ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับแบคทีเรีย PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria)

หนึ่ง เตียอำรุง[1*], กมลลักษณ์ เทียมไชสง[2], และ นันทกร บุญเกิด[1]

Neung Teaumroong[1], Kamonluck Teamtaisong[2] and Nantakorn Boonkerd[1]. (2005).* **Overview of PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria).** *Suranaree J. Sci. Technol. 12(3):248-257.*

Received: May 8, 2005; Revised: May 8, 2005; Accepted: Jul 12, 2005

Abstract

Nowaday, microorganisms play the important role in agricultural system, especially the group of bacteria called plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). PGPR are widely studied because of their potential for plant production under three characteristics. Firstly, PGPR act as biofertilizers provide nitrogen via nitrogen fixation reaction, which can subsequently be used by the plants. Secondly, phytostimulators can directly promote the growth of plant, usually by the production of hormones. Finally, as biocontrol agents are able to protect plant from phyto-pathogenic organisms. PGPR can be separated into 2 types based upon their localization; extracellular PGPR (ePGPR), existing in the rhizosphere and intracellular PGPR (iPGPR), which exist inside root cells. For the binding of bacteria to the plant, organic chemical such as N-acetyl¯ homoserine lactone are secreted by a wide variety of bacteria as a signaling. They can induce and enhance genes which involve in adhesion. This system is called quorum sensing. Thereafter bacteria are attached to the plant root, this mechanism is somewhat similar to biofilm production in the environment. Then the interaction between two partners is started. On the other hand, the defense mechanism from plant to PGPR are to produce ethylene, jasmonic acid (JA) and salicylic acid (SA) via the plant systemic acquired of resistance (SAR). The application of PGPRs in agricultural system as inoculants are being very attractive as it would substantially reduce the use of chemical fertilizers and pesticides. A growing number of PGPR are being marketed in the developed countries such as EU and USA.

Keywords: PGPR, Nitrogen fixation, *Phytohormone, Phytopathogen,* Rhizosphere

บทคัดย่อ

จุลินทรีย์ได้เข้ามามีบทบาทสำคัญและมีการนำมาประยุกต์ใช้ในระบบการเกษตรมากขึ้นในปัจจุบัน โดยเฉพาะแบคทีเรียกลุ่มที่เรียกว่า PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้มีคุณสมบัติที่ดีต่อพืชใน 3 ประการ ได้แก่ เป็นปุ๋ยชีวภาพ (Biofertilizer) โดยการตรึงไนโตรเจน

[1] *สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี*

[2] *ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี*

[*] *ผู้เขียนที่ให้การติดต่อ*

สามารถสร้างฮอร์โมนให้พืช (Phytostimulator) และมีความสามารถควบคุมศัตรูพืช (Biopesticide) PGPR สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท ตามบริเวณที่อยู่อาศัยในระบบราก และอาณาเขตราก (rhizosphere) ได้แก่ Extracellular PGPR (ePGPR) และ Intracellular PGPR (iPGPR) โดยในการเข้าสู่ระบบรากนั้นเริ่มจากแบคทีเรียจะส่งสัญญาณ (signal) ซึ่งอยู่ในรูปสารอินทรีย์ เช่น ในกลุ่ม N-acetyl- homoserine lactone ระบบการใช้สารอินทรีย์เป็นสัญญาณในการสื่อสารระหว่างเซลล์ของแบคทีเรียด้วยกันเองเรียกว่า quorum sensing โดยสารนี้จะไปกระตุ้นการทำงานและการแสดงออกของยีนที่สำคัญ หลังจากแบคทีเรียรวมกลุ่มกันได้แล้วจะเคลื่อนเข้าสู่บริเวณผิวของราก ซึ่งพบว่าเป็นกลไกที่คล้ายกับการสร้าง biofilm ในสิ่งแวดล้อมอื่น ๆ จากนั้นพืชจะมีการตอบสนองต่าง ๆ โดยเฉพาะการตอบสนองต่อสารบางชนิดที่ PGPR ปลดปล่อยออกมาโดยผ่านระบบที่เรียกว่า Systemic Acquired Resistance (SAR) ซึ่งเป็นระบบหนึ่งของการป้องกันตัวเองจากสิ่งแปลกปลอม สารสำคัญที่ผลิตจากฝ่ายพืชได้แก่ ethylene, jasmonic acid (JA) และ salicylic acid (SA) การใช้แบคทีเรียกลุ่ม PGPR เป็นอีกทางเลือกหนึ่ง โดยเฉพาะกับสภาวะการณ์ปัจจุบันที่เน้นความเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ซึ่งสามารถใช้ทดแทนปุ๋ยเคมีและสารเคมีปราบศตรูพืช ซึ่งในกลุ่มประเทศที่พัฒนาแล้ว เช่น กลุ่มประเทศ EU หรือสหรัฐอเมริกา ได้มีการพัฒนาขึ้นเป็นการค้าในรูปของหัวเชื้อแล้ว

บทนำ

กว่า 20 ปีที่ผ่านมาการใช้ปุ๋ยเคมีในระบบการเกษตรได้เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยเฉลี่ยอย่างน้อยร้อยละ 3 ต่อปี ดังนั้น ความตื่นตัวที่มีต่อผลกระทบเชิงลบของการใช้ปุ๋ยเคมี โดยเฉพาะมูลค่าการนำเข้าที่สูงขึ้น หรือมีผลกระทบต่อโครงสร้างของดินเมื่อมีการใช้อย่างต่อเนื่องเป็นเวลานานจึงเกิดขึ้น ปัจจุบันในหลายประเทศได้มีการนำจุลินทรีย์ดินโดยเฉพาะแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นปุ๋ยชีวภาพ เช่น ไรโซเบียมกับพืชตระกูลถั่วมาใช้ทดแทนกันอย่างแพร่หลาย อย่างไรก็ตามด้วยเทคโนโลยีด้านอณูพันธุศาสตร์ที่ถูกพัฒนาขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดการพัฒนาประสิทธิภาพของปุ๋ยชีวภาพให้สูงยิ่งขึ้น ประกอบกับทำให้เกิดความเข้าใจลึกซึ้งมากขึ้น โดยเฉพาะความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียและพืชในสภาวะพึ่งพา (symbiosis) ยิ่งไปกว่านั้นจุลินทรีย์ดินกลุ่มอื่น ๆ ที่มีประโยชน์ต่อการเจริญของพืชก็ถูกค้นพบและมีความเข้าใจมากขึ้นด้วย ปกติดินมีจุลินทรีย์กลุ่มต่าง ๆ อาศัยอยู่มากมาย โดยใช้แหล่งคาร์บอนหรือไนโตรเจนที่มีอยู่ในดินในการเจริญเติบโต และที่พบได้มากที่สุด คือ ในดินที่อยู่รอบอาณาเขตรากพืชหรือที่เรียกว่า rhizosphere รากพืชจะปลดปล่อยสารอาหารที่สำคัญนานาชนิด โดยกลุ่มของสารเหล่านี้เรียกว่า root exudates สู่ดินในบริเวณรอบ ๆ ได้แก่ กรดอะมิโน น้ำตาล และกรดอินทรีย์ เป็นต้น ซึ่งสารเหล่านี้เองจะเป็นแหล่งอาหารและพลังงานที่สำคัญของจุลินทรีย จุลินทรีย์ที่พบบริเวณอาณาเขตรากพืช ในระดับความหนาแน่นมากของประชากรมักจะพบในระยะเพียง 50 ไมโครเมตร จากบริเวณผิวราก ในขณะที่ในระยะ 10 ไมโครเมตรจากบริเวณผิวราก สามารถพบจุลินทรีย์ได้ถึงจำนวน 1.2×10^8 เซลล์ต่อลูกบาศก์เซนติเมตร หรือ 10^9 - 10^{12} เซลล์ต่อกรัมดิน และยิ่งไปกว่านั้นร้อยละ 7 ถึง 15 ของพื้นที่ผิวรากจะถูกครอบครองโดยแบคทีเรีย (Foster *et al.*, 1983; Pinton *et al.*, 2001) ดังนั้น ปฏิสัมพันธ์ที่เด่นชัดไม่ว่าจะเป็นเชิงบวกหรือเชิงลบจะเริ่มจากบริเวณ rhizosphere นี้เอง

PGPR คืออะไร

ในบทความนี้จะกล่าวถึงบทบาทเชิงบวกของจุลินทรีย์โดยเฉพาะแบคทีเรียกลุ่มที่เรียกว่า PGPR

(Plant Growth Promoting Rhizobacteria) ย้อนกลับไปเมื่อช่วงปี ค.ศ. 1888 - 1904 จากการค้นพบความสัมพันธ์ของแบคทีเรียในดินกับระบบรากพืชบริเวณ rhizosphere โดย Hellriegel and Wilfarth (1888) ค้นพบว่ามีกิจกรรมมากมายของแบคทีเรียในบริเวณ rhizosphere รวมไปถึงการสร้างปมกับพืชตระกูลถั่วโดยแบคทีเรียในสกุลไรโซเบียม (Rhizobium) ซึ่งสามารถก่อให้เกิดปฏิกิริยาการตรึงไนโตรเจน (Nitrogen Fixation) ให้กับพืชได้ ดังนั้น จึงอาจกล่าวได้ว่าการค้นพบแบคทีเรียกลุ่มไรโซเบียมเป็นจุดกำเนิดของการวิจัย ค้นคว้าเกี่ยวกับปุ๋ยชีวภาพและ PGPR ที่แท้จริง จากนั้นในช่วงปี ค.ศ. 1978 จึงได้นิยามและใช้คำว่า PGPR เป็นต้นมา

โดยทั่วไป PGPR หรือการจะกล่าวเรียกจุลินทรีย์ใด ๆ ว่าเป็น PGPR จะต้องคำนึงว่ามีบทบาทต่อการส่งเสริมการเจริญของพืชตามกลไกดังต่อไปนี้ (Glick *et al.*, 1999)

1. กลไกทางตรงต่อพืช ได้แก่
   - 1.1 ความสามารถในการตรึงไนโตรเจน
   - 1.2 ความสามารถในการเพิ่มความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารพืช เช่น ละลายฟอสฟอรัส และ โพแทสเซียม เป็นต้น
   - 1.3 ความสามารถในการสร้างสาร siderophores ในการจับธาตุเหล็ก
   - 1.4 ความสามารถในการสร้างฮอร์โมนพืช (phytohormone) เช่น auxin, cytokinin, gibberelin
   - 1.5 ลดปริมาณ ethylene ในพืช
2. กลไกทางอ้อมต่อพืช ได้แก่
   - 2.1 ความสามารถในการสร้างสารปฏิชีวนะ (antibiotics)
   - 2.2 ความสามารถในการกระตุ้นให้พืชสร้างภูมิคุ้มกัน (systemic resistance)
   - 2.3 ความสามารถในการสร้างสารยับยั้งเชื้อราก่อโรค
   - 2.4 ความสามารถในการสร้างเอนไซม์ย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อราก่อโรค
   - 2.5 ความสามารถในการแข่งขันเพื่อเข้าอาศัยบริเวณระบบรากพืช
   - 2.6 ความสามารถในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ (antagonist) ยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืช
   - 2.7 ความสามารถในการเป็นเชื้อปรสิต (parasite) ของเชื้อสาเหตุโรคพืช

บริเวณที่อยู่อาศัยของ PGPR

บริเวณที่อยู่อาศัยของ PGPR ในระบบรากพืชและ rhizosphere (รูปที่ 1) ทำให้สามารถแบ่งชนิดของ PGPR ได้ 2 ประเภท ได้แก่

1. Intracellular PGPR (iPGPR) หมายถึง กลุ่ม PGPR ที่เข้าอาศัยภายในเซลล์ของรากพืช ตัวอย่างที่ชัดเจน ได้แก่ การเข้าอาศัย และสร้างปมของไรโซเบียมกับพืชกระกูลถั่ว

2. Extracellular PGPR (ePGPR) หมายถึง กลุ่ม PGPR ที่ไม่ได้อาศัยอยู่ในเซลล์ของรากพืช แต่มีคุณสมบัติเช่นเดียวกับ PGPR ทั่วไป ซึ่งสามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยตามตำแหน่งที่อยู่ได้อีก 3 กลุ่ม คือ
   - 2.1 กลุ่มที่อาศัยอยู่ใกล้กับราก
   - 2.2 กลุ่มที่อาศัยติดอยู่ที่ผิวของราก
   - 2.3 กลุ่มที่อาศัยอยู่บริเวณระหว่างเซลล์ของรากในชั้น cortex

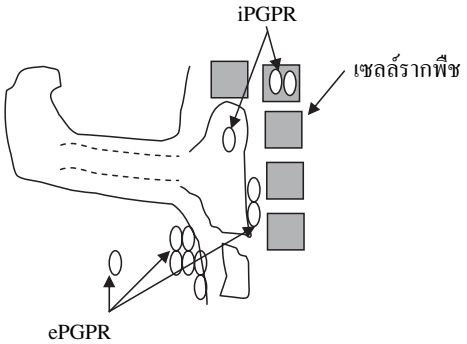

Figure 1. The schematic representation of the extracellular PGPR (ePGPR) and intracellular PGPR (iPGPR) (Gray and Smith, 2005)

กลไกของ PGPR กับการเข้าสู่ระบบรากพืช

ในการเข้าสู่ระบบรากพืช แบคทีเรียส่วนใหญ่จะใช้ระบบการส่งสัญญาณ (signal) ซึ่งสัญญาณดังกล่าวจะอยู่ในรูปสารอินทรีย์ ระบบการใช้สารอินทรีย์ที่ประพฤติตนเป็นสัญญาณในการสื่อสารระหว่างเซลล์ของแบคทีเรียด้วยกันเองเรียกว่า quorum sensing ซึ่งถูกพบครั้งแรกเมื่อประมาณ 25 ปีมานี้จากแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในทะเล (Nealson and Hastings, 1979) โดยพบว่าแบคทีเรียจะสร้างสารเหล่านี้ต่อเมื่ออยู่ด้วยกันในความหนาแน่นของประชากรที่พอเหมาะ จากนั้นสารนี้จะไปกระตุ้นการทำงานและการแสดงออกของยีนที่สำคัญ ได้แก่ การเรืองแสง การก่อโรค การสืบพันธ์แบบ conjugation การสร้างปม และการเคลื่อนที่ของเซลล์แบคทีเรียเอง (Fray, 2002) สารกลุ่ม quorum sensing ที่รู้จักกันแพร่หลาย โดยเฉพาะที่สร้างในกลุ่มแบคทีเรียแกรมลบ คือ N-acetyl-homoserine lactone (AHL) ตัวอย่างเช่น หลายกลุ่มของ AHL ในแบคทีเรีย *Rhizobium leguminosarum* เป็นตัวควบคุมการพัฒนาการเกิดปมของรากพืช (Cha *et al.*, 1998; Lithgow *et al.*, 2000) เป็นต้น

เมื่อเซลล์ของแบคทีเรียรวมกลุ่มกันได้แล้ว ในลำดับต่อไปคือการเคลื่อนเข้าสู่บริเวณผิวของราก ซึ่งกลไกทั่วไปพบว่าเป็นกลไกที่คล้ายกับการเริ่มสร้าง biofilm ในสิ่งแวดล้อมอื่น ๆ กรณีศึกษาที่พบเป็นครั้งแรกคือใน *R. etli* จะใช้โครงสร้างผนังเซลล์ที่เป็นสารกลุ่มโพลีแซคคาไรด์ ที่เรียกว่า rhicadhesin เข้าจับเกาะกับโมเลกุลของสาร lectin ที่รากพืช จากนั้นการจับตัวของเซลล์และรากจะจับกันแข็งแรงมากขึ้น และมีการรวมจำนวนของเซลล์แบคทีเรียมากขึ้นตามลำดับ หรือในกรณีของ *Pseudomonas fluorescens* F113 พบว่ามีการสร้างโปรตีนที่ชื่อ flagellin ซึ่งไปมีผลต่อการเข้าจับเกาะกับรากของต้นถั่ว alfalfa และ *Pseudomonas* sp. DSS73 เมื่อผลิตสาร cyclic lipopeptide amphisin ร่วมกับการสร้าง flagella จะทำให้เคลื่อนตัวเองไปยังผิวของรากพืชได้เร็วขึ้นกว่าปกติ เป็นต้น (Daniels *et al.*, 2004)

ในขณะที่เซลล์ของ PGPR เพิ่มทวีจำนวนและจับกลุ่มกันบริเวณรากมากขึ้น พืชเองก็มีการตอบสนองต่าง ๆ โดยเฉพาะการตอบสนองต่อสารบางชนิดที่ PGPR ปลดปล่อยออกมาโดยผ่านระบบที่เรียกว่า Systemic Acquired Resistance (SAR) ซึ่งเป็นระบบหนึ่งของการป้องกันตนเองจากสิ่งแปลกปลอม สารสำคัญที่ผลิตจากฝ่ายพืชที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันตนเองนี้ ได้แก่ ethylene, jasmonic acid (JA) และ salicylic acid (SA) ซึ่งสารทั้งสามชนิดจัดอยู่ในกลุ่มที่มีบทบาทในการกระตุ้นการเจริญของพืช (Reymond and Farmer, 1998; Metraux, 2001) ดังตัวอย่างในกรณีของ ethylene Mayak *et al.* (1999) ได้รายงานว่าการใช้ PGPR สายพันธุ์ *P. putida* GR12-2 สามารถเพิ่มระดับของ ethylene ในถั่วเขียว โดยมีกลไกมาจากการที่แบคทีเรียสายพันธุ์นี้สามารถสร้าง indole-3 acetic acid (IAA) ซึ่งไปกระตุ้นให้เกิดการสร้าง ethylene

สารตั้งต้น (precursor) สำคัญที่ใช้ในการสังเคราะห์ ethylene ในพืชได้แก่ 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) ซึ่งในหลายกรณีที่ PGPR สามารถใช้ ACC เป็นแหล่งอาหารไนโตรเจนจึงมีผลต่อปริมาณ ethylene และการเจริญของพืช กล่าวคือ PGPR บางกลุ่มจะสร้างเอนไซม์ ACC deaminase ย่อยสลาย ACC ให้เป็นแอมโมเนียและ α-ketobutyrate ดังนั้น ethylene ก็จะถูกสร้างน้อยลง ส่งผลให้รากพืชบางชนิดมีการยืดยาวต่อไปได้ นอกจากนี้ PGPR บางสายพันธุ์ที่สามารถผลิต IAA ได้มากเกินไปจะมีผลในทางตรงกันข้าม กล่าวคือ IAA ที่ผลิตได้ในปริมาณมากเกินพอ จะไปส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์ ACC synthase ซึ่งมีหน้าที่สังเคราะห์ ACC ทำให้มีการสังเคราะห์ ethylene มากขึ้นจนไปยับยั้งการเจริญของราก

ดังนั้น ในภาพรวมของการที่ PGPR สามารถลดระดับของ ethylene ในพืชจะเริ่มจากการที่ PGPR เข้าจับเกาะที่ผิวของรากหรือเมล็ดที่กำลังมีการเจริญเติบโต จากนั้นจะใช้กรดอะมิโน tryptophan ที่มาจาก exudates ของรากหรือเมล็ดเป็นสารตั้งต้น

ในการสังเคราะห์ IAA ซึ่งถ้า PGPR สร้าง IAA ในปริมาณที่เหมาะสมทำงานร่วมกับ IAA ที่มีอยู่เดิมในพืช ก็จะไปส่งเสริมการยืดยาวหรือการเจริญของพืชได้ บางส่วนก็จะไปส่งเสริมการสร้าง ACC ซึ่ง PGPR ก็จะนำ ACC ไปใช้เป็นแหล่งอาหารไนโตรเจน จึงส่งผลให้ปริมาณ ethylene ลดลงตามลำดับ (รูปที่ 2)

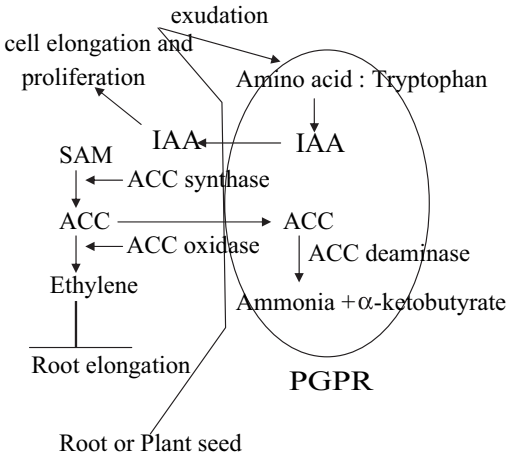

Figure 2. A presentation of the role of ACC deaminase in the promotion of plant root elongation Abbreviations: IAA, indole-3-acetic-acid; SAM, s-adenosylmethionine; ACC, 1 aminocyclopropane-1-carboxylic acid (Glick *et al.*, 1999)

ส่วน JA โดยปกติมีบทบาทในการกระตุ้นกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันการเข้าทำลายของโรคพืช และการสังเคราะห์ ethylene กลุ่มยีนดังกล่าวในพืช ได้แก่ defensins, thionins และ proteinase inhibitors ดังเช่นพบว่า เมื่อเชื้อราเอนโดไมคอไรซา *Glomus intraradicies* เข้าสู่ระบบรากข้าวบาร์เลย์ ยีนที่ควบคุมการสร้าง JA ที่ชื่อ JIP23 จะถูกกระตุ้น โดยเฉพาะที่ใบและปลายราก ในขณะที่ส่วนที่ไม่มีการเข้าอาศัยของไมคอไรซาก็จะไม่พบการแสดงออกของยีนนี้แต่อย่างใด (Hause *et al.*, 2000) หรือในกรณีของ SA ซึ่งปกติก็มีบทบาทต่อกระบวนการป้องกันตนเอง Singh *et al.* (2003) พบว่าเมื่อใส่ PGPR 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *P. fluorescens* สายพันธุ์ Pf4 และ P ให้กับถั่ว chickpea (*Cicer arietinum*) จะกระตุ้นให้พืชสร้าง SA ได้ และสามารถเพิ่มการเจริญของพืชได้เช่นกัน

สรุปบทบาทสำคัญและกรณีศึกษาการประยุกต์ใช้ PGPR ในระบบการเกษตร

แบคทีเรียกลุ่ม PGPR เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติที่ดีต่อพืชใน 3 ประการ (Glick *et al.*, 1999) ได้แก่

1. เป็นปุ๋ยชีวภาพ (Biofertilizer) ได้แก่ กลุ่มแบคทีเรียที่มีความสามารถเปลี่ยนก๊าซไนโตรเจนในบรรยากาศมาเป็นปุ๋ยไนโตรเจนให้กับพืชได้ เช่น แบคทีเรียในจีนัส *Beijerinckia* และไซยาโนแบคทีเรียสกุล *Nostoc* แบคทีเรียที่เพิ่มฟอสฟอรัสหรือกลุ่มแบคทีเรียที่สร้าง siderophore เพื่อสกัดธาตุเหล็กในดินให้กับพืช เป็นต้น ตัวอย่างบทบาทของ PGPR ที่มีคุณสมบัติเป็นปุ๋ยชีวภาพ เช่น แบคทีเรีย *Paenibacillus polymyxa* มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนได้ และสามารถให้ธาตุอาหารไนโตรเจนกับพืช (Wield *et al.*, 2000) หรือการใช้ PGPR ในจีนัส *Serratia proteoemaculans* 1-10 และ *S. liquefaciens* 2-68 ร่วมกับ *Bradyrhizobium japonicum* ในการปลูกถั่วเหลือง สามารถเพิ่มจำนวนปมมวลชีวภาพและประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนได้ดีขึ้นกว่าเมื่อใช้ถั่วกับ *B. japonicum* ตามลำพัง ซึ่งพบว่า *Serratia* ทั้งสองสายพันธุ์ช่วยย่นระยะเวลาการสร้างปมของถั่วและสามารถเพิ่มอัตราการสร้างปมกับ *B. japonicum* อีกด้วย (Bai *et al.*, 2002) ตัวอย่างการผลิตแบคทีเรียกลุ่ม PGPR เป็นปุ๋ยชีวภาพเชิงพาณิชย์ ในภาคเกษตรกรรมได้แก่ ประเทศบราซิล เมกซิโก และสหรัฐอเมริกา ได้พัฒนาปุ๋ยชีวภาพสร้างธาตุไนโตรเจนโดยแบคทีเรีย *Gluconacetobacter diazotrophicus* และ *Azospirillum* ใช้กับพืชไร่สำคัญ เช่น อ้อย ข้าวสาลี โดยพบว่า

เมื่อมีการใส่ปุ๋ยชีวภาพในพื้นที่ 600,000 เฮกเตอร์ ในประเทศเมกซิโก ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1999 และเพิ่มเป็น 1.5 ล้านเฮกเตอร์ ในปี ค.ศ. 2000 ทำให้ผลผลิตของพืชเพิ่มขึ้นเฉลี่ย 26 เปอร์เซนต์ (Mellado, 2002)

2. เป็นผู้สร้างสารกระตุ้นการเจริญเติบโต (Phytostimulator) หรือฮอร์โมนพืช (Phytohormone) สารกลุ่มนี้ที่แบคทีเรียสร้างได้แก่ Auxin, Gibberllin และ Cytokinin ตัวอย่างสกุลของแบคทีเรียกลุ่มนี้ คือ *Azospirillum* และ *Azotobacter* ดังตัวอย่างงานวิจัยล่าสุดของ Ramos *et al.* (2002) พบว่าการใช้แบคทีเรีย *Bacillus licheniformis* กับการปลูกต้นกล้า Alder *(Alnus glutinosa)* พบว่าสามารถส่งเสริมการเจริญของต้น Alder ได้อย่างดีเมื่อเทียบกับชุดการทดลองที่ไม่ได้ใส่เชื้อ โดยเฉพาะมีระบบรากที่สมบูรณ์ พื้นที่ผิวของใบเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งพบว่าเป็นบทบาทมาจากสารประกอบกลุ่ม Auxin และ Gibberllin ที่ผลิตจากแบคทีเรียกลุ่มนี้ หรือการใช้ *B. licheniformis* ร่วมกับ *B. pumis* กับต้นกล้าของพืช *Pinus pinae* ซึ่งมีความสามารถในการสร้าง Gibberllin พบว่าเพิ่มพื้นที่ผิวของใบและความยาวของรากได้สูงกว่าใช้ *Bacillus* เพียงชนิดเดียวอย่างมีนัยสำคัญ (Probanaza *et al.*, 2002)

3. เป็นผู้ควบคุมศัตรูพืช (Biopesticide) ซึ่งส่วนใหญ่พบว่ามีการสร้างสารแอนติไบโอติกยับยั้งเชื้อราก่อโรคได้ ตัวอย่างเช่น แบคทีเรียจีนัส *Bacillus*, *Pseudomonas* ดังเช่น จากรายงานการวิจัยโดยใช้แบคทีเรีย *P. fluorescens* กับข้าว Rye (*Secale cereale*) พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อรา *Fusaricum culmorum* ที่ทำให้เกิดโรคเหี่ยวได้ดียิ่งขึ้น ถ้ามีการปรับสภาพของดินให้มีปริมาณอนุภาคดินเหนียวมากขึ้น (Kurek and Jaraszuk-Scise 2003) หรือการใช้เชื้อผสมในกลุ่มจีนัส *Bacillus* เช่น *B. amyloliquefaciens, B. sphaericus* และ *B. pumilis* สามารถยับยั้งกลุ่มของเชื้อก่อโรค เช่น *Ralstonia, Collectotrichum* หรือ *Rhizoctonia* โดยกระบวนการสร้างภูมิคุ้มกันให้แก่พืชได้เป็นอย่างดี (Jetiyanon and Kloepper, 2002) ตัวอย่างแบคทีเรียกลุ่ม PGPR ที่มีการใช้ในระดับการค้าและโดยเฉพาะในเชิงที่เป็นการควบคุมโรคพืช ดังแสดงในตารางที่ 1 (Glick *et al.*, 1999)

จะเห็นได้ว่าการใช้แบคทีเรียกลุ่ม PGPR เป็นอีกทางเลือกหนึ่งโดยเฉพาะกับสภาวการณ์ปัจจุบันที่เน้นความเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ซึ่งสามารถใช้ทดแทนปุ๋ยเคมี และยาปราบศัตรูพืช (โดยเฉพาะเชื้อราที่มีภาวะดื้อยาสูงขึ้นในปัจจุบัน) จึงเห็นได้ว่าในกลุ่มประเทศที่พัฒนาแล้ว เช่น กลุ่มประเทศ EU หรือ สหรัฐอเมริกา ได้มีการพัฒนาขึ้นเป็นการค้าในรูปของ Bioinoculant แล้ว เช่น กลุ่ม *Rhizobium, Pseudomonas, Bacillus* และ *Streptomyces* เป็นต้น (Bloemberg and Lugtenberg, 2001)

โดยทั่วไปการใช้ PGPR มี 3 รูปแบบ ได้แก่ การแช่เมล็ดในสารละลายแบคทีเรีย (bacterial suspension) เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นผึ่งให้แห้งในที่ร่มเป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง แช่ต้นกล้าลงในสารละลายแบคทีเรียข้ามคืน และการใส่สารละลายแบคทีเรียลงในดินโดยตรง (Islam and Bora, 1998) ตัวอย่างของเชื้อ PGPR ที่ใช้กับพืชที่เคยมีการทดสอบ และได้ผลดีต่อพืช ได้แก่ ข้าว และ *Azotobacter* (Kanungo *et al.*, 1997), *Azospillirum* และ ข้าวสาลี (Malik *et al.*, 2002), *Acetobater diazotrophicus* และ อ้อย (James *et al.*, 1994), *Azorhizobium* และ ข้าวสาลี (Saleh *et al.*, 2001), การใช้ *Az. vinelandii* ร่วมกับ *Clostridium butyricum* ในการปลูกข้าวสาลีทางตะวันตกของออสเตรเลีย (Kennedy and Tchan, 1992), *Herbaspirillum seropediceae* สามารถเพิ่มผลผลิตของรวงข้าว (Arangarasan *et al.*, 1998) เป็นต้นและเมื่อไม่นานมานี้ได้มีการพัฒนาปุ๋ยชีวภาพในรูปแบบหัวเชื้อผสม (Multi-strain inoculum) โดยใช้ PGPR 3 สกุลร่วมกันในการปลูกข้าว และพบว่าสามารถเพิ่มผลผลิตให้ข้าวได้ถึง 1.1 ต้นต่อเฮกตาร์ (เพิ่มขึ้นร้อยละ 21) เมื่อเทียบกับไม่ใช้ปุ๋ยชีวภาพ บริเวณเมืองฮานอย ประเทศเวียดนาม โดยการผลิตปุ๋ยชีวภาพดังกล่าวเกิดขึ้นภายใต้ความร่วมมือวิจัยระหว่าง นักวิทยาศาสตร์เวียดนาม

Table 1. The samples of PGPRs as commercial biocontrol

Bacterium	Commercial Product	Parthogen/disease	Crop (s)	How Applied
Agrobacterium radiobacter	Calltrol-A	Crown gall disease caused by *Agrobacterium tumefaciens*	Fruit, nut, and ornamental nursery stock	Cell suspension applied to seeds, seedlings, cuttings, roots, stems, and as a soil drench
Agrobacterium radiobacter	Nogall	*Agrobacterium tumefaciens*	Trees	Root dips
Agrobacterium radiobacter	Diegall	*Agrobacterium tumefaciens*	Trees	Root dips
Agrobacterium radiobacter	Norbac 84C	Crown gall disease caused by *Agrobacterium tumefaciens*	Fruit, nut, and ornamental nursery stock	Cell suspension applied to root or stem, used as a cutting dip, or spray
Bacillus subtilis	Epic	*Rhizoctonia solani, Fusarium* spp., *Alternaria* spp., and *Aspergillus* spp. that attack roots	Cotton, legumes	Dry powder added to a slurry and mixed with commercial fungicide for seed treatment
Bacillus subtilis	Kodial	*Rhizoctonia solani, Fusarium* spp., *Alternaria* spp., and *Aspergillus* spp. that attack roots	Cotton, legumes	Dry powder, mixed with chemical fungicides
Bacillus subtilis	System 3	Seedling pathogens	Barley, beans, cotton, peanut, pea, rice, soybean	Seed treatment in planter box
Burkholderia cepacia	Blue Circle	*Fusarium* spp., *Pythium* spp., nematodes	Vegetables	Seed treatment mixed with peat or drip irrigation
Burkholderia cepacia	Deny	*Rhizoctonia* spp., *Fusarium* spp., *Pythium* spp., nematodes	Alfalfa, barley, with peat and a cotton, peas, grain sorghum, vegetables, wheat	Seed treatment mixed beans, clover, sticking agent or drip irrigation
Burkholderia cepacia	Intercept	*Rhizoctonia solani, Fusarium* spp., *Pythium* spp.	Maize, vegetables, cotton	
Pseudomonas fluorescens	BlightBan A506	Frost, *Erwinia amylovora*	Almond, apple, cherry, peach, pear, potato, strawberry, tomato	Wettable powder applied postharvest to fruit as drench dip or spray
Pseudomonas fluorescens	Conquer	*Pseudomonas tolassii*	Mushroom	Spray
Pseudomonas fluorescens	Victus	*Pseudomonas tolassii*	Mushroom	Spray
Pseudomonas syringae	Bio-save 10	*Botrytis cinerea, Penicillium* spp., *Mucor pyroformis, Geotrichum candidum*	Citrus and	Wettable powder pome fruit applied postharvest to fruit as drench dip or spray
Pseudomonas syringae	Bio-sace11	*Botrytis cinerea, Penicillium* spp., *Mucor pyroformis, Geotrichum candidum*	Citrus and	Wettable powder pome fruit applied postharvest to fruit as drench dip or spray
Streptomyces griseoviridis	Mycostop	*Fusarium* spp., *Alternaria brassicola, Phomopsis* spp., *Botrytis* spp., *Pythium* spp., and *Phytophthora* spp.	Field, ornamental and vegetable crops	Drench, spray or through irrigation system

และออสเตรเลีย ปุ๋ยชีวภาพดังกล่าวประกอบด้วย *Pseudomonas* ที่สามารถตรึงไนโตรเจน *Klebsiella* ที่สามารถตรึงไนโตรเจน และย่อยสลายฟอสเฟตในรูป $Ca_3(PO_4)_2$ และ *Citrobacter freundii* ซึ่งช่วยในการเพิ่มความสามารถในการแข่งขันของ PGPR กับเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ ในดินที่จะเข้าอาศัยบริเวณรากข้าว โดยสัดส่วนของการใช้ *Pseudomonas, Klebsiella* และ *Citrobacter freundii* จะอยู่ที่ 10 : 10 : 1 ตามลำดับ โดยปริมาณ PGPR แต่ละชนิดเท่ากับ $3 \times 10^9 : 1 \times 10^8 : 1 \times 10^7$ เซลล์ต่อกรัมวัสดุตัวพา ตามลำดับ และล่าสุด Han *et al.*, (2005) ได้ค้นพบแบคทีเรียกลุ่มใหม่ที่มีคุณสมบัติเป็น PGPR ในสกุล Delfia tsuruhatensis HR4 ที่ทำการแยกได้จากบริเวณที่ปลูกข้าวทางตอนเหนือของประเทศจีน พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์นี้สามารถยับยั้งการเข้าทำลายของจุลินทรีย์ก่อโรคในต้นข้าว ได้แก่ *Xanthomonas oryzae, Rhizoctonia solani* และ *Pyricularia oryzae* นอกจากนี้ยังพบว่าแบคทีเรียกลุ่มนี้มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนได้ (13.06 C_2H_4 nmol ml^{-1} h^{-1}) โดยมียีน *nif* ซึ่งเป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับขบวนการตรึงไนโตรเจนอยู่บน chromosomal DNA

แต่อย่างไรก็ตามการประยุกต์ใช้ในสภาพจริงยังมีความจำเป็นต้องศึกษาศักยภาพ และประสิทธิภาพในพื้นที่แต่ละพื้นที่กับพืชแต่ละชนิดด้วย ซึ่งจากการวิจัยหลาย ๆ แห่งพบว่าประสิทธิภาพของแบคทีเรียชนิดเดียวกันจะต่างกันไปตามสภาพสิ่งแวดล้อมของดิน

เอกสารอ้างอิง

Arangarasan, V., Palaniappan, S.P., and Chelliah, S. (1998). Inoculation effects of diazotrops and phosphobacteria on rice. Indian Journal of Microbiology, 38:111-112.

ขอชื่อวารสารแบบย่อ

Bai, Y., Pan, B., Charles T.C., and Smoth, D.L. (2002). Co-inoculation dose and root zone temperature for plant growth promoting rhizobacteria on soybean [*Glycine max* (L.) Merr] grown in soil-less media. Soil Biology&Biochemistry, 34:1,953-1,957.

Bloemberg, G.V., and Lugtenberg, B. J. J. (2001). Molecular basis of plant growth promotion and biotecontrol by rhizobacteria. Curr. Opi. In Plant Bio., 4:343-350.

Cha, C., Gao, P., Chen, Y.C., Shaaw, P.D., and Farrand, S.K. (1998). Production of acyl-homoserine lactone quorum-sensing signals by Gram-negative plant-associated bacteria. Mol. Plant Microbe Inter. 11:1, 1,119-1,129.

Daniels, R., Vanderleyden, J., and Michiels, J. (2004). Quorum sensing and swarming migration in bacteria. FEMS Microbiology Reviews, 28:261-289.

Foster, R.C., Rovira, A.D., and Cock, T.W. (1983). Ultrastructure of the Root-Soil Interface. book edition. The American Phytopathological Society, St Paul, MN., p. 157.

Fray, R.G. (2002). Altering plant-microbe interaction through artificially manipulating bacterial quorum sensing. Ann. Bot., 89:245-253.

Glick, B.R., Patten, C.L., Holguin G., and Penrose, D.M. (1999). Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth promoting bacteria. Imperial College Press, Waterloo, Ontario, Canada, total number of page.

Gray, A.J., and Smith, D.L. (2005). Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. Soil Biol. Biochem., 37:395-412.

Han, J., Sun, L., Dong, X., Cai, Z., Sun, X., Yang, H., Wang, Y., and Song, W. (2005). Characterization of a novel plant growth-promoting bacteria strain *Delftia tsuruhatensis* HR4 both as a diazotroph and a potential biocontrol agent against various pathogen. Syst. and Applied Micro., 28:66-76.

Hause, B., Maier, W., Miersch, O., Kramell, R., and Strack, D. (2002). Induction of jasmonate biosynthesis in arbuscular mycorrhizal barley roots. Plant Physiol.,

130:1,213-1,220.

Hellriegel, H., and Wilfarth, H. (1888). Untersuchungen uber die Stickstoffnahrung der Gramineen und Leguminosen. Beilageheft zu der Zeitschrift des Vereins fur Rubenzucker-Industrie Deutschen Reichs, p. 234.

Islam, N., and Bora, L.C. (1998). Biological management of bacterial leaf blight of rice (*Oryza sativa*) with plant growth promoting rhizobacteria. Ind. J. Agric. Sci., 68:798-800.

James, E.K., Reis, V.M., Olivares, F.L., Baldani, J.I., and Dobereiner, J. (1994). Infection of sugar cane by the nitrogen-fixing bacterium *Acetobacter diazotrophicus*. J. Exp. Bot., 45:757-766.

Jetiyanon, K., and Kloepper, J.W. (2002). Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria for induction of systemic resistance against multiple plant diseases. Biological Control, 24:285-291.

Kanungo, P.K., Ramakrishnan, B., and Rao, V.R. (1997). Placement effect of organic sources on nitrogenase activity and nitrogen-fixing bacteria inflooded rice soils. Biology and Fertility of Soils, 25:103-108.

Kennedy, I.R., and Tchan, Y. (1992). Biological nitrogen fixation in nonleguminous field crops: recent advances. Plant and Soil, 141:93-118.

Kurek, E., and Jaroszuk-Scisel, J. (2003). Rye (*Secale cereale*) growth promotion by *Pseudomonas fluorescens* strains and their interactions with *Fusarium culmorum* under various soil conditions. Biological Control, 26:48-56.

Lithgow, J.K., Wilkinson, A., Hardman, A., Rodelas, B., Wisniewski-Dye, F., Williams, P., and Downie, J. A. (2000). The regulatory locus cinR1 in *Rhizobium leguminosarum* controls a network of quorum-sensing loci, Mol. Microbiol., 37:81-97.

Malik, K.A., Mirza, M.S., Hassan, U., Mehnaz, S., Rasul, G., Haurat, J., Bally, R., and Normand, P. (2002). The role of plant-associated beneficial bacteria in rice-wheat cropping system. In: Biofertilisers in Action. Rural Industries Research and Development Corporation. Kennedy, I.R. and Choudhury, A.T.M.A. (eds.). Canberra, p. 73-83.

Mayak, S., Tirosh, T., and Glick, B.R. (1999). Effect of wild-type and mutant plant growth-promoting rhizobacteria on the rooting of mung bean cuttings. J. Plant Growth Reg., 18:49-53.

Mellado, C. (2002). Title of abstract. Proceedings of 8th International Symposium on Nitrogen Fixation with Non Legume; December 3-7, 2000; The University of Sydney NSW, Australia, page number of abstract.

Metraux, J.P. (2001). Systemic acquired resistance and salicylic acid: current state of knowledge. Eur. J. Plant Pathol., 107:13-18.

Nealson, K.H., and Hastings, J.W. (1979). Bacterial bioluminescence: its control and ecological significance. Microbiol. Rev., 43:496-518.

Pinton, R., Varanini, Z., and Nannipieri, P. (2001). The rhizosphere as a site of biochemical interactions among soil components, plants, and microorganisms. In: The Rhizosphere. Pinton, R., Varanini, Z., and Nannipieri, P. (eds.). Mercel Dekker, Inc, NY, USA, p. 1-18.

Probanaza, A., Lucas, G.J.A., Ruiz, P.M., Ramos, B., and Gutierrez, M.F.J. (2002). *Pinus pinea* L. seedling growth and bacterial rhizosphere structure after inoculation with PGPR Bacillus (*B. licheniformis* CECT 5106 and *B. pumilus* CECT 5105). Applied Soil Ecology, 20:75-84.

Ramos, B., Lucas G.J.A., Probanza, A., Barrientos, M.L., and Guterrrez M.F.J. (2002). Alterations in the rhizobacterial community associated with European alder growth when inoculated with PGPR strain *Bacillus licheniformis*. Environmental and Experimental Botany, 49:61-68.

Reymond, P., and Farmer, E.E. (1998). Jasmonate and salicylate as global signals for defense gene expression. Curr. Opin. Plant Biol., 5:404-411.

Saleh, S.A., Mekhemar, G.A.A., El-Soud, A.A.A., Ragab, A.A., and Mikhaeel, F.T.

(2001). Survival of *Azorhizobium* and *Azospirillum* in different carrier materials: inoculation of wheat and *Sesbania rostrata*. Bulletin of Faculty of Agriculture, Cairo University, 52:319-338.

Singh, U.P., Sarma B.K., and Singh, D.P. (2003). Effect of plant growth-promoting rhizobacteria and culture filtrate of *Sclerotium rolfsii* on phenolic and salicylic acid contents in chickpea *(Cicer arietinum)*. Curr. Microbiol., 46:131-140.

Weild vonder, I., Paiva, E., Nobrega, A., Elsas vand, D., and Seldin, L. (2000). Diversity of Paenibacillus polymyxa strain isolated from the rhizosphere of maize planted in Cerrado soil. Res. Microbiol., 151:369-381.