

Pseudomonas fluorescens ผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์
ส่งเสริมการเจริญเติบโตมันสำปะหลังและควบคุมโรครากและหัวเน่า
Pseudomonas fluorescens Produced Polysaccharides
Enhance Growth of Cassava Plant and
Control Root and Tuber Rot

ศตรรข ใจชื่อ, พงศธร ปรโลกานนท์, วิลาวรรณ เชื้อบุญ
และดุสิต อธิณวัฒน์*

สาขาการจัดการเกษตรอินทรีย์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

Satuck Chaisue, Phongsathon Poralokanon, 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

Pseudomonas fluorescens ผลิตสารพอลิแซ็กคาไรด์ 2.8 กรัม/ลิตร ใน nutrient glucose broth ที่เติมน้ำตาลกลูโคส 7.5 กรัม/ลิตร สารพอลิแซ็กคาไรด์ถูกนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตมันสำปะหลัง พันธุ์ระยอง 9 และควบคุมโรครากและหัวเน่าเปรียบเทียบกับสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราแคปแทนและสารสังเคราะห์ salicylic acid (SA) ซึ่งเกษตรกรนิยมใช้ การทดสอบเริ่มต้นโดยแช่ท่อนพันธุ์มันสำปะหลังในสารพอลิแซ็กคาไรด์ความเข้มข้น 100, 200, 500 และ 1,000 ppm เปรียบเทียบกับ SA ความเข้มข้น 5.2 mM แคปแทนอัตรา 160 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ต้นมันสำปะหลัง อายุ 1 เดือน ที่ผ่านการแช่ท่อนพันธุ์ด้วยสารพอลิแซ็กคาไรด์ 500 ppm มีความสูงต้น ความยาวราก และจำนวนรากสูงสุด 5.83 เซนติเมตร, 13.9 เซนติเมตร และ 49.53 ราก; และ 28.3 เซนติเมตร, 15.27 เซนติเมตร และ 52.52 ราก ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง; และสภาพไร่ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างทางสถิติจากกรรมวิธีควบคุม ($p=0.05$) ยิ่งไปกว่านั้นสารพอลิแซ็กคาไรด์ 500 ppm สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตมันสำปะหลังอายุ 3 เดือน ได้ดีในทิศทางเดียวกัน รวมทั้งสารพอลิแซ็กคาไรด์ 200 ppm ยังสามารถกระตุ้นให้มันสำปะหลังสะสมฮอร์โมนพืช indole-3-acetic acid (IAA) อย่างรวดเร็วเท่ากับ 14.96 และ 17.98 ไมโครกรัม/มิลลิกรัม น้ำหนักสด ภายใน 4 วัน หลังพ่นใบเมื่อมันสำปะหลังอายุ 2 และ 3 เดือน ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม ($p=0.05$) ส่งผลให้มันสำปะหลังต้านทานโรครากและหัวเน่าได้ดี

ไม่แตกต่างทางสถิติกับสารเคมีแคปแทนและ SA ซึ่งลดการระบาดของโรครากและหัวเน่าได้ 65-77 % ภายใต้สภาพเรือนปลูกพืชทดลองและสภาพไร่ ($p=0.05$) แสดงให้เห็นว่าสารพอลิแซ็กคาไรด์มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตมันสำปะหลังและสามารถควบคุมโรครากและหัวเน่าได้ดีมีแนวโน้มใช้ได้จริงในสภาพไร่

คำสำคัญ : จุลินทรีย์ปฏิปักษ์; แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตพืช; การควบคุมโดยชีววิธี

Abstract

Pseudomonas fluorescens produced polysaccharides with 2.8 g/L dry weight in nutrient glucose broth with 7.5 g/L of glucose. The polysaccharides was evaluated for enhancing growth of cassava plant cv. Rayong 9 and controlling root and tuber rot compared to fungicide, Captan and the synthesis chemical, salicylic acid (SA) applied by farmers. The investigation was soaked the cassava stakes with 100, 200, 500, and 1,000 ppm of polysaccharides compared with 2.5 mM of SA, Captan (160 g/20 L of water) and ddH₂O. The cassava stakes soaked with the 500 ppm of polysaccharides significantly increased stem height, root length and number of root with 5.83 cm, 13.9 cm, and 49.53 roots and 28.3 cm, 15.27 cm, and 52.52 roots after 1 month cultivation under greenhouse and field conditions, respectively compared with control treatments ($p=0.05$). Moreover, the stem height, root length, and number of root significantly increased by the 500 ppm of polysaccharides application under both conditions until 3 months cultivation ($p=0.05$). Also, the polysaccharides triggered significantly increased expression of plant growth hormones, indole-3-acetic acid (IAA) immediately after foliar sprayed with the 200 ppm of polysaccharides at 2 and 3 months days old plant reaching peak levels at 4 days after application with 14.96 and 17.98 $\mu\text{g}/\text{mg}$ fresh weight compared to control treatments ($p=0.05$). Different concentrations of the polysaccharide, Captan and SA showed non-significantly decrease in root and tuber rot incidence with 65-77 % under greenhouse and field experiments ($p=0.05$). Therefore, its possible that polysaccharides can be used in the cassava plant production system under field conditions.

Keywords: antagonistic microorganism; plant growth promoting bacteria; biocontrol

1. บทนำ

มันสำปะหลังเป็นพืชหัวที่มีความสำคัญเป็นอันดับ 5 ของโลกรองจากข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าว และมันฝรั่ง สำหรับในประเทศไทยมันสำปะหลังถือเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญรองจากข้าว ระบบการผลิตมันสำปะหลังในปัจจุบันยังคงพบกับปัญหาโรคระบาด

โดยเฉพาะโรครากเน่าหรือหัวเน่าที่เกิดจากรา *Pythium* sp. ส่งผลให้ผลผลิตเสียหายถึง 80 % วิธีการหนึ่งในหลักการเกษตรยั่งยืนที่ใช้ปัจจัยการผลิตน้อย (low-input sustainable agriculture, LISA) คือ การใช้ชีววิธี ซึ่งมีรายงานว่าเซลล์สดและสารกรองเชื้อปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* สายพันธุ์

SP007s มีประสิทธิภาพกระตุ้นให้พืชเศรษฐกิจหลายชนิดผลิตสารต่าง ๆ ในระบบภูมิคุ้มกัน ได้แก่ salicylic acid, jasmonic acid, β -1,3-glucanase, peroxidase, phenolics, guaiacol peroxidase และ glucosinolate ที่ช่วยยับยั้งการเข้าทำลายของโรคหลายชนิด ได้แก่ โรคเน่าและกะหล่ำดอก (*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*) โรคขอบใบทอง (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) เน่าคอดิน (*Pythium* sp. และ *Rhizoctonia solani*) และโรคที่ระบบรากอื่น ๆ (*Fusarium oxysporum*, *F. solani* และ *Sclerotium rolfsii*) รวมทั้งโรคเน่าคอดินของอะคาเซียและสัก (*Phytophthora aphanidermatum*) เป็นต้น [2,4,5,10,12] แต่ยังไม่มีการศึกษารายละเอียดถึงประสิทธิภาพของเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* SP007s ที่เกี่ยวข้องในการควบคุมโรครากเน่าหรือหัวเน่าของมันสำปะหลัง โดยหากเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* SP007s สามารถผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ยับยั้ง *Pythium* sp. เช่นเดียว กับผลการศึกษาวิจัยในพืชอื่น ๆ ที่ผ่านมาก็จะทำให้ลดปัญหาการระบาดของโรครากเน่าหรือหัวเน่าที่จะทำอันตรายต่อมันสำปะหลัง ตลอดจนช่วยเตรียมความพร้อมของต้นมันสำปะหลังให้มีความสมบูรณ์และผลผลิตสูงต่อไป ซึ่งสารพอลิแซคคาไรด์เป็นโมเลกุลคาร์โบไฮเดรตสายยาวที่ประกอบด้วยหน่วยมอนอเมอร์ซ้ำ ๆ มาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก รวมทั้งสามารถเป็นโมเลกุลเชิงซ้อนกับโปรตีนต่าง ๆ ทำให้มีสมบัติแตกต่างกัน โดยเฉพาะการเป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของพืชหลายชนิด ซึ่งอาจจะละลายหรือไม่ละลายน้ำก็ได้ [1] ความรู้ที่ได้จากประเด็นนี้จะสามารถกำหนดระดับความเข้มข้นต่ำสุด (minimal inhibition concentration, MIC) ของสารพอลิแซคคาไรด์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่าหรือหัวเน่าในสภาพไร่ รวมทั้งการใช้สารพอลิแซคคาไรด์จากเชื้อปฏิปักษ์ในการชักนำให้ต้น

มันสำปะหลังเจริญเติบโตเร็วอย่างมีประสิทธิภาพยั่งยืนจะสามารถนำไปพัฒนาในระดับอุตสาหกรรมและใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตมันสำปะหลังทั้งระบบเกษตรอินทรีย์และระบบอื่น ๆ เชิงการค้าได้ดี

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การสกัดสารพอลิแซคคาไรด์จากเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* SP007s และสภาวะที่เหมาะสม

นำ *P. fluorescens* SP007s มาเลี้ยงในอาหาร nutrient glucose broth (NGB) ที่มีระดับความเข้มข้นของ น้ำตาลกลูโคสแตกต่างกัน ได้แก่ 0, 2.5, 5, 7.5 และ 10 กรัม/ลิตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 30 ± 2 °C บนเครื่องเขย่า 120 รอบ/นาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดทำการปั่นแยกเซลล์เชื้อปฏิปักษ์ออกด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็ว 10,000 รอบ/นาที อุณหภูมิ 4 °C เวลา 15 นาที ตกตะกอนสารพอลิแซคคาไรด์เพื่อแยกน้ำใน supernatant โดยใช้ petroleum ether และ anhydrous sodium sulfate หลังจากนั้นระเหยแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator และวิเคราะห์ปริมาณสารพอลิแซคคาไรด์ในแต่ละกรรมวิธี

2.2 การทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* SP007s ในการยับยั้ง *Pythium* sp.

2.2.1 ทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการยับยั้ง *Pythium* sp. ด้วยวิธี agar diffusion

ทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100, 200, 500 และ 1,000 ppm ในการยับยั้งการเจริญของรา *Pythium* sp. ที่แยกจากมันสำปะหลังเป็นโรคและผ่านการพิสูจน์โรคแล้ว [13] โดยวิธี agar diffusion แบบ completely randomized

design (CRD) กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ ในสภาพอุณหภูมิห้อง [ดัดแปลงจาก 14] โดยเตรียม suspension เส้นใยรา *Pythium* sp. ความเข้มข้น 1×10^6 เส้นใย/มิลลิลิตร จากนั้นเตรียมอาหาร PDA ที่ห่อหุ้มเสร็จใหม่ ๆ แล้วตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งมีอุณหภูมิประมาณ 45°C จึงผสม suspension เส้นใยรา *Pythium* sp. อัตราส่วน suspension เส้นใยรา 1 มิลลิลิตร ต่ออาหาร PDA 20 มิลลิลิตร ทิ้งไว้จนหน้าอาหารแข็ง จึงใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เจาะอาหารวันให้เป็นรูจำนวน 7 รูต่อจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นหยดสารพอลิแซคคาไรด์ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 30 ไมโครลิตร ลงไปเปรียบเทียบกับสารเคมีแคปแทนปริมาตรเดียวกัน (อัตราการใช้ 160 กรัม/น้ำ 20 ลิตร) และน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ บ่มไว้เป็นเวลา 3-5 วัน แล้วบันทึกผลการทดลองบริเวณยับยั้งการเจริญของ *Pythium* sp.

2.2.2 ทดสอบการยับยั้งการงอกของซุโสปอร์รา *Pythium* sp.

การทดสอบการยับยั้งการงอกของซุโสปอร์รา *Pythium* sp. ของสารพอลิแซคคาไรด์ ที่ความเข้มข้น 100, 200, 500 และ 1,000 ppm เปรียบเทียบกับวิธีการควบคุมด้วยการใช้เชื้อสด *P. fluorescens* SP007s ความเข้มข้น 1×10^8 cfu/ml สารเคมีแคปแทน 160 กรัม/น้ำ 20 ลิตร สารสังเคราะห์ salicylic acid ความเข้มข้น 2.5 mM ตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารพอลิแซคคาไรด์ หรือหยดน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ ด้วยวิธี poison medium โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ โดยการทดสอบบนอาหาร PDA ซึ่งผสมสารพอลิแซคคาไรด์ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ หรือสารสังเคราะห์ salicylic acid ความเข้มข้น 2.5 มิลลิโมล หรือสารเคมีแคปแทน 160 กรัม/น้ำ 20 ลิตร หรือหยดน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อหรือหยดตัวทำละลายที่ใช้สกัดสารพอลิแซคคาไรด์ อัตราสาร

ทดสอบ 1 มิลลิลิตรต่ออาหาร PDA 20 มิลลิลิตร แล้วกระจายซุโสปอร์ของรา *Pythium* sp. ที่ความเข้มข้น 1×10^6 สปอร์/มิลลิลิตร จำนวน 0.1 มิลลิลิตร จากนั้นตรวจสอบการยับยั้งการงอกของสปอร์หลังจากทำการปลูกเชื้อแล้ว 16 ชั่วโมง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์วิเคราะห์หาความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติโดย Duncan's new multiple range tests (DMRT) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป เพื่อคัดเลือกความเข้มข้นของสารพอลิแซคคาไรด์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของรา *Pythium* sp. ไปศึกษารายละเอียดในขั้นถัดไป

2.3 การทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตมันสำปะหลังและควบคุมโรครากและหัวเน่า

นำท่อนมันสำปะหลังพันธุ์ระยอง 9 ท่อนละ 20 เซนติเมตร มาฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยแอลกอฮอล์ 95 % นาน 2 นาที ตามด้วยการแช่ clorox เข้มข้น 10 % นาน 10 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 5 ครั้ง ผึ่งพองหมด ๆ นำมาจุ่มในสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100, 200, 500 และ 1,000 ppm นาน 15 นาที เปรียบเทียบกับสารสังเคราะห์ salicylic acid ความเข้มข้น 2.5 mM น้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ และสารเคมีแคปแทน 160 กรัม/น้ำ 20 ลิตร ผึ่งพองหมด ๆ จากนั้นนำท่อนพันธุ์ที่ผ่านการจุ่มกรรมวิธีต่าง ๆ ไปปลูกในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 30 นิ้ว ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองและปลูกในสภาพไร่ของเกษตรกรที่เคยมีประวัติการระบาดของโรครากและหัวเน่า โดยแต่ละกรรมวิธีพ่นไปด้วยสารพอลิแซคคาไรด์หรือสารเปรียบเทียบความเข้มข้นเดียวกันกับที่แช่ท่อนพันธุ์ อัตรา 150 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร เมื่อพืชอายุ 2 และ 3 เดือน ตามลำดับ ทั้งในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองและสภาพไร่ สำหรับในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองจะปลูกเชื้อ *Pythium* sp. สาเหตุโรครากและหัวเน่า เมื่อพืช

อายุ 2 เดือน สำหรับในสภาพไร่ ปล่อยให้เกิดโรคตามสภาพธรรมชาติ วางแผนการทดลองแบบ RCB กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ เมื่อมันสำปะหลังอายุ 1 และ 3 เดือน วิเคราะห์การเจริญเติบโตและการเกิดโรครากและหัวเน่าทั้งในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองและสภาพไร่

2.4 การวิเคราะห์ indole-3-acetic acid (IAA) ภายในใบมันสำปะหลัง

เก็บใบมันสำปะหลัง 0.1 กรัม จากแต่ละกรรมวิธีในข้อ 3 อย่าง ต่อเนื่องเป็นเวลา 10 วัน หลังพ่นสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ เปรียบเทียบกับสารอื่น ๆ เมื่อมันสำปะหลังอายุ 2 และ 3 เดือน จากนั้นบดใน homogenization buffer [Tris-HCl buffer ความเข้มข้น 0.1 M, pH 7, KCl ความเข้มข้น 0.1 M, PMSF ความเข้มข้น 1 mM, leupeptin ความเข้มข้น 1 µg/ml, 1 % (v/v) Triton X-100 ความเข้มข้น 1 %, PVPP ความเข้มข้น 3 % (w/v)] ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นนำ homogenate ที่สกัดได้จากใบมันสำปะหลัง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมกับ Salkowski's reagent ปริมาตร 4 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว 535 nm (spectrophotometer รุ่น EC1011) โดยใช้หลักการความเข้มของสีที่ได้จากการทำปฏิกิริยาระหว่างสาร indole-3-acetic acid กับกรด sulfuric (colorimeter) คำนวณปริมาณสาร indole-3-acetic acid เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานที่ความเข้มข้น 0-50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร [6]

2.5 วิเคราะห์ข้อมูล และค่าความแปรปรวนทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้อาวิเคราะห์ผลและความแปรปรวนด้วยวิธี ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยในแต่ละชุดการทดลองด้วยวิธี Duncan's new multiple range tests

3. ผลการวิจัย

3.1 ผลการสกัดสารพอลิแซคคาไรด์จากเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* SP007s และสภาวะที่เหมาะสม

ผลการศึกษาวิจัยพบว่าเมื่อเติมน้ำตาลกลูโคส 7.5 กรัม/ลิตร ลงใน NGB ส่งผลให้เชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* SP007s ผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ได้สูงสุด 2.8 กรัม/ลิตร แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น ๆ ($p=0.05$) ดัง Fig. 1

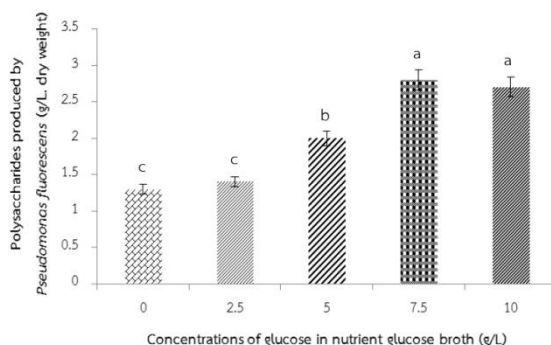


Fig. 1 Quantity of polysaccharides produced by *Pseudomonas fluorescens* SP007s under different concentration of glucose conditions.

3.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* SP007s ในการยับยั้ง *Pythium* sp.

ผลการทดลองพบว่าสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100, 200, 500 และ 1,000 ppm มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของรา *Pythium* sp. ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับสารเคมีแคปแทนอัตรานำ (Fig. 2) เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 100, 200, 500, และ 1,000 ppm ในการยับยั้งการงอกของชูโอสปอร์ของรา *Pythium* sp. พบว่าสารพอลิแซคคาไรด์ทุกความเข้มข้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของชูโอ-

สปอร์ของรา *Pythium* sp. ไม่แตกต่างทางสถิติ ($p=0.05$) กับการใช้สารเคมีแคปแทนอัตราแนะนำ หรือสารสังเคราะห์ salicylic acid แต่ มีประสิทธิภาพ ต่ำกว่าการใช้เชื้อสดอย่างแตกต่างทางสถิติ ($p=0.05$) ขณะเดียวกันตัวทำลายที่ใช้สกัดสารพอลิแซคคาไรด์ และน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อไม่มีผลกระทบต่อประสิทธิภาพ การยับยั้งการงอกของซุโอสปอร์ของรา *Pythium* sp. ($p=0.05$) บ่งชี้ให้เห็นถึงประสิทธิภาพของสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* SP007s ในการยับยั้งการงอกของซุโอสปอร์รา *Pythium* sp. ในสภาพห้องปฏิบัติการได้ทัดเทียมกับการใช้สารเคมี แคปแทนอัตราแนะนำ หรือสารสังเคราะห์ salicylic acid เข้มข้น 2.5 มิลลิโมล (Fig. 3)

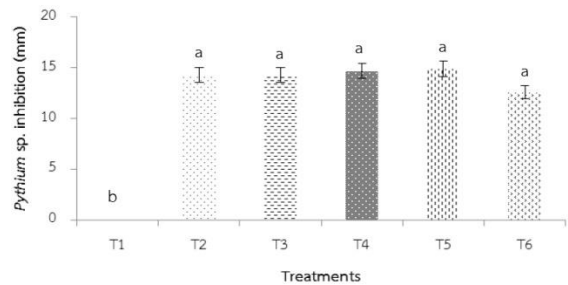


Fig. 2 Efficiency of *Pseudomonas fluorescens* SP007s polysaccharides 100 (T2), 200 (T3), 500 (T4) and 1,000 (T5) ppm to *Pythium* sp. inhibition compared to distilled water (T1) and Captan (160 g/20 L of water) (T6) under laboratory conditions.

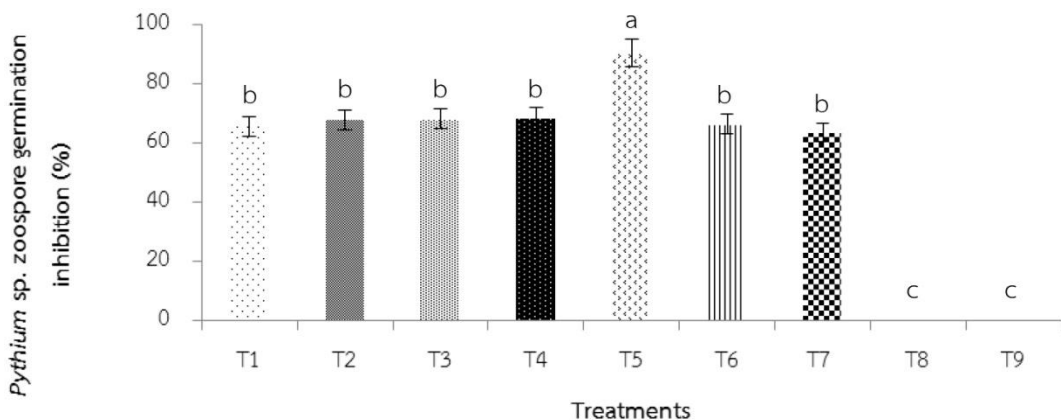


Fig. 3 Efficiency of *Pseudomonas fluorescens* SP007s polysaccharides 100 (T1), 200 (T2), 500 (T3) and 1,000 (T4) ppm to *Pythium* sp. zoospore inhibition compared to *P. fluorescens* SP007s fresh cells (T5), Captan (160 g/20 L of water) (T6), salicylic acid (T7), involved solvent (T8) and distilled water (T9) under laboratory conditions.

3.3 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตมันสำปะหลังและควบคุมโรครากและหัวเน่า

ผลการทดลองพบว่าท่อนพันธุ์มันสำปะหลังที่ผ่านการแช่สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 500 ppm ส่งผลให้ต้นมันสำปะหลังอายุ 1 เดือน มีการเจริญ

เติบโตได้ดีที่สุด มีความสูงต้น 5.83 และ 28.3 เซนติเมตร ความยาวราก 13.9 และ 15.27 เซนติเมตร และจำนวนราก 49.53 และ 52.52 ราก ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองและสภาพไร่ ตามลำดับ ($p=0.05$) ขณะที่ท่อนพันธุ์มันสำปะหลังที่ผ่านการแช่แคปแทนในอัตราแนะนำแล้วปลูกในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองและ

สภาพไร่ อายุ 1 เดือน มีความสูงต้น; ความยาวราก; และจำนวนราก 4.42 และ 17.53 เซนติเมตร; 8.5 และ 10.74 เซนติเมตร; และ 39.54 และ 28.73 ราก ตามลำดับ (Table 1) ยิ่งไปกว่านั้น สารพอลิแซคคาไรด์ ความเข้มข้น 500 ppm ส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้น มันสำปะหลังอย่างต่อเนื่อง เมื่อมันสำปะหลังอายุ 3 เดือน มีความสูงต้น; ความยาวราก; และจำนวนราก 15.15 และ 76 เซนติเมตร; 23.2 และ 41.85 เซนติ

เมตร; และ 51.53 และ 49.84 ราก ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองและสภาพไร่ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น ๆ และกรรมวิธีควบคุม ($p=0.05$) ขณะที่ท่อนมันสำปะหลังที่ผ่านการแช่แคปแทนในอัตราแนะนำ อายุ 3 เดือน มีความสูงต้น; ความยาวราก; และจำนวนราก 11.86 และ 55.31 เซนติเมตร; 14.13 และ 28.43 เซนติเมตร; และ 23.38 และ 25.9 ราก ตามลำดับ (Table 2)

Table 1 Efficiency of *Pseudomonas fluorescens* polysaccharides application on cassava plant at 1 month after planting under greenhouse and field conditions

Treatment ^{1/}	Growth under greenhouse condition			Growth under field condition		
	Stem height (cm)	Root length (cm)	Number of root	Stem height (cm)	Root length (cm)	Number of root
T1	4.04±2.062ab	8.51±1.324ab	39.61±0.525ab	23.22±2.765b	10.41±4.567b	40.10±3.457b
T2	3.62±2.311ab	8.71±2.143ab	40.22±0.453ab	23.78±4.337b	11.91±3.243b	42.42±2.343b
T3	5.83±2.194a	13.90±0.987a	49.53±1.110a	28.30±2.113a	15.27±1.112a	52.52±6.789a
T4	4.87±2.875a	12.90±1.321a	47.12±1.213a	24.81±9.876b	10.62±2.1345b	39.87±2.591b
T5	3.65±2.906ab	8.40±0.987ab	37.82±0.897ab	22.27±3.445b	11.19±3.454b	42.55±3.583b
T6	4.42±1.801ab	8.50±1.231ab	39.54±2.412ab	17.53±8.776c	10.74±3.456b	28.73±3.461c
T7	2.33±1.380b	5.42±0.876b	21.80±0.235b	13.61±3.334c	10.48±3.245b	25.51±1.100c

^{1/} T1-T4 were differentiation treatments of polysaccharides of *Pseudomonas fluorescens* SP007s used including 100 (T1), 200 (T2), 500 (T3) and 1,000 (T4) ppm, respectively. Salicylic acid (T5) and Captan (T6) were used with the concentration at 2.5 mM and 160 g/20 L of water, respectively. T7 was distilled water treatment. All treatment was applied by soak and spray treatments the cassava stakes before and after planting at 2 and 3 months, respectively.

^{2/} Within columns, means followed by the same letter are not significantly different according to LSD (0.05).

ผลการทดลองใช้สารพอลิแซคคาไรด์ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แก่ 100, 200, 500 และ 1,000 ppm สารสังเคราะห์ salicylic acid ความเข้มข้น 2.5 mM และสารเคมีแคปแทน 160 กรัม/น้ำ

20 ลิตร ในการแช่ท่อนพันธุ์มันสำปะหลังก่อนปลูกและพ่นใบหลังปลูก เมื่อพืชอายุ 2 และ 3 เดือน เพื่อควบคุมโรครากและหัวเน่าทั้งในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองและสภาพไร่ที่เคยมีประวัติการระบาดของโรค

รากและหัวเน่ามาก่อน พบว่าการใช้สารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นต่าง ๆ มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมโรคเป้าหมายไม่แตกต่างทางสถิติกับสารสังเคราะห์ salicylic acid และสารเคมีแคปแทนทั้งในสภาพเรือน

ปลูกพืชทดลองและสภาพไร่ ($p=0.05$) ซึ่งสามารถลดการระบาดของโรครากและหัวเน่าอยู่ในช่วง 65-77 % ดังแสดงใน Fig. 4

Table 2 Efficiency of *Pseudomonas fluorescens* polysaccharides application on cassava plant at 3 months after planting under greenhouse and field conditions

Treatment ^{1/}	Growth under greenhouse condition			Growth under field condition		
	Stem height (cm)	Root length (cm)	Number of root	Stem height (cm)	Root length (cm)	Number of root
T1	10.61±6.410ab	19.12±1.111b	41.13±4.213b	48.33±1.213d	33.33±2.549b	35.69±1.115b
T2	10.66±5.297ab	19.24±8.690b	41.33±5.469b	67.54±3.476b	37.00±3.547b	36.54±2.111b
T3	15.15±4.613a	23.20±3.754a	51.53±7.643a	76.00±5.264a	41.85±7.665a	49.84±2.134a
T4	10.80±4.642ab	18.82±5.764b	38.55±7.665b	68.50±4.689b	38.60±3.609b	37.86±0.378b
T5	8.26±5.380ab	14.33±8.438c	24.35±7.676c	68.44±3.532b	35.43±608b	36.50±2.154b
T6	11.86±5.993ab	14.13±6.798c	23.38±4.659c	55.31±4.879c	28.43±683c	25.90±2.457c
T7	7.06±6.215b	18.71±2.564b	39.50±4.358b	29.43±4.556e	26.79±4.365c	22.40±2.434c

^{1/}T1-T4 were differentiation treatments of polysaccharides of *Pseudomonas fluorescens* SP007s used including 100 (T1), 200 (T2), 500 (T3) and 1,000 (T4) ppm, respectively. Salicylic acid (T5) and Captan (T6) were used with the concentration at 2.5 mM and 160 g/20 L of water, respectively. T7 was distilled water treatment. All treatment was applied by soak and spray treatments the cassava stakes before and after planting at 2 and 3 months, respectively.

^{2/}Within columns, means followed by the same letter are not significantly different according to LSD (0.05).

3.4 การวิเคราะห์ indole-3-acetic acid (IAA) ภายในใบมันสำปะหลัง

ต้นมันสำปะหลังที่ผ่านการแช่ท่อนพันธุ์ด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้น 200 ppm และพ่นใบด้วยสารพอลิแซคคาไรด์ความเข้มข้นเดียวกันกับที่ใช้แช่ท่อนพันธุ์ เมื่อพืชอายุ 2 และ 3 เดือน ส่งผลให้ต้นมันสำปะหลังมีการสะสมฮอร์โมนพืช IAA ได้ดีที่สุดภายใน 4 วัน หลังการพ่นใบมันสำปะหลังเท่ากับ 14.96

และ 17.98 ไมโครกรัม/มิลลิกรัม น้ำหนักสด ซึ่งดีกว่าสารสังเคราะห์ salicylic acid ความเข้มข้น 2.5 mM และสารเคมีแคปแทน 160 กรัม/น้ำ 20 ลิตร อย่างแตกต่างทางสถิติ ($p=0.05$) ดังแสดงใน Fig. 5 และ Fig. 6

4. วิจารณ์

การทดสอบประสิทธิภาพสารพอลิแซคคาไรด์ที่

ผลิตโดยเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* SP007s ซึ่งเคยมีรายงานสมบัติต่าง ๆ รวมทั้ง IAA ที่เป็นประโยชน์กับพืชเศรษฐกิจหลายชนิดนั้น [3] การศึกษาวิจัยครั้งนี้เป็นอีกหนึ่งงานวิจัยที่แสดงให้เห็นถึงประโยชน์ของเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens* SP007s ในการผลิตสาร

พอลิแซ็กคาไรด์ที่มีสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของมันสำปะหลังผ่านการสะสม IAA ภายในลำต้น เพื่อให้รอดพ้นต่อสภาวะความเครียดต่าง ๆ โดยเฉพาะจากการเข้าทำลายของ *Pythium* sp. สาเหตุโรครากและหัวเน่า ซึ่งเป็นโรคที่สำคัญและมีผล

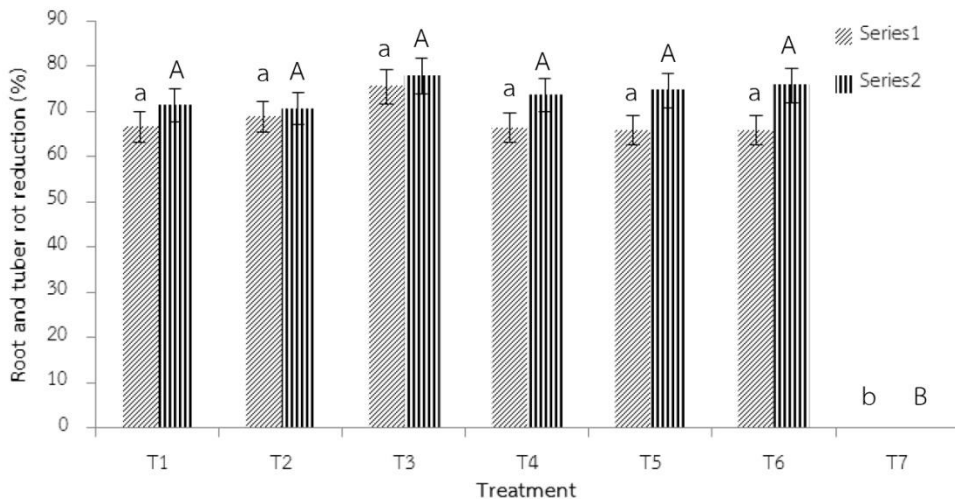


Fig. 4 Efficiency of polysaccharides of *Pseudomonas fluorescens* SP007s to control root and tuber rot of cassava plant at 3 months after planting under greenhouse and field conditions. The detail of T1 –T7 was followed by Table 1 or 2.

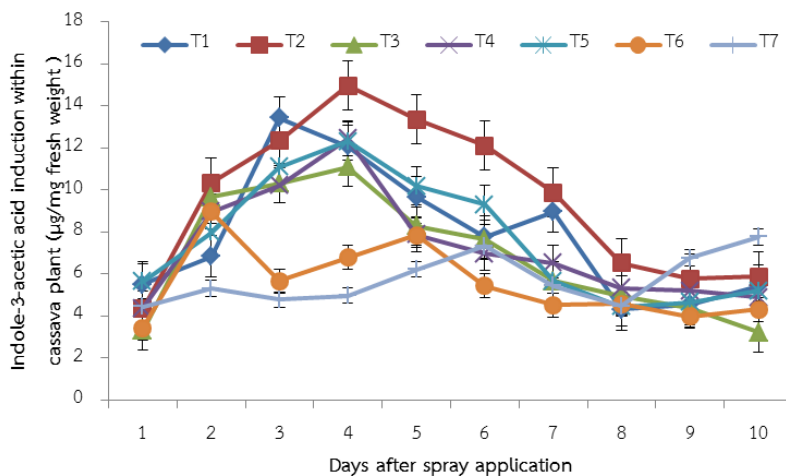


Fig. 5 Efficiency of *Pseudomonas fluorescens* polysaccharides application to increases IAA accumulation within cassava plant at 1 month after planting under field conditions. The detail of T1 –T7 was followed by Table 1 or 2.

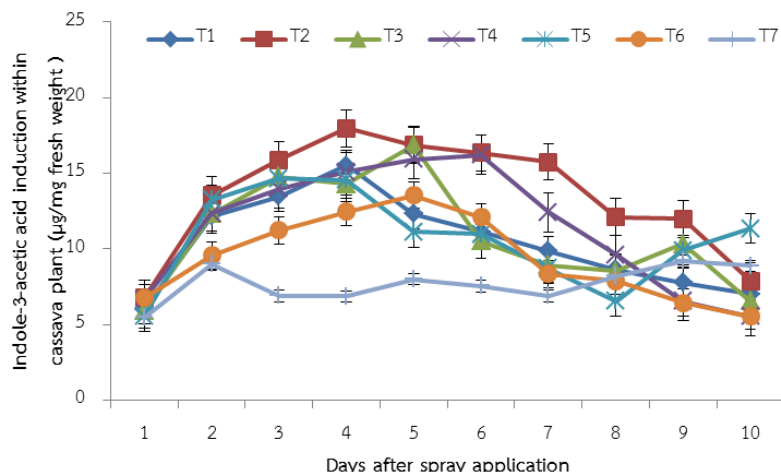


Fig. 6 Efficiency of *Pseudomonas fluorescens* polysaccharides application to increases IAA accumulation within cassava plant at 3 months after planting under field conditions. The detail of T1 –T7 was followed by Table 1 or 2.

กระทบต่อการผลิตมันสำปะหลังในวงกว้าง สอดคล้องกับผลงานวิจัยของจักรพงษ์ และคณะ [9] ที่พบว่า *Pseudomonas* sp. ECO 008 มีอิทธิพลทำให้ปลายเส้นใยของรา *P. myriotylum* มีการแตกแขนงตรงส่วนปลายมากขึ้น ตลอดจนปลายเส้นใยมีลักษณะหักงอ ผิดปกติ อีกทั้งวารภรณ์ และคณะ [11] รายงานว่า *P. fluorescens* SP007s ผลิตสารปฏิชีวนะ 6 ชนิด คือ phenacin, 2,4-DAPG, pyoluteorin, pyluteorin, pyrrolnitrin และ herbicolin รวมทั้งสามารถผลิต chitinase และ HCN ที่มีผลในการควบคุมโรคใบไหม้แผลใหญ่ของข้าวโพดที่เกิดจาก *Exserohilum turcicum* ได้ดี Ahemad และ Khan [1] รายงานว่า *P. putida* สายพันธุ์ที่มีสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตพืช (plant-growth-promoting bacteria, PGPB) มีสมบัติในการละลายฟอสเฟตในธรรมชาติ กระตุ้นภูมิคุ้มกันพืชผ่านกลไกการผลิต salicylic acid, 2,3-dihydroxy benzoic acid, indole-3-acetic acid, exo-polysaccharides, hydrogen cyanate และ ammonia โดย

Suja และคณะ [7] รายงานว่า *Pseudomonas* sp. สามารถผลิต auxin 1.33-102 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร และสามารถผลิต IAA ได้ 1.33-63.33 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร สำหรับเป็น elicitor กระตุ้นให้ต้นมันสำปะหลังเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว รวมมีกลไกในการผลิตแอมโมเนียและละลายหินฟอสเฟตเป็นฟอสฟอรัสในรูปที่พืชนำไปใช้ประโยชน์ได้ 37-100 ppm ส่งผลให้ต้นมันสำปะหลังอายุ 1 เดือน มีความสูงต้น 60-88 เซนติเมตร เส้นรอบวงของลำต้น 2.84-2.86 เซนติเมตร และน้ำหนักสดมวลรวม 91-112.33 กรัม/ต้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.05$) กับกรรมวิธีควบคุม ซึ่งมีความสูงต้น 52.67 เซนติเมตร เส้นรอบวงของลำต้น 2.11 เซนติเมตร และน้ำหนักสดมวลรวม 83.67 กรัม/ต้น นอกจากนี้การใช้เชื้อปฏิชีวนะ *Pseudomonas* sp. ร่วมในระบบการปลูกมันสำปะหลังยังส่งผลให้มีจำนวนใบมากกว่ากรรมวิธีควบคุมแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.05$) อีกด้วย นอกจากนี้ Zhao และคณะ [8] ยังรายงานการใช้สารสกัดบริสุทธิ์พอลิแซ็กคาไรด์ความเข้มข้น

100-400 มิลลิกรัม/ลิตร ของ *Bacillus cereus* เติมลงในอาหารสำหรับเร่งรากพืช ซึ่งในพอลิแซคคาไรด์ประกอบด้วยพอลิแซคคาไรด์และโปรตีนเชิงซ้อน 27 % ที่เป็นประโยชน์ต่อการส่งเสริมการเจริญของรากพืช ส่งผลให้รากพืชมีการสะสมสาร tanshinone เพิ่มขึ้นประมาณ 7 เท่า (1.59 มิลลิกรัม/กรัม versus 0.19 มิลลิกรัม/กรัม) รวมทั้งส่งเสริมให้รากมีมวลเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าสารพอลิแซคคาไรด์ที่ผลิตขึ้นโดย PGPB มีสมบัติเป็น elicitor ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตพืช

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และบริษัทบ้านเกษตรรุ่งเรือง จำกัด และขอบคุณศูนย์เครื่องมือกลาง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

6. รายการอ้างอิง

- [1] Ahemad, M. and Khan, M.S., 2012, Effect of fungicides on plant promoting activities of phosphate solubilizing *Pseudomonas putida* isolated from mustard (*Brassica campestris*) rhizosphere. *Chemosphere* 86: 945-950.
- [2] 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, Proceedings of the 51st Kasetsart University Annual Conference, 5-7 February 2013, Bangkok.
- [3] Prathuangwong, S. and Buensanteai, N., 2007, *Bacillus amyloliquefaciens* induced systemic resistance against bacterial pustule pathogen with increased phenols, peroxides, and 1,3- β -glucanase in soybean plant, *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica* 42: 321-330.
- [4] Prathuangwong, S., Kasem, S., Thowthampitak, J. and Athinuwat, D., 2005, Multiple plant response to bacterial mediated protection against various diseases. *J. ISSAAS* 11(3): 79-87.
- [5] Prathuangwong, S., Vudhivanich, S. and Preecha, C., 2005, Agro-ecological assessment of vegetable farming at Suphanburi to conduct IPM strategy, *J. ISSAAS* 11(3): 103-114.
- [6] Schneider-Mullar, S., Kurosaki, F. and Nishi, A, 1994, Role of salicylic acid and intracellular Ca^{2+} in the induction of chitinase activity in carrot suspension culture, *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 45: 101-109.
- [7] Suja, S.P., Hegde, V., Makesh Kumar, T. and Anjanadevi, I.P., 2014, Screening of rhizobacteria associated with cassava for plant growth promotion and biocontrol potential, *J. Root Crops* 40: 66-73.
- [8] Zhao, J.L., Zhou, L.G. and Wu, J.Y., 2010, Promotion of *Salvia miltiorrhiza* hairy root growth and tanshinone production by polysaccharide-protein fractions of plant growth-promoting rhizobacte-

- rium *Bacillus cereus*, Proc. Biochem. 45: 1517-1522.
- [9] จักรพงษ์ หรั่งเจริญ, ถนิมนันต์ เจนอักษร และพรหมมาศ คุณากาญจน์, 2554, การยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pythium myriotylum* โดยแบคทีเรียเขตรากพืชจากระบบปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน, ว.วิทยาศาสตร์บูรพา 16(1): 22-31.
- [10] นลินา เหมสนธิ และสุดฤดี ประเทืองวงศ์, 2552, *Pseudomonas fluorescens* SP007s กระตุ้นให้คะน้าสร้าง salicylic acid เพื่อด้านทานการเกิดโรคขอบใบทอง, น. 611-620, ใน การประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 47 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 17-20 มีนาคม 2552, กรุงเทพฯ.
- [11] วราภรณ์ บุญเกิด, พัชรวิภา ใจจักรคำ, สุพจน์ กาเซ็ม, จีรนนท์ แหยมสูงเนิน, ลาวัลย์ กลัดสุวรรณ, มะลิดา ชูรินทร์ และสุดฤดี ประเทืองวงศ์, 2558, ผลของสารปฏิชีวนะต่อการยับยั้ง *Exserohilum turcicum* ด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์ SP007s, ใน รายงานการประชุมวิชาการ ครั้งที่ 53 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 3-6 กุมภาพันธ์ 2558, กรุงเทพฯ.
- [12] วิลาวรรณ เชื้อบุญ และดุสิต อธิวัฒน์, 2557, ฮอโมนพืชผลิตจาก *Pseudomonas fluorescens* SP007s ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของคะน้าอินทรีย์, Thai J. Sci. Technol. 3: 196-205.
- [13] ศตรสม ใจซื่อ, 2558, การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชีวภาพจากสารพอลิแซคคาไรด์ของเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* เพื่อควบคุมโรครากและหัวเน่าและเพิ่มผลผลิตมันสำปะหลังอินทรีย์, วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, ปทุมธานี.
- [14] อุดมลักษณ์ สุขอิตตะ, วิชัย หฤทัยธนาสันต์, งามผ่อง คงคาทิพย์ และอุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์, 2544, การออกฤทธิ์ด้านการเจริญของเชื้อราบางชนิดของสารสกัดพืที่ได้จากตัวทำลายเอทานอลและเอทานอลผสมกรด, น. 197-202, ใน รายงานการประชุมวิชาการ ครั้งที่ 39 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.