ชื่อวิทยานิพนธ์ ไรโซเบียมสายพันธุ์พื้นเมืองสำหรับถั่วเหลืองที่มีในภาคเหนือของประเทศไทย

ชื่อผู้เขียน นางสาวศรีศุกร์ นิลกรรณ์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาปฐพีศาสตร์

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์ ผศ. อำพรรณ พรมศิริ ประธานกรรมการ
ผศ. ดร. ประสาทพร สมิตะมาน กรรมการ
ดร. เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม กรรมการ

บทคัดย่อ

การศึกษาไรโซเบียมสายพันธุ์พื้นเมืองสำหรับถั่วเหลือง ที่มีในภาคเหนือของประเทศไทย มีการดำเนินงานทดลองทั้งในสภาพไร่นา และในห้องปฏิบัติการ การทดลองในไร่นาเป็นการประเมินความสามารถในการสร้างปมของเชื้อไรโซเบียมพื้นเมืองที่มีอยู่ในดินตามธรรมชาติให้กับพืชทดสอบ 8 ชนิด คือ ถั่วเหลืองพันธุ์ป่า (Glycine usseriensis) ถั่วพุ่ม (Vigna unguiculata) และถั่วเหลือง (Glycine max) 6 พันธุ์ เก็บปมที่เกิดขึ้นกับถั่วแต่ละพันธุ์ แล้วนำมาแยกเชื้อไรโซเบียมเพื่อใช้ศึกษาในห้องปฏิบัติการ พื้นที่ทดลองเลือกจากพื้นที่ของเกษตรกร 4 ราย ที่อยู่ในภาคเหนือตอนบน และภาคเหนือตอนล่าง ซึ่งปลูกถั่วเหลืองมานานโดยไม่มีการใช้ผงเชื้อไรโซเบียมมาก่อน การทดลองในห้องปฏิบัติการแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน ขั้นตอนแรก เป็นการแยกเชื้อไรโซเบียมจากปมของพืชทดสอบทุกชนิดจากทุกพื้นที่ และศึกษาลักษณะทางซีรัมของเชื้อที่แยกได้ โดย indirect fluoresent antibody technique ใช้ซีรัมของไรโซเบียมสายพันธุ์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

มาตรฐาน 7 สายพันธุ์ ได้แก่ TH-7 USDA 24 USDA 31 USDA 15-7 USDA 110 USDA 122 และ CB 1809 ในการตรวจสอบ ขั้นตอนที่สอง เป็นการศึกษาความสามารถของเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์พื้นเมือง ในการสร้างปม และเพิ่มน้ำหนักแห้งให้แก่พืชทดสอบ ซึ่งได้แก่ ถั่วพุ่ม และถั่วเหลืองพันธุ์ ผิวดำ สจ.5 Bragg และ Improved Pelican วิธีการทดลองขั้นตอนนี้ ปลูกพืชทดสอบในสารละลายซึ่งมีธาตุอาหารพืชครบทุกธาตุ ยกเว้นธาตุไนโตรเจน ภายใต้สภาพห้องทดลองที่ได้รับแสงจากหลอดไฟฟ้า ตำรับการทดลองที่ใช้ประกอบด้วย การใส่เชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์พื้นเมืองที่ได้จากพื้นที่ภาคเหนือตอนบน การใส่เชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน CB 1809 การใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 70 ppm NO_3-N และ การไม่ใส่เชื้อไรโซเบียมและไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน ขั้นตอนที่สาม เป็นการศึกษาความสามารถของเชื้อไรโซเบียมในการสร้างปม การเพิ่มน้ำหนักแห้งและไนโตรเจนในต้นให้แก่ถั่วเหลือง การทดลองเป็นแบบ factorial ประกอบด้วยถั่วเหลือง 8 พันธุ์ และตำรับการทดลอง 12 ตำรับ คือ การปลูกถั่วโดยเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์พื้นเมือง 8 สายพันธุ์ เชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน 2 สายพันธุ์ คือ USDA 110 และ CB 1809 การใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 70 ppm NO_3-N และตำรับที่ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนและไม่ใส่เชื้อไรโซเบียม ใช้การทดสอบแบบสุ่มสมบูรณ์ 4 ซ้ำ และใช้วิธีการปลูก เช่นเดียวกับการทดลองขั้นตอนที่สอง

ผลการทดลองพบว่า ในสภาพไร่นา พืชทดสอบทุกชนิดสามารถเกิดปมได้ เชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์พื้นเมืองที่แยกได้จากปมของพืชทดสอบทุกพืชในทุกพื้นที่ มีจำนวนรวม 251 เชื้อ ทุกเชื้อเป็นเชื้อที่เจริญช้า เมื่อทดสอบโดยวิธีทางซีรัม สามารถแบ่งไรโซเบียมเหล่านี้ได้เป็น 5 กลุ่ม กลุ่มใหญ่ที่สุดมีจำนวนร้อยละ 50 เป็นเชื้อไรโซเบียมที่ไม่อยู่ในกลุ่มเดียวกับไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน ที่เหลืออีก 4 กลุ่มเป็นไรโซเบียมที่เกิดปฏิกิริยากับซีรัมของไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐานสายพันธุ์ใดสายพันธุ์หนึ่ง ยกเว้น TH-7 และ USDA 122 และกลุ่มที่เกิดปฏิกิริยากับซีรัมของไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐานจำนวน 2 3 และ 4 สายพันธุ์ ตามลำดับ ผลการทดสอบความสามารถของเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์พื้นเมือง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ในการสร้างปมให้กับพืชทดสอบในห้องปฏิบัติการ ได้ผลเช่นเดียวกับที่พบในสภาพไร่นา ยกเว้น มีเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์พื้นเมือง 1 เชื้อซึ่งไม่สร้างปมให้กับ ถั่วเหลืองพันธุ์ Bragg และ Improved Pelican เชื้อไรโซเบียมที่ได้จากปมถั่วต่างชนิดและที่ได้จากปมถั่วชนิดเดียวกัน มีประสิทธิภาพในการให้น้ำหนักปมแห้ง และน้ำหนักแห้งต่อต้นแตกต่างกันตามชนิดของพืชทดสอบ เชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์พื้นเมืองส่วนใหญ่มีความสามารถในการให้น้ำหนักปมแห้ง และน้ำหนักแห้งต่อต้นของพืชทดสอบ แต่ละชนิด ไม่แตกต่างจากไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน จำนวนเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์พื้นเมืองที่ให้น้ำหนักปมแห้งของถั่วพุ่ม ถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 ผิวดำ Bragg และ Improved Pelican มากกว่าไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง มีร้อยละ 32 22 15 12 และ 12 ของจำนวนไรโซเบียมสายพันธุ์พื้นเมืองที่ใช้ทดสอบกับพืชทดสอบแต่ละชนิด ตามลำดับ และที่ให้น้ำหนักแห้งต่อต้น มากกว่าไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน สำหรับถั่วเหลืองพันธุ์ ผิวดำ สจ.5 Bragg Improved Pelican และถั่วพุ่ม มีร้อยละ 35 33 16 9 และ 19 ของจำนวนไรโซเบียมที่ใช้ทดสอบกับพืชทดสอบแต่ละชนิด ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบความสามารถของไรโซเบียมสายพันธุ์พื้นเมือง ในการเพิ่มน้ำหนักแห้งต่อต้นของพืชทดสอบแต่ละชนิด กับ ตำรับเปรียบเทียบที่ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน และไม่ใส่เชื้อไรโซเบียม พบว่าไรโซเบียมสายพันธุ์พื้นเมืองร้อยละ 87 80 34 33 และ 8 ให้น้ำหนักแห้งต่อต้นของถั่วพุ่ม ถั่วเหลืองพันธุ์ ผิวดำ Bragg สจ.5 และImproved Pelican มากกว่าตำรับเปรียบเทียบ ตามลำดับ เมื่อพิจารณาจำนวนไรโซเบียมสายพันธุ์พื้นเมืองที่มีประสิทธิภาพดีในการเพิ่มน้ำหนักแห้งต่อต้นให้แก่พืชทดสอบทุกชนิด กล่าวได้ว่าไรโซเบียมสายพันธุ์พื้นเมืองที่ได้จากปมของถั่วเหลืองพันธุ์ป่า มีความสามารถเข้ากันได้ดี กับ พืชทดสอบมากชนิดกว่าไรโซเบียมที่ได้จากปมถั่วชนิดอื่น ถั่วเหลืองแต่ละพันธุ์ที่ใช้ทดสอบมีระดับความเข้ากันได้กับสายพันธุ์ของไรโซเบียมแตกต่างกัน โดยถั่วเหลืองผิวดำมีความสามารถเข้ากันได้ กับไรโซเบียมสายพันธุ์พื้นเมืองที่มาจากปมถั่วพันธุ์ต่าง ๆ ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ ถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และถั่วเหลืองพันธุ์ Improved Pelican มีระดับความเข้ากันได้ ต่ำที่สุด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ไรโซเบียมสายพันธุ์พื้นเมือง 8 สายพันธุ์ที่ใช้ทดสอบกับถั่วเหลือง 8 พันธุ์ สามารถทำให้ถั่วเหลืองทุกพันธุ์เกิดปมได้ ไรโซเบียมสายพันธุ์พื้นเมืองแต่ละสายพันธุ์มีประสิทธิภาพในการให้น้ำหนักปมแห้ง และน้ำหนักแห้งต่อต้น รวมถึงปริมาณไนโตรเจนในต้นแตกต่างกันตามพันธุ์ถั่ว แต่ส่วนใหญ่มีประสิทธิภาพในการให้น้ำหนักปม และน้ำหนักแห้งต่อต้นไม่แตกต่างจากไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน เมื่อเปรียบเทียบความเข้ากันได้คือย่างมีประสิทธิภาพระหว่างพันธุ์ถั่วเหลืองกับไรโซเบียมสายพันธุ์พื้นเมืองที่ใช้ทดสอบ โดยพิจารณาจากปริมาณไนโตรเจนในต้น พบว่าถั่วเหลืองแต่ละพันธุ์มีความแตกต่างกัน ถั่วเหลืองพันธุ์ มช.1 เข้ากันได้ดี กับไรโซเบียมสายพันธุ์พื้นเมืองที่ใช้ทดสอบได้มากสายพันธุ์กว่าถั่วเหลืองพันธุ์อื่น มีไรโซเบียมพื้นเมือง 3 สายพันธุ์ ที่ให้ปริมาณไนโตรเจนในต้นของถั่วเหลืองบางพันธุ์ได้มากกว่าไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน USDA 110 และ CB 1809 สายพันธุ์ใดสายพันธุ์หนึ่งหรือทั้งคู่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis	Indigenous Soybean Rhizobia in Northern Thailand
Author	Ms. Srisook Nillakan
M.S.(Agriculture)	Soil Science
Examining Committee	Assist.Prof.Ampan Bhromsiri — Chairman
	Assist.Prof.Dr.Prasartporn Smitamana — Member
	Dr.Benjavan Rerkasem — Member

Abstract

Indigenous soybean rhizobia in northern Thailand were evaluated both in field and laboratory experiments. Four farmers' fiedls in the traditional soybean growing areas of the upper and lower north regions were selected for field experiment. These sites had never been inoculated. Eight trap hosts, wild soybean (Glycine usseriensis) cowpea (Vigna unguicalata) and 6 different varieties of soybean (Glycine max) were sown for evaluation of nodulation by indigenous rhizobia and collection of nodules for rhizobial isolation. The laboratory experiments were separated into three parts. The first part consisted of rhizobial isolation from nodules of each trap host collected from all sites and

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

serological studies of the native rhizobial isolates. Indirect fluorescent antibody technique and 7 sera of TH-7 USDA 24 USDA 31 USDA 15-7 USDA 122 and CB 1809 were used. The infectiveness and effectiveness tests of native rhizobial isolates from the upper north region were evaluated in the second part. Cowpea and 4 varieties of soybean, black soybean, SJ 5, Bragg and Improved Pelican were used in this part. These hosts were grown in plastic growth pouches under light room condition. Each native rhizobial isolate was inoculated to each host. Nodule dry weight of each host produced by the native isolates were compared with the standard strain, CB 1809. Effectiveness of native rhizobial isolates on each host were evaluated by dry matter and using 3 treatments, standard strain CB 1809, uninoculated control and 70 ppm NO_3-N for comparison. The third part of the laboratory experiment was the evaluation of the infectiveness and effectiveness of native rhizobial strains on 8 soybeans. Twelve treatments were applied to each host. There were 10 inoculated treatments, eight being the native strains and two being standard strains, CB 1809 and USDA 110. Another two treatments were uninoculated control and 70 ppm NO_3-N. Condition for growing plant was the same as those in the second part. Nodule dry weight, dry matter and nitrogen content of the plant were determined.

The result obtained from the field experiment indicated that indigenous rhizobia naturally presented in the soils

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

infected all trap hosts. A total of 251 native isolates were all slow growing rhizobia. These native rhizobia could be separated into 5 groups according to their sorological reaction with the standard sera. Almost 50 percent of the total isolates belonged to the group which did not react with the sera of all standard strains. The rest were the group which reacted with each of the standard sera except TH-7 and USDA 122 and the groups which reacted with 2, 3 and 4 sera. Result of the infectiveness test in the laboratory experiment followed the result obtained from the field experiment. However there was only 1 isolate could not infect Improved Pelican and Bragg.The variation among isolates in producing nodule dry weight and dry matter per plant of each test host were found in the group of rhizobia isolated from the nodule of the same trap hosts and also in groups from different trap hosts. Regarding of the nodule dry weight and dry matter, most of the rhizobial isolates were statistically effective as CB 1809. Those being more effective than CB 1809 in producing nodule mass of cowpea, SJ 5, black soybean, Bragg and Improved Pelican were 32, 22, 15, 12 and 12 percent of the total isolates tested respectively. The native isolates better than CB 1809 in producing dry matter of black soybean, SJ 5, Bragg, Improved Pelican and cowpea were 35, 33, 16, 9 and 19 percent of the total number respectively. The native isolates which gave better dry matter of cowpea, black soybean, Bragg, SJ.5, and Improved Pelican than the

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

control were 87, 80, 34, 33 and 8 percent of the total isolates respectively. Regarding of the number of isolates from nodule of different trap hosts, being effective in producing dry matter of all hosts, the native isolates isolated from nodules of wild soybean were more compatible with the wider range of hosts than the isolates from other trap hosts. There seemed to be different among different types of soybean on the degree of promiscuity. Black soybean was the most promiscuous, followed by SJ 5 and Improved Pelican had the lowest degree. All of the eight soybeans were infected by all selected native rhizobial strain. Regarding of nodule dry weight, dry matter and nitrogen content of each host, most of the tested native strains were not statistically different from the standard strains. However, there were variation among strains in their effectiveness with each host. Considering of the plant dry matter and nitrogen content. There were differences among the tested soybean varieties. The CMU 1 was compatible with more native rhizobial strains than the others. None of the tested strains were effective on NS 1. There were 3 native rhizobial strains being more effective than one or both standard strains.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved