

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา จำนวนและชนิดของ methane producing bacteria (MTB) รวมทั้งศึกษาอัตราการผลิตก๊าซมีเทนจากดินและรากข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 90 ที่มีอายุการปลูก 70 วัน โดยวิธี Most Probable Number Technique (MPN) และ วิธี 16S rDNA Cloning ร่วมกับ Fluorescent In Situ Hybridization technique (FISH) ส่วนการศึกษาการผลิตก๊าซมีเทนของจุลินทรีย์จากดินและรากข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 90 ได้ทำการศึกษาในขวด serum vial ที่มีอาหารพื้นฐาน (basal medium) ในสภาวะไร้อากาศ และบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 40 วัน จากการศึกษาจุลินทรีย์โดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Scanning Electron Microscope : SEM) ในตัวอย่างดินและรากข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 90 พบเชื้อจุลินทรีย์ที่มีรูปร่างกลม (cocci) ขนาดประมาณ 1-2 μm จากการนับเชื้อ MTB จากบริเวณดังกล่าวพบว่าดินบริเวณรากข้าวมีจำนวนเชื้ออยู่ 3.49×10^8 เซลล์/กรัม ซึ่งสูงกว่าดินก่อนการปลูกข้าวที่มีเชื้ออยู่ 1.02×10^4 เซลล์/กรัม ส่วนรากข้าวมีจำนวนเชื้ออยู่ 2.01×10^3 เซลล์/กรัม เมื่อศึกษาชนิดของ MTB โดยวิธี Phylogenetic analysis จากรากข้าวสุพรรณบุรี 90 โดยแบ่งตัวอย่างออกเป็น ดินบริเวณรากข้าว และรากข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 90 อาจแบ่งได้เป็น 4 กลุ่มคือ *Methanosarcina barkeri*, *Methanosaeta* sp., *Methanospirillum hungatei* และ Uncultured archaeon ในส่วนผลการศึกษา MTB โดยใช้เทคนิค FISH ทำการ enrich ตัวอย่างในอาหารพื้นฐานที่เติมกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.86 mM และ 1.72 mM ผลการศึกษาพบ MTB 2 กลุ่มคือ ดินก่อนการปลูกข้าวพบ *Methanosaeta* sp. ที่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 0.86 mM ดินบริเวณรากข้าวพบ *Methanosaeta* sp. และ *Methanosarcina* sp. ที่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 0.86 mM ส่วนความเข้มข้นกรดอะซิติก 1.72 mM พบ *Methanosarcina* sp. เพียงกลุ่มเดียวเท่านั้น ส่วนบริเวณรากข้าวพบแต่ *Methanosarcina* sp. เพียงอย่างเดียวที่ทั้งสองความเข้มข้นกรดอะซิติก เมื่อทำการเก็บข้อมูลการผลิตก๊าซมีเทนพบว่ารากข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 90 และดินบริเวณรากข้าว เริ่มผลิตในวันที่ 4 เป็น 0.001 และ 0.007 $\text{mg/gdw}^{-1}/\text{d}^{-1}$ ดินก่อนการปลูกข้าวเริ่มผลิตในวันที่ 6 มีปริมาณเท่ากับ 0.02 $\text{mg/gdw}^{-1}/\text{d}^{-1}$ และดินก่อนการปลูกข้าว ดินบริเวณรากข้าว และรากข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 90 มีการผลิตก๊าซมีเทนสูงที่สุดวันที่ 32, 24 และ 28 เป็น 0.33, 0.40 และ 0.29 $\text{mg/gdw}^{-1}/\text{d}^{-1}$ ตามลำดับ การผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์พบว่าดินบริเวณรากข้าว และรากข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 90 การผลิตก๊าซเริ่มขึ้นในวันที่ 4 มีปริมาณเท่ากับ 0.03, 0.01 $\text{mg/gdw}^{-1}/\text{d}^{-1}$ ตามลำดับ ส่วนดินก่อนการปลูกข้าวการผลิตก๊าซเริ่มขึ้นในวันที่ 6 มีปริมาณเท่ากับ 0.04 $\text{mg/gdw}^{-1}/\text{d}^{-1}$ และผลิตก๊าซสูงสุดในวันที่ 12, 18, และ 22 มีปริมาณเท่ากับ 0.28, 0.22 และ 0.24 $\text{mg/gdw}^{-1}/\text{d}^{-1}$ ตามลำดับ

คำสำคัญ (Keywords) : จุลินทรีย์ที่ผลิตมีเทน /ก๊าซมีเทน /ดิน/ รากข้าว /ข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 90 /
Phylogenetic analysis / FISH

Numbers, of microorganism and rate of methane production from microorganisms from soil and 70 days of age rice root cv. Supanburi 90 were studied in this research. Most Probable Number Technique (MPN) was used for counting of methanogenic bacteria (MTB). 16SrDNA cloning and Fluorescent In Situ Hybridization Technique (FISH) were constructed to determine MTB. Methane and carbondioxide productions of microorganisms from soil and rice root cv. Supanburi 90 were determined by gas chromatography.

Methane production of microorganisms from soil and rice root cv. Supanburi 90 was determined from the cultivation in the basal medium in the serum vial under anaerobic condition at 37 °C for 40 days.

From scanning electron microscopic study, microorganisms from the soil and rice root were found to be cocci in the size of 1-2 μm . The numbers of MTB were 3.49×10^8 cell/g soil (dry weight), 1.02×10^3 cell/g soil (dry weight) and 2.01×10^3 cell/g rice root (dry weight) for root zone soil, unplanted soil and rice root, respectively. MTBs from root zone soil, unplanted soil and rice root classified by Phylogenetic analysis to be *Methanosarcina barkeri*, *Methanosaeta* sp., *Methanospirillum hungatei* and uncultured archaeon. MTBs were cultured in the medium containing 0.86 and 1.72 mM acetic acid and characterized by FISH. MTBs from unplanted soil, enriched by 0.86 mM acetic acid were characterized to be *Methanosaeta* sp. MTBs from root zone soil, enriched by 0.86 mM acetic acid were characterized to be *Methanosaeta* sp. and *Methanosarcina* sp. But when enrichment by 1.72 mM acetic acid, MTB from root zone soil was found to be only *Methanosarcina* sp. MTB from rice root, enriched by 0.86 or 1.72 mM acetic acid was found to be only *Methanosarcina* sp. Methane production of MTBs from soil near rice root begun at the 4th day of incubation in basal medium under anaerobic condition in serum vial was 0.07 mg/gdw⁻¹/d⁻¹. MTBs from unplanted soil begun at the 6th day of incubation produced methane 0.02 mg/gdw⁻¹/d⁻¹. The highest methane production was found at 32th, 24th and 28th day of incubation to be 0.33, 0.44 and 0.29 mg/gdw⁻¹/d⁻¹ for MTBs from unplanted soil, soil near rice root and rice root, respectively. Carbondioxide produced at the 4th day of incubation was 0.03, 0.01 mg/gdw⁻¹/d⁻¹ for soil near rice root and rice root, respectively and carbon dioxide produced at the 6th day of incubation was 0.04 mg/gdw⁻¹/d⁻¹ for unplanted soil. The highest carbon dioxide produced at the 12th, 18th and 22th day of incubation was 0.28, 0.22 and 0.24 mg/gdw⁻¹/d⁻¹ for microorganisms from soil near rice root, rice root and unplanted soil, respectively.

Keywords : Methane/Soil/Rice Root/Methanogenic Bacteria/FISH/Rice cv. Supanburi 90/Phylogenetic Analysis