ผลของเอนโดไฟติกแบคทีเรียต่อการเจริญเติบโตของต้นห้อม
Effect of Endophytic Bacteria on Growth of Indigo Plants

ณัฐพร จันทร์ฉาย[1*], อัญศญา บุญประจวบ[1] และ รัฐพงศ์ เดชพรม[1]

Nuttaporn chanchay[1*], Ansaya Boonprajaub[1] และ Ratthapong Dachprom[1]

[1]สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพทางอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้–แพร่ เฉลิมพระเกียรติ, จังหวัดแพร่ 54140

[1]Agro-Industrial Biotechnology, Maejo University Phrae Campus, Phrae 54140

*Corresponding author: nuttapornchanchay@gmail.com

Received: 12 October 2022; Accepted: 10 November 2022; Published: 1 December 2022

บทคัดย่อ

เห็ดเอนโดไฟติกแบคทีเรียเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญในระบบนิเวศด้วยความสามารถในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช งานวิจัยนี้ได้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกและจำแนกเชื้อแบคทีเรียจากรากของต้นห้อมซึ่งเป็นพืชให้สีครามในพื้นที่จังหวัดแพร่ จำนวน 3 สายพันธุ์ ประกอบด้วย *Strobilanthes cusia*, *Baphicacanthus cusia* voucher และ *Strobilanthes auriculata* voucher ผลจากการศึกษาสามารถคัดแยกเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งหมด 4 ไอโซเลท แต่พบเพียง 3 ไอโซเลท ที่มีคุณสมบัติเป็นเอนโดไฟติกแบคทีเรีย โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรีย ไอโซเลท Sc–WH01 ซึ่งมีความสามารถในการตรึงไนโตรเจน สังเคราะห์สาร IAA และละลายฟอสเฟตที่สูงที่สุด จากนั้นทำการระบุสายพันธุ์ของเอนโดไฟติกแบคทีเรีย ไอโซเลท Sc–WH01 ด้วยวิธีการเปรียบเทียบลำดับเบสของยีน 16S rRNA ที่มีอยู่ในฐานข้อมูล พบว่ามีความใกล้เคียงกับ *Pseudoxanthomonas spadix* มากที่สุดถึง 98 เปอร์เซ็นต์ ผลการศึกษาผลของเอนโดไฟติกแบคทีเรีย ไอโซเลท Sc–WH01 ต่อการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในพืช โดยสามารถยับยั้งเชื้อ *Rhizoctonia solani* และ *Sclerotium rolfsii* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุในการก่อโรครากเน่าโคนเน่า โดยประเมินจากความสามารถในการสร้างรัศมีวงใสการต้านทานเชื้อ เท่ากับ 0.53 และ 0.45 เซนติเมตร ตามลำดับ และผลต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของต้นห้อม พบว่าการปลูกต้นห้อมสายพันธุ์ *S. cusia*, *B. cusia* voucher และ *S. auriculata* voucher ร่วมกับเอนโดไฟติกแบคทีเรีย ไอโซเลท Sc–WH01 ปริมาณ 60 CFU/ml เป็นระยะเวลา 80 วัน สามารถส่งเสริมประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของต้นห้อมได้ดีที่สุด ทั้งในด้านความสูงเพิ่มขึ้นเฉลี่ย เท่ากับ 3.00, 3.30 และ 1.20 เซนติเมตร ตามลำดับ ในด้านความยากรากเพิ่มขึ้นเฉลี่ย เท่ากับ 2.60, 3.00 และ 2.50 เซนติเมตร ตามลำดับ และโดยเฉพาะในด้านจำนวนใบเพิ่มขึ้นเฉลี่ย เท่ากับ 76.60, 14.00 และ 22.00 ใบ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แสดงให้เห็นว่าเอนโดไฟติกแบคทีเรียสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นห้อมได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ: เอนโดไฟติกแบคทีเรีย; ต้นห้อม; การเจริญเติบโต

ABSTRACT

Endophytic bacteria are the important factors in natural system to produce many bioactive compounds which are promoting growth efficiency. This research was carried out isolating of bacteria from roots 3 indigo plants in Phrae province consist of *Strobilanthes cusia*, *Baphicacanthus cusia* voucher and *Strobilanthes auriculata* voucher. Four isolates of bacteria were obtained but found three isolates which are endophyte bacterial qualify, especially isolated Sc-WH01 is the highest to fix Nitrogen, synthesize IAA and solubilize phosphate. Using of 16S rRNA gene sequence based methods showing the Sc- WH01 relationship of *Pseudoxanthomonas spadix*, >98 percent

similarly. The result of Sc-WH01 Endophyte bacterial capability to against plant disease showed that it was able to inhibit *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* which caused roots rot disease by assessing from zone of inhibition areas equal to 0.53 and 0.45 centimeters, respectively. And the result of growth performance of Indigo plants. It was found *S. cusia*, *B. cusia* voucher and *S. auriculata* voucher planting with 60 CFU/ml for 80 days can be best promoting growth performance. Height efficiency increased by 3.00, 3.30 and 1.20 centimeters, respectively. Also, root length efficiency increased by 2.60, 3.00 and especially, leaf number increased by 76.60, 14.00 and 24.00 leaves, respectively. By mean of statistically significant difference ($P<0.05$). Therefore, it is appropriate to use for promoting growth performance of indigo plants

Keywords: endophytic bacteria; indigo plant; growth

คำนำ

ต้นห้อมนับเป็นพืชให้สีครามที่ถูกใช้ในการย้อมสีผ้าซึ่งมีเอกลักษณ์ที่โดดเด่นอันเกิดจากภูมิปัญญาท้องถิ่นของชาวไทยพวน ตำบลทุ่งโฮ้ง อำเภอเมือง จังหวัดแพร่ โดยในปัจจุบันต้นห้อมสามารถสร้างรายได้ให้กับจังหวัดแพร่อย่างมหาศาล Chanchay (2021b) ได้รวบรวมข้อมูลรายได้ของผู้ประกอบการร้านค้าผ้าหม้อห้อมจังหวัดแพร่ พบว่ามีจำนวนเงินหมุนเวียนจากการซื้อขายมากกว่า 10 ล้านบาทต่อปี ด้วยความต้องการของต้นห้อมที่เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งสวนทางกับกำลังการผลิตที่ไม่เพียงพอ เนื่องจากต้นห้อมจะขึ้นเฉพาะในบริเวณที่ชื้นแฉะข้างลำห้วยตามป่าธรรมชาติและตั้งอยู่บนความสูงจากระดับน้ำทะเลที่เหมาะสมซึ่งมีอากาศเย็นเกือบตลอดทั้งปีเท่านั้น โดยสามารถจำแนกสายพันธุ์ต้นห้อมในพื้นที่จังหวัดแพร่ ได้จำนวน 3 สายพันธุ์ ประกอบด้วย สายพันธุ์ *Strobilanthes cusia* ซึ่งมีการปลูกในพื้นที่บ้านนาคูหาและบ้านแม่ลัว ส่วนสายพันธุ์ *Baphicacanthus cusia* voucher และ *Strobilanthes auriculata* voucher มีการปลูกเฉพาะในพื้นที่บ้านนาตองเท่านั้น Zhang *et al*. (2010) รายงานว่าสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของต้นห้อมอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 15–30 องศาเซลเซียส โดยมีความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ 70 เปอร์เซ็นต์ และความชื้นในดิน 22–33 เปอร์เซ็นต์ ฉะนั้นการจะนำต้นห้อมมาปลูกบนพื้นที่ราบจะต้องให้ความสำคัญกับการสร้างสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมและคำนึงถึงปัญหาโรคพืชต่าง ๆ โดยเฉพาะโรครากเน่าโคนเน่าที่มีสาเหตุเกิดจากความชื้นในดินที่เอื้อต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา เอนโดไฟติกแบคทีเรียจึงสามารถนำมาประยุกต์ใช้ร่วมกับการปลูกพืชได้ ด้วยความสามารถในการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีความสำคัญต่อพืช Chebotar *et al*. (2015) รายงานว่าเอนโดไฟติกแบคทีเรียไม่เพียงแต่จะช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในพืชเท่านั้น แต่ยังสามารถสร้างเสริมธาตุอาหารโดยเฉพาะไนโตรเจนและฟอสฟอรัส รวมถึง Pallab *et al*. (2013) ได้ศึกษาว่าสาร Indole–3–Acetic Acid (IAA) ที่เอนโดไฟติกแบคทีเรียสังเคราะห์ขึ้นมานั้นเป็นฮอร์โมนที่มีบทบาทสำคัญในการควบคุมกระบวนการทางชีวภาพที่ส่งผลต่อการพัฒนาและเจริญเติบโตของพืช เช่นเดียวกับ Dilfuza *et al*. (2017) ที่รายงานว่า เอนโดไฟติกแบคทีเรียในตระกูล *Bacillus* สามารถลดอัตราการติดเชื้อ *Fusarium solani* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุของโรครากเน่าในถั่วลูกไก่ได้ การศึกษาผลของเอนโดไฟติกแบคทีเรียที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นห้อม มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกและคัดเลือกแบคทีเรียจากรากของต้นห้อมจำนวน 3 สายพันธุ์ในพื้นที่จังหวัดแพร่ ที่มีคุณสมบัติในการตรึงไนโตรเจน การสังเคราะห์สาร IAA การละลายฟอสเฟต และความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านทานเชื้อ *Rhizoctonia solani* และ *Sclerotium rolfsii* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุการก่อโรครากเน่าโคนเน่าในพืช แล้วจึงทำการระบุสายพันธุ์ด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์จากการเปรียบเทียบลำดับเบสของยีน 16S rRNA และเพื่อทดสอบประสิทธิภาพของเอนโดไฟติกแบคทีเรียต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นห้อม ดังนั้นจำเป็นต้องมีการประเมินคุณภาพทั้งในด้านความสูง รวมถึงด้านจำนวนใบ และด้านความยาวราก ด้วยความสามารถในการพัฒนาเพื่อ

ส่งเสริมเกษตรกรผู้ปลูกต้นห้อมด้วยเทคโนโลยีและชีวนวัตกรรมจะช่วยยกระดับจากเดิมที่ต้องพึ่งพิงธรรมชาติสู่อุตสาหกรรมการผลิตที่สามารถควบคุมคุณภาพของต้นห้อมได้อย่างยั่งยืน

อุปกรณ์และวิธีการ

การแยกเชื้อแบคทีเรียจากรากของต้นห้อม

นำตัวอย่างรากของต้นห้อมที่เก็บได้ในระดับที่ลึกจากผิวดิน 15 เซนติเมตร และมีอายุระหว่าง 15–18 เดือน จำนวนทั้งหมด 3 สายพันธุ์ในพื้นที่จังหวัดแพร่ ได้แก่ ต้นห้อมใบใหญ่สายพันธุ์ *Strobilanthes cusia*, ต้นห้อมใบใหญ่สายพันธุ์ *Baphicacanthus cusia* voucher และต้นห้อมใบเล็กสายพันธุ์ *Strobilanthes auriculata* voucher จากนั้นล้างน้ำให้สะอาดก่อนนำไปฆ่าเชื้อโดยแช่ใน Sodium hypochlorite (NaOCl) 1.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นก่อนซับให้แห้งด้วยกระดาษปลอดเชื้อ จึงนำรากมาหั่นเป็นชิ้นบดในโกร่ง ทำการ Dilution ก่อน Spread plate ลงบนอาหาร Nitrogen Free Agar (NFA) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3–7 วัน และนำโคโลนีเดี่ยวที่แยกได้มาเพาะเลี้ยงบนอาหารผิวเอียง (Nutrient agar slant)

การคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจน

นำเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ที่ได้จากการคัดแยกทั้งหมดมาเลี้ยงด้วยวิธี Point inoculation และตรวจสอบด้วยวิธี Agar well ในอาหารที่ปราศจากไนโตรเจน (N–free medium) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7–14 วัน คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถขึ้นบนอาหาร N–free medium เพื่อวัดอัตราการเจริญเติบโตจากความสามารถในการสร้างวงใส และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณการตรึงไนโตรเจนด้วยเทคนิค Kjeldahl Method

การคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสังเคราะห์สาร IAA

นำแบคทีเรียที่แยกได้มาทดสอบการสร้างสาร IAA บนอาหารแข็ง (Peptone 10 กรัมต่อลิตร, L–tryptophan 1 กรัมต่อลิตร, NaCl 5 กรัมต่อลิตร, Yeast extract 6 กรัมต่อลิตร และวุ้น 15 กรัมต่อลิตร, pH 7.6) โดยนำ Bacterial supernatant ปริมาณ 50 ไมโครลิตร (10^8 CFU/ml) หยดลงหลุมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 มิลลิเมตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 8 ชั่วโมงจากนั้นหยดสารละลาย Salkowski's reagent ปริมาณ 50 ไมโครลิตร บ่มในที่มืด 1 ชั่วโมง จะเห็น Halo zone สีชมพูส้มรอบ ๆ โคโลนีที่สร้างสาร IAA จากนั้นนำแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการสร้าง Halo zone มาเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีส่วนประกอบเช่นเดียวกับอาหารแข็ง ประเมินความสามารถในการสร้างสาร IAA ตาม Salkowski's method โดยปั่นเซลล์แล้วนำส่วนใส (Supernatant) จำนวน 1.5 มิลลิลิตร เติม Orthophosphoric acid ปริมาณ 100 ไมโครลิตร และ Salkowski's reagent ปริมาณ 3 มิลลิลิตร บ่มในที่มืด 1 ชั่วโมง แล้วนำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร ด้วย Spectrophotometer คำนวณปริมาณ IAA ที่แบคทีเรียสร้างเทียบกับกราฟมาตรฐานของ IAA (Bharucha and Patie, 2013)

การทดสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟตของแบคทีเรีย

วิเคราะห์ความเข้มข้นของฟอสเฟตด้วย Molybdenum blue method จากการเตรียมสารละลายแขวนลอยเซลล์แบคทีเรียที่ได้จาก Spectrophotometer จากนั้นนำไปบ่มบนเครื่องเขย่า 110 rpm เป็นเวลา 5 วัน แล้วนำตัวอย่างไปปั่นตกตะกอนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) ที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ทำซ้ำจนกว่าจะได้น้ำเลี้ยงใสปราศจากเซลล์ บันทึกค่า pH เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสโดยดูดสารละลายตัวอย่าง 2 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 21 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายไดโซเดียมฟอสเฟต (ความเข้มข้น 50

มิลลิโมลาร์) ปริมาณ 4 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้ววางทิ้งไว้ 10 นาที จึงวัดค่าเปอร์เซ็นต์ Transmittance (%T) ด้วย Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 882 นาโนเมตร

การระบุสายพันธุ์เชื้อแบคทีเรีย

นำแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน สร้างสาร IAA และละลายฟอสเฟต มาทำการระบุสายพันธุ์ โดยวิธี Sanger sequencing โดยการสกัดดีเอ็นเอจากแบคทีเรีย และทำการเพิ่มจำนวนของยีนตำแหน่ง 16S rRNA ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอร์เรส (PCR) หลังจากนั้นทำการตรวจสอบขนาดของดีเอ็นเอด้วยวิธีเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส (Gel electrophoresis) ตรวจสอบการเรืองแสงของดีเอ็นเอโดยการย้อมด้วย Ethidium bromide ส่องภายใต้รังสี UV ตรวจสอบขนาดของยีนโดยการเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 1 kb+ (GeneRuler 1 kb Plus DNA Ladder) และส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์หาลำดับเบสของชิ้นส่วนยีนที่ประมวลผลรหัส 16S rRNA gene โดยวิธี Direct sequencing ที่ Macrogen Inc., Korea

การทดสอบการออกฤทธิ์ต้านทานเชื้อก่อโรครากเน่าโคนเน่า

ศึกษาการออกฤทธิ์ต้านทานเชื้อราก่อโรครากเน่าโคนเน่า โดยการนำเชื้อเอนโดไฟติกแบคทีเรียเลี้ยงในอาหารเหลว 2 ชนิด คือ อาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตสารปฏิชีวนะ Wickerhams Antibiotic Test Medium (WATM) และอาหารเหลวที่ใช้ในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ โดยทำการเลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จากนั้นนำเซลล์และน้ำเลี้ยงมาแยกส่วนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูง 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำน้ำเลี้ยงที่ได้มาทำการทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Rhizoctonia solani* และ *Sclerotium rolfsii* ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรครากเน่าโคนเน่า โดยมีแหล่งที่มาจากสาขาพืชศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้–แพร่ เฉลิมพระเกียรติ ทดสอบด้วยวิธี Agar well diffusion method บนอาหารแข็ง Potato Dextrose Agar (PDA) โดยเลี้ยงเชื้อราก่อโรคเป็นเวลา 2 ถึง 3 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เมื่อครบระยะเวลาดังกล่าว จึงทำการเจาะวุ้นอาหารแข็งแล้วเติมน้ำเลี้ยงที่ได้หยดลงในหลุม ๆ ละ 35 ไมโครลิตร โดยใช้สารต้านเชื้อรา Tetracycline (35 ไมโครกรัมต่อหลุม) เป็นชุดควบคุม บันทึกผลการทดลองเมื่อเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมง โดยเชื้อเอนโดไฟติกแบคทีเรียหรือยาปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์สามารถยับยั้งเชื้อรา *R. solani* และ *S. rolfsii* จะมีการสร้างวงใสการต้านทานเชื้อ

การศึกษาการใช้เอนโดไฟติกแบคทีเรียเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นห้อมในแต่ละสายพันธุ์

จัดชุดการทดลองแบบ 9x3x5 Factorial in CRD โดยใช้ต้นห้อม 3 สายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 5 กระถาง จำนวน 9 ชุดการทดลอง ใช้ต้นห้อมทั้งหมด 135 ต้น ชุดที่ 1 ทดลองด้วยดินปกติไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ, ชุดที่ 2 ทดลองด้วยดินฆ่าเชื้อ ผสม Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) 10 มิลลิลิตร, ชุดที่ 3 ทดลองด้วยดินฆ่าเชื้อ ผสมปุ๋ยอินทรีย์, ชุดที่ 4 ทดลองด้วยดินฆ่าเชื้อผสมปุ๋ยเคมี (สูตร 46–0–0), ชุดที่ 5 ทดลองด้วยดินฆ่าเชื้อผสมเอนโดไฟติกแบคทีเรีย ปริมาณ 30 CFU/ml, ชุดที่ 6 ทดลองด้วยดินฆ่าเชื้อผสมเอนโดไฟติกแบคทีเรีย ปริมาณ 40 CFU/ml, ชุดที่ 7 ทดลองด้วยดินฆ่าเชื้อ ผสมเอนโดไฟติกแบคทีเรีย ปริมาณ 50 CFU/ml, ชุดที่ 8 ทดลองด้วยดินฆ่าเชื้อผสมเอนโดไฟติกแบคทีเรีย ปริมาณ 60 CFU/ml และชุดที่ 9 ทดลองด้วยดินฆ่าเชื้อผสมเอนโดไฟติกแบคทีเรีย ปริมาณ 70 CFU/ml โดยดินฆ่าเชื้อจากการนึ่งด้วยอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส แรงดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ระยะเวลานึ่ง 15 นาที และเลี้ยงภายใต้โรงเรือนที่มีการพรางแสง 70 เปอร์เซ็นต์ ด้วยสแลนดำและทำการให้น้ำทุกวันด้วยระบบสปริงเกอร์ระบบอัตโนมัติ โดยควบคุมความชื้นของดินเท่ากับ 75 ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ และเก็บข้อมูลเชิงปริมาณประกอบด้วย ด้านความสูง ด้านจำนวนใบ และด้านความยาวราก หลังทำการย้ายปลูกต้นห้อมเป็นระยะเวลา 8 เดือน

ผลการทดลอง

การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากรากของต้นห้อม

คัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากรากของต้นห้อมสายพันธุ์ *Strobilanthes cusia*, *Baphicacanthus cusia* voucher และ *Strobilanthes auriculata* voucher เพื่อตรวจสอบหาเชื้อเอนโดไฟติกแบคทีเรีย พบว่า สามารถคัดแยกได้ทั้งหมด 4 ไอโซเลท ได้แก่ Sc–WH01, Sc–WO01, Sc–WW01 และ Sc–WB01 (Table 1)

Table 1 Bacterial isolations from roots of *Strobilanthes cusia*, *Baphicacanthus cusia* and *Strobilanthes auriculata* which were planted in different supplement before raising on Nitrogen Free Agar.

Indigo plant	Treatment	Numb. Isolate	Isolate Code	Configuration
Strobilanthes cusia	Control	2	Sc–WW01	Colorless liquid
			Sc–WH01	Shiny white liquid
	Mixed PGPR	3	Sc–WO01	Saffron liquid
			Sc–WH01	Shiny white liquid
			Sc–WB01	White liquid
	Organic fertilizer	3	Sc–WW01	Colorless liquid
			Sc-WH01	Shiny white liquid
			Sc–WB01	White liquid
	Chemical fertilizer	2	Sc–WW01	Colorless liquid
			Sc–WH01	Shiny white liquid
Baphicacanthus cusia voucher	Control	1	Sc–WW01	Colorless liquid
	Mixed PGPR	2	Sc–WH01	Shiny white liquid
			Sc–WB01	White liquid
	Organic fertilizer	3	Sc–WW01	Colorless liquid
			Sc–WH01	Shiny white liquid
			Sc–WB01	White liquid
	Chemical fertilizer	2	Sc–WW01	Colorless liquid
			Sc–WH01	Shiny white liquid
Strobilanthes auriculata voucher	Control	2	Sc–WW01	Colorless liquid
			Sc–WH01	Shiny white liquid
	Mixed PGPR	1	Sc–WB01	White liquid
	Organic fertilizer	1	Sc–WW01	Colorless liquid
	Chemical fertilizer	–	–	–

การจำแนกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจน การสังเคราะห์สาร IAA และการละลายฟอสเฟต

ศึกษาความสามารถของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้ทั้งหมด 4 ไอโซเลท พบว่าแบคทีเรีย ไอโซเลท Sc–WH01 ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบที่ลักษณะเป็นท่อนสั้นนั้น มีประสิทธิภาพสูงที่สุดด้วยความสามารถในการตรึงไนโตรเจน เท่ากับ 0.49 เปอร์เซ็นต์ รวมถึงการสังเคราะห์สาร IAA เท่ากับ 1.81 ไมโครมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และการละลายฟอสเฟต เท่ากับ 1.68 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในขณะที่แบคทีเรีย ไอโซเลท Sc–WO01 ไม่สามารถ

ย้อมติดแกรม ถึงแม้ว่าจะมีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนได้สูงถึง 0.64 เปอร์เซ็นต์ แต่ในทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน (Table 2)

Table 2 Qualification of isolated bacteria like Gram type Nitrogen fixation IAA synthesization and Phosphate solubilization.

Isolate	Gram type	Nitrogen (%)	Quantity of IAA (µmg/ml)	Quantity of Phosphate (mg/Litter)
Sc–WW01	Short Gram–negative	0.10[c]	1.72[a]	1.47[b]
Sc–WH01	Short Gram–negative	0.49[a]	1.81[a]	1.68[a]
Sc–WO01	–	0.64[a]	–	–
Sc–WB01	Long Gram–negative	0.21[b]	1.13[b]	1.39[b]
F–test		*	*	*

* = Significantly differences at P<0.05.

การระบุสายพันธุ์แบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจน สังเคราะห์สาร IAA และละลายฟอสเฟต

ศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยวิธี Sanger sequencing จากดีเอ็นเอของแบคทีเรีย ไอโซเลท Sc–WH01 ที่ถูกทำให้บริสุทธิ์ (DNA purification) โดยเปรียบเทียบจากลำดับเบสในฐานข้อมูล

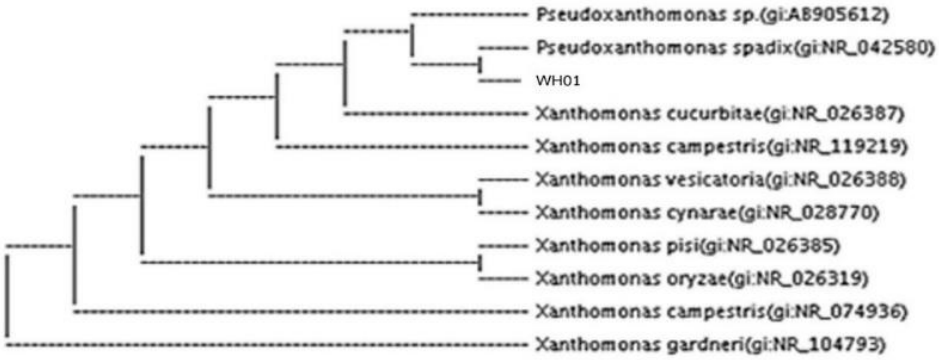

Figure 1 Phylogenetic tree of Sc–WH01 isolated bacteria.

สามารถระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรีย ไอโซเลท Sc–WH01 ซึ่งมีฐานข้อมูลใกล้เคียงกับ *Pseudoxanthomonas spadix* มากที่สุด โดยมีค่า Identity เท่ากับ 98 เปอร์เซ็นต์

การทดสอบประสิทธิภาพของเอนโดไฟติกแบคทีเรียต่อการต้านทานเชื้อก่อโรครากเน่าโคนเน่าของต้นห้อม

เมื่อทดสอบการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Rhizoctonia solani* และ *Sclerotium rolfsii* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรครากเน่าโคนเน่าด้วยเอนโดไฟติกแบคทีเรีย ไอโซเลท Sc–WH01 พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคทั้ง 2 ชนิดได้ โดยสร้างรัศมีวงใสการต้านทานเชื้อ เท่ากับ 0.53 และ 0.45 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีประสิทธิภาพของสูงกว่าชุดทดลองร่วมกับยาปฏิชีวนะ Tetracycline และชุดควบคุมที่ไม่มีปฏิกิริยาตอบสนองต่อเชื้อก่อโรค (Table 3)

Table 3 Effect of Sc–WH01 isolated bacteria on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* inhibition.

Treatment	*Rhizoctonia solani*		*Sclerotium rolfsii*	
	Result	Radius (cm)	Result	Radius (cm)
Control (Without Antibiotic)	None	–	None	–
Antibiotic	Active	0.20^{b}±0.16	Active	0.11^{b}±0.07
Sc–WH01	Active	0.53^{a}±0.11	Active	0.45^{a}±0.27

Values in the same column followed by the same letter are not significantly different at P<0.05.

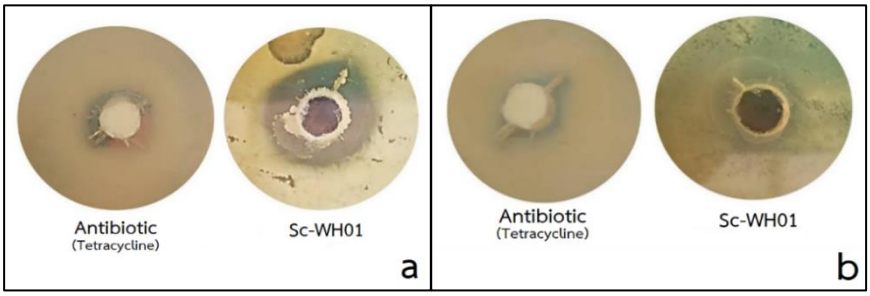

Figure 2 Zone of inhibition areas against (a) *Rhizoctonia solani* and (b) *Sclerotium rolfsii* with Sc–WH01

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการต้านทานเชื้อ *Rhizoctonia Solani* และ *Sclerotium rolfsii* ของเอนโดไฟติกแบคทีเรีย ไอโซเลท Sc–WH01 พบว่า มีความสามารถในการสร้างวงใสได้สูงกว่ายาปฏิชีวนะ Tetracycline ถึง 2.65 และ 4.09 เท่า ตามลำดับ

การศึกษาการใช้เอนโดไฟติกแบคทีเรียเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นห้อมในแต่ละสายพันธุ์

ผลการศึกษาเอนโดไฟติกแบคทีเรียต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตด้านความสูงของต้นห้อมทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่า ต้นห้อมสายพันธุ์ *Strobilanthes cusia*, *Baphicacanthus cusia* voucher และ *Strobilanthes auriculata* voucher ร่วมกับเอนโดไฟติกแบคทีเรีย ไอโซเลท Sc–WH01 ปริมาณ 40 CFU/ml ให้ประสิทธิภาพด้านความสูงเพิ่มขึ้นเฉลี่ยสูงที่สุด เท่ากับ 19.25, 7.00 และ 5.00 เซนติเมตร ตามลำดับ แต่ด้วยสาเหตุของโรคยอดเน่าที่ส่งผลให้การเจริญส่วนปลายยอดถูกหยุดชะงักและเกิดการเน่าลุกลามตามท่อลำเลียงน้ำไล่ลงมา ซึ่งส่งผลต่อค่าความแตกต่างเมื่อเทียบกับการวัดกับครั้งก่อนหน้า โดยความถดถอยนี้จะแสดงผลทางสถิติในทางเชิงลบ ยิ่งไปกว่านั้นโรคยอดเน่ายังส่งผลต่ออัตราการรอดชีวิตของต้นห้อมในบางชุดการทดลอง ทำให้ไม่สามารถทำการบันทึกข้อมูลทางสถิติได้ (Table 4)

Table 4 Effect of Sc–WH01 supplement with *Strobilanthes cusia*, *Baphicacanthus cusia* voucher and *Strobilanthes auriculata* voucher on stem height evaluation.

Treatment	Stem Height (Centimeter)								
	S. cusia			*B. cusia* voucher			*S. auriculata* voucher		
	Before	After	Δ	Before	After	Δ	Before	After	Δ
Control	45.60	42.25	-3.35^{h}	36.00	30.00	-6.00^{f}	39.00	25.00	-14.00^{e}
PGPR	42.00	42.40	0.40^{g}	32.00	18.00	-14.00^{g}	41.00	30.33	-10.67^{d}
Organic Fertilizer	34.00	43.50	9.50^{c}	32.00	11.00	-21.00^{h}	35.00	39.00	4.00^{b}
Chemical Fertilizer	38.50	67.00	18.50^{b}	31.00	45.00	14.00^{a}	43.80	–	–
Sc–WH01 30 CFU/ml	38.70	44.20	5.50^{d}	39.00	43.00	4.00^{c}	45.10	46.33	1.23^{c}
Sc–WH01 40 CFU/ml	30.25	49.50	19.25^{a}	48.00	55.00	7.00^{b}	38.00	43.00	5.00^{a}
Sc–WH01 50 CFU/ml	56.40	59.00	2.60^{f}	38.50	40.50	2.00^{e}	61.00	–	–
Sc–WH01 60 CFU/ml	53.60	56.00	3.00^{e}	48.00	51.30	3.30^{d}	45.70	46.90	1.20^{c}
Sc–WH01 70 CFU/ml	52.90	40.60	-12.30^{i}	42.50	34.00	-8.50^{f}	32.50	13.00	-19.5^{f}

Values in the same column followed by the same letter are not significantly different at P<0.05.
Δ = Difference of stem height measuring between 0 day (Before) and 80 days (After).

ผลการศึกษาเอนโดไฟติกแบคทีเรียต่อการเจริญเติบโตด้านจำนวนใบของต้นห้อมทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่าต้นห้อมสายพันธุ์ *Strobilanthes cusia*, *Baphicacanthus cusia* voucher และ *Strobilanthes auriculata* voucher ร่วมกับเอนโดไฟติกแบคทีเรีย ไอโซเลท Sc–WH01 ปริมาณ 60 CFU/ml ให้ประสิทธิภาพด้านจำนวนใบเพิ่มขึ้นเฉลี่ยสูงที่สุด เท่ากับ 76.60, 14.00 และ 22.00 ใบ ตามลำดับ แม้ว่าการปลูกต้นห้อมสายพันธุ์ *Strobilanthes auriculata* voucher ร่วมกับเอนโดไฟติกแบคทีเรีย ไอโซเลท Sc–WH01 ปริมาณ 70 CFU/ml จะให้จำนวนใบที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ย 24.00 ใบ แต่ในทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน (Table 5)

Table 5 Effect of Sc–WH01 supplement with *Strobilanthes cusia*, *Baphicacanthus cusia* voucher and *Strobilanthes auriculata* voucher on Leaf number evaluation.

Treatment	Leaf number (Leaves)								
	S. cusia			*B. cusia* voucher			*S. auriculata* voucher		
	Before	After	Δ	Before	After	Δ	Before	After	Δ
Control	24.25	29.75	5.50^{e}	30.00	22.00	-8.00^{f}	57.00	70.00	13.00^{e}
PGPR	44.80	49.00	4.20^{f}	22.00	7.00	-15.00^{g}	119.67	134.67	14.33^{c}
Organic Fertilizer	23.50	26.50	3.00^{g}	31.00	4.00	-27.00^{h}	128.50	176.00	47.50^{a}
Chemical Fertilizer	77.00	140.00	63.00^{b}	39.00	35.00	-4.00^{e}	19.20	–	–
Sc–WH01 30 CFU/ml	39.00	74.60	35.60^{d}	28.00	30.00	2.00^{c}	78.00	87.00	9.00^{f}
Sc–WH01 40 CFU/ml	29.00	29.00	0.00^{h}	37.00	38.00	1.00^{d}	104.80	118.00	13.20^{d}
Sc–WH01 50 CFU/ml	27.20	92.00	64.80^{b}	15.20	27.00	11.80^{b}	17.40	–	–
Sc–WH01 60 CFU/ml	27.80	104.40	76.60^{a}	7.00	21.00	14.00^{a}	70.00	92.00	22.00^{b}
Sc–WH01 70 CFU/ml	35.00	78.60	43.60^{c}	51.00	58.00	2.00^{c}	14.00	38.00	24.00^{b}

Values in the same column followed by the same letter are not significantly different at P<0.05.
Δ = Difference of Leaf number measuring between 0 day (Before) and 80 days (After).

ผลการศึกษาเอนโดไฟติกแบคทีเรียต่อการเจริญเติบโตด้านความยาวรากของต้นห้อมทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่าต้นห้อมสายพันธุ์ *Strobilanthes cusia*, *Baphicacanthus cusia* voucher และ *Strobilanthes auriculata* voucher ร่วมกับเอนโดไฟติกแบคทีเรีย ไอโซเลท Sc–WH01 ปริมาณ 60 CFU/ml ให้ประสิทธิภาพด้านความยาวรากเพิ่มขึ้นเฉลี่ยสูงที่สุด เท่ากับ 2.60, 3.00 และ 2.50 เซนติเมตร ตามลำดับ แม้ว่าต้นห้อมสายพันธุ์ *Strobilanthes cusia* ร่วมกับเอนโดไฟติกแบคทีเรีย ไอโซเลท Sc–WH01 ปริมาณ 70 CFU/ml จะให้ความยาวรากเพิ่มขึ้นเฉลี่ย 2.90 เซนติเมตร แต่ในทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน และเนื่องด้วยสาเหตุของโรครากเน่าโคนเน่าที่ส่งผลให้การเจริญของรากถูกทำลาย ซึ่งส่งผลต่อค่าความแตกต่างเมื่อเทียบกับการวัดครั้งก่อนหน้า โดยความถดถอยนี้จะแสดงผลทางสถิติในทางเชิงลบ ซึ่งโรครากเน่าโคนเน่าอาจมีความรุนแรงถึงขั้นส่งผลต่ออัตราการรอดชีวิตของต้นห้อมในบางชุดการทดลอง ทำให้ไม่สามารถทำการบันทึกข้อมูลทางสถิติได้ (Table 6)

Table 6 Effect of Sc–WH01 supplement with *Strobilanthes cusia*, *Baphicacanthus cusia* voucher and *Strobilanthes auriculata* voucher on roots length evaluation.

Treatment	Root length (Centimeter)								
	S. cusia			*B. cusia* voucher			*S. auriculata* voucher		
	Before	After	Δ	Before	After	Δ	Before	After	Δ
Control	36.60	33.50	-3.10^{f}	18.80	15.00	-3.8^{f}	38.00	22.00	-1.00^{d}
PGPR	31.80	31.80	0.00^{d}	16.70	10.00	-6.7^{g}	36.50	35.67	-0.83^{f}
Organic Fertilizer	29.50	29.50	0.00^{d}	12.00	13.00	1.00^{d}	29.50	31.00	-1.50^{e}
Chemical Fertilizer	23.10	24.00	1.10^{b}	23.40	26.00	2.60^{b}	31.70	–	–
Sc–WH01 30 CFU/ml	33.80	33.10	-0.70^{e}	8.00	8.00	0.00^{e}	21.10	21.77	0.67^{b}
Sc–WH01 40 CFU/ml	22.40	22.50	0.10^{c}	27.00	28.00	1.00^{d}	26.00	26.50	0.50^{c}
Sc–WH01 50 CFU/ml	30.90	31.00	0.10^{c}	21.00	22.50	1.50^{d}	24.30	–	–
Sc–WH01 60 CFU/ml	36.40	39.00	2.60^{a}	30.00	33.00	3.00^{a}	36.00	38.5	2.50^{a}
Sc–WH01 70 CFU/ml	29.50	32.40	2.90^{a}	16.00	18.00	2.00^{c}	32.50	33.00	0.50^{c}

Values in the same column followed by the same letter are not significantly different at $P<0.05$.
Δ = Difference of root length measuring between 0 day (Before) and 80 days (After).

วิจารณ์

การศึกษาเอนโดไฟติกแบคทีเรียจากรากของต้นห้อมสายพันธุ์ *Strobilanthes cusia*, *Baphicacanthus cusia* voucher และ *Strobilanthes auriculata* voucher ในพื้นที่จังหวัดแพร่ สามารถทำการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งหมด 4 ไอโซเลท แต่พบเพียง 3 ไอโซเลท ที่มีคุณสมบัติเป็นเอนโดไฟติกแบคทีเรีย และโดยเฉพาะไอโซเลท Sc–WH01 ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงที่สุด ด้วยความสามารถในการตรึงไนโตรเจน เท่ากับ 0.49 เปอร์เซ็นต์ อีกทั้งยังสามารถสังเคราะห์สาร IAA เท่ากับ 18.1 ไมโครมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสามารถละลายฟอสเฟต เท่ากับ 1.68 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อนำเอนโดไฟติกแบคทีเรีย ไอโซเลท Sc–WH01 ไประบุสายพันธุ์โดยการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA พบว่าฐานข้อมูลที่มีความใกล้เคียงกับ *Pseudoxanthomonas spadix* มากที่สุดถึง 98 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Andreolli *et al*. (2016) ได้ทำการคัดแยกเชื้อจากต้นองุ่น สายพันธุ์ *Vitis vinifera* cv. Corvina อายุ 3 และ 15 ปี สามารถคัดแยกเชื้อ ได้ทั้งหมด 74 และ 122 ไอโซเลท ตามลำดับ โดยสามารถตรวจพบเชื้อ *Pseudoxanthomonas* sp. จำนวน 9 ไอโซเลท เฉพาะในองุ่นอายุ 15 ปีเท่านั้น ซึ่งประกอบด้วย *Pseodoxanthomonas* sp. 15R32 จำนวน 4 ไอโซเลท, *Pseudoxanthomonas* sp. 15R38 จำนวน 3 ไอโซเลท และ *Pseodoxanthomonas* sp. 15Y10 จำนวน 2 ไอโซเลท เมื่อนำไปทดสอบพบว่าเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์ มีความสามารถ

ในการสร้างสารแอมโมเนีย และสามารถสังเคราะห์สาร IAA เช่นเดียวกับ Huda *et al*. (2022) ได้ศึกษาเชื้อแบคทีเรีย *Pseudoxanthomonas mexicana* ที่คัดแยกได้จากดินทางการเกษตรที่มีการปนเปื้อนของของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม โดยการทดสอบปลูกร่วมกับต้นถั่ว สายพันธุ์ *Vigna radiata* พบว่า มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจน รวมถึงการผลิตสารออกซินที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นถั่วได้ในปริมาณที่สูงถึง 68.75 µg mL^{-1} รวมถึง Dilfuza *et al*. (2017) ได้ทำการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากรากของถั่วลูกไก่ จำนวน 40 ไอโซเลท พบว่ามี 2 ไอโซเลท ที่สามารถสร้าง IAA อีกทั้งยังสามารถละลายฟอสเฟตได้ หลังจากทำการระบุสายพันธุ์พบว่ามีความใกล้เคียงกับ *Bacillus cereus* ATCC 14579 และ *Bacillus subtilis* sub sp. และ Ahmad *et al*. (2006) สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียจากดินและจากปมรากพืช จำนวน 72 ไอโซเลท เมื่อทำการระบุสายพันธุ์พบว่าส่วนใหญ่เป็นเชื้อ *Bacillus*, *Azotobacter*, *Pseudomonas* และ *Mesorhizobium* ซึ่งสามารถสังเคราะห์สาร IAA และแอมโมเนียได้ จากการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรครากเน่าโคนเน่า พบว่า เอนโดไฟติกแบคทีเรีย ไอโซเลท Sc–WH01 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Rhizoctonia solani* และ *Sclerotium rolfsii* โดยมีการสร้างรัศมีวงใส เท่ากับ 0.53 เซนติเมตร และ 0.45 เซนติเมตร ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Jumpathong and Masin (2018) พบว่า ผลการทดสอบเอนโดไฟติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *Pseudomonas areuginosa* G1 ที่มีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกัน ให้ผลการยับยั้งเชื้อก่อโรคทั้ง 2 ชนิด โดยการสร้างรัศมีวงใส เท่ากับ 0.23 และ 0.27 เซนติเมตร Dilfuza *et al*. (2017) พบว่า เอนโดไฟติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus subtilis* สามารถต้านทานเชื้อ *Fusarium solani* ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรครากเน่าในถั่วลูกไก่ และเพื่อทดสอบผลของเอนโดไฟติกแบคทีเรียต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของต้นห้อม พบว่าการปลูกต้นห้อมสายพันธุ์ *S. cusia*, *B. cusia* voucher และ *S. auriculata* voucher ร่วมกับเอนโดไฟติกแบคทีเรีย ไอโซเลท Sc–WH01 ปริมาณ 40 CFU/ml ให้ประสิทธิภาพด้านความสูงเพิ่มขึ้นเฉลี่ยสูงที่สุด เท่ากับ 19.25, 7.00 และ 5.00 เซนติเมตร นอกจากนั้นการใช้เอนโดไฟติกแบคทีเรีย ไอโซเลท Sc–WH01 ในปริมาณ 60 CFU/ml สามารถให้ประสิทธิภาพด้านการเพิ่มขึ้นของจำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด เท่ากับ 76.60, 14.00 และ 22.00 ใบ และให้ประสิทธิภาพด้านความยาวรากเพิ่มขึ้นเฉลี่ยสูงที่สุด เท่ากับ 2.60, 3.00 และ 2.50 เซนติเมตร ตามลำดับ Chanchay (2021a) ได้ทดสอบการนำเชื้อ *T. saanensis* MJUP06 มาส่งเสริมการเจริญและเพิ่มอัตราการงอกของรากเมล็ดผักหวานป่า นอกจากนี้ Suphan *et al*. (2016) ได้ใช้เอนโดไฟติกแบคทีเรียร่วมกับวัสดุตัวกลางชีวภาพสำหรับการปลูกคะน้าโดยสามารถช่วยให้ความสูง ความยาวของใบ และลำต้นเพิ่มขึ้นได้ เนื่องจากการใช้ประโยชน์จากต้นห้อมส่วนใหญ่มุ่งเน้นไปที่ใบห้อมเป็นหลัก ฉะนั้นการปลูกต้นห้อมทั้ง 3 สายพันธุ์ร่วมกับเอนโดไฟติกแบคทีเรีย ไอโซเลท Sc–WH01 ในปริมาณ 60 CFU/ml จึงสามารถส่งเสริมให้เกิดประสิทธิภาพการเจริญเติบโตได้อย่างเหมาะสมที่สุด อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้อาจมีปัจจัยอื่น ๆ ที่ส่งผลให้เกิดการผันแปรของข้อมูล โดยเฉพาะดินที่ใช้ในการปลูกต้นห้อม แม้ว่าจะมีแหล่งที่มาจากสถานที่เดียวกัน แต่องค์ประกอบภายในดินอาจไม่เหมือนกัน ซึ่งส่งผลต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของต้นห้อมในแต่ละชุดการทดลองที่แตกต่างกัน

สรุป

การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากรากของต้นห้อมจำนวน 3 สายพันธุ์ในพื้นที่จังหวัดแพร่ สามารถระบุได้ว่าเป็นเชื้อเอนโดไฟติกแบคทีเรีย สายพันธุ์ *Pseudoxanthomonas spadix* ด้วยความสามารถในการตรึงไนโตรเจน การสังเคราะห์สาร IAA และการละลายฟอสเฟต อีกทั้งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรครากเน่าโคนเน่าได้ นอกจากนั้นการใช้เอนโดไฟติกแบคทีเรีย สายพันธุ์ *P. spadix* ในปริมาณ 60 CFU/ml ร่วมกับการปลูกต้นห้อมสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตในทุก ๆ ด้าน ได้อย่างเหมาะสมที่สุด ทั้งในด้านความสูง ความยาวราก และโดยเฉพาะในด้านจำนวนใบ อย่างไรก็ตามความแตกต่างของปริมาณเอนโดไฟติกแบคทีเรียในการปลูกร่วมกับต้นห้อมจะส่งผลต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่า แม้เอนโดไฟติกแบคทีเรียจะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบของต้นห้อมได้สูงสุด แต่จะต้องใช้ในปริมาณที่เหมาะสมในการปลูกร่วมกับต้นห้อมในแต่ละสายพันธุ์ และรวมถึงปัจจัย

ทางสิ่งแวดล้อมอื่น ๆ ประกอบด้วย แต่ทั้งนี้นั้นจากผลการศึกษาครั้งนี้สามารถใช้เอนโดไฟติกแบคทีเรียร่วมกับการปลูกต้นห้อมในพื้นที่ราบในโรงเรือนได้ เพื่อเป็นการขยายพื้นที่ในการปลูกต่อการเพิ่มผลผลิตของต้นห้อมให้เพียงพอต่อการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน

เอกสารอ้างอิง

Ahmad, F., I. Ahma and M.S. Khan. 2006. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. Microbiol Research. 163 – (2): 173 – 181.

Andreolli, M., L. Silvia, Z. Giacomo, A. Elisa and V. Giovanni. 2016. Diversity of bacterial endophytes in 3 and 15 year–old grapevines of *Vitis vinifera* cv. Corvina and their potential for plant growth promotion and phytopathogen control. Microbial Research. 183: 42 – 52.

Chanchay, N. 2021a. Endophytic bacteria (*Terriglobus saanensis* MJUP06) on germination of Phak Wan Pa (*Melientha suavis* Pierre.). Sci. Tech. Nakhon Sawan Raj. Uni. J. 13(17): 1 – 11.

Chanchay, N. 2021b. Hom's Phrae: The wisdom and innovation for sustainable developing. 1st ed. Smart Coating and Service Co., Ltd., Chiangmai. (in Thai)

Chebotar, V.K., N.V. Malfanova, A.V. Shcherbakov, G.A. Ahtemova, A.Y. Borisov, B. Lugtenberg and I.A. Tikhonovich. 2015. Endophytic bacteria in microbial preparations that improve plant development. Biochemistry and Microbiology. 51: 271 – 277.

Dilfuza, E., J. W. Stephan, V.S. Vyacheslav, H. Abeer and F.A. Elsayed. 2017. Endophytic bacteria improve plant growth, symbiotic performance of chickpea (*Cicer arietinum* L.) and induce suppression of root rot caused by *Fusarium solani* under salt stress. Frontiers in Microbiology. 8: 1887.

Huda, N., T. Rabia, B. Javaria, A. Iftikhar and R. Yasir. 2022. Arsenic–Resistant Plant Growth Promoting *Pseudoxanthomonas Mexicana* S254 and *Stenotrophomonas maltophilia* S255 Isolated from Agriculture Soil Contaminated by Industrial Effluent. Sustainability. 10697.

Jumpathong, J. and K. Masin. 2018. Screening for Biological Activities of Bacteria Isolated from Agricultural Soil in Central Area. Science and Technology Nakhon Sawan Rajabhat University Journal, 10(11): 59 – 74. (in Thai)

Pallab, K.G., S. Pradipta, M. Shanmugam and K.M. Tushar. 2013. Role of IAA metabolizing enzymes on production of IAA in root, nodule of *Cajanus cajan* and its PGP *Rhizobium* sp. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 2: 234 – 239.

Suphan, S., P. Prajankett and S. Pongswat. 2016. Using nitrogen fixing bacteria with biological supporting media for promoting the plant growth. Sci. & Tech. RMUTT J. 6(2): 17 – 28.

Zhang, H., Y. Zhang and M. Wei. 2010. Comparative Analysis of Climatic Factors between Libo County and *Strobilanthes cusia* (Nees) O. Kuntze Growth. Medicinal Plant, 1(9): 9 – 11