

บทที่ 4

วิจารณ์ผลการทดลอง และสรุปผลการวิจัย

1. สภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิธีอะเซทีลีนรีคักชัน

ผลจากการทดลองที่พบว่าปฏิกิริยาของถั่วรีราโตรที่แยกออกมาจากรากนั้นมีอัตราการตรึงไนโตรเจนต่ำกว่ารากทั้งหมดที่มีปมติดอยู่ด้วย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการขาดสารอาหารที่จะได้รับจากการสังเคราะห์แสงหรือเอ็นไซม์ไนโตรจีเนสของปมถูกสัมพันธ์กับการออกซิเจนทำให้เสื่อมคุณภาพ ซึ่งผลจากการทดลองนี้ให้ผลเช่นเดียวกับรายงานของ Hardy และคนอื่น ๆ (1968) และ Bergersen (1970) อัตราการตรึงไนโตรเจนของรากของถั่วรีราโตรที่มีปมติดอยู่จะเป็นเส้นตรงตลอดระยะเวลา 5 ชั่วโมง ซึ่งเป็นเวลานานเมื่อเทียบกับที่พบในถั่วเหลือง (Fishbeck, Evans และ Boerma 1973) ซึ่งจะเป็นเส้นตรงอย่างน้อยที่สุด $1\frac{1}{2}$ ชั่วโมง เอ็นไซม์ไนโตรจีเนสในปมของรากถั่วรีราโตรจะถูกทำให้มีกิจกรรมอะเซทีลีน 0.1 บรรยากาศ เท่ากับที่พบในถั่วเหลือง แต่จะต่ำกว่า Km เท่าว่า เนื่องจากปมของพวกพืชตระกูลถั่วต้องการออกซิเจนในขบวนการสังเคราะห์ ATP ซึ่งเป็นพลังงานสำคัญในปฏิกิริยาการตรึงไนโตรเจนของเอ็นไซม์ไนโตรจีเนส Criswell และคนอื่น ๆ (1976) ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของออกซิเจนต่อการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลืองพบว่า ออกซิเจนที่ $0.06 - 0.89$ บรรยากาศจะมีผลทำให้แอกทิวิตีของเอ็นไซม์ไนโตรจีเนสลดต่ำลง ตั้งแต่ $37 - 98$ เปอร์เซ็นต์ จากการทดลองนี้พบว่าออกซิเจนทำให้แอกทิวิตีของการรีดิวซ์อะเซทีลีนของปมรากถั่วรีราโตรลดต่ำลงเช่นกัน ในการทดลองนี้จึงคิดเปลี่ยนวิธีของ Hardy และคนอื่น ๆ (1968) โดยเลือกใช้ตัวอย่างของรากพืชทั้งหมด (รากที่มีปมติดอยู่) มาหาการตรึงไนโตรเจนโดยไม่ใช้ออกซิเจนในบรรยากาศของภาชนะที่อินคิวเบต เพราะจะให้ค่าการตรึงไนโตรเจนสูงสุด การหาการตรึงไนโตรเจนโดยวิธีนี้ข้อดีคือ มีความไวสูงกว่าวิธีอื่น ๆ (Hardy และคนอื่น ๆ 1968) ราคาไม่แพง และเหมาะ-

สมที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในการหาการตรึงไนโตรเจนใน field ได้ ข้อเสียของวิธีนี้ก็คือเป็นการวัดการตรึงไนโตรเจนโดยทางอ้อม การคำนวณปริมาณอะเซททีนที่ถูกตรึงเข้าไปเป็นปริมาณไนโตรเจนอาศัยหลักของจำนวนอิเล็กตรอนที่ถูกใช้ในปฏิกิริยารีดักชัน โดยทั่วไปแล้วการตรึงอะเซททีน 1 โมเลกุลต้องใช้ 2 อิเล็กตรอนและการตรึงไนโตรเจน 1 โมเลกุลต้องใช้ 6 อิเล็กตรอน ดังนั้นถ้าอะเซททีนที่ถูกตรึงเข้าไป 1 โมเลกุลจะเท่ากับไนโตรเจนที่ถูกตรึงเข้าไป 3 โมเลกุล

2. ลักษณะการเจริญเติบโตและการเกิดปมของถั่วชิราโตร

จากผลการทดลองนี้พบว่า ถั่วชิราโตรเจริญเติบโตและมีการเกิดปมที่บริเวณรากได้เร็ว โดยสังเกตจากการสะสมของน้ำหนักแห้งของพืช ตั้งแต่ปลูกจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง (16 สัปดาห์) และเริ่มตรวจพบปมที่บริเวณราก ในขณะที่ถั่วมีอายุ 3 สัปดาห์ การตั้งตัวและการเกิดปมที่บริเวณรากได้เร็ว โดยอาศัยเชื้อไรโซเบียมที่มีอยู่ในธรรมชาติของถั่วชนิดนี้ สอดคล้องกับรายงานของนักวิจัยหลายท่าน อาทิเช่น Keo (1967) และ Humphrey (1974) ซึ่งทำให้ถั่วชนิดนี้แพร่หลายได้เร็วขึ้น สำหรับประเทศไทย บุญรักษ์ (2519) รายงานว่าถั่วชิราโตรขึ้นได้ดีในทุกภาคของประเทศไทย ยกเว้นในบริเวณภาคใต้ซึ่งอาจมีปัญหาจากโรคที่เกิดจากเชื้อรา อันเนื่องมาจากฝนตกชุกเกินไป (สายัณต์ 2520) อย่างไรก็ตามถั่วชนิดนี้มีความทนทานต่อความแห้งแล้งได้ดี และสามารถขึ้นได้ดีในดินเกือบทุกชนิด (Humphrey 1974, Ostrowski 1966)

เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของถั่วชิราโตรกับหญ้าโรคแล้ว (ตารางที่ 1, 3) พบว่าน้ำหนักแห้งของพืชทั้ง 2 ชนิดจะใกล้เคียงกันในระยะแรกที่พืชยังอ่อนอยู่ ภายหลังจาก 5 สัปดาห์แล้ว ถั่วชิราโตรจะมีน้ำหนักแห้งมากเป็น 3 เท่าของน้ำหนักแห้งของหญ้าโรค ที่เป็นเช่นนี้อาจจะเนื่องมาจากว่าการเจริญเติบโตของถั่วชิราโตรไม่ขึ้นอยู่กับไนโตรเจนซึ่งอยู่ในดิน ทั้งนี้เนื่องมาจากถั่วชิราโตรสามารถตรึงไนโตรเจนได้โดยอาศัยเชื้อไรโซเบียมที่บุกรุกเข้าไป ขณะที่หญ้าโรคต้องอาศัยไนโตรเจนทั้งหมดจากดินเท่านั้น ซึ่งปริมาณไนโตรเจนในดินที่พืชจะนำไปใช้ก็มีอยู่ในปริมาณน้อยมาก Henzell (1968) รายงานว่าอัตราของ mineralization ของไนโตรเจนในดินภายใต้สภาพทุ่งหญ้าเลี้ยงสัตว์มีน้อยกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ เพราะฉะนั้นจึงทำให้หญ้าโรคเจริญเติบโตได้ช้ากว่าถั่วชิราโตร

3. ปริมาณการตรึงไนโตรเจนของถั่วรีราโครและหญ้าโรค

การตรึงไนโตรเจนของถั่วรีราโครจะตรวจพบได้เมื่อปมเริ่มปรากฏที่ราก ปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเป็นอัตราส่วนโดยตรงในขั้นแรกกับจำนวนปมและน้ำหนักปมที่เพิ่มขึ้น แต่กลับจะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงหลังจากสัปดาห์ที่ 8 ซึ่งเป็นระยะที่ถั่วเริ่มติดฝัก กล่าวคือ การเพิ่มขึ้นและการลดลงของการตรึงไนโตรเจนของถั่วรีราโครก็เป็นที่น่าสังเกตเกี่ยวกับที่พบในถั่วอื่น ๆ Lawn และ Burn (1974) ศึกษาในถั่วเหลืองพบว่า การตรึงไนโตรเจนจะลดลงเมื่อถั่วเริ่มออกฝัก วรวิชัย และพวก (2520) ศึกษาในถั่วเขียว ถั่วเหลือง และถั่วลิสง พบว่าการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหล่านี้จะลดลงเมื่อฝักของถั่วเริ่มเต่ง คาดกันว่า การลดลงของการตรึงไนโตรเจนนี้เนื่องมาจากการลดลงของปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ถ่ายเทไปยังปมราก และส่วนใหญ่ของคาร์โบไฮเดรตจะถูกส่งไปยังส่วนที่คอกและฝักยังผลให้ส่วนที่ส่งไปยังปมรากลดลง ปริมาณของคาร์โบไฮเดรตเป็นปัจจัยกำหนดประสิทธิภาพของการตรึงไนโตรเจน Hardy , Havelka และ Holsten (1972) พบว่าประสิทธิภาพของการตรึงไนโตรเจนจะลดลงเมื่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตในพืชลดลง Yukimchuk (1957) และ Pate (1958) พบว่าจะมีการตรึงไนโตรเจนเพิ่มขึ้นเมื่อตัดเอาส่วนของตาคอกทิ้งไป การที่ถั่วรีราโครมีการตรึงไนโตรเจนในช่วงอายุ 12 - 16 สัปดาห์คงที่นั้นอาจเป็นเพราะว่าแบคทีเรียในปมไม่มีการเพิ่มตัวอีกต่อไป สำหรับถั่วรีราโครที่ปลูกร่วมกับหญ้าโรค ปรากฏว่า การตรึงไนโตรเจนจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ เมื่ออายุของพืชเพิ่มขึ้นและมีค่าสูงสุดในสัปดาห์ที่ 8 หลังจากนั้นจะมีค่าลดลงต่ำเรื่อย ๆ เช่นเดียวกับที่พบในถั่วรีราโครที่ปลูกเดี่ยว แสดงว่า การปลูกหญ้าโรค รวมไปถึงควายนางจะมีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพของการตรึงไนโตรเจนด้วย สำหรับหญ้าโรคที่ปลูกเดี่ยวมีการตรึงไนโตรเจนเกิดขึ้นเล็กน้อยเฉพาะในช่วงแรกของการเจริญเติบโตเท่านั้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากว่า ในระยะที่หญ้าโรคเป็นต้นอ่อนนั้นจะมีการหลั่งสารอาหารบางชนิดออกมาที่ผิวรากเป็นตัวดึงดูดให้แบคทีเรียที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้ และอาศัยเป็นอิสระอยู่ในดินใหม่เกาะอยู่บริเวณรอบ ๆ รากและที่ผิวราก เมื่อหญ้าอายุมากขึ้นจะหยุดการหลั่งสารอาหารเหล่านี้จึงไม่พบการตรึงไนโตรเจนในช่วงอายุหลัง ๆ (Dommergues และคนอื่น ๆ 1972) ปรากฏการณ์พบในหญ้าชนิดอื่น ๆ ด้วย เช่น Dobereiner (1972) พบว่ารากของหญ้า Paspalum notatum มีการตรึงไนโตรเจนเกิดขึ้นเนื่องจากมีแบคทีเรียชื่อ Azoto-

bacter paspali มาเกาะติดอยู่ที่ผิวรากแบบชั่วคราว (associative symbiosis) แต่ไม่
 ไคเขาไปอยู่ในรากของพืชเช่นเดียวกับพืชตระกูลถั่ว ความแตกต่างระหว่างปริมาณการตรึงไนโตร
 เจนของถั่ววีสราโตร และหญ้าโรคมียากกว่ากันเกือบ 100 เท่า เป็นเหตุผดสนับสนุนว่า การอาศัยอยู่
 ร่วมกันแบบถาวรของแบคทีเรียในปมรากกับต้นถั่วเป็นปัจจัยสำคัญในการที่จะตรึงไนโตรเจนจากอากาศ
 มาให้พืชใช้ได้ อย่างไรก็ตามมีความแปรปรวนเกิดขึ้นมากในค่าการตรึงไนโตรเจนที่วัดได้ ซึ่งเป็นค่า
 แปรปรวนแปรที่อาจไม่ใ้ปฏิบัติโดยตรงกับประสิทธิภาพของการตรึงไนโตรเจน มีรายงานว่ ปัจจัยหลาย
 อย่างมีผลโดยตรงต่อการตรึงไนโตรเจน เช่น ผลสืบเนื่องจากการเก็บตัวอย่างโดยการชะดินหึ่งด้วย
 น้ำเป็นเวลานาน ๆ ก็อาจชักนำให้เกิดภาวะ water stress ในปม Sprent(1971) รายงาน
 ว่า water stress จะมีผลทำให้ประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียลดลง ปัจจัย
 อื่น ๆ นอกจากนี้อีกแก่ ระยะเวลาที่เก็บตัวอย่างก่อนมาทำการทดลอง และอุณหภูมิขณะทำการทดลอง
 Hardy และคนอื่น ๆ (1968) รายงานว่า การเพิ่มขึ้นหรือลดลงของอุณหภูมิและแสงสว่าง จะมี
 ผลต่อประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนในถั่วเหลือง นอกจากนี้ยังพบว่มีการแปรปรวนของการตรึง
 ไนโตรเจนในแต่ละวันด้วย ในการทดลองนี้จึงไม่คำนวณปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ตรึงได้จากค่าอีกคิ
 วิตทั้งหมดของการวิเคราะห์ที่ต้นที่วัดได้ ทั้งนี้เพื่อหลีกเลี่ยงความผิดพลาดเนื่องจากเหตุผลดังกล่าว
 ข้างตน ถึงแม้กระนั้นก็ตามการตรึงไนโตรเจนก็มีส่วนสำคัญในการเจริญเติบโตของพืช เพราะน้ำหนัก
 แห้งของถั่ววีสราโตรมีค่าสูงกว่าของหญ้าโรคเสมอ

4. ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนปมหรือน้ำหนักปมสดกับการตรึงไนโตรเจน

จากผลการทดลองพบว่าจำนวนปมกับปริมาณการตรึงไนโตรเจนไม่เป็นปฏิภาคกันโดยตรง ตรง
 กันข้ามกับน้ำหนักสดของปมที่มีกระจายตัวสัมพันธ์กับการกระจายของแอ็คติวิตีทั้งหมดของการวิเคราะห์ที่
 ต้นที่วัดได้ ดังนั้นจึงอาจใช้น้ำหนักปมบ่งชี้ถึงปริมาณการตรึงไนโตรเจนได้ Dobereiner (1966)
 ศึกษาเกี่ยวกับเรื่องนี้ในถั่วเหลืองพบว่า น้ำหนักปมของถั่วเหลืองเป็นสัดส่วนโดยตรงกับค่าลอการิทึมของ
 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ได้จากการตรึงปมราก อย่างไรก็ตามน้ำหนักปมก็ไม่ใช้ตัวบ่งชี้ที่ดีนักสำหรับ
 จะคำนวณหาปริมาณการตรึงไนโตรเจน

5. กรรมวิธีแสดงคุณค่าทางอาหารของถั่วชิราโตรและหญ้าโรค

การที่เปอร์เซ็นต์โปรตีนในใบของถั่วชิราโตรทั้งที่ปลูกเดี่ยว และปลูกร่วมกับหญ้าโรคมีการเปลี่ยนแปลงทางการกระจายของเปอร์เซ็นต์โปรตีนในใบกับอายุเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนถึงสุครະการทดลอง ขณะที่การกระจายของเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนกับอายุของถั่วแทบจะไม่มีเปลี่ยนแปลงเลย จึงไม่สามารถจะใช้เป็นกรรมวิธีบ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงคุณค่าทางอาหารของถั่วชิราโตรได้ ตรงกันข้ามกับหญ้าโรคทั้งที่ปลูกเดี่ยวและที่ปลูกร่วมกับถั่วชิราโตรที่ค่าการกระจายของเปอร์เซ็นต์โปรตีนในใบ และเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนทั้งหมดกับอายุซึ่งมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงไปในทางที่ต่ำลงเรื่อย ๆ ดังนั้นค่าทั้งสองจึงใช้เป็นตัวบ่งชี้ถึงคุณค่าทางอาหารของหญ้าโรคจะลดลงเรื่อย ๆ เมื่อหญ้าแก่ขึ้น เมื่อเปรียบเทียบคุณค่าทางอาหารของถั่วชิราโตร และหญ้าโรคจากระดับของเปอร์เซ็นต์โปรตีน จะเห็นได้ว่าถั่วชิราโตรมีความได้เปรียบทางคุณค่าอาหารที่สูงกว่าหญ้าโรคเกือบตลอดอายุการปลูก ยกเว้นแต่ในช่วงที่ยังเป็นต้นอ่อนเท่านั้นที่ค่าเปอร์เซ็นต์โปรตีนใกล้เคียงกันมาก ในการเลี้ยงสัตว์เพื่อให้สัตว์ได้รับคุณค่าจากพืชอาหารสัตว์ได้มากที่สุดควรปล่อยให้สัตว์เข้าแทะเล็มพืชนั้น ขณะที่ระดับเปอร์เซ็นต์โปรตีนสูงสุด โดยปกติทั่วไปแล้วเปอร์เซ็นต์โปรตีนหายไปในพืชที่เหมาะสมจะใช้เป็นอาหารสัตว์ได้ก็ไม่ควรต่ำกว่า 9 เปอร์เซ็นต์ (Technical Committee of the Agricultural Research Council, UK 1965) หรือคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนแล้วไม่ต่ำกว่า 1.4 เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน จากผลของการทดลองพบว่า ตลอดช่วงระยะเวลา 16 สัปดาห์ เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนของถั่วชิราโตรเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย ขณะที่หญ้าโรคที่อายุ 8 สัปดาห์จะให้เปอร์เซ็นต์โปรตีนต่ำกว่ากาวิกฤต เพราะฉะนั้นถ้าต้องการให้สัตว์ได้รับโปรตีนเพียงพอจะต้องให้สัตว์เข้าแทะเล็มหญ้าโรคเมื่ออายุไม่เกิน 5 สัปดาห์ ซึ่งในทางปฏิบัติแล้วจะทำได้ เนื่องจากหญ้าโรดยังตั้งตัวไม่ถ่วง และให้ผลผลิตต่ำอยู่ ดังนั้นการปลูกถั่วผสมกับหญ้าจะช่วยให้คุณภาพของอาหารรวมดีขึ้น

6. อิทธิพลของถั่วชิราโตรที่มีต่อการเจริญเติบโตของหญ้าโรค

การที่ถั่ว ชิราโตรมีอิทธิพลทำให้น้ำหนักแห้งของหญ้าโรคที่ขึ้นร่วมควมมีน้ำหนักแห้ง โดยเฉลี่ยต่ำกว่าเมื่อปลูกหญ้าโรคเพียงอย่างเดียวและตัวมันเองก็มีน้ำหนักแห้งต่ำกว่าถั่วชิราโตรเมื่อปลูกเดี่ยว ซึ่ง

อาจเนื่องมาจากการแก่งแย่งน้ำและแร่ธาตุอาหารซึ่งกันและกัน รวมทั้งการบดบังแสงแดดซึ่งกันและกันดังกล่าวไว้แล้วข้างต้น ข้อที่น่าสนใจก็คือ ถั่วซึราโตรยังส่งอิทธิพลต่อหญ้าโรคที่ขึ้นร่วมด้วยทำให้ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และ เปอร์เซนต์ไนโตรเจนทั้งหมดตลอดช่วงอายุการปลูกเพิ่มขึ้นด้วยอย่างมีนัยสำคัญ อาจเป็นไปได้ว่า ถั่วซึราโตรที่ปลูกร่วมกับหญ้าโรคจะมีการถ่ายเทไนโตรเจนบางส่วนของมันไปให้กับหญ้าโรคที่ขึ้นร่วมด้วย Henzell และคนอื่น ๆ (1968) พบว่าถั่วซึราโตรจะมีการถ่ายเทไนโตรเจนไปให้หญ้าโรคที่ปลูกร่วมด้วยในอัตราส่วน 2 : 2 เท่ากับ 0.1 เปอร์เซนต์ของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของถั่วซึราโตรที่อายุ 15 สัปดาห์ ถึงแม้ว่าจะไม่พบความแตกต่างระหว่างเปอร์เซนต์ไนโตรเจนทั้งหมดของถั่วซึราโตรที่ปลูกร่วมกับหญ้าโรค และที่ปลูกเดี่ยวก็ตาม แต่จากผลการทดลองนี้ที่ปรากฏว่า เปอร์เซนต์โปรตีนเฉลี่ยของหญ้าโรคที่ปลูกร่วมกับถั่วซึราโตรไม่มีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด จึงอาจเป็นไปได้ว่า ไนโตรเจนที่ถั่วซึราโตรถ่ายเทให้กับหญ้าโรคนั้นไม่ได้นำไปใช้สร้างโปรตีนในหญ้าโรคให้สูงขึ้น แต่อาจนำไปใช้ในการสร้างสารประกอบไนโตรเจนอื่น ๆ ของหญ้าโรค

7. บทบาทของการตรึงไนโตรเจนต่อคุณภาพทางอาหารของถั่วซึราโตรและหญ้าโรค

การตรึงไนโตรเจนที่วัดได้จากการทดลองนี้สามารถนำมาใช้พิจารณาถึงความสัมพันธ์ที่มีต่อการกระจายของเปอร์เซนต์โปรตีนและเปอร์เซนต์ไนโตรเจนทั้งหมด กับอายุของถั่วซึราโตร และหญ้าโรค ผลจากการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่า การตรึงไนโตรเจนมีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโต และคุณภาพทางอาหารของถั่วซึราโตร ถั่วซึราโตรจะได้ไนโตรเจนเหลือเพื่อจากการตรึงของปมราก จึงนำเอาไนโตรเจนนี้ไปใช้ในการเพิ่มน้ำหนักแห้ง การสร้างโปรตีน และสารประกอบไนโตรเจนอื่น ๆ ทำให้ถั่วซึราโตรมีระดับเปอร์เซนต์โปรตีนและไนโตรเจนทั้งหมดสูงตลอดระยะเวลาทำการทดลอง 16 สัปดาห์ ตรงกันข้ามกับหญ้าโรคซึ่งได้ไนโตรเจนจากดินซึ่งมีปริมาณจำกัด และนำไปใช้ในการเพิ่มน้ำหนักแห้งขึ้นเรื่อย ๆ จึงทำให้หญ้าโรคมีเปอร์เซนต์โปรตีนและเปอร์เซนต์ไนโตรเจนลดลงเมื่อหญ้าแก่ขึ้น ถั่วซึราโตรและหญ้าโรคที่ปลูกร่วมกันก็เป็นไปโดยนัยเดียวกัน เพียงแต่อัตราการลดลงของเปอร์เซนต์โปรตีนในช่วงแรกของอายุของหญ้าโรคที่ปลูกร่วมกับถั่วซึราโตรช้ากว่าที่ปลูกเดี่ยวซึ่งก็อาจเนื่องมาจากอิทธิพลของไนโตรเจนที่ถั่วซึราโตรถ่ายเทมาให้

8. ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน

การที่พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของดินในกระถางที่ปลูกถั่ววี่ราโตร และหญ้าโรคทั้งสองแบบอย่างมีนัยสำคัญ แม้ว่าจะพบอิทธิพลของถั่ววี่ราโตรที่มีต่อหญ้าโรคที่ปลูกร่วมกันในคานเปอร์เซ็นต์โปรตีน หรือไนโตรเจนไว้ในนั้น อาจเป็นเพราะว่า สารที่หลั่งจากถั่วให้หญ้าถูกดูดกลับโดยรากของหญ้าอย่างรวดเร็ว หรืออาจเป็นเพราะว่าการสูดตัวของดินยังมีข้อผิดพลาดอยู่ รวมทั้งวิธีการหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินอาจเป็นวิธีที่ไม่มีความไวสูงพอ ข้อเสนอแนะของการทดลองอันนี้ก็คือ ติดตามการขับของอินทรีย์สาร ที่ขับออกจากถั่วไปสู่หญ้า โดยการปลูกถั่วและหญ้าในบรรยากาศที่มีไนโตรเจน 15 ถ้าหากพบแอ็คติวิตีของไนโตรเจน 15 ในใบของหญ้าที่แสดงถึงอิทธิพลที่แท้จริงระหว่างถั่วกับหญ้า

9. การแยกเชื้อจากปมของรากถั่ววี่ราโตร และลักษณะของเชื้อที่แยกได้

การที่เราสามารถแยกเชื้อจากปมราก และการที่เชื้อที่แยกได้สามารถไปสร้างปมกับเมล็ดถั่ววี่ราโตรภายใต้ภาวะควบคุมนั้น อีกทั้งลักษณะของปมที่ได้จากภาวะควบคุมยังเหมือนกันกับที่ได้จากถั่ววี่ราโตรที่ปลูกในกระถางทดลองแม้ว่าขนาดจะเล็กกว่า ผลการทดลองนี้บ่งชี้ชัดเจนไปว่า เชื้อที่แยกได้มานั้น เป็นเชื้อที่ถูกรุกเข้าไปในรากของถั่ววี่ราโตรในกระถางทดลองจริง ๆ อนึ่งดินที่ใช้ทำการทดลองปลูกนี้ได้นำมาจากอำเภอกำแพงแสน ดังนั้นการทดลองนี้จึงบ่งชี้ได้ว่า ดินจากอำเภอกำแพงแสนมีเชื้อไรโซเบียมที่สามารถถูกรุกเข้าไปเองเป็นแบคทีเรียในเมล็ดของถั่ววี่ราโตรได้

เมื่อเปรียบเทียบลักษณะโคโลนีของไรโซเบียมที่แยกได้กับ R. Phaseoli (182) และ R. cowpea (201) ผลปรากฏว่าแม้ว่าลักษณะโคโลนีของไรโซเบียมบนอาหารเลี้ยงเชื้อจะคล้ายกัน แต่อัตราการแบ่งตัวของมันบนอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งนั้นจะต่างกัน กล่าวคือ เชื้อที่แยกได้จากปมของรากถั่ววี่ราโตรจะเติบโตเร็ว ลักษณะความใหญ่ของโคโลนีเท่า ๆ กับ R. phaseoli (182) ในช่วงเวลาการบ่มตัวที่เท่า ๆ กัน ในขณะที่โคโลนีของ R. cowpea (201) ยังเล็กมากจนเห็นเด่นชัดถึงนัยสำคัญของอัตราการแบ่งตัวของมัน

เมื่อได้ทำการทดลองให้เชื้อทั้งสามชนิดแบ่งตัวในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว ค่าของการเพิ่มตัวเองเป็นสองเท่าในระยะเวลาการเพิ่มแบบทวีคูณ ได้ชี้ชัดไปว่า เชื้อไรโซเบียมที่แยกได้นั้นเป็นเชื้อที่มีอัตราการแบ่งตัวเร็วเท่า ๆ กับ R. phaseoli จึงจัดเป็นไรโซเบียมในกลุ่มเจริญเร็ว

จากผลของการทดลองโดยความสามารถในการใช้น้ำตาลชนิด ๆ ต่าง ๆ เป็นสารต้นตอคาร์บอน ปรากฏว่า ไม่ว่าเชื้อที่แยกได้จากปมรากถั่ววีสราโตรหรือเชื้อมาตรฐาน R. phaseoli (182) หรือ R. cowpea (201) ต่างก็มีความสามารถจะใช้น้ำตาล กลูโคส, ฟรุคโตส, ซูโครส และซักซิเนต เป็นสารต้นตอคาร์บอนเหมือนกันหมด ความแตกต่างที่ปรากฏกลายเป็นอัตราการนำเอาสารต้นตอคาร์บอนทั้งหมดไปใช้ กล่าวคือ เชื้อที่แยกได้จากปมของรากถั่ววีสราโตรจะมีระยะเวลาที่ใช้ในการเพิ่มตัวเป็นสองเท่าในน้ำตาลเหล่านี้เท่ากับ 14, 9, 12 และ 20 ชั่วโมงตามลำดับ ขณะที่ R. phaseoli มีค่าเท่ากับ 11, 14, 14 และ 8 ชั่วโมงตามลำดับ และ R. cowpea (201) มีค่าเท่ากับ 42, 29, 56 และ 65 ชั่วโมงตามลำดับ อันนี้เป็นอีกครั้งหนึ่งที่ผลของการทดลองยืนยันว่า ลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อไรโซเบียมที่แยกได้อยู่ในกลุ่มของพวกที่เจริญเติบโตเร็ว ที่น่าสนใจก็คือ การที่เชื้อไรโซเบียมที่แยกได้จากปมของรากถั่ววีสราโตรนี้มีความสามารถจะใช้น้ำตาลซูโครสเป็นสารต้นตอคาร์บอนได้ แสดงให้เห็นว่าเชื้อที่แยกได้สามารถถูกชักนำให้สร้างเอนไซม์ invertase ที่จะย่อยซูโครสให้เป็นกลูโคส และฟรุคโตสได้ ซูโครสเป็นสารต้นตอคาร์บอนที่ราคาถูกที่สุดเมื่อเทียบกับสารต้นตอคาร์บอนตัวอื่น ๆ ดังนั้นศักยภาพของการเลี้ยงเชื้อไรโซเบียมที่แยกมาจากดินเมืองไทยให้โตปริมาณมากจึงมีอยู่มาก ถ้าหากว่าเชื้อที่แยกได้เป็นเชื้อที่ทำให้ถั่ววีสราโตรเติบโตเร็วที่สุด ในคุณค่าทางอาหารสูงที่สุดก็อาจจะนำเชื้อนั้นไปผสมกับเมล็ดถั่วปลูกในที่ ๆ ถั่ววีสราโตรขึ้นไม่ดี หรือคือไม่เท่าที่ควรได้อีกด้วย

10. เอนไซม์ของเอนไซม์ pyruvate, phosphate dikinase ของหัวรากและถั่ววีสราโตร

จากผลการทดลองของ Haeth , Slack และ Johnson (1967) โดยการศึกษามวลผลึกของขบวนการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์สรุปว่า พืชตระกูลถั่วจะมีการสังเคราะห์แสงแบบ C_4 pathway และพืชตระกูลถั่วส่วนใหญ่มีขบวนการสังเคราะห์แสงเป็นแบบ C_3 pathway และผลการ

ทดลองของเราที่ยืนยันว่า หนูโรคสร้างน้ำตาลโดยขบวนการ C_4 pathway และตัวชี้ราโทรควรเป็นแบบ C_3 pathway ตามที่ Hacht, Slack และ Johnson ได้สรุปไว้ จะเห็นว่าถึงแม้ศักยภาพของการสังเคราะห์แสงของหนูโรคจะสูงกว่าของตัวชี้ราโทรก็ตามแต่จากการทดลองพบว่า น้ำหนักแห้งของต้นและคุณค่าทางอาหารของหนูโรคต่ำกว่าของตัวชี้ราโทร ความแตกต่างดังกล่าวอาจเป็นผลเนื่องมาจากการตรึงไนโตรเจนที่พบในตัวชี้ราโทรเท่านั้น เพราะปริมาณอนุมูลอัมโมเนียมที่ตัวชี้ราโทรได้จากไรโซเบียมมีมาก ปริมาณของการไปไฮเครทที่ได้จากการสังเคราะห์แสงก็ถูกเปลี่ยนเป็นโปรตีนมากคล้ายเท่ากับเป็นการช่วยเร่งการสังเคราะห์แสงของตัวชี้ราโทรตามหลักของเทอร์โมไดนามิกส์ และหนูโรคไม่มีการสะสมคาร์โบไฮเดรตไว้อย่างเช่น ข้าวหรือข้าวโพด ดังนั้นความได้เปรียบของตัวชี้ราโทรจึงเหนือกว่าหนูโรคในที่สุด

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาถึงความสัมพันธ์ของปริมาณโปรตีนไนโตรเจนในใบกับการตรึงไนโตรเจนจากราก ของตัวชี้ราโทรและหนูโรคเมื่อปลูกแยกและปลูกรวมกันในกระถางได้ ผลสรุปดังต่อไปนี้

ตัวชี้ราโทรที่ปลูกเดี่ยว

1. เปอร์เซ็นต์โปรตีนที่พบในใบสูงตลอดระยะเวลาที่เป็นต้นอ่อนจนถึงต้นแก่ และค่านี้จะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ เมื่อตัวชี้ราโทรมีอายุเพิ่มขึ้น
2. เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนทั้งหมดก่อนข้างคางที่ตลอดระยะเวลาการทดลอง 16 สัปดาห์ แต่ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดสูงขึ้นแบบทวีคูณ และเป็นปฏิภาคโดยตรงกับน้ำหนักแห้งของต้น
3. มีอัตราการตรึงไนโตรเจนจากรากของตัวชี้ราโทรสูงขึ้นเรื่อย ๆ จากระยะต้นอ่อนจนถึงเริ่มออกฝัก และจะคงที่หลังการออกฝักซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้ จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักบ่มตลอดช่วงอายุการปลูก
4. บ่มเกิดได้เนื่องมาจากการบ่มของเชื้อไรโซเบียมที่มีอยู่ตามธรรมชาติ ซึ่งเป็นไรโซเบียมที่อยู่ในกลุ่มที่มีการเจริญเติบโตเร็วเมื่อเทียบกับเชื้อไรโซเบียมมาตรฐาน เชื้อที่แยกได้จาก

ปมนี้สามารถจะใช้น้ำตาลหลายชนิดเป็นสารต้นต่อคาร์บอน ตัวอย่างเช่น แมนิทอล, กลูโคส, ฟรุคโตส, ซูโครส รวมทั้งซัคซิเนทด้วย

5. การสร้างน้ำตาลกลูโคส Calvin - Benson - Bassham pathway

หญ้าโรคที่ปลูกเดี่ยว

1. เปอร์เซนต์โปรตีนที่พบในใบสูงเฉพาะในระยะที่เป็นต้นอ่อนและจะลดลงเรื่อย ๆ เมื่อหญ้าแก่ขึ้น
2. เปอร์เซนต์ไนโตรเจนทั้งหมดของหญ้าโรคจะลดลงเมื่อหญ้าแก่ขึ้น แต่ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนแบบทวีคูณและเป็นปฏิภาคโดยตรงกับน้ำหนักแห้งต่อต้นด้วย
3. พบการตรึงไนโตรเจนจากรากเล็กน้อยในระยะต้นอ่อน และค่านี้จะหายไปเมื่อหญ้าเริ่มแก่ขึ้น
4. การสร้างน้ำตาลกลูโคส Hatch Slack pathway

อิทธิพลที่มีต่อกันเมื่อปลูกด้วยชีราโรคร่วมกับหญ้าโรค

1. แนวโน้มของเปอร์เซนต์โปรตีนของด้วงชีราโรคร่วมกับหญ้าโรคมักสูงกว่าของด้วงชีราโรคที่ปลูกเดี่ยว แต่ไม่พบความแตกต่างกันจากหญ้าโรคที่ปลูกทั้ง 2 แบบ
2. เปอร์เซนต์ไนโตรเจนทั้งหมดของด้วงชีราโรคร่วมกับหญ้าโรคจะมีค่าไม่แตกต่างกับของด้วงชีราโรคที่ปลูกเดี่ยว ขณะที่เปอร์เซนต์ไนโตรเจนทั้งหมดของหญ้าโรคที่ปลูกร่วมกับด้วงชีราโรคร่วมกับหญ้าโรคที่ปลูกเดี่ยวอย่างมีนัยสำคัญ
3. ปริมาณของน้ำหนักแห้งต่อต้นของด้วงชีราโรคร่วมกับหญ้าโรคมักต่ำกว่าด้วงชีราโรคที่ปลูกเดี่ยว พบปรากฏการณ์บางอย่างในหญ้าโรคที่ปลูกร่วมกับด้วงชีราโรคร่วมกับหญ้าโรค
4. แมวจะพบการตรึงไนโตรเจนในรากของหญ้าโรคบางแต่ก็ไม่มีนัยสำคัญแต่อย่างใดเมื่อเทียบกับที่ได้จากด้วงชีราโรคร่วมกับหญ้าโรค การตรึงไนโตรเจนของด้วงชีราโรคร่วมกับหญ้าโรคนี้อาจจะสูงขึ้นเรื่อย ๆ จนกระทั่งถึงระยะสร้างฝักจากนั้นจะลดต่ำลง และจะมีผลทำให้คุณภาพทางอาหารตลอดจนน้ำหนักแห้งของด้วงชีราโรคร่วมกับหญ้าโรคเมื่อพืชทั้งสองโตกลายเป็นต้นแก่

ความเหมาะสมในการใช้ถั่วรีราโตรและหญ้าโรคในการทำทุ่งหญ้าอาหารสัตว์ผสม

จากผลการทดลองโคซี่ให้เห็นถึงศักยภาพในการประยุกต์ถั่วรีราโตรและหญ้าโรคเป็นทุ่งหญ้าโรคเป็นทุ่งหญ้าอาหารสัตว์ผสมดังต่อไปนี้

1. ถั่วรีราโตรและหญ้าโรคอาจปลูกรวมกันได้แม้ในดินที่มีทรายปนถึง 50 เปอร์เซ็นต์
2. การปลูกถั่วรีราโตรร่วมกับหญ้าโรคในอัตราส่วน 2 : 3 นั้นจะทำให้ได้ปริมาณโปรตีนโดยเฉลี่ยของทุ่งหญ้าเลี้ยงสัตว์ประมาณ 14 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณดังกล่าวจะคงที่หลังจากสัปดาห์ที่ 5 ของการปลูก ค่าเฉลี่ยของปริมาณโปรตีนดังกล่าวเป็นกรณีหนึ่งซึ่งว่าทุ่งหญ้าอาหารผสมนี้จะให้คุณค่าของอาหารที่สูงแก่สัตว์มาทั้งตัวและหญ้าจะกลายเป็นต้นแก่แล้วก็ตาม
3. ทุ่งหญ้าผสมนี้อาจสร้างให้เกิดขึ้นได้ในที่ดินตามธรรมชาติ เพราะถั่วรีราโตรสามารถใหม่ได้โดยไม่ต้องปลูกใช้ก่อนปลูกแต่อย่างใด