

๕๘๑.๔๙๘
ก ๒๓๖ก
ร. 3

การศึกษาลักษณะทางกายวิภาคของปมถั่วเหลืองที่เกิดจากเชื้อไรโซเบียม

ปริญญานิพนธ์

ของ

พิพัฒน์วรรณ นารณพจนานนท์

13 ส.ค. 2524

สำนักหอสมุดกลาง มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
สุขุมวิท 23 พระโขนง กรุงเทพฯ 11 โทร 3921575 3915058

เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาค้นคว้าหลักสูตร

ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต

พุทธทศวรรษ 2523

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

การศึกษาลักษณะทางกายวิภาคของปมถั่วเหลืองที่เกิดจากเชื้อไรโซเบียม

บทคัดย่อ

ของ

ทิพย์วรรณ นารณพจนานนท์

เสนอต่อมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร

เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาค้นคว้าหลักสูตร

ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต

กุมภาพันธ์ 2523

การศึกษากายวิภาคของปมถั่วเหลืองพันธุ์ ส.จ. 2 ที่เกิดจากเชื้อ Rhizobium japonicum สายพันธุ์ UB 8-T ในการทดลองพบว่า เชื้อไรโซเบียมเข้าสู่รากทางรากขนอน โดยเชื้อไรโซเบียมจะสร้าง infection thread ภายในรากขนอน จากนั้น infection thread จะเจริญผ่านเซลล์เข้าไปในชั้นคอร์เท็กซ์ และทำให้เซลล์พาราไคมะลาในชั้นนี้เกิดการแบ่งตัวสร้างเป็นปมขึ้น

พมครั้งแรกหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 7 วัน ซึ่งปมมีสีขาวและจะเปลี่ยนเป็นสีชมพูเมื่อปมมีอายุมากขึ้น จากการศึกษาทางกายวิภาคพบว่า เนื้อเยื่อภายในปมมีการจัดเรียงตัวเป็น 4 บริเวณ คือ bacteroid area, nodule cortex, nodule meristem และ nodule vascular bundle ภายใน bacteroid area ประกอบด้วย infected cell และ uninfected cell การขยายขนาดของปมพบว่า infected cell จะขยายขนาดใหญ่กว่า uninfected cell หลายเท่า พบว่าการสะสมเมือกแป้งใน uninfected cell และใน nodule cortex มี sclereid ใน nodule cortex ซึ่งเกิดจากเซลล์พาราไคมะลาที่มี lignified wall และพบว่าเกิดการสลายของ bacteroid area บริเวณกลางปมใหม่ที่เกิดขึ้นหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 40 วัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าบริเวณสลายตัวของเซลล์เนื้อที่ครึ่งหนึ่งของ bacteroid area จากบริเวณกลางปม ส่วน bacteroid area ที่อยู่ใกล้ nodule cortex และเซลล์ใน nodule cortex คงมีสภาพเหมือนกับปมที่ยังไม่เกิดการสลายตัว

AN ANATOMICAL STUDY OF THE SOYBEAN ROOT NODULES
CAUSED BY RHIZOBIUM JAPONICUM

AN ABSTRACT

BY

TIPAWAN NARTPOTCHANANON

Presented in partial fulfillment of the requirements
for the Master of Education degree
at Srinakharinwirot University
February 1980

In this anatomical study of the root nodules of soybean variety S. J. 2, caused by Rhizobium japonicum strain UB 8-T, it was found that the rhizobium infected the roots through root hairs and produced infection threads. These threads grew into the cortex of the roots and stimulated the parenchyma cells to divide.

The first sign of nodulation was observed on the seventh day after the inoculation. A young nodule appeared white and gradually turned pinkish as development progressed.

Anatomically, a nodule consisted of four zones, the bacteroid area, the nodule cortex, the nodule meristem and the nodule vascular bundle. The bacteroid area consisted of infected cells and uninfected cells. The growth of the nodules involved differential enlargement of the infected and the uninfected cells. The former enlarged several times more than the latter. There was an accumulation of starch granules in the uninfected cells and the nodule cortex. The sclereid in the nodule cortex was formed from the parenchymal cells with lignified wall. About 40 days after the inoculation with the rhizobium, the bacteroid area in the middle of the nodules became less prominent. At the end of the study, the area was reduced into half of the original area. On the other hand, the bacteroid area near the nodule cortex and its cells remained the same throughout the observation.

คณะกรรมการที่ปรึกษาประจำตัวนิติได้พิจารณาปัญหานี้จนบัดนี้แล้ว
เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาค้นคว้าหลักสูตรปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒได้

วิมลรัตน์ ศิริขันธ์ ประธาน

วิมลรัตน์ ศิริขันธ์ กรรมการ

ประกาศคุณูปการ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้โดยได้รับความช่วยเหลือ คำแนะนำ และทราจ
แก้ไข จากอาจารย์ เสริมสิน ศิริวัฒนา และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาคร ตรีนั้นวัน
ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณท่านอาจารย์ทั้งสองไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ คร. สมศักดิ์ วังโน ภาควิชาปรัชญา มหาวิทยาลัย
เกษตรศาสตร์ ที่ได้ให้คำแนะนำในการทดลอง คุณเย็นใจ วสุวัต หัวหน้าสาขา
บัณฑิตย์ กงวิชัย วัชรพิช และเจ้าหน้าที่กองพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร ที่ได้มอบเชื้อ
ไรโซเบียม และเมล็ดพันธุ์ที่ใช้ในการทดลอง

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และอาจารย์ พิมพ์วรรณ ณ พัทลุง ที่ได้
สนับสนุนการทำปริญญานิพนธ์ ทั้งความกำลังใจ และทุนทรัพย์ ขอขอบคุณ คุณโอภาส พุกพูน
คุณอัสนัย ศรีสุข คุณจำลอง บุญศิริ คุณบุญรัตน์ กมลรัตน์ คุณสุภาวรัตน์ เพียรเสมอ
คุณสันทนา ชุนศรี รวมทั้งเพื่อน และน้อง ๆ ที่ได้มีส่วนช่วยเหลือปริญญานิพนธ์ฉบับนี้
สำเร็จลงได้.

ทิพย์วรรณ นารถพจนานนท์

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ	1
คำนำ	1
จุดมุ่งหมายของการศึกษา	3
ความสำคัญของการศึกษา	3
คำจำกัดความศัพท์เฉพาะ	3
2 เอกสารและการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา	5
ลักษณะและคุณสมบัติของเชื้อไรโซเบียม	5
การจำแนกเชื้อไรโซเบียม	5
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของถั่วเหลือง	7
การเข้าสู่รากของเชื้อไรโซเบียม	7
โครงสร้างของปม	9
3 วิธีการดำเนินการศึกษาค้นคว้า	12
อุปกรณ์และวิธีการ	12
การเตรียมเมล็ดถั่ว	12
การเตรียมเครื่องปลูก	12
สถานที่ทดลอง	13
การเก็บตัวอย่าง	13
4 ผลการศึกษา	14
การเข้าสู่รากของเชื้อไรโซเบียม และการเกิดปมของถั่วเหลือง	14
กายวิภาคของปมถั่วเหลือง	15

บทที่	หน้า
5 บทย่อ สรุปผลการศึกษา อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	19
บทย่อ	19
สรุปผลการศึกษา	19
อภิปรายผล	20
การเข้าสู่รากของเชื้อไรโซเบียม และการเกิดปมของถั่วเหลือง	20
กายวิภาคของปมถั่วเหลือง	23
ข้อเสนอแนะ	31
บรรณานุกรม	32
ภาคผนวก	37

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
1 บริเวณหลอดปลุกตัวเหลือง	38
2 ขวดย่อยที่หลอดปลุกตัวเหลือง	38
3 รากขนอ่อนของตัวเหลืองกลุ่มโรคเชื้อไวรัสโซเบียมที่มีการเจริญผิดปกติ เกิดการโค้งงอ	38
4 รากขนอ่อนของตัวเหลืองกลุ่มโรคเชื้อไวรัสโซเบียมที่มีการเจริญผิดปกติ มีการแตกแขนง	38
5 รากขนอ่อนของตัวเหลืองที่มี infection thread ภายใน	39
6 รากขนอ่อนของตัวเหลืองที่มี infection thread ภายใน	39
7 รากขนอ่อนของตัวเหลืองกลุ่มควบคุม	39
8 รากขนอ่อนของตัวเหลืองกลุ่มควบคุม	39
9 ปลมตัวเหลืองที่พบครั้งแรก หลังจากโรคเชื้อไวรัสโซเบียม 7 วัน	40
10 ปลมตัวเหลืองหลังจากโรคเชื้อไวรัสโซเบียม 25 วัน	40
11 ปลมตัวเหลืองหลังจากโรคเชื้อไวรัสโซเบียม 60 วัน	40
12 รากตัวเหลืองกลุ่มควบคุมอายุ 9 วัน	40
13 รากตัวเหลืองหลังจากโรคเชื้อไวรัสโซเบียม 6 วัน แสดงเซลล์ที่ขยายใหญ่, infection thread และกลุ่ม meristem ในคอร์เทกซ์	41
14 รากตัวเหลืองหลังจากโรคเชื้อไวรัสโซเบียม 6 วัน แสดงกลุ่ม meristem ในคอร์เทกซ์ชั้นใน	41
15 รากตัวเหลืองกลุ่มควบคุมอายุ 8 วัน	41
16 ปลมตัวเหลืองหลังจากโรคเชื้อไวรัสโซเบียม 7 วัน แสดงการจัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อภายใน	41

ภาพประกอบ

หน้า

17	ปมถั่วเหลืองหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 7 วัน แสดงเซลล์ ที่ขยายใหญ่ และ infection thread	42
18	ปมถั่วเหลืองหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 7 วัน แสดงการจัด เรียงตัวของเนื้อเยื่อภายในปม	42
19	ปมถั่วเหลืองหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 7 วัน แสดง bacteroid area, nodule meristem, nodule cortex และ meristem ใน nodule cortex	42
20	ปมถั่วเหลืองหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 7 วัน แสดง nodule vascular bundle	42
21	ปมถั่วเหลืองหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 8 วัน แสดง infected cell และ uninfected cell	43
22	ปมถั่วเหลืองหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 8 วัน แสดงการจัด เรียงตัวของเนื้อเยื่อภายในปม	43
23	ปมถั่วเหลืองหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 8 วัน แสดง nodule vascular bundle	43
24	ปมถั่วเหลืองหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 9 วัน แสดงการจัด เรียงตัวของเนื้อเยื่อภายในปม และเมือกแบ่งใน uninfected cell	43
25	ปมถั่วเหลืองหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 9 วัน แสดง nodule vascular bundle และเมือกแบ่งใน	44
26	ปมถั่วเหลืองหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 9 วัน แสดง bacteroid area, nodule meristem, nodule cortex และ meristem ใน nodule cortex	44
27	ปมถั่วเหลืองหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 10 วัน แสดง infected cell และเมือกแบ่งใน uninfected cell	44

28	ปมถั่วเหลืองหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 10 วัน แสดง nodule vascular bundle และเมคแปงใน nodule cortex	44
29	ปมถั่วเหลืองหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 10 วัน แสดงการจัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อภายในปม	45
30	ปมถั่วเหลืองหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 10 วัน แสดง sclereid ใน nodule cortex	45
31	ปมถั่วเหลืองหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 15 วัน แสดงการจัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อภายในปม	45
32	ปมถั่วเหลืองหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 15 วัน แสดง bacteroid area และ sclereid ใน nodule cortex	45
33	ปมถั่วเหลืองหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 20 วัน แสดงการจัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อภายในปม	46
34	ปมถั่วเหลืองหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 25 วัน แสดงการจัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อภายในปม	46
35	ปมถั่วเหลืองหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 25 วัน แสดง infected cell	46
36	ปมถั่วเหลืองหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 25 วัน แสดง bacteroid area, และเมคแปงใน nodule cortex	46
37	ปมถั่วเหลืองหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 30 วัน แสดงการจัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อภายในปม	47
38	ปมถั่วเหลืองหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 35 วัน แสดงการจัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อภายในปม	47
39	ปมถั่วเหลืองหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 35 วัน แสดง bacteroid area และ nodule cortex	47

ภาพประกอบ	หน้า
40 ปมถั่วเหลืองหลังจากรอคเชื้อไรโซเบียม 40 วัน แสดงบริเวณ ที่เกิดการสลายตัวของเซลล์	47
41 ปมถั่วเหลืองหลังจากรอคเชื้อไรโซเบียม 40 วัน แสดง infected cell	48
42 ปมถั่วเหลืองหลังจากรอคเชื้อไรโซเบียม 40 วัน แสดง nodule cortex	48
43 ปมถั่วเหลืองหลังจากรอคเชื้อไรโซเบียม 45 วัน แสดงบริเวณ การสลายตัวของเซลล์	48
44 ปมถั่วเหลืองหลังจากรอคเชื้อไรโซเบียม 45 วัน แสดง bacteroid area และ nodule cortex	48
45 ปมถั่วเหลืองหลังจากรอคเชื้อไรโซเบียม 50 วัน แสดงบริเวณ การสลายตัวของเซลล์	49
46 ปมถั่วเหลืองหลังจากรอคเชื้อไรโซเบียม 55 วัน แสดงบริเวณ การสลายตัวของเซลล์	49
47 ปมถั่วเหลืองหลังจากรอคเชื้อไรโซเบียม 60 วัน แสดงการจัดเรียงตัว ของเนื้อเยื่อภายในปม และบริเวณการสลายตัวของเซลล์	49
48 ปมถั่วเหลืองหลังจากรอคเชื้อไรโซเบียม 60 วัน แสดงเซลล์ ที่สลายตัว	49

คำนำ

การศึกษาราก (root nodule) ของพืชตระกูลถั่วมีมาตั้งแต่ศตวรรษที่ 19 ซึ่งตอนแรกคิดว่าเกิดจากแมลง แต่ไม่สามารถหาตัวแมลงภายในปมได้ (Bond. 1948 : 411) ต่อมาเบเยริงค์ (Beijerinck) พบว่า ปมเกิดจากพวกแบคทีเรียและสามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์ออกมาได้ (Hawker and Linton. 1971 : 501 ; Mahanta. 1974 : 218) ในปี ค.ศ. 1888 เฮลโรเกด (Hellriegel) และ วิลฟาร์ธ (Wulfarth) ได้พิสูจน์ว่าปมเป็นแหล่งที่เกิดกระบวนการตรึงไนโตรเจน (nitrogen fixation) จากอากาศ ซึ่งเกิดจากการกระทำของแบคทีเรียพวกไรโซเบียมที่อาศัยอยู่ในปม (Alexander. 1961 : 331) การอยู่ร่วมกันของเชื้อไรโซเบียมกับพืชตระกูลถั่วภายในปมนั้น เป็นการอยู่ร่วมกันแบบซิมไบโอซิส (symbiosis) โดยที่ไรโซเบียมจะได้อาหารที่ใช้เป็นแหล่งพลังงานและแหล่งคาร์บอนจากพืช จากนั้นไรโซเบียมจะตรึงไนโตรเจนจากอากาศเปลี่ยนให้อยู่ในรูปสารประกอบอินทรีย์ที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ (Brock and Brock. 1973 : 224 - 226 ; Gebhardt. 1970 : 212 - 214)

การเกิดปมเกิดจากเชื้อไรโซเบียมที่อาศัยอยู่ในดินบริเวณรอบ ๆ รากถั่วเข้าสู่รากและทำให้เซลล์รากแบ่งตัวเกิดเป็นปมขึ้น (Clifton. 1958 : 342 - 348) ภายในปมจะมีการจัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อในตำแหน่งที่แน่นอน และมีความสัมพันธ์กับหน้าที่ทางสรีรวิทยา (Bond. 1948 : 411) เชื้อไรโซเบียมแต่ละชนิด (species) มีความจำเพาะ (specific) ต่อชนิดของถั่ว สำหรับถั่วเหลืองพบว่าเป็นพวก Rhizobium japonicum (Breed, Murray and Smith. 1957 : 285) ใ้แก่การศึกษาการเกิดปมของพืชตระกูลถั่วหลายชนิด เช่น ถั่วลิสง (Pisum sativum) (Bond. 1948 : 411 - 434), ถั่วเขียว (Phaseolus aureus) และ P. mungo (Prasad. 1972 :

1 - 7), ถั่วลิสง (*Arachis hypogaea*) (Allen and Allen. 1940 : 121 - 141), ถั่วเหลือง (*Glycine max* Merr.), ถั่วคำ (*Vigna sinensis*), sweet clover (*Melilotus alba*), alfalfa (*Medicago sativa*) และ vetch (*Vicia villosa*) (Bieberdorf. 1938 : 375 - 389) จากการศึกษพบว่าเมื่อเชื้อไรโซเบียมเข้าสู่รากจะทำให้เซลล์พารენไคมา (parenchyma) ในชั้นคอร์เทกซ์ (cortex) แบ่งตัวเกิดเป็นฝั่มขึ้น (Bramble. 1977 : 139) ในฝั่มที่โตเต็มที่ (mature) มีส่วประกอบดังนี้

1. Nodule cortex เป็นบริเวณที่อยู่นอกสุดของปม ประกอบด้วยเซลล์พารენไคมาขนาดเล็ก ภายในเซลล์จะไม่มีเชื้อไรโซเบียม
2. Nodule meristem เป็นเนื้อเยื่อเจริญที่แบ่งตัวเพื่อเพิ่มขนาดของปม ประกอบด้วยเซลล์ขนาดเล็ก พบอยู่บริเวณส่วนปลายของปม
3. Nodule vascular bundle พบแทรกอยู่ใน nodule cortex ประกอบด้วยท่อน้ำ (xylem) และท่ออาหาร (phloem)
4. Central infected area หรือ bacteroid area เป็นบริเวณที่มีการตรึงไนโตรเจน ประกอบด้วยเซลล์ขนาดใหญ่อยู่บริเวณกลางปม ภายในเซลล์เหล่านี้มีแบคทีเรียอยู่มากมาย

การศึกษาเรื่องปมรากถั่วเหลืองในประเทศไทย ส่วนใหญ่ศึกษาในด้านการหาเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ (strain) ที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนและทำให้ผลผลิตของถั่วเพิ่มขึ้น ส่วนการศึกษาทางคานกายวิภาคของปมยังไม่มีผู้ศึกษา

การทดลองนี้เพื่อศึกษาว่าเมื่อให้เชื้อไรโซเบียม (*R. japonicum*) แก่ถั่วเหลืองในสภาพที่ปราศจากเชื้อแบคทีเรียในดินชนิดอื่นแล้ว ไรโซเบียมจะเข้าสู่รากได้อย่างไร และก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อเกิดเป็นฝั่มได้อย่างไร

จุดมุ่งหมายของการศึกษา

1. ศึกษาการเข้าสู่รากของเชื้อไรโซเบียมและการเกิดปมของถั่วเหลือง
2. ศึกษากายวิภาคของปมตั้งแต่เริ่มให้เชื้อไรโซเบียม จนถึงระยะเวลา 60 วัน

ของการทดลอง

ความสำคัญของการศึกษา

ผลการศึกษานี้ทำให้ทราบถึง

1. การเข้าสู่รากของเชื้อไรโซเบียม และการเกิดปมของถั่วเหลือง
2. กายวิภาคของปมในระยะเวลาต่าง ๆ
3. เทคนิคและวิธีการที่ใช้ศึกษา

คำจำกัดความศัพท์เฉพาะ

1. Infection thread หมายถึง ท่อเล็ก ๆ ที่เชื้อไรโซเบียมสร้างขึ้นเมื่อเข้าสู่ราก
2. Bacteroid หมายถึง เชื้อไรโซเบียมที่เปลี่ยนรูปร่างจากแท่ง (rod shape) เป็นรูป X, Y, รูปดาว (star shape), รูปกระบอก (club shape) หรือรูปลูกแพร์ (pear shape)
3. Bacteroid area หมายถึง บริเวณกลางปมซึ่งมีเชื้อไรโซเบียมเข้าไปอาศัยภายในเซลล์ราก
4. Infected cell หมายถึง เซลล์ใน bacteroid area ที่มีเชื้อไรโซเบียมเข้าไปอาศัยอยู่ภายใน
5. Uninfected cell หมายถึง เซลล์ใน bacteroid area ที่ไม่มีเชื้อไรโซเบียมภายในเซลล์

6. Disintegrated cell หมายถึงเซลล์ใน bacteroid area ที่เกิดการสลายตัว
7. Disintegrated region หมายถึง บริเวณที่เกิดการสลายตัวของเซลล์
8. Cross-inoculation group หมายถึง การจำแนกชนิดของเชื้อไวรัสเป็นตามความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับตัวในกลุ่มต่าง ๆ

บทที่ 2

เอกสารและการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

ลักษณะและคุณสมบัติของเชื้อไรโซเบียม

การเจริญของเชื้อไรโซเบียม ในอาหารเหลวจะมีรูปร่างเป็นแท่งขนาด $0.5 - 0.9 \times 1.2 - 3.0$ ไมครอน เคลื่อนที่ได้ เมื่อเจริญในอาหารที่มีแอลคาลอยด์ (alkaloid) หรือน้ำตาล (glucoside) สามารถเปลี่ยนรูปร่างเป็นแบคทีเรียที่รอยได้ การเจริญในปมรากของพืชตระกูลถั่วจะมีรูปร่างเป็นแบบ X, Y, รูปดาว, รูปกระบองหรือรูปลูกแพร์ ไรโซเบียมเป็นแบคทีเรียพวกแกรมลบ (gram negative bacteria) สามารถเจริญในน้ำตาลเพนโทส (pentose) ได้ดีกว่าน้ำตาลเฮกโซส (hexose) ท้องการอากาศในการเจริญ (aerobic) อุณหภูมิที่เหมาะสมเท่ากับ 25 องศาเซลเซียส ในแมนนิทอล (mannitol) เจริญโคโลนี โคโลนี (colony) มีลักษณะนูนขึ้นเล็กน้อย สีขาวนูน ทึบแสง (Alexander. 1961 : 30 ; Breed, Murray and Smith. 1957 : 285 - 288)

การจำแนกเชื้อไรโซเบียม

จำแนกตาม Bergey's manual of determinative bacteriology
(Breed, Murray and Smith. 1957 : 285)

Class Schizomycetes

Order Eubacteriales

Family Rhizobiaceae

Genus Rhizobium

ส่วนการจำแนกชนิด ยึดหลักการเกิดปฏิกิริยาในนมลิทมัส (litmus milk)

การเกิดซีรั่ม โซน (serum zone) และความสามารถในการเกิดปฏิกิริยากับพืชตระกูลถั่ว ซึ่งจำแนกออกไปเป็นหกชนิด คือ

R. leguminosarum

R. phaseoli

R. trifolii

R. lupini

R. japonicum

R. meliloti

การจำแนกตามปัจจุบันยึดหลักตาม cross-inoculation group ซึ่งจำแนกออกเป็นหกชนิดเช่นกัน (Alexander. 1961 : 329 ; Gebhardt. 1970 : 213)

1. R. leguminosarum ทำให้เกิดปฏิกิริยากับถั่วพวกรุ่น pea group ได้แก่ ถั่วลันเตา (pea), sweet pea, lentil และ vetch

2. R. phaseoli ทำให้เกิดปฏิกิริยากับถั่วพวกรุ่น bean group ได้แก่ bean

3. R. trifolii ทำให้เกิดปฏิกิริยากับถั่วพวกรุ่น clover group ได้แก่ clover

4. R. lupini ทำให้เกิดปฏิกิริยากับถั่วพวกรุ่น lupine group ได้แก่ lupines, serratella

5. R. japonicum ทำให้เกิดปฏิกิริยากับถั่วพวกรุ่น soybean group ได้แก่ ถั่วเหลือง (soybean)

6. R. meliloti ทำให้เกิดปฏิกิริยากับถั่วพวกรุ่น alfalfa group ได้แก่ alfalfa, sweet clover

ลักษณะพฤกษศาสตร์ของถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Glycine max Merr. (กรมป่าไม้ 2491 : 242 ; พระยาวิจิตรนันท 2503 : 363) จัดอยู่ในวงศ์ (family) Leguminosae (Lawrence. 1915 : 545 - 548) มีรากเป็นระบบรากแก้ว ลำต้นตั้งตรง แตกกิ่งก้านถึงแก่กิ่ง ลำต้นและกิ่งมีขนสีน้ำตาลปกคลุมโดยเฉพาะที่ยอดจะมีขนสีเทา ซึ่งจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเมื่อต้นแก่ ใบเป็นใบรวมสีเขียวเข้มและหนา มีใบย่อยสามใบ ปลายใบมน คอกเป็นคอกสมบูรณ์เพรียมีสีม่วง ออกดอกรวมเป็นกระจุกตามซอกของลำต้นและกิ่ง เมล็ดกลมสีเหลือง มีหนึ่งมีสองถึงสามเมล็ด (กรมวิชาการเกษตร 2520 : 5 ; ประพันธ์ บุญกลิ่นขจร และ ประวิทย์ กฤตยานวัช 2514 : 5 - 8)

การเข้าสู่อากถั่วเหลืองของเชื้อไรโซเบียม

การที่ไรโซเบียมที่อยู่ในดินบริเวณรากจะเข้าสู่อากจะต้องมีการเพิ่มจำนวนให้มีปริมาณมากเสียก่อน จากการกระตุ้นของสารบางอย่างที่ถูกปล่อยออกมาจากราก (root exudates) (Rovira. 1965 : 195 - 208) สารเหล่านี้ได้แก่ กรดอะมิโน น้ำตาล นิวคลีโอไทด์ วิตามิน และสารประกอบอินทรีย์อีกหลายชนิด (Alexander. 1971 : 252 ; Fahraeus and Ljunggren. 1968 : 414) สารที่รากขับออกมาจะเป็นแหล่งให้พลังงานและปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของเชื้อไรโซเบียมที่อยู่ในดินบริเวณราก ถั่วแต่ละพันธุ์จะขับสารที่มีความจำเพาะต่อสายพันธุ์ของเชื้อไรโซเบียมตาม crossinoculation group เช่น สารที่ขับออกจากรากถั่วพวกร clover จะกระตุ้นการเจริญของ R. trifolii ได้ดีกว่าเชื้อไรโซเบียมชนิดอื่น (สมศักดิ์ วังโน 2516 : 45 ; Alexander. 1961 : 331) มีผู้เสนอว่าอาจมีตำแหน่งบนราก (receptor site) ที่มีความจำเพาะในการดึงดูดเชื้อไรโซเบียมแต่ละชนิด (Peter and Alexander. 1966 : 386)

สารที่ปล่อยออกจากรากจะมีกรดอะมิโนพวกทริปโตเฟน (tryptophan) รวมอยู่ด้วย ไรโซเบียมจะเปลี่ยนทริปโตเฟนให้เป็นฮอโมนพืชพวก IAA (indole acetic acid)

(Alexander. 1971 : 208) การมี IAA ในบริเวณรากจะทำให้รากขนอ่อนมีการเจริญผิดปกติ (deformation) รากขนอ่อนจะม้วนหรือโค้งงอและแตกแขนง (Dart. 1975 : 471 ; Gray and Williams. 1975 : 123) เชื้อไรโซเบียมจะขับสารพวกน้ำตาลซึ่งชักนำให้รากสร้างเอนไซม์ โพลีกาแลคทูโรเนส (polygalacturonase) เอนไซม์นี้จะทำให้ผนังเซลล์ของรากขนอ่อนอ่อนตัวลง (Fahraeus and Ljunggren. 1968 : 408)

เชื้อไรโซเบียมจะเข้าสู่รากทางรากขนอ่อน เกิดเป็น infection thread มีลักษณะคล้ายเส้นใยของรากที่ไม่มีผนังกัน (Li and Hubble. 1969 : 1133 ; Prasad. 1972 : 1 - 7) แต่ในถั่วบางชนิดอาจเข้าทางเซลล์ผิว (epidermal cell) ก็ได้ (Bieberdorf. 1938 : 375 ; Salle. 1974 : 814) ถั่วลิสงจะเข้าทางรากแขนง (Allen and Allen. 1940 : 140) จำนวนของรากขนอ่อนที่จะพบ infection thread มีประมาณ 1 - 5 เปอร์เซ็นต์ (Alexander. 1971 : 255) ภายใน infection thread จะมีเชื้อไรโซเบียมและสารพวกกัม (gum) รวมอยู่ภายใน (Jordan, Grinyer and Coulter. 1963 : 125 - 137 ; Pelczar and Reid. 1965 : 567) infection thread เจริญผ่านเซลล์ผิวเข้าไปในบริเวณคอร์เทกซ์ของราก และจะแตกแขนงออกไปมากมาย (Bieberdorf. 1938 : 377) ความลึกของเซลล์ในชั้นคอร์เทกซ์ที่ infection thread เจริญเข้าไปจะแตกต่างกันไปตามชนิดของถั่ว เช่นใน bur clover และ alfalfa จะเข้าไปจนถึงชั้นคอร์เทกซ์ที่ติดกับเอนโดเดर्मิส (endoderms) (Bond. 1948 : 413) ในถั่วเหลือง infection thread จะเจริญเข้าไปสามถึงห้าชั้น (Bieberdorf. 1938 : 377) มีผู้เสนอว่าการเจริญของ infection thread เป็นผลจากแรงกดดันที่เกิดจากการเจริญของเชื้อไรโซเบียมที่อยู่ภายใน (Goodchild and Bergerson. 1966 : 204)

การเกิดพloid จะเริ่มเมื่อ infection thread เจริญเข้าไปถึง tetraploid cell และกระตุ้นให้เซลล์เกิดการแบ่งตัว (Brock. 1966 : 204 - 213) การเกิด tetraploid cell อาจเกิดก่อนแล้วในรากหรืออาจเกิดจากการกระตุ้นของ infection

thread (Bidwell. 1974 : 173 ; Stancir, Doudoroff and Adelberg. 1970 : 750 - 755 ; Prasad. 1972 : 1 - 7) มีผู้ศึกษาปริมาณของ DNA ในแฟมราก ถั่วลิสง พบว่าเซลล์ที่มีเชื้อไรโซเบียมอยู่ในเซลล์จะมี DNA เป็นสี่และแปดเท่าของเซลล์ปกติ ซึ่งเกิดจากการเพิ่มจำนวน (double) DNA เมื่อเชื้อไรโซเบียมเข้าไปอยู่ในเซลล์ (Mitchell. 1965 : 371 - 378) เชื้อไรโซเบียมจะถูกปลดปล่อยจาก infection thread เข้าไปในเซลล์รากโดยกระบวนการเอนโดไซโทซิส (endocytosis) (Goodchild and Bergerson. 1966 : 204 - 213 ; Tu. 1974 : 986) เมื่อเชื้อไรโซเบียมเข้าไปอยู่ในเซลล์รากแล้วจะเปลี่ยนรูปร่างเป็นรูป X, Y, รูปดาว, รูปกระบอก หรือรูปลูกแพร์ เรียกว่าแบคทีรอยด์ (bacteroid) (Dart and Mercer. 1966 : 1314 ; Tu. 1977 : 35 - 43)

โครงสร้างของปม

บอนด์ (Bond. 1948 : 411 - 434) ได้ศึกษากายวิภาคของปมถั่วลิสง (*Pisum sativum*) พบว่าเกิดปมในชั้นคอร์เทกซ์ มีการจัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อภายในปมดังนี้ ตรงกลางปมประกอบด้วยเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ และมีเชื้อไรโซเบียมอยู่ในเซลล์บริเวณนี้เรียกว่า bacteroid area ซึ่งจะถูกล้อมรอบด้วยเซลล์พาราไคมะที่มีขนาดเล็กกว่าและไม่มีเชื้อไรโซเบียมอยู่ในเซลล์ เรียกบริเวณนี้ว่า nodule cortex ส่วนปลายของปมที่ติดกับ bacteroid area จะมี apical meristem ภายใน nodule cortex จะมี nodule vascular bundle ซึ่งเกิดจากการแบ่งเซลล์ของเพอริไซเคิล (pericycle) และติดต่อกับท่อน้ำท่ออาหารของราก

นิวคอมบ์ (Newcomb. 1976 : 2163 - 2186) ได้ศึกษาการเกิดปมของถั่วลิสง พบว่าเชื้อไรโซเบียมจะเข้าสู่อากทางรากขนอ่อน แล้วเกิดเป็น infection thread เจริญเข้าไปในชั้นคอร์เทกซ์ เซลล์ในชั้นคอร์เทกซ์จะเกิดการแบ่งตัวเกิดเป็นปมขึ้น การศึกษากายวิภาคของปมพบว่าเนื้อเยื่อกลางปมจะมีสีเข้ม เนื่องจากมีพิกเมนต์เลกฮีมโกลบิน

(leghemoglobin) บริเวณที่มีสีเข้มจะมีเชื้อไรโซเบียมอาศัยอยู่ภายในเซลล์ เมื่อปมมีอายุเพิ่มขึ้นเนื้อเยื่อบริเวณสีเข้มจะเพิ่มมากขึ้น ส่วนเนื้อเยื่อสีขาวที่ล้อมรอบภายนอกจะเป็น nodule cortex และ nodule meristem เมื่อปมมีอายุ 3 สัปดาห์ จะเกิดสีเขียวที่บริเวณฐานปม เนื่องจากการสลายของเลกฮีโมโกลบินและความชราภาพของเซลล์ (senescence) เมื่อปมมีอายุ 5 สัปดาห์ จะไม่มี nodule meristem แต่จะเกิดการสลายของเนื้อเยื่อกลางปม

บีเบอร์ดอร์ฟ (Bieberdorf. 1938 : 375 - 389) ได้ศึกษาการเกิดปมของถั่วเหลือง, alfalfa, cowpea, sweet clover และ vetch พบว่าปมเกิดจากการแบ่งเซลล์ในชั้นคอร์เทกซ์ ปมถั่วเหลืองและ cowpea จะมีรูปร่างกลม มีเนื้อเยื่อคลอราแคมเบียม (cambium) รอบ bacteroid area ส่วน alfalfa, sweet clover และ vetch มีปมรูปกระบอก มี meristem อยู่ในส่วนปลายของปม บัพทอนำอาหารภายในปมจะติดต่อกับท่อนำอาหารภายในราก

แอลเลนและแอลเลน (Allen and Allen. 1940 : 121 - 141) ได้ศึกษาการเกิดปมของถั่วลิสง พบว่าเชื้อไรโซเบียมเข้าสู่รากทางรากแขนง ภายในปมประกอบด้วย bacteroid area และ nodule cortex มีท่อนำอาหารอยู่ใน nodule cortex

บอตัม (Bottum. 1914 : 132 - 145) ได้ศึกษากายวิภาคของปม white sweet clover (Melilotus alba Deso.) พบว่าในปมที่โตเต็มที่ bacteroid area อยู่กลางปม ล้อมรอบด้วย nodule cortex และมี meristem อยู่ในส่วนปลายของปม

ประสาธ (Prasad. 1972 : 1 - 7) ได้ศึกษาการเกิดปมของถั่วเขียว (Phaseolus aureus) และ P. mungo พบว่าเกิดปมครั้งแรกเมื่อต้นอ่อนมีอายุได้ 2 วัน ปมมีสีขาว ปมที่โตเต็มที่จะมี bacteroid area, nodule cortex, nodule meristem และ nodule vascular bundle การสลายของเนื้อเยื่อภายในปมจะเกิดเมื่อถั่วเริ่มมีดอก

วัตต์แมนน์ (Wattmann. 1968 : 1 - 13) ได้ศึกษากายวิภาคของปม Medicago sativa L., Vicia faba L., Vicia sativa L., Pisum sativum L.,

Trifolium pratense L., Phaseolus vulgaris L., Lupinus polyphyllum Lind.

และ Onolorychis piciacfolia Scop พบว่าปมเกิดจากการแบ่งตัวของเซลล์ชั้น
เพอริไซเคล มี bacteroid area และ meristem การเจริญของปมมีลักษณะคล้าย
รากแขนง

บทที่ 3

วิธีดำเนินการศึกษาคนควา

อุปกรณ์และวิธีการ

1. เมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์ ส.จ. 2
2. *Rhizobium japonicum* สายพันธุ์ UB 8 - T
3. อาหารเลี้ยงเชื้อ Medium 79 (Primer and Schmidt, 1964 อ้างอิงมาจาก สมศักดิ์ วังโน และ สุรเดช จันทกานนท์ 2517 : 3)
4. น้ำยาปลูกพืชสูตรของดี (Lio. 1969 : 392)
5. ทรายละเอียด

การเตรียมเมล็ด

เลือกเมล็ดถั่วเหลืองที่สมบูรณ์ มาเช็ดผิวเมล็ดโดยแช่ในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ 1 นาที แล้วแช่ในสารละลาย $HgCl_2$ 1 : 1000 นาน 1 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 8 ครั้ง ปลูกในขวดเบียร์ที่เตรียมไว้

การเตรียมเครื่องปลูก

ใช้ขวดเบียร์ที่ตากจนออก บรรจุทรายละเอียดลงในขวดจนระดับทรายต่ำกว่ารอยกักประมาณ 2 นิ้ว ห่อขวดด้วยกระดาษแล้วนำไปนั่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เวลา 1 ชั่วโมง เป็นเวลา 3 วันติดต่อกัน ทิ้งไว้ให้เย็น เปิดกระดาษที่ห่อออกแล้วคว่ำปากขวดลงในขวดที่มียาน้ำยาปลูกพืช ปิดรอยต่อด้วยกระดาษ (ภาพประกอบที่ 2)

นำเมล็ดที่ฆ่าเชื้อแล้วปลูกลงในทราย ขวกละ 5 เมล็ด ปิดรอยตัดทันทวน
 เบียร์ควยกระดาดมึนนิ่ม ห่อขวดนำยาปลูกพืชและขวดเบียร์ควยกระดาดมึนนิ่ม เมื่อเมล็ด
 ออกใบ 2 วัน ถอนต้นที่อ่อนแอออกให้เหลือเพียงต้นเดียว รดควยเชื้อไรโซเบียม

สถานที่ทดลอง

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร
 (ภาพประกอบที่ 1)

การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างครั้งแรกหลังจากรดเชื้อไรโซเบียม 12 ชั่วโมง ครั้งต่อไปเก็บตัวอย่าง
 ในวันที่ 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55
 และ 60 ของการทดลอง

ตัดรากพืชที่เก็บตัวอย่างแช่ในน้ำยา Craf III (Sass. 1958 : 18)

ทำเป็นสไลด์ถาวรโดยวิธีพาราฟิน (Paraffin method) (Johansen. 1940 : 223)
 ย้อมควยสี Triple stain (Sass. 1958 : 72) ตรวจสอบควยกลองจุลทรรศน์
 แล้วบันทึกภาพ

การเข้าสู่รากของเชื้อโรโซเนียม และการเกิดของถั่วเหลือง

จากการศึกษาพบว่าเชื้อโรโซเนียมเข้าสู่รากทางรากขนอ่อน โดยที่เชื้อโรโซเนียมจะสร้างท่อที่มีลักษณะคล้ายเส้นใยของรากขนภายในรากขนอ่อน เรียกว่า infection thread (ภาพประกอบที่ 5, 6) รากขนอ่อนของถั่วเหลืองที่รดเชื้อโรโซเนียมส่วนมากมีการเจริญผิดปกติ คือ จะโค้งงอและแตกแขนง (ภาพประกอบที่ 3, 4) และมีรากขนอ่อนบางส่วนที่เจริญปกติ พบ infection thread ทั้งภายในรากขนอ่อนที่โค้งงอ (ภาพประกอบที่ 5) และรากขนอ่อนปกติ (ภาพประกอบที่ 6) ส่วนรากขนอ่อนของถั่วเหลืองในกลุ่มควบคุมมีการเจริญตามปกติ และไม่พบ infection thread ภายในเซลล์ (ภาพประกอบที่ 7, 8)

การเกิดของถั่วเหลือง พบครั้งแรกหลังจากการรดเชื้อโรโซเนียม 7 วัน พบมีรูปร่างกลมและเนื้อเยื่อภายในไม่มีสีขาว (ภาพประกอบที่ 9) ส่วนถั่วเหลืองที่เก็บตัวอย่างหลังจากการรดเชื้อโรโซเนียม 10 วัน พบว่าเนื้อเยื่อภายในเริ่มเปลี่ยนเป็นสีชมพู และพบถั่วเหลืองที่เก็บตัวอย่างหลังจากการรดเชื้อโรโซเนียม 25 วัน เนื้อเยื่อส่วนใหญ่ภายในมีสีชมพูเข้ม (ภาพประกอบที่ 10)

ลักษณะของถั่วเหลืองที่เกิดจากเชื้อโรโซเนียมในการทดลองนี้ พบมีรูปร่างกลม การกระจายของพุ่มมีมากบริเวณโคนราก (ภาพประกอบที่ 11) ถั่วเหลืองกลุ่มที่รดเชื้อโรโซเนียมจะมีลำต้นตั้งตรง ใบสีเขียวเข้ม และมีพุ่มที่ราก ส่วนถั่วเหลืองกลุ่มควบคุมจะแสดงอาการขาดธาตุไนโตรเจน กล่าวคือ มีลำต้นอมบาง ใบมีขนาดเล็กสีเหลืองซีด รากเจริญไม่ดี และไม่พุ่มราก (ภาพประกอบที่ 12)

การวิภาคของปลวกหัวเหลือง ตั้งแต่เริ่มรื้อเชื้อไรโซเบียมจนถึงระยะเวลา 60 วันของการทดลอง

หลังจากรื้อเชื้อไรโซเบียม 12 ชั่วโมง, 2, 3, 4 และ 5 วัน ได้เก็บตัวอย่าง รากหัวเหลืองมาตัดตามขวาง เพื่อศึกษาลักษณะของเนื้อเยื่อเป็นระยะ ๆ จากการศึกษา พบว่าเนื้อเยื่อภายในรากมีการเจริญปกติเหมือนกับรากหัวเหลืองในกลุ่มควบคุม เริ่มพบความผิดปกติของเนื้อเยื่อในรากที่เก็บตัวอย่างหลังจากรื้อเชื้อไรโซเบียม 6 วัน โดยพบว่ามีเซลล์พาเรไคม่าในชั้นผิว (epidermis) เซลล์หนึ่งขยายขนาดใหญ่กว่าเซลล์อื่น ๆ มาก และมี infection thread ภายในเซลล์นี้ (ภาพประกอบที่ 13) เซลล์พาเรไคม่าในชั้นคอร์เทกซ์ที่อยู่รอบ ๆ เซลล์ผิวที่ขยายใหญ่จะเปลี่ยนเป็น meristem ทำให้เกิดเป็นกลุ่ม meristem รอบเซลล์ผิวหนา 4 - 5 ชั้นเซลล์ เซลล์ในกลุ่ม meristem นี้ มีรูปร่างค่อนข้างกลม นิวเคลียสมีขนาดใหญ่และเห็นนิวคลีโอลัสชัดเจน เซลล์ในกลุ่มนี้จะมีขนาดเล็กกว่าเซลล์ในชั้นคอร์เทกซ์บริเวณอื่น ๆ มาก การเปลี่ยนแปลงอีกอย่างหนึ่งที่เกิดขึ้นคือ เกิด meristem อีกกลุ่มหนึ่งในบริเวณคอร์เทกซ์ชั้นในที่อยู่ติดกับเพอริไซเคล และตรงกับฉากหนึ่งของท่อน้ำ (ภาพประกอบที่ 14) เซลล์พาเรไคม่าที่อยู่ระหว่าง meristem 2 กลุ่ม จะเปลี่ยนเป็น meristem ด้วย ส่วนรากหัวเหลืองในกลุ่มควบคุมที่เก็บตัวอย่างมาศึกษาในระยะเดียวกันนี้ มีการจัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อภายในรากดังนี้ คือ ชั้นนอกสุดเป็นผิว ซึ่งประกอบด้วยเซลล์พาเรไคม่าขนาดเล็กเรียงตัวเพียงชั้นเดียว คอร์เทกซ์ประกอบด้วยเซลล์พาเรไคม่าขนาดใหญ่เรียงตัวกันอย่างหลวม ๆ หนา 8 - 10 ชั้นเซลล์ และไม่พบว่าการแบ่งเซลล์เกิดขึ้นเป็นกลุ่ม meristem ในชั้นนี้ ชั้นในเป็นระบบลำเลียงประกอบด้วย primary phloem 4 กลุ่ม อยู่ระหว่างฉากของ primary xylem ซึ่งมีทั้ง protoxylem และ metaxylem (ภาพประกอบที่ 15)

รากหัวเหลืองที่เก็บตัวอย่างหลังจากรื้อเชื้อไรโซเบียม 7 วัน พบว่ามีไม่เกิดขึ้นในบริเวณราก จากการศึกษาลักษณะเนื้อเยื่อภายในพบว่ามีไม่เกิดจากการแบ่งเซลล์ของกลุ่ม meristem ในบริเวณคอร์เทกซ์ของราก (ภาพประกอบที่ 16) และมี infection thread แยกแขนงจากเซลล์ผิวที่ขยายใหญ่ เจริญเข้าไปใน meristem กลุ่มนี้ ซึ่งจะเจริญ

เป็นบริเวณที่มีเชื้อไรโซเบียม ภายในเซลล์รากเรียกว่า bacteroid area (ภาพประกอบที่ 17) นอกจากนี้ยังพบว่าการแบ่งเซลล์เกิดขึ้นมากมายใน bacteroid area รอบ bacteroid area จะมี meristem รูปวงยาว มีลักษณะคล้าย vascular cambium เรียงเป็นแถว 1 - 2 ชั้นเซลล์ เรียกว่า nodule meristem ถัดจาก nodule meristem จะเป็นบริเวณ nodule cortex ซึ่งประกอบด้วยเซลล์พาราเอนไคม่าที่ยังมองเห็นนิวเคลียสชัดเจนจะค่อนข้างขอบเขต นอกสุดของปมจะมีเซลล์พาราเอนไคม่าขนาดใหญ่ในชั้นคอร์เทกซ์ของราก หมูอยู่ บริเวณ nodule cortex ด้านนอกที่ติดกับคอร์เทกซ์ของรากจะมี meristem รูปวงยาว มีลักษณะคล้าย nodule meristem เรียงเป็นแถว 2 - 3 ชั้นเซลล์ (ภาพประกอบที่ 18, 19) ภายในปมจะมีระบบลำเลียง เรียกว่า nodule vascular bundle ซึ่งจะติดต่อกับระบบลำเลียงของราก nodule vascular bundle ประกอบด้วยเซลล์ที่เรียงตัวกันเป็นมัด เซลล์ที่อยู่บริเวณกลางมัดมีรูปร่างยาวกว่าเซลล์ที่อยู่โดยรอบ (ภาพประกอบที่ 20)

การศึกษานี้ทำเพื่อหาสิ่งที่เกิดขึ้นอย่างหลังจากรดเชื้อไรโซเบียม 8 วัน พบว่า bacteroid area ขยายขนาดใหญ่มากขึ้น และ ติดสีเข้มขึ้น ภายใน bacteroid area เริ่มสังเกตเห็นความแตกต่างของเซลล์เป็น 2 พวก คือ เซลล์ที่ติดสีเข้ม มีนิวเคลียสขนาดใหญ่อยู่กลางเซลล์ เรียกว่า infected cell กับเซลล์ที่สีจาง มีนิวเคลียสขนาดเล็กและค่อนข้างขอบเขต เรียกว่า uninfected cell พบว่า infected cell มีขนาดใหญ่มากกว่า uninfected cell เล็กน้อย (ภาพประกอบที่ 21) รอบ bacteroid area มี nodule meristem หนา 1 - 2 ชั้นเซลล์ ถัดจาก nodule meristem เป็นบริเวณ nodule cortex ซึ่งประกอบด้วยเซลล์พาราเอนไคม่าที่มีขนาดเล็กกว่าเซลล์พาราเอนไคม่าในคอร์เทกซ์ของราก และยังคงมองเห็นนิวเคลียส แต่จะมีขนาดเล็กอยู่ทางขอบเขต ด้านนอกสุดของ nodule cortex ที่ติดกับคอร์เทกซ์ของรากมี meristem รูปวงยาวเรียงเป็นแถวโค้ง นอกสุดของปมมีเซลล์พาราเอนไคม่าขนาดใหญ่ในชั้นคอร์เทกซ์ของราก หมูอยู่ชั้นหนึ่ง (ภาพประกอบที่ 22) ภายใน nodule cortex จะพบ nodule vascular bundle ซึ่งจะแตกแขนงแบบคู้ (dichotomous branching) ออกไป

2 ข้างของ bacteroid area เซลล์รูปร่างยาวที่อยู่กลางมัดของ nodule vascular bundle บริเวณที่ติดต่อกับระบบลำเลียงของรากจะเริ่มเปลี่ยนแปลงเป็นท่อน้ำ (ภาพประกอบที่ 23)

การศึกษานมถั่วเหลืองที่เก็บตัวอย่างหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 9 วัน พบว่า bacteroid area เพิ่มขึ้น และมีการสะสมเมือกแบ่งใน uninfected cell และใน nodule cortex ที่ใกล้ bacteroid area (ภาพประกอบที่ 24, 25) จะพบว่า มีเซลพาเรนไคมาใน nodule cortex หลายเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ขึ้น และมี lignified wall ซึ่งต่อไปจะเปลี่ยนแปลงเป็น sclereid (ภาพประกอบที่ 26) พบที่เก็บตัวอย่างในระยะนี้ยังคงพบ nodule meristem และ meristem ใน nodule cortex ส่วน nodule vascular bundle จะเกิดท่อน้ำบริเวณกลางมัดมากขึ้น ท่อน้ำนี้จะถูกล้อมรอบด้วยเซลพาเรนไคมาที่มีรูปร่างยาว และนอกสุดของมัดจะมี meristem ล้อมรอบ

การศึกษานมถั่วเหลืองที่เก็บตัวอย่างหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 10 วัน พบเมือกแบ่งจำนวนมาก ทั้งใน uninfected cell และใน nodule cortex (ภาพประกอบที่ 27, 28) และมีเมือกแบ่งใน nodule meristem เล็กน้อย ใน nodule cortex เกิด sclereid มากขึ้น (ภาพประกอบที่ 29) ส่วน meristem ใน nodule cortex จะเปลี่ยนเป็นพาเรนไคมา โดยที่รูปร่างของเซลล์ไม่เปลี่ยนแปลง และบางส่วนจะถูก sclereid เบียด ทำให้รูปร่างเปลี่ยนไป (ภาพประกอบที่ 30)

การศึกษานมถั่วเหลืองที่เก็บตัวอย่างหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 15 วัน พบว่า เนื้อเยื่อส่วนใหญ่ภายในเป็น bacteroid area (ภาพประกอบที่ 31) มีเมือกแบ่งใน nodule meristem เล็กน้อย เกิด sclereid ใน nodule cortex เพิ่มขึ้น (ภาพประกอบที่ 32) ส่วนนมถั่วเหลืองที่เก็บตัวอย่างหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 20 และ 25 วัน มีการจัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อภายในคล้ายคลึงกับนมถั่วเหลืองที่เก็บตัวอย่างหลังการติดเชื้อไรโซเบียม 15 วัน (ภาพประกอบที่ 33, 34) แต่ infected cell ขยายขนาดใหญ่มากขึ้น ในนมถั่วเหลืองที่เก็บตัวอย่างหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 25 วัน พบว่า infected cell มีขนาดใหญ่กว่า uninfected cell 4 - 5 เท่า และภายในเซลล์มีเชื้อไรโซเบียม

อยู่เต็ม (ภาพประกอบที่ 35) จำนวนเมือกแบ่งใน uninfected cell ลดลงมาก แต่ยังคงพบเมือกแบ่งใน nodule cortex (ภาพประกอบที่ 36)

การที่พืชปรับตัวเหลืองหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 30 และ 35 วัน พบว่าเนื้อเยื่อภายในปมมีลักษณะคล้ายคลึงกับปมที่เก็บตัวอย่างหลังจากการติดเชื้อ 25 วัน เนื้อเยื่อส่วนใหญ่ภายในปมเป็น bacteroid area (ภาพประกอบที่ 37, 38) เกิด sclereid รอบปม และไม่พบเมือกแบ่งใน nodule cortex (ภาพประกอบที่ 39)

การที่พืชปรับตัวเหลืองที่เก็บตัวอย่างหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 40 วัน พบว่าเริ่มเกิดการสลายของ infected cell ที่อยู่บริเวณกลางปม โดยที่นิวเคลียสจะเริ่มสลายก่อน บริเวณกลางปมจะติดสีจางกว่า bacteroid area โดยรอบ (ภาพประกอบที่ 40, 41) ซึ่งปมในระยะนี้ไม่พบเมือกแบ่งใน nodule cortex (ภาพประกอบที่ 42) ในปมที่เก็บตัวอย่างหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 45, 50 และ 55 วัน การสลายของ infected cell จะเพิ่มขึ้นเกิดเป็นบริเวณ เรียกว่าบริเวณสลายตัว (disintegrated region) (ภาพประกอบที่ 43, 44, 45) และเมื่อสิ้นสุดการทดลองหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 60 วัน ปมที่เก็บตัวอย่างมาศึกษาพบว่า บริเวณสลายตัวจะกินเนื้อที่ครึ่งหนึ่งของ bacteroid area จากบริเวณกลางปม (ภาพประกอบที่ 47, 48) ส่วน bacteroid area ที่อยู่รอบนอกใกล้ nodule cortex ยังติดสีเข้ม และมีลักษณะเหมือนกับปมที่ไม่เกิดการสลายตัวของเซลล์ (ภาพประกอบที่ 44, 47)

บทย่อ สรุปผลการศึกษา อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

บทย่อ

การศึกษากการเกิดปมของถั่วเหลืองพันธุ์ ส.จ. 2 ที่เกิดจากเชื้อ Rhizobium japonicum สายพันธุ์ UB 8-T มีจุดมุ่งหมายในการศึกษาดังนี้ คือ

1. ศึกษาการเข้าสู่รากของเชื้อไรโซเบียม และการเกิดปมของถั่วเหลือง
2. ศึกษากายวิภาคของปมในระยะเวลาต่าง ๆ ตั้งแต่เริ่มรกรเชื้อไรโซเบียม

จนถึงระยะเวลา 60 วัน ของการทดลอง

วิธีการทดลอง โดยการปลูกเมล็ดถั่วเหลืองที่ฆ่าเชื้อผิวเมล็ดแล้ว ในทรายที่แห้งสะอาดอื่น ๆ แล้ว ใช้น้ำยาปลูกพืชสูตรของลี (Lee. 1969 : 392) เมื่อถั่วที่เพาะไว้งอกได้ 2 วัน จึงรกรเชื้อไรโซเบียมลงในทรายที่ปลูกถั่ว จากนั้นเก็บตัวอย่างรากมาศึกษาเป็นระยะ ๆ จนเกิดปม โดยการทำสไลด์ถาวรวิธีพาราฟิน (Johansen. 190 : 223) ศึกษากายวิภาคของปมจนครบระยะเวลา 60 วันของการทดลอง

สรุปผลการศึกษา

จากการศึกษากการเข้าสู่รากถั่วเหลืองของเชื้อไรโซเบียม พบว่าเชื้อเข้าสู่รากทางรากขนอ่อน โดยที่ไรโซเบียมจะสร้างท่อที่เรียกว่า infection thread ภายในรากขนอ่อน จากนั้น infection thread จะเจริญผ่านเซลล์ผิวเข้าไปในชั้นคอร์เทกซ์ของราก เวลพาเรนไคมาในชั้นคอร์เทกซ์จะเกิดการแบ่งตัวเกิดเป็นปมขึ้น

พบปมครั้งแรกในรากถั่วเหลืองที่เก็บตัวอย่างหลังจากรกรเชื้อไรโซเบียม 7 วัน ปมมีรูปร่างกลม และเนื้อเยื่อภายในปมมีสีขาว การเจริญต่อมาพบว่าเนื้อเยื่อภายในปมจะเปลี่ยนเป็นสีชมพู จากการศึกษากายวิภาคของปมพบว่าการเรียงตัวของเนื้อเยื่อภายในปม

ประกอบด้วย bacteroid area อยู่บริเวณกลางปม ซึ่งเป็นบริเวณที่มีเชื้อไรโซเบียม ภายในเซลล์ราก และมี nodule meristem ล้อมรอบ ถัดจาก nodule meristem จะเป็น nodule cortex ซึ่งเป็นบริเวณที่ไม่มีเชื้อไรโซเบียมภายในเซลล์ ภายใน nodule cortex จะพบ nodule vascular bundle ซึ่งติดต่อกับระบบลำเลียงของราก nodule vascular bundle ประกอบด้วยท่อน้ำอยู่กลางมัด และจะล้อมรอบด้วยเซลล์พาราเอนไคมาที่มีรูปร่างยาว ภายใน bacteroid area จะประกอบด้วย infected cell และ uninfected cell ในการเจริญของปมพบว่า infected cell ขยายขนาดที่ใหญ่กว่า uninfected cell หลายเท่า มีเมือกแบ่งจำนวนมากใน uninfected cell และใน nodule cortex ที่ติดกับ bacteroid area นอกจากนั้นพบว่าเกิด sclereid ใน nodule cortex ซึ่งเปลี่ยนแปลงมาจากเซลล์พาราเอนไคมาที่มี lignified wall และจะเกิด sclereid มากขึ้นในปมที่อายุเพิ่มขึ้นจนกระทั่งรอบปม เริ่มพบการสลายของเซลล์ใน bacteroid area ในปมที่เก็บตัวอย่างหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 40 วัน โดยพบว่าจะเริ่มสลายจากบริเวณกลางปม จนถึงสู่การทดลองเมื่อแรกติดเชื้อไรโซเบียมได้ 60 วัน บริเวณสลายตัวของเซลล์จะมีเนื้อที่ครึ่งหนึ่งของ bacteroid area จากกลางปม ส่วน bacteroid area ที่อยู่รอบนอกก็ใกล้ nodule cortex รวมทั้งเซลล์ใน nodule cortex ยังคงมีสภาพเหมือนกับปมที่ยังไม่เกิดการสลายของเซลล์

อภิปรายผล

การเข้าสู่รากของเชื้อไรโซเบียมและการเกิดปมของถั่วเหลือง

จากการที่ศึกษาการเข้าสู่รากถั่วเหลืองของเชื้อไรโซเบียม พบว่าเชื้อไรโซเบียมเข้าสู่รากทางรากขนอ่อน ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลการทดลองของบอนด์ (Bond, 1948 : 433), โล และฮับเบิล (Lo and Hubble, 1969 : 1133), บีเบอร์ดอร์ฟ (Bieberdorf, 1938 : 376) และ ประสาท (Prasad, 1972 : 5) ซึ่งได้ศึกษาการเข้าสู่รากของเชื้อไรโซเบียมในพืชตระกูลถั่วหลายชนิด

ในการทดลองนี้พบว่ารากขนอ่อนส่วนมากของถั่วเหลืองที่ติดเชื้อไรโซเบียมมีการเจริญ
ผิดปกติ คือ จะโค้งงอและแตกแขนง ส่วนรากขนอ่อนของถั่วเหลืองในกลุ่มควบคุมมีลักษณะตรง
ซึ่ง อเล็กซานเดอร์ (Alexander. 1961 : 208) ได้ชี้แจงถึงการโค้งงอของราก
ขนอ่อนว่าเกิดขึ้นเนื่องจากมี IAA และสารบางอย่างในบริเวณราก ฮับเบิล (Hubble.
1970 : 337 - 342) ศึกษาพบว่าสารที่เชื้อไรโซเบียมปล่อยออกมาจากเซลล์สามารถชักนำ
ให้รากขนอ่อนโค้งงอได้ เขา และวินเซนต์ (Yoa and Vincent. 1969 : 413 - 423)
ได้ศึกษาการโค้งงอของรากขนอ่อนของพืชตระกูลถั่ว พบว่าเกิดขึ้นเมื่อมีเชื้อไรโซเบียมใน
บริเวณรากเท่านั้น แบคทีเรียในดินชนิดอื่นจะไม่ชักนำให้เกิดการโค้งงอ นอกจากนั้นไลและ
ฮับเบิล (Li and Hubble. 1969 : 1133) พบว่า เชื้อไรโซเบียมที่อยู่ในกลุ่ม cross-
inoculation group กับถั่วสามารถชักนำให้รากขนอ่อนเกิดการโค้งงอได้ แต่จะไม่พบ
infection thread และไม่มีปมรากเกิดขึ้น

ในการทดลองนี้พบ infection thread ทั้งภายในรากขนอ่อนที่โค้งงอและราก
ขนอ่อนปกติ ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ บีเบอร์คอฟฟ์ (Bieberdorf.
1938 : 376) ซึ่งได้บรรยายการพบ infection thread ภายในรากขนอ่อนปกติว่า
เนื่องจากเชื้อไรโซเบียมเข้าสู่รากหลังจาก ระยะที่รากขนอ่อนมีการยืดยาวแล้ว

การเกิดปมของถั่วเหลืองพันธุ์ ส.จ. 2 ในการทดลองนี้ สังเกตเห็นปมครั้งแรก
หลังจากติดเชื้อไรโซเบียม 7 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองของบอนด์ (Bond. 1948 :
420) ซึ่งศึกษาการเกิดปมของถั่วลิ้นเต่า พบปมครั้งแรกหลังจากเมล็ดงอก 10 วัน
ไล และ ฮับเบิล (Li and Hubble. 1969 : 1133) ศึกษาการเกิดปมของ
strawberry clover พบว่าเกิดปมหลังจากปลูกพืช 14 วัน ไทโยโน, นิวคอมบ์ และ
ทอร์รี่ (Syono, Newcomb and Torry. 1976 : 2156) ได้ศึกษาการเกิดปมของ
ถั่วลิ้นเต่า พบปมหลังจากติดเชื้อไรโซเบียม 8 วัน และบีเบอร์คอฟฟ์ (Bieberdorf.
1938 : 378) ศึกษาการเกิดปมของถั่วเหลือง พบว่าเกิดปมหลังจากเมล็ดงอก 9 วัน
จากผลการทดลองที่กล่าวมาแล้ว จะเห็นว่าระยะเวลาในการเกิดปมของพืชตระกูลถั่วจะแตกต่างกัน
กันเล็กน้อย ขึ้นอยู่กับชนิดของถั่วและเชื้อไรโซเบียมที่ใช้ในการทดลอง นอกจากนั้นยังขึ้นอยู่กับ

วิธีการใส่เชื้อให้แก่ตัว ค้างเช่น ในการเก็บของตัวมันเตา ถ้าใช้วิธีคลุกเชื้อโรโซเบียม ที่เมล็ดกอนปลูก จะพบผลครั้งแรกหลังจากเมล็ดงอก 10 วัน (Bond. 1948 : 420) แต่ถ้าใช้วิธีเพาะตัวมันเตาในสภาพที่ปราศจากเชื้ออื่น เมื่อเมล็ดงอกแล้วจึงรดเชื้อโรโซเบียม ลงในดินที่ปลูกตัว จะพบผลหลังจากรดเชื้อ 8 วัน (Syono, Newcomb and Torry. 1976 : 2156) ในการทดลองนี้พบผลครั้งแรกเร็วกว่าการทดลองของบีเบอร์คอร์ต (Bieberdorf. 1938 : 378) 2 วัน ทั้งนี้เนื่องจากการทดลองของบีเบอร์คอร์ตใช้วิธี คลุกเชื้อโรโซเบียมที่เมล็ดตัวเหลืองกอนปลูก ส่วนในการทดลองนี้ใช้วิธีเพาะเมล็ดให้งอก เสียก่อน แล้วจึงรดเชื้อโรโซเบียม ซึ่งการเพาะเมล็ดให้งอกก่อนรดเชื้อโรโซเบียม ต้นตัว จะเกิดรากขนอนซึ่งเป็นทางที่เชื้อโรโซเบียมเข้าสู่รากอยู่ก่อนแล้ว เมื่อรดเชื้อโรโซเบียม ลงในดินที่ปลูกตัว เชื้อจะเข้าสู่รากได้เร็ว และพบผลได้เร็วกว่าวิธีคลุกเชื้อที่เมล็ดกอนปลูก นอกจากนั้นเนื่องจากพันธุ์ตัวเหลืองและสายพันธุ์ของเชื้อโรโซเบียมที่ใช้ในการทดลองแตกต่างกัน ทำให้ผลการทดลองแตกต่างกัน

ในการทดลองนี้พบว่าพบตัวเหลืองที่สังเกตเห็นครั้งแรก มีรูปร่างกลมและเนื้อเยื่อ ภายในไม่มีสีขาว การเจริญต่อมาพบว่าพบที่เก็บตัวอย่างหลังจากรดเชื้อโรโซเบียม 10 วัน เนื้อเยื่อภายในจะเริ่มเปลี่ยนเป็นสีชมพู และพบที่เก็บตัวอย่างหลังจากรดเชื้อโรโซเบียม 25 วัน เนื้อเยื่อส่วนใหญ่ภายในจะมีสีชมพูเข้ม นิวคอมบ์ (Newcomb. 1976 : 2163) ได้ศึกษาถึงการที่เนื้อเยื่อภายในเริ่มมีสีชมพู พบว่าเกิดจากการสร้างพิกเมนต์เลกซีโมโกลบิน พิกเมนต์นี้จะเกี่ยวข้องกับกระบวนการตรึงไนโตรเจนจากอากาศ

เมื่อพิจารณาถึง ขนาด สี และการกระจายของปมในระบบราก พบว่าพบตัวเหลือง ที่เกิดขึ้นในการทดลองนี้เป็นปมที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน ทั้งนี้เพราะว่าเชื้อ R. japonicum สายพันธุ์ UB 8-T ที่ใช้ในการทดลองนี้ เป็นเชื้อสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพ ในการตรึงไนโตรเจนเมื่อเจริญร่วมกับตัวเหลืองพันธุ์ ส.จ. 2 (บัณฑิต กันศิริ 2516 : 25) รูป และซาร์เลส (Ruf and Sarles. 1937 : 724 - 727) ได้ศึกษาการเกิดปมของ ตัวเหลืองพันธุ์แมนจู โดยเปรียบเทียบระหว่างเชื้อโรโซเบียม สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพและ ไม่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน ผลปรากฏว่าเชื้อโรโซเบียมสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพ

ในการตรึงไนโตรเจน จะทำให้เกิดปมขนาดใหญ่ และการกระจายของปมมีมากในบริเวณ รากแก้วโกลเดวีน ส่วนเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ที่ไม่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน จะทำให้เกิดปมขนาดเล็กและมีจำนวนมาก การกระจายของปมพบทั่วระบบราก

การเจริญของถั่วเหลืองในกลุ่มควบคุมจะแสดงอาการขาดธาตุไนโตรเจนตั้งแต่สัปดาห์ ที่ 2 ของการทดลอง ทั้งนี้เนื่องจากน่ายาปลูกพืชที่ใช้ในการทดลองนี้เป็นสูตรที่ขาดธาตุไนโตรเจน ถั่วเหลืองในกลุ่มควบคุมจะมีลำต้นผอมบาง ใบมีขนาดเล็กสีเหลืองซีด และไม่มีปมเกิดขึ้นใน บริเวณราก ส่วนการเจริญของถั่วเหลืองกลุ่มที่รื้อเชื้อไรโซเบียมพบว่ามีลำต้นตรง ใบมีสีเขียว เข้มและมีปมรากเกิดขึ้น ถั่วเหลืองกลุ่มที่รื้อเชื้อไรโซเบียมไม่แสดงอาการขาดธาตุไนโตรเจน แม้ว่าในน่ายาปลูกพืชจะขาดธาตุนี้ แสดงว่าเชื้อไรโซเบียมที่อาศัยอยู่ภายในปมสามารถตรึง ไนโตรเจนเปลี่ยนให้อยู่ในรูปสารประกอบที่ถั่วสามารถนำไปใช้ได้

กายวิภาคของปมถั่วเหลือง ตั้งแต่เริ่มรื้อเชื้อไรโซเบียมจนถึงระยะเวลา 60 วัน ของการทดลอง

จากผลการทดลองพบว่า รากถั่วเหลืองที่เก็บตัวอย่างหลังจาก รื้อเชื้อไรโซเบียม 12 ชั่วโมง, 2, 3, 4 และ 5 วัน และรากถั่วเหลืองในกลุ่มควบคุมที่อายุเท่ากัน มีลักษณะ การเจริญของเนื้อเยื่อในบริเวณต่าง ๆ คล้ายคลึงกัน แสดงว่าในช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่างมา ศึกษาเชื้อไรโซเบียมยังไม่เข้าสู่ราก แต่เป็นระยะที่เชื้อมีการเพิ่มจำนวนให้มีปริมาณมาก รอบ ๆ ราก (Alexander. 1971 : 252) หรือเชื้อไรโซเบียมเข้าสู่รากแล้ว แต่เพิ่ง เข้าสู่เซลล์ และยังไม่มีก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อภายในราก จากการทดลอง ของบีเบอร์ดอร์ฟ (Bieberdorf. 1938 : 378) ซึ่งพบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ ภายในรากเมื่อ infection thread เจริญถึงฐานของเซลล์

เริ่มพบการเปลี่ยนแปลงในรากถั่วเหลืองที่เก็บตัวอย่างหลังจาก รื้อเชื้อไรโซเบียม 6 วัน โดยพบเซลล์หนึ่งขยายขนาดใหญ่มากกว่าเซลล์เคียง และมี infection thread ภายในเซลล์ ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของบีเบอร์ดอร์ฟ (Bieberdorf. 1938 : 378) ซึ่งพบการขยายขนาดของเซลล์เมื่อเชื้อไรโซเบียมเข้าสู่ราก และไม่พบ

การเปลี่ยนแปลงนี้ในพืชตระกูลถั่วชนิดอื่น ๆ ในการทดลองนี้พบวาร์อบเซลล์ที่ขยายใหญ่จะมีกลุ่ม meristem ที่เปลี่ยนแปลงมาจากเซลล์พาเรไคม่าในชั้นคอร์เทกซ์ ซึ่ง meristem กลุ่มนี้จะแบ่งตัวเพิ่มจำนวนทำให้เกิดเป็นปมขึ้น และมี meristem อีกกลุ่มหนึ่งบริเวณคอร์เทกซ์ชั้นในติดกับเพอริไซเคิล และอยู่ตรงปลายแฉกหนึ่งของท่อน้ำ ซึ่ง meristem กลุ่มนี้จะเจริญเป็นเนื้อเยื่อที่เชื่อมระหว่างระบบลำเลียงของรากกับระบบลำเลียงภายในปม เซลล์พาเรไคม่าในคอร์เทกซ์ที่อยู่ระหว่าง meristem 2 กลุ่มก็จะเปลี่ยนเป็น meristem ด้วย ซึ่งต่อไปจะเจริญเป็นท่อน้ำท่ออาหารของปม ส่วนรากตัวเหลืองในกลุ่มควบคุมที่เก็บตัวอย่างมาศึกษาในระยะเดียวกันนี้ ไม่พบกลุ่ม meristem ในคอร์เทกซ์ ทั้งนี้เนื่องจากตัวเหลืองในกลุ่มควบคุมจะไม่เกิดปม เพราะทรายที่ปลูกตัวเหลืองไถ่ผ่านการฆ่าเชื้อแบคทีเรียในดินชนิดอื่น ๆ มาแล้ว

พมเกิดขึ้นครั้งแรกในรากตัวเหลืองที่เก็บตัวอย่าง หลังจากติดเชื้อไรโซเบียม 7 วัน จากการศึกษาลักษณะเนื้อเยื่อภายในปม พบว่าปมเกิดจากการแบ่งเซลล์ของกลุ่ม meristem ในชั้นคอร์เทกซ์ ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของบอนด์ (Bond. 1948 : 433) บีเบอร์คอร์ด (Biebedorf. 1938 : 378), นิวคอมบ์ (Newcomb. 1976 : 2163) และ ประสาท (Prasad. 1972 : 1 - 7) แต่ไม่สอดคล้องกับผลการทดลองของวัตต์แมนน์ (Wattmann. 1968 : 1 - 13) ซึ่งศึกษาการเกิดปมในพืชตระกูลถั่วหลายชนิด และพบว่าปมเกิดจากการแบ่งเซลล์ของเพอริไซเคิล

จากการศึกษากายวิภาคของปมตัวเหลือง ตั้งแต่ปมที่มองเห็นครั้งแรก ในรากตัวเหลืองที่เก็บตัวอย่างหลังจากติดเชื้อไรโซเบียม 7 วัน จนถึงสิ้นสุดการทดลอง เมื่อติดเชื้อได้ 60 วัน พบว่ามีการจัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อภายในปมเป็น 4 บริเวณ คือ bacteroid area, nodule meristem, nodule cortex และ nodule vascular bundle ซึ่งจะเกิดการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อในบริเวณต่าง ๆ ตามลำดับการเจริญของปมดังนี้

1. Bacteroid area เป็นบริเวณกลางปมที่มีเชื้อไรโซเบียมเข้าไปอาศัยในเซลล์ราก ในปมที่เก็บตัวอย่างหลังจากติดเชื้อไรโซเบียม 7 วัน พบว่าบริเวณนี้มีลักษณะเป็น meristem กลุ่มใหญ่ ซึ่งเกิดจากการแบ่งเซลล์ของ meristem ที่อยู่รอบเซลล์ที่ขยายใหญ่

ในปมที่เก็บตัวอย่างหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 6 วัน meristem กลุ่มนี้ประกอบด้วยเซลล์ที่มีขนาดใหญ่กว่าปกติ นิวเคลียสมีขนาดใหญ่อยู่กลางเซลล์ และพบ infection thread แทะแขนงจากเซลล์ที่ขยายใหญ่เจริญเข้าไปใน meristem กลุ่มนี้ นอกจากนี้ยังพบว่ามีการแบ่งเซลล์เกิดขึ้นในกลุ่ม meristem ที่เจริญเป็น bacteroid area มากมาย

ในปมถั่วเหลืองที่เก็บตัวอย่างหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 8 วัน พบว่า bacteroid area จะเพิ่มขนาดขึ้น และคิคลัสเข้มขึ้น ภายใน bacteroid area จะพบความแตกต่างของเซลล์เป็น 2 พวก คือ infected cell เป็นเซลล์ที่ติดเชื้อไรโซเบียมอยู่ภายใน กับ uninfected cell เป็นเซลล์ที่ไม่มีเชื้อไรโซเบียมภายในเซลล์ ซึ่งจะมีการเจริญและการเปลี่ยนแปลงดังนี้

1.1 Infected cell ในปมที่เก็บตัวอย่างหลังการติดเชื้อไรโซเบียม 8 วัน เซลล์นี้จะคิคลัสเข้ม นิวเคลียสมีขนาดใหญ่อยู่กลางเซลล์ และเห็นนิวคลีโอลัสชัดเจน ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของนิวคอมบ์ (Newcomb. 1976 : 2182) ปมที่เก็บตัวอย่างในระยะนี้พบว่า infected cell มีขนาดใหญ่กว่า uninfected cell เล็กน้อย การเจริญต่อมาพบว่า infected cell จะเพิ่มขนาดขึ้นเรื่อย ๆ ในปมที่เก็บตัวอย่างหลังการติดเชื้อไรโซเบียม 25 วัน พบว่า infected cell มีขนาดใหญ่กว่า uninfected cell 4 - 5 เท่า และมีเชื้อไรโซเบียมอยู่เต็มเซลล์ ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของบิเบอร์ดอร์ฟ (Bieberdorf. 1938 : 375) และ ทู (Tu. 1975 : 448) ที่พบว่าเซลล์ที่แบคทีเรียภายในจะเพิ่มขนาดกว่าเซลล์ที่ไม่มีแบคทีเรียหลายเท่า ซึ่งการเพิ่มขนาดของ infected cell เกิดจากการแบ่งเซลล์ของเชื้อไรโซเบียมที่อาศัยอยู่ภายใน รวมทั้งสารต่าง ๆ ที่แบคทีเรียสร้างขึ้น (Bieberdorf. 1938 : 377)

1.2 Uninfected cell เป็นเซลล์ที่มีขนาดเล็กกว่า infected cell และคิคลัสจาง นิวเคลียสมีขนาดเล็กอยู่ชิดขอบเซลล์ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของบอนด์ (Bond. 1948 : 423) uninfected cell จะทำหน้าที่เป็นทางผ่านของการขนถ่ายสารใน bacteroid area และเป็นแหล่งออกซิเจนให้แก่ infected cell (Goodchild and Bergerson. 1966 : 205 ; Tu. 1975 : 454)

ภายใน uninfected cell จะเริ่มพบการสะสมเม็ดแป้ง ตั้งแต่ในปมที่เก็บ-

ตัวอย่างหลังโรคเชื้อโรโคโนเบียม 9 วัน และจะพบเม็กเป้งจำนวนมาก ในปมหลังจากโรคเชื้อโรโคโนเบียม 10 และ 15 วัน หลังจากนั้นจำนวนเม็กเป้งจะลดลง และในปมที่เก็บตัวอย่างหลังจากโรคเชื้อโรโคโนเบียม 25 วัน ไม่พบเม็กเป้งใน uninfected cell ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของบอนด์ (Bond. 1948 : 423), บิเบอร์คอร์ด (Bieberdorf. 1938 : 379), นิวคอมบ์ (Newcomb. 1976 : 2182) และ ประสาธ (Prasad. 1972 : 6) การที่จำนวนเม็กเป้งลดลงเมื่อปมมีอายุเพิ่มขึ้น เนื่องจากเม็กเป้งถูกใช้เป็นตัวแหล่งพลังงานให้แก่เซลล์ที่เชื้อโรโคโนเบียม ซึ่งเชื้อโรโคโนเบียมจะแบ่งตัวเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว (Prasad. 1972 : 6)

แม้ว่าปมจะขยายขนาดขึ้นเมื่อมีอายุเพิ่มขึ้น แต่จะไม่พบการแบ่งเซลล์ใน bacteroid area นอกจากปมที่เก็บตัวอย่างหลังจากโรคเชื้อโรโคโนเบียม 7 วัน ซึ่ง ประสาธ (Prasad. 1972 : 6) พบว่า การแบ่งตัวของ infected cell จะเกิดขึ้นภายใน 2 - 3 วัน หลังจากเชื้อโรโคโนเบียมเข้าสู่เซลล์ หลังจากนั้นจะเกิดการขยายขนาดของเซลล์ และ บอนด์ (Bond. 1948 : 420) พบว่าการแบ่งเซลล์เกิดขึ้นในช่วงแรกของการเกิดปม ซึ่งต่อมาจะเป็นการขยายขนาดของเซลล์ และไม่พบการแบ่งเซลล์ในเซลล์ที่เชื้อโรโคโนเบียมอยู่ภายในมาก ๆ แต่จากผลการทดลองของบิเบอร์คอร์ด (Bieberdorf. 1938 : 382) ยังคงพบการแบ่งเซลล์ใน bacteroid area ในปมที่มีอายุ 18 วัน การที่ในการทดลองนี้ไม่พบการแบ่งเซลล์ใน bacteroid area อาจขึ้นอยู่กับเวลาที่เก็บตัวอย่างปมมาศึกษา ในการทดลองของบิเบอร์คอร์ดพบการแบ่งเซลล์ ในปมที่เก็บตัวอย่างในช่วงเวลา 10.30 น., 13.00 น. และ 16.30 น. ในการทดลองนี้ ส่วนมากเก็บตัวอย่างปมประมาณ 8.00 น. ดังนั้นจึงไม่พบการแบ่งเซลล์ใน bacteroid area เมื่อปมมีอายุมากขึ้น แต่พบการแบ่งเซลล์ในปมที่เก็บตัวอย่างหลังโรคเชื้อโรโคโนเบียม 7 วัน อาจเนื่องจากปมในระยะนี้มีการแบ่งเซลล์อยู่ตลอดเวลา

เริ่มพบการสลายของเซลล์ใน bacteroid area ในปมหลังจากโรคเชื้อโรโคโนเบียม 40 วัน โดยพบว่า infected cell บริเวณกลางปม จะติดสอยม้างลง นิวเคลียสบีคาวออก ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของนิวคอมบ์ (Newcomb. 1976 : 2182) ที่พบนิวเคลียสที่มีลักษณะเป็นฟองในเซลล์ที่เริ่มเกิดการสลายตัว ส่วนผลการทดลองของ

(Tu. 1975 : 451) ศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่าการสลายของเซลล์จะเริ่มด้วยการสลายขององค์ประกอบที่เป็นเยื่อบาง (membrane) ทั้งของเซลล์รากและเซลล์แบคทีเรีย ในพืชที่เก็บตัวอย่างหลังจากการติดเชื้อโรโซเบียม 45, 50 และ 55 วัน พบว่าการสลายตัวของเซลล์จะเพิ่มขึ้นเป็นบริเวณกว้าง เรียกว่าบริเวณสลายตัว และเมื่อสิ้นสุดการทดลองหลังจากการติดเชื้อโรโซเบียมได้ 60 วัน พบว่าบริเวณสลายตัวจะมีเนื้อที่ครึ่งหนึ่งของ bacteroid area จากบริเวณกลางปม ส่วนเซลล์ที่อยู่รอบนอกใกล้ nodule cortex ยังคงมีลักษณะเหมือนกับปมที่ยังไม่เกิดการสลายของเซลล์ จากการศึกษาริเวณที่เริ่มเกิดการสลายของเซลล์ พบว่าจะเริ่มจากบริเวณกลางปม ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ ทู

(Tu. 1975 : 451) ศึกษาในถั่วเหลือง และ ประสาด (Prasad. 1972 : 6) ศึกษาในถั่วเขียว ซึ่งปมของพืชตระกูลถั่ว 2 ชนิด ปมมีรูปร่างกลม ส่วนในถั่วลิ้นเต้ายังมีปมรูปกระบอก บริเวณที่จะเริ่มเกิดการสลายของเซลล์จะอยู่ส่วนฐานของปมที่ติดต่อกับราก (Newcomb. 1976 : 2165) ดังนั้นบริเวณที่จะเริ่มเกิดการสลายของเซลล์จะขึ้นอยู่กับรูปร่างของปม ซึ่งการสลายของปมจะขึ้นอยู่กับปัจจัยต่อไปนี้

1. สภาพแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิและความชื้น ถ้าอุณหภูมิสูงและความชื้นในดินต่ำจะมีผลให้ปมเกิดการสลายเร็วขึ้น (สมศักดิ์ วังโน 2516 : 62)

2. ชนิดของถั่ว จากการทดลองของประสาด (Prasad. 1972 : 1) พบว่าปมถั่วเขียวจะเริ่มสลาย เมื่อถั่วมีอายุ 8 - 9 สัปดาห์ และปม Phaseolus mungo จะเริ่มสลายเมื่อถั่วมีอายุ 5 - 6 สัปดาห์ และนิวกอบบี้ (Newcomb. 1976 : 2184) พบว่า ปมถั่วลิ้นเตาจะเริ่มสลาย เมื่อถั่วมีอายุ 4 สัปดาห์

3. สายพันธุ์ของเชื้อโรโซเบียม จากการทดลองของแมคเคนซี และ จอร์แดน (Mackenzie and Jordan. 1974 : 757) พบว่า ปม Medicago sativa ที่เกิดจากเชื้อ R. meliloti สายพันธุ์ที่ไม่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน จะเกิดการสลายของปมอย่างรวดเร็ว ถัดจากปมเชื้อโรโซเบียมเชื้อสายเซล

ในการทดลองนี้พบการสลายของเซลล์ ในพืชที่เก็บตัวอย่างหลังจากการติดเชื้อโรโซเบียม 40 วัน ซึ่งการสลายเกิดขึ้นค่อนข้างช้า ทั้งนี้เนื่องจากทรายที่ปลูกถั่วเหลืองมีความชื้นสูง

และเชื้อไรโซเบียมที่ใช้ในการทดลอง เป็นเชื้อสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน เมื่อเจริญร่วมกับถั่วเหลืองพันธุ์ ส.จ. 2

2. Nodule meristem เป็นเนื้อเยื่อที่ล้อมรอบ bacteroid area ประกอบด้วยเซลล์ขนาดเล็ก รูปร่างค่อนข้างยาว มีลักษณะคล้าย vascular cambium เรียงกันเป็นแถวหนา 1 - 2 ชั้น เซลล์ของ nodule meristem จะมีนิวเคลียสใหญ่อยู่บริเวณกลางเซลล์ ภายในเซลล์นี้จะไม่พบเชื้อไรโซเบียม ในการทดลองนี้ไม่พบการแบ่งเซลล์ของ nodule meristem แต่จากการทดลองของบีเบอร์คอร์ด (Biebardorf, 1938 : 384) และนิวคอมบ์ (Newcomb, 1976 : 2164) พบการแบ่งเซลล์ของ nodule meristem ซึ่งจะช่วยให้ขนาดของ bacteroid area การที่ไม่พบการแบ่งเซลล์ของ nodule meristem อาจขึ้นอยู่กับระยะเวลาที่เก็บตัวอย่างปมมาศึกษา

เมื่อศึกษาถึงตำแหน่งของ nodule meristem ในการทดลองนี้ ปมมีรูปร่างกลม จะมี nodule meristem ล้อมรอบ bacteroid area ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของทู (Tu, 1975 : 448) และ บีเบอร์คอร์ด (Biebardorf, 1938 : 384) ส่วนในถั่วลิ้นเต่าซึ่งมีปมรูปกระบอก จะมี nodule meristem อยู่ส่วนปลายของปม (Newcomb, 1976 : 2180) ใบไม้ที่เก็บตัวอย่างหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 10 วัน พบว่าเริ่มมีการสะสมเมือกแป้งใน nodule meristem และจะพบเมือกแป้งจำนวนเพิ่มขึ้น ใบไม้ที่เก็บตัวอย่างหลังจากการติดเชื้อ 10 วัน การพบเมือกแป้งใน nodule meristem นี้ สอดคล้องกับการทดลองของนิวคอมบ์ (Newcomb, 1976 : 2166) ซึ่งพบเมือกแป้งใน nodule meristem ของปมถั่วลิ้นเต่า

3. Nodule cortex เป็นบริเวณภายในปมที่ไม่มีเชื้อไรโซเบียมในเซลล์ nodule cortex ประกอบด้วยเซลล์พาราไคม่าที่มีขนาดเล็กกว่าเซลล์พาราไคม่าในคอร์เทกซ์ของราก และจะล้อมรอบ bacteroid area ใบไม้ที่เก็บตัวอย่างหลังจากการติดเชื้อ 7 วัน พบว่า nodule cortex ประกอบด้วยเซลล์ค่อนข้างกลม มองเห็นนิวเคลียสชัดเจน แต่จะค่อนข้างขอบเขต ก้านนอกของ nodule cortex จะมีเซลล์พาราไคม่าขนาดใหญ่ในคอร์เทกซ์ของรากหุ้มอยู่ 3 - 4 ชั้น เซลล์มี meristem เรียงเป็นแถวโกลี 2 - 3 ชั้น เซลล์ใน

nodule cortex ที่ติดกับคอร์เทกซ์ของราก เซล meristem ในกลุ่มเนื้อรูปร่างค่อนข้างยาว ลักษณะคล้าย nodule meristem ในปมที่อายุน้อยมากค้นพบวากานาของ bacteroid area จะเพิ่มขึ้น แต่ nodule cortex ที่ล้อมรอบ bacteroid area มีความหนาที่ค่อนข้างคงที่ หรือเพิ่มขึ้นน้อยมาก ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของทู (Tu. 1975 : 448) แสดงว่าจะคงมีการเพิ่มจำนวนเซลล์ใน nodule cortex ซึ่งเซลล์ใน nodule cortex นั้น เกิดจากการแบ่งตัวของ nodule meristem ที่อยู่ภายนอก (Bond. 1948 : 423 ; Syono, Newcomb and Torry. 1976 : 2158) และอาจเป็นไปได้ที่เซลล์ส่วนหนึ่งของ nodule cortex ที่เพิ่มขึ้น ได้จากการแบ่งตัวของ meristem ใน nodule cortex แต่ในการทดลองนี้ไม่พบการแบ่งเซลล์ของ meristem ใน nodule cortex เช่นเดียวกับไม่พบการแบ่งเซลล์ของ nodule meristem ในปมที่เก็บตัวอย่างหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 15 วัน พบว่า meristem ใน nodule cortex จะเปลี่ยนเป็นพาเรโนไคมา โดยที่รูปร่างเซลล์ไม่เปลี่ยนแปลง และเมื่อเกิด sclereid ใน nodule cortex sclereid จะกั้นโกลุเมเซลล์ และเซลล์พาเรโนไคมาในคอร์เทกซ์ของรากที่หมอบนอกลมหลุดลอกออก

เริ่มพบการสะสมเมือกแป้งใน nodule cortex ในปมหลังจากการติดเชื้อ 9 วัน โดยจะพบในเซลล์พาเรโนไคมาที่อยู่ใกล้ bacteroid area จำนวนเมือกแป้งจะเพิ่มขึ้นมากในปมที่เก็บตัวอย่างหลังการติดเชื้อ 10 วัน เมือกแป้งที่พบใน nodule cortex มีลักษณะเหมือนกับที่พบใน uninfected cell การพบเมือกแป้งใน nodule cortex นี้ สอดคล้องกับการทดลองของบิเบอร์คอร์ฟ (Biebedorf. 1938 : 379) และประสาศ (Prasad. 1972 : 6) ในปมที่เก็บตัวอย่างหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม 35 วัน จนถึงสิ้นสุดการทดลอง ไม่พบเมือกแป้งใน nodule cortex ทั้งนี้เนื่องจากเมือกแป้งถูกใช้ในการเจริญของปม และเมื่อเกิดการสลายของปมจะไม่พบเมือกแป้งภายในปม (Biebedorf. 1938 : 379)

นอกจากนี้ยังพบ sclereid ใน nodule cortex ซึ่งจะเริ่มพบในปมที่เก็บตัวอย่างหลังการติดเชื้อไรโซเบียม 9 วัน โดยพบเซลล์พาเรโนไคมาหลายเซลล์เกิดขยายขนาดใหญ่

และมี lignified wall sclereid จะเกิดมากขึ้นในเนื้อที่อายุน่าขึ้น จนกระทั่ง รอยแผล ซึ่งการเกิด sclereid แสดงถึงการโตเต็มที่ของแผล และจะพบ sclereid เฉพาะในเนื้อที่แผลที่เลื่องเท่านั้น (Bieberdorf. 1938 : 384)

4. Nodule vascular bundle เป็นท่อนำท่ออาหารภายในเนื้อ ซึ่งจะติดต่อกับท่อนำท่ออาหารของราก เริ่มพบความเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อที่จะเจริญเป็น nodule vascular bundle ตั้งแต่ในรากที่พบการเปลี่ยนแปลงครั้งแรก ซึ่งเก็บตัวอย่างหลังจาก รากเชื้อไรโซเบียม 6 วัน ซึ่งจะพบกลุ่ม meristem ในบริเวณคอร์เทกซ์ชั้นนอก ที่จะเจริญเป็น bacteroid area และมี meristem อีกกลุ่มหนึ่ง อยู่ในบริเวณคอร์เทกซ์ ชั้นใน ซึ่งเกิดจากการแบ่งเซลล์ของพาเรโนไคมา และเพอริไซเคลที่ตรงกับแกนของท่อนำ meristem กลุ่มนี้จะเจริญเป็น nodule vascular bundle ที่ติดต่อกับท่อนำท่ออาหาร ของราก นอกจาก meristem 2 กลุ่มที่กล่าวมาแล้ว ยังมี meristem เป็นแถวยาว ในแนวรัศมีระหว่าง meristem 2 กลุ่ม meristem ที่เป็นแถวยาวนี้ เกิดจากเซลล์ พาเรโนไคมาในคอร์เทกซ์ ซึ่งต่อไปจะเจริญเป็น nodule vascular bundle ผลการ ทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของบีเบอร์คอฟฟ์ (Bieberdorf. 1938 : 378 - 379) เนื้อที่เก็บตัวอย่างหลังจากรากเชื้อไรโซเบียม 7 วัน พบว่า nodule vascular bundle ประกอบด้วย meristem กลุ่มใหญ่ขึ้น และเซลล์เรียงกันเป็นมัด เซลล์ที่อยู่บริเวณกลางมัด จะมีรูปร่างค่อนข้างยาวกว่าเซลล์ล้อมรอบโดยรอบ ในเนื้อที่แผลที่เก็บตัวอย่างหลังจากราก เชื้อ 8 วัน พบว่า nodule vascular bundle ส่วนที่ติดต่อกับท่อนำท่ออาหารของราก เซลล์รูปร่างยาวบริเวณกลางมัดจะเปลี่ยนเป็นท่อนำ พบท่อนำที่เปลี่ยนแปลงมามากขึ้น ในเนื้อที่ มีอายุน่าขึ้น และมีเซลล์พาเรโนไคมารูปร่างยาวล้อมรอบ นอกสุดของ nodule vascular bundle มี meristem ล้อมรอบ nodule vascular bundle จะแทรกอยู่ใน nodule cortex และจะแตกแขนงแบบคูกออกไปล้อม bacteroid area ส่วนการขยาย ขนาดของ nodule vascular bundle บีเบอร์คอฟฟ์ (Bieberdorf. 1938 : 379) พบว่าเกิดจากการแบ่งเซลล์ของ meristem ที่ล้อมรอบโดยรอบ แต่ในการทดลองนี้ไม่พบ การแบ่งเซลล์ของ meristem ส่วนนี้ nodule vascular bundle ทำหน้าที่เป็นทาง

ขนย้ายสารระหว่างรากกับปม ในปมที่พบการสลายของ bacteroid area พบว่า nodule vascular bundle ยังมีรูปร่างเหมือนกับปมที่ยังไม่เกิดการสลายของ bacteroid area

จากการศึกษาการเกิดปมและกายวิภาคของปมถั่วเหลืองพันธุ์ ส.จ. 2 ที่เกิดจาก เชื้อ *R. japonicum* สายพันธุ์ UB 8-T ในการทดลองนี้ พบว่าผลของการทดลองจะ สอดคล้องกับการทดลองของบิเบอร์ดอร์ฟ (Biebedorf. 1938 : 375 - 389) มาก ถึงแม้ว่าจะใช้ถั่วเหลืองคนละพันธุ์ และใช้เชื้อไรโซเบียมคนละสายพันธุ์ อาจเป็นไปได้ว่า ในการทดลองนั้นใช้เชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ที่มีความจำเพาะกับพันธุ์ถั่วเหลือง ซึ่งทำให้เกิด ปมที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน และมีผลให้กายวิภาคของปมแตกต่างกันไม่มาก แต่ทำให้มีการศึกษาดังองค์ประกอบต่าง ๆ ภายในเซลล์ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย มาก ๆ ก็อาจพบความแตกต่างมากขึ้น

ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษากายวิภาคของปม ตั้งแต่เริ่มให้เชื้อไรโซเบียม จนถึงระยะที่ถั่ว ใหญ่ผลผลิต และควรเปรียบเทียบขนาดของปมในช่วงเวลาต่าง ๆ
2. ควรศึกษากายวิภาคของปม โดยเปรียบเทียบกับเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ ที่ไม่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน
3. ควรศึกษากายวิภาคของปม โดยใช้สีย้อมชนิดอื่น ๆ เช่น Heidenhain's haematoxylin, Delafield's haematoxylin หรือ Grams iodine

ဘုရားရှင်

บรรณานุกรม

บัณฑิต คันธี ประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนของ *Rhizobium japonicum* strains ต่าง ๆ เมื่อขึ้นร่วมกับถั่วเหลืองพันธุ์ ส.จ. 2 ที่ปลูกในดินโคราช
วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 2516, 54 หน้า
อศส้านา

ประพันธ์ บุญกลิ่นขจร และ ประวิทย์ กฤตยานวัช การศึกษาเรื่องถั่วเหลือง สถาบันวิจัย
วิทยาศาสตร์ประยุกต์แห่งประเทศไทย 2514, 103 หน้า

ป่าไม้, กรม ข้อพรรณไม้แห่งประเทศไทย โรงพิมพ์บริษัทสุริย์รัตนจำกัก 2491, 504 หน้า

วิชาการเกษตร, กรม เอกสารพืชน้ำมัน กรมวิชาการเกษตร 2510, 10 หน้า

วินิจนันทร, พระยา ข้อพรรณไม้แห่งประเทศไทย กรมป่าไม้ 2503, 871 หน้า

สมศักดิ์ วัจโน การตรึงไนโตรเจน : ไโรโซเบียม - พืชตระกูลถั่ว ภาควิชาพฤกษศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 2516, 139 หน้า

สมศักดิ์ วัจโน และ สุรเดช จินตกานนท์ การปรับปรุงผลผลิตของถั่วเหลืองโดยใช้
ไโรโซเบียม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 2517, 45 หน้า

Alexander, Martin. Introduction to Soil Microbiology. New York,
John Wiley and Sons, 1961. 350 p.

_____. Microbial Ecology. New York, John Wiley and Sons, 1971.
511 p.

Allen, O.N. and E.K. Allen. "Response of the Peanut Plant to
Inoculation with Rhizobia, with Special Reference to Morphological
Development of the Nodules," Botanical Gazette. 102 : 121 - 141,
September, 1940.

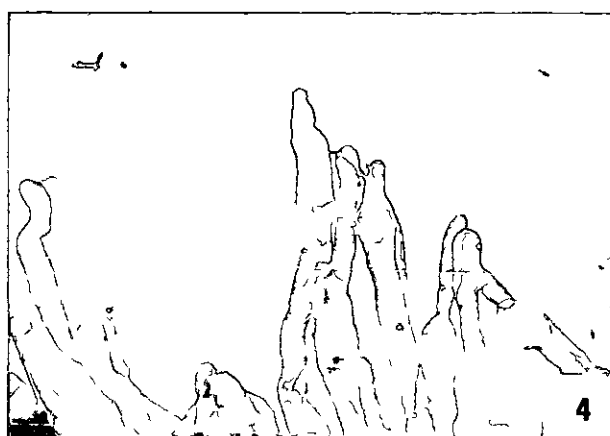
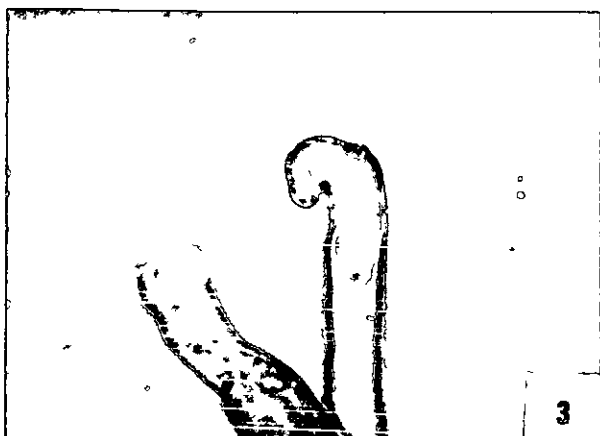
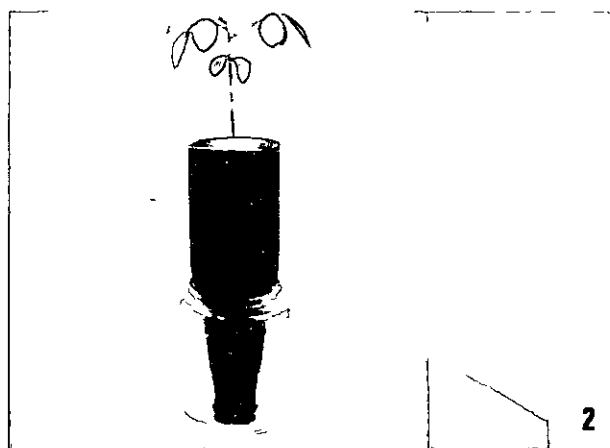
Bidwel, Roger G.S. Plant Physiology. New York, Macmillan Publishing,
1974. 643 p.

- Bieberdorf, Fredrick Wilhelm. "The Cytology and Histology of the Root Nodules of some Leguminosae," Journal of the American Society of Agronomy. 30 : 375 - 389, May, 1938.
- Bond, Lora. "Origin and Developmental Morphology of Root Nodules of Pisum sativum," Botanical Gazette. 109 : 411 - 434, June, 1948.
- Bottum, Frances. "Histological Studies on the Root of Melilotus alba," Botanical Gazette. 103 : 132 - 145, September, 1941.
- Breed, Robert S., E.G.D. Murray and Nathan R. Smith Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 7 th. ed., Baltimore, The Williams and Wilkins Company, 1957. 1094 p.
- Brimble, L.J.E. Intermediate Botany. 4 th. ed., London, The Macmillan Press, 1977. 505 p.
- Brock, Thomas D. Principle of Microbial Ecology. Englewood Cliffs, Prentice-Hall, 1966. 306 p.
- Brock, Thomas D. and Katherine M. Brock. Basic Microbiology with Applications. Englewood Cliffs, Prentice-Hall, 1973. 406 p.
- Clifton, C.E. Introduction to the Bacteria. 2 nd. ed., New York, McGraw-Hill, 1958. 558 p.
- Dart, P.J. "Legume Root Nodule Initiation and Development," in The Development and Function of Root, p. 467 - 506, ed. by J.G. Torrey and D.T. Clarkson. London, Academic Press. 1957.
- Dart, P.J. and F.V. Mercer. "Fine Structure of Bacteroids in Root Nodules of Vigna sinensis, Acacia longifolia, Viminaria juncea and Lupinus angustifolius," Journal of Bacteriology. 91 : 1314 - 1319, March, 1966.
- Fahraeus, G. and H. Ljunggren. "Pre-Infection Phase of the Legume Symbiosis," in The Ecology of Soil Bacteria : An International Symposium, p. 396 - 412, ed. by T.R.G. Gray and D. Parkinson. Liverpool, Liverpool University Press. 1968.
- Gebhardt, Louis P. Microbiology. 4 th. ed., Saint Louis, The C.V. Mosby Company, 1970. 354 p.
- Goodchild, D.J. and F.J. Bergerson. "Electron Microscopy of the Infection and Subsequent Development of Soy bean Nodule Cells," Journal of Bacteriology. 92 : 204 - 213, July, 1966.

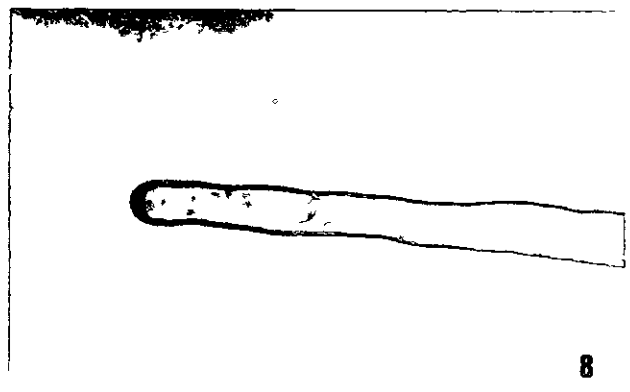
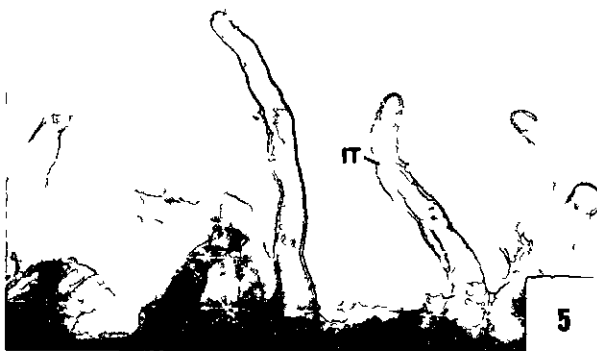
- Gray, T.R.G. and S.T. Williams. Soil Micro-Organism London, Longman, 1975. 240 p.
- Hawker, L.E. and A.E. Linton. Micro-organism ; function, form and and environment. London, Edward Arnold Publishers, 1971. 727 p.
- Hubble, D.H. "Studies on the Root Hair Curling Factor of Rhizobium," Botanical Gazette. 131 : 337 - 342, December, 1970.
- Jordan, D.C., I. Grinyer and W.H. Coulter. "Electron Microscopy of Infection Threads and Bacteria in young Root Nodules of Medicago sativa," Journal of Bacteriology. 86 : 125 - 137, July, 1963.
- Johansen, Donal Alexander. Plant Microtechnique. New York, McGraw-Hill Book Company, 1940. 523 p.
- Lawrence, George H.M. Taxonomy of Vascular Plants. New York, The Macmillan Company, 1951. 823 p.
- Li, Diana and D.H. Hubble. "Infection Thread Formation as a Basis of Nodulating Specificity in Rhizobium Strawberry Clover Associations," Canadian Journal of Microbiology. 15 : 1133 - 1136, August, 1969.
- Lie, T.A. "The Effect of Low pH on Different Phases of Nodule Formation in Pea Plants," Plant and Soil. 31 : 391 - 406, December, 1969.
- Mackenzie, C.R. and D.R. Jordan. "Ultrastructure of Root Nodule Formed by Ineffective Strain of Rhizobium meliloti," Canadian Journal Microbiology. 20 : 755 - 758, May, 1974.
- Mahanta, K.C. Fundamentals of Agricultural Microbiology. 2 nd, ed., Bombay, Oxford and I.B.H. Publishing, 1974. 416 p.
- Mitchell, J.P. "The DNA Content of Nuclei in Pea Root Nodules," Annals of Botany. 29 : 371 - 378, July, 1965.
- Newcomb, William. "A Correlated Light and Electron Microscopic Study of Symbiotic Growth and Differentiation in Pisum sativum Root Nodules," Canadian Journal of Botany. 54 : 2163 - 2186, September, 1976.
- Pelczar, Michael. J. and Roger D. Reid. Microbiology. 2 nd. ed., New York, McGraw-Hill Book Company, 1965, 662 p.
- Peter, R.J. and M. Alexander "Effect of Legume Exudates on the Root Nodule Bacteria," Soil Science. 102 : 380 - 387, April, 1966.

- Prasad, D.N. "Biology of Root Nodules of Phaseolus spp. with Reference to their Anatomical Structure," Proc. Indian Natl. Sci. Acad. 38 : 1 - 7, February, 1972.
- Rovira, A.D. "Plant Root Excretion in Relation to the Rhizosphere Effect. II A Study of the Properties of Root Exudate and Its Effect on the Growth of Micro-Organisms Isolated From the Rhizosphere and Control Soil." Plant and Soil. 7 : 195 - 208. January, 1956.
- Ruf, E.W. and W.B. Sarles. "Nodulation of Soybeans in Pot Culture by Effective and Ineffective Strain of Rhizobium japonicum" Journal of the American Society of Agronomy. 29 : 724 - 727. September, 1937.
- Salle, A.J. Fundamental Principles of Bacteriology. 7 th, ed., New Delhi. McGraw-Hill Publishing Company, 1974. 1054 p.
- Sass, J.E. Botanical Microtechnique 2 nd. ed., Amers, Iowa State College Press. 1951. 223 p.
- Stanier, Roger Y., Michael Doudoroff and Edward A. Adelberg. The Microbial World 3 rd. ed., Englewood Cliffs, Prentice-Hall. 1970. 874 p.
- Syono, Kunihiko., William Newcomb and John G. Torrey. "Cytokinin Production in Relation to the Development of Pea Root Nodules," Canadian Journal of Botany. 54 : 2155 - 2161, September, 1976.
- Tu, J.C. "Relationship Between the Membrane Envelope of Rhizobial Bacteroids and the Plasma Membrane of the Host Cell as Demonstrated by Histochemical Localization of Adenyl Cyclase," Journal of Bacteriology. 119 : 986 - 991, September, 1974.
- _____. "Rhizobial Root Nodules of Soybean as Revealed by Scanning and Transmission Electron Microscopy," Phytopathology. 65 : 447 - 454. April, 1975.
- _____. "Structural Organization of the Rhizobial Root Nodule of Alfalfa" Canadian Journal of Botany. 55 : 35 - 43, January, 1977.
- Wattmann, Wolfgang. "Anatomic Investigation on the Formation of Root Nodule in Leguminosae," Pflanzenschutz Berichte 37 : 1 - 13, 1968.
- Yoa, P.Y. and J.M. Vincent "Host Specificity in the Root Hair Curling Factors of Rhizobium spp." Australian Journal of Biological Science 22 : 413 - 423, April, 1969.

ภาคผนวก

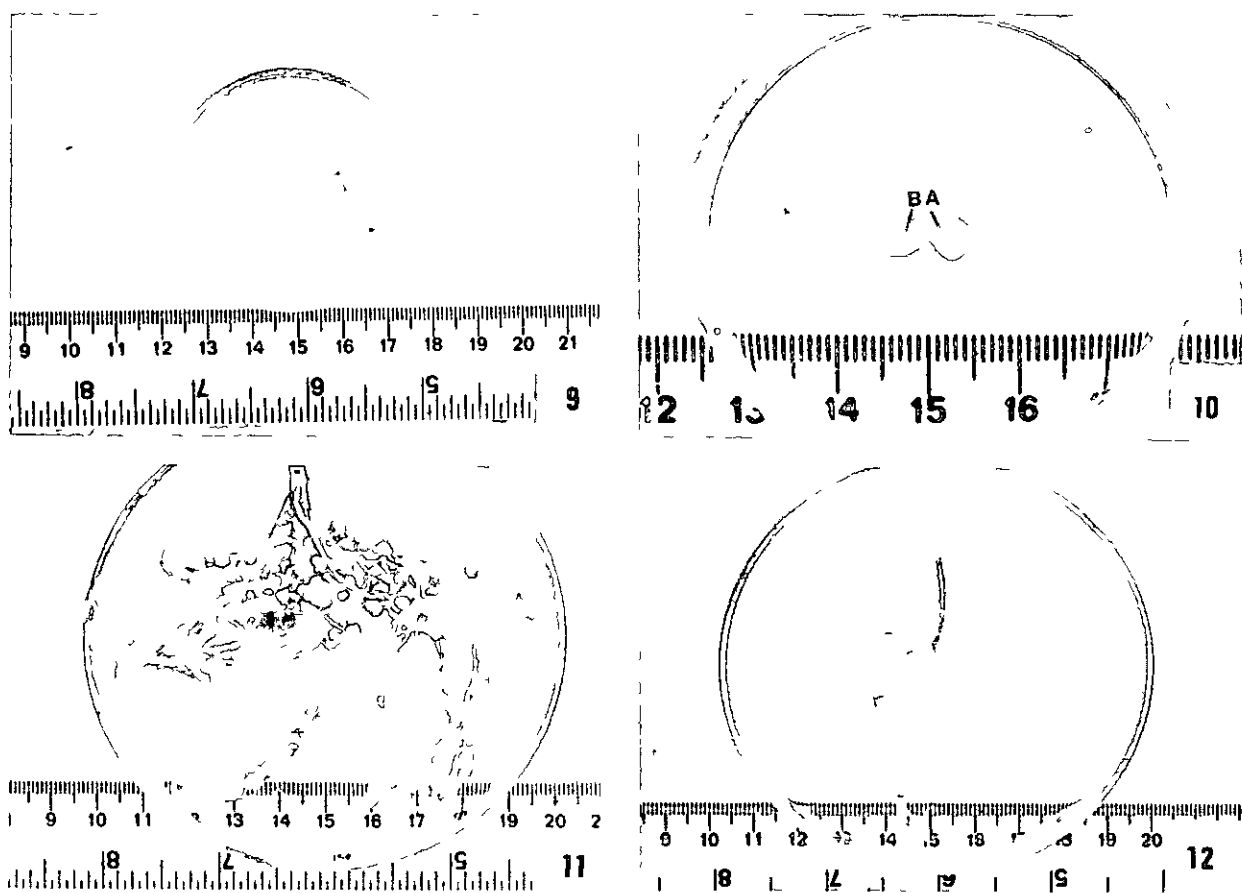


- ภาพประกอบที่ ๑ บริเวณทดลองปลูกถั่วเหลือง
- " ๒ ขวดเบียร์ที่ใช้ปลูกถั่วเหลือง
- " ๓ รากขนอ่อนของถั่วเหลืองที่รดเชื้อไรโซเบียมที่มีการเจริญผิดปกติ
เกิดการโค้งงอ (๑,๐๐๐ x)
- " ๔ รากขนอ่อนของถั่วเหลืองที่รดเชื้อไรโซเบียมที่มีการเจริญผิดปกติ
มีการแตกแขนง (๔๐๐ x)



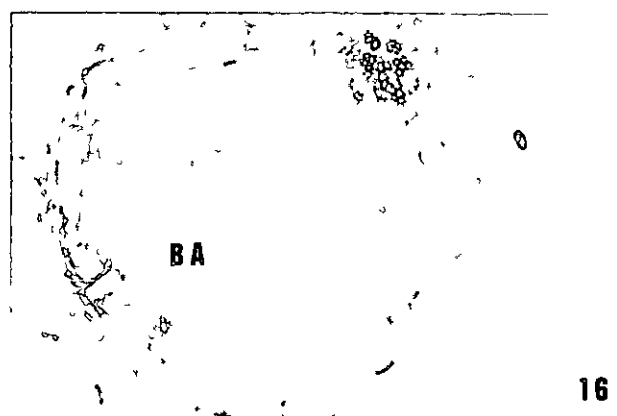
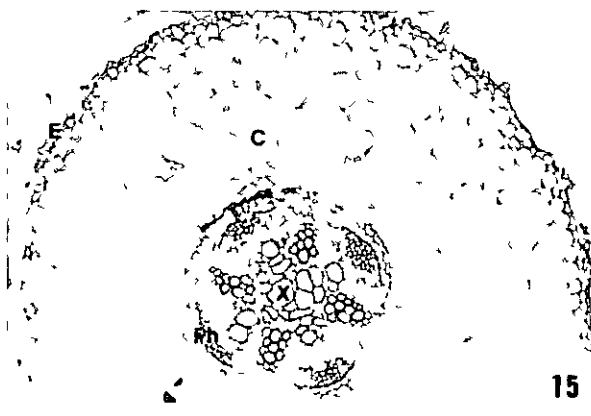
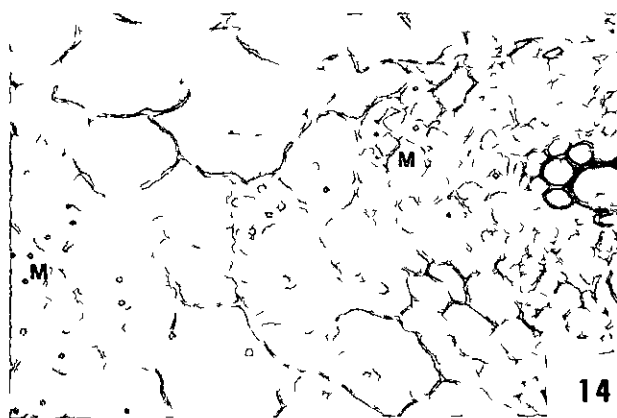
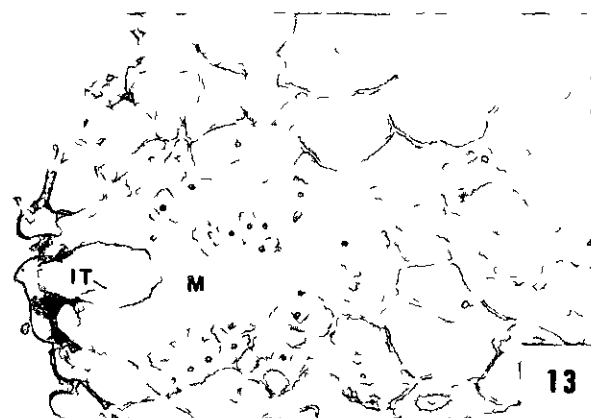
- ภาพประกอบที่ ๕ รากขนอ่อนของตัวเห็บที่มี infection thread อยู่ภายใน (๔๐๐ x)
- " ๖ รากขนอ่อนของตัวเห็บที่มี infection thread อยู่ภายใน (๑,๐๐๐ x)
- " ๗ รากขนอ่อนของตัวเห็บกลุ่มควบคุม (๒๕๐ x)
- " ๘ รากขนอ่อนของตัวเห็บกลุ่มควบคุม (๑,๐๐๐ x)

คำอธิบายภาพ IT, Infection Thread.



- ภาพประกอบที่ ๔ ปมตัวเหืองที่พบครั้งแรก หลังจากรดเชื้อไรโซเบียม ๗ วัน
- " ๑๐ ปมตัวเหืองหลังจากรดเชื้อไรโซเบียม ๒๕ วัน แสดง bacteroid area
- " ๑๑ ปมตัวเหืองหลังจากรดเชื้อไรโซเบียม ๖๐ วัน แสดงรูปร่างปม และการกระจายของปมในระบบราก
- " ๑๒ รากตัวเหืองกลุ่มควบคุมอายุ ๔ วัน

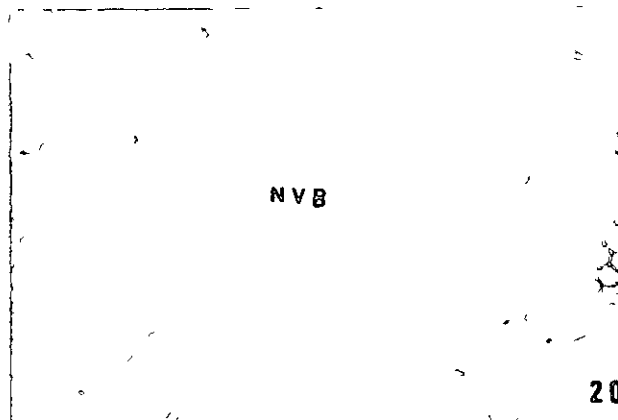
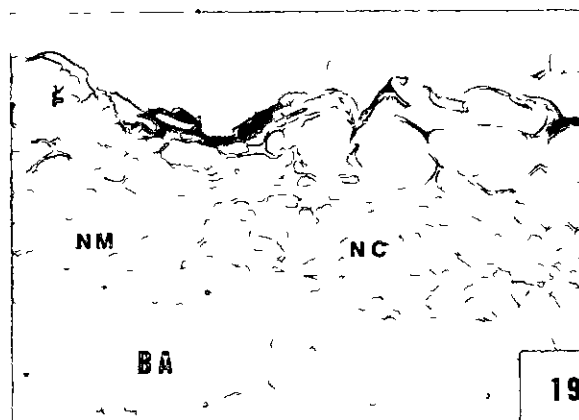
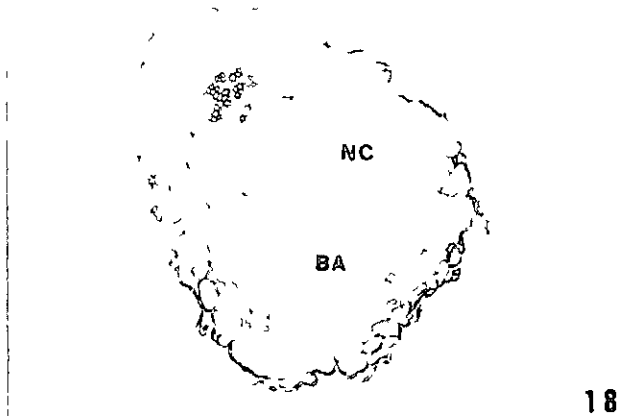
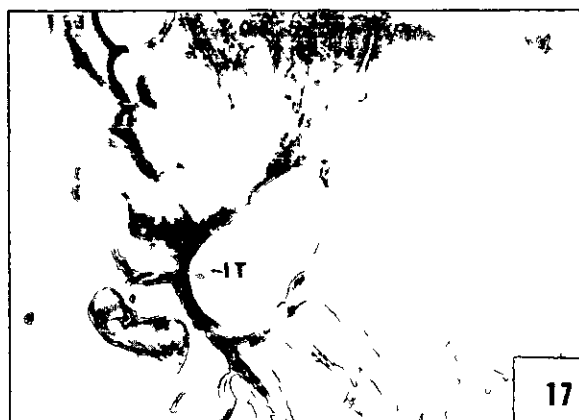
คำอธิบายภาพ BA, Bacteroid Area



- ภาพประกอบที่ ๑๓ รากถั่วเหลืองหลังจากรดเชื้อไรโซเบียม ๖ วัน ตัดตามขวาง แสดงเซลล์ที่ขยายใหญ่, infection thread และกลุ่ม meristem ในคอร์เท็กซ์ (๔๐๐ x)
- " ๑๔ รากถั่วเหลืองหลังจากรดเชื้อไรโซเบียม ๖ วัน ตัดตามขวาง แสดงกลุ่ม meristem ในคอร์เท็กซ์ชั้นใน (๔๐๐ x)
- " ๑๕ รากถั่วเหลืองในกลุ่มควบคุมอายุ ๘ วัน (๑๐๐ x)
- " ๑๖ ฝักรากถั่วเหลืองหลังจากรดเชื้อไรโซเบียม ๗ วัน ตัดตามขวาง แสดงเซลล์ที่ขยายใหญ่ และการเรียงตัวของเนื้อเยื่อภายใน ฝัก (๑๐๐ x)

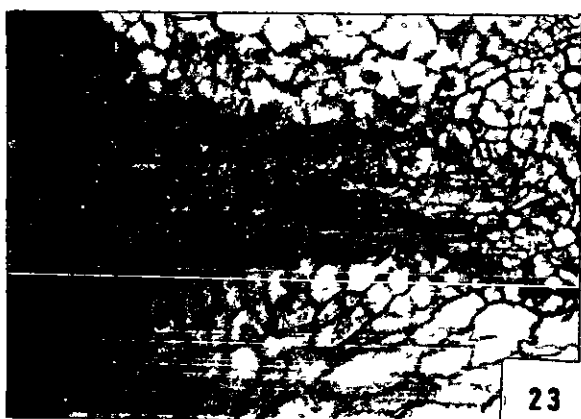
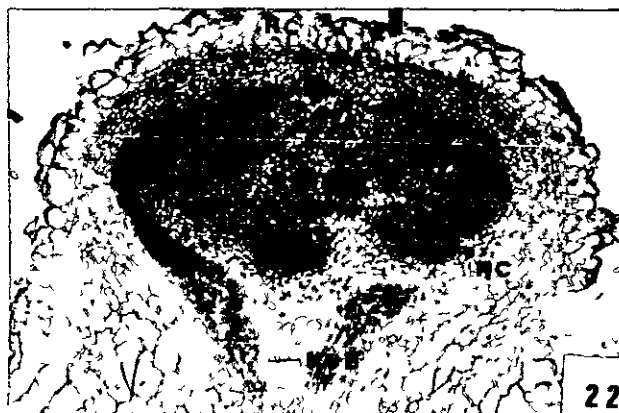
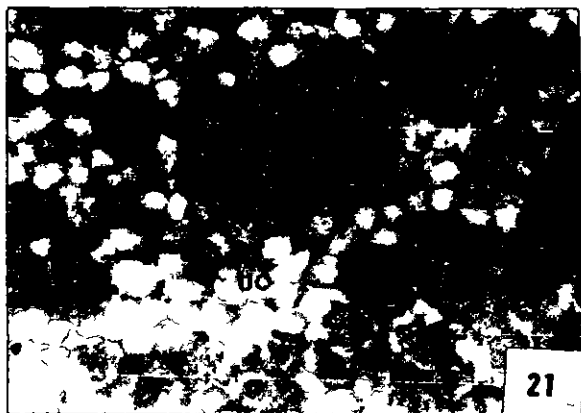
คำอธิบายภาพ

BA, Bacteroid Area, C, Cortex, E, Epidermis, IT, Infection Thread, M, Meristem, Ph, Phloem, X, Xylem



- ภาพประกอบที่ ๑๗ ปลูกถั่วเหลืองหลังจากกรดเชื้อไรโซเบียม ๗ วัน ตัดตามขวาง
แสดงเซลล์ผิวที่ขยายใหญ่และ infection thread (๔๐๐ x)
- " ๑๘ ปลูกถั่วเหลืองหลังจากกรดเชื้อไรโซเบียม ๗ วัน ตัดตามขวาง
แสดงการจัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อภายในปม (๑๐๐ x)
- " ๑๙ ปลูกถั่วเหลืองหลังจากกรดเชื้อไรโซเบียม ๗ วัน ตัดตามขวาง
แสดง bacteroid area, nodule meristem, nodule
cortex และ meristem ใน nodule cortex (๔๐๐ x)
- " ๒๐ ปลูกถั่วเหลืองหลังจากกรดเชื้อไรโซเบียม ๗ วัน ตัดตามขวาง
แสดง nodule vascular bundle (๔๐๐ x)

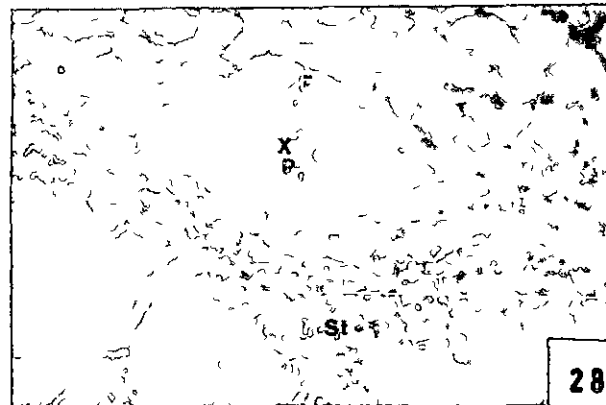
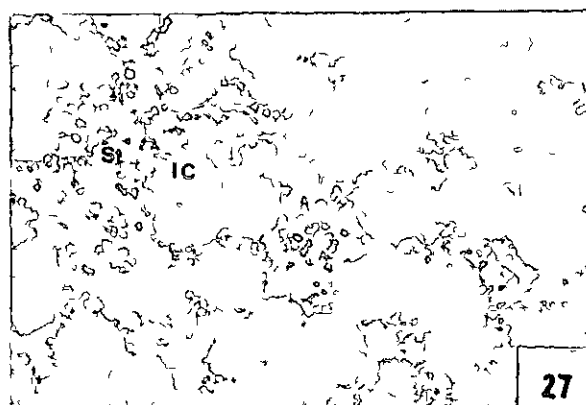
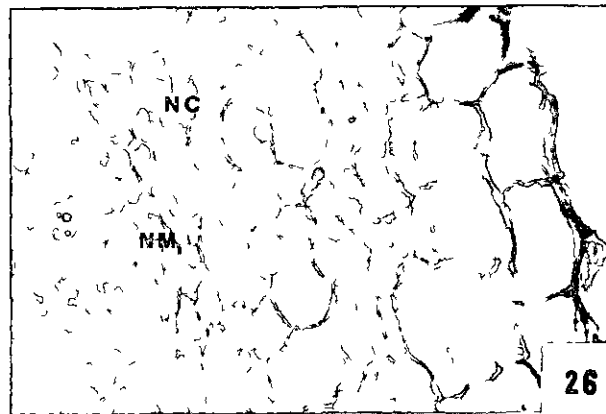
คำอธิบายภาพ BA, Bacteroid Area, IT, Infection Thread,
NC, Nodule Cortex, NM, Nodule Meristem,
NVB, Nodule Vascular Bundle.



- ภาพประกอบที่ ๒๑ ปลูกถั่วเหลืองหลังจากกรดเชื้อไรโซเบียม ๔ วัน ตัดตามขวาง
แสดง infected cell และ uninfected cell (๔๐๐ x)
- " ๒๒ ปลูกถั่วเหลืองหลังจากกรดเชื้อไรโซเบียม ๔ วัน ตัดตามยาวแสดง
การจัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อภายในปลูก (๑๐๐ x)
- " ๒๓ ปลูกถั่วเหลืองหลังจากกรดเชื้อไรโซเบียม ๔ วัน ตัดตามขวางแสดง
nodule vascular bundle (๔๐๐ x)
- " ๒๔ ปลูกถั่วเหลืองหลังรดเชื้อไรโซเบียม ๔ วัน ตัดตามขวางแสดงการ
เรียงตัวของเนื้อเยื่อภายในปลูก และเม็ตแบ่ง (๑๐๐ x)

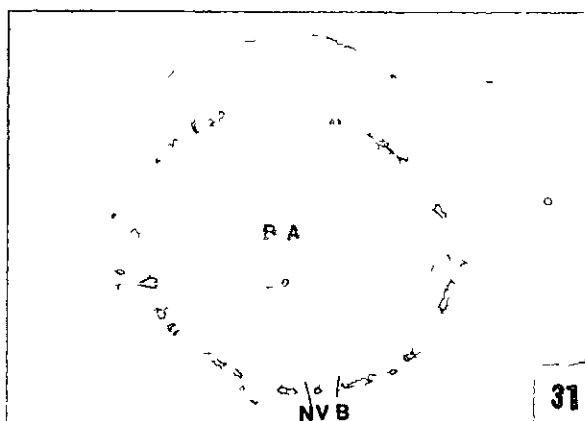
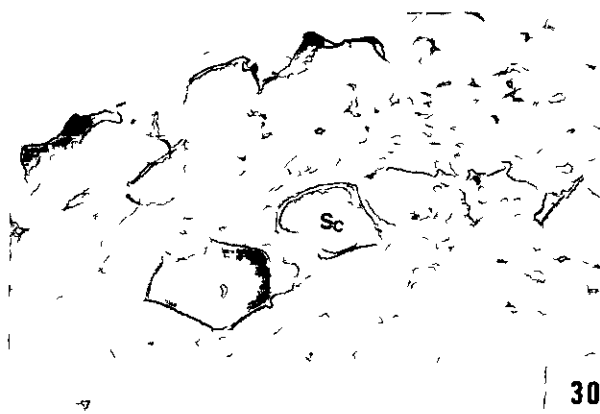
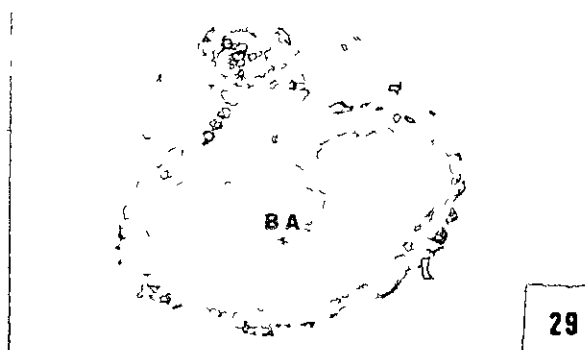
คำอธิบายภาพ

BA, Bacteroid Area, IC, Infected Cell,
NC, Nodule Cortex; NVB, Nodule Vascular Bundle
RC, Root Cortex; St, Starch grain; UC, Uninfected
Cell



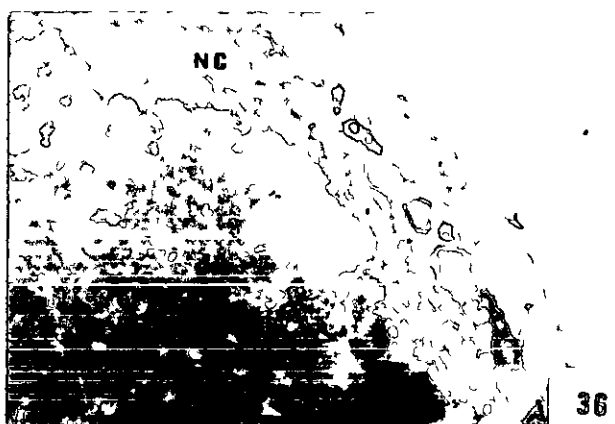
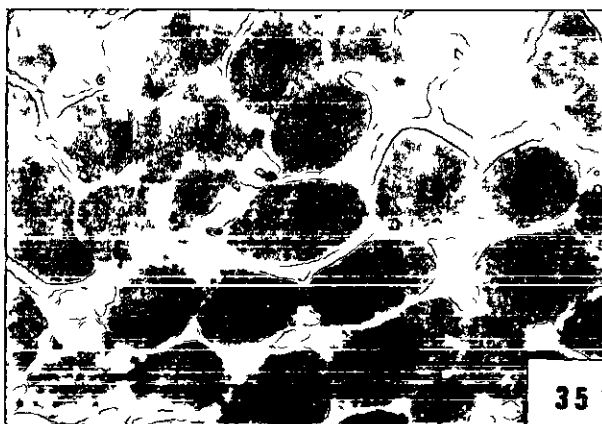
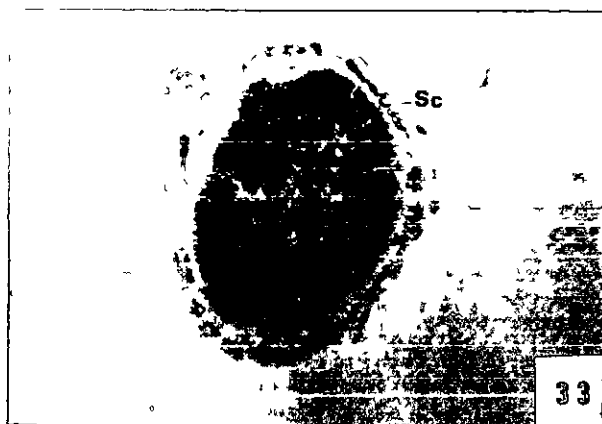
- ภาพประกอบที่ ๒๕ ปลูกถั่วเหลืองหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม ๔ วัน ตัดตามขวาง แสดง nodule vascular bundle และเม็ดแป้งใน nodule cortex (๔๐๐ x)
- " ๒๖ ปลูกถั่วเหลืองหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม ๔ วัน ตัดตามขวาง แสดง bacteroid area, nodule meristem, nodule cortex, meristem ใน nodule cortex (๔๐๐ x)
- " ๒๗ ปลูกถั่วเหลืองหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม ๑๐ วัน ตัดตามขวาง แสดง infected cell และเม็ดแป้งใน uninfected cell (๔๐๐ x)
- " ๒๘ ปลูกถั่วเหลืองหลังจากการติดเชื้อไรโซเบียม ๑๐ วัน ตัดตามขวาง แสดง nodule vascular bundle และเม็ดแป้งใน nodule cortex (๔๐๐ x)

คำอธิบายภาพ IC, Infected Cell, NC, Nodule Cortex, NM, Nodul Meristem, P, Parenchyma, St, Starch grain, X, Xylem



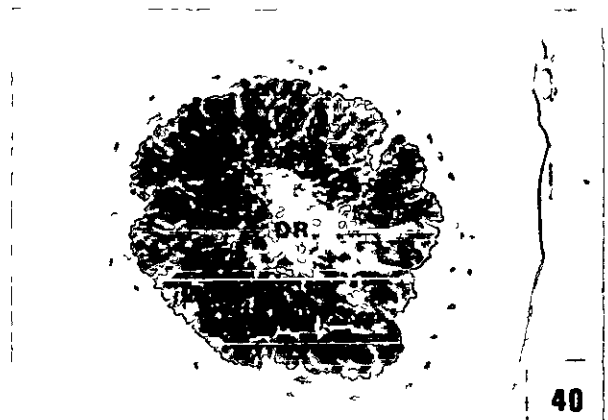
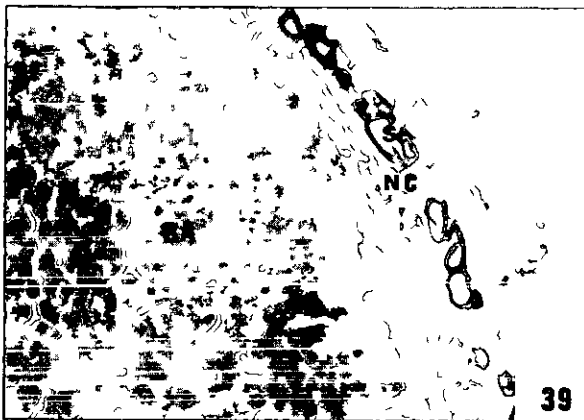
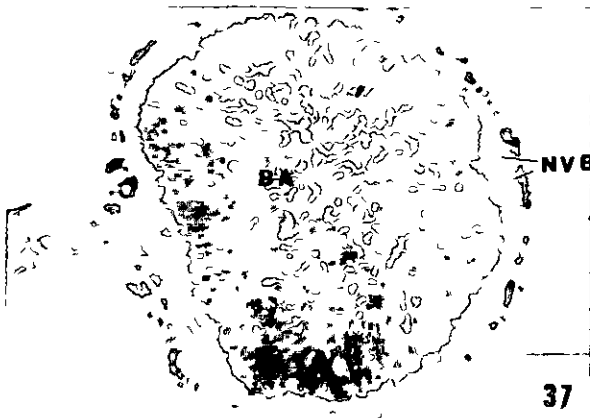
- ภาพประกอบที่ ๒๔ ปลูกหัวเหลืองหลังจากรดเชื้อไรโซเบียม ๑๐ วัน ตัดตามขวาง
แสดงการจัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อภายในปุ่ม (๔๐ x)
- " ๓๐ ปลูกหัวเหลืองหลังจากรดเชื้อไรโซเบียม ๑๐ วัน ตัดตามขวาง
แสดง sclereid (๔๐๐ x)
- " ๓๑ ปลูกหัวเหลืองหลังจากรดเชื้อไรโซเบียม ๑๕ วัน ตัดตามขวาง
แสดงการจัดเรียงตัวของเนื้อเยื่อภายในปุ่ม (๔๐ x)
- " ๓๒ ปลูกหัวเหลืองหลังจากรดเชื้อไรโซเบียม ๑๕ วัน ตัดตามขวาง
แสดง bacteroid area และ sclereid ใน nodule
cortex (๑๐๐ x)

คำอธิบายภาพ BA, Bacteroid Area, NVB, Nodule Vascular Bundle,
Sc, Sclereid,



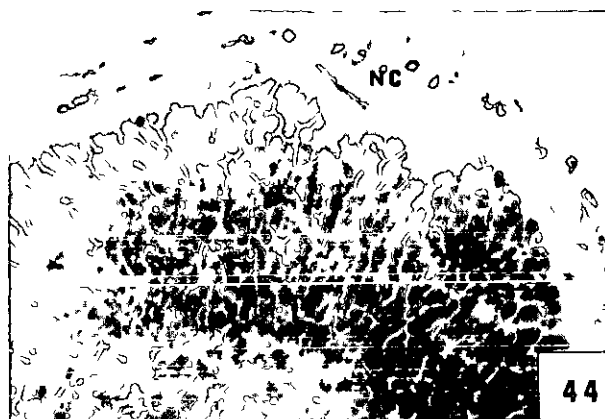
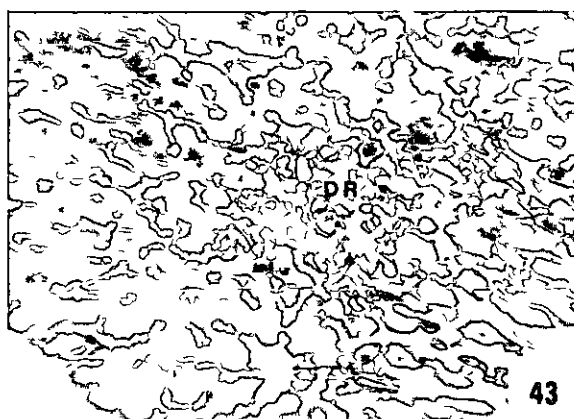
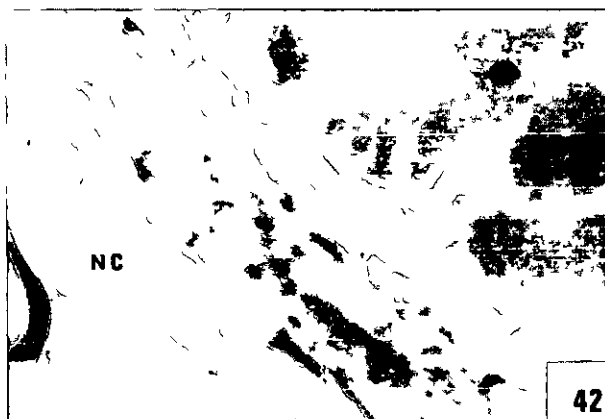
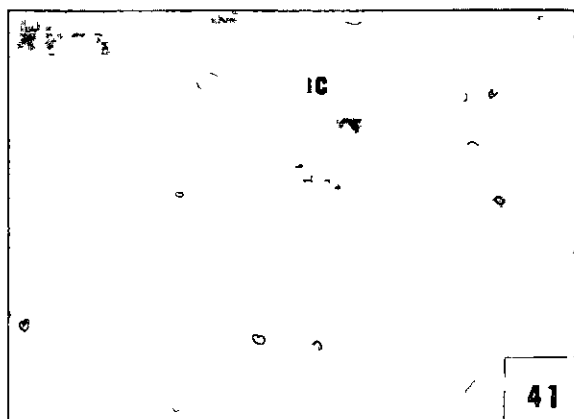
- ภาพประกอบที่ ๓๓ ฝักรูเลียงหลังจากรดเชื้อไรโซเบียม ๒๐ วัน ตัดตามขวาง
แสดงการเรียงตัวของเนื้อเยื่อภายในฝักรู (๔๐ x)
- " ๓๔ ฝักรูเลียงหลังจากรดเชื้อไรโซเบียม ๒๕ วัน ตัดตามขวาง
แสดงการเรียงตัวของเนื้อเยื่อภายในฝักรู (๔๐ x)
- " ๓๕ ฝักรูเลียงหลังจากรดเชื้อไรโซเบียม ๒๕ วัน ตัดตามขวาง
แสดง infected cell (๔๐๐ x)
- " ๓๖ ฝักรูเลียงหลังจากรดเชื้อไรโซเบียม ๒๕ วัน ตัดตามขวาง
แสดง bacteroid area และเม็ดแป้งใน nodule
cortex (๑๐๐ x)

คำอธิบายภาพ IC, Infected Cell, NC, Nodule Cortex,
Sc, Sclereid.



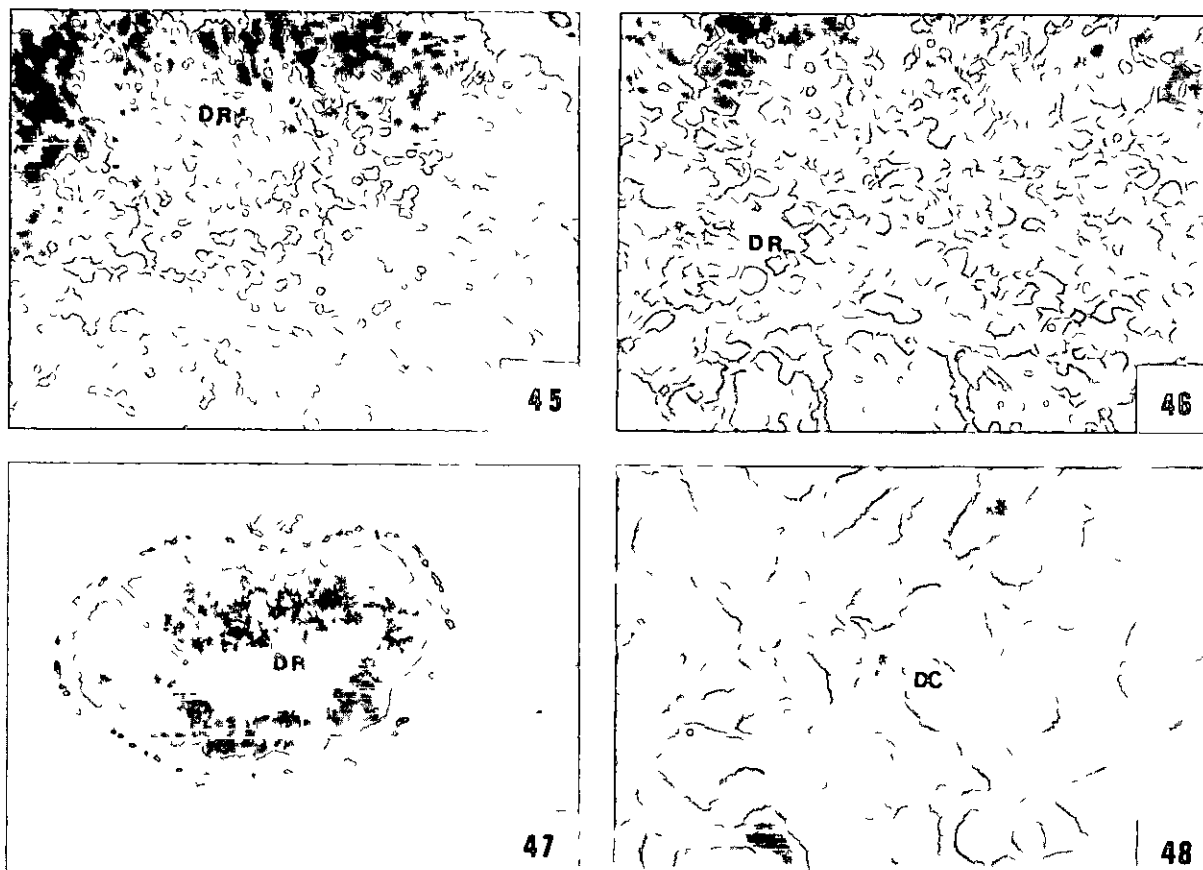
- ภาพประกอบที่ ๓๗ ปมถั่วเหลืองหลังจากรดเชื้อไรโซเบียม ๓๐ วัน ตัดตามขวาง แสดงการเรียงตัวของเนื้อเยื่อภายในปม (๔๐ x)
- " ๓๘ ปมถั่วเหลืองหลังจากรดเชื้อไรโซเบียม ๓๕ วัน ตัดตามขวาง แสดงการเรียงตัวของเนื้อเยื่อภายในปม (๔๐ x)
- " ๓๙ ปมถั่วเหลืองหลังจากรดเชื้อไรโซเบียม ๓๕ วัน ตัดตามขวาง แสดง bacteroid area และ nodule cortex (๑๐๐ x)
- ๔๐ ปมถั่วเหลืองหลังจากรดเชื้อไรโซเบียม ๔๐ วัน ตัดตามขวาง แสดงบริเวณที่เกิดการสลายของเซลล์ (๔๐ x)

คำอธิบายภาพ BA, Bacteroid Area; DR, Disintegrated Region; NC, Nodule Cortex; NVB, Nodule Vascular Bundle, Sc, Sclereid.



- ภาพประกอบที่ ๔๑ ปมถั่วเหลืองหลังจากรดเชื้อไรโซเบียม ๔๐ วัน ตัดตามขวาง แสดง infected cell (๔๐๐ x)
- " ๔๒ ปมถั่วเหลืองหลังจากรดเชื้อไรโซเบียม ๔๐ วัน ตัดตามขวาง แสดง nodule cortex (๔๐๐ x)
- " ๔๓ ปมถั่วเหลืองหลังจากรดเชื้อไรโซเบียม ๔๕ วัน ตัดตามขวาง แสดงบริเวณการสลายตัวของเซลล์ (๑๐๐ x)
- " ๔๔ ปมถั่วเหลืองหลังจากรดเชื้อไรโซเบียม ๔๕ วัน ตัดตามขวาง แสดง bacteroid area ที่อยู่ใกล้ nodule cortex (๔๐ x)

คำอธิบายภาพ DR, Disintegrated Region, IC, Infected Cell, NC, Nodule Cortex



- ภาพประกอบที่ ๔๕ ปมถั่วเหลืองหลังจากรดเชื้อไรโซเบียม ๕๐ วัน ตัดตามขวาง แสดงบริเวณการสลายตัวของเซลล์ (๑๐๐ x)
- " ๔๖ ปมถั่วเหลืองหลังจากรดเชื้อไรโซเบียม ๕๕ วัน ตัดตามขวาง แสดงบริเวณการสลายตัวของเซลล์ (๑๐๐ x)
- " ๔๗ ปมถั่วเหลืองหลังจากรดเชื้อไรโซเบียม ๖๐ วัน ตัดตามขวาง แสดงการเรียงตัวของเนื้อเยื่อภายในปม และบริเวณการสลายตัวของเซลล์ (๔๐ x)
- " ๔๘ ปมถั่วเหลืองหลังจากรดเชื้อไรโซเบียม ๖๐ วัน ตัดตามขวาง แสดงเซลล์ที่สลายตัว (๔๐๐ x)

คำอธิบายภาพ

DC, Disintegrated Cell, DR, Disintegrated Region