สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานผลการวิจัยปีงบประมาณ 2535

เรื่อง

การคัดเลือกเชื้อไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน สำหรับถั่วเซนโตรซีมา

Selection of Effective Rhizobium Strains for Growth and Nitrogen Fixation of Centrosema pubescens

นางสุมิตรา ภู่วโรดม

RCH
SB
327
.S8H37
2536

เลขหมู่
เลขทะเบียน 20439
วัน, เดือน, ปี - 6 มิ.ย. 2537

ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง

มิถุนายน 2536

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	i
Abstract	ii
สารบัญตาราง	iii
สารบัญรูป	iv
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	9
ผลการทดลองและวิจารณ์	14
เอกสารอ้างอิง	29
ภาคผนวก	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

การคัดเลือกเชื้อไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนและการเจริญเติบโตของถั่วเซนโตรซีมา ทำโดยเก็บปมถั่วจากสำนักงานพัฒนาการปศุสัตว์ อำเภอท่าพระ จังหวัดขอนแก่น สถานีผลิตอาหารสัตว์ปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา ศูนย์พัฒนาศึกษาตามพระราชดำริเขาหินซ้อน จังหวัดฉะเชิงเทรา และสถาบันเทคโนโลยีแห่งเอเชีย (AIT) จังหวัดปทุมธานี มาแยกเชื้อไรโซเบียม ได้ 13 สายพันธุ์ เมื่อนำไปทดสอบการเกิดปมในถั่วเซนโตรซีมา ปรากฏว่าเชื้อที่แยกได้จากท่าพระ (T1 และ T2) ไม่สามารถทำให้เกิดปมในถั่วเซนโตรซีมาจึงตัดออกไป หลังจากนั้นนำเชื้อที่ได้ทั้ง 11 สายพันธุ์ (PA1, PB1, PB2, PC1, PC2, PD2, KA1, KA2, KB2, A1 และ A2) รวมกับเชื้อของกรมวิชาการเกษตรอีก 3 สายพันธุ์(TAL 688, TAL 655 และ TAL 652) มาทดสอบในกระถางในดินชุดมาบบอน โดยวางแผนการทดลองแบบ RCBD ผลการทดลองปรากฏว่า เชื้อ A2 ซึ่งเป็นเชื้อจากปมถั่วที่เก็บจาก AIT ให้ค่าสูงสุดดังนี้ น้ำหนักแห้งต้น (29.2 กรัม/กระถาง) น้ำหนักแห้งราก (4.3 กรัม/กระถาง) ความเข้มข้นไโตรเจน (3.99%) ผลผลิตไนโตรเจน (829.9 มิลลิกรัม/กระถาง) ผลผลิตฟอสฟอรัส (69.4 มิลลิกรัม/กระถาง) ส่วนตำรับที่ให้ค่าส่วนใหญ่ต่ำสุดได้แก่ TAL 655 และ TAL 652 สำหรับค่ากิจกรรมการตรึงไนโตรเจนซึ่งวัดโดยค่า Acetylene reduction assay ปรากฏว่าตำรับที่ให้ค่าสูงสุดได้แก่ PC1 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 5.00 umoles C_2H_4/ต้น/ชม. อย่างไรก็ตาม ค่านี้ไม่แตกต่างในทางสถิติกับค่า 4.36 umoles C_2H_4/ต้น/ชม. ของเชื้อ A2 แต่ค่าทั้งสองนี้แตกต่างจากค่า 1.76 umoles C_2H_4/ต้น/ชม. ของเชื้อ TAL 655 เมื่อพิจารณาโดยรวมพบว่า เชื้อที่แยกได้จากแหล่งปลูกถั่วในประเทศ มีแนวโน้มจะทำให้ถั่วเซนโตรซีมามีการเจริญเติบโตและกิจกรรมการตรึงไนโตรเจนดีกว่าเชื้อของกรมวิชาการเกษตร ซึ่งเป็นเชื้อที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Abstract

Pot experiment was carried out to select effective strains of Rhizobium for growth and nitrogen fixation of Centrosema pubescens at King Mongkut's Institute of Technology, Ladkrabang, Bangkok. The nodules of Centrosema were collected from KhonKaen Animal Nutrition Research Center, Prachong Animal Nutrition Research Center, The Study Center for Kao Hinson Development and Asian Institute of Technology. The nodules were isolated and 13 strains of Rhizobium were obtained. However, the strains isolated from nodules collected from KhonKaen (T1 and T2) were not able to nodulated when tested in growth pouch. Thus, they were discharged. Eleven strains of isolated Rhizobium (PA1, PB1, PB2, PC1, PC2, PD2, KA1, KA2, KB2, A1 and A2) together with 3 strains from Department of Agriculture (from Niftal, Hawaii) were then tested on pot experiment with Mab Bon Soil Series. The design was RCDB with 3 replicates. It was found that Rhizobium strain A2 (from AIT) resulted in highest top dry matter weight (29.2 g/pot), root dry matter weight (4.3 g/pot), N concentration(3.99%), N uptake (829.9 mg/pot) and P uptake(69.4 mg/pot). In contrast, lowest value of most growth parameters were obtained from Rhizobium strains TAL 655 and TAL 652. Highest nitrogenase activity as measured by acetylene reduction was 5.00 umoles C_2H_4/ plant/hr. in PC1 treatment, but the value was not significantly difference from 4.36 umoles C_2H_4/plant/hr. of Rhizobium strain A2. The two values above were significantly difference from 1.76 umoles C_2H_4/ plant/hr. of TAL 655. The results indicated that native Rhizobium strains tend to perform better than imported strains.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	อิทธิพลของสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมต่อน้ำหนักแห้งของต้นถั่วเซนโตรซีมา	20
2	อิทธิพลของสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมต่อน้ำหนักแห้งของรากถั่วเซนโตรซีมา	21
3	อิทธิพลของสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมต่อจำนวนปมรากของต้นถั่วเซนโตรซีมา	22
4	อิทธิพลของสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมต่อน้ำหนักแห้งของปมรากถั่วเซนโตรซีมา	23
5	อิทธิพลของสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมต่อประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของถั่วเซนโตรซีมา	24
6	อิทธิพลของสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมต่อความเข้มข้นของไนโตรเจนในต้นถั่วเซนโตรซีมา	25
7	อิทธิพลของสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมต่อผลผลิตไนโตรเจนของต้นถั่วเซนโตรซีมา	26
8	อิทธิพลของสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมต่อความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในต้นถั่วเซนโตรซีมา	27
9	อิทธิพลของสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมต่อผลผลิตฟอสฟอรัสของต้นถั่วเซนโตรซีมา	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	ลักษณะโคโลนีของเชื้อที่เขี่ยจากปมถั่วที่เก็บจากศูนย์วิจัยพืชอาหารสัตว์ท่าพระ เมื่อเลี้ยงในอาหาร YEMA อายุ 2 วัน โคโลนีมีรูปร่างและลักษณะเหมือนไรโซเบียม	33
2	ลักษณะการเกิดปมของเชื้อไรโซเบียมที่เก็บจากศูนย์วิจัยพืชอาหารสัตว์ปากช่อง เมื่อปลูกถั่วใน pouch โดยใช้สารละลาย N - free	34
3	ลักษณะการเกิดปมของเชื้อไรโซเบียมที่เก็บจากศูนย์ศึกษาพัฒนาเขาหินซ้อน เมื่อปลูกถั่วใน pouch โดยใช้สารละลาย N - free	35
4	ลักษณะการเกิดปมของเชื้อไรโซเบียมที่เก็บจากสถาบันเทคโนโลยีแห่งเอเชีย เมื่อปลูกถั่วใน pouch โดยใช้สารละลาย N - free	36
5	ลักษณะการเกิดปมของเชื้อไรโซเบียมที่ได้จากกรมวิชาการเกษตร เมื่อปลูกถั่วใน pouch โดยใช้สารละลาย N - free	37
6	การเจริญเติบโตของถั่วเซนโตรซีมา เมื่ออายุ 75 วัน เห็นความแตกต่างในหนึ่งซ้ำ	38
7	อุปกรณ์ที่ใช้ในการวัดกิจกรรมการตรึงไนโตรเจนของปมถั่ว โดยวิธี Acetylene reduction assay	39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

การสร้างหรือปรับปรุงทุ่งหญ้าเลี้ยงสัตว์ให้มีคุณภาพดี อาจทำได้โดยการปลูกพืชตระกูลถั่วร่วมกับหญ้า ทั้งนี้เพราะถั่วมีปริมาณโปรตีนสูง และสามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศมาใช้ได้ การตรึงไนโตรเจนจากอากาศเกิดจากเชื้อไรโซเบียม ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในปมรากของพืชตระกูลถั่ว การตรึงไนโตรเจนไนโตรเจนจะเกิดได้มากหรือน้อย ขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพของเชื้อไรโซเบียมที่เข้าไปสร้างปมที่ราก กล่าวคือ เชื้อไรโซเบียมชนิดหนึ่งจะเหมาะสมกับถั่วแต่ละชนิดไม่เหมือนกัน จึงทำให้มีการจำแนกเชื้อไรโซเบียมตามกลุ่มของถั่วที่ไรโซเบียมเข้าไปสร้างปมได้เรียกว่า Cross Inoculation Groups

ในบรรดาถั่วอาหารสัตว์ที่นิยมปลูกในประเทศไทย ถั่วเซนโตรซีมาเป็นถั่วที่มีศักยภาพค่อนข้างสูง สามารถเจริญเติบโตได้ดีในดินทรายที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ การตรึงไนโตรเจนในถั่วเซนโตรซีมา เกิดจากเชื้อไรโซเบียมซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม Cowpea type สำหรับเชื้อไรโซเบียมในกลุ่มนี้เชื่อกันว่า ถั่วสามารถสร้างปมที่มีประสิทธิภาพจากเชื้อไรโซเบียมหลายสายพันธุ์ (strains) จึงไม่จำเป็นต้องคลุกเชื้อไรโซเบียมให้กับถั่วก่อนปลูก อย่างไรก็ตาม Norris (1972), Date (1983), People et.al. (1989) รายงานว่าความเชื่อดังกล่าวข้างต้นไม่เป็นจริงเสมอไป เพราะถั่วในสกุลเซนโตรซีมา (Centrosema) ถึงแม้ว่าจะสร้างปมได้กับเชื้อไรโซเบียมหลายสายพันธุ์ก็ตาม ปมส่วนใหญ่จะไม่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน ดังนั้น จึงควรคลุกเชื้อไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพให้กับถั่วก่อนปลูก สำหรับในประเทศไทย กรมวิชาการเกษตรโดยกลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดินผลิตเชื้อไรโซเบียมสำหรับถั่วเซนโตรซีมา โดยใช้สายพันธุ์ไรโซเบียมจากศูนย์ NifTAL ที่ Hawaii เชื้อเหล่านี้ส่วนใหญ่คัดเลือกโดย University of Malaysia ประเทศมาเลเซีย (Halliday and Somasegaran, 1984 ; และวิทยา ธนานุสนธ์ ติดต่อเป็นการส่วนตัว) จากการศึกษาอิทธิพลของการคลุกเชื้อไรโซเบียมที่ผลิตโดยกรมวิชาการเกษตรในดินชุดต่างๆในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบว่าผลผลิตของถั่วเซนโตรซีมาเพิ่มขึ้นตั้งแต่ 11-123 กก/ไร่ ซึ่งค่อนข้างต่ำ(สุมิตรา 2532) และจากการสังเกตพบว่าจำนวนปมที่รากถั่วมีค่อนข้างน้อย นอกจากนั้น สมปอง และสุมิตรา (2535) ทำการศึกษาในเบื้องต้นเกี่ยวกับเชื้อไรโซเบียมในถั่วเซน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โตรซีมา พบว่า เชื้อที่เขี่ยจากปมถั่วที่ปลูกในแปลงปลูกแบบธรรมชาติ ทำให้น้ำหนักแห้งของถั่วสูงกว่าการคลุกเชื้อสายพันธุ์ต่างประเทศ และไม่คลุกเชื้อ ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้ จึงทำการคัดเลือกเชื้อไรโซเบียมจากแหล่งปลูกต่าง ๆ เพื่อนำมาทดสอบในถั่วเซนโตรซีมา

วัตถุประสงค์

เพื่อเปรียบเทียบเชื้อไรโซเบียมที่แยกจากปมถั่วเซนโตรซีมา ซึ่งปลูกในแหล่งต่าง ๆต่อการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนของถั่วเซนโตรซีมา

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

ถั่วเซนโตรซีมา หรือ ถั่วลาย (Centrosema or butterfly pea)

ถั่วเซนโตรซีมา หรือ ถั่วลาย มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Centrosema pubescens มีถิ่นกำเนิดในอเมริกาใต้ อเมริกากลาง และหมู่เกาะแคริบเบียน Genus Centrosema มีอยู่ด้วยกันทั้งหมดประมาณ 30-70 species แต่ที่รู้จักแพร่หลายได้แก่ species pubescens ถั่วเซนโตรซีมาแพร่กระจายไปในที่ต่างๆ ของเขตร้อนชื้นทั่วโลกหลายแห่ง ในประเทศไทยยังไม่พบหลักฐานว่าใครเป็นผู้นำเข้ามาเป็นคนแรก แต่ได้มีผู้ปลูกคลุมดินในสวนยางพาราในภาคใต้มานานแล้ว (ชาญชัย 2518)

ถั่วเซนโตรซีมาที่ปลูกเป็นอาหารสัตว์มี 2 พันธุ์ คือ พันธุ์ดั้งเดิม (Common centro) และพันธุ์เบลแลลโต (Belalto) ซึ่งชนิดหลังนี้ได้จากการคัดเลือก และการรวบรวมพันธุ์จากประเทศคอสตาริกา (Costa Rica) พันธุ์เบลแลลโตนี้มีความสามารถทนต่อสภาพหนาวเย็นและให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์ดั้งเดิม (Grof และ Harding, 1970)

ลักษณะทั่วไป :-

ถั่วเซนโตรซีมา มีลักษณะการเจริญเติบโตเป็นแบบเถาเลื้อยไปบนดิน หรือเลื้อยพันหลักพืชอื่นที่ขึ้นอยู่ข้างเคียง สามารถงอกรากตามข้อที่แตะกับผิวดินได้บ้าง โดยเฉพาะในพันธุ์เบลแลลโต ถ้าปลูกถั่วเซนโตรชรมาแต่เพียงอย่างเดียว (pure sward) ถั่วชนิดนี้จะขึ้นปกคลุมผิวดินหนาถึง 35-40 ซม. ภายในเวลา 4-8 เดือนหลังจากปลูก

ถั่วเซนโตรซีมา มีระบบรากแก้วที่หยั่งลึกลงไปในดิน และมีรากแขนงกระจายออกตามด้านข้าง ใบเป็นแบบ pinnately trifoliate leaf โดยมีใบย่อย 3 ใบ ใบย่อยมีสีเขียวเข้ม รูปร่างคล้ายรูปไข่ แต่ใบค่อนข้างยาว และแคบกว่า (elliptic) หรือคล้ายรูปไข่ส่วนที่กว้างที่สุดอยู่ค่อนไปทางโคนใบ ปลายใบมน (obtuse) หรือเรียวเล็กแหลมและค่อยๆ แผ่กว้าง ขนาด 4 x 2-2.5 ซม. มีขนเล็กน้อย โดยเฉพาะด้านล่างของใบหรือใต้ใบ หูใบ (stipules) ยาวและคงอยู่ได้นาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดอกมีขนาดใหญ่ ช่อดอกจัดอยู่ในแบบ raceme เกิดอยู่ในระหว่างมุมใบ โดยมีก้านของช่อดอกชูขึ้นมา ในช่อดอกหนึ่งจะมีดอกย่อย 3-5 ดอก ดอกสีม่วงอ่อน ฝักจะแบนและหนา ยาว 7-15 ซม. ฝักเมื่อแก่มีสีน้ำตาล เมล็ดสีดำ มีจุดประสีดำหรือสีน้ำตาลมองเห็นเป็นลายชัดเจน (สายัณห์ 2520; Grof และ Harding, 1970) แต่ละฝักจะมีเมล็ด 20 เมล็ด ใน 1 กิโลกรัม จะมีเมล็ดประมาณ 40,000 เมล็ด

ลักษณะทางการเกษตร :-

ถั่วเซนโตรซีมา เป็นพืชวันสั้น มีการตอบสนองต่อช่วงกลางวันสูง อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตจะอยู่ต่ำกว่าถั่วเดสโมเดียม ถั่วกลายซีน และถั่วเซอราโต อุณหภูมิสูงกว่า 25.6 และต่ำกว่า 12.8 องศาเซลเซียส การเจริญเติบโตจะชะงัก ในบริเวณที่มีอุณหภูมิต่ำๆ ถึงขั้นมีน้ำค้างแข็งจะทำความเสียหายให้กับถั่วเซนโตรซีมาเป็นอย่างมาก แต่อาจจะฟื้นตัวได้อีก ถ้าหากต้นเหง้าเดิมยังไม่ถูกทำลายไป อย่างไรก็ดี พันธุ์เบลแลลโตสามารถนำไปปลูกในบริเวณที่มีอากาศหนาวเย็นได้

ถั่วเซนโตรซีมาทนแล้งได้พอใช้ และขึ้นได้ดีในบริเวณที่ได้รับฝนเฉลี่ย 1,500 มม. ขึ้นไป อย่างไรก็ดี ในบริเวณที่ได้รับน้ำฝนเฉลี่ยเพียง 1,000 มม. ก็สามารถขึ้นได้ แต่บริเวณฝนตกชุกจะเจริญเติบโตได้ดีกว่า ถั่วเซนโตรซีมาพันธุ์ดั้งเดิมขึ้นได้ดีในดินหลายชนิด และปรับตัวได้ดีที่สุดในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง ขึ้นได้ดีในดินทราย และดินที่มีการระบายน้ำดี ไม่ทนทานต่อสภาพขังน้ำต่อเนื่อง (ชาญชัย 2518)

ถั่วเซนโตรซีมาแตกต่างจากถั่วเขตร้อนชนิดอื่นในเรื่องโรคและแมลง โดยทั่วไปไม่มีโรคและแมลงที่สำคัญที่จะทำความเสียหายให้กับถั่วชนิดนี้ แต่อาจจะมีบ้าง เช่นโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส ถั่วเซนโตรซีมาพันธุ์เบลแลลโต สามารถทนทานต่อโรค Cercospora leaf spot และ red spide (tetranychus) ได้ดีกว่าถั่วเซนโตรซีมาพันธุ์ดั้งเดิม เป็นที่ทราบกันดีกว่าต้นอ่อนของถั่วเซนโตรซีมาเจริญเติบโตช้า และจะเจริญเติบโตได้เร็วในระยะหลังๆ ในระหว่างถั่วเซนโตรซีมาอายุ 5 อาทิตย์ถึงระยะเวลาที่ถั่วกำลังมีเถาเลื้อย สามารถใช้ 2,4-D ในอัตรา 0.34 กก.ของเนื้อยา/เฮกตาร์ เพื่อควบคุมวัชพืช พื้นที่ที่จะปลูกถั่วควรมีการเตรียมดินที่ดีปราศจากวัชพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถั่วเซนโตรซีมาขึ้นได้ดีกับหญ้าหลายชนิด เช่นหญ้ากินนี หญ้าขน หญ้าเนเปียร์ หญ้าแพนโกล่า (Digitaris decumbens) และหญ้าโมล้าส (Milinis minutiflora) อาจใช้ถั่วชนิดนี้ปลูกผสมกับหญ้ามอริชัส (Brachiaria mutica) หญ้าซิกแนล (Brachiaria decumben) หรือหญ้าเซาท์อัฟริกา (Setaria anceps) ซึ่งในประเทศฟิลิปินส์ใช้ถั่วชนิดนี้ปลูกผสมกับหญ้ามอริชัสในสวนมะพร้าว เพื่อใช้เลี้ยงโคได้เป็นอย่างดี ปัจจุบันกรมปศุสัตว์แนะนำให้ปลูกผสมกับหญ้าซิกแนลในสวนมะพร้าว (กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ 2521) และเนื่องจากถั่วเซนโตรซีมามีเมล็ดแข็งจำนวนมาก เมล็ดที่จะใช้ปลูกควรจะแช่น้ำร้อนที่เดือดประมาณ 10 นาที จะช่วยให้อัตราการงอกดีขึ้น ในด้านผลผลิตนั้นถั่วเซนโตรซีมาพันธุ์ใหม่จะให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์ดั้งเดิม และพันธุ์ใหม่ยังทนทานต่อการแทะเล็มได้ดีกว่าพันธุ์ดั้งเดิม ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากพันธุ์เบลแลลโตมีรากออกจากข้อทุกๆ ข้อที่แตะพื้นดินนั่นเอง

ในด้านความสามารถในการตรึงไนโตรเจนก็เช่นเดียวกับถั่วเขตร้อนชนิดอื่น เท่าที่มีรายงานปรากฏดังนี้ ในการทำทุ่งหญ้าผสม สามารถตรึงไนโตรเจนได้ 138-280 กก./เฮกตาร์/ปี (22.1-44.8 กก./ไร่/ปี) และมีโปรตีนรวมประมาณ 23 เปอร์เซ็นต์ในช่วงของการเจริญเติบโต และประมาณ 15 เปอร์เซ็นต์ในช่วงฤดูหนาว ถั่วเซนโตรซีมาตอบสนองต่อปุ๋ยสูง ค่าวิกฤติสำหรับธาตุอาหารฟอสฟอรัส และโปแตสเซียม เท่ากับ 0.16 และ 0.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Andrew และ Robin, 1969a) สำหรับธาตุฟอสฟอรัสในดิน 30 ppm.และโปแตสเซียม 120 ppm. ถือเป็นระดับที่พอเพียงในทุ่งหญ้าผสม ระหว่างถั่วชนิดนี้กับหญ้าที่ขึ้นร่วม

ถั่วเซนโตรซีมาเป็นพืชบำรุงดินที่ดีชนิดหนึ่ง เนื่องจากสามารถสร้างปมและตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ดี และให้ไนโตรเจนแก่ดินได้สูง ถั่วเซนโตรซีมาสามารถสร้างปมที่รากโดยเชื้อไรโซเบียม ในกลุ่ม Cowpea ซึ่งการสร้างปมจะมีอยู่ตลอดระยะเวลาการเจริญเติบโตของถั่ว และปมถั่วจะทำหน้าที่ได้ดีในระยะที่ถั่วกำลังเจริญเติบโต เมื่อปมแก่หรือสิ่งแวดล้อมไม่เหมาะสม ปมถั่วจะไม่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนและหลุดร่วงไป ซึ่ง Moore (1962) รายงานว่า ถั่วเซนโตรซีมาสามารถตรึงไนโตรเจนได้ 235 กก./เฮกตาร์/ปี เมื่อถั่วเซนโตรซีมาอายุได้ 5 เดือนขึ้นไป ส่วน Whitney และคณะ (1967) พบว่า ถั่วเซนโตรซีมาในระยะออกดอกตรึงไนโตรเจนได้สูงถึง 204 กก./เฮกตาร์/ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะบางประการของเชื้อไรโซเบียม :-

ไรโซเบียมเป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ใน Family Rhizobiaceae, Genus Rhizobium (R) ไรโซเบียมปกติมีลักษณะรูปร่างเป็นท่อน (rod shape) ขนาดของเซลประมาณ 0.5-0.9 x 1.2-3.0 ไมครอน ย้อมสีติดสีแกรมลบ (gram negative) ไม่สร้างสปอร์ เคลื่อนไหวโดยอาศัย flagellum แต่ในบางกรณีไรโซเบียมก็อาจจะมีลักษณะเป็นทางกลม (cocus) มีทั้งชนิดที่เคลื่อนไหวได้และเคลื่อนไหวไม่ได้ เชื้อไรโซเบียมที่อาศัยอยู่ในดินมักอยู่ในรูปเซลทรงกลม ส่วนเซลของไรโซเบียมที่อาศัยอยู่ในปมรากพืชตระกูลถั่วจะแตกต่างไปจากเซลดังที่กล่าวแล้ว คือมีลักษณะพองโตกว่ามาก รูปร่างไม่แน่นอน (pleomorphic) อาจมีรูปร่างเป็น X-shape, Y-shape, Star-shape, Pear-shape หรือ Club-shape ปะปนกัน หรือบางกรณีก็เกือบกลม เรียกเซลเหล่านี้ว่า แบคทีรอยด์ (bacteroid) ไรโซเบียมจัดเป็นแบคทีเรียที่ต้องการอากาศ (aerobic bacteria) แต่บางกรณีก็สามารถอาศัยในที่ที่มีอากาศน้อย เช่นในสภาพที่มีน้ำขังตลอดฤดูการทำนา เป็นต้น (Alexander 1961; สมศักดิ์ 2525)

การจำแนกเชื้อไรโซเบียมสามารถจำแนกได้หลายวิธี โดยทั่วไปนิยมแยกเชื้อไรโซเบียม โดยใช้ความสามารถของเชื้อไรโซเบียมในการทำให้เกิดปมที่รากถั่ว ว่าสามารถทำให้เกิดปมกับถั่วกลุ่มใด ซึ่งเรียกว่า การจำแนกตาม Cross-inoculation group หรือ plant inoculation group หมายถึงกลุ่มของถั่วที่จะเกิดปมได้จากเชื้อไรโซเบียมบริสุทธิ์ที่แยกจากถั่วในกลุ่มเดียวกัน เช่นเชื้อไรโซเบียมที่แยกจากถั่วพุ่ม แล้วสามารถนำไปเพาะเชื้อให้เกิดปมได้ในถั่วเขียว ถั่วฝักยาว จึงจัดว่าถั่วฝักยาว ถั่วเขียว ถั่วพุ่ม ไว้ในกลุ่มที่ต้องการเชื้อไรโซเบียมชนิดเดียวกัน

ถั่วพืชอาหารสัตว์เขตร้อนส่วนมากเกิดปมได้กับเชื้อไรโซเบียมในกลุ่ม Cowpea ซึ่งเป็นเชื้อที่สามารถทำให้เกิดปมกับถั่วหลายชนิด แม้จะต่าง Genus กัน ไรโซเบียมกลุ่ม Cowpea จะเจริญช้าและผลิตสารที่มีปฏิกิริยาเป็นด่างออกมาขณะที่กำลังเจริญเติบโต ทำให้ทนต่อดินที่มีสภาพเป็นกรด และมีประสิทธิภาพสูงในการดึงดูด Ca จากดินที่มีธาตุนี้ในปริมาณต่ำ เนื่องจากเชื้อไรโซเบียมในกลุ่ม Cowpea ทำให้เกิดปมในถั่วพืชอาหารสัตว์เขตร้อนหลายชนิด เพราะฉะนั้นถั่วพืชอาหารสัตว์หลายชนิดจึงไม่จำเป็นต้องคลุกเชื้อไรโซเบียม เพราะมีอยู่ในดินโดยธรรมชาติ ยกเว้นถั่วอาหารสัตว์ที่ต้องการไรโซเบียมที่จำเพาะเจาะจงกับพืชอาหารสัตว์แต่ละชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความสัมพันธ์ระหว่างไรโซเบียมกับพืชตระกูลถั่ว

เชื้อไรโซเบียมในกลุ่ม Cowpea สามารถทำให้เกิดปมกับถั่วอาหารสัตว์หลายชนิด เช่นถั่วในสกุล Centrosema, Desmodium และ Stylosanthes เป็นต้น แต่เดิมเชื่อกันว่าถั่วอาหารสัตว์เหล่านี้สามารถเกิดปมได้กับเชื้อไรโซเบียมได้หลาย strains แต่จากรายงานในระยะหลังพบว่า ความเชื่อดังกล่าวไม่เป็นจริงเสมอไป จึงได้แบ่งพืชที่สามารถเกิดปมกับเชื่อไรโซเบียมในกลุ่ม Cowpea ออกเป็น 3 กลุ่ม (Date, 1983) คือ

1.1 กลุ่ม PE - promiscuous and effective พืชตระกูลถั่วในกลุ่มนี้สามารถเกิดปมได้กับไรโซเบียมหลาย strains และปมส่วนใหญ่จะมีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน ถั่วที่สำคัญในกลุ่มนี้ได้แก่ Vigna, Lablab, Dolichos และบาง species ของ Stylosanthes เป็นต้น

1.2 กลุ่ม PI - promiscuous and often ineffective พืชตระกูลถั่วในกลุ่มนี้สามารถเกิดปมได้กับไรโซเบียมหลาย strains แต่ปมส่วนใหญ่อาจไม่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน ถั่วที่สำคัญในกลุ่มนี้ได้แก่ Desmodium บาง species ของ Stylosanthes Centrosema และ Sesbania เป็นต้น

1.3 กลุ่ม S - specific ถั่วในกลุ่มนี้จะเกิดปมได้กับไรโซเบียมที่ค่อนข้างจำเพาะเจาะจง ถั่วที่สำคัญในกลุ่มนี้ได้แก่ Leucaena, Mimosa และ Trifolium เป็นต้น

การศึกษาเกี่ยวกับเชื้อไรโซเบียม กลุ่ม Cowpea ในประเทศไทย

การศึกษาเกี่ยวกับเชื้อไรโซเบียมในประเทศไทย ส่วนใหญ่จะเน้นหนักในถั่วเศรษฐกิจ เช่นถั่วเหลือง ถั่วเขียว และถั่วลิสง ส่วนถั่วอาหารสัตว์มีน้อย วรรณกรณ์ (2529) ทำการศึกษาผลของการคลุกเชื้อไรโซเบียมในถั่วฮามาต้าและถั่วเซนโตรซีมา พบว่าการคลุกเชื้อไรโซเบียมทำให้ผลผลิตน้ำหนักแห้ง ประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน (วัดโดยวิธี ARA) สูงกว่าเมื่อไม่คลุกเชื้อ สำหรับถั่วเซนโตรซีมาพบว่า เมื่อไม่มีการใส่ปุ๋ยฟอสฟอรัส การคลุกเชื้อจะทำให้ผลผลิตน้ำหนักสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ นอกจากนั้น การคลุกเชื้อไรโซเบียมยังทำให้ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนในถั่วเซนโตรซีมาสูงกว่าไม่คลุกเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมปอง และสุมิตรา (2535) รายงานว่า เชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ KMITL 3 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่เก็บจากปมถั่วเขียวโตรซีมาในแปลงปลูกของศูนย์พัฒนาเขาหินซ้อน จังหวัดฉะเชิงเทรา ให้ผลผลิตน้ำหนักแห้งสูงกว่าเมื่อคลุกด้วยเชื้อสายพันธุ์ TAL 658 (จากกรมวิชาการเกษตร) และไม่คลุกเชื้อ โดยให้น้ำหนักแห้งตามลำดับดังนี้ 45.9, 35.5 และ 32.6 กรัม/กระถาง แต่การคลุกเชื้อไรโซเบียม KMITL 3 ให้กิจกรรมการตรึงไนโตรเจนสูงกว่าไม่คลุกเชื้อ แต่ไม่แตกต่างจากสายพันธุ์ TAL 658 ในทางตรงกันข้าม วรรณดี (2534) ทำการศึกษาอิทธิพลของการคลุกเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ต่างๆ 4 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ KMITL1, KMITL 2 (จากศูนย์ศึกษาและพัฒนาตามพระราชดำริ เขาหินซ้อน) TAL 652 (จากกรมวิชาการเกษตร) และ ST (จากแปลงพืชอาหารสัตว์ AIT) ให้ผลผลิตน้ำหนักแห้งไม่แตกต่างกับไม่คลุกเชื้อ แต่สายพันธุ์ ST ให้ค่ากิจกรรมการตรึงไนโตรเจนสูงสุดเท่ากับ 9.55 umole/กระถาง/ชม. ซึ่งสูงกว่าไม่คลุกเชื้อ และการคลุกเชื้อด้วยสายพันธุ์อื่นๆ ที่ให้ค่ากิจการการตรึงไนโตรเจนระหว่าง 1.42-2.85 umole/กระถาง/ชม.

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาปฐพีวิทยา และเรือนทดลอง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โดยมีขั้นตอนการทดลองดังนี้

1. การแยกเชื้อไรโซเบียม (ISolation)

1.1 การเก็บปมถั่ว ทำการเก็บปมรากของถั่วเซนโตรซีมาจากแหล่งต่างๆ ดังนี้

- ศูนย์วิจัยพืชอาหารสัตว์ท่าพระ อำเภอท่าพระ จังหวัดขอนแก่น (ท่าพระ)
- ศูนย์วิจัยพืชอาหารสัตว์ปากช่อง อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา (ปากช่อง) จากถั่วเซนโตรซีมา 4 สายพันธุ์ ได้แก่ 1) Vak 40060 (PA) 2) Common (PB) 3) CIAT 5126 (PC) และ 4) Vak (PD)
- ศูนย์ศึกษาพัฒนาเขาหินซ้อน อำเภอเขาหินซ้อน จังหวัดฉะเชิงเทรา (เขาหินซ้อน) เก็บปมถั่วจากแปลงปลูกถั่ว 2 บริเวณ (KA และ KB)
- แปลงปลูกพืชอาหารสัตว์ สถาบันเทคโนโลยีแห่งเอเชีย (AIT) อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี

1.2 การแยกเชื้อออกจากปมถั่ว

นำปมถั่วพร้อมรากที่ได้จากข้อ 1.1 มาล้างน้ำให้สะอาด เด็ดปมออกจากราก ทำการแยกปมออกเป็น 2 ขนาด คือ ปมขนาดใหญ่ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 3 มม. และปมขนาดเล็กที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางน้อยกว่า 3 มม. นำปมมาทำความสะอาดอีกครั้งโดยใช้คลอรอกซ์ผสมน้ำในอัตราส่วน 1:1 หลังจากนั้นล้างด้วยแอลกอฮอล์ 75% และน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว นำปมที่สะอาดมาทำการแยกเชื้อออกจากปมโดยใช้ปลายเข็มเขี่ยเชื้อแตะที่ปม แล้วใช้ปากคีบ (forceps) กดลงตรงกลางปมให้แตกออก เลือกเฉพาะปมที่ภายในเป็นสีชมพูสด (แสดงว่าปมอาจจะมีเชื้ออยู่ สำหรับปมที่เป็นสีน้ำตาลหรือสีเขียวไม่ใช้ เพราะเชื้ออาจตายแล้ว) เมื่อปมแตกแล้วใช้ปลายเข็มเขี่ยแตะภายในปม แล้วจิง streak ลงบน plate ซึ่งมีอาหาร Yeast Extract Mannitol Agar(YEMA, สูตรอาหารอยู่ในภาพผนวก) ทำการบ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลาประมาณ 5-7 วัน จะเห็นโคโลนีของเชื้อไรโซเบียมขึ้นบนอาหาร โคโลนีของเชื้อไรโซ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เบียมมีลักษณะกลม สีขาวขุ่น และมีขนาดเล็ก จากนั้นทำการย้อมสีเพื่อทดสอบโดยใช้ carbol fuchsin เซลของเชื้อไรโซเบียมจะเป็น rod shape ติดสีแดง (gram negative) เมื่อแน่ใจแล้วว่าเป็นเชื้อไรโซเบียมจึงทำการ subculture เชื้อจาก plate มาเก็บไว้ใน slant ซึ่งมีอาหาร YEMA เชื้อใน slant ที่ได้นี้เก็บไว้เป็น stock culture

1.3 การเพิ่มปริมาณเชื้อ

นำเชื้อไรโซเบียมจาก stock culture มาเลี้ยงในอาหารเหลว Yeast Extract Mannitol Broth (YEMB) จนได้เชื้อประมาณ 10^9 เซล/มล. สำหรับการทดสอบปริมาณเชื้อใช้วิธี serial dilution (วิธีการอยู่ในภาพผนวก)

จากขั้นตอนที่ 2 สามารถแยกเชื้อไรโซเบียมได้ทั้งสิ้น 13 สายพันธุ์ จากแหล่งต่างๆ กัน 4 แห่ง ดังนี้

1. เชื้อจากปมถั่วที่เก็บจากศูนย์วิจัยพืชอาหารสัตว์ปากช่อง
   - เชื้อจากปมขนาดใหญ่ 3 สายพันธุ์ คือ PA1, PB1 และ PC1
   - เชื้อจากปมขนาดเล็ก 3 สายพันธุ์ คือ PB2, PC2 และ PD2
2. เชื้อจากปมถั่วที่เก็บจากศูนย์ศึกษาพัฒนาเขาหินซ้อน
   - เชื้อจากปมขนาดใหญ่ 1 สายพันธุ์ คือ KA1
   - เชื้อจากปมขนาดเล็ก 2 สายพันธุ์ คือ KA2, KB2
3. เชื้อจากปมถั่วที่เก็บจากสถาบันเทคโนโลยีแห่งเอเชีย (AIT)
   - เชื้อจากปมขนาดใหญ่ คือ A1
   - เชื้อจากปมขนาดเล็ก คือ A2
4. เชื้อจากปมถั่วที่เก็บจากศูนย์วิจัยพืชอาหารสัตว์ท่าพระ
   - เชื้อจากปมขนาดใหญ่ คือ T1
   - เชื้อจากปมขนาดเล็ก คือ T2

หมายเหตุ ปมขนาดใหญ่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 3 มม. โดยประมาณ
ปมขนาดเล็กมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางน้อยกว่า 3 มม. โดยประมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การทดสอบการเกิดปมในห้องปฏิบัติการ (Infection test)

2.1 เตรียมสารละลาย N-free nutrient solution โดยใช้สูตรอาหารของ Munns (1968) จากนั้นนำสารละลายไปใส่ในถุงปลูก (pouch) ซึ่งทำจากถุงร้อน ขนาด 5x8 นิ้ว รีดตรงกลางถุงเพื่อแบ่งออกเป็น 2 ช่อง ใส่กระดาษฟาง และหลอดพลาสติก แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ เมื่อต้องการปลูกถั่ว ใส่ N-free nutrient solution ลงไป 1/3 ของถุง

2.2 นำถั่วเซนโตรซีมาที่เพาะไว้แล้ว 48 ชม. ลงปลูกในถุงแล้วใส่เชื้อไรโซเบียมที่เลี้ยงในอาหาร YEMB จนได้ 10^9 เซล/มม. ลงไปตรงบริเวณรากถั่ว หลังจากนั้น 21 วัน สังเกตการเกิดปมที่บริเวณราก ในช่วงเวลา 21 วัน ทำการตรวจสอบระดับของสารอาหาร N-free nutrient solution ไม่ให้ต่ำหรือสูงเกินไป เมื่อใบแท้เริ่มงอกนำไปตั้งในที่ๆ มีแสงแดด เพื่อไม่ให้ต้นยืดมากเกินไปจนอ่อนแอ

3. การทดสอบการเกิดปมในกระถาง (Pot culture)

วางแผนการทดลอง Randmomized Complete Block Design (RCBD) จำนวน 15 ตำรับการทดลอง โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ ดังนี้

ตำรับการทดลองที่ 1 ไม่คลุกเชื้อไรโซเบียม
ตำรับการทดลองที่ 2 คลุกเชื้อ TAL 688 (จากกรมวิชาการเกษตร)
ตำรับการทดลองที่ 3 คลุกเชื้อ TAL 655 (จากกรมวิชาการเกษตร)
ตำรับการทดลองที่ 4 คลุกเชื้อ TAL 652 (จากกรมวิชาการเกษตร)
ตำรับการทดลองที่ 5 เชื้อจากปมถั่วที่เก็บจากปากช่อง และปมมีขนาดใหญ่ (PA1)
ตำรับการทดลองที่ 6 เชื้อจากปมถั่วที่เก็บจากปากช่อง และปมมีขนาดใหญ่ (PB1)
ตำรับการทดลองที่ 7 เชื้อจากปมถั่วที่เก็บจากปากช่อง และปมมีขนาดเล็ก (PB2)
ตำรับการทดลองที่ 8 เชื้อจากปมถั่วที่เก็บจากปากช่อง และปมมีขนาดใหญ่ (PC1)
ตำรับการทดลองที่ 9 เชื้อจากปมถั่วที่เก็บจากปากช่อง และปมมีขนาดเล็ก (PC2)
ตำรับการทดลองที่ 10 เชื้อจากปมถั่วที่เก็บจากปากช่อง และปมมีขนาดเล็ก (PD2)
ตำรับการทดลองที่ 11 เชื้อจากปมถั่วที่เก็บจากเขาหินซ้อน และปมมีขนาดใหญ่ (KA1)
ตำรับการทดลองที่ 12 เชื้อจากปมถั่วที่เก็บจากเขาหินซ้อน และปมมีขนาดเล็ก (KA2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตำรับการทดลองที่ 13 เชื้อจากปมถั่วที่เก็บจากเขาหินซ้อน และปมมีขนาดเล็ก (KB2)

ตำรับการทดลองที่ 14 เชื้อจากปมถั่วที่เก็บจาก AIT และปมมีขนาดใหญ่ (A1)

ตำรับการทดลองที่ 15 เชื้อจากปมถั่วที่เก็บจาก AIT และปมมีขนาดเล็ก (A2)

การเตรียมดินปลูกทำดังนี้ ใช้ดินชุดมาบบอน (pH 5.6, ความนำไฟฟ้าของสารละลาย 0.15 mS/cm, อินทรียวัตถุ 0.78%, CEC 2.8 meq/100 กรัมดินอบแห้ง, Available P 11.5 ppm) เก็บจาก อำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี จำนวน 8 กิโลกรัม ผสมกับขุยมะพร้าว 200 กรัม ปุ๋ยกทม. 300 กรัม นำส่วนผสมทุกอย่างพร้อมทั้งดินไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน ใส่ดินในกระถางปลูกขนาด 12 นิ้ว ทุกกระถางใส่ปุ๋ย triple superphosphate จำนวน 1 กรัม เพาะถั่วใส่ใน plate จนรากยาวประมาณ 1.5 ซม. จึงย้ายลงกระถางๆ ละ 3 ต้น และใส่เชื้อที่เลี้ยงในอาหาร YEMB ซึ่งมีเชื้อประมาณ 10^9 เซล/มล. จำนวน 5 มล./กระถาง เมื่อถั่วอายุประมาณ 3 สัปดาห์ หรือเมื่อต้นเจริญเติบโตดีแล้ว ทำการถอนทิ้งให้เหลือกระถางละ 1 ต้น ใส่เชื้อครั้งที่ 2 จำนวน 15 มล./กระถาง หลังจากนั้น 1 สัปดาห์ ทำการใส่เชื้อครั้งที่ 3 จำนวน 10 มล./กระถาง การให้น้ำทำโดยให้น้ำที่จานรองกระถาง ทำการเก็บเกี่ยวถั่วเมื่ออายุ 75 วัน ตัดรากและต้นแยกจากกัน นำรากที่มีปมติดอยู่ไปวัดกิจกรรมการตรึงไนโตรเจน โดยวิธี Acetylene-ethylene reduction assay (ARA) ตามขั้นตอนของ วรวิชญ์ (2520) เมื่อวัดค่า ARA เสร็จแล้วนำรากไปล้างทำความสะอาด แยกปมออกจากราก นับจำนวนปม แล้วนำรากและปมไปอบแห้งที่ 70 °ซ. ส่วนลำต้นนำไปอบให้แห้ง หลังจากนั้นนำไปบดและหาความเข้มข้นของไนโตรเจนและฟอสฟอรัส โดยวิธี sulphuric-peroxide (สุมิตรา 2534) ดังรายละเอียดข้างล่าง

<u>การหาปริมาณการตรึงไนโตรเจน โดยวิธี Acetylene Reduction Assay</u> :

1. แยกรากและปมออกจากดินโดยระมัดระวังมิให้ปมหลุดออกจากราก
2. นำรากและปมที่ยังมีเศษดินติดอยู่ใส่ลงในขวดที่มีฝาปิดมิดชิด
3. ใช้เข็มฉีดยาดูดอากาศจากขวดที่มีรากและปมอยู่ จำนวน 25 มล.
4. ดูดก๊าซ acetylene จำนวน 25 มล. ใส่กลับลงไปในขวดที่มีรากและปมอยู่ บ่มไว้ 1 ชม.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ดูดก๊าซจากขวดออกมา 10 มล. แล้วใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 10 มล. ที่ทำเป็นสูญญากาศแล้ว
6. ดูดก๊าซจากหลอดทดลองในข้อ 5 จำนวน 1 มล. ฉีดลงในเครื่อง gas chromatography แล้วอ่านค่าที่ได้จากกราฟและตัวเลข
7. นำตัวเลขมาคำนวณเพื่อหาค่าประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของปมถั่ว

<u>การวิเคราะห์ความเข้มข้นของไนโตรเจนและฟอสฟอรัส โดยวิธี sulphuric-peroxide</u>

1. ชั่งตัวอย่างพืชที่ร่อนผ่านตะแกรง ขนาด 0.5 มม. ลงในหลอด digest ขนาด 75 มม.
2. เติมสารละลาย H_2SO_4-H_2O_2-Li_2SO_4-Se จำนวน 4.4 มล.
3. นำไป digest ใน digest block ที่อุณหภูมิต่ำ แล้วค่อยๆ เพิ่มอุณหภูมิสูงขึ้นจนถึง 350 °ซ. เมื่อได้สารละลายใส digest ต่อประมาณ 1 ชม. ยกลงทิ้งไว้ให้เย็น ปรับปริมาตรเป็น 50 มล. ด้วยน้ำกลั่น
4. การวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในสารละลายที่ได้จากการ digest ใช้วิธีกลั่นโดยใช้ aliquot จำนวน 10 มล. และ NaOH จำนวน 5 มล. จับ NH_3 ที่ปลดปล่อยออกมาด้วย boric acid 2% ตามวิธีของ Bremner (1982) หลังจากนั้นไตเตรทด้วย HCl 0.1
5. การวิเคราะห์ฟอสฟอรัสทั้งหมดใช้วิธี yellow molybdovanadophosphoric acid (Yoshida และคณะ 1976) ดังนี้ ใช้ aliquot จำนวน 1 มล. เติม HNO_3 2 มล. และสารละลาย molybdate-vanadate 1 มล. แล้วปรับปริมาตรเป็น 10 มล. ด้วยน้ำกลั่น เขย่าและตั้งทิ้งไว้ให้เกิดสี 20 นาที แล้ววัด % transmittance ที่ 420 nm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

การแยกเชื้อไรโซเบียม

เมื่อนำปมถั่วที่เก็บจากแหล่งต่าง ๆ ทั้ง 4 แหล่งมาแยกเชื้อและเลี้ยงในอาหาร Yeast Extract Mannitol Agar ปรากฏว่าแยกเชื้อได้จำนวนทั้งสิ้น 13 สายพันธุ์คือ PA1, PB1, PC1, PB2, PC2, PD2, KA1, KA2, KB2, A1, และ A2, T1 และ T2 เชื้อเหล่านี้มีลักษณะโคโลนีขาวขุ่น และปรากฏบนอาหารในเวลาประมาณ 5 -7 วันยกเว้นเชื้อ T1 และ T2 ซึ่งเป็นเชื้อที่แยกจากปมถั่วที่เก็บมาจากศูนย์วิจัยพืชอาหารสัตว์ท่าพระ จังหวัดขอนแก่น ซึ่งมีอัตราการเจริญเติบโตเร็วมากคือ มีโคโลนีปรากฏบนอาหารภายในเวลา 2 - 3 วัน เมื่อนำไปทดสอบด้วยการย้อมสีจะติดสีแดง (gram negative) และมีรูปร่าง rod shape แต่เมื่อนำไปทดสอบการเกิดปมใน pouch ไม่ปรากฏว่ามีการสร้างปมในถั่วเซนโตรซีมา จึงตัดเชื้อนี้ออกจากการทดสอบในกระถาง ทำให้มีเชื้อสำหรับการทดสอบในกระถางจำนวน 11 สายพันธุ์ รวมกับเชื้อในคลังเชื้อของกรมวิชาการเกษตร 3 สายพันธุ์คือ TAL 688, TAL 652, TAL 658 และไม่คลุกเชื้อ (control) เป็น 15 ตำรับการทดลอง

ผลผลิตน้ำหนักแห้งของถั่วเซนโตรซีมา (Dry matter weight)

อิทธิพลของการคลุกเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่มีต่อน้ำหนักแห้งของถั่วเซนโตรซีมาที่อายุเก็บเกี่ยว 75 วัน ได้แสดงไว้ในตารางที่ 1 จากตารางจะพบว่า น้ำหนักแห้งสูงสุดที่ได้จากการทดลองครั้งนี้ได้แก่ ตำรับการทดลองที่ได้รับการคลุกเชื้อไรโซเบียม A2 ที่ให้ค่าน้ำหนักแห้งเท่ากับ 29.2 กรัม/กระถาง ซึ่งสูงกว่าตำรับการทดลองที่ได้รับเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ TAL 655, PA1 และ TAL 652 ที่ให้ค่าน้ำหนักแห้งต่ำสุด 3 ตามลำดับดังนี้ 15.0, 13.1 และ 10.97 กรัม/กระถาง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ตำรับที่มีน้ำหนักแห้งสูงเป็นอันดับ 2 ได้แก่ไรโซเบียมสายพันธุ์ KB2 มีน้ำหนักแห้ง 27.8 กรัม/กระถาง ซึ่งสูงกว่าตำรับ TAL 652 และ PA1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการคลุกเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์อื่น ๆ รวมทั้งตำรับที่ไม่ได้รับการคลุกเชื้อ มีค่าไม่แตกต่างกันในทางสถิติ อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาสายพันธุ์ไรโซเบียม พบว่าเชื้อไรโซเบียมที่แยกจากปมที่เก็บจากแหล่งต่าง ๆ มีแนวโน้มที่จะให้ผลผลิตน้ำหนักแห้งสูงกว่าเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไรโซเบียมที่ได้จากกรมวิชาการเกษตร ยกเว้นเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ PA1 ที่ได้จากปมที่เก็บจากจากศูนย์วิจัยพืชอาหารสัตว์ปากช่อง ซึ่งให้ค่าค่อนข้างต่ำ สำหรับเชื้อไรโซเบียมที่ให้ผลผลิตน้ำหนักแห้งสูงสุด 5 อันดับแรกได้แก่ A2, KB2, PB1, KA2 และ PC1 ตามลำดับ น้ำหนักแห้งของถั่วเซนโตรซีมาที่ได้จากการทดลองครั้งนี้ มีน้ำหนักแห้งต่อกระถางค่อนข้างต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองของ สมปองและสุมิตรา (2535) ที่ให้ค่าน้ำหนักแห้งตั้งแต่ 32.5 - 45.9 กรัม/กระถาง ทั้งนี้เนื่องจากการทดลองครั้งนี้ปลูกถั่วเพียง 1 ต้น/กระถาง และไม่ได้ปล่อยให้ถั่วเลื้อยพันหลักเหมือนการทดลองของ สมปองและสุมิตรา (2535) แต่ถ้าคำนวณเป็นน้ำหนักแห้งต่อต้นจะพบว่า ค่าที่ได้จากการทดลองครั้งนี้มีค่าค่อนข้างสูง ทั้งนี้เนื่องจากการแข่งขันกันระหว่างพืชภายในกระถางมีน้อย ผลการทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานของ Norris (1972), Date (1983) และ People et al. (1989) ที่รายงานว่าเชื้อไรโซเบียมต่างสายพันธุ์ จะมีผลต่อการเจริญของถั่วเซนโตรซีมาต่างกัน

น้ำหนักแห้งของราก (Root dry matter weight)

น้ำหนักแห้งของรากถั่วที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้มีความผันแปรค่อนข้างสูงคือมีค่าตั้งแต่ 1.48 - 4.31 กรัม/กระถาง (ตารางที่ 2) โดยน้ำหนักแห้งรากสูงสุดได้แก่ตำรับการทดลองที่ได้รับเชื้อสายพันธุ์ A2 และ KB2 ซึ่งให้น้ำหนักเท่ากัน ส่วนตำรับการทดลองที่มีค่าต่ำสุดได้แก่ตำรับที่ได้รับเชื้อ TAL 652 ซึ่งทั้ง 2 ตำรับการทดลองมีค่าแตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนั้น ตำรับที่ได้รับเชื้อ A2 และ KB2 ยังมีค่าสูงกว่าตำรับ PA1, TAL 655 และ PD2 ซึ่งให้ค่าตามลำดับดังนี้ 2.61, 2.57 และ 1.93 กรัม/กระถาง แต่ไม่แตกต่างจากตำรับอื่น ๆ รวมทั้งตำรับที่ไม่มีการคลุกเชื้อไรโซเบียม เมื่อพิจารณาน้ำหนักแห้งของต้นและรากพบว่า ส่วนใหญ่มีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน กล่าวคือ เมื่อน้ำหนักแห้งของต้นสูง น้ำหนักแห้งของรากจะสูงด้วย

จำนวนปมถั่ว (Nodule number)

จำนวนปมถั่วที่ได้จากการเก็บเกี่ยวถั่วเซนโตรซีมาเมื่ออายุ 75 วัน ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3 จากตารางจะพบว่า เชื้อไรโซเบียมส่วนใหญ่สามารถทำให้เกิดปมจำนวนมากที่รากของถั่วเซนโตรซีมา คือจะเกิดปมมากกว่า 100 ปมขึ้นไป ยกเว้น ถั่วที่ได้รับการคลุกเชื้อสายพันธุ์ TAL 655

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ให้ปมเพียง 62.7 ปม/กระถาง ส่วนถั่วที่มีปมมากกว่า100 และ 200 ปม/กระถางมีจำนวนเท่ากันคือ 47% ของตำรับการทดลองทั้งหมด โดยถั่วที่ให้ปมสูงสุดได้แก่ตำรับการทดลองที่ได้รับเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ KA2 มีจำนวนปมเท่ากับ 259.7 ปม/กระถาง รองลงมาอีก 2 อันดับได้แก่สายพันธุ์ KB2 และ PC1 ซึ่งให้ปมเท่ากับ 252.3 และ 249.3 ปม/กระถาง ตามลำดับ ทั้ง 3 ตำรับการทดลองนี้มีค่าสูงกว่าตำรับที่ได้รับเชื้อ TAL 655 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่แตกต่างจากตำรับการทดลองอื่น ๆ ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ วรรณดี (2534) ที่พบว่าเชื้อไรโซเบียมที่ได้จากการแยกเชื้อจากแหล่งปลูกในประเทศ ให้จำนวนปมมากกว่าสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมที่นำเข้าจากต่างประเทศ ทั้งนี้อาจเนื่องจากเชื้อที่มีอยู่แล้วในดิน สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดีกว่าเชื้อที่นำเข้าจากต่างประเทศ นอกจากนั้น จากการทดลองครั้งนี้ยังพบว่าในตำรับที่ไม่มีการคลุกเชื้อ ปรากฏว่ามีปมรากอยู่เป็นจำนวนมากถึง 164 ปม ทั้งนี้อาจเนื่องจากดินที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้มีเชื้อไรโซเบียมอยู่ เพราะในบริเวณนั้นมีการปลูกถั่วอยู่ และเมื่อนำมานึ่งฆ่าเชื้อ เชื้อที่มีอยู่ในดินอาจไม่ตาย นอกจากนั้น อาจมีการปนเปื้อนจากตำรับการทดลองอื่น ๆ เนื่องจากโรงเรือนที่ใช้ทดลองเป็นแบบเปิด เมื่อลมพัดแรง เกิดการปนเปื้อนได้ง่าย จากการที่มีปมมากในตำรับที่ไม่คลุกเชื้อนี้ ทำให้น้ำหนักแห้งของต้นถั่วที่ได้จากการทดลองครั้งนี้ มีค่าสูง

น้ำหนักแห้งของปม (Nodule dry weight)

น้ำหนักแห้งของปมถั่วที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้มีค่าตั้งแต่ 0.30 - 1.14 กรัม/กระถาง โดยน้ำหนักแห้งสูงสุดได้แก่ การคลุกเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ PB1 ส่วนน้ำหนักแห้งต่ำสุดได้แก่สายพันธุ์ TAL 655 ซึ่งเป็นตำรับที่ให้จำนวนปมต่ำสุดเช่นกัน (ตารางที่ 4) สำหรับถั่วที่มีน้ำหนักแห้งสูงสุด 5 อันดับได้แก่ PB1, A2, PC1, TAL 688 และ PB2 ซึ่งมีน้ำหนักแห้งเท่ากับ 1.18, 1.01, 0.95, 0.89 และ 0.86 กรัม/กระถาง ตามลำดับ เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนปมกับน้ำหนักแห้งของปมพบว่า ถั่วที่มีจำนวนปมมาก มีแนวโน้มที่จะให้น้ำหนักแห้งสูงกว่าถั่วที่มีจำนวนปมน้อย และเมื่อหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างค่าทั้งสองพบว่ามีค่าเท่ากับ 0.80

กิจกรรมการตรึงไนโตรเจนของเชื้อไรโซเบียม (Nitrogenase activity)

กิจกรรมการตรึงไนโตรเจนของเชื้อไรโซเบียม ซึ่งวัดโดยวิธี Acetylene reduction

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

assay ได้แสดงไว้ในตารางที่ 5 จากตารางจะพบว่า ตำรับการทดลองที่ให้ค่า ARA สูงสุดได้แก่ ตำรับที่ได้รับการคลุกเชื้อ PC1 ซึ่งให้ค่า ARA เท่ากับ 5.00 u moles C_2H_4/ต้น/ชม. รองลงมาได้แก่ตำรับที่ไม่ได้รับการคลุกเชื้อ (control) ที่ให้ค่าเท่ากับ 4.77u moles C_2H_4/ต้น/ชม. ซึ่งทั้ง 2 ตำรับการทดลองนี้มีค่าสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกว่าตำรับการทดลองที่ให้ค่า ARA ต่ำสุดคือ ตำรับที่ได้รับเชื้อ TAL 655 ที่ให้ค่าเพียง 1.76 u moles C_2H_4/ต้น/ชม. ส่วนตำรับการทดลองอื่น ๆไม่มีค่าแตกต่างกันในทางสถิติ เมื่อพิจารณาทุกตำรับการทดลองพบว่า ค่า ARA ส่วนใหญ่จะมีค่ามากกว่า 3 u moles C_2H_4/ต้น/ชม. ยกเว้นตำรับการทดลองที่ได้รับเชื้อ PA1 ที่มีค่า ARA 2.17 และ TAL 652 ที่มีค่า ARA 2.11 และ TAL 655 ที่มีค่า ARA 1.76 u moles C_2H_4/ต้น/ชม. ค่า ARA ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้มีค่าสูงมากเมื่อเทียบกับรายงานของสมปองและสุมิตรา (2535) ซึ่งพบว่าถั่วเซนโตรซีมาที่อายุเก็บเกี่ยว 75 วันเช่นกันมีค่า ARA สูงสุดเพียง 3.1 u moles C_2H_4/ต้น/ชม. และวรรณกรณ์ (2529) ซึ่งรายงานว่าค่า ARA ของถั่วเซนโตรซีมาเท่ากับ 1 u moles C_2H_4/ต้น/ชม. ทั้งนี้อาจเนื่องจากการศึกษาครั้งนี้ปลูกถั่วเซนโตรซีมาเพียง 1 ต้น/กระถาง และมีการใส่ปุ๋ยฟอสฟอรัสให้กับถั่วในอัตราสูงคือ 1 กรัม triple superphosphate/กระถาง การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อไรโซเบียมต่างสายพันธุ์มีกิจกรรมในการตรึงไนโตรเจนที่วัดโดยค่า ARA ต่างกัน แต่ค่าที่แตกต่างกันค่อนข้างน้อย โดยเฉพาะสายพันธุ์ไรโซเบียมที่ได้จากแปลงปลูกในประเทศไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานของ Norris (1972) และ Date (1983) ซึ่งกล่าวว่า ปมถั่วเซนโตรซีมามีกิจกรรมในการตรึงไนโตรเจนแตกต่างกัน

ความเข้มข้นของไนโตรเจนในถั่วเซนโตรซีมา (Nitrogen concentration)

ความเข้มข้นของไนโตรเจนในถั่วเซนโตรซีมาที่อายุเก็บเกี่ยว 75 วันได้แสดงไว้ในตารางที่ 6 จากตารางจะพบว่าความเข้มข้นของไนโตรเจนในถั่วเซนโตรซีมามีค่าตั้งแต่ 2.37 -2.99% โดยตำรับการทดลองที่มีค่าสูงสุดได้แก่ ตำรับการทดลองที่ได้รับเชื้อ A2 รองลงมาได้แก่ตำรับที่ได้รับเชื้อ PC2 ซึ่ง 2 ตำรับการทดลองนี้มีค่าความเข้มข้นไนโตรเจนสูงกว่าตำรับการทดลอง TAL 655 ที่มีค่าความเข้มข้นของไนโตรเจนต่ำสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนั้นยังมีค่าสูงกว่าตำรับการทดลองที่ไม่ได้รับเชื้อ และตำรับการทดลองที่ได้รับเชื้อ TAL 688 ที่มีค่าไนโตรเจนเท่า

RQ439

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กันคือ 2.45% ส่วนตำรับการทดลองอื่น ๆไม่มีค่าแตกต่างกันในทางสถิติ ความเข้มข้นไนโตรเจนที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้มีค่าใกล้เคียงกับ ความเข้มข้นของไนโตรเจนที่รายงานโดย สมปองและสุมิตรา (2535) ซึ่งมีค่า 2.19 - 2.78% แต่สูงกว่าค่าประมาณ 2% ในถั่วเซนโตรซีมาที่ปลูกในแปลงทดลองในที่ต่าง ๆ ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (สุมิตรา และคณะ 2532) ทั้งนี้อาจเนื่องจากการทดลองครั้งนี้ มีการผสมปุ๋ยอินทรีย์กับดิน นอกจากนั้นยังมีการใส่ปุ๋ยฟอสฟอรัสในอัตราสูง ทำให้ถั่วสามารถเจริญเติบโตได้ดีในระยะแรก ทำให้การเกิดปมในถั่วมีมาก และปมที่เกิดมีกิจกรรมการตรึงไนโตรเจนสูง

ผลผลิตไนโตรเจน (Nitrogen Uptake)

เมื่อนำค่าน้ำหนักแห้งของถั่วเซนโตรซีมาและความเข้มข้นของไนโตรเจนมาคำนวณเป็นค่าผลผลิตไนโตรเจน (nitrogen uptake) พบว่า ค่าผลผลิตไนโตรเจนจะขึ้นกับค่าน้ำหนักแห้งคือถ้าน้ำหนักแห้งสูง ค่าผลผลิตไนโตรเจนก็จะสูงตามไปด้วย จากตารางที่ 7 จะพบว่า ตำรับการทดลองที่ได้รับเชื้อ A2 ให้ค่าผลผลิตไนโตรเจนสูงสุดคือ 829.9 มิลลิกรัม/กระถาง ซึ่งเป็นค่าที่สูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกว่า ตำรับการทดลองที่มีค่าผลผลิตไนโตรเจนเป็นอันดับที่ 12, 13, 14 และ 15 ซึ่งได้แก่ ตำรับการทดลองที่ไม่คลุกเชื้อ PA1, TAL 655 และ TAL 652 ที่มีค่าผลผลิตไนโตรเจนตามลำดับดังนี้ 457.5, 377.4, 352.1 และ 292.5 มิลลิกรัม/กระถาง ส่วนตำรับการทดลองอื่น ๆมีค่าไม่แตกต่างกันในทางสถิติ เมื่อพิจารณาผลผลิตไนโตรเจนที่ได้จากการทดลองครั้งนี้พบว่า มีค่าตั้งแต่ 292.5 ถึง 829.9 มิลลิกรัม/กระถาง ซึ่งเป็นค่าที่ค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองของ สมปองและสุมิตรา (2535) ซึ่งมีค่าตั้งแต่ 821.1 - 1191.5 มิลลิกรัม/กระถาง ทั้งนี้อาจเนื่องจาก การทดลองครั้งนี้ปลูกถั่วเซนโตรซีมาเพียง 1 ต้น/กระถาง ทำให้ค่าน้ำหนักแห้งต่อกระถางมีค่าต่ำกว่าการทดลองของสมปองและสุมิตรา (2535) ที่ปลูกจำนวน 3 ต้น/กระถาง แต่ถ้าคำนวณค่าผลผลิตไนโตรเจนเป็น มิลลิกรัม/ต้น จะพบว่า ค่าที่ได้จากการทดลองครั้งนี้มีค่าสูงกว่า ผลการทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อไรโซเบียมต่างชนิดกัน มีผลต่อค่าผลผลิตไนโตรเจนในถั่วเซนโตรซีมาแตกต่างกัน และสายพันธุ์ไรโซเบียมที่ได้จากการแยกเชื้อจากปมที่เก็บจากแหล่งปลูกในประเทศส่วนใหญ่จะให้ผลดีกว่าสายพันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศ แต่ความแตกต่างของสายพันธุ์จากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศมีค่อนข้างน้อย ผลการทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รายงานของ วรรณกรณ์ (2529) ที่พบว่า เมื่อถั่วเซนโตรซีมาอายุ 2 เดือน การคลุกเชื้อไรโซเบียม (ที่แยกจากปมถั่วในประเทศ) และไม่คลุกเชื้อไรโซเบียมไม่มีผลต่อผลผลิตไนโตรเจนในถั่วเซนโตรซีมา แต่เมื่อถั่วมีอายุมากขึ้น (ตั้งแต่อายุ 2 1/2 - 4 เดือน) การคลุกเชื้อไรโซเบียมทำให้ผลผลิตไนโตรเจนเพิ่มขึ้น

ความเข้มข้นของฟอสฟอรัส และ ผลผลิตฟอสฟอรัส (P concentration and upatake)

ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในถั่วเซนโตรซีมาเมื่ออายุเก็บเกี่ยว 75 วัน แสดงไว้ในตารางที่ 8 จากตารางจะพบว่า ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสมีค่าตั้งแต่ 0.12 - 0.25% โดยค่าที่ได้มีความแตกต่างกันในทางสถิติ และมีแนวโน้มว่าตำรับการทดลองที่ได้รับเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ที่เขี่ยจากปมถั่วในประเทศ ส่วนใหญ่มีแนวโน้มจะให้ค่าสูงกว่าตำรับที่ไม่ได้รับการคลุกเชื้อ และคลุกเชื้อจากสายพันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศ เมื่อพิจารณาค่าความเข้มข้นฟอสฟอรัสที่ได้จากการทดลองครั้งนี้พบว่า มีค่าต่ำกว่าการทดลองของสุมิตรา และคณะ (2532) ซึ่งมีค่าความเข้มข้นของฟอสฟอรัสมากกว่า 0.25% เมื่อคำนวณค่าผลผลิตฟอสฟอรัสในถั่วเซนโตรซีมาพบว่ามีค่าตั้งแต่ 19.26 - 69.49 มิลลิกรัม/กระถาง (ตารางที่ 9) โดยค่าสูงสุดแตกต่างกันในทางสถิติกับค่าต่ำสุด แต่ค่าอื่น ๆแตกต่างกันค่อนข้างน้อย ผลการทดลองครั้งนี้แตกต่างกับการทดลองของ วรรณกรณ์ (2529) ที่พบว่า การคลุกเชื้อไรโซเบียมไม่มีผลต่อผลผลิตฟอสฟอรัสของถั่วเซนโตรซีมาที่ปลูกในกระถาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 อิทธิพลของสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมต่อน้ำหนักแห้งของต้นถั่วเขียวโตรซีมาเมื่ออายุ 75 วัน

สายพันธุ์เชื้อไรโซเบียม	อันดับ	น้ำหนักต้นแห้ง (กรัม/กระถาง)
ไม่คลุกเชื้อไรโซเบียม	12	18.3 a-d
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL688	11	19.7 a-d
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL655	13	15.0 bcd
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL652	15	10.9 d
คลุกเชื้อไรโซเบียม PA1	14	13.1 cd
คลุกเชื้อไรโซเบียม PB1	3	25.1 abc
คลุกเชื้อไรโซเบียม PB2	8	20.7 a-d
คลุกเชื้อไรโซเบียม PC1	5	23.1 a-d
คลุกเชื้อไรโซเบียม PC2	9	20.6 a-d
คลุกเชื้อไรโซเบียม PD2	10	20.3 a-d
คลุกเชื้อไรโซเบียม KA1	6	22.1 a-d
คลุกเชื้อไรโซเบียม KA2	4	23.8 a-d
คลุกเชื้อไรโซเบียม KB2	2	27.8 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม A1	7	21.9 a-d
คลุกเชื้อไรโซเบียม A2	1	29.2 a

* ตัวอักษรที่ต่างกันใน column แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการวิเคราะห์โดยวิธี DMRT

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 อิทธิพลของสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมต่อน้ำหนักแห้งของรากถั่วเซนโตรซีมา เมื่ออายุ 75 วัน

สายพันธุ์เชื้อไรโซเบียม	อันดับ	น้ำหนักรากแห้ง (กรัม/กระถาง)
ไม่คลุกเชื้อไรโซเบียม	5	3.44 abc
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL688	6	3.25 abc
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL655	13	2.57 bcd
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL652	15	1.48 d
คลุกเชื้อไรโซเบียม PA1	12	2.61 bcd
คลุกเชื้อไรโซเบียม PB1	4	3.51 abc
คลุกเชื้อไรโซเบียม PB2	10	2.91 a-d
คลุกเชื้อไรโซเบียม PC1	3	4.00 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PC2	11	2.63 a-d
คลุกเชื้อไรโซเบียม PD2	14	1.93 cd
คลุกเชื้อไรโซเบียม KA1	8	3.14 abc
คลุกเชื้อไรโซเบียม KA2	9	3.12 abc
คลุกเชื้อไรโซเบียม KB2	1	4.31 a
คลุกเชื้อไรโซเบียม A1	7	3.23 abc
คลุกเชื้อไรโซเบียม A2	1	4.31 a

* ตัวอักษรที่ต่างกันใน column แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการวิเคราะห์โดยวิธี DMRT

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 อิทธิพลของสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมต่อจำนวนของปมรากถั่วเซนโตรซีมา เมื่ออายุ 75 วัน

สายพันธุ์เชื้อไรโซเบียม	อันดับ	จำนวนของปมถั่ว (ปม/กระถาง)
ไม่คลุกเชื้อไรโซเบียม	11	164.0 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL688	8	194.0 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL655	15	62.7 b
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL652	14	121.0 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PA1	13	123.0 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PB1	4	246.0 a
คลุกเชื้อไรโซเบียม PB2	5	230.3 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PC1	3	249.3 a
คลุกเชื้อไรโซเบียม PC2	7	210.3 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PD2	10	167.3 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม KA1	12	162.3 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม KA2	1	259.7 a
คลุกเชื้อไรโซเบียม KB2	2	252.3 a
คลุกเชื้อไรโซเบียม A1	9	184.3 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม A2	6	215.7 ab

* ตัวอักษรที่ต่างกันใน column แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการวิเคราะห์โดยวิธี DMRT

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 อิทธิพลของสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมต่อน้ำหนักแห้งของปมรากถั่วเซนโตรซีมา เมื่ออายุ 75 วัน

สายพันธุ์เชื้อไรโซเบียม	อันดับ	น้ำหนักแห้งของปมถั่ว (กรัม/กระถาง)
ไม่คลุกเชื้อไรโซเบียม	6	0.83 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL688	4	0.89 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL655	15	0.30 b
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL652	14	0.44 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PA1	13	0.45 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PB1	1	1.14 a
คลุกเชื้อไรโซเบียม PB2	5	0.86 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PC1	3	0.95 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PC2	10	0.64 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PD2	12	0.53 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม KA1	9	0.65 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม KA2	8	0.69 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม KB2	7	0.80 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม A1	11	0.54 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม A2	2	1.01 a

* ตัวอักษรที่ต่างกันใน column แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการวิเคราะห์โดยวิธี DMRT

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 อิทธิพลของสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมต่อประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของถั่วเซน-โตรซีมา เมื่ออายุ 75 วัน

สายพันธุ์เชื้อไรโซเบียม	อันดับ	ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน (u mole C_2H_4/กระถาง/ชม.)
ไม่คลุกเชื้อไรโซเบียม	2	4.77 a
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL688	6	4.33 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL655	15	1.76 b
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL652	14	2.11 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PA1	13	2.71 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PB1	3	4.44 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PB2	10	3.78 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PC1	1	5.00 a
คลุกเชื้อไรโซเบียม PC2	3	4.44 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PD2	9	3.80 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม KA1	8	4.02 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม KA2	12	3.26 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม KB2	7	4.30 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม A1	11	3.33 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม A2	5	4.36 ab

* ตัวอักษรที่ต่างกันใน column แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการวิเคราะห์โดยวิธี DMRT

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 อิทธิพลของสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมต่อความเข้มข้นไนโตรเจนในต้นถั่วเขียวโตรซีมาเมื่ออายุ 75 วัน

สายพันธุ์เชื้อไรโซเบียม	อันดับ	% ไนโตรเจน
ไม่คลุกเชื้อไรโซเบียม	13	2.45 b
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL688	13	2.45 b
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL655	15	2.37 b
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL652	9	2.68 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PA1	3	2.86 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PB1	11	2.64 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PB2	8	2.69 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PC1	5	2.82 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PC2	2	2.97 a
คลุกเชื้อไรโซเบียม PD2	5	2.82 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม KA1	12	2.63 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม KA2	4	2.83 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม KB2	7	2.81 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม A1	10	2.66 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม A2	1	2.99 a

* ตัวอักษรที่ต่างกันใน column แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการวิเคราะห์โดยวิธี DMRT

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 อิทธิพลของสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมต่อผลผลิตไนโตรเจนของต้นถั่วเซนโตรซีมา เมื่ออายุ 75 วัน

สายพันธุ์เชื้อไรโซเบียม	อันดับ	N uptake (มก./กระถาง)
ไม่คลุกเชื้อไรโซเบียม	12	457.5 bcd
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL688	11	485.3 a-d
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL655	14	352.1 cd
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL652	15	292.5 d
คลุกเชื้อไรโซเบียม PA1	13	377.4 cd
คลุกเชื้อไรโซเบียม PB1	3	673.9 abc
คลุกเชื้อไรโซเบียม PB2	10	525.8 a-d
คลุกเชื้อไรโซเบียม PC1	5	649.8 a-d
คลุกเชื้อไรโซเบียม PC2	6	621.1 a-d
คลุกเชื้อไรโซเบียม PD2	9	568.8 a-d
คลุกเชื้อไรโซเบียม KA1	8	580.0 a-d
คลุกเชื้อไรโซเบียม KA2	4	671.0 abc
คลุกเชื้อไรโซเบียม KB2	2	777.7 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม A1	7	590.9 a-d
คลุกเชื้อไรโซเบียม A2	1	829.9 a

* ตัวอักษรที่ต่างกันใน column แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการวิเคราะห์โดยวิธี DMRT

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 อิทธิพลของสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมต่อความเข้มข้นฟอสฟอรัสในต้นถั่วเขนโตรซีมาเมื่ออายุ 75 วัน

สายพันธุ์เชื้อไรโซเบียม	อันดับ	% ฟอสฟอรัส
ไม่คลุกเชื้อไรโซเบียม	11	0.16 b-f
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL688	15	0.12 f
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL655	14	0.13 ef
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL652	8	0.18 a-f
คลุกเชื้อไรโซเบียม PA1	2	0.24 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PB1	8	0.18 a-f
คลุกเชื้อไรโซเบียม PB2	12	0.15 c-f
คลุกเชื้อไรโซเบียม PC1	1	0.25 a
คลุกเชื้อไรโซเบียม PC2	4	0.22 a-d
คลุกเชื้อไรโซเบียม PD2	13	0.14 def
คลุกเชื้อไรโซเบียม KA1	5	0.21 a-e
คลุกเชื้อไรโซเบียม KA2	7	0.19 a-f
คลุกเชื้อไรโซเบียม KB2	6	0.20 a-e
คลุกเชื้อไรโซเบียม A1	10	0.17 b-f
คลุกเชื้อไรโซเบียม A2	3	0.23 abc

* ตัวอักษรที่ต่างกันใน column แสดงว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการวิเคราะห์โดยวิธี DMRT

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 อิทธิพลของสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียม ต่อผลผลิตฟอสฟอรัสของต้นถั่วเขียวโตรซีมา เมื่ออายุ 75 วัน

สายพันธุ์เชื้อไรโซเบียม	อันดับ	ผลผลิตฟอสฟอรัส (มก./กระถาง)
ไม่คลุกเชื้อไรโซเบียม	10	29.75 cd
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL688	13	23.43 cd
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL655	15	19.26 d
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL652	14	20.83 cd
คลุกเชื้อไรโซเบียม PA1	9	31.55 cd
คลุกเชื้อไรโซเบียม PB1	7	43.20 bcd
คลุกเชื้อไรโซเบียม PB2	11	29.22 cd
คลุกเชื้อไรโซเบียม PC1	2	57.77 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PC2	4	45.25 bc
คลุกเชื้อไรโซเบียม PD2	12	28.62 cd
คลุกเชื้อไรโซเบียม KA1	6	45.08 bc
คลุกเชื้อไรโซเบียม KA2	5	45.16 bc
คลุกเชื้อไรโซเบียม KB2	3	56.28 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม A1	8	37.45 bcd
คลุกเชื้อไรโซเบียม A2	1	69.49 a

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ 2521 หญ้าสำหรับเลี้ยงสัตว์ วารสารพัฒนาที่ดิน 15(157): 1-15

วรรณกรณ์ รุ่งรัตนภาสิน 2529 ผลของฟอสฟอรัส และการคลุกเชื้อไรโซเบียมต่อการเจริญเติบโต และการตรึงไนโตรเจนของถั่วฮามาต้า และเซนโตรซีมาที่ปลูกบนดินชุดกำแพงแสน บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพ

วรรณดี พิเชฐพงศ์ธรกุล 2534 อิทธิพลของสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียม และปุ๋ยฟอสฟอรัสต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนของถั่วเซนโตรซีมาที่ปลูกบนดินชุดโคราช ปัญหาพิเศษปริญญาตรี คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง

วรวิชญ์ รุ่งรัตนภาสิน สมพร ชุนห์ลือชานนท์ จริยุทธ ตันวีนุกูล นันทกร บุญเกิด และ เย็นใจ วสุวัต 2520 ศึกษาวิธีการวัดการตรึงไนโตรเจนของบักเตรีปมถั่วเหลืองโดยวิธี อะเซทีลีนรีดักชั่น ที่มีประสิทธิภาพที่สุด หน้า 282-289 ใน รายงานประจำปี 2520 กองวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร บางเขน กรุงเทพ

สมปอง หมื่นแจ้ง และสุมิตรา ภู่วโรดม 2535 อิทธิพลของการคลุกเชื้อไรโซเบียม และการใส่ปุ๋ยฟอสฟอรัสต่อการเจริญเติบโตของถั่วเซนโตรซีมา หน้า 653-659 รายงานการประชุมทางวิชาการครั้งที่ 30 (สาขาพืช) 29 มกราคม -1 กุมภาพันธ์ 2535 มหาวิยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพ

สมศักดิ์ วังใน 2525 การตรึงไนโตรเจน - ไรโซเบียม พืชตระกูลถั่ว คณะเกษตร มหาวิยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพ 283 หน้า

สายัณห์ ทัดศรี 2520 หลักการทำทุ่งหญ้าเลี้ยงสัตว์ ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพ 445 หน้า

สุมิตรา ภู่วโรดม อภิศักดิ์ โพธิ์ปั้น ประยุทธ วิไลวรรณ อดุลย์เดช สุทธิสิงห์ สมศักดิ์ ชัยนา และสุดจิตต์ สวนมาลี 2532 การใช้เชื้อไรโซเบียมและปุ๋ยฟอสฟอรัสในการเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของถั่วอาหารสัตว์ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ รายงานการวิจัยเสนอต่อโครงการน้ำพระทัยจากในหลวง (อีสานเขียว) กองทัพบก 80 หน้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Andrew, C.S.and M.F. Robins. 1969. The effect of phosphorous on growth and chemical composition of some tropical pasture legume I.Growth and critical percentage of phosphorus. Aust. J. Agric. Res. 20: 665-674.

Alexander, M. 1977. Introduction to Soil Microbiology. 2nd edition. John Wiley and Sons, New York. 467 pp.

Bowen, C.D. 1959. Specific and nitrogen fixation in Rhizobium symbiosis of Centrosema pubescens, Benth. Qd.J.Agric. Sci. 16:267-270.

Bremner, J.M. and C.S. Mulvarey. 1982. Nitrogen- Total, p. 595-624. In A.L. Page (eds.), Methods of Soil Analysis. Part 2, Agronomy Monograph No. 9, American Society of Agronomy, Madison, Wis.

Date, R.A. 1983. Microbiological consideration - Rhizobium specificity for nodulation and nitrogen fixation. In Burt et al. (eds.), The Role of Centrosema, Desmodium and Stylosanthes in Improving Tropical Pastures. pp. 221-226. Westview Tropical Agriculture Series No. 6, Westview Press, USA.

Grof, B. and W.A.T. Harding. 1970. Yield attributes of some species and ecotype of Centrosema in North Queensland. Qd. J. Agric. Anim. Sci. 27: 237-239.

Halliday, J. and P. Somasegaran. 1984. The Rhizobium Germplasm Resource at Niftal: Catalogue of Strains. University of Hawaii Niftal Project and Mircen.

Moore, A.W. 1962. The influence of legume on soil fertility under a grazed tropical pasture. Emp. J. Exp. Agric. 30: 239-242.

Munns, D.N. 1968. Nodulation of Medicago sativa in solution culture. I. Acid sensitive steps. Plant and Soil 28: 129-146.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Norris, D.O. 1965. Acid production by rhizobium : A unifying concept. Plant and Soil. 22:143-166.

People, M.B., A.W. Faizah, B. Rerkasem and D.F. Herridge. 1989. Methods for Evaluation Nitrogen Fixation by Nodulated Legumes in the Field. Australian Center for International Agriculture Research. 76 pp.

Reddy, P.R., A.A. Zaheda and L.M. Rao. 1976. Influence of basal dose of nitrogen and Rhizobial inoculation on yield and nitrogen uptake in black bean (Phaseolus mungo L.). Indian J. Plant Physiol. 21: 210-212.

Whitney, A.S., Y. Kanehiro and G.D. Sherman. 1967. Nitrogen relation -ships of three tropical legumes in pure strain and grass mixture. Agron. J. 59: 47-50.

Yoshida, S., D.A. Forno, J.H. Cook and K.A. Gomez. 1976. Laboratory Maual for Physiological Studies of Rice, 3th edition. The International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines.

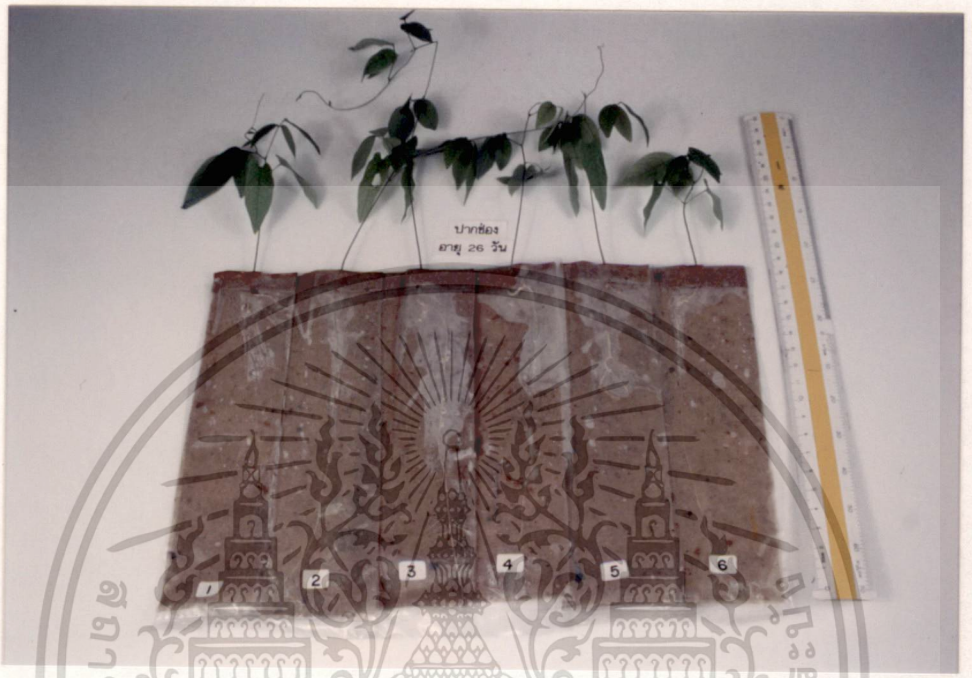
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

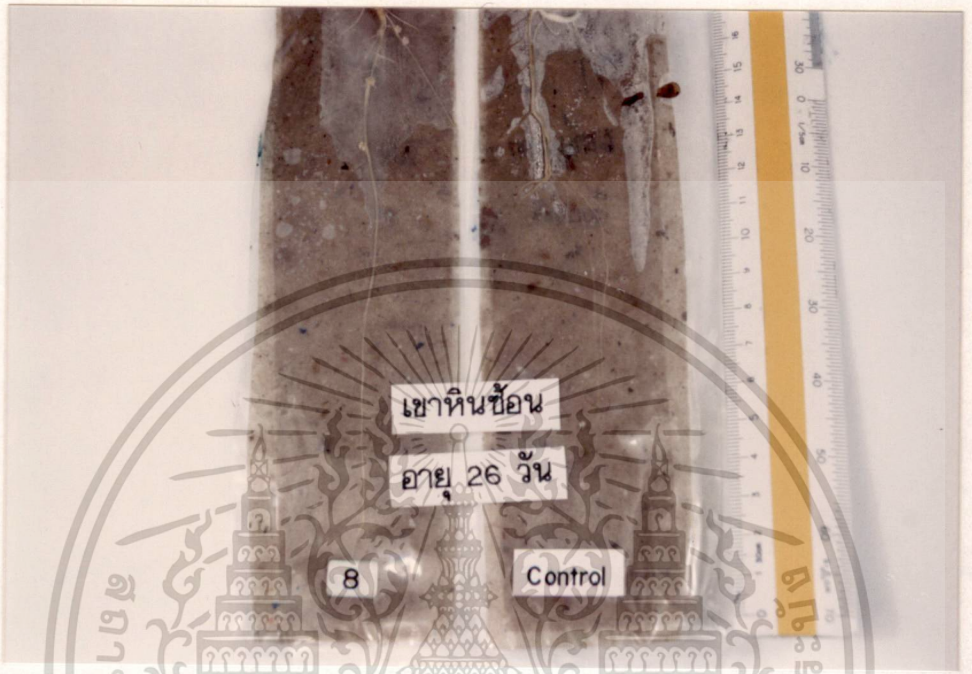
รูปที่ 1 ลักษณะโคโลนีของเชื้อที่เขี่ยจากปมถั่วที่เก็บจากศูนย์วิจัยพืชอาหารสัตว์ท่าพระ เมื่อเลี้ยงในอาหาร YEMA อายุ 2 วัน โคโลนีมีรูปร่างและลักษณะเหมือนไรโซเบียม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



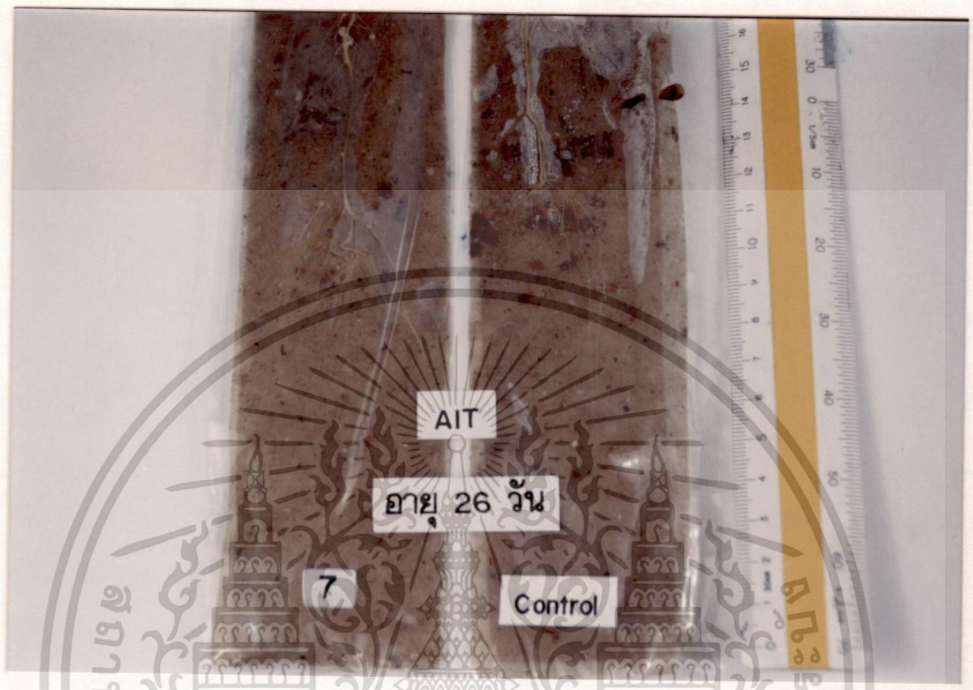
รูปที่ 2 ลักษณะการเกิดปมของเชื้อไรโซเบียมที่เก็บจากศูนย์วิจัยพืชอาหารสัตว์ปากช่อง เมื่อปลูกถั่วใน pouch โดยใช้สารละลาย N - free

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3 ลักษณะการเกิดปมของเชื้อไรโซเบียมที่เก็บจากศูนย์ศึกษาพัฒนาเขาหินซ้อน เมื่อปลูกถั่วใน pouch โดยใช้สารละลาย N - free

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4 ลักษณะการเกิดปมของเชื้อไรโซเบียมที่เก็บจากสถาบันเทคโนโลยีแห่งเอเชีย เมื่อปลูกถั่วใน pouch โดยใช้สารละลาย N - free

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 5 ลักษณะการเกิดปมของเชื้อไรโซเบียมที่ได้จากกรมวิชาการเกษตร เมื่อปลูกถั่วใน pouch โดยใช้สารละลาย N - free

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 6 การเจริญเติบโตของถั่วเซนโตรซีมา เมื่ออายุ 75 วัน เห็นความแตกต่างในหนึ่งซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 7 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวัดกิจกรรมการตรึงไนโตรเจนของปมถั่ว โดยวิธี Acetylene reduction assay

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูตรอาหาร Yeast Extract Mannitol Broth (YEMB)

Mannital	5.0 g.
K_2HPO_4	0.5 g.
$MgSO_4.4H_2O$	0.2 g.
NaCl	0.1 g.
Yeast extract	0.5 g.
Water	1.0 liter

* Adjust to pH 6.7 by adding HCl or NaOH
* Autoclave at 121 C, 15lb/in^2, 20 min.

สูตรอาหาร Yeast Extract Mannitol Agar (YEMA)

Yeast Extract Mannital Broth (YEMB)	1.0 litrer
Agar	15.0 g.
Congo red	10.0 ml.

* Adjust to pH 6.7 by adding HCl or NaOH
* Autoclave at 121 C, 15 lb/in^2, 20 min.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูตรอาหาร N - Free Nutrient Solution (Munns, 1968)

Stock	Chemical	Concentration	Quantity of Stock used per 2 liter solution
1	$CaCl_2.2H_2O$	294.1 g/l	1 ml.
2	KH_2PO_4	136.1 g/l	1 ml.
3	Fe-Citrate	6.7 g/l	1 ml.
	$MgSO_4.7H_2O$	123.3 g/l	
	K_2SO_4	87.0 g/l	
	$MnSO_4.H_2O$	0.338 g/l	
4	H_3BO_3	0.247 g/l	1 ml.
	$ZnSO_4.7H_2O$	0.288 g/l	
	$CuSO_4.5H_2O$	0.100 g/l	
	$CoSO_4.7H_2O$	0.056 g/l	
	$Na_2MoO_2.2H_2O$	0.048 g/l	

For each 2 liters of full strength culture solution, take 1.0 ml each of soluton 1 to 4, add to 1 liter of water, then dilute to 2 liters. Used 1 N NaOH to adjust the pH to 6.6-6.8.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Cross-Inoculation Groups and *Rhizobium* - Legume Associations

Cross-Inoculation Group	*Rhizobium* species	Host Genera	Legume Included
Alfalfa group	*R. meliloti*	*Medicago*	Alfalfa
		Melilotus	Sweet clover
		Trigonella	Fenugreek
Bean group	*R. phaseoli*	*Phaseolus*	Beans
Soybean group	*R. japonicum*	*Glycine*	Soybean
Clover group	*R. trifolii*	*Trifolium*	Clovers
Pea group	*R. leguminosarum*	*Pisum*	pea
		Lens	Lentil
		Lathyrus	Sweetpea
		Vicia	Vetch
Lupine group	*R. lupini*	*Lupinus*	Lupines
		Ornithopus	Serradella
Cowpea group	-	*Vigna*	Cowpea
		Arachis	Peanut
		Crotalaria	Crotalaria
		Pueraria	Kudzu
		Phaseolus	Lima bean
		Lespedeza	Lespedeza

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การประเมินหาปริมาณเชื้อที่เลี้ยงใน YEMB โดยวิธี Serial dilution แบบ Tenfold มีขั้นตอนดังนี้

1. ใช้ไปเปตร์ดูด YEMB ที่เลี้ยงเชื้อแล้วนานประมาณ 10 วัน ใส่ในหลอดที่บรรจุน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 9 ml. แล้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่า หรือมือ (อย่างน้อย 30 ครั้ง) เป็น dilution ที่ 1

2. ใช้ไปเปตร์ดูดสารละลายจาก dilution ที่ 1 จำนวน 1 ml. บรรจุลงในหลอดที่บรรจุน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 9 ml. แล้วเขย่า เป็น dilution ที่ 2 ทำไปจนถึง dilution ที่ 9

3. นำ dilution ที่ 7, 8 และ 9 มา spread บน plate อาหาร YEMA โดยดูดสารละลายในแต่ละ dilution จำนวน 0.1 ml. spread ลงบนแต่ละ plate

4. เก็บที่อุณหภูมิห้องในที่มืด ประมาณ 5-7 วัน จะสังเกตเห็นโคโลนี มีลักษณะกลมเล็กสีขาวใส

5. ทำการนับจำนวนโคโลนีในแต่ละ plate

ถ้า dilution ที่ 7 นับได้เท่ากับ A เซลหมายถึงมีเชื้ออยู่จำนวน $Ax10^{8}$ เซล/ml.

"_____" ที่ 8 "_____" $Ax10^{9}$ เซล/ml.

"_____" ที่ 9 "_____" $Ax10^{10}$ เซล/ml.

6. นำค่าที่ได้จาก dilution ทั้ง 3 มาหาค่าเฉลี่ย เป็นจำนวน เซล/ml. โดยประมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้