

การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและชีวเคมีของอีเอ็ม
ตอนที่ 2 การศึกษาสารคล้ายจิบเบอเรลลินในอีเอ็ม
Study on Chemical and Biochemical Characteristics of
EM
II Study on Gibberellic Acid Like Substance in EM

ชวนพิศ อรุณรังสิกุล และ กัลยา พูลทรัพย์¹
Chuanpis Aroonrungsikul and Kanlaya polysap

ABSTRACT

Gibberellic acid (GA) like substance from EM or super EM which was incubated for various periods at ambient temperature was analysed. We found the low content of GA like substance during initial time until 14 days after incubation and maximum content at 42 days after incubation about 44.959 mg/g dry weight.

Em was mixed in the gradient of pesticidal formula and compost amount 8 formulas. The EM could promote GA content of all formulas. The compost (bokachi) which was mixed with rice hull, rice bran, cattle dung (ratio 1:1:1) and 10 litres of EM/20 kg compost showed the highest GA like substance which contained 11.334 mg/g dry weight at initial time and 28.979 mg/g dry weight at final period (30 days after mixing). The pesticidal formula (sutoju) which was mixed with EM and the solution of 1 litre of fresh milk and 80 ml of yakult in ratio 4:1 and incubated for 24 h contained high GA like substance in the range or 7.740 mg/g dry weight.

Key words : gibberellic acid like substance, Effective Microorganisms, EM, compost, pesticidal formula

¹ งานเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์พืช ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Seed Technology Laboratory, Central Laboratory and Greenhouse Complex, Kasetsart University, Kamphaeng Saen, Nakorn Pathom 73140, Thailand.

บทคัดย่อ

อีเอ็ม หรือซูเปอร์อีเอ็มที่เก็บไว้ ณ อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลานานต่างกันเมื่อนำมาวิเคราะห์และตรวจหาสารคล้ายจิบเบอเรลลินแอซิด (GA) พบว่าปริมาณสารคล้าย GA ในอีเอ็มที่ช่วงเริ่มต้นถึงระยะ 14 วัน มีแนวโน้มคล้ายกัน คือมีปริมาณต่ำมากและเพิ่มปริมาณขึ้นจนถึงระยะ 42 วัน มีปริมาณสูงสุด 44.959 มก./ก. น้ำหนักแห้งขณะเดียวกันการใช้อีเอ็มในส่วนผสมของสุโตจุ และปุ๋ยหมักรวม 8 สูตร สามารถยกระดับปริมาณสารคล้าย GA ในปุ๋ยสูตรต่างๆ ปุ๋ยหมัก (โปกานี) ซึ่งประกอบด้วย แกลบ รำข้าว มูลวัว (อัตราส่วน 1:1:1) รดด้วยอีเอ็ม 10 ลิตร ต่อปุ๋ย 20 ก. มีสารคล้าย GA ในปริมาณสูงสุดคือ 11.334 มก./ก. น้ำหนักแห้งที่ระยะเริ่มต้นกองปุ๋ยและเมื่อกองปุ๋ยไ้วัน 30 วัน สารคล้าย GA มีปริมาณเพิ่มขึ้นเป็น 28.979 มก./ก. น้ำหนักแห้ง ส่วนสุโตจุ สูตรผสมระหว่างอีเอ็มกับส่วนผสมของนมสด 1 ลิตร และยาकुลท์ 80 มล. ในอัตราส่วน 4:1 ที่หมักนาน 24 ชม. พบปริมาณสารคล้าย GA สูงสุด คือ 7.740 มก./ก. น้ำหนักแห้ง

คำนำ

ฮอร์โมนหรือสารควบคุมการเจริญเติบโตมีบทบาทต่อการพัฒนาของสิ่งมีชีวิต พืช สัตว์ และจุลินทรีย์ ได้แก่ ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ (cell division) การเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ (cell differentiation) กระตุ้นการขยายขนาดของใบและการยืดยาวของลำต้นและใบ เป็นต้น (สมบุญ, 2535; Quatrano, 1987) การยืดยาวของลำต้นและใบเป็นผลจากการทำงานของฮอร์โมน 2 ชนิด คือ จิบเบอเรลลิน (gibberellin) และออกซิเจน (auxin) จิบเบอเรลลินพบครั้งแรกในเชื้อรา *Gibberella fujikuroi* สามารถปลดสารที่มีผลต่อการยืดยาวของลำต้นพืช โดยเฉพาะข้าว ทำให้สูง

ผิดปกติ อ่อนแอ และไม่ให้ดอก ต่อมาได้มีนักวิทยาศาสตร์ชาวอังกฤษสามารถสกัดสารนี้จากเชื้อราดังกล่าว ตั้งชื่อสารสกัดนี้ว่า จิบเบอเรลลินแอซิด (gibberellic acid หรือ GA) และปัจจุบันมีสารสกัด GA ที่มีโครงสร้างแบบ *ent gibberellane skeleton* มากกว่า 70 ชนิด ซึ่งมีความแตกต่างกันเล็กน้อยในจำนวนและตำแหน่งของพันธะคู่ของหมู่ไฮดรอกซิล (OH- group) การตรวจสอบสนองต่อสารสกัดดังกล่าว โดยเฉพาะพันธุ์ข้าวแคะ Tan-ginbozu ซึ่งมีความไวในการตอบสนองต่อสารสกัด GA เกือบทุกรูป (Nishijima and Katsura, 1989) โดยปกติในเซลล์พืชก็สามารถสร้าง GA ขึ้นเองได้ แหล่งที่พบ GA ในปริมาณมากคือ เมล็ด (Goodwin and Mercer, 1983)

ส่วนออกซิน นั้นมีความเป็นมานานกว่า และมีความสัมพันธ์กับความเข้มและทิศทางของแสงที่พืชได้รับ พืชสามารถสร้างออกซินได้โดยธรรมชาติ โดยเฉพาะบริเวณปลายยอด ปลายรากและส่วนเนื้อเยื่อเจริญ นอกจากนั้นยังพบในแบคทีเรียบางชนิด โดยเปลี่ยน tryptophan ซึ่งเป็นกรดอะมิโนชนิดหนึ่งให้เป็น indole ethanol ซึ่งมีคุณสมบัติคล้ายออกซิน เมื่อพืชได้รับ indole ethanol จะถูกเปลี่ยนให้เป็น indoleacetaldehyde และ IAA หรือ ออกซินในที่สุด (สัมพันธุ์, 2526) เชื้อราอีกหลายชนิดที่สามารถสังเคราะห์ออกซินขึ้นเองได้ เป็นต้นว่า เชื้อรา *Boletus* sp., *Diplodia* sp. และในกลุ่ม imperfecti (Ulrich, 1960; Gentile and Klien, 1955) นอกจากนั้นเชื้อราจำนวนมากที่สามารถสังเคราะห์จิบเบอเรลลินได้ นอกจาก *Gibberella fujikuroi* ยังมี *Sphaceloma manihoticola* ที่เป็นเชื้อสาเหตุโรคยอดปล้องยาวผิดปกติในมันสำปะหลัง (Zeigler et al., 1980) *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus* และอื่นๆอีกมาก (Kumar and Lonsane, 1989) หรือแม้แต่แบคทีเรียในดิน (*Arthrobacter globiforme*) (Audus, 1972) ดังนั้นในงานตรวจหาฮอร์โมนหรือสารควบคุมการเจริญเติบโตใน EM จึง

ให้ความสนใจที่จะพิจารณาหาสารคล้ายจิบเบอเรลลินแอซิดขึ้น เพื่อศึกษาหาปริมาณของสารคล้ายดังกล่าวใน EM ในสุโตงและปุ๋ยหมักสูตรต่างๆ โดยดัดแปลงวิธีการสกัด และทดสอบผลของสารสกัดด้วยพืชทดสอบ คือ ต้นกล้าข้าวพันธุ์แกระ (Tanginbozu) (Aroonrungsikul *et al.*, 1993)

อุปกรณ์และวิธีการ

สารละลายอีเอ็มที่เก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลานาน 0, 7, 14, 21, 28, 35 และ 42 วัน

สุโตง (EM 5) 4 สูตร ดังนี้

I1 = Super EM+กากน้ำตาล+น้ำส้มสายชู 5% + เหล้าขาว 28 ดีกรี อัตราส่วน 1:1:1:1 หมักนาน 24 ชม.

I2 = Super EM+(นมสด 1 ลิตร+ยาकुสท์ 1 ขวด หรือ 80 มล.) อัตราส่วน 4:1 หมักนาน 24 ชม.

I3 = I1 ที่หมักแล้ว 24 ชม. + น้ำยาคูณ (1/2 ก.ก ต่อ น้ำ 6 ลิตร) อัตราส่วน 1:1 หมักนาน 24 ชม.

I4 = I1 + น้ำ อัตราส่วน 2:5 หมักนาน 20 วัน

ปุ๋ยหมัก (โบกาจิ) 4 สูตร ดังนี้

S1 = ฟาง + แกลบ + รำข้าว (อัตรา 1:1:1) รดด้วยสารผสม EM (ซึ่งมีส่วนผสมของกากน้ำตาล + Super EM 50 มล. ต่อ น้ำ 10 ลิตร) อัตรา 20 ลิตรต่อ 20 กก'

S2 = แกลบ + รำข้าว + มูลข้าว (อัตรา 1:1:1) รดด้วยสารผสม EM (ส่วนผสมเช่นเดียวกับใน S1) อัตรา 10 ลิตรต่อ 20 กก.

S3 = ดิน + รำข้าว + ขี้เถ้าแกลบ + มูลวัว (อัตรา 5:2:2:2) รดด้วยสารผสม EM (ส่วนผสมเช่นเดียวกับใน S1 อัตรา 5 ลิตรต่อ 20 กก.

S4 = ปุ๋ยหมักสูตร S2 ที่หมักได้แล้ว + ฟางแห้ง + รำละเอียด (อัตรา 1:10:0.5) รดด้วยสารผสม EM (ซึ่งประกอบด้วย Super EM 10 มล. +

กากน้ำตาล 10 มล. ต่อ น้ำ 10 ลิตร) อัตรา 10 ลิตรต่อ 11 กก. หมักนาน 24 ชม.

ปุ๋ยหมักสูตร S1, S2 และ S3 จะหมักจนกองปุ๋ยเปื่อยได้ที่แล้วจึงสุมเก็บตัวอย่างปุ๋ยหมักและสูตร S4 มาตรวจหาสารคล้ายจิบเบอเรลลินแอซิด โดยเปรียบเทียบกับสุโตงและปุ๋ยหมักที่ระยะเริ่มต้น ปุ๋ยทั้ง 8 สูตรจะดำเนินการผสมและกองปุ๋ยเป็น 3 ซ้ำ การสกัดตัวอย่างเพื่อตรวจหาปริมาณสารคล้ายจิบเบอเรลลินแอซิด ในส่วนของตัวอย่างที่เป็นของเหลวจะใช้ปริมาณตัวอย่าง 50 มล. และตัวอย่างที่เป็นของแข็งใช้ 100 กรัม ดำเนินการสกัดและทดสอบในพืชทดสอบตามวิธีการของ Aroonrungsikul *et al.*, (1993) ทั้งนี้ขั้นตอนการแยกสารสกัดจะใช้เทคนิค Paper chromatograph (ดัดแปลงเทคนิค Murofushi *et al.*, 1980) กล่าวคือ ดัดกระดาษกรองของ Whatman No. 3 ขนาดกว้าง X ยาว 5 X 18 ซม. จุดตำแหน่งที่หยดตัวอย่าง นำตัวอย่างที่สกัดแห้งแล้วละลายด้วยเมทานอล 80% หยดลงบนกระดาษกรอง 50 μ l เพื่อให้แห้งแล้วจึงนำไปไว้ใน solvent tank ซึ่งมีสารละลาย isopropanol : น้ำ : แอมโมเนีย ในอัตราส่วน 10:1:1 เป็นตัวพา (mobile phase) ปล่อยให้ตัวอย่างเคลื่อนที่ด้วยตัวพาจนถึงระยะ 10 ซม. นำกระดาษออกมารอให้แห้งก่อนพ่นด้วยสารละลายโปแตสเซียมเปอร์แมงกาเนต 1% วัดอัตราส่วนระหว่างระยะทางที่สารตัวอย่างเคลื่อนที่ไปอยู่เปรียบเทียบกับระยะทางที่ตัวพาเคลื่อนที่ไปจนสุด (Rf) พบว่าค่า Rf ของตัวอย่างจะอยู่ในระยะเดียวกับหยดตัวอย่างที่เป็นจิบเบอเรลลินแอซิดมาตรฐานคือ 0.45-0.62 นำชิ้นส่วนของกระดาษกรอง ณ ตำแหน่งดังกล่าวมาแช่ในเมทานอล 80% ปริมาณ 3 มล. แล้วจึงใช้สารละลายที่ได้เพื่อการทดสอบในพืชทดสอบต่อไป

ผลและวิจารณ์

จากการศึกษาการสกัดและแยกสารคล้าย GA ในสาร EM ที่เก็บรักษาไว้นาน 0, 7, 14, 21, 28, 35, และ 42 วัน พบว่าสารดังกล่าวมีส่วนทำให้ต้นกล้าข้าวพันธุ์กระษัตริย์ โดยเฉพาะบริเวณกาบใบที่สอง โดยมีความยาวเพิ่มขึ้นเป็นลำดับ คือ 2.25, 2.50, 3.25, 6.85, 7.07, 8.70 และ 10.35 มม. ตามลำดับ (Figure 1, Table 1) ขณะเดียวกันเมื่อคำนวณปริมาณสารคล้าย จิบเบอเรลลินแอซิดในสาร EM ที่เก็บในแต่ละช่วงเวลา พบว่ามีปริมาณเพิ่มขึ้นเป็นลำดับคือ 0.073, 0.177, 0.092, 14.859, 19.443, 16.667 และ 44.959 มก./ก. น้ำหนักแห้ง (Table 1) ทั้งปริมาณและผลการทดสอบ ในพืชทดสอบมีแนวโน้มในทางเดียวกัน แสดงว่าสารคล้ายจิบเบอเรลลินแอซิดในสารละลาย EM มีการเปลี่ยนแปลงภายในเมื่อเก็บไว้นานขึ้น ดังนั้นสามารถเก็บสาร EM ไว้ใช้ได้มากกว่าเดือน โดยที่สารคล้าย GA ยังคงมีปริมาณอยู่สูง รูปของ GA ที่เฉื่อย (inactive) น่าจะมีแนวโน้มเปลี่ยนเป็น GA ที่ทำงาน (active) มีความไวต่อปฏิกิริยามากขึ้น เมล็ดถั่วลิสงเตาและแตงกวาในระหว่างการพัฒนาของคัพภะ (embryo) หลังผสมเกสรแล้ว GA จะมีการเปลี่ยนรูปเป็นลำดับจากรูปที่เฉื่อยในระหว่างการพัฒนาช่วงแรก และเปลี่ยนเป็นรูปที่ไวต่อปฏิกิริยาเช่น GA_3 , GA_4 , GA_7 , หรือ GA_9 เป็นต้นเมื่อใกล้ระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยามากขึ้น (Frydman et al., 1974 ; ชวนพิศและคณะ, 2537) ส่วนในเชื้อรา *Sphaceloma manihoticola* สามารถสังเคราะห์สารคล้าย GA_4 ซึ่งไวต่อปฏิกิริยาและเป็นสาเหตุทำให้ลำต้นมันสำปะหลังยืดยาวผิดปกติ (Zeigler et al., 1980)

เมื่อนำสาร EM มาเป็นส่วนผสมในปุ๋ยหมักและสูตรสูตรต่างๆ พบว่าปุ๋ยหมัก (โบกาฉิ) ส่วนใหญ่มีสารคล้าย GA เพิ่มขึ้น โดยเฉพาะสูตรที่ 2 (S2) ซึ่งประกอบด้วย แกลบ รำข้าว มูลวัว (อัตราส่วน

1:1:1) รดด้วยสาร EM 10 ลิตร/20 กก. ปุ๋ยหมักสามารถเพิ่มปริมาณสารคล้าย GA ได้สูงที่สุด คือ จาก 11.334 เป็น 28.979 มก./ก. น้ำหนักแห้ง หลังจากที่ได้กองปุ๋ยไว้นาน 30 วัน (Table 2) การกองปุ๋ยเพื่อทำปุ๋ยหมักนั้น มักจะคำนึงถึงการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์ในกองปุ๋ยหมักเป็นสำคัญ จากการศึกษาของ สมศักดิ์ และคณะ (2533) พบว่าจุลินทรีย์ที่มีแนวโน้มของกิจกรรมการย่อยสลายได้สูงเมื่ออยู่ในกองปุ๋ยจุลินทรีย์ที่พบจัดอยู่ในกลุ่มของเชื้อรา *Sporotrichum* sp., *Chaetomium* sp., *Aspergillus fumigatus*, *Helicomyces* sp., *Rhizomucor pusillus*, *Pseudourotium* sp. ส่วนเชื้อแอคติโนมัยซีท ได้แก่ *Streptomyces* sp. ประกอบกับการรายงานของ Kumar and Lonsane (1989) ได้รวบรวมชนิดของเชื้อราที่สามารถสังเคราะห์สารจิบเบอเรลลิน และสารคล้าย GA กว่า 40 ชนิด ส่วนเกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์ที่ตรวจพบในกองปุ๋ยหมักที่มี EM เป็นส่วนผสม ได้แก่ *Aspergillus fumigatus*, *Chaetomium* sp. เป็นต้น ดังนั้นการที่กองปุ๋ยหมักนั้นสามารถตรวจพบปริมาณสารคล้าย GA ที่เพิ่มขึ้นก็น่าจะมีส่วนที่เกิดจากขบวนการสังเคราะห์ของเชื้อราดังกล่าว

เมื่อพิจารณาส่วนผสมภายในปุ๋ยหมักแต่ละสูตร พบว่า สูตรที่ 1 (S1) และสูตรที่ 4 (S4) มีทั้งฟางและแกลบเป็นส่วนผสม โดยเฉพาะในสูตรที่ 1 ไม่มีมูลสัตว์ผสมอยู่ ดังนั้น อัตราส่วน C/N น่าจะสูง กิจกรรมการย่อยสลายน่าจะมาจากจุลินทรีย์ที่มีอยู่ใน EM เป็นสำคัญ ขณะที่สูตรอื่นที่เหลือจะมีมูลสัตว์เป็นส่วนผสม กิจกรรมของจุลินทรีย์น่าจะมาจากจุลินทรีย์ใน EM และในสัตว์ อัตราส่วน C/N ควรจะลดลงเมื่อกองปุ๋ยนาน 30 วัน สมศักดิ์และคณะ (2533) ยืนยันว่าค่ารับปุ๋ยหมักที่มีจุลินทรีย์ผสมอยู่จะมีประสิทธิภาพย่อยสลายเซลลูโลสได้ดีกว่ารับที่มีแต่มูลสัตว์ ในกรณีที่มีจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายและเป็นกลุ่มที่สังเคราะห์สารคล้าย GA ให้ด้วยก็น่าจะ

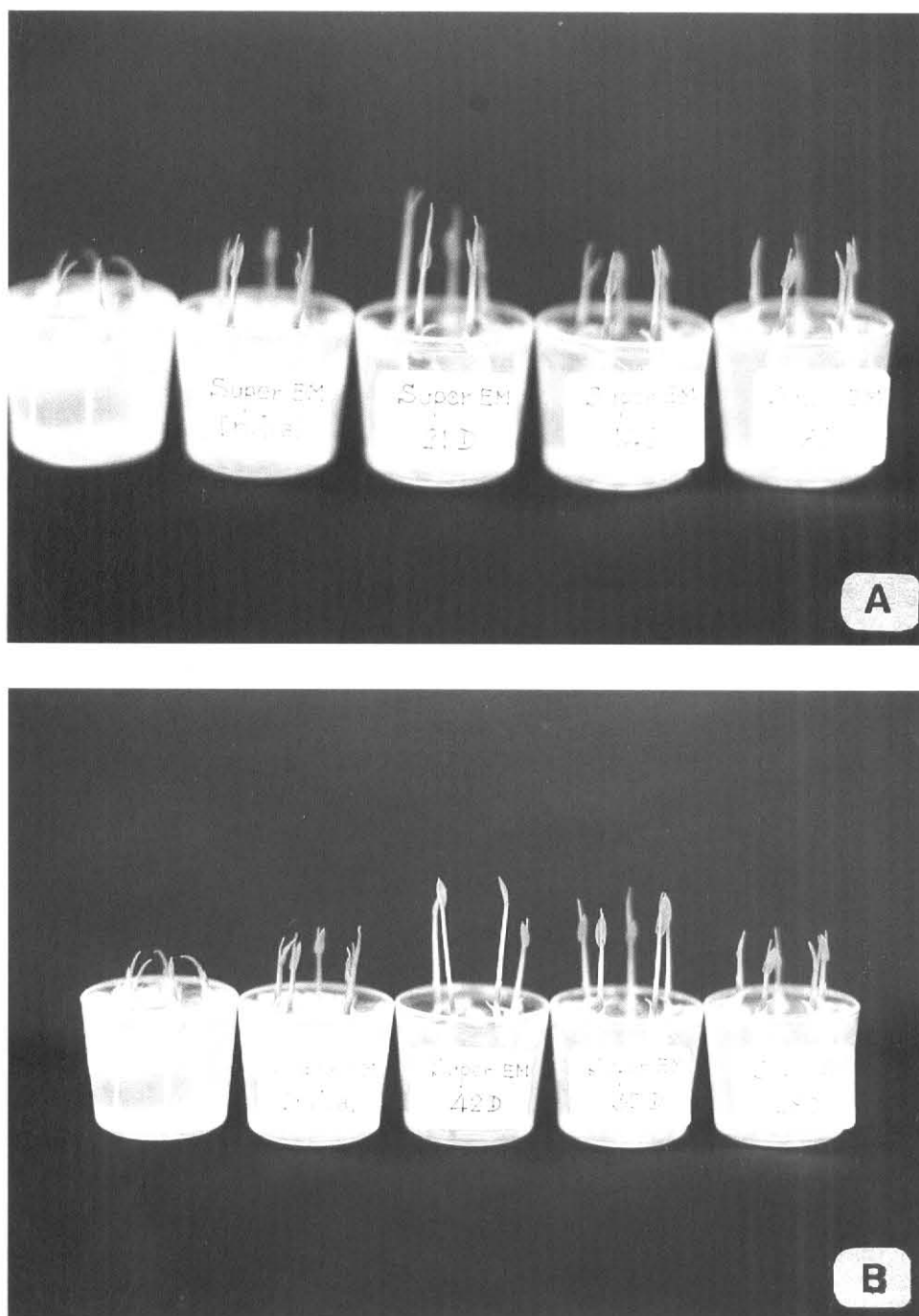


Figure 1 Effect on secondary leaf sheath length of Tan-ginbozu rice seedling of extracted Super EM of 7, 14, 21(A)28, 35 และ 42 (B) days after incubation compared with control.

Table 1 Average leaf sheath length (mm.) and GA like substance (mg/g dry weight) of EM various storage period (days).

Storage period (days)	Leaf sheath length (mm)	GA like substance (mg/g dry weight)
0	2.25	0.073
7	2.50	0.177
14	3.25	0.092
21	6.85	14.859
28	7.07	19.443
35	8.70	16.667
42	10.35	44.959

Table 2 Average leaf sheath length (mm.) and GA like substance (mg/g dry weight) of EM treatments extracted.

Treatment	Leaf sheath length (mm)		GA like substance (mg/g dry weight)	
	initial	final	initial	final
S1	4.85 bcd	3.68 abc	2.018	0.322
S2	4.17 bcd	6.73 d	11.334	28.979
S3	3.45 abc	4.15 bcd	1.492	2.563
S4	5.68 cd	4.02 bcd	3.328	4.236
I1	2.78 ab	3.62 abc	0.259	0.212
I2	2.83 ab	5.65 cd	0.519	7.740
I3	3.62 abc	2.92 abc	0.212	0.818
I4	1.18 a	3.50 abc	0.016	0.952
CV.	41.15 %		F test : NS	
LSD.05	2.809		CV 17.09%	
LSD.01	3.884			

เป็นการยืนยันได้ว่าปุ๋ยหมักทั้ง 4 สูตร ควรจะตรวจพบสารคล้าย GA โดยปริมาณและรูปของ GA ที่เป็นประโยชน์อาจแตกต่างกัน ขึ้นกับชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ที่สังเคราะห์สารคล้าย GA สภาพแวดล้อมที่ส่งเสริมให้มีการเปลี่ยนแปลงรูปที่เป็นประโยชน์ของ GA เช่น pH และอุณหภูมิที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์สำหรับสังเคราะห์ และการเกิดสารยับยั้ง (Kobayashi *et al.*, 1991) นอกจากนั้นปุ๋ยหมักสูตรที่ 3 ซึ่งมีส่วนผสมของดิน รำข้าว ขี้เถ้า แกลบ และมูลวัว (อัตราส่วน 5:2:2:2) รดด้วยน้ำ EM 5 ลิตรเท่านั้น น้อยกว่าสามสูตรที่เหลือ ดังนั้นสารคล้าย GA น่าจะมาจากจุลินทรีย์ในดิน และของเสียจากมูลสัตว์ที่มีอยู่ โดยเฉพาะส่วนของดิน และมูลวัว จากการรวบรวมของ Audus (1972) ได้ชี้ให้เห็นว่า แบคทีเรียในดิน (*Arthrobacter globiforme*) ขึ้นส่วนเนื้อเยื่อสัตว์ ของเสียจากสัตว์จะมีสารคล้าย GA อยู่พอสมควร

สุโตงู ทั้ง 4 สูตร พบว่ามีแนวโน้มให้สารคล้าย GA ในทิศทางที่เพิ่มขึ้นหลังจากที่ทิ้งไว้ 24 ชม. แต่ไม่มากเท่าปุ๋ยหมักข้างต้น (Table 2) สุโตงู สูตรที่ 2 (I2) ประกอบด้วย EM ผสมกับส่วนผสม (นมสด 1 ลิตร และยาคุม 80 มล.) ในอัตรา 4:1 ให้ปริมาณสารคล้าย GA ในปริมาณสูงกว่าสุโตงูอีกสามสูตร ซึ่งในสูตรที่ 2 จะมี EM ในปริมาณเริ่มต้นที่สูงกว่าสุโตงูที่เหลือ ประกอบกับมีนมสดที่จะเป็นอาหารของจุลินทรีย์ใน EM ได้ดีกว่าสุโตงูสูตรที่ 1 (I1) ที่มีกากน้ำตาล น้ำส้มสายชู และเหล้าขาว 28 ดีกรี เป็นส่วนผสมและทำให้ pH ต่ำด้วย (ข้อมูลจากงานของสุรัตน์วดี และคณะ) และมีปริมาณ ethanol สูงถึง 6% w/v ในสุโตงู (ข้อมูลจากงานของมณี และคณะ) ซึ่งไม่เหมาะกับการแบ่งเซลล์เพื่อเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ แต่ในสูตรที่ 4 (I4) เป็นการนำส่วนผสมของสูตรที่ 1 มาผสมน้ำในอัตรา (2:5) แล้วหมักทิ้งไว้ 20 วัน พบว่า pH จะเพิ่มขึ้นที่ระยะเริ่มต้นมีกิจกรรมของจุลินทรีย์ดี

กว่า ทำให้สารคล้าย GA ที่วิเคราะห์ได้จะสูงกว่าสูตรที่ 1 (Table 2) กิจกรรมของจุลินทรีย์โดยทั่วไปสามารถดำเนินการได้ดีที่ระดับ pH โดยเฉลี่ย 7.0-7.4 (สมศักดิ์ และคณะ, 2533)

สรุป

อีเอ็มหรือ EM ที่เก็บในอุณหภูมิห้องเป็นเวลานานกว่า 21 วัน จะสามารถตรวจพบสารคล้าย GA ในปริมาณที่สูงขึ้น และสูงสุดเมื่อเก็บไว้นาน 42 วัน คือ 44.959 มก./ก. น้ำหนักแห้ง เมื่อใช้ EM ในส่วนผสมของปุ๋ยหมัก (โปกาจิ) ที่มีแกลบ รำข้าว มูลวัว (อัตรา 1:1:1) รดด้วย EM 10 ลิตรต่อปุ๋ย 20 กก. ให้สารคล้าย GA ที่ระยะเริ่มต้น 11.334 มก./ก. น้ำหนักแห้ง และ 28.979 มก./ก. น้ำหนักแห้ง หลังจากหมักนาน 30 วัน ส่วนสุโตงู ที่ประกอบด้วย EM และส่วนผสม (นมสด 1 ลิตร กับยาคุม 80 มล.) ในอัตรา 4:1 หมักนาน 24 ชม. ให้สารคล้าย GA สูงสุด 7.740 มก./ก. น้ำหนักแห้ง

เอกสารอ้างอิง

- ชวนพิศ อรุณรังสิกุล, สุเทวี สุขปรการ, โชจิ ชิเกนากะ, ชูชุม ษาชาวา, และอิจิ นาวาดา. 2537. การวิเคราะห์ฮอร์โมนระหว่างการพัฒนาของเมล็ดพันธุ์แดงกว่า IV การเกิด GA ABA และ cytokinin ภายในเมล็ดที่กำลังพัฒนาในถั่วฝัก. รายงานผลการวิจัยประจำปี 2537. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 18 น.
- สมบุญ เดชะภิญญาวัฒน์. 2535. สรีรวิทยาของพืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 239 น.
- สมศักดิ์ วังใน, พัทธการ ลิมทอง, ปรัชญา ชาญวดี, นันทนา ชื่นอ้อม, วรณดดา สุนันทพงศ์ศักดิ์, เสียงแจ้ว ปริยพจน์, ขวลิขิต ธงประยูร, ธงชัย

- มาลา, เลขา มาโนช, นิรันดร์ สิงหนุตรา, เพิ่มพงษ์ ศรีประเสริฐศักดิ์, พชรภรณ์ ภูไพบูลย์, สุคันธรส ธาดากิตติสาร, รุ่งนภา ก่อประดิษฐ์สกุล, สุรัตน์วดี จิระจินดา, มณี ตันติรุ่งกิจ, สุดาวรรณ เขยชมศรี, พรทิพย์ การบริบูรณ์, และ กณิษฐา สังคะหะ. 2533. การวิจัยและพัฒนาจุลินทรีย์สำหรับผลิตปุ๋ยหมักในประเทศไทย. รายงานวิจัยศูนย์พันธุ์วิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ. 118 น.
- สัมพันธ์ คัมภีรานนท์. 2526. ฮอร์โมนพืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 147 น.
- Aroonrungsikul, C., S. Sukprakarn, S. Shigenaga and E. Nawata. 1993. Analysis of endogenous gibberellic acid abscisic acid and ethylene in cucumber seed (*Cucumis sativus* L.) . Kasetsart J. (Nat. Sci. Suppl.). 27 (5) : 21-26.
- Audus, L.J. 1972. Plant Growth Substances. Vol I: Chemistry and Physiology. Leonard Hill, London. 533 p.
- Frydman, V.M., P. Gaokin and J. Macmillan. 1974. Qualitative and quantitative analysis of gibberellins throughout seed maturation in *Pisum sativum* cv. Progress No. 9. Planta (Berl.). 118:123-132.
- Gentile, A.C. and R.M. Klein. 1955. The apparent necessity of indoleacetic acid for the growth of *Diplodia* (Fungi Imperfecti). Physiol. Plant. 8:291-295.
- Goodwin, T.W. and Ell. Mercer. 1983. Introduction to Plant Biochemistry 2nd ed. Pergamon Press Ltd. Oxford. 677 p.
- Kobayashi, M., S. S. Kwak, Y. Kamiya, H. Yamane, N. Takahashi and A. Sakurai. 1991. Conversion of GA5 to GA6 and GA3 in cell-free systems from *Phaseolus vulgaris* and *Oryza sativa*. Agric. Biol. Chem. 55:249-251.
- Kumar, P. K. R. and B. K. Lonsane. 1989. Microorganisms productng gibberellins, pp. 50. In S. L. Neidleman (ed.) Advances in Applied Microbiology. Academic Press Inc., San Diego, California.
- Murofushi, N., N. Takahashi and T. Yokota. 1980. Extraction, purification and identification. pp. 113-190. In J. MacMillan (ed.). Encyclopedia of Plant Physiology New Series Volumn 9. Springer Verlag, Berlin.
- Nishijima, T. and N. Katsura. 1989. A modified micro-drop bioassay using dwarf rice for detection of femtomol quantities of gibberellins. Plant Cell Physiol. 30:623-627.
- Quatrano, R. S. 1987. The roles of hormones during seed development, pp. 494-514. In P. J. Davis (ed.). Plant Hormones and Their Roles in Plant Growth and Development. Martinus Nijhoff Publishers, Boston.
- Ulrich, J. M. 1960. Auxin production by mycorrhizal fungi. Physiol. Plant. 13:429-443.
- Yopp, J. H., L. H. Aung and G. L. Steffens. 1986. Bioassay and Other Special Techniques for Plant Hormones and Plant Growth Regulators. Plant Growth Regulator Society of America, Florida. 208 p.
- Zeigler, R. S., L. E. Powell and H. D. Thurston. 1980. Gibberellin A₄ production by *Sphaceloma manihoticola*, causal agent of cassava superelongation disease. Phytopathol. 70:589-593.