

ประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนของไรโซเบียม ในโสนอินเดียและโสนอาฟริกันจากดินภาคต่างๆของประเทศไทย

Effectiveness in N_2 Fixation of *Sesbania speciosa* and *Sesbania rostrata* Rhizobia Isolated from Different Locations

นันทกร บุญเกิด¹ และ สุวรรณี พรหมศิริ²

Nantakorn Boonkerd and Suwannee Promsiri

ABSTRACT

Sesbania speciosa and *Sesbania rostrata* are high potential symbiotic N-fixing legumes to be used as green manuring for both field crops and rice. Due to both *Sesbania* species are introduced crops thus we hypothesised that the suitable effective strains for these two *Sesbania* species may not present in Thai soil. the objective of this study was to determine the effective strains of rhizobia for the two *Sesbania* species from soils in different part of Thailand. It was found that *Sesbania speciosa* rhizobia were different in terms of strains, population density and effectiveness in different locations. Most soils contained very low to moderately effective strains of rhizobia. For *Sesbania rostrata*, variation in rhizobial strains was not great. most soil contained moderately effective strains. However from the study we found some high effective strains of rhizobia for both *Sesbania* species were isolated. Therefore, to be most beneficial from using both *Sesbania* as green manuring the plants should be inoculated with their effective rhizobial strains isolated from this study for every new introducing areas.

Key words : *Sesbania speciosa*, *Sesbania rostrata*, rhizobium, biological nitrogen fixation

บทคัดย่อ

โสนอินเดียและโสนอาฟริกัน เป็นพืชตระกูลถั่วที่สามารถตรึงไนโตรเจนในอากาศร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์ไรโซเบียมเพื่อการเจริญเติบโตได้ดี และโสนทั้ง 2 ชนิดนี้มีศักยภาพสูงในการใช้เป็นปุ๋ยพืชสดกับพืชไร่และข้าวในประเทศไทย แต่เนื่องจากโสนทั้ง 2 พันธุ์นี้เป็นพืชนำเข้ามาใหม่ จึง

มีปัญหาในเรื่องความเหมาะสมของไรโซเบียมที่มีอยู่ในดินของประเทศไทย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อไรโซเบียมที่มีอยู่ในดินในภูมิภาคต่างๆ ของประเทศไทย และหาเชื้อไรโซเบียมที่เหมาะสมกับโสนทั้ง 2 พันธุ์นี้ด้วย จากผลการวิจัยพบว่าไรโซเบียมของโสนอินเดียที่มีอยู่ในดินของประเทศไทยมีความแตกต่างกันมากทั้งชนิด ปริมาณ และประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน ดินส่วน

1 กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร

Soil Microbiology Research Group, Soil Science division, Department of Agriculture, Ministry of Agriculture and Cooperation, Bangkok 10900, Thailand.

2 โรงเรียนบ้านคูวัง ต. คอใต้ อ. มายอ จ. ยะลา

Ban Koowing School, Kautal, Amphure Mayau, Yala Province

ใหญ่มีเชื้อไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนให้กับโสนอินเดียในระดับปานกลางถึงต่ำมาก สำหรับไรโซเบียมของโสนแอฟริกัน พบว่ามีความแปรปรวนของเชื้อไรโซเบียมน้อยกว่า และไรโซเบียมส่วนใหญ่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนอยู่ในระดับปานกลาง จากการวิจัยครั้งนี้สามารถแยกและพบเชื้อไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพสูงกับโสนทั้ง 2 พันธุ์ ดังนั้นเพื่อให้ได้ผลผลิตและปริมาณไนโตรเจนที่สูง เพื่อใช้เป็นปุ๋ยพืชสด จึงควรใส่เชื้อไรโซเบียมดังกล่าวทุกครั้งที่จะเริ่มปลูกโสนทั้งสองชนิดนี้

คำนำ

ไนโตรเจนเป็นอาหารพืชที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืช ดินที่ทำการเพาะปลูกมักจะขาดธาตุไนโตรเจน เนื่องจากธาตุไนโตรเจนมีการสูญเสียจากดินได้ง่าย แหล่งสะสมไนโตรเจนส่วนใหญ่อยู่ในรูปของก๊าซไนโตรเจนในอากาศ ซึ่งพืชต่างๆ ไปไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ แต่พืชบางชนิดเช่น พืชตระกูลถั่วสามารถใช้ไนโตรเจนในอากาศได้ โดยการทำงานร่วมกับแบคทีเรียชนิดหนึ่งที่เรียกว่าไรโซเบียม และเรียกขบวนการนี้ว่า การตรึงไนโตรเจน ถึงแม้ว่าพืชบางชนิดไม่สามารถที่จะใช้ในไนโตรเจนในอากาศได้โดยตรง แต่ก็สามารถที่จะได้รับไนโตรเจนได้อย่างเพียงพอโดยทางอ้อมที่เรียกว่า ปุ๋ยพืชสดที่เป็นพืชตระกูลถั่ว และปุ๋ยพืชสดที่มีศักยภาพในการนำไปใช้ได้สูงก็ได้แก่ โสน เพราะว่ามันสามารถขึ้นได้ทั้งบนบกและในสภาพน้ำจืด จึงสามารถใช้ได้กับข้าวและพืชไร่ จากการทดลองของกองวิทยากร กรมการข้าว (2517) ติดต่อกันเป็นเวลา 8 ปี พบว่า โสนให้ผลผลิตของข้าวสูงสุด และจากการทดลองของนันทกร (2512) พบว่าโสนสามารถใช้เป็นปุ๋ยพืชสดกับข้าวโพดเป็นอย่างดี

ปัจจุบันได้มีการนำเอาโสน 2 ชนิดเข้ามาคือ โสนอินเดีย (*Sesbania spiciosa*) และโสนแอฟริกัน (*Sesbania rostrata*) โสนทั้ง 2 พันธุ์มีการเจริญเติบโตได้ดีมากในสภาพประเทศไทย การที่โสนจะเจริญเติบโตได้ดีและให้ปริมาณไนโตรเจนสูง จะต้องได้รับไรโซเบียมที่เหมาะสม

Noris (1979) รายงานว่าไรโซเบียมมีหลายชนิด แต่ละชนิดมีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนต่างกัน ถั่วและไรโซเบียมก็มีความเฉพาะซึ่งกันและกัน การตรึงไนโตรเจนจะเกิดได้มากหรือน้อยก็ขึ้นอยู่กับความสามารถของเชื้อไรโซเบียมและพันธุ์ถั่วต้องมีความเหมาะสมกัน (Weaver and Federick, 1977; Boonkerd *et al.*, 1978)

ดังได้กล่าวแล้วว่า ทั้งโสนอินเดียและแอฟริกันไม่ใช่พืชพื้นเมืองของไทย ดังนั้นผู้วิจัยจึงต้องสมมุติฐานว่า ไรโซเบียมในดินของประเทศไทยส่วนใหญ่ไม่มีความเหมาะสมในการตรึงไนโตรเจนให้กับโสนทั้ง 2 พันธุ์ และจุดประสงค์ของการวิจัยครั้งนี้เพื่อหาสายพันธุ์ (strains) ไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนให้กับโสนอินเดียและแอฟริกัน เพื่อนำมาทำการผลิตเป็นเชื้อให้กับเกษตรกรผู้ปลูกถั่วทั้ง 2 ชนิดต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่างดิน

เก็บดิน 31 ตัวอย่าง นราธิวาส (นธ.) ยะลา (ยล.) ปัตตานี (ปน.) สงขลา (สข.) ตรัง (ตง.) สตูล (สต.) นครศรีธรรมราช (นศ.) สุราษฎร์ธานี (สฎ.) ชุมพร (ชพ.) ประจวบคีรีขันธ์ (ปจ.) กรุงเทพฯ (กท.) กาญจนบุรี (กจ.) นนทบุรี (นบ.) สระบุรี (สบ.) ชลบุรี (ชบ.) ปทุมธานี (ปท.) ฉะเชิงเทรา (ฉช.) นครสวรรค์ (นว.) ระยอง (รย.) ตราด (ตร.) นครราชสีมา (นม.) ศรีสะเกษ (ศก.) มหาสารคาม (มค.) อุตรธานี (อด.) ขอนแก่น (ขก.) นครพนม (นพ.) เพชรบูรณ์ (พช.) แพร่ (พร.) ลำปาง (ลป.) เชียงใหม่ (ชม.) เชียงราย (ชร.) โดยใช้ auger ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 นิ้ว เจาะลึก 6 นิ้ว ทำการเจาะ 4 จุด แล้วนำดินมารวมกันบรรจุลงในถุงพลาสติกเพื่อนำไปทำการแยกเชื้อไรโซเบียม

การแยกเชื้อไรโซเบียม

นำดินทั้ง 31 ตัวอย่างที่บรรจุอยู่ในถุงพลาสติกใส่ลงในกระถางพลาสติก ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 นิ้ว โดยใช้

ดินกระถางละ 1 กิโลกรัม แล้วรดด้วยน้ำยาปลูกพืชที่ไม่มีไนโตรเจนแล้วทำการปลูกโสนที่เมล็ดได้ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว กระถางละ 5 เมล็ด โดยใช้โสนอินเดียปลูกในดินจากนร. ยล. สข. สด. นศ. สฎ. ขพ. ปว. กจ. สป. ขบ. จช. รย. ตง. นม. พช. ศก. พร. มค. อด. ขก. ลป. นพ. ชม. ชร. และโสนอาฟริกันปลูกในดินจาก นศ. ตร. ปน. มค. กทม. นบ. ปท. สข. พร. นว. ชม. ชร. เมื่อโสนมีอายุประมาณ 30 วัน ทำการบันทึกการเจริญเติบโต การคิดปม และเก็บปมเพื่อแยกเชื้อไรโซเบียม โดยทำการแยกเชื้อไรโซเบียมจากปมโสนอินเดียให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ตัวอย่างละ 5 เชื้อ และจากโสนอาฟริกันตัวอย่างละ 1 เชื้อ

การจำแนกเชื้อทางเซรุ่มวิทยา

นำเชื้อที่ได้จากโสนอินเดียจำนวน 125 เชื้อและจากโสนอาฟริกันจำนวน 12 เชื้อมาทำปฏิกิริยากับเซรุ่มมาตรฐานที่ผลิตจากเชื้อไรโซเบียมของโสนอินเดียและโสนอาฟริกันที่ได้มาจากศูนย์วิจัยข้าวนานาชาติ โดยนำเชื้อเหล่านี้ฉีดเข้ากระต่ายเพื่อผลิตเซรุ่ม ตามกรรมวิธีของ Somasegaran and Hoben (1985) ในการจำแนกโดยวิธีเซรุ่มวิทยาใช้วิธี ELISA (ENZYME – Linked Immunosorbent Assay) ตามกรรมวิธีของ Fuhrman and Wollum (1985)

การทดสอบประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน

นำเชื้อไรโซเบียมที่แยกได้จากโสนอินเดีย จำนวน 125 เชื้อ และเชื้อมาตรฐานจาก IRRI อีก 3 เชื้อ รวมเชื้อโสนอินเดียที่ใช้ทดลอง 128 เชื้อ ทำการทดลองแบบ complete randomized design ในขณะเดียวกันกับโสนอาฟริกันที่ใช้เชื้อที่แยกได้ 12 และเชื้อจาก IRRI อีก 20 เชื้อ โดยวางแผนการทดลองเช่นเดียวกันกับโสนอินเดีย ทำ 3 ซ้ำ โดยทดลองในเรือนกระจก ปลูกพืชในขวดทราย (Leonard jar) ขวดที่ไม่มีรากไนโตรเจนตามวิธีการของ Somasegaran and Hoben (1985) เมื่อโสนมีอายุประมาณ 50 วัน วัดความสูง วัดการตรึงไนโตรเจนโดยวิธี acetylene reduction (Boonkerd *et al.*, 1978a) วัดจำนวนปมและน้ำหนักปม วัดน้ำหนักแห้งของดิน และหาปริมาณ

ไนโตรเจนทั้งหมดโดยวิธี Kjeldahl

ผล

ลักษณะเชื้อที่มีอยู่ตามธรรมชาติ

โสนอินเดีย

ระหว่างที่ทำการปลูกโสนอินเดียเพื่อรวบรวมปมมาแยกเชื้อนั้น ได้มีการประเมินการคิดปมและการเจริญเติบโตของพืชด้วย การคิดปมที่มีประมาณ 30 ปมต่อต้นถือว่ามีความเหมาะสมประมาณ 20 ปมถือว่าขนาดปานกลาง ประมาณ 15 ปมถือว่าน้อยและประมาณต่ำกว่า 10 ปมถือว่าน้อยมาก จากผลการประเมินซึ่งแสดงไว้ใน Table 1 พบว่าดินที่เก็บมาจาก 9 จังหวัด มีเชื้อโสนอินเดียอยู่มาก ปมล้วนมีลักษณะสมบูรณ์และมีประสิทธิภาพสูง ที่ให้ปมที่มีในปริมาณปานกลางมีอยู่ 6 จังหวัด ลักษณะสีปมเป็นสีน้ำตาลและซีด ดินถั่วเจริญเติบโตดีแต่ค่อนข้างซีดเหลือง ที่ให้ปมปริมาณน้อยเป็นดินที่เก็บมาจาก 6 จังหวัด การเกิดปมของถั่วมีทั้งขนาดใหญ่และเล็ก สีภายในปมค่อนข้างขาว โสนเจริญเติบโตช้าสีเหลือง และที่ให้ปมน้อยมากเป็นดินจาก 5 จังหวัด ปมมีปริมาณน้อย ขนาดปมเล็กสีขาวซีด ซึ่งเป็นลักษณะปมที่เกิดจากเชื้อไรโซเบียมที่ไม่มีประสิทธิภาพ โสนต้นจะแคระแกรน มีสีเหลือง จากผลการทดลองนี้พอสรุปได้ว่า ดินที่เก็บมาส่วนใหญ่จะมีเชื้อไรโซเบียมที่เหมาะสมกับโสนอินเดียอยู่ในระดับปานกลางถึงน้อยมาก ดังนั้นถ้าทำการปลูกโสนอินเดียเพื่อเป็นปุ๋ยพืชสดโดยไม่ใช้เชื้อไรโซเบียมจะทำให้ได้ผลผลิตไม่เต็มที่

โสนอาฟริกัน

จากการประเมินผลการเกิดปมและการเจริญเติบโตของโสนที่ปลูกในดินที่เก็บมาจากจังหวัดต่างๆ พบว่ามีดินเพียงหนึ่งตัวอย่างที่ให้ปมกับโสนอาฟริกันในปริมาณสูง และปมมีลักษณะที่เกิดจากเชื้อไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพ ดินพืชเจริญเติบโตสมบูรณ์ดี นอกนั้นเป็นดินที่ให้ปมในระดับปานกลางและมีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนในระดับปานกลาง (Table 2) การจำแนกเชื้อ

Table 1 Growth and nodulation of *Sesbania speciosa* in soil collected from different part of Thailand.

Soil samples	Nodulation	Nodule appearance	Plant appearance
*	many nodules (20–30)	Large, red on the inside and green	Plants were large
**	medium nodules (15–20)	Large having both normal and abnormal, red and brown on the inside, some were white	Plant were normal growth but rather yellow
***	little nodules (10–15)	Mixed sizes of nodules with pale–white color on the inside	Small plants with yellow color
****	Very little <less than 10 nodules>	Many small nodules, white on the inside	Very small plants, yellow color

* Trung <TG>, Pechaboon <PB>, Nakhonratchasima <NM>, Chiangrai <CR>, Saraburi <SB>, Yala <YL>, Surassthani <ST>, Nakhonsrithamaras <NS>, Songkhla <SK>

** Chiangmai <CM>, Phare <P>, Chacherng Sao <CS>, Kanchanaburi <KB>, Lampang <LP>, Rayong <RY>

*** Udonthani <UD>, Chumporn <CP>, Khon Kaen <KK>, Chonburi <CB>, Narativas <NS>

**** Srisakaet <SK>, Prachoukchekkhon <PK>, Mahasarakam <MH>, Nakhonpanom <NK>, Stoon <ST>

ได้นำปมที่ได้จากการปลูกในกระถาง ทั้งโสนอินเดีย และโสนอาฟริกันมาทำการแยกเชื้อและทำให้บริสุทธิ์ และเลือกจากตัวอย่างละ 5 เชื้อในโสนอินเดีย และตัวอย่างละ 1 เชื้อในโสนอาฟริกัน เหตุที่ได้เลือกเอาจากโสนอินเดีย 5 เชื้อ เพราะพบว่าดินที่เก็บมามีปริมาณเชื้อที่แตกต่างกัน และในดินที่เก็บมาจากแหล่งเดียวกันก็ได้ลักษณะปมถั่วที่แตกต่างกัน จึงคาดว่าจะมีไรโซเบียมที่มากกว่าหนึ่งชนิด สำหรับโสนอาฟริกันนั้นพบว่า ดินส่วนใหญ่มีปริมาณเชื้อปานกลางและลักษณะปมของถั่วที่ปลูกในดินแต่ละแห่งมีความแปรปรวนน้อย จึงคาดว่าไรโซเบียมสำหรับโสนอาฟริกันในดินแต่ละแห่งมีลักษณะคล้ายกัน ดังนั้นจำนวนเชื้อที่แยกจากโสนอินเดียจึงมีทั้งหมด 125 เชื้อ และโสนอาฟริกัน 12 เชื้อ และได้้นำเชื้อทั้งหมดมาทำการจำแนกโดยวิธีจัดกลุ่มทางเซรุ่มวิทยา โดยใช้แอนติบอดีที่ผลิตจากเชื้อไรโซเบียมมาตรฐานจาก สถาบันข้าวนานาชาติ

ผลการจำแนกพบว่าไรโซเบียมของโสนอินเดียแตกต่างกันทั้งที่แยกจากจังหวัดต่างกันและที่เดียวกัน เชื้อไรโซ

เบียมส่วนใหญ่มีรูปแบบแตกต่างกันทั้งที่แยกจากดินแห่งเดียวกันมีบางจังหวัด เช่น ประจวบคีรีขันธ์ สุราษฎร์ธานี อุตร ะตุล ยะลา ตรัง และนราธิวาส รูปแบบของไรโซเบียมทั้ง 5 เชื้อของแต่ละจังหวัดเหมือนกัน แต่ระหว่างจังหวัดไม่เหมือนกัน ยกเว้นยะลาและตรัง มีรูปแบบเหมือนกัน คือ (BE) (Table 2)

สำหรับไรโซเบียมของโสนอาฟริกันนั้นพบเชื้อที่แยกได้มีความแตกต่างกันมาก มีเพียงจังหวัดเชียงใหม่ และปทุมธานี ที่พบว่าเชื้อไรโซเบียมมีรูปแบบทางเซรุ่มวิทยาเหมือนกัน

ประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน

เมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนของเชื้อไรโซเบียม ที่แยกได้จากโสนอินเดีย 125 เชื้อ และเชื้อจากสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติอีก 3 เชื้อ ปรากฏว่าเชื้อมีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนแตกต่างกันมาก และแตกต่างกันในทางสถิติ คือทำให้น้ำหนักต้นถั่วมีความ

Table 2 Serological (ELISA) pattern of rhizobia isolated from *S. speciosa* nodules.

Antisera	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
Antigens (Isolates)	IRG4	S4	ORS322	IRG32	CT4	IRG59	IRG23	ORS571	Mu26a	Am10	IRG56
SR 1-5 (ABEFGHJ)*	*	*			*	*	*	*		*	
LP 1,3,5 (ABCEF)	*	*	*		*	*					
LP 2 (ABCEFI)	*	*	*		*	*				*	
LP 4 (ABCEFI)	*	*	*		*	*			*		
CP 1,3,4,5 (ABJ)	*	*								*	
CP 2 (ABF)	*	*				*					
SB 2,3,4 (ACE)	*		*		*	*					
SB 1 (ACEF)	*		*		*	*					
SB 2,3,4 (ACEF)	*		*		*	*					
SB 5 (ABCE)	*	*	*		*						
PB 1-5 (CD)			*	*							
NM 3,4,5 (DE)				*	*						
NM 1 (DEFK)				*	*	*					*
NM 2 (DEFGK)				*	*	*	*				*
UD 1-5 (CE)			*		*	*					
PC 1 (CEFG)			*		*	*	*				
PC 2,3 (CEF)			*		*	*					
PC 4,5 (CE)			*		*						
KG 1 (D)				*							
KG 2,5 (DFG)				*		*	*				
KG 3,4 (DG)				*			*				
CR 1 (HI)								*	*		
CR 2,4 (ABCDE)	*	*	*	*	*						
CR 3 (CD)			*	*							
CR 5 (EF)					*	*					
NS 1 (CEK)			*		*						*
NS 2 (CEJK)			*		*					*	*
ST 1-5 (BCEFI)		*	*		*	*				*	
SK 1 (DG)				*			*				
SK 2-5 (DGI)				*			*		*		
RY 1 (E)					*						
RY 2 (D)				*							
RY 3 (EK)					*						*
RY 4 (A)	*										
RY 5 (CG)			*				*				
YL 1-5 (BE)		*			*						
YL 1-3 (EF)					*	*					
MK 4,5 (EFG)					*	*	*				
SK 1 (B)		*									
SK 2,3 (JK)										*	*
SK 4 (D)				*							
SK 5 (E)					*						
KK 1 (EJ)					*					*	
KK 2,3 (EF)						*					
KK 4,5 (EK)					*						*
CS 1,2 (ACDEIJ)	*		*	*	*				*	*	
CS 3 (AIJ)	*								*	*	
CS 4 (BE)		*			*						
CS 5 (HI)								*	*		
CB 1,2 (DE)				*	*						
CB 3 (D)				*							
CB 4 (DH)				*				*			
CB 5 (GI)							*		*		
NT 1-5 (E)					*						
TG 1-5 (BE)		*			*						
CM 1 (CEFIJK)			*		*	*			*	*	*
CM 2 (CDEFK)			*	*	*	*					*
CM 3 (CDE)			*	*	*						
CM 4 (BCDEFGK)		*	*	*	*	*	*				*
CM 5 (DE)				*	*						
NP 1 (CD)			*	*							
NP 2,3,4 (DG)				*			*				
NP 5 (CD)			*	*							
PR 1,2 (I)										*	
PR 3 (HI)								*	*		
PR 4,5 (AJK)	*									*	*

* (A.....K) = is positive reaction that comes from antigens and antibodies reaction

Table 3 Serological (ELISA) pattern of rhizobia isolated from *S. rostrata*.

Atigents (Isolates)	Antisera	A IRG4	B S4	C ORS322	D IRG32	E CT4	F IRG59	G IRG23	H ORS571	I MU26a	J AM10	K IRG56
PN (BEF)			*			*	*					
BK (BDEHI)			*		*	*			*	*		
MK (BE)			*		*							
PR (BCE)			*	*		*						
NB (BCGH)			*	*				*	*			
NR (AJ)		*									*	
NS (DG)					*			*				
TR (ADJ)		*			*						*	
SB (I)										*		
CM (K)												*
CR (E)						*						
PT (K)												*

*(A.....K)=is positive reaction that come from anitgens and antibodies reactio

แตกต่างกันระหว่าง 0.07 – 14.63 กรัม กลุ่มเชื้อที่ให้น้ำหนักต้นถั่วในระดับสูงได้แก่ ตง.2 ตง.1 ตง.4 สข.3 ขก.2 สฎ.3 สำหรับที่ไม่ได้รับเชื้อไรโซเบียมให้น้ำหนักเพียง 0.07 กรัม และกลุ่มเชื้อที่ให้น้ำหนักใกล้เคียงกับที่ไม่ใส่เชื้อซึ่งถือว่าไม่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน ได้แก่เชื้อ ฉข.5 ขบ.2 ฉข.4 ขม.5 ปจ.1 สด.4 ศก.2 ขบ.1 ขบ.4 สด.3 สด.1 และสด.2 ตามลำดับ (Figure 1) นอกนั้นเป็นกลุ่มไรโซเบียมในระดับปานกลาง ปริมาณไนโตรเจนในต้นก็ให้ผลสอดคล้องกันกับน้ำหนักต้นถั่ว คือกลุ่มที่ให้น้ำหนักต้นสูงจะมีปริมาณไนโตรเจนสูง

สำหรับการเกิดปม และการตรึงไนโตรเจนซึ่งวัดโดยวิธี acetylene reduction นั้นพบว่ากลุ่มที่ให้น้ำหนักต้นสูงมีการเกิดปมมาก ให้น้ำหนักปมแห้งมากและมีค่าของการตรึงไนโตรเจนสูง

จากผลการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ของไรโซเบียมสายอินเคียพบว่า ความสูงน้ำหนักแห้งของต้น ไนโตรเจนในดิน จำนวนปม น้ำหนักปมแห้ง และอัตราการตรึงไนโตรเจนมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 (Table 3)

สำหรับเชื้อที่แยกได้จากโสนอาฟริกันนั้นพบว่า มีความแตกต่างกันทั้งในต้นให้ความเจริญเติบโตของต้นและการเกิดปม ทำให้ ความสูง น้ำหนักต้น ปริมาณไนโตรเจนในดิน น้ำหนักปม และค่าการตรึงไนโตรเจนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ น้ำหนักต่อต้นมีค่าเฉลี่ยตั้งแต่ 0.47–12.59 กรัม กลุ่มเชื้อที่ให้น้ำหนักต้นสูงได้แก่ ปท IRG 23, TOS4, TOS 1, IRG 42,MHR 5, MLS 6, IRG 32, CTS 2, IRG 22, และขร ส่วนต้นโสนที่ไม่ใส่เชื้อให้น้ำหนักเพียง 0.47 กรัม และกลุ่มเชื้อที่ให้ผลใกล้เคียงกับที่ไม่ใส่เชื้อ คือ TAL 1114, ORS 571, TAL 1116, TAL 1113 ซึ่งถือว่าไม่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจน สำหรับเชื้ออื่นๆ นั้นอยู่ในระดับปานกลาง สำหรับปริมาณไนโตรเจนในดิน การเกิดปม และการตรึงไนโตรเจนโดยวิธี acetylene reduction นั้นให้ผลเช่นเดียวกันกับน้ำหนักต้น

ผลจากการวิเคราะห์ค่าสหพันธ์ พบว่าน้ำหนักต้นมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับไนโตรเจนในดิน จำนวนปม น้ำหนักปมแคะอัตราการตรึงไนโตรเจน (Table 4)

วิจารณ์

จากผลการทดลองพบว่าไรโซเบียมของโสนอินเดียในดินในภูมิภาคต่างๆของประเทศไทยมีความแตกต่างกันอย่างมากทั้งในด้านปริมาณเชื้อและประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนจากการจำแนกเชื้อโดยการจัดรูปแบบทางเซรุ่มวิทยาพบว่าเชื้อไรโซเบียมของโสนอินเดียที่อยู่ต่างท้องถิ่นมีความแตกต่างกันและแม้แต่เชื้อที่เก็บมาจากดินแหล่งเดียวกันก็ยังมีมีความแตกต่างกัน เช่นไรโซเบียมจากดินเชิงใหม่สงขลาและเชิงเขาและชลบุรีเป็นต้นผลการวิจัยสอดคล้องกับการทดลองของ Thompson *et al.* (1991) ผู้ซึ่งวิจัยไรโซเบียมถั่วเหลืองในดินเชิงใหม่ซึ่งพบว่าไรโซเบียมพื้นเมืองมีความแตกต่างกัน การที่ไรโซเบียมในดินมีความแตกต่างกันมากย่อมแสดงให้เห็นว่ามีโอกาสที่จะมีความแตกต่างกันในด้านการตรึงไนโตรเจนนั้นซึ่งผลการทดลองก็ได้ยืนยันความแตกต่างกันในการตรึงไนโตรเจนของไรโซเบียมสายพันธุ์ต่างๆซึ่งอาจจะอยู่ในแหล่งเดียวกันก็ได้ คือดินอาจจะประกอบเชื้อไรโซเบียมหลายสายพันธุ์และมีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนต่างกัน จากผลการทดลองนั้นพบว่าเชื้อเชิงใหม่สายพันธุ์ขม.1 ให้น้ำหนักต้นแห้งของโสนอินเดียสูงถึง 7.85 กรัม ในขณะที่ขม.5 ให้น้ำหนักต้นแห้งเพียง 0.76 กรัม และเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์นี้มีรูปแบบของเซรุ่มวิทยาต่างกันและยังมีกรณีอื่นๆอีกเช่น

กลุ่มไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพสูงอาจอยู่ที่เดียวกันเช่นจากจังหวัดตรัง(ตว.)พบว่าไรโซเบียมมีประสิทธิภาพต่ำที่เป็นเช่นนี้อาจจะเป็นเพราะว่าประชากรของไรโซเบียมนั้นมี ความแปรปรวนน้อยซึ่งมีปัจจัยที่สำคัญในกรณีที่มีพืชอาศัย ขึ้นอยู่จะเป็นโสนอินเดียหรือถั่วอื่นๆที่ไรโซเบียมเข้าอยู่ได้จะทำให้ไรโซเบียมดำรงชีวิตอยู่ได้อย่างต่อเนื่อง และเชื้อจะมีปริมาณสูงและมีประสิทธิภาพสูงในขณะที่ดินไม่มีพืชอาศัยปริมาณเชื้อจะน้อยและประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนอาจไม่ดี (Singleton and Stockinger, 1983) จากเหตุผลอันนี้จึงเป็นคำตอบที่ดีว่าทำไมดินส่วนใหญ่ในประเทศไทยจึงมีไรโซเบียมส่วนใหญ่ที่ไม่เหมาะสมกับโสนอินเดีย กล่าวคือ โสนอินเดียมีได้ปลูกอย่างแพร่หลายในประเทศไทยดังนั้นในการที่จะใช้ประโยชน์จากโสนอินเดีย ซึ่งสามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาพภูมิอากาศของประเทศไทยเป็นปุ๋ยพืชสดจึงควรจะต้องใส่เชื้อไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพสูงที่ได้จากงานวิจัยนี้

สำหรับโสนอาฟริกันนั้นพบว่า มีความแตกต่างกันในด้านสายพันธุ์ของเชื้อไรโซเบียมแต่สายพันธุ์ส่วนใหญ่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนปานกลาง และปริมาณเชื้อไรโซเบียมโดยทั่วไปก็มีอยู่ในปริมาณปานกลาง ทั้งนี้ อาจเป็นเพราะว่าเชื้อไรโซเบียมนี้มีถั่วที่มันสามารถเข้าสร้างปมได้คล้ายๆกับโสนอาฟริกันอยู่ทั่วไป

Table 4 Correlation co-efficients of nitrogen fixation in *S. speciosa*.

Variable	Plant DWT (g)	Plant N (%)	Nodule No.	Nodule DWT (g)	ARA (molC ₂ H ₄ /g nod.drywt./h)
Plant height(cm)	0.86	0.67	0.68	0.68	0.68
Plant DWT(g)		0.99	0.98	0.96	0.94
Plant N(%)			0.98	0.98	0.97
Nodule No.				0.99	0.99
Nodule DWT(g)					0.99

Level of significance at 0.01

Table 5 Correlation co-efficients of nitrogen fixation in *S. rostrata*.

	Plant DWT (g)	Plant N (%)	Nodule No.	Nodule DWT (g)	ARA (molC ₂ H ₄ /g nod.drywt./h)
Plant height(cm)	0.43*	0.40*	0.40	0.25*	0.31*
Plant DWT(g)		0.75**	0.23*	0.67**	0.83**
Plant N(%)			0.21	0.56**	0.71**
Nodule No.				0.27*	0.07
Nodule DWT (g)					0.71**

* Significant level at 0.05

** Significant level at 0.01

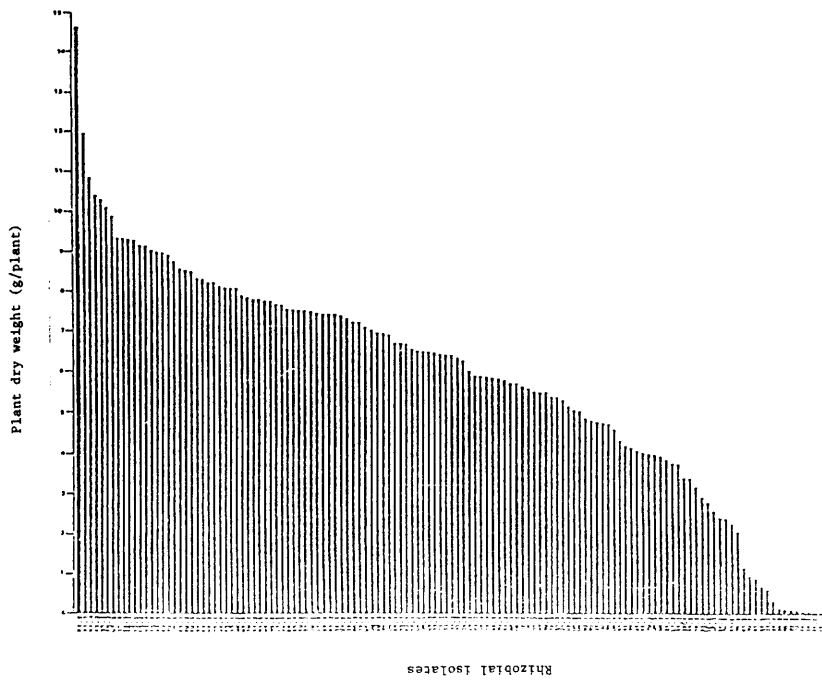




Figure 3 Effectiveness comparison of rhizobia isolated from different provinces on growth of *S. speciosa*. Far left is uninoculated control.

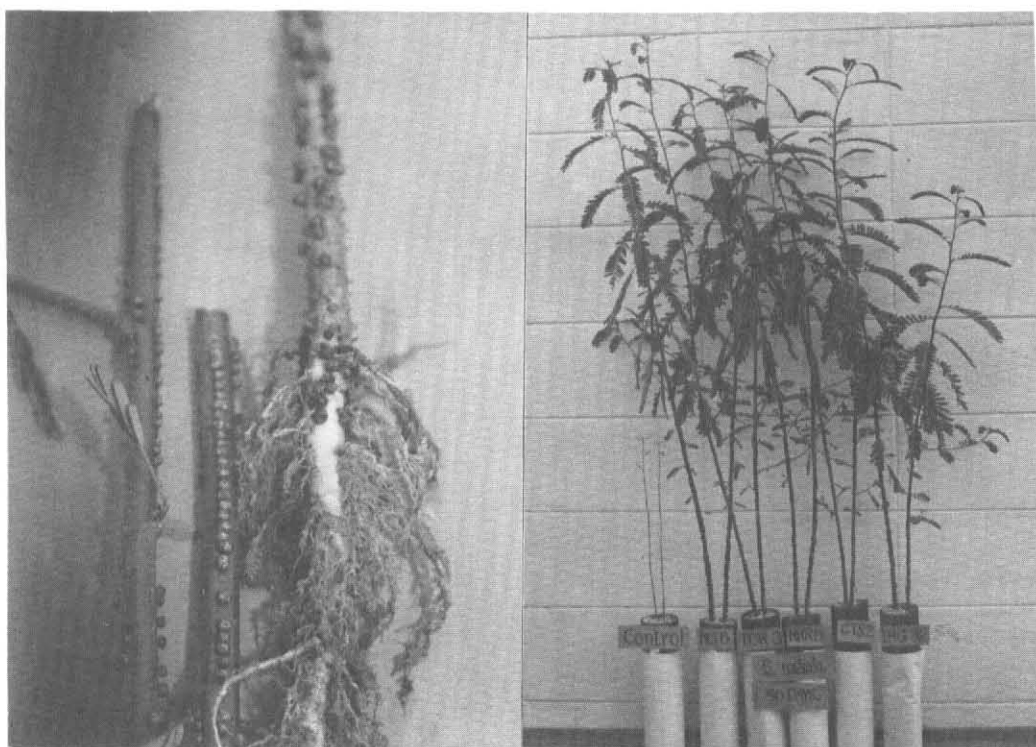


Figure 4 Effect of rhizobia isolated from *S. Rostrata* (right) and nodulation characteristic on both stem and root of *S. rostrata* (left).

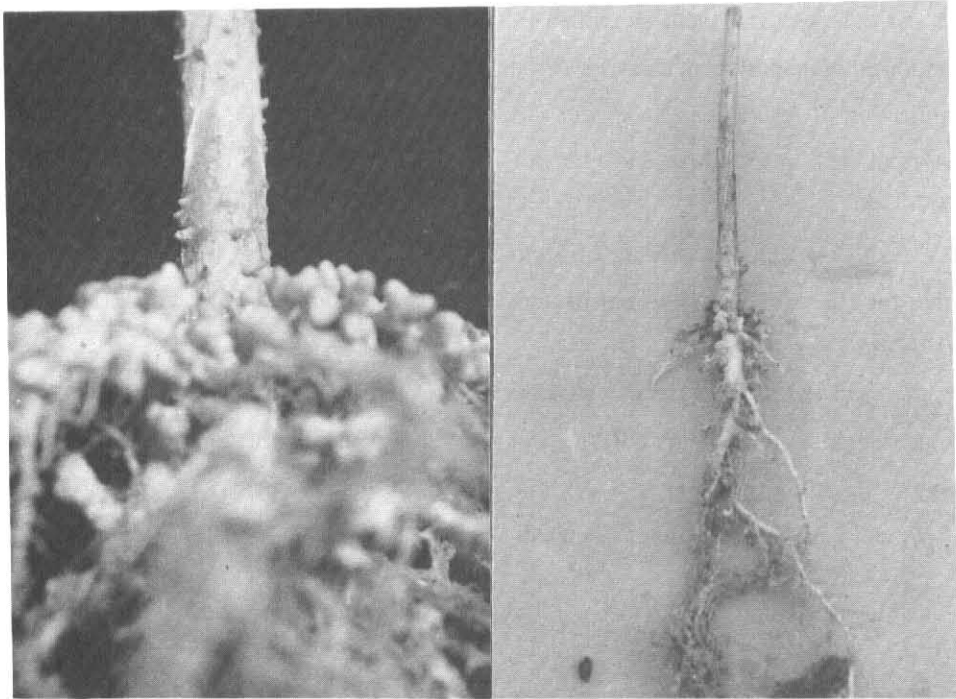


Figure 5 Comparison of nodulation formed by the highly effective strain (left) and the ineffective strain of *S. speciosa* rhizobia (right).

สรุปและคำแนะนำ

จากผลการวิจัยครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าไรโซเบียมของโสนอินเดียในดินภาคต่างๆของประเทศไทยส่วนใหญ่แล้วมีปริมาณน้อยและมีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนปานกลางถึงต่ำ ดังนั้นในการปลูกโสนอินเดียเพื่อให้ได้ปริมาณไนโตรเจนสูงและผลผลิตสูงจึงควรใช้เชื้อไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพสูงเช่นบางเชื้อจากงานวิจัยครั้งนี้ที่แยกได้จากจังหวัดตรัง เพชรบูรณ์ นครราชสีมา เชียงราย สระบุรี ยะลา สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช สงขลา สำหรับโสนอาฟริกกัน ประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนของเชื้ออยู่ในระดับปานกลางเช่นเดียวกับการใช้เชื้อที่มีประสิทธิภาพสูงสายพันธุ์ CTS2, TOR3 และ IRG32 จะช่วยให้โสนเจริญเติบโตและตรึงไนโตรเจนได้เต็มที่และจะมีประโยชน์มากเมื่อนำไปใช้เป็นปุ๋ยพืชสด

เอกสารอ้างอิง

- กองวิทยาการ กรมการข้าว 2517. การใช้ปุ๋ยพืชสดในนาข้าว กองวิทยาการ กรมการข้าว กรุงเทพฯ
- นันทกร บุญเกิด 2512. ประโยชน์ของปุ๋ยพืชสด และการเลือกใช้ปุ๋ยพืชสดให้เหมาะกับสถานที่ กลสิกร ปีที่ 42 เล่ม 1 หน้า 85-91
- Boonkerd, N., D.F. Bezdicek and D.F. Weber. 1978a. Comparative evaluation of *Rhizobium japonicum* strains by acetylene reduction and other methods. Legume Research 2:1-10.
- Boonkerd, N., D.F. Bezdicek and D.F. Weber. 1978b. Influence of *Rhizobium japonicum* strains and inoculation methods on soybeans grown in rhizobia-populated soil Agron. J. 70:547-

544.

- Fuhrman, J. and A.G. Wollum. 1985. Simplified enzyme-linked immunosorbent assay for routine identification of *Rhizobium japonicum* antigens. Appl. and Environ. Microbiol. 49:1010-1013.
- Norris, D.O. 1979. Rhizobium screening of Stylosanthes for effectiveness in nitrogen fixation. Aust. J. Agri. Res. 34:85-102.
- Somasegaran, P. and H.J. Hoben. 1985. Method in legume rhizobium technology. NifTAL, University of Hawaii.
- Singleton P.W. and J.W. Travares. 1986. Inoculation response of legumes in relation to the number and effectiveness of indigenous rhizobial populations. Appl. Environ. Microbiol. 51: 1013-1018.
- Thompson, J.A., A. Promsiri and N. Boonkerd. 1980. Soybean rhizobia from Northern Thailand. PP.165-167. In: Bionift Regional Symposium and Workshop. Universiti Pertanian Malaysia.
- Weaver, R.W. and L.R. Frederick. 1977. Growing plant for rhizobium effectiveness Test. Soil Biol. Biochem. 7:77-78.