รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองเพื่อเพิ่มศักยภาพในการตรึงไนโตรเจน

BREEDING SOYBEAN FOR ENHANCEMENT OF NITROGEN FIXATION POTENTIAL

งบประมาณปี 2544

โดย

นายเศรษฐา ศิริพินทุ์ MR. SETTHA SIRIPIN

นายชัชวิจก์ ถนอมถิ่น MR. CHATCHAVIJK THANOMTHIN

ภาควิชาพืชไร่ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองเพื่อเพิ่มศักยภาพในการตรึงไนโตรเจน

BREEDING SOYBEAN FOR ENHANCEMENT

OF NITROGEN FIXATION POTENTIAL

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย ประจำปี 2544

จำนวน 382,000 บาท

หัวหน้าโครงการ นายเศรษฐา ศิริพินทุ์

ผู้ร่วมโครงการ นายชัชวิจก์ ถนอมถิ่น

การดำเนินงานเสร็จสมบูรณ์

วันที่ 10 เดือนกันยายน 2549

คำนิยม

โครงการวิจัย การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองเพื่อเพิ่มศักยภาพในการตรึงไนโตรเจน ได้รับงบประมาณวิจัยจากสำนักวิจัยและพัฒนาวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ และได้รับความสนับสนุนจากศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ ภาควิชาพืชไร่ คณะผลิตกรรมการเกษตร และทีมงานวิจัยอีกมากมายหลายท่าน การทำงานวิจัยทางด้านการปรับปรุงคัดเลือกพันธุ์พืช การปลูกขยายพันธุ์พืชในสภาพไร่นั้นมีความยุ่งยากพอสมควร ปัญหาของสภาพแวดล้อม ดิน ฟ้า อากาศ ปริมาณน้ำฝน เป็นตัวแปรที่สำคัญมากต่อการดำเนินงาน นอกจากทุนวิจัย กำลังบุคลากรที่ร่วมทำงานวิจัยแล้ว การสรุปผลและประเมินผลให้ถูกต้องสมเหตุสมผลทางวิทยาศาสตร์เกษตร กำลังใจ กำลังกาย และกำลังสติปัญญาต้องพร้อม มีสติ มีสมาธิมากที่สุด แต่อย่างไรก็ตามผลการวิจัยก็สามารถแล้วเสร็จสำเร็จดังวัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยที่วางไว้ ดังนั้นผลงานวิจัยนี้หากมีคุณค่าและประโยชน์ต่องานวิจัยและพัฒนาถั่วเหลือง และการเกษตรของไทยได้บ้างบางส่วน ข้าพเจ้าและทีมงานก็ขอมอบความดีแด่มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ซึ่งเปรียบเสมือนบ้านครอบครัวใหญ่ที่มอบความอบอุ่น ภาระหน้าที่ให้สามารถดำเนินชีวิตอยู่รอดแบบพอเพียงและมีความสุขมาก หนทางของการเป็นครูที่ดีสำหรับศิษย์ การเป็นนักวิจัยที่ดีของมหาวิทยาลัยแม่โจ้นั้นคงไม่ได้มาแบบง่ายๆ แต่ก็ไม่ยากเย็นแสนเข็ญจนไม่สามารถจะประพฤติปฏิบัติได้

(ดร.เศรษฐา ศิริพินทุ์)
หัวหน้าโครงการ

สารบัญเรื่อง

เรื่อง	หน้า
สารบัญตาราง	ก
บทคัดย่อ	ข
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
ขอบเขตของการวิจัย	3
การตรวจเอกสาร	4
เวลาและสถานที่ดำเนินการทดลอง	22
อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงาน	22
ผลการทดลอง	24
วิจารณ์ผลการทดลอง	27
สรุปผลการทดลอง	28
เอกสารอ้างอิง	29

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงจำนวนฝักต่อต้นของพันธุ์ถั่วเหลืองต่างกัน เมื่อปลูกในสภาพแวดล้อมต่างกัน	25
2	แสดงน้ำหนัก 100 เมล็ด (กรัม) ของพันธุ์ถั่วเหลืองต่างกัน เมื่อปลูกในสภาพแวดล้อมต่างกัน	25
3	แสดงจำนวนเมล็ดต่อฝักของพันธุ์ถั่วเหลืองต่างกัน เมื่อปลูกในสภาพแวดล้อมต่างกัน	26
4	แสดงผลผลิตต่อไร่ (กิโลกรัม) ของพันธุ์ถั่วเหลืองต่างกัน เมื่อปลูกในสภาพแวดล้อมต่างกัน	26

บทคัดย่อ

ผลของการปลูกถั่วเหลืองพันธุ์ที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ พันธุ์ต่างๆ ที่มีศักยภาพในการให้ผลผลิตและการตรึงไนโตรเจนในสภาพพื้นที่ปลูกต่างกันในเขตปลูกถั่วเหลืองของเกษตรกรในจังหวัดเชียงใหม่ พบว่าถั่วเหลืองพันธุ์ 9610-8, 9618-5 ให้ผลผลิต 310 และ 307 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ในขณะที่พันธุ์ G.8891xST.1-10 ให้ผลผลิตใกล้เคียงกับพันธุ์แนะนำของทางราชการ คือ CM.60 และ SJ.5 โดยให้ผลผลิต 289, 292 และ 279 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ผลการทดลองไม่พบอิทธิพลของสภาพพื้นที่ปลูกที่มีผลต่อองค์ประกอบผลผลิตและผลผลิตของถั่วเหลืองพันธุ์ต่างกัน องค์ประกอบของผลผลิต เช่น จำนวนฝักต่อต้น และน้ำหนัก 100 เมล็ด มีผลต่อปริมาณผลผลิตของถั่วเหลือง การจัดการไร่ที่ดีได้มาตรฐานช่วยให้ถั่วเหลืองแสดงศักยภาพในการให้ผลผลิตและการตรึงไนโตรเจนอย่างยิ่ง

ABSTRACT

The results of selected soybean cultivars from Breeding Soybean for Enhancement of Nitrogen Fixation Potential Project of Maejo University at difference planting locations in Chiang Mai showed that soybean cultivar 9610-8 and 9618-5 gave the seed yields 310 and 307 kilogram per rai, respectively. While soybean cultivar G.8891xST.1-10, CM.60 and SJ.5 produced the seed yields 289, 292 and 279 kilogram per rai, respectively. The results did not show the effect of planting locations area or environment on yields and yield components. The number of pod per plant and 100 seed weight had effected on seed yields. The good field management were effected on yield and nitrogen fixation potential of soybean.

คำนำ

การตรึงไนโตรเจนจากอากาศเป็นกิจกรรมร่วมกันระหว่างไรโซเบียมและพืชตระกูลถั่ว นับว่าเป็นปรากฏการณ์ธรรมชาติที่ "มหัศจรรย์" อย่างยิ่ง ทำให้มนุษย์พบแหล่งของไนโตรเจนที่สำคัญที่สุดแหล่งหนึ่ง การตรึงไนโตรเจนดังกล่าว Burns และ Hardy (1979) ได้รายงานไว้ว่าสามารถผลิตไนโตรเจนให้แก่โลกได้ถึง 170 ล้านตันต่อปี และ Taver (1989) ได้ประเมินการตรึงไนโตรเจนในแต่ละปีจะมีมูลค่าถึง 1,067 ล้านเหรียญสหรัฐและสามารถที่จะลดการใช้ปุ๋ยได้ถึง 1,547 เมตริกตัน หรือประมาณการโดยรวมแล้วในแต่ละปีจะมีมูลค่าถึง 4,484 ล้านเหรียญสหรัฐ และจากรายงานผลการวิจัยทั้งในประเทศและต่างประเทศได้บ่งชี้ให้เห็นว่าในการเพิ่มผลผลิตของพืชตระกูลถั่วไม่มีความจำเป็นต้องใส่ปุ๋ยไนโตรเจนถ้าได้มีการคลุกเมล็ดด้วยเชื้อไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพ จะเห็นได้ว่าการตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพของพืชตระกูลถั่วร่วมกับไรโซเบียมนับว่ามีความสำคัญอย่างยิ่ง ในการพัฒนาการผลิตทางการเกษตร นอกจากจะเป็นประโยชน์ต่อการผลิตพืชตระกูลถั่วแล้วยังปรากฏว่าเป็นประโยชน์ต่อการผลิตพืชชนิดอื่นที่ปลูกตามหลังการปลูกพืชตระกูลถั่วด้วย

ในปัจจุบันได้เป็นที่ยอมรับกันแล้วว่าในบรรดาธาตุอาหาร 13 ธาตุที่พืชจำเป็นต้องใช้จากดินนั้นธาตุไนโตรเจนเป็นธาตุที่มีความสำคัญที่สุด พืชชนิดต้องการธาตุนี้จำนวนมาก โดยที่ธาตุไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของโปรตีน กรดอะมิโน กรดนิวคลีอิค คลอโรฟิลล์ โคเอนไซม์ ฮอร์โมนบางชนิดและสารประกอบอื่น ๆ ซึ่งส่วนประกอบต่าง ๆ เหล่านี้ล้วนมีผลต่อการเจริญเติบโตและการดำรงชีวิตของพืชทั้งสิ้น ดังนั้นการประเมินศักยภาพในการตรึงไนโตรเจนของสายพันธุ์ถั่วเหลืองต่าง ๆ โดยวิธีไนโตรเจนไอโซโทป (^{15}N isotope dilution technique) ย่อมทำให้ทราบถึงแนวทางเลือกอีกทางหนึ่งที่สามารถเพิ่มผลผลิต คุณภาพทางโภชนาการ ตลอดจนการอนุรักษ์พัฒนาสภาพนิเวศน์การเกษตรให้ยั่งยืนโดยไม่ทำลายสภาพแวดล้อมทางธรรมชาติ

ถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merrill.) เป็นพืชตระกูลถั่วที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและสังคมอย่างมาก การผลิตถั่วเหลืองนั้นมุ่งใช้ผลผลิตเมล็ดซึ่งมีปริมาณโปรตีนและน้ำมันสูง เพื่อบริโภคโดยตรง หรือเป็นอาหารสัตว์ ในปีการผลิต 2534/35 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกถั่วเหลืองทั้งหมด 2,175,000 ไร่ เก็บเกี่ยวได้ผลผลิตเมล็ด 436,000 ตันเท่านั้น ในขณะเดียวกันปริมาณการถั่วเหลืองที่นำเข้าประเทศเพื่อผลิตอาหารสัตว์สูงถึง 428,245 ตันคิดเป็นมูลค่ากว่า 2,300 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2535) ในปี พ.ศ. 2537 รัฐบาลได้ประกาศให้เป็นปีแห่งการรณรงค์การปลูกถั่วเหลือง โดยมีเป้าหมายที่จะเร่งรัดการผลิตถั่วเหลืองให้ได้ 600,000 ตัน เพื่อสนองตอบความต้องการใช้ถั่วเหลือง และเพื่อลดภาวการณ์เข้าการถั่วเหลือง

จากต่างประเทศ ได้มีการคาดคะเนกันว่าในปี พ.ศ. 2538 ความต้องการบริโภคถั่วเหลืองภายในประเทศในรูปของเมล็ดประมาณ 698,639 ตัน น้ำมันถั่วเหลืองประมาณ 85,607 ตัน และกากถั่วเหลืองประมาณ 877,685 ตัน ความต้องการบริโภคถั่วเหลืองมีมากกว่ากำลังการผลิตภายในประเทศ ซึ่งมีสาเหตุสำคัญหลายประการที่ทำให้ผลผลิตต่อไร่ และปริมาณผลผลิตรวมทั้งประเทศต่อปีของถั่วเหลืองค่อนข้างต่ำ เช่น ปัญหาเรื่องพันธุ์ถั่วเหลือง ปัญหาเรื่องการจัดการไร่ถั่วเหลือง ปัญหาทางด้านสภาพแวดล้อม โรคและแมลงศัตรูพืช ปริมาณน้ำฝน ตลอดจนปัญหาทางด้านราคาและการตลาดถั่วเหลือง แนวทางการแก้ไขปัญหาประการแรกก็คือ ความจำเป็นเร่งด่วนที่จะต้องคัดเลือก หรือปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองให้ได้สายพันธุ์ใหม่ ๆ ที่ให้ผลผลิตสูงกว่าหรือใกล้เคียงกับพันธุ์แนะนำของทางราชการ มีความจำเพาะเหมาะสมกับพื้นที่ปลูกแต่ละแห่ง หรือปรับตัวกับสภาพแวดล้อมทนทานต่อโรคและแมลงศัตรูพืชอย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเป็นพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีศักยภาพสูงในการสร้างปมรากร่วมกับเชื้อแบคทีเรียไรโซเบียมแล้วเปลี่ยนก๊าซไนโตรเจนในอากาศให้อยู่ในรูปของสารประกอบไนโตรเจนที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตและผลผลิต ซึ่งกระบวนการนี้เรียกกันว่า กระบวนการตรึงไนโตรเจน ปมรากของถั่วเหลืองเปรียบเสมือนโรงงานผลิตปุ๋ยไนโตรเจนให้แก่ถั่วเหลือง ดังนั้นจึงไม่มีความจำเป็นที่ต้องใส่ปุ๋ยเคมีไนโตรเจนให้แก่ถั่วเหลืองเลย หากถั่วเหลืองสร้างปมรากร่วมกับเชื้อไรโซเบียมอย่างมีประสิทธิภาพ

พันธุ์ถั่วเหลืองที่เกษตรกรปลูกในปัจจุบันนี้ส่วนใหญ่เกิดจากการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ในสภาพแวดล้อมที่มีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอย่างมากเกินความต้องการของถั่วเหลืองซึ่งข้อเสียของการใส่ปุ๋ยเคมีไนโตรเจนกับระบบการปลูกพืชนั้น ทำให้มีการปนเปื้อนของสารประกอบไนเตรท และไนเตรทในน้ำใต้ดิน หรือในอาหารและเครื่องดื่ม ซึ่งเป็นตัวการหนึ่งของสารก่อเกิดโรคมะเร็ง นอกจากนั้นการใส่ปุ๋ยเคมีไนโตรเจนยังทำให้ต้นทุนการผลิตถั่วเหลืองสูงอีกด้วย โครงการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองเพื่อเพิ่มศักยภาพในการตรึงไนโตรเจนนอกจากจะเป็นการพัฒนาพันธุ์เพื่อให้ได้ถั่วเหลืองพันธุ์ใหม่ที่มีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจนสูงแล้วลดต้นทุนการผลิต ลดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อมโดยการไม่ใส่ปุ๋ยเคมีไนโตรเจน ลดปริมาณการนำเข้าเกากถั่วเหลืองของประเทศ เพิ่มผลผลิตถั่วเหลืองและรายได้ต่อไร่ของเกษตรกร

วัตถุประสงค์

1. คัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจนสูง และให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์แนะนำของทางราชการ
2. ศึกษาเทคนิคการตรวจวัดการตรึงไนโตรเจนด้วยวิธี ^{15}N isotope dilution technique
3. ทำการขยายพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีศักยภาพการตรึงไนโตรเจนสูงเพื่อการวิจัยในอนาคต

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้สายพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจนและให้ผลผลิตสูง
2. ได้ทราบถึงเทคนิคการวัดประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนด้วยวิธี ^{15}N isotope dilution technique
3. ได้ทราบถึงศักยภาพการวัดการตรึงไนโตรเจนด้วยวิธี ^{15}N isotope dilution technique เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีอื่น ๆ

ขอบเขตของการวิจัย

1. คัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจนและให้ผลผลิตสูง
2. เปรียบเทียบสายพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจนและให้ผลผลิตสูง
3. ขยายสายพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจนและให้ผลผลิตสูงไว้สำหรับการคัดเลือกในรอบต่อไป

การตรวจเอกสาร

ความสำคัญของธาตุไนโตรเจนและกระบวนการตรึงไนโตรเจน

เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่านอกจากคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจนแล้ว ไนโตรเจนเป็นธาตุที่สำคัญที่สุดที่พืชต้องการเพื่อการเจริญเติบโต ซึ่งมีอยู่ถึง 78 เปอร์เซ็นต์ในชั้นบรรยากาศของโลกและเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในพืช เช่น โปรตีน กรดอะมิโน กรดนิวคลีอิก คลอโรฟิลล์ โคเอนไซม์ ฮอร์โมนบางชนิด และสารประกอบอื่น ๆ (สมบุญ, 2541) ดังนั้นในการผลิตพืชเพื่อให้ได้ผลผลิตสูงและคุณภาพดีพืชต้องได้รับไนโตรเจนที่เพียงพอ อย่างไรก็ตามก๊าซไนโตรเจนสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ โดยกิจกรรมร่วมระหว่างพืชตระกูลถั่วกับไรโซเบียม โดยการตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพ ซึ่งจะเปลี่ยนก๊าซไนโตรเจนจากรูปที่ไม่เป็นประโยชน์เป็นสารประกอบไนโตรเจนที่อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของพืช

ขอบเขตและความหมายของกระบวนการตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพ

การตรึงไนโตรเจน (nitrogen fixation) หมายถึง การเปลี่ยนรูปไนโตรเจนจากก๊าซไนโตรเจน (N_2) ซึ่งมีอยู่ถึง 78 % ในชั้นบรรยากาศ หรืออากาศในดินให้อยู่ในรูปของสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจน (organic nitrogen) โดยกิจกรรมร่วมกันระหว่างจุลินทรีย์ที่อยู่อย่างอิสระและอยู่ร่วมกับพืช โดยที่สารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นครั้งแรกส่วนใหญ่เป็นกรดอะมิโน (amino acid) ซึ่งได้แก่ แอสพาราจีน (asparagines) กลูตามีน (glutamine) แต่อย่างไรก็ตามบางชนิดสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนอาจอยู่ในรูปของยูริไอด์ (ureide) ซึ่งประกอบด้วยอแลนโทอิน (allantoin) และกรดอะแลนโทอิค (allantoic acid) และบางชนิดอาจอยู่ในรูปของอะไมด์ (amide) (สมศักดิ์, 2541) ในทำนองเดียวกัน ไพเราะ (2520) ได้ให้ความหมายของกระบวนการตรึงไนโตรเจนว่า เป็นกระบวนการทางชีวเคมีที่มีการเปลี่ยนแปลงก๊าซไนโตรเจนเป็นแอมโมเนียมไอออนให้อยู่ในรูปของสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจน โดยใช้พลังงานในรูปของ ATP และ Reducing Power ซึ่งมีเอนไซม์ไนโตรเจน-จีเนส (nitrogenase enzyme) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ตัวอย่างกระบวนการตรึงไนโตรเจนนี้ เช่น กิจกรรมร่วมระว่างพืชตระกูลถั่วกับแบคทีเรียไรโซเบียม

ประเภทและลักษณะการตรึงไนโตรเจนของจุลินทรีย์บางชนิด

การตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพ (Biological nitrogen fixation) เป็นการตรึงไนโตรเจนจากอากาศ (N_2) ให้เปลี่ยนเป็นแอมโมเนียมหรือสารประกอบไนโตรเจน โดยมีจุลินทรีย์หลายชนิดที่เกี่ยวข้อง เช่น แบคทีเรีย สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน และแอคิโนมัยซีสส์

การตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพอาจแบ่งกลุ่มสิ่งมีชีวิตตามความสามารถในการตรึงไนโตรเจนได้ 3 กลุ่มคือ

1. กลุ่มที่ตรึงไนโตรเจนแบบอิสระ (free living nitrogen fixing microorganism) เป็นกลุ่ม จุลินทรีย์ที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศแบบอิสระ โดยไม่ต้องอาศัยสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น ได้แก่ แบคทีเรีย แอคิโนมัยซีสส์ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

2. กลุ่มที่ตรึงไนโตรเจนแบบแอสโซซิเอทีฟ (associative nitrogen fixing microorganism) จุลินทรีย์เหล่านี้จะพบมากบริเวณรอบ ๆ รากพืช (rhizosphere) จุลินทรีย์เหล่านี้อาศัยอาหารและพลังงานจากพืชหรือสารที่ขับออกมาจากรากพืช ส่วนพืชได้รับประโยชน์จากไนโตรเจนที่จุลินทรีย์เหล่านี้ตรึงได้ และยังสามารถสร้างสารพวกฮอร์โมนพืชได้อีกด้วย เช่น พวก *Azospirilum* sp. กับพืชตระกูลหญ้า เป็นต้น

3. กลุ่มไนโตรเจนแบบซิมไบโอซิส (Symbiosis nitrogen fixing microorganism) เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศ โดยต้องอาศัยสิ่งมีชีวิตอื่นแบบพึ่งพาอาศัยกัน พืชเป็นแหล่งให้อาหารและพลังงานในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ส่วนของจุลินทรีย์สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศเปลี่ยนเป็นสารประกอบไนโตรเจนซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบเจริญของพืช ได้แก่ ไรโซเบียมในปมรากถั่ว แอคทิโนมัยในรากสนทะเลและสาหร่ายสีเขียวกับแหนแดง เป็นต้น

การจำแนกไรโซเบียม

การจำแนกไรโซเบียมนับเป็นเรื่องที่ยุ่งยากพอสมควร แม้ว่านักวิชาการด้านนี้จะได้หาวิธีการต่าง ๆ เพื่อเป็นหลักในการจำแนกอยู่ตลอดมา แต่ปรากฏว่าในปัจจุบันก็ยังเป็นเรื่องที่สับสนและเป็นที่วิพากษ์วิจารณ์ ไม่สามารถยอมรับได้ว่าวิธีไหนควรจะเป็นวิธีที่เหมาะสมและน่าเชื่อถือที่สุด โดยที่ Breed et al. (1975) ได้จัดแบคทีเรียพวกไรโซเบียมไว้ดังต่อไปนี้

Division : Protophyta

Class : Schizomycetes

Order : Eubacteriales

Family : Rhizobiaceae

Species : Rhizobium และ Bradyrhizobium

ปัจจุบันได้มีการจำแนกชนิดของไรโซเบียมออกเป็น 2 จำพวกใหญ่ คือ

พวกที่มีการเจริญเติบโตเร็ว (Fast grower) ไรโซเบียมจำพวกนี้จะมีระยะเวลาในการแบ่งตัวจาก 1 เซลล์เป็น 2 เซลล์ (แบบ Binary fission) นานประมาณ 3 – 4 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในอาหารวุ้นจะเริ่มเห็นโคโลนีในระยะเวลาประมาณ 3-5 วัน เรียกไรโซเบียมในกลุ่มนี้ว่า "Rhizobium" ซึ่งได้แบ่งเป็น 4 กลุ่มใหญ่ คือ

1. *Rhizobium meliloti* ได้แก่ ถั่วพวก อัลฟัลฟ่า (*Medicago meltotus* และ *Trigonella*
2. *Rhizobium leguminosarum*
   biovar trifolii ได้แก่ ถั่วพวก โคลเวอร์ (Trifolium)
   biovar phasioli ได้แก่ ถั่วแดง ถั่วไลมา ถั่วปินโต ถั่วแขก (phaseolus)
   biovar viceae ได้แก่ ถั่วลันเตา (pisum) ถัวปากอ้า (Vicia) ถั่วเลนส์ (Lens) และถั่วหอม (Lathyrus)
3. *Rhizobium loti* ได้แก่ ถั่วพวก Lupinus บางชนิด *Lotus anthyllis*, Ornithopus
4. *Rhizobium fridii* ได้แก่ ถั่วเหลืองบางพันธุ์ของต่างประเทศ

พวกที่เจริญเติบโตช้า (Slow grower) ไรโซเบียมจำพวกนี้ มีระยะเวลาในการแบ่งตัวเองนานประมาณ 6-8 วัน เรียกไรโซเบียมในกลุ่มนี้ว่า *"Bradyrhizobium"* จำแนกออกได้ 2 กลุ่มใหญ่ คือ

1. *Bradyrhizobium japonicum* ได้แก่ ถั่วเหลือง
2. *Bradyrhizobium* spp. จำแนกย่อยเป็น
   2.1 Vigna ได้แก่ ถั่วลิสง ถั่วเขียว ถั่วฝักยาว เป็นต้น
   2.2 Lupinus ได้แก่ Lupinus บางชนิด *Lotus pedunculatus*

ศักยภาพการตรึงไนโตรเจนของเชื้อแบคทีเรียไรโซเบียมที่อยู่ร่วมกับพืชตระกูลถั่ว

ไรโซเบียมเป็นแบคทีเรียปมถั่วที่มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการเพิ่มผลผลิตถั่วเนื่องจากสารประกอบไนโตรเจนส่วนใหญ่ที่พืชตระกูลถั่วใช้ในการเจริญเติบโตและสร้างผลผลิตได้จากกระบวนการตรึงไนโตรเจน ปัจจุบันการคลุกเมล็ดถั่วเหลืองด้วยเชื้อไรโซเบียมเป็นที่นิยมแพร่หลายในประเทศ ในดินซึ่งไม่มีเชื้อไรโซเบียมตามธรรมชาติ เมื่อใส่เชื้อไรโซเบียมลงไปจะทำให้ผลผลิตและปริมาณไนโตรเจนในพืชเพิ่มขึ้น แต่ในดินที่มีไรโซเบียมอยู่ตามธรรมชาติมากพอก็ไม่มีผลทำให้ผลผลิตและปริมาณไนโตรเจนเพิ่มขึ้น (พรพิมลและคณะ 2540)

ศักยภาพการตรึงไนโตรเจนของพืชตระกูลถั่วแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน Hardarson et al. (1987) ได้ทำการวัดศักยภาพการตรึงไนโตรเจนของพืชตระกูลถั่วด้วยวิธี ^{15}N isotope dilution พบว่าถั่ว Faba (*Vicia faba*) ถั่ว Lupin (*Cupinus* spp.) และถั่วมะแฮะ *(Cajanus cajan*) มีเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนที่ตรึงได้จากอากาศสูงที่สุด (% Ndfa) อยู่ระหว่าง 60-80 % รองลงไปได้แก่ ถั่วเหลือง (*Glycine max*) ถั่วลิสง (*Arachis hypogeae*) และถั่วพุ่ม (*Vigna unquiculata*) ซึ่ง % Ndfa อยู่ระหว่าง 45-60% สำหรับถั่วลันเตา (*Phaseolus vulgaris*) ถั่วพี (*Pisum sativum*) มี % Ndfa อยู่ระหว่าง 40-45% ซึ่งต่ำที่สุด ในทำนองเดียวกัน Bowen and Danso (1987) พบว่าในพืชตระกูลถั่ว จำพวกถั่วอาหารสัตว์ ดังเช่น ถั่วเซนโตรซีมา (Centrosema) ถั่วอัลฟาฟ่า (Alfafa) และถั่วลูพิน (Lupin) มีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจนจากอากาศ (% Ndfa) ที่สูง ซึ่งอยู่ในช่วง 65-95% แต่ถึงกระนั้นก็ตามก็มีผลทำให้ผลผลิตเมล็ดไม่เพิ่มสูงขึ้น

เศรษฐา (2539) ได้ศึกษาถึงการสร้างองค์ประกอบการตรึงไนโตรเจนและการสะสมธาตุไนโตรเจนในสายพันธุ์ถั่วเหลือง พบว่าสายพันธุ์ถั่วเหลืองส่วนใหญ่เริ่มพัฒนาจำนวนปมราก 10-15 วันหลังปลูก เมื่อถั่วเหลืองอายุได้ 40-47 วัน จำนวนปมรากต่อตัวอย่างมีปริมาณมากที่สุด และหลังจากนั้นจำนวนปมรากจะลดต่ำลง แล้วกลับเพิ่มขึ้นอีกเมื่อมีอายุได้ 61 วัน ถั่วเหลืองพันธุ์ ชม.60 มีค่า ARA สูงที่สุด 2,365 µmole C_2H_4/mg ปมรากแห้ง/ชั่วโมงในขณะที่พันธุ์ Enrei มีค่าต่ำสุดคือ 318 µmole C_2H_4/mg ปมรากแห้ง/ชั่วโมง ในทำนองเดียวกัน นันทกร และคณะ (2519) ได้ทำการทดลองวัดปริมาณการตรึงไนโตเจนตลอดอายุ ของถั่วเหลืองโดยวิธี acetylene reduction assay พบว่าถั่วเหลืองสามารถตรึงไนโตรเจนได้ 8.3 กิโลกรัมต่อไร่ และคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ได้ประมาณ 40 % ของไนโตรเจนทั้งหมดในเมล็ด

Abaidoo et al. (1999) รายงานถึงความสามารถของสายพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีการสร้างปมกับ *Bradyrhizobium* ซึ่งได้ประเมินถึงสัดส่วนในการเกิดปมและความสามารถในการตรึงไนโตรเจนจากอากาศ (% Ndfa) ซึ่งได้ทำการศึกษากับถั่วเหลือง 9 สายพันธุ์ที่มีช่วงระยะเวลาการสุกแก่ที่แตกต่างกัน โดยใช้วิธี ^{15}N isotope dilution พบว่าพันธุ์ถั่วเหลืองเกือบทุกสายพันธุ์จะมีการพัฒนาจำนวนปมเพิ่มขึ้นจนถึงระยะฝักแต่ง ยกเว้นพันธุ์ TGX 144-2D และ TGX 1519-1D ที่มีปมเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ซึ่งสัดส่วนของไนโตรเจนที่พืชตรึงได้ (% Ndfa) อยู่ระหว่าง 51-67%, 77-84% และ 66-73% เมื่อถั่วเหลืองออกดอกเต็มที่ ก่อนที่ฝักจะแต่ง และช่วงสุกแก่ตามลำดับ การสะสมไนโตรเจนทั้งหมด (Total N) อาจจะไม่มีความสัมพันธ์กัน ถึงกระนั้นก็ตามสายพันธุ์ถั่วเหลืองก็ยังคงมีค่าไนโตรเจนทั้งหมด (Total N) ต่ำกว่ามาตรฐาน 10-19% ด้วยเหตุนี้อาจจะเป็นผลจากถั่วเหลืองดูดไนโตรเจนจากดินและรวมไปถึงความสามารถของไรโซเบียมยังไม่มีประสิทธิภาพที่ดีพอ

Abd-Alla et al. (1999) ได้ศึกษาถึงอิทธิพลของดินตะกอนจากท่อน้ำทิ้งที่มีผลต่อการสร้างปมรากตรึงไนโตรเจนและการเจริญเติบโตของ faba bean ถั่วเหลืองและ lupin พบว่า เมื่อมีการใส่ตะกอนจากท่อน้ำทิ้ง 20-30 % w/w มีผลทำให้การสร้างปม การตรึงไนโตรเจนและการเจริญเติบโตของถั่วทั้ง 3 ชนิดเพิ่มสูงขึ้น เมื่อมีการใส่ดินตะกอนปริมาณ 30% w/w เปรียบเทียบกับการไม่ใส่ดินตะกอน พบว่ามีผลทำให้การพัฒนาของปมเพิ่มขึ้นเป็น 55%, 69% และ 71% กับถั่ว faba ถั่วเหลือง และ lupin ตามลำดับ เมื่อมีการใช้ความเข้มข้นที่สูงขึ้นเป็น 40-50% w/w มีผลทำให้การพัฒนาปม การตรึงไนโตรเจน การสะสมน้ำหนักแห้งและปริมาณไนโตรเจนลดลง และเมื่อมีการใช้ความเข้มข้นที่สูง 50% w/w มีผลทำให้จำนวนปมลดลง 62%, 79% และ 29% กับถั่ว faba ถั่วเหลือง และ lupin ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเมื่อมีการใช้ความเข้มข้นที่สูงซึ่งอาจจะมีโลหะหนักปนอยู่ ดังเช่น ทองแดง และสังกะสี ในปริมาณที่สูง ซึ่งเป็นพิษต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์จำพวกไรโซเบียม

Sanginga et al. (1997) ได้ศึกษาการตรึงไนโตรเจนและการสร้างปมของถั่วเหลืองที่ประเทศไนจีเรีย พบว่าเมื่อมีการคลุกเชื้อไรโซเบียมให้กับเมล็ดถั่วเหลืองมีผลทำให้ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด(Total N) และผลผลิตเมล็ดเพิ่มขึ้นกับถั่วเหลืองพันธุ์ IAC100 และ TGX 1456-2E ซึ่งเป็นพันธุ์อายุสั้น แต่ไม่มีผลกับถั่วเหลืองพันธุ์ TGX 1660-19F ซึ่งเป็นพันธุ์อายุยาว สำหรับไนโตรเจนที่ตรึงได้จากอากาศ (Ndfa) และไนโตรเจนที่ได้จากดิน (Ndfs) ซึ่งมีประโยชน์มากถึง 84 และ 75 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อเฮกตาร์ หรือ 46 และ 47% ตามลำดับ สำหรับถั่วเหลืองอายุยาวไนโตรเจนที่ตรึงได้ให้ค่าเฉลี่ย 126 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อเฮกตาร์หรือมีไนโตรเจนทั้งหมด (Total N) 52% สำหรับถั่วเหลืองอายุสั้นจะมีอยู่เพียง 37 กิโลกรัม

ไนโตรเจนต่อเฮกตาร์หรือ 38% ของไนโตรเจนทั้งหมด (Total N) จำนวนไนโตรเจนทั้งหมดและการตรึงไนโตรเจนจะมีระดับต่ำอยู่ในช่วงแรกของการเจริญเติบโตคือระยะ V-2/V-3 R-1/R-2 แต่จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อเข้าสู่ระยะ R-3/R-4 และจะหยุดลงหลังระยะ R-3/R-4 สัดส่วนของ Ndfa จะเพิ่มขึ้นตามระยะการเจริญเติบโต และในช่วงการสุกแก่จะมีไนโตรเจนทั้งหมดสะสมในเมล็ดอยู่สูงถึง 70% ในช่วงระยะ R-3/R-4 ราก ใบ และลำต้น จะมีการสะสมไนโตรเจนทั้งหมด 13, 53 และ 32% ตามลำดับ ซึ่งประกอบการโดยรวมแล้วหลังจากที่เก็บเกี่ยวถั่วเหลืองแล้วจะมีธาตุไนโตรเจนเพิ่มขึ้นถึง 18 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ คือ 8-43 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ถั่วเหลืองและไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพ

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพของพืชตระกูลถั่ว

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพเป็นกิจกรรมร่วมกันระหว่างพืชตระกูลถั่วกับไรโซเบียมนั้นมีอยู่มากด้วยกัน ทั้งนี้เพราะนอกจากปัจจัยที่มีผลกระทบกระเทือนต่อกระบวนการตรึงไนโตรเจนโดยตรงแล้ว ยังมีปัจจัยทางอ้อมอื่นๆ อีกที่มีส่วนกระทบกระเทือนต่อกระบวนการทางชีวเคมีต่างๆ ในพืชและไรโซเบียม ซึ่งมีผลสะท้อนถึงการตรึงไนโตรเจน และเป็นที่แน่นอนว่าการตรึงไนโตรเจนในดิน ในน้ำและในสภาพแวดล้อมอื่นๆ ก็ย่อมมีปัจจัยอื่นๆ ที่ควบคุม หรือมีอิทธิพลต่อกระบวนการนี้มากกว่าการตรึงไนโตรเจนในสภาพแวดล้อมที่บริสุทธิ์และควบคุมได้ ซึ่งปัจจัยต่างๆ ที่มีส่วนเกี่ยวข้องต่อการตรึงไนโตรเจนมีดังนี้

1. **สายพันธุ์ของไรโซเบียม**

สายพันธุ์ของไรโซเบียมนับว่ามีอิทธิพลมากที่สุดต่อการตรึงไนโตรเจนของพืชตระกูลถั่ว (สมศักดิ์, 2541) ถั่วชนิดหนึ่งหรือถั่วสายพันธุ์หนึ่งอาจเกิดปมได้ โดยไรโซเบียมหลายสายพันธุ์ แต่ละสายพันธุ์อาจมีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนร่วมกับพืชตระกูลถั่วได้ไม่เท่ากัน ในทำนองเดียวกัน พรพิมลและคณะ (2540) ได้ศึกษาถึง ผลของสายพันธุ์ *B. japonicum* ต่อปริมาณการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลืองในประเทศไทย พบว่า ที่เชียงใหม่ ถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 ให้ผลผลิตดีที่สุด ซึ่งเป็นผลที่ได้จากการใช้สายพันธุ์ไรโซเบียมที่เหมาะสมกว่าพันธุ์ สจ.4 และปรากฏว่าเป็นสายพันธุ์ที่กำเนิดในประเทศไทย สายพันธุ์ที่ดีคือ THA2, THA7, Niftal649, Niftal410 และ 16A10C ปริมาณการตรึงไนโตรเจนวัดได้ ระหว่าง 16.7-26.0 กิโลกรัมN/ ไร่ และในทำนองเดียวกันที่ขอนแก่น พบว่าผลผลิตของทั้งสองพันธุ์อยู่ระหว่าง 242-418 กิโลกรัม/ไร่ ถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 ให้ผลผลิตดีกว่าพันธุ์ สจ.4 เมื่อใช้ *B. japonicum* Niftal 944, Niftal

213 และ 61A143 และพันธุ์ สจ.4 จะเหมาะสมและให้ผลผลิตดีเมื่อใช้ THA2 Niftal 143 และ Niftal 429 อย่างไรก็ตามในการวัดปริมาณการตรึงไนโตรเจนโดย วิธี ^{15}N isotope dilution ที่ได้ค่าสูงมากจะมาจากเชื้อไรโซเบียม Nkftal 411, Niftal 413, THA2, THA7 และ 61A148 ซึ่งแสดงว่าสายพันธุ์แบคทีเรียของเชื้อไรโซเบียมชนิดต่างๆ จะให้ผลกระทบแตกต่างกันกับพันธุ์ถั่วเหลือง และที่ขอนแก่นพันธุ์ถั่วเหลืองไม่แสดงความแตกต่างของผลผลิตน้ำหนักแห้งของพืช ผลผลิตเมล็ดและปริมาณการตรึงไนโตรเจน

2. อิทธิพลของความเป็นกรดเป็นด่าง

โดยทั่วๆ ไป pH 5-8 เป็นช่วงที่เหมาะสมในการตรึงไนโตเจนร่วมกันระหว่างไรโซเบียมกับพืชตระกูลถั่ว (สมศักดิ์, 2541) ถ้าดินที่มี pH ต่ำ หรือดินเป็นกรดจะเกิดพิษจากอลูมิเนียม และแมงกานีส มีผลทำให้การเข้าสู่รากพืชของไรโซเบียมเป็นไปได้ยาก ซึ่งจะส่งผลทำให้จำนวนปมมีปริมาณที่น้อยและขนาดปมเล็ก ในทำนองเดียวกัน จันทนาและคณะ (2541) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อไรโซเบียมบางสายพันธุ์ในดินที่มี pH แตกต่างกันพบว่า ความสามารถในการสร้างปมและการตรึงไนโตรเจนของไรโซเบียมแต่ละสายพันธุ์มีผลต่อการตอบสนองต่อดินที่มี pH ที่แตกต่างกัน คือบางสายพันธุ์ตอบสนองได้ดีในดินที่มี pH 5 ในขณะที่บางสายพันธุ์ตอบสนองในดินที่มี pH7 เป็นต้น

3. อิทธิพลของอุณหภูมิและความชื้นดิน

อุณหภูมิและความชื้นดินนับว่ามีส่วนเกี่ยวข้องต่อการตรึงไนโตรเจนของพืชตระกูลถั่วและไรโซเบียมเป็นอย่างยิ่ง ITTA (1985) รายงานว่าอุณหภูมิและความชื้นมีผลต่อการมีชีวิต (survival) ของไรโซเบียมเป็นอย่างมาก ถ้าอุณหภูมิที่ต่ำมีผลทำให้การอยู่ร่วมกันระหว่างไรโซเบียมและพืชตระกูลถั่วลดต่ำลง ซึ่งจะส่งผลทำให้การตรึงไนโตรเจนลดประสิทธิภาพลง สมศักดิ์ (2541) กล่าวว่าอุณหภูมิระหว่าง 7-22 องศาเซลเซียส การเจริญของปมถั่วเขตหนาวจะเจริญได้ดี ในขณะที่อุณหภูมิ 19-35 องศาเซลเซียส การเจริญของปมถั่วในเขตร้อนจะเจริญได้ดี ถ้ามีอุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่านี้ จะมีผลทำให้ขนาดของปมเล็กและจำนวนแบคทีรอยด์ต่ำกว่าปกติ ซึ่งจะส่งผลทำให้การตรึงไนโตรเจนของปมนั้นๆ เป็นไปอย่างไม่มีประสิทธิภาพ Ohasi et al. (2000) พบว่าเมื่อถั่วเหลืองได้รับความเครียดจากการขาดน้ำ (water strees) มีผลทำให้น้ำหนักมวลรวมและการตรึงไนโตรเจนลดต่ำลง

4. อิทธิพลของแสง

แสงมีอิทธิพลต่อการตรึงไนโตรเจนโดยไรโซเบียมและพืชตระกูลถั่วทั้งทางตรงและทางอ้อม อิทธิพลทางตรงคืออิทธิพลต่ออัตราส่วนของคาร์โบไฮเดรตและไนโตรเจน หรือ C : N ratio ในต้นถั่วและในปม ซึ่งเรียกว่า photosynthetic effect คือถ้าปมถั่วที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้อย่างมีประสิทธิภาพนั้นจะต้องมีอัตราส่วนของคาร์โบไฮเดรตต่อไนโตรเจนที่เหมาะสม ถ้ามีอัตราส่วนที่สูงหรือต่ำกว่าจุดที่เหมาะสมจะทำให้ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนลดต่ำลงและสำหรับอิทธิพลโดยทางอ้อม ได้แก่ อิทธิพลต่อการเจริญของรากตลอดจนการเกิดและการเจริญของปม

5. อิทธิพลของธาตุอาหารพืชที่มีอยู่ในดิน

ดินแต่ละชนิดจะมีธาตุอาหารที่แตกต่างกัน ดินที่มีระดับของไนโตรเจนสูงประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนจะลดลง (สำเนา, 2539) ในทำนองเดียวกัน พรพิมล และคณะ (2540) พบว่าการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนมีผลทำให้จำนวนปมที่เกิดลดลง ทั้งที่มีการคลุกเชื้อและไม่มีการคลุกเชื้อไรโซเบียมให้เมล็ดถั่ว ในทำนองเดียวกันอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่สูงทำให้สัดส่วนของไนโตรเจนในพืชที่มาจากอากาศลดลงและเป็นผลให้ปริมาณการตรึงไนโตรเจนลดลง

ในกรณีของธาตุฟอสฟอรัสในดิน สำเนา (2539) พบว่าฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชเป็นปัจจัยสำคัญที่ควบคุมการตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพ กล่าวคือ ถ้าดินมีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ไม่เพียงพอจะจำกัดจำนวนเชื้อไรโซเบียมเป็นอย่างมาก ซึ่งมีความสัมพันธ์โดยตรงกับผลผลิตของถั่วเหลือง

ในกรณีของธาตุโพแทสเซียมดินในประเทศไทยส่วนใหญ่มีปริมาณธาตุโพแทสเซียมที่เพียงพอยกเว้นดินทรายที่มีโพแทสเซียมต่ำ โดยทั่วไปแล้วดินที่มีโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ได้ต่ำกว่า 50 ppm จำเป็นต้องใส่ปุ๋ยโพแทสเซียมเพิ่มในอัตรา 6 กก. K_2O/ไร่ จะมีผลทำให้สร้างความสมดุลของธาตุอาหารและทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น

ในกรณีของธาตุอาหารรอง และธาตุอาหารเสริม การขาดธาตุอาหารโดยเฉพาะธาตุกำมะถัน แคลเซียม โมลิบดินัมจะพบในดินที่เป็นทราย และมีการใช้ปุ๋ยที่มีธาตุอาหารหลักในอัตราที่สูงเท่านั้น (สำเนา, 2539) ซึ่งจะส่งผลต่อกระบวนการตรึงไนโตรเจน

6. อิทธิพลเนื่องจากการแก่งแย่งกันระหว่างสายพันธุ์ของไรโซเบียม

ไรโซเบียมในแต่ละสายพันธุ์มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนได้ต่างกัน ไรโซเบียมสายพันธุ์ต่างๆ เหล่านี้จะแก่งแย่งกันสำหรับตำแหน่งที่จะเข้าสู่ราก จากการทดสอบความสามารถในการแก่งแย่งกันนี้ไม่ปรากฏผลว่าไรโซเบียมที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนต่ำหรือสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนสูงมีความสามารถในการแก่งแย่งได้ดีกว่ากัน (สมศักดิ์, 2541) ดังนั้นเพื่อเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนจึงจำเป็นที่จะต้องทำการฉีดพ่นหรือคลุกเมล็ดด้วยไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพก็จะส่งผลทำให้การตรึงไนโตรเจนเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ

7. อิทธิพลของสิ่งมีชีวิตในดิน

จุลินทรีย์ต่างๆ ที่มีอยู่ในดิน เช่น รา แบคทีเรีย และไวรัสชนิดต่างๆ จัดว่าเป็นพวกที่สามารถทำลายไรโซเบียมได้ทั้งขณะที่อาศัยอย่างอิสระภายในดิน และเมื่ออาศัยอยู่ในปมถั่ว โดยเฉพาะพวก Bacteriophage ที่กินเชื้อไรโซเบียมจะทำให้ปริมาณเชื้อไรโซเบียมลดลง (จิระศักดิ์, 2539 ; สมศักดิ์, 2541) ซึ่งถือว่าเป็นการลดอัตราการตรึงไนโตรเจนโดยทั้งทางตรงและทางอ้อม

8. อิทธิพลของสารเคมีในทางการเกษตร

สารเคมีที่สำคัญในทางการเกษตร คือสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช (fungicides) สารป้องกันกำจัดแมลง (insecticides) และสารป้องกันกำจัดวัชพืช (herbicides) พบว่ามีผลต่อการเจริญเติบโตของไรโซเบียม ในทำนองเดียวกันก็มีผลต่อจำนวนปมถั่วเหลืองและปริมาณการตรึงไนโตรเจนถึงแม้จะใส่ในอัตราที่แนะนำ จันทนาและคณะ (2542) ได้ศึกษาถึงผลของสารกำจัดวัชพืช sethoxydim, alachlor, fluazifop butyl และ metolachlor ในอัตราที่แนะนำเพื่อกำจัดวัชพืช ไม่มีผลต่อการตรึงไนโตรเจนและผลผลิต แต่การใช้ paraquat จะลดประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน ในด้านสารป้องกันกำจัดเชื้อรา ดังเช่น captan, PCNB มีผลเพียงเล็กน้อย สำหรับสารป้องกันกำจัดเชื้อราอื่นๆ ก็มีผลต่อไรโซเบียมแต่ละสายพันธุ์แตกต่างกันออกไป อย่างไรก็ตามสารป้องกันกำจัดแมลง ดังเช่น ฟูราดาน แลนเนท มีผลเพียงเล็กน้อยต่อการสร้างปมโดยเชื้อ ไรโซเบียม แต่ Difolatan ทำให้สร้างปมลดลงถึง 50% (กรมวิชาการเกษตร, 2535)

9. อิทธิพลของพืชอาศัย

อิทธิพลของพืชแต่ละสายพันธุ์มีความสามารถในการส่งเสริมการตรึงไนโตรเจนและจำนวนของไรโซเบียมที่ตรึงได้แตกต่างกัน ซึ่งกิจกรรมการตรึงไนโตรเจนถูกควบคุมด้วยยีนของพืช Hungria and Bohrer (2000) ได้ศึกษาถึงความแปรปรวนของจำนวนปมและการตรึงไนโตรเจนของแต่ละสายพันธุ์ถั่วเหลือง โดยใช้สายพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนสูง จากอเมริกาเหนือและบราซิล ใช้ *Bradyrhizobium elkanii* 3 สายพันธุ์ คือ SEMIA5019, SEMIA566, SEMIA587 พบว่า ถั่วเหลืองในแต่ละสายพันธุ์มีความแตกต่าง ทางสถิติ ซึ่งมีผลต่อน้ำหนักแห้งปม และปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้ ซึ่งความแตกต่างที่เกิดขึ้นนี้ มีผลต่อจำนวนปม ผลผลิต และเปอร์เซ็นต์โปรตีนที่สะสมในเมล็ด และยังได้ทำการทดลองในสภาพปลอดเชื้อ และไม่มีไนโตรเจน (N-free) พบว่า ในแต่ละสายพันธุ์ของถั่วเหลืองมีความจำเพาะเจาะจงกับสายพันธุ์ของไรโซเบียม

Okereke et al. (2000) ได้ศึกษาถึงอิทธิพลของสายพันธุ์ไรโซเบียมกับถั่วเหลืองพบว่า จำนวนปมและน้ำหนักแห้งปม มีความแตกต่างทางสถิติ และแสดงให้เห็นว่า หลังจากปลูกถั่วเหลืองได้ 84 วันจะมีความแตกต่างมาก ซึ่งเป็นผลมาจากการสร้างปมของไรโซเบียมกับถั่วเหลือง น้ำหนักแห้งต้น, % ไนโตรเจน (%N), ไนโตรเจนทั้งหมด (TOTAL N) และผลผลิตเมล็ดจะเพิ่มขึ้นซึ่งเป็นผลจากจำนวนปมที่เพิ่มขึ้น ความสามารถของไรโซเบียมในแต่ละสายพันธุ์ สายพันธุ์ USDA 110 มีความสามารถการสร้างปมมากกว่าสายพันธุ์อื่น ๆ แต่ถึงกระนั้นก็ตามสายพันธุ์ของถั่วเหลืองมีความจำเพาะเจาะจงกับสายพันธุ์ของไรโซเบียมพันธุ์ใดพันธุ์หนึ่งเท่านั้น

พรพิมลและคณะ (2540) พบว่าถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.2 และ สจ.5 มีผลกระทบเนื่องจากชนิดของเชื้อไรโซเบียม ในด้านผลผลิตเมล็ด และน้ำหนักแห้งของพืช ซึ่งน้ำหนักแห้งของพืชที่มีการใช้เชื้อไรโซเบียมจะมีความสัมพันธ์กับกิจกรรมการตรึงไนโตรเจน กล่าวคือ พันธุ์ สจ.5 จะเหมาะสมที่สุดกับเชื้อไรโซเบียม Niftal 411, 413, 215 และ 410 และเชื้อเหล่านี้จะให้ผลดีปานกลางเท่านั้น ถ้าใช้กับพันธุ์ สจ.2 ซึ่งเชื้อที่ดีที่สุดกับพันธุ์ สจ.2 คือ Niftal 429, 213 และ 415 ซึ่งให้ผลปานกลางกับพันธุ์ สจ.5

ยีนไรโซเบียมที่เกี่ยวข้องกับการตรึงไนโตรเจน

กลุ่มของยีนที่มีบทบาทต่อการอยู่ร่วมแบบพึ่งพาอาศัยกันระหว่างไรโซเบียมและพืชนั้น สามารถจำแนกได้ดังต่อไปนี้ (หนึ่งและนันทกร, 2540)

1. กลุ่มของ nod gene

ในกลุ่มของไรโซเบียมที่เจริญได้เร็วนั้นกลุ่มของ nod gene นั้นจะพบอยู่บนพลาสมิด (plasmid) ขนาดใหญ่ที่เรียกว่า psym ส่วนในกลุ่มไรโซเบียมที่เจริญได้ช้า เช่น ใน *Bradyrhizobium* จะพบว่ากลุ่มของ nod gene แทรกตัวอยู่ในโครโมโซม ในไรโซเบียมทุกสายพันธุ์จะพบกลุ่ม nod gene ที่เป็น nod A,B,C,I,J หรือเรียกว่า Common nod gene ซึ่งเป็นเพราะว่าลักษณะทางกายภาพและหน้าที่จะพบว่าคล้ายหรือเหมือนกันในไรโซเบียมทุกชนิด ส่วนอีกกลุ่มที่พบว่าเป็นกลุ่มที่มีความเกี่ยวข้องกับความจำเพาะเจาะจงต่อชนิดของพืชนั้นได้แก่ nod D, nod FE, nod G, nod H และ nod L

Nod gene จะมีบทบาทต่อการเกิดปมกับรากถั่ว ในลำดับแรกพืชจะปล่อยสารจำพวก flavonoid ที่จะกระตุ้นให้ยีน nod D สร้างโปรตีนที่เรียกว่า regulatory Nod D protein โดยมักพบอยู่ที่บริเวณผนังเซลล์ด้านในของไรโซเบียม หน้าที่สำคัญที่สุดของโปรตีนชนิดนี้คือ เป็นตัวที่จะพิจารณาการที่ไรโซเบียมจะเข้าสู่รากของพืชแต่ละชนิดหรือเป็นส่วนที่แสดงให้เห็นถึงความจำเพาะเจาะจงต่อสายพันธุ์ไรโซเบียมและชนิดของพืช โดยที่ Nod D Protein นี้อาจเรียกได้ว่าเป็นตัวกระตุ้นให้เกิดกระบวนการถอดรหัสบน DNA โดยที่จะเข้าเกาะกับ DNA ในส่วนที่ลำดับเบสมีลักษณะเป็น conserved DNA sequence บริเวณนี้เรียกว่า nod box มีขนาด 47 bp ซึ่งจัดว่าเป็นส่วนที่เป็น upstream ของ nod operons ที่ปลายโมเลกุลของ Nod D Protein ซึ่งมีอะตอมของคาร์บอนเกาะอยู่จะเป็นส่วนที่มีความจำเพาะเจาะจงสูงต่อ flavonoid ในขณะที่อีกปลายหนึ่งมีอะตอมของไนโตรเจนเกาะอยู่จะทำหน้าที่จับกับ nod box

เมื่อ flavonoid ที่ปล่อยจากรากพืชออกมากระตุ้นให้กลุ่มของยีน nod มีการแสดงออก เซลล์ของไรโซเบียมก็จะเข้าสัมผัสกับที่บริเวณผิวของราก การที่เข้าไปจับเกาะที่ผิวรากนั้นอาจเกิดขึ้น 2 ลักษณะ คือการเข้าเกาะจับอย่างหลวม ๆ ที่บริเวณที่เป็นส่วน receptor ซึ่งมักเป็นสารพวก lectin หรือ glycoprotein ของรากโดยใช้โปรตีนที่ผนังเซลล์ของไรโซเบียมเอง โปรตีนนี้เรียกว่า rhicadesin อีกลักษณะหนึ่งของการจับเกาะก็คือไรโซเบียมจะเกาะกับผิวรากแบบกระชับขึ้น โดยใช้ส่วนของผนังเซลล์ที่เรียกว่า fimbriae ซึ่งมีองค์ประกอบเป็นเซลลูโลส จากนั้นเซลล์

ของไรโซเบียมก็จะเข้าสู่เซลล์ของรากที่บริเวณตอนปลายสุดของราก เพราะจะมีผนังเซลล์ค่อนข้างบางและมีส่วนที่เป็น cross link ค่อนข้างน้อยทำให้ง่ายต่อการเข้าสู่เซลล์ราก

กลุ่มของยีน nod ที่เหลือก็จะมีการแสดงออกสร้างสาระสำคัญที่รวมเรียกว่า nod factor กลไกในการสังเคราะห์ nod factor นั้น เกิดขึ้นจากการทำงานที่ค่อนข้างซับซ้อนจากแต่ละ nod gene เช่น nod c จะทำหน้าที่เชื่อมไมเลกุลของ glucosamine เข้าด้วยกัน โดยที่แต่ละไมเลกุลของ glucosamine ก็ถูกสร้างมาจากยีน nod M ส่วนยีน nod I จะทำหน้าที่เติม acetyl group ให้ที่ glucosamine residues อีกที่หนึ่ง ส่วนยีน nod FE จะสร้างเอนไซม์ที่มีความสำคัญในการสร้าง fatty acid side-chain

Nod factor ที่สร้างขึ้นนี้จะเปรียบเสมือนสัญญาณที่ไปกระตุ้นให้ระดับ Ca^{2+} ในเซลล์รากพืชเปลี่ยนไปโดย nod factor จะทำให้เกิดกระบวนการที่เรียกว่า depolarization ที่บริเวณเซลล์เมมเบรนของรากพืช ปรากฏการณ์อื่นๆ ที่สำคัญที่เกิดตามมาก็คือ vacuole ในเซลล์รากพืชมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง มีการจัดเรียงตัวใหม่ของ Cytoskeletal ในรากพืช และปริมาณของฮอร์โมนบางชนิดเปลี่ยนไป เช่น พบว่ามีการสร้าง cytokinin เกิดขึ้น ซึ่งจัดเป็นฮอร์โมนที่กระตุ้นให้เกิดกระบวนการแบ่งเซลล์แบบ mitosis และรากก็จะเกิดเป็นปมในที่สุด

2. กลุ่ม nif gene

มีบทบาทต่อการสร้างโปรตีนที่สำคัญที่สุดในกระบวนการตรึงไนโตรเจน ได้แก่ เอนไซม์ไนโตรจีเนส (nitrogenase) รวมไปถึงหน่วยย่อยต่างๆ ของเอนไซม์ด้วย ไนโตรจีเนสโดยทั่วไปประกอบไปด้วยส่วนที่เป็นโปรตีนสำคัญ 2 ส่วนคือ ส่วนที่เป็น Iron protein (Fe protein) และ molybdenum-iron (Mofe protein) โดยที่ทั้งสองส่วนนี้จะช่วยกันสร้างกระบวนการที่เรียกว่า ATP dependent reduction ทำให้ก๊าซไนโตรเจนเปลี่ยนเป็นแอมโมเนียปฏิกิริยาโดยรวมสามารถสรุปได้คือ ขั้นแรกจะเกิดกระบวนการ reduction ของส่วนที่เป็น Fe protein จากนั้นจึงมีการเคลื่อนย้ายของอิเลคตรอนผ่าน ATP ไปยัง Mofe protein และ Mo ATP แล้วอิเลคตรอนกับโปรตอนที่เกิดขึ้นจึงถูกส่งไปอีกครั้งที่โมเลกุลของก๊าซไนโตรเจนซึ่งมักจะเกาะอยู่ที่ FeMo cofactor ของ Mofe Protein นั้นคือ กลุ่มของ nif gene ประกอบด้วย nif H, nif D, nif K, nif E, nif N, nif B, nif S, nif W, nif X และ nif A

ส่วนที่เป็น nif D และ nif K จะเป็นส่วนที่สำคัญต่อโครงสร้างของเอนไซม์ไนโตรจีเนสโดยเฉพาะส่วนที่เป็น a_2b_2 FeMo Protein หรือที่เรียกว่า component I ส่วน nif H นั้นจะเป็นยีนที่ควบคุมการสร้าง Fe protein หรือเรียกว่า component II ในการสังเคราะห์ FeMo cofactor ของส่วนที่เป็น Component I นั้น กลุ่มของ nif gene ที่เกี่ยวข้องคือ nif E, nif N

และ nif B ส่วนยีน nif A นั้นจะมีความสำคัญต่อประสิทธิภาพการทำงานของ Component I และ II และยีน nif W นั้น มีความสำคัญต่อประสิทธิภาพการทำงานของ Mo Fe protein รวมไปถึงการควบคุมประสิทธิภาพการทำงานโดยรวมของเอนไซม์ในโตรจีเนสอีกด้วย

บทบาทและหน้าที่สำคัญของกลุ่ม nif gene โดยรวม คือมีหน้าที่เกี่ยวกับการรวมตัวของหน่วยย่อยของเอนไซม์ การก่อให้เกิดความสมบูรณ์ของโครงสร้างเอนไซม์และเสถียรภาพของเอนไซม์ในการทำงานอีกด้วย

3. กลุ่ม fix gene

ยีน Fix ABCX ของกลุ่ม fix gene พบครั้งแรกในเชื้อ *R. meleloti* ที่จัดเรียงตัวอยู่ในรูป single operon ยกเว้นใน *R. japonicum* ซึ่งจะมียีน fix A แยกออกจากยีน fix BCX ความสำคัญของกลุ่ม fix gene นี้จะ สัมพันธ์กับกระบวนการขนถ่ายอิเลคตรอนไปยังเอนไซม์ในโตรจีเนสหรือกระบวนการ redox นั้นเอง

ยีน fix NOQP มีความสำคัญต่อกาวะแบบพึ่งพา โดยเฉพาะในส่วนบทบาทของเอนไซม์ออกซิเดส (oxidase) ซึ่งมีความสำคัญต่อกระบวนการหายใจในสภาพที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำในปมรากถั่ว

ยีน fix GHIS มีความสำคัญต่อกระบวนการ redox และสัมพันธ์กับเอนไซม์เอทีพีเอส (ATPase) ซึ่งเป็นตัวการสำคัญในการจัดสรรพลังงานให้แก่เซลล์เพื่อการดำรงชีวิต

ยีน fix R คาดว่ามีความสำคัญต่อกระบวนการ oxidation-reduction แต่รายละเอียดหรือหลักฐานสนับสนุนยังไม่ชัดเจน

วิธีการวัดประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน

ในการคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเหลืองและไรโซเบียมที่มีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจนจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องทราบถึงปริมาณการตรึงไนโตรเจนที่ตรึงไว้ ซึ่งได้มีการวัดการตรึงไนโตรเจนดังรายละเอียดต่อไปนี้ (Hardarson และ Danso, 1993)

1. วิธีวัดน้ำหนักผลผลิต (Dry matter yield method)

ในการวัดผลผลิตนั้นจะมีความสัมพันธ์ทางบวกกับจำนวนไนโตรเจนที่ตรึงได้ซึ่งวิธีการนี้สามารถใช้ในการแยกประสิทธิภาพของเชื้อไรโซเบียมและพืชอาศัยได้

2. การนับจำนวนปม

น้ำหนักแห้งและจำนวนปมมีความสัมพันธ์ทางบวกกับจำนวนไนโตรเจนที่ตรึงได้ วิธีนี้สามารถใช้เมื่อมีการทดสอบไรโซเบียมและถั่วเหลืองในปริมาณที่มาก ซึ่งเป็นการประมาณการคร่าวๆ และการนับจำนวนปมกับน้ำหนักแห้งก็สามารถใช้เป็นข้อมูลเปรียบเทียบกับวิธีการอื่นๆ ได้

3. Acetelene Reduction Assay (ARA)

เป็นวิธีการวัดกิจกรรมการตรึงไนโตรเจนทางอ้อม โดยทำการนำปมรากไปบ่มในขวด โดยมีแก๊สอะเซทิลีนอยู่และหลังจากนั้นแก๊สอะเซทิลีนจะถูกเปลี่ยนเป็นแก๊สเอทิลีนและนำไปแปรผลได้ โดยเครื่อง GC (Gas Chromatograph) ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีการวัดกิจกรรมไนโตรจีเนส

4. Xylem-solute technique

วิธีการนี้เป็นพื้นฐานในการวัดและเปรียบเทียบส่วนประกอบของธาตุไนโตรเจนที่มีอยู่ในต้นพืช ซึ่งจะมีการลำเลียงจากรากไปสู่ยอดผ่านทางท่อลำเลียงอาหาร

5. การตรวจวัดโดยวิธีไนโตรเจนไอโซโทปหรือ ^{15}N isotope dilution technique

หลักสำคัญของ ^{15}N isotope dilution technique

ไนโตรเจนมีสองไอโซโทป คือ ^{14}N และ ^{15}N ซึ่งเป็นไอโซโทปที่คงที่ ไอโซโทปปกติที่มีอยู่ในธรรมชาติเป็นส่วนใหญ่ คือ ^{14}N และ ^{15}N มีสัดส่วนที่คงที่ในอัตรา 0.3663 อะตอมต่อร้อยอะตอมไนโตรเจน และมีความผันแปรที่วัดได้ในธรรมชาติอยู่ในช่วง 0.36628-0.36632 ถั่วที่ได้ไนโตรเจนจากอากาศเพียงแหล่งเดียวย่อมมีอัตราส่วน ^{15}N เท่ากับอากาศ คือ 0.3663% อะตอม ถ้าไนโตรเจนที่ถั่วดูดจากดินมี ^{15}N สูงกว่า การวัดระดับ ^{15}N ในถั่วย่อมบ่งชี้สัดส่วนไนโตรเจนในถั่วที่มาจากอากาศและในดินได้ โดยอาศัยสัดส่วน ^{15}N พืชอ้างอิงที่ไม่ตรึงไนโตรเจนบ่งชี้ระดับ ^{15}N ในดิน (Hardarson and Danso, 1993)

ความสำคัญของ ^{15}N isotope เพื่อใช้ในการคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเหลืองและไรโซเบียม

วิธี ^{15}N ไอโซโทปเป็นวิธีที่วัดประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนได้โดยตรง จันทนาและคณะ (2541) ได้ทำการทดลองในกระถางเพื่อเปรียบเทียบปริมาณการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลืองเมื่อใช้ไรโซเบียมสายพันธุ์ต่างๆ ในดินที่มี pH 5.2 และ 7.0 พบว่าประมาณการตรึงไนโตรเจน

ที่วัดด้วย ^{15}N isotope dilution มีค่าตั้งแต่ 4.43-7.79 มิลลิกรัม N/กระถาง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับไรโซเบียม และ pH ของดิน Hardarson et al. (1984) ได้ศึกษาถึงประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของไรโซเบียม 20 สายพันธุ์ ที่อยู่ร่วมกันกับถั่วเหลือง พบว่ามีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนได้จาก 38-76 เปอร์เซ็นต์ ภายใต้สภาพแปลงทดลองและยังพบว่าสายพันธุ์ของไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพจะสามารถตรึงไนโตรเจนได้ถึง 200 kg N/ha สำหรับไรโซเบียมที่ไม่มีประสิทธิภาพจะสามารถตรึงไนโตรเจนได้เพียง 60 kg N/ha

Zapata et al. (1987) ได้ศึกษาถึงระยะการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลือง พบว่าเมื่อถั่วเหลืองอายุได้ 74-80 วันหลังปลูก จะมีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนได้สูงที่สุด หรือเมื่อเข้าสู่ระยะออกดอก (R1-R3) ซึ่งมีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนได้ถึง 3 kg N/ha/day แสดงให้เห็นว่าช่วงนี้เป็นช่วงที่ระบบรากมีการพัฒนา มีการสร้างปมและแบคทีเรียไรโซเบียมเจริญเข้าไปอาศัยอยู่ได้ดีที่สุด

จันทนาและคณะ (2542) ได้ศึกษาถึงปริมาณการตรึงไนโตรเจนและผลผลิตของถั่วเหลืองพันธุ์ต่างๆ ที่ปลูกในดิน สภาพไถพรวนและไม่ไถพรวน โดยวิธี ^{15}N isotope dilution พบว่าถั่วเหลืองญี่ปุ่นที่ไม่สร้างปมพันธุ์ Tol-0 และ A 62-2 เหมาะสมที่สุด ที่จะใช้เป็นพืชมาตรฐานในการวัดปริมาณการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลืองพันธุ์ไทยในดินซึ่งมีไรโซเบียมอยู่ตามธรรมชาติแล้ว และพบว่าพันธุ์ถั่วเหลืองแนะนำของไทย (สจ.1, 2, 4, 5) และสายพันธุ์จาก ASET (AVRDC Soybean Evaluation Trial) 16-4 ให้ผลแตกต่างเล็กน้อยในการตรึงไนโตรเจนหรือผลผลิต อาจเป็นไปได้ว่ามีต้นกำเนิดที่คล้ายคลึงกับพันธุ์จาก ASET 10 สายพันธุ์ มีความสามารถในการใช้ไนโตรเจนจาก 3 แหล่ง (ดิน ปุ๋ย และอากาศ) และเคลื่อนย้ายไปยังส่วนต่างๆ ของพืชทำให้เกิดประสิทธิภาพในการสร้างผลผลิต อย่างไรก็ตามไม่มีสายพันธุ์ไหนที่ดีกว่าสายพันธุ์ สจ.4 และ สจ.5 ทั้งๆ ที่ ASET พันธุ์ 129, 208 และ 217 แสดงลักษณะที่ดีกว่า ASET พันธุ์อื่นๆ มาก พันธุ์ถั่วเหลืองที่ปลูกในประเทศไทยเจริญเติบโตและปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดีในสภาพไม่ไถพรวนและปริมาณการตรึงไนโตรเจนได้ใกล้เคียงกับต่างประเทศเฉลี่ยประมาณ 20 กก.N/ไร่ อย่างไรก็ตามผลผลิตที่เขียงใหม่ค่อนข้างต่ำไม่เกิน 320 กก./ไร่ ซึ่งต่ำกว่าประเทศแถบอบอุ่นแสดงให้เห็นว่าถึงแม้ถั่วเหลืองของไทยจะตรึงไนโตรเจนได้สูงแต่ปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้ไม่ทำให้ผลผลิตเพิ่มสูงขึ้น

จันทนาและคณะ (2542) ได้ศึกษาถึงผลของการให้น้ำต่อการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลืองโดยวิธี ^{15}N isotope dilution พบว่าผลการให้น้ำระยะการขาดน้ำอย่างรุนแรงเมื่อต้นถั่วมีอาการเหี่ยวเฉามีผลทำให้การตรึงไนโตเจนของถั่วเหลืองและผลผลิตลดลงอย่างมากทั้งถั่วเหลือง 4 สายพันธุ์ การให้น้ำระยะที่ 1 หรือ 2 สัปดาห์ต่อครั้งจะไม่มีผลต่อผลผลิตและการตรึงไนโตรเจน

ของถั่วเหลืองมากนัก อย่างไรก็ตามควรให้น้ำอย่างสม่ำเสมอกับถั่วเหลืองเพื่อการเพิ่มผลผลิตและประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนจากอากาศ

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองมีถิ่นกำเนิดแถบภาคตะวันออกของทวีปเอเชีย ซึ่งเป็นประเทศจีนในปัจจุบัน ถั่วเหลืองมีชื่อวิทยาศาสตร์หลายชื่อ เช่น *Glycine hispida, Soja max, Phaseolus max* เป็นต้น แต่ชื่อที่นิยมใช้กันทั่วไปคือ *Glycine max* เมล็ดใช้เป็นอาหาร สกัดน้ำมันและเป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมหลายชนิด

ราก ถั่วเหลืองมีระบบรากแบบ tap root system เมื่อเมล็ดงอกรากอันแรกที่เจริญมาจาก radicle เรียกว่า รากแก้ว (primary root) หรือ tap root และจะมีรากแขนง (secondary root หรือ lateral root) เจริญออกมาจากรากแก้วมากมาย รากแขนงจะเจริญไปตามแนวระดับ (horizon) หรืออาจจะเอียงทำมุมกับแนวระดับเพียงเล็กน้อย มีความยาวประมาณ 40-75 เซนติเมตร หลังจากนั้นก็จะเจริญลึกลงไปตามแนวดิ่งถึง 180 เซนติเมตร อย่างไรก็ตามรากที่ทำหน้าที่ตลอดอายุการเจริญเติบโตของถั่วเหลืองมักจะเป็นรากที่ปรากฏอยู่ในระดับความลึก 15 เซนติเมตร จากผิวดิน ที่รากจะพบปม (nodule) ซึ่งเกิดจากแบคทีเรียพวกไรโซเบียม (*Rhizobium japonicum*) เข้าไปอาศัยอยู่ แบคทีเรียนี้สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศแล้วเปลี่ยนเป็นสารประกอบไนโตรเจนซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของถั่วเหลืองในขณะเดียวกันแบคทีเรียก็ได้คาร์โบไฮเดรตจากรากถั่วเหลืองที่อาศัยอยู่ การอยู่ร่วมกันระหว่างถั่วเหลืองและแบคทีเรียเรียกว่า symbiosis

ลำต้น ถั่วเหลืองที่ปลูกเป็นการค้าส่วนใหญ่จะมีลำต้นตั้งตรงเป็นพุ่ม ความสูงปานกลาง 50-75 เซนติเมตร การแตกกิ่งแขนง จำนวนข้อและปล้องที่ปรากฏบนลำต้นจะมีมากหรือน้อยเพียงใดขึ้นพันธุกรรม ความยาวนานของช่วงแสง (photoperiod) และการเขตกรรม

ส่วนต่างๆ ของต้นถั่วเหลืองมักมีขน (pubescent หรือ hair หรือ trichome) ปกคลุมทั่วไป เว้นแต่ใบเลี้ยงและกลีบดอก (petal) เท่านั้นไม่มีขน ขนมักจะมีสีน้ำตาล (brown หรือ tawny) และสีเทา (gray) บางพันธุ์มีขนบางพันธุ์ไม่มีขน ขนอาจจะมีลักษณะตั้ง (erect) หรือโค้ง (curly) และเบาบาง (sparse) หรือหนาแน่น (dense) แตกต่างกัน

ใบ ใบของถั่วเหลืองเป็นใบประกอบ มีใบย่อย 3 ใบ (trifoliate leaves) แต่ใบเลี้ยงและใบจริงคู่แรกจะเป็นใบเดี่ยว เกิดตรงข้ามกัน ที่โคนของก้านใบ (petiole) แต่ละใบจะมีหูใบ (stipule) 2 อัน ที่โคนของก้านใบย่อย (leaflet) จะพบว่ามีหูใบย่อย (stipel) โดยที่ใบย่อยปลาย (terminal leaflet) มีหูใบย่อย 2 อัน และใบย่อยด้านข้างทั้งสอง (lateral leaflet) มีหูใบย่อยข้าง

ละอัน หูใบมีการจัดเรียงของเส้นใบเป็นแบบขนาน ส่วนหูใบย่อยไม่มีรายงานว่ามีการจัดเรียงเส้นใบแบบใด ที่ฐานของกิ่งแขนงจะพบ prophyll เกิดเป็นคู่ปรากฏอยู่ด้วย

ตรงรอยต่อระหว่างใบจริงคู่แรกกับลำต้นหรือก้านใบกับลำต้นและใบย่อยกับก้านใบจะพบว่ามีส่วนที่พองหนาของก้านใบเรียกว่า pulvinus ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการเคลื่อนไหวของใบ รูปร่างของใบจะแตกต่างกันไปตามพันธุกรรมและการเขตกรรม ในระหว่างมุมใบจะพบตา ซึ่งต่อไปจะเจริญเป็นกิ่ง ใบจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง เมื่อฝักเริ่มแก่และใบจะร่วงหล่นจากต้นเมื่อฝักแก่เต็มที่ มีบางพันธุ์เท่านั้นที่ใบไม่ร่วงจากลำต้นเมื่อฝักแก่เต็มที่

ดอก เกิดเป็นช่อ (inflorescence) ช่อดอกของถั่วเหลืองเป็นแบบ raceme ช่อดอกหนึ่งๆ มีดอกตั้งแต่ 2-35 ดอก ช่อดอกเกิดที่มุมใบ (axillary bud) และปลายยอด (terminal bud) ดอกประกอบด้วยส่วนของ sepal หรือ bract ที่มีฐานเชื่อมติดกันเรียกว่า calyx tube prophyll เจริญติดอยู่กับส่วนล่างของก้านดอก (pedicol) และกลายเป็น bracteole เมื่อดอกบานเต็มที่มีขนาด 3-8 มิลลิเมตร กลีบดอก (corolla หรือ petal) มี 5 กลีบ ซึ่งอาจมีสีขาวหรือม่วงและไม่มีขน กลีบดอกที่ใหญ่ที่สุดคือ standard หรือ banner จะหุ้มกลีบดอกทั้งหมดไว้ ถัดเข้าไปจะพบ wing อยู่สองข้างของดอกอีก 2 กลีบซึ่งหุ้มเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียไว้เรียกว่า keel keel ทั้งสองนี้ไม่เชื่อมติดกันเหมือนพืชตระกูลถั่วอื่นๆ ภายในมี 10 stamen รวมกันแบบ diadelphous คือมี 9 stamen ที่เชื่อมติดกันเรียกว่า united stamen หรือ fused stamen อีก 1 stamen แยกอยู่อย่างอิสระ (free stamen หรือ separate stamen) และมี 1 pistil ซึ่งมีขน (pubescence) ปกคลุมอยู่ทั่วไป pistil มี stigma สั้น ovary หนึ่งมี 3-5 ovule เมื่อถั่วเหลืองเจริญเติบโตถึงระยะดอกบาน 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งใช้เวลาประมาณ 30-40 วันหลังงอก ถั่วเหลืองมักจะสร้างดอกได้มาก แต่จะมีเพียงประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์เท่านั้นที่เจริญต่อไปเป็นฝัก (pod)

ผลและเมล็ด ผลหรือฝักเกิดเป็นกลุ่ม ฝักอาจมีลักษณะตรงหรือโค้งเล็กน้อย มีความยาวตั้งแต่ 2-7 เซนติเมตร หรือมากกว่า เมื่อแก่จะมีสีเหลืองฟาง (tan) น้ำตาล (brown) หรือดำ (black) แตกต่างกันไปตามพันธุ์ ฝักหนึ่งๆ มีเมล็ดประมาณ 1-5 เมล็ด แต่โดยมากมักจะมี 3 เมล็ด ฝักที่เกิดก่อนจะมีจำนวนเมล็ดต่อฝักมากกว่าฝักที่เกิดทีหลัง ถั่วเหลืองบางพันธุ์เมื่อฝักแก่อาจจะแตก (shattering) ตามรอยแตก (suture) ทำให้เมล็ดร่วง แต่พันธุ์ที่นิยมปลูกเมล็ดมักไม่ร่วง (non-shattering)

เมล็ดส่วนมากจะมีรูปร่างกลมรีเป็นรูปไข่ มีขนาดและน้ำหนักแตกต่างกันไปตามพันธุ์ เมล็ดส่วนใหญ่จะมีสีเหลืองฟาง แต่บางพันธุ์อาจมีเมล็ดสีเหลืองอมเขียว น้ำตาลหรือดำการเจริญเติบโตของเมล็ดในฝักจะไม่พร้อมกัน เมล็ดตอนปลายฝัก (apical seed) จะเจริญก่อนเมล็ดที่อยู่

ตอนโคน (basal seed) และเมล็ดตอนกลาง (central seed) ของฝัก ตามลำดับอายุเก็บเกี่ยวโดยทั่วๆ ไปของถั่วเหลืองประมาณ 100-120 วัน เมล็ดประกอบด้วยส่วนต่างๆ ดังนี้

1. seed coat หรือ testa เป็นส่วนของเปลือกที่หุ้มเมล็ดไว้ ทางด้านหนึ่งจะพบ hilum หรือ seed scar ซึ่งเป็นจุดที่เมล็ดติดกับฝัก มีสีแตกต่างกันไปตามพันธุ์ เช่น น้ำตาลเข้ม เป็นต้น บริเวณใกล้ๆ กับส่วนของ hilum จะมีรูเล็กๆ เรียกว่า micropyle ถัดไปจะเป็นรอยนูนของ hypocotyl-radicle axis ปลายอีกด้านหนึ่งของ hilum จะเป็นร่องเล็กๆ เรียก rephe ซึ่งจะขยายยาวไปถึง chalaza ซึ่งเป็นจุดที่ integument ติดกับ ovule

2. cotyledons หรือ lateral divergence คือส่วนที่อยู่ถัดจาก seed coat เข้าไป มีขนาดใหญ่ ทำหน้าที่เก็บสะสมอาหาร

3. primary axis หรือ embryonic axis มีขนาดเล็กเมื่อเปรียบเทียบกับ cotyledon ประกอบด้วย plumule, hypocotyls และ radicle

การจำแนกชนิดของถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองจำแนกออกได้ตามลักษณะของการเจริญเติบโต (growth habit) เป็น 2 แบบคือ

1. Indeterminate growth habit ถั่วเหลืองพวกนี้ในระยะเริ่มออกดอกมีความสูงประมาณ 40-50 เปอร์เซ็นต์ของความสูงเมื่อโตเต็มที่ และหลังจากออกดอกแล้วยังมีความสูงเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ช่วงเวลาของการออกดอก (flowering period) ยาว ช่อดอกจะเริ่มเกิดขึ้นที่ประมาณมุมใบที่ 4 หรือ 5 ขึ้นไปจนถึงปลายยอด พุ่มใบ (canopy) ตรงส่วนกลางของลำต้นจะมีใบย่อยใหญ่และก้านใบยาว เมื่อแก่จะพบฝักเกิดเป็นกลุ่มและมีจำนวนฝักที่ส่วนโคนมากกว่าที่ปลายของลำต้น

2. Determinate growth habit ถั่วเหลืองพวกนี้ในระยะเริ่มออกดอกมีความสูงประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ของความสูงเมื่อโตเต็มที่ หลังจากออกดอกแล้วความสูงจะเพิ่มอีกเพียงเล็กน้อย ช่วงเวลาของการออกดอกสั้น ช่อดอกจะเริ่มเกิดขึ้นที่ประมาณมุมใบที่ 8 ต่อมาจะมีช่อดอกเกิดขึ้นไปทางปลายยอดและลงมายังส่วนโคนของลำต้น พุ่มใบส่วนบนจะใหญ่กว่าส่วนล่าง เมื่อแก่จะพบฝักเกิดเป็นกลุ่มและมีจำนวนฝักเท่าๆ กันทุกส่วนของลำต้น ยกเว้นที่ปลายยอดซึ่งจะมีจำนวนฝักมากที่สุด

เวลาและสถานที่ดำเนินการทดลอง

เวลาในการทดลอง

- เริ่มดำเนินการทดลอง เดือนธันวาคม 2544
- สิ้นสุดการทดลอง เดือนมีนาคม 2545

สถานที่ดำเนินการทดลอง

แปลงปฏิบัติงานฟาร์มพืชไร่ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

แปลงปลูกถั่วเหลืองของเกษตรกรในพื้นที่อำเภอแม่ริม สันกำแพง และดอยสะเก็ด

อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงาน

อุปกรณ์

1. พันธุ์ถั่วเหลืองที่ได้จากการคัดเลือกต้น/แถว ลูกผสมชั่วที่ 6 คือ 9610-8, 9618-5, G.8891xST.1-10, CM.60 และ SJ.5

2. เชื้อ *Rhizobium japonicum* จากกลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร มีสายพันธุ์ THA3, THA5, THA7, THA9, U-8-T, USDA 110 อาหารเลี้ยงเชื้อไรโซเบียม คือ Yeast Extract Mannital Broth (YMB) ซึ่งมีสูตรอาหารดังนี้

1. Mannital	10	กรัมต่อลิตร
2. K_2HPO_4	0.5	กรัมต่อลิตร
3. $MgSO_4 . 7H_2O$	0.2	กรัมต่อลิตร
4. NaCl	0.1	กรัมต่อลิตร
5. Yeast Extract	0.5	กรัมต่อลิตร
6. Distilled water	1	ลิตร

pH 6.8 Autoclave 121 °C 30 นาที

3. ห้องปฏิบัติการและอุปกรณ์ที่ใช้

ห้องปฏิบัติการภาควิชาพืชไร่ และตึกไรโซเบียม กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร

การดำเนินงาน

1. การเตรียมดิน ทำการไถพรวนดินด้วยจอบหมุน (rotary) หลังจากนั้นยกร่องแปลงปลูก โดยใช้ระยะห่างระหว่างแถว 50 เซนติเมตร แต่ละพันธุ์ใช้พื้นที่ปลูก 800 ตารางเมตร

2. การปลูก คลุกเมล็ดด้วยเชื้อไรโซเบียมกับเมล็ดถั่วเหลือง ในแต่ละสายพันธุ์ก่อนปลูก การปลูกใช้ระยะปลูก 50x10 เซนติเมตร 4 ต้น/หลุม เมื่อถั่วเหลืองงอกได้ 7 วัน ทำการถอนแยกให้เหลือ 3 ต้น/หลุม หรืออัตราประชากร 96,000 ต้น/ไร่

3. ฤดูปลูก ปลูกฤดูแล้ง คือการปลูกช่วงเดือนธันวาคมถึงเดือนเมษายน

การปฏิบัติดูแลรักษา

1. การให้น้ำ ทำการให้น้ำสัปดาห์ละ 1 ครั้ง หรือตามความเหมาะสม ทำการให้น้ำเหนือผิวดิน (sprinkler) ในช่วงก่อนการออกดอก และหลังจากนั้นให้น้ำแบบไหลตามร่อง (furrow)

2. การกำจัดวัชพืช หลังจากปลูกทำการพ่นสารควบคุมวัชพืช (เปอร์ซูท) อัตรา 80 ซีซี/น้ำ 20 ลิตร

- ครั้งที่ 2 เมื่อถั่วเหลืองอายุได้ 30 วัน โดยใช้จอบตายหญ้า
- ครั้งที่ 3 เมื่อถั่วเหลืองอายุได้ 60 วัน โดยใช้จอบตายหญ้า

3. การป้องกันกำจัดโรคและแมลง ฉีดพ่น Benlate และ Lannate อัตราอย่างละ 20 ซีซี/น้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นเมื่อสังเกตพบว่ามีโรคและแมลงระบาด

4. การเก็บเกี่ยว ทำการเก็บเกี่ยวเมื่อมีการสุกแก่ทางสรีรวิทยา (physiogical maturity) โดยสังเกตจากลักษณะการเปลี่ยนสีของฝัก จากสีเขียวเป็นสีน้ำตาล

5. การกะเทาะและทำความสะอาดเมล็ด ทำการกะเทาะและทำความสะอาดเมล็ดด้วยมือ

การบันทึกข้อมูล

1. ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิต
   - จำนวนฝัก/ต้น
   - จำนวนเมล็ด/ฝัก
   - น้ำหนัก 100 เมล็ด (กรัม)
   - ผลผลิต (กก./ไร่)
2. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติได้อาศัยโปรแกรม M-STAT

ผลการทดลอง (ปี พ.ศ. 2544)

องค์ประกอบผลผลิตของถั่วเหลืองพันธุ์ต่างกันเมื่อปลูกในสภาพแวดล้อมต่างกัน

จำนวนฝักต่อต้น

ผลการศึกษาพบว่าถั่วเหลืองพันธุ์ต่างกันมีจำนวนฝักต่อต้นแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติ 95 เปอร์เซ็นต์ ถั่วเหลืองพันธุ์ 9610-8 มีจำนวนฝักต่อต้นมากที่สุด คือ 72.61 ฝัก รองลงมาได้แก่พันธุ์ 9618-5, G.8891xST.1-10, CM.60 และ SJ.5 ซึ่งมีจำนวนฝักต่อต้น 66.07, 62.34, 62.03 และ 52.74 ฝัก ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

เมื่อปลูกถั่วเหลืองในสภาพแวดล้อมต่างกัน พบว่าสภาพแวดล้อมที่แม่ริม, สันกำแพง คอยสะเก็ด และแม่โจ้ ไม่มีอิทธิพลต่อจำนวนฝักต่อต้น โดยถั่วเหลืองมีจำนวนฝักต่อต้น 62 ถึง 63 ฝัก (ตารางที่ 1)

น้ำหนัก 100 เมล็ด (กรัม)

ผลการศึกษาพบว่า ถั่วเหลืองพันธุ์ต่างกันมีน้ำหนัก 100 เมล็ดแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติ 95 เปอร์เซ็นต์ ถั่วเหลืองพันธุ์ 9610-8 มีน้ำหนัก 100 เมล็ดมากที่สุด คือ 14.92 กรัม รองลงไปได้แก่พันธุ์ CM.60, SJ.5, 9618-5 และ G.8891xST.1-10 ซึ่งมีน้ำหนัก 100 เมล็ด 12.76, 12.73, 12.72 และ 11.70 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

เมื่อปลูกถั่วเหลืองในสภาพแวดล้อมต่างกัน พบว่าสภาพแวดล้อมที่แม่ริม, สันกำแพง คอยสะเก็ด และแม่โจ้ ไม่มีอิทธิพลต่อน้ำหนัก 100 เมล็ด โดยถั่วเหลืองมีน้ำหนัก 100 เมล็ด ประมาณ 12 ถึง 13 กรัม (ตารางที่ 2)

จำนวนเมล็ดต่อฝัก

ผลการศึกษาพบว่า ถั่วเหลืองพันธุ์ต่างกันมีจำนวนเมล็ดต่อฝักไม่แตกต่างกันทางสถิติและในทำนองเดียวกันสภาพแวดล้อมที่ปลูกถั่วเหลืองต่างกันก็ไม่มีอิทธิพลต่อจำนวนเมล็ดต่อฝักของถั่วเหลือง (ตารางที่ 3)

ผลผลิตต่อไร่ (กิโลกรัมต่อไร่)

ผลการศึกษาพบว่า ถั่วเหลืองพันธุ์ต่างกันมีจำนวนผลผลิตต่อไร่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติ 95 เปอร์เซ็นต์ ถั่วเหลืองพันธุ์ 9610-8 มีผลผลิตสูงที่สุด คือ 310.69 กิโลกรัม รองลงมาได้แก่พันธุ์ 9618-5 CM.60, G.8891xST.1-10 และ SJ.5 ซึ่งมีผลผลิตต่อไร่เท่ากับ 307.61, 292.16, 289.55 และ 279.20 กิโลกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

นอกจากนั้นยังพบว่าสภาพแวดล้อมที่ปลูกทั้งที่แม่ริม สันกำแพง ดอยสะเก็ด และแม่โจ้ ไม่มีอิทธิพลต่อผลผลิตต่อไร่ของถั่วเหลือง (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนฝักต่อต้นของพันธุ์ถั่วเหลืองต่างกันเมื่อปลูกในสภาพแวดล้อมต่างกัน

พันธุ์	แม่ริม	สันกำแพง	ดอยสะเก็ด	แม่โจ้	ค่าเฉลี่ย
CM.60	62.45	61.89	62.15	61.67	62.03[b]
SJ.5	52.75	52.15	52.25	53.96	52.74[c]
9610-8	72.25	72.05	72.95	72.18	72.61[a]
9618-5	66.37	66.13	65.96	65.83	66.07[ab]
G.8891xST.1-10	62.13	61.74	61.88	63.60	62.34[b]
ค่าเฉลี่ย	63.39[d]	62.79[d]	63.04[b]	63.45[b]	

หมายเหตุ : อักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันในแนวตั้งและแนวนอน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 2 แสดงน้ำหนัก 100 เมล็ด (กรัม) ของพันธุ์ถั่วเหลืองต่างกันเมื่อปลูกในสภาพแวดล้อมต่างกัน

พันธุ์	แม่ริม	สันกำแพง	ดอยสะเก็ด	แม่โจ้	ค่าเฉลี่ย
CM.60	12.89	12.76	12.65	12.73	12.76[b]
SJ.5	12.75	12.67	12.71	12.80	12.73[b]
9610-8	14.99	14.75	14.95	14.97	14.92[a]
9618-5	12.96	12.85	12.80	12.27	12.72[b]
G.8891xST.1-10	11.95	11.85	11.75	11.23	11.70[c]
ค่าเฉลี่ย	13.11[d]	12.98[d]	12.97[d]	12.81[d]	

หมายเหตุ : อักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันในแนวตั้งและแนวนอน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 3 แสดงจำนวนเมล็ดต่อฝักของพันธุ์ถั่วเหลืองต่างกันเมื่อปลูกในสภาพแวดล้อม ต่างกัน

พันธุ์	แม่ริม	สันกำแพง	ดอยสะเก็ด	แม่โจ้	ค่าเฉลี่ย
CM.60	12.89	12.76	12.65	12.73	12.76 [b]
SJ.5	12.75	12.67	12.71	12.80	12.73 [b]
9610-8	14.99	14.75	14.95	14.97	14.92 [a]
9618-5	12.96	12.85	12.80	12.27	12.72 [b]
G.8891xST.1-10	11.95	11.85	11.75	11.23	11.70 [c]
ค่าเฉลี่ย	2.36[b]	2.41[b]	2.39[b]	2.38[b]	

หมายเหตุ : อักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันในแนวตั้งและแนวนอนไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 4 แสดงผลผลิต (กิโลกรัมต่อไร่) ของพันธุ์ถั่วเหลืองต่างกันเมื่อปลูกในสภาพแวดล้อม ต่างกัน

พันธุ์	แม่ริม	สันกำแพง	ดอยสะเก็ด	แม่โจ้	ค่าเฉลี่ย
CM.60	295.78	294.54	296.85	281.46	292.16 [ab]
SJ.5	280.15	275.64	277.53	283.47	279.20 [c]
9610-8	315.55	307.19	312.35	307.66	310.69 [a]
9618-5	310.42	306.65	308.15	305.20	307.61 [a]
G.8891xST.1-10	295.45	286.75	290.85	285.15	289.55 [ab]
ค่าเฉลี่ย	299.47[d]	294.15[d]	297.15[d]	292.59[d]	

หมายเหตุ : อักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันในแนวตั้งและแนวนอนไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

วิจารณ์ผลการทดลอง

พันธุ์ถั่วเหลืองที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มผลผลิตและศักยภาพในการตรึงไนโตรเจนให้สูงขึ้นนั้นถูกคัดเลือกไว้ทดสอบในสภาพไร่เกษตรกร คือพันธุ์ 9610-8 และ 9618-5 ซึ่งได้ให้ผลผลิตต่อไร่มากกว่า 300 กิโลกรัม ในสภาพการทดลองของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ เมื่อนำไปปลูกเปรียบเทียบกับพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีศักยภาพในการให้ผลผลิต และการตรึงไนโตรเจนสูงอีกพันธุ์หนึ่ง คือ G.8891xST.1-10 และพันธุ์แนะนำของทางราชการซึ่งเกษตรกรได้ปลูกกันคือ CM.60 และ SJ.5 พบว่าองค์ประกอบของผลผลิต เช่น จำนวนฝักต่อต้น และน้ำหนัก 100 เมล็ด นั้นมีผลโดยตรงต่อผลผลิตของถั่วเหลือง ดังนั้นการจัดการไร่ เช่น การให้น้ำ การกำจัดวัชพืช และการใส่ปุ๋ยให้ถูกต้องตามความต้องการของถั่วเหลืองจึงมีผลต่อองค์ประกอบของผลผลิต และผลผลิตถั่วเหลือง รวมถึงการคลุกเมล็ดด้วยเชื้อไรโซเบียมก็เป็นการลดความเสี่ยงของการขาดธาตุไนโตรเจน ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโต การสร้างผลผลิตและโปรตีนในเมล็ดถั่วเหลือง ผลของการศึกษาสามารถบ่งชี้ได้ว่า พันธุกรรมหรือพันธุ์ถั่วเหลืองมีความสำคัญต่อศักยภาพในการให้ผลผลิตและองค์ประกอบของผลผลิต ถั่วเหลืองพันธุ์ 9610-8 เป็นพันธุ์ที่ได้จากการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์ SJ.4 กับพันธุ์ KUSL 20004 ส่วนถั่วเหลืองพันธุ์ 9618-5 เป็นพันธุ์ที่ได้จากการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์ MSS#11 กับพันธุ์อุดสาหะ A ศักยภาพในการให้ผลผลิตที่สูง เช่น SJ.4 , KUSL 20004 (พันธุ์จักรพันธุ์) และ MSS#1 (แม่โจ้ 1) ประกอบกับลักษณะการมีจำนวนปมรากต่อต้นมากและมีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนสูง ซึ่งได้รับการถ่ายทอดลักษณะเหล่านี้มาอยู่ในรุ่นลูกหลานของพันธุ์ 9610-8 และ 9618-5 จึงส่งผลให้พันธุ์ดังกล่าวมีศักยภาพในการให้ผลผลิตและการตรึงไนโตรเจนสูงของทุกสภาพแวดล้อมที่แม่ริม สันกำแพง ดอยสะเก็ด และแม่โจ้ ผลการศึกษาพบว่าสภาพแวดล้อมที่ปลูกถั่วเหลืองไม่มีอิทธิพลต่อองค์ประกอบผลผลิตและผลผลิตต่อไร่นั้นเป็นผลเนื่องจากการจัดการไร่ที่ได้มาตรฐานเดียวกันหมดทุกสภาพพื้นที่ปลูก ได้มีการใส่ปุ๋ย ให้น้ำ และกำจัดวัชพืช ศัตรูพืชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และพัฒนาผลผลิตถั่วเหลืองนั่นเอง การปรับสภาพความเป็นกรดของดินให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม คือ pH 6-6.5 ด้วยการใส่หินฟอสเฟตในอัตรา 500 กิโลกรัมต่อไร่ การใส่ปุ๋ยหมักปุ๋ยอินทรีย์ในอัตรา 2 ตันต่อไร่ เพื่อเพิ่มปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน การคลุกเชื้อไรโซเบียมก่อนปลูกนั้นช่วยให้ถั่วเหลืองแสดงการเจริญเติบโตและพัฒนาผลผลิตเต็มศักยภาพของพันธุกรรม เมื่อปรับสภาพแวดล้อมของพื้นที่ปลูกได้มาตรฐานเดียวกันแล้วจึงส่งผลให้ไม่มีผลกระทบจากสิ่งแวดล้อม อีกทั้งสถานที่ปลูกทั้ง 5 แห่งอยู่ในสภาพภูมิอากาศที่ไม่มีความแตกต่างกันมากนัก เพราะต่างอยู่ในพื้นที่ปลูกถั่วเหลืองแหล่งสำคัญของจังหวัดเชียงใหม่ทั้งสิ้น

สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองเปรียบเทียบศักยภาพในการให้ผลผลิตของพันธุ์ถั่วเหลืองที่ได้จากการปรับปรุงพันธุ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ในสภาพแวดล้อมที่ต่างกันในจังหวัดเชียงใหม่สามารถสรุปได้ดังนี้

1. ถั่วเหลืองพันธุ์ 9610-8 และ 9618-5 ให้ผลผลิตมากกว่า 300 กิโลกรัมต่อไร่ ในขณะที่ถั่วเหลืองพันธุ์ CM.60, G.8891xST.1-10 และ SJ.5 ให้ผลผลิตต่อไร่ประมาณ 279 ถึง 292 กิโลกรัม

2. ไม่พบอิทธิพลจากสภาพแวดล้อมต่อการเจริญเติบโตและผลผลิต ตลอดจนองค์ประกอบของผลผลิต ของถั่วเหลืองพันธุ์ที่ได้คัดเลือกไว้ทดลอง

3. การทดสอบศักยภาพในการให้ผลผลิตและการตรึงไนโตรเจนของพันธุ์ถั่วเหลืองที่ได้จากโครงการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ต้องทดลองอย่างต่อเนื่องทั้งในสภาพไร่ทดลองของมหาวิทยาลัย และแปลงปลูกถั่วเหลืองของเกษตรกรในแหล่งและในเขต แตกต่างกันออกไป ทั้งนี้เพื่อให้ทราบถึงความเสถียรภาพทางด้านพันธุกรรมของพันธุ์ถั่วเหลือง และทราบถึงอิทธิพลของสภาพแวดล้อม การปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมของถั่วเหลืองพันธุ์ต่างๆ กัน เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับการขอรับรองพันธุ์หรือขอจดทะเบียนพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ใหม่ของประเทศไทยต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2535. ปุ๋ยชีวภาพ. กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน. กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร. 359 น.

จิระศักดิ์ อรุณศรี. 2539. ชีววิทยาและเทคนิคการใช้เชื้อไรโซเบียม. ใน. ปุ๋ยชีวภาพ. กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร. น. 16 – 52.

จันทนา ศิริไพบูลย์, พรพิมล ชัยวรรณคุปต์, จิตติมา ยถาภูธานนท์, จิตรา คล้ายมนต์, วิมล ปิ่นไพฑูรย์ และ A.B. Mvula. 2541. การใช้ ^{15}N isotope dilution technique และ Acetylene Reduction assay ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อไรโซเบียมบางสายพันธุ์ในดินที่มี pH แตกต่างกัน. วารสารดินและปุ๋ย 20: 153 – 162.

จันทนา ศิริไพบูลย์, พรพิมล ชัยวรรณคุปต์, เธียรชัย อารยางกูร และปรีชา วดีศิริศักดิ์. 2542. ผลของสารกำจัดวัชพืชต่อการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลือง โดยวิธี ^{15}N dilution. วารสารดินและปุ๋ย 21 (1): 29 – 34.

_____. 2542. ผลของการให้น้ำต่อการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลือง โดยวิธี ^{15}N dilution. วารสารดินและปุ๋ย 21 (1): 35 – 42.

จันทนา ศิริไพบูลย์, พรพิมล ชัยวรรณคุปต์, จิตรา คล้ายมนต์, จริยา ประศาสน์ศรีสุภาพ, เธียรชัย อารยางกูร, ปรีชา วดีศิริศักดิ์ และ วรวิชญ์ รุ่งรัตนกสิน. 2542. การศึกษาปริมาณการตรึงไนโตรเจนและผลผลิตถั่วเหลืองพันธุ์ต่าง ๆ ที่ปลูกในดินสภาพไถพรวนและไม่ไถพรวนโดย ^{15}N เทคนิค. วารสารวิชาการเกษตร 17 (2) : 116 – 128

นันทนา บุญเกิด, วรวิชญ์ รุ่งรัตนกสิน, สมศักดิ์ โคตรพงศ์, สมพร ชูนห์ลือชานนท์ และเย็นใจ วสุวัตร. 2519. ศึกษาการตรึงไนโตรเจนในรอบวันและตลอดฤดูปลูกถั่วเหลืองในฤดูแล้ง. รายงานผลการค้นคว้าวิจัย ปี 2519. กองวิจัยโรคพืช และเกษตรเคมี กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพ ฯ .32 น.

บัญฑิต สายทอง. 2543. การคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเหลืองเพื่อเพิ่มศักยภาพในการตรึงไนโตรเจน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชไร่ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่. 177 น.

เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม. 2532. วิธีวัดการตรึงไนโตรเจนในถั่ว. คู่มือวิจัยภาคสนาม คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 98. น.

พรพิมล ชัยวรรณคุปต์, จันทนา ศิริไพบูลย์, นันทกร บัญเกิด และเชียรชัย อารยางกูร. 2540. การเพิ่มผลผลิตและการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลืองในประเทศไทย. วารสารวิชาการเกษตร 15 (1):4 - 23

ไพเราะ ทิพยทัศน์. 2520. การใช้การตรึงไนโตรเจนแทนปุ๋ยวิทยาศาสตร์. วารสารวิชาการเกษตร 10:257 – 263

เศรษฐา ศิริพินทุ์. 2539. การสร้างองค์ประกอบการตรึงไนโตรเจนและการสะสมธาตุไนโตรเจนในสายพันธุ์ถั่วเหลืองแนะนำของทางราชการ <u>ใน</u> รายงานการประชุมทางวิชาการถั่วเหลืองแห่งชาติ ครั้งที่ 6 เชียงใหม่. น. 106 – 109.

สำเนา เพชรฉวี. 2539. ข้อจำกัดการตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพของพืชตระกูลถั่ว. วารสารดินและปุ๋ย 12:87 – 89.

สมบูรณ์ เดชะภิญญาวัฒน์. 2541. สรีรวิทยาของพืช. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพ ฯ. 222 น.

สมศักดิ์ วังใน. 2541. การตรึงไนโตรเจนไรโซเบียม – พืชตระกูลถั่ว. ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 252 น.

อดิศักดิ์ สุวิทวัส. 2535. การเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของถั่วเหลืองที่ปลูกในวันปลูกและอัตราปลูกต่างกัน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชไร่ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 150 หน้า.

Abaidoo, R.C., K.E. Dashiell, N. Sanginga, H.H. Keyser and P.W. Singleton. 1999. Time – course of dinitrogen fixation of Promiscous soybean cultivars measured by the isotope dilution method. Biology and Fertility of soil. 30(3):187 – 192.

Abd – Alla, M.H., F. Yan and S. Schubert. 1999. Effect of sewage sludge application on nodulation nitrogen fixation and plant growth of faba bean soybean and lupin. J. Appl. Bot. 73(3 – 4):69 – 75.

Burns, R.C.and R.W.F. Hardy. 1979. Nitrogen fixation in bacteria and higher plant. Springer Verag, Berlin,Hiedelberg, New York. 185 p.

Bowen, G.D., and S.K.A. Danso. 1987. Nitrogen research for perennial crops. IABA Bulletin. 29:5 – 8.

Breed, R.S., E.U.D. Murrey and N.R. Smith. 1975. Bergey's manual of determinative Bacteriology. 7th ed., Williams and wilkins. Baltimore. 220 p.

Gamdhi, S.M. Sanghi, A.K. Nathawat, K.S. and Bhatnagar, M.P. 1964. Genotypic Variability and correlation coefficients relation to grain yield and a few other quantitative characters in India whcats. Indian Journal of Genetics and Plant Breeding. 24 : 1 – 8.

Hardarson, G.,F.Zapata and S.K.A. Danso.1984. Field evaluation of symbiotic nitrogen fixation by rhizobium strain using ^{15}N Methodology. Plant and Soil. 82:369 – 375.

Hardarson, G., S.K.A. Danso and F. Zapata. 1987. Biological nitrogen fixtion in field Crops. In. Handbook of plant science in agriculture (Ed.) BR. Christic 165 – 192.

Hardarson, G., and S.K.A. Danso. 1993. Method for measuring biological nitrogen fixation In grain legume. Plant and Soil 152:19 – 23.

Hungria, M.,TRJ. Bohrer.2000 Variability of nodulation and dinitrogen fixation capacity among soybean cultivar. Biology and Fertility of Soil 31(1):45 – 52

ITTA. 1985. Grain legume improvement programe. Research highlight 1981 – 1984. ITTA. Nigera. 83 p.

Ohasi, Y., H. Saneoka, K. Matsumoto, S. Ogata, G.S. Premachandra and K. Fujita. 2000. Comparison of water stress effect on growth leaf water status and nitrogen fixation activity in tropical pasture legume siratro and desmodium with soybean. Soil Sei. Plant Nutri. 45(4):795 – 802.

Okereke, G.U., C.C. Onochie, A.U. Onukwo., E. Onyeagba and G.O. Ekejindu. 2000. Response of introduced Bradyrhizobium strain infecting a promiscuous soybean cultivar. World J.Microbiol.Bioteehnol. 16(1):43 – 48.

Poehlman, J.M. 1983. Breeding field crops. AVI Publishing Company, Inc, Connetticut. 215 p.

Sanginga, N., K. Dashiell, J.A. Okogun and G. Thothappilly. 1977. Nitrogen Fixation and N contribution by promiseuous nodulation soybean in the southern guinea sovanna of NIGERTIA. Plant and Soil. 195(2):257 – 266.

Taver, L.W. 1989. Economic impact of future biological nitrogen fixation technologies on United of America. Plant and Soil. 119:261 – 270.

Zapata, F., S.K.A. Danso., G. Hardarson and M. Friend. 1987. Time eouse of nitrogen fixation in ficld grown soybean using nitrogen ^{15}N methodology. Agron J. 79:177 – 176.