บิดู อภัยโส : นวัตกรรมเทคโนโลยีการผลิตหัวเชื้อ *Bradyrhizobium diazoefficiens* USDA110 ในรูปแบบชนิดเหลว และชนิดผสมในวัสดุพาหะ (THE INNOVATIVE TECHNOLOGY TO PRODUCE LIQUID AND SOLID INOCULANT OF *Bradyrhizobium diazoefficiens* USDA110) อาจารย์ที่ปรึกษา : ศาสตราจารย์ ดร.หนึ่ง เตียอำรุง, 103 หน้า.

แบรดี้ไรโซเบียมเป็นแบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศให้อยู่ในรูปของไนโตรเจนที่พืชตะกูลถั่วสามารถนำไปใช้ได้ อย่างไรก็ตามการผลิตหัวเชื้อไรโซเบียมในระดับอุตสาหกรรมขนาดใหญ่มีต้นทุนสูง เพื่อที่จะลดต้นทุนในการผลิตหัวเชื้อแบรดี้ไรโซเบียม สามารถผลิตในระดับอุตสาหกรรมได้โดยใช้ อินฟิวชั่นปั๊มร่วมกับการใช้หัวเชื้อเริ่มต้นในปริมาณน้อย เทคนิคนี้สามารถใช้เป็นนวัตกรรมใหม่ในการผลิตหัวเชื้อแบรดี้ไรโซเบียม งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาประสิทธิภาพการผลิตหัวเชื้อไรโซเบียม และลดต้นทุนในการผลิตหัวเชื้อ โดยการใช้เทคนิคการเจือจางเซลล์แบคทีเรียด้วยเทคโนโลยีอินฟิวชั่นปั๊ม เพื่อใช้ผลิตในการผลิตหัวเชื้อแบบเหลว หัวเชื้อแบบผนมในวัสดุพาหะเช่น พีท (peat) และแบบผสมเม็ดวุ้น (encapsulated bead) ซึ่งงานวิจัยนี้ได้นำเชื้อทางการค้า *Bradyrhizobium diazoefficiens* USDA110 มาใช้เป็นต้นแบบในการทดสอบเพื่อการผลิตหัวเชื้อไรโซเบียมในรูปแบบต่าง ๆ โดยทำการเปรียบเทียบคุณภาพของหัวเชื้อเมื่อทดสอบปลูกถั่วเหลืองในสภาพไร่

จากผลการทดสอบพบว่า เชื้อตั้งต้นที่มีความเข้มข้นต่ำตั้งแต่ 10 ถึง 10^6 เซลล์ต่อหน่วย (CFU/unit) เป็นช่วงที่เหมาะสมสำหรับการเจือจางเชื้อ และจากค่าเจือจางของเชื้อตั้งต้นดังกล่าวสามารถทำให้เชื้อมีการเจริญ และเพิ่มจำนวนเซลล์ได้สูงถึง 10^8 เซลล์ต่อหน่วย ในหัวเชื้อทั้งแบบเหลว หัวเชื้อแบบผสมกับพีท และผสมเม็ดวุ้น นอกจากนี้ พบว่าเทคนิคการใช้ syringe และ peristaltic pumps ทำให้ได้ค่าเจือจางของเชื้อตั้งต้นเท่ากับ 10 เซลล์ต่อหน่วย สามารถนำไปใช้ในการผลิตหัวเชื้อทั้งแบบเหลว หัวเชื้อแบบผสมกับพีท และผสมเม็ดวุ้นได้ แต่ในการผลิตหัวเชื้อในอุตสาหกรรมที่ใหญ่กว่าโรงงานต้นแบบนั้น มีความเหมาะสมสำหรับการผลิตหัวเชื้อแบบเหลว และหัวเชื้อแบบผสมกับพีทเท่านั้น แต่ไม่เหมาะสมสำหรับการผลิตหัวเชื้อแบบผสมเม็ดวุ้น

สำหรับการทดสอบระยะเวลาในการเก็บรักษาหัวเชื้อจากการใช้เทคโนโลยีการผลิต พบว่าสามารถเก็บรักษาหัวเชื้อไว้ได้ระยะเวลานานถึง 6 เดือน ณ อุณหภูมิห้อง และมีจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตสูงกว่า 10^8 เซลล์ต่อหน่วย ซึ่งถือเป็นการทดสอบครั้งแรกที่มีการใช้หัวเชื้อความเข้มข้นต่ำเท่ากับ 10 เซลล์ต่อหน่วย แล้วสามารถเพิ่มจำนวนเซลล์ได้ถึง 10^8 เซลล์ต่อหน่วย ในทุกประเภทของหัวเชื้อ ผลการทดสอบคุณภาพของหัวเชื้อในสภาพไร่พบว่า หัวเชื้อทั้ง 3 ประเภท สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของถั่วเหลือง โดยเชื้อมีการตรึงไนโตรเจน ให้กับพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ และเมื่อ

วัดน้ำหนักสด และแห้งของ ปมถั่ว ราก ต้น และฝัก รวมทั้งปริมาณคลอโรฟิลล์ของต้นถั่ว เปรียบเทียบกับต้นถั่วเหลืองที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ พบว่าการปลูกเชื้อทำให้ถั่วเหลืองมีน้ำหนักที่สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเก็บตัวอย่างที่ 30 45 และ 65 วัน หลังปลูก จากผลวิเคราะห์ต้นถั่วที่ 55 วัน พบว่า เปอร์เซ็นต์การสะสมไนโตรเจนในต้นถั่วที่มีการใช้หัวเชื้อ มีค่าสูงขึ้นเท่ากับ 1.98 ถึง 2.05 เท่า และปริมาณไนโตรเจนเท่ากับ 130.07 ถึง 139.1 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ ส่วนค่าการตรึงไนโตรเจนโดยหัวเชื้อ มีค่าเท่ากับ 108.16 ถึง 117.20 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ และพบว่าเมื่อเก็บผลที่ 100 วัน การใช้หัวเชื้อไรโซเบียมมีประสิทธิภาพในการเพิ่มผลผลิตได้ถึง 2.56-3.48 ตันต่อเฮกตาร์ จากผลงานวิจัยในครั้งนี้ ทำให้ทราบว่า การผลิตหัวเชื้อไรโซเบียมโดยการใช้เทคนิคเจือจางเซลล์แบคทีเรียด้วยเทคโนโลยีอินฟิวชั่นปั๊ม สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของถั่วเหลืองในสภาพไร่ ดังนั้นการพัฒนาเทคนิคเพื่อผลิตหัวเชื้อในงานวิจัยนี้ จึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตหัวเชื้อจำนวนมาก เพื่อให้ได้หัวเชื้อคุณภาพสูง และลดต้นทุนการผลิต โดยเฉพาะในประเทศกำลังพัฒนาได้ในอนาคต

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา 2563

ลายมือชื่อนักศึกษา_____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา_____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม_____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม_____

BEEDOU APHAISO : THE INNOVATIVE TECHNOLOGY TO PRODUCE LIQUID AND SOLID INOCULANT OF *Bradyrhizobium diazoefficiens* USDA110. THESIS ADVISOR : PROF. NEUNG TEAUMROONG, Dr.rer.nat., 103 PP.

SOYBEAN/*Bradyrhizobium diazoefficiens*/INOCULANTS/INFUSION STARTER/ PILOT SCALE

Bradythizobium is bacterium that can fix nitrogen from atmospheric nitrogen to bioavailable as ammonium for leguminous plants. However, bradyrhizobium inoculant has a high manufacturing cost in large scale. Therefore, to reduce the cost of bradyrhizobium inoculant production in large scale, the inoculants could be manufactured using an application of infusion pumps with a small amount of starter culture. This technique could be used as innovative technology to produce bradyrhizobium inoculants. The objective of this research was to develop efficient and low cost *Bradyrhizobium* inoculant production using the incorporation of a dilution technique with infusion pump technology for various inoculants (liquid-, peat-, and encapsulated-inoculant). *Bradyrhizobium diazoefficiens* USDA110 was used as the rhizobial model in this research for soybean inoculant production and field-tested application.

An effective varied and small amount of starter culture from 10 to 10^6 CFU/unit grew and increased the cell population number up to 10^8 CFU/unit in liquid-, peat-, and encapsulation-inoculants. For the pilot scale production, the syringe- and peristaltic pumps were fused to produce small micro-injection starter culture at 10 CFU/unit to produce liquid-, peat-, and encapsulated inoculants. This system can be

used in a large scale liquid-, and peat-inoculant production. Nevertheless, it may not be suitable for a large scale encapsulated inoculant production. The shelf-life of inoculants produced from this developed technology for at least 6 months with a cell population number higher than 10^8 CFU/unit when stored at room temperature. This is the first demonstration of the diluent with a very low concentration of a starter population of 10 CFU/unit that increased the cell number to 10^8 CFU/unit in different types of inoculants. All types of bradyrhizobium inoculants were used to investigate the symbiosis efficiency in the field experiment. Three types of inoculant promoted soybean growth, and N_2 fixation in field conditions. The height, N_2 fixation efficiency, nodule number, nodule dry weight, stem dry mass, root dry mass, pod quantity, pod dry mass, total plant dry mass, and chlorophyll content were significantly higher than that of non-inoculated plants at 30, 45, and 65 days after inoculation (dai). The inoculated plants increased the percentage of nitrogen content in soybean residue (1.98-2.05-folds), total N content 130.07-139.1 Kg/ha, and N-fixed 108.16-117.20 Kg/ha at 55 dai. The bradyrhizobium inoculants effectively increased yield production at 2.56-3.48 ton/ha at 100 dai. These results indicated the inoculant production using the incorporation of the dilution technique with infusion pump technology could promote soybean growth under field conditions. Therefore, this developed technique can be further applied for pilot scale production of high quality bradyrhizobium inoculant in developing countries.

School of Biotechonology

Academic Year 2020

Student's Signature _____

Advisor's Signature _____

Co-advisor's Signature _____

Co-advisor's Signature _____