

การเพิ่มผลผลิตและการตรึงไนโตรเจน ของถั่วเหลืองในประเทศไทย

Improving Yield and Nitrogen Fixation on Soybean in Thailand

พรพิมล ชัยวรรณคุปต์⁽¹⁾ จันทนา สิริไพบูลย์⁽¹⁾

นันทกร บุญเกิด⁽²⁾ เขียวชัย อารยางกูร⁽³⁾

Pornpimol Chaiwanakupt⁽¹⁾ Chantana Siripaibool⁽¹⁾

Nantakorn Boonkerd⁽²⁾ Thianchai Arayangkoon⁽³⁾

ABSTRACT

Attempts to improve the efficiency of N_2 -fixation by soybean-rhizobium symbiosis in Thailand has been made under specific agronomic conditions through assessment using the N-15 isotope dilution technique. Specific objectives were to evaluate the adaptable soybean cultivars together with effective strains of *Bradyrhizobium japonicum*, develop management practices and minimize environmental constraints. The series of field experiments were conducted at Chiang Mai, Khon Khan, Kampong Saen and seven farmer fields in the north, central and north-east of Thailand to evaluate (1) the appropriate non- N_2 -fixing crop to quantify nitrogen fixation by soybean (2) the ability of Thai soybean cultivars to support symbiotic N_2 -fixation (3) selection of the effective of *B. japonicum* under different conditions (4) effect of herbicide (5) water application (6) nitrogen application (7) phosphorus application on N_2 fixation and (8) testing of selected *B. japonicum* strains in farmer's field.

The results showed that : (1) The two Japanese non-nodulating soybean lines Tol-o and A62-2 appeared to be the most appropriate non- N_2 -fixing control plants for ^{15}N -isotope dilution method. Maize proved to be another appropriate non- N_2 -fixing crop at some sites. Sorghum, wheat and the US non-nodulating line were not appropriate non- N_2 -fixing control plants. (2) The recommended Thai soybean cultivars showed considerable potential in their ability to support N_2 fixation average 44% or 10 kg N/rai of the soybean plant's nitrogen. (3) The best strains for combination of yield and N_2 fixed are Niftal (TAL) 411, 431 61A148, THA2 and THA7. The latter two strains were isolated from Thai soil. (4) Evaluation of the application herbicides showed no detrimental effects on seed yield or benefits of N_2 -fixation except paraquat at some site decrease N_2 -fixation. (5) Similar yield and N_2 -fixation was obtained by watering soybeans at weekly or biweekly intervals but these were significantly reduced when water was applied only when wilting symptom occurred. (6) Addition of N fertilizer to soybean in the soil which contained indigenous rhizobium or soil which primary grown soybean must applied at low rate otherwise nitrogen applied might decrease the amount of N_2

(1) งานวิจัยนิวเคลียร์เทคนิคการเกษตร กองเกษตรเคมี กรมวิชาการเกษตร
Nuclear Research in Agriculture Section, Agricultural Chemistry Division.

(2) สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology.

(3) ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50290
Chiang Mai Field Crops Research Center, Field Crops Research Institute.

fixed and seed yields. However, at new introduced soybean area with no indigenous rhizobium addition of N resulted in increased N₂ fixed and seed yields. (7) Phosphorus fertilization at rate 8 kg P₂O₅/rai increased in double times both yield and N₂ fixation of soybean at pod-filling stage. (8) The inoculum of the selected strains under this research program were proved high effectiveness in farmer's field condition. With Rhizobium inoculation can increase yield 40-120 kg/rai, particularly with the most appropriate field management. Inoculants can be produced commercially using these selected strains of rhizobia. The inoculation of rhizobia to soybean are strongly recommended for high N₂ fixation and yield production.

บทคัดย่อ

เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลือง โดยใช้เชื้อไรโซเบียมในระบบการเกษตรของประเทศไทย โดยการใช้เทคนิค ¹⁵N isotope dilution ประเมินค่าการตรึงไนโตรเจนจากอากาศทางชีวภาพของถั่วเหลือง เพื่อศึกษาการใช้เชื้อไรโซเบียมที่เหมาะสมกับพันธุ์ถั่วเหลืองที่ปลูกในสภาพดินและสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างกัน ทำการศึกษาในแปลงทดลองของศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น วิทยาเขตกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และแปลงไร่นาเกษตรกร 7 แห่งในภาคเหนือกลาง และตะวันออกเฉียงเหนือ โดยมีลำดับขั้นตอนการศึกษาวิจัยคือ (1) คัดเลือกพืชที่ไม่ตรึงไนโตรเจนจากอากาศ เพื่อใช้เป็นพืชมาตรฐานในการศึกษาปริมาณการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลือง (2) การคัดเลือกพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีความสามารถตรึงไนโตรเจนได้สูง (3) การคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์ไรโซเบียม *B. japonicum* ที่ช่วยให้ถั่วเหลืองตรึงไนโตรเจนได้สูง (4) ผลการใช้สารเคมีกำจัดวัชพืชต่อความสามารถในการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลือง (5) ผลของการให้น้ำต่อประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลือง (6) ผลของการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนต่อการตรึงไนโตรเจนและผลผลิต (7) ผลของการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตต่อการตรึงไนโตรเจนและผลผลิต (8) ศึกษาผลผลิตถั่วเหลืองในแปลงกสิกรรมเมื่อใช้พันธุ์ถั่วเหลืองและเชื้อไรโซเบียมที่เหมาะสม

ผลการทดลองพบว่า (1) พืชที่ไม่ตรึงไนโตรเจนที่ใช้เป็นพืชมาตรฐานดีที่สุดคือ ถั่วเหลืองพันธุ์ไม่สร้างปมจากญี่ปุ่น Tol-o และ A62-2 ข้าวโพดสามารถ

ใช้เป็นพืชมาตรฐานได้บางท้องที่ ข้าวฟ่าง ข้าวสาลี และถั่วเหลืองไม่สร้างปมจากสหรัฐอเมริกาไม่เหมาะสมที่จะใช้เป็นพืชมาตรฐาน (2) การคัดเลือกพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีความสามารถตรึงไนโตรเจนได้สูง พบว่า พันธุ์แนะนำของไทยเหมาะสม สามารถตรึงไนโตรเจนได้สูงถึง 44% หรือ 10 กก. N/ไร่ (3) สายพันธุ์ไรโซเบียม *B. japonicum* ที่ดีที่สุด ให้ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้สูง คือ Nifal (TAL) 411, 431, 61A148, THA2 และ THA7 ซึ่งสองสายพันธุ์หลังแยกเชื้อได้จากดินในประเทศไทย (4) การใช้สารเคมีกำจัดวัชพืชไม่มีผลต่อการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลือง ยกเว้น paraquat โดยเฉพาะเมื่อใช้เชื้อไรโซเบียมกับถั่วเหลือง จะทำให้ความสามารถในการตรึงไนโตรเจนลดลงในบางท้องที่ (5) การให้น้ำอย่างสม่ำเสมออย่างน้อยสัปดาห์ละครั้งจะทำให้ถั่วเหลืองตรึงไนโตรเจนและให้ผลผลิตดี หากลดการให้น้ำจนพืชเกิดการขาดน้ำอย่างรุนแรง การตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลืองจะลดลงไปตามสภาวะการขาดน้ำ (6) การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนเพิ่มเติมให้กับถั่วเหลืองที่ปลูกในดินที่มีเชื้อจุลินทรีย์ไรโซเบียมอยู่ตามธรรมชาติแล้วหรือดินที่ปลูกถั่วเหลืองมาก่อนจะต้องใส่ในอัตราต่ำ มิฉะนั้นจะปลดความสามารถในการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลือง ตรงข้ามกับดินที่ไม่เคยปลูกถั่วเหลืองมาก่อน ไม่มีเชื้อไรโซเบียมอยู่ตามธรรมชาติ การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนจะเพิ่มการตรึงไนโตรเจนและผลผลิตของถั่วเหลือง (7) การใส่ปุ๋ยฟอสเฟต 8 กก. P₂O₅/ไร่ ถั่วเหลืองแสดงแนวโน้มเพิ่มผลผลิตเมล็ดและการตรึงไนโตรเจนในระยะออกฝักสูงกว่าการไม่ใส่ปุ๋ยฟอสเฟตประมาณ

2 เท่ว (8) ผลการทดสอบการใช้เชื้อไรโซเบียมจากการคัดเลือกที่ผ่านมาของงานวิจัยนี้โดยการใช้สายพันธุ์ผสมที่มีประสิทธิภาพในแปลงไรนาเกษตรกรพบการตอบสนองการใช้เชื้อไรโซเบียมได้ดีสามารถเพิ่มผลผลิตได้ระหว่าง 40-120 กก./ไร่ หากมีการจัดการปัจจัยการปลูกให้เหมาะสมโดยเฉพาะในดินที่ไม่เคยปลูกถั่วเหลืองมาก่อน สายพันธุ์ไรโซเบียมที่คัดเลือกมาแล้วสามารถผลิตเป็นการค้าได้ เพื่อให้ได้ผลผลิตและการตรึงไนโตรเจนสูงสมควรคลุกเมล็ดด้วยเชื้อไรโซเบียม

คำนำ

โครงการวิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตถั่วเหลืองได้จัดทำขึ้นเพื่อให้เป็นไปตามแผนงานวิจัยการปลูกพืช และเพิ่มผลผลิตพืชทดแทนการนำเข้าของประเทศไทย ให้สอดคล้องกับแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 5 แผนงานและขั้นตอนการทำงานวิจัยได้กำหนดขึ้นเพื่อดำเนินการในระยะเวลา 4 ปี ตั้งแต่ พ.ศ. 2528-2532 โดยได้รับความร่วมมือทางวิชาการและการสนับสนุนเครื่องมืออุปกรณ์ และวัสดุในการดำเนินงานวิจัยจาก International Development Research Centre (IDRC) โดยให้ชื่อโครงการวิจัยร่วมครั้งนี้ว่า Soy-Rhizobia (Alberta-Thailand) ซึ่งมีหน่วยงาน Asian Vegetable Research Development Centre (AVRDC) เป็นผู้ประสานงาน กรมวิชาการเกษตร เป็นหน่วยงานหลักฝ่ายไทย ร่วมกับมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และมหาวิทยาลัยขอนแก่น

ภูมิหลังทางวิชาการของการจัดทำโครงการนี้ก็คือผลผลิตถั่วเหลืองต่อเนื้อที่ของประเทศไทย ยังต่ำอยู่มากเมื่อเปรียบเทียบกับผลผลิตของบางประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา และบราซิล กล่าวคือ ผลผลิตในปัจจุบันประมาณ 0.8 ตันต่อเฮกตาร์ หรือ 130 กก./ไร่ เท่านั้น ในเมื่อผลผลิตของสหรัฐอเมริกา และบราซิล ประมาณ 3-5 ตันต่อเฮกตาร์ นอกจากนี้การผลิตถั่วเหลืองของประเทศไทยยังจำกัดอยู่ในเขตพื้นที่ที่มีการปลูกมาดั้งเดิม การเพิ่มและขยายพื้นที่ทำการเพาะปลูกถั่วเหลือง ไปยังแหล่งใหม่ๆ ยังมีไม่มากนัก

สำหรับตัวพืชเองยังมีข้อจำกัดในด้านการเพิ่มผลผลิตที่ยังไม่สัมพันธ์กันกับการตรึงไนโตรเจน เช่น การใช้เชื้อไรโซเบียมที่ไม่เหมาะสมกับพันธุ์ถั่วเหลืองที่ใช้ปลูกในสภาพดินที่แตกต่างกัน เป็นสาเหตุให้ได้ผลผลิตต่ำ (Kucey *et al.* 1988) หากได้ศึกษาทั้งชนิดของเชื้อไรโซเบียม และพันธุ์ของถั่วเหลืองที่เหมาะสมแล้ว ก็เป็นที่คาดว่า จะช่วยให้ได้ผลผลิตเพิ่มขึ้น และเมื่อรวมถึงการพิจารณาปัจจัยอื่นๆ ที่จะมีผลกระทบต่อผลผลิต เช่น การให้น้ำ (Kucey *et al.* 1988) การกำจัดวัชพืช (Kucey *et al.* 1988) หรือ การป้องกันความเสียหายจากแมลงศัตรูพืชด้วยการใช้สารเคมีก็จะได้ข้อมูลปรับปรุงเทคโนโลยีการผลิตถั่วเหลือง ที่จะทำให้ได้ผลผลิตเพิ่มขึ้น นอกเหนือจากจะมีความมุ่งหมายด้านการเพิ่มผลผลิตแล้ว โครงการนี้ยังต้องการพัฒนาวิธีการวิจัยด้วยการใช้นิวเคลียร์เทคโนโลยีในการศึกษาปริมาณการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลือง ซึ่งวิธีการธรรมดาไม่อาจให้ข้อมูลได้โดยตรง วิธีการดังกล่าวคือ ^{15}N -Isotope Dilution. (Chaiwanakupt *et al.* 1988, Rennie and Rennie 1983, Rennie *et al.*, 1988, Snitwongse *et al.* 1986, Witty 1983)

การทดลองที่ 1 การศึกษาคัดเลือกพืชที่ไม่ตรึงไนโตรเจนจากอากาศเพื่อใช้เป็นพืชมาตรฐานในการศึกษาปริมาณการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลืองโดยวิธี ^{15}N -Isotope Dilution

การวัดปริมาณการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลืองทำได้หลายวิธี (Rennie and Rennie 1983, Witty 1983) ในวิธีต่างๆ นั้น วิธี ^{15}N -Isotope Dilution เป็นวิธีการที่กลุ่มงานวิจัยนิวเคลียร์เทคนิคการเกษตรนำมาใช้ในการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับถั่วเหลืองในแง่ต่างๆ โดยเฉพาะการวัดปริมาณการตรึงไนโตรเจนมาเป็นพืชเปรียบเทียบ ดังนั้นการเลือกพืชมาตรฐานที่เหมาะสมจะทำให้ผลการวัดมีค่าถูกต้องมากยิ่งขึ้น พืชมาตรฐานที่เหมาะสมที่สุดน่าจะเป็นถั่วเหลืองสายพันธุ์ที่ไม่สามารถตรึงไนโตรเจนได้ แต่ความเป็นจริงแล้วเป็นไปได้ค่อนข้างยาก เพราะว่าแม้จะไม่ให้เชื้อ

ไรโซเบียมแก่ต้นถั่วเหลืองเลย (เพื่อป้องกันมิให้เกิดการตรึงไนโตรเจนจากอากาศ) เชื้อไรโซเบียมที่มีอยู่ในดินบ้างแล้ว (นันทกร และคณะ 2526) จึงเกิดการตรึงไนโตรเจนขึ้นตามธรรมชาติ จันทนา และคณะ (2527) ได้รายงานปริมาณการตรึงไนโตรเจนจากอากาศ ซึ่งวัดโดยวิธี ^{15}N -Isotope Dilution ของถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 ซึ่งปลูกที่สันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่ สูงถึง 75-90% เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานของต่างประเทศ ทั้งนี้ในการทดลองที่สันป่าตองในปี 2526 ได้ใช้พันธุ์ถั่วเหลืองไม่สร้างปม D68-0099 เป็นพืชมาตรฐานคำนวณเปรียบเทียบกับถั่วเหลืองพันธุ์ที่ปลูก เพราะไม่มีพืชอื่นที่ดีกว่า ทำให้เห็นความจำเป็นในการคัดเลือกพืชมาตรฐานให้เหมาะสมยิ่งขึ้น สำหรับนำมาใช้ในการศึกษาปริมาณการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลืองที่ปลูกในประเทศไทยในสภาพต่างๆ กัน โดยวิธี ^{15}N -Isotope Dilution

อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการทดลองทั้งในฤดูฝนและฤดูแล้ง ปี พ.ศ. 2528 ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ AVRDC ฟาร์มมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน และศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น จัดดำเนินการทดลองแบบ Randomized Complete Block โดยใช้เมล็ดพันธุ์ สจ.5 ทั้งคลุกเชื้อไรโซเบียมและไม่คลุกเชื้อ (*B. japonicum*) พืชที่ไม่ตรึงไนโตรเจน ได้แก่ ถั่วเหลืองพันธุ์ไม่สร้างปม 3 พันธุ์ คือ D68-0099, TOL-O และ A62-2 ข้าวฟ่าง (*Sorghum bicolor* DA-1) ข้าวไร่ (*Oryza Sativa*, Sew Majun) ข้าวโพด (*Zea Mays* Suwan 1) และข้าวสาลี (*Triticum aestivum* cv. INIA 15) ข้าวบาเลย์ (*Hordeum vulgare*) cv. Ihora 118) วิธีการดำเนินงานโดยละเอียด ได้รายงานไว้โดย ปทุม สนิทวงศ์ และคณะ (2529) แต่โดยทั่วไปแล้ว การดำเนินงานภายใต้โครงการนี้แปลงทดลองมีขนาด 2x4 ม. ระยะปลูก 50x10 ซม. ปลูก 2 ต้นต่อหลุมใส่ปุ๋ยฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมอัตรา 9 กก. P_2O_5 และ 6 กก. K_2O ต่อไร่ สำหรับปุ๋ยไนโตรเจน ^{15}N ใช้ในรูปของยูเรียที่มีปริมาณ ^{15}N 5% atom excess อัตรา 1.6 กก. N ต่อไร่ ฉีดสารละลาย ^{15}N ลง

ไปในดินห่าง 5 ซม. จากต้นถั่วเหลืองลึก 5-7 ซม. เก็บตัวอย่างเมื่อต้นพืชถึงระยะเก็บเกี่ยว

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการทำแปลงทดลองทั้ง 3 แห่ง ปรากฏว่าที่กำแพงแสนปริมาณไนโตรเจนในดินค่อนข้างสูง (49.6 กก. N ต่อไร่) มีผลต่อการตรึงไนโตรเจนจากอากาศของถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และจากการตรวจสอบด้วยวิธีอะเซททีลีนรีดักชันก็ไม่พบการตรึงไนโตรเจนเลย การตรวจพบเช่นนี้กลับเป็นผลดีต่อการทดลองในการคัดเลือกพืชมาตรฐาน กล่าวคือพืชที่นำมาศึกษาทั้งหมดสามารถนำมาเปรียบเทียบกับพันธุ์ สจ.5 เมื่อปลูกโดยไม่คลุกเชื้อ และจากการพิจารณาผลการทดลองแล้ว พบว่าถั่วเหลืองพันธุ์ไม่สร้างปม TOL-O และ A62-2 รวมทั้งข้าวฟ่าง และข้าวโพดก็สามารถใช้เป็นพืชมาตรฐานได้เช่นเดียวกัน และที่เหมาะสมที่สุดก็คือ พันธุ์ถั่วเหลืองไม่สร้างปมของประเทศญี่ปุ่น TOL-O และ A62-2 ส่วนพันธุ์ D68-0099 ของสหรัฐอเมริกา และข้าวไร่ ไม่สมควรนำมาพิจารณาเป็นพืชมาตรฐานเพื่อการนี้

จากการทดลองนี้พบว่าถั่วเหลือง สจ.5 สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้เฉลี่ย 52% ที่แม่ไร่ จังหวัดเชียงใหม่ และ 68% ที่ขอนแก่น ของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของต้นถั่วเหลืองทั้งที่คลุกเชื้อและไม่คลุกเชื้อไรโซเบียม การคัดเลือกพืชมาตรฐานเพื่อนำมาใช้ในวิธีการ ^{15}N -Isotope Dilution เพื่อวัดปริมาณการตรึงไนโตรเจนจากอากาศของถั่วเหลืองยังจำเป็นต้องศึกษาในสภาพต่างๆ กัน และเพื่อให้การประเมินนี้ถูกต้องมากยิ่งขึ้น ในการทำการทดลองสมควรใช้พืชมาตรฐานที่คัดเลือกมากชนิดเท่าที่จะทำได้ เพื่อนำค่า atom% ^{15}N excess ต่างๆ มาพิจารณาร่วมกัน และหาค่าเฉลี่ย

$$\% \text{ ปริมาณไนโตรเจนจากอากาศ} \\ = \frac{1 - \text{atom \% N excess (fs)}}{\text{atom \% N excess (nfs)}} \times 100$$

fs = พืชที่ตรึงไนโตรเจน

nfs = พืชที่ไม่ตรึงไนโตรเจน

การทดลองที่ 2 การศึกษาเปรียบเทียบ พันธุ์ถั่วเหลืองต่าง ๆ ในการตรึงไนโตรเจน

พันธุ์ถั่วเหลือง (*Glycine max* L. Merrill) ต่าง ๆ ที่เป็นพันธุ์แนะนำ และพันธุ์ที่กำลังปรับปรุงต่าง ๆ นั้น จะมีความแตกต่างในคุณสมบัติของพันธุ์ คุณสมบัติหนึ่งของพันธุ์ถั่วเหลืองที่โครงการนี้สนใจ และต้องการพัฒนา คือความสามารถในการตรึงไนโตรเจนจากอากาศที่ดีกว่าพันธุ์อื่น เพื่อนำมาใช้ในการทดลองศึกษาความแตกต่างของดำรับการทดลองในแง่ต่าง ๆ กัน ในเรื่องที่เกี่ยวข้องกับการส่งเสริมการตรึงไนโตรเจน หรือส่งเสริมการเพิ่มผลผลิตของถั่วเหลือง ดังนั้นการทดลองครั้งนี้จึงได้ศึกษาความแตกต่างในการตรึงไนโตรเจนของพันธุ์ถั่วเหลืองต่าง ๆ เมื่อใส่เชื้อไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพเปรียบเทียบกับเชื้อไรโซเบียมที่มีอยู่เดิมในดิน (indigenous soil-inoculated *B. japonicum*)

อุปกรณ์และวิธีการ

ได้ใช้พันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์แนะนำของประเทศไทย คือ สจ.1, 2, 4 และ 5 และพันธุ์ AVRDC advanced line (16-4) ทำการทดลอง (กรกฎาคม 2528) ทั้ง 3 สถานที่เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 คือที่เชียงใหม่ กำแพงแสน และขอนแก่น การปลูกพืชและการใส่ปุ๋ย ^{15}N ใช้วิธีการเดียวกับการทดลองที่ 1 และทุกๆ การทดลองภายใต้โครงการนี้ ใช้วิธีการเดียวกัน เชื้อไรโซเบียมที่ใช้เป็นชนิด granular soil implant ประกอบด้วย *B. japonicum* 61A 101C, 61A 119b, 61A 124, และ 61A 148 ปริมาณ 2 กรัมต่อหลุมที่หยอดเมล็ดถั่วเหลือง โดยใส่ทันทีที่หยอดเมล็ดแล้วกลบ (Nitragin Co, Milwaukee, WI, 7.3×10^7 rhizobia ต่อกรัม)

ผลการทดลองและวิจารณ์

ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ วัดปริมาณการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลืองได้ค่าเฉลี่ย 44.3% โดยไม่ขึ้นอยู่กับการใช้เชื้อไรโซเบียม ถั่วเหลืองทั้ง 5 พันธุ์

ที่นำมาทดสอบ ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ไม่แสดงความแตกต่างในการตรึงไนโตรเจน แต่ที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น พันธุ์ สจ.2 สามารถตรึงไนโตรเจนได้ดีกว่าพันธุ์อื่น อย่างไรก็ตาม พันธุ์ สจ.4 และ สจ.5 ก็สามารถตรึงไนโตรเจนได้ดีกว่า สจ.1 และพันธุ์ AVRDC 16-4

การทดลองที่ 3 การคัดเลือกชนิดของ *B. japonicum* ที่ทนทานต่อสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม

สำหรับสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เชื้อแบคทีเรียในไรโซเบียมควรจะต้องมีความต้านทานให้อยู่ได้เพื่อทำหน้าที่ตรึงไนโตรเจนจากอากาศ ปัญหาของดินในประเทศไทยส่วนใหญ่จะเป็นปัญหาของดินที่มีความเป็นกรดสูง และอลูมิเนียมสูง จึงได้มีการทดสอบคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อสภาพแวดล้อมดังกล่าว

อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการศึกษาในสภาพห้องปฏิบัติการที่ Lethbridge Research Station ประเทศแคนาดา ใช้สายพันธุ์แบคทีเรีย จากแหล่งต่างๆ รวมทั้งจากประเทศไทยทดสอบในแผ่นอะการ์ (agar plate) ที่มี pH8 มีปริมาณอลูมิเนียม 50 nm ความทนทานของเชื้อไรโซเบียมตรวจสอบจากจำนวนแบคทีเรียที่เจริญเติบโตบนแผ่นอะการ์ เปรียบเทียบกับจำนวนแบคทีเรียบนแผ่นอะการ์ที่ไม่มีปริมาณอลูมิเนียมที่ pH7

ผลการทดลองและวิจารณ์

สายพันธุ์ที่นำมาทดสอบทั้งหมด คือ Niftal ต่างๆ จำนวน 29 สายพันธุ์ และ USDA 6 สายพันธุ์ Nitragin 7 สายพันธุ์ THA 3 สายพันธุ์ และ RCR 8 สายพันธุ์ ปรากฏว่าคัดเลือกมาได้ 22 สายพันธุ์ ที่มีความทนทานต่อสภาพเป็นกรด และปริมาณอะลูมิเนียมสูง ดังแสดงไว้ใน Table 1

Table 1. Acid and aluminum tolerance of *B. japonicum* strains

Strain	Tolerance (%)	Strain	Tolerance (%)
NifTal		USDA	
102	5	8 - T	5
149	0	15 - T	5
150	22	31	69
153	0	38	5
154	0	110	5
155	10	122	5
211	33	Nitragin	
212	46	61A 101	0
213	6	61A 101C	16
215	70	61A 118B	0
216	67	61A 124	0
377	0	61A 124A	0
379	0	61A 148	3
390	5	61A 148 MT	2
409	13	THA	
410	88	1	5
411	69	2	33
413	39	7	45
414	0		
415	71	RCR	
429	24	3407	5
431	0	3426	0
432	0	3427	5
433	0	3428	5
434	0	BR587	10
649	39	NC1005	5
824	56	NC1030	5
994	83		

การทดลองที่ 4 การวัดปริมาณการตรึงไนโตรเจนในถั่วเหลือง โดย *B. japonicum* สายพันธุ์ต่าง ๆ

เชื้อ *B. japonicum* สายพันธุ์ต่างๆ มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนได้แตกต่างกัน การทดสอบในสภาพแปลงทดลองทำให้เสียเวลา และสิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย จึงใช้การคัดเลือกในห้องปฏิบัติการเป็นการคัดเลือกสายพันธุ์ดังกล่าวต่างๆ ที่มีแนวโน้มที่จะตรึงไนโตรเจนได้ดีกว่า

อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษาคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อไรโซเบียม

ต่างๆ ครั้งนี้ทำที่ Lethbridge Research Station โดยใช้พันธุ์ถั่วเหลืองจากประเทศไทย พันธุ์ สจ.2 และ สจ.5 กับเชื้อไรโซเบียมต่างๆ จำนวน 20 สายพันธุ์ รวมทั้งจาก Nitragin Co. โดยปลูกถั่วเหลืองในกระถางเครื่องปลูก (Cornell mix) ที่ปลอดจากธาตุไนโตรเจน คลุกเชื้อไรโซเบียมที่ต้องการทดสอบ แล้วทิ้งไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิสำหรับการปลูกพืช เก็บตัวอย่างมาศึกษาเมื่อต้นถั่วเหลืองมีอายุ 7-8 สัปดาห์ (ระยะออกดอก) หลังการปลูก โดยตัดต้นส่วนบน และแยกรากออกได้ พร้อมทั้งร่อนดินเพื่อเก็บปมถั่วเหลืองที่ตกค้างอยู่ในดินมารวมกับราก แล้วนำไปใส่ในขวดขนาด 500 ซีซี มีฝาปิดแน่น ตรวจวัดปริมาณไนโตรเจนที่ถูกตรึงด้วยถั่วเหลือง โดยวิธี Acetylene reduction

Table 3. Soybean seed yield and N-15 measurement of N₂ fixation as influenced by different *B. japonicum* strains in soil near Khon Kaen Thailand.

Strain	Seed yield kg/rai	N ₂ fixation kg N/rai
Cultivar SJ4		
THA 2	399	17.5
THA 7	341	15.8
NifTal 213	305	17.5
NifTal 411	316	20.1
NifTal 413	406	21.4
NifTal 429	273	14.3
61A 148	322	15.6
NifTal 944	258	4.11
Uninoculated	340	12.3
Cultivar SJ5		
THA 2	323	16.0
THA 7	336	17.7
NifTal 213	339	13.2
NifTal 411	418	26.8
NifTal 413	261	14.9
NifTal 429	242	15.3
NifTal 148	412	22.4
NifTal 944	313	8.0
Uninoculated	349	14.6
HSD (p = 0.05)		
Strain	93	5.5
Cultivar	21	1.5
Analysis of variance		
Strain	NS	**
Cultivar	NS	NS
Strain x Cultivar	NS	NS

ในการเพิ่มผลผลิตถั่วเหลืองก็คือ เชื้อเหล่านี้มาจากต่างประเทศ และสายพันธุ์ของแบคทีเรียเป็นสายพันธุ์ที่คัดเลือกจากประเทศที่ผลิตเชื้อไรโซเบียม การศึกษาครั้งนี้เพื่อทดสอบสายพันธุ์ *B. japonicum* ต่างๆ ในสภาพแปลงทดลองในประเทศไทย

อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการทดลองในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ที่จังหวัดขอนแก่น (ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น) ภาคเหนือ (ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่) และภาคกลาง (มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์) โดยใช้พันธุ์ถั่วเหลือง สจ.4 และสจ.5 การประเมินปริมาณการตรึงไนโตรเจน

ใช้วิธีการทางนิวเคลียร์ คือ ¹⁵N-Isotope Dilution พืชมาตรฐานที่ใช้คือ ข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ 1 (ไม่ตรึงไนโตรเจนจากอากาศ) สายพันธุ์ *B. japonicum* 8 ชนิด คือชนิดที่ผลิตในประเทศสหรัฐอเมริกา (Nitragin Co.) และจาก NifTal รวมทั้ง NifTal 944 ซึ่งเป็นชนิดสร้างปม แต่ไม่ตรึงไนโตรเจน (ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ) แต่ละสถานที่ใช้ *B. japonicum* ไม่เหมือนกันทุกตัว วางแผนการทดลองแบบ มี randomized complete block 6 ซ้ำ ขนาดแปลงทดลอง 6x2 ม. ระยะปลูก 50x10 ซม. มี 4 แถว ในหนึ่งแปลงย่อย ปลูก 2 ต้นต่อหลุม

Table 4. Soybean seed yield and N-15 measurement of N₂ fixation as influenced by different *B. japonicum* strains in soil near Kamphaeng Saeng, Thailand.

Strain	Seed yield kg/rai	N ₂ fixation kg/rai
Cultivar SJ4		
THA 7	315.2	20.1
THA 2	283.7	17.2
NifTal 411	339.0	20.6
NifTal 413	333.8	14.0
NifTal 944	116.2	2.5
61A 148	241.6	14.0
61A 101C	193.0	5.0
Nitragin mix	285.6	11.7
Uninoculated	194.7	5.4
Cultivar SJ5		
THA 7	331.2	11.9
THA 2	238.2	8.8
NifTal 411	265.8	11.7
NifTal 413	267.2	12.5
NifTal 944	101.8	4.8
61A 148	275.5	11.7
61A 101C	288.0	11.6
Nitragin mix	252.3	14.9
Uninoculated	219.2	9.1
HSD (p = 0.05)		
Strain	59.5	3.7
Cultivar	28.0	1.7
Analysis of variance		
Strain	NS	NS
Cultivar	NS	NS
Strain x Cultivar	NS	NS

ผลการทดลองและวิจารณ์

ที่เชียงใหม่ (Table 2) สจ.5 ให้ผลผลิตดีที่สุดใน ซึ่งเป็นผลที่ได้จากการใช้สายพันธุ์เชื้อไรโซเบียมที่เหมาะสมกว่าพันธุ์ สจ.4 และปรากฏว่าเป็นสายพันธุ์ซึ่งมีกำเนิดในประเทศไทย สายพันธุ์ที่ดีคือ THA 2, THA 7, NifTal 649, NifTal 410 และ 16A101C ปริมาณการตรึงไนโตรเจนวัดได้ระหว่าง 16.7-26.0 กิโลกรัมไนโตรเจน/ไร่ (104-163 กิโลกรัมไนโตรเจน/เฮกตาร์)

ที่ขอนแก่น (Table 3) ผลผลิตเฉลี่ยของทั้งสองพันธุ์อยู่ระหว่าง 242-418 กิโลกรัม/ไร่ (1511-

2612 กิโลกรัม/เฮกตาร์) ถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 ให้ผลผลิตดีกว่าพันธุ์ สจ.4 เมื่อใช้ *B. japonicum* NifTal 944 NifTal 213 และ 61A 143 และพันธุ์ สจ.4 จะเหมาะสมและให้ผลผลิตดีเมื่อใช้ THA 2 NifTal 413 และ NifTal 429 อย่างไรก็ตามในการวัดปริมาณการตรึงไนโตรเจนโดยวิธี ¹⁵N-Isotope Dilution ที่ได้ค่าสูงมากจะมาจากเชื้อไรโซเบียม NifTal 411, NifTal 413, TH 2, THA 7 และ 61A 148 ซึ่งแสดงว่าสายพันธุ์แบคทีเรียของเชื้อไรโซเบียมชนิดต่างๆ จะให้ผลกระทบแตกต่างกันกับพันธุ์ถั่วเหลืองที่ขอนแก่น พันธุ์ถั่วเหลืองไม่แสดงความแตกต่างของผลผลิต

น้ำหนักแห้งของพืช ผลผลิตเมล็ด และปริมาณการตรึงไนโตรเจน

ที่กำแพงแสน (Table 4) ผลผลิตของถั่วเหลือง สจ.4 และ สจ.5 สูงกว่าผลผลิตที่ปลูกในแปลงที่เชียงใหม่ การตรวจสอบดินที่กำแพงแสน ปรากฏว่าไม่พบเชื้อ *B. japonicum* อย่างไรก็ตามพบว่า มีการตรึงไนโตรเจนเมื่อไม่ใส่เชื้อไรโซเบียมให้ต้นถั่วหรือใส่ NifTal 944 เชื้อไรโซเบียมต่างๆ มีผลให้ปริมาณการตรึงไนโตรเจนในต้นถั่วเหลืองแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด ปริมาณการตรึงไนโตรเจนที่วัดได้ระหว่าง 3-24 กิโลกรัมต่อไร่ (16-147 กิโลกรัม/เฮกตาร์) ซึ่งเป็นปริมาณที่ต่ำกว่าที่เชียงใหม่โดยเฉพาะจากเชื้อไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพน้อยที่สุด

จากการทดลองในสภาพไร่ สรุปได้ว่า *B. japonicum* ที่ดีที่สุดที่จะให้ทั้งผลผลิตเมล็ดถั่วเหลือง และปริมาณการตรึงไนโตรเจนสูง ควรจะเป็น NifTal 411, NifTal 431, 61A148, THA 2 และ THA 7

การทดลองที่ 6 ผลของการใช้สารกำจัดวัชพืช ต่อการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลือง

เกษตรกรผู้ปลูกถั่วเหลืองมักใช้สารกำจัดวัชพืชแทนการถอนด้วยมือ และสารเหล่านี้ให้ผลกระทบทางลบต่อการสร้างปมของถั่วเหลือง และการตรึงไนโตรเจน เมื่อมีการคลุกเชื้อเมล็ดด้วยเชื้อไรโซเบียม การศึกษานี้เพื่อศึกษาถึงผลของสารเคมีบางชนิดที่ใช้กันทั่วไปสำหรับกำจัดวัชพืชต่อการคลุกเชื้อ

Table 5. Effect of herbicides on soybean seed yield, N contents and N-fixation by *Bradyrhizobium japonicum* determined by N-15 dilution methods.

Herbicides	Brady Japon inoc	Seed yield (kg/rai)	Ndfa (%)	Total N Fixed (kg/rai)
Sethoxydim	+	215	82.5	19.1
	-	193	77.1	14.3
Alachlor	+	212	80.0	23.4
	-	195	79.4	17.6
Matolachlor	+	199	79.0	18.6
	-	191	75.6	17.3
Fluazifop	+	195	82.7	20.5
	-	185	79.4	14.4
Paraquat	+	199	82.7	17.6
	-	177	32.8	15.6
Untreated	+	217	83.0	21.5
	-	186	81.6	17.2
HSD (p<.05)				
herbicide		25	2.9	3.7
inoculum		14	1.7	2.2
Anal. of Variance				
herbicide		ns	ns	ns
inoculum		*	**	**
herb x inoc		*	ns	*

Ndfa = N derived from the atmosphere as calculated by N-15 dilution methods

= total N₂ fixed based on N-15 dilution calculations

* = diff. sig. at p<.05

** = diff. sig. at p<.01

ns = non-sig. diff.

ไรโซเบียมกับเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการศึกษาในแปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ เชียงใหม่(ฤดูแล้ง) ใช้พันธุ์ถั่วเหลือง สจ.5 ข้าวโพด พันธุ์สุวรรณ 1 เป็นพืชมาตรฐาน การประเมินปริมาณ การตรึงไนโตรเจนด้วยวิธีการทางนิวเคลียร์ สารกำจัด วัชพืช 5 ชนิด ที่นำมาศึกษามีชื่อสามัญดังนี้ alachlor, fluazifop, metolachlor, paraquat และ sethoxydim (Kucey *et al.* 1988)

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการทดลองที่เชียงใหม่ (Table 5) แสดงว่า การใช้สารกำจัดวัชพืชไม่มีผลต่อการตรึง ไนโตรเจนของถั่วเหลืองไม่ว่าจะคลุกเชื้อ หรือไม่คลุก เชื้อไรโซเบียมก็ตาม ทั้งนี้ยกเว้นกรณีของ paraquat

เมื่อคลุกเชื้อไรโซเบียม เปรียบเทียบปริมาณการตรึง ไนโตรเจนเมื่อใช้สาร (17.6%) และไม่ใช้สาร (21.5%) ถ้าพิจารณาผลจากการคลุกเชื้อไรโซเบียม และไม่คลุกเชื้อแยกกันต่อปริมาณการตรึงไนโตรเจน สารเคมี sethoxydim ที่ใช้กับการไม่คลุกเชื้อไรโซ-เบียมจะให้ปริมาณการตรึงไนโตรเจนลดลง ผลผลิต เมล็ดถั่วเหลืองไม่ถูกระทบด้วยการใช้สารกำจัด วัชพืชแต่อย่างใด ทั้งที่มีการคลุกเชื้อเมล็ดหรือไม่ ได้คลุกเชื้อ

การทดลองที่ 7 ผลของระยะเวลาการให้ น้ำต่อปริมาณการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลือง

ในภาคเหนือจะทำการปลูกถั่วเหลืองก็มักจะขึ้น อยู่กับปริมาณน้ำชลประทาน ซึ่งบางปีหรือบางช่วง ระยะเวลาปล่อยน้ำชลประทานมีข้อจำกัด เพราะปัญหา ความแห้งแล้งมีแนวโน้มจะทวีความรุนแรงขึ้น และ

Table 6. Effect of water stress on seed yield and N-fixation for 4 soybean cultivars.

Water Stress	Soybean Cultivar	Seed yield (kg/rai)	Allantoin (mg/g)	N Fixed ^a (kg/rai)
Low	SJ 1	337.4	2.59	14.1
	SJ 2	299.0	5.17	15.3
	SJ 4	301.9	3.39	18.1
	SJ 5	312.3	4.31	9.6
Medium	SJ 1	288.3	4.77	14.2
	SJ 2	276.8	5.69	10.0
	SJ 4	250.0	4.65	13.5
	SJ 5	293.8	4.57	8.9
High	SJ 1	257.9	3.45	1.9
	SJ 2	235.5	3.92	2.8
	SJ 4	231.4	4.07	1.1
	SJ 5	245.6	2.19	0.4
HSD (p<.05)	water	22.9	1.50	3.4
	Cultivar	26.4	1.73	3.9
Anal. of Variance				
water stress		**	ns	**
soy cultivar		ns	ns	ns
stress x cult		ns	ns	ns

^a Relative increase in total N₂ fixed using water-stressed SJ5 as baseline

ในปัจจุบันยังไม่ได้มีการศึกษาถึงผลกระทบของการขาดน้ำต่อประสิทธิภาพของ *B. japonicum* ในการตรึงไนโตรเจน การศึกษานี้จึงได้กำหนดวิธีการให้น้ำต่อการปลูกถั่วเหลืองเป็น 3 แบบ เพื่อศึกษาผลกระทบต่อผลผลิต และปริมาณการตรึงไนโตรเจน

อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการทดลองที่ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ในฤดูแล้ง กำหนดวิธีการให้น้ำ 3 แบบ ดังนี้

- (1) ให้น้ำทุกสัปดาห์/ครั้ง
- (2) ให้น้ำทุก 2 สัปดาห์/ครั้ง
- (3) ให้น้ำเมื่อใบถั่วเหลืองเริ่มเหี่ยว

ใช้พันธุ์ถั่วเหลือง สจ.1, สจ.2, สจ.4 และ สจ.5 วิธีการปลูกพืชและแปลงทดลองปฏิบัติเช่นเดียวกับแปลงทดลองที่อื่นที่ดำเนินการภายใต้โครงการ

ผลการทดลองและวิจารณ์

Table 6 แสดงให้เห็นว่า การลดการให้น้ำทุกสัปดาห์เป็นทุก 2 สัปดาห์ ต่อครั้งมีผลให้ผลผลิตเมล็ดของถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.1 และ สจ.4 ลดลง แต่พันธุ์ สจ.2 และ สจ.5 ยังให้ผลผลิตใกล้เคียงกับการได้รับน้ำทุกสัปดาห์ การงดให้น้ำเกินกว่า 2 สัปดาห์จนใบถั่วเหลืองเหี่ยวแล้วจึงให้น้ำ ทำให้ผลผลิตเมล็ดลดลงทุกพันธุ์ ถั่วเหลืองที่ปลูกศึกษาครั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบกับผลผลิตของถั่วเหลืองที่ได้รับน้ำทุกสัปดาห์พันธุ์ สจ.1, สจ.2 และ สจ.5 ให้ผลผลิตลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับผลผลิตเมล็ดของต้นถั่วที่ได้รับน้ำทุก 2 สัปดาห์ พันธุ์ สจ.1 และ สจ.5 ให้ผลผลิตดีที่สุดไม่ว่าจะให้น้ำแบบใดใน 3 แบบที่ทดสอบปริมาณการตรึงไนโตรเจน (ค่าเปรียบเทียบ) ของถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.2 และ สจ.4 ที่ได้รับน้ำทุก 2 สัปดาห์ ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติการงดให้น้ำเกินกว่า 2 สัปดาห์ หรือให้น้ำเมื่อถั่วเหลืองเหี่ยวทำให้ปริมาณการตรึงไนโตรเจนลดลงทุกพันธุ์ สำหรับการให้น้ำตามปกติทุกสัปดาห์ต่อครั้ง พบว่าถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 สามารถตรึงไนโตรเจนได้น้อย

กว่าพันธุ์ สจ.1, สจ.2 และ สจ. 4 เมื่อพิจารณาการให้น้ำทุก 2 สัปดาห์ต่อครั้ง พบว่าพันธุ์ สจ.5 ยังคงเป็นพันธุ์ที่ตรึงไนโตรเจนได้น้อยกว่าอีก 3 พันธุ์

การทดลองที่ 8 ผลของการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในถั่วเหลืองต่อการตรึงไนโตรเจน

ในเชื้อไรโซเบียมจะมีแบคทีเรียที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนจากอากาศให้พืชตระกูลถั่วได้ใช้ประโยชน์ในการเจริญเติบโต การให้ธาตุ N อาจได้จากปุ๋ยเคมีในบางกรณี การให้ปุ๋ย N ระดับต่ำแก่พืชตระกูลถั่วอาจเป็นการกระตุ้นให้เกิดการเจริญเติบโตดีกว่า และมีการตรึงไนโตรเจนได้ดีด้วยเป็นที่ทราบแล้วว่าการให้ปุ๋ย N ในระดับสูงในพืชตระกูลถั่ว จะไปจำกัดกิจกรรมการตรึงไนโตรเจน แต่ปัจจุบันยังไม่ทราบแน่ชัดว่าปุ๋ย N ระดับใด เป็นการกระตุ้น และระดับใดไปจำกัดกิจกรรมการตรึงไนโตรเจนในถั่วเหลืองที่ปลูกในประเทศไทย การศึกษานี้ทำการศึกษาระดับของปุ๋ย N ต่างๆ ที่จะให้ผลต่อผลผลิต และปริมาณการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลืองในสภาพ ไร่

อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการศึกษาที่แปลงทดลองของศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ และแปลงทดลองในมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน ใช้พันธุ์ถั่วเหลือง สจ.5 อัตราปุ๋ย N คือ 0, 8, 16, 24, 32 และ 40 กก. N/ไร่ ใช้เชื้อไรโซเบียมผสมของ NifTal 411, NifTal 413, NifTal 410 และ THA 7 (ซึ่งได้คัดเลือกจากการทดลองก่อนหน้านี้แสดงว่าเป็นสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพ) และมีการเปรียบเทียบระหว่างการคลุกเชื้อ และไม่คลุกเชื้อไรโซเบียมต่อผลผลิตและการตรึงไนโตรเจน ซึ่งวัดโดยวิธีการทางนิวเคลียร์ ใช้ข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ 1 เป็นพืชมาตรฐาน (วิธีการปลูกพืช และการใส่ปุ๋ย ¹⁵N ปฏิบัติเช่นเดียวกับการทดลองที่เกี่ยวข้องภายใต้โครงการ)

Table 7. Effect of *B. japonicum* inoculation and pre-plant N additions on seed yield, plant N and relative NDFA at Chiang Mai.

N added (kg/rai)	Rhiz. inoc.	Seed yield (g/1.5 m ²)	Plant N (%)	Relative NDFA
0	-	31.8	3.06	90
	+	27.8	3.11	100
8	-	32.8	3.72	56
	+	34.7	3.15	77
16	-	28.6	3.30	26
	+	20.1	3.47	36
24	-	24.0	3.44	29
	+	25.3	3.91	24
32	-	31.4	3.14	31
	+	29.8	3.09	32
40	-	31.5	3.54	15
	+	33.8	3.15	21
HSD (0.05)	Inoc	3.8	0.30	15
	N rate	5.6	0.52	27
	Rate x inoc	8.0	37.40	38
Analysis of variance	Inoc	NS		NS
	N rate	*		**
	Rate x inoc	NS		NS

Relative NDFA = relative proportion of N derived from the atmosphere = (NDFA/NDFA for ON inoculated treatment) x 100

ผลการทดลองและวิจารณ์

สำหรับแปลงทดลองที่เชียงใหม่ (Table 7) การใช้เชื้อไรโซเบียมไม่มีผลต่อการตรึงไนโตรเจนของต้นถั่วเหลือง ซึ่งตรวจสอบด้วยการนับจำนวนปมที่รากต้นถั่ว การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนทำให้จำนวนปมที่เกิดลดลงทั้งที่มีการคลุกเชื้อ หรือไม่มีการคลุกเชื้อ ไรโซเบียมให้เมล็ดถั่ว เมื่อตรวจสอบที่ระยะ 45 วัน หลังปลูก แต่ผลกระทบนี้จะไม่พบเมื่อต้นถั่วมีอายุ 60 วัน ผลกระทบจากปุ๋ยไนโตรเจนเกิดเช่นเดียวกับน้ำหนักของปมถั่ว คือน้ำหนักลดลงเมื่อถั่วมีอายุ 45 วัน และผลกระทบหายไปเมื่อต้นถั่วมีอายุ 60 วัน ผลผลิตเมล็ดจากดำรับการทดลองใส่ปุ๋ย 16 หรือ 24 กก. N/ไร่ ต่ำกว่าดำรับปุ๋ย N อื่นๆ สัดส่วน (%) ของ

ไนโตรเจนในพืชที่มาจากอากาศ จากดิน และจากปุ๋ย ไม่มีความสัมพันธ์ หรือเกิดผลกระทบต่อการคลุกเชื้อไรโซเบียม อย่างไรก็ดี อัตราปุ๋ย N ที่สูง ทำให้สัดส่วนของไนโตรเจนในพืชที่มีมาจากอากาศลดลง และเป็นผลให้ปริมาณการตรึงไนโตรเจนลดลง

สำหรับแปลงทดลองที่กำแพงแสน (Table 8) ให้ผลตรงกันข้ามการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนมีผลกระทบให้เกิดการสร้างปมถั่วมากขึ้นทุกอัตราปุ๋ยที่ใช้ ซึ่งเป็นผลให้มีปริมาณการตรึงไนโตรเจนได้มากขึ้น ร่วมกับการใส่เชื้อไรโซเบียมที่ทำให้สัดส่วนของไนโตรเจนในพืชจากอากาศเพิ่มขึ้น ผลผลิตเมล็ดที่เพิ่มขึ้นเป็นผลผลิตตรงจากการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และการใช้เชื้อไรโซเบียม

Table 8. Effect of *B. japonicum* inoculation and pre-plant N additions on seed yield, plant N and relative NDFA at Kampang Saen.

N added (kg/rai)	Rhiz. inoc.	Seed yield (g/1.5m ²)	Plant N (%)	Relative NDFA
0	-	69.4	-	-
	+	110.3	-	-
8	-	126.1	-	42
	+	137.0	-	100
16	-	84.8	-	4
	+	125.7	-	64
24	-	103.3	-	-
	+	127.1	-	-
32	-	89.6	-	-
	+	146.4	-	-
40	-	105.4	-	20
	+	168.3	-	49
HSD (0.05)	Inoc	19.0	-	22
	N rate	33.1	-	31
	Rate x inoc	46.9	-	44
Analysis of Variance	Inoc	**	-	**
	N rate	*	-	**
	Rate x inoc	NS	-	NS

การทดลองที่ ๑ ผลของการใส่ปุ๋ยฟอสเฟตในถั่วเหลืองต่อการตรึงไนโตรเจน

เพื่อหาข้อมูลเพิ่มเติมด้านการใช้ปุ๋ยต่อการผลิตถั่วเหลืองให้ได้ผลผลิตสูงขึ้นต่อเนื่องที่ โดยเฉพาะปุ๋ยฟอสเฟตในอัตราที่เหมาะสม ร่วมกับพันธุ์ถั่วเหลืองและการใช้เชื้อไรโซเบียม ให้มีการส่งเสริมกิจกรรมการตรึงไนโตรเจนในต้นถั่วเหลือง การทดลองนี้เพื่อศึกษาปุ๋ยฟอสเฟตต่อการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลืองเมื่อใช้เชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ดี

อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการทดลองที่ ศูนย์วิจัยพืชไร่ขอนแก่น โดยใช้ถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.4 และ สจ.5 ปุ๋ยทริบเบิ้ลซูเปอร์ฟอสเฟตอัตรา 0, 8, 16 กก. P₂O₅/ไร่ ใช้ข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ 1 เป็นพืชมาตรฐานในการประเมินการ

ตรึงไนโตรเจนจากอากาศ โดยวิธี isotope-dilution แปลงย่อยขนาด 6x6 ม. การปลูกและการปฏิบัติต่างๆ เช่นเดียวกับการทดลองอื่นภายใต้โครงการ

ผลการทดลองและวิจารณ์

ปุ๋ยทริบเบิ้ลซูเปอร์ฟอสเฟต อัตรา 8 กก. P₂O₅/ไร่ ทำให้ถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.4 มีปริมาณการตรึงไนโตรเจนที่ระยะออกฝักสูงถึง 23.3 กก. N/ไร่ สูงกว่าปริมาณการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลือง สจ.4 เมื่อไม่ใส่ปุ๋ยฟอสเฟต (9.2 กก. N/ไร่) ปุ๋ยฟอสเฟตอัตราสูง (16 กก. P₂O₅/ไร่) ทำให้ปริมาณการตรึงไนโตรเจนลดลงเป็น 10.4 กก. N/ไร่ เท่านั้น หรือลดลง 62% ถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 ให้ผลการศึกษาคั้งนี้สอดคล้องกับพันธุ์ สจ.4 กล่าวคือ ปุ๋ยทริบเบิ้ลซูเปอร์ฟอสเฟตจะให้ปริมาณการตรึงไนโตรเจนเป็น 8.1, 16.8 และ 10.2 กก. N/ไร่ ต่ออัตราปุ๋ย 0, 8 และ 16

กก. P_2O_5 ตามลำดับ การตรึงไนโตรเจนคิดเป็น % กับ ปริมาณการตรึงไนโตรเจนคิดเป็น กก. N/ไร่ ไม่แตกต่างกันทั้งสองพันธุ์ที่นำมาศึกษาคือ สามารถตรึงไนโตรเจนได้ระหว่าง 21-32% โดยที่ปริมาณการตรึงไนโตรเจนได้ระหว่าง 3.3-5.9 กก. N/ไร่ ผลผลิตเมล็ดของถั่วเหลืองทั้งสองพันธุ์ไม่แตกต่างกัน และไม่ขึ้นกับอัตราปุ๋ยฟอสเฟตที่ใส่ ผลผลิตที่ได้อยู่ระหว่าง 129-154 กก./ไร่ อย่างไรก็ตามอัตราปุ๋ยฟอสเฟต 8 กก. P_2O_5 /ไร่ แสดงแนวโน้มที่จะเพิ่มผลผลิตเมล็ดและน้ำหนักแห้งรวมของถั่วเหลืองทั้งสอง

พันธุ์ และการตรึงไนโตรเจนในระยะการออกฝักของถั่วเหลืองทั้งสองพันธุ์สูงกว่าการไม่ใส่ปุ๋ยฟอสเฟตประมาณ 2 เท่า

การทดลองที่ 10 การแข่งขันระหว่างแบคทีเรียของเชื้อไรโซเบียมที่ใส่กับแบคทีเรียของไรโซเบียมในธรรมชาติต่อการตรึงไนโตรเจนในถั่วเหลือง

การใช้เชื้อไรโซเบียมบางชนิดคลุกเมล็ดถั่ว

Table 9. Effectiveness of different number of rhizobia on nodule, seed yield and N_2 fixation of soybean.

Strain	Number of rhizobia	Nodule wt. 45 day mg	Nodule wt. 60 day mg	Seed yield g/12 plants	Plant N g/12 plants	N_2 fixed g/12 plants
NifTal 410	Low	826	1,813	1,364	4.29	2.69
	Medium	907	2,235	1,275	5.01	2.87
	High	791	1,346	1,332	5.06	2.10
	Very high	978	1,584	1,423	4.37	2.71
NifTal 411	Low	810	1,699	1,266	5.06	3.02
	Medium	947	1,943	1,230	3.96	2.39
	High	713	1,601	1,329	4.80	3.33
	Very high	627	1,750	1,319	4.78	2.95
NifTal 413	Low	993	1,930	1,337	3.78	2.22
	Medium	1,002	2,472	1,232	4.11	2.28
	High	947	2,351	1,554	4.80	1.91
	Very high	598	1,695	1,265	4.37	3.05
THA 7	Low	852	1,532	1,328	4.76	3.18
	Medium	761	2,532	1,328	4.76	3.18
	High	837	2,090	1,377	3.48	1.90
	Very high	1,003	1,868	1,387	5.12	8.51
Uninoculated		945	2,056	1,464	4.18	2.44
LSD (0.05)						
	Rhiz.	245	614	174	1.03	1.10
	Number	245	614	174	1.03	1.10
	Rhiz. x Number	388	971	275	1.64	1.46
Analysis of variance						
	Rhiz.		NS	NS	NS	NS
	Number		NS	NS	NS	NS
	Rhiz x Number		NS	NS	NS	NS

แล้วไม่ได้ผล สาเหตุส่วนหนึ่งเป็นเพราะเชื้อไรโซ-
เบียมในธรรมชาติสามารถข่มกิจกรรมการตรึง
ไนโตรเจนของเชื้อไรโซเบียมที่นำมาจากที่อื่น ยัง
ไม่มีข้อมูลแน่ชัดว่าจะต้องใช้แบคทีเรียที่นำมา
ในปริมาณเท่าใดต่อเมล็ดถึงจะชนะกิจกรรมการตรึง
ไนโตรเจนของแบคทีเรียที่มีอยู่ในดินตามธรรมชาติ
การทดลองนี้เพื่อหาอัตราของแบคทีเรียที่จะใช้เพื่อ
ให้สามารถมีกิจกรรมและมีผลต่อผลิต และการตรึง
ไนโตรเจนของถั่วเหลือง

อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการทดลองที่ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ โดย
ใช้ *B. japonicum* ดังนี้ THA 7, NifTal 411, NifTal
413 และ NifTal 410 ในปริมาณเชื้อ 10^5 , 10^6 , 10^7 ,
 10^8 เซลล์ต่อเมล็ด (ต่ำ กลาง สูง สูงมาก) เปรียบเทียบ
กับการไม่ใช้เชื้อไรโซเบียม พันธุ์ถั่วเหลืองที่ใช้
ศึกษาคือ สจ.5 การปลูกพืชและการใส่ ^{15}N เพื่อการ
วัดปริมาณการตรึงไนโตรเจนโดยนิวเคลียร์เทคนิค
ปฏิบัติเช่นเดียวกับการทดลองอื่นที่กล่าวมาแล้วภายใต้โครงการนี้

สรุปผลการทดลอง

ถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 ไม่ตอบสนองต่อการคลุก
เชื้อ *B. japonicum* สายพันธุ์ใดๆ ที่นำมาทดสอบ
(Table 9) ซึ่งสันนิษฐานได้ว่าปริมาณแบคทีเรีย
B. japonicum ในธรรมชาติมีอยู่ในปริมาณสูงมาก
อัตราใส่แบคทีเรียต่อเมล็ดถั่วไม่มีผลต่อการเปลี่ยน
แปลงกิจกรรมการตรึงไนโตรเจน จึงสรุปว่าการใช้เชื้อ
ไรโซเบียมคลุกเมล็ดกับถั่วเหลืองที่ปลูกในท้องที่ที่
มีเชื้อในธรรมชาติสูงอยู่แล้วไม่จำเป็น เพราะเชื้อ
ที่ใส่จะไม่สามารถแข่งขันชนะกิจกรรมการตรึง
ไนโตรเจนของเชื้อธรรมชาติ

**การทดลองที่ 11 การทดสอบใช้เชื้อ *B. japonicum* ที่คัดเลือกต่อการปลูกถั่วเหลืองในแปลง
เกษตรกร**

งานค้นคว้าทดลองที่เกี่ยวข้องกับการคัดเลือก

สายพันธุ์แบคทีเรียของเชื้อไรโซเบียมต่างๆ ได้สรุป
คัดเลือกเชื้อไรโซเบียมไว้ โดยมีข้อจำกัด/ปัจจัยเพียง
ประการเดียวสำหรับการเจริญเติบโตของพืช ปัจจัย
อื่นในการปลูกพืชได้จัดทำในระดับหนึ่งเพื่อให้พืช
เจริญเติบโตเท่านั้น แต่ในทางปฏิบัติจริง หรือเมื่อ
เกษตรกรนำเทคโนโลยีบางอย่างไปใช้ ผลผลิตของพืช
ที่ได้จะเป็นผลรวมของปัญหา และปัจจัยต่างๆ ต่อ
การเจริญเติบโตและการพัฒนาเป็นผลผลิตตลอด
ฤดูกาล ดังนั้น งานทดสอบเทคโนโลยีการเกษตรที่
ค้นพบจึงสมควรต้องดำเนินการในระดับท้องถิ่นด้วย
การทดลองนี้เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อไรโซ-
เบียมที่ได้คัดเลือกแล้วต่อผลผลิต และการตรึง
ไนโตรเจนในแปลงพืชไร่ของเกษตรกร

อุปกรณ์และวิธีการ

ใช้ *B. japonicum* ที่คัดเลือกแล้วคือ NifTal
411, NifTal 413 61A 148, THA 2 และ THA 7
ผสมกัน คลุกเมล็ดถั่วเหลือง เปรียบเทียบกับการไม่คลุก
เมล็ด และใส่ปุ๋ยไนโตรเจนร่วมด้วยในอัตรา 12 กก. N/
ไร่ แปลงทดลองมีขนาด 20x10 ม. ในท้องที่ 7 แห่ง
ทั้งในฤดูฝน และฤดูแล้ง ทำการตรวจบันทึกเฉพาะ
ผลผลิต

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลผลิตเมล็ดถั่วเหลืองจากการคลุกเชื้อไรโซ-
เบียมเพิ่มขึ้นทุกแปลงที่ทำการทดสอบ (Table 10-
16) เมื่อเปรียบเทียบการไม่คลุกเชื้อไรโซเบียม โดย
เฉพาะท้องที่ที่ไม่เคยมีการปลูกถั่วเหลืองมาก่อน
หรือพื้นที่ที่เริ่มมีการปลูกถั่วเหลือง เช่น ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จะให้ผลตอบสนองสูง ผลผลิตเฉลี่ย
อยู่ระหว่าง 250-350 กก./ไร่ การใส่ปุ๋ยไนโตรเจน
อัตรา 12 กก. N/ไร่ โดยไม่คลุกเชื้อไรโซเบียม ให้
ผลผลิตถั่วเหลืองสูงกว่าการไม่ใส่ปุ๋ย แต่คลุกเชื้อ
ไรโซเบียมเล็กน้อย จึงเป็นการยืนยันสายพันธุ์
แบคทีเรียของเชื้อไรโซเบียมต่างๆ ที่คัดเลือกไว้ว่า
มีประสิทธิภาพสมควรนำไปผลิตในทางการค้าได้ และ
จำเป็นต้องส่งเสริมอย่างต่อเนื่องให้เกษตรกรใช้เชื้อ
ไรโซเบียมในการปลูกถั่วเหลือง

Table 10. Seed yield and nodule parameters of soybean from farmer's field trial at Khon Kaen (dry season 1988).

Treatment	Nodule number per plant	Nodule wt. mg/plant	Nitrogenase μ mol C ₂ H ₄	Seed yield kg/rai
Control	25	174	14	300
N-12	22	148	10	317
Inoc	38	234	26	346
Inoc+N-3	35	237	22	320
Inoc+Mo	40	237	29	344

N-12 = Rate of fertilizer N 12 kg/rai
 N-3 = Rate of fertilizer N 3 kg/rai
 INOC = inoculation
 Control = uninoculation
 Mo = Molybdenum 1 ppm

Table 11. Seed yield and nodule parameters of soybean from farmer's field trial at Maetang District, Chiang Mai (dry season 1988).

Treatment	Nodule number per plant	Nodule wt. mg/plant	Nitrogenase μ mol C ₂ H ₄	Seed yield kg/rai
Control	20	151	6	232
N-12	30	178	16	340
Inoc	39	244	21	302
Inoc+N-3	32	233	21	268
Inoc+Mo	30	180	15	342

Table 12. Seed yield and nodule parameters of soybean from farmer's field trial at Sunsai District, Chiang Mai (dry season 1988).

Treatment	Nodule number per plant	Nodule wt. mg/plant	Nitrogenase μ mol C ₂ H ₄	Seed yield kg/rai
Control	43	330	21	360
N-12	45	288	12	362
Inoc	38	298	17	404
Inoc+N-3	48	330	22	394
Inoc+Mo	78	462	29	402

Table 13. Seed yield and nodule parameters of soybean from farmer's field trial at Muang District, Lampang (dry season 1988).

Treatment	Nodule number per plant	Nodule wt. mg/plant	Nitrogenase μ mol C ₂ H ₄	Seed yield kg/rai
Control	30	265	18	240
N-12	24	205	10	218
Inoc	34	204	16	220
Inoc+N-3	34	270	28	209
Inoc+Mo	22	198	19	218

Table 14. Seed yield and nodule parameters of soybean from farmer's field trial at Maetha District, Lampang (dry season 1988).

Treatment	Nodule number per plant	Nodule wt. mg/plant	Nitrogenase μ mol C ₂ H ₄	Seed yield kg/rai
Control	24	77	12	453
N-12	11	52	9	402
Inoc	43	212	40	460
Inoc+N-3	26	188	21	410
Inoc+Mo	30	143	20	496

Table 15. Seed yield and nodule parameters of soybean from farmer's field trial at Prachin Buri (dry season 1988).

Treatment	Nodule number per plant	Nodule wt. mg/plant	Nitrogenase μ mol C ₂ H ₄	Seed yield kg/rai
Control	9	49	13	214
N-12	2	18	0.1	262
Inoc	37	214	36	342
Inoc+N-3	35	166	25	317
Inoc+Mo	42	204	55	260

Table 16. Seed yield and nodule parameters of soybean from farmer's field trial at Srisaket Horticultural Research Center (Wet season 1988).

Treatment	Nodule number per plant	Nodule wt. mg/plant	Nitrogenase μ mol C ₂ H ₄	Seed yield kg/rai
Control	1	30	4	202
N-12	12	68	7	300
Inoc	32	248	26	418
Inoc+N-3	17	84	12	286
Inoc+Mo	9	40	10	232

สรุปผลความสำเร็จของโครงการ

1. ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับการปฏิบัติด้านเขตกรรมของการผลิตถั่วเหลืองในประเทศไทยในแ่งมุ่มต่างๆ เพื่อเพิ่มผลผลิต โดยไม่เพิ่มค่าใช้จ่าย และได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ ดังนี้

1.1 ชนิดของเชื้อไรโซเบียม *B. japonicum* 5 ชนิดที่เหมาะสมมากที่สุด และมีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้สูงกว่า (THA 2, THA 7, NifTal 649, NifTal 410 และ 16A 101C)

1.2 ด้านเขตกรรมของการผลิตถั่วเหลืองที่สำคัญ คือการใช้สารกำจัดวัชพืช การใช้ปุ๋ยและความถี่ในการให้น้ำที่จะมีผลโดยตรงต่อผลผลิต และปริมาณการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลือง ซึ่งโครงการนี้สามารถสรุปหรือชี้ให้เห็นว่า สารกำจัดวัชพืชโดยทั่วไปจะมีผลกระทบหรือชะลอกิจกรรมการตรึงไนโตรเจนของต้นถั่วเหลือง แต่เมื่อมีผลทำให้ปริมาณวัชพืชที่แข่งขันกับการเติบโตของต้นถั่วเหลืองลดลงก็สามารถทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นได้ ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราต่ำสมควรใช้เพื่อส่งเสริมหรือกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นถั่วเหลืองในระยะเริ่มปลูก และมีผลทำให้ผลผลิตเพิ่มสูงขึ้น รวมทั้งปริมาณการตรึงไนโตรเจน การให้ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราสูงเป็นการลดกิจกรรมการตรึงไนโตรเจนของต้นถั่วเหลือง และเป็นการใช้สารเคมีโดยไม่มีผลจำเป็น การให้น้ำแก่ต้นถั่วเหลืองเพียง 2 สัปดาห์ต่อครั้งก็เพียงพอต่อการให้ผลผลิตเท่ากับการให้น้ำทุกสัปดาห์และถ้าขาดน้ำหรือให้น้ำเมื่อต้นถั่วเหลืองเริ่มมีอาการใบเหี่ยวผลผลิตจะลดลง

1.3 เมื่อใช้ข้อมูลที่ค้นพบดังกล่าวข้างต้นมา

ประยุกต์ใช้ในการทดสอบในแปลงเกษตรกร 6 แห่ง ปรากฏว่าผลผลิตถั่วเหลืองสูงสุดถึง 496 กก./ไร่ ที่ อ. แม่ทา จ. ลำปาง ผลผลิตเฉลี่ย 300-346 กก./ไร่ (ในฤดูแล้ง)

2. ได้มีการพัฒนาวิธีการวัดปริมาณการตรึงไนโตรเจนจากอากาศของต้นถั่วเหลือง ด้วยเทคโนโลยีนิวเคลียร์ ซึ่งเป็นอีกวิธีการหนึ่งที่นักวิจัยทั่วโลกยอมรับ และใช้ในการประเมินการตรึงไนโตรเจนของพืชตระกูลถั่ว (เป็นปริมาณที่ตรวจวัดโดยตรงแทนค่าเปรียบเทียบ)

คำนิยม

กลุ่มผู้ทำการวิจัยใคร่ขอขอบคุณผู้เชี่ยวชาญพิเศษ ดร. ปทุม สนิทวงศ์ ณ อยุธยา ในการจัดทำโครงการ ประสานงานให้คำปรึกษา และร่วมดำเนินงานวิจัยอย่างต่อเนื่อง และขอขอบคุณในความร่วมมือของ จิตรา คล้ายมนต์ จริญญา ประศาสน์ศรีสุภาพ จิตมายุกาญจนาพันธ์ นักวิชาการกองเกษตรเคมี ปรีชา วดีศิริศักดิ์ วิทยา ธนาอนุสนต์ นักวิชาการกองปฐพีวิทยา ชลุต ถาวรตตพันธ์ ชัยโรจน์ วงศ์วิวัฒน์ชัย และ วรวิชัย รุ่งรัตนกลิน นักวิชาการสถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร

ขอขอบคุณ Dr. C.Y. Yang ผู้อำนวยการโครงการวิจัยพืชผักสู่ชนบท (AVRDC) ในประเทศไทย ในการประสานงานกับศูนย์พัฒนางานวิจัยระหว่างประเทศแคนาดา (IDRC) ซึ่งสนับสนุนโครงการด้วยการจัดหา ^{15}N ไอโซโทป และบริการการวัดปริมาณ ^{15}N โดยมีผู้ทำงานวิจัยร่วมกันคือ Dr. R.J. Rennie และ Dr. R.M.N. Kucey, Agriculture Canada, Lethbridge Research Station, Canada.

เอกสารอ้างอิง

- จันทนา ศิริไพบูลย์ ปทุม สนิทวงศ์ พรพิมล ชัยวรรณคุปต์ อำไพ
สัตวเสง จิตรา คล้ายมนต์ และสุนิ ศรีสุมบุญ.
2527. ปริมาณการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลืองที่ปลูก
ในดินนาภายใต้สภาพไถพรวนและไม่ไถพรวน จาก
การวัดโดยวิธีไอโซโทปเทคนิค ว.วิชาการ กษ. 2: 120-
126.
- นันทกร บุญเกิด วรวิชัย รุ่งรัตนกลิน ปรีชา วดีศิริศักดิ์ และ
เย็นใจ วสุวัต. 2526. การเพิ่มผลผลิตถั่วเหลืองโดยการ
ใช้เชื้อไรโซเบียม และปุ๋ยไนโตรเจน ว.วิชาการ กษ.
1-5.
- ปทุม สนิทวงศ์ จันทนา ศิริไพบูลย์ จริยา ประศาสนศรี-
สุภาพ พรพิมล ชัยวรรณคุปต์ จิตรา คล้ายมนต์ อำไพ
สัตวเสง ชลุต ธารัตถพันธ์ และชัยโรจน์ วงศ์วิวัฒน์-
ชัย 2529. การคัดเลือกพืชบางชนิดที่ไม่สามารถตรึง
ไนโตรเจนจากอากาศเพื่อใช้เป็นพืชมาตรฐานในการ
ศึกษาปริมาณการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลือง โดย ^{15}N
Dilution Method ว.วิชาการ กษ. 4:99-105.
- Kucey R.M.N., Snitwongse P, Chaiwanakupt P, Wadisirisuk P,
Siripaibool C, Arayangkool T, Boonkerd N and R.J.
Rennie. 1988. Nitrogen fixation (^{15}N dilution) with
soybeans under Thai field conditions. I. Developing
protocols for screening *Bradyrhizobium japonicum*
strains. Plant and Soil 108:33-41.
- Kucey R.M.N., Chaiwanakupt P., Arayangkool T., Snitwongse
P., Siripaibool C., Wadisirisuk P. and N. Boonkerd.
1988. Nitrogen fixation (^{15}N dilution) with soybeans
under Thai field conditions. II Effect of herbicides and
water application schedule. Plant and Soil 108:87-
92.
- Rennie, R.J. and Rennie. D.A. 1983. Techniques for quantifying
 N_2 fixation in association with nonlegumes under field
and greenhouse conditions. Can. J. Microbiol.
29:1022-1035.
- Rennie. R.J. Rennie D.A., Siripaibool C., Boonkerd N and P.
Snitwongse. 1988. N_2 fixation in Thai soybeans: Effect
of tillage and inoculation on ^{15}N -determined N_2 fixation
in recommended cultivars and advanced breeding lines.
Plant and Soil 112:183-193.
- Snitwongse P., Siripaibool C., Chaiwanakupt P., Boonkerd N.
and R.M.N. Kucey. 1986. Use of ARA and N-15
dilution techniques to measure N fixation by soybean
cultivars. Invited paper at Biotechnology of Nitrogen
Fixation in the Tropics, UNESCO sponsored meeting
held at University Pertanian Malaysia, Serdang,
Selangor, Malaysia. August 25-29 (Proceeding).
- Witty. J.F. 1983. Estimating N_2 fixation in the field using ^{15}N
labelled fertilizer: some problems and solutions. Soil
Biol. Biochem. 15:631-639.