

# ฮอร์โมนพืชผลิตจาก *Pseudomonas fluorescens* SP007s ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของคะน้าอินทรีย์

## Plant Hormone Produced from *Pseudomonas fluorescens* SP007s to Enhance Growth of Organic Kale

วิลาวรรณ เชื้อบุญ และดุสิต อธินวนนท์\*

สาขาวิชาการจัดการเกษตรอินทรีย์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์  
ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

Wilawan Chuaboon and Dusit Athinuwat\*

Major of Organic Farming Management, Faculty of Science and Technology, Thammasat University,  
Rangsit Centre, Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

### บทคัดย่อ

มีรายงานการส่งเสริมการเจริญเติบโตพืชด้วยจุลินทรีย์ที่อยู่บริเวณรอบรากพืชด้วยกลไกโดยตรงของจุลินทรีย์ในการผลิตฮอร์โมนพืช ได้แก่ indole-3-acetic acid (IAA) และ gibberellins (GA<sub>3</sub>) การวิจัยครั้งนี้เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของฮอร์โมนพืช IAA และ GA<sub>3</sub> ซึ่งผลิตจากเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* SP007s ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตพืชในระบบการผลิตคะน้าอินทรีย์ ผลการวิจัยพบว่าเชื้อปฏิปักษ์ SP007s สามารถผลิต IAA และ GA<sub>3</sub> ได้ปริมาณมากในอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient glucose broth เท่ากับ 47.5 และ 54.7 µg ml<sup>-1</sup> ตามลำดับ จากการตรวจสอบด้วยวิธี high-performance liquid chromatography (HPLC) ซึ่งภายใต้ห้องปฏิบัติการและสภาพไร่ พบว่าเชื้อปฏิปักษ์ SP007s สามารถผลิตและปลดปล่อย IAA และ GA<sub>3</sub> ที่มีประสิทธิภาพส่งเสริมเปอร์เซ็นต์การออก จำนวนรากแขนง ความสูงต้น และความยาวรากของต้นกล้าคะน้าได้ทัดเทียมกับฮอร์โมนสังเคราะห์ IAA และ GA<sub>3</sub> ส่งผลให้พืชมีการดูดสารอาหารและน้ำได้ดีขึ้น นอกจากนี้ยังพบประสิทธิภาพในการลดโรคขอบใบทองและใบจุดอัลเทอร์นาเรียถึง 71.3 และ 73.9 % ตามลำดับ หลังมีการคลุกเมล็ดและพ่นใบด้วยเชื้อปฏิปักษ์ SP007s (10<sup>6</sup> cfu/ml) เมื่อคะน้าอายุ 14, 28 และ 42 วัน ข้อมูลเหล่านี้แสดงให้เห็นว่านอกจากการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีด้วยเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ยังมีประสิทธิภาพสูงในการเป็นผู้ผลิตฮอร์โมนพืช

คำสำคัญ : ฮอร์โมนพืช; การหลีกเลี่ยงโรค; การควบคุมโดยชีววิธี; เกษตรอินทรีย์

### Abstract

Enhancement of plant growth has previously been reported for some plant growth promoting rhizosphere (PGPR) strains as a direct result of microbial production of plant-growth regulators, including indole-3-acetic acid (IAA) and gibberellins (GA<sub>3</sub>). This study focused on determining if *in*

*vitro* IAA and GA<sub>3</sub> production by *Pseudomonas fluorescens* SP007s could promote plant growth activity in organic production system. Results showed SP007s secreted high levels of IAA and GA<sub>3</sub> in nutrient glucose broth with 47.5 and 54.7 µg ml<sup>-1</sup> respectively determined by high-performance liquid chromatography (HPLC). Under laboratory and field conditions, SP007s produced and released the plant growth hormone IAA and GA<sub>3</sub> that enhanced the percentage of seed germination, number of lateral root, plant height, and root length same as synthetics IAA and GA<sub>3</sub>, resulting in plant more efficient improving nutrient and water uptake. Moreover, their effectiveness on black rot and Alternaria leaf spot reduction up to 71.3 and 73.9 % respectively was obtained after seed treated and foliar sprayed with SP007s (10<sup>6</sup> cfu/ml) at 14, 28, and 42 day-old after planting. These data demonstrate that beside the biocontrol agent, SP007s highly effect perform as planting hormone producer.

**Keywords:** phytohormone; disease escape; biocontrol; organic farming

## 1. คำนำ

ค่ามาตรฐานการตกค้างของสารเคมีในผลผลิตทางการเกษตรของประเทศคู่ค้าส่งผลโดยตรงต่อระบบการผลิตพืชที่มีการใช้สารเคมีโดยไม่คำนึงถึงสถานการณ์จริงในการระบาดของศัตรูพืช และปัญหาการติดต่อสารเคมีที่ติดตามมาจึงมีความจำเป็นที่ต้องใช้วิธีการผลิตพืชรูปแบบอื่นทดแทนระบบการผลิตพืชโดยใช้สารเคมี ซึ่งแนวทางที่กำลังได้รับความสนใจทั้งผู้ผลิตและผู้บริโภค คือ การผลิตพืชแบบเกษตรอินทรีย์ ซึ่งเน้นการควบคุมศัตรูพืชโดยใช้จุลินทรีย์หรือเชื้อปฏิปักษ์เข้าร่วมในระบบการผลิต คณะผู้วิจัยได้ทำการศึกษาวิจัยอย่างต่อเนื่องถึงสมบัติและกลไกของเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* สายพันธุ์ SP007s ซึ่งแยกได้จากดินบริเวณรอบรากกะหล่ำดอก (วิลาวรรณ, 2551; Prathuangwong *et al.*, 2005) โดยเชื้อปฏิปักษ์ SP007s มีความสามารถในการควบคุมโรคได้อย่างกว้างขวาง ครอบคลุมทุกกลุ่มเชื้อโรคที่สำคัญ ไม่ว่าจะเป็นโรคที่ระบบราก โรคทางใบ และโรคพืชที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ (นลินา และสุดฤดี, 2552; วิลาวรรณ, 2551; Chuaboon *et al.*, 2008; Prathuangwong *et al.*, 2005, 2006, 2007, 2009)

และมีประสิทธิภาพสูงในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชหลายชนิด (Prathuangwong *et al.*, 2009) ซึ่งการเจริญเติบโตของพืชมีผลโดยตรงมาจากปริมาณของฮอร์โมนโดยเฉพาะ indole-3-acetic acid (IAA) และ gibberellins (GA<sub>3</sub>) ซึ่งมีปฏิสัมพันธ์ร่วมกันกับปริมาณ endogenous IAA และ gibberelic acid ภายในต้นพืชโดยส่งผลให้เซลล์พืชยืดยาวและช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซับธาตุอาหารจากดินของพืช (Buensanteai *et al.*, 2008) โดยในกลุ่มของพืชผักกินใบต้องการฮอร์โมนและปุ๋ยปริมาณที่สูงโดยเฉพาะคะน้าซึ่งเป็นพืชอายุสั้น (Farnham *et al.*, 2009) เพื่อเป็นการลดต้นทุนการผลิตหากมีการใช้เทคโนโลยีที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคและยังสามารถให้ฮอร์โมนหรือกระตุ้นการใช้ปุ๋ยเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ในคราวเดียวกัน จึงเป็นประเด็นที่น่าสนใจดังนั้นการศึกษาวิจัยในครั้งนี้จึงมุ่งศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ในการผลิตฮอร์โมนพืชในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของคะน้า ซึ่งเป็นอีกแนวทางหนึ่งเพื่อสนับสนุนภาคการผลิตและส่งเสริมการบริโภคภายในและส่งออกสินค้าเกษตรอินทรีย์

## 2. อุปกรณ์และวิธีการ

### 2.1 ตรวจวัดปริมาณการผลิต IAA และ $GA_3$ ของ SP007s

เลี้ยงเชื้อปฏิภักษ์ *P. fluorescens* SP007s ในอาหาร nutrient glucose broth (NGB) ปริมาตร 250 มิลลิลิตร เขย่า 120 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้อง (28-33 °C) นาน 48 ชั่วโมงปนตกตะกอนเซลล์ 12,000 รอบ/นาที นาน 10 นาที เก็บส่วนใส (supernatant) ที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อใช้ในขั้นตอนต่อไป นำ supernatant ของเชื้อปฏิภักษ์ SP007s ปรับค่า pH เท่ากับ 2.5 แล้วนำไปสกัดแยกส่วนด้วยเอทิลอะซิเตท 3 ครั้ง ด้วยปริมาตรครั้งละ 1/3 เท่าของ supernatant (Zeigler *et al.*, 1980) จากนั้นลดปริมาตรด้วย rotary evaporation method นำ crud extract ที่ได้ไปตรวจวัดปริมาณของ IAA และ  $GA_3$  ด้วยวิธี HPLC (นลินา และสุดฤดี, 2552; Alan *et al.*, 1998)

### 2.2 ทดสอบประสิทธิภาพของ IAA และ $GA_3$ จาก SP007s ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของน้ำ

#### 2.2.1 ทดสอบบนกระดาษขึ้น

ทดสอบประสิทธิภาพของฮอร์โมนที่สกัดได้จากเชื้อปฏิภักษ์ SP007s ด้วยวิธีวางบนกระดาษขึ้น (blotter test) โดยคลุกเมล็ดค่น้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย 10% clorox นาน 3 นาที และล้างออกด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ ผึ่งให้หมาด 10 นาที คลุกด้วยฮอร์โมน IAA และ  $GA_3$  ซึ่งสกัดจากเชื้อปฏิภักษ์ SP007s อัตราส่วนเมล็ดต่อฮอร์โมนพืชแต่ละชนิดเท่ากับเมล็ด 1 กรัม/ฮอร์โมนพืช 1 มิลลิลิตร (ความเข้มข้น 25 ppm) เปรียบเทียบกับการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ IAA และ  $GA_3$  ในอัตราเดียวกันกับฮอร์โมนซึ่งสกัดจากเชื้อปฏิภักษ์ SP007s การใช้เชื้อสด SP007s ความเข้มข้น  $0.1OD_{600nm}$  (ความเข้มข้นเชื้อประมาณ  $10^6$  cfu/มิลลิลิตร) และน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ รวม 6 กรรมวิธี

โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD (completely randomized design) แต่ละกรรมวิธีมี 10 ซ้ำ แต่ละซ้ำมี 25 เมล็ด บันทึกผลอัตราการเจริญเติบโต (ความสูงต้น ความยาวราก และจำนวนรากแขนง) เมื่อค่น้ำอายุ 14 วัน

#### 2.2.2 ตรวจวัดปริมาณ IAA และ $GA_3$ ในกล้าน้ำ

นำต้นกล้าน้ำแต่ละกรรมวิธี (ข้อ 2.2.1) ชั่งน้ำหนัก 0.1 กรัม นำมาบดในโกรงที่เย็นด้วย homogenization buffer (0.1 M Tris-HCl buffer, pH 7, 0.1 M KCl, 1 mM PMSF, 1µg/มิลลิลิตร leupeptin, 1 % (v/v) Triton X-100 และ 3 % (w/v) PVPP) ที่เย็นจัด ปริมาตร 1 มิลลิลิตร โดยจะต้องอยู่บนน้ำแข็งตลอดเวลา แล้วนำไป vortex ให้เนื้อเยื่อพืชที่บดละเอียดผสมกัน ตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็ว 12,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตูดส่วนใสแต่ละกรรมวิธีมาตรวจวัดปริมาณ IAA และ  $GA_3$  ด้วยเทคนิค HPLC (นลินา และสุดฤดี, 2552; Alan *et al.*, 1998) และวิเคราะห์ข้อมูลหาค่าความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติโดย Duncan's new multiple rang tests (DMRT) โดยโปรแกรม R

### 2.3 ทดสอบประสิทธิภาพ IAA และ $GA_3$ ซึ่งผลิตจาก SP007s ในแปลงเกษตรกร

ทดสอบประสิทธิภาพของ IAA และ  $GA_3$  จาก SP007s ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคค่น้ำ โดยวางแผนการทดลองแบบ RCBD ในพื้นที่ 1 ไร่ กรรมวิธีมีทั้งหมด 7 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ (Table 1) โดยคลุกเมล็ดร่วมกับการพ่นใบทุก 14 วัน หลังปลูก เปรียบเทียบกรรมวิธีควบคุม (positive control) ที่ใช้ copper hydroxide และกรรมวิธีที่ไม่มีการพ่นแบคทีเรียหรือสารเคมีใด (negative control) ประเมินการเจริญเติบโตและความรุนแรงของโรคทุก ๆ 14 วัน

ข้อมูลที่ได้นำมาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน และค่า  
ความแตกต่างทางสถิติด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป

โปรแกรม R

**Table 1** Biological and chemical treatments on kale for plant growth promoting and controlling kale disease under field conditions

| Treatment code | Treatment details                                                                                            |
|----------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| T1             | Seed treated and foliar sprayed with IAA from SP007s at 14, 28, and 42-day after planting.                   |
| T2             | Seed treated and foliar sprayed with GA <sub>3</sub> from SP007s at 14, 28, and 42-day after planting.       |
| T3             | Seed treated and foliar sprayed with synthetic IAA at 14, 28, and 42-day after planting.                     |
| T4             | Seed treated and foliar sprayed with synthetic GA <sub>3</sub> at 14, 28, and 42-day after planting.         |
| T5             | Seed treated and foliar sprayed with SP007s (10 <sup>6</sup> cfu/ml) at 14, 28, and 42-day after planting.   |
| T6             | Seed treated with copper hydroxide and foliar sprayed with carbendazim at 14, 28, and 42-day after planting. |
| T7             | Nontreated                                                                                                   |

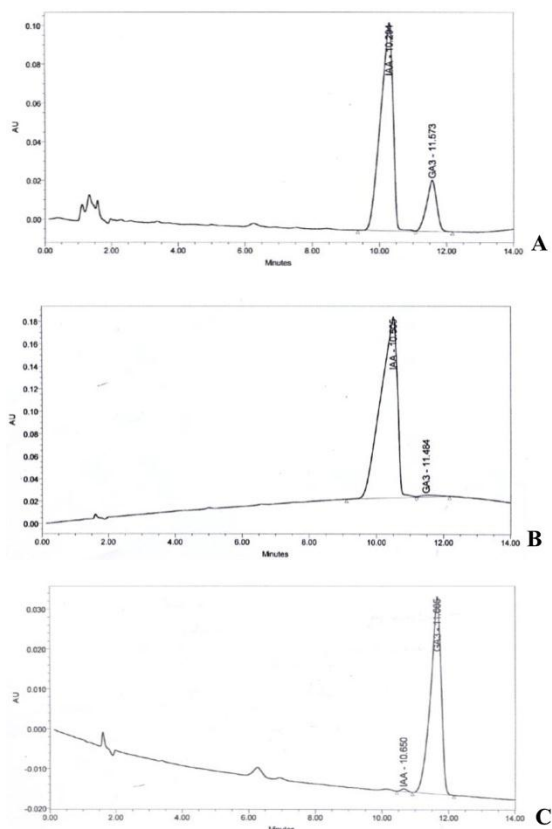
### 3. ผลการวิจัย

#### 3.1 การตรวจวัดปริมาณการผลิต IAA และ GA<sub>3</sub> ของ SP007s

การตรวจสอบปริมาณของ IAA และ GA<sub>3</sub> จาก crud extract ของเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ด้วยวิธี HPLC พบว่าเชื้อ SP007s สามารถผลิต IAA และ GA<sub>3</sub> ได้ในปริมาณเท่ากับ 47.5 µg ml<sup>-1</sup> และ 54.7 µg ml<sup>-1</sup> ตามลำดับ (Figure 1) ซึ่ง IAA มีบทบาทสำคัญต่อการยืดยาวและการแบ่งเซลล์ ตลอดจนเกี่ยวข้องกับโดยตรงกับกระบวนการและกลไกการป้องกันตนเองของพืช (Ma *et al.*, 2011) โดยจุลินทรีย์หลายชนิดสามารถผลิต IAA ได้รวมทั้งแบคทีเรียในกลุ่ม Pseudomonads (Tsavkelova *et al.*, 2006; Ahmad *et al.*, 2008) นอกจากแบคทีเรียยังมียูแคริโอตอีกหลายชนิดที่สามารถผลิต IAA

ได้แก่ ยีสต์ และรา *Trichoderma* sp. เป็นต้น (Tsavkelova *et al.*, 2006) IAA นอกจากจะมีผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตของพืชแล้วยังมีความสำคัญทางอ้อมในการฟื้นฟูสภาพแวดล้อมโดยกระตุ้นการเจริญที่ปลายรากพืชทำให้มีพื้นที่ผิวสัมผัสเพิ่มขึ้น เพิ่มความสามารถในการลำเลียงธาตุอาหารและดูดซึมสารต่าง ๆ รวมทั้งการหลั่งสารจากรากพืชเพื่อมาสนับสนุนการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุและสารพิษ (Yang *et al.*, 2009) ในขณะที่ฮอร์โมน GA<sub>3</sub> มีบทบาทสำคัญต่อการแบ่งเซลล์และการยืดยาวของเซลล์พืช รวมทั้งกระตุ้นการงอกของเมล็ด ตลอดจนควบคุมการพักตัวของตาอดและตาดอก ทั้งยังชะลอความแก่ในอวัยวะของพืชหลายชนิด (Bottini *et al.*, 2004) ซึ่ง

จุลินทรีย์ส่วนใหญ่สามารถผลิต  $GA_3$  ได้ (Tsavkelova *et al.*, 2006) แต่  $GA_3$  ที่ผลิตจากจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ไม่มีความจำเป็นต่อจุลินทรีย์ที่ผลิตขึ้นแต่เป็นเมแทบอไลต์ทุติยภูมิที่มีความสำคัญต่อพืช (Bottini *et al.*, 2004)



**Figure 1** PR-HPLC profile of indole-3-acetic acid (IAA) and gibberellins ( $GA_3$ ) by *Pseudomonas fluorescens* SP007s in NGB medium (A) compared with standard curve of synthetics IAA (B) and  $GA_3$  (C). The condition of HPLC are including Sunfire column 5  $\mu$ m C18 4.6x150 nm, mobile phase=26%V/V (ACN/ $H_2O$ , pH 4), flow rate=1.2 ml/min, and injection volume=10  $\mu$ l.

## 3.2 ทดสอบประสิทธิภาพของ IAA และ $GA_3$ จาก SP007s ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

### 3.2.1 การทดสอบบนกระดาดขี้

ทดสอบประสิทธิภาพของฮอร์โมนที่สกัดได้จากเชื้อปฏิปักษ์ SP007s ด้วยวิธีวางบนกระดาดขี้ผลการทดลองพบว่า IAA และ  $GA_3$  ที่สกัดได้จาก SP007s มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ไม่แตกต่างกับ IAA และ  $GA_3$  สังเคราะห์ ( $P = 0.05$ ) โดย IAA และ  $GA_3$  ที่ได้จาก SP007s มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมความแข็งแรงของต้นกล้าของพืช โดยกระตุ้นเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด รากแขนง ความสูงต้น และความยาวราก เท่ากับ 99.0 %, 10.4, 5.9 และ 5.8 เซนติเมตร; และ 99.1 %, 9.0, 5.9 และ 6.2 เซนติเมตร ตามลำดับ (Table 2) จุลินทรีย์ที่มีสมบัติ PGPR (plant growth promoting rhizosphere) หรือ PGPB (plant growth promoting rhizobacteria) จะมีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้โดยตรง วิลาวรรณ และคณะ (2549) ได้รายงานไว้ว่า SP007s เป็นแบคทีเรียที่มีสมบัติเป็น PGPB ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในตระกูลกะหล่ำ (Brassicaceae) โดยทั่วไปจุลินทรีย์กลุ่มนี้จะมีการผลิตสารที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต เช่น ฮอร์โมนพืชเพื่อกระตุ้นให้พืชมีการเจริญเติบโต ประกอบด้วยไซยาไนด์ซิเตอร์โรฟลอร์ และฮอร์โมนโดยเฉพาะออกซิน จิบเบอเรลลิน และไซโตไคนิน เป็นต้น (Arshad and Frankenberger, 1992) และ IAA ก็เป็นฮอร์โมนหนึ่งที่มีความสำคัญในกลุ่มของออกซิน (Lynch, 1985) จุลินทรีย์จะผลิตและปลดปล่อยออกซินเหมือนกับการปลดปล่อย secondary metabolites จุลินทรีย์ต่างชนิดจะมีประสิทธิภาพในการปลดปล่อยฮอร์โมนในปริมาณที่แตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยที่ SP007s มีประสิทธิภาพใน

การผลิตและปลดปล่อยฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตพืชโดยเฉพาะ IAA และ GA<sub>3</sub> และมี

สมบัติไม่แตกต่างจาก IAA และ GA<sub>3</sub> ที่ได้จากการสังเคราะห์

**Table 2** Efficacy of IAA and GA<sub>3</sub> bio-synthesis in the strain SP007s enhanced plant growth promotion of kale under greenhouse conditions

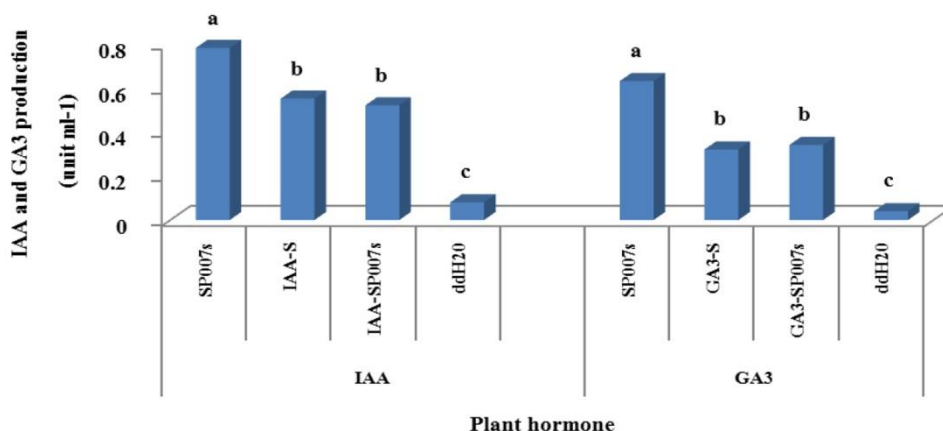
| Treatment <sup>1/</sup> | Plant growth parameter |                  |                             |                   |
|-------------------------|------------------------|------------------|-----------------------------|-------------------|
|                         | Seed germination (%)   | Root length (cm) | Number of lateral root (cm) | Plant height (cm) |
| SP007s                  | 98.6a                  | 5.7a             | 10.8a                       | 6.0a              |
| IAA-S                   | 99.1a                  | 6.0a             | 11.2a                       | 5.9a              |
| GA <sub>3</sub> -S      | 99.2a                  | 5.5a             | 9.2b                        | 6.2a              |
| IAA-SP007s              | 99.0a                  | 5.9a             | 10.4a                       | 5.8a              |
| GA <sub>3</sub> -SP007s | 99.1a                  | 5.9a             | 9.0b                        | 6.2a              |
| ddH <sub>2</sub> O      | 95.3b                  | 3.6b             | 8.2c                        | 4.7b              |

<sup>1/</sup>SP007s = *Pseudomonas fluorescens*, IAA-S = synthetic indole-3-acetic acid, GA<sub>3</sub>-S = synthetic gibberellic acid, IAA-SP007s = indole-3-acetic acid produced from SP007s, and GA<sub>3</sub>-SP007s produced from SP007s.

### 3.2.2 การตรวจวัดปริมาณ IAA และ GA<sub>3</sub> ในกล้าคะน้า

ผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองข้างต้นเกี่ยวกับประสิทธิภาพของ IAA และ GA<sub>3</sub> ที่สกัดได้จาก SP007s ไม่มีความแตกต่างกันระหว่าง IAA และ GA<sub>3</sub> ที่สังเคราะห์ซึ่งพบว่าปริมาณ IAA และ GA<sub>3</sub> ที่สะสมอยู่ในพืชหลังมีการกระตุ้นด้วย IAA และ GA<sub>3</sub> ที่ได้จากการสกัดจาก SP007s มีปริมาณ เท่ากับ 0.52 และ 0.34 unit ml<sup>-1</sup> ตามลำดับ แต่ผลการทดลองเป็นที่น่าสนใจเมื่อการกระตุ้นให้พืชมีการสร้างและสะสม IAA และ GA<sub>3</sub> ด้วยเชื้อสดมีปริมาณของ IAA และ GA<sub>3</sub> สะสมสูงกว่า IAA และ GA<sub>3</sub> ที่เชื้อปฏิภักษ์สังเคราะห์ได้ โดยมีปริมาณเท่ากับ 0.78 และ 0.63 µg ml<sup>-1</sup> ตามลำดับ (Figure 2) การกระตุ้นให้พืชมีการสร้างและสะสม IAA และ GA<sub>3</sub> ด้วยเชื้อสดมีปริมาณของ IAA และ GA<sub>3</sub> สะสมสูงกว่า IAA และ GA<sub>3</sub> สังเคราะห์กับ IAA และ GA<sub>3</sub> ที่ได้จากการสกัดจาก SP007s เนื่องจาก

จากเซลล์จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์จะมีประสิทธิภาพในการกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงโปรตีนของพืช ซึ่งเป็นการทำงานร่วมกันของยีนหลายชนิด (gene linkage) ซึ่งขึ้นกับความสัมพันธ์โดยตรงระหว่างชนิดพืชกับเชื้อจุลินทรีย์ปฏิภักษ์แต่ละชนิด (Ramamoorthy *et al.*, 2002) ซึ่ง IAA เป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็น signal molecule จะส่งสัญญาณตัวกลางให้พืชเกิดความต้านทานทั้งระบบ (systemic acquired resistance, SAR และ induced systemic resistance, ISR) (van Loon and van Strien, 1999) ส่งผลให้พืชมีความแข็งแรง และสามารถเจริญรอดพ้นจากการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคและเจริญเติบโตได้ดี โดยเฉพาะในระยะแรกที่พืชเริ่มออกก็สามารถเจริญรอดพ้นการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรค และกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อเชื้อสาเหตุโรคในระยะต่อมาทำให้พืชแข็งแรงมากขึ้น



**Figure 2** Productions of IAA and GA<sub>3</sub> from SP007s to enhance IAA and GA3 accumulation in kale seedling.

### 3.3 ทดสอบประสิทธิภาพ IAA และ GA<sub>3</sub> ซึ่งผลิตจาก SP007s ในแปลงเกษตรกร

การทดสอบประสิทธิภาพ IAA และ GA<sub>3</sub> ซึ่งผลิตจาก SP007s ในสภาพแปลงผลิตคะน้าอินทรีย์ จังหวัดอ่างทอง พบว่ากรรมวิธี T1-T6 มีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกัน ( $P = 0.05$ ) ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของคะน้าในทุกดัชนีชี้วัด (ความสูงต้น ความยาวราก ความกว้างและยาวใบ) ในขณะที่กรรมวิธี T5 ที่มีการใช้เชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* SP007s มีประสิทธิภาพดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่น ๆ (Table 3) โดยมีเปอร์เซ็นต์การลดโรคขอบใบทองและโรคใบจุดอัลเทอร์นาเรียเท่ากับ 71.3 และ 73.9 % ตามลำดับ (Table 3) จากการศึกษางานพบว่าเชื้อ SP007s มีกลไกที่สามารถสังเคราะห์ IAA และ GA<sub>3</sub> กระตุ้นให้พืชเจริญเติบโตได้ดี และลดพันการเข้าทำลายของเชื้อโรคพืชซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Buensanteai *et al.* (2008) ที่รายงานว่า *Bacillus amyloliquefaciens* KPS46 สามารถผลิต IAA ที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตและควบคุมโรคถั่วเหลืองได้อย่างมีประสิทธิภาพและการที่เชื้อปฏิปักษ์ SP007s มีประสิทธิภาพที่ดีกว่าการใช้ฮอร์โมนที่สกัดได้จาก

SP007s หรือสังเคราะห์ และสารเคมี เนื่องมาจากกลไกการทำงานของ SP007s สามารถแสดงออกได้หลายกลไกโดยพบว่า SP007s มีกลไกที่สำคัญในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชโดยมีสมบัติเป็น PGPR และกลไกสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมเชื้อโรคคือกลไกการผลิตสารปฏิชีวนะ ซึ่งจากการรายงานของ Kladsuwan *et al.* (2013) พบว่า SP007s สามารถผลิตสารปฏิชีวนะได้หลายชนิดส่งผลให้ SP007s มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้ดีกว่าการใช้สารเคมีตลอดจนในฤดูปลูก SP007s สามารถเพิ่มปริมาณได้เองอย่างต่อเนื่องตลอดจนครบฤดูปลูกรวมทั้งยังสามารถอยู่ข้ามฤดูได้ ทำให้ฤดูปลูกถัดไปสามารถลดจำนวนครั้งในการพ่นเชื้อปฏิปักษ์ลงได้ (วิลาวรรณ และ สุดฤดี, 2551) นำมาซึ่งการเพิ่มผลผลิตที่ดีตลอดจนสามารถลดต้นทุนการผลิตพืชผักในระบบเกษตรอินทรีย์ได้อีกด้วย

### 4. สรุป

แบคทีเรียที่มีประโยชน์ *P. fluorescens* SP007s สามารถผลิตฮอร์โมน indole-3-acetic acid (IAA) และ gibberellins (GA<sub>3</sub>) ที่มี

ประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของคะน้าให้แข็งแรงต้านทานโรคขอบใบทองและใบจุดอัลเทอเนเรีย ซึ่งประสิทธิภาพของ IAA และ GA<sub>3</sub> ที่เชื้อ SP007s ผลิตขึ้นสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของคะน้าได้ดีในทุกดัชนีชี้วัด โดยสามารถกระตุ้นการงอกของเมล็ด เพิ่มความยาว

ราก ความสูงต้น และปริมาณรากแขนง ซึ่งดัชนีชี้วัดดังกล่าวมีผลโดยตรงทำให้ส่วนลำต้นเหนือดินมีการเจริญเติบโตรวดเร็วลดพ้นจากการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรค รวมทั้งการเพิ่มปริมาณผลผลิตคุณภาพปลอดภัย

**Table 3** Efficacy of IAA and GA<sub>3</sub> bio-synthesis in the strain SP007s enhanced plant growth promotion of kale under field conditions<sup>1/</sup>

| Treatment code <sup>2/</sup> | Plant growth promotion (cm) |       |       |       |      | Disease reduction (%) |       |
|------------------------------|-----------------------------|-------|-------|-------|------|-----------------------|-------|
|                              | Ph                          | RI    | Lw    | LI    | Sd   | Br                    | AI    |
| T1                           | 49.8a                       | 12.1a | 22.5b | 37.2a | 1.5a | 65.2b                 | 58.8b |
| T2                           | 48.2a                       | 11.8a | 22.3b | 38.0a | 1.5a | 63.8b                 | 59.2b |
| T3                           | 48.5a                       | 12.3a | 23.1b | 38.8a | 1.4a | 62.2b                 | 62.7b |
| T4                           | 48.6a                       | 12.0a | 23.6b | 38.2a | 1.5a | 60.1b                 | 61.2b |
| T5                           | 49.2a                       | 12.5a | 22.3b | 38.9a | 1.6a | 71.3a                 | 73.9a |
| T6                           | 50.2a                       | 12.5a | 25.4a | 40.1a | 1.5a | 57.9c                 | 42.9c |
| T7                           | 35.7b                       | 12.5a | 21.5b | 30.2b | 0.9b | 0.0                   | 0.0   |

<sup>1/</sup>Ph = plant height, RI = root length, LW = leaves wide, LI = leaves length, Sd = stem diameter, Br = black rot and AI = Alternaria leaf spot.

<sup>2/</sup>Treatment details followed by Table 1.

## 5. เอกสารอ้างอิง

นลินา เหมสนธิ และสุดฤดี ประเทืองวงศ์, 2552, *Pseudomonas fluorescens* SP007s กระตุ้นให้คะน้าสร้าง salicylic acid เพื่อด้านทานการเกิดโรคขอบ, น. 611-620, ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 46, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วิลารรณ เชื้อบุญ, 2551, ลักษณะและการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในการควบคุมเชื้อ *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* สาเหตุโรคน้ำและกะหล่ำดอก, วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วิลารรณ เชื้อบุญ, ศศิธร วุฒินิชย์,ชัยสิทธิ์ ปรีชา, สุพจน์ กาเซ็ม, ณัฐริญา เบื่อนสันเทียะ และสุดฤดี ประเทืองวงศ์, 2549, การส่งเสริมการเจริญเติบโตและชักนำภูมิต้านทานโรคของกะหล่ำดอกและผักคะน้าด้วยเชื้อจุลินทรีย์และสารชีวภัณฑ์ธรรมชาติ, ว.เคหะการเกษตร 29: 271-272.

วิลารรณ เชื้อบุญ และสุดฤดี ประเทืองวงศ์, 2551, ความถี่และความเข้มข้นที่เหมาะสมของเชื้อแบคทีเรียที่มีประโยชน์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมโรคสำคัญของกะหล่ำดอก, น. 572-580, ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

- Ahmad, F., Ahmad, I. and Khan, M.S., 2008, Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities, *Microbiol. Res.* 163: 173-181.
- Alan, C., Arruda, P., Jasmim, J.M., Monteiro, A.M. and Sandberg, G., 1988, Analysis of indole-3-acetic acid and related indoles in culture medium from *Azospirillum lipoferum* and *Azospirillum brasilense*, *Appl. Environ. Microbiol.* 54: 2833-2837.
- Arshad, M. and Frankenberger, W.T., 1992, Microbial Production of Plant Growth Regulators, pp. 307-347, In Metting, F.B.Jr. (Ed.), *Soil Microbial Ecology*, Marcel Dekker Inc., New York.
- Bottini, R., Cassán, F. and Piccoli, P., 2004, Gibberellin production by bacteria and its involvement in plant growth promotion and yield increase, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 65: 497-503.
- Buensanteai, N., Yuen, G.Y. and Prathuangwong, S., 2008, The biocontrol bacterium *Bacillus amyloliquefaciens* KPS46 produces auxin, surfactin and extracellular proteins for enhanced growth of cucumber plant, *Thai J. Agric. Sci.* 41(3-4): 101-116.
- Chuaboon, W. and Prathuangwong, S., 2008, Biological control with screen bacterial antagonist for reducing cauliflower disease, In *Proceeding of RGJ-PHD IX and MAG congress II Conference*, Jomtien Palm Beach Resort, Chonburi.
- Farnham, M.W. and Kopsell, D.A., 2009, Importance of genotype on carotenoid and chlorophyll levels in broccoli heads, *Hort. Sci.* 44: 1248-1253.
- Kladsuwan, L., Chuaboon W. and Prathuangwong, S., 2013, Identification of *Pseudomonas fluorescens* SP007s genes involved in antibiotic synthesis against *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* 12-2, In *Proceeding of 51<sup>th</sup> Kasetsart University Annual Conference*, Bangkok.
- Lynch, J.M., 1985, Origin, Nature and Biological Activity of Aliphatic Substances and Growth Hormones Found, in Soil, In Vaughan, D. and Malcom R.E. (Eds.), *Martinus Soil Organic Matter and Biological Activity*, Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht.
- Ma, Y., Prasad, M.N.V., Rajkumar, M. and Freitas, H., 2011, Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils, *Biotechnol. Adv.* 29: 248-258.
- Prathuangwong, S., Chuaboon, W., Kasem, S., Hiromitsu, N. and Suyama, K., 2007, Formulation development of *Pseudomonas fluorescens* SP007s to control Chinese kale diseases in farming production, *J. ISSAAS* 13(2): 125.
- Prathuangwong, S., Kasem, S., Chuaboon, W., Hiromitsu, N. and Suyama, K., 2006, Characterization and identification of new potential bacteria for biological control of plant diseases, pp. 65-66, In *Proceeding*

- of the ISSAAS International Congress, Kuala Lumpur.
- Prathuangwong, S., Chuaboon, W., Kasem, S., Athinuwat, D., Suyama, K. and Negishi, H., 2009, Potential for application time of *Pseudomonas fluorescens* SP007s and biofertilizer for Alternaria leaf spot management of Chinese kale, J. ISSAAS 15: 231-258.
- Prathuangwong, S., Preecha, C., Vudhivanich, S., Kasem, S., Buensanteai, N. and Chuaboon, W., 2005. Occurrence and biological control of cauliflower at Suphanburi, In Proceeding of the ISSAAS International Congress 2005, Hanoi.
- Ramamoorthy, V., Raguchander, T. and Samiyappan, R., 2002, Induction of defense-related proteins in tomato roots treated with *Pseudomonas fluorescens* Pf1 and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, Plant Soil 239: 55-68.
- Tsavkelova, E.A., Klimova, S.Y., Cherdyntseva, T.A. and Netrusov, A.I., 2006, Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: A review, Appl. Biochem. Microbiol. 42: 117-126.
- van Loon, L.C. and van Strien, E.A., 1999, The families of pathogenesis-relate proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type protein, Physiol. Mol. Plant Pathol. 55:8597.
- Zeigler, R.S., Powell, L.E. and Thurston, H.D., 1980, Gibberellin A4 production by *Sphaceloma manihoticola*, causal agent of cassava supererogation disease, Phytopathology 70: 589-593.
- Yang, O., Li, C., Li, H., Li, Y. and Yu, N., 2009, Degradation of synthetic reactive azo dyes and treatment of textile wastewater by a fungi consortium reactor, Biochem. Eng. J., 43: 225-230.