ประสิทธิภาพของแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนแบบอิสระต่ออัตราการงอกเมล็ดของข้าว

ธนกฤต เลิศจันทรางกูล[1*], อัจฉรา เพ็งหนู[2], วันวิสาข์ ปั้นศักดิ์[3] และวิภา หอมหวล[4]

Effectiveness of free living nitrogen fixing bacteria on seed germination of rice

Tanakit Lertjantarangkool[1*], Ashara Pengnoo[2], Wanwisa punsak[3] and Wipa homhaul[4]

[1] นิสิต ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร 65000

[2] รองศาสตราจารย์ ภาควิชาธรณีศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จังหวัดสงขลา 90110

[3,4] อาจารย์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร 65000

*Corresponding author. prapatlert@gmail.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรีย ด้วยวิธี acetylene reduction assay (ARA) และการผลิต indole-3-acetic acid (IAA) ด้วยการใช้ Salkowski reagent ที่คัดแยกจากส่วนกาบใบข้าว รากข้าว และดินบริเวณรอบรากข้าวพื้นที่จังหวัดสงขลาและจังหวัดนครศรีธรรมราช และศึกษาประสิทธิภาพการใช้แบคทีเรียต่ออัตราการงอกเมล็ดข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ทดสอบอัตราการงอกเมล็ดข้าวร่วมกับแบคทีเรียจำนวน 12 ไอโซเลต วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ ๆ ละ 100 เมล็ด โดยแช่เมล็ดด้วยน้ำและอาหารเหลวเป็นกรรมวิธีควบคุม ผลการศึกษาพบว่า NK7-2 ที่คัดแยกได้จากส่วนกาบใบของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนได้สูงที่สุดเท่ากับ 0.3427 นาโนโมลของเอทธิลีนต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร และแบคทีเรียไอโซเลต NK5-1 ที่คัดแยกได้จากส่วนกาบใบของข้าวพันธุ์หอมนิล มีประสิทธิภาพการผลิตฮอร์โมน IAA สูงที่สุด 510.50 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร จากการทดสอบการใช้แบคทีเรียไม่มีผลทำให้อัตราการงอกเมล็ดข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 แตกต่างกันทางสถิติ แต่การใช้ NK5-1 NK5-4 NK7-3 NK8-4 NK12-1 NK12-2 และ NK12-3 มีการเพิ่มอัตราการงอกเมล็ดข้าวได้สูงกว่ากรรมวิธีควบคุม โดยการใช้แบคทีเรียไอโซเลต NK5-1 ทำให้อัตราการงอกเมล็ดข้าวสูงที่สุด (ร้อยละ 97.33) และพบว่าการใช้แบคทีเรียไอโซเลต NK5-4 NK7-3 และ NK12-3 มีผลทำให้ความยาวรากอ่อนข้าวเพิ่มสูงขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุม ซึ่งการใช้ NK12-3 มีผลทำให้ความยาวรากอ่อนสูงที่สุด (7.72 เซนติเมตร) และการใช้ NK5-5 NK12-1 และ NS17-3 มีผลทำให้ความยาวต้นอ่อนข้าวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และการใช้ NK5-5 มีผลความยาวต้นอ่อนข้าวสูงที่สุด (9.06 เซนติเมตร) สรุปได้ว่า NK7-2 มีประสิทธิภาพตรึงไนโตรเจนสูงที่สุด และ NK5-1 มีประสิทธิภาพการผลิตฮอร์โมน IAA สูงที่สุด และการใช้ NK5-1 NK5-5 และ NK12-3 มีการส่งเสริมอัตราการงอกเมล็ดข้าว ความยาวต้น และความยาวรากเพิ่มสูงขึ้น ตามลำดับ (ร้อยละ 7.51 24.61 และ 20.85)

คำสำคัญ: ไนโตรเจน แบคทีเรียตรึงไนโตรเจน กรดอินโดล-3-แอซิติก ข้าว

Abstract

This research aimed to study effectiveness of nitrogen fixation by acetylene reduction assay (ARA) method and indole-3-acetic acid (IAA) production by Salkowski reagent assay, Bacteria were isolated from sheath, root and rhizosphere soil in Songkhla and Nakhon Si Thammarat provinces, and their effectiveness on seeds germination of Chai nat 1 varieties was studied. The 12 isolates of bacteria were tested of seeds germination. The experiment was of Completely Randomized Design (CRD) with 14 treatments (3 replications). Seeds were soaked in water and broth were used as the control. There were 100 seeds per paper. The results showed that the highest nitrogen

fixing bacteria and IAA production were isolated from sheath of rice. NK7-2 showed that the highest of nitrogen fixation at 0.3427 nmol C_2H_4/N/hr./ml. and NK5-1 showed that the highest of IAA production 510.50 μM/ml. Seed germination of Chai Nat 1 rice varieties was not significant, but seed germination were increased by NK5-1, NK5-4, NK7-3, NK8-4, NK12-1,NK12-2 and NK12-3. NK5-1 resulted in the highest seeds germination (97.33%) and root length was significant difference ($P \leq 0.05$) when compared with control, root length were increased by NK5-4, NK7-3, and NK12-3. NK12-3 resulted in the highest root length (7.56 cm). And shoot length was significant difference ($P \leq 0.05$) when compared with control by water, shoot length were increased by NK5-5, NK12-1, and NS17-3. NK5-5 resulted in the highest shoot length (9.06 cm). In conclusion the study suggests NK7-2 resulted in the highest nitrogen fixing bacteria and NK5-1 resulted in the highest IAA producing bacteria. Seed germination, root length and shoot length were increased by NK5-1 (7.51%, NK5-5 (24.61%) and NK12-3 (20.85%) respectively, when compared with water.

Keywords: nitrogen, nitrogen fixing bacteria, indole-3-acetic acid, rice

บทนำ

ในประเทศไทยเกษตรกรชาวนานิยมใช้ปุ๋ยเคมียูเรียเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งปุ๋ยเคมียูเรียจะช่วยให้ต้นข้าวมีการเจริญเติบโตทางด้านความสูงเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว แต่จะส่งผลให้ความหนาของผนังลำต้น ความอวบของต้นและปล้องลดลง ทำให้แมลงศัตรูพืชและโรคพืชเข้าทำลายได้ง่าย (Zhang et al., 2014) แต่ถึงอย่างไรข้าวจำเป็นต้องการธาตุไนโตรเจนเพื่อการเจริญเติบโตและสร้างผลผลิตในปริมาณมากเพราะไนโตรเจน (N) เป็นองค์ประกอบที่สำคัญของกรดอะมิโน กรดนิวคลิอิก นิวคลีโอไทล์ และคลอโรฟิลล์ (ยงยุทธ, 2543) จากการศึกษาพบว่าการเจริญเติบโตของข้าวทางลำต้นและใบ น้ำหนักแห้ง เพิ่มขึ้นตามปริมาณไนโตรเจนในดินและระดับของการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน (อารีรัตน์, 2542) ในปัจจุบันมีการส่งเสริมการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าว โดยการใช้ประโยชน์จากแบคทีเรียเพิ่มมากขึ้น ซึ่งคณะผู้วิจัยได้ทำการศึกษาถึงความสามารถในการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียและการผลิตฮอร์โมน indole-3-acetic acid (IAA) ที่คัดแยกได้จากกาบใบ ราก และดินบริเวณรอบรากข้าว ซึ่งแบคทีเรียสามารถตรึงไนโตรเจนได้ เนื่องจากกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนส เพื่อเป็นอีกแนวทางเลือกในการลดปริมาณการใช้ปุ๋ยเคมีและการใช้แบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนและผลิตฮอร์โมน indole-3-acetic acid (IAA) ได้อย่างมีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าว ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงมุ่งศึกษาประสิทธิภาพของการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรีย และประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่สามารถผลผลิตฮอร์โมน IAA เพื่อเป็นแนวทางในการใช้ประโยชน์จากแบคทีเรียให้มีประสิทธิภาพสูงและเหมาะสมกับสภาพแวดล้อมของพืชที่ปลูก

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. การศึกษาประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียและการผลิตฮอร์โมน IAA ที่แยกได้จากกาบใบ ราก และดินบริเวณรอบรากของข้าว ภายใต้ระดับห้องปฏิบัติการ
2. เพื่อศึกษาการใช้แบคทีเรียต่ออัตราการงอกเมล็ด ความยาวรากและความสูงของต้นอ่อนของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ภายใต้ระดับ ห้องปฏิบัติการ

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

งานวิจัยนี้ได้รับความอนุเคราะห์แบคทีเรียทั้งหมดจากรองศาสตราจารย์ ดร.อัจฉรา เพ็งหนู มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ แบคทีเรียที่นำมาศึกษามีจำนวน 24 ไอโซเลต ที่คัดแยกได้จากส่วนกาบใบ ราก และดินบริเวณรอบรากข้าว ภายในพื้นที่ 2 จังหวัด คือ พื้นที่จังหวัดสงขลาและจังหวัดนครศรีธรรมราช แบคทีเรียแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่ 1 คือ แบคทีเรียที่คัดแยกได้จากส่วนกาบใบของข้าวแต่ละพันธุ์ ภายในพื้นที่จังหวัดสงขลา มีจำนวน 20 ไอโซเลต ได้แก่ กาบใบของข้าวพันธุ์จำปา มีจำนวน 5 ไอโซเลต ประกอบด้วยแบคทีเรียไอโซเลต NK3-1 NK3-2 NK3-3 NK3-4 และ NK3-5 กาบใบของข้าวพันธุ์หอมนิล มีจำนวน 3 ไอโซเลต ประกอบด้วยแบคทีเรียไอโซเลต

NK5-1 NK5-4 และ NK5-5 กาบใบของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 มีจำนวน 5 ไอโซเลต ประกอบด้วยแบคทีเรียไอโซเลต NK7-2 NK7-3 NK10-2 NK10-3 และ NK10-4 กาบใบข้าวของพันธุ์ข้าวคอน มีจำนวน 1 ไอโซเลต คือ แบคทีเรียไอโซเลต NK8-4 กาบใบข้าวของพันธุ์ข้าวเมล มีจำนวน 3 ไอโซเลต ประกอบด้วยแบคทีเรียไอโซเลต NK12-1 NK12-2 และ NK12-3 กาบใบข้าวของพันธุ์ข้าวผี มีจำนวน 1 ไอโซเลต คือ แบคทีเรียไอโซเลต NK14-5 ไม่ทราบพันธุ์ข้าว มีจำนวน 1 ไอโซเลต คือแบคทีเรียไอโซเลต NK6-4 และกาบใบของข้าวพันธุ์พิษณุโลก 2 ภายในพื้นที่นครศรีธรรมราช มีจำนวน 1 ไอโซเลต คือแบคทีเรียไอโซเลต NK16-4 สำหรับกลุ่มที่ 2 คือแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากส่วนรากของพันธุ์ข้าวผี ภายในพื้นที่จังหวัดสงขลา มีจำนวน 1 ไอโซเลต คือ แบคทีเรียไอโซเลต NR14-2 และกลุ่มที่ 3 คือ แบคทีเรียที่คัดแยกได้จากดินรอบรากข้าวมีจำนวน 3 ไอโซเลต ได้แก่ ดินบริเวณรอบรากของข้าวพันธุ์ข้าวผี ภายในพื้นที่จังหวัดสงขลา มีจำนวน 1 ไอโซเลต คือ แบคทีเรียไอโซเลต NS14-2 และดินบริเวณรอบรากของข้าวพันธุ์สังข์หยด ภายในพื้นที่จังหวัดนครศรีธรรมราช มีจำนวน 2 ไอโซเลต ประกอบด้วยแบคทีเรียไอโซเลต NS17-3 และ NS17-4

การเตรียมแบคทีเรีย

นำแบคทีเรียมาเลี้ยงบนอาหาร Nutrient agar (NA) ทำการเก็บเซลล์โดยนำไปปั่นเหวี่ยง 7,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ เลี้ยงในอาหาร Modified Winogradsky Broth เขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4 วัน นับจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการ spread plate บนอาหาร Nutrient agar (NA) และวัดค่า Optical density (OD) ด้วยเครื่อง spectrophotometer ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร โดยจะใช้ค่า OD ของแบคทีเรีย อยู่ในช่วง 0.5-0.6

การทดสอบประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรีย ด้วยวิธี acetylene reduction assay (ARA)

การศึกษาประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรีย ทำการทดสอบด้วยวิธี acetylene reduction assay (ARA) โดยใช้*เทคนิคแก๊สโครมาโทรกราฟี* (Gas Chromatography, GC) รุ่น SHIMADZU GC-14B คอลัมน์ Unibread C ใช้ Flame Ionization Detector (FID) เลี้ยงแบคทีเรียลงในอาหาร Modified Winogradsky Broth เป็นระยะเวลา 3 วัน จากนั้นปิดด้วยจุกยางดูดเอาแก๊สภายในขวดรูปชมพู่ออกร้อยละ 10 และฉีดแก๊สอะเซธิลีน (C_2H_2) เข้าไปแทนที่และบ่มทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง เปลี่ยนเป็นเอธิลีน (C_2H_4) นำตัวอย่างแก๊สฉีดเข้าเครื่องแก๊ส*โครมาโทรกราฟี* คำนวณหาประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรีย โดยใช้สูตร (ธงชัย มาลา, 2546, หน้า 65-66)

การทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรียต่อการผลิตฮอร์โมน Indole-3-acetic acid (IAA) โดยใช้ Salkowski reagent

การศึกษาประสิทธิภาพการผลิตฮอร์โมน IAA เตรียมอาหารเหลวที่มีทริปโตเฟนปริมาณความเข้มข้น 100 มิลลิลิตรต่อลิตร เป็นระยะเวลา 3 วัน เมื่อครบกำหนดนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นำสารละลายส่วนใสมาทำการทดสอบการผลิตฮอร์โมน IAA โดยใช้ Salkowski reagent นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectophotometer) โดยใช้ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร จากนั้นคำนวณหาปริมาณความเข้มข้นของ IAA โดยเทียบจากกราฟมาตรฐาน

การทดสอบอัตราการงอกเมล็ดของข้าว

การศึกษาการใช้แบคทีเรียร่วมกับการตอบสนองของอัตราการงอกเมล็ดข้าว ความยาวรากและความยาวต้นอ่อนของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 เนื่องจากแบคทีเรียส่วนหนึ่งที่นำมาทดสอบสามารถคัดแยกได้จากข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และข้าวพันธุ์ชัยนาท1 เป็นพันธุ์ข้าวที่ให้ผลผลิตสูง เกษตรกรนิยมปลูก สามารถปลูกได้ทุกพื้นที่ในเขตชลประทาน นำเมล็ดข้าวฆ่าเชื้อเมล็ดด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร้อยละ 3 เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น นำเมล็ดข้าวแช่ด้วยเชื้อแบคทีเรีย อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) มีจำนวน 3 ซ้ำ ๆ ละ 100 เมล็ด มี 14 กรรมวิธีการทดลอง (treatment) ที่แตกต่างกันตามรูปแบบการแช่เมล็ด ได้แก่ กรรมวิธีควบคุม 2 รูปแบบการแช่ด้วยน้ำกลั่น และอาหารเหลว Modified Winogradsky และการแช่ด้วยแบคทีเรีย 12 ไอโซเลต ได้แก่ NK3-1 NK5-1 NK5-4 NK5-5 NK6-4 NK7-3 NK8-4 NK12-1 NK12-2 NK12-3 NS17-3 และ NR14-2 ทดสอบอัตราการงอกเมล็ดข้าว เป็นเวลา 7 วัน โดยใช้เกณฑ์การทดสอบอัตราการงอกของ

เมล็ดข้าว เมื่อเมล็ดมีลำต้นและรากยาวมากกว่า 2 มิลลิเมตร (Junyu et al., 2014) และเก็บข้อมูลด้านความยาวรากและความยาวต้นอ่อนของข้าว (เซนติเมตร)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลมาวิเคราะห์หาค่าแปรปรวนโดยใช้ F-test และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการทดลอง

ผลการทดสอบประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียด้วยวิธี acetylene reduction assay

จากการศึกษาประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรีย ที่คัดแยกได้จากส่วนกาบใบข้าว รากข้าว และดินบริเวณรอบรากข้าว จากพื้นที่แปลงนาข้าวสภาพน้ำขังในพื้นที่ 2 จังหวัดทางภาคใต้ ได้แก่ จังหวัดสงขลาและจังหวัดนครศรีธรรมราช พบว่าแบคทีเรียที่นำมาทดสอบการตรึงไนโตรเจนสามารถตรึงไนโตรเจนได้ทั้งหมด โดยแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากส่วนกาบใบข้าวสามารถตรึงไนโตรเจนได้มากกว่าส่วนรากและดินบริเวณรอบรากข้าว ประสิทธิภาพของแบคทีเรียในการตรึงไนโตรเจนทั้งหมดอยู่ในช่วงปริมาณ 0.10-0.40 นาโนโมลของเอทธิลีนต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร แบคทีเรียไอโซเลต NK7-2 มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนมากที่สุด โดยแบ่งประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนเป็น 5 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยแบคทีเรีย 4 ไอโซเลต ได้แก่ แบคทีเรียไอโซเลต NS17-3 NS14-2 NK3-4 และ NK5-4 มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนเท่ากับ 0.1201 0.1299 0.1385 และ 0.1492 นาโนโมลของ เอทธิลีนต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยแบคทีเรีย 9 ไอโซเลต ได้แก่ แบคทีเรียไอโซเลต NK10-3 NK8-4 NK7-3 NK6-4 NS17-4 NK3-5 NR14-2 NK12-1 และ NK5-5 มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนเท่ากับ 0.1558 0.1580 0.1583 0.1619 0.1638 0.1647 0.1668 0.1675 และ 0.1858 นาโนโมลของเอทธิลีนต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วยแบคทีเรีย 7 ไอโซเลต ได้แก่ NK12-3 NK3-1 NK3-3 NK3-2 NK10-4 NK12-2 และ NK5-1 มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนเท่ากับ 0.2094 0.2166 0.2202 0.2219 0.2228 0.2286 และ 0.2311 นาโนโมลของเอทธิลีนต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ กลุ่มที่ 4 ประกอบด้วยแบคทีเรีย 3 ไอโซเลต ได้แก่ NK14-5 NK16-4 และ NK10-2 มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนเท่ากับ 0.2835 0.2849 และ 0.2945 นาโนโมลของเอทธิลีนต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ กลุ่มที่ 5 ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนอยู่ในช่วง 0.30-0.34 นาโนโมลของเอทธิลีนต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร มีจำนวน 1 ไอโซเลต คือ NK7-2 มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนเท่ากับ 0.3427 นาโนโมลของเอทธิลีนต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร

ผลการทดสอบประสิทธิภาพการผลิตฮอร์โมน IAA ของแบคทีเรีย

จากการทดสอบประสิทธิภาพในการผลิตฮอร์โมน IAA ของแบคทีเรียทั้งหมด พบว่าแบคทีเรียทั้งหมดสามารถผลิตฮอร์โมน IAA ได้ ซึ่งแบคทีเรียไอโซเลต NK5-1 มีประสิทธิภาพการผลิตฮอร์โมน IAA มากที่สุดเท่ากับ 510.50 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร และแบคทีเรียไอโซเลต NS14-2 มีประสิทธิภาพการผลิตฮอร์โมน IAA น้อยที่สุดเท่ากับ 16.00 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร ประสิทธิภาพการผลิตฮอร์โมน IAA ของแบคทีเรียทั้งหมดที่ทดสอบได้สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม ได้ดังนี้ กลุ่มที่ 1 ประสิทธิภาพการผลิตฮอร์โมน IAA ของแบคทีเรียที่ผลิตได้อยู่ในช่วง 10.00-50.00 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร มีจำนวน 7 ไอโซเลต ได้แก่ แบคทีเรียไอโซเลต NS14-2 (16.00) NK3-3 (21.80) NK3-4 (26.00) NK10-2 (39.70) NK3-2 (43.60) NK3-5 (46.60) และ NS17-4 (49.30) ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ กลุ่มที่ 2 ประสิทธิภาพการผลิตฮอร์โมน IAA ของแบคทีเรียที่ผลิตได้อยู่ในช่วง 50.00-100.00 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร มีจำนวน 11 ไอโซเลต ได้แก่ แบคทีเรียไอโซเลต NK12-2 (51.50) NK5-5 (52.10) NK10-3 (62.40) NK14-5 (66.30) NK10-4 (67.50) NK3-1 (77.50) NK7-2 (81.10) NK5-4 (82.70) NK12-3 (96.00) NK6-4 (97.50) และ NS17-3 (99.00) ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และกลุ่มที่ 3 ประสิทธิภาพการผลิตฮอร์โมน IAA ของแบคทีเรียที่ผลิตได้มากกว่า 100.00 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร ขึ้นไป มีจำนวน 6 ไอโซเลต ได้แก่ แบคทีเรียไอโซ

เลต NK7-3 (102.30) NK8-4 (109.60) NK16-4 (128.40) NK12-1 (216.50) NR14-2 (504.80) และ NK5-1 (510.50) ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

ผลการทดสอบอัตราการงอกของเมล็ดข้าว

จากการศึกษาผลการใช้แบคทีเรียไอโซเลตที่มีผลต่ออัตราการงอกเมล็ดข้าว และความยาวรากและความสูงต้นอ่อนของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 พบว่าอัตราการงอกของเมล็ดข้าวแต่ละกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ อัตราการงอกเมล็ดข้าวทั้งหมดมีผลอัตราการงอกเมล็ดเฉลี่ยอยู่ในช่วงร้อยละ 90.00 ถึง 98.00 การทดสอบอัตราการงอกเมล็ดข้าวที่แช่ด้วย NK5-1 มีผลทำให้อัตราการงอกของเมล็ดข้าวมากที่สุดร้อยละ 97.33 ด้านความยาวต้นอ่อนของข้าว พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ความยาวต้นเฉลี่ยทั้งหมดอยู่ในช่วง 6.00 ถึง 10.00 เซนติเมตร ผลการตอบสนองของต้นอ่อนข้าวที่ใช้แบคทีเรียไอโซเลต NK5-5 NK12-2 และ NS17-3 มีผลทำให้ความยาวต้นอ่อนของข้าวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับการแช่เมล็ดด้วยน้ำ และการใช้ NK5-5 มีผลทำให้ความยาวต้นอ่อนข้าวสูงที่สุดเท่ากับ 9.06 เซนติเมตร ด้านความยาวรากของข้าว พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ผลการตอบสนองความยาวรากเฉลี่ยทั้งหมดอยู่ในช่วง 6.00 ถึง 8.00 เซนติเมตร ซึ่งการแช่เมล็ดข้าวด้วย NK5-4 NK7-3 และ NK12-3 ทำให้มีผลตอบสนองของความยาวรากอ่อนข้าวเพิ่มขึ้นมากกว่าการใช้น้ำและอาหารเหลว การแช่เมล็ดข้าวด้วย NK12-3 มีผลให้ความยาวรากอ่อนของข้าวมากที่สุดเท่ากับ 7.72 เซนติเมตร (ตาราง 1)

ตาราง 1 องค์ประกอบอัตราการงอกเมล็ดข้าวพันธุ์ชัยนาท 1

กรรมวิธี	อัตราการงอกเมล็ด (ร้อยละ)	ความยาวต้น (เซนติเมตร)	ความยาวราก (เซนติเมตร)
น้ำ	90.00	6.83b	6.11bcd
อาหารเหลว	95.33	7.17ab	6.00cd
NK 3-1	95.67	7.39ab	7.17ab
NK 5-1	97.33	7.5ab	7.00abc
NK 5-4	97.00	7.61ab	7.56a
NK 5-5	95.00	9.06a	6.89abc
NK 6-4	95.67	8.39ab	6.83abc
NK 7-3	96.00	8.50ab	7.44a
NK 8-4	97.00	8.17ab	6.94abc
NK 12-1	96.67	8.33ab	6.11bcd
NK 12-2	96.33	8.89a	7.17ab
NK 12-3	97.00	8.17ab	7.72a
NS 17-3	93.67	8.87a	5.11d
NR 14-2	93.67	7.56ab	7.00abc
F-test	ns	*	*
C.V.(%)	2.05	8.64	10.96

* คือ มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ns คือ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิต มีข้อมูลอัตราการงอกเมล็ด

อภิปรายผลการศึกษา

การศึกษาประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียและการผลิตฮอร์โมน IAA ที่แยกได้จากกาบใบ ราก และดินบริเวณรอบรากของข้าว ภายใต้ระดับห้องปฏิบัติการ

การศึกษาประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน ด้วยวิธี acetylene reduction assay (ARA) ซึ่งเป็นวิธีการประเมินที่ได้รับความนิยมและความน่าเชื่อถือสำหรับการทดสอบประสิทธิภาพตรึงไนโตรเจนในห้องปฏิบัติการ จากการศึกษาพบว่าแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากส่วนกาบใบข้าว มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนและการผลิตฮอร์โมน IAA ได้สูงกว่าแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากส่วนรากและดินบริเวณรอบรากของข้าว เนื่องจากแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากส่วนกาบใบของข้าวจะอาศัยอยู่ร่วมกับข้าวภายในเนื้อเยื่อ และแพร่ตามท่อลำเลียงน้ำของลำต้นรวมถึงกาบใบข้าวได้ ซึ่งท่อลำเลียงน้ำเป็นช่องทางที่เหมาะสมสำหรับการตรึงไนโตรเจน เพราะสามารถทำให้ความดันออกซิเจนต่ำลง เนื่องจากเอนไซม์ไนโตรจีเนสจะมีความไวต่อออกซิเจน เมื่อทำปฏิกิริยากับสารประกอบเหล็กโปรตีน และแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนและไม่ใช้ออกซิเจนสามารถตรึงไนโตรเจนได้ ปัจจัยทางด้านพันธุกรรมของแบคทีเรียที่จีนัสต่างกัน ทำให้ปริมาณการตรึงไนโตรเจนมากหรือน้อยต่างกันด้วย เช่น จีนัส *Burkholderia* sp. พบว่ามีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนเท่ากับ 7.99 และ 7.15 นาโนโมลก๊าซเอทธิลีนต่อชั่วโมงต่อมิลลิกรัมต่อโปรตีน ตามลำดับ (Khambalkar et al., 2015) จีนัส *Bacillus* sp. ที่คัดแยกได้จากกาบใบและดินบริเวณรอบรากของข้าว พบว่ามีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนเท่ากับ 46.27 และ 32.42 นาโนโมลของก๊าซเอทธิลีนต่อชั่วโมงต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (Banik et al., 2016) นอกจากการอยู่อาศัยของแบคทีเรียในส่วนต่าง ๆ ของข้าวและชนิดของแบคทีเรียแล้ว จากการศึกษายังพบว่าการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่สภาพพื้นที่แตกต่างกันส่งผลต่อประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนและการผลิตฮอร์โมน IAA ของแบคทีเรียต่างกัน อย่างผลการศึกษาเก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบรากข้าวและตัวอย่างข้าวแต่ละพันธุ์ข้าว ในพื้นที่หลายจุดของจังหวัดสงขลาและนครศรีธรรมราช ย่อมส่งผลให้การตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียและการผลิตฮอร์โมน IAA แตกต่างกันด้วย ถึงแม้ว่าแบคทีเรียจะมีจีนัสและสปีชีส์เหมือนกัน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ อรุณี และคณะ (2557) ที่กล่าวว่าแบคทีเรีย *Azotobacter* sp. ในพื้นที่เกษตรกรรมของจังหวัดพระนครศรีอยุธยามีปริมาณการตรึงไนโตรเจนสูงกว่าแบคทีเรีย *Azotobacter* sp. ที่คัดแยกได้จากพื้นที่ปลูกพืชในโครงการหลวง รวมถึงสอดคล้องกับงานวิจัยของ มาริสา และคณะ (2554) ที่คัดแยกแบคทีเรียจากดินภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบว่า *Beijerinckia* sp. มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนอยู่ในช่วง 0.81-33.57, 1.38-251.07 และ 0.75-12.63 นาโนโมลของก๊าซเอทธิลีนต่อหลอดต่อชั่วโมง ตามลำดับ และแบคทีเรีย *Azospirillium* sp. มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนอยู่ในช่วง 0.03-17.76, 0.02-17.88 และ 0.01-16.21 นาโนโมลของก๊าซเอทธิลีนต่อหลอดต่อชั่วโมง ตามลำดับ

การศึกษาการผลิตฮอร์โมนพืช IAA ของแบคทีเรีย ด้วยวิธีการใช้ Salkowski reagent แบคทีเรียสามารถผลิตฮอร์โมน IAA ได้โดยการเปลี่ยนสารตั้งต้นทริปโตเฟน เป็น indole-3-ethanol หรือ tryptophol จากนั้นเปลี่ยนเป็น indole-3-acetaldehyde ด้วยกระบวนการ indoleethanol oxidase แล้วเปลี่ยนสารนี้เป็น IAA ด้วยกระบวนการ indole-3-acetaldehyde dehydrogenase (Stijn Spaepen et al., 2007) ผลการทดสอบการผลิตฮอร์โมน IAA อยู่ในช่วงปริมาณ 16.00-510.50 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร การผลิตฮอร์โมน IAA แต่ละไอโซเลต จะมีปริมาณมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปัจจัยทางสภาพแวดล้อมของแบคทีเรียที่นำมาทดสอบ ซึ่งประกอบด้วย ความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อและอุณหภูมิ (Mohite, 2013) การดูดซึมของสารละลาย การจำกัดของคาร์บอน และปัจจัยด้านทางพันธุกรรมของแบคทีเรียในการผลิตฮอร์โมน IAA แบคทีเรียชนิดต่างกัน ส่งผลให้การผลิตฮอร์โมน IAA แตกต่างกันด้วย (Stijn Spaepen et al., 2007) เช่น จีนัส *Bacillus* sp. ที่คัดแยกเชื้อได้จากดินบริเวณรอบรากข้าว ข้าวสาลี ข้าวโพด สามารถผลิตฮอร์โมน IAA อยู่ในช่วงปริมาณ 0.85-1.45 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร (Park et al., 2005) เป็นต้น

การศึกษาการใช้แบคทีเรียที่มีผลต่ออัตราการงอกเมล็ด ความยาวรากและความสูงของต้นอ่อนของข้าว

จากการใช้แบคทีเรียร่วมกับเมล็ดข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 พบว่าเมล็ดของข้าวไม่แสดงลักษณะอาการเป็นพิษ และยังช่วยในการส่งเสริมอัตราการงอกเมล็ดข้าว ความยาวรากและความยาวต้นอ่อนของข้าวเพิ่มสูงขึ้น เมื่อเทียบกับการแช่เมล็ดด้วยน้ำ จากการศึกษาอัตราการงอกเมล็ดของข้าว มีปัจจัยหลัก 3 ปัจจัย ได้แก่ น้ำ ออกซิเจน และอุณหภูมิ ซึ่งทำให้

เมล็ดข้าวเกิดกลไกปฏิกิริยาเคมีและขบวนการเมแทบอลิซึมขึ้นภายในเมล็ด นอกจากปัจจัยหลักทั้ง 3 ปัจจัย ยังพบว่ากลไกการงอกภายในเมล็ดของข้าวมีการทำงานร่วมกับฮอร์โมนพืชแต่ละชนิดด้วย เช่น ฮอร์โมนพืชออกซิน จิบเบอเรลิน และไซโตไคนิน ที่ช่วยในการกระตุ้นเซลล์ สร้างเอนไซม์ และย่อยสลายอาหาร เพื่อไปเลี้ยงส่วนต่าง ๆ ภายในเมล็ดต่อการงอกของเมล็ดข้าว และเนื่องจากแบคทีเรียไอโซเลต NK5-1 NK5-5 และ NK12-3 สามารถตรึงไนโตรเจนได้และผลิตฮอร์โมน IAA ได้ ซึ่งผลการศึกษาสอดคล้องกับการรายงานของ Shihui et al. (2006) ที่รายงานว่าฮอร์โมน IAA เป็นฮอร์โมนพืชในกลุ่มออกซินที่เกี่ยวข้องกับกิจกรรมของจุลินทรีย์ดิน และยังสามารถช่วยกระตุ้นการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นและรากพืชได้ (Ying, 2012) ซึ่งจากผลการศึกษาการใช้แบคทีเรีย NK5-1 ที่มีผลทำให้อัตราการงอกเมล็ดข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 เพิ่มสูงขึ้นคิดเป็นอัตราร้อยละ 7.51 เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมด้วยน้ำ ซึ่งจาการศึกษามีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ พิมพ์ธิดา และคณะ (2552) การทดสอบประสิทธิภาพแบคทีเรียที่ผลิตฮอร์โมนออกซินต่ออัตราการงอกเมล็ดข้าว ภายใต้ห้องปฏิบัติการ พบว่าข้าวมีผลตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วยฮอร์โมนออกซิน โดยการใช้แบคทีเรียไอโซเลต KJB29/2 PJK11/1 และ UD8/1 พบว่าเมล็ดข้าวมีอัตราการงอกเมล็ดข้าวสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ใส่น้ำ คิดเป็นอัตราการเพิ่มขึ้นร้อยละ 17.85 14.84 และ 8.03 ตามลำดับ และจากการศึกษาการใช้แบคทีเรียที่มีผลต่อการตอบสนองต่อความสูงต้นและความยาวรากอ่อนของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 พบว่าการใช้แบคทีเรีย NK5-5 และการใช้ NK12-3 มีผลทำให้การตอบสนองความยาวต้นและความยาวรากอ่อนข้าวเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ใช้น้ำ คิดเป็นอัตราการเพิ่มขึ้นร้อยละ 24.61 และ 20.85 ตามลำดับ ซึ่งจากการศึกษามีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Harikrishnan et al. (2014) ศึกษาการใช้ *Streptomyces* sp. (VSMGT 1014) คัดแยกได้จากดินบริเวณรอบรากข้าว พบว่าแบคทีเรียสามารถผลิตฮอร์โมน IAA ได้เท่ากับ 26.63 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อาหารเลี้ยงเชื้อมีความเป็นกรดด่างระดับ 8.00 มีผลทำให้อัตราการงอกเมล็ดข้าว ความยาวรากและความยาวต้นของข้าว ระยะเวลา 10 วัน เพิ่มสูงขึ้น เมื่อเทียบกับกรรมวิธีควบคุมที่ใช้น้ำ คิดเป็นอัตราการเพิ่มขึ้นร้อยละ 20.00 52.00 และ 54.55 ตามลำดับ และการวิจัยของ เนตรนภาและคณะ (2558) ยังพบว่าการศึกษาการตอบสนองของข้าวโดยการใช้แบคทีเรียที่สามารถผลิต IAA ต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตของข้าวแต่ละพันธุ์ พบว่าการใช้แบคทีเรียร่วมกับข้าว ที่มีผลต่อการตอบสนองของความยาวต้นและความยาวรากอ่อนของข้าวนั้น ขึ้นอยู่พันธุ์ข้าวกับแบคทีเรียแต่ละชนิดด้วย ลักษณะที่ตอบสนอง ทิศทางการตอบสนอง ทำให้เห็นถึงความเฉพาะเจาะจงระหว่างแบคทีเรียและพันธุ์ข้าวที่ทำการศึกษา

สรุปผลการศึกษา

แบคทีเรียไอโซเลต NK7-2 ตรึงไนโตรเจนได้สูงสุด แบคทีเรียไอโซเลต NK5-1 มีประสิทธิภาพการผลิตฮอร์โมน IAA สูงที่สุด ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากส่วนกาบใบของข้าว พื้นที่จังหวัดสงขลา และการใช้แบคทีเรียไอโซเลต NK5-1 NK5-5 และ NK12-3 มีผลต่อการตอบสนองของอัตราการงอกเมล็ดข้าว ความยาวต้น และความยาวรากอ่อนของเมล็ดข้าวเพิ่มสูงขึ้นมากกว่ากรรมวิธีควบคุมที่แช่เมล็ดด้วยน้ำ โดยคิดเป็นอัตราการเพิ่มขึ้นร้อยละ 7.51 24.61 และ 20.85 ตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

ธงชัย มาลา. (2546). ปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยชีวภาพ: เทคนิคการผลิตและการใช้ประโยชน์. (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เนตรนภา อินสลุด ปรียาภรณ์ แสงเรือน และ กานต์สิรี หลีชัยกูล. (2558). อิทธิพลของเชื้อแบคทีเรียที่ผลิต IAA ต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตของข้าว. *ว. วิทย์. กษ*, 46(3)(พิเศษ), 625-628.

พิมพ์ธิดา เรืองไพศาล, ฉวีวรรณ เหลืองวุฒิวิโรจน์ และ ดารารัตน์ โฮตาก้า. (2552). การพัฒนาผลิตภัณฑ์เชื้อจุลินทรีย์ที่สร้างฮอร์โมนเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช. *วารสารดินและปุ๋ย*, 4, 222-235.

มาริสา จาตุพรพิพัฒน์, อารี ฤทธิบูรณ์, ชลิต นพรัตน์. (10 – 11 พฤศจิกายน 2554), การทดสอบประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียที่แยกได้จากดินด้วยวิธี acetylene reduction assay. การประชุมวิชาการนานาชาติวิศวกรรมเคมีและเคมีประยุกต์แห่งประเทศไทย (ครั้งที่ 21), สงขลา.

ยงยุทธ โอสถสภา. (2543). ธาตุอาหารพืช (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อรุณี คงสอน ศศิธร บุญกอง. และศุภชัย อาคา .(2557). การศึกษาการสร้างฮอร์โมนออกซินและการตรึงไนโตรเจน โดยเชื้ออะโซโตแบคเตอร์วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ ., 2(1), 1-8.

อารีรัตน์ น้องสินธุ. (2542). อิทธิพลของระดับปุ๋ยไนโตรเจนที่มีต่อการสะสมและการถ่ายเทไนโตรเจนในต้นข้าว. วิทยานิพนธ์ วท.ม., มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

Banik A. Mukhopadhaya K. S. and Dangar K. T. (2016). Characterization of N2-fixing plant growth promoting endophytic and epiphytic bacterial community of Indian cultivated and wild rice genotypes. *Planta*, 243, 799-812.

Burris.R.H. (2001). Nitrogen Fixation. *Nature Publishing Group*, 1-5.

Govindarajan M., Balandreau J., Kwon SW., Weon HY., Lakshminarasimhan C. (2007). Effects of the inoculation of Burkholderia vietnamensis and related endophytic diazotrophic bacteria on grain yield of rice. *Microb Ecol*, 55(1), 21-37.

Habibi S., Djedidi S., Prongjunthuek K., Mortuza M. F., -Ohtsu N. O., Sekimoto H. and Yokoyoma T. (2014). Physiological and genetic characterization of rice nitrogen fixer PGPR isolated from rhizosphere soils of different crops. *Plant Soil*, 379, 51-66

Harikrishnan H., Shanmugaiah V. and Balasubramanian N. (2014). Optimization for production of Indole acetic acid (IAA) by plant growth promoting *Streptomyces* sp. VSMGT1014 isolated from rice rhizosphere. *Microbiol.App.Sci* , 3(8), 158-171

Junyu, H., Yanfang, R., Xiulan, C., Hui, C. (2014). Protective roles of nitric oxide on seed germination and seedling growth of rice (Oryza sativa L.) under cadmium stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 108, 114-119.

Mohite B. (2013). Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 13(3), 638-649

Nosrati R. Owlia P. Saderi1 H. Rasooli I and Malboobi A. M. (2014). Phosphate solubilization characteristics of efficient nitrogen fixing soil Azotobacter strains. *IRAN. J. MICROBIOL.*, 6, 285-295.

Park M., Kim C., Yang,J., Lee,H., Shin W., Kim S. and Sa T. (2005). Isolation and characterization of diazotrophic growth promoting bacteria from rhizosphere of agricultural crops of Korea. *Microbiological Research*, 160, 127-133.

Shihui, Y., Qiu, Z., Jianhua, G., Amy, O. C., Bernard, R. G., Mark I., Donald A. C., and Ching,H. Y. Global (2006). Effect of Indole-3-Acetic Acid Biosynthesis on Multiple Virulence Factors of *Erwinia chrysanthemi* 3937. *Applied and Environmental Microbiology*, 4, 1079-1088.

Stijn S., Jos V. and Roseline R.. (2007). Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiol*, 31, 425-448.

Sui, B., Feng, X., Tian, G., Hu, X., Shen, Q., and Guo, S. (2013). Optimizing nitrogen supply increases rice yield and nitrogen use efficiency by regulating yield formation factors. *Field Crops Research*, 150, 99-107.

Ying, J., Yue, W., Wensi, X., Yanhong, C., Jiandong, C., Li, X., Feng, H., Huixin, L., (2012). IAA-producing bacteria and bacterial-feeding nematodes promote Arabidopsis thaliana root growth in natural soil. *European Journal of Soil Biology*, 52, 20-26.

Zhang, W.-j., Li, G.-h., Yang, Y.-m., Li, Q., Zhang, J., Liu, J.-y., Wang, S., Tang, S., and Ding, Y.-f. (2014). Effects of Nitrogen Application Rate and Ratio on Lodging Resistance of Super Rice with Different Genotypes. *Journal of Integrative Agriculture*, 13, 63-72.