



ภาควิชา ปฐพีวิทยา



เรื่อง

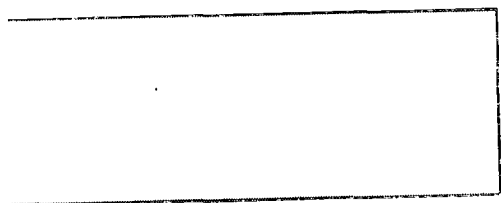
การคัดเลือกเชื้อไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพต่อการเจริญเติบโต
และการตรึงไนโตรเจนของถั่วเซนโตรซีมา

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

โดย

นางสาว สุวรรณมา จันทรไพฑูรย์

นางสาว อาทิตนัท อิงคยกุล



รศ.ดร. สุมิตรา ก้าวโรดม
อาจารย์ที่ปรึกษา

ภาควิชารับรองแล้ว

รศ.ดร. สุมิตรา ก้าวโรดม
หัวหน้าภาควิชาปฐพีวิทยา

วันที่ 20 เดือน... พ.ศ. 36

ปก.
8843ก
2536

เลขที่.....
เลขทะเบียน 99834
วันเดือนปี.....



ในการจัดทำและรวบรวมวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ มีขั้นตอนที่ยากและซับซ้อนมากมาย ซึ่งผู้จัดทำได้รับชมล คำแนะนำและคำปรึกษาเป็นอย่างดี จากอาจารย์ รศ.ดร. สมิตรา กุวัโรตม อาจารย์ที่ปรึกษาในการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ ซึ่งคำปรึกษา คำแนะนำ ตลอดจนแนวทางการแก้ปัญหาเหล่านั้น เป็นผลให้การทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ เป็นอย่างดี จึงขอกราบขอบพระคุณมา ในโอกาสนี้ และขอขอบคุณ คุณ นุจรี บุญแปลง, คุณ สำราญ ช้างน้อย และเพื่อนๆ ทุกคนในภาคปฐวีวิทยา ที่ให้กำลังใจ และช่วยเหลือในทุกๆ ขั้นตอนของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ ตึกโรโซเนียม กลุ่มงานวิจัยจลินทรีย์ดิน กรมวิชาการเกษตร ที่ได้ช่วยฝึกฝน เทคนิคต่างๆ ในด้านงานปฏิบัติการเกี่ยวกับเชื้อโรโซเนียม และการให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์ต่างๆ รวมทั้งการใช้เครื่อง Gas Chromatography

ความดีและประโยชน์อันใดที่จะได้รับจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้จัดทำขอขอบแต่คุณพ่อ คุณแม่ ผู้มีพระคุณอย่างสูงสุด นี้และน้องซึ่งสนับสนุนและให้กำลังใจมาตลอดระยะเวลาการศึกษา และคุณอาจารย์ผู้ประสาทวิชาความรู้

มีนาคม 2536



การศึกษาลักษณะของเชื้อไรโซเบียมจากพืชต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโต และ
ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของถั่วเซนโตรามาที่ปลูกในกระถางเมื่ออายุ 75 วัน โดยการ
วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) ปัจจัย
ที่เกี่ยวข้องมีเพียงปัจจัยเดียวคือ สายพันธุ์เชื้อไรโซเบียม จำนวน 14 สายพันธุ์ (สายพันธุ์
TAL 688, TAL 655, TAL 652, PA 1, PB 1, PB 2, PC 1, PC 2, PD 2, KA 1,
KA 2, KB 2, A 1, A 2, และไม่คลุกเชื้อไรโซเบียม) ทำการทดลองที่คณะเทคโนโลยีการ
เกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง ผลการทดลองปรากฏว่า
เชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์จากกรมวิชาการเกษตร สายพันธุ์ TAL 688 ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนปมสูงสุด
273.3 ปม/ต้น และมีค่าประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนสูงถึง 5.32 u mole /ต้น/ชม.
ส่วนสายพันธุ์ TAL 655 ให้ค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตต่ำที่สุด และสายพันธุ์ TAL 652 ให้ค่าประ
สิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนต่ำสุดเพียง 1.76 u mole /ต้น/ชม. เมื่อพิจารณาเชื้อสายพันธุ์จาก
แปลงธรรมชาติ 3 แห่ง ให้ผลดังนี้ เชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ที่เก็บจาก AIT (A 1, A 2) ให้ค่า
เฉลี่ย น้ำหนักต้นสดสูงสุด 112.88 กรัม/ต้น น้ำหนักดินแห้งสูงสุด 29.22 กรัม/ต้น น้ำหนักส
รากสูงสุด 13.78 กรัม/ต้น น้ำหนักแห้งรากสูงสุด 4.31 กรัม/ต้น เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนในต้น
สูงสุด 5.99 เปอร์เซ็นต์ และเปอร์เซ็นต์ฟอสฟอรัสสูงสุด 0.14 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งข้อมูลทั้ง
หมดมีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์จากเขาคันทรง (KA 1, KA 2
KB 2) เป็นสายพันธุ์ ที่ทำให้ได้ค่าเฉลี่ยจำนวนปมสูงถึง 259.67 ปม/ต้น ข้อมูลที่ได้ไม่มีผลแตก
ต่างกันทางสถิติ และค่าเฉลี่ยประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนสูงสุด 5.14 u mole /ต้น/ชม. มี
ผลแตกต่างกันทางสถิติ และเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์จากปากช่อง (PA 1, PB 1, PB 2, PC 1
PC 2, PD 2) ให้ค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีค่าน้ำหนักสดของปมถั่ว สูงสุดเท่ากับ 5.49
กรัม/ต้น และมีค่าน้ำหนักแห้งของปมถั่วสูงสุดเท่ากับ 1.18 กรัม/ต้น สำหรับประสิทธิภาพในการ
ตรึงไนโตรเจน และน้ำหนักสดของปมถั่วที่รับการทดลองที่ไม่คลุกเชื้อไรโซเบียม จะให้เฉลี่ย
สูงที่สุดแต่ค่าเฉลี่ยที่ได้นี้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเทียบกับเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์อื่นๆ
และเมื่อพิจารณาขนาดปมจะพบว่า โดยเฉลี่ยเชื้อไรโซเบียม ที่เชื้อจากปมขนาดใหญ่ จะทำให้
ต้นถั่วมีการเจริญเติบโตและมีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนสูงกว่า เชื้อที่เชื้อจากปมที่มีขนาดเล็ก

Abstract

Pot experiment was carried out to select effective strains of Rhizobium for growth and nitrogen fixation of *Centrosema* at Faculty of Agricultural Technology King Mongkut's Institute of Technology Chaokuntaharn Ladkrabang. The treatment consists of 14 strains of Rhizobium (TAL 688, TAL 655, TAL 652, PA 1, PB 1, PB 2, PC 1, PC 2, PD 2, KA 1, KA 2, KB 2, A 1, A 2 and no inoculation) in Randomized Complete Block Design (RCBD). The results showed that Rhizobium strains from Department of Agricultural , TAL 688 strain, gave the highest number of 273.3 nodules/plant where as TAL 655 strain gave the lowest mean of growth and TAL 652 strain gave the lowest mean of nitrogen fixation of 1.76 μ mole/plant/hr. where consider only Rhizobium strains isolated from different locations, the results indicated that Rhizobium strains from AIT gave the highest means of growth and nitrogen fixation , i.e. fresh weight 112.88 g/plant dry weight 29.22 g/plant, root fresh weight 13.78 g/plant, root dry weight 4.31 g/plant, nitrogen content 5.99 %, phosphorus content 0.14 %. Rhizobium strains isolated from Khaohinsson (KA 1, KA 2, KB 2) gave the highest nodules' number of 259.67 nodules/plant and the highest nitrogen fixation activity of 5.14 μ mole/plant/hr. Rhizobium strains collected from Pakchong (PA 1, PB 1, PB 2, PC 1, PC 2, PD 2) gave nodules fresh weight 5.49 g/plant and nodules dry weight 1.18 g/plant. In the case of nitrogen fixation and nodule fresh weight the result show that no inoculation (control) gave the highest value but it was not significantly different when compared with other Rhizobium strains. The results also showed that Rhizobium strains isolated from big nodules gave more growth and nitrogen fixation than Rhizobium strains isolated from small nodules.

สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	(ก)
สารบัญตารางภาคผนวก	(ข)
สารบัญภาพ	(ค)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	9
ผลการทดลอง	14
วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง	27
เอกสารอ้างอิง	29
ภาคผนวก	33

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
1	แสดงอิทธิพลของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เชื้อไรโซเบียม เซนโตรซีมา เมื่ออายุ 75 วัน	15
2	แสดงอิทธิพลของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เชื้อไรโซเบียม เซนโตรซีมา เมื่ออายุ 75 วัน	16
3	แสดงอิทธิพลของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เชื้อไรโซเบียม เซนโตรซีมา เมื่ออายุ 75 วัน	17
4	แสดงอิทธิพลของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เชื้อไรโซเบียม เซนโตรซีมา เมื่ออายุ 75 วัน	18
5	แสดงอิทธิพลของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เชื้อไรโซเบียม เซนโตรซีมา เมื่ออายุ 75 วัน	19
6	แสดงอิทธิพลของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เชื้อไรโซเบียม เซนโตรซีมา เมื่ออายุ 75 วัน	20
7	แสดงอิทธิพลของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เชื้อไรโซเบียม เซนโตรซีมา เมื่ออายุ 75 วัน	21
8	แสดงอิทธิพลของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เชื้อไรโซเบียม ในโตรเจน ของถั่วเซนโตรซีมา เมื่ออายุ 75 วัน	22
9	แสดงอิทธิพลของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เชื้อไรโซเบียม ในต้นถั่วเซนโตรซีมา เมื่ออายุ 75 วัน	23
10	แสดงอิทธิพลของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เชื้อไรโซเบียม ในต้นถั่วเซนโตรซีมา เมื่ออายุ 75 วัน	24
11	แสดงอิทธิพลของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เชื้อไรโซเบียม เซนโตรซีมา เมื่ออายุ 75 วัน	25
12	แสดงอิทธิพลของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เชื้อไรโซเบียม เซนโตรซีมา เมื่ออายุ 75 วัน	26

สารบัญตารางภาคผนวก

ตาราง	หน้า
13 แสดง Analysis of variance ของผลผลิตน้ำหนักรากของต้นถั่วเซนโตรีมา เมื่ออายุ 75 วัน	34
14 แสดง Analysis of variance ของผลผลิตน้ำหนักรากแห้งของต้นถั่วเซนโตรีมา เมื่ออายุ 75 วัน	34
15 แสดง Analysis of variance ของผลผลิตน้ำหนักรากของรากถั่วเซนโตรีมา เมื่ออายุ 75 วัน	35
16 แสดง Analysis of variance ของผลผลิตน้ำหนักรากแห้งของรากถั่วเซนโตรีมา เมื่ออายุ 75 วัน	35
17 แสดง Analysis of variance ของผลผลิตน้ำหนักรากของปมถั่วเซนโตรีมา เมื่ออายุ 75 วัน	36
18 แสดง Analysis of variance ของผลผลิตน้ำหนักรากแห้งของปมถั่วเซนโตรีมา เมื่ออายุ 75 วัน	36
19 แสดง Analysis of variance ของผลผลิตจำนวนปมของถั่วเซนโตรีมา เมื่ออายุ 75 วัน	37
20 แสดง Analysis of variance ของประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของถั่วเซนโตรีมา เมื่ออายุ 75 วัน	37
21 แสดง Analysis of variance ของผลผลิตเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนในต้นถั่วเซนโตรีมา เมื่ออายุ 75 วัน	38
22 แสดง Analysis of variance ของผลผลิตเปอร์เซ็นต์ฟอสฟอรัสในต้นถั่วเซนโตรีมา เมื่ออายุ 75 วัน	38
23 แสดง Analysis of variance ของผลผลิต N-uptake ของต้นถั่วเซนโตรีมา เมื่ออายุ 75 วัน	39
24 แสดง Analysis of variance ของผลผลิต P-uptake ของต้นถั่วเซนโตรีมา เมื่ออายุ 75 วัน	39

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า	
1	แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อที่เชื้อจากปมถั่วเซนโตรซึมา ที่เก็บจากศูนย์วิจัยพืชอาหารสัตว์ท่าพระ หลังจากเชื้อเชื้อ 2 วันเมื่อเลี้ยงในอาหาร Yeast-Extract Manitol Agar ได้โคโลนีที่มีรูปร่าง และลักษณะเหมือนเชื้อไรโซเบียม	40
2	แสดงลักษณะการเกิดปมของสาหร่ายเชื้อไรโซเบียมจากปมถั่วเซนโตรซึมา ที่เก็บจากศูนย์วิจัยพืชอาหารสัตว์ อำเภอ ปากช่อง จังหวัด นครราชสีมา เมื่อเพาะเลี้ยงแบบ pouch culture	41
3	แสดงลักษณะการเกิดปมของสาหร่ายเชื้อไรโซเบียมจากปมถั่วเซนโตรซึมา ที่เก็บจากศูนย์ศึกษาพัฒนาโครงการตามพระราชดำริ เขาคินซอน จังหวัด ฉะเชิงเทรา เมื่อเพาะเลี้ยงแบบ pouch culture	42
4	แสดงลักษณะการเกิดปมของสาหร่ายเชื้อไรโซเบียมจากปมถั่วเซนโตรซึมา ที่เก็บจากสถาบันเทคโนโลยีแห่งเอเชีย อำเภอ คลองหลวง จังหวัด ปทุมธานี เมื่อเพาะเลี้ยงแบบ pouch culture	43
5	แสดงลักษณะการเกิดปมของสาหร่ายเชื้อไรโซเบียม จากกรมวิชาการเกษตร สาหร่าย TAL 655 และ TAL 652 เมื่อเพาะเลี้ยงแบบ pouch culture	44
6	แสดงความแตกต่างของการเจริญเติบโตของถั่วเซนโตรซึมา เมื่ออายุ 75 วัน มีความแตกต่างกัน ในหนึ่งซ้ำ	45
7	แสดงอิทธิพลของเชื้อไรโซเบียม สาหร่ายจากกรมวิชาการเกษตร ต่อการเจริญเติบโตของถั่วเซนโตรซึมา คือสาหร่าย TAL 688 TAL 655 และ TAL 652	46
8	แสดงอิทธิพลของเชื้อไรโซเบียม สาหร่าย KA 2 , A 1 , A 2 ที่มีต่อการเจริญเติบโตของถั่วเซนโตรซึมา เทียบกับไม่ใส่เชื้อ	47
9	แสดงอิทธิพลของเชื้อไรโซเบียม สาหร่าย TAL 655 , PA 1 , PB 2 และ A 1 ที่มีต่อการเจริญเติบโตของถั่วเซนโตรซึมา เทียบกับไม่ใส่เชื้อ	48
10	แสดงอุปกรณ์ที่ใช้ในการวัดประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน โดยวิธี Acetyline Reduction Assay	49

คำนำ

ถั่วเซนโตรซีมา จัดเป็นหญ้าอาหารสัตว์ประเภทหนึ่งที่ถูกกันทั่วไป บริเวณรากของถั่วเซนโตรซีมามีปมซึ่งเป็นที่อยู่ของเชื้อไรโซเบียม ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม Cowpea group ตามการจัดจำแนกแบบ Cross-inoculation group เชื้อไรโซเบียมในกลุ่ม cowpea group ได้แก่ ถั่วเซนโตรซีมา ถั่วเขียว ถั่วลิสง ถั่วแขก ถั่วฝักยาว และถั่วเตลโมเดียม เป็นต้น ซึ่งเดิมไม่มีความจำเพาะเจาะจงอย่างแท้จริง คือสามารถเกิดปมได้จากเชื้อไรโซเบียม หลายสายพันธุ์ และถึงพบว่า เชื้อไรโซเบียมจากถั่วบางกลุ่ม สามารถทำให้พืชตระกูลถั่วนอกกลุ่มเกิดปมได้ เรียกว่า ปรากฏการณ์ symbiotic promiscuity จากการศึกษาในเวลาต่อมา มีรายงานว่าความเชื่อดังกล่าวไม่เป็นความจริงเสมอไป เพราะถั่วเซนโตรซีมา ถึงแม้จะเกิดปมได้จากเชื้อไรโซเบียมหลายสายพันธุ์ก็ตาม แต่ปมส่วนใหญ่จะไม่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน ซึ่งจะส่งผลให้ต้นถั่วเจริญเติบโตได้ไม่ดีเท่าที่ควร (Norris 1972 ; Date 1983 ; People et.al 1989) ในการตรึงไนโตรเจนของถั่วเซนโตรซีมา ซึ่งเป็นขบวนการทางชีวภาพแบบพึ่งพาอาศัยกันมีความเกี่ยวข้องกันทั้งพืช เชื้อไรโซเบียม และสภาพแวดล้อม ดังนั้นเมื่อใช้พืชที่มีชนิดและสายพันธุ์รวมทั้งควมสภาวะแวดล้อมต่างๆให้เหมือนกัน การเจริญเติบโตและประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนจึงขึ้นกับความแตกต่างของเชื้อไรโซเบียม และการทดลองที่ชี้ให้เห็นถึงผลของความแตกต่างกันของเชื้อไรโซเบียม สมปอง (2534)พบว่า เชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ KMITL 3 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่เกิดจากปมถั่วเซนโตรซีมา ที่ปลูกในแปลงธรรมชาติเขาหินซ้อน สามารถให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งต้น จำนวนและน้ำหนักสด-แห้งของปม เปอร์เซนต์ไนโตรเจน ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด รวมทั้งอัตราการตรึงไนโตรเจน สูงกว่าสายพันธุ์ TAL 658 (สายพันธุ์จากกรมวิชาการเกษตร) และจากการศึกษาของ สมิตรา (2532)พบว่า อิทธิพลของการคลุกเชื้อไรโซเบียมที่ผลิตโดยกรมวิชาการเกษตร ในดินชุดต่างๆในภาคตะวันออกเฉียงเหนือให้ผลผลิตของถั่วเซนโตรซีมาเพิ่มขึ้นในอัตราค่อนข้างต่ำ และมีจำนวนปมถั่วค่อนข้างน้อยอาจเป็นเพราะเชื้อที่ที่มีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพภูมิอากาศ และดินของประเทศไทยได้ต่ำ ดังนั้นในการทดลองในครั้งนี้ จึงได้ทำการคัดเลือกเชื้อไรโซเบียม จากแหล่งต่างๆที่มีประสิทธิภาพต่อการเจริญเติบโตและการตรึงไนโตรเจนของถั่วเซนโตรซีมา เพื่อใช้ในการบำรุงดิน แทนปุ๋ยเคมีซึ่งในปัจจุบันมีราคาแพงมาก และยังช่วยเพิ่มผลผลิตของทุ่งหญ้าเลี้ยงสัตว์ให้สูงขึ้นอีกด้วย

วัตถุประสงค์

เพื่อทำการศึกษาเปรียบเทียบเชื้อโรโซเบียมจากปมถั่วเซนโตรี่มาจากแหล่งต่าง ๆ ในด้านประสิทธิภาพของเชื้อโรโซเบียม ที่มีต่อการเจริญเติบโต และ ประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนของถั่วเซนโตรี่มา

การตรวจเอกสาร

ถั่วเซนโตรซีมา หรือ ถั่วลาย (*Centrosema or butterfly pea*)

แหล่งดั้งเดิม :-

ถั่วเซนโตรซีมา หรือ ถั่วลาย มีถิ่นกำเนิดในอเมริกาใต้เขตร้อน อเมริกากลาง และ หมู่เกาะ คาริบเบียน Genus *Centrosema* มีอยู่ด้วยกันทั้งหมดประมาณ 30-70 species ถั่วเซนโตรซีมา แพร่กระจายไปในที่ต่างๆ ของเขตร้อนชื้นของโลกหลายแห่ง รวมทั้งประเทศไทย แต่ยังไม่พบหลักฐานว่าใครเป็นผู้นำเข้ามาในประเทศไทยเป็นคนแรก แต่ได้มีผู้ปลูกคลุมดิน ในสวนสาธารณะในภาคใต้ของประเทศไทย (ชาญชัย 2518)

ถั่วเซนโตรซีมา มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Centrosema pubescens* ในปัจจุบันมี ถั่วเซนโตรซีมา อยู่ 2 พันธุ์ที่ใช้ในการทำทุ่งหญ้าเลี้ยงสัตว์ คือ พันธุ์ดั้งเดิม (Common centro) และพันธุ์เบลแลโต (Belalto) ซึ่งชนิดหลังนี้ ได้มาจากการคัดเลือก และการรวบรวมพันธุ์จาก ประเทศ คอสตาริกา (Costa Rica) และพันธุ์เบลแลโตนี้ มีความสามารถทนต่อสภาพหนาวเย็น และให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์ดั้งเดิม (Grof และ Harding, 1970)

ลักษณะทั่วไป :-

ถั่วเซนโตรซีมา มีลักษณะการเจริญเติบโตเป็นแบบเถาเลื้อย และประเภทเลื้อยพันหลัก หรือพันอื่น ที่ขึ้นอย่างเคื่อง ในการที่ลำต้นเลื้อยขนานไปตามผิวดินหรือทอดไปตามผิวดิน จึงทำให้ถั่วชนิดนี้มีแนวโน้มที่จะมีรากตามข้อที่แตะกับผิวดินได้บ้าง ซึ่งแนวโน้มที่จะมีรากออกตามข้อ เหล่านี้จะมีย่อยมากในพันธุ์ดั้งเดิม (Common *Centrosema*) แต่จะมีมากในพันธุ์ใหม่ เบลแลโต ถ้าปลูกถั่วเซนโตรซีมา แต่เพียงอย่างเดียว (pure sward) ถั่วชนิดนี้จะขึ้นปกคลุมผิวดินในความหนาที่ปกคลุมผิวดินถึง 35-40 cm. ภายในเวลา 4-8 เดือนหลังจากปลูก

ถั่วเซนโตรซีมา มีระบบรากแก้ว (tap root system) ที่หยั่งลึกลงไปในดิน และมีรากแขนงจะกระจายออกตามด้านข้าง ใบเป็นแบบ pinnately trifoliate leaf โดยมีใบย่อย 3 ใบ ใบย่อยมีสีเขียวเข้ม (dark green) รูปร่างคล้ายรูปไข่ แต่ใบค่อนข้างยาว และแคบกว่า (elliptic) หรือคล้ายรูปไข่ แต่ส่วนที่กว้างที่สุดอยู่ค่อนข้างโคนใบ

และค่อนข้างยาวและแคบ (ovate elliptic) ปลายใบมน (obtusely) หรือเรียวเล็กน้อย แต่ค้อยๆแผ่กว้าง (shortly obtusely acuminate) ขนาด 4 * 2-2.5 ซม. มีขนเล็กน้อย โดยเฉพาะด้านล่างของใบหรือใต้ใบ หูใบ (stipules) ยาวและคงอยู่ได้นาน

ดอกมีขนาดใหญ่ ช่อดอกจัดอยู่ในแบบ raceme เกิดอยู่ในระหว่งมุมใบโดยมีก้านของช่อดอกชูขึ้นมา ในช่อดอกหนึ่งจะมีดอกย่อย 3-5 ดอก ดอกมีสีม่วงอ่อน ฝักจะแบนและหนา ยาว 7-15 ซม. ฝักเมื่อแก่มีสีน้ำตาล เมล็ดสีดำมีจุดประสีน้ำตาลหรือน้ำตาลมองเห็นเป็นลายชัดเจน (สายพันธุ์ 2520 ; Grof และ Harding, 1970) แต่ละฝักจะมีเมล็ด 20 เมล็ด ใน 1 กิโลกรัม จะมีเมล็ดประมาณ 40,000 เมล็ด

ลักษณะทางการเกษตร :-

ถั่วเซนโตรซีมา มีการตอบสนองต่อช่วงกลางวันสั้น จึงจัดอยู่ในพืชวันสั้น (พันธุ์ 2523) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต จะอยู่ต่ำกว่าถั่วเตลไมเดียม ถั่วกลายขึ้น และถั่วเซอร่าโต อุณหภูมิเกินกว่า 25.6 และต่ำกว่า 12.8 องศาเซลเซียส การเจริญเติบโตจะช้าลงในบริเวณที่มีอุณหภูมิต่ำๆ ถึงขั้นมีน้ำค้างแข็งจะทำความเสียหายให้กับถั่วเซนโตรซีมา เป็นอย่างมาก แต่อาจจะฟื้นตัวได้อีก ถ้าหากต้นเหง้าเดิมยังไม่ถูกทำลายไป อย่างไรก็ตาม การพบพันธุ์ใหม่เบลแลลโต ทำให้สามารถนำไปปลูก ในบริเวณที่มีอากาศหนาวเย็นได้

ถั่วเซนโตรซีมา ทนแล้งได้น้อย และขึ้นได้ดีในบริเวณที่ได้รับฝนเฉลี่ย 1,500 มม. ขึ้นไป อย่างไรก็ตาม ในบริเวณที่ได้รับน้ำฝนเฉลี่ยเพียง 1,000 มม. ก็สามารถขึ้นได้แต่ บริเวณที่มีฝนตกชุกจะเจริญเติบโตได้ดีกว่า ถั่วเซนโตรซีมานั้นยังคงเดิมขึ้นได้ดีในดินหลายชนิด และปรับตัวได้ดีที่สุดในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง ขึ้นได้ดีในดินกรด และดินที่มีการระบายน้ำดี ถั่วเซนโตรซีมา ไม่ทนทานต่อสภาพน้ำขังต่อเนื่อง (พันธุ์ 2518)

ถั่วเซนโตรซีมา แตกต่างจากถั่วเขตร้อนชนิดอื่นในเรื่องโรค และ แมลง โดยทั่วไปไม่มีโรค และแมลง ที่สำคัญที่จะทำความเสียหาย ให้กับถั่วชนิดนี้ แต่อาจจะมีบางชนิดโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส ถั่วเซนโตรซีมา นั้นยังเบลแลลโต พบว่า ทนทานต่อโรค Cercospora leaf spot และ red spider (tetranychus) ได้ดีกว่า ถั่วเซนโตรซีมา นั้นยังคงเดิมเป็นที่ทราบกันดีว่า ต้นอ่อนของถั่วเซนโตรซีมา เจริญเติบโตได้ช้า และ จะเจริญเติบโตได้เร็วในระยะหลังๆ ในระหว่างถั่วเซนโตรซีมา อายุ 5 อาทิตย์ ถึงระยะเวลาที่ถั่วกำลังมีเดาเฉลี่ย สามารถใช้ 2,4-D ในอัตรา 0.34 กก. ของเนื้อยา/เฮกตาร์ เพื่อควบคุมวัชพืช

พื้นที่ที่จะปลูกถั่ว ควรมีการเตรียมดินที่ดี ปราศจากวัชพืช ถั่วเซนต์ปีเตอร์มีพันธุ์ดั้งเดิมค่อนข้างที่จะมีถิ่นกำเนิดในท้องที่ชื้นแฉะ แต่พันธุ์ใหม่เบลแลลโต สามารถเกิดปมกับเชื้อไรโซเบียมที่มีอยู่ในดินตามธรรมชาติอยู่แล้ว

ถั่วเซนต์ปีเตอร์ มีขึ้นได้ดีกว่าหญ้าหลายชนิด เช่น หญ้ากินนี หญ้าขน หญ้าเนเปียร์ หญ้าแพนโกล่า (*Digitaria decumbens*) และหญ้าโมลาล (*Milinis minutiflora*) อาจใช้ถั่วชนิดนี้ปลูกผสมกับหญ้ามอริซัล (*Brachiaris mutica*) หญ้าชิกแนล (*Brachiaris brizantha* หรือ *Brachiaris decumbens*) หรือหญ้าเซาท์แอฟริกา (*Setaria anceps*) ซึ่งในประเทศฟิลิปปินส์ ใช้ถั่วชนิดนี้ปลูกผสมกับหญ้ามอริซัล ในสวนมะพร้าว เพื่อใช้เลี้ยงโคได้เป็นอย่างดี ปัจจุบันกรมปศุสัตว์แนะนำให้ปลูกผสมกับหญ้าชิกแนล ในสวนมะพร้าว (กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ 2521) และเนื่องจากถั่วเซนต์ปีเตอร์มีเมล็ดแข็งจำนวนมาก เมล็ดที่จะใช้ปลูกควรจะแช่น้ำร้อนที่เดือดประมาณ 10 นาที จะช่วยให้เปอร์เซ็นต์การงอกดีขึ้นในด้านของผลผลิตนั้นถั่วเซนต์ปีเตอร์มีพันธุ์ใหม่จะให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์ดั้งเดิม และพันธุ์ใหม่ยังทนทานต่อการแกะเคี้ยวได้ดีกว่าพันธุ์ดั้งเดิม ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากพันธุ์เบลแลลโต มีรากออกจากข้อทุกข้อที่แคบพื้นดินนั่นเอง

ในด้านความสามารถในการตรึงไนโตรเจน ก็เช่นเดียวกับถั่วเขตร้อนชนิดอื่น เท่าที่มีรายงานปรากฏดังนี้ ในการทำทุ่งหญ้าผสม สามารถตรึงไนโตรเจน 138-280 กก./เฮกตาร์/ปี และมีโปรตีนรวมประมาณ 23 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงของการเจริญเติบโต และ ประมาณ 15 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงฤดูหนาว ถั่วเซนต์ปีเตอร์มีค่าวิฤตสำหรับธาตุอาหาร ฟอสฟอรัส และ โปแตสเซียม เท่ากับ 0.16 และ 0.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Andrew และ Robin, 1969a) สำหรับธาตุฟอสฟอรัสในดิน 30 ppm. และ โปแตสเซียม 120 ppm. ถือเป็นระดับที่พอเพียงในทุ่งหญ้าผสม ระหว่างถั่วชนิดนี้กับหญ้าที่ขึ้นร่วม

ถั่วเซนต์ปีเตอร์ เป็นพืชบำรุงดินที่ดีชนิดหนึ่ง เนื่องจากสามารถสร้างปมและตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ดี และให้ไนโตรเจนแก่ดินได้สูง ถั่วเซนต์ปีเตอร์สามารถสร้างปมที่รากโดยเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ (Strain) CB 1923 (Bowen, 1959a) ซึ่งการสร้างปมจะมีอยู่ตลอดระยะเวลาการเจริญเติบโตของถั่ว (Bowen, 1959b) และปมถั่วจะทำหน้าที่ได้ดีในระยะที่ถั่วกำลังเจริญเติบโต ปมถั่วจะไม่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนและผลตรงไปเมื่อปมแก่หรือเมื่อสิ่งแวดล้อมไม่เหมาะสม ซึ่ง Moore และคณะ (1962) รายงานว่าถั่วเซนต์ปีเตอร์สามารถตรึงไนโตรเจนได้ 235 กก./เฮกตาร์/ปี เมื่อถั่วเซนต์ปีเตอร์อายุได้ 5 เดือนขึ้นไป ส่วน Whitney และคณะ (1967) พบว่าถั่วเซนต์ปีเตอร์ ในระยะออกดอกตรึง ไนโตรเจน ได้สูงถึง 204 กก./เฮกตาร์ /ปี

ในด้านผลผลิตเมล็ดนั้นนั้น สามารถให้ผลผลิตเมล็ดนั้นได้ถึง 340-680 กก./เฮกตาร์ แต่ในการปลูกเพื่อการค้าจะได้เพียง 140-180 กก./เฮกตาร์ เนื่องจากการแก่สุกไม่พร้อมกัน ทำให้การเก็บเกี่ยวทำได้ยากลำบาก

ลักษณะทางประชากรของเชื้อ ไรโซเบียม :-

ไรโซเบียมเป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ใน Family Rhizobiaceae , Genus Rhizobium (R) ไรโซเบียม ปกติมีลักษณะรูปร่างเป็นท่อน (rod shape) ขนาดของเซลล์ประมาณ 0.5-0.9 * 1.2-3.0 ไมครอน ย้อมสีติดสีแกรมลบ (gram negative) ไม่สร้างสปอร์ เคลื่อนไหวโดยอาศัย flagellum แต่ในบางกรณีไรโซเบียม ก็อาจจะมีลักษณะเป็นทรงกลม (coccus) มีทั้งชนิดที่เคลื่อนไหวได้ และเคลื่อนไหวไม่ได้ เชื้อไรโซเบียมที่อาศัยอยู่ในดินมัก อยู่ในรูปเซลล์ทรงกลม ส่วนเซลล์ของไรโซเบียมที่อาศัยอยู่ในปมรากพืชตระกูลถั่วจะแตกต่างไปจาก เซลล์ดังกล่าวแล้ว คือมีลักษณะของโตกว่ามาก รูปร่างไม่แน่นอน (pleomorphic) อาจมีรูปร่างเป็น X-shape, Y-shape, Star-shape, Pear-shape หรือ Club-shape ปะปนกัน หรือบางกรณีก็เกิดขลุ่ย ซึ่งเซลล์เหล่านี้เรียกว่า แบคทีเรียคลัสต์ ไรโซเบียมจัดเป็นแบคทีเรียที่ต้องการอากาศ (aerobic bacteria) แต่บางกรณีก็สามารถอาศัยในที่ที่มีอากาศน้อย เช่นในสภาพที่น้ำขังตลอดฤดูกาลทำนา เป็นต้น (Alexander 1961 ; สมศักดิ์ 2525)

การจำแนกเชื้อไรโซเบียมสามารถจำแนกได้หลายวิธี โดยทั่วไปนิยมแยกเชื้อไรโซเบียม โดยให้ความสามารถของเชื้อไรโซเบียม ในการทำให้เกิดปมที่รากถั่วว่าสามารถทำให้เกิดปมกับ ถั่วกลุ่มใด ซึ่งเรียกว่า การจำแนกตาม Cross - inoculation group หรือ plant inoculation group หมายถึงกลุ่มของถั่วที่จะเกิดปมได้จากเชื้อไรโซเบียมบริสุทธิ์ที่แยกจาก ถั่วในกลุ่มเดียวกัน เช่นเชื้อไรโซเบียมที่แยกจากถั่วพุ่ม แล้วสามารถนำไปเพาะเชื้อให้เกิดปมได้ ในถั่วเขียว ถั่วฝักยาว จึงจัดถั่วฝักยาว ถั่วเขียว ถั่วพุ่ม ไว้ในกลุ่มที่ต้องการเชื้อไรโซเบียม ชนิดเดียวกัน และประกอบด้วยชื่อ species ของไรโซเบียมที่นิยมใช้ในปัจจุบัน เป็นชื่อที่เรียก ตามการจำแนกแบบ Cross-inoculation group (Burton, 1965)

ถั่วพืชอาหารสัตว์เขตร้อนส่วนมาก เกิดปมได้กับ เชื้อไรโซเบียม Cowpea group ซึ่งเป็นเชื้อที่สามารถ ทำให้เกิดปมได้กับถั่วหลายชนิด แม้จะต่าง Genus กัน Cowpea group จะเจริญช้า และผลิตสารที่มีปฏิกริยาเป็นด่างออกมาขณะที่กำลังเจริญเติบโต ซึ่งทำให้หน่อ ดินที่มีสภาพเป็นกรด และมีประสิทธิภาพสูงในการดึงดูด Ca จากดินที่มีธาตุนี้ในปริมาณต่ำ เนื่อง

จากเชื้อไรโซเบียม Cowpea group ทำให้เกิดปมในถั่วพืชอาหารสัตว์เขตร้อนหลายชนิด เพราะฉะนั้น ถั่วพืชอาหารสัตว์ หลายชนิดจึงไม่จำเป็นต้องคลกเชื้อไรโซเบียมเพราะมีอยู่ในดิน โดยธรรมชาติ ยกเว้นถั่วพืชอาหารสัตว์ ที่ต้องการไรโซเบียมที่จำเพาะเจาะจงกับพืชอาหาร สัตว์แต่ละชนิด จึงจะสามารถสร้าง และตรึงไนโตรเจนได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งถั่วพืชอาหาร สัตว์เหล่านี้ จำเป็นต้องคลกเชื้อไรโซเบียม ได้แก่ ถั่วเซนโตรซิมมา ถั่วสโตนนินัส ถั่วกรากัน ถั่วเลทเตอโร ถั่วดอกเลสน์ลาสเต็ม ถั่วสไตโล เป็นต้น

จากการศึกษาของ สมปอง (2534) พบว่า เชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ KMIL 3 ซึ่งเป็น สายพันธุ์ที่เก็บจากปมถั่วเซนโตรซิมมา ในแปลงธรรมชาติจากศูนย์พัฒนาโครงการตามพระราชดำริ เขาหินซ้อนจะให้จำนวนปม 364.5 ปม/กระถาง และอัตราการตรึงไนโตรเจนเท่ากับ 1.172 u mole/กระถาง/ชม. ส่วนสายพันธุ์ TAL 658 มีปมเพียง 196.5 ปม/กระถาง และอัตรา การตรึงไนโตรเจนเท่ากับ 0.715 u mole/กระถาง/ชม. ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าเชื้อ สายพันธุ์ KMIL 3 ซึ่งเป็นสายพันธุ์จากแปลงธรรมชาติ สามารถปรับตัวได้ดีกว่าเชื้อ TAL 658 ซึ่งเป็นสายพันธุ์จากกรมวิชาการเกษตร และจากการศึกษาของวรรณดี(2534) พบว่า สายพันธุ์ ST ซึ่งเป็นสายพันธุ์จากแปลงธรรมชาติจากศูนย์พัฒนาโครงการตามพระราชดำริ เขาหินซ้อน จะ ทำให้จำนวนปม น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และอัตราการตรึงไนโตรเจน มีค่าเท่ากับ 415.83 ปม /กระถาง 4.09 กรัม/กระถาง 0.50 กรัม/กระถาง และ 9.55 u mole/กระถาง/ชม. ตามลำดับ ส่วนผลการทดลองของ Reddy และ คณะ (1975) ซึ่งทำการทดลองในถั่วเขียว ผิวดำ รายงานว่าการคลกเชื้อไรโซเบียมช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของต้นถั่วเขียว ได้ดีกว่าการไม่คลกเชื้อไรโซเบียม ซึ่งส่งผลให้ถั่วเขียว มีอัตราการสะสมน้ำหนักแห้งเพิ่มมากขึ้น ด้วย ซึ่งสอดคล้องกับพรรณ (2528) ซึ่งได้ทดสอบประสิทธิภาพของไม้กระถินยักษ์ K 68 ในดินชุดโคราชพบว่าในดินที่ใส่ปุ๋ย เชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ TAL 604 และศก. 4 สามารถให้ น้ำหนักปม ประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน และการเจริญเติบโตของกระถินยักษ์ สูงกว่า สายพันธุ์อื่น ส่วนในดินที่ไม่ใส่ปุ๋ย เชื้อไรโซเบียมที่เหมาะสมที่สุดได้แก่ สายพันธุ์ TAL 604 ศก. 4 และ ศก. 5 ซึ่งให้น้ำหนักปม ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน และการเจริญเติบโต ของกระถินยักษ์ สูงกว่าสายพันธุ์อื่น

รุ่งรัตน์ (2529) ทำการคัดเลือกสายพันธุ์ เชื้อไรโซเบียม ที่มีประสิทธิภาพสูงในการตรึง ไนโตรเจนร่วมกับถั่วลิสง 5 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อไรโซเบียมต่างสายพันธุ์จะมีประสิทธิภาพในการ ตรึงไนโตรเจนต่างกันโดยสายพันธุ์ NC 70.1 สามารถตรึงไนโตรเจนได้ดีในถั่วทั้ง 5 สายพันธุ์

เศรษฐา และคณะ (2533) ทำการคัดเลือกเชื้อไรโซเบียมที่มีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจนร่วมกับถั่วเขียว พบว่าสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมกลุ่ม Cowpea 2 ใน 3 ส่วนของสายพันธุ์ที่ใช้ในการคัดเลือกทั้งหมด สามารถเข้าสร้างปม และตรึงไนโตรเจนร่วมกับถั่วเขียวได้ดีมาก สายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมที่แตกต่างกัน มีผลทำให้ถั่วเขียวมีการตรึงไนโตรเจน และการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน โดยเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ THA 302, THA 304, TAL 420 CB 756 eff, NC 92 และ NC 146.1 สามารถสร้างปมรากและตรึงไนโตรเจนร่วมกับถั่วเขียวในเกณฑ์ที่สูงมาก คือ 320-400 ปม/ต้น และ 29-38 μ mole/ต้น/ชม. ตามลำดับ ผลการทดลองยังพบว่าสายพันธุ์ไรโซเบียมในกลุ่ม Cowpea ไม่มีความจำเพาะเจาะจงกับถั่วเขียวสายพันธุ์ใดเลย และเมื่อศึกษาถึงความสัมพันธ์ ระหว่างองค์ประกอบการตรึงไนโตรเจนของถั่วเขียว พบว่าจำนวนปมราก น้ำหนักแห้งปมราก กิจกรรมเอนไซม์ไนโตรจีเนสและน้ำหนักแห้งของต้นถั่วเขียว มีความสัมพันธ์กันทุกลักษณะ

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. อุปกรณ์สำคัญที่ใช้ในการทดลอง

- ดินร่วนปนทราย
- กระดาษฟอก ขนาด 12 นิ้ว
- ขุยมะพร้าว และ ปุ๋ย กทม.
- ปุ๋ย Triple superphosphate
- พันธุ์ Centrosema pubescens
- เชื้อไรโซเบียม จากแหล่งต่างๆ
- Gas Chromatography
- Autoclave
- เครื่องแก้ว และ สารเคมี
- เครื่องชั่งหยาบ และ ละเอียด
- ตู้อบเชื้อ หรือหม้อปรุง
- เครื่องเขย่า

2. วิธีการทดลอง

ขั้นตอนการทดลอง ประกอบด้วย 4 ขั้นตอน ดังนี้

2.1 การเก็บปมถั่ว

ทำการเก็บปมรากของถั่ว เช่น ไตรซีมา จากแหล่งต่าง ๆ คือ

- ศูนย์วิจัยพืชอาหารสัตว์ อำเภอกำแพง จังหวัดขอนแก่น (กำแพง)
 - ศูนย์วิจัยพืชอาหารสัตว์ อำเภอบ้านฝาง จังหวัดนครราชสีมา (บ้านฝาง)
- จากถั่ว 4 สายพันธุ์ ได้แก่

1. Vak 40060 (PA)
2. Common (PB)
3. CIAT 5126 (PC)
4. Vak (PD)

- ศูนย์ศึกษาพัฒนาโครงการตามพระราชดำริ อำเภอ เขาคินเขื่อน จังหวัด ฉะเชิงเทรา (เขาคินเขื่อน)
ทำการเก็บปม 2 ครั้ง
 1. ครั้งที่ 1 (KA)
 2. ครั้งที่ 2 (KB)
- สถาบันเทคโนโลยีแห่งเอเชีย(AIT)อำเภอ คลองหลวง จังหวัด ปทุมธานี

2.2 การแยกเชื้อออกจากปมตัว (Isolation)

นำปมตัวพร้อมรากที่ได้จากข้อ 1.1 มาทำการล้างน้ำให้สะอาดแล้วเด็ดปมออกจากราก ทำการแยกปมออกเป็น 2 ขนาด คือ ปมขนาดใหญ่ซึ่งเป็นปมที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 3 มม. และปมขนาดเล็กคือปมที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 3 มม. จากนั้นนำปมมาทำความสะอาดอีกครั้งโดยใช้ คลอโรกซ์ ผสมน้ำในอัตราส่วน 1:1 แอลกอฮอล์ 75 % และน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว นำปมที่สะอาดมาทำการแยกเชื้อออกจากปมโดยใช้ปลายเข็ม เขี่ยเชื้อและที่ปมแล้วใช้ปากคีบ (forceps) กดลงตรงกลางปมให้แตกออกจะสังเกตเห็นภายในปมเป็นสีชมพูสด แสดงว่าปมอาจจะมีเชื้ออยู่ (แต่ถ้าเป็นสีน้ำตาลหรือสีเขียวแสดงว่าเชื้อในปมอาจจะตายแล้ว ควรจะเขี่ยปมอื่น) เมื่อปมแตกแล้วใช้ปลายเข็ม เขี่ยและภายในปม แล้วจึง streak ลงบน plate ซึ่งมีอาหาร YEMA (สูตรอาหารอยู่ในภาคผนวก) ทำการขยี้ทั่วหมักในห้องในที่มืดเป็นเวลาประมาณ 5-7 วันจะเห็นโคโลนีของเชื้อไรโซเบียมขึ้นบนอาหาร โคโลนีของเชื้อไรโซเบียมมีลักษณะกลม สีขาวขุ่น และมีขนาดเล็ก จากนั้นทำการย้อมสีเพื่อทดสอบติดเชื้อที่ได้ด้วย carbol fuchsin จะพบว่าเซลล์ของเชื้อไรโซเบียมจะเป็น rod shape สีแดง (gram negative) เมื่อแน่ใจแล้วว่าเป็นเชื้อไรโซเบียมจึงทำการ subculture เชื้อจาก plate มาเก็บไว้ใน slant ซึ่งมีอาหาร YEMA เช่นเดียวกับ slant ที่ได้เก็บไว้เป็น stock culture

นำเชื้อไรโซเบียมจาก stock culture มาเลี้ยงใน YEMB จนได้เชื้อประมาณ 10^8 เซล/มล. สำหรับการทดสอบว่าเชื้อจะมีจำนวน 10^8 เซล/มล. หรือไม่นั้นทดสอบโดยการทำ serial dilution (วิธีการทำแสดงในภาคผนวก)

จากขั้นตอนที่ 2 สามารถแยกเชื้อไรโซเบียมได้ทั้งสิ้น 13 สายพันธุ์ จากแหล่งต่างๆ
กัน 4 แห่ง ดังนี้

1. เชื้อจากปมถั่วที่เก็บจากคนฮัจญ์อาหารสัตว์ ปากช่อง นครราชสีมาและ
ปมขนาดใหญ่ 3 สายพันธุ์ คือ PA 1, PB 1, PC 1 ส่วนเชื้อที่เก็บจาก
ปมขนาดเล็ก 3 สายพันธุ์ คือ PB 2, PC 2, PD 2
2. เชื้อจากปมถั่วที่เก็บจากคนพัฒนาโครงการตามพระราชดำริ เขาคินขอนแก่น เชียงเทราและ
ปมขนาดใหญ่ 1 สายพันธุ์ คือ KA 1 ส่วนเชื้อที่เก็บจาก
ปมขนาดเล็ก 2 สายพันธุ์ คือ KA 2, KB 2
3. เชื้อจากปมถั่วที่เก็บจากสถาบันเทคโนโลยีแห่งเอเชีย คลองหลวง ปทุมธานีและ
ปมขนาดใหญ่ คือ A 1 และเชื้อที่เก็บจากปมขนาดเล็ก คือ A 2
4. เชื้อจากปมถั่วที่เก็บจากคนฮัจญ์อาหารสัตว์ ท่าพระ ขอนแก่นและปมขนาดใหญ่ คือ
T 1 และเชื้อที่เก็บจากปมขนาดเล็ก คือ T 2

หมายเหตุ ปมขนาดใหญ่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 3 มม. โดยประมาณ
ปมขนาดเล็กมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 3 มม. โดยประมาณ

3. การทดสอบการเกิดปมในห้องปฏิบัติการ (Infection test)

3.1 เตรียมสารอาหาร N-free nutrient solution โดย
ใช้สูตรอาหารของ Munnis (1968) (สูตรอาหารแสดงในภาคผนวก) จากนั้นนำไปใส่ในถุงปลูก
(pouch) ซึ่งผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วโดยแต่ละถุงจะใส่ N-free nutrient solution ลง
ไป 1/3 ของถุง

3.2 นำถั่วเซนโตรซิมมาที่เพาะไว้แล้ว 48 ชม. ลงปลูกในถุงแล้ว
ทำการใส่เชื้อไรโซเบียมที่เลี้ยงในอาหาร YEMB จนได้ 10^8 เซล/มล. ลงไปตรงบริเวณ
รากถั่ว หลังจากนั้น 21 วัน สังเกตการเกิดปมที่บริเวณราก ในช่วงเวลา 21 วันควรหมั่น
ตรวจสอบระดับของสารอาหาร N-free nutrient solution ไม่ให้ต่ำหรือสูงเกินไปและ
เมื่อใบแก่เริ่มออกควรนำไปตั้งในที่ๆ มีแสงแดดมิฉะนั้นต้นจะฮาวและไม่แข็งแรง

4. การทดสอบการเกิดปมในภาคสนาม

ทำการทดลองในกระถางที่เรือนเพาะชำ คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง

4.1 การวางแผนการทดลอง

การทดลองในครั้งนี้นำแผนการทดลองแบบ Randomized Complete
Block Design (RCBD) จำนวน 15 ตำรับการทดลอง โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ ดังนี้

- | | |
|---------------------|--|
| ตำรับการทดลองที่ 1 | ไม่คลกเชื้อไรโซเบียม |
| ตำรับการทดลองที่ 2 | คลกเชื้อ TAL 688 |
| ตำรับการทดลองที่ 3 | คลกเชื้อ TAL 655 |
| ตำรับการทดลองที่ 4 | คลกเชื้อ TAL 652 |
| ตำรับการทดลองที่ 5 | เชื้อจากปมถั่วที่เก็บจาก ปากช่อง และปมมีขนาดใหญ่ (PA 1) |
| ตำรับการทดลองที่ 6 | เชื้อจากปมถั่วที่เก็บจาก ปากช่อง และปมมีขนาดใหญ่ (PB 1) |
| ตำรับการทดลองที่ 7 | เชื้อจากปมถั่วที่เก็บจาก ปากช่อง และปมมีขนาดเล็ก (PB 2) |
| ตำรับการทดลองที่ 8 | เชื้อจากปมถั่วที่เก็บจาก ปากช่อง และปมมีขนาดใหญ่ (PC 1) |
| ตำรับการทดลองที่ 9 | เชื้อจากปมถั่วที่เก็บจาก ปากช่อง และปมมีขนาดเล็ก (PC 2) |
| ตำรับการทดลองที่ 10 | เชื้อจากปมถั่วที่เก็บจาก ปากช่อง และปมมีขนาดเล็ก (PD 2) |
| ตำรับการทดลองที่ 11 | เชื้อจากปมถั่วที่เก็บจาก เขาหินซ้อน และปมมีขนาดใหญ่ (KA 1) |
| ตำรับการทดลองที่ 12 | เชื้อจากปมถั่วที่เก็บจาก เขาหินซ้อน และปมมีขนาดเล็ก (KA 2) |
| ตำรับการทดลองที่ 13 | เชื้อจากปมถั่วที่เก็บจาก เขาหินซ้อน และปมมีขนาดเล็ก (KB 2) |
| ตำรับการทดลองที่ 14 | เชื้อจากปมถั่วที่เก็บจาก AIT และปมมีขนาดใหญ่ (A 1) |
| ตำรับการทดลองที่ 15 | เชื้อจากปมถั่วที่เก็บจาก AIT และปมมีขนาดเล็ก (A 2) |

4.2 การเตรียมดินปลูก การทดลองในครั้งนี้นำดินชุดมาบอน จาก

อ.ศรีราชา จ.ชลบุรี จำนวน 8 กิโลกรัม ผสมกับปุ๋ยมะพร้าว 200 กรัม ปุ๋ยทวม. 300 กรัม ปุ๋ย
triple superphosphate 1 กรัม นำส่วนผสมทุกอย่างรวมทั้งดินไปนึ่งฆ่าเชื้อ ด้วยหม้อนึ่ง
ความดันแล้วจึงนำดินพร้อมส่วนผสมมาใส่ในกระถางปลูกขนาด 12 นิ้ว ทำการเพาะถั่วใส่ในplate
จนรากยาวประมาณ 1.5 ซม. จึงย้ายลงกระถางๆละ 3 ต้น และใส่เชื้อที่เลี้ยงในอาหาร YEMB

เชื้อประมาณ 10^8 เซล/มล. เป็นครั้งที่ 1 จำนวน 5 มล./กระถาง และให้น้ำแก่ต้นถั่ว โดยรดน้ำในจานรอง เมื่อถั่วอายุประมาณ 3 สัปดาห์ หรือเมื่อต้นเจริญเติบโตดีแล้ว ทำการถอน หนึ่งให้เหลือกระถางละ 1 ต้น แล้วทำการใส่เชื้อครั้งที่ 2 จำนวน 15 มล./กระถาง หลังจากนั้น 1 สัปดาห์ ทำการใส่เชื้อครั้งที่ 3 จำนวน 10 มล./กระถาง รดน้ำทุกวันจนถั่วมีอายุ 75 วัน

1.4.3 การเก็บข้อมูล

1. การเก็บข้อมูลของตัวอย่างดินก่อนปลูกเพื่อทำการวิเคราะห์หา pH ,ค่าความนำไฟฟ้าของสารละลาย (E.C.) , % อินทรีย์วัตถุ (O.M.) และ C.E.C.

2. การเก็บข้อมูลของตัวอย่างพืชหลังปลูก 75 วัน เพื่อทำการวิเคราะห์หา

- น้ำหนักสดของต้น
- น้ำหนักแห้งของต้น
- น้ำหนักสดของราก
- น้ำหนักแห้งของราก
- น้ำหนักสดของปม
- น้ำหนักแห้งของปม
- จำนวนปม
- ปริมาณการตรึงไนโตรเจนโดยวิธี Acetylene Reduction Assay
- เปอร์เซนต์ไนโตรเจนและเปอร์เซนต์ฟอสฟอรัสโดยวิธี Sulphuric-

peroxide (สมิตรา 2534)

การหาปริมาณการตรึงไนโตรเจนโดยวิธี Acetylene Reduction Assay

ทำดังนี้

1. นำรากและปมออกจากดินโดยระมัดระวังมิให้ปมหลุดออกจากราก
2. นำรากและปมที่ยังมีเศษดินติดอยู่ใส่ลงในขวดกาน้ำที่มีฝาปิดมิดชิด
3. ใช้เข็มฉีดยาดูดอากาศจากขวดกาน้ำที่มีรากและปมอยู่ จำนวน 25 มล.
4. ตดก๊าซ acetylene จากลูกบอลจำนวน 25 มล. ใส่กลับลงในขวดกาน้ำที่มีรากและปมอยู่บ่มไว้ 1 ชม.
5. ตดก๊าซจากขวดกาน้ำออกมา 10 มล. แล้วใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 10 มล. ที่ทำเป็นสูญญากาศแล้ว
6. ตดก๊าซจากหลอดทดลองในข้อ 5 จำนวน 1 มล. ฉีดลงในเครื่อง gas chromatography แล้วอ่านค่าที่ได้จากกราฟ และตัวเลข
7. นำตัวเลขมาคำนวณเพื่อหาค่าประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของปมถั่ว

ผลการทดลอง

1. ข้อมูลเกี่ยวกับตัวอย่างดิน

- 1.1 pH = 5.61
- 1.2 E.C. = 0.15 mS/cm.
- 1.3 อินทรีย์วัตถุ = 0.78 %
- 1.4 C.E.C = 2.88 meq/100 กรัม ดินอบแห้ง
- 1.5 Available P = 288.75 ppm.

2. ข้อมูลเกี่ยวกับสายพันธุ์ของเชื้อโรโซเชียม

เมื่อนำปมถั่วเซนโตรซีมา ที่เก็บจากแหล่งปลูกถั่วทั้ง 4 แห่ง มาเชื้อเชื้อเพื่อแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ปรากฏว่า เชื้อที่ได้จากปมที่เก็บจาก ศูนย์วิจัยพืชอาหารสัตว์ อำเภอกำแพงแสน จังหวัด ขอนแก่น (T 1 และ T 2) ได้เชื้อที่มีอัตราการเจริญเติบโตเร็วมากและมีโคโลนีปรากฏบนอาหารภายใน 2-3 วัน เมื่อนำไปย้อมสีด้วยวิธี simple strain แล้วพบว่าเซลล์เป็น rod shape ติดสีแดง (gram negative) โคโลนี ลักษณะกลมมีขนาดเล็กและสีขาวขุ่น แต่เมื่อนำไปทดสอบการเกิดปมใน pouch ปรากฏว่าไม่มีปมเกิดขึ้น จึงตัดเชื้อนี้ออกจากการทดสอบในกระถาง ดังนั้นตำรับการทดลองที่ใช้ จึงไม่ปรากฏเชื้อสายพันธุ์ T 1 และ T 2

3. ข้อมูลเกี่ยวกับตัวอย่างพืช

3.1 น้ำหนักสดของต้น (fresh weight)

จากผลการศึกษาดัชนีผลของเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ต่างๆ ที่มีต่อน้ำหนักสดของต้นถั่ว
เซนโตรซีมาเมื่ออายุ 75 วันได้แสดงในตารางที่ 1 จากตารางจะพบว่าผลการคลุกเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์
A 2 จะให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักต้นสดสูงสุดเท่ากับ 112.8 กรัม/ต้น ในขณะที่การคลุกเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์
TAL 652 ให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักต้นสดต่ำสุดเท่ากับ 44.4 กรัม/ต้น ซึ่งมีความแตกต่างกันในทางสถิติ นอก
จากนั้นยังพบว่าผลการคลุกเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ PA 1 กับ TAL 652 ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติคือ
ทั้ง 2 สายพันธุ์จะให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักต้นสดต่ำกว่าเมื่อคลุกเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์อื่น ดังอันดับที่แสดงไว้
ในตาราง นอกจากนี้ถ้าพิจารณาในด้านขนาดปม จะพบว่าเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ที่มีมาจากปมขนาดใหญ่
จะให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักต้นสดต่ำกว่าปมขนาดเล็ก

ตารางที่ 1 อีทธิพลของสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมต่อน้ำหนักสดของต้นถั่วเซนโตรซีมา
เมื่ออายุ 75 วัน

สายพันธุ์เชื้อไรโซเบียม	อันดับ	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักต้นสด (กรัม/ต้น)
ไม่คลุกเชื้อไรโซเบียม	7	86.3 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL 688	10	61.2 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL 655	12	58.3 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL 652	15	44.4 b
คลุกเชื้อไรโซเบียม PA 1	14	50.2 b
คลุกเชื้อไรโซเบียม PB 1	3	98.5 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PB 2	9	76.1 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PC 1	6	88.1 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PC 2	13	55.9 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PD 2	11	60.0 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม KA 1	5	90.5 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม KA 2	4	94.4 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม KB 2	2	99.6 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม A 1	8	77.4 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม A 2	1	112.8 a

หมายเหตุ ผลผลิตน้ำหนักต้นสดโดยเฉลี่ย ที่เชื้อเชื้อจากปมที่มีขนาดใหญ่ = 81.00 กรัม/ต้น
ผลผลิตน้ำหนักต้นสดโดยเฉลี่ย ที่เชื้อเชื้อจากปมที่มีขนาดเล็ก = 83.17 กรัม/ต้น

3.2 น้ำหนักแห้งของต้น (dry matter weight)

จากผลการศึกษาดูแลข้าวโพดเลี้ยงสัตว์อายุ 75 วัน ซึ่งได้รับการคลุกเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ต่างๆพบว่าค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของต้นมีความแตกต่างกันในทางสถิติ โดยการคลุกเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ A 2 และ TAL 652 จะให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักต้นแห้งสูงสุด และต่ำสุดเท่ากับ 29.22 กรัม/ต้น และ 10.97 กรัม/ต้น ตามลำดับ ส่วนการทดลองอื่นไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ ดังข้อมูลที่แสดงให้เห็นในตารางที่ 2 เมื่อพิจารณาเฉพาะขนาดปมโดยเฉลี่ยจะพบว่าขนาดปมขนาดเล็กจะทำให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักต้นแห้งสูงกว่าขนาดปมใหญ่

ตารางที่ 2 อิทธิพลของสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมต่อน้ำหนักแห้งของต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เมื่ออายุ 75 วัน

สายพันธุ์เชื้อไรโซเบียม	อันดับ	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักต้นแห้ง (กรัม/ต้น)
ไม่คลุกเชื้อไรโซเบียม	4	24.41 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL 688	10	15.78 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL 655	12	15.02 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL 652	15	10.97 b
คลุกเชื้อไรโซเบียม PA 1	14	13.13 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PB 1	3	25.19 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PB 2	8	20.71 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PC 1	7	21.95 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PC 2	13	13.92 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PD 2	11	15.63 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม KA 1	6	23.08 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม KA 2	5	23.80 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม KB 2	2	26.08 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม A 1	9	20.22 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม A 2	1	29.22 a

หมายเหตุ ผลผลิตน้ำหนักต้นแห้งโดยเฉลี่ย ที่เชื้อเชื้อจากปมที่มีขนาดใหญ่ = 20.71 กรัม/ต้น
ผลผลิตน้ำหนักต้นแห้งโดยเฉลี่ย ที่เชื้อเชื้อจากปมที่มีขนาดเล็ก = 21.56 กรัม/ต้น

3.3 น้ำหนักสดของราก (root fresh weight)

จากผลการทดลองหาค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดรากของถั่วเซนโตรซีมาเมื่ออายุ 75 วัน พบว่า ถั่วเซนโตรซีมาที่ได้รับการคลกเชื้อโรโซเบียมสายพันธุ์ A 2 จะให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของรากสูงสุด เท่ากับ 13.78 กรัม/ต้น ในขณะที่การคลกเชื้อโรโซเบียมสายพันธุ์ TAL 652 ให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดต่ำสุด เท่ากับ 3.99 กรัม/ต้น โดยค่าที่ได้มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ส่วนการคลกเชื้อโรโซเบียมสายพันธุ์อื่นๆ นั้นค่าที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ แต่สามารถเรียงตามอันดับสูงต่ำได้ดังอันดับที่แสดงในตารางที่ 3 เมื่อพิจารณาในด้านขนาดปมจะพบว่าโดยเฉลี่ยปมขนาดใหญ่จะให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักรากสดสูงกว่าปมขนาดเล็ก

ตารางที่ 3 อิทธิพลของสายพันธุ์เชื้อโรโซเบียมต่อน้ำหนักสดของรากถั่วเซนโตรซีมาเมื่ออายุ 75 วัน

สายพันธุ์เชื้อโรโซเบียม	อันดับ	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักรากสด (กรัม/ต้น)
ไม่คลกเชื้อโรโซเบียม	3	11.14 ab
คลกเชื้อโรโซเบียม TAL 688	9	9.12 ab
คลกเชื้อโรโซเบียม TAL 655	12	8.09 ab
คลกเชื้อโรโซเบียม TAL 652	15	3.99 b
คลกเชื้อโรโซเบียม PA 1	10	8.99 ab
คลกเชื้อโรโซเบียม PB 1	7	9.45 ab
คลกเชื้อโรโซเบียม PB 2	6	9.64 ab
คลกเชื้อโรโซเบียม PC 1	11	8.30 ab
คลกเชื้อโรโซเบียม PC 2	13	7.63 ab
คลกเชื้อโรโซเบียม PD 2	14	6.84 ab
คลกเชื้อโรโซเบียม KA 1	2	11.54 ab
คลกเชื้อโรโซเบียม KA 2	8	9.21 ab
คลกเชื้อโรโซเบียม KB 2	5	9.91 ab
คลกเชื้อโรโซเบียม A 1	4	10.63 ab
คลกเชื้อโรโซเบียม A 2	1	13.78 a

หมายเหตุ ผลผลิตน้ำหนักรากสดโดยเฉลี่ย ที่เชื้อเชื้อจากปมที่มีขนาดใหญ่ = 9.78 กรัม/ต้น
 ผลผลิตน้ำหนักรากสดโดยเฉลี่ย ที่เชื้อเชื้อจากปมที่มีขนาดเล็ก = 9.50 กรัม/ต้น

3.4 น้ำหนักแห้งของราก (root dry weight)

ผลของอิทธิพลของเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ต่างๆ ที่มีต่อค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของรากถั่ว เช่นโตรซีมาเมื่ออายุ 75 วัน ซึ่งแสดงไว้ในตารางที่ 4 จะพบว่าการคลุกเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ A 2 ให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของรากสูงสุดเท่ากับ 4.31 กรัม/ต้นซึ่งสูงกว่าการคลุกเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์อื่น เรียงตามอันดับที่แสดงไว้ ในขณะที่การคลุกเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ TAL 652 ให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของรากต่ำสุดเท่ากับ 1.48 กรัม/ต้น ค่าที่ได้มีความแตกต่างกันในทางสถิติส่วนการคลุกเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์อื่นๆ นั้นแม้จะให้ค่าที่แตกต่างกันแต่ก็ไม่มีมีความแตกต่างกันทางสถิติสำหรับขนาดปมพบว่าโดยเฉลี่ยปมขนาดใหญ่ทำให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของรากสูงกว่าปมขนาดเล็ก

ตารางที่ 4 อิทธิพลของสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมต่อน้ำหนักแห้งของรากถั่วเช่นโตรซีมาเมื่ออายุ 75 วัน

สายพันธุ์เชื้อไรโซเบียม	อันดับ	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักรากแห้ง (กรัม/ต้น)
ไม่คลุกเชื้อไรโซเบียม	3	3.99 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL 688	7	3.25 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL 655	12	2.72 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL 652	15	1.48 b
คลุกเชื้อไรโซเบียม PA 1	14	2.61 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PB 1	6	3.51 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PB 2	11	2.91 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PC 1	4	3.79 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PC 2	13	2.63 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PD 2	10	2.97 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม KA 1	5	3.63 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม KA 2	8	3.12 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม KB 2	2	4.01 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม A 1	9	3.01 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม A 2	1	4.31 a

หมายเหตุ ผลผลิตน้ำหนักรากแห้งโดยเฉลี่ย ที่เชื้อเชื้อจากปมที่มีขนาดใหญ่ = 3.83 กรัม/ต้น
ผลผลิตน้ำหนักรากแห้งโดยเฉลี่ย ที่เชื้อเชื้อจากปมที่มีขนาดเล็ก = 3.33 กรัม/ต้น

3.5 น้ำหนักสดของปมถั่ว (nodule fresh weight)

ผลการศึกษาดั้วเซนโตรซีมาอายุ 75 วัน พบว่าการคลกเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ต่างๆ นั้นไม่มีอิทธิพลเพียงพอที่จะทำให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของปมถั่วมีความแตกต่างกันในทางสถิติแต่เมื่อนิยามาเฉพาะขนาดปม ปมขนาดใหญ่และเล็กให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของปมรากใกล้เคียงกันคือ 3.45 กรัม/ต้น และ 3.25 กรัม/ต้น ตามลำดับ

ตารางที่ 5 อิทธิพลของสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมต่อน้ำหนักสดของปมรากถั่วเซนโตรซีมา เมื่ออายุ 75 วัน

สายพันธุ์เชื้อไรโซเบียม	อันดับ	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดของปมราก(กรัม/ต้น)
ไม่คลกเชื้อไรโซเบียม	1	5.50 a
คลกเชื้อไรโซเบียม TAL 688	10	2.68 a
คลกเชื้อไรโซเบียม TAL 655	15	1.22 a
คลกเชื้อไรโซเบียม TAL 652	13	1.86 a
คลกเชื้อไรโซเบียม PA 1	14	1.68 a
คลกเชื้อไรโซเบียม PB 1	2	5.49 a
คลกเชื้อไรโซเบียม PB 2	3	4.56 a
คลกเชื้อไรโซเบียม PC 1	4	4.52 a
คลกเชื้อไรโซเบียม PC 2	8	3.02 a
คลกเชื้อไรโซเบียม PD 2	7	3.07 a
คลกเชื้อไรโซเบียม KA 1	6	3.08 a
คลกเชื้อไรโซเบียม KA 2	9	2.73 a
คลกเชื้อไรโซเบียม KB 2	12	2.44 a
คลกเชื้อไรโซเบียม A 1	11	2.50 a
คลกเชื้อไรโซเบียม A 2	5	3.68 a

หมายเหตุ ผลผลิตน้ำหนักปมรากสดโดยเฉลี่ย ที่เฉลี่ยเชื้อจากปมที่มีขนาดใหญ่ = 3.45 กรัม/ต้น
ผลผลิตน้ำหนักปมรากสดโดยเฉลี่ย ที่เฉลี่ยเชื้อจากปมที่มีขนาดเล็ก = 3.25 กรัม/ต้น

3.6 น้ำหนักแห้งของปมถั่ว (nodule dry weight)

ผลการศึกษาอิทธิพลของเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ต่างๆ ที่มีต่อค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของปมถั่วเช่นโตรซีมาที่มีอายุ 75 วัน ได้แสดงไว้ในตารางที่ 6 จากตารางจะพบว่าค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของปมถั่วชนิดนี้มีความแตกต่างกัน แต่ถ้าพิจารณาในทางสถิติจะพบว่าค่าที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ปมพวามีค่าใกล้เคียงกันคือ 0.79 กรัม/ต้น สำหรับปมขนาดใหญ่และ 0.76 กรัม/ต้น สำหรับปมขนาดเล็ก โดยเฉลี่ยปมขนาดใหญ่จะให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของปมถั่ว สูงกว่าปมขนาดเล็ก

ตารางที่ 6 อิทธิพลของสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมต่อน้ำหนักแห้งของปมรากถั่วเช่นโตรซีมา เมื่ออายุ 75 วัน

สายพันธุ์เชื้อไรโซเบียม	อันดับ	ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของปมถั่ว(กรัม/ต้น)
ไม่คลุกเชื้อไรโซเบียม	2	1.18 a
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL 688	9	0.68 a
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL 655	15	0.30 a
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL 652	14	0.45 a
คลุกเชื้อไรโซเบียม PA 1	13	0.45 a
คลุกเชื้อไรโซเบียม PB 1	1	1.18 a
คลุกเชื้อไรโซเบียม PB 2	5	0.86 a
คลุกเชื้อไรโซเบียม PC 1	4	0.97 a
คลุกเชื้อไรโซเบียม PC 2	11	0.65 a
คลุกเชื้อไรโซเบียม PD 2	10	0.66 a
คลุกเชื้อไรโซเบียม KA 1	6	0.85 a
คลุกเชื้อไรโซเบียม KA 2	8	0.69 a
คลุกเชื้อไรโซเบียม KB 2	7	0.70 a
คลุกเชื้อไรโซเบียม A 1	12	0.53 a
คลุกเชื้อไรโซเบียม A 2	3	1.01 a

หมายเหตุ ผลผลิตน้ำหนักปมรากแห้งโดยเฉลี่ย ที่เชื้อเชื้อจากปมที่มีขนาดใหญ่ = 0.79 กรัม/ต้น
ผลผลิตน้ำหนักปมรากแห้งโดยเฉลี่ย ที่เชื้อเชื้อจากปมที่มีขนาดเล็ก = 0.76 กรัม/ต้น

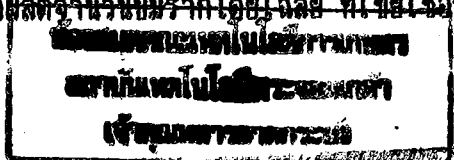
3.7 จำนวนปมถั่ว (number of nodule)

จากผลการทดลองคลกเชื้อสายพันธุ์ต่างๆ ให้กับถั่วเซนโตรซึมาแล้วเก็บผลผลิตเมื่อถั่วเซนโตรซึมามีอายุ 75 วัน ที่แสดงไว้ในตารางที่ 7 พบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนปมไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติแม้ว่าค่าที่ปรากฏจะมีค่าแตกต่างกันมากคือการคลกเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ TAL 688 จะให้ค่าเฉลี่ยจำนวนปมสูงสุดเท่ากับ 273.3 ปม/ต้น ในขณะที่เชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ TAL 655 ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนปมต่ำสุดเท่ากับ 62.6 ปม/ต้น ถ้าพิจารณาเฉพาะสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมที่นำมาจากแหล่งอื่นจะพบว่า การคลกเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ KA 2 จะให้ค่าเฉลี่ยจำนวนปมเท่ากับ 259.6 ปม/ต้น สูงกว่าการคลกเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์อื่น ด้านขนาดปมพบว่าปมขนาดเล็กมีค่าเฉลี่ยจำนวนปมสูงกว่าปมใหญ่

ตารางที่ 7 อิทธิพลของสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมต่อจำนวนของปมรากถั่วเซนโตรซึมาเมื่ออายุ 75 วัน

สายพันธุ์เชื้อไรโซเบียม	อันดับ	ค่าเฉลี่ยจำนวนของปมถั่ว (ปม/ต้น)
ไม่คลกเชื้อไรโซเบียม	11	106.6 a
คลกเชื้อไรโซเบียม TAL 688	1	273.3 a
คลกเชื้อไรโซเบียม TAL 655	15	62.6 a
คลกเชื้อไรโซเบียม TAL 652	14	121.0 a
คลกเชื้อไรโซเบียม PA 1	13	123.0 a
คลกเชื้อไรโซเบียม PB 1	4	246.0 a
คลกเชื้อไรโซเบียม PB 2	5	230.3 a
คลกเชื้อไรโซเบียม PC 1	3	257.6 a
คลกเชื้อไรโซเบียม PC 2	9	210.3 a
คลกเชื้อไรโซเบียม PD 2	12	133.6 a
คลกเชื้อไรโซเบียม KA 1	10	197.6 a
คลกเชื้อไรโซเบียม KA 2	2	259.6 a
คลกเชื้อไรโซเบียม KB 2	6	225.3 a
คลกเชื้อไรโซเบียม A 1	7	223.3 a
คลกเชื้อไรโซเบียม A 2	8	215.6 a

หมายเหตุ ผลผลิตจำนวนปมรากโดยเฉลี่ย ที่เชื้อเชื้อจากปมที่มีขนาดใหญ่ = 209.53 ปม/ต้น
 ผลผลิตจำนวนปมรากโดยเฉลี่ย ที่เชื้อเชื้อจากปมที่มีขนาดเล็ก = 255.53 ปม/ต้น



3.8 ประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน (Effect on Nitrogen Fixation)

อิทธิพลของเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ต่างๆ ต่ออัตราการตรึงไนโตรเจน ของถั่วเซนต์ปีเตอร์คือ การคลกเชื้อไรโซเบียมต่างสายพันธุ์ไม่ทำให้ประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนมีความแตกต่างกันทางสถิติ ถ้าเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยจะพบว่า การคลกเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ TAL 688 ทำให้มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนสูงสุดเท่ากับ $5.32 \text{ u mole/ต้น/ชม.}$ (ไม่เทียบกับไม่คลกเชื้อ) สูงกว่าเมื่อคลกเชื้อสายพันธุ์อื่นตามอันดับที่แสดงไว้ และยังพบว่า การคลกเชื้อสายพันธุ์ TAL 655 ให้ค่าเฉลี่ยอัตราการตรึงไนโตรเจนต่ำสุดเท่ากับ $1.76 \text{ u mole/ต้น/ชม.}$ เมื่อพิจารณาเฉพาะขนาดปม พบว่าโดยเฉลี่ยปมขนาดใหญ่จะมีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนสูงกว่าปมขนาดเล็ก เมื่อพิจารณาสายพันธุ์ที่มาจากแหล่งต่างๆ พบว่าเชื้อสายพันธุ์ KA 1 จะมีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนสูงสุด เท่ากับ $5.14 \text{ u mole/ต้น/ชม.}$

ตารางที่ 8 อิทธิพลของสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมต่อประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของถั่วเซนต์ปีเตอร์ เมื่ออายุ 75 วัน

สายพันธุ์เชื้อไรโซเบียม	อันดับ	ค่าเฉลี่ยประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน ($\text{u mole C}_2\text{H}_4/\text{ต้น/ชม.}$)
ไม่คลกเชื้อไรโซเบียม	1	5.71 a
คลกเชื้อไรโซเบียม TAL 688	2	5.32 a
คลกเชื้อไรโซเบียม TAL 655	15	1.76 a
คลกเชื้อไรโซเบียม TAL 652	14	2.11 a
คลกเชื้อไรโซเบียม PA 1	12	3.52 a
คลกเชื้อไรโซเบียม PB 1	5	5.04 a
คลกเชื้อไรโซเบียม PB 2	11	3.78 a
คลกเชื้อไรโซเบียม PC 1	6	5.00 a
คลกเชื้อไรโซเบียม PC 2	4	5.09 a
คลกเชื้อไรโซเบียม PD 2	13	2.55 a
คลกเชื้อไรโซเบียม KA 1	3	5.41 a
คลกเชื้อไรโซเบียม KA 2	7	4.75 a
คลกเชื้อไรโซเบียม KB 2	10	3.92 a
คลกเชื้อไรโซเบียม A 1	8	4.59 a
คลกเชื้อไรโซเบียม A 2	9	4.36 a

หมายเหตุ ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนโดยเฉลี่ย ปมขนาดใหญ่ = $4.66 \text{ u mole/ต้น/ชม.}$
 ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนโดยเฉลี่ย ปมขนาดเล็ก = $4.08 \text{ u mole/ต้น/ชม.}$

3.9 เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน (percent nitrogen)

ผลการศึกษากีฏินของเชื้อโรโซเบียมสายพันธุ์ต่างๆ ที่มีต่อค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนในต้นถั่วเซนโตรซึมา เมื่ออายุ 75 วัน พบว่าการคลกเชื้อโรโซเบียมสายพันธุ์ A 2 ให้ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนสูงสุดเท่ากับ 5.99 เปอร์เซ็นต์ ค่าที่ได้นี้ไม่มีความแตกต่างในทางสถิติกับการคลกเชื้อโรโซเบียมสายพันธุ์ PC 2 แต่จะมีความแตกต่างกันในทางสถิติกับการคลกเชื้อโรโซเบียมสายพันธุ์ TAL 688 และ TAL 655 ซึ่ง TAL 655 นี้ให้ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนต่ำสุดเท่ากับ 4.90 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งต่ำกว่าทุกสายพันธุ์เรียงตามอันดับที่แสดงไว้ ถ้าพิจารณาเฉพาะขนาดปมจะพบว่าโดยเฉลี่ยปมขนาดใหญ่ให้ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนสูงกว่าปมขนาดเล็ก

ตารางที่ 9 อีทธิพลของสายพันธุ์เชื้อโรโซเบียมต่อเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนในต้นถั่วเซนโตรซึมาเมื่ออายุ 75 วัน

สายพันธุ์เชื้อโรโซเบียม	อันดับ	ค่าเฉลี่ย % ไนโตรเจน (%)
ไม่คลกเชื้อโรโซเบียม	13	4.98 ab
คลกเชื้อโรโซเบียม TAL 688	14	4.90 b
คลกเชื้อโรโซเบียม TAL 655	15	4.73 b
คลกเชื้อโรโซเบียม TAL 652	9	5.35 ab
คลกเชื้อโรโซเบียม PA 1	3	5.72 ab
คลกเชื้อโรโซเบียม PB 1	11	5.28 ab
คลกเชื้อโรโซเบียม PB 2	8	5.37 ab
คลกเชื้อโรโซเบียม PC 1	6	5.63 ab
คลกเชื้อโรโซเบียม PC 2	2	5.94 a
คลกเชื้อโรโซเบียม PD 2	5	5.64 ab
คลกเชื้อโรโซเบียม KA 1	12	5.26 ab
คลกเชื้อโรโซเบียม KA 2	4	5.65 ab
คลกเชื้อโรโซเบียม KB 2	7	5.63 ab
คลกเชื้อโรโซเบียม A 1	10	5.32 ab
คลกเชื้อโรโซเบียม A 2	1	5.99 a

หมายเหตุ ผลผลิต % ไนโตรเจน ในต้นถั่วโดยเฉลี่ย จากปมที่มีขนาดใหญ่ = 5.44 %
 ผลผลิต % ไนโตรเจน ในต้นถั่วโดยเฉลี่ย จากปมที่มีขนาดเล็ก = 4.80 %

3.10 เปอร์เซนต์ฟอสฟอรัส (percent phosphorus)

จากผลการทดลองหาค่าเฉลี่ยเปอร์เซนต์ฟอสฟอรัสของถั่วเซนโตรซีมาเมื่ออายุ 75 วัน พบว่าถั่วเซนโตรซีมาที่ได้รับการคลกเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ A 1 จะให้ค่าเฉลี่ยเปอร์เซนต์ฟอสฟอรัสสูงสุดเท่ากับ 0.41 เปอร์เซนต์ ทำให้ค่าที่ได้มีความแตกต่างกันในทางสถิติกับการคลกเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ PB 2 , PD 2 , TAL 655 และ TAL 688 โดยการคลกเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ TAL 688 ให้ค่าเฉลี่ยเปอร์เซนต์ฟอสฟอรัสต่ำสุดเท่ากับ 0.12 เปอร์เซนต์ วนการคลกเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์อื่นๆ นั้นแม้จะไม่มี ความแตกต่างกันในทางสถิติ แต่ค่าที่ได้นั้นแตกต่างกัน เรียงตามอันดับที่แสดงไว้ในตารางที่ 10 ถ้าพิจารณาเฉพาะขนาดปมจะพบว่าโดยเฉลี่ยปมขนาดใหญ่ให้เปอร์เซนต์ฟอสฟอรัสสูงกว่าปมขนาดเล็ก

ตารางที่ 10 อิทธิพลของสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมต่อเปอร์เซนต์ฟอสฟอรัสในต้นถั่วเซนโตรซีมาเมื่ออายุ 75 วัน

สายพันธุ์เชื้อไรโซเบียม	อันดับ	ค่าเฉลี่ย % ฟอสฟอรัส (%)
ไม่คลกเชื้อไรโซเบียม	8	0.19 ab
คลกเชื้อไรโซเบียม TAL 688	13	0.12 b
คลกเชื้อไรโซเบียม TAL 655	12	0.13 b
คลกเชื้อไรโซเบียม TAL 652	4	0.13 ab
คลกเชื้อไรโซเบียม PA 1	6	0.23 ab
คลกเชื้อไรโซเบียม PB 1	9	0.21 ab
คลกเชื้อไรโซเบียม PB 2	10	0.15 b
คลกเชื้อไรโซเบียม PC 1	6	0.21 ab
คลกเชื้อไรโซเบียม PC 2	3	0.24 ab
คลกเชื้อไรโซเบียม PD 2	11	0.14 b
คลกเชื้อไรโซเบียม KA 1	5	0.23 ab
คลกเชื้อไรโซเบียม KA 2	7	0.19 ab
คลกเชื้อไรโซเบียม KB 2	4	0.23 ab
คลกเชื้อไรโซเบียม A 1	1	0.41 a
คลกเชื้อไรโซเบียม A 2	2	0.24 ab

หมายเหตุ ผลผลิต % Phosphorus ในต้นถั่วโดยเฉลี่ย จากปมที่มีขนาดใหญ่ = 0.25 %
 ผลผลิต % Phosphorus ในต้นถั่วโดยเฉลี่ย จากปมที่มีขนาดเล็ก = 0.20 %

3.11 Nitrogen uptake

อิทธิพลของเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ต่างๆต่อ Nitrogen uptake ในต้นถั่วเซนโตรซิมมา เมื่ออายุ 75 วัน ได้แสดงดังตารางที่ 11 ซึ่งจากตารางจะพบว่า การคลุกเชื้อไรโซเบียม ต่างสายพันธุ์ จะมีผลทำให้ Nitrogen uptake ในต้นถั่ว มีความแตกต่างกันทางสถิติ กล่าวคือการคลุกเชื้อไรโซเบียม สายพันธุ์ A 2 ทำให้ต้นถั่วมีค่าเฉลี่ย Nitrogen uptake สูงสุดเท่ากับ 1.77 กรัม/ต้น ซึ่งสูงกว่า เมื่อคลุกเชื้อไรโซเบียม สายพันธุ์อื่นเรียงตามอันดับที่ แสดงไว้ในตารางที่ 11 และยังพบอีกว่าการคลุกเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ TAL 652 มีผลทำให้ค่าเฉลี่ย Nitrogen uptake ต่ำสุดเท่ากับ 0.58 กรัม/ต้น เมื่อพิจารณาเฉพาะขนาดปมพบว่าโดยเฉลี่ย ปมขนาดเล็กจะให้ Nitrogen uptake ทั้งหมด สูงกว่าปมขนาดใหญ่ แต่มีค่าสูงกว่าเพียงเล็กน้อย

ตารางที่ 11 อิทธิพลของสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมต่อ Nitrogen uptake ของต้นถั่วเซนโตรซิมมา เมื่ออายุ 75 วัน

สายพันธุ์เชื้อไรโซเบียม	อันดับ	ค่าเฉลี่ย N-uptake (กรัม/ต้น)
ไม่คลุกเชื้อไรโซเบียม	6	1.24 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL 688	12	0.76 b
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL 655	14	0.70 b
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL 652	15	0.58 b
คลุกเชื้อไรโซเบียม PA 1	13	0.75 b
คลุกเชื้อไรโซเบียม PB 1	3	1.35 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PB 2	9	1.05 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PC 1	5	1.24 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PC 2	11	0.82 b
คลุกเชื้อไรโซเบียม PD 2	10	0.89 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม KA 1	7	1.18 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม KA 2	4	1.34 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม KB 2	2	1.47 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม A 1	8	1.09 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม A 2	1	1.77 a

หมายเหตุ ผลผลิต N - uptake โดยเฉลี่ย ที่เชื้อเชื้อจากปมที่มีขนาดใหญ่ = 1.12 กรัม/ต้น
 ผลผลิต N - uptake โดยเฉลี่ย ที่เชื้อเชื้อจากปมที่มีขนาดเล็ก = 1.22 กรัม/ต้น

3.12 Phosphorus uptake

อิทธิพลของเชื้อไรโซเบียม สายพันธุ์ต่างๆ ที่มีต่อ Phosphorus uptake ในต้นถั่ว เซนโตรซิมมา เมื่ออายุ 75 วัน ได้แสดงดังตารางที่ 12 ซึ่งจากตารางจะพบว่า การคลุกเชื้อไรโซเบียมต่างสายพันธุ์จะมีผลทำให้ Phosphorus uptake ในต้นถั่ว มีความแตกต่างกันสถิติกล่าวคือการคลุกเชื้อไรโซเบียม สายพันธุ์ A 2 ทำให้ต้นถั่วมี ค่าเฉลี่ย Phosphorus uptake สูงสุดเท่ากับ 72.87 มก./ต้น ซึ่งสูงกว่าเมื่อคลุกเชื้อไรโซเบียม สายพันธุ์อื่น เรียงตามอันดับที่แสดงไว้ในตารางที่ 12 และยังพบอีกว่าการคลุกเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ TAL 655 มีผลทำให้ค่าเฉลี่ย Phosphorus uptake ต่ำสุดเท่ากับ 19.26 มก./ต้น เมื่อพิจารณาเฉพาะขนาดปม พบว่าโดยเฉลี่ยปมขนาดใหญ่จะให้ผลผลิต Phosphorus uptake สูงกว่าปมขนาดเล็ก

ตารางที่ 12 อิทธิพลของสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียม ต่อ P - uptake ของต้นถั่วเซนโตรซิมมา เมื่ออายุ 75 วัน

สายพันธุ์เชื้อไรโซเบียม	อันดับ	ค่าเฉลี่ย P - uptake (มก./ต้น)
ไม่คลุกเชื้อไรโซเบียม	5	48.17 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL 688	14	19.83 b
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL 655	15	19.26 b
คลุกเชื้อไรโซเบียม TAL 652	13	20.90 b
คลุกเชื้อไรโซเบียม PA 1	11	28.31 b
คลุกเชื้อไรโซเบียม PB 1	8	43.21 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PB 2	10	29.22 b
คลุกเชื้อไรโซเบียม PC 1	6	47.00 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PC 2	9	34.53 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม PD 2	12	23.07 b
คลุกเชื้อไรโซเบียม KA 1	4	53.71 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม KA 2	7	45.18 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม KB 2	2	59.69 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม A 1	3	55.01 ab
คลุกเชื้อไรโซเบียม A 2	1	72.87 a

หมายเหตุ ผลผลิต P-uptake โดยเฉลี่ย ที่เชื้อเชื้อจากปมที่มีขนาดใหญ่ = 45.45 มก./ต้น
 ผลผลิต P-uptake โดยเฉลี่ย ที่เชื้อเชื้อจากปมที่มีขนาดเล็ก = 44.09 มก./ต้น

วิจารณ์ และ สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาสายพันธุ์ของเชื้อไรโซเบียม จากแหล่งต่างๆ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน ของถั่วเซินโตรซีมาที่ปลูกในกระถางผลปรากฏว่าเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์จากสถาบันเทคโนโลยีแห่งเอเชีย (AIT) จะทำให้ได้ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักต้นสด น้ำหนักต้นแห้ง น้ำหนักรากสด น้ำหนักรากแห้ง เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน N-uptake และ P-uptake สูงสุด เช่นเดียวกับการทดลองของ รุ่งรัตน์ (2529) พบว่าเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ NC 70.1 มีผลต่อผลผลิตน้ำหนักแห้งความสูง และไนโตรเจนทั้งหมดของถั่วลิสงทั้ง 5 สายพันธุ์ อยู่ในเกณฑ์สูง ในขณะที่เชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ PB 1 ซึ่งเป็นสายพันธุ์จากปากช่องให้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักปมแห้งสูงสุดส่วนเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ KA 2 และ KA 1 ซึ่งเป็นสายพันธุ์จากเขาคันทรงเป็นสายพันธุ์ที่ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนปมสูงสุด และค่าเฉลี่ยประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนสูงสุดตามลำดับจากการทดลองของรุ่งรัตน์ (2529) พบว่าไรโซเบียมสายพันธุ์ที่ให้ค่ากิจกรรมการตรึงไนโตรเจนอยู่ในระดับสูงนั้น มักจะมีจำนวนปมและน้ำหนักแห้งของปมสูงด้วย แต่ผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าถั่วเซินโตรซีมาที่มีจำนวนปมสูง มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนต่ำ เนื่องจากในขั้นตอนการวัดกิจกรรมการตรึงไนโตรเจนนั้น เมื่อตัดส่วนรากใส่ในภาชนะแล้วไม่ได้ฉีดก๊าซอะเซทิลีนเข้าไปทันทีเมื่อเวลาผ่านไปปมถั่วและแบคทีเรียที่อยู่ในปมมีการหายใจมากขึ้น ทำให้ออกซิเจนในภาชนะลดลงอย่างรวดเร็ว และปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ที่ละลายไว้ในปมลดลงด้วยซึ่งทำให้ค่ากิจกรรมการตรึงไนโตรเจนที่ได้อยู่ในระดับต่ำ (วรวิษุ์ และ คณะ 2520 ; Nambiar และ Dart, 1983)

สายพันธุ์ของเชื้อไรโซเบียม ที่ทำให้ได้ค่าเฉลี่ย เปอร์เซ็นต์ฟอสฟอรัสสูงที่สุด คือสายพันธุ์ A 1 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ได้จาก AIT จะเห็นได้ว่าสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมที่มาจาก AIT ซึ่งสายพันธุ์ดังกล่าวจะทำให้มีจำนวนปม ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน และน้ำหนักปมสด-แห้งน้อยกว่า สายพันธุ์เชื้อไรโซเบียม ที่มาจากเขาคันทรง และปากช่องแต่ก็แสดงให้เห็นว่า เชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์จาก AIT สามารถปลดปล่อยไนโตรเจนให้ต้นถั่วเซินโตรซีมา สามารถนำไนโตรเจนไปใช้ได้ดี เป็นผลให้ต้นถั่วเซินโตรซีมาที่ได้รับการปลูกเชื้อไรโซเบียม สายพันธุ์ที่ได้จาก AIT มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักต้นสด น้ำหนักต้นแห้ง น้ำหนักรากสด-แห้ง เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน และเปอร์เซ็นต์ฟอสฟอรัสสูงที่สุด ซึ่งกล่าวโดยรวมก็คือ มีการเจริญเติบโตดีกว่าต้นถั่วเซินโตรซีมาที่ปลูกเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ที่มาจากเขาคันทรง และปากช่อง

สาหร่ายน้ำจืดที่ชื่อไรโซเบียม ที่มาจากปากช่อง และเขาหินซ้อนแม้จะมีน้ำหนักปมสดแห้งสูงสุด และจำนวนปม ค่าเฉลี่ยประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนสูงสุดตามลำดับแต่จากการทดลองจะเห็นว่า การเจริญเติบโตของต้นถั่วนั้นน้อยกว่า สาหร่ายน้ำจืดที่ชื่อไรโซเบียมที่มาจาก AIT แม้จากการทดลองจะพบว่า เชื้อสาหร่ายน้ำจืดที่มาจากเขาหินซ้อนมีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนสูงสุด แต่ไนโตรเจนที่ตรึงไว้นั้นยังไม่สามารถปลดปล่อยออกมาให้กับต้นถั่วเช่นไตรซีมาได้ เป็นผลให้ต้นถั่วเช่นไตรซีมาเจริญเติบโตได้ไม่ดีเท่าที่ควร.

ถ้าพิจารณาเปรียบเทียบการคลุกเชื้อไรโซเบียม และไม่คลุกเชื้อไรโซเบียม พบว่าค่าเฉลี่ยประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน และน้ำหนักสดปมของการไม่คลุกเชื้อ มีค่าสูงกว่าการคลุกเชื้อไรโซเบียมทุกสาหร่ายน้ำจืด อาจเนื่องมาจากเชื้อไรโซเบียมดั้งเดิมที่มีอยู่ในดิน สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้ดีกว่าเชื้อไรโซเบียมสาหร่ายน้ำจืดอื่น เช่นเดียวกับการทดลองของ ปรีชา และคณะ (2521) รายงานว่าการคลุกเชื้อไรโซเบียม สาหร่ายน้ำจืดที่มีประสิทธิภาพให้กับถั่วลิสงซึ่งปลูกในไร่กลีกร อำเภอบางบาล จังหวัด เพชรบุรี ปรากฏว่าไม่มีความแตกต่างในด้านจำนวนปม และประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน เมื่อเทียบกับไม่คลุกเชื้อ

เอกสารอ้างอิง

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

ชาญชัย มณีคุณย์ 2518 ถั่วลาย ข่าวสารชมรมนักพืชอาหารสัตว์ 2(2) : 12-13

ชญญา วิไลพร 2523 ทุ่งหญ้าเขตร้อนประยุกต์ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยขอนแก่น 106 หน้า

ปรีชา วดีศรีศักดิ์ สมศักดิ์ โคตรพวงค์ นันทกร ญุเกิด และเฮ็นใจ วสุวัต. 2521
การคัดเลือก Strain บักเตريمตัวลิสง , น. 185-188 ใน รายงานประจำปี 2521
กองวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร , บางเขน กรุงเทพฯ .4.

พรพรรณ จงสขสันติกุล : 2528 การคัดเลือกสายพันธุ์ไรโซเบียมในไม้กระถินยักษ์
วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 107 หน้า

วรวิทย์ รุ่งรัตน์กลิ่น สมพร หงษ์ลออชานนท์ จริยทศ ต้นวันกล นันทกร ญุเกิด และ
เฮ็นใจ วสุวัต . 2520. ศึกษาวิธีการวัดการตรึงไนโตรเจน ของบักเตريمตัวเหลือง
โดยวิธี อะเซทิลลิตรดักซัน ที่มีประสิทธิภาพที่สุด หน้า 282-289 ใน รายงานประจำปี
2520 กองวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร , บางเขน กรุงเทพฯ .4.

เศรษฐา ศรีนิทท์ นีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์ นันทกร ญุเกิด สมศักดิ์ วิ่งโน โดชิโนมิ มราคามิ
2583 การคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ตัวเขียวเพื่อเพิ่มศักยภาพในการตรึงไนโตรเจน
หน้า 279-288 ใน รายงานผลการวิจัยสาขาพืช การประชุมทางวิชาการของ
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 28 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ

สมิตรา กวโรดม อภิศักดิ์ โนศิรินทร์ ประยุทธ์ วิไลวรรณ อุดลย์เดช สุทธิสิงห์ สมศักดิ์
ชัยนา สดจิตต์ สวณมาลี 2532 การใช้เชื้อไรโซเบียม และ ปุ๋ยฟอสฟอรัส
ในการเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของถั่วอาหารสัตว์ของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ รายงานการ
วิจัยเสนอต่อโครงการนำพระทัยจากในหลวง (อีสานเขียว) กองทัพบก

สมปอง หมั่นแจ้ง และ สมิตรา กวโรดม 2534 อิทธิพลของการคลุกเชื้อไรโซเบียม
และการใส่ปุ๋ยฟอสฟอรัส ต่อการเจริญเติบโตของถั่วเซนโตรซิมา หน้า 653-659
ใน : รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 30 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ

สมศักดิ์ วั่งไฉ 2525 การตรึงไนโตรเจน ไรโซเบียม นีซตระกูลถั่ว คณะเกษตร
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 283 หน้า

สายัณฑ์ ทัดศรี 2520 หลักการทำท่งหญ้าเลี้ยงสัตว์ ภาควิชาพืชไร่ฯ คณะเกษตร
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 405 หน้า

Alexander, M. 1961. Introduction to Soil Microbiology. John Wiley & Sons Inc., New York 472p.

Andrew, C. S. and I. F. Fergus. 1964. Techniques in plant nutrition and soil fertility survey. Some Concepts and method in Subtropical pasture Research. C'welath Bur. Pasture and Field Crops. Bull.47 (C'welth Agr. Bur., Farnham Royal, England). 69p.

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

Burton, J. C. and R. L. Curely . 1965. Comparative efficiency of liquid and peat-base inoculate on field grown soybean. Agron. J. 57:379-381.

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 ectotype of Centrosema in North Queensland. Qd. J. Agric. Anim. Sci. 27:237-239.

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.

Nambiar, P. T. C. and P. J. Dart. 1983 . Factors in fluencing nitrogen activity (acetylene reduction) by root nodules of groundnut , *Archis hypogaeal*. *Peanut Sci.* 10 : 26-29.

Norris, D. O. 1965. Acid production by *Rhizobium* : A unifying concept . *Plant and Soil* . 22: 149-166.

People, N. 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. N. Rao 1976. Influence of basal dose of nitrogen and rhizobial inoculation on yield and nitrogen uptake in black green (*Phaseolus mungo* L.) *Indian J. Plant physiol.* 21 : 210-212.

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

ภาคผนวก

ตารางที่ 13 Analysis of Variance แสดงผลผลิตน้ำหนักรสของถั่วเซนโตรซีมา
เมื่ออายุ 75 วัน

Source	df	SS	MS	F
Replication	2	492.17	246.09	<1
Treatment	14	18207.57	1300.54	1.39ns
Error	28	26112.82	932.60	
Total	44	44812.56		

cv = 39.7 %

ns = not significant

ตารางที่ 14 Analysis of Variance แสดงผลผลิตน้ำหนักรสของถั่วเซนโตรซีมา
เมื่ออายุ 75 วัน

Source	df	SS	MS	F
Replication	2	19.60	9.80	<1
Treatment	14	1272.60	90.90	1.20ns
Error	28	2121.23	75.76	
Total	44	3413.43		

cv = 43.7 %

ns = not significant

ตารางที่ 15 Analysis of Variance แสดงผลผลิตน้ำหนักสดของรากแก้วเซนโตรซีมา
เมื่ออายุ 75 วัน

Source	df	SS	MS	F
Replication	2	1.06	0.53	<1
Treatment	14	210.68	15.05	<1
Error	28	674.37	24.08	
Total	44	886.11		

cv = 53.2 %

ตารางที่ 16 Analysis of Variance แสดงผลผลิตน้ำหนักแห้งของรากแก้วเซนโตรซีมา
เมื่ออายุ 75 วัน

Source	df	SS	MS	F
Replication	2	0.48	0.24	<1
Treatment	14	21.60	1.54	<1
Error	28	46.70	1.67	
Total	44	68.78		

cv = 40.4 %

ตารางที่ 17 Analysis of Variance แสดงผลผลิตน้ำหนักสดของปมถั่วเซนโตรซีมา
เมื่ออายุ 75 วัน

Source	df	SS	MS	F
Replication	2	1.41	0.71	<1
Treatment	14	71.93	5.14	<1
Error	28	163.41	5.84	
Total	44	236.76		

cv = 75.5 %

ตารางที่ 18 Analysis of Variance แสดงผลผลิตน้ำหนักแห้งของปมถั่วเซนโตรซีมา
เมื่ออายุ 75 วัน

Source	df	SS	MS	F
Replication	2	0.04	0.02	<1
Treatment	14	2.87	0.20	<1
Error	28	7.61	0.27	
Total	44	10.53		

cv = 70.1 %

ตารางที่ 19 Analysis of Variance แสดงผลผลิตจำนวนปมของถั่วเซนโตรซีมา
เมื่ออายุ 75 วัน

Source	df	SS	MS	F
Replication	2	43929.64	21964.82	1.44ns
Treatment	14	160750.98	11482.21	<1
Error	28	427616.37	15272.01	
Total	44	632297.00		

cv = 63.0 %

ns = not significant

ตารางที่ 20 Analysis of Variance แสดงการตรึงไนโตรเจนของถั่วเซนโตรซีมา
เมื่ออายุ 75 วัน

Source	df	SS	MS	F
Replication	2	0.83	0.42	<1
Treatment	14	95.91	6.85	<1
Error	28	247.62	8.84	
Total	44	344.37		

cv = 68.8 %

ตารางที่ 21 Analysis of Variance แสดงเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนของถั่วเซนโตรซีมา
เมื่ออายุ 75 วัน

Source	df	SS	MS	F
Replication	2	1.70	0.85	3.13ns
Treatment	14	5.61	0.40	1.48ns
Error	28	7.60	0.27	
Total	44	14.90		

cv = 9.6 %

ns = not significant

ตารางที่ 22 Analysis of Variance แสดงเปอร์เซ็นต์ฟอสฟอรัสของถั่วเซนโตรซีมา
เมื่ออายุ 75 วัน

Source	df	SS	MS	F
Replication	2	0.05	0.02	1.39ns
Treatment	14	0.21	0.01	<1
Error	28	0.47	0.02	
Total	44	0.72		

cv = 52.7 %

ns = not significant

ตารางที่ 23 Analysis of Variance แสดง N - uptake ของถั่วเซนโตรซีมา
เมื่ออายุ 75 วัน

Source	df	SS	MS	F
Replication	2	0.02	0.01	<1
Treatment	14	4.63	0.33	1.41ns
Error	28	6.58	0.23	
Total	44	11.24		

cv = 44.8 %

ns = not significant

ตารางที่ 24 Analysis of Variance แสดง P - uptake ของถั่วเซนโตรซีมา
เมื่ออายุ 75 วัน

Source	df	SS	MS	F
Replication	2	915.81	457.91	<1
Treatment	14	11416.31	815.45	1.67ns
Error	28	13703.31	489.40	
Total	44	26035.44		

cv = 55.3 %

ns = not significant



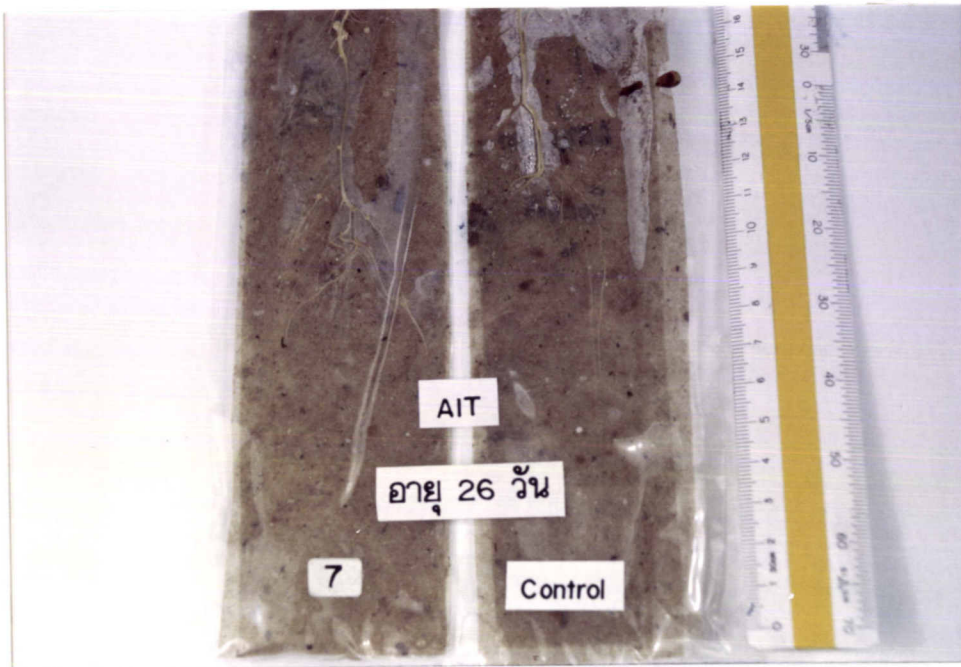
ภาพที่ 1 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อที่เชื้อจากปมถั่วเซนโตรซึมา จากแปลงธรรมชาติ
ทำพระ หลังจากเชื้อเชื้อ 2 วันเมื่อเลี้ยงในอาหาร YEMA ได้โคโลนีที่มีรูปร่าง
และลักษณะเหมือนเชื้อไรโซเบียม



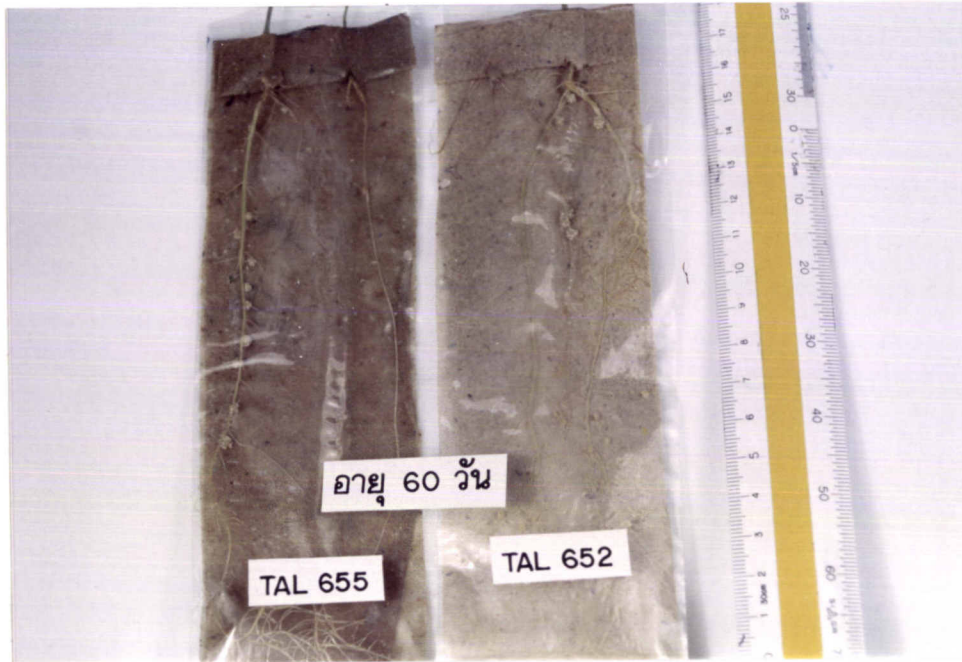
ภาพที่ 2 แสดงลักษณะการเกิดปมของสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมจากปมถั่วธรรมชาติ ที่เก็บจาก ศูนย์วิจัยพืชอาหารสัตว์ อำเภอ ปากช่อง จังหวัด นครราชสีมา เมื่อเพาะเลี้ยงแบบ pouch culture



ภาพที่ 3 แสดงลักษณะการเกิดปมของสายพันธุ์เชื้อโรโซเบียมจากปมถั่วธรรมชาติ ที่เก็บจาก ศูนย์ศึกษาพัฒนาโครงการตามพระราชดำริ เขาหินซ้อน จังหวัด ฉะเชิงเทรา เมื่อเพาะเลี้ยงแบบ pouch culture



ภาพที่ 4 แสดงลักษณะการเกิดปมของสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมจากปมถั่วธรรมชาติ ที่เก็บจาก สถาบันเทคโนโลยีแห่งเอเชีย อำเภอ คลองหลวง จังหวัด ปทุมธานี เมื่อเพาะเลี้ยงแบบ pouch culture



ภาพที่ 5 แสดงลักษณะการเกิดปมของสายพันธุ์เชื้อโรโซเบียม จากกรมวิชาการเกษตร สายพันธุ์ TAL 655 และ TAL 652 เมื่อเพาะเลี้ยงแบบ pouch culture



ภาพที่ 6 แสดงลักษณะการเจริญเติบโตของถั่วเซนโตรสีมา เมื่ออายุ 75 วัน
เห็นความแตกต่างใน หนึ่งซ้า



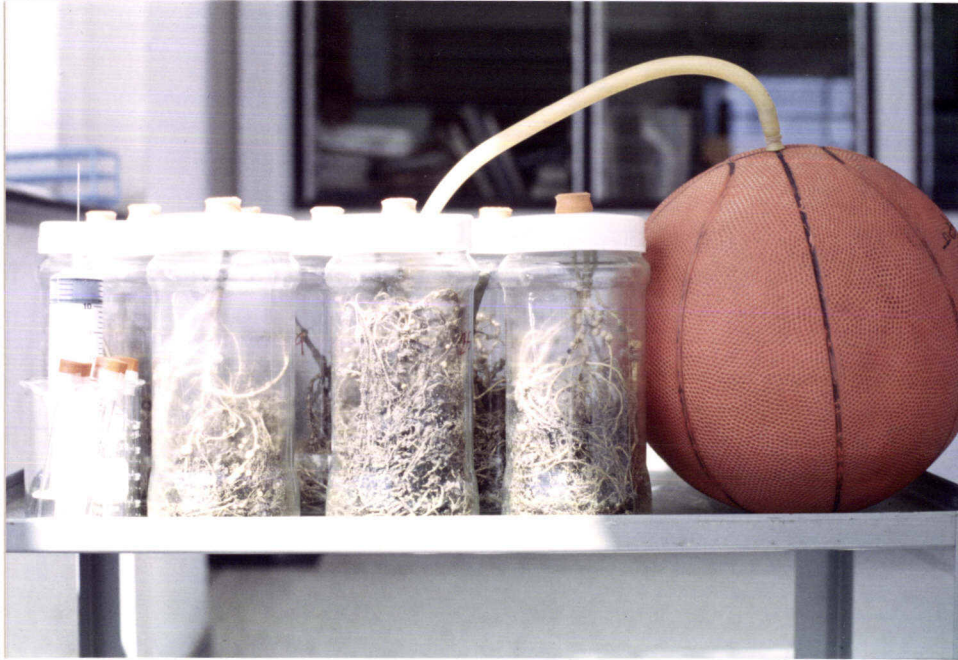
ภาพที่ 7 แสดงอิทธิพลของเชื้อไรโซเบียม สายพันธุ์จากกรมวิชาการเกษตร ต่อการเจริญเติบโตของถั่วเซนโตรซีมา คือสายพันธุ์ TAL 688 ,TAL 655 และTAL 652



ภาพที่ 8 แสดงอิทธิพลของเชื้อไรโซเบียม สายพันธุ์ KA 2 , A 1 และ A 2 ที่มีต่อ
การเจริญเติบโตของถั่วเซนโตรสีมา เทียบกับไม่ใส่เชื้อ



ภาพที่ 9 แสดงอิทธิพลของเชื้อโรโซเบียม สายพันธุ์ TAL 655 , PA 1 , PB 2 และ A 1 ที่มีต่อการเจริญเติบโตของถั่วเซนโตรซีมา เทียบกับไม่ใส่เชื้อ



ภาพที่ 10 แสดงอุปกรณ์ที่ใช้ในการวัดการตรึงไนโตรเจน โดยวิธี Acetylene Reduction Assay (ARA)

สูตรอาหาร Yeast Extract Mannital Broth (YEMB)

Mannital	5.0 g.
K ₂ HPO ₄	0.5 g.
MgSO ₄ ·4H ₂ O	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, 15 lb/inch², 20 min.

สูตรอาหาร Yeast Extract Mannital Agar (YEMA)

Yeast Extract Mannital Broth (YEMB)	1.0 liter
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/inch², 20 min.

สูตรอาหาร N - Free Nutrient Solution

Stock	Chemical	Concentration	Quantity of Stock used per 2 liter
A	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	294.1 g/l	1 ml.
B	KH_2PO_4	136.1 g/l	1 ml.
C	Fe-Citrate	6.7 g/l	1 ml.
	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	123.3 g/l	
	K_2SO_4	87.0 g/l	
	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.338 g/l	
D	H_2BO_3	0.247 g/l	1 ml.
	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.288 g/l	
	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.1 g/l	
	$\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.056 g/l	
	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.048 g/l	

* Adjust to pH 6.6 - 6.8 by adding 1N KOH

* Dissolve the two chemicals separately in 500 ml. of water before combining

ที่มา : Munns. (1968)

Cross-Inoculation Groups and *Rhizobium* - Legume Associations

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

การประเมินหาปริมาณเชื้อที่เลี้ยงใน YEMB โดยวิธี Serial dilution
แบบ Tenfold มีขั้นตอนดังนี้

1. ทั่วไปเตร็ดเตร็ด YEMB ที่เลี้ยงเชื้อแล้ว นานประมาณ 10 วัน ใส่ในหลอดที่บรรจุ
น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 9 ml. แล้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่า หรือมือ (อย่างน้อย
30 ครั้ง) เป็น dilution ที่ 1
2. ทั่วไปเตร็ดเตร็ดสารละลายจาก dilution ที่ 1 จำนวน 1 ml. บรรจุลงในหลอดที่
บรรจุน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 9 ml. แล้วเขย่า เป็น dilution ที่ 2 ทำไป
จนถึง dilution ที่ 9
3. นำ dilution ที่ 7 , 8 และ 9 มา sprade บน plate อาหาร YEMA โดย
ดัดสารละลายในแต่ละ dilution จำนวน 0.1 ml. sprade ลงบนแต่ละ plate
4. เก็บที่อุณหภูมิห้องในที่มืด ประมาณ 5-7 วัน จะสังเกตเห็นโคโลนี มีลักษณะกลมเล็ก
สีขาวใส
5. ทำการนับจำนวนโคโลนีในแต่ละ plate
ถ้า dilution ที่ 7 นับได้เท่ากับ A เซลล์หมายถึง มีเชื้ออยู่จำนวน $A \times 10^8$ เซลล์/ml.
" " 8 " " " " " $A \times 10^7$ เซลล์/ml.
" " 9 " " " " " $A \times 10^6$ เซลล์/ml.
6. นำค่าที่ได้จาก dilution ทั้ง 3 มาหาค่าเฉลี่ย เป็นจำนวน เซลล์/ml. โดยประมาณ