ผลของแบคทีเรียที่สังเคราะห์กรดอินโดลอะซีติกที่คัดแยกจากวัชพืชต่อการเจริญเติบโตระยะต้นกล้าของพืชเศรษฐกิจ

Effects of Indoleacetic Acid-producing Bacteria Isolated from Weeds on Seedling Growth of Crop Plants

วราภรณ์ ฉุยฉาย[1*] นันธพร ศิลป์สมบูรณ์[1] และ ขนิษฐา สมตระกูล[2]

[1]สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์ อ.เมือง จ.นครสวรรค์

[2]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม

*E-mail : chouychai@yahoo.com

บทคัดย่อ

ศึกษาผลของแบคทีเรียที่สังเคราะห์กรดอินโดลอะซีติกที่คัดแยกได้จากไรโซสเฟียร์ของวัชพืชสองชนิดคือหญ้าตีนกาและสาบเสือ จำนวน 5 สายพันธุ์ คือ AB5 AB11 AB17 ที่ได้จากหญ้าตีนกา และสายพันธุ์ SS3 SS6 ที่ได้จากสาบเสือต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชเศรษฐกิจระยะต้นกล้า นำแบคทีเรียดังกล่าวเลี้ยงในอาหาร Nutrient Broth ที่เติมทริบโตแฟน 50 mg/l เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ปั่นเก็บเฉพาะส่วนที่ใสมาทดสอบการสร้างกรดอินโดลอะซีติกและใช้แช่เมล็ดของพืชเศรษฐกิจ 3 ชนิดคือ ผักกวางตุ้ง คะน้าและผักบุ้ง เป็นเวลา 3 ชั่วโมงก่อนนำไปหว่านปลูก เมื่อนำผลการทดลองที่ได้มาเปรียบเทียบกับเมล็ดที่แช่น้ำกลั่น ผลปรากฏว่า แบคทีเรียส่วนใหญ่สามารถทำให้ผักกวางตุ้งเจริญเติบโตได้ดีกว่าชุดควบคุม และมีผลต่อการเจริญของยอดได้ดีกว่าราก ในขณะที่ไม่มีผลต่อการเจริญของคะน้าและผักบุ้ง จึงมีความเป็นไปได้ในการนำแบคทีเรียเหล่านี้ไปใช้ประโยชน์ในการส่งเสริมการเจริญของพืชเศรษฐกิจซึ่งต้องมีการศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติของแบคทีเรียเหล่านี้ต่อไป

คำสำคัญ: แบคทีเรียที่สังเคราะห์กรดอินโดลอะซีติก แบคทีเรียที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ผักกวางตุ้ง คะน้า ผักบุ้ง

Abstract

This research studied the effects of indoleacetic acid (IAA)-producing bacteria isolated from weed rhizosphere on seedling growth of crop plants. Three strains of IAA-producing bacteria, AB5, AB11, and AB17 isolated from rhizosphere of *Eleusine indica*, and two other strains, SS3 and SS6, isolated from rhizosphere of *Eupatorium odoratum* were used. Each strain was cultured for 72 h in Nutrient Broth containing 50 mg/l Tryptophan. After that, the culture was centrifuged and the supernatant were collected for the detection of IAA production and seed immersion. Seeds of *Brassica chinensis*, *B. alboglaba*, and *Ipomoea aquatica* were immersed in cell-free medium of each bacterium for 3 h before sown in soil. Most of these bacteria enhanced growth of *Brassica chinensis*, especially shoot growth. However, there were no effects on the growth of *B. alboglaba* and *Ipomoea aquatica*. These bacteria can be used for the enhancement of the growth of crop plants and it is suggested that further study of the properties of these bacteria should be conducted.

Keywords : IAA-producing bacteria; Plant growth promoting bacteria; *Brassica chinensis*; *Brassica alboglaba*; *Ipomoea aquatic*

1. บทนำ

แบคทีเรียกลุ่มส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Plant Growth Promoting Bacteria; PGPB) เป็นแบคทีเรียที่ไม่ก่อให้เกิดโรคแก่พืชอาศัยและมีกลไกสนับสนุนการเจริญของพืชทั้งทางตรงและทางอ้อม พบได้ในดินบริเวณรอบราก พื้นผิวราก และภายในเนื้อเยื่อพืช [1] แบคทีเรียกลุ่มนี้มีการใช้งานเพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตรมาเป็นเวลานานแล้วเนื่องจากมีคุณสมบัติในการเพิ่มธาตุอาหารให้แก่พืช กระตุ้นการเจริญของพืชโดยการผลิตฮอร์โมนพืช ผลิตเอนไซม์ ACC deaminase เพื่อลดระดับของเอทิลีนในพืช ช่วยควบคุมและยับยั้งกิจกรรมของเชื้อก่อโรคพืช และปรับปรุงโครงสร้างดิน เป็นต้น [2-3]

แบคทีเรียที่ผลิตกรดอินโดลอะซีติก (Indole-3-Acetic Acid; IAA) เป็นแบคทีเรียที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มหนึ่งที่มีการคัดแยกมาใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลาย โดยมีทั้งการนำไปใช้ประโยชน์ทางเกษตรกรรมโดยให้ผลต่อพืชได้เช่นเดียวกับการใช้สารสังเคราะห์ที่เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช เช่น เร่งการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ [4] การใช้แบคทีเรียที่สังเคราะห์ฮอร์โมนพืช เช่น กรดอินโดลอะซีติกนี้มีข้อดีมากกว่าการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชเพราะจุลินทรีย์สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ในระดับที่เหมาะสม และผลิตสารอื่นๆ เช่น วิตามิน ซึ่งมีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืชได้ด้วย [4] และยังช่วยให้พืชมีความทนทานต่อการปนเปื้อนสารมลพิษในสิ่งแวดล้อม เช่น การส่งเสริมการเจริญของข้าวฟ่างในดินที่ปนเปื้อนฟีแนนทรีน [5] หรือช่วยให้พืชที่ใช้ในการฟื้นฟูสภาพแวดล้อมด้วยพืช (Phytoremediation) สะสมสารมลพิษได้ดียิ่งขึ้น เช่น ส่งเสริมการสะสมแคดเมียมในน้ำใจใคร่ (*Solanum nigrum*) [6] มีแบคทีเรียหลายสกุลที่มีรายงานว่าสามารถสร้าง IAA ได้ เช่น *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Acetobacter, Klebsiella, Enterobacter* และ *Xanthomonas* เป็นต้น [1, 4] ไซยาโนแบคทีเรียในสกุล *Nostoc*, *Calothrix*, *Anabeana* เป็นต้น นอกจากแบคทีเรียแล้ว ยูคาริโอตทั้งยีสต์และราหลายสกุล เช่น *Saccharomyces*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Aspergillus* และ *Trichoderma* เป็นต้น ก็มีความสามารถในการผลิต IAA เช่นกัน [4]

นอกจากนั้น การใช้แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชยังสามารถเพิ่มความทนทานต่อสารกำจัดศัตรูพืชที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมของพืชเศรษฐกิจได้ด้วย ซึ่งทำให้มีโอกาสที่จะได้ผลผลิตสูงขึ้นในสภาพแวดล้อมดังกล่าว ตัวอย่างเช่น Ahemad and Khan [7] รายงานว่าการใช้ *Mesorhizobium* sp. เพิ่มชีวมวลและปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในเนื้อเยื่อพืชของถั่วชิกพีที่เจริญในดินที่ปนเปื้อนยาฆ่าแมลง fipronil และ pyrifoxifen ได้ การเติม *Rhizobium* sp. MRL3 ช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของถั่วเลนทิลที่เจริญในดินที่ปนเปื้อนสารกำจัดวัชพืช Quizalafop-p-ethyl และ clodinafop ได้เมื่อเทียบกับดินที่ไม่เติมหัวเชื้อ [8] การนำแบคทีเรียที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชมาใช้ประโยชน์ทางการเกษตรจึงนับเป็นทางเลือกที่น่าสนใจ

ในการศึกษานี้ จึงได้คัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดอินโดลอะซีติกได้จากไรโซสเฟียร์ของวัชพืช ซึ่งเป็นพืชกลุ่มที่พบแพร่กระจายทั่วไปในสิ่งแวดล้อมได้ดี และนำแบคทีเรียที่สร้างกรดอินโดลอะซีติกได้ มาทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเศรษฐกิจสามชนิดคือผักกวางตุ้ง (*Brassica chinensis*) คะน้า (*B. alboglaba*) และผักบุ้ง (*Ipomoea aquatica*) ซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญทั้งสามชนิด เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ ในการนำเชื้อแบคทีเรียเหล่านี้ ไปใช้เพิ่มผลผลิตทางการเกษตรและลดการใช้สารเคมีทางการเกษตรต่อไป

2. วัสดุอุปกรณ์และวิธีการวิจัย

2.1 การคัดแยกแบคทีเรีย

คัดแยกแบคทีเรียที่ผลิตกรดอินโดลอะซีติกโดยนำดินรอบราก (Rhizospheric soil) ของหญ้าตีนกา (*Eleusine indica*) และสาบเสือ (*Eupatorium odoratum*) ที่พบในมหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์ มาเขย่าในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 10 ml เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำมาเจือจางครั้งละสิบเท่า นำสารละลายดินที่แต่ละความเจือจางมาเกลี่ยบนอาหาร Nutrient agar (NA) บ่มทิ้งไว้ 24 – 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส คัดแยกแบคทีเรียที่มีโคโลนีลักษณะต่างกัน นำมาแยกจนได้เชื้อเดี่ยว

2.2 การทดสอบการสร้าง IAA

นำแบคทีเรียแต่ละโคโลนีมาทดสอบความสามารถในการสร้างกรดอินโดลอะซีติกตามวิธีของ Ahmad *et al.*[1] โดยเลี้ยงในอาหาร Nutrient Broth (NB) ที่เติมทริปโตแฟน 50 mg/l เป็นเวลา 72 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 rpm เป็นเวลา 30 นาที ดูดส่วนใส 2 ml

หยดกรดออร์โธฟอสฟอริก 2 หยด เติม Salkowski reagent 4 ml ตรวจดูการเปลี่ยนแปลงของสีว่าเกิดสีชมพูหรือไม่ หากเกิดสีชมพูจะนับว่ามีการสร้างกรดอินโดลอะซีติก

2.3 การทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

เตรียมแบคทีเรียสำหรับทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช โดยนำแบคทีเรียที่ผ่านการทดสอบแล้วว่าสร้างกรดอินโดลอะซีติกได้ มาเลี้ยงในอาหาร Nutrient Broth (NB) ที่เติมทริปโตแฟน 50 mg/l เป็นเวลา 72 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 rpm เป็นเวลา 30 นาที นำเฉพาะส่วนใสมาแช่เมล็ดพืชแต่ละชนิดไว้ 3 ชั่วโมง ใช้เมล็ดที่แช่ในน้ำกลั่น 3 ชั่วโมงเป็นชุดควบคุม

การทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชระยะต้นกล้าดัดแปลงมาจาก Chouychai *et al.* [9] โดยนำเมล็ดพันธุ์คะน้า ผักกวางตุ้ง (บริษัทเจียไต๋ กทม.) และผักบุ้ง (บริษัท ฉั่วย่งเซ้ง กทม.) ที่แช่ในส่วนใสของอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียและน้ำกลั่น มาเพาะลงในดินชุดชัยบาดาลที่ได้รับความอนุเคราะห์จากกรมพัฒนาที่ดิน เขตพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ โดยเพาะลงในถ้วยพลาสติกที่แต่ละถ้วยมีดิน 50 กรัม เพาะทั้งสิ้น 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 เมล็ด รดน้ำทุกวัน เมื่อต้นกล้าอายุครบ 10 วัน นับจำนวนเมล็ดที่งอกและเก็บผลความยาวยอด ความยาวราก น้ำหนักสดของยอดและราก และน้ำหนักแห้งของยอดและราก

2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างทรีทเมนต์ด้วย One-way ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วย Turkey ‘s test

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 การสร้างกรดอินโดลอะซีติกของแบคทีเรีย

จากแบคทีเรียที่คัดแยกได้ทั้งหมด มีแบคทีเรียจำนวน 10 สายพันธุ์ที่สร้างกรดอินโดลอะซีติกได้ และได้คัดเลือกแบคทีเรียเหล่านั้นมา 5 สายพันธุ์โดยเลือกเชื้อที่มีความเข้มของสีชมพูมากสุด 5 สายพันธุ์เพื่อทดสอบความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเศรษฐกิจ แบคทีเรียที่คัดเลือกมาทั้ง 5 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ AB5 AB11 AB17 ที่คัดแยกได้จากไรโซสเฟียร์ของหญ้าตีนกาและสายพันธุ์ SS3 SS6 ที่คัดแยกได้จากไรโซสเฟียร์ของสาบเสือ

ตารางที่ 1 ผลของแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกวางตุ้งหลังจากเพาะ 10 วัน

สายพันธุ์	ความยาวยอด (cm)	น้ำหนักสดยอด (mg)	น้ำหนักแห้งยอด (mg)	ความยาวราก (cm)	น้ำหนักสดราก (mg)	น้ำหนักแห้งราก (mg)
น้ำกลั่น	3.2 ± 0.7	43.5 ± 9.6	1.8 ± 0.3	4.0 ± 0.7	6.7 ± 1.7	0.6 ± 0.1
AB5	4.2 ± 1.2*	53.0 ± 13.2	1.9 ± 0.4	4.1 ± 0.6	7.0 ± 1.3	0.8 ± 0.2
AB11	4.7 ± 0.8*	59.3 ± 6.9*	1.8 ± 0.2	3.9 ± 1.1	8.4 ± 1.1	0.7 ± 0.1
AB17	4.4 ± 1.2*	54.7 ± 12.7*	2.3 ± 0.3*	4.4 ± 0.9	9.6 ± 2.4*	0.6 ± 0.1
SS3	4.6 ± 0.7*	61.6 ± 9.4*	2.0 ± 0.3	4.3 ± 1.0	9.4 ± 2.3*	0.8 ± 0.2
SS6	3.8 ± 0.8	49.5 ± 9.0	2.0 ± 0.3	3.0 ± 1.0*	7.8 ± 1.0	0.7 ± 0.2

* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) จากต้นกล้าผักกวางตุ้งที่แช่เมล็ดในน้ำกลั่น

3.2 การส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกวางตุ้ง

การแช่เมล็ดในส่วนใสจากอาหารเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรียทุกสายพันธุ์ยกเว้น SS6 สามารถกระตุ้นให้ความยาวยอดของผักกวางตุ้งเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ *(P< 0.05)* เมื่อเทียบกับชุดที่แช่เมล็ดในน้ำกลั่น โดยสายพันธุ์ AB11 ซึ่งสร้างกรดอินโดลอะซีติกได้มากกว่าสายพันธุ์อื่นทำให้ยอดของต้นกล้าผักกวางตุ้งมีค่าสูงสุด ในขณะที่มีเพียงสายพันธุ์ AB11 AB17 และ SS3 เท่านั้นที่ทำให้น้ำหนักสดของยอดผักกวางตุ้งเพิ่มขึ้นจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ*(P< 0.05)* และสายพันธุ์ AB 17 เท่านั้นที่ทำให้น้ำหนักแห้งของยอดต้นกล้ากวางตุ้งเพิ่มขึ้นจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ *(P<0.05)* (ตารางที่ 1)

การแช่เมล็ดในส่วนใสจากอาหารเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรียส่งผลต่อการเจริญของรากผักกวางตุ้งน้อยกว่ายอด ไม่มีแบคทีเรียชนิดใดเพิ่มความยาวรากของผักกวางตุ้งได้ ในขณะที่แบคทีเรียสายพันธุ์ SS6 ที่ไม่มีผลต่อการเจริญของยอดเลยนั้น ยับยั้งให้ความยาวรากของผักกวางตุ้งน้อยกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ *(P< 0.05)* ในขณะที่สายพันธุ์ AB17 กับ SS3 เท่านั้น ที่สามารถกระตุ้นให้น้ำหนักสดของรากกวางตุ้งเพิ่มขึ้นจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ *(P< 0.05)* ได้ แต่ไม่มีแบคทีเรียสายพันธุ์ใดที่สามารถเพิ่มน้ำหนักแห้งของรากกวางตุ้งได้เลย (ตารางที่ 1)

3.3 การส่งเสริมการเจริญเติบโตของคะน้า

การแช่เมล็ดในส่วนใสจากอาหารเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรียทุกสายพันธุ์ส่งผลต่อการเจริญระยะต้นกล้าของคะน้าน้อยกว่าผักกวางตุ้งอย่างเห็นได้ชัด ไม่มีแบคทีเรียสายพันธุ์ใด เพิ่มความยาวยอดและน้ำหนักสดของยอดคะน้าเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมได้เลย และมีเพียงสายพันธุ์ AB 11 เท่านั้นที่สามารถเพิ่มน้ำหนักแห้งของยอดคะน้าให้มากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ *(P< 0.05)* ได้ (ตารางที่ 2) ในทำนองเดียวกัน ไม่มีแบคทีเรียสายพันธุ์ใด เพิ่มความยาวรากและน้ำหนักสดของรากคะน้าได้เลย และมีเพียงสายพันธุ์ SS6 เท่านั้น ที่สามารถเพิ่มน้ำหนักแห้งของรากคะน้าให้มากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ *(P< 0.05)* ได้ (ตารางที่ 2)

3.4 การส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักบุ้ง

การแช่เมล็ดในส่วนใสจากอาหารเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรียทุกสายพันธุ์ส่งผลต่อการเจริญระยะต้นกล้าของผักบุ้งน้อยมาก ไม่มีแบคทีเรียสายพันธุ์ใด ทำให้การเจริญของยอดผักบุ้งเจริญได้ดีกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ*(P< 0.05)* ทั้งเมื่อพิจารณาจากความยาว น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง (ตารางที่ 3) ในทำนองเดียวกัน ไม่มีแบคทีเรียสายพันธุ์ใด เพิ่มความยาวรากและน้ำหนักแห้งของรากผักบุ้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ *(P< 0.05)* ได้เลย เมื่อเทียบกับชุดควบคุมอย่างไรก็ตาม แบคทีเรียสายพันธุ์ AB5 และ SS3 สามารถทำให้น้ำหนักสดของรากผักบุ้งเพิ่มจากชุดควบคุมได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ *(P< 0.05)* ได้ อย่างไรก็ตาม การได้รับแบคทีเรียที่ผลิตกรดอินโดลอะซีติก

ตารางที่ 2 ผลของแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักคะน้าหลังจากเพาะ 10 วัน

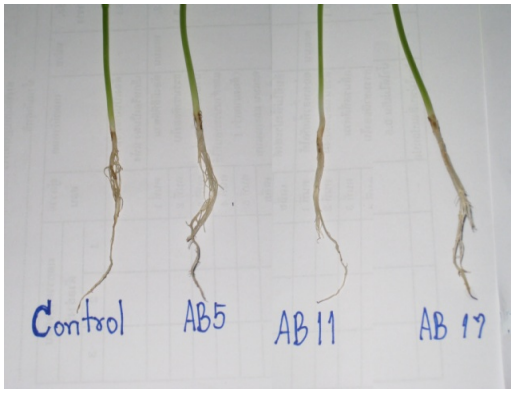
สายพันธุ์	ความยาวยอด (cm)	น้ำหนักสดยอด (mg)	น้ำหนักแห้งยอด (mg)	ความยาวราก (cm)	น้ำหนักสดราก (mg)	น้ำหนักแห้งราก (mg)
น้ำกลั่น	4.8 ± 0.8	63.8 ± 11.1	3.0 ± 0.3	3.2 ± 1.6	7.6 ± 2.0	0.6 ± 0.1
AB5	5.4 ± 1.5	64.5 ± 16.9	3.5 ± 0.7	2.0 ± 1.0	7.3 ± 2.1	0.8 ± 0.2
AB11	5.5 ± 1.3	73.3 ± 16.3	4.1± 0.5*	3.0 ± 1.3	8.3 ± 3.7	0.6 ± 0.2
AB17	5.6 ± 1.3	57.7 ± 17.7	3.1 ± 0.8	2.5 ± 1.2	7.5 ± 1.3	0.7 ± 0.2
SS3	4.2 ± 1.1	50.8 ± 12.5	3.0 ± 0.7	2.9 ± 1.0	9.6 ± 3.0	0.8 ± 0.2
SS6	5.6 ± 0.9	67.4 ± 15.2	3.8 ± 1.1	2.7 ± 1.4	9.2 ± 2.7	1.0 ± 0.4*

* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) จากต้นกล้าผักคะน้าที่แช่เมล็ดในน้ำกลั่น

ตารางที่ 3 ผลของแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักบุ้งหลังจากเพาะ 10 วัน

สายพันธุ์	ความยาวยอด (cm)	น้ำหนักสดยอด (mg)	น้ำหนักแห้งยอด (mg)	ความยาวราก (cm)	น้ำหนักสดราก (mg)	น้ำหนักแห้งราก (mg)
น้ำกลั่น	10.4 ± 2.0	277.8 ± 70.9	17.5 ± 3.9	5.3 ± 1.9	51.5 ± 19.5	3.9 ± 1.6
AB5	10.6 ± 1.6	321.8 ± 51.8	19.8 ± 1.9	5.7 ± 1.7	71.6 ± 14.0*	3.7 ± 0.8
AB11	9.1 ± 1.5	259.7 ± 45.2	15.7 ± 1.9	5.4 ± 1.6	55.7 ± 18.7	3.4 ± 1.2
AB17	10.8 ± 1.8	294.2 ± 64.6	17.9 ± 2.9	5.1 ± 1.3	57.1 ± 17.0	3.8 ± 1.1
SS3	11.3 ± 1.4	331.2 ± 57.6	19.0 ± 2.8	6.0 ± 1.5	85.1 ± 26.0*	4.5 ± 0.9
SS6	9.9 ± 3.3	288.4 ± 98.2	15.8 ± 3.7	4.5 ± 2.1	64.2 ± 25.2	4.0 ± 1.1

* แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) จากต้นกล้าผักบุ้งที่แช่เมล็ดในน้ำกลั่น



ภาพที่ 1 ลักษณะของรากผักบุ้งที่เจริญมาจากเมล็ดที่แช่ในน้ำกลั่น (control) และส่วนใสของแบคทีเรียที่สร้างกรดอินโดลอะซีติกได้สายพันธุ์ AB5 AB11 AB17 ก่อนนำไปเพาะ

นี้ แม้จะไม่ทำให้ความยาวรากของผักบุ้งโดยรวมเพิ่มขึ้น แต่จะทำให้เกิดรากแขนงมากขึ้น ดังแสดงใน ภาพที่ 1

กรดอินโดลอะซีติกเป็นออกซินธรรมชาติที่มีบทบาทในการเจริญของรากมากที่สุด โดยถ้าด้านล่างของรากมีปริมาณกรดอินโดลอะซีติกมาก จะมีผลในการกระตุ้นให้เกิดรากแขนง และการกระตุ้นให้รากเจริญจะใช้ที่ความเข้มข้นที่ต่ำมาก ถ้าสูงเกินไปจะยับยั้งการยืดยาวของราก [10] แต่เร่งการเติบโตของพืชในส่วนที่เป็นต้น ซึ่งโดยปกติแล้ว ลำต้นต้องการออกซินสูงกว่าในราก และออกซินมีบทบาทมากในการขยายตัวของเซลล์ [11] ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าการเจริญของลำต้นพืชที่นำมาทดสอบนั้นมีเฉพาะผักกวางตุ้งที่ตอบสนองต่อแบคทีเรียที่ผลิตกรดอินโดลอะซีติกได้ดีกว่าราก ในขณะที่คะน้าและผักบุ้งตอบสนองต่อแบคทีเรียที่ผลิตกรดอินโดลอะซีติกน้อยมาก เนื่องจากความต้องการออกซินของพืชแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน และการให้ออกซินในระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญของยอดอาจสูงเกินไปจนยับยั้งการเจริญของรากได้ ดังที่เคยมีรายงานว่าการให้ IAA ในระดับ 1 nM ทำให้การเจริญของรากผักกาดหอมและ *Arabidopsis* หยุดชะงักได้ [10]

การใช้ประโยชน์จากแบคทีเรียที่ผลิตกรดอินโดลอะซีติกเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชนั้นมีอยู่อย่างต่อเนื่อง Mirza *et al.* [12] รายงานว่า *Enterobactor* spp. ที่คัดแยกจากต้นอ้อยสามารถผลิตกรดอินโดลอะซีติกได้ระหว่าง 0.09 – 0.51 µgm/l ในอาหารที่เติมทริปโตแฟนเป็นเวลา 7 วัน สามารถเพิ่มน้ำหนักแห้งของยอดอ้อยที่เลี้ยงในหลอดทดลองได้ นอกจากนั้น *Pseudomonas* spp. ที่สามารถสร้างกรดอินโดลอะซีติกได้ระหว่าง 18.1 – 31.2 µg/ml ในอาหารที่เติมทริปโตแฟนเป็นเวลา 4 วัน เมื่อนำส่วนใสจากอาหารเลี้ยงเชื้อไปแช่เมล็ดถั่วชิกพีเป็นเวลา 30 นาที ทำให้การเจริญของต้นกล้าถั่วชิกพีไม่ต่างจากชุดควบคุม แต่ดีกว่าการแช่เมล็ดในสารละลายกรดอินโดลอะซีติก 0.5 µM ที่เวลาเท่ากัน ซึ่งต้นกล้าถั่วชิกพีมีการเจริญลดลงอย่างชัดเจน และจะลดลงมากขึ้นเมื่อใช้กรดอินโดลอะซีติกความเข้มข้นสูงขึ้น [13] ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าแบคทีเรียที่นำมาทดสอบนั้น สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตระยะต้นกล้าของผักกวางตุ้งได้ดีกว่าคะน้า โดยที่แบคทีเรียเหล่านี้ ไม่ได้คัดแยกมาจากพืชทั้งสองชนิดนี้ แต่มาจากวัชพืช ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีความเป็นไปได้ที่จะนำแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชที่ได้จากวัชพืชมาใช้กับพืชเศรษฐกิจ แต่อาจจะไม่ได้ผลกับพืชทุกชนิด ดังเช่น

คะน้าและกวางตุ้ง แม้จะอยู่ในสกุลเดียวกัน แต่การตอบสนองต่อแบคทีเรียเหล่านี้ต่างกัน

สารที่ออกฤทธิ์ในส่วนใสจากอาหารเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรียที่สร้างกรดอินโดลอะซีติกไม่ได้มีเฉพาะกรดอินโดลอะซีติกอย่างเดียว แต่มีสารอินทรีย์อื่นปนอยู่ด้วย ซึ่งทำให้แบคทีเรียต่างชนิดกันที่ผลิตกรดอินโดลอะซีติกได้เท่ากัน หรือแบคทีเรียที่ผลิตกรดอินโดลอะซีติกได้สูง อาจไม่ได้ทำให้การเจริญเติบโตของพืชเพิ่มขึ้นได้สูงสุด Hernandez-Rodriguez *et al*. [14] ได้วิเคราะห์องค์ประกอบของส่วนใสจากอาหารเลี้ยงเชื้อของ *Burkholderia capacia* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สามารถสร้างกรดอินโดลอะซีติกได้ พบว่านอกจากกรดอินโดลอะซีติกแล้ว ยังมีสารประกอบฟีนอลิกอื่นๆ เช่นกรดซาลิไซลิก เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพดระหว่างการใช้ส่วนใสจากอาหารเลี้ยงเชื้อของ *Burkholderia capacia* กับสารละลายกรดอินโดลอะซีติก 10 – 70 µg/ml พบว่า การใช้ ส่วนใสจากอาหารเลี้ยงเชื้อของ *Burkholderia capacia* ความเข้มข้น 20 – 60% ทำให้การเจริญของรากข้าวโพดดีกว่า มีการแตกแขนงและมีน้ำหนักสดมากกว่าการกระตุ้นด้วยสารละลายกรดอินโดลอะซีติกทุกความเข้มข้น

ชนิดของพืชที่เป็นแหล่งที่มาของแบคทีเรียอาจมีผลต่อประสิทธิภาพในการสร้างกรดอินโดลอะซีติกของแบคทีเรียด้วย Khamna *et al*. [15] คัดแยกแอคติโนมัยสีทที่มีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชหลายชนิดและพบว่า *Streptomyces* sp. CMU-H009 ที่คัดแยกจากไรโซสเฟียร์ของตะไคร้ผลิตกรดอินโดลอะซีติกได้มากกว่าแบคทีเรียที่แยกได้จากพืชชนิดอื่นๆ ซึ่งในการศึกษานี้ พบว่าแบคทีเรียที่ได้มาจากไรโซสเฟียร์ของหญ้าตีนกา มีสายพันธุ์ที่ผลิตกรดอินโดลอะซีติกได้มากกว่าแบคทีเรียที่แยกได้จากไรโซสเฟียร์ของสาบเสือ แต่แบคทีเรียที่ผลิตกรดอินโดลอะซีติกได้มากที่สุดนั้น ไม่ได้กระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชที่ทดสอบได้ดีที่สุดเสมอไป ดังเช่นผลต่อน้ำหนักสดของรากผักบุ้งที่แบคทีเรียสายพันธุ์ AB11 เพิ่มน้ำหนักสดของรากผักบุ้งได้น้อยกว่าสายพันธุ์ AB5 และ SS3 ซึ่งอาจเป็นเพราะผลขององค์ประกอบอื่นๆ ที่แบคทีเรียสร้างขึ้นระหว่างการเจริญเติบโตในกรณีเดียวกับ *Burkholderia capacia* [14] หรืออาจเป็นเพราะกรดอินโดลอะซีติกที่มากเกินไปส่งผลเสียต่อการเจริญเติบโตของพืช ดังที่มีรายงานในถั่วชิกพี [13] ซึ่งต้องมีการศึกษาในรายละเอียดต่อไป

4. สรุปและข้อเสนอแนะ

การนำแบคทีเรียที่ผลิตกรดอินโดลอะซีติกได้ซึ่งคัดแยกได้จากไรโซสเฟียร์ของวัชพืชได้แก่ หญ้าตีนกาและสาบเสือ มากระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชเศรษฐกิจ 3 ชนิดคือผักกวางตุ้ง คะน้า และผักบุ้ง โดยใช้ส่วนใสของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปั่นเก็บเซลล์แล้ว ผลปรากฏว่า แบคทีเรียเหล่านี้สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักกวางตุ้งได้ดีที่สุดแต่มีผลต่อการเจริญของคะน้าและผักบุ้งน้อยมาก แม้จะไม่มีผลต่อการเจริญของผักบุ้ง แต่แบคทีเรียบางสายพันธุ์ก็ช่วยให้การเกิดรากแขนงของผักบุ้งดีขึ้น ดังนั้น จึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำแบคทีเรียเหล่านี้ไปใช้ประโยชน์ทางการเกษตร โดยควรศึกษาเพิ่มเติมถึงผลของแบคทีเรียเหล่านี้ต่อการเจริญเติบโตของพืชเศรษฐกิจจนถึงระยะเก็บเกี่ยว รวมทั้งศึกษาคุณสมบัติของแบคทีเรียเหล่านี้ที่เกี่ยวข้องกับการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเพิ่มเติม รวมทั้งระบุชนิดและสายพันธุ์ที่แน่นอนต่อไป

5. เอกสารอ้างอิง

[1] Ahmad, F., Ahmad, I. and Khan, M.S. 2008. "Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities." **Microbiological Research**. 163: 173-181.

[2] Rajkumar, M., Ae, N. and Freitas, H. 2009. "Endophytic bacteria and their potential to enhance heavy metal phytoextraction." **Chemosphere**. 77: 153-160.

[3] Weyen, N., van der Lelie, D., Taghavi, S., Newman, L. and Vangronsveld, J. 2009. "Exploiting plant-microbe partnerships to improve biomass production and remediation." **Trends in Biotechnology**. 27(10): 591-598.

[4] 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." **Applied Biochemistry and Microbiology**. 42: 117 – 126.

[5] Golubev, S.N., Muratova, A. Y., Wittenmayer, L., Bondarenkova, A. D., Hirche, F., Matora, L.Y., Merbach, W. and Turkovskaya, O.V. 2011. "Rhizosphere indole-3-acetic acid as a mediator in the *Sorgham bicolor*-phenanthrene-*Sinorhizobium meliloti* interactions." **Plant Physiology and Biochemistry**. 49: 600-608.

[6] Chen, L., Luo, S., Xiao, X., Guo, H., Chen, J., Wan, Y., Li, B., Xu, T., Xi, Q., Rao, C., Liu, C. and Zeng, G. 2010. "Application of plant growth-promoting endophytes (PGPE) isolated from *Solanum nigrum* L. for phytoextractraction of Cd-polluted soils." **Applied Soil Ecology**. 46: 383-389.

[7] Ahemad, M. and Khan, M.S. 2009. "Effect of insecticide-tolerance and plant growth-promoting *Mesorhizobium* on the performance of chickpea grown in insecticide stressed alluvial soil." **Journal of Crop Science and Biotechnology**. 12: 217 – 226

[8] Ahemad, M. and Khan, M.S. 2010. "Growth promotion and protection of lentil (*Lens esculenta*) against herbicide stress by *Rhizobium* species." **Annual of Microbiology**. in press

[9] Chouychai W, Thongkukiatkul A., Upatham S., Lee H., Pokethitiyook P. and Kruatrachue M. 2007. "Phytotoxicity assay of crop plants to phenanthrene and pyrene contaminants in acidic soil." **Environmental Toxicology**. 22: 597-604.

[10] Tanimoto, E. 2005. "Regulation of root growth by plant hormones- role for auxin and gibberellins." **Critical Reviews in Plant Science**. 24: 249 – 265.

[11] Boutté, Y., Ikada, Y. and Grebe, M. 2007. "Mechanism of auxin-dependent cell and tissue polarity." **Current Opinion in Plant Biology**. 10: 606-613.

[12] Mirza, M.S., Ahmad, W., Latif, F., Haurat, J., Bally, R., Normand, P. and Malik, K.A. 2001. "Isolation, partial characterization, and the effect of plant growth-promoting bacteria (PGPB) on micro-propagated sugarcane in vitro." **Plant and Soil**. 237: 47-54.

[13] Malik, D.K. and Sindhu, S.S. 2011. "Production of indole acetic acid by *Pseudomonas* sp.: effect of coinoculation with *Mesorhizobium* sp. *Cicer* on nodulation and plant growth of chickpea (*Cicer arietinum*)." **Physiology and Molecular Biology-Plants**. 17: 25 – 32.

[14] Hernandez-Rodriguez, A., Heydrich-Perez, M., Diallo, B., Jaziri, M.E. and Vandeputte, O.M. 2010. "Cell-free culture medium of *Burkholderia cepacia* improves seed germination and seedling growth in maize (*Zea mays*) and rice (*Oryza sativa*)." **Plant Growth Regulation**. 60: 191 – 197.

[15] Khamna, S., Yakota, A. and Lumyong, S. 2009. "Actinomycetes isolated from medicinal plant rhizosphere soils: diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore production." **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. 25: 649 – 655.