รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. แผนงานวิจัย : วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการเพิ่มประสิทธิภาพดิน ปุ๋ยและน้ำทางการเกษตรอย่างสมดุลและยั่งยืน

2. โครงการวิจัย : โครงการวิจัยและพัฒนาการเพิ่มประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพและจุลินทรีย์ดินเพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร

กิจกรรม : -

กิจกรรมย่อย (ถ้ามี) : -

3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : การศึกษาการปลูกเชื้อไรโซเบียมร่วมกับจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเพื่อเพิ่มผลผลิตพืชตระกูลถั่ว

ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ): Study on Co-inoculation of Rhizobium with Plant Growth Promoting Microorganism for Enhancing of Leguminous crops

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง : นางสาวจิตรา เกาะแก้ว สังกัด กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผู้ร่วมงาน : นายมนต์ชัย มนัสสิลา สังกัด กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

นางสาวอมรรัตน์ ใจยะเสน สังกัด กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

กรมวิชาการเกษตร

5. บทคัดย่อ

การปลูกเชื้อไรโซเบียมร่วมกับจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้หัวเชื้อร่วมที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการเพิ่มผลผลิตพืชตระกูลถั่ว ปีที่ 1 ทำการคัดแยกจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตจากรากและดินบริเวณรอบรากพืช ปีที่ 2 นำจุลินทรีย์ที่แยกได้ทั้งหมดมาทดสอบประสิทธิภาพในการสร้างสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ความสามารถในการละลายฟอสเฟต และความเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อ ไรโซเบียม ปีที่ 3 ทดสอบการปลูกเชื้อไรโซเบียมร่วมกับจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตในกระถางทดลองวางแผนการทดลองแบบCRD มี 3 ซ้ำ 12กรรมวิธี ซึ่งเป็นการเปรียบเทียบการใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 1.44-1.44-1.44 กรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อดิน 20 กิโลกรัม และการใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-1.44-1.44 กรัมN-P_2O_5-K_2O ต่อดิน 20 กิโลกรัม การใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมร่วมกับปุ๋ยชีวภาพPGPR การใส่ปุ๋ยชีวภาพตัวใดตัวหนึ่ง การใส่ปุ๋ยเคมีแต่ละอัตราร่วมกับปุ๋ยชีวภาพตัวใดตัวหนึ่ง การใส่ปุ๋ยเคมีแต่ละอัตราร่วมกับปุ๋ยชีวภาพทั้ง 2 ชนิด และกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ย ปีที่ 4 ทดสอบในแปลงทดลองวางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 6กรรมวิธี เป็นกรรมวิธีที่เปรียบเทียบการใส่ปุ๋ยเคมี

อัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ การใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมหรือปุ๋ยชีวภาพ PGPR การใส่ปุ๋ยชีวภาพทั้ง 2 ชนิดร่วมกัน การใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมหรือปุ๋ยชีวภาพ PGPR การใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพทั้ง 2 ชนิด และกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ย ผลการแยกจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตจากรากพืชและดินบริเวณรอบราก สามารถแยกจุลินทรีย์ได้ทั้งหมด 62 สายพันธุ์ ประกอบด้วยแบคทีเรีย 16 สายพันธุ์ จำแนกเป็น 2 สกุลได้แก่ *Azospirillum*และ *Bacillus*แอคติโนมัยสีท 21 สายพันธุ์ จำแนกได้ 1 สกุลคือ *Streptomyces* spp. และรา 25 สายพันธุ์จำแนกเป็น 7 สกุล ได้แก่ *Aspergillus Penicillium Hamigera Neosartorya Talaromyces Trichoderma*และ*Xylaria* ผลการทดสอบความสามารถในการสร้างสาร IAA siderophore การละลายฟอสเฟต และความเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อไรโซเบียม 3 ชนิด (*Bradyrhizobium japonicum B. liaoningense B. daqingense*) พบว่าแบคทีเรีย *A. brasilense*สายพันธุ์ TS13 มีความสามารถในการละลายฟอสเฟต และสามารถเจริญร่วมกับเชื้อไรโซเบียมที่ใช้ทดสอบทั้ง 3 ชนิดได้ดี รวมทั้งสามารถสร้างสาร IAA และ siderophore ได้ จึงนำมาใช้ปลูกเชื้อร่วมกับไรโซเบียมในการผลิตพืชตระกูลถั่ว โดยทำการทดลองในถั่วเขียว และ ถั่วเหลืองผลการทดลองในระดับกระถางพบว่ากรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-1.44-1.44 กรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อดิน 20 กิโลกรัม ร่วมกับไรโซเบียม ให้จำนวนปมรากของถั่วเขียวและถั่วเหลืองมากที่สุดและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุก ๆ กรรมวิธีที่ไม่มีการใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม ค่าการตรึงไนโตรเจนของถั่วเขียวกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-1.44-1.44 กรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อดิน 20 กิโลกรัม ร่วมกับไรโซเบียมและPGPR มีค่ามากที่สุดเท่ากับ 63.52 ไมโครโมล C_2H_4 ต่อต้นต่อชั่วโมง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุมและกรรมวิธีที่ใส่ไรโซเบียมเพียงอย่างเดียวค่าการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลืองพบว่ากรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-1.44-1.44 กรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อดิน 20 กิโลกรัม ร่วมไรโซเบียมและPGPR มีค่ามากที่สุดเท่ากับ 70.70 ไมโครโมน C_2H_4 ต่อต้นต่อชั่วโมงมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุมและกรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยเคมีหรือปุ๋ยชีวภาพตัวใดตัวหนึ่งเพียงอย่างเดียวการทดสอบในแปลงพบว่าค่าการตรึงไนโตรเจนของถั่วเขียวและถั่วเหลืองต่างกันโดยในถั่วเขียวกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมร่วมกับPGPR มีค่ามากที่สุดเท่ากับ 51.38 ไมโครโมล C_2H_4 ต่อต้นต่อชั่วโมง และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น ๆ ที่ไม่มีการใส่ปุ๋ยชีวภาพทั้ง 2 ชนิดร่วมกัน ในถั่วเหลืองพบว่ากรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับไรโซเบียม มีค่ามากที่สุดเท่ากับ 64.91 ไมโครโมล C_2H_4 ต่อต้นพืชต่อชั่วโมง ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับทุก ๆ กรรมวิธี ผลผลิตต่อไร่ของถั่วเขียวและถั่วเหลืองพบว่าทุก ๆ กรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม โดยในถั่วเขียวพบว่ากรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมร่วมกับปุ๋ยชีวภาพ PGPR ให้ผลผลิตต่อไร่อยู่ที่ 180 - 186.7 กิโลกรัมต่อไร่ ในถั่วเหลืองพบว่ากรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2Oต่อไร่ ร่วมกับไรโซเบียมและ PGPR ให้น้ำหนักผลผลิตต่อไร่มากที่สุดเท่ากับ 260 กิโลกรัมต่อไร่

คำหลัก : จุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโต ไรโซเบียม พืชตระกูลถั่ว

Abstract The purpose of rhizobium co-inoculation with plant growth-promoting microorganisms is to select the most suitable co-inoculant microorganisms for increasing leguminous crops yield. There are four years of trial. In 1st year, plant growth promoting microorganisms from root and rhizosphere soils were isolated In 2nd year, all the isolated

microorganisms were tested for the efficacy of plant growth promoters including indole-3-acetic acid (IAA) and siderophore, phosphate solubility and antagonistic with rhizobium. In 3rd year, the inoculation of rhizobium with plant growth promoting microorganisms was performed in pot experiment. A completely randomized design (CRD) with three replications of 12 treatments was applied in pot experiment at Soil Microbiology Research group, Department of Agriculture. The inculation treatments included 1) no fertilizer, 2) rhizobium, 3) plant growth promoting rhizobacteria (PGPR), 4) rhizobium + PGPR, treatment 5)-7) were applied with 2.5-2.5-2.5 grams of N-P_2O_5-K_2O per 20 kilograms of soil. In addition, treatment 6) was added with rhizobium, 7) PGPR, 8) rhizobium + PGPR. While, treatment 9)-12) were applied with 0-2.5-2.5 grams of N-P_2O_5-K_2O per 20 kilograms of soil. In addition, treatment 10) was added with rhizobium, 11) PGPR, and 12) rhizobium + PGPR. In 4th year experiment was performed in field plot, a randomized complete block design (RCBD) with three replications of 6 treatments was applied. Each plot size is 10 x 10 sqm. The treatment included 1) no fertilizer, 2) applied with 3-3-3 kilograms of N-P_2O_5-K_2O per rai, 3) rhizobium + PGPR, 4) 3-3-3 kilograms of N-P_2O_5-K2O per rai + rhizobium, 5) 3-3-3 kilograms of N-P_2O_5-K2O per rai + PGPR, 6) 3-3-3 kilograms of N-P_2O_5-K_2O per rai + rhizobium + PGPR. The result showed that 62 isolates of microorganisms were isolated from roots and rhizosphere soils. Six teen bacterial isolates wereclassified in 2 genera: *Azospirillum* and *Bacillus,* 21 isolates of actinomycete were classified as *Streptomyces* spp., and 25 fungal isolates were classified in 7 genera such as *Aspergillus*, *Penicillium*, *Hamigera*, *Neosartorya*, *Talaromyces*, *Trichoderma* and *Xylaria.* For the IAA and siderophore production, phosphate solubility and antagonism to three rhizobium (*Bradyrhizobium japonicum*, *B. liaoningense*, *B. daqingense*) showed that TS13 strain of *Azospirillum brasilense* had phosphate solubility and it was able to grow well with those three strains of rhizobium. In addition, TS13 strain which can produce IAA and siderophore, was selected for co-inoculant with rhizobium in pot experiment. Mung bean and soybean were used to test the efficiency of co-inoculation in pot and field experiment. The pot experiment showed that treatment 10 (0-2.5-2.5 grams of N-P_2O_5-K_2O / 20 kg. of soil+rhizobium) gave the highest number of root nodules in both legumes and had significant difference with the treatments without rhizobium inoculation. Nitrogen fixation of mung bean in treatment 12 (0-2.5-2.5 grams of N-P_2O_5-K_2O per 20 kg. of soil + rhizobium + PGPR) was highest at 63.52 µmol C_2H_4/plant/hours and had significant difference with the control and the treatments that applied with only rhizobium. Nitrogen fixation of soybean was highest in treatment 10 at 70.70 µmol C_2H_4 /plant/hours and had significant difference with control and treatment that applied only chemical fertilizer or inoculated with rhizobium or PGPR. The results from the field experiment showed that nitrogen

สารบัญการสนับสนุน

fixation rate in mung bean and soybean were different. In mung bean plot revealed that the nitrogen fixation rate was highest (51.38 µmol C_2H_4/plant/hours) when co-inoculanted with rhizobium + PGPR and had significant difference with other treatments. In soybean, treatment applied with 3-3-3 kilograms of N-P_2O_5-K_2O per rai + rhizobium showed the highest nitrogen fixation rate at 64.91 µmol C_2H_4/plant/hours and had significant difference with the other treatments. Mung bean and soybean yield in all applied fertilizer treatment showed significantly different compare to control treatment. Mung bean yield in treatment applied with rhizobium + PGPR showed the highest yield at 186.7kilograms per rai, while soybean, treatment applied 3-3-3 kilograms of N-P_2O_5-K_2O per rai with rhizobium + PGPR gave the highest yield at 260 kilograms per rai.

Keyword : plant growth-promoting microorganism, rhizobium, leguminous crop

6. คำนำ

ถั่วเป็นพืชที่มีคุณค่าทางอาหารสูงสามารถปลูกได้ทั้งปีและสามารถนำมาใช้บริโภคได้หลายรูปแบบ นอกจากมีคุณค่าอาหารแล้วพืชตระกูลถั่วยังมีประโยชน์ด้านอื่น ๆ เช่น ซากถั่วสามารถนำมาใช้เป็นปุ๋ยบำรุงดินได้ เนื่องจากพืชตระกูลถั่วสามารถสร้างปมที่รากหรือลำต้น และอยู่อาศัยแบบได้ประโยชน์ร่วมกับจุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจนที่อยู่ในปม โดยแบคทีเรียชนิดนี้ได้แก่ *Rhizobium Bradyrhizobium Sinorhizobium Azorhizobium* และ *Mesorhizobium* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบที่พบในดิน มีความสามารถในการเข้าสร้างปมที่รากพืชตระกูลถั่ว (Sahgal and Johri, 2003) ไรโซเบียมเป็นจุลินทรีย์ที่จัดอยู่ในพวก prokaryote ที่สามารถสร้างเอ็นไซม์ไนโตรจิเนส (nitrogenase enzyme) ทำหน้าที่ตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพ (Biological Nitrogen Fixation) โดยกระบวนการทางเอ็นไซม์นี้สามารถรวมแก๊สไนโตรเจนและไฮโดรเจนให้เป็นแอมโมเนีย ทำให้เกิดการดึงแก๊สไนโตรเจนจากอากาศมาเพื่อใช้ประโยชน์ต่อพืชและสัตว์ต่างๆ กระบวนการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียมีบทบาทสำคัญที่ควรให้ความสนใจอย่างยิ่ง มีการศึกษาเกี่ยวกับการสร้างปมของไรโซเบียมเป็นจำนวนมาก เนื่องจากไรโซเบียมเป็นจุลินทรีย์ที่ค่อนข้างเฉพาะเจาะจงกับพืชตระกูลถั่ว กล่าวคือไรโซเบียมจะถูกจำแนกตามลักษณะความสามารถในการเข้าสร้างปมได้กับชนิดของพืชตระกูลถั่วที่อาศัยอยู่ ในสภาพแวดล้อมต่างกันอิทธิพลต่อการเป็นอยู่ของไรโซเบียมต่างกัน (Boonkerd and Weaver, 1982: Weaver *et al*., 1987) นอกจากนี้ Boonkerd *et al*. (1993) พบว่าอิทธิพลของระบบการปลูกพืชมีส่วนเกี่ยวข้องกับประชากร และความสามารถในการตรึงไนโตรเจนของไรโซเบียม การปลูกเชื้อไรโซเบียมร่วมกับพืชตระกูลถั่วสามารถเพิ่มผลผลิตของถั่วได้ การทดลองของ Duzan *et al*. (2004) พบว่าเมื่อมีการปลูกเชื้อ *B. japonicum* ให้กับถั่วเหลืองที่ปริมาณเซลล์ตั้งแต่ 103 ถึง 106 เซลล์ต่อเมล็ด ทำให้มีจำนวนปม น้ำหนักปม และน้ำหนักเมล็ดเพิ่มขึ้น ตามปริมาณเซลล์ที่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าการปลูกเชื้อ *B. japonicum* สามารถเพิ่มจำนวนฝัก จำนวนเมล็ด น้ำหนักต่อ 100 เมล็ด ปริมาณโปรตีนในเมล็ดถั่วเหลือง (Zhang *et al*., 2002) ในการปลูกพืชตระกูลถั่ว ไรโซเบียมจะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น ซึ่งไรโซเบียมสามารถผลิตปุ๋ยไนโตรเจนให้กับพืชตระกูลถั่วได้อย่างเพียงพอความต้องการไนโตรเจนของพืชแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน เช่น การผลิตถั่วเหลือง 3 ตันต้องใช้ไนโตรเจน 300

ศรีวิชาการรมนต์

กิโลกรัมในพื้นที่ 6.25 ไร่ ในขณะที่ผลผลิตข้าว 5 ตันต่อไร่ต้องใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 100 กิโลกรัมต่อไร่ นอกจากไรโซเบียมแล้วยังมีจุลินทรีย์อีกหลายชนิดที่สามารถผลิต siderophores, indole acetic acid (IAA) และ organic acids ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งส่งผลให้สามารถเพิ่มแหล่งธาตุอาหารให้แก่พืชได้แม้ปลูกพืช ภายใต้ สภาวะที่ไม่เหมาะสมหรือสภาพดินเสื่อมโทรม (Dakora and Phillips, 2005) แบคทีเรียกลุ่มนี้อาศัยบริเวณรอบรากพืช เรียกว่า plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) โดยเฉพาะเชื้อ *Azospirillum* ที่มีรายงานว่ามีบทบาทในการช่วยกระตุ้นให้เชื้อไรโซเบียมเข้าสร้างปมกับรากถั่วและมีผลต่อการทำหน้าที่ตรึงไนโตรเจนของปมรากถั่ว (Glick, 1995; Andreeva *et al*., 1993; Aung *et al*., 2013) สามารถสร้างฮอร์โมนพืชที่สำคัญเช่น indole-3-acetic acid (IAA) (Spaepen *et al*., 2009) ทำให้รากพืชมีการเจริญเติบโตได้ดี ช่วยให้มีการดูดซับน้ำและแร่ธาตุต่าง ๆได้ดี มีรายงานการใช้เชื้อ Azospirillum ร่วมกับ Bradyrhizobium ทำให้เมล็ดถั่วและเมล็ดข้าวโพดงอกเร็วขึ้น (Cassan *et al*., 2009) จุลินทรีย์ที่อาศัยในรากพืชตระกูลถั่วชนิดอื่นเช่น แอคติโนมัยสีท (Actinomycetes) ที่ปัจจุบันมีการศึกษาน้อย จากรายงานที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่า แอคติโนมัยสีท สามารถชักนำให้ต้นถั่วทนต่อราสาเหตุโรคพืช นอกเหนือจากการตรึงไนโตรเจนเชื้อแอคติโนมัยสีท บางชนิดยังช่วยปลดปล่อยสารเคมีที่จำเป็นในการเจริญเติบโตและสารต่าง ๆ ที่เชื้อนี้สร้างขึ้นสามารถละลายธาตุอาหารในดินให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ (Elvira-Recuenco and Vurde, 2000) ดังนั้นรากและดินบริเวณรอบรากพืชตระกูลถั่วจึงเป็นแหล่งที่น่าสนใจในการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถนำมาใช้ร่วมกับไรโซเบียมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพและส่งเสริมการทำงานของไรโซเบียมให้มีประสิทธิภาพสูงสุดในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตของพืชตระกูลถั่ว ในปัจจุบันมีการศึกษาพบว่าจุลินทรีย์หลายกลุ่มสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ โดยการผลิตฮอร์โมนพืช เพิ่มการดูดซับธาตุอาหารที่จำเป็นจากดิน ช่วยในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค จุลินทรีย์กลุ่มนี้เรียกว่าจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช เพื่อเป็นการเพิ่มผลผลิตของพืชตระกูลถั่วการคัดเลือกจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและนำมาใช้ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมจึงเป็นทางเลือกในการเพิ่มผลผลิตและลดต้นทุนให้เกษตรกร

กรมวิชาการเกษตร

7. วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์

1. เชื้อไรโซเบียมสำหรับถั่วเขียวและถั่วเหลือง
2. เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวและถั่วเหลือง
3. N-free medium
4. สารเคมีสำหรับทดสอบความสามารถในการสร้าง IAA, siderophore
5. อาหารสำหรับทดสอบความสามารถในการละลายฟอตเฟส ได้แก่ Pikovskaya
6. อาหารสำหรับแยกและจำแนกราดิน ได้แก่ glucose ammonium nitrate agar (GAN), potato dextrose agar (PDA), malt extract agar (MEA), Czapek's agar (CZA)
7. อาหารสำหรับแยกและจำแนกแอคติโนมัยสีท ได้แก่ starch casein agar (SCA), glucose yeast

extract agar (GYE), ISP medium 3

8. อุปกรณ์วัดการเจริญเติบโต (ตลับเมตร)
9. เครื่อง Gaschromatography
10. ปุ๋ยเคมีได้แก่ ปุ๋ยยูเรีย ทริปเปิ้ลซุปเปอร์ฟอสเฟต และโพแทสเซียมคลอไรด์
11. สารเคมีในการวิเคราะห์ปริมาณอินทรียวัตถุ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ในดิน

- วิธีการ

1. การคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโต จากรากพืชตระกูลถั่วและดินบริเวณรอบรากพืชตระกูลถั่ว 1.1 การแยกแบคทีเรีย การแยกเชื้อจากดินบริเวณรอบรากและรากพืชตระกูลถั่ว (มานิตา และคณะ , 2561)โดยทำการเก็บตัวอย่างดินบริเวณรากถั่วโดยใช้วิธีสุ่มเก็บ 5 จุดต่อแปลงปลูกนำมาแยกเชื้อด้วยวิธี soil dilution plate method โดยใช้อาหาร Nutrient Glucose Agar (NGA) และทำการแยกแบคทีเรียจากตัวอย่างรากถั่ว โดยเก็บตัวอย่างจาก แปลงละ 5 ต้น ตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อส่วนรากเป็นชิ้นเล็ก ๆ ล้างด้วยน้ำกลั่น จากนั้นฆ่าเชื้อที่ผิวราก ด้วยคลอร็อกซ์ความเข้มข้น 10% นาน 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง นำรากพืชตระกูลถั่วที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิวแล้ว ใส่ในโกร่งที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เติมสารละลาย NaCl ความเข้มข้น 0.85% จากนั้นบดตัวอย่างรากถั่วให้ละเอียด ทำการเจือจางที่ระดับ 10^{-1} จนถึง 10^{-4} แยกเชื้อแบคทีเรียโดยวิธี spread plate technique บนอาหาร NGA บ่มเลี้ยงเชื้อที่แยกจากดินและรากถั่วที่อุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิประมาณ 28-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง คัดเลือกโคโลนีเชื้อ และทำให้เชื้อบริสุทธิ์โดยการคัดเลือกโคโลนีเดี่ยวย้ายซ้ำ 2 ครั้ง นำเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้ทั้งหมดไปตรวจสอบรูปร่างลักษณะโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์ย้อมสีด้วยเทคนิค gram's staining ระบุชนิดโดยการเปรียบเทียบกับเอกสารอ้างอิงจากนั้นนำไปทดสอบคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญของพืชตระกูลถั่ว

1.2 การแยกราจากดินบริเวณรอบรากพืชตระกูลถั่วโดยวิธี soil dilution plate method (Barron, 1968) โดยการชั่งดิน 0.5 กรัม ใส่ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ทำการเจือจางจนได้สารละลายความเข้มข้น 10^{-5} ใช้ปิเปตดูดสารละลายแต่ที่ความเข้มข้น 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5} ใส่ลงในจานเลี้ยงเชื้อจานละ 1 มิลลิลิตร ทำการทดลองความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ เททับด้วยอาหาร glucose ammonium nitrate agar (GAN) ที่มีส่วนประกอบของ rose bengal และ streptomycin หมุนจานเลี้ยงเชื้อเบาๆ แล้วนำไปบ่มในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3-5 วัน ใช้เข็มเขี่ยย้ายเส้นใยราเลี้ยงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) เลี้ยงจนได้เชื้อบริสุทธิ์ การแยกราจากรากพืชตระกูลถั่ว (Petrini, 1993) โดยแช่รากพืชใน 70% alcohol นาน 1 นาที จากนั้นนำไปแช่ใน 10% sodium hypochlorite (NaOCl) นาน 3 นาที และ แช่ alcohol 95% นาน 30 วินาที จากนั้นตัดชิ้นส่วนรากพืช วางลงบนอาหาร water agar (WA) ที่มีส่วนผสมของ streptomycin เมื่อเส้นใยราเจริญขึ้นมาบนผิวอาหารใช้เข็มเขี่ยตัดเส้นใยนำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA จนได้เชื้อบริสุทธิ์ นำราที่แยกได้จากดินบริเวณรอบรากและราที่อยู่ในรากพืชมาจำแนกชนิดและทดสอบคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญของพืชตระกูลถั่ว

กรมวิชาการเกษตร

1.3 การแยกแอคติโนมัยสีท (Nonomura and Hayakawa, 1998) นำตัวอย่างดินบริเวณรอบราก พืชที่ผ่านการผึ่งให้แห้งในที่ร่มเป็นเวลา 1 สัปดาห์ มาบดและร่อนให้เข้ากัน จากนั้นนำมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อให้มีความเจือจางเท่ากับ 10^{-3} ถึง 10^{-6} ดูดสารแขวนลอยดินในแต่ละความเข้มข้นมา 100 ไมโครลิตร เกลี่ยลงบนอาหารคัดเลือก Starch Casein Agar (SCA) ที่เติมสารปฏิชีวนะ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-14 วัน ใช้ไม้จิ้มฟันปลายแหลมที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อเขี่ยโคโลนีที่มีลักษณะของแอคติโนมัยสีทนำมาทำให้บริสุทธิ์บนอาหาร Glucose Yeast Extract Agar (GYC) การแยกแอคติโนมัยสีทจากรากพืชตระกูลถั่ว (Hallman *et al*., 1997) โดยนำรากพืชมาล้างผ่านน้ำประปาและนำมาผ่านขั้นตอนการกำจัดจุลินทรีย์ที่ผิวราก โดยนำรากมาเขย่าในสารละลาย Tween20 เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นยนำไปเขย่าใน 70% alcohol นาน 5 นาที แล้วนำไปแช่ใน 10% sodium hypochlorite (NaOCl) นาน 10 นาที โดยแต่ละขั้นตอนปรับเวลาในการแช่ให้สั้นลงตามขนาดของรากถั่ว จากนั้นนำรากถั่วไปล้างน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง เพื่อกำจัดสารเคมีในขั้นตอนแรกให้หมดไป ตัดชิ้นส่วนรากถั่วความยาวประมาณ 1 เซนติเมตรใส่ลงในหลอดแก้วปราศจากเชื้อที่มีในสารละลาย 1/4 Ringer ปริมาตร 3 มิลลิลิตรแล้วบดด้วยแท่งแก้วปลอดเชื้อ จากนั้นดูดสารแขวนลอยรากปริมาตร 50 และ 100 ไมโครลิตร เกลี่ยลงบนผิวหน้าอาหาร Starch casine agar (SCA) ที่เติมสารปฏิชีวนะ nalidixic acid (25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และ ketoconazole (100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) เพื่อยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและรา ตามลำดับ ใช้ปากคีบหยิบชิ้นรากถั่วที่บดให้แบนเล็กน้อยแล้ววางลงบนอาหาร SCA เสร็จแล้วนำไปบ่มแล้วนำจานเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เมื่อโคโลนีของแอคติโนมัยสีทเจริญขึ้นมาบนผิวอาหารใช้ไม้จิ้มฟันนึ่งฆ่าเชื้อเขี่ยโคโลนีนำมาเลี้ยงบนอาหาร GYC จนได้เชื้อบริสุทธิ์ นำแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากดินบริเวณรอบรากและที่อยู่ในรากพืชมาจำแนกชนิดและทดสอบคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญของพืชตระกูลถั่ว

2. คัดเลือกจุลินทรีย์ที่แยกได้จากรากและดินบริเวณรอบรากพืชนำมาทดสอบคุณสมบัติในการสร้างสารเร่งการเจริญเติบโต และคุณสมบัติไม่เป็นเชื้อปฏิปักษ์ (non-antagonistic) ต่อไรโซเบียม

2.1 การทดสอบคุณสมบัติในการสร้างสารเร่งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย

- การทดสอบและคัดเลือกแบคทีเรียที่สามารถสร้างสาร siderophore บนอาหารแข็งสูตร Chrome azurol S-modified Gaus No.1 (CAS-MGs-1) agar ใช้เข็มเขี่ยแตะโคโลนีของแบคทีเรียนำมาลากลงบนอาหารทดสอบบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สังเกตการเปลี่ยนสีของอาหารทดสอบรอบจุดที่ลากแบคทีเรียบนอาหารทดสอบ วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีที่เกิดขึ้น (Milares *et al*., 1999)

- ทดสอบการผลิต indole 3-acetic acid (IAA) โดยบ่มเลี้ยงเชื้อในที่มืดที่อุณหภูมิห้องนาน 48 ชั่วโมง ตรวจผลโดยการหยด Salkowski's reagent แบ่งความสามารถในการผลิตเป็น 4 ระดับจากน้อยไปหามากคือระดับ1,2,3,4 อ่านผลจากสีชมพูที่ เกิดขึ้นโดยเทียบกับ IAA standard หากไม่พบการผลิต IAA จะแสดงสีเหลืองของ reagent (Bric *et al*., 1991)

- ทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟตโดยใช้อาหารแข็ง Pikovskaya's medium (PVK) โดย วิธี point inoculation ใช้เข็มเขี่ยเชื้อแตะบริเวณโคโลนีของแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบไปวางบน

กรมวิชาการเกษตร

อาหาร PVK บ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้องนาน 7 วัน ตรวจวัดผลโดยจากบริเวณใสที่เกิดขึ้นบนอาหารทดสอบ และบันทึกการเกิดบริเวณใสของการละลายฟอสเฟต (Subba Rao, 1993)

2.2 การทดสอบคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของรา

- การทดสอบและคัดเลือกราที่สามารถสร้างสาร siderophore บนอาหารแข็งสูตร Chrome azurol S-modified Gaus No.1 (CAS-MGs-1) agar โดยใช้ cork borer ที่ปลอดเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เจาะเส้นใยเชื้อราอายุ 7 วัน ที่เจริญบนอาหาร PDA จากนั้นใช้เข็มเขี่ยย้ายชิ้นวุ้นเชื้อรามาวางบนผิวหน้าอาหารสูตร CAS-MGs-1 agar โดยวางชิ้นวุ้นราบนอาหารทดสอบสามจุดโดยให้มีระยะห่างเท่า ๆ กัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน สังเกตการเปลี่ยนสีรอบจุดที่วางราบนอาหารทดสอบและวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีที่เกิดขึ้น (Milares *et al*., 1999)

- การทดสอบความสามารถของราในการสร้างสารส่งเสริมการเจริญของพืช Indole acetic acid (IAA) ใช้ cork borer ขนาด ที่ปราศจากเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร เจาะเส้นใยราอายุ 7 วันที่เจริญบนอาหาร PDA จากนั้นใช้เข็มเขี่ย ถ่ายชิ้นวุ้นรา จำนวน 2 ชิ้น มาเลี้ยงในอาหารเหลว สูตร Czapek dox medium เติม 2% L-Tryptophan ที่บรรจุในหลอดทดลองปริมาตร 7 มิลลิลิตร แล้วนำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 7 วัน จากนั้นเก็บสารละลายส่วนใสโดยนำน้ำเลี้ยงเซลล์มาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาสเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เพื่อแยกสารละลายส่วนใส จากนั้นดูดสารละลายส่วนใสไปทดสอบหาปริมาณ IAA โดยทำปฏิกิริยากับสารละลาย Salkowski reagent ตรวจดูการเปลี่ยนแปลงของสีวาเกิดสีชมพูหรือไม หากเกิดสีชมพู แสดงวามีการสราง IAA (Bric *et al*., 1991)

- การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อราในการละลายฟอสเฟต (Malviya *et al*., 2001) เลี้ยงเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5-7 วัน ขึ้นกับความสามารถในการเจริญของราแต่ละชนิด ทดสอบประสิทธิภาพในการย่อยสลายฟอสเฟต ด้วยวิธี spot inoculation บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskaya's agar ทำการทดลองเชื้อละ 3 ซ้ำ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน จะสังเกตเห็นโซนใสรอบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำการวัดรัศมี ของบริเวณใสและรัศมีของโคโลนี เพื่อนำมาคำนวณหาความสามารถในการละลาย ดังสูตรต่อไปนี้

$$\text{ค่าการละลายฟอสเฟต} = \frac{\text{รัศมีโคโลนี + รัศมีบริเวณใสรอบโคโลนี}}{\text{รัศมีโคโลนี}}$$

2.3 การทดสอบคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของแอคติโนมัยสีท

- ทดสอบการสร้าง siderophore โดยเลี้ยงแอคติโนมัยสีทบนอาหาร MS และ YM บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-7 วัน ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตรเจาะเชื้อและนำไปว่างบนอาหาร CAS agar บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 วัน จากนั้นนำเชื้อไปทดสอบเชื้อที่สร้างไซเดอร์โรฟอร์จะให้วงสีส้มรอบ plug (Milares *et al*., 1999)

ศูนย์วิทยทรัพยากร

- ทดสอบการสร้าง IAA นำแอคติโนมัยสีท มาทดสอบความสามารถในการสร้างกรดอินโดลอะซีติก โดยเลี้ยงเชื้อในอาหาร tryptone yeast extract agar บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน จากนั้นย้ายไปเลี้ยงในอาหาร tryptone yeast extract broth ที่เติม L-tryptone 2 mg/l บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน เปนเวลา 7 วัน นำไปปนเหวี่ยงที่ 3000 rpm เปนเวลา 30 นาทีดูดสวนใส 2 ml เติม Salkowski reagent 4 ml ตรวจดูการเปลี่ยนแปลงของสีวาเกิดสีชมพูหรือไม หากเกิดสีชมพูแสดงวามีการสรางกรดอินโดลอะซีติก (Bric *et al*., 1991)

- ทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟต โดยเลี้ยงเชื้อแอคติโนมัยสีท บนอาหาร MS บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เมื่อเชื้อเจริญเติบโตดีแล้วนำมาเลี้ยงในอาหารเหลว TSB เขย่า 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3-5 วัน จากนั้นนำเชื้อปริมาตร 100 ไมโครลิตร หยดลงบนอาหารแข็ง Pikovskaya เป็นเวลา 10 วัน จากนั้นตรวจสอบวงใสบริเวณรอบโคโลนี (Subba Rao, 1993)

2.4 การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติไม่เป็นเชื้อปฏิปักษ์ (non-antagonistic) ต่อไรโซเบียม

การเตรียมไรโซเบียมสำหรับทดสอบโดยเลี้ยงไรโซเบียมบนอาหารผิวเอียง yeast extract-manitol (YEM) เมื่อเชื้อเจริญเติบโตดีเขี่ยลงอาหารเหลว YEM บ่มแบบเขย่าที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาปรับความขุ่นของเซลล์ด้วยเครื่องตรวจวัดสารดูการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้มีค่าเท่ากับ 0.2 (รัชนี, 2552)

2.4.1 การทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ของแบคทีเรียทดสอบและไรโซเบียม (รัชนี, 2552)

วิธีการทดสอบทำโดยหยดสารแขวนลอยของแบคทีเรีย 10 ไมโครลิตร ลงบนผิวอาหาร NA medium นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นดูดเชื้อไรโซเบียมที่เตรียมไว้ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เติมลงในอาหาร YEM ที่มีวุ้นอาหาร 0.6 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ปั่นผสมให้เข้ากัน นำมาเทราดทับโคโลนีแบคทีเรียทดสอบ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งและเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีแบคทีเรีย และคำนวณหาค่าการยับยั้งตามสูตร

$$\text{ค่าการยับยั้ง} = \frac{\text{ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง}}{\text{ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีแบคทีเรีย}}$$

2.4.2 การทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ของราและไรโซเบียม (Kamau *et al*., 2016)

เริ่มจากการเตรียมราทดสอบโดยเลี้ยงราทดสอบในอาหาร Potato dextrose agar (PDA) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นใช้ cock borer ขนาด 5 มิลิเมตร ตัดชิ้นวุ้นบริเวณขอบโคโลนีของรามาวางลงตรงกลางจานเลี้ยงเชื้อบนอาหาร YEMA จากนั้นใช้ loop เขี่ยไรโซเบียมที่ต้องการทดสอบมาขีดลากยาวจากขอบโคโลนีของรา ลากยาวไปยังขอบจานเลี้ยงเชื้อ ขีดรอบรัศมีวงกลมของโคโลนีรา บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา

ลิขสิทธิ์การเกษตร

7 วัน สังเกตการณ์เจริญของเชื้อทั้งสองโดยดูจากบริเวณ ที่เกิดการยับยั้งกัน ทำการจดบันทึกและวัดเปอร์เซ็นต์การยับยั้งโดยใช้สูตร

$$L = \frac{[C - T] \times 100}{C}$$

L = เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของไรโซเบียม

C= ความยาวของไรโซเบียมในจานควบคุม

T= ความยาวของไรโซเบียมในจานทดสอบ

2.4.3 การทดสอบความเป็นปฏิปักษ์ของแอคติโนมัยสีทและไรโซเบียม (รัชนี, 2552)

วิธีการทดสอบทำโดยหยดสารแขวนลอยของแอคติโนมัยสีท 10 ไมโครลิตร ลงบนผิวอาหาร ISP medium นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นดูดเชื้อไรโซเบียมที่เตรียมไว้ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เติมลงในอาหาร YEM ที่มีวุ้นอาหาร 0.6 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ปั่นผสมให้เข้ากัน นำมาเทราดทับโคโลนีแอคติโนมัยสีท บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งและเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีแอคติโนมัยสีท และคำนวณหาค่าการยับยั้งตามสูตร

$$\text{ค่าการยับยั้ง} = \frac{\text{ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง}}{\text{ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีแอคติโนมัยสีท}}$$

3. การทดสอบในสภาพกระถางทดลอง ทำการศึกษาทดลองในโรงเรือนทดลอง ของกลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร เตรียมกระถางดินเผาเส้นผ่านศูนย์กลาง 16 นิ้ว นำดินจากแปลงปลูกถั่วของศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ มาวิเคราะห์ระดับความอุดมสมบูรณ์ของดินก่อนปลูก และค่าความเป็นกรด-ด่าง จากนั้นทำการย่อยดินและผสมคลุกเคล้าให้เข้ากันดี และแบ่งใส่กระถางทดลองจำนวน 20 กิโลกรัมต่อกระถาง วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 3 ซ้ำ 12 กรรมวิธี

การใช้ปุ๋ย 12 รูปแบบคือ

1. ไม่ใส่ปุ๋ย (วิธีควบคุม)
2. ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมเพียงอย่างเดียว
3. ใส่ PGPR เพียงอย่างเดียว
4. ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม + PGPR
5. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 1.44-1.44-1.44 กรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$/ดิน 20 กิโลกรัม
6. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 1.44-1.44-1.44 กรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$/ดิน 20 กิโลกรัม + ไรโซเบียม
7. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 1.44-1.44-1.44 กรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$/ดิน 20 กิโลกรัม + PGPR
8. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 1.44-1.44-1.44 กรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$/ดิน 20 กิโลกรัม + ไรโซเบียม + PGPR
9. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-1.44-1.44 กรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$/ดิน 20 กิโลกรัม

ศูนย์วิทยทรัพยากร

10. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-1.44-1.44 กรัม N-P_2O_5-K_2O/ดิน 20 กิโลกรัม + ไรโซเบียม

11. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-1.44-1.44 กรัม N-P_2O_5-K_2O/ดิน 20 กิโลกรัม + PGPR

12. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-1.44-1.44 กรัม N-P_2O_5-K_2O/ดิน 20 กิโลกรัม + ไรโซเบียม + PGPR

(ได้จากการชั่งปุ๋ยยูเรีย 0.31 กรัม ปุ๋ยทริปเปิ้ลซุปเปอร์ฟอสเฟต 0.34 กรัม และปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.24 กรัม)

3.1 ทำการปลูกถั่วเหลืองพันธุ์ และถั่วเขียวพันธุ์ 84-1 โดยคลุกเมล็ดด้วยปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม และใส่ปุ๋ยเคมีตามอัตราที่กำหนดในกรรมวิธีการทดลอง โดยปลูกถั่วจำนวน 4 ต้นต่อกระถางเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตของถั่วเหลืองฝักสด เมื่อต้นถั่วเริ่มออกดอก เก็บตัวอย่างรากมาวัดประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนด้วยวิธี Acetylene Reduction Assay โดยทำการเก็บตัวอย่างรากถั่วจำนวน 2 ต้น โดยตัดส่วนของลำต้นออกตั้งแต่ข้อแรก ล้างทำความสะอาดดินที่ติดมากับรากถั่ว ระวังไม่ให้ปมหลุดจากราก จากนั้นนำตัวอย่างรากถั่วทั้งหมดวางลงในขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ที่ทราบปริมาตรแน่นอนปิด ด้วยจุกยางให้แน่นสนิท จากนั้นเติมแก๊สอะเซธิลีนลงในขวดเพื่อใช้เป็น substrate ของเอนไซม์ไนโตรจีเนส โดยใช้เข็มฉีดยาดูดอากาศออกจากขวดแก้ว 10 % ของปริมาตรขวด แล้วฉีดแก๊สอะเซธิลีนลงไปแทนที่อากาศ และบ่มไว้เป็นเวลา 30 นาทีจากนั้นใช้เข็มฉีดยาดูดแก๊สออกจากขวดที่บ่มไว้เพื่อนำไปฉีดและวิเคราะห์หาปริมาณเอธิลีนด้วยเครื่อง gas chromatograph (GC)

3.2 การหาจำนวนปมราก และน้ำหนักแห้งของปมราก เมื่อถั่วเหลืองมีอายุ 35 วันหลังปลูก ทำการวัดปริมาณการตรึงไนโตรเจนแล้ว นำมานับจำนวนปมรากต่อต้นของถั่วเหลือง จากนั้นแยกปมรากไปอบที่ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วชั่งน้ำหนักแห้งปมรากเป็นรายต้น

3.3 การหาน้ำหนักแห้งของต้น และน้ำหนักแห้งของราก โดยหลังจากแยกปมรากออกจากต้นแล้ว นำส่วนของต้น และรากถั่วเหลืองไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อชั่งน้ำหนักแห้งของต้น และ ราก

3.4 บันทึกข้อมูล จำนวนปม น้ำหนักสดของปม น้ำหนักแห้งของปม และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม IRRISTAT

4. การทดสอบในสภาพแปลงทดลอง ทำการศึกษาทดลองที่ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ นำดินจากแปลงปลูกถั่วในพื้นที่ มาวิเคราะห์ระดับความอุดมสมบูรณ์ของดินก่อนปลูก และค่าความเป็นกรด-ด่าง เตรียมแปลงทดลองขนาด 10 x 10 ตารางเมตร วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 3 ซ้ำ 6 กรรมวิธี

1. ไม่ใส่ปุ๋ย (วิธีควบคุม)
2. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่
3. ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม + PGPR
4. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่ + ไรโซเบียม
5. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่ + PGPR
6. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่ + ไรโซเบียม + PGPR

4.1 ทำการปลูกถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 และถั่วเขียวพันธุ์ 84-1 เมื่อวันที่ 17 ธันวาคม 2563 โดยคลุกเมล็ดด้วยปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม และใส่ปุ๋ยเคมีตามอัตราที่กำหนดในกรรมวิธีการทดลอง โดยปลูกถั่วจำนวน

กรมวิชาการเกษตร

4 ต้นต่อหลุมเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตของถั่ว และเมื่อต้นถั่วเริ่มออกดอกประมาณ 80% เก็บตัวอย่างรากมาวัดประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนด้วยวิธี Acetylene Reduction Assay โดยทำการเก็บตัวอย่างรากถั่วจำนวน 2 ต้น โดยตัดส่วนของลำต้นออกตั้งแต่ข้อแรก ล้างทำความสะอาดดินที่ติดมากับรากถั่ว ระวังไม่ให้ปมหลุดจากราก จากนั้นนำตัวอย่างรากถั่วทั้งหมดวางลงในขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ที่ทราบปริมาตรแน่นอนปิด ด้วยจุกยางให้แน่นสนิท จากนั้นเติมแก๊สอะเซธิลีนลงในขวดเพื่อใช้เป็น substrate ของเอนไซม์ไนโตรจีเนส โดยใช้เข็มฉีดยาดูดอากาศออกจากขวดแก้ว 10 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาตรขวด แล้วฉีดแก๊สอะเซธิลีนลงไปแทนที่อากาศ และบ่มไว้เป็นเวลา 30 นาทีจากนั้นใช้เข็มฉีดยาดูดแก๊สออกจากขวดที่บ่มไว้เพื่อนำไปฉีดและวิเคราะห์หาปริมาณเอธิลีนด้วยเครื่อง gas chromatograph (GC)

4.2 การหาจำนวนปมราก และน้ำหนักแห้งของปมราก เมื่อถั่วออกดอกประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ หลังปลูก ทำการวัดปริมาณการตรึงไนโตรเจนแล้ว นำมานับจำนวนปมรากต่อต้นของถั่วเหลือง และถั่วเขียวในวันที่ 12 กุมภาพันธ์ 2563 จากนั้นแยกปมรากไปอบที่ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วชั่งน้ำหนักแห้งปมรากเป็นรายต้น

4.3 การหาน้ำหนักแห้งของต้น และน้ำหนักแห้งของราก โดยหลังจากแยกปมรากออกจากต้นแล้ว นำส่วนของต้น และรากถั่วเหลืองไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อชั่งน้ำหนักแห้งของต้น และ ราก

4.4 บันทึกข้อมูล จำนวนปม น้ำหนักสดของปม น้ำหนักแห้งของปม รวมทั้งผลผลิตเพื่อนำมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม IRRISTAT

4.5 ทำการเก็บเกี่ยวเมล็ดถั่วเหลืองเมื่อวันที่ 7 เมษายน 2563 และเก็บเกี่ยวถั่วเขียวเมื่อวันที่ 27 มีนาคม 2563 ในพื้นที่ 4 x 4 ตารางเมตร

<u>การบันทึกข้อมูลการทดลอง</u>

1. บันทึกลักษณะ ทางสัณฐานวิทยาของจุลินทรีย์ที่แยกได้
2. เก็บรวบรวมเชื้อไว้ใน culture collection
3. บันทึกความสามารถในการสร้างสารเร่งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์แต่ละชนิด
4. บันทึกความเป็นปฏิปักษ์ของจุลินทรีย์ทดสอบกับเชื้อไรโซเบียม
5. ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน (ARA)
6. ความสูงของต้น
7. จำนวนปม
8. น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งปม
9. น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของลำต้นเหนือพื้นดิน น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งราก

ศรีวิชาการเกษตร

ระยะเวลา ตุลาคม 2559 - กันยายน 2563

สถานที่ทำการทดลอง
- ณ กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร
- ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ อำเภอสันทราย จ.เชียงใหม่

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

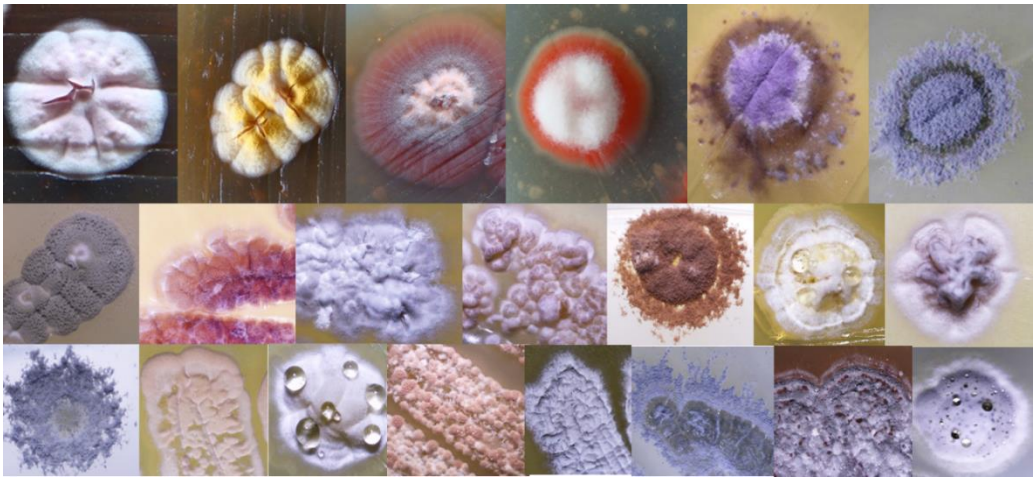
1. การคัดแยกจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโต จากรากและดินบริเวณรอบรากพืช

แยกเชื้อจากดินและรากพืช 6 ชนิดได้แก่ ถั่วเหลือง จ.แม่ฮ่องสอน ถั่วเขียว จ.ลำปาง ปอเทือง จ.เชียงราย อ้อย จ.นครสวรรค์ หญ้าแฝก จ.ชัยนาท และ ข้าวโพด จ.สุพรรณบุรี สามารถแยกจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตได้ทั้งหมด 62 สายพันธุ์ โดยแยกจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตจากดินได้ 34 สายพันธุ์ และจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตจากรากพืชได้ 28 สายพันธุ์ แบ่งเป็นแบคทีเรีย 16 สายพันธุ์ แอคติโนมัยสีท 21 สายพันธุ์ และรา 25 สายพันธุ์ (ตารางที่ 1; ภาพที่ 1 2 3)

ตารางที่ 1 จำนวนสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่แยกได้จากดินและรากพืช

ตัวอย่างพืช	จำนวนสายพันธุ์จุลินทรีย์					
	ดิน			รากพืช		
	แบคทีเรีย	แอคติโนมัยสีท	รา	แบคทีเรีย	แอคติโนมัยสีท	รา
ปอเทือง	0	3	2	0	2	2
ถั่วเขียว	3	2	7	3	3	4
ถั่วเหลือง	4	4	6	2	4	4
ข้าว	0	0	0	1	0	0
ข้าวโพด	0	0	0	1	0	0
อ้อย	0	0	0	1	0	0
หญ้าแฝก	1	0	0	0	0	0
รวม	8	12	15	8	9	10

กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 1 ลักษณะโคโลนีของแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากดินและรากพืช

Azospirillum brasilense *Bacillus* sp.

ภาพที่ 2 ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่แยกได้จากดินและรากพืช

ครุบัวราชภัฏ

ภาพที่ 3 ลักษณะโคโลนีของราดินที่แยกได้จากดินและรากพืช

2. คัดเลือกจุลินทรีย์ที่แยกได้จากรากและดินบริเวณรอบรากพืชตระกูลถั่วนำมาทดสอบคุณสมบัติในการสร้างสารเร่งการเจริญเติบโต และคุณสมบัติไม่เป็นเชื้อปฏิปักษ์ (non-antagonistic) ต่อเชื้อไรโซเบียม

นำจุลินทรีย์ที่แยกได้ทั้งหมดมาทดสอบประสิทธิภาพในการสร้างสารเร่งการเจริญเติบโตเช่น IAA Siderophore ทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟต และนำไปทดสอบความเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อไรโซเบียม 3 ชนิด ได้แก่ *Bradyrhizobium japonicum B. liaoningense* และ*B. daqingense* ผลการทดลองพบว่าจุลินทรีย์ดินทั้ง 62 สายพันธุ์มีความสามารถในการสร้างสารเร่งการเจริญเติบโตแตกต่างกันและมีความเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อไรโซเบียมแตกต่างกันโดยจำนวนรวมของจุลินทรีย์แต่ละกลุ่มที่สร้างสารเร่งการเจริญเติบโตและที่จุลินทรีย์ที่ไม่เป็นปฏิปักษ์กับไรโซเบียมดังแสดงในตารางที่ 2

กรมวิทยาศาสตร์

ตารางที่ 2 จำนวนสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่สามารถสร้างสาร indole-3-Acetic Acid synthesis (IAA), siderophore, ความสามารถในการละลายฟอสเฟต และความเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อไรโซเบียม

จุลินทรีย์	จำนวนสายพันธุ์จุลินทรีย์							
	ดิน				รากพืช			
	ผลิต IAA	ผลิต siderophore	ละลาย P	ไม่เป็นปฏิปักษ์ต่อไรโซเบียม	ผลิต IAA	ผลิต siderophore	ละลาย P	ไม่เป็นปฏิปักษ์ต่อไรโซเบียม
แบคทีเรีย	8	8	1	1	8	8	3	3
แอคติโนมัยสีท	9	12	10	3	5	9	5	0
รา	15	15	10	3	10	10	0	0
รวม	32	35	21	7	23	27	8	3

แบคทีเรียเป็นจุลินทรีย์กลุ่มใหญ่ที่พบมากที่สุดเมื่อเทียบกับจุลินทรีย์ชนิดอื่นมีหน้าที่ย่อยสลายซากพืช ซากสัตว์ ผลิตฮิวมัส เปลี่ยนแปลงแร่ธาตุในดินให้เป็นประโยชน์ต่อสิ่งมีชีวิต กิจกรรมของแบคทีเรียในดินมีความสำคัญต่อระบบนิเวศอย่างมาก แบคทีเรียในดินหลายชนิดสามารถอาศัยและเจริญเติบโตร่วมกับรากพืชและก่อให้เกิดประโยชน์กับพืชซึ่งถูกเรียกว่า plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) เช่น *Azospirillum, Azotobacter, Bacillus, Enterobacter, Gordonia, Klebsiella, Paenibacillus, Pseudomonas, Serratia* เป็นต้น พบว่ามีการใช้จุลินทรีย์กลุ่มพีจีพีอาร์ในการผลิตพืชในพื้นที่ดินเค็มทั่วโลก เช่น การใช้พีจีพีอาร์ที่มีความสามารถละลายฟอสเฟต ผลิตสารคล้ายฮอร์โมนพืช และซิเดอโรฟอร์ ภายใต้สภาวะความเค็มเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของมะเขือเทศที่ปลูกในระดับความเค็ม 2% NaCl (Tank and Saraf, 2010) การศึกษาครั้งนี้สามารถแยกแบคทีเรียจากดินรอบราก และจากรากพืชได้ทั้งหมด 16 สายพันธุ์จำแนกได้เป็น 2 สกุล (*Azospirillum* และ *Bacillus*) 1 ชนิด ได้แก่ *Azospirillum brasilense* แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถผลิตฮอร์โมนพืช ดูดซับธาตุอาหารที่จำเป็นจากดิน ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค (Glick, 1995) ปัจจุบันมีการศึกษาการใช้แบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ร่วมกัน 2-3 กลุ่มซึ่งพบว่าให้ผลดีกว่าการใช้แบคทีเรียเพียงกลุ่มเดียว Dashti *et al.* (1998) พบว่าการปลูกเชื้อร่วมระหว่าง *Bradyrhizobium japonicum* และ *Azospirillum* สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนและจำนวนปมให้แก่ถั่วเหลือง การปลูกเชื้อร่วมระหว่าง *Pseudomonas* sp. และ *Rhizobium* sp. สามารถเพิ่มการเข้าเกาะติดรากของเชื้อไรโซเบียม กระตุ้นให้เกิดการสร้างปมปมของถั่ว (Cook and Baker, 1983) นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชตระกูลถั่วร่วมกับเชื้อไรโซเบียม เช่น *Azospirillum* (Aung *et al*., 2013), *Azotobacter* (Wu *et al*., 2012), *Bacillus* (Atieno *et al*., 2012), *Pseudomonas* (Zahir *et al*., 2011), *Serratia* (Pan *et al*., 2002) ซึ่งจะมีผลต่อการเจริญของรากขนอ่อน รวมทั้งปริมาณการหลั่งสาร flavonoid และจำนวนปมรากถั่วเพิ่มมากขึ้น การใช้พีจีพีอาร์ร่วมกับราไมคอร์ไรซาในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวฟ่างที่เกิดความเครียด (stress) จากความเค็ม (Cho *et al*., 2006) และการใช้ไรโซเบียมร่วมกับ *Pseudomonas* ในการปลูกข้าวโพด ซึ่งพบว่านอกจากจะลดความเครียดจากความเค็มได้แล้วยังสามารถช่วยเพิ่ม

ศูนย์วิทยทรัพยากร

ปริมาณโพลีนในข้าวโพดได้อีกด้วย (Bano and Fatima, 2009) แบคทีเรียทั้ง 16 สายพันธุ์ที่แยกได้ในการทดลองครั้งนี้สามารถสร้าง IAA ได้ และพบว่ามี 2 สายพันธุ์ได้แก่ *A. brasilense* สายพันธุ์ TS13 แยกจากดินรอบรากหญ้าแฝก และTS29 แยกได้จากรากข้าวโพด สร้าง IAA ได้ในปริมาณสูง นอกจากนี้พบว่าสายพันธุ์ TS13 ผลิต siderophore ได้ในปริมาณสูงที่สุดโดยเกิดวงใสเท่ากับ 6.19 เซนติเมตร และมีค่าการละลายฟอสเฟตสูงที่สุดเท่ากับ 3.3 เมื่อนำไปทดสอบความเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อไรโซเบียม 3 ชนิดได้แก่ *Bradyrhizobium japonicum B. liaoningense* และ*B. daqingense* พบว่าสามารถเจริญร่วมกับไรโซเบียมทั้ง 3 ชนิดได้ (ตารางที่ 3, 4) ผลการทดสอบที่ได้ทำให้แบคทีเรีย *A. brasilense* สายพันธุ์ TS13 มีความเหมาะสมในการนำมาทดสอบร่วมกับไรโซเบียมในการผลิตพืชตระกูลถั่วในระดับกระถางและแปลงทดลองต่อไป

ตารางที่ 3 แบคทีเรียที่สามารถสร้างสาร indole-3-Acetic Acid synthesis (IAA), siderophore และความสามารถในการละลายฟอสเฟต

สายพันธุ์	แหล่งที่มา	การผลิต IAA	การผลิตsiderophore ค่าการเกิดวงใส(ซม.)	ค่าการละลาย P
Azospirillum brasilense (TS8)	รากอ้อย	++	5.11±0.12	2.56±0.35
A. brasilense (TS13)	ดินรอบรากหญ้าแฝก	+++	6.19±0.23	3.3±0.43
A. brasilense (TS29)	รากข้าวโพด	+++	3.51±0.38	1.76±0.15
A. .brasilense (PN07)	รากข้าว	++	3.15±0.13	1.36±0.15
Azospirillum sp. (A1)	รากถั่วเขียว	+	2.39±0.19	0.00±0.00
Azospirillum sp. (A2)	ดินรอบรากถั่วเหลือง	+	3.08±0.14	0.00±0.00
Azospirillum sp. (A3)	ดินรอบรากถั่วเหลือง	+	2.62±0.20	0.00±0.00
Azospirillum sp. (A4)	รากถั่วเขียว	+	1.7±0.58	0.00±0.00
Bacillus sp. (B1)	ดินรอบรากถั่วเขียว	+	3.28±0.27	0.00±0.00
Bacillus sp. (B2)	ดินรอบรากถั่วเขียว	+	3.43±0.17	0.00±0.00
Bacillus sp. (B3)	ดินรอบรากถั่วเหลือง	+	2.5±0.12	0.00±0.00
Bacillus sp. (B4)	ดินรอบรากถั่วเหลือง	+	3.42±0.14	0.00±0.00
Bacillus sp. (B5)	ดินรอบรากถั่วเขียว	+	1.53±0.39	0.00±0.00
Bacillus sp. (B6)	รากถั่วเหลือง	+	3.57±0.08	0.00±0.00
Bacillus sp. (B7)	รากถั่วเหลือง	+	4.26±0.37	0.00±0.00
Bacillus sp. (B8)	รากถั่วเขียว	+	2.23±0.20	0.00±0.00

การผลิต AIA + = เกิดสีชมพู สร้าง IAA (+ = ต่ำ, ++ = ปานกลาง, +++ = สูง), - = ไม่เกิดสีชมพู ไม่สร้าง IAA

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 4 การยับยั้งเชื้อไรโซเบียมโดยแบคทีเรียที่แยกได้จากดินและรากพืช

แบคทีเรียทดสอบ	การยับยั้งเชื้อไรโซเบียม		
	B. japonicum DASA 02006	*B. liaoningense* DASA 01001	*B. daqingense* DASA 03084
Azospirillum brasilense (TS8)	-	+	-
A. brasilense (TS13)	-	-	-
A. brasilense (TS29)	-	+	-
A. .brasilense (PN07)	-	+	-
Azospirillum sp. (A1)	-	+	-
Azospirillum sp. (A2)	+	+	+
Azospirillum sp. (A3)	+	+	+
Azospirillum sp. (A4)	+	+	+
Bacillus sp. (B1)	+	+	+
Bacillus sp. (B2)	+	+	+
Bacillus sp. (B3)	+	+	+
Bacillus sp. (B4)	+	+	+
Bacillus sp. (B5)	+	+	+
Bacillus sp. (B6)	+	+	+
Bacillus sp. (B7)	+	+	+
Bacillus sp. (B8)	+	+	+

หมายเหตุ - = ไม่มีกิจกรรมการยับยั้งไรโซเบียม
+ = มีกิจกรรมการยับยั้งไรโซเบียม

กรมวิชาการเกษตร

แอคติโนมัยสีทเป็นจุลินทรีย์ที่จัดอยู่ในไฟลัม Actinobacteria มีผนังเซลล์เหมือนเชื้อราส่วนใหญ่สร้างเส้นใยและรงควัตถุสีต่าง ๆ ดำรงชีพแบบอิสระในน้ำ ดิน และเนื้อเยื้อพืช (Williams *et al*., 1989) มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายเศษซากพืช ซากสัตว์และสามารถย่อยสลายสารประกอบที่มีโครงสร้างซับซ้อนได้ แอคติโนมัยสีทบางชนิดอาศัยอยู่ในเนื้อเยื้อพืชโดยไม่ทำให้พืชอาศัยแสดงอาการของโรค แต่สามารถป้องกันพืชอาศัยจากการเข้าทำลายของจุลินทรีย์ก่อโรค และยังส่งเสริมการเจริญแก่พืชอาศัย พบว่ามีบางชนิดที่อาศัยอยู่ในรากพืชสามารถทำหน้าที่ตรึงไนโตเจนให้กับพืช (Okazaki, 2003) บางชนิดสามารถผลิตสาร secondary metabolite ในกลุ่มของสารปฏิชีวนะ (antibiotic) มีคุณสมบัติต้านการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในคน สัตว์ หรือในพืช (Strobel and Daisy, 2003) มีรายงานการนำแอคติโนมัยสีทที่แยกได้จากรากและดินบริเวณรอบรากพืชมาใช้ทางการเกษตรจำนวนมากเนื่องจากคุณสมบัติในการสร้างสารเร่งการเจริญเติบโตนอกจากนี้มีการนำแอคติโนมัยสีทหลายสายพันธุ์มาใช้ร่วมกับไรโซเบียมในการผลิตพืชตระกูลถั่วซึ่งพบว่าแอคติโนมัยสีทบางสายพันธุ์ช่วยส่งเสริมการทำงานของไรโซเบียมสามารถเพิ่มกิจกรรมของ acetylene reduction และพบว่าระดับของธาตุอาหารต่าง ๆ เช่น nitrogen, phosphorus, potassium, calcium, magnesium, iron และ zinc ในถั่วมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น

(Myat SOE *et al*., 2012; Nimnoi *et al*., 2014; Gangwar *et al*., 2012) จากรายงานของ El-Tarabily *et al*., 2008 พบว่าแอคติโนมัยสีท *Micromonospora endolithica* ที่แยกจากรากและดินรอบรากถั่วแขก (*Phaseolus vulgaris*) สามารถละลายฟอสเฟตในดินให้อยู่ในรูปที่พืชนำไปใช้ประโยชน์ได้ เมื่อนำมาใช้ร่วมกับไรโซเบียมจะยิ่งช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มคุณภาพของผลผลิตให้ดียิ่งขึ้น การทดลองของ Gregor *et al.* (2003) ใช้แอคติโนมัยสีท ร่วมกับ *B. japonicum* เพื่อเพิ่มการสร้างปมของถั่วเหลืองพบว่าเมื่อใช้ *B. japonicum* ร่วมกับ *Streptomyces kanamycetius* มีการเพิ่มขึ้นของปมสูงถึง 55% และมีระดับไนโตรเจนในต้นถั่วเพิ่มมากขึ้น 27.1 ถึง 40.9% การศึกษาครั้งนี้สามารถแยก *Streptomyces* spp. ได้จากรากและดินบริเวณรอบรากของพืชตระกูลถั่วจำนวน 21 สายพันธุ์ เมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการสร้าง IAA มี 14 สายพันธุ์ที่สร้าง IAA ได้ในปริมาณต่ำและมี 7 สายพันธุ์ไม่สามารถสร้าง IAA ได้ แต่พบว่าทั้ง 21 สายพันธุ์สามารถสร้างสาร siderophore ได้ โดยมีการเกิดวงใสอยู่ระหว่าง 3.0-0.25 เซนติเมตร ความสามารถในการละลายฟอสเฟตพบว่ามีทั้งหมด 15 สายพันธุ์ที่สามารถละลายฟอสเฟตได้ (ตารางที่ 5) เมื่อนำมาทดสอบคุณสมบัติการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ (non-antagonistic) ต่อไรโซเบียม พบว่า *Streptomyces* sp. สายพันธุ์ RFS 12-4 ไม่เป็นปฏิปักษ์ต่อ *Bradyrhizobium japonicum* DASA 02006และ*B. liaoningense* DASA 03018 ในขณะที่ *Streptomyces* sp. สายพันธุ์ WA 21-3 ไม่เป็นปฏิปักษ์กับ *B. japonicum* DASA 02006 และ *B. daqingense* DASA 03084 (ตารางที่ 6) ดังนั้นจึงสามารถใช้แอคติโนมัยสีทไอโซเลทดังกล่าวร่วมกับการปลูกเชื้อไรโซเบียมได้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานเกี่ยวกับการเพิ่มความถี่ของการเกิดปมรากจากเชื้อ *Rhizobium* sp. ในการปลูกเชื้อร่วมกับแอคติโนมัยสีท *Streptomyces lydicus* พบว่า *S. lydicus* เข้าสู่รากและสร้างสปอร์ภายในชั้นผิวของปมราก (Mukerji *et al*., 2006) การเข้าสู่รากถั่วของแอคติโนมัยสีทตามธรรมชาติ ทำให้ขนาดของปมรากโดยเฉลี่ยใหญ่ขึ้น และเพิ่มความแข็งแรงของแบคทีเรียในปมรากโดยการเสริมการดูดใช้ธาตุเหล็กและสารอาหารอื่น ๆ ในดิน (Tokala *et al*., 2002)

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 5 แอคติโนมัยสีทสกุล *Streptomyces* spp. ที่สามารถสร้างสาร indole-3-Acetic Acid synthesis (IAA), siderophore และความสามารถในการละลายฟอสเฟต

สายพันธุ์	แหล่งที่มา	การผลิต IAA	การผลิตsiderophore เส้นผ่านศูนย์กลางวงใส (มม.)	ค่าการละลาย P เส้นผ่านศูนย์กลางวงใส (มม.)
SH 1	ดินแปลงปอเทือง	+	0.62±0.17	0.1±0.08
SH 2	ดินแปลงปอเทือง	-	0.30±±0.29	0.2±0.12
SH 3	ดินแปลงปอเทือง	+	0.32±0.11	0.5±0.48
WA 2-2	ดินแปลงถั่วเหลือง	+	1.08±0.25	3.0±0.12
WA 21-3	ดินแปลงถั่วเหลือง	+	3.0±0.21	2.7±0.39
WA 22-2	ดินแปลงถั่วเหลือง	+	1.02±0.14	2.3±0.34
RFS 12-4	ดินแปลงถั่วเหลือง	+	0.50±.020	3.3±0.45
SS 1	ดินแปลงถั่วเหลือง	-	0.31±0.00	0.00±0.00
SS 2	ดินแปลงถั่วเหลือง	+	0.25±0.00	0.00±0.00
SM 1	ดินแปลงถั่วเขียว	-	2.43±0.28	1.7±0.12
SM 2	ดินแปลงถั่วเขียว	+	2.37±0.14	1.3±0.21
SM 3	ดินแปลงถั่วเขียว	+	1.60±0.14	1.0±0.21
RP 1	รากปอเทือง	+	2.33±0.32	0.3±0.08
RP 2	รากปอเทือง	-	2.45±0.24	0.2±0.00
RM 1	รากถั่วเขียว	+	1.90±0.29	0.00±0.00
RM 2	รากถั่วเขียว	-	1.73±0.13	0.1±0.00
RM 3	รากถั่วเขียว	+	1.90±0.21	0.1±0.00
RS 1	รากถั่วเหลือง	+	1.64±0.11	0.1±0.00
RS 2	รากถั่วเหลือง	+	1.67±0.21	0.00±0.00
RS 3	รากถั่วเหลือง	-	1.20±0.20	0.00±0.00
RS 4	รากถั่วเหลือง	-	0.25±0.00	0.00±0.00

การผลิต AIA + = เกิดสีชมพู สร้าง IAA (+ = ต่ำ, ++ = ปานกลาง, +++ = สูง), - = ไม่เกิดสีชมพู ไม่สร้าง IAA

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 6 การยับยั้งเชื้อไรโซเบียมโดยแอคติโนมัยสีทสกุล *Streptomyces* spp.

รหัสเชื้อ	การยับยั้งเชื้อไรโซเบียม		
	B. japonicum DASA 01001	*B. japonicum* DASA 02006	*B. daqingense* DASA 03084
SH 1	+	+	+
SH 2	+	+	+
SH 3	+	+	+
WA 2-2	+	+	+
WA 21-3	-	+	-
WA 22-2	+	+	+
RFS 12-4	-	-	+
SM 1	+	+	+
SM 2	+	+	+
SM 3	+	+	+
RP 1	+	+	+
RP 2	+	+	+
RM 1	+	+	+
RM 2	+	+	+
RM 3	+	+	+
RS 1	+	+	+
RS 2	+	+	+
RS 3	+	+	+

หมายเหตุ - = ไม่มีกิจกรรมการยับยั้งไรโซเบียม

\+ = มีกิจกรรมการยับยั้งไรโซเบียม

กรมวิชาการเกษตร

ราเป็นจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญอย่างมากในระบบนิเวศเนื่องจากสามารถย่อยสลายซากพืชซากสัตว์ โดยเฉพาะองค์ประกอบที่มีโครงสร้างซับซ้อนและย่อยสลายยากเช่น เซลลูโลส แป้ง ลิกนินเพราะเส้นใยของรา สามารถแทงเข้าภายในของวัตถุได้ ทำให้มีการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสการย่อยสลายจึงมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น สิ่งที่ได้จากการย่อยสลายคือคาร์บอนไดออกไซด์ กรดอินทรีย์ และแร่ธาตุต่างๆ เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ซัลเฟอร์ และฮิวมัส นับได้ว่าเป็นการปลดปล่อยธาตุอาหารและองค์ประกอบทางเคมีกลับคืนสู่ดินทำให้ดินอุดมสมบูรณ์และพืชสามารถนำกลับมาใช้ประโยชน์ได้ (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2541) สารเมือกที่สร้างจากรามีคุณสมบัติค่อนข้างเหนียวและเป็นตัวเชื่อมยึดเม็ดดินให้จับตัวกันเป็นก้อนอย่างถาวร (aggregate) และเส้นใยของราสามารถแผ่กระจายปกคลุมผิวดินทำให้ดินมีความพรุนสามารถดูดซับน้ำได้มากขึ้น (คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา, 2526) ราถือเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่สำคัญเนื่องจากมีงานวิจัยการใช้ประโยชน์จากราหลายสาขา ทั้งทางการแพทย์ อุตสาหกรรม และโดยเฉพาะทางการเกษตรราได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในทางการเกษตรมากมาย เช่น รา *Gibberella fujikuroi* (*Fusarium moniliforme*) สร้างสาร gibberellin เป็นฮอร์โมนพืชทำให้พืชเจริญดีขึ้น รา *Trichoderma* sp. นำมาใช้ควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี และช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยปุ๋ยหมักเนื่องจากเป็นราที่สร้างเอนไซม์ หลายชนิด (เลขา และคณะ, 2549) *Trichoderma* spp. เป็นราดินที่สำคัญสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ (Harman *et al*., 2004; Qi and Zhao, 2013) นอกจากราดินแล้วยังมีราอีกกลุ่มที่อาศัยอยู่ในพืชโดยไม่ทำให้พืชอาศัยเกิดโรคหรือได้รับความเสียหาย รากลุ่มนี้เรียกว่า ราเอนโดไฟท์ (Arnold *et al*., 2007; Ganley *et al*., 2004; Oses *et al*., 2008; Schulz and Boyle, 2005) ราเอนโดไฟท์อยู่ร่วมกับพืชแบบพึ่งพาอาศัย และมีบทบาทสำคัญในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช โดยราเอนโดไฟท์จะผลิตฮอร์โมนพืชหลากหลายชนิด เช่น จิบเบอเรลลิน (GA), abscisic acid (ABA) และออกซิน (IAA) เป็นต้น สารคล้ายฮอร์โมนเหล่านี้มีบทบาทในการควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ส่งเสริมการออกดอก ยืดลำต้น การงอกของเมล็ดและการทำให้สุก มีงานวิจัยเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์จากราเอนโดไฟท์เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชจำนวนมาก (You *et al*., 2012; Farhana *et al*., 2019; Lubna *et al*., 2018) การศึกษาครั้งนี้แยกราได้ทั้งหมด 25 สายพันธุ์โดยแยกได้จากดิน 15 สายพันธุ์ แยกได้จากรากพืช 10 สายพันธุ์ จำแนกได้เป็น สกุล ชนิด ราทั้ง 25 สายพันธุ์มีความสามารถในการสร้าง IAA และ siderophore โดยราที่สร้าง IAA ได้ในปริมาณสูงมี 3 สายพันธุ์ได้แก่รา *A. niger* (4-69) *Aspergillus flavus* (1-30) และรา Sterile mycelium (2-25) ส่วนราที่สร้าง siderophore ได้มากสุดได้แก่รา *Penicillium* sp.(2-44) สำหรับราที่สามารถละลายฟอสเฟตได้พบจำนวน 10 สายพันธุ์ได้แก่ รา *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 2-44, รา *Talaromyces* sp. สายพันธุ์ 2-22, 3-29, 3-40 รา sterile mycelium สายพันธุ์ 3-32, 3-74 รา *Aspergillus niger* สายพันธุ์ 4-3, 4-69 และรา *Trichoderma* sp. สายพันธุ์ 4-16, 4-17 (ตารางที่ 7) ราในสกุล *Aspergillus* และ *Talaromyces* มีรายงานว่าสามารถละลายฟอสเฟตได้ (Nopparat *et. al*., 2007) จากการศึกษาของ Zhang *et al*. (2018) พบรา *Talaromyces auratiacus* และ รา *Aspergillus neoniger* มีความสามารถในการละลายฟอสเฟต และพบว่าราทั้งสองชนิดนี้สามารถอยู่รอดได้ในสภาพแวดล้อมที่เป็นกรดโดยราทั้งสองชนิดมีความสามารถอย่างมากในการปลดปล่อย P ที่ละลายน้ำได้ราทั้งสองมีศักยภาพในการประยุกต์ใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมได้ นอกจากนี้ยังพบราที่ไม่สร้างสปอร์ (sterile mycelium) สามารถละลายฟอสเฟตได้เช่นเดียวกัน เมื่อนำราทั้ง 25 สายพันธุ์ไปทดสอบความเป็นปฏิปักษ์กับ

ศูนย์วิทยทรัพยากร

ไรโซเบียม 3 สายพันธุ์พบว่า *Talaromyces* sp.(2-22) และ *Talaromyces* sp.(3-40) ไม่เป็นปฏิปักษ์กับ *B. Japonicum*และ*B. daqingense* รา *Trichoderma* sp.(4-16) ไม่เป็นปฏิปักษ์กับ *B. Japonicum* และ *B. Liaoningense* (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 7 ราดินที่สามารถสร้างสาร indole-3-Acetic Acid synthesis (IAA), siderophore และความสามารถในการละลายฟอสเฟต

สายพันธุ์	แหล่งที่มา	การผลิต IAA	การผลิต siderophore ค่าการเกิดวงใส(ซม.)	ค่าการละลาย P
Talaromyces sp.(2-22)	ดินแปลงถั่วเขียว	+	0.4±0.06	1.07 ±0.03
Penicillium sp.(2-44)	ดินแปลงถั่วเขียว	+	2.67±0.64	1.10 ±0.00
Talaromyces sp.(3-29)	ดินแปลงถั่วเหลือง	+	2.17±0.17	1.10 ±0.00
Sterile mycelium (3-32)	ดินแปลงถั่วเหลือง	+	1.0±0.00	1.10 ±0.01
Talaromyces sp.(3-40)	ดินแปลงถั่วเขียว	+	1.13±0.23	1.03 ±0.00
Sterile mycelium(3-74)	ดินแปลงถั่วเขียว	+	1.57±0.15	1.10 ±0.00
A. niger (4-3)	ดินแปลงถั่วเหลือง	+	0.5±0.00	1.10 ±0.00
Trichoderma sp.(4-16)	ดินแปลงถั่วเหลือง	+	0.7±0.00	1.03 ±0.00
Trichoderma sp.(4-17)	ดินแปลงถั่วเขียว	+	1.93±0.23	1.07 ±0.02
A. niger (4-69)	ดินแปลงถั่วเหลือง	+++	0.5±0.00	1.00 ±0.01
Neosartorya sp.(1-10)	ดินแปลงถั่วเหลือง	+	0.5±0.00	0.00±0.00
Xylaria sp. (1-31)	รากถั่วเขียว	+	1.8±0.17	0.00±0.00
Trichoderma sp.(2-1)	รากถั่วเขียว	+	0.5±0.00	0.00±0.00
Trichoderma sp.(2-14)	รากถั่วเขียว	+	1.0±0.00	0.00±0.00
N. tetanoi (3-17)	รากถั่วเหลือง	+	0.97±1.36	0.00±0.00
N. takakii (2-34)	รากถั่วเหลือง	+	0.77±0.00	0.00±0.00
T. harzianum (4-35)	ดินแปลงปอเทือง	+	0.5±0.00	0.00±0.00
T. harzianum(4-28)	ดินแปลงปอเทือง	++	0.5±0.00	0.00±0.00
N. spinosa (3-10)	ดินแปลงถั่วเขียว	++	1.0±0.00	0.00±0.00
Talaromyces flavus (4-5)	ดินแปลงถั่วเขียว	++	0.4±0.06	0.00±0.00
Hamigera avellanea (2-10)	รากปอเทือง	+	0.5±0.00	0.00±0.00
Xylaria sp. (3-22)	รากปอเทือง	+	0.7±0.00	0.00±0.00
Xylaria sp. (4-13)	รากถั่วเขียว	+	2.0±0.06	0.00±0.00
Aspergillus flavus (1-30)	รากถั่วเหลือง	+++	1.8±0.40	0.00±0.00
Sterile mycelium (2-25)	รากถั่วเหลือง	+++	2.23±0.55	0.00±0.00

การผลิต AIA + = เกิดสีชมพู สร้าง IAA (+ = ต่ำ, ++ = ปานกลาง, +++ = สูง), - = ไม่เกิดสีชมพู ไม่สร้าง IAA

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 8 การยับยั้งเชื้อไรโซเบียมโดยราดินสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่แยกได้จากดินและรากพืช

รหัสเชื้อ	การยับยั้งเชื้อไรโซเบียม		
	B. japonicum DASA 02006	*B. liaoningense* DASA 01001	*B. daqingense* DASA 03084
Talaromyces sp.(2-22)	-	+	-
Penicillium sp.(2-44)	+	+	+
Talaromyces sp.(3-29)	+	+	+
Sterile mycelium (3-32)	+	+	+
Talaromyces sp.(3-40)	-	+	-
Sterile mycelium(3-74)	+	+	+
A. niger (4-3)	+	+	+
Trichoderma sp.(4-16)	-	-	+
Trichoderma sp.(4-17)	+	+	+
A. niger (4-69)	+	+	+
Neosartorya sp.(1-10)	+	+	+
Xylaria sp. (1-31)	+	+	+
Trichoderma sp.(2-1)	+	+	+
Trichoderma sp.(2-14)	+	+	+
N. tetanoi (3-17)	+	+	+
N. takakii (2-34)	+	+	+
T. harzianum (4-35)	+	+	+
T. harzianum(4-28)	+	+	+
N. spinosa	+	+	+
Talaromyces flavus ()	+	+	+
Hamigera avellanea (2-10)	+	+	+
Xylaria sp. (3-22)	+	+	+
Eupenicillium sp. (4-13)	+	+	+
Aspergillus flavus (1-30)	+	+	+
Sterile mycelium (2-25)	+	+	+

หมายเหตุ - = ไม่มีกิจกรรมการยับยั้งไรโซเบียม

\+ = มีกิจกรรมการยับยั้งไรโซเบียม

กรมวิชาการเกษตร

3. การทดสอบในสภาพกระถางทดลอง ทำการศึกษาทดลองในโรงเรือนของกลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน

ในปีที่ 1และ2 ทำการคัดแยกและทดสอบประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตแต่ละกลุ่ม การทดลองในปีที่ 3 ได้คัดเลือกจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตจำนวน 1 ชนิดได้แก่ *Azospirillum brasilense* สายพันธุ์ TS13 เพื่อนำมาทดสอบการทำงานร่วมกับไรโซเบียมในการผลิตถั่วเหลืองและถั่วเขียวในระดับกระถางทดลอง วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 3 ซ้ำ 12 กรรมวิธี โดยนำดินจากแปลงปลูกถั่วของศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ มาใช้ในการทดลองในระดับกระถาง

3.1 ผลการปลูกเชื้อร่วมระหว่าง *Azospililum brasilense* และไรโซเบียมในการผลิตถั่วเขียวในกระถางทดลอง

ผลการทดลองพบว่ากรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-1.44-1.44 กรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อดิน 20 กิโลกรัม ร่วมกับไรโซเบียม มีจำนวนปมรากถั่วเขียวมากที่สุดเท่ากับ 332 ปมต่อต้นรองลงมาได้แก่กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมเพียงอย่างเดียว มีจำนวนปมเท่ากับ 297 ปมต่อต้น ซึ่งทั้งสองกรรมวิธีนี้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-1.44-1.44 กรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อดิน 20 กิโลกรัม น้ำหนักสดปม น้ำหนักแห้งปม น้ำหนักสดราก และน้ำหนักแห้งรากไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ความสามารถในการตรึงไนโตรเจนในพบว่ากรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 1.44-1.44-1.44 กรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อดิน 20 กิโลกรัมร่วมกับไรโซเบียมและ PGPR กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-1.44-1.44 กรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อดิน 20 กิโลกรัม ร่วมกับไรโซเบียมและ PGPR มีค่าการตรึงไนโตรเจนสูงที่สุดเท่ากับ 54.64 ไมโครโมล C_2H_4ต่อต้นต่อชั่วโมง และ 63.52 ไมโครโมล C_2H_4ต่อต้นต่อชั่วโมง ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างกับกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ยและกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมเพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 9)

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 9 จำนวนปม น้ำหนักสดปม น้ำหนักแห้งปม น้ำหนักสดราก น้ำหนักแห้งราก และความสามารถในการตรึงไนโตรเจน ของถั่วเขียวที่ปลูกในกระถางทดลอง

กรรมวิธี	จำนวนปม (ปม)	น้ำหนักสดปม (ก./ต้น)	น้ำหนักแห้งปม (ก./ต้น)	น้ำหนักสดราก (ก./ต้น)	น้ำหนักแห้งราก (ก./ต้น)	ค่าการตรึงไนโตรเจน (µmol C_2H_4/ต้น/ชม.)
1. ไม่ใส่ปุ๋ย (วิธีควบคุม)	198 ab	2.27	0.40	4.13	0.91	18.46 c
2. ใส่ไรโซเบียมเพียงอย่างเดียว	297 a	2.46	0.49	5.59	1.35	27.95 bc
3. ใส่ PGPR เพียงอย่างเดียว	217 ab	2.81	0.52	4.98	1.02	46.98 ab
4. ใส่ไรโซเบียม + PGPR	263 ab	2.17	0.42	4.10	0.94	37.23 abc
5. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 1.44-1.44-1.44 ก. N-P_2O_5-K_2O/ดิน 20 กก.	277 ab	2.88	0.50	5.55	1.18	40.62 abc
6. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 1.44-1.44-1.44 ก. N-P_2O_5-K_2O/ดิน 20 กก. + ไรโซเบียม	254 ab	2.38	0.44	4.77	1.21	41.49 abc
7. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 1.44-1.44-1.44 ก. N-P_2O_5-K_2O/ดิน 20 กก. + PGPR	209 ab	2.42	0.42	5.44	1.28	45.03 abc
8. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 1.44-1.44-1.44 ก. N-P_2O_5-K_2O/ดิน 20 กก. +ไรโซเบียม + PGPR	186 ab	1.89	0.35	4.79	1.51	54.64 a
9. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-1.44-1.44 ก. N-P_2O_5-K_2O/ดิน 20 กก.	127 b	1.95	0.29	4.07	0.90	44.92 abc
10. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-1.44-1.44 ก. N-P_2O_5-K_2O/ดิน 20 กก. + ไรโซเบียม	332 a	2.59	0.47	4.63	1.09	49.41 ab
11. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-1.44-1.44 ก. N-P_2O_5-K_2O/ดิน 20 กก. + PGPR	235 ab	2.61	0.45	5.65	1.31	50.87 ab
12. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-1.44-1.44 ก. N-P_2O_5-K_2O/ดิน 20 กก.+ไรโซเบียม + PGPR	186 ab	1.90	0.37	5.83	1.45	63.52 a
CV %	34.35	22.73	22.43	19.44	18.7	26.84

หมายเหตุ: ค่าที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเดียวกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระดับ 5% โดย DMRT

กรมวิชาการเกษตร

3.2 ผลการปลูกเชื้อร่วมระหว่าง *Azospililum brasilense* และไรโซเบียมในการผลิตถั่วเหลืองในกระถางทดลอง

ผลการทดลองพบว่ากรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-1.44-1.44 กรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อดิน 20 กิโลกรัมร่วมกับไรโซเบียม มีจำนวนปมรากถั่วเหลืองมากที่สุดเท่ากับ 86 ปมต่อต้นรองลงมาได้แก่กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-1.44-1.44 กรัม N-P_2O_5-K_2O/ดิน 20 กิโลกรัม ร่วมกับไรโซเบียมและPGPR มีจำนวนปมเท่ากับ 83 ปมต่อต้น ซึ่งทั้งสองกรรมวิธีนี้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุก ๆ กรรมวิธีที่ไม่มีการใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม (กรรมวิธีที่ 1 3 5 7 9 และ11) น้ำหนักสดปมพบว่าทุก ๆ กรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม (กรรมวิธีที่ 2 4 6 10และ 12) มีน้ำหนักสดปมที่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมอย่างมีนัยทางสถิติ โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 1.97-2.30 กรัม กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมร่วมกับPGPR มีน้ำหนักสดแห้งปมมากที่สุดเท่ากับ 0.55 กรัม ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม และกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 1.44-1.44-1.44 กรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อดิน 20 กิโลกรัม ร่วมกับPGPR น้ำหนักสดรากและน้ำหนักแห้งรากไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ความสามารถในการตรึงไนโตรเจนพบว่ากรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 1.44-1.44-1.44 กรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อดิน 20 กิโลกรัม ร่วมกับไรโซเบียม และPGPR และกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-1.44-1.44 กรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อดิน 20 กิโลกรัม ร่วมกับไรโซเบียมและPGPR ให้ค่าการตรึงไนโตรเจนสูงที่สุดเท่ากับ 66.21 และ 70.70 ไมโครโมล C_2H_4 ต่อต้นต่อชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 2 กรรมวิธีนี้มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุมและกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีหรือปุ๋ยชีวภาพตัวใดตัวหนึ่งเพียงอย่างเดียว (กรรมวิธีที่ 2 3 6 7 และ9) (ตารางที่ 10)

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 10 จำนวนปม น้ำหนักสดปม น้ำหนักแห้งปม น้ำหนักสดราก น้ำหนักแห้งราก และความสามารถในการตรึงไนโตรเจน ของถั่วเหลืองที่ปลูกในกระถางทดลอง

กรรมวิธี	จำนวนปม (ปม)	น้ำหนักสดปม (ก./ต้น)	น้ำหนักแห้งปม (ก./ต้น)	น้ำหนักสดราก (ก./ต้น)	น้ำหนักแห้งราก (ก./ต้น)	ค่าการตรึงไนโตรเจน (µmol C_2H_4/ต้น/ชม.)
1. ไม่ใส่ปุ๋ย (วิธีควบคุม)	11.7 d	0.14 d	0.07 c	4.23	1.05	16.74 c
2. ใส่ไรโซเบียมเพียงอย่างเดียว	60 abc	1.97 a	0.45 ab	3.94	0.98	30.04 bc
3. ใส่ PGPR เพียงอย่างเดียว	25 d	0.81 cd	0.30 abc	4.17	0.98	33.98 bc
4. ใส่ไรโซเบียม + PGPR	56 abc	2.30 a	0.55 a	5.52	1.34	54.18 ab
5. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 1.44-1.44-1.44 ก. N-P_2O_5-K_2O/ดิน 20 กก.	36 bcd	1.12 bc	0.40 ab	5.09	1.09	46.47 abc
6. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 1.44-1.44-1.44 ก. N-P_2O_5-K_2O/ดิน 20 กก. + ไรโซเบียม	61 ab	2.10 a	0.49 ab	6.03	1.45	32.77 bc
7. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 1.44-1.44-1.44 ก. N-P_2O_5-K_2O/ดิน 20 กก. + PGPR	22 d	0.57 cd	0.22 bc	3.90	0.95	28.19 bc
8. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 1.44-1.44-1.44 ก. N-P_2O_5-K_2O/ดิน 20 กก. +ไรโซเบียม + PGPR	62 ab	1.67 ab	0.42 ab	4.25	1.06	66.21 a
9. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-1.44-1.44 ก. N-P_2O_5-K_2O/ดิน 20 กก.	35 bcd	0.58 cd	0.28 abc	4.19	1.13	33.30 bc
10. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-1.44-1.44 ก. N-P_2O_5-K_2O/ดิน 20 กก. + ไรโซเบียม	86 a	2.05 a	0.50 ab	4.53	1.02	40.15 abc
11. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-1.44-1.44 ก. N-P_2O_5-K_2O/ดิน 20 กก. + PGPR	30 cd	0.89 cd	0.27 abc	4.77	1.07	48.86 ab
12. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-1.44-1.44 ก. N-P_2O_5-K_2O/ดิน 20 กก.+ไรโซเบียม + PGPR	83 a	2.07 a	0.48 ab	5.17	1.25	70.70 a
CV %	28.08	25.20	26.12	25.08	23.9	43.48

กรมวิชาการเกษตร

4. การทดสอบในสภาพแปลงทดลอง ทำการศึกษาทดลองที่ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่

จากผลการทดลองในระดับกระถางทดลองในปีที่ 4 ทำการทดสอบในระดับแปลงทดลองโดยปลูกถั่วเหลืองและถั่วเขียว ในแปลงทดลองตามแผนการทดลองที่วางไว้ ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ เมื่อวันที่ 17-19 ธันวาคม 2562 ก่อนปลูกถั่วได้นำดินในแปลงปลูกถั่วทั้งสองแปลงมาวิเคราะห์ธาตุอาหาร พบว่าดินในแปลงปลูกถั่วเขียวมีค่าอินทรียวัตถุเท่ากับ 0.456 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์เท่ากับ 188.38 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมและโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้เท่ากับ 80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แปลงปลูกถั่วเหลืองมีค่าอินทรียวัตถุเท่ากับ 0.456 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์เท่ากับ 177.38 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมและโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้เท่ากับ 80 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 10) นำดินในแปลงปลูกถั่วมาหาปริมาณเชื้อไรโซเบียมในดินโดยวิธี Most Probable Number (MPN) พบว่าแปลงทดลองที่ ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ มีปริมาณเชื้อไรโซเบียมในแปลงปลูกถั่วเหลืองเท่ากับ 400 เซลล์ต่อดิน 1 กรัม ปริมาณเชื้อไรโซเบียมในแปลงปลูกถั่วเขียวเท่ากับ 200 เซลล์ต่อดิน 1 กรัม

ตารางที่ 10 ผลวิเคราะห์ดินก่อนปลูกของแปลงปลูกถั่วเขียวและถั่วเหลืองที่ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่

	Organic matter (%)	Available P (mg/kg)	Exchangeable K (mg/kg)
แปลงถั่วเขียว	0.456	188.38	80
แปลงถั่วเหลือง	0.456	177.38	79.80

4.1 ผลการปลูกเชื้อร่วมระหว่าง *Azospililum brasilense* และไรโซเบียมเพื่อการผลิตถั่วเขียวในแปลงทดลอง

เมื่อต้นถั่วเขียวอายุ 56 วัน ดำเนินการวัดประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนเมื่อวันที่ 12 กุมภาพันธ์ 2563 ผลการทดลองพบว่าจำนวนปมในทุก ๆ กรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ กรรมวิธีที่ใส่ไรโซเบียม + PGPR มีจำนวนปมต่อต้นมากที่สุดเท่ากับ 312 ปมต่อต้น กรรมวิธีที่มีจำนวนปมต่อต้นน้อยที่สุดเท่ากับ 124 ปมต่อต้น ได้แก่กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมี 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับ PGPR น้ำหนักสดปมและน้ำหนักแห้งปมเป็นไปในทิศทางเดียวกันคือ กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมี 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับไรโซเบียมและPGPR มีน้ำหนักสดปมและน้ำหนักแห้งปมมากที่สุดเท่ากับ 3.62 และ 0.51 กรัมต่อต้น ตามลำดับ โดยกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมี 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับPGPR มีความแตกต่างจากกรรมวิธีควบคุม กรรมวิธีที่ ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่ และกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับPGPR อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ น้ำหนักสดราก และน้ำหนักแห้งรากในกรรมวิธีที่ใส่ไรโซเบียมร่วมกับ PGPR กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับไรโซเบียม และกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมี 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับไรโซเบียมและPGPR มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม และกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับ PGPR โดยกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับ

กรมวิชาการเกษตร

ไรโซเบียม และPGPR มีน้ำหนักสดราก และน้ำหนักแห้งรากสูงสุดเท่ากับ 14.12 และ3.26 กรัมต่อต้น ตามลำดับ กรรมวิธีควบคุมเป็นกรรมวิธีที่มีน้ำหนักสดรากน้อยที่สุดเท่ากับ 6.67 กรัมต่อต้น ส่วนกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพ PGPR มีน้ำหนักแห้งรากน้อยที่สุดเท่ากับ 1.61 กรัมต่อต้น น้ำหนักสดต้น และน้ำหนักแห้งต้นในกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับไรโซเบียมและPGPR มีค่ามากที่สุดเท่ากับ 142.05 กรัมต่อต้น และ24.08 กรัมต่อต้น ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียว และกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับPGPR กรรมวิธีที่มีน้ำหนักสดต้น และน้ำหนักแห้งต้นน้อยที่สุดคือกรรมวิธีควบคุม มีน้ำหนักสดต้น เท่ากับ 89.78 และน้ำหนักแห้งต้น 15.18 กรัมต่อต้น ค่าการตรึงไนโตรเจนพบว่ากรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมร่วมกับปุ๋ยชีวภาพPGPR มีค่าการตรึงไนโตรเจนมากที่สุดเท่ากับ 51.38 ไมโคโมล C_2H_4 ต่อต้นพืชต่อชั่วโมง ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียว กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม และกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพ PGPR รองลงมาได้แก่กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับไรโซเบียมและPGPR มีค่าการตรึงไนโตรเจนเท่ากับ 36.073 ไมโคโมล C_2H_4 ต่อต้นพืชต่อชั่วโมง และเป็นกรรมวิธีที่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (ตารางที่11 12)

ตารางที่11 จำนวนปม น้ำหนักสดปม น้ำหนักสดราก และน้ำหนักสดต้น ของต้นถั่วเขียวในระยะออกดอก อายุ 56 วันหลังปลูก แปลงทดลอง ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่

กรรมวิธี	จำนวนปม/ต้น	น้ำหนักสดปม (กรัม)/ต้น	น้ำหนักสดราก (กรัม) /ต้น	น้ำหนักสดต้น (กรัม) /ต้น
1. ไม่ใส่ปุ๋ย (วิธีควบคุม)	174	1.82 bc	6.67 b	89.78 c
2. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่	130	1.68 c	10.71 ab	99.75 bc
3. ใส่ไรโซเบียม + PGPR	312	2.97 ab	13.51 a	126.19 ab
4. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ + ไรโซเบียม	283	2.8 abc	12.72 a	126.51 ab
5. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ + PGPR	124	1.99 bc	6.80 b	96.03 bc
6. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P2O5-K2O/ไร่ + ไรโซเบียม + PGPR	230	3.62 a	14.12 a	142.05 a
CV	33.02	39.60	28.86	24.99

หมายเหตุ: ค่าที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเดียวกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระดับ 5% โดย DMRT

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่12 ข้อมูลน้ำหนักแห้งปม น้ำหนักแห้งราก น้ำหนักแห้งต้น และค่าการตรึงไนโตรเจนของไรโซเบียมและ PGPR ในปมรากต้นถั่วเขียวระยะออกดอก อายุ 56 วันหลังปลูก แปลงทดลอง ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่

กรรมวิธี	น้ำหนักแห้งปม (กรัม) / ต้น	น้ำหนักแห้งราก (กรัม/ต้น)	น้ำหนักแห้งต้น (กรัม)/ต้น	ค่าการตรึงไนโตรเจน (µmol C_2H_4 ต่อต้น พืชต่อชั่วโมง
1. ไม่ใส่ปุ๋ย (วิธีควบคุม)	0.28 bc	1.63 b	15.18 c	23.833 b
2. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่	0.24 c	2.35 ab	16.43 bc	31.21 b
3. ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม + PGPR	0.45 ab	3.14 a	21.33 ab	51.38 a
4. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ + ไรโซเบียม	0.41 abc	2.87 a	21.14 ab	33.27 b
5. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ + PGPR	0.31 bc	1.61 b	18.22 bc	20.73 b
6. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ + ไรโซเบียม + PGPR	0.51 a	3.26 a	24.08 a	36.07 ab
CV %	39.75	30.51	22.01	45.89

หมายเหตุ: ค่าที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเดียวกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระดับ 5% โดย DMRT

สุ่มเก็บตัวอย่างถั่วเขียว จำนวน 10 ต้นต่อแปลงทดลองในแต่ละกรรมวิธี ณ วันเก็บเกี่ยวพบว่าความสูงของต้นถั่วเขียวไม่มีความแตกต่างทางสถิติในทุก ๆ กรรมวิธี ข้อมูลน้ำหนักสดได้แก่ น้ำหนักสดต้นในกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับไรโซเบียมและPGPR ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมและPGPR กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับไรโซเบียม และกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับPGPR และพบว่ากรรมวิธีควบคุมมีความแตกต่างกับทุก ๆ กรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ย แต่ไม่มีความแตกต่างกับกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพ PGPR น้ำหนักสดรากในกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียว มีความแตกต่างกับกรรมวิธีควบคุมและกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพ PGPR และไม่มีความแตกต่างกับกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมและปุ๋ยชีวภาพ PGPR กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม และกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมและPGPR ซึ่งทั้ง 3 กรรมวิธีดังกล่าวเป็นกรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมร่วมด้วย ส่วนน้ำหนักสดเมล็ดของกรรมวิธีควบคุม มีความแตกต่างทางสถิติกับทุก ๆ กรรมวิธีโดยมีน้ำหนักเมล็ดน้อยที่สุด เท่ากับ 90 กรัม ข้อมูลน้ำหนักแห้งพบว่าน้ำหนักแห้งต้นเป็นไปในทิศทางเดียวกับน้ำหนักสดต้นคือ กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียวไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมและPGPR แต่มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมร่วมกับปุ๋ยชีวภาพ PGPR โดยไม่ใส่ปุ๋ยเคมี และกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่ปุ๋ย ในขณะที่น้ำหนักแห้งรากพบว่ากรรมวิธีการใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพ PGPR เพียงอย่างเดียว มี

กรมวิชาการเกษตร

น้ำหนักแห้งรากน้อยที่สุดและมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น ๆ ยกเว้นกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่ปุ๋ย น้ำหนักแห้งเมล็ดเป็นไปในทิศทางเดียวกับน้ำหนักสดเมล็ด คือ กรรมวิธีที่ไม่มีการใส่ปุ๋ยจะมีน้ำหนักแห้งเมล็ดน้อยที่สุดและมีความแตกต่างทางสถิติกับทุก ๆ กรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยเคมีและปุ๋ยชีวภาพ (ตารางที่ 13 14)

ตารางที่13 ข้อมูลความสูงและองค์ประกอบผลผลิตของถั่วเขียวที่ปลูกด้วยกรรมวิธีต่าง ๆ ณ วันเก็บเกี่ยว

กรรมวิธี	ความสูงต้น (ซม.)	จำนวนฝัก/ต้น	จำนวนเมล็ด/ต้น	น้ำหนักเมล็ด (กรัม)
1. ไม่ใส่ปุ๋ย (วิธีควบคุม)	58.0	20 c	39 b	90.0 b
2. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่	52.4	45 a	95 a	180.9 a
3. ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม + PGPR	57.8	41 ab	84 a	166.3 a
4. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ + ไรโซเบียม	57.8	26 c	54 b	158.7 a
5. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ + PGPR	55.9	28 bc	56 b	145.8 a
6. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ + ไรโซเบียม + PGPR	55.2	47 a	97 a	148.6 a
CV %	7.79	13.99	15.2	26.00

หมายเหตุ: ค่าที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเดียวกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระดับ 5% โดย DMRT

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 14 น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้น ราก เปลือก และเมล็ดของถั่วเขียวสุ่มเก็บตัวอย่างจำนวน 10 ต้น ณ วันเก็บเกี่ยว

กรรมวิธี	น้ำหนักสด (กรัม/ 10 ต้น)			น้ำหนักแห้ง (กรัม/10 ต้น)		
	น้ำหนักต้น	น้ำหนักราก	น้ำหนักเมล็ด	น้ำหนักต้น	น้ำหนักราก	น้ำหนักเมล็ด
1. ไม่ใส่ปุ๋ย (วิธีควบคุม)	45.0 c	15.2 bc	90.0 b	43.1 c	14.2 bc	77.3 b
2. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่	76.7 a	21.8 a	180.9 a	72.8 a	20.5 a	167.4 a
3. ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม + PGPR	61.7 b	17.5 abc	166.3 a	59.2 b	16.5 ab	155.2 a
4. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ + ไรโซเบียม	61.3 b	19.9 ab	158.7 a	58.9 b	18.7 a	147.5 a
5. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ + PGPR	52.3 bc	14.6 c	145.8 a	50.6 bc	12.3 c	135.0 a
6. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ + ไรโซเบียม + PGPR	70.1 a	19.2 abc	148.6 a	68.4 a	18.3 a	132.7 a
CV %	19.18	19.00	26.00	18.87	20.25	28.18

หมายเหตุ: ค่าที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเดียวกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระดับ 5% โดย DMRT

ข้อมูลผลผลิตในพื้นที่เก็บเกี่ยวขนาด 4 x 4 เมตร พบว่าน้ำหนักเมล็ดและน้ำหนักเมล็ดดีในกรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมร่วมกับปุ๋ยชีวภาพ PGPR มีน้ำหนักเมล็ดสูงและมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่ปุ๋ยอย่างไรก็ตามพบว่าการใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ เพียงอย่างเดียวน้ำหนักเมล็ดในพื้นที่เก็บเกี่ยวไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพและไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ย เมื่อคิดพื้นที่เป็นไร่พบว่าน้ำหนักเมล็ดและน้ำหนักเมล็ดดีเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับในพื้นที่เก็บเกี่ยว ส่วนน้ำหนักเมล็ดเสียและน้ำหนัก 100 เมล็ด ในพื้นที่เก็บเกี่ยวไม่มีความแตกต่างทางสถิติในทุก ๆ กรรมวิธี (ตารางที่ 15)

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 15 ข้อมูลผลผลิตในพื้นที่เก็บเกี่ยวขนาด 4 X 4 น้ำหนักเมล็ด น้ำหนักเมล็ดดี น้ำหนักเมล็ดเสีย น้ำหนัก 100 เมล็ด และน้ำหนักเมล็ดและน้ำหนักเมล็ดดีต่อไร่ของถั่วเขียว ณ วันเก็บเกี่ยว

กรรมวิธี	น้ำหนักเมล็ด (กก./พื้นที่เก็บเกี่ยว)	น้ำหนักเมล็ดดี (กก./พื้นที่เก็บเกี่ยว)	น้ำหนักเมล็ดเสีย (กก./พื้นที่เก็บเกี่ยว)	น้ำหนัก 100 เมล็ด (กรัม/พื้นที่เก็บเกี่ยว)	น้ำหนักเมล็ด (กก./ไร่)	น้ำหนักเมล็ดดี (กก./ไร่)
1. ไม่ใส่ปุ๋ย (วิธีควบคุม)	1.01 b	0.83 b	0.18	8.85	101.3 b	83.3 b
2. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่	1.65 ab	1.47 ab	0.19	8.42	165.3 ab	146.7 ab
3. ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม + PGPR	2.17 a	1.87 a	0.31	8.88	217.3 a	186.7 a
4. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ + ไรโซเบียม	1.73 ab	1.37 ab	0.37	8.58	173.3 ab	136.7 ab
5. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา3-3-3 กก. N-P_2O5-K_2O/ไร่ + PGPR	1.98 ab	1.63 ab	0.35	8.62	198.0 ab	163.3 ab
6. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ + ไรโซเบียม + PGPR	2.11 a	1.80 a	0.40	8.55	211.3 a	180.0 a
CV %	33.63	36.14	43.08	4.30	33.63	36.14

หมายเหตุ: ค่าที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเดียวกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระดับ 5% โดย DMRT

4.2 ผลการปลูกเชื้อร่วมระหว่าง *Azospililum brasilense* และไรโซเบียมเพื่อการผลิตถั่วเหลืองในแปลงทดลอง

เมื่อต้นถั่วเหลืองอายุ 56 วัน ดำเนินการวัดประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนในวันที่ 12 กุมภาพันธ์ 2563 ผลการทดลองพบว่าจำนวนปมของกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมี 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับไรโซเบียม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุก ๆ กรรมวิธีและเป็นกรรมวิธีที่มีจำนวนปมต่อต้นมากที่สุดเท่ากับ 147 ปมต่อต้น รองลงมาได้แก่กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมร่วมกับPGPR และกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมี 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O/ไร่ ร่วมกับไรโซเบียมและPGPR มีจำนวนปมต่อต้นเท่ากับ 102 และ 89 ปมต่อต้นซึ่งในกรรมวิธีที่ใส่เฉพาะปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมร่วมกับปุ๋ยชีวภาพ PGPR และ กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมและปุ๋ยชีวภาพ PGPR ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ กรรมวิธีที่มีจำนวนปมต่อต้นน้อยที่สุดได้แก่กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมี 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ มีจำนวนปมต่อต้นเท่ากับ 25 ปมต่อต้น และพบว่ากรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่เพียงอย่างเดียว และกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับPGPR ไม่มีความแตกต่างกับกรรมวิธีควบคุม น้ำหนักสดปมและน้ำหนักแห้งปมเป็นไปในทิศทางเดียวกับจำนวนปมคือกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับไรโซเบียมมี

กรมวิชาการเกษตร

น้ำหนักสดปมและน้ำหนักแห้งปมมากที่สุดเท่ากับ 4.06 กรัมต่อต้น และ 0.93 กรัมต่อต้น ตามลำดับ โดยในกรรมวิธีนี้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุก ๆ กรรมวิธี พบว่ากรรมวิธีที่ใส่ไรโซเบียม ร่วมกับPGPR เพียงอย่างเดียวและกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ ต่อไร่ ร่วมกับไรโซเบียม และPGPR ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียวมีน้ำหนักสดปมและน้ำหนักแห้งปมน้อยที่สุดเท่ากับ 0.23 กรัมต่อต้นและ 0.05 กรัมต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งเป็นกรรมวิธีที่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม และกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพ PGPR น้ำหนักสดรากในทุก ๆ กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม ซึ่งเป็นกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่ปุ๋ยเคมีและปุ๋ยชีวภาพ น้ำหนักแห้งรากในกรรมวิธีที่ใส่เฉพาะปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมร่วมกับปุ๋ยชีวภาพ PGPR และกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม กรรมวิธีที่ใส่เฉพาะปุ๋ยเคมี และกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมี่ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพ PGPR โดยมีน้ำหนักแห้งรากสูงสุดเท่ากับ 3.35 กรัมต่อต้น กรรมวิธีควบคุมเป็นกรรมวิธีที่มีน้ำหนักแห้งรากน้อยที่สุดและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับทุก ๆ กรรมวิธี โดยมีน้ำหนักแห้งรากเท่ากับ 1.74 กรัมต่อต้น น้ำหนักสดต้นในกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียวมีค่ามากที่สุดเท่ากับ 122.88 กรัมต่อต้น โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม กรรมวิธีที่ใส่เฉพาะปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมและปุ๋ยชีวภาพ PGPR กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโวเบียม และกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพ PGPR น้ำหนักแห้งต้นไม่พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติในทุก ๆ กรรมวิธี โดยกรรมวิธีที่มีน้ำหนักแห้งต้นมากที่สุดคือกรรมวิธีที่ใส่เฉพาะปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมร่วมกับปุ๋ยชีวภาพ PGPR ซึ่งมีน้ำหนักแห้งต้นเท่ากับ 24.46 กรัมต่อต้น ค่าการตรึงไนโตรเจนพบว่ากรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม มีค่าการตรึงไนโตรเจนมากที่สุดเท่ากับ 64.94 ไมโครโมล C_2H_4ต่อต้นพืชต่อชั่วโมงและเป็นกรรมวิธีที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับทุก ๆ กรรมวิธี (ตารางที่16 17)

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 16 จำนวนปม น้ำหนักสดปม น้ำหนักสดราก และน้ำหนักสดต้น ของต้นถั่วเหลืองในระยะออกดอก อายุ 56 วันหลังปลูก แปลงทดลอง ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่

กรรมวิธี	จำนวนปม/ต้น	น้ำหนักสดปม (กรัม)/ต้น	น้ำหนักสดราก (กรัม) /ต้น	น้ำหนักสดต้น (กรัม) /ต้น
1. ไม่ใส่ปุ๋ย (วิธีควบคุม)	45 c	0.35 c	7.68 b	71.81 c
2. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่	25 c	0.23 c	11.71 a	122.88 a
3. ใส่ไรโซเบียม + PGPR	102 b	3.11 b	12.79 a	94.23 bc
4. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ + ไรโซเบียม	142 a	4.60 a	12.08 a	87.39 bc
5. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ + PGPR	38 c	0.77 c	11.58 a	79.83 bc
6. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P2O_5-K2O/ไร่ + ไรโซเบียม + PGPR	89 b	2.25 b	13.17 a	101.71 ab
CV %	33.02	44.5	13.08	18.23

หมายเหตุ: ค่าที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเดียวกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระดับ 5% โดย DMRT

ตารางที่ 17 ข้อมูลน้ำหนักแห้งปม น้ำหนักแห้งราก น้ำหนักแห้งต้น และค่าการตรึงไนโตรเจนของไรโซเบียมและ PGPR ในปมรากต้นถั่วเหลืองระยะออกดอก อายุ 56 วันหลังปลูก แปลงทดลอง ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่

กรรมวิธี	น้ำหนักแห้งปม (กรัม) / ต้น	น้ำหนักแห้งราก (กรัม/ต้น)	น้ำหนักแห้งต้น (กรัม)/ต้น	ค่าการตรึงไนโตรเจน (µmol C_2H_4 ต่อต้นพืชต่อชั่วโมง
1. ไม่ใส่ปุ๋ย (วิธีควบคุม)	0.07 c	1.74 d	16.51	5.131 c
2. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่	0.05 c	2.63 c	22.87	3.801 c
3. ใส่ไรโซเบียม + PGPR	0.63 b	3.35 a	24.46	32.05 b
4. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ + ไรโซเบียม	0.93 a	3.28 a	22.52	64.91 a
5. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ + PGPR	0.17 c	2.76 bc	21.23	13.036 bc
6. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ + ไรโซเบียม + PGPR	0.53 b	3.24 ab	21.53	32.561 b
CV %	45.14	10.91	20.1	42.78

หมายเหตุ: ค่าที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเดียวกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระดับ 5% โดย DMRT

กรมวิชาการเกษตร

สุ่มเก็บตัวอย่างถั่วเหลือง จำนวน 10 ต้นต่อแปลงทดลองในแต่ละกรรมวิธี ณ วันเก็บเกี่ยวพบว่าความสูงของต้นถั่วไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ซึ่งพบว่าต้นถั่วมีความสูงอยู่ระหว่าง 35.3-42.4 เซนติเมตร จำนวนฝักต่อต้นในกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียว กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมร่วมกับปุ๋ยชีวภาพ PGPR และกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมและPGPR มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋บชีวภาพไรโซเบียม และกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพ PGPR โดยกรรมวิธีที่มีจำนวนฝักต่อต้นมากที่สุดได้แก่กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพทั้ง 2 ชนิด ซึ่งมีจำนวน 47 ฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อต้น ในกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียว กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมร่วมกับปุ๋ยชีวภาพ PGPR และกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพทั้ง 2 ชนิด มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม และกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพตัวใดตัวหนึ่งเพียงอย่างเดียว เช่นเดียวกับจำนวนเมล็ดต่อต้นพบว่ากรรมวิธีควบคุม และกรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพตัวใดตัวหนึ่งเพียงอย่างเดียว มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใส่เฉพาะปุ๋ยเคมี และกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมและปุ๋ยชีวภาพ PGPR ในส่วนของน้ำหนักเมล็ดพบว่ากรรมวิธีที่ใส่เฉพาะปุ๋ยเคมี กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมร่วมกับปุ๋ยชีวภาพ PGPR และกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมและปุ๋ยชีวภาพ PGPR ซึ่งทั้ง 3 กรรมวิธีดังกล่าวมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ยใด ๆ โดยกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมและปุ๋ยชีวภาพ PGPR มีน้ำหนักเมล็ดมากที่สุดเท่ากับ 132.1 กรัม (ตารางที่ 18)

ตารางที่18 ข้อมูลความสูงและองค์ประกอบผลผลิตของถั่วเหลืองที่ปลูกด้วยกรรมวิธีต่าง ๆ ณ วันเก็บเกี่ยว

กรรมวิธี	ความสูงต้น (ซม.)	จำนวนฝัก/ต้น	จำนวนเมล็ด/ต้น	น้ำหนักเมล็ด (กรัม/10 ต้น)
1. ไม่ใส่ปุ๋ย (วิธีควบคุม)	35.3	20 c	39 b	47.9 c
2. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่	39.3	45 a	95 a	112.8 ab
3. ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม + PGPR	42.4	41 ab	84 a	116.7 ab
4. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ + ไรโซเบียม	37.6	26 c	54 b	75.5 bc
5. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา3-3-3 กก. N-P_2O5-K_2O/ไร่ + PGPR	36.2	28 bc	56 b	74.4 bc
6. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ + ไรโซเบียม + PGPR	42.1	47 a	97 a	132.1 a
CV %	13.54	13.99	15.2	19.82

หมายเหตุ: ค่าที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเดียวกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระดับ 5% โดย DMRT

ข้อมูลน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งพบว่า น้ำหนักสดต้น น้ำหนักสดราก น้ำหนักเมล็ด จำนวน 10 ต้น ในกรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพทั้ง 2 ชนิด มีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ย กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพตัว

กรมวิชาการเกษตร

ใดตัวหนึ่งเพียงตัวเดียว โดยมีน้ำหนักสดต้นมากที่สุดเท่ากับ 31.8 กรัม น้ำหนักสดรากเท่ากับ 8.0 กรัม น้ำหนักสดเมล็ดเท่ากับ 132.1 กรัม ส่วนน้ำหนักแห้งของต้นและน้ำหนักแห้งเมล็ดเป็นไปในทิศทางเดียวกับน้ำหนักสด ส่วนน้ำหนักแห้งรากไม่มีความแตกต่างทางสถิติในทุก ๆ กรรมวิธี (ตารางที่ 19) จากผลการทดลองข้างต้นสามารถสรุปได้ว่าปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมและปุ๋ยชีวภาพ PGPR สามารถทำงานร่วมกันในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตของถั่วเหลืองได้ดีเทียบเท่าการใส่ปุ๋ยเคมี

ตารางที่19 น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้น ราก เปลือก และเมล็ดของถั่วเหลือง ณ วันเก็บเกี่ยว

กรรมวิธี	น้ำหนักสด (กรัม/10 ต้น)			น้ำหนักแห้ง (กรัม/10 ต้น)		
	น้ำหนักต้น	น้ำหนักราก	น้ำหนักเมล็ด	น้ำหนักต้น	น้ำหนักราก	น้ำหนักเมล็ด
1. ไม่ใส่ปุ๋ย (วิธีควบคุม)	14.8 c	5.6 c	47.9 c	13.7 c	4.9	45.9 c
2. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่	25.2 abc	7.1 ab	112.8 ab	23.4 ab	6.2	107.3 ab
3. ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม + PGPR	28.0 ab	7.4 bc	116.7 ab	26.2 ab	6.8	111.2 ab
4. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ + ไรโซเบียม	17.9 bc	6.2 bc	75.5 bc	16.5 c	5.4	72.1 bc
5. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา3-3-3 กก. N-P_2O5-K_2O/ไร่ + PGPR	19.0 bc	5.9 bc	74.4 bc	17.8 bc	5.4	71.0 bc
6. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ + ไรโซเบียม + PGPR	31.8 a	8.0 a	132.1 a	29.9 a	7.3	125.9 a
CV %	17.18	12.04	19.82	17.65	15.68	19.92

หมายเหตุ: ค่าที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเดียวกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระดับ 5% โดย DMRT

กรมวิชาการเกษตร

ข้อมูลผลผลิตในพื้นที่เก็บเกี่ยว 4 x 4 เมตร พบว่าน้ำหนักเมล็ดทั้งหมดและน้ำหนักเมล็ดดีในกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่ปุ๋ย มีความแตกต่างทางสถิติกับทุก ๆ กรรมวิธีโดยมีน้ำหนักเมล็ดน้อยที่สุดเท่ากับ 1.7 กิโลกรัม และน้ำหนักเมล็ดดีน้อยที่สุดเท่ากับ 1.0 กิโลกรัม ส่วนน้ำหนักเมล็ดเสียและน้ำหนัก 100 เมล็ดไม่มีความแตกต่างทางสถิติในทุก ๆ กรรมวิธี เมื่อคิดพื้นที่เป็นไร่พบว่าน้ำหนักเมล็ดและน้ำหนักเมล็ดดีในกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่ปุ๋ยมีความแตกต่างทางสถิติกับทุก ๆ กรรมวิธีเช่นเดียวกับในพื้นที่เก็บเกี่ยว 4 x 4 เมตร โดยมีน้ำหนักเมล็ดต่อไร่น้อยที่สุดเท่ากับ 170 กิโลกรัม และน้ำหนักเมล็ดดีน้อยที่สุดเท่ากับ 96.7 กิโลกรัมต่อไร่ (ตารางที่ 20)

ตารางที่ 20 ข้อมูลผลผลิตในพื้นที่เก็บเกี่ยวขนาด 4 X 4 น้ำหนักเมล็ด น้ำหนักเมล็ดดี น้ำหนักเมล็ดเสีย น้ำหนัก 100 เมล็ด และน้ำหนักเมล็ดและน้ำหนักเมล็ดดีต่อไร่ของถั่วเหลือง ณ วันเก็บเกี่ยว

กรรมวิธี	น้ำหนักเมล็ด (กก./พื้นที่เก็บเกี่ยว)	น้ำหนักเมล็ดดี (กก./พื้นที่เก็บเกี่ยว)	น้ำหนักเมล็ดเสีย (กก./พื้นที่เก็บเกี่ยว)	น้ำหนัก 100 เมล็ด (กรัม/พื้นที่เก็บเกี่ยว)	น้ำหนักเมล็ด (กก./ไร่)	น้ำหนักเมล็ดดี (กก./ไร่)
1. ไม่ใส่ปุ๋ย (วิธีควบคุม)	1.7 b	1.0 b	0.7	17.1	170.0 b	96.7 b
2. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่	3.4 a	2.4 a	1.0	17.5	343.3 a	240.0 a
3. ใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม + PGPR	3.1 a	2.3 a	0.9	17.0	313.3 a	226.7 a
4. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ + ไรโซเบียม	2.9 a	2.2 a	0.7	16.9	286.7 a	220.0 a
5. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา3-3-3 กก. N-P_2O5-K_2O/ไร่ + PGPR	3.3 a	2.4 a	0.9	16.8	326.7 a	240.0 a
6. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กก. N-P_2O_5-K_2O/ไร่ + ไรโซเบียม + PGPR	3.5 a	2.6 a	0.9	16.9	350.0 a	260.0 a
CV	20.86	24.56	22.85	3.49	20.86	24.56

หมายเหตุ: ค่าที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรเดียวกันไม่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระดับ 5% โดย DMRT

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ :

การคัดแยกจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตจากรากและดินบริเวณรอบรากพืช 7 ชนิด ได้แก่ ปอเทือง ถั่วเขียว ถั่วเหลือง ข้าว ข้าวโพด อ้อย และหญ้าแฝกสามารถแยกจุลินทรีย์จากดินได้ 34 สายพันธุ์ และจากรากพืช 28 สายพันธุ์รวมเป็น 62 สายพันธุ์ แบ่งเป็นแบคทีเรีย 16 สายพันธุ์ จำแนกได้ 2 สกุลได้แก่ *Azospirillum* และ *Bacillus* มี *A. brasilense* 2 สายพันธุ์สร้าง IAA ได้ในปริมาณสูงได้แก่ สายพันธุ์ TS13 และ TS29 สายพันธุ์ TS13 สามารถผลิต siderophore และให้ค่าการละลายฟอสเฟตในปริมาณสูงที่สุดนอกจากนี้ยังสามารถเจริญร่วมกับไรโซเบียมทั้ง 3 ชนิดได้ แยกแอคติโนมัยสีทได้ 21 สายพันธุ์ จำแนกได้ 1 สกุล ได้แก่ *Streptomyces* พบว่าแอคติโนมัยสีททั้ง 21 สายพันธุ์ สามารถสร้างสาร siderophore ได้ มีจำนวน 14 สายพันธุ์ที่สร้าง IAA ได้ในปริมาณต่ำ และ15 สายพันธุ์มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตได้ เมื่อนำมาทดสอบความเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อไรโซเบียม พบว่า *Streptomyces* sp. สายพันธุ์ RFS 12-4 ไม่เป็นปฏิปักษ์ต่อ *Bradyrhizobium japonicum* และ *B. liaoningense* ในขณะที่ *Streptomyces* sp. สายพันธุ์ WA 21-3 ไม่เป็นปฏิปักษ์กับ *B. japonicum* และ *B. daqingense* แยกราได้ 25 สายพันธุ์จำแนกได้ 7 สกุล ได้แก่ *Aspergillus Penicillium Hamigera Neosartorya Talaromyces Trichoderma* และ *Xylaria* ราทั้งหมดมีความสามารถในการสร้าง IAA และ

กรมวิชาการเกษตร

siderophore โดยรา *Aspergillus flavus* (1-30) *A. niger* (4-69) และSterile mycelium (2-25) สร้าง IAA ได้ในปริมาณสูง รา *Penicillium* sp.(2-44) สร้าง siderophore ได้มากสุด และพบราที่สามารถละลายฟอสเฟตได้จำนวน 10 สายพันธุ์ได้แก่ รา *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 2-44, รา *Talaromyces* sp. สายพันธุ์ 2-22 3-29 3-40 รา sterile mycelium สายพันธุ์ 3-32 3-74 รา *Aspergillus niger* สายพันธุ์ 4-3 4-69 และรา *Trichoderma* sp. สายพันธุ์ 4-16 4-17 เมื่อนำราทั้งหมดไปทดสอบความเป็นปฏิปักษ์กับไรโซเบียม 3 สายพันธุ์ พบว่า *Talaromyces* sp. สายพันธุ์ 2-22 และ 3-40 ไม่เป็นปฏิปักษ์กับ *B. Japonicum* และ *B. daqingense* รา *Trichoderma* sp.(4-16) ไม่เป็นปฏิปักษ์กับ *B. Japonicum* และ *B. liaoningense*

ผลการปลูกเชื้อร่วมระหว่าง *Azospililum brasilense*และไรโซเบียมในการผลิตถั่วเขียวและถั่วเหลืองในกระถางทดลองพบว่าจำนวนปมของกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-1.44-1.44 กรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อดิน 20 กิโลกรัม ร่วมกับไรโซเบียม มีค่ามากที่สุดโดยถั่วเขียวมีจำนวนปมรากเท่ากับ 332 ปมต่อต้น ถั่วเหลืองมีจำนวนปมรากเท่ากับ 86 ปมต่อต้น ซึ่งกรรมวิธีนี้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุก ๆ กรรมวิธีที่ไม่มีการใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม ในถั่วเขียวพบว่าน้ำหนักแห้งปม น้ำหนักสดราก และน้ำหนักแห้งรากไม่มีความแตกต่างทางสถิติ และความสามารถในการตรึงไนโตรเจนของกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-1.44-1.44 กรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อดิน 20 กิโลกรัม ร่วมกับไรโซเบียมและPGPR มีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 63.52 ไมโครโมล C_2H_4 ต่อต้นต่อชั่วโมง ซึ่งมีความแตกต่างกับกรรมวิธีควบคุม และ กรรมวิธีที่ใส่ไรโซเบียมเพียงอย่างเดียว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในการผลิตถั่วเหลืองพบว่าน้ำหนักสดปมในทุก ๆ กรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมมีความแตกต่างกับกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมอย่างมีนัยทางสถิติ น้ำหนักแห้งปมในกรรมวิธีที่ใส่เฉพาะปุ๋ยชีวภาพ 2 ชนิดร่วมกันมีน้ำหนักมากที่สุดเท่ากับ 0.55 กรัม ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม และกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 1.44-1.44-1.44 กรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อดิน 20 กิโลกรัม ร่วมกับ PGPR น้ำหนักสดรากและน้ำหนักแห้งรากไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ความสามารถในการตรึงไนโตรเจนพบว่ากรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 1.44-1.44-1.44 กรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อดิน 20 กิโลกรัม ร่วมกับไรโซเบียม และ กรรมวิธีที่ 0-1.44-1.44 กรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อดิน 20 กิโลกรัม ร่วมกับไรโซเบียมและPGPR ให้ค่าการตรึงไนโตรเจนสูงที่สุดเท่ากับ 66.21 และ70.70 ไมโครโมล C_2H_4 ต่อต้นต่อชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 2 กรรมวิธีมีความแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยชีวภาพตัวใดตัวหนึ่งเพียงอย่างเดียว (กรรมวิธีที่ 2 3) กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 1.44-1.44-1.44 กรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อดิน 20 กิโลกรัม ร่วมกับ PGPR และกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-1.44-1.44 กรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อดิน 20 กิโลกรัม เพียงอย่างเดียว

การทดลองปลูกเชื้อร่วมระหว่าง *Azospililum brasilense* (TS13) และไรโซเบียมในการผลิตถั่วเขียวในแปลงทดลองพบว่าจำนวนปมไม่มีความแตกต่างกันในทุก ๆ กรรมวิธี น้ำหนักสดปมและน้ำหนักสดต้นในกรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่ไม่มีการใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม น้ำหนักสดรากในกรรมวิธีควบคุมและกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพ PGPR มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุก ๆ กรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม น้ำหนักแห้งของ ปม ราก และต้นเป็นในทิศทางเดียวกันกับน้ำหนักสด ค่าการตรึงไนโตรเจนพบว่ากรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยชีวภาพ PGPR ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมมีค่าการตรึงไนโตรเจนสูงที่สุดและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุก ๆ กรรมวิธีที่ไม่มีการใส่ปุ๋ย

ลิขสิทธิ์กรมวิชาการเกษตร

ชีวภาพทั้ง 2 ชนิดร่วมกัน ผลผลิตของถั่วเขียวในแปลงทดลองพบว่ากรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ยชีวภาพ PGPR ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมให้ผลผลิตต่อไร่ จำนวนฝักต่อต้น และจำนวนเมล็ดต่อต้นสูงที่สุดและให้ผลผลิตต่อไร่เทียบเท่ากับการใส่ปุ๋ยเคมี

การทดลองปลูกเชื้อร่วมระหว่าง *Azospililum brasilense* (TS13) และไรโซเบียมในการผลิตถั่วเหลือง ในแปลงทดลองพบว่าจำนวนปมในกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-3-3 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ร่วมกับไรโซเบียม มีจำนวนปม น้ำหนักสดปม น้ำหนักแห้งปม และค่าการตรึงไนโตรเจนมากที่สุด กรรมวิธีนี้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุก ๆ กรรมวิธี ข้อมูลผลผลิตพบว่าน้ำหนักผลผลิตในพื้นที่เก็บเกี่ยวของกรรมวิธีควบคุมมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุก ๆ กรรมวิธีที่มีการใส่ปุ๋ย ทั้งปุ๋ยเคมีและปุ๋ยชีวภาพ จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าการปลูกถั่วเหลืองในศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่โดยการใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมร่วมกับปุ๋ยชีวภาพ PGPR ให้ผลผลิตเทียบเท่าการปลูกถั่วเหลืองโดยใช้ปุ๋ยเคมี

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ : สามารถนำองค์ความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในการคัดเลือกจุลินทรีย์ดินชนิดเด่นที่มีประโยชน์ทางการเกษตรเช่น การผลิต IAA siderophore และการละลายฟอสเฟตไปใช้ร่วมกับร่วมกับเชื้อไรโซเบียม ในการตรึงไนโตรเจน นอกจากนี้ยังสามารถนำไปใช้เป็นเชื้อปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชได้

11. คำขอบคุณ (ถ้ามี) : ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการงานวิจัยไรโซเบียม นางสาวมาลี ดีจริง นายศุภเวช เกตุชาญวิทย์ และนางสาวเนรตณพิศ นาคอ่วมค้า ที่ให้ความร่วมมือในการปฏิบัติการทดลองครั้งนี้เป็นอย่างดี

12. เอกสารอ้างอิง

คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2526. คู่มือปฏิบัติการปฐพีวิทยาเบื้องต้น. ภาควิชาปฐพีวิทยา, คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 119 น.

คณาจารย์ภาควิชาปฐพีวิทยา. 2541. ปฐพีวิทยาเบื้องต้น. ภาควิชาปฐพีวิทยา, คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 547 น.

มานิตา โนนสูง ธนภรณ์ พิบูลย์วัฒนวงษ์ และนันทวัน ฤทธิ์เดช. 2561. การคัดแยกแบคทีเรียสงเสริมการเจริญเติบโตของพืชจากดินที่ไดรับการปรับปรุงบำรุงสำหรับการเพาะปลูกพืช. ว.วิทย. มข. 46(1) 68-76.

รัชนี มิ่งมา. 2552. แอคติโนมัยสีทจากรากและดินรอบรากพืชตระกูลถั่วและการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 128 หน้า.

เลขา มาโนช จิตรา เกาะแก้ว อรอุมา เจียมจิตต์ และธิดา เดชฮวบ. 2549. เชื้อราบนซากใบพืชและการศึกษาการเป็นปฏิปักษ์ต่อราสาเหตุโรคพืชในห้องปฏิบัติการ, หน้า 771-780. ใน รายงานการประชุมวิชาการครั้งที่ 44 สาขาพืช, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

กรมวิชาการเกษตร

Andreeva, I., T. Redkina and S. Izmailov. 1993. The involvement of indole acetic acid in the stimulation of Rhizobium-legume symbiosis by Azospirillum brasilense. Russian Journal of Plant Physiology 40: 780-780.

Arnold, A. E., Luis C. M., Damond K., Enith I. R., Zuleyka M., Nancy R. and Edward A. H. 2007. Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. Proceedings of the National Acadamy of Sciences USA. 26: 15649-15654.

Atieno, M., L. Herrmann, R. Okalebo, and D. Lesueur. 2012. Efficiency of different formulations of *Bradyrhizobium japonicum*and effect of co-inoculation of *Bacillus subtilis* with two different strains of *Bradyrhizobium japonicum*. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 28(7) : 2541-2550.

Aung, T.T., P. Tittabutr, N. Boonkerd, D. Herridge, and N.Teaumroong. 2013. Co-inoculation effects of *Bradyrhizobium japonicum* and *Azospirillum* sp. on competitive nodulation and rhizosphereeubacterial community structures of soybean under rhizobia-established soil conditions. Afr. J. Biotech. 12(20) : 2850-2862.

Bano, A. and M. Fatima. 2009. Salt tolerance in *Zea may* (L.) following inoculation with *Rhizobium* and *Pseudomonas*. Biol. Fertility Soils. 40: 188-193.

Boonkerd, N. and R.W. Weaver. 1982. Survival of cowpea rhizobia in soil as effect by soil temperature and moisture. Appl. Environ. Microbial. 43 : 585-589.

Boonkerd, N. and S. Promsiri. 1993. Effectiveness in N2 fixation of Sesbania speciosa and Sesbania rostrata rhizobia isolated from different locations. Kasetsart J. 27 : 292-302.

Bric, J.M., R.M. Bostock and S.E. Silverstone. 1991. Rapid In Situ Assay for Indoleacetic Acid Production by Bacteria Immobilized on a Nitrocellulose Membrane. Appl. Environ. Microbiol. 57(2): 535-538.

Cassen, F., D. Perrig, V. Sgroy, O. Masciarelli, C. Penna and V. Luna. 2009. Azospirillum brasilense Az39 and Bradyrhizobium japonicum E 109, Early seedling growth in corn (Zea may L.) and soybean (Glycine max L.). European Journal of Soil Biology 45(1): 28-35.

Cho, K., H. Toler, J. Lee, B. Owenley, J.C. Stutz, J.L. Moore and R.M. Auge. 2006. Mycorrhiza symbiosis and response of sorghum plants to combined drought and salinity stresses. J. Plant Physiol. 163: 517-528.

Cook, R. J., and K.F. Baker. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens.Amer. Phytopathol.Soc. St. Paul, Minnesota. 539 pp.

Dakora, F.D. and D.A. Phillips. 2002. Root exudates as mediators ofmineral acquisition in low-nutrient environments. Plant Soil. 245: 35–47.

Dashti, N., F. Zhang, R. Hynes, and D.L. Smith. 1998. Plant growth promoting rhizobacteria accelerate nodulation and increase nitrogen fixation activity by field grown soybean (*Glycine max* (L.) Merr.)under short season conditions. Plant Soil 200 : 205-213.

Duzan, H.M., X. Zhou, A. Souleimanov, and D.L. Smith. 2004. Perception of *Bradyrhizobium japonicum* Nod factor by soybean [Glycine max (L.) Merr.]root hairs under abiotic stress conditions. Journal of Experimental Botany 55(408) : 2641-2646.

Elvira-Recuenco, M. and J.W. van Vuurde. 2000. Natural incidence of endophytic bacteria in pea cultivars. Canadian Journal of Microbiology. 46: 1036–1041.

Farhana, A. R., Wei-dong C., Shuai T. and Jian-guang S. 2019. Assessment of Plant Growth Promoting and Abiotic Stress Tolerance Properties of Wheat Endophytic Fungi. BioMed Research International. 2019: 1-12

Gangwar, M., Sheela R. and N. Shama. 2012. Diversity of Endophytic Actinomycetes from Wheat and It's Potential as Plant Growth Promoting and Biocontrol Agents. J. Adv. Lab. Res. Biol. 3(1): 16-23.

Ganley, R.J., Brunsfeld, S.J. and Newcombe, G. 2004. A community of unknown, endophytic fungi in western white pine. Proceedings of National Academy Sciences of the United States of America 101: 10107-10112.

Glick, B. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. Can. J. Microbiol. 41(2): 109-117.

Gregor, A.K., Klubek, B. and E.C. Versa. 2003. Identification and Use of Actinomycetes for Enhanced Nodulation of Soybean Co-Inoculated with *Bradyrhizobium japonicum*. Can. J. Microbiol. 49(8): 483-491.

Hallmann, J., A. Quadt-Hallmann, W.F. Mahaffee and J.W. Kloepper. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. Canadian Journal of Microbiology. 43: 895-914.

Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., and Lorito, M. 2004. Trichoderma species-opportunistic, avirulent plant symbionts. Nat. Rev. Microbiol. 2: 43–56.

Lubna, Sajjad A., Muhammad H., Abdul L. K., Muhammad W., Muhammad A. K., Rahmatullah., In-Jung L., Anwar. 2018. Salt tolerance of Glycine max.L induced by endophytic fungus Aspergillus flavus CSH1, via regulating its endogenous hormones and antioxidative system. Plant Physiology and Biochemistry. 128: 13-23.

Milagres, A.M.F., A. Machuca and D. Napoleao. 1999. Detection of siderophore production from several fungi and bacteria by a modification of chrome azurol S (CAS) agar plate assay. Journal of Microbiological Methods 37: 1–6.

ศูนย์วิทยทรัพยากร

Mukerji, K.G., C. Manoharachary and J. Singh. 2006. Microbial Activity in the Rhizosphere. Springer-Verlag, Heidelberg, Germany. 349 p.

Myat Soe, K., Ampan B., Dumnern K. and Takeo Y. 2012. Effect of endophytic actinomycetes and Bradryrhizobium japonicum strains on growth, nodulation, nitrogen fixation and seed weight of different soybean varieties. Soil Scie Plant Nutr. 58(3): 319-325.

Nimnoi, P., P. Neelawan and L. Saisamon. 2014. Co-inoculation of soybean (*Glycine Max*) with actinomycetes and *Bradryrhizobium japonicum* enhances plant growth, nitrogenase activity and plant nutrition. Journal of Plant Nutrition 37 (3): 432–446.

Nopparat, C., M. Jatupornpipat and A. Rittiboon. 2007. Isolation of phosphate solubilizing fungi in soil from Kanchanaburi, Thailand. KMITL Sci. Tech. J. 7(S2): 137-146.

Okazaki, T. 2003. Studies on actinomycetes isolated from plant leaves, pp. 102-121. *In* I. Kurtboke, ed. Selective Isolation of Rare Actinomycetes. National Library of Australia.

Oses, R., Valenzuelg S. Freer J., Sanfuentee E. and Rodriguez J. 2008. Fungal endophyte in Xylem of healthy chillean tree and their possible role in carly wood decay. Fugal Diversiity. 33: 77-86.

Pan, B., J.K. Vessey, and D.L. Smith. 2002. Response of field-grown soybean to co-inoculation with the plant growth promoting rhizobacteria *Serratia proteamaculans* or *Serratia liquefaciens,* and *Bradyrhizobium japonicum* pre-incubated with genistein. European Journal of Agronomy. 17(2) : 143-153.

Petrini, O. 1993. Fungal endophytes of tree leaves . pp. 179-197. *In* J.H. Andrews and S.S. Hirano., eds. Microbial Ecology of leaves. Springer-Verlag. New York.

Qi, W. Z., and Zhao, L. (2013). Study of the siderophore-producing Trichoderma asperellum Q1 on cucumber growth promotion under salt stress. J. Basic Microbiol. 53: 355–364.

Sahgal, M. and B. N. Johri. 2003. The changing face of rhizobial systematics. Current Science. 84(1): 43-48.

Schulz, B. and Booyle C. 2005. The endophytic continuum. Mycological Research. 109 (6): 661–686.

Strobel G., Daisy B., 2003, Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. Microbiol. Mol. Biol. Rev., 67, 491–502.

Subba Rao, N.S. 1993. Biofertilizers in Agriculture and Forestry, Oxford and IBH Publishing Co. Pvt. Ltd. New Delhi.

Tank, N. and M. Saraf. 2010. Salinity-resistant plant growth promoting rhizobacteria ameliorates sodium chloride stress on tomato plants. J. Plant Interact. 5:51-58.

ศูนย์วิทยทรัพยากร

Tokala, R.K., J.L. Strap, C.M. Jung, D.L. Crawford, M.H. Salove, L.A. Deobald, J.F. Bailey and M.J. Morra. 2002. Novel Plant-Microbe Rhizosphere Interaction Involving *Streptomyces lydicus* WYEC108 and the Pea Plant (*Pisum sativum*). Appl. Environ. Microbiol. 68(5): 2161-2171.

Weaver, R.W.,D.R. Morris, N.Boonkerd and J. Sij. 1987. Populations of *Bradyrhizobium japonicum* in field cropped with soybean-rice rotation. Soil. Sci. Soc. Am. J. 51: 90-91.

Williams S.T., M. Goodfellow, G. Alderson. 1989. Genus Streptomyces Waksman and Henrici 1943.339AL. *In* Bergey' s Manual of Systematic Bacteriology. Williams & Wilkins Company, Baltimore. 4: 2452-2492.

Wu, F., Wan, Judy Hon C., S. Wu, and M. Wong. 2012. Effects of earthworms and plant growth–promoting rhizobacteria (PGPR) on availability of nitrogen, phosphorus and potassium in soil. J. Pl. Nutr. Soil Sci. 175(3) : 423-433.

You, Y.-H., Hyeokjun Y., Sang-Mo K., Jae-Ho S., Yeon-Sik C., In-Jung L., Jin-Man L. and Jong-Guk K. 2012. Fungal Diversity and Plant Growth Promotion of Endophytic Fungi from Six Halophytes in Suncheon Bay. Journal of Microbiology and Biotechnology. 22(11): 1549–1556.

Zahir, Z.A., M. Zafar-ul-Hye, S. Sajjad, and M. Naveed. 2011. Comparative effectiveness of *Pseudomonas* and *Serratia*sp. containing ACC-deaminase for coinoculation with *Rhizobium leguminosarum* to improve growth, nodulation, and yield of lentil. Biology and Fertilizer of Soil. 47(4) : 457-465.

Zhang, H., T.C. Charles, B. Driscoll, T. Prithiviraj, and D.L. Smith. 2002. Low temperature-tolerant *Bradyrhizobium japonicum* strains allowing improved soybean yield in short-season. Agron. J. 94: 870-875.

Zhang, Y., F.S. Chen, X.Q. Wu, F.G. Luan, L.P. Zhang, X.M. Fang, S.Z. Wan, X.F. Hu and J.R. Ye. 2018. Isolation and characterization of two phosphate-solubilizing fungi from rhizosphere soil of moso bamboo and their functional capacities when exposed to different phosphorus sources and pH environments. PLoS ONE 13(7): e0199625.

13. ภาคผนวก -

ศูนย์วิทยทรัพยากร