

589.950724

ก ๔๕50

๗.3

การคัดเลือกเชื้อโรโซเนียมของโสนอินเดียและโสนแอฟริกัน

ปริญญานิพนธ์

ของ

สุวรรณี พรหมศิริ

13 ก.ย. 2533

เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ความหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต วิชาเอกชีววิทยา

เมษายน 2533

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

170411

คณะกรรมการที่ปรึกษาประจำตัวนิสิตและคณะกรรมการสอบได้พิจารณาปริญญานิพนธ์ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาการศึกษาทางนิติศาสตร์
วิชาเอกที่ ๖ ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ให้

คณะกรรมการที่ปรึกษา

..... ประธาน

(ดร. นันทกร บุญเกิด)

..... กรรมการ

(ผศ. สุรจิต วรรณจันทร์)

คณะกรรมการสอบ

..... ประธาน

(ดร. นันทกร บุญเกิด)

..... กรรมการ

(ผศ. สุรจิต วรรณจันทร์)

..... กรรมการที่แต่งตั้งเพิ่มเติม

(กศ. พรพรรณ เดิศจันทน์)

บัณฑิตวิทยาลัยอนุมัติให้รับปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาการศึกษาทางนิติศาสตร์ ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ศ.ดร. สมพร บัวทอง)

วันที่ .. ๙ .. เดือน พฤษภาคม .. พ.ศ. ๒๕๓๓

ประกาศคุณูปการ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยความช่วยเหลือจาก คร.นันทกร บุญเกิด หัวหน้ากลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน ศักโรโซเบียม ซึ่งได้ให้ความกรุณาเป็นประธานกรรมการที่ปรึกษาในการทำปริญญานิพนธ์และช่วยให้คำแนะนำตลอดจนให้ความช่วยเหลือในด้านสถานที่อุปกรณ์เครื่องใช้ในการทำวิจัย ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ สุรจิต วรรณจันทร์ กรรมการที่ปรึกษาเป็นอย่างสูงที่คอยให้คำแนะนำต่อผู้เขียนตลอดจนปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องปริญญานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จลงได้ และผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในพระคุณของ คุณวิทยา ธานานุสนธิ์ นักวิชาการเกษตร 5 ห้องปฏิบัติการไรโซเบียม ที่ให้ความช่วยเหลือระหว่างทำการวิจัยด้วยดีตลอดมา ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์พรพรรณ เลิศทวีสินธุ์ ที่ได้กรุณาเป็นกรรมการสอบปริญญานิพนธ์ตลอดจนตรวจแก้ไขให้ถูกต้องและเพิ่มเติมปริญญานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่านและน้อง ๆ ห้องปฏิบัติการไรโซเบียม กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร และเพื่อน ๆ ที่คอยให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจ

ผู้วิจัยขอน้อมรำลึกถึงคุณบิดา มารดา ผู้ซึ่งให้การสนับสนุนในการศึกษาตลอดมารวมทั้งพี่ และน้อง ๆ ที่ให้ความช่วยเหลือ กำลังทรัพย์ และกำลังใจเป็นอย่างดี ขอกราบขอบพระคุณและขอขอบคุณไว้ ณ โอกาสนี้

สุวรรณี พรหมศิริ

สารบัญ

บทที่

หน้า

1	บทนำ	1
	ความมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า	3
	ความสำคัญของการศึกษาค้นคว้า	3
	สมมติฐานการศึกษา	4
	ขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า	4
	นิยามศัพท์เฉพาะ	6
2	เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย	7
	ลักษณะทั่วไปทางด้านพฤกษศาสตร์ของโสน	7
	การปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมของโสน	8
	ประโยชน์ของโสน	9
	ไรโซเบียมและการจัดจำแนก	9
	ความสัมพันธ์ระหว่างไรโซเบียมกับพืชตระกูลถั่ว	12
	การประเมินประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนของไรโซเบียม	13
3	วิธีดำเนินการศึกษาค้นคว้า	14
	อุปกรณ์	14
	วิธีการทดลอง	15
	การแยกเชื้อบริสุทธิ์จากปมธรรมชาติที่เก็บได้จากดินตัวอย่าง	15
	การจำแนกเชื้อไรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติ โดยลักษณะทาง	
	เซรุ่มวิทยา	19
	การทดสอบประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของเชื้อไรโซเบียมแต่ละเชื้อร่วมกับ	
	โสนอินเดียและโสนอัฟริกันในลีโอนาร์ดจา	25

4 ผลการศึกษาค้นคว้า	28
การแยกเชื้อบริสุทธิ์จากปมธรรมชาติที่เก็บได้จากคันทวย่าง	29
การจำแนกเชื้อโรโซเปียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติโดยลักษณะทางเซรุ่มวิทยา	50
การทดสอบประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของเชื้อโรโซเปียมแต่ละเชื้อร่วมกับ โสนอินเดียและโสนอัฟริกันไนล์โอนาร์ดจา	72
5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	108
ความมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า	108
วิธีดำเนินการศึกษาค้นคว้า	108
สรุปผลการค้นคว้า	110
อภิปรายผล	115
ข้อเสนอแนะ	134
บรรณานุกรม	136
ภาคผนวก	143
ภาคผนวก ก.	144
ภาคผนวก ข.	150
ประวัติของผู้วิจัย	157

บัญชีตาราง

ตาราง		หน้า
1	แสดงการเจริญเติบโตของโสนอินเดียที่ปลูกในดินตัวอย่างที่เก็บจากแหล่งต่าง ๆ ..	30
2	แสดงการเจริญเติบโตของโสนอัฟริกันที่ปลูกในดินตัวอย่างที่เก็บจากแหล่งต่าง ๆ ..	35
3	แสดงจำนวนเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้จากปมธรรมชาติของโสนอินเดีย	38
4	แสดงจำนวนเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้จากปมธรรมชาติของโสนอัฟริกัน	39
5	แสดงคุณสมบัติทางประการของเชื้อไรโซเบียมของโสนอินเดีย	41
6	แสดงคุณสมบัติทางประการของเชื้อไรโซเบียมของโสนอัฟริกัน	48
7	ระดับไทเตอร์ของไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน 11 สายพันธุ์	51
8	ปฏิกริยาระหว่างแอนติบอดีของไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐานกับแอนติเจนเฉพาะของ ไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐานและแอนติเจนของไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน สายพันธุ์อื่น	53
9	ผลของปฏิกริยาระหว่างแอนติบอดีของไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐานกับแอนติเจน เฉพาะของไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐานและแอนติเจนของไรโซเบียมสายพันธุ์ มาตรฐานสายพันธุ์อื่น	54
10	ปฏิกริยาระหว่างแอนติเจนของเชื้อไรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติของ โสนอินเดียกับแอนติบอดีของไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน	56
11	ปฏิกริยาระหว่างแอนติเจนของเชื้อไรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติของ โสนอัฟริกันกับแอนติบอดีของไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน	65
12	การจัดจำแนกเชื้อไรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติของโสนอินเดียโดยวิธี อินไคเร็คท์ อีไลซา	67
13	การจัดจำแนกเชื้อไรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติของโสนอัฟริกันโดยวิธี อินไคเร็คท์ อีไลซา	71

14	ประสิทธิภาพของเชื้อโรโซเบียมแต่ละเชื้อในการตรึงไนโตรเจนร่วมกับโสนอินเดีย เมื่ออายุ 50 วัน	84
15	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficients) การตรึงไนโตรเจน ของเชื้อโรโซเบียมร่วมกับโสนอินเดีย	91
16	ประสิทธิภาพของเชื้อโรโซเบียมแต่ละเชื้อในการตรึงไนโตรเจนร่วมกับโสนอัฟริกัน เมื่ออายุ 50 วัน	104
17	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์การตรึงไนโตรเจนของเชื้อโรโซเบียมร่วมกับโสนอัฟริกัน	107
18	แสดงคุณสมบัติบางประการของเชื้อโรโซเบียมของโสนอินเดีย	111
19	แสดงคุณสมบัติบางประการของเชื้อโรโซเบียมของโสนอัฟริกัน	111

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ

หน้า

1	สรุปขั้นตอนการแยกเชื้อไวรัสจากปมธรรมชาติที่เก็บได้จากกิ่งตัวอย่าง	18
2	แสดงขั้นตอนการตรวจวัดระดับโคโรนา	21
3	สรุปขั้นตอนของวิธีอินโคเรท เอ็นไซม์ ลิงค์ อิมมิวโนซอร์เบนท์ เอสเส	24
4	แสดงลักษณะการเจริญเติบโตของต้นโสนอินเดียที่ปลูกในดินแต่ละตัวอย่างเมื่ออายุ 20 วัน	29
5	แสดงความสูงของต้นโสนอินเดีย เมื่อใส่เชื้อโรโซเบียม 128 เชื้อ	73
6	แสดงน้ำหนักแห้งของต้นโสนอินเดีย เมื่อใส่เชื้อโรโซเบียม 128 เชื้อ	75
7	แสดงไนโตรเจนในต้นโสนอินเดีย เมื่อใส่เชื้อโรโซเบียม 128 เชื้อ	77
8	แสดงจำนวนปมของโสนอินเดีย เมื่อใส่เชื้อโรโซเบียม 128 เชื้อ	79
9	แสดงน้ำหนักแห้งของปมโสนอินเดีย เมื่อใส่เชื้อโรโซเบียม 128 เชื้อ	81
10	แสดงอัตราการตรึงไนโตรเจนของโสนอินเดีย เมื่อใส่เชื้อโรโซเบียม 128 เชื้อ	83
11	แสดงความสูงของต้นโสนอัฟริกัน เมื่อใส่เชื้อโรโซเบียม 32 เชื้อ	93
12	แสดงน้ำหนักของต้นโสนอัฟริกัน เมื่อใส่เชื้อโรโซเบียม 32 เชื้อ	95
13	แสดงไนโตรเจนในต้นโสนอัฟริกัน เมื่อใส่เชื้อโรโซเบียม 32 เชื้อ	97
14	แสดงจำนวนปมของต้นโสนอัฟริกัน เมื่อใส่เชื้อโรโซเบียม 32 เชื้อ	99
15	แสดงน้ำหนักแห้งของต้นโสนอัฟริกัน เมื่อใส่เชื้อโรโซเบียม 32 เชื้อ	101
16	แสดงอัตราการตรึงไนโตรเจนของโสนอัฟริกัน เมื่อใส่เชื้อโรโซเบียม 32 เชื้อ	103
17	เปรียบเทียบความสูงของต้นโสนอัฟริกัน (ภาพ ก) และโสนอินเดีย (ภาพ ข) เมื่อใส่เชื้อโรโซเบียมจากแหล่งต่างกัน	120

18	แสดงลักษณะการเจริญเติบโตของต้นโสนอัฟริกัน (ภาพ ก ขวาลูก) และโสนอินเดีย "	
	(ภาพ ข ขวาลูก) ที่ไม่ใส่เชื้อไรโซเบียม	122
19	เปรียบเทียบลักษณะการเจริญเติบโตของต้นโสนอินเดียที่มีความสูงอยู่ในกลุ่มสูง	
	(ซฟ.2) กับต้นโสนที่มีความสูงอยู่ในกลุ่มปานกลาง (สฎ.2, สช.1)	124
20	เปรียบเทียบความแตกต่างของจำนวนปมที่รากของโสนอินเดีย เมื่อได้รับ	
	เชื้อไรโซเบียมจากแหล่งต่างกัน (ภาพ ก เชื้อ สฎ.3 ภาพ ข เชื้อ ศก.4)	126
21	แสดงรากของต้นโสนอินเดีย ที่ไม่ใส่เชื้อไรโซเบียม	128
22	โสนอัฟริกัน (ภาพ ก) และโสนอินเดีย (ภาพ ข) เมื่ออายุ 10 วัน	145
23	โสนอัฟริกัน (ภาพ ก) และโสนอินเดีย (ภาพ ข) เมื่ออายุ 18 วัน	146
24	โสนอัฟริกัน (ภาพ ก) และโสนอินเดีย (ภาพ ข) เมื่ออายุ 50 วัน	147
25	โสนอัฟริกัน (ภาพ ก และภาพ ข) เริ่มคืบปมที่ต้นเมื่ออายุประมาณ 12 - 15 วัน	148
26	เปรียบเทียบปมที่ต้นโสนอัฟริกันที่ไม่ใส่เชื้อไรโซเบียม (ภาพ ก)	
	กับใส่เชื้อไรโซเบียม (ภาพ ข)	149

บทนำ

ไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืช การทำการเพาะปลูกมักจะขาดธาตุไนโตรเจน เนื่องจากธาตุไนโตรเจนเป็นธาตุที่มีการสูญเสียจากดินได้ง่าย และแหล่งสะสมธาตุไนโตรเจนส่วนใหญ่อยู่ในรูปของก๊าซไนโตรเจนซึ่งพืชไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ แหล่งที่มาของธาตุไนโตรเจนที่พืชต้องการนั้น ส่วนหนึ่งได้มาจากการใช้ปุ๋ยเคมีที่สังเคราะห์ขึ้นทำให้ต้นทุนการผลิตสูง และอาจจะทำให้คุณสมบัติของดินเปลี่ยนไป อีกส่วนหนึ่งได้มาจากการตรึงไนโตรเจนของจุลินทรีย์ทั้งชนิดที่อยู่เป็นอิสระในดิน (nonsymbiosis) และชนิดที่อยู่ร่วมกับพืช (symbiosis) ปัจจุบันได้มีการนำเอาจุลินทรีย์ชนิดที่สามารถตรึงไนโตรเจนและสามารถอยู่ร่วมกับพืชตระกูลถั่วมาใช้เป็นประโยชน์ในการเกษตร เช่น มีการแนะนำให้ปลูกถั่วบำรุงดิน ปลูกถั่วแซมพืชอื่น ปลูกถั่วเป็นพืชหมุนเวียน ซึ่งในบางครั้งอาจจะประสบความล้มเหลว ทั้งนี้เพราะยังขาดความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับการตรึงไนโตรเจนของจุลินทรีย์เหล่านั้น ทำให้ดินถั่วไม่มีประโยชน์ในการบำรุงดินตามที่มุ่งหมายไว้ จุลินทรีย์ชนิดที่เจริญร่วมกับพืชตระกูลถั่วที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศเพื่อสร้างเป็นธาตุอาหารไนโตรเจนที่พืชสามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้นั้นคือ ไรโซเบียม (*Rhizobium*) นอร์ริส (Norris. 1979 : 85 - 102) ได้รายงานไว้ว่า เชื้อไรโซเบียมร่วมกับพืชตระกูลถั่วสามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศมาเป็นสารประกอบไนโตรเจนได้ถึง 16 - 32 กิโลกรัม/ไร่/ปี ในดินมีไรโซเบียมอยู่หลายชนิด (species) แต่ละชนิดมีความสามารถเข้าสู่รากและตรึงไนโตรเจนให้กับถั่วแต่ละชนิดแตกต่างกัน ถ้าหากต้องการให้ผลผลิตสูงและตรึงไนโตรเจนได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงจำเป็นต้องมีการคัดเลือกสายพันธุ์ไรโซเบียมให้เหมาะสมกับพืชตระกูลถั่วแต่ละชนิด วิเวอร์ และเฟดริก (Weaver and Federic. 1977 : 78) รายงานผลการทดลองว่า การปลูกเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ที่เหมาะสมกับถั่วที่นำไปปลูกจะให้ผลผลิตสูงกว่า

ถั่วที่ไม่ได้คลุกเชื้อเพียงแต่อาศัยเชื้อในดินซึ่งเป็นเชื้อที่ไม่เหมาะสม ดังนั้นการคัดเลือกเชื้อไรโซเบียมนับว่าเป็น ความสำคัญอันดับแรกในการที่จะใช้เชื้อไรโซเบียมให้มีประสิทธิภาพ (พรพรรณ จงสุขสันติกุล. 2528 : 5; ศุภมาศ พนิชศักดิ์พัฒนา. 2529 : 213) หลักในการคัดเลือกเชื้อไรโซเบียมก็ต้องเป็นเชื้อที่มีความสามารถในการเข้าสร้างปมและเป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้สูงเมื่อได้เข้าไปสร้างปมให้กับถั่ว และให้ผลผลิตสูงด้วย (Thompson. 1988 : 207 - 218) สำหรับข้อพิจารณาอื่น ๆ ที่ควรคำนึงถึงได้แก่ ความสามารถในการอยู่รอดหรือทนต่อสภาพอุณหภูมิระดับต่าง ๆ ความเป็นกรด เป็นด่างของดิน ความสามารถในการเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ และวัสดุเพาะที่เหมาะสม เช่น พีท รวมทั้งความสามารถในการเข้าสร้างปมและตรึงไนโตรเจนได้เมื่อดินมีระดับไนโตรเจนสูง (Rupela and others. 1987 : 247 - 252; Woomer, Singleton and Bohlood. 1988 : 1112 - 1116)

โสน (*Sesbania* spp.) เป็นพืชตระกูลถั่วชนิดหนึ่งนิยมปลูกเพื่อใช้เป็นปุ๋ยพืชสด ที่รากของโสนจะมีปมอยู่เป็นจำนวนมากและโสนอัฟริกันสามารถเกิดปมได้ทั้งที่ลำต้นและรากซึ่งปมเหล่านี้สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้โดยเชื้อไรโซเบียม ปุ๋ยพืชสดที่ได้จากต้นโสนจะเป็นแหล่งของปุ๋ยไนโตรเจนเป็นการเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดินให้กับพืชที่ปลูกตามมา กองวิทยการกรมการข้าว (2517 : 1 - 35) ได้มีการทดลองใช้ปุ๋ยพืชสดในนาข้าว โดยใช้ฟางข้าวและพืชตระกูลถั่ว 4 ชนิด คือ ถั่วเหลือง ถั่วเขียว โสน ปอเทือง ปรากฏว่าโสนเป็นปุ๋ยพืชสดชนิดเดียวที่ให้ผลผลิตข้าวสูงสุดตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลองมา 8 ปี และปุ๋ยพืชสดจากต้นโสนช่วยดูดซับธาตุอาหารของดินเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของดิน ปฏิกริยาดิน ปรับปรุงความจุในการเก็บกักน้ำ อีกทั้งช่วยเพิ่มกิจกรรมของจุลินทรีย์ดินในขบวนการตรึงไนโตรเจนให้มากยิ่งขึ้น และโสนเป็นพืชปุ๋ยสดที่เจริญได้ในดินหลายสภาพ เช่น ดินเค็ม ดินกรดจัด ดินด่าง ดินที่น้ำท่วม และดินน้ำขัง (Evan and Rotar. 1986 : 1 - 192) แต่โสนจะมีความเฉพาะกับไรโซเบียมมากไม่สามารถเกิดปมได้กับไรโซเบียมจากถั่วชนิดอื่น ๆ เช่น ไรโซเบียมจากถั่วกลุ่มอัลฟัลฟา กลุ่มโคลเวอร์และถั่วเหลือง จะเกิดปมได้บ้างกับไรโซเบียมที่แยกได้จากโสนต่างชนิดกัน โดยเฉพาะโสนอินเดีย

จะเกิดปฏิกิริยามีประสิทธิภาพกับโรโซเบียมสายพันธุ์ที่เหมาะสมเท่านั้น (Allen and Allen, 1981 : 606) แครี และคนอื่น ๆ (Karir and others, 1984 : 251 - 253) ได้ทำการศึกษาครีงไนโตรเจนของโรโซเบียมร่วมกับโสน พบว่าโสนที่ทำการปลูกเชื้อที่เหมาะสมเมื่อทำเป็นปุ๋ยพืชสดจะปลดปล่อยธาตุไนโตรเจนให้แก่ดิน ซึ่งจะมีผลทำให้ผลผลิตของเมล็ดข้าวสูงขึ้น สมศรี อรุณรัตน์ และ ไพรัช พงษ์วิเชียร (2531 : 107) ได้สรุปผลการทดลองปลูกโสนในสภาพดินนาว่าโสนอินเดียมีความเฉพาะต่อเชื้อที่ใส่ให้มากกว่าโสนอัฟริกัน และโสนทั้งสองชนิดให้น้ำหนักแห้งต่ำเมื่อไม่มีการปลูกเชื้อ เพราะฉะนั้นการที่จะนำโสนมาใช้ในการเกษตรจึงต้องมีการคัดเลือกเชื้อโรโซเบียมสายพันธุ์ที่เหมาะสมให้กับโสน และเชื้อที่ใช้ควรเป็นเชื้อที่ผ่านการคัดเลือกมาแล้ว การนำเชื้อโรโซเบียมที่ไม่ทราบประวัติของพันธุ์ หรือผลการทดลองมาใช้จึงเป็นการเสี่ยงเพราะโรโซเบียมบางสายพันธุ์สร้างสารพิษได้และไม่สามารถชักนำให้โสนสร้างปม (จีระศักดิ์ อรุณศรี, 2529 : 24) ทำให้โสนที่ปลูกลงไปไม่มีประโยชน์ในการบำรุงดิน

ความมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า

1. เพื่อจำแนกเชื้อโรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติจากดินตัวอย่างโดยลักษณะทางเซรุ่มวิทยา (serology)
2. เพื่อคัดเลือกเชื้อโรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพสูงในการครีงไนโตรเจนร่วมกับโสน

ความสำคัญของการศึกษาค้นคว้า

1. สามารถนำมาใช้ในการตัดสินใจคัดเลือกเชื้อโรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพสูงในการครีงไนโตรเจนเมื่ออยู่ร่วมกับโสนแต่ละชนิด เพื่อความมุ่งหมายหลักในการเพิ่มคุณภาพของปุ๋ยพืชสด
2. เชื้อที่ได้จากการคัดเลือกสามารถนำไปทำการทดสอบในสภาพแปลงทดลองเพื่อตัดสินใจในการนำผลไปใช้ได้อย่างถูกต้อง

สมมติฐานการศึกษา

1. เชื้อโรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติแต่ละ isolate มีลักษณะทางเซรุ่มวิทยาแตกต่างกัน
2. เชื้อโรโซเบียมแต่ละเชื้อมีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนแตกต่างกันเมื่ออยู่ร่วมกับโสน

ขอบเขตของการศึกษาค้นคว้า

1. โสนที่ใช้ทดลอง ได้แก่ โสนอินเดีย (*S. speciosa* Taub.) และโสนอัฟริกัน (*S. rostrata* Brem. and Oberm.)
2. ดินตัวอย่างมี 31 ตัวอย่าง คือ นราธิวาส (นธ.) ยะลา (ยล.) ปัตตานี (ปน.) สงขลา (สข.) ตรัง (ตง.) สตูล (สต.) นครศรีธรรมราช (นศ.) สุราษฎร์ธานี (สฎ.) ชุมพร (ชพ.) ประจวบคีรีขันธ์ (ปจ.) กรุงเทพฯ (กทม.) กาญจนบุรี (กจ.) นนทบุรี (นน.) สระบุรี (สบ.) ชลบุรี (ชบ.) ปทุมธานี (ปท.) ฉะเชิงเทรา (จช.) นครสวรรค์ (นว.) ระยอง (รย.) ตราด (ตร.) นครราชสีมา (นม.) เพชรบูรณ์ (พช.) ศรีสะเกษ (ศก.) แพร่ (พร.) มหาสารคาม (มค.) อุตรดิตถ์ (อค.) ขอนแก่น (ขก.) ลำปาง (ลป.) นครพนม (นพ.) เชียงใหม่ (ชม.) เชียงราย (ชร.)
3. เชื้อโรโซเบียมของโสนอินเดีย และโสนอัฟริกัน
 - 3.1 เชื้อโรโซเบียมของโสนอินเดีย 128 เชื้อ
 - 3.1.1 ได้มาจากการแยกเชื้อบริสุทธิ์จากปมธรรมชาติที่เก็บได้จากดินตัวอย่าง 25 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 5 isolates เป็นจำนวน 125 isolates คือ isolates นธ. 1-5, ยล. 1-5, สข. 1-5, สต. 1-5, นศ. 1-5, สฎ. 1-5, ชพ. 1-5, ปจ. 1-5, สบ. 1-5, ชบ. 1-5, จช. 1-5, รย. 1-5, ตง. 1-5, นม. 1-5, พช. 1-5, ศก. 1-5, กจ. 1-5, มค. 1-5, อค. 1-5, ขก. 1-5, ลป. 1-5, นพ. 1-5, พร. 1-5, ชม. 1-5, ชร. 1-5,

3.1.2 ได้มาจาก International Rice Research Institute Manila Philippines (IRRI) 1 สายพันธุ์คือ สายพันธุ์ IRG 4

3.1.3 ได้มาจากห้องปฏิบัติการไรโซเบียม กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร 2 isolates คือ โสโนอินเคีย 1 และ โสโนอินเคีย 2

3.2 เชื้อไรโซเบียมของโสนอัฟริกัน 32 เชื้อ

3.2.1 ได้มาจากการแยกเชื้อบริสุทธิ์จากปมธรรมชาติที่เก็บได้จากดิน ตัวอย่าง 12 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 1 isolate เป็นจำนวน 12 isolates คือ isolates นศ. ปน. ตร. กทม. นบ. ปท. สบ. มค. พร. นว. ชม. ชร.

3.2.2 ได้มาจาก IRRI 17 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ MHR 3, MHR 5, MLS 6, CTS 2, ORS 571, TOS 1, TOR 2, TOR 3, TOR 4, IRG 22, IRG 23, IRG 32, IRG 42, IRG 56, IRG 58, IRG 59, IRG 68.

3.2.3 ได้มาจากห้องปฏิบัติการไรโซเบียม กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร 3 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ TAL 1113, TAL 1114, TAL 1116.

4. เชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน คือ สายพันธุ์ IRG 4, IRG 23, IRG 32, IRG 56, IRG 59, ORS 322, ORS 571, S4, Am10, Mu26a, CT4

5. จำแนกเชื้อไรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติจากลักษณะทางเซรุ่มวิทยาด้วยวิธี อินโคเรคท์ เอนไซม์ - ลิงค์ อิมมิวโนซอร์เบนท์ แอสเส (indirect enzyme - linked immunosorbent assay)

6. ทำการคัดเลือกเชื้อไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพสูงในการตรึงไนโตรเจนเมื่ออยู่ร่วมกับ โสนแต่ละชนิดในลีโอนาร์ดจา

7. สถานที่ทำการทดลอง คือ เรือนทดลองและห้องปฏิบัติการวิจัยไรโซเบียม กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร

นิยามศัพท์เฉพาะ

1. Specific (เฉพาะเจาะจง) หมายถึง เชื้อโรโซเบียมแต่ละชนิดจะมีการชักนำให้เกิดปฏิกิริยากับตัวบางชนิด หรือบางกลุ่มเท่านั้น
2. Strian หมายถึง สายพันธุ์ที่เป็นเชื้อบริสุทธิ์ของโรโซเบียมเชื้อใดเชื้อหนึ่งที่คัดจนเป็นเชื้อบริสุทธิ์ แล้วจัดไว้ในระดับที่ต่ำกว่าชนิด (species)
3. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) หมายถึง วิธีการหนึ่งทางเซรุ่มวิทยาเพื่อใช้ในการตรวจหาแอนติเจนหรือแอนติบอดี ในที่นี้เป็นการตรวจหาแอนติเจนของเชื้อโรโซเบียม
4. Indirect ELISA เป็นวิธีที่เอนไซม์ไม่ได้เกาะติดบนแอนติบอดีของกระต่าย โดยตรงแต่จะเกาะติดอยู่บนแอนติบอดีของแพะ หรือแกะ วิธีนี้ต้องใช้แอนติบอดี 2 ชนิด คือ ชนิดแรกได้จากกระต่ายเป็นแอนติบอดีที่เฉพาะกับแอนติเจนที่ต้องการ แอนติบอดีตัวที่สองได้จากแพะหรือแกะ โดยการนำโกลบูลินของกระต่ายเป็นแอนติเจนไปฉีดกระตุ้นให้แพะหรือแกะ แอนติบอดีตัวที่สองนี้เป็นที่เกาะติดของเอนไซม์แอลคาร์ไลน์ ฟอสฟาเทส (alkaline phosphatase)

เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย

โสนอยู่ในวงศ์ Leguminosae เป็นทั้งไม้ล้มลุก (herbs) และไม้พุ่ม (shrubs) เป็นไม้เนื้ออ่อน (soft wood) เจริญเติบโตเร็วมีช่วงชีวิตค่อนข้างสั้น มีแหล่งกำเนิดในเขตร้อนของโลก ในทวีปเอเชียจะมีอยู่มากตามแถบภาคตะวันออกเฉียงใต้ของทวีป เช่น ในอินเดีย พม่า ไทย มาเลเซีย และฟิลิปปินส์ ฯลฯ โสนโดยทั่วไปแล้วมีอยู่หลายชนิด เช่น S. aculeata Poir. S. aegyptiaca Poir. S. cannabina Roxb. S. drummondii (Rydb.) Cory S. grandiflora Poir. S. macrocarpa Muhl. S. rostrata Brem. and Oberm. S. roxburghii Merr. S. speciosa Taub. ฯลฯ (Allen and Allen. 1981 : 604 - 607) สำหรับในประเทศไทยเท่าที่สำรวจพบ ในปัจจุบันมีโสนอยู่ 4 ชนิด ได้แก่ S. aegyptiaca Poir. ภาษาท้องถิ่นเรียกว่า ผักสองแสง สะเปาลม S. aculeata Poir. ภาษาท้องถิ่นเรียกว่า โสนกางก S. roxburghii Merr. ภาษาท้องถิ่นเรียกว่า โสนกินคอก และ S. speciosa Taub. ภาษาท้องถิ่นเรียกว่า โสนอินเดีย (สกล สุธีสร. 2529 : 283)

ลักษณะทั่วไปทางด้านพฤกษศาสตร์ของโสน

โสนสูงประมาณ 2 เมตร ทรงต้นโปร่ง ลำต้นเมื่อแห้งจะมีน้ำหนักเบา ดอกมีสีเหลือง ช่อดอกเป็นแบบเรซิม (raceme) ช่อดอกจะอยู่ที่ปลายยอด และตามโคนกิ่ง แต่ละช่อดอกจะมี 7 - 10 ดอก ดอกหนึ่งประกอบด้วยก้านดอกยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร กลีบเลี้ยงสี่ชิ้นรูปทรงกรวยมีจำนวน 5 กลีบติดกัน กลีบดอกสีเหลืองมีจำนวน 4 กลีบ ประกอบด้วย กลีบดอกส่วนที่ใหญ่เรียกว่า สแตนดาร์ด (standard) ค่อนข้างกลมกว้างประมาณ 1.5 - 2 เซนติเมตรกลีบนี้จะเปิดให้เห็นได้ชัด กลีบดอกส่วนที่เรียกว่า วิก (wing) มีจำนวน 2 กลีบ แต่ละกลีบยาวประมาณ

2 เซนติเมตร กว้างประมาณ 0.5 เซนติเมตรจะอยู่คนละข้างของกลีบดอกสแตนด์คาร์ด ส่วนกลีบดอกที่เรียกว่า คีล (keel) ยาวประมาณ 2 เซนติเมตรหุ้มเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียไว้ เกสรตัวผู้เป็นชนิดไดอะเดลฟัส (diadelphous) คือก้านเกสรเชื่อมติดกันเป็นสองกลุ่ม กลุ่มหนึ่งมีก้านเกสรจำนวน 9 อัน อีกกลุ่มหนึ่งมีเพียง 1 อัน เกสรตัวเมียาวกว่ากลีบดอก ฝังไว้เป็นชนิดซูพีเรียร์ (superior ovary) ใบเป็นชนิดใบประกอบ (compound leaf) ประกอบไปด้วยใบย่อยขนาดเล็ก ประมาณ 25 - 30 ใบ แต่ละใบยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร กว้างประมาณ 0.4 - 0.6 เซนติเมตร ปลายใบและโคนใบมน ที่แผ่นใบมีขนละเอียด ผลโสนโดยทั่วไปเรียกว่าฝัก (pod) มีลักษณะกลมยาว ประมาณ 15 - 25 เซนติเมตร กว้างประมาณ 0.5 เซนติเมตร เมล็ดมีขนาดเล็กค่อนข้างกลมเรียงเป็นแถวตามความยาวของฝัก แต่ละเมล็ดยาวประมาณ 0.4 เซนติเมตร ฝักหนึ่งมีประมาณ 40 - 50 เมล็ด โสนจะใช้เมล็ดขยายพันธุ์ ก่อนที่จะนำเมล็ดไปปลูกจะต้องกระตุ้นการงอกของเมล็ด โดยแช่ในกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) เข้มข้น 95 - 97 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาที หรือแช่น้ำร้อน 1 ชั่วโมงหรือแช่น้ำค้างคืนแล้วนำไปหว่าน ประมาณ 3 - 5 วัน เมล็ดจะเจริญเติบโตเป็นต้นต่อไป (สกล สุธีสร. 2529 : 282 - 284; Allen and Allen. 1981 : 604 - 607)

การปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมของโสน

โสนสามารถปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมได้ดีกว่าพืชตระกูลถั่วชนิดอื่นเนื่องมาจากการพัฒนาระบบรากได้ดี เช่น มีความสามารถทนต่อสภาพน้ำท่วม (flood tolerance) ได้ถึง 20 - 25 วัน ความสามารถในการทนต่อสภาพน้ำท่วมของโสน สืบเนื่องมาจากการพัฒนาของเนื้อเยื่อ แอร์เรนไคมา (aerenchyma) และเนื้อเยื่อฟองน้ำ (spongy tissue) ของส่วนราก จึงเป็นการหลีกเลี่ยงการขาดออกซิเจนในบริเวณรากของโสนได้ดี การทนต่อสภาพดินเค็มโดยธรรมชาติของโสนก็เป็นความสามารถในการปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมอีกวิธีหนึ่ง นิรันดร์และคณะ (2530 : ไม่มีเลขหน้า) ได้ทำการศึกษาการเจริญเติบโตของโสน 4 ชนิด คือ โสนอัฟริกัน โสนคางคก โสนอินเดีย และ

ไนโตรเจนในดินในระดัความเค็มต่าง ๆ ปรากฏว่าเมื่อความเค็มสูงขึ้น จำนวนปม น้ำหนักสดต้น และ ความสูงของต้นไนโตรเจนแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ และนอกจากนี้ไนโตรเจนยังสามารถทนต่อสภาพ ความเป็นกรดของดิน ดังผลการทดลองของ อีแวนและโรตาร์ (Evan and Rotar . 1986 : 1 - 192) พบว่าไนโตรเจนในดิน ไนโตรเจนในดิน และไนโตรเจนในดินทนและเจริญได้ดีในดินกรดจัด

ประโยชน์ของไนโตรเจน

ไนโตรเจนใช้เป็นปุ๋ยพืชสดโดยไถกลบลงในดิน การไถกลบไนโตรเจนควรทำเมื่อปริมาณไนโตรเจน ในดินสูงที่สุด สำหรับพืชตระกูลถั่วที่ก่อนออกดอกเล็กน้อยจะมีไนโตรเจนสูงที่สุดเมื่อทำการสับกลบ ลงดิน อินทรีย์วัตถุที่เกิดจากต้นไนโตรเจนจะช่วยปรับปรุงคุณภาพของดินทั้งทางด้านเคมี และชีวภาพของดิน ให้เหมาะสมกับพืชที่ปลูกตามมา โดยจะช่วยให้ธาตุอาหารเพิ่มสูงขึ้น เช่น ฟอสฟอรัส เพราะอินทรีย์ วัตถุจากต้นไนโตรเจนช่วยปรับปรุงสภาพของดินให้เหมาะสมต่อการสลายตัวของธาตุอาหารอีกทั้งช่วยลดความ เป็นพิษของดินอันเนื่องมาจากอิทธิพลของเกลือ และที่สำคัญเป็นแหล่งของไนโตรเจนที่เป็นประโยชน์ ต่อพืชที่ปลูกตามมา (นิรันดร์ สิงหบุตร, สมศรี อรุณรัตน์ และยุทธชัย อนุรักษพันธ์. 2531 : 178 - 189) คีร์ฟัส และไรนาโด (Deryfus and Rinaudo. 1985 : 11 - 121) ได้รายงานไว้ว่า ไนโตรเจนในดิน ซึ่งสามารถเกิดปมได้ทั้งที่ลำต้น และราก ซึ่งปมเหล่านี้สามารถตรึงไนโตรเจนได้อย่าง น้อยที่สุดประมาณ 42 - 47 กิโลกรัมต่อไร่ ประมาณ 2 ใน 3 ส่วนของไนโตรเจนที่ตรึงได้จะถูก ปลดปล่อยลงสู่ดินหลังสับกลบ และไนโตรเจนเป็นปุ๋ยพืชสดให้มวลชีวภาพ (biomass) ในปริมาณสูง

ไรโซเบียมและการจับจำแนก

ไรโซเบียมอยู่ในวงศ์ Rhizobiaceae สกุล Rhizobium มีรูปร่างเป็นท่อน (rod shape) มีขนาดประมาณ 0.5 - 0.9 X 1.2 - 3.9 ไมโครเมตร ติดสีแกรมลบ (Gram negative) ต้องเจริญในที่ที่มีออกซิเจน (aerobic bacteria) อาจจะเป็นเซลล์เดี่ยวหรือเป็นคู่ เคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลา (flagella) ซึ่งอาจจะมีเส้นเดี่ยวหรือหลายเส้นอยู่รอบตัว

เจริญได้ดีในอาหารที่มีแมนนิทอล (mannitol) ไม่สร้างสปอร์ (non - spore forming) (Jordan . 1983 : 235 - 244) การจัดจำแนกชนิดของไรโซเบียมไม่เหมือนกับการจำแนกจุลินทรีย์ชนิดอื่นเพราะไรโซเบียมเป็นแบคทีเรียที่มีความสัมพันธ์กับพืชตระกูลถั่ว การศึกษาในระยะแรกพบว่าไรโซเบียมแต่ละชนิดสัมพันธ์กับพืชตระกูลถั่วแต่ละชนิดแตกต่างกันออกไปจึงได้มีการจัดจำแนกตามกลุ่มของพืชที่มันสามารถทำให้เกิดปม ในระยะต่อมาการศึกษาทางด้านสรีรวิทยาและพันธุกรรมของไรโซเบียมมากขึ้น ก็พบว่าไรโซเบียมที่อยู่ในกลุ่มพืชเดียวกันยังมีความแตกต่างกันจึงได้จัดจำแนกไรโซเบียมระบบใหม่ โดยยึดหลักการจัดจำแนกตามลักษณะการเจริญ ซึ่งจัดได้เป็น 2 พวกใหญ่ ๆ และภายในแต่ละพวก แบ่งเป็นชนิดต่าง ๆ ตามความสามารถในการทำให้เกิดปมกับถั่วกลุ่มต่าง ๆ ดังนี้คือ พวกเจริญเติบโตเร็วจะพบโคโลนีของเชื้อบนอาหารแข็งยีสต์แมนนิทอล (yeast mannitol agar : YMA) ภายใน 2 - 5 วัน มีช่วงการแบ่งตัว (generation time) ประมาณ 2 - 4 ชั่วโมง จัดอยู่ในสกุล Rhizobium ได้แก่ R. meliloti ทำให้เกิดปมกับถั่วกลุ่มอัลฟัลฟา (alfalfa group), R. leguminosarum biovar. trifolii ทำให้เกิดปมกับถั่วกลุ่มโคลเวอร์ (clover group), R. leguminosarum biovar. phaseoli ทำให้เกิดปมกับถั่วกลุ่มถั่วเขียว (bean group), R. leguminosarum biovar. vicia ทำให้เกิดปมกับถั่วกลุ่มเลนทิล (lentil group), R. loti ทำให้เกิดปมกับถั่วกลุ่มลูปีน (lupine group), และ R. fredii ทำให้เกิดปมกับถั่วเหลือง (Glycine max) พวกเจริญเติบโตช้าจะพบโคโลนีของเชื้อบนอาหารแข็งยีสต์แมนนิทอลภายในเวลา 5 - 10 วัน มีช่วงการแบ่งตัวประมาณ 6 - 8 ชั่วโมง จัดอยู่ในสกุล Bradyrhizobium ได้แก่ Bradyrhizobium japonicum ทำให้เกิดปมกับถั่วเหลือง และ Bradyrhizobium spp. ทำให้เกิดปมกับถั่วเขียว ถั่วลิสง ถั่วฝักยาว และถั่วกลุ่มลูปีนเมื่อไม่นานมานี้ คีร์ฟัส และคนอื่น ๆ. (Dreyfus. et al. 1988 : 89 - 98) ได้จำแนกไรโซเบียมที่ทำให้เกิดปมที่ต้นโสนเป็นสกุลใหม่ คือ Azorhizobium เพราะมันสามารถตรึงไนโตรเจนได้ในสภาพที่อยู่อิสระ นอกจากนี้ยังมีไรโซเบียมและถั่วจำนวนมากไม่สามารถจัดเข้ากลุ่มใดแน่นอนแต่ได้ใช้ชื่อถั่วกำกับไว้เช่น ไรโซเบียมของโสนอินเดีย (Rhizobium for Sesbania speciosa Taub.) ไรโซเบียมของกระดินยักษ์ (Rhizobium for Laucaena leucocephala Lam) (บันทึก บุญเกิด. 2529 : 11 - 12; Kirchner. 1983 : 244)

โรโซเบียมมีความแตกต่างกันในด้านประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน ความเฉพาะกับพืชที่อาศัย และสรีรวิทยาของตัวเอง ดังนั้นจึงได้มีการจัดจำแนกโรโซเบียมย่อยลงไปอีกถึงระดับสายพันธุ์ เทคนิคทางเซรุ่มวิทยาเป็นวิธีจำแนกสายพันธุ์โรโซเบียมวิธีหนึ่งที่นิยมกันในปัจจุบัน นับได้ว่า เป็นเทคนิคที่มีประโยชน์ในการเปรียบเทียบความแตกต่างหรือความคล้ายคลึงกันของโรโซเบียมในระดับสายพันธุ์มีหลายวิธีด้วยกัน เช่น วิธีปฏิกิริยารวมกลุ่ม (agglutination reaction) ระหว่างแอนติเจนจากเซลล์หรือ cell - free extract ของโรโซเบียมชนิดใดชนิดหนึ่งกับแอนติบอดีของโรโซเบียมอีกชนิดหนึ่ง ถ้าแอนติเจนสามารถรวมตัวกันเป็นก้อนกับแอนติบอดีดังกล่าว ก็หมายความว่าแอนติเจนหรือโรโซเบียมชนิดนั้นมีความสัมพันธ์ หรือคล้ายคลึงกับโรโซเบียมที่ใช้ผลิตแอนติบอดีชนิดนั้น (Vincent. 1970 : 31 - 34) ส่วนวิธีอิมมิวโนดิฟฟิวชัน (immunodiffusion) เป็นวิธีที่ให้แอนติเจนรวมตัวกับแอนติบอดีจับกันเป็นตะกอนในตัวกลางที่มีลักษณะเป็นวง แอนติเจนที่ใช้จะต้องเป็นแอนติเจนที่สามารถละลายได้ (soluble antigens) ถ้าแอนติเจน กับแอนติบอดีมีความสัมพันธ์กันจะเกิดเป็นแถบบริเวณที่แอนติเจนกับแอนติบอดีแพร่มาพบกัน (Dudman and Belbin. 1988 : 1825 - 1830) การจำแนกโรโซเบียมอีกวิธีหนึ่งก็คือ วิธีอิมมิวโนฟลูออเรสเซน (immunofluorescence) วิธีนี้ใช้เซลล์ของโรโซเบียมเกลี่ย (smear) บนกระจกสไลด์ แล้วหยดทับด้วย แอนติบอดีที่เกาะติดด้วยสารเรืองแสง ถ้าเซลล์มีความสัมพันธ์กันเซลล์นั้นจะเกิดการเรืองแสงขึ้น และวิธีที่นิยมใช้อีกวิธีหนึ่งก็คือ เอนไซม์ - ลิงค์ อิมมิวโนซอร์เบนต์ เอสเส (enzyme linked immunosorbent assay : ELISA) เป็นวิธีที่คล้ายกันกับวิธีอิมมิวโนฟลูออเรสเซน วิธีนี้ทำโดยอาศัยปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่เกาะติดบนแอนติบอดีโมเลกุล เอนไซม์ที่นิยมใช้ได้แก่ แอลคาร์ไลน์ ฟอสฟาเทส เอนไซม์นี้จะมีปฏิกิริยาในการเปลี่ยนสารที่เป็นสับสเตรทของมันจากไม่มีสีให้เกิดสีได้ เช่น จากพารา-ไนโตรฟีนิล ฟอสเฟต (p - nitrophenyl phosphate) เป็น พารา - ไนโตรฟีนอล (p - nitrophenol) มีสีเหลือง วิธีอีไลซานี้ใช้ทำการทดสอบได้สองวิธีคือ โคเร็คท์ อีไลซา (direct ELISA) เป็นการนำเอาเอนไซม์แอลคาร์ไลน์ ฟอสฟาเทสไปเกาะติดกับแอนติบอดีของเชื้อโรโซเบียมโดยตรง และวิธีอินโคเร็คท์ อีไลซา (indirect ELISA) จะต้อง มีแอนติบอดี 2 ชนิด ตัวอย่างเช่น ชนิดแรกจากกระต่าย ชนิดที่สองจากแพะหรือแกะ เอนไซม์แอลคาร์ไลน์ ฟอสฟาเทสจะเกาะติดบนแอนติบอดีชนิดที่สอง (Vincent. 1982 : 13 - 32)

ความสัมพันธ์ระหว่างไรโซเบียมกับพืชตระกูลถั่ว

คุณสมบัติที่สำคัญของไรโซเบียม คือ ความสามารถเข้าไปอาศัยอยู่ในรากของพืชตระกูลถั่วแบบพึ่งพาอาศัยกัน โดยไปทำให้รากถั่วเกิดปมแล้วไรโซเบียมสามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศให้มาอยู่ในรูปสารประกอบที่หุ้มชั้นถั่วและไรโซเบียมสามารถนำไปใช้ได้ ในสภาวะที่ทำการกิจกรรมการตรึงไนโตรเจน เชื้อไรโซเบียมจะเปลี่ยนรูปร่างจากรูปท่อนไปเป็นรูปร่างไม่แน่นอน และมีขนาดของโตขึ้นมีรูปร่างหลายแบบ เช่น ตัวเอ็กซ์ (x-shape) ตัววาย (y-shape) ลูกแพร์ (pear-shape) และรูปร่างค่อนข้างกลม (coccoid) เซลล์ดังกล่าวนี้เรียกว่า แบคทีรอยด์ (bacteroid) ซึ่งจะมีคุณสมบัติแตกต่างไปจากเซลล์เดิมมาก (สมศักดิ์ วังโน. 2525 : 7) เซลล์ของไรโซเบียมที่อยู่ในเซลล์ของปมรากพืชตระกูลถั่วปรากฏว่ามีเซลล์เมมเบรน (cell membrane) หุ้มห่อไว้เป็นการแบ่งแยกเซลล์ของไรโซเบียมออกจากส่วนของไซโทพลาซึมของเซลล์พืช บริเวณผนังที่ล้อมรอบแบคทีรอยด์จะมีการสร้างสารเลกฮีโมโกลบิน (leghaemoglobin) ขึ้น สารชนิดนี้ถ้าถูกสร้างขึ้นมากปริมาณมากจะทำให้ภายในปมรากถั่วมีสีชมพู บทบาทสำคัญของเลกฮีโมโกลบินคือทำหน้าที่ลำเลียงออกซิเจนไปให้แบคทีรอยด์โดยไม่ให้ออกซิเจนสัมผัสกับเอนไซม์ไนโตรจีเนส (nitrogenase enzyme) ซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญในการตรึงไนโตรเจน ดังนั้นสารเลกฮีโมโกลบินจึงทำหน้าที่ควบคุมปริมาณออกซิเจนให้อยู่ในระดับพอเหมาะ (Rao. 1977 : 241 - 252; Bergersen. 1980 : 271 - 280) กระบวนการตรึงไนโตรเจนซึ่งเกิดจากความสัมพันธ์ระหว่างไรโซเบียมกับพืชตระกูลถั่วจึงเกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์และทำการตรึงไนโตรเจนได้อย่างมีประสิทธิภาพ ความสัมพันธ์นั้นจะต้องมีความเฉพาะกันระหว่างไรโซเบียมกับพืชตระกูลถั่ว (strain - host specificity) เกี่ยวกับความเฉพาะนี้ ปรีชา วัคศิริศักดิ์ (2531 : 15) บอห์ลูล และชมิค (Bohloul and Schmidt. 1974 : 269 - 271) ได้เสนอว่า lectin ซึ่งเป็นสารประกอบที่พบได้ทั้งในเมล็ดและรากถั่วจะเป็นตัวกำหนดความเฉพาะระหว่างพืชตระกูลถั่วกับสายพันธุ์ไรโซเบียม ความเฉพาะมีหลายระดับ ตั้งแต่ความเฉพาะมากจนถึงไม่เฉพาะเลย เช่น B. japonicum ทำให้เกิดปมที่มีประสิทธิภาพกับถั่วเหลืองเท่านั้น แต่ไรโซเบียมในกลุ่ม Bradyrhizobium spp. เป็นไรโซเบียมทำให้เกิดปมกับถั่วเขียว ถั่วลิสง แต่สามารถทำให้

เกิดปมที่มีประสิทธิภาพกับตัวกลุ่มปมได้ ในขณะที่เดียวกันตัวลิสก็สามารถเกิดปมได้จาก R. phaseoli และ R. meliloti และถั่วชิราโคร (Macroptilium atropurpurem) สามารถเกิดปมได้กับ ไรโซเบียมทุกสายพันธุ์ได้อย่างไม่มีความจำเพาะ (รุ่งรัตน์ จุตระกูล. 2529 : 4 - 5; Burton. 1979 : 35; Mylton, Hughes and Kahurang. 1988 : 247)

การประเมินประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนของไรโซเบียม

ประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนของไรโซเบียม เป็นระดับความสามารถของไรโซเบียม ที่อยู่ร่วมกับพืชตระกูลถั่ว ทำการตรึงไนโตรเจนจากอากาศให้อยู่ในรูปของสารประกอบไนโตรเจน ที่พืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ในปริมาณที่มาก หรือน้อยต่างกัน (Date. 1974 : 703 - 725) การหาปริมาณการตรึงไนโตรเจน ในต้นถั่วทำได้หลายวิธี เช่น การใช้เทคนิค $^{15}\text{N}_2$ ที่ถูกใช้ ไปในขบวนการตรึงไนโตรเจน วัดจากการเจริญเติบโตและผลผลิตเช่น ความสูงของต้น น้ำหนักสด ของต้น น้ำหนักแห้งของต้น และเมล็ด ปริมาณไนโตรเจนในส่วน of ต้น (นพรัตน์ บำรุงรักษ์. 2526 : 265) วัดจากปม ปมที่มีประสิทธิภาพภายในปมจะมีสีชมพูมเกิดอยู่บริเวณรอบรากแก้ว หรือ รากแขนง ปมที่ไม่มีประสิทธิภาพภายในปมจะมีสีขาวหรือน้ำตาลสด มักจะกระจัดกระจายทั่วไปใน ระบบราก (กอง จันทิก. 2518 : 23; วิทยา ธนาบุสนธ์. 2529 : 35 - 40) วัดโดยวิธีรีดิวส์ เอเซทิลีน (reduction of acetylene) เป็นการวัดอัตราการรีดิวส์เอเซทิลีนเป็นเอทิลีนโดย เอนไซม์ไนโตรจีเนสวิธีนี้วัดด้วยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟ (gas chromatograph) ซึ่งเป็นที่นิยม วัดกันในปัจจุบันเพราะสามารถทำได้รวดเร็วและให้ผลแน่นอน (Witty and Minchin. 1988 : 131 - 142) และ การใช้เทคนิค ยูริได (ureide)

วิธีดำเนินการศึกษาค้นคว้า

อุปกรณ์

1. คินตัวอย่าง
2. กระดาษพลาสติก
3. ลีโอนาร์ดจา (Leonard jar) (Gibson. 1980 : 161 - 163)
4. ถุงพลาสติกปลูกพืช (plastic growth poucher)
5. เมล็ดพันธุ์โสนอินเดีย โสนอัฟริกัน และเมล็ดถั่วชิราโตร
6. เชื้อไรโซเบียมโสนอินเดีย 128 เชื้อ เชื้อไรโซเบียมโสนอัฟริกัน 32 เชื้อ
7. ห้องสำหรับปลูกถั่ว (growth chamber)
8. ขันวางถุงปลูกถั่ว
9. เครื่องมือสำหรับใช้ในวิธีทดลอง อิลโซ
10. กระต่าย
11. เครื่องเขย่า (rotary shaker)
12. เครื่องวัดการดูดแสง (spectrophotometer)
13. เครื่องเหวี่ยง (refrigerated centrifuge)
14. สารเคมีและน้ำยา (ภาคผนวก)
15. เครื่องก๊าซโครมาโตกราฟ
16. เครื่องเคลดาล (Kjeldahl)

วิธีการทดลอง

1. การแยกเชื้อบริสุทธิ์จากปมธรรมชาติที่เก็บได้จากดินตัวอย่าง (ภาพประกอบ 1)

1.1 เก็บดินตัวอย่างจากแหล่งที่มีต้นโสนหรือเคยมีต้นโสนขึ้นมาก่อน โดยใช้

soil auger ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 นิ้ว ซุดลงไปลึกประมาณ 6 นิ้ว โดยซุดจุดละ 2 ตำแหน่ง แล้วนำมารวมกันให้เป็นตัวอย่างดินในบริเวณนั้น เก็บดินตัวอย่างมา จำนวน 31 ตัวอย่าง จาก จังหวัดนครราชสีมา (นธ.) ปัตตานี (ปน.) ยะลา (ยล.) สงขลา (สข.) สตูล (สต.) ตรัง (ตง.) นครศรีธรรมราช (นศ.) สุราษฎร์ธานี (สฎ.) ชุมพร (ชพ.) ประจวบคีรีขันธ์ (ปจ.) กรุงเทพฯ (กทม.) กาญจนบุรี (กจ.) นนทบุรี (นน.) สระบุรี (สบ.) ชลบุรี (ชบ.) ปทุมธานี (ปท.) ฉะเชิงเทรา (ฉช.) ระยอง (รย.) ตราด (ตร.) นครราชสีมา (นม.) เพชรบูรณ์ (พช.) ศรีสะเกษ (ศก.) พะนา (พร.) มหาสารคาม (มก.) อุตรดิตถ์ (อค.) ขอนแก่น (ขก.) นครสวรรค์ (นว.) ลำปาง (ลป.) นครพนม (นพ.) เชียงใหม่ (ชม.) เชียงราย (ชร.) แล้วทำการบรรจุดินแต่ละตัวอย่างลงในกระดางพลาสติก

1.2 นำเมล็ดโสนอินเดีย และโสนอัฟริกันมากระตุ้นการงอกโดยแช่ในกรดซัลฟูริก เข้มข้น 95 - 97 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาที (10 - 12 นาทีคน 1 ครั้ง) แล้วนำไปล้างด้วยน้ำกลั่นจนหมดกรด แช่ในน้ำกลั่นนาน 3 ชั่วโมง นำไปเพาะในจานเพาะเชื้อที่มีสำลีหนึ่งซ้าเชื้อที่ชุ่มด้วยน้ำ เป็นเวลา 1 วัน รากจะงอกยาวประมาณ 1/2 - 1 เซนติเมตร

1.3 นำเมล็ดโสนอินเดียที่ได้จากการเพาะในข้อ 1.2 ไปปลูกในกระดางพลาสติก ที่บรรจุดินตัวอย่าง จากจังหวัด นธ. ยล. สข. สต. นศ. สฎ. ชพ. ปจ. กจ. สบ. ชบ. ฉช. รย. ตง. นม. พช. ศก. พร. มก. อค. ขก. ลป. นพ. ชม. ชร. โสนอัฟริกันปลูกลงในกระดางพลาสติก ที่บรรจุดินตัวอย่างจากจังหวัด นศ. ตร. ปน. มก. กทม. นน. ปท. สบ. พร. นว. ชม. ชร. กระดางละ 5 เมล็ด ประมาณ 18 - 20 วัน สามารถนำปมมาแยกเชื้อได้

1.4 การแยกเชื้อบริสุทธิ์จากปม นำปมมาล้างด้วยน้ำให้สะอาด แช่แอลกอฮอล์เข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์เพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดอยู่ที่ผิวปม เป็นเวลา 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง จึงนำไปแช่ในเมอร์คิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลานาน 15 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น 7 ครั้ง และแช่ในน้ำกลั่นอีก 5 นาที จนปมพองตัว แล้วคืบไปวางบนจานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วหยคน้ำกลั่น 3 - 4 หยดลงบนปมใช้ปากคีบปลดเชื้อปมให้แตกใช้ลวดเขี่ยเชื้อที่เผาฆ่าเชื้อมาแตะส่วนที่เป็นน้ำจากปมแล้วไปแตะลงบนอาหารแข็งยีสต์แมนนิทอลผสมคองโก๊เรค (YMA - congo red) ทำให้เจือจางโดยการเขี่ย (streak) เชื้อต่อไปอีก บ่มไว้ที่อุณหภูมิประมาณ 28 องศาเซลเซียสนาน 2 - 5 วัน จึงนำมาตรวจลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหาร จากนั้นจึงเลือกโคโลนีเดี่ยว ๆ ที่แสดงลักษณะของไรโซเบียม คือ ไม่คูกสี คองโก๊เรค มีสีขาวทึบ กลมมน ขอบเรียบ และเป็นแกรมลบ (Vincent: 1970 : 7)

1.5 การทดสอบการเกิดปมกับถั่วชิราโตร เนื่องจากเชื้อไรโซเบียมทุกสายพันธุ์มีความสามารถในการสร้างปมที่รากถั่วชิราโตร ดังนั้น จึงสามารถใช้คุณสมบัตินี้ในการทดสอบว่าเชื้อที่แยกได้จากปมโสน เป็นไรโซเบียมหรือไม่โดย

1.5.1 นำเมล็ดถั่วชิราโตรมากระตุ้นการงอกโดยแช่ในกรดซัลฟูริกเข้มข้น 95 - 97 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 นาที เทกรออกล้างด้วยน้ำกลั่น 5 ครั้ง หลังจากนั้นแช่เมล็ดถั่วชิราโตรไว้ในน้ำกลั่น 6 - 8 ชั่วโมง แล้วนำไปเพาะในจานเพาะเชื้อที่มีสำลีนั่งฆ่าเชื้อที่ชุ่มด้วยน้ำทิ้งไว้ที่อุณหภูมิของห้องประมาณ 1 วันรากจะงอก

1.5.2 ปลูกรากถั่วชิราโตร 2 เมล็ดลงในถุงปลูกถั่ว ที่บรรจุสารละลายใช้สำหรับปลูกถั่วที่ไม่มีธาตุไนโตรเจน (N-free nutrient solution) 30 มิลลิลิตร นำเชื้อที่จะมาทดสอบ (broth culture) จากข้อ 1.4 หยดลงไปที่รากถั่วชิราโตร 1 มิลลิลิตร แล้วนำไปเก็บไว้ในห้องสำหรับปลูกถั่ว ซึ่งคิดหาคำนวณสำหรับให้แสงแก่ต้นถั่วที่มีความเข้มของแสง $300 \mu E/m^2/s$ เป็นเวลา 14 ชั่วโมงต่อ 1 วัน และปรับอุณหภูมิให้อยู่ในช่วง 25 องศาเซลเซียสด้วยเครื่องปรับอากาศ สังเกตการเกิดปมหลังจากปลูกไปแล้ว 15 วัน ถ้าเชื้อที่ทดสอบเป็นเชื้อไรโซเบียมจะเห็นปมเกิดขึ้นที่รากของถั่วชิราโตร

1.6 การตรวจสอบเชื้อ เพื่อต้องการตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อก่อนนำเชื้อไปเก็บในหลอดเก็บเชื้อ (stock culture) โดยการย้อมสีแกรมมีขั้นตอนดังนี้ ใช้ลวดเขี่ย

เชื้อที่ต้องการมาเปลี่ยนสไลด์ที่สะอาดวางให้แห้ง แล้วย้อมด้วยสีคริสทอลไวโอเลต (crystal violet) โดยหยดลงไป 1 - 2 หยด ทิ้งไว้ 2 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น หรือน้ำประปาจากนั้นหยดไอโอดีน (iodine) ลงให้ท่วม 2 - 3 นาที ล้างด้วยเอthinแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ (95% ethyl alcohol) 30 วินาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นหรือน้ำประปา หยดสีซาฟานิลโอ (safranin - O) ลงไป 3 นาที จึงล้างออกด้วยน้ำอีกครั้ง นำไปดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ถ้าเป็นเชื้อไรโซเบียมบริสุทธ์จะเห็นเป็นลักษณะของแบคทีเรียรูปท่อน ติดสีแกรมลบ

1.7 การทดสอบการผลิกรด ผลิตภัณฑ์และระยะเวลาการเจริญของเชื้อ

ไรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติรวมทั้งเชื้อที่นำมาจากห้องปฏิบัติการไรโซเบียม และจาก IRR I ใช้อาหารแซง์ยีสต์แมนนิทอล ทดสอบระยะเวลาการเจริญ และอาหารแซง์ยีสต์แมนนิทอล บรอมไทล์มอลบลู (YMA - bromthymol blue : YMA - BTB) เป็นตัวทดสอบการผลิกรด ผลิตภัณฑ์ สังเกตการเจริญและการเปลี่ยนสีอาหาร 2 - 14 วัน ถ้าสีอาหารเปลี่ยนเป็นสีเหลือง แสดงว่าเชื้อนั้นเป็นพวกผลิกรด (acid producer) ถ้าเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินเป็นพวกผลิตด่าง (basic producer)

เก็บดินตัวอย่าง 31 ตัวอย่างบรรจุดินแต่ละตัวอย่างลงในกระถางพลาสติก

↓

ปลูกโสนอินเดียนลงในดินตัวอย่าง 25 ตัวอย่าง โสนอัฟริกัน 12 ตัวอย่าง

↓

18 - 20 วัน

↓

นำปมมาแยกเชื้อตามวิธีของวินเซนต์ (Vincent. 1970 : 7)

↓

ทดสอบการเกิดปมกับถั่วชิราโตร

↓

ทดสอบการปนเปื้อนของเชื้อโดยย้อมสีแกรม

↓

ทำการเก็บเชื้อโสนอินเดียน 1 ตัวอย่าง ดินเก็บ 5 isolates โสนอัฟริกัน 1 ตัวอย่าง ดินเก็บ 1 isolate

↓

เชื้อโสนอินเดียน 125 isolates โสนอัฟริกัน 12 isolates

↓

ทดสอบคุณสมบัติของเชื้อบนอาหารแข็งยีสต์แวนนิทอลและอาหารแข็งยีสต์แวนนิทอลบวมไธล์มอลบลู

ภาพประกอบ 1 สรุปขั้นตอนการแยกเชื้อบริสุทธิ์จากปมธรรมชาติที่เก็บได้จากดินตัวอย่าง

2. การจำแนกเชื้อโรโซเบียมที่แยกได้จากปมตามธรรมชาติโดยลักษณะทางเซรุ่มวิทยา

เนื่องจากเชื้อโรโซเบียมที่แยกได้จากปมตามธรรมชาติ ซึ่งนำมาใช้ในการวิจัยนี้อาจจะประกอบไปด้วยโรโซเบียมหลายสายพันธุ์ ดังนั้น จึงจำเป็นจะต้องแบ่งหมวดหมู่ของเชื้อโรโซเบียมดังกล่าว ด้วยวิธี อินโคเรคท์ อีไลซา มีขั้นตอนดังนี้

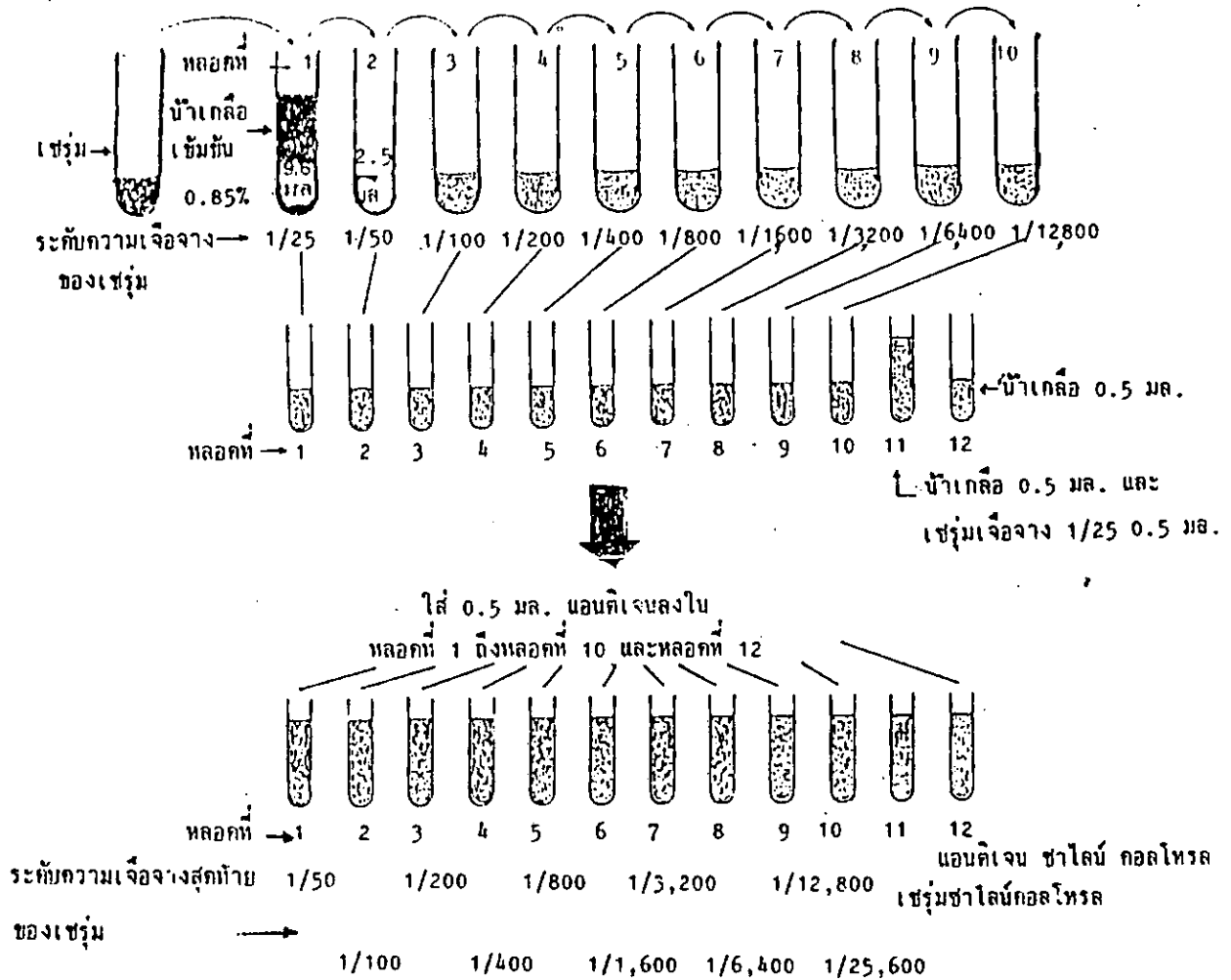
2.1 การเตรียมแอนติเจนเพื่อทำเซรุ่ม นำเชื้อโรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐานที่ต้องการลงในอาหารเหลวยีสต์แมนนิทอล (yeast mannitol broth : YMB) ที่มีปริมาตร 100 มิลลิลิตรบรรจุอยู่ในขวดรูปกรวยขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปเข้าเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 100 รอบต่อนาที นาน 5 วัน จึงปั่นแยกเซลล์โรโซเบียมด้วยเครื่องเหวี่ยง ที่ 4 องศาเซลเซียสด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที นาน 20 นาที ล้างตะกอนของเซลล์ (cell pellet) ด้วยน้ำเกลือเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ (0.85% NaCl) แล้วนำไปปั่นแยกเซลล์ดังขั้นตอนการที่กล่าวมาแล้วข้างต้นทำซ้ำ 3 ครั้ง นำตะกอนเซลล์มาละลายด้วยน้ำเกลือเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ ให้มีความเข้มข้นของเซลล์ 10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่นแสง 600 นาโนเมตร ให้ได้ค่าการดูดกลืนแสง เท่ากับ 0.45 ต้มสารละลายเซลล์ทั้งหมดในอ่างน้ำเดือดนาน 1 ชั่วโมง ตั้งให้เย็นลงเท่ากับอุณหภูมิของห้อง เติมสารละลายเมอร์ไธโอเลท (merthiolate) เข้มข้น 0.01 เปอร์เซ็นต์เก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส

2.2 วิธีกระตุ้น (immunize) กระตุ้นคัดแปลงตามวิธีของสมิท และคณะ (Schmidt. et al. 1986 : 1987 - 1992) คือ นำเอาแอนติเจน ที่เตรียมได้จากข้อ

2.1 มาฉีดเข้ากระต่ายบริเวณเส้นเลือดข้างหู และบริเวณใต้ผิวหนังกระต่ายมีขั้นตอนดังนี้ วันที่ 1, 2, 3 ฉีดแอนติเจน 0.5, 1.0, 1.5 มิลลิลิตร ตามลำดับเข้าบริเวณเส้นเลือดข้างหู เว้นไว้ 3 วัน วันที่ 7, 8 ฉีดแอนติเจนอีกครั้งใช้ 1.5, 2.0 มิลลิลิตรตามลำดับเข้าบริเวณเดิม ส่วนวันที่ 9 ฉีดแอนติเจน 2.0 มิลลิลิตรเข้าทางเส้นเลือดข้างหู และ 2.0 มิลลิลิตรเข้าทางใต้ผิวหนัง และเว้นอีก 6 วัน จึงทำการเจาะเลือดจากเส้นเลือดใหญ่มาตรวจวัดระดับโคเรคท์

2.3 การเจาะเลือดเพื่อตรวจวัดระดับไตเตอร์ ใช้เข็มฉีดยาเบอร์ 26G และหลอดฉีดยา (syring) ขนาด 10 มิลลิลิตร เจาะเลือดจากเส้นเลือดแดงใหญ่ที่ใบหูประมาณ 2 มิลลิลิตร ถ่ายเลือดลงในหลอดทดลองที่หนึ่งฆ่าเชื้อแล้ววางเอียงประมาณ 2 ชั่วโมง เลือดจะแข็งตัวเก็บในตู้เย็นอีกหนึ่งคืน แล้วแยกเก็บเซรุ่ม เพื่อนำไปตรวจวัดระดับไตเตอร์ ภาพประกอบ 2 แสดงการตรวจวัดระดับไตเตอร์ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้ (Somasegaran and Hober. 1985 : 85 - 86)

ทำเซรุ่มโดยเจือจางในอัตราส่วน 1 : 2 เป็นลำดับ (serial two fold dilution) ใช้ปิเปตดูดสารละลายน้ำเกลือเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ลงในหลอดที่ 1 9.6 มิลลิลิตร และใช้ปิเปตดูดสารละลายน้ำเกลือเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ลงในหลอดที่ 2 ถึงหลอดที่ 10 หลอดละ 2.5 มิลลิลิตร จากนั้นใช้ปิเปตดูดเซรุ่ม 0.4 มิลลิลิตรลงในหลอดที่ 1 ผสมให้เข้ากันใช้ปิเปตถ่ายเซรุ่มเจือจางจากหลอดที่ 1 2.5 มิลลิลิตรลงในหลอดที่ 2 ถ่ายเซรุ่มเจือจางจากหลอดที่ 2 ไปจนถึงหลอดที่ 10 ใช้ปิเปตถ่ายเซรุ่มแต่ละระดับความเจือจางลงในหลอดทดลองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร ยาว 60 มิลลิเมตร หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร ใช้ปิเปตดูดแอนติเจนลงในหลอดทุกหลอด ๑ ละ 0.5 มิลลิลิตร 10 หลอดจากนั้นใช้ปิเปตดูดเซรุ่มเจือจาง 1/25 (หลอดที่ 1) 0.5 มิลลิลิตรลงในหลอดที่ 11 และเติม 0.5 มิลลิลิตรของน้ำเกลือเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ ใช้เป็นเซรุ่ม ซาลาไลน์ คอนโทรล (serum saline control) และใช้ปิเปตดูดแอนติเจน 0.5 มิลลิลิตร และน้ำเกลือเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ 0.5 มิลลิลิตรลงในหลอดที่ 12 หลอดนี้ใช้เป็นแอนติเจน ซาลาไลน์คอนโทรล (antigen saline control)



ภาพประกอบ 2 แสดงขั้นตอนการตรวจวัดระดับไทเทรต (ดัดแปลงมาจาก Somasegaran and Hoben.

1985 : 85 - 86)

170411

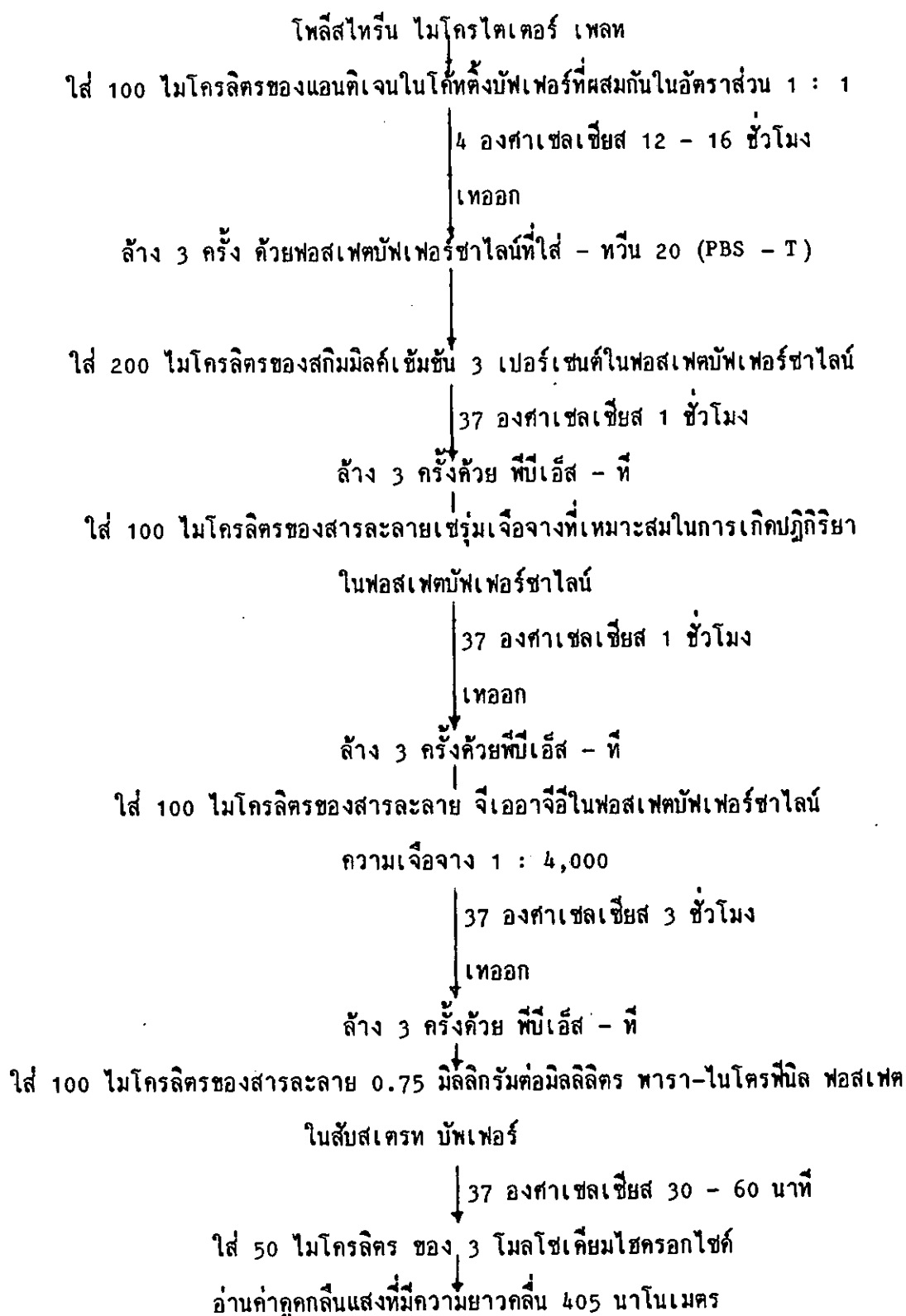
นำหลอดทั้งหมดบ่มในอ่างน้ำอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 18 - 24 ชั่วโมง โดยให้ระดับน้ำในอ่างน้ำอยู่ต่ำกว่าระดับสารละลายในหลอดทดลองประมาณครึ่งหนึ่ง จากนั้นตรวจว่ามีปฏิกิริยารวมกลุ่มสมบูรณ์ (positive agglutination) เกิดขึ้นที่ระดับความเจือจางเข้มข้นสูงสุดเท่าใด นำค่าความเจือจางของเข้มข้นสูงสุดที่เกิดปฏิกิริยารวมกลุ่มสมบูรณ์คูณด้วย 1/2 จะได้ค่าไตเตอร์หากไตเตอร์ต่ำกว่า 1/800 ทำการฉีดแอนติเจนซ้ำทันทีด้วย แอนติเจน 2.0 มิลลิลิตร

2.4 นำแอนติเจนของเชื้อโรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติของโสน มาทำปฏิกิริยากับเข้มข้นที่ระดับความเจือจางที่เหมาะสมของแต่ละสายพันธุ์ ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

ผสมแอนติเจน (เตรียมแอนติเจนตามวิธีทำเข้มข้น ข้อ 2.1) กับ โค้ทติ้งบัฟเฟอร์ (coating buffer) ในอัตราส่วน 1 : 1 ใช้ปิเปตดูดส่วนผสมนี้ ใส่ลงในโพลีสไทรีนไมโครเตอร์เพลท (polystyrene microtiter plate) หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส 12 - 16 ชั่วโมงแล้วนำมาล้างด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ซาไลน์ที่ใส่ Tween 20 (phosphate buffer saline - tween 20 : PBS - T) 3 ครั้ง แต่ละครั้งใช้เวลาประมาณ 3 - 5 นาที จึงเทออก (ยกเว้นครั้งแรกเทออกทันที) ใส่ skim milkเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (3% skim milk) หลุมละ 200 ไมโครลิตร เพื่อเคลือบ (block) พื้นที่ว่างแล้วนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมงจึงล้างออกด้วย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ - Tween 20 - ที่ 3 ครั้ง เคาะโพลีสไทรีนไมโครเตอร์เพลทให้แห้ง ใส่สารละลายเข้มข้นในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มไว้ที่ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ล้างโพลีสไทรีนไมโครเตอร์เพลท ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ - Tween 20 - ที่ 3 ครั้ง เคาะโพลีสไทรีนไมโครเตอร์เพลทให้แห้ง ใส่สารละลายอิมมูโนโกลบูลินของแพะต่ออิมมูโนโกลบูลินของกระต่ายที่เกาะติดด้วยแอนติบอดีแอนติโรบิต IgG แอลคาไลน์ฟอสฟาเตสคอนจูเกต (goat antirabbit IgG alkaline phosphatase conjugate : GARGE) ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาไลน์ให้มีความเข้มข้น 1 ต่อ 4,000 ใส่ หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง แล้วล้างออกด้วย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ - Tween 20 - ที่ 3 ครั้ง แล้วเคาะโพลีสไทรีนไมโครเตอร์เพลทให้แห้ง เติมสารละลาย 0.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร พารา-ไนโตรฟินิลฟอสเฟตในซับสเตรตบัฟเฟอร์ (substrate buffer) หลุมละ 100 ไมโครลิตร บ่มไว้ที่ 37

องศาเซลเซียส 30 - 60 นาที เติม 3 โมลของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (3 M NaOH) หลุมละ 50 ไมโครลิตร เพื่อหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ วัดค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร ด้วยเครื่องดูดกลืนแสง โดยใช้สารละลายสับสเตรทบัฟเฟอร์เป็นแบล็ก (blank)

2.5 การสรุปผลการทดลองโดยการเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของแต่ละปฏิกิริยากับคู่ปฏิกิริยาจำเพาะ (homologous antigen-antibody reaction)



ภาพประกอบ 3 สรุปขั้นตอนของวิธีอินโคเร็กซ์ เอนไซม์-ลิงก์ อิมมิวโนซอเบนท์ เอสเอส คัดแปลง
ตามวิธีของ ฟุร์แมน และวูล์ฟ (Fuhrman and Wollum. 1985 : 1010 - 1013)

3. การทดสอบประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของเชื้อไรโซเบียมแต่ละเชื้อร่วมกับโสนอินเดียนและโสนอัฟริกันในลีโอนาร์ดจา

3.1 วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (completely randomized design) โสนอินเดียนจัดไว้ 129 กรรมวิธี (treatment) กรรมวิธีที่ 1 - 128 ใส่เชื้อไรโซเบียม (inoculate) กรรมวิธีที่ 129 ไม่ใส่เชื้อไรโซเบียม (uninoculate) โสนอัฟริกันจัดไว้ 33 กรรมวิธี กรรมวิธีที่ 1 - 32 ใส่เชื้อไรโซเบียม กรรมวิธีที่ 33 ไม่ใส่เชื้อไรโซเบียม แต่ละกรรมวิธี ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ๆ ละ 1 ซวด ๆ ละ 2 ต้น

3.2 เลี้ยงเชื้อไรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติ เชื้อที่นำมาจาก IRRI และเชื้อที่ได้มาจากห้องปฏิบัติการไรโซเบียม โดยใช้ลวดเขี่ยเชื้อจากหลอดเก็บเชื้อแต่ละเชื้อไปช้อนบนอาหารแข็งยีสต์แอมโมนิโพลอสผสมคองโก้เรด บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียสเป็นเวลาประมาณ 2 - 5 วัน แล้วจึงเขี่ยเชื้อลงไปในขวดรูปกรวยขนาด 100 มิลลิลิตร ซึ่งมีอาหารเหลวยีสต์แอมโมนิโพลอสบรรจุอยู่ 20 มิลลิลิตร นำไปเข้าเครื่องเขย่าในอัตราความเร็ว 100 รอบต่อนาที จนเชื้อเจริญเติบโตได้ 10^9 เซลล์ต่ออาหาร 1 มิลลิลิตร ซึ่งใช้เวลาเลี้ยงประมาณ 5 วัน

3.3 เตรียมลีโอนาร์ดจา โดยใช้ทรายแม่น้ำลำน้ำให้สะอาดหลาย ๆ ครั้ง จนน้ำลำทรายใส และแช่น้ำทิ้งไว้ค้างคืนจึงเทน้ำออก จากนั้นผึ่งทรายให้แห้ง ใช้ช้อนสีช้อนส่วนที่ออกดอกปากชวดด้วยจุกสาลี่ที่พันรอบไส้ตะเกียง โดยให้ไส้ตะเกียงโผล่พ้นปากชวดและคว่ำชวดให้ยาวพอสมควร บรรจุทรายลงในชวดโดยหงายส่วนที่ตัดขึ้น จากนั้นนำไปวางบนชวดอีกใบที่ตัดส่วนคอออก นำไปนั่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

3.4 เตรียมเมล็ดโสนอินเดียน และโสนอัฟริกันเช่นเดียวกับข้อ 1.2

3.5 ปลุก โดยบรรจุสารละลายสำหรับปลุกถั่วที่ไม่มีธาตุไนโตรเจนลงในส่วนล่างของลีโอนาร์ดจาประมาณ 3/4 และบริเวณผิวหน้าชวดส่วนบนที่บรรจุทรายให้ขึ้น จากนั้นเอาเมล็ด

โสนที่เพาะไว้แล้วมาปลูกในขวด ขวดละ 3 เมล็ดพร้อมกับหยอดเชื้อไรโซเบียมแต่ละเชื้อลงบริเวณ ราก 1 มิลลิลิตรต่อ 1 เมล็ด แล้วกลบเมล็ดด้วยทรายที่ผิวน้ำและกรวดเล็ก ๆ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ กลบทับอีกครั้ง นำไปวางโดยการสุมในเรือนทดลองที่ควบคุมอุณหภูมิโดยใช้พัดลมและคูน้ำให้อุณหภูมิ อยู่ในช่วง 30 - 35 องศาเซลเซียส

3.6 การบำรุงรักษาหลังจากปลูก เมื่อต้นกล้าสูง 5 - 6 นิ้วแข็งแรงและตั้งตัวได้ คัดบริเวณโคนต้นให้เหลือขวดละ 2 ต้น สำหรับโสนอัฟริกันเมื่ออายุ 7 - 9 วัน ทำการป้ายเชื้อที่ต้น ตลอดเวลาที่ทำกรทดลองฉีกยาป้องกันและกำจัดแมลงตามความจำเป็น และเติมสารละลายสำหรับ ปลูกถั่วไม่มีธาตุไนโตรเจนทุกวัน

3.7 การประเมินผลประสิทธิภาพของไรโซเบียมแต่ละเชื้อหลังจากปลูกได้ 50 วัน โดยประเมินจาก

3.7.1 วัดส่วนสูงของต้น วัดจากโคนต้นส่วนที่อยู่เหนือทรายถึงปลายยอด ของต้น

3.7.2 วัดอัตราการตรึงไนโตรเจนของไรโซเบียมแต่ละเชื้อโดยวิธี เอเซททีลีน รีดักชัน (acetylene reduction method) ใช้กรรไกรตัดบริเวณโคนต้นส่วนที่ซิด เสมทรายแล้วนำเอาส่วนรากพร้อมปม (พยายามให้ติดทรายน้อยที่สุด) ใส่ขวดรูปกรวยขนาด 250 มิลลิลิตร ปิดปากขวดด้วยจุกยางให้แน่น ใช้เข็มฉีดยาดูดก๊าซไนโตรเจนในออกปริมาตร 25 มิลลิลิตร แล้วฉีกก๊าซเอเซททีลีนเข้าไป 25 มิลลิลิตรที่บรรจุในเข็มฉีดยาเตรียมไว้ก่อนแล้ว เขย่าก๊าซให้ เข้ากันทำการบ่มเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จึงใช้เข็มฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตรเก็บก๊าซในขวดนำมาวัด ปริมาณ เอเซททีลีน ที่ถูกรีดิวส์ไปเป็นเอทิลีนด้วยเครื่องก๊าซโครมาโตกราฟ ค่าที่ได้จากการ รีดิวส์เอเซททีลีนไปเป็นเอทิลีนจะเป็นความสัมพันธ์โดยตรงในการรีดิวส์ไนโตรเจนไปเป็น แอมโมเนีย (NH_3)

3.7.3 นับจำนวนปม โดยนำรากโสนที่ผ่านการวัดกิจกรรมการตรึง ไนโตรเจนเรียบร้อยแล้วมาล้างให้สะอาดแล้วนับจำนวนปม

3.7.4 ชั่งน้ำหนักแห้งของปม หลังจากนำไปอบในตู้อบให้แห้งสนิทที่ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

3.7.5 ชั่งน้ำหนักแห้งของดิน ส่วนที่อยู่เหนือดินหลังจากนำไปอบในตู้อบให้แห้งสนิทที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

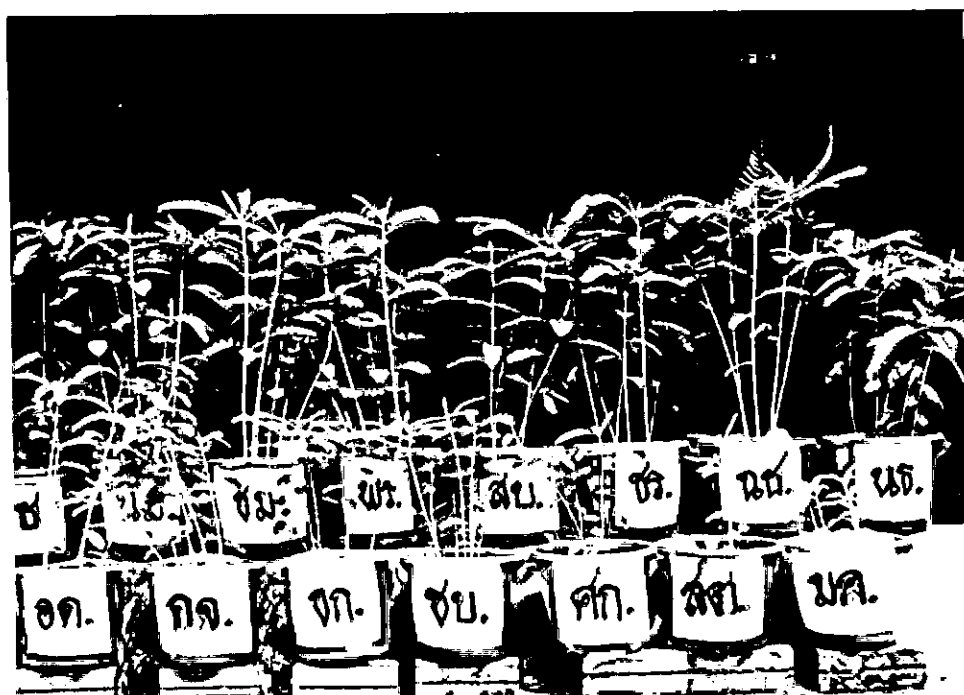
3.7.6 วัดปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินไนโตรเจนโดยวิเคราะห์หาไนโตรเจนทั้งหมด (total nitrogen) ในไนโตรเจนแต่ละดินตามวิธีของเคลดาล (Kjeldahl method) คัดแปลงใหม่โดยเนาวรัตน์ ศิวะศิลป์ (2527 : 108 - 122) โดยนำดินที่อบแห้งสนิทมาบดด้วยเครื่องบดละเอียด เก็บตัวอย่างที่บดได้ไว้ในถุงกระดาษนำไปอบอีกครั้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมงและทิ้งให้เย็นในเคซิเคเตอร์ (desiccator) แล้วนำมาชั่ง 0.200 กรัมใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 75 มิลลิลิตร เติมสารละลายโคเจสชันมิกซ์เจอร์ (digestion mixture) 5 มิลลิลิตร นำไปย่อยบนเตาไฟฟ้าในตู้วันที่อุณหภูมิ 300 - 360 องศาเซลเซียส ย่อยสลายตัวอย่างจนได้สารละลายใสใช้เวลาประมาณ 4 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นทำให้เจือจางโดยการปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าสารละลายให้เข้ากันแล้วนำไปกลั่นโดยใช้สารละลาย 10 มิลลิลิตร ผสมกับโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ (40% NaOH) 5 มิลลิลิตรในหลอดกลั่นแล้วนำไปกลั่น รองรับสารละลายที่กลั่นได้ด้วยขวดรูปกรวยขนาด 50 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุสารละลายกรดบอริกอินดิเคเตอร์ (boric acid indicator solution) ไว้ 5 มิลลิลิตร กลั่นจนกระทั่งได้ปริมาตรทั้งหมด 50 มิลลิลิตร จึงหยุดกลั่น นำไปไทเทรตกับกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.01 นอร์มอลจนกระทั่งถึงจุดสมมูลย์เปรียบเทียบกับแบลนด์ จตปริมาตรของกรดซัลฟูริกที่ใช้นำไปคำนวณเป็นปริมาณแอมโมเนีย - ไนโตรเจนที่อยู่ในสารละลาย การวัดปริมาณไนโตรเจนในดินพืชเป็นการประเมินโดยตรง

3.7.7 การวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ One - way analysis of variance และเปรียบเทียบประสิทธิภาพของไรโซเบียมแต่ละเชื้อโดยใช้ Duncan's new multiple ranges test (สุรพล อุทิศสกุล. 2523 : 24 - 39)

ผลการศึกษาค้นคว้า

1. การแยกเชื้อบริสุทธิ์จากปมธรรมชาติที่เก็บได้จากคันทัวอย่าง

1.1 ลักษณะการเกิดปมของโสนอินเดียและโสนอัฟริกันในคันทัวอย่าง จากการตรวจสอบการเกิดปมของโสนอินเดีย และโสนอัฟริกันเพื่อนำปมมาแยกเชื้อบริสุทธิ์ปรากฏว่าคันทัวอย่างที่นำมาปลูกโสนอินเดีย และโสนอัฟริกันสามารถทำให้โสนเกิดปมที่รากได้แตกต่างกัน เช่น โสนอินเดียที่ปลูกในคันทัวอย่างที่นำมาจากจังหวัด ครัง เพชรบูรณ์ นครราชสีมา เชียงราย สระบุรี ยะลา สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช สงขลา ทำให้ต้นโสนเกิดปมที่รากเป็นจำนวนมาก ปมใหญ่ ภายในปมมีสีแสด โสนเจริญเติบโตได้ดีลำต้นและใบมีสีเขียวเข้ม คันทัวอย่างจากจังหวัด เชียงใหม่ แพร่ ฉะเชิงเทรา กาญจนบุรี ลำปาง ระยอง ทำให้โสนเกิดปมที่รากได้ปานกลาง แต่มีปมเป็นจำนวนมากที่มีลักษณะผิดปกติคือ ปมขรุขระสีชาวซีด มีลักษณะเป็นเกลียว และปลิดออกจากรากได้ยาก ต้นโสนเจริญเติบโตดี แต่ลำต้นและใบมีสีเหลืองซีด คันทัวอย่างจากจังหวัด อุตร ชุมพร ขอนแก่น ชลบุรี นราธิวาส ทำให้เกิดปมที่รากได้น้อยมีทั้งปมใหญ่และปมเล็กต้นโสนเจริญเติบโตช้าลำต้นและใบมีสีค่อนข้างเหลืองซีด ส่วนคันทัวอย่างที่นำมาจากจังหวัดศรีสะเกษ ประจวบคีรีขันธ์ มหาสารคาม นครพนม และสกล ทำให้โสนเกิดปมที่รากได้น้อยมากมีขนาดปมเล็กสีชาวซีด กระจายทั่วไปในระบบราก ต้นโสนแคระแกรนทั้งใบและลำต้นมีอาการเหลือง ดังแสดงในภาพประกอบ 4 และตาราง 1.



ภาพประกอบ 4 แสดงลักษณะการเจริญเติบโตของต้นโสนอินเดียที่ปลูกในดินแต่ละตัวอย่าง
เมื่ออายุ 20 วัน

ตาราง 1 แสดงการเจริญเติบโตของโสนอินเดียที่ปลูกในดินตัวอย่างที่เก็บจากแหล่งต่าง ๆ

ดินตัวอย่าง	การเกิดปม	ลักษณะปม	ลักษณะต้นโสน
ตรัง	มาก (ประมาณ 30 ปม)	ปมใหญ่ ภายในปมมีสีแสด	เจริญเติบโตลำต้นและใบมี สีเขียวเข้ม
เพชรบูรณ์	มาก	ปมใหญ่ ภายในปมมีสีแสด	เจริญเติบโตลำต้นและใบมี สีเขียวเข้ม
นครราชสีมา	มาก	ปมใหญ่ ภายในปมมีสีแสด	เจริญเติบโตลำต้นและใบมี สีเขียวเข้ม
เชียงราย	มาก	ปมใหญ่ ภายในปมมีสีแสด	เจริญเติบโตลำต้นและใบมี สีเขียวเข้ม
สระบุรี	มาก	ปมใหญ่ ภายในปมมีสีแสด	เจริญเติบโตลำต้นและใบมี สีเขียวเข้ม
ยะลา	มาก	ปมใหญ่ ภายในปมมีสีแสด	เจริญเติบโตลำต้นและใบมี สีเขียวเข้ม
สุราษฎร์ธานี	มาก	ปมใหญ่ ภายในปมมีสีแสด	เจริญเติบโตลำต้นและใบมี สีเขียวเข้ม
นครศรีธรรมราช	มาก	ปมใหญ่ ภายในปมมีสีแสด	เจริญเติบโตลำต้นและใบมี สีเขียวเข้ม
สงขลา	มาก	ปมใหญ่ ภายในปมมีสีแสด	เจริญเติบโตลำต้นและใบมี สีเขียวเข้ม

ตาราง 1 (ต่อ)

ดินตัวอย่าง	การเกิดปม	ลักษณะปม	ลักษณะต้นโสน
เชียงใหม่	ปานกลาง (ประมาณ 20 ปม)	ปมค่อนข้างใหญ่มีทั้งปมปกติ ภายในปมมีสีแสดและปม ผิดปกติภายในปมมีสีน้ำตาล บางปมมีสีขาวซีด	เจริญเติบโตดี ลำต้นและใบมี สีค่อนข้างเหลืองซีด
แพร่	ปานกลาง	ปมค่อนข้างใหญ่มีทั้งปมปกติ ภายในปมมีสีแสดและปม ผิดปกติภายในปมมีสีน้ำตาล บางปมมีสีขาวซีด	เจริญเติบโตดี ลำต้นและใบมี สีค่อนข้างเหลืองซีด
ฉะเชิงเทรา	ปานกลาง	ปมค่อนข้างใหญ่มีทั้งปมปกติ ภายในปมมีสีแสดและปม ผิดปกติภายในปมมีสีน้ำตาล บางปมมีสีขาวซีด	เจริญเติบโตดี ลำต้นและใบมี สีค่อนข้างเหลืองซีด
กาญจนบุรี	ปานกลาง	ปมค่อนข้างใหญ่มีทั้งปมปกติ ภายในปมมีสีแสดและปม ผิดปกติภายในปมมีสีน้ำตาล บางปมมีสีขาวซีด	เจริญเติบโตดี ลำต้นและใบมี สีค่อนข้างเหลืองซีด
ลำปาง	ปานกลาง	ปมค่อนข้างใหญ่มีทั้งปมปกติ ภายในปมมีสีแสดและปม ผิดปกติภายในปมมีสีน้ำตาล บางปมมีสีขาวซีด	เจริญเติบโตดี ลำต้นและใบมี สีค่อนข้างเหลืองซีด

ตาราง 1 (ต่อ)

กินตัวอย่าง	การเกิดปม	ลักษณะปม	ลักษณะคันโสน
ระยอง	ปานกลาง	ปมค่อนข้างใหญ่มีทั้งปมปกติ ภายในปมมีสีแดงและปม ผิดปกติภายในปมมีสีน้ำตาล บางปมมีสีขาวซีด	เจริญเติบโตดี ลำต้นและใบมี สีค่อนข้างเหลืองซีด
อุตรธานี	น้อย (ประมาณ 15 ปม)	ปมมีหลายลักษณะมีทั้ง ปมใหญ่ และปมเล็ก ภายในปมมีสีค่อนข้างขาว	เจริญเติบโตช้า ลำต้นและใบมี สีเหลืองซีด
ชุมพร	น้อย	ปมมีหลายลักษณะมีทั้ง ปมใหญ่ และปมเล็ก ภายในปมมีสีค่อนข้างขาว	เจริญเติบโตช้า ลำต้นและใบมี สีเหลืองซีด
ขอนแก่น	น้อย	ปมมีหลายลักษณะมีทั้ง ปมใหญ่ และปมเล็ก ภายในปมมีสีค่อนข้างขาว	เจริญเติบโตช้า ลำต้นและใบมี สีเหลืองซีด
ชลบุรี	น้อย	ปมมีหลายลักษณะมีทั้ง ปมใหญ่ และปมเล็ก ภายในปมมีสีค่อนข้างขาว	เจริญเติบโตช้า ลำต้นและใบมี สีเหลืองซีด
นราธิวาส	น้อย	ปมมีหลายลักษณะมีทั้ง ปมใหญ่ และปมเล็ก ภายในปมมีสีค่อนข้างขาว	เจริญเติบโตช้า ลำต้นและใบมี สีเหลืองซีด

ตาราง 1 (ต่อ)

ดินตัวอย่าง	การเกิดปม	ลักษณะปม	ลักษณะต้นโสน
ศิระเกษ	น้อยมาก (ประมาณ 7 - 10 ปม)	ปมเล็กมากภายในปมมีสี ขาวซีด	เจริญเติบโตช้า ลำต้นเตี้ย แกระแกรน หักลำต้นและใบ มีสีเหลืองซีด
ประจวบคีรีขันธ์	น้อยมาก	ปมเล็กมากภายในปมมีสี ขาวซีด	เจริญเติบโตช้า ลำต้นเตี้ย แกระแกรน หักลำต้นและใบ มีสีเหลืองซีด
มหาสารคาม	น้อยมาก	ปมเล็กมากภายในปมมีสี ขาวซีด	เจริญเติบโตช้า ลำต้นเตี้ย แกระแกรน หักลำต้นและใบ มีสีเหลืองซีด
นครพนม	น้อยมาก	ปมเล็กมากภายในปมมีสี ขาวซีด	เจริญเติบโตช้า ลำต้นเตี้ย แกระแกรน หักลำต้นและใบ มีสีเหลืองซีด
สกล	น้อยมาก	ปมเล็กมากภายในปมมีสี ขาวซีด	เจริญเติบโตช้า ลำต้นเตี้ย แกระแกรน หักลำต้นและใบ มีสีเหลืองซีด

ส่วนโสนอัปริกันที่ปลูกในดินตัวอย่างที่นำมาจากจังหวัดปทุมธานีทำให้โสนเกิดปมเป็นจำนวนมากปมใหญ่ ภายในปมมีสีแสด ต้นโสนเจริญเติบโตได้ดีสีเขียวเข้ม ดินตัวอย่างจากจังหวัดปัตตานี ตราก แพร่ นครสวรรค์ นนทบุรี มหาสารคาม นครศรีธรรมราช สระบุรี เชียงราย ทำให้ต้นโสนมีปมจำนวนปานกลาง ปมค่อนข้างใหญ่ ภายในปมมีสีแสด ต้นโสนเจริญเติบโตได้น้อยกว่า ดินตัวอย่างจากจังหวัดปทุมธานี และดินตัวอย่างที่นำมาจากจังหวัดกรุงเทพมหานคร เชียงใหม่ มีปมหลายลักษณะมีทั้งปมใหญ่ปมเล็ก ปมปกติและผิดปกติ ต้นโสนเจริญเติบโตผิดปกติเล็กน้อย ดังแสดงในตาราง 2

ตาราง 2 แสดงการเจริญเติบโตของโสนอัฟริกันที่ปลูกในดินตัวอย่างที่เก็บจากแหล่งต่าง ๆ

ดินตัวอย่าง	การเกิดปม	ลักษณะปม	ลักษณะต้นโสน
ปทุมธานี	มาก (ประมาณ 30 ปม)	ปมใหญ่ ภายในปมมีสีแสด	เจริญเติบโตดี ลำต้นและใบ มีสีเขียวเข้ม
ปัตตานี	ปานกลาง (ประมาณ 20 ปม)	ปมค่อนข้างใหญ่ ภายในปมสีแสด	เจริญเติบโตดี ลำต้นและใบ มีสีเขียว
ตราด	ปานกลาง	ปมค่อนข้างใหญ่ ภายในปมสีแสด	เจริญเติบโตดี ลำต้นและใบ มีสีเขียว
แพร่	ปานกลาง	ปมค่อนข้างใหญ่ ภายในปมสีแสด	เจริญเติบโตดี ลำต้นและใบ มีสีเขียว
นครสวรรค์	ปานกลาง	ปมค่อนข้างใหญ่ ภายในปมสีแสด	เจริญเติบโตดี ลำต้นและใบ มีสีเขียว
นนทบุรี	ปานกลาง	ปมค่อนข้างใหญ่ ภายในปมสีแสด	เจริญเติบโตดี ลำต้นและใบ มีสีเขียว
มหาสารคาม	ปานกลาง	ปมค่อนข้างใหญ่ ภายในปมสีแสด	เจริญเติบโตดี ลำต้นและใบ มีสีเขียว
นครศรีธรรมราช	ปานกลาง	ปมค่อนข้างใหญ่ ภายในปมสีแสด	เจริญเติบโตดี ลำต้นและใบ มีสีเขียว
สระบุรี	ปานกลาง	ปมค่อนข้างใหญ่ ภายในปมสีแสด	เจริญเติบโตดี ลำต้นและใบ มีสีเขียว
เชียงราย	ปานกลาง	ปมค่อนข้างใหญ่ ภายในปมสีแสด	เจริญเติบโตดี ลำต้นและใบ มีสีเขียว

ตาราง 2 (ต่อ)

กินตัวอย่าง	การเกิดปม	ลักษณะปม	ลักษณะคันโนสน
กรุงเทพมหานคร	ปานกลาง	ปมมีหลายลักษณะมีทั้งปมใหญ่ปมเล็ก ปมปกติ และผิดปกติ ภายในปมมีสีค่อนข้างน้ำตาล	เจริญเติบโตค่อนข้างช้า ลำต้นและใบมีสีเหลืองซีดเล็กน้อย
เชียงใหม่	ปานกลาง	ปมมีหลายลักษณะมีทั้งปมใหญ่ปมเล็ก ปมปกติ และผิดปกติ ภายในปมมีสีค่อนข้างน้ำตาล	เจริญเติบโตค่อนข้างช้า ลำต้นและใบมีสีเหลืองซีดเล็กน้อย

1.2 ลักษณะและจำนวนเชื้อบริสุทธิ์ของโสนอินเดียและโสนอัฟริกันที่แยกได้จากปม
ธรรมชาติ เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหารแข็งยีสต์แวนติฮอลผสมคองโกเรด มีลักษณะของโคโลนีกลมมน
ขอบเรียบ สีขาวขุ่น เป็นมันเยิ้มไม่คูลูกสีคองโกเรด ติดสีแกรมลบ มีรูปร่างเป็นท่อน และเชื้อที่แยกได้
สามารถเกิดปมกับตัวชิราโคร จึงทำการเก็บเชื้อโรโซเบียมของโสนอินเดียไว้ได้ 125 isolates
และเชื้อโรโซเบียมของโสนอัฟริกัน 12 isolates ดังแสดงในตาราง 3 และตาราง 4

ตาราง 3 แสดงจำนวนเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้จากปมกรรมชาติของโสนอินเดีย

สถานที่เก็บตัวอย่างดิน	จำนวนเชื้อ	รหัสเชื้อ
นราธิวาส	5 isolates	นธ.1, นธ.2, นธ.3, นธ.4, นธ.5
ยะลา	5 isolates	ยล.1, ยล.2, ยล.3, ยล.4, ยล.5
สงขลา	5 isolates	สข.1, สข.2, สข.3, สข.4, สข.5
สตูล	5 isolates	สต.1, สต.2, สต.3, สต.4, สต.5
นครศรีธรรมราช	5 isolates	นศ.1, นศ.2, นศ.3, นศ.4, นศ.5
สุราษฎร์ธานี	5 isolates	สฎ.1, สฎ.2, สฎ.3, สฎ.4, สฎ.5
ชุมพร	5 isolates	ชพ.1, ชพ.2, ชพ.3, ชพ.4, ชพ.5
ประจวบคีรีขันธ์	5 isolates	ปจ.1, ปจ.2, ปจ.3, ปจ.4, ปจ.5
สระบุรี	5 isolates	สบ.1, สบ.2, สบ.3, สบ.4, สบ.5
ชลบุรี	5 isolates	ชน.1, ชน.2, ชน.3, ชน.4, ชน.5
ฉะเชิงเทรา	5 isolates	จช.1, จช.2, จช.3, จช.4, จช.5
ระยอง	5 isolates	รย.1, รย.2, รย.3, รย.4, รย.5
ตรัง	5 isolates	ตง.1, ตง.2, ตง.3, ตง.4, ตง.5
นกรราชสีมา	5 isolates	นม.1, นม.2, นม.3, นม.4, นม.5
เพชรบูรณ์	5 isolates	พช.1, พช.2, พช.3, พช.4, พช.5
ศรีสะเกษ	5 isolates	สก.1, สก.2, สก.3, สก.4, สก.5
กาญจนบุรี	5 isolates	กจ.1, กจ.2, กจ.3, กจ.4, กจ.5
มหาสารคาม	5 isolates	มค.1, มค.2, มค.3, มค.4, มค.5
อุดรธานี	5 isolates	อค.1, อค.2, อค.3, อค.4, อค.5
ขอนแก่น	5 isolates	ขก.1, ขก.2, ขก.3, ขก.4, ขก.5
ลำปาง	5 isolates	ลป.1, ลป.2, ลป.3, ลป.4, ลป.5
นครพนม	5 isolates	นพ.1, นพ.2, นพ.3, นพ.4, นพ.5
แพร่	5 isolates	พร.1, พร.2, พร.3, พร.4, พร.5
เชียงใหม่	5 isolates	ชม.1, ชม.2, ชม.3, ชม.4, ชม.5
เชียงใหม่	5 isolates	ชร.1, ชร.2, ชร.3, ชร.4, ชร.5

ตาราง 4 แสดงจำนวนเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้จากปมธรรมชาติของโสนอัฟริกัน

สถานที่เก็บตัวอย่างดิน	จำนวนเชื้อ	รหัสเชื้อ
นครศรีธรรมราช	1 isolate	นศ.
ปัตตานี	1 isolate	ปน.
ตราด	1 isolate	ตร.
กรุงเทพมหานคร	1 isolate	กทม.
นนทบุรี	1 isolate	นน.
ปทุมธานี	1 isolate	ปท.
สระบุรี	1 isolate	สบ.
มหาสารคาม	1 isolate	มก.
แพร่	1 isolate	พร.
นครสวรรค์	1 isolate	นว.
เชียงใหม่	1 isolate	ชม.
เชียงราย	1 isolate	ชร.

1.3 คุณสมบัติบางประการของเชื้อไวรัสที่ ตาราง 5 แสดงคุณสมบัติบางประการของเชื้อไวรัสเทียมของโสนอินเดียที่แยกได้จากปมธรรมชาติ 115 isolates จากห้องปฏิบัติการไวรัสเทียม 2 isolates และจาก IRRI 1 สายพันธุ์ เป็นพวกเจริญเติบโตเร็วมองเห็นโคโลนีชัดเจนภายในเวลา 2 - 3 วัน โคโลนีมีขนาดใหญ่ และเป็นพวกผลิตรวด โดยเปลี่ยนสื่ออาหารแข็งยีสต์แมนนิทอลบรอมไทล์มอลบลูเป็นสีเหลือง ส่วน 10 isolates ที่แยกได้จากปมธรรมชาติ เป็นพวกเจริญเติบโตช้ามองเห็นโคโลนีชัดเจนภายในเวลา 5 - 7 วัน โคโลนีมีขนาดเล็กและเป็นพวกผลิต่างโดยเปลี่ยนสื่ออาหารแข็งยีสต์แมนนิทอลบรอมไทล์มอลบลูเป็นสีน้ำเงิน ตาราง 6 แสดงคุณสมบัติบางประการของเชื้อไวรัสเทียมของโสนอัฟริกันที่แยกได้จากปมธรรมชาติ 12 isolates จากห้องปฏิบัติการไวรัสเทียม 3 สายพันธุ์ และจาก IRRI 4 สายพันธุ์ เป็นพวกเจริญเติบโตเร็วมองเห็นโคโลนีชัดเจน 2 - 3 วัน และเป็นพวกผลิตรวด 13 isolates จาก IRRI เป็นพวกเจริญเติบโตช้ามองเห็นโคโลนีชัดเจน 5 - 7 วัน และเป็นพวกผลิต่าง

ตาราง 5 แสดงคุณสมบัติบางประการของเชื้อโรโซเบียมของโสนอินเคีย

เชื้อโรโซเบียม	ระยะเวลาที่โคโลนีปรากฏให้เห็น บนอาหารแข็งยีสต์แมนนิทอล	ผลึกกรดหรือค้างบนอาหารแข็งยีสต์ แมนนิทอลบวมไหม้มอลบลู
	เจริญเร็ว	
นธ. 1	2 - 3 วัน	กรด
นธ. 2	2 - 3 วัน	กรด
นธ. 3	2 - 3 วัน	กรด
นธ. 4	2 - 3 วัน	กรด
นธ. 5	2 - 3 วัน	กรด
ตง. 1	2 - 3 วัน	กรด
ตง. 2	2 - 3 วัน	กรด
ตง. 3	2 - 3 วัน	กรด
ตง. 4	2 - 3 วัน	กรด
ตง. 5	2 - 3 วัน	กรด
อก. 1	2 - 3 วัน	กรด
อก. 2	2 - 3 วัน	กรด
อก. 3	2 - 3 วัน	กรด
อก. 4	2 - 3 วัน	กรด
อก. 5	2 - 3 วัน	กรด
นม. 1	2 - 3 วัน	กรด
นม. 2	2 - 3 วัน	กรด
นม. 3	2 - 3 วัน	กรด

ตาราง 5 (ต่อ)

เชื้อโรโซเบียม	ระยะเวลาที่โคโลนีปรากฏให้เห็น บนอาหารแข็งยีสต์แมนนิทอล	ผลึกกรดหรือค้างบนอาหารแข็งยีสต์ แมนนิทอลบรอมไทล์มอลบลู
	เจริญเร็ว	
นม. 4	2 - 3 วัน	กรด
นม. 5	2 - 3 วัน	กรด
ชร. 1	2 - 3 วัน	กรด
ชร. 2	2 - 3 วัน	กรด
ชร. 3	2 - 3 วัน	กรด
ชร. 4	2 - 3 วัน	กรด
ชร. 5	2 - 3 วัน	กรด
สบ. 1	2 - 3 วัน	กรด
สบ. 2	2 - 3 วัน	กรด
สบ. 3	2 - 3 วัน	กรด
สบ. 4	2 - 3 วัน	กรด
สบ. 5	2 - 3 วัน	กรด
ลป. 1	2 - 3 วัน	กรด
ลป. 2	2 - 3 วัน	กรด
ลป. 3	2 - 3 วัน	กรด
ลป. 4	2 - 3 วัน	กรด
ลป. 5	2 - 3 วัน	กรด
สฎ. 1	2 - 3 วัน	กรด

ตาราง 5 (ต่อ)

เชื้อโรโซเปียม	ระยะเวลาที่โคโลนีปรากฏให้เห็น บนอาหารแซงยีสต์แวนนิทอล	ผลึกกรทหรือค่างบนอาหารแซงยีสต์ แวนนิทอลบวมไทม์มอลบลู
	เจริญเร็ว	
สฎ. 2	2 - 3 วัน	กรค
สฎ. 3	2 - 3 วัน	กรค
สฎ. 4	2 - 3 วัน	กรค
สฎ. 5	2 - 3 วัน	กรค
ชพ. 1	2 - 3 วัน	กรค
ชพ. 2	2 - 3 วัน	กรค
ชพ. 3	2 - 3 วัน	กรค
ชพ. 4	2 - 3 วัน	กรค
ชพ. 5	2 - 3 วัน	กรค
มค. 1	2 - 3 วัน	กรค
มค. 2	2 - 3 วัน	กรค
มค. 3	2 - 3 วัน	กรค
มค. 4	2 - 3 วัน	กรค
มค. 5	2 - 3 วัน	กรค
สบ. 1	2 - 3 วัน	กรค
สบ. 2	2 - 3 วัน	กรค
สบ. 3	2 - 3 วัน	กรค
สบ. 4	2 - 3 วัน	กรค

ตาราง 5 (ต่อ)

เชื้อโรโซเบียม	ระยะเวลาที่โคโลนีปรากฏให้เห็น บนอาหารแข็งยีสต์แวนนิทอล	ผลึกกรดหรือค้างบนอาหารแข็งยีสต์ แวนนิทอลบวมไทม์มอลบลู
	เจริญเร็ว	
สบ. 5	2 - 3 วัน	กรด
ชก. 1	2 - 3 วัน	กรด
ชก. 2	2 - 3 วัน	กรด
ชก. 3	2 - 3 วัน	กรด
ชก. 4	2 - 3 วัน	กรด
ชก. 5	2 - 3 วัน	กรด
พช. 1	2 - 3 วัน	กรด
พช. 2	2 - 3 วัน	กรด
พช. 3	2 - 3 วัน	กรด
พช. 4	2 - 3 วัน	กรด
พช. 5	2 - 3 วัน	กรด
กจ. 1	2 - 3 วัน	กรด
กจ. 2	2 - 3 วัน	กรด
กจ. 3	2 - 3 วัน	กรด
กจ. 4	2 - 3 วัน	กรด
กจ. 5	2 - 3 วัน	กรด
ชม. 1	2 - 3 วัน	กรด
ชม. 2	2 - 3 วัน	กรด

ตาราง 5 (ต่อ)

เชื้อโรโซเบียม	ระยะเวลาที่โคโลนีปรากฏให้เห็น บนอาหารแข็งยีสต์แมนนิทอล	ผลึกกรดหรือค้างบนอาหารแข็งยีสต์ แมนนิทอลบรอมไทล์มอลบลู
	เจริญเร็ว	
ชม. 3	2 - 3 วัน	กรด
ชม. 4	2 - 3 วัน	กรด
ชม. 5	2 - 3 วัน	กรด
นพ. 1	2 - 3 วัน	กรด
นพ. 2	2 - 3 วัน	กรด
นพ. 3	2 - 3 วัน	กรด
นพ. 4	2 - 3 วัน	กรด
นพ. 5	2 - 3 วัน	กรด
ชบ. 1	2 - 3 วัน	กรด
ชบ. 2	2 - 3 วัน	กรด
ชบ. 3	2 - 3 วัน	กรด
ชบ. 4	2 - 3 วัน	กรด
ชบ. 5	2 - 3 วัน	กรด
พร. 1	2 - 3 วัน	กรด
พร. 2	2 - 3 วัน	กรด
พร. 3	2 - 3 วัน	กรด
พร. 4	2 - 3 วัน	กรด
พร. 5	2 - 3 วัน	กรด

ตาราง 5 (ต่อ)

เชื้อโรโซเบียม	ระยะเวลาที่โคโลนีปรากฏให้เห็น บนอาหารแข็งยีสต์แวนนิทอล	ผลึกกรดหรือค้างบนอาหารแข็งยีสต์ แวนนิทอลบรอมไทล์มอลบลู
	เจริญเร็ว	
ฉช. 1	2 - 3 วัน	กรด
ฉช. 2	2 - 3 วัน	กรด
ฉช. 3	2 - 3 วัน	กรด
ฉช. 4	2 - 3 วัน	กรด
ฉช. 5	2 - 3 วัน	กรด
นศ. 1	2 - 3 วัน	กรด
นศ. 2	2 - 3 วัน	กรด
นศ. 3	2 - 3 วัน	กรด
นศ. 4	2 - 3 วัน	กรด
นศ. 5	2 - 3 วัน	กรด
สศ. 1	2 - 3 วัน	กรด
สศ. 2	2 - 3 วัน	กรด
สศ. 3	2 - 3 วัน	กรด
สศ. 4	2 - 3 วัน	กรด
สศ. 5	2 - 3 วัน	กรด
ศก. 1	2 - 3 วัน	กรด
ศก. 2	2 - 3 วัน	กรด
ศก. 3	2 - 3 วัน	กรด
ศก. 4	2 - 3 วัน	กรด

ตาราง 5 (ต่อ)

เชื้อโรโซเปียม	ระยะเวลาที่โคโลนีปรากฏให้เห็น บนอาหารแข็งยีสต์แมนนิทอล	ผลึกกรรหรือค้างบนอาหารแข็งยีสต์ แมนนิทอลบรอมไทล์มอลบลู
เจริญเร็ว		
ศก. 5	2 - 3 วัน	กรด
รย. 1	2 - 3 วัน	กรด
รย. 2	2 - 3 วัน	กรด
รย. 3	2 - 3 วัน	กรด
รย. 4	2 - 3 วัน	กรด
รย. 5	2 - 3 วัน	กรด
IRG 4	2 - 3 วัน	กรด
SP. 1	2 - 3 วัน	กรด
SP. 2	2 - 3 วัน	กรด
เจริญช้า		
ปจ. 1	5 - 7 วัน	ค้าง
ปจ. 2	5 - 7 วัน	ค้าง
ปจ. 3	5 - 7 วัน	ค้าง
ปจ. 4	5 - 7 วัน	ค้าง
ปจ. 5	5 - 7 วัน	ค้าง
ยล. 1	5 - 7 วัน	ค้าง
ยล. 2	5 - 7 วัน	ค้าง
ยล. 3	5 - 7 วัน	ค้าง
ยล. 4	5 - 7 วัน	ค้าง
ยล. 5	5 - 7 วัน	ค้าง

ตาราง 6 แสดงคุณสมบัติทางประชากรของเชื้อโรโซเบียมของไลแอfrican

เชื้อโรโซเบียม	ระยะเวลาที่โคโลนีปรากฏให้เห็น บนอาหารแข็งยีสต์แมนนิทอล	ผลิตภัณฑ์หรือค่าบนอาหารแข็งยีสต์ แมนนิทอลรวมไธล์มอลบลู
เจริญเร็ว		
นศ.	2 - 3 วัน	กรค
คร.	2 - 3 วัน	กรค
ปน.	2 - 3 วัน	กรค
มค.	2 - 3 วัน	กรค
กทม.	2 - 3 วัน	กรค
นบ.	2 - 3 วัน	กรค
ปท.	2 - 3 วัน	กรค
สบ.	2 - 3 วัน	กรค
พร.	2 - 3 วัน	กรค
นว.	2 - 3 วัน	กรค
ชม.	2 - 3 วัน	กรค
ชร.	2 - 3 วัน	กรค
IRG56	2 - 3 วัน	กรค
IRG58	2 - 3 วัน	กรค
IRG59	2 - 3 วัน	กรค
IRG68	2 - 3 วัน	กรค
TAL1113	2 - 3 วัน	กรค
TAL1114	2 - 3 วัน	กรค
TAL1116	2 - 3 วัน	กรค

ตาราง 6 (ต่อ)

เชื้อโรโซเบียม	ระยะเวลาที่โคโลนีปรากฏให้เห็น บนอาหารแซงยีสต์แมนนิทอล	ผลิตรกดหรือค่างบนอาหารแซงยีสต์ แมนนิทอลบวมไทม์มอลบลู
เจริญซ้ำ		
MHR5	5 - 7 วัน	ค่าง
MHR3	5 - 7 วัน	ค่าง
MLS6	5 - 7 วัน	ค่าง
CTS2	5 - 7 วัน	ค่าง
ORS571	5 - 7 วัน	ค่าง
TOS1	5 - 7 วัน	ค่าง
TOR2	5 - 7 วัน	ค่าง
TOR3	5 - 7 วัน	ค่าง
TOR4	5 - 7 วัน	ค่าง
IRG 22	5 - 7 วัน	ค่าง
IRG 23	5 - 7 วัน	ค่าง
IRG32	5 - 7 วัน	ค่าง
IRG 44	5 - 7 วัน	ค่าง

2. การจำแนกเชื้อโรโซเปียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติโดยลักษณะทางเซรัมวิทยา

2.1 การตรวจวัดระดับไตเตอร์ จากการฉีดแอนติเจนของโรโซเปียมสายพันธุ์มาตรฐานให้กับกระต่าย แล้วคัดเลือกนำมาตรวจวัดระดับไตเตอร์ โดยดูจากปฏิกิริยาการรวมกลุ่ม สมบูรณ์ที่ระดับความเจือจางสูงสุดได้ค่าระดับไตเตอร์ดังแสดงในตาราง 7 ปรากฏว่าสามารถตรวจวัดระดับไตเตอร์ได้ 1/800 จำนวน 2 สายพันธุ์ คือ ORS 322 และ ORS 571 ระดับไตเตอร์ 1/1,600 จำนวน 8 สายพันธุ์ คือ S4, IRG32, CT4, IRG59, IRG23, Mu26a, Am10 และ IRG56 ระดับไตเตอร์ 1/3,200 1 สายพันธุ์คือ IRG4

ตาราง 7 ระดับไคเตอร์ของไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน 11 สายพันธุ์

แอนติบอดี	ระดับไคเตอร์
IRG4	1/3,200
S4	1/1,600
ORS322	1/800
IRG32	1/1,600
CT4	1/1,600
IRG59	1/1,600
IRG23	1/1,600
ORS571	1/1,800
Mu26a	1/1,600
Am10	1/1,600
IRG56	1/1,600

2.2 การทำปฏิกิริยาระหว่างแอนติบอดีของโรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐานกับ
กับแอนติเจนเฉพาะของโรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน และแอนติเจนโรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน
สายพันธุ์อื่นสามารถเกิดปฏิกิริยากันได้ ดังแสดงในตาราง 8 และตาราง 9 "

ตาราง 8 ปฏิกริยาระหว่างแอนติบอดีของโรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐานกับแอนติเจนเฉพาะของ
โรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน และแอนติเจนของโรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐานสายพันธุ์อื่น

แอนติบอดี										
S4	CT4	IRG56	IRG59	ORS571	M μ 26a	IRG32	IRG23	ORS322	IRG4	Am10
แอนติเจน										
S4	+	+	+	+						+
CT4	+	+	+	+				+		
IRG56		+	+							
IRG59		+	+	+	+					
ORS571				+	+	+	+			
M μ 26a				+	+		+			
IRG32				+		+	+			
IRG23				+		+	+			
ORS322						+		+		
IRG4									+	+
Am10		+								+

ตาราง 9 ผลของปฏิกริยาระหว่างแอนติบอดีของไรโซเปียมสายพันธุ์มาตรฐานกับ
แอนติเจนเฉพาะของไรโซเปียมสายพันธุ์มาตรฐานและแอนติเจนของไรโซเปียม
สายพันธุ์มาตรฐานสายพันธุ์อื่น

แอนติบอดีสายพันธุ์มาตรฐาน	แอนติเจนของไรโซเปียมสายพันธุ์มาตรฐาน
S4	CT4, S4
CT4	S4, TRG56, IRG59, CT4
IRG56	S4, CT4, IRG59, Am10, IRG56
IRG59	S4, CT4, IRG59
ORS571	Mu26a, IRG32, IRG23, ORS571
Mu26a	IRG59, ORS571, Mu26a
IRG32	ORS571, IRG23, ORS322, IRG32
IRG23	ORS571, Mu26a, IRG32, IRG23
IRG322	CT4, IRG322
IRG4	IRG4
Am10	S4, IRG4, Am10

2.3 การทำปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนของโรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติกับแอนติบอดีโรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐานในการจัดจำแนกเชื้อโรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติของโสนอินเดียและโสนอัฟริกันจากลักษณะทางเซรัมวิทยาด้วยวิธี อินโคเร็คท์ อีไลซา อาศัยปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนของเชื้อโรโซเบียมที่แยกมาได้จากปมธรรมชาติกับแอนติบอดีโรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน 11 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ IRG4, S4, ORS322, IRG32, CT4, IRG59, IRG23, ORS571, IRG56, Mu26a, และ Am10 สามารถเกิดปฏิกิริยากันได้ ดังแสดงในตาราง 10 และ ตาราง 11

ตาราง 10 (ต่อ)

แอนติบอดี											
	IRG4	S4	ORS322	IRG32	CT4	IRG59	IRG23	ORS571	Mu26a	Am10	IRG56
แอนติเจน											
สับ. 1	+		+		+	+					
สับ. 2	+		+		+						
สับ. 3	+		+		+						
สับ. 4	+		+		+						
สับ. 5	+	+	+		+						
ปจ. 1			+	+							
ปจ. 2			+	+							
ปจ. 3			+	+							
ปจ. 4			+	+							
ปจ. 5			+	+							
นม. 1				+	+	+					+
นม. 2				+	+	+	+				+
นม. 3				+	+						
นม. 4				+	+						
นม. 5				+	+						

ตาราง 10 (ต่อ)

แอนติบอดี											
	IRG4	S4	ORS322	IRG32	CT4	IRG59	IRG23	ORS571	Mu26a	Am10	IRG56
แอนติเจน											
อค. 1			+		+						
อค. 2			+		+						
อค. 3			+		+						
อค. 4			+		+						
อค. 5			+		+						
พช. 1			+		+	+	+				
พช. 2			+		+	+					
พช. 3			+		+	+					
พช. 4			+		+						
พช. 5			+		+						
กจ. 1				+							
กจ. 2				+		+	+				
กจ. 3				+				+			
กจ. 4				+				+			
กจ. 5				+		+	+				

ตาราง 10 (ต่อ)

แอนติบอดี											
	IRG4	S4	ORS322	IRG32	CT4	IRG59	IRG23	ORS571	Mu26a	Am10	IRG56
แอนติเจน											
ซีร. 1								+	+		
ซีร. 2	+	+	+	+	+						
ซีร. 3			+	+							
ซีร. 4	+	+	+	+	+					+	+
ซีร. 5				+	+						
นศ. 1			+		+						+
นศ. 2			+		+					+	+
นศ. 3			+		+						
นศ. 4			+		+						
นศ. 5			+		+						
สค. 1		+	+		+	+				+	
สค. 2		+	+		+	+				+	
สค. 3		+	+		+	+				+	
สค. 4		+	+		+	+				+	
สค. 5		+	+		+	+				+	

ตาราง 10 (ต่อ)

แอนติบอดี										
	IRG4	S4	ORS322	IRG32	CT4	IRG59	IRG23	ORS571	Mu26a	Am10 IRG56
แอนติเจน										
ศก. 1				+			+			
ศก. 2				+			+		+	
ศก. 3				+			+		+	
ศก. 4				+			+		+	
ศก. 5				+			+		+	
รย. 1					+					
รย. 2				+						
รย. 3					+					+
รย. 4	+									
รย. 5				+				+		
ยล. 1		+			+					
ยล. 2		+			+					
ยล. 3		+			+					
ยล. 4		+			+					
ยล. 5		+			+					

ตาราง 10 (ต่อ)

แอนติบอดี											
	IRG4	S4	ORS322	IRG32	CT4	IRG59	IRG23	ORS571	Mu26a	Am10	IRG56
แอนติเจน											
มก. 1					+	+					
มก. 2					+	+					
มก. 3					+	+					
มก. 4					+	+	+				
มก. 5					+	+	+				
สข. 1		+									
สข. 2										+	+
สข. 3										+	+
สข. 4				+							
สข. 5					+						
ขก. 1					+					+	
ขก. 2					+	+					
ขก. 3					+	+					
ขก. 4					+						+
ขก. 5					+						+

ตาราง 10 (ต่อ)

	แอนติบอดี										
	IRG4	S4	ORS322	IRG32	CT4	IRG59	IRG23	ORS571	Mu26a	Am10	IRG56
แอนติเจน											
ดษ. 1	+		+	+	+				+	+	
ดษ. 2	+		+	+	+				+	+	
ดษ. 3	+								+	+	
ดษ. 4		+			+						
ดษ. 5								+	+		
ชบ. 1				+	+						
ชบ. 2				+	+						
ชบ. 3				+							
ชบ. 4				+				+			
ชบ. 5							+		+		
นธ. 1					+						
นธ. 2					+						
นธ. 3					+						
นธ. 4					+						
นธ. 5					+						

ตาราง 10 (ต่อ)

แอนติบอดี											
	IRG4	S4	ORS322	IRG32	CT4	IRG59	IRG23	ORS571	Mu26a	Am10	IRG56
แอนติเจน											
คจ. 1		+			+						
คจ. 2		+			+						
คจ. 3		+			+						
คจ. 4		+			+						
คจ. 5		+			+						
ชม. 1			+		+	+			+	+	+
ชม. 2			+	+	+	+					+
ชม. 3			+	+	+						
ชม. 4		+	+	+	+	+	+				+
ชม. 5				+	+						
นพ. 1			+	+							
นพ. 2				+			+				
นพ. 3				+			+				
นพ. 4				+			+				
นพ. 5			+	+							

ตาราง 10 (ต่อ)

แอนติบอดี									
	IRG4	S4	ORS322	IRG32	CT4	IRG59	IRG23	ORS571	Mu26a Am10 IRG56
แอนติเจน									
พร. 1									+
พร. 2									+
พร. 3								+	+
พร. 4	+								+
พร. 5	+								+
SP1.	+	+			+	+		+	+
SP2.	+	+			+	+		+	+

ผลของปฏิกริยาที่แสดงไว้ในตาราง 10 และตาราง 11 ซึ่งสามารถจำแนกแอนติเจนของไรโซเบียม isolate ต่าง ๆ ออกเป็นกลุ่ม ๆ ตามปฏิกริยาระหว่างแอนติเจนกับแอนติบอดีของไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน โสนอินเดีย แบ่งได้ 8 กลุ่ม โสนอัฟริกัน แบ่งได้ 5 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 คือกลุ่มแอนติเจนของไรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติของโสนอินเดีย และโสนอัฟริกัน 1 isolate เกิดปฏิกริยากับแอนติบอดีของไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐานเพียงหนึ่งสายพันธุ์

กลุ่มที่ 2 คือกลุ่มแอนติเจนของไรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติของโสนอินเดีย 1 และโสนอัฟริกัน 1 isolate เกิดปฏิกริยากับแอนติบอดีของไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน 2 สายพันธุ์

กลุ่มที่ 3 คือกลุ่มแอนติเจนของไรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติของโสนอินเดีย และโสนอัฟริกัน 1 isolate เกิดปฏิกริยากับแอนติบอดีของไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน

3 สายพันธุ์

กลุ่มที่ 4 คือกลุ่มแอนติเจนของเชื้อไรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติของโสนอินเดีย และโสนอัฟริกัน 1 isolate เกิดปฏิกริยากับแอนติบอดีของไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน 4 สายพันธุ์

กลุ่มที่ 5 คือกลุ่มแอนติเจนของเชื้อไรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติของโสนอินเดีย และโสนอัฟริกัน 1 isolate เกิดปฏิกริยากับแอนติบอดีของไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน 5 สายพันธุ์

กลุ่มที่ 6 คือกลุ่มแอนติเจนของเชื้อไรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติ ของโสนอินเดีย 1 isolate เกิดปฏิกริยากับแอนติบอดีของไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน 6 สายพันธุ์

กลุ่มที่ 7 คือกลุ่มแอนติเจนของเชื้อไรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติของโสนอินเดีย 1 isolate เกิดปฏิกริยากับแอนติบอดีของไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน 7 สายพันธุ์

กลุ่มที่ 8 คือกลุ่มแอนติเจนของเชื้อไรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติของโสนอินเดีย 1 isolate เกิดปฏิกริยากับแอนติบอดีของไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน 8 สายพันธุ์

ทั้งแสดงในตาราง 12 และตาราง 13

ตาราง 12 การจำแนกเชื้อโรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติของโสนอินเดียโดยวิธี อินโคเร็กซ์ อีไลซา

แอนติบอดีโรโซเบียม สายพันธุ์มาตรฐาน	แอนติเจนเชื้อโรโซเบียมที่ แยกได้จากปมธรรมชาติ	จำนวน isolate
กลุ่มที่ 1		
IRG4	รย.4	1
S4	สช.1	1
ORS322	รย.2	1
IRG32	สช.4, ชบ.3	2
CT4	สช.5, นธ.1, นธ.2, นธ.3, นธ.4, นธ.5, รย.1	9
Mu26a	พร.1, พร.2	2
กลุ่มที่ 2		
S4 + CT4	ยล.1, ยล.2, ยล.3, ยล.4, ยล.5, ฉช.4, ตง.1, ตง.2, ตง.3, ตง.4, ตง.5	11
ORS322 + IRG32	ปจ.1, ปจ.2, ปจ.3, ปจ.4, ปจ.5, ชร.3, นพ.1, นพ.5	8
IRG32 + CT4	นม.3, นม.4, นม.5, ชร.5, ชบ.1, ชบ.2, ชม.5	7
CT4 + IRG59	ชก.2, ชก.3, มค.1, มค.2, มค.3	5
IRG32 + IRG23	กจ.1, กจ.3, กจ.4, ศก.1	4
ORS322 + CT4	นศ.3, นศ.4, นศ.5, อค.1, อค.2, อค.3, อค.4, อค.5, พช.4, พช.5	10
CT4 + IRG56	รย.3, ชก.4, ชก.5	3
CT4 + Am10	ชก.1	1
IRG32 + ORS571	รย.5, ชบ.4	2
IRG32 + IRG23	นพ.2, นพ.3, นพ.4	3

ตาราง 12 (ต่อ)

แอนติบอดีโรโซเบียม สายพันธุ์มาตรฐาน	แอนติเจนเชื้อโรโซเบียมที่ แยกได้จากปมธรรมชาติ	จำนวน isolate
IRG23 + M 26a	ซบ.5	1
Am10 + IRG56	สข.2, สข.3	2
ORS571 + M μ 26a	ขร.1, พร.3, ฉช.5	3
กลุ่มที่ 3		
IRG4 + S4 + Am10	ซพ.1, ซพ.3, ซพ.4, ซพ.5	4
IRG4 + M μ 26a + Am10	ฉช.3	1
IRG4 + ORS322 + CT4	สب.2, สบ.3, สบ.4, สบ.5	4
IRG4 + Am10 + IRG56	พร.4, พร.5	2
ORS322 + CT4 + IRG59	พช.2, พช.3	2
IRG32 + IRG59 + IRG23	กจ.2, กจ.5	2
ORS322 + CT4 + IRG56	นค.1, นค.2	2
ORS322 + IRG32 + CT4	ชม.3	1
CT4 + IRG59 + IRG23	มค.4, มค.5	2
IRG32 + IRG23 + M μ 26a	ศก.2, ศก.3, ศก.4, ศก.5	4
กลุ่มที่ 4		
IRG4 + S4 + IRG59 + Am10	ซพ.2	1
IRG4 + ORS322 + CT4 + IRG59	สب.1	1
ORS322 + CT4 + IRG59 + IRG23	พช.1	1
ORS32 + CT4 + IRG59 + IRG56	นม.1	1

ตาราง 12 (ต่อ)

แอนติบอดีโรโซเปียม สายพันธุ์มาตรฐาน	แอนติเจนเชื้อโรโซเปียมที่ แยกได้จากปมธรรมชาติ	จำนวน isolate
กลุ่มที่ 5		
IRG4 + S4 + ORS322 + CT4 + IRG59	สป.1, สป.3, สป.5	3
IRG4 + S4 + ORS322 + IRG32 + CT4	สป.2, สป.4	2
S4 + ORS322 + CT4 + IRG59 + Am10	สป.1, สป.2, สป.3, สป.4, สป.5	5
IRG32 + CT4 + IRG59 + IRG23 + IRG56	สป.2	1
ORS322 + IRG32 + CT4 + IRG59 + IRG56	สป.2	1
กลุ่มที่ 6		
IRG4 + S4 + ORA322 + CT4 + IRG59 + Am10	สป.2	1
IRG4 + S4 + ORA322 + CT4 + IRG59 + M μ 26a	สป.4	1
ORS322 + CT4 + IRG59 + M 26a Am10 + IRG56	สป.1	1
IRG4 + ORS322 + IRG32 + CT4 + M μ 26a + Am10	สป.1, สป.2	2

ตาราง 12 (ต่อ)

แอนติบอดีโรโซเปียม สายพันธุ์มาตรฐาน	แอนติเจนเชื้อโรโซเปียมที่ แยกได้จากปมธรรมชาติ	จำนวน isolate
กลุ่มที่ 7		
IRG4 + CT4 + IRG59 + IRG23 + ORS571 + Am10 +	สฎ.1, สฎ.2, สฎ.3, สฎ.4, สฎ.5	5
S4 + ORS322 + IRG32 + CT4 + IRG59 + IRG23 + IRG56	ชม.4	1
กลุ่มที่ 8		
IRG4 + S4 + CT4 + IRG59 + ORS571 + Mμ26a Am10 + IRG56	SP1, SP2	2

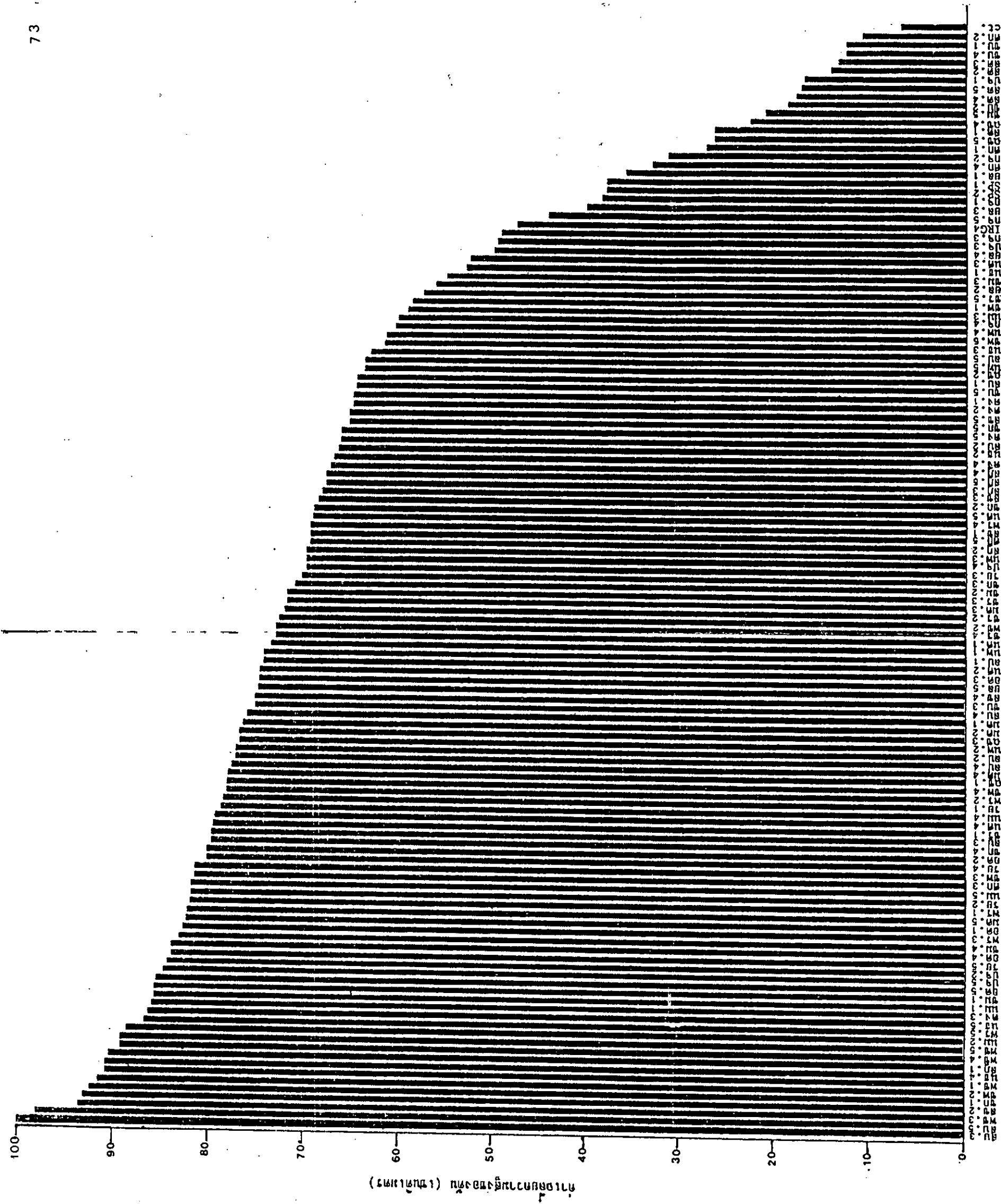
ตาราง 13 การจัดจำแนกเชื้อโรโซเปียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติของโสนอัฟริกัน โดยวิธีอินโคเร็กซ์
อิลซา

แอนติบอดีโรโซเปียม สายพันธุ์มาตรฐาน	แอนติเจนเชื้อโรโซเปียมที่ แยกได้จากปมธรรมชาติ	จำนวน isolate
กลุ่มที่ 1		
Mu26a	สป.	1
IRG59	ชร., ชม.	2
IRG56	ปท.	1
กลุ่มที่ 2		
S4 + CT4	มค.	1
IRG4 + Am10	นว.	1
IRG32 + IRG23	นศ.	1
กลุ่มที่ 3		
S4 + CT4 + ORS322	พร.	1
S4 + CT4 + IRG23	ปน.	1
IRG4 + IRG32 + Am10	คร.	1
กลุ่มที่ 4		
S4 + ORS322 + IRG23 + ORS571 นบ.		1
กลุ่มที่ 5		
S4 + CT4 + IRG32 + Mu26a + ORS571	กทม.	1

3. การทดสอบประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของเชื้อไรโซเบียมแต่ละเชื้อร่วมกับ โสนอินเดีย และโสนอัฟริกันในลีโอนาร์ดจา

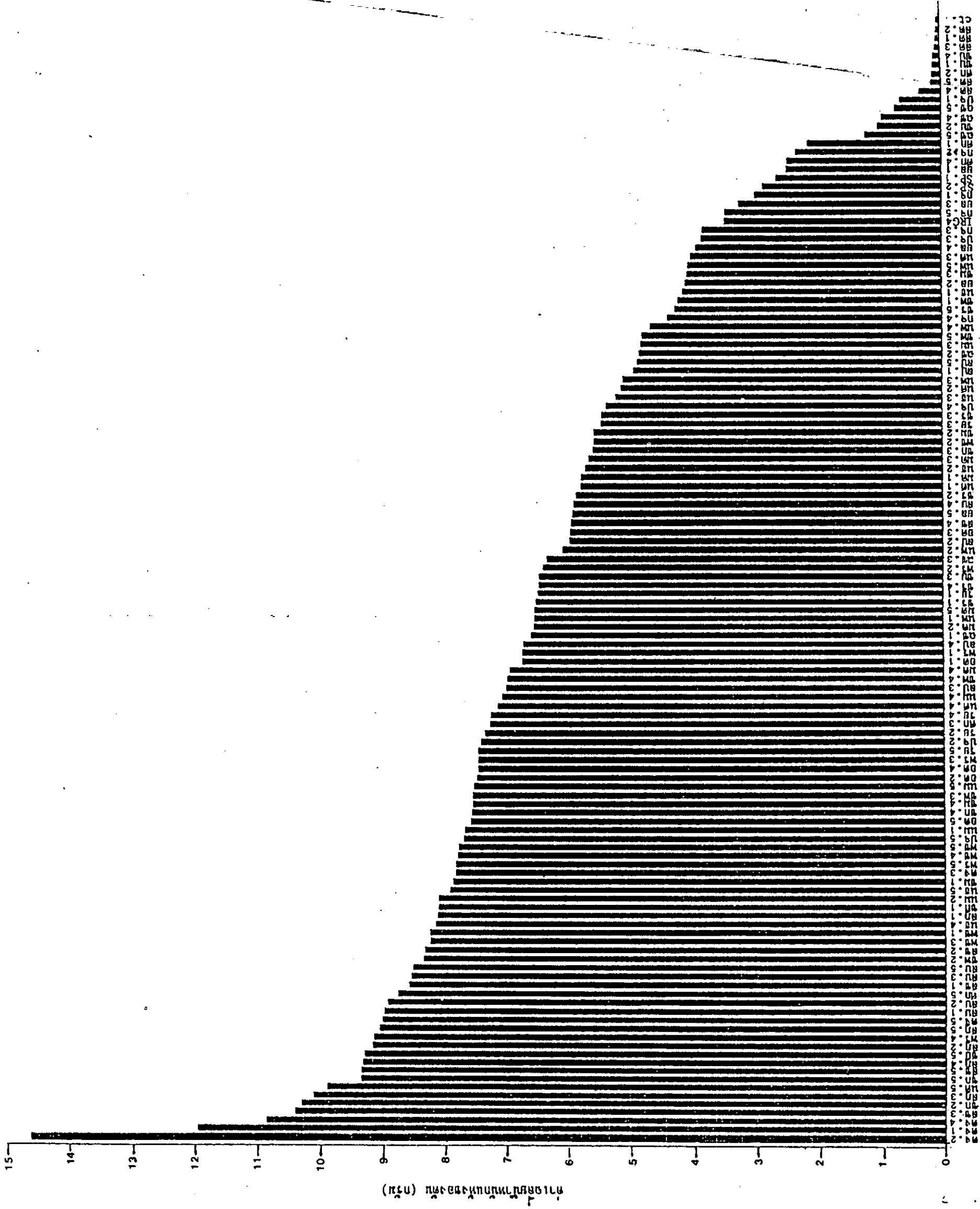
3.1 ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของเชื้อไรโซเบียมแต่ละเชื้อร่วมกับโสนอินเดีย 128 เชื้อ

3.1.1 ความสูงของต้นมีค่าเฉลี่ยตั้งแต่ 7.00 - 100.00 เซนติเมตร การใส่เชื้อไรโซเบียม 128 เชื้อ รวมทั้งไม่ใส่เชื้อ ทำให้ส่วนสูงของต้นโสนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและสามารถแบ่งไรโซเบียมออกเป็นกลุ่มตามส่วนสูงของต้นโดยวิธี DMRT. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 เชื้อไรโซเบียมที่ทำให้โสนเจริญเติบโตในส่วนสูงอยู่ในกลุ่มสูง ได้แก่ สบ.3, สบ.5, พช.3, สช.2, ชก.1, ชพ.2, พช.1, นธ.4, สฎ.1, พช.4, พช.5, นม.2, พร.5, นธ.5, มีความสูงเฉลี่ย 100.00, 95.50, 95.00, 97.00, 93.75, 93.00, 92.00, 92.00, 91.75, 90.50, 90.50, 89.75, 88.00, และ 87.50 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนต้นโสนที่ไม่ใส่เชื้อไรโซเบียมมีความสูงต่ำสุดคือ 7.00 เซนติเมตร และต้นโสนที่ใส่เชื้อไรโซเบียม สด.4, สด.5, ปจ.1, สด.2, สด.3, ชบ.4, ชบ.1, และ ศก.2 แม้จะสูงกว่าต้นโสนที่ไม่ใส่เชื้อไรโซเบียมแต่ก็แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตาราง 14 และภาพประกอบ 5



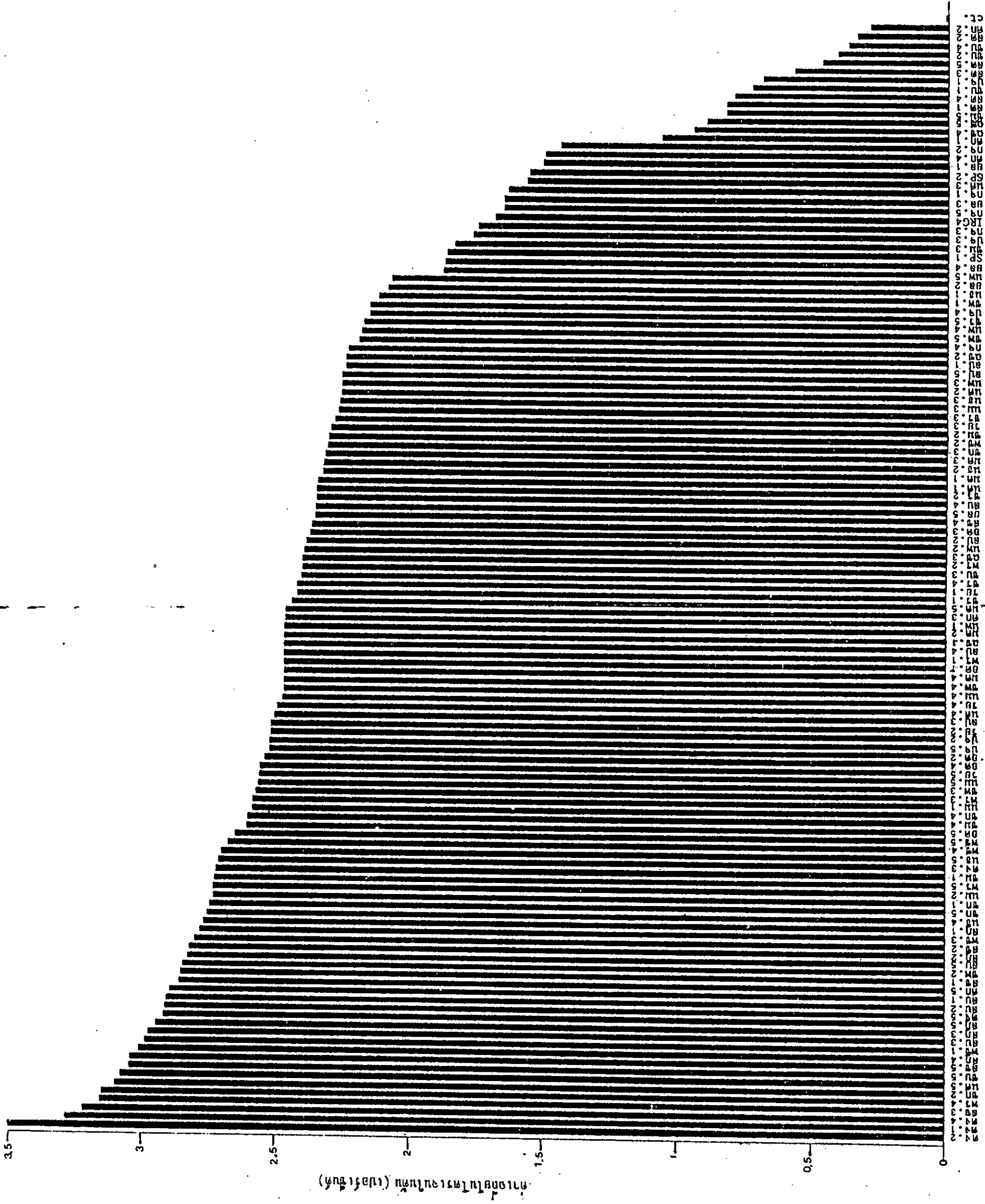
ภาพประกอบ 5 แสดงความสูงของต้นไม้เมื่อเวลาผ่านไปเป็นเวลา 128 ชั่วโมง

3.1.2 น้ำหนักแห้งของต้น มีค่าเฉลี่ยตั้งแต่ 0.07 - 14.63 กรัม การใส่เชื้อไรโซเบียม 128 เชื้อ รวมทั้งไม่ใส่เชื้อทำให้น้ำหนักแห้งของต้นโสนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และสามารถแบ่งไรโซเบียมออกเป็นกลุ่มตามน้ำหนักแห้งของต้นโสนโดยวิธี DMRT. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 เชื้อไรโซเบียมที่ทำให้น้ำหนักแห้งของต้นโสนอยู่ในกลุ่มสูงมี 1 isolate คือ ตง.2 ซึ่งมีค่าน้ำหนักแห้งของต้นเฉลี่ย 14.63 กรัม และเชื้อไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพทำให้น้ำหนักแห้งของต้นอยู่ในเกณฑ์ และมีแนวโน้มว่าเป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูง คือ เชื้อไรโซเบียม ตง.1, ตง.4, สข.3, ขก.2, สฎ.3, มีน้ำหนักแห้งของต้นเฉลี่ย 11.96, 10.85, 10.40, 10.30, 10.10 กรัม ตามลำดับ ส่วนต้นโสนที่ไม่ใส่เชื้อมีน้ำหนักแห้งต่ำสุดคือ 0.07 กรัม และต้นโสนที่ใส่เชื้อไรโซเบียม จช.5, ชม.2, จช.4, ชม.5, ปจ.1, สค.4, สค.5, ศก.2, ขบ.1, ขบ.4, สค.3, สค.1 และ สค.2, แม้จะมีน้ำหนักแห้งสูงกว่าต้นโสนที่ไม่ใส่เชื้อไรโซเบียม แต่ก็แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตาราง 14 และภาพประกอบ 6



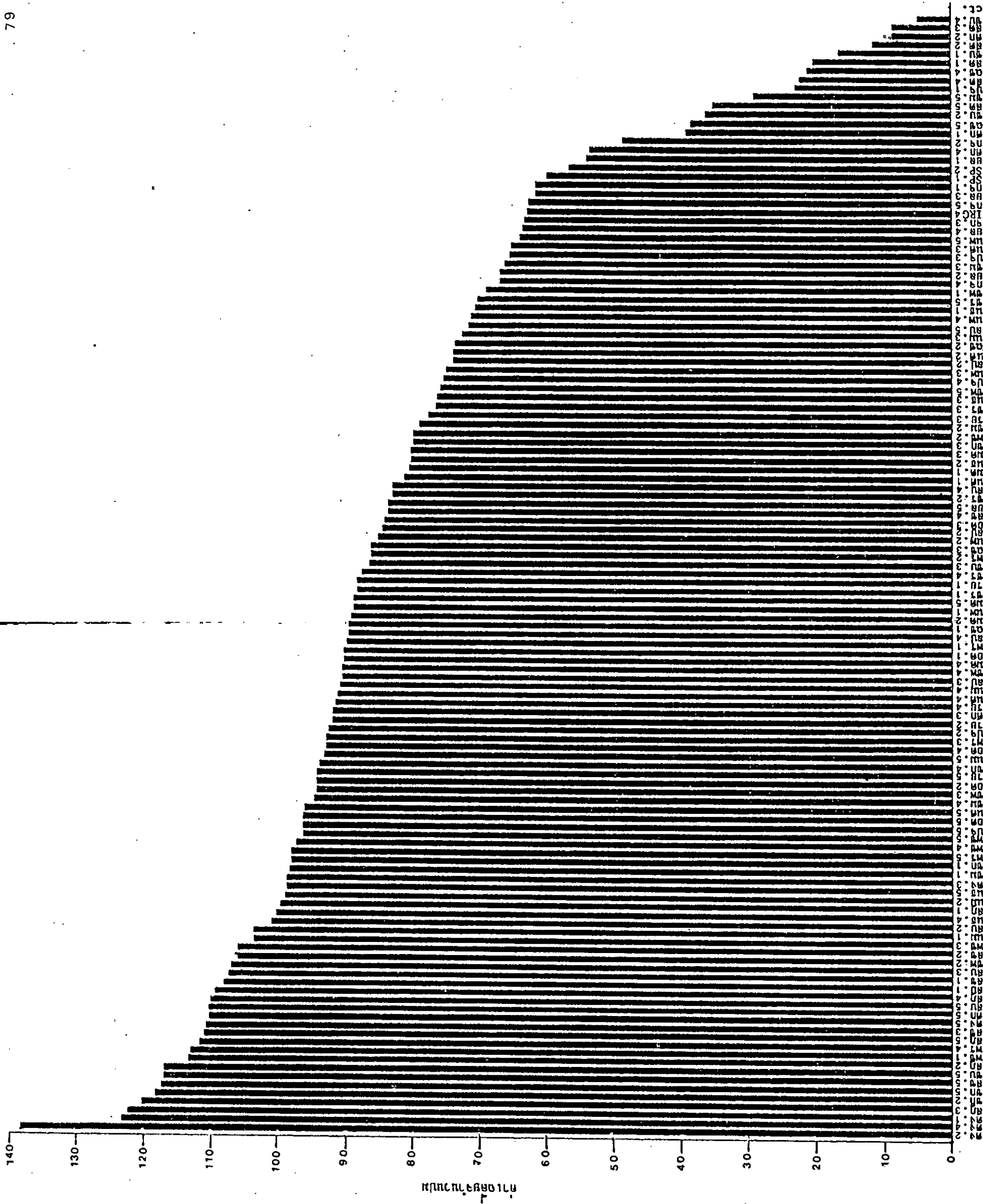
ภาพประกอบ 6 แสดงน้ำหนักแห่งของตัวแปร 128 ตัว

3.1.3 ในโตรเจนในต้น มีค่าเฉลี่ยตั้งแต่ 0.01 - 3.50 เปอร์เซ็นต์ การใส่เชื้อไรโซเบียม 128 เชื้อรวมทั้งไม่ใส่เชื้อทำให้ไนโตรเจนในต้นโสนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของไนโตรเจนในต้นโสนโดยวิธี DMRT. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 สามารถแบ่งไรโซเบียมออกเป็นกลุ่มตามไนโตรเจนในต้น เชื้อไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพทำให้ไนโตรเจนในต้นอยู่ในกลุ่มสูง ได้แก่ ทง.2, ทง.1, ทง.4, สข.3, พร.4, ชก.2, นท.5, ชบ.5, สข.5, สฎ.4, สบ.3, พช.1, สฎ.3 มีไนโตรเจนในต้นเฉลี่ย 3.50, 3.21, 3.22, 3.16, 3.15, 3.10, 3.08, 3.05, 3.04, 3.01, 2.99, 2.18, 2.95 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ต้นโสนที่ไม่ใส่เชื้อมีไนโตรเจนในต้นต่ำสุด คือ 0.01 เปอร์เซ็นต์ และต้นโสนที่ใส่เชื้อไรโซเบียม สค.3, สค.5, ชบ.2, ชบ.3, สค.2, ศก.2, แม้ว่าจะมีไนโตรเจนในต้นสูงกว่าต้นโสนที่ไม่ใส่เชื้อไรโซเบียมแต่ก็แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงใน ตาราง 14 และภาพประกอบ 7



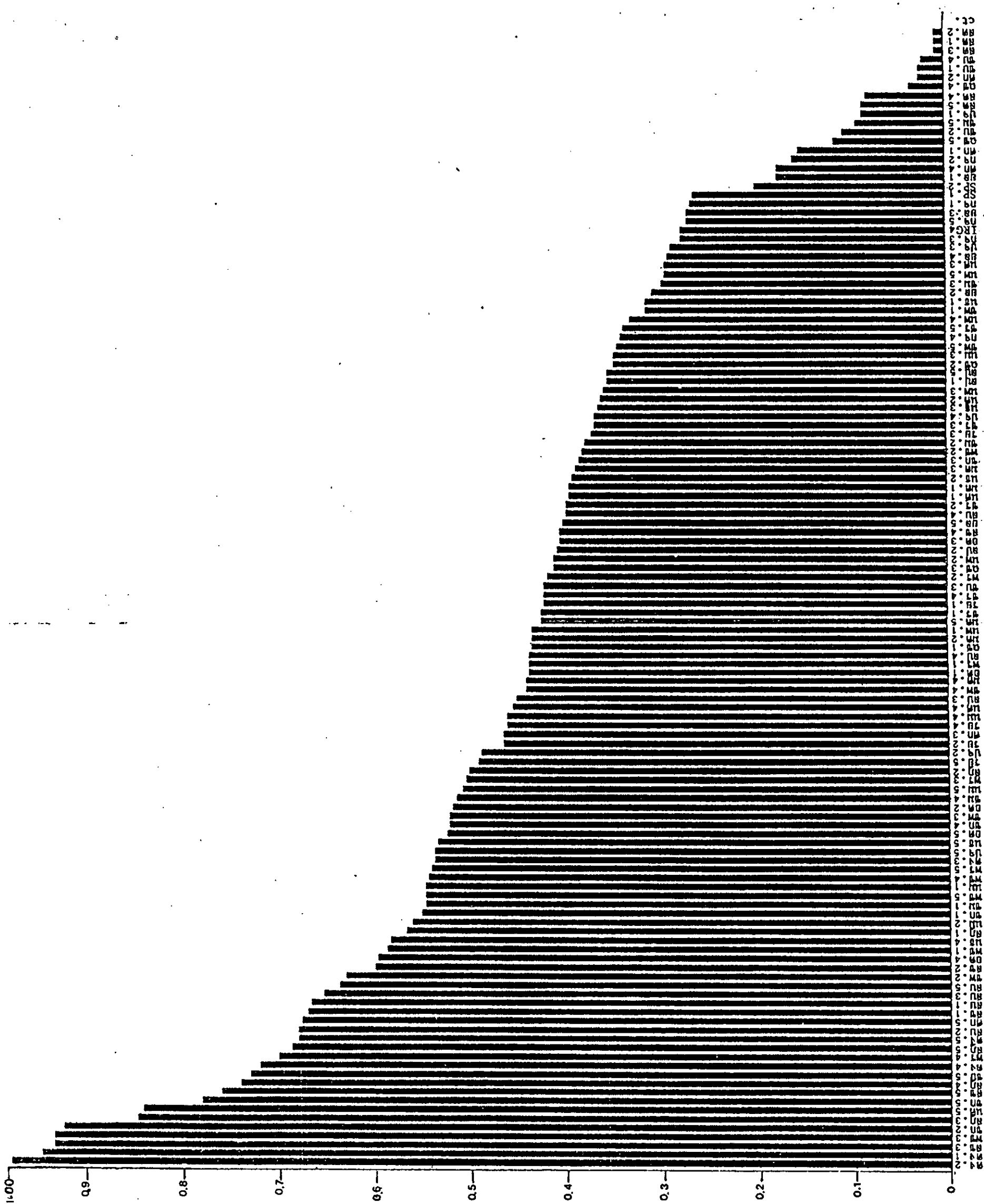
ภาพประกอบ 7 แสดงใบโครงงานในต้นโสนใบเดี่ยวเมื่อใส่ข้อไว้นาน 128 ชั่วโมง

3.1.4 จำนวนปม มีค่าเฉลี่ยตั้งแต่ 0 - 138 ปม การใส่เชื้อโรโซเบียม 128 เชื้อ รวมทั้งไม่ใส่เชื้อ ทำให้จำนวนปมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และสามารถแบ่งเชื้อโรโซเบียม ออกเป็นกลุ่มตามจำนวนปมที่รากโดยวิธี DMRT. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 เชื้อโรโซเบียม ที่มีประสิทธิภาพในการทำให้ต้นโสนเกิดปมอยู่ในกลุ่มสูงได้แก่ ทง.2, ทง.4, ทง.1, สฎ.3, ชก.2, ชก.5, สช.5, ชบ.5, สฎ.2, พช.1, พร.4, สฎ.5, สช.3, ทง.5, ศก.5, สบ.5, สฎ.4, สบ.1, สช.1, สบ.3 มีจำนวนปมเฉลี่ย 138, 123, 122, 120, 118, 117, 117, 117, 113, 113, 112, 111, 111, 110, 110, 110, 109, 108, 107, 107 ปม ตามลำดับสำหรับต้นโสนที่ไม่ใส่เชื้อโรโซเบียมก็ไม่สามารถเกิดปมได้ ดังแสดงในตาราง 14 และ ภาพประกอบ 8



ภาพประกอบ 8 แสดงจำนวนของโศกนาฏกรรมที่เกิดขึ้นเมื่อ 128 ปี

3.1.5 น้ำหนักแห้งของปม มีค่าเฉลี่ยตั้งแต่ 0.00 - 0.99 กรัม การใส่เชื้อไรโซเบียม 128 เชื้อรวมทั้งไม่ใส่เชื้อทำให้น้ำหนักแห้งของปมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และสามารถแบ่งกลุ่มไรโซเบียมตามน้ำหนักแห้งของปม โดยวิธี DMRT. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 เชื้อไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเนื้อเยื่อปมให้มือน้ำหนักแห้งปมอยู่ในกลุ่มสูงได้แก่ ตง.2, ตง.1, สช.3, พช.3, ขก.2, สฎ.3, นศ.5 มีน้ำหนักแห้งปมเฉลี่ย 0.99, 0.95, 0.93, 0.93, 0.92, 0.85 และ 0.84 กรัม ตามลำดับ ส่วนคันโสนที่ใส่เชื้อไรโซเบียม SP.2, ยล.1, ศก.4, กจ.2, ศก.1, จช.5, ชบ.2, ชม.5, ปจ.1, สค.5, สค.4, จช.4, ศก.2, ชบ.1, ชบ.4, สค.3, สค.1, และสค.2, มีน้ำหนักแห้งปมแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติกับคันโสนที่ไม่ใส่เชื้อไรโซเบียม ดังแสดงในตาราง 14 และภาพประกอบ 9



(รูป) การกระจายความถี่ของข้อมูล

3.1.6 อัตราการตรึงไนโตรเจน มีค่าเฉลี่ยตั้งแต่ 0.00 - 147.51 μmol

$\text{C}_2\text{H}_4/\text{g nod. dry wt./h}$ การใส่เชื้อไรโซเบียม 128 เชื้อรวมทั้งไม่ใส่เชื้อไรโซเบียม

ทำให้โสนมีอัตราการตรึงไนโตรเจนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และสามารถแบ่งไรโซเบียม

ออกเป็นกลุ่มตามอัตราการตรึงไนโตรเจนโดยวิธี DMRT. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

เชื้อไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพให้ต้นโสนมีอัตราการตรึงไนโตรเจนอยู่ในกลุ่มสูง มี 1 isolate คือ

ตง.2 มีอัตราการตรึงไนโตรเจน 147.51 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{g nod. dry wt./h}$ และมีเชื้อ

ไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพในการทำกิจกรรมการตรึงไนโตรเจนอยู่ในเกณฑ์ และมีแนวโน้มว่าเป็น

เชื้อที่มีประสิทธิภาพสูงได้แก่ ตง.1, นม.5, ขก.2, สข.3, สฎ.3, นศ.5, สข.5, ขก.5, สฎ.4,

ขบ.5, อค.4, พร.4 มีอัตราการตรึงไนโตรเจนเฉลี่ย 126.19, 125.92, 123.98, 118.91,

110.74, 106.54, 102.43, 96.66, 96.54, 92.59, 89.70, 80.85 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{g}$

nod. dry wt./h ตามลำดับ ส่วนต้นโสนที่ไม่ใส่เชื้อไรโซเบียม SP.2, ยล.1, ศก.4, กจ.2,

ศก.1, จช.5, ขบ.2, จช.4, ชม.5, ปจ.1, สค.4, สค.5, สค.1, ขบ.1, ศก.2, ขบ.4,

สค.3, สค.2, มีอัตราการตรึงไนโตรเจนแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติกับต้นโสนที่ไม่ใส่

เชื้อไรโซเบียม ดังแสดงในตาราง 14 และภาพประกอบ 10

ภาพประกอบ 10 แสดงอัตราการครองชีพเฉลี่ยเมื่อได้ใช้ไอโซเบียม 128 แล้ว

ตาราง 14 ประสิทธิภาพของเชื้อโรโซเบียมแต่ละเชื้อในการตรึงไนโตรเจนร่วมกับโสนอินเดีย
เมื่ออายุ 50 วัน

เชื้อโรโซเบียม	ความสูง ของต้น (เซนติเมตร)	น้ำหนักแห้ง ของต้น (กรัม)	ไนโตรเจน ในต้น (%)	จำนวน ปม	น้ำหนักแห้ง ของปม (กรัม)	อัตราการตรึงไนโตรเจน ($\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{g nod.}$ nod. dry wt, /h)
คจ.2	65.75 ²⁵⁻³⁷	14.63 ¹	3.50 ¹	138 ¹	0.99 ¹	147.51 ¹
คจ.1	65.75 ²⁵⁻³⁷	11.96 ²	3.29 ¹⁻²	122 ¹⁻³	0.95 ¹⁻²	126.19 ²
คจ.4	68.00 ²¹⁻³⁵	10.85 ²⁻³	3.22 ¹⁻³	123 ¹⁻³	0.72 ⁴⁻¹¹	55.74 ¹⁵⁻²⁸
สข.3	69.25 ¹⁹⁻³⁴	10.40 ²⁻⁴	3.16 ¹⁻⁹	111 ¹⁻⁴	0.93 ¹⁻³	118.91 ²⁻⁴
ชก.2	69.50 ¹⁹⁻³⁴	10.30 ²⁻⁴	3.10 ¹⁻⁶	118 ¹⁻⁵	0.92 ¹⁻⁴	123.98 ²⁻⁴
สญ.3	68.75 ¹⁹⁻³⁴	10.10 ²⁻⁵	2.95 ¹⁻¹²	120 ¹⁻⁴	0.85 ¹⁻⁵	110.74 ²⁻⁵
นท.5	70.00 ¹⁸⁻³³	9.90 ³⁻⁶	3.08 ¹⁻⁷	96 ²⁻²⁰	0.84 ¹⁻⁶	106.54 ³⁻⁶
ชก.5	66.25 ²⁴⁻³⁶	9.34 ³⁻⁷	2.75 ²⁻²¹	117 ¹⁻⁶	0.78 ²⁻⁷	96.66 ⁴⁻⁷
สข.5	66.25 ²⁴⁻³⁶	9.34 ³⁻⁷	3.04 ¹⁻⁹	117 ¹⁻⁶	0.76 ²⁻⁸	102.43 ⁴⁻⁷
สญ.4	68.25 ²⁰⁻³⁵	9.32 ³⁻⁸	3.01 ¹⁻¹⁰	109 ¹⁻¹¹	0.74 ³⁻⁹	96.54 ⁴⁻⁷
ชบ.5	65.25 ²⁰⁻³⁵	9.30 ³⁻⁸	3.05 ¹⁻¹⁰	117 ¹⁻⁶	0.73 ³⁻⁹	92.59 ⁴⁻⁷
สญ.2	70.5 ¹⁸⁻³³	9.15 ³⁻⁹	2.82 ²⁻¹⁹	113 ¹⁻⁷	0.50 ¹²⁻²⁵	55.71 ¹⁵⁻²⁹
พร.4	70.00 ¹⁸⁻³³	9.14 ³⁻⁹	3.15 ¹⁻⁵	112 ¹⁻⁸	0.70 ⁵⁻¹²	80.85 ⁶⁻⁹
สญ.5	68.75 ¹⁹⁻³⁴	9.04 ³⁻¹⁰	2.92 ²⁻¹³	111 ¹⁻⁹	0.69 ⁵⁻¹³	78.86 ⁷⁻¹⁰
คจ.5	67.00 ²³⁻³⁵	9.00 ³⁻¹⁰	2.91 ²⁻¹⁴	110 ¹⁻¹⁰	0.68 ⁵⁻¹³	76.37 ⁷⁻¹⁰
สบ.1	67.50 ²⁶⁻³⁷	8.97 ³⁻¹¹	2.89 ²⁻¹⁵	108 ¹⁻¹²	0.67 ⁵⁻¹³	75.51 ⁷⁻¹²
สบ.2	65.25 ²²⁻³⁵	8.29 ³⁻¹²	2.91 ²⁻¹⁴	101 ²⁻¹⁶	0.68 ⁵⁻¹³	74.10 ⁷⁻¹²
คก.5	70.5 ¹⁸⁻³³	8.75 ⁴⁻¹³	2.86 ²⁻¹⁶	110 ¹⁻¹⁰	0.68 ⁵⁻¹³	73.71 ⁷⁻¹²
สข.1	70.5 ¹⁸⁻³³	8.57 ⁴⁻⁴	2.85 ²⁻¹⁷	107 ¹⁻¹³	0.67 ⁵⁻¹³	72.51 ⁷⁻¹³
สบ.3	100.00 ¹	8.53 ⁴⁻¹⁴	29.98 ¹⁻¹¹	107 ¹⁻¹³	0.65 ⁵⁻¹³	70.37 ⁷⁻¹⁴
สบ.5	99.00 ¹⁻²	8.51 ⁴⁻¹⁵	2.83 ²⁻¹⁸	110 ¹⁻¹⁰	0.64 ⁶⁻¹⁴	67.26 ⁸⁻¹⁵
ชบ.2	93.00 ¹⁻⁵	8.33 ⁵⁻¹⁶	2.85 ²⁻¹⁷	106 ²⁻¹⁴	0.63 ⁷⁻¹⁵	65.57 ⁸⁻¹⁷

ตาราง 14 (ต่อ)

เชื้อโรโซเบียม ความสูง น้ำหนักแห้ง ไนโตรเจน จำนวน น้ำหนักแห้ง อัตราการตรึงไนโตรเจน

ของดิน ของดิน ในดิน ปม ของปม ($\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{g}$)

(เซนติเมตร) (กรัม) (%) (กรัม) nod. dry wt. /h)

สข.2	97.00 ¹⁻³	8.31 ⁵⁻¹⁷	2.80 ²⁻²⁰	106 ²⁻¹⁴	0.60 ⁷⁻¹⁶	65.26 ⁸⁻¹⁸
พข.3	95.00 ¹⁻³	8.78 ⁵⁻¹⁸	2.78 ²⁻²⁰	104 ²⁻¹⁵	0.93 ¹⁻³	67.45 ⁸⁻¹⁶
พข.1	92.00 ¹⁻⁶	8.23 ⁵⁻¹⁸	2.99 ¹⁻¹¹	113 ¹⁻⁷	0.59 ⁷⁻¹⁷	67.43 ⁸⁻¹⁷
นธ.4	92.00 ¹⁻⁶	8.14 ⁵⁻¹⁸	2.75 ²⁻²¹	100 ²⁻¹⁷	0.58 ⁷⁻¹⁸	64.98 ⁸⁻¹⁹
สญ.1	91.75 ¹⁻⁷	8.11 ⁶⁻¹⁸	2.77 ²⁻²⁰	100 ²⁻¹⁷	0.57 ⁸⁻¹⁹	64.04 ⁹⁻²⁰
ชก.1	93.75 ¹⁻⁴	8.09 ⁶⁻¹⁸	2.73 ²⁻²²	98 ²⁻¹⁸	0.55 ⁹⁻²¹	63.43 ⁹⁻²¹
นม.2	89.75 ¹⁻⁹	8.09 ⁶⁻¹⁸	2.73 ²⁻²²	99 ²⁻¹⁷	0.56 ⁸⁻²⁰	62.99 ⁹⁻²¹
นธ.5	87.50 ¹⁻¹⁰	7.91 ⁷⁻¹⁹	2.70 ³⁻²³	99 ²⁻¹⁷	0.53 ¹⁰⁻²³	62.29 ⁹⁻²¹
ชม.1	86.75 ³⁻¹²	7.85 ⁷⁻²⁰	2.72 ³⁻²³	98 ²⁻¹⁸	0.55 ⁹⁻²¹	58.71 ¹¹⁻²³
คจ.3	87.00 ²⁻¹¹	7.81 ⁷⁻²¹	2.71 ³⁻²³	99 ²⁻¹⁷	0.54 ⁹⁻²²	61.37 ⁹⁻²¹
พข.5	88.00 ¹⁻¹⁰	7.80 ⁷⁻²¹	2.73 ²⁻²²	98 ²⁻¹⁸	0.54 ⁹⁻²²	61.30 ¹⁰⁻²²
พข.4	90.50 ¹⁻⁸	7.78 ⁷⁻²²	2.63 ³⁻²⁴	97 ²⁻¹⁹	0.54 ⁹⁻²²	62.12 ⁹⁻²¹
พข.5	90.50 ¹⁻⁸	7.76 ⁷⁻²²	2.62 ⁴⁻²⁵	96 ²⁻²⁰	0.55 ⁹⁻²¹	58.91 ¹¹⁻²³
ปจ.5	85.75 ³⁻¹³	7.69 ⁷⁻²³	2.53 ⁷⁻²⁵	96 ²⁻²⁰	0.54 ⁹⁻²²	56.57 ¹³⁻²⁶
นม.1	86.75 ³⁻¹²	7.66 ⁷⁻²³	2.59 ⁵⁻²⁶	104 ²⁻¹⁵	0.55 ⁹⁻²¹	57.94 ¹²⁻²⁴
ชก.5	86.75 ³⁻¹²	7.57 ⁷⁻²⁴	2.61 ⁴⁻²⁶	96 ²⁻²⁰	0.52 ¹¹⁻²³	56.83 ¹³⁻²⁵
ชก.4	81.25 ⁵⁻²⁰	7.55 ⁷⁻²⁴	2.59 ⁵⁻²⁶	94 ²⁻²²	0.52 ¹¹⁻²³	51.79 ¹³⁻²⁵
ชม.4	84.25 ³⁻¹⁵	7.54 ⁷⁻²⁴	2.61 ⁴⁻²⁶	95 ²⁻²¹	0.51 ¹²⁻²⁴	58.71 ¹¹⁻²³
ชพ.3	82.50 ³⁻¹⁸	7.53 ⁷⁻²⁴	2.57 ⁶⁻²⁶	94 ²⁻²²	0.52 ¹¹⁻²³	56.27 ¹⁴⁻²⁶
นม.5	83.00 ³⁻¹⁸	7.52 ⁷⁻²⁴	2.56 ⁶⁻²⁶	93 ²⁻²³	0.51 ¹²⁻²⁴	125.92 ²⁻³
ชก.2	81.25 ⁴⁻¹⁹	7.47 ⁷⁻²⁵	2.53 ⁷⁻²⁶	94 ²⁻²²	0.52 ¹¹⁻²³	54.93 ¹⁵⁻³⁰
ชก.4	85.00 ³⁻¹⁴	7.47 ⁷⁻²⁵	2.54 ⁶⁻²⁶	93 ²⁻²³	0.60 ⁷⁻¹⁶	89.75 ⁶⁻⁸
พข.3	83.75 ³⁻¹⁶	7.45 ⁷⁻²⁵	2.58 ⁶⁻²⁶	93 ²⁻²³	0.50 ¹²⁻²⁵	55.42 ¹⁵⁻³⁰

ตาราง 14 (ต่อ)

เชื้อโรโซเบียม	ความสูง	น้ำหนักแห้ง	ไนโตรเจน	จำนวน	น้ำหนักแห้ง	อัตราการตรึงไนโตรเจน
ของดิน	ของดิน	ใบดิน	ปม	ของปม	($\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{g}$	
(เซนติเมตร)	(กรัม)	(%)		(กรัม)	nod. dry wt. /h)	
รย.5	85.00 ³⁻¹⁴	7.44 ⁷⁻²⁵	2.56 ⁶⁻²⁶	94 ²⁻²²	0.49 ¹³⁻²⁶	55.75 ¹⁵⁻²⁸
ปจ.2	85.50 ³⁻¹⁴	7.40 ⁸⁻²⁵	2.52 ⁷⁻²⁶	93 ²⁻²³	0.49 ¹³⁻²⁶	54.51 ¹⁵⁻³⁰
รย.2	83.00 ³⁻¹⁸	7.33 ⁸⁻²⁶	2.52 ⁷⁻²⁶	92 ³⁻²³	0.46 ¹⁴⁻²⁷	54.46 ¹⁵⁻³¹
ศก.3	82.50 ³⁻¹⁸	7.25 ⁹⁻²⁷	2.47 ¹⁰⁻²⁶	92 ³⁻²³	0.46 ¹⁴⁻²⁷	53.86 ¹⁷⁻³²
รย.4	81.255 ⁴⁻¹⁹	7.24 ⁹⁻²⁷	2.48 ⁹⁻²⁶	92 ³⁻²³	0.46 ¹⁴⁻²⁷	55.83 ¹⁸⁻³²
นพ.4	80.5 ⁵⁻¹²	7.13 ¹⁰⁻²⁸	2.50 ⁸⁻²⁶	91 ³⁻²⁴	0.45 ¹⁴⁻²⁷	53.07 ²⁰⁻³³
นพ.4	79.75 ⁶⁻²²	7.06 ¹¹⁻²⁸	2.47 ¹⁰⁻²⁶	91 ³⁻²⁴	0.46 ¹⁴⁻²⁷	53.56 ¹⁹⁻³²
ลป.3	81.25 ⁵⁻²⁰	6.99 ¹²⁻²⁹	2.51 ⁸⁻²⁶	91 ³⁻²⁴	0.45 ¹⁴⁻²⁷	53.66 ¹⁹⁻³²
พพ.4	79.25 ⁷⁻²³	6.96 ¹²⁻²⁹	2.47 ¹⁰⁻²⁶	91 ³⁻²⁴	0.44 ¹⁴⁻²⁷	52.62 ²⁰⁻³⁴
มก.4	78.75 ⁸⁻²⁴	9.93 ¹³⁻²⁹	2.47 ¹⁰⁻²⁶	90 ⁴⁻²⁴	0.44 ¹⁴⁻²⁷	52.55 ²¹⁻³⁴
อค.1	83.5 ³⁻¹⁶	6.73 ¹⁴⁻³⁰	2.47 ¹⁰⁻²⁶	90 ⁴⁻²⁴	0.44 ¹⁴⁻²⁷	51.98 ²¹⁻³⁴
พร.1	83.00 ³⁻¹⁸	6.73 ¹⁴⁻³⁰	2.47 ¹⁰⁻²⁶	90 ⁴⁻²⁴	0.44 ¹⁴⁻²⁷	51.79 ²¹⁻³⁴
ลป.4	78.25 ⁸⁻²⁵	6.71 ¹⁴⁻³⁰	2.47 ¹⁰⁻²⁶	90 ⁴⁻²⁴	0.44 ¹⁴⁻²⁷	51.48 ²¹⁻³⁴
จช.1	79.00 ⁸⁻²³	6.59 ¹⁵⁻³¹	2.47 ¹⁰⁻²⁶	90 ⁴⁻²⁴	0.43 ¹⁵⁻²⁷	51.27 ²²⁻³⁵
มก.2	77.50 ⁹⁻²⁶	6.55 ¹⁶⁻³¹	2.47 ¹⁰⁻²⁶	89 ⁴⁻²⁴	0.43 ¹⁵⁻²⁷	50.16 ²²⁻³⁵
นพ.1	74.50 ¹¹⁻²⁹	6.54 ¹⁶⁻³¹	2.47 ¹⁰⁻²⁶	89 ⁴⁻²⁴	0.43 ¹⁵⁻²⁷	49.60 ²²⁻³⁶
มก.5	82.25 ³⁻¹⁷	6.53 ¹⁶⁻³¹	2.45 ¹⁰⁻²⁶	89 ⁴⁻²⁴	0.42 ¹⁶⁻²⁷	49.52 ²²⁻³⁷
ชร.1	80.75 ⁵⁻²⁰	6.50 ¹⁶⁻³¹	2.43 ¹¹⁻²⁷	88 ⁵⁻²⁵	0.42 ¹⁶⁻²⁷	49.50 ²²⁻³⁷
รย.1	79.50 ⁶⁻²³	6.46 ¹⁶⁻³¹	2.43 ¹¹⁻²⁷	88 ⁵⁻²⁵	0.42 ¹⁶⁻²⁷	49.54 ²²⁻³⁷
ชร.4	74.25 ¹²⁻²⁹	6.46 ¹⁶⁻³¹	2.41 ¹²⁻²⁷	88 ⁵⁻²⁵	0.42 ¹⁶⁻²⁷	49.07 ²³⁻³⁷
ชป.3	76.25 ¹⁰⁻²⁸	6.45 ¹⁶⁻³¹	2.41 ¹²⁻²⁷	87 ⁵⁻²⁵	0.42 ¹⁶⁻²⁷	48.83 ²³⁻³⁷
พร.2	79.25 ⁷⁻²³	6.38 ¹⁷⁻³¹	2.41 ¹²⁻²⁷	86 ⁶⁻²⁵	0.42 ¹⁶⁻²⁷	48.75 ²³⁻³⁷

ตาราง 14. (ต่อ)

เชื้อโรโซเบียม	ความสูง ของต้น (เซนติเมตร)	น้ำหนักแห้ง ของต้น (กรัม)	ไนโตรเจน ในต้น (%)	จำนวน ปม	น้ำหนักแห้ง ของปม (กรัม)	อัตราการตรึงไนโตรเจน ($\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{g}$ nod. dry wt. /h)
ฉช.3	78.00 ⁸⁻²⁶	6.33 ¹⁸⁻³¹	2.40 ¹²⁻²⁸	86 ⁶⁻²⁵	0.41 ¹⁶⁻²⁷	48.74 ²³⁻³⁷
นพ.2	78.00 ⁸⁻²⁶	6.07 ¹⁹⁻³²	2.39 ¹²⁻²⁸	85 ⁷⁻²⁶	0.41 ¹⁶⁻²⁷	48.13 ²³⁻³⁸
สป.2	78.25 ⁸⁻²⁵	5.96 ²⁰⁻³³	2.38 ¹²⁻²⁸	85 ⁷⁻²⁶	0.41 ¹⁶⁻²⁷	47.75 ²⁴⁻³⁹
สก.3	75.75 ¹⁰⁻²⁸	5.95 ²⁰⁻³³	2.37 ¹³⁻²⁸	84 ⁷⁻²⁶	0.40 ¹⁶⁻²⁷	46.83 ²⁵⁻⁴⁰
สช.4	76.00 ¹⁰⁻²⁸	5.93 ²⁰⁻³⁴	2.36 ¹³⁻²⁸	84 ⁷⁻²⁶	0.40 ¹⁶⁻²⁷	46.76 ²⁵⁻⁴¹
ยล.5	75.75 ¹⁰⁻²⁸	5.91 ²⁰⁻³⁴	2.36 ¹³⁻²⁸	84 ⁷⁻²⁶	0.40 ¹⁶⁻²⁷	46.70 ²⁶⁻⁴¹
สน.4	76.25 ¹⁰⁻²⁸	5.89 ²¹⁻³⁴	2.36 ¹³⁻²⁸	83 ⁷⁻²⁶	0.40 ¹⁶⁻²⁷	46.09 ²⁷⁻⁴²
ชร.2	73.25 ¹³⁻³¹	5.85 ²²⁻³⁵	2.35 ¹⁴⁻²⁸	83 ⁷⁻²⁶	0.40 ¹⁶⁻²⁷	45.78 ²⁷⁻⁴²
นท.1	74.25 ¹²⁻²⁹	5.78 ²³⁻³⁵	2.35 ¹⁴⁻²⁸	81 ⁸⁻²⁶	0.39 ¹⁷⁻²⁸	45.71 ²⁸⁻⁴³
นค.1	77.00 ¹⁰⁻²⁷	5.77 ²³⁻³⁵	2.33 ¹⁵⁻²⁹	81 ⁸⁻²⁶	0.39 ¹⁷⁻²⁸	43.20 ²⁸⁻⁴³
นธ.2	67.5 ²²⁻³⁵	5.70 ²⁴⁻³⁶	2.33 ¹⁵⁻²⁹	80 ⁹⁻²⁷	0.39 ¹⁷⁻²⁸	43.16 ²⁸⁻⁴³
นค.3	73.00 ¹⁴⁻³¹	5.65 ²⁴⁻³⁶	2.32 ¹⁶⁻³⁰	80 ⁹⁻²⁷	0.39 ¹⁷⁻²⁸	42.80 ²⁸⁻⁴³
ชก.3	71.25 ¹⁶⁻³²	5.57 ²⁵⁻³⁶	2.31 ¹⁶⁻³⁰	80 ⁹⁻²⁷	0.38 ¹⁸⁻²⁹	42.67 ²⁹⁻⁴³
พช.2	73.75 ¹³⁻³⁰	5.56 ²⁵⁻³⁶	2.31 ¹⁶⁻³⁰	80 ⁹⁻²⁷	0.38 ¹⁸⁻²⁹	42.24 ²⁹⁻⁴³
ชม.2	72.00 ¹⁵⁻³²	5.55 ²⁵⁻³⁶	2.30 ¹⁶⁻³⁰	79 ¹⁰⁻²⁷	0.38 ¹⁸⁻²⁹	42.23 ²⁹⁻⁴³
รย.3	70.75 ¹⁷⁻³³	5.45 ²⁶⁻³⁶	2.29 ¹⁷⁻³⁰	78 ¹¹⁻²⁷	0.37 ¹⁹⁻²⁹	42.04 ³⁰⁻⁴³
ชร.3	73.00 ¹⁴⁻³¹	5.45 ²⁶⁻³⁶	2.27 ¹⁸⁻³⁰	77 ¹²⁻²⁷	0.37 ¹⁹⁻²⁹	41.44 ³¹⁻⁴³
ปจ.4	70.75 ¹⁷⁻³³	5.36 ²⁷⁻³⁷	2.16 ²³⁻³²	75 ¹⁴⁻²⁷	0.37 ¹⁹⁻²⁹	41.81 ³⁰⁻⁴³
นธ.3	62.5 ²⁹⁻³⁸	5.21 ²⁸⁻³⁸	2.26 ¹⁹⁻³⁰	76 ¹³⁻²⁷	0.36 ²⁰⁻³⁰	41.19 ³¹⁻⁴³
นค.2	75.50 ¹⁰⁻²⁸	5.12 ²⁹⁻³⁸	2.26 ¹⁹⁻³⁰	74 ¹⁵⁻²⁷	0.36 ²⁰⁻³⁰	41.06 ³¹⁻⁴³
นพ.3	70.75 ¹⁷⁻³³	5.10 ²⁹⁻³⁸	2.26 ¹⁹⁻³⁰	75 ¹⁴⁻²⁷	0.36 ²⁰⁻³⁰	39.41 ³²⁻⁴³
สป.1	75.50 ¹⁰⁻²⁸	4.93 ³⁰⁻³⁸	2.24 ²⁰⁻³¹	74 ¹⁵⁻²⁷	0.35 ²¹⁻³¹	39.91 ³¹⁻⁴³

ตาราง 14 (ต่อ)

เชื้อโรโซเบียม	ความสูง ของต้น (เซนติเมตร)	น้ำหนักแห้ง ของต้น (กรัม)	ไนโตรเจน ในต้น (%)	จำนวน ปม	น้ำหนักแห้ง ของปม (กรัม)	อัตราการตรึงไนโตรเจน ($\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{g}$ nod. dry wt. /h)
สป.5	64.50 ²⁸⁻³⁷	4.86 ³⁰⁻³⁹	2.25 ²⁰⁻³¹	72 ¹⁶⁻²⁷	0.35 ²¹⁻³¹	40.2 ³¹⁻⁴³
ฉช.2	64.50 ²⁷⁻³⁷	4.83 ³⁰⁻³⁹	2.24 ²⁰⁻³¹	74 ¹⁵⁻²⁷	0.35 ²¹⁻³¹	38.76 ³²⁻⁴³
นม.3	60.00 ³²⁻³⁹	4.81 ³⁰⁻³⁹	2.27 ¹⁸⁻³⁰	73 ¹⁵⁻²⁷	0.35 ²¹⁻³¹	38.71 ³³⁻⁴⁴
ชพ.5	62.25 ²⁹⁻³⁸	4.80 ³⁰⁻³⁹	2.19 ²¹⁻³²	76 ¹³⁻²⁷	0.34 ²²⁻³¹	38.65 ³⁴⁻⁴⁵
นพ.4	61.50 ³⁰⁻³⁸	4.66 ³¹⁻⁴⁰	2.18 ²²⁻³²	71 ¹⁶⁻²⁷	0.33 ²²⁻³¹	38.09 ³⁴⁻⁴⁵
กจ.4	61.00 ³¹⁻³⁸	4.39 ³²⁻⁴¹	2.20 ²¹⁻³²	68 ¹⁸⁻²⁹	0.34 ²²⁻³¹	36.47 ³⁴⁻⁴⁵
ชร.5	58.25 ³³⁻³⁹	4.21 ³²⁻⁴¹	2.16 ²³⁻³²	70 ¹⁶⁻²⁸	0.34 ²²⁻³¹	36.36 ³⁵⁻⁴⁶
ชพ.1	59.50 ³²⁻³⁹	4.20 ³²⁻⁴²	2.13 ²⁴⁻³³	69 ¹⁷⁻²⁸	0.31 ²⁴⁻³²	35.28 ³⁵⁻⁴⁶
นธ.1	53.75 ³⁶⁻⁴⁰	4.14 ³²⁻⁴²	2.09 ²⁵⁻³⁴	71 ¹⁶⁻²⁷	0.31 ²⁴⁻³²	34.84 ³⁶⁻⁴⁷
ยธ.2	57.00 ³⁴⁻⁴⁰	4.09 ³³⁻⁴²	2.08 ²⁶⁻³⁴	67 ¹⁸⁻²⁹	0.31 ²⁴⁻³²	32.59 ³⁷⁻⁴⁷
ชม.3	55.75 ³⁵⁻⁴⁰	4.06 ³³⁻⁴³	1.84 ²⁸⁻³⁰	66 ¹⁹⁻³⁰	0.30 ²⁵⁻³²	31.49 ³⁸⁻⁴⁸
นพ.5	64.50 ²⁷⁻³⁷	4.05 ³³⁻⁴³	1.88 ²⁷⁻³⁵	64 ²¹⁻³⁰	0.29 ²⁶⁻³³	30.42 ³⁹⁻⁴⁸
นศ.3	53.25 ³⁷⁻⁴¹	4.01 ³⁴⁻⁴³	1.57 ³³⁻³⁶	65 ²⁰⁻³⁰	0.29 ²⁶⁻³³	30.09 ⁴⁰⁻⁴⁸
ยธ.4	50.75 ³⁸⁻⁴²	3.98 ³⁵⁻⁴³	1.88 ²⁷⁻³⁵	64 ²¹⁻³⁰	0.29 ²⁶⁻³³	30.54 ³⁹⁻⁴⁸
ปจ.3	50.75 ³⁸⁻⁴²	3.83 ³⁶⁻⁴³	1.77 ²⁹⁻³⁵	66 ¹⁹⁻³⁰	0.29 ²⁶⁻³³	31.49 ³⁹⁻⁴⁸
กจ.3	50.00 ³⁸⁻⁴²	3.82 ³⁶⁻⁴³	1.75 ³⁰⁻³⁵	63 ²²⁻³⁰	0.28 ²⁷⁻³⁴	30.33 ⁴⁰⁻⁴⁵
IRG4	48.25 ³⁹⁻⁴³	3.47 ³⁷⁻⁴³	1.69 ³¹⁻³⁵	63 ²²⁻³⁰	0.28 ²⁷⁻³⁴	30.59 ³⁹⁻⁴⁸
กจ.5	39.0 ⁴⁰⁻⁴⁴	3.46 ³⁷⁻⁴³	1.66 ³²⁻³⁵	63 ²²⁻³⁰	0.27 ²⁷⁻³⁴	25.95 ⁴⁰⁻⁴⁸
ยธ.3	40.75 ⁴¹⁻⁴⁵	3.24 ³⁸⁻⁴³	1.66 ³²⁻³⁵	62 ²³⁻³⁰	0.27 ²⁷⁻³⁴	28.47 ⁴¹⁻⁴⁸
กจ.1	39.25 ⁴²⁻⁴⁶	2.98 ³⁹⁻⁴⁴	1.64 ³²⁻³⁵	62 ²³⁻³⁰	0.27 ²⁷⁻³⁴	27.87 ⁴²⁻⁴⁹
SP1	38.75 ⁴²⁻⁴⁶	2.85 ⁴⁰⁻⁴⁵	1.87 ²⁷⁻³⁵	60 ²⁴⁻³⁰	0.26 ²⁷⁻³⁴	21.03 ⁴³⁻⁴⁹
SP2	38.75 ⁴²⁻⁴⁶	2.64 ⁴¹⁻⁴⁶	1.56 ³⁴⁻³⁶	57 ²⁵⁻³¹	0.20 ²⁸⁻³⁵	19.26 ⁴⁴⁻⁵⁰

ตาราง 14 (ต่อ)

เชื้อโรโซเบียม	ความสูง ของต้น	น้ำหนักแห้ง ของต้น	ไนโตรเจน ในต้น	จำนวน ปม	น้ำหนักแห้ง ของปม	อัตราการตรึงไนโตรเจน ($\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{g}$ nod. dry wt. /h)
(เซนติเมตร)	(กรัม)	(%)	(กรัม)			
มด.1	36.75 ⁴³⁻⁴⁶	2.47 ⁴¹⁻⁴⁷	1.51 ³⁵⁻³⁷	54 ²⁶⁻³²	0.18 ²⁹⁻³⁵	17.43 ⁴⁵⁻⁵⁰
สก.4	33.75 ⁴⁴⁻⁴⁷	2.46 ⁴¹⁻⁴⁷	1.50 ³⁵⁻³⁷	54 ²⁶⁻³²	0.18 ²⁹⁻³⁵	15.85 ⁴⁶⁻⁵⁰
กจ.2	32.8 ⁴⁵⁻⁴⁷	2.32 ⁴²⁻⁴⁷	1.45 ³⁵⁻³⁸	49 ²¹⁻³³	0.16 ³⁰⁻³⁵	14.42 ⁴⁷⁻⁵⁰
สก.1	28.00 ⁴⁶⁻⁴⁸	2.41 ⁴³⁻⁴⁸	1.07 ³⁶⁻³⁹	39 ²⁸⁻³⁴	0.15 ³¹⁻³⁵	11.24 ⁴⁸⁻⁵⁰
ฉช.5	27.00 ⁴⁶⁻⁴⁹	1.20 ⁴⁴⁻⁴⁹	0.90 ³⁷⁻⁴⁰	39 ²⁸⁻³⁴	0.12 ³²⁻³⁵	10.44 ⁴⁸⁻⁵⁰
ชบ.2	19.7 ⁴⁸⁻⁵¹	1.00 ⁴⁵⁻⁴⁹	0.41 ⁴⁰⁻⁴³	36 ²⁹⁻³⁵	0.11 ³²⁻³⁵	7.74 ⁴⁸⁻⁵⁰
ฉช.4	23.3 ⁴⁷⁻⁵⁰	0.96 ⁴⁵⁻⁴⁹	0.95 ³⁷⁻⁴⁰	21 ³⁴⁻³⁶	0.04 ³⁵	6.03 ⁴⁹⁻⁵⁰
ชบ.5	21.75 ⁴⁷⁻⁵⁰	0.76 ⁴⁶⁻⁴⁹	0.83 ³⁹⁻⁴²	29 ³¹⁻³⁶	0.09 ³³⁻³⁵	4.88 ⁵⁰
ปจ.1	17.0 ⁴⁸⁻⁵¹	0.68 ⁴⁷⁻⁴⁹	0.69 ³⁹⁻⁴²	23 ³²⁻³⁶	0.09 ³³⁻³⁵	4.83 ⁵⁰
สค.4	18.3 ⁴⁸⁻⁵¹	0.37 ⁴⁸⁻⁴⁹	0.80 ³⁹⁻⁴²	22 ³³⁻³⁶	0.08 ³⁴⁻³⁵	3.98
สค.5	17.1 ⁴⁸⁻⁵¹	0.18 ⁴⁹	0.47 ⁴⁰⁻⁴³	35 ³⁰⁻³⁵	0.09 ³³⁻³⁵	2.10
สก.2	11.5 ⁵⁰⁻⁵¹	0.16 ⁴²⁻⁴³	0.29 ³⁵⁻³⁶	9	0.03	0
ชบ.1	13.2 ⁵⁰⁻⁵¹	0.14 ³⁹⁻⁴²	0.73 ³⁵⁻³⁶	17	0.03	0.01
ชบ.4	13.2 ⁵⁰⁻⁵¹	0.13	0.37 ⁴¹⁻⁴³	5 ³⁶	0.02	0
สค.3	13.75 ⁵⁰⁻⁵¹	0.10	0.57 ³⁹⁻⁴³	9 ³⁵⁻³⁶	0.01	0
สค.1	27.00 ⁴⁶⁻⁴⁹	0.09	0.83 ³⁹⁻⁴²	20 ³⁴⁻³⁶	0.01	0.34
สค.2	14.5 ⁴⁹⁻⁵¹	0.08	0.34 ⁴¹⁻⁴³	12 ³⁵⁻³⁶	0.01	0
control	7.00 ⁵¹	0.07	0.01 ⁴³	0 ³⁷	0.00	0
F-test	16.75*	11.64*	8.94*	4.28*	6.32*	9.44*
C.V(%)	14.25	24.06	18.46	28.62	34.17	32.20

หมายเหตุ * มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

ตัวเลขอารบิกข้างบนตัวเลขโรมันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
ที่ระดับ 0.05

ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) การครึ่งไนโตรเจนของเชื้อไรโซเบียมร่วมกับโสนอินเดีย
 ผลจากการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ การครึ่งไนโตรเจนของเชื้อไรโซเบียม
 ร่วมกับโสนอินเดีย พบว่า ความสูงน้ำหนักแห้งของต้น ไนโตรเจนในดิน จำนวนปม น้ำหนักแห้ง
 ของปม และอัตราการครึ่งไนโตรเจนมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01
 ซึ่งมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์กันดังนี้ ความสูงกับน้ำหนักแห้งของต้น ไนโตรเจนในดิน จำนวนปม
 น้ำหนักแห้งของปม และอัตราการครึ่งไนโตรเจนมีค่า $r = 0.66, 0.67, 0.68, 0.68, 0.68$
 ตามลำดับ และพบว่าน้ำหนักแห้งของต้นมีความสัมพันธ์กับไนโตรเจนในดิน จำนวนปม น้ำหนักแห้งของ
 ปมและอัตราการครึ่งไนโตรเจนมีค่า $r = 0.99, 0.98, 0.96, 0.94$ ตามลำดับ ส่วนไนโตรเจน
 ในดินมีความสัมพันธ์กับจำนวนปม น้ำหนักแห้งของปมและอัตราการครึ่งไนโตรเจนมีค่า $r = 0.98,$
 $0.98, 0.97$ ตามลำดับ และไนโตรเจนในดินมีความสัมพันธ์กับ จำนวนปม น้ำหนักแห้งของปม และ
 อัตราการครึ่งไนโตรเจนมีค่า $r = 0.98, 0.98, 0.97$ ตามลำดับ ส่วนจำนวนปมมีความสัมพันธ์
 กับ น้ำหนักแห้งของปม อัตราการครึ่งไนโตรเจนมีค่า $r = 0.99, 0.99$ ตามลำดับ และน้ำหนัก
 แห้งของปมมีความสัมพันธ์กับอัตราการครึ่งไนโตรเจนมีค่า $r = 0.99$ ดังแสดงในตาราง 15

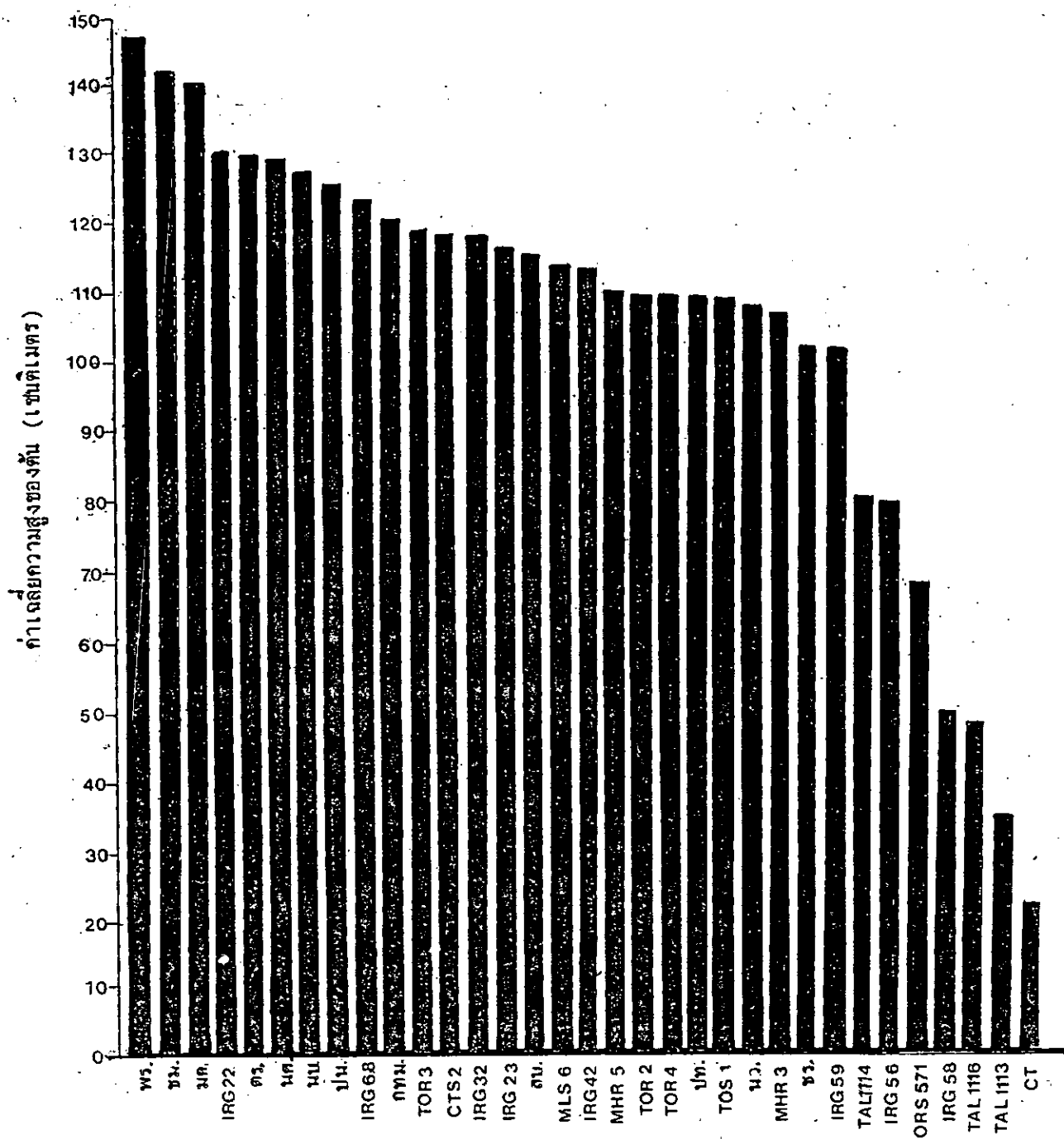
ตาราง 15 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficients) การตรึงไนโตรเจน
ของเชื้อไรโซเบียมร่วมกับโสนอินเดีย

การทดสอบ	น้ำหนักแห้งของปม (กรัม)	ไนโตรเจน ในต้น (%)	จำนวน ปม	น้ำหนักแห้ง ของปม (กรัม)	อัตราการตรึงไนโตรเจน ($\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{g}$ nod. dry wt. /h)
ความสูงของต้น					
เซนติเมตร	0.66	0.67	0.68	0.68	0.68
น้ำหนักแห้งของต้น					
(กรัม)		0.99	0.98	0.96	0.94
ไนโตรเจนในต้น					
(%)			0.98	0.98	0.97
จำนวนปม/ต้น				0.99	0.99
น้ำหนักแห้งของปม					
(กรัม)					0.99

มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01

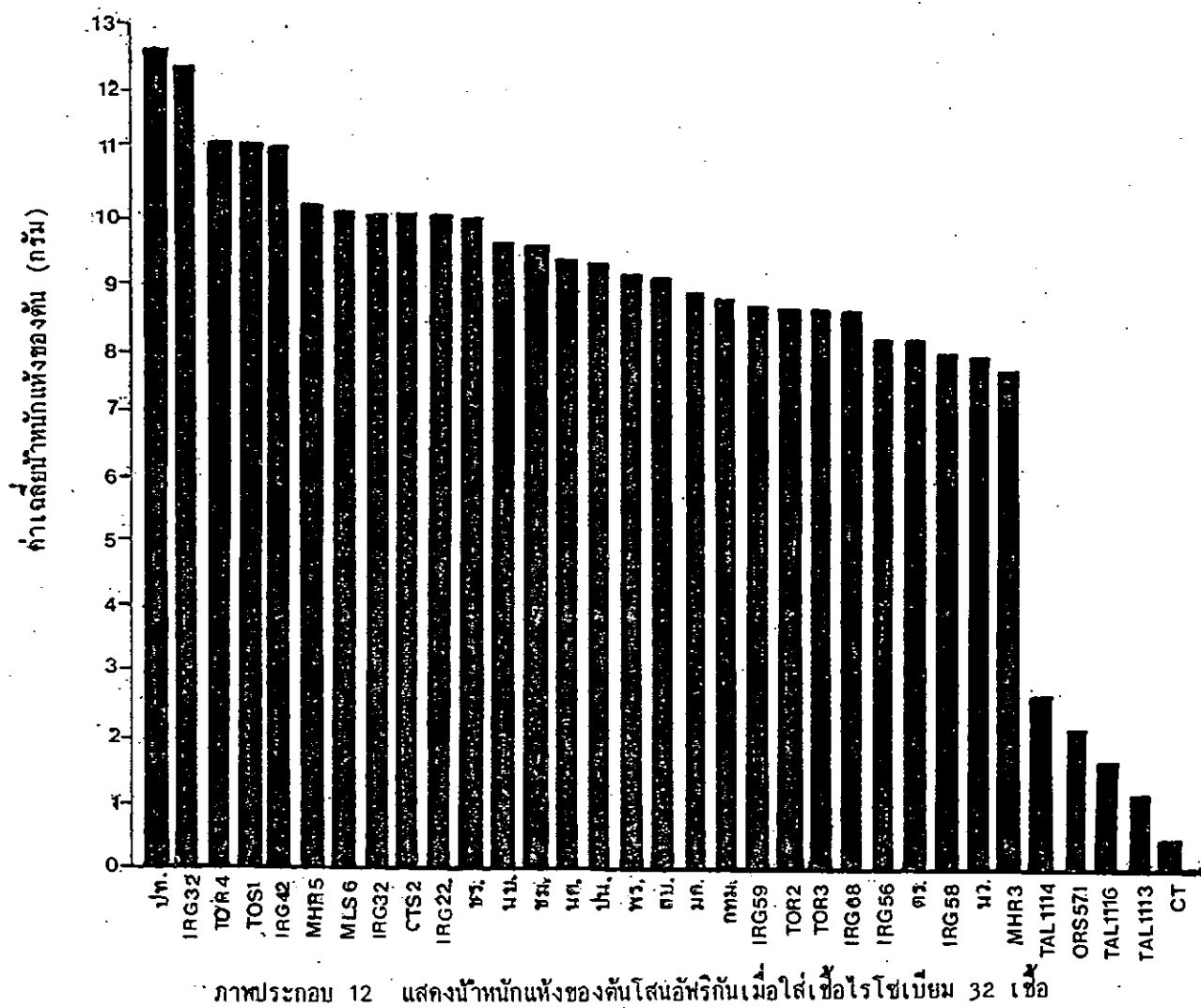
3.2 ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของเชื้อไรโซเบียมแต่ละเชื้อร่วมกับโสนอัฟริกัน

3.2.1 ความสูงของต้น มีค่าเฉลี่ยตั้งแต่ 22.10 - 148.00 เซนติเมตรการใส่เชื้อไรโซเบียม 32 เชื้อรวมทั้งไม่ใส่เชื้อไรโซเบียม ทำให้ส่วนสูงของต้นโสนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สามารถแบ่งไรโซเบียมออกเป็นกลุ่มตามความสูงของต้นโสน โดยวิธี DMRT. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 เชื้อไรโซเบียมที่ทำให้ต้นโสนมีความสูงอยู่ในกลุ่มสูงได้แก่เชื้อ พร., ชม., มก., IRG22, ตง., นศ., นม., ปน., IRG68, กทม., TOR3, CTS32, IRG32 มีความสูงเฉลี่ย 148.00, 142.50, 141.40, 131.63, 131.08, 128.90, 125.83, 123.48, 120.75, 119.45, 118.20, 118.05 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนต้นโสนที่ไม่ใส่เชื้อมีความสูงต่ำสุด 22.10 เซนติเมตร และต้นโสนที่ใส่เชื้อ IRG58, TAL1116, TAL1113, แม้จะสูงกว่าต้นโสนที่ไม่ใส่เชื้อ แต่ก็แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตาราง 16 และภาพประกอบ 11

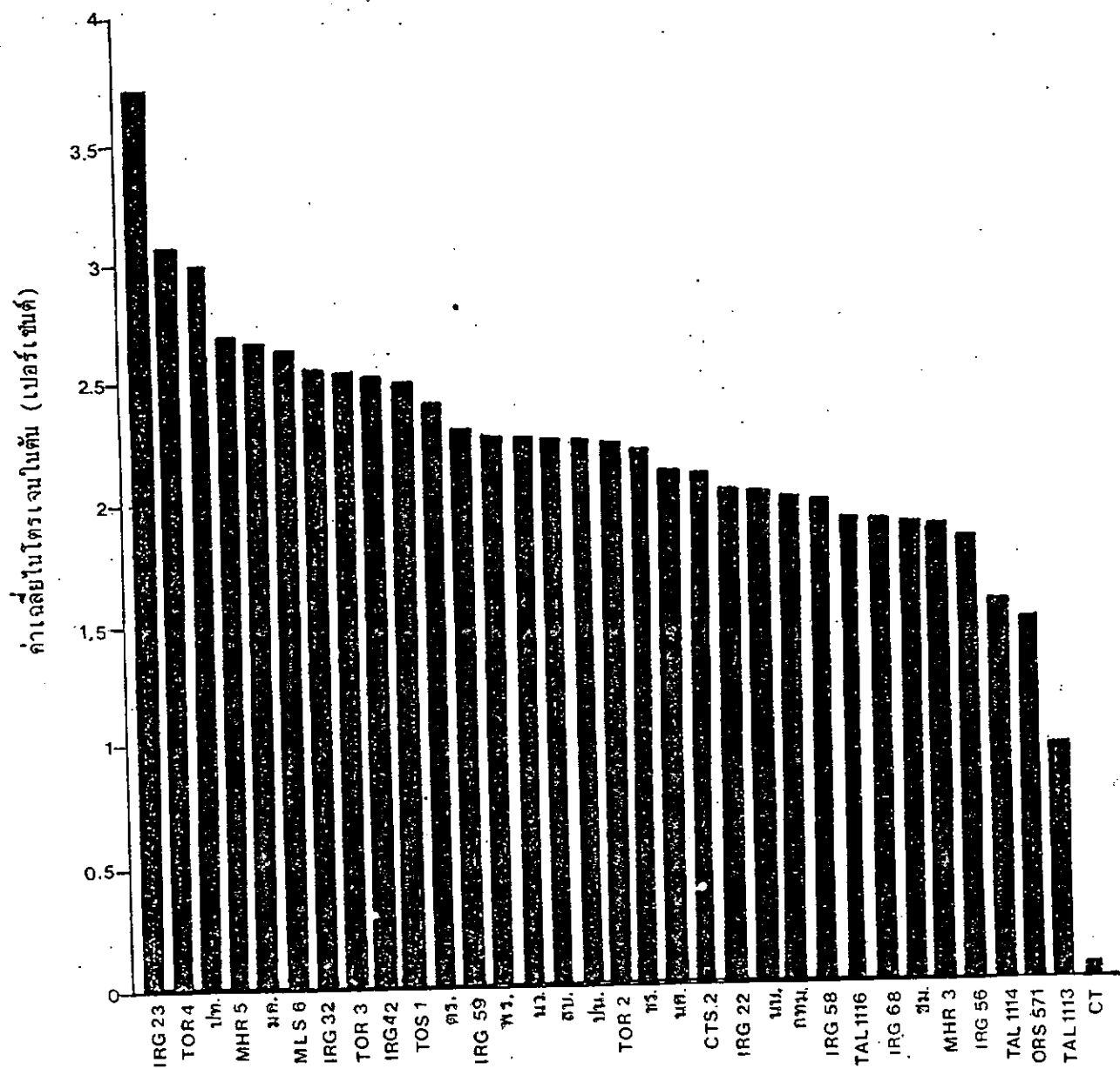


ภาพประกอบ 11 แสดงความสูงของต้นโสน้ำพรก้นเมื่อใส่เชื้อไรโซเบียม 32 เชื้อ

3.2.2 น้ำหนักแห้งของต้น มีค่าเฉลี่ยตั้งแต่ 0.47 - 12.59 กรัม การใส่เชื้อไรโซเบียม 32 เชื้อ รวมทั้งไม่ใส่เชื้อไรโซเบียมทำให้ต้นโสนมีน้ำหนักแห้งของต้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สามารถแบ่งไรโซเบียมออกเป็นกลุ่มตามน้ำหนักแห้งของต้นโสน โดยวิธี DMRT อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 เชื้อไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพในการทำให้ต้นโสนเจริญเติบโตมีน้ำหนักแห้งของต้นอยู่ในกลุ่มสูง ได้แก่ เชื้อ ปท., IRG23, TOS4, TOS1, IRG42, MHR5, MLS6, IRG32, CTS2, IRG22, ชร. มีน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 12.59, 12.25, 11.41, 11.32, 11.31, 10.97, 10.49, 10.37, 10.15, 10.11, 10.05 กรัมต่อต้นตามลำดับ ส่วนต้นโสนที่ไม่ใส่เชื้อมีน้ำหนักแห้งต่ำสุด 0.47 กรัม และต้นโสนที่ใส่เชื้อ TAL1114, ORS571, TAL1116, TAL1113, มีน้ำหนักแห้งของต้นสูงกว่าต้นโสนที่ไม่ใส่เชื้อแต่ก็แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตาราง 16 และภาพประกอบ 12

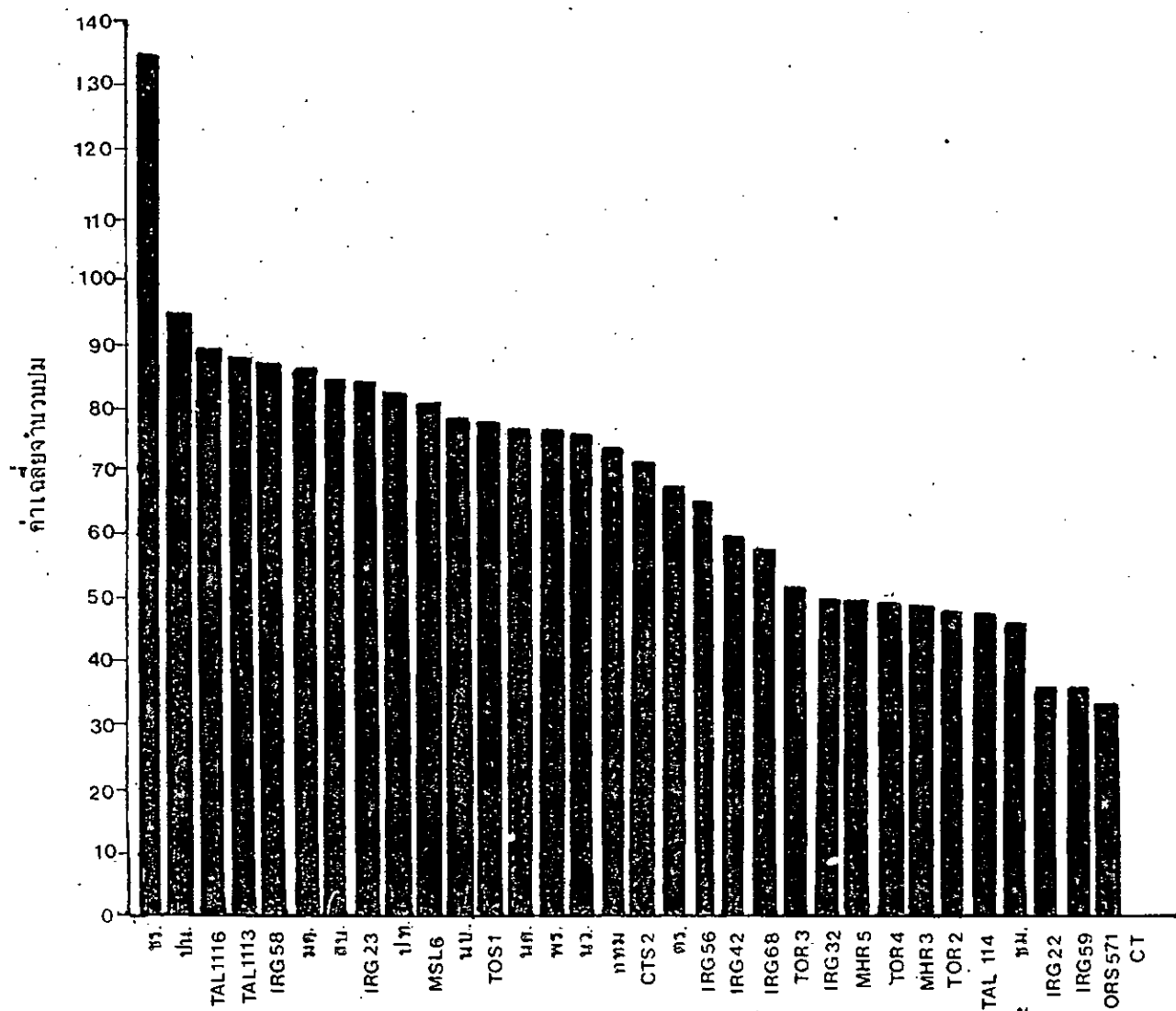


3.2.3 ในโครเจนในต้น มีค่าเฉลี่ย 0.99 - 3.72 เปอร์เซ็นต์ การใส่เชื้อไรโซเบียม 32 เชื้อ รวมทั้งไม่ใส่เชื้อไรโซเบียมทำให้ในโครเจนทั้งหมดในต้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สามารถแบ่งไรโซเบียมออกเป็นกลุ่มตามในโครเจนในต้นโดยวิธี DMRT. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 เชื้อไรโซเบียมที่ให้ในโครเจนในต้นอยู่ในกลุ่มสูง ได้แก่ สายพันธุ์ IRG 23 มีในโครเจนในต้น 3.72 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพในการทำให้ในโครเจนในต้นสูงและมีแนวโน้มว่าจะมีประสิทธิภาพสูงด้วยได้แก่เชื้อ TOR4, ปท., MHR5, มค., MLS6, IRG32, TOR3, IRG42, TOS1 มีในโครเจนในต้นเฉลี่ย 3.10, 3.00, 2.72, 2.70, 2.64, 2.60, 2.58, 2.56, 2.52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนต้นโสนที่ไม่ใส่เชื้อมีในโครเจนในต้นต่ำสุด 0.09 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในตาราง 16 และภาพประกอบ 13



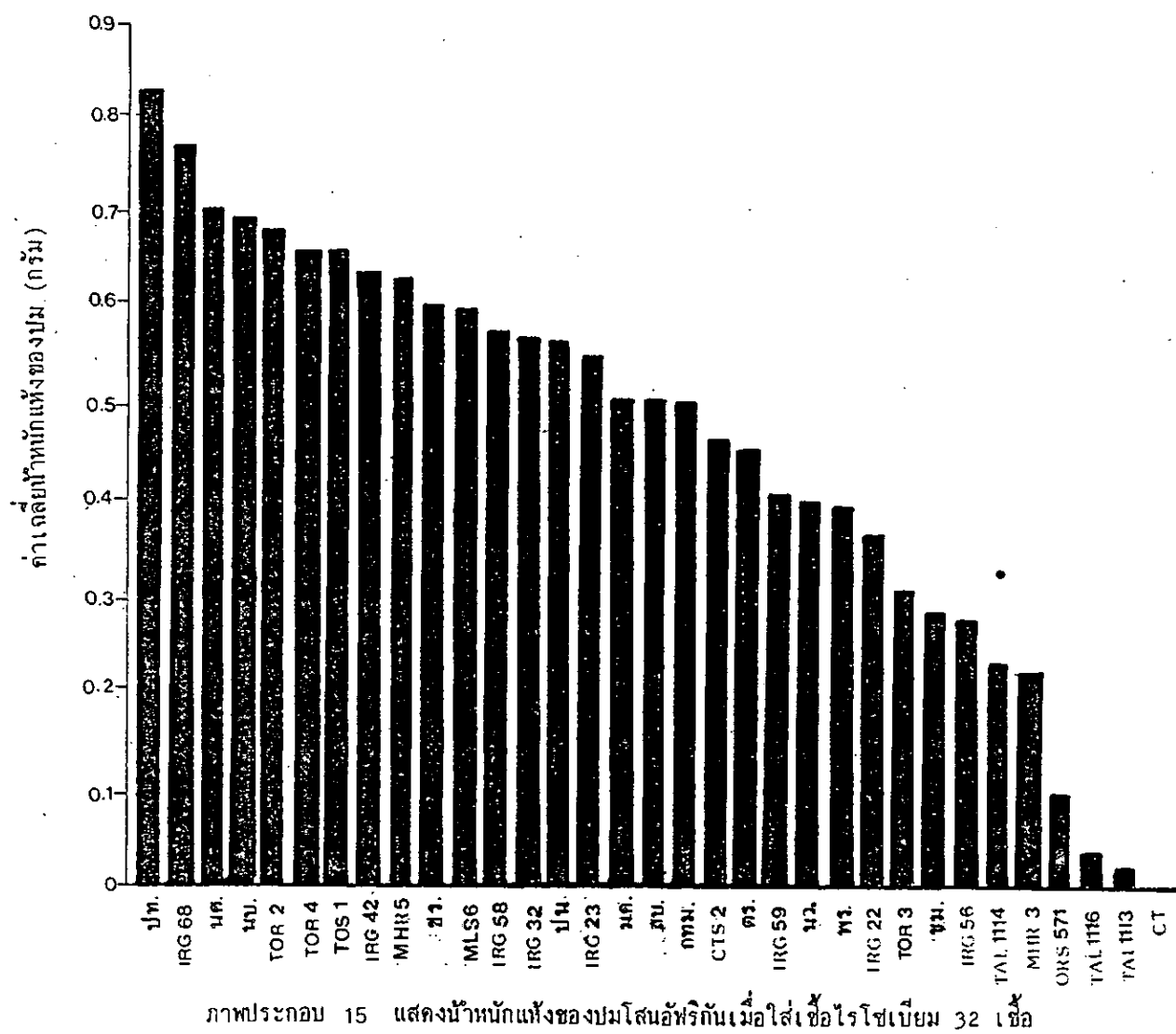
ภาพประกอบ 13 แสดงในโตรเจนในต้นสโตนัฟร็อกเมื่อใส่เชื้อโรโซเบียม 32 เชื้อ

3.2.4 จำนวนปมมีค่าเฉลี่ยตั้งแต่ 0 - 135 ปม การใส่เชื้อไรโซเบียม 32 เชื้อ รวมทั้งไม่ใส่เชื้อไรโซเบียม ทำให้ต้นโสนมีจำนวนปมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สามารถแบ่งกลุ่มไรโซเบียมตามความสามารถในการทำให้โสนเกิดปมโดยวิธี DMRT อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 เชื้อไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพในการทำให้เกิดปมอยู่ในกลุ่มสูงได้แก่เชื้อ ชร. มีจำนวนปมเฉลี่ย 135 ปม ซึ่งแตกต่างกันไปจากเชื้ออื่น ๆ อย่างเห็นได้ชัด เชื้อไรโซเบียมที่ให้จำนวนปมรองลงมาได้แก่ ปน, TAL1116, TAL1113, IRG58, มค., สบ., IRG23, ปท., MLS6, นบ., TOS1, นศ., พร., นว., กทม., CTS2, คง., IRG56, IRG42, มีจำนวนปมเฉลี่ย 93, 88, 87, 86, 85, 83, 83, 82, 80, 78, 77, 76, 76, 75, 75, 71, 67, 64, 59 ปม ตามลำดับ และมีเชื้อไรโซเบียมอื่น ๆ อีกหลายเชื้อได้แก่ MHR5, IRG32, TOR3, TOR4, TOR2 มีจำนวนปมเฉลี่ย 49, 49, 51, 48, 47 ปม ตามลำดับ ซึ่งเชื้อเหล่านี้ มีแนวโน้มว่าเป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูง และครึ่งไนโตรเจนสูงด้วย ส่วนต้นโสนที่ไม่ใส่เชื้อไรโซเบียมก็ไม่สามารถเกิดปมได้ ดังแสดงในตาราง 16 และภาพประกอบ 14



ภาพประกอบ 14 แสดงจำนวนสถานีของสถานีที่ต่างกันเมื่อใส่เชื้อโรโซเนียม 32 เซอ

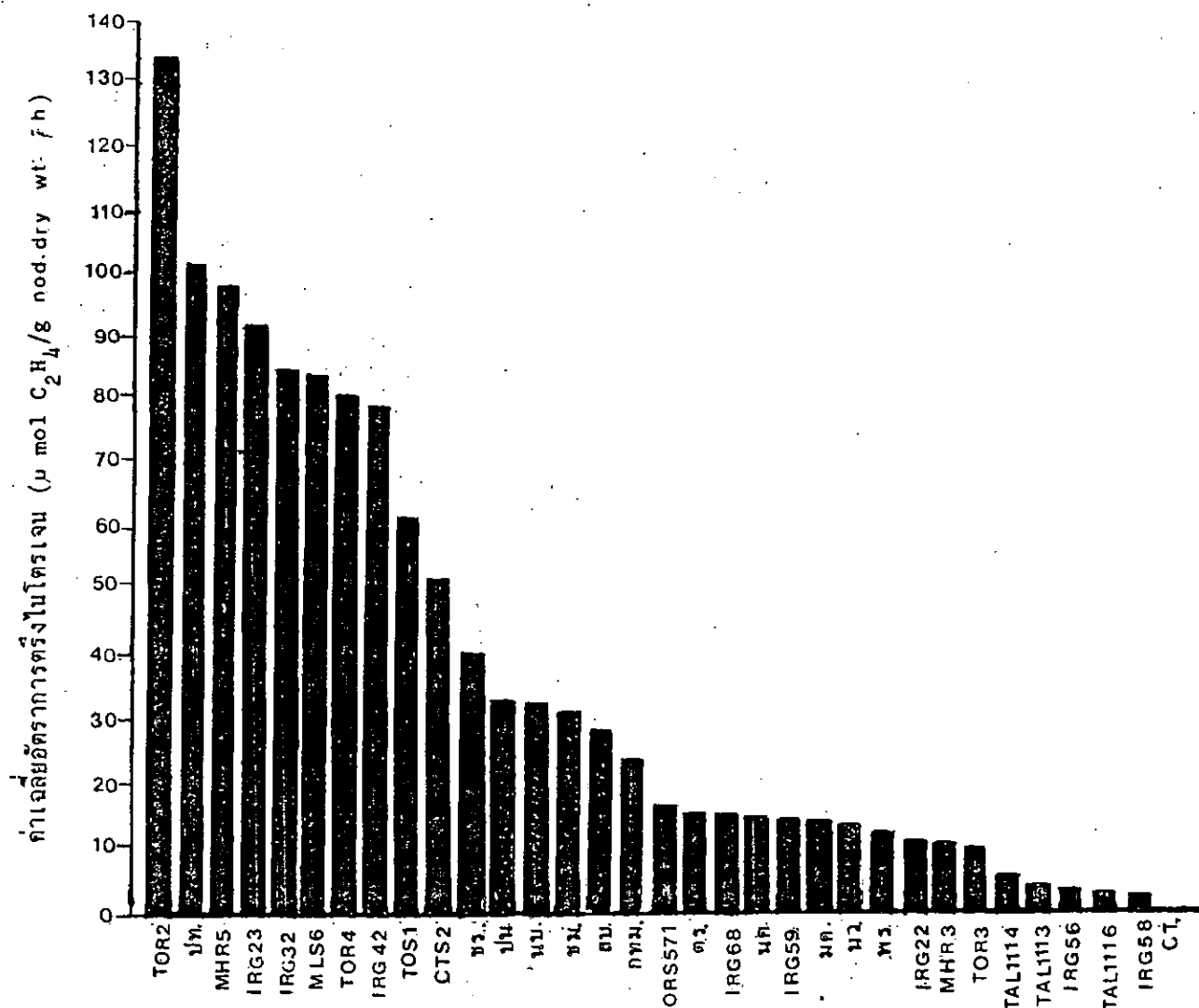
3.2.5 น้ำหนักแห้งปม มีค่าเฉลี่ยตั้งแต่ 0 - 0.83 กรัม การใส่เชื้อ
 โรโซเบียม 32 เชื้อรวมทั้งไม่ใส่เชื้อทำให้ต้นโสนมีน้ำหนักแห้งของปมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ
 ทางสถิติสามารถแบ่งโรโซเบียมออกเป็นกลุ่มตามความสามารถในการให้น้ำหนักแห้งปมโดยวิธีนี้
 DMRT. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 เชื้อโรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเนื้อเยื่อปม
 ให้มีน้ำหนักแห้งปมอยู่ในกลุ่มสูง ได้แก่ เชื้อ ปท., IRG68, นศ., นบ., TOR2, TOS1, TOR4,
 IRG42, MHR5 มีน้ำหนักแห้งปมเฉลี่ย 0.83, 0.76, 0.70, 0.70, 0.67, 0.66, 0.66,
 0.63, 0.62 กรัม ความล้าคืบ ส่วนต้นโสนที่ใส่เชื้อ ORS571, TAL1116, TAL1113 มี
 น้ำหนักแห้งปมแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติกับต้นโสนที่ไม่ใส่เชื้อโรโซเบียม ดังแสดงใน
 ตาราง 16 และภาพประกอบ 15



3.2.6 อัตราการตรึงไนโตรเจน มีค่าเฉลี่ยตั้งแต่ 0 - 134 μmol

$\text{C}_2\text{H}_4/\text{g nod. dry wt. /h}$ การใส่เชื้อไรโซเบียม 32 เชื้อรวมทั้งไม่ใส่เชื้อไรโซเบียมทำให้อัตราการตรึงไนโตรเจนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สามารถแบ่งไรโซเบียมออกเป็นกลุ่มตามอัตราการตรึงไนโตรเจนโดยวิธี DMRT. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 เชื้อไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพในการทำให้โสนมีอัตราการตรึงไนโตรเจนอยู่ในกลุ่มสูงได้แก่ สายพันธุ์ TOR 2 มีอัตราการตรึงไนโตรเจนเฉลี่ย 134.52 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{g nod. dry wt. /h}$ และมีไรโซเบียมอีกหลายเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการทำให้ต้นโสนมีอัตราการตรึงไนโตรเจนสูงได้แก่ เชื้อ ปท, MHR5, IRG23, TRG32, MLS6, TOR4, IRG42 มีอัตราการตรึงไนโตรเจนเฉลี่ย 100.78, 97.21, 91.76, 84.25, 82.49, 80.63, 78.14 $\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{g nod. dry wt. /h}$ ตามลำดับ ส่วนต้นโสนที่ใส่เชื้อไรโซเบียม สายพันธุ์ IRG56, TAL1113, TAL1114, TAL1116, IRG58 มีอัตราการตรึงไนโตรเจนแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ กับต้นโสนที่ไม่ใส่เชื้อไรโซเบียม

ดังแสดงใน ตาราง 16 และภาพประกอบ 16



ภาพประกอบ 16 แสดงอัตราการตรึงไนโตรเจนของต้นโสนอัฟริกันเมื่อใส่เชื้อไรโซเบียม 32 เชื้อ

ตาราง 16 ประสิทธิภาพของเชื้อโรโซเบียมแต่ละเชื้อในการตรึงไนโตรเจนร่วมกับโสนั้วรีกัน
เมื่ออายุ 50 วัน

เชื้อโรโซเบียม	ความสูง ของต้น (เซนติเมตร)	น้ำหนักแห้ง ของต้น (กรัม)	ไนโตรเจน ในต้น (%)	จำนวน ปม	น้ำหนักแห้ง ของปม (กรัม)	อัตราการตรึงไนโตรเจน ($\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{g}$ nod. dry wt. /h)
ปท.	111.15 ²⁻⁴	12.59 ¹	3.00 ²⁻³	82 ²⁻⁴	0.83 ¹	100.78 ²
IRG23	117.23 ²⁻⁴	12.25 ¹⁻²	3.72 ¹	83 ²⁻³	0.54 ³⁻⁷	91.76 ³
TOR4	111.93 ²⁻⁴	11.41 ¹⁻³	3.1 ²	48 ⁶⁻⁸	0.66 ¹⁻⁴	80.63 ⁴
TOS1	110.55 ³⁻⁴	11.32 ¹⁻³	2.52 ²⁻⁸	77 ²⁻⁶	0.66 ¹⁻⁴	62.61 ⁵
IRG42	113.89 ²⁻⁴	11.31 ¹⁻³	2.56 ²⁻⁷	59 ³⁻⁸	0.64 ¹⁻⁴	78.16 ⁴
MHR5	112.40 ²⁻⁴	10.97 ¹⁻⁴	2.72 ²⁻⁴	49 ⁵⁻⁸	0.62 ¹⁻⁵	97.21 ²
MLS6	114.85 ²⁻⁴	10.49 ¹⁻⁵	2.64 ²⁻⁵	80 ²⁻⁵	0.59 ²⁻⁶	82.49 ⁴
IRG32	118.05 ¹⁻⁴	10.37 ¹⁻⁵	2.60 ¹⁻⁶	49 ⁵⁻⁸	0.56 ²⁻⁷	84.25 ⁴
CTS2	118.20 ¹⁻⁴	10.15 ¹⁻⁵	2.16 ⁴⁻¹⁰	71 ²⁻⁷	0.45 ⁴⁻⁸	51.83 ⁶
IRG22	131.53 ¹⁻⁴	10.11 ¹⁻⁵	2.15 ⁴⁻¹⁰	35 ⁸	0.36 ⁷⁻¹⁰	11.88 ¹¹⁻¹³
ชร.	104.45 ⁴⁻⁵	10.05 ¹⁻⁶	2.21 ⁴⁻¹⁰	135 ¹	0.60 ²⁻⁶	41.08 ⁷
ทพ.	128.9 ¹⁻⁴	9.59 ²⁻⁶	2.10 ⁴⁻¹⁰	78 ²⁻⁶	0.70 ¹⁻³	33.25 ⁸
ทม.	142.50 ¹⁻²	9.58 ²⁻⁶	1.90 ³⁻¹¹	45 ⁷⁻⁸	0.30 ⁸⁻¹¹	31.37 ⁸
นศ.	130.08 ¹⁻⁴	9.37 ³⁻⁶	2.16 ⁴⁻⁹	76 ²⁻⁷	0.70 ¹⁻³	15.42 ¹¹⁻¹²
ปบ.	125.83 ¹⁻⁴	9.24 ³⁻⁶	2.25 ⁴⁻⁹	93 ²	0.55 ²⁻⁷	33.42 ⁸
พร.	148. ¹	9.12 ³⁻⁶	2.30 ⁴⁻¹⁰	76 ²⁻⁷	0.39 ⁶⁻¹⁰	12.66 ¹¹⁻¹²
สบ.	116.65 ²⁻⁴	9.03 ³⁻⁶	2.26 ⁴⁻¹⁰	83 ²⁻³	0.49 ³⁻⁸	28.61 ⁸⁻⁹
มค.	141.40 ¹⁻³	8.82 ³⁻⁶	2.70 ²⁻⁴	85 ²⁻³	0.50 ³⁻⁸	14.47 ¹¹⁻¹²
กทม.	120.75 ¹⁻⁴	8.71 ³⁻⁶	2.03 ⁵⁻¹⁰	73 ²⁻⁷	0.48 ³⁻⁸	24.39 ⁹⁻¹⁰
IRG59	103.43 ⁴⁻⁵	8.71 ³⁻⁶	2.30 ⁵⁻¹⁰	35 ⁸	0.41 ⁵⁻¹⁰	15.04 ¹¹⁻¹²

ตาราง 14 (ต่อ)

เชื้อโรโซเปียม	ความสูง ของต้น (เซนติเมตร)	น้ำหนักแห้ง ของต้น (กรัม)	ไนโตรเจน ในต้น (%)	จำนวน ปม	น้ำหนักแห้ง ของปม (กรัม)	อัตราการตรึงไนโตรเจน ($\mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{g}$ nod. dry wt. /h)
TOR2	111.95 ²⁻⁴	8.62 ³⁻⁶	2.24 ⁴⁻¹⁰	47 ⁶⁻⁸	0.67 ²⁻³	134.52 ¹
TOR3	119.45 ¹⁻⁴	8.61 ³⁻⁶	2.58 ²⁻⁶	51 ⁴⁻⁸	0.31 ⁸⁻¹¹	10.62 ¹²⁻¹⁴
IRG68	123.39 ¹⁻⁴	8.51 ³⁻⁶	1.91 ⁸⁻¹¹	57 ³⁻⁸	0.76 ¹⁻²	16.67 ¹¹⁻¹²
IRG56	79.18 ⁵⁻⁶	8.15 ⁴⁻⁶	1.85 ⁹⁻¹⁰	64 ²⁻⁸	0.29 ⁸⁻¹¹	3.92 ¹⁴⁻¹⁵
คร.	131.13 ²⁻⁴	8.13 ⁴⁻⁶	2.39 ³⁻⁹	67 ²⁻⁷	0.44 ⁴⁻⁹	16.94 ¹¹⁻¹²
IRG58	49.45 ⁷⁻⁸	7.99 ⁵⁻⁶	1.96 ⁶⁻¹¹	86 ²⁻³	0.57 ²⁻⁷	2.2 ¹⁵
นว.	109.45 ⁴	7.82 ⁵⁻⁶	2.27 ⁴⁻⁹	75 ²⁻⁷	0.41 ⁵⁻¹⁰	14.23 ¹¹⁻¹²
MHR3	107.78 ⁴	7.17 ⁶	1.89 ⁸⁻¹¹	48 ⁶⁻⁸	0.22 ¹⁰⁻¹²	11.24 ¹²⁻¹³
TAL1114	80 ⁵⁻⁶	2.63 ⁷	1.61 ¹⁰⁻¹¹	47 ⁶⁻⁸	0.23 ⁹⁻¹²	5.25 ¹³⁻¹⁵
ORS571	68.90 ⁶⁻⁷	2.10 ⁷	1.41 ¹¹⁻¹²	33 ⁸	0.11 ¹¹⁻¹³	18.89 ¹⁰⁻¹¹
TAL1116	47.38 ⁷⁻⁸	1.66 ⁷	1.92 ⁷⁻¹¹	88 ²⁻³	0.08 ¹²⁻¹³	2.61 ¹⁵
TAL1113	33.48 ⁸	1.06 ⁷	0.94 ¹²	87 ²⁻³	0.04 ¹²⁻¹³	4.33 ¹⁴⁻¹⁵
Control	22.1 ⁸	0.47 ⁷	0.09 ¹³	0 ⁹	0 ¹³	0 ¹⁵
F - test	11.42 ^{**}	14.43 ^{**}	11.38 ^{**}	6.88 ^{**}	10.88 ^{**}	267.67 ^{**}
(C.V%)	14.78	17.37	14.72	24.59	24.39	10.26

หมายเหตุ ** มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01

ตัวเลขอารบิกข้างบนตัวเดียวกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
ที่ระดับ 0.01

ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) การตรึงไนโตรเจนของเชื้อไรโซเบียมร่วมกับโสนอัฟริกัน

ผลจากการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์การตรึงไนโตรเจนของเชื้อไรโซเบียมร่วมกับ

โสนอัฟริกัน พบว่า ความสูงของต้นมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับน้ำหนักแห้งของต้น

ไนโตรเจนในต้น น้ำหนักแห้งของปม และอัตราการตรึงไนโตรเจนมีค่า $r = 0.43^*$, 0.40^* ,

0.25^* , 0.31^* ตามลำดับ แต่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างส่วนสูงกับจำนวนปม ส่วนน้ำหนักแห้งของต้น

พบว่ามีสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับไนโตรเจนในต้น จำนวนปม น้ำหนักแห้งของต้นและ

อัตราการตรึงไนโตรเจนมีค่า $r = 0.75^{**}$, 0.23^* , 0.67^{**} , 0.83^{**} , ตามลำดับและไนโตรเจน

ในต้นพบว่ามีสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับน้ำหนักแห้งของปม อัตราการตรึงไนโตรเจน มีค่า

$r = 0.56^{**}$, 0.71^{**} ตามลำดับ แต่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างไนโตรเจนในต้นกับจำนวนปม

ส่วนจำนวนปมพบว่ามีสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับน้ำหนักแห้งของปมมีค่า $r = 0.27^*$

และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนปมกับอัตราการตรึงไนโตรเจน ส่วนน้ำหนักแห้งของปมพบว่า

มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับอัตราการตรึงไนโตรเจนมีค่า $r = 0.71^{**}$ ดังแสดง

ในตาราง 17

ตาราง 17 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ การตรึงไนโตรเจนของเชื้อไรโซเบียมร่วมกับโสนแอฟริกัน

การทดสอบ	น้ำหนักแห้งของต้น (กรัม)	ไนโตรเจน ในต้น (%)	จำนวน ปม	น้ำหนักแห้ง ของปม (กรัม)	อัตราการตรึงไนโตรเจน (mol C ₂ H ₄ /g nod. dry wt. /h)
ความสูงของต้น					
เซนติเมตร	0.43 [*]	0.40 [*]	0.04	0.25 [*]	0.31 [*]
น้ำหนักแห้งของต้น (กรัม)		0.75 ^{**}	0.23 [*]	0.67 ^{**}	0.83 ^{**}
ไนโตรเจน ในต้น (%)			0.21	0.56 ^{**}	0.71 ^{**}
จำนวนปม				0.27 [*]	0.07
น้ำหนักแห้งของปม (กรัม)					0.71 ^{**}

* แสดงถึงความมีสหสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

** แสดงถึงความมีสหสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01

สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

ความมุ่งหมายของการศึกษาค้นคว้า

1. เพื่อจำแนกเชื้อไรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติจากดินตัวอย่างโดยอาศัยลักษณะทางเซรุ่มวิทยา
2. เพื่อคัดเลือกเชื้อไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพสูงในการตรึงไนโตรเจนร่วมกับโสน

วิธีดำเนินการศึกษาค้นคว้า

1. การแยกเชื้อบริสุทธิ์จากปมธรรมชาติที่เก็บได้จากดินตัวอย่าง
 - 1.1 เก็บดินตัวอย่าง 31 ตัวอย่าง บรรจุในแต่ละตัวอย่างลงกระถางพลาสติก
 - 1.2 ทำการเพาะเมล็ดโสนอินเดีย และโสนอัฟริกัน
 - 1.3 ปลุกโสนอินเดียลงในดินตัวอย่าง 25 ตัวอย่าง โสนอัฟริกัน 12 ตัวอย่าง
 - 1.4 แยกเชื้อบริสุทธิ์จากธรรมชาติที่เก็บได้จากดินแต่ละตัวอย่าง
 - 1.5 ทดสอบการเกิดปมกับถั่วชิราโตร
 - 1.6 ตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้อก่อนเก็บเชื้อไว้ทดลองขึ้นคอนต่อไป
 - 1.7 ทดสอบคุณสมบัติบางประการของเชื้อที่แยกได้จากปมธรรมชาติ รวมทั้งเชื้อที่นำมาจาก IRRI และห้องปฏิบัติการไรโซเบียม
2. การจำแนกเชื้อไรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติโดยลักษณะทางเซรุ่มวิทยา
 - 2.1 เตรียมแอนติเจนไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐานเพื่อทำเซรุ่ม
 - 2.2 การกระตุ้นกระต่าย
 - 2.3 เจาะเลือดกระต่ายเพื่อตรวจวัดระดับไตเตอร์

2.4 การศึกษาปฏิกริยาระหว่างแอนติเจนของเชื้อโรโซเบียมที่แยกได้จากปม
ธรรมชาติกับแอนติบอดีของโรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน

2.5 สรุปผลการทดลอง

3. การทดสอบประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของเชื้อโรโซเบียมแต่ละเชื้อร่วมกับโสน
อินเดียและโสนอัฟริกันในลีโอนาร์ดจา

3.1 วางแผนทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์

3.2 เลี้ยงเชื้อโรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติ จาก IRRI และจากห้อง
ปฏิบัติการโรโซเบียม

3.3 เตรียมลีโอนาร์ดจา

3.4 เตรียมเพาะเมล็ด โสนอินเดีย และโสนอัฟริกันในจานเลี้ยงเชื้อ

3.5 ปลูโสนทั้ง 2 ชนิด ลงในลีโอนาร์ดจา

3.6 เก็บเกี่ยวผลเมื่อโสนอายุได้ 50 วัน

3.7 การประเมินประสิทธิภาพของโรโซเบียมแต่ละเชื้อประเมินจาก

3.7.1 วัคส่วนสูงของต้น

3.7.2 วัคอัตราการตรึงไนโตรเจน

3.7.3 นับจำนวนปม

3.7.4 ชั่งน้ำหนักแห้งของต้น

3.7.5 วิเคราะห์หา ไนโตรเจนในต้น

3.7.6 ชั่งน้ำหนักแห้งของปม

3.7.7 การวิเคราะห์ข้อมูลใช้สถิติ One way analysis of variance

3.7.8 ตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's new
multiple range test

สรุปผลการค้นคว้า

จากการเก็บดินตัวอย่างจากแหล่งต่าง ๆ ของประเทศไทย 31 ตัวอย่าง นำมาปลูก โสนอินเดีย 25 ตัวอย่าง โสนอัฟริกัน 12 ตัวอย่าง เพื่อทำการคัดเลือกเชื้อไรโซเบียมที่มี ประสิทธิภาพเมื่ออยู่ร่วมกับโสนอินเดียและโสนอัฟริกัน ปรากฏว่าดินแต่ละตัวอย่างมีไรโซเบียม อยู่โดยธรรมชาติมีทั้งไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพ และไม่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนทำให้ โสนเกิดปมที่รากได้แตกต่างกัน เช่นดินตัวอย่างจากจังหวัดตรัง เพชรบูรณ์ นครราชสีมา เชียงราย สระบุรี ยะลา สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช สงขลา ทำให้โสนเกิดปมที่มีประสิทธิภาพและมีจำนวน มาก ดินโสนเจริญเติบโตได้ดี ส่วนดินที่นำมาจากจังหวัดเชียงใหม่ แพร่ จะเข้ เจริญ ทาฉะ จันทบุรี ลำปาง ระยอง เกิดปมได้ในระดับปานกลางมีทั้งปมปกติและผิดปกติดินโสนเจริญเติบโตได้แคบและ ลำต้นมีสีเหลืองซีดและดินตัวอย่างจากจังหวัดอุดรธานี ชุมพร ขอนแก่น ชลบุรี นราธิวาส เกิดปมได้น้อย มีทั้งปมใหญ่และเล็กดินโสนเจริญเติบโตได้ไม่เต็มที่ ปรากฏว่าดินตัวอย่างที่นำมาจากจังหวัดศรีสะเกษ ประจวบคีรีขันธ์ มหาสารคาม นครพนม และสกล ทำให้โสนเกิดปมที่ไม่มีประสิทธิภาพ ดินโสนแกระ แกรน สำหรับดินตัวอย่างที่นำมาปลูกโสนอัฟริกัน เกือบทุกตัวอย่างดินทำให้โสนเกิดปมไม่แตกต่างกัน

เมื่อทำการแยกเชื้อไรโซเบียมของโสนอินเดีย และโสนอัฟริกันจากปมธรรมชาติที่เก็บได้ จากดินแต่ละตัวอย่าง ตัวอย่างละ 5 isolates และ 1 isolates ตามลำดับ สามารถเก็บเชื้อ ไรโซเบียมของโสนอินเดีย 125 isolates โสนอัฟริกัน 12 isolates ทุก isolates เป็น ลักษณะของไรโซเบียม คือ โคโลนีกลมมน ขอบเรียบ เป็นมันเยิ้ม ไม่คุดสีทองไก่เรดคิคสีแกรมลบมี รูปร่างเป็นท่อน และสามารถเกิดปมได้กับถั่วชิราโตร จึงสรุปได้ว่า เชื้อโสนอินเดีย 125 isolates และโสนอัฟริกัน 12 isolates ที่เก็บไว้ทดลองขึ้นตอนต่อไปเป็นไรโซเบียม

การทดสอบคุณสมบัติทางประการของไรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติรวมทั้งจาก IRRI และจากห้องปฏิบัติการไรโซเบียม ได้ผลดังแสดงในตาราง 18 และตาราง 19

ตาราง 18 แสดงคุณสมบัติทางประการของเชื้อไรโซเบียมของโสนอินเดียน

แหล่งเก็บเชื้อ	จำนวนเชื้อ	จำนวนเชื้อ พวกเจริญเร็วผลิตรกด	จำนวนเชื้อ พวกเจริญช้าผลิตต่าง
จากการแยกเชื้อบริสุทธิ์			
จากปมธรรมชาติ	125 isolates	115 isolates	10 isolates
จาก IRRI	1 สายพันธุ์	1 สายพันธุ์	-
จากห้องปฏิบัติการ			
ไรโซเบียม	2 isolates	2 isolates	-

ตาราง 19 แสดงคุณสมบัติทางประการของเชื้อไรโซเบียมของโสนอัฟริกัน

แหล่งเก็บเชื้อ	จำนวนเชื้อ	จำนวนเชื้อ	จำนวนเชื้อ
		พวกเจริญเร็วผลิตรกด	พวกเจริญช้าผลิตต่าง
จากการแยกเชื้อบริสุทธิ์			
จากปมธรรมชาติ	12 isolates	12 isolates	-
จาก IRRI	17 สายพันธุ์	4 สายพันธุ์	13 สายพันธุ์
จากห้องปฏิบัติการ			
ไรโซเบียม	3 สายพันธุ์	3 สายพันธุ์	-

จากคุณสมบัติระยะเวลาการเจริญเติบโต และการผลิตกรดต่าง บนอาหารทดสอบพอจะนำมาใช้ในการจำแนกเชื้อไรโซเบียมของโสนอินเดีย และโสนอัฟริกันเป็น 2 พวก คือ พวกเจริญเร็ว ผลิตรวด และพวกเจริญช้าผลิตต่าง

การจัดจำแนกเชื้อไรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติด้วยวิธี อินโคเร็กซ์ อีไลซา โดยใช้แอนติบอดีไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน 11 สายพันธุ์ เมื่อทำการตรวจวัดระดับไคเตอร์ของแอนติบอดีไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐานปรากฏว่า สายพันธุ์ IRG4 ระดับไคเตอร์ 1/3,200 สายพันธุ์ S₄, IRG32, CT4, IRG59, IRG23, Mu26a, Am10, IRG56 ระดับไคเตอร์ 1/1,600 และสายพันธุ์ ORS571, ORS322 ระดับไคเตอร์ 1/800 ทุกสายพันธุ์สามารถนำไปเจือจางในระดับที่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยากับแอนติเจนได้ เมื่อทำการศึกษากฎการระหว่างแอนติเจนของไรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติกับแอนติบอดีไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน 11 สายพันธุ์ สามารถจำแนกเชื้อไรโซเบียมของโสนอินเดีย 125 isolates ออกเป็น 8 กลุ่ม โสนอัฟริกัน 12 isolates ออกเป็น 5 กลุ่ม ตามการเกิดปฏิกิริยากับแอนติบอดีของไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน กลุ่มที่ 1, 2, 3, 4, 5 เป็นกลุ่มที่แอนติเจนของเชื้อไรโซเบียมของโสนอินเดีย และโสนอัฟริกัน 1 isolate เกิดปฏิกิริยากับแอนติบอดีของไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน 1, 2, 3, 4, 5 สายพันธุ์ ตามลำดับ และกลุ่มที่ 6, 7, 8 เป็นกลุ่มที่แอนติเจนของเชื้อไรโซเบียมของโสนอินเดีย 1 isolate ทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีของไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน 6, 7, 8 สายพันธุ์ ตามลำดับ

การจำแนกเชื้อไรโซเบียมของโสนอินเดียและโสนอัฟริกันที่แยกได้จากปมธรรมชาติ จะเห็นได้ว่าไม่สามารถจำแนกไรโซเบียมถึงระดับสายพันธุ์ได้ แต่สามารถแบ่งได้เป็นกลุ่มตามการเกิดปฏิกิริยากับแอนติบอดีไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน

ผลการทดสอบประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของเชื้อไรโซเบียมของโสนอินเดีย 128 เชื้อ ปรากฏว่าเชื้อไรโซเบียมแต่ละเชื้อทำให้ส่วนสูงของต้น น้ำหนักแห้งของต้น ไนโตรเจนในต้น จำนวนปม น้ำหนักแห้งของปม ตลอดจนอัตราการตรึงไนโตรเจนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีเชื้อไรโซเบียม สบ.3 ทำให้ต้นโสนสูงที่สุด รองลงมาได้แก่ สบ.5, พช.3, สช.2, ขก.1, ชฟ.2, พช.1, นธ.4, สฎ.1, พช.4, พช.5, นม.2, พร.5, นธ.5 ตามลำดับแต่ละ isolate ให้

ความสูงของต้นแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนเชื้อไรโซเบียมที่ทำให้น้ำหนักแห้งของต้นสูงสุดคือ ตง.2 รองลงมาได้แก่ ตง.1, ตง.4, สข.3, ขก.2, สฎ.3 ขก.2, สข.5, ขบ.5 สฎ.2, พร.1, พร.4, สฎ.5, สข.3, ตง.5, ศก.5, สบ.5, สฎ.4, สบ.1, สข.1, สบ.3 ตามลำดับ แต่ละ isolate ให้จำนวนปมแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เชื้อไรโซเบียม ตง.2 เป็นเชื้อไรโซเบียมที่ให้น้ำหนักแห้งของปมสูงสุด รองลงมาได้แก่ ตง.1, สข.3, พข.3, ขก.2, สฎ.3, นศ.5 ตามลำดับแต่ละ isolate ให้น้ำหนักแห้งของปมแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติและเชื้อไรโซเบียมที่มีกิจกรรมการตรึงไนโตรเจนสูงสุดได้แก่ ตง.2, รองลงมาได้แก่ ตง.1, นม.5, ขก.2, สข.3, สฎ.3, นศ.5, สข.5 ขก.5, สฎ.4, ขบ.5 อค.4, พร.4 ตามลำดับ แต่ ตง.2 มีอัตราการตรึงไนโตรเจนแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับเชื้อในอันดับรองลงมา

ผลจากการหาความสัมพันธ์ระหว่าง ส่วนสูงกับน้ำหนักแห้งของต้น ในโตรเจนในดิน จำนวนปม น้ำหนักแห้งของปม และอัตราการตรึงไนโตรเจนมีค่า $r = 0.66, 0.67, 0.68, 0.68, 0.68$ ตามลำดับ ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้งของต้น กับไนโตรเจนในดินจำนวนปม น้ำหนักแห้งของปม และอัตราการตรึงไนโตรเจนมีค่า $r = 0.99, 0.98, 0.96, 0.94$ ตามลำดับ ส่วนความสัมพันธ์ระหว่าง ไนโตรเจนในดิน กับจำนวนปม น้ำหนักแห้งของปมและอัตราการตรึงไนโตรเจนมีค่า $r = 0.98, 0.98, 0.97$ ตามลำดับ สำหรับความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนปมกับน้ำหนักแห้งของปม และอัตราการตรึงไนโตรเจนมีความสัมพันธ์กันสูงมากมีค่า $r = 0.99, 0.99$ ตามลำดับ และความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้งของปมกับอัตราการตรึงไนโตรเจนมีความสัมพันธ์กันสูงเช่นกันมีค่า $r = 0.99$

ในการทดสอบประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของเชื้อไรโซเบียมของโสนอัฟริกัน 32 เชื้อปรากฏว่า เชื้อไรโซเบียมแต่ละเชื้อทำให้ส่วนสูง น้ำหนักแห้งของต้น ไนโตรเจนในดินจำนวนปม น้ำหนักแห้งของปม และอัตราการตรึงไนโตรเจนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เชื้อไรโซเบียมที่ทำให้ต้นโสนสูงที่สุด คือ พร. รองลงมาได้แก่ ชม., มค., IRG22, ตง., นศ., นบ., ปน., IRG68, กทม., TOR3, CTS2, IRG32, ตามลำดับแต่ละเชื้อทำให้โสนสูงแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เชื้อไรโซเบียม ปท. เป็นเชื้อไรโซเบียมที่ให้น้ำหนักแห้งของต้นสูงสุด รองลงมา

ได้แก่ IRG 23, TOR 4, TOS 1, IRG 42, MHR 5, MLS 6, IRG 32, IRG 22, ชร. ตามลำดับ แต่ละเชื้อให้น้ำหนักแห่งของต้นแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติสายพันธุ์ IRG 23 เป็นไรโซเบียมที่ให้ไนโตรเจนในต้นสูงสุด และแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติกับเชื้ออันดับรองลงมา ได้แก่ TOR 4, ปท., MHR 5, มค., MLS 6, IRG 32, TOR 3, IRG 42, TOS 1 ตามลำดับ สำหรับไรโซเบียมที่ให้จำนวนปมสูงสุดคือ ชร. ซึ่งให้จำนวนปมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับเชื้ออันดับรองลงมา ได้แก่ ปน., TAL 1116, TAL 1113, IRG 58, มค., สบ., IRG 23, ปท., MLS 6, นบ., TOS 1, นศ., พร., นว., กทม., CTS 2 ตง., IRG 56, IRG 42, ตามลำดับ และเชื้อไรโซเบียม MHR 5, IRG 32, TOR 4, TOR 2 ให้จำนวนปมน้อย แต่เป็นปมที่มีประสิทธิภาพ เชื้อไรโซเบียมที่ให้น้ำหนักแห่งปมสูงสุดคือ ปท. รองลงมาได้แก่ IRG 68, นศ., นบ., TOR 2, TOS 1, TOR 4, IRG 42, MHR 5 ตามลำดับ แต่ละเชื้อให้น้ำหนักแห่งของปมแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนเชื้อไรโซเบียมที่มีกิจกรรมการตรึงไนโตรเจนสูงสุดคือสายพันธุ์ TOR 2 มีอัตราการตรึงไนโตรเจนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับเชื้อในอันดับรองลงมา ได้แก่ ปท., MHR 5, IRG 23, IRG 32, MLS 6, TOR 4, IRG 42 ตามลำดับ

ผลจากการหาค่าความสัมพันธ์ระหว่าง ความสูงกับน้ำหนักแห่งของต้น ไนโตรเจนในต้น น้ำหนักแห่งของปม และอัตราการตรึงไนโตรเจนมีค่า $r = 0.43, 0.40, 0.25, 0.31$ ตามลำดับ แต่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างความสูงกับจำนวนปม ส่วนความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห่งของต้น กับไนโตรเจนในต้น จำนวนปม น้ำหนักแห่งของปม และอัตราการตรึงไนโตรเจนมีค่า $r = 0.75, 0.23, 0.67, 0.83$ ตามลำดับ สำหรับความสัมพันธ์ระหว่างไนโตรเจนในต้น กับน้ำหนักแห่งของปม และอัตราการตรึงไนโตรเจนมีค่า $r = 0.56, 0.71$ ตามลำดับ แต่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างไนโตรเจนในต้นกับจำนวนปม ส่วนความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนปมกับน้ำหนักแห่งของปมมีค่า 0.27 ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนปมกับอัตราการตรึงไนโตรเจน และความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห่งของปมกับอัตราการตรึงไนโตรเจนพบว่า มีค่า $r = 0.71$

สรุปได้ว่า เชื้อไรโซเบียมที่เหมาะสมกับโสนอินเดียมากที่สุดได้แก่ ตง.2, ตง.1, สข.3, ขก.2, สฎ.3 และรองลงมาได้แก่ พร.4, นศ.5, ขบ.5, สข.5, สฎ.4, และนม.5 โสนอัฟริกัน ได้แก่ ปท., IRG 23, TOR 4, TOS 1, IRG 32, IRG 42, MHR 5, MLS 6, TOR 2 และรองลงมา

ได้แก่ CTS 2 ซึ่งเชื้อเหล่านี้มีประสิทธิภาพในการให้น้ำหนักแห้ง ในโตรเจนในดิน จำนวนปม
น้ำหนักแห้งของปม และอัตราการตรึงไนโตรเจนอยู่ในระดับสูง และมีความสม่ำเสมอในแต่ละซ้ำ
ของการทดลอง

อภิปรายผล

1. การแยกเชื้อบริสุทธิ์จากปมธรรมชาติที่เก็บได้จากดินตัวอย่าง

1.1 ลักษณะการเกิดปมของโสนอินเดียและโสนอัฟริกัน พบว่าดินแต่ละตัวอย่าง
สามารถทำให้โสนเกิดปมที่รากได้แตกต่างกัน แสดงว่าในดินมีไรโซเบียมอยู่หลายสายพันธุ์ แต่ละ
สายพันธุ์เป็นไรโซเบียมที่มีอยู่โดยธรรมชาติ เพราะดินเหล่านั้นเก็บจากแหล่งที่มีต้นโสนหรือเคยมี
ต้นโสนมาก่อน และเป็นดินที่ไม่เคยใช้เชื้อไรโซเบียม ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของศรีสุกัร นิลกรณ์
(2532 : 34) ที่ได้ทำการทดลองปลูกถั่วเหลืองลงในดินที่เคยปลูกถั่วเหลืองติดต่อกันมานานโดย
ไม่มีการใช้เชื้อไรโซเบียมมาก่อน 4 แหล่ง ปรากฏว่า ถั่วเหลืองสามารถเกิดปมได้ทุกพื้นที่ แต่ละพื้นที่
มีจำนวนปมและประสิทธิภาพของปมแตกต่างกัน และการทดลองของ แนงจู (Nangju. 1980 :
403 - 406) ที่ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างไรโซเบียมพื้นเมืองที่อยู่ในดินกับพืชตระกูลถั่ว พบว่า
ไรโซเบียมที่มีอยู่ในดินแต่ละชนิดมีทั้งไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพและไม่มีประสิทธิภาพ ส่วนดินตัวอย่าง
ที่ทำให้โสนเกิดปมที่รากมีทั้งปมปกติและผิดปกติ สามารถอธิบายได้ว่าในดินอาจจะมีไส้เดือนฝอยไป
รบกวนการเกิดปมที่รากของโสน และมีพวกจุลินทรีย์ที่เรียกว่า antagonists เป็นจุลินทรีย์ที่ทำให้
ไรโซเบียมผิดปกติและกลายพันธุ์ได้ (สมศักดิ์ วังใน. 2525 : 43) กิบสัน (Gibson. 1977 :
393 - 450) บาร์เกอร์ และปามีลา (Parker and Parmela. 1970 : 253 - 255) ได้
อธิบายถึงสาเหตุการเกิดปมที่รากลดน้อยลงและทำให้ปมผิดปกตินั้น เนื่องจากไส้เดือนฝอยเข้าไป
แย่งตำแหน่งการเกิดปมบนรากขนอ่อน และเชื้อ Bdellovibrio bacteriovorus. เข้าทำลาย
เซลล์ของไรโซเบียมได้โดยตรง สำหรับต้นโสนที่เจริญเติบโตได้ดีแล้วและลำต้นมีสีเหลืองซีด อาจจะ
เนื่องจากไรโซเบียมที่เข้าไปสร้างปมแล้วสร้างสารพิษชักนำให้ต้นโสนเกิดอาการขาดธาตุอาหาร

บางอย่างได้ หรือไม่มีประสิทธิภาพในการสร้างไนโตรเจน (นันทกร บุญเกิด. 2529 : 14) เย็นใจ วสุวัต. 2523 : 8) และคิดตัวอย่างที่ทำให้ต้นโสนเกิดปมได้น้อย และเป็นปมไม่มีประสิทธิภาพ ลักษณะอย่างนี้ เมื่อเกิดจากดินธรรมชาติสามารถอธิบายได้หลายสาเหตุ เช่น ดินมีปริมาณเชื้ออยู่น้อย (Weaver and others. 1987 : 90 - 92) เกิดจากความเฉพาะกันระหว่างไรโซเบียมในดิน กับโสนที่ปลูกลงไป ซึ่ง นันทกร บุญเกิด (2529 : 15) ได้รายงานไว้ว่า ปมที่เกิดขึ้นจะมีประโยชน์ กับตัวต้องเป็นปมที่มีประสิทธิภาพในการสร้างไนโตรเจน นั่นคือ เกิดจากไรโซเบียมที่เหมาะสมกับตัว เท่านั้น ถ้าเป็นสายพันธุ์ที่ไม่เหมาะสมก็จะมีเพียงปมที่เกิดขึ้น และมีไรโซเบียมอาศัยอยู่ ตัวจะไม่ให้ พลังงาน และปมตัวจะไม่สร้างเลคฮิโมโกลบิน ทำให้ไรโซเบียมไม่สามารถสร้างไนโตรเจนได้หรือ อาจจะเกิดจากปัจจัยในดินที่ทำให้ไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพไม่สามารถเข้าสร้างปมได้ เช่น pH ของดิน อุณหภูมิ จำนวนไรโซเบียม และธาตุอาหารในดิน ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการเข้าสร้างปมของ ไรโซเบียมให้กับตัว (Rupela and others. 1987 : 247 - 252; O'Hara, Nantakorn Boonkerd and Mrchacl. 1988 : 93 - 110)

1.2 ลักษณะและจำนวนเชื้อบริสุทธิ์ เชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้จากปมธรรมชาติของโสน อินเดียน 125 isolates และโสนอัฟริกัน 12 isolates ทุกเชื้อเป็นไรโซเบียม เพราะจากการ สังเกตโคโลนีบนอาหารแข็งยีสต์แอมนิตอลผสมคองโก้เรดมีลักษณะกลมมน ขอบเรียบ สีขาวขุ่น เป็น มันเยิ้มไม่คูดสีคองโก้เรด คัดสีแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อนอันเป็นลักษณะของไรโซเบียมตามที่ จอร์แดน (Jordan. 1983 : 235 - 244) อ้างไว้ และเมื่อเปรียบเทียบกับลักษณะของไรโซเบียมที่ได้มี ผู้ศึกษามาก่อน (พรพรรณ จงสุขสันตกุล. 2528 : 32; ศรีสุกัร นิลกรรณ. 2532 : 35) รวมทั้ง สามารถเกิดปมได้กับตัวชิราโคร จึงแน่ใจว่าเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกมาได้เพื่อใช้ไว้ทดลองในขั้นต่อไปนั้น เป็นไรโซเบียม

1.3 คุณสมบัติบางประการของเชื้อไรโซเบียม จากการทดสอบคุณสมบัติบางประการ ของเชื้อไรโซเบียมของโสนอินเดียน 128 เชื้อ โสนอัฟริกัน 32 เชื้อ บนอาหารแข็งยีสต์แอมนิตอลและ อาหารแข็งยีสต์แอมนิตอลบวมไทม์มอลบลู ปรากฏว่าโสนอินเดียน 118 เชื้อ โสนอัฟริกัน 19 เชื้อ เป็นพวกเจริญเร็ว ผลึกกรด และโสนอินเดียน 10 เชื้อ โสนอัฟริกัน 13 เชื้อเป็นพวกเจริญช้าผลึกต่าง จากคุณสมบัติระยะเวลาการเจริญและผลึกกรดต่างบนอาหารทดสอบ หอจะนำมาใช้ในการจำแนก

เชื้อไรโซเบียมของโสนอินเดีย และโสนอัฟริกันเป็น 2 พวก คือ พวกเจริญเร็วผลิกรด และพวกเจริญช้าผลิกรดต่าง

2. การจำแนกไรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติโดยลักษณะทางเซรุ่มวิทยา

2.1 การตรวจวัดระดับไทเตอร์ จากการตรวจวัดระดับไทเตอร์แอนติบอดีไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน ปรากฏว่าระดับไทเตอร์ 1/3,200 มี 1 สายพันธุ์ ระดับไทเตอร์ 1/1,600 8 สายพันธุ์ และระดับไทเตอร์ 1/800 มี 2 สายพันธุ์ การที่ระดับไทเตอร์ไม่เท่ากัน เพราะกระต่ายแต่ละตัวมีความแตกต่างต่อการตอบสนองของแอนติเจน และความบริสุทธิ์ของเชื้อที่ฉีดเข้าไป (Chase. 1967 : 209 - 237) อย่างไรก็ตามแอนติบอดีของไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐานทุกระดับไทเตอร์ สามารถนำมาเจือจางได้เพื่อใช้ในการศึกษาปฏิกิริยากับแอนติเจนโดยวิธี อินโคเร็กซ์ อีไลซา (ชัยณรงค์ อภินพพัฒน์. 2530 : 35)

2.2 การศึกษาปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนของเชื้อไรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติของโสนอินเดีย 125 เชื้อ โสนอัฟริกัน 12 เชื้อ กับแอนติบอดีไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน 11 สายพันธุ์ คือ IRG4, S4, ORS322, IRG32, CT4, IRG59, IRG23, ORS571, Mu26a, IRG56 และ Am10 ด้วยวิธี อินโคเร็กซ์ อีไลซา สามารถแบ่งแอนติเจนของไรโซเบียมของโสนอินเดียได้ 8 กลุ่ม และโสนอัฟริกันได้ 5 กลุ่ม ตามลักษณะการเกิดปฏิกิริยากับแอนติบอดีไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน (ตาราง 12, 13) คือ กลุ่มที่ 1, 2, 3, 4, 5 แอนติเจนของเชื้อไรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติของโสนอินเดีย และโสนอัฟริกัน 1 isolates เกิดปฏิกิริยากับแอนติบอดีไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน 1, 2, 3, 4, 5 สายพันธุ์ ตามลำดับ กลุ่มที่ 6, 7, 8 แอนติเจนของเชื้อไรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติของโสนอินเดีย 1 isolate ทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน 6, 7, 8 สายพันธุ์ ตามลำดับ จากลักษณะของปฏิกิริยาทางเซรุ่มวิทยา (ตาราง 10, 11, 12, 13) อาจจะกล่าวได้ว่าไรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติมีลักษณะทางเซรุ่มวิทยาแตกต่างกันตามพื้นที่ที่เก็บดินตัวอย่าง เช่น เชื้อ นธ.1, นธ.2, นธ.3, นธ.4, นธ.5 ที่แยกได้จากปมธรรมชาติที่เก็บจากดินตัวอย่างจังหวัดนครราชสีมาทุก isolate

ทำปฏิกิริยากับ CT 4 และเชื้อ ปจ.1, ปจ.2, ปจ.3, ปจ.4, ปจ.5 ที่แยกได้จากปมธรรมชาติที่เก็บจากดินตัวอย่างจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ทุก isolate ทำปฏิกิริยากับ ORS 322 และ IRG 32 สอดคล้องกับผลการทดลองของ ศรีสุกัร นิลกรรณ (2532 : 39) ที่พบว่า ปริมาณเชื้อโรโซเบียมสายพันธุ์พื้นเมืองที่มาจากพื้นที่เดียวกัน ร้อยละ 69 จะมีลักษณะทางเซรุ่มวิทยาเหมือนกัน และจากรายงานการทดลองของ แคลด์เวล และฮาร์ทวิง (Caldwell and Hartwing. 1970 : 680 - 682) ว่าความแตกต่างทางลักษณะเซรุ่มวิทยาของโรโซเบียมที่ทำให้เกิดปมกับถั่วเหลืองนั้นเกิดขึ้นเนื่องมาจากความแตกต่างของประเภทดินแต่ละพื้นที่ที่ปลูก การที่โรโซเบียมในพื้นที่เดียวกันมีลักษณะทางเซรุ่มวิทยาเหมือนกันเพราะการปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมและลักษณะพันธุกรรมของโรโซเบียมที่สามารถถ่าย หอดักันได้ (สมศักดิ์ วงษ์ใน. 2516 : 94; ธงชัย มาลา. 2521 : 11) และพบว่าโรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติ 1 isolate สามารถเกิดปฏิกิริยากับแอนติบอดีโรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐานมากกว่า 1 สายพันธุ์ อาจจะเป็นเพราะเชื่อกันว่ามีแอนติเจนคล้ายคลึงกับโรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐานมากกว่า 1 สายพันธุ์หรือ เนื่องมาจากปมตัวอย่างที่นำมาแยกเชื้อบริสุทธิ์นั้นเกิดจากโรโซเบียมมากกว่าหนึ่งสายพันธุ์ได้อีกด้วย เพราะจากการทดลองของ ศรีสุกัร นิลกรรณ (2532 : 93) พบว่าโรโซเบียมสายพันธุ์พื้นเมืองมีประมาณร้อยละ 6.80 สามารถเกิดปฏิกิริยากับแอนติบอดีของโรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐานที่ใช้ในการทดสอบมากกว่า 1 สายพันธุ์และคาร์ท (Dart. 1974 : 392 - 394) พบว่าปมที่เกิดโดยโรโซเบียมสองชนิดทำให้ปฏิกิริยาทางเซรุ่มวิทยาแตกต่างกัน และมีแอนติเจนโรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติที่เก็บจากดินตัวอย่างต่างพื้นที่กัน แต่มีลักษณะทางเซรุ่มวิทยาเหมือนกันคือสามารถทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีของโรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐานร่วมกันได้ เช่น เชื้อ สข.4, ขบ.3 สามารถทำปฏิกิริยากับแอนติบอดี IRG32 ร่วมกันได้ก็เนื่องมาจากการจัดแอนติเจนเข้ากระต่ายเป็นเซลล์โรโซเบียมทั้งเซลล์ ซึ่งผนังเซลล์มีส่วนต่าง ๆ หลายส่วนสามารถกระตุ้นให้ร่างกายกระต่ายสร้างแอนติบอดีต่อต้านแอนติเจนที่ฉีดเข้าไป เรียกแต่ละส่วนของผนังเซลล์นี้ว่า แอนติเจนนิค ดีเทอร์มิแนนท์ (antigenic determinant) ซึ่งแอนติเจนนิค ดีเทอร์มิแนนท์ อาจจะเหมือนหรือต่างกัน ซึ่งถ้าต่างกันจะสามารถกระตุ้นให้ร่างกาย

กระต่ายสร้างแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อแอนติเจนชนิดทีเทอร์มินันท์ต่างกันด้วย (Eisen . 1973 : 349 - 624) เพราะฉะนั้นในแต่ละเซรุ่มก็จะมีแอนติบอดีหลายชนิด ก็ทำให้แอนติบอดีหนึ่งสายพันธุ์สามารถทำปฏิกิริยากับแอนติเจนชนิด ทีเทอร์มินันท์ที่เฉพาะของมันได้ และแอนติเจนชนิด ทีเทอร์มินันท์อื่น ๆ ที่มีโครงสร้างโมเลกุลคล้ายกันได้ (Maeario and Maeario . 1983 : 1 - 7)

แต่อย่างไรก็ตามผลการทดลองในตาราง 8 ต้องสอดคล้องกับตาราง 10 และ 11 แต่ปรากฏว่า แอนติบอดีโรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน IRG4 (ตาราง 8) เกิดปฏิกิริยากับแอนติเจนเฉพาะเท่านั้นแต่จะไม่เกิดปฏิกิริยากับแอนติเจนโรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐานสายพันธุ์อื่นแต่ผลการทดลองในตาราง 10 และ 11 มีแอนติเจนโรโซเบียมที่แยกได้จากปมธรรมชาติสามารถเกิดปฏิกิริยากับแอนติบอดี IRG4 ได้และเกิดปฏิกิริยากับแอนติบอดีสายพันธุ์อื่นได้ด้วย ทั้งนี้เนื่องจากแอนติบอดีโรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐานที่นำมาศึกษาในครั้งนี้ IRG4 สายพันธุ์เดียวที่ผลิมาจากแอนติเจนของโรโซเบียมของโสนอินเดีย แอนติบอดีชนิดนี้จึงไม่เกิดปฏิกิริยากับแอนติเจนของโรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐานของโสนชนิดอื่น ถึงจะเกิดได้บ้างในตาราง 11 แต่เกิดได้น้อย หรือเนื่องจากแอนติเจนที่แยกได้จากปมธรรมชาติไม่ได้เป็นแอนติเจนเฉพาะของแอนติบอดีทั้ง 11 สายพันธุ์ จึงทำให้แอนติเจนบางส่วนคล้ายคลึงกับแอนติบอดีโรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐานสายพันธุ์อื่นได้ด้วย

3. ประสิทธิภาพการตรึงในโครเจนของเชื้อโรโซเบียมแต่ละเชื้อร่วมกับโสนอินเดียและโสนอัฟกานิสถาน

ความสูงของต้น

การประเมินประสิทธิภาพการตรึงในโครเจนระหว่างเชื้อโรโซเบียมแต่ละเชื้อร่วมกับโสนอินเดียและโสนอัฟกานิสถานโดยวัดส่วนสูง ปรากฏว่าเชื้อโรโซเบียมแต่ละเชื้อให้ส่วนสูงของต้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพประกอบ 17) เนื่องจากเชื้อโรโซเบียมต่างสายพันธุ์กันมีประสิทธิภาพ ส่งผลให้ต้นโสนเจริญเติบโตในค้ำความสูงแตกต่างกัน (ศุวศา ศิริพันธุ์. 2522 : 43)



ภาพ ก



ภาพ ข

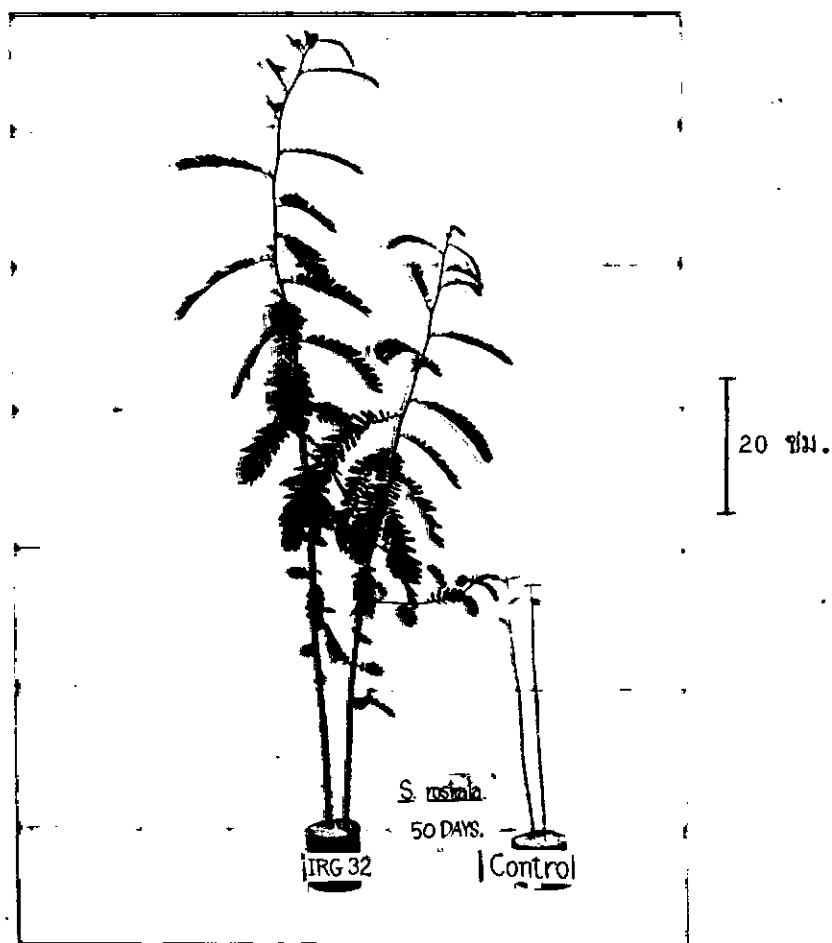
ภาพประกอบ 17 เปรียบเทียบความสูงของต้นโสนอัฟริกัน (ภาพ ก) และโสนอินเดีย (ภาพ ข) เมื่อใส่เชื้อโรโซเนียมจากแหล่งต่างกัน

และสอดคล้องกับการทดลองของ รุ่งรัตน์ จูตระกูล (2529 : 70) พบว่าการใส่เชื้อไรโซเบียม 14 สายพันธุ์ให้กับถั่วลิสง 5 พันธุ์ปรากฏว่าไรโซเบียมแต่ละสายพันธุ์ทำให้ความสูงของต้นถั่วลิสง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนต้นโสนที่ไม่ใส่เชื้อมีความสูงต่ำสุด (ภาพประกอบ 18) เพราะขาดธาตุไนโตรเจน ทำให้การเจริญเติบโตหยุดชะงัก

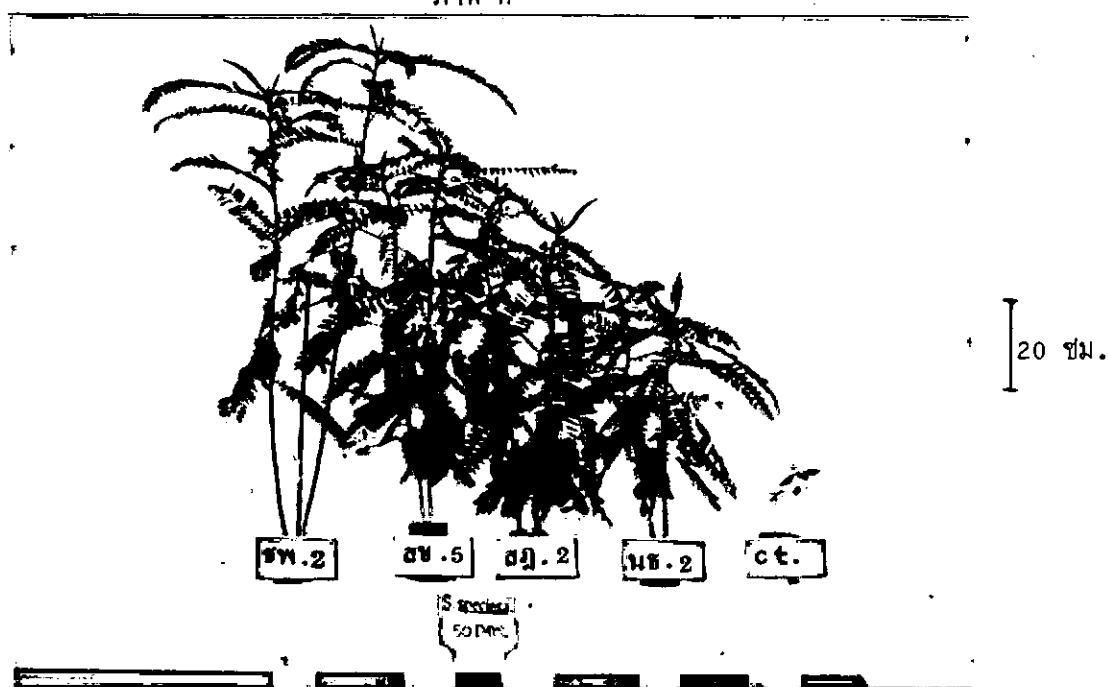
น้ำหนักแห้งของต้น

โดยทั่วไปลักษณะที่ใช้ในการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของไรโซเบียมก็คือ น้ำหนักแห้งของต้น (Rao. 1977 : 241 - 255) ผลการทดลองได้เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของ ต้นโสนโดยการชั่งน้ำหนักแห้งของต้น ปรากฏว่า น้ำหนักของต้นที่ใส่เชื้อตลอดจนไม่ใส่เชื้อไรโซเบียม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สาเหตุที่โสนแต่ละต้นมีน้ำหนักแห้งของต้นแตกต่างกันก็เพราะ ประสิทธิภาพของไรโซเบียมแต่ละเชื้อ ไรโซเบียมเชื้อใดมีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนได้สูงย่อม ทำให้ต้นโสนมีการเจริญเติบโตที่มีน้ำหนักแห้งของต้นสูงไปด้วย ทั้งนี้เพราะไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพ ช่วยเพิ่มธาตุไนโตรเจนให้แก่ต้นโสน ทำให้ต้นโสนมีการเจริญเติบโต จำนวนใบมาก ใบมีขนาดใหญ่ ในขณะที่ต้นโสนที่ได้รับเชื้อไม่มีประสิทธิภาพ และต้นที่ไม่ใส่เชื้อ ทำให้ต้นโสนเจริญเติบโตช้า จำนวนใบ กิ่งก้าน มีน้อย และเล็กลีบ มีสีเหลืองอ่อน แสดงอาการขาดธาตุไนโตรเจน (Wynne. and others. 1980 : 95 - 109) น้ำหนักแห้งของต้นจะค่า

เมื่อเปรียบเทียบความสูงของต้นกับน้ำหนักแห้งของต้นในโสนอินเคีย พบว่ามีความสัมพันธ์กัน ในระดับปานกลางมีค่า r เท่ากับ 0.66 แสดงว่า 2 ลักษณะไม่ได้มีความสัมพันธ์กันอย่างสมบูรณ์ จากตาราง 14 จะเห็นว่า กลุ่มไรโซเบียมที่ทำให้ต้นโสนมีความสูงอยู่ในกลุ่มสูง แต่จะให้น้ำหนักแห้ง ของต้นอยู่ในระดับปานกลางและกลุ่มไรโซเบียมที่ให้ความสูงของต้นอยู่ในระดับปานกลาง แต่ให้ น้ำหนักแห้งอยู่ในกลุ่มสูง ส่วนต้นโสนอัฟริกัน พบว่า ไม่มีความสัมพันธ์กันระหว่างส่วนสูงกับน้ำหนักแห้ง ของต้น จากตาราง 16 จะเห็นว่าทั้งกลุ่มไรโซเบียมที่ทำให้ความสูงของต้นอยู่ในกลุ่มสูง แต่ให้ น้ำหนักแห้งต้นอยู่ในระดับปานกลาง กลุ่มไรโซเบียมที่ทำให้ความสูงของต้นอยู่ในระดับปานกลาง แต่



ภาพ ก



ภาพ ข

ภาพประกอบ 18 แสดงลักษณะการเจริญเติบโตของต้นโสนอัฟริกัน (ภาพ ก ขาวสุด) และ โสนอินเดีย (ภาพ ข ขาวสุด) ที่ไม่ได้ใส่เชื้อไรโซเบียม

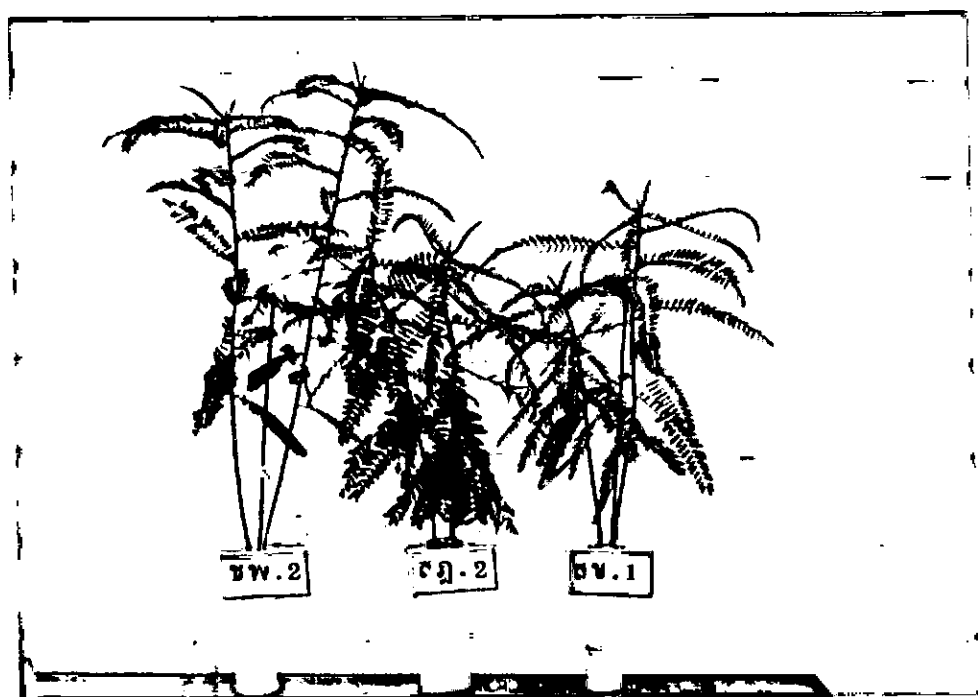
ให้น้ำหนักแห้งของต้นอยู่ในกลุ่มสูง กลุ่มไรโซเบียมที่ทำให้ความสูงของต้นอยู่ในระดับต่ำ แต่ให้น้ำหนักแห้งของต้นอยู่ในระดับปานกลาง และกลุ่มไรโซเบียมที่ทำให้ความสูงของต้นอยู่ในกลุ่มต่ำ และให้น้ำหนักแห้งของต้นต่ำด้วย ทั้งนี้เนื่องจากต้นโสนเมื่อสูงมากจะทิ้งใบ และกิ่งก้าน ทำให้น้ำหนักแห้งของต้นลดลง ส่วนต้นโสนที่มีความสูงในระดับปานกลาง ต้นโสนมีการเจริญเติบโตดี ทรงต้นแผ่มีการแตกกิ่งก้านสาขามาก ลำต้นและใบใหญ่ ทำให้น้ำหนักแห้งของต้นสูง (ภาพประกอบ 19) (Dutta and others. 1965 : 293 - 303) และผลการทดลองนี้ใกล้เคียงกับผลการทดลองของ รุ่งรัตน์ จุตระกูล (2529 : 51 - 58) พบว่า ความสูงกับน้ำหนักแห้งของต้นถั่วลิสงพันธุ์ไทนาน 9 มีความสัมพันธ์กันในระดับปานกลาง และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างส่วนสูงกับน้ำหนักของต้นถั่วลิสงพันธุ์ NC7

ดังนั้นการใช้ส่วนสูงประเมินประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนให้กับโสนทั้งสองชนิด อาจจะให้ผลไม่ถูกต้องตามความเป็นจริง

ไนโตรเจนในต้นโสน

การวิเคราะห์หาไนโตรเจนในต้นถั่วโดยวิธี เคลดาล์ เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ใช้ในการประเมินประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของไรโซเบียมร่วมกับโสน (อชิป ลิขิตลิลิต. 2524 : 12) จากผลการทดลองเปรียบเทียบไนโตรเจนในต้นโสน ปรากฏว่าไรโซเบียมแต่ละเชื้อทำให้ไนโตรเจนในต้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งวินเซนต์ (Vincent. 1970 : 1 - 164) และเบอร์ตัน (Burton. 1976 : 42 - 446) ได้สรุปไว้ว่าการที่ไรโซเบียมแต่ละสายพันธุ์ให้ไนโตรเจนในต้นต่างกัน เนื่องจากความเฉพาะกันระหว่างต้นถั่วกับเชื้อไรโซเบียม

ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้งของต้นโสนกับไนโตรเจนในต้นของโสนอินเดียและโสนอัฟริกัน พบว่า มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติมีค่า $r = 0.99$ และ 0.75 ตามลำดับ แสดงว่า น้ำหนักแห้งของต้นสูง ไนโตรเจนในต้นสูงด้วย (ตาราง 14 และ 16) น้ำหนักแห้งของต้นต่ำไนโตรเจนในต้นต่ำไปด้วย แต่มีบางเชื้อให้น้ำหนักแห้งต้นสูง แต่ไนโตรเจนในต้นต่ำ เช่น



ภาพประกอบ 19 เปรียบเทียบลักษณะการเจริญเติบโตของต้นโสนอินเดียที่มีความสูง
อยู่ในกลุ่มสูง (ชพ.2) กับต้นโสนที่มีความสูงอยู่ในกลุ่มปานกลาง (สญ.2, สช.1)

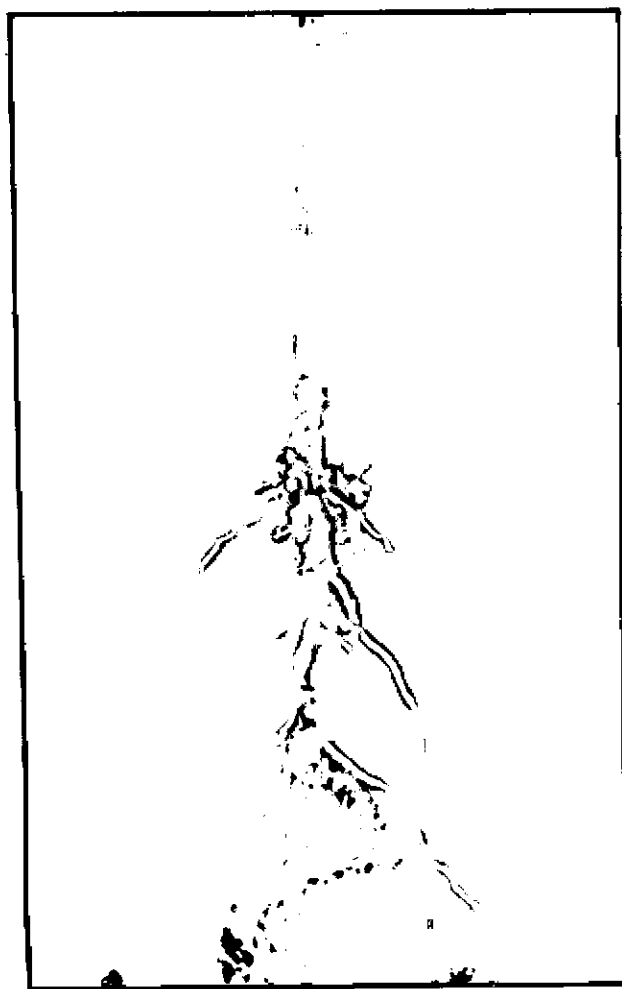
เชื้อ ชก.5 นั้นเนื่องมาจากต้นโสนได้รับไนโตรเจนในสัดส่วนที่น้อยกว่าเมื่อเทียบกับการสร้างคาร์โบไฮเดรตของต้น โสนจึงสะสมคาร์โบไฮเดรตในปริมาณมาก น้ำหนักแห้งจึงสูงไนโตรเจนในต้นต่ำ และต้นโสนที่ไม่ใส่เชื้อโรโซเบียมพบว่าในไนโตรเจนในต้นอยู่ด้วยแต่มีในปริมาณน้อยมาก เนื่องจากต้นโสนได้รับไนโตรเจนจากเมล็ดที่ปลูกลงไป (Wynne and others . 1980 : 645 - 649)

จำนวนปม

การทดสอบประสิทธิภาพของโรโซเบียมแต่ละเชื้อในการทำให้โสนอินเดียและโสนอัฟริกันเกิดปม ปรากฏว่าโรโซเบียมแต่ละเชื้อทำให้โสนเกิดปมได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพประกอบ 20) จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อโรโซเบียมต่างกันมีประสิทธิภาพในการทำให้โสนเกิดปมได้มากน้อยไม่เท่ากัน สอดคล้องกับการทดลองของ นิรันดร์ และคนอื่น ๆ (2531 : 1 - 5) ให้ผลเช่นเดียวกันว่า การใช้โรโซเบียมต่างสายพันธุ์กันทำให้จำนวนปมโสนต่อกระถางแตกต่างกัน อีแอลและคนอื่น ๆ (Elkan and others . 1980 : 95 - 97) พบว่า ปมที่รากถั่วลิสงที่เกิดขึ้นจะมีปริมาณแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ของโรโซเบียม การที่โรโซเบียมต่างสายพันธุ์กันทำให้เกิดปมได้ไม่เท่ากันเนื่องมาจากความสามารถของโรโซเบียมแต่ละสายพันธุ์แตกต่างกันดังที่ ดูนิกัน และ แคนนอน (Dunican and Cannon . 1971 : 73 - 79) พบว่าความสามารถในการเข้าสู่รากเพื่อทำให้เกิดปมนั้นเป็นลักษณะทางพันธุกรรมของโรโซเบียมจากการทดลองของ นัทแมน (Nutman . 1969 : 417 - 437) เซอร์จิโอ และคนอื่น ๆ (Sergio and others . 1987 : 553 - 558) ได้รายงานเกี่ยวกับการเกิดปมได้มากหรือน้อยว่า ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมระหว่างโรโซเบียมกับถั่วในขั้นตอนต่าง ๆ ของการเข้าสู่รากและทำให้เกิดปมกับตั้งแต่ การปลดปล่อยสารของรากพืชสำหรับการเจริญของโรโซเบียมชนิดที่จะเข้าสู่รากอย่างเฉพาะเจาะจง การกระตุ้นรากขนอ่อนให้โค้งงอก่อนเข้าสู่รากปมโดยโรโซเบียม การจับตัวกันระหว่างเซลล์ของโรโซเบียมกับรากขนอ่อน และขั้นตอนโรโซเบียมสร้างท่อ (infection thread) ผ่านเซลล์เข้าไปในส่วนในของราก ดังนั้นอาจจะสรุปได้ว่า การที่โรโซเบียมแต่ละสายพันธุ์ทำให้โสนอินเดีย และโสนอัฟริกัน



ภาพ ก



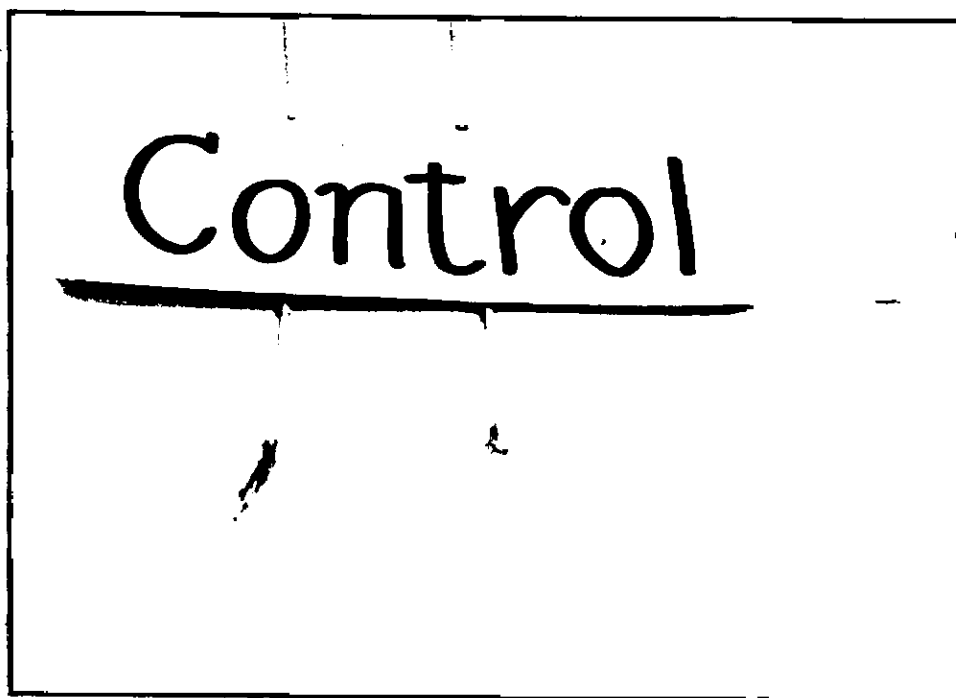
ภาพ ข

ภาพประกอบ 20 เปรียบเทียบความแตกต่างของจำนวนปมที่รากของโสนอินเดียเมื่อได้รับเชื้อโรโซเบียมจากแหล่งต่างกัน (ภาพ ก เชื้อ สญ.3 ภาพ ข เชื้อ ศก.4)

เกิดปมได้มากหรือน้อยขึ้นอยู่กับพันธุกรรมของโรโซเบียม และความเหมาะสมกันระหว่างโรโซเบียมกับโฮสต์ในแต่ละขั้นตอนของขบวนการเกิดปม ในกรณีที่โรโซเบียมบางเชื้อทำให้เกิดปมได้น้อยก็อาจเพราะว่าในขั้นตอนใดขั้นตอนหนึ่งหรือหลาย ๆ ขั้นตอนของขบวนการเกิดปมมีความไม่เหมาะสมมากกว่าสายพันธุ์อื่นทำให้จำนวนปมที่เกิดขึ้นโดยโรโซเบียมเหล่านั้นอยู่ในระดับต่ำเมื่อเทียบกับโรโซเบียมเชื้ออื่น ๆ ส่วนต้นโฮสต์ที่ไม่ใส่เชื้อโรโซเบียมก็ไม่สามารถเกิดปมได้ (ภาพประกอบ 21)

อย่างไรก็ตามเชื้อโรโซเบียม ยล.1, ยล.2, ยล.3, ยล.4 และ ยล.5 ในดินตัวอย่างเป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพ สามารถสร้างปมได้มาก แต่เมื่อนำมาทดสอบในลีโอนาร์ดจา กลับเป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพต่ำ นัมเบีย และคาร์ท (Nambiar and Dart. 1980 : 26 - 29) ได้อธิบายไว้ว่าเกิดจากสภาพแวดล้อมในทรายอาจจะไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีพหรือกิจกรรมของเชื้อนี้ และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเข้าสู่รากและทำให้เกิดปมของเชื้อโรโซเบียมแต่ละเชื้อต่างกันด้วย (Nantakorn Boonkerd and Weaver. 1988 : 585 - 589) หรือเนื่องมาจากเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูงในดินอาจมีเชื้อที่มีประสิทธิภาพต่ำปนอยู่ด้วย เมื่อทำการแยกเชื้อเพื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพ อาจจะทำได้เชื้อที่มีประสิทธิภาพต่ำมาก็ได้ และเชื้อ มค.1, มค.2, มค.3, มค.4, มค.5 เป็นเชื้อที่ไม่มีประสิทธิภาพในดินตัวอย่างแต่เมื่อนำมาทดสอบในลีโอนาร์ดจา กลับมีประสิทธิภาพสูงขึ้น เรื่องนี้ เย็นใจ วสุวัต (2523 : 4) และแฮลลiday (Halliday. 1984 : 115 - 170) อธิบายไว้ว่าเชื้อโรโซเบียมบางชนิดอาจจะมีประสิทธิภาพต่ำในแหล่งหนึ่ง แต่ในแหล่งอื่นอาจจะมีประสิทธิภาพสูง หรือเนื่องมาจากสภาวะแวดล้อมไม่เหมาะสมในการทำงานของเลคซีโมโกลบินเมื่อสภาพแวดล้อมถูกปรับปรุงให้เหมาะสม เลคซีโมโกลบินก็ทำงานมีประสิทธิภาพขึ้น (สมศักดิ์ วงษ์ใน. 2516 : 76) และในห่านองเดียวกันเชื้อที่มีประสิทธิภาพต่ำในดินอาจจะมีเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูงปนอยู่ด้วย เมื่อทำการแยกเชื้อเพื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพอาจจะทำได้เชื้อที่มีประสิทธิภาพสูงมาก็ได้

ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนปมกับน้ำหนักแห้งของต้น จากการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนปมกับน้ำหนักแห้งของต้นในโฮสต์ทั้งสองชนิด ปรากฏว่าโฮสต์อินเดีย จำนวนปมกับน้ำหนักแห้งของต้นมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติมีค่า $r = 0.98$ สอดคล้องกับการทดลอง



ภาพประกอบ 21 แสดงรากของคันไถนอินเคียที่ไม่ได้ใส่เชื้อโรโซเบียม

ของ นันทกร บุญเกิด และคนอื่น ๆ (Nantakorn Boonkerd and others . 1978 : 1 - 10) ที่พบว่าจำนวนปมมีความสัมพันธ์กันโดยตรงกับน้ำหนักแห้งของต้น ซึ่งแสดงว่าโรโซเบียมเชื้อโคทำให้ต้นโสนเกิดปมได้มากก็จะทำให้ต้นโสนมีการเจริญเติบโตได้คือน้ำหนักแห้งของต้นสูง และถ้าเชื้อโคให้จำนวนปมน้อย ต้นโสนเจริญเติบโตช้ามีน้ำหนักแห้งของต้นต่ำแต่ในโสนอัฟริกันปรากฏว่าจำนวนปมกับน้ำหนักแห้งของต้นมีค่า $r = 0.23$ ถือว่ามีความสัมพันธ์กันต่ำมาก สอดคล้องกับการทดลองของ รุ่งรัตน์ จุฑระกุล (2529 : 54) ที่รายงานว่า ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนปมกับน้ำหนักแห้งของต้นถั่วลิสงพันธุ์ UP - LPN 4 กล่าวคือ มีกลุ่มเชื้อโรโซเบียมที่ทำให้ต้นโสนมีจำนวนปมมาก แต่กลับมีน้ำหนักแห้งของต้นต่ำ เช่น เชื้อ TAL 1116, TAL 1113, และกลุ่มเชื้อโรโซเบียมที่ให้ต้นโสนมีจำนวนปมน้อย แต่ให้น้ำหนักแห้งของต้นสูง เช่น เชื้อ MHR 5, TOR 4 เป็นต้น การที่จำนวนปมกับน้ำหนักแห้งของต้นโสนอัฟริกันมีความสัมพันธ์กันต่ำมาก คงเป็นเพราะขนาดของปมที่เกิดขึ้น เนื่องจากเชื้อโรโซเบียมที่ให้จำนวนปมมาก แต่เป็นปมขนาดเล็กมีเนื้อเยื่อปมที่จะทำการตรึงไนโตรเจนได้น้อย ไม่สอดคล้องกับธาตุอาหารที่พืชต้องการสูญเสียให้กับโรโซเบียมโดยเฉพาะคาร์โบไฮเดรตที่พืชได้จากการสังเคราะห์แสง อาจจะเรียกว่าพืชเกิดโรคจากโรโซเบียม ทำให้พืชเจริญช้า ต้นเตี้ย น้ำหนักแห้งของต้นต่ำ (สุวศา ศิริพันธุ์. 2522 : 83) หรือเชื่อนี้เป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการสร้างปมแต่ไม่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนก็ได้และในกรณีที่เชื้อโรโซเบียมให้จำนวนปมน้อยแต่น้ำหนักแห้งสูง เพราะขนาดของปมใหญ่ปริมาตรเนื้อเยื่อของปมทั้งหมดจึงมีมากทำการตรึงไนโตรเจนได้สูงต้นถั่วมีการเจริญเติบโตน้ำหนักแห้งของต้นก็สูงไปด้วย และเป็นเชื้อโรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพสูงด้วย (Nantakorn Boonkerd and others . 1978 : 1 - 10)

ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนปมกับไนโตรเจนในต้นโสน ในการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนปมกับไนโตรเจนในต้นโสนอินเดีย พบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ มีค่า $r = 0.98$ สอดคล้องกับการทดลองของ ชวลิต ชงขะบุร (2523 : 90 - 91) ที่พบว่าถั่วเหลืองพันธุ์ Improved Pelican จำนวนปมมีความสัมพันธ์กับปริมาณไนโตรเจนในต้นถั่วอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติยิ่ง กล่าวคือโรโซเบียมเชื้อโคทำให้ต้นโสนมีจำนวนปมมาก ก็ทำให้ต้นโสนตรึงไนโตรเจนได้มากมีผลทำให้ไนโตรเจนในต้นโสนมากตามไปด้วย และโรโซเบียมเชื้อโคทำให้ต้นโสนมีจำนวนปมน้อย ก็ทำให้ต้นโสนตรึงไนโตรเจนได้น้อย ไนโตรเจนในต้นโสนน้อยไปด้วยทั้งที่

ธงชัย มาลา (2521 : 50) กล่าวว่าไว้ว่าการที่ไรโซเบียมเชื้อใดทำให้ต้นถั่วเกิดปมได้มาก ทำให้ตรึงไนโตรเจนได้สูง ส่งผลให้ลำต้นเจริญเติบโตดี มีจำนวนใบมาก ใบใหญ่มีสีเขียวเข้ม โอกาสที่สร้างคาร์โบไฮเดรตมีมากและมีเหลือเพียงพอที่จะเคลื่อนย้ายไปยังปม ทำให้ไรโซเบียมเจริญดี ทำการตรึงไนโตรเจนสูง ทำให้ไนโตรเจนในต้นสูงไปด้วย ในทางกลับกันไรโซเบียมเชื้อใดทำให้ต้นถั่วเกิดปมได้น้อยในโตรเจนในต้นถั่วก็น้อยไปด้วย ส่วนโสนอัฟริกันพบว่าจำนวนปมกับไนโตรเจนในต้นโสนไม่มีความสัมพันธ์กันมีค่า $r = 0.21$ สอดคล้องกับการทดลองของ ธงชัย มาลา (2521 : 64) สรุปไว้ไม่พบความสัมพันธ์กันระหว่างจำนวนปมกับไนโตรเจนในต้นถั่วสวลีส สไตโล กล่าวคือมีทั้งกลุ่มไรโซเบียมที่ทำให้เกิดปมมากและมีไนโตรเจนในต้นสูง กลุ่มไรโซเบียมที่ทำให้เกิดปมมากแต่มีไนโตรเจนต่ำ กลุ่มไรโซเบียมที่ทำให้เกิดปมน้อยแต่มีไนโตรเจนในต้นสูง และกลุ่มไรโซเบียมที่ทำให้เกิดปมน้อยและมีไนโตรเจนในต้นต่ำ การที่ไรโซเบียมให้จำนวนปมมากแต่มีไนโตรเจนในต้นต่ำ ซึ่งเป็นผลมาจากขนาดของปมคือปมมากแต่เป็นปมขนาดเล็กจึงตรึงไนโตรเจนได้น้อยต้นเจริญเติบโตช้า ทำให้ไนโตรเจนในต้นถั่วก็น้อยไปด้วย และไรโซเบียมในปมอาจจะเป็นไรโซเบียมที่ไม่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนส่วนต้นโสนที่มีปมน้อยแต่ไนโตรเจนในต้นสูงก็เป็นเพราะขนาดของปมใหญ่ทำให้ตรึงไนโตรเจนได้มาก ส่งผลทำให้มีไนโตรเจนในต้นสูงไปด้วย

น้ำหนักแห้งของปม

การประเมินประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของไรโซเบียมแต่ละเชื้อร่วมกับโสนอินเดีย และโสนอัฟริกัน กระทำโดยการชั่งน้ำหนักแห้งของปม ปรากฏว่าไรโซเบียมแต่ละเชื้อมีความสามารถในการสร้างเนื้อเยื่อปมได้แตกต่างกัน สอดคล้องกับการทดลองของ ชวลิต ธงประยูร (2523 : 40) พบว่า เชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ต่าง ๆ มีความสามารถในการสร้างเนื้อเยื่อปมแตกต่างกันออกไป และนัทแมน (Nutman. 1969 : 417 - 437) ก็พบว่า ทั้งในถั่วและไรโซเบียมมีปัจจัยทางพันธุกรรมที่จะควบคุมจำนวนปมและขนาดของปมที่เกิดขึ้นโดยที่ปัจจัยดังกล่าวต่างก็เป็นอิสระต่อกัน ดังนั้นปริมาณเนื้อเยื่อปมที่เกิดขึ้นกับโสนทั้งสองชนิดจะมีมากหรือน้อยก็น่าจะขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพของเชื้อและความเหมาะสมระหว่างเชื้อของไรโซเบียมกับโสน

ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้งของปมกับจำนวนปมจากการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนปมกับน้ำหนักแห้งของ โสนอินเดียน พบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติมีค่า $r = 0.99$ สอดคล้องกับรายงานของ คาฮียาและคณะ (Dahiya and others, 1980 : 373 - 379) ที่พบว่าไรโซเบียมสายพันธุ์โคสสร้างปมได้มากทำให้น้ำหนักแห้งของปมสูงตามไปด้วย กล่าวคือไรโซเบียมเชื้อใดทำให้โสนเกิดปมได้มาก ก็จะทำให้น้ำหนักแห้งของปมสูง และไรโซเบียมเชื้อใดทำให้โสนเกิดปมได้น้อยก็จะทำให้น้ำหนักแห้งของปมน้อยไปด้วย ส่วน โสนอัฟริกัน พบว่า ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนปมกับน้ำหนักแห้งของปมมีค่า $r = 0.27$ แสดงว่ามีความสัมพันธ์กันต่ำมากกล่าวคือ มีทั้งกลุ่มไรโซเบียมที่ให้จำนวนปมมากและมีน้ำหนักแห้งของปมสูง กลุ่มไรโซเบียมที่ให้จำนวนปมมากแต่น้ำหนักแห้งของปมต่ำ กลุ่มไรโซเบียมที่ให้จำนวนปมน้อยและมีน้ำหนักแห้งของปมต่ำ และกลุ่มไรโซเบียมที่ให้จำนวนปมน้อยแต่น้ำหนักแห้งของปมสูง ทั้งนี้เนื่องมาจากปริมาณเนื้อเยื่อของปมที่ถูกสร้างขึ้นจากการกระตุ้นของไรโซเบียมที่อยู่ในลักษณะแบคทีเรียภายในปม เช่น กลุ่มที่ไรโซเบียมที่ให้จำนวนปมแต่น้ำหนักแห้งของปมต่ำ เพราะปมมีขนาดเล็กปริมาณทั้งหมดของเนื้อเยื่อปมน้อยก็ทำให้น้ำหนักแห้งของปมก็ต่ำไปด้วย และกลุ่มที่มีปมน้อยแต่น้ำหนักแห้งของปมสูงก็เพราะเป็นปมขนาดใหญ่ปริมาณเนื้อเยื่อทั้งหมดของปมมากทำให้น้ำหนักแห้งของปมก็สูงด้วย ส่วนคันโสนที่ไม่ใส่เชื้อไรโซเบียมก็จะมีปมจึงไม่สามารถชั่งน้ำหนักแห้งของปมได้

ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้งของปมกับไนโตรเจนในต้น จากการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้งของปมกับ ไนโตรเจนในต้น โสนอินเดียน พบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติมีค่า $r = 0.98$ แสดงว่าเชื้อไรโซเบียมที่ให้เนื้อเยื่อปมมากก็ให้ไนโตรเจนในต้นสูงด้วย และเชื้อไรโซเบียมที่ให้เนื้อเยื่อปมน้อยก็ให้ไนโตรเจนในต้นต่ำด้วย และโสนอัฟริกันพบว่า น้ำหนักแห้งของปมกับไนโตรเจนในต้นมีความสัมพันธ์กันมีค่า $r = 0.56$ แสดงว่ามีทั้งกลุ่มไรโซเบียมที่ทำให้น้ำหนักแห้งของปมมากแต่น้ำหนักไนโตรเจนในต้นต่ำและกลุ่มไรโซเบียมที่ทำให้น้ำหนักแห้งของปมต่ำ แต่มิใช่ไนโตรเจนในต้นสูง ซึ่งศุวศา ศิริพันธุ์ (2522 : 83) สรุปไว้ว่าเกิดจากความไม่สมดุลระหว่างธาตุอาหารคาร์บอนไฮเดรตที่ต้นได้รับกับการสร้างเนื้อเยื่อปมกับธาตุไนโตรเจนที่ไรโซเบียมตรึงได้ทีส่งให้กับต้นด้วย

ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้งของปมกับน้ำหนักแห้งของต้น จากการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้งของปม กับน้ำหนักแห้งของต้นโสนอินเดีย และโสนอัฟริกัน พบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติมีค่า $r = 0.90$ และ 0.67 ตามลำดับสอดคล้องกับการทดลองของ นันทกร บุญเกิด และคนอื่น ๆ (Nantakorn Boonkerd and others. 1978 : 1 - 10)

น้ำหนักแห้งของปมกับน้ำหนักแห้งของต้นมีความสัมพันธ์กันในทางบวก แสดงว่าไรโซเบียมเชื้อโคไให้น้ำหนักแห้งปมสูงก็ให้ต้นโสนมีน้ำหนักแห้งต้นสูงด้วยและเชื้อโคไให้น้ำหนักแห้งปมต่ำก็จะให้น้ำหนักแห้งของต้นโสนต่ำด้วย และการทดลองของ ไวย์เมย์ (Whitemay. 1971 : 398 - 401) ก็พบว่าน้ำหนักแห้งของปมมีความสัมพันธ์โดยตรงกับการเจริญเติบโตของต้นด้วยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งแสดงว่าไรโซเบียมเชื้อโคไสามารถสร้างเนื้อเยื่อปมได้มากให้น้ำหนักของปมต่อต้นสูง ก็สามารถตรึงไนโตรเจนได้มาก ต้นโสนมีการเจริญเติบโตดี ทำให้น้ำหนักแห้งของต้นสูงด้วย ส่วนไรโซเบียมเชื้อโคไสร้างเนื้อเยื่อปมได้ต่ำ การตรึงไนโตรเจนก็ต่ำต้นโสนเจริญช้า ทำให้น้ำหนักแห้งของต้นต่ำไปด้วย

สำหรับโสนอัฟริกันในบางกรณีเชื้อไรโซเบียมให้น้ำหนักแห้งของปมสูงแต่กลับให้น้ำหนักแห้งของต้นต่ำ และเชื้อไรโซเบียมที่ให้น้ำหนักแห้งของปมต่ำแต่กลับให้น้ำหนักแห้งของต้นสูงการที่น้ำหนักแห้งของปมกับน้ำหนักแห้งของต้นโสนอัฟริกัน 2 ลักษณะมีความสัมพันธ์กันอย่างไม่สมบูรณ์ คงเป็นเพราะคุณสมบัติของธาตุอาหารและประสิทธิภาพของเชื้อที่อยู่ในเนื้อเยื่อปม กล่าวคือไรโซเบียมที่ให้น้ำหนักแห้งปมสูง แต่กลับให้น้ำหนักของต้นต่ำ แสดงว่าคาร์โบไฮเดรตที่ต้นได้จากการสังเคราะห์แสงถูกลำเลียงไปยังปมรากมากเกินไปทำให้คาร์โบไฮเดรตในต้นน้อย น้ำหนักแห้งต้นก็น้อยด้วย หรือเนื่องมาจากประสิทธิภาพของเชื้อมีประสิทธิภาพต่ำในการตรึงไนโตรเจนทำให้ต้นได้รับธาตุไนโตรเจนในการเจริญเติบโตน้อย น้ำหนักแห้งของต้นก็ต่ำด้วย และเชื้อไรโซเบียมที่ให้น้ำหนักแห้งปมต่ำ แต่กลับให้น้ำหนักแห้งต้นสูงก็เป็นไปในทางที่กลับกัน คือต้นพืชจะใช้คาร์โบไฮเดรตในการเจริญเติบโตของต้นมากกว่าที่จะส่งไปยังปมราก ทำให้น้ำหนักแห้งของต้นสูงแต่น้ำหนักแห้งปมต่ำ (นงลักษณ์ อุดมยมกุล. 2522 : 17) หรือ เนื่องมาจากประสิทธิภาพของเชื้อสูง ในการตรึงไนโตรเจนทำให้ต้นได้รับธาตุไนโตรเจนในการเจริญเติบโตได้มากน้ำหนักแห้งของต้นก็สูงไปด้วย

อัตราการตรึงไนโตรเจน

การวัดอัตราการตรึงไนโตรเจนของเอนไซม์ไนโตรจีเนสที่อยู่ในปมของถั่วโดยใช้วิธีอะเซทิลีนรีดักชัน ซึ่งเป็นวิธีการทางอ้อมสามารถใช้วัดประสิทธิภาพของไรโซเบียมแต่ละสายพันธุ์ในการตรึงไนโตรเจนได้ (Somasegaran and Hoben. 1985 : 320 - 327) จากการทดลองเมื่อเปรียบเทียบอัตราการตรึงไนโตรเจนของเชื้อไรโซเบียมแต่ละเชื้อปรากฏว่าเชื้อไรโซเบียมต่างกันทำให้อัตราการตรึงไนโตรเจนต่างกันด้วย ดังที่สมศักดิ์ วังใน (2525 : 91 - 92) สรุปไว้ว่าปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้แตกต่างไปตามสายพันธุ์ของไรโซเบียม ไม่ว่าตัวชนิดเดียวกันหรือต่างชนิดกัน

จากการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการตรึงไนโตรเจนกับน้ำหนักแห้งของต้นไนโตรเจนในต้น จำนวนปม และน้ำหนักแห้งของปมของโสนอินเดีย พบว่ามีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติมีค่า $r = 0.94, 0.97, 0.99$ และ 0.99 ตามลำดับ สอดคล้องกับการทดลองของ นันทกร บุญเกิด และคนอื่น ๆ (Nantakorn Boonkerd and others. 1978 : 1 - 10) รายงานว่าการประเมินประสิทธิภาพสายพันธุ์ของ *B. japonicum* ในการตรึงไนโตรเจนร่วมกับถั่วเหลืองโดยวิธีอะเซทิลีนรีดักชันนี้มีสหสัมพันธ์กับความสูงของต้น น้ำหนักแห้งของต้น ปริมาณไนโตรเจนในต้นจำนวนปม น้ำหนักแห้งของปมและขนาดของเมล็ด แสดงว่า เชื้อไรโซเบียมที่มีอัตราการตรึงไนโตรเจนได้สูงจะมีประสิทธิภาพในการทำให้ต้นโสนเจริญเติบโตทั้งในด้านส่วนสูงมวลชีวภาพ ไนโตรเจนในต้น การทำให้เกิดปม สร้างเนื้อเยื่อปมได้สูงด้วย ส่วนโสนอัฟริกัน พบว่าอัตราการตรึงไนโตรเจนมีความสัมพันธ์กับ น้ำหนักแห้งของต้น ไนโตรเจนในต้น น้ำหนักแห้งของปม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติมีค่า $r = 0.83, 0.71, 0.71$ ตามลำดับ แสดงว่าระหว่าง 2 ลักษณะยังสัมพันธ์กันอย่างไม่สมบูรณ์ คือไรโซเบียมบางกลุ่มมีอัตราการตรึงไนโตรเจนสูงให้น้ำหนักแห้งต้นไนโตรเจนในต้นและน้ำหนักแห้งของปมต่ำ บางกลุ่ม มีอัตราการตรึงไนโตรเจนต่ำแต่น้ำหนักแห้งของต้น ไนโตรเจนในต้น และน้ำหนักแห้งของปมสูงและไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการตรึงไนโตรเจนกับจำนวนปม แสดงว่า มีทั้งกลุ่มที่ไรโซเบียมที่มีอัตราการตรึงไนโตรเจนสูงมีจำนวนมากด้วย กลุ่มไรโซเบียมที่มีอัตราการตรึงไนโตรเจนสูงแต่น้ำหนักแห้งของปมน้อย กลุ่มไรโซเบียมที่มีอัตรา

การตรึงไนโตรเจนค่ามีจำนวนปมค่าด้วย และกลุ่มไรโซเบียมที่มีอัตราการตรึงไนโตรเจนค่าแต่มีจำนวนปมสูง ตัวอย่าง เช่น เชื้อ TOR 3 มีจำนวนปม 47 ปมต่อต้น มีอัตราการตรึงไนโตรเจน $134.52 \mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{g nod. dry wt. /h}$ แต่เชื้อ ชร., TAL 1116, TAL 1113 มีจำนวนปม 135, 88, 87 ปม ตามลำดับมีอัตราการตรึงไนโตรเจน 41.08, 2.61 และ $4.53 \mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{g nod. dry wt. /h}$ ตามลำดับและในโซนอินทรีย์ก็พบว่าจำนวนปมกับอัตราการตรึงไนโตรเจนมีความสัมพันธ์กันอย่างไม่สมบูรณ์ เช่น เชื้อ นม.5 มีจำนวนปม 93 ปมต่อต้นมีอัตราการตรึงไนโตรเจน $125.92 \mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{g nod. dry wt. /h}$ แต่เชื้อ ตง.4 มีจำนวนปม 123 ปมต่อต้น มีอัตราการตรึงไนโตรเจน $55.74 \mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{g nod. dry wt. /h}$ ทั้งนี้เพราะตำแหน่งสำคัญที่ทำการตรึงไนโตรเจนที่เกิดขึ้นในปมถั่ว คือส่วนที่เรียกว่า แบคทีรอยด์ ซึ่งเป็นไรโซเบียมที่เข้าไปอาศัยอยู่ในปมรากของถั่วและมีเอนไซม์ไนโตรจีเนสเป็นตัวกระตุ้นการรีดิวซ์ก๊าซไนโตรเจนจากอากาศให้มาอยู่ในรูปของแอมโมเนียและมีความสัมพันธ์โดยตรงกับ เลกฮีโมโกลบิน เพราะฉะนั้น ถั่วปมมีขนาดใหญ่ ถึงจำนวนปมน้อยแต่มีปริมาตรของเนื้อเยื่อปมมากแบคทีรอยด์มีมากด้วยและมีเอนไซม์ไนโตรจีเนส เลกฮีโมโกลบินและปัจจัยอื่น ๆ ที่มีความสำคัญในการตรึงไนโตรเจนที่อยู่ในระดับเหมาะสมทำให้แบคทีรอยด์ตรึงไนโตรเจนให้สูง (สมศักดิ์ วังโน. 2525 : 87 - 98; Rao. 1977 : 241 - 259) และการทดลองกิบสัน (Gibson. 1977 : 393 - 450) พบว่าสายพันธุ์ไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพสูงจะมีอัตราการตรึงไนโตรเจนต่อหน่วยน้ำหนักของเนื้อเยื่อปมสูงกว่าสายพันธุ์ที่ไม่มีประสิทธิภาพ สำหรับเชื้อไรโซเบียมที่ให้จำนวนปมมากแต่มีอัตราการตรึงไนโตรเจนค่าเพราะขนาดของปมเล็กปริมาตรเนื้อเยื่อของปมทั้งหมดคือน้อยทำให้มีจำนวนจำนวนแบคทีรอยด์ที่ทำการตรึงไนโตรเจนมีน้อย อัตราการตรึงไนโตรเจนก็น้อยไปด้วย

ข้อเสนอแนะ

ควรนำไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพที่ได้จากการคัดเลือก นำไปทดสอบในสภาพไร่ (field tests) ซึ่งเป็นการทดสอบขั้นสุดท้ายก่อนที่จะนำเชื้อไรโซเบียมไปใช้หรือแนะนำให้เกษตรกร เพื่อประเมินความสามารถในการตรึงไนโตรเจน การแข่งขันกับไรโซเบียมที่มีอยู่ในดิน และความทนทานต่อสภาพแวดล้อมตลอดจนความสามารถในการให้ประสิทธิภาพตามสภาพธรรมชาติจริง ๆ

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

- กองวิทยาการ, กรมการข้าว. การใช้ปุ๋ยพืชสดในนาข้าว. กรุงเทพฯ : กองวิทยาการ กรมการข้าว, 2517.
- กอง จันทึก. การใช้בקเครื่องกับถั่วลิสง. วิทยานิพนธ์ วท.ม. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2518. อักสำเนา.
- จิระศักดิ์ อรุณศรี. "การใช้เชื้อไรโซเบียมกับพืชตระกูลถั่ว," ใน เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตรปุ๋ยชีวภาพ. หน้า 18 - 46. กรุงเทพฯ : กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร, 2529.
- ชวลิต ชงประยูร. การคัดเลือกหาเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการตรึงไนโตรเจนร่วมกับถั่วเหลืองพันธุ์ Davis และ Improved pelican. วิทยานิพนธ์ วท.ม. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2523. อักสำเนา.
- ชัยณรงค์ อภินพพัฒน์. การจำแนกสายพันธุ์ Rhizobium spp. โดยวิธี Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) และวิธี Sodium Dodecyl Sulphate. Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE). วิทยานิพนธ์ วท.ม. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2530. อักสำเนา.
- ธงชัย มาลา. ประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนของไรโซเบียมสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่เจริญร่วมกับถั่วลิสง สไตโล. วิทยานิพนธ์ วท.ม. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2521. อักสำเนา.
- นงลักษณ์ อุดมยมกุล. อิทธิพลของสภาพทางฟิสิกส์ เคมีต่อการอยู่รอดของไรโซเบียม. วิทยานิพนธ์ วท.ม. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2522. อักสำเนา.
- นพรัตน์ บำรุงรักษ์. "สถานการณ์ปัจจุบันของการตรึงไนโตรเจนในพืช," ใน วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. หน้า 263 - 268. กรุงเทพฯ : สถาบันวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี กรุงเทพฯ, 2526.

นิรันดร์ สิงหบุตร, สมศรี อรุณห์ และยุทธชัย อนุรักษดิพันธุ์. "ศักยภาพของการใช้โสนเป็นปุ๋ยพืชสดบนพื้นที่ดินเค็มของประเทศไทย," ใน เอกสารประกอบการสัมมนาทางวิชาการ.

หน้า 178 - 187. กรุงเทพฯ : กรมพัฒนาที่ดิน กรุงเทพฯ, 2531.

นิรันดร์ สิงหบุตร และคนอื่น ๆ. "ไรโซเบียมสองสายพันธุ์ที่ปลูกลงบนโสนและนำมาใช้เป็นปุ๋ยพืชสดต่อการปรับปรุงดินเค็ม," ใน รายงานทางวิชาการประจำปี 2531. หน้า 1 - 5
กรุงเทพฯ : กรมพัฒนาที่ดิน กรุงเทพฯ, 2531.

_____. "อิทธิพลของดินเค็มในสภาพดินไร่และดินนาต่อโสน 4 พันธุ์," ใน รายงานทางวิชาการประจำปี 2530. ไม่มีเลขหน้า กรุงเทพฯ : กรมพัฒนาที่ดิน กรุงเทพฯ, 2530.

นันทกร บุญเกิด. คู่มือการใช้เชื้อไรโซเบียม. กรุงเทพฯ : อรุณการพิมพ์, 2529.

เนาวรัตน์ ศิวะศิลป์. การปฏิบัติการวิเคราะห์ดินและพืช. เชียงใหม่ : ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2527.

ปรีชา วดีศิริศักดิ์. "งานวิจัยไรโซเบียม," ใน เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตรปฐพีวิทยา.
หน้า 15 - 19. กรุงเทพฯ : กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กองปฐพีวิทยา
กรมวิชาการเกษตร, 2531.

พรพรรณ จงสุขสันติกุล. การคัดเลือกไรโซเบียมไมโครดินยักษ์. วิทยานิพนธ์ วท.ม.
กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ, 2528. อักสำเนา.

เย็นใจ วสุรัตน์. การใช้เชื้อไรโซเบียมเพิ่มผลผลิตให้แก่พืชตระกูลถั่ว. กรุงเทพฯ :
กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร, 2523.

รุ่งรัตน์ จูตระกูล. การคัดเลือกสายพันธุ์ไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพสูงในการตรึงไนโตรเจนร่วมกับถั่วลิสงบางพันธุ์. วิทยานิพนธ์ วท.ม. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,
กรุงเทพฯ, 2529. อักสำเนา.

วิทยา ธนานุสนธิ์. "เทคนิคการตรวจสอบประสิทธิภาพการใช้เชื้อไรโซเบียม," ใน เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตรปฐพีวิทยา. หน้า 40 - 45. กรุงเทพฯ : กลุ่มงานวิจัย
จุลินทรีย์ดิน กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร, 2529.

ศรีสุกัร นิลกรรณ. ไรโซเบียมสายพันธุ์พื้นเมืองสำหรับถั่วเหลืองที่มีในภาคเหนือของประเทศไทย.

วิทยานิพนธ์ วท.ม. เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2532. อักสำเนา.

ศุวศา คิริพันธุ์. แบคทีเรียทำให้เกิดปมรากประคูนในป่าสแกร์ช. วิทยานิพนธ์ วท.ม. กรุงเทพฯ :

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2522. อักสำเนา.

ศุภมาศ พินิจศักดิ์พัฒนา. จุลชีววิทยาคน. กรุงเทพฯ : ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเกษตรศาสตร์

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2529.

สกล สุธีสร. "การใช้โสมเพื่อผลผลิตข้าว," กลีกร 47 (5) : 282 - 285; กันยายน

- ตุลาคม. 2529.

สมศักดิ์ วังโน. การตรึงไนโตรเจน "ไรโซเบียม - พืชตระกูลถั่ว" กรุงเทพฯ : ภาควิชา

ปฐพีวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2525.

_____. การตรึงไนโตรเจน "ไรโซเบียม - พืชตระกูลถั่ว," กรุงเทพฯ : ภาควิชา

ปฐพีวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2516.

สมศรี อรุณินท์ และไพรัช หงษ์วิเชียร. "การเปรียบเทียบโสม 4 พันธุ์ในสภาพดินนา," ใน

การประชุมทางวิชาการ. หน้า 107. กรุงเทพฯ : กรมพัฒนาที่ดิน กรุงเทพฯ, 2531.

สุรพล อุปคิสสกุล. สถิติการวางแผนการทดลองขั้นต้น. กรุงเทพฯ : ฝ่ายสถิติการวางแผน

การทดลอง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2523.

อติป ลิขิตลิลิต. การศึกษาศักยภาพในการตรึงไนโตรเจนของไรโซเบียม จาโปนิคัมสายพันธุ์ 122

สายพันธุ์ใหม่. วิทยานิพนธ์ วท.ม. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2524.

อักสำเนา.

Allen, O.N. and E.A. Allen. The Leguminosae. Wisconsin : The University of Wisconsin Press, 1981.

Bergersen, F.J. The Legume Rhizobium Symbiosis in tropical Agriculture : A Selective Bibliography With Annotations. Hawaii : Department of Agronomy and Soil Science University of Hawaii, 1980.

- Bohlool , B.B and E.L. Schmidt. "Lectins : A possible basis for specificity in the Rhizobium - legum root nodule symbiosis," science. 185 : 269 - 271; 1974.
- Burton, J.C. "Rhizobium culture and use," in Microbial Technology. edited. by W.E. Newton, and C.J. Nyman. P. 33. New York : Van Nostrand Reinhold Company, 1979.
- _____. "Pragmatic aspects of Rhizobium leguminous plant associations," in Symposium on Dinitrogen Fixation. edited by W.E. Newton and J.C. Nyman. P. 429 - 446. Washington : Washington State Press, 1976.
- Caldwell, B.E. and E.E. Hartwing. "Serological distribution of soybean root nodule bacteria," Agronomy Journal. 62 : 621 - 622; September, 1970.
- Chase, M.W. "Immunization Procedures," in Methods in Immunology and Immunochemistry. edited by C.A. Williams and M.W. Chase P.209 - 237. New York : Academic Press, 1967.
- Dahiya, J.S. and others. "Evaluation. Cajanus cajan(L.) rhizobia," in Proceedings of the International Workshop on Pigeonpeas. India : I C R I S A I Center Pataneheru, 1980.
- Darte, P. J. The Biology of Nitrogen Fixation. North - Holland : North - Holland Publishing Company, 1984.
- Date, R.A. "Microbiological problem in the inoculation and nodulation of legum," Plant and Soil. 52 : 703 - 725; March, 1974.
- Deryfus, R. and G. Rinaudo "Observation on use of Sesbania rostrata as green manure in paddy field," Mircen News Journal. 1 : 111 - 121; July 1985.
- Deryfus, B. and other. "Characterization of Azorhizobium caulinodans gen. nov., SP. nov, a Stem - Nodulation Nitrogen - Fixing Bacterium Isolated from Sesbania rostrata," International Journal of Systematic Bacteriology. 38 : 89 - 98; January, 1988.
- Dudman, F.W. and L. Belbin. "Numerical Taxonomic Analysis of Some Strains of Rhizobium spp. That Uses a Qualitative Coding of immunodiffusion Reactions," Applied and Environmental Microbiology. 54 : 1825 - 1830; July, 1988.

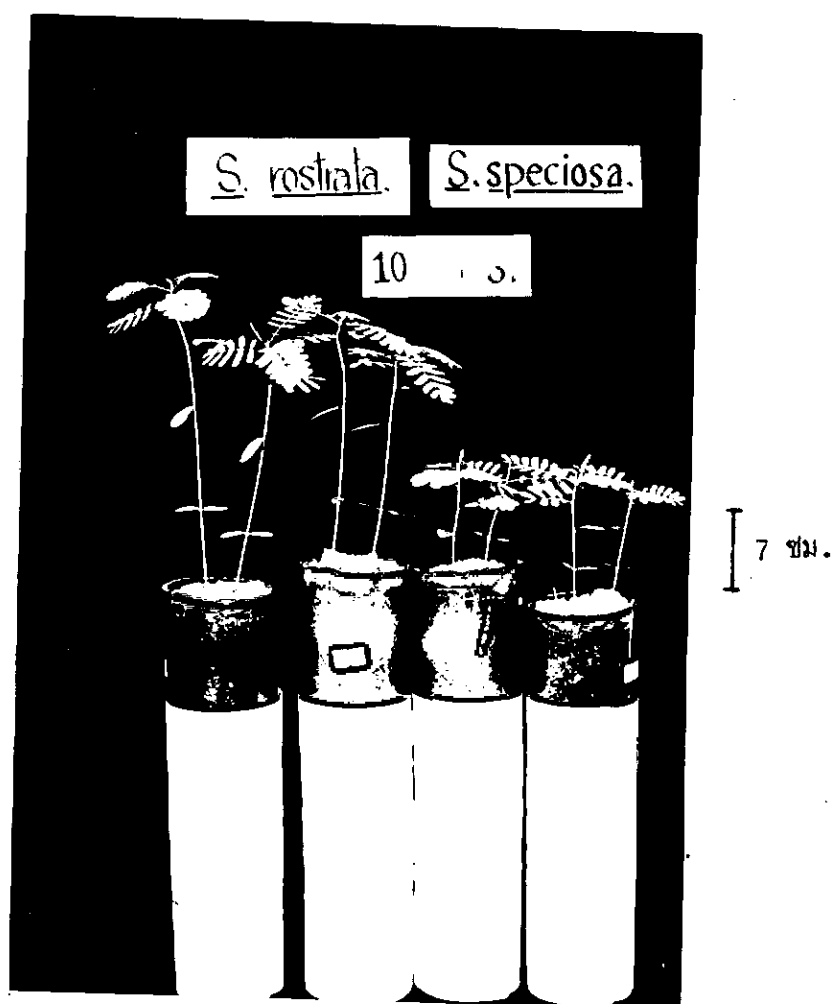
- Dunican, L.K. and F.C. Cannon. "The genetic control of symbiotic properties in Rhizobium : Evidence for plant control," Plant and Soil. 25 : 73 - 79; May, 1971.
- Dutta, N.L. "Sesbania," in The Leguminsae. Indian : Hussain and Ahmad Company, 1965.
- Eisen, H.N. "Immunology," in Microbiology including immunology and molecular genetics. edited by B.D. Davis, R.Dulbecco, H.N. Eisen, H.S. Ginsberg and H.B. Wood P.349 - 624. New York : Harper and Row. Publishers, 1973.
- Elkan, G.H. and others. "Nodulation and nitrogenase activity of Peanuts inoculated with single strain isolates of Rhizobium," Peanut Science. 7 : 95 - 97; 1980.
- Evan, D.O. and P.P. Rotar. Role of Sesbania in Agriculture. Colorado : Wesville Press, 1986.
- Fuhrman, J. and A.G. Wollum. "Simplified enzyme - linked immunosorbent assay for routine indentification of Rhizobium japonicum antigens," Applied and Environmental Microbiology. 49 : 1010 - 1013; April, 1985.
- Gibson, A.H. "Methods for legumes in Glasshouses and Controlled Environment Cabinets," in Method for Evalution Biological Nitrogen Fixation. edited by F.J. Bergersen. P. 161 - 163. New York : Bristane toronto Press, 1980.
- _____. "The influence of the environment and managerial practices on the legume - Rhizobium symbiosis," in A Treatise of Dinitrogen Fixation edited by R.W.F. Hardy and A.H. Gibson. P. 393 - 450. New York : John Willey and Sons. Interscience Publication, 1977.
- Halliday, J. "Phinciples Rhizobium Strain Selection," in Biologycal Nitrogen Fixation. edited by A. Martin. P.115 - 171. Hawaii : Plenum Publishing Corporation, 1984.
- Jordan, D.C. "Family III Rhizobiaceae," in Bergey's Mannual of Systematic Bacteriology 9 th ed. edited by R.K. Noel, P. 235 - 244. Baltimore : The Williams and Wilkins. Company, 1983.
- Karir, I.S. and others. "compectition of strains of rhizobium of the cowpea group in two soil types," Plant and soil. 64 : 251 - 253; June, 1984.

- Kirchener, M.L. "List of the Species of Genus Bradyrhizobium," in. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 9 th ed. edited by R.K. Noel, P. 244. Baltimore : The Williams and Wilkins. Company, 1983.
- Macario, E.C. and A.J.L. Macario. "Monoclonal antibodies for bacterial identification and taxonomy," American society for Microbiology news. 19 : 1 - 7; 1983.
- Mylton, R.L, D.M. Hughes and J. Kahurananga. "Host Rhizobium Relationships and their Implication for Legum Breeding," in Nitrogenfixation by Legumes in Mediterranean Agriculture. edited by D.P. Back, and L.A. Materon. P. 247 Netherlands : Printed in the Netherlands, 1988.
- Nambiar, P.T.C. and P.J. Dart," Factors in fluncing nitrogen activity (acetylene reduction) by nodules of groundnut Arachis hypogaea L.," Peanut Science. 10 : 26 - 29; 1983.
- Nangju, D. "Soybean response to indegenous Rhizobia as influenced by cultivar origin," Agronomy Journal. 72 : 403 - 406; September, 1980.
- Nantakorn Boonkerd and R.W. Weaver. "Survial of Cowper Rhizobia in Soil as Affected by Soil Temperture and Moisture," Applied and Environmental Microbiology. 43 : 583 - 589; March, 1981.
- Nantakorn Boonkerd and others. "Comparative evaluation of Rhizobium japonicum Strains by acetylene Reduction an other Methods," Legume Research. 2(1) : 1 - 10; 1978.
- Norris, D.O "Rhizobium screening of Stylosanthes for effectiveness in nitrogen fixation," in Australia Journal of Agricultural Research. 34 : 85 - 102; January, 1979.
- Nutman, P.S. "Genetics of symbiosis and nitrogen fixation in legumes," Proceedings of the Royal Society of Biologycal Sciences. 417 - 437; 1969.
- O'Hara, G. W., Nantakorn Boonkerd and M.J.Dilworth. "Mineral constraints to nitrogen fixation," Plant and Soil. 108 : 93 - 110; 1988.
- Parker, C.A. and L.G. Pamela. "Bdellovibrio bacter iovorvus Parasitizing Rhizobium in Western Australia," Journal of Applied Bacteriology 33 : 253 - 255; June, 1970.
- Rao, V.R "Effect of root temperature on the infection process and nodulation in Lotus and Stylosanthes," Journal Bacteriology. 28 : 241 - 255; May, 1977.

- Rupela, O.P. and others. "Chickpea Rhizobium Population : Survey of Influence of Season Soil Depth and Crop - ping Pattern," in Soil Biological Biochemistry. 19 : 247 - 252; August, 1987.
- Schmidt, E.L. and others. "Fluorescent antibody approach to study of Rhizobia in soil," Journal Bacteriology. 95 : 1987 - 1992; September, 1986.
- Sergio, M. and others. "The occurrence of infected cell with persistent infection threads, in legume root nodules," Canadian Journal of Botany. 65 : 553 - 558; May, 1987.
- Somasegaran, P. and H.J. Hoben Methods in Legume-Rhizobium Technology. Hawaii : University of Hawaii, 1985.
- Thompson, J.A. "Selection of Rhizobium Strain," in Nitrogen Fixation by Legumes in Mediterranean Agriculture. edited by D.P. Back, and L.A. Materon. P.207 - 218. Netherlands. : Printed in the Netherlands, 1988.
- Vincent, J.M. Nitrogen Fixation in Legumes. New York : Academic Press, 1982.
- _____. Nitrogen Fixation in Legumes. New York : Academic Press, 1970.
- Weaver, R.W. and other. "Population of Bradyrhizobium japonicum in Fields Cropped with Soybean - Rice Rotations," Soil Sciences Society America Journal. 51 : 90 - 92; 1987.
- Weaver, R.W. and L.R. Frederick "Growing plant for Rhizobium effectiveness test," Soil Biological Biochemistry. 7 : 77 - 78; June, 1977.
- Whitemay, P.C. "Distribution and Weight of nodules in tropical pasture legumes in the field," Expl. Agricultural 7 : 398 - 401; 1971.
- Witty, J.F. and F.R. Minchin. "Measurement of Nitrogen Fixation by the Acetylene Reduction. Assay," in Nitrogen Fixation by Legumes in Mediterranean Agriculture. edited by D.P. Back, and L.A. Materon. P. 131 - 142, Netherlands : Printed in the Netherlands, 1988.
- Woomer, P.; P.W. Singleton and B. Benbohlool. "Ecological Indicators of Native Rhizobia in Tropical Soils," Applied and Environmental Microbiology. 54 : 1112 - 1116; May, 1988.
- Wynne, J.C. and others. Greenhouse evaluation of strains of Rhizobium for Peanuts," Agronomy Journal. 72 : 645 - 649; February, 1980.

การพัฒนาก

ภาคผนวก ก

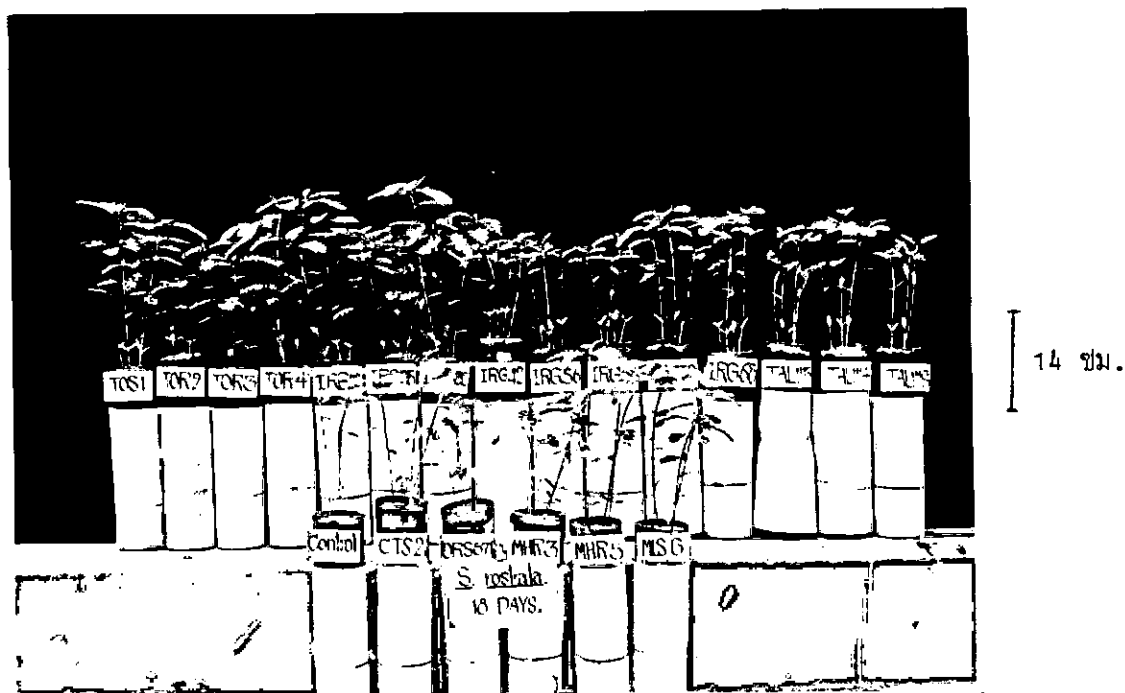


ภาพ ก

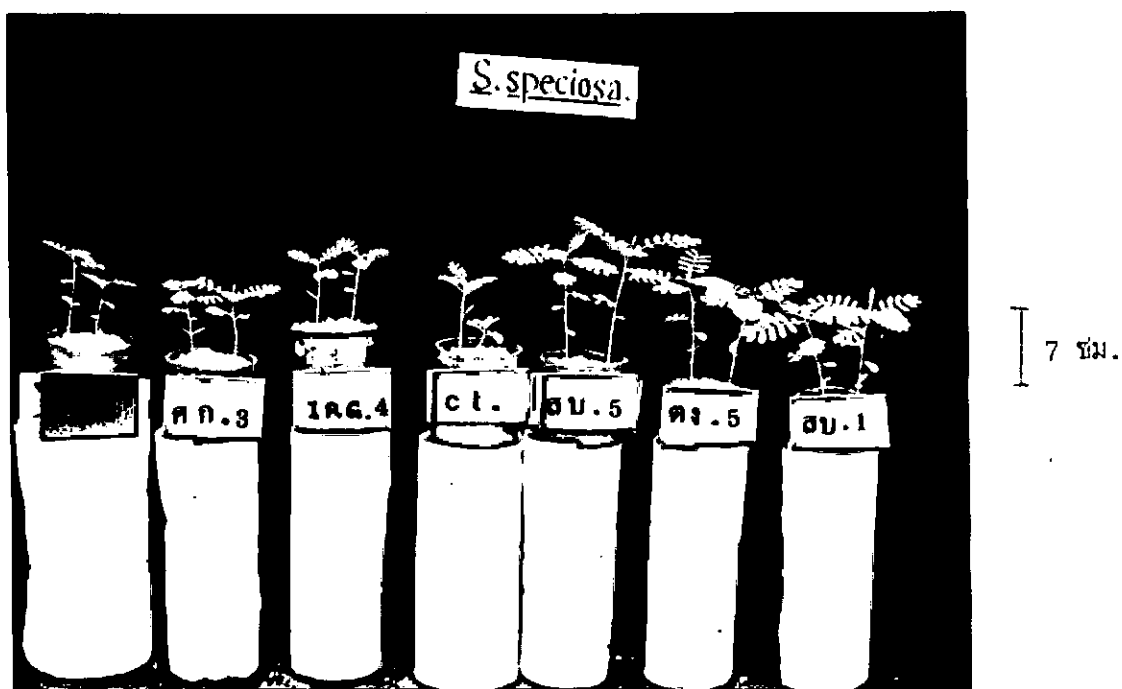
ภาพ ข

ภาพประกอบ 22 โสนอัฟริกัน (ภาพ ก) และโสนอินเดีย (ภาพ ข)

เมื่ออายุ 10 วัน



ภาพ ก

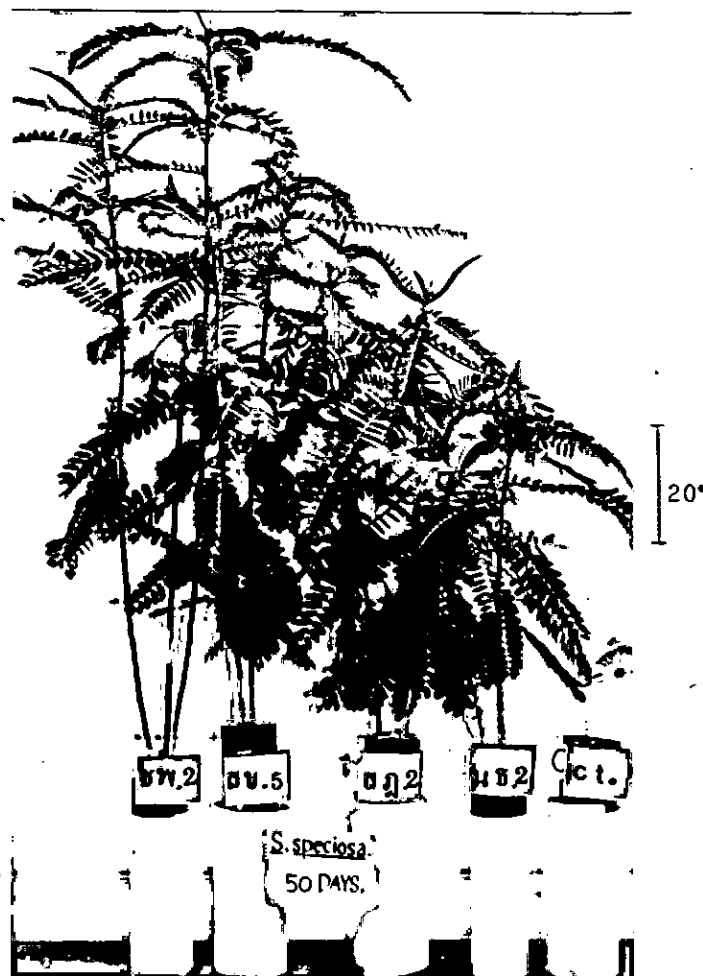


ภาพ ข

ภาพประกอบ 23 โสนอัฟริกัน (ภาพ ก) และโสนอินเดีย (ภาพ ข) เมื่ออายุ 18 วัน

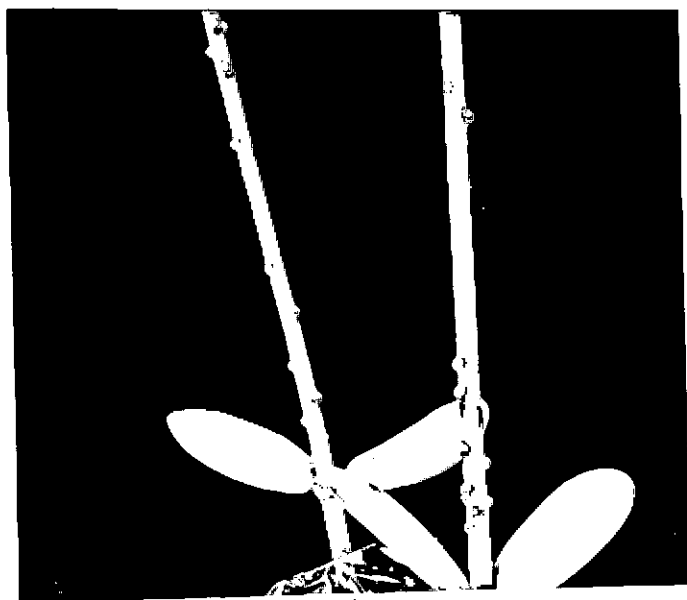


ภาพ ก



ภาพ ข

ภาพประกอบ 24 โสนอัฟริกัน (ภาพ ก) และโสนอินเดีย (ภาพ ข) เมื่ออายุ 50 วัน



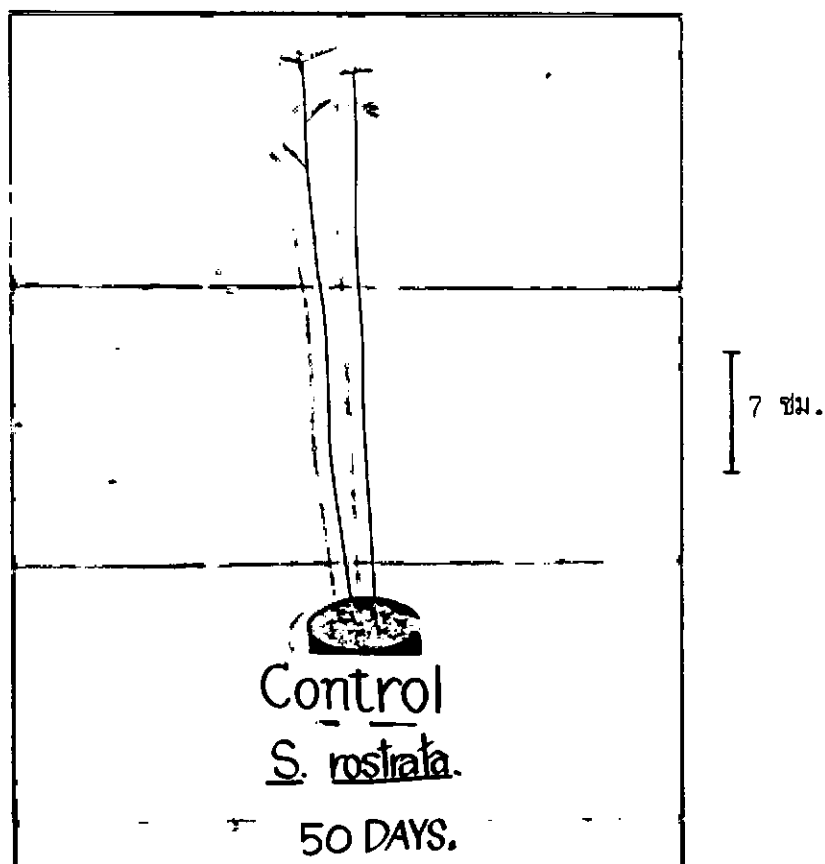
MHR5

ภาพ ก



ภาพ ข

ภาพประกอบ 25 โสนอัฟริกัน (ภาพ ก และ ภาพ ข) เริ่มติดปมที่ต้นเมื่ออายุประมาณ 12 - 15 วัน



ภาพ ก



ภาพ ข

ภาพประกอบ 26 เปรียบเทียบผลที่ต้นโสนอัฟริกันที่ไม่ใส่เชื้อโรโซเบียม (ภาพ ก) กับใส่เชื้อโรโซเบียม (ภาพ ข)

ภาคผนวก ข.

ภาคผนวก

สูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อ (Somasegaran and Hoben. 1985 : 273 - 277)

1. อาหารเหลวีสต์แมนนิทอล (yeast mannital broth : YMB)

ประกอบด้วย

แมนนิทอล	5.0	กรัม
โคโบคัสเซียมไฮโครเจนฟอสเฟต	0.5	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต	0.2	กรัม
โซเดียมคลอไรด์	0.1	กรัม
ผงสกัดจากยีสต์ (yeast extract)	0.5	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร
ปรับ pH ให้เป็น 6.8 นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ		

121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที

2. อาหารแข็งยีสต์แมนนิทอล (yeast mannitol agar : YMA) ประกอบด้วย

อาหารเหลวีสต์แมนนิทอล	1	ลิตร
วุ้น (agar)	15	กรัม

ปรับ pH อาหารเหลวีสต์แมนนิทอลให้เป็น 6.8 แล้วจึงเติมวุ้น นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3. อาหารแข็งยีสต์แมนนิทอลผสมคองโก้เรด (yeast mannitol agar-congored

: YMA-congored) ประกอบด้วย

อาหารแข็งยีสต์แมนนิทอล	1	ลิตร
คองโก้เรด (congored)	10	มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

4. อาหารแซงยีสต์แมนนิทอลบรอมไทล์มอลบลู (yeast mannitol agar - bromthymolblue : YMA - BTB) ประกอบด้วย

อาหารแซงยีสต์แมนนิทอล	1	ลิตร
บรอมไทล์มอลบลู (bromthymal blue)	5	มิลลิลิตร
นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส :		

เป็นเวลา 15 นาที

สูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงต้นโสนไม่มีธาตุไนโตรเจน (N-free nutrient solution) ประกอบด้วย

<u>สารละลาย 1</u>	แคลเซียมคลอไรด์	294.1	กรัม
	น้ำกลั่น	1	กรัม
<u>สารละลาย 2</u>	โพตัสเซียมฟอสเฟต	136	กรัม
	น้ำกลั่น	1	ลิตร
<u>สารละลาย 3</u>	เฟอร์ริกซิเตรต	6.7	กรัม
	แมกนีเซียมซัลเฟต	123.3	ลิตร
	โพตัสเซียมซัลเฟต	8.7	กรัม
	แมงกานีสซัลเฟต	0.383	กรัม
	น้ำกลั่น	1	ลิตร
<u>สารละลาย 4</u>	กรดบอริก	0.247	กรัม
	ซิงค์ซัลเฟต	0.288	กรัม
	คอปเปอร์ซัลเฟต	0.1	กรัม
	โคบอลต์ซัลเฟต	0.056	กรัม
	โซเดียมโมลิบเดต	0.048	กรัม
	น้ำกลั่น	1	ลิตร

ในสูตรอาหาร 10 ลิตร ประกอบด้วยสารละลาย 1 ถึง 4 อย่างละ 5 มิลลิลิตรในน้ำกลั่น 5 ลิตร แล้วเจือจางให้มีปริมาตร 10 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ อุดหมวก 121 องศาเซลเซียสต่อตารางนิ้ว 15 นาที

สารเคมี และบัฟเฟอร์ที่ใช้ในวิธีทดลองอินโคเรคท์ไอโซซา

1. โค้ทติ้ง บัฟเฟอร์ (coating buffer) ประกอบด้วย

โซเดียมคาร์บอเนต	1.59	กรัม
โซเดียมไบคาร์บอเนต	2.93	กรัม
โซเดียมเอไซด์	0.2	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร
ปรับ pH เป็น 9.6		

2. ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลิน (phosphate buffer saline : PBS)

โซเดียมคลอไรด์	8.0	กรัม
โปตัสเซียมฟอสเฟต	136.0	กรัม
โปตัสเซียมคลอไรด์	0.2	กรัม
ไดโซเดียมไฮโดรเจนออร์โทฟอสเฟต	2.9	กรัม
โซเดียมเอไซด์	0.2	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร
ปรับ pH เป็น 7.4		

3. ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลินใส่ - ทวิน 20 (phosphat buffer saline -

tween 20 : PBS - T) ประกอบด้วย

ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาลิน (PBS)	1	ลิตร
ทวิน 20	0.5	ลิตร

4. สับสเตรทบัฟเฟอร์ (substrate buffer) ประกอบด้วย

ไดเอทานอลาไมน์ (diethanolamine)	97	มิลลิลิตร
โซเดียมเอไซด์	0.2	กรัม
แมกนีเซียมคลอไรด์	0.1	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร
ปรับ pH เป็น 9.6		

ละลาย p - nitrophenyl phosphato 0.75 มิลลิกรัมต่อสับสเตรท

บัฟเฟอร์ 1 มิลลิลิตร

5. สารละลาย 3 โมลของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (3 M NaOH) ประกอบด้วย

โซเดียมไฮดรอกไซด์	3	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

6. สกีมมิลค์เข้มข้น 3% (3% skim milk) ประกอบด้วย

สกีมมิลค์	3	กรัม
ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ซาไลน์	100	มิลลิลิตร

สารละลายที่ใช้ในวิธีวิเคราะห์ในโครเจน

1. กรดบอริกอินดิเคเตอร์ (boric acid indicator solution) ประกอบด้วย

กรดบอริก	40	กรัม
น้ำร้อน	700	มิลลิลิตร
เอทานอล (ethanol)	200	มิลลิลิตร

มิกอินดิเคเตอร์ (mixed indicator) 20 มิลลิลิตร (ละลาย

บรมครีซอลกรีน 0.33 กรัม กับ เมทิลเรด 0.165 กรัม ในเอทานอล 500 มิลลิลิตร)

ละลายกรดบอริกในน้ำร้อน เมื่อสารละลายเย็นถ่ายลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1 ลิตร
ซึ่งมีเอทานอล และ มิกอินดิเคเตอร์บรรจุอยู่

2. โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ (40% NaOH)

โซเดียมไฮดรอกไซด์	400	กรัม
น้ำกลั่น	600	มิลลิลิตร

3. โคเจ็สชันมิกเจอร์ (digestion mixture) ประกอบด้วย

โซเดียมซัลเฟต	250	กรัม
ซิลิเนียม	2.5	กรัม
กรมซัลฟูริกเข้มข้น 95 - 97 เปอร์เซ็นต์	2,500	มิลลิลิตร

นำไปตั้งบนเตาไฟฟ้าอุณหภูมิ 300 - 360 องศาเซลเซียส ในตู้ควันจนกระทั่งได้สารละลายใส ไม่มีสี และต้มต่อไปอีกประมาณ 10 นาที เก็บสารละลายไว้ในขวดที่มีฝาปิด

วิธีคำนวณ ก๊าซเอทิลีน(C_2H_4)

ก๊าซมาตรฐาน 22.4 ลิตรที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐานมีปริมาตร	1	โมล
ก๊าซมาตรฐาน 1 ไมโครลิตรที่อุณหภูมิและความดันมาตรฐานมีปริมาตร	1/22.4	โมล
อากาศ 2245 มิลลิลิตร มีก๊าซ C_2H_4 มาตรฐาน	1	มิลลิลิตร
อากาศ 1 มิลลิลิตร มีก๊าซ C_2H_4 มาตรฐาน	1/2245	มิลลิลิตร
	$= 10^3/2245$	ไมโครลิตร
	$= 10^3/2245 \times 22.4$	ไมโครโมล

ให้ก๊าซมาตรฐาน 1 มิลลิลิตรทำให้เกิดพีค (peak) สูง	= A	มิลลิเมตร
ก๊าซตัวอย่าง 1 มิลลิลิตรทำให้เกิดพีคสูง	= B	มิลลิเมตร
ปริมาตรขวดที่ใช้ในการบ่ม	= V	มิลลิลิตร
พีค A มิลลิเมตร เกิดก๊าซ	$= 10^3/2245 \times 22.4$	ไมโครโมล
พีค B มิลลิเมตร เกิดก๊าซ	$= \frac{10^3 \cdot B}{2245 \times 22.4 \times A}$	ไมโครโมล

แต่ปริมาตรก๊าซทั้งหมด V มิลลิลิตร

$$\therefore \text{จะมีเอทิลีน} = \frac{10^3 \cdot B \cdot V}{2245 \times 22.4 \times A} \quad \text{ไมโครโมล}$$

เวลาที่ใช้ในการบ่ม = t ชั่วโมง

$$\therefore \text{เอทิลีน} = \frac{10^3 \cdot B \cdot V}{2245 \times 22.4 \times A} \quad \text{ไมโครโมล/ชั่วโมง}$$

$$\text{เอทิลีน} = 0.0198854 \cdot \frac{BV}{At} \quad \text{ไมโครโมล/ชั่วโมง}$$

ประวัติย่อผู้วิจัย

ชื่อ นางสาวสุวรรณี ชื่อสกุล พรหมศิริ

เกิดวันที่ 18 เดือนสิงหาคม พุทธศักราช 2500

สถานที่เกิด ตำบลตรัง อำเภอมายอ จังหวัดปัตตานี

สถานที่อยู่ปัจจุบัน 26 ถนนผังเมือง 4 ซอย 3 อำเภอเมือง จังหวัดยะลา 95000

ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน อาจารย์ 1 ระดับ 4

สถานที่ทำงานปัจจุบัน โรงเรียนบ้านคูวัง ตำบลคอใต้ อำเภอมายอ จ.ปัตตานี 94140

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2518 ม.ศ.3 จากโรงเรียนวุฒิชัยวิทยา อำเภอบะนาเระ จังหวัดปัตตานี

พ.ศ. 2520 ป.กศ. จากวิทยาลัยครูยะลา

พ.ศ. 2522 ป.กศ.สูง จากวิทยาลัยครูยะลา (วิชาเอกวิทยาศาสตร์ทั่วไป)

พ.ศ. 2525 กศ.บ. (วิชาเอกชีววิทยา) จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ สงขลา

พ.ศ. 2532 กศ.ม. (วิชาเอกชีววิทยา) จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร

การคัดเลือกเชื้อโรโซเปียมของโสนอินเดียและโสนอัฟริกัน

บทคัดย่อ

ของ

สุวรรณี พรหมศิริ

เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต วิชาเอกชีววิทยา

เมษายน 2533

บทคัดย่อ

ในการทดสอบประสิทธิภาพของไรโซเบียมแต่ละเชื้อร่วมกับโสนอินเดีย และโสนอัฟริกัน เพื่อคัดเลือกหาเชื้อไรโซเบียมที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพโดยใช้เชื้อไรโซเบียมของโสนอินเดีย 128 เชื้อ เชื้อไรโซเบียมของโสนอัฟริกัน 32 เชื้อ การทดสอบกระทำโดยการปลูกโสนทั้งสองชนิดลงใน ลีโอนาร์ดจา แล้วใส่เชื้อไรโซเบียมแต่ละเชื้อลงไป หลังจากปลูกได้ 50 วันก็ทำการคัดเลือกโดยพิจารณาจาก ส่วนสูง น้ำหนักแห้งของต้น เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนในต้น จำนวนปม น้ำหนักแห้งของปมและอัตราการตรึงไนโตรเจน จากการทดสอบกับโสนอินเดีย พบว่าเชื้อไรโซเบียมที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพได้แก่เชื้อ ทง.2, ทง.1, สช.3, ขก.2, สฎ.3, พร.4, นศ.5, ชบ.5, สช.5, สฎ.4, และ นม.5 ตามลำดับ โสนอัฟริกันได้แก่เชื้อ ปท., IRG23, TOR.4, TOS1, IRG32, IRG42, MHR.5, MLS6, IOR2, และ CTS2 ตามลำดับ โดยที่เชื้อไรโซเบียมเหล่านี้สามารถให้น้ำหนักแห้งต้น เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนในต้น จำนวนปม น้ำหนักแห้งปม และอัตราการตรึงไนโตรเจนมากกว่าเชื้อไรโซเบียมอื่น ๆ

SELECTION OF SESBANIA SPECIONA TAUB. AND
S. ROSTRATA BREM. AND OBERM. OF RHIZOBIUM

AN ABSTRACT

BY

SUWANNE PROMSIRI

Presented in partial fulfillment of the requirements
for the Master of Education degree in Biology
at Srinakharinwirot University

April 1990

One hundred-twenty eight strains of Rhizobium for Sesbania speciosa Taub. and thirty-two Rhizobium for S. rostrata Brem. and Oberm. were used in the study on selection of effective strain for S. speciosa Taub. and S. rostrata Brem. and Oberm. The plants were grown in modified Leonard jar. Each strains of Rhizobium was inoculated to Sesbania. After fifty days of inoculation plant hight, plant dry weight, plant total nitrogen, nodule number, nodule dry weight and nitrogen fixation efficiency per gram dry weight nodule and per hour were evaluated. It was found that the suitable Rhizobium strains 3 for S. speciosa Taub. Were TG.2, TG.1, SK.3, KK.2, SR.3, PR.4, NS.5, CB.5, SK.5, SR.4, and NM.5; for S. rostrata were PT., IRG23, TOR4, TOS1, IRG32, IRG42, MHR5, MLS6, TOR2, and CTS.1. These strains caused plant dry weight, plant total nitrogen, nodule number, nodule dry weight and nitrogen fixation efficiency more than other strains used.