

การคัดแยกแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวจากดินบริเวณรอบรากต้นบานไม่รู้โรยป่า

(*Gomphrena celosioides* Mart.)

Screening of Plant Growth Promoting Bacteria for Rice from Rhizosphere Soil of

Gomphrena celosioides Mart.

วารภรณ์ สุทธิสา* และ บุษยา วาปี

Waraporn Sutthisa* and Butsaya Wapi

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

Department of Biology, Faculty of Science, Mahasarakham University

*E-mail: waraporn.s@msu.ac.th

Received: Aug 01, 2019

Revised: Sep 24, 2019

Accepted: Oct 30, 2019

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกหาแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชจากดินบริเวณรอบรากต้นบานไม่รู้โรยป่า และทดสอบคุณสมบัติเบื้องต้นในการเป็นแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้าข้าวซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย โดยแยกแบคทีเรียทั้งหมด 44 ไอโซเลต เป็นแบคทีเรีย แกรมลบ 32 ไอโซเลต แบคทีเรียแกรมบวก 10 ไอโซเลต และแอคติโนแบคทีเรีย 2 ไอโซเลต การทดสอบคุณสมบัติการเป็นแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ประกอบด้วย การตรึงไนโตรเจน การสร้างสารซิติโนโรฟอร การละลายฟอสเฟต และการสร้างกรดอินโดล-3-แอซิดิก จากนั้นคัดเลือกมา 8 ไอโซเลต คือ GCWR 8, GCSR 12, GCSR 15, GCMR 18, GCSR 33, GCSR 38, GCMR 43 และ GCMR 44 เพื่อศึกษาคุณสมบัติการครอบครองบริเวณรากและการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว พบว่าการแช่เมล็ดข้าวในเซลล์แขวนลอยของไอโซเลต GCSR 33 ก่อนปลูก มีอัตราการงอกสูงสุดถึงร้อยละ 66.67 การแยกเชื้อจากบริเวณผิวรากพืชหลังจากเพาะเมล็ด 7 วัน พบว่าสามารถตรวจพบปริมาณเชื้อไอโซเลต GCMR 43 ได้มากที่สุดคือ 9.9×10^9 cfu ต่อน้ำหนักราก 1 กรัม ส่วนการแยกเชื้อจากดินบริเวณรอบรากพืชพบว่าทุกไอโซเลตมีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้น การวัดความยาวรากและลำต้น พบว่าไอโซเลต GCSR 33 มีความยาวรากมากที่สุดเท่ากับ 4.44 เซนติเมตร แต่ไอโซเลตที่มีความยาวลำต้นสูงสุดคือ GCMR 43 มีความยาวลำต้นสูงถึง 3.41 เซนติเมตร อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้ได้เชื้อที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชต่อไป

คำสำคัญ: กลไกการส่งเสริมการเจริญเติบโตพืช ต้นบานไม่รู้โรยป่า แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

Abstract

The objective of this research was to isolate plant growth promoting bacteria from rhizospheric soil of *Gomphrena celosioides* Mart. and test their basic properties of plant growth promoters on rice seedling, which is an important economic crop of Thailand. Forty-four bacteria isolates were isolated including 32 isolates of gram negative, 10 isolates of gram positive, and 2 isolates of actinobacteria. Plant growth promoting properties were tested such as nitrogen fixation, siderophore production, phosphate solubilization and indole-3-acetic acid production. After that 8 isolates were selected for studying of root colonization and plant growth promoting properties on rice including GCWR 8, GCSR 12, GCSR 15, GCMR 18, GCSR 33, GCSR 38, GCMR 43 และ GCMR 44. The results showed that soaking rice seed with cell suspension of GCSR 33 before planting have the most seed germination with 66.67%. Detection of bacteria from rhizoplane, seven days after seeding, GCMR 43 was the most recovering with 9.9×10^9 cfu/1 gram of root. As for the isolation from the rhizosphere soil, it was found that all isolate increasing bacteria concentration. Measuring root lengths and stems, found that the GCSR 33 had the highest root

length of 4.44 cm, but the highest stem length was GCMR 43 with 3.41 cm. However, further studies are needed to obtain the most effective bacteria to promote plant growth.

Keywords: mechanisms of plant growth promotion, Gomphrena weed, plant growth promoting rhizobacteria

1. บทนำ

ข้าว (*Oryza sativa* L.) เป็นหนึ่งในสี่ของพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย และเป็นอาหารหลักของประชากรกว่าครึ่งโลก ประเทศไทยเป็นประเทศกสิกรรมที่ทำการเพาะปลูกข้าวมากกว่าการเกษตรชนิดอื่นๆ และสามารถผลิตข้าวเป็นสินค้าส่งออกอันดับต้นของโลก เพื่อให้ได้ผลผลิตเพียงพอต่อความต้องการในกระบวนการผลิตข้าวในปัจจุบันเกษตรกร จึงมีความจำเป็นต้องใช้ปุ๋ยเคมีมากขึ้น เนื่องจากเห็นผลชัดเจนและมีประสิทธิภาพแน่นอน แต่จำเป็นต้องใช้ประจำและต่อเนื่อง ทำให้ต้นทุนการผลิตเพิ่มสูงขึ้น การใส่ปุ๋ยเคมีต่อเนื่องในระยะยาว มีผลกระทบต่อความอุดมสมบูรณ์ของดิน ส่งผลให้จุลินทรีย์ดินและสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ที่อาศัยในดิน มีจำนวนลดลง ทำให้เกิดความไม่สมดุลขึ้น ส่งผลให้ไม่สามารถปลูกพืชให้ได้ผลผลิตสูง อีกทั้งโรคพืชยังระบาดได้ง่ายอีกด้วย เพื่อลดปัญหาการใช้ปุ๋ยเคมี ส่งผลให้จุลินทรีย์กลุ่ม plant growth promotion rhizobacteria (PGPR) เป็นอีกหนึ่งแนวทางสำหรับการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเศรษฐกิจทั้งในปัจจุบัน และอนาคต เช่น การใช้เชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas fluorescens* BRM-32111 และ *Burkholderia pyrocinia* BRM-32113 เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว [3] นอกจากนั้นยังมีการศึกษาการใช้เชื้อ PGPR ได้แก่ *Pseudomonas putida*, *P. fluorescens* และ *Azospirillum lipoferum* กับต้นกล้าข้าว พบว่าเชื้อ PGPR ช่วยส่งเสริมการเจริญและเพิ่มอัตราการสังเคราะห์แสงของข้าวได้สูงกว่าข้าวที่ไม่ได้รับเชื้อ PGPR [4]

แบคทีเรียกลุ่มส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth promoting bacteria; PGPB) เป็นแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์สามารถสร้างสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชได้พบได้ในบริเวณอาณาเขตรากพืช (rhizosphere) แบคทีเรียกลุ่มนี้มีการใช้งานเพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตรมาเป็นเวลานานแล้วเนื่องจากมีคุณสมบัติในการเพิ่มธาตุอาหารให้แก่พืช กระตุ้นการเจริญของพืชโดยการผลิตฮอร์โมนพืช ช่วยควบคุมและยับยั้งกิจกรรมของเชื้อก่อโรคพืช และปรับปรุงโครงสร้างดิน ผ่านกลไก

ทั้งทางตรงและทางอ้อม กลไกทางตรง เช่น การตรึงไนโตรเจน การละลายฟอสเฟต การสร้างฮอร์โมนพืช ส่วนกลไกทางอ้อม เช่น การชักนำระบบความต้านทานโรค เป็นต้น [1]

ไรโซสเฟียร์ (rhizosphere) คือบริเวณรอบรากพืชที่มีคุณสมบัติทางเคมีและทางชีวภาพที่ได้รับอิทธิพลจากพืช โดยการปล่อยสารเมแทบอลิต์ที่เกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมออกจากรากของพืชไปสู่ดินบริเวณรอบรากพืช สารเมแทบอลิต์เป็นสารประกอบที่ละลายน้ำ เช่น กรดอะมิโน น้ำตาล คาร์โบไฮเดรต วิตามิน โปรตีน และกรดอินทรีย์ สารต่าง ๆ ที่หลั่งออกมาจากรากพืชนั้นจุลินทรีย์สามารถนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานและแหล่งอาหารในการเจริญเติบโต จึงทำให้จุลินทรีย์บริเวณไรโซสเฟียร์มีกิจกรรม รวมถึงจำนวนจุลินทรีย์และความหลากหลายของจุลินทรีย์ที่มากกว่าในดินบริเวณที่ห่างไกลออกไป เช่น สารที่หลั่งออกมาจากรากข้าวโพดทำให้ *Pseudomonas fluorescens* ที่อยู่บริเวณไรโซสเฟียร์ของรากข้าวโพดมีการสังเคราะห์ฮอร์โมนออกซินในปริมาณที่เพิ่มมากขึ้น และพบว่ากลุ่มประชากร และการผลิตสาร phenazine ของ fluorescent *Pseudomonads* เพิ่มขึ้นในแต่ละฤดูการปลูกของถั่วเหลือง [2]

ต้นบานไม่รู้โรยป่าจัดเป็นวัชพืชชนิดหนึ่งมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Gomphrena celosioides* Mart. มีประโยชน์ช่วยคลุมผิวดินป้องกันการพังทลายหน้าดิน พบตามที่รกร้างริมทางทั่วไป มีสรรพคุณด้านการเป็นสมุนไพรและยาต้านจุลชีพในการติดเชื้อโรคในระบบขับถ่ายปัสสาวะและระบบทางเดินอาหาร การสกัดสารจากต้นบานไม่รู้โรยป่า พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในมนุษย์ได้ โดยสารสำคัญที่พบ เช่น saponins, steroids, amino acid, reducing sugar, phenol และ flavonoids [5] นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยอื่นที่ได้แยกสารประกอบที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เช่น chlorophyll, xanthophyll ได้แก่ lutein, germacrene D, α -humulene, caryophyllene, squalene, phellandren, p-cymene, sitosterol, อนุพันธ์ของ ent-kaurenic acid และ eudesmanolides จึงมีสรรพคุณทางยาที่หลากหลาย อีกทั้งสารสกัดจากต้นบานไม่รู้โรยปายังมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้หลายชนิด และมีผลช่วยให้การงอกของเมล็ดพืช

บางชนิด เช่น โหระพา และ กะเพรา ดีขึ้นด้วย [6] การวิจัยนี้จึงได้ทำแยกและศึกษาคุณสมบัติเบื้องต้นของจุลินทรีย์ที่แยกได้จากดินบริเวณรอบรากต้นบานไม่รู้โรยป่าซึ่งเป็นพืชสมุนไพร และเป็นพืชที่พบได้ง่ายทั่วไป สามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาพอากาศของประเทศไทย ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวในระยะต้นกล้า ซึ่งประเทศไทยเป็นประเทศกสิกรรมที่ทำการเพาะปลูกข้าวมากกว่าการเกษตรชนิดอื่นๆ และข้าวยังเป็นพืชอาหารหลักที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของไทยอีกด้วย โดยผลการวิจัยที่ได้สามารถนำมาขยายผลสู่พืชอื่นได้ในอนาคต เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ทางการเกษตรและด้านอื่นๆ ต่อไป

2. วิธีการวิจัย

2.1 การเก็บตัวอย่างและการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากต้นบานไม่รู้โรยป่า

เก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบ ๆ รากต้นบานไม่รู้โรยป่าโดยเก็บมาจาก 3 พื้นที่แตกต่างกัน ดังนี้ บ่อบำบัดน้ำเสียในมหาวิทยาลัยมหาสารคาม พิพิธภัณฑ์บ้านเรือนไทย และ สนามเทนนิสเก่าหลังโรงเรียนสาธิตมหาวิทยาลัยมหาสารคาม ฝ่ายมัธยมศึกษา ต.ขามเรียง อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม จำนวน 3 ตัวอย่าง โดยสุ่มทั้ง 3 บริเวณ บริเวณละ 10 ต้น พร้อมดินและราก นำตัวอย่างที่ได้มาเขย่าเอาดินออก จากนั้นนำดินที่ได้ใส่ลงให้แห้งแล้วสุ่มตัวอย่างมา 10 กรัม ใส่ลงในน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 90 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ทำการเจือจางเชื้อด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อที่ค่าความเจือจาง 10^{-3} , 10^{-4} และ 10^{-5} จากนั้นดูดดินแขวนลอยมาปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ไปเกลี่ยลงบนจานอาหาร nutrient agar (NA) ค่าความเจือจาง ละ 3 ซ้ำ และนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง ($28 \pm 2^{\circ}\text{C}$) เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง แยกเชื้อให้บริสุทธิ์และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยนำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้มาถ่ายเชื้อลงบนจานอาหาร NA บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ตรวจสอบลักษณะโคโลนี (ขนาด สี ผิวหน้า ขอบ ความหนืด) และทำการย้อมสีแบบแกรม จากนั้นนำไปตรวจสอบลักษณะ การติดสีแกรม รูปร่างของเซลล์ ขนาด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า

2.2 การทดสอบคุณสมบัติเบื้องต้นของการเป็นแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

2.2.1 การทดสอบการสร้างสารประกอบsiderophore (siderophore)

นำเชื้อแบคทีเรียทดสอบมาขีดลงบนอาหาร Chrome azurol S (CAS) agar 6 ไอโซเลตต่อจาน โดยขีดยาว 2 เซนติเมตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา

7 วัน 3 ซ้ำต่อไอโซเลต ตรวจสอบผลโดยแบคทีเรียที่สร้างสารsiderophore จะเปลี่ยนสีอาหารจากน้ำเงินเป็นสีส้มที่บริเวณรอบ ๆ รอยขีดเชื้อแบคทีเรีย

2.2.2 การทดสอบความสามารถในการตรึงไนโตรเจนจากอากาศ (nitrogen fixing bacteria: NFB)

นำเชื้อแบคทีเรียไอโซเลตที่แยกได้ มาเลี้ยงบนอาหาร nitrogen free solid malate medium (NFM) โดยขีดเชื้อที่เจริญบนอาหาร NA slant อายุ 18-24 ชั่วโมง ลงบนจานอาหาร 4 ไอโซเลตต่อจาน ห่างจากขอบจาน 1.5 เซนติเมตร และขีดเชื้อให้มีความยาว 2 เซนติเมตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง ($28 \pm 2^{\circ}\text{C}$) เป็นเวลา 3 วัน 3 ซ้ำต่อไอโซเลต แบคทีเรียที่ตรึงไนโตรเจนได้จะเปลี่ยนสีอาหารที่มี bromothymol blue เป็นสีน้ำเงิน

2.2.3 การทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟต (phosphate solubilizing bacteria: PSB)

โดยขีดเชื้อที่เจริญในอาหาร NA slant อายุ 18-24 ชั่วโมง ลงบนอาหาร Pikovskaya's agar [7] ที่เติม tricalcium phosphate เป็นแหล่งอนินทรีย์ฟอสเฟต 4 ไอโซเลตต่อจาน 3 ซ้ำต่อไอโซเลต บ่มที่อุณหภูมิห้อง ($28 \pm 2^{\circ}\text{C}$) เป็นเวลา 3-7 วัน ตรวจสอบแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็น PSB โดยสังเกตลักษณะโคโลนีที่มีการสร้างวงใสรอบโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.2.4 การสร้างกรดอินโดล-3-แอซิดิก (indole-3-acetic acid: IAA)

นำเชื้อแบคทีเรียมาทดสอบการสร้างกรดอินโดล-3-แอซิดิกบนอาหารแข็ง (peptone 10 กรัมต่อลิตร L-tryptophan 1 กรัมต่อลิตร NaCl 5 กรัมต่อลิตร Yeast extract 6 กรัมต่อลิตร และวุ้น 15 กรัมต่อลิตร, pH 7.6) นำเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียที่ความเข้มข้น 1.5×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50 ไมโครลิตร หยดลงหลุมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 มิลลิเมตร 4 ไอโซเลตต่อจาน บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นหยดสารละลาย Salkowski's reagent (35 เปอร์เซ็นต์ perchloric acid 50 มิลลิลิตร และ 0.5 M FeCl_3 (1 มิลลิลิตร) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร บ่มในที่มืด 1 ชั่วโมง จะเห็นโซนสีชมพู ส้ม รอบ ๆ โคโลนีแบคทีเรียที่สร้าง IAA [8] ทำการทดลองไอโซเลตละ 3 ซ้ำ

การวัดปริมาณ IAA โดยเลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเหลวที่ประกอบด้วย peptone 10 กรัมต่อลิตร L-tryptophan 1 กรัมต่อลิตร NaCl 5 กรัมต่อลิตร yeast extract 6 กรัมต่อลิตร ปรับ pH เป็น 7.6 วัดการสร้าง IAA ตาม Salkowski's method โดยปั่นเหวี่ยงเซลล์แล้วนำส่วนใส ปริมาณ 1.5 มิลลิลิตร มาเติม orthophosphoric acid ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และ

Salkowski's reagent ปริมาตร 3 มิลลิ ลิตร บ่มในที่มืด 1 ชั่วโมง แล้วนำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร ด้วย spectrophotometer คำนวณปริมาณ IAA ที่แบคทีเรียสร้างเทียบกับกราฟมาตรฐานของ IAA [9]

2.2.5 ทดสอบคุณสมบัติการครอบครองบริเวณรอบรากพืช (Root colonization)

นำเมล็ดข้าวขาวดอกมะลิ 105 มาล้างด้วย 70 เปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ แล้วล้างด้วย 0.5 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (sodium hypochlorite) ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้ออีก 3-4 ครั้ง ซับให้แห้ง นำมา 15 เมล็ด แช่ลงในเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียแต่ละไอโซเลตที่ความเข้มข้น 1.5×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาฝังให้แห้ง แล้วจึงนำมาปลูกลงในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.5 เซนติเมตร ที่บรรจุแกลบเผาที่ทำการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง กระถางละ 50 กรัม โดยปลูก 15 เมล็ดต่อกระถาง เก็บกระถางในโรงเรือนปลอดเชื้อ รดด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อทุกวัน ติดตามผลเป็นเวลา 7 วัน นำดินที่ติดรากและบริเวณรอบๆ รากมา 1 กรัม และเจือจางที่ 10^{-9} , 10^{-10} และ 10^{-11} แล้วดูดดินแขวนลอยมาปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร เกลี่ยลงบนจานอาหาร NA ไอโซเลตละ 3 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิห้อง ($28 \pm 2^\circ\text{C}$) เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง นับจำนวนเปรียบเทียบกับความเข้มข้นเชื้อเริ่มต้น และนำรากข้าวมาล้างด้วย 0.5 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ และล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3-4 ครั้ง ตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ จำนวน 1 กรัม ใส่ลงในน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 9 มิลลิลิตร ทำการเจือจางที่ 10^{-5} , 10^{-6} และ 10^{-7} แล้วจึงดูดมา 0.1 มิลลิลิตร เกลี่ยลงบนจานอาหารแข็ง NA ไอโซเลตละ 3 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิห้อง ($28 \pm 2^\circ\text{C}$) เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง เพื่อแยกเชื้อที่อยู่บริเวณผิวราก (rhizoplane) นับจำนวนเปรียบเทียบกับความเข้มข้นเชื้อเริ่มต้น โดยมีชุดควบคุมเป็นน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ทำการวัดการเจริญของต้นข้าวหลังจากการทดลอง 7 วัน ถอนต้นกล้าข้าวมาล้างน้ำให้สะอาด และนำมาวัดความยาวรากและความยาวต้น หลังจากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักรากและลำต้นต่อไป

3. ผลการทดสอบ

3.1 การเก็บตัวอย่างดินและการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากดินบริเวณรอบรากต้นบานไม่รู้รุ่ย

การเก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบรากต้นบานไม่รู้รุ่ย พบว่าตัวอย่างดินที่เก็บจากบริเวณบ่อบำบัดน้ำเสียในมหาวิทยาลัยมหาสารคาม ดินมีลักษณะเป็นดินร่วนปนทราย มีสีดำ จากการ

สังเกตสิ่งแวดล้อมในดินบริเวณนั้นค่อนข้างสมบูรณ์ ดินบริเวณพิพิธภัณฑสถานเรือนไทย มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ลักษณะดินเป็นดินร่วนซุย มีสีน้ำตาลแดงอ่อน เนื้อดินชุ่มชื้น มีแมลงหรือสัตว์เล็ก ๆ อาศัยอยู่มาก และดินที่เก็บจากบริเวณสนามเทนนิสเก่าหลังโรงเรียนสาธิตมหาวิทยาลัยมหาสารคาม (ฝ่ายมัธยม) เป็นดินร่วนปนทราย เนื้อดินค่อนข้างแห้งแข็ง และต้นบานไม่รู้รุ่ยที่เจริญบริเวณนี้มีขนาดรากยาวมากกว่าพื้นที่อื่น

การแยกเชื้อแบคทีเรียจากดินบริเวณรอบรากต้นบานไม่รู้รุ่ย ปาสามารถนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดได้ 6.1×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร 6.1×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และ 2.0×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร จากบริเวณบ่อบำบัดน้ำเสีย มหาวิทยาลัยมหาสารคาม พิพิธภัณฑสถานเรือนไทย และสนามเทนนิสเก่าหลังโรงเรียนสาธิตมหาวิทยาลัยมหาสารคาม (ฝ่ายมัธยม) ตามลำดับ คัดเลือกมาทั้งหมด 44 ไอโซเลต แยกเป็น แอคติโนแบคทีเรีย 2 ไอโซเลต แบคทีเรียแกรมบวก 10 ไอโซเลต และแกรมลบ 32 ไอโซเลต

3.2 การทดสอบคุณสมบัติเบื้องต้นของการเป็นแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

3.2.1 การทดสอบการสร้างสารประกอบซิดอโรฟอรัส (siderophore)

การทดสอบการสร้างสารประกอบซิดอโรฟอรัสเพื่อประเมินประสิทธิภาพของการเป็นแบคทีเรียที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช พบว่ามี 28 ไอโซเลต ได้แก่ GCWR 3, GCWR 4, GCWR 9, GCSR 13, GCMR 16, GCMR 17, GCMR 19, GCMR 20, GCMR 21, GCMR 22, GCMR 24, GCMR 27, GCMR 28, GCMR 29, GCMR 30, GCMR 31, GCMR 40, GCMR 41, GCMR 44, GCWR 5, GCWR 8, GCSR 15, GCMR 18, GCMR 25, GCSR 33, GCMR 35, GCSR 38 และ GCMR 43 สามารถเจริญและ/หรือเปลี่ยนสีของอาหารเป็นโซนสีเหลือง ส้มหรือน้ำตาล รอบ ๆ โคลนี (Figure 1, Table 1)



Figure 1 Testing of the siderophore production, positive effects shown clear yellow or orange zone around colony and negative effects do not appear color zone around colony.

Table 1 Basic properties of plant growth promoting bacteria

Isolates	Nitrogen fixation		Siderophore		Indole-3-acetic acid	
	Gr ow th	Color chang e	Growt h	Color chang e	Qualit y	Quantity ($\mu\text{g/ml}$) ^{1/}
GCWR 1	-	-	-	-	-	-
GCWR 2	-	-	-	-	-	-
GCWR 3	-	-	+	-	+	0.01±0.00 ^j
GCWR 4	-	-	+	-	-	-
GCWR 5	+	++	+	+++	-	-
GCWR 6	-	-	-	-	-	-
GCWR 7	-	-	-	-	-	-
GCWR 8	+	++	+	+++	+	0.04±0.01 ^j
GCWR 9	-	-	+	-	-	-
GCSR 10	-	-	-	-	+	0.08±0.004 ^s hij
GCSR 11	-	-	-	-	+	-
GCSR 12	+	+	-	-	+	0.21±0.02 ^t
GCSR 13	-	-	+	-	+	0.12±0.01 ^{gh}
GCSR 14	-	-	-	-	-	-
GCSR 15	+	++	+	++	+	0.14±0.10 ^s
GCMR 16	-	-	+	-	+	0.13±0.01 ^{gh}
GCMR 17	-	-	+	-	-	-
GCMR 18	+	++	+	+++	+	0.02±0.01 ^j
GCMR 19	-	-	+	-	-	-
GCMR 20	-	-	+	-	-	-
GCMR 21	-	-	+	-	-	-
GCMR 22	-	-	+	-	-	-
GCMR 23	-	-	-	-	-	-
GCMR 24	-	-	+	-	+	0.12±0.07 ^{gh}
GCMR 25	-	-	+	++	+	-
GCMR 26	-	-	-	-	-	-
GCMR 27	-	-	+	-	+	0.07±0.00 ^{gh} j
GCMR 28	-	-	+	-	-	-
GCMR 29	-	-	+	-	-	-
GCMR 30	-	-	+	-	-	-
GCMR 31	-	-	+	+	-	-
GCSR 32	-	-	-	+	+	0.09±0.01 ^{gh}
GCSR 33	+	-	++	-	-	0.07±0.00 ^{hij}
GCWR 34	-	-	-	+++	-	-
GCMR 35	-	-	++	++	-	-
GCWR 36	-	-	-	++	-	-
GCMR 37	-	-	-	-	-	-

Table 1 Basic properties of plant growth promoting bacteria (continue)

Isolate s	Nitrogen fixation		Siderophore		Indole-3-acetic acid	
	Growt h	Color chang e	Growt h	Color chang e	Qualit y	Quantit y ($\mu\text{g/ml}$) ^{1/}
GCSR 38	+	++	+++	-	+	0.90±0.02 d
GCSR 39	-	-	+	-	+	0.93±0.10 c
GCSR 33	+	-	++	-	-	0.07±0.00 hij
GCMR 40	-	-	+	-	+	0.70±0.05 e
GCMR 41	-	++	+	+	-	-
GCSR 42	-	-	-	++	-	-
GCMR 43	+	+++	+++	-	+	1.45±0.05 a
GCMR 44	+	-	+	-	+	1.02±0.05 b

^{1/} Means (n=3) in column followed by the same letters are not significantly different (P= 0.05, LSD) based.

3.2.2 การทดสอบแบคทีเรียที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนจากอากาศ (nitrogen fixing bacteria: NFB)

พบว่าแบคทีเรีย 7 ไอโซเลต ที่สามารถเจริญและตรึงไนโตรเจนได้ ได้แก่ GCWR 5, GCWR 8, GCSR 15, GCMR 18, GCSR 33, GCSR 38 และ GCMR 43 และมี 1 ไอโซเลตคือ GCMR 44 ที่มีการเจริญบนอาหาร NFM แต่ไม่เปลี่ยนสีของอาหาร (Figure 2, Table 1)

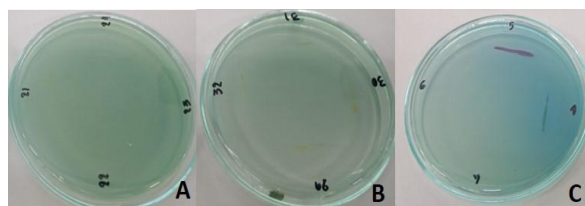


Figure 2 Testing nitrogen fixing bacteria on nitrogen free solid malate medium (NFM). A) Negative not growth, B) Positive growth and C) Positive growth and change the color of bromothymol blue from green to blue.

3.2.3 การทดสอบแบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟต (phosphate solubilizing bacteria: PSB)

การทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟต ของแบคทีเรียทั้ง 44 ไอโซเลต พบว่ามีแบคทีเรียจำนวน 17 ไอโซเลต ได้แก่ GCWR 3, GCWR 9, GCSR 10, GCSR 11, GCSR 12,

GCMR 18, GCMR 19, GCMR 23, GCMR 26, GCMR 27, GCMR 28, GCMR 29, GCSR 32, GCSR 33, GCWR 34, GCMR 43 และ GCMR 44 สามารถเจริญในอาหาร Pikovskaya's agar ที่เติม tricalcium phosphate เป็นแหล่ง อนินทรีย์ฟอสเฟตได้ แต่ไม่พบวงไฮดรอลิซีนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ แสดงว่าไม่สามารถละลายฟอสเฟตได้ (Figure 3, Table 1)

3.2.4 การสร้างกรดอินโดล-3-แอซิดิก (indole-3-acetic acid: IAA) การทดสอบการสร้างกรดอินโดล-3-แอซิดิก ของแบคทีเรียทั้งหมด 44 ไอโซเลต เพื่อประเมินความสามารถในการผลิตฮอร์โมนส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช พบว่ามีแบคทีเรีย 18 ไอโซเลต ที่สามารถสร้างกรดอินโดล-3-แอซิดิกได้ โดยพบโซนสีชมพู ส้ม รอบ ๆ โคโลนี ได้แก่ GCWR 3, GCWR 8, GCSR 10, GCSR 11, GCSR 12, GCSR 13, GCSR 15, GCMR 16, GCMR 18, GCMR 24, GCMR 25, GCMR 27, GCSR 32, GCSR 38, GCSR 39, GCMR 40, GCMR 43 และ GCMR44 (Figure 4, Table 1)



Figure 3 Testing of phosphate solubilizing bacteria on Pikovskaya's agar showed negative effects.



Figure 4 Testing of indole-3-acetic acid production, positive strain showed halo zone with pink or orange color around colony

4.4 ทดสอบคุณสมบัติการครอบครองบริเวณรอบรากพืช (Root colonized)

คัดเลือกแบคทีเรียมา 8 ไอโซเลต ได้แก่ GCWR 8, GCSR 12, GCSR 15, GCMR 18, GCSR 33, GCSR 38, GCMR 43 และ GCMR 44 จากคุณสมบัติต่าง ๆ ดังนี้ การตรึงไนโตรเจน การสร้างซิเดอโรฟอรัส และการผลิตฮอร์โมน IAA ที่ดีที่สุดเป็นหลัก เพื่อประเมินประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโต

ของพืช และการครอบครองรากพืช หลังจากเพาะเมล็ดนาน 7 วัน พบว่าไอโซเลต GCSR 33 เมล็ดข้าวมีอัตราการงอกสูงสุดถึง 66.67 เปอร์เซ็นต์ (Table 2)

การแยกเชื้อจากบริเวณผิวรากพืช (rhizoplane) สามารถแยกเชื้อออกเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่มีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้น ได้แก่ ไอโซเลต GCMR 43 และ GCMR 44 สามารถแยกเชื้อกลับมาได้ 2.10×10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และ 8.60×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และกลุ่มที่มีปริมาณเชื้อน้อยลง ได้แก่ ไอโซเลต GCWR 8, GCSR 12, GCSR 15, GCMR 18, GCSR 33 และ GCSR 38 ส่วนการแยกเชื้อจากดินบริเวณรอบรากพืช (rhizosphere) พบว่าทุกไอโซเลตมีปริมาณเชื้อเพิ่มมากขึ้น (Table 2)

การส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช โดยการวัดความยาวรากและลำต้น พบว่าไอโซเลต GCSR 33 มีความยาวรากมากที่สุดเท่ากับ 4.44 เซนติเมตร แต่ไอโซเลตนี้มีความยาวลำต้นเพียง 2.64 เซนติเมตร ซึ่งไอโซเลตที่มีความยาวลำต้นสูงสุดคือ GCMR 43 มีความยาวลำต้นสูงถึง 3.41 เซนติเมตร แต่มีความยาวรากเพียง 1.38 เซนติเมตร (Figure 5, Table 3)

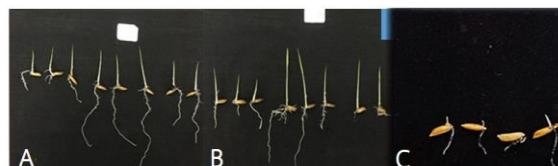


Figure 5 Seedling growth of Jasmine rice 105, 7 days after planting. A) Soaked in GCSR 33, B) Soaked in GCMR 43 and C) Soaked in dH₂O

Table 2 The effect of plant growth promoting bacteria on germination and colonization

Isolates	Seed germination ^{1/}	Colonization (cfu/g)	
		Rhizoplane ^{1/}	Rhizosphere ^{1/}
dH ₂ O	0.67±0.02 ^d	0 ^d	0 ^d
GCWR 8	36.67±11.54 ^{abc}	1.60×10 ^{9ab}	2.90×10 ^{9cd}
GCSR 12	20.00±10.00 ^{bcd}	1.30×10 ^{9ab}	1.28×10 ^{10a}
GCSR 15	46.67±35.11 ^{abc}	4.40×10 ^{8bc}	7.50×10 ^{9abc}
GCMR 18	56.67±5.80 ^a	2.00×10 ^{7d}	6.10×10 ^{9bc}
GCSR 33	66.67±15.27 ^a	1.90×10 ^{8d}	6.50×10 ^{9bc}
GCSR 38	50.00±10.00 ^{ab}	1.80×10 ^{8d}	7.40×10 ^{9abc}
GCMR 43	16.67±20.81 ^b	2.10×10 ^{9a}	9.90×10 ^{9ab}
GCMR 44	46.67±20.81 ^{abc}	8.60×10 ^{8bcd}	8.40×10 ^{9abc}

^{1/} Means (n=3) in column followed by the same letters are not significantly different (P= 0.05, LSD) based.

5. อภิปรายผลการทดลอง

จากผลการแยกเชื้อแบคทีเรียจากดินบริเวณรอบรากต้นบานไม่รู้โรยป่า สามารถแยกเชื้อได้ทั้งหมด 44 ไอโซเลต โดยมีแบคทีเรียแกรมบวก 10 ไอโซเลต แบคทีเรียแกรมลบ 32 ไอโซเลต และแอคตินแบคทีเรีย 2 ไอโซเลต ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Soderberg และคณะ [10] ที่ได้ทำการเก็บตัวอย่างดินบริเวณรอบรากพืช 11 ตัวอย่าง จากแปลงเกษตร และทำการแยกแบคทีเรียโดยใช้เทคนิค community-level physiological profiles (CLPP), direct soil และ cfu-PLFA techniques พบว่า แบคทีเรียบริเวณรอบรากพืชส่วนใหญ่เป็นแกรมลบ

การทดสอบคุณสมบัติการสร้างสารซีเคอร์โรฟอร์ การตรึงไนโตรเจน การละลายฟอสเฟต การสร้างฮอร์โมน IAA และการทดสอบความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช การทดสอบการสร้างสารประกอบซีเคอร์โรฟอร์บนอาหาร Chrom-Azuro S Agar พบว่ามีแบคทีเรีย 28 ไอโซเลต จากจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดที่สามารถเจริญบนอาหารนี้ได้ โดยมี 9 ไอโซเลต ที่สามารถเจริญได้ดีและเปลี่ยนสีของอาหารได้เข้มที่สุด ได้แก่ GCWR 5, GCWR 8, GCSR 15, GCMR18, GCMR25, GCSR 33, GCMR35, GCSR 38 และ GCMR43 ซึ่งจะพบลักษณะรอบโคโลนิมีโซนใสสีเหลือง ส้มหรือน้ำตาล ซึ่งธาตุหลักเป็นแร่ธาตุที่มีความสำคัญสำหรับกิจกรรมเมแทบอลิซึมและการเจริญของจุลินทรีย์ แต่พบว่าในสถานะค่าความเป็นกรดเบสที่เป็นกลาง ธาตุหลักมีความสามารถในการละลายที่ต่ำมาก ดังนั้นจุลินทรีย์จึงนำเหล็กไปใช้ได้ยาก [11]

Table 3 The effect of plant growth promoting bacteria on plant growth

Isolates	Length (cm) ^{1/}		Weight (mg) ^{1/}	
	Root	Shoot	Root	Shoot
dH ₂ O	0.31±0.02 ^c	0.93±0.03 ^c	0.08±0.02 ^f	0.08±0.01 ^b
GCWR 8	0.99±0.87 ^{bc}	3.01±1.34 ^a	0.04±0.01 ^s	0.05±0.01 ^d
GCSR 12	1.58±1.34 ^{bc}	1.96±1.73 ^b	0.02±0.02 ^j	0.03±0.01 ^e
GCSR 15	2.17±0.84 ^b	3.10±0.87 ^a	0.20±0.04 ^a	0.07±0.01 ^c
GCMR 18	1.51±0.48 ^{bc}	2.70±0.55 ^{ab}	0.09±0.02 ^e	0.08±0.01 ^b
GCSR 33	4.44±2.24 ^a	2.64±0.37 ^{ab}	0.13±0.01 ^c	0.12±0.01 ^a
GCSR 38	3.81±2.50 ^a	2.82±0.95 ^{ab}	0.12±0.02 ^d	0.08±0.01 ^b
GCMR 43	1.38±0.67 ^{bc}	3.41±0.53 ^a	0.18±0.03 ^b	0.07±0.01 ^c
GCMR 44	1.12±0.82 ^{bc}	0.68±0.21 ^c	0.03±0.00 ^h	0.02±0.01 ^f

^{1/} Means (n=3) in column followed by the same letters are not significantly different (P= 0.05, LSD) based.

การทดสอบคุณสมบัติการตรึงไนโตรเจนจากแบคทีเรียทั้งหมด 44 ไอโซเลต มี 8 ไอโซเลตที่สามารถเจริญได้บนอาหาร NFM และเปลี่ยนสีของ bromothymol blue จากสีเขียวเป็นสีน้ำเงิน และมี 1 ไอโซเลต ที่สามารถเจริญได้แต่ไม่สามารถเปลี่ยนสีของ bromothymol blue จากสีเขียวเป็นสีน้ำเงินได้ ซึ่งแบคทีเรียที่สามารถเปลี่ยนสีอาหารได้นั้นเนื่องจากว่าสามารถตรึงก๊าซไนโตรเจนจากชั้นบรรยากาศและเปลี่ยนให้อยู่ในรูปสารประกอบไนโตรเจน ได้แก่ แอมโมเนียม (NH₄⁺) ไนไตรท์ (NO₂⁻) และไนเตรท (NO₃⁻) [12] สารพวกนี้มีความเป็นเบสเมื่อมีปริมาณมากพอจึงเปลี่ยนสีอินดิเคเตอร์ในอาหาร คือ bromothymol blue จากสีเขียวเป็นสีน้ำเงินได้ และในการทดสอบความสามารถละลายฟอสเฟต พบว่าไม่มีแบคทีเรียไอโซเลตใดเลยที่สามารถละลายฟอสเฟตได้ แต่มี 17 ไอโซเลตที่สามารถเจริญบนอาหาร Pikovskaya's agar ที่เติม tricalcium phosphate เป็นแหล่งอนินทรีย์ฟอสเฟตได้ และจากการทดสอบการผลิตกรดอินโดล-3-อะซิติก (IAA) พบว่ามีแบคทีเรีย 19 ไอโซเลต ที่สามารถสร้างฮอร์โมน IAA ได้ โดยไอโซเลตที่ผลิตมากที่สุดคือ ไอโซเลต GCMR 43 สามารถผลิตได้ 1.45 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Inthasan และคณะ [13] ที่ได้ทำการศึกษาผลของแบคทีเรียที่สามารถผลิต indole-3-acetic acid (IAA) ต่อการเจริญเติบโตและปริมาณธาตุอาหารของพริก โดยพบว่าการใช้เชื้อแบคทีเรีย *Brevibacillus agri* ที่สามารถผลิต IAA ได้สูงถึง 126 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่งผลให้พริกมีจำนวนใบต่อต้น ความสูง ความยาวราก น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งทั้งในส่วนเหนือดินและส่วนของรากสูงกว่าไอโซเลตอื่น ๆ การทดสอบการครอบครองบริเวณรอบรากพืช เมื่อนำแบคทีเรีย 8 ไอโซเลต ที่มีคุณสมบัติเบื้องต้นในการเป็นแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชดีที่สุด มาแช่เมล็ดข้าวพันธ์ ข้าวขาวดอกมะลิ 105 เป็นเวลา 24 ชั่วโมงก่อนปลูก พบว่าไอโซเลต GCSR 33 เมล็ดข้าวมีอัตราการงอกสูงที่สุดถึง 66.67 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เมล็ดที่ไม่ได้รับเชื้อมีอัตราการงอกเพียง 0.67 เปอร์เซ็นต์ การที่เปอร์เซ็นต์การงอกต่ำเนื่องจากเมล็ดที่นำมาทดสอบเป็นเมล็ดพันธุ์จากยุงฉางของเกษตรกรซึ่งเก็บไว้นานข้ามปี การแยกเชื้อจากบริเวณผิวรากพืช พบว่า ไอโซเลต GCMR 43 สามารถแยกเชื้อกลับมาได้มากที่สุดถึง 9.9×10⁹ cfu ต่อน้ำหนักราก 1 กรัม ส่วนการแยกเชื้อจากดินบริเวณรอบรากพืชพบว่าทุกไอโซเลตมีปริมาณเชื้อเพิ่มมากขึ้น การวัดความยาวรากและลำต้น พบว่าไอโซเลต GCSR 33

มีความยาวรากมากที่สุดเท่ากับ 4.44 เซนติเมตร แต่ไอโซเลตนี้มีความยาวลำต้นเพียง 2.64 เซนติเมตร ซึ่งไอโซเลตที่มีความยาวลำต้นสูงสุดคือ GCMR 43 มีความยาวลำต้นสูงถึง 3.41 เซนติเมตร แต่มีความยาวรากเพียง 1.38 เซนติเมตร สอดคล้องกับงานทดลองของ Rongsawat [14] ซึ่งได้ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชจากดิน 2 ชุด และทำการทดสอบประสิทธิภาพในการครอบครองรากข้าวโพดฝักอ่อน (*Zea mays* L.) โดยใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช 18 ไอโซเลต พบว่าทุกไอโซเลตมีประสิทธิภาพในการครอบครองรากได้แตกต่างกัน โดยไอโซเลต A7 มีประสิทธิภาพในการครอบครองรากมากที่สุดโดยมีปริมาณเชื้อ 5.73×10^8 cfu ต่อกรัม ในขณะที่ Kongpet [15] ได้ทำการคัดเลือกแบคทีเรียที่อาศัยอยู่กับรากพืชจากดินปลูกพืชต่างๆ มาจำนวน 23 ไอโซเลต จากนั้นนำมาทดสอบเพื่อหาไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพในการครอบครองรากมะเขือเทศ พบว่าเชื้อแบคทีเรียไอโซเลต B2-1 ครอบครองรากมะเขือเทศได้ดีกว่าไอโซเลตอื่นๆ โดยมีปริมาณเชื้อที่อาศัยอยู่บริเวณรากมะเขือเทศ 5.2×10^6 cfu ต่อกรัม แต่ทุกไอโซเลตไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

6. บทสรุป

การแยกเชื้อแบคทีเรียจากดินบริเวณรอบรากต้นบานไม่รู้โรยป่า สามารถแยกเชื้อได้ทั้งหมด 44 ไอโซเลต โดยมีแบคทีเรียแกรมบวก 10 ไอโซเลต แบคทีเรียแกรมลบ 32 ไอโซเลต และแอคติโนแบคทีเรีย 2 ไอโซเลต การทดสอบคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช พบว่ามีแบคทีเรีย 28 ไอโซเลต ที่การสังเคราะห์ออกซิเจนเปอร์ออกไซด์ 8 ไอโซเลต สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ ไม่มีแบคทีเรียไอโซเลตใดที่สามารถละลายฟอสเฟตได้ 19 ไอโซเลต ที่สามารถสร้างฮอร์โมน IAA ได้ โดยไอโซเลตที่ผลิตมากที่สุดคือ GCMR 43 สามารถผลิตได้ 1.45 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ไอโซเลต GCSR 33 ส่งผลให้อัตราการออกของเมล็ดข้าวสูงสุด การแยกเชื้อจากบริเวณผิวรากพืช ไอโซเลต GCMR 43 สามารถแยกเชื้อกลับมาได้มากที่สุดถึง ส่วนการแยกเชื้อจากดินบริเวณรอบรากพืชพบว่าทุกไอโซเลตมีปริมาณเชื้อเพิ่มมากขึ้น

จากการวิจัยในครั้งนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาต่อยอดเพื่อคัดเลือกไอโซเลตที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดมาปรับใช้ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช หรืออาจนำเชื้อที่มีคุณสมบัติโดดเด่นด้านต่างๆ มาใช้ร่วมกันเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพสูงสุดในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชต่อไป

7. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้

8. เอกสารอ้างอิง

- [1] Sangsawang, T. 2014. PGPR: The roles in promoting and protecting plants under stress conditions. *Journal of Science and Technology*. 22(4): 553-570. (In Thai)
- [2] Gloria, R.B. and Mendonça-Hagler, L.C.2006. Fluorescent *Pseudomonads* associated with the rhizosphere of crops - an overview. *Brazilian Journal of Microbiology*. 37(4): 401-416.
- [3] Marcela, C.F.R., Aline, F.C., Thayná da, C.F., Marta, C. C.F., Telma, F.V.B., Rafael, G.V. and Gisele, B.S. 2018. The role of rhizobacteria in rice plants: growth and mitigation of toxicity. *Journal of Integrative Agriculture*. 17(12): 2636–2647.
- [4] Sharma¹, A., Shankhdhar¹, D., Sharma, A. and Shankhdhar, S.C. 2014. Growth promotion of the rice genotypes by PGPR isolated from rice rhizosphere. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 14 (2): 505-517.
- [5] Ogundipe, S. 2008. Safe Water: **So near, yet so far.** *Vanguard Newspapers* (Home Ed.) Section C: 15 (Col. 9 and 10). Sunday September 13, 2008.
- [6] Tiwari, A. K. and et al. 2014. Extraction of essential oil from *Gomphrena celosioides* by green separation technology. *International Journal of Basic and Applied Biology*. 2(2): 18 – 22.
- [7] Dubey, J.P. and Hamir, A.N. 2002. Experimental toxoplasmosis in budgerigars. *Melopsittacus undulates*. *Journal of Parasitol*. 88(3): 514–519.
- [8] Shrivastava and Kumar, A. 2011. A simple and rapid plate assay for the screening of indole-3-acetic acid (IAA) producing microorganisms. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*. 2:120-123.

- [9] Bharucha, E. and et al. 2013. **American Gastroenterological association technical review on constipation.** *Gastroenterology*. 144(1): 218-38.
- [10] Soderberg, K. 2004. **The microbial community in the rhizosphere determined by community-level physiological profiles (CLPP) and direct soil- and cfu-PLFA technique.** *Applied Soil Ecology*. 25(2): 135–145.
- 11] Kamjam, M. and Patomary, W. 2014. Siderophores from Microorganisms. **Srinakharinwirot Science Journal**. 30(1): 229-247
- [12] Kanimozhi, K. and Panneerselvam, A. 2010. **Studies on isolation and nitrogen fixation ability of *Azospirillum* spp. isolated from Thanjavur district.** *Pelagia Research Library*. 1(3): 138-145.
- [13] Inthasan, J., Dechjirattanasiri, C. and Boonmee, P. 2017. Effect of Bacteria-producing Indole-3-Acetic Acid (IAA) on Growth and Nutrient Contents of Bird Chili (*Capsicum annuum* L.). **Journal of Agriculture**. 33(3): 333-344. (*In Thai*)
- [14] Rongsawat, N. 2004. **Selection of rhizobacteria in promoting growth of baby corn (*Zea mays* L.).** B.S. (Agric.) special problem, Dept. Agri. Biotech., Kasetsart Univ., Nakornpathom, Thailand.
- [15] Kongpet, N. **Selection of rhizobacteria in promoting growth of tomato.** B.S. (Agric.) special problem, Dept. Agri. Biotech., Kasetsart Univ., Nakornpathom, Thailand.