พงษ์เดช ภิรมย์อยู่ : ผลกระทบของ หัวเชื้อ PGPR ต่อโครงสร้างชุมชนจุลินทรีย์ท้องถิ่นในระบบแปลงปลูก (EFFECTS OF PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA (PGPR) INOCULUM ON INDIGENOUS MICROBIAL COMMUNITY STRUCTURE UNDER CROPPING SYSTEM) อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร.หนึ่ง เตียอำรุง, 86 หน้า

แบคทีเรียกลุ่ม PGPR (plant growth promoting rhizobacteria) มีบทบาทสำคัญในระบบการเกษตรโดยเฉพาะอย่างยิ่งคือ การใช้ในรูปปุ๋ยชีวภาพ การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกแบคทีเรียกลุ่ม PGPR สำหรับข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ (*Zea mays* L.) และผักคะน้า (*Brassica alboglabra*) และศึกษาผลกระทบของการใส่เชื้อแบคทีเรียกลุ่ม PGPR ต่อโครงสร้างชุมชนจุลินทรีย์ท้องถิ่น โดยแบคทีเรียสายพันธุ์ *Pseudomonas* sp. SUT19 และ *Brevibacillus* sp. SUT47 พบว่ามีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ได้มากกว่าจากการใช้หัวเชื้อที่จำหน่ายเป็นการค้าแล้วได้แก่ *Azotobacter* sp. และ *Azospirillum* sp. ได้ทำการตรวจสอบประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญของข้าวโพดอาหารสัตว์โดยทำการทดลองระดับกระถาง และระดับแปลงทดลอง พบว่าในการทดสอบระดับแปลงทดลองแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. SUT19 และ *Brevibacillus* sp. SUT47 ที่ใช้ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์ สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ได้สูงกว่าทุกการทดลอง ผลการวิเคราะห์ DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) ร่วมกับการใช้ Principle Components Analysis (PCA) ของยีน 16s rDNA จากชุมชนจุลินทรีย์บริเวณรากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ยืนยันได้ว่า แบคทีเรียสายพันธุ์ *Pseudomonas* sp. SUT19 และ *Brevibacillus* sp. SUT47 สามารถอาศัยอยู่ได้ในบริเวณรากพืชตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง และโครงสร้างชุมชนจุลินทรีย์มีความแตกต่างกันน้อยมากในทุกตำรับการทดลอง ในการประเมินผลกระทบของแบคทีเรียกลุ่ม PGPR ทั้งสองสายพันธุ์ต่อความหลากหลายของสายพันธุ์จุลินทรีย์ในบริเวณรากพืชนั้น พบว่าจุลินทรีย์สายพันธุ์หลักในชุมชนของจุลินทรีย์ไม่ถูกรบกวนโดยการใส่เชื้อแบคทีเรียกลุ่ม PGPR ทั้งสองสายพันธุ์ แต่ในทางตรงกันข้ามปัจจัยหลักขึ้นกับระยะการพัฒนาของพืชเช่นกัน ในกรณีของระบบการปลูกผักคะน้า แบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus* sp. SUT1 และ *Pseudomonas* sp. SUT19 ถูกคัดเลือกด้วยหลักการเดียวกันกับที่ทดสอบในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญของผักคะน้าได้ทดสอบทั้งในระดับกระถาง และแปลงทดลอง ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียกลุ่ม PGPR สายพันธุ์ *Bacillus* sp. SUT1 และ *Pseudomonas* sp. SUT19 ที่ใช้ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์สามารถเพิ่มชีวมวลของผักคะน้าได้สูงสุด เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับควบคุมที่ไม่ใส่เชื้อ และในการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงชุมชนจุลินทรีย์ให้กระจ่างมากขึ้นได้ใช้เทคนิค DGGE ร่วมกับการวิเคราะห์ด้วยวิธี PCA แสดงให้เห็นว่าโครงสร้างชุมชนของจุลินทรีย์ในดินบริเวณรากของคะน้า

และดินบริเวณแปลงปลูกคะน้าที่ไม่มีการปลูกพืช มีความแตกต่างกันไม่ชัดเจน ยิ่งไปกว่านั้นผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์สายพันธุ์หลักในโครงสร้างชุมชนของจุลินทรีย์ไม่ถูกรบกวนโดยการใส่เชื้อแบคทีเรียกลุ่ม PGPR แต่ในทางตรงกันข้าม ปัจจัยหลักขึ้นกับอายุพืชเช่นเดียวกับการทดลองในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ อย่างไรก็ตาม โครงสร้างชุมชนของจุลินทรีย์กลุ่มอาร์คีแบคทีเรียในดินบริเวณรากผักคะน้ามีความสัมพันธ์ที่ไม่ขึ้นกับพืช เมื่อเทียบกับจุลินทรีย์กลุ่มอื่น การศึกษาครั้งนี้พบว่า ไม่สามารถใช้แบคทีเรียกลุ่ม PGPR เพียงกลุ่มเดียวกับพืชทุกชนิดได้ ดังนั้นการคัดเลือกแบคทีเรียในกลุ่ม PGPR ที่จำเพาะต่อพืชเป้าหมายจึงเป็นในขั้นตอนแรกของการประยุกต์ใช้แบคทีเรียกลุ่มนี้ และในการศึกษาครั้งนี้พบว่า การใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ *Pseudomonas* sp. SUT19 และ *Brevibacillus* sp. SUT47 สามารถนำไปเป็นหัวเชื้อสำหรับการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ และพบว่าจุลินทรีย์สายพันธุ์ *Bacillus* sp. SUT1 และ *Pseudomonas* sp. SUT19 มีความเหมาะสมกับผักคะน้าด้วยเช่นกัน

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา 2553

ลายมือชื่อนักศึกษา_____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา_____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม_____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม_____

PONGDET PIROMYOU : EFFECTS OF PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA (PGPR) INOCULUM ON INDIGENOUS MICROBIAL COMMUNITY STRUCTURE UNDER CROPPING SYSTEM. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. NEUNG TEAUMROONG, Dr. rer. nat. 86 PP.

FORAGE CORN/CHINESE KALE/PGPR/COMMUNITY STRUCTURE

Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) play an important role in agricultural systems, especially as biofertilizer. The objectives of this study were to select effective PGPR for forage corn (*Zea mays* L.) and Chinese kale (*Brassica alboglabra*) cultivation and to investigate the effect of their inoculation on indigenous microbial community structure. The *Pseudomonas* sp. SUT 19 and *Brevibacillus* sp. SUT 47 were selected on the basis of their better forage corn growth promotion when compared with two commercialized PGPR strains i.e. *Azotobacter* sp. and *Azospirillum* sp. inoculation. The efficiency of the selected PGPR on forage corn growth promotion was evaluated both in pot and field trials. In field experiment, using strains *Pseudomonas* sp. SUT 19 and *Brevibacillus* sp. SUT 47 mixed with compost can promote the growth the best among all treatments. Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) fingerprints of 16S rDNA amplified from total community DNA from rhizosphere together with Principle Components Analysis (PCA) confirmed that our isolates existed in rhizosphere throughout this study. Also, the microbial community structures were found to be slightly different among all treatments. In order to evaluate whether both strains of PGPR have an effect on species diversity in rhizosphere, DNA sequencing of excised DGGE bands was conducted. The results demonstrated that dominant species in microbial community structure were not interfered by both strains of PGPR, but strongly influenced by plant

development. In case of Chinese kale cultivation system, the *Bacillus sp.* SUT1 and *Pseudomonas* sp. SUT 19 were selected for determining their efficiency in Chinese kale growth promotion in both pot and field experiments. The results showed that the selected PGPR mixed with compost were able to increase biomass of Chinese kale better in comparison to the uninoculated control. In order to determine the microbial community shifting more clearly, DGGE and PCA were carried out, it revealed that microbial community structure was not clearly different from microbial community in bulk soil. In addition, the community changes were not interfered by PGPR, whereas strongly influenced by plant age, which is similar to what found in forage corn experiment. However, archeobacterial community structure in Chinese kale root rhizosphere was found to be more root-independent than other microbial communities. This study demonstrated that there is no universal strain of PGPR for every plant species, thus selection of PGPR on the basis of host preference is needed in the first step of application. This study also recommends that *Pseudomonas* sp. SUT 19 and *Brevibacillus* sp. SUT 47 can be applied as PGPR inoculum for forage corn, and *Bacillus sp.* SUT1 and *Pseudomonas* sp. SUT 19 are appropriate for Chinese kale.

School of Biotechnology

Academic Year 2010

Student's Signature _____

Advisor's Signature _____

Co-advisor's Signature _____

Co-advisor's Signature _____