

รายงานผลงานเรื่องเติมการทดลองที่สิ้นสุด

1. ชุดโครงการวิจัย

2. ชื่อโครงการวิจัย ผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศต่อจุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์เพื่อเพิ่มศักยภาพการผลิตพืชในพื้นที่ลุ่มน้ำปาย

ชื่อกิจกรรม

3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) การใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเพื่อเพิ่มผลผลิตข้าวโพดในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย

ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) Utilization of plant growth promoting bacteria to increase maize yield in areas affected by climate change in Pai River Basin

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง นายอำนาจ เอี่ยมวิจารณ์ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผู้ร่วมงาน นางสาวกัลยกร โปรงจันทิก กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

นายสุรียนต์ ดีดเหล็ก ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแม่ฮ่องสอน

5. บทคัดย่อ

การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ (Climate change) ทำให้เกิดการกระจายของฝนไม่สม่ำเสมอ บางพื้นที่ฤดูฝนมาเร็วหรือล่าช้าออกไป รวมถึงอุณหภูมิกลางวันและกลางคืนที่แปรปรวนมากขึ้น นอกจากนี้จะทำให้เกิดปัญหากล้งแล้งในพื้นที่ทางการเกษตรและขยายเพิ่มมากขึ้น ทำให้ศักยภาพในการผลิตลดลงเนื่องจากสภาพภูมิอากาศเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกระบวนการทางสรีระวิทยาของพืช และยังส่งผลกระทบต่อจุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์ทางการเกษตรต่าง ๆ การทดลองนี้มุ่งเน้นเพื่อศึกษากระบวนการในการใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในการเพิ่มผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในพื้นที่ชุมชนที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย จังหวัดแม่ฮ่องสอน ผลการทดลองพบว่า การใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตทั้งสองสกุล คือ *Azospirillum* sp. และ *Azotobacter* sp. ที่แยกได้จากพื้นที่บริเวณลุ่มน้ำปายในการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ NH-146 ให้ผลไม่แตกต่างกัน และยังพบว่าการใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตทั้งสองสกุล ร่วมกับการใส่ปุ๋ยเคมีสามารถช่วยเพิ่มผลผลิตและคุณภาพผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ NH-146 ได้ และควรมีการศึกษาต่อในระยะยาวเพื่อให้ได้ผลที่ชัดเจนมากขึ้น

คำสำคัญ : ลุ่มน้ำปาย, แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช, ข้าวโพด, การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ

Currently, climate change causes uneven temporal distribution of rain. The rainy season will come early or delay in some areas including more influencing of day and night temperature fluctuations. Severe drought crisis will increase and expand in many agricultural areas. Even more,

climate change influences the physiological processes of plants and also directly affects soil microbes that have various agricultural benefits. This experiment focuses on the study of utilization of plant growth promoting bacteria to increase maize production in area that affected by changes of climate in Pai river basin, Mae Hong Son province. The results showed that use of plant growth promoting bacteria in both genera, *Azospirillum* sp. and *Azotobacter* sp., that isolated from the Pai River Basin with maize variety NH-146, gave no difference. Moreover, use of plant growth promoting bacteria in both genera in combination with chemical fertilizer can increase yield and quality of NH-146 and long-term study should be applied for improving the results.

Key words : Pai river basin, Plant growth promoting bacteria, maize, climate change

6. คำนำ

การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ (Climate change) เป็นปัญหาสิ่งแวดล้อมที่มีความสำคัญในระดับภูมิภาคของโลก หลายภาคส่วนได้ตระหนักถึงความรุนแรงของปัญหาการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศและเตรียมความพร้อมในการแก้ไขปัญหาดังกล่าว การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศสาเหตุหลักเกิดมาจากสภาวะโลกร้อน (Global warming) ซึ่งส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อม เกิดภัยธรรมชาติที่รุนแรงมากขึ้น เช่น น้ำท่วม ฝนแล้ง พายุที่รุนแรง (IPCC, 2014) ส่งผลกระทบถึงการดำรงชีวิตของมนุษย์และสิ่งแวดล้อม ภาคการเกษตรเป็นส่วนหนึ่งที่ได้รับผลกระทบโดยตรงจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ ทำให้ศักยภาพในการผลิตลดลงเนื่องจากสภาพภูมิอากาศเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาของพืช ตัวอย่างเช่น ผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศต่อระบบการผลิตข้าว ซึ่งदनัยและอำนาจ (2559) พบว่าข้าวมีความอ่อนไหวต่อการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ ส่งผลให้การงอกของเมล็ดล่าช้า อัตราการงอกต่ำ การเจริญของต้นกล้าไม่ดี แตกกอน้อยลง ลดจำนวนละอองเกสร ดอกข้าวแตกเป็นหมัน และผลผลิตลดลง ซึ่งอุณหภูมิของน้ำที่เย็นลงจะทำให้อัตราการแตกกอ ใบข้าวไม่ยืด และลดจำนวนดอกข้าวที่สมบูรณ์ลดลง และรายงานของ เกริก (2559) พบว่าการเปลี่ยนแปลงภูมิอากาศมีผลกระทบในระยะยาวค่อนข้างต่ำต่อผลผลิตของข้าวโพดและอ้อย แต่ทำให้ผลผลิตของมันสำปะหลังลดลงถึงร้อยละ 43 และยังมีผลต่อการระบาดของโรคและแมลงศัตรูพืชด้วย สภาพภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลงยังส่งผลกระทบโดยตรงต่อจุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์ทางการเกษตรต่าง ๆ โดยปัจจัยทางภูมิอากาศ เช่น ปริมาณน้ำฝน การกระจายตัวของฝน การทิ้งช่วงของฝน พร้อมทั้งอุณหภูมิเฉลี่ย อุณหภูมิสูงสุด ต่ำสุดที่เกิดขึ้นมีผลต่อแหล่งที่อยู่อาศัย ชนิด และประชากรของจุลินทรีย์ดินทั้งสิ้น (Bardgett *et al.*, 2013) การเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศอาจทำให้จุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์ทางการเกษตรบางชนิดไม่สามารถปรับตัวได้ ทำให้เกิดแรงกดดันในการเคลื่อนย้ายเพื่อหาที่อยู่อาศัยใหม่ที่เหมาะสม นอกจากนี้การทำการเกษตรในปัจจุบันมีการใช้สารเคมี และการบุกรุกพื้นที่ป่าเพื่อทำการเกษตร ทำให้จุลินทรีย์ดินที่มีประโยชน์ทางการเกษตรหลายชนิดอาจสูญพันธุ์ไปจากแหล่งที่อยู่อาศัยเดิม (สมชาย, 2558)

จุลินทรีย์ดินมีบทบาทสำคัญในการเกษตรทั้งที่เกี่ยวข้องกับการหมุนเวียนธาตุอาหารในดินโดยจุลินทรีย์จะทำหน้าที่ย่อยสลายวัสดุสารอินทรีย์ต่างๆ (decomposition) ให้เป็นธาตุอาหารเกิดการหมุนเวียนธาตุอาหารกลับมาใช้ใหม่ (recycling) การเปลี่ยนรูปจากสารอินทรีย์ไปเป็นสารอนินทรีย์ (mineralization) เพิ่มความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารพืช และการแปรสภาพสารอนินทรีย์หรือแร่ธาตุจากรูปที่ไม่เป็นประโยชน์ให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์กับพืช (solubilization) การฟื้นฟูดินที่มีสารมลพิษปนเปื้อน (soil remediation) และการช่วยทำให้ดินจับตัวกันเป็นเม็ดและมีความเสถียร เป็นต้น (กรมพัฒนาที่ดิน, 2562) นอกจากนี้จุลินทรีย์ดินสามารถผลิตสารที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth promoter) เช่น แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Plant Growth Promoting Rhizobacteria or PGPR) ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในดินบริเวณรอบรากพืช (rhizosphere) และช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ โดยแบคทีเรียกลุ่มนี้มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจน เพิ่มความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารพืช สร้างสารซิเดอโรฟอร์ (siderophores) ซึ่งมีสมบัติเพิ่มการนำธาตุเหล็กเข้าสู่เซลล์พืช โดยการแย่งจับธาตุเหล็กบริเวณรอบรากพืช นอกจากนี้ยังสามารถสร้างฮอร์โมนพืช (phytohormones) เช่น ฮอร์โมนกลุ่มออกซิน (auxins) ซึ่งกระตุ้นการยืดตัวของเซลล์ การแบ่งเซลล์และการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ สร้างเอนไซม์ไคตินเนส (chitinase) และลามินารินเนส (laminarinase) ย่อยเส้นใยเชื้อราโรคพืช สร้างสารปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อราสาเหตุโรคพืชได้ เป็นต้น (หนึ่ง, 2548; ธงชัย, 2550; Glick *et al.*, 1999) ซึ่งในแบคทีเรียบางสกุลมีความสามารถหลายอย่างรวมกัน แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชที่มีการนำมาใช้ประโยชน์ในการผลิตพืชมีหลายสกุลด้วยกัน ได้แก่ *Azospirillum sp.*, *Azotobacter sp.*, *Bacillus sp.*, *Beijerinckia sp.*, *Burkholderia sp.*, *Gluconacetobacter sp.*, *Herbaspirillum sp.* และ *Pseudomonas sp.* เป็นต้น (Backer *et al.* 2018)

การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศมีผลต่อความหนาแน่นและบทบาทหน้าที่ของจุลินทรีย์ดิน โดย Castro *et al.* (2010) รายงานว่า จุลินทรีย์บางชนิดมีความไวต่ออุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลง ทำให้อัตราการเจริญเติบโตและการแพร่กระจายลดลง เนื่องจากเชื้อไม่สามารถเคลื่อนที่เข้าถึงแหล่งอาหาร ทั้งนี้ความแตกต่างทางด้านสรีรวิทยา (physiology) ก็เป็นปัจจัยสำคัญประการหนึ่งที่ทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถปรับตัวได้ทันกับอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงไป ตัวอย่างเช่น เมื่ออุณหภูมิในป่าสูงขึ้น 5 องศาเซลเซียส จะทำให้อัตราส่วนของจำนวนแบคทีเรียต่อราเพิ่มสูงขึ้น (DeAngelis *et al.*, 2015) หรือเมื่ออุณหภูมิสูง 10 องศาเซลเซียส จะส่งผลให้อัตราการย่อยสลายสารอินทรีย์ (decomposition) การหายใจของดิน (soil respiration) และมวลชีวภาพของจุลินทรีย์ (microbial biomass) หรือจุลินทรีย์ตาย เพิ่มสูงขึ้นในระยะสั้น (Bradford *et al.*, 2008) การเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรจุลินทรีย์ในดินบางกลุ่มจะทำให้บทบาทหน้าที่ที่สำคัญในระบบนิเวศเปลี่ยนแปลงไปด้วย เช่น จุลินทรีย์ตรึงไนโตรเจน (nitrogen fixation) จุลินทรีย์ที่ออกซิไดซ์แอมโมเนียซึ่งมีความเป็นพิษสูงต่อสัตว์น้ำให้เป็นไนไตรท์ และไนเตรท (nitrification) จุลินทรีย์ที่รีดิวซ์ไนเตรทให้อยู่ในรูปของก๊าซไนโตรเจน (Nitrogen gas or molecular nitrogen) และจุลินทรีย์ควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรค (soil-borne disease) เป็นต้น (Isobe *et al.*, 2011; Bakken *et al.*, 2012; Salles *et al.*, 2012) การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศยังมีผลต่อเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มที่เจริญอยู่บริเวณรอบรากพืช (rhizosphere) เช่น เชื้อ *Burkholderia phytofirmans* ที่แยกได้จากดินแปลงปลูกมะเขือเทศจะเจริญเติบโตได้ช้าลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น (Pillay and Nowak, 1997) นอกจากนี้มีรายงานการใช้เชื้อจุลินทรีย์

กลุ่มตรึงไนโตรเจนอิสระในการผลิตข้าวสาลีเพื่อลดผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ โดยปลูกข้าวสาลีต่างระยะเวลากันร่วมกับการใช้เชื้อ *Azotobacter* sp. พบว่า ความสูง จำนวนเมล็ด น้ำหนักเมล็ด และความยาวของเมล็ดมากกว่าไม่ได้ใส่เชื้อ ซึ่งเป็นผลมาจากการผลิตออกซิน จิบเบอเรลลิน ความสามารถละลายฟอสเฟต และประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของเชื้อ (Kaur et al., 2018)

ดังนั้นการศึกษาจุลินทรีย์ดินที่สามารถปรับตัวให้มีชีวิตอยู่รอดในสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงและยังคงกิจกรรมที่ช่วยสนับสนุนเกื้อกูลต่อสิ่งมีชีวิตในแหล่งที่อยู่อาศัยนั้น ๆ โดยเฉพาะกลุ่มจุลินทรีย์ดินที่มีศักยภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเป็นอีกกลุ่มที่เป็นตัวบ่งชี้ความอุดมสมบูรณ์ของดิน เพื่อนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถนำมาใช้ในการเพิ่มศักยภาพการผลิตพืชในพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ ซึ่งงานวิจัยนี้มุ่งเน้นที่จะผลิตพืชในชุมชนเกษตรของลุ่มน้ำปาย จังหวัดแม่ฮ่องสอน ซึ่งเป็นพื้นที่ที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ และเป็นพื้นที่ที่มีการบุกรุกป่าเพื่อทำการเกษตรกรรม โดยการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาศักยภาพของแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชที่แยกได้จากพื้นที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศบริเวณลุ่มน้ำปาย และคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีศักยภาพสูงสุดเพื่อนำไปพัฒนาปุ๋ยชีวภาพพีจีฟาร์ที่มีประสิทธิภาพสูงและเหมาะสมกับทุกพื้นที่

7. วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์

1. เชื้อแบคทีเรียสกุล *Azospirillum brasilense* (DASF04003) ที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพพีจีฟาร์-วัน และเชื้อ *Azospirillum* (AP1) และ *Azotobacter* (AT1) ที่คัดเลือกได้จากพื้นที่
2. เมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ NH-146
3. ปุ๋ยเคมี
4. สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ

- วิธีการ

ก่อนดำเนินการทดลองได้ทำการเก็บตัวอย่างดินในแปลงทดลอง ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแม่ฮ่องสอน และแปลงเกษตรกร ณ อำเภอปาย จังหวัดแม่ฮ่องสอน ที่ระดับ 0-20 เซนติเมตร เพื่อวิเคราะห์สมบัติทางเคมีบางประการ ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) อินทรีย์วัตถุ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (ตารางที่ 1) เพื่อคำนวณอัตราปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดินของกรมวิชาการเกษตร (2552) ทำการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ NH-146 โดยในปีที่ 1 ทำการทดลองในแปลงทดลองขนาด 6X5 เมตร ระยะปลูก 75X25 ซม. แปลงละ 8 แถว ๆ ละ 20 หลุม ๆ ละ 1 ต้น และใส่จุลินทรีย์*ตามกรรมวิธีพร้อมปลูก 1 ครั้งโดยการคลุกเมล็ด พร้อมใส่ปุ๋ยรองพื้น และใส่ปุ๋ยแต่งหน้าเมื่ออายุ 30 วัน ทำการเก็บเกี่ยวเมื่ออายุประมาณ 110-120 วัน ในพื้นที่ 4X3 เมตร หลังเก็บเกี่ยวหว่านน้ำหมักผลผลิต และอัตราการตรึงไนโตรเจนโดยวางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ส่วนในปีที่ 2 ทำการทดลองในแปลงทดลองขนาด 3X4 เมตร ระยะปลูก 75X25 ซม. แปลงละ 4 แถว ๆ ละ 15 หลุม ๆ ละ 1 ต้น และใส่จุลินทรีย์**ตามกรรมวิธีพร้อมปลูก 1 ครั้งโดยการคลุกเมล็ด พร้อมใส่ปุ๋ยรองพื้น และใส่ปุ๋ยแต่งหน้าเมื่ออายุ 30 วัน ทำการเก็บเกี่ยวเมื่ออายุประมาณ 110-120 วัน ในพื้นที่

2X3 เมตร หลังเก็บเกี่ยวหาหน้าหนักผลผลิต และอัตราการตรึงไนโตรเจนโดยวางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 5 กรรมวิธี 3 ซ้ำ ดังนี้

แปลงที่ 1 แปลงเกษตรกร อำเภอปาย จังหวัดแม่ฮ่องสอน

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ย (control)

กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมี 15-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ (อัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน)

กรรมวิธีที่ 3 แบคทีเรียที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน *Azospirillum brasilense* (DASF04003) + ปุ๋ยเคมีอัตรา 15-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่

กรรมวิธีที่ 4 แบคทีเรีย *Azospirillum* (AP1) + ปุ๋ยเคมีอัตรา 15-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่

กรรมวิธีที่ 5 แบคทีเรีย *Azotobacter* (AT1) + ปุ๋ยเคมีอัตรา 15-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่

ปีที่ 1 ทำการปลูกและใส่ปุ๋ยรองพื้น เมื่อวันที่ 24 มิถุนายน 2562 ถอนแยกให้เหลือ 1 ต้น เมื่ออายุ 7 วัน ใส่ปุ๋ยยูเรียเป็นปุ๋ยแต่งหน้า เมื่ออายุ 30 วัน และทำการเก็บเกี่ยวเมื่อวันที่ 29 ตุลาคม 2562 รวมอายุ 127 วัน

ปีที่ 2 ทำการปลูกและใส่ปุ๋ยรองพื้น เมื่อวันที่ 23 มิถุนายน 2563 ถอนแยกให้เหลือ 1 ต้น เมื่ออายุ 7 วัน ใส่ปุ๋ยยูเรียเป็นปุ๋ยแต่งหน้า เมื่ออายุ 30 วัน และทำการเก็บเกี่ยวเมื่อวันที่ 14 ตุลาคม 2563 รวมอายุ 111 วัน

แปลงที่ 2 แปลงศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแม่ฮ่องสอน อำเภอเมือง จังหวัดแม่ฮ่องสอน

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ย (control)

กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ (อัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน)

กรรมวิธีที่ 3 แบคทีเรียที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน *Azospirillum brasilense* (DASF04003) + ปุ๋ยเคมีอัตรา 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่

กรรมวิธีที่ 4 แบคทีเรีย *Azospirillum* (AP1) + ปุ๋ยเคมีอัตรา 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่

กรรมวิธีที่ 5 แบคทีเรีย *Azotobacter* (AT1) + ปุ๋ยเคมีอัตรา 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่

ปีที่ 1 ทำการปลูกและใส่ปุ๋ยรองพื้น เมื่อวันที่ 10 กรกฎาคม 2562 ถอนแยกให้เหลือ 1 ต้น เมื่ออายุ 7 วัน ใส่ปุ๋ยยูเรียเป็นปุ๋ยแต่งหน้า เมื่ออายุ 30 วัน และทำการเก็บเกี่ยวเมื่อวันที่ 29 ตุลาคม 2562 รวมอายุ 111 วัน

ปีที่ 2 ทำการปลูกและใส่ปุ๋ยรองพื้น เมื่อวันที่ 24 มิถุนายน 2563 ถอนแยกให้เหลือ 1 ต้น เมื่ออายุ 7 วัน ใส่ปุ๋ยยูเรียเป็นปุ๋ยแต่งหน้า เมื่ออายุ 30 วัน และทำการเก็บเกี่ยวเมื่อวันที่ 19 ตุลาคม 2563 รวมอายุ 117 วัน

การเตรียมตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียในการทดลองในแปลง

* ทำการเลี้ยงเชื้อเหลวในอาหารเฉพาะของแต่ละสกุล โดยบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และฉีดลงบนวัสดุพืชนิ่งฆ่าเชื้อ โดย DASF04003 มีปริมาณ 6.72 Log₁₀CFU/ml, AP1 มีปริมาณ 6.43 Log₁₀CFU/ml และ AT1 มีปริมาณ 6.11 Log₁₀CFU/ml

** ทำการเลี้ยงเชื้อเหลวในอาหารเฉพาะของแต่ละสกุล โดยบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และฉีดลงบนวัสดุพืชนิ่งฆ่าเชื้อ โดย DASF04003 มีปริมาณ 6.72 Log₁₀CFU/ml, AP1 มีปริมาณ 6.56 Log₁₀CFU/ml และ AT1 มีปริมาณ 6.32 Log₁₀CFU/ml

- เวลาและสถานที่

ระยะเวลา ตุลาคม 2561 – กันยายน 2563

สถานที่ทำการทดลอง กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร
กรมวิชาการเกษตร และศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแม่ฮ่องสอน จังหวัดแม่ฮ่องสอน

- วิเคราะห์ข้อมูล วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลด้วยวิธีการของ
Duncan's new multiple range test (DMRT)

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ข้อมูลสภาพภูมิอากาศและปริมาณน้ำฝนเดือนมิถุนายน-ตุลาคม ปี 2562-2563 (ข้อมูลจากกรม อุตุนิยมวิทยา)

เดือน	อุณหภูมิสูงสุด (°C)		อุณหภูมิต่ำสุด (°C)		อุณหภูมิเฉลี่ย (°C)		ปริมาณน้ำฝน รวม (mm)		ปริมาณความชื้น เฉลี่ย (%)	
	2562	2563	2562	2563	2562	2563	2562	2563	2562	2563
1-7 มิ.ย.	30.55	38.72	24.35	24.76	27.05	29.51	5.4	2.97	82	69.86
8-14 มิ.ย.	35.28	36.74	24.81	24.87	28.52	29.07	1.86	1.86	76.86	72.71
15-21 มิ.ย.	33.24	33.17	24.76	24.23	27.28	27.16	5.48	11.48	83.43	81.43
22-28 มิ.ย.	35.67	35.16	25.34	24.7	29.47	28.23	0.2	0.23	72	76.28
29-30 มิ.ย. - 5 ก.ค.	32.01	34.43	23.96	25.23	26.74	28.74	2.03	0.03	81.57	71.86
6-12 ก.ค.	32.3	35.06	23.58	24.14	26.33	28.64	6.23	5.77	84.71	74.71
13-19 ก.ค.	35.1	34.27	24.4	24.66	28.27	28.28	1.28	1.43	75.71	76.71
20-26 ก.ค.	32.31	35.24	24.18	24.3	26.77	29.17	11.28	0.94	82.71	72.86
27-31 ก.ค. - 2 ส.ค.	32.46	33.86	23.73	24.56	26.57	28.04	7.97	15.34	83.43	79.43
3-9 ส.ค.	30.31	32.33	23.76	24.58	26.07	27.04	19.08	6.48	87.86	85.28
10-16 ส.ค.	31.6	32.3	24.17	23.86	26.43	26.71	13.63	4.94	88.57	83.43
17-23 ส.ค.	32.97	30.28	23.87	23.2	26.74	25.57	10.4	20.48	85.14	88.86
24-30 ส.ค.	33.98	32.58	24.27	22.93	27.44	26.58	11.46	17.14	82.57	84.85
31 ส.ค.-6 ก.ย.	32.78	34.27	23.71	23.67	26.64	27.36	8.06	1.37	84.57	81
7-13 ก.ย.	31.88	33.83	23.63	24.23	26.14	27.64	8.83	3.26	86.71	81
14-20 ก.ย.	33.86	33.31	22.76	24.6	27.21	27.78	3.97	6.2	81.43	81.14
21-27 ก.ย.	33.18	32.71	22.08	24.16	26.84	27.21	5.84	2.91	78.4	83
28-30 ก.ย. - 4 ต.ค.	-	32.78	-	24.27	-	27.04	-	4.26	-	85.28
5-11 ต.ค.	-	32.94	-	22.88	-	26.96	-	1.4	-	81.14
12-18 ต.ค.	-	33.1	-	22.05	-	26.5	-	0.15	-	80.25
19-25 ต.ค.	-	31.28	-	22.38	-	26.1	-	0	-	80
26-31 ต.ค.	-	31.43	-	22.05	-	25.87	-	0.77	-	80

สภาพภูมิอากาศรายสัปดาห์เดือนมิถุนายน-ตุลาคม ปี 2562 พบว่า อุณหภูมิสูงสุดเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 30.31-35.67 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำสุดเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 22.08-25.34 องศาเซลเซียส อุณหภูมิเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 26.07-29.47 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.2-19.08 มิลลิเมตร และความชื้นสัมพัทธ์อยู่ระหว่าง 72-88.57 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ปี 2563 อุณหภูมิสูงสุดเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 30.28-38.72 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำสุดเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 22.05-25.23 องศาเซลเซียส อุณหภูมิเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 25.57-29.51 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0-20.48 มิลลิเมตร และความชื้นสัมพัทธ์อยู่ระหว่าง 69.86-88.86 เปอร์เซ็นต์

1. ความอุดมสมบูรณ์ของดิน

ผลวิเคราะห์ดินที่ระดับ 0-20 เซนติเมตร ปี 2562 แปลงทดลอง ณ แปลงเกษตรกร อำเภอปาย จังหวัดแม่ฮ่องสอน เนื้อดินเป็นดินร่วนทราย (sandy loam) มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ ประกอบด้วย อินทรีย์วัตถุ 1.60 เปอร์เซ็นต์ ความเป็นกรด-ด่าง 7.1 ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Bray-II) 64 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 145 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Table 1) อัตราปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินที่ใช้ในการทดลองนี้ อัตรา 15-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O/ไร่ (กรมวิชาการเกษตร, 2552) ส่วนในปี 2563 ผลวิเคราะห์ดิน พบว่า เนื้อดินเป็นดินร่วนทราย (sandy loam) มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ ประกอบด้วย อินทรีย์วัตถุ 1.50 เปอร์เซ็นต์ ความเป็นกรด-ด่าง 7.12 ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Bray-II) 70 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 135 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Table 11) อัตราปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินที่ใช้ในการทดลองนี้ อัตรา 15-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O/ไร่ (กรมวิชาการเกษตร, 2552)

แปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแม่ฮ่องสอน ในปี 2562 ผลวิเคราะห์ดินที่ระดับ 0-20 เซนติเมตร พบว่า เนื้อดินเป็นดินร่วนทราย (sandy loam) มีความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง ประกอบด้วย อินทรีย์วัตถุ 1.90 เปอร์เซ็นต์ ความเป็นกรด-ด่าง 6.85 ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Bray-II) 55 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 131 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Table 1) อัตราปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน ที่ใช้ในการทดลองนี้ อัตรา 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O/ไร่ (กรมวิชาการเกษตร, 2552) ส่วนในปี 2563 พบว่า เนื้อดินเป็นดินร่วนทราย (sandy loam) มีความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง ประกอบด้วย อินทรีย์วัตถุ 2.60 เปอร์เซ็นต์ ความเป็นกรด-ด่าง 6.80 ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Bray-II) 12 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 257 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Table 11) อัตราปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน ที่ใช้ในการทดลองนี้ อัตรา 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O/ไร่ (กรมวิชาการเกษตร, 2552)

Table 1 Basic soil properties at 0-20 cm. depth before planting

Year	pH ^{1/} (water 1:1)	Organic Matter ^{2/} (%)	Available P ^{3/} (Bray II-P mg/kg)	Exchangeable K ^{4/} (mg/kg)	Chemical fertilizer recommendation (kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai)
Field 1 at Pai District, Mae Hong Son province					
2562	7.10	1.60	64	145	15-5-5
2563	7.12	1.50	70	135	15-5-5
Field 2 at Mae Hong Son Agricultural Research and Development Center					
2562	6.85	1.90	55	131	10-5-5
2563	6.80	2.60	12	257	10-5-5

Remark: ^{1/}Analytical method followed by Peech (1965)

^{2/} Analytical method followed by Walkley and Black (1934)

^{3/} Analytical method followed by Bray and Kurtz (1945)

^{4/} Analytical method followed by Thomas (1982)

2. ความสูงของต้นที่วันเก็บเกี่ยว

การทดลองปี 2562 ความสูงของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ NH-146 ณ วันเก็บเกี่ยว ของทั้งสองแปลง พบว่าทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยค่าเฉลี่ยความสูงของแปลงทดลองที่ 2 (ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแม่ฮ่องสอน) สูงกว่าแปลงทดลองที่ 1 (แปลงเกษตรกร อำเภอปาย) ดังแสดงใน Table 2 อาจจะเป็นผลมาจากแปลงทดลองที่ 2 มีความอุดมสมบูรณ์ของดินสูงกว่าแปลงทดลองที่ 1 (ค่าวิเคราะห์ดิน) โดยพบว่าในแปลงทดลองที่ 1 กรรมวิธีที่ 4 แยกที่เรีย *A. brasilense* (AP1) ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 15-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ข้าวโพดสูงที่สุด คือ 249.8 เซนติเมตร แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ย (control) กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมี 15-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ (อัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน) และกรรมวิธีที่ 5 แยกที่เรีย *A. beijerinckii* (AT1) ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 15-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ข้าวโพดมีความสูง 225.4, 247 และ 246 เซนติเมตร ตามลำดับ (Table 2) ส่วนในแปลงทดลองที่ 2 พบว่า กรรมวิธีที่ 5 แยกที่เรีย *A. beijerinckii* (AT1) ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ข้าวโพดสูงที่สุด คือ 306.4 เซนติเมตร แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ (อัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน) กรรมวิธีที่ 3 แยกที่เรียที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพฟิซีอาร์-วัน *A. brasilense* (DASF04003) (แยกที่เรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชชนิดอ้างอิง) ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ 4 แยกที่เรีย *A. brasilense* (AP1) ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ข้าวโพดมีความสูง 294.4, 291.6 และ 304.4 เซนติเมตร ตามลำดับ (Table 2) และจากการทดลองปี 2563 พบว่า ความสูงของข้าวโพด ณ วันเก็บเกี่ยว ของทั้ง 2 แปลง ทุกกรรมวิธีทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ความสูงของแปลงทดลองที่ 1 อยู่ในช่วง 279.3-314.3 เซนติเมตร โดยกรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมี 15-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ข้าวโพดสูงที่สุด ส่วนความสูงข้าวโพดแปลงทดลองที่ 2 อยู่ในช่วง 260.7-278.7 เซนติเมตร โดยกรรมวิธีที่ 5 แยกที่เรีย *A. beijerinckii* (AT1) ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 15-5-5 กิโลกรัม

N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ทำให้ข้าวโพดสูงที่สุด เช่นเดียวกับรายงานของ Bandahu and Adhikari (2013) ที่รายงานว่า *Azotobacter* จะส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพด เนื่องจากสามารถตรึงไนโตรเจน ผลิต IAA และจิบเบอเรลลิน

3. ผลผลิตและคุณภาพผลผลิต

3.1 ความยาวฝัก

การทดลองในปี 2562 ทุกกรรมวิธีที่ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำ (กรรมวิธีที่ 3, 4 และ 5) ทั้ง 2 แปลงทดลอง ข้าวโพดเลี้ยงมีความยาวฝักเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยในแปลงที่ 1 แปลงเกษตรกร อำเภอปาย พบว่า กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมีใส่ปุ๋ยเคมี 15-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ (อัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน) มีความยาวฝัก เท่ากับ 17.3 เซนติเมตร โดยที่กรรมวิธีที่ 3 แบคทีเรียที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน *A. brasilense* (DASF04003) ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 15-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ 4 แบคทีเรีย *A. brasilense* (AP1) ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 15-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ 5 แบคทีเรีย *A. beijerinckii* (AT1) ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 15-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ มีความยาวฝัก 15.1, 16.4 และ 17.1 เซนติเมตร ตามลำดับ (Table 2) ส่วนแปลงทดลองที่ 2 ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแม่ฮ่องสอน ก็ให้ผลไปในทิศทางเดียวกัน คือ กรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมีใส่ปุ๋ยเคมี 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ (อัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน) มีความยาวฝัก เท่ากับ 19.4 เซนติเมตร โดยที่กรรมวิธีที่ 3, 4 และ 5 มีความยาวฝัก 18.6, 19.0 และ 18.7 เซนติเมตร ตามลำดับ (Table 2) ส่วนการทดลองในปี 2563 พบว่า ให้ผลการทดลองเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับปี 2562 คือ ทุกกรรมวิธีที่ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำ (กรรมวิธีที่ 3, 4 และ 5) ของแปลงทดลองทั้ง 2 แห่ง ข้าวโพดมีความยาวฝักไม่แตกต่างกันทางสถิติและไม่แตกต่างกับกรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ย (control) และกรรมวิธีที่ 2 ใส่ปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน

2. น้ำหนักฝักสด

ข้าวโพดที่ปลูกในแปลงทดลองที่ 1 แปลงเกษตรกร ณ อำเภอปาย ปี 2562 และปี 2563 ในทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักฝักสดอยู่ระหว่าง 270-358 กิโลกรัมต่อไร่ และ 193-307 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (Table 2) ส่วนผลการทดลองในแปลงที่ 2 ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแม่ฮ่องสอน ปี 2562 ในทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักฝักสดอยู่ระหว่าง 488-539 กิโลกรัมต่อไร่ ขณะที่ในปี 2563 ทุกกรรมวิธีทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยข้าวโพดมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักฝักสดอยู่ระหว่าง 146-196 กิโลกรัมต่อไร่ โดยกรรมวิธี 5 แบคทีเรีย *A. beijerinckii* (AT1) ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ มีน้ำหนักฝักสดข้าวโพดสูงที่สุด เท่ากับ 196 กิโลกรัมต่อไร่ รองลงมาคือ กรรมวิธี 3, 2 และ 4 มีน้ำหนักฝักสด 186, 179 และ 153 กิโลกรัมต่อไร่ ขณะที่กรรมวิธี 1 มีน้ำหนักฝักสดข้าวโพดต่ำที่สุด (Table 2) ทั้งนี้พบว่า ปริมาณผลผลิตข้าวโพดในปี 2563 ต่ำกว่าปี 2562 อาจเนื่องมาจากภัยแล้ง โดยข้อมูลสภาพภูมิอากาศจากกรมอุตุนิยมวิทยารายสัปดาห์เดือนมิถุนายน-ตุลาคม ปี 2562 พบว่า อุณหภูมิสูงสุดเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 30.31-35.67

องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำสุดเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 22.08-25.34 องศาเซลเซียส และปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0.2-19.08 มิลลิเมตร ขณะที่ปี 2563 อุณหภูมิสูงสุดเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 30.28-38.72 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำสุดเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 22.05-25.23 องศาเซลเซียส และปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 0-20.48 มิลลิเมตร ซึ่งปริมาณน้ำฝนในปี 2562 มีปริมาณสูงกว่าปี 2563

3. น้ำหนักเมล็ด

ข้าวโพดที่ปลูกในแปลงทดลองที่ 1 แปลงเกษตรกร ณ อำเภอปาย ปี 2562 และปี 2563 ในทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าเฉลี่ยของผลผลิตเมล็ดข้าวโพดที่ความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์ อยู่ระหว่าง 195-225 กิโลกรัมต่อไร่ และ 164-261 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (Table 2) ส่วนผลการทดลองในแปลงที่ 2 ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรแม่ฮ่องสอน ปี 2562 ในทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าเฉลี่ยของผลผลิตเมล็ดข้าวโพดที่ความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์ อยู่ระหว่าง 350-388 กิโลกรัมต่อไร่ ส่วนผลการทดลองในปี 2563 พบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยข้าวโพดมีน้ำหนักเมล็ด 124-167 กิโลกรัมต่อไร่ โดยกรรมวิธี 5 แบบที่เรีย *A. beijerinckii* (AT1) ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ มีน้ำหนักเมล็ดสูงสุด เท่ากับ 167 กิโลกรัมต่อไร่ (Table 2) ทั้งนี้ น้ำหนักเมล็ดในกรรมวิธีที่ 5 สูงกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ อาจจะเป็นผลของเชื้อ *A. beijerinckii* มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนและผลิตสารเร่งการเจริญเติบโตให้กับพืช เช่นเดียวกับรายงานของ Bandahu and Adhikari (2013) พบว่า *Azotobacter* จะส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพด เนื่องจากสามารถตรึงไนโตรเจน ผลิต IAA และจิบเบอเรลลิน

4. น้ำหนัก 100 เมล็ด

น้ำหนัก 100 เมล็ดของข้าวโพดในปี 2562 ของทั้งสองแปลงทดลองในทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตในกรรมวิธี 3, 4 และ 5 ไม่มีความแตกต่างกับกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียวและกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ย ซึ่งในแปลงทดลองที่ 1 พบว่า กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ย (control) มีน้ำหนัก 100 เมล็ด เท่ากับ 33.6 กรัม (Table 2) ส่วนในแปลงทดลองที่ 2 พบว่า กรรมวิธีที่ แบคทีเรีย *A. beijerinckii* (AT1) ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตรา 10-5-5 กิโลกรัม N-P₂O₅-K₂O ต่อไร่ ข้าวโพด 100 เมล็ด มีน้ำหนัก เท่ากับ 37.2 กรัม ส่วนการทดลองในปี 2563 พบว่า ในแปลงทดลองที่ 1 ทุกกรรมวิธีทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่ปุ๋ย มีน้ำหนัก 100 เมล็ด เท่ากับ 38.0 กรัม แต่ไม่แตกต่างกับกรรมวิธีใส่แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตในกรรมวิธี 3, 4 และ 5 โดยมีน้ำหนัก 100 เมล็ด 36.7, 37 และ 36.7 ตามลำดับ ซึ่งไม่สอดคล้องกับรายงานของ Peng *et al.* (2013) และ Revolti *et al.* (2018) ที่พบว่า *Azotobacter* และ *Azospirillum* สามารถเพิ่มความสูง น้ำหนักสด และผลผลิตข้าวโพด และผลการทดลองในแปลงที่ 2 พบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ยข้าวโพด 100 เมล็ดมีน้ำหนักอยู่ระหว่าง 32.3-34.8 กรัม (Table 2)

กรมวิชาการเกษตร

Table 2 Height, ear length, yield with husk, yield without husk, grain weight and 100-grain weight of maize variety NH-146 in field during 2562-2563 in Mae Hong Son province

Treatment	Height (cm)		Ear length (cm)		Ear weight with husk (kg/rai)		Grain weight ^{1/} (kg/rai)		100-grain weight (g)	
	2562	2563	2562	2563	2562	2563	2562	2563	2562	2563
	Field 1 at Pai District, Mae Hong Son province									
1. Control	225.4 ab	279.3	16.3	17.9	287	193	209	164	33.6	38.0 a
2. 15-5-5 kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai	247.0 a	314.3	17.3	17.0	358	246	246	210	33.4	35.2 b
3. DASF04003 + 15-5-5 kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai	203.4 b	297.3	15.1	18.6	270	274	195	233	30.8	36.7 ab
4. AP1 + 15-5-5 kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai	249.8 a	312.3	16.4	17.2	313	243	216	206	33.0	37.0 ab
5. AT1 + 15-5-5 kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai	246.0 a	299.7	17.1	18.5	318	307	225	261	33.2	36.7 ab
CV (%)	5.20**	8.04	6.21	3.71	22.22	23.48	19.97	23.38	4.73	10.59*
Field 2 at Mae Hong Son Agricultural Research and Development Center										
1. Control	285.9 b	263.3	18.5	17.2	488	146 c	350	124 c	35.6	34.8
2. 15-5-5 kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai	294.2 ab	266.0	19.4	17.8	539	179 abc	381	152 abc	35.0	34.8
3. DASF04003 + 15-5-5 kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai	291.6 ab	260.7	18.6	17.6	537	186 ab	388	158 ab	35.8	35.0
4. AP1 + 15-5-5 kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai	304.4 a	267.7	19.0	17.2	536	153 bc	384	130 bc	34.9	33.1
5. AT1 + 15-5-5 kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai	306.4 a	278.7	18.7	16.9	533	196 a	367	167 a	37.2	32.3
CV (%)	2.52**	4.02	2.55	4.31	13.04	10.52*	14.55	10.59*	4.81	8.04

Remark : * mean followed by the same letter in column are not significantly different at the 95% confidence level by DMRT

** mean followed by the same letter in column are not significantly different at the 99% confidence level by DMRT

^{1/} indicate 14% grain moisture

4. ประชากรแบคทีเรีย

ในปี 2562 ก่อนเริ่มทำการทดลองได้ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างดินเพื่อนับจำนวนประชากรแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด คือ *Azospirillum* sp. และ *Azotobacter* sp. โดยจำนวนประชากรของ *Azotobacter* sp. ก่อนการทดลองของทั้งสองแปลงทดลองนั้นไม่สามารถตรวจนับได้ นอกจากนี้ยังพบว่า จำนวนประชากรของ *Azospirillum* sp. ของทั้งสองแปลงทดลองมีปริมาณอยู่ระหว่าง 3.37–4.02 Log₁₀CFU/g ดังแสดงใน Table 3 ซึ่งเมื่อตรวจนับจำนวนประชากรของแบคทีเรียหลังการเก็บเกี่ยว พบว่า เกือบทุกกรรมวิธีมีปริมาณ *Azospirillum* sp. เพิ่มขึ้นโดยมีปริมาณอยู่ระหว่าง 3.85–5.26 Log₁₀CFU/ml และไม่สามารถตรวจนับจำนวนประชากรของ *Azotobacter* sp. ได้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงาน Bashan and Levany (1990), Meunchang *et al.* (2006a) และ Meunchang *et al.* (2006b) ที่รายงานว่า โดยทั่วไปหลังการใส่ปุ๋ยชีวภาพปริมาณประชากรแบคทีเรียจะลดอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้เนื่องจากความไม่สม่ำเสมอของสภาพแวดล้อมซึ่งไม่สามารถควบคุมได้ จึงมักพบว่าผลการทดลองในสภาพปลอดเชื้อกับในธรรมชาติมีความแตกต่างกันมาก ส่วนประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของเชื้อแบคทีเรียในทุกกรรมวิธีมีค่าอยู่ระหว่าง 0.025–0.039 ไมโครโมลเอทีลิตต่อชั่วโมง ในแปลงที่ 1 กรรมวิธี 4 แบคทีเรีย *A. brasilense* (AP1) ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำ มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนสูงที่สุด ขณะที่กรรมวิธี 5 แบคทีเรีย *A. beijerinckii* (AT1) ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำ มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนต่ำที่สุดทั้ง 2 แปลงทดลอง (Table 3) ส่วนผลการทดลองในปี 2563 พบว่า ก่อนการทดลอง จำนวนประชากรของ *Azospirillum* ของแปลงที่ 1 มีปริมาณอยู่ระหว่าง 4.28–5.46 Log₁₀CFU/g และไม่สามารถตรวจนับจำนวนประชากรของ *Azotobacter* ได้เช่นเดิม และแปลงที่ 2 มีปริมาณอยู่ระหว่าง 4.76–5.40 Log₁₀CFU/g และหลังการทดลอง พบว่า เกือบทุกกรรมวิธีในแปลง 1 มีปริมาณ *Azospirillum* เพิ่มขึ้น โดยมีปริมาณอยู่ระหว่าง 4.74–5.37 Log₁₀CFU/g และสามารถตรวจนับจำนวนประชากรของ *Azotobacter* ได้ โดยมีปริมาณอยู่ระหว่าง 3.00–3.37 Log₁₀CFU/g ส่วนในแปลงที่ 2 พบว่า ทุกกรรมวิธีมีปริมาณ *Azospirillum* ลดลง โดยมีปริมาณอยู่ระหว่าง 3.54–3.95 Log₁₀CFU/g และสามารถตรวจนับจำนวนประชากรของ *Azotobacter* ได้ โดยมีปริมาณอยู่ระหว่าง 3.16–3.84 Log₁₀CFU/g ส่วนประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของเชื้อแบคทีเรียในทุกกรรมวิธีมีค่าอยู่ระหว่าง 0.018–0.085 ไมโครโมลเอทีลิตต่อชั่วโมง โดยกรรมวิธี 2 แบคทีเรีย *A. brasilense* (DASF04003) ในแปลงที่ 1 มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนสูงที่สุด ทั้งนี้ความหนาแน่นหรือปริมาณของเชื้อ *Azotobacter* ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ปริมาณอินทรีย์วัตถุ ความเป็นกรดต่างของดิน ความชื้นของดิน ปริมาณเกลือในดิน พืชอาศัย จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (antagonistic microorganism) อุณหภูมิ และคุณลักษณะของเชื้อเอง (Tchan *et al.*, 1984; Kizilkaya, 2009) ซึ่งปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้อาจมีผลทำให้ไม่สามารถตรวจพบเชื้อในดินได้ ส่วนเชื้อ *Azospirillum* สามารถเจริญได้ดีที่ pH เป็นกรด (5.7–6.8) อุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 32–40 องศาเซลเซียส และมีพืชอาศัยได้กว่า 113 ชนิด (species) เช่น ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ข้าว ข้าวสาลี ทานตะวัน อ้อย และพืชอาหารสัตว์ เป็นต้น (Baldani *et al.*, 1986; Fages and Arsac, 1991; Pereg *et al.*, 2016; Cassan *et al.*, 2020) ทำให้สามารถตรวจพบเชื้อ *Azospirillum* ได้มากกว่า

Table 13 Nitrogen fixation efficiency and population density of *Azospirillum* and *Azotobacter* in field during 2562-2563

Treatment	Nitrogen fixing rate ($\mu\text{mol C}_2\text{H}_2$ /hr)		Population density ($\text{Log}_{10}\text{CFU/g}$)							
			<i>Azospirillum</i> sp.				<i>Azotobacter</i> sp.			
			Pre-planting		Post-harvesting		Pre-planting		Post-harvesting	
	2562	2563	2562	2563	2562	2563	2562	2563	2562	2563
Field 1 at Pai District, Mae Hong Son province										
1. Control	0.029 ± 0.006	0.053 ± 0.012	3.71	4.28	4.28	5.10	-	-	-	3.15
2. 15-5-5 kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai	0.030 ± 0.006	0.085 ± 0.007	3.95	4.99	3.95	5.27	-	-	-	3.23
3. DASF04003 + 15-5-5 kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai	0.030 ± 0.006	0.042 ± 0.018	3.77	5.46	4.19	4.74	-	-	-	3.18
4. AP1 + 15-5-5 kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai	0.037 ± 0.006	0.046 ± 0.001	3.61	5.43	3.95	5.37	-	-	-	3.00
5. AT1 + 15-5-5 kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai	0.025 ± 0.019	0.036 ± 0.011	3.66	5.09	3.85	5.06	-	-	-	3.37
Field 2 at Mae Hong Son Agricultural Research and Development Center										
1. Control	0.039 ± 0.011	0.037 ± 0.008	4.02	4.91	4.91	3.70	-	-	-	3.84
2. 15-5-5 kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai	0.027 ± 0.006	0.034 ± 0.011	3.92	4.76	5.26	3.74	-	-	-	3.27
3. DASF04003 + 15-5-5 kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai	0.029 ± 0.004	0.027 ± 0.010	3.37	5.40	5.00	3.54	-	-	-	3.79
4. AP1 + 15-5-5 kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai	0.030 ± 0.007	0.018 ± 0.004	3.83	4.83	4.83	3.83	-	-	-	3.16
5. AT1 + 15-5-5 kg N-P ₂ O ₅ -K ₂ O per rai	0.025 ± 0.018	0.019 ± 0.007	3.76	4.91	5.45	3.95	-	-	-	3.58

Remark : - indicate not detectable

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตทั้งสองสกุลที่คัดเลือกได้ คือ *Azospirillum* sp. และ *Azotobacter* sp. และ *Azospirillum brasilense* (DASF04003) ที่ใช้ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์-วัน ในการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ NH-146 ให้ผลการทดสอบไม่แตกต่างกัน นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตทั้งสองสกุลร่วมกับการใส่ปุ๋ยเคมีสามารถช่วยเพิ่มผลผลิตและคุณภาพผลผลิตได้ จึงควรมีการศึกษาต่อในระยะยาวเพื่อให้ได้ผลการทดสอบที่ชัดเจนมากขึ้น

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. นำข้อมูลที่ได้ไปพัฒนาต่อยอด เช่น การพัฒนาผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ที่มีประสิทธิภาพที่สูงขึ้น
2. สามารถให้คำแนะนำแก่เกษตรกรที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในการใช้ปุ๋ยชีวภาพฟิซีฟิอาร์ร่วมกับปุ๋ยเคมีเพื่อลดต้นทุนการผลิต

11. คำขอบคุณ

-

12. เอกสารอ้างอิง

- กรมพัฒนาที่ดิน. 2562. เอกสารเผยแพร่การจัดงานวันดินโลก ประจำปี 2562. แหล่งที่มา: http://worldsoilday.ldd.go.th/Data_2562/Documents/Document_16.pdf, สืบค้น: 23 มกราคม 2564.
- กรมวิชาการเกษตร. 2552. คำแนะนำการใช้ปุ๋ยกับพืชเศรษฐกิจ. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด กรุงเทพฯ. 122 หน้า.
- เกริก ปั่นแห่งเพ็ชร. 2559. การประเมินผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงภูมิอากาศโลกต่อการผลิตพืชในการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศของไทย เล่มที่ 3 ผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศต่อการเกษตร. หน้า 47-61. ใน: รายงานการวิจัยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย 2559.
- दनัย พรอำนวยลาภ และ อำนาจ ชิตไธสง. 2559. การตอบสนองของข้าวต่อปัจจัยภูมิอากาศในการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศของไทย เล่มที่ 3 ผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศต่อการเกษตร. หน้า 21-43. ใน: รายงานการวิจัยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย 2559.
- ธงชัย มาลา. 2550. ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ: เทคนิคการผลิตและการใช้ประโยชน์. ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 300 หน้า.
- สมชาย บุญประดับ. 2558. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงฐานพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตในพื้นที่อ่อนไหว: กรณีศึกษาในระบบการผลิตพืชในพื้นที่ลุ่มน้ำปาย. หน้า 23-25. ใน: รายงานชุดโครงการวิจัยการวิจัยภาวะการเปลี่ยนแปลงภูมิอากาศกับระบบการผลิตภาคเกษตร 2558. กรมวิชาการเกษตร

- หนึ่ง เตียอำรุง. 2548. ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับแบคทีเรีย PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria). ว. เทคโนโลยีสุรนารี. 12(3): 249–258.
- Backer, R., J.S. Rokem, G. Ilangumaran, J. Lamont, D. Praslickova, E. Ricci, S. Subramanian and D.L. Smith. 2018. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria: Context, Mechanisms of Action, and Roadmap to Commercialization of Biostimulants for Sustainable Agriculture. *Front. Plant Sci.* 9: 1-17.
- Bakken, L.R., L. Bergaust, B. Liu and A. Frostegard. 2012. Regulation of Denitrification at the Cellular Level: A Clue to the Understanding of N₂O Emissions from Soils. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 367: 1226-1234.
- Baldani, J.I., V.L.D. Baldani, L. Seldin and J. Dobereiner. 1986. Characterization of *Herbaspirillum seropedicae* gen. nov. sp. nov., a Root Associated N₂-fixing Bacterium. *Int. Syst. Bacteriol.* 36: 86-93.
- Bandahu, R.B. and P. Adhikari. 2013. Effect of *Azotobacter* on Growth and Yield of Maize. *SAARC J. Agric.* 11(2): 141–147.
- Bardgett, R.D., P. Manning, E. Morrien and F.T. de Vries. 2013. Hierarchical Responses of Plant-Soil Interactions to Climate Change: Consequences for the Global Carbon Cycle. *J. Eco.* 101: 334-343.
- Bashan, Y. and H. Levanony. 1990. Current Status of *Azospirillum* Inoculation Technology: *Azospirillum* as a Challenge for Agriculture. *Can. J. Microbiol.* 36: 591-608.
- Bradford, M.A., C.A. Davies, S.D. Frey, T.R. Maddox, J. M. Melillo, J.E. Mohan, J.F. Reynolds, K.K. Treseder and M.D. Wallenstein. 2008. Thermal Adaptation of Soil Microbial Respiration to Elevated Temperature. *Ecol. Lett.* 11(12): 1316–1327.
- Bray, R.H. and L.T. Kurtz. 1945. Determination of Total, Organic, and Available Forms of Phosphorus in Soils. *Soil Sci.* 59(1): 39–45.
- Cassan, F.D., A. Coniglio, G. López, R. Molina, S. Nievas, C.L.N. de Carlan, F. Donadio, D. Torres, S. Rosas, F.O. Pedrosa, E. de Souza, M.D. Zorita, L.de-Bashan and V. Mora. 2020. Everything You Must Know About *Azospirillum* and its Impact on Agriculture and Beyond. *Biol. Fertil. Soils.* 56: 461-479.
- Castro, H.F., A.T Classen, E.E Austin, R.J. Norby and C.W. Schadt. 2010. Soil Microbial Community Responses to Multiple Experimental Climate Change Drivers. *Appl. Environ. Microbiol.* 76(4): 999-1007.

- DeAngelis, K.M., G. Pold, B.D. Topçuoğlu, L.T.A. van Diepen, R.M. Varney, J.L. Blanchard, J. Melillo and S.D. Frey. 2015. Long-term Forest Soil Warming Alters Microbial Communities in Temperate Forest Soils. *Front. Microbiol.* 6(14): 1-13.
- Fages, J. and J.F. Arsac. 1991. Sunflower Inoculation with *Azospirillum* and Other Plant Growth Promoting Rhizobacteria. *Plant Soil.* 137: 87-90.
- Glick, B.R., C.L. Patten, G. Holguin and D.M. Penrose. 1999. Biochemical and Genetic Mechanisms Used by Plant Growth Promoting Bacteria. Imperial College Press, Waterloo, Ontario, Canada. 276 p.
- IPCC, 2014. Summary for Policymakers, Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, USA. 1150 p.
- Isobe, K., K. Koba, S. Otsuka and K. Senoo. 2011. Nitrification and Nitrifying Microbial Communities in Forest Soils. *J. For. Res.* 16: 351-362.
- Kaur, J., G. Pandove, M. Gangwar, S. Kaurbrar and K.S. Sekhon. 2018. Mitigating the Impact of Climate Change on Wheat by Use of Liquid Microbial Inoculants under Different Planting Dates. *Res. on Crops.* 19(3): 365-372.
- Kizilkaya, R. 2009. Nitrogen Fixation Capacity of *Azotobacter* spp. Strains Isolated From Soils in Different Ecosystems and Relationship between Them and the Microbiological Properties of Soils. *J. Environ. Biol.* 30(1): 73-82.
- Meunchang, S., S. Panichsakpatana and R.W. Weaver. 2006a. Tomato Growth in Soil Amended with Sugar Mill By-products Compost Containing N₂-fixing Bacteria. *Plant Soil.* 280: 171-176.
- Meunchang, S., S. Panichsakpatana, S. Ando, T. Yokoyama and R.W. Weaver. 2006b. Bio-organic Fertilizer Production Development from Compost and Plant Growth Promoting Rhizobacteria. *In: Abstract of 14th world fertilizer congress.* January 21-27, 2006. Chiang Mai, Thailand.
- Peech, M. 1965. Hydrogen-ion activity. Pages 914-926. *In: Methods of Soil Analysis Part 2.* Black, C.A. (ed.) American Society of Agronomy, Madison.
- Peng, S.H., W.M. Wan-Azha, W.Z. Wong, W.Z. Go, E.W. Chai, K.L. Chin and P.S. H'ng. 2013. Effect of Using Agro-fertilizers and N-fixing *Azotobacter* Enhanced Biofertilizers on the Growth and Yield of Corn. *J Appl Sci.* 13: 508-512.
- Pereg, L., L.E. de-Bashan and Y. Bashan. 2016. Assessment of Affinity and Specificity of *Azospirillum* for Plants. *Plant soil.* 399: 389-414.

- Pillay, V.K. and J. Nowak. 1997. Inoculum Density, Temperature, and Genotype Effects on *In Vitro* Growth Promotion and Epiphytic and Endophytic Colonization of Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) Seedlings Inoculated with a Pseudomonad Bacterium. *Can. J. Microbiol.* 43: 354-361.
- Revolti, L.T.M., C.H. Caprio, F.L.C. Mingotte and G.V. Mõro. 2018. *Azospirillum* spp. Potential for Maize Growth and Yield. *Afr. J. Biotechnol.* 17(18): 574-585.
- Salles, J.F., X. Le Roux and F. Poly. 2012. Relating Phylogenetic and Functional Diversity among Denitrifiers and Quantifying Their Capacity to Predict Community Functioning. *Front. Microbiol.* 3: 1-15.
- Tchan, Y.T. 1984. Azotobacteriaceae. Pages 219-225. *In: Bergey's Manual of Systemic Bacteriology.* J. Krieg and G. Holt (eds.) Williams and Wilkins, Baltimore, London.
- Thomas, G.W. 1982. Exchangeable Cations. Pages 159-165. *In: Methods of Soil Analysis. Part II.* A. L. Miller and D.R. Keeney, (eds.) 2nd edition. America Society of Agronomy and Soil Science of America. Madison. Wisconsin, USA.
- Walkley, A. and I.A. Black. 1934. An Examination of the Degtjareff Method for Determining Soil Organic Matter and a Proposed Modification of the Chromic Acid Titration Method. *Soil Sci.* 37: 29-38.