วิทยาศาสตร์ชีวภาพ (Biological Science)

การพัฒนาน้ำหมักชีวภาพผสมแบคทีเรียที่มีประโยชน์เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและควบคุมโรคขอบใบแห้งของข้าว

Development of Fermented Bio-extract Combined with Beneficial Bacteria for Enhancing Plant Growth and Controlling of Bacterial Leaf Blight of Rice

ปิติณัฐ เครือจินา*, ศิรส ทองเชื้อ และ ดุสิต อธินุวัฒน์

สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต

Ponpawit Pongsupap*, Chayanid Klumsuk and Dusit Athinuwat

Department of Agricultural Technology, Faculty of Science and Technology, Thammasat University, Rangsit Centre

Received: August 11, 2021 ; Accepted: October 2, 2021

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาน้ำหมักชีวภาพผสมแบคทีเรียที่มีประโยชน์เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและควบคุมโรคขอบใบแห้งของข้าว โดยเลือกวัตถุดิบสำหรับเตรียมน้ำหมักชีวภาพ ได้แก่ ต้นกล้วย มะกรูด และพริก จากนั้นนำน้ำหมักชีวภาพทั้ง 3 สูตรไปทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae.* (*Xoo*) โดยการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) ผลการวิจัยพบว่าน้ำหมักชีวภาพจากต้นกล้วยสามารถยับยั้ง Xooได้ ซึ่งแสดงบริเวณยับยั้งขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยเท่ากับ 1.56±0.26 เซนติเมตร เมื่อนำน้ำหมักชีวภาพทั้ง 3 สูตร ไปทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นข้าวอายุ 7 วัน น้ำหมักชีวภาพจากพริกและต้นกล้วยสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวได้ โดยต้นกล้าข้าวมีความยาวราก 6.02±0.83 และ 5.35±0.37 เซนติเมตร ความสูงต้น 5.5±0.48 และ 5.2±0.26 เซนติเมตร น้ำหนักสดราก 2.52±0.45 และ 1.97±0.16 กรัม น้ำหนักแห้งราก 0.11±0.00 และ 0.11±0.00 กรัม น้ำหนักสดต้น 2.96±0.05 และ 2.67±0.17 กรัม และน้ำหนักแห้งต้น 0.20±0.01 และ 0.19±0.01 กรัม จากผลการวิจัยข้างต้นจึงเลือกน้ำหมักชีวภาพจากต้นกล้วยไปพัฒนาต่อไป ด้วยการเติมเชื้อปฏิปักษ์ที่สามารถละลายฟอสเฟต *Bacillus* sp. สายพันธุ์ PSB3-5 ลงไปในน้ำหมักชีวภาพจากต้นกล้วย จนกระทั่งมีความเข้มข้นสุดท้ายประมาณ $1x10^{11}$ cfu/mL เก็บรักษาไว้ในสภาพอุณหภูมิห้อง (32±2 ºC) เป็นเวลา 60 วัน ผลการวิจัยพบประชากรของ PSB3-5 มีชีวิตรอดเท่ากับ $6.4x10^{9}$ $3.1x10^{8}$ $3.6 x10^{8}$ และ $3.0x10^{8}$ cfu/mL หลังปลูกเชื้อลงในน้ำหมักชีวภาพเป็นเวลา 48 ชั่วโมง 15 30 และ 60 วัน ตามลำดับ บ่งชี้ให้เห็นว่า น้ำหมักชีวภาพจากต้นกล้วยผสม PSB3-5 มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นข้าวและสามารถควบคุมโรคขอบใบแห้งของข้าวได้ดี ด้วยการคลุกเมล็ดหรือพ่นใบพืช

*Corresponding author: ponpawit.pongsupap_39@hotmail.com

อัตราส่วนน้ำหมักชีวภาพผสม PSB3-5: น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเท่ากับ 1: 1,000 (v/v) ซึ่งจะทำให้ประหยัดต้นทุนค่าแรงงานการพ่นน้ำหมักชีวภาพและชีวภัณฑ์ในการปลูกข้าวได้อย่างยั่งยืน

คำหลัก: น้ำหมักชีวภาพ, แบคทีเรียละลายฟอสเฟต, โรคขอบใบแห้ง, การควบคุมโรคพืชโดยชีววิธี

Abstract

This research aimed to develop the fermented bio-extract combined with beneficial bacteria for enhancing rice plant growth and controlling bacterial leaf blight of rice. The banana plant, kaffir lime, and chili were raw materials used in fermented bio-extract. Three fermented bio-extract were tested for *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae.* (*Xoo*) inhibition using a completely randomized design (CRD). The result revealed that banana trunk fermented bio-extract showed the efficacy of inhibiting *Xoo*, causing a clear zone of 1.56±0.26 cm. The efficiency of all three fermented bio-extracts on enhancing rice plant performance was investigated seven days after germination. The results showed that the chili fermented bio-extract and banana trunk fermented bio-extract were the most efficient treatment to promote rice growth. Root length, shoot length, fresh root weight, dry root weight, fresh shoot weight, and dry shoot weight were 6.02±0.83 and 5.35±0.37 cm, 5.5±0.48 and 5.2±0.26 cm, 2.52±0.45 and 1.97±0.16 g, 0.11±0.00 and 0.11±0.00 g, 2.96±0.05 and 2.67±0.17 g, and 0.20±0.01 and 0.19±0.01 g, respectively. From the previous results, banana stem fermented bio-extract was selected for further development. Antagonistic bacterial that showed phosphate solubilization, *Bacillus* sp. strain PSB3-5 was added into banana stem fermented bio-extract with $1x10^{11}$ cfu/mL final concentration and kept in room temperature (32±2 ºC) for 60 days. Results showed that PSB3-5 populations were $6.4x10^{9}$, $3.1x10^{8}$, $3.6 x10^{8}$, and $3.0x10^{8}$ cfu/mL at 48 h, 15, 30, and 60 days after inoculated, respectively. These results indicate that banana stem fermented bio-extract mixed with PSB3-5 is effective in promoting plant growth and bacterial blight control. By seed or foliar spray 1:1000 (v/v) of banana stem fermented bio-extract mixed with PSB3 -5: water, this can reduce labor costs in foliar spraying of bio-fermented extracts and biological pesticides.

Keywords: Fermented bio-extract, phosphate solubilizing bacteria, bacterial leaf blight disease, biocontrol

1. บทนำ

น้ำหมักชีวภาพ (bio-extract) เป็นภูมิปัญญาชาวบ้านที่ได้รับความสนใจและใช้กันอย่างแพร่หลาย ทั้งนี้เพราะน้ำหมักชีวภาพทำได้ง่าย ลงทุนน้อย และสามารถใช้วัสดุได้หลากหลายชนิดตามที่มีในแต่ละท้องถิ่นไม่ว่าจะเป็นส่วนต่าง ๆ ของพืช ผลไม้ สัตว์ และปลา เป็นต้น วัตถุประสงค์ของการใช้น้ำหมักชีวภาพของเกษตรกรมีหลากหลาย ไม่ว่าจะช่วยในการเจริญเติบโต สร้างดอก สร้างผล และป้องกันกำจัดโรคพืชและแมลงศัตรูพืช วิธีการใช้ก็มีหลายวิธี เช่น พ่นทางใบ ใส่ลงสู่ดิน และเป็นส่วนประกอบในการทำปุ๋ยหมักแห้ง น้ำหมักชีวภาพ

ได้จากกระบวนการนำเศษวัสดุอินทรีย์ไปหมักกับกากน้ำตาล กากน้ำตาลจะทำให้น้ำจากเซลล์พืชหรือสัตว์ ซึ่งประกอบด้วยสารประกอบอินทรีย์ไหลออกมาจากเซลล์ โดยกระบวนการพลาสโมไลซีส (plasmolysis) จุลินทรีย์ในธรรมชาติและที่ติดมากับวัสดุที่นำมาหมักจะเจริญโดยใช้กากน้ำตาลและสารประกอบอินทรีย์จากวัสดุเหล่านั้นเป็นอาหารและพลังงาน โดยจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ให้มีโมเลกุลขนาดเล็ก น้ำหมักชีวภาพจึงมีลักษณะเป็นสารละลายเข้มข้นสีน้ำตาล มีสภาพเป็นกรด มีค่า pH 3-4 ประกอบด้วยจุลินทรีย์ประเภทแบคทีเรียและยีสต์ชนิดต่าง ๆ สารที่พบได้แก่ สารฮิวมิก สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช สารควบคุมแมลง และสารป้องกันกำจัดโรคพืช น้ำหมักชีวภาพจากพืชจะมีกรดฮิวมิก 0.03-0.74 เปอร์เซ็นต์ น้ำหมักจากสัตว์จะมีกรดฮิวมิกน้อยกว่าน้ำหมักจากพืช สำหรับผลการวิจัยเกี่ยวกับสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชนั้น พบว่า น้ำหมักชีวภาพจากสัตว์จะมีปริมาณกรดอินโดลอะซิติกสูงกว่าน้ำหมักชีวภาพจากพืช ในขณะที่น้ำหมักชีวภาพจากพืช ปลา และหอย เป็นวัสดุหลักมีปริมาณกรดจิบเบอเรลลิกสูงกว่าน้ำหมักชีวภาพที่ทำจากวัสดุชนิดอื่น ๆ (Department of Agriculture, 2004) สำหรับผลการวิจัยเกี่ยวกับสารควบคุมแมลงในน้ำหมักชีวภาพ พบว่า สารออกฤทธิ์ที่สามารถควบคุมแมลงจำนวน 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มแอลกอฮอล์ กลุ่มเบนซีนไดออล กลุ่มฟีนอล และกลุ่มเอสเทอร์ โดยกลุ่มแอลกอฮอล์ที่พบในน้ำหมักชีวภาพจากวัตถุดิบหลักผักหรือผลไม้จะน้อยกว่าในผักรวมผลไม้ สมุนไพร ผักและหรือผลไม้และสัตว์ กลุ่มเบนซีนไดออลพบมากในพืชสมุนไพรเป็นวัสดุหลัก กลุ่มฟีนอลพบมากในหอยเป็นวัสดุหลัก และกลุ่มเอสเทอร์พบมากในปลาเป็นวัสดุหลัก (Department of Agriculture, 2004) นอกจากนี้ยังมีรายงานประสิทธิภาพน้ำหมักชีวภาพที่ยับยั้งการเจริญและพัฒนาของ *Phytophthora palmivora* สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียน ลองกอง ส้ม ลำไย มะละกอ เป็นต้น ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 3 สูตร ได้แก่ สูตรที่ 1 กล้วยน้ำว้า+กากน้ำตาล (3:1) ความเข้มข้น 600 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร สูตรที่ 2 ข่าแก่+ตะไคร้หอม+สะเดา+ใบยูคาลิปตัสแก่+ใบและผลทะกรูด+เปลือกสับปะรด+ผลมะเฟือง+ผลลูกยอแก่+กากน้ำตาล (3:1) ความเข้มข้น 200 และ 300 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และสูตรที่ 3 ผักบุ้ง+หญ้าข้าวนก+วัชพืชอื่น ๆ ในนาข้าว+กากน้ำตาล (3:1) ความเข้มข้น 2,000 และ 3,000 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร (Department of Agriculture, 2004) และน้ำหมักชีวภาพที่ยับยั้งการเจริญและพัฒนาของ *Colletotrichum gloeosporioides* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง ทุเรียน ฝรั่ง มะละกอ พริกหอมหัวใหญ่ กล้วยไม้ เป็นต้น ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 6 สูตร ได้แก่ สูตรที่ 1 ถั่วแขก+กากน้ำตาล (3:1) ความเข้มข้น 300 มล./น้ำ 20 ลิตร สูตรที่ 2 กล้วยน้ำว้าสุก+กากน้ำตาล (3:1) ความเข้มข้น 600 มล./น้ำ 20 ลิตร สูตรที่ 3 ตะไคร้หอม+หัวข่า+สาบเสือ+กากน้ำตาล (3:1) ความเข้มข้น 100 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร สูตรที่ 4 ปลานิล 3 กก.+กากน้ำตาล 1 กก. ความเข้มข้น 200 และ 300 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร สูตรที่ 5 ข่าแก่+ตะไคร้หอม+สะเดา+ใบยูคาลิปตัสแก่+ใบและผลทะกรูด+เปลือกสับปะรด+ผลมะเฟือง+ผลลูกยอแก่+กากน้ำตาล (3:1) ความเข้มข้น 200 และ 300 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และสูตรที่ 6 ผักบุ้ง+หญ้าข้าวนก+วัชพืชอื่น ๆ ในนาข้าว+กากน้ำตาล (3:1) ความเข้มข้น 2,000 และ 3,000 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร (Department of Agriculture, 2004)

จากประโยชน์และคุณสมบัติของน้ำหมักชีวภาพที่สอดคล้องกับกระบวนการผลิตพืชตามแนวทางเกษตรยั่งยืน (sustainable agriculture) นั้น น้ำหมักชีวภาพจึงได้รับความนิยมในการนำมา

ประยุกต์ใช้สำหรับการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในด้านต่าง ๆ เช่น เร่งราก การบำรุงดอก ผล รวมไปถึงการกระตุ้นภูมิต้านทานในพืช ทดแทนการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ และใช้ป้องกันกำจัดโรคพืชและแมลงศัตรูพืช ตลอดจนใช้ลดต้นทุนการผลิต เพิ่มผลผลิต และลดการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่เป็นอันตรายต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม (Mahamud, 2005) การวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาน้ำหมักชีวภาพที่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและควบคุมโรคพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยเลือกพืชทดสอบคือ ข้าว ซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย และได้รับความนิยมในการปลูกแบบเกษตรอินทรีย์ และโรคพืชเป้าหมายที่จะทดสอบประสิทธิภาพของน้ำหมักชีวภาพคือ โรคขอบใบแห้ง เนื่องจากเป็นโรคสำคัญของข้าวที่เกิดจากแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สร้างความเสียหายแก่ผลผลิตข้าวได้ตั้งแต่ 2 ถึง 74 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสามารถพบการระบาดของโรคนี้ได้ตามแหล่งปลูกข้าวโดยทั่วไปของประเทศไทย โดยเฉพาะในพื้นที่ที่ใช้พันธุ์ข้าวอ่อนแอต่อโรคขอบใบแห้งและในฤดูฝน (Sangwanna *et al.*, 2018) และเนื่องจากมาตรฐานเกษตรอินทรีย์อินทรีย์สากลจะหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีควบคุมศัตรูพืช เกษตรกรจึงต้องพ่นน้ำหมักชีวภาพและชีวภัณฑ์ต่าง ๆ จำนวนบ่อยครั้ง เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตพืชและป้องกันศัตรูพืช ทำให้สิ้นเปลืองแรงงานและค่าจ้างแรงงาน หากมีการพัฒนาน้ำหมักชีวภาพผสมแบคทีเรียที่มีประโยชน์ เช่น แบคทีเรียละลายฟอสเฟต เพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและควบคุมโรคขอบใบแห้งของข้าว จะเป็นต้นแบบที่สำคัญในการพัฒนาน้ำหมักชีวภาพที่มีคุณสมบัติหลากหลายสามารถนำไปใช้ร่วมหรือทดแทนสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชและฮอร์โมนพืชสังเคราะห์ ประหยัดเวลา และลดต้นทุนด้านแรงงานได้อย่างยั่งยืน

2. วิธีการ

2.1 การเตรียมน้ำหมักชีวภาพ

เตรียมน้ำหมักชีวภาพจากต้นกล้วย ใบมะกรูด และพริก โดยใช้สูตรดัดแปลงจาก Department of Agriculture (2004) อัตราส่วนการหมักวัตถุดิบแต่ละชนิดคือ พืช 3 กิโลกรัม น้ำตาลทรายแดงหรือกากน้ำตาล 1 กิโลกรัม และน้ำสะอาด 10 ลิตร ทำการสับและนำเศษพืชแต่ละชนิดใส่ลงในถังพลาสติก ผสมน้ำกับน้ำตาลให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน เททับลงบนเศษพืชในถังให้ทั่ว ใช้ไม้ไผ่ขัดกดให้เศษพืชจมน้ำ ปิดฝาให้สนิท ไม่ให้แสงและอากาศเข้า บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (32±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 90 วัน จากนั้นนำน้ำหมักชีวภาพแต่ละชนิดไปศึกษาวิจัยในขั้นถัดไป

2.2 ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำหมักชีวภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าว

ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำหมักชีวภาพจากต้นกล้วย มะกรูด และพริกในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าวด้วยวิธี agar diffusion (Balouiri *et al.*, 2016) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) จำนวน 10 ซ้ำ โดยเตรียม suspension เชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* อายุ 24 ชั่วโมง ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ความเข้มข้นประมาณ 1×10^8 cfu/ml จากนั้นใช้ micropipette ดูด suspension เชื้อสาเหตุโรคปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมลงในขวดที่บรรจุอาหาร nutrient agar (NA) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ที่หลอมละลายตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิประมาณ 45-50 องศาเซลเซียส ผสมให้เข้ากัน และเทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อปล่อยทิ้งไว้ให้ผิวหน้าอาหารแห้ง จึงใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เจาะบน

ผิวหน้าอาหาร จากนั้นหยดน้ำหมักชีวภาพแต่ละชนิดที่เจือจางกับน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ อัตราส่วนน้ำหมักชีวภาพ:น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเท่ากับ 1:1000 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เปรียบเทียบกับการใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ (negative control) และยาปฏิชีวนะ ampicillin (positive control) ในปริมาตรเท่ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ตรวจสอบการเกิดบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) บนผิวหน้าอาหารทดสอบ โดยคำนวณจากสูตรการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค ดังสมการที่ 1 (Mala, 2007)

บริเวณยับยั้ง (มิลลิเมตร) =

(ความกว้างบริเวณยับยั้งแนวตั้ง + ความกว้างบริเวณยับยั้งแนวนอน) / 2

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์หาความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติ โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรมสถิติสำเร็จรูป SPSS version25

2.3 ทดสอบประสิทธิภาพน้ำหมักชีวภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าว

ศึกษาผลของน้ำหมักชีวภาพจากต้นกล้วย มะกรูด และพริกต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าว โดยนำเมล็ดข้าวพันธุ์ กข47 มาแช่ในกรรมวิธีต่าง ๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาที่กำหนดนำเมล็ดมาผึ่งให้หมาดและนำเมล็ดมาเพาะในกระดาษเพาะเมล็ด เก็บไว้ในอุณหภูมิห้องบริเวณที่มีแสงสว่างเป็นเวลา 7 วัน โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ประกอบด้วย 9 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 100 เมล็ด รายละเอียดดังนี้ กรรมวิธีที่ 1 น้ำหมักชีวภาพจากต้นกล้วย เจือจางความเข้มข้นอัตราส่วนน้ำหมักชีวภาพ:น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเท่ากับ 1: 1,000 (v/v) กรรมวิธีที่ 2 น้ำหมักชีวภาพจากพริก เจือจางความเข้มข้นเช่นเดียวกับน้ำหมักชีวภาพจากต้นกล้วย (v/v) กรรมวิธีที่ 3 น้ำหมักชีวภาพจากมะกรูด เจือจางความเข้มข้นเช่นเดียวกับน้ำหมักชีวภาพจากต้นกล้วย (v/v) กรรมวิธีที่ 4 จิบเบอเรลิน เจือจางความเข้มข้นอัตราส่วนจิบเบอเรลิน:น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเท่ากับ 1: 20,000 (v/v) กรรมวิธีที่ 5 แนฟทิลแอซิทิก แอซิด เจือจางความเข้มข้นอัตราส่วนแนฟทิลแอซิทิก แอซิด:น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเท่ากับ 1: 500 (v/v) กรรมวิธีที่ 6 คอปเปอร์ ไฮดรอกไซด์ เจือจางความเข้มข้นอัตราส่วนคอปเปอร์ ไฮดรอกไซด์:น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเท่ากับ 1: 1,000 (w/v) กรรมวิธีที่ 7 คาร์เบนดาซิม เจือจางความเข้มข้นอัตราส่วนคาร์เบนดาซิม:น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเท่ากับ 1: 1,000 (w/v) และกรรมวิธีที่ 8 กรรมวิธีควบคุมใช้น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เก็บข้อมูลเปอร์เซ็นต์การงอก ความสูงต้น ความยาวราก น้ำหนักสดต้น น้ำหนักสดราก น้ำหนักแห้งต้น และน้ำหนักแห้งราก เมื่อต้นข้าวมีอายุ 7 วัน นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์หาความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรมสถิติสำเร็จรูป SPSS version25

2.4 ทดสอบความสามารถของเชื้อปฏิปักษ์ที่สามารถละลายฟอสเฟตในการดำรงชีวิตอยู่น้ำหมักชีวภาพ

นำเชื้อปฏิปักษ์ที่สามารถละลายฟอสเฟต *Bacillus* sp. สายพันธุ์ PSB 3-5 ที่มีความสามารถในการควบคุมโรคขอบใบแห้งของข้าว ซึ่งคัดเลือกมาจากการวิจัยครั้งนี้ มาทำการติดฉลากด้วยสารปฏิชีวนะ kanamycin ที่เจือจางความเข้มข้นอัตราส่วน kanamycin :น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเท่ากับ 1: 20 (w/v) จากนั้นเตรียม suspension ของแบคทีเรียสายพันธุ์ PSB 3-5 ใส่ลงในน้ำหมักชีวภาพจากกล้วยปริมาตร 1000 มิลลิลิตร จนได้น้ำหมักชีวภาพที่มีความเข้มข้นของแบคทีเรียสายพันธุ์ PSB 3-5 เท่ากับ 10^{11} cfu/ml จากนั้นนำน้ำหมักชีวภาพที่

ผสมเชื้อปฏิปักษ์ที่สามารถละลายฟอสเฟต เก็บรักษาไว้ในสภาพอุณหภูมิห้อง ในที่ร่ม เป็นเวลา 60 วัน ทำการสุ่มนับจำนวนแบคทีเรียที่มีชีวิตรอดหลังจากปลูกเชื้อลงในน้ำหมักชีวภาพเป็นเวลา 48 ชั่วโมง 15 30 และ 60 วัน ด้วยวิธี ten-fold serial dilution จากนั้นทำการเพาะเลี้ยงบนหน้าอาหาร NA ที่เติม kanamycin ความเข้มข้นอัตราส่วน kanamycin :น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเท่ากับ 1: 20 (w/v) ด้วยวิธีการ spread plate บันทึกผลโดยการนับจำนวนโคโลนีบนหน้าอาหารพร้อมบันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแบคทีเรียที่เจริญบนหน้าอาหาร

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

3.1 น้ำหมักชีวภาพต้นกล้วย ใบมะกรูด และพริก

น้ำหมักชีวภาพจากต้นกล้วย มีสีน้ำตาลเข้ม มีตะกอนขนาดเล็กสีน้ำตาล และมีค่าความเป็นกรดด่างที่อุณหภูมิ 34.1 องศาเซลเซียส เท่ากับ 2.97 น้ำหมักชีวภาพจากมะกรูด มีสีน้ำตาลอมเขียว มีตะกอนสีน้ำตาลเข้ม และมีค่าความเป็นกรดด่างที่อุณหภูมิ 34.1 องศาเซลเซียส เท่ากับ 3.39 และน้ำหมักชีวภาพจากพริก มีสีน้ำตาลแดง ไม่มีตะกอน และมีค่าความเป็นกรดด่างที่อุณหภูมิ 34.1 องศาเซลเซียส เท่ากับ 3.24

3.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพน้ำหมักชีวภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าว

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำหมักชีวภาพจากต้นกล้วย มะกรูด และพริก ในการยับยั้งเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าวพบว่า น้ำหมักชีวภาพจากกล้วยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* ควบคุมโรคขอบใบแห้งของข้าวดีที่สุด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหมักชีวภาพจากมะกรูด และพริก โดยมีความกว้างบริเวณยับยั้งเท่ากับ 1.56±0.26 เซนติเมตร ซึ่งมีประสิทธิภาพต่ำการใช้แอมพิซิลลิน (positive control) ซึ่งมีความกว้างบริเวณยับยั้งเท่ากับ 2.47±0.07 เซนติเมตร (Figure 1, Table 1) แต่อย่างไรก็ตาม ผลการวิจัยครั้งนี้แสดงให้เห็นแนวโน้มการนำน้ำหมักชีวภาพจากต้นกล้วยไปใช้ร่วมในระบบการปลูกข้าวป้องกันและควบคุมการระบาดของโรคขอบใบแห้ง ซึ่งเป็นโรคแบคทีเรียที่สำคัญต่อระบบการผลิตข้าว โดยในน้ำหมักชีวภาพจากกล้วยประกอบด้วยแทนนิน (tannin) ethanolic และ aqueous (Ehiowemwenguan *et al*., 2014) ซึ่งสารกลุ่มดังกล่าวมีกลไกในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย ได้แก่ การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ภายนอกเซลล์ของจุลินทรีย์ ทำให้เกิดสภาวะขาดแคลนสารตั้งต้นที่จำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ยับยั้งการเกิด oxidative phosphorylation และกลไกในการจับกับไอออนของเหล็ก โดยกลไกในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์และสภาวะขาดแคลนสารตั้งต้นนั้นเกี่ยวข้องกับคุณสมบัติความฝาดของแทนนิน โดยคุณสมบัติดังกล่าวมีผลทำให้โครงสร้างของเอนไซม์และสารตั้งต้นเปลี่ยนแปลงไป ในจุลินทรีย์หลายชนิดพบว่าการทำงานของเอนไซม์ถูกยับยั้งเมื่อมีการเติมแทนนินในขั้นตอนการเพาะเลี้ยง สำหรับกลไกในการยับยั้งการเกิด oxidative phosphorylation เป็นกระบวนการสร้าง ATP จากสารนำอิเล็กตรอน (NADH และ $FADH_2$) โดย NADH และ FADH2 สามารถถ่ายอิเล็กตรอนให้แก่ออกซิเจน โดยผ่านลูกโซ่ขนส่งอิเล็กตรอน (electron transport chain) ในไมโทคอนเดรีย (mitochondria) มีรายงานการใช้ tannic acid ที่ความเข้มข้นต่ำ (น้อยกว่า 1 มิลลิกรัมต่อลิตร) สามารถยับยั้งการเกิด oxidative phosphorylation ในไมโทคอนเดียได้ (Duncan *et al.,* 1970) และ

กลไกในการจับกับไอออนของเหล็กในการเจริญของจุลินทรีย์นั้น โดยทั่วไปจุลินทรีย์จำเป็นต้องอาศัยธาตุเหล็กที่มีอยู่ตามธรรมชาติเพื่อการเจริญ (Brown, 1963)

Table 1 Efficacy of fermented bio- extract inhibiting *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, the causal agent of bacterial leaf blight of rice by agar diffusion method

Treatments	Inhibition zone[1/] (cm)
Banana stem fermented bio-extract	1.56±0.26[b]
Chili fermented bio-extract	0±0[c]
Kaffir fermented bio-extract	0±0[c]
Distilled water	0±0[c]
Ampicillin	2.47±0.07[a]
F-test	**

[1/] Means ± S.D. followed by the same letter in a column are not significantly different according to DMRT (P<0.05).

ซึ่งแทนนินนั้นจะแย่งจับกับธาตุเหล็ก เนื่องจากในโมเลกุลของแทนนินนั้นมีกลุ่มของ *o*-diphenol มากกว่า 2 กลุ่ม ซึ่งทำให้เกิดการคีเลทกับไอออนของเหล็ก ทำให้จุลินทรีย์บางชนิดไม่สามารถเจริญเติบโตได้ (Harris and Livingstone, 1964) นอกจากนี้รายงานวิจัยของ Harris and Livingstone (1964) ยังพบว่าในการเกิดคีเลทกับไอออนของเหล็ก ใช้ tannic acid เพียง 0.9 โมเลกุล ซึ่งมีปริมาณน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารไซเดอร์โรฟอร์ (siderophore) ที่ต้องใช้ถึง 3 โมเลกุล ในขณะที่น้ำหมักชีวภาพจากพริก และน้ำหมักชีวภาพจากมะกรูด ไม่มีสารต่าง ๆ เหล่านี้ จึงไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าว

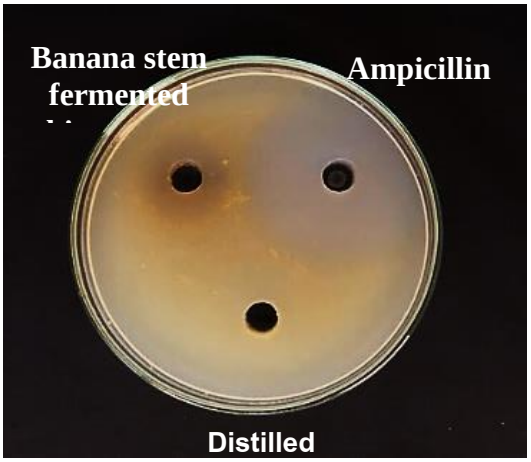

Figure 1 Efficacy of banana stem fermented bio- extract inhibiting *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, the causal agent of bacterial leaf blight of rice by agar diffusion method compared with distilled water and ampicillin.

2.3 ประสิทธิภาพน้ำหมักชีวภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าว

ผลการทดสอบประสิทธิภาพน้ำหมักชีวภาพทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ต้นกล้วย มะกรูด และพริก ต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวอายุ 7 วัน โดยเปรียบเทียบกับฮอร์โมนพืชทางการค้า (จิบเบอเรลินและแนฟทิลแอซิทิก) สารเคมีทางการเกษตร (สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา คาร์เบนดาซิมและสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อแบคทีเรีย คอปเปอร์ไฮดรอกไซด์) และน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ผลการทดลองพบว่าน้ำหมักชีวภาพจากพริกส่งผลให้ต้นกล้ามีความยาวรากมากที่สุด เท่ากับ 6.02±0.83 เซนติเมตร รองลงมาคือ น้ำหมักชีวภาพจากต้นกล้วย ทำให้ต้นกล้าข้าวมีความยาวรากเท่ากับ 5.35±0.37

เซนติเมตร โดยน้ำหมักชีวภาพจากพืชทั้ง 2 ชนิด มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมให้ต้นกล้าข้าวมีความยาวรากมากที่สุดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับจิบเบอเรลินและแนฟทิลแอซิทิก แอซิด ซึ่งต้นกล้าข้าวมีความยาวรากเท่ากับ 4.52±0.2 และ 4.22±0.24 เซนติเมตร ตามลำดับ

Table 2 Efficacy of fermented bio-extract on shoot length, root length, and percentage of germination of rice seedling at 7 days after germination

Treatments	Plant growth index[1/]		
	Root length (cm)	Shoot length (cm)	Germination rate (%)
Banana stem fermented bio-extract	5.35±0.37^{b}	5.2±0.26^{abc}	80±3.16
Chili fermented bio-extract	6.02±0.83^{a}	5.5±0.48^{ab}	80±5.35
Kaffir lime fermented bio-extract	5.08±0.34^{bc}	5.42±0.27^{abc}	80.5±3.32
Gibberellic acid	4.52±0.20^{cd}	5.02±0.27^{bc}	83.5±6.14
1-Napthyl acetic acid	4.22±0.24^{de}	5.10±0.18^{abc}	81.5±2.65
Copper hydroxide	0.34±0.07^{g}	3.31±0.07^{e}	83±4.90
Carbendazim	4.17±0.35^{de}	5.00±0.53^{c}	81±3.16
Control	3.72±0.40^{ef}	5.59±0.48^{a}	83±2.94
F-test	**	**	ns

[1/] Means ± S.D. followed by the same letter in a column are not significantly different according to DMRT ($P<0.05$) ns = non significance.

ขณะที่น้ำหมักชีวภาพจากมะกรูด ส่งผลให้ต้นกล้ามีความยาวรากเท่ากับ 5.08±0.34 เซนติเมตร ซึ่งทัดเทียมกับจิบเบอเรลินและดีกว่าแนฟทิลแอซิทิก แอซิด (Table 2) สอดคล้องกับผลการทดลองด้านน้ำหนักสดของรากข้าว ซึ่งพบว่าน้ำหมักชีวภาพจากพริก ทำให้รากข้าวมีน้ำหนักสดมากที่สุดเท่ากับ 2.52±0.45 กรัม ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับแนฟทิลแอซิทิกและจิบเบอเรลิน ซึ่งรากข้าวมีน้ำหนักสดเท่ากับ 1.71±0.10 และ 1.31±0.2 กรัม ตามลำดับรวมทั้งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น ๆ ด้วย (Table 3) และสอดคล้องกับผลการทดลองด้านน้ำหนักแห้งของรากข้าว ซึ่งพบว่าน้ำหมักชีวภาพจากพริกและน้ำหมักชีวภาพจากต้นกล้วย ส่งผลให้ต้นกล้าข้าวมีน้ำหนักแห้งรากมากที่สุดเท่ากับ 0.11±0.01 และ 0.11±0.00 กรัม ตามลำดับซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น ๆ ยกเว้นคาร์เบนดาซิม (Table 3) เมื่อพิจารณาความสูงต้นพบว่า น้ำหมักชีวภาพทั้ง 3 ชนิด ให้ผลไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม ยกเว้น คอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ และคาร์เบนดาซิม (Table 2)

Table 3 Efficacy of fermented bio-extract on shoot fresh weight, root fresh weight, shoot dry weight, and root dry weight of rice seedling at 7 days after germination

Treatments	Plant growth index[1/]			
	Fresh root weight (g)	Fresh shoot weight (g)	Dry root weight (g)	Dry shoot weight (g)
Banana stem fermented bio-extract	1.97±0.16^{b}	2.67±0.17^{bc}	0.11±0.01^{a}	0.19±0.01^{ab}
Chili fermented bio-extract	2.52±0.45^{a}	2.96±0.05^{ab}	0.11±0.00^{a}	0.20±0.01^{ab}
Kaffir lime fermented bio-extract	1.84±0.17^{b}	2.70±0.26^{bc}	0.09±0.01^{b}	0.18±0.02^{b}
Gibberellic acid	1.31±0.20^{d}	2.91±0.49^{ab}	0.06±0.01^{c}	0.20±0.03^{ab}
1-Napthyl acetic acid	1.71±0.10^{bc}	2.66±0.17^{bc}	0.09±0.01^{b}	0.18±0.01^{b}
Copper hydroxide	0.81±0.13^{e}	2.14±0.01^{d}	0.04±0.01^{d}	0.18±0.01^{b}
Carbendazim	1.90±0.18^{b}	2.55±0.19^{c}	0.95±0.01^{ab}	0.18±0.01^{b}
Control	1.35±0.42^{cd}	3.23±0.22^{a}	0.06±0.03^{c}	0.22±0.02^{a}
F-test	**	**	**	**

[1/] Means ± S.D. followed by the same letter in a column are not significantly different according to DMRT ($P<0.05$).

ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองด้านน้ำหนักสดของต้นข้าว ซึ่งพบว่าน้ำหมักชีวภาพทั้ง 3 ชนิด ให้ผลไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม ยกเว้น คอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ (Table 3) และสอดคล้องกับผลการทดลองด้านน้ำหนักแห้งของต้นข้าว พบว่าน้ำหมักชีวภาพจากพริกและน้ำหมักชีวภาพจากต้นกล้วย ส่งผลให้ต้นกล้าข้าวมีน้ำหนักแห้งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับจิบเบอเรลินและกรรมวิธีควบคุม ขณะเดียวกันน้ำหมักชีวภาพจากมะกรูด แนฟทิลแอซิทิก แอซิด คอปเปอร์ไฮดรอกไซด์ และคาร์เบนดาซิม ก็ส่งผลให้ต้นกล้าข้าวมีน้ำหนักแห้งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับน้ำหมักชีวภาพจากพริก น้ำหมักชีวภาพจากต้นกล้วย และจิบเบอเรลิน และเมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์การงอก พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 2)

ผลการวิจัยครั้งนี้สอดคล้องกับผลของการใช้น้ำหมักชีวภาพจากเศษเหลือของกล้วย (banana waste) ส่งผลให้พืชมีน้ำหนักแห้งของรากสูงที่สุดเท่ากับ 244 กรัม เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้น้ำหมักชีวภาพจากมูลไก่ (Rivera-Cruz *et al*., 2008) และสอดคล้องกับรายงานการศึกษาประสิทธิภาพน้ำหมักชีวภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและผลผลิตของต้นเท้ายายม่อม พบว่า น้ำหมักชีวภาพสูตรจุลินทรีย์หน่อกล้วยมีผลทำให้ต้นเท้ายายม่อมมี

น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งสูงที่สุดเท่ากับ 149 และ 48.93 กรัมต่อต้น ตามลำดับ (Marubodee and Ruanpan, 2020) ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากมีรายงานน้ำหมักชีวภาพมีองค์ประกอบธาตุอาหารพืชครบถ้วน ทั้งธาตุอาหารหลัก ได้แก่ ธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม และธาตุอาหารรอง ได้แก่ แคลเซียม แมกนีเซียม และกำมะถัน รวมไปถึงธาตุอาหารเสริม ได้แก่ เหล็ก ทองแดง สังกะสี แมงกานีส โบรอน และโมลิบดีนัม เป็นต้น ซึ่งธาตุอาหารเหล่านี้สามารถดูดซึมเข้าสู่ท่อลำเลียงของพืช และพืชสามารถนำไปใช้ได้อย่างรวดเร็ว นอกจากนี้ในน้ำหมักยังมีสารอินทรีย์บางชนิดที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก เช่น กรดอะมิโน วิตามิน และฮอร์โมนพืชในกลุ่มที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเช่นเดียวกัน โดยฮอร์โมนที่พบในน้ำหมักพืช ได้แก่ ฮอร์โมนในกลุ่มออกซิน (auxins) ซึ่งมีบทบาทในการขยายตัวหรือการแบ่งเซลล์ ฮอร์โมนในกลุ่มจิบเบอเรลลิน (gibberrllins) มีบทบาทในการกระตุ้นการยืดตัวของเซลล์ รวมไปถึงกระตุ้นการงอก และฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนิน (cytokinins) มีบทบาทในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ เป็นต้น (Department of Agriculture, 2004)

4. ผลการทดสอบความสามารถของเชื้อปฏิปักษ์ที่สามารถละลายฟอสเฟตในการดำรงชีวิตอยู่น้ำหมักชีวภาพ

ผลการทดสอบความสามารถของเชื้อปฏิปักษ์ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ PSB3-5 ที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟตและควบคุมเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าว ในการดำรงชีวิตอยู่ในน้ำหมักชีวภาพจากต้นกล้วยนั้น พบว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ PSB3-5 สามารถอยู่ร่วมกับน้ำหมักชีวภาพจากต้นกล้วยได้ โดยพบโคโลนีแบคทีเรียที่เจริญบนหน้าอาหาร NA มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาตรงกันกับแบคทีเรียสายพันธุ์ PSB3-5 คือ โคโลนีมีสีขาว กลม ขอบไม่เรียบนูนเล็กน้อย และทึบแสง ซึ่งมีจำนวนเซลล์หลังปลูกเชื้อลงในน้ำหมักชีวภาพ 48 ชั่วโมง 15 30 และ 60 วัน เท่ากับ $6.4x10^9$ $3.1x10^8$ $3.6 x10^8$ และ $3.0x10^8$ cfu/ml ตามลำดับ เนื่องจากภายในเซลล์ของจุลินทรีย์โดยทั่วไปจะมีคุณสมบัติในการเป็นบัฟเฟอร์อยู่ระดับหนึ่ง เพื่อช่วยรักษาค่า pH และกิจกรรมต่าง ๆ ภายในเซลล์ให้เป็นปกติ ในจุลินทรีย์บางสายพันธุ์ โดยเฉพาะ *Bacillus* จะสามารถปรับความสามารถในการเป็นบัฟเฟอร์ภายในเซลล์ได้ หากต้องอยู่ในสภาวะที่มีค่าพีเอชภายนอกเซลล์ต่ำ (Krulwich *et al*., 1985) โดยการเพิ่มระดับของโปรตีนและกลูตาเมทในไซโตรพลาสซึม ทำให้ของเหลวภายในเซลล์มีความเป็นบัฟเฟอร์มากขึ้น เพื่อป้องกันตัวจากโปรตอนจำนวนมากที่ผ่านเข้าสู่เซลล์ (Booth, 1985) นอกจากนี้ในจุลินทรีย์บางสายพันธุ์ยังมีกลไกในการรักษาสมดุลของค่า pH ระหว่างภายในและภายนอกเซลล์ ซึ่งการเคลื่อนย้ายโปรตอนโดยอาศัยการทำงานของเอมไซม์ ATPase หรือ H^+-ATPase เป็นกลไกสำคัญอย่างหนึ่งที่จุลินทรีย์ใช้ในการควบคุมค่า pH ภายในเซลล์ และพบว่าปริมาณเอนไซม์ H^+-ATPase ที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียทนกรดจะมีมากกว่าแบคทีเรียที่ไม่ทนกรดทั่ว ๆ ไป โดยเอนไซม์ดังกล่าว จะมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงค่า pH น้อยกว่า จึงทำงานได้ดีในช่วงค่า pH ที่กว้างและทำให้จุลินทรีย์นั้น ๆ ทนกรดได้ดีขึ้น (Miwa *et al*., 1997) และสายพันธุ์ที่ทนกรดได้ดีจะพบกิจกรรมของเอนไซม์ H^+-ATPase ที่บริเวณเยื้อหุ้มเซลล์สูงมากขึ้นตามลำดับ (Chen *et al*., 2009) ในขณะเดียวกันการเกิดกระบวนการ glutamate decarboxylation ซึ่งเป็นกระบวนการเปลี่ยนกรดอะมิโนกลูตาเมท (glutamate) ให้เป็น aminobutyric acid (GABA) โดยการทำงานของเอนไซม์ glutamate decarboxylase (GAD) ซึ่งในกระบวนการจะมีการใช้โปรตอนร่วมกับเอนไซม์

ดังกล่าว โดยในจุลินทรีย์ GAD จะทำหน้าที่ในการต้านทานสภาวะที่เป็นภายนอกเซลล์ โดยการเปลี่ยนกลูตาเมทที่มีความเป็นกรดให้กลายเป็น GABA ที่มีความเป็นกรดต่ำกว่า ซึ่งเป็นการลดความเป็นกรดในระบบอีกทางหนึ่งนอกเหนือจากการดึงโปรตอนมาใช้ในปฏิกิริยา (Gut *et al.,* 2006) ความสามารถในการลดกรดลักษณะนี้จะพบได้ทั่วไปในกลุ่มจุลินทรีย์ก่อโรคและโพรไบโอติกส์ (Feehily and Karatzas, 2013) เช่นเดียวกันกับการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ การที่จุลินทรีย์ต้องอยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสม จะพบการเปลี่ยนแปลงการสังเคราะห์โปรตีนบางชนิดที่ส่งผลถึงการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของกรดไขมันในเยื่อหุ้มเซลล์ (Wouters *et al.,* 2001) กลไกการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว ประกอบด้วยการเปลี่ยนอัตราส่วนไขมันอิ่มตัว ความยาวของสายคาร์บอน ตำแหน่งของกิ่งก้าน cis-trans isomerization และการปรับเปลี่ยนกรดไขมันไม่อิ่มตัว ไปเป็นกรดไขมันที่มีไซโคลโพเพน (Cyclopropane Fatty Acid: CFA) (Grogan and Cronan, 1997) มีรายงานวิจัยที่ยืนยันว่าการสร้าง CFA เพิ่มขึ้นมีส่วนช่วยให้จุลินทรีย์รอดชีวิตในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดีขึ้น จากรายงานของ Zavaglia *et al.* (2000) พบว่า การเพิ่มขึ้นของ CFA ช่วยทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์มีเสถียรภาพที่ดีขึ้นในด้านการเป็นเยื่อเลือกผ่าน และจากการศึกษาในระดับยีนใน *E. coli* พบว่า มีการซึมผ่านของโปรตอนเข้าสู่เซลล์เพิ่มขึ้นและความสามารถในการขับโปรตอนออกนอกเซลล์ในสภาวะกรดลดต่ำลงอย่างมากเมื่อยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ CFA ถูกทำลาย (Shabala and Ross, 2008) จากรายงานของ Ma and Marquis (1997) ที่ได้ศึกษาการแพร่ของโปรตอนผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ พบว่า การที่จุลินทรีย์มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวหนึ่งตำแหน่งและมีสายคาร์บอนหลักที่ยาวเป็นส่วนประกอบในเยื่อหุ้มเซลล์อยู่มากจะช่วยลดการแพร่ของโปรตอนเข้าสู่เซลล์ได้ เมื่อเซลล์นั้นอยู่ในสภาวะที่เป็นกรด ผลงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าถึงความสามารถในประยุกต์ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ PSB3-5 ร่วมกับน้ำหมักชีวภาพจากต้นกล้วย ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตพืชและควบคุมโรคขอบใบแห้งของข้าวได้ ซึ่งจะนำน้ำหมักชีวภาพดังกล่าวไปทดสอบประสิทธิภาพในสภาพไร่หลายพื้นที่และหลายฤดูปลูกต่อไป

4. สรุป

น้ำหมักชีวภาพจากต้นกล้วยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าวได้ดีที่สุด เมื่อนำไปผสมกับเชื้อปฏิปักษ์ที่สามารถละลายฟอสเฟตได้ ได้แก่ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ PSB3-5 พบว่า PSB3-5 สามารถอยู่ร่วมกับน้ำหมักชีวภาพจากต้นกล้วยได้ การวิจัยครั้งนี้ บ่งชี้ให้เห็นว่า น้ำหมักชีวภาพจากต้นกล้วยผสม PSB3-5 มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นข้าวและสามารถควบคุมโรคขอบใบแห้งของข้าวได้ดี ด้วยการคลุกเมล็ดหรือพ่นใบพืช อัตราส่วนน้ำหมักชีวภาพผสม PSB3-5: น้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อเท่ากับ 1: 1,000 (v/v) ซึ่งจะทำให้ประหยัดต้นทุนค่าแรงงานการพ่นน้ำหมักชีวภาพและชีวภัณฑ์ในการปลูกข้าวได้อย่างยั่งยืน

5. References

Balouiri, M., Sadiki, M., and Ibnsouda, S. K., 2016, Methods for invitro evaluating antimicrobial activity, A review. J. Pharm. Ana. 6: 71-79.

Booth, I.R., 1985, Regulation of cytoplasmic pH in bacteria, Microbiol. Rev. 49: 359-378.

Brown, J.C., 1963, Interactions involving nutrient elements, Annu. Rev. Plant Physiol. 14: 93- 106.

Chen, X., Sun, Z., Meng, H., and Zhang, H., 2009, The acid tolerance association with expression of H^+-ATPase in *Lactobacillus casei*, Int. J. Dairy Technol. 62: 272-276.

Department of Agriculture, 2004, Scientific Information Bio-extract (Part 1), Quickprint of Set Co.,Ltd., Bangkok, 51p. (in Thai)

Duncan, C.J., Bowler, K., and Davison, T.F., 1970, The effect of tannic acid on the phosphorylation and ATPase activity of mitochondria from blowfly flight muscle, Biochem. Pharmacol. 19: 2453-2460.

Ehiowemwenguan, G., Emoghene, A.O., and. Inetianbor, J.E., 2014, Antibacterial and phytochemical analysis of banana fruit peel, IOSR J. Pharm. 4: 18-25.

Feehily, C. and Karatzas, K.A., 2013, Role of glutamate metabolism in bacterial responses towards acid and other stresses, J. Appl. Microbiol. 114: 11-24.

Gut, H., Pennacchietti, E., John, R.A., Bossa, F., Capitani, G., De Biase, D., and Grütter, M. G., 2006, *Escherichia coli* acid resistance: pH- sensing, activation by chloride and autoinhibition in GadB, EMBO J. 25: 2643-2651.

Grogan, D.W. and Cronan, J.E. Jr., 1997, Cyclopropane ring formation in membrane lipids of bacteria, Microbiol. Mol. Biol. Rev. 61: 429-441.

Harris, C.M. and Livingstone, S.E., 1964, Bidentate chelates. In: Dwyer F.P., Mellor, D.P. (eds) Chelating agents and metals chelates, Academic Press, New York.

Krulwich, T.A., Agus, R., Schneier, M., and Guffanti, A.A. 1985. Buffering capacity of bacilli that grow at different pH ranges, J. Bacteriol. 162: 768-772.

Ma, Y. and Marquis, R. E., 1997, Thermophysiology of *Streptococcus mutans* and related lactic- acid bacteria. Antonie Van Leeuwenhoek 70(2): 91-100.

\Mahamud, R., 2005, Innovation in agricultural resource management for organic agriculture case study of organic rice farmers group, Amphoe Kudchum, Yasothon, Graduate School of Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)

Mala, T., 2007, Organic Fertilizers and Biofertilizers: Production Techniques and Utilization, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Kasetsart University Press, Bangkok. (in Thai)

Marubodee, R. and Ruanpan, W., 2020, Effect of bioextract on growth and yield of arrowroot (*Tacca leontopetaloides*) , RMUTSB Acad. J. 8(2): 153 - 164. (in Thai)

Miwa, T., Esaki, H., Umemori, J., and Hino, T., 1997, Activity of $H(^+)$-ATPase in ruminal bacteria with special reference to acid tolerance, Appl. Environ. Microbiol. 63: 2155 - 2158.

Rivera-Cruz, M.D.C., Narcı´a, A.T., Ballona, G. C., Kohler, J., Caravaca, F., and Rolda´n, A., 2008, Poultry manure and banana waste are effective biofertilizer carriers for promoting plant growth and soil

sustainability in banana crops, Soil Biol. Biochem. 40: 3092-3095.

Sangwanna, M. , Seeniang, P. and Patarapuwadol, S. , 2018, Survey of bacterial blight disease and the need of knowledge in disease management in organic rice system in Roi Et province, J. Agric. Sci. 49(3): 230–240. (in Thai)

Shabala, L. and Ross, T. , 2008, Cyclopropane fatty acids improve *Escherichia coli* survival in acidified minimal media by reducing membrane permeability to H^+ and enhanced ability to extrude H^+ , Res. Microbiol. 159: 458-461.

Wouters, J. A. , Frenkiel, H. , de Vos, W. M. , Kuipers, O. P. , and Abee, T. , 2001, Cold shock proteins of *Lactococcus lactis* MG1363 are involved in cryoprotection and in the production of cold- induced proteins, Appl. Environ. Microbiol. 67: 5171-5178.

Zavaglia, A. , Disalvo, E. , and Antoni, G. , 2000, Fatty acid composition and freeze– thaw resistance in lactobacilli, J. Dairy Res. 67: 241-247.