



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การพ่นปุ๋ยสังกะสีทางใบข้าวเพื่อเพิ่มปริมาณธาตุสังกะสีในเมล็ดข้าว
และความเป็นประโยชน์ทางโภชนาการ

โดย

รองศาสตราจารย์.ดร.ชนากานต์ เทโบลต์ พรหมอุทัย

สาขาวิชาพืชไร่ ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

30 เมษายน 2563

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การพ่นปุ๋ยสังกะสีทางใบข้าวเพื่อเพิ่มปริมาณธาตุสังกะสีในเมล็ดข้าว
และความเป็นประโยชน์ทางโภชนาการ

ผู้วิจัย

รองศาสตราจารย์ ดร.ชนากานต์ เทโบลต์ พรมอทัย

สาขาวิชาพืชไร่ ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและมหาวิทยาลัยเชียงใหม่
(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. และ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

Project Code: RSA6080024

Project Title: Improving zinc concentration and bioavailability in rice grain by foliar zinc fertilizer application

การพ่นปุ๋ยสังกะสีทางใบข้าวเพื่อเพิ่มปริมาณธาตุสังกะสีในเมล็ดข้าวและความเป็นประโยชน์ทางโภชนาการ

Investigator: Associate Prof. Dr. Chanakan Thebault PROM-U-THAI

Agronomy Division, Department of Plant and Soil Sciences, Faculty of Agriculture,
Chiang Mai University

รองศาสตราจารย์ ดร. ชนาکانต์ เทโบลต์ พรหมอุทัย

สาขาวิชาพืชไร่ ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

E-mail Address: chanakan.p@cmu.ac.th; chanakan15@hotmail.com

Project Period: 3 years (30 May 2560 – 29 May 2563)

3 ปี (30 พฤษภาคม 2560 – 29 พฤษภาคม 2563)

Keywords: Zinc, Rice, Bio-fortification, Bioavailability, Foliar fertilizer, water condition

ธาตุสังกะสี ข้าว การเติมธาตุอาหารด้วยวิธีชีวภาพ ความเป็นประโยชน์ทางโภชนาการ ทางพ่นปุ๋ยทางใบ สภาพน้ำ

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้การร่วมทุนสนับสนุนโครงการวิจัยเรื่อง “การฟื้นฟูสุขภาพของเกษตรกรเพื่อเพิ่มปริมาณธาตุสังกะสีในเมล็ดข้าวและความเป็นประโยชน์ทางโภชนาการ” ภายใต้ทุนพัฒนานักวิจัยจนโครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้เป็นอย่างดี โครงการวิจัยนี้ยังได้เป็นการร่วมงานวิจัยกับอีกหลายโครงการที่มีความเกี่ยวข้องและเชื่อมโยงกัน เช่น โครงการปริญญาเอกกาญจนาภิเษก ที่สนับสนุนโดย สกว. โดยมีข้าพเจ้าเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา โครงการพัฒนานักวิจัยหลังปริญญาเอก และโครงการวิจัยการใช้ปุ๋ยสังกะสีในข้าวในประเทศไทย ที่สนับสนุนโดยสมาคมธาตุสังกะสี ซึ่งทำให้มีขอบข่ายของงานวิจัยที่กว้างขึ้น และได้องค์ความรู้ที่สามารถจะนำไปต่อยอดงานวิจัยอื่นต่อไปได้

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม และ รองศาสตราจารย์ ดร.ศันสนีย์ จำจด ในการเป็นที่ปรึกษางานวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณ ดร.สิทธิเสวต ลอดแก้ว ศูนย์วิจัยระบบทรัพยากรเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในเรื่องการวิเคราะห์ธาตุอาหารในห้องปฏิบัติการ ดินและพืช รวมทั้งการช่วยเหลือจากผู้ช่วยนักวิจัยในโครงการ เจ้าหน้าที่ นักวิจัย ลูกศิษย์ทุกคนจาก CMUPN/ab สาขาวิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ทำให้โครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงตามเป้าหมายที่วางเอาไว้

รองศาสตราจารย์ ดร. ชนาภานต์ เทโบลต์ พรมอุทัย

เมษายน 2563

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
สารบัญเรื่อง	ข
สารบัญตาราง	ง
สารบัญภาพ	ฉ
บทคัดย่อภาษาไทย	ฅ
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ญ
บทนำ	1
อุปกรณ์และวิธีการ	3
การทดลองที่ 1 อิทธิพลของการใส่ปุ๋ยสังกะสีและไนโตรเจนต่อผลผลิต และความเข้มข้นธาตุสังกะสีในเมล็ดข้าวพันธุ์ข้าวไร่ และข้าวนาสวนที่ปลูกในสภาพน้ำขังและแอโรบิก	3
การทดลองที่ 2 ผลของการพ่นปุ๋ยสังกะสีต่อผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิต ในข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ในปี 2559 และ 2560	5
การทดลองที่ 3 การตอบสนองของพันธุ์ข้าวไร่และข้าวนาสวน ของการพ่นปุ๋ยทางใบในข้าวที่ปลูกภายใต้สภาพน้ำขัง และไม่ขังน้ำต่อผลผลิตและการสะสมธาตุสังกะสีในเมล็ดข้าว	6
ผลการทดลอง	9
การทดลองที่ 1 อิทธิพลของการใส่ปุ๋ยสังกะสีและไนโตรเจนต่อผลผลิต และความเข้มข้นธาตุสังกะสีในเมล็ดข้าวพันธุ์ข้าวไร่ และข้าวนาสวนที่ปลูกในสภาพน้ำขังและแอโรบิก	9
การทดลองที่ 2 ผลของการพ่นปุ๋ยสังกะสีต่อผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิต ในข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ในปี 2559 และ 2560	17
การทดลองที่ 3 การตอบสนองของพันธุ์ข้าวไร่และข้าวนาสวน ของการพ่นปุ๋ยทางใบในข้าวที่ปลูกภายใต้สภาพน้ำขัง และไม่ขังน้ำต่อผลผลิตและการสะสมธาตุสังกะสีในเมล็ดข้าว	27
บทวิจารณ์	47
การทดลองที่ 1 อิทธิพลของการใส่ปุ๋ยสังกะสีและไนโตรเจนต่อผลผลิต และความเข้มข้นธาตุสังกะสีในเมล็ดข้าวพันธุ์ข้าวไร่ และข้าวนาสวนที่ปลูกในสภาพน้ำขังและแอโรบิก	47

สารบัญเรื่อง

	หน้า
การทดลองที่ 2 ผลของการพ่นปุ๋ยสังกะสีต่อผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิต ในข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ในปี 2559 และ 2560	51
การทดลองที่ 3 การตอบสนองของพันธุ์ข้าวไร่และข้าวนาสวน ของการพ่นปุ๋ยทางใบในข้าวที่ปลูกภายใต้สภาพน้ำขัง และไม่ขังน้ำต่อผลผลิตและการสะสมธาตุสังกะสีในเมล็ดข้าว	54
เอกสารอ้างอิง	59
ผลงานตีพิมพ์ระหว่างดำเนินโครงการ	67
เอกสารแนบ	69

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.1	การจัดการปุ๋ยสังกะสีร่วมกับไนโตรเจนและสัญลักษณ์ของแต่ละกรรมวิธีการจัดการ	3
1.2	รายละเอียดคำอธิบายการจัดการปุ๋ยแต่ละแบบในสภาพขังน้ำและแอโรบิก	7
2.1	ความเข้มข้นสังกะสีในใบ YEB และใบธงที่ระยะการเจริญเติบโตต่าง ๆ ของพันธุ์กำหอม มช. และพันธุ์ชัณหา 1 ที่ปลูกภายใต้การจัดการธาตุอาหารและน้ำแตกต่างกัน	14
2.2	ความเข้มข้นสังกะสีในใบที่ระยะการเจริญเติบโตต่าง ๆ ของพันธุ์กำหอม มช. และพันธุ์ชัณหา 1 ที่ปลูกภายใต้การจัดการธาตุอาหารและน้ำแตกต่างกัน	15
2.3	3 ความเข้มข้นสังกะสีในลำต้นที่ระยะการเจริญเติบโตต่าง ๆ ของข้าวพันธุ์กำหอม มช. และพันธุ์ชัณหา 1 ภายใต้การจัดการธาตุอาหารและน้ำแตกต่างกัน	16
2.4	องค์ประกอบผลผลิตของข้าว 2 พันธุ์ ที่ปลูกในปี 2559 และ 2560	18
2.5	ความเข้มข้นสังกะสี ความเข้มข้นของไฟเตท และอัตราส่วนความเข้มข้นสังกะสีต่อความเข้มข้นไฟเตทของข้าว 2 พันธุ์ ที่ปลูกในปี 2559	21
2.6	ความเข้มข้นสังกะสี ความเข้มข้นของไฟเตท และอัตราส่วนความเข้มข้นสังกะสีต่อความเข้มข้นไฟเตทของข้าว 2 พันธุ์ ที่ปลูกในปี 2560	22
2.7	ความแปรปรวน (analysis of variance) ของผลผลิตเมล็ด น้ำหนักแห้งฟาง ดัชนีการเก็บเกี่ยว ต่อการจัดการน้ำและปุ๋ยในข้าว 2 พันธุ์	27
2.8	ความแปรปรวน (analysis of variance) ขององค์ประกอบผลผลิตต่อการจัดการน้ำและปุ๋ยในข้าวพันธุ์ชัณหา 1 และกำหอม มช.	30
2.9	ความแปรปรวน (analysis of variance) ในการจัดการน้ำและปุ๋ยต่อความเข้มข้นของธาตุอาหารในเมล็ดข้าวกล้องของข้าวพันธุ์ชัณหา 1 และกำหอม มช.	35

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.10	ความแปรปรวน (analysis of variance) ในการจัดการน้ำและปุ๋ยต่อ ความเข้มข้นของธาตุสังกะสีและเหล็กในเมล็ดข้าวกล้องของข้าวพันธุ์ ชัยนาท 1 และกำหอม มช.	38
2.11	ความแปรปรวน (analysis of variance) ในการจัดการน้ำและปุ๋ยต่อ ปริมาณของธาตุอาหารเมล็ดข้าวกล้องของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำ หอม มช.	41

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ผลผลิตข้าวไร่พันธุ์กำหอม มช. และข้าวนาสวนพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ปลูกภายใต้สภาพการจัดการธาตุอาหาร (a) และการจัดการน้ำ (b) แตกต่างกัน	9
2	ความเข้มข้นสังกะสี (a) แลไนโตรเจน (b) ในเมล็ดข้าวกล้องพันธุ์กำหอม มช. และพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ปลูกภายใต้สภาพการจัดการธาตุอาหารและการจัดการน้ำแตกต่างกัน	11
3	ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสังกะสีและไนโตรเจนในเมล็ดข้าวกล้องพันธุ์กำหอม มช. และพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ปลูกภายใต้การจัดการธาตุอาหารและน้ำแตกต่างกัน	12
4	ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสังกะสีและผลผลิตเมล็ดข้าวพันธุ์กำหอม มช. และพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ปลูกภายใต้การจัดการธาตุอาหารและน้ำแตกต่างกัน	13
5	ผลผลิต (A) และน้ำหนักแห้งฟาง (B) ของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำดอยสะเกิดที่ปลูกในปีที่แตกต่างกัน (ปี 2559 และ 2560)	17
6	ความสัมพันธ์ของความเข้มข้นสังกะสีและผลผลิต (a, b) ความเข้มข้นไฟเตทและผลผลิต (c, d) และความเข้มข้นสังกะสีและอัตราส่วนความเข้มข้นสังกะสีกับความเข้มข้นไฟเตท (e, f) ของข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ภายใต้อัตราการใช้ปุ๋ยสังกะสีระดับต่าง ๆ	24
7	ความสัมพันธ์ของความเข้มข้นสังกะสีและผลผลิตเมล็ด (a, b) ความเข้มข้นไฟเตทและผลผลิต (c, d) และความเข้มข้นสังกะสีและความเข้มข้นไฟเตท (e, f) ของข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ที่ปลูกในปี 2559 และ 2560	25
8	ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสังกะสีและผลผลิต (a, b) ความเข้มข้นไฟเตทและผลผลิต (c, d) และความเข้มข้นสังกะสีและอัตราส่วนความเข้มข้นสังกะสีต่อความเข้มข้นไฟเตท (e, f) ในข้าวทั้ง 2 พันธุ์	26
9	ผลผลิตเมล็ดในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มช. ที่เฉลี่ยจากการจัดการน้ำและปุ๋ยแต่ละกรรมวิธี	28
10	น้ำหนักแห้งฟางในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มช. เฉลี่ยจากการจัดการน้ำและปุ๋ยแต่ละกรรมวิธี	28

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
11	น้ำหนักแห้งฟางปลูกในสภาพการจัดการน้ำแบบน้ำขังและแอโรบิก และมีการจัดการปุ๋ยแตกต่างกัน	29
12	ดัชนีการเก็บเกี่ยวในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มข. เฉลี่ยจากการจัดการน้ำและปุ๋ยแต่ละกรรมวิธี	29
13	ความสูงต้นของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มข. ที่ปลูกในสภาพการจัดการน้ำแบบน้ำขังและแอโรบิก และมีการจัดการปุ๋ยแตกต่างกัน	31
14	จำนวนหน่อตอกในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มข. ที่ปลูกในสภาพการจัดการน้ำแบบน้ำขังและแอโรบิก และมีการจัดการปุ๋ยแตกต่างกัน	32
15	จำนวนรวงตอกในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มข. ที่ปลูกในสภาพการจัดการน้ำแบบน้ำขังและแอโรบิก และมีการจัดการปุ๋ยแตกต่างกัน	33
16	น้ำหนัก 1,000 เมล็ดในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มข. ที่ปลูกในสภาพการจัดการน้ำแบบน้ำขังและแอโรบิก และมีการจัดการปุ๋ยแตกต่างกัน	34
17	ความเข้มข้นไนโตรเจนในเมล็ดข้าวกล้องที่ปลูกในสภาพการจัดการน้ำแบบน้ำขังและแอโรบิก และมีการจัดการปุ๋ยแตกต่างกัน	36
18	ความเข้มข้นฟอสฟอรัสในเมล็ดข้าวกล้องในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มข. ที่ปลูกในสภาพการจัดการน้ำแบบน้ำขังและแอโรบิก และมีการจัดการปุ๋ยแตกต่างกัน	37
19	ความเข้มข้นโพแทสเซียมในเมล็ดข้าวกล้องในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มข. ที่เฉลี่ยจากการจัดการน้ำและปุ๋ยแต่ละกรรมวิธี	38
20	ความเข้มข้นเหล็กในเมล็ดข้าวกล้องในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มข. ที่ปลูกในสภาพการจัดการน้ำแบบน้ำขังและแอโรบิก และมีการจัดการปุ๋ยแตกต่างกัน	39
21	ความเข้มข้นสังกะสีในเมล็ดข้าวกล้องในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มข. ที่ปลูกในสภาพการจัดการน้ำแบบน้ำขังและแอโรบิก และมีการจัดการปุ๋ยแตกต่างกัน	40
22	ปริมาณไนโตรเจนในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มข. เฉลี่ยจากการจัดการน้ำและปุ๋ยแต่ละกรรมวิธี	42

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
23	ปริมาณโพแทสเซียมในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มช. เฉลี่ยจากการจัดการน้ำและปุ๋ยแต่ละกรรมวิธี	42
24	ปริมาณเหล็กในเมล็ดข้าวกล้องที่ปลูกในสภาพการจัดการน้ำแบบน้ำขังและแอโรบิก และมีการจัดการปุ๋ยแตกต่างกัน	43
25	ความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตเมล็ดและความเข้มข้นไนโตรเจนในเมล็ดในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มช.	44
26	ความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตเมล็ดและความเข้มข้นฟอสฟอรัสในเมล็ดในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มช.	45
27	ความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตเมล็ดและความเข้มข้นโพแทสเซียมในเมล็ดในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มช.	45
28	ความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตเมล็ดและความเข้มข้นเหล็กในเมล็ดในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มช.	46
29	ความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตเมล็ดและความเข้มข้นสังกะสีในเมล็ดในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มช.	46

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: RSA6080024

ชื่อโครงการ: การพ่นปุ๋ยสังกะสีทางใบข้าวเพื่อเพิ่มปริมาณธาตุสังกะสีในเมล็ดข้าวและความเป็นประโยชน์ทางโภชนาการ

ชื่อนักวิจัย: รองศาสตราจารย์ ดร.ชนากานต์ เทโบลต์ พรมอทัย

Email address: chanakan.p@cmu.ac.th; chanakan15@hotmail.com

ระยะเวลาโครงการ: 3 ปี (30 พฤษภาคม 2560 – 29 พฤษภาคม 2563)

การขาดธาตุสังกะสีเป็นปัญหาที่ส่งผลกระทบเป็นอย่างมากกับประชากรในแถบภูมิภาคเอเชียที่บริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก เนื่องจากข้าวเป็นพืชอาหารหลักที่มีปริมาณธาตุสังกะสีน้อยมากเมื่อเทียบกับพืชอาหารหลักอื่น การเพิ่มปริมาณธาตุสังกะสีในเมล็ดข้าวด้วยวิธีการที่ยั่งยืนสามารถทำได้ด้วยการใส่ปุ๋ยสังกะสีทั้งแบบการใส่ทางดินและพ่นทางใบในระหว่างที่ข้าวกำลังออกดอก ซึ่งประสิทธิภาพของวิธีการดังกล่าวถูกกำหนดด้วยหลายปัจจัยทั้งด้านพันธุกรรมและสภาพแวดล้อม โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) ประเมินอิทธิพลของการใส่ปุ๋ยสังกะสีร่วมกับไนโตรเจนทางดินต่อผลผลิตและการสะสมสังกะสีในเมล็ดข้าวในพันธุ์ข้าวนาสวนและข้าวไร่ที่ปลูกในสภาพน้ำขังและไม่ขังน้ำ 2) ประเมินประสิทธิภาพของการพ่นปุ๋ยสังกะสีใน 2 ถูปลูกต่อผลผลิตและการสะสมสังกะสีในเมล็ด และ 3) ประเมินการตอบสนองของพันธุ์ข้าวนาสวนและข้าวไร่ต่อการจัดการปุ๋ยสังกะสีร่วมกับธาตุอาหารอื่นทางใบที่ปลูกในสภาพน้ำขังและไม่ขังน้ำต่อผลผลิตและการสะสมธาตุอาหารในเมล็ด ทั้ง 3 การทดลองพบความแตกต่างกันในการดูดใช้ การกระจาย การแบ่งปันและการสะสมธาตุสังกะสีในส่วนต่าง ๆ ของต้นข้าว ส่งผลให้การสะสมธาตุสังกะสีในเมล็ดแตกต่างกัน การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนร่วมกับสังกะสีทางดินสามารถเพิ่มผลผลิตได้ 10-28% และเพิ่มการสะสมสังกะสีในเมล็ดข้าวได้ 46-98% ขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าวและสภาพน้ำ การพ่นสังกะสีทางใบด้วยอัตราต่ำ 0.1-0.4% ZnSO_4 ไม่ได้เพิ่มผลผลิตในข้าวแต่สามารถเพิ่มการสะสมสังกะสีในเมล็ดได้ 11-32% ทั้งในข้าวไร่และข้าวนาสวน ขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าว อัตราการพ่นปุ๋ยและสภาพอากาศในแต่ละฤดูกาล นอกจากนี้พบว่าการพ่นปุ๋ยสังกะสีร่วมกับไนโตรเจน สามารถส่งเสริมการสะสมธาตุสังกะสีและเหล็กเพิ่มมากขึ้นด้วย องค์ความรู้ที่ได้จากการวิจัยนี้เป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการจัดการธาตุอาหารในข้าวเพื่อเพิ่มผลผลิตและการสะสมธาตุสังกะสีในเมล็ดข้าว ซึ่งเป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถแก้ปัญหาประชากรที่ขาดธาตุสังกะสีได้ ในอนาคตควรศึกษาผลกระทบทางสรีรวิทยาเชิงลึก ชีวเคมี และชีวโมเลกุล เพื่อหาคำตอบการทำงานร่วมกันระหว่างธาตุสังกะสีและธาตุอาหารชนิดอื่น นอกจากนี้จะได้เป็นหัวข้องานวิจัยให้นักศึกษาทั้งระดับปริญญาตรี โท เอก และนักวิจัยหลังปริญญาแล้ว งานวิจัยนี้ได้ตีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารระดับนานาชาติจำนวน 6 เรื่อง

Abstract

Project Code: RSA6080024

Project Title: Improving zinc concentration and bioavailability in rice grain by foliar zinc fertilizer application

Investigator: Associate Prof. Dr. Chanakan Thebault Prom-u-thai

Email address: chanakan.p@cmu.ac.th; chanakan15@hotmail.com

Project Period: 3 years (30 May 2018 – 29 May 2020)

Zinc deficiency is an important human health which has been severely affected on the population in Asia, where people largely consume rice as staple food. Rice grain contains very low Zn level, supplying inadequate Zn in their daily meals. Foliar Zn fertilizer is suggested as a potential strategy to improve grain yield and Zn concentration, but it can be influenced by many factors during rice cultivation. This research aimed to 1) evaluate effects of combined soil Zn and N fertilizer on grain yield and zinc concentration in wetland and upland rice varieties grown in the waterlogged and well drained conditions, 2) evaluate the efficacy of foliar zinc application on grain yield and zinc concentration of rice varieties grown in 2 different cropping years, and 3) evaluate responses of rice varieties to foliar zinc fertilizer managements and growing condition on grain yield and zinc accumulation. The results showed that applying combined Zn and N fertilizer increased grain yield by 10-28% and grain Zn concentration by 46-98% depending on variety and soil condition. Foliar Zn application at 0.1-0.4% ZnSO_4 was not affected on grain yield but grain increased Zn concentration increased by 11-32% but varied with variety, zinc rate and cropping years. Foliar zinc with nitrogen fertilizer increased grain zinc and iron. The results from this study would be very useful information for nutrient management in rice cultivation for improving grain yield and zinc concentration which would help to solve the problem with zinc deficiency among the population. Future study is requiring to investigate the in depth physiology, biochemistry and molecular biology for further explaining the mechanisms. This projects had involved many under and post graduate students as well as postdoctoral research fellows. There were 6 publications from this research project published in an international journals.

บทนำ

ปัญหาการขาดธาตุสังกะสีในประชากรนับว่ามีความสำคัญเป็นอย่างมาก มีการประมาณว่าประชากรในแถบภูมิภาคเอเชียซึ่งบริโภคข้าวเป็นอาหารหลักได้รับผลกระทบดังกล่าวมากถึง 95.4% ของประชากรทั้งหมด (Hettiarachchi et al. 2004) โดยปัญหาดังกล่าวมีสาเหตุหลักมาจากข้าวที่บริโภคเป็นอาหารหลักและเป็นปริมาณมากนั้นมีปริมาณธาตุสังกะสีต่ำมากเมื่อเทียบกับพืชอาหารหลักอื่น ๆ ทำให้ผู้บริโภคข้าวได้รับธาตุสังกะสีในร่างกายต่ำไปด้วย (Choudhury 1991; Prom-uthai et al. 2008) การขาดธาตุสังกะสีทำให้มีผลต่อการสร้างภูมิคุ้มกันในร่างกาย ทำให้สามารถติดเชื้อได้ง่าย ซึ่งมีผลทำจำกัดการเจริญเติบโตของร่างกายในวัยเด็ก ยับยั้งการรับรู้ทางประสาทสัมผัสต่าง ๆ การรับรส กลิ่น ความทรงจำ และการพัฒนาการของสเปิร์มในผู้ใหญ่ (Hotz and Brown 2004; Rosado 2003) การลดปัญหาการขาดธาตุสังกะสีสำหรับประชากร โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับประชากรที่ไม่มีโอกาสในการบริโภคอาหารอื่น ๆ ที่มีธาตุสังกะสีสูง เช่นการบริโภคเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากสัตว์ รวมทั้งอาหารทะเล ซึ่งมีผู้เชี่ยวชาญได้ให้คำแนะนำว่าหลายวิธีการน่าจะสามารถแก้ปัญหาได้ เช่น การให้ยาหรืออาหารเสริมธาตุสังกะสี การเติมธาตุสังกะสีโดยตรงในอาหารที่บริโภค (Brown et al., 2002) การตัดต่อยีน และการจัดการในการปลูกพืชอาหารหลักเพื่อให้มีปริมาณธาตุสังกะสีสูง (Cakmak 2008; Pfeiffer and McClafferty 2007) อย่างไรก็ตาม การเสริมธาตุสังกะสีในรูปของอาหารเสริมและการเติมสังกะสีโดยตรงในอาหารอาจเป็นวิธีการในการแก้ปัญหาที่มีราคาแพงมากในระยะยาว และเป็นวิธีการที่ไม่สามารถแก้ปัญหาได้อย่างยั่งยืน ประกอบกับต้องได้รับคำแนะนำที่ถูกต้องในการปฏิบัติและบริโภคจึงจะได้ผลตามประสิทธิภาพที่ตั้งไว้ ในขณะที่การตัดต่อยีนเพื่อเพิ่มปริมาณธาตุอาหารหลักยังไม่ได้รับการยอมรับอย่างมากถึงผลกระทบในระยะยาวในกลุ่มผู้บริโภคทั่วไป ดังนั้นการจัดการในการปลูกพืชอาหารหลักเพื่อเพิ่มปริมาณธาตุสังกะสีจึงน่าจะมีศักยภาพสูงสุด มีการยอมรับมากกว่าและสามารถทำได้ง่ายสำหรับเกษตรกรทั่วไป (Cakmak 2008) งานวิจัยในข้าวสาลีที่เป็นหนึ่งในพืชอาหารหลักของประชากรโลกพบว่า การพ่นสังกะสีทางใบสามารถเพิ่มได้ทั้งผลผลิตและมีปริมาณสังกะสีในเมล็ดเพิ่มมากขึ้น 3-4 เท่า จากข้าวสาลีที่ไม่มีการพ่นสังกะสีทางใบ (Cakmak 2008) ส่วนงานวิจัยในข้าวพบว่า การพ่นสังกะสีทางใบสามารถเพิ่มปริมาณการสะสมสังกะสีในเมล็ดข้าวได้เช่นเดียวกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพื้นที่ที่ดินปลูกพืชมีปัญหาในการขาดธาตุสังกะสี (Boonchuay et al. 2013; Phattarakul et al. 2012) อย่างไรก็ตาม แม้ว่าการพ่นปุ๋ยสังกะสีทางใบจะเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพและสามารถเพิ่มปริมาณสังกะสีในเมล็ดข้าว แต่คาดว่าจะมีอีกหลายปัจจัยทั้งพันธุ์ข้าวเองและสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ที่มีผลต่อการสร้างผลผลิตและการสะสมสังกะสีในเมล็ดข้าวในการพ่นสังกะสีทางใบ โดยมีรายงานพบว่าการพ่นสังกะสีในใบข้าวที่สามารถเพิ่มปริมาณสังกะสีในเมล็ดข้าวได้สูงสุดต้องพ่นในระยะข้าวออกดอก (Boonchuay et al. 2013) โดยพบว่าการพ่นสังกะสีทางใบสามารถเพิ่มสังกะสีได้ทั้งใน

ข้าวเปลือก ข้าวกล้องและข้าวขาวที่ผ่านการขัดสีแล้ว โดยการพ่นทางใบมีประสิทธิภาพมากแม้ว่าดินมีความแตกต่างของคุณสมบัติทางเคมีและสภาพแวดล้อมอื่น ๆ และการจัดการที่มีความแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ รวมทั้งพันธุ์ข้าวที่มีความแตกต่างกันในแต่ละภูมิภาคด้วย (Phattarakul et al. 2012) ในขณะที่ยังไม่มีการศึกษาถึงความแตกต่างในเรื่องของการจัดการสภาพการปลูกแบบขังน้ำและไม่ขังน้ำ ในพื้นที่ข้าวไร่และข้าวนาสวน รวมถึงการพ่นสังกะสีทางใบร่วมกับธาตุอาหารอื่น ๆ ซึ่งน่าจะเป็นข้อมูลที่มีประโยชน์เป็นอย่างมากในการจัดการปลูกข้าวโดยการพ่นสังกะสีทางใบเพื่อเพิ่มผลผลิตและการสะสมธาตุสังกะสีในเมล็ดข้าว ในขณะเดียวกันการเพิ่มสังกะสีในเมล็ดข้าวจะไม่มีประโยชน์แต่อย่างใดหากสังกะสีที่สะสมนั้นอยู่ในรูปที่ร่างกายไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ สำหรับงานวิจัยในข้าวสาลีพบว่าปริมาณกรดไฟติกที่สะสมในเมล็ดข้าว เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ร่างกายไม่สามารถนำสังกะสีไปใช้ประโยชน์ในการโภชนาการได้ โดยการพ่นสังกะสีทางใบทำให้ปริมาณสังกะสีในเมล็ดเพิ่มขึ้นสามารถทำให้สัดส่วนระหว่างสังกะสีและกรดไฟติกในเมล็ดข้าวสาลิลดลงได้ในสัดส่วนน้อยกว่า 10-15 (Wang et al. 2011) ซึ่งเป็นสัดส่วนที่ร่างกายสามารถนำสังกะสีไปใช้ประโยชน์ได้ โดยไม่มีการจำกัดโดยกรดไฟติก สำหรับงานวิจัยในข้าวยังไม่พบการรายงานผลของผลจากการพ่นสังกะสีทางใบต่อการสะสมกรดไฟติกและสัดส่วนของสังกะสีและกรดไฟติกที่จะส่งผลต่อความเป็นประโยชน์ทางโภชนาการของธาตุสังกะสีที่ร่างกายได้รับจากการบริโภคข้าว งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อวัดผลของการพ่นสังกะสีทางใบต่อผลผลิตและการสะสมสังกะสีในข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ที่ปลูกในสภาพแตกต่างกัน และผลในการเป็นประโยชน์ทางโภชนาการของธาตุสังกะสีในเมล็ดข้าว

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองที่ 1 อิทธิพลของการใส่ปุ๋ยสังกะสีและไนโตรเจนต่อผลผลิตและความเข้มข้นธาตุสังกะสีในเมล็ดข้าวพันธุ์ข้าวไร่และข้าวนาสวนที่ปลูกในสภาพน้ำขังและแอโรบิก

การวิจัยนี้ทดลอง ณ แปลงทดลองพืชไร่ ศูนย์วิจัย สาธิตและฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในระหว่างเดือนสิงหาคม – ธันวาคม พ.ศ. 2559 วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design: CRD) จำนวน 3 ซ้ำ โดยมีทั้งหมด 3 ปัจจัยดังนี้ ปัจจัยที่ 1 การจัดการปุ๋ยสังกะสีร่วมกับไนโตรเจน โดยแบ่งการจัดการเป็น 3 แบบ ดังตารางที่ 1.1

ตารางที่ 1.1 การจัดการปุ๋ยสังกะสีร่วมกับไนโตรเจนและสัญลักษณ์ของแต่ละกรรมวิธีการจัดการ

การจัดการปุ๋ย	สัญลักษณ์
ใส่ปุ๋ย N P K ในอัตราปกติที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตของข้าวตามอัตราแนะนำคือ ใส่ปุ๋ยยูเรีย (urea) ในอัตรา 30 กิโลกรัมต่อไร่, ฟอสฟอรัส (P_2O_5) ในอัตรา 30 กิโลกรัมต่อไร่ และโพแทสเซียม (K_2O) ในอัตรา 30 กิโลกรัมต่อไร่ แต่ไม่ใส่ปุ๋ยสังกะสี	Low N
ใส่ปุ๋ย N P K ในอัตราปกติที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตของข้าวตามอัตราแนะนำคือ ใส่ปุ๋ยยูเรีย (urea) ในอัตรา 30 กิโลกรัมต่อไร่, ฟอสฟอรัส (P_2O_5) ในอัตรา 30 กิโลกรัมต่อไร่ และโพแทสเซียม (K_2O) ในอัตรา 30 กิโลกรัมต่อไร่ และใส่ปุ๋ยสังกะสี ($ZnSO_4$) ในอัตรา 8 กิโลกรัมต่อไร่	Low N+Zn
ใส่ปุ๋ย N P K ในอัตราปกติที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตของข้าวตามอัตราแนะนำคือ ใส่ปุ๋ยยูเรีย (urea) ในอัตรา 60 กิโลกรัมต่อไร่, ฟอสฟอรัส (P_2O_5) ในอัตรา 30 กิโลกรัมต่อไร่ และโพแทสเซียม (K_2O) ในอัตรา 30 กิโลกรัมต่อไร่ และใส่ปุ๋ยสังกะสี ($ZnSO_4$) ในอัตรา 8 กิโลกรัมต่อไร่	High N+Zn

ปัจจัยที่ 2 การจัดการสภาพการปลูกแบบน้ำขังและไม่ขังน้ำ

ปัจจัยที่ 3 พันธุ์ข้าว จำนวน 2 พันธุ์ คือ ข้าวไร่ (พันธุ์กำหอม มช.) และข้าวนาสวน (พันธุ์ชัยนาท 1)

การปลูกข้าว

เพาะกล้าข้าวทั้งสองพันธุ์เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายกล้าลงปลูกในกระถางซีเมนต์ที่ใส่ดินเตรียมไว้ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของกระถางคือ 80 เซนติเมตร สูง 40 เซนติเมตร บรรจุดินประมาณกระถางละ 160 กิโลกรัม ปลูกกล้าข้าวทั้งสองพันธุ์จำนวนพันธุ์ละ 6 ต้นโดย 1 กระถาง มี 12 ต้น ระยะปลูก 25 x 25 เซนติเมตร ปลูกแบบต้นเดียว โดยเก็บตัวอย่างดินที่ใช้ในการทดลองปลูกข้าว นามาวิเคราะห์คุณสมบัติต่าง ๆ ทางเคมีของดินคือ pH, available P, available K และอินทรีย์วัตถุ โดยแต่ละกรรมวิธีมีการจัดการน้ำ 2 แบบคือแบบน้ำขังและไม่ขังน้ำ ในกรรมวิธีที่น้ำขังเริ่มขังน้ำในกระถางตั้งแต่ระยะต้นกล้าจนถึงระยะสุกแก่ โดยรักษาระดับน้ำให้อยู่ในระดับต่ำกว่าขอบกระถาง 2.5 เซนติเมตร ในสภาพไม่ขังน้ำหรือแอโรบิก รักษาความชื้นในดินโดยมีการให้น้ำวันละ 2 ครั้งเช้าและเย็นต่อวันโดยรักษาระดับความชื้นดินให้อยู่ในระดับความจุความชื้นสนามจนกระทั่งถึงระยะเก็บเกี่ยว แบ่งใส่ปุ๋ยยูเรีย ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียม จำนวน 3 ครั้ง ครั้งละเท่า ๆ กัน คือครั้งแรกใส่ระยะแตกกอ ครั้งที่สองใส่ระยะกำเนิดช่อดอก และครั้งที่สามใส่ระยะออกดอก

การบันทึกข้อมูล

เก็บบันทึกข้อมูลองค์ประกอบผลผลิต ได้แก่ จำนวนหน่อตอกอ จำนวนรวงตอกอ จำนวนเมล็ดลีบต่อรวง และจำนวนเมล็ดดีต่อรวง น้ำหนักเมล็ดข้าวจำนวน 1,000 เมล็ด และดัชนีการเก็บเกี่ยว เก็บตัวอย่างพืช เพื่อวิเคราะห์ความเข้มข้นธาตุสังกะสีและวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด จำนวน 4 ระยะได้แก่ ระยะแตกกอ ระยะกำเนิดช่อดอก ระยะ 15 วันหลังออกดอก และระยะสุกแก่ โดยแยกส่วนของลำต้น ใบ ใบธง และเมล็ด ในส่วนของเมล็ดทำการแกะตัวอย่างเมล็ดข้าวเพื่อแยกส่วนของเปลือกและข้าวกล้อง โดยใช้มือเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของสังกะสี จากนั้นนำตัวอย่างข้าวในแต่ละส่วนไปอบที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส ประมาณ 72 ชั่วโมง จากนั้นชั่งน้ำหนักแห้งพร้อมบันทึกข้อมูล ในส่วนของเมล็ดข้าวที่เป็นผลผลิตนำมาลดความชื้นให้เหลือร้อยละ 14 ชั่งน้ำหนักพร้อมบันทึกข้อมูล

การวิเคราะห์ความเข้มข้นธาตุอาหาร

วิเคราะห์ความเข้มข้นธาตุสังกะสีที่สะสมในส่วนต่าง ๆ ของพืช โดยวิธีการ dry ashing เผาตัวอย่างโดยใช้อุณหภูมิ 535 องศาเซลเซียส นาน 8 ชั่วโมง และนำสารละลายตัวอย่างมาอ่านค่าด้วยเครื่อง atomic absorption spectrophotometer (AA) เปรียบเทียบความเข้มข้นจากสารละลายมาตรฐานของสังกะสี (Delhaiz et al., 1984)

วิเคราะห์หาปริมาณของไนโตรเจนทั้งหมด (Kjeldahl total nitrogen) ในส่วนต่าง ๆ ของพืช โดยการย่อยตัวอย่างใน Kjeldahl digestion apparatus จากนั้นกลั่น และไทเทรตเพื่อหาปริมาณไนโตรเจน (Bremner 1965)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลและเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของแต่ละกรรมวิธีโดยหาค่า LSD (least significant difference) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 หาความสัมพันธ์ของตัวแปรแต่ละคู่โดยวิธีหาสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (coefficient of correlation)

การทดลองที่ 2 ผลของการพ่นปุ๋ยสังกะสีต่อผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตในข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ในปี 2559 และ 2560

การปลูกข้าว

การทดลองนี้ทำการทดลองในสภาพแปลง วางแผนการทดลองแบบ randomized complete block design (RCBD) จำนวน 3 ซ้ำ ประกอบด้วยพันธุ์ข้าว 2 พันธุ์ คือ ชัยนาท 1 (CNT1) ซึ่งเป็นพันธุ์ปรับปรุงสมัยใหม่ และก่ำดอยสะเก็ด (KDK) ซึ่งเป็นพันธุ์พื้นเมือง มีการพ่นปุ๋ยสังกะสีทั้งหมด 5 ระดับ โดยปลูกข้าวในช่วงฤดูฝน (มิถุนายน – พฤศจิกายน) ทั้ง 2 ปี คือปี 2559 และ 2560 ในสถานที่เดียวกันที่แปลงทดลอง ณ ศูนย์วิจัย สาริตและฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ดินที่ปลูกเป็นดินชุดสันทราย มีค่า pH เท่ากับ 5.8 และ 5.5 (1:1 ดิน:น้ำ) ตามลำดับ ทั้ง 2 ปีที่ปลูกมีอุณหภูมิเฉลี่ยเท่ากันคือ 27.5 องศาเซลเซียส มีความชื้นสัมพัทธ์ที่ 80.2% และ 77.0% ตามลำดับ และมีค่าเฉลี่ยของการได้รับแสงที่ 5.2 และ 5.7 ชั่วโมงตามลำดับ การปลูกข้าวมีการจัดการเหมือนกันทั้งสองปี โดยเพาะกล้าข้าวที่มีอายุ 21-25 วัน หลังจากนั้นย้ายปลูกแบบต้นเดี่ยว มีระยะห่างระหว่างแถวและต้นที่ 25 X 25 เซนติเมตร ในแปลงทดลองขนาด 2 x 2 ตารางเมตร โดยมีตัวอย่างข้าวทั้งหมด 64 ต้นต่อแปลง โดยแต่ละแปลงทำคันทันไวกว้างที่ความกว้าง 0.5 เมตร พ่นปุ๋ยสังกะสีในรูปสารละลายของ $ZnSO_4$ ทั้งหมด 5 ระดับคือ 0, 3.5, 7, 10.5 และ 14 มิลลิโมลาร์ (0%, 0.1%, 0.2%, 0.3% และ 0.4% ตามลำดับ) โดยพ่น 3 ครั้งในระยะตั้งท้อง ออกดอก และนํ้านม ในอัตราการพ่นที่ 900-1000 ลิตรต่อเฮกตาร์ (Boonchaey et al., 2013) โดยระหว่างทำการพ่นปุ๋ยมีฉากพลาสติกกันเพื่อป้องกันการปนเปื้อนระหว่างกรรมวิธี โดยทุกแปลงใส่ปุ๋ย ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ในอัตรา 85, 35 และ 15 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ตามลำดับ โดยแบ่งใส่จำนวน 4 ครั้ง ในปริมาณที่เท่ากันคือ ในระยะ 7 วันหลังปักดำ ระยะแตกกอ ระยะตั้งท้อง และระยะออกดอก รักษาระดับน้ำในแปลงปลูกตลอดระยะเวลาตั้งแต่เริ่มปลูกจนถึงระยะสุกแก่ มีการกำจัดโรค แมลง และวัชพืช ตามความเหมาะสม

การบันทึกข้อมูลและเตรียมตัวอย่าง

เมื่อถึงระยะสุกแก่ สุ่มเก็บตัวอย่างตรงกลางแปลงในพื้นที่ 1 x 1 ตารางเมตร เพื่อประเมินผลผลิตเมล็ด ผลผลิตฟางและองค์ประกอบผลผลิต (จำนวนหน่อตอก่อ จำนวนรวงต่อต้น จำนวน

เมล็ดต่อรวง จำนวนเมล็ดดี และน้ำหนัก 1,000 เมล็ด) ผลผลิตเมล็ดวัดที่ความชื้น 14% น้ำหนักแห้ง ฟางวัดที่ความชื้น 0% โดยการอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง วิเคราะห์ความเข้มข้นสังกะสีและไฟฟอสฟอรัสในตัวอย่างข้าวกล้องและข้าวสารที่ผ่านกระบวนการขัดขาว โดยข้าวกล้องได้จากการกะเทาะเปลือกโดยใช้เครื่องกะเทาะขนาดเล็ก และสำหรับข้าวสารขัดขาวได้จากการนำข้าวกล้องที่ได้จากการกะเทาะเปลือกมาขัดด้วยเครื่องขัดขาว (model P-1, Ngeek Seng Huat Company, Thailand) นาน 30 วินาที หลังจากนั้นนำตัวอย่างทั้งหมดไปอบเพื่อลดความชื้นที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง ก่อนนำไปวิเคราะห์ธาตุอาหารต่อไป

การวิเคราะห์ความเข้มข้นธาตุอาหาร

วิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุสังกะสีโดยใช้เครื่อง atomic absorption spectrophotometer (Z-8230 Polarized Zeeman, Hitachi, Japan) หลังจากเผาตัวอย่างที่อุณหภูมิสูง โดยใช้ตัวอย่างใบถั่วเหลืองและใบท้อที่ได้การรับรองมาตรฐาน (SRM 1547) เป็นตัวเปรียบเทียบ ส่วนความเข้มข้นของกรดไฟติก (ไฟเตท) วิเคราะห์โดยการตกตะกอนเหล็กไฟเตทและวัดปริมาณเหล็กที่เหลือในสารละลาย

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติโดยใช้ combined analysis of variance (ANOVA) ระหว่างปี โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป (Statistic 9, analytical software SX) วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ LSD ที่ระดับนัยสำคัญ $P < 0.05$ หาความสัมพันธ์ของตัวแปรโดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยค่าและสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์

การทดลองที่ 3 การตอบสนองของพันธุ์ข้าวไร่และข้าวนาสวนต่อการพ่นปุ๋ยทางใบในข้าวที่ปลูกภายใต้สภาพน้ำขังและไม่ขังน้ำต่อผลผลิตและการสะสมธาตุสังกะสีในเมล็ดข้าว

การศึกษาการตอบสนองของพันธุ์ข้าวไร่และข้าวนาสวนต่อการพ่นปุ๋ยทางใบภายใต้สภาพน้ำขังและแอโรบิก เพื่อประเมินความแตกต่างในการตอบสนองของพันธุ์ข้าวไร่และข้าวนาสวนต่อการพ่นปุ๋ยทางใบภายใต้การปลูกในสภาพน้ำขังและแอโรบิก ทดลอง ณ ศูนย์วิจัย สาริตและฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัย เชียงใหม่ ตั้งแต่เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2559 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2560 โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (randomized complete block design: RCBD) จำนวน 3 ซ้ำ ประกอบไปด้วย 2 ปัจจัย ได้แก่ ปัจจัยที่ 1 พันธุ์ข้าว 2 พันธุ์ คือ ชัยนาท 1 (CNT1) เป็นพันธุ์ข้าวนาสวน (wetland rice) และกำหอม

มช. (KHCM) เป็นพันธุ์ข้าวไร่ ปัจจัยที่ 2 สภาพการจัดการน้ำ คือ สภาพน้ำขัง (flooded) กับไม่ขังน้ำ (aerobic) โดยมีการจัดการปุ๋ย 4 กรรมวิธี ดังรายละเอียดในตารางที่ 1.2

ตารางที่ 1.2 รายละเอียดคำอธิบายการจัดการปุ๋ยแต่ละแบบในสภาพขังน้ำและแอโรบิก

คำอธิบาย	สัญลักษณ์
ใส่ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมทางดินในอัตรา 6.83, 15.82 และ 5.23 กรัมต่อกระถาง ตามลำดับ	LT
ใส่ปุ๋ยทางดินแบบเดียวกับ LT ร่วมกับพ่นไนโตรเจนในอัตรา 0.683 กรัมต่อกระถางต่อน้ำ 140 มิลลิลิตร	Foliar N
ใส่ปุ๋ยทางดินแบบเดียวกับ LT ร่วมกับพ่นฟอสฟอรัสในอัตรา 1.582 กรัมต่อกระถางต่อน้ำ 320 มิลลิลิตร	Foliar P
ใส่ปุ๋ยทางดินแบบเดียวกับ LT ร่วมกับพ่นโพแทสเซียมในอัตรา 0.523 กรัมต่อกระถางต่อน้ำ 110 มิลลิลิตร	Foliar K

การปลูกข้าว

เพาะเมล็ดข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ในแก้วพลาสติกประมาณ 7 วัน แล้วย้ายปลูกในบ่อซีเมนต์ขนาดความกว้าง 80 เซนติเมตร ความสูง 40 เซนติเมตร และมีพื้นที่กระถางประมาณ 0.50 ตารางเมตร บรรจุดินประมาณ 165 กิโลกรัมต่อกระถาง ปลูกข้าวแบบปักดำ ระยะปลูก 20 x 20 เซนติเมตร ปลูกแบบต้นเดี่ยวกระถางละ 12 ต้น โดยมีการจัดการน้ำที่ต่างกัน คือ สภาพน้ำขัง (flooded) โดยการขังน้ำประมาณ 10 เซนติเมตร เหนือระดับผิวดินตลอดการปลูก และสภาพแอโรบิก (aerobic) หรือไม่ขังน้ำ รดน้ำจำนวน 2 ครั้งต่อวัน คือ เช้าและเย็น ทุกกรรมวิธีใส่ปุ๋ยไนโตรเจน (urea) ฟอสฟอรัส (sodium dihydrogen orthophosphate) และโพแทสเซียม (potassium chloride) ในอัตราเดียวกันคือ 30 กิโลกรัมต่อไร่ คำนวณได้ในไนโตรเจน 6.83 กรัมต่อกระถาง ฟอสฟอรัส 15.82 กรัมต่อกระถาง และโพแทสเซียม 5.23 กรัมต่อกระถาง แบ่งใส่ปุ๋ยจำนวน 3 ครั้ง ครั้งละเท่า ๆ กัน คือ ระยะแตกกอ ระยะตั้งท้อง และระยะออกดอก สำหรับการพ่นธาตุอาหารทางใบไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม มีทั้งหมด 4 แบบ (ตารางที่ 1.2) ในอัตราการพ่น 1 ใน 10 เท่าต่อครั้งของอัตราที่ใส่ทางดิน

การบันทึกข้อมูล

เก็บเกี่ยวข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ในระยะสุกแก่ เพื่อนำมาหาองค์ประกอบผลผลิต คือ ความสูงต้น จำนวนหน่อตอกอ จำนวนรวงตอกอ เปอร์เซ็นต์เมล็ดดี เปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบ และน้ำหนัก 1,000 เมล็ด ส่วนของผลผลิตได้นำมาแยกออกเป็นส่วนต่าง ๆ คือ ลำต้น ใบ และใบธง จากนั้นนำแต่ละ

ส่วนไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง แล้วชั่งน้ำหนักแห้งพร้อมบันทึกข้อมูล เมล็ดข้าวนำมาลดความชื้นให้เหลือ 14 เปอร์เซ็นต์ ชั่งน้ำหนักแห้งพร้อมทั้งบันทึกข้อมูล

การวิเคราะห์ความเข้มข้นธาตุอาหาร

วิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุไนโตรเจนในเมล็ดโดยวิธีการ Kjeldahl โดยสุ่มเมล็ดข้าวเปลือกทั้ง 2 พันธุ์ มากะเทาะเปลือกแล้วนำส่วนที่เป็นข้าวกล้องไปอบอุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง ชั่งตัวอย่าง 0.2 กรัม ใส่ Catalyst mixture ตามด้วยกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) 5 มิลลิลิตร จากนั้นนำเข้าเครื่องย่อยตั้งอุณหภูมิ 120, 200, 220, 240, 260 และ 360 องศาเซลเซียส ตามลำดับ หลังจากนั้นเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 20 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องกลั่นพร้อมด้วย กรดบอริก (boric acid) 15 มิลลิลิตร แล้วไตเตรตกับกรดซัลฟูริก 0.05 นอร์มอล (N) ให้ได้สีม่วงแดง กลัวเคียงกับสารตั้งต้น (boric acid) พร้อมจดบันทึกค่าที่ได้ จากนั้นนำมาคำนวณความเข้มข้นที่ได้

วิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมในเมล็ดโดยวิธีการ dry ashing โดยสุ่มเมล็ดข้าวเปลือกทั้ง 2 พันธุ์ มากะเทาะเปลือกแล้วนำส่วนที่เป็นข้าวกล้องไปอบอุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่ชั่งได้ 0.3 กรัม เผาที่อุณหภูมิ 535 องศาเซลเซียส นาน 8 ชั่วโมง จากนั้นย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) 2 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI (deionized water) ให้ได้ 10 มิลลิลิตร จากนั้นกรองเอาสารละลายใสเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ ฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมต่อไป โดยวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัสโดยวิธี Vanado- molybdate โดยเตรียมสาร Ammonium Metavanadate กับ Ammonium Molybdate ในอัตราส่วน 10:8 เพื่อทำ Combined reagent โดย Ammonium Metavanadate จะเติม 70% Perchloric acid ลงไป ดูดสารละลายตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร แล้วปรับด้วย combined reagent ให้ได้ 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปอ่านค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 460 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer เปรียบเทียบความเข้มข้นจากสารละลายมาตรฐานของฟอสฟอรัสแล้วนำมาคำนวณความเข้มข้น และวิเคราะห์หาปริมาณโพแทสเซียมโดยดูดสารละลายตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร ปรับด้วย 0.25% Lanthanum Chloride ให้ได้ 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปอ่านค่าด้วยเครื่อง atomic absorption spectrophotometer (AA) แล้วนำมาคำนวณความเข้มข้น

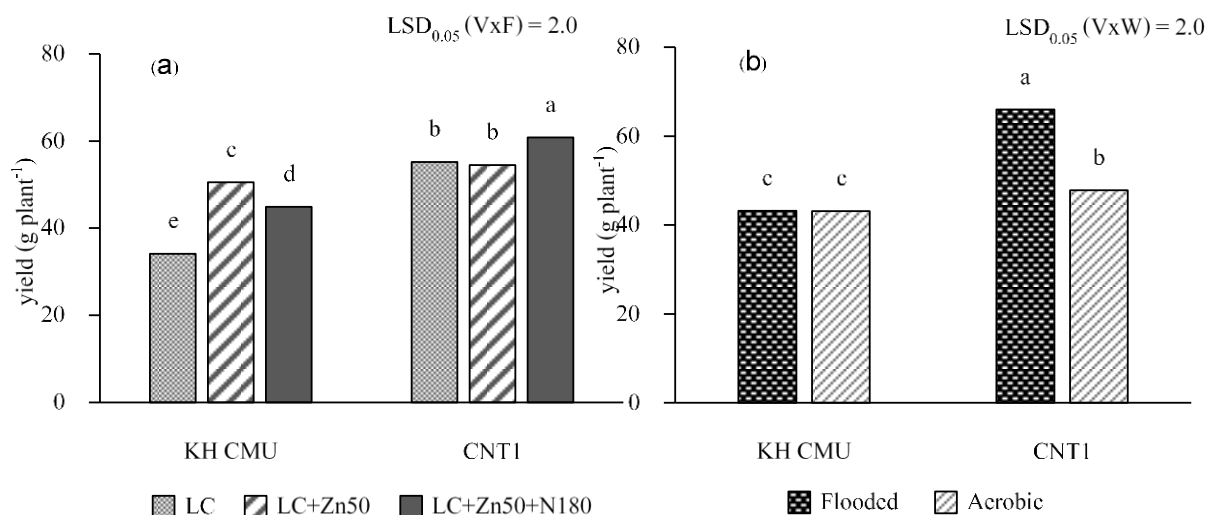
วิเคราะห์ความเข้มข้นธาตุเหล็กและสังกะสีในเมล็ดโดยวิธีการ dry ashing โดยสุ่มเมล็ดข้าวเปลือกทั้ง 2 พันธุ์ มาแกะเปลือกออกด้วยมือแล้วนำส่วนที่เป็นข้าวกล้องไปอบอุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง นำตัวอย่าง 0.5 กรัม เผาที่อุณหภูมิ 535 องศาเซลเซียส นาน 8 ชั่วโมง จากนั้นย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCL) 2 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำ DI (deionized water) ให้ได้ 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปกรองเอาสารละลายใสไปอ่านค่าด้วยเครื่อง atomic absorption spectrophotometer (AA)

ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 อิทธิพลของการใส่ปุ๋ยสังกะสีและไนโตรเจนต่อผลผลิตและความเข้มข้นธาตุสังกะสีในเมล็ดข้าวพันธุ์ข้าวไร่และข้าวนาสวนที่ปลูกในสภาพน้ำขังและแอโรบิก

ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิต

ผลผลิตเมล็ดข้าวมีอิทธิพลมาจากปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างพันธุ์ข้าวและการจัดการปุ๋ยและระหว่างพันธุ์ข้าวและการจัดการน้ำ พันธุ์ข้าวไร่และข้าวนาสวนตอบสนองต่อการจัดการปุ๋ยแตกต่างกัน (ภาพที่ 1a) พันธุ์ข้าวไร่ก่ำหอม มช. มีผลผลิตเพิ่มขึ้น 53% จากชุดควบคุมเมื่อมีการใส่ปุ๋ยสังกะสีเพียงอย่างเดียว และเพิ่มขึ้น 32% เมื่อใส่ปุ๋ยสังกะสีร่วมกับไนโตรเจน ในขณะที่พันธุ์ข้าวนาสวนชัยนาท 1 พบว่าการใส่ปุ๋ยสังกะสีเพียงอย่างเดียวไม่ทำให้ผลผลิตแตกต่างจากชุดควบคุมแต่ยสังกะสีร่วมกับไนโตรเจนทำให้ผลผลิตข้าวการใส่ปุ๋ยเพิ่มขึ้นจากชุดควบคุม 10% นอกจากนี้ผลผลิตของพันธุ์ข้าวไร่และข้าวนาสวนยังมีความแตกต่างกันเมื่อปลูกที่การจัดการน้ำแตกต่างกัน (ภาพที่ 1b) สภาพน้ำที่ปลูกไม่มีผลต่อผลผลิตในข้าวไร่พันธุ์ก่ำหอม มช. ในขณะที่ในพันธุ์ข้าวนาสวนพันธุ์ชัยนาท 1 พบว่าการปลูกในสภาพน้ำขังให้ผลผลิตมากกว่าในสภาพแอโรบิก

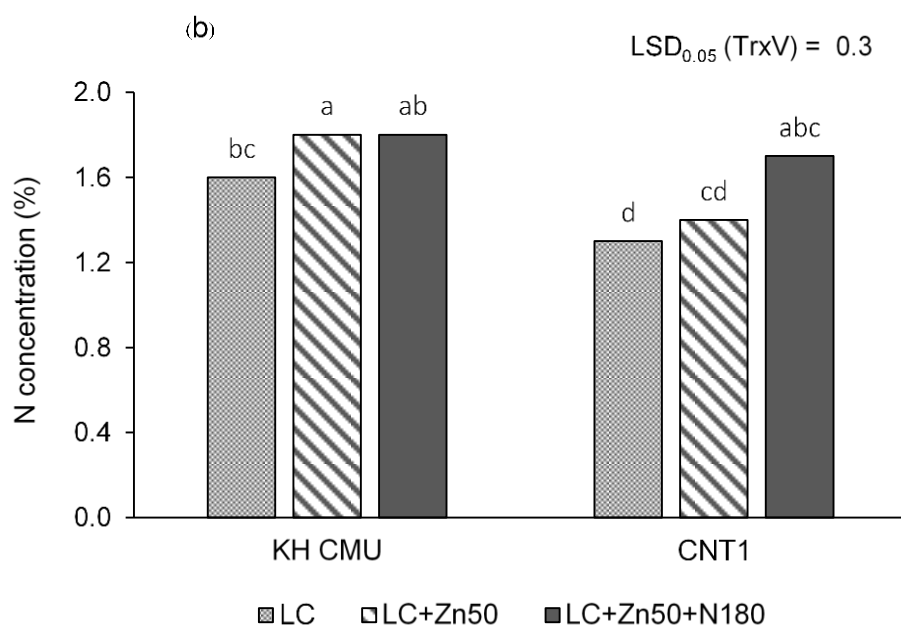
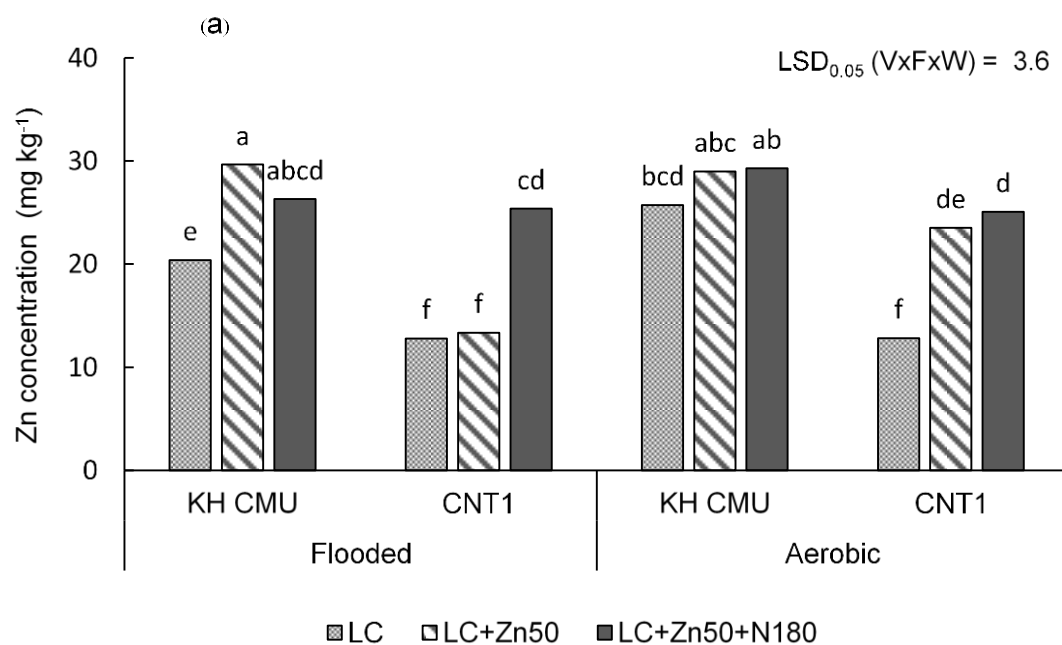


ภาพที่ 1 ผลผลิตข้าวไร่พันธุ์ก่ำหอม มช. และข้าวนาสวนพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ปลูกภายใต้สภาพการจัดการธาตุอาหาร (a) และการจัดการน้ำ (b) แตกต่างกัน

ความเข้มข้นสังกะสีและไนโตรเจนในเมล็ด

ความเข้มข้นของสังกะสีในเมล็ดข้าวกล้องมีอิทธิพลมาจากปฏิสัมพันธ์ร่วมของทั้ง 3 ปัจจัย คือ พันธุ์ข้าว การจัดการน้ำและปุ๋ย โดยพบว่าพันธุ์ข้าวทั้ง 2 พันธุ์ตอบสนองต่อความเข้มข้นสังกะสีในเมล็ดแตกต่างกันในสภาพการจัดการน้ำและปุ๋ยที่แตกต่างกัน (ภาพที่ 2a) ข้าวไร้พันธุ์กำหอม มช. เมื่อปลูกในสภาพขังน้ำพบว่าการใส่ปุ๋ยสังกะสีอย่างเดียวหรือร่วมกับไนโตรเจนมีผลทำให้ความเข้มข้นสังกะสีในเมล็ดสูงกว่าในชุดควบคุมประมาณ 30% ในขณะที่การปลูกในสภาพแอโรบิก ไม่มีความแตกต่างของความเข้มข้นสังกะสีในเมล็ดในทุกการจัดการปุ๋ย พันธุ์ข้าวนาสวนชัยนาท 1 มีการตอบสนองที่แตกต่างกัน โดยการปลูกในสภาพน้ำขังพบว่าความเข้มข้นสังกะสีเพิ่มขึ้นเกือบเท่าตัวเมื่อใส่ปุ๋ยสังกะสีร่วมกับไนโตรเจนเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมและการใส่ปุ๋ยสังกะสีเพียงอย่างเดียวที่มีความเข้มข้นสังกะสีไม่แตกต่างกัน ซึ่งแตกต่างกับการปลูกในสภาพแอโรบิกที่พบว่าการจัดการปุ๋ยโดยการใส่สังกะสีเพียงอย่างเดียวและร่วมกับไนโตรเจนทำให้ความเข้มข้นสังกะสีในเมล็ดข้าวเพิ่มขึ้นเกือบสองเท่าเหมือนกันเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

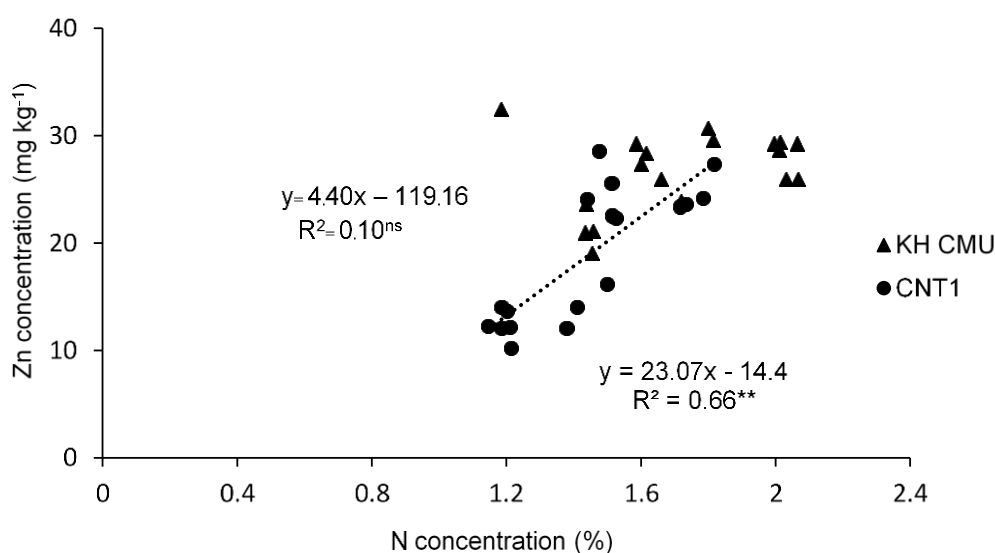
สำหรับความเข้มข้นไนโตรเจนในเมล็ดข้าวพบว่ามีอิทธิพลมาจากปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่าง พันธุ์ข้าวและการจัดการปุ๋ย (ภาพที่ 2b) โดยในพันธุ์ข้าวไร้กำหอม มช. พบว่าความเข้มข้นไนโตรเจนในเมล็ดข้าวเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจากชุดควบคุมเมื่อใส่ปุ๋ยสังกะสีเพียงอย่างเดียวและสังกะสี 1 ร่วมกับไนโตรเจน ในขณะที่ในพันธุ์ข้าวนาสวนชัยนาท พบว่ามีความเข้มข้นไนโตรเจนในเมล็ดเพิ่มขึ้นประมาณ 20% เมื่อใส่ปุ๋ยสังกะสีร่วมกับไนโตรเจน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมและการใส่ปุ๋ยสังกะสีเพียงอย่างเดียวซึ่งมีความเข้มข้นไนโตรเจนในเมล็ดไม่แตกต่างกัน



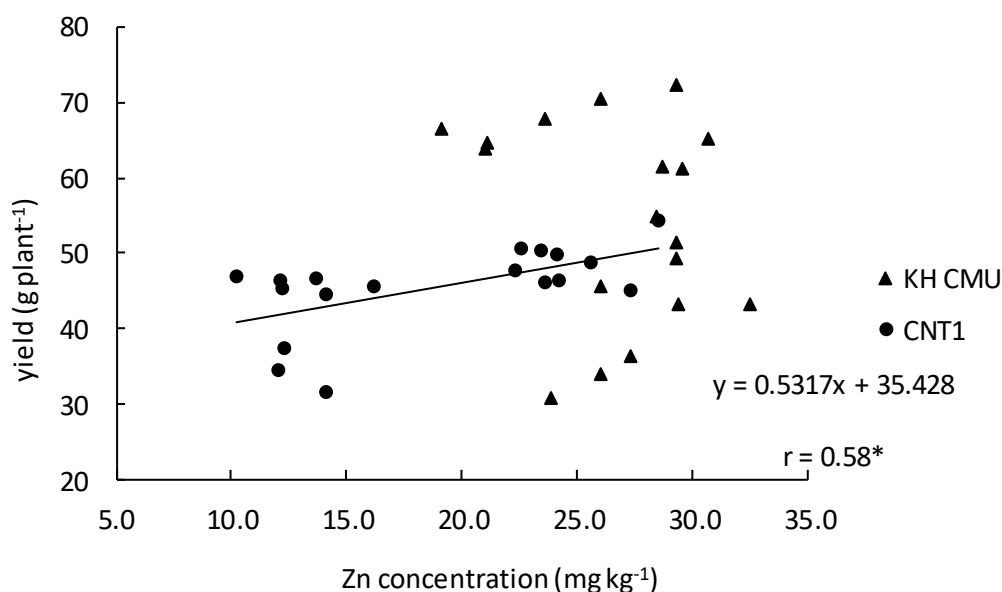
ภาพที่ 2 ความเข้มข้นสังกะสี (a) และไนโตรเจน (b) ในเมล็ดข้าวกล้องพันธุ์กำหอม มช. และพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ปลูกภายใต้สภาพการจัดการธาตุอาหารและการจัดการน้ำแตกต่างกัน

ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสังกะสีและไนโตรเจนและผลผลิตกับความเข้มข้นสังกะสีในเมล็ดข้าว

พบความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสังกะสีและไนโตรเจนในเมล็ดข้าวแตกต่างกันในพันธุ์ข้าวทั้ง 2 พันธุ์ (ภาพที่ 3) พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างความเข้มข้นของสังกะสีและไนโตรเจนในเมล็ดข้าวในพันธุ์ข้าวนาสวนชัยนาท1 แต่ไม่พบความสัมพันธ์ดังกล่าวในพันธุ์ข้าวไร่กำหอม มช. ในขณะที่ความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตและความเข้มข้นสังกะสีในเมล็ดของข้าวทั้งสองพันธุ์นั้นแตกต่างกัน (ภาพที่ 4) มีความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตและความเข้มข้นสังกะสีในเมล็ดในพันธุ์ข้าวนาสวนชัยนาท1



ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสังกะสีและไนโตรเจนในเมล็ดข้าวกล้องพันธุ์กำหอม มช. และพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ปลูกภายใต้การจัดการธาตุอาหารและน้ำแตกต่างกัน



ภาพที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสังกะสีและผลผลิตเมล็ดข้าวพันธุ์กำหอม มช. และพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ปลูกภายใต้การจัดการธาตุอาหารและน้ำแตกต่างกัน

ความเข้มข้นสังกะสีในส่วนต่าง ๆ ของลำต้นที่แต่ละระยะการเจริญเติบโต

พบว่าในส่วนของใบที่อายุน้อยที่สุดในต้นข้าวแต่ละพันธุ์ในแต่ละระยะการเจริญเติบโตมีการสะสมสังกะสีแตกต่างกัน (ตารางที่ 2.1) ในระยะแตกกอ พบว่าในสภาพน้ำขังพันธุ์ข้าวไร่กำหอม มช. มีในใบความเข้มข้นสังกะสี YEB ประมาณเกือบสองเท่าจากชุดควบคุมเมื่อใส่ปุ๋ยสังกะสีร่วมกับไนโตรเจนและมากกว่าสองเท่าเมื่อใส่ปุ๋ยสังกะสีเพียงอย่างเดียว ในขณะที่การปลูกในสภาพแอโรบิกพบว่าการใส่ปุ๋ยสังกะสีร่วมกับไนโตรเจนให้ผลเช่นเดียวกับในสภาพน้ำขัง แต่การใส่ปุ๋ยสังกะสีเพียงอย่างเดียวไม่ทำให้ความเข้มข้นสังกะสีแตกต่างจากชุดควบคุม ในพันธุ์ชัยนาท 1 ในสภาพขังน้ำ พบว่าการใส่ปุ๋ยสังกะสีร่วมกับไนโตรเจนทำให้ความเข้มข้นในใบเพิ่มขึ้น 30% จากชุดควบคุมและการใส่ปุ๋ยสังกะสีอย่างเดียว ในขณะที่ในสภาพแอโรบิกกับว่าความเข้มข้นสังกะสีในใบที่ใส่ปุ๋ยสังกะสีอย่างเดียวและใส่ร่วมกับไนโตรเจนไม่แตกต่างกัน แต่มากกว่าในชุดควบคุมประมาณ 33% ความแตกต่างในการตอบสนองดังกล่าวยังพบในระยะการเจริญเติบโตอื่น ๆ คือระยะตั้งท้อง ระยะน้ำนม และในระยะสุกแก่ และยังพบความแตกต่างในการตอบสนองต่อการจัดการน้ำและปุ๋ยในข้าวทั้งสองพันธุ์ในส่วนของใบและต้นข้าวด้วย (ตารางที่ 2.2 และ 2.3)

ตารางที่ 2.1 ความเข้มข้นสังกะสีในใบ YEB และใบธงที่ระยะการเจริญเติบโตต่าง ๆ ของพันธุ์กำหอม มข. และพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ปลูกภายใต้การจัดการธาตุอาหารและน้ำแตกต่างกัน

Variety	Management condition	Zn concentration (mg kg ⁻¹)		
		LC	LC+Zn50	LC+Zn50+N180
Tillering				
KH CMU	Flooded	11.7	27.0	21.8
	Aerobic	13.2	14.2	25.1
CNT1	Flooded	16.1	17.5	21.6
	Aerobic	15.0	20.0	19.3
F-test	V*W*F	LSD (0.05)		
	**	3.2		
Booting				
KH CMU	Flooded	18.7	25.0	28.3
	Aerobic	18.4	35.9	34.0
CNT1	Flooded	16.6	13.2	35.7
	Aerobic	26.5	32.4	35.2
F-test	V*W*F	LSD (0.05)		
	**	5.3		
Milky				
KH CMU	Flooded	13.1	23.9	13.3
	Aerobic	15.1	33.8	23.2
CNT1	Flooded	13.4	19.4	35.7
	Aerobic	20.8	36.3	30.3
F-test	V*W*F	LSD (0.05)		
	**	3.2		
Maturity				
KH CMU	Flooded	16.3	45.5	20.6
	Aerobic	6.2	29.3	37.2
CNT1	Flooded	16.8	17.3	79.3
	Aerobic	15.6	31.8	37.4
F-test	V*W*F	LSD (0.05)		
	**	8.4		

Table 2.2 ความเข้มข้นสังกะสีในใบที่ระยะการเจริญเติบโตต่าง ๆ ของพันธุ์กำหอม มช. และพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ปลูกภายใต้การจัดการธาตุอาหารและน้ำแตกต่างกัน

Variety	Management condition	Zn concentration (mg kg ⁻¹)		
		LC	LC+Zn50	LC+Zn50+N180
Tillering				
KH CMU	Flooded	25.0	11.5	20.6
	Aerobic	19.1	18.2	20.8
CNT1	Flooded	21.1	17.4	34.0
	Aerobic	17.5	17.5	35.6
F-test	V*W*F	LSD (0.05)		
	**	4.3		
Booting				
KH CMU	Flooded	25.7	27.2	16.0
	Aerobic	15.9	22.5	13.5
CNT1	Flooded	22.3	15.8	27.5
	Aerobic	19.1	48.8	70.1
F-test	V*W*F	LSD (0.05)		
	**	6.5		
Milky				
KH CMU	Flooded	12.6	25.1	11.6
	Aerobic	13.2	35.7	21.8
CNT1	Flooded	6.8	20.7	42.5
	Aerobic	15.8	43.1	22.6
F-test	V*W*F	LSD (0.05)		
	**	3.2		
Maturity				
KH CMU	Flooded	31.5	36.1	34.4
	Aerobic	10.8	54.9	68.5
CNT1	Flooded	19.2	23.9	18.2
	Aerobic	20.8	66.9	27.3
F-test	V*W*F	LSD (0.05)		
	**	8.4		

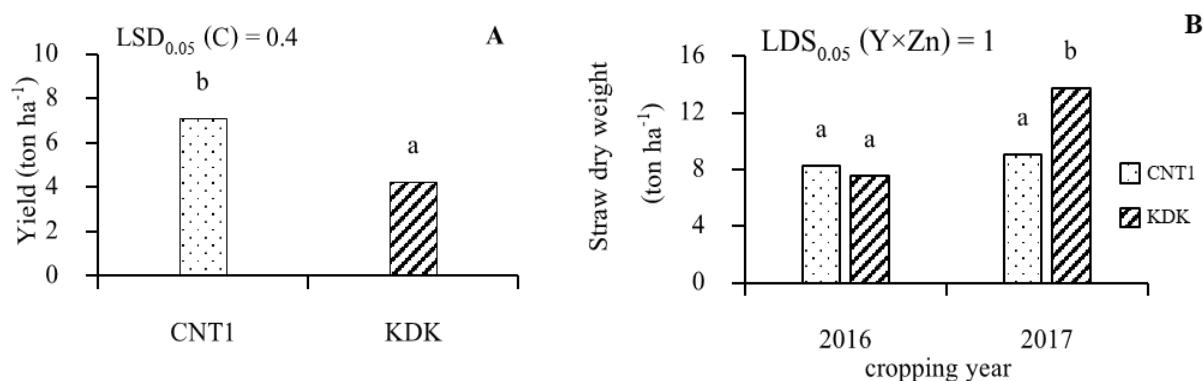
Table 2.3 ความเข้มข้นสังกะสีในลำต้นที่ระยะการเจริญเติบโตต่าง ๆ ของข้าวพันธุ์กำหอม มช. และพันธุ์ชัยนาท 1 ภายใต้การจัดการธาตุอาหารและน้ำแตกต่างกัน

Variety	Management condition	Zn concentration (mg kg ⁻¹)		
		LC	LC+Zn50	LC+Zn50+N180
Tillering				
KH CMU	Flooded	48.7	44.9	48.2
	Aerobic	46.6	52.1	61.7
CNT1	Flooded	47.1	63.6	58.3
	Aerobic	29.6	70.8	58.2
F-test	V*W*F	LSD (0.05)		
	**	4.3		
Booting				
KH CMU	Flooded	45.5	67.3	46.0
	Aerobic	61.8	84.2	56.4
CNT1	Flooded	35.4	41.6	85.4
	Aerobic	86.4	89.6	113.2
F-test	V*W*F	LSD (0.05)		
	**	6.5		
Milky				
KH CMU	Flooded	35.9	88.9	160.4
	Aerobic	66.7	153.9	195.5
CNT1	Flooded	100.8	67.5	236.4
	Aerobic	64.5	61.3	201.4
F-test	V*W*F	LSD (0.05)		
	**	5.8		
Maturity				
KH CMU	Flooded	46.7	104.3	56.2
	Aerobic	52.4	223.0	155.1
CNT1	Flooded	28.2	28.1	92.4
	Aerobic	89.1	61.4	163.9
F-test	V*W*F	LSD (0.05)		
	**	7.0		

การทดลองที่ 2 ผลของการพ่นปุ๋ยสังกะสีต่อผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตในข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ในปี 2559 และ 2560

ผลผลิตและน้ำหนักแห้งฟาง

พบอิทธิพลของพันธุ์ข้าวมีผลต่อผลผลิต โดยข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 มีผลผลิตสูงกว่าข้าวพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ด โดยมีผลผลิตเฉลี่ยที่ 7.1 และ 4.2 ตันต่อเฮกตาร์ ตามลำดับ (ภาพที่ 5A) ในขณะที่พบอิทธิพลร่วมระหว่างปีที่ปลูกและพันธุ์ข้าวต่อน้ำหนักแห้งฟาง โดยในปี 2559 ไม่พบความแตกต่างระหว่างน้ำหนักแห้งฟางของข้าวทั้งสองสายพันธุ์ ซึ่งมีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 7.5 ถึง 8.2 ตันต่อเฮกตาร์ ส่วนในปี 2560 พบว่าข้าวพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ด มีน้ำหนักแห้งฟางสูงกว่าพันธุ์ชัยนาท 1 โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 13.7 และ 9.1 ตามลำดับ (ภาพที่ 5B)



ภาพที่ 5 ผลผลิต (A) และน้ำหนักแห้งฟาง (B) ของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และก่ำดอยสะเก็ดที่ปลูกในปีที่แตกต่างกัน (ปี 2559 และ 2560)

พบอิทธิพลของพันธุ์ข้าวและปีที่ปลูกมีผลต่อองค์ประกอบผลผลิตข้าว (ตารางที่ 2.4) โดยพบว่าทั้ง 2 ปีการทดลอง (ปี 2559 และ 2560) ข้าวพันธุ์ CNT1 มีจำนวนหน่อตอกและจำนวนรวงต่อต้น สูงกว่าพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ด ในทางตรงกันข้ามพบว่าจำนวนช่อดอกต่อรวงในข้าวพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ดสูงกว่าพันธุ์ชัยนาท 1 และในส่วนของน้ำหนัก 1,000 เมล็ด ไม่พบความแตกต่างในข้าวทั้งสองสายพันธุ์ แต่พบว่าข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีสูงกว่าก่ำดอยสะเก็ดร้อยละ 12.3 ในปี 2559 ขณะที่ปี 2560 ข้าวพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ดมีน้ำหนักแห้ง 1,000 เมล็ด สูงกว่าพันธุ์ชัยนาท 1 ร้อยละ 9.7 แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างพันธุ์ต่อเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีในข้าวทั้งสองสายพันธุ์

ตารางที่ 2.4 องค์ประกอบผลผลิตของข้าว 2 พันธุ์ ที่ปลูกในปี 2559 และ 2560

Cropping year	Cultivar	Tiller hill ⁻¹	Panicle plant ⁻¹	Spikelet panicle ⁻¹	1,000 seeds weight (g)	Filled grain (%)
2016	CNT	20.9 a	17.8 a	134.3 b	29.7 b	93.8 a
	KDK	9.9 c	8.4 c	202.2 a	30.2 b	83.5 b
2017	CNT	16.6 b	14.8 b	152.1 b	29.9 b	91.5 a
	KDK	8.6 c	7.0 c	196.7 a	32.8 a	93.5 a

ความเข้มข้นของธาตุสังกะสี ความเข้มข้นไฟเตท และอัตราส่วนระหว่างธาตุสังกะสีและไฟเตท ในส่วนของเมล็ดข้าวกล้องและข้าวสาร ที่ปลูกในปี 2559

พบอิทธิพลของพันธุ์ข้าวและระดับการพ่นสังกะสีต่อการสะสมธาตุสังกะสี ความเข้มข้นไฟเตท และอัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นของธาตุสังกะสีและไฟเตท (ตารางที่ 2.5) โดยระดับการพ่นปุ๋ยสังกะสีมีผลต่อการสะสมธาตุสังกะสีในเมล็ดข้าวกล้องและข้าวสารแตกต่างกันในข้าวแต่ละพันธุ์ ซึ่งพบว่าข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ระดับการพ่นปุ๋ยสังกะสี ไม่มีผลต่อการสะสมธาตุสังกะสีในเมล็ดข้าวกล้อง ในขณะที่การพ่นปุ๋ยสังกะสีที่ระดับ Zn 0.1, Zn 0.2 และ Zn 0.4 ในข้าวพันธุ์เก่าดอยสะเก็ด มีการสะสมธาตุสังกะสีไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม (Zn 0) แต่การพ่นปุ๋ยที่ระดับ Zn 0.3 พบว่ามีการสะสมธาตุสังกะสีสูงสุดเฉลี่ยที่ 37 มก./กก. นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อเพิ่มระดับการพ่นปุ๋ยสังกะสีส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของการสะสมธาตุสังกะสีในเมล็ดข้าวสารในข้าวทั้งสองสายพันธุ์ โดยพบว่าในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 เมื่อพ่นปุ๋ยสังกะสีที่ระดับ Zn 0.1 ไม่พบความแตกต่างจากระดับ Zn 0 แต่พบว่าเมื่อพ่นปุ๋ยสังกะสีที่ระดับ Zn 0.2, Zn 0.3 และ Zn 0.4 มีการสะสมธาตุสังกะสีเพิ่มขึ้นร้อยละ 11.2, 13 และ 20 ตามลำดับ ส่วนในข้าวพันธุ์เก่าดอยสะเก็ดพบว่า เมื่อพ่นปุ๋ยสังกะสีที่ระดับ Zn 0.1 ไม่พบความแตกต่างจากระดับ Zn 0 แต่พบว่าเมื่อพ่นปุ๋ยสังกะสีที่ระดับ Zn 0.2, Zn 0.3 และ Zn 0.4 มีการสะสมธาตุสังกะสีเพิ่มขึ้นร้อยละ 8.3, 23.2 และ 24.1 ตามลำดับ

ปริมาณความเข้มข้นของไฟเตทในส่วนของข้าวกล้องและข้าวสาร พบว่าระดับการพ่นปุ๋ยสังกะสีไม่มีผลต่อปริมาณความเข้มข้นของไฟเตทในส่วนของเมล็ดข้าวกล้องของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ในขณะที่การพ่นปุ๋ยสังกะสีที่ระดับ Zn 0.2 และ Zn 0.3 มีปริมาณความเข้มข้นไฟเตทในเมล็ดข้าวกล้องลดลงร้อยละ 5.2 และ 11.5 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับระดับ Zn 0 ในข้าวพันธุ์เก่าดอยสะเก็ด ส่วนการสะสมไฟเตทในเมล็ดข้าวสาร พบว่าการพ่นปุ๋ยสังกะสีที่ระดับ Zn 0.1, Zn 0.2, Zn 0.3 และ Zn 0.4 ส่งผลให้ความเข้มข้นไฟเตทลดลงร้อยละ 23.5, 23.5, 25.5 และ 27.5 ตามลำดับ

เมื่อเทียบกับระดับ Zn 0 ในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ส่วนในข้าวพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ดพบว่าการพ่นปุ๋ยสังกะสีที่ระดับ Zn 0.4 ส่งผลให้ไฟเททลดลงต่ำสุดร้อยละ 16.9

อัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นไฟเททและความเข้มข้นของธาตุสังกะสีอัตราส่วนระหว่างควา (Phytate:Zn ratio) ในเมล็ดข้าวกล้องและข้าวสาร พบว่าข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ระดับการพ่นปุ๋ยสังกะสีไม่มีผลต่อ Phytate:Zn ratio ในส่วนของเมล็ดข้าวกล้อง ส่วนข้าวพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ด พบว่าการพ่นปุ๋ยสังกะสีที่ระดับ Zn 0.2 และ Zn 0.3 มี Phytate:Zn ratio ในเมล็ดข้าวกล้องลดลงร้อยละ 9.7 และ 26 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับระดับ Zn 0 ส่วน Phytate:Zn ratio ในเมล็ดข้าวสาร ในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 พบว่าการพ่นปุ๋ยสังกะสีที่ระดับ Zn 0.1, Zn 0.2, Zn 0.3 และ Zn 0.4 ส่งผลให้ Phytate:Zn ratio ลดลงร้อยละ 27.9, 31.6, 33.0 และ 38.4 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับระดับ Zn 0 ส่วนในข้าวพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ด เมื่อเทียบกับระดับการพ่นปุ๋ยที่ Zn 0 พบว่าการพ่นปุ๋ยสังกะสีที่ระดับ Zn 0.3 และ Zn 0.4 ส่งผลให้ Phytate:Zn ratio ลดลงต่ำสุดร้อยละ 21.2 และ 32.2 ตามลำดับ

ความเข้มข้นของธาตุสังกะสี ความเข้มข้นไฟเทท และอัตราส่วนระหว่างธาตุสังกะสีและไฟเทท ในส่วนของเมล็ดข้าวกล้องและข้าวสารที่ปลูกในปี 2560

พบอิทธิพลของพันธุ์ข้าวและระดับการพ่นปุ๋ยสังกะสีต่อการสะสมธาตุสังกะสี ความเข้มข้นไฟเทท และอัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นของธาตุสังกะสีและไฟเทท (ตารางที่ 2.6) โดยระดับการพ่นปุ๋ยสังกะสีมีผลต่อการสะสมธาตุสังกะสีในเมล็ดข้าวกล้องและข้าวสารแตกต่างกันในข้าวแต่ละพันธุ์ ซึ่งพบว่าข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ระดับการพ่นปุ๋ยสังกะสีที่อัตรา Zn 0.1, Zn 0.2 และ Zn 0.3 มีการสะสมธาตุสังกะสีในเมล็ดข้าวกล้องไม่แตกต่างจากการพ่นปุ๋ยสังกะสีที่ระดับ Zn 0 ในขณะที่การพ่นปุ๋ยสังกะสีที่ระดับ Zn 0.4 มีการสะสมธาตุสังกะสีในข้าวกล้องสูงสุดเฉลี่ยที่ 24.6 มก./กก. ส่วนข้าวพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ดพบว่าที่พ่นสังกะสีในระดับ Zn 0.1, Zn 0.2, Zn 0.3 และ Zn 0.4 ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณความเข้มข้นสังกะสีในเมล็ดข้าวกล้องร้อยละ 16.8, 16.8, 27.4 และ 18.2 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับระดับ Zn 0 นอกจากนี้ยังพบว่า เมื่อเพิ่มระดับการพ่นปุ๋ยสังกะสีส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของการสะสมธาตุสังกะสีในเมล็ดข้าวสารในข้าวทั้งสองสายพันธุ์ โดยพบว่าในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 เมื่อพ่นปุ๋ยสังกะสีที่ระดับ Zn 0.1 และ Zn 0.2 ไม่พบความแตกต่างจากระดับ Zn 0 แต่พบว่าเมื่อพ่นปุ๋ยสังกะสีที่ระดับ Zn 0.3 และ Zn 0.4 มีการสะสมธาตุสังกะสีเพิ่มขึ้นร้อยละ 22.2 และ 32.4 ตามลำดับ ส่วนในข้าวพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ดพบว่า เมื่อพ่นปุ๋ยสังกะสีที่ระดับ Zn 0.1, Zn 0.2, Zn 0.3 และ Zn 0.4 มีการสะสมธาตุสังกะสีในเมล็ดข้าวสารเพิ่มขึ้นร้อยละ 17.4, 31.4, 38 และ 42.6 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับระดับ Zn 0

ปริมาณความเข้มข้นของไฟเททในส่วนของข้าวกล้องและข้าวสาร พบว่าระดับการพ่นปุ๋ยสังกะสีไม่มีผลต่อปริมาณความเข้มข้นของไฟเททในส่วนของเมล็ดข้าวกล้องของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ในขณะที่การพ่นปุ๋ย ส่วนข้าวพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ด พบว่าการพ่นสังกะสีที่ระดับ Zn 0.1, Zn 0.2 และ Zn

0.3 มีปริมาณความเข้มข้นไฟเตทในเมล็ดข้าวกล้องไม่แตกต่างจากการพ่นปุ๋ยที่ระดับ Zn 0 ในขณะที่พ่นปุ๋ยสังกะสีที่ระดับ Zn 0.4 ส่งผลให้ไฟเตทในเมล็ดข้าวกล้องลดลงร้อยละ 21.3 ส่วนการสะสมไฟเตทในเมล็ดข้าวสารของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 พบว่าการพ่นปุ๋ยสังกะสีที่ระดับ Zn 0.1, Zn 0.2 และ Zn 0.3 ส่งผลให้ความเข้มข้นไฟเตทลดลงร้อยละ 55.6, 44.4 และ 44.4 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับระดับ Zn 0 ส่วนในข้าวพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ด พบว่าการพ่นปุ๋ยสังกะสีที่ระดับ Zn 0.4 ส่งผลให้ไฟเตทในเมล็ดข้าวสารเพิ่มขึ้นร้อยละ 12.2

อัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นไฟเตทและความเข้มข้นของธาตุสังกะสี (Phytate:Zn ratio) ในเมล็ดข้าวกล้องและข้าวสาร พบว่าข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 พบว่าการพ่นปุ๋ยสังกะสีที่ระดับ Zn 0.3 และ Zn 0.4 มี Phytate:Zn ratio ในเมล็ดข้าวกล้องเพิ่มขึ้นร้อยละ 26.2 และ 23.9 ตามลำดับ ส่วนในข้าวพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ด พบว่าพ่นปุ๋ยสังกะสีที่ระดับ Zn 0.1, Zn 0.2, Zn 0.3 และ Zn 0.4 ส่งผลให้ Phytate:Zn ratio ในเมล็ดข้าวกล้องลดลงร้อยละ 18, 38.7, 32.9 และ 41.3 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับระดับ Zn 0 ส่วน Phytate:Zn ratio ในเมล็ดข้าวสาร ในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 พบว่าการพ่นปุ๋ยสังกะสีที่ระดับ Zn 0.1, Zn 0.2 และ Zn 0.3 ส่งผลให้ Phytate:Zn ratio เพิ่มขึ้นร้อยละ 47.4, 30.9 และ 17.5 ตามลำดับ ส่วนในข้าวพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ด พบว่าการพ่นปุ๋ยสังกะสีที่ระดับ Zn 0.1, Zn 0.2, Zn 0.3 และ Zn 0.4 ส่งผลให้ Phytate:Zn ratio ลดลงร้อยละ 14.7, 25.5, 30.6 และ 19.7 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับระดับ Zn 0

ตารางที่ 2.5 ความเข้มข้นสังกะสี ความเข้มข้นของไฟเตท และอัตราส่วนความเข้มข้นสังกะสีต่อความเข้มข้นไฟเตทของข้าว 2 พันธุ์ ที่ปลูกในปี 2559

ZnSO ₄ ×7H ₂ O application rate (%)	Brown rice		White rice	
	CNT1	KDK	CNT1	KDK
Zn concentration (mg/kg)				
Zn 0	21.1 c	30.6 b	17.0 f	24.1 c
Zn 0.1	22.3 c	30.8 b	18.2 ef	24.3 c
Zn 0.2	22.3 c	32.4 b	18.9 de	26.1 b
Zn 0.3	22.3 c	37.0 a	19.2 de	29.7 a
Zn 0.4	22.4 c	32.8 b	20.4 d	29.9 a
F-test (P<0.05)	*		**	
Phytate concentration (mg/g)				
Zn 0	7.7 d	9.6 a	5.1 b	6.5 a
Zn 0.1	7.6 d	9.5 ab	3.9 c	6.1 a
Zn 0.2	7.6 d	9.1 b	3.9 c	6.4 a
Zn 0.3	7.6 d	8.5 c	3.8 c	6.2 a
Zn 0.4	7.7 d	9.3 ab	3.7 c	5.4 b
F-test (P<0.05)	**		*	
Phytate:Zn ratio				
Zn 0	36.1 a	30.9 bc	29.7 a	26.4 b
Zn 0.1	33.9 a	30.8 bcd	21.4 c	25.0 b
Zn 0.2	34.0 a	27.9 d	20.3 cd	24.1 b
Zn 0.3	33.7 ab	22.9 e	19.9 cd	20.8 c
Zn 0.4	34.0 a	28.2 cd	18.3 d	17.9 d
F-test (P<0.05)	*		**	

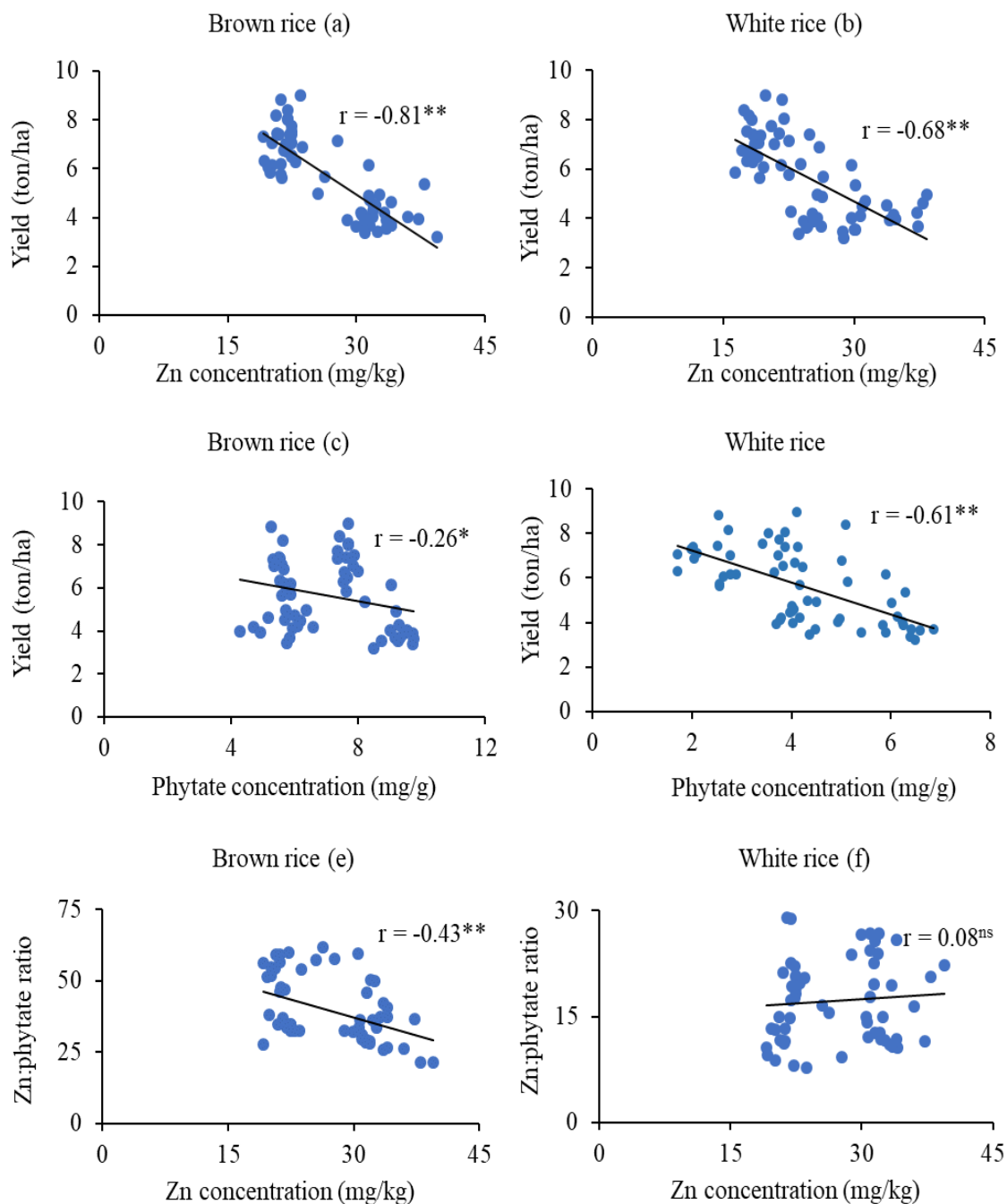
ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของธาตุสังกะสี ปริมาณความเข้มข้นไฟเตตต่อผลผลิต และความเข้มข้นของธาตุสังกะสีต่ออัตราส่วนระหว่างไฟเตตและสังกะสี ในส่วนของเมล็ด ข้าวกล้องและข้าวสาร

ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ (Correlation Analysis) ระหว่างความเข้มข้นธาตุสังกะสีต่อผลผลิต ของข้าว 2 พันธุ์ ภายใต้อัตราการพ่นปุ๋ยสังกะสีระดับต่าง ๆ (ภาพที่ 6) พบว่า ระดับการพ่นปุ๋ยสังกะสีมีผลต่อความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นธาตุสังกะสีต่อผลผลิต โดยพบความสัมพันธ์เชิงลบในส่วนของข้าวกล้อง ($r = -8.1^{**}$) (ภาพที่ 6a) ในส่วนของข้าวสาร ($r = -0.68^{**}$) (ภาพที่ 6b) ในส่วนของความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นไฟเตตต่อผลผลิต พบความสัมพันธ์เชิงลบในส่วนของข้าวกล้อง ($r = -0.26^{*}$) (ภาพที่ 6c) ในส่วนของข้าวสาร ($r = -0.61^{**}$) (ภาพที่ 6d) และพบความสัมพันธ์เชิงลบระหว่างความเข้มข้นสังกะสี ต่อ Phytate:Zn ratio ในเมล็ดข้าวกล้อง ($r = -0.43^{**}$) (ภาพที่ 6e) แต่ไม่พบความสัมพันธ์ดังกล่าวในส่วนเมล็ดข้าวสาร ($r = 0.08ns$) (ภาพที่ 6f)

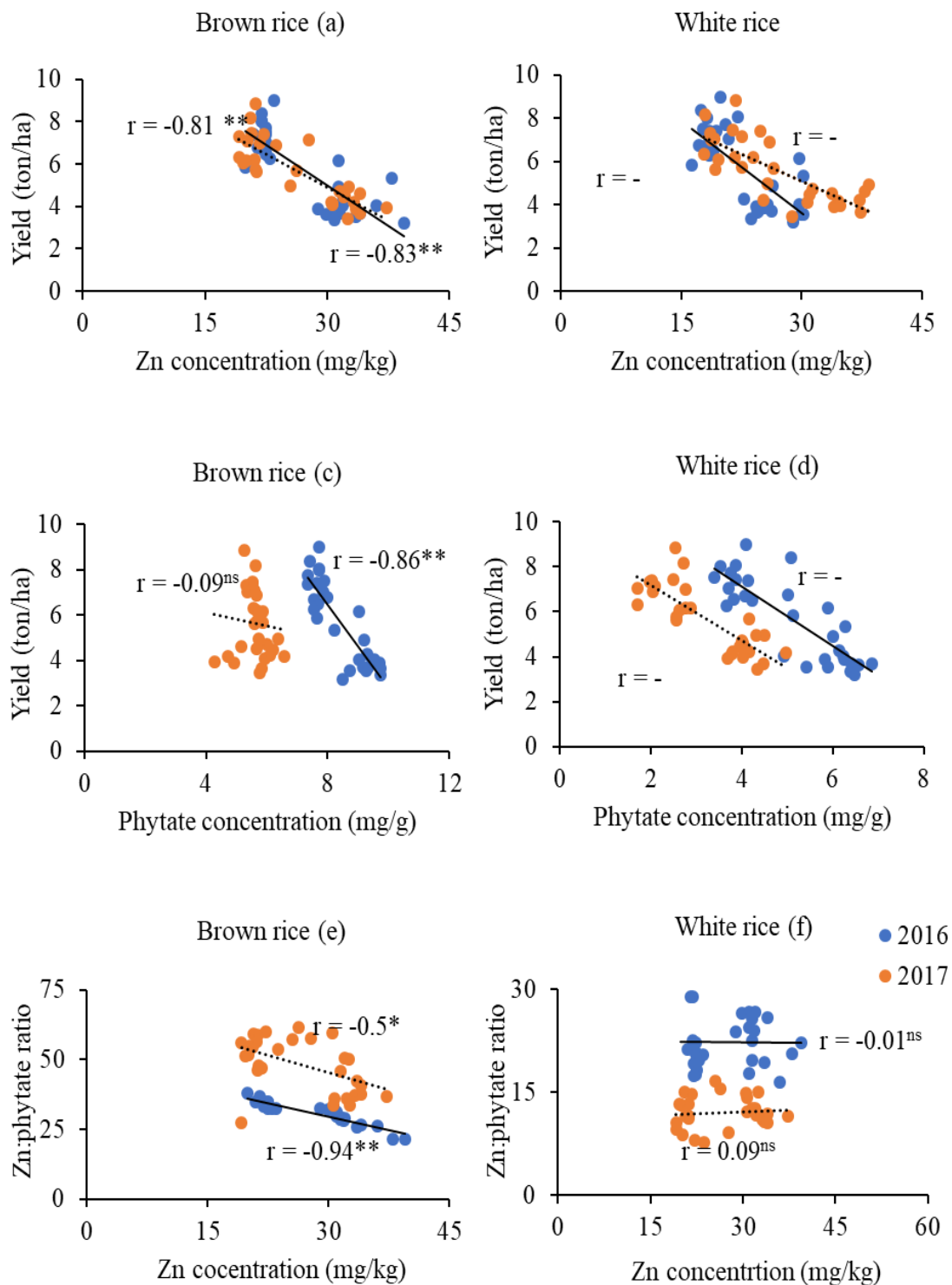
ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ (Correlation Analysis) ระหว่างความเข้มข้นธาตุสังกะสีต่อผลผลิต ของข้าว 2 พันธุ์ ภายใต้อัตราการพ่นปุ๋ยสังกะสีระดับต่าง ๆ (ภาพที่ 7) พบว่า ระดับการพ่นปุ๋ยสังกะสีมีผลต่อความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นธาตุสังกะสีต่อผลผลิต โดยพบความสัมพันธ์เชิงลบในส่วนของข้าวกล้อง ในปี 2559 ($r = -8.1^{**}$) ภายใต้ปี 2560 ($r = -0.83^{**}$) (ภาพที่ 7a) ในส่วนของข้าวสาร ภายใต้ปี 2559 ($r = -0.77^{**}$) ภายใต้ปี 2560 ($r = -0.72^{**}$) (ภาพที่ 7b) ในส่วนของความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นไฟเตตต่อผลผลิต พบความสัมพันธ์เชิงลบในส่วนของข้าวกล้อง ภายใต้ปีปลูก 2559 ($r = -0.86^{**}$) แต่ไม่พบความสัมพันธ์ในปี 2560 ($r = -0.09ns$) (ภาพที่ 7c) ในส่วนของข้าวสารพบความสัมพันธ์เชิงลบ ภายใต้ปี 2559 ($r = -0.83^{**}$) และปี 2560 ($r = -0.82^{**}$) (ภาพที่ 7d) และพบความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสังกะสี ต่อ Phytate:Zn ratio โดยพบความสัมพันธ์เชิงลบในเมล็ดข้าวกล้อง ภายใต้ปีปลูก 2559 ($r = -0.94^{**}$) และในปี 2560 ($r = -0.5^{*}$) (ภาพที่ 7e) ในขณะที่ไม่พบความสัมพันธ์ดังกล่าวในส่วนเมล็ดข้าวสารในปี 2559 ($r = -0.01ns$) และภายใต้ปี 2560 ($r = 0.09ns$) (ภาพที่ 7f)

ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ (Correlation Analysis) ระหว่างความเข้มข้นธาตุสังกะสีต่อผลผลิต ของข้าว 2 พันธุ์ ภายใต้อัตราการพ่นปุ๋ยสังกะสีระดับต่าง ๆ (ภาพที่ 8) พบว่า ระดับการพ่นปุ๋ยสังกะสีไม่มีผลต่อความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นธาตุสังกะสีต่อผลผลิต ในส่วนของข้าวกล้อง และข้าวขาวในข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ (ภาพที่ 8a และ 8b) ในขณะที่เดียวกันไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นไฟเตตต่อผลผลิต ของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และข้าวพันธุ์กำดอยสะเกิด ในส่วนของข้าวกล้องและข้าวขาว (ภาพที่ 8c และ 8d) ในทางตรงกันข้ามระดับการพ่นปุ๋ยสังกะสีมีผลต่อความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสังกะสี ต่อ Phytate:Zn ratio โดยพบความสัมพันธ์เชิงลบในข้าวพันธุ์กำดอยสะเกิด ในส่วนเมล็ดข้าวกล้อง ($r = -0.6^{**}$) แต่ไม่พบความสัมพันธ์ในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1

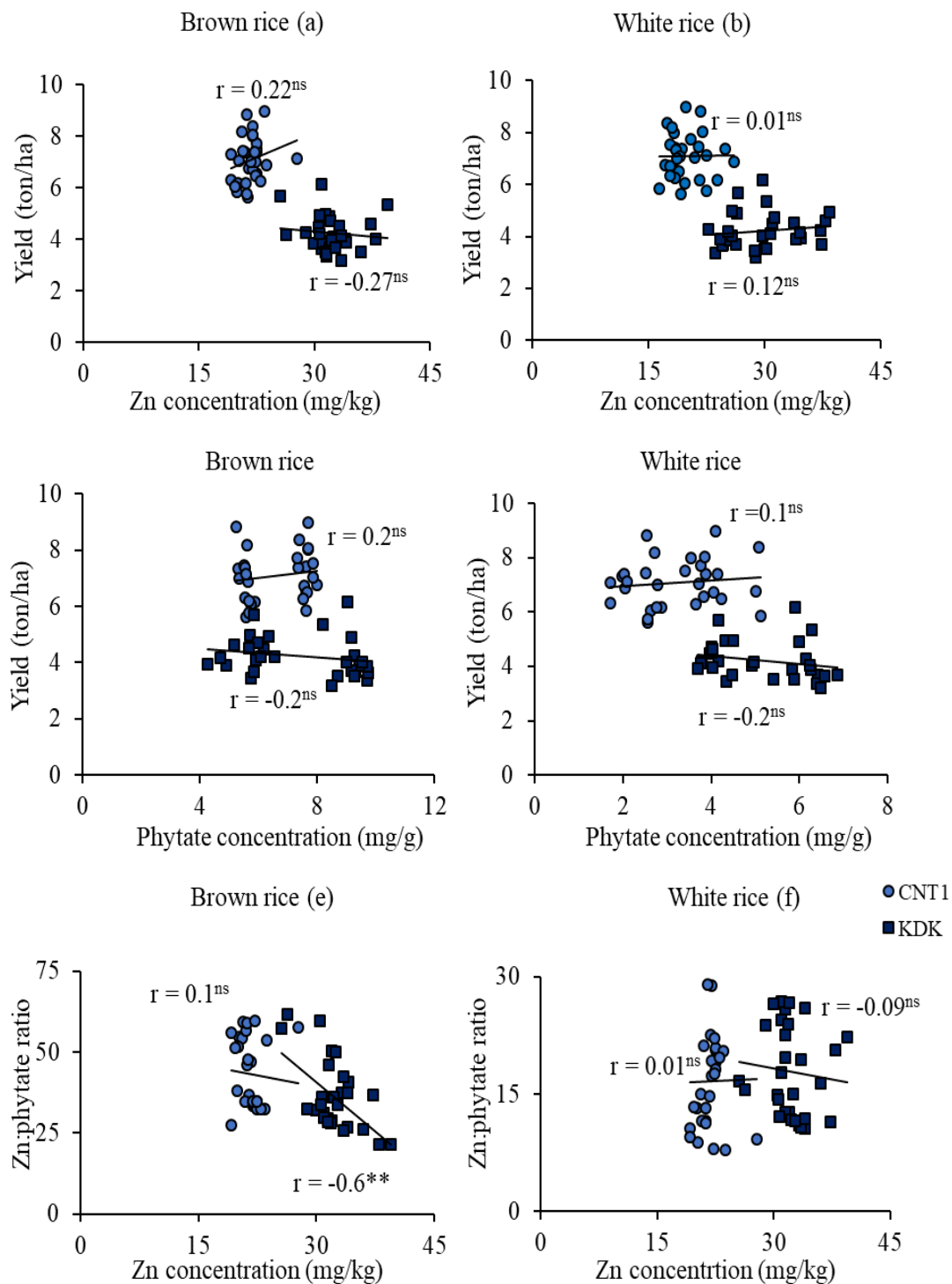
(ภาพที่ 8e) ในส่วนเมล็ดข้าวสารไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสังกะสี ต่อ Phytate:Zn ratio ในข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ (ภาพที่ 8f)



ภาพที่ 6 ความสัมพันธ์ของความเข้มข้นสังกะสีและผลผลิต (a, b) ความเข้มข้นไฟเตทและผลผลิต (c, d) และความเข้มข้นสังกะสีและอัตราส่วนความเข้มข้นสังกะสีกับความเข้มข้นไฟเตท (e, f) ของข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ภายใต้การจัดการฟอสฟอรัสระดับต่าง ๆ



ภาพที่ 7 ความสัมพันธ์ของความเข้มข้นสังกะสีและผลผลิตเมล็ด (a, b) ความเข้มข้นไฟเตทและผลผลิต (c, d) และความเข้มข้นสังกะสีและความเข้มข้นไฟเตท (e, f) ของข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ที่ปลูกในปี 2559 และ 2560



ภาพที่ 8 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นสังกะสีและผลผลิต (a, b) ความเข้มข้นไฟเตทและผลผลิต (c, d) และความเข้มข้นสังกะสีและอัตราส่วนความเข้มข้นสังกะสีต่อความเข้มข้นไฟเตท (e, f) ในข้าวทั้ง 2 พันธุ์

การทดลองที่ 3 การตอบสนองของพันธุ์ข้าวไร่และข้าวนาสวนต่อการพ่นปุ๋ยทางใบภายใต้สภาพการปลูกแบบน้ำขังและแอโรบิก

พบว่าพันธุ์ข้าวมีอิทธิพลต่อผลผลิต และดัชนีการเก็บเกี่ยว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในขณะที่พันธุ์ข้าวและสภาพการจัดการน้ำและปุ๋ย มีอิทธิพลต่อน้ำหนักแห้งฟางอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่ไม่พบปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างทั้งสองปัจจัยในแต่ละลักษณะ (ตารางที่ 2.7)

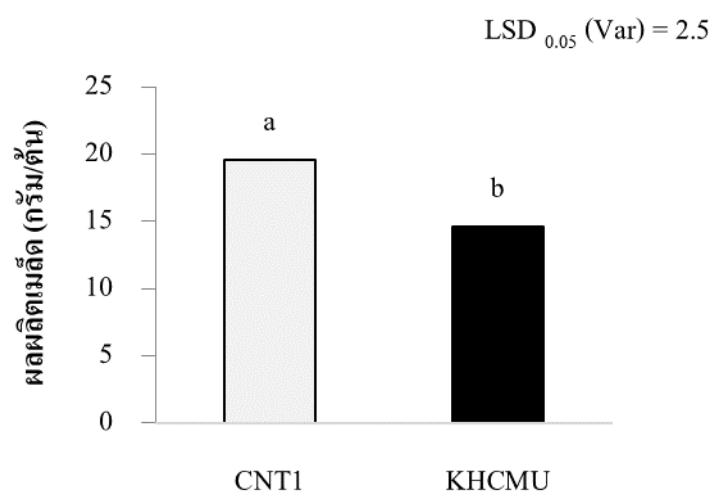
ตารางที่ 2.7 ความแปรปรวน (analysis of variance) ของผลผลิตเมล็ด น้ำหนักแห้งฟาง ดัชนีการเก็บเกี่ยว ต่อการจัดการน้ำและปุ๋ยในข้าว 2 พันธุ์

แหล่งความแปรปรวน	ผลผลิตเมล็ด (มก./ต้น)	น้ำหนักแห้งฟาง (มก./ต้น)	ดัชนีการเก็บเกี่ยว
พันธุ์ข้าว (Var)	**	**	**
สภาพการจัดการน้ำและปุ๋ย (Con)	ns	**	ns
พันธุ์ข้าวและสภาพการจัดการน้ำและปุ๋ย (Var x Con)	ns	ns	ns

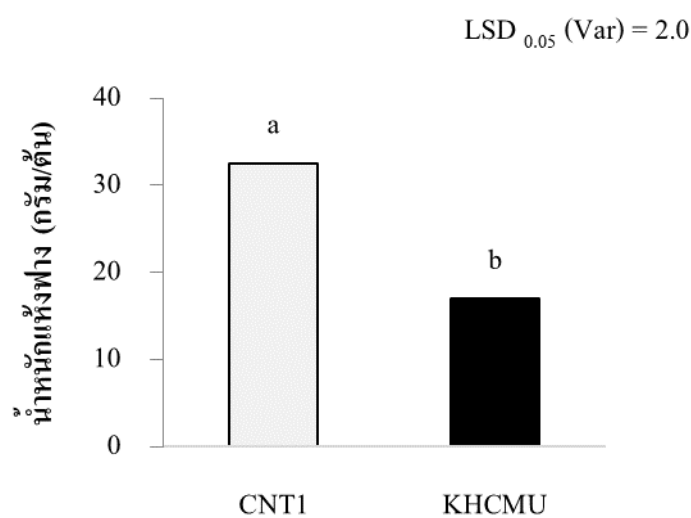
ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ, * = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$), ** = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$)

ผลผลิตเมล็ด น้ำหนักแห้งฟางข้าว และดัชนีการเก็บเกี่ยว

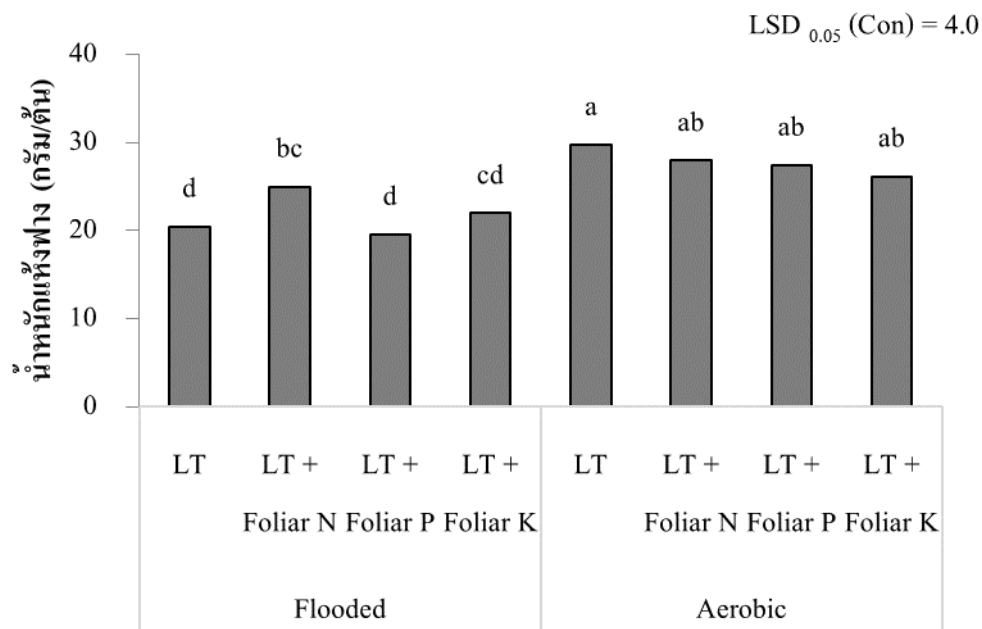
พบว่าพันธุ์ข้าวมีความแตกต่างของผลผลิตเมล็ด โดยข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 มีค่าเฉลี่ยผลผลิตเมล็ดเท่ากับ 19.55 กรัมต่อต้น ซึ่งมากกว่าข้าวพันธุ์กำหอม มช. ที่มีผลผลิตเมล็ดเฉลี่ย 14.60 กรัมต่อต้น (ภาพที่ 9) น้ำหนักแห้งฟางพบว่าข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 มีน้ำหนักแห้งฟางมากกว่าข้าวพันธุ์กำหอม มช. เช่นเดียวกัน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 32.55 และ 17.00 กรัมต่อต้น ตามลำดับ (ภาพที่ 10) โดยการปลูกในสภาพแอโรบิกร่วมกับการจัดการปุ๋ยแบบ LT มีน้ำหนักแห้งฟางสูงสุด เท่ากับ 29.73 กรัมต่อต้น และน้อยสุดที่สภาพการปลูกแบบน้ำขังร่วมกับการจัดการปุ๋ยแบบ LT และ Foliar P เฉลี่ยเท่ากับ 20.01 กรัมต่อต้น (ภาพที่ 11) ดัชนีการเก็บเกี่ยวพบว่าข้าวพันธุ์กำหอม มช. มีดัชนีการเก็บเกี่ยวมากกว่าพันธุ์ชัยนาท 1 เฉลี่ยเท่ากับ 0.52 และ 0.42 ตามลำดับ (ภาพที่ 12)



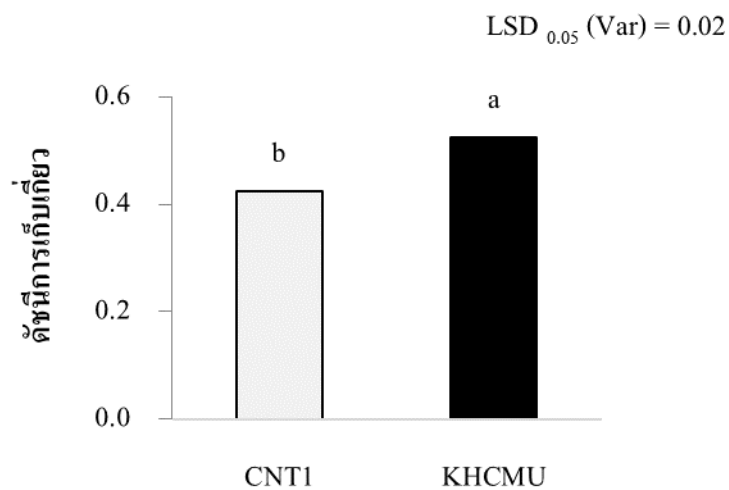
ภาพที่ 9 ผลผลิตเมล็ดในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มช. ที่เฉลี่ยจากการจัดการน้ำและปุ๋ยแต่ละกรรมวิธี



ภาพที่ 10 น้ำหนักแห้งฟางในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มช. เฉลี่ยจากการจัดการน้ำและปุ๋ยแต่ละกรรมวิธี



ภาพที่ 11 น้ำหนักแห้งฟางปลูกในสภาพการจัดการน้ำแบบน้ำขังและแอโรบิก และมีการจัดการปุ๋ยแตกต่างกัน



ภาพที่ 12 ดัชนีการเก็บเกี่ยวในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และท่าหอม มช. เจลี่ยจากการจัดการน้ำและปุ๋ยแต่ละกรรมวิธี

องค์ประกอบผลผลิต

พบปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างพันธุ์ข้าวและการจัดการน้ำและปุ๋ยต่อองค์ประกอบผลผลิต 4 ลักษณะคือ ความสูงต้น จำนวนหน่อตอกอ จำนวนรวงตอกอ และน้ำหนัก 1,000 เมล็ด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) แต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติในเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีและเมล็ดลีบ (ตารางที่ 2.8)

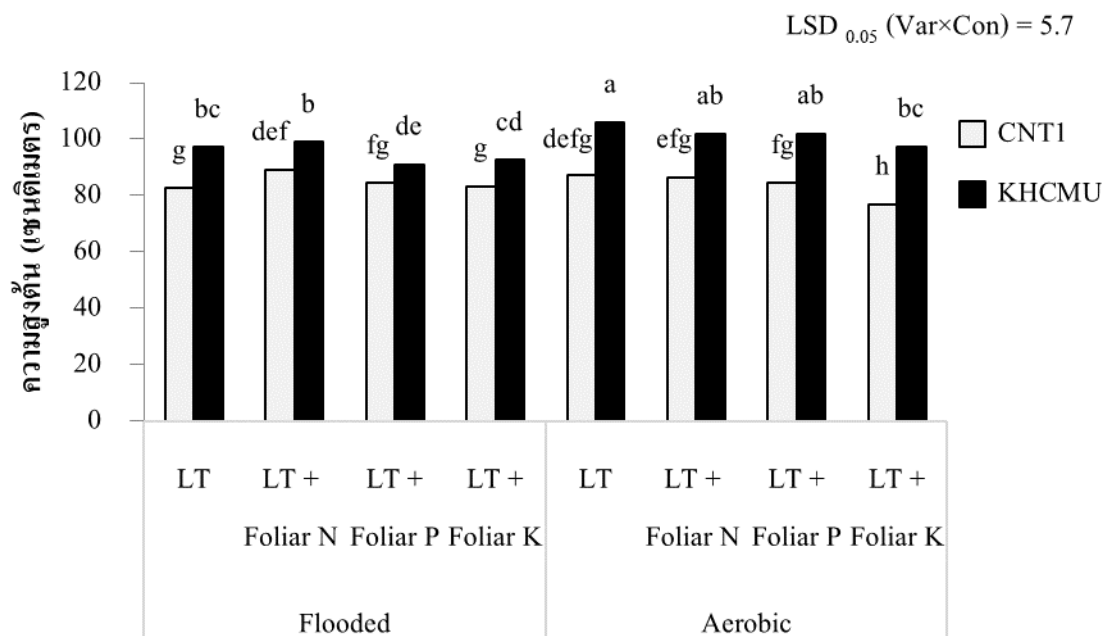
ตารางที่ 2.8 ความแปรปรวน (analysis of variance) ขององค์ประกอบผลผลิตต่อการจัดการน้ำและปุ๋ยในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มช.

แหล่งความแปรปรวน	องค์ประกอบผลผลิต					น้ำหนัก 1,000 เมล็ด
	ความสูงต้น	จำนวนหน่อตอกอ	จำนวนรวงตอกอ	เปอร์เซ็นต์เมล็ดดี	เปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบ	
พันธุ์ข้าว (Var)	**	**	**	ns	ns	**
สภาพการจัดการน้ำและปุ๋ย (Con)	**	*	ns	ns	ns	**
พันธุ์ข้าว × สภาพการจัดการน้ำและปุ๋ย (Var x Con)	**	**	**	ns	ns	**

ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ, * = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$), ** = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$)

ความสูงต้น

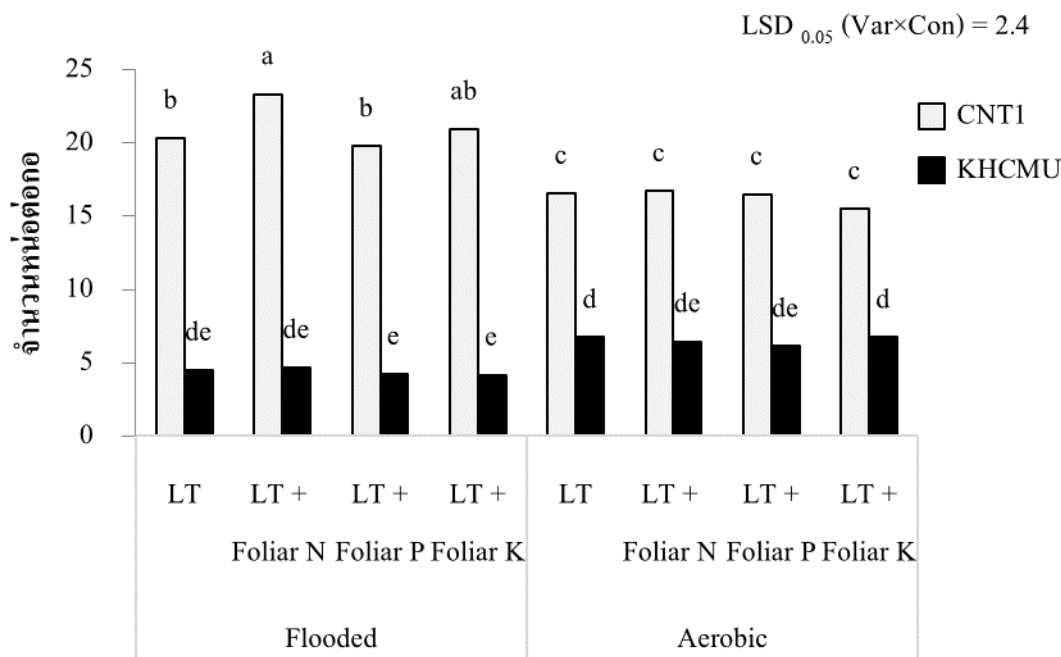
พบปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างพันธุ์ข้าว และสภาพการจัดการน้ำ ต่อความสูงต้น (ตารางที่ 2.8) โดยข้าวพันธุ์กำหอม มช. ในสภาพการปลูกแบบแอโรบิกร่วมกับการจัดการปุ๋ยแบบ LT มีความสูงต้นสูงสุด คือ 105.9 เซนติเมตร รองลงมาคือ Foliar P และ Foliar N มีความสูงเท่ากับ 102.0 และ 101.8 เซนติเมตร ตามลำดับ และต้นเตี้ยที่สุด คือ 76.9 เซนติเมตร ในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ในสภาพการปลูกแบบแอโรบิกร่วมกับการจัดการปุ๋ยแบบ Foliar K (ภาพที่ 13)



ภาพที่ 13 ความสูงต้นของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มช. ที่ปลูกในสภาพการจัดการน้ำแบบน้ำขังและแอโรบิก และมีการจัดการปุ๋ยแตกต่างกัน

จำนวนหน่อตอก

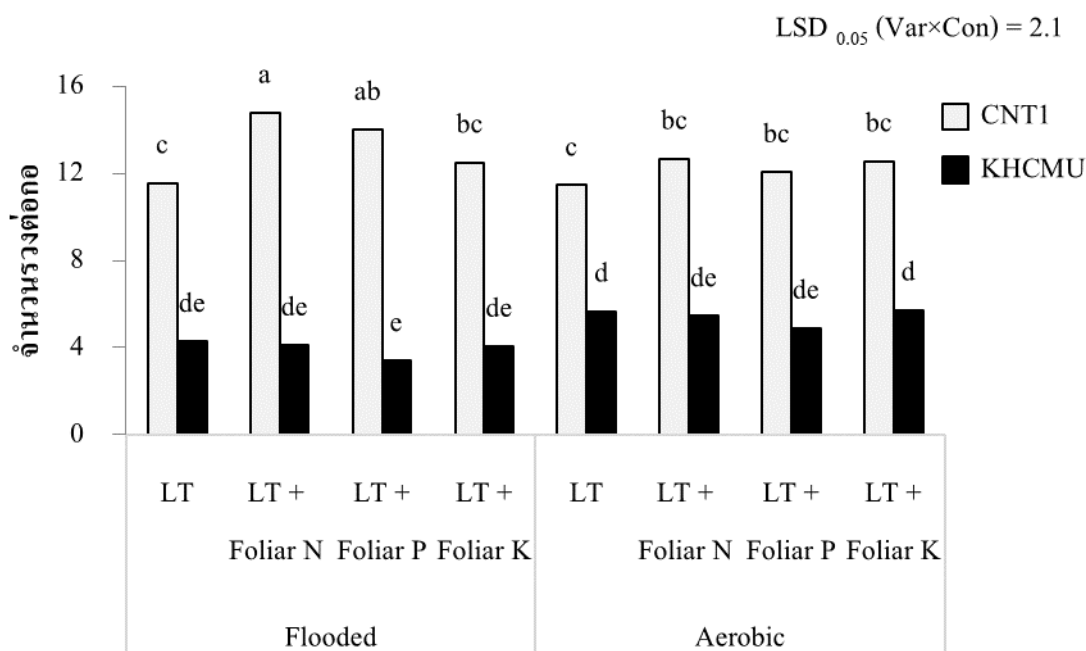
พบปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างพันธุ์ข้าว และสภาพการจัดการน้ำ ต่อจำนวนหน่อตอก (ตารางที่ 2.8) ข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ในสภาพการปลูกแบบน้ำขังร่วมกับการจัดการปุ๋ยแบบ Foliar N ให้จำนวนหน่อตอกมากที่สุด คือ 23 หน่อตอก รองลงมา คือ Foliar K เท่ากับ 21 หน่อตอก ในขณะที่ข้าวพันธุ์กำหอม มช. ที่ปลูกในสภาพแอโรบิกในการจัดการปุ๋ยทุกแบบให้จำนวนหน่อตอกเฉลี่ยเท่ากับ 6 หน่อตอก ซึ่งมากกว่าการปลูกแบบน้ำขังร่วมกับการจัดการปุ๋ยทุกแบบที่มีจำนวนหน่อตอกเฉลี่ยเท่ากับ 4 หน่อตอก (ภาพที่ 14)



ภาพที่ 14 จำนวนหน่อตอในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มช. ที่ปลูกในสภาพการจัดการน้ำแบบน้ำขังและแอโรบิก

จำนวนรวงตอ

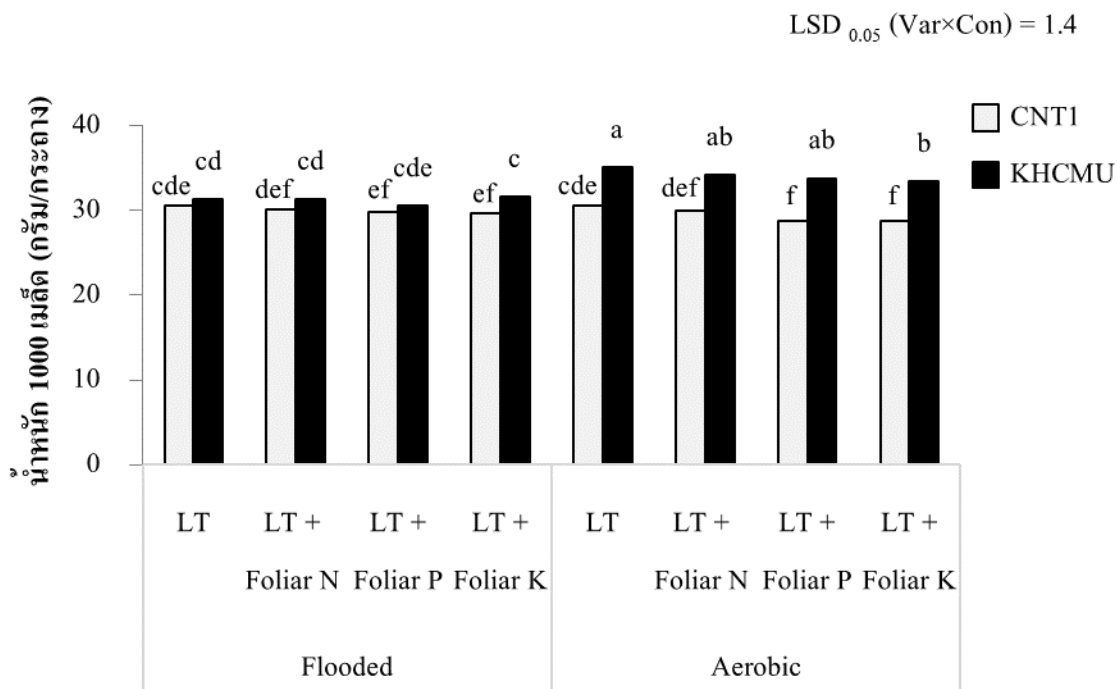
พบปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างพันธุ์ข้าว และสภาพการจัดการน้ำ ต่อจำนวนรวงตอ (ตารางที่ 2.8) ข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ในการปลูกแบบสภาพน้ำขังร่วมกับการจัดการปุ๋ยแบบ Foliar N ให้จำนวนรวงตอมากที่สุด คือ 15 รวงตอ รองลงมา คือ Foliar P เท่ากับ 14 รวงตอ และข้าวพันธุ์กำหอม มช. ที่ปลูกในสภาพน้ำขังและแอโรบิกในทุกแบบของการจัดการปุ๋ยมีจำนวนรวงเฉลี่ยเท่ากับ 5 รวงตอ ในขณะที่การปลูกในสภาพน้ำขังร่วมกับการจัดการปุ๋ยแบบ Foliar P มีจำนวนรวงตอ น้อยที่สุด คือ 3 รวงตอ (ภาพที่ 15)



ภาพที่ 15 จำนวนรวงตอกในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มช. ที่ปลูกในสภาพการจัดการน้ำแบบน้ำขังและแอโรบิก และมีการจัดการปุ๋ยแตกต่างกัน

น้ำหนัก 1,000 เมล็ด

พบปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างพันธุ์ข้าว และสภาพการจัดการน้ำ ต่อน้ำหนัก 1,000 เมล็ด (ตารางที่ 2.8) โดยพบว่าข้าวพันธุ์กำหอม มช. ในสภาพการปลูกแบบแอโรบิกร่วมกับการจัดการปุ๋ยแบบ LT ให้น้ำหนัก 1,000 เมล็ดมากที่สุด คือ 35.02 กรัม รองลงมา คือ Foliar N และ Foliar P ให้น้ำหนัก 1,000 เมล็ดไม่แตกต่างกันเท่ากับ 33.98 กรัม และน้ำหนัก 1,000 เมล็ดน้อยที่สุดในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ในสภาพการปลูกแบบแอโรบิกร่วมกับการจัดการปุ๋ยแบบ Foliar K และ Foliar P ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 28.77 และ 28.75 กรัม ตามลำดับ (ภาพที่ 16)



ภาพที่ 16 น้ำหนัก 1,000 เมล็ดในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และท่าหอม มช. ที่ปลูกในสภาพการจัดการน้ำแบบน้ำขังและแอโรบิก และมีการจัดการปุ๋ยแตกต่างกัน

ความเข้มข้นของธาตุอาหารในเมล็ดข้าวกล้อง

พบว่า สภาพการจัดการน้ำและปุ๋ย มีอิทธิพลต่อความเข้มข้นของไนโตรเจนในเมล็ดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) พันธุ์ข้าว การจัดการน้ำและปุ๋ย และปฏิสัมพันธ์ระหว่างทั้งสอง ปัจจัยมีอิทธิพลต่อความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในเมล็ดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในขณะที่พันธุ์ข้าวเท่านั้นที่มีอิทธิพลต่อความเข้มข้นของโพแทสเซียมในเมล็ดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 2.9)

ตารางที่ 2.9 ความแปรปรวน (analysis of variance) ในการจัดการน้ำและปุ๋ยต่อความเข้มข้นของธาตุอาหารในเมล็ดข้าวกล้องของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มช.

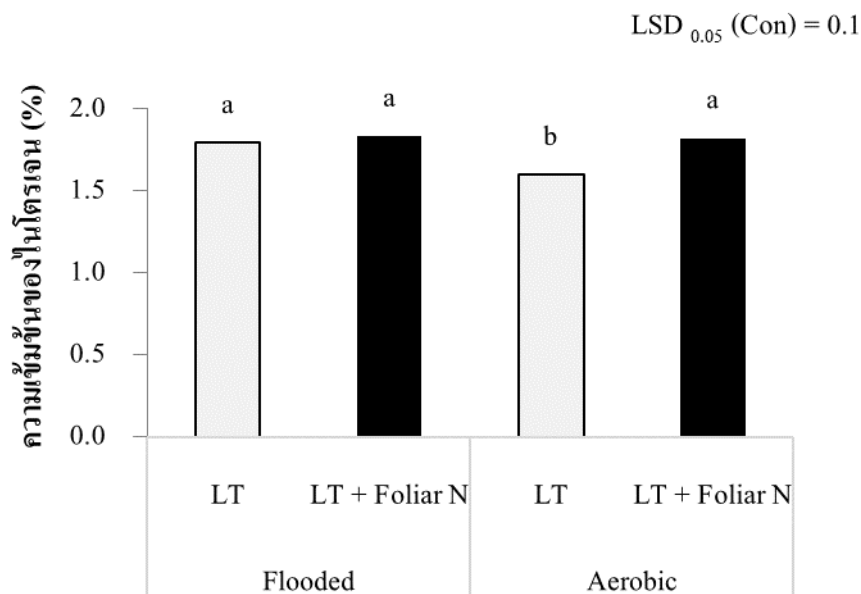
แหล่งความแปรปรวน	ความเข้มข้นของธาตุอาหารในเมล็ด		
	ไนโตรเจน (%)	ฟอสฟอรัส (%)	โพแทสเซียม (%)
พันธุ์ข้าว (Var)	ns	**	**
สภาพการจัดการน้ำและปุ๋ย (Con)	**	**	ns
พันธุ์ข้าว x สภาพการจัดการน้ำและปุ๋ย (Var x Con)	ns	*	ns

ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ, * = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$),

** = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

ความเข้มข้นไนโตรเจนในเมล็ดข้าวกล้อง

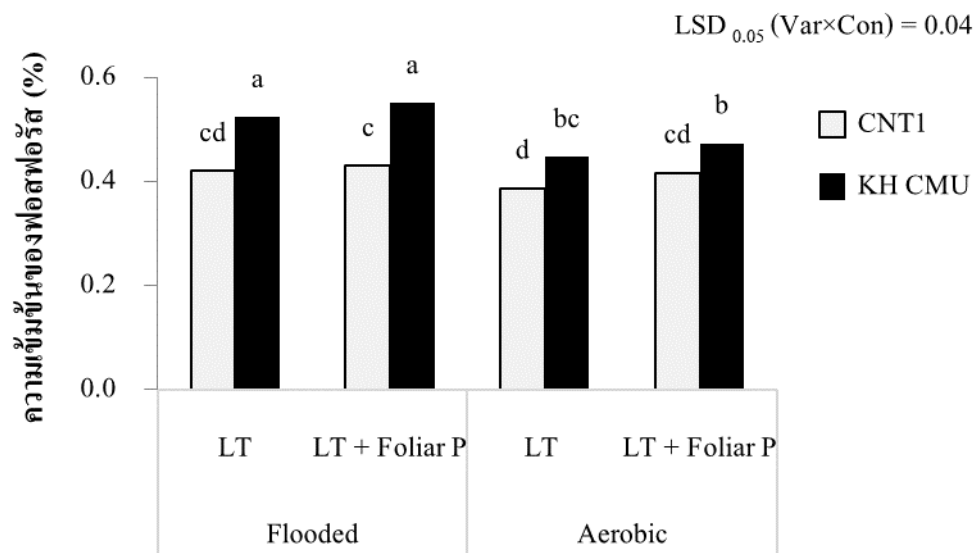
สภาพการจัดการน้ำและปุ๋ย มีผลต่อความเข้มข้นไนโตรเจนในเมล็ดข้าวกล้อง (ตารางที่ 2.9) โดยพบว่าความเข้มข้นไนโตรเจนในสภาพการปลูกแบบน้ำขังร่วมกับการจัดการปุ๋ยแบบ LT และ Foliar N และในสภาพแอโรบิกร่วมกับการจัดการปุ๋ย LT + Foliar N มีค่าความเข้มข้นในเมล็ดสูงที่สุดไม่แตกต่างกันคือ 1.79 1.84 และ 1.82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าการปลูกในสภาพแอโรบิกร่วมกับการจัดการปุ๋ยแบบ LT มีความเข้มข้นของไนโตรเจนน้อยที่สุด เท่ากับ 1.60 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 17)



ภาพที่ 17 ความเข้มข้นไนโตรเจนในเมล็ดข้าวกล้องที่ปลูกในสภาพการจัดการน้ำแบบน้ำขังและแอโรบิก และมีการจัดการปุ๋ยแตกต่างกัน

ความเข้มข้นฟอสฟอรัสในเมล็ดข้าวกล้อง

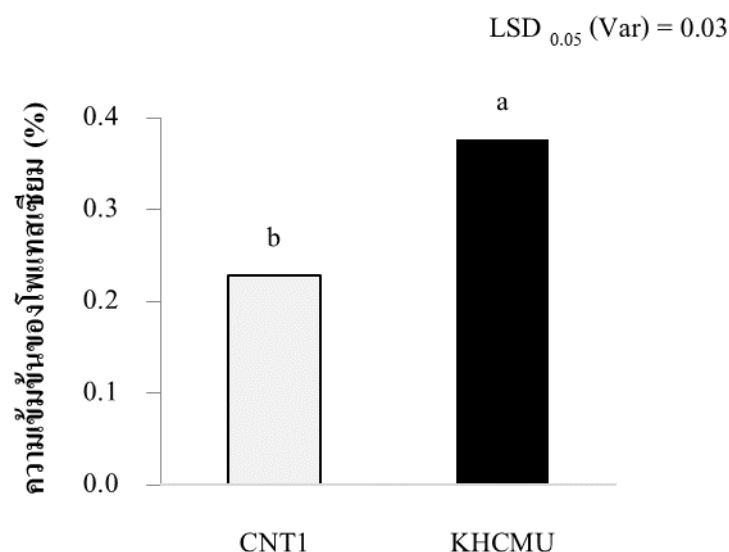
พบปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างพันธุ์ข้าว และสภาพการจัดการน้ำและปุ๋ย ต่อความเข้มข้นฟอสฟอรัสในเมล็ดข้าวกล้อง (ตารางที่ 2.9) โดยพบว่าข้าวพันธุ์กำหอม มช. ในสภาพการปลูกแบบน้ำขังร่วมกับการจัดการปุ๋ยแบบ Foliar P และ LT มีความเข้มข้นฟอสฟอรัสมากที่สุด เท่ากับ 0.55 และ 0.52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ในสภาพแอโรบิกร่วมกับการจัดการปุ๋ยแบบ LT มีความเข้มข้นฟอสฟอรัสน้อยที่สุด คือ 0.39 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 18)



ภาพที่ 18 ความเข้มข้นฟอสฟอรัสในเมล็ดข้าวกล้องในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มช. ที่ปลูกในสภาพการจัดการน้ำแบบน้ำขังและแอโรบิก และมีการจัดการปุ๋ยแตกต่างกัน

ความเข้มข้นโพแทสเซียมในเมล็ดข้าวกล้อง

พันธุ์ข้าวโพแทสเซียมในเมล็ดข้าวกล้องมีผลต่อความเข้มข้น (ตารางที่ 2.9) พบว่า พันธุ์กำหอม มช. มีความเข้มข้นโพแทสเซียมเท่ากับ 0.45 เปอร์เซ็นต์ มากกว่าพันธุ์ชัยนาท 1 ที่มีความเข้มข้นโพแทสเซียมเท่ากับ 0.23 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 19)



ภาพที่ 19 ความเข้มข้นไนโตรเจนในเมล็ดข้าวกล้องในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มช. ที่เฉลี่ยจากการจัดการน้ำและปุ๋ยแต่ละกรรมวิธี

ความเข้มข้นของธาตุเหล็กและสังกะสีในเมล็ดข้าวกล้อง

พบว่า พันธุ์ข้าว สภาพการจัดการน้ำและปุ๋ย และปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสองมีอิทธิพลต่อความเข้มข้นของธาตุสังกะสีและเหล็กในเมล็ดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในสภาพการปลูกแบบน้ำขังและแอโรบิกรวมกับการจัดการปุ๋ยแบบ LT และ Foliar N (ตารางที่ 2.10)

ตารางที่ 2.10 ความแปรปรวน (analysis of variance) ในการจัดการน้ำและปุ๋ยต่อความเข้มข้นของธาตุสังกะสีและเหล็กในเมล็ดข้าวกล้องของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มช.

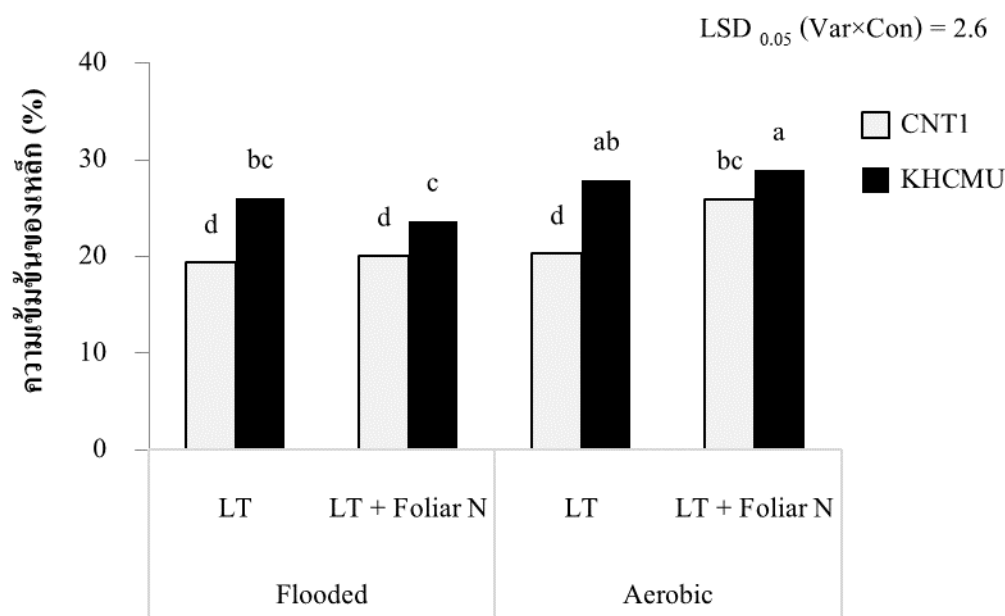
แหล่งความแปรปรวน	ความเข้มข้นของธาตุอาหารในเมล็ด	
	เหล็ก (%)	สังกะสี (%)
พันธุ์ข้าว (Var)	**	**
สภาพการจัดการน้ำและปุ๋ย (Con)	**	ns
พันธุ์ข้าว x สภาพการจัดการน้ำและปุ๋ย (Var x Con)	*	*

ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ, * = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$),

** = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

ความเข้มข้นธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวกล้อง

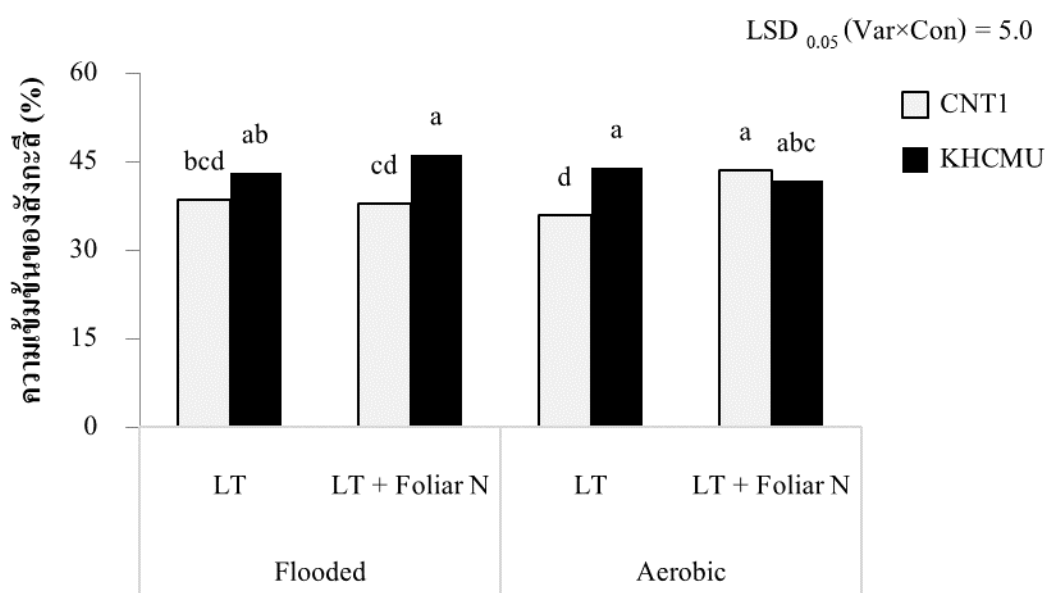
พบปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างพันธุ์ข้าว และสภาพการจัดการน้ำและปุ๋ย ต่อความเข้มข้นเหล็กในเมล็ดข้าวกล้อง (ตารางที่ 2.10) โดยพบว่าข้าวพันธุ์กำหอม มช. ในสภาพการปลูกแบบแอโรบิก ร่วมกับการจัดการปุ๋ยแบบ LT และ Foliar N มีความเข้มข้นเหล็กมากที่สุด เท่ากับ 28.94 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ 27.93 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าการปลูกในสภาพน้ำขัง ทั้งการจัดการปุ๋ยแบบ LT และ Foliar N ในขณะที่พันธุ์ชัยนาท 1 การปลูกแบบแอโรบิก ร่วมกับการจัดการปุ๋ยแบบ Foliar N มีความเข้มข้นธาตุเหล็กมากที่สุดคือ 25.96 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อเปรียบเทียบกับ การปลูกแบบแอโรบิก ร่วมกับ LT และสภาพการปลูกแบบน้ำขัง ร่วมกับการจัดการปุ๋ยแบบ Foliar N และ LT ซึ่งมีความเข้มข้นของเหล็กน้อยที่สุด คือ 20.27, 20.09 และ 19.36 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (ภาพที่ 20)



ภาพที่ 20 ความเข้มข้นเหล็กในเมล็ดข้าวกล้องในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มช. ที่ปลูกในสภาพการจัดการน้ำแบบน้ำขังและแอโรบิก และมีการจัดการปุ๋ยแตกต่างกัน

ความเข้มข้นสังกะสีในเมล็ดข้าวกล้อง

พบปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างพันธุ์ข้าว และสภาพการจัดการน้ำและปุ๋ย ต่อความเข้มข้นสังกะสีในเมล็ดข้าวกล้อง (ตารางที่ 2.10) โดย ข้าวพันธุ์กำหอม มช. ไม่มีความแตกต่างของความเข้มข้นธาตุสังกะสีในทุกสภาพการจัดการน้ำและปุ๋ย มีความเข้มข้นธาตุสังกะสีเฉลี่ยเท่ากับ 43.75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในขณะที่ข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ในสภาพการปลูกแบบโรบิกร่วมกับการจัดการปุ๋ยแบบ Foliar N มีความเข้มข้นสังกะสี 43.59 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มากกว่าในสภาพแอโรบิกร่วมกับการจัดการปุ๋ยแบบ LT และในสภาพขังน้ำกับการจัดการปุ๋ยแบบ LT และ Foliar N ที่มีความเข้มข้นธาตุสังกะสี 38.59 และ 37.92 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (ภาพที่ 21)



ภาพที่ 21 ความเข้มข้นสังกะสีในเมล็ดข้าวกล้องในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มช. ที่ปลูกในสภาพการจัดการน้ำแบบน้ำขังและแอโรบิก และมีการจัดการปุ๋ยแตกต่างกัน

ปริมาณธาตุอาหารในเมล็ดข้าวกล้อง

พบว่า พันธุ์ข้าว และสภาพการจัดการน้ำและปุ๋ยมีอิทธิพลต่อปริมาณไนโตรเจน โพแทสเซียม และเหล็กในเมล็ดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ไม่พบความแตกต่างใน ฟอสฟอรัส และสังกะสี (ตารางที่ 2.11)

ตารางที่ 2.11 ความแปรปรวน (analysis of variance) ในการจัดการน้ำและปุ๋ยต่อปริมาณของธาตุอาหารเมล็ดข้าวกล้องของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มข.

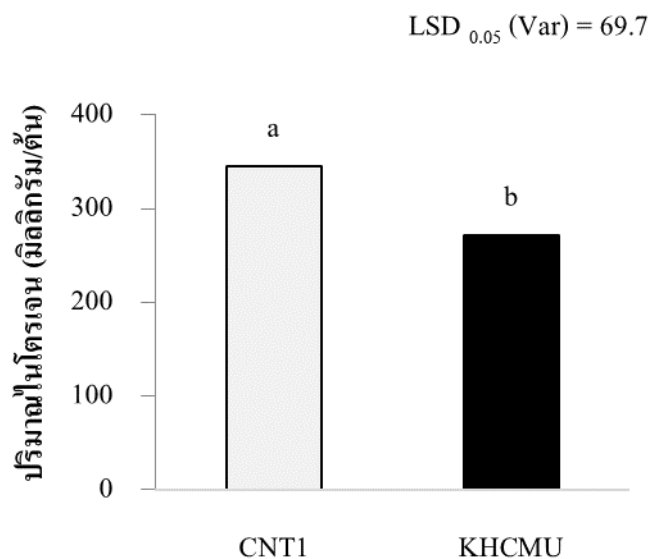
แหล่งความแปรปรวน	ปริมาณธาตุอาหารในเมล็ด				
	ไนโตรเจน (มก./ตัน)	ฟอสฟอรัส (มก./ตัน)	โพแทสเซียม (มก./ตัน)	เหล็ก (มก./ตัน)	สังกะสี (มก./ตัน)
พันธุ์ข้าว (Var)	*	ns	*	ns	ns
สภาพการจัดการน้ำ และปุ๋ย (Con)	ns	ns	ns	*	ns
พันธุ์ข้าว x สภาพการ จัดการน้ำและปุ๋ย (Var x Con)	ns	ns	ns	ns	ns

ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ, * = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$),

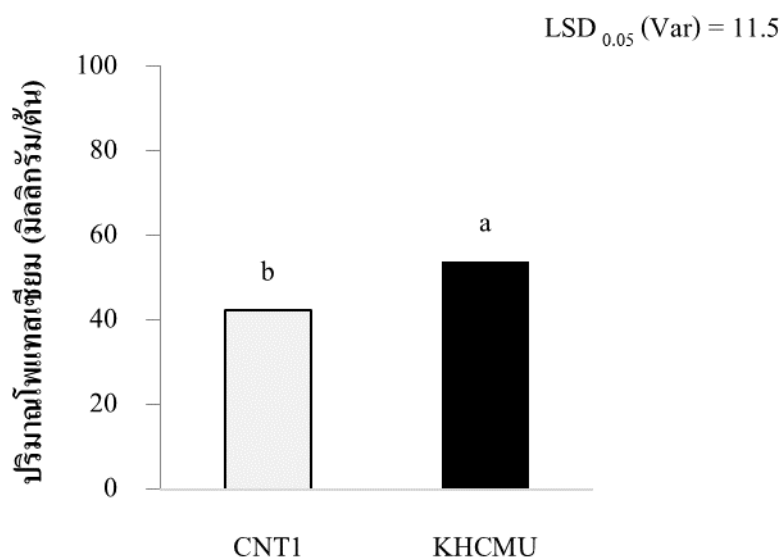
** = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

ปริมาณไนโตรเจนและโพแทสเซียมในเมล็ดข้าวกล้อง

พันธุ์ข้าว มีผลต่อปริมาณไนโตรเจน และโพแทสเซียมในเมล็ดข้าวกล้อง (ตารางที่ 2.11) โดยพบว่าข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 มีปริมาณไนโตรเจนในเมล็ดมากที่สุด คือ 344.9 มิลลิกรัมต่อตัน และพันธุ์กำหอม มข. มีน้อยที่สุด เท่ากับ 271.7 มิลลิกรัมต่อตัน (ภาพที่ 22) ในส่วนของปริมาณโพแทสเซียมในเมล็ดพบว่าข้าวพันธุ์กำหอม มข. มีปริมาณโพแทสเซียมในเมล็ดมากกว่าข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 คือ 54.0 มิลลิกรัมต่อตัน และข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 มีปริมาณโพแทสเซียมในเมล็ด เท่ากับ 42.4 มิลลิกรัมต่อตัน (ภาพที่ 23)



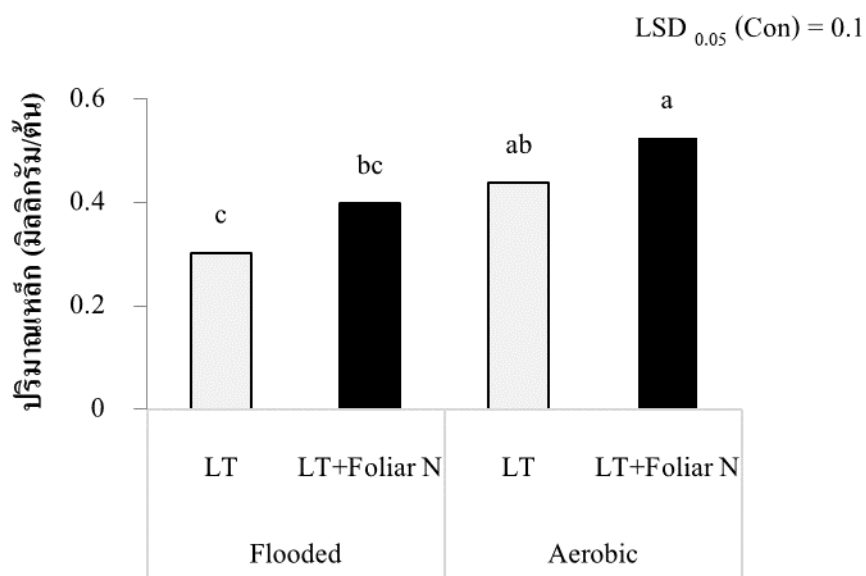
ภาพที่ 22 ปริมาณไนโตรเจนในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มช. เฉลี่ยจากการจัดการน้ำและปุ๋ยแต่ละกรรมวิธี



ภาพที่ 23 ปริมาณโพแทสเซียมในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มช. เฉลี่ยจากการจัดการน้ำและปุ๋ยแต่ละกรรมวิธี

ปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวกล้อง

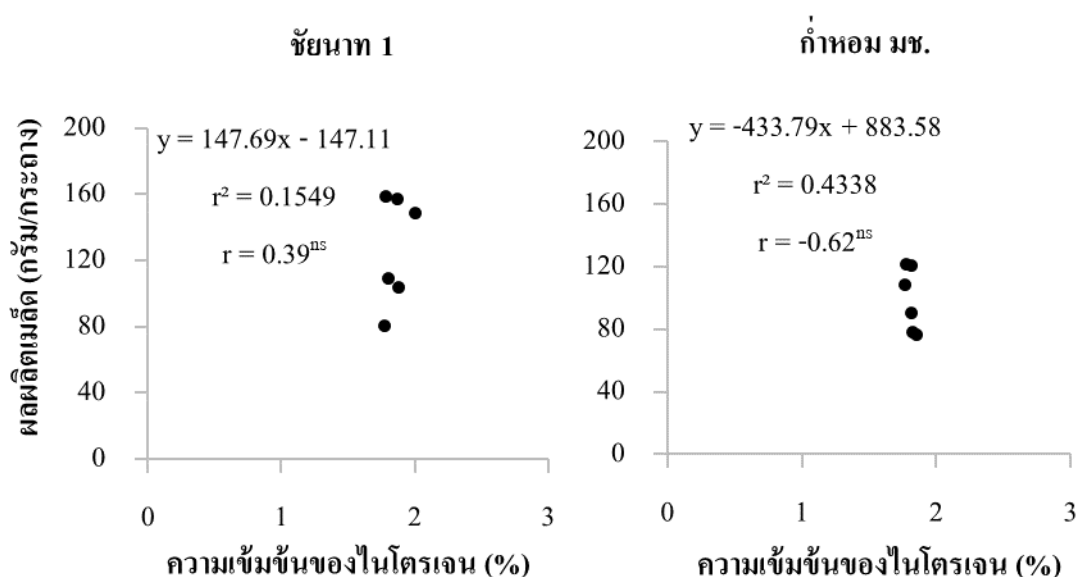
สภาพการจัดการน้ำและปุ๋ย มีผลต่อปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวกล้อง (ตารางที่ 2.11) โดยพบว่าปริมาณธาตุเหล็กจะสูงสุดในสภาพการปลูกแบบแอโรบิกร่วมกับการจัดการปุ๋ยแบบ Foliar N คือ 0.53 มิลลิกรัมต่อต้น และการปลูกในสภาพน้ำขังร่วมกับการจัดการปุ๋ยแบบ LT มีปริมาณเหล็กน้อยที่สุด เท่ากับ 0.30 มิลลิกรัมต่อต้น (ภาพที่ 24)



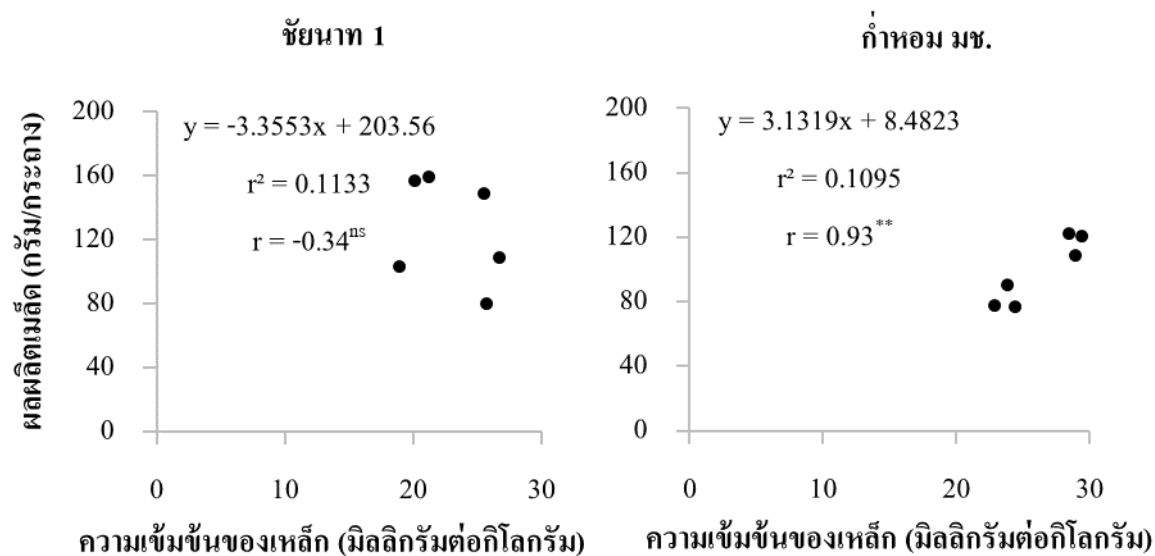
ภาพที่ 24 ปริมาณเหล็กในเมล็ดข้าวกล้องที่ปลูกในสภาพการจัดการน้ำแบบน้ำขังและแอโรบิก และมีการจัดการปุ๋ยแตกต่างกัน

ความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตเมล็ดและความเข้มข้นไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม เหล็ก และสังกะสีในเมล็ด

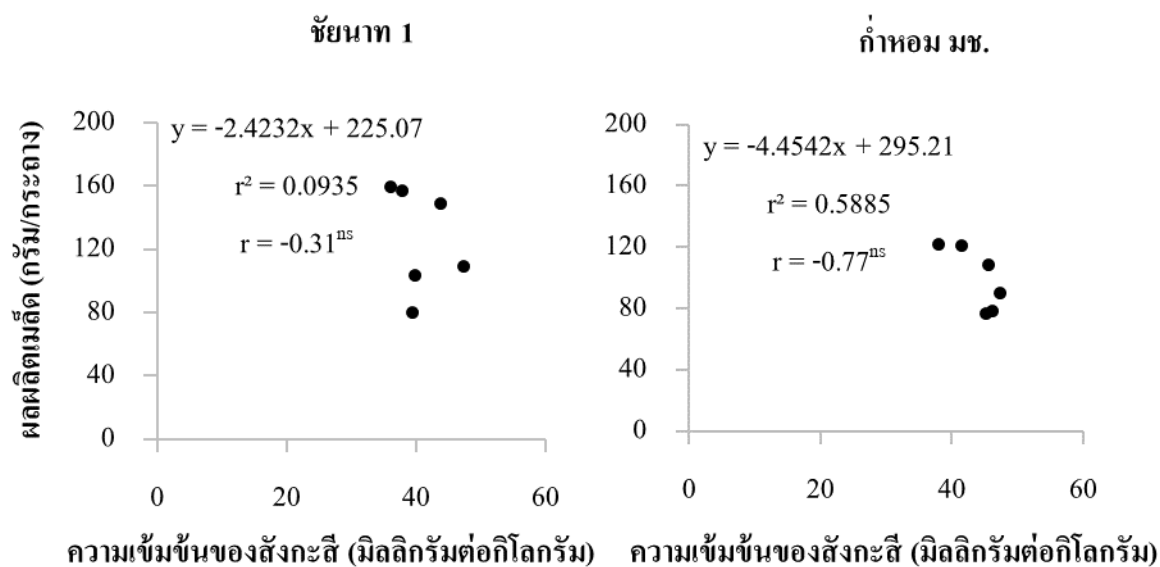
ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ (correlations analysis) ระหว่างผลผลิตเมล็ดและความเข้มข้นของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม เหล็ก และสังกะสีในเมล็ด มีความสัมพันธ์แตกต่างกันระหว่างข้าวทั้ง 2 พันธุ์ (ภาพที่ 25, 26, 27, 28 และ 29) พบว่า ข้าวพันธุ์กำหอม มช. มีความสัมพันธ์เชิงลบระหว่างผลผลิตเมล็ดและความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในเมล็ด ($r = -0.88^*$) และมีความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างผลผลิตเมล็ดและความเข้มข้นของเหล็กในเมล็ด ($r = 0.93^{**}$) แต่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตเมล็ดและความเข้มข้นของไนโตรเจน โพแทสเซียม และสังกะสีในเมล็ด และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตเมล็ดและความเข้มข้นของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม เหล็ก และสังกะสีในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1



ภาพที่ 25 ความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตเมล็ดและความเข้มข้นไนโตรเจนในเมล็ดในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มช. (ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ, * = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$ และ ** = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.01$)



ภาพที่ 28 ความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตเมล็ดและความชื้นเมล็ดในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มช. (ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ, * = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$ และ ** = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.01$)



ภาพที่ 29 ความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตเมล็ดและความชื้นเมล็ดในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มช. (ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ, * = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$ และ ** = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.01$)

บทวิจารณ์

การทดลองที่ 1 การตอบสนองของข้าวนาสวนและข้าวไร่ต่อการจัดการปุ๋ยสังกะสีร่วมกับไนโตรเจนในสภาพขังน้ำและไม่ขังน้ำ

ผลการทดลองนี้บ่งชี้ว่า ผลผลิตข้าวมีผลกระทบจากทั้ง 3 ปัจจัย คือ พันธุ์ข้าว การจัดการปุ๋ย และน้ำ ผลผลิตได้รับอิทธิพลจากปฏิสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์ข้าวและการจัดการน้ำ โดยข้าวทั้ง 2 พันธุ์มีความแตกต่างของต้นกำเนิดระบบการปลูก โดยพันธุ์กำหอม มข. มีต้นกำเนิดการปลูกเป็นระบบข้าวไร่ ในขณะที่พันธุ์ชัยนาท 1 มีต้นกำเนิดการปลูกเป็นระบบข้าวนาสวน พันธุ์กำหอม มข. เมื่อปลูกแบบน้ำขังซึ่งเป็นระบบการปลูกที่แตกต่างจากระบบดั้งเดิม ส่งผลให้น้ำหนักแห้งฟาง จำนวนหน่อตอกอ จำนวนรวงตอกอ และน้ำหนัก 1,000 เมล็ดลดลงเมื่อเปรียบกับการปลูกในสภาพแอโรบิกแต่อย่างไรก็ตาม การลดลงขององค์ประกอบผลผลิตดังกล่าวไม่มีผลกระทบต่อผลผลิตเมล็ดโดยรวม อาจเนื่องมาจากข้าวพันธุ์กำหอม มข. มีลักษณะของระบบการปลูกต้นกำเนิดเป็นพันธุ์ข้าวไร่ ที่มีระบบรากลึก ซึ่งในระบบดังกล่าวมีรายงานว่าการปรับตัวของระบบรากได้ดีโดยอาจมีความยาวถึง 70-80 เซนติเมตร ซึ่งเป็นลักษณะหนึ่งที่สำคัญของข้าวไร่ในการปรับตัวเพื่อดูดใช้น้ำในชั้นดินที่มีระดับความลึกมาก ทำให้มีความทนทานต่อการขาดน้ำหรือสภาพแห้งแล้งได้ดี สามารถปรับตัวได้ทั้งการปลูกในสภาพแบบขังน้ำและไม่ขังน้ำ (Abe et al., 1994) ในทางตรงกันข้ามข้าวพันธุ์กำหอม มข. เมื่อปลูกแบบน้ำขังมีดัชนีการเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับการปลูกแบบแอโรบิก เนื่องจากการปลูกในน้ำขังส่งผลให้ความสูงต้นของพันธุ์กำหอม มข. เตี้ยลงทำให้มีผลผลิตทางชีวภาพลดลงกว่าการปลูกแบบแอโรบิกแม้จะไม่มีผลกระทบต่อผลผลิตเมล็ดก็ตาม ในขณะที่พันธุ์ชัยนาท 1 ซึ่งเป็นข้าวนาสวนมีระบบรากค่อนข้างตื้นและรากรวมเป็นกระจุก กระจายตัวอยู่ในระดับชั้นดินบนที่ 15-30 เซนติเมตร เท่านั้น (Serraj et al., 2011) เมื่อปลูกในสภาพแอโรบิกซึ่งเป็นสภาพการปลูกที่ตรงข้ามกับต้นกำเนิดของระบบการปลูกเดิม ส่งผลให้ผลผลิตเมล็ดและน้ำหนักแห้งฟางลดลง ซึ่งเป็นมาจากการลดจำนวนหน่อตอกอ จำนวนรวงตอกอเมื่อเปรียบกับการปลูกแบบน้ำขังที่เป็นระบบการปลูกต้นกำเนิด ความสามารถในการปรับตัวที่แตกต่างกันของข้าวทั้ง 2 พันธุ์นี้เป็นเหตุผลสำคัญในการตอบสนองต่อสภาพการจัดการน้ำและธาตุอาหารที่อาจมีความเป็นประโยชน์แตกต่างกันเมื่ออยู่ในสภาพการจัดการน้ำและปุ๋ยที่แตกต่างกัน เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและเคมีในดิน ในดินนาข้าวมีการเปลี่ยนแปลงต่างจากดินที่ไม่มีน้ำขังอย่างมาก กระบวนการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติดินและการเปลี่ยนแปลงธาตุอาหารในดินมักเกี่ยวข้องกับกิจกรรมของจุลินทรีย์ในดินที่ทำให้เกิดความแตกต่างของความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารในดินต่อข้าว โดยในดินที่มีอากาศถ่ายเทได้ดีไม่มีน้ำขัง (aerobic soil) มีจุลินทรีย์ที่ใช้ออกซิเจนในการหายใจเป็นตัวรับอิเล็กตรอน (electron receptor) ขณะที่ดินนาข้าวขังมีจุลินทรีย์ชนิดที่ไม่ใช้ออกซิเจนสำหรับหายใจ (anaerobic microorganism) ใช้กลุ่มของไนเตรต (NO_3^-), แมงกานีส (Mn^{4+}), และ

เหล็ก (Fe^{3+}) ที่มาจากการออกซิไดซ์ (oxidized) เป็นตัวรับอิเล็กตรอน ส่งผลทำให้การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน (oxidation-reduction) หรือศักย์รีดอกซ์ (redox potential; Eh) ลดลงโดยดินที่มีการระบายน้ำดี มีค่า Eh ในช่วง +700 ถึง +500 มิลลิโวลต์ (millivolt; mV.) ขณะที่ดินที่มีสภาพรีดักชันสูงมาก (highly reduction) จะมีค่า Eh ในช่วง +100 ถึง -100 มิลลิโวลต์ การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวทำให้ค่า pH ของดินเปลี่ยนแปลง และส่งผลต่อความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารในดิน รายงานของ Zia et al. (2001) บ่งชี้ว่าในดินที่ไม่มีน้ำขังและมีอินทรีย์วัตถุมากมีความเข้มข้นของไนโตรเจนที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากกระบวนการมิเนอไลเซชัน (mineralization) ในสภาพน้ำขังจะเกิดกระบวนการอิมโมบิไลเซชัน (immobilization) แต่กระบวนการนี้จะเกิดขึ้นช้ากว่ามิเนอไลเซชัน (De Datta, 1981) ในดินนาที่มี pH เพิ่มขึ้นสังกะสีจะถูกตรึงให้อยู่ในรูป ZnS , $\text{Zn}(\text{OH})_2$, ZnCO_3 และ $\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2$ ซึ่งไม่ละลายน้ำ เมื่อ pH ของดินเพิ่มขึ้น 1 หน่วยการละลายได้ (solubility) ของสังกะสีและโมลิบดีนัมจะลดลง 100 เท่า ปกติแล้วดินในสภาพแอโรบิกจะมีค่าศักย์รีดอกซ์ที่น้อยกว่าในสภาพน้ำขังในดินที่ไม่มีน้ำขัง ซึ่งค่า pH ที่ลดลงมีผลต่อการปลดปล่อยสังกะสีที่ตกตะกอนในดิน จากกระบวนการออกซิไดเซชัน (oxidation) ของเหล็ก ($\text{Fe}(\text{OH})_3$) โดยรากมีการปลดปล่อยออกซิเจนออกมาส่งผลต่อค่า pH บริเวณรอบรากลดลงและรากพืชสามารถดูดธาตุสังกะสีไปใช้ได้

นอกจากสภาพการจัดการน้ำที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารในดิน ที่สามารถส่งผลต่อการสร้างผลผลิตของข้าวแล้ว การจัดการปุ๋ยก็เป็นปัจจัยสำคัญอีกประการที่มีบทบาทสำคัญในการสร้างผลผลิตของพืชด้วย พันธุ์กำหอม มข. ให้ผลผลิตเมล็ดสูงสุดเมื่อใส่ไนโตรเจนอัตราต่ำร่วมกับสังกะสี แม้ว่าจะมีรายงานว่าข้าวไร่มีประสิทธิภาพการดูดใช้ปุ๋ยไนโตรเจนน้อยกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ จากการใส่ปุ๋ยทั้งหมด เมื่อมีการจัดการการปลูกที่มีประสิทธิภาพก็ตาม (Fageria, 2001) ในขณะที่การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราสูงร่วมกับสังกะสีทำให้ผลผลิตลดลงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราต่ำร่วมกับสังกะสี บ่งชี้ว่าในพันธุ์ข้าวไร่กำหอม มข. การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราต่ำร่วมกับสังกะสีสามารถเพิ่มผลผลิตเมล็ดข้าวได้มากกว่าการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนเพียงอย่างเดียว ซึ่งแสดงถึงประสิทธิภาพในการทำงานร่วมกันของปุ๋ยไนโตรเจนและสังกะสีในอัตราที่เหมาะสมในการเพิ่มผลผลิตเมล็ด ในการทำงานร่วมกันของไนโตรเจนและสังกะสีในพืชมีงานวิจัยของ Peng et al. (2017) รายงานว่าปุ๋ยไนโตรเจนมีผลต่อการดูดใช้และการเคลื่อนย้ายธาตุสังกะสีในข้าวสาลีชนิดปลูกข้ามฤดูหนาว (winter wheat) โดยการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอย่างเหมาะสมทำให้ผลผลิตข้าวสาลีเพิ่มขึ้น และมีปริมาณการสะสมและความเข้มข้นของสังกะสีในแต่ละส่วนของพืชเพิ่มขึ้น ในข้าวสาลีที่ปลูกต้นฤดูใบไม้ผลิมีผลผลิตเพิ่มขึ้น 48 เปอร์เซ็นต์ และข้าวสาลีที่ปลูกต้นฤดูหนาวมีผลผลิตเพิ่มขึ้น 17 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับข้าวสาลีทั้ง 2 ฤดูที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนเพียงอย่างเดียวโดยไม่ใส่ปุ๋ยสังกะสี แม้จะมีรายงานการวิจัยหลายงานยืนยันว่าไนโตรเจนสามารถส่งเสริมการดูดใช้สังกะสีในดินได้ แต่กลไกที่ชัดเจนในการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวยังไม่แน่ชัด ซึ่งควรจะมีการศึกษาและวิจัยในเรื่องดังกล่าวในอนาคต

การทดลองนี้พบว่าการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนร่วมกับสังกะสีในสามารถเพิ่มความเข้มข้นของไนโตรเจนและสังกะสีในเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ในต้นข้าวได้ มีรายงานว่าความเข้มข้นของไนโตรเจนในเมล็ดถั่วลูกไก่ (chickpea) เพิ่มขึ้นจาก 36 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ไม่ใส่ปุ๋ยสังกะสี) เป็น 47 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อใส่ปุ๋ยสังกะสีอัตรา 1.2 กิโลกรัมต่อไร่ และพบว่าความเข้มข้นของไนโตรเจนในเมล็ดถั่วลูกไก่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญจากการใช้ปุ๋ยสังกะสีทางใบ ซึ่งมากกว่าการใช้ปุ๋ยสังกะสีทางดิน Kutman et al. (2011) บ่งชี้ว่าไนโตรเจนส่งผลต่อการดูดใช้สังกะสีโดยเคลื่อนย้ายจากรากสู่ส่วนเหนือดินได้ดีขึ้น โดยความเข้มข้นของสังกะสีในเนื้อเยื่อพืชสูงขึ้นเป็นเพราะไนโตรเจนที่สูงอาจเพิ่มความพร้อมการใช้งานของสังกะสีที่สามารถเคลื่อนย้ายเข้าสู่โพลีเอมเพื่อนำกลับมาใช้อีกครั้ง (retranslocation) ในการเคลื่อนย้ายสังกะสีเข้าสู่ส่วนของเมล็ดเป็นไปได้ว่ามีข้อจำกัดสำหรับการขนส่งในโพลีเอม ซึ่งเกี่ยวข้องกับความพร้อมของตัวสารละลายที่เอื้อต่อการลำเลียงในโพลีเอม ทำให้ไม่สามารถนำธาตุสังกะสีเข้าสู่เมล็ดได้ดีเท่ากับการเคลื่อนย้ายจากไซเลม (เนื่องจากอัตราการลำเลียงอาหารในโพลีเอมเกิดขึ้นได้ช้ากว่าการลำเลียงน้ำและธาตุอาหารในไซเลม) ไนโตรเจนที่สูงขึ้นอาจช่วยส่งเสริมการเคลื่อนย้ายสังกะสีเข้าสู่เมล็ดได้มากขึ้นทั้งนี้อาจมาจากความอุดมสมบูรณ์ของส่วนการลำเลียงหรือตัวสารละลายที่เกี่ยวข้องในกระบวนการเคลื่อนย้าย แม้ว่าไนโตรเจนที่สูงช่วยเพิ่มอัตราส่วนของการนำสังกะสีกลับมาใช้ใหม่ แต่พบว่าในช่วงหลังผสมเกสรแม้ว่าจะมีการใช้ไนโตรเจนสูงหรือต่ำ การดูดซึมสังกะสีในลำต้นก็จะเพิ่มขึ้นหากในดินมีสังกะสีสูง ซึ่งไนโตรเจนอาจมีส่วนช่วยสนับสนุนการดูดใช้สังกะสีในช่วงหลังผสมเกสรจนถึงระยะที่สังกะสีสะสมในเมล็ด ไม่เพียงแต่เพิ่มการดูดซึมสังกะสีของราก แต่ยังรวมถึงความสมบูรณ์ของสารคีเลตหรือการเคลื่อนย้ายจากรากสู่ส่วนเหนือดิน และยังช่วยชะลอหรือยืดเวลาในช่วงของการเติมเต็มเมล็ดอีกด้วย

ส่วนความเข้มข้นไนโตรเจนและสังกะสีในเมล็ดข้าวกล้องซึ่งสามารถส่งเสริมความแข็งแรงของต้นกล้าในแปลงปลูกและโภชนาการสำหรับผู้บริโภคได้ จากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าพันธุ์ข้าวการจัดการปุ๋ยและน้ำ มีอิทธิพลต่อความเข้มข้นของไนโตรเจนและสังกะสีในเมล็ดข้าวกล้องแตกต่างกันในข้าวทั้ง 2 พันธุ์อย่างมีนัยสำคัญ โดยพันธุ์กำหอม มข. มีความเข้มข้นสังกะสีในเมล็ดที่ตอบสนองต่อการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราต่ำร่วมกับสังกะสี และการใส่ไนโตรเจนอัตราสูงร่วมกับสังกะสี มากกว่าการใส่ไนโตรเจนในอัตราต่ำเพียงอย่างเดียว ทั้งในการปลูกแบบน้ำขังและแอโรบิก ขณะที่พบว่าความเข้มข้นไนโตรเจนในเมล็ดข้าวกล้องพันธุ์กำหอม มข. น้อยกว่าพันธุ์ชัยนาท 1 อาจเป็นไปได้ว่าการให้ปุ๋ยไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อชนิดพืชช่วยเพิ่มการเจริญเติบโต และเพิ่มความสามารถในการดูดใช้สารอาหารในรากพืช แม้จะมีรายงานว่าการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนสามารถเพิ่มความเข้มข้นของ โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม โซเดียม แมงกานีส และสังกะสี ในเนื้อเยื่อพืชส่วนเหนือดินได้ อย่างไรก็ตามปุ๋ยไนโตรเจนที่มากเกินไปทำให้รากเจริญเติบโตลดลงและยับยั้งการดูดซึมสังกะสี โดยพบความเข้มข้นแคลเซียม โซเดียม แมงกานีส และสังกะสีในเนื้อเยื่อพืชส่วนใต้ดินลดลงตามปริมาณไนโตรเจนที่เพิ่มขึ้น (Brennan, 2005; Sinkhorn, 2007) นอกจากนี้การ

สะสมไนโตรเจนและสังกะสีในเมล็ดข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ยังมีส่วนเกี่ยวข้องกับผลผลิตข้าวแตกต่างกัน พบว่าความเข้มข้นสังกะสีในเมล็ดข้าวพันธุ์กำหอม มข. มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับผลผลิต และความเข้มข้นไนโตรเจนในเมล็ดมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับผลผลิตของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และกำหอม มข. บ่งชี้ว่าการสะสมไนโตรเจนในเมล็ดข้าวที่เกิดจากการปุ๋ยไนโตรเจนมีผลทำให้ผลผลิตข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 เพิ่มขึ้น ในขณะที่ผลผลิตข้าวพันธุ์กำหอม มข. มีการตอบสนองมากกว่าต่อการสะสมสังกะสีในเมล็ดข้าว รวมทั้งพบความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างความเข้มข้นไนโตรเจนกับสังกะสีในเมล็ดข้าวกล้องทั้ง 2 พันธุ์ ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนร่วมกับสังกะสีน่าจะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการสะสมธาตุสังกะสีในเมล็ดข้าวและสามารถเพิ่มผลผลิตได้ด้วย ข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ซึ่งเป็นข้าวนาสวนให้ผลผลิตเมล็ดสูงสุดเมื่อใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราสูงร่วมกับสังกะสี บ่งชี้ประสิทธิภาพในการทำงานร่วมกันของปุ๋ยไนโตรเจนและสังกะสีในการเพิ่มผลผลิตเมล็ดเช่นเดียวกับในพันธุ์ข้าวไร่กำหอม มข. แต่มีการตอบสนองมากกว่าที่ระดับปุ๋ยไนโตรเจนอัตราสูงกว่า อาจจะเป็นเพราะว่าข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่เป็นข้าวนาสวนเป็นข้าวพันธุ์ปรับปรุงสมัยใหม่ (modern rice variety) มีการตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจนในการสร้างผลผลิตได้ดีกว่าพันธุ์ข้าวพื้นเมือง สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Ghoneim et al. (2018) บ่งชี้ว่าพันธุ์ข้าวที่ปรับปรุงใหม่ ตอบสนองต่อไนโตรเจนในอัตราที่เพิ่มขึ้น (35.2 กิโลกรัมต่อไร่) โดยไนโตรเจนช่วยเพิ่มผลผลิตข้าวและองค์ประกอบผลผลิตอย่างมีนัยสำคัญ และพันธุ์ข้าวมีผลต่อประสิทธิภาพการดูดใช้ธาตุอาหารแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญด้วย ดังนั้นการตอบสนองของผลผลิตข้าวต่อการจัดการปุ๋ยไนโตรเจนร่วมกับสังกะสีจึงต้องมีการพิจารณาถึงพันธุ์ข้าวและอัตราการใส่ปุ๋ยควบคู่กันไปด้วยในขณะเดียวกัน

นอกจากนี้ความแตกต่างของการแบ่งปันธาตุสังกะสีในส่วนเหนือดินที่ระยะต่างๆ ที่จะบ่งชี้ประสิทธิภาพในการดูดใช้ธาตุสังกะสีของต้นข้าวมีอิทธิพลมาจาก พันธุ์ข้าว การจัดการปุ๋ย การจัดการน้ำ ชนาگانต์ (2557) รายงานว่าการกระจายและแบ่งปันสารสังเคราะห์ไปยังส่วนต่างๆ ของพืช (partitioning) มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยพืชที่มีประสิทธิภาพในการดูดใช้สารอาหารสูงจะมีความสามารถในการเจริญเติบโตได้ดีกว่า การทดลองข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ภายใต้ น้ำขังและแอโรบิก และพันธุ์กำหอม มข. ภายใต้สภาพน้ำขัง พบว่ามีปริมาณการดูดใช้สังกะสีในข้าวทั้ง 2 พันธุ์ที่ระยะแตกกอ ระยะตั้งท้อง และระยะ 15 วันหลังออกดอก มากในส่วนของลำต้น ใบรวม และใบธง (เรียงลำดับจากมากไปน้อย) ขณะที่ระยะสุกแก่มีปริมาณการดูดใช้สังกะสีมากในส่วนของลำต้น เมล็ดข้าวกล้อง ใบรวม และใบธง ตามลำดับ ทั้งนี้ในระยะออกดอกพบการปริมาณการดูดใช้สังกะสีในลำต้นสูงสุด และในระยะตั้งท้องมีการดูดใช้สังกะสีในใบรวมสูงสุด พันธุ์กำหอม มข. ที่ปลูกภายใต้สภาพแอโรบิกมีการสะสมสังกะสีมากในส่วนลำต้น ใบรวม เมล็ดข้าวกล้อง และใบธง ตามลำดับ จะเห็นว่ามี ความแตกต่างในการดูดใช้สังกะสีระหว่างข้าว 2 พันธุ์ และแม้ว่าเป็นข้าวพันธุ์เดียวกันเมื่อปลูกในสภาพต่างกัน ก็อาจส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตที่ต่างกันได้ใน พันธุ์กำหอม มข. นำอาจเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อการแบ่งปันสังกะสี ลักษณะดังกล่าวอาจจะเอื้อ

ประโยชน์ในลักษณะของการอุดหนุนและการสืบพันธุ์ ซึ่งการตอบสนองนี้อาจจะไม่เหมือนกันในแต่ละพันธุ์พืช แม้ว่า Gao et al. (2006) รายงานว่าภายใต้การปลูกแบบน้ำขังและแอโรบิก การใส่ปุ๋ยทางดิน (ZnSO_4) ในอัตรา 3.7 กิโลกรัมต่อไร่ ไม่ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นสังกะสีในเมล็ดข้าวอย่างมีนัยสำคัญ และปริมาณสังกะสีที่เพิ่มขึ้นจากการใส่ปุ๋ยจะถูกเคลื่อนย้ายเข้าสู่ลำต้น ไม่ใช่เข้าสู่เมล็ด Yin et al. (2016) แต่งานทดลองของ Arif et al. (2018) บ่งชี้ว่าการให้ปุ๋ยไนโตรเจนและสังกะสีทางใบที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ในระยะออกดอกสามารถให้ผลผลิตที่เพิ่มขึ้นในระยะเก็บเกี่ยว ทั้งนี้ในแต่ละส่วนของพืชที่มีการสะสมสังกะสีในระดับต่างกันนั้น มีกลไกและปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกัน ในระยะแรกของการเจริญเติบโตในข้าวจะเกี่ยวข้องกับการดูดใช้สังกะสีของรากที่เพิ่มขึ้น และการแจกจ่ายสังกะสีภายในพืช (Frei et al., 2010; Widodo et al., 2010) Yin et al. (2016) ระบุว่า การใส่ปุ๋ยสังกะสีเพียงอย่างเดียวอาจเพิ่มความเข้มข้นสังกะสีในเมล็ดเพียงเล็กน้อย ซึ่งการเคลื่อนย้ายและการหมุนเวียนสังกะสีภายในพืชจากลำต้นส่วนเหนือดินสู่ส่วนของรวงข้าว หรือจากแกนกลางช่อดอกสู่ส่วนของเมล็ดมีอิทธิพลต่อการเพิ่มความเข้มข้นสังกะสีในเมล็ดมากกว่าการดูดซึมธาตุสังกะสีของรากจากดิน ดังนั้นควรประเมินศักยภาพและลักษณะของพันธุ์ข้าวแต่ละชนิดเพื่อเป็นข้อสังเกตที่สำคัญในการเลือกใช้ปุ๋ยไนโตรเจนร่วมกับสังกะสีในอัตราที่ต่างกันในแต่ละชนิดพันธุ์ โดยผลจากการทดลองครั้งนี้ยืนยันได้ว่ามีความแตกต่างในการตอบสนองต่อการจัดการปุ๋ยไนโตรเจนร่วมกับสังกะสีในแต่ละสภาพการปลูกที่มีการจัดการน้ำแตกต่างกันต่อการสร้างผลผลิตในข้าวที่มีระบบการปลูกเดิมแบบข้าวไร่และข้าวนาสวน

การทดลองที่ 2 ผลของการพ่นปุ๋ยสังกะสีต่อผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตในข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ในปี 2559 และ 2560

พันธุ์ข้าวมีการตอบสนองของผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตต่อการพ่นปุ๋ยสังกะสีแตกต่างกันในแต่ละปีที่ปลูกช่วง 2559 และ 2560 โดยพันธุ์ชัยนาท 1 มีผลผลิตสูงกว่าพันธุ์เก่าดอยสะเก็ดทั้ง 2 ปีที่ปลูก เนื่องจากพันธุ์ชัยนาท 1 เป็นพันธุ์ปรับปรุงสมัยใหม่ที่มีศักยภาพในสร้างผลผลิตสูงกว่าพันธุ์เก่าดอยสะเก็ดที่เป็นพันธุ์พื้นเมือง จากการทดลองนี้การพ่นสังกะสีไม่ส่งผลให้ผลผลิตของข้าวทั้งสองพันธุ์เพิ่มขึ้น แต่พบว่าองค์ประกอบผลผลิตของข้าวทั้งสองพันธุ์มีความแตกต่างกันในแต่ละปีที่ปลูก ข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ปลูกในปี 2559 มีจำนวนต้นตอกและจำนวนรวงต่อต้นมากกว่าการปลูกในปี 2560 อาจเนื่องมาจากความแตกต่างของสภาพภูมิอากาศที่แตกต่างกันในสองปีที่ปลูก แม้ว่าจะปลูกในฤดูเดียวกันแต่ในปี 2559 (มิถุนายน-พฤศจิกายน) มีความชื้นสัมพัทธ์อากาศสูงกว่า (4.2%) และระยะเวลาแสงต่อวันต่ำกว่า (8.8%) ปี 2560 ซึ่งอาจส่งผลให้ข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ปลูกในปี 2559 มีการเจริญเติบโตลดลง แต่อย่างไรก็ตามปัจจัยสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันนี้ไม่มีผลต่อจำนวนเมล็ดดีและน้ำหนักเมล็ดในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 แต่ตรงกันข้ามกับการตอบสนองในพันธุ์เก่าดอยสะเก็ดที่พบว่าปัจจัยสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันนั้นส่งผลให้ข้าวมี

เปอร์เซ็นต์เมล็ดดีและน้ำหนักเมล็ดลดลง อาจมาจากสาเหตุความชื้นสัมพัทธ์อากาศที่สูงขึ้นไปมีผลต่อการลดลงของประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงและส่งผลต่อการเคลื่อนย้ายสารสังเคราะห์ไปยังเมล็ดลดลง สอดคล้องกับ Weerakoon et al. (2008) ที่รายงานว่าความสมบูรณ์ของดอกและจำนวนเมล็ดดีในข้าวสายพันธุ์ Indica และ Japonica มีค่าลดลง ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของความชื้นสัมพัทธ์อากาศ เช่นเดียวกับระยะเวลาที่พืชได้รับแสงลดลงโดยเฉพาะในช่วงระยะแทงรวง อาจส่งผลให้ข้าวมีจำนวนเมล็ดดีและน้ำหนักเมล็ดลดลงได้ (Liu et al., 2014) การบดบังแสงของก้อนเมฆอาจมีผลต่อการได้รับแสงของพืช อาจเป็นไปได้ว่าปริมาณช่วงแสงที่ถูกบันทึกในปี 2559 ต่ำกว่าปี 2560 เป็นผลมาจากการบดบังแสงของก้อนเมฆ สอดคล้องกับรายงานของ Kisimoto et al. (1976) ที่พบว่าปริมาณก้อนเมฆที่มากขึ้นบวกกับความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศสูงในช่วงฤดูฝนส่งเสริมการแพร่ระบาดของแมลงสีถึงแม้ว่าความเสียหายที่เกิดจากการเขทำลายของแมลงบั่วไม่ได้ถูกบันทึกในงานทดลองนี้ แต่พบว่าการแพร่ระบาดของโรคและแมลงศัตรูพืชในปี 2559 มีความรุนแรงมากกว่าปี 2560

การพ่นสังกะสีที่ความเข้มข้นในสารละลายต่ำ (0.1-0.4% ZnSO_4) สามารถเพิ่มความเข้มข้นสังกะสีในข้าวกล้องและข้าวขาวได้ โดยพบผลเช่นเดียวกันในข้าวที่ปลูกทั้ง 2 ปี ยกเว้นข้าวขาวในพันธุ์ชัยนาท 1 ที่ปลูกในปี 2559 การเพิ่มความเข้มข้นของธาตุสังกะสีในข้าวกล้องและข้าวขาวพบว่ามีผลสำคัญอย่างมากต่อปริมาณสังกะสีที่ร่างกายมนุษย์จะได้รับ โดยเฉพาะอย่างยิ่งประชากรในประเทศที่บริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก (Anderson et al., 2018; Cakmak et al., 2008; Impa et al., 2013; Phattarakul et al., 2012) การพ่นสังกะสีทางใบถือเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพที่สามารถลดอาการขาดธาตุสังกะสีในพืชปลูกทั่วไปได้ (Nasiri et al., 2010; Wasaya et al., 2017) และยังถือว่าเป็นวิธีที่เหมาะสมต่อการทำเกษตรกรรมที่ต้องมีการขังน้ำโดยเฉพาะอย่างยิ่งการปลูกข้าว โดยทั่วไปปริมาณสังกะสีที่สะสมในเมล็ดมีความเกี่ยวข้องกับปัจจัยทางสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ยกตัวอย่างเช่น ปริมาณน้ำฝนที่อาจแตกต่างกันในแต่ละปี (Liu et al., 2019) แม้ว่าการทดลองนี้ปริมาณน้ำฝนจะมีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยระหว่าง 2 ปี ที่ปลูก แต่อาจมีผลต่อการเติมเต็มสารอาหารในเมล็ดข้าวได้ ดังนั้นการพ่นสังกะสีทางใบอาจต้องคำนึงถึงสภาพภูมิอากาศของฤดูปลูกในแต่ละพื้นที่ เนื่องจากระดับความเข้มข้นสังกะสีที่เหมาะสมมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าวและสภาพภูมิอากาศในขณะนั้น ดังนั้นการปลูกทดสอบในแปลงปลูกจำเป็นต้องมีการศึกษาต่อไป

โดยทั่วไปการพ่นสังกะสีที่ความเข้มข้น 0.5% ZnSO_4 เป็นความเข้มข้นมาตรฐานที่ใช้พ่นในพืชทั่วไป เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการเพิ่มธาตุสังกะสีในข้าว ในงานทดลองครั้งนี้จึงเป็นครั้งแรกที่แสดงให้เห็นว่าการพ่นสังกะสีในความเข้มข้นที่ต่ำสามารถเพิ่มความเข้มข้นธาตุสังกะสีและลดความเข้มข้นของไฟเตทในเมล็ดได้ โดยการพ่นสังกะสีที่ระดับความเข้มข้น 0-0.4% ZnSO_4 สามารถเพิ่มความเข้มข้นสังกะสีในข้าวกล้องและข้าวขาวที่เฉลี่ยจากข้าวทั้งสองพันธุ์ที่ปลูกในทั้ง 2 ปีสูงถึง 19.5 ถึง 34.9 มก./กก.และ 17 ถึง 36.8 มก./กก. ตามลำดับ หากเทียบกับการพ่นสังกะสีที่

ระดับความเข้มข้น 0.5% ZnSO_4 ในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่พบว่ามีส่วนสังกะสีในเมล็ดเพิ่มขึ้นเท่ากับ 18.0 มก./กก. ในข้าวกล้อง และ 23.0 มก./กก. ในข้าวขาว (Jaksomsak et al., 2018) แสดงให้เห็นว่าการพ่นสังกะสีในระดับที่ต่ำสามารถเพิ่มความเข้มข้นสังกะสีในเมล็ดได้ทั้งในข้าวกล้องและข้าวขาว แต่ทั้งนี้การตอบสนองขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าวและฤดูปลูก โดยพบว่าความสามารถในการเคลื่อนย้ายสังกะสีผ่านทางโฟลเอ็มจากส่วนที่สะสมอยู่ในลำต้นและใบไปยังส่วนของเมล็ดที่กำลังมีการพัฒนานั้นมีสำคัญที่สามารถบ่งบอกถึงประสิทธิภาพของวิธีการพ่นนั้น ๆ ซึ่งโดยทั่วไปการเคลื่อนย้ายสังกะสีขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่างรวมกัน เช่น พันธุ์ข้าว ลักษณะทางสรีรวิทยาที่ประกอบไปด้วยระยะการเจริญเติบโต และการจัดการสภาพแวดล้อม (Impa et al., 2013 Kutman et al., 2010; Fernández et al., 2013) จากรายงานก่อนหน้านี้ในข้าวสาลีพบว่า การพ่นสังกะสีที่ระดับความเข้มข้น 0.4% ZnSO_4 ทำให้เมล็ดมีการสะสมสังกะสีเพิ่มขึ้น 58% ในขณะที่การเพิ่มขึ้นของสังกะสีในเมล็ดสูงถึง 60, 76 และ 76% เมื่อมีการพ่นสังกะสีในระดับที่ต่ำกว่าคือ 0.2, 0.4 และ 0.5% ZnSO_4 ตามลำดับ (Zhang et al., 2012) และที่สำคัญนอกจากการพ่นสังกะสีจะเป็นวิธีที่สามารถเพิ่มความเข้มข้นสังกะสีในเมล็ดแล้ว ยังพบอีกด้วยว่าสามารถลดปริมาณไฟเตทในเมล็ดข้าวสาลีได้ (Velu et al., 2014; Cakmak et al., 2018) ซึ่งคล้ายกับงานทดลองในถั่ว (*Pisum sativum* L.) ที่พบว่าความเข้มข้นไฟเตทจะลดลงในเมล็ดที่มีการพ่นสังกะสี (0.25% and 0.5%) (Poblaciones et al., 2014) จากการศึกษาดังกล่าวมีความสอดคล้องกับการผลการทดลองในครั้งนี้ ที่พบว่า การพ่นสังกะสีที่ความเข้มข้น 0.2% และ 0.3% ZnSO_4 สามารถลดความเข้มข้นไฟเตทในข้าวกล้องพันธุ์เก่าดอยสะเก็ดและข้าวขาวพันธุ์ชัยนาท 1 อย่างไรก็ตาม การพ่นสังกะสีไม่มีผลต่อความเข้มข้นไฟเตทในข้าวกล้องพันธุ์เก่าดอยสะเก็ด แสดงให้เห็นว่าการสะสมไฟเตทในส่วนของเนื้อเยื่อต่าง ๆ ภายในเมล็ดข้าวอาจแตกต่างกันระหว่างข้าวทั้งสองพันธุ์ โดยพบว่าข้าวแต่ละพันธุ์มีการสะสมไฟเตทแตกต่างกัน ซึ่งไฟเตทส่วนใหญ่จะถูกสะสมในส่วนของเยื่อหุ้มเมล็ด (aleurone layer) และส่วนของเอ็มบริโอ แต่จะถูกเก็บสะสมในส่วนของเอ็นโดสเปิร์มน้อยที่สุด (Prom-U-Thai et al., 2008) จึงเป็นที่สังเกตได้ว่าขั้นตอนกระบวนการขัดขาวที่ทำให้การเกิดสูญเสียชั้นที่เป็นเนื้อเยื่อหุ้มเมล็ดและเอ็มบริโอ รวมไปถึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและขนาดของเมล็ด ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ข้าวขาวแต่ละพันธุ์มีการสะสมไฟเตทแตกต่างกัน

นอกจากนี้พันธุ์มีการตอบสนองต่อการจัดการสภาพแวดล้อมแตกต่างกันในลักษณะของการสะสมไฟเตทในข้าวกล้องและข้าวขาว โดยพันธุ์เก่าดอยสะเก็ดที่เป็นพันธุ์พื้นเมือง พบว่าการพ่นสังกะสีสามารถช่วยเพิ่มความเข้มข้นสังกะสีในเมล็ดได้ และในขณะเดียวกันก็พบการลดลงของความเข้มข้นไฟเตทด้วย แต่ลักษณะการตอบสนองดังกล่าวไม่พบในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ที่เป็นพันธุ์ปรับปรุงสมัยใหม่ ซึ่งการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าเมล็ดข้าวมีความแปรปรวนของความเข้มข้นไฟเตท แต่การศึกษาดังกล่าวไม่ได้ระบุถึงผลของสภาพแวดล้อมต่อการสะสมไฟเตท (Liu et al., 2015;

Wang et al., 2017) จากงานทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าการลดลงของความเข้มข้นไฟเตทในข้าวขาวทั้งสองพันธุ์ที่ปลูกปี 2560 มีความสัมพันธ์กับปัจจัยอื่น ๆ ร่วมด้วย เช่น กระบวนการขัดขาวที่ประกอบด้วย ระยะเวลาและเครื่องมือที่ใช้ รวมไปถึงลักษณะรูปร่างและขนาดเมล็ดที่แตกต่างกันซึ่งได้อธิบายไว้แล้วในข้างต้น

อัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นไฟเตทและธาตุสังกะสีถูกนำมาใช้เป็นตัวชี้วัดความเป็นประโยชน์ของสังกะสีในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ (Poblaciones et al., 2016; Wang et al., 2016) หากพบว่ามีค่าสูงกว่า 15 การดูดซึมสังกะสีจะลดลง แม้ว่าอัตราส่วนที่ต่ำประมาณ 4 ถึง 8 สามารถลดการดูดซึมสังกะสีได้เช่นกัน (Hurrell et al., 2003; Turnlund et al., 1984; Wang et al., 2014) เนื่องจากไฟเตทมีคุณสมบัติเป็นสารยับยั้งการดูดซึมสังกะสี (Harlan et al., 2007; Ma et al., 2007) ดังนั้นอัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นไฟเตทและความเข้มข้นของธาตุสังกะสีที่วัดได้จึงสามารถนำมาเป็นตัวชี้วัดความเป็นประโยชน์ของสังกะสีในร่างกายมนุษย์ได้ จากการทดลองในครั้งนี้พบว่าข้าวกล้องในพันธุ์ชัยนาท 1 และก่ำดอยสะเก็ดที่ปลูกในปี 2559 มีค่าอยู่ในช่วง 23 ถึง 36 ซึ่งใกล้เคียงกับในรายงานก่อนหน้านี้ในเมล็ดธัญพืชชนิดต่าง ๆ ที่มีค่าอยู่ในช่วง 25 ถึง 34 (Morris et al., 1989) จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า การพ่นสังกะสีสามารถช่วยลดอัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นไฟเตทและความเข้มข้นของธาตุสังกะสีในข้าวทั้งสองพันธุ์ ซึ่งคล้ายกับงานทดลองของ Hussain et al. (2012) ที่ระบุว่า การพ่นสังกะสีในข้าวสาลีสามารถเพิ่มการดูดซึมสังกะสีในร่างกายได้ เนื่องจากการลดลงของอัตราส่วนระหว่างความเข้มข้นไฟเตทและความเข้มข้นของธาตุสังกะสี

การทดลองที่ 3 การตอบสนองของพันธุ์ข้าวนาสวนและข้าวไร่ในการจัดการปุ๋ยสังกะสีของข้าวที่ปลูกในสภาพขังน้ำและไม่ขังน้ำต่อผลผลิตและการสะสมธาตุสังกะสีในเมล็ดข้าว

ผลการทดลองนี้บ่งชี้ว่า พันธุ์ข้าวทั้งสองพันธุ์คือชัยนาท 1 ซึ่งเป็นข้าวนาสวนและก่ำหอม มข. ซึ่งเป็นข้าวไร่ มีการตอบสนองต่อการจัดการน้ำและปุ๋ยแตกต่างกัน สำหรับผลผลิตเมล็ดพบว่า พันธุ์ข้าวมีอิทธิพลโดดเด่นมากกว่าการจัดการน้ำและปุ๋ย ข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ซึ่งเป็นพันธุ์ข้าวนาสวนให้ผลผลิตเมล็ดและฟางมากกว่าพันธุ์ก่ำหอม มข. ที่เป็นพันธุ์ข้าวไร่ ผลผลิตเป็นลักษณะประจำพันธุ์ของข้าวแต่ละพันธุ์ สอดคล้องกับงานวิจัยที่พบว่า พันธุ์ข้าวนาสวนจะให้ผลผลิตเมล็ด 6.77 ตันต่อเฮกตาร์ และฟาง 7.00 ตันต่อเฮกตาร์ ในขณะที่พันธุ์ข้าวไร่ให้ผลผลิตเมล็ด 3.14 ตันต่อเฮกตาร์ และฟาง 2.99 ตันต่อเฮกตาร์ (Sahrawat, 2000) ชี้ให้เห็นว่าข้าวนาสวนให้ผลผลิตสูงกว่าข้าวไร่ โดยเหตุผลหนึ่งนั้นเนื่องจากพันธุ์ข้าวนาสวนมีความสามารถในการเคลื่อนย้ายปริมาณธาตุอาหารในชีวมวล (biomass) ได้สูงกว่าพันธุ์ข้าวไร่ ข้าวนาสวนสามารถดูดซับธาตุอาหารได้มากกว่าพันธุ์ข้าวไร่ เนื่องจากระบบรากมีการกระจายอยู่บนผิวดิน ส่วนข้าวไร่จะมีระบบรากแตกต่างไปจากข้าวนาสวน คือ มีระบบรากที่ยาวสามารถแทรกลงไปดินได้ลึก (Phattarakul, 2008) ส่งผลให้ข้าวนาสวนสามารถดูดซึมธาตุอาหารได้เร็วและมากกว่าข้าวไร่ นอกจากศักยภาพของพันธุ์ข้าวในการดูดใช้ธาตุ

อาหารเองแล้ว ความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารในดินที่เกิดจากการจัดการในการปลูกยังมีบทบาทสำคัญในการเพิ่มผลผลิตข้าวด้วย การได้รับปริมาณธาตุอาหารในข้าวนั้นขึ้นอยู่กับ การปลดปล่อยธาตุอาหารในดิน ซึ่งสภาพดินแต่ละชนิดจะมีการปลดปล่อยธาตุอาหารแตกต่างกันขึ้นอยู่กับลักษณะของเนื้อดินและอินทรีย์วัตถุที่อยู่ในดิน (Ponnamperuma, 1972; Narteh and Sahrawat, 1999) ซึ่งโดยปกติพบว่าสภาพดินที่ปลูกข้าวไร่ ไม่มีการขังน้ำมีความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารในดินต่ำ เป็นผลทำให้พันธุ์ข้าวไร่ที่ปลูกในประเทศบราซิลให้ผลผลิตค่อนข้างต่ำ (2,000 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์) เมื่อเทียบกับพันธุ์ข้าวนาสวน (5,000 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์) (Fageria, 2001) เช่นเดียวกับในแถบภูมิภาคเอเชีย ที่พบว่าผลผลิตเฉลี่ยของพันธุ์ข้าวไร่จะได้ประมาณ 1,000 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ เทียบกับพันธุ์ข้าวนาสวนในเขตชลประทานได้ประมาณ 4,900 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ (George et al., 2002) ดังนั้นจะเห็นได้ว่าปัจจัยที่กำหนดผลผลิตของข้าว นอกจากจะขึ้นอยู่กับพันธุกรรมแล้ว ยังขึ้นอยู่กับจัดการน้ำ ปุ๋ย รวมทั้งการควบคุมโรค แมลง และวัชพืช (Fageria and Filho, 2007)

นอกจากผลผลิตเมล็ดข้าวทั้งสองพันธุ์แล้วยังพบว่าองค์ประกอบผลผลิตยังได้รับผลกระทบจากการจัดการน้ำและปุ๋ย โดยเฉพาะความสูงต้น จำนวนหน่อตอกอ จำนวนรวงตอกอ และน้ำหนัก 1,000 เมล็ด แต่ไม่มีผลกับเปอร์เซ็นต์เมล็ดดีและเมล็ดลีบ ซึ่งพบว่าข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ในสภาพการปลูกแบบน้ำขังร่วมกับการพ่นปุ๋ยในโตรเจนทำให้จำนวนหน่อตอกอ และรวงตอกอมากที่สุด ในขณะที่ข้าวพันธุ์กำหอม มช. ในสภาพการปลูกแบบแอโรบิกร่วมกับการไม่พ่นปุ๋ย และพ่นด้วยปุ๋ยในโตรเจนและฟอสฟอรัสช่วยให้ความสูงต้นและน้ำหนัก 1,000 เมล็ดของข้าวพันธุ์กำหอม มช. เพิ่มขึ้น ซึ่งการทดลองนี้บ่งชี้ว่าข้าวทั้งพันธุ์มีการตอบสนองต่อการจัดการน้ำและปุ๋ยแตกต่างกันในการสร้างองค์ประกอบผลผลิต ในโตรเจนและฟอสฟอรัสจะช่วยเพิ่มองค์ประกอบผลผลิตข้าวในโตรเจนเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของพืช เช่น โปรตีน อะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (ATP) กรดนิวคลีอิก กรดอะมิโน และฮอร์โมนพืชหลายชนิด (Takehisa et al., 2013) และเป็นองค์ประกอบของคลอโรฟิลล์ที่เป็นรงควัตถุที่มีบทบาทสำคัญในการสังเคราะห์แสงของพืช รวมถึงข้าวโดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงที่ข้าวกำลังเติมเต็มเมล็ด (seed filling period) ซึ่งจะมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของผลผลิตเมล็ดและรวมไปถึงองค์ประกอบผลผลิตด้วย (Yoshida, 1981; Nursu'aidah et al., 2014) งานวิจัยของ Nantachan et al. (2016) พบว่า การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนที่อัตรา 10 กิโลกรัมต่อไร่ ส่งผลให้ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตของข้าวทั้ง 3 พันธุ์ (ปะอ้ายโก๊ส บือชาโก๊ส และสังข์หยด) เพิ่มขึ้น เช่น น้ำหนักเมล็ด และจำนวนเมล็ดต่อรวง เมื่อเทียบกับการไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน Bahmaniar et al. (2007) พบว่า การใช้ปุ๋ยไนโตรเจนในระยะการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน คือ 1/3 ของการปลูก 1/3 ในระยะการแตกกอ และ 1/3 ในระยะเริ่มแรกของการออกดอก จะทำให้ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตของข้าวเพิ่มขึ้นทั้งความสูงต้น จำนวนหน่อตอกอ ความยาวและความกว้างของใบธง ความยาวรวง จำนวนเมล็ดต่อรวง น้ำหนัก 1,000 เมล็ด ผลผลิตเมล็ด ผลผลิตทางชีวภาพ ปริมาณ

น้ำหนักรากแห้ง ดัชนีการเก็บเกี่ยว และลดเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบข้าว ฟอสฟอรัสยังเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของ DNA และ RNA (Brown and Weselby, 2010) และยังช่วยเร่งการเจริญเติบโต การกระจายของราก ควบคุมการออกดอกและผลเพื่อสร้างเมล็ด (Rowley et al., 2012) และทำหน้าที่อื่นๆ เช่น กิจกรรมเมตาบอลิก (metabolic activities) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการสังเคราะห์โปรตีน (Panhawar et al., 2011) Alinajoati sisie and Mirshekari (2011) รายงานว่า ฟอสฟอรัสเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการพัฒนาต้นกล้าและการเจริญเติบโตของรากข้าวสาลี YosefTabar S (2012) พบว่า จำนวนหน่อ จำนวนเมล็ดที่สมบูรณ์ น้ำหนัก 1,000 เมล็ด และผลผลิตของข้าวจะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อมีการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ซึ่งการจัดการปุ๋ยโดยวิธีการพ่นทางใบได้เข้ามาเป็นทางเลือกที่มีบทบาทสำคัญมากในการเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของเมล็ด โดยเฉพาะในพื้นที่ที่ดินมีปัญหาเรื่องความอุดมสมบูรณ์ของดินหรือดินมีความเป็นกรดต่ำสูงซึ่งส่งผลต่อความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหาร เป็นต้น

การใช้ปุ๋ยทางใบเป็นการฉีดพ่นปุ๋ยไปที่ใบพืชโดยตรง จากนั้นใบพืชจะดูดซึมเข้าสู่ภายในชั้นเซลล์ของใบและอวัยวะการเจริญทางการขยายพันธุ์ (reproductive organs) อื่นๆ ของพืชอย่างรวดเร็ว (Ahmad and Jabeen, 2005; Ganapathy et al., 2008) การพ่นปุ๋ยทางใบจะช่วยเพิ่มทั้งคุณภาพและปริมาณของผลผลิตพืช ลดการสูญเสียธาตุอาหาร และแก้ไขปัญหการขาดแคลนธาตุอาหารจากการใส่ปุ๋ยทางดินไม่เพียงพอ (Tejada and Gonzalez, 2004; Xiang et al., 2009) Cruz et al. (2012) พบว่า การให้ปุ๋ยทางใบในระยะออกดอก และ/หรือ 1 สัปดาห์หลังออกดอก ร่วมกับการใส่ปุ๋ยทางดินจะช่วยเพิ่มองค์ประกอบผลผลิตของข้าว เช่น จำนวนรวงต่อต้น จำนวนช่อดอกต่อรวง เปอร์เซ็นต์การเต็มเต็มเมล็ด และน้ำหนักเมล็ด ซึ่งทำให้ผลผลิตของข้าวเพิ่มขึ้น 10 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่ฉีดพ่นปุ๋ยทางใบ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Bhuyan et al. (2012) พบว่า การพ่นปุ๋ยไนโตรเจนทางใบในวิธีการปลูกแบบ Raised Bed สามารถเพิ่มผลผลิตของข้าว Aman rice ได้ถึง 9.33 เปอร์เซ็นต์ เพิ่มจำนวนรวง จำนวนเมล็ดต่อรวง น้ำหนัก 1,000 เมล็ด และลดเปอร์เซ็นต์การเป็นหมัน นอกจากผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตแล้วยังพบว่าข้าวทั้งสองพันธุ์มีการตอบสนองต่อการจัดการน้ำและปุ๋ยแตกต่างกันในเรื่องของการสะสมธาตุอาหารต่างๆ ในเมล็ดด้วย พบว่า พันธุ์ข้าวและสภาพการจัดการน้ำและปุ๋ยมีอิทธิพลต่อความเข้มข้นของฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมในเมล็ด โดยเฉพาะความแตกต่างของพันธุ์ ที่มีผลต่อความเข้มข้นของไนโตรเจนในเมล็ดโดยพบว่าข้าวพันธุ์กำหอม มข. มีความเข้มข้นของฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมในเมล็ดมากกว่าข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 สอดคล้องกับงานวิจัยของ George et al. (2001) พบว่า ข้าวไร่พันธุ์พื้นเมืองจะมีการดูดใช้ฟอสฟอรัสในเมล็ดประมาณ 0.2-7.9 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ ซึ่งมากกว่าข้าวนาสวน นอกจากนี้ประสิทธิภาพการดูดใช้ธาตุอาหารยังขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าว ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากข้าวไร่มีความสามารถในการเคลื่อนย้ายธาตุอาหารจากลำต้นและใบเพื่อตอบสนองต่อการสร้างเมล็ดได้ดีกว่าข้าวนาสวน โดยเฉพาะโพแทสเซียมที่พบว่ามีความสามารถในการสะสมโดยรวมในข้าวกำหอม มข. ซึ่ง

เป็นข้าวไร่มากกว่าชัณหาท 1 ที่เป็นข้าวนาสวนด้วย แต่อย่างไรก็ตามการสะสมธาตุอาหารที่ได้จากการพ่นปุ๋ยจะขึ้นอยู่กับสภาพการจัดการน้ำด้วย การพ่นไนโตรเจนจะช่วยเพิ่มความเข้มข้นของไนโตรเจนในเมล็ดจากกรรมวิธีที่ไม่พ่นไนโตรเจนภายใต้การปลูกในสภาพแอโรบิก แต่ไม่พบความแตกต่างกันในสภาพน้ำขัง สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่พบว่าการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนในรูปของแอมโมเนียม (NH_4) และไนเตรต (NO_3^-) พร้อมกันในดินแอโรบิกจะช่วยให้ความเข้มข้นของไนโตรเจน การดูดใช้ในโตรเจน และการเจริญเติบโตของข้าวเพิ่มขึ้น ซึ่งไม่พบความแตกต่างในสภาพนาสวน (Qian et al., 2004) เป็นไปได้ว่าการเพิ่มปุ๋ยไนโตรเจนในขณะที่สภาพการปลูกไปจำกัดความเป็นประโยชน์ของไนโตรเจน อย่างเช่น ในสภาพแอโรบิกจะสามารถเพิ่มความเข้มข้นประโยชน์ของไนโตรเจนได้ ในทางตรงกันข้ามความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในเมล็ดจะเพิ่มขึ้นในข้าวพันธุ์ก่ำหอม มข. ในสภาพการปลูกแบบน้ำขังเมื่อเทียบกับการปลูกแบบแอโรบิก แต่การจัดการน้ำหรือปุ๋ยไม่มีผลต่อความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในเมล็ดของข้าวพันธุ์ชัณหาท 1 ในขณะที่ความเข้มข้นของโพแทสเซียมในเมล็ดจะสูงมากในข้าวพันธุ์ก่ำหอม มข. ซึ่งสูงกว่าข้าวพันธุ์ชัณหาท 1 โดยไม่ได้มีผลมาจากสภาพการจัดการน้ำและปุ๋ย ซึ่งแสดงให้เห็นถึงพฤติกรรมการตอบสนองต่อการจัดการน้ำและปุ๋ยที่ต่างกันระหว่างพันธุ์ข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ นอกจากนี้การทดลองครั้งนี้ยังพบว่าการพ่นไนโตรเจนช่วยเพิ่มความเข้มข้นของเหล็กและสังกะสีในเมล็ดเมื่อเทียบกับการไม่พ่นไนโตรเจน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพันธุ์ข้าวไร่ (ก่ำหอม มข.) มีความเข้มข้นของเหล็กและสังกะสีสูงกว่าพันธุ์ข้าวนาสวน (ชัณหาท 1) Sahrawat (2000) พบว่า พันธุ์ข้าวไร่จะมีการดูดซึมปริมาณของธาตุเหล็กสูงกว่าพันธุ์ข้าวนาสวน คล้ายกับงานทดลองของ Yoshida (1981) พบว่าพันธุ์ข้าวไร่จะมีการเคลื่อนย้ายปริมาณของแมงกานีสในเมล็ดมากกว่าพันธุ์ข้าวนาสวนในเขตชลประทานในทวีปเอเชีย การเพิ่มไนโตรเจนจะช่วยเพิ่มปริมาณของเหล็กและสังกะสีในเมล็ด งานวิจัยของ Nantachan et al. (2016) พบว่าการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนทางดินที่อัตรา 10 และ 20 กิโลกรัมต่อไร่ สามารถเพิ่มความเข้มข้นของสังกะสีในเมล็ดข้าวกล้องได้ 11-42 เปอร์เซ็นต์ ของข้าวพันธุ์พื้นเมืองทั้ง 3 พันธุ์ (ปะอ้ายโกล์ บือชาโกล์ และสังข์หยด) ที่ปลูกในภาคเหนือของไทย เปรียบเทียบกับการไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน Hao et al. (2007) รายงานว่า ความเข้มข้นของสังกะสีในเมล็ดข้าวกล้องจะเพิ่มขึ้นประมาณ 16-20 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้ปุ๋ยไนโตรเจนและการใช้ไนโตรเจนที่อัตรา 10 กิโลกรัมต่อไร่ จะช่วยเพิ่มการสะสมของเหล็กในใบ 85.5 เปอร์เซ็นต์ เปลือก 30.9 เปอร์เซ็นต์ และข้าวกล้อง 28.9 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับการไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน คล้ายกับงานวิจัยของ Prom-u-thai et al. (2007) พบว่า เมื่อใช้ปุ๋ยไนโตรเจนที่ 20 กิโลกรัมต่อไร่ จะทำให้ปริมาณธาตุเหล็กและสังกะสีในเมล็ดของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 กข6 IR68144 และ Basmati370 เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับไม่ได้ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน โดยได้มีการอธิบายไว้ว่าการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนจะไปช่วยเพิ่มปริมาณของโปรตีน ซึ่งเป็นแหล่งสะสมของธาตุอาหารพืช ในขณะที่ธาตุสังกะสีและเหล็กก็เป็นธาตุที่มีการสะสมอยู่ในส่วนของโปรตีนเช่นเดียวกับธาตุไนโตรเจน จึงเป็นไปได้ว่าการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนจะสามารถเพิ่มปริมาณธาตุสังกะสีและเหล็กได้

ด้วยเช่นกัน (Prom-u-thai et al., 2008; Nantachan et al., 2016) ดังนั้นการพ่นปุ๋ยไนโตรเจนน่าจะเป็นอีกทางเลือกในการเพิ่มปริมาณธาตุเหล็กและสังกะสีในเมล็ดข้าวที่พบว่ามีปัญหาขาดแคลนเป็นจำนวนมากในกลุ่มประชากรที่บริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก ทั้งนี้เนื่องจากข้าวมีการสะสมธาตุเหล็กและสังกะสีในปริมาณน้อยมากเมื่อเทียบกับธัญพืชชนิดอื่น ๆ นอกจากนี้การสะสมของธาตุอาหารอื่นๆ ยังเป็นประโยชน์ต่อคุณภาพการขัดสีและการหุงต้ม ในโตรเจนที่สะสมอยู่ในเมล็ดจะช่วยเพิ่มปริมาณโปรตีนและคุณภาพในการขัดสี และจำกัดไม่ให้เกิดคุณสมบัติด้านความเหนียว (Xie et al., 2011) Singh et al. (2011) พบว่า ไนโตรเจนจะมีผลต่อคุณภาพเมล็ดข้าว เมื่อนำไปหุงต้มจะทำให้เมล็ดข้าวมีลักษณะแข็ง คงตัว ไม่เลอะหรือมีการรวมตัวกัน ส่วนฟอสฟอรัสเมื่อมีการสะสมอยู่ในเมล็ดเพิ่มขึ้นจะส่งผลต่อการลดลงของอัตราของข้าวท้องไขหรือท้องปลาชิวและอัตราของต้นข้าวขาว (Zhang et al., 2012) อีกทั้งฟอสฟอรัสยังสามารถช่วยในด้านคุณภาพทางโภชนาการของข้าว ความคงตัวของแป้งสุก และช่วยเพิ่มปริมาณโปรตีน แต่จะลดปริมาณอะไมโลส (Hao et al, 2009) Suwanarit et al. (1997) พบว่า คุณภาพของข้าว เช่น ความหอม ความนุ่ม ความขาว ความเหนียว และความเลื่อมมันของข้าวหุงสุกจะมีความสัมพันธ์กับเปอร์เซ็นต์ฟอสฟอรัสในข้าวเปลือก และการสะสมโพแทสเซียมในเมล็ดจะช่วยเพิ่มคุณภาพทางโภชนาการของข้าวทั้งความหอม ความขาว และความมันวาวของเมล็ด (Rohilla et al., 2000) และยังช่วยลดอัตราการเป็นข้าวท้องไข เพิ่มคุณภาพในการขัดสี ปริมาณอะไมโลส และโปรตีนในเมล็ด (Bridgemohan and Bridgemohan, 2014; Thao et al., 2015) Luo et al. (2014) พบว่า โพแทสเซียมจะช่วยลดอัตราการเป็นข้าวท้องไขหรือท้องปลาชิว เพิ่มปริมาณโปรตีน และอะไมโลส นอกจากการสะสมธาตุอาหารในเมล็ดข้าวจะเป็นประโยชน์ทางโภชนาการ คุณภาพการขัดสีและการหุงต้มแล้ว ยังอาจจะมีประโยชน์ต่อการงอกของเมล็ดข้าวด้วย สอดคล้องกับงานทดลองที่พบว่าเมล็ดที่มีธาตุสังกะสี (Prom-u-thai et al., 2012; Boonchaui et al., 2013) และทองแดง (Ahsan et al., 2007) สะสมในเมล็ดสูงสามารถช่วยเพิ่มอัตราการงอกของเมล็ดข้าวได้มากกว่าเมล็ดที่มีการสะสมธาตุอาหารต่ำกว่า ซึ่งข้อมูลนี้จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการจัดการปุ๋ยเพื่อเพิ่มอัตราการงอกและความแข็งแรงของต้นกล้าข้าวต่อไป

แต่อย่างไรก็ตามการสะสมธาตุอาหารในเมล็ดข้าวมีผลต่อผลผลิตข้าวในข้าวแต่ละพันธุ์แตกต่างกัน พบความสัมพันธ์เชิงลบระหว่างผลผลิตเมล็ดและความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในเมล็ด ($r = -0.88^*$) และมีความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างผลผลิตเมล็ดและความเข้มข้นของเหล็กในเมล็ด ($r = 0.93^{**}$) ในข้าวพันธุ์กำหอม มช. แต่ไม่พบความสัมพันธ์ดังกล่าวในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 แสดงให้เห็นว่าผลผลิตที่น้อยจะทำให้เกิดการสะสมธาตุฟอสฟอรัสที่สูงขึ้นในเมล็ด แต่ในขณะที่การสะสมธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ผลผลิตของข้าวสูงขึ้นไปด้วย ดังนั้นในพันธุ์ข้าวกำหอม มช. ซึ่งเป็นข้าวไร่ การจัดการน้ำและปุ๋ยเพื่อผลผลิตและการสะสมธาตุอาหารในเมล็ดอาจจะต้องคำนึงถึงผลกระทบต่อผลผลิตของข้าวด้วย ซึ่งลักษณะการตอบสนองดังกล่าวไม่พบในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ซึ่งเป็นข้าวนาสวน

เอกสารอ้างอิง

- ชนากานต์ เทโบลต์ พรหมอุทัย. 2557. สรีรวิทยาพืชไร่. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 232 หน้า.
- Abe, J., Morita, S. 1994. Growth direction of nodal roots in rice: its variation and contribution to root system formation. *Plant Soil*. 165, 333–337.
- Ahmad, R., Jabeen, R. 2005. Foliar spray of mineral elements antagonistic to sodium-a technique to induce salt tolerance in plants growing under saline conditions. *Pak J Bot*. 37: 913 - 920.
- Ahsan, N., Lee, D.G., Lee, S.H., Kang, K.Y., Lee, J.J., Kim, P.J., Yoon, H.S., Kim, J.S., Lee, B.H. 2007. Excess copper induced physiological and proteomic changes in germinating rice seeds. *Chemosphere*. 67: 1182-1193.
- Alinajati Sisie, S., Mirshekari, B. 2011. Effect of phosphorus fertilization and seed bio fertilization on harvest index and phosphorus use efficiency of wheat cultivars. *J Food Agr Environ* 9: 388-397.
- Anderson, S., Schoenau, J., Vandenberg, A. 2018. Effects of zinc fertilizer amendments on yield and grain zinc concentration under controlled environment conditions. *J Plant Nutr* 41: 1842-1850.
- Arif, M. 2018. Exogenously Applied Nitrogen and Zinc Fertilizers Improved the Rice Productivity. *Current Investigations in Agriculture and Current Research* 4. 503-507.
- Bahmaniar, M.A., Ranjbar, G.A., Ahmadian, S.H. 2007. Effects of N and K applications on agronomic characteristics of two Iranian and landrace rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *Pak J Biol Sci* 10: 880-886.
- Bhuyan, M.H.M., Ferdousi, M.R., Iqbal, M.T. 2012. Foliar spray of nitrogen fertilizer on raised bed increases yield of transplanted aman rice over conventional method. *ISRN Agron*.
- Boonchuay, P., Cakmak, I., Rerkasem, B., Prom-U-Thai, C. 2013. Effect of different foliar zinc application at different growth stages on seed zinc concentration and its impact on seedling vigor in rice. *Soil Sci Plant Nutri* 59: 180-188.
- Bremner, J.M. 1965. Inorganic nitrogen. In C. A. Black (Ed.) *Methods of Soil Analysis. Agronomy*. 9:1179-1237.

- Brennan, Ross F. 2005. Zinc application and its availability to plants. PhD thesis, Murdoch University.
- Bridgemohan, P., Bridgemohan, R.S.H. 2014. Crop nutrition studies on grain filling and chalkiness in rice. *J Plant Breed Crop Sci* 6: 144-152.
- Brown, K.H., Peerson, J.M., Rivera, J., Allen, L.H. 2002. Effect of supplemental zinc on the growth and serum zinc concentrations of prepubertal children: a meta-analysis of randomized controlled trials. *The American journal of clinical nutrition*. 75: 1062-1071.
- Brown, D., Weselby, C. 2010. NASA-Funded Research Discovers Life Built With Toxic Chemical. NASA Feature. Posted on nasa.gov December, 2.
- Cakmak, I. 2008. Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification. *Plant Soil* 302: 1-17.
- Choudhury, N.H., 1991. Parboiling and Consumer Demand of Parboiled Rice in South Asia. International Rice Research Institute, Manila.
- Cruz, P.C., Banayo, N.P, Marundan, S.R., Magnaye, A.M., Lalican, D.J., Hernandez, J.E. 2012. Bio-inoculant and foliar fertilizer in combination with soil-applied fertilizer on the yield of lowland rice. *Philips J Crop Sci* 37: 85-94.
- De Datta, S.K. 1981. Principles and practices of rice production. John Wiley and Sons, New York. 618 p.
- Delhaize, E., Dell, B., Kirk, G., Loneragan, J., Nable, R., Plaskett, D., Webb, M. 1984. Manual of Research Procedures. First edition. Plant nutrition research group school of environmental and life science. Murdoch University, Australia. 662 p.
- Fageria, N.K. 2001. Nutrient management for improving upland rice productivity and sustainability. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 32: 2603–2629.
- Fageria, N.K., Barbosa, Filho M.B. 2007. Dry-matter and grain yield, nutrient uptake, and Phosphorus use-efficiency of lowland rice as influenced by phosphorus fertilization. *Commun Soil Sci Plant Anal* 38: 1289-1297.
- Fernández, V., Brown, P.H. 2013. From plant surface to plant metabolism: the uncertain fate of foliar-applied nutrients. *Front Plant Sci* 289: 1-5.
- Frei, M., Wang, Y., Ismail, A.M., Wissuwa, M. 2010. Biochemical factors conferring shoot tolerance to oxidative stress in rice grown in low zinc soil. *Functional plant biology*. 37: 74-84.

- Ganapathy, M., Baradhan, G., Ramesh, N. 2008. Effect of foliar nutrition on reproductive efficiency and grain yield of rice fallow pulses. *Legume Res* 31: 142-144.
- Gao, X.P., Zou, C.Q., Fan, X.Y., Zhang, F.S., Hoffland, E. 2006. From flooded to aerobic conditions in rice cultivation: consequences for zinc uptake. *Plant and Soil* 280: 41-47.
- George, T., Magbanua, R., Garrity, D.P, Tubana, B.S, Quiton, J. 2002. Rapid yield loss of rice cropped successively in aerobic Soil. *Agron J* 94: 981-989.
- George, T., Magbanua, R., Roder, W., Keer, K.V., Trébuil, G., Reoma, V. 2001. Upland rice response to phosphorus fertilization in Asia. *Agron J* 93: 1362-1370.
- Ghoneim, A.M., E.E., G., Osman, M.M.A. 2018. Effects of Nitrogen Levels on Growth, Yield and Nitrogen use Efficiency of Some Newly Released Egyptian Rice Genotypes. *Open Agriculture* 3: 310-318.
- Hao, H.L., Wei, Y.Z., Yang, X.E., Feng, Y., Wu, C.Y. 2007. Effects of different nitrogen fertilizer levels on Fe, Mn, Cu and Zn concentrations in shoot and grain quality in rice (*Oryza sativa*). *Rice Sci* 14: 289-294.
- Hao, H.L., Yang, X.E., Feng, Y., Wu, C.Y. 2009. Effects of P fertilizer level on distribution of Fe, Mn, Cu, and Zn in rice and brown rice qualities. *Plant Nutr Fer Sci* 15: 1350-1356.
- Harlan, B.F., Oberleas, D.A. 1977. modified method for phytate analysis using an ion-exchange procedure: application to textured vegetable proteins. *Cereal Chem* 54: 827-832
- Hotz, C., Brown, K.H. 2004. International Zinc Nutrition Consultative Group (IZiNCG) Technical Document No.1. Assessment of the Risk of Zinc Deficiency in Populations and Options for Its Control. *Food and Nutrition Bulletin*. 25: S94-S203.
- Hettiarachchi, M., Hilmers, D.C, Liyanage, C., Abrams, S.A. 2004. Na(2)EDTA enhances the absorption of iron and zinc from fortified rice flour in Sri Lankan children. *J Nutr*. 134: 3031-3036.
- Hussain, S., Maqsood, M.A., Rengel, Z., Aziz, T. 2012. Biofortification and estimated human bioavailability of zinc in wheat grains as influenced by methods of zinc application. *Plant Soil* 361: 279-290.
- Hurrell, R.F. 2003. Influence of vegetable protein sources on trace element and mineral bioavailability. *J Nutr* 133: 2973-2977

- Impa, S.M., Gramlich, A., Tandy, S., Schulin, R., Frossard, E., Johnson-Beebout, S.E. 2013. Internal Zn allocation influences Zn deficiency tolerance and grain Zn loading in rice (*Oryza sativa* L.). *Front Plant Sci* 534: 1-10.
- Liu, Z. 2005. Grain phytic acid content in japonica rice as affected by cultivar and environment and its relation to protein content. *Food Chem* 89: 49-52.
- Liu, D.Y., Liu, Y.M., Zhang, W., Chen, X.P., Zou, C.Q. 2019. Zinc uptake, translocation, and remobilization in winter wheat as affected by soil application of Zn fertilizer. *Front Plant Sci* 426: 1-10.
- Liu, Q.H., Xiu, W.U., Chen, B.C., Jie, G.A.O. 2014. Effects of low light on agronomic and physiological characteristics of rice including grain yield and quality. *Rice Sci* 21: 243-251.
- Lopez, H.W., Leenhardt, F., Coudray, C., Remesy, C. 2002. Minerals and phytic acid interactions: Is it a real problem for human nutrition?. *Int J Food Sci Tech* 37: 727-739.
- Luo, Y.M., Xiao, L.Z., Pan, S.G., Nie, J., Li, Y., Tang, X.R. 2014. Effects of potassium fertilizer on aroma and quality of aromatic rice. *Southwest China J Agric Sci* 27: 1147-1153.
- Kisimoto, R., Dyck, V.A. 1976. Climate and rice insects. in *Proceedings of symposium on climate and rice*, International Rice Research Institute, Los Baños, Philippines, pp. 361-391.
- Kutman, U.B., Yildiz, B., Cakmak, I. 2011. Effect of nitrogen on uptake, remobilization, and partitioning of zinc and iron throughout the development of durum wheat. *Plant Soil*. 342: 149–164.
- Kutman, U.B., Yildiz, B., Ozturk, L., Cakmak, I. 2010. Biofortification of durum wheat with zinc through soil and foliar applications of nitrogen. *Cereal Chem* 87: 1-9.
- Ma, G., Li, Y., Jin, Y., Zhai, F., Kok, F.J., Yang, X. 2007. Phytate intake and molar ratios of phytate to zinc, iron and calcium in the diets of people in China. *Eur J Clin Nutr* 61: 368-374.
- Morris, E.R., Ellis, R. 1989. Usefulness of the dietary phytic acid/ zinc molar ratio as an index of zinc bioavailability to rats and humans. *Biol Trace Elem Res* 19: 107-117.

- Nantachan, K., Jaksomsak, P., Panomjan, N., Prom-u-thai, C. 2016. Effect of nitrogen fertilizer on grain yield and zinc concentration in local rice varieties. *Khon Kaen Agr J* 44: 391-398.
- Nasiri, Y., Salmasi, S.Z., Nasrullahzadeh, S., Najafi, N., Golezani, K.G. 2010. Effects of foliar application of micronutrients (Fe and Zn) on flower yield and essential oil of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *J Med Plants Res* 4: 1733-1737.
- Narteh, L.T., Sahrawat, K.L. 1999. Influence of flooding on electrochemical and chemical properties of West African soils. *Geoderma* 87: 179-207.
- Nursu'aidah, H., Motior, M.R., Nazia, A.M., Islam, M.A. 2014. Growth and photosynthetic responses of long bean (*Vigna unguiculata*) and mung bean (*Vigna radiata*) response to fertilization. *J Anim Plant Sci* 24: 573-578.
- Panhawar, Q.A., Othman, R. 2011. Effect of phosphatic fertilizer on root colonization of aerobic rice by phosphate-solubilizing bacteria. *International conference on food engineering and biotechnology IPCBEE*. Vol 9: 145-149.
- Peng, Y.-H., Tsai, Y.-C., Hsiung, C.-E., Lin, Y.-H., Shih, Y.-H. 2017. Influence of water chemistry on the environmental behaviors of commercial ZnO nanoparticles in various water and wastewater samples. *Journal of Hazardous Materials*. 322: 348-356.
- Pfeiffer, W., McClafferty, B. 2007. HarvestPlus: Breeding Crops for Better Nutrition. *Crop Sci*. 47: S-88-S-105.
- Phattarakul, N., Rerkasem, B., Li, L.J., Wu, L.H., Zou, C.Q., Ram, H., Sohu, V.S., Kang, B.S., Surek, H., Kalayci, M., Yazici, A., Zhang, F.S., Cakmak, I. 2012. Biofortification of rice grain with zinc through zinc fertilization in different countries. *Plant Soil*. 361: 131-141.
- Phattarakul, N. 2008. Genotypic variation in tolerance to soil in local upland rice varieties. Ph.D. Thesis, Graduate School, Chiang Mai University, Thailand.
- Poblaciones, M.J., Rengel, Z. 2016. Soil and foliar zinc biofortification in field pea (*Pisum sativum* L.): Grain accumulation and bioavailability in raw and cooked grains. *Food Chem* 212: 427-433.
- Ponnamperuma, F.N. 1972. The chemistry of submerged soils. *Adv Agron* 24: 29-96.

- Prom-u-thai, C., Fukai, S., Godwin, I.D., Huang, L. 2007. Genotypic variation of iron partitioning in rice grain. *J Sci Food Agric* 87: 2049-2054.
- Prom-u-thai, C., Thomson, G., Kuo, J., Saunders, M., Huang, L., Rerkasem, B., Dell, B. 2008. Distribution of protein bodies and phytate-rich inclusions in grain tissues in relation to iron density in low and high iron rice genotypes. *Cereal Chem* 85: 257-265.
- Prom-u-thai, C., Rerkasem, B., Yazici, A., Cakmak, I. 2012. Zinc priming promotes seed germination and seedling vigor of rice. *J Plant Nutr Soil Sci* 175: 482-488.
- Qian, X., Shen, Q., Xu, G., Wang, J., Zhou, M. 2004. Nitrogen form effects on yield and nitrogen uptake of rice crop grown in aerobic soil. *J Plant Nutr* 27: 1061-1076.
- Rohilla, R., Singh, V.P., Singh, U.S., Singh, R.K., Khush, G.S. 2000. Crop husbandry and environmental factors affecting aroma and other quality traits. *Aromatic Rices*, pp 201-216.
- Rosado, J. 2003. Zinc and Copper: Proposed Fortification Levels and Recommended Zinc Compounds. *J Nutri.* 133: 2985S-2589S.
- Rowley, S., Cardon, G., Black, B. 2012. Macronutrient management for Utah Orchards. *USU Extension Publication Horticulture/Fruit/2012-01pr*.
- Sahrawat, K.L. 2000. Macro-and micronutrients removed by upland and lowland rice cultivars in West Africa. *Commun Soil Sci Plant Anal* 31: 717-723.
- Serraj, R., McNally, K.L., Slamet-Loedin, I., Kohli, A., Haefele, S.M., Atlin, G., Kumar, A. 2011. Drought Resistance Improvement in Rice: An Integrated Genetic and Resource Management Strategy. *Plant Production Science*. 14: 1–14.
- Singh, N., Pal, N., Mahajan, G., Singh, S., Shevkani, K. 2011. Rice grain and starch properties: Effects of nitrogen fertilizer application. *Carbohydr Polym* 86: 219-225.
- Suwanarit, A., Kreetapirom, S., Buranakarn, S., Varanyanond, W., Tungtrakul, P., Rattapat, S., Wattanapayapakul, S., Naklang, K., Rotjanakusol, S., Pornurisnit, P. 1997. Effects of Phosphorous fertilizer on Grain Qualities of Khao Dauk Mali-105 rice. *Kasetsart J Nat Sci* 31: 36-50.
- Takehisa, H., Sato, Y., Antonio, B.A., Nagamura, Y. 2013. Global transcriptome profile of rice root in response to essential macronutrient deficiency. *Plant Signal Behav* 8: e24409.

- Tejada, M., Gonzalez, J.L. 2004. Effects of foliar application of a byproduct of the two-step olive oil mill process on rice yield. *Eur J Agron* 21: 31-40.
- Thao, H.M., Hong, N.H., Tuyen, N.T., Toan, V.N. Quyen, L.N. 2015. Study on the effect of some of N, P, K Fertilizer Compounds on the Yield and Quality of Bp53 Rice Variety. *J Agric Technol* 11: 2149-2156.
- Turnlund, J.R., King, J.C., Keyes, W.R., Gong, B., Michel, M.C. 1984. A stable isotope study of zinc absorption in young men: effects of phytate and α -cellulose. *Am J Clin Nutr* 40: 1071-1077.
- Velu, G., Ortiz-Monasterio, I., Cakmak, I., Hao, Y., Singh, R.P. 2014. Review: Biofortification strategies to increase grain zinc and iron concentrations in wheat. *J Cereal Sci* 59: 365-372.
- Xiang, J., Haden, V.R., Peng, S., Bouman, B.A.M., Visperas, R.M., Nie, L., Huang, J., Cui, K. 2009. Improvement in nitrogen availability, nitrogen uptake and growth of aerobic rice following soil acidification. *Soil Sci Plant Nutr* 55: 705-714.
- Xie, L.H., Ye, D.C., Hu, P.S., Chen, N., Tang, S.Q., Luo, J., Jiao, G.A. 2011. Effects of nitrogen fertilizer application rate and management strategy on grain yield and quality of rice variety "Yongyou 6". *Plant Nutr Fer Sci* 17: 784-794.
- Yin, H., Gao, X., Stomph, T., Li, L., Zhang, F., Zou, C. 2016. Zinc Concentration in Rice (*Oryza sativa* L.) Grains and Allocation in Plants as Affected by Different Zinc Fertilization Strategies. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 47: 761–768.
- Yoshida, S. 1981. Fundamantals of Rice of Crop Science. The International Rice Ressearch Insitute. Los Banos, Laguna, Philippines.
- YosefTabar, S. 2012. Effect of nitrogen and phosphorus fertilizer on growth and yield rice (*Oryza sativa* L.). *Intl J Agron Plant Prod* 3: 579-584.
- Wang, K.M., Wu, J.G., Li, G., Zhang, D.P., Yang, Z.W., Shi, C.H. 2011. Distribution of phytic acid and mineral elements in three indica rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *J Cereal Sci* 54:116-121.
- Wasaya, A., Shabir, M.S., Hussain, M., Ansar, M., Aziz, A., Hassan, W *et al.* 2017. Foliar application of Zinc and Boron improved the productivity and net returns of maize grown under rainfed conditions of Pothwar plateau. *J Soil Sci Plant Nutr* 17: 33-45.

- Weerakoon, W.M.W., Maruyama, A., Ohba, K. 2008. Impact of humidity on temperature-induced grain sterility in rice (*Oryza sativa* L). J Agron Crop Sci 194: 135-140.
- Widodo, B., Broadley, M.R., Rose, T., Frei, M., Pariasca-Tanaka, J., Yoshihashi, T., Thomson, M., Hammond, J.P., Aprile, A., Close, T.J., Ismail, A.M., Wissuwa, M. 2010. Response to zinc deficiency of two rice lines with contrasting tolerance is determined by root growth maintenance and organic acid exudation rates, and not by zinc-transporter activity. New Phytologist. 186: 400-414.
- Zhang, Y.Q., Sun, Y.X., Ye, Y.L., Karim, M.R., Xue, Y.F., Yan, P *et al.* 2012. Zinc biofortification of wheat through fertilizer applications in different locations of China. Field Crop Res 125: 1-7.
- Zhang, Y.J., Hua, J.J., Li, Y.C., Chen, Y.Y., Yang, J.C. 2012. Effects of phosphorus on grain quality of upland and paddy rice under different cultivation. Rice Sci 19: 135-142.

ผลงานตีพิมพ์ระหว่างดำเนินโครงการ

ตีพิมพ์และตอบรับแล้ว

- Supaporn Yamuangmorn, Bernard Dell and **Chanakan Prom-u-thai**. 2020. Anthocyanin and phenolic acid profiles in purple, red and non-pigmented rice during germination. Chiang Mai University Journal of the Natural Sciences. In press.
- Piyawan Phuphong, Ismail Cakmak, Atilla Yazici, Benjavan Rerkasem, **Chanakan Prom-u-thai**. 2020. Shoot and root growth of rice seedlings as affected by soil and foliar zinc applications. Journal of Plant Nutrition. 43 (9): 1259-1267.
- Ayut Kongpun, Phattana Jaisiri, Benjavan Rerkasem, **Chanakan Prom-u-thai**. 2020. Impact of soil salinity on grain yield and aromatic compound in Thai Hom Mali rice cv. Khao Dawk Mali 105. Agriculture and Natural Resources. 54: 74-78.
- Kankunlanach Khampuang, Ponlayuth Sooksamiti, Somchai Lapanantnoppakhun, Yutdanai Yodthongdee, Benjavan Rerkasem, **Chanakan Prom-u-thai**. 2019. Effects of Soil Cadmium Contamination on Grain Yield and Cadmium Accumulation in Different Plant Parts of Three Rice Genotypes. International Journal of Agriculture and Biology. 21 (6): 1205-1211.
- Natdanai Juntakad, Sittichai Lordkaew, Sansanee Jamjod, **Chanakan Prom-u-thai**. 2018. Responses of grain yield and nutrient accumulation to water and foliar fertilizer management in upland and wetland rice varieties. Online Journal of Biological Sciences. 18 (3): 254-262.
- Piyawan Phuphong, Ismail Cakmak, Bernard Dell, **Chanakan Prom-u-thai**. 2018. Effects of foliar zinc fertilizer application on grain yield and zinc concentration in three rice farmers' fields. CMU J. Nat. Sci. 17 (3): 181-190.

กำลังอยู่ระหว่างการพิจารณา

- Supapohn Yamuangmorn, Rarinthorn Rinsinjoy, Sittichai Lordkaew, Bernard Dell, **Chanakan Prom-u-thai**. 2020. Responses of Grain Yield and Nutrient Content to Combined Zn and N Fertilizer in Upland and Wetland Rice Varieties is Dependent on Soil Water Condition. J. Soil Sci. Plant Nutr. Submitted.

Kankunlanach Khampuang, Sithisavet Lordkaew, Bernard Dell, **Chanakan Prom-u-thai**
2020. Foliar zinc application improved grain zinc accumulation and bioavailable zinc
in unpolished and polished rice. J. Sci. Food Agri. Submitted.

เอกสารแนบ
(ผลงานตีพิมพ์)

Anthocyanin and Phenolic Acid Profiles in Purple, Red and Non-Pigmented Rice during Germination

Supaporn Yamuangmorn¹, Bernard Dell² and Chanakan Prom-u-thai^{1,3*}

¹Agronomy Division, Department of Plant and Soil Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

²Agricultural Sciences, Murdoch University, 90 South St, Murdoch, WA, 6150, Australia

³Lanna Rice Research Center, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

Corresponding author: Email; chanakan.p@cmu.ac.th; chanakan15@hotmail.com

ABSTRACT

There is a growing interest in using germinated rice in health products based on their antioxidant properties but studies exploring differences in pigmented and non-pigmented rice types are limited. Therefore, anthocyanin and phenolic acid contents and composition were quantified using UPLC over 6 days of germination in three pigmented (two purple and one red) and one non-pigmented rice genotypes. Most of the anthocyanin content in purple rice, mainly cyanidin-3-glucoside and peonidin-3-glucoside, was lost during the imbibition and radicle emergence phase of germination. By contrast, there were only small changes in free and bound phenolic acid fractions over the 6 days of germination in all genotypes. Vanillic and ferulic acids comprised the main components of the free and bound pools, respectively. Vanillic acid contents, but not ferulic acid, were considerably greater in purple rice than in red and non-pigmented rice. Germination rapidly decreased the anthocyanin content in purple rice, but only had a minor effect on the free and bound phenolic acids in purple, red and non-pigmented rice. The increasing content of bound p-coumaric, ferulic and vanillic acids in germinated purple rice may provide an opportunity to develop rice products as functional foods.

Keywords: Pigmented rice, Purple rice, Germination, Anthocyanin, Phenolic acid

INTRODUCTION

Rice has one of the most diverse grain colors of all the cereals with red, black, purple and brown pericarps which the latter is known as non-colored rice. Although polished brown rice is the most widely consumed type in the world, colored or pigmented rice is increasingly becoming an important part of a healthy diet. Pigmented grains, such as blue wheat, blue maize and purple rice, are often promoted as health foods because they contain high amounts of antioxidants, especially anthocyanins (Chavarín-Martínez et al., 2019; Ghasemzadeh, et al., 2018; Sivamaruthi, et al., 2018). Anthocyanin is one of the colored antioxidants located in the pericarp layers of the seed resulting in colored grain (Zhang et al., 2010). Besides anthocyanin, rice contains free and bound phenolic acids (Goufo and Trindade, 2014). Rice anthocyanins and phenolic acids are gaining interest as potential and natural nutritional supplements for reducing the level of oxidation damage in humans (Shimoda et al., 2015; Russo et al., 2017).

A number of techniques are being used to improve the nutrient value of rice products, and these include roasting, parboiling and germination. Germination may improve the nutritional quality of grain through enhancement of proteins, essential amino acids and vitamins (Sibian et al., 2017). Although increases in bioactive compounds in germinated edible seeds and sprouts have received some attention (Gan et al., 2017), the optimum conditions have not been defined in all cereals. Germination stage has been evaluated in order to enhance antioxidant capacity and phenolic acid content in non-pigmented rice (Ti et al., 2010), but not in pigmented rice. Recently, germinated unpolished brown rice has been developed as the main ingredient in a fermentation process giving a yogurt-like product and bread (Cáceres et al, 2019; Cornejo et al., 2015). However, the change in anthocyanin, anthocyanidin and phenolic acid profiles in different Thai rice grain pericarps during germination is not documented. Therefore, the aim of this study was to characterize dynamic changes in the anthocyanin and phenolic acid profiles of pigmented and non-pigmented rice varieties during germination.

MATERIALS AND METHODS

Rice material

Four photo-period sensitive rice genotypes were used in this study: two traditional improved purple rice genotypes, Kum Doi Saket (KDK) and CMU 125; and two popular commercial Thai genotypes, Red Hawm Rice (RHR) and Khao Dawk Mali 105 (KDML 105) with red and non-pigmented pericarps, respectively. Seeds of RHR and KDML 105 were obtained from a commercial supplier (All Rice Surin Shop, Surin province, Thailand) from the current year's harvest, and seed of KDK and CMU 125 were from experimental crops grown in a field in the wet season (August - December) of 2016 on a Sansai series soil at Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand (18°47' N, 98°57' E). Procedures for growing the Chiang Mai crops have been described previously (Yamuangmorn et al., 2019). The grain of all genotypes was harvested by manual threshing and then air-dried until the moisture content fell to approximately 14%. The rough (i.e. unhusked or paddy) rice was kept in zip-lock plastic bags and stored in a cool room at 16°C in the dark until used.

Preparation of germinated rice flour

About 100 g of rough rice was surface sterilized in 70% ethanol and washed twice with distilled water. Sterilized samples were soaked for 24 h in distilled water with a ratio of 1:2 (w/v) at room temperature (25°C). The samples were then rinsed again before being subjected to germination in three separate experiments. The rough rice was evenly distributed on wet filter paper before being placed in closed plastic baskets in a controlled growth chamber at 30°C. The humidity was controlled by adding water equally every day. Germinated grain sub-samples were taken 2 days (D2, radicle emerged), 4 days (D4, leaf just emerged from coleoptile) and 6 days (leaf approximately 2 cm in length) after commencement of soaking. The sub-samples were dried at 75°C for 24 h to halt metabolism. The husk, root and shoot were removed manually by hand as the objective was to determine changes in the seed, not seedling tissues during germination. Approximately 20 g grain sub-samples were mechanically ground for 60 s in a hammer mill (Scientific Technical Supplies D-6072 Dreieich, West Germany) to prepare rice flour. Non-germinated husked rice was used as control samples (D0). Flour samples were kept in zip lock plastic bags and stored in a freezer at -25°C until analysis. Three biological replicates were used for each analytical procedure.

Extraction and determination of anthocyanins and phenolic acids by UPLC

Anthocyanins and phenolic acids were extracted based on a published method (Yamuangmorn et al., 2019). Briefly, flour samples (0.5 g) were extracted with acidified MeOH (15 mL of 1.0 N HCl in 85 mL of MeOH) on a mechanical shaker for 1 h. The extract solution was centrifuged at $4,000 \times g$ for 10 min at room temperature and then filtered through 0.22 μm Nylon membrane before analysis. After removal of anthocyanin and free phenolic acids, the bound phenolic acids were extracted using a hydrolysis protocol according to the above developed methods.

UPLC analysis was performed on a Waters Acquity UPLC equipped with a photodiode-array detector (PDA) and a Zorbax Eclipse C18 column (2.1×100 mm, 3.5 μm particle size) to separate the compounds. The gradient elution mobile phases were 0.1% (vol/vol) formic acid in water (mobile phase A) and 0.1% (v/v) formic acid in methanol (mobile phase B). The UPLC condition, reference compounds (cyanindin-3-glucoside, peonidin-3-glucoside, cyanidin, peonidin, *p*-coumaric acid, ferulic acid and vanillic acid) and reagents followed by a published method (Yamuangmorn et al., 2019). Separation conditions were assayed using standard solutions at concentrations within 0-30 $\mu\text{g/mL}$. The absorbance was measured at 500 nm, 310 nm, 320 nm and 260 nm for anthocyanin compounds, *p*-coumaric acid, ferulic acid and vanillic acid respectively.

Statistical analysis

Differences in mean parameters (concentrations of total and individual anthocyanins, total and individual phenolic acids) of three biological replicates for germination time and rice genotype were determined by a two-way analysis of ANOVA using Statistix version 9.0 statistical software followed by the post hoc LSD test at 95% confidence level ($P < 0.05$).

RESULTS

Anthocyanins and phenolic acids content in non-germinated rice

The total anthocyanin content, determined by the sum of individual anthocyanins, differed between the two purple rice genotypes ($P < 0.05$) (Figure 1A). CMU 125 had about 1.7 times higher total anthocyanin content than KDK. No anthocyanins were detected in red RHR and the non-pigmented rice KDML 105 flours. The total phenolic acid content, determined by the sum of individual free and bound phenolic acid fractions, also differed among the four genotypes ($P < 0.05$) (Figure 1B). KDK had 0.2 times higher total phenolic acid content than CMU 125, while the RHR and KDML 105 genotypes had 0.2-0.6 times lower total phenolic acid content than KDK and CMU 125.

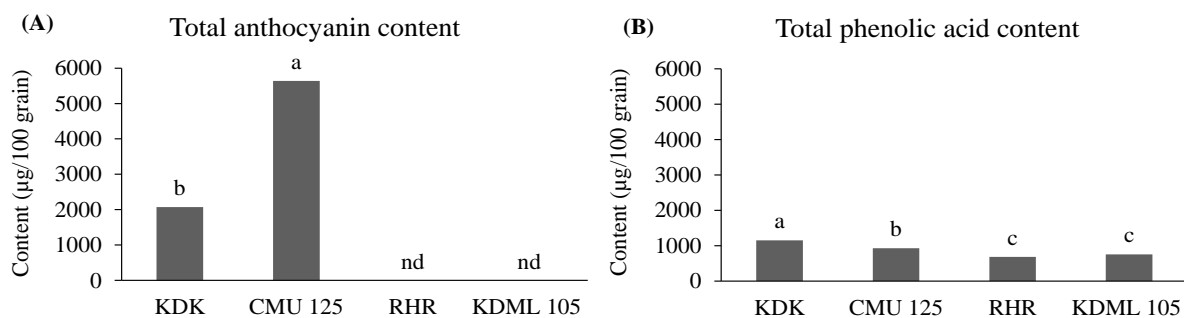


Figure 1. Content of total anthocyanin (A) and total phenolic acid (B) in non-germinated rice of four genotypes.

Individual anthocyanins content in germinated rice

The UPLC analysis showed that the contents of cyanidin-3-glucoside and peonidin-3-glucoside of the two purple genotypes, KDK and CMU 125, decreased rapidly with germination ($P<0.05$) (Table 1). The cyanidin-3-glucoside content declined from 1,489.0 to 80.2 and from 4,939.1 to 316.5 $\mu\text{g}/100$ grain in KDK and CMU 125, respectively. Most of the loss occurred during imbibition and early growth of the radicle, as by D2 the average cyanidin-3-glucoside content in both genotypes had fallen by approximately 74%. Only a small decrease in the cyanidin-3-glucoside content occurred from D4 to D6. The peonidin-3-glucoside content followed a similar trajectory to cyanidin-3-glucoside, declining from 570.5 to 20.1 and from 675.4 to 36.6 $\mu\text{g}/100$ grain in KDK and CMU 125, respectively, being a decrease of about 75% at D2. The cyanidin and peonidin contents of the two purple genotypes also decreased rapidly with germination ($P<0.05$) (Table 1). Over the period D0 to D6, the cyanidin contents of KDK and CMU 125 declined from 3.7 to 0.4 and 22.8 to 3.2 $\mu\text{g}/100$ grain, respectively. On a percentage basis, the cyanidin contents of KDK and CMU 125 fell by 46 and 56% by D2, respectively. Similarly, the peonidin contents of KDK and CMU 125 declined from 0.8 to 0.0 and 3.6 to 0.2 $\mu\text{g}/100$ grains, respectively, during germination. Half of the peonidin content was lost during the first two days.

The decline in total anthocyanin content with germination, determined by the sum of individual anthocyanins differed among the two purple genotypes ($P<0.05$) (Table 1), declining from 2,073 to 101 and 5,641 to 356 $\mu\text{g}/100$ grain in KDK and CMU 125, respectively. Most of the loss occurred early (D2), 75% in KDK and 73% in CMU 125.

Table 1. Changes in the content ($\mu\text{g}/100$ grain rice flour) of cyanidin-3-glucoside, peonidin-3-glucoside, cyanidin, peonidin and total anthocyanins in two purple rice genotypes during germination.

Genotype	Day	Cyanidin-3-glucoside		Peonidin-3-glucoside		Cyanidin		Peonidin		Total anthocyanins	
KDK	0	1,498.0	a	570.5	a	3.7	a	0.8	a	2,073.0	B
	2	380.4	b	141.8	b	2.0	b	0.4	ab	524.5	D
	4	124.7	c	38.4	c	0.7	c	0.1	b	163.9	F
	6	80.2	c	20.1	c	0.4	c	0.0	b	100.6	F
CMU 125	0	4939.1	a	675.4	a	22.8	a	3.6	a	5,640.9	A
	2	1358.0	b	177.5	b	10.1	b	1.8	b	1,547.4	C
	4	537.8	c	70.5	c	4.8	c	0.5	c	613.5	D
	6	316.5	d	36.6	d	3.2	c	0.1	c	356.4	E

Note: Values with different lowercase letters in the same column are significantly different ($P<0.05$) among various germination stages in each individual genotype. Values with different uppercase letters are significantly different ($P<0.05$) among genotype and time of germination.

Individual free phenolic acid and total free phenolic acids in germinated rice

Germination affected the free *p*-coumaric acid contents in all rice genotypes, except in KDK ($P<0.05$) (Table 2). The free *p*-coumaric acid of CMU 125 remained unchanged from D0 to D4, then declined by 56%. By contrast, the free *p*-coumaric acid contents of RHR and KDML 105 increased during germination, by 200 and 353%, respectively, at D6 compared with the content before germination. Germination altered ($P<0.05$) the free ferulic acid content of KDK and CMU 125 (Table 2). The content of this acid in KDK decreased by approximately 51% at D2 and D4, but then recovered by D6. However, in CMU 125 there was no recovery after the initial reduction of 29%. In addition, the free vanillic acid content was affected by germination in KDK and KDML 105, but not in CMU 125 and RHR ($P<0.05$) (Table 2). In KDK, the content decreased at D4 and then increased to exceed that in non-germinated seeds

by 19% at D6. Similarly, the content of KDML 105 declined by approximately 35% at D2 and D4 and increased by 82% at D6.

The response in total free phenolic acid content with germination, determined by the sum of individual phenolic acids differed among the four genotypes ($P<0.05$) (Table 2). The total free phenolic acid content of KDK declined by approximately 17% (D2 to D4), then recovered. A similar decline occurred in CMU 125, but there was no recovery. For KDML 105, the total free phenolic acid contents at D2 and D4 were the same as in non-germinated seed, but by D6 the content had increased by 146%. In RHR, however, the content of the free phenolic acids did not change with germination.

Table 2. Changes in content ($\mu\text{g}/100$ grain rice flour) of free individual phenolic acids and total free phenolic acid of four rice genotypes at different germination stages.

Genotype	Day	<i>p</i> -coumaric acid	Ferulic acid	Vanillic acid	Total free phenolic acids
KDK	0	5.0 a	6.5 ab	38.2 b	49.7 A
	2	3.4 a	3.0 b	36.4 bc	42.8 B
	4	3.2 a	3.4 b	32.7 c	39.3 B
	6	4.7 a	7.0 a	42.9 a	56.6 A
CMU 125	0	8.7 a	6.6 a	24.3 a	41.0 B
	2	6.6 ab	5.9 ab	26.3 a	40.1 BC
	4	5.8 b	4.8 b	22.5 a	34.4 C
	6	3.8 b	4.6 b	25.1 a	33.5 C
RHR	0	1.0 c	2.7 a	2.0 a	5.6 E
	2	2.8 ab	3.4 a	2.9 a	9.1 E
	4	2.1 b	3.2 a	1.5 a	6.7 E
	6	3.0 a	3.1 a	3.4 a	9.5 E
KDML 105	0	1.7 c	3.4 b	1.7 b	6.7 E
	2	2.6 bc	3.7 b	1.2 c	7.5 E
	4	3.6 b	5.0 ab	1.0 c	9.6 E
	6	7.7 a	5.6 a	3.1 a	16.4 D

Note: Values with different lowercase letters in the same column are significantly different ($P<0.05$) among various germination stages in each individual genotype. Values with different uppercase letters are significantly different ($P<0.05$) among genotype and germination stage.

Individual bound phenolic acid and total bound phenolic acids in germinated rice

The bound *p*-coumaric acid contents in all rice genotypes increased ($P<0.05$) (Table 3) during germination, reaching maxima at D5 with increases of 253, 262, 36 and 35% for KDK, CMU 125, RHR and KDML 105, respectively. Germination also affected ($P<0.05$) the bound ferulic acid contents of KDK, CMU 125 and KDML 105, but not RHR (Table 3). The bound ferulic acid contents of KDK and CMU 125 increased by 26% in KDK and 17% in CMU 125 after D2. A similar increase of 43% was observed in KDML 105 at D4, but then it declined by 36% at D6 as compared to D4. Furthermore, germination increased ($P<0.05$) the bound vanillic acid contents of KDK and CMU 125 by about 58 and 42%, respectively, at D6, but there was no change in RHR and KDML 105 (Table 3).

The change in total bound phenolic acid content with germination, determined by the sum of individual phenolic acids differed among the four genotypes ($P<0.05$) (Table 3). The total bound phenolic acid contents of KDK and CMU 125 increased (D4 to D6) by up to 39 and 23%, respectively, compared with contents before germination. By contrast, the content of KDML 105 first increased (39% at D4) then fell by 30% (D4 to D6). The total bound phenolic acid content of RHR remained unchanged during germination.

Table 3. Changes in content ($\mu\text{g}/100$ grain rice flour) of bound phenolic acids and total bound phenolic acid of four rice genotypes at different germination stages.

Genotype	Day	<i>p</i> -coumaric acid	Ferulic acid	Vanillic acid	Total bound phenolic acids
KDK	0	46.7 c	895.4 b	161.5 b	1,103.6 BC
	2	51.0 c	947.4 b	190.0 b	1,188.3 B
	4	134.4 b	1,180.9 a	230.8 a	1,546.1 A
	6	164.9 a	1,077.6 a	255.2 a	1,497.7 A
CMU 125	0	32.3 c	773.6 b	84.4 b	890.3 D
	2	55.1 b	729.3 b	86.1 b	870.4 DE
	4	113.2 a	905.9 a	108.0 a	1,127.1 BC
	6	117.0 a	829.9 ab	120.6 a	1,067.5 C
RHR	0	134.8 b	541.8 ab	3.2 a	679.8 F
	2	138.3 b	583.4 a	5.8 a	727.6 F
	4	167.9 a	592.8 a	5.8 a	766.5 EF
	6	183.7 a	500.3 ab	5.6 a	689.7 F
KDML 105	0	130.4 c	612.4 b	5.5 a	748.3 F
	2	146.8 b	633.1 b	3.1 a	783.1 DEF
	4	158.0 ab	876.6 a	3.5 a	1,038.0 C
	6	162.6 a	558.3 b	3.4 a	724.3 F

Note: Values with different lowercase letters in the same column are significantly different ($P < 0.05$) among various germination stages in individual genotype. Values with different uppercase letters are significantly different ($P < 0.05$) among genotype and germination stage.

DISCUSSION

Seed germination may alter the antioxidant capacity of rice due to changes in chemical composition, structure and synthesis of new components, or transformation of primary or secondary metabolites (Jirapa et al., 2016; Lin et al., 2015). The mechanism of anthocyanin degradation cause by increasing of pH and thermal condition has been extremely studied, whereas knowledge regarding its degradation by germination process is limited (Patras et al., 2010). The observed decrease in anthocyanin content of more than half of the initial content over the first two days of germination is in accordance with observations that anthocyanin leached into water when purple rice was soaked (Noorlaila et al., 2018). Even, this study was not detected anthocyanin loss in soaked water due to the type of paddy rice used, anthocyanins are water-soluble compounds located mainly in the rice pericarp, and it is likely that the structural breakdown of cell walls begins to liberate anthocyanins during imbibition and cell growth. On the other hand, the transformation of the pyrylium ring of anthocyanins, leading to cleavage of the glycoside linkage and formation of the chalcone structure (colorless form) may lead to the initial reduction step of anthocyanins during germination (Patras et al., 2010). Comparing the anthocyanin contents between soaked grain and soaked water would be useful to confirm the water-soluble of anthocyanin. Similarly, the cyanidin-3-glucoside pool in purple corn decreased by 34% after germination for 63 h, while peonidin-3-glucoside declined only by 5% (Paucar-Menacho et al., 2017). These results are contrasted to a recent study by Owolabi et al. (2019) found that the total anthocyanin content to increase in purple rice after soaking and germination process. However, soaking for 24 h followed by 12 h of germination did not reduce the total anthocyanin content of two purple rice determined with a spectrophotometer (Thao and Niwat, 2018). On the other hand, the total anthocyanin content in black rice showed a decline at earlier stages but it recovered at the later stages during germination (Wang et al., 2016). Such discrepancies between studies might be due to the use of different analytical

methods, germination conditions or rice genotypes differing in the amount of natural anthocyanin content in the pericarp. This study indicated that the breakdown of cyanidin-3-glucoside or peonidin-3-glucoside did not result in an increase in the cyanidin or peonidin content, as presumably all were degraded. It is possible that anthocyanin and anthocyanidin might have been transformed into protocatechuic acid and/or 4-hydroxybenzoic acid (Nayak et al., 2015) during germination but these were not assayed. Our UPLC method was not optimized for the measurement of proanthocyanidins so we were unable to quantify changes in the main pigment in red rice on germination. Other studies have reported on proanthocyanidins in red rice (Upanan et al., 2019), but not during germination.

Unlike anthocyanin in purple rice, there were only small changes in free and bound phenolic acid fractions over the 6 days of germination in all varieties. Any change in phenolic acid content and composition during germination reflects the balance between liberation, degradation and synthesis. The slight decrease in free phenolic acid content in purple rice early in germination likely reflects some leaching during imbibition. Much of the phenolic acids were present in the water-insoluble pool which is likely to be more stable during the presence of free water. With the progress of germination, the bound phenolic acid fraction increased, in conjunction with new cell wall matrix formed during growth of seedling tissues (Shahidi and Yeo, 2016). The activity of cell wall peroxidases, the enzyme which liberates phenolic acid, is induced by germination (Wakabayashi et al., 2015). Also, an increase in bound phenolic acid in non-pigmented rice was shown to be positively correlated with cell wall peroxidase activity after 4 days of germination (Cho and Lim, 2018). Furthermore, some phenolic acids, including vanillic acid, may be products of the degradation of cyanidin and peonidin during fermentation (Zhu et al., 2018). Besides the liberation and degradation of anthocyanin, the increase in phenolic acid could be due to the synthesis of phenolic compounds from the induction of hydrolytic enzymes. In a study on germinated non-pigmented rice, the germination process increased the activity of phenylalanine ammonia-lyase, isoflavone-7-methyltransferase, glutathione S-transferase and UDP-glucose flavonoid-3-glucosyltransferase (Maksup et al., 2018). In germinated wheat, high expression levels of phenylalanine ammonia-lyase and some other proteins were positively related to the accumulation of phenolic acids and germination time (Chen et al., 2018; Kim et al., 2018).

The presence of vanillic acid in both free and bound fractions could be only quantified in purple rice, as the levels in red and non-pigmented rice were very low. The contents of vanillic acid in Thai rice were similar to Chinese rice, showing that purple rice contains both free and bound fractions of vanillic acid, but the free fraction was not detected in red and non-pigmented rice (Shao et al., 2018), suggesting that vanillic acid was considerably greater in purple rice than in varieties lacking anthocyanins. Thus, it could be expected that the distribution of individual phenolic acid in free and bound fractions among different rice grains might be associated with the distribution patterns of phenolic compounds in different tissue fractions. It has been reported that the contents of free and bound ferulic acid can vary with tissue types with most of the free fraction accumulating in the embryo and most of the bound fraction being located in the bran (Ti et al., 2015).

There is an interesting point as to the increasing interested phenolic acids and the remained anthocyanins in purple rice, especially in CMU125 genotype for functional foods and products such as concentrated capsules and sprouted powder due to their potential benefit for human health. Thus, the increasing content of bound *p*-coumaric, ferulic and vanillic acids in germinated purple rice may provide an opportunity to develop germinated rice products as healthy foods. However, more research is required to establish the unequivocal benefit of rice phenolics for human health. In addition, other key antioxidants, such as proanthocyanidin in red rice, should be evaluated as a source of antioxidants in germinated red rice food products.

The results from this study should be of interest to traders and food industries wishing to use germinated purple rice in product development.

CONCLUSION

Cyanidin-3-glucoside and peonidin-3-glucoside in purple rice fell markedly during the early stages of germination. By contrast, there were only small changes in free and bound phenolic acid fractions over the 6 days of germination in all varieties. The increase in bound *p*-coumaric, ferulic and vanillic acids in germinated purple and non-pigmented rice at D4 suggests that sprouted rice could be considered for the development of rice products. Further research on differences between rice genotypes and responses of phenolic acids to germination should be undertaken to provide a stronger basis for the emerging commerce in rice products for human health.

ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to the Thailand Research Fund (RSA6080024) and Chiang Mai University, Thailand for financial support.

REFERENCES

- Cáceres, P.J., Peñas, E., Martínez-Villaluenga, C., García-Mora, P., and Frías, J. 2019. Development of a multifunctional yogurt-like product from germinated brown rice. *LWT- Food Science and Technology*. 99: 306-312. [https://doi: 10.1016/j.lwt.2018.10.008](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.008).
- Chavarin-Martinez, C.D., Gutierrez-Dorado, R., Perales-Sanchez, J.X.K., Cuevas-Rodriguez, E.O., Milan-Carrillo, J., and Reyes-Moreno, C. 2019. Germination in optimal conditions as effective strategy to improve nutritional and nutraceutical value of underutilized Mexican blue maize seeds. *Plant Foods for Human Nutrition*. 74(2): 192-199. [https://doi: 10.1007/s11130-019-00717-x](https://doi.org/10.1007/s11130-019-00717-x).
- Chen, Z., Wang, P., Weng, Y., Ma, Y., Gu, Z., and Yang, R. 2017. Comparison of phenolic profiles, antioxidant capacity and relevant enzyme activity of different Chinese wheat varieties during germination. *Food Bioscience*. 20: 159-167. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2017.10.004>.
- Cornejo, F., Cáceres, P.J., Martínez-Villaluenga, C., Rosell, C.M., and Frías, J. 2015. Effects of germination on the nutritive value and bioactive compounds of brown rice breads. *Food Chemistry*. 173: 298-304. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.037>.
- Cho, D.H., and Lim, S.T. 2018. Changes in phenolic acid composition and associated enzyme activity in shoot and kernel fractions of brown rice during germination. *Food Chemistry*. 256: 163-170. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.040>.
- Gan, R.Y., Lui, W.Y., Wu, K., Chan, C.L., Dai, S.H., Sui, Z.Q., and Corke, H. 2017. Bioactive compounds and bioactivities of germinated edible seeds and sprouts: An updated review. *Trends in Food Science & Technology*. 59: 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.11.010>.
- Ghasemzadeh, A., Karbalaii, M.T., Jaafar, H.Z.E. and Rahmat, A. 2018. Phytochemical constituents, antioxidant activity, and antiproliferative properties of black, red, and brown rice bran. *Chemistry Central Journal*. 12: 17. <https://doi.org/10.1186/s13065-018-0382-9>.

- Goufo, P., and Trindade, H. 2014. Rice antioxidants: phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, proanthocyanidins, tocopherols, tocotrienols, gamma-oryzanol, and phytic acid. *Food Science & Nutrition*. 2(2): 75-104. <https://doi.org/10.1002/fsn3.86>.
- Hosoda, K., Sasahara, H., Matsushita, K., Tamura, Y., Miyaji, M., and Matsuyama, H. 2018. Anthocyanin and proanthocyanidin contents, antioxidant activity, and in situ degradability of black and red rice grains. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 31(3): 1213-1220. <https://doi.org/10.5713/ajas.17.0655>.
- Jirapa, K., Jarae, Y., Phanee, R., and Jirasak, K. 2016. Changes of bioactive components in germinated paddy rice (*Oryza sativa* L.). *International Food Research Journal*. 23(1): 229-236.
- Kim, M.J., Kwak, H.S., and Kim, S.S. 2018. Effects of germination on protein, gamma-aminobutyric acid, phenolic acids, and antioxidant capacity in wheat. *Molecules*. 23(9): 2244. <https://doi.org/10.3390/molecules23092244>.
- Lin, Y., Xu, W., Huang, M., Xu, W., Li, H., Ye, M., . . . and Chu, K. 2015. Qualitative and quantitative analysis of phenolic acids, flavonoids and iridoid glycosides in Yinhua Kanggan tablet by UPLC-QqQ-MS/MS. *Molecules*. 20(7): 12209-12228. <https://doi.org/10.3390/molecules200712209>.
- Maksup, S., Pongpakpian, S., Roytrakul, S., Cha-Um, S., and Supaibulwatana, K. 2018. Comparative proteomics and protein profile related to phenolic compounds and antioxidant activity in germinated *Oryza sativa* 'KDML105' and Thai brown rice 'Mali Daeng' for better nutritional value. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 98(2): 566-573. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8498>.
- Nayak, B., Liu, R.H., and Tang, J. 2015. Effect of Processing on Phenolic Antioxidants of Fruits, Vegetables, and Grains—A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 55(7): 887-918. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.654142>.
- Noorlaila, A.A., A, N.S., Noriham, N., and Hassan, N.H. 2018. Total anthocyanin content and antioxidant activities of pigmented black rice (*Oryza Sativa* L. *Japonica*) subjected to soaking and boiling. *Jurnal Teknologi (Sciences & Engineering)*. 80(3): 137-143.
- Owolabi, I.O., Chakree, K., and Yupanqu, C.T. 2019. Bioactive components, antioxidative and anti-inflammatory properties (on RAW 264.7 macrophage cells) of soaked and germinated purple rice extracts. *International Journal of Food Science and Technology*. 54: 2374-2386. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14148>.
- Paucar-Menacho, L.M., Martínez-Villaluenga, C., Dueñas, M., Frias, J., and Peñas, E. 2017. Optimization of germination time and temperature to maximize the content of bioactive compounds and the antioxidant activity of purple corn (*Zea mays* L.) by response surface methodology. *LWT - Food Science and Technology*. 76 (Part B): 236-244. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.07.064>.
- Patras, A., Brunton, N.P., O'Donnell, C., and Tiwari, B.K. 2010. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends in Food Science & Technology*. 21(1): 3-11.
- Russo, G.I., Campisi, D., Di Mauro, M., Regis, F., Reale, G., Marranzano, M., . . . and Morgia, G. 2017. Dietary consumption of phenolic acids and prostate cancer: a case-control study in sicily, Southern Italy. *Molecules*. 22(12): e2159. <https://doi.org/10.3390/molecules22122159>.
- Shahidi, F., and Yeo, J.D. 2016. Insoluble-bound phenolics in food. *Molecules*. 21(9): e1216. <https://doi.org/10.3390/molecules21091216>.
- Shao, Y., Hu, Z., Yu, Y., Mou, R., Zhu, Z., and Beta, T. 2018. Phenolic acids, anthocyanins, proanthocyanidins, antioxidant activity, minerals and their correlations in non-pigmented, red, and black rice. *Food Chemistry*. 239: 733-741. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.009>.

- Shimoda, H., Aitani, M., Tanaka, J., and Hito, S. 2015. Purple rice extract exhibits preventive activities on experimental diabetes models and human subjects. *Rice Research*. 3(2): 137. <https://doi.org/10.4172/2375-4338.1000137>.
- Sibian, M.S., Saxena, D.C. and Riar, C.S. 2017. Effect of germination on chemical, functional and nutritional characteristics of wheat, brown rice and triticale: a comparative study. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 97(13): 4643-4651. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8336>.
- Thao, N.T.T., and Niwat, C. 2017. Effect of germinated colored rice on bioactive compounds and quality of fresh germinated colored rice noodle. *KMUTNB International Journal of Applied Science and Technology*. 11: 27-37. <https://doi.org/10.14416/j.ijast.2017.12.008>
- Ti, H., Guo, J., Zhang, R., Wei, Z., Liu, L., Bai, Y., and Zhang, M. 2015. Phenolic profiles and antioxidant activity in four tissue fractions of whole brown rice. *RSC Advances*. 5: 507-518. <https://doi.org/10.1039/C5RA15963F>.
- Ti, H., Zhang, R., Zhang, M., Li, Q., Wei, Z., Zhang, Y., ... and Ma, Y. 2014. Dynamic changes in the free and bound phenolic compounds and antioxidant activity of brown rice at different germination stages. *Food Chemistry*. 161: 337-344. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.024>.
- Upanan, S., Yodkeeree, S., Thippraphan, P., Punfa, W., Wongpoomchai, R., and Limtrakul Dejkriengkraikul, P. 2019. The proanthocyanidin-rich fraction obtained from red rice germ and bran extract induces HepG2 hepatocellular carcinoma cell apoptosis. *Molecules*. 24(4): 813. <https://doi.org/10.3390/molecules24040813>.
- Wakabayashi, K., Soga, K., Hoson, T., Kotake, T., Yamazaki, T., Higashibata, A., . . . and Kamada, M. 2015. Suppression of hydroxycinnamate network formation in cell walls of rice shoots grown under microgravity conditions in space. *PLoS One*. 10(9): e0137992. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137992>.
- Wang, Y., Li, M., Xu, F., Chai, L., Bao, J., and Shen, S. 2016. Variation in polyphenols, tocopherols, γ -aminobutyric acid, and antioxidant properties in whole grain rice (*Oryza sativa* L.) as affected by different germination time. *Cereal Chemistry*. 93(3): 268-274. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-08-15-0171-R>.
- Yamuangmorn, S., Dell, B., Du, X., Ren, Y., and Prom-u-thai, C. 2019. Simultaneous quantification of anthocyanins and phenolic acids in pigmented rice (*Oryza sativa*) using UPLC-PDA/ESI-Q-TOF. *International Journal of Agriculture & Biology*. 21(3): 590-596. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.0933>.
- Zhang, M.W., Zhang, R.F., Zhang, F.X. and Liu, R.H. 2010. Phenolic profiles and antioxidant activity of black rice bran of different commercially available varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58(13): 7580-7587. <https://doi.org/10.1021/jf1007665>.
- Zhu, Y., Sun, H., He, S., Lou, Q., Yu, M., Tang, M., and Tu, L. 2018. Metabolism and prebiotics activity of anthocyanins from black rice (*Oryza sativa* L.) in vitro. *PLoS One*. 13(4): e0195754. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195754>.



Ref. No.8392 (10).3 / 025

March th 25, 2020

Associate Professor Dr. Chanakarn Prom-u-thai
Faculty of Agriculture
Chiang Mai University
Chiang Mai 50200

Dear Associate Professor Dr. Chanakarn Prom-u-thai:

Thank you for the manuscript entitled "*Anthocyanin and Phenolic Acid Profiles in Purple, Red and Non-Pigmented Rice during Germination*", which you submitted for possible publication in the Chiang Mai University Journal of Natural Sciences.

I am pleased to inform you that the Editorial Committee has now agreed to accept your revised manuscript for publication.

Please be advised that you will be expected to assist the Journal with any editorial questions that may arise as part of the final editing and publication process, without which assistance your manuscript may potentially not be printed.

Thank you for choosing the CMU journal of Natural Sciences as your preferred medium for publication.

Yours sincerely,

Professor Sanchai Jaturasitha, Ph.D.
Editor-in-Chief
Tel: 053 94 3603
Fax: 053 94 3600
E-mail: cmupress.th@gmail.com
<http://cmuj.cmu.ac.th>

Remark: The above article will be published in Chiang Mai University Journal of Natural Sciences Volume 20 Number 1 January – March, 2021.



**Foliar zinc application improved grain zinc accumulation and
bioavailable zinc in unpolished and polished rice**

Journal:	<i>Journal of the Science of Food and Agriculture</i>
Manuscript ID	Draft
Wiley - Manuscript type:	Research Article
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Khampuang, Kankunlanach ; Chiang Mai University, Agronomy Department Lordkaew, Sittisavet; Chiang Mai University, Agronomy Department Dell, Bernard; Murdoch University, School of Veterinary and Life Sciences Prom-u-thai, Chanakan; Chiang Mai University, Agronomy Department
Key Words:	rice, foliar Zn fertilizer, Zn concentration, phytate concentration, bioavailable Zn

SCHOLARONE™
Manuscripts

Foliar zinc application improved grain zinc accumulation and bioavailable zinc in unpolished and polished rice

Kankunlanach Khampuang,^a Sithisavet Lordkaew,^b Bernard Dell^c and Chanakan Prom-u-thai^{a,d*}

Department of Plant and Soil Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200, Thailand

^b Center for Agricultural Resource Systems Research, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200, Thailand

^c Agricultural Sciences, Murdoch University, 90 South St, Murdoch, WA, 6150, Australia

^d Lanna Rice Research Center, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200, Thailand

**Corresponding author at: Department of Plant and Soil Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200, Thailand. E-mail: chanakan.p@cmu.ac.th; chanakan15@hotmail.com*

Abstract

BACKGROUND: Foliar zinc (Zn) fertilizer is suggested as a way to increase grain Zn concentration in rice and reduce Zn malnutrition among rice consumers. This study examined the effect of foliar Zn application on grain yield, Zn and phytate concentrations and its impact on the Zn/phytate molar ratio, an indicator for Zn bioavailability in human digestive tracts, in unpolished and polished rice between two rice cultivars across two cropping years.

RESULTS: The effect of foliar Zn on grain Zn and phytate accumulation differed with Zn rate, cultivar and year. The concentration of Zn in KDK was higher than CNT in unpolished and polished rice of both years. On the other hand, the phytate concentration in 2017 was lower than in 2016 in unpolished and polished rice of both cultivars. However, foliar Zn with the highest rate decreased the phytate/Zn ratio in polished rice of both cultivars in 2016, and decreased the phytate/Zn ratio in unpolished rice in 2017

CONCLUSION: Foliar Zn application can improve grain Zn concentration and decrease the Zn/phytate molar ratio in both unpolished and polished rice but the response can vary with cropping year and cultivar.

Keywords: rice, foliar Zn fertilizer, Zn concentration, phytate concentration, bioavailable Zn

INTRODUCTION

Zinc deficiency is a major cause of impairments in growth development, immune system function and learning disabilities in human health.¹ Enhancing grain Zn concentration in staple food crops has been suggested as a sustainable strategy to solve the problem of Zn deficiency in humans, especially in rice (*Oryza sativa* L.) which is consumed in more than half of the world.² Applying Zn fertilizer to the soil and/or foliage are the most common agronomic practices reported to improve Zn uptake and partitioning into different plant parts, and consequently potentially improving grain yield and nutritional quality in rice grain.^{3,4} Foliar Zn application can mitigate against nutrient deficiencies in crop plants and increase Zn accumulation in rice grain.^{5,6} Pot and field experiments have shown that foliar application of 0.2-0.5% ZnSO₄ had no effect on grain yield, but greatly improved grain Zn concentration in unpolished rice, from 35 to 55% compared with no foliar Zn application.^{7,8} Therefore, foliar Zn application is suggested as a promising way to increase grain Zn concentration in rice and nutritional benefits to consumers.

However, it is only useful to increase the Zn concentration in rice if the Zn is bioavailable in human diets. Anti-Zn nutrients in human diets are a major cause of Zn deficiency as they reduce Zn absorption in the digestive tract.⁹ Antinutrients are substances that reduce the degradation, absorption or utilization of nutrients, of which phytate is the key compound in grains especially in cereals such as rice.^{10,11} Phytate (IP6 or PA) is a cation salt of phytic acid with 12 hydrogens on the 6 phosphate groups, and phytic acid is a strong chelator with cations such as Fe^{2+/3+}, Zn²⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, K⁺ and Cu²⁺ forming insoluble salts.^{12,13} Phytate is an important storage form of phosphorus and is metabolized during seed germinating and seedling growth.^{14,15} The accumulation of storage forms of phosphorus not only stimulates Zn deficiency in plant tissues, but it is also an antinutrient in human diets.^{16,17} Reducing phytate in cereal grains is expected to increase Zn availability in both the plant and in human diets.² Foliar Zn application with 0.5% ZnSO₄ combined with soil Zn application in calcareous soil has been reported to reduce the phytate/Zn molar ratio in rice grain by 35% compared with the control.¹⁸ However, the phytate/Zn molar ratio has yet to be evaluated under field conditions over cropping seasons. Jaksomsak *et al.*¹⁹ reported that foliar Zn application with 0.5% ZnSO₄ decreased the concentration of phytate in both unpolished and

polished rice among some Thai rice cultivars. The combined applications of soil and foliar Zn fertilizer on grain yield and Zn concentration were analyzed,²⁰ but effects on grain phytate and nutritional quality for human diets have not been explored.

Therefore, this study was undertaken to investigate the response of grain yield, Zn and phytate to rates of foliar ZnSO₄ over 2 cropping seasons in two rice cultivars representing modern and traditional rice types. The results should be useful for biofortification programs to increase grain Zn concentration and Zn availability for human diets.

MATERIALS AND METHODS

Plant culture

The experimental design was arranged as RCBD with 2 cultivars, 5 Zn rates and 3 replicate plots in each cropping season. The 2 rice cultivars, Chai Nat 1 (CNT1, modern rice) and Kam Doi Saket (KDK, traditional rice) were grown in the same paddy field at the Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, during the wet season (June to November) in 2016 and 2017 on a sandy loam textured soil of the Sansai series, pH 5.8 and 5.5 (1:1, soil:water), respectively. The average temperatures during the cropping seasons in 2016 and 2017 were similar at 27.5 °C, with 80.2 and 77.0% relative humidity, respectively and the average sunshine duration was 5.2 and 5.7 h, respectively. The average precipitation during grain filling was 4.0 mm and 3.4 mm, respectively.²¹ Plant culture was conducted with similar practices in both cropping years. Seedlings (21-25 days old) were transplanted to a single plant per hill, with spacing between hills of 25 x 25 cm, in 2 x 2 m² plots with the total number of 64 plants per plot. Plots were separated by 0.5 m ridge buffers. The Zn fertilizer was foliar applied at 5 rates as an aqueous solution containing 0, 3.5, 7, 10.5 or 14 mM Zn (0%, 0.1%, 0.2%, 0.3% and 0.4% ZnSO₄, respectively), at booting, flowering and milky grain. The volume of foliar Zn application was approximately 900-1000 L ha⁻¹.⁸ To prevent contamination, each plot was vertically protected with a plastic sheet during spraying. All plants received basal fertilizer to the soil, a total of 85 kg NH₂CONH₂ ha⁻¹, 35 kg P₂O₅ ha⁻¹ and 15 kg K₂O ha⁻¹ which was four split equally at 7 days after planting, tillering, booting and flowering stages.^{22,23} The fields were permanently flooded under 0.1-0.2 m of water until

maturity. The fungicide Isoprothiolane and insecticide Fipronil were applied at recommended rates to control pests. Weeds were manually removed.

Sample collection and preparation

At maturity, a 1 × 1 m² area from the centre of each plot was harvested to determine yield, straw dry weight and yield components (number of tillers hill⁻¹, number of panicles plant⁻¹, number of spikelets panicle⁻¹, thousand seed weight and percentage of filled grain). Grain yield was measured at 14% moisture content and straw dry weight was determined after oven drying at 70°C for 72 h. The unpolished rice and polished rice samples were analyzed for Zn and phytate. The unpolished rice, the caryopsis, was prepared by dehusking paddy rice with a rice testing machine (model P-1, Ngek Seng Huat Company, Thailand) and 50 g of the unpolished rice samples were polished by a milling machine (model K-1, Ngek Seng Huat Company, Thailand) for 30 s to yield polished rice. The yield of unpolished and polished rice were measured after oven drying at 70°C for 72 h.

Chemical analysis

Analysis of Zn concentrations was carried out with an atomic absorption spectrophotometer (Z-8230 Polarized Zeeman, Hitachi, Japan) after dry-ashing.²⁴ The phytic acid analysis (phytate) was conducted by the precipitation of ferric phytate and measurement of iron (Fe) remaining in the supernatant.²⁵ Each batch of Zn and phytate analysis included peach (SRM 1547) and soybean leaves as certified reference materials.

Statistical analysis

Combined analysis of variance (ANOVA) between cropping seasons was carried out using Statistical Analysis System software (Statistic 9, analytical software SX). Grain yield, yield components and quality of the unpolished and polished rice were examined to determine the combined effects of cultivar, foliar Zn treatment and cropping season. Significant differences between treatment means were separated at *P* < 0.05 by the least significant difference (LSD) test. Correlation analysis was used to test pairwise relationships between the phytate/Zn ratio and Zn concentration in unpolished and polished rice of the two cultivars in each year.

RESULTS

Grain yield and yield components

Foliar Zn application did not affect grain yield or straw dry weight ($P = 0.81$ and $P = 0.72$, respectively), but these parameters differed among rice cultivars depending on the cropping year ($P < 0.05$) (Fig. 1(A) and (B)). The CNT1 had 67.7% higher grain yield than KDK (Fig. 1(A)), while KDK had 52% higher straw dry weight than CNT1 in 2017, but it was not different in 2016 (Fig. 1(B)).

There were interaction effects between rice cultivar and cropping year for yield components, but foliar Zn fertilizer only affected ($P < 0.05$) 1000 seed weight (Table 1). The CNT1 grown in 2016 had 25.9 and 20.3% higher number of tillers and panicles per plant, respectively, than in 2017 but there was no difference between spikelets per panicle, and percent filled grain between cropping seasons. In KDK, there were no differences between cropping years in the number of tillers per hill, or panicles and spikelets per plant, but the 2017 crop had 8.6 and 12.0% higher 1,000 seed weight and percent filled grain than in 2016.

Grain Zn and phytate concentration

In unpolished rice, the response in grain Zn concentration in each cultivar to foliar Zn application was similar in the two cropping years (Fig. 2). In 2016, the Zn concentration of unpolished KDK rice was highest in the 0.3% ZnSO_4 treatment, being 21% higher than in the nil Zn plants. Application of 0.4% ZnSO_4 was ineffective in improving the grain Zn concentration in KDK. However, application of foliar Zn did not affect the grain Zn concentration in CNT1. The concentration of Zn in unpolished rice of both cultivars in 2017 was slightly lower than in 2016 for the nil Zn treatment. In KDK, foliar Zn application of 0.3% and 0.4% ZnSO_4 increased grain Zn concentration by 27.2 and 18.2%, respectively, in 2017. The grain Zn concentration in CNT1 responded most to 0.4% ZnSO_4 treatment with an increase in 26.1% over nil Zn plants.

In polished rice, the effect of foliar Zn application on grain Zn concentration differed between the cultivars and years (Fig. 2). In 2016, application of foliar ZnSO_4 at 0.2, 0.3 and 0.4% increased Zn concentration by 11.2, 13.0 and 20.0% in CNT1 and by 8.3, 23.2 and

24.1% in KDK, respectively, but 0.1% ZnSO₄ had no effect. In 2017, 0.3 and 0.4% ZnSO₄ increased the Zn concentration in CNT1 by 22.2 and 32.4%, respectively, while 0.1, 0.2, 0.3 and 0.4% ZnSO₄ increased the Zn concentration in KDK by 17.4, 31.4, 40.0 and 42.6%, respectively.

The effect of foliar Zn application on grain phytate concentration differed between the cultivars and cropping years (Fig. 3). The phytate concentration in 2017 was lower than in 2016 in unpolished and polished rice of both cultivars. In unpolished rice in 2016, the phytate concentration decreased by 5.2 and 11.5% in KDK when applied with 0.2 and 0.3% ZnSO₄, respectively, compared with nil Zn, but the phytate concentration was not affected by foliar Zn treatments in CNT1. In 2017, the phytate concentration in KDK decreased by 20.9% in the 0.3% ZnSO₄ treatment, while it was not affected in CNT1. Compared to the nil Zn treatment, the application of 0.4% ZnSO₄ decreased phytate concentration in polished rice of CNT1 and KDK in 2016 by 26.2% and 16.2%, respectively. In 2017, the concentration of phytate increased with 0.4% ZnSO₄ in KDK by 13.6%, while it was not affected in CNT1.

The phytate/Zn ratio was used as an indicator for bioavailable Zn in the digestive tract of human diets. The effect of foliar Zn application on the ratio differed between rice cultivars in both years (Fig. 4). In unpolished rice in 2016, foliar Zn application rates of 0.2 and 0.3% ZnSO₄ decreased the phytate/Zn ratio in KDK by 9.7% and 26.0%, but the higher rate of foliar Zn had no effect. However, there was no effect of foliar Zn application on the phytate/Zn ratio in CNT1 in 2016. In the 2017 crop, the phytate/Zn ratio decreased by 18.5% in the 0.4% ZnSO₄ treatment in CNT1 and by 21.5% in KDK. In polished rice, 0.4% ZnSO₄ decreased the ratios in CNT1 and KDK in 2016 by 38.5% and 32.0%, respectively. However, in 2017, the same treatment decreased the ratio in KDK by 19.8%, but there was no change in CNT1.

Relationship between phytate/Zn ratio and Zn concentration

There were significant linear relationships between phytate/Zn ratio and Zn concentration in unpolished rice and polished rice which revealed differences between the crops (Fig. 5). There was a negative correlation between grain yield and Zn concentration in unpolished rice of the 2017 KDK ($r = -0.63$, $P < 0.05$) and CNT1 ($r = -0.62$, $P < 0.01$) crops, but there was no significant correlation in the 2016 cropping season. Relationships between phytate/Zn ratio

and Zn concentration in unpolished rice and polished rice in the rice cultivars were evident in 2016 and 2017 (Fig. 5). The phytate/Zn ratio was significantly decreased with increasing Zn concentration in unpolished rice in CNT1 ($r^2 = 0.69$, $P < 0.05$) and KDK ($r^2 = 0.92$, $P < 0.05$) in 2016, and in CNT1 ($r^2 = 0.88$, $P < 0.05$) and KDK ($r^2 = 0.69$, $P < 0.05$) in 2017 (Fig. 5(A) and (B)). In addition, in 2016 the phytate/Zn ratio was reduced when the Zn concentration increased in polished rice in CNT1 ($r^2 = 0.40$, $P < 0.05$), but this relationship was not observed in polished rice in KDK (Fig. 5(C)). In 2017, the phytate/Zn ratio decreased with an increase in Zn concentration in polished rice in KDK ($r^2 = 0.65$, $P < 0.05$), but not in CNT1 (Fig. 5(D)).

DISCUSSION

Rice cultivars responded differently between cropping years to foliar Zn application for grain yield, Zn and phytate concentrations, with consequences for the phytate/Zn molar ratio, an indicator of Zn bioavailability in human diets. The modern improved rice cultivar CNT1 had higher grain yield than KDK, the traditional rice cultivar, in both years. Even though grain yield was not affected by foliar Zn application, the yield components were influenced by interaction effects between cultivar x cropping year (Table 1). Higher relative humidity (RH) (4.2%) and lesser sunshine duration (8.8%) in 2016 during the cropping season (June to November) may have resulted in higher numbers of tillers and panicles per plant, but it did not influence the number of spikelets per panicle, 1000 grain weight or the percent filled grain in CNT1. In KDK, the higher relative humidity may have reduced the supply of photosynthate for grain filling leading to a lower percentage of filled grain and less individual seed weight. In Indica and Japonica rice cultivars, spikelet fertility and percentage of filled grain decreased with increasing RH.²⁶ Furthermore, lower hours of sunlight after heading reduced the number of filled grains and 1,000 seed weight.²⁷ No data were available for cloud cover in our study area but the lower sunshine in 2016 is most likely to have been due to increased cloud cover. Kisimoto and Dyck²⁸ reported that during the rainy season, cloudy weather and high humidity encourage the survival and multiplication of the gall midge. We observed but did not quantify that stem borer pest infestation in 2016 was more prevalent in KDK than in 2017.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

The application of low foliar Zn rates (0.1 to 0.4% ZnSO₄) increased the Zn concentration in unpolished and polished rice in both cropping years, except for unpolished rice of CNT1 in 2016. An increase in grain Zn concentration in unpolished and polished rice has been reported as a potential tool to raise the Zn concentration in human diets, particularly in rice consumption countries.^{2,20,29,30} Foliar micronutrient application is effective in reducing deficiencies in crop plants^{31,32} and is suitable under wetland conditions. However, it has been reported³³ that grain Zn concentration is influenced by environmental factors such as precipitation resulting in differences between cropping years. Whether the small differences in precipitation during grain filling in our study could have influenced grain filling is unknown. Thus, improving grain Zn concentration by foliar Zn fertilizer application may also require attention to the seasonal climate conditions in each growing region. For optimum effects, it may be necessary to vary the foliar application rate for Zn depending on both the rice cultivar and prevailing climatic conditions. This area requires further field evaluation.

This study established that rates of foliar Zn application lower than 0.5% ZnSO₄, the level generally applied,^{8,20} have the potential to improve grain Zn concentration in rice. This is the first study to explore effects of lower Zn foliar rates on rice grain phytate and nutritional quality. This study showed that foliar application of 0-0.4% ZnSO₄ resulted in Zn concentrations ranging from 19.5 to 34.9 and 17 to 36.8 mg kg⁻¹ in unpolished and polished rice, respectively, in both cultivars and cropping years. This compares to 18.0 and 23.0 mg kg⁻¹ Zn in unpolished and polished rice, respectively, in CNT1 given 0.5% foliar ZnSO₄.¹⁹ This suggests that lower rates of foliar Zn can be effective depending on the cultivar and cropping season. The remobilization of Zn from vegetative parts via the phloem to the developing grain after foliar spraying is a key process in the effectiveness of the treatment protocol. This remobilization is influenced by factors such as the plant cultivar and physiological characteristics, including phenological stage and/or environmental conditions.^{29,34,35} The success of foliar Zn application has been reported in other cereals. In China, foliar application with 0.4% ZnSO₄ increased whole grain Zn concentration in wheat by 58%, while foliar application of 0.2%, 0.4%, and 0.5% ZnSO₄ increased the Zn concentration in flour by 60, 76 and 76%, respectively, compared with the control treatment.³⁶ Also, in wheat, increasing the grain Zn concentration by foliar Zn application decreased the concentration of anti-nutrients such as phytate.^{37,38} In field pea (*Pisum sativum* L.), the phytate concentration in raw grains

decreased with foliar Zn application (0.25% and 0.5%).³⁹ Likewise, in our study 0.2% and 0.3% ZnSO₄ decreased the phytate concentration in unpolished rice of KDK and in polished rice of cultivar CNT1. That foliar Zn did not affect the phytate concentration in polished rice in KDK suggests that there could be differences in the distribution of phytate across grain tissues among rice varieties. Genotypic variation in phytate distribution was found among rice cultivars with phytate mostly distributed in the aleurone layer and embryo and rarely present in the endosperm.⁴⁰ Thus, the degree of loss of the aleurone layer and embryo during the polishing process as well as grain morphological traits, such as the thickness of aleurone layer, may also contribute to differences in phytate concentrations in polished rice.

Reduction in the phytate concentration as reflected in the Zn/phytate ratio in the second crop differed between rice genotypes, indicating G x E effects on the accumulation of phytate in unpolished and polished rice. In KDK, the traditional improved rice cultivar, foliar Zn application improved Zn concentrations and decreased phytate concentrations in unpolished rice, but not in CNT1, the modern improved rice cultivar. Variation in phytate concentration has been reported among rice cultivars,^{41,42} but there is limited information available on G x E effects. The decrease in the phytate concentration in the polished rice in 2017 across the genotypes might be also associated with the several factors such as time and polishing machine use in the polishing process and grain morphological characteristic as mentioned in the above paragraph.

The molar ratio of phytate/zinc is an indicator used to examine the bioavailability of Zn in the digestive tract in human diets.^{39,43} Molar phytate/Zn ratios greater than 15 can decrease Zn bioavailability, but lower molar ratios of 4 to 8 can also decreased Zn absorption.^{6,44,45} As phytate is a major inhibitor of Zn absorption,^{46,47} the phytate/Zn ration is a useful tool for predicting the bioavailability of Zn in human diets. In the study (Fig. 4), the ratio in unpolished rice of CNT1 and KDK ranged from 23 to 36 in 2016. A previous study⁴⁸ reported that cereal grains have high ratios between 25 to 34. Moreover, foliar Zn application decreased the phytate/Zn ratio of both cultivars (Fig. 4). Similarly, Hussain *et al.*⁴⁹ found that the foliar Zn application increased the estimated Zn bioavailability and decreased the molar ratio of phytate/Zn in the whole grains of wheat.

In conclusion, foliar Zn application is one of the promising ways to improve grain Zn concentration and to decrease the phytate/Zn ratio in rice grain. This study revealed that

modern and traditional improved rice cultivars respond differently to foliar Zn application and the effects can vary with the cropping year. Foliar Zn application had no effect on grain yield, but increased the Zn concentration in unpolished and polished rice and consequently decreased the phytate/Zn ratio in rice grain. Foliar Zn application is suitable for producers to improve grain Zn concentration as well as improving Zn bioavailability for human consumption. However, further studies are needed to explore optimum foliar Zn rates for the main commercial rice cultivars in a wider range of growing conditions. In addition, the effectiveness of decreasing the Zn/phytate ratio in rice on human Zn nutrition needs investigating in both *in vitro* and *in vivo* programs.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to acknowledge the financial support from Thailand Research Fund under the Royal Golden Jubilee Ph.D. Program (Grant No. PHD/0025/2559) and Research Career Development Grant (RSA6080024) and Chiang Mai University.

REFERENCES

1 Hotz C and Brown KH, Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. *Food Nutr Bull* **25**:94-203 (2004).

2 Cakmak I, Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification. *Plant Soil* **302**:1-17 (2008).

3 Rehman H, Aziz T, Farooq M, Wakeel A and Rengel Z, Zinc nutrition in rice production systems: a review. *Plant Soil* **361**:203-226 (2012).

4 Li P, Lin C, Cheng H, Duan X and Lei K, Contamination and health risks of soil heavy metals around a lead/zinc smelter in southwestern China. *Ecotoxicol Environ Saf* **113**:391-399 (2015).

5 Haytova D, A review of foliar fertilization of some vegetable crops. *Annu Res Rev Biol* **3**:455-465 (2013).

6 Wang YY, Wei YY, Dong LX, Lu LI, Feng Y, Zhang J *et al.*, Improved yield and Zn accumulation for rice grain by Zn fertilization and optimized water management. *J Zhejiang Univ Sci B (Biomed & Biotechnol)* **15**:365-374 (2014).

- 308 7 Phuphong P, Cakmak I, Dell B and Prom-u-thai C, Effects of foliar application of zinc on
309 grain yield and zinc concentration of rice in farmers' fields. *CMU J Nat Sci* **17**:181-190
310 (2018).
- 311 8 Boonchuay P, Cakmak I, Rerkasem B and Prom-U-Thai C, Effect of different foliar zinc
312 application at different growth stages on seed zinc concentration and its impact on
313 seedling vigor in rice. *Soil Sci Plant Nutr* **59**:180-188 (2013).
- 314 9 Lönnerdal B, Phytic acid-trace element (Zn, Cu, Mn) interactions. *Int J Food Sci Tech* **37**:
315 749-758 (2002).
- 316 10 Akande KE, Doma UD, Agu HO and Adamu HM, Major antinutrients found in plant
317 protein sources: their effect on nutrition. *Pakistan J Nutr* **9**:827-832 (2010).
- 318 11 Coulibaly A, Kouakou B and Chen J, Phytic acid in cereal grains: structure, healthy or
319 harmful ways to reduce phytic acid in cereal grains and their effects on nutritional
320 quality. *Amer J Plant Nutr Fertil Tech* **1**:1-22 (2011).
- 321 12 Raboy V, Seeds for a better future: Low phytate grains help to overcome malnutrition and
322 reduce pollution. *Trends Plant Sci* **6**:458-462 (2001).
- 323 13 Kumar V, Sinha AK, Makkar HPS and Becker K, Dietary roles of phytate and phytase in
324 human nutrition: A review. *Food Chem* **120**:945-959 (2010).
- 325 14 Lott JNA, Accumulation of seed reserves of phosphorus and other minerals, in *Seed*
326 *physiology*, ed. by Murray DR. Sydney, Academic, pp. 139-166 (1984).
- 327 15 Doria E, Galleschi L, Calucci L, Pinzino C, Pilu R, Cassani E *et al.*, Phytic acid prevents
328 oxidative stress in seeds: evidence from a maize (*Zea mays* L.) low phytic acid mutant. *J*
329 *Exp Bot* **60**:967-978 (2009).
- 330 16 Tsao GT, Zheng YZ, Lu J and Gong CS, Adsorption of heavy metal ions by immobilized
331 phytic acid. *Appl Biochem Biotechnol* **63**:731-741 (1997).
- 332 17 Huang C, Barker SJ, Langridge P, Smith FW and Graham RD, Zinc deficiency up-
333 regulates expression of high-affinity phosphate transporter genes in both phosphate
334 sufficient and deficient barley roots. *Plant Physiol* **124**:415-422 (2000).
- 335 18 Imran M, Kanwal S, Hussain S, Aziz T and Maqsood MA, Efficacy of zinc application
336 methods for concentration and estimated bioavailability of zinc in grains of rice grown
337 on a calcareous soil. *Pak J Agri Sci* **52**:169-175 (2015).

- 19 Jaksomsak P, Tuiwong P, Rerkasem B, Guild G, Palmer L, Stangoulis LJ *et al.*, The impact of foliar applied zinc fertilizer on zinc and phytate accumulation in dorsal and ventral grain sections of four Thai rice varieties with different grain zinc. *J Cereal Sci* **79**:6-12 (2018).
- 20 Phattarakul N, Rerkasem B, Li LJ, Wu LH, Zou CQ, Ram H *et al.*, Biofortification of rice grain with zinc through zinc fertilization in different countries. *Plant Soil* **361**:131-141 (2012).
- 21 Northern Meteorological Center, *Climate in Chiang Mai*. [Online]. (2018) Available: <http://www.cmmet.tmd.go.th/index1.php>, [9 January 2018].
- 22 Jaksomsak P, Yimyan N, Dell B, Prom-u-thai C and Rerkasem B, Variation of seed zinc in a local upland rice germplasm from Thailand. *Plant Genet Resour* **13**:168-175 (2015).
- 23 Khampuang K, Sooksamiti P, Lapanantnoppakhun S, Yodthongdee Y, Rerkasem B, and Prom-u-Thai C, Effects of soil cadmium contamination on grain yield and cadmium accumulation in different plant parts of three rice genotypes. *Int J Agric Biol* **21**:1205-1211 (2019).
- 24 Allan JE, The determination of zinc in agricultural material by atomic absorption spectrophotometry. *Analyst* **96**:531-534 (1961).
- 25 Haug W and Lantzsch HJ, Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. *J Sci Food Agric* **34**:1423-1426 (1983).
- 26 Weerakoon WMW, Maruyama A and Ohba K, Impact of humidity on temperature-induced grain sterility in rice (*Oryza sativa* L). *J Agron Crop Sci* **194**:135-140 (2008).
- 27 Liu QH, Xiu WU, Chen BC and Jie GAO, Effects of low light on agronomic and physiological characteristics of rice including grain yield and quality. *Rice Sci* **21**:243-251 (2014).
- 28 Kisimoto R and Dyck VA, Climate and rice insects. in *Proceedings of symposium on climate and rice*, International Rice Research Institute, Los Baños, Philippines, pp. 361-391 (1976).
- 29 Impa SM, Gramlich A, Tandy S, Schulin R, Frossard E and Johnson-Beebout SE, Internal Zn allocation influences Zn deficiency tolerance and grain Zn loading in rice (*Oryza sativa* L.). *Front Plant Sci* **534**:1-10 (2013).

- 30 Anderson S, Schoenau J and Vandenberg A, Effects of zinc fertilizer amendments on yield and grain zinc concentration under controlled environment conditions. *J Plant Nutr* **41**:1842-1850 (2018).
- 31 Nasiri Y, Salmasi SZ, Nasrullahzadeh S, Najafi N and Golezani KG, Effects of foliar application of micronutrients (Fe and Zn) on flower yield and essential oil of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *J Med Plants Res* **4**:1733-1737 (2010).
- 32 Wasaya A, Shabir MS, Hussain M, Ansar M, Aziz A, Hassan W *et al.*, Foliar application of Zinc and Boron improved the productivity and net returns of maize grown under rainfed conditions of Pothwar plateau. *J Soil Sci Plant Nutr* **17**:33-45 (2017).
- 33 Liu DY, Liu YM, Zhang W, Chen XP and Zou CQ, Zinc uptake, translocation, and remobilization in winter wheat as affected by soil application of Zn fertilizer. *Front Plant Sci* **426**:1-10 (2019).
- 34 Kutman UB, Yildiz B, Ozturk L and Cakmak I, Biofortification of durum wheat with zinc through soil and foliar applications of nitrogen. *Cereal Chem* **87**:1-9 (2010).
- 35 Fernández V and Brown PH, From plant surface to plant metabolism: the uncertain fate of foliar-applied nutrients. *Front Plant Sci* **289**:1-5 (2013).
- 36 Zhang YQ, Sun YX, Ye YL, Karim MR, Xue YF, Yan P *et al.*, Zinc biofortification of wheat through fertilizer applications in different locations of China. *Field Crop Res* **125**:1-7 (2012).
- 37 Velu G, Ortiz-Monasterio I, Cakmak I, Hao Y and Singh RP, Review: Biofortification strategies to increase grain zinc and iron concentrations in wheat. *J Cereal Sci* **59**:365-372 (2014).
- 38 Cakmak I and Kutman UB, Agronomic biofortification of cereals with zinc: a review. *Eur J Soil Sci* **69**:172-180 (2018).
- 39 Poblaciones MJ and Rengel Z, Soil and foliar zinc biofortification in field pea (*Pisum sativum* L.): Grain accumulation and bioavailability in raw and cooked grains. *Food Chem* **212**:427-433 (2016).
- 40 Prom-U-Thai C, Huang L, Rerkasem B, Thomson G, Kuo J, Saunders M *et al.*, Distribution of protein bodies and phytate-rich inclusions in grain tissues of low and high iron rice genotypes. *Cereal Chem* **85**:257-265 (2008).

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

398 41 Liu Z, Grain phytic acid content in japonica rice as affected by cultivar and environment
399 and its relation to protein content. *Food Chem* **89**:49-52 (2005).
400 42 Wang KM, Wu JG, Li G, Zhang DP, Yang ZW and Shi CH, Distribution of phytic acid and
401 mineral elements in three indica rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. *J Cereal Sci* **54**:116-
402 121 (2011).
403 43 Lopez HW, Leenhardt F, Coudray C and Remesy C, Minerals and phytic acid interactions:
404 Is it a real problem for human nutrition?. *Int J Food Sci Tech* **37**:727-739 (2002).
405 44 Turnlund JR, King JC, Keyes WR, Gong B and Michel MC, A stable isotope study of zinc
406 absorption in young men: effects of phytate and α -cellulose. *Am J Clin Nutr* **40**:1071-
407 1077 (1984).
408 45 Hurrell RF, Influence of vegetable protein sources on trace element and mineral
409 bioavailability. *J Nutr* **133**:2973-2977 (2003).
410 46 Harlan BF and Oberleas D, A modified method for phytate analysis using an ion-exchange
411 procedure: application to textured vegetable proteins. *Cereal Chem* **54**:827-832 (1977).
412 47 Ma G, Li Y, Jin Y, Zhai F, Kok FJ and Yang X, Phytate intake and molar ratios of phytate
413 to zinc, iron and calcium in the diets of people in China. *Eur J Clin Nutr* **61**:368-374
414 (2007).
415 48 Morris ER and Ellis R, Usefulness of the dietary phytic acid/ zinc molar ratio as an index
416 of zinc bioavailability to rats and humans. *Biol Trace Elem Res* **19**:107-117 (1989).
417 49 Hussain S, Maqsood MA, Rengel Z and Aziz T, Biofortification and estimated human
418 bioavailability of zinc in wheat grains as influenced by methods of zinc application.
419 *Plant Soil* **361**:279-290 (2012).

Table 1. Yield components of two rice cultivars (CNT1 and KDK) foliar applied with 5 rates of ZnSO₄ grown at two cropping years (2016 and 2017).

Cropping year	Cultivar	Tiller hill ⁻¹	Panicle plant ⁻¹	Spikelet panicle ⁻¹	1,000 seeds weight (g)	Filled grain (%)
2016	CNT	20.9 a	17.8 a	134.3 b	29.7 b	93.8 a
	KDK	9.9 c	8.4 c	202.2 a	30.2 b	83.5 b
2017	CNT	16.6 b	14.8 b	152.1 b	29.9 b	91.5 a
	KDK	8.6 c	7.0 c	196.7 a	32.8 a	93.5 a
Foliar Zn		0.92	0.79	0.21	0.04	0.29
(P-Value) ¹						

Means in the same column followed by different letters are significantly different at $P < 0.05$.

¹level of significance was set at $P < 0.05$.

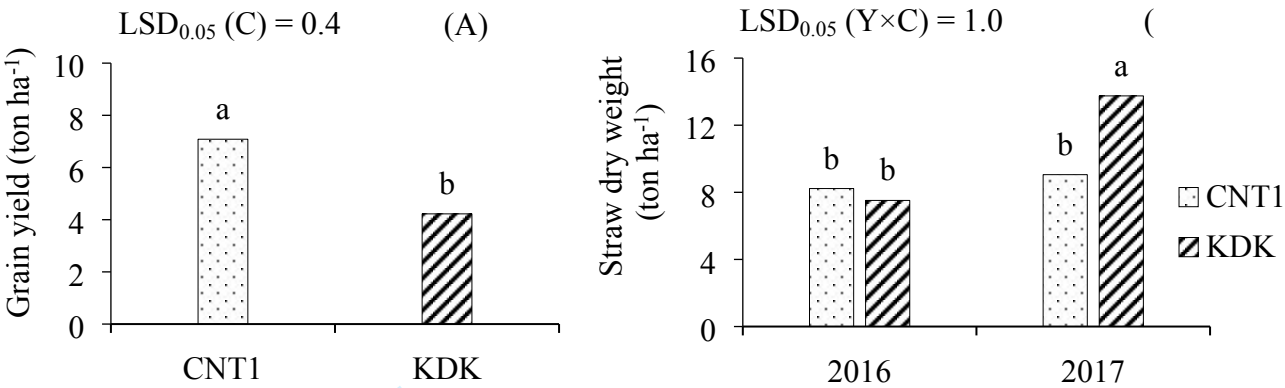


Figure 1. Grain yield (A) and straw dry weight (B) of two rice cultivars (CNT1 and KDK) foliar applied with 5 rates of ZnSO₄ grown at two cropping years (2016 and 2017). The foliar Zn application on grain yield ($P = 0.81$) and straw dry weight ($P = 0.72$). Different letters above bars indicate significant differences at $P < 0.05$.

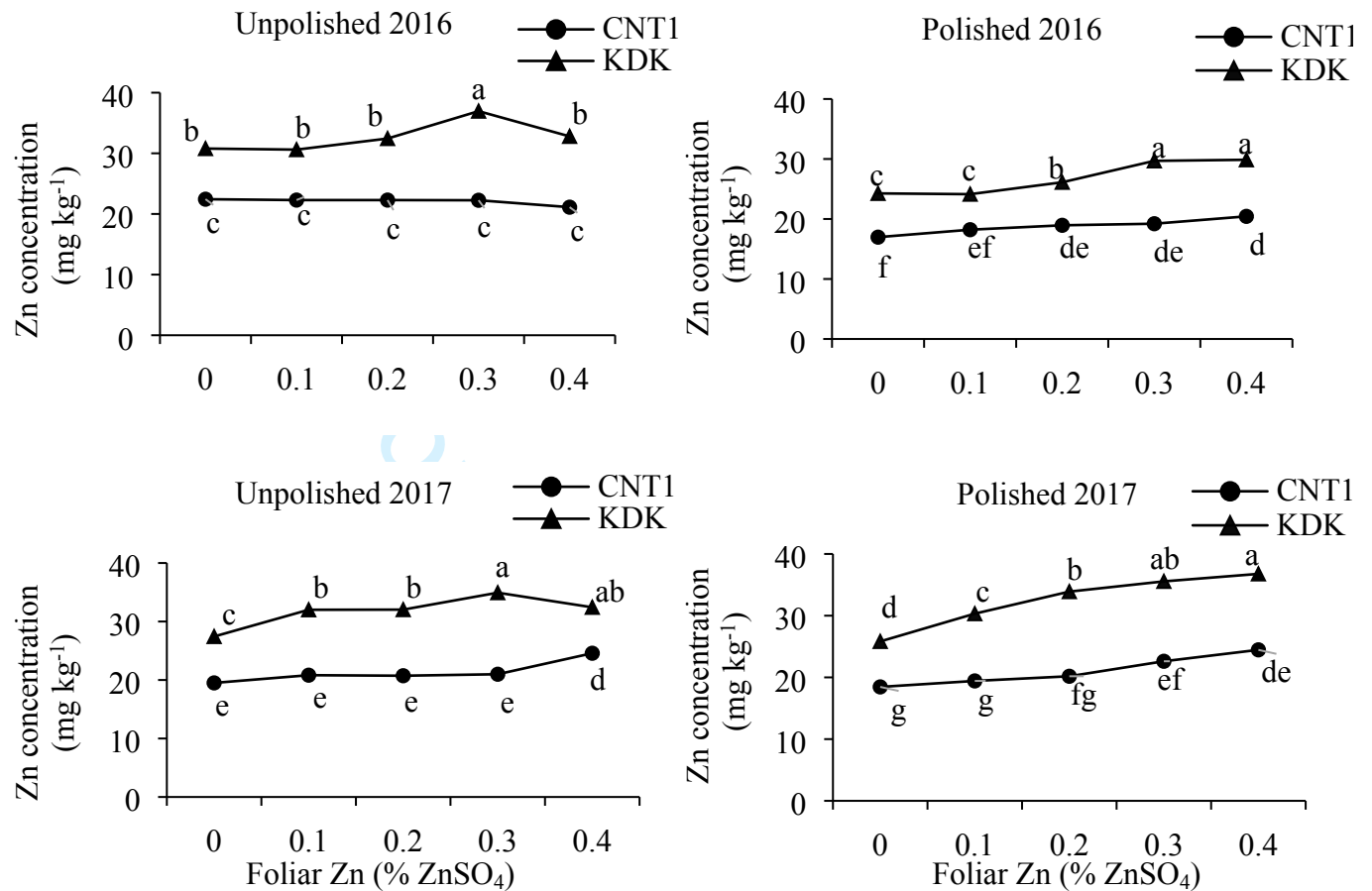


Figure 2. Zn concentration in unpolished and polished rice in 2 rice cultivars foliar applied with 5 rates of ZnSO₄ grown at two cropping years (2016 and 2017). Different letters above lines indicate significant differences at $P < 0.05$.

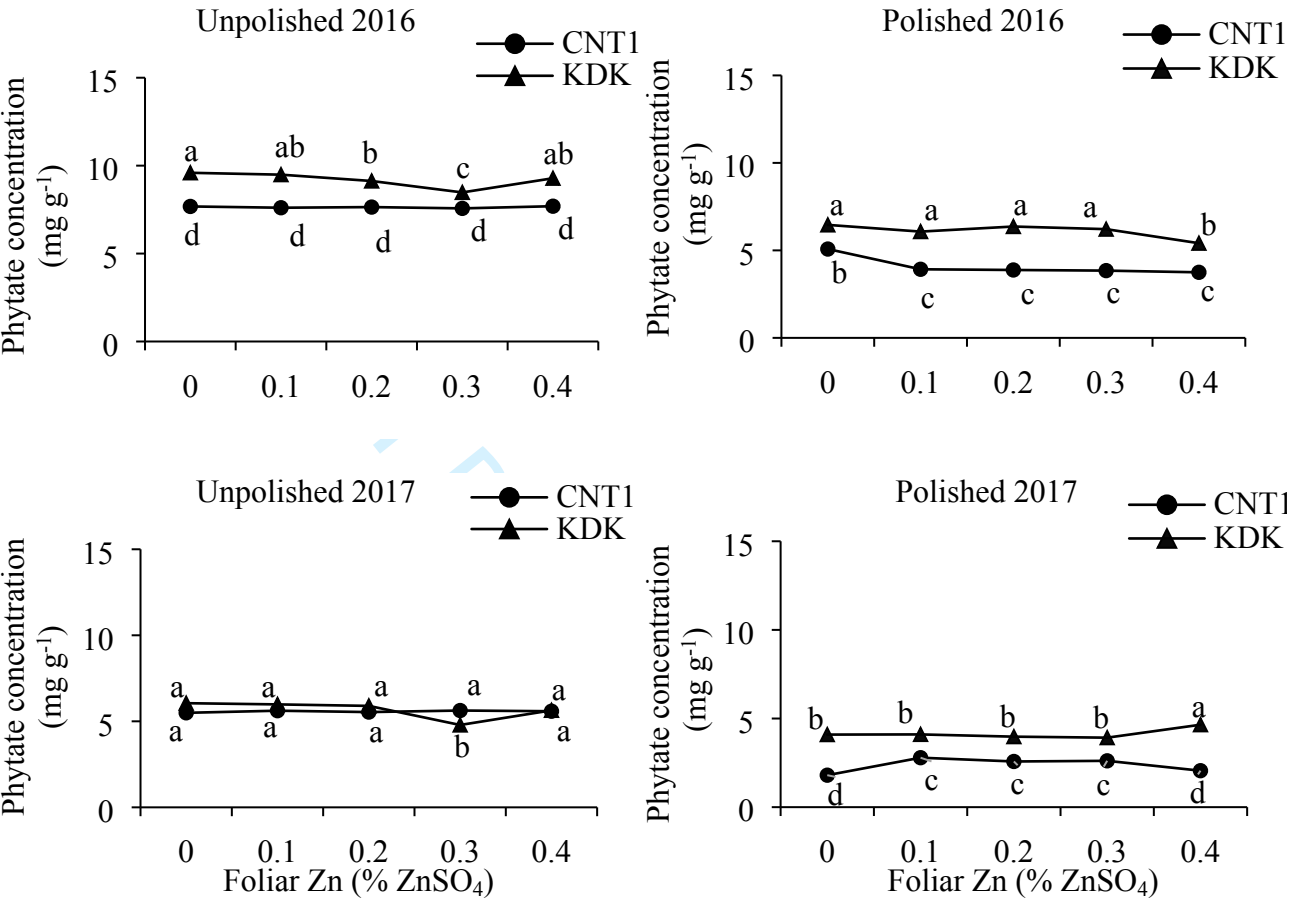


Figure 3. Phytate concentration in unpolished and polished rice in 2 rice cultivars foliar applied with 5 rates of ZnSO₄ grown at two cropping years (2016 and 2017). Different letters above lines indicate significant differences at *P* < 0.05.

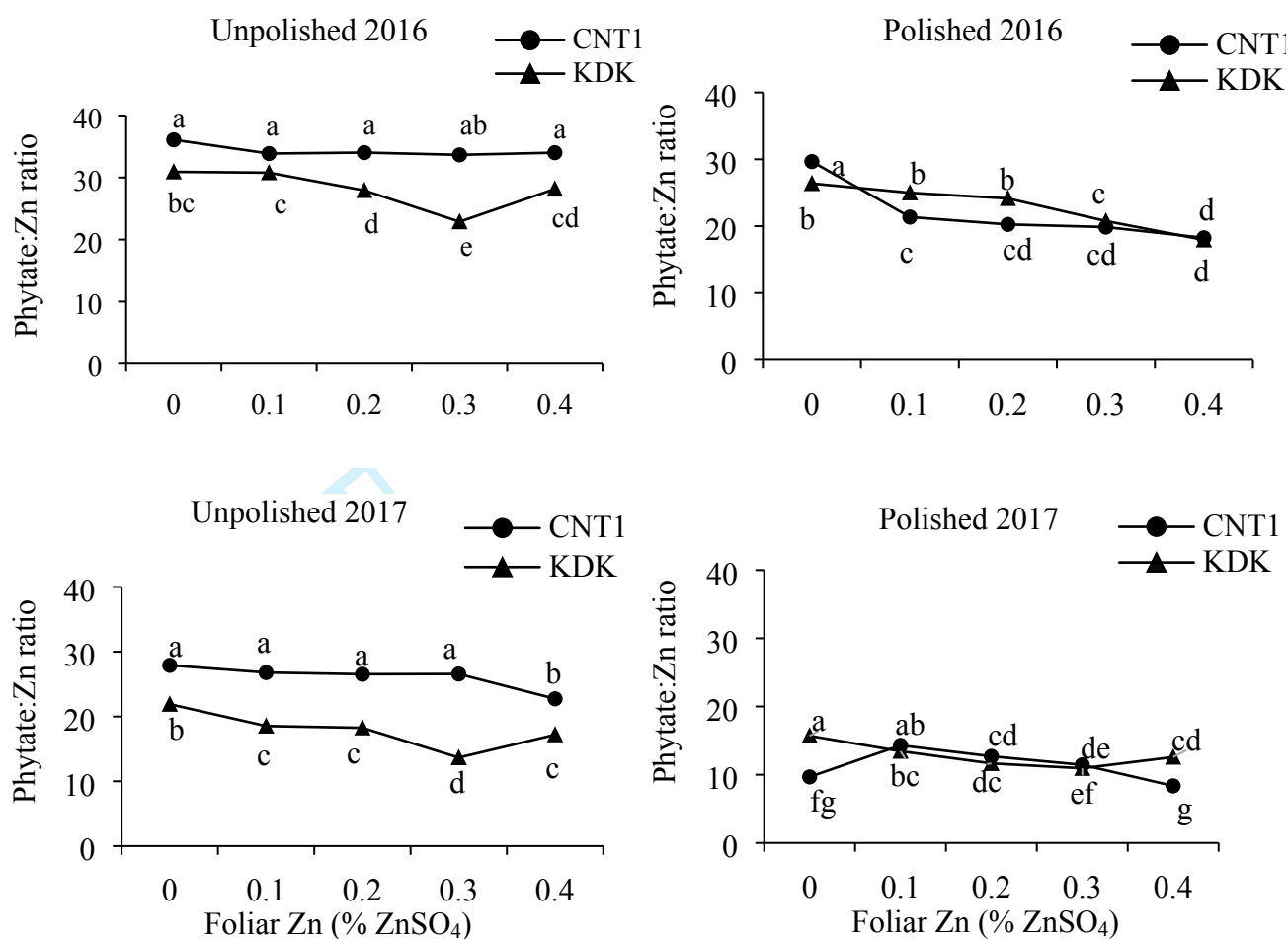


Figure 4. Phytate/Zn ratio in unpolished and polished rice in 2 rice cultivars foliar applied with 5 rates of ZnSO₄ grown at two cropping years (2016 and 2017). Different letters above lines indicate significant differences at $P < 0.05$.

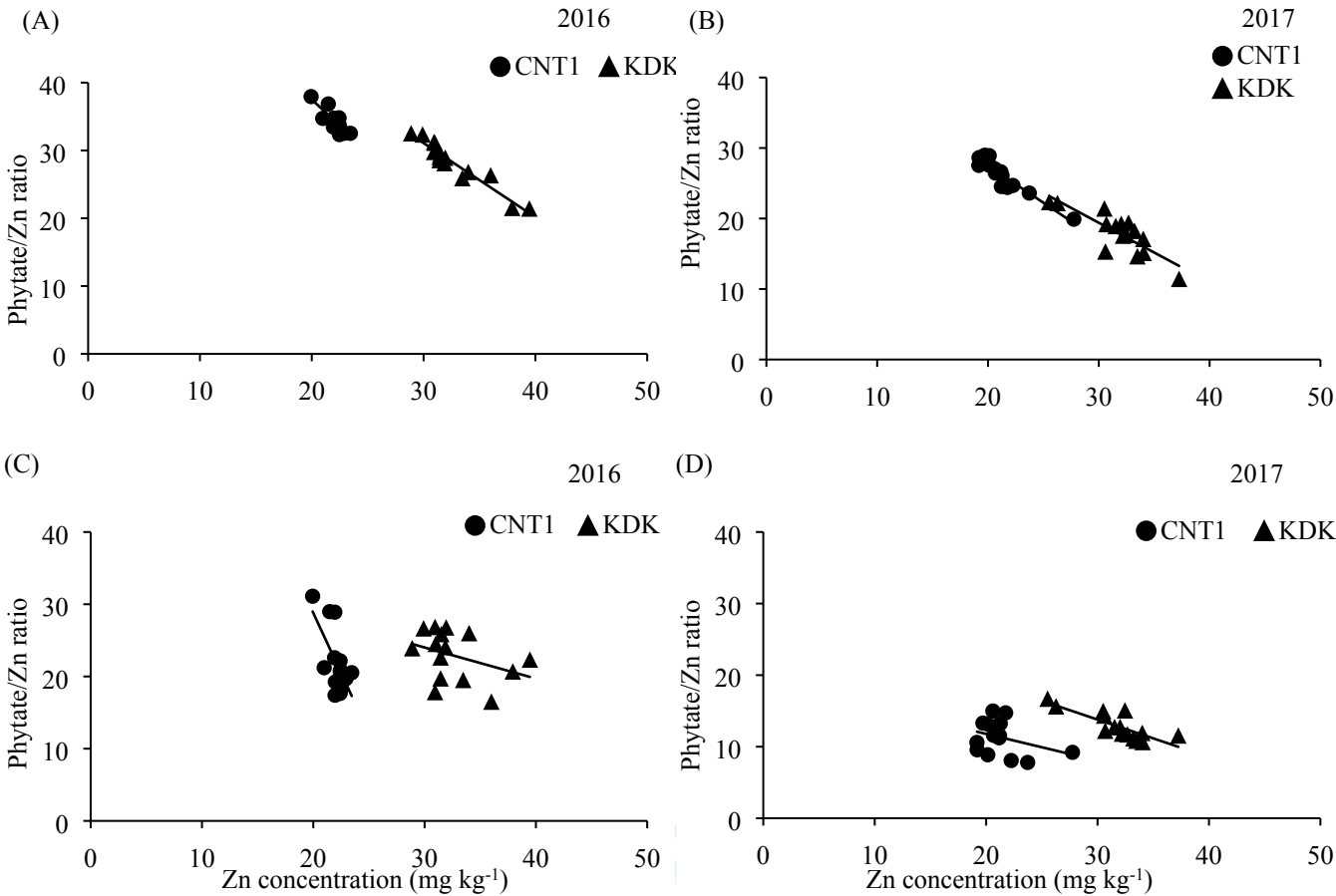


Figure 5. Relationship between phytate/Zn ratio and Zn concentration in unpolished rice grown in 2016 (A) and 2017 (B) and relationship between phytate/Zn ratio and Zn concentration in polished rice grown in 2016 (C) and 2017 (D) in 2 rice cultivars foliar applied with 5 rates of ZnSO₄ (*n* = 15).

Journal of Soil Science and Plant Nutrition

Responses of grain yield and nutrient content to combined Zn and N fertilizer in upland and wetland rice varieties is dependent on soil water condition

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	JSSP-D-20-00314	
Full Title:	Responses of grain yield and nutrient content to combined Zn and N fertilizer in upland and wetland rice varieties is dependent on soil water condition	
Article Type:	Original Paper	
Funding Information:	Thailand Research Fund (RSA6080024)	Dr. Chanakan Prom-u-thai
	Chiang Mai University	Miss Rarinthorn Rinsinjoy
Abstract:	<p>Management of soil water status and nutrient supply are critical for optimizing rice yield and quality. This study explored the response in grain yield and quality of upland and wetland rice varieties to a combination of Zn and N fertilizers under two water management regimes. Upland (KHCMU) and wetland (CNT1) rice varieties were grown in the wet season at Chiang Mai University, Thailand with three fertilizer treatments (optimum N-Zn, optimum N+Zn, and high N+Zn) under waterlogged and well-drained conditions. Grain yield was 27% lower in the well-drained than in the waterlogged condition in wetland rice, while there was no effect in upland rice. Application of optimum N+Zn produced the highest grain yield in upland rice, while yield was highest in wetland rice in the high N+Zn treatment. The optimum N+Zn and high N+Zn treatments enhanced grain Zn concentration of upland rice by about 40% in the well-drained condition compared with optimum N-Zn, but there was no significant increase in the well-drained condition. Grain Zn concentration in wetland rice was enhanced by about 88% in the optimum N+Zn and high N+Zn treatments in the well-drained condition, whereas in the waterlogged condition only the high N+Zn increased (by 92%) grain Zn concentration. Applying N+Zn fertilizer also increased grain N concentration. The application of appropriate levels of N+Zn fertilizers should be promoted to rice producers to enhance both grain yield and grain nutrient content.</p>	
Corresponding Author:	Chanakan Prom-u-thai Chiang Mai University THAILAND	
Corresponding Author Secondary Information:		
Corresponding Author's Institution:	Chiang Mai University	
Corresponding Author's Secondary Institution:		
First Author:	Supapohn Yamuangmorn	
First Author Secondary Information:		
Order of Authors:	Supapohn Yamuangmorn	
	Rarinthorn Rinsinjoy	
	Sittichai Lordkaew	
	Bernard Dell	
	Chanakan Prom-u-thai, Ph.D.	
Order of Authors Secondary Information:		
Author Comments:	Editor Journal of Soil Science and Plant Nutrition 17 April 2020	

	<p>Dear Editor,</p> <p>I on behalf of the co-authors, would like to submit our manuscript titled “Responses of Grain Yield and Nutrient Content to Combined Zn and N Fertilizer in Upland and Wetland Rice Varieties is Dependent on Soil Water Condition” for publication in Journal of Soil Science and Plant Nutrition.</p> <p>I confirmed that the manuscript has not been submitted elsewhere while considering in this journal. Thank you very much for your kind considering our manuscript for its publication in the journal in the near future.</p> <p>Sincerely yours</p> <p>Chanakan Prom-u-thai Agronomy Division, Department of Plant and Soil Sciences Faculty of Agriculture, Chiang Mai University THAILAND</p>
Suggested Reviewers:	<p>Richard Bell r.bell@murdoch.edu.au He has been working in the relate research field.</p> <p>Longbin Huang l.huang@uq.edu.au He has been working on plant nutrition.</p> <p>Levent Ozturk lozturk@sabanci.edu This manuscript is in his research field.</p> <p>Pennapa Jaksomsak pen_jak11@hotmail.com She has been working in this area.</p>

[Click here to view linked References](#)

1 Responses of Grain Yield and Nutrient Content to Combined Zn and N Fertilizer in Upland and Wetland
2 Rice Varieties is Dependent on Soil Water Condition

3

4 Supapohn Yamuangmorn¹ · Rarithorn Rinsinjoy¹ · Sittichai Lordkaew² · Bernard Dell³ · Chanakan Prom-u-thai¹

5

6 ¹Department of Plant and Soil Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200,
7 Thailand

8 ²Center for Agricultural Resource Systems Research, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai
9 50200, Thailand

10 ³School of Veterinary and Life Sciences, Murdoch University, 90 South St, Murdoch, WA, 6150, Australia

11

12 Corresponding author: Chanakan Prom-u-thai. E-mail: chanakan.p@cmu.ac.th; chanakan15@hotmail.com

Abstract

Management of soil water status and nutrient supply are critical for optimizing rice yield and quality. This study explored the response in grain yield and quality of upland and wetland rice varieties to a combination of Zn and N fertilizers under two water management regimes. Upland (KHCMU) and wetland (CNT1) rice varieties were grown in the wet season at Chiang Mai University, Thailand with three fertilizer treatments (optimum N-Zn, optimum N+Zn, and high N+Zn) under waterlogged and well-drained conditions. Grain yield was 27% lower in the well-drained than in the waterlogged condition in wetland rice, while there was no effect in upland rice. Application of optimum N+Zn produced the highest grain yield in upland rice, while yield was highest in wetland rice in the high N+Zn treatment. The optimum N+Zn and high N+Zn treatments enhanced grain Zn concentration of upland rice by about 40% in the well-drained condition compared with optimum N-Zn, but there was no significant increase in the well-drained condition. Grain Zn concentration in wetland rice was enhanced by about 88% in the optimum N+Zn and high N+Zn treatments in the well-drained condition, whereas in the waterlogged condition only the high N+Zn increased (by 92%) grain Zn concentration. Applying N+Zn fertilizer also increased grain N concentration. The application of appropriate levels of N+Zn fertilizers should be promoted to rice producers to enhance both grain yield and grain nutrient content.

Keywords Combining fertilizer · Nutritional quality · Water management · Dryland rice · Flooded soil · *Oryza sativa*

1 Introduction

Zinc is an essential micronutrient for plants, being a cofactor in many proteins involved in cell division, nucleic acid metabolism and protein synthesis as well as playing a key role in controlling the activity of the anti-oxidative enzymes by protecting cells from reactive oxygen species (Broadley et al. 2012). Hence, Zn deficiency can markedly reduce crop yields (Alloway 2008). Also, Zn is essential for cell division, protein synthesis, cell-mediated immunity, antioxidant and anti-inflammatory agents in humans (FAO and WHO 2001; Prasad 2014) and a lack of Zn causes stunting, delayed sexual maturity, reduced bone maturation and cognitive impairment (Hambidge 2000). Therefore, improving Zn accumulation not only can increase plant growth and productivity in low Zn soils, but also may enhance human health, especially in rice which contains low levels of Zn (25.4 mg kg⁻¹ for brown rice) compared with wheat (35.0 mg kg⁻¹) (Graham et al. 1999). Agronomic biofortification has been suggested as a potential way to increase both grain Zn and yield, particularly by fertilizer management (Cakmak and Kutman 2018; Saha et al. 2017). Applying Zn to soil appears to be one of the most cost-effective means to overcome Zn deficiency as it is a practical method employed by rice farmers in all regions. However, little is known of the response of rice ecotypes to Zn supply under different soil conditions.

Change in soil water content can alter the chemical and physical properties of soil, including pH, redox potential and organic matter (Alloway 2009), thus affecting biological properties for root function like ion uptake and respiration (Marschner and Rengel 2012). In waterlogged soil, Zn fertilizer can be changed into insoluble forms of Zn(OH)₂ and ZnS, resulting in low Zn availability for plants (Alloway 2008). The availability of Zn in dryland rice can also be limited from a reduction in soil redox potential (Impa et al. 2013). Beebout et al. (2016) showed that application of Zn fertilizer to a wetland rice variety towards the end of the drying season could increase Zn in the polished grain due to the higher extractable soil Zn under non-continuous than continuous flooding environments. Similarly, alternate wetting and drying increased Zn concentrations in brown and polished rice in a wetland rice variety compared to continuous flooding (Wang et al. 2014). Applying Zn fertilizer for promoting productivity and grain Zn concentration has been well established in many crops, but the effect in combination with N fertilizer is rarely observed. However, in wheat an increase in Zn accumulation in the grain was induced by nitrogen (N) application (Erenoğlu et al. 2010). This is an interesting phenomenon as application of N fertilizer is one of the main factors influencing rice yield (Wade et al. 1999) and grain quality (Jaksomsak et al. 2017). It is not known whether applying Zn together with N fertilizer can enhance Zn uptake and grain yield in rice under different agronomic conditions. Guo et al. (2015) established that the effects of Zn application varied

according to native soil Zn availability, and the N and Zn fertilizer application method. In particular, soil Zn application improved rice grain yield more than foliar Zn application, but the foliar Zn spray was more effective at increasing grain Zn content than soil Zn application. The study also mentioned that the interaction between Zn and N fertilizer should be carefully investigated to adjust the fertilization practice in the rice field. With submerged cropping in Basmati rice, N (120 kg ha⁻¹) and Zn (12 kg ha⁻¹) fertilization led to maximum grain protein concentration (Ali et al. 2014).

This study aimed to further investigate how upland and wetland rice varieties respond to Zn and N fertilizer application in waterlogged and well-drained soil rather than individual Zn fertilizer application. It was hypothesized that applying N+Zn fertilizer can enhance grain yield and Zn accumulation, and management of soil water can improve Zn availability and consequently increase grain yield and Zn accumulation. The information should be useful to help optimize the management of both soil and fertilizer conditions in order to maximize grain yield and grain Zn concentration among different rice varieties.

2 Materials and Methods

2.1 Rice Variety and Plant Culture

A factorial arrangement based on a randomized complete block design composed of three factors as rice variety, soil water condition and fertilizer management was carried out with three replications of each treatment. Two rice varieties with different original ecotypes representing upland rice (Kum Hom CMU; KHCMU) and wetland rice (Chai Nat 1; CNT1) were grown in the wet season (August to December 2016) at Chiang Mai University, Thailand (18°47'N, 98°57'E). The seven-day old seedlings were transplanted into cement pots with 1.0 m diameter and 0.5 m height, one plant per hill and 12 plants per pot with spacing between hills of approximately 0.25 × 0.25 m. Each pot contained about 160 kg of Sansai series soil obtained from a rice field in the area where the experiment was located. The soil chemical profiles were as follows: pH 5.82 (1:1, soil:water), organic matter 1.38% (Walkley-Black method), available phosphorus 35.06 mg kg⁻¹ (Bray II), exchangeable potassium 39.28 mg kg⁻¹ (NH₄OAc, pH 7) and extractable Zn 0.73 mg kg⁻¹ (DTPA).

The two soil water conditions were waterlogged and well-drained. The containers for the latter treatment had drainage holes. For the waterlogged soil, water was maintained at 5-10 cm depth above the soil surface from transplanting until harvesting. For the well-drained soil, water was applied twice daily to maintain field capacity throughout the period. Three fertilizer treatments were applied on a surface area basis as follows: 1) urea at the

optimum rate at 86 kg N ha⁻¹ as suggested by the Department of Agriculture, Rice Research Institute (2019) for common practice in farmers' fields, designated as optimum N-Zn; 2) the optimum N rate combined with Zn fertilizer at 50 kg ZnSO₄ ha⁻¹, designated as optimum N+Zn; and 3) high N rate at 172 kg N ha⁻¹ combined with 50 kg ZnSO₄ ha⁻¹, designated as high N+Zn. All treatments were given phosphorus (NaH₂PO₄) and potassium (KCl), each compound at 188 kg ha⁻¹. Fertilizers were applied directly onto the soil in three split applications at maximum tillering, panicle initiation and flowering stages. The fertilizers were manually incorporated into the surface soil between the rice plants.

2.2 Data Collection and Sample Preparation

Four plants were harvested randomly from each pot at booting, 15 days after flowering (15 DAF) and maturity. At each harvest, the main shoot and tillers were partitioned into flag leaf, remainder of shoot (leaf blade, stem + leaf sheath and panicle), and grain (at maturity). The samples were washed twice with distilled water before being oven-dried at 75°C for 72 h. The dried samples were mechanically ground in a hammer mill (Scientific Technical Supplies D-6072 Dreieich, West Germany) before chemical analysis. Grain yield and yield components (number of tillers and panicles per plant and one thousand grain weight) were evaluated at maturity. Rice seed samples were de-husked manually to produce brown rice to avoid contamination from using a husker machine.

2.3 Chemical Analysis

Zinc was determined with an atomic absorption spectrophotometer on samples that were dry-ashed at 550°C and dissolved in acid (Allan 1961) and total N was measured with a flow injection analyzer (Quick-Chem 8000) after digestion by the Kjeldahl method (Bremner 1960). Peach leaves were used as the certified standard material (SRM 1547) for both Zn and N analyses. Percentage of grain Zn partitioning was calculated from the Zn content ratio between rice grain and the above-ground, whole plant content.

2.4 Statistical Analysis

Statistical analyses were carried out using analysis of variance (ANOVA) (Statistic version 8.0 window). The least significant difference (LSD) at P<0.05 was used to compare the means for significant differences among parameters. Correlation coefficient analysis was conducted for each set of parameters.

3 Results

3.1 Grain Yield and Yield Components

Grain yield was significantly affected by soil condition in CNT1, the wetland variety ($p < 0.05$; Fig. 1A), there being 38% higher grain yield in waterlogged soil (66 g plant^{-1}) than in the well-drained soil (48 g plant^{-1}). In the upland rice variety KHCMU, grain yield averaged 43 g plant^{-1} in waterlogged and well-drained soils. Furthermore, there was an interaction effect between variety and fertilizer treatment for grain yield ($p < 0.05$; Fig. 1B). In KHCMU, the optimum N+Zn plants (50 g plant^{-1}) produced 11% and 47% higher grain yield than the high N+Zn plants (45 g plant^{-1}) and the optimum N-Zn plants (34 g plant^{-1}), respectively. However, there was a different response to fertilizer treatment in CNT1, the high N+Zn plants had 11% higher grain yield (61 g plant^{-1}) than the other two treatments (55 g plant^{-1}).

The numbers of tillers and panicles per plant were significantly affected by soil condition and rice variety ($p < 0.05$; Table 1). The upland rice variety KHCMU grown in well-drained soil produced 36–37% more tillers and panicles per plant than in waterlogged soil. By contrast, CNT1 had 70–96% more tillers and panicles in the waterlogged soil than in the well-drained soil. Also, there was a significant interaction between fertilizer and variety on the number of tillers and panicles per plant ($p < 0.05$; Table 1). There were no significant differences in the number of tillers and panicles per plant in KHCMU, but in CNT1 there were 11–14% more tillers and panicles per plant in the high N+Zn compared to the optimum N-Zn and optimum N+Zn plants. In addition, there was an interaction effect between variety and soil condition on one thousand-grain weight ($p < 0.05$; Table 1). In KHCMU, well-drained plants had 9% higher thousand-grain weight than waterlogged plants, but there was no difference in CNT1. The effect of fertilizer treatment on one thousand-grain weight differed between the varieties ($p < 0.05$; Table 1). In KHCMU, optimum N+Zn and high N+Zn plants had 20% higher thousand-grain weight than the optimum N plants. However, fertilizer treatment had no impact on one thousand-grain weight in CNT1.

There was a positive correlation between grain yield and one thousand-grain weight in KHCMU ($r = 0.64$, $p < 0.01$), but not in CNT1 (Table 2). In addition, grain yield was positively correlated with the number of tillers and panicles per plant ($r = 0.94$, $p < 0.001$; $r = 0.92$, $p < 0.001$, respectively) in CNT1, but not in KHCMU (Table 2).

3.2 Grain Zn and N Concentrations

Grain Zn concentration was significantly affected by the interaction between variety, soil condition and fertilizer treatment ($p < 0.05$; Figure 2). In KHCMU grown in waterlogged soil, applying optimum N+Zn resulted in the highest grain Zn concentration (30 mg kg^{-1}) followed by high N+Zn (26 mg kg^{-1}), which were 50% and 30% higher concentrations than in optimum N-Zn plants (20 mg kg^{-1}), respectively. However, there was no difference in grain Zn concentration in KHCMU among fertilizer treatments in well-drained soil. In CNT1 grown in waterlogged soil, the grain Zn concentration in high N+Zn plants was 92% higher (25 mg kg^{-1}) than in optimum N+Zn and optimum N-Zn (13 mg kg^{-1}) plants. However, there were different responses in well-drained soil as the optimum N+Zn and high N+Zn plants had similar grain Zn concentrations (range 24 to 25 mg kg^{-1}) which were 88% higher than in the optimum N-Zn plants (13 mg kg^{-1}). In addition, grain N concentration was significantly affected by variety ($p < 0.05$; Fig. 3A) and fertilizer treatment ($p < 0.05$; Fig. 3B), but there was no interaction. The wetland rice variety CNT1 had 19% higher grain N concentration (1.7%) than the upland variety KHCMU (1.4%). Among the fertilizer treatments, optimum N+Zn and high N+Zn plants had similar grain N concentrations (1.6–1.7%) which were higher than in the optimum N-Zn plants (1.4%).

Increasing grain N concentration enhanced grain Zn concentration in the upland rice variety KHCMU ($y = 0.0369x + 0.8209$; $R^2 = 0.29$, $p < 0.05$), and more strongly in the wetland rice variety CNT1 ($y = 0.0284x + 0.9065$; $R^2 = 0.66$, $p < 0.001$) (Fig. 4A). Moreover, grain yield was positively correlated with grain Zn and N concentrations in KHCMU ($r = 0.84$, $p < 0.001$ and $r = 0.52$, $p < 0.05$, respectively), but there was no correlation between grain yield and grain Zn and N concentrations in CNT1 ($r = 0.00\text{ns}$, $p < 0.05$ and $r = 0.00\text{ns}$, $p < 0.05$, respectively) (Fig. 4B, C).

3.3 Flag Leaf Zn and N Concentrations

Fertilizer treatment and soil condition affected flag leaf Zn concentration and the responses differed between the upland and wetland rice varieties ($p < 0.05$; Table 3). In KHCMU, there was no difference in flag leaf Zn concentrations between the optimum N+Zn and high N+Zn plants in the waterlogged soil. These treatments had 34% higher Zn concentration than the optimum N-Zn plants. Similar responses were found in the well-drained soil where the optimum N+Zn and high N+Zn plants had 85–95% higher Zn concentrations in the flag leaf than in the optimum N-Zn plants. In the waterlogged CNT1, the high N+Zn plants had 115–168% higher flag leaf Zn concentration than the optimum N and optimum N+Zn plants, but in the well-drained soil the optimum N+Zn and high N+Zn plants had similar flag leaf Zn concentrations which were 22–33% higher than in the optimum N-Zn plants.

At 15 DAF, there was a significant interaction between variety, soil condition and fertilizer treatment on flag leaf Zn concentration ($p<0.05$; Table 3). In KHCMU grown in waterlogged soil, the optimum N+Zn plants had 81% higher flag leaf Zn concentration than the high N+Zn and optimum N-Zn plants; whereas in the well-drained soil, both the optimum N+Zn and the high N+Zn plants had higher flag leaf Zn than the optimum N-Zn plants. In CNT1, the flag leaf Zn concentration was highest in high N+Zn plants and lowest in optimum N-Zn plants. By contrast, in well-drained soil the optimum N+Zn plants had the highest flag leaf Zn concentration, while the lowest was in optimum N-Zn plants.

At maturity, the flag leaf Zn concentration was also significantly affected by rice variety, water condition and fertilizer treatment ($p<0.05$; Table 3). In KHCMU, the high N+Zn plants grown in waterlogged soil had 27% and 510% higher flag leaf Zn concentration than the optimum N+Zn and optimum N-Zn plants, respectively. By contrast, in well-drained soil, the flag leaf Zn concentration was highest in the optimum N+Zn plants. In CNT1 in waterlogged soil, the flag leaf of the high N+Zn plants also had the highest Zn concentration, being 358% more than in the optimum N+Zn and optimum N-Zn plants. However, in well-drained soil the flag leaf Zn concentration was similar in the N+Zn and high N+Zn plants, being 122% on average higher than the optimum N-Zn plants.

There was a significant interaction effect between soil condition, fertilizer and variety on N concentration in the flag leaf at booting ($p<0.05$; Table 3). In KHCMU grown in waterlogged soil, applying high N+Zn increased the flag leaf N concentration by 18% above the optimum N+Zn treatment. Furthermore, the flag leaf N concentration was 10% higher in the optimum N+Zn plants than in the optimum N-Zn plants. A similar response was evident in the well-drained soil, where the high N+Zn plants had 14% and 27% higher flag leaf N concentrations than the optimum N+Zn and optimum N-Zn plants, respectively. The flag leaf N concentration in CNT1 in the N+Zn plants in the waterlogged soil was 40% higher than in the other two fertilizer treatments, but the N concentration was 5% lower in the optimum N+Zn than in the optimum N-Zn plants. However, the flag leaf N concentration in plants grown in well-drained soil did not differ between the optimum N+Zn and high N+Zn treatments as both had 13% higher N concentration than in the optimum N-Zn plants.

Variety, soil condition and fertilizer treatment significantly affected flag leaf N concentration at 15 DAF stage ($p<0.05$; Table 3). In KHCMU in waterlogged soil, high N+Zn plants had 44% and 13% higher flag leaf N concentrations, respectively, than the optimum N+Zn and optimum N-Zn plants. Compared to the optimum N plants, there was a 28% higher flag leaf N concentration in the optimum N+Zn plants. In well-drained soil, high N+Zn plants had 105% and 48% higher flag leaf N concentrations than the optimum N+Zn and optimum N-Zn plants, respectively. In CNT1, the optimum N-Zn and optimum N+Zn plants had 5–11% higher flag leaf N

concentrations than in the high N+Zn plants. Furthermore, in well-drained soil, high N+Zn plants had 64% and 28% higher flag leaf N concentration than in the optimum N+Zn and optimum N-Zn plants, respectively.

At grain maturity, the flag leaf N concentration was significantly affected by variety, water condition and fertilizer treatment ($p < 0.05$; Table 3). In KHCMU grown in waterlogged soil, the high N+Zn plants had 23% and 77% higher flag leaf N concentrations than in the optimum N+Zn and optimum N-Zn plants, respectively. Also, the flag leaf N concentration was 44% higher in the optimum N+Zn than in the optimum N-Zn plants. Similarly, in the well-drained soil, the high N+Zn plants had 42% and 70% higher N concentration in the flag leaf than in the optimum N+Zn and optimum N-Zn plants, respectively. A contrasting response was evident between the waterlogged and well-drained CNT1 plants as optimum N+Zn plants had 11% and 20% higher N concentrations than optimum N-Zn and high N+Zn plants, respectively, in waterlogged soil, whereas the high N+Zn plants had 10–38% higher flag leaf N concentrations than the other fertilizer treatments in the well-drained soil.

3.4 Relationship between Flag Leaf and Grain Zn and N Concentrations

Relationships between flag leaf Zn and grain Zn and N concentrations were explored using coefficient of determination analysis (Table 4). Grain Zn concentration increased with a rise in flag leaf Zn concentration in both KHCMU ($R^2 = 0.34$, $p < 0.05$) and CNT1 ($R^2 = 0.56$, $p < 0.01$). Also, there were significant linear relationships between flag leaf Zn and grain N concentrations in KHCMU ($R^2 = 0.29$, $p < 0.05$) and CNT1 ($R^2 = 0.25$, $p < 0.01$). There was a positive linear relationship between flag leaf N concentration and grain Zn and N concentrations in both varieties (Table 4). In KHCMU, flag leaf N concentration was strongly associated with grain N concentration ($R^2 = 0.76$, $p < 0.001$), but there was no relationship in CNT1 ($R^2 = 0.01$ ns, $p < 0.05$). In KHCMU, there was a weak positive linear relationship between flag leaf N concentration and grain Zn concentration ($R^2 = 0.24$, $p < 0.05$), but this was not the case in CNT1 ($R^2 = 0.07$ ns, $p < 0.05$).

3.5 Zn Content in Plant Tissues

The effect of fertilizer treatment and soil condition on Zn content in the shoot and grain differed between rice varieties ($p < 0.05$; Table 5). In KHCMU in waterlogged soil, the shoot Zn content in the optimum N+Zn and high N+Zn plants were 180% and 720%, respectively, higher than in the optimum N-Zn plants at 15 DAF and both were 100% higher than optimum plants at maturity. However, shoot Zn content at booting and grain Zn content at maturity were not affected by fertilizer treatment. On the other hand, Zn partitioning from the whole plant

(shoot and flag leaf) into grain (24%) was similar in optimum N+Zn and optimum N-Zn plants but was lower (16%) in high N+Zn plants. In well-drained soil, applying both optimum N+Zn and high N+Zn increased shoot Zn content in all growth stages. Shoot Zn content in optimum N+Zn and high N+Zn plants was 155% and 88% higher than optimum N-Zn plants at booting stage, 250% and 500% at 15 DAF and 307% and 350% at maturity, respectively. However, grain Zn content was not affected by fertilizer treatment. In addition, Zn partitioning into grain was highest in the optimum N-Zn plants (18%) and significantly lower in the optimum N+Zn and high N+Zn plants (6–7%).

In CNT1, there was a significant effect of the fertilizer treatments on the Zn content of plants grown in waterlogged and in well-drained soils ($p < 0.05$; Table 5). The shoot Zn content was increased by 161% from booting to 15 DAF and remained constant to maturity in waterlogged soil, while in well-drained soil the shoot Zn content decreased by about 10% from booting to 15 DAF. In waterlogged soil, the effect of fertilizer treatment showed that at 15DAF the shoot Zn content in high N+Zn plants was 355% higher than in the optimum N-Zn and optimum N+Zn plants at booting. At maturity, the shoot Zn content was 410% higher in high N+Zn plants than in the optimum N-Zn and optimum N+Zn plants. However, grain Zn content was not affected by fertilizer treatments, while Zn partitioning into grain in optimum N+Zn (20%) and optimum N-Zn (17%) plants was higher than in high N+Zn (11%) plants. In well-drained soil, at booting optimum N+Zn and high N+Zn plants had 27% and 123% higher shoot Zn content than the optimum N-Zn plants, while at 15DAF and at maturity, the shoot Zn contents in the high N+Zn plants were 378% and 118% higher than in the optimum N-Zn and optimum N+Zn plants, respectively. Grain Zn content was not affected by fertilizer treatments, but grain Zn partitioning was slightly affected as the optimum N+Zn plants accumulated more (10%) than the optimum N-Zn and high N+Zn (6–7%) plants.

4 Discussion

Agronomic practices should be able to be optimized for rice grain yield as well as grain nutritional quality. Nutrient management is one of the most effective tools to maintain both rice quantity and quality. Applying Zn fertilizer for enhancing productivity and grain Zn concentration has been well documented in many crops, but only some studies have suggested that combining Zn with N fertilizer can improve crop nutrition and grain yield (Pascoalino et al. 2018; Gonzalez et al. 2019). In rice production in particular, there are limitations that affect the availability of nutrients in soil due to the different water status in upland and paddy rice culture. As fertilization practices for Thai rice have not been fully documented, the combination of N and Zn fertilizer under cultivation

in well-drained and waterlogged soils, instead of individually applying Zn fertilizer, was explored with two rice varieties in this study.

Grain yield of the two rice varieties responded differently to water management. Grain yield of the wetland variety (naturally grown in waterlogged soil) was strongly reduced in the well-drained treatment due to a reduction in the number of tillers and panicles. Previous studies have shown that planting rice in dry-land soil often resulted in reduced grain yield especially in wetland rice (Datta et al. 2017). The reduction in grain yield in the wetland variety in the well-drained treatment may have been due to limitations in the architecture of the root system. Poor root development can limit both nutrient and water uptake (Kato and Katsura 2014). Soil fertility can constraint dry-land rice production as a sharp decrease in potassium accumulation was reported in rice plants under limited irrigation compared with continuous flooding (Alhaj Hamoud et al. 2019). However, the yield of the upland variety (naturally grown in well-drained soil) was stable across the two water treatments.

Applying Zn fertilizer with optimum and high N significantly enhanced grain yield of upland rice over that of the N treatment without Zn. The increase was highest in the optimum N+Zn treatment. However, grain yield of wetland rice was only increased in the high N+Zn treatment. Moreover, there were different responses in the yield components to the fertilizer treatments in the two varieties. Guo et al. (2016) reported that applying 50 kg of $\text{ZnSO}_4 \text{ ha}^{-1}$ increased grain yield of wetland rice and the yield increase was more obvious in a borderline Zn deficient soil ($0.6 \text{ mg Zn kg}^{-1}$) than in a low Zn soil ($0.8 \text{ mg Zn kg}^{-1}$). The current results showed that applying 50 kg of ZnSO_4 into a soil with Zn of 0.73 mg kg^{-1} increased grain weight of upland rice about 20%, but this response was not found in wetland rice. Also, the number of spikelets panicle⁻¹ of submerged rice grown in an alkaline calcareous soil under waterlogged condition increased with Zn fertilizer at 14 kg Zn ha^{-1} compared with no Zn fertilizer (Ali et al. 2014). However, yield components (number of tillers plant⁻¹, number of grains panicle⁻¹, etc.) were not increased by applying 120 kg N ha^{-1} and 5 kg Zn ha^{-1} to hybrid aromatic rice compared to applying N alone (Shahane et al. 2018). It seems that that the improvement in grain yield with Zn application differs with rice variety based on the response in grain weight or the number of spikelets panicle⁻¹.

Applying Zn fertilizer enhanced the grain Zn concentration in both varieties, however, this depended on the soil condition. The well-drained condition improved Zn availability in soil and increased grain Zn concentration in both upland and wetland varieties. Compared to the N alone treatment, applying optimum N+Zn treatment increased about 58% grain Zn concentration of wetland rice in well-drained soil, but was not increased in waterlogged soil. In a previous report, the increase in grain Zn concentration in polished rice with Zn fertilizer was greater under alternate wetting than with continuous flooding (Wang et al. 2014). This is because oxygen

supply enhances Zn^{2+} uptake (Chatzistathis 2014). Plant-available Zn in waterlogged soil may be limited due to low redox potentials resulting in precipitation of Zn^{2+} as insoluble compounds such as zinc hydroxide and zinc sulfide (Alloway 2008). In calcareous soils, wetland rice can struggle to obtain adequate Zn, as shown by Gao et al. (2006), due to the unavailability of Zn at high pH. Furthermore, a significant increase in grain Zn concentration in wetland rice grown in waterlogged soil was found in high N+Zn treatment, but it was not increased by the optimum N+Zn treatment. Even, the role of N on increasing grain Zn concentration is not well understood. The effect within the plant, N fertilizer may alter the rhizosphere pH, changing Zn availability in waterlogged soil (Lindsay 1972). Lui et al. (2018) reported applying N at the higher rate could decrease the soil pH and result in enhance the transformation of exchangeable, loose organic and carbonate-bound Zn from the other fractions.

Grain N concentration was enhanced by N combined with Zn fertilizer application, which is in accordance with a previous report that showed that grain N concentration was affected by the Zn application rate (Guo et al. 2015). Similarly, the application of N combined with a high Zn rate increased the protein content of wheat (Gonzalez et al. 2019). However, further work is necessary to understand the dynamics of N supply as grain N concentration did not further increase with the higher N rate. The positive correlation between grain N and Zn in the two rice cultivars used indicates a link between these elements and their supply during grain filling which requires further elucidation. Jaksomsak et al. (2017) also reported a positive correlation between Zn and N concentrations in brown rice. Within the grain there is a strong association between N and Zn due to the role of storage proteins in binding Zn (Dionisio et al. 2018; Uddin et al. 2014).

5 Conclusions

Applying Zn with optimum N fertilizer enhanced grain yield and grain Zn concentration in the upland variety especially in the waterlogged soil. However, the water conditions did not mainly affect rice grain yield. The increased grain yield of upland rice was because of increasing grain weight. Grain yield of the wetland variety was strongly reduced in the well-drained treatment due to a reduction in the number of tillers and panicles. The highest grain yield and grain Zn concentration were increased by applying Zn with high N fertilizer, especially in waterlogged soil. There is potential to improve grain yield and grain nutritional value of Thai rice varieties through appropriate water and nutrient management. Our results should be extended to a wider range of N and Zn application rates and rice varieties. Establishing appropriate soil water conditions for Thai rice varieties should enhance returns to producers.

Acknowledgment

We are grateful to the Thailand and Thailand Research Fund (RSA6080024) and Chiang Mai University for financial support.

References

- Alhaj Hamoud Y, Wang Z, Guo X, Shaghaleh H, Sheteiwy M, Chen S, Qiu R, Elbashier MAM (2019) Effect of irrigation regimes and soil texture on the potassium utilization efficiency of rice. *Agronomy* 9:2–17
- Ali H, Hasnain Z, Shahzad A, Sarwar N, Qureshi MK, Khaliq S, Qayyum M (2014) Nitrogen and zinc interaction improves yield and quality of submerged basmati rice (*Oryza sativa* L.). *Not Bot Hort Agrobot Cluj* 42:372–379
- Alloway BJ (2008) Zinc in Soils and Crop Nutrition, 2nd edn. International Zinc Association and International Fertilizer Industry Association, , Brussels, Belgium and Paris, France
- Alloway BJ (2009) Soil factors associated with zinc deficiency in crops and humans. *Environ Geochem Health* 31:537–548
- Beebout S, Goloran J, Rubianes F, Jacob J, Castillo OB (2016) Zn uptake behavior of rice genotypes and its implication on grain Zn biofortification. *Sci Rep* 6:38301. <https://doi.org/10.1038/srep38301>
- Bremner JM (1960) Determination of nitrogen in soil by the Kjeldahl method. *J Agr Sci* 55:11–33
- Broadley M, Brown P, Cakmak I, Rengel Z, Zhao F (2012) Function of nutrients: Micronutrients. In: Marschner P (ed) *Marschner's mineral nutrition of higher plants*, 3rd edn. San Diego, Academic Press, pp 191–248
- Cakmak I, Kutman UB (2018) Agronomic biofortification of cereals with zinc: A review. *Eur J Soil Sci* 69:172–180
- Chatzistathis T (2014) Zinc deficiency. *Micronutrient Deficiency in Soils and Plants*. Bentham Science Publishers Ltd, pp 63–87
- Datta A, Ullah H, Ferdous Z (2017) Water Management in Rice. In: Chauhan BS, Jabran K, Mahajan G (ed) *Rice Production Worldwide*. Cham: Springer International Publishing, pp 255–77
- Dionisio G, Uddin MN, Vincze E (2018) Enrichment and identification of the most abundant zinc binding proteins in developing barley grains by zinc-imac capture and nano LC-MS/MS. *Proteomes* 6:3. <https://doi:10.3390/proteomes6010003>

344 Erenoglu EB, Kutman UB, Ceylan Y, Yildiz B, Cakmak I (2010) Improved nitrogen nutrition enhances root
 345 uptake, root-to-shoot translocation and remobilization of zinc (^{65}Zn) in wheat. *New Phytol* 189:438–448
 346 FAO and WHO (2001) Zinc human vitamin and mineral requirements. Food and Agriculture Organization of the
 347 United Nations and World Health Organization. Food and Nutrition Division, FAO, Rome
 348 Gao X, Zou C, Fan X, Zhang F, Hoffland E (2006) From flooded to aerobic conditions in rice cultivation:
 349 consequences for zinc uptake. *Plant Soil* 280:41–47
 350 Gonzalez D, Almendros P, Obrador A, Alvarez JM (2019) Zinc application in conjunction with urea as a
 351 fertilization strategy for improving both nitrogen use efficiency and the zinc biofortification of barley. *J*
 352 *Agric Food Chem* 99:4445–4451
 353 Guo JX, Feng XM, Hu XY, Tian GL, Ling N, Wang JH, Shen QR, Guo SW (2015) Effects of soil zinc availability,
 354 nitrogen fertilizer rate and zinc fertilizer application method on zinc biofortification of rice. *J Agric Sci*
 355 154:584–597
 356 Hambidge M (2000) Human zinc deficiency. *J Nutr* 130:1344–1349
 357 Impa SM, Morete MJ, Ismail AM, Schulin R, Johnson-Beebout SE (2013) Zn uptake, translocation and grain Zn
 358 loading in rice (*Oryza sativa* L.) genotypes selected for Zn deficiency tolerance and high grain Zn. *J Exp*
 359 *Bot* 64:2739–2751
 360 Jaksomsak P, Rerkasem B, Prom-u-thai C (2017) Responses of grain zinc and nitrogen concentration to nitrogen
 361 fertilizer application in rice varieties with high-yielding low-grain zinc and low-yielding high grain zinc
 362 concentration. *Plant and Soil* 411:101–109
 363 Kato Y, Katsura K (2014) Rice adaptation to aerobic soils: physiological considerations and implications for
 364 agronomy. *J Plant Prod Sci* 17:1–12
 365 Lindsay WL (1972) Inorganic phase equilibria of micronutrients in soils. In: Mortvedt JJ, Giordano PM, Lindsay
 366 WL (ed) *Micronutrients in Agriculture*, pp 41–57
 367 Liu H, Zhao P, Qin S, Nie Z (2018) Chemical fractions and availability of zinc in winter wheat soil in response
 368 to nitrogen and zinc combinations. *Front Plant Sci* 9:1489. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01489>
 369 Marschner P, Rengel Z (2012) Nutrient Availability in Soils. In: Marschner P (ed) *Marschner's mineral nutrition*
 370 *of higher plants*, 3rd edn. San Diego, Academic Press, pp 315–330
 371 Pascoalino JAL, Thompson JA, Wright G, Franco FA, Scheeren PL, Pauletti V, Moraes MF, White PJ (2018)
 372 Grain zinc concentrations differ among Brazilian wheat genotypes and respond to zinc and nitrogen
 373 supply. *PLoS ONE* 13:e0199464. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199464>

374 Prasad AS (2014) Zinc: An antioxidant and anti-inflammatory agent: Role of zinc in degenerative disorders of
 375 aging. *J Trace Elem Med Biol* 28:364–371

376 Rice Research Institute. Rice Knowledge Bank. Rice Department, Ministry of Agriculture and Cooperatives,
 377 Thailand. <http://www.ricethailand.go.th/Rkb/management/index.php-file=content.php&id=7.htm>.
 378 Accessed 25 November 2019

379 Saha S, Chakraborty M, Padhan D, Saha B, Murmu S, Batabyal K, Seth A, Hazra GC, Mandal B, Bell RW (2017)
 380 Agronomic biofortification of zinc in rice: Influence of cultivars and zinc application methods on grain
 381 yield and zinc bioavailability. *Field Crops Res* 210:52–60

382 Shahane AA, Shivay YS, Kumar D, Prasanna R (2018) Interaction effect of nitrogen, phosphorus, and zinc
 383 fertilization on growth, yield, and nutrient contents of aromatic rice varieties. *J Plant Nutr* 41:2344–2355

384 Uddin MN, Kaczmarczyk A, Vincze E (2014) Effects of Zn fertilization on hordein transcripts at early
 385 developmental stage of barley grain and correlation with increased Zn concentration in the mature grain.
 386 *PLoS One* 9:e108546. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108546>

387 Wade LJ, Amarante ST, Olea A, Harnpichitvitaya D, Naklang K, Wihardjaka A, Sengar SS, Mazid MA, Singh
 388 G, McLaren CG (1999) Nutrient requirements in rain-fed lowland rice. *Field Crops Res* 64:91–107

389 Wang YY, Wei YY, Dong LX, Lu LL, Feng Y, Zhang J, Pan FS, Yang XE (2014) Improved yield and Zn
 390 accumulation for rice grain by Zn fertilization and optimized water management. *J Zhejiang Univ Sci B*
 391 15: 365–374

Table 1 Number of tillers and panicles plant⁻¹ and 1,000 grain weight of upland (KHCMU) and wetland (CNT1) rice varieties grown under different water condition and fertilizer treatment

Water	Fertilizer	Number of tillers plant ⁻¹		Number of panicles plant ⁻¹		1,000 grain weight (g)	
		KH	CNT1	KH	CNT1	KH	CNT1
		CMU		CMU		CMU	
Waterlogged		6.9 ^D	31.8 ^A	6.7 ^D	29.6 ^A	31.3 ^B	29.8 ^C
Well-drained		9.4 ^C	18.7 ^B	9.2 ^C	15.1 ^B	34.1 ^A	28.9 ^C
	Optimum N-Zn	7.7 ^c	24.2 ^b	7.5 ^c	21.4 ^b	28.8 ^b	29.2 ^b
	Optimum N+Zn	7.6 ^c	24.6 ^b	7.5 ^c	21.3 ^b	34.0 ^a	28.7 ^b
	High N+Zn	9.2 ^c	27.1 ^a	8.8 ^c	24.4 ^a	35.2 ^a	30.3 ^b
LSD _{0.05} (Variety × Water)		1.8		1.9		1.4	
LSD _{0.05} (Variety × Fertilizer)		2.3		2.3		1.7	

Different uppercase letters indicate least significant differences among variety and water condition in each parameter ($P < 0.05$). Different lowercase letters indicate least significant differences among variety and fertilizer treatment in each parameter ($P < 0.05$)

Table 2 Relationship between grain yield and yield components (number of tillers and panicles plant⁻¹ and 1,000 grain weight) of upland rice (KHCMU) and wetland rice (CNT1) grown under different water and fertilizer managements ($n = 18$)

	Number of tillers plant ⁻¹	Number of panicles plant ⁻¹	1,000 grain weight (g)
KHCMU	$r = 0.076\text{ns}$	$r = 0.07\text{ns}$	$r = 0.64^{**}$
CNT1	$r = 0.94^{***}$	$r = 0.93^{***}$	$r = 0.44\text{ns}$

Table 3 Zn and N concentrations in the flag leaf of upland (KHCMU) and wetland (CNT1) rice varieties grown under the differences of water condition and fertilizer treatment at booting, 15 days after flowering (15 DAF) and maturity

		KHCMU		CNT1		LSD _{0.05}
Growth stage	Fertilizer	Water-logged	Well–drained	Water-logged	Well–drained	(Variety × Water × Fertilizer)
Zn concentration (mg kg ^{−1})						
Booting	Optimum N-Zn	18.7 d	18.4 de	16.6 de	26.5 c	5.3
	Optimum N+Zn	25.0 c	35.9 a	13.3 e	32.4 ab	
	High N+Zn	28.2 bc	34.0 a	35.7 a	35.2 a	
15 DAF	Optimum N-Zn	13.1 e	15.1 e	13.4 e	20.8 ed	3.2
	Optimum N+Zn	23.9 c	33.8 a	19.4 d	36.3 a	
	High N+Zn	13.3 e	23.2 c	35.7 a	30.3 b	
Maturity	Optimum N-Zn	6.1 e	16.3 d	16.8 d	15.6 d	8.4
	Optimum N+Zn	29.3 c	45.5 b	17.3 d	31.8 c	
	High N+Zn	37.2 be	20.6 d	79.3 a	37.4 bc	
N concentration (%)						
Booting	Optimum N-Zn	3.0 d	2.6 g	3.2 c	2.4 g	0.14
	Optimum N+Zn	3.3 c	2.9 de	3.0 d	2.7 f	
	High N+Zn	3.9 b	3.3 c	4.2 a	2.8 ef	
15 DAF	Optimum N-Zn	2.5 e	2.9 d	2.0 h	1.8 j	0.10
	Optimum N+Zn	3.2 c	2.1 gh	2.1 g	1.4 k	
	High N+Zn	3.6 b	4.3 a	1.9 i	2.3 f	
Maturity	Optimum N-Zn	0.9 g	1.0 f	0.9 g	1.0 f	0.04
	Optimum N+Zn	1.3 c	1.2 d	1.0 f	0.8 h	
	High N+Zn	1.6 b	1.7 a	0.8 h	1.1 e	

Different letters indicate least significant differences among variety, water condition and fertilizer treatment in each growth stage (P<0.05)

Table 4 Relationship between matured flag leaf Zn concentration and Zn and N concentrations in the grain, and between matured flag leaf N concentration and Zn and N concentrations in the grain of upland (KHCMU) and wetland (CNT1) rice varieties grown under difference of water condition and fertilizer treatment ($n = 18$)

Variety		Grain Zn (mg kg ⁻¹)	Grain N (%)
Flag leaf Zn (mg kg ⁻¹)	KHCMU	$y = 2.0213x - 28.618$ $R^2 = 0.34^*$	$y = 26.408x - 21.727$ $R^2 = 0.29^*$
	CNT1	$y = 0.2035x + 12.094$ $R^2 = 0.56^{**}$	$y = 0.0048x + 1.2845$ $R^2 = 0.25^*$
	KHCMU	$y = 5.5354x + 19.416$ $R^2 = 0.24^*$	$y = 1.1131x - 0.7276$ $R^2 = 0.76^{***}$
	CNT1	$y = -13.398x + 31.392$ $R^2 = 0.07_{ns}$	$y = 0.1739x + 1.2782$ $R^2 = 0.01_{ns}$

Values with significance of linear regression: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; Ns not significant at $P < 0.05$

Table 5 Partitioning of Zn in the shoots and grains of upland (KHCMU) and wetland (CNT1) rice varieties grown under waterlogged and well-drained soils with different fertilizer treatments at booting, 15 days after flowering (15 DAF) and maturity

		Fertilizer (F)			LSD _{0.05}
Plant tissues (P)		Optimum	Optimum	High	(P × F)
		N-Zn	N+Zn	N+Zn	
KHCMU					
Waterlogged	Shoot at booting	0.4 c	0.7 c	0.6 c	0.3
	Shoot at 15 DAF	0.5 c	1.4 b	4.1 a	
	Shoot at maturity	0.7 c	1.4 b	1.8 b	
	Grain	0.2 c	0.4 c	0.3 c	
	Grain zinc partitioning (%)	24 A	24 A	16 B	3
Well-drained	Shoot at booting	0.9 fg	2.3 d	1.7 e	0.3
	Shoot at 15 DAF	1.2 ef	4.2 c	7.2 a	
	Shoot at maturity	1.4 ef	5.7 b	6.3 b	
	Grain	0.3 h	0.4 gh	0.4 gh	
	Grain zinc partitioning (%)	18 A	7 B	6 B	2
CNT1					
Waterlogged	Shoot at booting	0.9 ef	1.4 e	4.1 b	0.5
	Shoot at 15 DAF	2.9 c	1.9 d	11.8 a	
	Shoot at maturity	1.0 ef	1.2 e	4.1 b	
	Grain	0.2 g	0.3 g	0.5 fg	
	Grain zinc partitioning (%)	17 A	20 A	11 B	4
Well-drained	Shoot at booting	2.6 ef	3.3 d	6.5 b	0.5
	Shoot at 15 DAF	1.9 g	2.1 fg	7.2 a	
	Shoot at maturity	2.7 e	2.8 de	5.9 c	
	Grain	0.2 h	0.3 h	0.4 h	
	Grain zinc partitioning (%)	7 B	10 A	7 B	1

Different lowercase letters indicate least significant differences among plant part and fertilizer management in each row (P<0.05). Different uppercase letters indicate least significant differences among three fertilizer

managements in each row ($P < 0.05$). Grain Zn distribution indicates distribution of Zn content (%) to total zinc in matured shoot

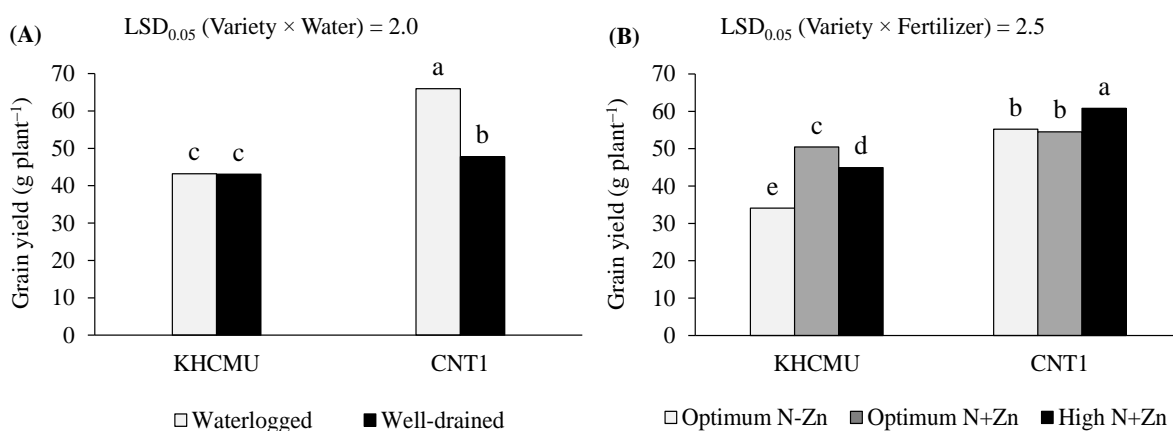


Fig. 1 Grain yield of upland (KHCMU) and wetland (CNT1) rice varieties affected by water condition (A) and fertilizer treatment (B)

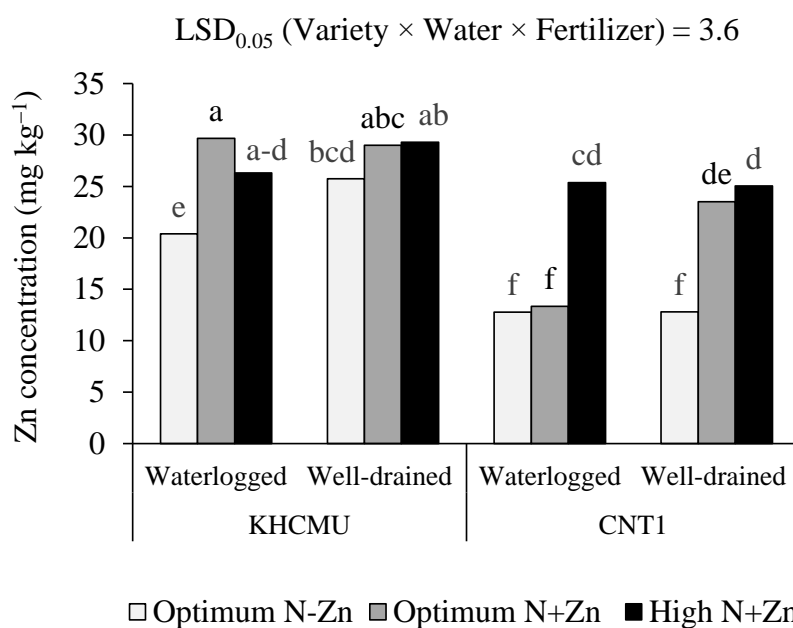


Fig. 2 Grain Zn concentration in the grain of upland (KHCMU) and wetland (CNT1) rice varieties grown under different water and fertilizer treatments

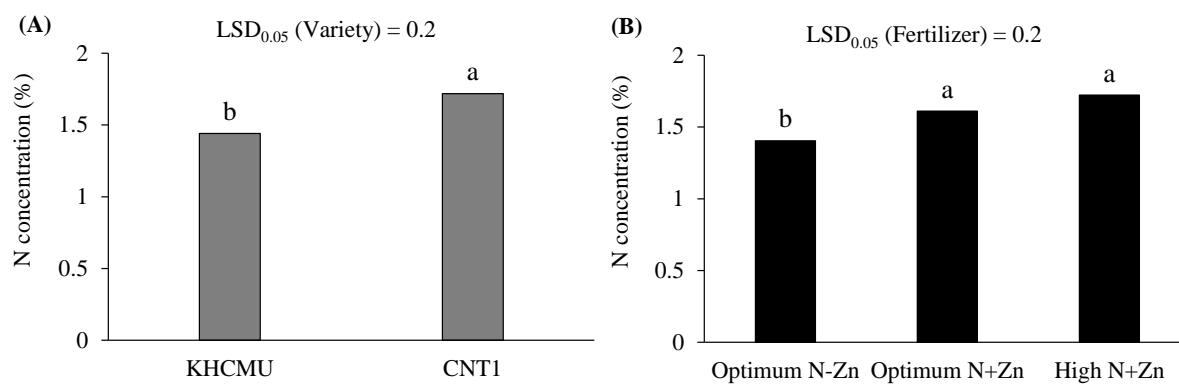


Fig. 3 The average grain N concentration of upland (KHCMU) and wetland (CNT1) rice varieties as affected by rice genotype (A) and fertilizer treatment (B)

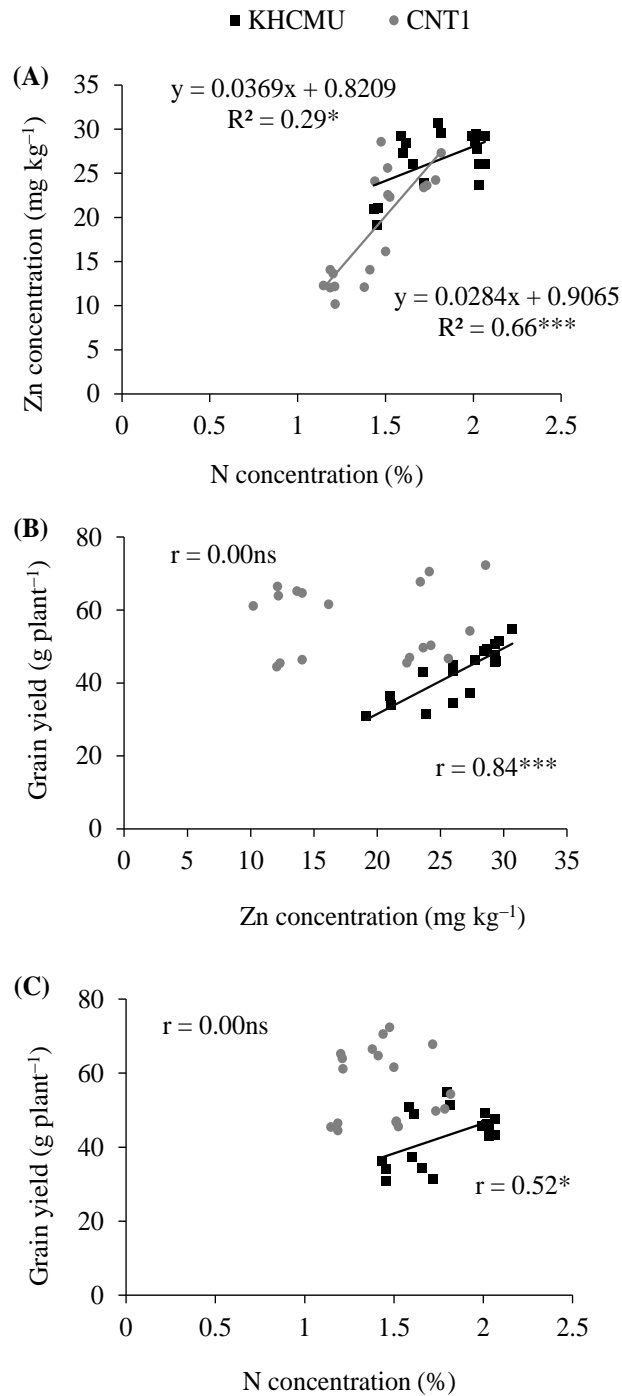


Figure 4: Relationship between the concentrations of Zn and N (A) in the grain of upland (KHCMU) and wetland (CNT1) rice varieties; and relationship between grain yield and concentrations of Zn (B) and N (C) in the grain ($n=18$).

Responses of Grain Yield and Nutrient Accumulation to Water and Foliar Fertilizer Management in Upland and Wetland Rice Varieties

¹Natdanai Juntakad, ²Sittichai Lordkaew,
¹Sansanee Jamjod and ^{1,3}Chanakan Prom-u-thai

¹Agronomy Division, Department of Plant and Soil Sciences, Faculty of Agriculture,
Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

²Center for Agricultural Resource System Research, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University,
Chiang Mai 50200, Thailand

³Lanna Rice Research Center, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

Article history

Received: 23-03-2018

Revised: 15-05-2018

Accepted: 24-05-2018

Corresponding Author:

Chanakan Prom-u-thai

Lanna Rice Research Center,
Chiang Mai University, Chiang
Mai 50200, Thailand

Email: chanakan15@hotmail.com
chanakan.p@cmu.ac.th

Abstract: This study evaluated the effects of water and fertilizer managements on grain yield and nutrient accumulation in upland and wetland rice varieties. The two rice varieties representing upland (KH CMU) and wetland (CNT1) ecotypes were grown in different water conditions and fertilizer managements. The interaction between variety and water condition had significantly affected on grain yield and straw dry weight. The water condition and fertilizer management were also affected on grain nutrient concentrations differently between the two varieties. The difference in responses to grain nutrients between the two rice varieties representing their original ecotypes of wetland and lowland is the key factor with respect to the proper management of water and fertilizers in order to maximize in both grain yield and nutrition. This knowledge is useful for the proper management of water and fertilizers for improving grain yield and nutrient accumulation. However, increasing the number of rice varieties in each upland and wetland ecotypes is needed to confirm the responses to water and fertilizer management in the future study.

Keywords: Rice Ecotype, Upland Rice, Wetland Rice, Foliar Fertilization, Aerobic Condition

Introduction

Nitrogen (N), Phosphorus (P) and potassium (K) are the common macronutrient fertilizers used by farmers to improve rice crop production. In Bangladesh, applying of 87 kg N, 20 kg P and 25 kg K ha⁻¹ in rice crops increased grain yield from 3.6 t ha⁻¹ with no fertilizer application to 7.5 t ha⁻¹ due to improving of plant height, number of tillers and panicles per hill and grains per panicle (Islam *et al.*, 2011). This has also been observed in China where N, P and K fertilizer application was found to increase grain yield by 10.1, 5.0 and 8.6%, respectively, compared with no fertilizer application (Xu *et al.*, 2016). Direct broadcasting of fertilizers in the crop soil is the practice followed by farmers which has effect on the transport and movement of nutrients from the soil solution into plants and effectively improved crop yield (Moraghan and

Mascagni, 1991; Comerford, 2005). On the other hand, foliar fertilizer application is an alternative fertilizer application in rice by spraying the fertilizer directly onto the leaf, especially in the case of micronutrients in which the nutrients are diffused through the cuticle, then transported through the cell wall by passive transport and finally move through the plasma membrane by active transport to enter the plant cell (Fageria *et al.*, 2009). This technique has been reported as an efficient method as it allows the absorption to occur rapidly into the inner cell layers of the leaf and other reproductive organs (Ahmad and Jabeen, 2005; Ganapathy *et al.*, 2008), which consequently results in an increase in both the quality and quantity of production, reduce in the loss of nutrients (Tejada and Gonzalez, 2004) and rapidly bringing a solution to the problem of nutrient deficiency caused by soil fertilizer application due to highly acidic or alkaline condition

(Xiang *et al.*, 2009). Recently, foliar fertilizer application was found to be suitable not only in the case of micronutrients but also macronutrients as it has been reported that foliar application of N, P and K after the flowering stage improved 10% grain yield of rice due to improvement in the grain-filling percentage and the grain weight when compared with no foliar fertilizer treatments (Cruz *et al.*, 2012). In addition, foliar application of N fertilizer in rice has been reported to have resulted in 4% increase in the grain yield, 5% increase in the grain starch concentration and 22% increase in the grain protein concentration as it improved the photosynthesis rate (Tejada and Gonzalez, 2004). Thus, foliar fertilizer application may not be able to completely replace soil fertilization, but it is a way to promote the efficiency of nutrient absorption into plant cells, which would certainly have an effect on grain yield and quality in rice crops. However, most reports have been focusing only on foliar fertilizer application in the wetland rice crops grown under waterlogged conditions, while there are no reports available on the responses of grain yield and quality to foliar fertilizer application as compared between wetland and upland rice varieties which are originally different in their ecotype systems. Upland rice is grown in the aerobic conditions with naturally well drained soils and low availability of nutrients, while wetland rice is grown in flooded conditions where oxygen (O₂) becomes the limiting factor for root functions such as uptake of ions (Yoshida, 1981; Marschner, 2012). In this study, the KH CMU and CNT1 were selected as representatives of upland and wetland rice varieties, respectively. The responses of grain yield and nutrient accumulation between these different rice ecotype varieties to water conditions and fertilizer managements were expected differently. The results of this study would be useful for proper management of fertilizers in rice fields to increase productivity, improve grain quality and reduce nutrient deficiency in upland and wetland rice varieties grown in different conditions.

Materials and methods

The pot experiment was conducted during the wet season (June-December) in 2017 at Chiang Mai University, Thailand, during the period from July 2016 to September 2017. The experiment was arranged in factorial combination based on a randomized complete block design with three independent replications.

Plant culture

Two rice varieties (CNT1, wetland rice and KH CMU, upland rice) were used in this study. The rice plants were grown in two different water conditions (flooded and aerobic) and four fertilizer managements (Table 1). Seeds of both the varieties were germinated

in plastic glasses for 7 days. The seedlings were then transplanted into a cement pot with 0.8 m in diameter and 0.4 m in height, with approximately 0.50 m² of pot surface area. A single seedling was planted with 0.2×0.2 m spacing between hills. In the waterlogged condition, water was maintained about 10 cm above soil surface throughout the experiment, while in the aerobic conditions was manually provided water at about field capacity twice daily. The fertilizers nitrogen (urea), phosphorus (sodium dihydrogen orthophosphate) and potassium (potassium chloride) were applied directly into the soil in all the treatments at three stages (tillering, booting and flowering), while foliar fertilization of N, P and K in similar form as above was carried out in four stages (tillering, booting, heading and flowering). The details of fertilizer application are given in a (Table 1). The solution was prepared by dissolving powders of the fertilizer in Triple Distilled Deionized (TDI) water. The prepared solution was poured into a sprayer. The foliar application was carried out by evenly spraying the solution until all of the plants were wet and the solution just began to drip from the leaves, in the morning around 10 o'clock. The rates of application were 280, 640 and 220 ml m⁻² for N, P and K, respectively. The soil used in this study was sandy loam, having pH 5.8, 1.38% organic matter, 0.07% total nitrogen, 35.06 mg kg⁻¹ available phosphorous and 39.87 mg kg⁻¹ exchangeable potassium.

Sample Collection and Preparation

The samples were harvested at maturity. Thereafter, the grain yield, straw yield and yield components were evaluated. The subsample of 50 g unhusked rice grains was dehusked manually to avoid micronutrient contamination to yield brown rice before it was subjected to oven drying at 70°C for 72 h.

Nutrient Analysis

Samples of brown rice grains were analyzed for N concentration by Kjeldahl method (Bremner and Mulvaney, 1982). P concentration by vanado-molybdate method (Watanabe *et al.*, 1998) and K, Fe and Zn concentrations by using an atomic absorption spectrophotometer (A A) (Delhaiz *et al.*, 1984) after the dry ashing procedure.

Statistical Analysis

Analysis of significant difference was conducted by analysis of variance (ANOVA), the different means of the data at p<0.05 were compared by the Least Significant Difference (LSD). The correlation coefficients was examined by Pearson's correlation analysis.

Table 1: Description of growing condition with different water conditions and fertilizer managements in two rice varieties

Water condition	Fertilizer management	Symbol
Flooded	Local treatment	Control
	Nitrogen, phosphorus and potassium fertilizers were directly applied into soil at 6.8, 15.8 and 5.2 g pot ⁻¹ , respectively.	
	Local treatment + Foliar 0.5% nitrogen	Foliar N
	Local treatment + Foliar 0.5% phosphorus	Foliar P
	Local treatment + Foliar 0.5% potassium	Foliar K
Aerobic	Local treatment	Control
	Nitrogen, phosphorus and potassium fertilizers were directly applied into soil at 6.8, 15.8 and 5.2 g pot ⁻¹ , respectively.	
	Local treatment + Foliar 0.5% nitrogen	Foliar N
	Local treatment + Foliar 0.5% phosphorus	Foliar P
	Local treatment + Foliar 0.5% potassium	Foliar K

Results

Grain Yield and Straw Dry Weight

There was a significant interaction effect between rice variety and water condition on grain yield and straw dry weight ($p < 0.05$) (Table 2). The variety CNT1 had an average grain yield at 19.5 g plant⁻¹ without the effect from water condition. The similar grain yield was found in KH CMU grown in the aerobic condition, but about 32% grain yield was decreased when grown in the flooded condition. The straw dry weight of CNT1 was dominantly higher than in KH CMU which was slightly decreased from the aerobic to flooded condition in CNT1, while almost half was decreased in KH CMU. However, no effect of fertilizer management was observed on both grain yield and straw dry weight.

Grain Nutrient Accumulation

The grain N, P and K concentrations were affected differently by rice variety, water condition and fertilizer management. The interaction effect between rice variety and fertilizer management and between water condition and fertilizer management was found on grain N concentration ($p < 0.05$) (Fig. 1 A, B). In KH CMU, foliar N did not effect on grain N, but it improved 13% of grain N concentration from the control treatment in CNT1. On the other hand, foliar N in the aerobic condition was found to have 12% higher grain N than the control treatment, while the effect was not found in the flooded condition. The variety KH CMU was found to have higher both grain P and K concentrations than in CNT1 (Fig. 1C, D). In KH CMU, both treatments of with and without foliar P in the flooded condition had grain P concentrations higher than those in the aerobic condition, while water condition and fertilizer management had no effect on grain P in CNT1 (Fig. 1C).

Foliar N treatment was carried out to analyze grain Fe and Zn concentration in comparison with the control treatment. Grain Fe was significantly affected by the interaction between variety and fertilizer management and between water condition and fertilizer management

($p < 0.05$) (Fig. 2A, B). The concentration of Fe in KH CMU was higher than in CNT1 and it was not affected by foliar N, while foliar N increased 14% of grain Fe from the control treatment in CNT1. On the other hand, foliar N in the aerobic condition resulted in the highest grain Fe, while the lowest was found when foliar N in the flooded condition. The concentration of Zn had affected by the interaction between the three factors. In KH CMU, grain Zn was not affected by water condition and fertilizer management, but foliar N in the aerobic condition had about 20% grain Zn higher than the other treatments 164 in CNT1 (Fig. 2B).

Grain N content was significantly affected by rice variety and fertilizer management, while rice variety dominantly affected on grain content of P and K ($p < 0.05$) (Table 3). CNT1 had about 21% higher grain N content than in KH CMU, while around the similar percentage of grain N content was increased from the flooded to aerobic condition. CNT1 had about 19% grain P content higher than KH CMU, but the opposite result was observed in grain K content. Grain Fe content had significantly affected by both water condition and fertilizer management, while grain Zn content had affected by fertilizer management ($p < 0.05$) (Table 4). The higher grain Fe content was found when rice was grown in the aerobic condition compared with flooded condition and foliar N had higher grain Fe and Zn content than the control treatment.

Correlation Between Grain Yield and Nutrient Concentration

The correlation analysis between the grain yield and the grain nutrient concentration was different between the two rice varieties (Table 5). In KH CMU, the grain yield was significantly negative correlated with the grain N concentration ($r = -0.62$, $p < 0.05$), P concentration ($r = -0.88$, $p < 0.05$) and Zn concentration ($r = -0.77$, $p < 0.05$) and positively correlated with the grain Fe concentration ($r = 0.93$, $p < 0.05$). In CNT1, the positive correlation between grain yield and grain P concentration was also found ($r = 0.72$, $p < 0.05$).

Table 2: Grain yield and straw dry weight of two rice varieties grown under different water conditions and fertilizer managements

Variety	Water condition	Grain yield (g plant ⁻¹)	Straw dry weight (g plant ⁻¹)
CNT1	Flooded	19.4 a	30.6 b
	Aerobic	19.7 a	34.5 a
KH CMU	Flooded	11.8 b	12.8 d
	Aerobic	17.4 a	21.2 c
F-test			
Variety (V)		**	**
Water condition (W)		**	**
Fertilizer management (F)		ns	ns
V x W		*	*
V x F		ns	ns
W x F		ns	ns
V x W x F		ns	ns

Note: “**” and “***” denote “significant difference at p<0.05 and p<0.01, respectively,” and “ns” indicates “no significant difference.” Different lowercase letter indicate significant difference within each column at p<0.05

Table 3: Grain N, P and K content in brown rice of two varieties grown under different water and fertilizer managements

Variety	Water condition	N (mg plant ⁻¹)	P (mg plant ⁻¹)	K (mg plant ⁻¹)
CNT1		344.9 A	80.5 A	42.4 B
KH CMU		271.7 B	65.1 B	54.0 A
	Flooded	271.5 b		
	Aerobic	345.1 a		
F-test				
Varieties (V)		**	*	*
Water condition (W)		ns	ns	ns
Fertilizer management (F)		*	ns	ns
VxW		ns	ns	ns
VxF		ns	ns	ns
WxF		ns	ns	ns
VxWxF		ns	ns	ns

Note: “**” and “***” denote “significant difference at p<0.05 and p<0.01, respectively,” and “ns” indicates “no significant difference.” Different lowercase letter indicate significant difference within each column at p<0.05

Table 4: Grain Fe and Zn content in brown rice of two varieties grown under different water and fertilizer managements

Water condition	Fertilizer management	Fe (mg plant ⁻¹)	Zn (mg plant ⁻¹)
Flooded		0.35 B	-
Aerobic		0.48 A	-
	Control	0.37 b	0.64 b
	Foliar N	0.46 a	0.78 a
F-test (p<0.05)			
	Varieties (V)	ns	ns
	Water condition (W)	**	ns
	Fertilizer management (F)	*	*
	VxW	ns	ns
	VxF	ns	ns
	WxF	ns	ns
	VxWxF	ns	ns

Note: “**” and “***” denote “significant difference at p<0.05 and p<0.01, respectively,” and “ns” indicates “no significant difference.”

Table 5: Correlation analysis of grain yield (g pot⁻¹) and concentration of N, P, K, Fe and Zn in grains of two rice varieties grown under different water and fertilizer managements

Variety	N (%)	P (%)	K (%)	Fe (mg kg ⁻¹)	Zn (mg kg ⁻¹)
CNT1	0.39ns	0.72**	-0.04ns	-0.34ns	-0.31ns
KH CMU	-0.62*	-0.88**	-0.19ns	0.93**	-0.77**

Note: “**” and “***” denote “significant difference at p<0.05 and p<0.01, respectively,” and “ns” indicates “no significant difference.” Different lowercase letter indicate significant difference within each column at p<0.05.

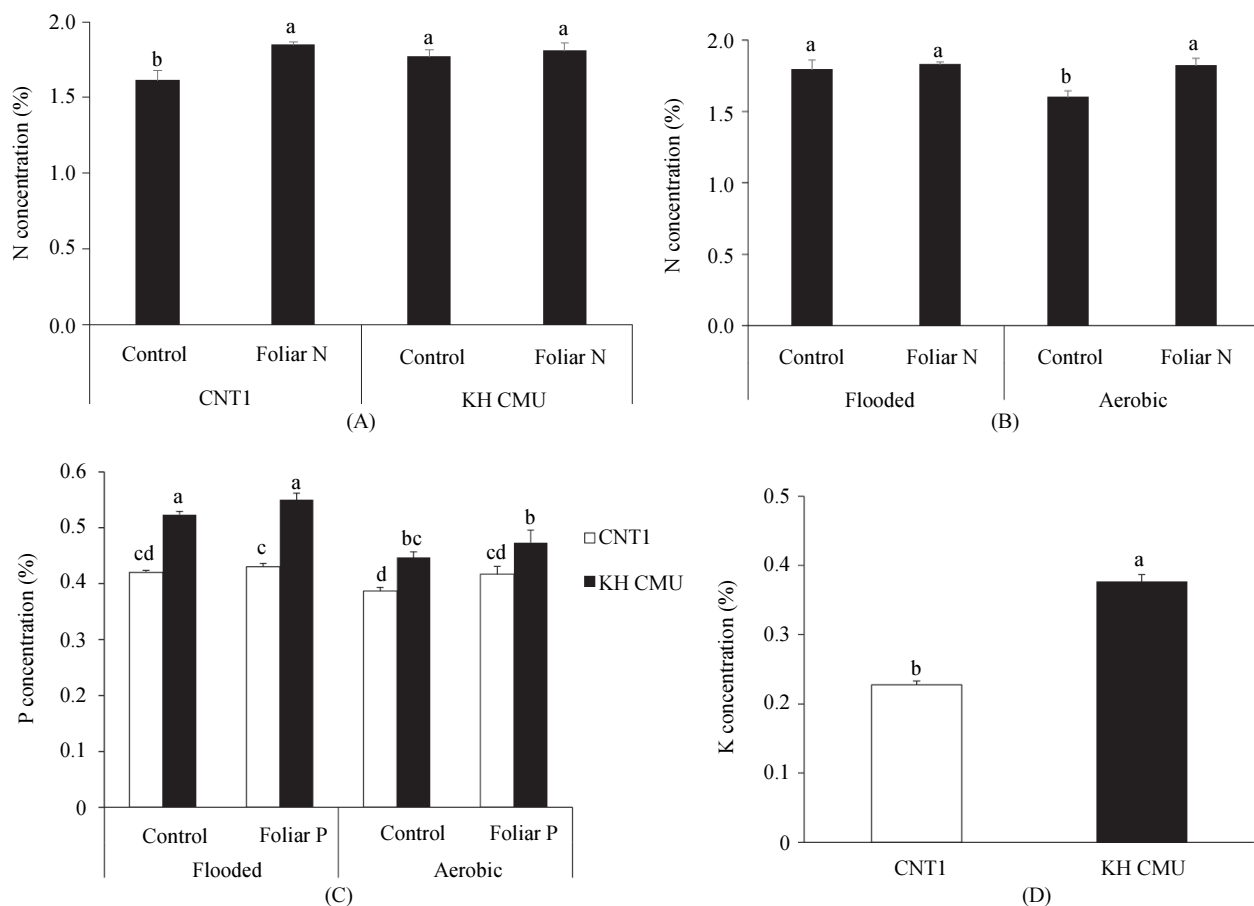
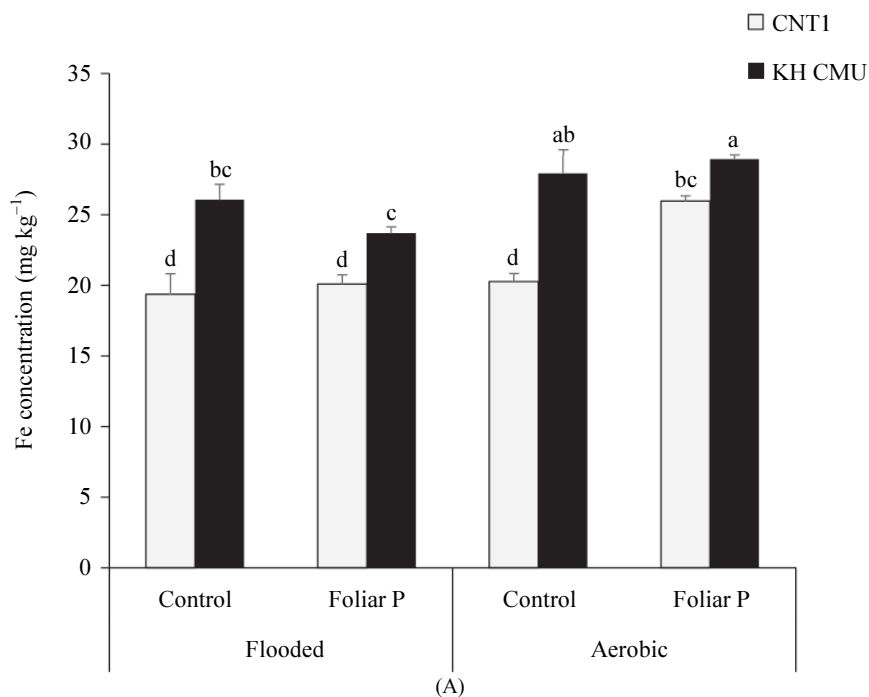


Fig. 1: The concentrations of nitrogen (A, B), phosphorus (C) and potassium (D) in brown rice grain of two varieties grown under different water conditions and fertilizer managements



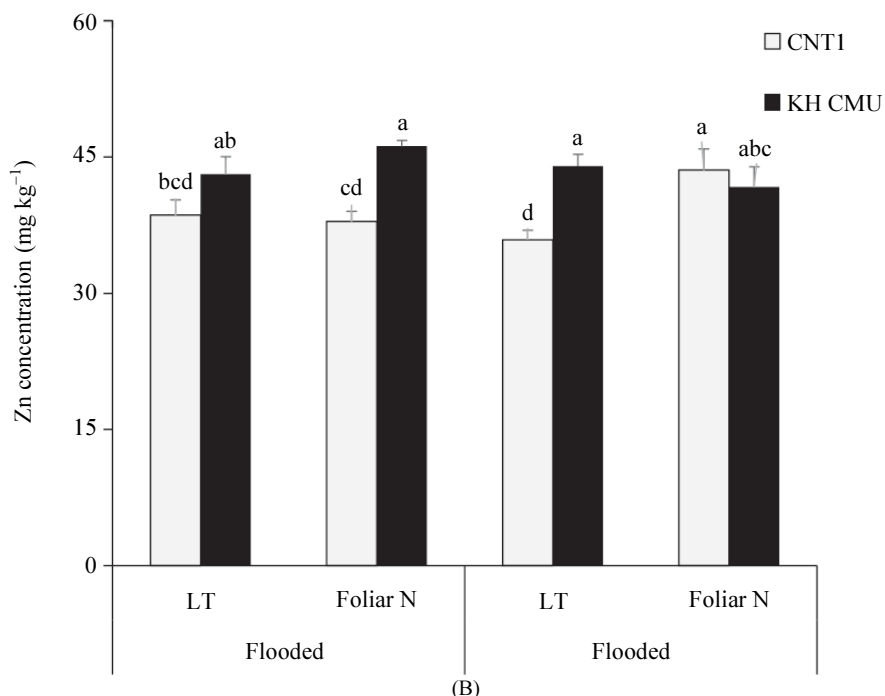


Fig. 2: The concentrations of iron (A) and zinc (B) in brown rice grain of two varieties grown under different water conditions and fertilizer managements

Discussion

Rice varieties are commonly characterized into upland and wetland types by their original ecosystem. The upland rice variety is grown in aerobic conditions, naturally well drained soils and low availability of several nutrients such as N, P, K, Fe and Zn is observed while, the wetland rice variety is grown in flooded conditions where oxygen (O₂) becomes the limiting factor for root functions such as uptake of ions (Marschner, 2012; Yoshida, 1981). This study has shown that grain yield and straw dry weight are independent of the fertilizer management, but dependent on the interaction effect between variety and water condition. The traditional upland rice variety (KH CMU) had 32% and 39% grain yield and straw dry weight in the aerobic condition higher than in the flooded condition, respectively, but the effect was not showed in the modern improved rice variety (CNT1). This evident confirmed that the rice varieties could adapt well to their growing condition to fulfill the nutrient requirement for their development and yield production, especially the modern improved variety as CNT1. The upland rice variety is usually grown under naturally drained soils with water supply through rainfall resulted in less well adapt for its productivity in the flooded condition may probably due to several reasons such as the adaptive of root zone condition and deep root system (Fageria, 2001). However, the ability for the uptake, translocation and accumulation of nutrients between rice varieties may probably depend on water and fertilizer management.

Nitrogen is a critical component in plants in the form of proteins, Adenosine Triphosphate (ATP), nucleic acids, amino acids and several plant hormones and it is also a component of chlorophyll as the pigment in the photosynthesis process (Takehisa *et al.*, 2013). Therefore, N deficiency has been reported to substantially affect grain yield in rice (Yoshida, 1981; Nursu'aidah *et al.*, 2014). This study found that foliar N improved the grain N concentration in CNT1, but not KH CMU and the effect could be observed in the aerobic condition, but not in the flooded. This finding is supported by a previous report that total N uptake in rice crops grown in the aerobic soil could be enhanced by the provision of ammonium (NH₄) and nitrate (NO₃⁻) of the N fertilizer simultaneously which consequently had an effect on the grain N concentration (Trung and Koji, 1982; Qian *et al.*, 2004). Thus, foliar N could effectively improve grain N, especially when soil N is in limited supply such as in the aerobic growing condition which is a common practice in upland rice growing.

In contrast, the concentration of grain P in KH CMU was higher when rice was grown in the flooded condition compared with the aerobic, but neither the water condition nor the fertilizer management was found to have an effect on grain P concentration in CNT1. On the other hand, grain K almost doubled in KH CMU in comparison to CNT1 without any effect from either water or fertilizer managements. This reveals the contrasting behavior between the two rice varieties in accordance with the difference in their original ecotype.

Phosphorus is an important component of DNA and RNA (Brown and Weselby, 2010) help to accelerate growth, spreading of roots and control of flowering and fruiting to create seeds (Rowley *et al.*, 2012). The benefit of grain P in decreasing grain chalkiness and improving head milled rice, gel consistency and protein content has been reported (Hao *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2012). Potassium helps in the synthesis of starch, sugar and protein and it promotes the movement of sugar from the leaves to the fruit (Pettigrew, 2008). Accumulation of potassium in the grain helps to increase aroma, whiteness and glossiness (Rohilla *et al.*, 2000); accumulation of potassium also reduces the rate of chalky grains and increases the milling quality, amylose content and protein content (Bridgemohan and Bridgemohan, 2014; Thao *et al.*, 2015). The results of this study indicate that upland rice adapted well to the flooded condition, which is not a common condition for its growing, but accumulated high grain P, while higher grain K was found in upland rice independent of both water management and fertilizer management. As reported, rice roots are well modified to suit their morphological characteristics in the aerobic condition by the forming of stronger and longer root length to facilitate the uptake of water and nutrients, which is especially found in upland rice varieties (Colmer, 2003; Thang, 2006). Thus, this could be the reason for the better grain P and K accumulation in the KH CMU variety. However, the positive correlation between grain yield and grain P accumulation in CNT1 and grain yield and Fe concentration in KH CMU indicating that higher grain P and Fe accumulation enhancing grain productivity in CNT1 and KH CMU, respectively. On the other hand, higher grain N, P and Zn accumulation may result from the dilution effect from the lower grain yield in KH CMU as it was indicated by the negative correlation between grain yield and grain N, P and Zn concentration.

Along with being the key factor having an effect on grain yield and biochemical processes in plants, N is also found to affect the accumulation of other nutrients in plants such as Fe and Zn (Nantachan *et al.*, 2016; Hao *et al.*, 2007). This experiment found that foliar N increased grain Fe and Zn concentrations when compared with no foliar N, especially in CNT1 grown under the aerobic condition, but that there was no effect in the flooded condition. The same was observed in previous studies that applying soil N fertilizer at 62.5 and 125 kg ha⁻¹ increased the grain Zn concentration by 11-42% among the rice varieties in northern Thailand (Nantachan *et al.*, 2016). On the other hand, applying N at 62.5 kg ha⁻¹ increased the Fe accumulation in the leaf, husk and brown rice by 85.5%, 30.9% and 28.9%, respectively and increased the grain Zn in brown rice from 16 to 20% when compared with no nitrogen application (Hao *et al.*, 2007). In the aerobic condition, Fe availability is higher, in the range of acidic and neutral range soil pH, but alkali soil has the serious problem of Fe deficiency. In

addition, Fe and Zn uptake has been reported to be especially affected by redox-pH interaction and it has been observed that the uptake of the two elements decreased markedly as the pH was increased (Marschner, 2012). Foliar fertilizer application was carried out by spraying the fertilizer directly onto the leaf as it allows absorption to occur rapidly into the inner cell layers of the leaf and other reproductive organs (Ahmad and Jabeen, 2005; Ganapathy *et al.*, 2008). It seems that the impact of foliar N fertilizer application on grain Fe and Zn can vary between the two selected varieties with variation in the ability of leaf absorption and seed deposition of foliar applied Zn, which has been demonstrated in a previous study (Phattarakul *et al.*, 2012).

Conclusion

The difference in responses between the two rice varieties representing their original ecotypes of upland and wetland is the key factor with respect to proper management of water and fertilizers in order to maximize grain yield and nutrition. Grain yield of wetland rice was independent from both the water and fertilizer managements, while it was reduced from the aerobic to flooded condition in upland rice. However, higher grain nutrient accumulation in rice could impact both seedling quality and intake of nutrition in rice consumers, which are affected by both variety as well as water and fertilizer managements. In the aerobic conditions, it may be required to make foliar N application a common practice while growing upland rice in order to improve the grain N concentration, but the same is not the case in the flooded conditions. At the same time, growing the upland rice variety in the flooded condition could result in higher grain P than growing it in the aerobic condition, but the same was not the response in wetland rice. Grain K was predominantly higher in upland rice than in wetland rice. Improving Fe and Zn accumulation in rice grains could be managed in wetland rice by foliar N application in aerobic growing conditions, but upland rice does not response the same. This knowledge is useful for proper management of water and fertilizers for improving grain yield and nutrient accumulation. However, in the future studies, increasing the number of rice varieties in each ecotype is needed to confirm the responses to water and fertilizer management in upland and wetland rice ecotypes.

Acknowledgment

We thank the National Research Council of Thailand, Thailand Research Fund (RSA6080024), the Functional Food Research Centre for Well-being and Graduate School, Chiang Mai University, Thailand for the financial support.

References

- Ahmad, R. and R. Jabeen, 2005. Foliar spray of mineral elements antagonistic to sodium-A technique to induce salt tolerance in plants growing under saline conditions. *Pak. J. Bot.*, 37: 913-920.
- Bremner, J.M. and C.S. Mulvaney, 1982. Nitrogen-Total. In: *Methods of Soil Analysis, Part 2*, Page, A.L. and C.S. Mulvaney (Eds.), American Society of Agronomy, Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, ISBN-10: 0891180729, pp: 595-624.
- Bridgemohan, P. and R.S.H. Bridgemohan, 2014. Crop nutrition studies on grain filling and chalkiness in rice. *J. Plant Breed. Crop. Sci.*, 6: 144-152. DOI: 10.5897/JPBCS2014.0474
- Brown, D. and C. Weselby, 2010. NASA-funded research discovers life built with toxic chemical. NASA Feature, Nasa.
- Colmer, T.D., 2003. Aerenchyma and an inducible barrier to radial oxygen loss facilitate root aeration in upland, paddy and deep-water rice (*Oryza sativa* L.). *Ann. Bot.*, 91: 301-309. DOI: 10.1093/aob/mcf114
- Comerford, N.B., 2005. Soil Factors Affecting Nutrient Bioavailability. In: *Nutrient Acquisition by Plants: An Ecological Perspective*, Bassirirad, H. (Ed.), ResearchGate, ISBN-10: 978-3-540-24186-7, pp:1-14.
- Cruz, P.C., N.P. Banayo, S.R. Marundan, A.M. Magnaye and D.J. Lalican *et al.*, 2012. Bio-inoculant and foliar fertilizer in combination with soil-applied fertilizer on the yield of lowland rice. *Philips J. Crop. Sci.*, 37: 85-94.
- Delhaiz, E., B. Dell, G. Kirk, J. Loneragan and R. Nable *et al.*, 1984. *Manual of Research Procedures*. Plant Nutrition Research Group School of Environmental and Life Science, Murdoch University, Australia.
- Fageria, N.K., 2001. Nutrient management for improving upland rice productivity and sustainability. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 32: 2603-2629. DOI: 10.1081/CSS-120000394
- Fageria, N.K., M.B.B. Filho, A. Moreira and C.M. Guimarães, 2009. Foliar fertilization of crop plants. *J. Plant Nutr.*, 32: 1044-1064. DOI: 10.1080/01904160902872826
- Ganapathy, M., G. Baradhan and N. Ramesh, 2008. Effect of foliar nutrition on reproductive efficiency and grain yield of rice fallow pulses. *Legume Res. Int. J.*, 31: 142-144.
- Hao, H.L., X.E. Yang, Y. Feng and C.Y. Wu, 2009. Effects of P fertilizer level on distribution of Fe, Mn, Cu and Zn in rice and brown rice qualities. *Plant Nutr. Fer. Sci.*, 15: 1350-1356.
- Hao, H.L., Y.Z. Wei, X.E. Yang, Y. Feng and C.Y. Wu, 2007. Effects of different nitrogen fertilizer levels on Fe, Mn, Cu and Zn concentrations in shoot and grain quality in rice (*Oryza sativa*). *Rice Sci.*, 14: 289-294. DOI: 10.1016/S1672-6308(08)60007-4
- Marschner, H., 2012. *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*. 3rd Edn., Academic Press, Amsterdam, Boston, MA, ISBN-10: 0123849063, pp: 672.
- Moraghan, J.T. and H.J. Mascagni, 1991. Environmental and Soil Factors Affecting micronutrient Deficiencies and Toxicities. In: *Micronutrients in Agriculture*, Luxmoore R.J. (Ed.), Soil Science Society of America, Madison, WI, pp: 371-425.
- Nantachan, K., P. Jaksomsak, N. Panomjan and C. Prom-u-thai, 2016. Effect of nitrogen fertilizer on grain yield and zinc concentration in local rice varieties. *Khon. Kaen. Agr. J.*, 44: 391-398.
- Nursu'aidah, H., M.R. Motior, A.M. Nazia and M.A. Islam, 2014. Growth and photosynthetic responses of long bean (*vigna unguiculata*) and mung bean (*vigna radiata*) response to fertilization. *J. Anim. Plant Sci.*, 24: 573-578.
- Pettigrew, W.T., 2008. Potassium influences on yield and quality production for maize, wheat, soybean and cotton. *Physiol. Plant*, 133: 670-681. DOI: 10.1111/j.1399-3054.2008.01073.x
- Phattarakul, N., B. Rerkasem, L.J. Li, L.H. Wu and C.Q. Zou *et al.*, 2012. Biofortification of rice grain with zinc through zinc fertilization in different countries. *Plant Soil*, 361: 131-141. DOI: 10.1007%2Fs11104-012-1211-x
- Qian, X., Q. Shen, G. Xu, J. Wang and M. Zhou, 2004. Nitrogen form effects on yield and nitrogen uptake of rice crop grown in aerobic soil. *J. Plant Nutr.*, 27: 1061-1076. DOI: 10.1081/PLN-120037536
- Rohilla, R., V.P. Singh, U.S. Singh, R.K. Singh and G.S. Khush, 2000. Crop husbandry and environmental factors affecting aroma and other quality traits. *Aromatic Rices*.
- Rowley, S., G. Cardon and B. Black, 2012. *Macronutrient management for Utah Orchards*. USU Extension Publication Horticulture/Fruit/2012-01pr.
- Islam, S.M., F. Rahman and A.T.M.S. Hossain, 2011. Effects of NPK briquette on rice (*Oryza sativa*) in tidal flooded ecosystem. *Agriculturists*, 9: 1-2. DOI: 10.3329/agric.v9i1-2.9477
- Takehisa, H., Y. Sato, B.A. Antonio and Y. Nagamura, 2013. Global transcriptome profile of rice root in response to essential macronutrient deficiency. *Plant Signal. Behav.*, 8: 1-7. DOI: 10.4161/psb.24409
- Tejada, M. and J.L. Gonzalez, 2004. Effects of foliar application of a byproduct of the two-step olive oil mill process on rice yield. *Eur. J. Agron.*, 21: 31-40. DOI: 10.1016/S1161-0301(03)00059-5
- Thang, D.H., 2006. Comparing growth, yield and nutrient uptake of rice in alternate aerated and anaerated condition. PhD. Thesis, Graduate School, Chiang Mai University, Thailand.
- Thao, H.M., N.H. Hong, N.T. Tuyen, V.N. Toan and L.N. Quyen, 2015. Study on the effect of some of N, P, K fertilizer compounds on the yield and quality of Bp53 rice variety. *J. Agric. Technol.*, 11: 2149-2156.

- Trung, C. and O. Koji, 1982. Effects of temperature and light intensity on the uptake and assimilation of ¹⁵N-labeled ammonium and nitrate in Indica and Japonica rice plants. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 28: 91-98. DOI: 10.1080/00380768.1982.10432374
- Watanabe, T., M. Osaki and T. Tadano, 1998. Effects of nitrogen source and aluminum on growth of tropical tree seedlings adapted to low pH soils. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 44: 655-666. DOI: 10.1080/00380768.1998.10414489
- Xiang, J., V.R. Haden, S. Peng, B.A.M. Bouman and R.M. Visperas *et al.*, 2009. Improvement in nitrogen availability, nitrogen uptake and growth of aerobic rice following soil acidification. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 55: 705-714. DOI: 10.1111/j.1747-0765.2009.00407.x
- Xu, X., P. He, S. Zhao, S. Qiu and A.M. Johnston *et al.*, 2016. Quantification of yield gap and nutrient use efficiency of irrigated rice in China. *Field. Crops Res.*, 186: 58-65. DOI: 10.1016/j.fcr.2015.11.011
- Yoshida, S., 1981. Fundamentals of rice crop science. The International Rice Research Institute. Los Banos, Laguna, Philippines.
- Zhang, Y.J., J.J. Hua, Y.C. Li, Y.Y. Chen and J.C. Yang, 2012. Effects of phosphorus on grain quality of upland and paddy rice under different cultivation. *Rice Sci.*, 19: 135-142. DOI: 10.1016/S1672-6308(12)60032-8



Full Length Article

Effects of Soil Cadmium Contamination on Grain Yield and Cadmium Accumulation in Different Plant Parts of Three Rice Genotypes

Kankunlanach Khampuang¹, Ponlayuth Sooksamiti², Somchai Lapanantnoppakhun³, Yutdanai Yodthongdee³, Benjavan Rerkasem⁴ and Chanakan Prom-u-thai^{1,5*}

¹Department of Plant and Soil Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

²Office of Primary Industries and Mines, Region 3, Chang Mai 50200, Thailand

³Department of Chemistry, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

⁴Plant Genetic Resources and Nutrition Laboratory, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

⁵Lanna Rice Research Center, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

*For correspondence: chanakan15@hotmail.com; chanakan.p@cmu.ac.th

Abstract

The zinc (Zn) - rich tailing from Zn mines often causes cadmium (Cd) poisoning in people living downstream. This study evaluated the effect of soil Cd contamination on grain yield and accumulation of Cd and Zn in different plant parts among three rice genotypes. The experiment was conducted to study the interaction effect of the three rice varieties namely KH CMU, KDML 105 and Sang Yod and the soil mixtures with different level of Zn tailings mine from Mae Sot District, Tak Province, Thailand, which designated M₀, M₁, M₂₀ and M₄₀. Increasing doses of the tailings increased the brown rice Cd and Zn in all three genotypes, while increasing the grain yield in Sang Yod, depressing it in KDML105 and having only a mild effect in KH CMU. The genotype KDML105 had the highest concentration of Cd and Zn in its brown rice. Higher application rate of the mine tailings increased both grain and straw yield in Sang Yod, while increased straw yield but decreased grain yield in KDML105, and decreased grain yield at the highest rate of tailings in KH CMU. Different response of rice genotypes to soil Cd with respect to yield and Cd accumulation in rice grain should be exploited by rice breeders to tailor more efficient rice genotypes for the areas of soil Cd contamination. © 2019 Friends Science Publishers

Keywords: Rice; Zinc mining industry; Ore tailings; Cadmium contamination; Grain zinc concentration

Introduction

Rice (*Oryza sativa* L.) grown on land down-stream from Zn mines has been reported to accumulate large amounts of Cd from water-soluble Cd contained in the mine waste; which leads to serious Cd toxicity in people who depend on this rice as their staple (Simmons *et al.*, 2005). Cadmium toxicity in people has focused attention on Cd contamination in rice soils and its accumulation in the grain. In Toyama prefecture of Japan, 1,500 ha of rice fields were declared contaminated with Cd from the stream and irrigation water (Yanagisawa, 1984). Records of excessive levels of Cd in the rice soils and grain in villages downstream from a Zn mine in Thailand (Simmons *et al.*, 2003, 2005) were followed by reports of prevalence of renal problems associated with Cd toxicity (Limpatanachote *et al.*, 2009). The older leaves of rice accumulated higher Cd than the younger, but the effect of Cd accumulation in plant parts was depended on absorption and translocation among different genotypes (McKenna *et al.*, 1993; Das *et al.*, 1997). On the other hand, Zn is rich in the Zn mine tailing which could lead to the phytotoxicity when plants accumulate in

excess of 300-1,000 mg Zn kg⁻¹ dry weight in their leaves (Chaney, 1993). The association between Cd and Zn accumulation in plant tissues was found that the Cd/Zn ratio of 1:100 in the contaminated soil showed a natural limit to Cd uptake due to Zn phytotoxicity (Chaney, 2015).

In addition, rice genotypes have also been reported to differ widely in their grain Cd (Sriprachote *et al.*, 2012a) and Zn (Saenchai *et al.*, 2012) concentration. The rice genotypes used in this experiment were Kam Hom CMU (KH CMU), Khao Dawk Mali 105 (KDML105) and Sang Yod Phattalung (Sang Yod). The KDML105 (12-17% amylose) is one of Thailand's non-glutinous mega-varieties that produces high quality and priced Thai jasmine rice, KH CMU (2-5% amylose), is a purple glutinous upland rice variety from the highlands and Sang Yod (16-18% amylose), is a special quality non-glutinous variety. Some variation in the concentration of Cd has been noted in Sang Yod and KDML 105 which reported its accumulation only a fraction of the grain Cd as similar as in KDML105 (Sriprachote *et al.*, 2012b), while no information has been made for KH CMU in both Cd and Zn accumulation in the contamination soil.

This study was designed to evaluate the effect of Zn mine tailing on yield and accumulation of Cd and Zn in different plant parts including grain of 3 selected traditional rice genotypes with different morpho-physiological traits and exceptional grain quality *e.g.*, amylose content, aroma flavor and gelatinization temperature, originated from different regions of Thailand.

Materials and Methods

Experiment Design and Soil Preparation

The experiment was conducted in pots during the rainy season (June–September) of 2014 at the Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. The average temperature during cropping season was 26.3°C with 75.0% relative humidity (NMC, 2015). The treatments were factorial combinations of 3 rice genotypes and 4 rates of mine tailings, with three independent replications arranged in a completely randomized design. The soil used in the experiment was Sansai series with sandy loam texture, pH 6.35, with background concentration of 0.1 mg Cd kg⁻¹ and 2.2 mg Zn kg⁻¹. The soil was sun dried for 3 days before grinding and sieved to make the uniform particles of < 0.2 mm. The ore tailings were derived from a Zn mine in Mae Sot District, Tak Province, Thailand. The DTPA extractable analysis indicating that the ore tailing containing of 487 ± 6 mg Zn kg⁻¹, 199 ± 2 mg Cd kg⁻¹, 18.5 ± 1.5 mg Pb kg⁻¹, 1.63 ± 0.02 mg Cu kg⁻¹, 1.1 ± 0.03 mg Fe kg⁻¹ and 2.7 ± 0.03 mg Mn kg⁻¹.

The pots were 28 cm in diameter and 30 cm deep, each containing 10 kg of soil mixture with the ore tailings powder at the rate of 0, 2.5, 50 and 100 g kg⁻¹ soil to achieve the variation of Cd concentration at 0, 5, 100 and 200 mg Cd pot⁻¹. The soil mixture was incubated for 2 weeks before planting and analysis for DTPA-extractable Cd and Zn with Atomic Absorption Spectrophotometer (Perkin Elmer 3110, Germany) following the dry-ashing with the method of Lindsey and Norvell (1978). The treatments, designated soil mixture with Cd and Zn containing at 0.1 mg Cd kg⁻¹ soil and 2.2 mg Zn kg⁻¹ soil (M₀), 1.3 mg Cd kg⁻¹ soil and 17.0 mg Zn kg⁻¹ soil (M₁), 21.1 mg Cd kg⁻¹ soil and 279 mg Zn kg⁻¹ soil (M₂₀) and 37.5 mg Cd kg⁻¹ soil and 436 mg Zn kg⁻¹ soil (M₄₀) (Table 1).

Rice Genotypes and Sample Collection

Three improved rice genotypes used in this experiment were Kam Hom CMU (KH CMU), Khao Dawk Mali 105 (KDML105) and Sang Yod Phattalung (Sang Yod) which had the initial seed Cd and Zn concentration in brown rice at 0, 0.1 and 0.1 mg Cd kg⁻¹ dry weight and 40.0, 38.0 and 33.0 mg Zn kg⁻¹ dry weight, respectively. The rice seed was soaked in distilled water for 48 h at room temperature (25–30°C). Two week old seedlings were transplanted into the

prepared pots, at 5 plants per pot. The pots were maintained in flooded condition with 3–5 cm of water above the soil surface during growing period of 90–140 days (depending on genotypes) until maturity. Fertilizer applied was 15-15-15 (N-P₂O₅-K₂O) at 0.9 g per pot, split into 4 equal applications at 7 days after transplanting, tillering, booting and flowering stages.

Plant development was recorded in days from planting to flowering and days from flowering to maturity (Table 2). At maturity, all plants were manually harvested, and separated into roots, stems, flag leaf, remaining leaf blades, and grain. All samples were carefully washed with filtered water then deionized water to avoid contamination. The grain was sun-dried for 2–3 days to reach at 14% moisture content before separating into brown rice and husk. All samples were oven-dried at 75°C for 72 h and ground for chemical analysis.

Chemical Analysis

The grain samples were analyzed for amylose content by iodine reaction method (Juliano, 1971). The analysis of Cd, Zn, Pb, Cu, Fe and Mn in the Zn mine tailing and Cd and Zn concentration in different plant parts was conducted by Atomic Absorption Spectrophotometer (Perkin Elmer 3110, Germany) following dry-ashing of test solutions with method of Neggers and Lane (1995). Feeding stuffs (PTCH-FAO2-1401 Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, K, Na, Zn and P) were used as certified reference material in each batch during all analyses.

Data Analysis

Data of Cd and Zn concentration and content in different plant parts were transformed to log₁₀ and tested for uniformity and homoscedasticity before analysis. Statistical analysis of all the data was performed by using the Statistic 9 (analytical software SX). Analysis of variance (ANOVA) was used to detect difference among treatments and least significant difference (LSD) at *P* < 0.05 was used to compare means.

Results

Plant Growth, Yield and Yield Components

The soil treatments at the higher rates of ore tailings, at M₂₀ and M₄₀, delayed development from flowering to maturity in Sang Yod by 6 days, but no effect on its development time from planting to flowering in KDML105 and KH CMU for their entire growing period (Table 2).

Grain and straw dry weight were affected by the soil treatments differently among the rice genotypes (Fig. 1). Increasing rate of ore tailings depressed grain yield in KDML105, but increasing in Sang Yod, while having only

Table 1: The DTPA-extractable Cd and Zn in the soil samples after applying the ore tailings in the mixture of M_0 , M_1 , M_{20} and M_{40} and incubated for two weeks

Treatments	Concentration (mg kg ⁻¹)	
	Cd	Zn
M_0	0.1 ± 0.0	2.2 ± 0.1
M_1	1.3 ± 0.0	17.0 ± 0.1
M_{20}	21.1 ± 0.7	279.0 ± 3.3
M_{40}	37.5 ± 1.2	436.0 ± 4.5

The values are mean ± SD ($n = 3$)

Table 2: Effect of soil Zn tailing on days taken from planting to flowering and days taken from flowering to maturity of three rice genotypes

Genotypes	Treatments	DPF (Day)	DFM (Day)
KH CMU	M_0	66	27
	M_1	66	27
	M_{20}	66	27
	M_{40}	66	27
KDML105	M_0	80	33
	M_1	80	33
	M_{20}	80	34
	M_{40}	80	34
Sang Yod	M_0	105	28
	M_1	105	28
	M_{20}	105	34
	M_{40}	105	34

Here DPF =days from planting to flowering; DFM =days from flowering to maturity; M_0 = 0.1 mg Cd and 2.2 mg Zn kg⁻¹ soil; M_1 = 1.3 mg Cd and 17.0 mg Zn kg⁻¹ soil; M_{20} = 21.1 mg Cd and 279 mg Zn kg⁻¹ soil; M_{40} = 37.5 mg Cd and 436 mg Zn kg⁻¹ soil

minor effect in KH CMU. Straw dry weight in both KDML105 and Sang Yod both increased with increasing rate of ore tailings, but not affected in KH CMU.

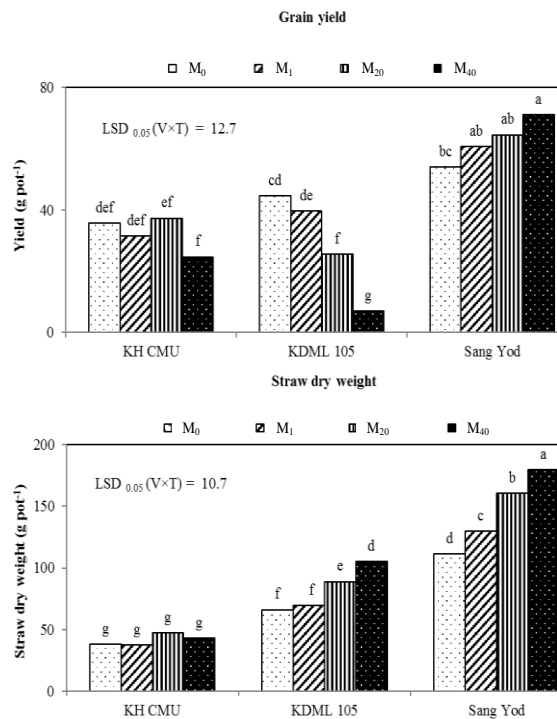
Increasing rate of ore tailings depressed the number of spikelet panicle⁻¹ and grain filling percentage in KDML105 but only the slight effects on these was found in yield components in the other two genotypes (Fig. 2). The number of tillers plant⁻¹, panicles plant⁻¹ and 1,000 grain weight were different among the rice genotypes, while showing little effect of the soil treatments, except that tillering was generally promoted by the addition of the ore tailings.

Plant Cd and Zn Content and Partitioning in Straw, Brown Rice and Husk

All three rice genotypes had higher Cd and Zn contents with increasing doses of tailings, but with different rates of increasing (Table 3). KH CMU accumulated the least amount of both elements at all levels of tailings, followed by KDML105 and Sang Yod. Most of the Cd and Zn in the plant were in the straw, while most contents of Cd and Zn was allocated to the husk only a fraction to brown rice.

Cd and Zn Concentration in Brown Rice and Other Plant Parts

Increasing doses of the ore tailings increased Cd and Zn concentration in brown rice and other plant parts, but with

**Fig. 1:** Effect of soil Zn tailing on grain yield and straw dry weight of three rice genotypes. M_0 = 0.1 mg Cd and 2.2 mg Zn kg⁻¹ soil; M_1 = 1.3 mg Cd and 17.0 mg Zn kg⁻¹ soil; M_{20} = 21.1 mg Cd and 279 mg Zn kg⁻¹ soil; M_{40} = 37.5 mg Cd and 436 mg Zn kg⁻¹ soil. Different letters indicate significant differences at $P < 0.05$ ($n = 3$)

different extents in different genotypes and the plant parts (Table 4). In general, both Cd and Zn were much more concentrated in the stem and leaves than in brown rice and husk. Adding the ore tailings had smallest effect on Cd and Zn in brown rice, which rose from almost undetectable Cd and approximately 40 mg Zn kg⁻¹ in M_0 to 10–15 mg Cd kg⁻¹ and 50–70 mg Zn kg⁻¹ in M_{40} , compared with up to hundred-folds increases in Cd and up to 30-folds increases in Zn in the stem and leaves. A notable exception was the Cd concentration in the stem of KDML105 that remained relatively low even with the highest rate of tailings. Among the rice genotypes, the brown rice Cd was increased the most by the ore tailings in KDML105, followed by Sang Yod and the least in KH CMU. Brown rice Zn of Sang Yod, which was the lowest among the genotypes in M_0 , was also increased the least with increasing rates of tailings. The genotype KDML105 on the other hand had the highest Zn concentration in its brown rice with the higher rates of tailings. The husk Cd concentration was affected by addition of ore tailings in the same direction as the brown rice Cd, but largely to a less extent. The husk Zn concentration relative to brown rice Zn, however, was different among the genotypes at higher doses of tailings, being about the same in Sang Yod, significantly higher in the husk in KDML105 but higher in brown rice in KH CMU. Differential effects of the ore tailings on Cd and Zn

Table 3: Effect of soil Zn tailing on Cd and Zn content and allocation to the straw, brown rice and husk of three rice genotypes

Genotypes	Tailing treatments	Cd content				Zn content			
		mg pot ⁻¹	Percentage in			mg pot ⁻¹	Percentage in		
			Straw	Brown rice	Husk		Straw	Brown rice	Husk
KH CMU	M ₀	0.02	95.2	0	4.8	2.8	52.0	1.8	46.2
	M ₁	0.23	87.0	0.4	12.6	6.4	76.8	1.2	21.9
	M ₂₀	1.43	87.0	0.8	12.3	29.1	93.3	0.4	6.3
	M ₄₀	1.67	89.2	1.0	9.8	29.2	95.4	0.3	4.3
KDML105	M ₀	0.04	85.7	2.9	11.4	5.8	73.5	2.1	24.4
	M ₁	0.53	78.8	2.4	18.8	17.9	89.4	2.3	8.3
	M ₂₀	3.33	91.5	1.1	7.4	84.3	97.8	0.7	1.5
	M ₄₀	5.02	97.9	0.5	1.6	109.5	99.5	0.2	0.3
Sang Yod	M ₀	0.03	90.9	3.0	6.1	9.0	82.2	0.8	17
	M ₁	0.69	88.2	0.3	11.6	27.3	92.8	0.3	6.9
	M ₂₀	4.89	89.3	0.9	9.8	143.6	97.9	0.4	1.6
	M ₄₀	7.86	91.1	1.3	7.6	184.4	98.1	0.4	1.5
F-test ($p < 0.05$)		LSD _(0.05)				F-test ($p < 0.05$)			
Variety (V)		1.02				Variety (V)			
Treatment (T)		1.02				Treatment (T)			
Plant part (P)		1.02				Plant part (P)			
V × T		1.05				V × T			
V × P		1.05				V × P			
T × P		1.05				T × P			
V × T × P		1.10				V × T × P			

Data were log₁₀ transformed before subjected to analysis of variance, ** = significant at $P < 0.01$

M₀ = 0.1 mg Cd and 2.2 mg Zn kg⁻¹ soil; M₁ = 1.3 mg Cd and 17.0 mg Zn kg⁻¹ soil; M₂₀ = 21.1 mg Cd and 279 mg Zn kg⁻¹ soil; M₄₀ = 37.5 mg Cd and 436 mg Zn kg⁻¹ soil

Table 4: Effect of soil Zn tailing on Cd and Zn concentration in different plant parts; stem, leaf sheath, leaf blade, flag leaf, husk and brown rice among three rice genotypes

Genotypes	Tailings treatments	Cd concentration (mg kg ⁻¹)						Zn concentration (mg kg ⁻¹)					
		Stem	Leaf sheath	Leaf blade	Flag leaf	Brown rice	Husk	Stem	Leaf sheath	Leaf blade	Flag leaf	Brown rice	Husk
KHCMU	M ₀	0.6	0.2	0.7	0.3	0	0	75	28	26	21	43	8
	M ₁	4.6	6.0	5.7	7.0	1.1	0.2	264	118	72	42	55	15
	M ₂₀	22.0	18.8	40.1	47.3	5.6	1.8	589	448	783	637	59	17
	M ₄₀	29.4	30	45.9	53.8	8.1	3.5	676	827	472	470	63	19
KDML105	M ₀	0.6	0.3	0.4	0.6	0.1	0.1	148	43	28	25	39	14
	M ₁	8.5	6.8	3.9	5.6	3.3	1.4	543	160	95	87	49	44
	M ₂₀	7.4	50.4	52.6	34.7	12.3	7.1	1305	970	716	483	63	113
	M ₄₀	7.1	65.4	70.1	54.7	14.6	16	1397	1018	872	622	69	133
Sang yod	M ₀	0.4	0.1	0.4	0.3	0.1	0.1	144	35	33	22	35	6
	M ₁	10.1	4.7	1.0	0.6	1.6	0.2	491	138	34	29	38	8
	M ₂₀	29.6	35.8	19.4	12.6	9.1	3.9	1354	763	707	338	44	52
	M ₄₀	58.1	38.7	29.1	18.6	10.3	7.9	1763	984	463	212	49	55
F-test ($p < 0.05$)		LSD _(0.05)						F-test ($p < 0.05$)					
Variety (V)		1.05						Variety (V)					
Treatment (T)		1.05						Treatment (T)					
Plant part (P)		1.07						Plant part (P)					
V × T		1.10						V × T					
V × P		1.12						V × P					
T × P		1.15						T × P					
V × T × P		1.26						V × T × P					

Data were log₁₀ transformed before subjected to analysis of variance, ** = significant at $P < 0.01$

M₀ = 0.1 mg Cd and 2.2 mg Zn kg⁻¹ soil; M₁ = 1.3 mg Cd and 17.0 mg Zn kg⁻¹ soil; M₂₀ = 21.1 mg Cd and 279 mg Zn kg⁻¹ soil; M₄₀ = 37.5 mg Cd and 436 mg Zn kg⁻¹ soil

status of three rice genotypes were indicated by concentration of the elements in the flag leaf, which were indistinguishable among the genotypes in M₀ and M₁, but significantly lower in Sang Yod than KDML105 and KH CMU in M₂₀ and M₄₀.

Correlation between Cd and Zn Concentration among Different Plant Parts and Grain Yield

Positive correlation was found between Cd and Zn

concentration in brown rice and other plant parts in all genotypes ($P < 0.01$), except between Cd concentration in brown rice and the stem of KDML105 (Table 5). On the other hand, the correlation between grain yield and the concentration of Zn and Cd was different among the genotypes (Table 6). In KDML105, there was negative correlation between grain yield and Zn and Cd concentrations in all plant parts except between grain yield and the stem Cd. In Sang Yod, grain yield was positively correlated with Zn concentration in the stem, leaf sheath and

Table 5: Correlation between Cd and Zn concentration in brown rice and plant parts of three rice genotypes; stem, leaf sheath, leaf blade and flag leaf

Plant parts	Brown rice Cd concentration (mg kg ⁻¹)		
	KHCMU	KDML105	Sang Yod
Cd Stem	0.99**	0.56 ^{ns}	0.93**
Leaf Sheath	0.99**	0.99**	0.98**
Leaf blade	0.95**	0.97**	0.97**
Flag leaf	0.96**	0.95**	0.96**
Zn	Brown rice Zn concentration (mg kg ⁻¹)		
	KHCMU	KDML105	Sang Yod
Stem	0.94**	0.98**	0.97**
Leaf Sheath	0.83**	0.96**	0.94**
Leaf blade	0.71**	0.96**	0.74**
Flag leaf	0.76**	0.97**	0.71**

ns = not significant, ** = significant at $P < 0.01$ **Table 6:** Correlation between Cd and Zn concentration in different plant parts and grain yield of three rice genotypes; stem, leaf sheath, leaf blade and flag leaf

Plant parts	Yield (g pot ⁻¹)		
	KHCMU	KDML105	Sang Yod
Cd Stem	-0.42 ^{ns}	-0.42 ^{ns}	0.58*
Leaf sheath	-0.49 ^{ns}	-0.88**	0.44 ^{ns}
Leaf blade	-0.31 ^{ns}	-0.90**	0.54 ^{ns}
Flag leaf	-0.32 ^{ns}	-0.88**	0.57 ^{ns}
Brown rice	-0.44 ^{ns}	-0.88**	0.55 ^{ns}
Zn	Yield (g pot ⁻¹)		
	KHCMU	KDML105	Sang Yod
Stem	-0.38 ^{ns}	-0.80**	0.61*
Leaf sheath	-0.49 ^{ns}	-0.83**	0.60*
Leaf blade	0.05 ^{ns}	-0.87**	0.43 ^{ns}
Flag leaf	-0.03 ^{ns}	-0.86**	0.42 ^{ns}
Brown rice	-0.43 ^{ns}	-0.89**	0.64*

ns = not significant, * = significant at $P < 0.05$, ** = significant at $P < 0.01$

brown rice, but not in the leaf blade and flag leaf, while positive correlation with grain yields was found only with Cd concentration in the stem. No correlation was observed between grain yield and Cd and Zn concentration in all plant parts of KH CMU.

Discussion

This study has shown that all rice genotypes were affected differently by soil contamination with tailings from Zn mining on grain yield and the concentration of Cd and Zn in the rice grain. Genotypic variation in the rice grain Cd concentration previously reported (Sriprachote *et al.*, 2012b), has been confirmed here but with much smaller difference between KDML105 and Sang Yod, suggesting a strong interaction between genotype and environment effects on Cd accumulation in the rice grain. This study has also shown how rice genotypes may differ in Cd accumulation and exclusion in their various tissues which may or may not be associated with plant growth and yield. Increasing rates of tailings also increased brown rice Zn concentration in all three rice genotypes, but only to levels that are considered nutritionally beneficial (*e.g.*, see Saenchai *et al.*, 2012), and confirming previous reports of insensitivity of rice grain Zn to the level of Zn present in the soil (Wissuwa *et al.*, 2008;

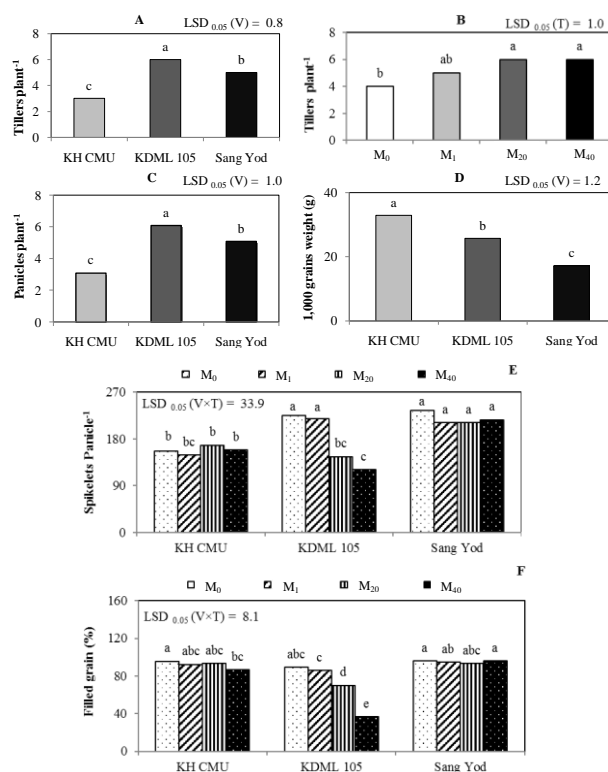


Fig. 2: Effect of soil Zn tailing on number of tiller plant⁻¹ (A, B), panicle plant⁻¹ (C), 1,000 grains weight (D), spikelet panicle⁻¹ (E) and percent filled grain (F) among three rice genotypes. M₀ = 0.1 mg Cd and 2.2 mg Zn kg⁻¹ soil; M₁ = 1.3 mg Cd and 17.0 mg Zn kg⁻¹ soil; M₂₀ = 21.1 mg Cd and 279 mg Zn kg⁻¹ soil; M₄₀ = 37.5 mg Cd and 436 mg Zn kg⁻¹ soil. Different letters indicate significant differences at $P < 0.05$

Phattarakul *et al.*, 2012). Differential yield responses to the tailings were illustrated by grain yield depression in the genotype KDML105, mediated through the number of spikelets/panicle and percentage of filled grain which positively affected on grain and straw dry weight in Sang Yod and relatively mild affected on KHCMU. Phytotoxic effects from both Cd and Zn are well established (Chaney, 1993; Das *et al.*, 1997), with a report of rice growth and yield depression by high Cd from Bangladesh (Kibria *et al.*, 2006). Phytotoxic effects of Cd ranged from reduction of chlorophyll levels, inhibition of photosynthesis (Kabata-Pendias and Pendias, 2001; Liphadzi and Kirkham, 2006), to interruption of respiration, cell division and cell elongation, and inhibition of RNA transcription and activity of a ribonuclease (Shah and Dubey, 1995; Toppi and Gabbriellini, 1999). Phytotoxicity of Zn was associated with depressed vegetative growth, including inhibition of root elongation (Wong and Bradshaw, 1982) and depression of photosynthesis as the result of interference by Zn with the uptake of iron and magnesium (Woolhouse, 1993; Sagardoy *et al.*, 2009). Thus, phytotoxicity from high concentration of Cd and Zn in soil mixture inhibited biochemical and

physiological mechanisms resulted in depression of grain yield, especially in KDML105, while the yield increase in the case of Sang Yod cannot not be explained which could be about the higher requirement of Cd and/or Zn in Sang Yod compared with the other varieties and/or the mechanism of internal tolerance.

No critical concentration for Cd toxicity in plants is available in the literature, in the case of Zn the range of 300–1,000 mg Zn kg⁻¹ dry weight in the leaves has been suggested (Chaney, 1993). In the present study, a possibility of genotypic variation in internal tolerance was suggested by similar levels of flag leaf Cd that were inversely associated with grain yield in KDML105 but showing no significant relationship in KH CMU. The higher Zn concentration in the stem of the genotype Sang Yod, on the other hand, could be indicative of either its greater tolerance or ability to keep excessive Zn in the stem and preventing it to concentrate in the leaves and grain. In barley, the genotype Tokak was reported as a Cd tolerant by its ability of heavy metal entering the cells (Ha *et al.*, 1999; Tiryakioglu *et al.*, 2006). It was reported that the presence of Zn can lower Cd toxicity in wheat and maize by minimizing membrane damage (Wu *et al.*, 2003; Koleli *et al.*, 2004; Fahad *et al.*, 2015) offers a possible explanation to the apparent tolerance to very high Cd levels in the tissues of rice genotypes like Sang Yod and KHCMU. In view of widespread occurrence of potentially harmful levels of Cd and Zn in agricultural soil polluted by manufacturing industry as well as mining (Chaney, 1993) these also deserves further investigation.

The toxic effect of either Cd or Zn or both on the yield formation process in KDML 105 was indicated by significant negative correlation between its grain yield and Cd and Zn concentration in various tissues. In contrast, the other two genotypes exhibited no such inverse relationship between grain yield and tissue Cd and Zn. It remains to be clarified whether the limiting element was Cd or Zn or both. By its much lower Cd and Zn content, lower Cd concentration in its leaf sheath and leaf blades, and lower Zn concentration in the stem and leaves as well as its brown rice, the genotype KHCMU was the most effective in excluding these heavy metals. The sensitive KDML105, with its significantly higher content of Cd and Zn, suffered from excessive concentration of these elements and its dry weight was greatly depressed at higher doses of tailings. In contrast, the Cd and Zn concentration in the leaves of Sang Yod was kept lower in spite of the much higher contents of these elements, by dilution effect as its grain and straw dry weight that were increased with increasing doses of tailings.

This study has shown how rice genotypes may differ in their ability to exclude Cd and Zn from the plant and grain. KH CMU had the lowest plant Cd content and brown rice Cd concentration. Sang Yod, on the other hand, maintained lower brown rice Cd concentration than KDML105 because of Cd in the panicle was allocated to the

husk. The Cd and Zn concentration in brown rice in all genotypes increased with increasing doses of the ore tailings in concordance with the concentrations the leaves and stem, except for Cd in the stem of KDML105 which remained low regardless of the level of tailings. The higher Cd concentration in brown rice in KDML105 than Sang Yod found here is in agreement with a report of an evaluation of grain Cd in 42 Thai rice cultivars in farmers' fields contaminated by the tailings from a Zn mine in Thailand that found Sang Yod to be among the low Cd varieties and KDML105 among the high Cd varieties (Sriprachote *et al.*, 2012b). The present study found even lower Cd in the grain than Sang Yod in the genotype KHCMU. High Cd concentration in the rice grain is a cause for concern, with the maximum contamination limit for rice set at 0.4 mg kg⁻¹ (CAC, 2011). To understand the difference in homeostatic mechanisms for Cd accumulation in brown rice among genotypes and the genetic control, further studies should focus on mechanisms controlling brown rice Cd concentration through the partitioning into brown rice as in Sang Yod as well as minimizing its uptake as in KH CMU, in contrast to a mega-variety prone to accumulate more Cd in the grain like KDML105.

Conclusion

Results disclosed that rice genotypes behaved differently to the applied ore tailings from Zn mining, in both their grain yield and nutritional quality. The genotype KH CMU could be suggested for the further in depth physiological study on the effectiveness of Cd exclusion from the grain and other plant parts. However, further studies are needed to explore the mechanisms behind the different uptake and translocation of Cd to the different plant parts among rice genotypes.

Acknowledgements

This study received financial support from Thailand Research Fund under the Royal Golden Jubilee Ph.D. Program (Grant No. PHD/0025/2559) and Research Career Development Grant (RSA6080024) and Functional Food Research Center for Well-being, Chiang Mai University, Thailand

References

- Chaney, R.L., 2015. How does contamination of rice soils with Cd and Zn cause high incidence of human Cd disease in subsistence rice farmers. *Curr. Pollut. Rep.*, 1: 13–22
- Chaney, R.L., 1993. Zinc phytotoxicity. In: *Zinc in soils and plants*, pp: 135–150. Robson, A.D. (ed.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands
- Codex Alimentarius Commission (CAC), 2011. Joint FAO/WHO food standards programme codex committee on contaminations in foods, fifth session. Available at: http://www.fao.org/tempref/codex/Meetings/CCCC/CCCCF5/cf05_IN_F.pdf (Accessed: 5 March 2016)
- Das, P., S. Samantaray and G.R. Rout, 1997. Studies on cadmium toxicity in plants: A review. *Environ. Pollut.*, 98: 29–36

- Fahad, S., S. Hussain, S. Saud, S. Hassan, D. Shan, Y. Chen, N. Deng, F. Khan, C. Wu, W. Wu, F. Shah, B. Ullah, M. Yousaf, S. Ali and J. Huang, 2015. Grain cadmium and zinc concentrations in maize influenced by genotypic variations and zinc fertilization. *Clean-Soil Air Water*, 43: 1433–1440
- Ha, S.B., A.P. Smith, R. Howden, W.M. Dietrich, B. Bugg, M.J. O'Connell, P.B. Goldsbrough and C.S. Cobbett, 1999. Phytochelatin synthase genes from *Arabidopsis* and they east *Schizosaccharomyces pombe*. *Plant Cell*, 11: 1153–1163
- Juliano, B.O., 1971. A simplified assay for milled rice amylose. *Cer. Sci. Today*, 16: 334–340
- Kabata-Pendias, A. and H. Pendias, 2001. *Trace Elements in Soils and Plants*, 3rd edition, pp: 114–131. CRC Press LLC, New York, USA
- Kibria, M.G., K.T. Osman and M.J. Ahmed, 2006. Cadmium and lead uptake by rice (*Oryza sativa* L.) grown in three different textured soils. *Soil Environ.*, 25: 70–77
- Koleli, N., S. Eker and I. Cakmak, 2004. Effect of zinc fertilization on cadmium toxicity in durum and bread wheat grown in zinc-deficient soil. *Environ. Pollut.*, 131: 453–459
- Limpatanachote, P., W. Swaddiwudhipong, P. Mahasakpan and S. Kirintratun, 2009. Cadmium exposed population in Mae Sot District, Tak Province: 2. Prevalence of renal dysfunction in the adults. *Med. J. Med. Assoc. Thail.*, 92: 1345–1353
- Lindsey, W.L. and W.A. Norvell, 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, 42: 421–428
- Liphadzi, M.S. and M.B. Kirkham, 2006. Physiological effects of heavy metals on plant growth and function. In: *Plant-Environment Interaction*, pp: 243–270. Huang, B. (ed.). CRC, Taylor & Francis, Boca Raton, Florida, USA
- McKenna, I.M., R.L. Chaney and F.M. Williams, 1993. The effects of cadmium and zinc interactions on the accumulation and tissue distribution of zinc and cadmium in lettuce and spinach. *Environ. Pollut.*, 79: 113–120
- Negggers, Y.H. and R.H. Lane, 1995. Minerals, ch. 8. In: *Analyzing Food for Nutrition Labeling and Hazardous Contaminants*, p: 185. Jeon, I.J. and W.G. Ikins (Eds.). Marcel Dekker, New York, USA
- Northern Meteorological Center (NMC), 2015. Climate in Chiang Mai. Available at: <http://www.cmmet.tmd.go.th/index1.php> (Accessed: 10 January 2015)
- Phattarakul, N., B. Rerkasem, L.J. Li, L.H. Wu, C.Q. Zou, H. Ram, V.S. Sohu, B.S. Kang, H. Surek, M. Kalayci, A. Yazici, F.S. Zhang and I. Cakmak, 2012. Bio-fortification of rice grain with zinc through zinc fertilization in different countries. *Plant Soil*, 361: 131–141
- Saenchai, C., C. Prom-u-thai, S. Jamjod, B. Dell and B. Rerkasem, 2012. Genotypic variation in milling depression of iron and zinc concentration in rice grain. *Plant Soil*, 361: 271–278
- Sagardoy, R., F. Morales, A.F. López-Millán, A. Abadía and J. Abadía, 2009. Effects of zinc toxicity on sugar beet (*Beta vulgaris* L.) plants grown in hydroponics. *Plant Biol.*, 11: 339–350
- Shah, K. and R.S. Dubey, 1995. Effect of cadmium on RNA level as well as activity and molecular forms of ribonuclease in growing rice seedlings. *Plant Physiol. Biochem.*, 33: 577–584
- Simmons, R.W., P. Pongsakul, D. Saiyasitpanich and S. Klinphoklap, 2005. Elevated levels of cadmium and zinc in paddy soils and elevated levels of cadmium in rice grain downstream of a zinc mineralized area in Thailand: Implications for public health. *Environ. Geochem. Health*, 27: 501–511
- Simmons, R.W., P. Pongsakul, R.L. Chaney, D. Saiyasitpanich, S. Klinphoklap and W. Nobuntou, 2003. The relative exclusion of zinc and iron from rice grain in relation to rice grain cadmium as compared to soybean: Implications for human health. *Plant Soil*, 257: 163–170
- Sriprachote, A., P. Kanyawongha, K. Ochiai and T. Matoh, 2012a. Current situation of cadmium-polluted paddy soil, rice and soybean in the Mae Sot District, Tak Province, Thailand. *J. Soil Sci. Plant Nutr.*, 58: 349–359
- Sriprachote, A., P. Kanyawongha, G. Pantuwan, K. Ochiai and T. Matoh, 2012b. Evaluation of Thai rice cultivars with low-grain cadmium. *J. Soil Sci. Plant Nutr.*, 58: 568–572
- Tiryakioglu, M., M. Eker, F. Ozkutlu, S. Husted and I. Cakmak, 2006. Antioxidant defense stem and cadmium uptake in barley genotypes differing in cadmium tolerance. *J. Trace. Elem. Med. Biol.*, 20: 181–189
- Toppi, L.S.D. and R. Gabbrielli, 1999. Response to cadmium in higher plants. *Environ. Exp. Bot.*, 41: 105–130
- Wissuwa, M., A.M. Ismail and R.D. Graham, 2008. Rice grain zinc concentrations as affected by genotype, native soil–zinc availability, and zinc fertilization. *Plant Soil*, 306: 37–48
- Wong, M.H. and A.D. Bradshaw, 1982. A comparison of the toxicity of heavy metals, using root elongation of ryegrass (*Lolium perenne*). *New Phytol.*, 91: 255–261
- Woolhouse, H.W., 1993. Toxicity and tolerance in the responses of plants to metals. In: *Encyclopedia of Plant Physiology New Series*, pp: 245–300. Lange, O.L., P.S. Nobel and C.B. Osmond (Eds.). Springer-Verlag, Berlin, New York, USA
- Wu, F.B., G.P. Zhang and D. Peter, 2003. Four barley genotypes respond differently to cadmium: lipid peroxidation and activities of antioxidant capacity. *Environ. Exp. Bot.*, 50: 67–78
- Yanagisawa, M., 1984. Heavy metal pollution and methods of restoration of polluted soil in the Jinzu River basin. *Bull. Toyam. Agric. Exp. Stn.*, 15: 1–110

(Received 24 September 2018; Accepted 28 December 2018)



Research article

Impact of soil salinity on grain yield and aromatic compound in Thai Hom Mali rice cv. Khao Dawk Mali 105

Ayut Kongpun^a, Phattana Jaisiri^a, Benjavan Rerkasem^b, Chanakan Prom-u-thai^{c,*}^a Faculty of Agro-industrial Technology, Kalasin University, Kalasin 46000, Thailand.^b Plant Genetic Resources and Nutrition Laboratory, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.^c Department of Plant and Soil Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.

Article Info

Article history:

Received 2 August 2018

Revised 20 November 2018

Accepted 26 November 2018

Available online 28 February 2020

Keywords:

Premium quality rice,

Rice aroma,

Rice grain quality,

Saline soil

Abstract

The highest-priced aromatic Hom Mali rice is grown on saline soil in Northeast Thailand. The rice variety Khao Dawk Mali 105 (KDML 105), the main variety grown to produce Hom Mali rice was evaluated for yield, the aromatic compound 2-acetyl-1-pyrroline (2 AP) and softness texture at different levels of sodium chloride (NaCl) salt added to the soil. The rice was grown in wetland culture pots with soil made saline by adding 0 g NaCl/kg, 1.16 g NaCl/kg, 1.74 g NaCl/kg, 2.31 g NaCl/kg and 2.89 g NaCl/kg soil which had electrical conductivity (EC) values of 0.13 mS/cm, 0.62 mS/cm, 0.74 mS/cm, 0.95 mS/cm and 1.16 mS/cm, respectively. The addition of salt had different effects on the rice grain yield, yield component and aromatic compound, but did not affect the softness texture. Adding salt into the soil depressed the grain yield on average by 36.3% for all applications. The adverse effect of salt on the yield was correlated with the effect on the 1,000 grain weight (correlation coefficient (r) = -0.94, p < 0.05). The lowest level of salt application at 1.16 g NaCl /kg soil significantly raised the level of 2 AP, but not at the higher rates of salt application. Soil salinity did not affect the quality of grain softness texture at any application rate. These results suggested that while salinity may invariably depress the rice yield, at a certain level it may improve the grain quality by increasing the concentration of the main aromatic compound without impacting the softness texture. This needs to be confirmed using field trials in naturally occurring saline soils.

Introduction

Soil salinity is a major problem in global crop production as salt affected soils are reported to occupy about 20% of the world's cultivated land (Wu and Cheng, 2014) and 33% of the irrigated area (Jamil et al., 2011). Most of the affected areas are in the Africa and Asia, with 320 million ha of arable land in South and Southeast Asia facing salinity problems (Iqbal et al., 2010). In Thailand, soil salinity is widespread in the Northeast, affecting an estimated 29% of the

region, or around 4.9 million hectares (Division of Mineral Resources Conservation and Management, 2015).

Rice is the major staple food crop in Asia, but its production has been limited by the extent of soil salinity in this region because rice is highly sensitive compared to other crops (Kao, 2018). Moderately saline soil with an electrical conductivity (EC) of 0.69 mS/cm when saturated has been reported to reduce grain yield by up to 50% (Van Genuchten and Gupta, 1993). Thailand is the world's leading rice exporting country, with a quarter of the global market share in the mid 2010 period (Office of Agricultural Economics, 2013). Thai Hom

* Corresponding author.

E-mail address: chanakan15@hotmail.com; chanakan.p@cmu.ac.th (C. Prom-u-thai)

online 2452-316X print 2468-1458/Copyright © 2020. This is an open access article, production and hosting by Kasetsart University of Research and Development institute on behalf of Kasetsart University.

<https://doi.org/10.34044/j.anres.2020.54.1.10>

Mali or Thai jasmine rice, grown mainly from the cultivar KDML105, accounts for 37% of the wet season crop area and 29% of production (Office of Agricultural Economics, 2018). Most of Thailand's Hom Mali rice is grown in the Northeast, where soil salinity is widespread (Wongsomsak, 1986). The premium grade of Hom Mali rice is associated with saline soils, with the geographical indications (GI) designated Thung Kula Rong-Hai Thai Hom Mali Rice described as rice grown from the varieties KDML105 and RD15 on saline soils in a specific area in Northeast Thailand (Ngokkuen and Grote, 2012). The farmers who have been certified as producers of the GI rice have been identified in districts in northeastern provinces where soil salinity is prevalent (Ngokkuen and Grote, 2012). To date, there has been limited information on the effect of saline soil, particularly on the aromatic compound in rice. A study of three aromatic rice varieties in the temperate environment of the Camargue in France showed that soil salinity increased the concentration of the aromatic compound (2AP), while depressing yield (Gay et al., 2010). The Thai aromatic variety KDML105 is described in its release documents as tolerant to soil salinity (Bureau of Rice Research and Development, 2018). To the best of the current authors' knowledge, there is no definitive information on how its yield and aroma are affected by salinity. Therefore, this study aimed to determine the impact of the level of soil salinity on the grain yield, aromatic compound and softness texture of the rice variety KDML 105. This would be useful information for the management of premium grade rice quality production of Thai Hom Mali rice to improve the aroma and minimize yield loss.

Materials and Methods

Plants culture

A pot experiment was conducted at Kalasin University, Kalasin province, Thailand in the wet season from July to December 2017. The experiment was arranged in a completely randomized design with four independent replications. The seed of KDML 105 was obtained from the Kalasin Rice Seed Center, Kalasin province, Thailand. The soil series of Si Thon (coarse-loamy) was used in this experiment. Five different levels of soil salinity were tested by applying salt at 0 g NaCl/kg soil, 1.16 g NaCl/kg soil, 1.74 g NaCl/kg soil, 2.31 g NaCl/kg soil and 2.89 g NaCl/kg soil. At 2 wk after soil had been incubated in the pot, the EC was measured using a portable EC meter (model EZ-1, China) in each salt application to determine the soil salinity class after one week of soil incubation (Wolf, 1999). Seedlings aged 2 wk were transferred into the prepared 5 L plastic pots containing 9.5 kg of soil (9% moisture content), with two plants per pot. The water level in each pot was maintained at 2–5 cm above the soil surface until harvest. At 10 d after transplanting, N and K fertilizer were applied at 16.50 mg/kg soil and 12.67 mg/kg soil, respectively. At 22 d after transplanting, 11.71 mg N/kg soil was applied. Finally, N P and K at 3.82 mg/kg soil, 1.67 mg/kg soil and 3.17 mg/kg soil, respectively, were applied at 57 d after transplanting. At maturity, the yield and yield components were evaluated consisting of tillers per hill, panicles per hill, number of seeds per panicle and 1,000 seed weight. Seeds

were kept in the cold room at 18°C before being subjected to chemical analysis.

Aromatic compound and alkaline spreading value analysis

About 10 g of each paddy rice sample was de-husked to yield brown rice grain. A key aroma compound, 2-acetyl-1-pyrroline (2AP), was evaluated based on the fresh extract of uncooked brown rice using capillary gas chromatography-mass spectrometry as in the published method of Mahatheeranont (2001).

The alkali spreading value was tested following the protocol of the National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards (2018) with a small adjustment for brown rice. Twenty brown rice grains from each saline treatment and replicate were placed into Petri dishes, 30 mL of 1.7% KOH solution was added and left at room temperature. Four brown rice grains of KDML105 (low gelatinization temperature) and RD4 (high gelatinization temperature) were used as checks for the precision and accuracy of the method. The degree of spreading was assessed at 25 hr, using a seven-point integer scale, where a lower score indicated a higher gelatinization temperature and vice versa for a higher score.

Data analysis

Data were analyzed using one-way analysis of variance. The differences among treatment means were compared using least significant difference at $p < 0.05$. Correlations between datasets were determined using coefficient correlation analysis.

Results

The EC of the incubated soil increased linearly with an increasing rate of the salt added (Table 1). Based on the EC (Wolf, 1999), the soil in the experiment was non-saline without added salt, slightly saline with 1.16 and 1.74 g NaCl/kg soil, moderately saline with 2.31 g NaCl/kg soil, and strongly saline with 2.89 g NaCl/kg soil with EC values of 0.13 mS/cm, 0.62 mS/cm, 0.74 mS/cm, 0.95 mS/cm and 1.16 mS/cm, respectively.

Adding salt to the soil depressed the rice grain yield and 1,000 seed weight, but there was no effect on the plant height, number of tillers per hill, number of panicles per hill and number of seeds per panicle as shown in Table 2. The yield was depressed on average by 36.3% when salt was applied at all rates compared with no salt application. Similar to the grain yield, the 1,000 seed weight was reduced by 8.4% when salt was added at all rates compared to the control treatment. The effect of increasing salinity on yield depression was evident in the significant, negative, linear relationship between electrical conductivity and yield (correlation coefficient (r) = -0.94) and between electrical conductivity and 1,000 seed weight (r = -0.82). The grain yield was positively correlated with the number of seeds per panicle (r = 0.89) and the 1,000 seed weight (r = 0.93), while the 1,000 seed weight was positively correlated with the number of tillers per hill (r = 0.89) as shown in Table 3.

Table 1 Electrical conductivity and salinity classes of soil at five different rates of salt concentration

Salt (NaCl) application rate (mg/kg dry soil)	Electrical conductivity 1:5 soil:water (mS/cm)	Soil salinity class ¹
0	0.13	Non saline
1.16	0.62	Slightly saline
1.74	0.74	Slightly saline
2.31	0.95	Moderately saline
2.89	1.16	Strongly saline

¹ Source: Wolf (1999)**Table 3** Correlation coefficients between electrical conductivity, yield, 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) concentration and other yield component characters

	Yield	1,000 seed weight	2AP concentration
Electrical conductivity	-0.94*	-0.82*	-0.35 ^{ns}
Yield			0.13 ^{ns}
Plant height	-0.57 ^{ns}	0.26 ^{ns}	
Number of tillers/hill	0.73 ^{ns}	0.89*	
Number of panicles/hill	0.29 ^{ns}	0.31 ^{ns}	
Number of seeds/panicle	0.89*	0.69 ^{ns}	
1,000 seed weight	0.93*		0.28 ^{ns}

^{ns} = non-significant different at $p < 0.05$; * = significant different at $p < 0.05$ **Table 2** Yield (14% moisture content) and yield components of KDML 105 rice grown at different levels of salt application

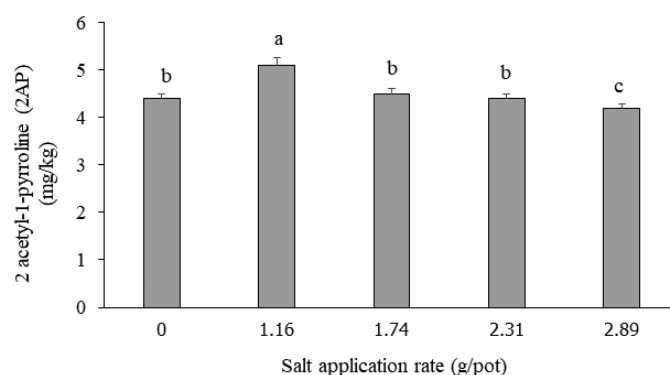
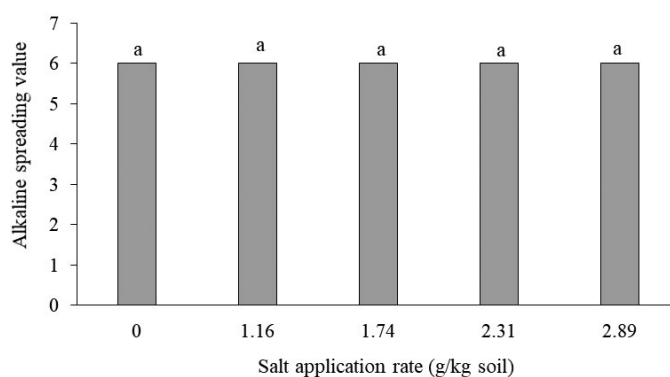
Salt application (g NaCl/kg soil)	Yield (g/pot)	Plant height (cm)	Number of tillers/ hill	Number of panicles/ hill	Number of seeds/ panicle	1,000 seed weight (g)
0	39.5 ^a	112.6	10.3	8.3	114.9	24.8 ^a
1.16	28.8 ^b	111.2	10.5	9.0	93.6	23.8 ^{ab}
1.74	24.4 ^b	109.6	9.5	8.5	79.1	22.3 ^b
2.31	23.9 ^b	113.1	9.0	8.1	106.5	22.0 ^b
2.89	23.5 ^b	107.6	9.4	7.5	86.8	22.8 ^b
F-test	**	ns	ns	ns	ns	*
SD	7.3	3.9	1.7	1.0	21.5	1.6
CV (%)	15.9	9.8	17.9	11	19.7	5.5

CV = coefficient of variation; ns = non-significant difference at $p < 0.05$; * = significant difference at $p < 0.05$; ** = highly significant difference at $p < 0.01$. Different lowercase superscript letters within each column indicate a significant difference ($p < 0.05$).

The effect of soil salinity on the aromatic compound 2AP was different from the yield effect ($p < 0.05$) (Fig. 1). The 2AP concentration increased by about 15% with increasing soil application at 1.16 g NaCl/kg soil from no salt application, but no effect was found at the higher salt application rates of 1.74–2.31 g NaCl/kg soil, while applying at the even higher rate of salt at 2.89 g NaCl/kg soil slightly decreased the concentration of 2 AP compared to the control treatment. The 2AP concentration did not show any significant correlation with the electrical conductivity ($r = -0.35$), grain yield ($r = 0.13$) and 1,000 grain weight ($r = 0.28$) as shown in Table 3. These results indicated that the gelatinization temperature of rice grain was not affected by applying salt in the soil and did not affect the alkali spreading value at any of the concentration rates as shown in Fig. 2.

Discussion

The results showed that soil salinity significantly depressed the grain yield of rice variety KDML 105 by reducing the individual seed weight as was reported by Van Genuchten and Gupta (1993). Saline soil has been shown to reduce grain yields in rice by disrupting fertilization resulting in a high percentage of undeveloped seeds (Patcharapreecha et al., 1990). The current study for the first time showed the effect of salt stress on yield and the aromatic compound in Thai Hom Mali rice cv. KDML 105 which is a popular aromatic rice variety consumed globally. The current study did not produce any impact on the numbers of fertilized and undeveloped seed and the salinity level did not affect general plant growth characteristics as indicated by the lack of any significant differences for the plant height, tiller number per hill, panicle number per hill and number of seeds per panicle among the salt application rates (Table 2). On the

**Fig. 1** Effect of soil salinity on the aromatic compound 2-acetyl-1-pyrroline intensity of KDML 105, where different lowercase letters above bars indicate significant difference at $p < 0.05$.**Fig. 2** Effect of soil salinity on alkaline spreading value of KDML 105, where the same letter above bars indicates no significant difference ($p > 0.05$) and the standard checking for alkaline spreading value for KDML 105 (low gelatinized temperature check) = 6–7 and for RD4 (high gelatinized temperature check) = 2.

other hand, the current study showed that the salt treatments affected the individual seed weight which consequently affected the grain yield as indicated by the correlation between grain yield and electrical conductivity and 1,000 seed weight which was reported by Gay et al. (2010). This phenomenon has been explained as perhaps being due the limited grain-filling process during grain development (Wei et al., 2017). Grain filling is the process of accumulating starch in rice which is an end product of photosynthesis and which saline soil was found to depress during processing (Chaves et al., 2009). Therefore, minimizing yield loss when rice is grown under salt stress conditions could be solved by reducing salt stress during the grain filling stage which could be conducted, for example, by applying gypsum into the soil (Basel, 2012), though no results from this have been reported recently. Thus, this should be the subject of future experiment to determine any yield loss based on the number of seeds per panicle and the 1,000 seed weight which should be major traits to indicate the effect of salt stress in rice.

The current study also showed that the concentration of the aromatic compound of 2AP in the indica Thai rice variety KMLD105 responded differently to salinity compared with the 2AP in the aromatic temperate japonica varieties grown in France (Gay et al., 2010). This latter variety showed highly significant correlations between electrical conductivity and the 2AP concentration and between the 2AP concentration and 1,000 grain weight. On the other hand, the variety KDML105 in the current study appeared to be more sensitive to salinity, with a stimulating effect on 2AP by very mild salinity at 1.16 g NaCl/kg soil (EC of 0.62 mS/cm). The 2AP compound disappeared at the higher levels of salt application with a significant lowering of the 2AP concentration at the strongest salinity treatment of 2.89 g NaCl/kg soil (EC of 1.16 mS/cm). The independence of the 2AP concentration from the 1,000 grain weight found here suggested that aroma expression in the Thai variety KDML105 may be influenced by salinity through a different process from that associated with smaller grain size as suggested for the French varieties (Gay et al., 2010). The absence of any relationship between electrical conductivity and the 2AP concentration confirmed previous reports on the adverse effect of soil salinity in decreasing rice yield and increasing the concentration of the aromatic compound 2AP (Van Genuchten and Gupta, 1993). While it depressed the grain yield in rice, it improved the aroma of the rice grains which have the secondary metabolite, 2AP as a key major compound (Poonlaphdech et al., 2012). The 2AP compound increased when salt was applied at 1.16 g NaCl/kg soil (0.62 mS/cm soil EC (1:5, soil: water) from the control treatment (Tables 1 and Fig. 1). Secondary metabolites play an important role in defending plant tissues from adverse conditions, such as pathogens or environmental stress, including saline soil (Tiwari and Rana, 2015). Thus, rice grown under saline conditions may produce higher 2AP in an effort to increase its tolerance to the salinity, even in the low soil salinity condition. However, the 2AP compound was reduced at the higher rate of salt stress of 2.89 g NaCl/kg soil (1.16 mS/cm soil EC at 1:5 soil:water). In addition, the concentration of 2 AP compound did not have a dilution effect on the grain yield under saline soil growing conditions as no negative correlation

between the grain yield and 2 AP concentration was observed in this study. Therefore, the proper management for growing rice under saline soil conditions is required when dealing with both the grain yield and aroma compound.

However, this study also showed that growing rice in saline soil did not affect the grain texture as indicated by no difference in the alkaline spreading value in the rice grain at all soil salinity levels. Northeast Thailand contains around 3.7 million ha of the slightly saline soil, almost 1 million ha of moderately saline soil and around 0.2 million ha of strongly saline soil (Division of Mineral Resources Conservation and Management, 2015). The current study showed that adequate grain yields of KDML 105 was produced even in moderately and strongly saline soils, even though the yield was slightly depressed. Therefore, it is possible to produce high-quality KDML 105 rice under saline soil growing conditions with the proper management.

The grain yield of the rice variety KDML 105 decreased when salt was applied at all applications from 1.16 g NaCl/kg soil to 2.89 g NaCl/kg soil, while the concentration of the 2AP aromatic compound increased under mildly saline conditions (1.16 g NaCl/kg soil) but was depressed under strongly saline conditions (2.89 g NaCl/kg soil) without any impact on grain softness texture. These results suggested that while mild salinity may depress the yield of Hom Mali rice, it can improve grain quality by increasing the concentration of the aromatic compound.

Conflict of Interest

The authors declare there is no conflict of interest.

Acknowledgements

The authors thank the Thailand Research Fund for financial support (Project ID: RSA6080024).

References

- Basel, S. 2012. Salt stress alters physiological indicators in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) Soil Environ. 31: 113–118.
- Bureau of Rice Research and Development. 2018. KDML 105. <http://brrd.ricethailand.go.th/>, 1 August 2018.
- Chaves, M.M., Flexas, J., Pinheiro, C. 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. Ann. Bot. 103: 551–560.
- Division of Mineral Resources Conservation and Management. 2015. Saline soil area development in the Northeast: Geological approaches. <http://www.dmr.go.th/>, 26 March 2018.
- Gay, F., Maraval, I., Roques, S., Gunata, Z., Boulanger, R., Audebert, A., Mestres, C. 2010. Effect of salinity on yield and 2-acetyl-1-pyrroline content in the grains of three fragrant rice cultivars (*Oryza sativa* L.) in Camargue (France). Field Crops Res. 117: 154–160.
- Iqbal, M.M., Goheer, A.M., Khan, A.M. 2010. Facing the food challenge under climate change threats to land resources through increased salinization. In: Proceedings of the Global Forum on Salinization and Climate Change (GFSCC2010). Valencia, Spain, pp. 25–29.

- Jamil, A., Riaz, S., Ashraf, M., Foolad, M.R. 2011. Gene expression profiling of plants under salt stress. *Crit. Rev. Plant Sci.* 30: 435–458.
- Kao, C.H. 2018. Mechanisms of salt tolerance in rice plants: Cell wall-related genes and expansins. *J. Taiwan Agric. Res.* 66: 87–93.
- Mahatheeranont, S., Keawsa-ard, S., Dumri, K. 2001. Quantification of the rice aroma compound, 2-acetyl-1-pyrroline, in uncooked Khao Dawk Mali 105 brown rice. *J. Agric. Food Chem.* 49: 773–779.
- National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standards. 2018. Organic standards. <http://www.organic.moc.go.th/>, 1 August 2018.
- Ngokkuen, C., Grote, U. 2012. Geographical indication for jasmine rice: Applying a logit model to predict adoption behavior of Thai farm households. *Q. J. Int. Agric.* 51: 157–185.
- Office of Agricultural Economics. 2013. Agricultural Statistic of Thailand 2013. Ministry of Agriculture and Cooperatives. Bangkok, Thailand.
- Office of Agricultural Economics. 2018. Agricultural Statistic of Thailand 2018. Ministry of Agriculture and Cooperatives. Bangkok, Thailand.
- Poonlaphdech, J., Maraval, I., Roques, S., Audebert, A., Boulanger, R., Bry, X., Gunata, Z. 2012. Effect of timing and duration of salt treatment during growth of a fragrant rice variety on yield and 2-acetyl-1-pyrroline, proline, and GABA Levels. *J. Agric. Food Chem.* 60: 3824–3830.
- Tiwari, R., Rana, C.S. 2015. Plant secondary metabolites: A review. *Int. J. Eng. Res. Sci.* 3: 621–670.
- Pacharapreecha, P., Topark-ngarm, B., Goto, I., Kimura, M. 2005. Studies on saline soils in Khon Kaen Region, Northeast Thailand. *Soil Sci. Plant Nutri.* 36: 363–374.
- Van Genuchten, M.T., Gupta, S.K. 1993. A reassessment of the crop tolerance response function. *J. Indian Soc. Soil Sci.* 41: 730–737.
- Wei, X., Jiao, G., Lin, H., et al. 2017. Grain incomplete filling 2 regulates grain filling and starch synthesis during rice caryopsis development. *J. Integr. Plant Biol.* 59: 134–153.
- Wolf, B. 1999. *The Fertile Triangle*. Food Products Press. Binghamton, NY, USA.
- Wongsomsak, S. 1986. Salinization in Northeast Thailand. *Southeast Asian Studies.* 24: 133–152.
- Wu, W., Cheng, S. 2014. Root genetic research, an opportunity and challenge to rice improvement. *Field Crop Res.* 165: 111–118.

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/326554872>

Effects of Foliar Application of Zinc on Grain Yield and Zinc Concentration of Rice in Farmers' Fields

Article in Chiang Mai University Journal of Natural Sciences · July 2018

DOI: 10.12982/CMUJNS.2018.0013

CITATIONS

0

READS

158

4 authors, including:



I. Cakmak

Sabanci University

244 PUBLICATIONS 17,423 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



B. Dell

Murdoch University

340 PUBLICATIONS 7,246 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Quantifying Soil Water Repellency and Deep Soil Carbon [View project](#)



QTL mapping for grain zinc and iron concentrations and zinc efficiency in a tetraploid and hexaploid wheat mapping populations [View project](#)

Effects of Foliar Application of Zinc on Grain Yield and Zinc Concentration of Rice in Farmers' Fields

Piyawan Phuphong¹ Ismail Cakmak² Bernard Dell³, and Chanakan Prom-u-thai^{1,4*}

¹*Agronomy Division, Department of Plant and Soil Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand*

²*Faculty of Engineering and Natural Sciences, Sabanci University, Istanbul 34956, Turkey*

³*School of Veterinary and Life Sciences, Murdoch University, 90 South St, Murdoch, WA, 6150, Australia*

⁴*Lanna Rice Research Center, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand*

*Corresponding author. E-mail: chanakan15@hotmail.com, chanakan.p@cmu.ac.th

<https://doi.org/10.12982/CMUJNS.2018.0013>

ABSTRACT

Three field experiments were conducted on farms in Chiang Mai, Thailand in 2015 to evaluate the effects of: (i) foliar application of Zn on the grain yield and grain Zn concentration of rice and (ii) using Zn-enriched seeds in the next cropping on growth and yield. Zn was applied by foliar spraying 0.5% ZnSO₄ at three different growth stages: booting, flowering, and early milk stages. Foliar spraying of Zn improved the grain Zn concentration by 41% in one field, and an average of 30% across the three fields. The foliar-sprayed Zn did not, however, affect the grain yield in any of the fields. The Zn-enriched seeds also did not affect the grain yield of the plants in the farmers' fields in the next cropping, probably because of the high amount of soluble Zn already in the experimental fields. Clearly, the foliar application of Zn significantly increased grain Zn concentration, but had no effect on grain yield.

Keywords: Foliar Zn fertilization, Farmers' field, Grain Zn concentration, Rice, Seed zinc enrichment

INTRODUCTION

Zinc deficiency is a major malnutrition problem, resulting in severe health complications, including growth retardation and impaired immune system, combined with increased risk of infection, DNA damage, and alterations in mental function (Hotz and Brown, 2004; Gibson et al., 2007). The recommended daily intake of Zn is only 16 mg per day (National Research Council, 1989), but many commonly consumed foods do not provide this amount, especially in the developing world where cereal-based foods that are low in Zn predominate diets (Gibson et al., 2007; Cakmak and Kutman, 2017). For example, in South and Southeast Asia where rice is the staple diet, more than one-half a billion people have been estimated to be affected

by inadequate Zn intake, especially pre-school children and women (Hotz and Brown, 2004; Gibson et al., 2007; Black et al., 2008). In northeastern Thailand, 57% of pre-school children have low amounts of serum Zn (Thurlow et al., 2005). Thailand consumes high amounts of rice that is low in Zn (Gibson et al., 2007; Phattarakul et al., 2012). The average content of Zn in rice grown in Thailand is only 28.7 mg per kg (range 17.3- 59.2) in brown rice and 20.6 mg per kg (range 9.6-40.2) in white rice across several regions tested (Saenchai et al., 2012; Jaksomsak et al., 2014; Panomjan et al., 2016). It has been suggested that increasing the grain Zn concentration by up to 50 mg per kg would benefit human health through improved diet and agriculture through better seed germination and seedling vigor (Welch and Graham, 2004; Cakmak, 2008; Prom-u-thai et al., 2010).

In crop plants, Zn has a diverse range of critical functions that affect several physiological processes, including enzyme activation, protein synthesis, detoxification of reactive oxygen species gene expression and regulation, and reproductive development (pollen formation) (Cakmak, 2000; Chang et al., 2005; Marschner, 2012). Thus, biofortifying rice with increased Zn, either through plant breeding and/or fertilizer strategies, would contribute to both better plant growth and the nutritional quality of its grain (Bouis, 2002; Cakmak and Kutman, 2017). Soil Zn application affects grain Zn less than foliar fertilization, as shown in rice and wheat (Cakmak et al., 2010; Phattarakul et al., 2012). In rice, foliar application of Zn is a particularly advantageous method to enhance grain Zn concentration compared with soil application, as it avoids the complex soil interactions that limit Zn uptake through a plant's roots (Mabesa et al., 2013). The efficiency of soil Zn fertilization in increasing the grain Zn concentration in cereal depends largely on the soil type and fertility (Cakmak, 2008). When rice was grown in different types of soil, up to 90% difference was observed in the grain Zn concentration in the same rice varieties (Graham et al., 1999). Wissanu et al. (2007) also found a significant variation in grain Zn concentration (e.g., from 8 mg kg⁻¹ to 47 mg kg⁻¹) for a given rice variety when grown in different soil Zn fertility. These findings indicate that environmental conditions have a significant impact on grain Zn concentration. In the case of foliar application of Zn, the type of soil has a minor effect on the biofortification of grains with Zn through foliar spray. Zinc concentration in brown rice (whole caryopsis with husk removed) was increased by 25% by foliar application of Zn in 17 field trials conducted in five different countries (China, India, Lao PDR, Thailand, and Turkey) with soil pH ranging from 4.8 to 8.8 and DTPA-extractable Zn from 0.5 mg kg⁻¹ to 6.5 mg kg⁻¹ (Phattarakul et al., 2012). Most of the studies focusing on biofortification of cereals with Zn have been conducted on research farms of universities or research institutions. It would, therefore, be interesting to further investigate how foliar application of Zn affects grain Zn accumulation under different soil conditions in farmers' fields. Low Zn in seeds adversely affects not only human health, but also seed germination and seedling vigor, especially under Zn-deficient soil conditions (Yilmaz et al., 1998). While high concentrations of Zn in rice seed greatly improved the growth and development of seedlings (Prom-u-thai et al., 2012; Boonchuay et al., 2013), these studies were not investigated under farmers' field conditions, either.

The present study evaluated the effect of (i) foliar application of Zn on grain Zn concentration and yield and (ii) the role of Zn-enriched seeds in plant growth and yield in three different farmers' fields with high variation in soil fertility.

MATERIALS AND METHODS

Study location

The study was conducted during two crop seasons (July to December) in 2015 and 2016 under field conditions at three different farms in Hang Dong District, Chiang Mai Province, Thailand. Soil samples at each location were collected and analyzed for several chemical and physical parameters. Farmers at each location grew rice (*Oryza Sativa L.*) variety ‘RD 14’. The seeds were derived from the Rice Seed Center at Chiang Mai, Thailand. The seedlings were prepared in the farmers’ fields; seedlings that were approximately 30 days old were transplanted into the 20×20 m² plots with three replications at each location. The fields were permanently flooded under 0.1-0.2 m of water until maturity. Nitrogen fertilizer was applied by taking into consideration the farmers’ practice. Briefly, urea (46–0–0) fertilizer was applied in two split applications at 300 kg ha⁻¹. One-half of the N was broadcasted by hand 30 days after transplanting, along 15 kg P₂O₅ ha⁻¹ and 15 kg K₂O ha⁻¹, as it was the optimal rate for rice production in this area, and the other half of the N was applied 30 days later.

Foliar application of zinc

The farmers’ plots at each location were arranged in randomized complete block designs with three independent replications. The treatments consisted of non-foliar application of Zn (Zn0) and foliar application of Zn (Zn+). In the case of the foliar Zn treatment, Zn was applied at the rate of 0.5% ZnSO₄·7H₂O at three different growth stages: (i) booting, (ii) flowering, and (iii) early milk stage. The spray solution was prepared by dissolving ZnSO₄ in deionized water. The foliar application was carried out by evenly spraying the solution until most of the shoot parts were wet and the solution had just begun to drip from the leaves. The spraying was always conducted in the late afternoon (~5 pm). The non-foliar Zn treatment consisted of spraying with deionized water. At maturity, the grain yield and the yield components (straw dry weight, clum length, panicle length, 1000 seed weight, number of filled grain and tiller) of 1 m² were evaluated. Brown rice (husk manually removed by hand) was analyzed for Zn concentration to compare the non-foliar and foliar treatments.

Sowing enriched Zn seeds

The Zn-enriched (Zn+) and Zn non-enriched (Zn0) seeds of the variety RD 14 used in the next field experiment were derived from the foliar spray experiment described above. The Zn-enriched seeds contained 18-21 mg Zn kg⁻¹ and the Zn non-enriched seeds 15-16 mg Zn kg⁻¹. The seeds were sown on a seedbed for seedling preparation. The 30-day-old seeds were then transplanted into the plots of 20×20 m² by using standard farmers’ practice with three replications. This second field experiment used the same basal fertilizer applications and soil management practices as the first experiment. At grain maturity, the grain yield was determined; brown rice was used for the analysis of the Zn concentration.

Chemical analysis

The soil fertility characteristics were determined from soil samples collected from a depth of 30 cm. The following soil parameters were analyzed: pH (measured in 1:1, soil:water), organic matter, available phosphorus (by Bray II), extractable potassium, and

diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA)-extractable Zn. The seed Zn concentration was analyzed in brown rice (without husk) through atomic absorption spectrophotometer after the dry-ashing method (Zarcinas et al., 1987).

Statistical analysis

The data were subjected to combined analysis of variance (ANOVA); means that were significantly different were separated at $P < 0.05$ by the least significant difference (LSD) at $P < 0.05$.

RESULTS

The experimental soils differed in soil pH and soil texture (Table 1). In location 3, the sand percentage was very high (about 61%). Location 3 also had higher DTPA-extractable Zn and lower soil pH compared to the other two locations. The soils were similar in organic matter content.

Table 1. Chemical and physical properties of soils in three farmers' field locations.

Location	pH	Organic	Zn (mg kg ⁻¹)	Sand (%)	Silt (%)	Clay (%)	Texture
1	6.49	1.57	1.33	40.3	41.0	18.9	Loam
2	6.69	1.24	1.28	42.9	33.0	42.0	Loam
3	6.02	1.40	1.53	61.1	26.0	13.4	Sandy loam

Foliar application of Zn had no effect on grain yield or yield component in all farmers' fields, except for the percentage of filled grain (Table 2). However, the Zn effect on the percentage of filled grain was not consistent. The average grain yield was 6.4 ton ha⁻¹, which was not statistically different between the farmers' fields.

Table 2. Yield and yield components of rice cultivar RD 14 with (Zn+) and without (Zn0) foliar application of 0.5% ZnSO₄·7H₂O at three different locations.

Location	Treatment	Yield (ton ha ⁻¹)	Culm length (cm)	Panicle length (cm)	1,000 seed weight (g)	%Filled grain	Dry straw weight (g plant ⁻¹)	Tiller plant ⁻¹
Location 1								
	Zn0	6.1	85.1	17.1	29.1	71.7 a	488.9	17.4
	Zn+	6.9	90.3	14.9	29.6	85.5 b	540.5	15.4
Location 2								
	Zn0	6.4	88.5	15.0	29.5	88.0 b	524.5	15.1
	Zn+	6.1	85.0	15.0	29.0	73.1 a	501.3	16.0
Location 3								
	Zn0	6.6	87.1	15.3	28.8	84.8 a	490.7	16.0
	Zn+	6.2	84.6	15.7	30.2	88.4 a	481.8	16.1

Table 2. Continued.

Location	Treatment	Yield (ton ha ⁻¹)	Culm length (cm)	Panicle length (cm)	1,000 seed weight (g)	%Filled grain	Dry straw weight (g plant ⁻¹)	Tiller plant ⁻¹
Mean		6.4	86.8	15.5	29.4	81.9	504.6	16.0
F-test (<i>P</i> <0.05)	Location (L)	ns	ns	ns	ns	**	ns	ns
	Treatment (T)	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	L×T	ns	ns	ns	ns	**	ns	ns
LSD _{0.05} (L×T)		-	-	-	-	6.3	-	-

Note: Different lowercase letters indicate significant difference between Zn treatments at *P*<0.05; ‘ns’ indicates ‘no significant difference’ between field locations and Zn treatments at *P*<0.05.

The Zn concentration measured in the brown rice was significantly (*P*<0.05) affected by the foliar Zn treatment in the three field locations (Table 3). The foliar application of Zn increased the grain Zn concentration in all the fields compared to the controls; the increases ranged from 21% (location 3) to 41% (location 1), with an average increase in the three fields of 32% (Table 3). When Zn was not sprayed, the grain Zn concentrations in the three farmers’ fields did not differ significantly.

Table 3. Effect of foliar Zn spray in the form of ZnSO₄ at a rate of 0.5% on Zn concentrations of brown rice in three farmers’ fields.

Treatment/location	Zn concentration of brown rice (mg kg ⁻¹)							
	Location 1		Location 2		Location 3		Mean	
Zn0	15.4	Ab	16.7	Ab	15.4	Ab	15.8	
Zn+	21.7	Aa	21.9	Aa	18.7	Ba	20.8	
Mean	18.5		19.3		17.1			
F-test (<i>P</i> <0.05)								
Location (L)				ns				
Treatment (T)				**				
L×T				*				
LSD _{0.05} (L×T)				1.6				

Note: The data are the means of three independent replications. Different uppercase letters indicate significant difference between field locations and lowercase letters indicate significant difference between Zn treatments at *P*<0.05; ‘ns’ indicates ‘no significant difference’ between field locations and Zn treatments at *P*<0.05.

In the next experiments, Zn-enriched and non-enriched rice seeds were sown to study the role of high concentrations of seed Zn on plant yield. In all three locations, seeds with higher Zn did not affect the grain yield (Table 4). Similarly, the Zn-enriched seeds did not affect the Zn grain concentrations in the mature grain.

Table 4. Grain yield of rice grown from Zn-enriched seed by foliar application of Zn.

Treatment/location	Grain yield (ton ha ⁻¹)			
	Location 1	Location 2	Location 3	Mean
Zn0	5.2	4.5	4.8	4.8
Zn+	4.5	5.1	4.6	4.8
Mean	4.9	4.8	4.8	4.8
F-test ($P<0.05$)				
Location (L)		ns		
Treatment (T)		ns		
L×T		ns		

Treatment/location	Grain Zn concentration (mg kg ⁻¹)			
	Location 1	Location 2	Location 3	Mean
Zn0	20.2	19.5	19.5	19.7
Zn+	19.6	19.2	19.5	19.4
Mean	19.9	19.4	19.5	-
F-test ($P<0.05$)				
Location (L)		ns		
Treatment (T)		ns		
L×T		ns		

Note: 'Zn0' indicates that the plants were derived from low-Zn seeds (15-16 mg kg⁻¹) and 'Zn+' indicates that the plants were derived from high-Zn seeds (18-21 mg kg⁻¹). The data are the means of three independent replications. 'ns' indicates 'no significant difference' between field locations and Zn treatments at $P<0.05$.

DISCUSSION

The results obtained from this study confirmed that foliar application of Zn improved grain Zn in rice grown under farmers' field conditions (Table 3). Previous studies have shown a similar affect, but most were conducted under controlled conditions at experimental research units of universities or institutes (Stomp et al., 2011; Phattarakul et al., 2012; Ram et al., 2016). The present results showed that increases in grain Zn also occurred under farmers' field conditions with different soil chemical and physical properties.

Foliar application of Zn has been suggested as an effective method in correcting Zn deficiency and improving grain Zn concentration in rice (Wissuva et al., 2007; Jiang et al., 2008; Stomph et al., 2011). The Zn sprayed by foliar fertilizers is absorbed by the leaf epidermis, and remobilized and transferred into the rice grain through the phloem (Wu et al., 2010) with the contribution of several Zn-regulating transporter proteins (Li et al., 2013). These processes have been demonstrated in other crops, such as wheat, which efficiently remobilizes Zn from

leaves to grain (Grewal and Graham, 1999), but the same has not always been the case with rice (Jiang et al., 2007; Wu et al., 2010). The phloem mobility of Zn in rice is less understood than in wheat, limiting attempts to maximize grain Zn enrichment (Cakmak, 2008).

The rice genotype and growth conditions have the largest effect on the agronomic effectiveness of foliar Zn spray to enhance grain Zn (Wissuwa et al., 2007; Phattarakul et al., 2012; Boonchuay et al., 2013; Mabesa et al., 2013). In good agreement with these previous studies, this study also showed that the effect of foliar Zn spray varied greatly between the three farmers' fields (Table 3) with their different soils (Table 1). The loamy texture of the soil in location 1 and location 2 resulted in higher grain Zn concentration compared to the sandier soil in location 3, despite its higher soil Zn concentration.

Foliar application of Zn had no effect on grain yield and many of the yield components measured in this study. This was probably due to the high DTPA-extractable Zn concentrations in the soils (Table 1), which ranged from 1.3 mg kg^{-1} to 1.5 mg kg^{-1} – all well above the critical level of soil Zn deficiency at 0.5 mg kg^{-1} (Alloway, 2008; Mabesa et al., 2013). During field visits, we observed no visible symptoms of Zn deficiency on the plants. A previous study also reported that foliar application of Zn at various growth stages and frequencies had no effect on grain yield and yield components in rice plants (Boonchuay et al., 2013). An increase in grain yield after foliar application of Zn could be expected when plants are grown on a Zn-deficient soil, as reported in both rice and wheat (Wissuwa et al., 2007; Cakmak et al., 2010).

It has been well documented that using seeds with high Zn concentrations improved the growth and development of plants, especially under Zn-deficient soil conditions (Yilmaz et al., 1998; Prom-u-thai et al., 2012; Boonchuay et al., 2013). However, in the present study, using Zn-enriched seeds in farmers' fields did not affect the grain yield and Zn concentration in the next crop compared to using non-enriched seeds. As with our first experiment, the high amounts of available Zn already in the soil was the likely reason.

In conclusion, foliar application of Zn improved rice grain Zn concentrations under field conditions on farms with different soil properties in Chiang Mai, Thailand. High concentrations of Zn in rice seed would help improve human nutrition and health as well as provide several agronomic benefits, including better seedling vigor and seed viability, higher yield, and reduced seed rate required for sowing, especially when plants are grown on Zn-deficient soils. However, the foliar Zn spray in this study did not affect grain yield, which was probably due to the already high availability of Zn in the studied fields. Similar field experiments on farms, rather than under controlled research conditions, are needed in fields with Zn-deficient soils.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was financially supported by the HarvestZinc Project (www.harvestzinc.org), Thailand Research Fund (RSA6080024), and Functional Food Research Center for Well-being, Chiang Mai University, Thailand. The authors extend their thanks to all the farmers involved for their contribution to this research.

REFERENCES

- Alloway, B.J. 2008. Zinc in soils and crop nutrition. International Zinc Association, Brussels. International Fertilizer Industry Association, Paris.
- Black, R.E., Allen, L.H., Bhutta, Z.A., Caulfield, L.E., de Onis, M., Ezzati, M., Mathers, C., and Rivera, J. 2008. Maternal and child under nutrition: global and regional exposures and health consequences. *Lancet*. 371: 243–260. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)61690-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)61690-0)
- Boonchuay, P., Cakmak, I., Rerkasem, B., and Prom-U-Thai, C. 2013. Effect of different foliar zinc application at different growth stages on seed zinc concentration and its impact on seedling vigor in rice. *Soil Science and Plant Nutrition*. 59: 180–188. <https://doi.org/10.1080/00380768.2013.763382>
- Bouis, H.E. 2002. Plant breeding: a new tool for fighting micronutrient malnutrition. *Journal of Nutrition*. 132 (3): 491S–494S. <https://doi.org/10.1093/jn/132.3.491S>
- Cakmak, I. 2000. Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species. *New Phytology*. 146: 185–205. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2000.00630.x>
- Cakmak, I. 2008. Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification? *Plant and Soil*. 302: 1–17. <https://doi.org/10.1007/s11104-007-9466-3>
- Cakmak, I., Kalayci, M., Kaya, Y., Torum, A.A., Aydin, N., Wang, Y., Arizoy, Z., Erdem, H., Yazici, A., Gokmen, O., et al. 2010. Biofortification and localization of zinc in wheat grain. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 58: 9092–9102. <https://doi.org/10.1021/jf101197h>
- Cakmak, I., and Kutman, U.B. 2017. Agronomic biofortification of cereals with zinc: a review. *European Journal of Soil Science*, In press.
- Chang, H.B., Lin, C.W., and Huang, H.J. 2005. Zinc-induced cell death in rice (*Oryza Sativa* L.) Roots. *Plant Growth Regulator*. 46: 261–266. <https://doi.org/10.1007/s10725-005-0162-0>
- Gibson, R.S., Manger, M.S., Krittaphol, W., Pongcharoen, T., Gowachirapant, S., Bailey, K.B., and Winichagoon, P. 2007. Does zinc deficiency play a role in stunting among primary school children in NE Thailand? *British Journal of Nutrition*. 97: 167–175. <https://doi.org/10.1017/S0007114507250445>
- Graham, R.D., Senadhira, D., Beebe, S., Iglesias, C., and Monasterio, I. 1999. Breeding for micronutrient density in edible portions of staple food crops: conventional approaches. *Field Crops Research*. 60: 57–80. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(98\)00133-6](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(98)00133-6)
- Grewal, H.S., and Graham, R.D. 1999. Residual effects of subsoil zinc and oilseed rape genotype on the grain yield and distribution of zinc in wheat. *Plant and Soil*. 207: 29–36. <https://doi.org/10.1023/A:1004479911399>
- Hotz, C., and Brown, K.H. 2004. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. International nutrition foundation: for UNU.
- Jaksomsak, P., Sangruan, P., Thomson, G., Rerkasem, B., Dell, B., and Prom-u-thai, C. 2014. Uneven distribution of zinc in the dorsal and ventral sections of rice grain. *Cereal Chemistry*. 91: 124–129. <https://doi.org/10.1094/CCEM-09-13-0185-R>

- Jiang, W., Struik, P.C., Lingna, J., Van Keulen, H., Ming, Z., and Stomph, T.J. 2007. Uptake and distribution of root-applied or foliar-applied ⁶⁵Zn after flowering in aerobic rice. *Annual Apply Biology*. 150: 383–391. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2007.00138.x>
- Jiang, W., Struik, P.C., Van Keulen, H., Zhao, M., Jin, L.N., and Stomph, T.J. 2008. Does increased zinc uptake enhance grain zinc mass concentration in rice? *Annual Apply Biology*. 153: 135–147. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2008.00243.x>
- Li, S., Zhou, X., Huang, Y., Zhu, L., Zhang, S., Zhao, Y., Guo, J., Chen, J., and Chen, R. 2013. Identification and characterization of the zinc-regulated transporters, iron-regulated transporter-like protein (ZIP) gene family in maize. *BMC Plant Biology*. 8(13): 114–125. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-13-114>
- Mabesa, R.L., Impa, S.M., Grewal, D., and Johnson-Beebout, S.E. 2013. Contrasting grain-Zn response of biofortification rice (*Oryza sativa* L.) breeding lines to foliar Zn application. *Field Crops Research*. 149: 223–233. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2013.05.012>
- Marschner, P. 2012. *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants* (Third Edition). Amsterdam, Natherlands, Elsevier/Academic Press.
- National Research Council. 1989. *Recommended Dietary Allowances*. 10th Edition. National Academies Press.
- Panomjan, N., Jamjod, S., Rerkasem, B., Dell, B., and Prom-u-thai, C. 2016. Variation of zinc concentration in rice caryopsis and husk among southern rice varieties grown in southern and northern Thailand. *Chiang Mai University Journal of Natural Science*. 15: 1-10. <https://doi.org/10.12982/cmujns.2016.0001>
- Phattarakul, N., Rerkasem, B., Li, L.J., Wu, L.H., Zou, C.Q., Ram, H., Sohu, V.S., Kang, B.S., Surek, H., Kalayci, M., et al. 2012. Biofortification of rice grain with zinc through zinc fertilization in different countries. *Plant and Soil*. 361: 131–141. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1211-x>
- Prom-u-thai, C., Rerkasem, B., Cakmak, I., and Huang, L. 2010. Zinc fortification of whole rice grain through parboiling process. *Food Chemistry*. 120: 858–863. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.027>
- Prom-u-thai, C., Rerkasem, B., Yazici, A., and Cakmak, I. 2012. Zinc priming promotes seed germination and seedling vigor of rice. *Plant Nutrition and Soil Science*. 175: 482–488. <https://doi.org/10.1002/jpln.201100332>
- Ram, H., Rashid, A., Zhang, W., Duarte, A.P., Phattarakul, N., Simunji, S., Kalayci, M., Freitas, R., Rerkasem, B., Bal, R.S., et al. 2016. Biofortification of wheat, rice and common bean by applying foliar zinc fertilizer along with pesticides in seven countries. *Plant and Soil*. 403: 389-401. <https://doi.org/10.1007/s11104-016-2815-3>
- Saenchai, C., Prom-u-thai, C., Jamjod, S., Dell, B., and Rerkasem, B. 2012. Genotypic variation in milling depression of iron and zinc concentration in rice grain. *Plant and Soil*. 361 (1-2): 271-278. <https://doi.org/10.1007/s11104-012-1228-1>
- Stomph, T.J., Choi, E.Y., and Stangoulis, J.C.R. 2011. Temporal dynamics in wheat grain zinc distribution: is sink limitation the key? *Annual of Botany*. 107: 927–937. <https://doi.org/10.1093/aob/mcr040>

- Thurlow, R.A., Winichagoon, P., Pongcharoen, T., Gowachirapant, S., Boonpraderm, A., Manger, M.S., Bailey, K.B., Wasantwisut, E., and Gibson, R.S. 2005. Risk of zinc, iodine and other micronutrient deficiencies among school children in North East Thailand. *European Journal of Clinical Nutrition*. 60: 623–632. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602361>
- Welch, R.M., and Graham, R.D. 2004. Breeding for micronutrients in staple food crops from a human nutrition perspective. *Journal of Experimental Botany*. 55: 353–364. <https://doi.org/10.1093/jxb/erh064>
- Wissuwa, M., Ismail, A.M., and Graham, R.D. 2007. Rice grain zinc concentrations as affected by genotype, native soil-zinc availability, and zinc fertilization. *Plant and Soil*. 306: 37–48. <https://doi.org/10.1007/s11104-007-9368-4>
- Wu, C., Lu, L., Yang, X., Feng, Y., Wei, Y., Hao, H., Stoffella, P.J., and He, Z. 2010. Uptake, translocation, and remobilization of zinc absorbed at different growth stages by rice genotypes of different Zn densities. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 58: 6767–6773. <https://doi.org/10.1021/jf100017e>
- Yilmaz, A., Ekiz, H., Gültekin, I., Torun, B., Barut, H., Karanlik, S., and Cakmak, I. 1998. Effect of seed zinc content on grain yield and zinc concentration of wheat grown in zinc-deficient calcareous soils. *Journal of Plant Nutrition*. 21: 2257–2264. <https://doi.org/10.1080/01904169809365559>
- Zarcinas, B.A., Cartwright, B., and Spouncer, L.R. 1987. Nitric acid digestion and multi-element analysis of plant material by inductively coupled plasma spectrometry. *Communication of Soil Science and Plant Analysis*. 18: 131–146. <https://doi.org/10.1080/00103628709367806>



Shoot and root growth of rice seedlings as affected by soil and foliar zinc applications

Piyawan Phuphong, Ismail Cakmak, Atilla Yazici, Benjavan Rerkasem & Chanakan Prom-u-Thai

To cite this article: Piyawan Phuphong, Ismail Cakmak, Atilla Yazici, Benjavan Rerkasem & Chanakan Prom-u-Thai (2020) Shoot and root growth of rice seedlings as affected by soil and foliar zinc applications, Journal of Plant Nutrition, 43:9, 1259-1267, DOI: [10.1080/01904167.2020.1730900](https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1730900)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1730900>



Published online: 24 Feb 2020.



Submit your article to this journal [↗](#)



Article views: 71



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)



Shoot and root growth of rice seedlings as affected by soil and foliar zinc applications

Piyawan Phuphong^a, Ismail Cakmak^b, Atilla Yazici^b, Benjavan Rerkasem^c, and Chanakan Prom-u-Thai^{a,d}

^aAgronomy Division, Department of Plant and Soil Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand; ^bFaculty of Engineering and Natural Sciences, Sabanci University, Istanbul, Turkey;

^cPlant Genetic Resource and Nutrition Laboratory, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand; ^dLanna Rice Research Center, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand

ABSTRACT

The present study investigated how foliar zinc (Zn) application affects seedling growth and Zn concentration of rice grown in a Zn-deficient calcareous soil with different soil Zn treatments. Seeds were sown in soil with five rates of Zn (0, 0.02, 0.1, 0.5 and 5.0 mg kg⁻¹ soil) with and without foliar application of 0.5% ZnSO₄. Seedlings were harvested at 35 days and separated into (i) the youngest leaves, (ii) the remaining shoot parts and (iii) roots. In soil with no Zn supply, shoot and root dry weight of the rice seedlings were significantly increased by foliar and soil Zn treatments. Plant growth was not clearly increased in low soil Zn treatments, while at each soil Zn treatment, foliar Zn application promoted growth of plants. Plants with adequate Zn supply had the highest Zn concentrations in the youngest leaf. Foliar Zn spray improved Zn concentration of the new growth formed after foliar spraying which shows that Zn is phloem mobile and moved from treated leaves into youngest new leaves. The results indicate clearly in rice seedlings that shoot growth shows more responsive to low Zn than the root growth. The results obtained in the present study are of great interest for proper rice growth in Zn-deficient calcareous soils but needs to be confirmed in other rice genotypes.

ARTICLE HISTORY

Received 11 July 2019

Accepted 3 November 2019

KEYWORDS

Foliar zinc application; rice; seedling growth; zinc deficiency; zinc fertilization

Introduction

Zinc is one of the key micronutrients that plays diverse critical physiological roles in plants including protein biosynthesis, gene expression and detoxification of highly toxic oxygen free radicals (Cakmak and Marschner 1993; Cakmak 2000; Broadley et al. 2007). Zinc is involved in many physiological processes of plant growth and metabolism, including enzyme activation, protein synthesis, metabolism of carbohydrates, auxins and nucleic acids, gene expression and regulation and reproductive development (pollen formation) (Marschner 2012; Cakmak 2000).

Rice (*Oryza sativa* L.) is one of the staple crops feeding more than half of the world's population, most notably in Asia. To feed an ever-increasing world population, an increase in rice production per unit area is urgently required (Von Grebmer et al. 2008). Although high-yield varieties are available, a large variation yield gap exists among rice-growing countries. Nutrients and water are two factors that frequently limit the growth and yield of the world's rice crop (Yoshida 1981). After nitrogen (N), phosphorus (P) and potassium (K), widespread Zn deficiency

is responsible for yield reduction in rice, especially in critical stages such as seedlings that suffer from the shock of transplantation (Fageria, Baligar, and Clark 2002; Quijano-Guerta et al. 2002; Rehman et al. 2012). Recently, it has been shown that adequate Zn nutrition mitigates salinity stress in rice, probably by stimulating K uptake and improving membrane stability (Tufail et al. 2018).

In tropical lowland rice, transplanting of seedlings at 25–30 days after germination is a common practice among farmers (De Datta 1981). Zinc deficiency is considered a major nutritional stress during the seedling stage that continues to the post-transplantation period (Dobermann and Fairhurst 2000; Quijano-Guerta et al. 2002). Producing vigorous seedlings by Zn fertilization is of great importance for increasing and ensuring better grain yield, especially when rice is cultivated in soils with low Zn availability, such as soils with high pH and/or high carbonate content and low redox potential (Mandal, Hazra, and Mandal 2000; Alloway 2009).

Foliar Zn application is a particularly advantageous method of enhancing both grain yield and Zn concentration in the grains compared with soil Zn application, as it avoids the complex soil interactions that limit plant Zn uptake through the roots (Mabesa et al. 2013). Foliar Zn application has been reported to increase wheat grain yield and grain Zn content as shown in several studies (Yilmaz et al. 1997; Zhang et al. 2010; Cakmak and Kutman 2018). Rice grain Zn has also been shown to be increased by foliar Zn application (Phattarakul et al. 2012; Boonchuay et al. 2013; Ram et al. 2016). These results also indicated that Zn shows a good phloem mobility in wheat and rice and moved to grains through phloem after absorption by the leaves. In previous studies, it has been shown in wheat plants that Zn has relatively high phloem mobility and up to 70% of the vegetative Zn is transported into grain, especially in case of high N supply (Kutman, Yildiz, and Cakmak 2011). On the other hand, rice seeds biofortified with Zn in field after foliar Zn spray (Boonchuay et al. 2013) or just before sowing through seed Zn priming (Slaton et al. 2001; Prom-u-Thai et al. 2012) showed much better germination and seedling vigor than the seeds without Zn enrichment. Dipping the roots of rice seedlings in a Zn solution (e.g., a 1% suspension of ZnO) before transplanting has been also shown to increase rice yield in Zn-deficient soils (Yoshida et al. 1970; Sharma, Takkar, and Sadana 1982) and has been recommended as one of the ways in which Zn deficiency in transplanted rice can be overcome (Yoshida et al. 1970).

It has been documented that shoot and root growth of rice seedling at 14 days after sowing affected differently by Zn fertilizer supplies. At sufficient Zn supply, a better seedling growth and development has been found with sufficient Zn than the deficient Zn supply (Impa and Johnson-Beebout 2012). In this study, shoot Zn concentrations of plants were 12.9 mg kg^{-1} for low Zn plants and 22 mg kg^{-1} for Zn-sufficient plants. In a previous study, it has been reported that the critical Zn concentration at early growth stage in the shoot should be $15\text{--}20 \text{ mg kg}^{-1}$ for lowland rice (Dobermann and Fairhurst 2000). In the present study, we grown young rice plants under varied soil and foliar applications to investigate how root and shoot growth are affected by soil and foliar applications of Zn. Additionally, Zn concentration of new growth (i.e., recently developed youngest leaves) was studied after foliar spray of Zn to young rice plants.

Materials and methods

The experiment was conducted in pots under controlled glasshouse conditions at the Faculty of Engineering and Natural Sciences, Sabanci University. The experiment used a completely randomized block design with ten treatments in a factorial combination of two foliar Zn (designated foliar Zn) and five soil Zn applications (designated soil Zn) with four independent replications.

Table 1. Chemical and physical properties of soil used in this experiment.

Texture	Loamy clay
pH	7.6
Organic matter	1.5%
CaCO ₃	18%
Extractable Zn concentration (DTPA)	0.1 mg kg ⁻¹

Source: Kutman et al. (2010).

Soil Zn application and plant culture

Rice seed of the cultivar Osmancik 97 was obtained from the Turkish Agriculture Institute. Seeds used in the experiments were first surface sterilized by washing three times with DDI water before soaking in 0.1% NaClO for 1 min, then rinsed three times with DDI water. The seeds were sown in 2.2 kg pots of soil which received increasing amount of Zn application (i.e., 0, 0.02, 0.1, 0.5 and 5.0 mg Zn kg⁻¹ soil) in form of ZnSO₄ 7H₂O. The soil used in the experiment had a loamy clay texture, pH 7.6, 1.5% organic matter, 18% CaCO₃ and the diethylenetriamine penta-acetic acid (DTPA)-extractable Zn concentration before Zn treatment was 0.1 mg kg⁻¹ soil (Table 1) (Kutman et al. 2010). The nitrogen, phosphorus, potassium, sulfur and iron fertilizers were applied in form of CaNO₃, KH₂PO₄, K₂HPO₄, K₂SO₄ and Fe-sequestrene (FeEDDHA) at the rate of 200, 150, 262, 30 and 10 mg kg⁻¹ soil, respectively by evenly mixed the fertilizer solution into soil at pot preparation. The pot plants were subjected to water at about field capacity twice daily until harvested.

Foliar Zn application

The foliar Zn spray was realized at the rate of 0.5% ZnSO₄ 7H₂O in deionized water. The first spray was made at seven days after sowing (early seedling stage with single leaf) and then repeated at 28 days after sowing (late seedling stage with 3–4 leaves). The treatment with no foliar Zn was by using DDI water. The spray solutions contained 0.01% of Tween 20 as a surfactant that was mixed well with the Zn solution before the foliar spray starts. A protective cover was placed above the soil surface while applying the foliar Zn fertilizer to prevent any drops of Zn solution from shoot or directly spray solution.

Sample collection and Zn concentration analysis

At harvest, plants were at the beginning of stem elongation stage (35 days old), and following three fractions were collected: (i) the youngest leaf (the new growth that was developed after the last foliar spray), (ii) the remaining shoot part (i.e., the part that was directly exposed to foliar Zn spray) and (iii) roots. All harvested plant parts were first washed under running tap water, then briefly (10–15 s) with 0.1% HCl solution and thereafter completely rinsed in deionized water which was enough for removing root surface ad-hearing Zn (Reuter and Robinson 1997). The washed samples were dried at 80 °C for 72 h, and plant dry weight was recorded. Zinc concentration in the plant parts was analyzed by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) (Vista-Pro Axial; Varian Pty Ltd., Mulgrave, Australia). For the ICP-OES analysis of Zn, approximately 0.25 g of ground sample was subjected to acid-digestion in a closed-vessel microwave system (MarsExpress; CEM Corp., Matthews, NC, USA). The ground peach leaves received from National Institute of Standard and Technology were used as the standard reference material (SRM 1547) at each batch.

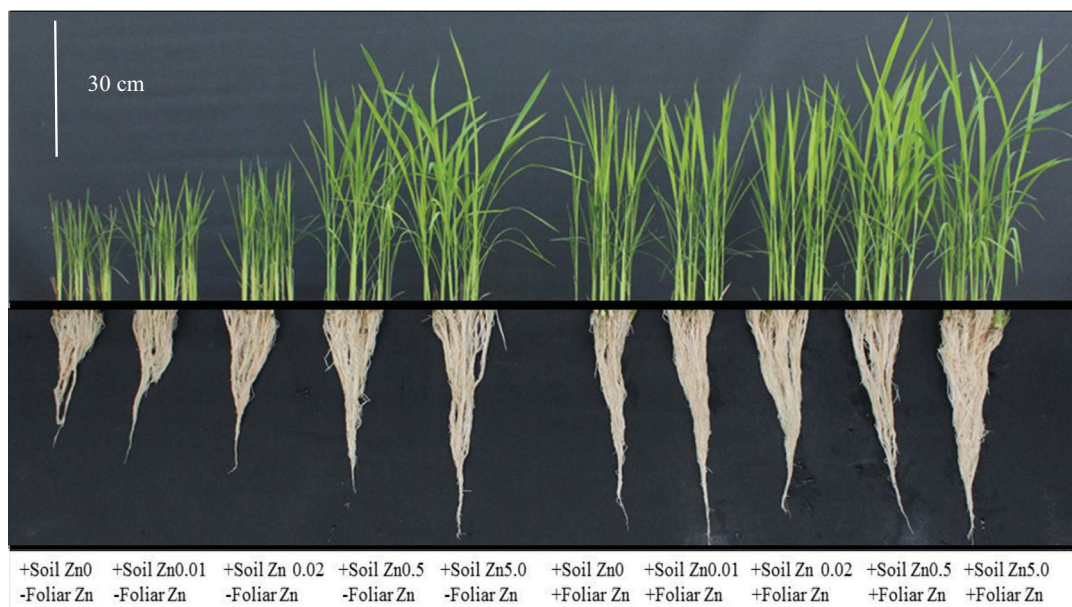


Figure 1. Shoot and root characteristics of rice seedlings grown in different soil Zn treatments by supplying of 0, 0.02, 0.1, 0.5 and 5.0 mg Zn kg⁻¹ soil in form of ZnSO₄ 7H₂O with and without foliar Zn application at the rate of 0.5% ZnSO₄ 7H₂O in deionized water.

Data analysis

Analysis of variance was carried out to detect differences among the Zn treatments using Statistic 8 analytical software (SXW, Tallahassee, FL, USA). The least significant difference (LSD) at $p < .05$ was applied to compare the means for significant differences between treatments. Pearson correlation analysis was used to test the significance of each correlation.

Results

Shoot and root dry weight

There was an interaction between soil Zn and foliar Zn supplies on shoot and root dry weight ($p < .05$) (Table 1). In soil with extremely limited Zn, shoot and root dry weight of rice seedlings were increased by both soil Zn and foliar Zn applications. Shoot dry weight was doubled by either foliar Zn or soil application at 0.5 mg Zn kg⁻¹, while soil Zn alone at 0.05 and 0.1 mg kg⁻¹ had little effect (Figures 1 and 2A). The root dry weight was less responsive to foliar Zn and more responsive to soil Zn, with significant effect only when the foliar Zn was applied in combination with 0.02 mg Zn kg⁻¹ soil, or when the soil application alone was increased to 0.5 mg kg⁻¹ or more (Figures 1 and 2B). The results also showed existence of a significant linear relationship between shoot and root dry weight of the seedlings grown in different Zn treatments ($r = 0.94$, $p < .05$) (Figure 3).

Zn concentration in young leaf and root

The concentration of Zn in the young leaves and roots was affected by soil Zn and foliar Zn applications, respectively (Table 2). The foliar Zn treatment tended to reduce the root Zn concentration compared with those in soil Zn applications, while the effects of the soil Zn treatments were not significant. Foliar application in case of the 0.02 mg kg⁻¹ soil Zn treatment had the

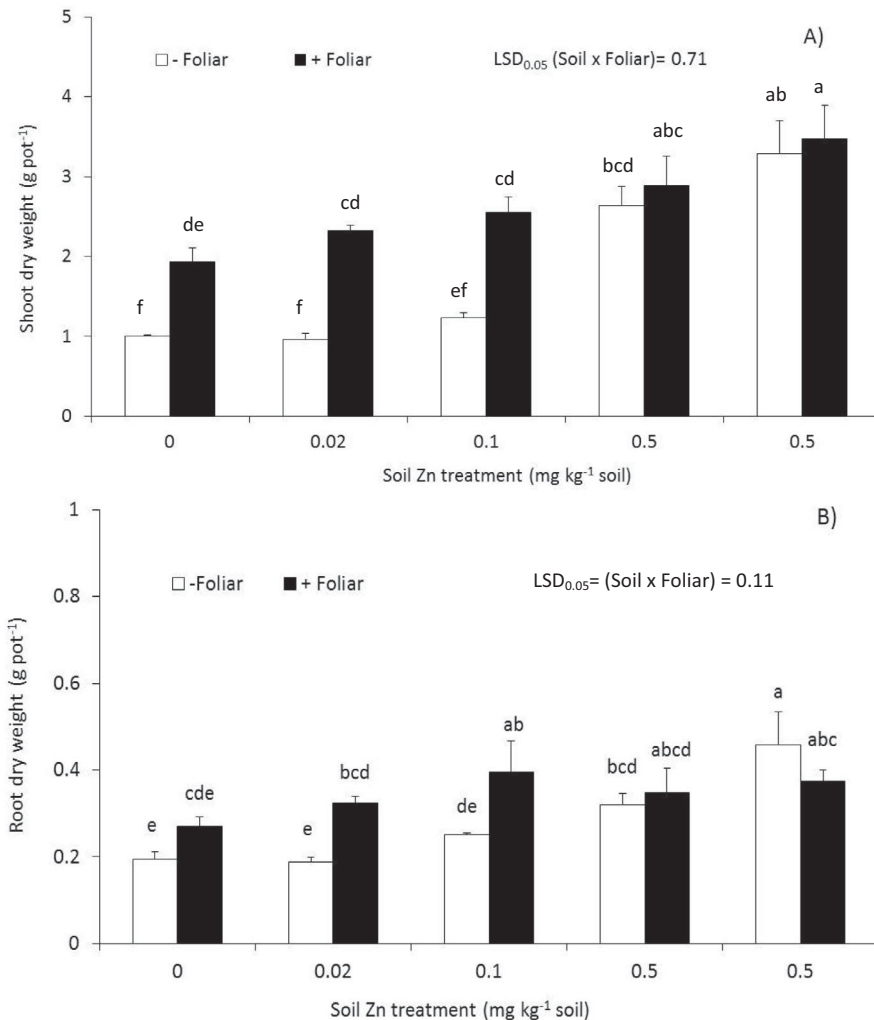


Figure 2. Dry weight of shoots (A) and roots (B) of rice seedlings grown in different soil Zn treatments with and without foliar zinc fertilizer at 0.5% ZnSO₄. Different lowercase letters above bars indicate significant differences between treatment means at $p < .05$. Lines above bars indicate standard error of mean.

highest root Zn concentration, while the lowest concentration was found when foliar Zn was applied (Table 3). In case of some soil Zn treatments as shown in Table 3, foliar Zn supply increased the Zn concentration of the new young leaves which were developed after foliar Zn spray. With exception of the lowest soil Zn supply, foliar Zn spray had always positive effect on Zn concentration of young leaves (i.e., new growth). The highest Zn concentration in the new young leaf was found at the higher rate of 5.00 mg kg⁻¹ soil Zn supply both with and without foliar Zn application.

Discussion

This study has demonstrated the positive effects of foliar and soil Zn application on the growth and Zn accumulation in rice seedlings grown in a Zn-deficient calcareous soil. The critical deficiency level of Zn in the whole shoot of rice seedlings was established at 15–18 mg Zn kg⁻¹ dry weight (Forno, Asher, and Yoshida 1975). The seedlings produced in the present study without

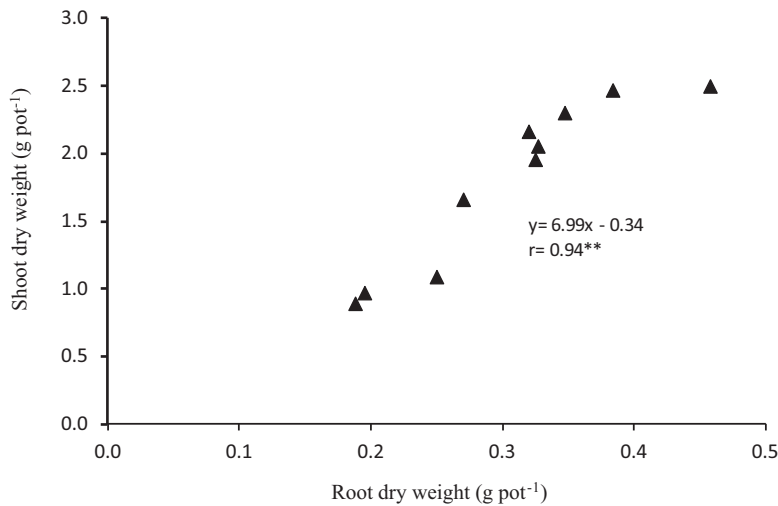


Figure 3. The relationship between shoot and root dry weight of rice seedlings grown in different soil Zn treatments with and without foliar zinc fertilizer ($n = 10$).

Table 2. Analysis of variance for dry weight of shoot and root, Zn concentration in the youngest leaf and root and Zn content in shoot and root of rice seedlings grown in different soil Zn treatments with and without foliar zinc at the rate of 0.5% $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

Characteristic	Plant part	Source		
		Soil Zn	Foliar Zn	Soil Zn \times Foliar Zn
Dry weight	Shoot	**	**	**
	Root	**	**	**
Zn concentration	Youngest leaf	*	Ns	ns
	Root	ns	*	ns
Zn content	Shoot	**	**	**
	Root	**	**	**

ns: no significant difference ($p > .05$); * and ** indicate significant difference at $p < .05$ and $p < .01$, respectively.

foliar Zn spray and with low soil Zn supply (below $0.5 \text{ mg Zn kg}^{-1}$ soil) were all deficient in Zn. This study also indicated that low levels of Zn concentration in seedling stage were $10\text{--}15 \text{ mg Zn kg}^{-1}$ and that Zn deficiency was effectively corrected by foliar Zn application. The plants with better Zn nutrition and growth had Zn concentrations over 23 mg Zn kg^{-1} dry weight in younger leaves which may indicate that younger leaves of rice plants during early stage of growth should contain at least 23 mg Zn kg^{-1} to ensure and maintain better growth on Zn-deficient calcareous soils.

The results given in Figure 1 and Table 3 indicate that shoot growth is more sensitive to Zn deficiency than the root growth. These results are in good agreement with the results obtained in bread and durum wheat plants published previously by Cakmak et al. (1996). Higher susceptibility of shoots to low Zn than root growth was ascribed to light-induced oxidative damage (i.e., photooxidative damage) in leaves under Zn deficiency (Cakmak et al. 1996). However, shoot and root growth were affected by soil and foliar Zn applications in similar ratio as indicated by the linear positive relationship between shoot and root dry weight in Figure 3.

Foliar Zn has been described as an efficient method of delivery of the nutrients to the plants, as it allows rapid absorption into the inner cell layers of the leaf and other organs (Ganapathy, Baradhan, and Ramesh 2008) by diffusion through the cuticle, transportation through the cell wall and finally movement through the plasma membrane by active transport (Tejada and Gonzalez 2004). The complex chemistry of flooded soil that limits Zn availability for plant uptake would explain the relative ineffectiveness of the soil Zn application compared with foliar Zn

Table 3. Zinc concentration in young leaves and roots of rice seedlings grown in different soil Zn treatments with and without foliar zinc at the rate of 0.5% ZnSO₄ 7H₂O.

Soil Zn (mg kg ⁻¹)	Youngest leaf Zn concentration (mg kg ⁻¹)		Mean
	– Foliar Zn	+ Foliar Zn	
0.00	15.0 ± 0.7	14.0 ± 0.5	14.5 b
0.02	10.8 ± 0.9	14.3 ± 1.5	13.4 b
0.10	9.8 ± 1.5	11.5 ± 2.0	10.6 b
0.50	9.8 ± 0.4	13.8 ± 4.0	11.8 b
5.00	22.0 ± 7.5	23.8 ± 7.3	22.9 a
Mean	13.5	15.5	
Soil Zn (mg kg ⁻¹)	Root Zn concentration (mg kg ⁻¹)		Mean
	– Foliar Zn	+ Foliar Zn	
0.00	148.5 ± 12	134.3 ± 11	141.4
0.02	191.5 ± 26	156.0 ± 8	173.8
0.10	172.8 ± 12	133.0 ± 6	152.9
0.50	165.5 ± 21	127.5 ± 14	146.5
5.00	173.0 ± 5	132.5 ± 6	152.8
Mean	170.3 A	136.7 B	
F-test	Youngest leaf	Root	
Soil Zn	*	ns	
Foliar Zn	ns	*	
Soil Zn × Foliar Zn	ns	ns	
CV (%)	40.8	19.3	

Data were log₁₀ transformed before analysis of variance. Values are mean ± SE.

*Indicates significant difference at $p < .05$.

Different lowercase and uppercase letters indicate significant differences of Zn concentration in the youngest leaf between treatment means of soil Zn application and Zn concentration in the roots between treatment means of –foliar Zn and + foliar Zn at $p < .05$, respectively.

(Alloway 2008; Mabesa et al. 2013). Foliar Zn application has been shown to be especially effective when spraying directly on the target organ, e.g., on the inflorescence of fruit trees before anthesis to improve fruit set (Swietlik 2002) or on the fruit or spike after flowering in order to increase Zn concentration of the seed or grain (Cakmak 2008; Zhang et al. 2010; Phattarakul et al. 2012; Boonchuay et al. 2013; Ram et al. 2016). No information is available concerning the critical Zn deficiency concentration in roots of rice or other plant species because of risks with soil Zn contamination and difficulties to remove the contaminated or adsorbed Zn through washing methods (Strasser, Köhl, and Römhelt 1999). The very high Zn concentrations (above 100 mg kg⁻¹) in the roots (Table 3) indicate clearly that Zn contamination of roots from soil particles deposited within root apoplasts and could not be washed and removed as known for Fe (Strasser, Köhl, and Römhelt 1999). Therefore, concentrations of Zn and other nutrients in soil-grown roots should be carefully evaluated. A previous study highlighted that Zn, labeled with ⁶⁵Zn, applied to leaves of wheat grown in solution culture was found to reach the root tips within 48 hr (Haslett, Reid, and Rengel 2001), indicating that foliar-applied Zn moves through phloem to roots. Zinc is one of the nutrients that can be remobilized in the phloem under the certain conditions (Marschner 2012). As shown in Table 3, foliar Zn spray in case of some soil Zn treatments improved Zn concentration of the new growth formed after foliar spraying which clearly shows that Zn is phloem mobile and moved from treated leaves into youngest new leaves. For practical purposes, a better growth of rice seedlings raised in Zn-deficient soil could be achieved quickly by applying foliar Zn in combination with a soil application. Foliar Zn application can be also helpful for better nutritional quality of rice grains. Published results showed that foliar Zn applications in rice significantly improved grain Zn concentration for a better human Zn nutrition (Phattarakul et al. 2012). It is known that in many rice consumption countries in Asia, Zn deficiency is a common nutritional problem in humans due to inadequate dietary Zn intake (Cakmak and Kutman 2018). This would be a great knowledge to minimize the occurrence

problem. Increasing of rice genotype is requiring for further understanding and confirming the results in this study.

Conclusion

Foliar Zn application to plants grown in soils with low Zn supply was effective in improving growth and Zn concentration of youngest leaves (i.e., new growth following foliar Zn spray). Considering the current study and also published results, it can be concluded that Zn is phloem mobile in rice. It is also very clear phenomenon that roots are less sensitive to low Zn than the shoots which may indicate importance of foliar Zn nutrition in rice.

Funding

This study has been financially supported by the HarvestPlus Program (www.harvestplus.org), the Thailand Research Fund (RSA6080024) and Chiang Mai University, Thailand.

References

- Alloway, B. J. 2008. *Zinc in soils and crop nutrition*. Brussels/Paris: International Zinc Association/International Fertilizer Industry Association.
- Alloway, B. J. 2009. Soil factors associated with zinc deficiency in crops and humans. *Environmental Geochemistry and Health* 31 (5):537–48. doi: [10.1007/s10653-009-9255-4](https://doi.org/10.1007/s10653-009-9255-4).
- Boonchuay, P., I. Cakmak, B. Rerkasem, and C. Prom-u-Thai. 2013. Effect of different growth stages on seed zinc concentration and its impact on seedling vigor in rice. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 59 (2):180–8. doi: [10.1080/00380768.2013.763382](https://doi.org/10.1080/00380768.2013.763382).
- Broadley, M. R., P. J. White, J. P. Hammond, I. Zelko, and A. Lux. 2007. Zinc in plants. *The New Phytologist* 173 (4):677–702. doi: [10.1111/j.1469-8137.2007.01996.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.01996.x).
- Cakmak, I. 2000. Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species. *The New Phytologist* 146 (2):185–205.
- Cakmak, I. 2008. Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification? *Plant and Soil* 302 (1–2):1–17. doi: [10.1007/s11104-007-9466-3](https://doi.org/10.1007/s11104-007-9466-3).
- Cakmak, I., and B. Kutman. 2018. Agronomic biofortification of cereals with zinc: A review. *European Journal of Soil Science* 69 (1):172–80. doi: [10.1111/ejss.12437](https://doi.org/10.1111/ejss.12437).
- Cakmak, I., and H. Marschner. 1993. Effect of zinc nutritional status on activities of superoxide radical and hydrogen peroxide scavenging enzymes in bean leaves. *Plant and Soil* 155–156 (1):127–30. doi: [10.1007/BF00025000](https://doi.org/10.1007/BF00025000).
- Cakmak, I., N. Sari, H. Marschner, M. Kalayci, A. Yilmaz, S. Eker, and K. Y. Gülüt. 1996. Dry matter production and distribution of zinc in bread and durum wheat genotypes differing in zinc efficiency. *Plant and Soil* 180 (2): 173–81. doi: [10.1007/BF00015300](https://doi.org/10.1007/BF00015300).
- De Datta, S. K. 1981. *Principle and practices of rice production*. New York: John Wiley and Sons.
- Dobermann, A., and T. H. Fairhurst. 2000. *Nutrient disorders and nutrient management*, 192. Singapore: Potash and Phosphate Institute, PPI of Canada and International Rice Research Institute.
- Fageria, N. K., V. C. Baligar, and R. B. Clark. 2002. Micronutrients in crop production. *Advances in Agronomy* 77: 189–272.
- Forno, D. A., C. J. Asher, and S. Yoshida. 1975. Zinc deficiency in rice: II. Studies on two varieties differing in susceptibility to zinc deficiency. *Plant and Soil* 42 (3):551–63. doi: [10.1007/BF00009942](https://doi.org/10.1007/BF00009942).
- Ganapathy, M., G. Baradhan, and N. Ramesh. 2008. Effect of foliar nutrition on reproductive efficiency and grain yield of rice fallow pulses. *Legume Research* 31:142–4.
- Haslett, B. S., R. J. Reid, and Z. Rengel. 2001. Zinc mobility in wheat: Uptake and distribution of zinc applied to leaves or roots. *Annals of Botany* 87 (3):379–86. doi: [10.1006/anbo.2000.1349](https://doi.org/10.1006/anbo.2000.1349).
- Impa, S. M., and S. E. Johnson-Beebout. 2012. Mitigating zinc deficiency and achieving high grain Zn in rice through integration of soil chemistry and plant physiology research. *Plant and Soil* 361 (1–2):3–41. doi: [10.1007/s11104-012-1315-3](https://doi.org/10.1007/s11104-012-1315-3).
- Kutman, B., B. Yildiz, L. Ozturk, and I. Cakmak. 2010. Biofortification of durum wheat with zinc through soil and foliar applications of nitrogen. *Cereal Chemistry* 87 (1):1–9. doi: [10.1094/CCHEM-87-1-0001](https://doi.org/10.1094/CCHEM-87-1-0001).

- Kutman, U. B., B. Yildiz, and I. Cakmak. 2011. Effect of nitrogen on uptake, remobilization, and partitioning of zinc and iron throughout the development of durum wheat. *Plant and Soil* 342 (1–2):149–64. doi: [10.1007/s11104-010-0679-5](https://doi.org/10.1007/s11104-010-0679-5).
- Mabesa, R. L., S. M. Impa, D. Grewal, and S. E. Johnson-Beebout. 2013. Contrasting grain-Zn response of biofortification rice (*Oryza sativa* L.) breeding lines to foliar Zn application. *Field Crops Research* 149:223–33. doi: [10.1016/j.fcr.2013.05.012](https://doi.org/10.1016/j.fcr.2013.05.012).
- Mandal, B., G. C. Hazra, and L. N. Mandal. 2000. Soil management influences on zinc desorption for rice and maize nutrition. *Soil Science Society of America Journal* 64 (5):1699–705. doi: [10.2136/sssaj2000.6451699x](https://doi.org/10.2136/sssaj2000.6451699x).
- Marschner, P. 2012. *Marschner's mineral nutrition of higher plants*. 3rd ed. Amsterdam: Elsevier/Academic Press.
- Phattarakul, N., B. Rerkasem, L. J. Li, L. H. Wu, C. Q. Zou, H. Ram, V. S. Sohu, B. S. Kang, H. Surek, M. Kalayci, et al. 2012. Biofortification of rice grain with zinc through zinc fertilization in different countries. *Plant and Soil* 361 (1–2):131–41. doi: [10.1007/s11104-012-1211-x](https://doi.org/10.1007/s11104-012-1211-x).
- Prom-u-Thai, C., B. Rerkasem, A. Yazici, and I. Cakmak. 2012. Zinc priming promotes seed germination and seedling vigor of rice. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 175 (3):482–8. doi: [10.1002/jpln.201100332](https://doi.org/10.1002/jpln.201100332).
- Quijano-Guerta, C., G. J. D. Kirk, A. M. Portugal, V. I. Bartolome, and G. C. McLaren. 2002. Tolerance of rice germplasm to zinc deficiency. *Field Crops Research* 76 (2–3):123–30. doi: [10.1016/S0378-4290\(02\)00034-5](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(02)00034-5).
- Ram, H., A. Rashid, W. Zhang, A. P. Duarte, N. Phattarakul, S. Simunji, M. Kalayci, R. Freitas, B. Rerkasem, R. S. Bal, et al. 2016. Biofortification of wheat, rice and common bean by applying foliar zinc fertilizer along with pesticides in seven countries. *Plant and Soil* 403 (1–2):389–401. doi: [10.1007/s11104-016-2815-3](https://doi.org/10.1007/s11104-016-2815-3).
- Rehman, H., T. Aziz, M. Farooq, A. Wakeel, and Z. Rengel. 2012. Zinc nutrition in rice production systems: A review. *Plant and Soil* 361 (1–2):203–26. doi: [10.1007/s11104-012-1346-9](https://doi.org/10.1007/s11104-012-1346-9).
- Reuter, D. J., and J. B. Robinson. 1997. *Plant analysis: An interpretation manual*. 2nd ed. Collingwood, VIC: CSIRO Publishing.
- Sharma, B. D., P. N. Takkar, and U. S. Sadana. 1982. Evaluation of levels and methods of zinc application to rice in sodic soils. *Fertilizer Research* 3:161–7. doi: [10.1007/BF01082975](https://doi.org/10.1007/BF01082975).
- Slaton, N. A., C. E. Wilson, S. Ntamatungiro, J. N. Richard, and D. L. Boothe. 2001. Evaluation of zinc seed treatments for rice. *Agronomy Journal* 93:157–63.
- Strasser, O., K. Köhl, and V. Römhild. 1999. Overestimation of apoplastic Fe in roots of soil grown plants. *Plant and Soil* 210 (2):179–87.
- Swietlik, D. 2002. Zinc nutrition of fruit trees by foliar sprays. *Acta Horticulturae* 594:123–9. doi: [10.17660/ActaHortic.2002.594.11](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2002.594.11).
- Tejada, M., and J. L. Gonzalez. 2004. Effects of foliar application of a byproduct of the two-step olive oil mill process on rice yield. *European Journal of Agronomy* 21 (1):31–40. doi: [10.1016/S1161-0301\(03\)00059-5](https://doi.org/10.1016/S1161-0301(03)00059-5).
- Tufail, A., H. Li, A. Naeem, and T. X. Li. 2018. Leaf cell membrane stability-based mechanisms of zinc nutrition in mitigating salinity stress in rice. *Plant Biology* 2:338–45. doi: [10.1111/plb.12665](https://doi.org/10.1111/plb.12665).
- Von Grebmer, K., H. Fritschel, B. Nestorova, T. Olofinbiyi, R. Pandya-Lorch, and Y. Yohannes. 2008. *Global Hunger Index. The Challenge of Hunger 2008*. Dubin: Deutsche Welthungerhilfe, International Food Policy Research Institute, and Concern Worldwide.
- Yilmaz, A., H. Ekiz, B. Torun, I. Gultekin, S. Karanlik, S. A. Bagci, and I. Cakmak. 1997. Effect of different zinc application methods on grain yield and zinc concentration in wheat grown on zinc-deficient calcareous soils in Central Anatolia. *Journal of Plant Nutrition* 20 (4–5):461–71. doi: [10.1080/01904169709365267](https://doi.org/10.1080/01904169709365267).
- Yoshida, S., G. W. McLean, M. Shafi, and K. E. Mueller. 1970. Effects of different methods of zinc application on growth and yields of rice in a calcareous soil, West Pakistan. *Soil Science & Plant Nutrition* 16 (4):147–9. doi: [10.1080/00380768.1970.10432832](https://doi.org/10.1080/00380768.1970.10432832).
- Yoshida, S. 1981. *Fundamentals of rice crop science*. Los Baños: International Rice Research Institute.
- Zhang, Y. Q., R. L. Shi, M. R. Karim, F. S. Zhang, and C. Q. Zou. 2010. Iron and zinc concentrations in grain and flour of winter wheat as affected by foliar application. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58 (23): 12268–74. doi: [10.1021/jf103039k](https://doi.org/10.1021/jf103039k).