วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา ปีที่ 27 (ฉบับที่ 1) มกราคม – เมษายน พ.ศ. 2565
BURAPHA SCIENCE JOURNAL Volume 27 (No.1) January – April 2022 บทความวิจัย

# ผลของปริมาณฟอสเฟต และ IAA ของ *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. ต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 หลังผ่านวิธีการแช่

# Effects of Phosphate and IAA of *Burkholderia* sp. and *Enterobacter* sp. on Seed Quality of Khao Dawk Mali 105 after Soaking Method

ศศิพร จอมคำ, จักรพงษ์ กางโสภา* และ จุฑามาศ อาจนาเสียว

Sasipron Jomkhame, Jakkrapong Kangsopa* and Chuthamat Atnaseo

*สาขาวิชาพืชไร่ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้*

*Division of Agronomy, Faculty of Agricultural Production, Maejo University*

Received : 9 June 2021

Revised : 2 August 2021

Accepted : 26 August 2021

## บทคัดย่อ

ข้าวถือเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย มีการส่งออกเป็นอันดับ 3 ของโลก แต่เนื่องด้วยคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ที่ใช้มีอัตราการงอกต่ำ และต้นกล้าไม่แข็งแรง เมื่อเจริญเติบโตเป็นต้นกล้าเกษตรกรมักใช้สารเคมีต่าง ๆ เพื่อเร่งการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตข้าว แต่การใช้สารเคมีเป็นระยะเวลานานจะส่งผลให้ดินเสื่อมโทรม จึงมีการนำจุลินทรีย์เข้ามาใช้ในทางการเกษตรเนื่องจากจุลินทรีย์บางกลุ่มมีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาปริมาณการผลิตฟอสเฟต และ IAA ของ *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. และติดตามการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพเมล็ดพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 โดยดำเนินการทดลองที่ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์ และห้องปฏิบัติการไบโอเทคโนโลยี สาขาวิชาพืชไร่ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ วางแผนการทดลองแบบ 2x3 Factorial in Completely Randomized Design มี 2 ปัจจัย ได้แก่ ปัจจัย A คือ สกุลของแบคทีเรีย มี 2 ระดับคือ *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. และปัจจัย B คือ ความเข้มข้นของแบคทีเรีย มี 3 ระดับคือ $1x10^9$, $1x10^8$ และ $1x10^7$ CFU/mL ผลการทดลองพบว่า แบคทีเรียทั้ง 2 สกุลมีคุณสมบัติผลิต IAA และสามารถละลายฟอสเฟตได้ ส่วนระดับความเข้มข้นของแบคทีเรียทั้ง 2 สกุลที่แตกต่างกันไม่ทำให้ความงอก ความแข็งแรง และการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวมีความแตกต่างกันเมื่อตรวจสอบทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพเรือนทดลอง อย่างไรก็ตามการแช่เมล็ดร่วม *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. เมื่อเพาะทดสอบในสภาพห้องปฏิบัติการพบว่า สามารถเพิ่มความเร็วในการงอกราก ความเร็วในการงอก และเวลาเฉลี่ยในการงอกได้สูงมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการแช่ เมื่อเพาะทดสอบในสภาพเรือนทดลองพบว่า แบคทีเรียทั้ง 2 สกุล สามารถเพิ่มการโพล่พ้นดิน ความเร็วในการงอกโผล่พ้นดิน และเวลาเฉลี่ยในการงอกได้สูงมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการแช่

**คำสำคัญ** : คุณภาพเมล็ดพันธุ์ ; การยกระดับเมล็ดพันธุ์อินทรีย์ ; การเคลือบเมล็ดพันธุ์ ; จุลินทรีย์ชีวภาพ

## Abstract

Rice has been considered as a major crop in Thailand, which is among the top three rice exporters of the world. Nevertheless, rice seeds used for cultivation usually have low germination rate and grow into unhealthy seedlings. Generally, farmers use various chemical fertilizers with rice seedlings to accelerate their growth and to increase their yields. Thus, cumulative use of chemical fertilizer results in soil deterioration. The utilization of microorganism for agricultural purposes was applied since some particular groups of microorganism have properties which help to promote plant growth. The objective of this experiment was study the phosphate and IAA production of *Burkholderia* sp. and *Enterobacter* sp. and changes in seed quality of Khao Dawk Mali 105. The current experiment was conducted at Seed Technology Laboratory and Biotechnology Laboratory, Division of Agronomy, Faculty of Agricultural Production, Maejo University. 2x3 Factorial in Completely Randomized Design is used as the experimental design and there were two control factors: first, “factor A”, which included the use of two genus of bacteria i.e., *Burkholderia* sp. and *Enterobacter* sp. and second, “factor B”, which included the use of three levels of bacteria concentration, $1x10^9$, $1x10^8$ and $1x10^7$ CFU/mL to soak rice seeds. The experimental results showed that both families of bacteria had a capability to produce IAA and to dissolve phosphate. Nevertheless, soaking rice seeds with different levels of bacteria concentration did not bring about differences in germination, vigor, and growth of the seedlings when tested in the laboratory and greenhouse conditions. However, when tested in a laboratory condition, it was found that soaking rice seeds with *Burkholderia* sp. and *Enterobacter* sp. can result in higher speed of radicle emergence, speed of germination, and better mean germination time when compared to unsoaked seeds. When tested in a greenhouse condition, it was found that both families of bacteria had the ability to help increase seedlings’ cotyledon emergence percentage, speed of cotyledon emergence as well as mean germination time when compared to unsoaked seeds.

**Keywords** : seed quality ; organic seed enhancement ; seed coating ; biological microorganism

***Corresponding author. E-mail** : jakkrapong_ks@mju.ac.th

**บทนำ**

ข้าวถือเป็นพืชอาหารหลักของประเทศไทย และผลิตเพื่อการส่งออกเป็นสินค้าทางการเกษตร ในปี 2563 ที่ผ่านมาประเทศไทยเป็นประเทศที่มีการส่งออกข้าวเป็นอันดับที่ 3 ของโลก รองจากประเทศอินเดีย และเวียดนาม โดยมีการส่งออกมากถึง 5.7 ล้านตัน คิดเป็นมูลค่ามากกว่า 1 แสนล้านบาท (Thai Customs, 2021) เพื่อให้ข้าวมีผลผลิตที่ดี จำเป็นต้องมีการจัดการที่ดี ทั้งในเรื่องการควบคุมวัชพืช การเพิ่มธาตุอาหาร การเลือกพื้นและช่วงเวลาในการปลูก และการใช้สารเคมี อย่างไรก็ตามแม้จะมีการจัดการที่ดีแต่ถ้าคุณภาพเมล็ดพันธุ์ที่ใช้ไม่ดี เช่น มีอัตราการงอกต่ำ งอกช้า หรือการงอกไม่สม่ำเสมอ อาจส่งผลให้ผลผลิตต่ำได้ ดังนั้นเกษตรกรมักใช้สารเคมีร่วมกับการอนุบาลต้นกล้าในแปลงปลูกเพื่อให้ได้ต้นกล้าข้าวที่สมบูรณ์แข็งแรง เช่น ปุ๋ยเคมี สารเคมีป้องกันโรคและแมลง และสารเคมีป้องกันกำจัดวัชพืช เป็นต้น อย่างไรก็ตามการใช้สารเคมีร่วมกับการปลูกข้าวในระยะเวลานาน อาจทำให้ดินในแปลงปลูกเสื่อมคุณภาพเพิ่มมากขึ้นทุก ๆ ปี อีกทั้งเป็นอันตรายต่อสภาพแวดล้อมและเกษตรกรผู้เพาะปลูกข้าว

จากประเด็นปัญหาดังกล่าวโดยทั่วไปเกษตรกรมักเตรียมเมล็ดพันธุ์ข้าวโดยวิธีการแช่เมล็ดพันธุ์ด้วยน้ำก่อนนำไปปลูก เพื่อให้เมล็ดข้าวงอกได้ง่ายและไวขึ้น โดยการแช่เมล็ดเป็นหนึ่งในวิธีการเตรียมความพร้อมให้กับเมล็ดก่อนนำไปปลูก โดยน้ำเป็นตัวนำพาสารต่าง ๆ เข้ามาภายในเมล็ด ทำให้เกิดปฏิกิริยาต่าง ๆ ภายในเมล็ด ทำให้เมล็ดเกิดการงอกอย่างสม่ำเสมอ (Bradford, 1986; Jones & Sanders, 1987) แต่การแช่เมล็ดพันธุ์ข้าวด้วยน้ำเพียงอย่างเดียวอาจช่วยกระตุ้นให้เมล็ดพันธุ์งอกได้ดีเฉพาะเมล็ดที่มีความสมบูรณ์แข็งแรง ต้นกล้าที่ได้จึงไม่มีความสม่ำเสมอหลังจากนำไปเพาะปลูก ทำให้การแช่เมล็ดโดยเพิ่มเติมสารออกฤทธิ์ที่มีประสิทธิภาพช่วยยกระดับความงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าให้ดียิ่งขึ้นได้และปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมคือหนึ่งในทางเลือกที่จำเป็นต่อระบบการเพาะปลูกข้าวในปัจจุบัน โดยเฉพาะการแช่เมล็ดร่วมกับแบคทีเรียที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Plant growth promoting bacteria; PGPB) ซึ่งสามารถเป็นทางเลือกเพื่อทดแทนการใช้สารเคมีได้ โดยแบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชโดยผ่านกลไกทางตรงในการส่งเสริมประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์จากธาตุอาหาร เช่น การละลายฟอสเฟต การตรึงไนโตรเจน ตลอดจนการผลิตฮอร์โมนพืช (Phytohormones) เช่น ไซโตไคนิน จิบเบอเรลลิน กรดอินโดลอะซีติก (Indole-3-acetic acid, IAA) และ เอทิลีน เป็นต้น อีกทั้งการส่งเสริมผ่านกลไกทางอ้อม ได้แก่ การกระตุ้นให้พืชมีความทนต่อโรคและแมลงศัตรูพืช รวมถึงการชักนำให้พืชสร้างความต้านทานต่อสภาวะเครียด (Glick, 2012) โดยแบคทีเรียสามารถเข้าสู่พืชได้ผ่านรูเปิดธรรมชาติของเมล็ดพืชผ่านตัวกลางคือน้ำที่ใช้ในการแช่เมล็ด เช่นการรายงานการแช่เมล็ดข้าวร่วมกับ *Enterobacter* sp. และ *Bacillus* sp. ก่อนนำไปปลูกพบว่า มีการเจริญเติบโตที่ดีขึ้นของความยาวราก ความยาวต้น การสะสมน้ำหนักต้น และราก เป็นต้น (Panya *et al*., 2017; Saengsanga, 2018; Ouyabe *et al*., 2020) ซึ่ง *Burkholderia* มีรายงานความสามารถในการตรึงไนโตรเจนสำหรับส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชหลากหลายชนิด เช่น ข้าวโพดและกาแฟ (Estrada-de los Santos *et al*., 2013) และ มะเขือเทศ (Caballero-Mellado *et al*., 2004) เป็นต้น ส่วน *Enterobacter* พบรายงานมีประสิทธิภาพการละลายฟอสเฟส และ IAA ที่ส่งเสริมพัฒนาการของรากและการเจริญเติบโตของต้นกล้าแฟลกซ์ หลังผ่านการแช่เมล็ดด้วย *Enterobacter ludwigii* (Sarron *et al*., 2018)

ดังนั้นงานวิจัยในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาปริมาณการผลิตฟอสเฟต และ IAA ของ *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. และติดตามการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพเมล็ดพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 หลังผ่านวิธีการแช่ภายใน

สภาพห้องปฏิบัติการและในสภาพเรือนทดลอง เพื่อเป็นหนึ่งในวิธีการยกระดับคุณภาพเมล็ดพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ให้มีคุณภาพสูงขึ้น

**วิธีดำเนินการวิจัย**

แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบได้จากดินพื้นที่ป่าภายในศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้ อันเนื่องมาจากพระราชดำริ ตำบลป่าเมี่ยง อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ จำนวน 2 ไอโซเลต ได้แก่ *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. (Jomkhame & Atnaseo, 2021)

*การตรวจสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟต*

นำแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ เลี้ยงบนอาหาร Pikovskayas agar (Himedia®, India) และบ่มที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 7 วัน ประเมินความสามารถในการละลายฟอสเฟตโดยสังเกตการเกิดวงใสรอบโคโลนีของเชื้อ และคำนวณค่า Phosphate solubilization index (PSI) ตามวิธีของ Paul & Sinha (2017) ดังสมการที่ (1)

$$PSI = \frac{\text{ขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส}}{\text{ขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี}} \quad (1)$$

*การตรวจสอบความสามารถในการผลิต IAA*

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหารเหลวที่มี 1% Peptone, 0.5% NaCl, 0.6% Yeast extract และ 0.1% L-tryptophan ซึ่งมี pH 7.6 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยเขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง แยกเซลล์ออกจากอาหารด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ตรวจสอบการผลิต IAA ในอาหารเลี้ยงด้วย Salkowski's reagent (0.5 M $FeCl_3$ ใน 35% $HClO_4$ สัดส่วน 1:50 (V:V)) โดยผสมอาหารเลี้ยงแบคทีเรียที่แยกได้ 1 mL กับ Salkowski's reagent 1 มิลลิลิตร บ่มในที่มืดอุณหภูมิ 28°C เป็นเวลา 20 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer รุ่น CECIL ที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับความเข้มข้นกับสารละลายมาตรฐาน IAA บริสุทธิ์ (Pidnoi & Shutsrirung, 2019)

*การเตรียมเชื้อสำหรับแช่เมล็ด*

เชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ ถูกเลี้ยงในอาหาร Tryptic Soy Broth (TSB) (15 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร) (HIMEDIA®, India) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยเขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ มาปั่นเหวี่ยงตกตะกอนและล้าง 1 ครั้งด้วย NaCl ความเข้มข้น 0.85% แล้วปรับความเข้มข้นของสารแขวนลอยแบคทีเรียด้วย 0.85% NaCl เป็น $1\times10^9$, $1\times10^8$ และ $1\times10^7$ CFU/mL โดยเปรียบเทียบกับค่าที่อ่านได้จากเครื่อง Spectrophotometer รุ่น CE (CECIL, England) ที่ค่า $OD_{600}$

*การแช่เมล็ดข้าวขาวดอกมะลิ 105 ร่วมกับเชื้อแบคทีเรีย*

งานทดลองนี้ได้รับความอนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 จากศูนย์วิจัยข้าวเชียงใหม่ ฤดูกาลผลิต 2563 โดยมีความงอกเริ่มต้นก่อนการทดลองคือ 81% ความชื้นเมล็ดคือ 13.4% จากนั้นนำมาทำความสะอาดโดยการแช่ใน 2.0%

Sodium hypochlorite (NaClO) เป็นเวลา 3 นาที แล้วล้างด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ลดความชื้นเมล็ดข้าว ในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน (10.32 %) จากนั้นนำเมล็ดข้าวที่ผ่านการเตรียมไปแช่ในสารแขวนลอยแบคทีเรียตามกรรมวิธีทดลองดังนี้ คือ เมล็ดไม่แช่ (T1), เมล็ดที่แช่ร่วมกับ *Burkholderia* sp. ที่ความเข้มข้น $1\times10^9$, $1\times10^8$ และ $1\times10^7$ CFU/mL (T2, T3 และ T4 ตามลำดับ) เมล็ดที่แช่ร่วมกับ *Enterobacter* sp. ที่ความเข้มข้น $1\times10^9$, $1\times10^8$ และ $1\times10^7$ CFU/mL (T5, T6 และ T7 ตามลำดับ) โดยแช่เมล็ดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งเขย่าด้วยความเร็ว 150 รอบต่อนาที เมื่อครบเวลานำเมล็ดข้าวมาซับความชื้นด้วยกระดาษทิชชูที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นนำเมล็ดข้าวไปเพาะทดสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ในลักษณะต่าง ๆ

**การบันทึกผลการทดลอง**

การตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ในสภาพห้องปฏิบัติการ

นำเมล็ดข้าวที่ผ่านการแช่ร่วมกับแบคทีเรียและไม่แช่ในแต่ละวิธีการด้วยวิธี Between paper กรรมวิธีละ 50 เมล็ด จำนวน 4 ซ้ำ จากนั้นนำไปเก็บในตู้เพาะความงอกที่อุณหภูมิ 25°C โดยความเข้มแสงที่ 120 ลักซ์ ความชื้นสัมพัทธ์ที่ 85 เปอร์เซ็นต์ โดยมีวิธีการบันทึกข้อมูลต่าง ๆ ดังนี้

*1. การตรวจสอบการงอกราก*

สุ่มประเมินการงอกรากในระหว่างวันที่ 1 และวันที่ 4 จากการเพาะทดสอบในสภาพห้องปฏิบัติการ ทำ 4 ซ้ำ ๆ 50 เมล็ด โดยจะเริ่มตรวจนับเมื่อเมล็ดมีการงอกของรากที่ความยาว 2 มิลลิเมตร แล้วนำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การงอกราก จากนั้นนำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การงอกรากจากสมการที่ (2)

$$\text{การงอกราก (\%)} = \frac{\text{จำนวนเมล็ดที่งอกราก}}{\text{จำนวนเมล็ดที่เพาะ}} \times 100 \qquad (2)$$

*2. การตรวจสอบความเร็วในการงอกราก*

ดำเนินการตรวจนับเมล็ดที่มีการงอกของรากที่ความยาว 2 มิลลิเมตร หลังผ่านการเพาะทดสอบในสภาพห้องปฏิบัติการทุกวันตั้งแต่วันที่ 1 ถึงวันที่ 4 หลังการเพาะ ทำ 4 ซ้ำ ๆ 50 เมล็ด จากนั้นนำมาคำนวณหาความเร็วในการงอกราก จากสมการที่ (3)

$$\text{ความเร็วในการงอกราก (ราก/วัน)} = \text{ผลรวมของ } \frac{[\text{จำนวนรากที่งอกในแต่ละวัน}]}{\text{จำนวนวันหลังเพาะ}} \qquad (3)$$

*3. การตรวจสอบความงอก*

สุ่มเมล็ดพันธุ์ข้าวที่ผ่านการแช่และไม่แช่เมล็ดจำนวน 4 ซ้ำ ๆ ละ 50 เมล็ด มาทดสอบความงอกโดยวิธี Between paper (BP) แล้วตรวจนับความงอกหลังการเพาะครั้งแรกที่ 5 วัน (First count) และ 14 วันหลังเพาะ (Final count) โดยนำมาประเมินผลการตรวจสอบความงอกตามวิธีของ ISTA (2018)

*4. การตรวจสอบความเร็วในการงอก*

สุ่มเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านกระบวนการแช่และไม่แช่หลังเพาะทดสอบ จำนวน 4 ซ้ำ ๆ ละ 50 เมล็ด นับจำนวนเมล็ดที่งอกเป็นต้นกล้าปกติ นับทุกวันตั้งแต่วันที่เริ่มตรวจนับครั้งแรก (First count) จนถึงวันสุดท้าย (Final count) (5-14 วัน) แล้วนำผลการนับมาคำนวณหาความเร็วในการงอกตามสมการที่ (4)

$$\text{ความเร็วในการงอก (ต้น/วัน)} = \text{ผลรวมของ } \frac{[\text{จำนวนเมล็ดที่งอกเป็นต้นกล้าปกติที่งอกในแต่ละวัน}]}{\text{จำนวนวันหลังเพาะ}} \quad (4)$$

*5. การตรวจสอบเวลาเฉลี่ยในการงอก*

เพาะเมล็ดข้าวเช่นเดียวกับวิธีการทดสอบความงอกมาตรฐาน ตรวจนับจำนวนต้นกล้าปกติทุกวัน เป็นเวลา 14 วัน ทำ 4 ซ้ำในแต่ละกรรมวิธีการทดลอง จากนั้นคำนวณเวลาเฉลี่ยในการงอกตามวิธีของ Ellis & Roberts (1980) ดังสมการที่ (5)

$$\text{เวลาเฉลี่ยในการงอก (วัน)} = \frac{(G_1 \times D_1 + G_2 \times D_2 + \ldots + G_n \times D_n)}{\text{จำนวนต้นกล้าปกติทั้งหมด}} \quad (5)$$

เมื่อ $G_{1, 2, \ldots, n}$ คือ จำนวนต้นกล้าปกติที่งอกวันที่ 1, 2, …, n (n = 14)

$D_{1, 2, \ldots, n}$ คือ จำนวนวันที่ 1, 2, …, n (n = 14) หลังจากวันเพาะเมล็ด

*6. การตรวจสอบความยาวต้นและความยาวราก*

สุ่มประเมินเมล็ดหลังเพาะทดสอบในแต่ละวิธีการในวันที่ 14 หลังเพาะ โดยความยาวต้นโดยวัดตั้งแต่โคนต้นจนถึงปลายใบของต้นกล้า และความยาวรากวัดจากโคนต้นลงมาจนถึงปลายรากของต้นกล้า ทั้งหมดทำ 4 ซ้ำ ๆ ละ 10 ต้น จากนั้นนำแต่ละลักษณะที่ได้จากการสุ่มมาประเมินผล มีหน่วยเป็นเซนติเมตร

*การตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ในสภาพเรือนทดลอง*

เพาะทดสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์ในสภาพเรือนทดลอง โดยใช้ถาดเพาะต้นกล้าขนาด 104 หลุม (4 x 4.5 เซนติเมตร) โดยใช้พีสมอส (Peat moss) เป็นวัสดุเพาะต้นกล้า โดยเพาะต้นกล้าให้ลึกประมาณ 2 เซนติเมตร จากนั้นประเมินคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ในลักษณะต่าง ๆ คือ

*1. การตรวจสอบการงอกโผล่พ้นดิน*

สุ่มประเมินการงอกของ coleoptile ของต้นกล้าข้าวที่ผ่านการเพาะทดสอบที่โผล่พ้นดินขึ้นมาจากหลุมเพาะต้นกล้าในแต่ละกรรมวิธี ทำ 4 ซ้ำ ๆ ละ 50 เมล็ด จากนั้นนำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การโผล่พ้นดินของต้นกล้าข้าวจากสมการที่ (6)

$$\text{การงอกโผล่พ้นดิน (\%)} = \frac{\text{จำนวนเมล็ดที่งอกโผล่พ้นดิน}}{\text{จำนวนเมล็ดที่เพาะ}} \times 100 \quad (6)$$

*2. การตรวจสอบความเร็วในการงอกโผล่พ้นดิน*

สุ่มตรวจนับการงอกของ coleoptile ของต้นกล้าข้าวที่ผ่านการเพาะทดสอบที่โผล่พ้นดินขึ้นมา นับทุกวันตั้งแต่วันที่ 1 ถึงวันที่ 4 หลังการเพาะ ในแต่ละกรรมวิธี ทำ 4 ซ้ำ ๆ ละ 50 เมล็ด จากนั้นนำมาคำนวณหาความเร็วในการโผล่พ้นดินจากสมการที่ (7)

$$\text{ความเร็วในการงอกโผล่พ้นดิน (ต้น/วัน)} = \text{ผลรวมของ} \left[\frac{\text{จำนวนเมล็ดที่งอกโผล่พ้นดินในแต่ละวัน}}{\text{จำนวนวันหลังเพาะ}}\right] \quad (7)$$

*3. การตรวจสอบความงอก*

สุ่มเมล็ดพันธุ์ข้าวที่ผ่านกระบวนการแช่และไม่แช่จำนวน 4 ซ้ำ ๆ ละ 50 เมล็ด มาทดสอบความงอกในถาดหลุม ซึ่งใช้พีทมอส (Peat moss) เป็นวัสดุเพาะต้นกล้า แล้วตรวจนับความงอกหลังการเพาะครั้งแรกที่ 5 วัน (First count) และ 14 วันหลังเพาะ (Final count) จากนั้นนำมาประเมินผลความงอกเช่นเดียวกันกับการตรวจสอบในสภาพห้องปฏิบัติการ

*4. การตรวจสอบความเร็วในการงอก*

ทำโดยสุ่มเมล็ดพันธุ์จากการเพาะทดสอบในแต่ละวิธีการทดลองจำนวน 4 ซ้ำ ๆ ละ 50 เมล็ด ตรวจนับจำนวนเมล็ดที่งอกเป็นต้นกล้าปกติ นับทุกวันตั้งแต่เริ่มนับครั้งแรก (First count) จนถึงวันสุดท้าย (Final count) (5-14 วัน) แล้วนำผลการนับมาคำนวณหาความเร็วในการงอกเช่นเดียวกันกับการตรวจสอบในสภาพห้องปฏิบัติการ

*5. การตรวจสอบเวลาเฉลี่ยในการงอก*

เพาะเมล็ดข้าวเช่นเดียวกับวิธีการทดสอบความงอกในสภาพเรือนทดลอง ตรวจนับจำนวนต้นกล้าปกติทุกวัน เป็นเวลา 14 วัน ทำ 4 ซ้ำ ๆ ละ 50 เมล็ด จากนั้นคำนวณเวลาเฉลี่ยในการงอก ตามวิธีการของ Ellis & Roberts (1980)

*การตรวจสอบความยาวต้น (shoot length)*

ทำโดยตรวจสอบต้นกล้าปกติหลังผ่านการเพาะทดสอบเช่นเดียวกับวิธีการทดสอบความงอกโดยวิธีมาตรฐานประเมินในวันที่ 14 หลังเพาะ โดยสุ่มเก็บต้นกล้าปกติในทุกกรรมวิธี กรรมวิธีละ 10 ต้น แล้วนำมาวัดความยาวต้นด้วยไม้บรรทัด โดยวัดตั้งแต่โคนต้นจนถึงปลายใบของต้นกล้ามีหน่วยเป็นเซนติเมตร

*การวิเคราะห์ข้อมูล*

วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD โดยมี 2 ปัจจัย ได้แก่ ปัจจัย A คือ เชื้อแบคทีเรียที่ใช้แช่ มี 2 สายพันธุ์ และปัจจัย B คือ ความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรียที่ใช้แช่เมล็ดข้าว มี 3 ระดับ จำนวน 4 ซ้ำ นำข้อมูลการงอกราก ความงอก และการโผล่พ้นดินมาแปลงข้อมูลก่อนการวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยใช้วิธี Arcsine transformation และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Least Significant Different (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น $P<0.05$ โดยใช้โปรแกรม R

**ผลการวิจัย**

*คุณสมบัติของ Burkholderia* sp. *และ Enterobacter* sp.

การตรวจสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟต และการผลิต IAA ของ *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. พบว่า แบคทีเรียสกุล *Burkholderia* sp. มีค่าดัชนีการละลายฟอสเฟต 3.01 และสามารถผลิต IAA ได้ 8.20 µg/mL ส่วนการตรวจสอบคุณสมบัติของ *Enterobacter* sp. พบว่ามีค่าดัชนีการละลายฟอสเฟต 2.83 และสามารถผลิต IAA ได้ 92.64 µg/mL (ตารางที่ 1) ดังนั้นการตรวจสอบความสามารถในการละลายฟอสเฟตและการผลิต IAA ของ *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. พบว่า แบคทีเรียสกุล *Burkholderia* sp. ให้ค่าการละลายฟอสเฟตสูงกว่า *Enterobacter* sp. ในขณะที่แบคทีเรียสกุล *Enterobacter* sp. ให้ค่าการผลิต IAA สูงกว่า *Burkholderia* sp. ถึง 96 เปอร์เซ็นต์

***ตารางที่ 1*** ความสามารถในการละลายฟอสเฟตและความสามารถผลิต IAA ของแบคทีเรีย

| สกุลเชื้อแบคทีเรีย | ดัชนีการละลายฟอสเฟต | IAA (µg/mL) |
|---|---|---|
| *Burkholderia* sp. | 3.01 | 8.20 |
| *Enterobacter* sp. | 2.83 | 92.64 |

*การประเมินคุณภาพเมล็ดพันธุ์*

เมื่อประเมินคุณภาพเมล็ดพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่ผ่านการแช่เมล็ดร่วมกับ *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน หลังการเพาะทดสอบในสภาพห้องปฏิบัติการเป็นเวลา 14 วัน พบว่า แบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ ไม่มีผลต่อการงอกราก แม้ว่าจะมีการแช่เมล็ดด้วยแบคทีเรียที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน และเมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างสายพันธุ์แบคทีเรียต่อความเข้มข้นของแบคทีเรียพบว่า ทั้ง 2 ปัจจัยไม่มีอิทธิพลร่วมกัน แสดงว่าการแช่เมล็ดพันธุ์ร่วมกับ *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ไม่ส่งผลต่อการงอกรากของเมล็ด ในขณะที่การประเมินความเร็วในการงอกรากพบว่า เมล็ดที่ได้รับการแช่ร่วมกับ *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. มีความเร็วในการงอกรากสูงที่สุด คือ 15.33 และ 15.12 รากต่อวัน และแตกต่างกันในทางสถิติกับเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้ผ่านการแช่

เมื่อพิจารณาการแช่เมล็ดที่ความเข้มข้นของแบคทีเรียที่แตกต่างกันพบว่า แบคทีเรียในแต่ละระดับความเข้มข้นไม่มีผลต่อความเร็วในการงอกรากของเมล็ดข้าว และเมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างสายพันธุ์แบคทีเรียต่อความเข้มข้นของแบคทีเรียพบว่า การแช่เมล็ดพันธุ์ร่วมกับ *Burkholderia* sp. ที่ระดับความเข้มข้น $1\times10^{9}$, $1\times10^{8}$ และ $1\times10^{7}$ CFU/mL คือ 15.42, 14.71,

15.85 รากต่อวัน ตามลำดับ และ *Enterobacter* sp. ที่ระดับความเข้มข้น $1\times10^9$, $1\times10^8$ และ $1\times10^7$ CFU/mL คือ 16.15, 14.35 และ 14.85 รากต่อวัน ตามลำดับ มีผลให้ความเร็วในการงอกรากสูงที่สุด และมีความแตกต่างกันทางสถิติกับเมล็ดที่ไม่ได้รับการแช่ อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาความงอกพบว่า การแช่เมล็ดด้วย *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. ไม่มีผลต่อความงอกของเมล็ด อีกทั้งการใช้แบคทีเรียที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ยังแสดงให้เห็นว่า ความงอกของเมล็ดยังคงไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ และพบว่าทั้ง 2 ปัจจัยไม่มีอิทธิพลร่วมกัน แต่เมื่อประเมินความเร็วในการงอกพบว่า เมล็ดที่ได้รับการแช่ร่วมกับ *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. มีความเร็วในการงอกสูงที่สุด คือ 8.36 และ 8.12 ต้นต่อวัน และมีความแตกต่างกันทางสถิติกับเมล็ดที่ไม่ได้รับการแช่ร่วม คือ 7.20 ต้นต่อวัน แม้ว่าสกุลของเชื้อแบคทีเรียจะมีผลต่อความเร็วในการงอก แต่ระดับความเข้มข้นของเชื้อไม่มีผลต่อความเร็วในการงอก ในส่วนของอิทธิพลร่วมระหว่างสายพันธุ์แบคทีเรียกับความเข้มข้นของแบคทีเรีย พบว่า การแช่เมล็ดพันธุ์ร่วมกับ *Burkholderia* sp. ที่ระดับความเข้มข้น $1\times10^9$, $1\times10^8$ และ $1\times10^7$ CFU/mL และ *Enterobacter* sp. ที่ระดับความเข้มข้น $1\times10^9$, $1\times10^8$ และ $1\times10^7$ CFU/mL มีความเร็วในการงอกสูงที่สุด คือ 8.38, 8.26, 8.42, 8.15, 8.15 และ 8.06 ต้นต่อวัน ตามลำดับ และมีความแตกต่างกันทางสถิติกับเมล็ดที่ไม่ได้รับการแช่

เมื่อประเมินเวลาเฉลี่ยในการงอกพบว่า การแช่เมล็ดข้าวด้วย *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. มีเวลาเฉลี่ยในการงอกต่ำที่สุด คือ 1.91 และ 1.83 วัน ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติกับเมล็ดที่ข้าวที่ไม่ได้รับการแช่ คือ 2.53 วัน แต่ระดับความเข้มข้นของแบคทีเรียไม่มีผลต่อเวลาเฉลี่ยในการงอก เมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างสายพันธุ์แบคทีเรียกับความเข้มข้นของแบคทีเรีย พบว่า การแช่เมล็ดร่วมกับ *Burkholderia* sp. ที่ระดับความเข้มข้น $1\times10^9$, $1\times10^8$ และ $1\times10^7$ CFU/mL และ *Enterobacter* sp. ที่ระดับความเข้มข้น $1\times10^9$, $1\times10^8$ และ $1\times10^7$ CFU/mL มีเวลาเฉลี่ยในการงอกต่ำที่สุด คือ 1.93, 1.92, 1.87, 1.87, 1.84 และ 1.77 วัน ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันในทางสถิติกับเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการแช่ (ตารางที่ 2)

เมื่อประเมินคุณภาพเมล็ดพันธุ์ข้าวที่ผ่านการแช่ร่วมกับ *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน หลังการเพาะทดสอบในสภาพเรือนทดลองพบว่า เมล็ดข้าวที่ผ่านการแช่ด้วย *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. มีการโผล่พ้นดินสูงที่สุด คือ 62.33% และ 63.17% และมีความแตกต่างกันทางสถิติกับเมล็ดที่ไม่ผ่านการแช่ อย่างไรก็ตาม ระดับความเข้มข้นของเชื้อที่แตกต่างกันไม่มีผลทำให้การโผล่พ้นดินของต้นกล้าข้าวมีความแตกต่างกันในทางสถิติ และเมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างสายพันธุ์แบคทีเรียต่อความเข้มข้นของแบคทีเรียพบว่า เมล็ดที่แช่ด้วย *Burkholderia* sp. ที่ระดับความเข้มข้น $1\times10^9$, $1\times10^8$ และ $1\times10^7$ CFU/mL และ *Enterobacter* sp. ที่ระดับความเข้มข้น $1\times10^9$, $1\times10^8$ และ $1\times10^7$ CFU/mL มีการโผล่พ้นดินสูงที่สุด คือ 68.50%, 59.50%, 59%, 61.50%, 61.50% และ 66.50% ตามลำดับ และมีความแตกต่างกันทางสถิติกับเมล็ดที่ไม่ผ่านการแช่ ส่วนการประเมินความเร็วในการโผล่พ้นดินพบว่า เมล็ดที่ผ่านการแช่เมล็ดร่วมกับ *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. มีความเร็วในการโผล่พ้นดินสูงที่สุด คือ 8.64 และ 8.85 ต้นต่อวัน และมีความแตกต่างกันทางสถิติกับเมล็ดที่ไม่ผ่านการแช่ แต่ระดับความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการแช่เมล็ดไม่ทำให้ความเร็วในการโผล่พ้นดินแตกต่างกันในทางสถิติกับเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการแช่ และเมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างสายพันธุ์แบคทีเรียกับความเข้มข้นของแบคทีเรียพบว่า เมล็ดที่แช่ด้วย *Burkholderia* sp. ที่ระดับความเข้มข้น $1\times10^9$, $1\times10^8$ และ $1\times10^7$ CFU/mL และ *Enterobacter* sp. ที่ระดับความเข้มข้น $1\times10^9$, $1\times10^8$ และ $1\times10^7$ CFU/mL มีความเร็วในการโผล่พ้นดินสูงที่สุดและแตกต่างกันในทางสถิติกับเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการแช่ ในขณะที่การประเมินความงอกพบว่า การแช่เมล็ด

ด้วย *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. ไม่ทำให้ความงอกของเมล็ดมีความแตกต่างกันทางสถิติกับเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการแช่ อีกทั้งระดับความเข้มข้นของเชื้อที่แตกต่างกัน ไม่ทำให้เมล็ดมีความงอกแตกต่างกันในทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่าอิทธิพลระหว่างสายพันธุ์และความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรียไม่มีอิทธิพลร่วมกัน

***ตารางที่ 2*** การงอกราก ความเร็วในการงอกราก ความงอก และความเร็วในการงอกของเมล็ดข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่ผ่านการแช่ร่วมกับ *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. ในระดับความเข้มข้นต่างกัน เมื่อเพาะทดสอบในสภาพห้องปฏิบัติการ

| เชื้อแบคทีเรีย | ระดับความเข้มข้น | การงอกราก (%) | ความเร็วในการงอกราก (ราก/วัน) | ความงอก (%) | ความเร็วในการงอก (ต้น/วัน) | เวลาเฉลี่ยในการงอก (วัน) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Control | | 66.50 | 9.92 b | 81.00 | 7.20 b | 2.58 a |
| *Burkholderia* sp. | | 77.50 | 15.33 a | 86.83 | 8.36 a | 1.91 b |
| *Enterobacter* sp. | | 76.00 | 15.12 a | 83.33 | 8.12 a | 1.83 b |
| F-test | | ns | *** | ns | *** | ** |
| | $1\times10^{9}$ | 77.75 | 15.78 | 85.00 | 8.27 | 1.90 |
| | $1\times10^{8}$ | 74.50 | 14.53 | 85.00 | 8.21 | 1.88 |
| | $1\times10^{7}$ | 78.00 | 15.35 | 85.25 | 8.24 | 1.82 |
| F-test | | ns | ns | ns | ns | ns |
| Control | 0 | 66.50 | 9.92 b | 81.00 | 7.20 b | 2.58 a |
| *Burkholderia* sp. | $1\times10^{9}$ | 79.50 | 15.42 a | 87.00 | 8.38 a | 1.93 b |
| *Burkholderia* sp. | $1\times10^{8}$ | 75.50 | 14.71 a | 86.00 | 8.26 a | 1.92 b |
| *Burkholderia* sp. | $1\times10^{7}$ | 77.50 | 15.85 a | 87.50 | 8.42 a | 1.87 b |
| *Enterobacter* sp. | $1\times10^{9}$ | 76.00 | 16.15 a | 83.00 | 8.15 a | 1.87 b |
| *Enterobacter* sp. | $1\times10^{8}$ | 73.50 | 14.35 a | 84.00 | 8.15 a | 1.84 b |
| *Enterobacter* sp. | $1\times10^{7}$ | 78.50 | 14.85 a | 83.00 | 8.06 a | 1.77 b |
| F-test | | ns | *** | ns | *** | ** |
| C.V. (%) | | 5.27 | 5.20 | 5.19 | 4.81 | 7.39 |

*หมายเหตุ* : ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ, ** หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ p-value ≤ 0.01, *** หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ p-value ≤ 0.001 ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และในคอลัมน์เดียวกันตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกัน หมายถึง ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระดับนัยสำคัญ 0.05

ส่วนการประเมินความเร็วในการงอกพบว่า การแช่เมล็ดข้าวด้วย *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. ไม่ทำให้ความเร็วในการงอกแตกต่างกันทางสถิติกับเมล็ดที่ไม่ได้รับการแช่ แม้ว่าจะมีการแช่ให้ความเข้มข้นที่ต่างกันก็ตาม ทั้งนี้ยังพบว่า อิทธิพลระหว่างสายพันธุ์และความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรียไม่มีอิทธิพลร่วมกัน อย่างไรก็ตามเมื่อประเมินเวลาเฉลี่ยในการงอก พบว่าเมล็ดข้าวที่แช่ด้วย *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. มีเวลาเฉลี่ยในการงอกต่ำที่สุด คือ 2.12 และ 2.09 วัน และแตกต่างกันทางสถิติกับเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการแช่ ในขณะที่ระดับความเข้มข้นของแบคทีเรียไม่ส่งผลให้ระดับความเข้มข้น $1\times10^{9}$, $1\times10^{8}$ และ $1\times10^{7}$ CFU/mL มีเวลาเฉลี่ยในการงอกแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างสายพันธุ์แบคทีเรียกับความเข้มข้นของแบคทีเรียพบว่า การแช่เมล็ดพันธุ์ร่วมกับ *Burkholderia* sp. $1\times10^{9}$, $1\times10^{8}$ และ $1\times10^{7}$ CFU/mL และ *Enterobacter* sp. ที่ระดับความเข้มข้น $1\times10^{9}$, $1\times10^{8}$ และ $1\times10^{7}$ CFU/mL มีเวลาเฉลี่ยในการงอกต่ำที่สุด และมีความแตกต่างกันทางสถิติกับเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการแช่ (ตารางที่ 3)

*การประเมินการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวขาวมะลิ 105*

การประเมินต้นกล้าข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่อายุ 14 วันหลังเพาะ หลังผ่านการแช่เมล็ดร่วมกับ *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน และเพาะทดสอบในสภาพห้องปฏิบัติการพบว่า แบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ไม่ทำให้ความยาวต้น และความยาวรากแตกต่างกันทางสถิติกับเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการแช่ แม้ว่าจะมีการใช้ระดับความเข้มข้นของแบคทีเรียในการแช่เมล็ดพันธุ์ที่แตกต่างกันก็ตาม และเมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างสายพันธุ์แบคทีเรียกับความเข้มข้นของแบคทีเรียพบว่า ไม่มีอิทธิพลร่วมกัน แสดงว่าการแช่เมล็ดพันธุ์ร่วมกับ *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ไม่ส่งผลต่อความยาวต้นและความยาวรากของต้นกล้าข้าว (ตารางที่ 4)

***ตารางที่ 3*** การงอกโผล่พ้นดิน ความเร็วในการงอกโผล่พ้นดิน ความงอก และความเร็วในการงอกของเมล็ดข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่ผ่านการแช่ร่วมกับ *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. ในระดับความเข้มข้นต่างกัน เมื่อเพาะทดสอบในสภาพเรือนทดลอง

| เชื้อแบคทีเรีย | ระดับความเข้มข้น | การโผล่พ้นดิน (%) | ความเร็วในการงอกโผล่พ้นดิน (ต้น/วัน) | ความงอก (%) | ความเร็วในการงอก (ต้น/วัน) | เวลาเฉลี่ยในการงอก (วัน) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Control | | 9.00 b | 1.12 b | 82.00 | 7.71 | 2.66 a |
| *Burkholderia* sp. | | 62.33 a | 8.64 a | 84.83 | 8.27 | 2.12 b |
| *Enterobacter* sp. | | 63.17 a | 8.85 a | 85.67 | 8.45 | 2.09 b |
| F-test | | *** | *** | ns | ns | ** |
| | $1\times10^{9}$ | 65.00 | 9.07 | 87.00 | 8.49 | 2.11 |
| | $1\times10^{8}$ | 60.50 | 8.53 | 83.50 | 8.16 | 2.10 |
| | $1\times10^{7}$ | 62.75 | 8.64 | 85.25 | 8.41 | 2.11 |
| F-test | | ns | ns | ns | ns | ns |
| Control | 0 | 9.00 b | 1.12 b | 82.00 | 7.71 | 2.66 a |
| *Burkholderia* sp. | $1\times10^{9}$ | 68.50 a | 9.58 a | 86.00 | 8.35 | 2.09 b |
| *Burkholderia* sp. | $1\times10^{8}$ | 59.50 a | 8.25 a | 85.00 | 8.27 | 2.16 b |
| *Burkholderia* sp. | $1\times10^{7}$ | 59.00 a | 8.10 a | 83.50 | 8.18 | 2.13 b |
| *Enterobacter* sp. | $1\times10^{9}$ | 61.50 a | 8.56 a | 88.00 | 8.64 | 2.13 b |
| *Enterobacter* sp. | $1\times10^{8}$ | 61.50 a | 8.81 a | 82.00 | 8.06 | 2.04 b |
| *Enterobacter* sp. | $1\times10^{7}$ | 66.50 a | 9.18 a | 87.00 | 8.64 | 2.09 b |
| F-test | | *** | *** | ns | ns | ** |
| C.V. (%) | | 11.26 | 11.36 | 5.27 | 9.78 | 4.55 |

*หมายเหตุ* : ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ, ** หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ p-value ≤ 0.01, *** หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ p-value ≤ 0.001 ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และในคอลัมน์เดียวกันตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกัน หมายถึง ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระดับนัยสำคัญ 0.05

เมื่อประเมินคุณภาพเมล็ดพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่ผ่านการแช่ร่วมกับ *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน หลังการเพาะทดสอบในสภาพเรือนทดลองพบว่า แบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ ไม่ทำให้ความยาวต้นแตกต่างกันในทางสถิติกับเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการแช่ แม้ว่าจะมีการใช้ระดับความเข้มข้นของแบคทีเรียในการแช่เมล็ดพันธุ์ที่แตกต่างกัน และเมื่อพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างสายพันธุ์แบคทีเรียกับความเข้มข้นของแบคทีเรียพบว่า ไม่มีอิทธิพลร่วมกัน

แสดงว่าการแช่เมล็ดพันธุ์ร่วมกับ *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ไม่ส่งผลต่อความยาวต้น (ตารางที่ 4)

***ตารางที่ 4*** ความยาวต้นและความยาวรากของเมล็ดข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่ผ่านการแช่ร่วมกับ *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. ในระดับความเข้มข้นต่างกัน เมื่อเพาะทดสอบในสภาพห้องปฏิบัติการและในสภาพเรือนทดลอง

| **เชื้อแบคทีเรีย** | **ระดับความเข้มข้น** | **สภาพห้องปฏิบัติการ** | | **สภาพเรือนทดลอง** |
|---|---|---|---|---|
| | | **ความยาวต้น (เซนติเมตร)** | **ความยาวราก (เซนติเมตร)** | **ความยาวต้น (เซนติเมตร)** |
| Control | | 7.42 | 7.98 | 10.32 |
| *Burkholderia* sp. | | 9.05 | 8.73 | 10.55 |
| *Enterobacter sp.* | | 8.88 | 7.69 | 10.74 |
| F-test | | ns | ns | ns |
| | $1\times10^{9}$ | 8.79 | 7.76 | 10.48 |
| | $1\times10^{8}$ | 8.99 | 8.27 | 11.02 |
| | $1\times10^{7}$ | 9.12 | 8.60 | 10.45 |
| F-test | | ns | ns | ns |
| Control | 0 | 7.42 | 7.98 | 10.32 |
| *Burkholderia* sp. | $1\times10^{9}$ | 8.25 | 7.84 | 10.29 |
| *Burkholderia* sp. | $1\times10^{8}$ | 9.59 | 8.69 | 10.72 |
| *Burkholderia* sp. | $1\times10^{7}$ | 9.32 | 9.67 | 10.65 |
| *Enterobacter* sp. | $1\times10^{9}$ | 9.33 | 7.69 | 10.67 |
| *Enterobacter* sp. | $1\times10^{8}$ | 8.39 | 7.86 | 11.32 |
| *Enterobacter* sp. | $1\times10^{7}$ | 8.93 | 7.53 | 10.25 |
| F-test | | ns | ns | ns |
| C.V. (%) | | 10.66 | 11.45 | 3.85 |

*หมายเหตุ* : ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

**วิจารณ์ผลการวิจัย**

การประเมินคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตและการผลิต IAA ของ *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. แสดงให้เห็นว่า *Burkholderia* sp. ให้ค่าการละลายฟอสเฟตสูงกว่า *Enterobacter* sp. ในขณะที่แบคทีเรียสกุล *Enterobacter* sp. ให้ค่าการผลิต IAA สูงกว่า *Burkholderia* sp. ซึ่งโดยปกติแบคทีเรียทั้ง 2 สกุลมีคุณสมบัติการละลายฟอสเฟตและการผลิต IAA ที่แตกต่างกัน ยกตัวอย่างการรายงานว่า *Enterobacter* spp. สามารถผลิต IAA ได้ตั้งแต่ 37.92-46.97 µg/mL (Saengsanga, 2018) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า ค่าความเป็นกรดด่างและอาหารเลี้ยงเชื้อ อาจมีผลต่อประสิทธิภาพการผลิต IAA ของแบคทีเรียแต่ละครั้งต่างกันได้ (Malhotra and Srivastava, 2009)

ส่วนการศึกษาการแช่เมล็ดข้าวร่วมกับ *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. ที่ระดับความเข้มข้น $1\times10^{9}$, $1\times10^{8}$ และ $1\times10^{7}$ CFU/mL หลังเพาะทดสอบในสภาพห้องปฏิบัติการพบว่า เมล็ดที่แช่ร่วมกับ *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. ไม่ทำให้การงอกรากและความงอกแตกต่างกันกับเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการแช่ และเมื่อให้ระดับความเข้มข้นที่ระดับแตกต่างกันพบว่า ทุกระดับความเข้มข้นไม่มีผลต่อการงอกรากและความงอก แต่การแช่เมล็ดพันธุ์ร่วมกับ *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. มีผลให้ความเร็วในการงอกรากและความเร็วในการงอกสูงกว่าเมล็ดพันธุ์ที่ไม่รับการแช่ เนื่องจากการแช่เมล็ดเป็นการให้ความชื้นแก่เมล็ด จึงทำให้เปลือกหุ้มเมล็ดอ่อนนุ่มลงจึงมีการดูดซึมออกซิเจนเข้าไปภายในเมล็ดได้สะดวกขึ้น ทำให้เมล็ดเกิดกระบวนการหายใจเพิ่มขึ้น และน้ำเป็นองค์ประกอบสำคัญในโปรโตพลาสซึม ทำให้กิจกรรมทางชีวเคมีต่าง ๆ มีกิจกรรมมากขึ้นและมีอัตราเร็วขึ้น อีกทั้งน้ำยังเป็นพาหะช่วยในการเคลื่อนย้ายสารอาหารต่าง ๆ ที่เมล็ดเก็บสะสมไว้ให้ถูกนำไปใช้อย่างรวดเร็วขึ้น (Damalas *et al*., 2019; Naenfaen, 2019) นอกจากนี้ จากผลของการแช่เมล็ดด้วย *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. แสดงให้เห็นถึงการส่งเสริมความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดเพิ่มสูงขึ้น อาจเนื่องมาจากคุณสมบัติของแบคทีเรียทั้ง 2 สกุลที่มีกลไกสำคัญต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืช ยกตัวอย่างเช่น มีรายงานว่า *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. สามารถผลิต 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase สำหรับควบคุมปริมาณเอทิลีน โดยจะเกิดการเผาผลาญ ACC แล้วเปลี่ยนไปเป็น α-ketobutyric และแอมโมเนีย ที่มีผลต่อการส่งเสริมเมล็ดให้มีการงอกดีเพิ่มขึ้น (Patten & Glick, 1996; Blaha *et al*., 2006; Glick *et al*., 2007; Guo *et al*., 2011; Jha *et al*., 2011) นอกจากนี้ *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. ยังผลิต IAA ซึ่งสามารถกระตุ้นการงอกราก การแบ่งเซลล์ และการยืดขยายในส่วนของปลายรากได้ ทำให้พื้นผิวสัมผัสของรากเพิ่มขึ้น ส่งผลให้พืชมีการลำเลียงธาตุอาหารได้ดีมากยิ่งขึ้น (Ashrafuzzaman *et al*., 2009; Yang *et al*., 2009; Guo *et al*., 2011) จึงส่งผลทำให้ความเร็วในการงอกรากและความเร็วในการงอกสูงกว่าเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้ผ่านการแช่ นอกจากนี้จากผลการทดลองยังแสดงให้เห็นว่า การแช่เมล็ดทุกวิธีการทำให้เวลาเฉลี่ยในการงอกเร็วของเมล็ดดีสูงกว่าเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการแช่อย่างชัดเจน

ส่วนการตรวจสอบในสภาพเรือนทดลองพบว่า การแช่เมล็ดร่วมกับ *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. ทำให้การโผล่พ้นดิน ความเร็วในการโผล่พ้นดิน และเวลาเฉลี่ยในการงอกของเมล็ดข้าวสูงมากกว่าเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการแช่ โดย Rodríguez *et al*. (2010) รายงานการแช่เมล็ดข้าวและข้าวโพดร่วมกับ *Burkholderia* sp. พบว่า ทำให้ต้นกล้ามีการงอก น้ำหนักสดลำต้น และรากเพิ่มขึ้นจากเดิม นอกจากนี้มีรายงานว่าแบคทีเรียทั้ง 2 สกุล มีคุณสมบัติสามารถผลิต IAA และสามารถละลายฟอสเฟตได้ โดย Guo *et al*. (2011) พบว่า *Burkholderia* sp. สามารถผลิต IAA และสามารถละลาย

ฟอสเฟตได้ดี จึงมีส่วนช่วยส่งเสริมการแบ่งเซลล์ และการยืดขยายของเซลล์ต้นกล้าข้าว จึงทำให้ต้นกล้าสามารถโผล่พ้นดินได้ดีและเร็วขึ้น นอกจากนี้ Nailwal *et al*. (2014) รายงานว่า เมื่อแช่เมล็ดพันธุ์ข้าวสาลีด้วย *Burkholderia* sp. ที่มีคุณสมบัติผลิต IAA ได้ สามารถส่งเสริมการยืดขยายเซลล์ต้นอ่อนข้าวสาลีได้ จึงช่วยให้ต้นกล้าเจริญเติบโตได้รวดเร็วขึ้น นอกจากนี้ผลการทดลองยังแสดงให้เห็นว่า การแช่เมล็ดด้วย *Enterobacter* sp. ที่มีคุณสมบัติสร้าง IAA และสามารถละลายฟอสเฟตได้ จึงมีส่วนสำคัญต่อการเจริญเติบโตของข้าวเพิ่มขึ้น (Khalid *et al*., 2004; Leveau *et al*., 2005) โดยมีรายงานการแช่เมล็ดข้าวขาวดอกมะลิ 105 ร่วมกับ *Enterobacter* sp. ทำให้ต้นกล้าข้าวอายุ 21 วัน มีความยาวขนราก ดัชนีความแข็งแรง น้ำหนักแห้งต้น ความยาวต้น และความยาวรากเพิ่มขึ้น (Saengsanga, 2018) นอกจากนี้มีรายงานเพิ่มเติมของ Naveed *et al*. (2014) ได้แช่เมล็ดข้าวโพดด้วย *Enterobacter* sp. พบว่า ข้าวโพดมีจำนวนใบต่อต้น พื้นที่ใบ ยอด และน้ำหนักรากแห้งเพิ่มขึ้น อัตราการสังเคราะห์แสงและปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม การแช่เมล็ดด้วยแบคทีเรียทั้ง 2 สกุลไม่ทำให้ความงอก ความเร็วในการงอก ความยาวต้น และความยาวรากของต้นกล้าข้าวมีความแตกต่างกันในทางสถิติถึงแม้จะแช่เมล็ดด้วยระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการแช่เมล็ด

## สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า *Burkholderia* sp. และ *Enterobacter* sp. มีคุณสมบัติในการผลิต IAA และสามารถละลายฟอสเฟตได้ ซึ่งส่งผลให้เมล็ดข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้รับการแช่ร่วมกับแบคทีเรียทั้ง 2 สกุล มีความเร็วในการงอกราก ความเร็วในการงอก และเวลาเฉลี่ยในการงอก เมื่อตรวจสอบในสภาพห้องปฏิบัติการ และมีการโผล่พ้นดิน ความเร็วในการโผล่พ้นดิน และเวลาเฉลี่ยในการงอก เมื่อตรวจสอบในสภาพเรือนทดลองมากกว่า และแตกต่างกันในทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้ผ่านการแช่ ในขณะที่ระดับความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรียไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความงอก ความแข็งแรง และการเจริญเติบโตของต้นกล้า

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของรายวิชา พร521 สรีรวิทยาเมล็ดพันธุ์ ประจำปีการศึกษา 2563 ภาคการศึกษาที่ 2 และขอขอบคุณสาขาวิชาพืชไร่ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้การสนับสนุนการห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลองทำงานวิจัยในครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

Ashrafuzzaman, M., Hossen, F.A., Ismail, M.R., Hoque, A., Islam, M.Z., Shahidullah, S.M., & Meon, S. (2009). Efficiency of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) for the enhancement of rice growth. *African Journal of Biotechnology, 8*(7), 1247-1252.

Blaha, D., Combaret, C.P., Mirza, M.S., & Loccoz, Y.M. (2006). Phylogeny of the 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase-encoding gene acdS in phytobeneficial and pathogenic proteobacteria and relation with strain biogeography. *FEMS Microbiology Ecology, 56*(3), 455–470.

Bradford, K.J. (1986). Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. *Horticultural Science, 21*(5), 1105-1112.

Caballero-Mellado, J., Martínez-Aguilar, L., Paredes-Valdez, G., & Estrada-de los Santos, P. (2004). *Burkholderia unamae* sp. nov., an N2-fixing rhizospheric and endophytic species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 54*, 1165– 1172.

Ellis, R.H., & Roberts, E.H. (1980). Improved equations for the prediction of seed longevity. *Annals of Botany, 45*(1), 13-30.

Estrada-de los Santos, P., Vinuesa, P., Martínez-Aguilar, L., Hirsh, A.M. & Caballero-Mellado, J. (2013). Phylogenetic analysis of *Burkholderia* species by multilocus sequence analysis. *Current Microbiology*, *67*, 51– 60.

Glick, B.R. (2012). Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*, *Article ID 963401*.

Glick, B.R., Cheng, Z., Czarny, J., & Duan, J. (2007). Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. *European Journal of Plant Pathology, 119*, 329-339.

Guo, J., Tang, S., Ju, X., Ding, Y., Liao, S., & Song, N. (2011). Effects of inoculation of a plant growth promoting rhizobacterium *burkholderia* sp. D54 on plant growth and metal uptake by a hyperaccumulator sedum alfredii Hance grown on multiple metal contaminated soil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology, 27*, 2835–2844.

ISTA. (2018). *International Rules for Seed Testing*, Edition 2018. Bassersdorf: International Seed Testing Association.

Jha, C.K., Aeron, A., Patel, B.V., Maheshwari, D.K., & Saraf, M. (2011). Enterobacter: Role in plant growth promotion. In A. Aeron, & D.K. Maheshwari. (Ed.), *Department of Botany and Microbiology*. (pp. 159-182). Uttarakhand, India: Faculty of Life Sciences, Gurukul Kangri University.

Jomkhame, S., & Atnaseo, C. (2021). Effectiveness of PGPB from different origins on enhancing germination and seedling growth of *Oryza sativa* L. cv. KDML105. *Khon Kaen Agriculture Journal, 48*(Suppl.1), 1011-1017. (in Thai)

Jones, K.W., & Sanders, D. (1987). The influence of soaking pepper seed in water or potassium salt solutions on germination at three temperatures. *Journal of Seed Technology, 11*(1), 97-102.

Khalid, A., Arshad, M., & Zahir, Z.A. (2004). Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. *Journal of Applied Microbiology, 96*(3), 473–480.

Leveau, H.J., & Lindow, S.E. (2005). Utilization of the plant hormone indole-3-acetic acid for growth by *pseudomonas putida* strain 1290. *Journal of Applied Microbiology, 71*(5), 2365–2371.

Malhotra, M., & Srivastava, S. (2009). Stress-responsive indole-3-acetic acid biosynthesis by *Azospirillum brasilense* SM and its ability to modulate plant growth. *European Journal of Soil Biology*, *45*, 73–80.

Naenfaen, S. (2019). *Effect of Nano-Bubble Hydropriming on Seed Germination and Seedling Growth of French Marigold*. Bangkok: Kasetsart University. (in Thai)

Nailwal, S., Anwar, M.S., Budhani, K.K., Verma, A., & Nailwal, T.K. (2014). *Burkholderia* sp. from rhizosphere of rhododendron arboretum: Isolation, identification and plant growth promotory (PGP) activities. *Journal of Applied and Natural Science, 6*(2), 473-479.

Naveed, M., Mitter, B., Reichenauer, T.G., Wieczorek, K., & Sessitsch, A. (2014). Increased drought stress resilience of maize through endophytic colonization by *Burkholderia phytofirmans* PsJN and *Enterobacter* sp. FD17. *Environmental and Experimental Botany, 97*, 30–39.

Ouyabe, M., Irie, K., Tanaka, N., Kikuno, H., Pachakkil, B., & Shiwachi, H. (2020). Response of upland rice (*Oryza sativa* L.) inoculated with non-native plant growth-promoting bacteria. *Agronomy, 10*(6), 903-922.

Panya, K., Insalud, N. & Lumyong, S. (2017). Effect of the utilization of P solubilizing bacterial on rice growth promotion under aerobic condition. *Khon Kaen Agriculture Journal*, *45(Suppl.1)*, 1093-1098. (in Thai)

Patten, C.L., & Glick, B.R. (1996). Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. *Canadian Journal of Microbiology, 42*(3), 207–220.

Pidnoi, A., & Shutsrirung, A. (2019). Screening and efficiency assessment of rhizobacteria for growth enhancement of rice seedlings. *Journal of Agriculture, 35*(3), 461-473.

Rodríguez, A.H., Pérez, M.H., Diallo, B., Jaziri, M.E., & 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 Regul*, *60*, 191–197.

Saengsanga, T. (2018). Isolation and characterization of indigenous plant growth-promoting rhizobacteria and their effects on growth at the early stage of Thai jasmine rice (*Oryza sativa* L. KDML 105). *Arabian Journal for Science and Engineering, 43*, 3359-3369.

Sarron, E., Cle´ment, N., Pawlicki-Jullian, N., Gaillard, I., & Boitel-Conti, M. (2018). Stimulating effects of two plant growth-promoting bacteria, *Enterobacter ludwigii* Ez-185-17 and *Raoultella terrigena* Ez-555-6, on flax culture. *AIP Conference Proceedings. 2018*, 1954. https://doi.org/10.1063/1.5033380.

Thai Customs. (2021). *Statistic Report*. Retrieved March 3, 2021, from https://bit.ly/34MciUI. (in Thai)

Yang, O., Li, C., Li, H., Li, Y., & Yu, N. (2009). Degradation of synthetic reactive azo dyes and treatment of textile wastewater by a fungi consortium reactor. *Biochemical Engineering Journal, 43*(3), 225-230.