



Ministry of Agriculture, Livestock and Irrigation
Department of Agriculture
Horticulture and Plant Biotechnology Division
Plant Biotechnology Center



**Effect of Rhizobium from the Root Nodules of
Sunnhemp (*Crotalaria juncea* L.) on Greengram
(*Vigna radiata*)**

Presented by

Thae Ei Khaing, May Hsu Myat Paing, Myat Mon Soe, Aye Sandar
Aung, Htay Htay Aung, Nwe Nwe Htwe, Aye Min

January, 27, 2021

Introduction

- **Green manuring**
 - can help increase soil organic matter, improve water holding capacity ,and decreases soil loss by erosion
- **Leguminous green manure crops**
 - biological source of nitrogen (N) are appealing to organic growers who often rely on more expensive N sources
 - low-cost component of soil fertility management
- **Nodulation bacteria**
 - live in nodules on the roots of legumes
 - take nitrogen gas from the air and convert it to a form plants can use

Green Manure Crops



Sunnhemp



Lpil-ipil



Sesbania



Touch-me-not



Cow pea



Green gram



Black gram

Data source: Soil Science Section, DAR



သစ်စိမ်းပြေညှာ ပင် ပျိုးအလိုက် ပါဝင်သော
အာဟာရဓာတ် ရာခိုင်နှုန်း

ပျိုး	နိုက်ထရိုဂျင် %	ဓာတုဓာတ် %	ဖိုတက်ရှ် %
ပိုက်ဆံလျှော်	၃. ၀၈	၀. ၄၅	၃. ၄၇
ဆောစကိုင်း	၂. ၃၀	၀. ၂၀	၀. ၅၆
ညဲ	၃. ၂၂	၀. ၂၈	၀. ၉၅
Mimosa ထိကရုန်း	၂. ၆၁	၀. ၃၀	၀. ၄၉
ပဲလွမ်း	၂. ၇၀	၀. ၅၀	၀. ၂၀
ပဲတီးစိမ်း	၂. ၃၀	၀. ၅၀	၀. ၂၀
မတ်ပဲ	၀. ၀၅	၀. ၃၅	၀. ၂၀
Gliricidia	၂. ၅၇	၀. ၁၈	၀. ၆၅
ကောက်မိုး	၀. ၉၄	၀. ၀၅	၀. ၇၆
စပါးခွံ	၀. ၅၉	၀. ၀၇	၀. ၁၆

Source : Soil Science Section : Lab data



2/25/2023

စိုက်ပျိုးရေးသုတေသနဦးစီးဌာန၊
မြေဆီလွှာ၊ ရေအသုံးချရေး နှင့် စိုက်ပျိုးရေးအင်ဂျင်နီယာဌာနခွဲ၊
မြေဆီလွှာဌာနစု။

ထယ်ထိုးနစ်မြုပ်ချိန်

ပိုက်ဆံလျှော် နှင့် အခြားသစ်စိမ်းပင်များကို သစ်စိမ်း
မြေညှာအဖြစ် အသုံးပြုမည်ဆိုပါက စိုက်ပျိုးထားရှိပြီး
ထယ်ထိုးနစ်မြုပ်သော အချိန်သည် အထူးအရေးကြီးပါ
သည်။ သက်တမ်းကြာလေ အထွက်ပမာဏ ပိုမိုများလာ
လေဖြစ်သော်လည်း အရိုး၊ အကိုင်းနှင့် ပင်စည်များ ရင့်မာ
လွန်းသည်အထိ စောင့်ဆိုင်း၍ ထယ်ထိုးနစ်မြုပ်ပါက
ဆွေးမြေ့စေရန် အချိန်ပိုမိုကြာမြင့်နိုင်မည် ဖြစ်သည်။
မြေဆီလွှာဌာနစု၏ သုတေသနပြု တွေ့ရှိချက်များအရ
သစ်စိမ်းပြေညှာပင်များအား အကောင်းဆုံး ထယ်ထိုး
နစ်မြုပ်ချိန်သည် အပင်အသက် (၄၀ မှ ၄၅) ရက်သား
အချိန်ဖြစ်ပါသည်။ ထယ်ထိုးနစ်မြုပ်ထားပြီး (၁၀ မှ ၁၄)
ရက်အကြာတွင် ကောင်းစွာ ဆွေးမြေ့ပြီးမှသာလျှင် ပင်ပ
စိုက်ပျိုးမည့် သီးနှံကို စိုက်ပျိုးရပါမည်။



သစ်စိမ်းပြေညှာ ပင် အပျိုးပျိုးတွင်
ထယ်ထိုးနစ်မြုပ်သော အပင်သက်တမ်း အပျိုးပျိုးအလိုက်
ပြေမှ နိုက်ထရိုဂျင်ဓာတ် ရရှိမှု အခြေအနေ

သစ်စိမ်းပင်	ထယ်ထိုး သည့် အပင်ရက် သား	ပြေမှရရှိမည့် အာဟာရဓာတ် ပေါင်/ဧက		
		နိုက်ထရို ဂျင်	ဓာတုဓာ ရပ်စ်	ဖို တက်ရှ်
ပိုက်ဆံလျှော်	၄၅	၈၆	၁၁	၄၈
ပိုက်ဆံလျှော်	၆၅	၄၂	၈	၁၉
ပဲလွမ်း	၄၅	၇၄	၁၁	၂၈
ပဲလွမ်း	၇၅	၃၀	၇	၁၅
မတ်ပဲ	၄၅	၅၆	၁၀	၂၅
မတ်ပဲ	၇၅	၃၆	၅	၁၂

Source : Soil Science Section : Lab data



Sunnhemp *Crotalaria juncea* L.

Family - leguminosae

Genus - *Crotalaria*

Species - *juncea*

- annual shrub , tropical or sub-tropical plant
- fix nitrogen-60 to 80 kg or more per hectare
- used for green manure, fiber, fodder and biomass
- Now, widely grown in tropic and subtropical agricultural system for its usefulness as a cover crop and green manure

Sunnhemp's nodulation

- establishes symbiotic associations with nitrogen-fixing bacteria belonging to the two genera *Bradyrhizobium* and *Methylobacterium*
(Doignon-Bourcier F, et al.,2000) and (Sy A, et al.,2001)
- *Rhizobium leguminosorum* and *Mesorhizobium thioautotrophicum* were identified in India.
(B. Singha, P. Das and P. B. Mazumder.,2013)

Objectives

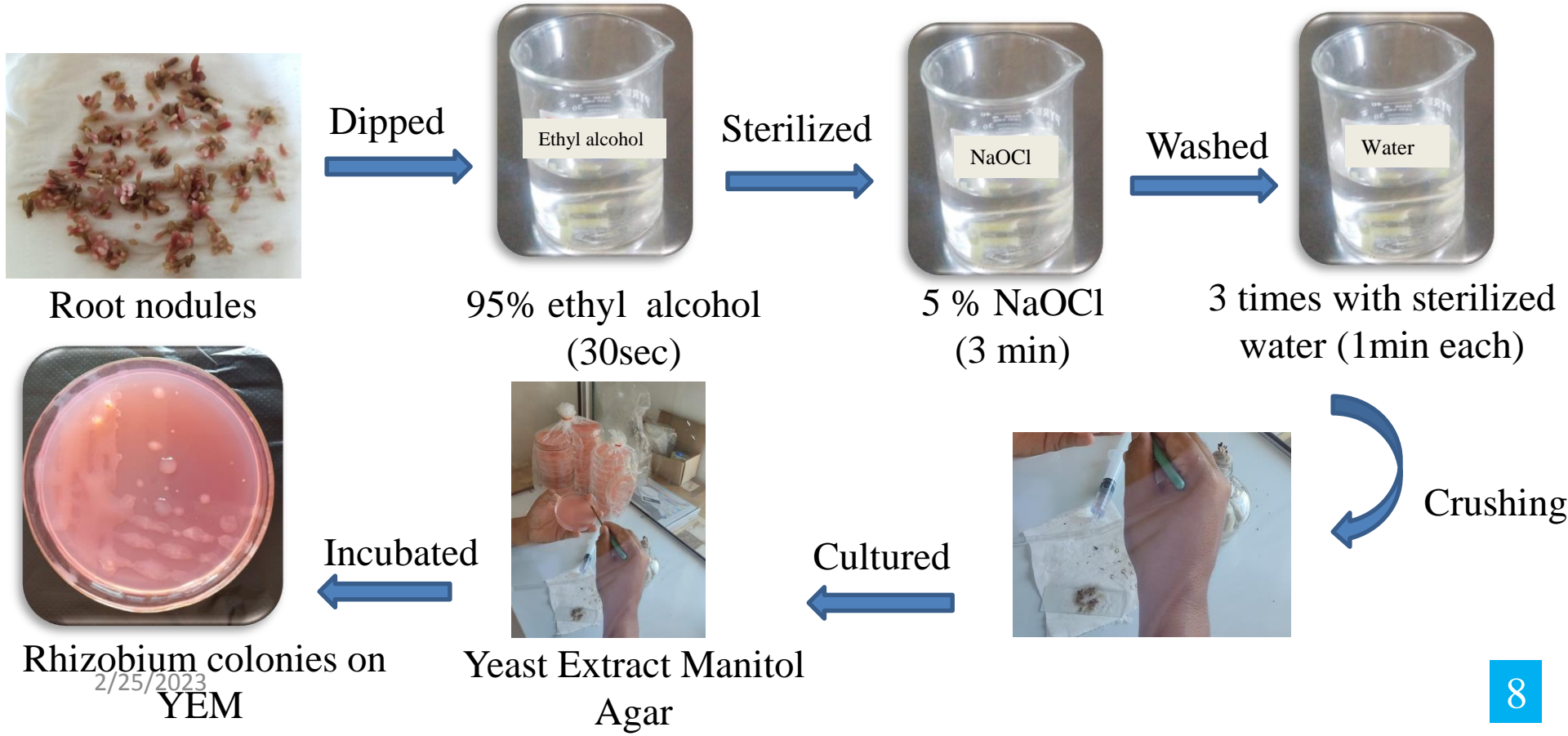
- To isolate the rhizobia bacteria from the rhizosphere of sunnhemp
- To obtain the information regarding the cross infection ability of some rhizobial strains obtained from the nodules of sunnhemp to infect greengram

Materials and Methods

➤ Collection of sample

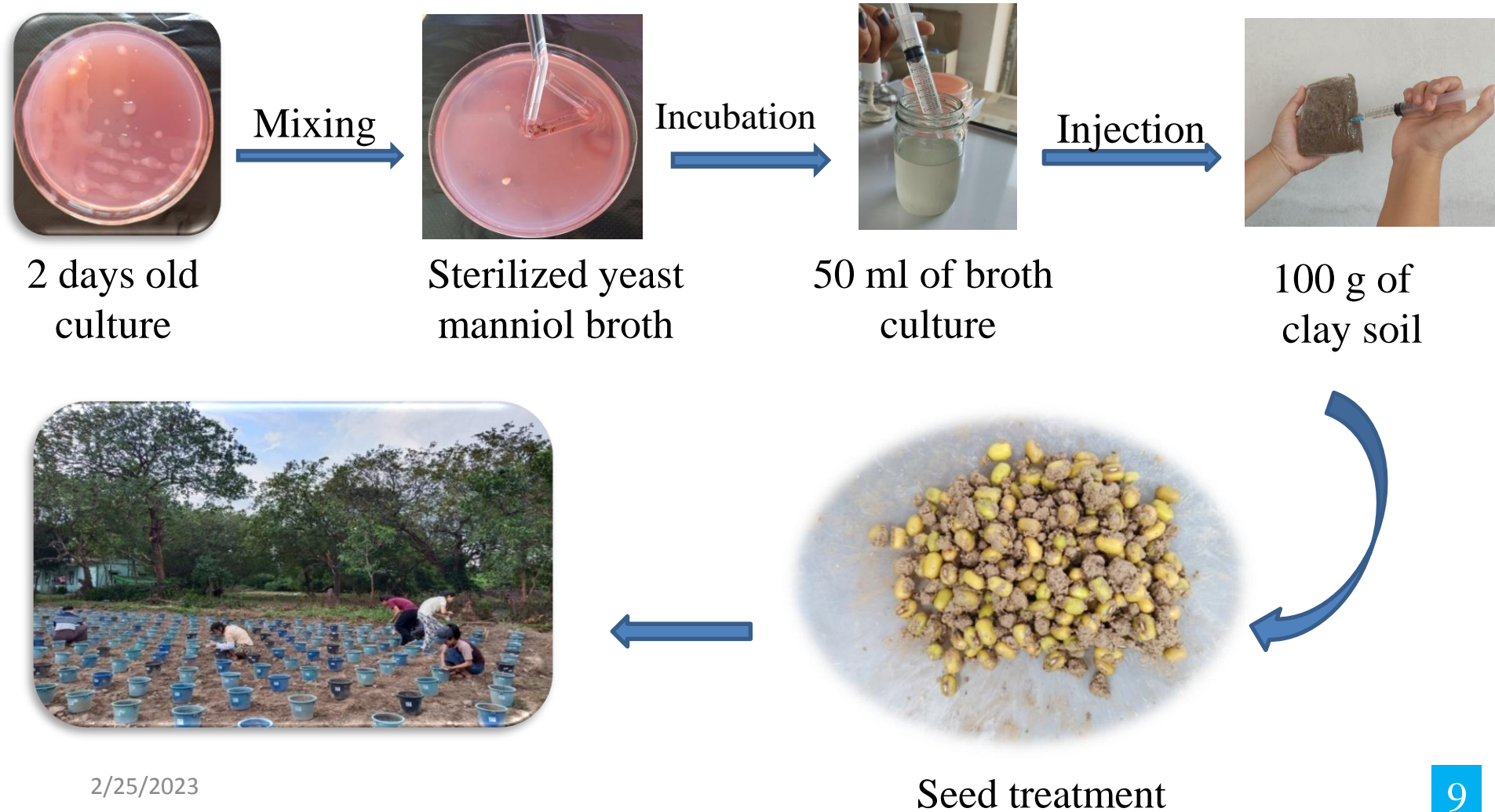
Root nodules of *Crotalaria juncea* L. were collected from Plant Biotechnology Center's field

➤ Isolation of sunnhemp's nodulating rhizobia



Materials and Methods

- **Gram Staining Reaction** - crystal violet, iodine solution, safranin
- **Preparation of carrier material for seed treatment**



Materials and Methods

- Experimental site - Plant Biotechnology Center (PBC) (pot expt.)
- Duration - September - November, 2020
- Design - RCB with 4 replications
- Varieties - Yezin -14
- Treatments
 - T₁**- Seed treatment with rhizobium from greengram
(check isolate)
 - T₂**- Seed treatment with rhizobium from sunnhemp
 - T₃**- Seed treatment with rhizobium from sunnhemp
+ inoculation at 7 days interval (1st time)
 - T₄**- Seed treatment with rhizobium from sunnhemp
+ inoculation at 7 days interval (2nd time)
 - T₅** - Control

Data Recording (at 30 DAS)

- Nodules on tap root
- Nodulation pattern
- Shoot dry weight (SDW)
- Symbiotic effectiveness (SE%)

$$\text{SE \%} = \frac{\text{SDW of inoculated plants}}{\text{SDW of un-inoculated plants}} \times 100 \%$$

(Beck et al., 1993)

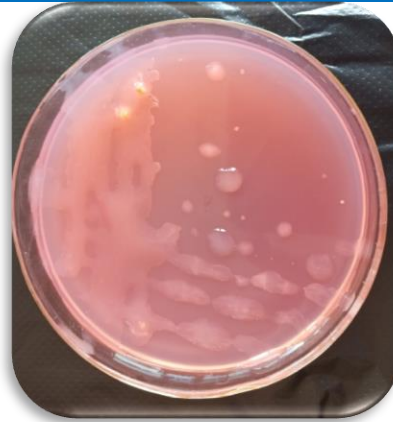
Statistical analysis

- Statistix (Version 8.0)
- Mean comparison - LSD at 5% level

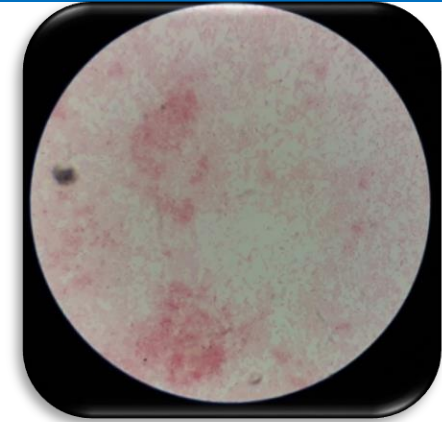
Results and Discussion



Root nodules of
Sunnhemp



Colonies of nodulation bacteria
from sunnhemp on YMA



Gram staining of nodulation
bacteria from sunnhemp



Pot experiment

Results



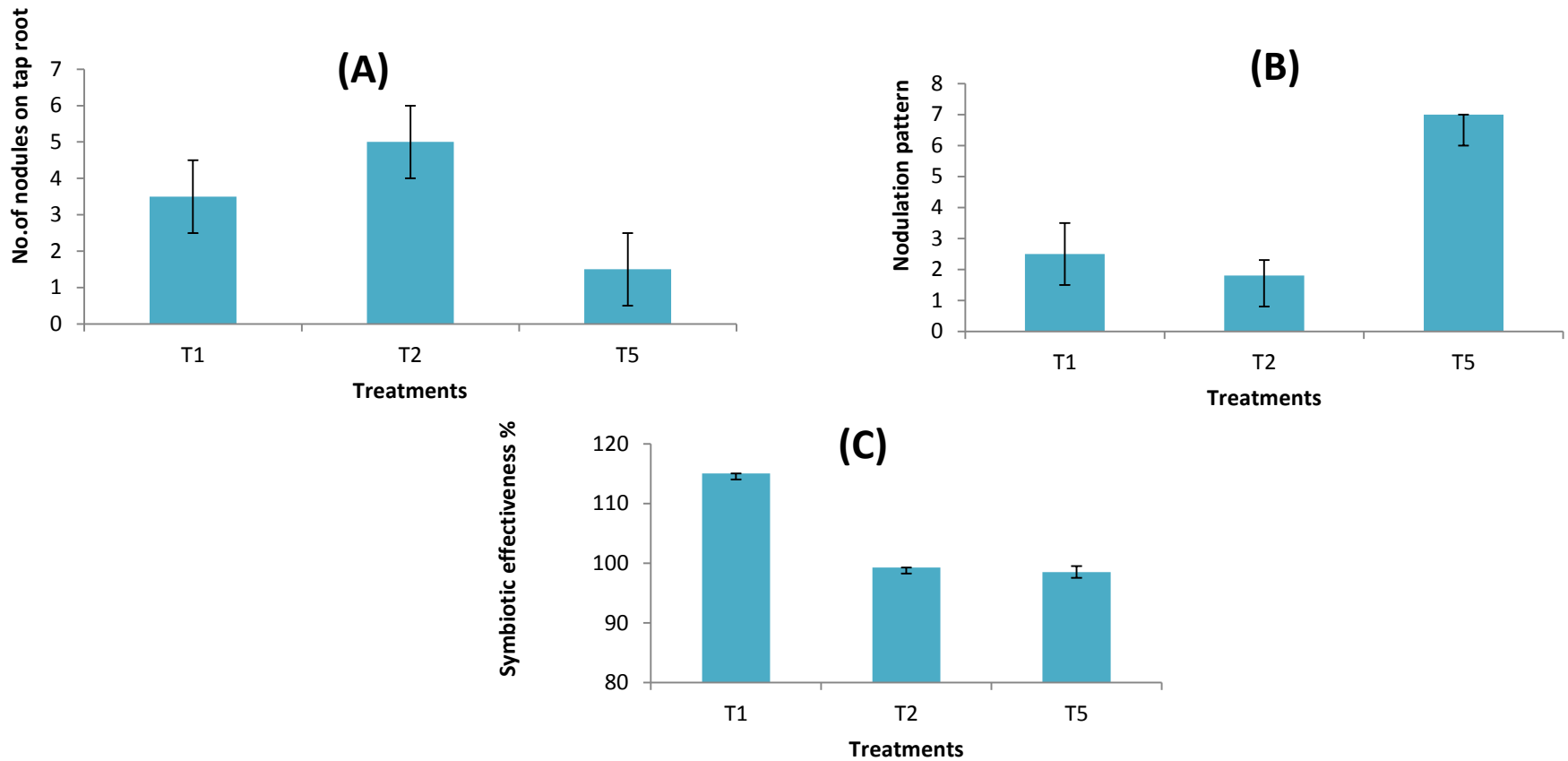
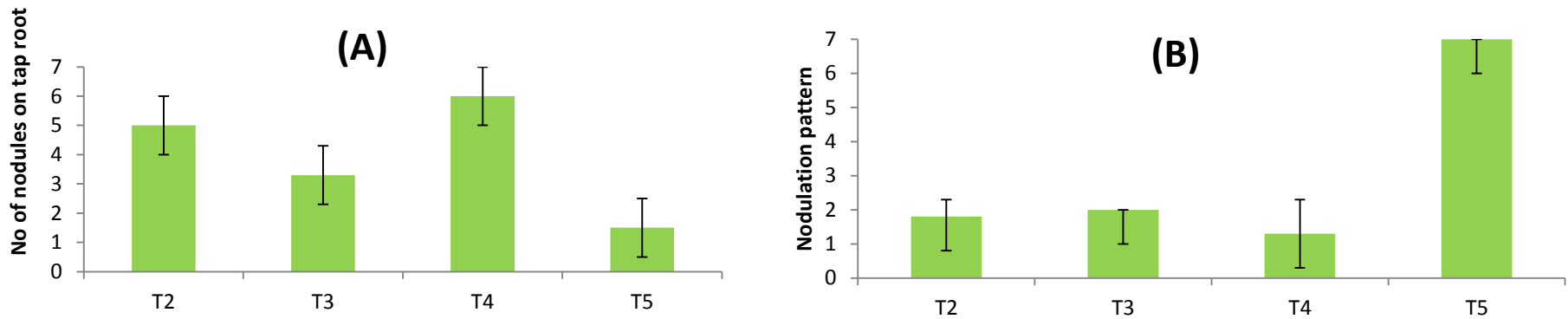


Figure 1; Effect of seed treatment on (A) No. of nodules on tap root . (B) Nodulation pattern (C) Symbiotic Effectiveness %

T₁- Seed treatment with rhizobium from greengram (check isolate)

T₂- Seed treatment with rhizobium from sunnhemp

T₅- Control



➤ The nodules were increased due to inoculation application
(Ramaswami and Oblisami (1986))

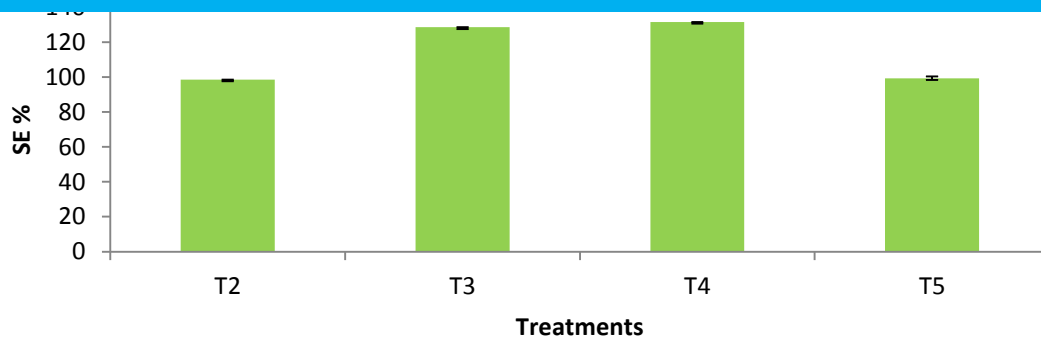


Figure 2; Effect of rhizobium inoculation on (A) No.of nodules on tap root . (B) Nodulation pattern (C) Symbiotic Effectiveness %

- T₂ - Seed treatment with rhizobium from sunnhemp
- T₃ - Seed treatment with rhizobium from sunnhemp + inoculation at 7 days interval (1st time)
- T₄ - Seed treatment with rhizobium from sunnhemp + inoculation at 7 days interval (2nd time)
- T₅ - Control

Conclusions

- T₃ (Seed treatment with rhizobium from sunnhemp + inoculation at 7 days interval (2nd time) showed highest number of nodules on tap root and gave better nodulation pattern
- Isolated bacteria from root nodules of *Crotalaria juncea* L. were compatible with greengram variety
- This research work could be expected to provide some basic information for the use of sunnhemp as not only for green manure but also for seed treatment and soil drenching

Suggestions

- Pot and field experiments should be carried out under different geographic locations, different environmental conditions and different peas and beans to ensure the good performance of rhizobium isolate from sunnhemp's nodulation.
- Moreover, in the present study, isolates were identified based on morphological character and gram staining reaction.
- Thus, the accurate identification of indigenous sunnhemp-nodulating bacteria using molecular method should be investigated.

Thank You



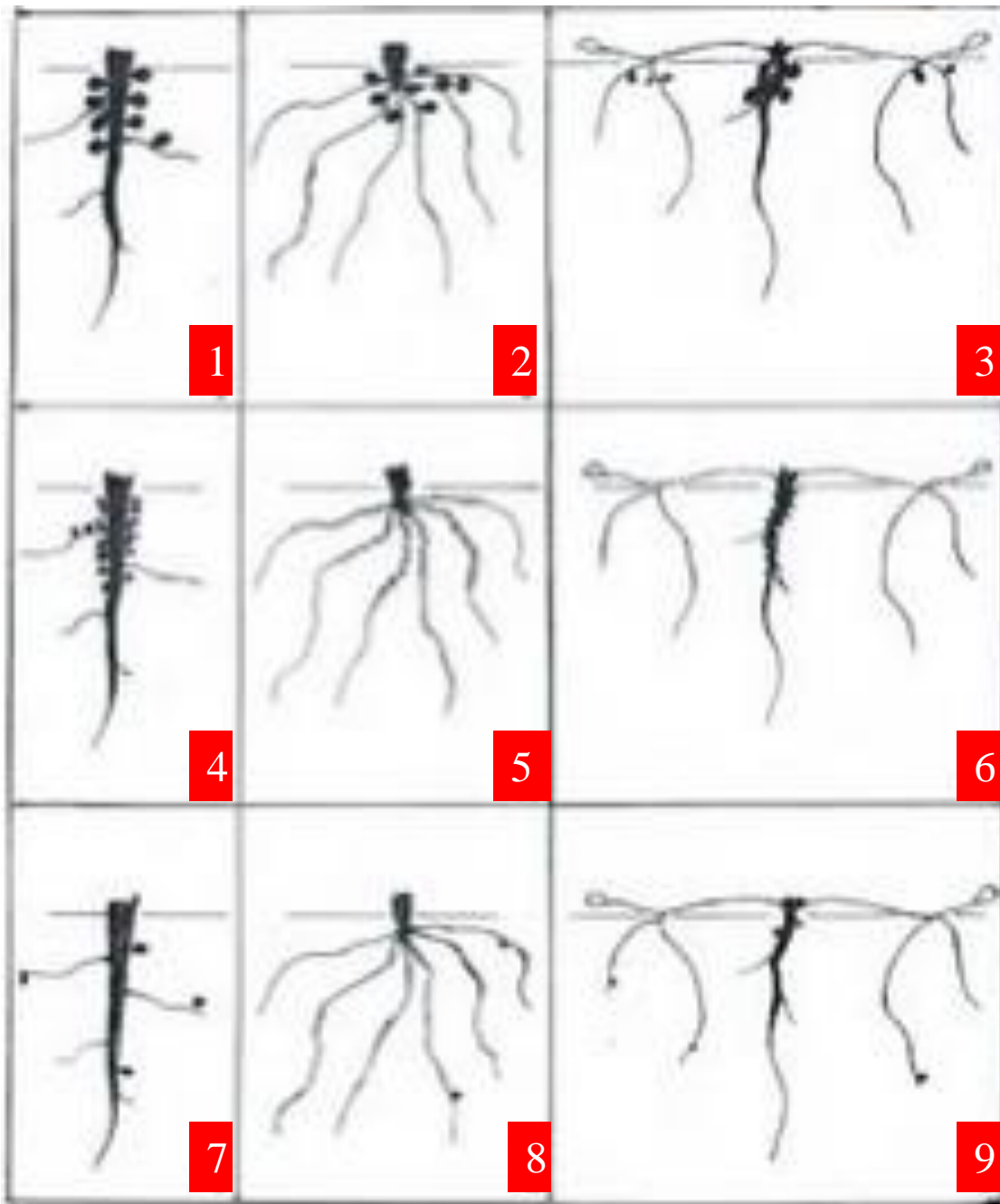


Table . Rating scale for SE values

SE %	Effectiveness of isolates
> 80 %	Highly effective
51 – 80 %	Effective
35 – 50	Lowly effective
< 35 %	Ineffective

Jida and Assefa, (2001)