่งหนึ่ง)
กรรมวิธีที่ 7 แช่ท่อนพันธุ์ด้วยจุลินทรีย์ ใส่ N P K (ปริมาณเท่ากับกรรมวิธีที่ 2)
กรรมวิธีที่ 8 แช่ท่อนพันธุ์ด้วยจุลินทรีย์ ใส่ N P K (ปริมาณเท่ากับกรรมวิธีที่ 2 แต่ลด P ลงครึ่งหนึ่ง)

โดยการใส่จุลินทรีย์ในร่องปลูกใช้ในรูปปัยชีวภาพของกรมวิชาการเกษตร ส่วนการแช่ท่อนพันธุ์กระทำโดยปรับเซลล์แขวนลอยจุลินทรีย์ให้มีความขุ่นที่ความยาวคลื่น 660 nm อยู่ระหว่าง 1.0-1.5 แช่ท่อนพันธุ์อ้อยเป็นเวลา 1 คืน ก่อนใช้งาน

การบันทึกผล

1. กิจกรรมของจุลินทรีย์ ได้แก่ การละลายโพแทสเซียม การผลิต siderophore การเจริญบนอาหารปราศจากไนโตรเจน (N free) การผลิต IAA การครอบครองรากอ้อย
2. การเจริญเติบโตของอ้อย ได้แก่ ความสูง (ม.) ความกว้างของลำต้น (ซม.) น้ำหนัก 10 ต้น (กก.) จำนวนลำต่อไร่ บริกซ์ ผลผลิต (ตัน/ไร่) ปริมาณฟอสฟอรัสในอ้อย
4. สมบัติของดิน ได้แก่ ปฏิกิริยาดิน (pH) ใช้ดินต่ออัตราส่วนของน้ำ 1:1 (สมศักดิ์, 2537) ปริมาณอินทรียวัตถุ (Organic matter, OM) โดยวิธีของ Walkley และ Black (1934) ปริมาณไนโตรเจนรวมทั้งหมดในดิน (Total Nitrogen) โดยวิธี Micro kjeldahl method (จงรักษ์, 2541) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Avialable phosphorus) โดยวิธี Bray II (จำเป็น, 2547) ปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ (available potassium) โดยวิธีของ Schollerger และ Simon (1945)

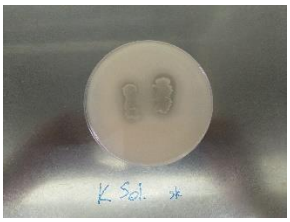
ระยะเวลา ดำเนินการทดลอง ตุลาคม 2559 - กันยายน 2563
สถานที่ดำเนินการ อำเภอวัฒนานคร จังหวัดสระแก้ว

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพิ่มประสิทธิภาพจุลินทรีย์ในการผลิตสารคล้ายฮอร์โมนพืช

กรมวิชาการเกษตร

จุลินทรีย์ผลิตสารคล้ายฮอร์โมนพืชที่ที่นำมาทดลองคือ *Pantoea dispersa* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่เก็บรักษาไว้ของกรมวิชาการเกษตร แยกได้จากรากอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 จากจังหวัดสระแก้ว ซึ่งมีกิจกรรมการสร้าง siderophore และพบกิจกรรมการละลายโพแทสเซียมบนอาหาร aleksandrov สามารถเจริญในอาหาร LGI (N free)

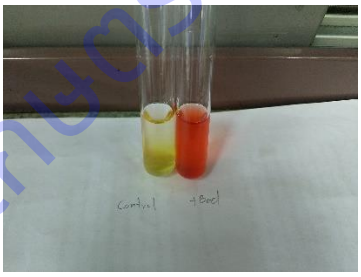


ภาพที่ 1 การละลายโพแทสเซียม

ภาพที่ 2 การผลิต siderophore

ไม่ใส่เชื้อ vs ใส่เชื้อ

ภาพที่ 3 การเจริญในอาหาร LGI (N free) : สร้างกรดแล้วเปลี่ยนสีอาหารเลี้ยงเชื้อ



ไม่ใส่เชื้อ vs ใส่เชื้อ

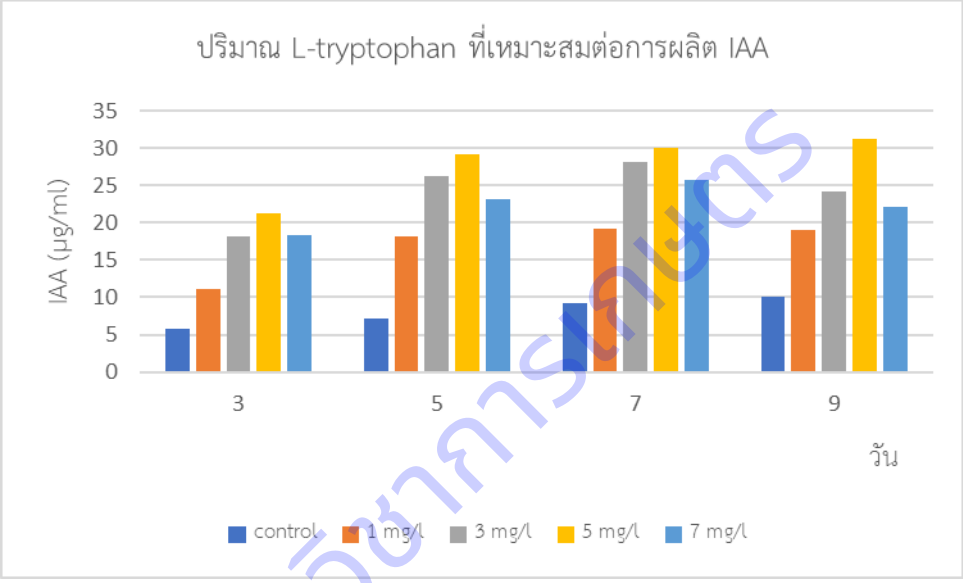
ภาพที่ 4 การผลิต IAA

เมื่อนำ *Pantoe a dispersa* มาศึกษาปริมาณ L-tryptophan ที่เหมาะสมต่อการผลิตสารคล้ายฮอร์โมนพืช (IAA) โดยเพาะเลี้ยงในอาหาร nutrient broth ที่เติม L-tryptophan ความเข้มข้น 0 1 3 5 และ 7 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหาร nutrient broth ที่เติม L-tryptophan ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในช่วงเวลา 3 ถึง 9 วัน ปริมาณ IAA ที่ผลิตได้มีค่าสูงกว่าการเติม L-tryptophan ความเข้มข้นอื่นๆ โดยปริมาณ IAA ที่ผลิตได้เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเติม L-tryptophan มากขึ้น จาก 1 ถึง 5 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่เมื่อเติม L-tryptophan มากขึ้นถึง 7 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณ IAA ที่ผลิตได้มีค่าลดลง (ภาพที่ 5) ซึ่งความเข้มข้นของ L-tryptophan เป็นปัจจัยที่สำคัญในการผลิต IAA จากการผลิต IAA ของ *Pseudomonas fluorescens* AK1 และ *Pseudomonas aeruginosa* AK2 เมื่อมี L-tryptophan 100 200 และ 500 µg/ml จุลินทรีย์สามารถผลิต IAA ได้เท่ากับ 3.8 5.2 และ 6.9 3.9 4.0 และ 4.2 pmol/ml ตามลำดับ (Karnwal., 2009) Ahmad *et al*. (2005) พบว่าเมื่อเติม L-tryptophan มากขึ้น จาก 1 ถึง 5

กรมวิชาการเกษตร

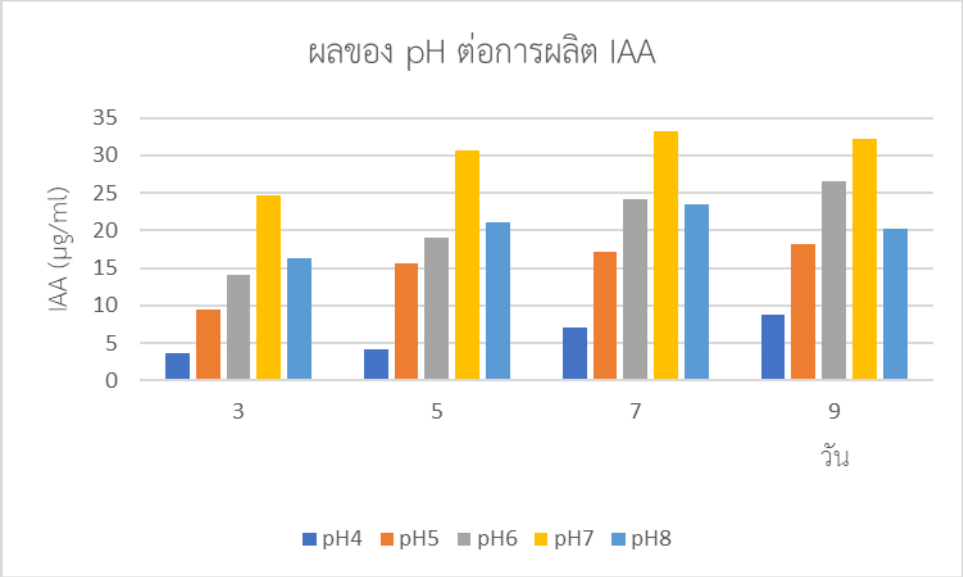
มิลลิกรัมต่อลิตรในการเพาะเลี้ยง fluorescent *Pseudomonas* โดยเมื่อ L-tryptophan มีความเข้มข้นเท่ากับ 5 mg/ml การผลิต IAA เกิดขึ้นสูงที่สุดในช่วง41.0 ถึง 53.2 µg/ml เมื่อเพาะเลี้ยงไปได้ 7 วัน

ค่า pH เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อการผลิต IAA เมื่อนำ *Pantoea dispersa* มาเพาะเลี้ยงในอาหาร nutrient broth ที่เติม L-tryptophan ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ปรับค่า pH เท่ากับ 4 5 6 7 และ 8 ตามลำดับ จากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 9 วัน พบว่าค่า pH ที่เพิ่มขึ้น จาก 4 ถึง 7 ปริมาณ IAA ที่ผลิตได้เพิ่มสูงขึ้น แต่เมื่อเพิ่มค่า pH เท่ากับ 8 ปริมาณ IAA ที่ผลิตได้มีค่าลดลง โดยปริมาณ IAA ที่ผลิตได้เพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาที่มากขึ้น แต่เริ่มคงที่ในช่วงวันที่ 7 และ 9 (ภาพที่ 6)

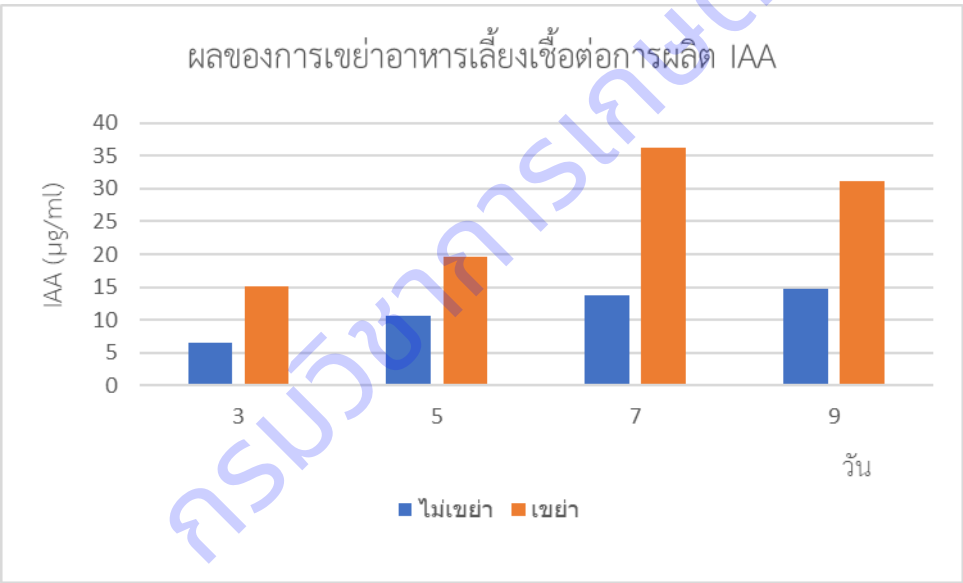


ภาพที่ 5 ปริมาณ L-tryptophan ที่เหมาะสมต่อการผลิตสารคล้ายฮอร์โมนพืช (IAA) โดยเพาะเลี้ยงในอาหาร nutrient broth

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 6 ค่า pH ที่เหมาะสมต่อการผลิตสารคล้ายฮอร์โมนพืช (IAA) โดยเพาะเลี้ยงในอาหาร nutrient broth



กรมวิชาการเกษตร

ภาพที่ 7 ผลของการเขย่าเพาะเลี้ยงในอาหาร nutrient broth ต่อการผลิต IAA

ในสภาพธรรมชาติ การเจริญของจุลินทรีย์ปราศจากการบ่มเขย่าแบบในห้องปฏิบัติการ ซึ่งส่งผลให้การผลิต IAA มีความแตกต่างจากที่ผลิตได้ในห้องปฏิบัติการ โดยเมื่อไม่มีการบ่มเขย่าซึ่งเป็นการส่งเสริมให้จุลินทรีย์มีการกระจายตัวรับสารอาหาร และอากาศได้อย่างทั่วถึง ทำให้การผลิต IAA ลดลง (ภาพที่ 7) ซึ่ง Parvin et al. (2018) พบว่า *Burhoderia cepacia* UPMB3 สามารถผลิต IAA ได้สูงถึง 50 µg/ml เมื่อมีการเพาะเลี้ยงแบบเขย่า เป็นเวลา 7 วัน ซึ่งการเขย่าเป็นการช่วยส่งเสริมให้จุลินทรีย์เข้าถึง L-tryptophan ได้มากกว่า จุลินทรีย์ที่ไม่มีการเขย่า

จากการทดลองพบว่า *Pantoea dispersa* สามารถผลิต IAA ได้สูงที่สุดในช่วง 30 ถึง 36 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีสภาวะที่เหมาะในการผลิตคือ เพาะเลี้ยงแบบเขย่าในอาหาร nutrient broth ที่เติม L-tryptophan ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร pH เท่ากับ 7

2. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ที่ผลิตสารคล้ายฮอร์โมนพืช

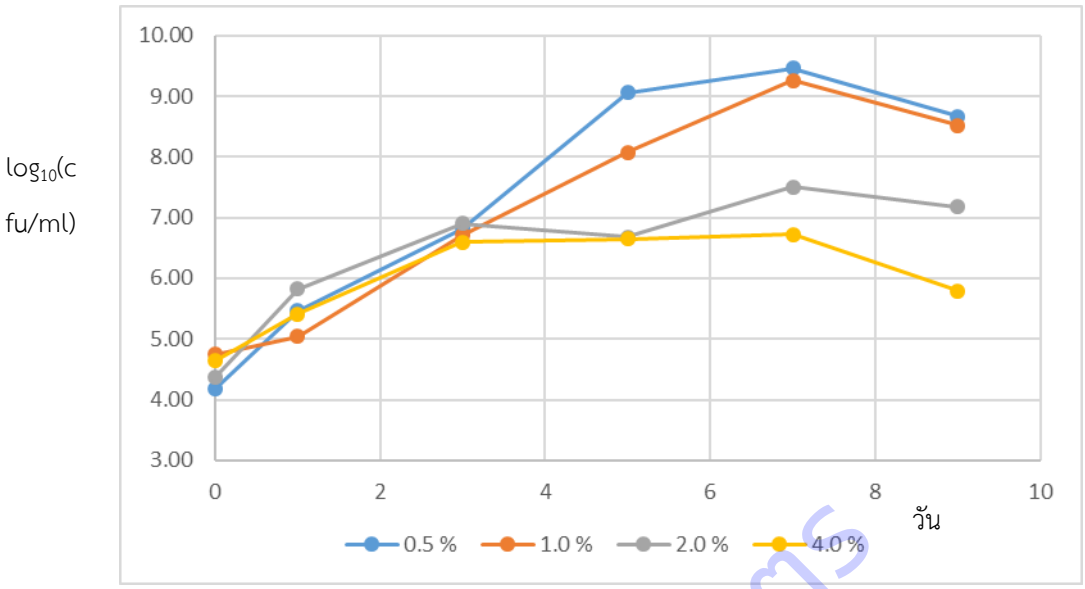
จากการศึกษาความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ โดยการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหาร nutrient broth ที่ปรับ pH เป็น 7 และเติมแอมโมเนียมซัลเฟต 0.5 เปอร์เซ็นต์ โดยปรับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่ระดับต่างๆ คือ 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 เปอร์เซ็นต์ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง พบว่าความเข้มข้นของซูโครสในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมคือ 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผลิตเซลล์ได้ 9.46 และ 9.25 log(cfu/ml) หรือในหน่วย cfu (colony forming unit) ได้ $29x10^8$ และ $18x10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่การเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีซูโครสความเข้มข้น 2.0 เปอร์เซ็นต์ ผลิตเซลล์ได้ 7.5 log(cfu/ml) ($32x10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) และจุลินทรีย์มีการเจริญน้อยที่สุด เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีซูโครสความเข้มข้น 4.0 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผลิตเซลล์ได้เพียง 6.72 log(cu/ml) ($53x10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) (ภาพที่ 8)

พบว่าที่อุณหภูมิ 40 และ 50 องศาเซลเซียส ไม่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ ในขณะที่ในการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิคงที่เท่ากับ 30 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง จุลินทรีย์มีเจริญเติบโตได้ดีกว่ามาก โดยมีการเจริญสูงที่สุด คือ $35x10^8$ และ $27x10^8$ cfu/ml ตามลำดับ (ภาพที่ 9)

สภาวะในการเพาะเลี้ยงเพื่อผลิต IAA และผลิตเซลล์ของ *Pantoea dispersa* ช่วยให้สามารถเตรียมการใช้งาน *Pantoea dispersa* ได้ประสิทธิภาพที่มากขึ้น

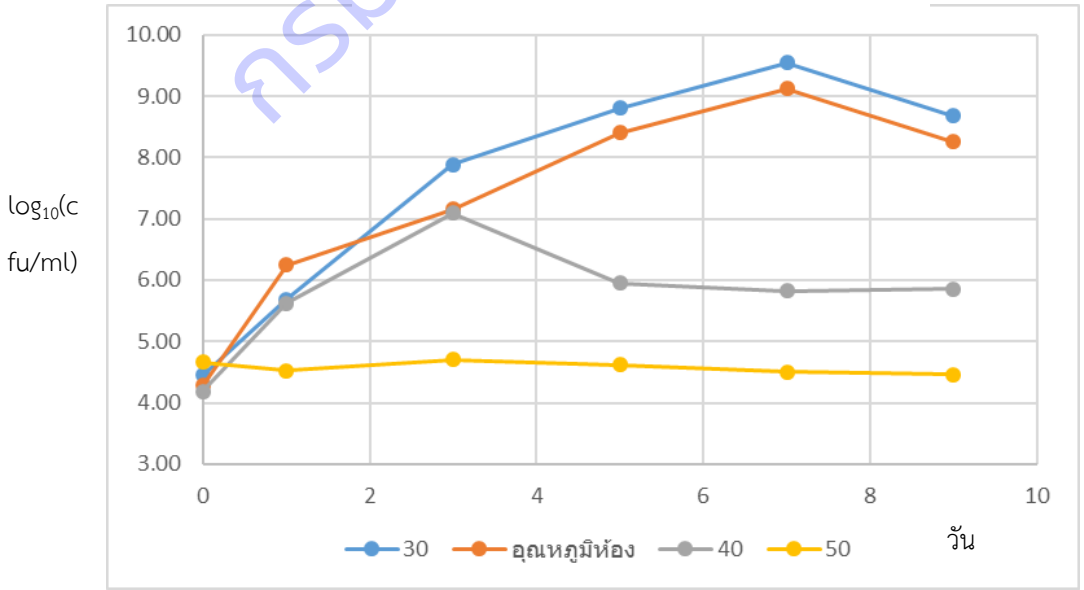
กรมวิทยาศาสตร์

ผลของความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์



ภาพที่ 8 ผลการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient broth ที่ปรับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสต่าง กัน

ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์



ภาพที่ 9 ผลการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient broth ในอุณหภูมิต่างกัน

กรมวิชาการเกษตร

3. ศึกษาการครอบครองรากของแบคทีเรีย

ในการทดลองนี้ ใช้แบคทีเรีย *Pantoea dispersa* เพื่อช่วยในการผลิตสารคล้ายฮอร์โมนพืช เพื่อช่วยส่งเสริมการเจริญของอ้อย โดยจะใช้ร่วมกับจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตคือ *Taralomyces macrosporus* และแบคทีเรียที่มีความสามารถทั้งละลายฟอสเฟตและผลิตสารคล้ายฮอร์โมนพืช *Burkhoderia* sp. เพราะจุลินทรีย์ *Taralomyces macrosporus* เป็นเชื้อรา หากใช้ในรูปปุ๋ยชีวภาพซึ่งใส่ลงไปในดิน กิจกรรมของเชื้อราอาจลดลงอันเนื่องมาจากอากาศที่ลดลง การใช้แบคทีเรียซึ่งมีความสามารถดำรงชีพอยู่ในพื้นที่อากาศน้อยได้ดี จึงสามารถใช้ร่วมในการผลิตพืชได้

จุลินทรีย์ชนิดแบคทีเรีย *Pantoea dispersa* และ *Burkhoderia* sp. สามารถชักนำให้สามารถทนต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ความเข้มข้น 100 ppm จึงทำการทดสอบความสามารถในการครอบครองรากอ้อย โดยการแช่ท่อนอ้อย พันธุ์ขอนแก่น 3 ด้วยแขวนลอยของแบคทีเรียที่ทนสารปฏิชีวนะ rifampicin ความเข้มข้น 100 ppm เพื่อตรวจสอบการครอบครองราก จากการเจริญบนอาหาร และการเกิดวงใสของการละลายฟอสเฟตบนอาหารที่เติมสารปฏิชีวนะ rifampicin ความเข้มข้น 100 ppm จากรากอ้อยที่เกิดขึ้น

จากการทดลองพบว่าแบคทีเรีย *Pantoea dispersa* และ *Burkhoderia* sp. สามารถครอบครองรากอ้อย พันธุ์ขอนแก่น 3 โดยสามารถเจริญบนอาหาร pikovskaya ที่เติมสารปฏิชีวนะ rifampicin ความเข้มข้น 100 ppm โดยแบคทีเรีย *Pantoea dispersa* มีกิจกรรมการละลายฟอสเฟตเพียงเล็กน้อย และอาศัยอยู่ที่ปลายรากอ้อยเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งปลายรากเป็นบริเวณที่ต้องการ IAA จึงเหมาะสมสำหรับการครอบครอง โดยจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิต IAA แบคทีเรีย *Burkhoderia* sp. มีกิจกรรมการละลายฟอสเฟตทั่วทั้งราก ซึ่งเป็นลักษณะที่บ่งชี้ว่าช่วยให้รากอ้อยสามารถมีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์รอบรากได้หากอยู่ในสภาวะที่ล้อมรอบด้วยฟอสฟอรัสอยู่ในรูปที่ไม่เป็นประโยชน์ โดยอ้อยที่ไม่มีการใส่จุลินทรีย์ใดไม่แสดงกิจกรรมการละลายฟอสเฟตรอบราก ดังนั้นแบคทีเรีย *Pantoea dispersa* และ *Burkhoderia* sp. จึงสามารถครอบครองรากได้ และมีความเหมาะสมในการใช้ในการเพิ่มผลผลิตอ้อย Ghosh et al., (2015) แยกจุลินทรีย์ *Burkhoderia* tropica P4 *Burkhoderia* unamae P9 และ *Burkhoderia* cepacia P10 ซึ่งมีความสามารถในการละลายฟอสเฟตขณะที่ครอบครองราก *Lycpodium cernuum* L. ได้ และยังมีกิจกรรมของการผลิต IAA ซึ่งเป็นกิจกรรมที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการผลิต *Lycpodium cernuum* L.

กรมวิชาการเกษตร

ไม่ใส่จุลินทรีย์ ใส่ *Pantoea dispersa* ใส่ *Burkhoderia* sp.

ภาพที่ 10 การครอบครองรากของแบคทีเรีย *Pantoea dispersa* และ *Burkhoderia* sp. และกิจกรรมการละลายฟอสเฟตรอบรากอ้อย

4. ทดสอบการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตร่วมกับจุลินทรีย์ที่ผลิตสารคล้ายฮอร์โมนพืชในการผลิตอ้อย

นำจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต จุลินทรีย์ที่ผลิตสารคล้ายฮอร์โมนพืช และจุลินทรีย์ที่มีความสามารถทั้งละลายฟอสเฟตและผลิตสารคล้ายฮอร์โมนพืช มาใช้ในการผลิตอ้อย ตามกรรมวิธีที่กำหนด พบว่า อ้อยมีความสูงน้อยที่สุด ในกรรมวิธีที่ไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์ใดๆ และกรรมวิธีที่ใส่เพียงเชื้อรา คือ 195 และ 198 เซนติเมตร ตามลำดับ และอ้อยมีความสูงมากที่สุดในกรรมวิธี 222 และ 217 เซนติเมตร เมื่อปลูกอ้อยด้วยกรรมวิธีที่มีการใช้เชื้อจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตร่วมกับเชื้อที่มีการสร้าง IAA ดังนั้นการใช้เพียงจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตอาจไม่ช่วยส่งเสริมการเจริญในด้านความสูงมากนัก แต่หากมีกิจกรรมการสร้าง IAA ของแบคทีเรียอื่นร่วมด้วย ความสูงของอ้อยจึงเพิ่มสูงขึ้นได้

ความกว้างของลำต้นมีค่าน้อยที่สุดในกรรมวิธีที่ใส่เพียงจุลินทรีย์ผลิต IAA แต่กรรมวิธีที่เหลือไม่แตกต่างกันในทุกกรรมวิธี โดยความกว้างของลำต้น อยู่ระหว่าง 2.7 ถึง 2.86 เซนติเมตร ในด้านน้ำหนัก พบว่ามีค่ามากที่สุดในกรรมวิธีเมื่อมีการใช้จุลินทรีย์ทั้งสามชนิดร่วมกัน หรือใช้แบคทีเรียร่วมกัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่า การใช้จุลินทรีย์ที่มีกิจกรรมการละลายฟอสเฟตร่วมกับจุลินทรีย์ที่มีกิจกรรมการผลิต IAA ช่วยให้อ้อยมีการเจริญเติบโตทั้งด้านความสูงและน้ำหนักได้ดี ด้านผลผลิตอ้อย พบว่ากรรมวิธีที่ไม่ใส่เชื้อใดๆ มีผลผลิตอ้อยน้อยที่สุด คือ 14.55 ตันต่อไร่ ซึ่งอาจเป็นเหตุจากการที่อ้อยในกรรมวิธีนี้มีปริมาณฟอสฟอรัสน้อยกว่ากรรมวิธีอื่นๆ เพราะมีปริมาณเพียง 694 ppm ซึ่งในกรรมวิธีอื่นๆ ซึ่งมีการใช้จุลินทรีย์มีค่าสูงกว่า 700 ppm ทั้งสิ้น โดยมีค่าระหว่าง 732 ถึง 885 ppm (ตารางที่ 2)

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 1 ค่าวิเคราะห์ดินในแปลงอ้อยก่อนการทดลอง

ค่าที่วิเคราะห์	ผลวิเคราะห์	หน่วย
pH	5.6	
EC	0.22	dS/m
Total Nitrogen	0.12	%
Available Phosphorus	17.61	mg/kg
Exchangeable K^+	155	mg/kg
Soil Organic Carbon	0.95	%

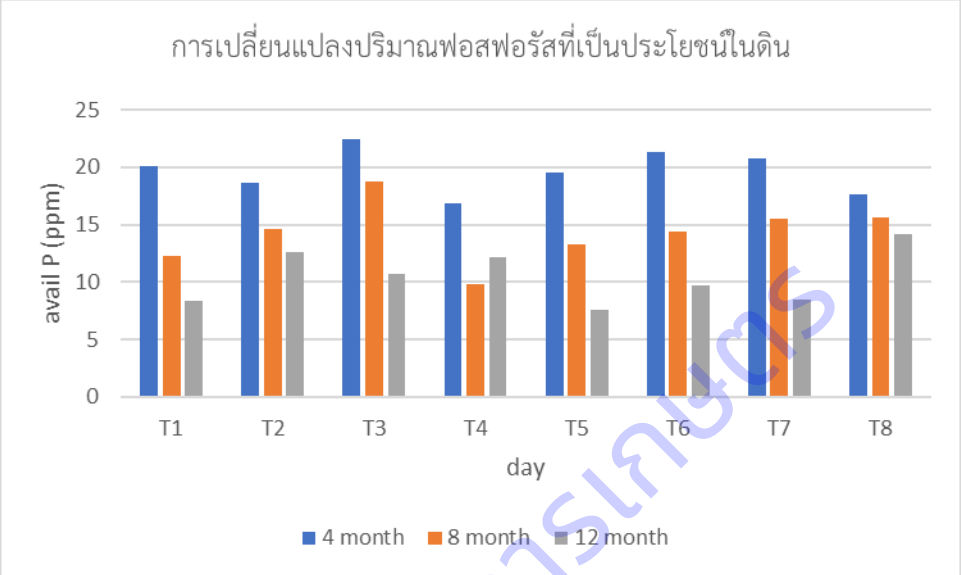
ตารางที่ 2 ผลผลิตอ้อยพันธุ์ ขอนแก่น 3 (ปลูกใหม่) ในแปลง ณ เวลา 12 เดือน (มีนาคม 2561-กุมภาพันธ์ 2562)

กรรมวิธี	ความสูง (ซม.)	ความกว้างของลำต้น (ซม.)	น้ำหนัก 10 ต้น (กก.)	จำนวนลำต่อไร่	บริกซ์	ผลผลิต (ตัน/ไร่)	ฟอสฟอรัสในอ้อย (ppm)
1 ไม่ใส่เชื้อ	195c	2.66ab	14.14c	10290abc	18.46cd	14.55b	694d
2 ใส่ Tm	198bc	2.86a	14.19c	10977a	19.36bc	15.57ab	732cd
3 ใส่ Tm+Pd	217a	2.71ab	14.91bc	10123bc	20.69ab	15.09ab	885a
4 ใส่ Tm+Bsp	213abc	2.77ab	14.96bc	10313abc	17.71d	15.42ab	781bc
5 ใส่ Pd	206abc	2.62b	14.92bc	10740ab	20.81ab	16.01a	742cd
6 ใส่ Pd+Bsp	222a	2.7ab	16.27a	9703c	21.44a	15.79a	804b
7 ใส่ Bsp	206abc	2.8ab	15.77abc	9863bc	21.7a	15.55ab	748cd
8 ใส่ Tm+Pd+Bsp	222a	2.81ab	16.59a	9560c	21.95a	15.84a	858a
CV (%)	16.27	4.00	12.92	14.36	6.60	13.96	9.86

กรมวิชาการเกษตร

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เมื่อ Tm คือ *Taralomyces macrosporus*, Pd คือ *Pantoea dispersa* และ Bsp คือ *Burkhoderia* sp.



ภาพที่ 11 การเปลี่ยนแปลงปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินจากการปลูกอ้อยด้วยกรรมวิธีการใช้เชื้อร่วมกัน

นำจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต จุลินทรีย์ที่ผลิตสารคล้ายฮอร์โมนพืช และจุลินทรีย์ที่มีความสามารถทั้งละลายฟอสเฟตและผลิตสารคล้ายฮอร์โมนพืช มาใช้ในการผลิตอ้อย ตามกรรมวิธีที่กำหนด พบว่า อ้อยมีความสูงน้อยที่สุด ในกรรมวิธีที่ไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์ใดๆ และกรรมวิธีที่ใส่เพียงเชื้อรา คือ 195 และ 198 เซนติเมตร ตามลำดับ และอ้อยมีความสูงมากที่สุดในกรรมวิธี 222 และ 217 เซนติเมตร เมื่อปลูกอ้อยด้วยกรรมวิธีที่มีการใช้เชื้อจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตร่วมกับเชื้อที่มีการสร้าง IAA ดังนั้นการใช้เพียงจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตอาจไม่ช่วยส่งเสริมการเจริญในด้านความสูงมากนัก แต่หากมีกิจกรรมการสร้าง IAA ของแบคทีเรียอื่นร่วมด้วย ความสูงของอ้อยจึงเพิ่มสูงขึ้นได้

ความกว้างของลำต้นมีค่าน้อยที่สุดในกรรมวิธีที่ใส่เพียงจุลินทรีย์ผลิต IAA แต่กรรมวิธีที่เหลือไม่แตกต่างกันในทุกกรรมวิธี โดยความกว้างของลำต้น อยู่ระหว่าง 2.7 ถึง 2.86 เซนติเมตร ในด้านน้ำหนัก พบว่ามีค่ามากที่สุดในกรรมวิธีเมื่อมีการใช้จุลินทรีย์ทั้งสามชนิดร่วมกัน หรือใช้แบคทีเรียร่วมกัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่า การใช้จุลินทรีย์ที่มีกิจกรรมการละลายฟอสเฟตร่วมกับจุลินทรีย์ที่มีกิจกรรมการผลิต IAA ช่วยให้อ้อยมี

กรมวิชาการเกษตร

การเจริญเติบโตทั้งด้านความสูงและน้ำหนักได้ดี ด้านผลผลิตอ้อย พบว่ากรรมวิธีที่ไม่ใส่เชื้อใดๆ มีผลผลิตอ้อยน้อยที่สุด คือ 14.55 ตันต่อไร่ ซึ่งอาจเป็นเหตุจากการที่อ้อยในกรรมวิธีนี้มีปริมาณฟอสฟอรัสน้อยกว่ากรรมวิธีอื่นๆ เพราะมีปริมาณเพียง 694 ppm ซึ่งในกรรมวิธีอื่นๆ ซึ่งมีการใช้จุลินทรีย์มีค่าสูงกว่า 700 ppm ทั้งสิ้น โดยมีค่าระหว่าง 732 ถึง 885 ppm (ตารางที่ 2)

การเปลี่ยนแปลงปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินจากการปลูกอ้อยด้วยกรรมวิธีต่างๆ นั้น พบว่าในกรรมวิธีที่ไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์ใดๆ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินลดลงอย่างรวดเร็วจากเดือนที่ 4 8 และ 12 (20.13 12.23 และ 8.31 ppm ตามลำดับ) ในขณะที่กรรมวิธีอื่นๆ ซึ่งมีการใส่จุลินทรีย์แม้โดยรวมมีการลดลงของปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินอย่างต่อเนื่องเช่นกัน แต่การลดลงมีแนวโน้มน้อยกว่าการไม่ใส่จุลินทรีย์ ซึ่งอาจเกิดจากจุลินทรีย์มีกิจกรรมการละลายฟอสเฟตอย่างต่อเนื่อง แต่อาจเกิดขึ้นอย่างช้าๆ และถูกดูดใช้ไปโดยพืชด้วยเช่นกัน ทั้งนี้ในกรรมวิธีที่มีการใส่จุลินทรีย์ 3 สายพันธุ์ การลดลงของฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินมีแนวโน้มลดลงน้อยที่สุด (17.66 15.62 และ 14.16 ppm ณ 4 8 และ 12 เดือน ตามลำดับ) ซึ่งแม้ว่าปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินที่เหลืออยู่ไม่จัดว่ามีปริมาณมาก แต่ก็แสดงให้เห็นถึงแนวโน้มที่กรรมวิธีนี้ช่วยให้อ้อยมีผลผลิตที่ดี และดินมีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินเหลืออยู่เพื่อเป็นประโยชน์ในการเพาะปลูกรอบต่อไป (ภาพที่ 11)

การใช้จุลินทรีย์ 3 ไอโซเลทร่วมกัน ช่วยให้อ้อยมีผลผลิตที่ดี มีปริมาณฟอสฟอรัสในดินและในอ้อยสูง ดังนั้นจึงศึกษารูปแบบการนำจุลินทรีย์ มาใช้ในการผลิตอ้อย โดยใส่จุลินทรีย์ในร่องปลูก หรือแช่ท่อนพันธุ์อ้อยด้วยจุลินทรีย์ก่อนปลูก

ตารางที่ 3 ค่าวิเคราะห์ดินในแปลงอ้อยก่อนการทดลอง

ค่าที่วิเคราะห์	ผลวิเคราะห์	หน่วย
pH	5.3	
EC	0.28	dS/m
Total Nitrogen	0.12	%
Available Phosphorus	10.63	mg/kg
Exchangeable K^+	128	mg/kg
Soil Organic Carbon	0.90	%

กรมวิชาการเกษตร

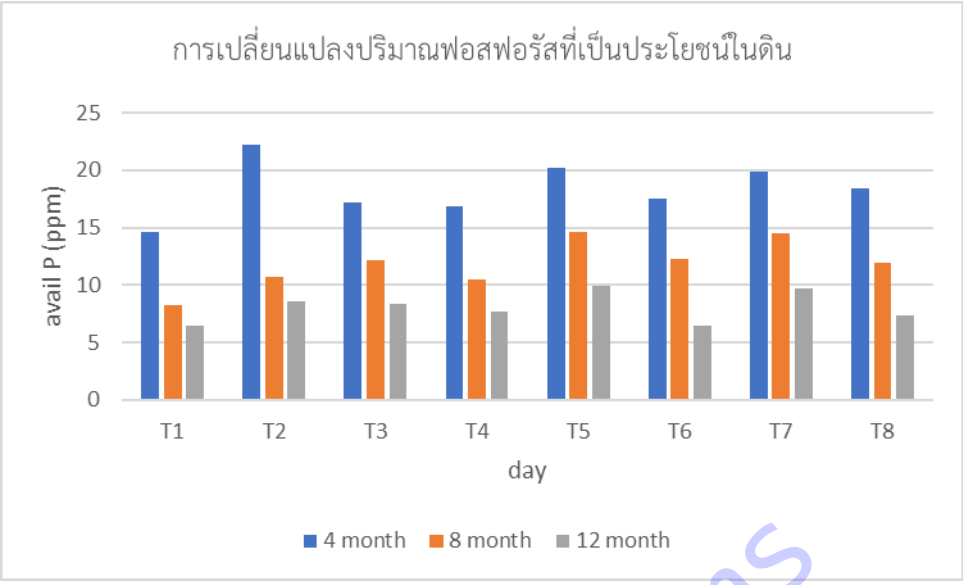
ตารางที่ 4 ผลผลิตอ้อยพันธุ์ ขอนแก่น 3 (ปลูกใหม่) ในแปลง ณ เวลา 12 เดือน (มีนาคม 2562-กุมภาพันธ์ 2563)

กรรมวิธี	ความสูง (ซม.)	ความกว้างของลำต้น (ซม.)	น้ำหนัก 10 ต้น (กก.)	จำนวนลำต่อไร่	บริกซ์	ผลผลิต (ตัน/ไร่)	ฟอสฟอรัสในอ้อย (ppm)
1 ไม่ใส่ทั้งเชื้อและ N P K	164d	2.6b	10.02d	9029c	16.83d	9.06c	600d
2 ใส่ N P K	219a	2.86a	15.66a	10263b	21.21ab	16.08a	738b
3 ใส่ Tm+Pd+Bsp ในร่อง	189c	2.75ab	12.85c	11222a	18.78c	14.41ab	679c
4 แช่อ้อยด้วย Tm+Pd+Bsp	195bc	2.67ab	12.91c	10727ab	19.9bc	13.84b	718bc
5 ใส่ Tm+Pd+Bsp ในร่อง+ N P K	216a	2.77ab	15.23ab	10501ab	21.46a	15.99a	818a
6 ใส่ Tm+Pd+Bsp ในร่อง+ N 0.5P K	211a	2.65b	15ab	10164b	20.68ab	15.25ab	728bc
7 แช่อ้อยด้วย Tm+Pd+Bsp + N P K	218a	2.66ab	15.36ab	10188b	21.09ab	15.63a	851a
8 แช่อ้อยด้วย Tm+Pd+Bsp + N 0.5P K	206ab	2.71ab	14.43b	10050b	20.35ab	14.52ab	720bc
CV (%)	18.17	4.75	10.45	14.42	18.74	14.7	15.09

ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เมื่อ Tm คือ *Taralomyces macrosporus*, Pd คือ *Pantoea dispersa*, Bsp คือ *Burkhoderia* sp. และ N P K คือ การใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตร

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 12 การเปลี่ยนแปลงปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินจากการปลูกอ้อยด้วยกรรมวิธีการใส่เชื้อจุลินทรีย์ที่แตกต่างกัน

จากการศึกษาการปรับรูปแบบการใส่จุลินทรีย์ในการการปลูกอ้อย (ตารางที่ 4) พบว่าการไม่ใส่ปัจจัยใดๆ ทั้งจุลินทรีย์ และปุ๋ยเคมี อ้อยมีการเจริญเติบโตน้อยที่สุดทั้งในด้านความสูง ขนาดลำ น้ำหนัก และผลผลิต ซึ่งทำให้เกิดการดูดใช้ฟอสฟอรัสได้น้อย ปริมาณฟอสฟอรัสในอ้อยจึงน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่นๆ (600 ppm) แต่เมื่อมีการใส่จุลินทรีย์ในการปลูกอ้อย ทั้งแบบใส่ในร่อง และแช่ท่อนพันธุ์ก่อนปลูก ช่วยให้อ้อยมีการเจริญเติบโตที่มากขึ้นกว่าการไม่ใส่จุลินทรีย์ ทั้งในด้านความสูง น้ำหนัก บริกซ์ และผลผลิตที่มากขึ้น คือ 14.41 และ 13.84 ตันต่อไร่ และมีปริมาณฟอสฟอรัสในอ้อยมากขึ้นเท่ากับ 679 และ 718 ppm เมื่อปลูกอ้อยด้วยการใส่เชื้อลงในร่อง และแช่ท่อนพันธุ์ก่อนปลูกตามลำดับ

การใช้จุลินทรีย์ทั้งปลูกอ้อยด้วยการใส่เชื้อลงในร่อง และแช่ท่อนพันธุ์ก่อนปลูกร่วมกับการใส่ปุ๋ยเคมีทั้งเต็มอัตราตามค่าวิเคราะห์ดินและลดฟอสฟอรัสลงครึ่งหนึ่ง ช่วยให้อ้อยมีการเจริญเติบโตด้านความสูง น้ำหนัก และผลผลิตไม่แตกต่างกับกรรมวิธีการใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน แต่อย่างไรก็ตามผลผลิตอ้อยจากกรรมวิธีการใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดินมีค่าเท่ากับ 16.08 ตันต่อไร่ ซึ่งแนวโน้มสูงกว่าการใช้จุลินทรีย์ร่วมกับการใช้ปุ๋ยเคมีที่ลดปริมาณฟอสฟอรัสลงครึ่งหนึ่ง ซึ่งมีผลผลิตอ้อยเท่ากับ 14.52 และ 15.25 ตันต่อไร่ เมื่อปลูกอ้อยด้วยการแช่ท่อนพันธุ์ก่อนปลูก และใส่เชื้อลงในร่องตามลำดับ ซึ่งการใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตและ

กรมวิชาการเกษตร

จุลินทรีย์ที่ผลิต IAA ช่วยให้อ้อยมีการเจริญเติบโตและผลผลิตที่ดีนั้นสอดคล้องกับงานวิจัยของสุภาพรและคณะ (2553) ซึ่งใส่ *Burkhoderia* sp. Rs01 ร่วมกับการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และโพแทสเซียม ช่วยให้ข้าวโพดที่ระยะออกไหม มีการเจริญเติบโตด้านความสูง เส้นรอบวง น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ไม่แตกต่างกันกับการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมร่วมกัน ชลิดา และณัฐพร (2550) พบว่าการใช้แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* E7-17 ซึ่งคัดแยกได้จากแยกจากดินบริเวณรากอ้อย ช่วยให้อ้อยมีเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น โดยอ้อยมีความสูงแตกต่างกันเมื่ออ้อยอายุ 4 เดือน

การแช่ท่อนพันธุ์ก่อนปลูก และใส่เชื้อลงในร่องช่วยให้อ้อยมีการเจริญเติบโตและผลผลิตไม่แตกต่างกัน แต่การใส่เชื้อทั้งสองวิธี เมื่อใช้ร่วมกับปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน ปริมาณฟอสฟอรัสในอ้อยมากกว่าการใส่ปุ๋ยเคมีอย่างเดียว ดังนั้นจุลินทรีย์ที่ใส่ลงไปอาจมีกิจกรรมบางประการในการส่งเสริมการดูดใช้ฟอสฟอรัสให้แก่อ้อย ทั้งที่เกิดจากการละลายฟอสเฟต การผลิต IAA และการครอบครองราก White *et al*. (2018) พบว่า Rhizophagy cycle เป็นวัฏจักรที่สำคัญในการใช้จุลินทรีย์เป็นตัวนำสารอาหารเข้าสู่รากพืช โดยการผลิต IAA ช่วยให้รากมีการเจริญได้มากขึ้น ช่วยให้จุลินทรีย์รอบรากได้รับ root exudate และมีกิจกรรมที่เป็นประโยชน์รวมทั้งการละลายฟอสเฟตที่มากขึ้น และจุลินทรีย์ที่ครอบครองรากได้ จะสามารถนำธาตุอาหารรวมทั้งฟอสฟอรัสเข้าสู่รากพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น ด้วยเหตุนี้การใช้ *Taralomyces macrosporus Burkhoderia* sp. และ *Pantoea dispersa* เพื่อช่วยในการผลิตอ้อยในระยะยาวจึงมีความน่าสนใจเพราะหากจุลินทรีย์ครอบครองเนื้อเยื่ออ้อยได้มากขึ้น อาจก่อให้เกิดกิจกรรมที่เป็นประโยชน์ที่มากขึ้นตามมาในระยะยาว

การเปลี่ยนแปลงปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินจากการปลูกอ้อยด้วยกรรมวิธีการใส่เชื้อจุลินทรีย์ที่แตกต่างกันนั้น พบว่ามีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน คือ ลดลงอย่างต่อเนื่อง ซึ่งเกิดจากการดูดใช้โดยอ้อยเพื่อการเจริญเติบโต แต่การใช้จุลินทรีย์ช่วยให้การลดลงมีอัตราที่น้อยกว่าการใส่ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียว ซึ่งอาจเกิดจากจุลินทรีย์ยังคงมีกิจกรรมละลายฟอสเฟต แต่อาจมีอัตราที่น้อยลงเมื่ออ้อยมีอายุมากขึ้น เพราะการเจริญของรากมีอัตราน้อยลง กิจกรรมการละลายฟอสเฟตจึงลดลงด้วย จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตจึงเพิ่มปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินไม่ทันกับที่ถูกดูดไปใช้ (ภาพที่ 12) การดูดใช้ฟอสฟอรัสนั้นยังสัมพันธ์กับศักยภาพของดินด้วย ซูไรยา และคณะ (2562) พบว่าการใส่เชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟต ไม่มีผลต่อการเพิ่มการละลายฟอสฟอรัสในดินที่มีศักย์ผลิตภาพสูง แต่การใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินให้ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์สูงในดินที่สุดเท่ากับ 2.75 mg/kg ไม่เพียงแต่เท่านั้น อ้อยที่ปลูกในดินที่มีศักย์ผลิตภาพสูง พบว่าการใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินทั้งที่มีการใส่เชื้อและไม่ใส่เชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟต ทำให้การเจริญเติบโตใน

กรมวิชาการเกษตร

ด้านความสูงดีที่สุด ในขณะที่ดินที่มีศักย์ผลิตภาพปานกลาง และดินที่มีศักย์ผลิตภาพต่ากลับพบว่าการใส่ปุ๋ยอัตราเกษตรกรทั้งที่มีการใส่เชื้อและไม่ใส่เชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตให้ผลในด้านความสูงของอ้อยดีที่สุด

Sundara *et al*. (2002) ใช้จุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต *Bacillus megatherium* var. Phosphaticum ช่วยลดการใช้ปุ๋ยเคมีฟอสเฟตลงได้ถึง 25% Indi *et al*. (2014) ใช้จุลินทรีย์ *Gluconacetobacter diazotrophicus* ร่วมกับจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟตในการผลิตอ้อย พบว่าช่วยลดปริมาณการใส่ไนโตรเจนเหลือเพียง 50% ของค่าแนะนำ และลดฟอสฟอรัสเหลือเพียง 75% ของค่าแนะนำ โดยอ้อยที่ได้มีผลผลิตที่ดี ไตรธานี และคณะ (2555) พบว่าการปลูกแบคทีเรียชนิดต่างๆ ร่วมกับการใส่ปุ๋ยหินฟอสเฟต ทำให้อ้อยมีการเจริญเติบโตในทุกด้าน และการสะสมธาตุฟอสฟอรัสในลำต้น สูงกว่าอ้อยชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และในจำนวนตำรับการทดลองที่ปลูกแบคทีเรีย PSB ทั้งหมดนี้ พบว่าเชื้อ *Bacillus aryabhattai* UT-KKU-26 สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของอ้อยได้ดีที่สุด จากการใช้จุลินทรีย์ *Taralomyces macrosporus* *Burkhoderia* sp. และ *Pantoea dispersa* พบว่าสามารถช่วยลดการใช้ปุ๋ยเคมีฟอสเฟตลงได้ครึ่งหนึ่ง แต่ผลผลิตอ้อยที่ได้มีแนวโน้มน้อยกว่าการใช้ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียว การใช้จุลินทรีย์เหล่านี้เพื่อช่วยในการผลิตอ้อยในระยะยาวจึงมีความน่าสนใจเพราะหากจุลินทรีย์ครอบครองเนื้อเยื่ออ้อยได้มากขึ้น อาจก่อให้เกิดกิจกรรมที่เป็นประโยชน์ที่มากขึ้นตามมาในระยะยาว

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การใช้จุลินทรีย์ *Taralomyces macrosporus* *Burkhoderia* sp. และ *Pantoea dispersa* มีความสามารถในการละลายฟอสเฟต ผลิตสารคล้ายฮอร์โมนพืช สามารถครอบครองรากอ้อย สามารถช่วยลดการใช้ปุ๋ยเคมีฟอสเฟตลงได้ครึ่งหนึ่ง โดยยังได้ผลผลิตอ้อยที่ดี ช่วยให้อ้อยมีการดูดใช้ฟอสฟอรัสได้มากขึ้น ช่วยปลดปล่อยฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์แก่ดินในพื้นที่เพาะปลูกอ้อย โดยสามารถใช้ได้ทั้งแบบใส่ในร่องปลูกในรูปปุ๋ยชีวภาพ หรือแช่ท่อนพันธุ์อ้อยก่อนปลูก

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. สามารถใช้ได้ทั้งแบบใส่ในร่องปลูกในรูปปุ๋ยชีวภาพ หรือแช่ท่อนพันธุ์อ้อยก่อนปลูก

2. การลดปริมาณปุ๋ยเคมีฟอสเฟตลงครึ่งหนึ่ง มีแนวโน้มทำให้อ้อยมีผลผลิตต่ำกว่าการใช้ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดินเต็มอัตรา จึงอาจต้องศึกษาเพิ่มเติมว่า สามารถลดการใช้ปุ๋ยเคมีฟอสเฟตให้เหมาะสมที่อัตราเท่าใด

กรมวิชาการเกษตร

3. การศึกษาการครอบครองท่อนพันธุ์อ้อยให้สมบูรณ์พร้อมใช้ เป็นสิ่งที่น่าศึกษาต่อไป เพื่อให้สามารถใช้จุลินทรีย์กลุ่มนี้ได้อย่างยั่งยืน และมีประสิทธิภาพสูงสุด

11. คำขอบคุณ (-)

12. เอกสารอ้างอิง

จงรักษ์ จันทร์เจริญสุข. 2541. การวิเคราะห์ดินและพืชทางเคมี. นครปฐม: ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จำเป็น อ่อนทอง. 2547. คู่มือการวิเคราะห์ดินและพืช. สงขลา: คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ชลิดา เล็กสมบูรณ์ และนัฐพร จ าปี. 2550. ผลของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* ต่อการเจริญเติบโตของอ้อย. ในการประชุมวิชาการอารักขาพืชครั้งที่ 8 โรงแรมอมรินทร์ลากูนพิษณุโลก.

ซูไรยา มัชปอ เพรชดา ปินใจ และ เสาวนุช ถาวรพฤกษ์. 2562. ประสิทธิภาพของแบคทีเรียละลายฟอสเฟตต่อความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสในดิน และการส่งเสริมการเจริญเติบโตของอ้อยตามศักย์ผลิตภาพดินในจังหวัดสระแก้ว. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ ปีที่ 6 ฉบับที่ 3 (กรกฎาคม-กันยายน): 77-88.

ไตรธานี เยี่ยมอ่อน, นันทวัน ฤทธิ์เดช, ประสิทธิ์ ใจศิล และโสภณ บุญลือ. 2555. การส่งเสริมการเจริญเติบโตของอ้อยด้วยแบคทีเรียละลายฟอสเฟตในสภาพเรือนทดลอง. แก่นเกษตร 3 (พิเศษ): 185-193.

สมศักดิ์ มณีพงศ์. 2537. การวิเคราะห์ดินและพืช. สงขลา: คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สุภาพร จันรุ่งเรื่อง, เบญจมาส รสโสภา และกรรณิการ์ สัจจาพันธ์. 2553. ผลของแบคทีเรียละลายฟอสเฟต Burkholderiasp. สายพันธุ์ Rs01ต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี 2. กำแพงแสน 8: 1-14.

ศุภลักษณ มณีแสง เสมอใจ ชื่นจิตต วสันณ เพชรรัตน และ วฏิตรา ลีละศุภกุล. 2551. การคัดเลือก *Bacillus* spp. สำหรับใชควบคุมโรคทางใบที่เกิดจากเชื้อราของถั่วฝกยาวโดยชีววิธี. ว. วิทย. กษ. 39(3) (พิเศษ) : 189-192.

กรมวิชาการเกษตร

Ahmad F., Ahmad I. and Khan MS. 2005. Indole acetic acid production by the indigenous isolates of *Azotobacter* and fluorescent *Pseudomonas* in the presence and absence of tryptophan. Turk J Biol 29:29–34

Bianco, C., E. Imperlini, R. Calogero, B. Senatore, A. Amoresano, A. Carpentieri, P. Pucci and R. Defez. 2006. Indole-3-acetic acid improves *Escherichia coli*'s defences to stress. Arch. Microbiol. 185(5): 373–382.

Ghosh, R., Barman, S., Mukherjee, R., Mandal, N. 2015. Role of phosphate solubilizing *Burkholderia* spp. for successful colonization and growth promotion of *Lycopodium cernuum* L. (Lycopodiaceae) in lateritic belt of Birbhum district of West Bengal, India. Microbiological Research. 183. 80-91.

Hassan E., Hossein A. A. and Hossein M. H. (2015). Indole-3-acetic acid (IAA) production trait, a useful screening to select endophytic and rhizosphere competent bacteria for rice growth promoting agents. MethodsX 2. 72–78.

Indi, D. V., S. V. Nalawade, S. U. Deshmukh and S. M. Pawar. 2014. Response of Sugarcane Varieties to Nitrogenand Phosphorus as Inoculated by *Gluconacetobacter diazotrophicus* and PSB. Inter. J. Pl. Soil Sci. 3(3): 260-269.

Inui – Kishi, R. N., L. T. Kishi, S. C. Picchi, J. C. Barbosa, M. T. O. Lemos, J. Marcondes and E. G. de M Lemos. 2012. Phosphorus solubilizing and IAA production activities in plant growth promoting rhizobacteria from brazian soils under sugarcane cultivation. J. Eng. Appl. Sci. 7(11): 1446-1454.

Kamisaka, S., N. Yanagishima and Y. Masuda. 1967. Effect of Auxin and Gibberellin on Sporulation in Yeast. Physiologia Plantarum. 20(1): 90-97.

Karnwal, A. 2009. Production of indole acetic acid by fluorescent Pseudomonas in the presence of L-tryptophan and rice root exudates.J. Plant Pathol. 91: 61-63.

Leveau, J. H. J. and S. E. Lindow. 2005. Utilization of the Plant Hormone Indole-3-Acetic Acid for Growth by *Pseudomonas putida* Strain 1290. Appl. Env. Microbiol. 71(5): 2365-2371.

ศูนย์วิทยทรัพยากร

Parvin, W., Jahan, Q. S. A., Rahman, M.M. and Wong, M.Y. 2018. In vitro Screening and Optimization of IAA Production from Plant Growth Promoting Rhizobacteria *Burkholderia cepacia* UPMB3. Plant Tissue Culture and Biotechnology, 28(1): 25-34.

Prusty, R, P. Grisafi and GR. Fink. 2004. The plant hormone indoleacetic acid induces invasive growth in *Saccharomyces cerevisiae*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 101(12): 4153–4157.

Schollerger, C.J. and R.H. Simmon. 1945. Determinate of exchange capacity and exchangeable bases in soil ammonium acetate method. Soil Sci. 59: 13-24.

Spaepen S. and Vanderleyden J. 2011. Auxin and Plant-Microbe Interactions. Cold Spring Harb Perspect Biol. Apr; 3(4): a001438.

Sundara, B., V. Natarajan and K. Hari. 2002. Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugarcane and sugar yields. Field Crops Research. 77(1): 43–49.

Walkley, A. and I.A. Black. 1934. An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chronic acid titration method. Soil Sci. 37: 29-38.

White, J.F., Kingsley, K.L., Verma, S.K. and Kowalski, K.P. 2018. Rhizophagy Cycle: An Oxidative Process in Plants for Nutrient Extraction from Symbiotic Microbes. Microorganisms 2018, 6, 95.

กรมวิชาการเกษตร

13. ภาคผนวก (-)