นารีรัตน์ มาอ้น : การตรึงเซลล์แบคทีเรียกลุ่ม PGPR เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในระบบไฮโดรโพนิกส์ (IMMOBILIZATION OF PGPR TO INCREASE EFFICIENCY OF PLANT GROWTH PROMOTION IN HYDROPONIC SYSTEM) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.โชคชัย วนภู, 111 หน้า.

Plant Growth Promoting Rhizobacteria หรือ PGPR เป็นกลุ่มของแบคทีเรียหลากหลาย species ที่สามารถช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตในพืชได้ แต่แบคทีเรียกลุ่ม PGPR นั้นมีความสามารถในการอยู่รอด และเพิ่มจำนวนในดินต่ำเมื่อเทียบกับจุลินทรีย์ดั้งเดิมที่อยู่ในพื้นที่นั้นๆ เนื่องจากการตรึงเซลล์สามารถเพิ่มอัตราการอยู่รอดของจุลินทรีย์ได้ และไม่เป็นพิษต่อเซลล์ เป็นวิธีการที่ง่าย ค่าใช้จ่ายในการทำน้อย วัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้เพื่อประยุกต์ใช้เซลล์ PGPR ที่ถูกตรึงในแคลเซียม-อัลจิเนท เพื่อศึกษาการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในระบบไฮโดรโปนิกส์ การดำเนินการครั้งนี้เลือกใช้แบคทีเรีย *Azotobacter* sp. เป็นตัวแทนของ PGPR เซลล์ *Azotobacter* sp. ถูกตรึงในแคลเซียม-อัลจิเนท แล้วนำไปทดสอบการอยู่รอดของ *Azotobacter* sp. ที่ถูกตรึง พบว่า *Azotobacter* sp. สามารถอยู่รอดได้นานกว่า 3 สัปดาห์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร LG ที่ pH เริ่มต้น 4-7 แต่ที่ pH เริ่มต้น 3.5 พบเพียงหนึ่งสัปดาห์ ซึ่ง *Azotobacter* sp. อิสระไม่สามารถอยู่รอดได้ และทำการศึกษาการผลิตฮอร์โมนออกซิน (Auxin) หรือ Indole-3-acetic acid (IAA) ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร LG ที่เติม L-tryptophan พบว่า เซลล์ *Azotobacter* sp. ถูกตรึงสามารถผลิต IAA ได้ และผลิตได้มากขึ้น เมื่อเติมกลูโคส และแหล่งไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร LG สำหรับอุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิต IAA โดย *Azotobacter* sp. ที่ถูกตรึง คือ 20 องศาเซลเซียส และ pH เริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร LG เท่ากับ 6.5-7.5

การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการศึกษาผลของ *Azotobacter* sp. ที่ตรึงในแคลเซียม-อัลจิเนทต่อการเจริญเติบโตของพืชในระบบไฮโดรโปนิกส์ 2 รอบการทดลอง โดยใช้ผักกวางตุ้งเป็นต้นแบบ โดยแต่ละรอบการทดลองแบ่งเป็น 2 วิธีคือ 1) *Azotobacter* sp. ที่ตรึงในแคลเซียม-อัลจิเนทถูกนำไปแทนที่วัสดุปลูกในถ้วยปลูก 2.5-12.5 กรัมเจลต่อต้น และ 2) สารละลาย IAA ความเข้มข้น 10-100 μM ถูกเติมให้พืช 1 มิลลิลิตร/ต้น/สัปดาห์ และทำการสำรวจปัจจัยชี้วัดการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งประกอบด้วย น้ำหนักสดต้น, น้ำหนักสดราก, น้ำหนักแห้งต้น, น้ำหนักแห้งราก, ความยาวต้น, ความยาวราก และวิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุอาหารในต้นพืช (ไนโตรเจน, ฟอสฟอรัส, โพแทสเซียม และแคลเซียม) จากผลการศึกษาในครั้งที่ 1 พบว่าทั้ง *Azotobacter* sp. ที่ตรึงในแคลเซียม-อัลจิเนท และสารละลาย IAA สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ดีกว่าในต้นควบคุม ($P \leq 0.05$) การนำ *Azotobacter* sp. ที่ตรึงในแคลเซียม-อัลจิเนท 2.5 กรัมเจลต่อต้น ใส่ในถ้วยปลูกสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ดีที่สุด สำหรับการเติมสารละลาย IAA 100 μM

1 มิลลิลิตรต่อต้นต่อสัปดาห์ ทำให้พืชมีการเจริญเติบโตดีที่สุด และการศึกษาผลของ *Azotobacter* sp. ที่ถูกตรึงต่อการเจริญเติบโตของพืชในระบบไฮโดรโปนิกส์ครั้งที่ 2 พบว่า การนำ *Azotobacter* sp. ที่ตรึงในแคลเซียม-อัลจิเนท 5 กรัมเจลต่อต้น ใส่ในถ้วยปลูกสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ดีที่สุด และสำหรับการเติมสารละลาย IAA ที่ความเข้มข้น 100 μM 1 มิลลิลิตรต่อต้นต่อสัปดาห์ พืชมีการเจริญเติบโตดีที่สุด นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาผลของ *Azotobacter* sp. ที่ถูกตรึง ต่อการปลูกพืชในห้องแสง สำหรับสภาวะที่เหมาะสมต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชมากที่สุด คือ การประยุกต์ใช้ *Azotobacter* sp. ที่ถูกตรึง 5 กรัมเจลต่อต้น และการเติมสารละลาย IAA ให้พืชที่ความเข้มข้น 40-60 μM 1 มิลลิลิตรต่อต้นต่อสัปดาห์

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา 2552

ลายมือชื่อนักศึกษา_____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา_____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม_____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม_____

NAREERAT MA-ON : IMMOBILIZATION OF PGPR TO INCREASE EFFICIENCY OF PLANT GROWTH PROMOTION IN HYDROPONIC SYSTEM. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. CHOKCHAI WANAPU, Ph.D., 111 PP.

IMMOBILIZATION/ INDOLE-3-ACETIC ACID/ PLANT GROWTH PROMOTION/ PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA

Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) are free-living bacteria that can promote plant growth, because of its weak competitive ability as compared to many other microorganisms in the soil during plant growth. Immobilization provides a gentle, simple, rapid, nontoxic, versatile and cheap method of immobilizing bacterial cell. In addition, this technique is ensuring high retention of cell viability. The objective of this experiment was to apply immobilized PGPR for promoting plant growth in hydroponic system. *Azotobacter* sp., a representative of PGPR strains, it was immobilized in calcium-alginate. The immobilized *Azotobacter* sp. was able to survive in LG medium longer than three weeks in pH 4-7, and a week in pH 3.5. The immobilized gel could protect toxicity from high acidity while the free cells were killed. The IAA production by immobilized *Azotobacter* sp. was tested in LG medium containing L-tryptophan, glucose and nitrogen, pH 6.8. The optimal temperature for IAA production by immobilized *Azotobacter* sp. was 20 ^{o}C at initial pH 6.5-7.5.

This study observed the effect of immobilized *Azotobacter* sp. on plant growth in hydroponic system for two batches. To estimate plant growth parameters, two factors were tested: i) immobilized *Azotobacter* sp. in the series of 2.5-12.5 g bead/ plant, and ii) IAA solution of 10-100 μM concentration. Choy sum (*Brassica*

chinensis var *parachinensis*) was used as a model to study the effect of immobilized *Azotobacter* sp. on plant growth. The parameter of plant growth, i.e. stem wet weight, root wet weight, stem dry weight, root dry weight, stem length, root length and element analysis (N, P, K and Ca) was investigated. In the first batch, results showed that all treatments were able to promote plant growth better than the control group but there were no significant differences ($P \leq 0.05$). However, the optimum condition for growth of Choy sum in hydroponic system showed that 2.5 g of immobilized *Azotobacter* sp. bead per plant and 100 μM IAA solution (1 ml/plant/week), manifested the best condition for stimulating plant growth. In the second batch, the optimum condition for growth of Choy sum in hydroponic system showed in 5 g of immobilized *Azotobacter* sp. bead per plant and 100 μM IAA solution (1 ml/plant/week). Furthermore, the effect of immobilized *Azotobacter* sp. was studied in a light controlled room, and the result revealed that 5 g of immobilized *Azotobacter* sp. bead per plant and 40-60 μM IAA solution (1 ml/plant/week) yielded the highest growth.

School of Biotechnology

Academic Year 2009

Student's Signature_____

Advisor's Signature_____

Co-advisor's Signature_____

Co-advisor's Signature_____