

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์เชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจน (NFB) 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Enterobacter* sp. 3LSO1 และ *Stenotrophomonas maltophilia*, 5LSO2 ที่เตรียมโดยใช้ซอฮอล์เมตเป็นวัสดุพาในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของอ้อยสายพันธุ์ขอนแก่น 3 และตรวจติดตามการเปลี่ยนแปลงเชื้อ NFB ที่ใส่ลงไปดินและต้นอ้อยพร้อมทั้งศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติบางประการของดินทางเคมีและจุลชีววิทยาในสภาพแปลงทดลองในไร่ โดยเตรียมเชื้อ NFB ในอาหารเหลว LB ผสมให้เข้ากันกับซอฮอล์เมต เก็บที่อุณหภูมิประมาณ 10°C นำชีวภัณฑ์เชื้อ NFB 4.5 kg ที่มีเชื้อประมาณ 10^7 cfu/g ใส่ในแต่ละแปลงย่อย โดยวางแผนการทดลองแบบ Factorial in randomized complete block design (RCBD) ประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยเชื้อ NFB 4 ระดับ ได้แก่ 1) ไม่ใส่เชื้อ NFB 2) เชื้อ 3LSO1 3) เชื้อ 5LSO2 4) เชื้อผสม 3LSO1+5LSO2 ส่วนปัจจัยปุ๋ยเคมี 3 ระดับ ได้แก่ 1) PK 2) $\frac{1}{2}$ N-PK 3) N-PK รวมทั้งหมด 12 ตำรับทดลองๆ ละ 4 ซ้ำ การศึกษาทำในดินที่มีอินทรีย์วัตถุต่ำ แต่ละแปลงทดลองจะปลูกอ้อย 5 แถว ในพื้นที่ 8.5x8.5 ตารางเมตร ที่มีทางเดินรอบแปลงขนาด 1.5 เมตร ใส่เชื้อ NFB พร้อมกับการใส่แม่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 ในอัตรา 50 kg/ไร่ จะใส่หลังจากปลูกอ้อยได้ 15 วัน และใส่แม่ปุ๋ยอีกครั้งหลังจากปลูกอ้อยได้ประมาณ 5 เดือน โดยใช้สูตร 21-7-14 ในอัตรา 60 kg/ไร่ พบว่าเชื้อ NFB ที่ใส่ในแปลงทดลองไม่มีผลต่อค่าความชื้น ความเป็นกรด-ด่าง และค่าการนำไฟฟ้าของดินที่ใช้ปลูก การตรวจติดตามเชื้อ *Enterobacter* sp. 3LSO1 และ *S. maltophilia* 5LSO2 ในดินและอ้อยใช้วิธีการติดตามยีน Variable region ส่วน V3 ของ 16S rRNA โดยใช้เทคนิค PCR ร่วมกับ DGGE พบว่าดินที่ 0 เดือน ปรากฏแถบ V3 ของเชื้อ *S. maltophilia* 5LSO2 มีแถบเดียว และพบแถบ V3 ของเชื้อ *Enterobacter* sp. 3LSO1 3 แถบ ในตำรับทดลองที่มีการใส่เชื้อนั้นๆ เท่านั้น ซึ่งตรงกับตำแหน่งที่พบในเชื้อบริสุทธิ์ทั้ง 2 เชื้อ นอกจากนี้ยังพบแถบของเชื้อ *S. maltophilia* 5LSO2 ในทุกตำรับทดลองในตัวอย่างดินและอ้อยที่ 3 และ 6 เดือนด้วย อย่างไรก็ตามแถบเหล่านี้จะจางลงเรื่อยๆ ในตัวอย่างดินและอ้อยที่ 3, 6 และ 11 เดือน ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าเกิดการปนเปื้อนของเชื้อ NFB ไปยังทุกตำรับทดลองและเชื้อ *S. maltophilia* 5LSO2 อยู่รอดในสิ่งแวดล้อมได้ดีกว่าเชื้อ *Enterobacter* sp. 3LSO1 ดังนั้นจึงยากที่จะประเมินผลของเชื้อ NFB ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของอ้อย อย่างไรก็ตามพบว่าผลผลิตเฉลี่ยในตำรับทดลองที่ใส่เชื้อ NFB มีค่าเฉลี่ยผลผลิต 7.17 ตัน/ไร่ มีความสูงเฉลี่ย 157.5 เซนติเมตร ในขณะที่ตำรับทดลองที่ไม่ใส่เชื้อ NFB ค่าเฉลี่ยผลผลิต 5.93 ตัน/ไร่ มีความสูงเฉลี่ย 141.9 เซนติเมตร โดยตำรับทดลองที่ไม่ใส่หรือใส่ปุ๋ยยูเรียครั้งอัตราพร้อมกับการใส่เชื้อ NFB จะมีจำนวนต้นและน้ำหนักแห้งใกล้เคียงหรือมากกว่าตำรับทดลองที่ไม่ใส่เชื้อ NFB แต่ใส่ปุ๋ยยูเรียเต็มอัตราแสดงให้เห็นว่า การใส่เชื้อ NFB ช่วยลดการใส่ปุ๋ย N ลงได้ถึงครึ่งหนึ่งโดยผลผลิตที่ได้คงเดิมหรือมากกว่า

คำสำคัญ การเพาะปลูกอ้อย, เชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจน, ซอฮอล์เมต, การส่งเสริมการเจริญเติบโต, สภาพแปลงทดลอง

Abstract

The present work aims to evaluate the efficiency of 2 strains of nitrogen fixing bacteria (NFB), *Enterobacter* sp. 3LSO1 and *Stenotrophomonas maltophilia* 5LSO2, formulated by using soilmate as carrier material for enhancing growth of sugarcane variety Khon Kaen 3, to follow the changeable of these NFB in soil and sugarcane, and to study the changing of some soil chemical and microbiological properties in the field trial. The NFB were prepared in LB broth, mixed thoroughly with soilmate, stored at temperature about 10°C. The 4.5 kg of formulated NFB about 10^7 cfu/g were applied into each sub-plot. The experiments were designed in factorial by randomized complete block design (RCBD) with 2 main factors as followed: 4 NFB levels; 1) No NFB, 2) 3LSO1, 3) 5LSO2 and 4) 3LSO1 mixed with 5LSO2; and 3 chemical fertilizer levels; 1) PK 2) ½N-PK 3) N-PK. There were 12 treatments with 4 replicates. The studies were conducted in the low organic matter soil. Each sub-plot contained 5 rows of sugarcane in 8.5x8.5 m² with 1.5 m of space surrounded. The NFB and chemical fertilizers formula 15-15-15 at rate 50 kg/rai were applied at 15 days after planting. Only chemical fertilizers formula 21-7-14 at rate 60 kg/rai were applied again at 5 months after planting. It was found that NFB showed no effect on moisture, acid-base and the electrical conductivity of the planting soil. The monitoring of *Enterobacter* sp. 3LSO1 and *S. maltophilia* 5LSO2 were assessed by tracking Variable region, V3 of 16S RNA gene in sugarcane and in soil of each treatment by using PCR and DGGE technique. The results of soil sample at 0 month showed one band of V3 region of *S. maltophilia* 5LSO2 as well as 3 bands of V3 region of *Enterobacter* sp. 3LSO1 only in the treatments that each NFB were applied. These bands were corresponding to the bands found in pure culture. Furthermore, the position of band of *S. maltophilia* 5LSO2 was established in each soil and sugarcane samples of each treatments collected at 3 and 6 month after planting. However, this band was faded in the soil and sugarcane samples of 3, 6 and 11 months, respectively. These results suggested that NFB were contaminated in each treatment, moreover, *S. maltophilia* 5LSO2 was more survival than *Enterobacter* sp. 3LSO1. So, it was not easily to evaluate the efficiency of NFB for enhancing growth of sugarcane. However, the results showed mean production and mean height of the treatments applying the NFB were 7.17 ton/rai and 157.5 cm, while mean production and mean height of the control treatments (no NFB) were 5.93 ton/rai and 141.9 cm, respectively. Moreover, the treatments that applied no or half strength of N with NFB inoculation displayed the same amount or more number of shoots and dry weight than the treatments that applied full strength of N without NFB inoculation. These results suggested that NFB inoculation could reduce N fertilizer by up to half strength with the production remain the same or more.

Keywords Sugarcane Plantation, Nitrogen Fixing Bacteria, Soil Mate, Enhancing Growth, Field