ประสิทธิภาพของเอนโดไฟติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *Terriglobus saanensis* MJUP06 ต่อการงอกของผักหวานป่า

Effects of Endophytic Bacteria Strain *Terriglobus saanensis* MJUP06 On Germination of Phak Wan Pa (*Melientha suavis* Pierre.)

ณัฐพร จันทร์ฉาย[1]*

Nuttaporn Chanchay[1]*

[1]สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพทางอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้-แพร่ เฉลิมพระเกียรติ

[1]Agro-Industrial Biotechnology Maejo University Phrae Campus

บทคัดย่อ

ผักหวานป่าเป็นพืชที่พบในบางช่วงฤดูกาล และพบว่ามีเอนโดไฟติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *Terriglobus saanensis* MJUP06 ที่มีสมบัติในการตรึงไนโตรเจนให้กับผักหวานป่าได้ งานวิจัยนี้ศึกษาประสิทธิภาพของเอนโดไฟติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *T. saanensis* MJUP06 ต่อการงอกของผักหวานป่า พบว่า การแช่เมล็ดผักหวานป่าด้วยสารละลายเชื้อเอนโดไฟติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *T. saanensis* MJUP06 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมงก่อนนำไปปลูก ทำให้เมล็ดผักหวานป่ามีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุดเท่ากับ 86.75 เปอร์เซ็นต์ จำนวนวันเฉลี่ยที่ใช้ในการงอกต่ำที่สุดเท่ากับ 34.28 วัน และดัชนีการงอกเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 2.73 เมื่อศึกษาการเจริญเติบโตของเมล็ดผักหวานป่าหลังจากปลูกเป็นเวลา 49 วัน พบว่า การแช่เมล็ดผักหวานป่าด้วยสารละลายเชื้อเอนโดไฟติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *T. saanensis* MJUP06 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมงมีความสูงลำต้นเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 11.23 เซนติเมตร ความยาวของรากผักหวานป่า 10.65 เซนติเมตร และมีค่าเฉลี่ยจำนวนใบมากที่สุดเท่ากับ 7.73 ใบ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่น ($p<0.05$) จากผลการศึกษานี้สามารถนำสารละลายของเอนโดไฟติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *T. saanensis* MJUP06 มาช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการงอกของผักหวานป่าได้ และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในพืชเศรษฐกิจอื่นเพื่อเพิ่มอัตราการรอดของการเพาะขยายพันธุ์ได้ต่อไป

คำสำคัญ: การงอก ผักหวานป่า เอนโดไฟติกแบคทีเรีย *Terriglobus saanensis* MJUP06

* *Corresponding author : nuttapornchanchay@gmail.com*

Received: 23 ก.พ. 64; Revised: 24 มี.ค. 64; Accepted: 4 มิ.ย. 64

Abstract

Phak Wan Pa (*Melientha suavis* Pierre.) is a plant found during certain seasons. It was found that endophytic bacterium strain *Terriglobus saanensis* MJUP06 indicated nitrogen fixation properties to Phak Wan Pa. This study aimed to study the efficiency of *T.saanensis* MJUP06 affects germination of Phak Wan Pa. The results showed that the soaking time of seedling of 10% *T. saanensis* MJUP06 inoculation solution for 1 hour had the highest germination rate of 86.75% while, the lowest mean number of days to germination was 34.28 days and the highest germination index was 2.73. The studies on plant growth after 49 days planting found that the soaking time with 10% *T. saanensis* MJUP06 inoculation solution for 1 hour showed the highest value of stem height, root length and no. of leaves of 11.23 cm, 10.65 cm and 7.73 blades, respectively with statistically significant difference compared with the other methods ($p<0.05$). From the results obtained, *T. saanensis* MJUP06 could be use as the inoculation solution to improve the germination efficiency of Phak Wan Pa and further apply for other crops to increasing the breeding survival rate.

Keywords: Germination, Phak Wan Pa, Endophytic bacteria, *Terriglobus saanensis* MJUP06

1. บทนำ

ผักหวานป่า (*Melientha suavis* Pierre.) เป็นผักพื้นบ้านที่ได้รับความนิยมเป็นอย่างมากในพื้นที่ทางภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลาง เนื่องจากเป็นผักที่มีรสชาติหวานอร่อย แต่หารับประทานได้ค่อนข้างยาก เพราะผักชนิดนี้จะให้ผลผลิตในบางช่วงฤดูกาลเท่านั้น คือ ในช่วงประมาณเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนเมษายน และมักเจริญเติบโตในพื้นที่ป่า นอกจากนี้ผักหวานป่ายังเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีราคาแพงถึงกิโลกรัมละ 200 บาท แต่ผักหวานป่าที่เก็บขายในช่วงฤดูกาลจะมีราคาประมาณกิโลกรัม 100 บาท ซึ่งทำให้เกิดอาชีพเสริมสำหรับชาวบ้านที่ว่างจากงานส่วนตัว (พงษ์เทพ สุวรรณวารี และคณะ, 2560) พื้นที่อนุรักษ์ป่าเต็งรังของมหาวิทยาลัยแม่โจ้–แพร่ เฉลิมพระเกียรติ เป็นพื้นที่ที่มีผักหวานป่าเป็นพืชท้องถิ่นและพบการเจริญเติบโตอยู่ค่อนข้างจำกัด พื้นที่ดังกล่าวอยู่ติดกับแหล่งชุมชนทำให้ชาวบ้านเข้ามาเก็บผักหวานป่าเพื่อบริโภคและขายเป็นอาชีพเสริม เพราะสามารถสร้างรายได้ดีเมื่อเทียบกับการลงทุน จึงมีความต้องการของผู้บริโภคค่อนข้างมากทำให้มีการเก็บผักหวานป่าเกินขีดความสามารถที่จะแพร่พันธุ์ตามธรรมชาติได้ เช่น การตัดลำต้นให้เตี้ยเพื่อสะดวกในการเก็บ อีกทั้งยังมีความเชื่อในเรื่องการเผาป่าเพื่อที่จะกระตุ้นให้ผักหวานป่าแตกยอด ซึ่งมีผลกระทบหลาย ๆ ด้าน เช่น การทำลายสภาพแวดล้อมของป่า ทำลายสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ก่อให้เกิดไฟป่าที่ลุกลามไปที่อื่น ๆ ได้ อีกทั้งยังก่อให้เกิดปัญหาหมอกควันตามมาด้วย จากการสังเกตผักหวานป่ามีการสืบพันธุ์ตามธรรมชาติได้น้อยมากทำให้ผักหวานป่าในพื้นที่เกิดความเสื่อมโทรม อีกทั้งผักหวานป่าเป็นพืชที่มีอัตราการ

งอกและเจริญเติบโตได้ยากเนื่องจากมีเปลือกเมล็ดที่หนาและแข็ง (ณัฐพร จันทร์ฉาย และวรวุฒิ งามพิบูลเวท, 2561)

เอนโดไฟติกแบคทีเรียเป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ภายในเนื้อเยื่อพืชพบได้ทั้งในส่วนของราก ลำต้น และใบ โดยไม่ทำอันตรายหรือส่งผลเสียต่อพืช (พรวิภา สว่างแก้ว, 2554) เอนโดไฟติกแบคทีเรียจะอาศัยอยู่ร่วมกับพืชแบบภาวะพึ่งพาอาศัยกัน โดยพืชจะให้สารอาหารกับเอนโดไฟติกแบคทีเรียเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต ส่วนเอนโดไฟติกแบคทีเรียจะช่วยปกป้องพืชจากจุลินทรีย์ก่อโรค ช่วยในการดูดซึมแร่ธาตุและอาหาร ช่วยการเจริญเติบโตและทำให้พืชทนต่อสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปได้ดีขึ้น (Martinez-Klimovat et al., 2017) นอกจากนี้เอนโดไฟติกแบคทีเรียในกลุ่มของไรโซแบคทีเรีย (PGPR; Plant Growth Promoting Rhizobacteria) ยังมีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชด้วยเช่นกัน (Gray & Smith, 2005) โดยจะมีการสังเคราะห์โปรตีนและกรดนิวคลีอิกให้ได้เป็นไนโตรเจน แม้จะพบไนโตรเจนได้ตามธรรมชาติในชั้นบรรยากาศ แต่พืชไม่สามารถนำไนโตรเจนเหล่านั้นมาใช้ได้ พืชจึงได้รับไนโตรเจนที่จากแบคทีเรียที่เปลี่ยนแปลงสารประกอบไนโตรเจนที่อยู่ในบรรยากาศและดินให้อยู่ในรูปของแอมโมเนียม (NH_4^+) และไนเตรท (NO_3^+) เอนโดไฟติกแบคทีเรียในกลุ่มของไรโซแบคทีเรียที่นิยมนำมาใช้ คือ *Klebsiella pneumonia* (Pramanik et al., 2017; Mitraa et al., 2018) *Paenibacillus kribbensis* (Han et al., 2009) *Burkholderia* sp. *Pseudomonas thivervalensis* (Chen et al., 2013) และ *Bacillus subtilis* (Schwyn & Neilands, 2017) จวงจันทร์ จำปาทอง และกุลวดี มาสิน (2561) พบเชื้อ *B. nealsonii* ที่ได้คัดแยกจากดิน ซึ่งมีคุณสมบัติในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตได้สูง สุจิตตรา ปะนันโต และคณะ (2556) ทดสอบการใช้ประโยชน์จากเชื้อ *B. safensis* ร่วมกับการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนและปุ๋ยฟอสฟอรัสช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว โดยเพิ่มความสูง ปริมาณการแตกกอ จำนวนรวงต่อกอ และผลผลิตเฉลี่ยเพิ่มขึ้น สุทธวรรณ สุพรรณ และคณะ (2559) ใช้แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนร่วมกับวัสดุตัวกลางชีวภาพสำหรับการปลูกคะน้า พบว่าสามารถช่วยให้ความสูง ความยาวของใบ และลำต้นคะน้าเพิ่มขึ้น จตุรพร บุณณดากุล และคณะ (2562) พบว่า *B. altitudinis* CM2-2 เป็นผลดีต่อการเจริญของข้าวด้านความสูงลำต้น ความยาวราก จำนวนใบ น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของข้าว นอกจากนี้ ณัฐพร จันทร์ฉาย และวรวุฒิ งามพิบูลเวท (2561) ได้คัดเลือกจุลินทรีย์ในรากผักหวานป่า พบว่า *T. saanensis* MJUP06 สามารถตรึงไนโตรเจนได้ เท่ากับ 0.0560 เปอร์เซ็นต์ สร้าง IAA ได้สูงถึง 25 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร ด้วยเหตุนี้จึงเห็นความสำคัญของการนำเอนโดไฟติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *T. saanensis* MJUP06 มาทำการส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักหวานป่า

งานวิจัยครั้งนี้จึงศึกษาประสิทธิภาพของเอนโดไฟติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *T. saanensis* MJUP06 ในการส่งเสริมการงอกของต้นผักหวานป่าในสภาพป่าเต็งรังและการปลูกเชิงพาณิชย์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของผักหวานป่าในการขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเมล็ด โดยทดสอบประสิทธิภาพของเอนโดไฟติกแบคทีเรียต่อการงอกของเมล็ดผักหวานป่า และอัตราการเจริญเติบโตเพื่อให้ได้ผักหวานป่าที่สามารถหาอาหารได้เอง และมีจำนวนต้นที่แข็งแรงเพิ่มมากขึ้นเพื่อให้เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภค

2. วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาผลของเอนโดไฟติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *T. saanensis* MJUP06 ต่อการงอกของผักหวานป่า

3. วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมเมล็ดผักหวานป่า นำเมล็ดผักหวานป่าที่แก่จัดโดยจะมีสีเหลืองมาแช่น้ำ ปลอกเปลือกหุ้มเมล็ดออก และผึ่งเมล็ดให้แห้ง จากนั้นทำให้ปลอดเชื้อโดยแช่เมล็ดในเมอร์คิวรีคลอไรด์ ($HgCl_2$) 0.2 เปอร์เซ็นต์ นาน 8 นาที จากนั้นนำมาแช่ในน้ำลดการปนเปื้อน (น้ำต้มเดือดนาน 30 นาที) นาน 25 นาที และพักให้เย็น จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นอีก 3 ครั้ง (Ahmad et al., 2016)

2. การเตรียมสารละลายเชื้อเอนโดไฟติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *T. saanensis* MJUP06 จากห้องปฏิบัติการชีวนวัตกรรม ม.แม่โจ้-แพร่ เฉลิมพระเกียรติ โดยการนำโคโลนีเดี่ยวของเอนโดไฟติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *T. saanensis* MJUP06 มาเลี้ยงบนอาหาร NB (Nutrient Broth) จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ก่อนนำไปใช้นำไปวัดความเข้มข้นของสารละลายให้เท่ากับ McFarland No.0.5

3. การเตรียมพื้นที่สำหรับทำเรือนเพาะชำบริเวณห้องปฏิบัติการชีวนวัตกรรม สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพทางอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้-แพร่ เฉลิมพระเกียรติ ตำบลแม่ทราย อำเภอร้องกวาง จังหวัดแพร่ โดยผสมทรายกับแกลบดำอัตราส่วน 1:1 และนำไปอบในตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven) ที่อุณหภูมิ 82 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นกรอกใส่ถุงเพาะถุงละ 1 กิโลกรัม 1,600 ถุง

4. การวางแผนการทดลอง วางแผนการทดลองแบบสุ่ม CRD (Completely Randomized Design) โดยแบ่งการวิจัยเป็น 4 ทรีตเมนท์ ๆ ละ 4 ซ้ำ ๆ ละ 100 เมล็ด ดังนี้

ทรีตเมนท์ที่ 1 คือ ชุดควบคุม เมล็ดไม่ได้ผ่านการแช่สารละลายเชื้อเอนโดไฟติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *T. saanensis* MJUP06

ทรีตเมนท์ที่ 2 คือ เมล็ดที่แช่ในสารละลายเชื้อเอนโดไฟติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *T. saanensis* MJUP06 ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมงก่อนนำไปปลูก

ทรีตเมนท์ที่ 3 คือ เมล็ดที่รดด้วยสารละลายเชื้อเอนโดไฟติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *T. saanensis* MJUP06 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร 1 ครั้ง หลังปลูก

ทรีตเมนท์ที่ 4 คือ เมล็ดที่รดด้วยสารละลายเชื้อเอนโดไฟติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *T. saanensis* MJUP06 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร 5 วันต่อครั้ง

จากนั้นนำเมล็ดลงในถุงเพาะชำที่เตรียมไว้ และนำไปวางไว้ในเรือนเพาะชำที่มุงด้วยซาแลนแสงที่ 70 เปอร์เซ็นต์ โดยวางถุงแบบสุ่มตามภาพที่ 1

T4R3	T4R4	T1R4	T2R3
T2R4	T1R3	T3T2	T4R3
T4R3	T3R1	T4R1	T2R2
T4R2	T2R1	T3R2	T1R2

ภาพที่ 1 การวางถุงเพาะปลูกเมล็ดผักวางป่าแบบสุ่มในเรือนเพาะชำ

5. การศึกษาประสิทธิภาพของเอนโดไฟติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *T. saanensis* MJUP06 ต่อการงอกของผักหวานป่า ทำการเก็บข้อมูลความยาวลำต้น ความยาวราก และจำนวนใบ เป็นเวลา 49 วัน จากนั้นทำการวิเคราะห์ข้อมูล ดังนี้

5.1 เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดผักหวานป่า คำนวณได้จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การงอก} = \frac{\text{จำนวนเมล็ดที่ งอก}}{\text{จำนวนเมล็ดที่ เพาะ}} \times 100$$

5.2 ค่าเฉลี่ยจำนวนวันที่ใช้ในการงอกของเมล็ดผักหวานป่า จำนวนวันที่ใช้ในการงอกของเมล็ดมีความสัมพันธ์กับเปอร์เซ็นต์การงอกจำนวนหนึ่ง คำนวณได้จากสูตร

$$\text{ค่าเฉลี่ยจำนวนวันที่ใช้ในการงอก} = \frac{\text{ผลบวกของจำนวนเมล็ดที่งอก} \times \text{จำนวนวันที่งอก}}{\text{ผลรวมของเมล็ดที่งอกทั้งหมด}}$$

5.3 ดัชนีการงอกของเมล็ดผักหวานป่า นำเมล็ดพันธุ์ของแต่ละทรีตเมนท์ที่ต้องการตรวจสอบมาเพาะแล้วนับจำนวนเมล็ดที่งอกทุกวัน แล้วนำมาคำนวณหาค่าดัชนีการงอกโดยการเปรียบเทียบกับทรีตเมนท์อื่น ๆ สามารถคำนวณได้จากสูตร

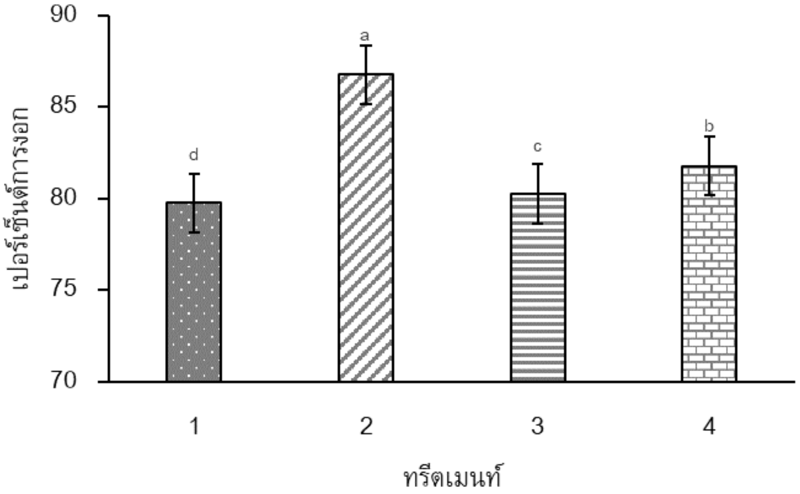
$$\text{ดัชนีการงอก} = \frac{\text{จำนวนต้นที่งอกแต่ละวัน}}{\text{จำนวนวันหลังเพาะ}}$$

6. วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มการทดลองด้วยวิธี One-way ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 ด้วยโปรแกรมทางสถิติสำเร็จรูป SPSS

4. ผลการวิจัย

1. ผลการศึกษาเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดผักหวานป่า

จากการศึกษาเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดผักหวานป่า (ภาพที่ 2) พบว่า ทรีตเมนท์ที่ 2 มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุดเท่ากับ 86.75 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ ทรีตเมนท์ที่ 4 และทรีตเมนท์ที่ 3 โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอกเท่ากับ 81.75 เปอร์เซ็นต์ และ 80.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนทรีตเมนท์ที่ 1 มีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำที่สุดเท่ากับ 79.75 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี One-way ANOVA แล้ว พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

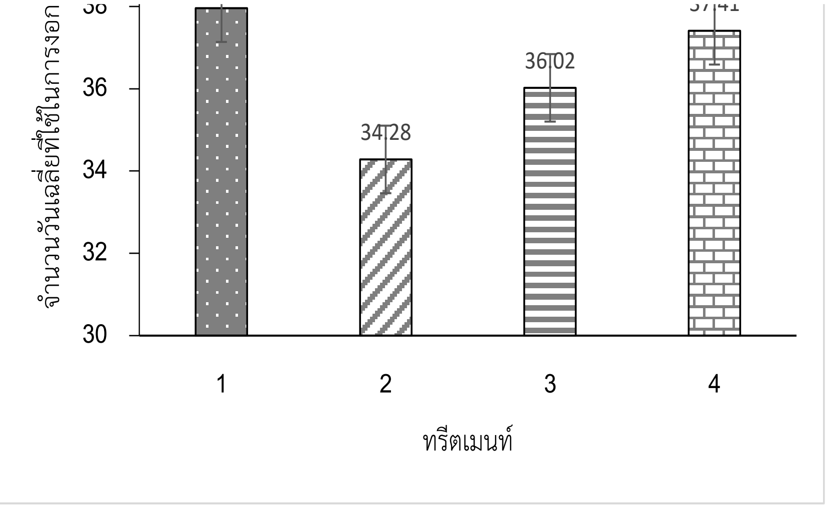


ภาพที่ 2 เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดผักหวานป่า

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่แสดงด้วยอักษรแตกต่างกันแสดงว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี One-way ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 ($p<0.05$)

2. ผลการศึกษาค่าเฉลี่ยจำนวนวันที่ใช้ในการงอกเมล็ดผักหวานป่า

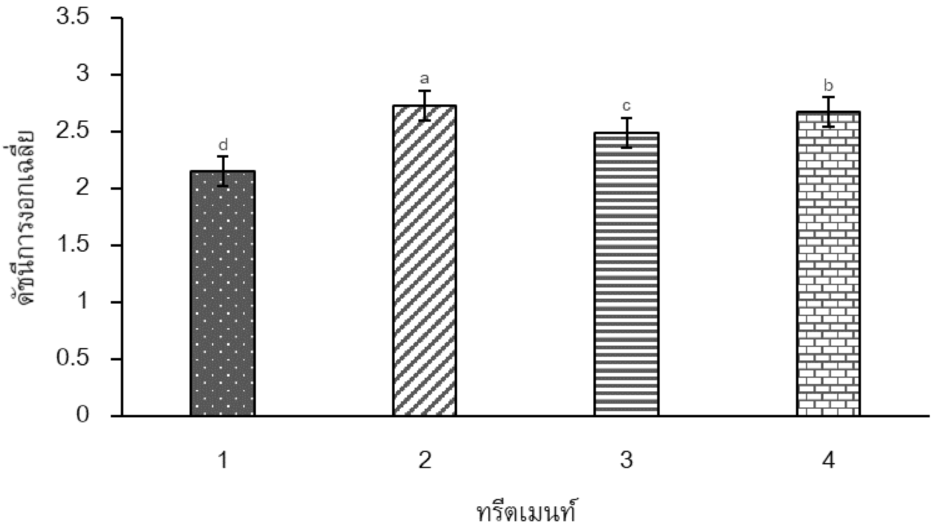
จากการศึกษาค่าเฉลี่ยจำนวนวันที่ใช้ในการงอกของเมล็ดผักหวานป่า (ภาพที่ 3) พบว่า ทรีตเมนท์ที่ 2 มีค่าเฉลี่ยจำนวนวันที่ใช้ในการงอกน้อยที่สุด คือ 34.28 วัน รองลงมา คือ ทรีตเมนท์ที่ 3 และ 4 โดยมีค่าเฉลี่ยจำนวนวันที่ใช้ในการงอกเท่ากับ 36.02 วัน และ 37.41 วัน ตามลำดับ ส่วนทรีตเมนท์ที่ 1 ค่าเฉลี่ยจำนวนวันที่ใช้ในการงอกสูงที่สุดเท่ากับ 37.96 วัน เมื่อทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี One-way ANOVA พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)



ภาพที่ 3 จำนวนวันเฉลี่ยที่ใช้ในการงอกของเมล็ดผักหวานป่า (วัน)
หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่แสดงด้วยอักษรแตกต่างกันแสดงว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี One-way ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 ($p<0.05$)

3. ผลการศึกษาดัชนีการงอกของเมล็ดผักหวานป่า

จากการศึกษาดัชนีการงอกของเมล็ดผักหวานป่า (ภาพที่ 4) พบว่า ทรีตเมนท์ที่ 2 มีค่าดัชนีการงอกสูงที่สุดเท่ากับ 2.73 รองลงมา คือ ทรีตเมนท์ที่ 4 และ 3 โดยมีค่าดัชนีการงอกเท่ากับ 2.67 และ 2.49 ตามลำดับ ส่วนทรีตเมนท์ที่ 1 มีค่าดัชนีการงอกต่ำที่สุดเท่ากับ 2.15 เมื่อทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี One-way ANOVA พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)



ภาพที่ 4 ดัชนีการงอกเฉลี่ยของเมล็ดผักหวานป่า

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่แสดงด้วยอักษรแตกต่างกันแสดงว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี One-way ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 (p<0.05)

4. ผลการศึกษาการเจริญเติบโตของเมล็ดผักหวานป่า (49 วัน)

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของเมล็ดผักหวานป่าที่ทำการเพาะปลูกในถุงเพาะเป็นเวลา 49 วัน (ตารางที่ 1) โดยวัดความสูงของลำต้นเฉลี่ย ความยาวรากเฉลี่ย และจำนวนใบเฉลี่ย พบว่าทรีตเมนท์ที่ 2 มีค่าความสูงลำต้นเฉลี่ย ความยาวรากเฉลี่ย และจำนวนใบเฉลี่ยสูงกว่าทุกทรีตเมนท์ โดยมีความสูงลำต้นเฉลี่ยเท่ากับ 11.23 เซนติเมตร ความยาวรากเฉลี่ย 10.65 เซนติเมตร และจำนวนใบเฉลี่ย 7.73 ใบ รองลงมา คือ ทรีตเมนท์ที่ 3 และทรีตเมนท์ที่ 4 โดยทรีตเมนท์ที่ 3 มีค่าความสูงลำต้นเฉลี่ย 10.17 เซนติเมตร ความยาวรากเฉลี่ย 9.61 เซนติเมตร และจำนวนใบเฉลี่ย 6.42 ใบ ทรีตเมนท์ที่ 4 มีค่าความสูงลำต้นเฉลี่ย 9.97 เซนติเมตร ความยาวรากเฉลี่ย 8.51 เซนติเมตร และจำนวนใบเฉลี่ย 6.70 ใบ ส่วนทรีตเมนท์ที่ 1 มีค่าความสูงลำต้นเฉลี่ย ความยาวรากเฉลี่ย และจำนวนใบเฉลี่ยต่ำกว่าทุกทรีตเมนท์ โดยมีความสูงลำต้นเฉลี่ยเท่ากับ 8.74 เซนติเมตร ความยาวรากเฉลี่ย 8.09 เซนติเมตร และจำนวนใบเฉลี่ย 5.05 ใบ เมื่อทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี One-way ANOVA พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ทั้งด้านความสูงของลำต้นเฉลี่ย ความยาวรากเฉลี่ย และจำนวนใบเฉลี่ย

ตารางที่ 1 การเจริญเติบโตของเมล็ดผักหวานป่า (49 วัน)

ทรีตเมนท์	ความสูงลำต้นเฉลี่ย (ซม.)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)	จำนวนใบเฉลี่ย (ใบ)
1	8.74±2.17[d]	8.09±1.54[d]	5.05±1.36[d]
2	11.23±2.28[a]	10.65±1.71[a]	7.73±1.03[a]
3	10.17±2.20[b]	9.61±1.62[b]	6.42±1.28[c]
4	9.97±2.21[c]	8.51±1.62[c]	6.70±1.23[b]
F-test	*	*	*

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่แสดงด้วยอักษรแตกต่างกันแสดงว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี One-way ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 ($p<0.05$)

5. อภิปรายผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากผลการศึกษา *T. saanensis* MJUP06 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตเมล็ดของผักหวานป่า พบว่า การแช่เมล็ดผักหวานป่าในสารละลายของเอนโดไฟติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *T. saanensis* MJUP06 1 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การงอกดีที่สุด มีค่าเฉลี่ยจำนวนวันที่ใช้ในการงอกน้อยที่สุด และมีค่าเฉลี่ยความสูงลำต้น ความยาวราก จำนวนใบเฉลี่ยที่ดี เพราะว่า การแช่เมล็ดผักหวานป่าในสารละลายเชื้อเอนโดไฟติกแบคทีเรียนั้นจะช่วยให้ไมโครไพล์ดูดซึมแบคทีเรียเข้าไปได้เร็วจึงทำให้เจริญเติบโตได้ดี และยังสามารถตรึงไนโตรเจนได้ และสามารถเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตหรือการงอกของต้นผักหวานป่าเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการขยายพันธุ์ของต้นผักหวานป่าได้ สอดคล้องกับ จวงจันทร์ จำปาทอง และกุลวดี มาสิน (2561) กล่าวว่า *B. nealsonii* มีคุณสมบัติในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพในการละลายฟอสเฟตได้สูง สุจิตตรา ปะนันโต และคณะ (2556) ทดสอบ *B. safensis* ร่วมกับการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนและปุ๋ยฟอสฟอรัสช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว โดยเพิ่มความสูง ปริมาณการแตกกอ จำนวนรวงต่อกอ และผลผลิตเฉลี่ยเพิ่มขึ้น สุทธวรรณ สุพรรณ และคณะ (2559) ใช้แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนร่วมกับวัสดุตัวกลางชีวภาพสำหรับการปลูกคะน้า สามารถช่วยให้ความสูง ความยาวของใบ และลำต้นคะน้าเพิ่มขึ้นและสอดคล้องกับ จตุรพร บุณณดากุล และคณะ (2562) พบว่า *B. altitudinis* CM2-2 เป็นผลดีต่อการเจริญของข้าวด้านความสูงลำต้น ความยาวราก จำนวนใบ น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง ดังนั้น สามารถใช้ เอนโดไฟติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *T. saanensis* MJUP06 เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการเพาะขยายพันธุ์ผักหวานป่าได้ รวมทั้งสามารถนำไปใช้กับพืชเศรษฐกิจอื่น ๆ ที่เพาะขยายพันธุ์ยาก หรือพืชป่าที่ใกล้สูญพันธุ์ที่มีเปลือกแข็ง ส่งผลให้พืชมีอัตราการรอดที่สูงขึ้น รากของพืชแข็งแรง และหาอาหารได้ดียิ่งขึ้น อีกทั้งเอนโดไฟติกแบคทีเรียจะคงอยู่ในรากพืชจนพืชเจริญเติบโต ทำให้ลดการใช้สารเคมีและปุ๋ยอื่น ๆ ในการปลูกพืชได้ โดยพัฒนาเป็นสูตรปุ๋ยหมักหรือใช้ร่วมกับวัสดุปลูกพืชในการเพาะขยายพันธุ์ได้ต่อไปในรูปแบบแห้งหรือสารละลายของเชื้อ

6. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยแม่โจ้-แพร่ เฉลิมพระเกียรติ ที่สนับสนุนงบประมาณในการทำงานวิจัยจากเงินงบประมาณรายได้ของมหาวิทยาลัยประจำปี พ.ศ. 2561

7. เอกสารอ้างอิง

จตุพร บุณณดากุล, ศิราภรณ์ ชื่นบาล, ฐปน ชื่นบาล, ศรีกาญจนา คล้ายเรือง และศุภธิดา อ่ำทอง. (2562). การคัดเลือกแบคทีเรียตรึงไนโตรเจนอิสระเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว. *วาสารนเรศวรพะเยา*, 12(2), 32-40. https://www.thaiscience.info/10991595.pdf (thaiscience.info)

จวงจันทร์ จำปาทอง และกุลวดี มาสิน. (2561). การคัดกรองฤทธิ์ทางชีวภาพจากแบคทีเรียที่แยกได้จากดินบริเวณที่ทำการเกษตรกรรมในเขตภาคกลาง. *วารสารวิชาการ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์*, 10(11), 59-74.

ณัฐพร จันทร์ฉาย และวรวุฒิ งามพิบูลเวท. (2561). *การแยกและการคัดเลือกแบคทีเรียเอนโดไฟต์ตรึงไนโตรเจนในรากผักหวานป่า* (รายงานการวิจัย). แพร่: มหาวิทยาลัยแม่โจ้-แพร่ เฉลิมพระเกียรติ.

พงษ์เทพ สุวรรณวารี, พงษ์ฤทธิ์ ครบปรัชญา, หนูเดือน เมืองแสน, ดวงกมล แม้นศิริ, ทักษิณ อาชวาคม และวารินทร์ บุญเรียม. (2560). *คุณค่าทางโภชนาการของพืชกินได้ในพื้นที่สงวนชีวมณฑลสะแกราชและพื้นที่ในมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา ภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี-มาหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (อพ.สธ.มทส.)* (รายงานการวิจัย). นครราชสีมา: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

พรวิภา สว่างแก้ว. (2554). *การเปรียบเทียบเทคนิคเพื่อตรวจสอบการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียไนโตรเจนเอนโดไฟต์และการตรวจคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียโดยใช้เทคนิค PCR* (วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, คณะเกษตรศาสตร์, สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร.

สุจิตตรา ปะนันโต, ภาคภูมิ ตันเตชสาธิต, ศิริลักษณ์ จิตรอักษร, รังสฤษฏ์ กาวีต๊ะ และกรรณิการ์ สัจจาพันธ์. (2556). เอนโดไฟติกแบคทีเรียและผลในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว. *วารสารแก่นเกษตร*, 41(4), 457-468. https://ag2.kku.ac.th/kaj/PDF.cfm?filename

สุทธวรรณ สุพรรณ, ประดับรัฐ ประจันเขตต์ และสิริแข พงษ์สวัสดิ์. (2559). การใช้แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนร่วมกับวัสดุตัวกลางทางชีวภาพเพื่อการส่งเสริมการเจริญของพืช. *วารสารวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี*, 6(2), 17-28. www.sci.rmutt.ac.th/stj/index.php/stj/article/download

อัญศญา บุญประจวบ. (2561). *การคัดแยก และคัดเลือกแบคทีเรียที่ช่วยตรึงไนโตรเจนจากรากห้อม ข้าว และผักหวานป่า* (วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต). มหาวิทยาลัยแม่โจ้-แพร่ เฉลิมพระเกียรติ, คณะอุตสาหกรรมเกษตร, สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร.

Ahmad, M., Nangyal, H., Imran, M. & Ullah, F. (2016). Optimization of protocol for surface sterilization and callus induction for three rice varieties. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences,* 16(2), 357-361. https://doi:10.5829/idosi.aejaes.2016.16.2.10216

Chen, Z., Sheng, X., He, L., Huang, H. & Zhang, W. (2013). Effects of root inoculation with bacteria on the growth, Cd uptake and bacterial communities associated with rape grown in Cd-contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials*, 244-245(15), 709-717. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.10.063

Gray, E.J. & Smith, D.L. (2005). Intracellular and extracellular PGPR: Commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. *Soil Biology and Biochemistry*, 37, 395-412. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.08.030

Han, J., Xia, D., Li, L., Sun, L., Yang, L. & Zhang, L. (2009). Diversity of culturable bacteria isolated from root domains of moso bamboo (*Phyllostachys edulis*). *Microbial Ecology.*, 58, 363-373. https://doi: 10.1007/s00248-009-9491-2.

Martinez-Klimova, E., Rodríguez-Peña, K. & Sánchez, S. (2017). Endophytes as sources of antibiotics. *Biochemical Pharmacology*, 134, 1-17. https://doi: 10.1016/j.bcp.2016.10.010

Mitraa, S., Pramanika, K., Ghoshb, P.K., Sorena, T., Sarkarc, A., Deyd, R.S., Pandeye, S. & Maiti, T.K. (2018). Characterization of Cd-resistant *Klebsiella michiganensis* MCC3089 and its potential for rice seedling growth promotion under Cd stress. *Microbiological Research*, 210, 12–25. https://doi: 10.1016/j.micres.2018.03.003.

Pramanik, K., Mitra, S., Sarkar, A., Soren, T. & Maiti, T.K. (2017). Characterization of cadmium-resistant *Klebsiella pneumoniae* MCC3091 promoted rice seedling growth by alleviating phytotoxicity of cadmium. *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 24419–24437. https://doi: 10.1007/s11356-017-0033-z

Schwyn, B. & Neilands, J.B. (1987). Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical Biochemistry,* 160(1), 47-56. https://doi: 10.1016/0003-2697(87)90612-9