การวิจัยพัฒนาปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมถั่วเหลืองเพื่อให้มีศักยภาพในการปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน

Research and Development on Soybean Rhizobium Biofertilizer for High Potential in Adaptation to Different Environments

ศิริลักษณ์ จิตรอักษร *ศฬิษา สังวิเศษ*

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

.....

บทคัดย่อ

แยกบริสุทธิ์ไรโซเบียมจากดินแหล่งปลูกถั่วเหลืองและสุ่มเลือก 3 ไอโซเลท/ตัวอย่างดิน และเลือก 5 สายพันธุ์จากกลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน นำมาศึกษาสมบัติบางประการ เช่น ลักษณะโคโลนี ความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ 7 ชนิด ประสิทธิภาพการเข้าสร้างปม และการตรึงไนโตรเจนร่วมกับถั่วเหลืองพันธุ์ CM60 เลือก 5 ไอโซเลทหรือสายพันธุ์ที่ดีที่สุดเพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนร่วมกับถั่วเหลืองที่ปลูกในดินในสภาพเรือนทดลอง และการให้ผลผลิตในแปลงเกษตรกร ตลอดจนศึกษาการรอดชีวิตของไรโซเบียมถั่วเหลืองในวัสดุรองรับชนิดต่างๆ ผลการทดลองพบว่าไรโซเบียมที่แยกได้จากดินมีโคโลนี 2 ลักษณะ มีรูปแบบความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ 7 ชนิด (Antibiotic-Resistance Markers; ARM) แตกต่างกัน โดย ไรโซเบียมไอโซเลท สท.1 ชม. 5 DASA01023 DASA01029 และ DASA01034 มีความสามารถในการเข้าสร้างปมและตรึงไนโตรเจนได้สูงในดินปลูกที่มีสภาพแวดล้อมแตกต่างกัน เมื่อนำไรโซเบียมเหล่านั้นมาผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพเชื้อผสมเพื่อใช้ร่วมกับการใส่ปุ๋ยหมักอัตรา 1,500 กิโลกรัมต่อไร่และปุ๋ยเคมีอัตรา 0-7.6 - 7.6 กก. N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ในการปลูกถั่วเหลืองพันธุ์ CM60 ในแปลงเกษตรกร พบว่า ให้ผลผลิตเมล็ด น้ำหนัก 100 เมล็ด จำนวนฝักต่อต้น น้ำหนักเมล็ด/ต้นสูงสุด คือ 218.25 กิโลกรัมต่อไร่ 17.14 กรัม 29 ฝักต่อต้น และ 54 กรัมต่อต้น ตามลำดับ ไรโซเบียมถั่วเหลืองมีจำนวนรอดชีวิตเพิ่มขึ้น 10 ถึง 100 เท่าภายหลังเก็บรักษา 2 สัปดาห์ แต่ลดลง 10 เท่าในวัสดุรองรับบางชนิดภายหลังเก็บรักษา 12 สัปดาห์ การใช้ดินร่วนเหนียวนึ่งฆ่าเชื้อหรือตากแห้งเป็นวัสดุรองรับทำให้ไรโซเบียมมีการรอดชีวิตสูงที่ระดับ 10^7 โคโลนีต่อกรัม ตลอดการเก็บรักษา 12 สัปดาห์

คำนำ

การใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมเพื่อการเพิ่มผลผลิตถั่วเหลืองและทดแทนการใช้ปุ๋ยเคมีไนโตรเจนจะประสบความสำเร็จหรือไม่ขึ้นอยู่กับปัจจัยที่สำคัญประการหนึ่ง คือ ไรโซเบียมในปุ๋ยชีวภาพต้องมีความสามารถในการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมของการปลูกถั่วเหลืองได้ดี ได้แก่ สร้างปม และตรึงไนโตรเจนสูงเมื่อเปรียบเทียบกับไรโซเบียมดั้งเดิมที่อยู่ในธรรมชาติ แต่การใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมในหลายพื้นที่ไม่ประสบความสำเร็จโดยเฉพาะอย่างยิ่งพื้นที่ที่ใช้ปลูกถั่วเหลืองมาเป็นระยะเวลานานซึ่งเป็นสาเหตุทำให้

ประชากรไรโซเบียมดั้งเดิมในธรรมชาติสูงแต่เป็นไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพต่ำจึงทำให้เชื้อไรโซเบียมจากปุ๋ยชีวภาพเข้าสร้างปมได้น้อย ดังนั้นประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนจึงต่ำทำให้ได้ผลผลิตถั่วเหลืองต่ำกว่าความคาดหมาย ปรากฏการณ์เช่นนี้เรียกกันทั่วไปว่า "ปัญหาการแข่งขันการเข้าสร้างปม (nodulation competition)" ซึ่งควบคุมโดยปัจจัยด้านพันธุกรรมของสายพันธุ์ไรโซเบียม สายพันธุ์ถั่ว และความสามารถในการปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมพื้นที่ปลูกถั่วเหลือง การผลิตปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมชนิดผงนิยมใช้พีทเป็นวัสดุรองรับมากว่า 30ปี แต่ในปัจจุบันพีทคุณภาพดีหายาก และมีราคาสูงขึ้นทำให้ต้นทุนการผลิตเพิ่มขึ้น

ดังนั้นแนวทางหนึ่งในการแก้ปัญหาความล้มเหลวของการใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมถั่วเหลืองสามารถทำได้โดยการคัดเลือกสายพันธุ์ไรโซเบียมที่มีความสามารถในการปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมและสร้างปมได้สูงซึ่งเป็นปมที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนเพื่อนำมาใช้เป็นหัวเชื้อสำหรับการผลิตปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม ในขณะเดียวกันต้องวิจัยหาส่วนผสมวัสดุรองรับชนิดอื่นที่สามารถทำให้เชื้อไรโซเบียมมีการรอดชีวิตได้สูงระหว่างการเก็บรักษา

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

เชื้อไรโซเบียมถั่วเหลืองที่เก็บรักษา ณ กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน (วจด.) สายพันธุ์ DASA01013 DASA01014 DASA01023 DASA01029 และ DASA01034 สารปฏิชีวนะ 7 ชนิด ได้แก่ Kanamycin (4 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) Nalidixic (5 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) Streptomycin (2.5 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) Ampicillin (2.5 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) Spectinomycin (10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) Tetracycline (30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และ Chloramphenicol (2.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ห้องควบคุมอุณหภูมิต่ำ แหล่งกำเนิดแสง เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ เครื่องแก๊สโครมาโตรกราฟฟี (GC) วัสดุทดลอง เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นที่จำเป็น

วิธีดำเนินการ

แยกบริสุทธิ์เชื้อไรโซเบียมจากแหล่งปลูกถั่วเหลืองและศึกษาสมบัติบางประการ

แยกบริสุทธิ์เชื้อไรโซเบียมจากดินปลูกถั่วเหลืองที่มีสภาพแวดล้อมแตกต่างกัน ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ สุโขทัย และขอนแก่น วิเคราะห์จำนวนประชากรไรโซเบียมด้วยวิธี Plant infection technique ร่วมกับ Most Probable Number โดยใช้พืชอาศัย คือ ถั่วเซอราโตรและถั่วเหลืองพันธุ์ CM60 วิเคราะห์สมบัติดินทางเคมีบางประการ เช่น ค่า pH ปริมาณอินทรียวัตถุ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (BrayII-P)ปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (NH_4OAc) และค่าการนำไฟฟ้า เลือกไรโซเบียม 3 ไอโซเลทต่อตัวอย่างดิน และ 5 สายพันธุ์จากวจด. ศึกษาลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหาร Yeast Mannitol Agar (YMA) และความสามารถในการต้านทานต่อสารปฏิชีวนะที่ทดสอบด้วยอาหาร YMA ที่มีความเข้มข้นของสารปฏิชีวนะตามที่กำหนด (Antibiotic-Resistance Markers; ARM) บ่มเลี้ยงที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ในที่มืดประมาณ 7-10 วัน บันทึกผลลักษณะโคโลนี และ รูปแบบ ARM

ทดสอบประสิทธิภาพการแข่งขันการสร้างปมและการตรึงไนโตรเจนของไรโซเบียม

วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำ 3 ซ้ำ มี 10 กรรมวิธี (control สท.1 สท.2 สท.5 ชม.1 ชม. 3 ชม. 5 ขก.3 ขก.4 และ ขก.5) โดยแยกการทดสอบของแต่ละสายพันธุ์จาก วจด. เป็นแต่ละการทดสอบย่อย เลี้ยงไรโซเบียมแต่ละไอโซเลท/สายพันธุ์ในอาหารเหลว Yeast Mannitol จากนั้นผสมเชื้อแต่ละไอโซเลทกับแต่ละสายพันธุ์ในอัตรา 1:1 และใส่ให้กับถั่วเหลืองที่ปลูกในทรายที่ปลอดเชื้อ เมื่อถั่วเหลืองออกดอก 50 เปอร์เซ็นต์ บันทึกข้อมูลจำนวนปม ค่า ARA วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ของค่า ARA และตรวจสอบการเข้าสร้างปมด้วยวิธี ARM

ทดสอบประสิทธิภาพไรโซเบียมต่อการเจริญเติบโตของถั่วเหลืองในสภาพเรือนทดลอง

การทดลองแต่ละดินจากเชียงใหม่ สุโขทัย และขอนแก่นทำแยกจากกัน โดยวางแผนการทดลองเหมือนกันแบบ RCB มี 7 กรรมวิธี 4 ซ้ำ แต่อัตราการใส่ปุ๋ยเคมีและปุ๋ยหมักแตกต่างกันตามคำแนะนำการใช้ปุ๋ยตามลักษณะเนื้อดิน โดยกรรมวิธีของดินขอนแก่นประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 กรรมวิธีควบคุม (ไม่ใส่เชื้อไรโซเบียม ไม่ใส่ปุ๋ยเคมี และไม่ใส่ปุ๋ยหมัก)

กรรมวิธีที่ 2 ใส่เชื้อผสมไรโซเบียม ไอโซเลท สท. 1 ชม.5 DASA01023 DASA01029 และ DASA01034

กรรมวิธีที่ 3 ใส่เชื้อผสมไรโซเบียม ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-7.6-7.6 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่

กรรมวิธีที่ 4 ใส่เชื้อผสมไรโซเบียมและปุ๋ยหมักอัตรา 1,500 กิโลกรัมต่อไร่

กรรมวิธีที่ 5 ใส่เชื้อผสมไรโซเบียม ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-7.6-7.6 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ และปุ๋ยหมักอัตรา 1,500 กิโลกรัมต่อไร่

กรรมวิธีที่ 6 ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 7.6-7.6-7.6 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ พร้อมปลูก และปุ๋ยยูเรียอัตรา 30 กิโลกรัมต่อไร่ หลังปลูก 30 วัน

กรรมวิธีที่ 7 ใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 7.6-7.6-7.6 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่และปุ๋ยหมักอัตรา 1,500 กิโลกรัมต่อไร่

หมายเหตุ : การทดลองโดยใช้ดินเชียงใหม่และดินสุโขทัย เฉพาะกรรมวิธีใส่ปุ๋ยเคมีใส่ในอัตรา 5.7-5.7-5.7 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ พร้อมปลูกและปุ๋ยยูเรีย อัตรา 20 กิโลกรัมต่อไร่ หลังปลูก 30 วัน

บรรจุดินในกระถางปลูกและใส่ปุ๋ยตามกรรมวิธีทดลอง ปลูกถั่วเหลืองพันธุ์ CM60 และใส่เชื้อผสมไรโซเบียมตามกรรมวิธี ถอนแยกให้เหลือเพียง 2 ต้นต่อกระถาง บันทึกข้อมูลที่ระยะออกดอก ได้แก่ จำนวนปม ค่า ARA วิเคราะห์ผลทางสถิติและเลือกสถานที่ทดสอบในแปลงเกษตรกรจากดินปลูกที่มีการตอบสนองต่อการใช้ไรโซเบียมเชื้อผสมมากที่สุด

ทดสอบประสิทธิภาพไรโซเบียมต่อการให้ผลผลิตถั่วเหลืองในแปลงเกษตรกร

วางแผนการทดลองทำนองเดียวกับการทดลองในกระถางทดลองของดินขอนแก่น ขนาดแปลงย่อย 3x5 ตารางเมตร ระยะปลูกระหว่างต้นและแถว 20x50 เซนติเมตร พื้นที่เก็บเกี่ยว 2x4 ตารางเมตร บันทึกผลผลิตมวลชีวภาพถั่วเหลืองพันธุ์ CM60 และองค์ประกอบผลผลิตที่ระยะเก็บเกี่ยว เช่น ผลผลิตเมล็ดต่อไร่ น้ำหนัก 100 เมล็ด จำนวนฝักต่อต้น และน้ำหนักเมล็ดต่อต้น

ศึกษาสมบัติของวัสดุรองรับที่เหมาะสมกับการผลิตปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 9 กรรมวิธี 3 ซ้ำ กรรมวิธีประกอบด้วย วัสดุอินทรีย์โรงงาน ถ่านเผาบดละเอียด แหนแดงบดละเอียด ดินร่วนเหนียวตากแดด ดินร่วนเหนียวนึ่งฆ่าเชื้อ วัสดุอินทรีย์กับดินร่วนเหนียวตากแดดอัตรา 1:1 วัสดุอินทรีย์กับดินร่วนเหนียวตากแดดอัตรา 1:2 ถ่านเผากับแหนแดงอัตรา 1:1 และถ่านเผากับแหนแดงอัตรา 1:2 เลี้ยงไรโซเบียม DASA01034 ให้มีความหนาแน่นของเซลล์ 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และผสมกับวัสดุรองรับดังกล่าวในถุงพลาสติกควบคุมให้มีความชื้นคงที่ประมาณ 50-60 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ไม่สัมผัสกับแสงแดด และบันทึกการรอดชีวิตของไรโซเบียมบนอาหาร YMA+congo red ด้วยวิธี serial dilution ภายหลังเก็บรักษาเป็นเวลา 2 4 8 และ 12 สัปดาห์ พร้อมทั้งวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ระยะเวลา ตุลาคม 2551 ถึง กันยายน 2553

สถานที่ทำการทดลอง

กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร และแปลงเกษตรกร จังหวัดขอนแก่น

ผลการทดลองและวิจารณ์

แยกบริสุทธิ์เชื้อไรโซเบียมจากแหล่งปลูกถั่วเหลืองและศึกษาสมบัติบางประการ

ผลการวิเคราะห์สมบัติดินบางประการจากพื้นที่ปลูกถั่วเหลือง 3 จังหวัด พบว่ามีค่า pH ระหว่าง 5.7-6.4 ปริมาณอินทรียวัตถุ 1.21 – 1.79 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (BrayII-P) 10 - 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (NH_4OAc) 31-82 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ค่าการนำไฟฟ้า (EC) 0.020 – 0.049 เดซิซีเมนต่อเมตร ประชากรไรโซเบียมถั่วเหลือง 194 และ 542 เซลล์ต่อดินแห้ง 1 กรัม ในดินเชียงใหม่และดินสุโขทัย ตามลำดับ ถึงแม้ว่าไม่พบประชากรไรโซเบียมถั่วเหลืองในดินขอนแก่นแต่พบไรโซเบียมถั่วเซอราโตร 9 เซลล์ต่อดินแห้ง 1 กรัม เมื่อนำปมรากถั่วเหลือง CM60 และถั่วเซอราโตรมาแยกบริสุทธิ์เชื้อไรโซเบียม และเลี้ยงบนอาหาร YMA พบว่าโคโลนีไรโซเบียมมี 2 ลักษณะ คือ คือ slightly-pink, flat, watery-translucent หรือ opaque, domed, dry-gummy จึงสุ่มเลือกมาเพียง 3 ไอโซเลทต่อดิน ได้แก่ ดินสุโขทัย ไอโซเลท สท.1 สท.2 และ สท.5 ดินขอนแก่น ไอโซเลท ขก.3 ขก.4 และขก.5 ดินเชียงใหม่ ไอโซเลท ชม.1 ชม. 3 และ ชม.5 (ไม่แสดงข้อมูล)

ผลการศึกษาความสามารถในการต้านทานต่อสารปฏิชีวนะของไอโซเลทจากดิน 9 ไอโซเลท และ 5 สายพันธุ์จากวจด. พบว่าไรโซเบียมที่ศึกษามีรูปแบบ ARM แตกต่างกันโดยไรโซเบียมจาก วจด. สามารถต้านทานต่อชนิดสารปฏิชีวนะที่ศึกษาได้มากกว่าไอโซเลทที่แยกได้จากดิน โดย DASA01014 ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะได้สูงถึง 5 ชนิด คือ Nalidixic, Streptomycin, Ampicillin, Tetracycline และ Chloramphenical ในขณะที่ไอโซเลท ขก. 5 อ่อนแอต่อสารปฏิชีวนะทุกชนิดและความเข้มข้นที่ศึกษา (ไม่แสดงข้อมูล) จึงสามารถใช้ ARM เป็นสิ่งบ่งชี้ไรโซเบียมที่เข้าสร้างปม

ทดสอบประสิทธิภาพการแข่งขันการสร้างปมและการตรึงไนโตรเจนของไรโซเบียม

ผลการทดลองพบว่าไรโซเบียม DASA01013 สามารถสร้างปมได้สูงสุดเมื่อใช้ร่วมกับ สท. 2 คือ 107 ปมต่อ 2 ต้น แต่สร้างปมได้น้อยกว่าไอโซเลทดั้งเดิมอื่นๆ (ตารางที่ 1) ไรโซเบียม DASA01014 สร้างปมและตรึงไนโตรเจนได้สูงสุดเมื่อใช้ร่วมกับไอโซเลท สท. 5 แต่ไม่สามารถแข่งขันกับไอโซเลท ชม. 5 ได้ ไรโซเบียม DASA01023 สร้างปมและตรึงไนโตรเจนสูงเมื่อใช้ร่วมกับไอโซเลท สท. 1 และเป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพเทียบเท่าไอโซเลทดั้งเดิม คือ สท.1 และ ชม.5 ไรโซเบียม DASA01029 สามารถสร้างปมและตรึงไนโตรเจนสูงเมื่อใช้ร่วมกับไอโซเลท สข.1 ชม.1 และชม.5 และสามารถแข่งขันได้ดีเทียบเท่าไอโซเลทดั้งเดิม คือ ชม. 5 ไรโซเบียม DASA01034 ให้ผลทำนองเดียวกับ DASA01029 โดยภาพรวมไอโซเลทที่ปรับตัวให้สามารถแข่งขันกับเชื้อดั้งเดิมในดินหรือส่งเสริมการสร้างปมและตรึงไนโตรเจนในดินต่างๆ คือ ดินเชียงใหม่ไอโซเลท ชม.5 DASA01029 และ DASA 01034 ดินสุโขทัยไอโซเลท สท. 1 และ DASA01023 ดินขอนแก่น DASA01029 และ DASA01034 ซึ่งส่วนใหญ่เป็นไรโซเบียมจาก วจด.ซึ่งผ่านการคัดเลือกแล้ว ผลที่ได้สอดคล้องกับ Triplett et al. (1992) ประชากรไรโซเบียมดั้งเดิมในดินส่วนใหญ่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนต่ำ นอกจากนี้สามารถใช้ ARM เป็นสิ่งบ่งชี้ไรโซเบียมได้ดังเช่น Castro et al. (1999) ได้ใช้รูปแบบความความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ (ARM) เป็นตัวบ่งชี้การครอบครองปมรากถั่วลิสงระหว่างเชื้อดั้งเดิมในดินกับเชื้อไรโซเบียมจากปุ๋ยชีวภาพในแปลงถั่วลิสง

ตารางที่ 1. ประสิทธิภาพการแข่งขันการสร้างปมและการตรึงไนโตรเจนของไรโซเบียม

เชื้อผสมที่มีประสิทธิภาพสูง	จำนวนปม/2 ต้น	ค่า ARA (ไมโครโมล C2H4/ต้น /ชม.)	เชื้อที่สร้างปม
DASA01013+ สข 2	107	ns	เชื้อดั้งเดิม
DASA01014+ สท.5	121	3.063*	เชื้อดั้งเดิม ชม.5
DASA01023+ สท.1	68.5	4.599*	DASA01023 สท.1 ชม. 5
DASA01029+ สท.1+ ชม.1 + ชม.5	84.59	ns	DASA01029 ชม.5
DASA01034+ทุกไอโซเลท ยกเว้นไอโซเลท ขก.	86	ns	DASA01034 ชม.5

หมายเหตุ : ns ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ทดสอบประสิทธิภาพไรโซเบียมต่อการเจริญเติบโตของถั่วเหลืองในสภาพเรือนทดลอง

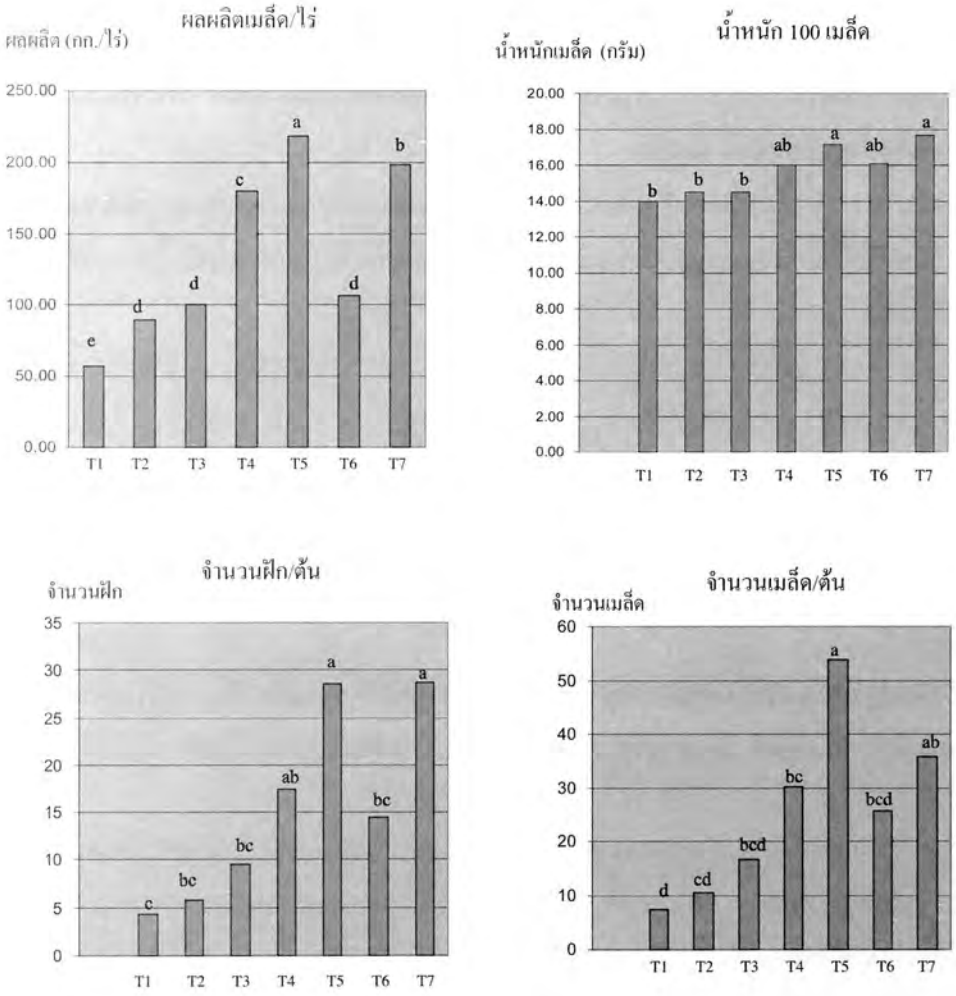
ผลการทดลองพบว่าการทดสอบในดินเชียงใหม่และดินสุโขทัยให้ผลไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (ไม่แสดงข้อมูล) แต่ความแตกต่างเห็นได้ชัดเจนเมื่อปลูกในดินขอนแก่น ถั่วเหลืองพันธุ์ CM60 มีจำนวนปมและค่า ARA สูงในกรรมวิธีที่ใช้ไรโซเบียมเชื้อผสมที่คัดเลือกได้ร่วมกับการใส่ปุ๋ยหมักอัตรา 1,500 กิโลกรัมต่อไร่ หรือ ทั้งใส่ปุ๋ยหมัก และปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำตามลักษณะเนื้อดิน โดยมีจำนวนปมสูงสุด 100 ปมต่อ 2 ต้น และค่า ARA 28.168 ไมโครโมล C_2H_4 ต่อ 2 ต้นต่อชั่วโมง (ไม่แสดงข้อมูล) สาเหตุอาจเป็นเพราะการจำกัดโดยจีโนไทป์ของพันธุ์ถั่ว (Lohrke et al,1994) หรือสภาพแวดล้อมของการปลูกถั่ว (Hungria and Vargas, 2000)

ทดสอบประสิทธิภาพไรโซเบียมต่อการให้ผลผลิตถั่วเหลืองในแปลงเกษตรกร

การใช้เชื้อผสมไรโซเบียมปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี คือ ไอโซเลท สท.1 ชม.5 DASA01023 DASA01029 และ DASA01034 ร่วมกับการใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-7.6-7.6 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ และปุ๋ยหมักอัตรา 1,500 กิโลกรัมต่อไร่ ให้ผลผลิตเมล็ดสูงสุด คือ 218 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งสูงกว่าการใช้ปุ๋ยเคมีตามคำแนะนำตามลักษณะเนื้อดินหรือการใช้ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยหมักและการไม่ใส่ปุ๋ย (กรรมวิธีควบคุม)ประมาณ 4 เท่า (ภาพที่ 1) ผลผลิตสูงสุด 218 กิโลกรัมต่อไร่น้อยกว่าที่ควรจะเป็นนั้นอาจมีสาเหตุมาจากการขาดน้ำของถั่วเหลืองในช่วงออกดอกจนถึงติดฝัก (ปลายเดือนกันยายน) จึงทำให้ผลผลิตต่ำกว่าที่ควรจะเป็น(25-35 เปอร์เซ็นต์) (สุดชล วุ้นประเสริฐ และวันชัย ถนอมทรัพย์, 2547) เมื่อพิจารณาองค์ประกอบผลผลิต ได้แก่ จำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อต้น และน้ำหนัก 100 เมล็ด พบว่ากรรมวิธีที่ใช้เชื้อผสมไรโซเบียมร่วมกับการใส่ปุ๋ยเคมีและปุ๋ยหมัก กรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีตามคำแนะนำร่วมกับการใส่ปุ๋ยหมักให้ค่าองค์ประกอบผลผลิตในระดับสูงสุด คือ 29 ฝักต่อต้น 54 เมล็ดต่อต้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งค่าเฉลี่ยน้ำหนัก 100 เมล็ดมากกว่า 17 กรัม ซึ่งโดยลักษณะประจำพันธุ์ทางการเกษตรมีค่าเฉลี่ย 15 กรัม (วิระศักดิ์ เทพจันทร์ และสิทธิ์ แดงประดับ, 2547)

ศึกษาสมบัติของวัสดุรองรับที่เหมาะสมกับการผลิตปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม

ปริมาณไรโซเบียมเริ่มต้น 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร พบว่าดินร่วนเหนียวนึ่งฆ่าเชื้อเท่านั้นที่มีจำนวนไรโซเบียมเพิ่มขึ้น 100 เท่า (10^7 CFU ต่อกรัม) ภายหลังเก็บรักษา 2 สัปดาห์และคงที่ตลอด 12 สัปดาห์ ส่วนวัสดุรองรับชนิดอื่นมีจำนวนไรโซเบียมเพิ่มขึ้นประมาณ 10 เท่า ภายหลังเก็บรักษา 2 สัปดาห์ และมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นหรือลดลงในวัสดุรองรับบางชนิด ตลอดช่วงการเก็บรักษา 12 สัปดาห์ (ไม่แสดงข้อมูล) ศักยภาพของดินร่วนเหนียวในการเป็นวัสดุรองรับเพื่อการผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้สอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Hrenovic *et al.* (2010) ที่พบว่าการใช้ Sepiolite เป็นวัสดุรองรับสามารถเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์สะสมฟอสเฟต *Acinetobacter junii* ได้ที่ระดับ 10^9 CFU ต่อกรัม



ภาพที่ 1. การใช้เชื้อผสมไรโซเบียมต่อการให้ผลผลิตของถั่วเหลืองพันธุ์ CM60 ที่ปลูกในแปลงเกษตรกร

หมายเหตุ : T1 (กรรมวิธีควบคุม), T2 (เชื้อผสมไรโซเบียม), T3 (เชื้อผสมไรโซเบียมปุ๋ยเคมีอัตรา 0-7.6-7.6 กก. $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ / ไร่), T4 (เชื้อผสมไรโซเบียมกับปุ๋ยหมักอัตรา 1,500 กก. ไร่), T5 (เชื้อผสมไรโซเบียมปุ๋ยเคมีอัตรา 0-7.6-7.6 กก. $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ /ไร่ กับปุ๋ยหมักอัตรา 1,500 กิโลกรัมต่อไร่), T6 (ปุ๋ยเคมีอัตรา 7.6-7.6-7.6 กก. $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ /ไร่ พร้อมปลูกและปุ๋ยยูเรียอัตรา 30 กิโลกรัมต่อไร่) และ T7 (ปุ๋ยเคมีอัตรา 7.6-7.6-7.6 กก. $N\text{-}P_2O_5\text{-}K_2O$ /ไร่ พร้อมปลูกปุ๋ยยูเรียอัตรา 30 กิโลกรัมต่อไร่ และปุ๋ยหมักอัตรา 1,500 กิโลกรัมต่อไร่)

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ/คำแนะนำ

ไรโซเบียมสายพันธุ์ DASA01023 DASA01029 และ DASA01034 จาก วจด. และไอโซเลท สท.1 ชม.5 สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมปลูกถั่วเหลืองพันธุ์ CM60 ได้ดี จึงเสนอให้มีการใช้เชื้อผสมดังกล่าวผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมถั่วเหลืองและแนะนำให้ใช้ร่วมกับการใส่ปุ๋ยอินทรีย์เพื่อปรับสภาพทางฟิสิกส์เพื่อเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำและร่วมกับการใส่ปุ๋ยที่ให้ธาตุอาหารฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมในการปลูกถั่วเหลืองพันธุ์ CM60 ในดินเนื้อหยาบและมีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ และวิจัยพัฒนาต่อยอดเรื่องการใช้ดินร่วนเหนียวและส่วนผสมอื่นๆ เป็นวัสดุรองรับในการผลิตปุ๋ยชีวภาพเชิงพาณิชย์

การนำไปใช้ประโยชน์

1. สามารถนำไรโซเบียมไอโซเลท สท. 1 ชม. 5 สายพันธุ์ DASA01023 DASA01029 และ DASA01034 ผลิตเป็นเชื้อผสมปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมเพื่อใช้ในสภาพพื้นที่ที่มีประชากรไรโซเบียมดั้งเดิมในดินสูงสำหรับการปลูกถั่วเหลืองพันธุ์ CM60

2. สามารถนำข้อมูลการรอดชีวิตของไรโซเบียมในดินร่วนเหนียวไปวิจัยพัฒนาต่อด้านส่วนผสมกับวัสดุอื่นและกรรมวิธีที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมดินร่วนเหนียวเพื่อใช้เป็นวัสดุรองรับในการผลิตปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม

เอกสารอ้างอิง

วิระศักดิ์ เทพจันทร์ และสิทธิ์ แดงประดับ. 2547. พันธุ์ถั่วเหลือง. หน้า 15. ใน กรมวิชาการเกษตร, ***เอกสารวิชาการถั่วเหลือง***, ห้างหุ้นส่วนจำกัด ไอเดีย สแควร์, กรุงเทพฯ.

สุดชล วุ้นประเสริฐ และวันชัย ถนอมทรัพย์. 2547. การจัดการน้ำสำหรับถั่วเหลือง. หน้า 55-58. ใน กรมวิชาการเกษตร, ***เอกสารวิชาการถั่วเหลือง***, ห้างหุ้นส่วนจำกัด ไอเดีย สแควร์, กรุงเทพฯ.

Castro, S., M. Permigiani, M. Vinocur, and A. Fabra. 1999. Nodulation in peanut (*Arachis hypogaea* L.) roots in the presence of native and inoculated rhizobia strains. ***Applied. Soil Ecology*** 13:39-44.

Hungria, M., and Vargas, A. T. Milton. 2000. Environmental factors affecting N2 fixation in grain legumes in the tropics, with an emphasis on Brazil. ***Field Crops Research*** 65:151-164.

Hrenovic, J, D. Tibljas, T. Ivankovic, D. Kovacevic, and L. Sekovanic. 2010. Sepiolite as carrier of phosphate-accumulating bacteria Acinetobacter junii. ***Applied. Clay Science*** 50:582-587.

Lohrke, S.M., J. H. Jame, E. Martinex-Romero, and M. J. Sadowsky. 1995. Host-controlled restriction of nodulation by Bradyrhizobium japonicum strains in serogroup110. ***Applied Environmental Microbiology*** 61(6):2378-2383.

Triplett, E. W. and M. J. Sadowsky. 1992. Genetics of competition for nodulation of legume. ***Annual Review Microbiology*** 46:399-428.