

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ปัจจัยที่ส่งผลต่อการตรึงไนโตรเจนของพืชตระกูลถั่วร่วมกับไรโซเบียม

การตรึงไนโตรเจนของพืชตระกูลถั่วร่วมกับเชื้อไรโซเบียม มีปัจจัยที่ควบคุมหลายอย่าง เช่น พันธุ์พืชตระกูลถั่ว และสายพันธุ์ของเชื้อไรโซเบียม ตลอดจนสภาพแวดล้อมต่าง ๆ เช่น อุณหภูมิ pH ของดิน แสง น้ำ ธาตุอาหารในดิน ก๊าซ และสิ่งมีชีวิตในดิน เป็นต้น ปัจจัยบางอย่างมีผลกระทบต่อกระบวนการตรึงไนโตรเจนโดยตรง และบางปัจจัยมีผลทางอ้อม คือมีส่วนกระทบกระเทือนต่อกระบวนการทางชีวเคมีต่าง ๆ ในต้นพืชและต่อไรโซเบียม ซึ่งก็มีผลสะท้อนถึงการตรึงไนโตรเจนด้วย (สมศักดิ์, 2525 ; วรวิทย์, 2529)

สายพันธุ์ไรโซเบียม

สายพันธุ์ไรโซเบียม เป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการตรึงไนโตรเจนของถั่วชนิดใดชนิดหนึ่งมากที่สุด ความแตกต่างของไรโซเบียมแต่ละสายพันธุ์ เกิดจากความแตกต่างทางพันธุกรรมหรือเกิดจาก adaptation ของไรโซเบียม species สายพันธุ์ที่ต่างกันจะมีความสามารถในการใช้ชีวิตอยู่รอดได้ในดิน การสร้างปม ตลอดจนมีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนให้แก่ถั่วพันธุ์ใดพันธุ์หนึ่งได้แตกต่างกัน (Date, 1975) นอกจากนี้ยังมีลักษณะอื่น เช่น ความทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม และความต้านทานต่อยาปฏิชีวนะ และไวรัสแตกต่างกันอีกด้วย (สมศักดิ์, 2525)

พันธุ์พืชตระกูลถั่ว

พันธุ์พืชตระกูลถั่วมีผลต่อการตรึงไนโตรเจน เช่นเดียวกับสายพันธุ์ไรโซเบียม การที่ถั่วพันธุ์ใดพันธุ์หนึ่งจะเข้ากับไรโซเบียมสายพันธุ์ใดสายพันธุ์หนึ่ง เกิดจากการ

ควบคุมโรคยีนในพืชตระกูลถั่วในกรณีของถั่วเหลืองมีถิ่นที่ควบคุมการเกิดมหลายตัวเช่น ยีน R₃₁ R₃₂ R₃₃ และ R₃₄ ยีน R₃₁ เป็นยีนซ่มที่ทำให้ถั่วเหลืองไม่เกิดมกับไวรัสเบียมทุกสายพันธุ์ (Devine, 1985) ส่วนยีนซ่ม R₃₂ เป็นยีนที่พบในถั่วเหลืองพันธุ์ Hardee ทำให้ถั่วเหลืองพันธุ์นี้เกิดมที่ไม่มีประสิทธิภาพกับไวรัสเบียมที่อยู่ใน sero group C1 และ 122 สำหรับยีน R₃₃ ซึ่งพบในถั่วเหลืองพันธุ์ Hardee และลูกผสมของถั่วพันธุ์นี้ ทำให้ถั่วเหลืองเหล่านี้เกิดมที่ไม่มีประสิทธิภาพกับไวรัสเบียมสายพันธุ์ USDA 33 ในกรณีของยีนซ่ม R₃₄ ทำให้ถั่วเหลืองพันธุ์ Hill และพันธุ์ Dare รวมทั้งลูกผสมของพันธุ์ทั้งสองเกิดมที่ไม่มีประสิทธิภาพกับไวรัสเบียมสายพันธุ์ USDA 61 ถั่วเหลืองที่มีแหล่งกำเนิดที่แตกต่างกันทางภูมิศาสตร์ จะมีการกระจายของยีนที่ควบคุมการเกิดมแตกต่างกัน ดังจะเห็นได้จากรายงานของ Devine และ Breithaupt (1981) ซึ่งได้ศึกษาการกระจายของยีนซ่ม R₃₂ และ R₃₄ ในถั่วเหลืองจากหลายประเทศจำนวน 851 พันธุ์ และพบว่ายีน R₃₂ พบในถั่วเหลืองที่มาจากประเทศจีน เกาหลี และญี่ปุ่น เพียง 19 สายพันธุ์ ส่วนยีน R₃₄ พบในพันธุ์ถั่วจากทุกประเทศในเขตเอเชีย แต่ถั่วเหลืองจากประเทศรัสเซียไม่มียีน R₃₂ และ R₃₄

เนื่องจากพันธุกรรมของพืชตระกูลถั่วและเชื้อไวรัสเบียม มีส่วนเกี่ยวข้องกับการค้าในโตรเจน ดังนั้นการปลูกพืชตระกูลถั่ว โดยพึ่งพาอาศัยในโตรเจนที่ได้จากการค้าในโตรเจนจำเป็นจะต้องเลือกเชื้อไวรัสเบียมให้เหมาะสมกับพันธุ์พืช สำหรับอิทธิพลของปัจจัยด้านสภาพแวดล้อม ต่อการค้าในโตรเจนของไวรัสเบียม และพืชตระกูลถั่ว นั้น สมศักดิ์ (2525) ได้สรุปไว้ดังนี้

อิทธิพลของอุณหภูมิ

อุณหภูมิภายในดิน และอุณหภูมิของบรรยากาศ มีส่วนเกี่ยวข้องต่อการ

ครึ่งไนโตรเจนโดยพืชตระกูลถั่วและไรซอบีียม แต่โดยทั่วไปอุณหภูมิของดินจะมีอิทธิพลมากกว่า การเข้าสู่รากและการเกิดบวมของเชื้อไรซอบีียม จะเป็นไปได้เพียงไรขึ้นกับอุณหภูมิของดิน สำหรับถั่วเหลืองช่วงอุณหภูมิที่ทำให้ไรซอบีียมเข้าสู่รากและเกิดบวมได้ในอัตราสูงสุด อยู่ในช่วงระหว่าง 20-30 องศาเซลเซียส หากอุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่านี้ การเข้าสู่รากและการเกิดบวมจะเป็นไปในอัตราต่ำหรืออาจไม่เกิดเลย การเจริญของบวม และการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียก็ได้รับผลกระทบจากอุณหภูมิโดยตรง สำหรับบวมถั่วในเขตร้อน การเจริญของบวมถั่วจะเกิดได้ดี ถ้าอุณหภูมิของดินอยู่ระหว่าง 19-35 องศาเซลเซียส อุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่าช่วงนี้จะทำให้ขนาดบวมเล็กและจำนวนแบคทีเรียน้อยลง ซึ่งเป็นผลทำให้การครึ่งไนโตรเจนของบวมเป็นไปอย่างไม่มีประสิทธิภาพ สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสจะสูงสุดในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 20 - 30 องศาเซลเซียส เมื่ออุณหภูมิต่ำเกินไปปฏิกิริยาของเอนไซม์จะช้าลงหรือหยุดชงัก แต่เมื่ออุณหภูมิสูง เอนไซม์จะได้รับผลกระทบเพราะเอนไซม์จะเกิดการเปลี่ยน configuration และยังปลดปล่อยไฮโดรเจนในอัตราสูงอีกด้วย ซึ่งเป็นผลทำให้ไนโตรเจนหยุดชงักหรือช้าลงด้วย ไรซอบีียมต่างสายพันธุ์จะต้องการระดับอุณหภูมิที่เหมาะสมเหมือนกัน

อิทธิพลของ pH ดิน

การครึ่งไนโตรเจนร่วมกันระหว่างไรซอบีียมกับพืชตระกูลถั่ว โดยทั่วไปเกิดขึ้นได้ดีในช่วง pH ระหว่าง 5-8 ทั้งนี้ขึ้นกับสายพันธุ์ของไรซอบีียมและชนิดของพืชตระกูลถั่ว pH ของดินมีอิทธิพลต่อการครึ่งไนโตรเจนได้หลาย ๆ แง่ เช่น มีผลต่อการดำรงชีวิตอยู่อย่างอิสระของไรซอบีียมในดินมีอิทธิพลต่อการเข้าสู่รากและยังมีผลทำให้ความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารบางอย่างที่จำเป็นต่อการเจริญของถั่วของไรซอบีียมลดน้อยลง หรือมีธาตุบางอย่างละลายออกมามากจนถึงขั้นเป็นอันตรายต่อถั่วและต่อไรซอบีียม

อิทธิพลของแสง

แสงมีอิทธิพลต่อการตรึงไนโตรเจนทั้งโดยตรงและโดยอ้อม อิทธิพลโดยตรงคือ อิทธิพลต่อการเจริญของราก ตลอดจนการเกิดและการเจริญของปม การตรึงไนโตรเจนจะเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ เมื่ออัตราส่วนของคาร์โบไฮเดรตต่อไนโตรเจนเหมาะสม อัตราส่วนที่สูงหรือต่ำกว่าจุดวิกฤต จะทำให้การตรึงไนโตรเจนที่ปมช้าลงหรือหยุดชงักได้ สำหรับอิทธิพลโดยอ้อม เป็นอิทธิพลที่เกิดจากแสงสีแดงที่มีอิทธิพลต่อเมตาบอลิซึมต่าง ๆ ในต้นพืช ซึ่งมีผลต่อการเจริญของรากและต่อตำแหน่งการเกิดปมหรือการกระจายของปมที่รากด้วย

อิทธิพลของน้ำ

ปริมาณน้ำในดินมีความสำคัญมากต่อการตรึงไนโตรเจน ถ้าน้ำในดินอยู่ในระดับต่ำกว่า จนกระทั่งทำให้น้ำหนักปมลดลงต่ำกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนัก เมื่ออุ้มน้ำได้เต็มที่ คือเมื่อปมมีน้ำ 450 เปอร์เซ็นต์ การตรึงไนโตรเจนของปมจะหยุดชงัก และปมบางปมจะหลุดออกไป ทำให้ความสามารถในการตรึงไนโตรเจนหมดไปอย่างสมบูรณ์ ในกรณีที่ระดับน้ำในดินสูงเกินไป ปมที่แช่อยู่ในน้ำจะมีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนในอัตราที่ต่ำมาก ความหนานของปมที่มีต่อสภาพน้ำขังขึ้นอยู่กับชนิดของถั่ว ปริมาณน้ำในดินที่เหมาะสม 60-70 เปอร์เซ็นต์

อิทธิพลธาตุต่าง ๆ

อิทธิพลของไนโตรเจน

ไนโตรเจนในดิน ไม่ว่าจะอยู่ในรูป NH_4 หรือ NO_3 ถ้ามีอยู่ในปริมาณต่ำจะช่วยกระตุ้นให้พืชตระกูลถั่วเจริญได้ดี โดยเฉพาะในระยะที่ถัวยังไม่สร้างปม

และทำให้ตัวเกิดมมาคิตัวด้วย การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในระดับที่ต่ำในรูป NH_4 จะทำให้จำนวนบมเพิ่มขึ้น ส่วน NO_3 ทำให้จำนวนบมลดลง แต่ถ้าใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในปริมาณที่สูงกลับทำให้จำนวนบมลดลงเช่นกัน (Richardson *et al.*, 1975) การลดลงของจำนวนบมทำให้การตรึงไนโตรเจนลดลงด้วย (Beard and Horver, 1971) ระดับของ NH_4 และ NO_3 มีแนวโน้มทำให้เกิดการลดลงของน้ำหนักแห้งและขนาดของบม (Alexander, 1977) และถ้าดินมีปริมาณไนโตรเจนในดินสูง พบว่าการตรึงไนโตรเจนโดยไรโซเบียมจะมีปริมาณที่น้อยลง (Haper and Cooper, 1971 ; Lawn and Brun, 1974) เฉลิมพล (2530) และ Hansen *et al.*, (1989) พบว่าปริมาณ NO_3 2 mM มีผลทำให้ปริมาณน้ำหนักแห้งของบมเพิ่มขึ้น แต่ในระดับมากกว่า 4-16 mM NO_3 มีผลทำให้การเกิดบมลดลง (เฉลิมพล, 2530) ส่วน Rios and Santos (1973) พบว่าการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 40-60 kg/ha นั้นมีผลต่อน้ำหนักบมหรือจำนวนบม แต่การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนระดับสูงถึง 120 kg/ha มีผลทำให้เกิดบมลดลง

อิทธิพลของฟอสฟอรัส

ฟอสฟอรัส มีอิทธิพลต่อทั้งพืชตระกูลถั่วและไรโซเบียม สำหรับการกระบวนการตรึงไนโตรเจน ต้องการฟอสฟอรัสเป็นปริมาณเล็กน้อย เพื่อเป็นองค์ประกอบบางอย่างของสารประกอบที่จำเป็นต่อการถ่ายทอควิเล็คตรอนไปยังกาซไนโตรเจนและเป็นองค์ประกอบของ ATP ซึ่งให้พลังงาน แม้แต่แหล่งผลิต ATP ก็เป็นสารประกอบที่มีฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบ

อิทธิพลของธาตุโบนเนสเซียม

ธาตุโบนเนสเซียม ไม่มีอิทธิพลโดยตรงต่อการตรึงไนโตรเจน แต่มีอิทธิพลโดยอ้อมมาในฐานะที่เป็นธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญของไรโซเบียม และพืชตระกูลถั่ว ถั่วต้องการโบนเนสเซียมในปริมาณมาก เพื่อการเจริญเติบโตที่สมบูรณ์แข็งแรง ซึ่งจะมีผลทำให้การตรึงไนโตรเจนเกิดได้ดีด้วย ปริมาณโบนเนสเซียมที่เหมาะสม 600-800 ppm. (De mooy et al., 1973)

อิทธิพลของธาตุแคลเซียม

อิทธิพลของธาตุแคลเซียมก็คล้ายกับโบนเนสเซียมคือ ไม่มีอิทธิพลต่อการตรึงไนโตรเจนโดยตรง แต่ช่วยทางอ้อมโดยการควบคุม pH ของดินให้เหมาะสมแก่การเจริญของไรโซเบียมและการเข้าสู่รากพืช นอกจากนี้กิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเข้าสู่รากพืชของไรโซเบียมคือ เอนไซม์ pectinase จะเกิดได้ดีต้องอาศัยแคลเซียมเป็นปริมาณมาก

อิทธิพลของแมกนีเซียม

แมกนีเซียมเป็นธาตุที่ส่งเสริมการเจริญของถั่ว และยังเป็นธาตุที่จำเป็นต่อกระบวนการตรึงไนโตรเจน เพราะเป็นอนุมูลที่จำเป็นสำหรับกระตุ้น ATP ให้พลังงานแก่กระบวนการตรึงไนโตรเจนได้อย่างเต็มที่

อิทธิพลของกำมะถัน เหล็ก และโมลิบดีนัม

ธาตุทั้งสามชนิดเกี่ยวข้องกับการตรึงไนโตรเจนโดยตรง โบรดินที่เป็นองค์ประกอบของ เอนไซม์ไนโตรจีเนสมีกำมะถันเป็นองค์ประกอบอยู่ในปริมาณค่อนข้าง

สูง หากปริมาณของกำมะถัน การสังเคราะห์เอนไซม์ชนิดนี้จะอยู่ในขอบเขตที่จำกัด ส่วน
 ภูมิบาลินิมและ เหล็ก เป็นองค์ประกอบของสารอื่นที่จำเป็นต่อกระบวนการถ่ายทออี เล็คตรอน
 และเป็นองค์ประกอบของ leghaemoglobin อีกด้วย

อิทธิพลของโคบอลต์

อิทธิพลของ โคบอลต์ต่อการตรึงไนโตรเจน เป็นอิทธิพลโดยทาง
 อ้อม กล่าวคือโคบอลต์เป็นองค์ประกอบที่สำคัญของวิตามิน B12 ซึ่งเชื่อกันว่ามีส่วนเกี่ยว
 ข้องกับการสังเคราะห์ leghaemoglobin (Alexander, 1977)

อิทธิพลของโบรอน

หน้าที่ที่แท้จริงของโบรอนที่เกี่ยวข้องกับการตรึงไนโตรเจนโดย
 ตรึงนั้นยังไม่มีรายงาน แต่ทราบว่าธาตุนี้จำเป็นต่อการตรึงไนโตรเจนแน่นอน และถ้าขาด
 การตรึงไนโตรเจนจะไม่ประสิทธิภาพหรือไม่เกิดขึ้นเลย ดังนั้นโบรอนอาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับ
 กับเมตาบอลิซึมบางอย่างในพืช และในแบคทีเรีย รวมทั้งการสร้างโปรตีน หรือเอนไซม์
 ตลอดจนการ เคลื่อนย้ายคาร์โบไฮเดรต นอกจากนี้โบรอนมีส่วนเกี่ยวข้องกับเมตาบอลิซึม
 ของกรดไขมันนิวคลีอิก ซึ่งจำเป็นต่อการสร้างเนื้อเยื่อใหม่ เช่น เนื้อเยื่อปม ซึ่งจะทำให้
 การเกิดและการ เจริญของปมเป็นไปได้ดีขึ้น และส่งเสริมการตรึงไนโตรเจน

อิทธิพลของแมงกานีส สังกะสี ทองแดง

ธาตุทั้งสามชนิดไม่มีอิทธิพลโดยตรงกับกระบวนการตรึงไนโตร-
 เจน แต่เป็นธาตุที่ต้องการ เพียงเล็กน้อย สำหรับการ เจริญเติบโตของพืชตระกูลถั่วและเร-
 ไรซ์เบียม สำหรับแมงกานีส ไรซ์เบียมอาจใช้ทำหน้าที่แทนแมกนีเซียมได้ ธาตุทั้งสามชนิด
 ถ้ามีอยู่ในดินในปริมาณมาก เกินไปจะเป็นอันตรายต่อไรซ์เบียม

อิทธิพลของก๊าซในดิน

ก๊าซหลายชนิดทั้งที่มีอยู่ในบรรยากาศและในดิน มีอิทธิพลต่อการตรึงไนโตรเจนโดยไรโซเบียมและพืชตระกูลถั่ว ก๊าซที่มีอิทธิพลอย่างมากได้แก่ N_2 H_2 O_2 C_2H_2 และ CO_2 การตรึงไนโตรเจนจะเป็นไปได้ก็ถ้าหากความเข้มข้นของ N_2 และ O_2 ในดินมีเพียงพอ และการ diffuss ของไนโตรเจนเข้าสู่ภายในปมเป็นไปได้ดี การตรึงไนโตรเจนในปมถั่วจะเป็นอย่างมีประสิทธิภาพ ถ้าภายในปมมี pN_2 อยู่ประมาณ 0.1 บรรยากาศ และมี pCO_2 ประมาณ 0.5 บรรยากาศ สำหรับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีอิทธิพลทางอ้อม คือ เป็นตัวลดอัตราการหายใจของทั้งแบคทีเรียและไรโซเบียมที่อยู่ภายนอกปม หากมีคาร์บอนไดออกไซด์ถึง 3 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้การเกิดและการเจริญของปมหยุดชงัก ส่วนก๊าซอื่น เช่น CO C_2H_2 มีผลต่อการตรึงไนโตรเจน เพราะก๊าซทั้งสองสามารถทำปฏิกิริยากับเฮโมไซม์ในไตรเจเนสได้เช่นเดียวกับก๊าซในดิน ถ้าการมีก๊าซทั้งสองอัตราการตรึงไนโตรเจนจะลดลงหรือหยุดชงักไป นอกจากนี้ CO ยังสามารถทำปฏิกิริยากับ leghaemoglobin ในปมถั่วอีกด้วย ทำให้เกิดเป็น carboxy-haemoglobin ซึ่งไม่สามารถถ่ายทอดหรือควบคุมระดับออกซิเจนได้อีกต่อไป ทำให้การตรึงไนโตรเจนไม่มีประสิทธิภาพหรือไม่เกิดขึ้น

นอกจากปัจจัยดังกล่าวแล้ว ยังมีชีวิตอื่นในดินที่เป็นประโยชน์และให้โทษแก่ไรโซเบียม ตลอดจนศัตรูพืชก็มีผลต่อการตรึงไนโตรเจนด้วยทางอ้อม แม้แต่ยากำจัดศัตรูพืชบางชนิดก็มีผลกระทบระเทือนต่อการเจริญของไรโซเบียม การเกิดปมและการตรึงไนโตรเจนด้วยยากำจัดศัตรูพืชที่มีผลกระทบระเทือนต่อการเกิดปม และการตรึงไนโตรเจนได้แก่ ยาฆ่าเชื้อราพวก semasol neaten cycloheximide และ mycostatin และยากำจัดวัชพืชพวก 2,4-D dalapon triazine Caranyl urea และ dinitrophenol

ไรโซเบียมที่มีอยู่ในดินโดยธรรมชาติ

ในภาคเหนือตอนบนและภาคเหนือตอนล่าง ซึ่งเป็นแหล่งผลิตถั่วเหลืองที่มีความสำคัญของประเทศไทยและมีไรโซเบียมอยู่ในดินอยู่แล้วโดยธรรมชาติ จากการศึกษาของ ศรีศุภร์ (2532) พบว่าในพื้นที่ของ เกษตรกรจำนวน 25 รายซึ่งปลูกถั่วเหลืองมาเป็นเวลานาน ใช้น้ำใช้ผงคลุกเชื้อไรโซเบียม เมื่อใช้ปลูกพืชทดสอบหลายชนิดได้แก่ ถั่วเหลืองพันธุ์ ป่า (*Glycine ussuriensis*) ถั่วพุ่ม (*Vigna unguiculata*) และถั่วเหลือง (*Glycine max*) 6 พันธุ์ ปรากฏว่าพืชทดสอบเหล่านี้เกิดปมได้หมดทุกชนิด เมื่อศึกษาลักษณะของเชื้อไรโซเบียมที่แยกได้จากปมถั่วเหล่านั้น ซึ่งมีจำนวนถึง 251 เชื้อ พบว่าเป็นพวกที่เจริญช้าทั้งหมดและสามารถจำแนกกลุ่มได้ 5 กลุ่ม ตามความแตกต่างในการเกิดปฏิกิริยากับซีรัมของไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน 7 สายพันธุ์ ประมาณร้อยละ 50 ของเชื้อไรโซเบียมทั้งหมดไม่อยู่กลุ่มเดียวกับไรโซเบียมสายพันธุ์มาตรฐาน ความเข้ากันได้ระหว่างเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ธรรมชาติของภาคเหนือกับถั่วเหลืองพันธุ์ต่างๆ แตกต่างจากไรโซเบียมสายพันธุ์พื้นเมืองที่พบในประเทศไทย ซึ่ง Nangju (1980) ได้รายงานว่ามีไรโซเบียมเหล่านี้ ทำให้ถั่วเหลืองพันธุ์พื้นเมืองของประเทศนั้นเกิดปมที่มีประสิทธิภาพ แต่เกิดปมได้น้อย เกิดปมกับถั่วเหลืองสายพันธุ์ที่มาจากประเทศสหรัฐอเมริกา และแตกต่างจากไรโซเบียมที่อยู่มากในดินที่เข้เพาะปลูกถั่วเหลืองในประเทศไทย ซึ่งส่วนใหญ่เป็นไรโซเบียมพวก เจริญเร็ว (Keyser et al., 1982)

ปริมาณการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลืองพันธุ์ต่าง ๆ

จากการศึกษาปริมาณการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลืองพันธุ์ต่าง ๆ ในประเทศ

ไทย พบว่าปริมาณคาร์บอนตรึงไนโตรเจนอยู่ในช่วง 20-226 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อเฮกตาร์ คือเป็น 20-89 เปอร์เซ็นต์ของไนโตรเจนทั้งหมดในดินถั่วเหลือง ซึ่งปริมาณคาร์บอนตรึงไนโตรเจนจะแปรผันตามพันธุ์ของถั่วเหลือง สายพันธุ์ของไรโซเบียม แหล่งที่ปลูก การจัดการระยะเวลาปลูก และวิธีที่ใช้ในการศึกษา ดังรายละเอียดในตารางที่ 1

วิธีการประเมินประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน

วิธีการประเมินการตรึงไนโตรเจนของพืชตระกูลถั่ว มีหลายวิธีที่ใช้ในปัจจุบัน แต่ที่นิยมมากที่สุดได้แก่ การประเมินโดย acetylene reduction assay (ARA) (Turner and Gibson, 1980) การใช้ Ureide technique (Ledgard and Peoples, 1988) และการใช้ไอโซโทป ^{15}N (Rennie, 1985) วิธี ARA เป็นวิธีประเมินทางอ้อม โดยอาศัยการวัด ethylene ที่เกิดจากการรีดิวซ์ acetylene โดยเอนไซม์ไนโตรจีเนส ซึ่งมีกระบวนการเกิดคล้ายคลึงกับการตรึงไนโตรเจน แม้วิธีนี้มีความไวในการตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนส และการวิเคราะห์สามารถทำได้รวดเร็ว แต่มีข้อจำกัดหลายอย่างทั้งในด้านความถูกต้องในทางทฤษฎีที่จะคำนวณปริมาณไนโตรเจน จากปริมาณ acetylene ที่ได้จากการตรวจสอบและเทคนิคในการวัด ซึ่งทำให้ข้อมูลที่ได้อาจไม่ถูกต้องตามความเป็นจริง (Masterson and Murphy, 1980) วิธีการประเมินโดยการใช้ไอโซโทป ^{15}N มีอยู่ 2 วิธี คือการทำให้ไอโซโทป ^{15}N ที่มีอยู่ในปุ๋ยเจือจางลง (^{15}N isotope dilution technique) และการใช้ไอโซโทป ^{15}N ที่มีอยู่ในธรรมชาติ (Natural abundance technique) วิธีนี้ให้ความแม่นยำสูงแต่มีข้อจำกัด คือต้องเสียค่าใช้จ่ายสูงนับว่าเป็นด้านราคาปุ๋ย หรือเครื่องมือที่ใช้วัด ^{15}N ส่วนวิธีการใช้ Ureide technique นั้น อาศัยองค์ประกอบของสารประกอบไนโตรเจนที่มีอยู่ในน้ำเลี้ยง (xylem sap) ของต้นถั่วในการประเมิน

ตารางที่ 1 ผลผลิต ปริมาณไนโตรเจนที่ได้จากการตรึง (kg N fix) ประสิทธิภาพการตรึงไนโตรเจน (% Nda) วิธีศึกษาของถั่วเหลืองพันธุ์ต่าง ๆ ในประเทศไทย

พันธุ์	ผลผลิต เมล็ด (กก. ต่อเฮกตาร์)	ปริมาณ N (กก. N ต่อเฮกตาร์)	Nda (เปอร์เซ็นต์)	วิธีการ ศึกษา	สถานที่	Ref
สง.1	1325	80.0	42	¹⁵ N,ARA	เชียงใหม่	(1)
	1071-2525	087-175	53-77	U	เชียงใหม่	(2)
สง.2	1685	63	39	¹⁵ N,ARA	เชียงใหม่	(1)
สง.4	726-2119	15-128	20-78	¹⁵ N	กำแพงแสน	(3)
	791-1010	103-161	66-78	¹⁵ N	เชียงใหม่	(3)
	1860	92	51	¹⁵ N,ARA	เชียงใหม่	(1)
สง.5	1690-1910	122-140	71-81	U	เชียงใหม่	(4)
	870-1044	124-162	66-77	¹⁵ N	เชียงใหม่	(3)
	636-2070	20-146	30-78	¹⁵ N	กำแพงแสน	(3)
	1771	78	44	¹⁵ N,ARA	เชียงใหม่	(1)
	1213-2568	94-226	62-83	U	เชียงใหม่	(2)
	742	47	90	U	เชียงใหม่	(5)
นว.1	889-2778	69-170	56-78	U	เชียงใหม่	(2)
สข.1	1427	63	46	¹⁵ N,ARA	เชียงใหม่	(1)
	1130-2574	86-223	72-89	U	เชียงใหม่	(2)

(1) Snitwonges et al., (1986)

(2) พิมพ์รัตน์ (2534)

(3) Kucey et al., (1988)

(4) Jifeng (1990)

(5) วิศา (2534)

U = Ureide technique

¹⁵N = ¹⁵N dilution technique

ARA = acetylene reduction assay

Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การศึกษาโดยวิธี Ureide technique

จากการศึกษาองค์ประกอบของน้ำเลี้ยงของถั่วเหลืองพบว่า ในโครเจนที่ได้รับจากการตรึงไนโตรเจนที่ปมของถั่วเหลือง จะเคลื่อนย้ายจากมมมายังส่วนอื่นของต้น ในรูปของสารประกอบยูรีโดค (ureide) ซึ่งส่วนใหญ่ประกอบด้วยอัลเลนโทอิน (allantoin) และกรดอัลเลนโทอิก (allantoic acid) ประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ (Herridge, 1982) โภคสารประกอบยูรีโดคจะถูกสร้างขึ้นที่ปมถั่ว (Matsumoto et al., 1977) ส่วนอนินทรีย์ไนโตรเจน ซึ่งส่วนใหญ่รากจะได้รับจากดินในรูปของไนเตรทจะถูกเคลื่อนย้ายเข้าปมท่อน้ำ (xylem) โภคสารมีการเปลี่ยนรูป เพราะถั่วเหลืองเป็นพืชที่มีเอ็นไซม์ไนเตรทรีดักเทส (nitrate reductase) ที่รากน้อย อย่างไรก็ตามบางส่วนของไนเตรทจะถูกรีดิวซ์ และเปลี่ยนรูปเป็นกรดอะมิโน (Ledgard and Peoples, 1988) จากการวิเคราะห์กรดอะมิโนในน้ำเลี้ยงของถั่วเหลืองพันธุ์ Bragg ในระยะ R₂ พบว่าส่วนใหญ่คือประมาณ 84-85 เปอร์เซ็นต์ อยู่ในรูปแอสพาราจีน (asparagine) และกรดกลูตามิก (glutamic acid) (McClure and Israel, 1979 ; Herridge, 1984)

สัดส่วนของสารละลายไนโตรเจนรูปต่าง ๆ ที่มีอยู่ในน้ำเลี้ยงมีความสัมพันธ์กับแหล่งที่มาของไนโตรเจน Matsumoto et al. (1977) ได้รายงานว่า การเพิ่มไนโตรเจนในรูปไนเตรท หรือยูเรียให้แก่ ถั่วเหลือง มีผลให้การสร้างยูรีโดคลดลง McClure and Israel (1979) ก็รายงานผลเช่นเดียวกัน กล่าวคือ เมื่อเพิ่มระดับของไนเตรทถึง 20 mM การสร้างมมและกิจกรรมการตรึงไนโตรเจนจะลดลง ค่าเฉลี่ยของยูรีโดคของถั่วเหลืองพันธุ์ Ransom ซึ่งมีอายุ 76 วันลดลงจาก 83 เหลือเพียง 39.3 เปอร์เซ็นต์ ของไนโตรเจนทั้งหมดในน้ำเลี้ยง สำหรับกรดอะมิโนทั้งหมดเพิ่มจาก 16.3 เป็น 56.8 เปอร์เซ็นต์ ส่วนไนเตรทเพิ่มจาก 0.4 เป็น 3.5 เปอร์เซ็นต์ ผลของ

ในเครื่องทดสอบการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนแต่ละชนิดในน้ำเลี้ยงแตกต่างกันคือ ปริมาณเฉลี่ยของแอสพาราจिन จะเพิ่มจาก 7.6 เป็น 48.6 เบอร์เซนต์ แต่กลูตามีนและแอลฟา กรดอะมิโน (α - amino acid) มีปริมาณคงที่คือมีเพียง 2-6 เบอร์เซนต์ เนื่องจากสัดส่วนของสารละลายในเครื่องรูปต่าง ๆ เหล่านี้ในน้ำเลี้ยงมีความสัมพันธ์กับแหล่งไนโตรเจนที่ถั่วเหลืองได้รับ ซึ่งสามารถเข้าข้อมูลเป็นดัชนีในการประเมินการตรึงไนโตรเจนของถั่วเหลืองได้

การเก็บตัวอย่างน้ำเลี้ยงในต้นถั่วเหลือง สำหรับการวิเคราะห์สามารถทำได้ 3 วิธี วิธีแรกใช้ปั๊มสุญญากาศ (Vacuum pump) ดูดน้ำเลี้ยงออกจากท่อของต้นถั่วเหลืองโดยตรง น้ำเลี้ยงดังกล่าวเรียกว่า xylem sap วิธีการนี้จะต้องใช้เวลาไม่เกิน 10 นาทีต่อตัวอย่าง วิธีการที่สองเป็นการเก็บน้ำเลี้ยงที่ได้จากราก (root bleeding sap) ซึ่งทำได้โดยตรงต่อต้นถั่วโดยเหลือโคนต้นไว้เล็กน้อย สำหรับใช้เสียบท่อพลาสติกที่มีขนาดพอดีกับโคนต้น แล้วดูดน้ำเลี้ยงที่เอ่ออยู่ในท่อออกมาเพื่อใช้ในการวิเคราะห์สำหรับวิธีการนี้สมควรใช้เวลาเกิน 30 นาทีต่อตัวอย่าง ในกรณีที่ไม่สามารถเก็บน้ำเลี้ยงจากต้นพืชโดยตรงวิธีการสองวิธีแรกได้ อาจวิเคราะห์สารประกอบไนโตรเจนในเนื้อเยื่อ รดยาใช้ตัวอย่างต้นพืชอบแห้งได้ สำหรับตัวอย่างพืชที่จะใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบไนโตรเจนในน้ำเลี้ยง จะต้องตัดใบออกให้หมดเหลือเฉพาะลำต้น ซึ่งจะต้องนำใบอบแห้งในตูบภายใน 24 ชั่วโมงหลังจากเก็บตัวอย่าง และตัวอย่างลำต้นที่อบแห้งแล้วจะนำไปคอก่อนที่จะนำไปวิเคราะห์ต่อไป ในการเปรียบเทียบความเข้มข้นของยูรีโอคในน้ำเลี้ยงจากลำต้นและราก Herridge (1984) พบว่าระดับความเข้มข้นของยูรีโอคในน้ำเลี้ยงจากรากจะสูงกว่าจากลำต้นประมาณ 1.8-3.2 เท่า แต่ยูรีโอคทั้ง 2 แหล่งมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกัน

ปริมาณของยูรีโอค ซึ่งจะใช้ในการประเมินการตรึงไนโตรเจนของถั่ว-

เหลืองจะคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในน้ำเลี้ยง เรียกว่า ดัชนียูรีโอคัลลัมพ์ทซ์ (relative ureide index, RU) (Herridge, 1984) ซึ่งสามารถคำนวณได้ดังนี้

$$\text{ดัชนียูรีโอคัลลัมพ์ทซ์} = \frac{4 \times \text{ureide-N}^*}{4 \times \text{ureide-N}^* + \text{NO}_3\text{-N}^* + \text{C-amino acid}^*}$$

* ความเข้มข้นของ ureide-N NO₃-N และ C-amino acid มีหน่วยเป็น molar

สำหรับดัชนียูรีโอคัลลัมพ์ทซ์ มีความสัมพันธ์กับปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้จากกระบวนการตรึงไนโตรเจน ซึ่งวัดโดยการให้ 15N และความสัมพันธ์นี้สามารถนำมาสร้างเป็นสมการมาตรฐาน (calibration curve) เพื่อใช้ในการคำนวณปริมาณไนโตรเจนที่ตรึงได้ จากการศึกษาของ Peoples et al. (1987) พันธุ์ถั่วหรือสายพันธุ์ของไรซเบียสมไม่มีผลทำให้สมการที่ได้แตกต่างกัน สำหรับสมการมาตรฐานที่ใช้การประเมินปริมาณไนโตรเจนที่ได้จากการตรึงไนโตรเจนมีดังนี้

ก. สมการมาตรฐานสำหรับน้ำเลี้ยงจากราก (root bleeding sap)

$$P = 1.2 (X-4.8) \quad \text{สำหรับช่วงการเจริญเติบโตทางต้นและใบจนถึงระยะดอกบานเต็มที่}$$

$$P = 1.5 (X-12.8) \quad \text{สำหรับช่วงติดฝักและสร้างเมล็ด}$$

ข. สมการมาตรฐานสำหรับน้ำเลี้ยงจากลำต้น

$$P = 1.6 (X-7.7) \quad \text{สำหรับช่วงการเจริญเติบโตทางต้นและใบจนถึงระยะดอกบานเต็มที่}$$

$$P = 1.6 (X-15.9) \quad \text{สำหรับช่วงติดฝักและสร้างเมล็ด}$$

ค. สมการมาตรฐานของน้ำเลี้ยงที่สกัดจาก เนื้อ เยื่อ

$$X = 1.4 + 0.31 P + 0.0057 P^2 \quad \text{สำหรับช่วงการ เจริญเติบโต}$$

ทางต้นและใบจนถึงระยะคอกบานเต็มที่

$$X = 10.7 + 0.50 P + 0.0034 P^2 \quad \text{ช่วงติดฝักและสร้าง เมล็ด}$$

โดยที่ X เป็นดัชนียูรีโอคัลสัมพัทธ์

P อัตราส่วนระหว่างไนโตรเจนในต้นกล้วยที่ได้จากการตรึงต่อ
ไนโตรเจนทั้งหมดในต้นกล้วย เหลือง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved