วิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองในห้องปฏิบัติการ ซึ่งพบว่ากรรมวิธีที่ไม่ใส่สารกำจัด วัชพืชและที่ใส่สารกำจัดวัชพืช imazethapyr ไม่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Bradyrhizobium japonicum* สายพันธุ์ THA7 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ สอดคล้องกับรายงานของ Royuela และคณะ (1998) ซึ่งพบว่า เชื้อ *Rhizobuim leguminosarum biovar. viciae* ทั้งที่ใช้ชีวิตอยู่อย่างอิสระ และที่อยู่ในปมรากถั่วลันเตา (Pisum sativum) อย่างพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน มีความทนต่อ imazethapyr ได้สูง โดยค่า specific activity ของเอนไซม์ acetolactate synthase (ALS) ของเชื้อแบคทีเรียดังกล่าว สูงกว่าเอนไซม์ชนิดเดียวกันที่พบในใบถั่วลันเตาเกือบ 20 เท่าตัว(http://edes.ifas.rfl.edu/Body.WGO 53) สำหรับเอนไซม์ ALS เป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์กรดอะมิโนพวก valine isuleucine และ leucine ในสิ่งมีชีวิตเอนไซม์ชนิดนี้มีชื่อเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า acetohydroxy acid synthase (AHAase) ในพืช หรือ จุลินทรีย์ที่อ่อนไหว (sensitive) ต่อ imazethapyr และสารกำจัดวัชพืชกลุ่มเดียวกันกับ imazethapyr การทำงานของเอนไซม์ ALS ของพืชหรือจุลินทรีย์จะถูกยับยั้งโดยสารกำจัดวัชพืชชนิดนี้(http://www.nps.ars.usda.gov/puboications/pubications.htm?SEQNO115= 128318)

จากผลการทดลองปลูกพืชในกระถาง ซึ่งพบว่าการใช้ผงเชื้อ *Bradyrhizobium japonicum* สายพันธุ์ THA7 คลุกเมล็ดถั่วเหลือง มีผลทำให้ต้นถั่วมีจำนวนและน้ำหนักแห้งของปมเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ใช้เชื้อ คาดว่าปริมาณของเชื้อ *Bradyrhizobium* ในดินตามธรรมชาติคงมีอยู่ในปริมาณน้อย เพราะจากรายงานของ Thies *et al.*(1991) พบว่า เมื่อดินมีเชื้อไรโซเบียม อยู่ในดินประมาณ 50 เซลล์/กรัม พืชจะไม่ตอบสนองต่อการคลุกเชื้อ และการตอบสนองจะมีนัยสำคัญต่อเมื่อดินมีปริมาณเชื้อไรโซเบียมน้อยกว่า 10 เซลล์/กรัม เนื่องจากในการทดลองปลูกพืชในกระถาง การฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืชไม่ทำให้จำนวนและน้ำหนักแห้งปมของถั่วเหลืองแตกต่างจากการไม่ฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืชอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ แสดงว่า การใช้สาร imazethapyr oxyfluorfen และ sulfentrazone ในอัตราแนะนำ ไม่มีผลกระทบต่อการมีชีวิตอยู่รอดของเชื้อ *Bradyrhizobium* ทั้งที่ใช้คลุกเมล็ด และที่อยู่ในดินตามธรรมชาติ ดังนั้นการใช้เชื้อจึงให้ผลดีไม่ว่าจะฉีดพ่นหรือไม่ฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืชก็ตาม และการฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืชยังไม่มีผลต่อกระบวนการเข้ารากตลอดจนพัฒนาการของปมอีกด้วย จึงทำให้จำนวนและน้ำหนักแห้งปมเพิ่มขึ้นเมื่อมีการใช้เชื้อ อย่างไรก็ตาม ในแง่ของความสูงที่ระยะ V4 และการตรึงไนโตรเจนที่ระยะ R1 ซึ่งในการทดลองนี้ พบว่าการตอบสนองของถั่วเหลืองต่อการใช้เชื้อผันแปรตามการฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืช ทั้งนี้สารกำจัดวัชพืชที่ให้ผลดีเมื่อใช้ร่วมกับการใส่เชื้อได้แก่ oxyfluorfen ทั้งในแง่ของความสูง และการตรึงไนโตรเจนที่ ระยะ R1 ผลการทดลองดังกล่าว ชี้ให้เห็นว่าการฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืชทั้ง 3 ชนิด มีผลกระทบต่อการตรึงไนโตรเจนของเชื้อ *Bradyrhizobium* สายพันธุ์ THA7 แตกต่างกัน

เนื่องจาก imazethapyr เป็นสารกำจัดวัชพืชที่สามารถยับยั้งกิจกรรมของ ALS เอนไซม์ ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์กรดอะมิโน ดังนั้นการที่ถั่วเหลืองที่ได้รับการใส่เชื้อร่วมกับ imazethapyr มีการตรึงไนโตรเจนได้ไม่ดีเท่าที่ควร ทั้งที่การใส่เชื้อส่งเสริมให้ถั่วเหลืองมีการเกิดปมเพิ่มขึ้น น่าจะเกิดจากการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ ALS โดย imazethapyr ซึ่งทำให้แอมโมเนียซึ่งเป็นผลิตผลจากการตรึงไนโตรเจนของเชื้อ *Bradyrhizobium* ไม่สามารถสังเคราะห์ไปเป็นกรดอะมิโนได้ และคาดว่าจากการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ ALS นี้จะทำให้มีการสะสมของของ NH_3 ขึ้นในปม และทำให้กิจกรรมของ nitrogenase ลดลงในที่สุด สำหรับ *Bradyrhizobium* สายพันธุ์ THA7 อาจจะเป็นสายพันธุ์ที่อ่อนไหวต่อความเข้มข้นของแอมโมเนียมภายในปมมากกว่าเชื้อ *Bradyrhizobium* ที่อยู่ในดินตามธรรมชาติ ดังนี้เมื่อมีการสะสมของแอมโมเนียมเกิดขึ้นกิจกรรมของเอนไซม์ nitrogenase ในเซลล์ของแบคทีเรียสายพันธุ์นี้ในปมจึงลดต่ำลงได้ และคาดว่าจะเกิดผลกระทบดังกล่าว จึงทำให้ถั่วเหลืองที่ได้รับการใส่เชื้อร่วมกับการใส่สาร imazethapyr มีความสูงน้อยกว่าถั่วเหลืองที่ไม่ได้รับการใส่เชื้อ

จากการทดลองในแปลงทดลอง ซึ่งพบว่าการใส่เชื้อ *Bradyrhizobium* ไม่มีผลทำให้ถั่วเหลืองมีจำนวนและน้ำหนักแห้งปม ตลอดจนการตรึงไนโตรเจนแตกต่างจากการไม่ใส่เชื้ออย่างมีนัยสำคัญ แสดงว่าดินในแปลงทดลองมีเชื้อ *Bradyrhizobium* อยู่ในดินตามธรรมชาติในปริมาณที่มาก และเชื้อที่มีอยู่น่าจะมีประสิทธิภาพดี เพราะจากข้อมูลด้านเปอร์เซ็นต์ยูริไอด์ (% RUI) ในน้ำเลี้ยงจากตอรากของถั่วเหลืองในแปลง ที่ไม่มีการกำจัดวัชพืชและที่ไม่ใส่เชื้อ ซึ่งถือว่าเป็นดัชนีบ่งชี้ถึงการตรึงไนโตรเจน พบว่ามีค่าสูงถึง 90 % สำหรับระยะ V6 และเพิ่มเป็น 95 % ที่ระยะ R2 คิดเป็นปริมาณไนโตรเจน ที่ได้จากการตรึงตลอดฤดูปลูกประมาณ 12 กิโลกรัม N /ไร่ หรือประมาณ 85 % ของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่สะสมอยู่ในต้นถั่วเหลือง ซึ่งไม่แตกต่างจากการไม่ใส่เชื้อ

สำหรับผลของการฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืช ซึ่งพบว่าในการทดลองในแปลงได้ผลแตกต่างจากการทดลองในกระถาง ทั้งนี้จากการทดลองในแปลงทดลอง ไม่ว่าจะมีการใส่เชื้อหรือไม่ใส่เชื้อ *Bradyrhizobium* ก็ตาม การฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืชทั้ง 3 ชนิด มีผลต่อการเกิดปมของถั่วเหลืองและการตรึงไนโตรเจน โดยสารกำจัดวัชพืชแต่ละชนิดมีผลแตกต่างกันในขณะที่ผลจากการทดลองในกระถาง พบว่าการฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืชทั้ง 3 ชนิดในอัตราแนะนำ ไม่มีผลต่อกิจกรรมของเชื้อ *Bradyrhizobium* อย่างมีนัยสำคัญ และพบว่าการจากผลการทดลองในกระถางแตกต่างจากผลการทดลองในแปลงทดลองทั้งนี้เพราะดินที่ใช้ในกระถางและดินที่ปลูกในแปลงทดลองนั้นเป็นดินที่มาจากแหล่งที่แตกต่างกันและสภาพแวดล้อม นอกจากนี้ในการทดลองในแปลงจำนวนครั้งในการให้น้ำแก่ถั่วเหลืองยังมีน้อยกว่าการทดลองในกระถางด้วย จากข้อมูลของ EPA (1997) สารกำจัดวัชพืช sulfentrazone สามารถถูกดูดยึดไว้อย่างเหนียวแน่นโดยอนุภาคดินเหนียว

และอินทรียวัตถุ และการดูดยึดเพิ่มขึ้นตามปริมาณของดินเหนียวและอินทรีย์วัตถุในดิน สารชนิดนี้ละลายน้ำได้ในระดับปานกลาง และในน้ำสารชนิดนี้เกิดการสลายตัวโดยแสง (photolysis) ได้โดยตรง แต่ในดินกลับมีความคงทนต่อการสลายตัวโดยแสง ส่วน oxyfluorfen มีรายงานว่าเป็นสารกำจัดวัชพืช อีกชนิดหนึ่งที่สามารถดูดยึดไว้อย่างเหนียวแน่นโดยอนุภาคดินและการดูดยึดมีมากขึ้นเมื่อปริมาณอินทรีย์วัตถุในดินเพิ่มขึ้น ในน้ำ oxyfluorfen เกิดการสลายตัวได้ง่ายโดยแสง โดยมี half - life สั้นเพียง 5 วัน ในขณะที่ในดินแห้ง อาจมี half – life ยาวนานถึง 30-50 วัน อัตราการสลายตัวโดยจุลินทรีย์ค่อนข้างช้า โดยมี half – life ในดินร่วนปนเหนียวประมาณ 294 วัน ส่วนในดินร่วนปนทราย half – life ประมาณ 596 วันและในดินร่วนปนทรายที่ใช้ออกซิเจน half – life ของ oxyfluorfen มีประมาณ 603 วันในกรณีที่ imazethapyr มีรายงานว่าสารกำจัดวัชพืชชนิดนี้ (http:/www.govon.ca/ OMAFRA/) มีการสลายตัวได้โดยจุลินทรีย์แต่ในดินที่มีน้ำขังการสลายตัวมีน้อย อินทรีย์วัตถุสามารถดูดยึดสารชนิดนี้ไว้ได้อย่างเหนียวแน่นโดยเฉพาะในสภาพดินแห้งการดูดยึด imazethapyr โดยอนุภาคของดินเป็นไปได้ดีกว่าดินที่มีความชื้นและการดูดยึดโดยดินจะมีมากในดินที่มี pH ต่ำกว่า 6.5 ในดินที่มีอุณหภูมิสูงและมีความชื้น pH สูงกว่า 6.5 การสลายตัวของสารชนิดนี้โดยจุลินทรีย์จะเพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงคาดว่าปริมาณของดินเหนียวตลอดจนอินทรียวัตถุในดินจากแปลงทดลองอาจจะมีน้อยกว่าดินที่ใช้ปลูกพืชในกระถาง นอกจากนี้ในแปลงทดลองการสูญเสียสารกำจัดวัชพืชไปกับการชะล้างโดยน้ำ ก็น่าจะมีน้อยกว่าการทดลองในกระถาง เมื่อการดูดยึดสารโดยอนุภาคดินและการสูญเสียสารกำจัดวัชพืชไปกับการชะล้างเกิดน้อยกว่า ผลของสารกำจัดวัชพืชในแปลงทดลองย่อมแสดงออกเด่นชัดมากกว่าการทดลองในกระถาง จากผลของสาร imazethapyr ต่อจำนวนปมซึ่งในการทดลองในแปลงทดลองพบว่า สารกำจัดวัชพืชชนิดนี้ในอัตราแนะนำและ 2 เท่าของอัตราแนะนำให้ผลไม่แตกต่างกันในทางสถิติ และทั้งสองอัตรา ไม่ทำให้จำนวนปมของถั่วเหลืองแตกต่างจากการกำจัดวัชพืชโดยการถอน แสดงว่า imzethapyr ไม่มีผลต่อกระบวนการเข้าสู่รากของเชื้อ *Bradyrhizobium* แต่ในแง่ของน้ำหนักแห้งของปม พบว่า ในระยะ V6 การใช้สาร imazethapyr มีผลต่อพัฒนาการของปมในระยะแรก ๆ ของการเจริญเติบโตด้วย ในแง่ของการตรึงไนโตรเจน ก็พบว่าในระยะ V6 ถั่วเหลืองที่ได้รับการใส่สาร imazethapyr ในอัตราแนะนำมี % RUI หรือไนโตรเจนในรูปสารประกอบยูริไอด์ ซึ่งเท่ากับเป็นไนโตรเจนที่ได้จากการตรึงไนโตรเจน ต่ำกว่าถั่วเหลืองมากในแปลงที่ไม่ได้รับสารกำจัดวัชพืช และถั่วเหลืองจากแปลงที่มีการกำจัดวัชพืชโดยการถอนผลการทดลองดังกล่าวแสดงว่า imazethapyr มีผลกระทบต่อการตรึงไนโตรเจนด้วย ในแง่ของเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนที่ได้จากการตรึงเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ถั่วเหลืองได้รับตลอดฤดูปลูก หรือประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนก็พบว่าการใส่ imazethapyr ก็มีผลทำให้ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนตลอดฤดูปลูกลดลงคือ ตรึงได้ปริมาณ 70-74 % ในขณะที่ถั่วเหลืองที่ได้ได้รับการกำจัดวัชพืชสามารถตรึงไนโตรเจนได้ถึง 92%

การที่ imazethapyr มีผลทำให้การตรึงไนโตรเจนในระยะ V6 ลดลงอย่างเด่นชัด ส่วนหนึ่งจะเกิดจากผลของการยับยั้งในการเข้าสู่รากของ imazethapyr ซึ่งทำให้จำนวนปมมีน้อยลงและในระดับดังกล่าว ผลของ imazethapyr ต่อการทำงานของเอนไซม์ ALS น่าจะมีค่อนข้างมาก เมื่อเปรียบเทียบกับระยะต่อมา เมื่อเอนไซม์ ALS ถูกยับยั้งโดย imazethapyr (W.Powell, 1983)กระบวนการสังเคราะห์กรดอะมิโนย่อมเกิดได้ไม่ดี ดังนั้น NH_4^+ ซึ่งเกิดจากกระบวนการตรึงไนโตรเจนของปมย่อมมีสะสมอยู่ในปม และเป็นผลทำให้การเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ไนโตรจีเนส ซึ่งใช้ในการตรึงไนโตรเจนลดลงด้วย

ในกรณีของถั่วเหลืองจากแปลงที่ไม่ได้รับการกำจัดวัชพืช ซึ่งในการทดลองนี้พบว่าต้นถั่วเหลืองมีจำนวนและน้ำหนักแห้งปมไม่แตกต่างจากถั่วเหลืองที่ได้รับการกำจัดวัชพืชโดยการถอน และที่ระยะ V6 ยังมีการตรึงไนโตรเจน (% RUI) สูงกว่าอีกทั้งมีปริมาณของไนโตรเจนทั้งหมดที่ได้จากการตรึง % RUI ที่ระยะ R2 และ R6 ตลอดจนเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนที่ได้จากการตรึงเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ที่ถั่วเหลืองได้รับตลอดฤดูปลูก ชี้ให้เห็นว่าเชื้อ *Bradyrhizobium* ที่มีอยู่ในดินตามธรรมชาติมีจำนวนมากและมีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนได้ดี การที่ถั่วเหลืองที่ไม่ได้รับการกำจัดวัชพืชมีการตรึงไนโตรเจนได้ดีกว่าถั่วเหลืองจากแปลงที่มีการกำจัดวัชพืชเป็นเพราะในแปลงที่ไม่มีการกำจัดวัชพืชมีปริมาณวัชพืชในปริมาณที่มากกว่าแปลงที่ได้รับการกำจัดวัชพืชโดยการถอน ไม่ต่ำกว่า 4-5 เท่า การที่มีวัชพืชขึ้นอยู่บนดินในปริมาณมากย่อมมีผลทำให้ปริมาณไนโตรเจนในดินมีน้อยลงซึ่งเป็นผลดีต่อการตรึงไนโตรเจน (Gibson and Harpes, 1988)

สำหรับผลของการใส่ oxyfluorfen ซึ่งผลการทดลองในแปลงทดลองพบว่า สารกำจัดวัชพืชชนิดนี้ ทำให้จำนวนปมและน้ำหนักแห้งปมตลอดจนเปอร์เซ็นต์ RUI ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับถั่วเหลืองทั้ง 2 อัตราที่ได้รับการกำจัดวัชพืชโดยการถอน และผลกระทบดังกล่าวพบในทุกระยะของการเจริญเติบโต แสดงว่า oxyfluorfen มีผลกระทบต่อการเข้าสู่รากของเชื้อ *Bradyrhizobium* และพัฒนาการของปม และยังมีผลการตรึงไนโตรเจนด้วย จากข้อมูลด้านความเป็นพิษต่อถั่วเหลือง พบว่า oxyfluorfen เป็นพิษต่อถั่วเหลือง ในระดับสูง เมื่อเปรียบเทียบกับ imazethapyr และยังทำให้ถั่วเหลืองมีความสูงน้อยกว่า ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชชนิดนี้ต่อถั่วเหลือง น่าจะมีผลกระทบต่อการสังเคราะห์แสงของต้นถั่ว หากต้นถั่วมีการสังเคราะห์แสง ซึ่งจะต้องถูกใช้ในกระบวนการเข้าราก การเกิดปม ตลอดจนการตรึงไนโตรเจน น่าจะลดลงด้วยและเป็นผลทำถั่วเหลืองที่ได้รับการฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืชชนิดนี้มีการเกิดปม และการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลืองที่ได้รับการฉีดพ่นกำจัดวัชพืชไม่ดีเท่าที่ควร

ในกรณีของ sulfentrazone ซึ่งในการทดลองนี้ก็พบว่าสารชนิดนี้มีผลกระทบต่อการเกิดปม การตรึงไนโตรเจน ตลอดจนความเป็นพิษต่อถั่วเหลืองในลักษณะเดียวกับ oxyfluorfen แต่เมื่อ

เปรียบเทียบกับ oxyfluorfen พบว่า sulfentrazone มีผลกระทบต่อถั่วเหลืองเฉพาะในระยะแรก แสดงว่าความเป็นพิษของ sulfentrazone มีมากกว่า oxyfluorfen เนื่องจากทั้ง sulfentrazone และ oxyfluorfen มีผลยับยั้งการทำงานของ protoporphyrinogen oxidase (PPO) ซึ่งมีผลทำให้ปฏิกิริยา peroxidation และก่อให้เกิด singlet oxygen ซึ่งเป็นพิษต่อเซลล์ โดยการทำให้ผนังเซลล์แตก และยับยั้งการสังเคราะห์แสง (http://www/gov.on/ca/OMAFRA/english/crop/faets/00-001.htm) ดังนั้นจึงคาดว่าการที่สารกำจัดวัชพืชทั้งสองชนิดมีผลทำให้ถั่วเหลืองมีการเกิดปม การตรึงไนโตรเจนลดลง เกิดจากผลกระทบของสารดังกล่าวต่อการสังเคราะห์แสงของพืชตระกูลถั่วเมื่อถั่วเหลืองมีการสังเคราะห์แสงลดลงปริมาณสารประกอบของปมและการตรึงไนโตรเจนย่อมลดลงด้วย อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาจากปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ได้จากการตรึงตลอดฤดูปลูกพบว่า การฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืชแต่ละชนิด ในอัตราแนะนำ และ 2 เท่าของอัตราแนะนำ ให้ผลไม่แตกต่างกัน และการฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืชทุกชนิด ทั้ง 2 อัตรา ยกเว้น sulfentrazone ในอัตรา 2 เท่าของอัตราแนะนำ ทำให้ถั่วเหลืองมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ได้จากการตรึงตลอดฤดูปลูกไม่แตกต่างจากการกำจัดวัชพืชโดยการถอน ซึ่งคาดว่าหลังจากระยะ R2 การตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลืองที่ได้รับการฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืชแต่ละชนิดยกเว้น sulfentrazone ในอัตรา 2 เท่าของอัตราแนะนำน่าจะดีขึ้นกว่าเดิม และผลการทดลองที่เกี่ยวข้องกับการตรึงไนโตรเจนที่ระยะ R6 ของถั่วเหลืองที่ได้รับการฉีดพ่นสาร oxyfluorfen และ sulfentrazone ก็สนับสนุนสมมุติฐานดังกล่าวเพราะค่า RUI ที่ระยะนี้สูงกว่าที่ระยะ R6 เมื่อถั่วเหลืองที่ได้รับการใส่สาร oxyfluorfen ทั้ง 2 อัตรา และ sulfentrazone ในอัตราแนะนำ มีการตรึงไนโตรเจนเพิ่มขึ้นในช่วงระยะเจริญเติบโตหลังระยะ R2 ปริมาณการตรึงไนโตรเจนย่อมเพิ่มขึ้น