

## บทคัดย่อ

ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เป็นปัจจัยจำกัดต่อการเจริญของถั่วเหลือง ซึ่งส่งผลต่อเชื้อไรโซเบียมที่เข้าสร้างปมด้วยเช่นกัน โดยประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนของหัวเชื้อ ขึ้นอยู่กับลักษณะแวดล้อมที่พืชเจริญอยู่ เชื้อไรโซเบียมที่ทนต่อสภาวะเครียด จะส่งผลต่อของถั่วเหลืองให้การเจริญเป็นปกติได้ ในการศึกษาครั้งนี้ เป็นการศึกษาผลกระทบของสภาวะเครียดแบบต่างๆ ต่อการเจริญและการอยู่รอดของเซลล์ไรโซเบียมบนอาหารเลี้ยงเชื้อ รวมถึงพิจารณาผลการตรึงไนโตรเจน เพื่อส่งเสริมการเจริญของต้นถั่วเหลืองที่ปลูกในทราย และในดิน ซึ่งจากเชื้อที่คัดแยกได้ทั้งหมด 20 ไอโซเลท นำมาทดสอบพบว่า มี 5 ไอโซเลท ที่เจริญได้ดีบนอาหารที่ใช้คัดเลือก โดยเมื่อทดสอบกับถั่วเหลืองที่ปลูกในสภาวะเครียดในทราย และในดิน พบว่าเชื้อไอโซเลท 194 ให้ผลในการตรึงไนโตรเจนและน้ำหนักแห้งของถั่วสูงสุดในสภาวะเครียดแบบต่าง ๆ นอกจากนี้ยังพบว่า เชื้อไอโซเลท 194 ยังมีความสามารถในการแข่งขันเพื่อเข้าสร้างปมกับถั่วเหลือง ได้ดีกว่าเชื้อ USDA110 การทดลองที่ช่วยให้เชื้อไรโซเบียมทนต่อสภาวะเครียด โดยการเสริม compatible solute พบว่าน้ำตาลซูโครส ที่ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ ช่วยให้เชื้ออยู่รอด และเจริญได้ดีกว่าการเติมสารชนิดอื่น โดยเชื้อไอโซเลท 194 ที่เสริมซูโครส มีการเจริญในสภาวะแห้งแล้งหลังวันที่ 5 และเจริญในสภาวะกรดหลังวันที่ 3 มีการสะสมทรีฮาโรส และกลีเซอรอลอยู่ภายในเซลล์ ส่วนการเจริญของเชื้อในสภาวะเครียดแบบอุณหภูมิสูง ที่เสริมและไม่เสริมซูโครสพบว่า มีการสะสมกลีเซอรอลภายในเซลล์ตลอดช่วงของการเจริญ แต่หลังจากวันที่ 10 ของการเจริญที่ไม่ได้เสริมน้ำตาลนั้นไม่พบการสะสมกลีเซอรอลอีก ซึ่งสอดคล้องกับการเจริญที่ลดลงของเชื้อ จากการศึกษาทำให้ทราบว่า เชื้อไรโซเบียมที่สามารถอยู่รอดได้ในสภาวะเครียด จะช่วยส่งเสริมการเจริญของต้นถั่วเหลือง อีกทั้งการเสริมซูโครส สามารถช่วยให้เชื้อไรโซเบียมอยู่รอดได้ในสภาวะเครียด โดยการสะสมน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ภายในเซลล์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำตาลกลีเซอรอล และน้ำตาลทรีฮาโรส ที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันเซลล์เมื่อเผชิญกับสภาวะเครียดต่าง ๆ

## Abstract

Several adverse environmental conditions are the limiting factors for soybean growth and symbiosis capability of rhizobia. The process of N<sub>2</sub>-fixation by symbiont is strongly related to physiological state 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 grew in fields, and five isolates were selected according to 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 188 and 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 has higher nodulation competition ability than *Bradyrhizobium japonicum* USDA110 under stress conditions. Moreover, supplementation with compatible solute was used to improve the symbiosis efficiency of bradyrhizobial inoculant under stress conditions. The isolate 194 was supplemented with sucrose showing highest percent survival of bacteria when 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 accumulated trehalose and glycerol after 5 days grow under drought condition. Trehalose and glycerol were also found to be accumulated in cell after 3 days grow under acid condition. The accumulation of glycerol was found in every bacterial growth periods under high temperature with and without sucrose supplementation, but it was not found in non-sucrose supplemented bacterial cell cultured after 10 days, This was related to the decreasing of cell survival. Results of this study suggested that the inoculation of stress tolerant bradyrhizobia could enhance the symbiosis efficiency and soybean growth under stress conditions and the sucrose supplementation in medium could improve their survival by accumulating several sugars, especially glycerol and trehalose inside the cell when encounter to the various stress.