

**ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์** อิทธิพลของฮิวม์สจากลีโอนาร์โดและจูลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อปริมาณวิตามินซี สารต้านอนุมูลอิสระและการเจริญเติบโตของคะน้ำฮ่องกง

**ผู้เขียน** นางสาวฟ้าไพลิน ไชยวรรณ

**ปริญญา** วิทยาศาสตร์คุษฎีบัณฑิต  
(ปฐพีศาสตร์และการจัดการทรัพยากรธรรมชาติ)

**คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์**

อาจารย์ ดร. อรวรรณ ฉัตรสีรุ่ง

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

ดร. ชูชาติ สันทรทรัพย์

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

ดร. กนกวรรณ ศรีงาม

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

#### บทคัดย่อ

การผลิตพืชผักในปัจจุบันมีการใช้สารเคมีทางเกษตรเป็นปริมาณมากจึงทำให้เกิดปัญหามลพิษต่อสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะในพื้นที่สูงของภาคเหนือซึ่งเป็นแหล่งใหญ่ของการผลิตพืชผักและเป็นแหล่งต้นน้ำของประเทศไทย การทดลองครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินผลของการใช้วัสดุเพาะกล้าพืชผักที่มีฮิวม์สสูงร่วมกับจูลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อปริมาณวิตามินซี สารต้านอนุมูลอิสระและการเจริญเติบโตของคะน้ำฮ่องกงเพื่อเป็นทางเลือกหนึ่งในการผลิตพืชผักให้มีคุณภาพสูงและปลอดภัยจากสารเคมีโดยแบ่งออกเป็น 4 การทดลอง ดังนี้

**การทดลองที่ 1** ศึกษาศักยภาพในการผลิตฮอร์โมนไอเอเอ (IAA) การตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟตของเชื้อแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีสต์ จำนวน 25 ไอโซเลท (*Azospirillum* spp. (VAs), *Beijerinckia* spp. (VBe) และ actinomycetes (VAc) 8, 6, และ 11 ไอโซเลท ตามลำดับ) ที่แยกได้จากบริเวณรอบรากพืชและศึกษาประสิทธิภาพของการใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่อการเจริญเติบโตและการดูดใช้ธาตุอาหารของกล้าคะน้าฮ่องกง (*Brassica oleracea* var. alboglabra) ผลการทดลองพบว่าเชื้อจุลินทรีย์ทุกไอโซเลทมีศักยภาพในการผลิตฮอร์โมนไอเอเอ ตรึงไนโตรเจนและละลายฟอสเฟตได้ โดยมีค่าตั้งแต่ 5.67 – 460.31 mg IAA/ L , 1.29 – 132.37 nmole C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> /24 hr /tube, 1.47 – 260.96 µg P /mL ตามลำดับ เมื่อนำเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 25 ไอโซเลทนี้มาทดสอบกับกล้าคะน้าฮ่องกง พบว่าไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มการเจริญเติบโตและการดูดใช้ธาตุอาหารของกล้าคะน้าฮ่องกงสูงสุดของเชื้อแต่ละกลุ่ม ได้แก่ VAs 2, VBe 75 และ VAc 77 โดยทำให้กล้าผักคะน้าสะสมน้ำหนักแห้งส่วนเหนือดินเท่ากับ 3.047, 2.793, 3.417 g/10plant ตามลำดับ และพบว่า การใช้เชื้อจุลินทรีย์ในทุกตำรับ สามารถเพิ่มปริมาณการดูดใช้ธาตุอาหารของกล้าคะน้าได้สูงกว่าตำรับควบคุม ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าไอโซเลทที่มีศักยภาพสูงสุดในการผลิตหรือเพิ่มความเข้มข้นของสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช เมื่อนำมาทดสอบกับพืชอาจไม่ใช่ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงสุด

**การทดลองที่ 2** ได้ทำการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดของแต่ละกลุ่มในการทดลองที่ 1 ได้แก่ VAs 2, VBe 75 และ VAc 77 และนำไปทดสอบผลของการใช้เชื้อจุลินทรีย์เดี่ยวและผสมสองหรือสามไอโซเลทต่อการเจริญเติบโตและการดูดใช้ธาตุอาหารของกล้าคะน้าฮ่องกง ผลการทดลองพบว่า การใช้เชื้อจุลินทรีย์ผสมสามไอโซเลท (VAs 2+ VBe 75+ VAc 77) ทำให้พืชมีน้ำหนักแห้งต้นส่วนเหนือดินสูงสุดคือ 2.927 g /10plants และการใช้เชื้อเดี่ยว VAc 77 ให้ค่าน้ำหนักรากแห้งสูงสุด 0.360 g /10 plants การใช้จุลินทรีย์เดี่ยวและผสมทำให้ปริมาณการดูดใช้ธาตุอาหารของกล้าคะน้าฮ่องกงเพิ่มขึ้นทุกธาตุ

**การทดลองที่ 3** ได้ดำเนินการทำในช่วงเวลาเดียวกันกับการทดลองที่ 2 โดยคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์จากการทดลองที่ 1 ได้แก่ VAs 2, VBe 75 และ VAc 77 และนำไปศึกษาผลของวัสดุเพาะกล้าผสมกับลิโอนาร์ไคท์ซึ่งเป็นวัสดุที่มีอิวมัสสูง ร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์เดี่ยวต่อการเจริญเติบโตและการดูดใช้ธาตุอาหารของกล้าคะน้ำฮ่องกง โดยทำการผสมเชื้อจุลินทรีย์ในวัสดุเพาะที่ผสมลิโอนาร์ไคท์ ในอัตราส่วน 5, 10, 15 % ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่า การใช้วัสดุเพาะกล้าผสมกับลิโอนาร์ไคท์ 15 % และ VAc 77 ให้ค่าน้ำหนักแห้งของต้นและรากสูงที่สุด (1.69, 0.2123 g/10plants ตามลำดับ) รวมทั้งให้ค่าการดูดใช้ธาตุอาหารฟอสฟอรัสและแมกนีเซียมสูงที่สุด 10.92, 6.77 mg/10plants ตามลำดับ รองลงมาได้แก่ การใช้เชื้อ VBe 75 ผสมกับลิโอนาร์ไคท์ 10% ให้ค่าน้ำหนักแห้งของต้นและรากเท่ากับ 1.65, 0.141 g/10plants และยังให้ค่าการดูดใช้แคลเซียมสูงที่สุด 20.01 mg/10plants

**การทดลองที่ 4** ศึกษาผลของวัสดุเพาะกล้าผสมลิโอนาร์ไคท์และจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อปริมาณวิตามินซี และสารต้านอนุมูลอิสระในคะน้ำฮ่องกง โดยคัดเลือกดำรับที่ดีที่สุดของการทดลองที่ 3 คือ วัสดุเพาะกล้า + ลิโอนาร์ไคท์ 15% + VAc 77 และ วัสดุเพาะกล้า + ลิโอนาร์ไคท์ 10% + VBe 75 โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ระยะ 20 และ 40 วันหลังทำการปลูกเชื้อ ผลการทดลองพบว่า ดำรับการทดลองที่ใช้ VAc 77 ผสมกับลิโอนาร์ไคท์ 15% พบปริมาณวิตามินซีและสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยปริมาณวิตามินซีที่พบในระยะ 20 และ 40 วันหลังทำการปลูกเชื้อคือ 33.08 และ 44.66  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ส่วนปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่ระยะ 20 และ 40 วัน หลังทำการปลูกเชื้อ คือ 1.9285 และ 4.733  $\mu\text{mol trolox}/\text{g sample}$  นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาลักษณะการเข้าอยู่อาศัยในรากของเชื้อทั้งสองไอโซเลทโดยใช้กล้องส่องอเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่ามีการเข้าอยู่อาศัยของเชื้อระหว่างเซลล์ของรากคะน้ำ และเมื่อทำการจัดจำแนกไอโซเลท VAc 77 ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงสุดโดยเฉลี่ยเกือบทุกการทดลอง โดยวิธี 16S rDNA sequence พบว่ามีความใกล้เคียงกับเชื้อ *Streptomyces variabilis* 99.48 %

**คำสำคัญ:** คะน้ำฮ่องกง สารต้านอนุมูลอิสระ วิตามินซี จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ ลิโอนาร์ไคท์

**Thesis Title** Influences of Humus from Leonardite and Beneficial Microorganisms  
on Contents of Vitamin C, Antioxidants and Growth of Chinese Kale

**Author** Ms. Fapailin Chaiwon

**Degree** Doctor of Philosophy  
(Soil Science and and Natural Resources Management)

**Thesis Advisory Committee**

Lect. Dr. Arawan Shutsrirung	Advisor
Dr. Choochad Santasup	Co-advisor
Dr. Kanokwan Sringarm	Co-advisor

**ABSTRACT**

High agrochemical input in current vegetable production has led to environmental problems especially in the highland areas of northern Thailand, which are the head watershed. This study aimed to evaluate the effects of seedling media with high humus and beneficial microorganisms on vitamin C content, antioxidant levels and growth of Chinese kale as an alternative way to produce high quality and safe vegetables. The study was divided into four experiments as follows:

In the first experiment, twenty-five isolates of bacteria (eight *Azospirillum* spp. (VAs), six *Beijerinckia* spp. (VBe) and eleven actinomycetes (VAc)) isolated from plant rhizosphere were evaluated for plant hormone (IAA) production, nitrogen fixation and phosphate solubilization. The effectiveness of these isolates on growth and nutrient uptake in Chinese kale (*Brassica oleracea* var. *alboglabra*) seedlings was also measured. The results showed that all isolates had a certain potential in IAA producing, nitrogen fixing and phosphate solubilizing ability with the values ranging between 5.67 – 460.31 mg IAA /L, 1.29 – 132.37 nmole C<sub>2</sub>H<sub>4</sub> /24 hr /tube and 1.47 – 260.96 µg P /mL, respectively. The twenty-five isolates were tested in Chinese kale seedlings for growth and nutrient uptake. The results showed that effective isolates improved growth and nutrient uptake in Chinese kale seedlings. Within each group of microorganisms the most effective isolates for growth improvement were VAs 2, VBe 75 and VAc 77 with the shoot dry weight values of 3.047, 2.793 and 3.417 g /10 plants, respectively. The results showed that all of the inoculated treatments enhanced nutrient uptake in Chinese kale seedlings with values that were higher than those of the control. These results suggested that isolates with the highest potential activity in production of plant growth promoting substances or highest potential activity in improvement of nutrient uptake may not be the most effective in all of the measurements.

In the second experiment, the most effective isolates from each microbial group for growth improvement (VAs 2, VBe 75 and VAc 77) were selected from the first experiment to study the effect of single, dual and triple inoculation on growth and nutrient uptake in Chinese kale seedlings. The results showed that the triple

inoculation (VAs 2 + VBe 75 + VAc 77) gave the highest shoot dry weight of 2.927 g /10 plants and the single inoculation of VAc 77 gave the highest root dry weight of 0.360 g /10plants. The use of single and mixed inoculations increased the uptake of all nutrients in Chinese kale seedlings.

The third experiment was performed at the same time as the second experiment and with the same selected isolates, VAs 2, VBe 75 and VAc 77. The effects of seedling media with leonardite (high humus material) and single microbial inoculation on growth and nutrient uptake in Chinese kale seedlings were measured. Each single isolate was mixed in the seedling media with various rates of leonardite (5, 10 and 15%). The results showed that the use of seedling media with 15% leonardite and actinomycetes isolate VAc 77 gave the highest root and shoot dry weight (1.69 and 0.2123 g /10 plants, respectively). This treatment also gave the highest phosphorus and magnesium uptakes with values of 10.92 and 6.77 mg /10 plants, respectively. The second best performance was obtained with the use of seedling media with 10% leonardite and *Beijerinckia* isolate VBe 75 with the shoot and root dry weights of 1.65 and 0.141 g /10 plants, respectively. This treatment also gave the highest calcium uptake of 20.01 g /10 plants.

The fourth experiment was conducted to study the effects of seedling media with leonardite and beneficial microorganisms on vitamin C content and antioxidant activity in Chinese kale. The best treatments were selected from the third experiment, which included seedling media + 15% leonardite + VAc 77 and seedling media +10% leonardite + VBe 75. The plant samples were analyzed at both 20 and 40 days after inoculation. The results indicated that seedling media + 15% leonardite + VAc 77



showed the highest values of vitamin C content and antioxidant activity at both 20 and 40 days after inoculation. The content of vitamin C obtained from this treatment was 33.08 and 44.66  $\mu\text{g} / \text{mL}$ , respectively. The antioxidant activity at 20 and 40 days after inoculation obtained by this treatment was 1.9285 and 4.733  $\mu\text{mol trolox} / \text{g}$  sample, respectively. In addition, root infection of these two isolates was also studied by scanning electron microscope using the same treatments already described but with sterilized seedling media. The results indicated that Chinese kale root cells were infected by the inoculated isolates except for the control, which was without inoculation. VAc 77, on the average, performed as the most effective isolate in all experiments, and was identified using 16S rDNA sequencing. The isolate showed high homology with the sequence of *Streptomyces variabilis* with an overall 99.48% similarity.

**Key word:** Chinese kale, antioxidants, vitamin C, beneficial microorganisms,  
leonardite