

ประสิทธิภาพสารกรองของ *Pseudomonas fluorescens* ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้ายางพารา

Efficacy of the Cell-free Filtrate of *Pseudomonas fluorescens* to Enhance Growth of Para-rubber Seedling

อภิวัด วังศ์จินดาคุณ, วิลาวรรณ เชื้อบุญ และดุสิต อธินวัด*

สาขาการจัดการเกษตรอินทรีย์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

Apiwat Wongchindakhun, 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

แบคทีเรียรอบรากพืชมีรายงานว่าสามารถผลิตสารกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชได้ เช่น indole-3-acetic acid (IAA) การวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการผลิต IAA ของแบคทีเรียรอบรากพืช *Pseudomonas fluorescens* ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้ายางพารา ผลการทดลองพบว่า *P. fluorescens* สามารถผลิต IAA ได้สูงสุด $47.52 \mu\text{g ml}^{-1}$ ภายใน 24 ชั่วโมง ภายใต้สภาพหลอดทดลอง ซึ่งตรวจสอบด้วยเทคนิค high-performance liquid chromatography (HPLC) ต่อมาได้ทำการคลุกเมล็ดยางพันธุ์ RRIM600 ด้วยสารกรองของ *P. fluorescens* พบว่าสามารถส่งเสริมให้ต้นกล้ายางมีความสูงต้น ความยาวราก และเส้นรอบวงลำต้น เมื่ออายุ 30 และ 60 วัน เท่ากับ 26.72, 9.02 และ 0.26 เซนติเมตร และ 40.23, 13.10 และ 0.30 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม ($P = 0.05$) สารกรองดังกล่าวสามารถกระตุ้นให้ต้นกล้ายางมีการผลิตฮอร์โมน IAA ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง โดยกิจกรรมของ IAA จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเท่ากับ $3.54 \mu\text{g mg}^{-1}$ หลังต้นกล้าออก 7 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่น ๆ ($P = 0.05$) ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า การชักนำการเจริญเติบโตของต้นกล้ายางโดยใช้สารกรองของ *P. fluorescens* ผ่านกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีภายในเซลล์พืชให้มีการสะสมสารกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชซึ่งเกี่ยวข้องกับการผลิต IAA ดังนั้นการประยุกต์ใช้สารกรองของ *P. fluorescens* เป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโตพืชจึงมีความเป็นไปได้และเป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการส่งเสริมสุขภาพพืช

คำสำคัญ : ฮอร์โมนพืช; การเกษตรยั่งยืนต้นทุนต่ำ; การควบคุมโดยชีววิธี; ส่งเสริมสุขภาพพืช

Abstract

Plant growth promoting rhizobacteria (PGPB) has been reported to produce plant-growth regulators such as indole-3-acetic acid (IAA). This study focused on PGPB, *Pseudomonas fluorescens* IAA production to enhance growth of para-rubber seedling. Results showed that, *P. fluorescens* secreted high levels of IAA within 24 h at a concentration of $47.52 \mu\text{g ml}^{-1}$ in vitro determined by high-performance liquid chromatography (HPLC). Subsequently, the para rubber cultivar RRIM600 seed treated with the cell-free filtrate of *P. fluorescens* increased significantly of stem height, root length, and stem circumference on 30 and 60-day-old plant with 26.72, 9.02, and 0.26 cm and 40.23, 13.10, and 0.30 cm, respectively ($P = 0.05$). The cell-free filtrate also triggered slightly increase expression of plant growth hormones, IAA under greenhouse conditions. The activity of IAA was increased immediately after seed treated with the cell-free filtrate reaching peak levels at 7 days at $3.54 \mu\text{g mg}^{-1}$ compared to control treatments ($P = 0.05$). Growth induction of para-rubber seedling by *P. fluorescens* cell-free filtrate through the biochemical changes brings about accumulation of plant growth regulator that relates to biosynthesis of IAA. The application of the cell-free filtrate of *P. fluorescens* as regulators enhance growth will be compatible and alternative with its use for plant health promotion.

Keywords: phytohormone; low input sustainable agriculture; biocontrol; enhance plant health

1. คำนำ

ปัจจุบันมีรายงานว่าการใช้ปุ๋ยชีวภาพและสารทุติยภูมิที่เชื้อจุลินทรีย์สร้างขึ้นหลายชนิด สามารถมีปฏิสัมพันธ์ที่ให้คุณประโยชน์หลายแนวทางต่อพืช (Prathuangwong and Buensanteai, 2007) รวมทั้งกระตุ้นการแบ่งเซลล์ ชักนำระบบภูมิคุ้มกัน รักษาสมดุลภายในของเซลล์พืชในสภาวะเครียด ส่งผลต่อการเพิ่มผลผลิตทั้งปริมาณและคุณภาพ หน้าที่ของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อพืช ได้แก่ การตรึงไนโตรเจน ละลายฟอสเฟตและธาตุอาหารพืชอื่น ๆ ป้องกันการเข้าทำลายพืชจากเชื้อโรคพืชและแมลงศัตรูพืชโดยกลไกการเป็นปรสิตและการเป็นตัวห้ำ การชักนำให้พืชผลิตฮอร์โมนพืช และการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต้านทานพืชทั้งระบบ ซึ่งจุลินทรีย์หนึ่งสายพันธุ์อาจมีหนึ่งหรือมากกว่าหนึ่งกลไกดังที่กล่าวมาแล้ว ตัวอย่างกรณีแบคทีเรีย

บริเวณรอบรากพืช *Bacillus amyloliquefaciens* KPS46 และ *Pseudomonas fluorescens* SP007s ที่มีประสิทธิภาพหลากหลายทั้งการผลิตสารปฏิชีวนะ (สุดฤดี และคณะ, 2552ก; สุดฤดี และคณะ, 2552ข) การแย่งใช้ธาตุเหล็กจากเชื้อโรคพืช และการชักนำภูมิคุ้มกันต้านทานพืช เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชให้รอดพ้นจากการรบกวนของศัตรูพืชและสภาวะความเครียดต่าง ๆ (Buensanteai *et al.*, 2008; 2012) โดยการใช้จุลินทรีย์มีหลายรูปแบบ ได้แก่ การใส่หรือรดดิน (Prathuangwong and Athinuwat, 2009) การคลุกเมล็ดหรือจุ่มส่วนขยายพันธุ์พืช รวมทั้งการพ่นต้นพืช (Athinuwat *et al.*, 2007; Athinuwat *et al.*, 2014; Prathuangwong *et al.*, 2005; Prathuangwong *et al.*, 2009a; Prathuangwong *et al.*, 2009b; Prathuangwong *et al.*, 2013)

งานวิจัยเหล่านี้บ่งชี้ถึงความสำคัญของเอนไซม์และสารชนิดต่าง ๆ ในระบบภูมิคุ้มกัน การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการศึกษาเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* ซึ่งสามารถผลิต elicitor กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของพืชได้หลายกลไกเป็นต้นแบบ ซึ่งหากเชื้อนี้สามารถชักนำให้ต้นกล้วยผลิตฮอร์โมนพืช IAA ทำให้เจริญเติบโตรวดเร็ว เช่นเดียวกับผลการศึกษาวิจัยในพืชอื่น ๆ ที่ผ่านมา ก็จะทำให้การเตรียมความพร้อมของต้นตอสำหรับการติดตาได้เร็วขึ้น ซึ่งสามารถช่วยลดการใช้สารเคมีหรือเทคนิคดั้งเดิม นอกจากนี้ยังช่วยลดต้นทุนการผลิตของเกษตรกรต่อไปในอนาคต

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การวัดปริมาณการผลิต IAA ของเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens*

เลี้ยงแบคทีเรีย *P. fluorescens* ในอาหาร nutrient glucose broth (NGB) ปริมาตร 250 มิลลิลิตร เขย่า 120 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้อง (28-33 °C) นาน 72 ชั่วโมง โดยเก็บตัวอย่างสารแขวนลอยเซลล์แบคทีเรียทุก 12 ชั่วโมง นำมาปั่นตกตะกอนเซลล์ 12,000 รอบ/นาที นาน 10 นาที เก็บส่วนใส (supernatant) ที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อนำ supernatant ของ *P. fluorescens* ไปปรับค่า pH ให้มีค่าเท่ากับ 2.5 แล้วนำไปสกัดแยกส่วนด้วยเอทิลอะซิเตท 3 ครั้ง ด้วยปริมาตรครั้งละ 1/3 เท่าของ supernatant (Zeigler *et al.*, 1980) จากนั้นลดปริมาตรด้วย rotary evaporation method นำ crude extract ที่ได้ไปตรวจวัดปริมาณของ IAA ด้วยวิธี HPLC (นลินาและสุดฤดี, 2552; Alan *et al.*, 1988)

2.2 ศึกษาผลของการใช้เชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* และสารกรองต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้า

2.2.1 ศึกษาผลของการใช้เชื้อปฏิปักษ์

P. fluorescens และสารกรองต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้วยพันธุ์ RRIM600 ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง ณ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ โดยวางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) จำนวน 6 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 30 เมล็ด จำนวน 10 ซ้ำ ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 คลุกเมล็ดด้วยเซลล์สดเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* (10^8 cfu/ml) ใน NGB

กรรมวิธีที่ 2 คลุกเมล็ดด้วยสารกรองเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens*

กรรมวิธีที่ 3 คลุกเมล็ดด้วยเซลล์สดเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* (10^8 cfu/ml) ในน้ำ

กรรมวิธีที่ 4 คลุกเมล็ดด้วยเซลล์ตายเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* (10^8 cfu/ml) ใน NGB

กรรมวิธีที่ 5 คลุกเมล็ดด้วยสาร salicylic acid เข้มข้น 2.5 mM

กรรมวิธีที่ 6 คลุกเมล็ดด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ

โดยคลุกเมล็ดอย่างพาราพันธุ์ RRIM600 ด้วยสารกระตุ้นต่าง ๆ อัตรา 10 มิลลิลิตร : เมล็ดอย่างพารา 1 กิโลกรัม ตามกรรมวิธี 1-6 ผึ่งเมล็ดจนหมาดจากนั้นจึงนำเมล็ดในแต่ละกรรมวิธีไปเพาะในขุยมะพร้าว เก็บรักษาเมล็ดไว้ในเรือนปลูกพืชทดลองจนกระทั่งเมล็ดแตกยอดและรากอ่อน วัดอัตราการงอก และย้ายแต่ละเมล็ดที่งอกไปปลูกในถุงชำแต่ละถุงที่บรรจุดิน 3/4 ของถุงชำ รดน้ำเช้า-เย็น จึงวัดการเจริญเติบโต ได้แก่ ความสูงต้น ความยาวราก และเส้นรอบวงของลำต้นต้นกล้วยพาราเมื่ออายุ 1 และ 2 เดือน วิเคราะห์หาความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติโดย Duncan's new multiple range tests (DMRT)

2.2.2 วิเคราะห์ปริมาณการผลิต IAA ใน

ต้นกล้า

วิเคราะห์ปริมาณ IAA ที่สะสมในต้นกล้าอย่างพาราพันธ RRIM600 โดยนำไปยางที่แผ่เต็มที่ในตำแหน่งเดียวกันของแต่ละกรรมวิธีมาชั่งน้ำหนัก 0.1 กรัม นำมาบดในโกร่งที่เย็นด้วยบัฟเฟอร์ (0.1 M Tris-HCl buffer, pH 7, 0.1 M KCl, 1 mM PMSF, 1 µg/ml leupeptin, 1 % (v/v) Triton X-100 3 % (w/v) PVPP) ที่เย็นจัดปริมาตร 1 มิลลิลิตร โดยจะต้องเตรียมอยู่บนน้ำแข็งตลอดเวลาแล้วนำไป vortex ให้เนื้อเยื่อพืชที่บดละเอียดตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็ว 12,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C ตูตสารละลาย IAA มาตรฐาน และส่วนน้ำไซของ แต่ละกรรมวิธีมาใส่ในหลอดไมโครเซ็นติฟิวท์หลอดใหม่หลอดละ 500 µl บนน้ำแข็งเติม reagent หลอดละ 500 µl และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ความยาวคลื่น 535 nm ด้วยเครื่อง spectrophotometer CE 1011 1000 SERIES และเขียนกราฟมาตรฐาน (standard curve) ของ IAA โดยให้แนวตั้งเป็นค่าความเข้มข้นของ IAA แนวนอนเป็นค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้และวิเคราะห์ข้อมูลหาค่าความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติ โดย DMRT โปรแกรม R โดยวิเคราะห์ IAA ทุกวันเป็นเวลา 10 วัน หลังงอก

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 ปริมาณการผลิต IAA ของเชื้อปฏิภักษ์ *P. fluorescens*

การตรวจสอบปริมาณ IAA ของ *P. fluorescens* ด้วยวิธี HPLC พบว่า *P. fluorescens* สามารถผลิต IAA ได้ในปริมาณเท่ากับ 38.84, 47.52, 47.50, 47.51, 47.49 และ 43.02 µg ml⁻¹ เมื่อเลี้ยงเชื้อ 12, 24, 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมง

ตามลำดับ (Figure 1) ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าปริมาณการผลิต IAA ของ *P. fluorescens* เพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ โดยผลิตสูงสุดเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง เท่ากับ 47.52 µg ml⁻¹ และคงปริมาณการสะสม IAA อย่างสม่ำเสมอจนถึง 60 ชั่วโมง และลดลงอย่างแตกต่างทางสถิติ ($P = 0.05$) เมื่อเวลาผ่านไป 72 ชั่วโมง เนื่องจากปริมาณของ IAA ที่ถูกปลดปล่อยออกจากเซลล์แบคทีเรียแล้วจะสะสมอยู่ในอาหาร และที่ตรวจพบว่ามีปริมาณลดลงเนื่องมาจาก IAA เป็นโปรตีนที่มีความไวต่อแสงอัลตราไวโอเลต ดังนั้นเมื่อปลดปล่อยออกมาแล้วถูกแสงอัลตราไวโอเลตจึงทำให้ IAA มีปริมาณลดลงได้ (Spaepen *et al.*, 2007) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Tsavkelova และคณะ (2006) และ Ahmad และคณะ (2008) รายงานว่าแบคทีเรียในกลุ่ม *Pseudomonads* สามารถผลิต IAA ที่มีคุณสมบัติในการกระตุ้นการเจริญเติบโตพืชได้ ซึ่ง IAA มีบทบาทสำคัญต่อการยืดยาวและการแบ่งเซลล์ตลอดจนเกี่ยวข้องโดยตรงกับกระบวนการและกลไกการป้องกันตนเองของพืช (Ma *et al.*, 2011) นอกจากนี้ IAA ยังทำหน้าที่กระตุ้นการเจริญที่ปลายรากพืชทำให้มีพื้นผิวสัมผัสเพิ่มขึ้น เพิ่มความสามารถในการลำเลียงธาตุอาหารและดูดซึ่มสารมลพิษ รวมทั้งทำหน้าที่ในการหลังสารจากรากพืชเพื่อส่งสัญญาณและสนับสนุนการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์รอบรากพืช (Yang *et al.*, 2009)

3.2 ผลของการใช้เชื้อปฏิภักษ์ *P. fluorescens* และสารกรองต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้า

3.2.1 ผลของการใช้เชื้อปฏิภักษ์ *P. fluorescens* และสารกรองต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าอย่างพันธุ์ RRIM600

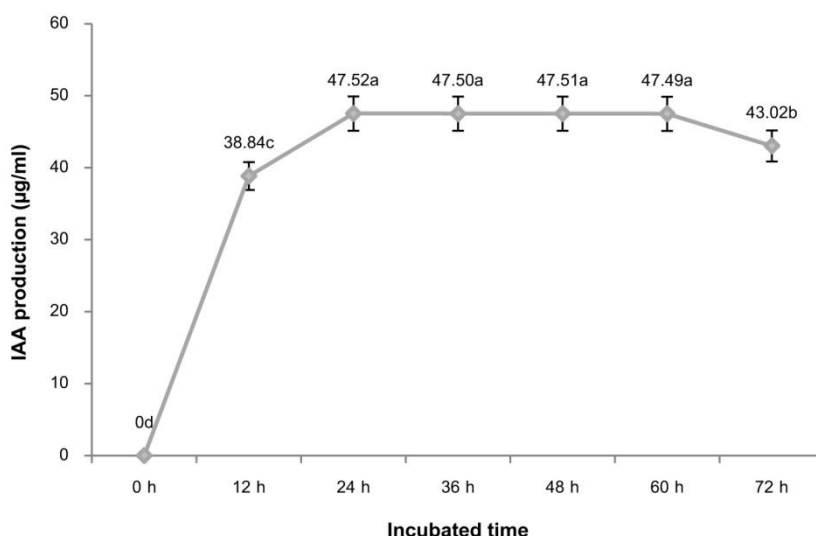


Figure 1 PR-HPLC profile of indole-3-acetic acid (IAA) by *Pseudomonas fluorescens* in NGB medium at 12, 24, 36, 48, 60, and 72 h. The condition of HPLC are including Sunfire column 5µm C18 4.6x150 nm, mobile phase = 26 % V/V (ACN/H₂O, pH 4), flow rate = 1.2 ml/min, and injection volume = 10 µl.

เมล็ดยางพันธุ์ RRIM600 ที่ได้รับการคลุกเมล็ดด้วยเซลล์สดเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* (10^8 cfu/ml) ใน nutrient glucose broth (NGB) (กรรมวิธีที่ 1) หรือสารกรองเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* (กรรมวิธีที่ 2) หรือเซลล์สดเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* (10^8 cfu/ml) ในน้ำ (กรรมวิธีที่ 3) อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัม มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุดคือ 98% ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติ ($P = 0.05$) กับเมล็ดยางที่ได้รับการคลุกเมล็ดด้วยเซลล์ตายเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* (10^8 cfu/ml) ใน NGB (กรรมวิธีที่ 4) สาร salicylic acid เข้มข้น 2.5 mM (กรรมวิธีที่ 5) และน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีที่ 6) ที่มีเปอร์เซ็นต์การงอก 96, 94 และ 92 % ตามลำดับ (Table 1)

เมื่อกล้ายางมีอายุ 1 เดือน พบว่ากรรมวิธีที่ 1 คลุกเมล็ดด้วยเซลล์สดเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* (10^8 cfu/ml) ใน NGB และกรรมวิธีที่ 2 คลุกเมล็ดด้วยสารกรองเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluores-*

cens ส่งผลให้กล้ายางมีความสูงต้น ความยาวราก และเส้นรอบวงลำต้นสูงสุด 26.82, 8.79 และ 0.26 เซนติเมตร ในกรรมวิธีที่ 1 และ 26.72, 9.02 และ 0.26 เซนติเมตร ในกรรมวิธีที่ 2 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างทางสถิติ ($P = 0.05$) กับกรรมวิธีควบคุมและกรรมวิธีอื่น ๆ (Table 1)

เมื่อกล้ายางมีอายุ 2 เดือน พบว่ากรรมวิธีที่ 1 คลุกเมล็ดด้วยเซลล์สดเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* (10^8 cfu/ml) ใน NGB และกรรมวิธีที่ 2 คลุกเมล็ดด้วยสารกรองเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* ยังคงมีประสิทธิภาพส่งเสริมให้กล้ายางมีความสูงต้น ความยาวราก และเส้นรอบวงลำต้นสูงสุด 40.60, 13.00 และ 0.31 เซนติเมตร ในกรรมวิธีที่ 1 และ 40.23, 13.10 และ 0.30 เซนติเมตร ในกรรมวิธีที่ 2 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างทางสถิติ ($P = 0.05$) กับกรรมวิธีควบคุมและกรรมวิธีอื่น ๆ (Table 2)

Table 1 Effect of the cell-free filtrate of *Pseudomonas fluorescens* on para-rubber seed germination and seedling growth promotion at 1 month after seed treatment

Treatment ^{1/}	Seed germination (%)	Stem height (cm)	Root length (cm)	Stem circumference (cm)
1	98	26.82a	8.79ab	0.26a
2	98	26.72a	9.02a	0.26a
3	98	25.19b	8.48bc	0.25b
4	96	25.29b	8.22c	0.25b
5	94	24.80c	8.13c	0.25b
6	92	22.99d	8.18c	0.22c

^{1/}T1 = seed treated with *P. fluorescens* (10^8 cfu/ml) in nutrient glucose broth (NGB), T2 = seed treated with the cell-free filtrate of *P. fluorescens*, T3 = seed treated with *P. fluorescens* (10^8 cfu/ml) in distilled water, T4 = seed treated with death cells of *P. fluorescens* (10^8 cfu/ml) in NGB, T5 = seed treated with 2.5 mM salicylic acid, and T6 = negative control.

Table 2 Effect of the cell-free filtrate of *Pseudomonas fluorescens* on para-rubber seedling growth promotion at 2 months after seed treatment

Treatment ^{1/}	Stem height (cm)	Root length (cm)	Stem circumference (cm)
1	40.60a	13.00a	0.31a
2	40.23a	13.10a	0.30a
3	38.87b	12.32b	0.29b
4	38.91b	12.31b	0.28bc
5	38.35b	11.82c	0.28c
6	36.97c	10.47d	0.27c

^{1/}T1 = seed treated with *P. fluorescens* (10^8 cfu/ml) in nutrient glucose broth (NGB), T2 = seed treated with the cell-free filtrate of *P. fluorescens*, T3 = seed treated with *P. fluorescens* (10^8 cfu/ml) in distilled water, T4 = seed treated with death cells of *P. fluorescens* (10^8 cfu/ml) in NGB, T5 = seed treated with 2.5 mM salicylic acid, and T6 = negative control.

3.2.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณการผลิต IAA ในต้นกล้า

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณการผลิต indole-3-acetic acid (IAA) ในต้นกล้าอย่างเป็นเวลา 10 วัน หลังออก พบว่ากรรมวิธีที่ 1 คลุกเมล็ดด้วย เชลล์สดเชื้อปฏิภาณ *P. fluorescens* (10^8 cfu/ml)

ใน NGB และกรรมวิธีที่ 2 คลุกเมล็ดด้วยสารกรอง เชื้อปฏิภาณ *P. fluorescens* มีประสิทธิภาพกระตุ้น ให้ต้นกล้าผลิต IAA และสะสมได้สูงสุดในวันที่ 5-7 หลังออก โดยเฉพาะกรรมวิธีที่ 2 คลุกเมล็ดด้วย สารกรองเชื้อปฏิภาณ *P. fluorescens* มีประสิทธิภาพกระตุ้นให้ต้นกล้าผลิต IAA สะสมได้สูงสุด

ในวันที่ 7 เท่ากับ $3.54 \mu\text{g mg}^{-1}$ ($P = 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (Figure 2) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Woodward และ Bartel (2005) ที่แสดงให้เห็นว่าออกซิน (auxin) สลายตัวเร็วในเนื้อเยื่อพืชซึ่งแตกต่างกับจิบเบอเรลลิน (gibberellin) ที่มีกิจกรรมทางสรีรวิทยาอยู่ได้เป็นระยะเวลานาน ซึ่งการสะสมจิบเบอเรลลินในเนื้อเยื่อพืชในปริมาณสูงจะไม่แสดงผลเสียต่อเนื้อเยื่อพืชแต่อย่างใดซึ่งตรงข้ามกับออกซิน ถ้าเนื้อเยื่อพืชมีปริมาณออกซินสูงเกินไปออกซินจะทำลายเนื้อเยื่อพืชได้ โดยออกซินกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในการสังเคราะห์เอทิลีน (ethylene) ในต้นพืชเพิ่มขึ้น ซึ่งชี้ให้เห็นว่าเหตุใดออกซินจึงจำเป็นต้องสลายตัวได้อย่างรวดเร็ว และนอกจากนี้แบคทีเรียปฏิกรณ์อื่น ๆ เช่น *Bacillus* sp., *Bacillus subtilis* TU-Orga1 และ *P. fluorescens* TU-Orga2 สามารถผลิตฮอร์โมนหรือสารกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช เช่น ออกซิน จิบเบอเรลลิน และ

ไซโตไคนิน (cytokinin) ซึ่งสามารถใช้แบคทีเรียเหล่านี้พ่นต้นและใบพืชเพื่อชักนำให้พืชผลิตสารกระตุ้นการเจริญเติบโตช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Buensanteai *et al.*, 2008; Buensanteai *et al.*, 2012; Prathuangwong *et al.*, 2013) อีกทั้งผลงานวิจัยยังสอดคล้องกับผลการศึกษาจุลินทรีย์และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจาก *Acaulospora denticulate*, *Glomus claroidium*, *Glomus clarum*, *Acaulospora foveata* และ *Entrophospora colombiana* ในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นยางพาราและการป้องกันกำจัดโรครากขาว ซึ่งส่งผลให้ต้นกล้ายางพารามีการเจริญเติบโตตอบสนองต่อจุลินทรีย์ดังกล่าวได้อย่างดี โดย *G. claroidium* สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นกล้ายางพาราได้ดีกว่าไม่มีการใส่เชื้อถึง 38 % เนื่องจากจุลินทรีย์ดังกล่าวมีศักยภาพในการผลิตฮอร์โมนพืชออกซินได้ดีที่สุด (สถาบันวิจัยยาง, 2555)

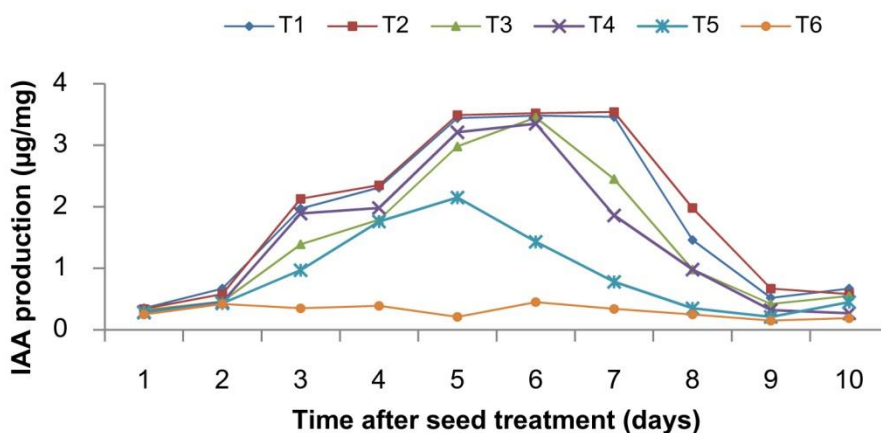


Figure 2 Productions of IAA from *Pseudomonas fluorescens* antagonistic bacteria to enhanced IAA accumulation in para-rubber seedling. T1 = seed treated with *P. fluorescens* (10^8 cfu/ml) in nutrient glucose broth (NGB), T2 = seed treated with the cell-free filtrate of *P. fluorescens*, T3 = seed treated with *P. fluorescens* (10^8 cfu/ml) in distilled water, T4 = seed treated with death cells of *P. fluorescens* (10^8 cfu/ml) in NGB, T5 = seed treated with 2.5 mM salicylic acid, and T6 = negative control.

4. สรุป

แบคทีเรียปฏิปักษ์ *P. fluorescens* สามารถผลิตฮอร์โมน indole-3-acetic acid (IAA) ในอาหารเหลว NGB ที่มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้วยพารา โดยสามารถกระตุ้นความสูงต้น ความยาวราก และเส้นรอบวงลำต้น ซึ่งดัชนีชี้วัดดังกล่าวมีผลโดยตรงทำให้ต้นกล้วยมีการเจริญเติบโตรวดเร็วรอดพ้นจากสภาวะแวดล้อมไม่เหมาะสมต่าง ๆ ผลการศึกษาวิจัยครั้งนี้จัดเป็นแนวทางในการนำสารกรองเชื้อปฏิปักษ์มาใช้ในการผลิตต้นต่อเพื่อเตรียมความพร้อมในการติดตามให้สามารถติดตามได้เร็วขึ้นทำให้ประหยัดเวลา

5. กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ โครงการวิจัยแห่งชาติ : ยางพารา สังกัดฝ่ายอุตสาหกรรม สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ที่สนับสนุนการศึกษาวิจัยครั้งนี้ และขอบคุณศูนย์เครื่องมือกลาง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ใช้ในการศึกษาวิจัย

6. เอกสารอ้างอิง

- นลินา เหมสนิท และสุดฤดี ประเทืองวงศ์, 2552, *Pseudomonas fluorescens* SP007s กระตุ้นให้คะน้าสร้าง salicylic acid เพื่อดำเนินการเกิดโรคขอบใบทอง, น. 611-620, ใน รายงานการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สถาบันวิจัยยาง, 2555, รายงานสรุปผลงานวิจัยและพัฒนายางพารา รอบ 9 เดือน (ตุลาคม 2554 - มิถุนายน 2555), กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- สุดฤดี ประเทืองวงศ์ติยากร, ฉัตรนภารัตน์ สุนันทนาถ นุราภักดิ์ และดุสิต อธินวัฒน์, 2552 ก, *Bacillus amyloliquefaciens* KPS46 ชักนำให้ถั่วเหลืองเกิดการต้านทานโรคด้วยการสร้าง salicylic acid เพิ่มขึ้นภายใต้การผลิตพืชระดับฟาร์ม, น. 13-14, ใน การประชุมวิชาการพืชไร่วงศ์ถั่วแห่งชาติ ครั้งที่ 2, 15-17 กรกฎาคม 2552, โรงแรมจอมเทียน ปาล์มบีช รีสอร์ท, ชลบุรี.
- สุดฤดี ประเทืองวงศ์, สมศิริ แสงโชติ, ศรีเมฆ ขาวโพงพาง, สุรเชษฐ จามรมาน, วิบูลย์ จงรัตนเมธีกุล, ทศพล พรพรหม, ติยากร ฉัตรนภารัตน์, สุนันทนาถ นุราภักดิ์, ดุสิต อธินวัฒน์, สุพจน์ กาเซ็ม และจาร์วัฒน์ เกษธรรมพิทักษ์, 2552ข, การตัดสินใจใช้พันธุ์พืชที่เหมาะสมและการลดการใช้สารเคมีในระบบการจัดการศัตรูพืชแบบผสมผสานเพื่อการผลิตถั่วเหลืองฝักสด, น. 415-430, ใน รายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืช ครั้งที่ 9, อุบลราชธานี.
- 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.
- Athinuwat, D., Joonlamanop, N. and Prathuangwong, S., 2007, *Bacillus amyloliquefaciens* KPS46 related to both plant growth and pathogen-induced

- resistance regulation in vegetable soybean, p. 1, In Proceeding of International Conference on Integration of science & Technology for Sustainable Development, Bangkok.
- Athinuwat, D., Chuaboon, W., Buensantei, N. and Prathuangwong, S., 2014, Efficiency of new plant growth promoting rhizobacteria on corn diseases control, Afr. J. Microbiol. Res. 8: 710-717.
- Buensanteai, N., Athinuwat, D., Chatnaparat, T., Yuen, G.Y. and Prathuangwong, S., 2008, Extracellular proteome of plant growth promoting-bacteria, *Bacillus amyloliquefaciens*KPS46 and its effect on enhanced growth promotion and induced systemic resistance on soybean, Kasetsart J. (Nat. Sci.) 42: 13-26.
- Buensanteai, N., Thumanu, K., Sompong, M., Athinuwatand, D. and Prathuangwong, S., 2012, The FTIR spectroscopy investigation of the cellular components of cassava after sensitization with plant growth promoting rhizobacteria, *Bacillus subtilis* CaSUT007, Afr. J. Microbiol. Res. 6: 603-610.
- 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. and Athinuwat, D., 2009, Mixtures of bacterial antagonist strains enhanced biocontrol efficacy and reduce fungicide use of green soybean production, p. 30, In Proceeding of World Soybean Research Conference VIII, Beijing.
- Prathuangwong, S. and Buensanteai, N., 2007, *Bacillus amyloliquefaciens* KPS46 induced systemic resistance against bacterial pustule pathogen with increased phenols, peroxides, and 1,3- β -glucanase in soybean plant, Acta Phytopathol. Acad. Sci. Hung. 42: 321-330.
- Prathuangwong, S., Kasem, S., Thowthampitak, J. and Athinuwat, D., 2005, Multiple plant response to bacterial mediated protection against various diseases, J. of ISSAAS, 11: 79-87.
- Prathuangwong, S., Tsuyumu, S., Thowthampitak, J., Athinuwat, D., Buensanteai, N. and Chatnaparat, T., 2009a, *Bacillus amyloliquefaciens* KPS46 increases IAA and phenolic content for enhanced growth promotion and induced systemic resistance in IPM program of green soybean production, p.159, In Proceeding of the 1st Joint Seminar of Asian Core Program, Bangkok.
- Prathuangwong, S., Chuaboon, W., Kasem, S., Athinuwat, D., Suyamaand, K. and Negishi, H., 2009b, Potential for application time of *Pseudomonas fluorescens* SP007s and biofertilizer for alternaria leaf spot management of Chinese kale, In Proceeding of the ISSAAS International Congress, Bangkok.
- Prathuangwong, S., Athinuwat, D., Chuaboon, W., Chatnaparat, T. and Buensanteai, N.,

- 2013, Bioformulation *Pseudomonas fluorescens* SP007s against dirty panicle disease of rice, Afr. J. Microbiol. Res. 7: 5274-5283.
- Spaepen, S. Vanderleyden, J. and Remans, R., 2007, Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling, FEMS Microbiol. Rev. 31: 425-448.
- 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.
- Woodward, A.W. and Bartel, B., 2005, Auxin : Regulation, action, and interaction, Ann. Bot. (London) 95: 707-735.
- 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.