

เจนจิรา วงษ์ดี : การเพิ่มประสิทธิภาพหัวเชื้อไรโซเบียม ในการเข้าสร้างปมกับถั่วเหลือง ภายใต้สภาวะเครียดแบบต่าง ๆ ภายในดิน (ENHANCING THE EFFICIENCY OF SOYBEAN INOCULANT FOR NODULATION UNDER MULTI-ENVIRONMENT STRESS SOIL CONDITIONS) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พรณตดา ติตตะบุตร, 79 หน้า.

สภาวะแวดล้อมในธรรมชาติที่ไม่เหมาะสมแบบต่าง ๆ เป็นปัจจัยที่จำกัดการเจริญเติบโตของถั่วเหลือง รวมถึงการเข้าสร้างปม และการตรึงไนโตรเจนของไรโซเบียม ซึ่งสัมพันธ์กับการพัฒนาทางด้านสรีระของพืช ทั้งนี้ การใช้หัวเชื้อไรโซเบียมที่ทนต่อสภาวะเครียด สามารถส่งเสริมให้ถั่วเหลืองเจริญในสภาวะเครียดได้ดีขึ้น งานวิจัยนี้ ได้ศึกษาผลกระทบของสภาวะเครียดแบบต่าง ๆ ต่อการเจริญและการอยู่รอดของไรโซเบียมบนอาหารเลี้ยงเชื้อ รวมถึงพิจารณาผลของการเข้าสร้างปม และการตรึงไนโตรเจน เพื่อส่งเสริมการเจริญของถั่วเหลือง ผลการทดสอบพบว่า จากเชื้อที่คัดแยกได้ 20 ไอโซเลท มี 5 ไอโซเลท ที่สามารถเจริญได้ดีบนอาหารที่ใช้คัดเลือก โดยการทดสอบไอโซเลท 194 กับถั่วเหลืองที่ปลูกในสภาวะเครียดแบบต่าง ๆ ในทราย และในดิน พบว่า มีการตรึงไนโตรเจน และให้น้ำหนักแห้งของถั่วเหลืองสูงสุด อีกทั้งสามารถแข่งขันเพื่อเข้าสร้างปมกับถั่วเหลืองได้ดีกว่าเชื้อทางการค้า *Bradyrhizobium japonicum* USDA110 นอกจากนี้ การเสริมซูโครส (300 มิลลิโมลาร์) ที่เป็นสาร compatible solute ร่วมในอาหารเลี้ยงเชื้อ สามารถช่วยให้เชื้ออยู่รอด และเจริญภายใต้สภาวะเครียดได้ดีกว่าการเติมสารชนิดอื่น เมื่อเลี้ยงเชื้อในสภาวะแห้งแล้งหลังวันที่ 5 และในสภาวะกรดหลังวันที่ 3 พบว่า มีการสะสมทรีฮาโรส และกลีเซอรอลภายในเซลล์ ส่วนในสภาวะอุณหภูมิสูง ทั้งที่เสริมและไม่เสริมซูโครส พบว่า มีการสะสมกลีเซอรอลตลอดช่วงการเจริญของเชื้อ ซึ่งการสะสมน้ำตาลดังกล่าว มีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกันกับอัตราการเจริญและการอยู่รอดของเชื้อ แสดงให้เห็นว่า ไรโซเบียมที่ทนต่อสภาวะเครียด จะอยู่รอดได้ดีขึ้นเมื่อมีการเสริมด้วยซูโครส เพราะการสะสมน้ำตาลกลีเซอรอล และทรีฮาโรสนั้น เกี่ยวข้องกับการป้องกันเซลล์ ส่งผลต่อความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของถั่วเหลืองในสภาวะเครียดได้ดีขึ้น

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

ปีการศึกษา 2556

ลายมือชื่อนักศึกษา _____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม _____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม _____

JENJIRA WONGDEE : ENHANCING THE EFFICIENCY OF SOYBEAN
INOCULANT FOR NODULATION UNDER MULTI-ENVIRONMENTAL
STRESS SOIL CONDITIONS. THESIS ADVISOR : ASST. PROF.
PANLADA TITTABUTR, Ph.D., 79 PP.

Bradyrhizobium japonicum/SOYBEAN INOCULANT/SYMBIOTIC EFFICEINCY/
NODULATION/COMPETTITION/ MULTI-ENVIRONMENTALSTRESS
CONDITIONS/SUPPLEMENTATION/COMPATIBLE SOLUTE

Several adverse environmental conditions are the limiting factors for soybean growth and symbiosis capability of rhizobia. The process of N₂-fixation by symbiont is strongly related to physiological development of the host plant. *Bradyrhizobium* spp. that can tolerate to environmental stress would increase soybean growth under stress conditions. This study examined the effect of single and mixed stress conditions on the growth and survival of *Bradyrhizobium* spp. in culture media, and the effect on symbiosis with soybean plant grew in the sand and soil conditions. Twenty isolates of bradyrhizobia were isolated from nodules of soybean grown in fields, and five isolates were selected based on their tolerant ability under stress conditions *in vitro* experiments. The efficiency of stress tolerant bradyrhizobia on soybean growth was investigated under various stress conditions. *Bradyrhizobium* sp. isolate 194 could promote high level of nitrogenase activity and plant biomass when plants were grown in sand and soil under stress conditions. *Bradyrhizobium* sp. isolate 194 also showed higher nodulation competition ability than *B. japonicum* USDA110 under stress conditions. Moreover, supplementation with compatible solutes was used to improve

the symbiosis efficiency of bradyrhizobial inoculant under stress conditions. The isolate 194 supplemented with sucrose showed the highest cell survival when it was cultured in medium under various stress conditions. The appropriate concentration of 300 mM sucrose could promote the cell growth under stress conditions. It was found that the bacterial cells in sucrose supplemented medium were able to accumulate trehalose and glycerol after growing under drought condition for 5 days. Trehalose and glycerol were also found to be accumulated in cell grown under acid condition after 3 days. The accumulation of glycerol was found in every bacterial growth period under high temperature with and without sucrose supplementation. The accumulation of sugars inside the cell was related to cell growth and survival under stress conditions. Results of this study suggest that inoculation of stress tolerant bradyrhizobia could enhance the symbiosis efficiency and soybean growth under stress conditions and sucrose supplementation in medium could improve their survival by accumulating several types of sugar, especially glycerol and trehalose inside the cells when they were encounter various environmental stresses.

School of Biotechnology

Student's Signature _____

Academic Year 2013

Advisor's Signature _____

Co-advisor's Signature _____

Co-advisor's Signature _____