การพัฒนาวิธีการที่รวดเร็วในการคัดเลือกเชื้อไรโซแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว
Development of Rapid Method for Screening of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Rice

จิรพันธ์ เปรมสุริยา[1,2] วราภรณ์ ปานอยู่[1,2] สุจินต์ ภัทรภูวดล[1,2,3] และ วิชัย โฆสิตรัตน[1,2,3*]
Jiraphan Premsuriya[1,2], Waraporn Panyoo[1,2], Sujin Patarapuwadol[1,2,3] and Wichai Kositratana[1,2,3*]

[1] ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140
[2] ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรสำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กรุงเทพฯ 10900
[3] ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140
[1] Center for Agricultural Biotechnology, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140 Thailand
[2] Center of Excellence on Agricultural Biotechnology: (AG-BIO/PERDO-CHE) Bangkok 10900
[3] Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140 Thailand
รับเรื่อง: มิถุนายน 2559 Received: June 2016
รับตีพิมพ์: กรกฎาคม 2559 Accepted: July 2016
* Corresponding author: agrwck@ku.ac.th

ABSTRACT: Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) is a group of rhizobacteria which have abilities to promote plant growth and plant health though various mechanisms. Among 523 rhizosphere bacterial isolates of rice collected from the northern, northeastern, central and southern regions of Thailand, 107 isolates had at least two plant growth promoting properties of nitrogen fixation, indole acetic acid production, phosphate solubilization, and siderophore production were selected for testing the rapid plant growth screening method. By using growth pouch system, 32 isolates were selected based on significant growth promoting out performance of 107 tested isolates within 7 days. These 32 selected isolates were further confirmed their growth promoting property under greenhouse condition by using pot experiment. Twenty-eight out of 32 isolates (87.5%) gave similar results on significant increasing the total dry weight of 30 days-old rice seedlings which agreed with the growth pouch results. The results indicated that screening of PGPR by combining of PGPR properties test and growth pouch system is an effective method which efficiently selected PGPR isolates from a large number of tested isolates in a short period of time, using a limited space, and less labor than the previously reported methods.

Keywords: PGPR, growth pouch, rice, biofertilizer

Agricultural Sci. J.(2017) Vol. 48(1): 11–22 ว. วิทย. กษ. (2560) 48(1): 12–23

บทคัดย่อ

เชื้อไรโซแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช หรือ Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) จำนวน 523 ไอโซเลทที่แยกจากดินบริเวณรากข้าวในแหล่งปลูกข้าว ภาคเหนือ ตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง และภาคใต้ ตรวจพบว่ามีเชื้อ 107 ไอโซเลทที่มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชอย่างน้อย 2 คุณสมบัติ เช่น การตรึงไนโตรเจน การผลิตกรดอินโดลอะซีติก (IAA) การละลายสารฟอสเฟต และการผลิตสารไซเดอร์โรฟอร์ เมื่อนำมาคัดเลือกการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว ด้วยระบบถุงเพาะหรือ growth pouch คัดเลือกเชื้อ PGPR ส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวอย่างมีนัยสำคัญได้จำนวน 32 ไอโซเลท โดยใช้เวลาทดลองเพียง 7 วัน นำเชื้อที่คัดเลือกได้ทั้ง 32 ไอโซเลทไปทดสอบยืนยันการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวที่ปลูกในกระถางภายใต้สภาพโรงเรือนปลูกพืชทดลอง พบว่าให้ผลสอดคล้องกัน เชื้อจำนวน 28 ไอโซเลท จาก 32 ไอโซเลท (87.5%) ส่งเสริมให้ต้นกล้าข้าวอายุ 30 วัน มีน้ำหนักแห้งมากกว่าการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) แสดงให้เห็นว่าวิธีการคัดเลือกเชื้อ PGPR โดยใช้การตรวจคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตในห้องปฏิบัติการ ร่วมกับวิธีคัดเลือกด้วยระบบถุงเพาะเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพสูง ใช้เวลาสั้น ทำงานได้สะดวกและใช้พื้นที่ทดลองน้อย รวดเร็วกว่าวิธีการคัดเลือกเชื้อ PGPR ของข้าวที่เคยมีรายงานมาก่อน

คำสำคัญ: ไรโซแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช, ถุงเพาะ, ข้าว, ปุ๋ยชีวภาพ

บทนำ

ไรโซแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช หรือ Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) นิยามขึ้นครั้งแรกโดย Kloepper และ Schroth ในปี ค.ศ.1978 หมายถึงเชื้อแบคทีเรียบริเวณรอบรากพืชที่มีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งต่อมาพบว่าเชื้อ PGPR มีคุณสมบัติช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตกับพืชทั้งทางตรงและทางอ้อม เช่น สามารถในการตรึงไนโตรเจน ผลิตฮอร์โมนพืชกลุ่มออกซิน (auxin) จิบเบอเรลลิน (gibberellin) และไซโตไคนิน (cytokinin) ละลายธาตุอาหารพืช (Meunchang, 2016; Glick, 2012) และสร้างสารไซเดอโรฟอร์ซึ่งช่วยในการจับอนุมูลธาตุโลหะที่มีอย่างจำกัดในดินให้กับพืช นอกจากนี้เชื้อ PGPR บางสายพันธุ์ยังมีความสามารถในการควบคุมโรคพืช โดยการเป็นปฏิปักษ์โดยตรงต่อเชื้อสาเหตุโรค หรือชักนำให้พืชเกิดความต้านทานต่อโรคได้ (Glick, 2012)

เชื้อแบคทีเรียที่อาศัยบริเวณรอบรากพืช (rhizosphere soils) มีความหลากหลายสูงมาก มีทั้งเชื้อที่มีความสัมพันธ์แบบเป็นกลาง เป็นประโยชน์ หรือเป็นโทษต่อพืช (Glick, 2012) โดยทั่วไปพบเชื้อ PGPR เพียง 1–4 % จากประชากรของเชื้อแบคทีเรียรอบรากทั้งหมด (Suslow *et al*., 1979) ซึ่งการคัดเลือกเชื้อ PGPR จากที่มีรายงานก่อนหน้านี้ใช้แยกเชื้อจากดินรอบรากที่มีเชื้อเป็นจำนวนมากและนำเชื้อแต่ละไอโซเลท (isolate) ไปทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตกับพืชที่ปลูกในกระถางโดยตรง (Zahir *et al*., 2004; Duangpaeng *et al*., 2012) การทดสอบเชื้อจำนวนมากด้วยวิธีการดังกล่าวต้องใช้แรงงานเวลา ทรัพยากรที่มาก และข้อมูลที่ได้มักจะมีความแปรปรวนที่สูง

การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์ ที่จะพัฒนาวิธีการคัดเลือกเชื้อ PGPR ที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวอย่างรวดเร็ว โดยใช้วิธีคัดเลือกเชื้อที่มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโต ร่วมกับ การทดสอบเชื้อในต้นกล้าข้าวด้วยระบบถุงเพาะ (growth pouch) เพื่อให้สามารถคัดเลือกเชื้อ PGPR ที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวที่รวดเร็ว และมีประสิทธิภาพสูง

อุปกรณ์และวิธีการ

1. เชื้อไรโซแบคทีเรียจากดินบริเวณรอบรากข้าว

แยกเชื้อไรโซแบคทีเรียจำนวน 523 ไอโซเลทได้จากดินบริเวณรอบรากข้าว จากแปลงนา 9 จังหวัดใน 4 ภูมิภาค คือ ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง และภาคใต้โดยนำรากข้าวมาล้างด้วยน้ำกลั่นตัดเป็นชิ้นขนาดเล็กบดในน้ำเกลือปลอดเชื้อ (0.85% NaCl) ด้วยแท่งแก้ว และเจือจางเป็นลำดับขั้นด้วย 0.85% NaCl โดยวิธี serial dilutions เพาะเชื้อไรโซแบคทีเรียด้วยวิธี spread plate บนอาหารแข็ง 2 ชนิด ได้แก่ Jensen's medium และ King's B medium (Ahmad *et al*., 2008) จากนั้นนำตัวอย่างข้างต้นไปแยกเชื้อที่สร้างเอ็นโดสปอร์ โดยนำไปต้มที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 20 นาที (Ribeiro and Cardoso, 2012) ก่อนนำไปเพาะเชื้อบนอาหาร nutrient agar บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง นำโคโลนีเดี่ยวๆ ที่มีลักษณะที่แตกต่างกัน มาเจือจางด้วย 0.85% NaCl และแยกให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี streak plate นำเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้มาตรวจสอบคุณสมบัติที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในระดับห้องปฏิบัติการ โดยตรวจความสามารถตรึงไนโตรเจนด้วยเทคนิค polymerase chain reaction (PCR) โดยตรวจหายีน *nifH* (Gupta and Roper, 2010) ตรวจสอบการผลิต IAA โดยการเลี้ยงเชื้อในอาหารLuria Bertani (LB) ที่เติม L-tryptophan และทดสอบด้วย Salkowski's reagent โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตรเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน IAA (Ribeiro and Cardoso, 2012) ตรวจสอบคุณสมบัติในการละลายสารฟอสเฟต โดยสังเกตการเกิดบริเวณใสรอบโคโลนีของเชื้อบนอาหารแข็ง Pikovskaya (Pikovskaya, 1948) และตรวจสอบการสร้างสารไซเดอโรฟอร์ของเชื้อจากการเปลี่ยนสีของอาหาร chrome azurol S (Ahmad *et al*., 2008)

2. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อไรโซแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวโดยใช้ระบบถุงเพาะ

นำเชื้อไรโซแบคทีเรียจากรากข้าวจำนวน 523 ไอโซเลท มาคัดเลือกเชื้อที่มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชอย่างน้อย 2 ลักษณะ (Table 1) ซึ่งมีจำนวน 107 ไอโซเลท (Panyoo *et al*., 2012) นำมาจัดจำแนกเชื้อในเบื้องต้นด้วยระบบ Microflex MALDI-TOF Biotyper (Bruker Daltonik GmbH, Germany) เพื่อคัดกรองเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคร้ายแรงในมนุษย์ออกก่อน (Table 2) จากนั้นนำมาทดสอบประสิทธิภาพด้วยระบบถุงเพาะที่ได้พัฒนาวิธีการมาก่อน (Premsuriya *et al*., 2015) เตรียมเซลล์แขวนลอยเชื้อไรโซแบคทีเรียโดยการนำโคโลนีเดี่ยวของเชื้อเลี้ยงลงในอาหาร NB ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 35 °C โดยเขย่าด้วยความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาตกตะกอนเชื้อที่ความเร็ว 9,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ละลายตะกอนเชื้อด้วย phosphate buffer saline (PBS) pH7.0 ปรับความขุ่นให้มีค่า O.D. เท่ากับ 0.3 ที่ความยาวคลื่น 600 nm (Thompson *et al*., 1996)

นำเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มาล้างผ่านน้ำไหลเป็นเวลา 10 นาที ฆ่าเชื้อที่ติดมากับเมล็ดโดยแช่ในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 57 °C เป็นเวลา 15 นาที ผึ่งให้แห้งพอหมาด ฆ่าเชื้อที่ผิวโดยแช่ใน 1% sodium hypochlorite เป็นเวลา 10 นาที และใน 70% ethanol เป็นเวลา 2 นาที ล้างเมล็ดด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง นำเมล็ดข้าวที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 50 เมล็ด แช่ในเซลล์แขวนลอยเชื้อไรโซแบคทีเรีย ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นย้ายเมล็ดมาบ่มในจานเพาะเมล็ด บ่มต่อที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมงและย้ายลงในถุงเพาะ (growth pouch) ขนาด 7×11 นิ้ว (Figure 1A and 1B) ที่เติมด้วย ¼ X Hoagland's solution ปริมาตร 25 มิลลิลิตร โดยเพาะ 10 เมล็ดต่อ 1 ถุง จำนวน 4 ซ้ำในการทดสอบเชื้อแต่ละไอโซเลท เก็บถุงเพาะในกล่องพลาสติกทึบแสง (Figure 1C) บ่มที่อุณหภูมิ 32–35 °C เป็นเวลา 2 วัน และเริ่มให้รับแสงในวันที่

สามจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่ความเข้มแสงประมาณ 10,000 lux เป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน ตรวจวัดความยาวของรากและต้นในวันที่ 7 หลังการปลูก (Figure 1D) นำต้นกล้าไปอบแห้งด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 65 °C เป็นเวลา 7 วัน ชั่งเปรียบเทียบน้ำหนักแห้งของรากและต้น

3. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อไรโซแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวด้วยวิธีการปลูกในกระถาง

ปลูกเชื้อไรโซแบคทีเรียลงบนเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ตามวิธีการข้างต้น นำเมล็ดข้าวมาปลูกในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 นิ้วที่บรรจุดินนา 1 กิโลกรัม ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 10 เมล็ดต่อ 1 กระถางจำนวน 4 ซ้ำต่อเชื้อ 1 ไอโซเลท วางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (randomized complete block design; RCBD) ในสภาพโรงเรือนทดลองเปรียบเทียบน้ำหนักแห้งเมื่อต้นกล้ามีอายุ 30 วัน โดยล้างดินออกแล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 65 °C เป็นเวลา 7 วัน

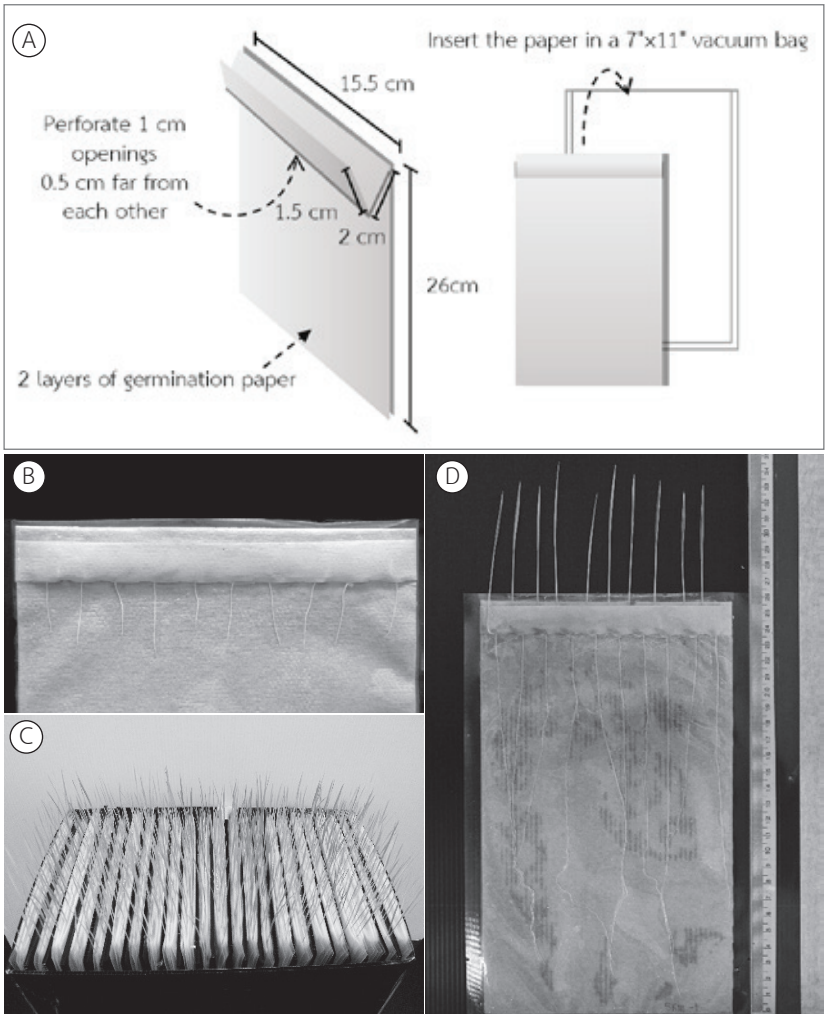

Figure 1 The modified growth pouch used in this study, (A) layout of the 7"×11" growth pouch, (B) rice seeds at 2 days after growing, (C) growth pouches packed in a container, (D) seven days-old rice seedlings in a 7"×11" growth pouch

ผลการทดลอง

ผลการคัดเลือกเชื้อไรโซแบคทีเรียจากรากข้าวโดยคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในระดับห้องปฏิบัติการ

จากการทดสอบคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่าเชื้อไรโซแบคทีเรียจำนวน 414 ไอโซเลทจาก 523 ไอโซเลท หรือประมาณ 79.16% มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญของพืชอย่างน้อยหนึ่งลักษณะ (Table 1) จำนวน 126 ไอโซเลท หรือประมาณ 24% ที่มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญของพืชอย่างน้อยสองคุณสมบัติร่วมกัน อย่างไรก็ตาม เมื่อผ่านการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำและการย้ายเชื้อเลี้ยงบนอาหาร พบว่าบางไอโซเลทไม่สามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ดี จึงได้เชื้อเพียง 107 ไอโซเลทที่จะนำไปทดสอบในระบบถุงเพาะต่อไป (Table 2) ผลการจัดจำแนกเชื้อในเบื้องต้นด้วยระบบ Microflex MALDI-TOF Biotyper พบว่าเชื้อทั้ง 107 ไอโซเลทนี้ ไม่ได้เป็นเชื้อก่อโรคร้ายแรงในมนุษย์

Table 1 Characterization of plant growth promoting properties of 523 isolates of rice rhizobacteria

Plant growth promoting properties				Number of isolates
Nitrogen fixation	IAA production	Phosphate solubilization	Siderophore production	
+	-	-	-	7
-	+	-	-	39
-	-	+	-	4
-	-	-	+	238
+	+	-	-	1
+	-	+	-	0
+	-	-	+	19
-	+	+	-	5
-	+	-	+	50
-	-	+	+	25
+	+	+	-	1
+	+	-	+	7
+	-	+	+	12
-	+	+	+	5
+	+	+	+	1
-	-	-	-	109

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อไรโซแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวโดยใช้ระบบถุงเพาะ

การทดสอบการส่งเสริมการเจริญของต้นกล้าข้าวด้วยถุงเพาะ โดยเปรียบเทียบค่าความยาวและน้ำหนักแห้งของรากและต้น พบว่าจากเชื้อเริ่มต้นจำนวน 107 ไอโซเลท สามารถคัดเลือกเชื้อที่ส่งเสริมการเจริญของต้นกล้าข้าวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติได้จำนวน 32 ไอโซเลท (Table 2) โดยเชื้อจำนวน 31 ไอโซเลทมีคุณสมบัติในการสร้าง IAA หรือ การตรึงไนโตรเจนอย่างใดอย่างหนึ่งหรือมีทั้ง 2 คุณสมบัติร่วมกัน แสดงให้เห็นว่าการสร้าง IAA และ การตรึงไนโตรเจน เป็นคุณสมบัติสำคัญในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อไรโซแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวด้วยวิธีการปลูกในกระถาง

เมื่อนำเชื้อที่คัดเลือกได้จากระบบถุงเพาะ ไปทดสอบกับต้นข้าวที่ปลูกทดสอบในกระถาง เชื้อไรโซแบคทีเรียที่คัดเลือกได้จำนวน 28 ไอโซเลทจาก 32 ไอโซเลท (87.5%) ส่งเสริมให้ต้นกล้าข้าวอายุ 30 วันที่ปลูกในสภาพโรงเรือนมีน้ำหนักแห้งมากกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (Figure 2) โดยไอโซเลทที่ทำให้ต้นกล้าข้าวมีน้ำหนักแห้งสูงสุด 3 อันดับแรกได้แก่ CR233, SKT541 และ SPR13

ผลการทดลองทั้ง 3 ขั้นตอนมีความสอดคล้องกัน โดยเชื้อที่คัดเลือกได้จากการทดสอบในถุงเพาะเกือบทั้งหมดมีคุณสมบัติในการสร้าง IAA และ/หรือ การตรึงไนโตรเจน และเมื่อนำไปปลูกทดสอบในกระถางพบว่าเชื้อส่วนใหญ่สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวในระดับโรงเรือนทดลองได้ เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพในการคัดเลือก พบว่าการตรวจคุณสมบัติในระดับห้องปฏิบัติการสามารถคัดเลือกเชื้อได้ประมาณ 24% ของจำนวนเชื้อเริ่มต้น และเมื่อนำมาใช้ร่วมกับการทดสอบในถุงเพาะสามารถคัดเลือกเชื้อได้ประมาณ 6% ของจำนวนเชื้อเริ่มต้น ซึ่งช่วยลดจำนวนไอโซเลทของเชื้อที่จะนำไปทดสอบในกระถางได้เป็นจำนวนมาก

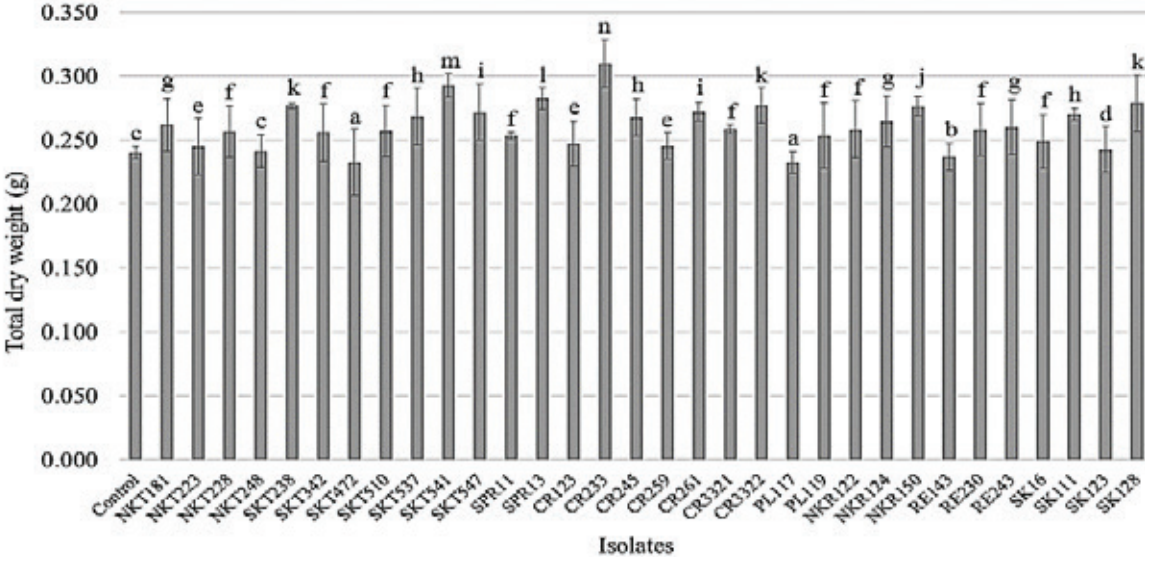

Figure 2 Effect of seed treatment with the selected PGPR isolates on the total dry weight of 30 days-old rice seedlings in potting system. Error bars represented SE of the means, same letters above the bars referred to non-significant difference according to Duncan's multiple range test at P = 0.05

Table 2 Characterization of growth promoting properties and effect on growth of rice seedling of 107 PGPR isolates

Isolate	Properties				Seven days-old of rice seedling in growth pouch*			
	N_2 fixing	IAA	Phosphate solubilization	Siderophore	Length (cm)		Weight (g)	
					Shoot	Root	Shoot	Root
Control	-	-	-	-	8.65 ± 0.59^{26}	13.08 ± 1.48^{28}	5.5 ± 0.4^{26}	2.1 ± 0.1^{22}
NKT25	-	+	+	+	7.16 ± 0.78^{49}	1.78 ± 0.16^{61}	5.0 ± 0.3^{39}	0.8 ± 0.1^{42}
NKT153	-	+	-	+	7.41 ± 0.43^{48}	16.08 ± 2.70^{14}	5.0 ± 0.4^{39}	2.1 ± 0.2^{24}
NKT181	-	+	-	+	8.62 ± 0.15^{27}	17.15 ± 0.95^{9}	5.5 ± 0.4^{27}	2.3 ± 0.2^{19}
NKT220	-	+	+	+	9.39 ± 0.37^{9}	12.65 ± 1.44^{30}	6.0 ± 0.5^{9}	2.3 ± 0.2^{18}
NKT223	-	+	-	+	9.31 ± 0.30^{13}	19.41 ± 1.38^{1}	5.4 ± 0.5^{27}	2.3 ± 0.3^{15}
NKT228	+	-	+	+	9.46 ± 0.58^{8}	13.87 ± 0.29^{24}	6.1 ± 0.3^{7}	2.4 ± 0.3^{13}
NKT240	-	-	+	+	8.87 ± 0.57^{21}	11.02 ± 2.22^{38}	5.9 ± 0.4^{13}	2.4 ± 0.1^{13}
NKT216	-	+	+	-	9.72 ± 0.71^{4}	12.18 ± 1.05^{32}	5.8 ± 0.4^{16}	2.3 ± 0.3^{18}
NKT248	+	-	-	+	9.47 ± 0.33^{8}	18.16 ± 0.30^{6}	6.3 ± 0.4^{4}	2.4 ± 0.2^{13}
NKT288	-	+	-	+	8.07 ± 0.90^{40}	9.44 ± 0.53^{47}	5.9 ± 0.5^{14}	1.9 ± 0.3^{29}
NKT274	+	+	-	+	8.46 ± 0.77^{30}	8.06 ± 1.36^{54}	5.7 ± 0.3^{19}	2.2 ± 0.2^{21}
NKT2100	-	+	-	+	9.00 ± 0.23^{18}	10.31 ± 0.89^{42}	5.1 ± 0.6^{36}	2.5 ± 0.1^{9}
NKT2105	-	-	+	+	5.47 ± 0.52^{56}	1.22 ± 0.67^{62}	3.9 ± 0.3^{49}	0.0
NKT2113	+	-	+	+	6.18 ± 0.37^{53}	1.88 ± 0.46^{61}	4.2 ± 0.2^{48}	0.9 ± 0.1^{41}
NKT2351	-	+	+	+	5.81 ± 0.95^{55}	1.89 ± 0.17^{61}	5.0 ± 0.6^{41}	0.9 ± 0.1^{41}
NKT2551	-	-	+	+	8.22 ± 1.05^{37}	8.94 ± 2.26^{48}	5.6 ± 0.6^{21}	2.0 ± 0.3^{26}
SKT24	-	+	+	-	8.29 ± 0.87^{35}	14.52 ± 3.22^{20}	5.6 ± 0.3^{24}	2.1 ± 0.1^{21}
SKT132	+	+	-	+	9.49 ± 0.22^{8}	11.02 ± 1.03^{38}	6.0 ± 0.1^{8}	2.5 ± 0.2^{9}
SKT146	-	-	+	+	8.92 ± 0.18^{21}	11.22 ± 2.30^{38}	5.8 ± 0.1^{18}	2.4 ± 0.3^{12}
SKT147	+	+	-	+	8.79 ± 0.32^{23}	11.52 ± 0.91^{35}	5.9 ± 0.4^{14}	1.8 ± 0.1^{33}
SKT231	+	+	+	-	7.90 ± 0.65^{44}	6.10 ± 0.60^{56}	5.5 ± 0.7^{25}	2.2 ± 0.1^{20}
SKT238	+	+	-	-	9.06 ± 0.47^{16}	18.46 ± 1.18^{5}	5.6 ± 0.1^{21}	2.7 ± 0.2^{1}
SKT250	-	-	+	+	8.60 ± 0.30^{28}	13.55 ± 2.14^{25}	5.9 ± 0.3^{14}	2.4 ± 0.1^{13}
SKT253	-	-	+	+	9.07 ± 0.66^{16}	13.20 ± 1.50^{27}	5.9 ± 0.4^{12}	2.2 ± 0.3^{21}
SKT342	-	+	-	+	8.78 ± 0.64^{23}	17.58 ± 1.52^{7}	5.5 ± 0.4^{27}	2.6 ± 0.3^{7}
SKT414	-	-	+	+	8.19 ± 0.81^{37}	12.95 ± 2.40^{28}	4.9 ± 0.7^{42}	2.1 ± 0.3^{22}
SKT451	-	+	-	+	7.93 ± 1.52^{43}	14.23 ± 2.74^{22}	5.8 ± 0.6^{17}	2.2 ± 0.3^{20}
SKT455	-	-	+	+	8.42 ± 0.98^{31}	9.97 ± 1.47^{45}	5.6 ± 0.6^{21}	1.9 ± 0.1^{28}
SKT457	-	+	-	+	8.05 ± 0.21^{41}	13.89 ± 2.65^{24}	5.3 ± 0.3^{32}	2.4 ± 0.1^{12}
SKT472	+	+	-	+	8.82 ± 0.61^{22}	16.34 ± 2.88^{12}	5.6 ± 0.5^{21}	2.6 ± 0.3^{6}

Isolate	Properties				Seven days-old of rice seedling in growth pouch*			
	N_2 fixing	IAA	Phosphate solubilization	Siderophore	Length (cm)		Weight (g)	
					Shoot	Root	Shoot	Root
SKT510	+	+	+	-	9.68 ± 0.30[5]	15.77 ± 1.64[16]	6.2 ± 0.4[5]	2.3 ± 0.2[17]
SKT523	-	-	+	+	8.28 ± 0.42[36]	10.08 ± 1.17[43]	5.3 ± 0.2[31]	1.9 ± 0.2[28]
SKT528	-	-	+	+	7.73 ± 0.08[46]	10.05 ± 0.82[44]	5.5 ± 0.1[27]	2.3 ± 0.2[17]
SKT537	-	+	-	+	9.39 ± 0.51[9]	13.71 ± 2.62[25]	6.4 ± 0.4[2]	2.5 ± 0.2[8]
SKT541	+	+	-	+	8.40 ± 0.31[33]	17.47 ± 3.18[8]	5.4 ± 0.4[28]	2.6 ± 0.4[5]
SKT547	-	+	-	+	9.16 ± 0.43[16]	16.65 ± 1.80[11]	6.1 ± 0.4[8]	2.6 ± 0.1[6]
SKT553	-	-	+	+	8.66 ± 0.43[26]	14.09 ± 2.50[23]	5.7 ± 0.5[19]	2.2 ± 0.1[19]
SKT571	+	+	+	-	7.70 ± 0.50[47]	10.5 ± 0.30[42]	4.6 ± 0.2[46]	2.0 ± 0.3[27]
SPR11	-	+	-	+	9.17 ± 0.32[16]	14.46 ± 2.03[21]	5.8 ± 0.2[15]	2.5 ± 0.1[8]
SPR13	-	+	-	+	9.27 ± 0.20[14]	16.49 ± 1.29[12]	6.3 ± 0.2[3]	2.6 ± 0.1[6]
SPR21	-	+	-	+	8.92 ± 0.34[21]	11.04 ± 1.40[38]	6.2 ± 0.4[6]	2.2 ± 0.3[19]
SPR210	-	+	-	+	9.14 ± 0.32[16]	13.57 ± 1.59[25]	6.5 ± 0.2[1]	2.2 ± 0.2[19]
BR15	-	+	-	+	8.14 ± 0.71[38]	11.91 ± 0.75[34]	4.8 ± 0.3[43]	1.5 ± 0.1[38]
BR16	-	+	-	+	9.33 ± 0.10[12]	11.33 ± 2.41[37]	5.6 ± 0.2[22]	2.2 ± 0.2[19]
BR18	+	-	+	+	8.47 ± 0.62[30]	15.13 ± 1.36[18]	5.1 ± 0.7[38]	1.9 ± 0.1[31]
BR112	-	+	-	+	8.60 ± 0.37[28]	10.80 ± 2.46[39]	5.3 ± 0.4[32]	2.2 ± 0.2[19]
BR114	-	+	+	+	9.34 ± 0.40[11]	8.49 ± 1.44[51]	5.7 ± 0.2[20]	2.2 ± 0.3[19]
BR115	-	-	+	+	7.18 ± 0.27[49]	8.63 ± 0.81[50]	4.6 ± 0.6[45]	1.6 ± 0.1[37]
BR116	-	+	-	+	8.34 ± 0.31[35]	10.34 ± 0.81[42]	5.3 ± 0.3[30]	2.1 ± 0.2[22]
BR120	+	-	+	+	6.92 ± 0.51[50]	4.28 ± 1.42[59]	4.4 ± 0.2[47]	0.9 ± 0.4[41]
BR124	+	-	+	+	9.37 ± 0.48[10]	16.02 ± 2.34[15]	5.5 ± 0.8[27]	2.1 ± 0.3[23]
BR130	-	+	-	+	8.88 ± 0.08[21]	10.56 ± 0.93[40]	5.2 ± 0.1[33]	1.9 ± 0.1[28]
BR136	+	-	-	+	9.00 ± 0.51[18]	14.20 ± 2.96[22]	5.1 ± 0.2[37]	2.3 ± 0.4[15]
BR159	-	+	-	+	8.42 ± 0.73[31]	10.57 ± 1.62[40]	5.0 ± 0.2[40]	2.1 ± 0.3[25]
CR114	-	+	-	+	8.73 ± 0.94[24]	8.29 ± 1.68[53]	5.4 ± 0.4[28]	1.8 ± 0.3[31]
CR123	-	+	-	+	9.44 ± 0.3[39]	14.46 ± 2.10[21]	5.7 ± 0.2[20]	2.4 ± 0.2[11]
CR125	+	-	-	+	8.92 ± 0.18[21]	14.54 ± 1.24[19]	5.5 ± 0.4[25]	2.1 ± 0.3[22]
CR127	+	+	-	+	8.09 ± 0.42[39]	11.49 ± 0.83[36]	5.3 ± 0.3[29]	2.2 ± 0.3[19]
CR152	-	+	-	+	8.58 ± 0.30[28]	8.74 ± 0.49[49]	5.2 ± 0.1[34]	1.7 ± 0.2[34]
CR153	-	+	-	+	8.59 ± 0.15[28]	9.23 ± 1.59[47]	5.2 ± 0.2[34]	2.0 ± 0.1[27]
CR157	-	+	-	+	8.60 ± 0.58[27]	16.00 ± 1.45[15]	4.7 ± 0.4[44]	2.1 ± 0.3[24]
CR161	-	-	+	+	8.72 ± 0.24[24]	16.35 ± 0.75[12]	5.5 ± 0.6[27]	2.1 ± 0.1[23]
CR174	-	+	-	+	8.54 ± 1.02[29]	12.48 ± 2.33[31]	5.6 ± 0.8[22]	1.9 ± 0.4[31]
CR232	-	+	-	+	8.41 ± 0.23[32]	9.90 ± 1.57[46]	5.1 ± 0.3[38]	2.1 ± 0.1[23]

Isolate	Properties				Seven days-old of rice seedling in growth pouch*			
	N_2 fixing	IAA	Phosphate solubilization	Siderophore	Length (cm)		Weight (g)	
					Shoot	Root	Shoot	Root
CR233	-	+	-	+	9.20 ± 0.24[15]	17.59 ± 1.24[7]	6.0 ± 0.5[10]	2.4 ± 0.2[12]
CR238	-	+	-	+	8.44 ± 0.72[31]	12.50 ± 3.40[31]	5.3 ± 0.4[29]	2.4 ± 0.3[16]
CR242	-	+	-	+	8.32 ± 0.30[35]	10.37 ± 3.61[42]	4.7 ± 0.1[44]	2.0 ± 0.2[27]
CR245	-	+	-	+	8.86 ± 0.20[21]	13.51 ± 0.90[26]	5.8 ± 0.2[18]	2.7 ± 0.1[3]
CR258	-	-	+	+	6.41 ± 0.21[52]	5.84 ± 1.33[57]	3.3 ± 0.4[52]	1.5 ± 0.2[39]
CR259	-	-	+	+	8.63 ± 0.67[27]	19.12 ± 2.19[2]	5.4 ± 0.5[28]	2.4 ± 0.4[13]
CR261	-	+	-	+	8.96 ± 0.24[20]	15.52 ± 1.16[16]	5.7 ± 0.1[18]	2.4 ± 0.2[14]
CR312	-	+	-	+	8.96 ± 0.85[20]	11.78 ± 1.95[34]	5.9 ± 0.5[13]	2.0 ± 0.1[20]
CR317	-	+	-	+	9.31 ± 0.20[13]	11.46 ± 2.21[36]	5.4 ± 0.4[27]	1.9 ± 0.5[29]
CR318	-	-	+	+	8.95 ± 0.45[20]	15.12 ± 1.70[18]	5.3 ± 0.9[31]	2.3 ± 0.1[16]
CR364	+	+	+	+	8.87 ± 0.20[21]	8.58 ± 1.76[50]	5.1 ± 0.4[35]	1.9 ± 0.2[29]
CR3321	+	-	-	+	9.13 ± 0.47[16]	16.12 ± 0.55[13]	5.9 ± 0.7[21]	2.2 ± 0.1[19]
CR3322	+	-	-	+	9.46 ± 0.2[58]	16.00 ± 2.34[15]	6.1 ± 0.4[8]	2.7 ± 0.3[2]
PL111	+	-	-	+	8.64 ± 0.34[26]	10.41 ± 0.69[42]	5.5 ± 0.2[26]	2.2 ± 0.1[21]
PL117	-	+	-	+	8.67 ± 0.49[26]	15.85 ± 0.76[16]	5.4 ± 0.1[28]	2.4 ± 0.1[14]
PL119	+	+	-	+	8.99 ± 0.37[19]	18.94 ± 1.03[3]	5.5 ± 0.2[26]	2.5 ± 0.3[10]
PL120	-	+	-	+	8.86 ± 0.30[21]	13.06 ± 1.55[28]	5.6 ± 0.4[22]	2.6 ± 0.1[4]
PL121	-	-	+	+	9.30 ± 0.31[13]	6.92 ± 1.43[55]	5.4 ± 0.5[28]	1.9 ± 0.2[30]
PL154	-	+	-	+	8.19 ± 0.18[37]	15.11 ± 1.20[18]	5.3 ± 0.3[29]	2.4 ± 0.1[14]
PL155	+	-	-	+	8.04 ± 0.83[42]	8.60 ± 2.18[50]	4.4 ± 0.4[47]	1.6 ± 0.1[36]
NKR12	+	+	-	+	9.04 ± 0.41[17]	10.17 ± 0.43[43]	5.4 ± 0.5[28]	2.2 ± 0.1[19]
NKR19	+	-	+	+	7.17 ± 0.66[49]	5.73 ± 1.70[58]	4.5 ± 0.2[47]	1.2 ± 0.3[40]
NKR26	+	-	-	+	9.08 ± 0.13[16]	12.08 ± 1.82[33]	5.7 ± 0.2[19]	2.3 ± 0.1[18]
NKR112	+	-	-	+	8.17 ± 0.28[37]	11.27 ± 0.91[38]	4.6 ± 0.2[46]	1.9 ± 0.1[30]
NKR113	+	-	-	+	7.79 ± 0.56[45]	12.71 ± 3.21[30]	5.0 ± 0.6[39]	2.0 ± 0.2[27]
NKR122	-	+	-	+	9.63 ± 0.32[6]	17.04 ± 1.13[10]	5.6 ± 0.2[21]	2.4 ± 0.1[13]
NKR124	+	-	-	+	9.96 ± 0.35[2]	15.26 ± 4.23[17]	5.8 ± 0.1[16]	2.2 ± 0.3[19]
NKR150	+	-	+	+	9.28 ± 0.43[14]	17.6 ± 2.00[7]	5.5 ± 0.3[27]	2.5 ± 0.1[9]
RE16	-	-	+	+	8.36 ± 0.09[34]	11.66 ± 1.68[35]	4.7 ± 0.2[44]	2.0 ± 0.2[28]
RE119	-	+	-	+	5.84 ± 0.28[55]	3.14 ± 0.66[61]	3.2 ± 0.3[53]	1.2 ± 0.1[40]
RE143	+	-	-	+	9.67 ± 0.90[5]	13.74 ± 1.88[25]	5.9 ± 0.6[13]	2.3 ± 0.2[19]
RE230	-	-	+	+	9.55 ± 0.24[7]	18.71 ± 1.13[4]	5.8 ± 0.4[18]	2.5 ± 0.1[8]
RE239	-	-	+	+	8.70 ± 0.25[25]	8.44 ± 1.85[52]	5.7 ± 0.5[19]	1.8 ± 0.2[32]
RE240	+	-	+	+	7.94 ± 0.44[43]	6.76 ± 0.20[55]	5.3 ± 0.3[29]	1.7 ± 0.2[35]

Isolate	Properties				Seven days-old of rice seedling in growth pouch*			
	N_2 fixing	IAA	Phosphate solubilization	Siderophore	Length (cm)		Weight (g)	
					Shoot	Root	Shoot	Root
RE243	+	-	+	+	9.95 ± 0.74[3]	15.07 ± 1.00[18]	5.6 ± 0.5[23]	2.6 ± 0.2[6]
RE245	-	-	+	+	5.99 ± 0.81[54]	3.54 ± 1.17[60]	3.6 ± 0.2[51]	0.2 ± 0.2[43]
RE2771	+	-	+	+	9.26 ± 0.27[14]	10.54 ± 1.18[41]	5.8 ± 0.2[17]	2.2 ± 0.1[20]
RE2772	+	-	-	+	6.70 ± 0.73[51]	2.96 ± 1.17[61]	3.9 ± 0.1[50]	0.9 ± 0.2[41]
SK12	-	+	-	+	8.42 ± 0.32[31]	14.16 ± 1.38[23]	5.3 ± 0.4[30]	2.0 ± 0.3[24]
SK16	+	-	-	+	9.67 ± 0.33[5]	13.66 ± 2.50[25]	5.8 ± 0.2[16]	2.5 ± 0.1[9]
SK111	+	-	-	+	9.69 ± 0.38[5]	17.68 ± 1.83[7]	5.7 ± 0.3[20]	2.6 ± 0.2[6]
SK123	-	+	-	+	9.98 ± 0.37[1]	17.94 ± 1.64[7]	6.0 ± 0.4[11]	2.4 ± 0.0[12]
SK128	+	-	-	+	9.72 ± 0.55[4]	18.24 ± 0.86[5]	5.8 ± 0.4[17]	2.5 ± 0.1[7]

* Values are means of four replications ± SD; different upper case numbers indicate significant differences according to DMRT (P≤0.05); The isolates highlighted in shaded zone ( ) are the selected isolates.

วิจารณ์

วิธีการคัดเลือกเชื้อ PGPR โดยระบบถุงเพาะ ซึ่งได้นำระบบทดสอบในถุงเพาะที่นิยมใช้ ในการศึกษาด้านสรีรวิทยาของพืชและปฏิสัมพันธ์ของพืชกับจุลินทรีย์ (Caetano-Anollés and Gresshoff, 1991; Levine and Piastuch, 2005) มาใช้ในการทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีคัดเลือกอื่นที่มีรายงานก่อนหน้านี้ พบว่าเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพสูง โดยสามารถใช้ทดสอบคัดเลือกเชื้อ PGPR ของข้าวจากเชื้อที่แยกได้ทั้งหมด 523 ไอโซเลทใช้เวลาการทดสอบและเก็บผลการทดลองเพียง 7 วัน โดยใช้ทรัพยากรที่น้อยกว่าวิธีอื่น ๆ การคัดเลือกเชื้อ PGPR ส่งเสริมการเจริญ เติบโตของข้าว โดยตรวจคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตในห้องปฏิบัติการ ก่อนการนำมาทดสอบการเจริญเติบโตให้ผลในการคัดเลือกเชื้อ PGPR ที่ดี โดยสอดคล้องกับที่มีรายงานก่อนหน้านี้ (Duangpaeng *et al*., 2012; Lucas *et al*., 2014) โดยที่ Meunchang (2016) รายงานถึงเชื้อไรโซแบคทีเรีย PGPR ที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวในนาข้าวได้ พบว่ามีคุณสมบัติในการละลายฟอสเฟตที่ตกค้างในดิน ตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ และสามารถผลิตฮอร์โมนพืชทำให้ช่วยส่งเสริมการเจริญ โดยเฉพาะรากข้าวที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนได้ ดังนั้นเมื่อนำการคัดเลือกโดยตรวจคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อ ร่วมกับวิธีคัดเลือกด้วยระบบถุงเพาะจึงเป็นวิธีการที่รวดเร็ว มีประสิทธิภาพสูงในการคัดเลือกเชื้อ PGPR ทดสอบได้ง่าย ใช้พื้นที่น้อย และสะดวกในการเก็บข้อมูลรวดเร็วกว่าวิธีการคัดเลือกเชื้อ PGPR ของข้าวที่เคยมีรายงานมาก่อนนอกจากนี้ระบบถุงเพาะยังสามารถทำงานร่วมกับโปรแกรมวิเคราะห์ภาพ ทำให้ตรวจวัดลักษณะต่างๆของราก เช่น ความยาวและจำนวนการแตกรากแขนงได้อย่างละเอียดและรวดเร็ว

(Vieira *et al*., 2008) เนื่องจากการทดลองนี้ใช้แผ่นกระดาษซับสารอาหาร เป็นกระดาษสีขาว จึงมีค่าคอนทราส (contrast) ที่ต่ำ ทำให้ไม่สามารถตรวจวัดรากโดยใช้ข้อมูลภาพถ่ายดิจิตอลได้ ซึ่งหากเปลี่ยนสีของกระดาษซับสารให้มีสีเข้ม จะทำให้สามารถวิเคราะห์ลักษณะของราก จากภาพถ่ายด้วยโปรแกรมฯ ได้ ซึ่งจะทำให้ผลการทดลองมีความละเอียดและรวดเร็วมากยิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ภายใต้ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (Ag-BIO/PERDO–CHE) กระทรวงศึกษาธิการ รหัสวิจัย PERDO/001/56–001,โครงการวิจัยเรื่อง “ผลของการเปลี่ยนแปลงภูมิอากาศต่อโรคอุบัติใหม่และโรคอุบัติซ้ำของข้าวในประเทศไทย” รหัสวิจัย PERDO/2554–04 และ ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประเภทบัณฑิตศึกษา ประจำปี 2557 ที่มอบให้กับ น.ส. วราภรณ์ ปานอยู่ ที่คณะผู้วิจัยฯ ขอขอบพระคุณอย่างสูง

เอกสารอ้างอิง

Ahmad, F., I. Ahmad and M.S. Khan. 2008. Screening for free–living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. Microbiol. Res. 163: 173–181.

Caetano-Anollés, G. and P.M. Gresshoff. 1991. Alfalfa controls nodulation during the onset of rhizobium-induced cortical cell division. Plant Physiol. 95: 366–373.

Duangpaeng, A., P. Phetcharat, S. Chanthapho, N. Boonkantong and N. Okuda. 2012. The study and development of endophytic bacteria for enhancing organic rice growth. Procedia Engineering 32: 172–176.

Glick, B.R. 2012. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. Scientifica2012, article ID.963401, 15 pages; http//dx.doi.org/10.6040/2012/963401.

Gupta, V.V.S.R. and M.M. Roper. 2010. Protection of free–living nitrogen-fixation bacteria within the soil matrix. Soil Tillage Res. 109: 50–54.

Kloepper, J.W. and M.N. Schroth. 1978. Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. *In* Proceedings of the 4th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria. Angers,France. pp 879–882.

Levine, H.G. and W.C. Piastuch. 2005. Growth patterns for etiolated soybeans germinated under space flight conditions. Adv. Space. Res. 36: 1237–1243.

Lucas, J.A., J. García–Cristobal, A. Bonilla B. Ramos and J. Gutierrez-Ma~nero. 2014. Beneficial rhizobacteria from rice rhizosphere confers high protection against biotic and abiotic stress inducing systemic resistance in rice seedlings. Plant Physiol. Biochem. 82: 44–53.

Meunchang, P. 2016. Reduction of rice production cost by biofertilizer. Dailynews online March 26, 2016. Available Source: www.dailynews.co.th/agriculture/387802, April 26, 2016. (in Thai)

Panyoo, W., S. Patarapuwadol and W. Kositratana. 2012. Screening of diazotrophic bacteria from rice fields and identification by MALDI-TOF mass spectrometry. *In* The International Conference on Tropical and Sub–Tropical Plant Diseases 2012 (TPS 2012). Chiang Mai, Thailand. p. 56.

Pikovskaya, R.I. 1948. Mobilization of phosphorus in soil in connection with vital activity of some microbial species. Microbiology 17: 362–370.

Premsuriya, J., W. Panyoo, S. Patarapuwadol and W. Kositratana. 2015. Development of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) screening system for rice. *In* Proceeding of the 12th National Plant Protection Conference. Chiang Rai, Thailand. pp.139–146.

Ribeiro, C.M. and E.J. Cardoso. 2012. Isolation, selection and characterization of root-associated growth promoting bacteria in Brazil pine (*Araucaria angustifolia*). Microbiol. Res. 167: 69–78.

Suslow, T.V., J.W. Kloepper, M.N. Schroth and T.J. Burr. 1979. Beneficial bacteria enhance plant growth. Calif. Agric. 33: 15–17.

Thompson, D.C., B.B. Clarke and D.Y. Kobayashi. 1996. Evaluations of bacterial antagonist for reduction of summer patch symptoms in Kentucky blue grass. Plant Dis. 80: 856–862.

Vieira, R.F, J.E.S. Carneiro and J.P. Lynch. 2008. Root traits of common bean genotypes used in breeding programs for disease resistance. Pesqui. Agropecu. Bras. 43: 707–712.

Zahir, Z.A., M. Arshad and W.T. Frankenberger. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture. Adv. Agron. 81: 97–168.