

ตี ตี อ่อง : ผลกระทบของการใช้เชื้อแบคทีเรียที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (PGPR) ร่วมกับ *Bradyrhizobium japonicum* ต่อการเข้าปม การเจริญเติบโต และชุมชนจุลินทรีย์บริเวณรอบรากถั่วเหลือง (CO-INOCULATION EFFECTS OF PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA (PGPR) AND *Bradyrhizobium japonicum* ON SOYBEAN NODULATION, GROWTH AND RHIZOSPHERE SOIL MICROBIAL COMMUNITY STRUCTURES) อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ.ดร.หนึ่ง เตียอำรุง, 159 หน้า

การปลูกเชื้อร่วมกันระหว่างแบคทีเรียที่สร้างปมในถั่วเหลือง ในสกุล *Bradyrhizobium* และเชื้อแบคทีเรียที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (PGPR) เป็นที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก โดยคาดหวังว่าการใช้เชื้อทั้งสองชนิดร่วมกันนั้นจะสามารถเพิ่มจำนวนปม และส่งเสริมการเจริญเติบโตของถั่วเหลืองได้ ในการศึกษานี้ได้ทำการตรวจสอบหาเชื้อจุลินทรีย์ในดินที่สามารถใช้ร่วมกับเชื้อ *B. japonicum* เพื่อใช้กับถั่วเหลือง จากการคัดเลือกเชื้อกลุ่ม rhizobacteria จำนวน 200 ไอโซเลต พบว่าสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มจำนวนปมในรากถั่วเหลือง ได้แก่ *Azospirillum* sp. และ *Bacillus solisalsi* จากการศึกษาถึงผลกระทบของการใช้เชื้อแบบเดี่ยว และแบบใช้ร่วมกันของเชื้อ *B. japonicum* (CB 1809 และ USDA 110) กับ เชื้อ *Azospirillum* sp. หรือ *B. solisalsi* ต่อการเพิ่มจำนวนปม การเจริญเติบโต และชุมชนจุลินทรีย์บริเวณรอบรากถั่วเหลือง พบว่า การใช้เชื้อร่วมกันระหว่าง *Azospirillum* sp. กับ *B. japonicum* CB 1809 หรือ USDA 110 มีศักยภาพในการเพิ่มการสร้างปม 32.23% และ 16.85% การเพิ่มน้ำหนักปม 26.51% และ 18.83% และสามารถเพิ่มผลผลิตเมล็ดถั่วได้ 23.65% และ 34.92% ตามลำดับ เปรียบเทียบกับเมื่อใช้เชื้อ *B. japonicum* CB 1809 หรือ USDA 110 เพียงชนิดเดียวในสภาพแปลงปลูกจริง ดังนั้นจึงใช้เชื้อ *Azospirillum* sp. ร่วมกับเชื้อ *B. japonicum* CB 1809 หรือใช้ร่วมกับ USDA 110 เพื่อศึกษาถึงการแข่งขันเพื่อเข้าสร้างปมในถั่วเหลือง ผลการศึกษาการแข่งขันเพื่อเข้าสร้างปมของเชื้อดังกล่าวกับจุลินทรีย์ในดินจากประเทศพม่า และจากประเทศไทย พบว่า การใช้เชื้อแบบเดี่ยว หรือการใช้เชื้อร่วมกันของ *B. japonicum* USDA 110 และ *Azospirillum* sp. ที่ทำการติดตามด้วย *gus*-marker ให้ผลการเข้าปม 93.21-94.75% และ 74.21-100% ตามลำดับ และสามารถเพิ่มปริมาณน้ำหนักแห้งรวม 23.50-41.95% และ 50.37-73.24% ตามลำดับ เมื่อเทียบกับถั่วเหลืองที่ไม่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ ในการทดลองใช้เชื้อ *Azospirillum* sp. ในแต่ละปริมาณเชื้อ 10^6 , 10^7 และ 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ร่วมกับ *B. japonicum* USDA 110 พบว่าสามารถเพิ่มการสร้างปมในถั่วเหลืองได้ 73.8, 62.25 และ 95.34% และ 51.52, 62.38 และ 79.46 % ในดินจากประเทศพม่า และประเทศไทยตามลำดับ เมื่อเทียบกับการไม่ใส่เชื้อ จากการศึกษา Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) และ

Principle Component Analysis (PCA) เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างการใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่คัดเลือกแล้วกับชุมชนจุลินทรีย์บริเวณรากพืช ทั้งการทดสอบในระดับกระถาง และระดับแปลง พบว่าช่วงการเจริญเติบโตของพืชมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ในกลุ่มยูแบคทีเรียรอบรากพืช แต่ไม่เกี่ยวข้องกับอิทธิพลของเชื้อแบคทีเรียที่ปลูกร่วม ในทางกลับกัน การใส่เชื้อและช่วงการเจริญเติบโตของพืช ต่างก็ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของชุมชนเชื้อราบริเวณรอบรากพืช ดังนั้นเชื้อ *Azospirillum* sp. สามารถนำมาใช้ร่วมกับ *B. japonicum* สำหรับการปลูกถั่วเหลืองได้เป็นอย่างดี



สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา 2555

ลายมือชื่อนักศึกษา _____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม _____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม _____

THI THI AUNG : CO-INOCULATION EFFECTS OF PLANT GROWTH
PROMOTING RHIZOBACTERIA (PGPR) AND *Bradyrhizobium japonicum*
ON SOYBEAN NODULATION, GROWTH AND RHIZOSPHERE SOIL
MICROBIAL COMMUNITY STRUCTURES. THESIS ADVISOR : ASSOC.
PROF. NEUNG TEAUMROONG, Dr. rer. nat, 159 PP.

Bradyrhizobium japonicum/PLANT GROWTH PROMOTING RIZOBACTERIA/
SOYBEAN/CO-NOCULATION/COMPETITION/MICROBIAL COMMUNITY
STRUCTURES

Co-inoculation of nodulated bradyrhizobia and plant growth promoting rhizobacteria has received great attention because co-inoculation can be expected to enhance the nodulation and plant growth of soybean (*Glycine max*). In this study, screening of rhizobacteria for co-inoculation with *Bradyrhizobium japonicum* on soybean was conducted. Among the 200 isolates of rhizobacteria tested, *Azospirillum* sp. and *Bacillus solisalsi* were selected as nodulation enhancers. Single and co-inoculation effects of *B. japonicum* (CB 1809 and USDA 110) and either *Azospirillum* sp. or *B. solisalsi* were studied to access the co-inoculation potential on nodulation, plant growth and rhizosphere soil community structures of soybean. *Azospirillum* sp. co-inoculated with either *B. japonicum* CB 1809 or USDA 110 under field conditions gave 32.23% and 16.85% of nodulation, 26.51% and 18.83% of nodule dry weight, and 23.65% and 34.92% seed yield over single inoculation of CB 1809 and USDA 110, respectively. *Azospirillum* sp. was selected for co-inoculation with either *B. japonicum* CB1809 or USDA 110 for competitive nodulation study.

The results from the competition study for nodulation under rhizobia-established Myanmar and Thailand soils revealed that single or co-inoculation of *gus*-marked *B. japonicum* USDA 110 and three different inoculum levels of *Azospirillum* sp. gave 93.21-94.75% and 74.21-100% in nodule occupancy, and 23.50-41.95% and 50.37-73.24% enhanced in biomass dry weight over non-inoculated control, respectively. Each of the tested inoculum levels, i.e., 10^6 , 10^7 and 10^8 cfu ml⁻¹ of *Azospirillum* sp. enhanced nodulation in combination with USDA 110 with a corresponding increase of 73.8%, 62.25% and 95.34%; and 51.52%, 62.38% and 79.46% over non-inoculated control in Myanmar and Thailand soil, respectively.

Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) and Principle Component Analysis (PCA) results demonstrated that soybean rhizosphere eubacterial community structures in both pot and field experiments in this study were shifted by plant growth stages not by bacterial inoculation. In contrast, neither inoculation of tested bacteria nor plant growth stages shifted the rhizosphere soil fungal community structures. Therefore, *Azospirillum* sp. could be used in co-inoculant production with *B. japonicum* for soybean.

School of Biotechnology

Academic Year 2012

Student's Signature _____

Advisor's Signature _____

Co-advisor's Signature _____

Co-advisor's Signature _____