รายงานการวิจัย

การทดสอบประสิทธิภาพของการใช้หัวเชื้อไรโซเบียมที่ปรับปรุงแล้ว ในระดับกระถาง

(Determination the efficiency of improved rhizobial inoculant in the pot experiments)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รายงานการวิจัย

การทดสอบประสิทธิภาพของการใช้หัวเชื้อไรโซเบียมที่ปรับปรุงแล้วในระดับกระถาง (Determination the efficiency of improved rhizobial inoculant in the pot experiments)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พรรณลดา ติตตะบุตร
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ร่วมวิจัย
รองศาสตราจารย์ ดร. หนึ่ง เตียอำรุง
อาจารย์ ดร. ศศิธร อินทร์นอก

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีปีงบประมาณพ.ศ. 2554
ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

สิงหาคม 2556

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสภาวิจัยแห่งชาติ ปีงบประมาณ 2554-2555 และดำเนินการภายใต้การสนับสนุนทางด้านสถานที่ทดลอง และเครื่องมือวิเคราะห์โดยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี คณะผู้วิจัยขอขอบคุณผู้เกี่ยวข้องทุกท่านที่ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จได้ด้วยดี

คณะผู้วิจัย

บทคัดย่อ

สภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมในดิน เช่น ดินกรด ความแล้ง อุณหภูมิสูง หรือในบางพื้นที่อาจมีสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่าง ๆ ร่วมกันมากกว่าหนึ่งปัจจัย เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ประสิทธิภาพของหัวเชื้อไรโซเบียมลดลง และส่งผลให้ไม่ประสบความสำเร็จในการเข้าสร้างปม และตรึงไนโตรเจน การคัดเลือกเชื้อไรโซเบียมที่ทนต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมแบบต่าง ๆ รวมทั้งการใช้สาร compatible solute เสริมในอาหารเลี้ยงเชื้อในการผลิตหัวเชื้อไรโซเบียมจึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการพัฒนาประสิทธิภาพของหัวเชื้อไรโซเบียม โครงการวิจัยนี้ได้คัดเลือกเชื้อ *Bradyrhizobium*sp. isolate 194 ซึ่งเป็นเชื้อไรโซเบียมที่มีความสามารถในการทนต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดี นอกจากนี้ได้พัฒนาหัวเชื้อไรโซเบียมโดยการเติมน้ำตาลซูโครสที่ความเข้มข้น 300 mMเพื่อใช้เป็นสาร compatible solute ให้กับเซลล์ ผลการทดลองพบว่าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการอยู่รอดของเชื้อไรโซเบียมได้ดีในสภาวะที่ไม่เหมาะสมแบบต่าง ๆ รวมทั้งเมื่อนำไปทดสอบกับถั่วเหลืองในดินตัวอย่างจากพื้นที่ตัวแทนต่าง ๆ ในระดับกระถาง พบว่าหัวเชื้อไรโซเบียมที่มีการเสริมน้ำตาลซูโครสเป็น compatible solute สามารถเพิ่มประสิทธิภาพให้กับหัวเชื้อไรโซเบียมส่งผลให้ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ดีในดินตัวอย่างที่นำมาทดสอบส่วนใหญ่ แสดงให้เห็นว่าหัวเชื้อไรโซเบียมที่พัฒนาได้นี้มีศักยภาพเบื้องต้นในการนำไปผลิตเพื่อใช้ในเชิงการค้าเพื่อใช้ในสำหรับการปลูกถั่วเหลืองในพื้นที่ต่าง ๆ ต่อไป ทั้งนี้ได้ทำการถ่ายทอดเทคโนโลยีที่ได้จากงานวิจัยให้กับเกษตรกรและผู้สนใจโดยการจัดอบรม ทางด้านเทคโนโลยีไรโซเบียมและการผลิตปุ๋ยชีวภาพณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Abstract

Environmental stress conditions in the soil, such as acidity, drought, high temperature, or multiple stress conditions are the important factors that reduce the efficiency of rhizobial inoculant and finally fail in nodulation and nitrogen fixation in legume plant. Selection of stress tolerant rhizobia and using of compatible solute supplemented in medium is one of strategies to enhance the efficiency of rhizobial inoculant. This research project aimed at selection of multi-stress tolerant bradyrhizobium for soybean inoculant production. *Bradyrhizobium* sp. isolate 194 was selected as the multi-stress tolerant strain, while 300 mM sucrose was selected as a compatible solute for inoculant production. The results showed that *Bradyrhizobium* sp. isolate 194 supplemented with sucrose as compatible solute could enhance the survival of cell under various stress conditions. This developed inoculant could also enhance the biomass of soybean grown in the pot containing soil sample collected from different areas in Thailand. These results revealed the preliminary potential of this developed rhizobial inoculant to be used as commercial inoculant for soybean production in several locations of Thailand. Knowledge and technology derived from this research project have been extended to farmers and people who interested in rhizobial inoculant production technology by arranged the seminar and workshop on Rhizobium Technology and Biofertilizer fertilizer production course at Suranaree University of Technology.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย.	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	จ
บทที่ 1 บทนำ	
ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย	2
วัตถุประสงค์ของการวิจัย .	2
ขอบเขตของการวิจัย	2
ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย	2
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย	
การทดสอบการอยู่รอดของเชื้อไรโซเบียมที่พัฒนาได้	4
การสำรวจและวิเคราะห์คุณสมบัติของสภาพดินในพื้นที่ต่าง ๆ.	4
การทดสอบหัวเชื้อไรโซเบียมที่พัฒนาได้ในดินตัวอย่างในระดับกระถาง	4
การถ่ายทอดเทคโนโลยีให้แก่ผู้สนใจ	5
บทที่ 3 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	
การทดสอบเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของหัวเชื้อไรโซเบียมที่พัฒนาได้ในทรายภายใต้สภาวะเครียดแบบต่าง ๆ	6
การสำรวจและวิเคราะห์คุณสมบัติของสภาพดินในพื้นที่ต่าง ๆ	7
การทดสอบหัวเชื้อไรโซเบียมที่พัฒนาได้ในดินตัวอย่างในระดับกระถาง	10
การถ่ายทอดเทคโนโลยีให้แก่ผู้สนใจ.	12
บทที่ 4 บทสรุป	
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	15
ภาคผนวก	
ประวัติผู้วิจัย.	I

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 3.1 การทดสอบเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของหัวเชื้อไรโซเบียมที่พัฒนาได้ในทรายภายใต้สภาวะเครียดแบบต่าง ๆ 7

ตารางที่ 3.2 ข้อมูลการวิเคราะห์คุณสมบัติดินในพื้นที่ต่าง ๆ 7

ตารางที่ 3.3 สรุปปัญหาดินที่พบในพื้นที่ที่ทำการสำรวจ 9

ตารางที่ 3.4 ประสิทธิภาพการส่งเสริมการเจริญของถั่วเหลืองโดยหัวเชื้อไรโซเบียมที่พัฒนาได้เมื่อปลูกในดินตัวแทนจากพื้นที่ต่าง ๆ. 11

ตารางที่ 3.5 ประสิทธิภาพการเข้าสร้างปมของถั่วเหลืองโดยหัวเชื้อไรโซเบียมที่พัฒนาได้เมื่อปลูกในดินตัวแทนจากพื้นที่ต่าง ๆ 12

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญภาพ

หน้า
รูปที่ 3.1 การถ่ายทอดเทคโนโลยีแก่ผู้สนใจในระดับห้องปฏิบัติการ 13
รูปที่ 3.2 การถ่ายทอดเทคโนโลยีแก่ผู้สนใจ การทดสอบในแปลง 14

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 1

บทนำ

หัวเชื้อไรโซเบียมเป็นปุ๋ยชีวภาพชนิดแรกที่นำเข้ามาเผยแพร่ให้เกษตรกรได้นำไปใช้กับพืชตระกูลถั่ว เพื่อทำหน้าที่ตรึงไนโตรเจนจากอากาศให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตได้ ทำให้เกษตรกรสามารถลดต้นทุนในการซื้อปุ๋ยเคมีไนโตรเจนซึ่งมีราคาแพง นอกจากนี้ยังเป็นการช่วยลดมลภาวะทางสิ่งแวดล้อม และสุขภาพของประชาชน เนื่องจากการใช้ในปุ๋ยเคมีในปริมาณมากเกินความจำเป็นอาจเป็นสาเหตุให้ไนโตรเจนถูกชะล้างสู่แหล่งน้ำ หรือน้ำบาดาลซึ่งเป็นอันตรายต่อมนุษย์ สัตว์เลี้ยง และสิ่งแวดล้อม อย่างไรก็ตามการใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมอาจไม่ประสบความสำเร็จในบางพื้นที่โดยเฉพาะพื้นที่การเกษตรทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง และภาคใต้ เนื่องจากสภาวะแวดล้อมในพื้นที่การเกษตรแต่ละแห่งมีความแตกต่างกัน เช่น ความเป็นกรด-ด่างของดิน ความเค็ม ปริมาณธาตุอาหารต่าง ๆ เป็นต้นดังนั้นการตรวจสอบสภาพดินของเกษตรกรในหลายพื้นที่ รวมทั้งการทดสอบหัวเชื้อไรโซเบียมในดินจากพื้นที่ต่าง ๆ อย่างสม่ำเสมอจะเป็นเครื่องมือในการควบคุมประสิทธิภาพของหัวเชื้อไรโซเบียมเพื่อให้ประสบความเร็จเมื่อนำไปใช้โดยเกษตรกร

นอกจากสภาพแวดล้อมที่แตกต่างไปในแต่ละพื้นที่จะเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพของการใช้หัวเชื้อไรโซเบียมแล้ว (Gibson 1976; Hungria and Vargas, 2000; Zahran, 1999) ชนิดและปริมาณของเชื้อไรโซเบียมท้องถิ่นในแต่ละพื้นที่ซึ่งมีความแตกต่างกัน ก็ส่งผลต่อการแข่งขันการเข้าสร้างปมรากของหัวเชื้อไรโซเบียมด้วย (Slattery et al., 2001; Streeter 1994) ปัญหาของหัวเชื้อไรโซเบียมที่ไม่สามารถแข่งขันกับเชื้อไรโซเบียมท้องถิ่นในการเข้าสร้างปมรากกับพืชตระกูลถั่วที่ปลูกนั้น พบว่าเป็นปัญหาสำคัญในการใช้หัวเชื้อไรโซเบียมในสภาพไร่ เนื่องจากเชื้อไรโซเบียมท้องถิ่นบางครั้งไม่มีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจน แต่สามารถแย่งการเข้าครอบครองปมจากหัวเชื้อไรโซเบียมที่มีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจน ทำให้ไม่ประสบผลสำเร็จในการใช้หัวเชื้อไรโซเบียม (Amarger, 1981; Baran and Bromfield, 1997) ทั้งนี้ปัจจัยสำคัญที่ทำให้เชื้อไรโซเบียมท้องถิ่นมีประสิทธิภาพมากกว่าหัวเชื้อไรโซเบียมคือ ผลกระทบจากสิ่งแวดล้อมที่ทำให้หัวเชื้อไรโซเบียมอ่อนแอ และไม่สามารถแข่งขันกับเชื้อไรโซเบียมท้องถิ่นได้ (Brockwell et al., 1982) เช่น ความเป็นกรด-ด่างของดิน ความเค็ม ความแห้งแล้ง หรือปริมาณแร่ธาตุในดิน จะเป็นตัวกำหนดเชื้อไรโซเบียมท้องถิ่นนั้น ๆ ที่สามารถปรับตัวและดำรงชีวิตในสภาพนั้น ๆ ได้ ดังนั้นการพัฒนาหัวเชื้อไรโซเบียมประสิทธิภาพมากขึ้น ก็คือ การเลือกใช้หัวเชื้อไรโซเบียมให้เหมาะสมหรือสามารถปรับตัว หรือดำรงชีวิตในสภาพปัญหานั้น ๆ ได้นั่นเอง (Dilworth et al., 2001)จากปัจจัยหลาย ๆ อย่างที่แตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ของการเพาะปลูกนี้ ทำให้มีความจำเป็นที่จะต้องทดสอบประสิทธิภาพของหัวเชื้อไรโซเบียมที่พัฒนาขึ้นมาว่าสามารถที่จะทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม แล้วแข่งขันกับเชื้อไรโซเบียมท้องถิ่นในการเข้าสร้างปมได้หรือไม่ โดยหัวเชื้อไรโซเบียมที่มีการพัฒนาให้สามารถเจริญ หรือดำรงชีวิตอยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมได้ดีขึ้นนี้ คาดว่าจะมีปริมาณการครอบครองปม (nodule occupancy) มากกว่าไรโซเบียมท้องถิ่น

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ในสภาพความเป็นจริง ดินในแต่ละพื้นที่มีสภาวะที่ไม่เหมาะสมมากกว่าหนึ่งปัจจัย ซึ่งแตกต่างกันไปตามแต่ละภูมิภาค ทำให้หัวเชื้อไรโซเบียมที่ใช้ในการปลูกพืชตระกูลถั่วให้ผลไม่สม่ำเสมอในแต่ละพื้นที่ของการเพาะปลูก ดังนั้นเมื่อทำการพัฒนารูปแบบของหัวเชื้อไรโซเบียมขึ้นมาใหม่ จะต้องมีการทดสอบผลที่ให้กับพืชในระดับกระถางในสภาวะต่าง ๆ รวมทั้งในสภาพดินที่มีสภาวะที่แตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ด้วย เพื่อยืนยันประสิทธิภาพของหัวเชื้อไรโซเบียมในการเข้าสร้างปมและตรึงไนโตรเจนให้กับพืชได้แม้ในสภาพดินที่แตกต่างกันแล้วนำข้อมูลที่ได้ไปเผยแพร่เพื่อสร้างความมั่นใจให้กับเกษตรกรต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1.เพื่อให้ทราบสภาพทางกายภาพ และทางเคมีของดินตัวแทนที่เกิดปัญหาของแต่ละพื้นที่ในภูมิภาคต่าง ๆ

2.เพื่อให้ทราบประสิทธิภาพของหัวเชื้อไรโซเบียมที่พัฒนาได้นี้ต่อพืชตระกูลถั่วที่ปลูกในระดับกระถางที่ทำการควบคุมให้มีทั้งสภาพที่เหมาะสมและไม่เหมาะสมต่อการเข้าสร้างปม

3.เพื่อให้ทราบประสิทธิภาพของหัวเชื้อไรโซเบียมที่พัฒนาได้นี้ต่อพืชตระกูลถั่วที่ปลูกในระดับกระถางในสภาพดินจริงที่ได้มาจากพื้นที่ต่าง ๆ ในแต่ละภูมิภาคของประเทศไทย ซึ่งมีสภาพดินที่มีปัญหาแตกต่างกันไปตามแต่ละพื้นที่

4.เพื่อเผยแพร่ข้อมูล และวิธีการผลิตหัวเชื้อไรโซเบียมที่พัฒนาขึ้นใหม่นี้ต่อกรมวิชาการเกษตรเพื่อทำการทดลองในสภาพไร่ แล้วนำผลที่ได้ไปเผยแพร่สู่เกษตรกรต่อไป

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

จะทำการทดสอบหัวเชื้อไรโซเบียมที่พัฒนาได้ต่อถั่วเหลือง ที่ปลูกในระดับกระถางที่ทำการควบคุมให้มีทั้งสภาพที่เหมาะสมและไม่เหมาะสมต่อการเข้าสร้างปม จากนั้นเก็บตัวอย่างดินที่เป็นตัวแทนของแต่ละภูมิภาคมาวิเคราะห์สภาพทางกายภาพ ทางเคมีของดินที่เกิดปัญหา เพื่อทำการทดสอบหัวเชื้อไรโซเบียมที่พัฒนาได้ต่อพืชตระกูลถั่วที่ปลูกในสภาพดินจริงที่ได้มาจากพื้นที่ต่าง ๆ ในระดับกระถางด้วย โดยทำการตรวจสอบจำนวนปมที่เกิดขึ้น การเข้าครอบครองปมของหัวเชื้อไรโซเบียม (nodule occupancy) การตรึงไนโตรเจน และน้ำหนักต้น จากนั้นทำการวิเคราะห์ผล แล้วเผยแพร่ข้อมูลนี้โดยการจัดอบรมต่อเจ้าหน้าที่รัฐ และเกษตรกรต่อไป

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ข้อมูลคุณสมบัติทางกายภาพ ทางเคมี และจุลินทรีย์ของดินในพื้นที่ต่าง ๆ ที่เป็นตัวแทนของแต่ละภูมิภาคของประเทศไทย
2. ได้หัวเชื้อไรโซเบียมในรูปแบบใหม่ที่มีประสิทธิภาพในการเข้าสร้างปมกับพืช การตรึงไนโตรเจน รวมทั้งมีคุณสมบัติอื่น ๆ ที่เป็นประโยชน์ในการส่งเสริมการเจริญของพืช
3. เจ้าหน้าที่รัฐและเกษตรกรมีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการใช้หัวเชื้อไรโซเบียมมากขึ้นและมีการใช้หัวเชื้อไรโซเบียมในการปลูกพืชตระกูลถั่ว ทดแทนการใช้ปุ๋ยเคมีและสารเคมีกำจัดศัตรูพืชมากขึ้น

บทที่ 2

วิธีดำเนินการวิจัย

2.1การทดสอบการอยู่รอดของเชื้อไรโซเบียมที่พัฒนาได้

ทดสอบหัวเชื้อไรโซเบียมที่พัฒนาได้โดยมีการเติมสาร compatible solute sucrose 300 มิลลิโมล่าร์ (mM)ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการอยู่รอดในสภาวะที่ไม่เหมาะสม เมื่อเชื้อเจริญแล้วทำการตรวจสอบการมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อไรโซเบียมที่พัฒนาได้ โดยนำทรายที่ผ่านการฆ่าเชื้อปริมาณ 10 กรัมเติมลงในหลอดแก้วทดลองขนาด 50 มิลลิลิตรจากนั้นทำการปลูกเชื้อไรโซเบียมปริมาณ 10^8เซลล์ลงในทรายที่เตรียมไว้ ซึ่งทำการควบคุมและจำลองให้มีทั้งสภาพที่เหมาะสมและไม่เหมาะสม หลังจากวางไว้ที่สภาวะต่าง ๆ ได้ 4 วัน ทำการตรวจสอบการมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อโดยการทำ ten-fold serial dilution และ Total plate count จากนั้นคำนวณเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของเชื้อโดยเทียบกับปริมาณเชื้อตั้งต้นในแต่ละสภาวะ

สภาวะควบคุมปกติ :ปรับ pH ของทรายที่ทดสอบโดยควบคุมที่ pH 7.0 แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 28เซลเซียส

สภาวะกรด :ปรับ pH ของทรายที่ทดสอบโดยควบคุมที่pH 4.0แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 28เซลเซียส

สภาวะแล้ง : ปรับ pH ของทรายที่ทดสอบโดยควบคุมที่ pH 7.0 แล้วปรับระดับความแล้งในทรายทดสอบในระดับ -3.2 bar ซึ่งทำได้โดยการใช้สาร PEG8000เป็นสารเคมีควบคุม จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 28เซลเซียส

สภาวะที่มีอุณหภูมิสูง:ปรับ pH ของทรายที่ทดสอบโดยควบคุมที่ pH 7.0 แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 40 เซลเซียส

สภาวะดินกรดร่วมกับความแล้ง:ปรับ pH ของทรายที่ทดสอบโดยควบคุมที่ pH 4.0 แล้วปรับระดับความแล้งในทรายทดสอบในระดับ -3.2 bar ซึ่งทำได้โดยการใช้สาร PEG8000 เป็นสารเคมีควบคุม แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 28เซลเซียส สภาวะดินกรดร่วมกับการมีอุณหภูมิสูง: ปรับ pH ของทรายที่ทดสอบโดยควบคุมที่ pH 4.0 แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 40 เซลเซียส

2.2การสำรวจและวิเคราะห์คุณสมบัติของสภาพดินในพื้นที่ต่าง ๆ

สำรวจพื้นที่ตัวแทนในภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ ที่พบปัญหาของการใช้หัวเชื้อไรโซเบียม หรือพื้นที่ที่มีสภาพปัญหาแวดล้อมต่าง ๆ โดยอาศัยข้อมูลจากกรมวิชาการเกษตร จากนั้นเก็บตัวอย่างดินมาเพื่อทำการวิเคราะห์สภาพทางกายภาพและทางเคมีของแต่ละพื้นที่โดยส่งวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการปฐพีวิทยา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2.3การทดสอบหัวเชื้อไรโซเบียมที่พัฒนาได้ในดินตัวอย่างในระดับกระถาง

ทดสอบหัวเชื้อไรโซเบียมที่พัฒนาได้ในการปลูกถั่วเหลือง โดยทำการปลูกถั่วในสภาพดินตัวอย่างที่เก็บมา แล้วปลูกหัวเชื้อไรโซเบียมให้กับเมล็ดถั่วในปริมาณ 1 มิลลิลิตร/เมล็ด เปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่ได้มีการปลูกเชื้อ โดยปลูกพืชเป็นระยะเวลา 30 วัน บนชั้นแสงโดยให้แสงที่ระยะเวลากลางวัน 12 ชั่วโมง และกลางคืน 12 ชั่วโมง โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 28 เซลเซียสจากนั้นตรวจสอบจำนวนปมที่เกิดขึ้นรวมทั้งน้ำหนักพืช เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพต่อไป

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2.4การถ่ายทอดเทคโนโลยีให้แก่ผู้สนใจ

ทำการถ่ายทอดเทคโนโลยี โดยจัดการฝึกอบรมแก่ผู้สนใจ ณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี โดยจัดให้มีทั้งการบรรยายในห้องสัมมนา การฝึกทดลองในห้องปฏิบัติการ และการฝึกทดสอบในสภาพไร่

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 3
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

จากการทดลองที่ผ่านมาสามารถคัดเลือกสายพันธุ์ของหัวเชื้อไรโซเบียม isolate 194 ที่ทนต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม รวมทั้งมีความสามารถในการแข่งขันสูงกว่าหัวเชื้อไรโซเบียม USDA110 และได้คัดเลือกน้ำตาลซูโครสที่ความเข้มข้น 300 มิลลิโมล่าร์เป็นสารcompatible soluteในการเลี้ยงเชื้อเพื่อให้มีความสามารถในการทนต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดียิ่งขึ้น โดยทำการทดสอบต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการเพื่อให้ทราบถึงความพร้อมของเชื้อไรโซเบียมที่พัฒนาได้ในการใช้เป็นหัวเชื้อปุ๋ยชีวภาพ รวมทั้งถ่ายทอดความรู้ที่ได้ให้กับเกษตรกรและผู้ที่สนใจต่อไป

3.1 การทดสอบเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของหัวเชื้อไรโซเบียมที่พัฒนาได้ในทรายภายใต้สภาวะเครียดแบบต่าง ๆ

จากการทดสอบพบว่าเชื้อ *Bradyrhizobium* sp. isolate 194 และมีเปอร์เซ็นต์ความอยู่รอดในสภาวะปกติหลังจากบ่มไว้ 4 วัน ได้มากกว่าเชื้อ *B. japonicum* USDA110 แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเลี้ยงเชื้อไรโซเบียมที่มีการเติมซูโครสพบว่าเชื้อทั้งสองสายพันธุ์มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดในทรายภายใต้สภาวะปกติได้ดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของเชื้อที่ไม่ได้เติม ซูโครสลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ (ตารางที่ 3.1) และเมื่อทำการทดสอบเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของเชื้อไรโซเบียมภายใต้สภาวะที่ไม่เหมาะสมแบบต่าง ๆ พบว่าเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของเชื้อลดลงอย่างเห็นได้ชัดเจนหลังจาก 4 วัน โดยพบว่าสภาวะกรดมีผลทำให้เชื้อไอโซเลท194 มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดเพียง 1% (ประมาณ 10^6เซลล์ต่อ 10 กรัม ทรายทดสอบ) ในขณะที่เชื้อ USDA110 มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอด 0.9% (น้อยกว่า 10^6เซลล์) อย่างไรก็ตามพบว่าเชื้อที่เลี้ยงในอาหารที่มีการเติมซูโครส สามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของเชื้อไรโซเบียมทั้งสองสายพันธุ์ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเชื้อไอโซเลท 194 มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดที่ 21% ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับเชื้อ USDA110 (15%) ในสภาวะเดียวกัน และเมื่อทำการทดสอบในสภาวะแล้งพบว่าเชื้อไรโซเบียมไอโซเลท 194 ที่มีการเลี้ยงโดยการเติมน้ำตาล ซูโครสมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดเพิ่มขึ้นจากการเลี้ยงโดยไม่เติมน้ำตาลเป็น 87% ซึ่งมากกว่าเชื้อ USDA110 ที่มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีการเติมน้ำตาลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเช่นเดียวกันกับในสภาวะเครียดจากอุณหภูมิสูงพบว่าเชื้อไรโซเบียมไอโซเลท 194 ที่มีการเลี้ยงโดยการเติมน้ำตาลซูโครสมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดเพิ่มขึ้นจากการเลี้ยงโดยไม่เติมน้ำตาลเป็น 83% ซึ่งมากกว่าเชื้อ USDA110 ที่มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีการเติมน้ำตาลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อทดสอบในสภาวะกรดร่วมกับสภาวะแล้งพบว่าการเติมน้ำตาล sucrose ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อมีส่วนทำให้เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของเชื้อเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน อย่างไรก็ตามภายใต้สภาวะกรดร่วมกับสภาวะอุณหภูมิสูพบว่าเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของเชื้อลดลงมากโดยพบว่าเชื้อไรโซเบียมไม่สามารถมีชีวิตอยู่รอดได้เลยในสภาวะดังกล่าว ในขณะที่การเติมน้ำตาลซูโครสลงในอาหารเลี้ยงเชื้อก่อนทดสอบภายใต้สภาวะนี้สามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของเชื้อไอโซเลท 194 และ USDA110 เป็น 0.8 และ 0.9% ตามลำดับ (ปริมาณเชื้ออยู่รอดน้อยกว่า 10^6เซลล์) (ตารางที่ 3.1)

ตารางที่ 3.1 การทดสอบเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของหัวเชื้อไรโซเบียมที่พัฒนาได้ในทรายภายใต้สภาวะเครียดแบบต่าง ๆ

Conditions	% Survival of bacteria after 4 day of inoculation into 10g sand			
	194	194+Su	USDA 110	USDA 110+Su
Normal	*80±4^{bc}	100±8^{a}	75±2^{c}	94±3^{ab}
Single stress				
Acidity	1±0^{c}	21±2^{a}	0.9±0^{c}	15±3^{b}
Drought	68±3^{b}	87±2^{a}	64±9^{b}	71±0^{b}
High temp	56±1^{c}	83±2^{a}	56±0^{c}	72±4^{b}
Mixed stress				
Acid and Drought	54±4^{b}	67±4^{a}	27±5^{c}	54±10^{b}
Acid and High temp.	0	0.8±0.2	0	0.9±0

* ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานคำนวณจากการทดลอง 3 ซ้ำ และการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $P \leq 0.05$ในแต่ละสภาวะการทดลอง

3.2 การสำรวจและวิเคราะห์คุณสมบัติของสภาพดินในพื้นที่ต่าง ๆ

เพื่อให้ทราบปัญหาของสภาพดินในพื้นที่ต่าง ๆ ของประเทศไทย ได้ทำการเก็บตัวอย่างดินจากพื้นที่ตัวแทนจำนวน 21 ตัวอย่าง เพื่อวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของดินในเบื้องต้น เช่น ค่า pH เปอร์เซ็นต์อินทรีย์วัตถุในดินค่าความเค็มของดิน (EC) เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน ปริมาณฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม ซึ่งได้ผลตามตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2ข้อมูลการวิเคราะห์คุณสมบัติดินในพื้นที่ต่าง ๆ

พื้นที่เก็บดินตัวอย่าง	pH	% OM	EC (mS/cm)	% N	P (ppm)	K (ppm)	Ca (ppm)	Mg (ppm)
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ								
หนองบัวลำพู	6.91	1.511	0.699	0.076	17.125	61	1401.5	207.5
ศรีษะเกษ	5.05	1.728	0.156	0.086	5.189	43.5	424.8	53.8
อุดรธานี	6.83	1.832	0.744	0.092	4.135	158.5	1241	190
บุรีรัมย์ อ. หนองกี่	7.12	1.05	0.189	0.053	27.121	44	1100.5	106
สุรินทร์ อ. สำโรงทาน	5.97	3.796	0.189	0.190	34.375	72	1113.5	200.8
ชัยภูมิ อ.เมือง ต. บ้านค่าย	6.85	3.548	0.25	0.177	14.052	54.5	1256.5	250.2
มุกดาหาร	5.05	1.109	0.208	0.055	12.149	29	303.3	62.3
ยโสธร	6.95	3.336	0.294	0.167	12.402	41.5	1416.3	200.3
กาฬสินธุ์	6.33	0.467	0.149	0.023	34.46	20.5	259.5	852.8
นครราชสีมา	6.88	3.362	0.37	0.168	57.446	151.5	3542.8	325
ขอนแก่น อ. มัญจาคีรี	7.05	0.134	0.189	0.007	10.04	15.5	305.6	50.2
ภาคกลาง								
ชัยนาท อ. มโนรม								
หางน้ำสาคร	6.33	3.297	0.469	0.165	19.74	61	2649	327.3
สิงห์บุรี อ.พรหมบุรี	6.54	3.796	0.159	0.190	54.375	80	1009.5	178.8
สุพรรณบุรี	5.22	3.556	1.91	0.178	40.702	26	1635.8	262.3
อ่างทอง	5.79	2.679	0.701	0.134	31.086	133	3143.3	379.5
ลพบุรี	5.75	3.021	0.98	0.151	25.584	65.9	3432.5	498.3
สระบุรี	7.21	0.153	0.158	0.008	13.54	17.5	295.8	32.8
ภาคใต้								
ชุมพร อ. ทุ่งตะโก	5.93	4.111	0.868	0.206	28.555	75.5	3911.3	546.3
เพรชบุรี อ.ชะอำ บ้านหนองยาว	6.53	1.742	0.701	0.087	4.251	146.5	1040	177
สุราษฎร์ธานี	7.16	2.508	0.455	0.125	6.834	202.5	1752	447.5
ประจวบคีรีขันธ์ อ. กุยบุรี	7.45	1.291	1.097	0.065	5.569	205.5	986.8	156.5

จากผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของดินตัวอย่างพบว่าดินในแต่ละพื้นที่มีความแตกต่างกัน โดยส่วนใหญ่ประสบปัญหาดินขาดธาตุไนโตรเจนซึ่งเหมาะที่จะใช้หัวเชื้อไรโซเบียมเพื่อส่งเสริมการปลูกพืชตระกูลถั่วเพื่อการค้า หรือเพื่อการบำรุงดิน และบางพื้นที่อาจประสบปัญหาเพียงปัจจัยเดียวหรือหลายปัจจัยร่วมกัน ดังได้สรุปปัญหาของดินที่พบในพื้นที่ที่ทำการสำรวจดังตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3สรุปปัญหาดินที่พบในพื้นที่ที่ทำการสำรวจ

ปัญหาที่พบ	พื้นที่สำรวจ
ปริมาณอินทรีย์วัตถุต่ำ	ขอนแก่น อ. มัญจาคีรี กาฬสินธุ์ สระบุรี
ค่าความเค็มสูง	สุพรรณบุรี ประจวบคีรีขันธ์ อ. กุยบุรี ชุมพร อ. ทุ่งตะโก หนองบัวลำพู
ปริมาณฟอสเฟตสูง	สิงห์บุรี อ. พรหมบุรี สุพรรณบุรี สุรินทร์ อ. สำโรงทาน กาฬสินธุ์ นครราชสีมา
ปริมาณโพแทสเซียมสูง	ลพบุรี เพรชบุรี อ. ชะอำ สุพรรณบุรี ประจวบคีรีขันธ์ อ. กุยบุรี อุดรธานี นครราชสีมา
ปริมาณแคลเซียมต่ำ	ศรีษะเกษ กาฬสินธุ์ ขอนแก่น อ. มัญจา มุกดาหาร

ตารางที่ 3.3 (ต่อ)

ปัญหาที่พบ	พื้นที่สำรวจ
ดินเปรี้ยว	ลพบุรี สิงห์บุรี อ. พรหมบุรี สุพรรณบุรี ชุมพร อ. ทุ่งตะโก ศรีษะเกษ สุรินทร์ อ. สำโรงทาน ชัยภูมิ อ. เมือง มุกดาหาร
ปริมาณแมกนีเซียมต่ำ	เพรชบุรี อ. ชะอำ สุพรรณบุรี ประจวบคีรีขันธ์ อ. กุยบุรี สุราษฎร์ธานี ศรีษะเกษ อุดรธานี บุรีรัมย์ อ. หนองกี่ ขอนแก่น อ. มัญจา มุกดาหาร

3.3 การทดสอบหัวเชื้อไรโซเบียมที่พัฒนาได้ในดินตัวอย่างในระดับกระถาง

เพื่อทดสอบประสิทธิภาพหัวเชื้อที่พัฒนาได้แล้วในสภาพดินที่สภาพต่าง ๆ โดยทำการทดลองในสภาพกระถางโดยการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเชื้อไรโซเบียมไอโซเลท 194 ทั้งที่มีการเติม และไม่เติมน้ำตาล ซูโครสในการเลี้ยงเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการทดสอบ ตารางที่ 3.4 แสดงผลประสิทธิภาพการเจริญของถั่วเหลืองในดินที่ได้จากพื้นที่ต่าง ๆ โดยผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการใช้หัวเชื้อไรโซเบียมสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของถั่วเหลืองได้ดีกว่าการปลูกโดยไม่ใช้เชื้อไรโซเบียม เช่น ดินตัวอย่างจากจังหวัดยโสธรพบว่าให้น้ำหนักพืชได้เพียง 291.5 มิลลิกรัมต่อ 1 ต้นเมื่อปลูกโดยไม่ใช้เชื้อไรโซเบียม และเมื่อใช้เชื้อไรโซเบียมพบว่าสามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของพืชได้ดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเป็น 471.4 มิลลิกรัมต่อ 1 ต้นหรือดินตัวอย่างจากจังหวัดมุกดาหารที่การใช้หัวเชื้อไรโซเบียมสามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของพืชได้อย่างมีนัยสำคัญ จาก 542.5 มิลลิกรัมต่อ 1 ต้นไปเป็น 855.3 มิลลิกรัมต่อ 1 ต้น เป็นต้น และในดินตัวอย่างในหลายพื้นที่พบว่าการใช้หัวเชื้อไรโซเบียมที่พัฒนาได้โดยการเติมน้ำตาลซูโครสเป็น compatible solute เพื่อช่วยในการปกป้องเชื้อจากสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม สามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของพืชได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับการใช้เชื้อไรโซเบียมที่ไม่มีการเติมน้ำตาลซูโครส เช่น การปลูกในดินตัวอย่างจากจังหวัดยโสธร ชัยนาท ชุมพร สุพรรณบุรี และเพชรบุรี เป็นต้น อย่างไรก็ตามคุณสมบัติของดินตัวอย่างในบางพื้นที่มีอิทธิพลต่อเชื้อไรโซเบียมและการส่งเสริมการเจริญของถั่วเหลืองเช่น พบว่าดินตัวอย่างจากจังหวัดลพบุรี อ่างทอง และสุราษฎร์ธานี เมื่อมีการใช้หัวเชื้อไร

โซเบียมที่พัฒนาได้โดยการเลี้ยงในอาหารที่มีการเติมน้ำตาลซูโครส ไม่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการส่งเสริมการเจริญของพืชได้ (ตารางที่ 3.4)

เมื่อพิจารณาการเข้าสร้างปมของเชื้อไรโซเบียม พบว่าดินตัวอย่างที่เก็บมาจากพื้นที่ต่าง ๆ มีเชื้อไรโซเบียมที่อยู่ในดินตามธรรมชาติ (indigenous bradyrhizobia) น้อยมาก ทั้งนี้พบปมรากของถั่วเหลืองในตำรับที่ไม่มีการปลูกเชื้อไรโซเบียมทดสอบ เพียง 0-2 ปมต่อต้นเท่านั้น ดังนั้นการเข้าสร้างปมของเชื้อไรโซเบียมในดินตัวอย่างเหล่านี้อาจไม่พบปัญหาของการแข่งขันเข้าสร้างปมกับเชื้อไรโซเบียมที่ทดสอบ ทั้งนี้ผลของการเข้าสร้างปมในดินตัวอย่างส่วนใหญ่พบว่าการใช้หัวเชื้อไรโซเบียมทั้งที่มีการเติมและไม่เติมน้ำตาล sucrose ในการเลี้ยงให้น้ำหนักปม และจำนวนปมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยพบเพียงดินตัวอย่างบางแห่ง เช่น ดินตัวอย่างจากจังหวัดเพชรบุรี และอ่างทองพบว่าให้น้ำหนักปมสูงกว่าเมื่อให้หัวเชื้อไรโซเบียมที่เลี้ยงในน้ำตาลซูโครสแต่พบว่าในบางพื้นที่กลับผลของจำนวนปมและน้ำหนักปมน้อยกว่า เช่น ดินตัวอย่างจากจังหวัดบุรีรัมย์ ยโสธร และเพชรบุรี เป็นต้น (ตารางที่ 3.5)อย่างไรก็ตามยังสามารถส่งเสริมการเจริญของถั่วเหลืองได้ดีเมื่อพิจารณาจากข้อมูลของน้ำหนักพืชในตารางที่ 3.4

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 3.4ประสิทธิภาพการส่งเสริมการเจริญของถั่วเหลืองโดยหัวเชื้อไรโซเบียมที่พัฒนาได้เมื่อปลูกในดินตัวแทนจากพื้นที่ต่าง ๆ

พื้นที่เก็บตัวอย่าง	Biomass dry weight (mg plant^{-1})											
	Un-inoculated				Isolate 194				Isolate 194+sucrose			
หนองบัวลำพู	*576.5	±	46	nopqrst	726.0	±	27	hijklmn	756.9	±	54	ghijklm
ศรีษะเกษ	499.0	±	44	pqrstuvwx	641.8	±	12	lmnopqr	558.7	±	3	nopqrstu
อุดรธานี	473.5	±	32	rstuvwxy	633.8	±	5	lmnopqr	783.5	±	56	ghijkl
บุรีรัมย์ อ.หนองกี่	370.0	±	22	vwxyz	441.3	±	51	stuvwxyz	472.9	±	38	rstuvwxy
สุรินทร์ อ.สำโรงทาน	733.2	±	31	hijklmn	986.9	±	64	cdef	867.5	±	93	efghij
ชัยภูมิ อ. เมือง	390.3	±	14	uvwxyz	410.5	±	99	tuvwxyz	606.1	±	107	mnopqrs
มุกดาหาร	542.5	±	62	opqrstuv	855.3	±	118	fghij	975.0	±	57	cdef
ยโสธร	291.5	±	66	z	471.4	±	103	rstuvwxy	973.9	±	83	cdef
กาฬสินธ์	330.0	±	51	xyz	635.9	±	120	lmnopqr	492.5	±	18	qrstuvwx
นครราชสีมา	339.0	±	4	wxyz		nd			701.9	±	129	jklmno
ขอนแก่น อ. มัญจา	313.5	±	16	yz		nd			1454.8	±	97	a
ชัยนาท อ.มโนรม	421.2	±	13	tuvwxyz	495.3	±	22	qrstuvwx	1039.3	±	22	cde
สิงห์บุรี อ. พรหมบุรี	901.5	±	46	cdefgh	1248.5	±	77	b	1199.7	±	51	b
สุพรรณบุรี	874.0	±	69	defghij	840.8	±	57	fghijk	1044.2	±	52	cd
อ่างทอง	514.5	±	112	pqrstuvw	1206.7	±	283	b	1226.7	±	108	b
ลพบุรี	526.5	±	33	opqrstuv	800.7	±	31	ghijkl	632.4	±	36	lmnopqr
สระบุรี	404.9	±	8	tuvwxyz		nd			892.0	±	79	cdefghi
ชุมพร อ. ทุ่งตะโก	577.5	±	25	nopqest	665.9	±	55	lmnopq	996.8	±	68	cdef
เพรชบุรี อ. ชะอำ	328.8	±	28	xyz	628.1	±	102	lmnopqr	1048.7	±	34	c
สุราษฎร์ธานี	776.0	±	99	ghijklm	566.3	±	50	nopqrstu	676.1	±	23	klmnop
ประจวบคีรีขันธ์	431.5	±	13	stuvwxyz		nd			916.7	±	98	cdefg

* ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานคำนวณจากการทดลอง 3 ซ้ำ และค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $P \leq 0.05$; ndไม่ได้ทำการทดสอบเนื่องจากดินตัวอย่างไม่เพียงพอ

ตารางที่ 3.5ประสิทธิภาพการเข้าสร้างปมของถั่วเหลืองโดยหัวเชื้อไรโซเบียมที่พัฒนาได้เมื่อปลูกในดินตัวแทนจากพื้นที่ต่าง ๆ

พื้นที่เก็บตัวอย่าง	Nodule dry weight (mg plant^{-1})								Nodule number (plant^{-1})							
	Isolate 194				194+sucrose				Isolate 194				194+sucrose			
หนองบัวลำพู	*15.0	±	7	efghij	17.6	±	3	defghi	18.5	±	5	cdefg	13.0	±	1	fghij
ศรีษะเกษ	15.0	±	3	efghij	17.6	±	1	defghi	12.5	±	4	ghij	13.5	±	4	efghij
อุดรธานี	7.0	±	1	jk	14.0	±	4	efghij	24.0	±	7	abcd	25.5	±	4	abc
บุรีรัมย์ หนองกี่	27.0	±	17	abc	14.3	±	1	efghij	18.0	±	4	defg	10.0	±	0	hijk
สุรินทร์ สำโรงทาน	11.0	±	3	hij	15.5	±	5	efghij	13.5	±	4	efghij	16.5	±	2	efgh
ชัยภูมิ อ. เมือง	19.0	±	6	cdefgh	14.0	±	3	efghij	14.0	±	3	efghij	14.5	±	1	efghij
มุกดาหาร	12.3	±	2	ghij	10.2	±	2	hijk	13.5	±	1	efghij	20.5	±	4	bcdef
ยโสธร	10.5	±	2	hijk	9.9	±	1	hijk	27.0	±	3	ab	15.0	±	6	efghij
กาฬสินธ์	12.8	±	4	fghij	13.4	±	2	fghij	21.0	±	0	bcde	14.0	±	1	efghij
นครราชสีมา	nd				20.5	±	4	cdefg	nd				30.0	±	7	a
ขอนแก่น อ.มัญจา	nd				15.0	±	3	efghij	nd				11.5	±	2	ghij
ชัยนาท อ.มโนรม	10.0	±	3	hijk	9.0	±	0	ijk	8.0	±	4	ijk	12.0	±	4	ghij
สิงห์บุรี อ. พรหมบุรี	25.5	±	4	abcd	31.5	±	5	a	18.0	±	3	defg	13.5	±	8	efghij
สุพรรณบุรี	11.5	±	4	ghij	14.8	±	2	efghij	12.0	±	1	ghij	7.5	±	2	jk
อ่างทอง	18.0	±	3	defghi	32.0	±	6	a	12.5	±	2	ghij	13.5	±	4	efghij
ลพบุรี	18.0	±	1	defghi	20.5	±	6	cdefg	14.5	±	4	efghij	13.5	±	2	efghij
สระบุรี	nd				11.0	±	3	hij	nd				15.5	±	5	efghi
ชุมพร อ. ทุ่งตะโก	29.5	±	2	ab	20.5	±	9	cdefg	19.0	±	3	cdefg	14.5	±	6	efghij
เพรชบุรี อ. ชะอำ	12.0	±	3	ghij	21.5	±	4	bcdef	27.5	±	4	ab	13.0	±	4	fghij
สุราษฎร์ธานี	7.5	±	2	jk	11.5	±	4	ghij	12.5	±	2	ghij	10.0	±	4	hijk
ประจวบคีรีขันธ์	nd				23.0	±	4	bcde	nd				25.0	±	4	abcd

* ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานคำนวณจากการทดลอง 3 ซ้ำ และค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $P \leq 0.05$

3.4 การถ่ายทอดเทคโนโลยีให้แก่ผู้สนใจ

ได้จัดการอบรมเกี่ยวกับหัวเชื้อไรโซเบียม และเทคโนโลยีการผลิตหัวเชื้อไรโซเบียมที่พัฒนาได้จากงานวิจัยให้กับผู้สนใจทั่วไป โดยในการอบรมได้มีทั้งการบรรยาย การฝึกปฏิบัติในห้องปฏิบัติการ และการฝึกปฏิบัติในสภาพไร่ (ภาพที่ 1 และ 2) โดยมีหัวข้อการอบรม ดังนี้

การบรรยาย

1. เทคโนโลยีไรโซเบียม และการจัดจำแนกเชื้อไรโซเบียม
2. การผลิตหัวเชื้อไรโซเบียมชนิดเหลว
3. การผลิตหัวเชื้อไรโซเบียมโดยใช้เทคนิค Microproduction unit (MPU)
4. การใช้แหล่งน้ำตาลของเชื้อไรโซเบียม
5. การตรวจสอบคุณภาพของหัวเชื้อไรโซเบียมด้วยวิธีการทางเซรั่มวิทยา และอณูชีววิทยา

การฝึกปฏิบัติในห้องปฏิบัติการ

1. การเตรียมกล้าเชื้อ
2. การเตรียมวัสดุพาหะ อาหาร และวิธีการฆ่าเชื้อปนเปื้อนที่มีประสิทธิภาพ
3. การทดสอบกับพืชตระกูลถั่วในชั้นแสงภายในห้องปฏิบัติการ
4. การตรวจสอบคุณภาพของหัวเชื้อไรโซเบียมที่ผลิตได้

การฝึกปฏิบัติในสภาพไร่

1. การเตรียมแปลง
2. วิธีการคลุกหัวเชื้อกับเมล็ด และการปลูก

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

รูปที่ 1 การถ่ายทอดเทคโนโลยีแก่ผู้สนใจในห้องปฏิบัติการ

รูปที่ 3.2 การถ่ายทอดเทคโนโลยีแก่ผู้สนใจ การทดสอบในแปลง

บทที่ 4
สรุปผลการวิจัยและข้อแนะนำ

โครงการวิจัยนี้ได้พัฒนาหัวเชื้อไรโซเบียมสำหรับถั่วเหลือง โดยเลือกใช้เชื้อ *Bradyrhizobium* sp. isolate 194 ซึ่งพบว่ามีความสามารถในการทนต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดี และสามารถพัฒนาให้เป็นเชื้อไรโซเบียมสำหรับถั่วเหลืองที่ใช้ในเชิงพาณิชย์ได้ ทั้งนี้สามารถช่วยให้เชื้อไรโซเบียมเจริญในสภาวะที่ไม่เหมาะสมได้มากขึ้นด้วยการใช้สาร compatible solute ซึ่งจากโครงการวิจัยนี้พบว่าน้ำตาลซูโครสสามารถส่งเสริมการอยู่รอดของเชื้อไรโซเบียมได้ดีทั้งในสภาวะปกติ และสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่าง ๆ ซึ่งในสภาพความเป็นจริงอาจมีปัจจัยที่ทำให้เกิดสภาวะที่ไม่เหมาะสมร่วมกัน และเมื่อนำดินตัวอย่างจากพื้นที่ต่าง ๆ ในประเทศไทยมาทำการทดสอบพบว่ามีปัญหาในแต่ละพื้นที่แตกต่างกันไปซึ่งส่งผลโดยตรงต่อประสิทธิภาพของหัวเชื้อไรโซเบียม(Gibson 1976; Hungria and Vargas, 2000; Zahran, 1999)

จากผลการทดลองพบว่าดินตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบมีจำนวนไรโซเบียมท้องถิ่น (indigenous bradyrhizobium) ในปริมาณน้อยมาก จึงไม่ก่อให้เกิดปัญหาการแข่งขันเข้าสร้างปม ดังนั้นปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมและสภาวะของดินในแต่ละพื้นที่จึงมีอิทธิพลสำคัญต่อหัวเชื้อไรโซเบียมที่ใช้ ผลกระทบจากสิ่งแวดล้อมนี้อาจทำให้หัวเชื้อไรโซเบียมอ่อนแอ หรือตายไปจนไม่สามารถเข้าสร้างปมกับถั่วเหลืองได้ เช่น ความเป็นกรด-ด่างของดิน ความเค็ม ความแห้งแล้ง อุณหภูมิสูง หรือความร้อน รวมทั้งปริมาณแร่ธาตุในดิน (Mabrouk and Belhadj, 2012) ซึ่งผลการทดลองในโครงการนี้แสดงให้เห็นว่าการใช้เชื้อไรโซเบียมที่พัฒนาได้นี้สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของถั่วเหลืองในดินตัวอย่างได้ในหลายพื้นที่ เมื่อเทียบกับการไม่ใช้หัวเชื้อไรโซเบียม อีกทั้งพบว่าการใช้สาร compatible solute เช่น น้ำตาลซูโครส สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการอยู่รอดของเชื้อไรโซเบียมและเพิ่มประสิทธิภาพของเชื้อในการส่งเสริมการเจริญของถั่วเหลืองได้ดี ทั้งนี้ ซูโครสเป็นสาร compatible solute ชนิดหนึ่งซึ่งมีโมเลกุลขนาดเล็ก (da Costa et al., 1998) โดยในเชื้อจุลินทรีย์จะมีการสะสมสาร compatible solute นี้ไว้เพื่อควบคุมแรงดันออสโมติกและทำให้สามารถทนต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้มากขึ้น เช่น สภาวะแล้ง อุณหภูมิสูง หรือการเกิด oxidation ของสารภายในเซลล์ และสาร compatible solute นี้ยังสามารถเป็นแหล่งพลังงานให้กับเชื้อได้อีกด้วย ดังนั้นจึงเป็นกลไกหนึ่งในการทำให้เซลล์เจริญในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดียิ่งขึ้น (da Costa et al., 1998; Welsh, 2000; Santos and da Costa, 2002) นอกจากนี้เคยมีรายงานการเสริมน้ำตาลซูโครสให้กับเชื้อ *Sinorhizobiummeliloti*สามารถลดอัตราการตายของเชื้อในอาหารที่มีแรงดันออสโมติกสูงได้ โดยพบว่าน้ำตาลซูโครส ช่วยในการรักษาปริมาตรของไซโตพลาซึมหลังจากเกิด plasmolysis แต่อย่างไรก็ตามพบว่าไม่มีการสะสมซูโครสไว้ในเซลล์แต่จะเปลี่ยนเป็นการสะสมสารกลูตาเมต และ N-acetylglutaminylglutamine amide (NAGGN)แทน (Gouffi et al., 1998) ทั้งนี้ sucrose เคยมีรายงานการใช้เป็นสารผสมในวัสดุพาหะชนิดแห้ง ซึ่งพบว่าสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของหัวเชื้อได้ (Caesar and Burr, 1991) ดังนั้นการนำน้ำตาลซูโครสมาใช้ในการผลิตหัวเชื้อไรโซเบียมสำหรับถั่วเหลืองจึงเป็นอีกวิธีการหนึ่งในการเพิ่มประสิทธิภาพของหัวเชื้อไรโซเบียมให้สามารถมีชีวิตอยู่รอดได้ในสภาวะดินซึ่งมีปัจจัยหลายอย่างร่วมกันที่ทำให้สภาวะไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อไรโซเบียม อย่างไรก็ตามควรมีการทดสอบในสภาพไร่ต่อไปในพื้นที่ต่าง ๆ เพื่อเป็นข้อมูลในการนำมาผลิตเชิงการค้าต่อไป

บรรณานุกรม

Amarger N. (1981). Competition for nodule formation between effective and ineffective strains of *Rhizobium meliloti*. Soil Biol. Biochem. 13: 475–480.

Barran L.R. and Bromfield E.S.P. (1997).Competition amongst rhizobia for nodulation of legumes. In: McKersie, B.D., Brown, B.C.W. (Eds.), Biotechnology and the Crop Improvement of Legumes, CABI, pp. 343–374.

Brockwell J., Gault R.R., Zorin M., Roberts M.J. (1982). Effects of environmental variables on the competition between inoculum strains and naturalised populations of *Rhizobium trifolii* for nodulation of *Trifoliumsubterraneum* L. and on rhizobia persistence in the soil. Aust. J. Agric. Res. 33: 803–815.

Caesar A. J. and Burr T. J. (1991). Effect of conditioning, betaine, and sucrose on survival ofrhizobacteria in powder formulations. Appl. Environ. Microbiol. 57: 168-172.

da Costa M.S., Santos H., Galinski E.A. (1998).An overview of the role anddiversity of compatible solutes in Bacteria and Archaea. Adv.Biochem.Eng. Biotechnol.61: 117–153.

Dilworth M.J., Howieson J.G., Reeve W.G., Tiwari R.P. and Glenn A.R. (2001). Acid tolerance in root-nodule bacteria and selecting for it. Aust. J. Exp. Agric. 41: 435–446.

Gibson A.H., Date R.A., Ireland J.A. and Brockwell J. (1976). A comparison of competitiveness and persistence amongst five strains of *Rhizobium trifolii*. Soil Biol. Biochem. 8: 395–401.

Gouffi K., Pichereau V.,Rolland J.P., Thomas D., Bernard T.,Blanco A. (1998). Sucrose is a nonaccumulatedosmoprotectant in*Sinorhizobiummeliloti*. J. Bacteriol. 180: 5044–5051.

Hungria M. and Vargas M.A.T. (2000). Environmental factors affecting N_2 fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. Field Crops Res. 65: 151–164.

Mabrouk Y. and Belhadj O. (2012).Enhancing the biological nitrogen fixation of leguminous crops grown under stressed environment.African J. Biotech. 11: 10809-10815.

Santos H., da Costa M.S. (2002).Compatible solutes of organisms that live in hotsaline environments. Environ.Microbiol.4: 501–509.

Slattery J.F., Coventry D.R. and Slattery W.J. (2001).Rhizobial ecology as affected by the soil environment. Aust. J. Exp. Agric. 41: 289–298.

Streeter J. G. (1994).Failure of inoculant rhizobia to overcome the dominance of indigenous strains for nodule formation.Can. J. Microbiol. 40: 513–522.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Welsh D.T. (2000).Ecological significance of compatible solute accumulation bymicroorganisms: from single cells to global climate. FEMS Microbiol.Rev.24:263–290.

Zahran I. H. (1999).*Rhizobium*–legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate.Microbiol.Mol. Biol. Rev. 63: 968–989.

ประวัติคณะผู้วิจัย

นางสาวพรรณลดา ติตตะบุตร (MissPanladaTittabutr) ปัจจุบันดำรงตำแหน่งผู้ช่วยศาสตราจารย์ประจำสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ม.เทคโนโลยีสุรนารี จบการศึกษาระดับปริญญาตรีสาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร ม.เทคโนโลยีสุรนารีปีการศึกษา 2541 และระดับปริญญาเอก สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ม.เทคโนโลยีสุรนารี ปีการศึกษา 2548 มีความชำนาญทางด้าน Nitrogen fixation technology, Inoculant production technology, Microbiology and Moleculamicrobiologyมีประสบการณ์ในการเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัยเรื่องการเพิ่มประสิทธิภาพของแหนแดงในการเป็นปุ๋ยพืชสดเพื่อใช้ในนาข้าว และเป็นหัวหน้าโครงการวิจัยต่าง ๆ เช่นการประยุกต์ใช้แนวทางต่าง ๆ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของหัวเชื้อไรโซเบียมในการแข่งขันเพื่อเข้าสร้างปมกับพืชตระกูลถั่ว,การทดสอบประสิทธิภาพของการใช้หัวเชื้อไรโซเบียมที่ปรับปรุงแล้วในระดับกระถาง,ผลของเอทธิลีน และการใช้เชื้อแบคทีเรียที่มีกิจกรรมของเอนไซม์ 1-amino-cyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase ร่วมกับหัวเชื้อไรโซเบียม ต่อการเจริญของพืชตระกูลถั่วภายใต้สภาวะที่ก่อให้เกิดความเครียดกับพืช, การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์กลุ่ม PGPR ที่มีกิจกรรมของเอนไซม์ไฮโดรจีเนส และผลกระทบที่มีต่อโครงสร้างจุลินทรีย์ท้องถิ่นภายในดิน และผลผลิตของพืช,การปรับปรุงปุ๋ยชีวภาพ PGPR และไมคอร์ไรซ่าให้ทนต่อสภาวะเครียดที่เกิดจากภาวะภูมิอากาศเปลี่ยนแปลง และการตรวจสอบกลไกการดำรงอยู่ของเชื้อ และผลกระทบของภาวะภูมิอากาศเปลี่ยนแปลงต่อโครงสร้างประชากรจุลินทรีย์บริเวณรอบรากพืช ทั้งนี้สามารถติดต่อได้ที่ โทรศัพท์ 044-224159 โทรสาร 044-224154E-mail panlada@sut.ac.th

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานทางวิชาการ

PanladaTittabutr, PongdetPiromyou, AphakornLongtonglang, RujirekNoisa-ngiam, NantakornBoonkerd, and NeungTeaumroong. (2013). Alleviation of the effect of environmental stresses using co-inoculation of mungbean by bradyrhizobium and rhizobacteria containing stress induced ACC deaminase enzyme. Soil Science and Plant Nutrition.Accepted.

NantidaWatanarojanaporn, NantakornBoonkerd, PanladaTittabutr, AphakornLongtonglang, Peter W. Young, NeungTeaumroong (2013). Effect of rice cultivation systems on indigenous arbuscularmycorrhizal fungal community structure. Microbes Environ. 28(3): Accepted.

ThiThiAung, PanladaTittabutr, NantakornBoonkerd, David Herridge, NeungTeaumroong. (2013) Co-inoculation effects of *Bradyrhizobiumjaponicum* and *Azospirillum* sp. on competitive nodulation and rhizosphereeubacterial community structures of soybean under rhizobia-established soil conditions. African Journal of Biotechnology. 12(20): 2850-2862.

MonchaiManassila, AcharaNuntagij, PanladaTittabutr, NantakornBoonkerd, NeungTeaumroong (2012). Growth, symbiotic, and proteomics studies of soybean *Bradyrhizobium* in response to adaptive acid tolerance. African Journal of Biotechnology. 11: 14899-14910.

PanladaTittabutr, KamonluckTeamthisong, BanchaBuranabanyat, NeungTeaumroong, NantakornBoonkerd (2012). Gamma irradiation and autoclave sterilization peat and compost as the carrier for rhizobial inoculant production.Journal of Agricultural Science.4: 59-64.

RujirekNoisangiam, KamonluckTeamtisong, PanladaTittabutr, NantakornBoonkerd, Uchiumi Toshiki, KiwamuMinamisawa and NeungTeaumroong (2012). Genetic diversity, symbiotic evolution, and proposed infection process of *Bradyrhizobium* strains isolated from root nodules of *Aeschynomeneamericana* L. in Thailand. Appl. Environ. Microbiol. 78: 6236-6250.

WatcharinYuttavanichakul, PruksaLawongsa, SoponeWongkaew, NeungTeaumroong, NantakornBoonkerd, Nobuhiko Nomura, PanladaTittabutr. (2012). Improvement of peanut rhizobial inoculant by incorporation of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as biocontrol against the seed borne fungus, *Aspergillusniger*. Biological Control.63: 87-97.

JenjiraWongdee, NantakornBoonkerd, NeungTeaumroong, and PanladaTittabutr.(2012). Improving of Bradyrhizobial inoculant for soybean cultivation under environmental stress conditions.Burapha University International Conference 2012, Burapha University, Thailand, July 9-11, 2012. (full paper).

พรรณลดา ติตตะบุตร (2555). ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ และการนำไปใช้. วารสารเกษตรสุรนารี'55. บทความ. หน้า 53-60.

Tittabutr, P., Cho, I. K. and Li Q. X. (2011).Phn and nag-like dioxygenase metabolize polycyclic aromatic hydrocarbons in *Burkholderia* sp. C3. Biodegradation. 22(6): 1119-1133.

Piromyou, P., Buranabanyat, B., Tantasawat, P., Tittabutr, P., Boonkerd, N. and Teaumroong, N. (2011). Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) inoculation on microbial community structure in rhizosphere of forage corn cultivated in Thailand. European J. Soil Biol. 47: 44-54.

W. Yuttavanichakul, S. Wongkaew, N. Teaumroong, N. Boonkerd and P. Tittabutr. (2010). Improvement of rhizobial inoculants by incorporation biocontrol of seed borne pathogenic fungi of peanut. In Proceeding of The 8th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology. Organized by King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL) and Khonkaen University Nongkhai Campus, October 4-6, 2010.Pattaya, Chonburi, Thailand.pp.30-38. (full paper)

พงษ์เดช ภิรมย์อยู่, อาภากร หล่องทองหลาง, สมพร ชุนห์ลือชานนท์, พรรณลดา ติตตะบุตร, โสภณ วงศ์แก้ว, นันทกร บุญเกิดและหนึ่ง เตียอำรุง. (2553). การใช้ *Bacillus subtilis*เพื่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดฝักอ่อน. วารสารแก่นเกษตร 38: 155-162.

Tanthanuch, W., Tittabutr, P., Mohammed, S., Matthisen, R., Yamabhai, M., Manassila, M., Jensen, O. N., Boonkerd, N. and Teaumroong, N. (2010). Identify of salt-tolerant Sinorhizobium sp. Strain BL3 membrane proteins based on proteomics. Microbes Environ. 25(4): 275-280.

พรรณลดา ติตตะบุตร (2552). แนวทางการพัฒนาปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม "ทำอะไรได้มากกว่าการตรึงไนโตรเจน". วารสารเกษตรสุรนารี'52. บทความ. หน้า 27-34.

พรรณลดา ติตตะบุตร, กมลลักษณ์ เทียมไธสง, วชิราภรณ์ ผิวล่อง, หนึ่ง เตียอำรุง, สิรินาฎ เลาหะโรจนพันธ์และ นันทกร บุญเกิด (2552). การใช้รังสีแกมมาเพื่อกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนในวัสดุพาหะที่ใช้ในการผลิตหัวเชื้อปุ๋ยชีวภาพ. การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีนิวเคลียร์ ครั้งที่ 11. pp.BA03: 1-10. (บทความฉบับเต็ม)

J. D. Awaya, Tittabutr P., Q. X. Li, and D. Borthakur. (2008). Pyruvate carboxylase is involved in metabolism of mimosine to 3-hydroxy-4-pyridone by *Rhizobium* sp. strain TAL1145. Archives in Microbiology 190: 409-415.

Tittabutr P., J. D. Awaya, Q. X. Li, and D. Borthakur. (2008). The cloned 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase from *Sinorhizobium* sp. strain BL3 in *Rhizobium* sp. strain TAL1145 promotes nodulation and growth of *Leucaenaleucocephala*. Systematic and Applied Microbiology 31: 141-150.

Tittabutr P., W. Payakapong, N. Teaumroong, P.W. Singleton, and N. Boonkerd. (2007). Growth, survival and field performance of Bradyrhizobial liquid inoculant formulations with polymeric additives. ScienceAsia. 33: 069-077.

Tittabutr P., W. Payakapong, N. Teaumroong, N. Boonkerd, P. W. Singleton, and D. Borthakur. (2006). The alternative sigma factor RpoH2 is required for salt tolerance in *Sinorhizobium* sp. strain BL3. Research in Microbiology. 157: 811-818.

Payakapong W., P. Tittabutr, N. Teaumroong, N. Boonkerd, P. W. Singleton, and D. Borthakur. (2006). Identification of two clusters of genes involved in salt tolerance in *Sinorhizobium* sp. strain BL3. Symbiosis. 41: 47-53.

Tittabutr P., W. Payakapong, N. Teaumroong, N. Boonkerd, P. W. Singleton, and D. Borthakur. (2006). Ahistidine kinase sensor protein gene is necessary for induction of low pH tolerance in *Sinorhizobium* sp. strain BL3. Antonie van Leeuwenhoek. 89(1): 125-134.

Tittabutr P., W. Payakapong, N. Teaumroong and N. Boonkerd. (2005). Development of rhizobial culturing media production by using low-cost starch compounds as a sole of carbon source. World Journal of Microbiology & Biotechnology. 21: 823-829.

Kaufusi P. H., L. S. Forsberg, P. Tittabutrand D. Borthakur. (2004). Regulation of exopolysaccharide synthesis in *Rhizobium* sp. strain TAL1145 involves an alternative sigma factor gene, *rpoH2*. Microbiology, 150: 3473-3482.

Payakapong W., Tittabutr P., Teaumroong N., Boonkerd N. (2004). Soybean cultivars affect nodulation competition of *Bradyrhizobiumjaponicum* strains. World Journal of Microbiology & Biotechnology. 20: 311-315.

Payakapong W., Tittabutr P., Boonkerd N. (2003). Strain-specific antisera to identify Thai *Bradyrhizobiumjaponicum* strains in preserved soybean nodules. World Journal of Microbiology& Biotechnology. 19: 981-983.

Tittabutr P., W. Payakapong, N. Teaumroong and N. Boonkerd. (2002-2003) Development of Rhizobial inoculant production and formulation: Dilution technique and solid state fermentation. In Biotechnology for Sustainable Utilization of Biological Resources in Tropics. 16: 105-112.

Tittabutr P., W. Payakapong, N. Teaumroong and N. Boonkerd. (2001) Development of Rhizobial inoculant production and formulation: Carbon sources utilization and sugar producing from various raw starch materials by using amylase-producing fungi. In Biotechnology for Sustainable Utilization of Biological Resources in Tropics. 15: 197-200.

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการคัดเลือกเชื้อไรโซเบียมที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในพืช (Screening Rhizobia that can Inhibit the Growth of Plant Pathogenic Microorganisms). สถาบันวิจัยและพัฒนา. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. เมษายน 2554.

โครงการผลิตปุ๋ยอินทรีย์จากเปลือกไม้ยูคาลิปตัส (Production of Organic Fertilizer from Eucalyptus Bark). โครงการสนับสนุนการพัฒนาเทคโนโลยีของอุตสาหกรรมไทยสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ และบริษัทสุวรรณภูมิวู๊ดชิพ จำกัด. กันยายน 2554.

โครงการ ผลของเอทธิลีน และการใช้เชื้อแบคทีเรียที่มีกิจกรรมของเอนไซม์ 1-amino-cyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase ร่วมกับหัวเชื้อไรโซเบียม ต่อการเจริญของพืชตระกูลถั่วภายใต้สภาวะที่ก่อให้เกิดความเครียดกับพืช. สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และสำนักงานกองทุนสนันสนุนการวิจัย. เมษายน 2555.

โครงการการผลิตปุ๋ยอินทรีย์เคมีจากเปลือกไม้ยูคาลิปตัส (Production of Chemo-Organic Fertilizer from Eucalyptus Bark). โครงการสนับสนุนการพัฒนาเทคโนโลยีของอุตสาหกรรมไทยสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ และบริษัทคลัสเตอร์ต้นน้ำทุ่งกุลาออร์แกนิกส์ จำกัด. กรกฎาคม 2555.

โครงการการศึกษาความหลากหลายของพืชตระกูลถั่ว และเชื้อไรโซเบียมที่อาศัยในปมราก บริเวณเขื่อนน้ำพุง (Diversity of Leguminous Plants and their associated root nodule rhizobia at Numpung Dam). มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. ตุลาคม 2555.

โครงการการผลิตปุ๋ยอินทรีย์และปุ๋ยอินทรีย์เคมีจากวัสดุในท้องถิ่น (Production of Organicand Chemo-organic Fertilizer from Local materials). โครงการสนับสนุนการพัฒนาเทคโนโลยีของอุตสาหกรรมไทยสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ และบริษัทอินเตอร์โกรเทค (ประเทศไทย) จำกัด. มิถุนายน. 2556.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี