อิทธิพลของไรโซเบียมร่วมกับเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาและแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตของถั่วลิสง พันธุ์ไทนาน 9

Influence of Rhizobium Co-inoculated with Arbuscular Mycorrhiza and Phosphate Solubilizing Bacteria on the Growth of Peanut Tainan 9 variety

จีราภรณ์ อินทสาร[1] และ ฉัตรปวีณ์ เดชจิรรัตนสิริ[2*]

Jiraporn Inthasan [1] and Chatprawee Dechjiraratthanasiri[2*]

Received date: 14 ธ.ค. 64 Revised date: 19 มิ.ย. 66 Accepted date: 23 มิ.ย. 66

DOI: https://doi.org/10.55003/kmaj.2024.04.29.010

บทคัดย่อ

การศึกษาการใช้เชื้อไรโซเบียมร่วมกับเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา และแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตของถั่วลิสงในกระถาง โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design : CRD) ประกอบด้วย 5 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ ได้แก่ กรรมวิธีที่ 1 ไม่ใส่เชื้อ(Control) กรรมวิธีที่ 2 ใส่เชื้อไรโซเบียม(R: *Rhizobium* sp.) กรรมวิธีที่ 3 ใส่เชื้อไรโซเบียมร่วมกับเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา(R+AM) กรรมวิธีที่ 4 ใส่เชื้อไรโซเบียมร่วมกับแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต(R+PSB: *Rhizobium* sp. + *Bacillus* sp.) กรรมวิธีที่ 5 ใส่เชื้อไรโซเบียมร่วมกับเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาและแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต (R+AM+PSB) พบว่าการใส่เชื้อไรโซเบียมร่วมกับเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาและแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตส่งผลให้มีความยาวราก น้ำหนักสดและแห้งของส่วนเหนือดินและรากสูงที่สุด การใส่เชื้อไรโซเบียมร่วมกับเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาทำให้จำนวนปม (115 ปม/ต้น) น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของปม (0.65 และ 0.16 กรัม/ต้น) สูงที่สุด การใส่เชื้อไรโซเบียมร่วมกับเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาและแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การเข้ารากของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาสูงที่สุด (26.64%) ปริมาณไนโตรเจนของส่วนเหนือดินสูงที่สุดเมื่อมีการใช้เชื้อไรโซเบียมร่วมกับแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต ส่วนปริมาณฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมของส่วนเหนือดินและรากไม่มีความแตกต่างในทางสถิติระหว่างกรรมวิธี การใช้เชื้อไรโซเบียมร่วมกับแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตส่งผลให้ปริมาณการตรึงไนโตรเจนสูงที่สุดคือ 87.73 มิลิกรัมไนโตรเจน/ต้น

คำสำคัญ: ไรโซเบียม เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา จุลินทรีย์ย่อยฟอสเฟต ถั่วลิสง

Abstract

The study of rhizobium co-inoculated with arbuscular mycorrhiza and phosphate solubilizing bacteria on peanut growth in pot experiment was laid out on completely randomized design (CRD). The experiment consisted of 5 treatments; 1) control (without microorganism), 2) rhizobium (R: *Rhizobium* sp.),3) R + arbuscular mycorrhiza (R+AM),4) R + Phosphate Solubilizing bacteria (R+PSB: *Rhizobium* sp. + *Bacillus* sp.) and 5) R+AM+PSB with 4 replications. The results showed that co-inoculated of microorganisms (R+AM+PSB) provided the highest root length, and the highest fresh weight and dry weight of shoot and root. The treatment of R+AM showed the peak of nodules number (115 nodules/plant), nodules fresh weight and dry weight (0.65 and 0.16 g/plant). R+AM+PSB treatment increased the percentage of AM root length colonized at 26.64%. However, total nitrogen content in peanut shoot was highest in R+PSB. The concentrations of phosphorus and potassium in peanut shoot and root parts were not significant among treatments. Co-inoculate of R and PSB produced the highest nitrogen fixation at 87.73 mg N/plant.

Keywords: rhizobium, arbuscular mycorrhiza, phosphate solubilizing microorganism, peanut

[1] สาขาวิชาทรัพยากรดินและสิ่งแวดล้อม คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ 50290

[2]ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[1]Division of Soil Resources and Environment, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, Chiang Mai, 50290

[2]Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok, 10900

*Corresponding: chatprawee.d@ku.ac.th

คำนำ

ถั่วลิสง (*Arachis hypogaea* L.) เป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย เนื่องจากเป็นพืชที่ปลูกง่ายและปลูกได้ตลอดทั้งปี พื้นที่เพาะปลูกส่วนใหญ่อยู่ทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ปัจจุบันถั่วลิสงที่ผลิตได้ภายในประเทศมีปริมาณไม่เพียงพอต่อความต้องการ ส่งผลให้มีการนำเข้าถั่วลิสงจากต่างประเทศเป็นจำนวนมาก นอกจากนี้เกษตรกรที่ปลูกถั่วลิสงส่วนใหญ่มีการใส่ปุ๋ยเคมีสูงกว่าอัตราที่แนะนำเพื่อให้ได้ผลผลิตในปริมาณที่มากเป็นผลทำให้ต้นทุนสูงความความเป็นจริง (Agricultural Research Development Agency [ARDA], 2017) ปัจจุบันการผลิตพืชในรูปแบบอินทรีย์เป็นที่นิยมในวงกว้างมากขึ้น เนื่องจากช่วยในการรักษาสิ่งแวดล้อมแล้วยังช่วยในการลดค่าใช้จ่ายในการผลิตพืชอีกด้วย สำหรับแหล่งที่มาของธาตุอาหารพืชในการผลิตด้วยระบบอินทรีย์นั้นมักจะได้จากวัสดุอินทรีย์ที่เกิดจากการย่อยสลายของวัสดุจากธรรมชาติ ส่วนใหญ่นั้นมักถูกใช้เพื่อเพิ่มปริมาณธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม ฯลฯ เกษตรกรส่วนใหญ่นิยมใช้ปุ๋ยคอก ปุ๋ยหมัก ปุ๋ยพืชสด ปุ๋ยชีวภาพ ซึ่งเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของการผลิตพืชอาหารที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภคและระบบนิเวศ โดยในส่วนของปุ๋ยชีวภาพนั้นเป็นการนำประโยชน์ของจุลินทรีย์มาพัฒนาเพื่อให้มีบทบาททางด้านการเกษตร เช่นกลุ่มจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth promoting rhizobacteria, PGPR) กลุ่มจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจน และจุลินทรีย์กลุ่มที่เพิ่มความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม รวมทั้งจุลินทรีย์ที่สามารถต้านทานโรคพืช เป็นต้น การใช้ปุ๋ยชีวภาพที่มีความหลากหลายของชนิดจุลินทรีย์นั้น แสดงถึงการอยู่รวมกันแบบพึ่งพาอาศัยกัน และส่งเสริมซึ่งกันและกันในการเจริญเติบโตและดูดธาตุอาหารของต้นพืช (Inthasan, 2020) การใช้เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาร่วมกับไรโซเบียม พบว่าทำให้พืชตระกูลถั่วเจริญเติบโตให้ผลผลิตสูงกว่าพืชที่ไม่ใส่เชื้อ หรือใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาและไรโซเบียมเพียงอย่างเดียว การใช้เชื้อไรโซเบียมร่วมกับเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาและจุลินทรีย์ย่อยฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตของถั่วลิสงจึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจในการผลิตถั่วลิสง เนื่องจากถั่วลิสงเป็นพืชที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้เมื่อทำงานร่วมกับไรโซเบียมซึ่งสามารถตรึงไนโตรเจนได้ถึง 150-200 กก.ไนโตรเจน/เฮกตาร์ (Peoples et al., 1992; Toomsan et al., 1995) นอกจากนี้ Cui et al. (2019) พบว่าการใช้อาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาสามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของถั่วลิสงในพื้นที่ที่มีการปลูกพืชอย่างต่อเนื่อง ซึ่งสามารถช่วยเพิ่มปริมาณชีวมวลของพืช ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด การเจริญเติบโตและการพัฒนาของถั่วลิสง สำหรับผลของแบคทีเรียละลายฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตและการได้รับฟอสฟอรัสของถั่วลิสงพบว่าการใส่แบคทีเรียย่อยฟอสเฟตช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของถั่วลิสง ทำให้มีความสูงในส่วนเหนือดินเพิ่มขึ้น ความยาวรากเพิ่มขึ้น น้ำหนักแห้งของต้นและน้ำหนักแห้งของใบ และปริมาณฟอสฟอรัสในถั่วลิสงเพิ่มขึ้น (Anzuay et al., 2015) จากการรวบรวมข้อมูลในข้างต้นจึงมีแนวคิดศึกษาเกี่ยวกับการใช้ไรโซเบียมร่วมกับเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาและแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของถั่วลิสงพันธุ์ไทนาน 9 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง เมล็ดมีคุณภาพดี เปลือกของฝักค่อนข้างบางและสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี

วิธีการศึกษา

การดำเนินการและแผนการทดลอง

ทำการศึกษาการใช้ไรโซเบียมร่วมกับเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาและแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตของถั่วลิสงในกระถาง โดยทำการทดลองตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2563 – กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2564 ทำการทดลองในโรงเรือนภายในมหาวิทยาลัยแม่โจ้ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design : CRD) จำนวน 4 ซ้ำ ในกระถางพลาสติกขนาด 12 นิ้ว ประกอบด้วย 5 กรรมวิธี ได้แก่ กรรมวิธีที่ 1 ควบคุม (Control) ไม่ใส่เชื้อ กรรมวิธีที่ 2 ใส่เชื้อไรโซเบียม (R) กรรมวิธีที่ 3 ใส่เชื้อไรโซเบียมร่วมกับเชื้ออาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (R+AM) กรรมวิธีที่ 4 ใส่เชื้อไรโซเบียมร่วมกับแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายฟอสเฟต (R+PSB) กรรมวิธีที่ 5 ใส่เชื้อไรโซเบียมร่วมกับเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาและแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยฟอสเฟต (R+AM+PSB) นำเมล็ดถั่วลิสงพันธุ์ไทนาน 9 จากศูนย์พัฒนาพันธุ์พืชจักรพันธ์เพ็ญศิริ จังหวัดเชียงราย มาฆ่าเชื้อที่พื้นผิวด้วยแอลกอฮอล์ 95% และล้างด้วยน้ำกลั่น จากนั้นนำไปปลูกในทรายที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน โดยใช้ทราย 8 กิโลกรัม/กระถาง ทำการใส่เชื้อจุลินทรีย์ตามกรรมวิธีการทดลองหลังจากปลูกถั่ว 2 วัน โดยเชื้อไรโซเบียม (*Rhizobium* sp.) แยกได้จากปมถั่วลิสงแล้วนำมาทำให้บริสุทธิ์ในอาหารแข็ง แล้วขยายหัวเชื้อด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ yeast extract mannitol (Vincent, 1970) และแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต (*Bacillus* sp.) ที่คัดแยกและทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ

แบคทีเรียที่สามารถละลายฟอสเฟตได้จากดิน (Inthasan et al., 2016) ใส่เชื้อในรูปของสารละลาย Nutrient Broth; NB (Atlas, 2005) โดยเชื้อแต่ละชนิดจะใส่ในปริมาณ 20 มิลลิลิตรต่อต้น (10^8 cfu/1 ml) และใส่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาที่คัดแยกสปอร์จากดินในศูนย์พัฒนาพันธุ์พืชจักรพันธ์เพ็ญศิริ จังหวัดเชียงราย จำนวน 300 สปอร์ต่อต้น รดสารละลายธาตุอาหารให้กับต้นถั่วลิสงด้วย Nitrogen free nutrient solution (Beck et al., 1994)

การเก็บตัวอย่าง และการวิเคราะห์ตัวอย่าง

ทำการเก็บต้นถั่วลิสงเมื่อต้นถั่วลิสงออกดอกหลังจากปลูกได้ 45 วัน นำต้นถั่วลิสงมาทำการเก็บข้อมูลน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ความสูงของต้น ความยาวของราก จำนวนปม เปอร์เซ็นต์การเข้าราก และวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ธาตุอาหาร (ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม) สำหรับวัดการตรึงไนโตรเจนของต้นถั่วใช้การประเมินตามวิธีของ People et al. (1989) ใช้ข้าวฟ่าง (*Sorghum bicolor* L.) เป็นพืชเปรียบเทียบ

ในกรณีของการเก็บตัวอย่างพืชในทุกกรรมวิธีการทดลอง จะทำการเก็บในระยะที่พืชออกดอก โดยนำตัวอย่างพืชที่เก็บมาล้างทำความสะอาด ทิ้งไว้ให้แห้งแล้วนำมาวัดความสูงของลำต้น ความยาวของราก และนำไปชั่งน้ำหนักสด จากนั้นนำพืชไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาที่กำหนดนำพืชมาชั่งน้ำหนักแห้ง

การวิเคราะห์พืช ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Total Nitrogen) โดยวิธีของ Kjeldahl Method (Jackson, 1958) ปริมาณฟอสฟอรัส (Phosphorous) วิธีพัฒนาสี นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer อ่านค่า %T ที่ Wavelength 470 นาโนเมตร ปริมาณโพแทสเซียม (Potassium) นำสารละลายไปอ่านค่าด้วยเครื่อง Flame Photometer (FAO, 2008)

การวัดเปอร์เซ็นต์การเข้ารากของอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา ทำการสุ่มตัวอย่างรากจากนั้นนำมาล้างน้ำให้สะอาดแช่ลงในสารละลาย KOH ความเข้มข้น 2.5% ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง นำรากที่ผ่านการแช่ KOH มาล้างด้วยน้ำกลั่น แล้วนำไปแช่ด้วยสารละลาย HCl เข้มข้น 1% ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นอีกครั้งแล้วย้อมสีด้วย Water blue 0.06% นำไปตรวจสอบการติดเชื้อในรากโดยนำรากที่ผ่านการย้อมสีมาแล้วส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบ Compound (Brundrett et al., 1996) เพื่อนับจำนวนการเข้ารากตามสูตร

% RLC (root length colonized) = (จำนวน Field ที่มีพบการเข้ารากของ AM /จำนวน Field ที่ตรวจสอบทั้งหมด) x 100

การวัดการตรึงไนโตรเจน โดยการนำปริมาณไนโตรเจนของต้นถั่วลบกับปริมาณไนโตรเจนของข้าวฟ่าง จากนั้นคำนวณตามสูตร $Q = N_{ถั่ว} - N_{พืชอ้างอิง}$ เมื่อ Q = ปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้ในถั่ว, $N_{ถั่ว}$ = ปริมาณไนโตรเจนในถั่ว, $N_{พืชอ้างอิง}$ = ปริมาณไนโตรเจนในพืชอ้างอิง (People et al., 1989)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design : CRD) เมื่อพบความแตกต่างกันในทางสถิติจึงทำการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธีจัดกลุ่มของสิ่งทดลอง (Least Significant Difference : LSD) ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ Statistix 10

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การเจริญเติบโตของต้นถั่วลิสง

การเจริญเติบโตของต้นถั่วลิสงข้อมูลด้านความสูงของต้นถั่วเมื่อระยะเวลา 45 วันหลังปลูก พบว่าความสูงของส่วนเหนือดินในทุกกรรมวิธีการทดลองไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (Table 1) สำหรับความยาวรากพบว่าการใส่เชื้อจุลินทรีย์ในทุกกรรมวิธีส่งผลให้รากของต้นถั่วลิสงมีความยาวมากกว่ากรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการใส่เชื้อ โดยการใส่เชื้อไรโซเบียมร่วมกับเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาและแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตมีความยาวรากมากที่สุด คือ 35.50 เซนติเมตร ($P<0.05$) น้ำหนักสดส่วนเหนือดินและน้ำหนักสดของรากพบว่าการใส่เชื้อไรโซเบียมร่วมกับเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาและ แบคทีเรียย่อยฟอสเฟตทำให้ถั่วลิสงมีน้ำหนักสูงที่สุด คือ 36.96 และ 11.52 กรัม/ต้น ตามลำดับ ซึ่งน้ำหนักสดส่วนเหนือดินและน้ำหนักสดของรากไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใส่เชื้อไรโซเบียมร่วมกับ แบคทีเรียย่อยฟอสเฟตคือ 35.63 ($P<0.01$) และ 9.54 ($P<0.05$) กรัม/ต้น ตามลำดับ น้ำหนักแห้งส่วนเหนือดินและส่วนของรากถั่วลิสงพบปริมาณน้ำหนักแห้งทั้งสองส่วนเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับน้ำหนักสดโดย

พบว่าการใส่เชื้อไรโซเบียมร่วมกับเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาและแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตมีน้ำหนักแห้งส่วนเหนือดินและส่วนรากสูงที่สุดคือ 6.32 (P<0.05) และ 0.97 (P<0.01) กรัม/ต้น สอดคล้องกับงานทดลองของ Kumar et al. (2018) ที่พบว่าการใส่เชื้อไรโซเบียมร่วมกับเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาและแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตส่งผลให้น้ำหนักแห้งส่วนเหนือดินสูงที่สุด งานทดลองครั้งนี้มีความยาวของราก น้ำหนักสดและแห้งของต้นถั่วลิสงสูงกว่างานทดลองของ Bouhraoua et al. (2015) ที่ศึกษาการตอบสนองของถั่วลิสงต่อแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตและอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา ซึ่งพบว่าการใส่เชื้อจุลินทรีย์มีผลต่อการเจริญเติบโตของถั่วสิลงสูงกว่าการไม่ใส่เชื้อรวมทั้งการเจริญเติบโตในด้านความสูง ความยาวราก น้ำหนักสดและแห้งของต้นถั่ว ทั้งนี้การตอบสนองของเชื้อจุลินทรีย์อาจขึ้นอยู่กับความจำเพาะเจาะจงของสายพันธุ์ ชนิดของพืช ค่าพีเอชของดิน (pH) และสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันเช่นอุณหภูมิและความชื้นเป็นต้น โดยผลของการใส่เชื้อไรโซเบียมร่วมกับเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา แบคทีเรียย่อยฟอสเฟต หรือการใช้เชื้อจุลินทรีย์ทั้งสามชนิด มีผลทำให้ค่าดัชนีของน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งสูงกว่าการใช้เชื้อไรโซเบียมเพียงอย่างเดียว

Table 1 Effect of microbial combination on the growth of peanut at 45 DAP (Day after planting)

Treatment	Plant height (cm Plant^{-1})	Root length (cm Plant^{-1})	Shoot weight (g Plant^{-1})		Root weight (g Plant^{-1})	
			fresh	dry	fresh	dry
Control	27.88	26.63 b	23.80 c	3.59 b	5.77 c	0.46 b
R	32.25	32.50 a	30.04 b	3.59 b	7.96 bc	0.75 a
R+AM	29.88	33.00 a	30.31 b	4.68 b	7.48 bc	0.79 a
R+PSB	30.50	35.00 a	35.63 ab	5.00 ab	9.54 ab	0.88 a
R+AM+PSB	29.63	35.50 a	36.96 a	6.32 a	11.52 a	0.97 a
Mean	**30.03**	**32.53**	**31.35**	**4.87**	**8.45**	**0.77**
CV (%)	**9.82**	**10.69**	**9.15**	**19.81**	**23.48**	**16.44**
F-test	**ns**	*	**	*	*	**

Note: Control (uninoculated), R: + rhizobium, R+AM: + rhizobium & arbuscular mycorrhiza, R+PSB: + rhizobium & phosphate solubilizing bacteria, R+AM+PSB: + rhizobium, arbuscular mycorrhiza & phosphate solubilizing bacteria. Mean in the same column followed by different letters were different significantly by LSD **=0.01, *=0.05 and ns= nonsignificant

การเกิดปมของถั่วลิสง

จำนวนปมของถั่วลิสงหลังจาก 45 วันหลังปลูก พบว่าการใส่เชื้อไรโซเบียมร่วมกับแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตส่งผลให้มีค่าเฉลี่ยการเกิดปมสูงที่สุดคือ 115 ปม/ต้น ซึ่งไม่มีความแตกต่างในทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับทุกกรรมวิธี ยกเว้นกรรมวิธีควบคุมซึ่งมีค่าเฉลี่ยการเกิดปมน้อยที่สุด คือ 13 ปม/ต้น (P<0.01) สำหรับน้ำหนักปมสดและปมแห้งพบว่าการใส่เชื้อจุลินทรีย์ในทุกกรรมวิธีการทดลองมีผลทำให้น้ำหนักปมสดสูงกว่ากรรมวิธีควบคุม โดยการใส่เชื้อไรโซเบียมร่วมกับจุลินทรีย์ย่อยฟอสเฟตมีน้ำหนักปมสดและปมแห้งสูงที่สุด คือ 0.65 และ 0.16 กรัม/ต้น ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับการใส่เชื้อในกรรมวิธีอื่นๆ (P<0.01) การศึกษาเปอร์เซ็นต์การเข้าอยู่อาศัยของอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในรากของถั่วลิสง พบว่าการใส่ไรโซเบียมร่วมกับเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาและจุลินทรีย์ย่อยฟอสเฟตมีเปอร์เซ็นต์การเข้ารากของอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซามากที่สุด คือ 26.64% ซึ่งมีความแตกต่างในทางสถิติกับทุกตำรับทดลองอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P<0.01) ส่วนการใส่เชื้อไรโซเบียมร่วมกับเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาพบเปอร์เซ็นต์การเข้าอยู่อาศัยของอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซารองลงมาคือ 13.10% ส่วนกรรมวิธีควบคุมมีการเข้ารากต่ำที่สุดคือ 2.95% (Table 2) โดยงานทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับงานทดลองของ Lekberg & Koide (2005) ที่พบว่าการใช้เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาร่วมกับเชื้อไรโซเบียมในถั่วลิสงในประเทศ Zimbabwe จากดินทั้งหมด 9 ตัวอย่างสามารถเพิ่มจำนวนปมได้ถึง 4 เท่าเมื่อเทียบกับตัวอย่างดินที่ใช้เชื้อไรโซเบียมเพียงอย่างเดียวและยังทำให้เกิดความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างจำนวนปมและการเข้ารากของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา (R^2=0.98) ในถั่วลิสง ขณะที่เปอร์เซ็นต์การเข้ารากจากงานทดลองของ Massoud and El-Batanony (2009) พบเปอร์เซ็นต์การเข้ารากของอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาจากการใส่เชื้อ *Azospirillum lipoferum* ร่วมกับ *Bradyrhizobium* sp. และ อาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาที่ระยะ 45 วันหลังปลูกสูงกว่างานทดลองในครั้งนี้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การเข้ารากของอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาในถั่วลิสงคือ 75% ซึ่ง Marschner & Dell (1994) กล่าวว่าการเข้ารากของอาร์บัสคูลาร์ไม

คอร์ไรซาทำให้การดูดซับธาตุอาหารหลายชนิดเช่นฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และ แมกนีเซียมเพิ่มสูง และการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชนั้นอาจขึ้นอยู่กับปริมาณของฟอสฟอรัสในดิน โดยความเข้มข้นที่สูงของฟอสฟอรัสในดินจะส่งผลต่อกลไกการทำงานของของปลายรากทำให้โอกาสการเข้ารากของเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาจะเข้าสู่รากน้อยลง

Table 2 Effect of microbial combination on number of nodules, nodule weight and percentage of root length colonized of peanut at 45 DAP

Treatment	Number of nodules ($Plant^{-1}$)	Weight of nodule (g $Plant^{-1}$)		% Root length colonized
		fresh	dry	
Control	13.00 b	0.17 b	0.05 b	2.95 c
R	95.75 ab	0.53 a	0.12 ab	3.83 c
R+AM	92.50 ab	0.50 a	0.14 a	13.10 b
R+PSB	115.00 a	0.65 a	0.16 a	3.39 c
R+AM+PSB	95.00 ab	0.60 a	0.14 a	26.64 a
Mean	**82.25**	**0.49**	**0.12**	**9.98**
CV	**36.12**	**22.02**	**20.76**	**31.84**
F-test	**	**	**	**

Note: Control (uninoculated), R: + rhizobium, R+AM: + rhizobium & arbuscular mycorrhiza, R+PSB: + rhizobium & phosphate solubilizing bacteria, R+AM+PSB: + rhizobium, arbuscular mycorrhiza & phosphate solubilizing bacteria. Mean in the same column followed by different letters were different significantly by LSD **= 0.01

ปริมาณธาตุอาหารหลักที่สะสมในส่วนเหนือดิน ราก และการตรึงไนโตรเจนของถั่วลิสง (Nitrogen Fixation)

ปริมาณธาตุอาหารหลักที่สะสมในส่วนของต้นถั่วลิสง (ส่วนเหนือดิน) พบว่าการใส่เชื้อไรโซเบียมร่วมกับแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตมีปริมาณไนโตรเจนในส่วนเหนือดินสูงสุด คือ 2.50% ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับการใส่เชื้อไรโซเบียมร่วมกับเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาและแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต และการใส่เชื้อไรโซเบียมเพียงอย่างเดียว สำหรับกรรมวิธีควบคุมมีปริมาณไนโตรเจนต่ำสุด คือ 1.68% ($P<0.05$) ปริมาณฟอสฟอรัสในส่วนเหนือดิน พบว่าการใส่เชื้อไรโซเบียมร่วมกับแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตมีเปอร์เซ็นต์ของฟอสฟอรัสสูงที่สุด คือ 0.53% ขณะที่กรรมวิธีควบคุมมีเปอร์เซ็นต์ของฟอสฟอรัสต่ำสุด แต่ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติทุกกรรมวิธี ปริมาณโพแทสเซียมในส่วนเหนือดิน พบว่าทุกกรรมวิธีการทดลองไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 1.29% (Table 3) ปริมาณไนโตรเจนที่สะสมในรากของถั่วลิสงพบว่ากรรมวิธีการใส่เชื้อไรโซเบียมเพียงอย่างเดียวมีเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนสูงที่สุดคือ 3.81% ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใส่เชื้อไรโซเบียมร่วมกับแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต และการใส่เชื้อไรโซเบียมร่วมกับเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาและแบคทีเรียย่อยฟอสเฟต ส่วนปริมาณฟอสฟอรัสและปริมาณโพแทสเซียมที่สะสมในรากพบว่าไม่มีความแตกต่างในทางสถิติในทุกกรรมวิธีทดลองแม้จะมีแนวโน้มสูงกว่าการไม่คลุกเชื้อ ขณะที่งานวิจัยของ Massoud & El-Batanony (2009) พบว่าการใส่เชื้อไรโซเบียมร่วมกับเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาหรือแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตทำให้มีเปอร์เซ็นต์ธาตุไนโตรเจน และฟอสฟอรัสสูงกว่าตำรับควบคุม โดยมีเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนและฟอสฟอรัสของส่วนเหนือดินเฉลี่ยอยู่ที่ 1.91% และ 0.12% ต่ำกว่างานวิจัยครั้งนี้ ซึ่งอาจสืบเนื่องจากลักษณะดินที่ใช้ในการทำการทดลองอยู่ในสภาพไร่นาและการจัดการของเชื้อไรโซเบียมร่วมกับแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายฟอสเฟตแตกต่างจากงานครั้งนี้ที่ทำการทดสอบพืชโดยใช้ทรายเป็นวัสดุปลูกและชนิดของแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายฟอสเฟตเป็นคนละชนิดกัน อย่างไรก็ตามความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสจากการใช้ที่เชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาและแบคทีเรียย่อยฟอสเฟตสามารถส่งผลต่อการดูดซับได้มากกว่าธาตุอาหารอื่น ๆ ซึ่งพืชที่มีเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาเข้าอยู่อาศัยในรากและมีจุลินทรีย์ย่อยฟอสเฟตจะส่งผลต่อปริมาณฟอสฟอรัสในพืชเพิ่มขึ้น และส่งผลให้การเจริญเติบโตและผลผลิตเพิ่มขึ้นด้วย (Poomipan et al., 2011)

ปริมาณการตรึงไนโตรเจน (Nitrogen Fixation) โดยคำนวณจากปริมาณไนโตรเจนของพืชอ้างอิง (ข้าวฟ่าง 49.52 มิลลิกรัมไนโตรเจน/ต้น) พบว่าการใส่เชื้อไรโซเบียมร่วมกับจุลินทรีย์ย่อยฟอสเฟต ส่งผลให้การตรึงไนโตรเจนของต้นถั่วลิสงมากที่สุดคือ 87.73 มิลลิกรัมไนโตรเจน/ต้น แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับการใส่เชื้อไรโซเบียม และการใส่เชื้อไรโซเบียมร่วมกับเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาและจุลินทรีย์ย่อยฟอสเฟต ขณะที่กรรมวิธีควบคุมพบการตรึงไนโตรเจนเพียง 10.86 มิลลิกรัม

ไนโตรเจน/ต้น (P<0.01) (Table 3) สอดคล้องกับงานทดลองของ Badawi et al. (2011) ทำการศึกษาการตรึงไนโตรเจนของถั่วลิสงจากการใช้ *Bradyrhizobium* spp. ร่วมกับ *Serratia marcescens* พบว่าการใส่เชื้อทั้งสองร่วมกันส่งผลให้มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนสูงกว่าการใส่เชื้อไรโซเบียมเพียงอย่างเดียวทั้งสองฤดูกาล ซึ่งการทำงานร่วมกันระหว่างจุลินทรีย์กลุ่มส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและไรโซเบียมส่งผลให้การเจริญเติบโตของต้นพืช การเกิดปมและการตรึงไนโตรเจนมีประสิทธิภาพสูงขึ้น (Bai et al., 2003)

Table 3 Effect of microbial combination on nutrient uptake and nitrogen fixation of peanut at 45 DAP

Treatment	Shoot			Root			Nitrogen fixation
	N	P	K	N	P	K	(mg N Plant^{-1})
Control	1.68 c	0.41	1.11	2.28 c	0.78	1.37	10.86 b
R	2.20 ab	0.48	1.30	3.81 a	0.94	1.90	68.28 ab
R+AM	1.97 bc	0.46	1.34	2.68 bc	0.86	1.43	68.43 ab
R+PSB	2.50 a	0.53	1.32	2.80 abc	1.13	2.18	87.73 a
R+AM+PSB	2.40 ab	0.50	1.39	3.57 ab	1.17	1.47	78.67 a
Mean	**2.15**	**0.47**	**1.29**	**3.03**	**0.98**	**1.67**	**62.79**
CV	**15.47**	**15.57**	**11.66**	**16.78**	**22.09**	**29.21**	**27.78**
F-test	*	ns	ns	**	ns	ns	**

Note: Control (uninoculated), R: + rhizobium, R+AM: + rhizobium & arbuscular mycorrhiza, R+PSB: + rhizobium & phosphate solubilizing bacteria, R+AM+PSB: + rhizobium, arbuscular mycorrhiza & phosphate solubilizing bacteria. Mean in the same column followed by different letters were different significantly by LSD **=0.01, *=0.05 and ns= nonsignificant

สรุปผลการศึกษา

จากผลการทดลองครั้งนี้พบว่ากรรมวิธีการใส่เชื้อจุลินทรีย์ส่งผลให้ข้อมูลทางด้านการเจริญเติบโต การสะสมของธาตุอาหารพืช การเข้าราก การตรึงไนโตรเจนสูงกว่ากรรมวิธีที่ควบคุม การใส่เชื้อไรโซเบียมเพียงอย่างเดียวส่งผลให้ถั่วลิสงมีการเจริญเติบโตด้านความสูงของต้นและเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนในส่วนรากมากที่สุด ขณะที่การใส่เชื้อไรโซเบียมร่วมกับเชื้อราอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซาและจุลินทรีย์ย่อยฟอสเฟตทำให้ถั่วลิสงมีความยาวราก น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งส่วนเหนือดินและราก การเข้าอาศัยรากของอาร์บัสคูลาร์ไมคอร์ไรซา เปอร์เซ็นต์โพแทสเซียมในส่วนเหนือดิน เปอร์เซ็นต์ฟอสฟอรัสในส่วนราก และการตรึงไนโตรเจนในต้นถั่วลิสงสูงที่สุด สำหรับกรรมวิธีที่ใส่ไรโซเบียมร่วมกับจุลินทรีย์ย่อยฟอสเฟตทำให้มีจำนวนปม น้ำหนักสดปมและน้ำหนักแห้งปม เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนและเปอร์เซ็นต์ฟอสฟอรัสในส่วนเหนือดิน เปอร์เซ็นต์โพแทสเซียมในรากสูงที่สุด งานวิจัยครั้งนี้สามารถทำให้แนวคิดเรื่องการใช้ประโยชน์ของจุลินทรีย์ในระบบเกษตรอินทรีย์มีทิศทางที่เป็นไปได้และมีแนวโน้มต่อการลดการใช้สารเคมีร่วมทั้งอนุรักษ์สิ่งแวดล้อมในภาคการเกษตรได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณศูนย์พัฒนาพันธุ์พืชจักรพันธ์เพ็ญศิริ จังหวัดเชียงราย ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Agricultural Research Development Agency. (2017). **Maize, Soybean, Mungbean and Peanut, the Direction of Thai Economic Crops in ASEAN**. 2nd ed. Pornsup Printing Co., Ltd. (in Thai).

Inthasan, J. (2020). **Soil Fertility**. 2nd ed. Design Print media. (in Thai).

Inthasan, J., Dechiraratthanasiri, C., & Boonmee, P. (2016). Effect of amendments combined with phosphate solubilizing bacteria on soil chemical properties under moringa canopy. **Journal of Agriculture**, 32(3), 379-390. (in Thai).

Atlas, R. M. 2005. **Handbook of Media for Environmental Microbiology**. 2nd ed. CRC Press.

Anzuay, M. S., Ludueña, L. Angelini, J., & Fabra, A. (2015). Beneficial effects of native phosphate solubilizing bacteria on peanut (*Arachis hypogaea* L.) growth and phosphorus acquisition. **Symbiosis**, 66, 89–97.

Badawi, F. Sh. F., Biomy, A. M. M., & Desoky, A. H. (2011). Peanut plant growth and yield as influenced by co-inoculation with Bradyrhizobium and some rhizo-microorganisms under sandy loam soil conditions. **Annals of Agricultural Science**, 56, 17-25.

Bai, Y., Zhou, X., & Smith, D. L. (2003). Enhanced soybean plant growth resulting from coinoculation of *Bacillus* strains with *Bradyrhizobium japonicum.* **Crop Ecology, Management & Quality: Crop Science**, 43(5), 1774–1781.

Beck, D. P., Materon, L. A., & Afandi, F. (1994). **Practical Rhizobium-legume technology manual: Technical manual No. 19**. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA).

Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T., & Malajczuk, N. (1996). **Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture**. Pirie Printers.

Cui, L., Guo, F., Zhang, J. L., & Yang, S. (2019). Arbuscular mycorrhizal fungi combined with exogenous calcium improve the growth of peanut (*Arachis hypogaea* L.) seedlings under continuous cropping. **Journal of Integrative Agriculture**, 18(2), 407-416.

FAO. (2008). **FAO Fertilizer and Plant Nutrition Bulletin**. FAO.

Jackson, M. L. (1958). **Soil Chemical Analysis**. Prentice Hall, Inc.

Kumar, N., Kumar, A. Shukla, A., & Ram, A. (2018). Effect of application of bio-inoculants on growth and yield of *Arachis hypogaea* L. and *Sesamum indicum* L. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, 7(1), 2869-2875.

Lekberg, Y., & Koide, R. T. (2005). Arbuscular mycorrhizal fungi, rhizobia, available soil P and nodulation of groundnut (*Arachis hypogaea*) in Zimbabwe. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, 110, 143–148.

Marschner, H., & Dell, B. (1994). Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. **Plant Soil**, 159, 89-102.

Massoud, O. N., & El-Batanony, N. H. (2009). Fertilizers management and N_2-fixers combined with phosphate solubilizing microorganisms affect peanut (*Arachis hypogaea*) growth and productivity. **New Egyptian Journal of Microbiology**, 22, 1-15.

Peoples, M. B., Faizah, A. W., Rerkasem, B., & Herridge, D. F. (1989). **Methods for Evaluating Nitrogen Fixation by Nodulated Legumes in the Field.** Pirie Printers.

Peoples, M. B., Bell, M. J., & Bushby, H. V. A. (1992). Effect of rotation and inoculation with *Bradyrhizobium* on nitrogen fixation and yield of peanut (*Arachis hypogaea* L., cv. Virginia Bunch). **Australian Journal of Agricultural Research**, 43, 595–607.

Poomipan, P., Suwanarit, A., Suwanarit, P., Nopamornbodi, O., & Dell, B. (2011). Reintroduction of a native Glomus to a tropical Ultisol promoted grain yield in maize after fallow restored the density of arbuscular mycorrhizal fungal spores. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, 174, 257-268.

Toomsan, B., McDonagh, J. F., Limpinuntana, V., & Giller, K. E. (1995). Nitrogen fixation by groundnut and soya bean and residual nitrogen benefits to rice in farmers' fields in Northeast Thailand. **Plant Soil**, 175, 45–56.

Vincent, J. M. (1970). **A Manual for the Practical Study of the Root Nodule Bacteria. IBP, Handbook, No. 15.** Blackwell Publishers.