ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การวัดการตรึงไนโตรเจนของถั่วแดงหลวงโดยการวิเคราะห์ยูริไอด์ในตัวอย่างลำต้นแห้ง

ชื่อผู้เขียน น.ส. จีราภรณ์ อินทสาร

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาปฐพีศาสตร์

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์:

ผศ.ดร. อำพรรณ พรมศิริ	ประธานกรรมการ
ผศ.ดร. สุนทร บุรณะวิริยะกุล	กรรมการ
อ. พฤกษ์ ยิบมันตะสิริ	กรรมการ
อ.ดร. สมพร ชุนห์ลือชานนท์	กรรมการ

บทคัดย่อ

การศึกษาวิธีการวัดการตรึงไนโตรเจนของถั่วแดงหลวงโดยการวิเคราะห์ยูริไอด์ในตัวอย่างลำต้นแห้ง ดำเนินการโดยการทดลองปลูกถั่วแดงหลวงพันธุ์หมอกจ่ามในกระถาง โดยการใช้ทรายและใช้สารละลายสูตรของ Broughton and Dilworth ซึ่งมีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในรูป KNO_3 และ $(NH_4)_2SO_4$ ในอัตราต่างกันตั้งแต่ 0 - 10 mMN ถั่วแดงหลวงที่ปลูกได้รับการคลุกเชื้อ *Rhizobium leguminosarum* biovar. *phaseoli* 3 สายพันธุ์คือ CIAT 899 UMR 1899 และ isolate KN 6 ผสมกันในอัตรา 1:1:1 และใส่ในอัตรา 3×10^6 cell/เมล็ด ผลการทดลองพบว่า การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนทั้ง 2 รูปมีผลทำให้ถั่วแดงหลวงมีน้ำหนักแห้งของปมลดลง แต่มีน้ำหนักแห้งและการสะสมไนโตรเจนในต้นเพิ่มขึ้นตามอัตราการใส่ปุ๋ย กิจกรรมการตรึงไนโตรเจนของถั่วแดงหลวงในตำรับ control (0 mMN) ซึ่งประเมินจากดัชนียูริไอด์สัมพัทธ์หรือเปอร์เซนต์ ureide-N เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่มีอยู่ในน้ำเลี้ยงหรือเนื้อเยื่อของลำต้นแห้ง มีค่าสูงสุดในระยะ V_4 - R_2 โดยมีค่าประมาณ 86-90 % สำหรับในน้ำเลี้ยง และ 75-79 % สำหรับในเนื้อเยื่อ ดัชนีดังกล่าวลดลงตามระยะของการเจริญเติบโต แต่ยังคงมีค่าสูงประมาณ 76-79 % สำหรับในน้ำเลี้ยง และ 71-78 % สำหรับในเนื้อเยื่อตลอดระยะการเจริญเติบโตจนถึงระยะ R_6 การเพิ่มอัตราการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนทั้งในรูป NH_4^+ และ NO_3^- ทำให้ดัชนียูริไอด์สัมพัทธ์ของทั้งเนื้อเยื่อและ

น้ำเลี้ยงลดลงในทุกระยะของการเจริญเติบโต โดยการใส่ปุ๋ย NH_4^+-N ทำให้ดัชนียูริไอด์สัมพัทธ์ของเนื้อเยื่อของลำต้นสูงกว่าการใส่ NO_3^--N ในทุกอัตราและในทุกระยะของการเจริญเติบโต ปรากฏการณ์ดังกล่าวพบในตัวอย่างน้ำเลี้ยงของถั่วแดงหลวงในระยะ R_2-R_6 ที่มีการใส่ปุ๋ยในอัตราสูง (6 - 10 mMN) ด้วย สำหรับเปอร์เซนต์ของ NO_3^--N ในน้ำเลี้ยงที่ได้รับการใส่ปุ๋ย NO_3^--N เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญตามการเพิ่มขึ้นของอัตราการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน โดยมีปริมาณสูงสุดตลอดฤดูปลูกอยู่ในช่วงประมาณ 58 - 81 % ของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในน้ำเลี้ยง แต่ถั่วแดงหลวงที่ได้รับการใส่ NH_4^+-N มีปริมาณสูงสุดของ NO_3^--N ในน้ำเลี้ยงเพียง 20 - 40 % สำหรับ amino-N ปรากฏว่า ถั่วแดงหลวงซึ่งได้รับการใส่ปุ๋ย NH_4^+-N มีเปอร์เซนต์ของ amino-N สูงกว่า ถั่วแดงหลวงที่ได้รับปุ๋ยNO_3^--N

ดัชนียูริไอด์สัมพัทธ์ที่ได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำเลี้ยงมีสหสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับดัชนียูริไอด์สัมพัทธ์ที่ได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่างลำต้นแห้งในทุกระยะของการเจริญเติบโต เมื่อประเมินค่ายูริไอด์สัมพัทธ์ของตัวอย่างเนื้อเยื่อของลำต้นแห้ง โดยอาศัยสมการรีเกรสชั่นและใช้ค่าดัชนียูริไอด์สัมพัทธ์ที่ประเมินได้ในการคำนวนสัดส่วนของไนโตรเจนที่ได้จากการตรึง สามารถสร้างสมการมาตราฐานที่จะใช้คำนวนสัดส่วนของไนโตรเจนที่ได้จากการตรึงจากดัชนียูริไอด์สัมพัทธ์ของตัวอย่างลำต้นแห้งภายใต้สมมติฐานที่ว่าต้นถั่วได้รับไนโตรเจนจากดินในรูปของ NO_3^--N

ในการทดลองมีการทดสอบความเหมาะสมของสมการมาตรฐานดังกล่าว โดยการปลูกถั่วแดงหลวงในสภาพไร่นาโดยใช้พื้นที่สูงซึ่งมีสภาพแวดล้อมแตกต่างกัน 2 พื้นที่ ในแต่ละพื้นที่มีตำรับการทดลอง 5 อย่างคือ control ซึ่งไม่มีการใส่เชื้อไรโซเบียมและไม่มีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตรา 8 kgN/ไร่ และตำรับที่มีการใส่เชื้อไรโซเบียมแต่ละสายพันธุ์คือ CIAT 899 UMR 1899 และ isolate KN6 เพื่อศึกษาดัชนียูริไอด์สัมพัทธ์ ปริมาณและเปอร์เซนต์ไนโตรเจนที่ได้จากการตรึงของถั่วแดงหลวงในแต่ละตำรับ ผลของการทดลองพบว่า ดัชนียูริไอด์สัมพัทธ์ที่ได้จากการใช้การประเมินและที่ได้จากการวัดจริงจาก 2 พื้นที่ มีสหสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับปริมาณและเปอร์เซนต์ไนโตรเจนที่ได้จากการตรึงของถั่วแดงหลวงที่ปลูกในกระถางและในแปลงทดลองทั้ง 2 พื้นที่ ซึ่งประเมินได้จากวิธีการวิเคราะห์น้ำเลี้ยงและเนื้อเยื่อของลำต้นแห้งก็มีสหสัมพันธ์ซึ่งกันและกันอย่างมีนัยเช่นกัน โดยทั้ง 2 วิธีให้ข้อมูลที่ใกล้เคียงกันทั้งในแง่ปริมาณและเปอร์เซนต์ไนโตรเจนที่ได้จากการตรึง เมื่อใช้วิธีการวิเคราะห์ยูริไอด์ในตัวอย่างลำต้นแห้งในการวัดการตรึงไนโตรเจนพบว่า การทดลองในกระถางซึ่งมีการใช้สารละลายที่ปราศจากไนโตรเจนในการปลูกถั่วและมีการคลุกเชื้อไรโซเบียม ถั่วแดงหลวงสามารถตรึงไนโตรเจนได้ประมาณ 86 %

ของปริมาณไนโตรเจนที่สะสมอยู่ในต้นถั่วตั้งแต่เริ่มปลูกจนถึงระยะ R_6 ส่วนในแปลงทดลองซึ่งดินมีความอุดมสมบูรณ์สูงและมีน้ำชลประทาน สำหรับที่มีการตรึงไนโตรเจนได้ดีที่สุดคือสำหรับที่มีการใส่เชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ UMR 1899 ซึ่งให้ปริมาณไนโตรเจนที่ได้จากการตรึงประมาณ 11 kgN/ไร่ หรือประมาณ 63 % ของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่สะสมในต้นตั้งแต่เริ่มปลูกจนถึงระยะ R_6 สำหรับในแปลงทดลองที่มีที่ดินมีความอุดมสมบูรณ์ต่ำกว่า และใช้น้ำฝน สำหรับที่มีการใส่เชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ CIAT 899 และ UMR 1899 ไม่มีความแตกต่างกันในด้านปริมาณและเปอร์เซนต์ไนโตรเจนที่ได้จากการตรึง โดยทั้ง 2 ให้ปริมาณไนโตรเจนที่ได้จากการตรึงประมาณ 2.6 และ 2.3 kgN/ไร่ หรือประมาณ 46 และ 38 % ของปริมาณไนโตรเจนที่สะสมในต้นถั่วตั้งแต่ระยะปลูกจนถึงระยะ R_4 ตามลำดับ สำหรับถั่วแดงหลวงที่ไม่มีการใส่เชื้อไรโซเบียมมีการตรึงไนโตรเจนประมาณ 2.4 kgN/ไร่ หรือประมาณ 41 %ของปริมาณไนโตรเจนที่สะสมไว้ทั้งหมด

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

Thesis Title Measurement of N_2 Fixation of Red Kidney Bean Plant by Ureide Analysis of Dry Stem Sample

Author Miss. Jeraporn Intasan

M.S. (Agriculture) Soil Science

Examining Committee :

Assist. Prof. Dr. Ampan Bhromsiri	Chairman
Assist. Prof. Dr. Soonthorn Buranawiriyakul	member
Lecturer Phrek Gypmantasiri	member
Lecturer Dr. Somporn Choonluchanon	member

Abstract

Pot experiments were conducted to estimate N_2 - fixation of red kidney bean by analysis of ureide-N of dry tissue of stem. Mokcham variety of red kidney bean plants were grown in sand. Nutrient solution of Broughton and Dilworth with different concentrations of KNO_3 and $(NH_4)_2SO_4$ ranging from 0-10 mMN were applied to rhizobium inoculated bean plants. Mixed strains of *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* (CIAT 899, UMR 1899 and isolate KN 6) at the ratio of 1:1:1 were inoculated at the rate of 10^6 cell/seed. Increasing level of N from each N source caused significant reduction of nodule dry weight while dry weight and N uptake of shoot at each stage of growth increased significantly. N_2-fixation activities of the control plants (0 mMN) as evaluated by relative ureide index (% RUI) or percentage of ureide-N as compared to the total N content of the xylem sap or dry tissue of stem were at maximum about 86-90% for sap and 75-79 % for tissue at V_4-R_2 stage. The RUI of both xylem sap and tissue decreased with stage of growth but the high value of RUI about 76-79 % for sap and 71-78 % for tissue were still maintained throughout the growing season up to R_6-stage. Increasing rate of N application from both N sources, reduced significantly RUI of xylem sap and tissue at all stages of growth. The application of NH_4^+-N resulted in higher RUI value of the dry tissue than NO_3^--N at all rate of N applied and at all stages of growth. The same phenomenon was also observed for the xylem sap at the higher N rates (6-10 mMN) and at R_2-R_6 stage. While the percentage of NO_3^--N in the xylem sap of the bean receiving NO_3^--N fertilizer increased significantly with the increasing N rates and the maximum NO_3^--N content

of the xylem sap were ranged from 58-81 % of the total N, whereas the bean plants receving NH_4^+-N contained maximum percentage of NO_3^--N in the xylem sap of only 20-40 %. For amino-N,there were higher percentage of amino-N in the xylem sap of NH_4^+-N applied beans than those recieving NO_3^--N . Significant correlation between RUI from xylem sap and dry stem for each stage of growth was observed. The estimated RUI of the xylem sap was calculated from RUI of the dry tissue by using regression equation in order to estimate the proportion of N_2 fixed with the assumption that NO_3^--N was the main source of N taken up from soil by the bean plants. The calibrated equations for estimation of proportion of N_2 fixed from RUI of the dry tissue of stem were proposed. Validation of these equations were tested in the field experiments at 2 sites with different environments. At each site, the RUI,amount and % of N_2 fixed of the bean plants from 5 different treatments ,control,8 kgN/rai and three rhizobial inoculated treatments were compared. The inoculated strains were CIAT 899, UMR 1899 and isolate KN 6 . There were significant correlation between the observed and estimated values of RUI of xylem sap at both sites. The significant correlation between N_2 fixation measurement by ureide analysis of xylem sap and dry tissue of stem were also observed for the beans grown in pot experiment and in the fields. These two methods provides similar prediction of the amount and % of N_2 fixed. In the pot experiment with N free nutrient solution,the percentage of N_2 fixed of the inoculated bean estimateed by ureide analysis of dry tissue of stem was about 86 % of total N uptake from sowing to R_6 stage of growth. In the fertile soil with irrigation, the best fixation was obtained from UMR 1899 inoculated bean with 11 kgN/rai of N_2 fixed or 63 % of total N accumulated in the shoot from sowing upto R_6 stage. For unfertile soil in the rainfed area the amounts of N_2 fixed between CIAT 899 and UMR 1899 were not different. The amount of N_2 fixed by these two inoculated treatments were 2.6 and 2.3 kgN/rai or 46 and 38 % of the total N uptake from sowing to R_4 stage respectively, while the fixed N of the uninoculated control bean was 2.4 kgN/rai or 41 % of the total N uptake .