ศักยภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้วยหินและการนำมาผลิตปุ๋ยมูลไส้เดือนชนิดปั้นเม็ด

Efficacy of Antagonistic *Bacillus* spp. Isolates on Growth Promotion of *Musa* (ABB group) 'Kluai Hin' and Vermicompost Granule Production

เอกชัย เหลาผา, ปานชีวัน ปอนพังงา, ลดาวรรณ์ รัตนพลแสน และ ประภาษ กาวิชา*

หน่วยวิจัยศัตรูพืชและการควบคุมโดยชีววิธี ภาควิชาเกษตรและทรัพยากร คณะทรัพยากรธรรมชาติและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ

อภิเดช แสงดี

หน่วยวิจัยจุลชีววิทยาและจุลชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

อารยา อาจเจริญ เทียนหอม

ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

มณฑา วงศ์มณีโรจน์ และ รงรอง หอมหวล

ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง ศูนย์วิจัยและบริการวิชาการ คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

Akkachai Laopha, Pancheewan Ponphang-nga, Ladawan Rattanapolsan and Praphat Kawicha*

Plant Pest and Biocontrol Research Unit, Department of Agriculture and Resources, Faculty of Natural Resources and Agro-Industry, Kasetsart University, Chalermphrakiat Sakon Nakhon Province Campus

Aphidech Sangdee

Microbiology and Applied Microbiology Research Unit, Faculty of Science, Mahasarakham University

Araya Arjcharoen Theanhom

Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkhen Campus

Monthar Wongmaneeroj and Rongrong Homhual

Central Laboratory and Greenhouse Complex, Research and Service Center, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus

Received: July 6, 2021 ; Accepted: July 22, 2021

**Corresponding author: csnppkc@ku.ac.th*

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสามารถของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลต JK62, JK106, KB1-2 B4, JK127, JK74, YH3-2 B2 และ YH3-2 B4 ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้วยหินในระดับโรงเรือนทดลองและนำมาพัฒนาเป็นส่วนผสมของปุ๋ยมูลไส้เดือนชนิดปั้นเม็ด โดยนำเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลตต่าง ๆ ที่ความเข้มข้น 10^8 CFU/ml มาแช่รากต้นกล้วยหินอายุ 1 เดือน ที่ผ่านการขยายพันธุ์ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หลังจากย้ายลงปลูกในถุงดำเป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่า แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลต JK74 และ YH3-2B2 ทำให้ต้นกล้วยหินมีความสูงมากที่สุด แต่ไม่พบความแตกต่างของค่าน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม จากนั้นนำแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลต JK74, YH3-2B2 และ JK106 มาผลิตปุ๋ยมูลไส้เดือนชนิดปั้นเม็ดสูตร V+JK74, V+YH3-2B2 และ V+JK106 โดยนำแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ในระยะที่สร้าง endospore ผสมกับปุ๋ยมูลไส้เดือนด้วยการฉีดพ่นในขั้นตอนตีป่นปุ๋ยหมัก ระหว่างปั้นเม็ด และหลังการปั้นเม็ด นำปุ๋ยที่ได้มาผสมในวัสดุปลูกและนำไปปลูกต้นกล้วยหินอายุ 1 เดือนที่ผ่านการขยายพันธุ์ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หลังจากย้ายลงปลูกในถุงดำเป็นเวลา 7 สัปดาห์ พบว่าปุ๋ยมูลไส้เดือนทั้ง 3 สูตรที่มีส่วนผสมของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ทำให้ต้นกล้วยหินมีความสูงมากกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ ปุ๋ยมูลไส้เดือนชนิดปั้นเม็ดสูตร V+JK106 และ V+JK74 ทำให้ต้นกล้วยหินมีน้ำหนักสดสูงกว่าการใช้ปุ๋ยมูลไส้เดือนที่ไม่ได้ผสมแบคทีเรีย *Bacillus* spp. แต่ไม่พบความแตกต่างของค่าน้ำหนักแห้งของต้นกล้วยหิน

คำสำคัญ : กล้วย; การส่งเสริมการเจริญเติบโต; บาซิลัส; ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือน

Abstract

The objective of this research was to study the ability of *Bacillus* spp. isolate JK62, JK106, KB1-2 B4, JK127, JK74, YH3-2 B2, and YH3-2 B4 to promote the growth of *Musa* (ABB group) 'Kluai Hin' under greenhouse conditions and produce vermicompost granule. At a concentration of 10^8 CFU/ml, *Bacillus* spp. isolates were used to soak roots of 1-month-old micro-propagated 'Kluai Hin'. After five weeks of transplanting, the results showed that the *Bacillus* spp. isolate JK74 and YH3-2B2 significantly promoted the height of the test plants, but there were no significant differences in fresh and dry weight compared to the control treatments. *Bacillus* spp. isolates JK74, YH3-2B2, and JK106 were used to produce vermicompost granule formula V+JK74, V+YH3-2B2, and V+JK106. Sporulating *Bacillus* spp. cells were enriched in vermicompost by spraying during the crushing and granulating process and after the granulating process. The fertilizers were mixed in the planting material and used to grow a 1-month-old micro-propagated banana. After seven weeks of transplanting, it was found that all *Bacillus* spp.-enriched vermicompost granules significantly increased the height of the test plants compared with other treatments. The formula V+JK106 and V+JK74 significantly increased the fresh weight of the test plants compared to formula V (non-*Bacillus* enriched vermicompost granule), but there were no significant differences in dry weight.

Keywords: *Mononchoides*; predatory nematodes; specific primer.

1. บทนำ

กล้วยหิน (*Musa* (ABB group) 'Kluai Hin') จัดอยู่ในวงศ์ Musaceae และอยู่ในกลุ่มจีโนม ABB มีลักษณะเด่นที่แตกต่างจากกล้วยพันธุ์อื่น ๆ คือ มีเปลือกหนา ผลเป็นรูปห้าเหลี่ยม เนื้อแน่นและรสสัมผัสดี นิยมนำมาแปรรูปเป็นกล้วยหินต้ม กล้วยหินเชื่อม กล้วยหินบวชชี กล้วยหินฉาบ กล้วยหินทอด กล้วยหินกรอบแก้ว ผลิตภัณฑ์บะหมี่สด รวมถึงอาหารสำเร็จรูปสำหรับนกกรงหัวจุก (Namburi & Sukjantra, 200,30-37; Wamaedeesa & Deramae, 2011, 47-59) จากการวิเคราะห์โภชนาการของกล้วยหิน 100 g ประกอบด้วยไขมัน 0.37 g คาร์โบไฮเดรต 31.9 g ให้พลังงาน 122 Cal มีเบต้า-คาร์โรทีนและแป้งที่ทนย่อย (Resistant Starch) สูง (Loikaeo & Chaisakdanugull, 2016, 468-476) กล้วยหินเป็นพืชบ่งชี้ทางภูมิศาสตร์ (Geographical Indications หรือ GI) ทั้ง 7 อำเภอในจังหวัดยะลา (Department of Intellectual Property, 2011, 1-4) มีพื้นที่ปลูก 2,995.50 ไร่ ให้ผลผลิต 3,433.34 ตัน สร้างรายได้ให้กับเกษตรกรผู้ปลูกกล้วยหิน 41.36 ล้านบาท/ปี (Muangkaewngam, 2014, 24-27)

การเร่งการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตของกล้วยหินส่วนใหญ่นิยมใช้ปุ๋ยเคมีเนื่องจากมีความสะดวก รวดเร็ว และหาซื้อได้ง่ายตามท้องตลาด แต่อย่างไรก็ตามการใช้ปุ๋ยเคมีมากเกินความจำเป็นส่งผลกระทบต่อคุณภาพของดิน เช่น ดินเค็ม การสะสมโลหะหนักในดินและการปนเปื้อนในแหล่งน้ำ ซึ่งก่อให้เกิดปรากฏการณ์ยูโทรฟิเคชัน (Eutrophication) หรือมลภาวะจากธาตุอาหารพืช ที่เป็นอันตรายต่อมนุษย์และปศุสัตว์ (Savci, 2012, 287-292; Sharma & Singhvi, 2017, 675-679) นอกจากนั้นการใช้ปุ๋ยเคมีอาจก่อให้เกิดก๊าซพิษในอากาศ เช่น NH_4, CO_2 และ CH_4 ที่อาจนำไปสู่ปัญหาก๊าซเรือนกระจกที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและระบบนิเวศ (Chandini, Kumar, Kumar & Prakash, 2019, 69-86) เพื่อลดปัญหาดังกล่าวการทำการเกษตรอย่างยั่งยืน เช่น เกษตรอินทรีย์ การใช้ปุ๋ยอินทรีย์ และการนำจุลินทรีย์กลุ่มส่งเสริมการเจริญเติบโต การเข้ามาใช้ในการปลูกพืช เป็นวิธีการหลีกเลี่ยงการใช้ปุ๋ยเคมีอีกทางหนึ่ง

จุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่บริเวณรอบรากพืชที่มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Plant Growth Promoting Rhizobacteria : PGPR) ได้แก่ *Streptomyces, Azospirillum, Psudomonas* และ *Bacillus* (Athinuwat, 2013, 18-35; Glick, 2012, 1-15) แบคทีเรียในสกุล *Bacillus* เป็นหนึ่งในแบคทีเรีย PGPR ที่มีศักยภาพส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Sansinenea, 2019, 225-237; Tiwari, Prasad & Lata, 2019, 43-55) สามารถผลิตฮอร์โมนพืช (Phytohormones) เช่น Auxin, Cytokinin และ Gibberellin (Chagas et al., 2015, 282-287; Arkhipova, Veselov, Melentiev, Martynenko & Kudoyarova, 2005, 201-209; Shahzad et al., 2016, 236-243; Radhakrishnan & Lee, 2016, 181-189) สังเคราะห์และปล่อยสารซิเดอร์โรฟอร์ (Siderophore) เพื่อนำ Fe^{3+} ให้อยู่ในรูปที่พืชสามารนำไปใช้ประโยชน์ได้ (Yu, Ai, Xin & Zhou, 2011, 138-145; Souza, Ambrosini & Passaglia, 2015, 401-419) นอกจากนั้นแล้วยังมีบทบาทเป็นจุลินทรีย์ละลายฟอสเฟต (Phosphate Solubilizing Microorganisms :PSM), มีบทบาทเป็น K-Solubilising Bacteria และตรึงไนโตรเจน (Nitrogen fixation) (Ahemad & Kibret, 2014, 1-20; Velivelli,

Sessitsch & Prestwich, 2014, 291-309; Hernandez, de-Bashan, Rodriguez, Rodriguez & Bashan, 2009, 88-93; Olanrewaju, Glick & Babalola, 2017, 197)

แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลต JK62, JK106, KB1-2B4, JK127, JK74, YH3-2B5, YH3-2B2 และ YH3-2B4 เป็นแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากดินบริเวณรากกล้วยและมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Ralstonia syzygii* subsp. *celebesensis* สาเหตุโรคเหี่ยวของกล้วย (Banana blood disease) ทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและการทดสอบในระดับโรงเรือนทดลอง (Laopha, Sangdee, Ponpang-Nga, Rattanapolsan & Kawicha, 2021, 69) นอกจากความสามารถในการควบคุมโรคแล้วจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ดังกล่าวนี้อาจมีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้วยหินได้ ดังนั้นในการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาศักยภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ไอโซเลตข้างต้นต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้วยหินและการผลิตปุ๋ยมูลไส้เดือนผสมจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ชนิดปั้นเม็ดเพื่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้วยหินในระดับโรงเรือนทดลอง

2. วิธีการ

2.1 การเตรียมตัวอย่างกล้วยหิน

เตรียมตัวอย่างกล้วยหินด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตามวิธีการของ Wamaedeesa & Deramae (2011, 47-59) และ Muangkaewngam (2014, 24-27) โดยเพิ่มจำนวนยอดบนอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (MS) ที่ผสม Benzyladenine (BA) ความเข้มข้น 5 mg/L เป็นเวลา 1 เดือนจากนั้นย้ายชิ้นส่วนพืชลงในอาหารใหม่ที่มีส่วนผสมของ BA ที่ความเข้มข้นเท่าเดิมจำนวน 5 รอบ จากนั้นย้ายชิ้นส่วนพืชลงในอาหาร MS เป็นเวลา 1 เดือนเพื่อให้เกิดราก นำต้นอ่อนของกล้วยหินมาย้ายปลูกลงในพีทมอส (KEKKILÄ PROFESSIONAL) และอนุบาลในโรงเรือนควบคุมอุณหภูมิ (Evaporative Greenhouse) เป็นระยะเวลา 1 เดือน

2.2 การศึกษาผลของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus* ต่อการเจริญเติบโตของกล้วยหิน

เตรียมแบคทีเรีย *Bacillus* spp. โดยดัดแปลงวิธีการของ Teeruam & Rattana (2018, 533-539) โดยเลี้ยงแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลต JK62, JK106, KB1-2 B4, JK127, JK74, YH3-2 B2 และ YH3-2 B4 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA) ที่อุณหภูมิ 30 ºC เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อออกจากผิวหน้าอาหารด้วยการเติม 0.85% normal saline และขูดโคโลนีเชื้อด้วยเข็มเขี่ยปลายวงกลม (loop) ปรับความเข้มข้นของเซลล์ให้เท่ากับ 10^8 CFU/ml จากนั้นนำต้นกล้าของกล้วยหินที่เตรียมจากข้อ 2.1 มาแช่รากด้วยเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. เป็นระยะเวลา 20 นาที ก่อนย้ายปลูกในถุงปลูก

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design, CRD) ให้กรรมวิธีทดลอง (Treatment) เป็นตัวแปรต้นประกอบด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. 7 ไอโซเลต, กรรมวิธีควบคุมประกอบด้วย กรรมวิธีที่ไม่มีการแช่ราก และกรรมวิธีที่แช่รากด้วยน้ำนึ่ง ทำการทดลอง 10 ซ้ำ และค่าสังเกตของหน่วยทดลองเป็นตัวแปรตามที่เป็นตัวแปรเชิงปริมาณ หลังจากการปลูกเชื้อ 5 สัปดาห์ นำค่าสังเกตประกอบด้วย ค่าความยาวของต้นและราก น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นและราก มาวิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยโปรแกรม Statistix 8 คัดเลือกแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลตที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตจำนวน 3 ไอโซเลตไปผสมในปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและปั้นเม็ดต่อไป

2.3 การผลิตปุ๋ยมูลไส้เดือนผสมจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus* ชนิดปั้นเม็ด

ปุ๋ยมูลไส้เดือนที่ใช้ในการทดลองผลิตจากการนำมูลโคที่ผ่านการแช่น้ำเป็นเวลา 4 สัปดาห์ มาเป็นวัสดุในการเลี้ยงไส้เดือน (bedding) สายพันธุ์ *Eudrilus eugeniae* (ชื่อสามัญ African Nightcrawler : Af) ในวงบ่อซีเมนต์ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เมตร โดยมี bedding ประมาณครึ่งบ่อต่อการเลี้ยงไส้เดือน 1 กิโลกรัม ประมาณ 1 เดือนหลังจากใส่ไส้เดือนเริ่มทำการเก็บมูลไส้เดือนโดยเก็บมูลไส้เดือนออกสัปดาห์ละ 2 ครั้ง นอกจากนั้นทุก 2 สัปดาห์ของการเลี้ยงต้องมีการเติมอาหารคือมูลโคที่ผ่านการแช่น้ำ โดยเติมลงบ่อเลี้ยง ประมาณ 15 กิโลกรัมต่อบ่อเลี้ยง นำปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนมาวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ด้วย pH meter ค่าการนำไฟฟ้า (EC) ด้วยเครื่อง Electrical conductivity วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดด้วยวิธีของ Kjeldahl method ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด (P_2O_5) ด้วยวิธี spectrophotometric molybdovanadate phosphate method ปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมด (K_2O) ด้วยวิธี Flame Photometric method วิเคราะห์ปริมาณอินทรียวัตถุ (Organic matter) ด้วยวิธีของ Walkley and Black นำค่าที่วัดได้มาเปรียบเทียบกับค่ามาตราฐานคุณภาพปุ๋ยอินทรีย์ กรมวิชาการเกษตร 2550 (Department of Agriculture, 2008, 1-50) นำปุ๋ยมูลไส้เดือนที่ได้ไปผสมกับแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่คัดเลือกได้จากวิธีการทดลอง 2.2 และปั้นเม็ดต่อไป

เลี้ยงแบคทีเรีย *Bacillus* spp. จำนวน 3 ไอโซเลตที่คัดเลือกมาจากข้อ 2.2 มากระตุ้นให้แบคทีเรียสร้าง endospore โดยเลี้ยงในอาหาร NB ที่ผสม 0.05% $MnSO_4$ และ $CaCl_2$ เขย่าที่ความ 150 rpm อุณหภูมิ 30 ºC เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นเก็บรวบรวมเซลล์แบคทีเรียที่มี endospore ด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ 5,000 rpm เป็นเวลา 15 นาที และละลายตะกอนเซลล์ด้วยน้ำกลั่นนึ่ง นำเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่ $6x10^9$ CFU/ml ปริมาตร 500 ml ไปผสมในปุ๋ยมูลไส้เดือนจำนวน 3 กก. ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งแรงดันที่ 121 ºC เป็นเวลา 20 นาที โดยแบ่งเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. เป็น 3 ส่วน ส่วนแรกผสมลงในปุ๋ยมูลไส้เดือนและตีป่น เติมน้ำจนได้ความชื้น 60% จากนั้นนำปุ๋ยมูลไส้เดือนขึ้นเครื่องจานปั้นเม็ดปุ๋ยโดยฉีดพ่นเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ในส่วนที่สอง และฉีดพ่นส่วนสุดท้ายหลังจากขึ้นรูปเป็นเม็ดปุ๋ย จากนั้นนำไปผึ่งลมในที่ร่มและร่อนคัดเลือกขนาดของเม็ดปุ๋ยขนาด 5-10 mm เก็บปุ๋ยที่ความชื้นน้อยกว่า 10% (Omer, 2010, 124-131) จากนั้นตรวจสอบปริมาณของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ในเม็ดปุ๋ย โดยนำเม็ดปุ๋ย 1 g มาละลายในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เจือจางตัวอย่างด้วยเทคนิค serial dilution และตรวจนับจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียบนอาหาร NA

2.4 การศึกษาผลของปุ๋ยมูลไส้เดือนผสมจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus* ชนิดปั้นเม็ดต่อการเจริญเติบโตของกล้วยหิน

นำปุ๋ยมูลไส้เดือนผสมจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus* ชนิดปั้นเม็ดจากข้อ 2.3 มาผสมในวัสดุปลูกในอัตราส่วน ปุ๋ยมูลไส้เดือนผสมแบคทีเรีย *Bacillus* spp.: ดินผสมพร้อมปลูก : หน้าดิน เท่ากับ 1:1:2 โดยน้ำหนัก นำวัสดุปลูกที่ผสมแล้วบรรจุลงในถุงปลูกขนาด 4 x 6 นิ้ว ถุงละ 650 g นำไปปลูกต้นกล้ากล้วยหินที่เตรียมไว้ตามข้อ 2.1 วางแผนการทดลองแบบ CRD ให้กรรมวิธีทดลองเป็นตัวแปรต้น ประกอบด้วยวัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของ

ปุ๋ยมูลไส้เดือนที่ผสมแบคทีเรีย *Bacillus* spp. 3 ไอโซเลต ได้แก่ JK106, JK74 และ YH3-2B2, กรรมวิธีควบคุมประกอบด้วย กรรมวิธีที่ใช้ปุ๋ยมูลไส้เดือนที่ไม่มีแบคทีเรีย *Bacillus* spp. และกรรมวิธีที่ไม่ใส่ปุ๋ยมูลไส้เดือนทำการทดลอง 7 ซ้ำ นำค่าสังเกตของหน่วยทดลองหลังจากการปลูกกล้วยลงวัสดุปลูกเป็นเวลา 7 สัปดาห์ ประกอบด้วย ค่าความยาวของต้นและราก น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นและราก มาวิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยโปรแกรม Statistix 8

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

3.1 ผลของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus* ต่อการเจริญเติบโตของกล้วยหิน

หลังจากนำต้นกล้วยหินที่ขยายพันธุ์ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและอนุบาลในพีทมอสเป็นเวลา 1 เดือนมาแช่รากด้วยเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลต JK62, JK106, KB1-2 B4, JK127, JK74, YH3-2 B2 และ YH3-2 B4 (กรรมวิธีทดลอง) เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (แช่รากต้นกล้วยหินในน้ำและไม่แช่ราก) เมื่อประเมินจากข้อมูลความสูง น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของต้น (ส่วนเหนือดิน) และราก (ส่วนใต้ดิน) พบว่ากรรมวิธีต่าง ๆ มีผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยหินแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) (Table 1 และ Figure 1) จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยพบว่า กรรมวิธีที่แช่รากด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลต JK74 และ YH3-2B2 มีค่าความสูงของส่วนต้นสูงที่สุดเท่ากับ 46.00 และ 45.15 cm ตามลำดับ รองลงมาคือกรรมวิธีที่แช่รากด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลตที่เหลือและกรรมวิธีควบคุมมีค่าความสูงเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอยู่ในช่วง 29.90 - 35.50 cm.

กรรมวิธีที่แช่รากด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลต YH3-2B2 และ JK74 มีค่าน้ำหนักสดเฉลี่ยของต้น (ส่วนเหนือดิน) มากที่สุดเท่ากับคือ 25.29 และ 24.94 g ตามลำดับ รองลงมากรรมวิธีควบคุมที่แช่รากด้วยน้ำและไม่มีการแช่ราก และกรรมวิธีที่แช่รากด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลต JK127 มีค่าน้ำหนักสดเฉลี่ยของต้นเท่ากับ 23.11, 21.47 และ 18.48 g ตามลำดับ กรรมวิธีควบคุมที่แช่รากด้วยน้ำและไม่มีการแช่ราก มีค่าน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของต้น (ส่วนเหนือดิน) มากที่สุดเท่ากับ 3.68 และ 4.05 g ตามลำดับ รองลงมาคือกรรมวิธีที่แช่รากด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลต YH3-2 B2 มีค่าน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของต้นเท่ากับ 2.81 g

การเจริญเติบโตของรากกล้วยหินหลังจากการแช่รากด้วยกรรมวิธีต่าง ๆ แสดงใน Table 1 พบว่าการแช่รากด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลต KB1-2 B4, YH3-2 B2 และ JK106 มีความยาวเฉลี่ยของรากมากที่สุดเท่ากับ 28.60, 28.50 และ 28.45 cm ตามลำดับ รองลงมาได้แก่กรรมวิธีที่มีการแช่รากด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลต YH3-2 B4 และการแช่รากด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. แบบผสมรวมกันทุกไอโซเลต มีความยาวเฉลี่ยของรากเท่ากับ 27.15 และ 27.60 cm ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมทั้งสองกรรมวิธีมีค่าความยาวเฉลี่ยของรากน้อยที่สุด

กรรมวิธีที่มีการแช่รากด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลต JK74 มีน้ำหนักสดเฉลี่ยของรากมากที่สุดเท่ากับ 10.53 g รองลงมาได้แก่ กรรมวิธีที่แช่รากด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลต YH3-2B2, KB1-2 B4, JK106 และกรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการแช่ราก มีน้ำหนักสดเฉลี่ยของรากเท่ากับ 9.05, 7.91, 7.46 และ 8.00 g ตามลำดับ กรรมวิธีที่มีการแช่รากด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลต JK74 มีน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของรากมากที่สุด เท่ากับ 1.04 g รองลงมาคือกรรมวิธีที่มีการแช่รากด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลต YH3-

2B2 มีน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของรากเท่ากับ 0.74 g ในขณะที่กรรมวิธีอื่นๆ รวมถึงกรรมวิธีควบคุมมีน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของรากไม่แตกต่างกัน (Table 1 และ Figure 1

เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยความยาว น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งรวมกันทั้งต้นและราก (Table 1) พบว่ากรรมวิธีต่าง ๆ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) กรรมวิธีที่มีการแช่รากด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลต YH3-2B2 มีค่าเฉลี่ยความยาวรวมระหว่างต้นและรากมากที่สุดเท่ากับ 73.65, รองลงมาคือกรรมวิธีที่แช่รากด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลต JK74, YH3-2 B4 และ JK106 มีค่าเฉลี่ยความยาวรวมระหว่างต้นและรากเท่ากับ 70.75, 61.95 และ 60.95 cm ตามลำดับ ในขณะที่กรรมวิธีที่มีการแช่รากด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลตอื่น ๆ และการใช้แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ทุกไอโซเลตผสมรวมกันและกรรมวิธีควบคุมมีค่าเฉลี่ยความยาวรวมระหว่างต้นและรากตั้งแต่ 48.80 - 58.95 cm ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดรวมระหว่างต้นและรากพบว่ากรรมวิธีที่มีการแช่รากด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลต JK74 และ YH3-2B2 มีค่าเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 35.47 และ 34.35 g ตามลำดับ รองลงมาได้แก่

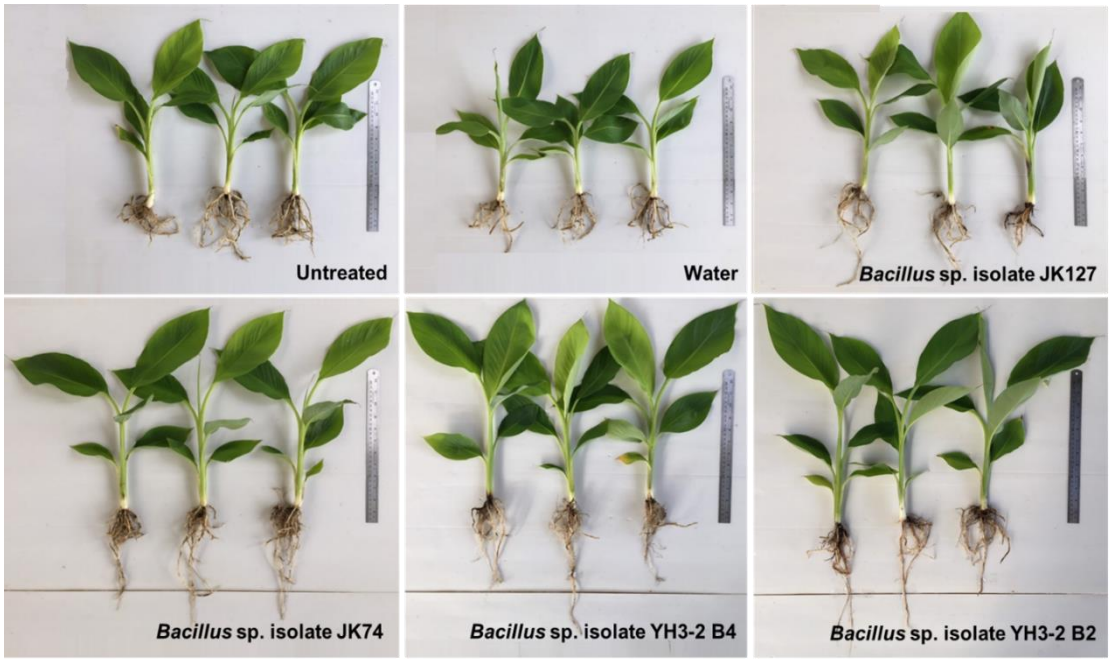

Figure 1 Five weeks old “Kluai Hin” after inoculation with *Bacillus* spp. isolate JK127, JK74, YH3-2B4, and YH3-2 B2 compared with water treated and untreated treatment

Table 1 The growth of micro-propagated “Kluai Hin” after being treated with the cell suspension of *Bacillus* spp. for 5 weeks.

	Shoot (above ground part)	Root (underground part)			

Treatments (*Bacillus* isolates)	Length (cm)	Fresh weight (g)	Dry weight (g)	Length (cm)	Fresh weight (g)	Dry weight (g)	Total length (cm)	Total fresh weight (g)	Total dry weight (g)
1) JK62	31.65^{b} ±1.5	15.09^{bc} ±2.1	2.12^{cd} ±0.4	23.95^{a-c} ±3.0	6.71^{b} ±0.8	0.54^{b} ±0.1	55.60^{d} ±3.9	21.80^{b} ±2.8	2.67^{c-e} ±0.4
2) JK106	32.50^{b} ±1.6	15.83^{bc} ±1.8	1.31^{d} ±0.1	28.45^{a} ±3.0	7.46^{ab} ±0.8	0.55^{b} ±0.1	60.95^{a-d} ±3.6	23.29^{b} ±2.2	1.87^{de} ±0.1
3) KB1-2 B4	29.90^{b} ±1.0	13.95^{c} ±0.8	0.98^{d} ±0.1	28.60^{a} ±1.2	7.91^{ab} ±0.4	0.55^{b} ±0.0	58.50^{cd} ±2.0	21.87^{b} ±1.1	1.54^{e} ±0.1
4) JK127	35.50^{b} ±1.6	18.48^{a-c} ±1.7	1.69^{cd} ±0.2	21.75^{abc} ±3.0	6.38^{b} ±0.8	0.53^{b} ±0.1	57.25^{d} ±3.4	24.87^{ab} ±2.1	2.23^{c-e} ±0.2
5) JK74	46.00^{a} ±1.3	24.94^{a} ±1.4	2.22^{cd} ±0.4	24.75^{abc} ±1.7	10.53^{a} ±0.7	1.04^{a} ±0.1	70.75^{a-c} ±2.1	35.47^{a} ±1.8	3.26^{b-d} ±0.4
6) YH3-2 B2	45.15^{a} ±2.1	25.29^{a} ±1.7	2.81^{bc} ±0.4	28.50^{a} ±2.9	9.05^{ab} ±0.8	0.74^{ab} ±0.1	73.65^{a} ±2.7	34.35^{a} ±1.8	3.56^{bc} ±0.4
7) YH3-2 B4	34.80^{b} ±1.7	14.74^{bc} ±1.4	1.02^{d} ±0.1	27.15^{ab} ±1.8	6.17^{b} ±0.6	0.39^{b} ±0.1	61.95^{a-d} ±1.7	20.91^{b} ±1.9	1.42^{e} ±0.1
8) Mixed^{BS}	31.35^{b} ±1.5	14.56^{bc} ±1.8	1.18^{d} ±0.1	27.60^{ab} ±2.7	6.18^{b} ±0.8	0.36^{b} ±0.1	58.95^{cd} ±3.9	20.74^{b} ±2.4	1.54^{e} ±0.1
9) Water	33.90^{b} ±1.2	23.11^{ab} ±2.0	3.68^{ab} ±0.3	14.90^{c} ±1.2	6.90^{b} ±0.6	0.56^{b} ±0.0	48.80^{d} ±1.9	30.02^{ab} ±2.4	4.25^{ab} ±0.3
10)untreated	31.70^{b} ±2.3	21.47^{a-c} ±3.1	4.05^{ab} ±0.4	17.30^{bc} ±1.1	8.00^{ab} ±0.8	0.51^{b} ±0.0	49.00^{d} ±2.1	29.48^{ab} ±3.7	4.56^{ab} ±0.4
C.V. (%)	14.12	30.11	38.57	29.52	28.26	39.21	14.76	26.77	33.12
P-value	**	**	**	**	**	**	**	**	**

Data are presented as mean±SD. Means followed by the different superscript lower-case letters denote significant differences (P<0.01) between treatments where *BS* is *Bacillus* consortium.

กรรมวิธีควบคุมทั้งสองกรรมวิธีและกรรมวิธีที่มีการแช่รากด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลต JK127 มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 24.87 – 30.02 g สำหรับค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งรวมระหว่างต้นและรากพบว่ากรรมวิธีควบคุมทั้งสองกรรมวิธีมีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 4.25 – 4.56 g รองลงมาคือกรรมวิธีที่มี

การแช่รากด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลต YH3-2 B2 และ JK74 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.56 และ 3.26 g ตามลำดับ อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธีทดลองทั้งสองกรรมวิธี ขณะที่การกรรมวิธีที่มีการแช่รากด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลตที่เหลือมีค่าเฉลี่ยน้อยกว่ากรรมวิธีควบคุม (Table 1 และ Figure 1)

จากผลการทดลองสรุปได้ว่าการแช่รากต้นกล้วยหินด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไม่มีผลต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง แต่อย่างไรก็ตามพบว่าการแช่รากต้นกล้วยหินด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลต JK74 และ YH3-2B2 ทำให้ต้นกล้วยหินมีความสูงของต้นและความยาวของรากมากที่สุด รองลงมาคือการแช่รากด้วยแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลต JK106 ดังนั้นจึงคัดเลือกแบคทีเรียทั้งสามไอโซเลตไปผสมกับปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนและปั้นเม็ดเพื่อนำไปทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้วยหินในการทดลองต่อไป

3.2 คุณสมบัติบางประการของปุ๋ยมูลไส้เดือนผสมจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ชนิดปั้นเม็ด

ปุ๋ยมูลไส้เดือนที่ใช้ในการทดลองคือปุ๋ยที่ผลิตมาจากการใช้มูลโคเป็นวัสดุในการเลี้ยงมีคุณสมบัติทางเคมีบางประการแสดงใน Table 2 ซึ่งปุ๋ยมูลไส้เดือนที่ผลิตได้ในการศึกษานี้มีค่าผ่านเกณฑ์มาตราฐานคุณภาพปุ๋ยอินทรีย์ที่กำหนดโดยกรมวิชาการเกษตร โดยมีค่า pH เท่ากับ 6.63 ค่า EC เท่ากับ 3.19 dS/m ค่าปริมาณอินทรียวัตถุเท่ากับ 20.24 % ปริมาณธาตุอาหารหลักรวมกันเท่ากับ 2.69 % หลังจากนำปุ๋ยมูลไส้เดือนดังกล่าวมาผสมแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลต JK106, JK74 และ YH3-2B2 กำหนดชื่อเป็นปุ๋ย V+JK106, ปุ๋ย V+JK74 และ ปุ๋ย V+ YH3-2B2 ตามลำดับ ตรวจนับปริมาณของแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ในปุ๋ยทั้งสามสูตรพบว่ามีปริมาณเชื้อเฉลี่ยเท่ากับ $4x10^8$ CFU/ปุ๋ยปั้นเม็ด 1 g

Table 2 Chemical properties of vermicompost used to produce *Bacillus* spp. enriched vermicompost.

	pH	EC (dS/m)	Organic matter (%)	Total N (%)	Total P_2O_5 (%)	Total K_2O (%)
Qualified Organic fertilizer*	<8.5	<10	≥20	≥1	≥0.5	≥0.5
				Sum of primary nutrients ≥2		
Vermicompost (this study)	6.63	3.19	20.24	0.96	0.77	0.96
				Sum of primary nutrients=2.69		

*Standard value appointed by Department of Agriculture, Thailand

3.3 ผลของปุ๋ยมูลไส้เดือนผสมจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus* ชนิดปั้นเม็ดต่อการเจริญเติบโตของกล้วยหิน

หลังจากนำต้นกล้วยหินที่ขยายพันธุ์ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและอนุบาลในพีทมอสเป็นเวลา 1 เดือนมาปลูกในกรรมวิธีต่าง ๆ ที่วัสดุปลูกมี

ส่วนผสมปุ๋ยมูลไส้เดือน ปุ๋ยมูลไส้เดือนผสมแบคทีเรีย *Bacillus* spp. (V+JK106, V+JK74 และ V+ YH3-2B2) และกรรมวิธีที่วัสดุปลูกไม่มีปุ๋ยมูลไส้เดือนเมื่อประเมินจากข้อมูลความสูง น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้น (ส่วนเหนือดิน) และราก (ส่วนใต้ดินต้น) ที่ 7 สัปดาห์หลังการย้ายปลูกพบว่ากรรมวิธีต่าง ๆ มีผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยหินแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)

จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย (Table 3 และ Figure 2) พบว่ากรรมวิธีที่วัสดุปลูกมีส่วนผสมของปุ๋ยมูลไส้เดือนผสมแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลต JK106 (V+JK106) และ JK74 (V+JK74) มีค่าเฉลี่ยความสูงของต้น (ส่วนเหนือดิน) มากที่สุดเท่ากับ 64.10 และ 63.60 cm ตามลำดับ รองลงมาคือกรรมวิธีที่วัสดุปลูกมีส่วนผสมของปุ๋ยมูลไส้เดือน

Table 3 The growth of micro-propagated “Kluai Hin” banana after grown in the growing media amended with *Bacillus* spp. enriched vermicompost granule for 7 weeks.

Treatments	Shoot (above ground part)			Root (underground part)			Total length (cm)	Total fresh weight (g)	Total dry weight (g)
	Length (cm)	Fresh weight (g)	Dry weight (g)	Length (cm)	Fresh weight (g)	Dry weight (g)			
1) V+JK106	64.10^{a} ±1.2	97.59^{a} ±4.6	9.48^{a} ±0.6	22.40^{b} ±1.5	40.01^{a} ±4.0	3.43^{a} ±0.3	86.50^{a} ±1.9	137.61^{a} ±8.5	12.90^{a} ±0.9
2) V+JK74	63.60^{a} ±1.5	92.40^{a} ±4.3	8.53^{ab} ±0.3	27.80^{a} ±1.0	42.63^{a} ±4.3	3.54^{a} ±0.3	91.40^{a} ±2.0	135.04^{a} ±7.0	12.08^{a} ±0.5
3) V+YH3-2B2	57.60^{b} ±1.6	77.52^{ab} ±1.1	7.95^{ab} ±0.1	29.90^{a} ±1.0	39.14^{a} ±2.3	3.17^{a} ±0.1	87.50^{a} ±2.1	116.67^{ab} ±3.1	11.12^{a} ±0.2
4) V	51.20^{c} ±0.6	68.35^{b} ±6.7	7.14^{b} ±0.3	20.20^{b} ±0.9	36.16^{a} ±2.5	3.30^{a} ±0.3	71.40^{b} ±1.4	104.51^{b} ±6.7	10.44^{a} ±0.4
5) untreated	43.70^{d} ±1.0	40.97^{c} ±5.5	4.39^{c} ±0.5	13.00^{c} ±1.0	14.52^{b} ±2.3	1.27^{b} ±0.2	56.70^{c} ±1.8	55.49^{c} ±7.7	5.67^{b} ±0.7
C.V. (%)	4.90	14.36	12.79	10.79	20.66	18.42	5.31	13.94	13.26
P-value	**	**	**	**	**	**	**	**	**

Data are presented as mean±SD. Means followed by the different superscript lower-case letters denote significant differences (P<0.01) between treatments where V is vermicompost.

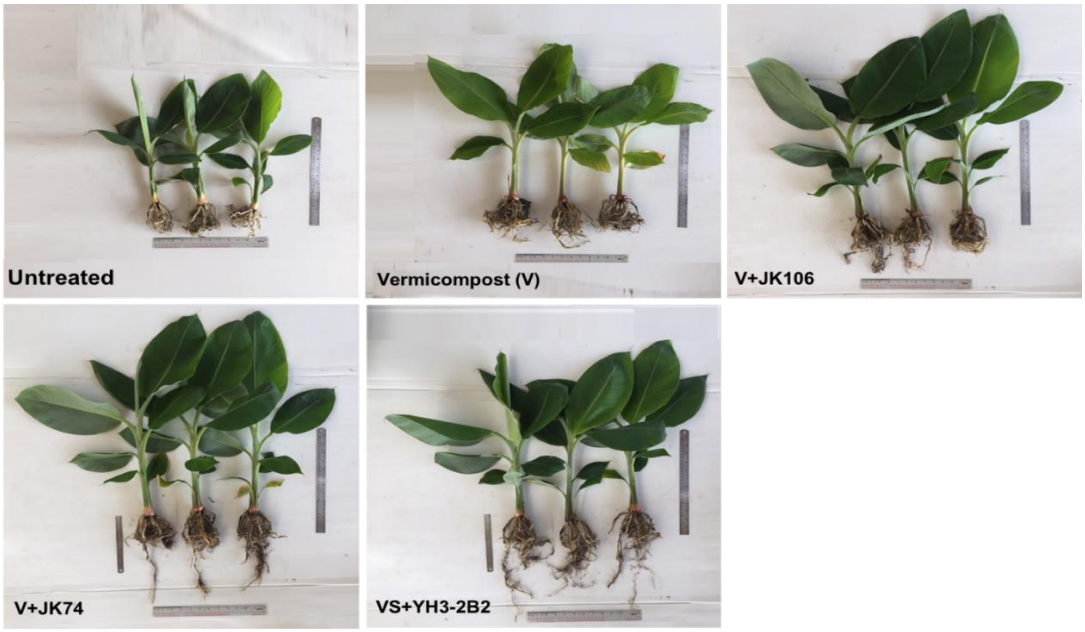

Figure 2 Seven weeks old "Kluai Hin" after grown in the growing media amended with *Bacillus* enriched vermicompost granule compared with non-*Bacillus* spp. enriched vermicompost granule and the planting media without vermicompost granule (untreated treatment).

ผสมแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลต YH3-2B2 (V+YH3-2B2) โดยกรรมวิธีที่มีการเพิ่มแบคทีเรีย *Bacillus* spp. เข้าไปในปุ๋ยมูลไส้เดือนมีค่าเฉลี่ยสูงกว่ากรรมวิธีที่วัสดุปลูกมีปุ๋ยมูลไส้เดือนที่ไม่ได้ผสมแบคทีเรีย *Bacillus* spp. (V) และ กรรมวิธีควบคุม กรรมวิธีที่วัสดุปลูกมีส่วนผสมของ V+JK106 และ V+JK74 มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของต้น (ส่วนเหนือดิน) มากที่สุด เท่ากับ 97.59 และ 92.40 g ตามลำดับ รองลงมาคือกรรมวิธีที่วัสดุปลูกมีส่วนผสมของ V+YH3-2B2 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 77.52 g เช่นเดียวกับค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของต้น (ส่วนเหนือดิน) พบว่ากรรมวิธีที่วัสดุปลูกมีส่วนผสมของ V+JK106 มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของต้นมากที่สุด เท่ากับ 9.48 g รองลงมาคือกรรมวิธีที่วัสดุปลูกมีส่วนผสมของ V+JK74 และ V+YH3-2B2 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.53 และ 7.95 g ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยของความยาวรากของต้นกล้วยหินพบว่ากรรมวิธีที่วัสดุปลูกมีส่วนผสมของ V+YH3-2B2 และ V+JK74 มีความยาวรากมากที่สุด เท่ากับ 29.90 และ 27.80 cm ตามลำดับ รองลงมาคือกรรมวิธีที่วัสดุปลูกมีส่วนผสมของ V+JK106 และกรรมวิธีที่วัสดุปลูกมีปุ๋ยมูลไส้เดือนที่ไม่ได้ผสมแบคทีเรีย *Bacillus* sp. (V) มีความยาวรากเท่ากับ 22.40 และ 20.20 cm ตามลำดับ สำหรับค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของรากต้นกล้วยหินพบว่ากรรมวิธีที่มีส่วนผสมของปุ๋ยมูลไส้เดือนทั้งที่มีและไม่มีการผสมแบคทีเรีย *Bacillus* sp. มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของรากอยู่ในช่วง 39.14 - 42.63 g และค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของรากอยู่ในช่วง 3.17-3.54 g ซึ่งในแต่ละกรรมวิธีข้างต้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยของความสูง น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของต้น (ส่วนเหนือดิน) และราก

รวมกัน พบว่ากรรมวิธีที่วัสดุปลูกมีส่วนผสมของปุ๋ยมูลไส้เดือนที่มีการผสมแบคทีเรีย *Bacillus* spp. (V+JK106, V+JK74 และ V+YH3-2B2) มีค่าเฉลี่ยของความสูงสูงกว่ากรรมวิธีที่วัสดุปลูกมีปุ๋ยมูลไส้เดือนที่ไม่ได้ผสมแบคทีเรีย *Bacillus* spp. (V) และกรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) ส่วนค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสด พบว่ากรรมวิธีที่วัสดุปลูกมีส่วนผสมของปุ๋ยมูลไส้เดือนที่มีการผสมแบคทีเรีย *Bacillus* spp. (V+JK106 และ V+JK74) มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดสูงกว่ากรรมวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างทางสถิติระหว่างค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งระหว่างกรรมวิธีที่วัสดุปลูกมีส่วนผสมของปุ๋ยมูลไส้เดือนที่มีและไม่มีการผสมแบคทีเรีย *Bacillus* spp. (Table 3 และ Figure 2)

3.4 วิจารณ์

แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลตที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีความสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *R. syzygii* subsp. *celebesensis* สาเหตุโรคเหี่ยวของกล้วย (Banana blood disease) และสามารถลดการเกิดโรคเมื่อทดสอบในสภาพโรงเรือนได้ (Laopha, Sangdee, Ponpang-Nga, Rattanapolsan & Kawicha, 2021, 69) การวิจัยนี้ผู้วิจัยได้ศึกษาผลของแบคทีเรียดังกล่าวต่อการเจริญเติบโตของกล้วยหินและผลิตปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนผสมจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. รูปแบบเม็ดสำหรับการปลูกกล้วยหิน

การศึกษาครั้งนี้ได้แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลต JK74, YH3-2 B2 และ JK106 ทำให้ต้นกล้วยหินสูงขึ้นและมีความยาวรากเพิ่มมากขึ้น ชี้ให้เห็นว่านอกจากแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลตดังกล่าวนี้มีคุณสมบัติเป็นจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ควบคุมโรคเหี่ยวของกล้วยแล้วยังมีคุณสมบัติเป็นแบคทีเรียที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้วยหินด้วย ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Hadiwiyono & Widono (2012, 1-4) ที่พบว่าแบคทีเรีย *Bacillus* sp. ไอโซเลต B04, B05 และ B10 ที่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรค Blood disease และเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* สาเหตุโรคตายพรายของกล้วยได้สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้วยที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ (*In vitro* propagation) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าแบคทีเรีย *Bacillus* spp. เหล่านี้สามารถสร้างสารกระตุ้นการเจริญเติบโต (Phytostimulators) หนึ่งในนั้นคือฮอร์โมนพืช (Phytohormones) เช่น ฮอร์โมนกลุ่ม Auxin ที่สำคัญได้แก่ Indole-3-acetic acid (IAA) ที่มีบทบาทในการช่วยกระตุ้นการยืดตัวของเซลล์ (cell elongation) การขยายตัวของเซลล์ (cell enlargement) และการแบ่งตัวของเซลล์ (cell division) (Velivelli, Sessitsch & Prestwich, 2014, 291-309) ซึ่งความสามารถในการผลิต IAA นั้นมีการตรวจและรายงานในแบคทีเรีย *Bacillus* หลายสปีชีส์ เช่น *B. thuringiensis*, *B. cereus* (Chagas et al., 2015, 282-287), *B. megaterium*, *B. subtilis* (Mohite, 2013, 638-649), *B. amyloliquenfaciens* (Susilowati, Rayanti, Setyowati & Mulya, 2018, 1-9) และ *B. siamensis* (Suliasih & Widawati, 2020, 1-12) เป็นต้น

นอกจากนั้นแล้วแบคทีเรีย *Bacillus* spp. อาจจะ 1) เป็นผู้ผลิต Siderophore ที่มีบทบาทในการนำธาตุเหล็กเข้าสู่พืช โดยตัวเซลล์แบคทีเรียจะมี membrane-receptor protein ที่รับเอา siderophore-Fe complex เพื่อให้พืชนำธาตุเหล็กไปใช้ประโยชน์ได้ (Ahemad & Kibret, 2014,1-20; Joshi, Andharia, Patel & Kotadiya, 2019, 13-40) 2) มีบทบาทเป็นแบคทีเรียละลายฟอสเฟต (Phosphate-solubilizing bacteria) โดยผลิตเอนไซม์ phytases, acid phosphatases,

phosphonatases และ C-P lyases ที่มีบทบาทเปลี่ยนฟอสฟอรัส ให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืช (Available Phosphorous) (Velivelli, Sessitsch & Prestwich, 2014, 291-309; Sansinenea, 2019, 225-237) 3) มีบทบาทเป็นแบคทีเรียละลายโพแทสเซียม (K-solubilisingbacteria) ให้อยู่ในรูป exchangeable K^+ (Tiwari, Prasad & Lata, 2019, 43-55) และ 4) ตรึงไนโตรเจน (Nitrogen fixation) เช่น Hernandez, de-Bashan, Rodriguez, Rodriguez & Bashan (2009, 88-93) พบว่า *B. pumilus* ES4 มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจน

แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลต JK106, JK74 และ YH3-2B2 ยังไม่ได้รับการทดสอบว่าจัดอยู่ในกลุ่ม Intracellular PGPR (iPGPR) หรือ endophytic bacteria ทั้งนี้จะต้องได้รับการศึกษาต่อในอนาคตเพื่ออธิบายถึงบทบาทและกลไกในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้อย่างถูกต้อง รวมถึงการทดสอบคุณสมบัติการส่งเสริมการเจริญเติบโตในห้องปฏิบัติการ เช่น การผลิตฮอร์โมนพืช การผลิตสารซิเดอร์โรฟอร์ บทบาทในการตรึงไนโตรเจน การย่อยสลายฟอสเฟตและโพแทสเซียม เป็นต้น

การผสมแบคทีเรีย *Bacillus* spp. รวมกันทุกไอโซเลต (bacterial consortium) แสดงให้เห็นว่าต้นกล้วยหินมีค่าความยาว น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งน้อยกว่าการใช้เชื้อหนึ่งไอโซเลต (individual isolate) กรรมวิธีควบคุม ถึงแม้ว่าแบคทีเรีย *Bacillus* spp. ทุกไอโซเลตได้ทดสอบแล้วว่าไม่เป็นปฏิปักษ์ต่อกันเมื่อประเมินด้วยวิธี dual culture method บนอาหาร NA (ไม่ได้แสดงข้อมูล) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อนำแบคทีเรียทั้งหมดผสมรวมกันและนำไปใช้ในกระถางปลูกกลับไม่ได้ส่งเสริมการเจริญเติบโตทั้งนี้อาจเนื่องจากเกิดการแข่งขันของแบคทีเรียระหว่างไอโซเลตเพื่อธาตุอาหารหรือปัจจัยในการเจริญที่อาจมีอย่างจำกัดเมื่อเปรียบเทียบกับการเลี้ยงบนอาหาร NA ดังนั้นหากต้องการใช้แบคทีเรียแบบ consortium อาจต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมและผสมรวมกันเพียง 2 หรือ 3 ไอโซเลต อาจส่งเสริมการเจริญเติบโตได้ดีกว่า ซึ่งมีรายงานการวิจัยจำนวนมากสนับสนุนการใช้แบบ consortium เช่น Ansari & Ahmad (2019, 1-12) ที่พบว่าการใช้แบคทีเรีย *B. licheniformis* B642 ร่วมกับ *Pseudomonas* fluorescens FAP2 สามารถเจริญเติบโตร่วมกันได้และผลิต IAA, Siderophore, Biofilm และละลายฟอสเฟตได้ และยังพบว่าคลอโรฟิลล์ (chlorophyll value), อัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิ (net photosynthetic rate), การคายก๊าซทางปากใบ (stomatal conductance), ความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (internal CO_2 concentration), อัตราการหายใจ (transpiration rate), ประสิทธิภาพการใช้น้ำ (water use efficiency) รวมถึงจำนวนใบ ค่าน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของลำต้นและรากของข้าวสาลี มีค่ามากกว่าการใช้เชื้อชนิดเดียว

การเพิ่มจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus* spp. ลงในปุ๋ยมูลไส้เดือนและปั้นเป็นเม็ดปุ๋ย แสดงให้เห็นว่ามีศักยภาพในการเพิ่มความสูงและความยาวรากของกล้วยหินมากกว่าการใช้ปุ๋ยมูลไส้เดือนเพียงอย่างเดียว สอดคล้องกับงานวิจัยของ Tensingh & Muthulakshmi (2017, 147-152) ได้เพิ่มแบคทีเรีย *B. megaterium* ในปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนพบว่าต้นกระเจี๊ยบขาวมีการเจริบเติบโตที่ดีกว่ากรรมวิธีที่ใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนเพียงอย่างเดียว ทั้งนี้แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้อาจมีบทบาทในการช่วยเพิ่ม available Phosphorous จากปุ๋ยมูลไส้เดือนทำให้ต้นพืชทดสอบนำไปใช้ได้มากขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นในผลการศึกษาของ Richardson, Barea, Neill & Prigent-Combaret (2009, 305-339), Kudoyarova et al. (2017, 253–261) และ Zahra et al. (2019, 1645-1654)

การใช้แบคทีเรีย *Bacillus* เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช คณะผู้วิจัยแนะนำให้ใช้ร่วมกับปุ๋ยมูลไส้เดือน ซึ่งมีรายงานวิจัยที่สนับสนุนดังนี้ การศึกษาของ Karagöz, Dursun, Tekiner, Kul & Kotan (2019, 180-188) ใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนร่วมกับแบคทีเรีย *B. subtilis* RK-1977, *B. megaterium* RK-1978 และ *Pseudomonas fluorescens* RK-1979 พบว่าสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของแกลดิโอลัส (gladiolus) อย่างมีนัยสำคัญ เช่นเดียวกับ Shen et al. (2016, 484-490) ใช้ปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนร่วมกับแบคทีเรีย *B. megaterium* และ *B. amyloliquefaciens* เปรียบเทียบการใช้แบคทีเรียดังกล่าวร่วมกับปุ๋ยเคมีพบว่าการใช้แบคทีเรียดังกล่าวร่วมกับปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนส่งเสริมลักษณะการเจริญเติบโตของมะเขือเทศอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

4. สรุป

แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ไอโซเลต JK106, JK74 และ YH3-2B2 นอกจากมีคุณสมบัติในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์สำหรับนำมาควบคุมโรคเหี่ยวของกล้วยแล้ว การศึกษานี้ยังแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียไอโซเลตดังกล่าวสามารถส่งเสริมให้ต้นกล้วยหินมีความสูงและมีความยาวรากเพิ่มขึ้น ทั้งการใช้ในรูปของเซลล์แขวนลอยแบคทีเรียและการผสมแบคทีเรียเข้าไปในปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนชนิดปั้นเม็ด

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) และคณะทรัพยากรธรรมชาติและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร สำหรับการสนับสนุนทุนวิจัย

6. References

Ahemad, M. & Kibret, M. (2014). Mechanisms and Applications of Plant Growth Promoting Rhizobacteria: Current Perspective. *J. King Saud Univ. Sci.*, *26*(1), 1-20.doi:10.1016/j.jksus.2013.05.001

Ansari, F.A. & Ahmad, I. (2019). *Fluorescent Pseudomonas* -FAP2 and *Bacillus licheniformis* Interact Positively in Biofilm Mode Enhancing Plant Growth and Photosynthetic Attributes. *Scientific Reports*, *9*(1), 1-12. doi:10.1038/s41598-019-40864-4

Arkhipova, T.N., Veselov, S.U., Melentiev, A.I., Martynenko, E.V. & Kudoyarova, G.R. (2005). Ability of Bacterium *Bacillus subtilis* to Produce Cytokinins and to Influence the Growth and Endogenous Hormone Content of Lettuce Plants. *Plant and Soil*, *272*(1), 201-209. doi:10.1007/s11104-004-5047-x

Athinuwat, D. (2013). Beneficial Microbes in Agriculture. *Thai J. Sci. Technol*, *2*(1), 18-35. doi:10.14456/tjst.2013.15 (in Thai)

Chagas, A.F., Oliveira, A.G., Oliveira, L.A., Santos, G.R., Chagas, L.F.B., Lopas, A.L. & Luz, J. (2015). Production of Indole-3-Acetic Acid by *Bacillus* isolated from Different Soils. *BJAS*, *21*(2), 282-287. Retrieved from www.researchgate.net/publication/274834269

Chandini, Kumar, R., Kumar, R., & Prakash, O. (2019). The Impact of Chemical Fertilizers on our Environment and Ecosystem. *Research trends in Env. Sci.*, 69-86. Retrieved from www.researchgate.net/publication/331132826

Department of Agriculture. (2008). *Organic Fertilizer Analysis Manual*. Bangkok: Agricultural Production Sciences Research and Develoment Division. (in Thai)

Department of Intellectual Property. (2011). Gluay Hin Bannang Sata. Retrieved from https://www.ipthailand.go.th/images/781/bunnangstar.pdf (in Thai)

Glick, B.R. (2012). Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications, *Scientifica*,1-15.doi:10.6064/2012/963401

Hadiwiyono, & Widono, S. (2012). Endophytic *Bacillus*: the Potentiality of Antagonism to Wilt Pathogen and Promoting Growth to Micro-Plantlet of Banana in Vitro. *BIOMIRROR*, *3*(6), 1-4. Retrieved from https://www.bmjournal.inBM/Vol.3/June 2012/bm-1015180212

Hernandez, J.P., de-Bashan, L.E., Rodriguez, D.J., Rodriguez, Y. & Bashan, Y. (2009). Growth Promotion of the Freshwater Microalga *Chlorella vulgaris* by the Nitrogen-fixing, Plant Growth-promoting Bacterium *Bacillus pumilus* from Arid Zone Soils. *EJSS*, *45*(1), 88-93. doi: 10.1016/j.ejsobi.2008.08.004

Joshi, A., Andharia, K., Patel, P. & Kotadiya, R. (2019). *Plant Growth Promoting Rhizobacteria: Mechanism, Application, Advantages and Disadvantages*. New Delhi: Daya Publishing House® & Astral International Pvt. Ltd.

Karagöz, F.P., Dursun, A., Tekiner, A., Kul, R. & Kotan, R. (2019). Efficacy of vermicompost and/or plant growth promoting bacteria on the plant growth and development in gladiolus.*Ornamental Horticulture*,*25*(2), 180-188. doi:10.14295/oh.v25i2.2023

Kudoyarova, G.R., Vysotskaya, L.B., Arkhipova, T.N., Kuzmina, L.Y., Galimsyanova, N.F., Sidorova, L.V., … & Veselov, S.Y. (2017). Effect of Auxin Producing and Phosphate Solubilizing Bacteria on Mobility of Soil Phosphorus, Growth Rate, and P Acquisition by Wheat Plants. *Acta Physiol. Plantarum*, 39(1), 253–261. doi:10.1007/s11738-017-2556-9

Laopha, A., Sangdee, A., Ponpang-Nga, P., Rattanapolsan, L. & Kawicha, P. (2021, January). Screening of the Antagonistic *Bacillus* spp. Isolated from Banana Rhizosphere Soil for the Control of Banana Blood Disease. In C. Tantikitti (Ed.), *The 1st International Conference on Sustainable Agriculture and Aquaculture for Well Being and Food Security* (pp. 69). Bangkok: Prince of Songkla University.

Loikaeo, N. & Chaisakdanugull, C. (2016, April). Properties of the Kluai Hin Flour and Kluai Hakmuk Flour and their Application in Fresh. In A. Yamkesorn (Ed.), *RSU National Research Conference* (pp. 468-

476). Bangkok: Rangsit University. doi:10.14458/RSU.res.2016.98 (in Thai)

Mohite, B. (2013). Isolation and Characterization of Indole Acetic Acid (IAA) Producing Bacteria from Rhizospheric Soil and Its Effect on Plant Growth. *J. Soil Sci. Plant Nutr.*, *13*(3), 638-649. doi:10.4067/S0718-95162013005000051

Muangkaewngam, A. (2014). Micropropagation of Saba (*Musa sapientum* Lin.) In Vitro through Shoot Tip Culture. *Songklanakarin J. Pl. Sci*., *1*(3), 24-27. Retrieved from natres.psu.ac.th/Department/PlantScience/sjps/archive.php?year=1&issue=3&Page=1 (in Thai)

Namburi, N. & Sukjantra, J. (2006). Product Development from Klouy Hin and Factors of Sale Promotion. *J. Yala Rajabhat University*, *1*(1), 30-37. Retrieved from https://so04.tci-thaijo.org/index.php/yru_human/article/view/124691 (in Thai)

Olanrewaju, O.S., Glick, B.R. & Babalola, O.O. (2017). Mechanisms of Action of Plant Growth Promoting Bacteria. *World J. Microbiol Biotechnol.*, *33*(11), 197. doi:10.1007/s11274-017-2364-9

Omer, A.M. (2010). Bioformulations of *Bacillus* spores for Using as Biofertilizer. *Life Sci J.*,*7*(4), 124-131. Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/265890977

Radhakrishnan, R. & Lee, I.J. (2016). Gibberellins Producing *Bacillus methylotrophicus* KE2 Supports Plant Growth and Enhances Nutritional Metabolites and Food Values of Lettuce. *Plant Physiol. Biochem*, *109*(1),181-189. doi:10.1016/j.plaphy.2016.09.018

Richardson, A.E., Barea, J.M., Neill, A.M.M. & Prigent-Combaret, C. (2009). Acquisition of Phosphorus and Nitrogen in the Rhizosphere and Plant Growth Promotion by Microorganisms. *Plant Soil, 3 2 1* (1), 305-339. doi:10.1007/s11104-009-9895-2

Sansinenea, E. (2019). *Bacillus* spp.: As Plant Growth-Promoting Bacteria. *Secondary Metabolites of Plant Growth Promoting Rhizomicroorganisms*, 225-237. doi:10.1007/978-981-13-5862-3_11

Savci, S. (2012). Investigation of Effect of Chemical Fertilizers on Environment. *APCBEE Procedia*, 287-292. doi:10.1016/j.apcbee.2012.03.047

Shahzad, R., Waqas, M., Khan, A.L., Asaf, S., Khan, M.A., Kang, S.M., … & Lee, I.J. (2016). Seed-borne Endophytic *Bacillus amyloliquefaciens* RWL-1 Produces Gibberellins and Regulates Endogenous Phytohormones of *Oryza sativa*, *Plant Physiol. Biochem, 106*(1), 236-243. doi:10.1016/j.plaphy.2016.05.006

Sharma, N. & Singhvi, R. (2017). Effects of Chemical Fertilizers and Pesticides on Human Health and Environment: A Review. *IJAEB, 10*(6), 675-679. doi:10.5958/2230-732X.2017.00083.3

Shen, F., Zhu, T-Z., Teng, M-J., Chen, Y., Liu, M-q., Hu, F. & Li, H-X. (2016). Effects of

Interaction Between Vermicompost and Probiotics on Soil Nronerty, Yield and Quality of Tomato. *J. Applied Eco.*, *27*(2), 484-490. Retrieved from: pubmed.ncbi. nlm.nih.gov/27396121/

Souza, R., Ambrosini, A. & Passaglia, L.M.P. (2015). Plant Growth-promoting Bacteria as Inoculants in Agricultural Soils. *Genet Mol Biol*., *38*(4), 401-419. doi:10.1590/S1415-475738420150053

Suliasih, & Widawati, S. (2020, October). Isolation of Indole Acetic Acid (IAA) Producing *Bacillus siamensis* from Peat and Optimization of the Culture Conditions for Maximum IAA Production. *The 9th International Symposium for Sustainable Humanosphere* (pp.1-12). Indonesia: IOP Publishing. doi:10.1088/1755-1315/572/1/012025

Susilowati, D.N., Rayanti, E.I., Setyowati, M. & Mulya, K. (2018). Indole-3-Acetic Acid Producing Bacteria and Its Application on the Growth of Rice. doi:10.1063/ 1.5050112

Teeruam, P. & Rattana, K. (2018). Effect of *Bacillus pumilus* on Growth of Rice (*Oryza sativa* L.) cv. Homnil. *Khon Kaen AGR. J*., *46*(1), 533-539. Retrieved from https://ag2.kku.ac.th/kaj/PDF.cfm?filenam e=P22%20Agr37.pdf&id=3063&keeptrack =1 (in Thai)

Tensingh, B.N. & Muthulakshmi, P. (2017). Effect of Microbially Enriched Vermicompost on the Growth and Biochemical Characteristics of Okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) moench). *Adv Plants Agric Res., 6*(5), 147-152. doi:10.15406/apar.2017.06.00228

Tiwari, S., Prasad, V. & Lata, C. (2019). *Bacillus*: Plant Growth Promoting Bacteria forSustainable Agriculture and Environment. doi:10.1016/B978-0-444-64191-5.00003-1

Velivelli, S.L.S., Sessitsch, A. & Prestwich, B.D. (2014). The Role of Microbial Inoculants in Integrated Crop Management Systems. *Potato Research*, *57*(3), 291-309. doi:10.1007/s11540-014-9278-9

Wamaedeesa, R. & Deramae, S. (2011). Multiplication of Kluai Hin (*Musa sapientum* Linn.) by Tissue Culture. *Princess of Naradhiwas University J.*, *3*(3), 47-59. Retrieved from journal.pnu.ac.th/ ojs/index.php/pnujr/article/view/95/0 (in Thai)

Yu, X., Ai, C., Xin, L. & Zhou, G. (2011). The Siderophore-producing Bacterium, *Bacillus subtilis* CAS15, has a Biocontrol Effect on Fusarium wilt and Promotes the Growth of Pepper. *EJSS*, *47*(2), 138-145. doi:10.1016/j.ejsobi.2010.11.001

Zahra, M. T., Aftab, A., Asad, S. A., Tariq, S., Tauseef, T., & Muhammad, A. (2019). Vermicompost Augmented with Plant Growth Promoting Rhizobacteria Improved Soil Fertility and Growth of *Brassica rapa*. *IJAB*, *22*(6), 1645-1654. doi:10.17957/IJAB/15.1246