

ภาษาไทย

เกษม ล้อยีสถาน, พืชเคอร์คูกล (วันชัย สันทรประเสริฐ), หน้า 77-127, ภาควิชาพืชไร่  
คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2527

ถวิล คุรทกุล, ดิน-ปุ๋ยเพื่อการเพาะปลูก, หน้า 46-53, บัณฑิตการพิมพ์, 2528

บรรหาร แดงฉ่ำ, แดน พุแลง, ศิริบุตร ตันวิญกุล และเย็นใจ วสุวัต, "การศึกษา Azoto-  
bacter ที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนให้แก่ข้าวโพดในแปลงทดลอง",  
รายงานผลการวิจัยกลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน, กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร,  
กรุงเทพมหานคร, 2527

ยงยุทธ โอสถสภา, หลักการผลิดและการใช้ปุ๋ย, หน้า 30-51, สำนักพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช,  
2528

เคอร์คูรา ศิริพินท์, "อิทธิพลของการใส่เชื้อแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนต่อการเจริญเติบโตของอ้อย  
บางพันธุ์", วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาพืชไร่ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัย  
เกษตรศาสตร์, 2529

สถาปัตย์ ปริตา, ต้นไม้-ใบหญ้า HORTICULTURE, AD Plus, 2527

สุรพล อุบัติสัสกุล, สถิติ การวางแผนการทดลองเบื้องต้น, ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตร  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร, พิมพ์ครั้งที่ 2, 2523

อุดม โกสัยสุก, การปลูกพืชไร่, หน้า 32-36, ฮีทเธอร์บัณฑิต, 2529

ภาษาอังกฤษ

Adelberg, E.A., M. Mandel, and G.C.C.Chen, "Optimal Conditions for  
Mutagenesis by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in  
Escherichia coli K12," Biochim.Biophys.Res.Comm., 18, 788-795,  
1965

Baltensperger, A.A., et al., "Effect of Inoculation with Azospirillum  
and Azotobacter on Turf-type bermuda genotype," Crop Sci.,  
18, 1043, 1978



- Bergersen, F.J., Method for Evaluating Biological Nitrogen Fixation, pp.112-131, Wiley, New York, 1980
- Billson, S., K. Williams, and J.R. Postgate, "A Note on The Effect of Diluents on The Determination of Viable Numbers of Azotobacteriaceae", J. Appl. Bact., 33, 270-273, 1970
- Birnboim, H.C., and J. Doly, "A Rapid Alkaline Extraction Procedure for Screening Recombinant Plasmid DNA", Nucleic Acids Research, 7, 1513-1523, 1979
- Brook, S.J., J.J. Collins, and W.J. Brill, "Repression of Nitrogen Fixation in Klebsiella pneumoniae at High Temperature", J.Bacteriol, 157, 460-464, 1984
- Brown, M.E., "Role of Azotobacter paspali in Association with Paspalum notatum", J.Appl. Bacteriol., 40, 341-348, 1976
- Brown, M.E., S.K. Burlingham, "Production of Plant Growth Substances by Azotobacter chroococcum", J.Gen.Microbiol, 53, 135-144, 1968
- Brown, M.E. and G.R. Can, "Interaction between Azotobacter chroococ-cum and Vesicular-arbuscular Mycorrhiza and Their Effects on Plant Growth", J.Appl. Bacteriol., 56, 429-437, 1984
- Buchanan, V., et al, "Role of the nif A Gene Product in the Regulation of nif Expression in Klebsiella pneumoniae", Nature, 294, 776-778, 1981
- Buchanan, R.E. and N.E. Gibbons, Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, The Williams and Wilking, Baltimore, 1974



- Bulen, W.A., R.C. Burns, and J.R. Le Comte, "Nitrogen Fixation: Hydro-sulfite as Electron Donor with Cell-free Preparations of Azotobacter vinelandii and Rhodospirillum rubrum", Proc.Nat.Acad. Sci.:USA., 53, 532-539, 1965
- Canahan, J.E., et al, "Nitrogen Fixation in Cell-free Extracts of Clostridium pasteurianum", Biochim.Biophys. Acta, 44, 520-535, 1960
- Casse, F., C. Boucher, J.S. Julliot, M. Michel, and J. Denarie, "Identification and Characterization of Large Plasmids in Rhizobium meliloti using Agarose Gel Electrophoresis", J.Gen Microbiol., 113, 229-242, 1979
- Cejudo, F.J., and A. Paneque, "Short-term Nitrate (Nitrite) Inhibition of Nitrogen Fixation in Azotobacter chroococcum", J.Bacteriol., 165, 240, 1986
- Cejudo, F.J., A. Torre, and A. Paneque, "Short-Term Ammonium Inhibition of Nitrogen Fixation in Azotobacter", Biochem. Biophys. Res. Commun., 123, 431-437, 1984
- Dalton, H., and J.R. Postgate, "Effect of Oxygen on Growth of Azotobacter chroococcum in Batch and Continuous Cultures", J.Gen Microbiol., 54, 463-473, 1968
- Dalton, H., and J.R. Postgate, "Growth and Physiology of Azotobacter chroococcum in Continuous Culture", J.Gen. Microbiol., 56, 307-319, 1969
- Dayan, E.M., A. Banin, and Y. Henis, "Studies on The Mucigel Layer of Barley Root", Plant and Soil, 47, 171-192, 1977



- Fisher, R.J., and W.J. Brill, "Mutants of Azotobacter vinelandii unable to Fix Nitrogen", Biochim. Biophys. Acta, 184, 99-105, 1969
- FAO. 1983, "Production Year Book Vol 37", Food and Agricultural Organization of the United Nation, Rome, 1984
- Gibson, A.H., Methods for Evaluating Biological Nitrogen Fixation (Bergersen, F.J. ed.), pp. 140-183, Wiley, New York, 1980
- Glick, B.R., H.E. Brooks, and J.J. Pasternak, "Transformation of Azotobacter vinelandii with Plasmid DNA", J. Bacteriol., 162, 276-279, 1985
- Gonzalez-Lopez, J., V. Salmeron, J. Moren, and, A. Ramos-Cormenzama, "Amino Acid and Vitamin Produced by Azotobacter vinelandii ATCC 12837 in Chemically-defined Media and Dialysed Soil Media", Soil Biol. Biochem., 15, 711-713, 1983
- Gordon, J.K., V.K. Shah, and W.J. Brill, "Feedback Inhibition of Nitrogenase", J. Bacteriol., 148, 884, 1981
- Greaves, M.P., and J.F. Darbyshire, "The Ultrastructure of The Mucilaginous Layer of Plant Roots", Soil Biol. Biochem., 4, 443-449, 1972
- Hartmann, A., H. Fu, and R.H. Burris, "Regulation of Nitrogenase Activity by Ammonium Chloride in Azospirillum spp.", J. Bacteriol., 165, 864-870, 1986
- Ishac, Y.A., et al., "Effect of Seed Bacterization and Organic Amendment on The Growth of Some Economical Crop in Egypt", Third International Symposium on Nitrogen Fixation with Non-legume, pp.103, Finland, 1984



- Ditta, G., et al., "Broad Host Range DNA Cloning System for Gram-negative Bacteria: Construction of a Gene Blank of Rhizobium meliloti, Proc. Nat. Acad. Sci.:USA., 77, 7347-7351, 1980
- David, M., M. Tronchet, and J. Denarie, "Transformation of Azotobacter vinelandii with Plasmids RP4 (Inc P-1 Group) and RSF1010 (Inc Q Group)", J. Bacteriol., 146, 1154-1157, 1981
- Dixon, R., et al., "Analysis of Regulation of Klebsiella pneumoniae Nitrogen Fixation (nif) Gene Cluster with Gene Fusions", Nature, 286, 128-132, 1980
- Dobereiner, J., Recent Development in Nitrogen Fixation, pp. 513-522, Academic Press, London, 1977
- Drozd, J.W., and J.R. Postgate, "Effect of Oxygen on Acetylene Reduction, Cytochrome Content and Respiratory Activity of Azotobacter chroococcum", J. Gen. Microbiol., 63, 63-73, 1970
- Drozd, J.W., R.S. Tubb, and J.R. Postgate, "A Chemostat Study of The Effect of Fixed Nitrogen Sources on Nitrogen Fixation, Membranes and Free Amino Acids in Azotobacter chroococcum", J. Gen. Microbiol., 73, 221-232, 1972
- Drummond, M., J. Clements, M. Merrick, and R. Dixon, "Positive Control and Autogenous Regulation of the nif LA Promoter in Klebsiella pneumoniae", Nature, 301, 302-307, 1983
- Eckhardt, T., "A Rapid Method for The Identification of Plasmid Deoxy-ribonucleic Acid in Bacteria", Plasmid, 1, 584-588, 1978
- Evan, H.J., P.J. Bottomley, and W.E. Newton, Nitrogen Fixation Research Progress, pp. 432, Martinus Nijhoff, Netherland, 1985



- Maniatis, T., E.F. Fritsch, and J. Sambrook, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, 1983
- McFarland, N., L. McCarter, S. Artz, and S. Kustu, "Nitrogen Regulatory Locus" glnR" of Enteric Bacteria Is Composed of Cistrons ntr B and ntr C: Identification of Their Protein Products", Proc. Nat. Acad. Sci.:USA., 78, 2135-2139, 1981
- Mermood, N., J.L. Ramos, P.R. Lehrbach, and K.N. Timmis, "Vector for Regulated Expression of Cloned Genes in a Wide Range of Gram-negative Bacteria", J. Bacteriol., 167, 447-454, 1986
- Merrick, M., M. Hahn, R. Dixon, and C. Kennedy, "Repressor of the nif L Gene Product in *Klebsiella pneumoniae*", Mol. Gen. Genet., 185, 75-81, 1982
- Mishustin, E.N., and U.K. Shil' Nikova, Biological Fixation of Atmospheric Nitrogen, pp. 179, Macmillan, London, 1971
- Northcote, D.H., and J.D. Pickett-Heaps, "A Function of the Golgi Apparatus in Polysaccharide Synthesis and Transport in the Root Cap Cell of Wheat", Biochem. J., 89, 159-167, 1966
- Ocampo, J.A., J.M. Barea, and E. Montoya, "Interaction between Azotobacter and Phosphobacteria and Their Establishment in the Rhizosphere as Effected by Soil Fertility", Can. J. Microbiol., 21, 1160-1165, 1975
- Oppenheim, J., R.J. Fisher, P.W. Wilson, and L. Marcus, "Properties of a Soluble Nitrogenase in Azotobacter", J. Bacteriol., 101, 292-296, 1970



- Jadhav, J.S., and S.S. Andhale, "Biological Nitrogen Fixation in Sugarcane with Specific Reference to Azotobacter", Sugar News, 8, 8, 1976
- Jain, D.K., and D.G. Partriquin, "Characterization of a Substance Produced by Azospirillum which Causes Branching of Wheat Root Hair", Can. J. Microbiol., 31, 206-210, 1985
- Jain, D.K., and D.G. Partriquin, "Root Hair Deformation, Bacterial Attachment and Plant Growth in Wheat-Azospirillum associations", Appl. Environ. Microbiol., 48, 1208-1213, 1984
- Jensen, H.J., "Nitrogen Fixation in Leguminous Plants: I General Characters of Root-nodule Bacteria Isolated from Species of Medicago and Trifolium in Australia", Proc. Linn. Soc. N.S.W., 66, 98-108, 1942
- Jones, R., P. Woodley, and R. Robson, "Cloning and Organization of Some Genes for Nitrogen Fixation from Azotobacter chroococcum and Their Expression in Klebsiella pneumoniae", Mol. Gen. Genet., 197, 318-327, 1984
- Kelly, M., "The Kinetics of the Reduction of Isocyanides, Acetylenes and the Cyanide Ion by Nitrogenase Preparation from Azotobacter chroococcum and the Effects of Inhibitors", Biochem. J., 107, 1-6, 1968
- Kennedy, C., and M.H. Drummond, "The Use of Cloned nif Regulatory Elements from Klebsiella pneumoniae to Examine nif Regulation in Azotobacter vinelandii", J. Gen. Microbiol., 131, 1787-1795, 1985
- Kennedy, C., and R.L. Robson, "Activation of nif Gene Expression in Azotobacter by The nif A Gene Product of Klebsiella pneumoniae", Nature, 301, 626-628, 1983



- Kennedy, et al, Current Perspectives in Nitrogen Fixation (A.H. Gibson and W.E. Newton), pp. 146-156, Canberra, 1981
- Klugkist, J., and H. Haaker, "Inhibition of Nitrogenase Activity by Ammonium chloride in Azotobacter vinelandii", J. Bacteriol., 157, 148-151, 1984
- Koch, B., H.J. Evans, and S. Russell, "Reduction of Acetylene and Nitrogen gas by Breis and Cell-free Extracts of Soybean Root Nodules", Plant Physiol., 42, 466-468, 1967
- Kundu, B.S., and A.C. Gaur, "Rice Response to Inoculation with  $N_2$ -fixation and P-solubilizing Micro-organism", Plant and Soil, 79, 277-234, 1984
- Laane, C., W. Krone, W. Konings, H. Haaker, and C. Veeger, "Short-term Effect of Ammonium Chloride on Nitrogen Fixation by Azotobacter vinelandii and by Bacteroids of Rhizobium leguminosarum", Eur. J. Biochem., 103, 39-46, 1980
- Leonard, L. T., "Method of Testing Bacterial Cultures and Results of Tests of Commercial Inoculants", U.S.DA.Circ., 703, 8, 1944
- Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr, and R.J. Randal, "Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent", J. Biol. Chem., 193, 265-275, 1951
- Luria, S.E., J.N. Adams, and R.C. Teng, "Transduction of Lactose Utilizing Ability Among Strains of Escherichia coli and Shigella dysenteriae and the Properties of the Transducing Phage Particles", Virology, 13, 348-390, 1960
- Malik, K.A., S.H. Mujtaba Naqui, and M.T.H. Aleem, The Nitrogen and Enviroment, pp. 395-404, NIAB, Pakistan, 1985



- Ow, D.W., and F.M. Ausubel, "Regulation of Nitrogen Metabolism Genes by nif A Gene Product in *Kebsiella pneumoniae*", Nature, 301, 307-313, 1983
- Page, W., "Optimal Conditions for Induction of Competence in Nitrogen-fixing *Azotobacter vinelandii*", Can. J. Microbiol., 28, 389-397, 1982
- Page, W., and M. Huyer, "Derepression of the *Azotobacter vinelandii* Siderophore System, Using Iron-containing Minerals to Limit Iron Repletion", J. Bacteriol., 158, 1496-1502, 1984
- Page, W., and H.L. Sadoff, "Control of Transformation Competence in *Azotobacter vinelandii* by Nitrogen Catabolite Derepression", J. Bacteriol., 125, 1088-1095, 1976a
- Page, W., and H.L. Sadoff, "Physiological Factors Affecting Transformation of *Azotobacter vinelandii*", J. Bacteriol., 125, 1080-1087, 1976 b
- Page, W., and M. Tigerstrom, "Iron and Molybdenum-repressible Outer Membrane Proteins in Competent *Azotobacter vinelandii*", J. Bacteriol., 151, 237-242, 1982
- Page, W., and M. Tigerstrom, "Optimal Conditions for Transformation of *Azotobacter vinelandii*", J. Bacteriol., 139, 1058-1061, 1979
- Page, W., and M. Tigerstrom, "Induction of Transformation Competence in *Azotobacter vinelandii* Iron-limited Cultures", Can. J. Microbiol., 24, 1590-1594, 1978
- Patel, J.J., "Micro-organism in The Rhizosphere of Plants Inoculated with *Azotobacter chroococcum*", Plant and Soil, 31, 209-223, 1969



- Patel, B.K., et al., "Endogenous Occurrence Azotobacter chroococcum in Triticum estivum", Biological N<sub>2</sub>-fixation Newsletter, 13, 1-2, 1985
- Patriquin, D.G., et al., "Site and Process of Association between Diazotrophs and Grasses", Can. J. Microbiol., 29, 900-912, 1983
- Postgate, J.R., The Fundamentals of Nitrogen Fixation, Cambridge, 1982
- Postgate, J.R., Nitrogen Fixation, Edward Arnold, London, 1973
- Rao, N.S.S., and E. Arnold, Current Developments in Biological Nitrogen Fixation, 1984
- Robson, R.L., "O<sub>2</sub>-repression of Nitrogenase Synthesis in Azotobacter chroococcum", FEMS microbiol. Lett., 5, 259-262, 1979
- Robson, R.L., et al., "Genome Size and Complexity in Azotobacter chroococcum", J.Gen.Microbiol., 130, 1603-1612, 1984
- Rodriguez, R.L., and R.C. Tait, Recombinant DNA Techniques: An Introduction, Wesley, 1983
- Rubenchick, L.I., Azotobacter and Its Use in Agriculture, pp. 25, Washington, 1960
- Ruschel, A.P., and P.B. Vose, "Nitrogen cycling in Sugarcane", Plant and Soil, 67, 1-3, 1982
- Sadoff, H.L., et al., "Characterization of Azotobacter vinelandii Deoxyribonucleic Acid and Folded Chromosomes", J.Bacteriol., 138, 871-877, 1979



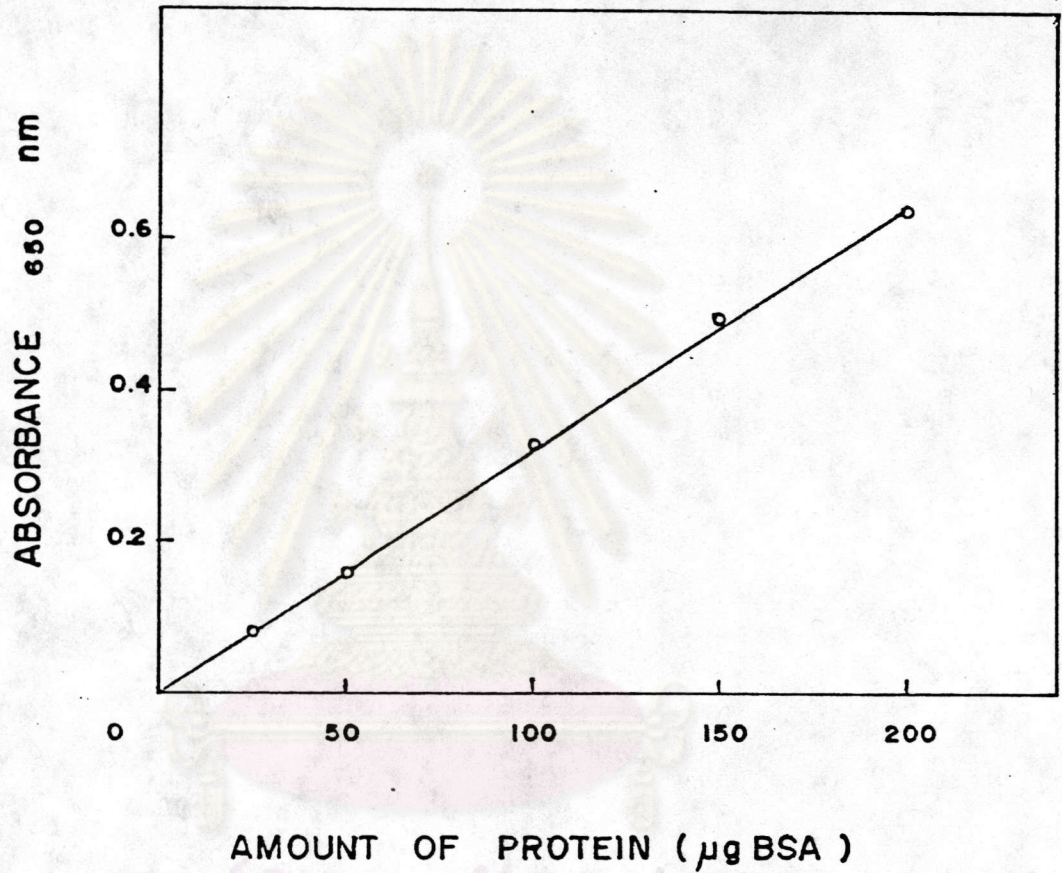
- Smith, R.L., et al., "Nitrogen Fixation in Grasses Inoculated with Spirillum lipoferum", Science, 193, 1003-1005, 1976
- Sundareson, V., et al., "Klebsiella pneumoniae nif A Product Activates the Rhizobium meliloti Nitrogenase Promoter", Nature, 301, 728, 1983
- Sweet, W.J., and R.H. Burris, "Inhibition of Nitrogenase Activity by  $\text{NH}_4^+$  in Rhodospirillum rubrum", J. Bacteriol., 145, 824-831, 1981
- Terzaghi, B.E., "Ultraviolet Sensitivity and Mutagenesis of Azotobacter", J. Gen. Microbiol., 118, 271-273, 1980
- Tilak, U.V.B.R., et al., "Azospirillum brasilense and Azotobacter chroococcum Inoculum: Effect on Yield of Maize (Zea mays) and Sorghum (Sorghum bicolor)", Soil Biol. Biochem., 14, 417-418, 1982
- Tubb, R.S., and J.R. Postgate, "Control of Nitrogenase Synthesis in Klebsiella pneumoniae", J. Gen. Microbiol., 79, 103-117, 1973
- Vose, P.B., "Development in Non-legume  $\text{N}_2$ -fixing System", Can. J. Microbiol., 29, 837-850, 1983
- Wright, S.F., R.W. Weaver, and E.C. Halt, "Acetylene Reduction Activity of Panicum colonatum L. Seeding Inoculated with Azotobacter and Treated with Various Concentrations of Fixed Nitrogen", Soil Biol. Biochem., 13, 325-326, 1981
- Wyss, O., et al., "Development and Germination of the Azotobacter Cyst", J. Biophysic. and Biochem. Cytol., 10, 555-565, 1961
- Zora, S., et al., "Efficiency of Azotobacter Nitrogen Fixation as Related to Maize and Mineral Nitrogen Nutrition", Third International Symposium on Nitrogen Fixation with Non-legumes, pp. 49, Finland, 1984





ภาคผนวก ก.

กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณโปรตีนโดยวิธีลอร์ (Lowry และคณะ, 1951)

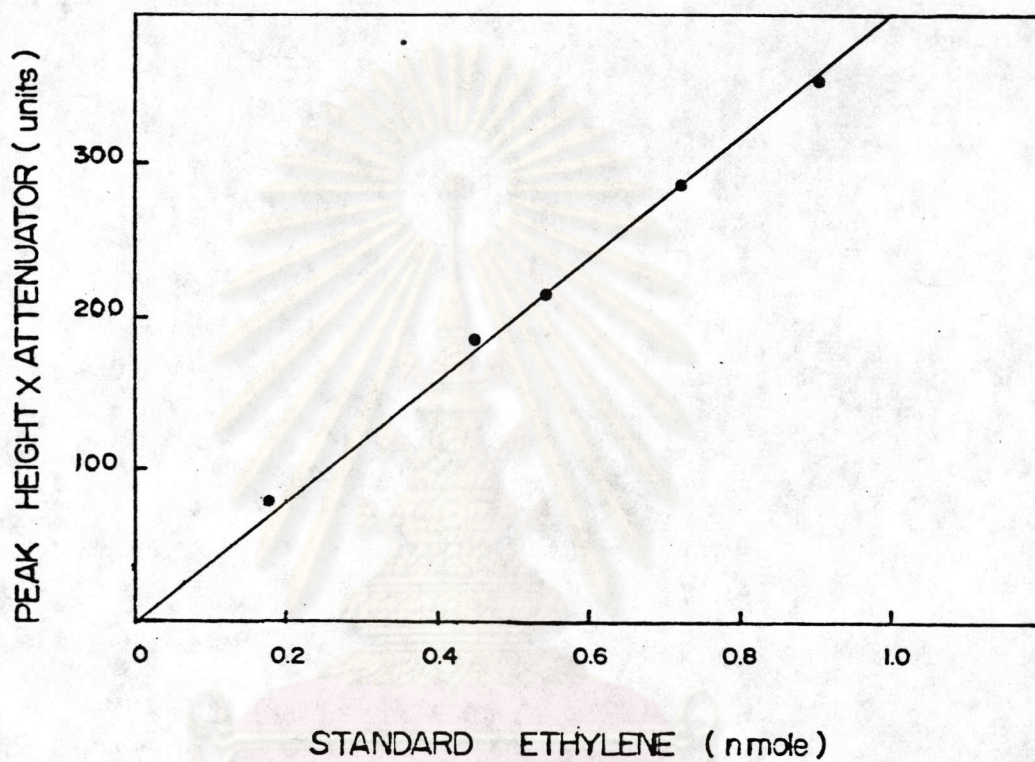


ศูนย์วิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก ข.

กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณเอทิลีน

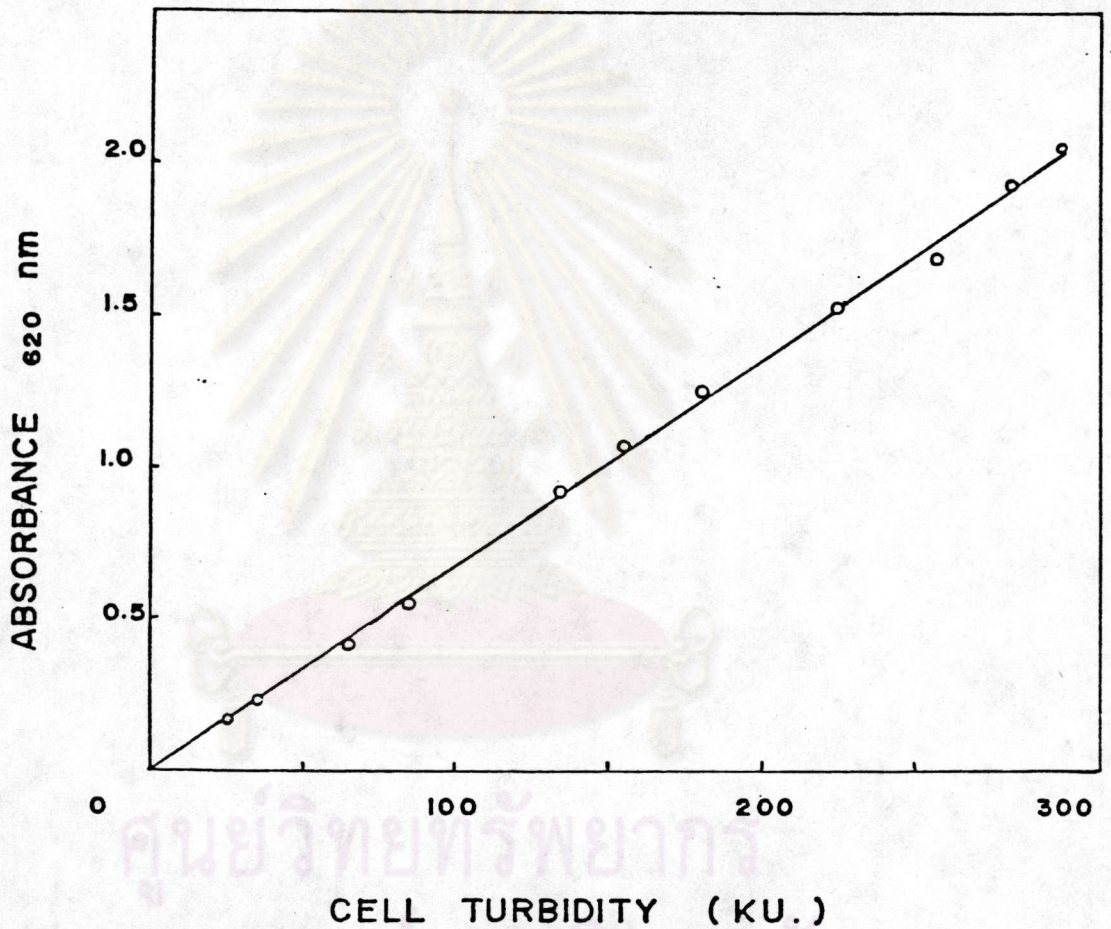


ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก ค.

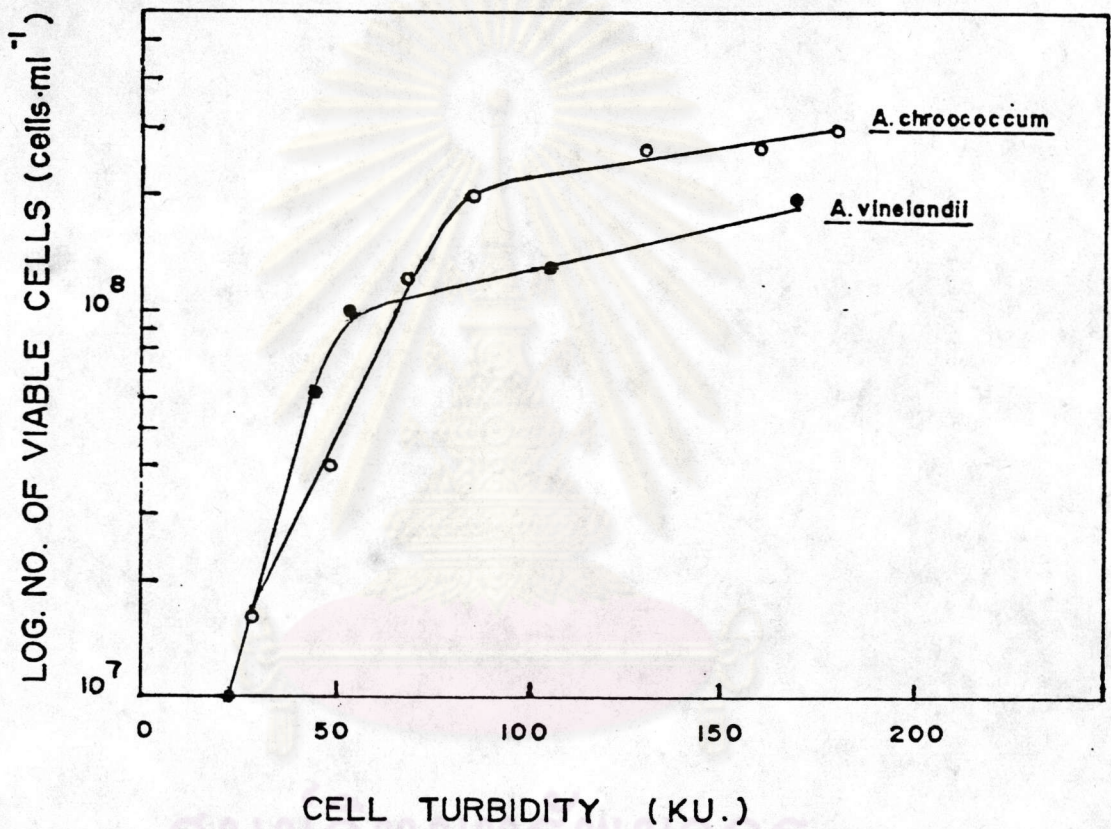
กราฟเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตร (absorbance 620 nm)  
และความขุ่นของเชื้อ (cell turbidity)



ศูนย์วิทยุทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



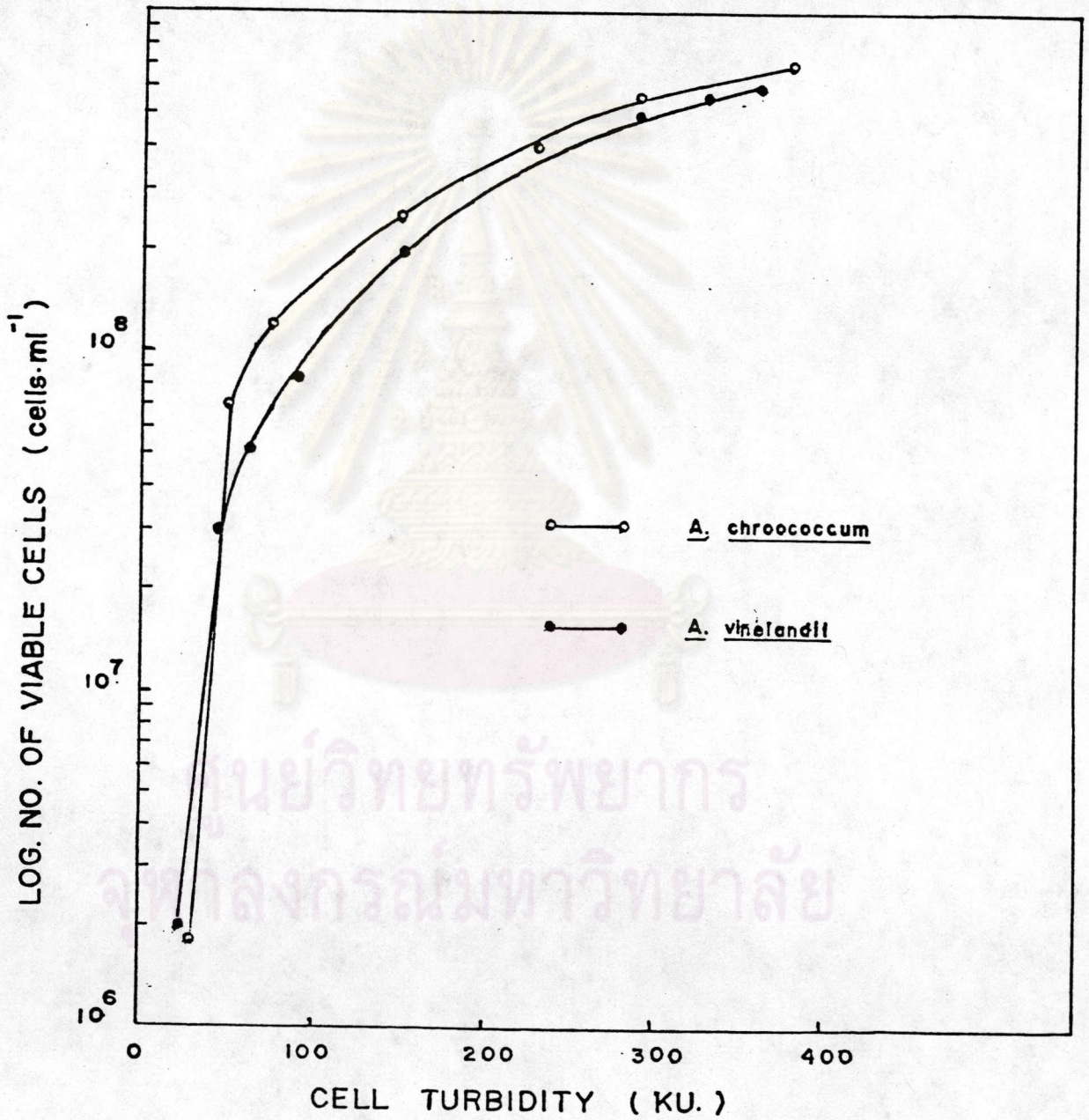
กราฟมาตรฐานสำหรับจำนวนเซลล์ของ A. vinelandii และ A. chroococcum ที่เลี้ยงในอาหารที่ปราศจากสารต้นตอไนโตรเจน



ศูนย์วิจัยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

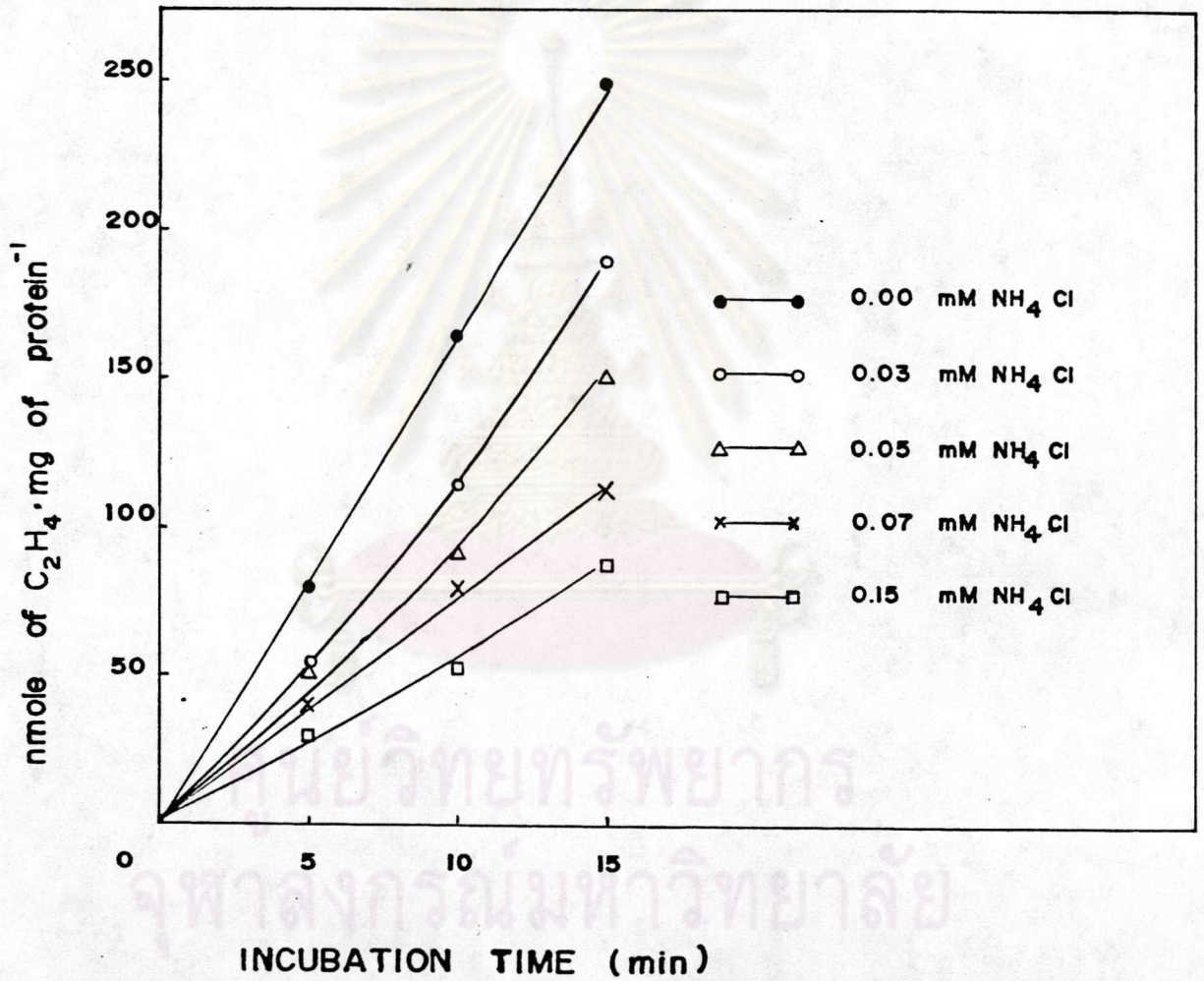


กราฟมาตรฐานสำหรับจำนวนเซลล์ของ A. vinelandii และ A. chroococcum ที่เลี้ยงในอาหารที่มี Ammonium acetate 15 มิลลิโมลาร์ เป็นสารต้นตอไนโตรเจน





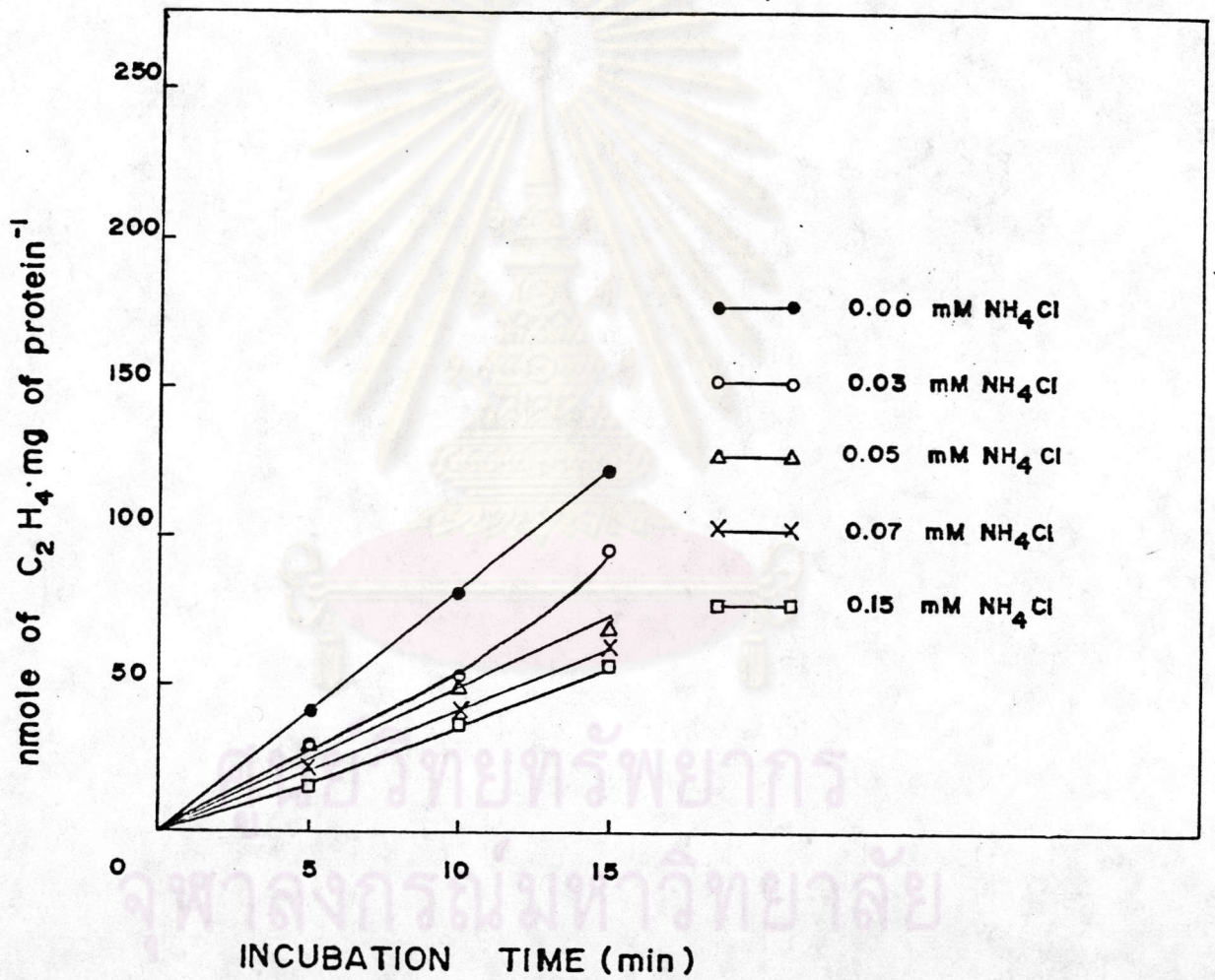
กราฟปริมาณเอทิลีนต่อมิลลิกรัมโปรตีนที่แต่ละช่วงเวลาของ *A. vinelandii* WT โดยที่มี Ammonium chloride ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นตัวยับยั้ง และ control ซึ่งไม่มี Ammonium chloride





ภาคผนวก ข.

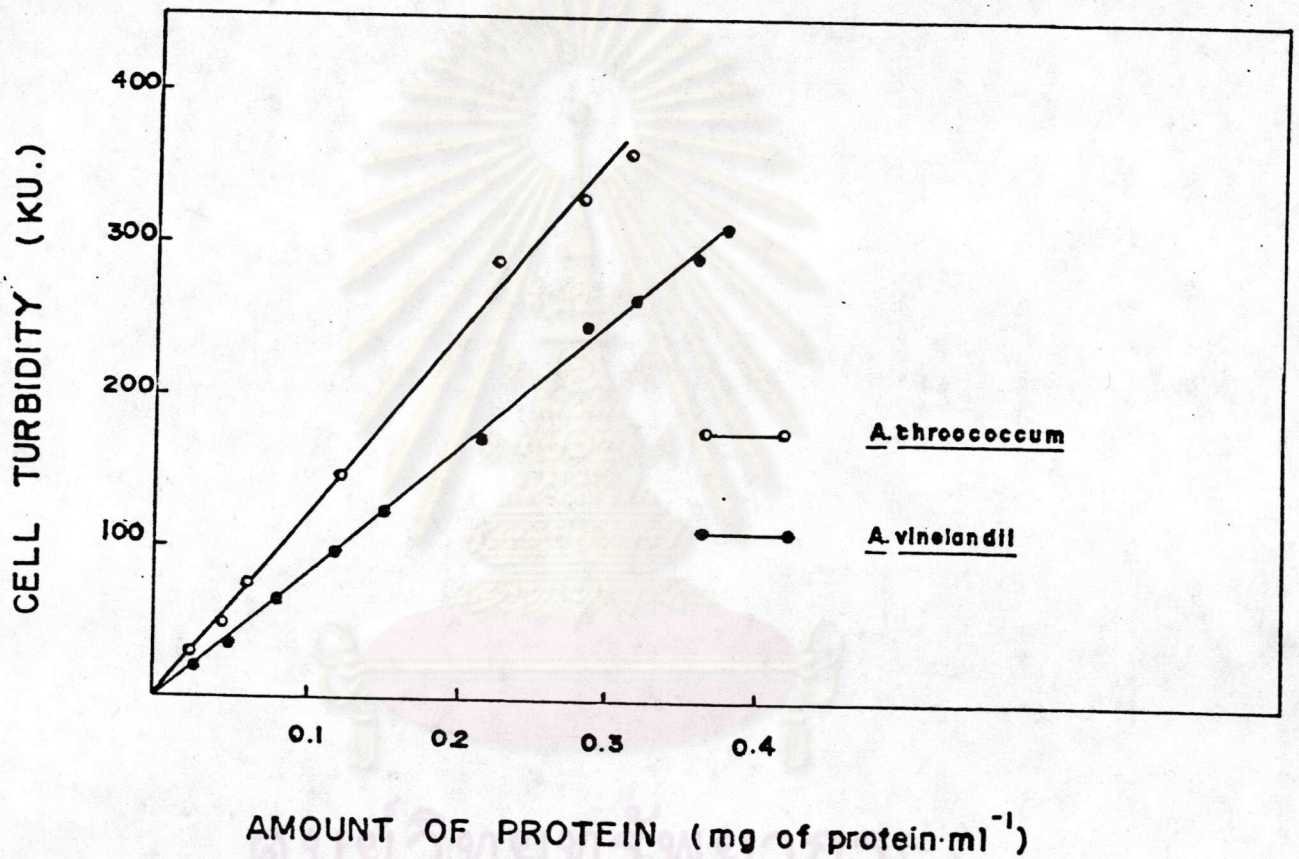
กราฟปริมาณเอกลินต่อมิลลิกรัมโปรตีนที่แต่ละช่วงเวลาของทรานสเฟอร์แมนท็อก *A. vinelandii* ที่มีคลอไรด์ pCK3\* ชื่อว่า TF 2 (pCK3\*) โดยที่มี Ammonium chloride ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นตัวยับยั้งและ control ซึ่งไม่มี Ammonium chloride





ภาคผนวก ข.

กราฟมาตรฐานสำหรับหาปริมาณโปรตีนของเซลล์ของ A. vinelandii และ A. chroococcum



ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก ฉ.

การวิเคราะห์หัตถ์ดินของน้ำหมักแห้งของต้นและใบอ้อยโดย F test ซึ่งมีการวางแผนการทดลองแบบ Randomized complete block ครั้งที่ 1

ตารางที่ 1 ฉ น้ำหมักแห้งของต้นและใบอ้อยที่ปลูกในสารอาหารที่ปราศจากสารต้นตอไนโตรเจน และที่มี Ammonium sulfate 0.4 และ 1.2 มิลลิโมลาร์เป็นสารต้นตอไนโตรเจน โดยปลูกร่วมกับ A. vinelandii WT และ TF 23 (pCK3) และมี control ซึ่งไม่มี Azotobacter

สภาวะที่ปลูกอ้อย (1)	น้ำหมักแห้งของต้นและใบอ้อยในแต่ละซ้ำ (g)					ผลรวมของสิ่งทดลอง	ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	4	5		
NoAo	0.9989	0.4942	1.9356	1.7530	0.8562	6.0379	1.2076
No.4Ao	3.6140	3.7334	2.6754	2.4240	3.3908	15.8376	3.1675
N1.2Ao	4.8306	3.8723	3.3884	4.9308	3.9019	20.9240	4.1847
No AWT	3.2060	2.6709	1.7074	2.5767	2.2011	12.3621	2.4724
No.4AWT	2.7055	4.0603	3.8753	4.6504	2.9501	18.2416	3.6483
N1.2AWT	6.6088	5.7759	7.4044	5.1654	2.1037	27.0582	5.4166
No ATF23	2.0426	2.6826	3.2700	3.1919	1.5188	12.7059	2.5412
No.4ATF23	4.9953	3.7531	4.3145	6.2592	4.4057	23.7278	4.7456
N1.2ATF23	7.7174	5.9065	7.8424	8.3710	11.6645	41.5018	8.3004
ผลรวมของซ้ำ	36.7191	34.8851	36.0199	36.2376	34.5352		

(1) No, No.4 และ N1.2 หมายถึงสารอาหารที่ไม่มีและมี Ammonium sulfate

0.4 และ 1.2 มิลลิโมลาร์

Ao คือ control ซึ่งไม่มี Azotobacter

AWT และ ATF23 คือ A. vinelandii WT และ TF23 (pCK3)



$$\text{ผลรวมทั้งหมดในการทดลอง} = 36.7191 + \dots + 34.5352 = 178.3969$$

$$\begin{aligned} \text{Correction factor, CF.} &= \frac{(\text{ผลรวมทั้งหมดในการทดลอง})^2}{\text{จำนวนข้อมูลทั้งหมด}} \\ &= \frac{(178.3969)^2}{45} = 707.2323 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Total SS} &= \text{ผลบวกของ (ข้อมูลจากแต่ละหน่วยการทดลอง)}^2 - \text{CF.} \\ &= (0.9989)^2 + \dots + (11.6645)^2 - \text{CF.} \end{aligned}$$

$$= 926.4875 - 707.2323 = 219.2552$$

$$\begin{aligned} \text{Replications SS} &= \frac{\text{ผลบวกของ (ผลรวมของแต่ละซ้ำ)}^2}{\text{จำนวนสิ่งทดลอง}} - \text{CF.} \\ &= \frac{(36.7191)^2 + \dots + (34.5352)^2}{9} - \text{CF.} \end{aligned}$$

$$= \frac{6368.5394}{9} - 707.2323 = 0.3832$$

$$\begin{aligned} \text{Treatments SS} &= \frac{\text{ผลบวกของ (ผลรวมของแต่ละสิ่งทดลอง)}^2}{\text{จำนวนซ้ำ}} - \text{CF.} \end{aligned}$$

$$= \frac{(6.0379)^2 + \dots + (41.5018)^2}{5} - \text{CF.}$$

$$= \frac{4389.6711}{5} - 707.2323 = 170.7019$$

$$\text{Error SS} = \text{Total SS} - \text{Replications SS} - \text{Treatments SS}$$

$$= 219.2552 - 0.3832 - 170.7019 = 48.1701$$



ตารางที่ 2 ฉ การวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับ Randomized complete block  
ของน้ำหนักแห้งของใบและต้นอ้อย

Source of variation	Degree of freedom (df.)	Sum of Square (SS)	Mean Square (MS)	F-ratio
Replications	4	0.3832	0.0958	0.0636
Treatments	8	170.7019	21.3377	14.1750 **
Error	32	48.1701	1.5053	
Total	44	219.2552		

Mean Square = Sum of Square/degree of freedom

F-ratio of treatments = Treatment MS/Error MS

F-ratio of replications = Replications MS/Error MS

ที่  $\alpha = 0.05$  ค่าวิกฤตของ F 4, 32 = 2.67

ค่าวิกฤตของ F 8, 32 = 2.25

เนื่องจากค่าของ F4, 32 ที่ได้จากการคำนวณเท่ากับ 0.0636 ซึ่งน้อยกว่า 2.67 แสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในจำนวนซ้ำของการทดลอง แต่ค่าของ F8, 32 ที่ได้จากการคำนวณเท่ากับ 14.1750 มากกว่า 2.25 แสดงว่า น้ำหนักแห้งของต้นและใบอ้อยที่ปลูกในสภาวะต่าง ๆ ตามที่กำหนดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเป็นไปได้ 0.05 จึงนำข้อมูลไปคำนวณโดยใช้ Duncan's new multiple range test

$$\text{ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย, } S_{\bar{y}} = \sqrt{\frac{\text{error mean square}}{\text{จำนวนซ้ำ}}}$$

$$= \sqrt{1.5053/5} = 0.5487$$

ใช้ค่า Significant studentized ranges (SSR.) ที่  $\alpha = 0.05$

df. ของ error = 32



$$\text{Least significant range (LSR.)} = \text{SSR.} \times \bar{S}_y$$

	p = number of means for range being tested							
	2	3	4	5	6	7	8	9
SSR.	2.884	3.034	3.116	3.194	3.244	3.286	3.316	3.346
LSR.	1.583	1.665	1.710	1.753	1.780	1.803	1.819	1.836

เรียงลำดับค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของต้นและใบอ้อยจากมากไปหาน้อย

สภาวะที่ปลูกอ้อย	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้ง ของต้นและใบอ้อย	
N1.2 ATF23	8.3004	a
N1.2 AWT	5.4116	b
No.4 ATF23	4.7456	bc
N1.2 Ao	4.1847	bcd
No.4 AWT	3.6483	bcd
No.4 Ao	3.1675	cd
No ATF23	2.5412	d
No AWT	2.4724	d
No Ao	1.2076	e

ตัวอักษร a, ... , e แสดงกลุ่มของค่าเฉลี่ยน้ำหนักของต้นและใบอ้อย โดยที่  
ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงถึงกลุ่มที่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



การวิเคราะห์ผลผลิตของความสูงของอ้อยโดย F test ซึ่งมีการวางแผนการทดลองแบบ Randomized complete block ครั้งที่ 1

ตารางที่ 1 ญ ความสูงของอ้อยที่ปลูกในสารอาหารที่ปราศจากต้นตอไนโตรเจนและมี Ammonium sulfate 0.4 และ 1.2 มิลลิโมลาร์เป็นสารต้นตอไนโตรเจน โดยปลูกร่วมกับ A. vinelandii WT และ TF23 (pCK3) และมี control ซึ่งไม่มี Azotobacter

สภาวะที่ปลูกอ้อย (1)	ความสูงของอ้อยในแต่ละซ้ำ (cm)					ผลรวมของสูงทดลอง	ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	4	5		
No Ao	8.4	12.4	9.9	9.6	6.9	47.2	9.4
No.4 Ao	14.4	14.4	14.4	14.9	13.9	72.0	14.4
N1.2 Ao	10.4	21.9	20.4	18.1	11.4	91.2	18.2
No AWT	11.7	12.9	14.9	13.9	15.4	68.8	13.8
No.4 AWT	18.4	14.4	14.4	15.9	14.9	78.0	15.6
N1.2 AWT	21.4	19.4	21.4	22.4	19.9	104.5	20.9
No ATF23	14.6	12.7	10.4	13.4	11.9	63.0	12.6
No.4 ATF23	18.4	14.9	11.9	16.9	14.9	77.0	15.4
N1.2 ATF23	14.9	23.4	21.4	17.4	20.4	97.5	19.5
ผลรวมของซ้ำ	141.6	146.4	139.1	142.5	129.6		

(1) No, No.4 และ N1.2 หมายถึงสารอาหารที่ไม่มีและมี Ammonium sulfate 0.4

และ 1.2 มิลลิโมลาร์

Ao คือ control ซึ่งไม่มี Azotobacter

AWT และ ATF23 คือ A. vinelandii WT และ TF23 (pCK3)



$$\text{ผลรวมทั้งหมดในการทดลอง} = 141.6 + \dots + 129.6 = 699.2$$

$$CF = \frac{(699.2)^2}{45} = 10864.0$$

$$\begin{aligned} \text{Total SS} &= (8.4)^2 + \dots + (20.4)^2 - 10864.0 \\ &= 698.9 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Replications SS} &= \frac{(141.6)^2 + \dots + (129.6)^2}{9} - 10864.0 \\ &= 17.6 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Treatments SS} &= \frac{(47.2)^2 + \dots + (97.5)^2}{5} - 10864.0 \\ &= 510.2 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Error SS} &= 698.9 - 17.6 - 510.2 \\ &= 171.1 \end{aligned}$$

ตารางที่ 2 ญ การวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับ Randomized complete block ของ  
ความสูงของอ้อย

Source of variation	df.	SS	MS	F-ratio
Replications	4	17.6	4.4	2.67
Treatments	8	510.2	63.8	2.25
Error	32	171.1	5.3	
Total	44	698.9		



จำนวนซ้ำของการทดลองไม่ทำให้เกิดความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ  
ความเป็นไปได้ 0.05 แต่ความสูงของอ้อยที่ปลูกในสภาวะต่าง ๆ ตามที่กำหนดมีความแตกต่างกัน  
อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงนำข้อมูลไปคำนวณโดยใช้ Duncan's new multiple range test

$$s\bar{y} = \sqrt{5.3/5} = 1.03$$

ใช้ค่า SSR. ที่  $\alpha = 0.05$  df. ของ error = 32

p = number of means for range being tested								
	2	3	4	5	6	7	8	9
SSR.	2.884	3.034	3.116	3.194	3.244	3.286	3.316	3.346
LSR.	2.971	3.125	3.209	3.290	3.341	3.385	3.415	3.446

เรียงลำดับค่าเฉลี่ยของความสูงของอ้อยจากมากไปหาน้อย

สภาวะที่ปลูกอ้อย	ค่าเฉลี่ยของ ความสูงของอ้อย	
N1.2 AWT	20.9	a
N1.2 ATF23	19.5	a
N1.2 Ao	18.2	ab
No.4 AWT	15.6	bc
No.4 ATF23	15.4	bc
No.4 Ao	14.4	c
No AWT	13.8	c
No ATF23	12.6	c
No Ao	9.4	d



ภาคผนวก ฎ.

การวิเคราะห์หลักของ ARA จากรากอ้อยโดย F test ซึ่งมีการวางแผนการทดลองแบบ Randomized complete block ครั้งที่ 1 .

ตารางที่ 1 ฎ ค่า ARA จากรากอ้อยที่ปลูกในสารอาหารที่ปราศจากสารต้นตอไนโตรเจน และที่มี Ammonium sulfate 0.4 และ 1.2 มิลลิโมลาร์เป็นสารต้นตอไนโตรเจน โดยปลูกร่วมกับ A. vinelandii WT และ TF23 (pCK3)

สภาวะที่ปลูกอ้อย (1)	ค่า ARA จากรากอ้อยในแต่ละเช้า (nmole C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> /mg protein <sup>-1</sup> .hr <sup>-1</sup> )					ผลรวมของสิ่งทดลอง	ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	4	5		
No AWT	17	18	20	16	16	87	17
No.4 AWT	7	8	9	6	6	36	7
N1.2 AWT	2	3	3	3	3	14	3
No ATF23	19	16	22	27	27	110	22
No.4 ATF23	11	18	13	15	13	70	14
N1.2 ATF23	9	8	7	5	6	35	7
ผลรวมของเช้า	65	71	74	71	71		

(1)

No, No.4 และ N1.2 หมายถึงสารอาหารที่ไม่มีและ มี Ammonium sulfate

0.4 และ 1.2 มิลลิโมลาร์

AWT และ ATF23

คือ A. vinelandii WT และ TF23 (pCK3)

ในการทดลองนี้ control ซึ่งไม่มี Azotobacter ไม่ปรากฏค่า ARA เลข



$$\begin{aligned}
 \text{ผลรวมทั้งหมดในการทดลอง} &= 65 + \dots + 71 = 352 \\
 \text{CF.} &= \frac{(352)^2}{30} = 4130 \\
 \text{Total SS} &= (17)^2 + \dots + (6)^2 - 4130 \\
 &= 1470 \\
 \text{Replications SS} &= \frac{(65)^2 + \dots + (71)^2}{6} - 4130 \\
 &= 7 \\
 \text{Treatments SS} &= \frac{(87)^2 + \dots + (35)^2}{5} - 4130 \\
 &= 1327.2 \\
 \text{Error SS} &= 1470 - 7 - 1327.2 \\
 &= 135.8
 \end{aligned}$$



ตารางที่ 2 ฏ การวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับ Randomized complete block ของ  
ค่า ARA จากระากอ้อย

Source of variation	df.	SS	MS	F-ratio
Replications	4	7.0	1.8	0.26
Treatments	5	1327.2	265.4	39.03
Error	20	135.8	6.8	
Total	29	1470.0		



ที่  $\alpha = 0.05$  ค่าวิกฤตของ  $F_{4, 20} = 2.87$  และค่าวิกฤตของ  $F_{5, 20} = 4.10$  เนื่องจากค่า  $F_{4, 20}$  ที่คำนวณได้เท่ากับ 0.26 ซึ่งน้อยกว่า 2.87 แสดงว่าจำนวนซ้ำของการทดลองไม่ทำให้เกิดความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ค่า ARA จากระการากอ้อยที่ปลูกในสภาวะต่าง ๆ ตามที่กำหนดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงนำข้อมูลไปคำนวณโดยใช้ Duncan's new multiple range test

$$\bar{S}_y = \sqrt{6.8/5} = 1.17$$

ใช้ค่า SSR. ที่  $\alpha = 0.05$  df. ของ error = 20

p = number of means for range being tested					
	2	3	4	5	6
SSR.	2.95	3.10	3.18	3.25	3.30
LSR.	3.45	3.63	3.72	3.80	3.86

เรียงลำดับค่าเฉลี่ย ARA จากระการากอ้อยจากมากไปหาน้อย

สภาวะที่ปลูกอ้อย	ค่าเฉลี่ย ARA จากระการากอ้อย	
No ATF23	22	a
No AWT	17	b
No.4 ATF23	14	b
N1.2 ATF23	7	c
No.4 AWT	7	c
N1.2 AWT	3	d



การวิเคราะห์ผลผลิตของน้ำหนักแห้งของต้นและใบอ้อยโดย F test ซึ่งมีการ  
วางแผนการทดลองแบบ Randomized complete block ครั้งที่ 2

ตารางที่ 1 ฎ. น้ำหนักแห้งของต้นและใบอ้อยที่ปลูกในสารอาหารที่ปราศจากสารต้นตอไนโตรเจน  
และที่มี Ammonium sulfate 1.2 มิลลิโมลาร์ เป็นสารต้นตอไนโตรเจน โดย  
ปลูกร่วมกับ A. vinelandii WT และ TF2 (pCK3\*) และมี control  
ซึ่งไม่มี Azotobacter

สภาวะที่ ปลูกอ้อย (1)	น้ำหนักแห้งของต้นและใบอ้อยในแต่ละซ้ำ (g)					ผลรวมของ สิ่งทดลอง	ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	4	5		
No Ao	1.0562	0.9498	0.9478	1.0492	0.9293	4.9323	0.9865
N1.2 Ao	2.4790	2.3581	2.7254	2.7637	2.3320	12.6582	2.5316
No AWT	1.7479	1.3832	1.5130	1.5278	1.5260	7.6979	1.5396
N1.2 AWT	3.3313	3.5001	3.6022	3.4111	3.3919	17.2366	3.4473
No ATF2	1.8795	1.9745	1.6674	1.8532	1.5766	8.9512	1.7902
N1.2 ATF2	7.9995	8.0147	8.1692	8.2653	8.3581	40.8068	8.1614
ผลรวมของซ้ำ	18.4934	18.1804	18.6250	18.8703	18.1139		

(1)

No และ N1.2 หมายถึงสารอาหารที่ไม่มีและ มี Ammonium sulfate 1.2

มิลลิโมลาร์

Ao คือ control ซึ่งไม่มี Azotobacter

AWT และ ATF2 คือ A. vinelandii WT และ TF2 (pCK3\*)



$$\text{ผลรวมทั้งหมดในการทดลอง} = 18.4934 + \dots + 18.1139 = 92.283$$

$$\text{CF.} = \frac{(92.283)^2}{30} = 283.8717$$

$$\begin{aligned} \text{Total SS} &= (1.0562)^2 + \dots + (8.3581)^2 - 283.8717 \\ &= 173.8716 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Replications SS} &= \frac{(19.4934)^3 + \dots + (19.1139)^2}{6} - 283.8717 \\ &= 0.0658 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Treatments SS} &= \frac{(4.9323)^2 + \dots + (40.8068)^2}{5} - 283.8718 \\ &= 173.3752 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Error SS} &= 173.8716 - 0.0658 - 173.3752 \\ &= 0.4307 \end{aligned}$$

ตารางที่ 2 ข การวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับ Randomized complete block ของ  
น้ำหนักแห้งของต้นและใบอ้อย

Source of variation	df.	SS	MS	F-ratio
Replications	4	0.0658	0.016	0.8
Treatments	5	173.3752	34.67	1733.5
Error	20	0.4307	0.02	
Total	29			



จำนวนซ้ำของการทดลองไม่ทำให้เกิดความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ  
ความเป็นไปได้ 0.05 แต่น้ำหนักแห้งของต้นและใบอ้อยที่ปลูกในสภาวะต่าง ๆ ตามที่กำหนด  
มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงนำข้อมูลไปคำนวณโดยใช้ Duncan's multiple  
new range test

$$\bar{s}_y = \sqrt{0.02/5} = 0.06$$

ใช้ค่า SSR. ที่  $\alpha = 0.05$  df. ของ error = 20

p = number of means for range being tested					
	2	3	4	5	6
SSR.	2.95	3.10	3.18	3.25	3.30
LSR.	0.18	0.19	0.19	0.20	0.20

เรียงลำดับค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งของต้นและใบอ้อยจากมากไปหาน้อย

สภาวะที่ปลูกอ้อย	ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้ง ของต้นและใบอ้อย	
N1.2 ATF 2	8.1614	a
N1.2 AWT	3.4473	b
N1.2 Ao	2.5316	c
No ATF2	1.7902	d
No AWT	1.5396	e
No Ao	0.9865	f



ภาคผนวก ร.

การวิเคราะห์หลักของความสูงของอ้อยโดยใช้ F test ซึ่งมีการวางแผนการทดลองแบบ Randomized complete block ครั้งที่ 2

ตารางที่ 1 ความสูงของอ้อยที่ปลูกในสารอาหารที่ปราศจากสารต้นตอไนโตรเจน และที่มี Ammonium sulfate 1.2 มิลลิโมลาร์เป็นสารต้นตอไนโตรเจน โดยปลูกร่วมกับ A. vinelandii WT และ TF2 (pCK3\*) และมี control ซึ่งไม่มี Azotobacter

สภาวะที่ปลูกอ้อย <sup>(1)</sup>	ความสูงของอ้อยในแต่ละซ้ำ (cm)					ผลรวมของสิ่งทดลอง	ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	4	5		
No Ao	9.2	9.8	9.0	9.4	10.1	47.5	9.5
N1.2 Ao	14.5	13.9	13.7	14.0	13.5	69.6	13.9
No AWT	11.0	11.6	11.0	11.5	11.9	57.0	11.4
N1 AWT	15.5	15.1	15.2	14.9	14.2	74.9	15.0
No ATF2	11.5	11.8	12.5	12.7	11.8	60.3	12.1
N1.2 ATF2	17.4	16.8	17.1	16.5	17.0	84.8	16.9
ผลรวมของซ้ำ	79.1	79.0	78.5	79.0	78.5		

- (1) No และ N1.2 หมายถึงสารอาหารที่ไม่มีและ มี Ammonium sulfate 1.2 มิลลิโมลาร์
- Ao คือ control ซึ่งไม่มี Azotobacter
- AWT และ ATF2 คือ A. vinelandii WT และ TF2 (pCK3\*)



$$\begin{aligned}
 \text{ผลรวมทั้งหมดในการทดลอง} &= 79.1 + \dots + 78.5 = 394.1 \\
 \text{CF.} &= \frac{(394.1)^2}{30} = 5177.2 \\
 \text{Total SS} &= (9.2)^2 + \dots + (17.0)^2 - 5177.2 \\
 &= 184.6 \\
 \text{Replications SS} &= \frac{(79.1)^2 + \dots + (78.5)^2}{6} - 5177.2 \\
 &= 0.1 \\
 \text{Treatments SS} &= \frac{(47.5)^2 + \dots + (84.8)^2}{5} - 5177.2 \\
 &= 180.1 \\
 \text{Error SS} &= 184.6 - 0.1 - 180.1 \\
 &= 4.4
 \end{aligned}$$

ตารางที่ 2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับ Randomized complete block ของความสูงของอ้อย

Source of variation	df.	SS	MS	F-ratio
Replications	4	0.1	0.02	0.09
Treatments	5	180.1	36.03	164.44
Error	20	4.4	0.22	
Total	29	184.6		



จำนวนซ้ำของการทดลองไม่ทำให้เกิดความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ  
ความเป็นไปได้ 0.05 แต่ความสูงของอ้อยที่ปลูกในสภาวะต่าง ๆ ตามที่กำหนดมีความแตกต่างกัน  
อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงนำข้อมูลไปคำนวณโดยใช้ Duncan's new multiple range  
test

$$S_{\bar{y}} = \sqrt{0.22/5} = 0.21$$

ใช้ค่า SSR. ที่  $\alpha = 0.05$  df. ของ error = 20

	p = number of means for range being tested				
	2	3	4	5	6
SSR.	2.95	3.10	3.18	3.25	3.30
LSR.	0.62	0.65	0.67	0.68	0.69

เรียงลำดับค่าเฉลี่ยของความสูงของอ้อยจากมากไปหาน้อย

สภาวะที่ปลูกอ้อย	ค่าเฉลี่ยของ ความสูงของอ้อย	
N1.2 ATF2	16.9	a
N1.2 AWT	15.0	b
N1.2 Ao	13.9	c
No ATF2	12.1	d
No AWT	11.4	d
No Ao	9.5	e



ภาคผนวก ท.

การวิเคราะห์ผลของค่า ARA จาการากอ้อยโดย F test ซึ่งมีการวางแผนการทดลองแบบ Randomized complete block ครั้งที่ 2

ตารางที่ 1 ท ค่า ARA จาการากอ้อยที่ปลูกในสารอาหารที่ปราศจากสารต้นตอไนโตรเจน และที่มี Ammonium sulfate 1.2 มิลลิโมลาร์เป็นสารต้นตอไนโตรเจน โดยปลูกร่วมกับ A. vinelandii WT และ TF2 (pCK3\*) และมี control ซึ่งไม่มี Azotobacter

สภาวะที่ปลูกอ้อย (1)	ค่า ARA จาการากอ้อยในแต่ละซ้ำ (nmole C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> · mg protein <sup>-1</sup> hr <sup>-1</sup> )					ผลรวมของสิ่งทดลอง	ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	4	5		
No -AWT	24	24	24	26	22	120	24
N1.2 AWT	2	2	2	2	2	10	2
No ATF2	30	29	28	29	30	146	29
N1.2 ATF2	22	20	23	21	22	108	22
ผลรวมของซ้ำ	78	75	77	78	76		

(1) No และ N1.2 หมายถึงสารอาหารที่ไม่มีและมี Ammonium sulfate 1.2 มิลลิโมลาร์  
 AWT และ ATF2 คือ A. vinelandii WT และ TF2 (pCK3\*)

ในการทดลองนี้ control ซึ่งไม่มี Azotobacter ไม่ปรากฏค่า ARA เลย



$$\begin{aligned}
 \text{ผลรวมทั้งหมดในการทดลอง} &= 78 + \dots + 76 = 384 \\
 \text{CF.} &= \frac{(383)^2}{20} = 7372.8 \\
 \text{Total SS} &= (24)^2 + \dots + (22.15)^2 - 7372.8 \\
 &= 2139.2 \\
 \text{Replications SS} &= \frac{(78)^2 + \dots + (76)^2}{4} - 7376.8 \\
 &= 1.7 \\
 \text{Treatments SS} &= \frac{(120)^2 + \dots + (108)^2}{5} - 7372.8 \\
 &= 2123.2 \\
 \text{Error SS} &= 2139.2 - 1.7 - 2123.2 \\
 &= 14.3
 \end{aligned}$$

ตารางที่ 2 ท การวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับ Randomized complete block ของค่า ARA จากรากอ้อย

Source of variation	df.	SS	MS	F-ratio
Replications	4	1.7	0.4	0.35
Treatments	3	2123.2	707.7	589.75
Error	12	14.3	1.2	
Total	19	2139.2		



ที่  $\alpha = 0.05$  ค่าวิกฤตของ  $F_{4, 12} = 3.26$  และค่าวิกฤตของ  $F_{3, 12} = 3.49$  เนื่องจากค่า  $F_{4, 12}$  ที่คำนวณได้เท่ากับ 0.35 ซึ่งน้อยกว่า 3.26 แสดงว่าจำนวนซ้ำของการทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ค่า ARA จาการากอ้อยที่ปลูกในสภาวะต่าง ๆ ตามที่กำหนดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความ เป็นไปได้ 0.05 จึงนำข้อมูลไปคำนวณโดยใช้ Duncan's new multiple range test

$$s_{\bar{y}} = \sqrt{1.2/5} = 0.49$$

ใช้ค่า SSR. ที่  $\alpha = 0.05$  df. ของ error = 12

	p = number of means of range being tested		
	2	3	4
SSR.	3.08	3.23	3.33
LSR.	1.51	1.58	1.63

เรียงลำดับค่าเฉลี่ย ARA จาการากอ้อยจากมากไปหาน้อย

สภาวะที่ปลูกอ้อย	ค่าเฉลี่ย ARA จาการากอ้อย	
No ATF2	29	a
No AWT	24	b
N1.2 ATF2	22	c
N1.2 AWT	2	d



ผลงานวิจัยพิเศษเผยแพร่เรื่องที่ 1 "การสร้าง Azotobacter spp. สายพันธุ์  
ที่ถอดรหัสเอนไซม์ไนโตรซิเนสในภาวะที่มีอุณหภูมิอัมโมเนียมปริมาณสูง  
(Construction of nif derepressed strains of Azotobacter  
spp.)" นำเสนอในการประชุมวิชาการ ครั้งที่ 9 คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ณ อาคารแทน ศิลาจารี เมื่อวันที่ 6 มิถุนายน 2529



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





### บทคัดย่อ

ได้มีการค้นพบล่วงหน้าแล้วว่า การเคลื่อน nifA ยีนที่มีคุณสมบัติถอดรหัสได้ตลอดเวลา เข้าสู่แบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจน จะทำให้แบคทีเรียชนิดนั้นสามารถแสดงการถอดรหัสของเอนไซม์ไนโตรจิเนสภายใต้สภาวะที่มีแอมโมเนียที่ความเข้มข้นสูงได้ เราได้เคลื่อนพลาสมิดเอนเอที่มีชื่อว่า pCK<sub>3</sub> เข้าไปใน Azotobacter พบว่าโดยใช้วิธีการทรานส์ฟอร์มของ Page and Tingerstorm นั้น สามารถใช้สร้าง Azotobacter vinelandii ที่ถอดรหัสไนโตรจิเนสภายใต้สภาวะที่มีแอมโมเนียปริมาณสูงได้ ด้วยความถี่  $1.2 \times 10^9$  เซลล์ต่อกรัมของพลาสมิดเอนเอ แต่ใน A. chroococum นั้นไม่พบความสำเร็จ แม้ใช้การทรานส์ฟอร์มโดยวิธีเดียวกันก็ตาม ให้นำทรานส์ฟอร์มแมนที่ชื่อว่า TF17 และ TF19 มาศึกษาเพิ่มเติมพบว่าแม้จะเจริญในอาหารที่มีแอมโมเนียสูง 15 mM ก็ยังพบแอกติวิตีของอะเซทิลีน รีดักชันสูงกว่าไวส์ไทป์

### Abstract

It has been established that the presence of constitutive nifA gene in cell of a  $N_2$  Fixing bacterium could provide a derepression of nif operon in the presence of a high concentration of ammonia. We had transformed the pCK<sub>3</sub> plasmid DNA which harbored the nifA gene into strains of Azotobacter spp in order to construct strains of derepressed nif mutants. The frequency of transformation, based on the transformation method which was modified from Page and Tingerstorm (1986) was found equal to  $1.2 \times 10^9$  cells per gm of plasmid DNA. The transformation was succeeded in case of A. vinelandii but was failed in case of A. chroococum. Two strains of transformants, namely TF17 and TF19 were selected for further study. It was found that regardless of that high concentration of ammonia, the activity of acetylene reduction of both transformant strains was higher than that of their wild type.



ผลงานวิจัยพิเศษเผยแพร่เรื่องที่ 2 "การสร้าง Azotobacter spp.  
สายพันธุ์ที่ถอดรหัสเอ็นไซม์ไนโตรจีเนสในภาวะที่มีอนุคลอโรฟิลล์ปริมาณสูง  
(Construction of nif derepressed strains of Azotobacter  
spp.) บทความหมายเลข B 66 a หน้า 396 นำเสนอในการประชุม  
วิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 12  
ณ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒประสานมิตร ระหว่างวันที่ 20 - 22  
ตุลาคม 2529



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## CONSTRUCTION OF NIF DEREPRESSED STRAINS OF AZOTOBACTER SPP.

Saowakon Paca-uccaraleortkul, Pairor Thipayathasana, Siriporn Sittipraneed  
and Tasanee Srichaiyo  
Department of Biochemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University.

We had transformed the pCK3 plasmid DNA which harbored the constitutive *nif* A gene into strains of *Azotobacter* spp. in order to construct strains of derepressed *nif* mutants. The frequency of transformation, base on the transformation method which was modified from Page and von Tigerstrom (1985), was found equal to  $1.2 \times 10^7$  cells per g. of plasmid DNA in *A. vinelandii* and  $2 \times 10^7$  cells per g. of plasmid DNA in *A. chroococcum*. A strain of *A. vinelandii*'s transformant, namely TF23, was randomly selected for further study. Both WT and TF23 could grow equally well in the minimum medium regardless the presence or the absence of 15 mM ammonium acetate which acting as the sole nitrogen source. However, under 15 mM ammonium acetate supplementation, activity of acetylene reduction was found only in the TF23's inoculum but not in WT's. We, therefore, conclude that transformation of pCK3 into *Azotobacter* could help the derepression of nitrogenase in the minimum medium having 15 mM ammonium acetate as the nitrogen source.

การสร้าง *Azotobacter* spp. สายพันธุ์ที่ถอดรหัสเอนไซม์ไนโตรจีเนสในภาวะที่มีอะมโมเนียมอะซิเตท  
ปริมาณสูง

เสาวกมล ภาคกรเลิศกุล, ไพเราะ ทิพย์ทัศน์, ศิวพร สิทธิประณีต และ ทรรตณีย์ ศรีไชโย  
ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ได้เคลื่อนพลาสมิดเคเอนเอ pCK3 ซึ่งมี *nif* A ยีนที่มีคุณสมบัติถอดรหัสได้ตลอดเวลา เข้าไปใน  
*Azotobacter* โดยใช้วิธีการทรานส์ฟอร์มของ Page และ von Tigerstrom พบว่า สามารถสร้าง  
*Azotobacter vinelandii* และ *Azotobacter chroococcum* ที่ถอดรหัสไนโตรจีเนสภายใต้ภาวะ  
ที่มีอะมโมเนียมปริมาณสูงได้ด้วยความถี่  $1.2 \times 10^7$  และ  $2 \times 10^7$  เซลล์ต่อกรัมของพลาสมิดเคเอนเอ ตามลำดับ  
ได้นำทรานส์ฟอร์มแมนท์ของ *A. vinelandii* ชื่อว่า TF23 มาศึกษาการเจริญเติบโต และ แอคติวิตีของ  
อะเซทีลีน รีดักชัน ในอาหารที่ไม่มีแหล่งอาหารไนโตรเจน และที่มีอะมโมเนียมอะซิเตท 15 มิลลิโมลาร์เป็น  
แหล่งอาหารไนโตรเจน พบว่าทั้งสองสายพันธุ์มีการเจริญเติบโตในลักษณะเดียวกัน แต่ในอาหารที่มีอะมโมเนียม  
อะซิเตท 15 มิลลิโมลาร์ ซึ่ง *A. vinelandii* วัคไคโทไม่มีแอคติวิตีของอะเซทีลีน รีดักชันนั้น TF23 ยังคง  
มีแอคติวิตีของอะเซทีลีน รีดักชันอยู่ เราสรุปได้ว่า การทรานส์ฟอร์ม pCK3 พลาสมิดเข้าไปใน *Azotobacter*  
จะช่วยปลดปล่อยการกดกั้นการถอดรหัสของเอนไซม์ไนโตรจีเนสในอาหารที่มี 15 mM อะมโมเนียม อะซิเตท  
เป็นสารค้ำคอไนโตรเจน



ประวัติผู้เขียน

นางสาวเสาวคนธ์ ภควัชรเลิศกุล เกิดวันที่ 17 พฤศจิกายน พ.ศ. 2505 ณ  
จังหวัดชลบุรี สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขารังสีเทคนิค จากคณะเทคนิคการ-  
แพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล เมื่อปี พ.ศ. 2526



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย