

บทความวิจัย (Research Article)

อิทธิพลของแบคทีเรียละลายฟอสเฟตจากดินบริเวณรอบรากถั่วฝักยาวต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพดข้าวเหนียว

เจนจิรา หม่องอัน^{1,2} และ ฉัตรสุดา เผือกใจแก้ว^{1,2*}

Effect of phosphate solubilizing bacteria from rhizosphere soil of *Phaseolus lathyroides* L. on growth waxy corn

Jenjira Mongon^{1,2} and Chatsuda Phuakjaiphaeo^{1,2*}

¹ Division of Plant Protection, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, Chiang Mai, 50290

² Biodiversity and Utilization Research Center of Maejo University (MJU BURC), Maejo University, Chiang Mai, 50290

* Corresponding author: chatsuda_ph@mju.ac.th

Naresuan Phayao J. 2022;15(2):118-127.

Received; 11 May 2021; Revised: 22 August 2022; Accepted: 30 August 2022

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อแยกเชื้อแบคทีเรียที่ละลายฟอสเฟตได้จากดินบริเวณรอบรากของถั่วฝักยาวและศึกษาผลของเชื้อแบคทีเรียที่ละลายฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพดข้าวเหนียว จากการแยกจุลินทรีย์บริเวณดินรอบรากของถั่วฝักยาว พบเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด 39 ไอโซเลท โดย 12.82% ($n = 5$) สามารถละลายฟอสเฟตได้ จากการทดสอบบนอาหาร Pikovskayas agar (PVK) พบว่า มีค่าประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตอยู่ในช่วง 1.07 ± 0.17 ถึง 1.41 ± 0.19 ซึ่งไอโซเลท PHA25 สามารถละลายฟอสเฟตได้มากที่สุด รองลงมาคือไอโซเลท PHA38 PHA17 PHA31 และ PHA3 ตามลำดับ จากนั้นประเมินลักษณะการเจริญเติบโตของข้าวโพดข้าวเหนียวที่ผ่านการแช่เมล็ดในเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตไอโซเลท PHA17 PHA25 และ PHA38 พบว่าเมื่อข้าวโพดข้าวเหนียวอายุ 7 วัน ไอโซเลท PHA25 สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นข้าวโพดข้าวเหนียวด้านน้ำหนักสดรากและความยาวรากที่ยาวที่สุดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับชุดควบคุมที่แช่เมล็ดในน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ และสามารถเพิ่มน้ำหนักสดราก ความสูงต้น ความยาวรากที่ยาวที่สุด และความยาวรากรวม คิดเป็น 13.33% 10.24% 47.5% และ 33.99% ตามลำดับ สำหรับปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบข้าวโพดข้าวเหนียวอายุ 28 วัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยไอโซเลท PHA38 ส่งเสริมให้พืชสังเคราะห์แสงได้ดีที่สุด เพิ่มขึ้น 40.79% และ 30.67% จากชุดควบคุมและการใส่ปุ๋ยเคมี ตามลำดับ แต่ปริมาณฟอสฟอรัสในส่วนเหนือดินของข้าวโพดข้าวเหนียวมีค่ามากที่สุดในการรวมวิธีใส่ปุ๋ยเคมี รองลงมาเป็นการแช่เมล็ดในไอโซเลท PHA38 ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) กับชุดควบคุม โดยเพิ่มขึ้น 56.25%

คำสำคัญ: แบคทีเรียละลายฟอสเฟต, แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช, ปริมาณคลอโรฟิลล์, ปริมาณฟอสฟอรัส

¹ สาขาวิชาอารักขาพืช คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

² ศูนย์วิจัยความหลากหลายทางชีวภาพและการใช้ประโยชน์แห่งมหาวิทยาลัยแม่โจ้ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

Abstract

This study aimed to isolate the phosphate solubilizing bacteria (PSB) from rhizosphere of *Phaseolus lathyroides* L. and to study the effect of PSB on waxy corn growth. Thirty-nine isolates of rhizosphere bacteria were obtained from *P. lathyroides* and 12.82% ($n = 5$) of them able to solubilize phosphate on PVK agar. The phosphate solubilization efficiency presented in the range of 1.07 ± 0.17 to 1.41 ± 0.19 , isolate PHA25 showed the highest phosphate solubilizing efficiency followed by PHA38 PHA17 PHA31 and PHA3, respectively. Then, the growth characteristics of waxy corn were evaluated after the seeds were soaked in PSB suspension of PHA17 PHA25 and PHA38. After 7 days of planting, isolate PHA25 significantly promoted the growth of waxy corn including root fresh weight and longest root length compared to untreated control at $P < 0.05$; moreover, it increased root fresh weight, shoot length, longest root length and total root length for 13.33 10.24 47.5 and 33.99%, respectively. For chlorophyll content in the waxy corn leaf at 28 days, isolate PHA38 significantly ($P < 0.01$) stimulated the highest photosynthesis for 40.79 and 30.67% compared to untreated control and adding chemical fertilizer, respectively. However, the highest of phosphorus concentration in whole shoot of waxy corn was highest in adding chemical fertilizer treatment, followed by soaking in PHA38 suspension which was increased for 56.25% compared to untreated control.

Keywords: Phosphate solubilizing bacteria, Plant growth promoting rhizobacteria, Chlorophyll content, Phosphorus concentration

บทนำ

แบคทีเรียช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตพืช (plant growth promoting rhizobacteria: PGPR) เป็นกลุ่มของแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียที่อยู่ในสกุล *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Pseudomonas* และ *Serratia* เป็นต้น [1] โดยทั่วไป PGPR แบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือ PGPR ที่อาศัยอยู่ภายในเซลล์รากพืช (intracellular PGPR: iPGPR) และ PGPR ที่อาศัยอยู่นอกเซลล์รากพืช (extracellular PGPR: ePGPR) ซึ่งจะอาศัยอยู่บริเวณรอบรากพืช (rhizosphere) หรือบนผิวรากพืช (rhizoplane) [2] กระบวนการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชโดย PGPR สามารถเกิดขึ้นได้ทั้งทางตรงและทางอ้อมซึ่งมีกลไกที่แตกต่างกันในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช ตัวอย่างเช่น การทำหน้าที่เป็นปุ๋ยชีวภาพ (biofertilizer) การกระตุ้นให้พืชสร้างภูมิคุ้มกันตัวเอง (induction of host resistance) และช่วยส่งเสริมการปลดปล่อยกรดอินทรีย์ของรากเพื่อย่อยสลายธาตุอาหารในดิน (siderophore) ทำให้พืชดูดธาตุอาหารใน

ดินได้ดีขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งกระบวนการย่อยสลายฟอสเฟตจากรูปที่ละลายไม่ได้ให้เป็นรูปที่ละลายได้นั้นต้องอาศัยกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่บริเวณรอบราก [3] การใช้ประโยชน์จากแบคทีเรียที่ย่อยสลายฟอสเฟตได้ (phosphate solubilizing bacteria: PSB) เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชจึงเป็นวิธีการสร้างสมดุลให้แก่ระบบนิเวศและลดต้นทุนการใช้ปุ๋ยเคมีให้แก่เกษตรกรได้เป็นอย่างดี

ข้าวโพดข้าวเหนียว (waxy corn) เป็นข้าวโพดฝักสดพื้นบ้านของประเทศไทยที่มีความหลากหลายมากกว่า 50 พันธุ์หรือสายพันธุ์ เกษตรกรมักปลูกไว้เพื่อบริโภคหรือจำหน่ายในชุมชน เมล็ดพันธุ์ที่ใช้ในการปลูกจึงมาจากพ่อค้าในท้องถิ่นหรือเกษตรกรเก็บเมล็ดพันธุ์ไว้ปลูกเอง [4] เกษตรกรมักเลือกปลูกข้าวโพดข้าวเหนียวเป็นพืชหลังนาจึงทำให้ข้าวโพดประสบกับสภาพแห้งแล้ง ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของผลผลิตที่ลดลง [5] การส่งเสริมให้ข้าวโพดข้าวเหนียวมีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น โดยการใช้ PGPR ที่สามารถกระตุ้นให้พืชสร้างเอ็กโซพอลิแซ็กคาไรด์ (EPS), 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase รวมทั้งลดการผลิตแก๊สเอทิลีน และลด/

กระตุ้นการแสดงออกของยีนเพื่อกระตุ้นให้รากพืชปรับตัวต่อความแห้งแล้งได้ดียิ่งขึ้น [6] จึงเป็นทางเลือกหนึ่งในการแก้ไขปัญหาความแห้งแล้งแก่เกษตรกรได้

วัชพืชเป็นพืชที่ถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มพืชที่ไม่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจและเป็นอุปสรรคต่อการทำการเกษตรเนื่องจากเป็นพืชที่สร้างความเสียหายต่อพืชปลูก มีความสามารถในการแย่งน้ำและธาตุอาหารในดินและทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่แปรปรวนสูงมาก วัชพืชกลุ่มที่ทนทานต่อความแห้งแล้งได้ดี ได้แก่ วัชพืชในวงศ์ Myrothamnaceae, Scrophulariaceae, Lamiaceae, Poaceae, Cyperaceae และ Liliaceae และวัชพืชที่มีกลไกปรับตัวต่อความแห้งแล้งได้ดี คือ วัชพืชในวงศ์ Fabaceae [7] นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงชนิดของแบคทีเรียที่แยกได้จากบริเวณรากของวัชพืชตามธรรมชาติเพื่อใช้ประโยชน์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ เชื้อ *Pseudomonas fluorescence*, *Bacillus megaterium*, *Enterobacter cancerogenus*, *Rhodococcus* sp. และ *Serratia* sp. [3] สำหรับประเทศไทยนั้นพบว่า ถั่วผี (*Phaseolus lathyroides* L.) เป็นวัชพืชวงศ์ Fabaceae ที่พบได้ทั่วไปในพื้นที่รกร้าง ข้างถนน และแปลงเกษตรกรรม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพื้นที่แห้งแล้ง [8] การประยุกต์ใช้แบคทีเรียที่ย่อยสลายฟอสเฟตได้ดีที่แยกจากบริเวณรากของถั่วผีจึงอาจช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและลักษณะบางประการของข้าวโพดข้าวเหนียวได้

การศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) แยกเชื้อแบคทีเรียที่ละลายฟอสเฟตได้จากดินบริเวณรอบรากของถั่วผีที่เจริญเติบโตในพื้นที่ที่มีความแห้งแล้ง และ 2) ประเมินลักษณะการเจริญเติบโตของข้าวโพดข้าวเหนียวที่ผ่านการแช่เมล็ดในเชื้อแบคทีเรียที่ละลายฟอสเฟตได้

อุปกรณ์และวิธีการ

การสำรวจและเก็บตัวอย่างถั่วผี

สำรวจนิเวศการเจริญเติบโตของต้นถั่วผีในพื้นที่อำเภอสนทราย จังหวัดเชียงใหม่ ที่มีลักษณะเป็นพื้นที่รกร้างและแห้งแล้ง จำนวน 4 พื้นที่แตกต่างกัน และเก็บรวบรวมต้นถั่วผี โดยเก็บตัวอย่างพืชที่มีความอุดมสมบูรณ์ไม่มีการเข้าทำลายของศัตรูพืช อยู่ใน

ระยะออกดอกถึงระยะติดฝัก และมีความสูงต้นไม่ต่ำกว่า 30 ซม. จำนวน 10 ต้นต่อพื้นที่

การแยกเชื้อแบคทีเรียจากดินบริเวณรอบรากถั่วผี

นำตัวอย่างพืชมาเขย่าเพื่อเก็บรวบรวมเฉพาะดินที่ติดมากับบริเวณราก แล้วผึ่งลมไว้ประมาณ 24 ชั่วโมง เมื่อดินแห้งแล้วจึงนำมาบดด้วยโกร่งให้กลายเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นแยกเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี soil dilution plating โดยสุมตัวอย่างดิน 10 กรัม ใส่ลงในน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 90 มล. เขย่าให้เข้ากันบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที ทำการเจือจางสารแขวนลอยดินด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อที่ค่าความเจือจาง 10^{-3} – 10^{-5} จากนั้นดูดสารแขวนลอยดินปริมาตร 0.1 มล. หยดลงบนผิวหน้าอาหาร nutrient agar (NA) แล้วเกลี่ยให้ทั่ว ซึ่งทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำต่อค่าความเจือจาง นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24–48 ชั่วโมง จากนั้นแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์สำหรับการศึกษาต่อไป

การทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟต

ทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟต (phosphate solubilizing bacteria: PSB) โดยวางชิ้นวุ้นที่มีเชื้อแบคทีเรียเจริญอยู่ (culture disc) ขนาด 0.5 ซม. ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Pikovskayas agar (PVK) โดยมี tricalcium phosphate เป็นแหล่งอนินทรีย์ฟอสเฟต [9] โดยวางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ทำการทดลอง จำนวน 4 ซ้ำต่อเชื้อแต่ละไอโซเลท บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ตรวจสอบเชื้อแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็น PSB โดยการบันทึกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อที่เจริญเติบโต และเส้นผ่าศูนย์กลางของพื้นที่ที่มีการละลายฟอสเฟต (solubilization halo) ซึ่งสังเกตเห็นเป็นวงใส (clear zone) รอบโคโลนี แล้วคำนวณค่าประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตของแบคทีเรีย (phosphate solubilization efficiency: SE) [10] จากสูตร $SE = \frac{\text{ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของพื้นที่ที่มีการละลายฟอสเฟต}}{\text{ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อที่เจริญเติบโต}}$

การประเมินลักษณะการเจริญเติบโตของข้าวโพดข้าวเหนียว

การเตรียมเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟต

เตรียมเซลล์แขวนลอย (cell suspension) ของเชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ โดยการ spread plate เชื้อแบคทีเรียบนอาหาร PVK ที่เติม tricalcium phosphate บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นทำเป็นเซลล์แขวนลอย ด้วยการเติมน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อลงบนผิวหน้าอาหาร และขูดเอาเฉพาะเซลล์แบคทีเรียด้วยแท่งแก้วรูปตัว L แล้วนำเซลล์แขวนลอยที่ได้ มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้ได้ค่าเท่ากับ 0.8 [11]

การเตรียมเมล็ดข้าวโพดข้าวเหนียว

นำเมล็ดข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับจากเกษตรกรที่ปลูกและเก็บเมล็ดพันธุ์ด้วยตนเองในพื้นที่ตำบลนาต้นไทร อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ที่ไม่มีการคลุกเมล็ดด้วยสารเคมีล้างทำความสะอาดด้วยน้ำเปล่า 2 ครั้ง จากนั้นแช่เมล็ดด้วยโซเดียมไฮเปอร์คลอไรต์ ความเข้มข้น 0.02% เป็นเวลา 2 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้ออีก 3 ครั้ง แช่เมล็ดให้แห้งด้วยกระดาษทิชชูหนึ่งฆ่าเชื้อ

การทดสอบผลของเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโต

วางแผนการทดลองแบบ CRD แบ่งการทดลองเป็น 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 แช่เมล็ดในน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อและไม่ใส่ปุ๋ยเคมี (Con 0)

กรรมวิธีที่ 2 แช่เมล็ดในน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อและใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 อัตรา 15 กิโลกรัม/ไร่ (Con +)

กรรมวิธีที่ 3 แช่เมล็ดในเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท PHA17

กรรมวิธีที่ 4 แช่เมล็ดในเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท PHA25

กรรมวิธีที่ 5 แช่เมล็ดในเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท PHA38

แช่เมล็ดข้าวโพดข้าวเหนียวในน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ หรือ เซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรีย เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเพาะเมล็ดแต่ละกรรมวิธีในถาดเพาะที่บรรจุดินหนึ่งฆ่าเชื้อ ซึ่งดินที่นำมาใช้ในการศึกษาคือ ดินหมักใบก้ามปู ประกอบด้วยดินดำ ใบก้ามปูหมัก ปุ๋ยไล่เดือน ขุยมะพร้าว และแกลบผุ มีคุณสมบัติเป็นดินร่วนซุยและมีสภาพเป็นกลาง เมื่อกล้าข้าวโพดข้าวเหนียวอายุ 3 วัน ย้ายปลูกลงในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 25 ซม. สูง 20 ซม. โดยแต่ละกรรมวิธีทำการทดลอง 4 ซ้ำ ๆ ละ 2 กระถาง ๆ ละ 2 ต้น บันทึกการเจริญเติบโตของข้าวโพดข้าวเหนียวเมื่ออายุครบ 7 วัน และ 28 วัน

การบันทึกข้อมูล

เมื่อต้นกล้าข้าวโพดข้าวเหนียวอายุครบ 7 และ 28 วัน สุ่มเก็บตัวอย่างกรรมวิธีละ 4 กระถาง รวมเป็น 8 ต้น ล้างให้สะอาดและซับให้แห้ง วัดความสูงลำต้น ความยาวรากที่ยาวที่สุด ความยาวรากรวม นับจำนวนรากต่อต้น แล้วตัดแยกส่วนลำต้นและรากเพื่อชั่งน้ำหนักสด จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ แล้วบันทึกน้ำหนักแห้งของส่วนลำต้นและราก นอกจากนั้นต้นกล้าข้าวโพดอายุ 28 วัน วัดค่าความเข้มของสีใบ (SPAD) โดยใช้เครื่องวัดคลอโรฟิลล์ในใบพืช (chlorophyll meter) รุ่น SPAD-502 ยี่ห้อ Konica Minolta และวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสในส่วนเหนือดิน โดยตัดลำต้นส่วนเหนือดินขึ้นไปมาอบให้แห้งแล้วบดให้ละเอียด และส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

การวิเคราะห์สถิติ

ค่าเฉลี่ยจากการทดลองนำมาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี least significant difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ 99%

ผลการทดลอง

การแยกเชื้อแบคทีเรียจากดินบริเวณรอบรากถั่วฝัก

จากการสำรวจพื้นที่การแพร่ระบาดของต้นถั่วฝัก จำนวน 4 พื้นที่แตกต่างกันพบว่าต้นถั่วฝักสามารถเจริญเติบโตได้ทั่วไปทั้งในสภาพดินเหนียว ดินทราย และดินกรวด ตลอดจนสภาพชุ่มชื้นและแห้งแล้ง ดังนั้น การทดลองนี้จึงทำการเก็บต้นถั่วฝักที่เจริญเติบโตในสภาพพื้นที่เป็นดินกรวดและมีความแห้งแล้ง จำนวน 2 พื้นที่ โดยจากการแยกเชื้อแบคทีเรียจากดินบริเวณรอบรากต้นถั่วฝัก สามารถนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดอยู่ในช่วง 3.38×10^5 ถึง 3.6×10^5 เซลล์ต่อ มล. เมื่อเปรียบเทียบลักษณะโคโลนี และแบ่งกลุ่มสี 3 กลุ่ม คือ สีขาวขุ่น สีเหลือง และสีส้ม สามารถแยกและเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งหมด 39 ไอโซเลท กำหนดให้เรียกว่า ไอโซเลท PHA1–PHA39

การทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟต

จากการทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟต ของเชื้อแบคทีเรียจากดินบริเวณรอบราก ทั้ง 39 ไอโซเลท สามารถแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มจากการเกิดวงไฮดรอลิโคโลนี ได้แก่ กลุ่มที่ 1 ไม่สร้างวงไฮดรอลิโคโลนี จำนวน 24 ไอโซเลท คิดเป็น 61.54% กลุ่มที่ 2 สร้างวงไฮดรอลิโคโลนีได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น มีขนาดอยู่ในช่วงระหว่าง 6.16–8.06 มม. จำนวน 10 ไอโซเลท คิดเป็น 25.64% และกลุ่มที่ 3 สร้างวงไฮดรอลิโคโลนีได้เป็นวงกว้าง มีขนาดอยู่ในช่วงระหว่าง 9.98–13.43 มม. จำนวน 5 ไอโซเลท คิดเป็น 12.82% คือ ไอโซเลท PHA3 PHA17 PHA25 PHA31 และ PHA38 ซึ่งไอโซเลท PHA25 มีค่าประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตสูงที่สุด ไม่แตกต่างกันกับไอโซเลท PHA17 และ PHA38 (ตาราง 1) ดังนั้นจึงคัดเลือกเชื้อทั้ง 3 ไอโซเลทนี้สำหรับการทดสอบขั้นต่อไป

ตาราง 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี เส้นผ่าศูนย์กลางของพื้นที่ที่มีการละลายฟอสเฟต และประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟตของเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟต จำนวน 5 ไอโซเลท บนอาหาร PVK เป็นเวลา 7 วัน

ไอโซเลท	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี (มม.)	เส้นผ่าศูนย์กลางของพื้นที่ที่มีการละลายฟอสเฟต (มม.)	ประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟต
PHA3	9.61 ± 2.29	9.98 ± 0.77	1.07 ± 0.17 b [†]
PHA17	8.33 ± 2.98	10.30 ± 3.09	1.26 ± 0.09 ab
PHA25	9.30 ± 3.21	13.01 ± 3.95	1.41 ± 0.19 a
PHA31	11.79 ± 1.64	13.43 ± 1.71	1.14 ± 0.05 b
PHA38	9.16 ± 1.20	12.35 ± 1.75	1.35 ± 0.09 a
F-test	-	ns [†]	*
LSD _{0.05}	-	4.07	0.19
%CV	-	21.34	10.53

หมายเหตุ: [†] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ภายในคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

* ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ภายในคอลัมน์เดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

[†] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ตามด้วยอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การประเมินลักษณะการเจริญเติบโตของข้าวโพดข้าวเหนียว

เมื่อข้าวโพดข้าวเหนียวอายุ 7 วัน พบว่าการปรับตัวต่อการเจริญเติบโตของรากในแต่ละกรรมวิธีแตกต่างกัน ทำให้มีค่าน้ำหนักสตรากแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) (ตาราง 2) โดยเมล็ดข้าวโพดข้าวเหนียวที่ผ่านการแช่ด้วยเซลล์แขวนลอยของเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท PHA25 มีน้ำหนักสตรากมากที่สุด 0.42 กรัม ส่วนการเจริญเติบโตของลำต้นทั้งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งรวมถึงน้ำหนักแห้งรากไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ส่วนผลการประเมินลักษณะการเจริญเติบโตของข้าวโพดข้าวเหนียวในแต่ละกรรมวิธี พบว่า ความสูงต้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท PHA25 ส่งเสริม

ให้ข้าวโพดข้าวเหนียวต้นสูงที่สุด เพิ่มขึ้น 10.24% จากชุดควบคุม (Con 0) แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับไอโซเลท PHA38 และชุดควบคุม (ตาราง 2, รูป 1) นอกจากนี้ผลของการปรับตัวต่อการเจริญเติบโตของข้าวโพดข้าวเหนียวในแต่ละกรรมวิธีที่ต่างกันนั้นปรากฏผลให้เห็นอย่างชัดเจนบริเวณราก ซึ่งไอโซเลท PHA25 สามารถส่งเสริมการเจริญของรากได้ดีที่สุด ส่งผลให้มีความยาวรากมากที่สุดและเพิ่มความยาวรากจากชุดควบคุม (Con 0 และ Con +) 47.50% และ 14.52% ตามลำดับ ในทำนองเดียวกันกับการเพิ่มความยาวรากรวมจากชุดควบคุมคิดเป็น 39.99% และ 14.14% ตามลำดับ (ตาราง 2) แต่ประสิทธิภาพในการส่งเสริมการสร้างรากใหม่ของข้าวโพดข้าวเหนียวยังไม่ชัดเจน เนื่องจากจำนวนรากต่อต้นในชุดทดสอบและชุดควบคุมไม่แตกต่างกันทางสถิติ

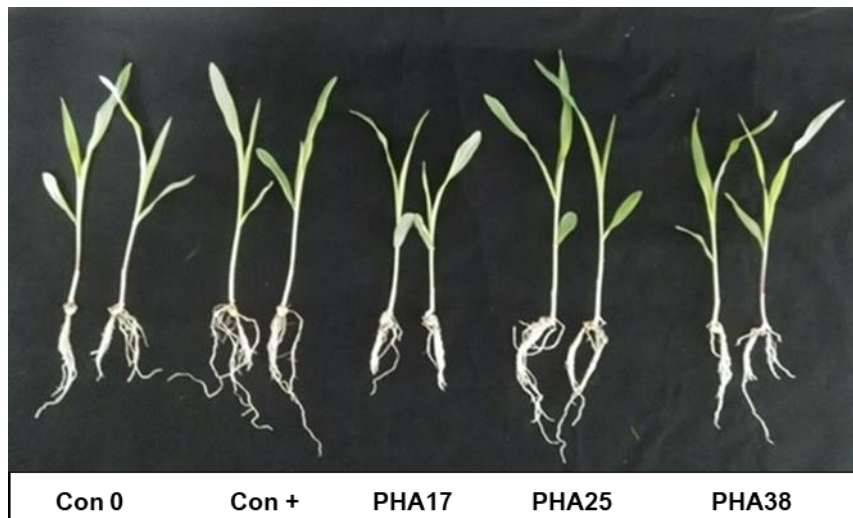
ตาราง 2 น้ำหนักสตราก ความสูงต้น ความยาวรากที่ยาวที่สุด และความยาวรากรวมของข้าวโพดข้าวเหนียวอายุ 7 วัน ที่ผ่านการแช่เมล็ดด้วยเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

กรรมวิธี	น้ำหนักสตราก (กรัมต่อต้น)	ความสูงต้น (ซม.)	ความยาวรากที่ยาว ที่สุด (ซม.)	ความยาวรากรวม (ซม.)
Con 0	0.18 ± 0.07 b [†]	25.38 ± 1.60 ab	10.00 ± 1.83 bc	40.25 ± 14.38 abc
Con +	0.21 ± 0.06 b	24.25 ± 0.29 bc	12.88 ± 3.07 ab	47.25 ± 19.45 ab
PHA17	0.21 ± 0.06 b	21.33 ± 2.57 c	7.50 ± 1.08 c	24.45 ± 9.15 c
PHA25	0.42 ± 0.08 a	27.98 ± 0.82 a	14.75 ± 1.55 a	53.93 ± 7.27 a
PHA38	0.27 ± 0.08 b	25.38 ± 3.97 ab	9.35 ± 2.47 c	29.80 ± 8.10 bc
F-test	*	*	*	**
LSD	0.12	3.17	3.48	19.93
%CV	27.21	9.11	19.44	32.06

หมายเหตุ: [†] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ที่ตามด้วยอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% หรือ 99%

* ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ภายในคอลัมน์เดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

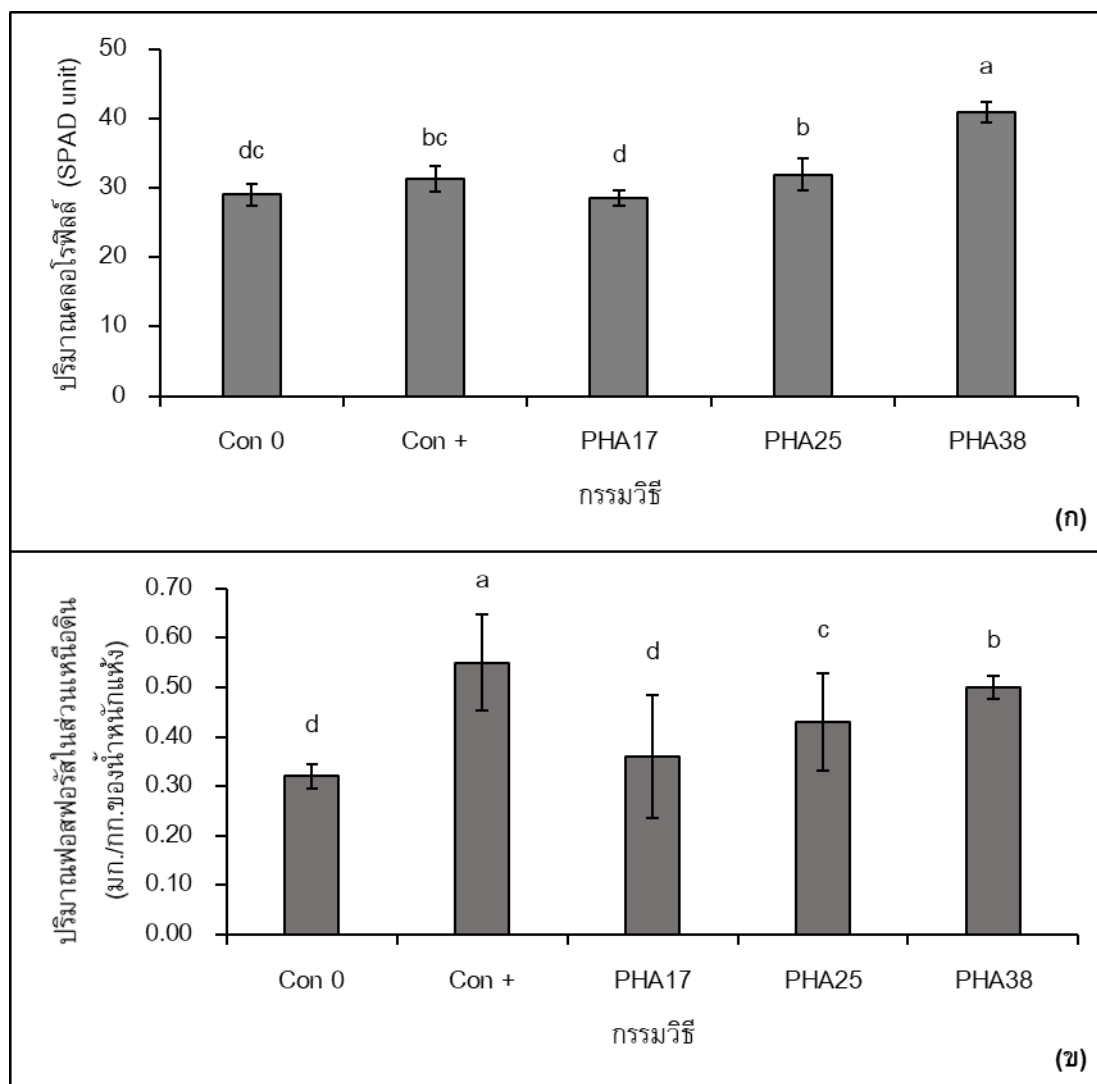
** ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ภายในคอลัมน์เดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%



รูป 1 ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟต (PHA) ต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าวโพดข้าวเหนียวอายุ 7 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (Con 0) และใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 (Con +)

สำหรับข้าวโพดข้าวเหนียวอายุ 28 วัน พบว่า การตอบสนองของข้าวโพดข้าวเหนียวต่อเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตในการส่งเสริมการเจริญเติบโตทั้งส่วนลำต้นและราก ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม (Con 0 และ Con +) อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองพบว่า เชื้อแบคทีเรียไอโซเลท PHA17 และ PHA38 สามารถกระตุ้นให้ข้าวโพดข้าวเหนียวมีการสร้างใหม่เพิ่มมากกว่าชุดควบคุม (Con 0) 13.89% และ 11.43% ตามลำดับ เช่นเดียวกับความยาวรากรวมที่สามารถส่งเสริมให้เจริญเพิ่มมากขึ้น 15.39% และ 9.33% ตามลำดับ ส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบข้าวโพดข้าวเหนียวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

($P < 0.01$) (รูป 2ก) โดยการแช่เมล็ดในเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตไอโซเลท PHA38 ส่งเสริมให้พืชสังเคราะห์แสงได้ดีที่สุด มีค่าเท่ากับ 40.9 หน่วย ซึ่งเพิ่มขึ้นจากชุดควบคุม (Con 0 และ Con +) 40.79% และ 30.67% ตามลำดับ สำหรับปริมาณฟอสฟอรัสในส่วนเหนือดินของข้าวโพดข้าวเหนียวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) (รูป 2ข) โดยกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 ส่งเสริมให้ต้นพืชมีปริมาณฟอสฟอรัสในเนื้อเยื่อมากที่สุด 0.55 มก./กก. ของน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือการแช่เมล็ดในเชื้อแบคทีเรียละลายฟอสเฟตไอโซเลท PHA38 มีค่าเท่ากับ 0.50 มก./กก. ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งเพิ่มขึ้นจากชุดควบคุม (Con 0) 56.25%



รูป 2 ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบ (ก) และปริมาณฟอสฟอรัสในส่วนเหนือดิน (ข) ของข้าวโพดข้าวเหนียว อายุ 28 วัน
หมายเหตุ: อักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ($P < 0.01$)

วิจารณ์

มีการศึกษามากมายเกี่ยวกับแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช หรือ plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) และบางชนิดถูกพัฒนาต่อยอดในเชิงพาณิชย์อย่างแพร่หลาย เช่น สกุล *Bacillus* และ *Pseudomonas* [12–13] แต่ชนิดของแบคทีเรียที่ใช้ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช นั้น อาจยังมีข้อจำกัดในการใช้ร่วมกับพืชที่เจริญเติบโตในพื้นที่ที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ การศึกษาแบคทีเรียที่สามารถอยู่ร่วมกับวัชพืช จึงเป็นแนวทางการใช้ประโยชน์จากแบคทีเรียอย่างยั่งยืน เนื่องจากวัชพืชที่เจริญเติบโตได้จนครบวงจรชีวิตในสภาพแวดล้อมที่รกร้างและแห้งแล้งนั้น จะมีกลไกหลายประการเพื่อ

ช่วยให้สามารถทนทานหรือหลีกเลี่ยงสภาวะเครียดที่เกิดขึ้นได้ดีกว่าพืชปลูกซึ่งกลไกหนึ่งที่สำคัญคือการอยู่ร่วมกับ PGPR ซึ่งมีคุณสมบัติในการสร้างธาตุอาหาร สร้างสารกระตุ้นการเจริญเติบโต และสร้างสารยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืช [3] จากการทดลองพบว่ามีแบคทีเรียที่แยกออกมาจากดินบริเวณรอบรากของถั่วฝักซึ่งเป็นวัชพืชที่ทนทานต่อความแห้งแล้งได้จำนวน 39 ไอโซเลต แต่มีเพียง 38.46% ที่มีประสิทธิภาพในการละลายสลายฟอสเฟตทั้งในระดับมากและน้อยแตกต่างกันไป แสดงให้เห็นว่าการอยู่ร่วมกันของเชื้อแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ นั้นนอกจากจะช่วยส่งเสริมการปลดปล่อยกรดอินทรีย์ของรากเพื่อย่อยสลายธาตุอาหารในดิน (siderophore) ทำให้พืชดูดธาตุอาหารได้ดีขึ้น อาจมี

บทบาทส่งเสริมการเจริญเติบโตในด้านอื่นด้วย เช่น การทำหน้าที่เป็นปุ๋ยชีวภาพ (biofertilizer) และการกระตุ้นให้พืชสร้างภูมิคุ้มกันตัวเอง (induction of host resistance) เป็นต้น [14]

การส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชโดยกิจกรรมของแบคทีเรียนั้นสามารถเกิดขึ้นได้โดยตรงและทางอ้อม จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า 80% ของแบคทีเรียบริเวณรากนั้นสามารถกระตุ้นการสร้าง indole acetic acid (IAA) ซึ่งเป็นฮอร์โมนตามธรรมชาติที่ช่วยส่งเสริมการดูดธาตุอาหารในดินและกระตุ้นการเจริญเติบโตของรากพืช [15] และอีกบางส่วนเป็นกลุ่มที่สร้างธาตุอาหารหรือเพิ่มความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารพืช เช่น การตรึงไนโตรเจนและให้ธาตุอาหารนี้แก่พืช การเปลี่ยนฟอสฟอรัสที่อยู่ในรูปที่ไม่เป็นประโยชน์ให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ โดยการสร้างเอนไซม์ฟอสฟาเตส (phosphatase) ย่อยละลายฟอสฟอรัส [16] สอดคล้องกับผลการทดลองที่พบว่าแบคทีเรียไอโซเลท PHA25 นั้นช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและพัฒนาการของรากข้าวโพดข้าวเหนียวได้อย่างมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับการใส่ปุ๋ยเคมีรองพื้น (ตาราง 2, รูป 1) ทั้งนี้ยังพบว่าแบคทีเรียดังกล่าวยังสามารถกระตุ้นให้เกิดการยืดขยายตัวของรากส่งผลให้ข้าวโพดข้าวเหนียวมีความยาวรากรวมเพิ่มขึ้นถึง 39.99% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (Con 0) (ตาราง 2) ซึ่งลักษณะดังกล่าวเป็นลักษณะสำคัญของข้าวโพดทนแล้งที่ต้องปรับตัวให้รากมีความแข็งแรงและมีความยาวรากเพิ่มขึ้นเพื่อดูดน้ำและธาตุอาหารที่อยู่ลึกลงไปในดิน [17-18] ทั้งนี้ในอนาคตยังจำเป็นต้องศึกษากลไกการทำงานของเชื้อแบคทีเรียและปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อแบคทีเรียและพืชที่กระตุ้นให้เกิดกระบวนการปรับตัวต่อสภาวะเครียดต่อไป

จากผลการศึกษาข้างต้น ได้ชี้ให้เห็นว่าการแยกเชื้อแบคทีเรียจากดินบริเวณรอบรากของพืชที่ทนทานต่อสภาวะเครียดเป็นแนวทางที่เหมาะสมในการค้นหา PGPR โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพืชที่สามารถเจริญเติบโตอยู่ในสภาพแวดล้อมที่น้ำน้อย และความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารต่ำได้เป็นอย่างดี

ตั้งเช่นไอโซเลท PHA25 ที่แยกได้จากดินบริเวณรอบรากถั่วฝัก สามารถละลายฟอสเฟตได้มากที่สุด มีค่าประสิทธิภาพการละลายเท่ากับ 1.41 ± 0.19 รวมทั้งสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นข้าวโพดข้าวเหนียวได้ดี โดยสามารถเพิ่มน้ำหนักสดราก ความสูงต้น ความยาวรากที่ยาวที่สุด และความยาวรากรวม ได้มากขึ้นตั้งแต่ 13.33% ถึง 47.5% ความทนทานของวัชพืช แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการปรับตัวให้อยู่รอดโดยอาศัยประโยชน์จากสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งจุลินทรีย์บริเวณรากที่มีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการทำงานของฮอร์โมนต่าง ๆ หากสามารถนำเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวมาใช้กับพืชปลูกได้ ย่อมก่อให้เกิดประโยชน์อย่างมากต่อระบบการเพาะปลูกทั้งในด้านการขยายพื้นที่เพาะปลูก การลดต้นทุนการผลิต และยังเป็นระบบการเพาะปลูกที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมอีกด้วย

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนจากโครงการสนับสนุนทุนวิจัย คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ประจำปีงบประมาณ 2561 รหัสโครงการวิจัย ม.จ. 2-61-081

เอกสารอ้างอิง

1. Backer R, Rokem JS, Ilangumaran G, Lamont J, Praslickova D, Ricci E, et al. Plant growth-promoting rhizobacteria: context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. *Front. Plant Sci.* 2018; 9:1473. doi:10.3389/fpls.2018.01473.
2. Dharmanitivedya S. Plant growth promoting rhizobacteria: principles and utilization. *Naresuan Agri. J.* [Internet]. 2021 [cited 15 July 23021]; 18: e0180109. Available from: <https://ii01.tci-thaijo.org/index.php/aginujournal/article/view/248047/171717>.

3. Baber M, Fatima M, Abbas R, Qaisrani MM, Naz S, Hanif MK, et al. Weed rhizosphere: a source of novel plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). *Int. J. Biosci.* 2018; 13(1): 224-234.
4. Vayuparp K. Enhancing productivity of waxy corn. Bangkok: Department of Agriculture; 2558. Field and Renewable Energy Crops Research Institute.
5. Seo Y, Park K, Chang E, Ryu S, Park J and Kim K. Effect of salicylic acid and abscisic acid on drought stress of waxy corn. *Korean J. Crop Sci.* 2014; 59(1): 54–58.
6. Varukonda SSKP, Vardharajula S, Shrivastava M, and SkZ A. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiol Res.* 2016; 184: 13-24.
7. Travlos IS and Chachalis D. Drought adaptation strategies of weeds and other neglected plants of arid environments. *Plant Stress.* 2008; 2(1): 40-44.
8. Noda K, Teerawatsakul M, Prakongvongs C and Chaiwiratnukul L, editors. Major weeds in Thailand. 3rd ed. Bangkok: Mass & Media Co. LTD.; 1994; 164 p.
9. Sundara Rao WVB and Sinha MK. Phosphate dissolving microorganisms in the soil and rhizosphere. *Indian J. Agr. Sci.* 1963; 33: 272-278.
10. Zhao K, Penttinen P, Zhang X, Ao X, Liu M, Yu X, et al. Maize rhizosphere in Sichuan, China, hosts plant growth promoting *Burkholderia cepacia* with phosphate solubilizing and antifungal abilities. *Microbiol. Res.* 2014; 169: 76-82.
11. Junrungreang S, Rossopa B and Sajjaphan K. Effect of phosphate-solubilizing bacteria, *Burkholderia* sp. strain Rs01, on growth of Insee2 sweet corn. *Kamphaengsean Acad. J.* 2010; 8(1): 1-14.
12. Shafi J, Tian H and Ji M. *Bacillus* species as versatile weapons for plant pathogens: a review. *Biotechnol. Biotechnol. Equip.* 2017; 31(3): 446–459.
13. Paul D and Shinha SN. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacterium *Pseudomonas aeruginosa* KUPSB12 with antibacterial potential from river Ganga, India. *Ann. Agric. Sci.* 2017; 15(1): 130–136.
14. Saengsanga T. PGPR: The role in promoting and protecting plant under stress conditions. *Thai Sci. Tech. J.* 2014; 22(4): 553-570.
15. Detta C. and Basu P. Indole acetic acid production by a *Rhizobium* species from root nodules of a leguminous shrub *Cajanus cajan*. *Microbiol. Res.* 2000; 155: 123-127.
16. Wimat N, Pinjai P and Jittamart N. Phosphorus availability in soil and sugarcane growth by phosphate solubilizing bacteria. 2020; 38(4): 477-488.
17. Marasco R, Rolli E, Vigani G, Borin S, Sorlini C, Ouzari H, et al. Are drought-resistance promoting bacteria cross-compatible with different plant models?. *Plant Signal Behav.* 2013; 8(10): e26741. doi:10.4161/psb.26741.
18. Varukonda SSKP, Vardharajula S, Shrivastava M, and SkZ A. Multifunctional *Pseudomonas putida* strain FBKV2 from arid rhizosphere soil and its growth promotional effects on maize under drought stress. *Rhizosphere.* 2016; 1: 4-13.