

## รายงานผลงานเรื่องเติมการทดลองที่สิ้นสุด

- ชื่อแผนงานวิจัย วิจัยและพัฒนาถั่วเขียว
- ชื่อโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาพันธุ์ถั่วเขียว
- ชื่อกิจกรรม การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเขียวผิวมัน
- ชื่อกิจกรรมย่อย การศึกษาข้อมูลจำเพาะของพันธุ์
- ชื่องานทดลอง การประเมินคุณค่าเพื่อการใช้ประโยชน์ของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตรต่อถั่วเขียวสายพันธุ์ดีเด่น

Evaluation of Microbial Utilization in Agriculture for Promising Mungbean Lines

### 6. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง จิราลักษณ์ ภูมิไธสง<sup>1</sup>  
ศิริลักษณ์ จิตรอักษร<sup>2</sup>  
สุมนา งามพ่องใส<sup>1</sup>  
อารดา มาสรี<sup>1</sup>

### บทคัดย่อ

ทำการทดสอบสายพันธุ์ไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนสูงกับถั่วเขียวผิวมันสายพันธุ์ดีเด่น CNMB-06-02-20-5 และ CNMB-06-03-60-7 ณ ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท ระหว่างปี 2556-2557 ทำการคัดเลือกไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนสูงสุดในห้องปฏิบัติการได้ 2 สายพันธุ์/สายพันธุ์ถั่วเขียว โดยถั่วเขียวสายพันธุ์ CNMB-06-02-20-5 คัดเลือกไรโซเบียม DASA02001 และ DASA020193 สายพันธุ์ CNMB-06-03-60-7 คัดเลือกไรโซเบียม DASA02001 และ DASA02006

ผลการทดลองสภาพกระถางปลูก ฤดูแล้ง ปี 2556 พบว่า ถั่วเขียวผิวมันสายพันธุ์ CNMB06-02-20-5 ทุกกรรมวิธี ให้น้ำหนักเมล็ดต่อต้น จำนวนฝักต่อต้น และความสูงต้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนถั่วเขียวสายพันธุ์ CNMB06-03-60-7 พบว่า การใช้ไรโซเบียมปริมาณ  $10^8$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรร่วมกับปุ๋ยเคมี อัตรา 0-9-6 ของ N-  
คำหลัก: การตรึงไนโตรเจน ไรโซเบียม ถั่วเขียวผิวมัน

<sup>1</sup> ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท อ.สรรพยา จ.ชัยนาท 17150

<sup>1</sup> Chai Nat Field Crops Research Center, Subphaya, Chai Nat 17150

<sup>2</sup> กลุ่มวิจัยจุลินทรีย์ดิน สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

<sup>2</sup> Group, Agricultural Production Sciences Research and Development Office, Department of Agriculture, Bangkok 10900.

P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O ต่อไร่ (Tr. 5) และการใช้ไรโซเบียมปริมาณ 10<sup>9</sup> เซลล์ต่อมิลลิลิตร ร่วมกับปุ๋ยเคมี อัตรา 0-9-6 ของ N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O ต่อไร่ (Tr. 6) และการใส่ปุ๋ยเคมี อัตรา 3-9-6 กิโลกรัมต่อไร่ (Tr. 3) ให้ความสูงต้นสูงกว่า control (Tr. 1) อย่างมีนัยสำคัญ แต่ทุกกรรมวิธีให้น้ำหนักเมล็ดต่อต้น จำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ผลการทดลอง ฤดูฝน ปี 2557 พบว่า ถั่วเขียวผิวมันสายพันธุ์ CNMB06-02-20-5 การใช้ไรโซเบียมที่วัสดุรองรับผ่านกรรมวิธีฆ่าเชื้อ ร่วมกับการใส่ปุ๋ย อัตรา 0-9-6 กิโลกรัมต่อไร่พร้อมปลูก (Tr. 6) ให้ผลผลิตเมล็ดสูงกว่า การใช้ไรโซเบียมที่วัสดุรองรับไม่ผ่านกรรมวิธีฆ่าเชื้อ ร่วมกับการใส่ปุ๋ย อัตรา 0-9-6 กิโลกรัมต่อไร่พร้อมปลูก (Tr. 3) ขณะที่สายพันธุ์ CNMB06-03-60-7 ทุกกรรมวิธี ให้ผลผลิตเมล็ด จำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก และความสูงต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนผลการทดลองในฤดูแล้ง ปี 2558 พบว่า ถั่วเขียวทั้ง 2 สายพันธุ์ ทุกกรรมวิธีให้ผลผลิตเมล็ด น้ำหนัก 1,000 เมล็ด จำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก และความสูงต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

### ABSTRACT

A series of experiments was conducted to examine the efficiency of some rhizobias on nitrogen fixation on CNMB-06-02-20-5 and CNMB-06-03-60-7 mungbean lines at Chai Nat Field Crops Research Center during 2013-2014. In the laboratory, 2 strains rhizobia efficient nitrogen fixation for mungbean lines were selected. Strain DASA02001 and DASA020193 were suitable for CNMB-06-02-20-5, whereas DASA02001 and DASA02006 were selected for CNMB-06-03-60-7. Pot experiment conducted in the dry season, 2013 suggested that for mungbean line, CNMB06-02-20-5, DASA02001 and DASA02006 gave no significant differences in seed yield per plant, pod number per plant and plant height. Similar results were also found in mungbean line CNMB06-03-60-7. But rhizobium prepared with 10<sup>8</sup> cells/ml plus fertilizer at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time (Tr. 5), rhizobium prepared with 10<sup>9</sup> cells/ml plus fertilizer at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time (Tr. 6), and fertilizer applied at the rate of 3-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time (Tr. 3) attained higher plant height than the control (Tr. 1).

Field experiment carried out in the rainy season, 2013, indicated that for CNMB-06-02-20-5, Rhizobium prepared with sterile carrier plus fertilizer at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time (Tr. 6) achieved significantly higher yield than Rhizobium prepared with non-sterile carrier plus fertilizer at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time (Tr. 3), but it showed no differences in yield with the others. For mungbean line CNMB06-03-60-7, however, no significant differences in yield among treatments were observed. Field experiment conducted in the dry season, 2014 showed that significant differences in yields among treatments were not found in both mungbean lines.

**Key words:** nitrogen fixation, rhizobium, mungbean

## คำนำ

ถั่วเขียว (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) เป็นพืชตระกูลถั่วที่ใช้เมล็ด (grain legume) ที่สำคัญพืชหนึ่ง เมล็ดใช้บริโภคโดยตรง หรือแปรรูปเป็นอาหารประเภทต่างๆ อาทิ วุ้นเส้น แป้งถั่วเขียว และขนมต่างๆ เป็นต้น ถั่วเขียวเป็นพืชล้มลุก อายุสั้น มีระบบรากลึก จึงทำให้มีความสามารถทนแล้งได้ดีพอสมควร ในประเทศไทย ถั่วเขียวสามารถปลูกได้ในดินแทบทุกชนิด แต่เจริญเติบโตได้ดีในดินร่วนซุย มีการระบายน้ำดี (สถาบันวิจัยพืชไร่, 2539) นอกจากนี้ ลักษณะพิเศษของถั่วเขียวอีกประการหนึ่ง คือ เป็นพืชที่สามารถสร้างปม และตรึงไนโตรเจนได้ด้วยไรโซเบียมกลุ่ม *Bradyrhizobium* sp. ซึ่งไรโซเบียมชนิดนี้ พบได้ในดินทั่วไปในเขตร้อน หรือเขตกึ่งร้อน (Dadarwal *et al.*, 1977) ดังนั้น กระบวนการตรึงไนโตรเจนของถั่วเขียว จึงเป็นแหล่งไนโตรเจนที่สำคัญสำหรับพืชเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต เพิ่มผลผลิตพืช และเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน

การตรึงไนโตรเจนทางชีววิธี (Biological nitrogen fixation) จึงเป็นแหล่งไนโตรเจนที่สำคัญในการเกษตร กระบวนการหลักของการตรึงไนโตรเจนนี้ มาจากกระบวนการตรึงไนโตรเจนแบบพึ่งพาอาศัยกันและกัน ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดิน และเพิ่มผลผลิตพืช กลไกที่สำคัญของการทำงานในกระบวนการนี้ได้แก่แบคทีเรียในวงศ์ Rhizobiaceae ที่รู้จักกันในชื่อว่า ไรโซเบียม ซึ่งมีความสามารถเข้าสร้างปม และมีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนสูงให้กับถั่วเขียวสายพันธุ์ต่างๆ แตกต่างกันไป และที่มีความจำเพาะเจาะจงกับพืชตระกูลถั่วแต่ละชนิด สายพันธุ์ไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนได้สูงกับถั่วเขียวสามารถเพิ่มผลผลิตของถั่วเขียวในสภาพไร่นา เป็นการลดและทดแทนปุ๋ยเคมีไนโตรเจนได้เป็นอย่างดี อย่างไรก็ตาม การตรึงไนโตรเจนของถั่วเขียวจะได้มากน้อยเพียงใดขึ้นกับปัจจัยหลายประการ ซึ่งรวมทั้งประสิทธิภาพของสายพันธุ์ไรโซเบียม ลักษณะดิน ธาตุอาหารในดิน (อภิพรธ, 2538) จากผลงานวิจัยที่ผ่านมา มีรายงานว่า การคลุมไรโซเบียมให้กับถั่วเขียวสามารถเพิ่มผลผลิต จำนวนปม น้ำหนักแห้งปม และอัตราการตรึงไนโตรเจนสูงกว่าการไม่คลุมเชื้อ (ประพฤติ และศิริวรรณ, 2540; Hossain *et al.*, 2014) และจะทำให้ประหยัดการซื้อปุ๋ยไนโตรเจนได้ถึง 235-300 บาทต่อไร่ (เศรษฐา และคณะ, 2533) แต่ก็มีบางงานวิจัยที่รายงานว่า พืชตระกูลถั่วไม่ตอบสนองต่อการคลุมไรโซเบียม (บรรยง และคณะ, 2533) ดังนั้น การประเมินคุณค่าไรโซเบียม แล้วคัดเลือกสายพันธุ์ไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนสูงกับถั่วเขียวพันธุ์ต่างๆ เพื่อเพิ่มผลผลิตถั่วเขียว ลดการใช้ปุ๋ยเคมีซึ่งมีราคาแพง และรักษาความอุดมสมบูรณ์ของดินอย่างยั่งยืนตลอดไป วัตถุประสงค์ของการทดลองนี้ เพื่อตรวจสอบสายพันธุ์ไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนสูงกับถั่วเขียวผิวมันสายพันธุ์ดีเด่น CNMB-06-02-20-5 และ CNMB-06-03-60-7 ร่วมกับการจัดการใช้ไรโซเบียมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของไรโซเบียมในสภาพแปลงทดลอง

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันพันธุ์ดีเด่น CNMB-06-02-20-5 และ CNMB-06-03-60-7
2. ปุ๋ยสูตร 0-0-60
3. ปุ๋ยสูตร 0-46-0

4. ปุ๋ยสูตร 21-0-0
5. สายพันธุ์ไรโซเปียมที่มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนสูง
6. อุปกรณ์การวัดประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนแบบ Acetylene Reduction Assay ได้แก่ acetylene gas, เข็มและหลอดฉีดยา (syringe) ขนาด 10 มิลลิลิตร, test tube สำหรับที่เก็บแก๊ส (หลอดเก็บเลือด) และขวดฝาปิดสำหรับบ่ม (incubate), ลูกบอลบรรจุแก๊สอะเซทิลีน, กรรไกรตัดแต่งกิ่งไม้
7. เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (Gas chromatography: GC)
8. ตู้อบ
9. สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช

## วิธีการ

ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ซึ่งแต่ละขั้นตอน วางแผนการทดลอง ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาสมบัติจำเพาะในห้องปฏิบัติการ วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ กรรมวิธี

ประกอบด้วยเชื้อไรโซเปียม จำนวน 32 สายพันธุ์

ขั้นตอนที่ 2 วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ

ขั้นตอนที่ 3 วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ

การปลูกทดสอบในกระถาง มีค่าวิเคราะห์ดิน ดังนี้ ค่า pH 6.60 ปริมาณอินทรีย์วัตถุ 0.26 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน 0.013 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 14 มิลลิกรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม โพแทสเซียมที่สกัดได้ 21 มิลลิกรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม ในสภาพแปลงทดลอง ขนาดแปลงย่อย 3x5 เมตร พื้นที่เก็บเกี่ยว 2x4 เมตร ปี 2557 ฤดูแล้ง ดำเนินการทดลองบนดินร่วนเหนียวชุดราชบุรี มีค่าการวิเคราะห์ดิน ดังนี้ ค่า pH 6.26 ปริมาณอินทรีย์วัตถุ 1.4 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน 0.069 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 53.4 มิลลิกรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม โพแทสเซียมที่สกัดได้ 48.1 มิลลิกรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม ฤดูฝน ปี 2557 ดำเนินการทดลองบนดินร่วน ชุดเดิมบาง มีค่าการวิเคราะห์ดิน ดังนี้ ค่า pH 7.24 ปริมาณอินทรีย์วัตถุ 1.32 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน 0.066 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 26.5 มิลลิกรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม โพแทสเซียมที่สกัดได้ 54.9 มิลลิกรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม นำไรโซเปียมที่ได้จากการทดสอบในห้องปฏิบัติการ ที่มีประสิทธิภาพสูงสำหรับแต่ละพันธุ์ มาผสมรวมกัน (mixed strains) จำนวน 2 สายพันธุ์/พันธุ์ ถั่วเขียว

### ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาสมบัติจำเพาะไรโซเปียม ในห้องปฏิบัติการ

นำไรโซเปียมสายพันธุ์ต่างๆ ที่แยกบริสุทธิ์ได้จากแหล่งรวบรวมและรักษาเชื้อไรโซเปียมของกลุ่มวิจัย จุลินทรีย์ดิน สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร และเชื้อไรโซเปียมบริสุทธิ์สายพันธุ์ในธรรมชาติที่แยกได้จากดิน มาทดสอบและคัดเลือกสายพันธุ์ไรโซเปียมที่มีประสิทธิภาพในการเข้าแข่งขันและมีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนสูงกับถั่วเขียวผิวมันพันธุ์ดีเด่น พันธุ์ CNMB-06-02-20-5 และ CNMB-06-03-60-7 โดยวิธี Leonard's jar วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 32 กรรมวิธี 3 ซ้ำ กรรมวิธีประกอบด้วย เชื้อไรโซเปียมเปรียบเทียบกับการไม่ใส่เชื้อไรโซเปียม

## ขั้นตอนที่ 2 ทดสอบประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของเชื้อไรโซเบียมในกระถางปลูก

นำไรโซเบียมที่คัดเลือกได้ในขั้นตอนที่ 1 มาทดสอบการเข้าสร้างปม การตรึงไนโตรเจน และการให้ผลผลิตในสภาพกระถางปลูก วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ ประกอบด้วย 5 กรรมวิธี ได้แก่ 1) ไม่ใส่เชื้อไรโซเบียม ไม่ใส่ปุ๋ยเคมี (control) 3) ใส่เฉพาะปุ๋ยเคมีอัตรา 0-9-6 กิโลกรัมของ  $N-P_2O_5-K_2O$  ต่อไร่ 2) ใส่เฉพาะปุ๋ยเคมีอัตรา 3-9-6 กิโลกรัมของ  $N-P_2O_5-K_2O$  ต่อไร่ 4) ใส่เชื้อไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพสูง  $10^7$  เซลล์/มล.+ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-9-6 กิโลกรัมของ  $N-P_2O_5-K_2O$  ต่อไร่ 4) ใส่เชื้อไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพสูง  $10^8$  เซลล์/มล.+ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-9-6 กิโลกรัมของ  $N-P_2O_5-K_2O$  ต่อไร่ และ 5) ใส่เชื้อไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพสูง  $10^9$  เซลล์/มล.+ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-9-6 กิโลกรัมของ  $N-P_2O_5-K_2O$  ต่อไร่ โดยการปลูกถั่วเขียวและใช้เชื้อไรโซเบียมตามกรรมวิธีที่กำหนด ในกระถาง จำนวน 4 ต้น/กระถาง เมื่อถั่วเขียวอายุ 30 วัน หรือระยะออกดอก สุ่มเก็บตัวอย่างเพื่อวัดประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน และตรวจนับการติดปมของแต่ละสายพันธุ์ไรโซเบียม

## ขั้นตอนที่ 3 ทดสอบประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของเชื้อไรโซเบียมในสภาพแปลง

การวางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ ประกอบด้วย 1) ไม่ใช้เชื้อไรโซเบียม ไม่ใส่ปุ๋ย (control) 2) ไม่ใช้เชื้อไรโซเบียมแต่รองพื้นด้วยปุ๋ยเคมีอัตรา 3-9-6 กิโลกรัมต่อไร่ ของ  $N-P_2O_5-K_2O$  ตามลำดับ 3) ใช้เชื้อไรโซเบียมที่วัสดุรองรับไม่ผ่านกรรมวิธีนึ่งฆ่าเชื้อเจือปน+รองพื้นด้วยปุ๋ยเคมีอัตรา 0-9-6 กิโลกรัมต่อไร่ ของ  $N-P_2O_5-K_2O$  ตามลำดับ 4) ใช้เชื้อไรโซเบียมโดยวัสดุรองรับฆ่าเชื้อเจือปน 5) ใช้เชื้อไรโซเบียมโดยวัสดุรองรับไม่ผ่านกรรมวิธีนึ่งฆ่าเชื้อปน และ 6) ใช้เชื้อไรโซเบียมที่วัสดุรองรับผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อเจือปน+ ปุ๋ยเคมีอัตรา 0-9-6 ของ  $N-P_2O_5-K_2O$  กิโลกรัมต่อไร่ ปี 2557 ทำการปรับกรรมวิธีเพื่อศึกษาการตอบสนองของถั่วเขียวต่อการใส่ไรโซเบียมและระยะเวลาอัตราการใช้ปุ๋ยเคมีเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ไรโซเบียมในการเพิ่มผลผลิตถั่วเขียว โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ ประกอบด้วย 1) Control 2) ปุ๋ยเคมี อัตรา 0-9-6 ใส่ครั้งเดียวพร้อมปลูก 3) ปุ๋ยเคมี อัตรา 3-9-6  $N-P_2O_5-K_2O$  กิโลกรัมต่อไร่ ใส่ครั้งเดียวพร้อมปลูก 4) ปุ๋ยไรโซเบียมวัสดุรองรับไม่ผ่านกรรมวิธีฆ่าเชื้อ + ปุ๋ย อัตรา 0-9-6  $N-P_2O_5-K_2O$  กิโลกรัมต่อไร่ พร้อมปลูก 5) ปุ๋ยไรโซเบียมวัสดุรองรับผ่านกรรมวิธีฆ่าเชื้อ + ปุ๋ย อัตรา 0-9-6  $N-P_2O_5-K_2O$  กิโลกรัมต่อไร่ พร้อมปลูก 6) ปุ๋ยไรโซเบียมวัสดุรองรับผ่านกรรมวิธีฆ่าเชื้อ + ปุ๋ย อัตรา 0-3-3  $N-P_2O_5-K_2O$  กิโลกรัมต่อไร่ พร้อมปลูก และปุ๋ยอัตรา 0-6-3  $N-P_2O_5-K_2O$  กิโลกรัมต่อไร่ เมื่อถั่วเขียวอายุ 20 วัน 7) ปุ๋ยไรโซเบียมวัสดุรองรับไม่ผ่านกรรมวิธีฆ่าเชื้อ + ปุ๋ยอัตรา 0-3-3  $N-P_2O_5-K_2O$  กิโลกรัมต่อไร่ พร้อมปลูก + ปุ๋ยอัตรา 1.5-6-3  $N-P_2O_5-K_2O$  กิโลกรัมต่อไร่ เมื่อถั่วเขียวอายุ 25 วัน 8) ปุ๋ยไรโซเบียมวัสดุรองรับผ่านกรรมวิธีฆ่าเชื้อ + ปุ๋ยอัตรา 0-3-3  $N-P_2O_5-K_2O$  กิโลกรัมต่อไร่ พร้อมปลูก + ปุ๋ย อัตรา 1.5-6-3  $N-P_2O_5-K_2O$  กิโลกรัมต่อไร่ เมื่อถั่วเขียวอายุ 25 วัน ก่อนปลูกถั่วเขียวคลุกเมล็ดด้วยเชื้อไรโซเบียมตามกรรมวิธีที่กำหนด ปลูกถั่วเขียวโดยใช้ระยะปลูก 50x20 เซนติเมตร หลังถั่วเขียวงอก ถอนแยกให้เหลือ 2 ต้นต่อหลุม เมื่อต้นถั่วเขียวมีอายุ 30 วัน หรือที่ระยะออกดอก ทำการสุ่มต้นถั่วเขียว 5 หลุม โดยตัดส่วนต้นไปหาน้ำหนักแห้ง ส่วนรากนำไปวัดหาประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนโดยวิธี (Acetylene Reduction Assay (ARA) และวิเคราะห์แก๊ส โดยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟ ใช้ flame ionize detection ชนิด Column บรรจุด้วย porapak) หลังจากทำ ARA แล้ว นำส่วนรากไปนับจำนวนปม หรือน้ำหนักแห้งปม พันสารเคมีป้องกันโรคและแมลงศัตรูพืชตามความจำเป็น

## ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินการทดลอง

ระยะเวลา : ตุลาคม 2555- กันยายน 2557

สถานที่ดำเนินการทดลอง : ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยจุลินทรีย์ดิน สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร และศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**ขั้นตอนที่ 1** ทดสอบประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนของไรโซเบียม 23 สายพันธุ์ร่วมกับถั่วเขียวผิวมัน พันธุ์ CNMB-06-02-20-5 และ CNMB-06-03-60-7 ทำการคัดเลือกไรโซเบียมได้ 2 สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนสูงสุด โดยถั่วเขียวสายพันธุ์ CNMB-06-02-20-5 ใช้ไรโซเบียม DASA02001 และ DASA020193 (Table 1) สายพันธุ์ CNMB-06-03-60-7 ใช้ไรโซเบียม DASA02001 และ DASA02006 (Table 2)

**ขั้นตอนที่ 2** การปลูกทดสอบสายพันธุ์ไรโซเบียมที่ได้ทั้ง 2 สายพันธุ์กับถั่วเขียวผิวมันถั่วเขียวสายพันธุ์ CNMB06-02-20-5 และสายพันธุ์ CNMB06-03-60-7 ในสภาพกระถางปลูก ฤดูแล้ง ปี 2556 พบว่า การตรึงไนโตรเจนของถั่วเขียวสายพันธุ์ CNMB06-02-20-5 ที่ระยะออกดอก 50 เปอร์เซ็นต์ การใช้ปุ๋ย อัตรา 0-9-6 และ 3-9-6 ให้น้ำหนักแห้งต้นสูงกว่าการไม่ใช้ไรโซเบียมและไม่ใส่ปุ๋ย (control) แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการใช้เชื้อไรโซเบียม ปริมาณ  $10^8$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรร่วมกับปุ๋ยอัตรา 0-9-6 และปริมาณ  $10^9$  เซลล์ต่อมิลลิลิตรร่วมกับการใส่ปุ๋ย อัตรา 0-9-6 ขณะที่การใช้ไรโซเบียมในปริมาณ  $10^7$ ,  $10^8$  และ  $10^9$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร มีจำนวนปมมากกว่าการใส่เฉพาะปุ๋ย และ control สำหรับการตรึงไนโตรเจน พบว่า ทุกกรรมวิธีมีค่าการตรึงไนโตรเจนไม่แตกต่างกันทางสถิติ (Table 3) ด้านผลผลิต พบว่า การใช้เชื้อไรโซเบียมปริมาณ  $10^8$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร มีจำนวนเมล็ดต่อฝักมากกว่าการใช้เชื้อไรโซเบียมปริมาณ  $10^9$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับการใช้เชื้อไรโซเบียม  $10^7$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร การใส่ปุ๋ย และ control อย่างไรก็ตาม ทุกกรรมวิธี ให้น้ำหนักเมล็ดต่อต้น จำนวนฝักต่อต้น และ ความสูงต้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ (Table 4) สำหรับการทดสอบการใช้เชื้อไรโซเบียมกับถั่วเขียวสายพันธุ์ CNMB06-03-60-7 ที่ระยะออกดอก 50 เปอร์เซ็นต์ พบว่า การให้ค่าการตรึงไนโตรเจน จำนวนปมต่อต้น และ น้ำหนักแห้งต้นมีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยการใช้เชื้อไรโซเบียมปริมาณ  $10^7$ ,  $10^8$ ,  $10^9$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร และการใส่ปุ๋ยอัตรา 3-9-6 กิโลกรัมต่อไร่ ให้น้ำหนักแห้งต้นสูงกว่า control แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับการใส่ปุ๋ย อัตรา 0-9-6 กิโลกรัมต่อไร่ ขณะที่การใช้ไรโซเบียมในปริมาณ  $10^7$ ,  $10^8$  และ  $10^9$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร มีจำนวนปมมากกว่า การใส่เฉพาะปุ๋ย และ control แต่การใช้เชื้อไรโซเบียมปริมาณ  $10^8$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร ให้ค่าการตรึงไนโตรเจนสูงที่สุดซึ่งไม่แตกต่างกับการใช้เชื้อไรโซเบียมปริมาณ  $10^7$  และ  $10^9$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร แต่สูงกว่าการใส่ปุ๋ยและ control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 5) ด้านผลผลิต พบว่า การใช้เชื้อไรโซเบียมปริมาณ  $10^8$ ,  $10^9$  เซลล์ต่อมิลลิลิตร และการใส่ปุ๋ย อัตรา 3-9-6 กิโลกรัมต่อไร่ ให้ความสูงต้นสูงกว่า control แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับการใช้เชื้อไรโซเบียมปริมาณ  $10^7$  และการใส่ปุ๋ย อัตรา 0-9-6 กิโลกรัมต่อไร่ ด้านน้ำหนักเมล็ดต่อต้น และจำนวนเมล็ดต่อฝัก พบว่า ทุกกรรมวิธีให้ค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ (Table 6)

**ขั้นตอนที่ 3** ทำการปลูกทดสอบปลูกทดสอบสายพันธุ์ไรโซเบียมที่ได้ทั้ง 2 สายพันธุ์กับถั่วเขียวทั้ง 2 พันธุ์ ในสภาพแปลงทดลอง ฤดูฝน ปี 2556 พบว่า การตรึงไนโตรเจนของถั่วเขียวผิวมันสายพันธุ์ CNMB06-02-20-5 ที่ระยะออกดอก 50 เปอร์เซ็นต์ การใช้ไรโซเบียมที่วัสดุรองรับผ่านกรรมวิธีฆ่าเชื้อเจือปน ให้น้ำหนักแห้งต้นสูงกว่า



อายุ 25 วัน ให้จำนวนปม และค่าการตรึงไนโตรเจนสูงกว่า control (Table 11) ทุกกรรมวิธีให้ผลผลิตเมล็ด น้ำหนัก 1,000 เมล็ด จำนวนเมล็ดต่อฝัก และความสูงต้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่การใส่ปุ๋ย อัตรา 3-9-6 กิโลกรัม ต่อไร่ ให้จำนวนฝักต่อต้นสูงกว่าการใช้โรโซเปียมที่วัสดุรองรับผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อร่วมกับการใส่ปุ๋ย อัตรา 0-3-3 กิโลกรัมต่อไร่ รองพื้นก่อนปลูก และอัตรา 0-6-3 กิโลกรัมต่อไร่ ที่อายุ 20 วัน แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการใช้โรโซเปียมทุกกรรมวิธี การใส่เฉพาะปุ๋ย อัตรา 0-9-6 กิโลกรัมต่อไร่ และ control (Table 12) สำหรับการตรึงไนโตรเจนที่ระยะออกดอก 50 เปอร์เซ็นต์ของถั่วเขียวสายพันธุ์ CNMB06-03-60-7 พบว่า การใช้โรโซเปียมที่วัสดุรองรับไม่ผ่านกรรมวิธีฆ่าเชื้อ ให้จำนวนปมสูงกว่า control อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่แตกต่างกับการใช้โรโซเปียมที่วัสดุรองรับไม่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อร่วมกับการใส่ปุ๋ย อัตรา 0-3-3 กิโลกรัมต่อไร่ รองพื้นก่อนปลูก และอัตรา 1.5-6-3 กิโลกรัมต่อไร่ ที่อายุ 25 วัน และการใส่เฉพาะปุ๋ย อัตรา 0-9-6 กิโลกรัมต่อไร่รองพื้นก่อนปลูก ขณะที่การใช้โรโซเปียมที่วัสดุรองรับไม่ผ่านกรรมวิธีฆ่าเชื้อร่วมกับการใส่ปุ๋ย อัตรา 0-3-3 กิโลกรัมต่อไร่ รองพื้นก่อนปลูก และอัตรา 1.5-6-3 กิโลกรัมต่อไร่ ที่อายุ 25 วัน และการใช้โรโซเปียมที่วัสดุรองรับไม่ผ่านกรรมวิธีฆ่าเชื้อร่วมกับการใส่ปุ๋ย อัตรา 0-9-6 กิโลกรัมต่อไร่ รองพื้นก่อนปลูก ให้ค่าการตรึงไนโตรเจนสูงที่สุด ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการใช้โรโซเปียมที่วัสดุรองรับผ่านกรรมวิธีฆ่าเชื้อร่วมกับการใส่ปุ๋ย อัตรา 0-9-6 กิโลกรัมต่อไร่ รองพื้นก่อนปลูก และการใช้โรโซเปียมที่วัสดุรองรับผ่านกรรมวิธีฆ่าเชื้อร่วมกับการใส่ปุ๋ย อัตรา 0-3-3 กิโลกรัมต่อไร่ รองพื้นก่อนปลูก และอัตรา 1.5-6-3 กิโลกรัมต่อไร่ ที่อายุ 25 วัน (Table 13) ด้านผลผลิต พบว่า ทุกกรรมวิธีให้ผลผลิตเมล็ด น้ำหนัก 1,000 เมล็ด จำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก และความสูงต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (Table 14) จะเห็นได้ว่า การใช้เชื้อโรโซเปียมที่มีประสิทธิภาพสูงให้ห้องปฏิบัติการ เมื่อนำมาทดสอบการใช้ประโยชน์ในสภาพกระถางปลูก และสภาพแปลงทดลอง พบว่า ค่าการตรึงไนโตรเจนมีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่เมื่อพิจารณาผลผลิต กลับให้ค่าทั้งแตกต่าง และไม่แตกต่างกันทางสถิติ Nutman (1981) และ Graham (1982) อ้างโดย เศรษฐา และคณะ (2533) รายงานว่า ถั่วบางพันธุ์สามารถให้เชื้อโรโซเปียมเข้าสู่รากปมได้เป็นจำนวนมาก แต่ปมเหล่านั้นไม่มีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนเท่าใดนัก เนื่องจากอาจมีอินของพืชควบคุมพฤติกรรมในการตรึงไนโตรเจนของโรโซเปียม ทำให้โรโซเปียมบางสายพันธุ์มีพฤติกรรมเปลี่ยนแปลงไปทำนองไม่ดี เช่น จากเดิมมีประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจนสูง แต่เมื่อเข้าไปอยู่ในปมรากของถั่วบางสายพันธุ์ จะทำให้การตรึงไนโตรเจนไม่ดีหรือค่อนข้างต่ำ ดังนั้น การคัดเลือกให้ได้โรโซเปียมที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนที่จำเพาะเจาะจงกับถั่วเขียว จึงมีความจำเป็น โดยเฉพาะถั่วเขียวที่ปลูกในสภาพไร่ นา ซึ่งมีความหลากหลายของโรโซเปียมสายพันธุ์พื้นเมืองในสภาพธรรมชาติอยู่แล้ว และโรโซเปียมในสภาพธรรมชาติเหล่านี้ อาจมีความสามารถแข่งขันเข้าสู่รากปมได้ แต่ปมนั้นมีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนน้อยบ้าง มากบ้าง แตกต่างกันไป ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของถั่วเขียวเมื่อปลูกเป็นการค้า ประพฤติ และศิริวรรณ (2540) รายงานว่า การคลุกโรโซเปียมกับถั่วเขียว ทำให้จำนวนฝักต่อต้น และผลผลิตสูงกว่าการไม่คลุกเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการคลุกโรโซเปียมให้ผลผลิต 216 กิโลกรัมต่อไร่ ขณะที่การไม่คลุกโรโซเปียม ให้ผลผลิตเพียง 172 กิโลกรัมต่อไร่ Hossain *et al.* (2014) รายงานว่า การคลุกโรโซเปียมให้กับถั่วเขียว ทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นเป็น 876 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ เปรียบเทียบกับการไม่คลุกโรโซเปียม ถั่วเขียวให้ผลผลิตเพียง 716 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ Sharman and Khurana (1997) รายงานว่า การใช้เชื้อโรโซเปียมทั้งการใช้เพียงสายพันธุ์เดียว และแบบผสมหลายสายพันธุ์ให้กับถั่วเขียว ทำให้ผล



ผลิตเมล็ดเพิ่มสูงกว่าการไม่ใช้โรโซเปียม เท่ากับ 10.4 และ 19.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ขณะที่ Bhuiyan *et al.* (2008) รายงานว่า ถั่วเขียวมีการตอบสนองต่อการใช้โรโซเปียมแตกต่างกันขึ้นอยู่กับพันธุ์ถั่วเขียว

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

คัดเลือกโรโซเปียมที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนสูงสุด ได้ 2 สายพันธุ์/สายพันธุ์ถั่วเขียว โดยถั่วเขียวสายพันธุ์ CNMB-06-02-20-5 คัดเลือกโรโซเปียม DASA02001 และ DASA020193 สายพันธุ์ CNMB-06-03-60-7 คัดเลือกโรโซเปียม DASA02001 และ DASA02006

ถั่วเขียวผิวมันสายพันธุ์ CNMB06-02-20-5 มีการตอบสนองต่อการใช้โรโซเปียม โดยการทดสอบในกระถาง ใช้โรโซเปียมปริมาณ  $10^8$  เซลล์ต่อมิลลิเมตรให้จำนวนเมล็ดต่อฝักมากกว่าการใช้โรโซเปียมปริมาณ  $10^9$  เซลล์ต่อมิลลิเมตร และเมื่อทดสอบในสภาพแปลงดินร่วนเหนียว ชุตราชบุรี ฤดูฝน ปี 2556 พบว่า การใช้โรโซเปียมที่วัสดุรองรับผ่านกรรมวิธีฆ่าเชื้อ ร่วมกับการใส่ปุ๋ย อัตรา 0-9-6 กิโลกรัมต่อไร่ ให้ผลผลิตเมล็ดสูงสุด ไม่แตกต่างทางสถิติกับการใช้โรโซเปียมที่วัสดุรองรับผ่านและไม่ผ่านกรรมวิธีฆ่าเชื้อเจือปน การใส่ปุ๋ย อัตรา 3-9-6 กิโลกรัมต่อไร่ และ control ขณะที่การทดลองในดินร่วน ชุตเดิมบาง ฤดูแล้ง ปี 2557 ทุกกรรมวิธีให้ผลผลิตเมล็ดน้ำหนัก 1,000 เมล็ด และความสูงต้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ถั่วเขียวสายพันธุ์ CNMB06-03-60-7 เมื่อทดสอบในสภาพกระถาง ฤดูแล้ง ปี 2556 พบว่า การใช้โรโซเปียม มีผลต่อความสูงต้น แต่ไม่มีผลทำให้น้ำหนักเมล็ดต่อต้น จำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก แตกต่างกันทางสถิติ และเมื่อทดลองในสภาพแปลง บนดินร่วนเหนียว ชุตราชบุรี ฤดูฝน ปี 2556 พบว่า ทุกกรรมวิธีมีผลต่อ น้ำหนัก 1,000 เมล็ด แต่ไม่มีผลต่อผลผลิตเมล็ด จำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก และความสูงต้น สำหรับการทดลองในสภาพแปลงดินร่วน ชุตเดิมบาง ฤดูแล้ง ปี 2557 ทุกกรรมวิธีไม่มีผลทำให้อผลผลิตเมล็ด น้ำหนัก 1,000 เมล็ด จำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก และความสูงต้น แตกต่างกันทางสถิติ

### การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

สามารถนำข้อมูลที่ได้ไปแนะนำการใช้โรโซเปียมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตถั่วเขียวผิวมันในเขตพื้นที่ดินร่วนเหนียว ชุตราชบุรี และดินร่วน ชุตเดิมบาง

### เอกสารอ้างอิง

บรรยง ทูมแสน ปรีชา วดีศิริศักดิ์ และนันทกร บุญเกิด. 2533. งานวิจัยด้านโรโซเปียมในประเทศไทยถึง ปี 2532. หน้า 245-257. ใน รายงานการสัมมนาถั่วลิสงแห่งชาติ ครั้งที่ 9 ระหว่างวันที่ 7-11 พฤษภาคม 2533. ณ โครงการชลประทานลำพระเพลิง จ.นครราชสีมา.

ประพศติ พรหมสมบูรณ์ และศิริวรรณ คิดประเสริฐ. 2540. อิทธิพลของเชื้อโรโซเปียมและอัตราปุ๋ยไนโตรเจนต่อการเจริญเติบโตและการตรึงไนโตรเจนของถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 1. หน้า 163-167. ใน รายงานการประชุมทางวิชาการถั่วเขียวแห่งชาติ ครั้งที่ 7. ระหว่างวันที่ 2-4 ธันวาคม 2540. ณ โรงแรมโกลเด้นแกรนด์ จ.พิษณุโลก.

สถาบันวิจัยพืชไร่. 2539. ถั่วเขียว. หน้า 135-148. ใน เอกสารการปลูกพืชไร่. สถาบันวิจัยพืชไร่. กรมวิชาการ  
เกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

เศรษฐา ศิริพินท์ พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์ นันทกร บุญเกิด สมศักดิ์ วังใน โตชิฟูมิ มูรากามิ และ  
ปรีชา วดีศิริศักดิ์. 2533. การคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเขียวที่มีศักยภาพในการตรึงไนโตรเจนสูง. หน้า 279-  
288. ใน รายงานผลการวิจัยสาขาพืช การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.  
อภิพรธ พุกภักดี. 2538. พื้นฐานทางสรีระเพื่อการปรับปรุงผลผลิต และบทบาทของถั่วเขียวในระบบการปลูก  
พืช. หน้า 208-226. ใน รายงานการสัมมนาเชิงปฏิบัติการงานวิจัยถั่วเขียว ครั้งที่ 6. วันที่ 14-16  
มิถุนายน 2538. ณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา.

Dadarwal, K.R., S. Prabha, P. Tauro and N.S.S Rao. 1977. Serology and host range infective of  
'cowpea group' rhizobia. Indian. J. Exp. Biol. 15: 462-465.

Hossain, M. E., I. F. Chowdhury, M. Hassnuzzaman, S. Mazumder, M. A. Matin, and R. Jerin.  
2014. Effect of nitrogen and Bradyrhizobium on growth and yield of mungbean. J. Biosci.  
Agric. Res. 01(02): 79-83.

Sharma, P., and A.S. Khurana. 1997. Effect of single and multistrain Rhizobium inoculants  
on biological nitrogen fixation in summer mungbean, *Vigna radiata* (L.) Wilczek.  
Res. Dev. Reporter. 14(1-2): 8-11.

Bhuiyan, M. A. H., M. H. Maian and M. S. Islam. 2008. Studies on the effects of *Bradyrhizobium*  
inoculation on yield and yield attributes of mungbean. Bangladesh J.Agril.Res. 33(3): 449-  
457.

**Table 1** Effect of rhizobium strains on mungbean line: CNMB06-02-20-5 In 2013.

Rhizobium Strains	No. of nodules/2 plant	Nitrogen Fixed $\mu\text{moleC}_2\text{H}_4/2$ plants/hr
Control (ไม่ใส่เชื้อ)	0g	0.009j
DASA02001	142def	20.337b
DASA02002	182a-e	10.274d-i
DASA02003	130def	15.678bcd
DASA02004	126def	12.466c-h
DASA02006	155c-f	13.902b-f
DASA02008	128def	12.555c-h
DASA02009	143def	5.975hij
DASA02019	106f	6.169hij
DASA02020	158b-f	10.432d-i
DASA02028	106f	4.842ij
DASA02030	165a-f	17.800bc
DASA02031	131def	12.834c-g
DASA02042	120ef	9.757d-i
DASA02068	216ab	7.842f-i
DASA02070	104f	9.924d-i
DASA02074	142def	18.399bc
DASA02077	218a	17.636bc
DASA02082	184a-d	10.207d-i
DASA02084	143def	7.128ghi
DASA02091	121ef	7.589f-i
DASA02095	134def	8.123e-i
DASA02097	116f	9.771d-i
DASA02100	166a-f	15.483bcd
DASA02104	157b-f	15.227bcd
DASA02166	155b-f	17.330 bc
DASA02188	29g	7.315f-i
DASA02193	145def	26.303a
DASA02194	159b-f	12.870c-g
DASA02196	211abc	14.523b-e
DASA02197	157b-f	15.199bcd
DASA02198	129def	10.156d-i
cv	22.4	27.8

In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

**Table 2** Effect of rhizobium strains on mungbean line CNMB06-03-60-7 In 2013.

Rhizobium Strains	No. of nodules/2 plant	Nitrogen Fixed $\mu\text{moleC}_2\text{H}_4/2$ plants/hr
Control (ไม่ใส่เชื้อ)	0m	0.051l
DASA02001	154c-i	8.019a
DASA02002	93ijk	7.516ab
DASA02003	150c-i	7.018ab
DASA02004	166c-h	2.759f-l
DASA02006	163c-h	7.192ab
DASA02008	136e-i	2.056g-l
DASA02009	185a-f	5.487b-e
DASA02019	142d-i	1.235i-l
DASA02020	148c-i	3.926d-h
DASA02028	101h-k	3.891d-h
DASA02030	160c-h	2.238g-l
DASA02031	146d-i	3.012f-k
DASA02042	182a-f	6.430abc
DASA02068	164c-h	0.883kl
DASA02070	58klm	1.372i-l
DASA02074	131e-i	4.811c-f
DASA02077	194a-e	4.283c-g
DASA02082	206a-d	6.030a-d
DASA02084	235a	3.345e-j
DASA02091	143d-i	3.299e-j
DASA02095	232ab	1.453i-l
DASA02097	184a-f	0.610l
DASA02100	214abc	2.287g-l
DASA02104	113g-k	1.608h-l
DASA02166	206a-d	1.463i-l
DASA02188	33lm	0.708kl
DASA02193	170b-g	1.861h-l
DASA02194	67jkl	3.500e-i
DASA02196	127f-j	2.234g-l
DASA02197	149c-i	0.643kl
DASA02198	102h-k	1.086jkl
cv	23.1	37.3

In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

**Table 3** Stem dry weight, number of nodules per plant and nitrogen fixation for mungbean line CNMB06-02-20-5 in a pot experiment of 2013.

Treatment	Stem dry weight (g/plant )	No. of nodules/plant	N fixed ( $\mu\text{mol}/\text{C}_2\text{H}_4/\text{plant}/\text{hr.}$ )
T1 Control	1.00 b	7.8 b	1.61 a
T2 0-9-6	2.07 a	19.3 b	2.68 a
T3 3-9-6	1.64 a	34.3 b	2.21 a
T4 Rhizobium $10^7$ cells/ml + 0-9-6	1.48 ab	102.8 a	3.78 a
T5 Rhizobium $10^8$ cells/ml + 0-9-6	1.59 a	122.3 a	3.57 a
T6 Rhizobium $10^9$ cells/ml + 0-9-6	1.88 a	104.5 a	2.91 a
CV (%)	23.5	28.0	46.5

In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

**Remark:** T1 There is no fertilizer and no rhizobia.

T2 Fertilizer applied at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T3 fertilizer applied at the rate of 3-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T4 Rhizobium prepared with  $10^7$  cells/ml plus fertilizer at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T5 Rhizobium prepared with  $10^8$  cells/ml plus fertilizer at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T6 Rhizobium prepared with  $10^9$  cells/ml plus fertilizer at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

**Table 4** Seed weight, number of pods per plant, number of seeds per pod and plant height for CNMB06-02-20-5 in a pot experiment of 2013.

Treatment	Seed weight (g/plant)	No. of pod/plant	No. of seed/pod	Plant height (cm)
T1 Control	0.70 a	3.4 a	6.0 ab	29.2 a
T2 0-9-6	1.50 a	4.5 a	5.8 ab	34.4 a
T3 3-9-6	0.74 a	2.9 a	6.3 ab	28.2 a
T4 Rhizobium $10^7$ cells/ml + 0-9-6	0.93 a	3.6 a	5.9 ab	28.7 a
T5 Rhizobium $10^8$ cells/ml + 0-9-6	1.58 a	4.4 a	7.1 a	35.6 a
T6 Rhizobium $10^9$ cells/ml + 0-9-6	0.51 a	1.9 a	3.0 b	29.2 a
CV (%)	67.8	54.3	41.4	14.8

In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

**Remark:** T1 There is no fertilizer and no rhizobia.

T2 Fertilizer applied at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T3 fertilizer applied at the rate of 3-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T4 Rhizobium prepared with  $10^7$  cells/ml plus fertilizer at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T5 Rhizobium prepared with  $10^8$  cells/ml plus fertilizer at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T6 Rhizobium prepared with  $10^9$  cells/ml plus fertilizer at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

**Table 5** Stem dry weight, number of nodules per plant and nitrogen fixation for mungbean line CNMB06-03-60-7 in a pot experiment of 2013.

	Stem dry weight (g/plant )	No. of nodules/plant	N fixed ( $\mu\text{mol}/\text{C}_2\text{H}_4/\text{plant}/\text{hr.}$ )
T1 Control	1.14 b	4.5 b	2.35 b
T2 0-9-6	1.92 ab	4.7 b	3.49 b
T3 3-9-6	2.63 a	6.5 b	2.5 b
T4 Rhizobium $10^7$ cells/ml + 0-9-6	2.54 a	17.6 a	6.92 ab
T5 Rhizobium $10^8$ cells/ml + 0-9-6	2.31 a	26 a	8.9 a
T5 Rhizobium $10^9$ cells/ml + 0-9-6	2.41 a	24.6 a	6.57 ab
CV (%)	24.6	47.9	54.8

In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

**Remark:** T1 There is no fertilizer and no rhizobia.

T2 Fertilizer applied at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T3 fertilizer applied at the rate of 3-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T4 Rhizobium prepared with  $10^7$  cells/ml plus fertilizer at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T5 Rhizobium prepared with  $10^8$  cells/ml plus fertilizer at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T6 Rhizobium prepared with  $10^9$  cells/ml plus fertilizer at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

**Table 6** Seed weight, number of pods per plant, number of seeds per pod and plant height for mungbean line CNMB06-03-60-7 in a pot experiment of 2013.

Treatment	Seed weight (g/plant)	No. of pod/plant	No. of seed/pod	Plant height (cm)
T1 Control	1.26 a	5.0 a	4.4 a	19.65 b
T2 0-9-6	1.91 a	7.3 a	6.5 a	24.38 ab
T3 3-9-6	1.95 a	7.0 a	5.5 a	30.38 a
T4 Rhizobium $10^7$ cells/ml + 0-9-6	1.41 a	6.3 a	5.4 a	25.93 ab
T5 Rhizobium $10^8$ cells/ml + 0-9-6	1.70 a	5.6 a	5.3 a	27.98 a
T6 Rhizobium $10^9$ cells/ml + 0-9-6	2.55 a	8.4 a	4.8 a	28.63 a
CV (%)	60.5	54.1	26.9	15.6

In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

**Remark:** T1 There is no fertilizer and no rhizobia.

T2 Fertilizer applied at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T3 fertilizer applied at the rate of 3-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T4 Rhizobium prepared with  $10^7$  cells/ml plus fertilizer at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T5 Rhizobium prepared with  $10^8$  cells/ml plus fertilizer at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T6 Rhizobium prepared with  $10^9$  cells/ml plus fertilizer at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.



**Table 7** Stem dry weight, number of nodules per plant and nitrogen fixation of mungbean line CNMB06-02-20-5 in the rainy season of 2013.

Treatment	Stem dry weight (g/plant )	No. of nodules/plant	N fixed ( $\mu\text{mol}/\text{C}_2\text{H}_4/\text{plant}/\text{hr.}$ )
T1 Control	3.2 c	34 ab	13.1 b
T2 3-9-6 N-P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> -K <sub>2</sub> O	4.9 ab	34 ab	16.9 ab
T3 R with non-sterile + 0-9-6	3.4 bc	30 ab	13.3 b
T4 R with sterile	5.4 a	29 b	12.5 b
T5 R with non-sterile	3.8 abc	47 a	16.0 ab
T6 R with sterile +0-9-6	4.1 abc	46 ab	22.5 a
CV (%)	23.8	28.8	30.2

In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

**Remark:** T1 There is no rhizobium, no fertilizer.

T2 Fertilizer applied at the rate of of 3-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T3 Rhizobium prepared with non-sterile carrier plus fertilizer at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T4 Rhizobium prepared with sterile carrier

T5 Rhizobium prepared with non-sterile

T6 Rhizobium prepared with sterile carrier plus fertilizer at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

**Table 8** Seed yield, 1,000 seed weight, number of pods per plant, number of seeds per pod and plant height of CNMB06-02-20-5 in the rainy season of 2013.

Treatment	Seed yield (kg/rai)	1,000-seed weight (g)	No. pods/plant	No. seed/pod	Plant height(cm )
T1 Control	345 ab	70.13 a	13.4 a	11.0 ab	68.9 a
T2 3-9-6 N-P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> -K <sub>2</sub> O	315 ab	70.38 a	13.7 a	11.2 a	68.8 a
T3 R with non-sterile + 0-9-6	277 b	70.25 a	13.8 a	10.2 b	66.5 a
T4 R with sterile	335 ab	70.00 a	13.7 a	10.9 ab	69.0 a
T5 R with non-sterile	341 ab	70.50 a	14.7 a	11.2 a	68.4 a
T6 R with sterile +0-9-6	381 a	70.50 a	14.7 a	10.6 ab	65.7 a
CV (%)	15.1	1.9	13.2	5.0	6.5

In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

**Remark:** T1 There is no rhizobium, no fertilizer.

T2 Fertilizer applied at the rate of 3-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T3 Rhizobium prepared with non-sterile carrier plus fertilizer at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T4 Rhizobium prepared with sterile carrier

T5 Rhizobium prepared with non-sterile

T6 Rhizobium prepared with sterile carrier plus fertilizer at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

**Table 9** Stem dry weight, number of nodules per plant and nitrogen fixation of mungbean line CNMB06-03-60-7 in the rainy season of 2013.

Treatment	Stem dry weight (g/plant)	No. of nodules/plant	N fixed ( $\mu\text{mol}/\text{C}_2\text{H}_4/\text{plant}/\text{hr.}$ )
T1 Control	3.6 ab	26 b	10.1 a
T2 3-9-6 N-P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> -K <sub>2</sub> O	4.0 ab	34 ab	13.2 a
T3 R with non-sterile + 0-9-6	3.3 ab	27 b	14.9 a
T4 R with sterile	4.0 ab	36 ab	14.9 a
T5 R with non-sterile	3.1 b	36 ab	16.2 a
T6 R with sterile +0-9-6	4.7 a	40 a	16.0 a
CV (%)	23.5	19.4	29.3

In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

**Remark:** T1 There is no rhizobium, no fertilizer.

T2 Fertilizer applied at the rate of 3-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T3 Rhizobium prepared with non-sterile carrier plus fertilizer at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T4 Rhizobium prepared with sterile carrier

T5 Rhizobium prepared with non-sterile

T6 Rhizobium prepared with sterile carrier plus fertilizer at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

**Table 10** Seed yield, 1,000 seed weight, number of pods per plant, number of seeds per pod and plant height of CNMB06-03-60-7 in the rainy season of 2013.

Treatment	Seed yield (kg/rai)	1,000-seed weight (g)	No. pods/plant	No. seed/pod	Plant height(cm )
T1 Control	254 a	71.1 a	15.4 a	11.1 a	50.0 a
T2 3-9-6 N-P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> -K <sub>2</sub> O	288 a	68.8 ab	17.1 a	10.8 a	56.2 a
T3 R with non-sterile + 0-9-6	282 a	70.5 ab	17.0 a	10.9 a	57.6 a
T4 R with sterile	283 a	68.1 b	15.3 a	11.4 a	57.2 a
T5 R with non-sterile	269 a	70.6 ab	15.9 a	10.8 a	51.2 a
T6 R with sterile +0-9-6	317 a	69.0 ab	15.5 a	11.1 a	56.1 a
CV (%)	25.8	2.2	17.1	4.8	8.3

In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

**Remark:** T1 There is no rhizobium, no fertilizer.

T2 Fertilizer applied at the rate of of 3-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T3 Rhizobium prepared with non-sterile carrier plus fertilizer at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T4 Rhizobium prepared with sterile carrier

T5 Rhizobium prepared with non-sterile

T6 Rhizobium prepared with sterile carrier plus fertilizer at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

**Table 11** Stem dry weight, number of nodules per plant and nitrogen fixation of mungbean line CNMB 06-02-20-5 in the dry season of 2014.

Treatment	Stem dry weight (g/plant)	No. of nodules/plant	N fixed ( $\mu\text{mol}/\text{C}_2\text{H}_4/\text{plant}/\text{hr.}$ )
T1 Control	2.5 a	4 d	0.9 d
T2 0-9-6	3.0 a	14 bc	9.2 abc
T3 3-9-6	2.9 a	8 c	10.9 ab
T4 R with non-sterile + 0-9-6	2.6 a	20 ab	6.4 bc
T5 R with sterile + 0-9-6	1.9 a	31 a	14.6 a
T6 R sterile+0-3-3 + 0-6-3	2.0 a	21 ab	9.0 abc
T7 R with non-sterile + 0-3-3 + 1.5-6-3	2.0 a	33 a	13.3 a
T8 R with sterile + 0-3-3 + 1.5-6-3	2.0 a	12 bc	4.1 cd
CV (%)	25.5	10.4	41.0

In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

**Remark:** T1 There is no rhizobium, no fertilizer.

T2 Fertilizer applied at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T3 Fertilizer applied at the rate of 3-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T4 Rhizobium prepared with non-sterile carrier plus fertilizer at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T5 Rhizobium prepared with sterile carrier plus fertilizer at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T6 Rhizobium prepared with sterile carrier plus fertilizer at the rate of 0-3-3 and 0-6-3 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time and 20 days after emergence, respectively.

T7 Rhizobium prepared with non-sterile carrier plus fertilizer at the rate of 0-3-3 and 1.5-6-3 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time and 25 days after emergence, respectively.

T8 Rhizobium prepared with sterile carrier plus fertilizer at the rate of 0-3-3 and 1.5-6-3 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time and 25 days after emergence, respectively.

**Table 12** Seed yield, 1,000 seed weight, number of pods per plant, number of seeds per pod and plant height of CNMB06-02-20-5 in the dry season of 2014.

Treatment	Seed yield (kg/rai)	1,000-seed weight (g)	No. of pods/plant	No. of seeds/pod	Plant height (cm)
T1 Control	319 a	69.4 a	14.5 ab	11.7 a	86.1 a
T2 0-9-6	322 a	71.6 a	14.7 ab	12.0 a	84.7 a
T3 3-9-6	310 a	70.9 a	18.3 a	11.9 a	83.4 a
T4 R with Non-sterile+ 0-9-6	304 a	71.1 a	14.8 ab	11.9 a	80.4 a
T5 R with sterile + 0-9-6	266 a	70.3 a	17.0 ab	11.9 a	74.9 a
T6 R sterile+0-3-3 + 0-6-3	323 a	71.5 a	13.5 b	11.8 a	73.5 a
T7 R with non sterile+ 0-3-3 + 1.5-6-3	270 a	72.6 a	15.3 ab	11.8 a	82.2 a
T8 R with sterile+ 0-3-3 + 1.5-6-3	279 a	73.3 a	17.4 ab	11.6 a	70.4 a
CV (%)	23.1	4.2	16.2	3.7	16.6

In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

**Remark:** T1 There is no rhizobium, no fertilizer.

T2 Fertilizer applied at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T3 Fertilizer applied at the rate of 3-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T4 Rhizobium prepared with non-sterile carrier plus fertilizer at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T5 Rhizobium prepared with sterile carrier plus fertilizer at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T6 Rhizobium prepared with sterile carrier plus fertilizer at the rate of 0-3-3 and 0-6-3 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time and 20 days after emergence, respectively.

T7 Rhizobium prepared with non-sterile carrier plus fertilizer at the rate of 0-3-3 and 1.5-6-3 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time and 25 days after emergence, respectively.

T8 Rhizobium prepared with sterile carrier plus fertilizer at the rate of 0-3-3 and 1.5-6-3 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time and 25 days after emergence, respectively.

**Table 13** Stem dry weight, number of nodules per plant and nitrogen fixation of mungbean line CNMB 06-03-60-7 in the dry season of 2014.

Treatment	Stem dry weight (g/plant)	No. of nodules/plant	N fixed ( $\mu\text{mol}/\text{C}_2\text{H}_4/\text{plant}/\text{hr.}$ )
T1 Control	2.2 a	4 e	1.6 e
T2 0-9-6	2.3 a	23 ab	7.7 bcd
T3 3-9-6	2.3 a	11 cd	6.2 cd
T4 R with Non-sterile + 0-9-6	2.9 a	30 a	11.8 a
T5 R with sterile + 0-9-6	2.3 a	11d	9.7 ab
T6 R sterile+0-3-3 + 0-6-3	2.5 a	15 bcd	6.0 d
T7 R with non sterile + 0-3-3 + 1.5-6-3	2.7 a	13 bcd	12.3 a
T8 R with sterile + 0-3-3 + 1.5-6-3	2.9 a	19 abc	9.5 abc
CV	28.4	8.9	25.9

In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

**Remark:** T1 There is no rhizobium, no fertilizer.

T2 Fertilizer applied at the rate of of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T3 Fertilizer applied at the rate of 3-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T4 Rhizobium prepared with non-sterile carrier plus fertilizer at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T5 Rhizobium prepared with sterile carrier plus fertilizer at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T6 Rhizobium prepared with sterile carrier plus fertilizer at the rate of 0-3-3 and 0-6-3 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time and 20 days after emergence, respectively.

T7 Rhizobium prepared with non-sterile carrier plus fertilizer at the rate of 0-3-3 and 1.5-6-3 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time and 25 days after emergence, respectively.

T8 Rhizobium prepared with sterile carrier plus fertilizer at the rate of 0-3-3 and 1.5-6-3 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time and 25 days after emergence, respectively.

**Table 14** Seed yield, 1,000 seed weight, number of pods per plant, number of seeds per pod and plant height of CNMB 06-03-60-7 in the dry season of 2014.

Treatment	Seed yield (kg/rai)	1,000-seed weight (g)	No. of pods/plant	No. of seeds/pod	Plant height (cm)
T1 Control	354 a	78.3 a	16.7 a	11.7 a	66.2 a
T2 0-9-6	304 a	72.3 a	18.4 a	11.8 a	55.6 a
T3 3-9-6	261 a	72.3 a	15.6 a	11.1 a	53.8 a
T4 R with non-sterile+ 0-9-6	385 a	76.5 a	14.7 a	11.7 a	62.3 a
T5 R with sterile + 0-9-6	339 a	73.1 a	14.2 a	11.6 a	57.2 a
T6 R sterile+0-3-3 + 0-6-3	322 a	75.0 a	14.8 a	11.2 a	59.3 a
T7 R with non-sterile+ 0-3-3 + 1.5-6-3	388 a	75.4 a	17.9 a	11.9 a	64.9 a
T8 R with sterile+ 0-3-3 + 1.5-6-3	320 a	73.3 a	14.7 a	11.4 a	52.0 a
CV (%)	28.1	5.4	27.3	4.7	32.7

In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

**Remark:** T1 There is no rhizobium, no fertilizer.

T2 Fertilizer applied at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T3 Fertilizer applied at the rate of 3-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T4 Rhizobium prepared with non-sterile carrier plus fertilizer at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T5 Rhizobium prepared with sterile carrier plus fertilizer at the rate of 0-9-6 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time.

T6 Rhizobium prepared with sterile carrier plus fertilizer at the rate of 0-3-3 and 0-6-3 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time and 20 days after emergence, respectively.

T7 Rhizobium prepared with non-sterile carrier plus fertilizer at the rate of 0-3-3 and 1.5-6-3 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time and 25 days after emergence, respectively.



T8 Rhizobium prepared with sterile carrier plus fertilizer at the rate of 0-3-3 and 1.5-6-3 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O at planting time and 25 days after emergence, respectively.