

Rerkasem (1999) รายงานว่าลดลง การศึกษาทดลองในครั้งนี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาความแตกต่างระหว่างพันธุ์พืชทั้งสองชนิดนี้ในการตอบสนองต่อการขาดโบรอน เพื่อที่จะสามารถใช้เป็นแนวทางในการจัดการเกี่ยวกับธาตุอาหาร โบรอนได้อย่างเหมาะสม และสามารถใช้เป็นพื้นฐานในงานปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ดำเนินการวิจัยที่ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2541 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2543 โดยแบ่งเป็น 2 การทดลอง คือ การทดลองแรก ใช้ข้าวบาร์เลย์และข้าวสาลีอย่างละ 3 พันธุ์ ข้าวบาร์เลย์ได้แก่พันธุ์ BRB 9, BCMU 96-9 และพันธุ์ CMBL 92029 ข้าวสาลี ได้แก่พันธุ์ Fang 60, SW 41 และ Tatiara ส่วนการทดลองที่สอง ใช้พันธุ์ BRB 9 (ข้าวบาร์เลย์) และพันธุ์ SW 41 (ข้าวสาลี) ปลูกในกระถางดินเผาขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 30 ซม. ลึก 30 ซม. บรรจุด้วยทรายแม่น้ำ ใช้สารละลายธาตุอาหารดัดแปลงมาจากสูตรของ Broughton and Dilworth (1971) ด้วยการเพิ่มไนโตรเจนในอัตรา 5 mM ใช้ร่วมกับโบรอนระดับต่างๆ กัน คือ 0, 0.1, 0.3 และ 0.5 μM B (การทดลองแรก) 0 และ 10 μM B (การทดลองที่สอง) วันละ 2 ครั้งๆ ละ 1 ลิตร เข้ากับเย็น แบ่งการเก็บตัวอย่างเป็น 2 ครั้ง ครั้งที่ 1 เก็บเมื่อพืชเข้าสู่ระยะตั้งท้องเต็มที่ (full boot) และนำไปวิเคราะห์หาความเข้มข้นโบรอนในเนื้อเยื่อส่วนรวงและใบธง โดยนำตัวอย่างไปอบที่ อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง และนำไปวิเคราะห์หาความเข้มข้นของโบรอนในเนื้อเยื่อพืชโดยวิธีของ Lohse (1982)

การบันทึกผล

บันทึกอายุการออกรวง, จำนวนหน่อ/ต้น, จำนวนรวง/ต้น, จำนวนช่อดอกย่อย/รวง (ขนาดรวง), น้ำหนักแห้ง, จำนวนเมล็ด/รวง, น้ำหนักเมล็ด/กระถาง และดัชนีการติดเมล็ด (Grain Set Index; GSI) ในข้าวสาลี จะนับ 2 คอกแรกของ 10 ช่อดอกย่อยตรงกลางรวง (Rerkasem and Loneragan, 1994) และนับ 10 ช่อดอกย่อยตรงกลางรวง (Jamjod and Rerkasem, 1999)

ผลการทดลองทั้งหมดวิเคราะห์สถิติโดยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างสิ่งทดลองโดยวิธี LSD (Least Significant Difference) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการทดลอง

อิทธิพลของการขาดโบรอนต่อการให้ผลผลิตและการเจริญเติบโตของข้าวบาร์เลย์และข้าวสาลี

การขาดโบรอนกระทบต่อการติดเมล็ดของข้าวบาร์เลย์และข้าวสาลี ความรุนแรงของการขาดโบรอนแตกต่างกันในระหว่างพันธุ์และระหว่างพืช เมื่อไม่ใส่โบรอน (B0) ข้าวบาร์เลย์และข้าวสาลีมีดัชนีการติดเมล็ด 12.5-32.2 % และ 0.2-94.8 % ตามลำดับ เมื่อเพิ่มระดับโบรอน การติดเมล็ดของทุกพันธุ์จะเพิ่มขึ้นด้วย การเพิ่มระดับโบรอนขึ้นไปจนถึง 5 μM (B5) ไม่พบว่ามีข้าวบาร์เลย์หรือข้าวสาลีพันธุ์ใดเลยที่สามารถติดเมล็ดได้เกิน 90 % ยกเว้นข้าวสาลีพันธุ์ Fang 60 ซึ่งติดเมล็ด > 90 % ทั้งที่ใส่และไม่ใส่โบรอน (ตารางที่ 1)

ระดับโบรอนที่ทำให้ดัชนีการติดเมล็ดของข้าวสาลิลดลง ไม่มีผลทำให้จำนวนช่อดอกย่อยของข้าวสาลิลดลง โดยมีจำนวนช่อดอกย่อยต่อรวงอยู่ระหว่าง 13-15 ช่อดอกย่อย ในขณะที่ข้าวบาร์เลย์มีความแตกต่างระหว่างพันธุ์เนื่องจากผลของการขาดโบรอน จำนวนช่อดอกย่อยต่อรวงของพันธุ์ BCMU 96-9 และ CMBL 92029 มีจำนวนต่ำสุดเมื่อปลูกที่ B0 และเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มระดับโบรอน แต่พันธุ์ BRB 9 พบว่า ที่ระดับ B0 ถึง B5 จำนวนช่อดอกย่อยต่อรวงไม่แตกต่างกัน โดยจะมีจำนวน 8.9-10 ช่อดอกย่อยต่อรวง (ตารางที่ 2)

ผลของการขาดโบรอนทำให้ข้าวบาร์เลย์ (BRB 9) และข้าวสาลี (SW 41) มีจำนวนเมล็ดต่อรวงต่ำและทำให้ผลผลิตลดลง เมื่อปลูกที่ B0 ข้าวบาร์เลย์และข้าวสาลีมีผลผลิต (กรัม/กระถาง) 5.2 และ 1.3 กรัม และเมื่อเพิ่มระดับโบรอนเป็น B10 ผลผลิตเพิ่มขึ้นเป็น 67.2 และ 82.6 กรัม ตามลำดับ นอกจากจำนวนช่อดอกย่อยต่อรวงของข้าวบาร์เลย์ที่ลดลงแล้ว ยังพบอิทธิพลของการขาดโบรอนในระยะการเจริญเติบโตทางลำต้นและใบของข้าวบาร์เลย์ด้วย โดยที่ B0 ข้าวบาร์เลย์จะมีจำนวนหน่อและน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ ที่ B0 การออกรวงของข้าวบาร์เลย์จะช้ากว่าที่ B10 (ตารางที่ 3)

ความเข้มข้นของโบรอนในเนื้อเยื่อใบธงและในรวง

พันธุ์ข้าวบาร์เลย์และข้าวสาลิคูดโบรอนขึ้นไปสะสมในส่วนของใบธงและรวงได้แตกต่างกัน โดยที่ B0 ข้าวบาร์เลย์พันธุ์ BRB 9 มีโบรอนในใบธงสูงที่สุดคือ 13.2 mg/kg รองลงมาคือพันธุ์ CMBL 92029 มี 6.9 mg/kg และพันธุ์ CMU 96-9 มีต่ำที่สุดคือ 4.6 mg/kg ในข้าวสาลีพันธุ์ Fang 60 มีความเข้มข้นโบรอนในใบธงสูงที่สุดคือ 9.3 mg/kg รองลงมาคือพันธุ์ SW 41 มี 7.5 mg/kg และพันธุ์ Tatiara มีต่ำที่สุดคือ 3.8 mg/kg ส่วนความเข้มข้นของโบรอนในรวง พบว่า ข้าวบาร์เลย์พันธุ์ CMU 96-9 มีความเข้มข้นของโบรอนในรวงสูงที่สุดคือ 9.3 mg/kg รองลงมาคือพันธุ์ BRB 9 มี 6.6 mg/kg และพันธุ์ CMBL 92029 เป็นพันธุ์ที่มีโบรอนอยู่ต่ำที่สุดคือ 4.1 mg/kg ในข้าวสาลีพันธุ์ Fang 60 และ SW 41 มีความเข้มข้นของโบรอนในรวงไม่แตกต่างกันคือ 8.5 และ 7.8 mg/kg ส่วนพันธุ์ Tatiara มีต่ำที่สุดคือ 4.9 mg/kg (ตารางที่ 4)

Table 1. Response in Grain Set Index (%) in barley and wheat to boron supply in sand culture (Experiment 1).

Species/genotype	Added B (μ M)			
	0	0.1	0.3	5.0
Barley				
BRB 9	32.2 aD	57.5 bD	67.6 cC	76.7 dC
BCMU 96-9	23.4 aC	24.8 aC	28.4 aB	54.6 bB
CMBL 92029	12.5 aB	13.5 aB	22.0 bB	41.6 cA
Wheat				
Fang 60	94.8 aF	94.4 aF	98.7 aE	98.5 aD
SW 41	67.3 aE	74.6 bE	77.4 bcD	81.9 cC
Tatiara	0.2 aA	1.9 aA	13.0bA	61.2 cB
Effects F-test	Genotype **	Boron **	G x B **	

Differences (by LSD $p < 0.05$) in the same row are indicated by different lowercase letters and in the same column by different uppercase letters. ** significant at $p < 0.01$

Table 2. Response in the number of spikelets ear⁻¹ in barley and wheat to boron supply in sand culture (Experiment 1).

Species/genotype	Added B (μ M)			
	0	0.1	0.3	5.0
Barley				
BRB 9	8.9 aA	9.9 aA	10.0 aA	9.2 aA
BCMU 96-9	20.2 aE	25.6 cE	24.0 bE	24.2 bE
CMBL 92029	13.0 aB	15.0 bCD	15.9 bD	17.6 cD
Wheat				
Fang 60	14.3 aC	14.2 aBC	14.6 aBC	14.4 aBC
SW 41	13.0 aB	13.7 aB	13.9 aB	14.0 aB
Tatiara	15.7 aD	15.8 aD	15.4 aCD	15.6 aC
Effects F-test	Genotype (G) **	Boron (B) **	G x B **	

Differences (by LSD $p < 0.05$) in the same row are indicated by different lowercase letters and in the same column by different uppercase letters. ** significant at $p < 0.01$

Table 3. Response of vegetative and reproductive growth in wheat (SW 41) and barley (BRB 9) to boron supply in sand culture (Experiment 2).

	Added B ($\mu\text{M B}$)				G x B
	0	10	0	10	
	Wheat (SW 41)		Barley (BRB 9)		
Shoot dry weight (g pot^{-1})	65.4 c	67.2 c	40.4 b	29.6 a	*
Tillers plant ⁻¹	12.0 a	9.6 a	32.4 b	15.5 a	**
Day of ear emergence	56.9 c	57.3 c	49.1 b	45.8 a	*
Spikes plant ⁻¹	7.2 a	6.4 a	18.8 c	13.1 b	*
Spikelets spike ⁻¹	17.6 bc	19.0 c	8.9 a	16.9 b	*
Grains spike ⁻¹	0.1 a	44.5 d	2.7 b	16.7 c	*
Grain yield (g pot^{-1})	1.3 a	82.6 c	5.2 a	67.2 b	*
Grain Set Index (%)	0.3 a	97.7 c	24.6 b	98.0 c	*

F-test of genotype by boron interaction, significant level: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$. Differences between B levels in each species are indicated by different lowercase letters (by LSD $p < 0.05$)

Table 4. Boron concentration (mg B kg⁻¹) in ears and flag leafs at booting of barley and wheat genotypes grown in sand culture at four levels of boron (Experiment 1).

Species/genotype	Added B (μM)			
	0	0.1	0.3	5.0
Boron concentration (mg B kg⁻¹) in flag leafs				
Barley				
BRB 9	13.2 aD	13.4 abD	14.6 bcE	15.6 cBC
BCMU 96-9	4.6 aA	5.4 abA	6.5 bB	8.7 cA
CMBL 92029	6.9 aB	7.0 aB)	7.7 aB)	7.7 aA
Wheat				
Fang 60	9.3 aC	10.9 bC	12.1 cD	16.2 dC
SW 41	7.5 aB	7.7 aB	9.3 bC	14.3 cB
Tatiara	3.8 aA	4.1 aA	4.5 aA	8.1 bA
Boron concentration (mg B kg⁻¹) in ears				
Barley				
BRB 9	6.6 aB	9.5 bC	12.3 cD	12.8 cE
BCMU 96-9	9.3 bD	8.5 abBC	8.2 aB	9.3 bC
CMBL 92029	4.1 aA	5.0 abA	5.7 bcA	6.1 cA
Wheat				
Fang 60	8.5 aCD	8.8aBC	9.9 bC	10.4 bD
SW 41	7.8 aC	8.2 aB	10.9 bC	10.9 bD
Tatiara	4.9 aA	5.4 aA	6.4 bcA	7.3 bB
Effects	Genotype (G)	Boron (B)	G x B	
F-test (ear)	NS	**	**	
F-test (flag leaf)	**	**	**	

Differences (by LSD $p < 0.05$) in the same row are indicated by different lowercase letters and in the same column by different uppercase letters. NS = not significant, $p < 0.05$. ** significant at $p < 0.01$

วิจารณ์ผลการทดลอง

พบความแตกต่างระหว่างข้าวบาร์เลย์และข้าวสาลีและระหว่างพันธุ์ของแต่ละชนิด ในการตอบสนองต่อการขาดโบรอน เปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดซึ่งใช้ดัชนีการติดเมล็ดเป็นตัวชี้วัด มีความสัมพันธ์กับค่าความเข้มข้นของโบรอนในใบธงและในรวง โดยมีค่าความสัมพันธ์ (r) 0.8-0.9 แต่เฉพาะข้าวสาลีพันธุ์ Tatiara ซึ่งอ่อนแอต่อการขาดโบรอน จะมีดัชนีการติดเมล็ดและความเข้มข้นโบรอนในรวงและใบธงต่ำ และเมื่อเพิ่มระดับโบรอน การติดเมล็ดและความเข้มข้นโบรอนก็เพิ่มขึ้นเช่นกัน ในขณะที่พันธุ์ SW 41 และ Fang 60 มีความเข้มข้นของโบรอนในรวงไม่แตกต่างกัน แต่พันธุ์ SW 41 ติดเมล็ดต่ำกว่าพันธุ์ Fang 60 ข้าวบาร์เลย์เมื่อปลูกที่ B0 พันธุ์ BCMU 96-9 มีความเข้มข้นโบรอนในรวงสูงกว่าพันธุ์ BRB 9 แต่ติดเมล็ดต่ำกว่า การใช้ค่าความเข้มข้นโบรอนในใบธงและในรวง เพื่อแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์จึงไม่สามารถทำได้ เช่นเดียวกับ Rerkasem and Lonergan (1994) ที่ไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างข้าวสาลีพันธุ์ SW 41 และ Sonora 64 ว่าพันธุ์ไหนมีประสิทธิภาพมากกว่ากันโดยการใช้ค่าความเข้มข้นของโบรอนในเนื้อเยื่อเป็นตัวบ่งชี้ Rerkasem *et al.* (1997) พบว่า ข้าวสาลีพันธุ์ SW 41 มีความเข้มข้นโบรอนในส่วนของเกสรตัวผู้ และส่วนของเกสรตัวเมียสัมพันธ์กับการติดเมล็ด ถ้าความเข้มข้นสูง การติดเมล็ดจะสูงด้วย การผสมเกสรเกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์เมื่อมีความเข้มข้นของโบรอนในส่วนของเกสรตัวผู้ (anther) และส่วนของเกสรตัวเมีย (carpel) 10 และ 8 mg/kg DW ตามลำดับ ดังนั้น เพื่อบ่งชี้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์ที่แน่นอนกว่านี้อาจจำเป็นต้องใช้เนื้อเยื่อส่วนที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์ของพืชโดยตรง เช่นส่วนของเกสรตัวผู้ หรือเกสรตัวเมีย

งานทดลองของ Huang *et al.* (2000) พบว่า ข้าวสาลีที่มีความเข้มข้นโบรอน 1 mg/kg DW จะไม่แสดงความผิดปกติทางด้านการเจริญเติบโตในระยะสร้างคั่นและใบ แต่ในการทดลองนี้ข้าวบาร์เลย์เมื่อปลูกที่ B0 มีความเข้มข้นของโบรอนในเนื้อเยื่อสูงเช่นเดียวกับข้าวสาลี แต่ขนาดรวงกลับลดลง จึงอาจจะเป็นไปได้ว่า ข้าวบาร์เลย์มีความสามารถในการดูดโบรอนเข้าไปในรวงที่สร้างและพัฒนาอยู่ภายในกาบใบและเป็นส่วนที่ไม่มีการคายน้ำได้ไม่ดีเท่ากับข้าวสาลีหรืออาจมีความต้องการโบรอนสำหรับการพัฒนาของรวงมากกว่าข้าวสาลี และการขาดโบรอนยังทำให้ปรากฏอาการ rat-tail หรือว่าหางหนู ซึ่งมีลักษณะเป็นปอยสีขาว ขึ้นบริเวณปลายรวงของข้าวบาร์เลย์ คล้ายคลึงกับอาการขาดคอปเปอร์ (Snowball and Robson, 1983) ที่ B0 ข้าวบาร์เลย์จะแตกหน่อเพิ่มขึ้น แสดงว่าโบรอนไม่เป็นปัจจัยจำกัดในการสร้างหน่อ จำนวนหน่อที่เพิ่มขึ้นและการติดเมล็ดที่ลดลงแสดงให้เห็นว่า ความต้องการโบรอนในการสร้างผลผลิตหรือการติดเมล็ดจะสูงกว่าความต้องการสำหรับการเจริญเติบโตทางลำต้นและใบ ลักษณะของการแตกหน่อที่เพิ่มขึ้นอาจจะเกี่ยวข้องกับการรักษาสมดุลของฮอร์โมนภายในต้นพืช เช่นเดียวกับในถั่วลิสน์เตาที่มีการแตกตาข้างเพิ่มขึ้นเมื่อขาดโบรอน โดย Li *et al.* (1997) ให้เหตุผลว่าการขาดโบรอนไปจำกัดการเจริญของส่วนยอด

ทำให้ปริมาณ IAA ที่สร้างจากส่วนยอดลดลง อิทธิพลการข่มของตาขอดีที่มีต่อตาข้างจึงลดลง ทำให้พืชแตกตาข้างเพิ่มขึ้น

สรุปผลการทดลอง

จากผลการศึกษาพบความแตกต่างระหว่างข้าวบาร์เลย์และข้าวสาลีในการตอบสนองต่อการขาดโบรอน โดยผลกระทบจากการขาดโบรอนทำให้ขนาดรวงและการติดเมล็ดของข้าวบาร์เลย์ลดลง ขณะที่ในข้าวสาลีเฉพาะการติดเมล็ดเท่านั้นที่ลดลง ทำให้สามารถกำหนดระยะเวลาและความเหมาะสมสำหรับการจัดการใส่ธาตุอาหารโบรอนให้แก่พืชทั้งสองชนิด โดยข้าวบาร์เลย์จำเป็นที่จะต้องให้ธาตุอาหารโบรอนอย่างเพียงพอตั้งแต่เริ่มปลูกหรือก่อนปลูก และจะต้องให้อย่างเพียงพอต่อเนื่องไปจนถึงความต้องการในระยะผสมเกสร ส่วนในข้าวสาลีนั้น การใส่ธาตุอาหารโบรอนในระยะแรกอาจจะไม่จำเป็นแต่จะจำเป็นภายหลังจากการมีการสร้างรวงและการพัฒนารวงที่อยู่ภายในกาบใบสมบูรณ์แล้ว วิธีการปลูกพืชเพื่อทดสอบความสามารถในการทนต่อการขาดโบรอนด้วยวิธีการนี้ ยังสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับงานปรับปรุงพันธุ์ เพื่อคัดเลือกหาพันธุ์ที่ทนต่อการขาดโบรอนและมีประสิทธิภาพในการนำโบรอนไปใช้ได้สูง

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับเงินสนับสนุนส่วนหนึ่งจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ผู้วิจัยแรกได้รับเงินสนับสนุนจาก โครงการย่อยบัณฑิตศึกษาและวิจัย สาขาเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ขอขอบคุณ คุณสิทธิชัย ลอดแก้ว เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางเกษตร และขอขอบคุณ รศ.ดร. สุทัศน์ จุลศรีโกลวัณย์ ที่ให้ความอนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์ข้าวบาร์เลย์พันธุ์ BCMU 96-9

References

- เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม, รจเร เนตรแสงทิพย์, สิทธิชัย ลอดแก้ว, พิมลรัตน์ ทองรอด, สุพร ปรีดิศรี
พิพัฒน์, สาวิต มีชัย, ณรงค์ ผลวงษ์. 2531. การสำรวจอาการเมล็ดกลวงในตัวลิสงเพื่อเป็น
การบ่งชี้การขาดโบรอนในภาคเหนือ. รายงานการสัมมนางานวิจัยตัวลิสง ครั้งที่ 7.
- เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม และ ศันสนีย์ จำจด. 2532. การแก้ไขปัญหารวงลิบเนื่องจากการขาดธาตุ
โบรอนในข้าวสาลีและข้าวบาร์เลย์. วารสารดินและปุ๋ย. 11, 200-209.
- เพิ่มพูน กิริติกสิกร. 2537. ผลงานวิจัยธาตุอาหารเสริมกับพืชตระกูลถั่วที่เป็นอาหารในภาคตะวันออก
ออกเฉียงเหนือ. วารสารดินและปุ๋ย. 11:155-167.
- Ambak, K. and T. Tadano. 1991. Effect of micronutrient application on the growth
and occurrence of sterility in barley and rice in a Malaysian deep peat soil.
Soil Sci. Plant Nutr. 37,715-724.
- Bergmann, W. 1992. Nutritional Disorders of Plants-Development, Visual and
Analytical Diagnosis. Fischer Verlag, Jena.
- Broughton, W. J. and M. J. Dilworth. 1971. Control of leghaemoglobin synthesis in
snake beans. Biochem. J. 125,1075-1080.
- da Silva, A. R. and J. M. V. de Andrade. 1983. Influence of micronutrients on the
male sterility on upland wheat and on rice and soybean yields in red-yellow
latosols. Pesq. Agropec bras. Brasilia, 18, 593-601.
- Gupta, U. C. 1979. Boron nutrition of crops. Adv.Agron.31:273-307.
- Huang, L., J. Pant, B. Dell and R. W. Bell. 2000. Effect of boron deficiency on anther
development and floret fertility in wheat (*Triticum aestivum* L. 'Wilgoyne').
Annals of Botany. 85,493-500.
- Jamjod, S. and B. Rerkasem. 1999. Genotypic variation in response of barley to
boron deficiency. Plant Soil 215,65-72.
- Li, C. J., H. Y. Yuan, Y. G. Zhang and F. S. Zhang. 1997. Growth of lateral buds
versus changes of endogenous indoleacetic acid and zeatin/zeatin riboside
content in pea plants grown under boron deficiency. In Boron in Soils and
Plants. Eds. R. W. Bell and B. Rerkasem. pp. 179-182. Kluwer Academic
Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Li, W. H., M. C. Chao, N. S. Jerm, C. R. Li, W. J. Chu and C. L. Wang. 1978. Study
on cause of sterility of wheat. J. Northeastern Agri. College, 31-19.
- Lohse, G. 1982. Microanalytical azomethine-H method for boron determination in
plant tissues. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 13,127-134.

- Martens, D. C. and D. T. Westermann. 1991. Fertilizer applications for correcting micronutrient deficiencies. In *Micronutrients in Agriculture*. 2nd ed. J.J. Mordtvedt, F.R. Cox, L.M. Shuman and R. M. Welch. pp. 549-592. SSSA Book Series no. 4. SSSA, Madison, WI.
- Rerkasem, B. and J. F. Loneragan. 1994. Boron deficiency in two wheat genotypes in a warm, subtropical region. *Agron.J.* 86,887-890.
- Rerkasem, B., S. Lordkaew and B. Dell. 1997. Boron requirement for reproductive development in wheat. *Plant nutrition*. pp. 69-73.
- Rerkasem, B. and K. Rekasem. 1991. A decline of soil fertility under intensive cropping in northern Thailand. In: *Soil Management for Sustainable Rice Production in the Tropics*, Int. Board for Soil Res and Management Monograph No.2, pp. 315-328. IBSRAM, Bangkok.
- Shorrocks, V. M. 1997. The occurrence and correction of boron deficiency. *Plant and Soil*. 193,121-148.
- Simojoki, P. 1972. Tuloksia ohran boorilannoituskokeista. *Ann. Agric. Fenn.* 11, 333-341.
- Snowball, K. and A. D. Robson. 1983. *Symptoms of Nutrient Deficiencies*. Department of Soil Science and Plant Nutrition. Institute of Agriculture, University of Western Australia.
- Sthapit, B. R., K. D. Subedi, T. P. Tiwari, S. L. Chaudhary, K. D. Joshi, B. K. Dhital and S. N. Jaisi. 1989. Studies on causes of wheat sterility in the hill, Tar and Terai of Nepal. Seminar paper No. 5/89. Paper presented at the winter crops seminar, National Wheat Development Programme, Bhairhawa, Nepal.
- Wilson, C. M., R. L. Lovvorn. and W. W. Woodhouse. 1951. Movement and accumulation of water soluble boron within the soil profile. *Agron. J.* 43, 363-367.

การตอบสนองต่อโบรอนในถั่วพุ่ม

Boron Response in Cowpea

ทินกร ศรีวิชัย ศันสนีย์ จำจด และ เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม

ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

Abstract

Legume species are economically important in Thailand. Some species are tolerant to boron (B) deficiency, e.g. soybean and green gram. Boron deficiency affects seed quality in some species e.g. peanut, green gram and black gram. However, there is a lack of information on B response of cowpea (*Vigna unguiculata*). Two experiments were conducted in sand culture with two cowpea cultivars (Cowpea 1 and Cowpea 2) grown at Agronomy Department, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University from August 2001 to April 2002. In the first experiment, two cowpea cultivars were compared in sand culture with 3 levels of added B (0, 1 and 10 μM B referred to B0, B1 and B10 respectively) to the nutrient solution. In both cultivars, in B0, B deficiency was adversely affected by flowering and no pod was produced. When B was increased to B1, both cowpea cultivars flowered and set pods normally. Further increase B level to B10 had no significant effect on seed yield and the yield components. However, seed B concentration was increased by the [NI] B increase. From 4 mg B/kg at B1, the seed B concentration was increased 4 times at B10. In the second experiment, seeds from the first experiment (seed from B1 = SB1, seed from B10 = SB10) were sown in two levels of added B (0 and 10 μM B referred to B0, B10 respectively). External B level had no effect on germination percentage of the cowpea, while seed B had a slight effect. SB1 seeds of both cultivars averaged 95.3% germination compared with 99.3% from SB10. When grown in B0, SB1 seeds from both cultivars produced seedlings that averaged 22.1% abnormal compared with almost none from SB10 seeds. When grown in B10, however, almost all seedlings were normal. These results have shown that B deficiency depressed seed yield in cowpea by adversely affecting flower development and pod set. At the level of B that had no effect on seed yield, low level of external or soil B may depress seed B concentration which may then in turn adversely affect seed quality in term of germination and seedling growth when sown in low B soil.

บทคัดย่อ

พืชตระกูลถั่วสำคัญของประเทศไทย บางชนิดทนต่อการขาดโบรอน เช่น ถั่วเหลือง และถั่วเขียว บางชนิดไม่ทนต่อการขาดโบรอน เช่น ถั่วเขียวพื้วคำ การขาดโบรอนมีผลต่อคุณภาพเมล็ดในถั่วบางชนิด เช่น ถั่วลิสง ถั่วเขียว ถั่วคำ แต่ยังไม่มียีนชื่อว่าถั่วพุ่ม (*Vigna unguiculata* spp. *unguiculata*) มีการตอบสนองต่อโบรอนเป็นแบบโค การศึกษานี้จึงได้ทำการทดสอบการตอบสนองต่อโบรอนในถั่วพุ่ม 2 พันธุ์ โดยทำการทดลองในกระถางทรายในเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2544 ถึง เมษายน พ.ศ. 2545 ที่ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์

การทดลองที่ 1 ปลูกถั่วพุ่ม 2 พันธุ์ (Cowpea 1 และ Cowpea 2) ให้โบรอนในสารละลายธาตุอาหาร 3 ระดับ คือ 0, 1 และ 10 μM 3 ซ้ำ พบว่าที่ระดับโบรอน 0 μM ถั่วพุ่มทั้ง 2 พันธุ์ ล้มเหลวในพัฒนาการของดอกและการติดฝัก แต่ไม่พบว่าถั่วมีการติดฝักและผลผลิตเพิ่มขึ้นต่อไปอีกเมื่อเพิ่มโบรอนในอาหารเป็น 10 μM อย่างไรก็ตามการเพิ่มโบรอนในอาหารจาก 1 μM เป็น 10 μM ทำให้ปริมาณโบรอนในเมล็ดในถั่วทั้งสองพันธุ์มีโบรอนในเมล็ดเพิ่มขึ้นถึง 4 เท่าจาก 4 mg B/kg ที่ 1 μM

การทดลองที่ 2 นำเมล็ดถั่วที่ได้จากการทดลองที่ 1 เพาะในทรายที่มีการให้โบรอน 2 ระดับ (0 และ 10 μM) 3 ซ้ำ พบว่าในทรายที่ใส่โบรอน 0 μM เมล็ดที่มีโบรอนในเมล็ดต่ำมีเปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ย 95.3 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เมล็ดที่มีโบรอนในเมล็ดที่สูงกว่ามีเปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ย 99.3 เปอร์เซ็นต์ โดยพันธุ์ Cowpea 2 มีเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดสูงกว่าพันธุ์ Cowpea 1 เล็กน้อย นอกจากนี้เมื่อนำไปปลูกในทรายที่มีการใส่โบรอน 0 μM เมล็ดที่มีโบรอนต่ำ (4 mg B/kg) ให้ต้นอ่อนสมบูรณ์เพียง 77.9 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เมล็ดที่มีโบรอนสูงกว่า (15-18 mg B/kg) ให้ต้นอ่อนสมบูรณ์เกือบ 100 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่พบอิทธิพลของโบรอนในเมล็ดต่อความสมบูรณ์ของต้นอ่อนเมื่อปลูกในทรายที่รดด้วยโบรอนที่ 10 μM โดยเมล็ดที่มีโบรอน 4-18 mg B/kg ให้ต้นอ่อนสมบูรณ์เกือบ 100 เปอร์เซ็นต์ ทั้งหมด

คำนำ

ปัญหาการขาดธาตุโบรอนในพืชปลูกนั้นเป็นปัญหาที่พบได้ในหลายประเทศ (Gupta, 1979; Shorrocks, 1997) และได้พบภาวะขาดโบรอนแพร่หลายในจังหวัดภาคเหนือตอนบน และบางจังหวัดในภาคเหนือตอนล่าง รายงานผลการทดลองได้แสดงถึงผลของการขาดโบรอนในการลดผลผลิตถั่วเขียว ถั่วเขียวพื้วคำ ถั่วเหลือง และถั่วลิสง การลดคุณภาพเมล็ด ในด้านความงอก และความผิดปกติของต้นอ่อน ปัจจัยที่พบว่ามีผลต่อการสนองต่อโบรอนในถั่วได้แก่ ฤดูกาล ชนิดของพืช และพันธุ์พืช ถั่วเขียวพื้วคำที่ปลูกฤดูหนาวจะขาดโบรอนรุนแรงกว่าที่ปลูกในฤดู (เบญจวรรณ, 2537)

การขาดโบรอนของพืชมีผลกระทบต่อระยะเจริญพันธุ์มากกว่าระยะการเจริญเติบโต ดังนั้นผลผลิตอาจลดลงมากโดยที่พืชมิได้แสดงอาการขาดโบรอนทางต้นและใบ เนื่องจากการขาดธาตุนี้

ก่อให้เกิดผลเสียหายในช่วงการออกดอกติดผลและการพัฒนาของเมล็ดมากเป็นพิเศษ (Noppakoo Wong et al., 1997) ในถั่วเหลืองผลผลิตเมล็ดลดลงเนื่องจากการขาดโบรอน มีความสัมพันธ์กับลักษณะต้นที่เตี้ยลง และการลดลงของจำนวนข้อทั้งหมด จำนวนข้อที่ติดฝัก จำนวนเมล็ด/ฝัก และน้ำหนักแต่ละเมล็ดด้วย ทำให้เกิดฝักลีบและลดจำนวนเมล็ดต่อฝัก (Rerkasem et al., 1993) อาการขาดโบรอนที่เกี่ยวข้องโดยตรงกับการสร้างผลผลิตในถั่วเขียวผิวดำคือ การร่วงของช่อดอก และความล้มเหลวของการติดฝัก ในถั่วลิสงอาการเมล็ดกลวง (hollow heart) เป็นอาการจำเพาะเนื่องจากการขาดโบรอน (Harris and Brozman, 1966) ซึ่งถือเป็นลักษณะของเมล็ดด้อยคุณภาพ ส่วนในถั่วเหลืองการขาดโบรอนทำให้เกิดแผลในเมล็ดมีลักษณะเป็นรอยปุ่มตรงใบเลี้ยง (cotyledon)

การขาดโบรอนทำให้เมล็ดถั่วบางชนิดมีความงอกและความสมบูรณ์ของต้นอ่อนลดลง เมล็ดถั่วเขียวผิวดำที่มีปริมาณโบรอนน้อยกว่า 6 มก. โบรอน/กก. จะมีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำและในจำนวนเมล็ดที่งอกมีเปอร์เซ็นต์ผิดปกติของต้นอ่อนสูง (Bell et al., 1989) แสดงถึงอิทธิพลของการขาดโบรอนที่อาจมีผลต่อการเจริญเติบโต และการรอดชีวิตของต้นอ่อน (embryo) ในเมล็ดในระยะการสร้างเมล็ดก่อนถั่วเหลืองแก่

Vigna unguiculata ถูกจำแนกออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ กลุ่มแรก คือ ถั่วฝักยาว (spp. *sesquipedalis*) ซึ่งเป็นพืชผักที่สำคัญ กลุ่มที่สอง คือ Cowpea (spp. *unguiculata*) (Duke, 1981) ซึ่งยังแบ่งตามลักษณะต้นได้ 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีทรงลำต้นเป็นพุ่มตรง มีความสูง 1-3 ฟุต และกลุ่มที่มีรูปทรงลำต้นเลื้อยอาจมีลำต้นยาวถึง 15 ฟุต ถั่วพุ่ม มีแหล่งปลูกที่สำคัญคือ สระบุรี นครราชสีมา ขอนแก่น นครสวรรค์ เชียงใหม่ ลำปาง เป็นต้น (ศูนย์ศึกษาค้นคว้าและพัฒนาเกษตรกรรมภาคตะวันออกเฉียงเหนือ, 2537) หลายจังหวัดในภาคเหนือ (เบญจวรรณ, 2537) และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (เพิ่มพูน, 2537) มีรายงานว่าพบพื้นที่ที่ขาดโบรอน ซึ่งอาจเป็นข้อจำกัดในการสร้างผลผลิตและคุณภาพเมล็ด

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

วัดอิทธิพลของโบรอนต่อการสร้างผลผลิตและคุณภาพเมล็ดพันธุ์ของถั่วพุ่ม

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาอิทธิพลของโบรอนต่อการสร้างผลผลิตและความเข้มข้นโบรอนในเมล็ดถั่วพุ่ม

จัดตั้งทดลองแบบ Factorial 2 ปัจจัย ในแผนการทดลองแบบ Complete Randomize Design โดยใช้ถั่วพุ่ม 2 พันธุ์ (Cowpea1, Cowpea2) ปลูกในกระถางบรรจุทรายโดยให้สารละลายโบรอน 3 ระดับ คือสารละลายที่มีธาตุอาหารพืชครบยกเว้นโบรอน 0 μ MB (B0) และสารละลายธาตุอาหารพืชคัดแปลงจาก Broughton and Dillworth (1971) ที่มีโบรอน 1 และ 10 μ MB (B1, B10) 4 ซ้ำ ปลูกกระถางละ 5 หลุม หลุมละ 2 เมล็ด หลังจากนั้น 7 วันถอนแยกให้เหลือหลุมละ 1 ต้น ทุกวันเช้า-เย็น กระถางละ 1 ลิตรเมื่อถึงระยะสุกแก่เก็บทุกต้น นับจำนวนฝักต่อกระถาง จำนวนเมล็ดต่อฝัก น้ำหนักเมล็ดต่อกระถาง น้ำหนักเมล็ด และวัดความเข้มข้นโบรอนในเมล็ด

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของโบรอนต่อการงอกของเมล็ด

จัดตั้งทดลองแบบ Factorial 3 ปัจจัย ในแผนการทดลองแบบ Complete Randomize Design นำเมล็ดที่ได้จากการทดลองที่ 1 ของถั่วทั้ง 2 พันธุ์ เมล็ดจากที่ปลูกในทรายที่ให้สารละลาย 1 μ MB (SB1) และ 10 μ MB (SB10) เพาะความงอกในกระบะทรายที่มีสารละลายโบรอน 2 ระดับ คือ รดสารละลายที่มีธาตุอาหารพืชครบยกเว้นโบรอน 0 μ MB (B0) และ สารละลายธาตุอาหารพืชที่มีโบรอน 10 μ MB (B10) 4 ซ้ำ ๆ ละ 20 หลุม หลุมละ 1 ทุกวัน เช้า-เย็น เมื่อครบ 14 วัน นับจำนวนต้นที่งอกและจำนวนต้นอ่อนผิดปกติ [N2]

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (AOV) ตามแผนการทดลองแบบ Factorial in Complete Randomize Design ตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการทดลองและวิจารณ์

ได้มีรายงานความแตกต่างในการตอบสนองต่อโบรอนในถั่วหลายชนิด อาทิถั่วลิสง (Keerati-kasikom *et al*, 1993) ถั่วเขียวและถั่วเขียวผิวดำ (อูฐย์, 2545) และถั่วเหลือง (ณัฐวุฒิ, 2546) การศึกษานี้พบว่าถั่วพุ่มทั้งสองพันธุ์มีการตอบสนองต่อโบรอนคล้ายกันเมื่อไม่มีการให้โบรอน (B0) ถั่วพุ่มจะแสดงอาการขาดที่ใบคือใบหงิกมีลักษณะเป็นตะปุ่มตะป่ำ และเมื่อถึงระยะการเจริญพันธุ์ อาการขาดโบรอนในถั่วพุ่มที่พบนี้คล้ายกับอาการในถั่วเขียวและถั่วเหลืองในรายงานที่อ้างถึงใน

เบื้องต้นจะเกิดการร่วงของดอก เกิดการล้มเหลวของการติดฝัก ทำให้ถั่วพุ่มทั้งสองพันธุ์ไม่สามารถสร้างผลผลิตได้

เมื่อมีการให้โบรอนในอาหาร 1 μ MB ต้นถั่วไม่แสดงอาการขาดโบรอนอีกต่อไป และการติดฝักเพิ่มและให้ผลผลิตเมล็ดเพิ่มขึ้น โดยพันธุ์ Cowpea1 จะให้น้ำหนักเมล็ดเฉลี่ยสูงกว่าคือ 62.2 กรัมต่อกระถาง ในขณะที่พันธุ์ Cowpea2 ให้น้ำหนักเมล็ดเฉลี่ยเพียง 36.4 กรัม แต่การเพิ่มโบรอนต่อไปอีกเป็น 10 μ MB ไม่ทำให้การติดฝักหรือสร้างผลผลิตเมล็ดเพิ่มขึ้นอีก (Table 1) จำนวนเมล็ดต่อฝักของถั่วทั้งสองพันธุ์ไม่ตอบสนองต่อโบรอน โดย Cowpea1 และ Cowpea2 มีจำนวนเมล็ดต่อฝักอยู่ระหว่าง 12-13 และ 10-11 เมล็ดต่อฝัก ตามลำดับ (Table 2) น้ำหนัก 100 เมล็ดของถั่วทั้งสองพันธุ์ก็ไม่มีการตอบสนองต่อโบรอนที่ใช้ปลูกเช่นกัน โดยน้ำหนัก 100 เมล็ดเฉลี่ยของ Cowpea1 และ Cowpea2 คือ 11.7 และ 18.2 กรัม (Table 3) ผลผลิตเมล็ดต่อกระถางของถั่วทั้งสองพันธุ์ไม่ตอบสนองต่อโบรอน แต่ Cowpea1 ก็ให้ผลผลิตที่สูงกว่า คือ 62.2 กรัม ในขณะที่ Cowpea2 ให้ผลผลิต 36.4 กรัม (Table 4) อย่างไรก็ตามปริมาณโบรอนในเมล็ดในถั่วทั้งสองพันธุ์ เพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มโบรอนในอาหาร จาก 4 mg B/kg ที่ 1 μ MB เป็น 15-18 mg B/kg ที่ 10 μ MB (Table 5)

ได้มีผู้พบว่าปริมาณโบรอนในเมล็ดอาจมีผลกระทบต่อคุณภาพเมล็ดถั่วหลายชนิด (อยู่ธวัช 2545; Bell et al., 1989) ซึ่งโดยทั่วไปอิทธิพลของโบรอนในเมล็ดจะถูกกลบด้วยโบรอนในดินหรือวัสดุปลูกอื่นได้เพียงบางส่วน จากการศึกษาพบว่าโบรอนในทราย ที่ใช้ปลูกไม่มีผลต่อการงอกของเมล็ด แต่เป็นโบรอนในเมล็ดที่มีผลต่อการงอกของเมล็ด โดยถั่วพุ่มทั้งสองพันธุ์ มีเปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ย 99.2 เปอร์เซ็นต์ เมื่อมีโบรอนในเมล็ดสูง และมีเปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ย 95.5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อมีโบรอนในเมล็ดต่ำ (Table 6)

จนเมล็ดที่งอกเจริญเติบโตเป็นต้นอ่อน การที่ต้นอ่อนจะเจริญเติบโตเป็นปกติได้นั้น ขึ้นอยู่กับปริมาณโบรอนภายนอก โดยที่ระดับโบรอนสูง (B10) ไม่มีความแตกต่างกันของการเจริญเติบโตของต้นอ่อน ถึงแม้ว่าเมล็ดที่นำมาเพาะนั้นจะมีโบรอนในเมล็ดต่ำก็ตาม แต่เมื่อนำเมล็ดที่มีโบรอนในเมล็ดต่ำมาเพาะในทรายที่ไม่มีการให้โบรอนจะพบว่าถั่วพุ่มทั้งสองพันธุ์จะได้ต้นอ่อนที่สมบูรณ์ลดลง จาก 100 เปอร์เซ็นต์ เป็น 75 เปอร์เซ็นต์ (Table 7) การที่เมล็ดที่มีโบรอนต่ำมีเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลง สอดคล้องกับบทบาทสำคัญของโบรอนต่อการสร้างผนังเซลล์ (Matoh 1997) ซึ่งมีผลสืบเนื่องคือการยับยั้งของการแบ่งเซลล์ (Dell and Huang, 1997) ซึ่งอาจเกิดขึ้นตั้งแต่ในระยะแบ่งเซลล์ในคัพพะ (embryo) หลังจากการผสมเกสร จึงทำให้เมล็ดตายไปตั้งแต่ยังอยู่บนต้นแม่ และไม่อาจแก้ไขได้ด้วยการให้โบรอนในช่วงกำลังงอก ซึ่งสอดคล้องกับรายงานเรื่องเดียวกันในถั่วเขียว (Bell et al, 1989) ในการศึกษาได้ทำการวัดความงอก 2 เดือนหลังการเก็บเกี่ยว เนื่องจากอิทธิพลของการขาดโบรอนที่พบเกี่ยวกับความแข็งแรงของต้นอ่อน สิ่งที่ต้องศึกษาคือต่อไปน่าจะเป็นอิทธิพลของปริมาณโบรอนในเมล็ดต่อคุณภาพในการเก็บรักษาของเมล็ด

สรุป

การขาดโบรอนอย่างรุนแรงในถั่วพุ่มคล้ายกับอาการในถั่วเขียว ถั่วเขียวฝวคำ และถั่วเหลืองที่ได้มีผู้รายงานไว้ โดยจะแสดงออกที่ใบในระยะการเจริญเติบโต และเมื่อถึงระยะการสร้างผลผลิตจะแสดงออกถึงการล้มเหลวในการสร้างดอกและฝัก ส่วนการขาดโบรอนเพียงเล็กน้อยนั้นถึงแม้ว่าจะไม่ทำให้เกิดผลกระทบต่อการสร้างผลผลิต แต่จะไปแสดงออกเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ไปปลูกในที่ที่มีโบรอนต่ำแล้วทำให้การงอกของเมล็ดลดลง และได้ต้นอ่อนที่สมบูรณ์ต่ำ แต่ก็สามารถแก้ไขได้โดยการให้โบรอนจากภายนอก

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย ศูนย์วิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางเกษตร ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์

เอกสารอ้างอิง

- ณัฐวุฒิ สุขคำภา. 2546. ผลของโบรอนในถั่วเหลือง 3 พันธุ์. ปัญหาพิเศษวิทยาศาสตร์บัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาพืชไร่ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม. 2537. โบรอนในการผลิตถั่วในภาคเหนือ. ดินและปุ๋ย. 16: 130-154.
- เพิ่มพูน กิริตติกร. 2537. ผลงานวิจัยธาตุอาหารเสริมกับพืชตระกูลถั่วที่เป็นอาหารในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. วารสารดินและปุ๋ย. 16: 155-167.
- ศูนย์ศึกษาค้นคว้าและพัฒนาเกษตรกรรมภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. ถั่วพุ่ม (Cowpea). ขอนแก่น : สำนักงานปลัดกระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2537
- อยุธย คงปิ่น. 2545. ความแตกต่างทางพันธุกรรมของการตอบสนองต่อการขาดโบรอนในถั่วเขียวฝวมันและถั่วเขียวฝวคำ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาพืชไร่ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- Bell, R.W., McLay, L., Plaskett, D., Dell, B., and Loneragan, J.F. 1989. Germination and vigour of black gram (*Vigna mungo* (L.) Hepper) seed from plants grown with and without boron. Aust. J. Agric. Res. 40: 273-279.
- Broughton, W.J. and Dillworth, M.J. 1971. Control of leghaemoglobin synthesis in snake bean. Biochem. J. 125: 1075-1080.
- Dell, B. and Huang, L. 1997. Physiological response of plants to boron. Plant and Soil 193:103-120.
- Duke, James A. 1981. Handbook of Legumes of World Economic importance. USA: A Division of Plenum Publishing Corporation.

- Gupta, U.C. 1979, Boron nutrition of crops. Adv. Agron. 31:273-307.
- Harris, H.C., and Brolman, J.B. 1966. Comparison of calcium and boron deficiencies of the peanut. Seed quality in relation to histology and viability relationship. Agron. J. 58: 578-582.
- Matoh, T. 1997. Boron in plant cell wall Plant and Soil 193:59-70
- Noppakoonwong, R.N., Bell, R.W., Dell, B., and Loneragan, J.F. 1993. An effect of light on the B requirement for leaf blade elongation in black gram (*Vigna mungo*). Plant Soils. 155/156: 413-416.
- Rerkasem, B, Bell, R.W., Lodkaew, S., and Loneragan, J.F. 1993. Boron deficiency in soybean (*Glycine max* L. Merr.), Peanut (*Arachis hypogaea*), and black gram (*Vigna mungo* L. Hepper): symptoms in seeds and differences among soybean cultivars in susceptibility to boron deficiency. Plant Soils 150: 150.
- Rerkasem, B. 1990. Comparison of green gram (*Vigna radiata*) and black gram (*Vigna mungo*) in boron deficiency. In Mungbean 90, Proceedings of the Mungbean Meeting 90. Bangkok Office of Tropical Agricultural Research Centre, Japan, pp. 167-174.
- Rerkasem, B., Bell, R.W., and Loneragan, J.F. 1990. Effects of seed and soil boron on early seedling growth of black and green gram (*Vigna mungo* and *Vigna radiata*). Plant Nutrition-Physiology and Application. M.L Van Beusichem, Ed., Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. pp. 281-285.
- Shorrocks, V.M. 1997. The occurrence and correction of boron deficiency. Plant and Soil 193, 121-148.

Table 1 Number of pods pot^{-1} of two cowpea cultivars grown in tree levels of added B.

	Cowpea1	Cowpea2	Mean
B0	0	0	0
B1	39	21	30.0
B10	49	17	33.0
Mean	44.0A	19.0B	31.5
	G	B	GxB
F-test	**	ns	ns
LSD _{0.05}	10.5	-	-

Table 2 Number of seeds pod^{-1} of two cowpea cultivars grown in tree levels of added B.

	Cowpea1	Cowpea2	Mean
B0	0	0	0
B1	12	10	11.0
B10	13	11	12.0
Mean	12.5A	10.5B	11.5
	G	B	GxB
F-test	*	ns	ns
LSD _{0.05}	1.8	-	-

ns = non significant

* = significant at $p < 0.05$ ** = significant at $p < 0.01$

Table 3 100 seeds weight (g) of two cowpea cultivars grown in tree levels of added**B.**

	Cowpea1	Cowpea2	Mean
B1	13.0	18.1	15.6
B10	10.4	18.2	14.3
Mean	11.7A	18.15B	14.95
	G	B	GxB
F-test	**	ns	ns
LSD _{0.05}	1.62	-	-

Table 4 Seed yield (g pot⁻¹) of two cowpea cultivars grown in tree levels of added B.

	Cowpea1	Cowpea2	Mean
B0	0	0	0
B1	59.1	37.2	48.15
B10	65.3	35.6	50.45
Mean	62.20A	36.40B	49.30
	G	B	GxB
F-test	**	ns	ns
LSD _{0.05}	10.5	-	-

Table 5 B concentration (mgB kg⁻¹) of two cowpea cultivars grown in two levels of added B.

	Cowpea1	Cowpea2	Mean
B1	3.6C	4.0C	3.8
B10	18.4A	15.3B	16.9
Mean	11.0	9.7	10.3
	G	B	GxB
F-test	ns	**	*
LSD	-	1.85	2.16

ns = non significant

* = significant at p < 0.05

** = significant at p < 0.01

Table 6 Seed germination (%) of two cowpea cultivars grown in two levels of added B.

Levels of B (μ M)	Seed source (μ M)	Cowpea1	Cowpea2	Mean			
B0	SB1	93.1	96.9	95			
	SB10	98.8	100	99.4			
B10	SB1	93.1	98.1	95.6			
	SB10	99.4	98.8	99.1			
Mean		96.1B	98.5A	97.3			
	SB1	93.1	97.5	95.3b			
	SB10	99.1	99.4	99.3a			
	G	B	SB	GxB	GxSB	BxSB	GxBxSB
F-test	*	ns	**	ns	ns	ns	ns
LSD _{0.05}	2.17	-	2.17	-	-	-	-

Table 7 Normal Seedling (%) of two cowpea cultivars grown in two levels of added B.

Levels of B (μ M)	Seed source (μ M)	Cowpea1	Cowpea2	Mean			
B0	SB1	75.8	80.1	77.9B			
	SB10	100.0	99.4	99.7A			
	Mean	87.9	89.8	88.8			
B10	SB1	97.8	99.3	98.6A			
	SB10	100.0	99.4	99.7A			
	Mean	98.9	99.4	99.2			
	SB1	91.2	92.9	92.1			
	SB10	99.3	99.4	99.3			
	G	B	SB	GxB	GxSB	BxSB	GxBxSB
F-test	ns	**	**	ns	ns	**	ns
LSD _{0.05}	-	7.2	7.2	-	-	10.18	-

ns = non significant * = significant at $p < 0.05$ ** = significant at $p < 0.01$

เสนองานสัมมนาวิชาการคณะเกษตรศาสตร์ วันที่ 27 มิ.ย. 2546
การจัดการความหลากหลายของดินปะดะในไร่หมุนเวียนของกะเหรี่ยงโปว์
ในภาคเหนือของประเทศไทย

Agrobiodiversity management of Pada (*Macaranga denticulata* (Bl.) Muell. Arg.) in
Traditional Shifting Cultivation of Pwo Karen in Northern Thailand.

นริศ ยิ้มแย้ม¹ สิริชัย ลอดแก้ว² เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม³ และ กนก ฤกษ์เกษม²

Narit Yimyam¹ Sittichai Lordkaew² Banjavan Rerkasem¹ and Kanok Rerkasem²

¹ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

²ศูนย์วิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

³Agronomy Department, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

²Multiple Cropping Center, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

บทคัดย่อ

การทำไร่หมุนเวียนของกะเหรี่ยงโปว์ บ้านทิมะ ค. สบเมย อ. สบเมย จ. แม่ฮ่องสอน ซึ่งมีระยะรอบของการหมุนเวียนลดลงจาก 10-15 ปี เหลือเพียง 7 ปี โดยมีดินปะดะเป็นพืชเด่นในช่วงของการทิ้งแปลง จากการสังเกตของเกษตรกร พบว่าหากบริเวณใดที่มีดินปะดะขึ้นอยู่เป็นจำนวนมากก่อนที่จะตัดถางป่าเพื่อการปลูกข้าวไร่ จะทำให้ผลผลิตข้าวไร่ที่ปลูกในบริเวณนั้นสูงตามไปด้วยเกษตรกรบ้านทิมะจึงมีการจัดการเพื่อให้ในไร่หมุนเวียนช่วงของการทิ้งแปลงมีดินปะดะขึ้นอยู่อย่างหนาแน่น การศึกษานี้เป็นการประเมินผลของดินปะดะต่อระบบการผลิตข้าวไร่ของกะเหรี่ยงโปว์ ผลการศึกษาพบว่าในบริเวณที่มีดินปะดะหนาแน่นมาก หลังจากที่มีการทิ้งแปลงไว้ 6 ปี จะมีการสะสมของน้ำหนักแห้งของป่าเห่ลารวมทั้งสิ้นสูงถึง 42.7 ตันต่อเฮกตาร์ และมีปริมาณการสะสมของธาตุอาหารสูงถึง 535 กิโลกรัมของไนโตรเจน 38 กิโลกรัมของฟอสฟอรัส 254 กิโลกรัมของโพแทสเซียม 132 กิโลกรัมของแคลเซียม และ 46 กิโลกรัมของแมกนีเซียม สำหรับในช่วงฤดูการปลูกข้าวไร่พบว่าผลผลิตข้าวไร่แปลงที่มีดินปะดะหนาแน่นมากจะให้ผลผลิตข้าวสูงถึง 3.04 ตันต่อเฮกตาร์ แต่ผลผลิตข้าวไร่ในสภาพที่มีดินปะดะน้อยจะมีค่าเพียง 1.15 ตันต่อเฮกตาร์ ผลการศึกษานี้แสดงถึงความสำคัญของดินปะดะที่สามารถฟื้นฟูผลผลิตข้าวไร่ในสภาพที่มีระยะรอบของการหมุนเวียนสั้นให้มีความยั่งยืนในระบบของการผลิตข้าวไร่

คำสำคัญ: การทำไร่หมุนเวียน ป่าเห่ล่า น้ำหนักแห้งของพืช

Abstract

The rotational shifting cultivation of Pwo Karen communities in Sop Moei of Mae Hong Son province was decreased rotate cycling from 10-15 to 7 years. They had found the beneficial effect of a pioneer bush species: *Macaranga denticulata* (Bl.) Muell. Arg., on rice yields in their tradition shifting cultivation. The effects are readily observable in patches where the trees grow vigorously and evenly in dense stands before cutting and burning for cultivation. Local people know the plant well with the name "Pada" in Karen. Karen

farmers in Sop Moei have been able to develop management practice and enable pada to evenly establish with dense canopy in the fallow period plots of their rotational shifting cultivation. This study was aiming to assess the positive effect of pada on upland rice in rotational shifting agriculture. The result incepted that by the end of 6 years fallow regrowth, the total amount of fallow biomass accumulate could be as high as 42.7 t.ha^{-1} . This provides the total amount of 535 kg N, 38 kg P, 254 kg K, 132 kg Ca and 46 kg Mg ha^{-1} . During cropping period, yield of upland rice after dense population of pada was up to 3.04 t.ha^{-1} , which was three times higher than those in the sparse population. Against this background the important of pada effective fallow enriched species maybe addressed and its contribution to sustain productivity of upland rice productivity should be examination.

Keywords: rotation shifting cultivation, fallow regrowth, biomass

บทนำ

การทำการเกษตรของเกษตรกรชาวเขานที่สูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเพื่อการยังชีพ เช่น การปลูกข้าว หรือพืชไร่บางชนิด จะมีวิธีการทำ 2 วิธีด้วยกันคือ การทำไร่เลื่อนลอย (pioneer shifting cultivation) และการทำไร่หมุนเวียน (rotational shifting cultivation) (Rerkasem, and Rerkasem, 1994) การทำไร่หมุนเวียนจะเป็นการทำไร่อย่างถาวร ซึ่งไร่ของเกษตรกรจะอยู่รอบ ๆ หมู่บ้าน ในประเทศไทยเกษตรกรบนที่สูงที่มีการทำการเกษตรแบบนี้ได้แก่ กระเหรี่ยง หรือ ลัวะ โดยจะมีรอบการหมุนเวียนในการทำการเกษตรและทิ้งแปลง (rotate cycling) ประมาณ 10 – 15 ปี ในขณะที่การทำไร่เลื่อนลอยนั้น จะเป็นการทำการเกษตรแบบไม่ถาวร จะมีการย้ายพื้นที่ไปเรื่อย ๆ ขึ้นอยู่กับความอุดมสมบูรณ์ของดิน กลุ่มเกษตรกรที่ทำการเกษตรแบบนี้ได้แก่ ม้ง อีเก้อ เข่า และ ลีซอ เป็นต้น

สำหรับกระเหรี่ยงโปว์บ้านทิมะ ต.สบเมย อ.สบเมย จ.แม่ฮ่องสอน ได้มีการทำการเกษตรแบบไร่หมุนเวียนในการผลิตข้าวไร่ และในช่วง 15 ปีที่ผ่านมาระยะเวลาการฟื้นฟูป่าเหล่า (fallow phase) ซึ่งเป็นพื้นที่ที่ละทิ้งเพื่อให้พืชได้มีการฟื้นตัวขึ้นมาใหม่ลดลง โดยเกษตรกรสังเกตพบว่าพืชชนิดหนึ่งคือ ต้นปะดะ (*Macaranga denticulata* (Bl.) Muell. Arg.) ขึ้นอยู่บริเวณใดเป็นจำนวนมาก ก่อนที่จะทำการตัดถางไร่เพื่อปลูกข้าวไร่ จะทำให้ผลผลิตของข้าวไร่ที่ปลูกในบริเวณนั้นสูงตามไปด้วย ดังนั้นเกษตรกรจึงได้มีการพัฒนาการจัดการเพื่อให้ในแปลงป่าเหล่าของตนเองมีต้นปะดะนี้ขึ้นอยู่หนาแน่นกว่าไม้ชนิดอื่น ปัจจุบันระยะเวลาในการหมุนเวียนของการทำไร่ใช้ระยะเวลา รวมทั้งสิ้นเพียง 7 ปี โดยมีช่วงของการทิ้งแปลงเพียง 6 ปี เท่านั้น

ในด้านพฤกษศาสตร์ของต้นปะดะ เป็นไม้ไม่ผลัดใบ อยู่ในตระกูล Euphorbiaceae มีขนาดต้นเล็ก จนถึงปานกลาง มีลำต้นตั้งตรง และเมื่อโตเต็มที่สูงได้ถึง 18-19 เมตร และมีขนาดเส้นรอบวงได้ถึง 40 ซม. มีลำต้นตั้งตรง (Gardner *et. al.*, 2000) ปะดะมีผลขนาดเล็ก โดย 1 ผลจะมี 3 พู ในแต่ละพูจะมี 1 เมล็ด เมื่อผลยังดิบจะมีสีเขียว แต่เมื่อแก่จะมีสีเขียวอ่อนจนกระทั่งสีน้ำตาล เมล็ดมี

เปลือกหุ้มแข็งขนาดเล็ก เฉลี่ย $2.4 \times 2.3 \times 2.2$ มม. ผลจะมีลักษณะเหนียวสามารถติดไปกับสัตว์ที่ขนาดใหญ่ เช่น วัว ควาย ได้ทำให้มีการกระจายตัวได้ดี สำหรับการงอกของเมล็ดและการตั้งตัวของต้นกล้ายังมีผลการศึกษาน้อยมาก ต้นปะดะพบว่ากระจายตัวขึ้นอยู่ในความสูงจากระดับน้ำทะเลตั้งแต่ 525 ถึง 1370 เมตร ขึ้นไป ต้นปะดะนั้นมีอยู่ด้วยกันหลากหลายชนิด ตัวอย่างเช่น ในแอฟริกา มี 80 ชนิด สำหรับในเขตร้อนทางตะวันออกพบถึง 200 ชนิด สำหรับนักนิเวศวิทยา ต้นปะดะจัดอยู่ในพืชประเภท pioneer species ที่ขึ้นอยู่ใน secondary forests (Whitmore, 1982) แต่ไม่ใช่ปะดะทุกชนิดที่จะขึ้นเป็น pioneer species ในบ้านที่ชะเงวณกรพบว่า มี 3 ชนิด แต่มีเพียง *M. denticulata* เท่านั้น ที่ช่วยในการทำให้ข้าวไร่มีผลผลิตเพิ่มขึ้น ในขณะที่อีก 2 ชนิดซึ่งได้แก่ *M. gigantea* และ *M. Kurzii* ไม่มีผลต่อผลผลิตของข้าวไร่

จากข้อสังเกตเบื้องต้นที่กล่าวมา จึงทำให้เกิดคำถามเชิงวิชาการซึ่งจะนำไปสู่การศึกษาผลของต้นปะดะในแปลงป่าเหล่าที่มีต่อผลผลิตของข้าวไร่ โดยศึกษาว่าต้นปะดะมีผลผลิตข้าวไร่ในระบบหมุนเวียนที่ระยะเวลาของช่วงในการทิ้งแปลงต่าง ๆ อย่างไร และอะไรเป็นข้อจำกัดในการจัดการกับต้นปะดะในแปลงป่าเหล่าของเกษตรกร

วิธีการศึกษา

การศึกษานี้ใช้แปลงเกษตรกรเป็นพื้นที่ในการศึกษา แบ่งออกเป็นหลายส่วน โดยเริ่มแรกทำการศึกษาถึงชนิดไม้ที่ขึ้นในแปลงป่าเหล่าที่มีอายุ 6 ปีซึ่งพร้อมที่จะทำการแผ้วถางเพื่อทำไร่สำหรับปีการเพาะปลูก 2543 และเผาในเดือนเมษายน 2543 ศึกษาใน 3 แปลงแต่ละแปลงมีขนาด $20 \text{ ม} \times 20 \text{ ม}$ ส่วนต่อมาศึกษาเปรียบเทียบระหว่างแปลงที่มีต้นปะดะขึ้นอยู่อย่างหนาแน่นและแปลงที่มีต้นปะดะขึ้นอยู่กระจัดกระจาย เก็บ 3 ซ้ำ ขนาดของแปลงที่เก็บคือ $10 \text{ ม} \times 10 \text{ ม}$ ซ้ำนี้ให้นักศึกษาในแปลงแยกออกเป็นส่วนของปะดะ พืชอื่น ๆ (รวมกัน) และเศษซากพืช จากนั้นสุ่มตัวอย่างเพื่อนำไปอบในตู้อบ (อุณหภูมิ 70°C นาน 24 ชม.) เพื่อหาค่าน้ำหนักแห้ง

สำหรับการศึกษาถึงกระทบผลผลิตของข้าวไร่ปี 2543 ทำโดยการสุ่มพื้นที่ 6 แปลง(ขนาด $2 \text{ ม} \times 5 \text{ ม}$)จากแปลงของเกษตรกร (นายนพพร) เพื่อศึกษาผลกระทบของความหนาแน่นของต้นปะดะต่อน้ำหนักแห้ง ผลผลิตและองค์ประกอบของผลผลิตของข้าวไร่ โดยใน 3 แปลงมีปะดะจำนวนมาก และ 3 แปลงมีต้นปะดะจำนวนน้อย สุ่มเก็บตัวอย่างจำนวน 2 ครั้งจากต้นข้าวที่อายุ 30 วัน หลังปลูกจำนวน 10 ต้นต่อ 1 ตัวอย่าง และก่อนการเก็บเกี่ยว ตัวอย่างที่ได้นำไปวิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหาร ได้แก่ N, P, K, Ca และ Mg ตรวจสอบองค์ประกอบของผลผลิตข้าวไร่ และผลผลิตของข้าวไร่ และเก็บผลผลิตจากแปลงเกษตรกรรายอื่น ๆ เพิ่มอีก 5 ราย ซึ่งมีขนาดพื้นที่เก็บตัวอย่างเท่ากับ $1 \text{ ม} \times 1 \text{ ม}$ โดย 4 แปลงจะเปรียบเทียบผลผลิตของข้าวไร่ในสภาพแปลงที่มีต้นปะดะขึ้นอยู่ต่างกัน ส่วนอีก 1 แปลงจะเปรียบเทียบระหว่างแปลงที่มีการทิ้งแปลงช่วงระยะที่ต่างกัน (3 ปีและ 6 ปี)

ผลการทดลอง

1. ช่วงของการทิ้งแปลง (Fallow phase)

(1) การกระจายตัวของดินปะคะและไม้ชนิดอื่น

ในช่วงการทิ้งแปลงของการทำไร่หมุนเวียนของเกษตรกร จะมีการกระจายตัวของดินปะคะแตกต่างกันมากตามอายุของป่าเหล่า จากการศึกษาค้นคว้า การกระจายตัวของดินปะคะ ในช่วงเริ่มแรกของการทิ้งแปลงจะมีจำนวนดินปะคะเฉลี่ย 49,350 ต้นต่อเฮกตาร์ ในขณะที่เมื่ออายุของการทิ้งแปลงได้ 6 ปี จำนวนดินปะคะเฉลี่ยเหลือเพียง 2,600 ต้นต่อเฮกตาร์ (ตารางที่ 1) ส่วนจำนวนของต้นไม้ชนิดอื่น ๆ หลังจากการทิ้งแปลงไว้ 6 ปี ในแปลงที่มีปะคะขึ้นอยู่หนาแน่น (dense area) พบว่ามีจำนวนต้นไม้ชนิดอื่น ๆ เพียง 1 ใน 4 ของจำนวนดินปะคะเท่านั้นสำหรับในแปลงที่มีดินปะคะขึ้นอยู่น้อย (sparse area) นั้นพบว่ามีไม้ชนิดอื่น ๆ มากกว่าดินปะคะ ถึง 2 เท่า (ตารางที่ 2)

(2.) มวลชีวภาพและปริมาณธาตุอาหารที่สะสม

เมื่อทิ้งแปลงให้มีอายุ 6 ปี ก่อนที่จะมีการตัดถางและเผาสำหรับแปลงที่มีดินปะคะขึ้นอยู่เป็นจำนวนมาก พบว่าจะมีการสะสมมวลชีวภาพเป็นน้ำหนักแห้งรวมสูงถึง 42.7 ต้นต่อเฮกตาร์ (ตารางที่ 3) ซึ่งจะเป็นน้ำหนักแห้งที่ได้จากดินปะคะถึง 2 เท่าของน้ำหนักอื่น ๆ รวมทั้งหมด ในขณะที่แปลงที่มีการกระจายตัวของดินปะคะน้อยจะมีการสะสมน้ำหนักแห้งที่ได้จากดินปะคะอยู่เพียง ¼ ของน้ำหนักแห้งทั้งหมด ส่วนน้ำหนักแห้งที่เหลือส่วนมากจะได้จากพืชชนิดอื่น ๆ

สำหรับในด้านปริมาณธาตุอาหารรวมที่สะสมในดินพืชนั้น ซึ่งได้แก่ธาตุ N, P, K, Ca และ Mg จะมีมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณของน้ำหนักแห้งที่สะสมด้วย (ตารางที่ 4) ในแปลงที่มีดินปะคะอยู่เป็นจำนวนมากจะพบว่ามีปริมาณธาตุอาหารที่สะสมทุกธาตุสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับแปลงที่มีดินปะคะขึ้นอยู่น้อย ซึ่งอาจจะมีผลส่งไปถึงปริมาณของผลผลิตของข้าวไร่ในช่วงของการปลูกข้าวไร่ด้วย

2. ช่วงของการปลูกพืช (Cropping phase)

(1) ผลผลิตของข้าวไร่

ผลของความหนาแน่นของดินปะคะที่มีต่อผลผลิตข้าวไร่นั้น พบว่าในแปลงที่มีดินปะคะมากในช่วงการทิ้งแปลงนั้นจะทำให้ได้ผลผลิตโดยเฉลี่ยสูงถึง 3.04 ต้นต่อเฮกตาร์ ซึ่งจะมากเกือบ 3 เท่าของแปลงที่มีดินปะคะขึ้นอยู่อย่างกระจัดกระจาย (1.15 ต้นต่อเฮกตาร์) ในช่วงทิ้งแปลง ในขณะที่เดียวกันผลผลิตของแปลงที่มีช่วงของการทิ้งแปลงสั้น (นาหยุด 3 ปี) พบว่าจะได้ผลผลิตเพียง 0.74 ต้นต่อเฮกตาร์ ซึ่งจะต่ำมากเมื่อเปรียบเทียบกับแปลงที่มีการช่วงการทิ้งแปลงตามปกติคือ 6 ปี ส่วนในด้านของน้ำหนักฟางก็จะพบในทำนองเดียวกันคือในแปลงที่มีดินปะคะมากก็ทำให้ได้น้ำหนักฟางสูงถึง 2.74 ต้นต่อเฮกตาร์ ในขณะที่ฟางที่ได้จากแปลงที่มีปะคะน้อยมีเพียง 1.19 ต้นต่อ

เฮกตาร์ และเมื่อมีการทิ้งแปลงไว้เพียง 3 ปีจะได้น้ำหนักฟางน้อยมากเพียง 0.72 ตันต่อเฮกตาร์ (แปลงนายทองดี) ดังตารางที่ 5

สำหรับในด้านองค์ประกอบของผลผลิตซึ่งเก็บจากแปลงของนายนพพร พบว่าในแปลงที่มีดินปะตะจำนวนมากจะมีจำนวนรวงต่อต้นสูงกว่าแปลงที่มีดินปะตะจำนวนน้อยถึง 42.3 % ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 6) อย่างไรก็ตามในส่วนของการคำนวณต้นทุนนั้นจะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนผลของจำนวนรวงที่แตกต่างกันนั้นอาจจะมาจากความล้มเหลวในการสร้างรวงของต้นข้าวที่อยู่ในแปลงที่มีดินปะตะน้อยก็ได้ ในด้านน้ำหนัก 1000 เมล็ด ไม่พบความแตกต่างระหว่างแปลงที่มีดินปะตะจำนวนมากหรือมีดินปะตะจำนวนน้อย (ตารางที่ 6)

(2) การสะสมปริมาณธาตุอาหารของต้นข้าว

เมื่อเก็บเกี่ยวข้าวไว้ในระยะสุกแก่และนำมาวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารที่สะสมในส่วนต่างๆ ของต้นข้าว ตามตารางที่ 7 พบว่า ต้นข้าวที่เก็บเกี่ยวจากแปลงที่มีปะตะจำนวนมากจะมีการสะสมของธาตุอาหารทุกชนิดทั้งในส่วนของข้าวเปลือก และฟางข้าว มากกว่าที่ได้จากแปลงที่มีดินปะตะจำนวนน้อย โดยเฉพาะอย่างยิ่งธาตุไนโตรเจนที่ได้จากแปลงที่มีปะตะจำนวนมาก โดยส่วนของข้าวเปลือกจะได้ 34.1 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อเฮกตาร์และในฟางมี 13.6 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อเฮกตาร์ ในขณะที่ธาตุอาหารที่วิเคราะห์ได้จากแปลงที่มีดินปะตะน้อยในส่วนของข้าวจะมีเพียง 13.9 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อเฮกตาร์ ซึ่งจะมีการนำเอาเฉพาะส่วนที่เป็นเมล็ดข้าวเปลือกเท่านั้นที่ออกไปหลังจากการเก็บเกี่ยว ส่วนที่เหลือซึ่งได้แก่ฟางข้าวจะมีการทิ้งไว้ในแปลงเพื่อให้สลายตัวกลับลงสู่ดินต่อไป (ตารางที่ 7)

(3) การหมุนเวียนของธาตุอาหาร

เมื่อพิจารณาจากตารางที่ 4 ซึ่งจะแสดงถึงปริมาณธาตุอาหารที่สะสมและให้แก่ระบบ โดยมาจากต้นพืชที่ทำการตัดและเผาหลังจากทิ้งแปลงได้ 6 ปี และตารางที่ 7 แสดงถึง ปริมาณธาตุอาหารที่ต้นข้าวดูดไปสะสมไว้ และมีการนำออกไปจากระบบ เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับกันจะพบว่ามีเพียงปริมาณเล็กน้อยเท่านั้น และเมื่อนำเอาข้อมูลมาเปรียบเทียบกับกันจะแสดงได้ ดังตารางที่ 8 โดยแปลงที่มีปริมาณดินปะตะมากพบว่าจะมีปริมาณของธาตุอาหารเพียงเล็กน้อยเท่านั้นที่ถูกนำออกจากระบบไปคือ 8.9 25.5 และ 19.9 % ของธาตุ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ตามลำดับ

สรุปและข้อเสนอสำหรับงานวิจัยในอนาคต

ในการจัดการไร่หมุนเวียนของกระเหรี่ยงโปว์ บ้านทึช โดยมีปะตะเป็นพืชเด่นในระบบ พบว่าจะให้ผลผลิตดีกว่าการทำไร่หมุนเวียนแบบดั้งเดิมของลัวะ บ้านป่าแป๋ จังหวัดแม่ฮ่องสอน โดยที่ลัวะจะมีรอบวงจรในการใช้ไร่หมุนเวียนยาวนานถึง 10 ปี ซึ่งจากการศึกษาของ Zinke *et al.* (1978) และ Sabhasri (1978) พบว่าน้ำหนักของพืชที่สะสมหลังจากทิ้งแปลงได้ 4 ปี 7 ปี และ 10 ปี

มีค่าเท่ากับ 26.3 27.7 และ 63.1 ต้นต่อเฮกตาร์ตามลำดับ ในขณะที่น้ำหนักแห้งของพืชที่สะสมหลังจากที่ทิ้งแปลงได้ 6 ปี ของกระเหรี่ยงบ้านทิวะ ในแปลงที่มีต้นปะดะมากจะให้สูงถึง 42.7 ต้นต่อเฮกตาร์ โดยจะสูงกว่าน้ำหนักแห้งที่สะสมเมื่อทิ้งแปลงได้ 7 ปี ของลัวะ ประมาณ 60%

สำหรับในด้านของการสะสมปริมาณธาตุอาหาร เมื่อเปรียบเทียบระหว่างของกระเหรี่ยงบ้านทิวะที่มีการทิ้งแปลงได้ 6 ปี กับของลัวะบ้านป่าแป๋ที่มีการทิ้งแปลงได้ 7 ปี พบว่าปริมาณธาตุอาหารในแปลงที่มีต้นปะดะจำนวนมากของกระเหรี่ยง โดยเฉพาะอย่างยิ่งธาตุอาหารหลัก คือ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม สูงถึง 535 38 และ 254 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ ตามลำดับ ในขณะที่การสะสมธาตุอาหารในแปลงของลัวะจะได้ปริมาณธาตุอาหารคือ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม เพียง 143 16 และ 179 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ ตามลำดับ ดังต่อไปนี้

	Nutrient Content (kg/ha)			References
	N	P	K	
Lua system of Pa Pac: 7-year regrowth	143	16	179	Zinke <i>et. al.</i> ,1978
Karen system of Tee Cha: 6-year regrowth	535	38	254	

โดยทั่วไประยะเวลาของการทำไร่หมุนเวียนโดยมีต้นปะดะเป็นพืชเด่นในระบบต้องการรอบหมุนเวียนอย่างน้อยเพื่อรักษาผลผลิตข้าวไร่ในระดับที่ค่อนข้างสูงถึง 7 ปี แต่เมื่อหากลดระยะเวลาทิ้งแปลงลงอาจจะส่งผลกระทบต่อจำนวนประชากรต้นปะดะ และการสะสมน้ำหนักแห้งโดยรวมของป่าเหล่า ทำให้โอกาสการสะสมปริมาณธาตุอาหารลดลง ซึ่งจะสอดคล้องกับการศึกษาที่พบว่าเมื่อลดระยะเวลาของการทำไร่หมุนเวียนลงให้เหลือเพียง 4 ปี จะทำให้ผลผลิตของข้าวลดลงเป็นจำนวนมาก (แปลงนายทองดี ตารางที่ 5)

ผลของความหนาแน่นของต้นปะดะในช่วงของการทิ้งแปลงจะส่งผลให้ผลผลิตของข้าวไร่เพิ่มขึ้น โดยแปลงที่มีปะดะจำนวนมากจะทำให้ได้ผลผลิตสูงถึง 3.04 ต้นต่อเฮกตาร์ ในขณะที่แปลงที่มีปะดะจำนวนน้อยจะทำให้ได้ผลผลิตเพียง 1.15 ต้นต่อเฮกตาร์ (ตารางที่ 5) ซึ่งถ้าเปรียบเทียบกับผลผลิตข้าวไร่ของชาวเขาในจังหวัดทางภาคเหนือ ซึ่งจะมีค่าในช่วง 0.87–1.85 ต้นต่อเฮกตาร์ หรือ เฉลี่ยเพียง 1.18 ต้นต่อเฮกตาร์ เท่านั้น (Keen, 1972 และ Kunstadter and Chapman, 1978)

ถึงแม้ว่าการศึกษานี้ สามารถบ่งชี้ความแตกต่างของผลผลิตข้าวไร่ที่แตกต่างกันระหว่างแปลงที่มีความหนาแน่นของต้นปะดะต่างกัน แต่ความสัมพันธ์ระหว่างต้นปะดะกับข้าวไร่จำเป็นที่จะต้องค้นหาต่อไปในอนาคต การกระจายตัวของต้นปะดะและการเปลี่ยนแปลงจำนวนประชากรของต้นปะดะเปรียบเทียบกับต้นไม้ธรรมชาติชนิดอื่นๆ จำเป็นที่จะต้องติดตามเพื่อเป็นกุญแจที่สำคัญ ในการจัดการป่าเหล่าให้รอดพ้นจากการเปลี่ยนแปลงสู่สภาพเสื่อมโทรมที่มีไม้พุ่มขนาดเล็ก

หรือวัชพืชเป็นพืชเด่น ที่สำคัญที่สุดจากการศึกษานี้ ด้านปริมาณธาตุอาหารของป่าเหล่าที่มีดินปะคละเป็นพืชเด่น มีการสะสมค่อนข้างสูงภายในระยะเวลาเพียง 6 ปี การศึกษาถึงที่มาและการหมุนเวียนของธาตุอาหารในระบบไร่หมุนเวียนที่มีปะคละเป็นพืชเด่น คาดว่าจะเป็นกุญแจที่สำคัญที่จะรักษาความยั่งยืนของผลผลิตข้าวไร่ในระบบไร่หมุนเวียนและการฟื้นตัวของป่าเหล่า

References

- Gardner, S., Sidisunthorn, P. and Anusarnsunthorn, V. 2000. Forest Trees of Northern Thailand. A field guide. Bangkok: Kobfai publishing Project. 560 p.
- Keen, F. G. B., 1972. Upland Tenure and Land Use in North Thailand. Bangkok: Siam Communication Ltd for the SEATO Cultural Programmer. 172 p.
- Kerby, J., Elliott, S., Maxwell, J. F., Blakesley, D. and Anusarnsunthorn, V. 2000. Tree Seeds and Seedlings for Regenerating Forests in Northern Thailand. Chiang Mai: Forest Restoration Research Unit (FORRU), Chiang Mai University. 151 p.
- Kunstadter, P. and Chapman, E.C. 1978. Problems of shifting cultivation and economic development in northern Thailand. In: P. Kunstadter, E.C. Chapman and S. Sabhasri (eds.) Farmers in the Forests: Economic Development and Marginal Agriculture in Northern Thailand. Pp. 3-23. Honolulu: The University Press of Hawaii for East-West Center.
- Rerkasem, K. and Rerkasem, B. 1994. Shifting Cultivation in Thailand Its current situation and dynamics in the context of highland development. Faculty of Agriculture Chiang Mai University Thailand. 107 p.
- Sabhasri, S., 1978. Effects of forest fallow cultivation on forest production and soil. In: P. Kunstadter, E.C. Chapman and S. Sabhasri (eds.) Farmers in the Forests: Economic Development and Marginal Agriculture in Northern Thailand. Pp. 160-184. Honolulu: The University Press of Hawaii for East-West Center.
- Whitmore, T. C. 1982. On pattern and process in forests. In: E. I. Newman (ed.) The Plant Community as Working Mechanism: Special Publication of the British Ecological Society Produced to a Tribute to A.S. Watt. Pp. 45-59. Oxford: Blackwell Scientific Publication.
- Zinke, P. J., Sabhasri, S. and Kunstadter, P. 1978. Soil fertility aspects of the lua' forest fallow system of shifting cultivation. In: P. Kunstadter, E.C. Chapman and S. Sabhasri (eds.) Farmers in the Forests: Economic Development and Marginal Agriculture in Northern Thailand. Pp. 134-159. Honolulu: The University Press of Hawaii for East-West Center

Table 1. Number of *M. denticulata* in monitoring plots.

Stage of Fallow	Number of <i>M. denticulata</i> (plants/ha)		
	Dense Area	Sparse Area	Average
Beginning of Fallow Regeneration	66,000	32,700	49,350
End of 6-year Fallow Regeneration	4,200	1,000	2,600

Table 2. Number of plants in the fallow at the 6-years of regeneration

Abundance of <i>Macaranga</i> in fallow	Number of plants (plants/ha)		Total
	<i>M. denticulata</i>	Other species	
Dense area	4200	1220	5420
Sparse area	1000	2090	3090

Table 3. Distribution of biomass and productivity of fallow at the completion of 6 years of regeneration.

Composition of 6- year Fallow	Above Ground Biomass (t/ha)		
	Dense Area of	Sparse Area of	Average
	<i>Macaranga</i>	<i>Macaranga</i>	
<i>M. denticulata</i>	22.2	9.4	15.8
Other species	14.1	21.6	17.9
Litters	6.4	4.7	5.6
Total	42.7	35.7	39.9

Table 4. Distribution of fertility elements in 6 – year fallow regeneration.

Composition of 6 – year Fallow	Nutrient Content (kg/ha)									
	Dense Area of <i>M. denticulata</i>					Sparse Area of <i>M. denticulata</i>				
	N	P	K	Ca	Mg	N	P	K	Ca	Mg
<i>M. denticulata</i>	289	21	97	72	10	131	6	32	21	6
Other species	191	12	118	118	23	297	18	85	36	6
Litters	56	5	38	38	13	59	4	14	16	10
Total	535	38	254	254	132	488	134	132	72	22

Table 5. Effects of *Macaranga* in fallows on subsequent productivity of upland rice.

Farmer	<i>Macaranga</i> Abundance	Rice yield (t/ha)			Harvest Index (%)
		Grain	Straw	Total dry weight	
Niporn	Dense	2.51	2.35	4.86	51.6
	Sparse	0.83	0.97	1.80	46.1
Naechae	Dense	4.53	3.80	8.33	54.4
	Sparse	1.56	1.75	3.31	47.1
Suyo	Dense	2.99	3.29	6.28	47.6
	Sparse	1.14	1.08	2.22	51.4
Pho	Dense	3.24	2.56	5.80	55.9
	Sparse	1.37	1.40	2.77	49.5
Chaemon	Dense	2.80	2.48	5.28	53.0
	Sparse	1.50	1.20	2.70	55.5
Mean	Dense	3.04	2.74	5.78	52.6
	Sparse	1.15	1.19	2.34	49.1
Thongdee	dense	0.74	0.72	1.46	50.8

Note: Data from Noporn's plot were taken 10m x 10m quadrats with three replicates in different areas of *M. denticulata* abundance. Crop cutting survey was carried out in other farmers, plots with smaller quadrat (1m x 1m). All plots are 6-years after regrowth except Thongdee plot. Thongdee field is a young fallow of only 3-year after regrowth.

Table 6. Effects of *Macaranga* in fallows on plant establishment and yield components of upland rice.

Yield Components	Abundance of <i>Macaranga</i> in Fallow		Significant Level
	Dense Area	Sparse Area	
Number of hills/m ²	6.2	5.5	.05
Number of Plants/hill	3.0	2.7	NS
Number of tillers/plant	4.6	3.8	NS
Number of panicles/plant	4.1	2.6	.05
- % panicle bearing tillers	89.1	28.4	
1000 seed weight (g)	29.14	19.10	NS

Note: Number of hills were measured from a total area of 10m². Statistical significant differences are indicated by LSD at 0.05% and NS for "not significant"

Table 7. Nutrient uptake of upland rice at maturity

Attributes	Amount of Nutrient Uptake (kg/ha)									
	Dense Area of <i>M. denticulata</i>					Sparse Area of <i>M. denticulata</i>				
	N	P	K	Ca	Mg	N	P	K	Ca	Mg
Grain	34.1	7.6	13.1	3.1	3.4	13.9	3.3	5.4	1.1	1.4
Straw	13.6	2.1	62.9	8.1	3.3	7.3	1.0	16.1	3.5	1.5
Total	47.7	9.7	76.0	11.1	6.7	21.2	4.3	31.5	4.6	2.9

Table 8. Proportion of nutrient uptake as percentage of total nutrient content in 6 year fallow.

Shifting Cultivation Cycle	Nutrient Content/Uptake (kg/ha)					
	N	P	K	Ca	Mg	
Total content in fallow	53.5		3.8	25.4	13.2	46
Total uptake in rice	47.7		9.7	76.0	11.1	6.7
Percentage of total	8.9		25.5	19.9	8.4	14.5
Content in fallow						

การคัดเลือกพันธุ์ข้าวไทยภายใต้สภาพขาดธาตุเหล็กโดยวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบ**Screening Thai Rice Genotypes under Iron Deficiency by Leaf Chlorophyll**รัตนา ชานะพันธุ์¹ และ เบญจวรรณ อุทัยเกษม¹ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

Abstract : Wetland rice does not suffer from iron deficiency because of high availability of iron in submerged soil. Iron deficiency is a problem in upland rice and also rice grown without irrigation (non submerged soil). Besides, iron deficiency is a widespread problem in calcareous soil (pH 7.3-8.5) because of low availability of iron in the soil and inadequate uptake. Iron deficiency depresses chlorophyll synthesis (causing iron deficiency chlorosis) resulting from the damage of chloroplast structure. Therefore, Rice genotypes with high chlorophyll content was tolerant to iron deficiency. This experiment, setup to screen Thai rice genotypes which are tolerant to iron deficiency by measuring chlorophyll accumulation in the leaf. Thirty nine rice genotypes and KDML 105 (local check) were grown in sand culture in concrete boxes. The sand was watered twice daily with complete nutrient solution without iron. Measurement of leaf chlorophyll was made with a chlorophyll meter (SPAD 502) sixty days after sowing. Data were analysed by t-test. The results showed that five rice genotypes, Siw-Lao, Jon-Dang, PRE87003-1-3-1-1, RD 10 and Hom-Pitsanulok 1 had the highest SPAD value ($p < 0.05$) suggesting that they were least affected by, i.e. most tolerant to iron deficiency. The tolerant to iron deficiency in these genotypes will be further investigated by comparing their iron uptake and utilization efficiency.

บทคัดย่อ : ธาตุเหล็กมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืช เมื่อพืชขาดธาตุเหล็กจะมีผลทำให้โครงสร้างของคลอโรพลาสต์ได้รับความเสียหายจึงส่งผลให้มีการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ลดน้อยลง ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดภาวะพร่องคลอโรฟิลล์ขึ้น จึงเป็นสาเหตุทำให้การสังเคราะห์แสงของพืชลดลง ดังนั้นในการทดลองนี้จะทำการคัดเลือกพันธุ์ข้าวไทยที่ทนทานต่อการขาดธาตุเหล็ก โดยใช้ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบเป็นตัวคัดเลือก ซึ่งพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบสูงจะเป็นพันธุ์ที่ทนต่อการขาดธาตุเหล็ก โดยในการทดลองใช้พันธุ์ข้าวไทย 39 พันธุ์ปลูกเปรียบเทียบกับพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 ปลูกในกระบะทราย รดด้วยสารละลายที่ขาดธาตุเหล็ก แล้ววัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบด้วยเครื่อง SPAD 502 chlorophyll meter เมื่ออายุได้ 60 วัน แล้ววิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วย t-test จากการทดลองพบพันธุ์ข้าว 5 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์สิวลาว พันธุ์จอมแดง พันธุ์ PRE 87003-1-3-1-1 พันธุ์ กข 10 และพันธุ์หอมพิสนุโลก 1 มีปริมาณคลอโรฟิลล์ (SPAD value) มากกว่าพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 โดยมีค่า $p < 0.05$ แต่อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองนี้วิธีดังกล่าวเป็นการคัดเลือกพันธุ์ในขั้นต้น จะทำให้สะดวกต่อการปรับปรุงพันธุ์ที่มีสมรรถภาพในการใช้เหล็กในข้าว

Index words : Iron deficiency, Rice

คำนำ

เหล็กเป็นธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช การขาดธาตุเหล็กจะมีผลต่อการสร้างผลผลิตของข้าว โดยจะมีผลกระทบต่อโครงสร้างของคลอโรพลาสต์และทำให้การสังเคราะห์โปรตีนของข้าวลดลง ซึ่งมีผลต่อการสังเคราะห์แสงของข้าวทำให้ผลผลิตของข้าวลดลง สำหรับข้าวนาสวน(ปลูกในสภาพน้ำขัง) มักจะไม่มีปัญหาในการขาดธาตุเหล็กเนื่องจากในสภาพน้ำขังมีธาตุเหล็กอยู่ในรูปที่พืชดูดไปใช้ได้ (Fe^{2+}) ในปริมาณสูง แต่ข้าวที่ปลูกในประเทศไทยส่วนใหญ่ประมาณ 75% ปลูกอยู่บนพื้นที่ชลประทานซึ่งไม่สามารถที่จะควบคุมน้ำได้ และไม่มีน้ำขังในพื้นที่นาโดยเฉพาะช่วงเวลาที่ฝนทิ้งช่วง การขาดธาตุเหล็กอาจเกิดขึ้นได้ ในสภาพดินแห้งของนาข้าวที่ปลูกในนาข้าวไร่ และพื้นที่นาที่มีดินเป็นด่าง หรือพื้นที่นาที่เป็นดินเหนียวปูน (calcareous soil) ที่มี pH สูงๆ (pH อยู่ในช่วง 7.3-8.5) ในพื้นที่ที่มีภูเขาหินปูนทำให้ความเป็นประโยชน์ของเหล็กในดินต่ำ และไม่เพียงพอต่อการดูดใช้ หรือเพราะลดขบวนการเคลื่อนย้ายและขบวนการ metabolism ของธาตุเหล็กที่ถูกชักนำโดยไอออนตัวอื่นๆ (Foy, 1983) ซึ่งจะทำให้ข้าวขาดธาตุเหล็กได้ด้วย

มีรายงานว่าในพันธุ์พืชอาจมีสมรรถภาพในการใช้ธาตุเหล็กต่างกันในพืชหลายชนิด อาทิ เช่น ถั่วเหลือง ถั่ว chickpea ข้าวโพด รวมทั้งข้าวด้วย (Neue et al., 1990) ดังนั้นความทนทานต่อการขาดธาตุเหล็ก น่าจะเป็นลักษณะทางพันธุกรรมที่เป็นประโยชน์อย่างหนึ่งโดยเฉพาะสำหรับข้าวที่ปลูกในพื้นที่ที่ขาดธาตุเหล็ก

ดังนั้นการคัดเลือกพันธุ์ที่มีความทนทานต่อการขาดธาตุเหล็กจะช่วยเป็นแนวทางในการปรับปรุงพันธุ์เพื่อช่วยในการเพิ่มปริมาณผลผลิตของข้าวให้มากกว่าเดิมหรือลดความเสียหายที่เกิดจากการขาดธาตุเหล็กในข้าว ซึ่งน่าจะเป็นแนวทางหนึ่งในการช่วยแก้ปัญหาดังกล่าวข้างต้น

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ใช้พันธุ์ข้าวไทยทั้งหมด 39 พันธุ์ และใช้พันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 เป็นพันธุ์ตรวจสอบปลูกในทรายปลูกเป็นแถวแถวละหนึ่งพันธุ์ ระยะปลูก 2 x 2 cm. ในแต่ละกระเบาะจะปลูกพันธุ์ตรวจสอบทุกกระเบาะ รดด้วยสารละลายธาตุอาหารสูตรของ Kimura B ที่ขาดธาตุเหล็ก (ความเข้มข้นของ Fe 0 ppm.) ทำการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบด้วยเครื่อง SPAD 502 chlorophyll meter (มีหน่วยเป็น SPAD unit) เมื่ออายุได้ 60 วัน แล้ววิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วย t-test เพื่อเปรียบเทียบพันธุ์ข้าวไทยในสภาพการขาดธาตุเหล็ก

ผลการทดลอง

พันธุ์ข้าวที่ตอบสนองต่อการขาดธาตุเหล็กมีปริมาณ SPAD value ที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับพันธุ์ตรวจสอบ ($p < 0.05$) ซึ่งพบว่า พันธุ์ข้าว 5 พันธุ์ ที่มีปริมาณ SPAD value สูงกว่าพันธุ์ตรวจสอบ (ตารางที่ 1) ได้แก่ พันธุ์ฉิวลาว ($p = 0.049$), พันธุ์จอนแดง ($p = 0.038$), พันธุ์ กข 10 ($p = 0.041$) และพันธุ์หอมพิชญ์โลก 1 ($p = 0.025$)

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองนี้พบว่าข้าว 5 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ฉิวลาว, พันธุ์จอนแดง, พันธุ์ กข 10 และพันธุ์หอมพิชญ์โลก 1 เป็นพันธุ์ที่คาดว่าจะจะเป็นพันธุ์ที่ทนทานต่อการขาดธาตุเหล็ก โดยด้านทนต่อภาวะพร่องคลอโรฟิลล์ เพราะฉะนั้นการต้านทานต่อภาวะพร่องคลอโรฟิลล์จากการขาดธาตุเหล็ก ในพันธุ์ข้าวดังกล่าว จะช่วยลดปัญหาที่เกิดจากการขาดธาตุเหล็ก เนื่องจากเหล็กมีความสำคัญกับคลอโรพลาสต์ เมื่อพืชขาดเหล็กจะมีผลกระทบต่อโครงสร้างของคลอโรพลาสต์ ทำให้เกิดภาวะพร่องคลอโรฟิลล์ในใบพืช (Terry and Abadia, 1986) ซึ่งเมื่อพืชมีการสร้างคลอโรฟิลล์น้อยลง จะมีผลกระทบต่อกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืชทำให้การสังเคราะห์แสงได้น้อยลง (Terry, 1980) แต่อย่างไรก็ตามในการทดลองนี้เป็นเพียงการคัดเลือกพันธุ์ในขั้นต้นเท่านั้น ในอนาคตควรมีการศึกษาว่าพันธุ์ที่ได้จากการคัดเลือกที่เป็นพันธุ์ทนทานต่อการขาดธาตุเหล็กในการทดลองนี้ มีกลไกใดที่ทำให้เกิดความทนทานต่อการขาดธาตุเหล็ก

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์พันธุ์วิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ในโครงการทุนสนับสนุนบัณฑิตศึกษาภายในประเทศ

เอกสารอ้างอิง

- Foy, C D 1983 The physiology of plant adaptation to mineral stress. Iowa State J. Res. 57: 355-319.
- Neue, H.U., R.S. Lantin, M.T.C. Cayton and N.U Autor, 1990. Screening of rice for adverse soil tolerance. In Genetic Aspects of Plant Mineral Nutrition. (N.El Bassam, M. Dambroth and B.C. Loughman, eds.); pp.523-531. Kluwer Academic, Dordrecht

Terry, N. and J. Abadia. 1986. Function of iron in chloroplasts. J. Plant Nutr.9:609-646.

Terry, N. 1980. Limiting factors in photosynthesis I. Use of iron stress to control photochemical capacity in vivo. Plant Physio. 65: 114-120.

Table 1 SPAD value of 39 rice genotypes when grown in iron deficiency (sand culture)

Variety	SPAD value	P value for comparison with Check
Dang-Hom	22.10b	0.912 ^{ns}
Siw-Loa	32.13a	0.049*
Kow-Dang	25.60b	0.723 ^{ns}
Kow-Fer-Hi	27.63b	0.270 ^{ns}
# 024 URN 16	17.40b	0.592 ^{ns}
# 052 URN 44	26.93b	0.374 ^{ns}
# 039 URN 31	30.83b	0.101 ^{ns}
# 027 URN 19	26.20b	0.347 ^{ns}
Check	22.70b	
# 015URN 07	28.80b	0.157 ^{ns}
Jon-Dang	31.37a	0.038*
SPT 84051	26.60b	0.377 ^{ns}
PRE 87003-1-3-1-1	30.83a	0.040*
Sew-Mea-Jun	25.93b	0.532 ^{ns}
Booa-Pa-Tor	22.67b	0.917 ^{ns}
Hom-Pu-Pan	22.20b	0.955 ^{ns}
Check	21.87b	
Booa-Ka	27.17b	0.179 ^{ns}
Joa-Loong 11	22.13b	0.937 ^{ns}
RD 10	27.47a	0.041*
RD 6	23.03b	0.874 ^{ns}
Basmati 5854	27.03b	0.212 ^{ns}
Hom-Nang-Fa	20.30b	0.380 ^{ns}
RD 27	23.63b	0.770 ^{ns}
Neaw-Moong-Piy	23.57b	0.750 ^{ns}
Check	22.53b	

Table 1 Continued.

Variety	SPAD value	P value for comparison with Check
Dok-Prow	28.00b	0.385 ^{ns}
RD 15	23.33b	0.496 ^{ns}
KDML (LR 02)	28.57b	0.109 ^{ns}
SPTLR 84051	27.07b	0.743 ^{ns}
RD 6D-20G-27	25.33b	0.719 ^{ns}
KDML 105	27.30b	0.527 ^{ns}
Chai-Nat 1	27.03b	0.771 ^{ns}
Hom-Pitsanulok 1	29.30a	0.025*
Neaw-U-Bon 2	23.93b	0.383 ^{ns}
Check	26.43b	
Madhuka	25.30b	0.886 ^{ns}
Neaw-San-Pa-Tong	26.03b	0.755 ^{ns}
Milagrosa	23.53b	0.703 ^{ns}
Kow-Koowpaokdom (MaeTang)	22.57b	0.266 ^{ns}
Dang-Konkan	29.20b	0.188 ^{ns}
Ja-Pu-Pu	22.03b	0.147 ^{ns}
Ja-Nae-Nea	28.90b	0.224 ^{ns}
Check	24.83b	

^{ns} not significant, * significant at $p < 0.05$

Means within a column the same lowercase letter do not differ significantly at 5% with LSD.

การเคลื่อนย้ายโบรอนในถั่วเขียว

The mobility of boron in green gram

*(Vigna radiata (L.) Wilczek)*สาวิกา กอนแสง¹ และเบญจวรรณ ฤกษ์เกษม¹

Abstract: Differences in mobility of boron (B) among species should have a significant bearing on the susceptibility to B deficiency especially in non-transpiring organs and affect the strategies for control of B deficiency. Remobilization of boron from old to younger tissues has been reported to vary among plant species, being essentially immobile in many species and completely mobile in others. This study aimed to verify B mobility in green gram plants (*Vigna radiata* (L.) Wilczek cv. Kampaengsan 1). Plants were first grown for 25 days in sand culture with 10 μM B (B10, sufficient) and 0.5 μM B (B0.5, deficient) added to nutrient solution. After that, the sand in all of pots was washed by running water through for 20 minutes twice in one day, 6 hours apart. Boron treatments were applied to the pots in 3 replicates, as follows, B10 for the first 25 days followed by B0.5 for the following 30 days (B10/B0.5), with the same B10 (B10/B10) and B0.5 (B0.5/B0.5) throughout the experiment. Plants were harvested at day 25 and day 55. The main stem of harvested plants was partitioned into the growing point (all parts above the youngest fully expanded leaf), the youngest fully expanded leaf blades (YFEL), the stems + petioles below YFEL, the rest of the leaf blades of the main stem (old leaf blades), the rest of the main stem, roots and their seeds. At 55 days, dry weight of vegetative parts (leaf blades, stems + petioles roots and nodule) were not different between treatments B10/B10, B10/B0.5 and B0.5/B0.5 but seed yields was significant lower in B10/B0.5 and even lower in B0.5/B0.5. B content in younger parts (growing point, YFEL, stems + petioles below YFEL) was much lower than old leaf. However, B content in YFEL and seeds of B10/B0.5 plants were higher than B0.5/B0.5. These suggested most B was accumulated in old parts whereas a little B could be mobilized to newly expanded leaf (YFEL) and seeds of B10/B0.5 plants. It was enough for seed development of these plants that were 64% while in B0.5/B0.5 were 20 % of maximum yields. It is not clear about source and route of those B and need to examine in the further research.

บทคัดย่อ: ความสามารถในการเคลื่อนย้ายโบรอนในต้นพืชมีผลต่อประสิทธิภาพการใช้โบรอน โดยเฉพาะอย่างยิ่งการขนส่งธาตุอาหารไปยังส่วนที่มีการคายน้ำน้อย และส่งผลกระทบต่อวิธีการที่ใช้ในการแก้ไขปัญหาการขาดโบรอน ได้มีรายงานเกี่ยวกับความแตกต่างกันในระหว่างชนิดพืชในความสามารถเคลื่อนย้ายโบรอนจากเนื้อเยื่อที่แก่ไปยังเนื้อเยื่อส่วนที่อ่อนกว่า ซึ่งในพืชส่วนใหญ่ไม่มีการเคลื่อนย้ายโบรอน แต่พบว่าในพืชบางชนิดสามารถเคลื่อนย้ายโบรอนได้ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบการเคลื่อนย้ายของโบรอนในถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 1 (*Vigna radiata* (L.) Wilczek cv. Kampaengsan 1) ทำการทดลองโดยปลูกถั่วเขียวใน sand culture และรดด้วยสารละลายธาตุอาหารที่ใส่โบรอน 10 μM (B10) และ 0.5 μM (B0.5) เป็นเวลา 25 วัน หลังจาก

นํ้าล้างทรายในกระถางโดยเปิดให้นํ้าไหลผ่านทราย 2 ครั้ง (เช้า – เย็น) ครั้งละ 20 นาที จากนั้นแบ่งกรรมวิธีในการทดลองเป็น (1) ให้โบรอน 10 μM ใน 25 วันแรก หลังจากนั้นเปลี่ยนมาให้สารละลายธาตุอาหารที่มีโบรอน 0.5 μM เป็นระยะเวลา 30 วัน (B10/B0.5) (2) ให้โบรอน 10 μM ตลอดการทดลอง B10/B10) และ (3) ให้โบรอน 0.5 μM ตลอดการทดลอง (B0.5/B0.5) เก็บตัวอย่างพืชเมื่ออายุได้ 25 วัน และ 55 วัน นำมาวิเคราะห์หาปริมาณโบรอนในแต่ละส่วนของลำต้นหลัก ดังนี้ (1) ยอดที่เจริญใหม่ (ส่วนที่อยู่เหนือใบอ่อนที่สุดที่ขยายตัวเต็มที่: growing point) (2) ใบอ่อนที่สุดที่ขยายตัวเต็มที่ (youngest fully expanded leaf blades: YFEL) (3) ลำต้นและก้านใบของ YFEL (4) ใบส่วนที่เหลือทั้งหมด (รวมเรียกว่าใบแก่: old leaf blades) (5) ลำต้นหลักและก้านใบที่เหลือทั้งหมด (old stem + petioles) (6) ราก และ (7) เมล็ด ผลการทดลองพบว่า เมื่อพืชอายุ 55 วัน น้ำหนักแห้งในส่วนใบ ลำต้น ราก และปมราก ของต้นถั่วเขียวในแต่ละกรรมวิธีมีค่าต่างกันเพียงเล็กน้อย แต่ต้นที่ได้รับ B10/B0.5 มีผลผลิตเมล็ดถั่วเขียวลดลงเพียง 36 % ขณะลดลงถึง 81 % ในต้นที่ได้รับ โบรอน 0.5 μM ตลอดการทดลอง และพบว่าปริมาณโบรอนใน ยอดที่เจริญใหม่ ใบอ่อนที่สุดที่ขยายตัวเต็มที่ ลำต้นและก้านใบของ YFEL ของต้นที่ได้รับโบรอนใน 30 วันหลัง (B10/B0.5 และ B0.5/B0.5) มีค่าน้อยกว่าในส่วนที่แก่ (ใบแก่ และลำต้นหลักและก้านใบที่เหลือทั้งหมด) อย่างไรก็ตามต้นถั่วเขียวที่ได้รับ B10/B0.5 มีปริมาณโบรอนในเมล็ด และใบอ่อนที่สุดที่ขยายตัวเต็มที่ สูงกว่าต้น B0.5/B0.5 จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า พืชมีการสะสมโบรอนในระยะแรก (B10/B0.5) ของการทดลองในส่วนที่มีอายุน้อย แต่พบว่ามีโบรอนจำนวนหนึ่งสามารถเคลื่อนย้ายไปยังใบอ่อนที่สุดที่ขยายตัวเต็มที่ และเมล็ด แม้ว่าจะเป็นปริมาณโบรอนที่น้อยมาก แต่ก็สามารถทำให้ผลผลิตเมล็ดของถั่วเขียวมากกว่าต้นที่ขาดโบรอนตลอดการทดลองถึง 3.5 เท่า ซึ่งจากการทดลองนี้ยังไม่ทราบแน่ชัดถึงแหล่งที่มา และเส้นทางลำเลียงของโบรอนดังกล่าว ซึ่งจะได้ทำการศึกษาต่อไป

Index words: Green gram, Boron, Remobilization ถั่วเขียว โบรอน การเคลื่อนย้ายย้อนกลับ

คำนำ

พืชดูดซึมธาตุอาหารโดยราก และลำเลียงพร้อมกับน้ำในน้ำเลี้ยงไซเลม (xylem sap) ไปยังส่วนที่อยู่เหนือดิน ธาตุอาหารเหล่านี้อาจเคลื่อนย้ายไปยังน้ำเลี้ยงโฟลเอ็ม (phloem sap) หรือถูกส่งออกไปเก็บรักษาไว้ในราก ลำต้น หรือเซลล์ใบ ซึ่งธาตุอาหารที่เก็บไว้ในเนื้อเยื่อต่างๆ อาจเคลื่อนย้ายย้อนกลับทางโฟลเอ็มไปยังส่วนอื่นของพืชที่มีอัตราการคายน้ำต่ำกว่า เช่น ยอดที่เพิ่งเจริญ เนื้อเยื่อที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์ (Smith and Loneragan, 1997)

ธาตุอาหารพืชทุกธาตุสามารถเคลื่อนย้ายได้ในทางไซเลม แต่สำหรับการเคลื่อนย้ายทางโฟลเอ็มจะแตกต่างกันไป มีตั้งแต่สามารถเคลื่อนย้ายได้มากไปจนถึงไม่สามารถเคลื่อนย้ายได้ การพิจารณาถึงการเคลื่อนย้ายของธาตุอาหารทางโฟลเอ็ม หรือที่เรียกว่าการเคลื่อนย้ายย้อนกลับสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ การวิเคราะห์หาความเข้มข้นของธาตุนั้นในน้ำเลี้ยงโฟลเอ็มโดยตรง การติดตามการเคลื่อนย้ายโดยใช้ไอโซโทป การสังเกตจากการพัฒนาอาการขาดธาตุ และการเปรียบเทียบปริมาณธาตุอาหารในส่วนต่างๆ ของพืช หรือในใบพืชที่อายุต่างกัน (Marschner, 1995)

ธาตุโบรอน (B) เป็นธาตุที่แตกต่างจากธาตุอาหารพืชชนิดอื่น พบว่าความสามารถในการเคลื่อนย้ายทางฟลોเอมมีความแตกต่างกันในระหว่างชนิดพืช (Brown and Shelp, 1997) ในพืชส่วนใหญ่ไม่มีการเคลื่อนย้ายทางฟลોเอม Hu and Brown (1994) พบว่า อาการขาดโบรอนในต้นกล้าของ squash (*Cucurbita sp.*) เกิดขึ้นทันทีหลังจากที่ถูกย้ายไปยังสารละลายธาตุอาหารที่ไม่มีโบรอน นอกจากนี้ยังพบว่าต้นมะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum*) ที่ปลูกในสภาพที่มีโบรอนมากเกินไปก่อให้เกิดอาการเป็นพิษของโบรอน โดยแสดงอาการเหลืองที่ปลายใบและขอบใบก่อน ซึ่งในส่วนดังกล่าวมีความเข้มข้นโบรอนสูงกว่าส่วนอื่นด้วย และเมื่อย้ายต้นมะเขือเทศไปไว้ในสารละลายธาตุอาหารที่ไม่มีโบรอน พบว่าอาการขาดโบรอนจะเกิดขึ้นในใบอ่อนและใบที่ยังไม่เจริญเต็มที่ (Oertli, 1993)

อย่างไรก็ตาม ได้มีรายงานที่บ่งชี้ถึงความสามารถในการเคลื่อนย้ายโบรอนทางฟลોเอม ยกตัวอย่าง เช่น Hanson (1991) ได้ทดลองโดยให้โบรอน (500 มิลลิกรัมต่อลิตร) โดยการฉีดพ่นทางใบแก่แอปเปิล (*Malus domestica* Borkh.) สาลี่ (*Pyrus communis* L.) พลัม (*Prunus domestica* L.) และเชอร์รี่ (*Prunus ceasus* L.) ซึ่งพบว่าปริมาณโบรอนในใบที่ถูกฉีดพ่นลดลงอยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกับใบที่ไม่ได้รับการพ่นโบรอน และพบว่าบริเวณตาใบ (buds) มีความเข้มข้นโบรอนสูงสุด จากการทดลองของ Delgado *et al.* (1994) พบว่าการให้โบรอนทางใบแก่ต้นมะกอกฝรั่ง (*Olea europaea* L.) ในระยะออกดอก ทำให้กิ่งที่ติดดอกและผล มีความเข้มข้นโบรอนเพิ่มขึ้น ทั้งในส่วนของแผ่นใบ ก้านใบ เปลือกไม้ รวมทั้งดอกและผลด้วย นอกจากนี้ยังได้มีรายงานว่าโบรอนสามารถเคลื่อนย้ายได้ในฟลોเอมในรูปแบบที่รวมตัวกับน้ำตาลแอลกอฮอล์ (sugar alcohol) ที่ชื่อว่าซอร์บิทอล (sorbitol) ในแอปเปิล สาลี่ พลัม เชอร์รี่ (Brown and Hu, 1996) คินชาฝรั่ง และท้อ (Hu *et al.*, 1997)

ในการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบการเคลื่อนย้ายของโบรอนในถั่วเขียว พันธุ์กำแพงแสน 1 ซึ่งได้มีรายงานว่าพันธุ์ที่ค่อนข้างทนต่อการขาดโบรอน (เบญจวรรณ, 2537) ซึ่งความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับความสามารถในการเคลื่อนย้ายโบรอนจะเป็นประโยชน์ต่อการแก้ไขปัญหาคาดโบรอนต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ทดลองที่ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยปลูกถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 1 (*Vigna radiata* (L.) Wilczek cv. Kampaengsan 1) ในกระถางบรรจุทราย (เส้นผ่าศูนย์กลาง 50 เซนติเมตร สูง 50 เซนติเมตร) จำนวน 15 กระถาง ปลูกโดยวิธีหยอดเมล็ด 10 เมล็ดต่อกระถาง แล้วปลูกเชื้อไรโซเบียมโดยใส่ผงเชื้อลงไปโดยตรงในหลุมปลูก (ใช้เชื้อไรโซเบียมสำหรับถั่วเขียว จากกองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร) หลังจากเมล็ดงอก รดด้วยสารละลายธาตุอาหาร

(ประกอบไปด้วย 1000 μM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 500 μM KH_2PO_4 , 250 μM $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 250 μM K_2SO_4 , 10 μM $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Fe} \cdot \text{H}_2\text{O}$, 1 μM $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0.5 μM $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.2 μM $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0.1 μM $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.1 μM $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ คัดแปลงจาก Broughton and Dilworth, 1971) ที่ใส่โบรอน 2 ระดับ คือ 10 μM (B10, sufficient) จำนวน 9 กระถาง และ 0.5 μM (B0.5, deficient) จำนวน 6 กระถาง และเมื่อพืชอายุ 10 วัน ถอนแยกเหลือกระถางละ 5 ต้น

เก็บตัวอย่างพืชครั้งที่ 1 (H1) ก่อนระยะที่พืชออกดอก (25 วัน หลังจากเมล็ดงอก) โดยเก็บตัวอย่างจากต้นที่ได้รับโบรอนทั้ง 2 ระดับ (B10 และ B0.5) ระดับละ 3 กระถาง หลังจากนั้นล้างทรายในกระถางที่เหลือโดยเปิดน้ำให้ไหลผ่านทราย 2 ครั้ง (เช้า – เย็น) ครั้งละ 20 นาที และแบ่งกรรมวิธีในการทดลองเป็น (1) ให้โบรอน 10 μM ใน 25 วันแรก จากนั้นเปลี่ยนมาให้สารละลายธาตุอาหารที่มีโบรอน 0.5 μM เป็นระยะเวลา 30 วัน (B10/B0.5) (2) ให้โบรอน 10 μM ตลอดการทดลอง B10/B10) และ (3) ให้โบรอน 0.5 μM ตลอดการทดลอง (B0.5/B0.5) โดยแต่ละกรรมวิธีประกอบไปด้วยต้นถั่วเขียว 3 กระถาง เก็บตัวอย่างพืชอีกครั้งเมื่อพืชอายุได้ 55 วัน (H2)

นำตัวอย่างพืชที่เก็บมาอบในตู้อบอุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และนำไปบด จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาความเข้มข้นโบรอนตามวิธีของ Lohse (1982) ในแต่ละส่วนของลำต้นหลักดังนี้

- ยอดที่เจริญใหม่ (ส่วนที่อยู่เหนือใบอ่อนที่สุดที่ขยายตัวเต็มที่: growing point)
- ใบอ่อนที่สุดที่ขยายตัวเต็มที่ (youngest fully expanded leaf blades: YFEL)
- ลำต้นและก้านใบของ YFEL
- ใบส่วนที่เหลือทั้งหมด (รวมเรียกว่าใบแก่: old leaf blades)
- ลำต้นหลักและก้านใบที่เหลือทั้งหมด (old stem + petioles)
- ราก (ไม่รวมปมราก)
- เมล็ด

ผลการทดลอง

ผลของโบรอนต่อการเจริญเติบโตและผลผลิต

น้ำหนักแห้งของพืชเมื่ออายุ 25 วัน (H1) ที่ได้รับโบรอนทั้ง 2 ระดับ (B10, B0.5 μM) มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ (Table 1.) ทั้งน้ำหนักในแต่ละส่วนของพืช และน้ำหนักแห้งรวมทั้งต้น เมื่อพืชเจริญเติบโตไปจนถึง 55 วัน (H2) ผลผลิตเมล็ดของต้นถั่วเขียวที่ได้รับโบรอน 0.5 μM ใน 30 วันหลัง (B10/B0.5 และ B0.5/B0.5) ลดลงเมื่อเทียบกับต้นที่ได้รับ B10 ตลอดการทดลอง แต่พบว่าในต้น B10/B0.5 ให้ผลผลิตเมล็ดมากกว่า B0.5/B0.5 ประมาณ 3.5 เท่า นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำหนักแห้งในส่วนใบ ก้านใบ ลำต้น ราก และปมราก ในแต่ละกรรมวิธีมีค่าต่างกันเพียงเล็กน้อย

ความเข้มข้นและปริมาณโบรอนในส่วนต่างๆ ของพืช

เมื่อพืชอายุได้ 25 วัน (H1) ความเข้มข้นโบรอนในตัวอย่างพืชทุกส่วนของต้นที่ได้รับโบรอน 0.5 μM มีค่าใกล้เคียงกัน ขณะที่ในพืชที่ได้รับโบรอน 10 μM มีความเข้มข้นโบรอนสูงที่สุดในส่วนยอดที่เจริญใหม่ และต่ำที่สุดในราก (Table 2.)

ในการเก็บตัวอย่างพืชครั้งที่ 2 (55 วัน) ความเข้มข้นโบรอนในทุกส่วนของพืชลดลงอย่างเห็นได้ชัดในทุกกรณี แต่พบว่าความเข้มข้นโบรอนในใบแก่ของต้นที่ได้รับโบรอน 10 μM ใน 25 วันแรก (B10/B10 และ B10/B0.5) ยังคงสูงอยู่เมื่อเทียบกับส่วนอื่นในต้นเดียวกัน ขณะที่ต้นที่ได้รับโบรอน 0.5 μM ตลอดการทดลองมีความเข้มข้นโบรอนแตกต่างกันไม่มากนักในแต่ละส่วน โดยมีค่าความเข้มข้นโบรอนสูงที่สุดในราก นอกจากนี้ยังพบว่า ความเข้มข้นโบรอนในใบอ่อนที่สุดที่ขยายตัวเต็มที่ และลำต้นและก้านใบของใบอ่อนที่สุดที่ขยายตัวเต็มที่ของต้น B10/ B0.5 มีค่าสูงกว่าส่วนดังกล่าวของต้น B0.5/ B0.5 (Table 2.)

เมื่อพิจารณาถึงปริมาณโบรอนที่อยู่ในส่วนต่างๆ ของพืช (Table 3.) ต้นถั่วเขียว B10 ที่อายุได้ 25 วันสะสมโบรอนทั้งต้นมากกว่าต้น B0.5 ประมาณ 2 เท่า โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเนื้อเยื่ออ่อน (ยอดที่เพิ่งเจริญใหม่ และ ใบอ่อนที่สุดที่ขยายตัวเต็มที่) ทั้งนี้เมื่อพืชอายุได้ 55 วัน ต้นถั่วเขียวที่ได้รับโบรอน 10 μM ตลอดการทดลอง (B10/B10) ยังคงมีการสะสมโบรอนในทุกส่วนของพืชได้มากกว่าต้นที่ได้รับโบรอน 0.5 μM ใน 30 วันหลัง (B10/B0.5 และ B0.5/B0.5) โดยที่ปริมาณโบรอนจะมีอยู่มากในส่วนที่แก่ (ใบแก่ และลำต้นหลักและก้านใบที่เหลือทั้งหมด) ของต้นถั่วเขียวในทุกกรณี เมื่อเทียบกับส่วนที่อ่อนกว่า (ยอดที่เจริญใหม่ ใบอ่อนที่สุดที่ขยายตัวเต็มที่ และลำต้นและก้านใบของใบอ่อนที่สุดที่ขยายตัวเต็มที่) อย่างไรก็ตามต้นที่ได้รับการเปลี่ยนแปลงโบรอน (B10/B0.5) มีปริมาณโบรอนในใบอ่อนที่สุดที่ขยายตัวเต็มที่ (YFEL) และเมล็ดสูงกว่าต้นที่ได้รับ B0.5 ตลอดการทดลอง (B0.5/B0.5)

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าโบรอนส่วนใหญ่ที่พืชได้รับในระยะแรกของการทดลอง (B10/B0.5) ถูกสะสมในใบแก่ ขณะที่พบว่ายังมีโบรอนจำนวนหนึ่งสามารถเคลื่อนย้ายไปยังใบอ่อนที่สุดที่ขยายตัวเต็มที่ และเมล็ดของถั่วเขียว เห็นได้จากปริมาณโบรอนในส่วนดังกล่าวสูงกว่าต้นที่ขาดโบรอนตลอดการทดลอง (Table 3.) ทั้งที่เนื้อเยื่อดังกล่าวพัฒนาในช่วงที่ขาดโบรอนเหมือนกัน ปริมาณโบรอนที่เพิ่มขึ้นนี้ยังไม่สามารถบอกได้ว่ามาจากส่วนไหนของพืช ซึ่งอาจมาจากส่วนที่เก็บสะสมไว้ในใบแก่ หรืออาจมาจากโบรอนที่ได้รับใน 25 วันแรกยังคงเหลืออยู่ในท่อลำเลียงของลำต้น รวมทั้งไม่สามารถบอกถึงเส้นทางการขนส่งโบรอนดังกล่าวได้ ซึ่งลักษณะการเคลื่อนย้ายทางโพลีเอมตามที่ได้มีรายงานจะพบการเคลื่อนย้ายในปริมาณมาก ดังเช่นการเคลื่อน

ย้ายโบรอนไปยังส่วนที่มีการสร้างผลผลิตของถั่วลิสง และ *suterranean clover* ที่มีการพัฒนาในวัสดุปลูกที่ปราศจากโบรอน (Campbell *et al.*, 1975) ซึ่งน้ำหนักแห้งในส่วนที่ให้ผลผลิต และปริมาณโบรอนมีค่าไม่ต่างจากดินที่มีการพัฒนาผลผลิตในวัสดุปลูกที่มีโบรอน ในการทดลองนี้พบว่าปริมาณโบรอนที่เพิ่มขึ้นมีเพียง 20 μM แต่อย่างไรก็ตามโบรอนในปริมาณเล็กน้อยนี้สามารถทำให้ผลผลิตเมล็ดจากดิน B10/B0.5 น้อยกว่าดิน B10/B10 เพียง 1.2 เท่า ขณะที่มากกว่า B0.5/B0.5 ถึง 3.5 เท่า (Table 1.)

การที่พืชให้ผลผลิตเมล็ดลดลงเมื่อได้รับโบรอน 0.5 μM ในช่วง 30 วันหลัง (B10/B0.5 และ B0.5/B0.5) แต่ไม่พบผลต่อการเจริญทางต้นและใบในการทดลองนี้ เนื่องจากในระยะที่พืชมีการเจริญพันธุ์จะอ่อนแอต่อการขาดโบรอนมากกว่าการเจริญเติบโตทางต้นและใบ (Marschner, 1995) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระหว่างที่พืชมีการสร้างผลผลิต Bell *et al.* (1990) พบว่าการขาดโบรอนในระยะดังกล่าว ทำให้จำนวนฝักต่อต้น และจำนวนเมล็ดต่อฝักของถั่วเขียวลดลง

ความเข้มข้นโบรอนที่ลดลงในทุกส่วนของดินถั่วเขียวจากทุกกรรมวิธีที่อายุ 55 วัน เป็นผลมาจากการที่ดินถั่วเขียวมีการเจริญเติบโตมากขึ้นจากอายุ 25 วัน น้ำหนักแห้งในส่วนต่างๆ ที่เพิ่มมากขึ้น (dilution effect) ไม่สามารถนำมาใช้เป็นข้อพิจารณาถึงลักษณะการเคลื่อนย้ายของโบรอนได้ อย่างไรก็ตาม พบว่าในใบแก่ของดินที่ได้รับโบรอนเพียงพอ (B10/B10) และดินที่มีการเปลี่ยนแปลงระดับการให้โบรอน (B10/B0.5) ยังคงมีความเข้มข้นโบรอนที่สูงอยู่เมื่อเทียบกับส่วนอื่นเนื่องจากในใบแก่เป็นบริเวณที่มีการคายน้ำสูง ซึ่งแสดงถึงการขนส่งโบรอนเกิดขึ้นในไซเลม

จากข้อมูลที่ได้สามารถสรุปได้ว่ามีโบรอนจำนวนหนึ่งสามารถเคลื่อนย้ายไปยังส่วนที่มีการเจริญขึ้นมาใหม่หลังจากที่พืชขาดโบรอน แม้ว่าปริมาณโบรอนดังกล่าวมีเพียงเล็กน้อย แต่ก็สามารถทำให้ผลผลิตเมล็ดที่ได้จากดิน B10/B0.5 สูงกว่าดินที่ได้จาก B0.5/B0.5 มาก แต่จากการทดลองนี้ยังไม่ทราบแน่ชัดว่าโบรอนดังกล่าวสามารถเคลื่อนย้ายมาจากส่วนที่ถูกเก็บสะสมไว้หรือไม่ ซึ่งจะได้ทำการทดลองต่อไปโดยใช้วิธีที่แม่นยำยิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยคนแรกได้รับทุนในโครงการปริญญาเอกกาญจนาภิเษก ขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยที่สนับสนุนงบประมาณในการวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณ รศ. ดร. ศันสนีย์ จำจด สำหรับคำแนะนำที่เป็นประโยชน์ และขอขอบคุณ คุณสิทธิชัย ลอดแก้ว รวมทั้งเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ดินและพืช ศูนย์วิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร ที่ให้ความเอื้อเฟื้อ ในการใช้ห้องปฏิบัติการ

เอกสารอ้างอิง

เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม. 2537. โบรอนในการผลิตถั่วภาคเหนือ. ว. ดินและปุ๋ย 16 (3): 130-154.

Bell, R.W., McLay, L., Plaskett, D., Dell, B., and Loneragan, J.F. 1990. Internal boron requirements of green gram (*Vigna radiata*). In: van Beusichem, M.L., ed., Plant nutrition- physiology and applications. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers. 275-280.

Broughton, W.J. and Dilworth, M.J. 1971. Control of leghaemoglobin synthesis in snake bean. Biochem J. 125: 1075-1080.

Brown, P.H. and Hu, H. 1996. Phloem mobility of boron is species dependent. Evidence for phloem mobility in sorbitol rich species. Ann. Bot. 77: 497-505.

Brown, P.H. and Shelp, B.J. 1997. Boron mobility in plants. Plant and Soil. 193: 85-101.

Campbell, L. C., Miller, M. H. and Loneragan, J.F. 1975. Translocation of boron to plant fruits. Aust. J. Plant Physiol. 2: 481-487.

Delgado, A. Benlloch, M. and Fernández-Escobar, R. 1994. Mobilization of boron in olive trees during flowering and fruit development. HortScience. 29(6): 616-618.

Hanson, E.J. 1991. Movement of boron out of tree fruit leaves. HortScience. 26 (3): 271-273.

Hu, H. and Brown, P.H. 1994. Localisation of boron in cell walls of squash and tobacco and its association with pectin. Plant Physiol. 105: 681-689.

Hu, H., Penn, S.G., Lebrilla, C.B. and Brown, P.H. 1997. Isolation and characterization of soluble boron complexes in higher plants. Plant Physiol. 113: 649-655.

Loshse, G. 1982. Microanalytical azomethine-H method for boron determination in plant tissues. Commun. Soil. Sci. Plant Anal. 13: 127-134.

Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. 2nd edition. Academic Press. New York. 899 p.

Oertli, J.J. 1993. The mobility of boron in plants. Plant and Soil. 155/156: 301-304.

Smith, F.W. and Loneragan, J.F. 1997. Interpretation of plant analysis: Concepts and principles. In: Reuter, D.J. and Robinson, J.B., eds., Plant analysis and interpretation manual. 2nd edition. Collingwood Vic.: CSIRO. 3-33.

**Table 1. Dry weight (g plant⁻¹) of green gram at day 25 (H1) and day 55 (H2).
Values are means of three replicates (SE).**

Plant parts ^a	B supply				
	H1		H2		
	B10	B0.5	B10/B10 ^b	B10/B0.5	B0.5/B0.5
Growing point	0.161 (0.020)	0.133 (0.013)	0.486 (0.079)	0.535 (0.105)	0.382 (0.053)
YFEL, LB	0.228 (0.004)	0.181 (0.024)	0.557 (0.017)	0.389 (0.201)	0.581 (0.020)
YFEL, S+P	0.079 (0.003)	0.071 (0.006)	0.382 (0.062)	0.372 (0.043)	0.525 (0.054)
Old LB	0.305 (0.017)	0.324 (0.057)	3.014 (0.090)	3.592 (0.420)	4.094 (0.193)
Old S+P	0.190 (0.003)	0.174 (0.019)	2.621 (0.089)	2.933 (0.321)	3.282 (0.229)
Roots	0.300 (0.008)	0.314 (0.017)	1.697 (0.129)	1.593 (1.139)	1.707 (0.124)
Nodule	0.114 (0.002)	0.115 (0.011)	0.430 (0.080)	0.529 (0.149)	0.675 (0.057)
Seeds			5.537 (0.382)	3.532 (0.256)	1.056 (0.081)
Total	1.376 (0.045)	1.312 (0.066)	14.722 (0.342)	13.474 (1.203)	12.302 (0.597)

^a Plant parts: Growing point – all parts above the youngest fully expanded leaf

YFEL – the youngest fully expanded leaf blades

YFEL, S+P – the stems + petioles below YFEL

Old LB – the rest of the leaf blades of the main stem (old leaf blades)

Old S+P – the rest of the main stem

^b B10/B10 - B10 throughout the experiment

B10/B0.5 - B10 for the first 25 days followed by B0.5 for the following 30 days

B0.5/B0.5 – B0.5 throughout the experiment

Table 3. Boron contents ($\mu\text{g plant}^{-1}$) of green gram at day 25 (H1) and day 55 (H2). Values are means of three replicates (SE).

Plant parts ^a	B supply				
	H1		H2		
	B10	B0.5	B10/B10 ^b	B10/B0.5	B0.5/B0.5
Growing point	7.31 (0.81)	2.16 (0.17)	15.55 (1.86)	2.77 (0.48)	2.02 (0.50)
YFEL, LB	9.14 (0.30)	2.49(0.28)	18.34 (1.44)	4.20 (0.60)	2.86 (0.04)
YFEL, S+P	2.99 (0.07)	1.27 (0.11)	10.12 (1.19)	2.65 (0.13)	2.98 (0.18)
Old LB	11.52 (0.76)	6.07 (0.98)	117.76 (2.25)	52.04 (0.83)	27.88 (0.95)
Old S+P	4.96 (0.09)	2.96 (0.37)	56.24 (0.85)	31.74 (1.78)	21.37 (1.40)
Roots	7.11 (0.28)	5.52 (0.26)	33.55 (2.32)	24.26 (1.90)	19.16 (0.83)
Seeds			118.26 (7.36)	15.80 (1.50)	4.44 (0.71)
Total	43.03 (1.82)	20.47 (1.20)	369.83 (9.93)	133.47 (2.56)	80.71 (2.76)

^aPlant parts:

Growing point – all parts above the youngest fully expanded leaf

YFEL – the youngest fully expanded leaf blades

YFEL, S+P – the stems + petioles below YFEL

Old LB – the rest of the leaf blades of the main stem (old leaf blades)

Old S+P – the rest of the main stem

^b B10/B10 - B10 throughout the experiment

B10/B0.5 - B10 for the first 25 days followed by B0.5 for the following 30 days

B0.5/B0.5 – B0.5 throughout the experiment

การตอบสนองต่อความเป็นพิษของโบรอนในข้าวสาลีสามพันธุ์ที่มี ระดับความทนทานต่อการขาดโบรอนแตกต่างกัน

Response to Boron Toxicity in Three Wheat Genotypes with Varying Responses to Boron Deficiency

สุพรรณิการ์ พันชนะ¹ คັນสนีย์ จำจอด และเบญจวรรณ ฤกษ์เกษม

¹ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

Supannika Punchana¹, Sansanee Jamjod and Benjavan Rerkasem

¹Agronomy Department, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200 Thailand

Abstract

Significant wheat yield reductions have been attributed to boron (B) deficiency and toxicity all over the world. Because of a wide range of genotypic variation in response to both B deficiency and toxicity, there may be some differences in responses to B. It is as yet unclear how the two responses are related in wheat genotypes. To measure and examine responses to B toxicity in three wheat genotypes with known B deficiency responses, two experiments were set out at Multiple Cropping Center and Agronomy Department, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University. Three genotypes used in this experiment were Fang 60 (Efficient; E) Bonza and Turkey 1473 (Inefficient; I) were grown for 23 days in sand culture with five levels of B added to nutrient solution (10, 50, 100, 150, 200 mg B L⁻¹). Plant growth was assessed by measuring root and shoot length, root and shoot dry weight, leaf and tiller number, toxicity symptoms (necrosis, chlorosis and symptom score). From the result, root and shoot length, root and shoot dry weight of all genotypes were depressed by B concentration higher than 10 mg B L⁻¹. Fang 60 exhibited the shortest root length whereas shoot length of all genotypes reduced equally. However, root dry weight of all genotypes were reduced equally by high B concentration whereas shoot dry weight of Fang 60 reduced the most at 50, 100 and 150 mg B L⁻¹. Besides, B toxicity depressed tiller number but not leaf number. At 50 mg B L⁻¹, all genotypes depressed tiller number except in Bonza. Boron toxicity also affected on symptom of toxicity such as necrosis and chlorosis by increasing in severe symptom in all genotypes. Boron toxicity symptom developed in YEB+1 more than in YEB. Bonza exhibited the least symptom of necrosis in YEB and YEB+1 at 50, 100 and 150 mg B L⁻¹ and also exhibited the least symptom of chlorosis in YEB at 50, 100 and 150 mg B L⁻¹ and in YEB+1 at 50 and 100 mg B L⁻¹. In case of symptom score, Fang 60 had more severe of B toxicity than Turkey 1473 and Bonza. So that the symptom score can be used to separate differences in B toxicity response between genotypes. It has also been demonstrated that genotype tolerant to B deficiency such as Fang 60 was not tolerant to B toxicity. In contrast,

Bonza and Turkey 1473 (inefficient to B deficiency) were tolerant to B toxicity resulted in less severe symptoms of B toxicity. Finally, the data in this experiment indicated that there may be some association between tolerant to B deficiency and to B toxicity.

บทคัดย่อ

การขาดและการเป็นพิษของโบรอน (boron, B) ทำให้ผลผลิตข้าวสาลิลดลงในหลายประเทศทั่วโลก เนื่องจากข้าวสาลีมีความแตกต่างทางพันธุกรรมในการตอบสนองต่อการขาดและการเป็นพิษของโบรอนและความแตกต่างนี้มีช่วงกว้างจึงอาจทำให้ข้าวสาลีมีการตอบสนองแตกต่างกัน จึงยังไม่เป็นที่แน่ชัดว่าการตอบสนองต่อการขาดและการเป็นพิษของโบรอนในพันธุ์ข้าวสาลีมีความเกี่ยวข้องหรือไม่และเป็นไปในลักษณะใด เพื่อวัดและตรวจสอบการตอบสนองต่อความเป็นพิษของข้าวสาลีสามพันธุ์ที่มีระดับความทนทานต่อการขาดโบรอนแตกต่างกัน จึงทำการทดลองที่ศูนย์วิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตรและภาควิชาชีพไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ข้าวสาลีสามพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองได้แก่ Fang 60 (ทนต่อการขาดโบรอน; E) Bonza และ Turkey 1473 (อ่อนแอต่อการขาดโบรอน; I) ให้โบรอน 5 ระดับในสารละลายธาตุอาหารพืช (10, 50, 100, 150, 200 mg B L⁻¹) ไร่ข้าวสาลีที่ปลูกในทราย ทดสอบเป็นเวลา 23 วัน บันทึกข้อมูลความยาวรากและต้น น้ำหนักแห้งรากและต้น จำนวนใบ จำนวนหน่อ อาการเป็นพิษ (อาการ necrosis, chlorosis และการให้คะแนนความเป็นพิษ) จากผลการทดลองพบว่าความยาวรากและต้น น้ำหนักแห้งรากและต้นของข้าวสาลีทุกพันธุ์ลดลงเมื่อระดับโบรอนเพิ่มมากกว่า 10 mg B L⁻¹ โดยพันธุ์ Fang 60 มีความยาวรากลดลงมากที่สุด ในขณะที่ความยาวต้นของทุกพันธุ์ลดลงเท่าๆ กัน อย่างไรก็ตามพบว่าน้ำหนักแห้งรากของข้าวสาลีทุกพันธุ์ลดลงเท่าๆ กัน ในขณะที่น้ำหนักแห้งต้นของพันธุ์ Fang 60 ลดลงมากที่สุดที่ 50, 100 และ 150 mg B L⁻¹ ความเป็นพิษของโบรอนยังมีผลทำให้จำนวนหน่อของข้าวสาลิลดลงแต่ไม่มีผลต่อจำนวนใบ ที่ 50 mg B L⁻¹ ข้าวสาลีทุกพันธุ์แสดงอาการลดลงยกเว้นพันธุ์ Bonza ความเป็นพิษของโบรอนมีผลทำให้เกิดอาการ necrosis และ chlorosis เพิ่มขึ้นในข้าวสาลีทุกพันธุ์ อาการจะพัฒนาที่ใบแก่ (YEB) มากกว่าใบที่อ่อนกว่า (YEB+1) พันธุ์ Bonza แสดงอาการ necrosis ในใบ YEB และ YEB+1 ที่ 50, 100 และ 150 mg B L⁻¹ น้อยที่สุด และยังคงแสดงอาการ chlorosis น้อยที่สุดในใบ YEB ที่ 50, 100 และ 150 mg B L⁻¹ และใน YEB+1 พันธุ์ Bonza ยังคงมีอาการน้อยที่สุดที่ 50 และ 100 mg B L⁻¹ และเมื่อพิจารณาความรุนแรงของความเป็นพิษโดยใช้คะแนนเป็นตัววัดจะพบว่า Fang 60 แสดงอาการเป็นพิษมากที่สุด รองลงมาคือ Turkey 1473 และ Bonza ตามลำดับ ดังนั้นการให้คะแนนความเป็นพิษสามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ในการทนต่อความเป็นพิษได้ ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าพันธุ์ข้าวสาลีที่ทนต่อการขาดโบรอน Fang 60 ไม่ทนต่อความเป็นพิษของโบรอน เนื่องจากแสดงความรุนแรงของการเป็นพิษมากที่สุด ในขณะที่พันธุ์อ่อนแอต่อการขาดโบรอนเช่น Bonza และ Turkey 1473 จะทนต่อความเป็นพิษของโบรอน เนื่องจากแสดงความรุนแรงของอาการเป็นพิษน้อยกว่า จากการทดลองชี้ให้เห็นว่ามีความเกี่ยวข้องกันในการทนต่อการขาดและการเป็นพิษของโบรอนอีกด้วย

Index words: ความเป็นพิษของโบรอน, ข้าวสาลี, ความทนทานต่อการขาดโบรอน

boron toxicity, wheat, boron deficiency tolerance

คำนำ

โบรอนที่เป็นพิษเกิดขึ้นได้ในพื้นที่เพาะปลูกที่มีสภาพแห้งแล้งและกึ่งแห้งแล้ง เช่นที่พบในประเทศมาเลเซีย (Shorrocks, 1964) อินเดีย (Takkur, 1982) ออสเตรเลียตอนใต้ (Cartwright *et al.*, 1984) และเตอร์กี (Kalayci *et al.*, 1998) เป็นต้น การปลูกข้าวสาลีในดินที่มีโบรอนสูง (มากกว่า 5 mg B L⁻¹) ทำให้ข้าวสาลีแสดงอาการเป็นพิษเช่น chlorosis และ necrosis (เนื้อเยื่อสูญเสียคลอโรฟิลล์และเนื้อเยื่อตาย) ทำให้มีสีเขียวและไหม้ที่ปลายใบ ทำให้ผลผลิตลดลงในที่สุด เนื่องจากข้าวสาลีมีความแตกต่างทางพันธุกรรมที่มีช่วงกว้างในการทนต่อการขาด (Rerkasem and Jamjod, 1997) และทนต่อความเป็นพิษของโบรอน (Paull *et al.*, 1991) จึงมีโครงการปรับปรุงพันธุ์เพื่อคัดเลือกพันธุ์ทน เช่น โครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวสาลีให้ทนต่อความเป็นพิษของโบรอนในประเทศเตอร์กีและออสเตรเลียและพบพันธุ์ทนพิษหลายพันธุ์ ซึ่งมีกลไกการทนต่อความเป็นพิษโดยการไม่สะสมโบรอนในต้น (Nable *et al.*, 1988) และในประเทศไทยพบว่า พันธุ์ Fang 60 เป็นพันธุ์ที่ทนต่อการขาดโบรอนดีที่สุด (Jamjod *et al.*, 1992) จนมีการนำพันธุ์ Fang 60 ไปเป็นแหล่งพันธุกรรมของความทนทานต่อการขาดโบรอนในโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวสาลีนานาชาติของสถาบันวิจัยข้าวโพดข้าวสาลีนานาชาติ (CIMMYT) เนื่องจากดินที่ขาดโบรอนและมีโบรอนมากจนเป็นพิษอาจเกิดขึ้นในพื้นที่ใกล้เคียงกันโดยธรรมชาติ เช่นที่เตอร์กีหรือออสเตรเลีย และเมื่อมีการใส่ปุ๋ยโบรอนลงในดินอย่างไม่ทั่วถึง ในขณะที่กลไกการทนทานต่อการขาดโบรอนยังไม่ชัดเจน (Rerkasem and Jamjod, 1997) จึงจำเป็นต้องทราบว่าพันธุ์ Fang 60 มีการตอบสนองต่อความเป็นพิษของโบรอนอย่างไรเทียบกับพันธุ์ที่อ่อนแอต่อการขาดโบรอน เช่นพันธุ์ Bonza (สุภาวดี, 2543) และ Turkey 1473 (Pers. Comm.) ดังนั้นในโครงการปรับปรุงพันธุ์จึงต้องมีการทดสอบและคัดเลือกพันธุ์ทนเพื่อนำไปใช้แก้ปัญหาดังกล่าว แต่เนื่องจากยังไม่เป็นที่แน่ชัดว่าข้าวสาลีพันธุ์มาตรฐานที่มีระดับการตอบสนองต่อการขาดโบรอนแตกต่างกัน จะสามารถเจริญเติบโตได้ดีหรือไม่ในสภาพที่โบรอนเป็นพิษ เพื่อวัดและตรวจสอบการตอบสนองต่อความเป็นพิษของข้าวสาลีสามพันธุ์ที่มีระดับความทนทานต่อการขาดโบรอนแตกต่างกัน

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การทดลองนี้ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางเกษตรและภาควิชาพืชไร่คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ใช้ข้าวสาลี 3 พันธุ์ที่ทราบระดับความทนทานต่อการขาดโบรอน ได้แก่ Fang 60 (ทนต่อการขาดโบรอน; E) Bonza และ Turkey 1473 (อ่อนแอต่อการขาดโบรอน; I) โดยเพาะเมล็ดข้าวสาลีบนกระดาษเพาะความงอกที่ชุ่มน้ำใน petri dish ประมาณ 2 วันก่อนนำไปปลูกทดสอบในกระถางบรรจุทราย (sand culture) ใช้กระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 30 ซม. ลึก 30 ซม.

รองกันกระถางด้วยถุงพลาสติกที่เจาะรูระบายน้ำ ปลุกถั่วเขียวพันธุ์ Regur ก่อนปลูกข้าวสาลีประมาณ 1 สัปดาห์ เพื่อทดสอบปริมาณธาตุโบรอนที่ตกค้างในทราย (ถ้าทรายขาดโบรอนถั่วเขียวพันธุ์ Regur จะไม่มีใบประกอบชุดแรก (trifoliate)) และสารละลายธาตุอาหารพืชที่ใช้ร่วมกับระดับโบรอนต่างๆ มีดังนี้ CoSO_4 (0.1 μM) Na_2MoO_4 (0.1 μM) CuSO_4 (0.2 μM) ZnSO_4 (0.5 μM) MnSO_4 (2 μM) FeEDTA (10 μM) K_2SO_4 (250 μM) MgSO_4 (250 μM) KH_2PO_4 (500 μM) CaCl_2 (1,000 μM) (Broughton and Dilworth, 1971) และ KNO_3 (5,000 μM) ทดสอบข้าวสาลีทั้ง 3 พันธุ์ในกระถางบรรจุทรายที่ให้สารละลายธาตุอาหารพืชและใส่โบรอน 5 ระดับ คือ 10, 50, 100, 150 และ 200 mg B L^{-1} (แสดงเป็น B10, B50, B100, B150, B200 ตามลำดับ) วางแผนการทดลองแบบ CRD 2 ปัจจัยมี 3 ซ้ำแต่ละกระถาง (แต่ละซ้ำ) ปลูกข้าวสาลี 3 พันธุ์ แต่ละพันธุ์ปลูก 5 ต้น ปลูกจำนวน 3 กระถางต่อหนึ่งระดับโบรอน (รวมเป็น 15 กระถาง) โดยข้าวสาลีแต่ละพันธุ์หยอด 10 หลุม หลุมละ 1 เมล็ด หลังจากนั้น 7 วัน ถอนให้เหลือ 5 ต้น รดสารละลายธาตุอาหารทุกวัน เช้า-เย็น กระถางละ 1 ลิตรต่อครั้ง

ข้อมูลที่บันทึก ได้แก่ ความยาวรากวัด seminal root ที่ยาวที่สุด (ซม.), ความยาวต้นวัดตั้งแต่โคนต้นถึงยอด (ซม.), น้ำหนักแห้งราก (กรัมต่อต้น) แสดงเป็น relative root dry weight ((น้ำหนักแห้งรากที่ B+/น้ำหนักแห้งรากที่ B10) x 100), น้ำหนักแห้งต้น (กรัมต่อต้น) แสดงเป็น relative shoot dry weight ((น้ำหนักแห้งต้นที่ B+/น้ำหนักแห้งต้นที่ B10) x 100), จำนวนใบและจำนวนหน่อ แสดงเป็น relative tiller number ((จำนวนหน่อที่ B+/จำนวนหน่อที่ B10) x 100), อาการเป็นพิษวัดเป็น necrosis และ chlorosis ในใบ YEB (the Youngest Expanded Blade) และ YEB+1 (the second Youngest Expanded Blade) (Paull *et al.*, 1990) โดยวัดเป็น necrosis (%) ((ความยาวของอาการ necrosis / ความยาวใบนั้น) x 100) และวัดเป็น chlorosis (%) ((ความยาวของอาการ chlorosis / ความยาวใบนั้น) x 100) และวัดอาการเป็นพิษโดยการให้คะแนนความรุนแรงของอาการเป็นพิษโดยให้คะแนน 1-9 ดังนี้

คะแนน 1	ไม่แสดงอาการเป็นพิษ	คะแนน 7	1/2 ของใบเกิด necrosis
คะแนน 3	เกิด necrosis ที่ปลายใบขนาด 1 ซม.	คะแนน 9	ใบตาย
คะแนน 5	1/4 ของใบเกิด chlorosis ร่วมกับเกิด necrosis ที่ปลายใบขนาด 1 ซม.		

วิเคราะห์ข้อมูลโดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis Of Variance) ตามแผนการทดลองแบบ CRD และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างสิ่งทดลองโดยใช้ LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการทดลอง

ความยาวรากและความยาวต้น

พบว่ามีความแตกต่างระหว่างพันธุ์ในการตอบสนองต่อความเป็นพิษของโบรอนในลักษณะความยาวราก เมื่อปลูกข้าวสาลีทั้ง 3 พันธุ์ในทราย ที่ B10 ข้าวสาลีทั้ง 3 พันธุ์มีความยาวรากอยู่ระหว่าง

40-42 ซม. (ภาพที่ 1a) พันธุ์ Fang 60 มีความยาวรากสั้นลงเมื่อเพิ่มระดับโบรอนโดยเหลือ 29 ซม. ที่ B50 และ 10 ซม. ที่ B100 แต่ไม่ลดลงอีกที่ B150 และ B200 ในขณะที่การเพิ่มโบรอนไม่มีผลต่อความยาวรากใน Bonza และ Turkey 1473 จนกว่าจะถึง B150 ซึ่งทำให้ข้าวสาลี 2 พันธุ์ มีรากยาว 33 ซม. และลดลงเหลือ 23 ซม. ที่ B200 สำหรับความยาวต้นนั้นพบว่าเมื่อระดับโบรอนเพิ่มขึ้นจาก B10 ความยาวต้นของข้าวสาลีทั้ง 3 พันธุ์ลดลง (ภาพที่ 1b) เมื่อปลูกที่ B10 ข้าวสาลีมีความยาวต้นอยู่ระหว่าง 21-26 ซม. เมื่อเพิ่มระดับโบรอนเป็น B200 ความยาวต้นของ Turkey 1473, Bonza และ Fang 60 เหลือเพียง 12, 9 และ 8 ซม. ตามลำดับ

น้ำหนักแห้งรากและน้ำหนักแห้งต้น

จากการทดลองไม่พบว่ามีความแตกต่างระหว่างพันธุ์เมื่อระดับโบรอนเพิ่มขึ้นในลักษณะน้ำหนักแห้งรากของข้าวสาลีโดยพิจารณาจากค่า Relative root dry weight (ภาพที่ 2a) ระดับโบรอนที่เพิ่มขึ้นทำให้น้ำหนักแห้งรากของข้าวสาลีลดลง เมื่อระดับโบรอนเพิ่มขึ้นจาก B10 เป็น B50 มีผลทำให้ข้าวสาลีทั้งสามพันธุ์มีน้ำหนักแห้งรากลดลงเหลือ 40% ที่ B100 ลดลงเหลือ 19% ที่ B150 ลดลงเหลือ 13% และที่ B200 ลดลงเหลือ 9% และยังพบว่ามีความแตกต่างระหว่างพันธุ์ในลักษณะน้ำหนักแห้งต้นเมื่อระดับโบรอนเพิ่มขึ้นโดยพิจารณาจากค่า Relative shoot dry weight (ภาพที่ 2b) ระดับโบรอนที่เพิ่มขึ้นทำให้น้ำหนักแห้งต้นของข้าวสาลีลดลงยกเว้นพันธุ์ Bonza โดยพบว่าที่ B50 พันธุ์ Bonza มีน้ำหนักแห้งต้นลดลงน้อยที่สุดโดยลดลงเหลือเท่ากับ 63% รองลงมาคือ Turkey 1473 ลดลงเหลือ 49% และ Fang 60 ลดลงมากที่สุด เหลือเท่ากับ 32% แต่พบว่าที่ B100, B150 และ B200 การลดลงของน้ำหนักแห้งต้นนั้นไม่มีความแตกต่างระหว่างพันธุ์

จำนวนใบและจำนวนหน่อ

ไม่พบว่ามีผลต่อจำนวนใบในข้าวสาลี ข้าวสาลีทั้งสามพันธุ์มีจำนวนใบต่อต้นเฉลี่ยประมาณ 3 ใบ (ภาพที่ 3a) สำหรับจำนวนหน่อที่มีความแตกต่างระหว่างพันธุ์ในการตอบสนองต่อความเป็นพิษของโบรอน (ภาพที่ 3b) เมื่อระดับโบรอนเพิ่มจาก B10 เป็น B200 ทุกพันธุ์มีการแตกกอลดลงโดยพิจารณาจากค่า Relative tiller number (% เทียบกับจำนวนหน่อที่ B10) โบรอนทำให้พันธุ์ข้าวสาลีแตกกอต่างกันเห็นได้ชัดเจนที่สุดที่ B50 โดยที่พันธุ์ Fang 60 มีจำนวนหน่อลดลงครึ่งหนึ่ง Turkey 1473 ลดลง 20% และ Bonza ไม่ลดลงเลยเมื่อเทียบกับ B10 การแตกกอของข้าวสาลีทุกพันธุ์ลดลงอีกเมื่อเพิ่มโบรอนเป็น B100 แต่ยังคงรักษาความแตกต่างระหว่างพันธุ์ไว้เช่นเดิมคือ Fang 60 มีจำนวนหน่อลดลงมากที่สุด ตามด้วย Turkey 1473 และ Bonza ซึ่งลดลงน้อยที่สุด ที่ B150 และ B200 ข้าวสาลี 3 พันธุ์มี Relative tiller number ใกล้เคียงกันคือประมาณ 40% ของที่ B10

อาการเป็นพิษที่แสดงเป็น necrosis (%) และ chlorosis (%) ในใบ

จากภาพที่ 4 อาการ necrosis (%) ในใบพบตั้งแต่ B50 จนถึง B200 โดยจะไหม้จากปลายใบเข้าสู่โคนใบ และเกิดที่ใบแก่ (YEB+1) มากกว่าใบที่อ่อนกว่า (YEB) ข้าวสาลีทุกพันธุ์แสดงอาการเป็นพิษ

เพิ่มขึ้นเมื่อระดับโบรอนเพิ่มขึ้น โดยที่ B200 ข้าวสาลีทุกพันธุ์แสดงอาการรุนแรงเท่ากันโดยไม่สร้างใบ YEB พันธุ์ Bonza แสดงอาการ necrosis น้อยที่สุด และโบรอนที่เป็นพิษมีผลทำให้เกิด necrosis ในใบ YEB+1 ในพันธุ์ข้าวสาลีแตกต่างกัน ข้าวสาลีพันธุ์ Bonza ยังคงแสดงอาการ necrosis น้อยที่สุดที่ B50, B100 และ B150 ในขณะที่ Fang 60 แสดงอาการรุนแรงมากที่สุดที่ B50 และ B100 เมื่อความเข้มข้นโบรอนเพิ่มเป็น B200 ทุกพันธุ์แสดงอาการเป็นพิษรุนแรงมากขึ้นเท่าๆ กัน จากภาพที่ 5 พบว่าอาการ chlorosis (%) ในใบ YEB ของพันธุ์ Bonza แสดงอาการน้อยที่สุดที่ B50, B100 และ B150 ส่วนที่ B200 นั้นข้าวสาลีทุกพันธุ์ไม่สร้างใบ YEB ส่วนในใบ YEB+1 พบว่าพันธุ์ Bonza ยังคงแสดงอาการน้อยที่สุดที่ B50 และ B100 รองลงมาคือ Turkey 1473 และ Fang 60 ที่ทุกระดับโบรอน เมื่อความเข้มข้นโบรอนเพิ่มเป็น B150 และ B200 ข้าวสาลีทุกพันธุ์แสดงอาการ chlorosis ที่ YEB+1 เพิ่มขึ้นทุกพันธุ์และไม่ต่างกันระหว่างพันธุ์

อาการเป็นพิษที่วัดเป็นคะแนน 1-9

จากการวัดคะแนนความเป็นพิษ พบว่าข้าวสาลีทุกพันธุ์แสดงอาการรุนแรงที่ใบ YEB+1 มากกว่า YEB ในใบ YEB+1 พันธุ์ Bonza และ Turkey 1473 แสดงอาการรุนแรงน้อยกว่า Fang 60 ที่ B50 ส่วนที่ B100 พันธุ์ Bonza และ Turkey 1473 แสดงอาการรุนแรงใกล้เคียงกันในขณะที่ Fang 60 แสดงอาการมากกว่า อย่างไรก็ตามเมื่อปลูกที่ B100 และ B150 ข้าวสาลีทุกพันธุ์แสดงอาการเป็นพิษรุนแรงใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 1)

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองพบว่าพันธุ์ข้าวสาลีที่ทนต่อการขาดโบรอน เช่น Fang 60 จะไม่ทนต่อความเป็นพิษของโบรอน และพันธุ์ที่ไม่ทนต่อการขาดโบรอน เช่น Bonza และ Turkey 1473 จะทนต่อความเป็นพิษของโบรอน ความเป็นพิษของโบรอนมีผลทำให้ความยาวรากและความยาวต้นข้าวสาลิลดลง โดยทำให้ความยาวรากลดลงแตกต่างกันระหว่างพันธุ์ แต่ไม่ทำให้ความยาวต้นลดลงแตกต่างกันระหว่างพันธุ์ Holloway and Alston (1992) กล่าวว่าความเข้มข้นโบรอนสูงๆ จะจำกัดการเจริญของรากข้าวสาลีและทำให้ผลผลิตลดลงในรัฐฟิซ (Rathjen *et al.*, 1987) จากการทดลองพบว่าพันธุ์ที่ทนต่อการขาดโบรอน เช่น Fang 60 มีความยาวรากลดลงมากที่สุด ในขณะที่ Bonza และ Turkey 1473 มีความยาวรากลดลงน้อยกว่าเมื่อปลูกที่ระดับโบรอนสูงๆ การเป็นพิษของโบรอนยังทำให้ข้าวสาลีพันธุ์ Fang 60 แสดงอาการ necrosis และ chlorosis มากกว่า Bonza และ Turkey 1473 อาการเป็นพิษรุนแรงในใบแก่มากกว่าใบอ่อนกว่า Paull *et al.* (1990) กล่าวว่าเมื่อปลูกข้าวสาลีในทรายและเพิ่มระดับโบรอนภายนอกให้สูงขึ้น พบว่าพันธุ์ที่ทนต่อการเป็นพิษจะมีการ necrosis น้อยกว่าพันธุ์อ่อนแอและมีการแตกกอดีกว่า โดย Fang 60 มีการแตกกอลดลงมากกว่า Bonza และ Turkey 1473 เมื่อระดับโบรอนสูงขึ้น (ที่ B100

และ B150) อาการเป็นพิษที่วัดเป็นคะแนนยังสามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ในการทนต่อความเป็นพิษได้ชัดเจนในใบแก่ (YEB+1) มากกว่าใบที่อ่อน (YEB) ที่ B100 และ B150 ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับการใช้ necrosis (%), chlorosis (%) และความยาวราก โดย Fang 60 มีคะแนนความเป็นพิษมากที่สุด สอดคล้องกับการมีความยาวรากที่ลดลงมากที่สุดเมื่อระดับโบรอนสูงขึ้น อย่างไรก็ตามหากจะคัดเลือกพันธุ์ที่ทนต่อความเป็นพิษของโบรอนสามารถคัดเลือกได้โดยใช้ความยาวรากหรือการวัดโดยให้คะแนนและไม่สามารถคัดเลือกได้ที่ B150 และ B200 เนื่องจากเป็นระดับที่เป็นพิษมากเกินไปซึ่งทำให้ข้าวสาลีทั้ง 3 พันธุ์ได้รับผลกระทบจากการเป็นพิษเท่าๆ กัน ระดับ B50 และ B100 จึงเป็นระดับที่เหมาะสมเมื่อคัดเลือกพันธุ์ข้าวสาลีในทราย

ดังนั้นหากนำพันธุ์ที่ทนต่อการขาดโบรอนเช่น Fang 60 หรือสายพันธุ์ #145 ของ CIMMYT (มี Fang 60 และ SERI เป็นพันธุ์พ่อแม่) ที่พบว่าทนต่อการขาดโบรอนเช่นกัน (สุพรรณิการ์, 2546) ไปปลูกในพื้นที่ที่มีโบรอนเป็นพิษจะทำให้เกิดความเสียหายได้ จากการศึกษาดังกล่าวจะเป็นแนวทางและเป็นประโยชน์ในการคัดเลือกและวัดการตอบสนองของพันธุ์ข้าวสาลีต่อการเป็นพิษของโบรอนโดยใช้วิธีการที่รวดเร็วและสะดวก และช่วยตัดสินใจก่อนนำพันธุ์ไปปลูกในพื้นที่ที่มีโบรอนเป็นพิษต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ โครงการย่อยบัณฑิตศึกษาและวิจัยสาขาเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และทุนพัฒนากลุ่มวิจัยสกว. สำหรับทุนสนับสนุนการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- สุพรรณิการ์ พันชนะ. 2546. ความสัมพันธ์ระหว่างการตอบสนองต่อการขาดและการเป็นพิษของโบรอนในพันธุ์ข้าวสาลี. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 154 หน้า.
- สุภาวดี จ้อยเหรียญ. 2543. การตอบสนองของประชากรข้าวสาลีที่มีการกระจายตัวทางพันธุกรรมต่อการขาดโบรอน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 68 หน้า.
- Broughton, W.J. and M.J., Dilworth, 1971. Control of leghaemoglobin synthesis in snake beans. *Biochem. J.* 125: 1075-1080.
- Cartwright, B., B.A., Zarcinas and A.H., Mayfield, 1984. Toxic concentration of boron in red brown earth at Gladstone, South Australia. *Aust. J. Soil. Res.* 22: 261-272.
- Holloway, R.E. and A.M., Alston. 1992. The effect of salt and boron on growth of wheat. *Aust. J. Agric. Res.* 43: 987-1001.

- Jamjod, S., C.E., Mann and B., Rerkasem. 1992. Screening for boron deficiency in wheat. *In* Boron deficiency in wheat: Wheat special report No.11 February 17-19, 1992. (Eds. C.E. Mann and B. Rerkasem). CIMMYT, Mexico. pp 79-82.
- Kalayci, M., A., Alkan, I., Çakmak, O., Bayramoğlu, A., Yilmaz, M., Aydin, V., Ozbek, H., Ekiz, and F., Ozberisoy. 1998. Studies on differential response of wheat cultivars to boron toxicity. *Euphytica* 100: 123-129.
- Paull, J.G., A.J., Rathjen and B., Cartwright. 1991. Major gene control of tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.) to high concentrations of soil boron. *Euphytica* 55: 217-228.
- Paull, J.G., A.J., Rathjen, B., Cartwright and R.O., Nable. 1990. Selection parameters for assessing the tolerance of wheat to high concentrations of boron. *In* Genetic aspects of plant mineral nutrition. Kluwer academic publishers, Netherlands. pp 361-369.
- Rathjen, A.J., B., Cartwright, J.G., Paull, D.B., Moody, and J., Lewis. 1987. Breeding for tolerance of mineral toxicities in Australian cereals with special reference to boron. *In* Priority in soil/plant relation research for plant production. (Eds. P.G.E. Searle and B.G. Devy). School of crop sciences, The University of Sydney, Australia. pp 110-130.
- Rerkasem, B. and S., Jamjod. 1997. Genotypic variation in plant response to low boron and implications for plant breeding. *Plant and Soil* 193: 169-180.
- Shorrocks, V.M. 1964. Boron toxicity in *Hevea brasiliensis*. *Nature* 204: 599-600.
- Takkar, P.N. 1982. Micronutrients: forms, content, distribution in profile, indices of availability and soil test methods. *In* 12th Int. Soil Sci. Cong., Part 1. New Delhi. 136 p.
- Nable, R.O., B., Cartwright and R.C.M., Lance. 1988. Genotypic differences in boron accumulation in barley: Relative susceptibilities to boron deficiency and toxicity. *In* Genetic aspects of plant mineral nutrition. (Eds. N. El Bassam). Kluwer academic publisher, Netherlands. pp 243-251.

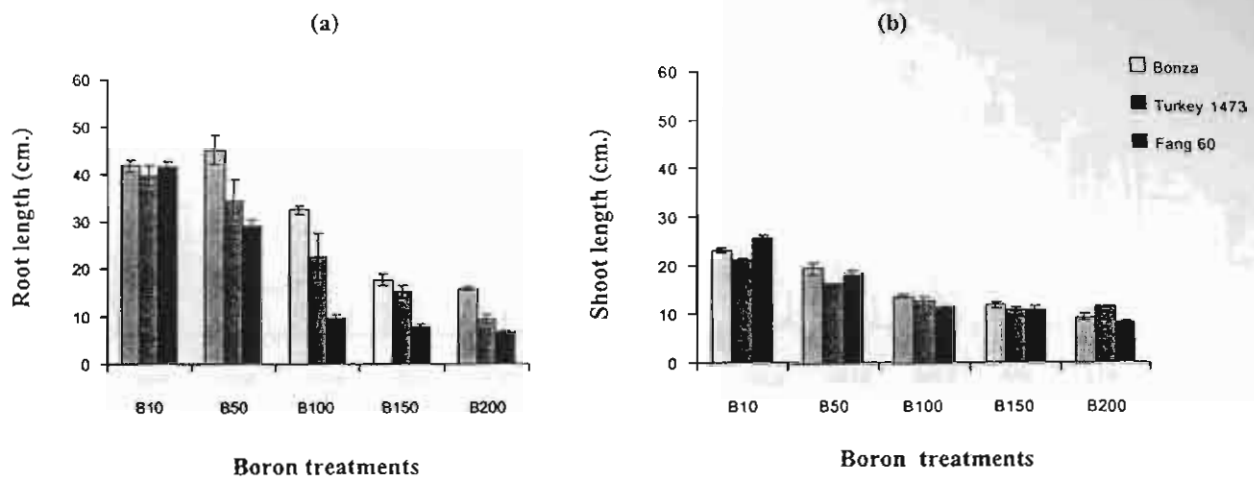


Figure 1 (a) Root length (cm.) and (b) shoot length (cm.) of three wheat genotypes grown in sand culture with five B treatments at 23 days after sowing. Vertical bars presented as standard error of 3 replications. (1a) BxG** (significant at $p < 0.01$), (1b) BxG* (significant at $p < 0.05$). B = boron, G = genotype.

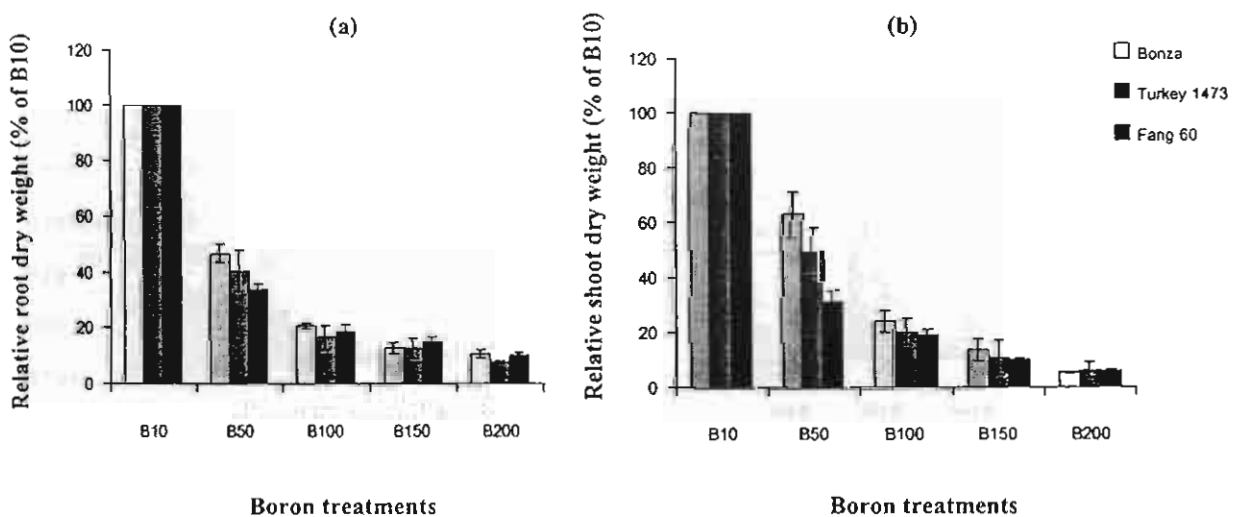


Figure 2 Effect of B treatments on (a) root dry weight (expressed as relative root dry weight (% of B10)) and (b) shoot dry weight (expressed as relative shoot dry weight (% of B10)) of three wheat genotypes grown in sand culture at 23 days after sowing. Vertical bars presented as standard error of 3 replications. (2a) BxG^{ns}, (2b) BxG^{ns} (^{ns} non significant at $p < 0.05$). B = boron, G = genotype.

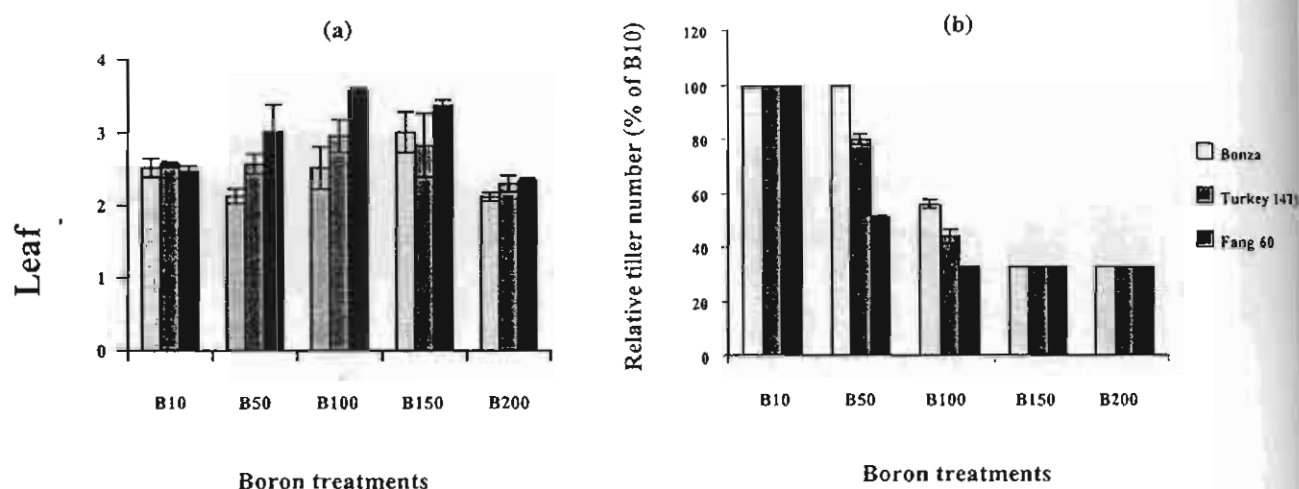


Figure 3 Effect of B treatments on (a) leaf number and (b) tiller number (expressed as relative tiller number (% of B10)) of three wheat genotypes grown in sand culture at 23 days after sowing. Vertical bars presented as standard error of 3 replications. (3a) BxG^{ns} (non significant at $p < 0.05$), (3b) BxG^{**} (significant at $p < 0.01$). B = boron, G = genotype.

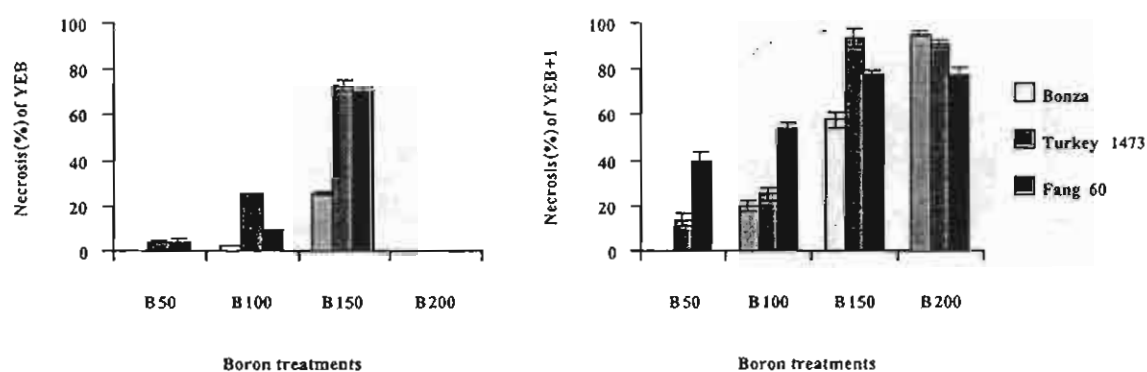


Figure 4 Effect of B treatments on necrosis (%) of YEB and YEB+1 of three wheat genotypes grown in sand culture at 23 days after sowing. Vertical bars presented as standard error of 3 replications. BxG^{ns} (YEB), BxG^{*} (YEB+1) (^{ns} non significant at $p < 0.05$, ^{*} significant at $p < 0.05$). B = boron, G = genotype.

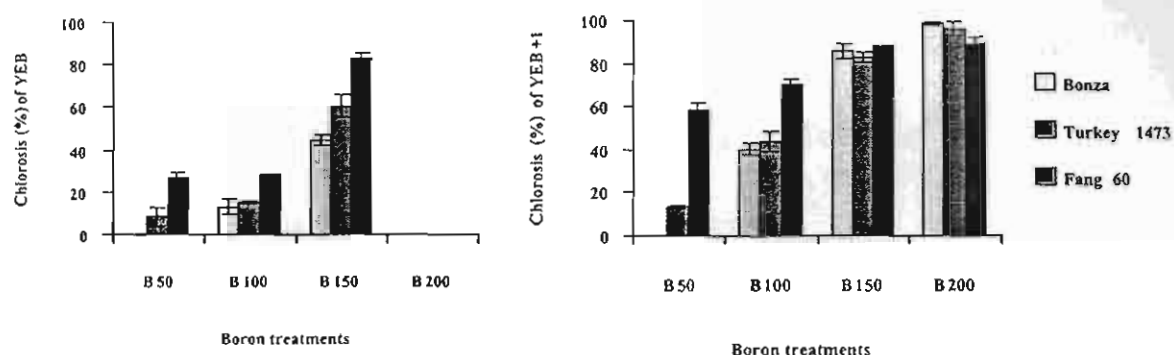


Figure 5 Effect of B treatments on chlorosis (%) of YEB and YEB+1 of three wheat genotypes grown in sand culture at 23 days after sowing. Vertical bars presented as standard error of 3 replications. BxG^{ns} (YEB), BxG* (YEB+1) (^{ns} non significant at $p < 0.05$, * significant at $p < 0.05$). B = boron, G = genotype.

Table 1 Boron toxicity symptom expression of YEB and YEB+1 of three wheat genotypes grown in sand culture with five B treatments at 23 days after sowing.

Boron treatments	YEB			YEB+1		
	Bonza (I)	Turkey 1473 (I)	Fang 60 (E)	Bonza (I)	Turkey 1473 (I)	Fang 60 (E)
B10	1	1	1	1	1	1
B50	1	1	2	2	2	5
B100	1	3	3	3	4	6
B150	4	6	7	7	8	8
B200	8	8	8	9	9	9

Visual rating	Description of B damage
1	no visual symptoms
3	tip necrosis (1 cm.)
5	1/4 leaf blade severe chlorosis with > 1 cm. tip necrosis
7	1/2 leaf blade necrosis
9	leaf dead

อิทธิพลของโบรอนต่อคุณภาพเมล็ดในถั่วเขียวต่างพันธุ์

Genotypic Variation in the Effect of Boron on Seed Quality

in Mungbeans (*Vigna mungo* (L.) Hepper

and *V. Radiata* (L.) Wilczek)

อุรุย์ คงปิ่น¹ ศันสนีย์ จำจด¹ และ เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม¹

¹ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

Ayut kongpun¹ Sansanee Jamjod¹ and Benjavan Rerkasem¹

¹Agronomy Department Faculty of Agriculture Chiang Mai University Chiang Mai Thailand 50200

บทคัดย่อ

การขาดโบรอนนอกจากทำให้ผลผลิตถั่วเขียวลดลงยังอาจมีผลต่อคุณภาพเมล็ดด้วย แต่เนื่องจากถั่วเขียวเป็นพืชชนิดหนึ่งที่มีความแตกต่างระหว่างพันธุ์ในการทนต่อการขาดโบรอน การศึกษานี้จึงมุ่งประเมินความแตกต่างระหว่างพันธุ์ถั่วเขียวในการตอบสนองต่อโบรอนในแง่ของคุณภาพเมล็ด โดยใช้ถั่วเขียวฝาคำ (*Vigna mungo* (L.) Hepper) พันธุ์ M1, Regur, CPI79563 และถั่วเขียวฝามัน (*V. Radiata* (L.) Wilczek) พันธุ์ กำแพงแสน1, VC2755, VCI163 ปลูกใน sand culture รดด้วยสารละลายธาตุอาหารที่ให้โบรอนในระดับความเข้มข้น 4 ระดับคือ 0, 0.5, 3 และ 5 μM โดยทั่วไปพันธุ์ถั่วเขียวมีโบรอนในเมล็ดต่ำสุดใน B0 และมีความเข้มข้นโบรอนในเมล็ดเพิ่มขึ้นตามระดับโบรอนจนถึงสูงสุดที่ B3 ที่แปลกไปคือถั่วเขียวฝาคำสายพันธุ์ CPI79563 ซึ่งมีโบรอนในเมล็ดสูงสุด 24.3 mg B/kg ใน B0 และลดลงเป็น 4.6 mg B/kg ใน B0.5 แล้วจึงเพิ่มขึ้นเป็น 18 mg B/kg ใน B3 และ B5 เมื่อนำเมล็ดไปเพาะในทรายที่ได้รับสารละลายธาตุอาหารที่มีการเติมโบรอนในอัตรา 0 และ 10 μM B (B0 และ B10) พบว่าปริมาณโบรอนในเมล็ดมีผลต่อคุณภาพเมล็ดต่างกันในตัวเขียวต่างพันธุ์ โดยถั่วเขียว 6 สายพันธุ์ที่มีโบรอนในเมล็ดในช่วง 3.9-7.7 mg B/kg มีเพียงถั่วเขียวฝาคำสายพันธุ์ M1 และ CPI79563 เท่านั้นที่เปอร์เซ็นต์ความงอกถูกจำกัด แต่เปอร์เซ็นต์ความงอกจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นโบรอนในเมล็ดสูงขึ้น การเพาะเมล็ดใน B10 มีความงอกสูงกว่าใน B0 นอกจากความงอกแล้วปริมาณโบรอนในเมล็ดยังมีผลต่อความสมบูรณ์ของต้นอ่อนด้วยแต่ความแตกต่างระหว่างพันธุ์เป็นไปตามความแตกต่างในระดับโบรอนในเมล็ด โดยเปอร์เซ็นต์ต้นอ่อนผิดปกติเมื่อเพาะใน B0 กับความเข้มข้นโบรอนในเมล็ดของถั่วเขียวทั้ง 6 พันธุ์ มีปฏิสัมพันธ์ทางลบร่วมกันที่มีนัยยะสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$) และมีค่าวิกฤติของโบรอนในเมล็ดที่ 10 mg B/kg เมล็ดที่มีโบรอนต่ำกว่านี้มีต้นอ่อนผิดปกติมากกว่าร้อยละ 50 เมื่อเพาะใน B10 จำนวนต้นอ่อนผิดปกติของถั่วเขียวที่มีโบรอนในเมล็ดต่ำลดลงเกือบหมด ยกเว้นพันธุ์ CPI79563 และพันธุ์ VC2755 ซึ่งยังคงมีต้นอ่อนผิดปกติอยู่ประมาณร้อยละ 20 การศึกษานี้แสดงให้เห็นชัดว่าพันธุ์ถั่วเขียวมีความแตกต่างในการตอบสนองต่อโบรอนในเมล็ดในด้านคุณภาพ ทั้งในเปอร์เซ็นต์ความงอกและความสมบูรณ์ของต้นอ่อน ถั่วเขียวฝาคำสายพันธุ์ M1 และ CPI79563 นับว่ามีคุณภาพเมล็ดต่ำที่สุดระหว่างพันธุ์ที่มีโบรอนในเมล็ดในระดับเดียวกัน

Abstract

Boron (B) deficiency depresses seed quality in mungbeans. Large genotypic variations have been found in the response of mungbean species to low B in terms of growth and grain yield. This study aims to examine variation in seed quality response to seed B among genotypes of mungbeans. The objectives of this experiment were to evaluate B accumulating ability in seeds and B requirement for seedling growth in different genotypes. Black gram (*Vigna mungo* (L.) Hepper) genotypes included M1, Regur, CPI79563 and green gram (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) genotypes included KPS1, VC2755, VC1163 were multiplied in sand culture with 4 levels of applied B (0, 0.5, 3 and 5 μM). Seed B of the most of mungbeans genotypes was lowest in B0 and increasing solution B from B0 to B3 increased it. But Seed B concentration of CPI79563 genotype was highest in B0 (24.3 mg B kg^{-1}) and it was decreased to 4.6 mg B kg^{-1} in B0.5 and it was increased to 18 mg B kg^{-1} by increasing solution B to B3 and B5. Genotypes in range of low seed B, 3.9-7.7 mg B/kg, germination of black gram M1 and CPI79563 was limited. Germination increased with seed B. In general applying B to the germinating medium also increased germination. In addition to germination percentage, low seed B also adversely affected seedling growth. Differences between genotypes, however, were associated with the levels of seed B. When germinated in sand without added B, the six genotypes of mungbeans all fitted into one significant negative correlation ($p < 0.01$) between seed B concentration and % abnormal seedlings. The critical seed B concentration for normal seedling growth was 10 mg B/kg, below this more than half of the seedlings developed abnormally. Applying 10 μM B to the nutrient solution overcame the effect of low seed B in all but two genotypes. The exceptions were black gram M1 and CPI79563, which still had 20% abnormal seedlings in B10. In conclusion, this study has clearly shown that mungbean genotypes differ in the response to seed B in terms of seed quality, as germination percentage and number of normal seedlings. The black gram genotype M1 may be considered to the most sensitive among genotypes with the same range of seed B concentrations.

บทนำ

การขาดโบรอนเป็นปัจจัยหนึ่งที่จำกัดการให้ผลผลิตของพืชตระกูลถั่ว สำหรับในถั่วเขียวแล้ว ถั่วเขียวฝัสดำอ่อนแ่ต่อการขาดโบรอนมากกว่าถั่วเขียวฝัสดำ (เบญจวรรณ, 2537) การขาดโบรอนในถั่วเขียวที่เห็นได้ชัดเจนคือการเกิดต้นอ่อนผิดปกติในระยะงอก Rerkasem (1990) พบว่าเมื่อนำเมล็ดของถั่วเขียวฝัสดำพันธุ์ Regur และ ถั่วเขียวฝัสดำพันธุ์ อุทอง 1 ที่มีโบรอนในเมล็ดต่ำ (7.7 และ 5.0 mg B kg^{-1} ตามลำดับ) ไปปลูกในดินที่มีโบรอนต่ำ (0.08 mg B kg^{-1}) จะพบต้นอ่อนผิดปกติถึง 70 % สำหรับพันธุ์ Regur และ 55 % สำหรับพันธุ์ อุทอง 1 แต่ต้นอ่อนผิดปกตินี้จะหมดไปเมื่อปลูกในดินที่มีโบรอนสูง

(0.36 mg B kg⁻¹) หรือเมื่อใช้เมล็ดที่มีความเข้มข้นของโบรอนในเมล็ดสูง (14 mg B kg⁻¹ สำหรับ Regur และ 10 mg B kg⁻¹ สำหรับ อู่ทอง 1) ดังนั้นปริมาณโบรอนในเมล็ดจึงเป็นปัจจัยสำคัญที่กำหนดคุณภาพเมล็ดเมื่อปลูกถั่วเขียวในดินที่มีโบรอนต่ำ

ความเข้มข้นของโบรอนในเมล็ดถูกกำหนดโดยปริมาณโบรอนในดินที่ใช้ผลิตเมล็ดในฤดูปลูกที่ผ่านมา Predisripipat (1988) พบว่าเมล็ดถั่วเขียวที่ผลิตจากดินที่ให้ปุ๋ยโบรอนมีความเข้มข้นของโบรอนในเมล็ดสูงกว่าเมล็ดที่ผลิตจากดินที่ไม่ให้ปุ๋ยโบรอน

ในขณะเดียวกันมีการศึกษามากมาย ที่รายงานว่ามีความหลากหลายทางพันธุกรรมในการทนทานต่อการขาดโบรอนในดิน ในด้านการเจริญเติบโตและการสร้างผลผลิตเมล็ดในพืชหลายชนิด (Rerkasem and Jamjod, 1997) ถั่วเขียวเป็นพืชหนึ่งที่ได้มีรายงานว่ามีความสามารถเจริญเติบโตและให้ผลผลิตได้ดี ในดินที่มีโบรอนต่ำจนพันธุ์อื่นๆมีการเจริญเติบโตและผลผลิตเมล็ดลดลงอย่างเห็นได้ชัด (Rerkasem 1990) องค์ความรู้เรื่องความแตกต่างระหว่างพันธุ์ในการตอบสนองต่อโบรอนในเมล็ดของคุณภาพเมล็ดน่าจะเป็นประโยชน์ต่อการปรับปรุงและคัดเลือกพันธุ์ถั่วเขียวเพื่อปลูกในดินโบรอนต่ำที่มีแพร่หลายในประเทศไทย ทั้งในภาคเหนือ (เบญจวรรณ 2532) และตะวันออกเฉียงเหนือ (เพิ่มพูน 3538) อีกทั้งอาจมีส่วนช่วยอธิบายกลไกการทนทานต่อการขาดโบรอนในพันธุ์ถั่วเขียวด้วย

วัตถุประสงค์

เพื่อประเมินความแตกต่างระหว่างพันธุ์ของถั่วเขียวในการตอบสนองต่อโบรอนในเมล็ดในด้านคุณภาพเมล็ด

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ใช้ถั่วเขียวผิวดำและถั่วเขียวผิวมันชนิดละ 3 สายพันธุ์ ถั่วเขียวผิวดำประกอบด้วยพันธุ์ M1 พันธุ์ Regur และสายพันธุ์ CPI79563 ถั่วเขียวผิวมันประกอบด้วยพันธุ์ กำแพงแสน1 (กำแพงแสน 1) สายพันธุ์ VC2755 และ VC1163 ปลูกถั่วเขียวแต่ละสายพันธุ์ สายพันธุ์ละหกเมล็ดในกระถางดินเผาเส้นผ่าศูนย์กลาง 30 เซนติเมตร ลึก 30 เซนติเมตร รองกระถางด้วยถุงพลาสติกเจาะรูและบรรจุทรายแม่น้ำที่ล้างแล้ว ปลูกโดยวิธีเจาะหลุมหยอดเมล็ดแล้วปลูกเชื้อไรโซเบียมด้วยวิธีโรยผงเชื้อลงในหลุมปลูกตามหลังเมล็ด (ใช้เชื้อไรโซเบียมสำหรับถั่วเขียวจากกองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร) หลังงอกรดด้วยสารละลายที่ให้ธาตุอาหารที่ดัดแปลงจากสูตรของ Broughton and Dilworth (1971) ซึ่งไม่ให้ ไนโตรเจน โดยให้โบรอนในรูป H₃BO₃ ในระดับที่แตกต่างกัน 4 ระดับคือ 0, 0.5, 3 และ 5 μ M (ให้สัญลักษณ์เป็น B0, B0.5, B3 และ B5 ตามลำดับ) ให้หนึ่งกระถางเป็นหนึ่งหน่วยการทดลองปลูก 3 ซ้ำ ถอนแยกให้

เหลือ 3 ต้นต่อกระถางเมื่ออายุได้ 15 วันหลังออก เมื่อสุกแก่เก็บเมล็ดแต่ละสายพันธุ์จากแต่ละระดับโบรอนแยกกันแล้วนำเมล็ดที่ผลิตได้ไปหาความเข้มข้นของโบรอนในเนื้อเยื่อโดยวิธี Azomathine-H (Lohse, 1982) จากนั้นเลือกเมล็ดของแต่ละสายพันธุ์ที่ผลิตจากระดับโบรอนที่ต่างกันมารดบดละ 1 ช้าจากทั้งหมด 3 ช้า ไปเพาะในตะกร้าพลาสติกขนาด กว้าง 30 เซนติเมตร ยาว 40 เซนติเมตร ลึก 12 เซนติเมตร รองก้นตะกร้าด้วยถุงพลาสติกเจาะรูบรรจุด้วยทรายแม่น้ำที่ล้างแล้ว ก่อนปลูกคลุกเมล็ดด้วยเชื้อไรโซเบียม ใช้ระยะปลูก 3 x 3 ซม. ปลูก 1 เมล็ดต่อหลุม หนึ่งหน่วยการทดลองมี 4 แถวแถวละ 5 หลุม หลังปลูกรดด้วยสารละลายที่มีธาตุอาหารที่ให้โบรอนในระดับที่แตกต่างกัน 2 ระดับคือ ไม่ให้โบรอนในสารละลาย (B0) และให้โบรอนในสารละลายในรูป H_3BO_3 10 μM (B10) เมื่ออายุได้ 11 วันหลังปลูก ซึ่งต้นอ่อนมีใบจริงคู่แรกกางเต็มที่และใบประกอบชุดแรกกำลังคลี่กาง ตรวจนับเปอร์เซ็นต์ความงอกและเปอร์เซ็นต์ต้นอ่อนผิดปกติ ที่มีลักษณะดังต่อไปนี้

- (ก) ใบจริงคู่แรกขาดหาย มีใบเหลือไม่ถึง 50 % ของใบปกติ
- (ข) หยุดชะงักการเจริญเติบโตหลังจากใบจริงคู่แรกคลี่กางเต็มที่
- (ค) ใบประกอบชุดแรกบิดงอผิดปกติ

ผลการทดลอง

ความเข้มข้นของโบรอนในเมล็ด

เมื่อปลูกขยายเมล็ดในสภาพที่ไม่ให้โบรอน (B0) ถั่วเขียว 5 พันธุ์มีความเข้มข้นโบรอนในเมล็ดใกล้เคียงกันในช่วง 4.3-6.9 mg B/kg ที่แปลกไปคือ ถั่วเขียวฝั้วคำสายพันธุ์ CPI79563 มีความเข้มข้นของโบรอนในเมล็ดสูงถึง 24.3 mg B kg⁻¹ เมื่อผลิตเมล็ดในสภาพที่ให้โบรอน 0.5 μM (B0.5) ความเข้มข้นของโบรอนในเมล็ดของสายพันธุ์ส่วนใหญ่เพิ่มขึ้นยกเว้นสายพันธุ์ CPI79563 ที่โบรอนในเมล็ดลดลงเหลือ 4.6 mg B kg⁻¹ โดยถั่วเขียวฝั้วคำพันธุ์ M1 มีโบรอนในเมล็ดสูงกว่าพันธุ์อื่นๆ (13.8 mg B kg⁻¹) ส่วนสายพันธุ์ที่เหลือมีโบรอนในเมล็ดพอๆ กันในช่วง 9.4-11.1 mg B kg⁻¹ และเมื่อผลิตเมล็ดในสภาพที่ให้โบรอน 3 μM (B3) พบว่าโบรอนในเมล็ดของทุกสายพันธุ์เพิ่มขึ้น โดยสายพันธุ์ VC2755 มีโบรอนในเมล็ดสูงที่สุด (22.0 mg B kg⁻¹) ส่วนสายพันธุ์อื่นๆ มีโบรอนในเมล็ดพอๆ กันในช่วง 17.2-18.1 mg B kg⁻¹ และเมื่อเพิ่มระดับโบรอนที่ใช้ผลิตเมล็ดเป็น 5 μM (B5) มีเพียงพันธุ์ กำแพงแสน 1 เท่านั้นที่มีโบรอนในเมล็ดเพิ่มขึ้นเป็น 20.7 mg B kg⁻¹ ส่วนโบรอนในเมล็ดของสายพันธุ์อื่นๆ ยังคงที่ (Table 1)

เปอร์เซ็นต์ความงอก

การเพาะเมล็ดถั่วเขียวฝั้วคำพันธุ์ M1 และ CPI79563 ที่มีความเข้มข้นโบรอนในเมล็ดต่ำ (4.4 และ 4.7 mg B kg⁻¹ ตามลำดับ) ไม่ว่าจะใน B0 หรือ B10 เปอร์เซ็นต์ความงอกจะถูกจำกัด แต่จะสามารถ

งอกได้ปกติเมื่อใช้เมล็ดมีโบรอนในเมล็ดไม่น้อยกว่า $13.5 \text{ mg B kg}^{-1}$ สำหรับพันธุ์ M1 และ $18.6 \text{ mg B kg}^{-1}$ สำหรับสายพันธุ์ CPI79563 ในขณะที่เมล็ดของถั่วเขียวพันธุ์อื่นๆ แม้จะมีโบรอนในเมล็ดต่ำ ($3.9\text{--}7.7 \text{ mg B kg}^{-1}$) ก็สามารถงอกได้ปกติได้ปกติ การเพาะเมล็ดใน B10 ทำให้เปอร์เซ็นต์ความงอกโดยเฉลี่ยจากทุกสายพันธุ์สูงกว่าการเพาะเมล็ดใน B0 2.5% (Table 3)

เปอร์เซ็นต์ต้นอ่อนผิดปกติ

เมื่อเพาะเมล็ดใน B0 ความเข้มข้นของโบรอนในเมล็ดกับเปอร์เซ็นต์ต้นอ่อนผิดปกติของถั่วเขียวทั้ง 6 พันธุ์ มีปฏิสัมพันธ์ทางลบร่วมกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$) มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) -0.857 เมื่อโบรอนในเมล็ดต่ำทำให้จำนวนต้นอ่อนผิดปกติเพิ่มขึ้น และด้วยวิธีการของ Cate and Nelson (1971) ทำให้ทราบว่าค่าวิกฤติของความเข้มข้นโบรอนในเมล็ดเท่ากับ 10 mg B kg^{-1} หากเมล็ดมีความเข้มข้นโบรอนต่ำกว่านี้จะทำให้เกิดต้นอ่อนผิดปกติมากกว่า 50 % เมล็ดถั่วเขียวผิวดำพันธุ์ M1 ที่มีโบรอนในเมล็ด 4.4 mg B kg^{-1} ทำให้เกิดต้นอ่อนผิดปกติ 54 % ขณะที่เมล็ดพันธุ์ Regur และ CPI79563 ที่มีโบรอนในเมล็ด 4.8 และ 4.7 mg B kg^{-1} ทำให้เกิดต้นอ่อนผิดปกติถึง 100 และ 94.1 % ตามลำดับ ส่วนเมล็ดถั่วเขียวผิวมันสายพันธุ์ VC2755 ที่มีโบรอนในเมล็ด 6.2 mg B kg^{-1} ทำให้เกิดต้นอ่อนผิดปกติ 66.2 % ในขณะที่พันธุ์ กำแพงแสน 1 และ VC1163 ที่มีโบรอน 3.9 และ 7.7 mg B kg^{-1} ทำให้เกิดต้นอ่อนผิดปกติ 92.5 และ 81.1 % ตามลำดับ

เมื่อเพาะเมล็ดใน B10 ความเข้มข้นของโบรอนในเมล็ดกับเปอร์เซ็นต์ต้นอ่อนผิดปกติไม่มีความสัมพันธ์กัน ($r = -0.485$) จำนวนต้นอ่อนผิดปกติของถั่วเขียวที่มีโบรอนในเมล็ดต่ำลดลงจนเกือบหมดไปแต่ในถั่วเขียวผิวดำสายพันธุ์ CPI79563 และ ถั่วเขียวผิวมันสายพันธุ์ VC2755 ยังพบต้นอ่อนผิดปกติอยู่ 19.4 และ 22.5 % ตามลำดับ

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

ดังที่มีรายงานว่าถั่วเขียวมีความแตกต่างระหว่างพันธุ์ในการทนทานต่อการขาดโบรอนในดิน (Rerkasem, 1990; อรุณย์ 2545) ซึ่งนำเสนอว่า ถั่วเขียวบางพันธุ์อาจมีการเจริญเติบโตและสร้างผลผลิตเมล็ดได้ดี ในดินที่บางพันธุ์มีการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตต่ำเนื่องจากขาดโบรอน การศึกษานี้ได้พบว่าพันธุ์ถั่วเขียวมีความแตกต่างกันในการตอบสนองต่อโบรอนในด้านคุณภาพเมล็ดด้วย

ความเข้มข้นของโบรอนในเมล็ดขึ้นอยู่กับพันธุ์และโบรอนในดินที่ใช้ผลิตเมล็ดนั้น การผลิตเมล็ดในสภาพที่ให้โบรอนสูงก็จะทำให้โบรอนในเมล็ดสูงตามไปด้วย แต่สำหรับสายพันธุ์ CPI79563 การผลิตเมล็ดในสภาพที่โบรอนต่ำมากๆ กลับทำให้โบรอนในเมล็ดสูงผิดปกติ (Table 2) ซึ่งอาจเป็นผลมาจาก Piper-Steenbjerg effect (Marschner, 1995) เพราะในสภาพที่ไม่ให้โบรอน สายพันธุ์ CPI79563 แทบไม่ให้ผลผลิตเลย (Table 1) แต่เมื่อผลิตเมล็ดในสภาพที่โบรอนไม่ต่ำจนเกินไป (B0.5) พันธุ์ M1 มีความสามารถในการดึงโบรอนไปสะสมในเมล็ดได้สูงที่สุด

โบรอนในเมล็ดมีผลต่อคุณภาพเมล็ดทั้งต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกและ การเจริญของต้นอ่อน เมื่อพิจารณาคุณภาพเมล็ดพันธุ์ในแง่เปอร์เซ็นต์ความงอกแล้ว ความงอกของพันธุ์ M1 และ CPI79563 อ่อนไหวต่อโบรอนในเมล็ดมากกว่าพันธุ์อื่นๆ ดังจะเห็นว่าเมื่อโบรอนในเมล็ดต่ำทำให้ทั้งสองพันธุ์มีเปอร์เซ็นต์ความงอกลดลง ในขณะที่ความงอกของพันธุ์อื่นๆ ไม่ได้รับผลกระทบแม้จะมีโบรอนในเมล็ดต่ำพอๆ กัน (Table 3) การให้โบรอนจากภายนอกสามารถชดเชยความต้องการโบรอนในการงอกได้โดยเปอร์เซ็นต์ความงอกจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพาะเมล็ดในสภาพที่ให้โบรอน

ต้นอ่อนต้องการ โบรอนในเมล็ดเพื่อการเจริญ การขาดโบรอนในระยะต้นอ่อนแสดงออกโดยการเกิดต้นอ่อนผิดปกติค่าวิกฤติของโบรอนในเมล็ดต่อการเจริญของต้นอ่อนเท่ากับ 10 mg B kg^{-1} แต่ถั่วเขียวต่างพันธุ์ที่มีโบรอนในเมล็ดต่ำพอๆ กันแต่กลับมีเปอร์เซ็นต์ต้นอ่อนผิดปกติต่างกัน โดยพันธุ์ M1 ที่มีโบรอนในเมล็ดต่ำ (4.4 mg B kg^{-1}) แต่กลับมีเปอร์เซ็นต์ต้นผิดปกติน้อยกว่า พันธุ์ Regur, CPI79563 และ กำแพงแสน 1 ที่มีโบรอนในเมล็ดต่ำพอๆ กัน ($3.9\text{-}4.8 \text{ mg B kg}^{-1}$) (Figure 1) แสดงให้เห็นว่าการเจริญของต้นอ่อนของถั่วเขียวสามพันธุ์นี้อ่อนไหวต่อระดับโบรอนในเมล็ดมากกว่าพันธุ์ M1 การให้โบรอนจากภายนอก (ปลูกในสภาพโบรอนสูง) ก็สามารถชดเชยความต้องการโบรอนในเมล็ดได้โดยต้นอ่อนผิดปกติลดลงจนแทบจะหมดไปปลูกในสภาพที่ให้โบรอน (Figure 2)

จากการทดลองนี้จะเห็นว่าความแตกต่างระหว่างพันธุ์ในด้านการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตอาจไม่สอดคล้องกับด้านของคุณภาพเมล็ดดังจะเห็นจากถั่วเขียวผิวดำพันธุ์ M1 ซึ่งจัดเป็นพันธุ์ทนทานสามารถเจริญเติบโตและให้ผลผลิตได้ดีในสภาพโบรอนต่ำแต่กลับมีคุณภาพเมล็ดในด้านความงอกต่ำกว่าพันธุ์อื่นที่มีโบรอนในเมล็ดต่ำพอๆ กัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยที่ให้ทุนวิจัย และขอขอบคุณ คุณสิทธิชัย ลอดแก้ว ที่ช่วยเหลือให้ความสะดวกในการวิเคราะห์ตัวอย่างพืช

เอกสารอ้างอิง

- เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม. 2537. โบรอนในการผลิตถั่วในภาคเหนือ วารสารดินและปุ๋ย. 16 :130 – 154
 เพิ่มพูน กิริติกสิกร. ผลงานวิจัยธาตุอาหารเสริมสำหรับพืชตระกูลถั่วที่เป็นอาหารในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ วารสารดินและปุ๋ย. 16 : 155-167
- Bell, R.W., McLay, L., Plaskett, D., Dell, B., and Lonerragan, J.F. 1989. Germination and vigor of black gram (*Vigna mungo* (L.) Hepper) seed from plant grown with and without boron. Aus. J. Agric. Res. 40, 237-279.
- Cate, R.B. and Nelson, L.A. 1971. A simple statistical procedure for partitioning soil test correlation data in two classes. Soil Sci. Soc. Ame. Proc., 35: 658-660
- Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plant. 2nd ed. Academic Press. London. pp. 899.
- Predisripipat, S. 1988. Response to boron applications in *Vigna*. Master thesis, Chiangmai University.
- Rerkasem, B. 1990. Comparison of green gram(*Vigna radiata*) and black gram (*Vigna mungo*) in boron deficiency. In Proceedings of Mung bean Meeting 90. Eds. C.Thavarasook, P. Srinives, N. Bookerd, H. Imai, A. Pookpakdi, P. Laosuwan and U. Pupipat. pp. 167-174. Bangkok Office of Tropical Agricultural Research Center , Japan.

Table 1 Effect of solution B on seed yield of six mungbeans genotypes.

genotypes	Solution B				mean
	B0	B0.5	B3	B5	
Black gram					
M1	15.7 ± 2.0	17.4 ± 2.1	7.7 ± 0.6	9.1 ± 2.6	71.8
Regur	2.2 ± 2.1	14.1 ± 3.3	24.0 ± 8.0	22.0 ± 2.6	64.9
CPI79563	0.1 (0.1)	18.4 ± 3.1	41.5 ± 7.1	47.8 ± 4.2	56.4
Green gram					
KPS1	18.7 ± 1.4	19.6 ± 2.1	21.0 ± 3.6	7.0 ± 1	79.0
VC2755	16.8 ± 1.8	22.2 ± 2.3	27.4 ± 11.2	13.3 ± 3	72.8
VC1163	5.5 ± 0.9	14.3 ± 5.9	10.8 ± 2.4	13.2 ± 3.1	75.0
mean	47.1	78.7	84.5	69.6	70.0

Significant differences in the same low are designated by different lower case letter and in the same column by different upper case letters. B = Boron level, G = genotype, BxG = interaction between B and G: * significant at $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Table 2 Effect of solution B on seed B concentration (mg B kg⁻¹) of six mungbeans genotypes

Genotypes	Solution B			
	B0	B0.5	B3	B5
Black gram				
M1	6.2 a AB	13.8 b C	18.0 c A	17.4 c A
Regur	4.9 a AB	9.4 b B	17.6 c A	17.1 c A
CPI79563	24.3 c C	4.6 a A	18.1 b A	18.5 b AB
Green gram				
KPS1	4.3 a A	11.0 b B	17.7 c A	20.7 d BC
VC2755	5.3 a AB	11.0 b B	22.0 c B	22.4 c C
VC1163	6.9 a B	11.1 b B	17.2 c A	18.2 c A
F test	B**	G**	GxB**	
LSD _{0.05}	0.96	1.17	2.34	

Significant differences in the same low are designated by different lower case letter and in the same column by different upper case letters. B = Boron level, G = genotype, BxG = interaction between B and G, SB = source of seed : * significant at $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

Table 3 Effect of Seed B concentration on % germination of six mungbeans genotypes in two levels of B application

Treatment	Genotype	Seed B Mg B kg ⁻¹	% Germination		Mean
			Solution B levels		
			B0	B10	
1	M1	4.4	70.0	90.0	80.0 A
2	M1	13.5	100.0	100.0	100.0 B
3	M1	17.7	95.0	97.5	96.3 B
4	M1	18.0	94.9	97.5	96.2 B
5	Regur	4.8	90.0	97.5	93.8 B
6	Regur	8.6	100.0	97.5	98.8 B
7	Regur	17.3	100.0	100.0	100.0 B
8	Regur	17.2	100.0	95.0	97.5 B
9	CPI79563	4.7	77.5	90.0	83.8 A
10	CPI79563	18.6	100.0	100.0	100.0 B
11	CPI79563	18.7	92.5	100.0	96.3 B
12	KPS1	3.9	95.0	92.5	93.8 B
13	KPS1	11.4	100.0	100.0	100.0 B
14	KPS1	19.8	97.5	100.0	98.8 B
15	KPS1	21.2	100.0	100.0	100.0 B
16	VC2755	6.2	97.5	100.0	98.8 B
17	VC2755	11.4	92.5	100.0	96.3 B
18	VC2755	22.0	97.5	100.0	98.8 B
19	VC2755	22.4	100.0	100.0	100.0 B
20	VC1163	7.7	95.0	100.0	97.5 B
21	VC1163	12.2	97.5	97.5	97.5 B
22	VC1163	16.7	97.5	97.5	97.5 B
23	VC1163	16.9	97.5	92.5	95.0 B
24		mean	95.1 a	97.6 b	
F test	Trt**	B*	TrtxB ^{NS}		
LSD	6.5	1.9			

Significant differences in the same low are designated by different lower case letter and in the same column by different upper case letters. Trt = treatment combination between genotype and seed B, B = solution B, TrtxB = interaction between treatment combination and solution B

Arbuscular mycorrhizal fungi from the rhizosphere of a fallow enriching tree, *Macaranga denticulata* Muell. Arg., and their effect on the host plant

Somchit Youpensuk^{1*}, Benjavan Rerkasem², Bernie Dell³ and Saisamorn Lumyong¹

¹*Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand*

²*Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand*

³*School of Biological Sciences and Biotechnology, Murdoch University, Perth 6150, Australia.*

*Corresponding author

Department of Biology,

Faculty of Science,

Chiang Mai University,

Chiang Mai 50200

Thailand

Phone 66 09 6349043

Fax 66 53 892259.

Email: scboi027@chiangmai.ac.th

Abstract

A fallow enriching tree, *Macaranga denticulata* Muell. Arg., has been shown to increase rice yield in a rotational shifting cultivation system in northern Thailand through increased accumulation of mineral nutrients. As arbuscular mycorrhizal (AM) fungi may play an important role in nutrient accumulation, AM fungi in the rhizosphere of *M. denticulata* and the effects of the indigenous soil inoculum on the host plant were investigated. The diversity and abundance of AM fungi were documented for the rhizosphere of *M. denticulata* in the field for two years. Based on morphology, 29 species of AM fungi were found in the rhizosphere of *M. denticulata* growing in farmers' fields. Root colonization ranged from 63.5 to 81.5% in the first year and 68.7 to 79.9% in the second year of study. The highest spore density was observed at the end of the wet season. The effects of indigenous soil inoculum, and N and P fertilizers on the host plant were investigated in pots for four months. Inoculation with soil-containing AM fungi strongly increased plant growth and nutrient contents when P was limiting but N was applied. Application of N and P together strongly depressed root colonization and spore density of AM fungi, whereas applying them separately had much less effect. AM fungi may play an important role in nutrient accumulation in *M. denticulata*-rich fallow and thus in nutrient cycling that is beneficial to the maintenance of upland rice yield and sustainability of the rotational shifting cultivation system.

Key words: Arbuscular mycorrhizal fungi, fertilizer, *Macaranga denticulata* rotation, shifting cultivation, Thailand, upland rice

Introduction

Shifting cultivation is a form of land use that can be productive and sustainable if the fallow vegetation has an opportunity to grow and accumulate sufficient amount of nutrients between the cropping phases (Zinke et al., 1978). *Macaranga denticulata* Muell. Arg. (*Euphorbiaceae*) is a small to medium-sized, evergreen tree and is a common pioneer species in moist open areas and secondary forests (Kerby et al., 2000). In the mountains of Northern Thailand, *M. denticulata* is used as a fallow enriching species (Rerkasem et al., 2002). Rice is grown after a mature fallow, in the seventh year, has been slashed and burned. Rice is cultivated for one crop season and then the forest is allowed to regenerate for seven years before the next cropping. Karen farmers in the village of Haui Tee Cha, Sob Moei District of Mae Hong Son Province have been reported to manage this fallow-enriching species successfully and achieved much higher upland rice yield with dense stands of *M. denticulata* compared with fallow plots in which the trees had been poorly established (Yimyam et al., in press). The effect of *M. denticulata* was shown to be associated with the species ability to accumulate nutrients, especially P, K, Ca and Mg compared with other species of the natural fallow vegetation.

In recent years, there is increasing evidence that microbial communities of soils and plants have an important role in the development of sustainable agriculture (Duponnois et al., 2001). Arbuscular mycorrhizal associations are of widespread occurrence and represent the natural status of most plant species growing in a normal soil (Siqueira et al., 1998). AM fungi are known to improve the nutritional status of plants (e.g. N, P, K, Ca, Mg, Mn, Cu and Zn) resulting in increased growth (Marschner and Dell,

1994; Taylor and Harrier, 2001), to protect plants against root pathogens, to confer resistance to drought and salinity conditions (Bagyaraj and Varma, 1995), and to increase the formation of soil aggregates (Douds and Millner, 1999).

This study has two aims. Firstly we set out to examine AM fungi associated with *M. denticulata* in a highland rotational shifting cultivation system where the tree is in use as a fallow enriching species. Secondly, we evaluated the effect of the indigenous soil inoculum on growth and nutrient accumulation of the host plant as a potential option for other rotational shifting cultivation farmers.

Materials and methods

The study site

The village of Haui Tee Cha, Sob Moei District, Mae Hong Son Province is located at 19° 78' N, 93° 84' E, altitude 800 m. This village was established more than 200 years ago. Good forest cover dominates the village landscape. *M. denticulata* is a local fallow-enriching species in this village (Rerkasem et al., 2002). The soil at the study site is an acidic (pH 4.83–4.93, 1:5 soil: distilled water) clay loam containing sand at 33.7%, silt 40.2% and clay 26.1%. The soil contained 0.21–0.29% total nitrogen (Kjeldahl method), 3.00–4.29 mg kg⁻¹ available P (Bray II method), 156–196 mg kg⁻¹ extractable K (1 N NH₄OAc, pH 7) and 3.43–3.84% organic matter (Walkley-Black method). The climate of the study site is tropical monsoonal. Mean seasonal rainfall and maximum-minimum temperatures for the two sample years (Year one: June 2000–May 2001; Year two: June 2001–May 2002) are given in Table 1.

Soil and root sampling

In first year, soil and fine root samples (0-20 cm depth) under *M. denticulata* were collected from four locations each in dense (4200) and sparse (1000 plants ha⁻¹) stands of *M. denticulata* in their first year of regeneration from seed. Samples were collected at the end of the wet (October 2000), cool (February 2001) and hot (May 2001) seasons. In the second year, comparable soil and root samples were collected seasonally (October 2001 to May 2002) from four locations each in stands of *M. denticulata* aged five months, three and six years.

Evaluation of root colonization

Roots of *M. denticulate* were washed over a 2 mm sieve under running water. The root samples were cut into pieces 1-2 cm in length, cleared in 10% KOH at 121 °C for 15 minutes and rinsed with water on a 90 µm sieve. Cleared roots were stained with 0.05% trypan blue in lactoglycerol at 121 °C for 15 minutes (Brundrett et al., 1996). Thirty pieces of fine roots were taken at random from each sample and mounted on microscopic slides to assess root colonization (McGonigle et al., 1990).

Determination of AM spores

AM spores were separated from 2 × 25 g of each soil sample in the rhizosphere of *M. denticulata* by wet sieving through 750, 250, 90, and 53 µm mesh sieves. The fractions

from the 250, 90 and 53 μm sieves were processed separately. Each was centrifuged for five minutes at 2000 rpm to remove floating debris. The pellet was resuspended in 50% sucrose with vigorous shaking. The samples were centrifuged for one minute at 2000 rpm to separate spores from dense soil compartments. After centrifugation, spores in the supernatant were poured over the finest sieve and washed with water to remove the sucrose before vacuum filtration on filter paper with gridlines. Spores on filter paper were kept in Petri dishes. Spores were counted under a stereomicroscope. Different types of spores were selected to observe under a compound microscope. Identification of AM fungi was according to morphological characteristics of published AM spore descriptions (e.g. Schenck and Perez, 1988; INVAM webpages).

In the first year of study, soil and root samples from the rhizosphere of some other trees (e.g. *Cratoxylum formosum* Dyer, *Dipterocarpus obtusifolius* Teijsm, *Gluta usitata* Hou, *Lithocarpus elegansi* Hatus ex Soepadmo and *Xylia xylacarpa* Taub.) in the same area of study were also collected to evaluate spore density.

Preliminary experiment for the effect of indigenous soil inoculum on the host plant

To assess the potential of soil inoculum to improve the growth of *M. denticulata*, a pot trial was undertaken consisting of three treatments (soil inoculum from the rhizosphere at the village of Haui Tee Cha collected when?, soil pasteurized with steam for four hours, non-inoculated) each with three replicate pots. The soil inoculum contained blab la spores per g soil. The pot soil was an upland soil from Chiang Mai in which no *M. denticulata* was growing and was steamed for four hours. It had a pH of 5.9 (in water) and sandy loam texture (sand 57.5%, silt 24.0% and clay 18.5%). The soil contained 0.09% total N

(Kjedahl method), 4.10 mg kg^{-1} available P (Bray II method), 53 mg kg^{-1} extractable K ($1 \text{ N NH}_4\text{OAc}$, pH 7) and 1.87% organic matter (Walkley-Black method). Seeds of *M. denticulata* from the village of Haui Tee Cha were surface sterilized in 1.2% sodium hypochloride for five minutes, washed with sterile water twice and sown in a seedling tray containing the pasteurized soil. After one month (2 cm tall, with three leaves), one seedling was transplanted into each pot. The pots (20 cm top diameter, 12 cm bottom diameter and 18 cm depth containing 4 kg air dry soil) were placed in the open at Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand. Thirty grams of soil inoculum was applied to the bottom of the planting hole before transplanting. Two weeks after transplanting, nitrogen fertilizer (urea) at 50 mg N kg^{-1} soil was split applied in three equal weekly doses to every pot for three weeks and, similarly, potassium chloride at 50 mg K kg^{-1} soil in five equal weekly doses. The experiment was harvested three months after transplanting. Prior to harvest, shoot height was recorded for each plant. Shoots were separated from roots at the soil surface and dried at 70°C for three days to constant weight. Roots were sampled by coring (3 cm diameter) twice in each pot from the soil surface to the bottom of the pot, mid-way between the stem and the pot wall. Roots in one of the soil cores were washed and dried at 70°C for three days to calculate root dry weight. Soil from the second soil core was assessed for spore density and AM fungal colonization of roots.

Pot experiment for the effect of indigenous soil inoculum and fertilizer on the host plant

The experiment was a full factorial with soil inoculation (soil inoculum from rhizosphere of *M. denticulata* from a shifting cultivation plot at the village of Haui Tee Cha, and non-inoculation), two levels of N (urea at 0 and 50 mg N kg^{-1} soil), and two levels of P

(superphosphate at 0 and 50 mg P kg⁻¹ soil) with four replications. Give source of inoculum – was it same as in first experiment and give The soil inoculum contained *blab la* spores per g soil The same soil as in the preliminary study was used, but was acidified with Al₃(SO₄)₂.18H₂O at the rate of 1 g kg⁻¹ soil before steam pasteurization. After pasteurization, the soil pH was 4.9 (1:5 in water), thus similar to the field soil in Huai Tee Cha. Three month-old seedlings (4-5 cm tall, with 4 leaves) of *M. denticulate*, that were prepared in the same way as in the preliminary experiment, were transplanted into well drained clay pots (30 cm top diameter, 23 cm bottom diameter and 27 cm depth) containing 17 kg pasteurized soil with 50 g of indigenous soil inoculum in the bottom of the planting hole (inoculated treatment). The N and P treatments were applied weekly in five weekly doses, beginning two weeks from transplanting. Each pot received a basal treatment of potassium chloride at the rate of 50 mg K kg⁻¹ in ten equal weekly doses. The pots were placed in a greenhouse at Chiang Mai University. At four months, plant height was measured in all pots and the experiment was harvested with shoot and root samples treated in the same way as in the preliminary experiment. An exception was that there were four soil cores instead of two, from which two were used to estimate root dry weight and two for determination of root colonization and spore density. After drying, shoots were ground and analyzed for N (Kjeldahl method), P (Bray II method) and K (1 N NH₄OAc, pH 7). These methods can not be right. Presumably they were wet or dry ashed and analysed colourimetrically or flame or ICP or? Ask Sittichai and give a reference if needed.

Statistical analysis

Statistical tests were performed with SPSS software version 10.0. The data were analyzed by analysis of variance (ANOVA) to test the effect of the factors or treatments. Duncan's Multiple Range Test ($P < 0.05$) was used to compare means. Was any transformation of the data required?

Results and discussion

AM fungi from the rhizosphere of M. denticulata at the village of Haui Tee Cha in Northern Thailand

AM colonization of *M. denticulata* fine roots or spore density of the fungi in the rhizosphere of young *M. denticulata* plants did not differ with host stand density. However, root colonization and spore density of AM fungi varied greatly with the season ($P < 0.001$), with the highest root colonization and spore density at the end of the wet season and the lowest at the end of the hot season (Figure 1). The density of AM spores in the rhizosphere was higher in *M. denticulata* than in other tree species in the same area (Table 2). In the second year of study, percent root colonization was slightly less at the end of the wet season in five month-old trees, but the difference disappeared in older trees (Figure 2a). Age of *M. denticulata* did not significantly affect spore density of AM fungi. This is similar to observations by Jayapattne check spelling as different from the references and Waidyanatha (1982) on rubber (*Hevea*). Spore densities at the end of the wet season were about twice as high as at the end of the cool or hot seasons (Figure 2b). Soil moisture and temperature in the wet season may be more suitable for spore production of AM fungi in the rhizosphere of *M. denticulata*. Schenck and Smith (1982) determined the efficacy of

AM fungi at soil temperature ranging from 18 to 41 °C and found that maximum colonization, sporulation and growth enhancement in soybean was at 30 °C.

Root colonization of young *M. denticulata* plants in the first year of the study was only slightly different from the young plants in the second year of the study. Means of root colonization in the first year were 81.5, 74.6 and 63.5%, and those in the second year were 79.9, 76.2 and 68.7% at the end of the wet, cool and hot seasons, respectively. Results from both years showed a similar trend in decreasing from the wet to the hot seasons.

Twenty-nine species of AM fungi were recorded from the rhizosphere of *M. denticulata*. Based on morphology, they were placed in six genera: *Acaulospora*, *Archaeospora*, *Gigaspora*, *Glomus*, *Paraglomus* and *Scutellospora* (Table 3). *Acaulospora elegans* Trappe & Gerdemann and *Glomus multicaule* Gerdemann & Bakshi were the most frequent species, occurring in most samples. The diversity of AM fungi associated with *M. denticulata* in the area of study was high compared with some other trees elsewhere. For example, 11 AM fungi were found in the rhizosphere of rubber (*Hevea*), Sri Lanka (Jayaratne and Waidyanatha, 1982); 14 AM fungi in bamboo forest, Taiwan (Wu and Chen, 1986); and 28 AM fungi in a *Eucalyptus* plantation, South China (Chen et al., 1998).

Effect of soil inoculation on the host plant

In the preliminary experiment, inoculation with fresh soil markedly ($P < 0.01$) increased height and dry weight of *M. denticulata*, root colonization and spore density of AM fungi. Pasteurized soil and non-inoculation treatments were similar and stunted (Table 4).

Because of the confirmed soil microbial response, the main experiment was undertaken without a pasteurized soil control.

In the main pot experiment, there were interactions between the effect of soil inoculation, and N and P fertilization on plant height, shoot and root dry weights. The largest response to inoculation occurred when N was applied without P. Without AM inoculation, N and P fertilizer application, plant height and dry weight of *M. denticulata* were clearly depressed by N and P deficiency (Table 5). Applying N or P alone did not increase plant growth, nor did application of the soil inoculum in the absence of the fertilizers. Plant height and dry weight were increased significantly with N application, in combination with either P fertilizer or AM inoculation. The effect of AM inoculation was very small when the N and P fertilizers were applied together.

Shoot N, P and K contents of the host plant were significantly affected by soil inoculation, and N and P applications (Table 6). Soil inoculum increased the nutrient content of all treatments. In uninoculated treatments, the N contents of the host plants were depressed to a similar extent in all treatments except where both N and P were applied. Further, the shoot P contents were very low in uninoculated plants not supplied with P fertilizer. By contrast, in inoculated soil treatments, applying only N fertilizer significantly increased shoot N, P and K contents. Thus, though the soil was deficient in both P and N for growth of nonmycorrhizal plants, it appears that the AM fungi were more efficient in accessing and supplying P from soil reserves than N to the host plant.

Root colonization and spore density were significantly affected by soil inoculation, and N and P fertilizer ($P < 0.05$). The highest root colonization and spore density occurred in plants without N and P (Figure 3). Application of both N and P reduced root colonization and spore density but not when they were applied separately. Many workers have shown that application of high rates of P can suppress root colonization by AM

fungi (e.g. Kucey and Paul, 1983; Khaliq and Sanders, 2000 and Valentine et al., 2001). However, N additions have been reported to both stimulate and suppress root colonization (Sylvia and Neal, 1990). Further, Chamber check correct spelling et al. (1980) reported that both NH_4^+ and NO_3^- depressed AM colonization of *Trifolium subterraneum* roots.

Relevance of findings for hill farmers

In the shifting cultivation area at the village of Haui Tee Cha in Northern Thailand, Yimyam et al. (in press) reported that, at the end of seven years of fallow regeneration, above ground biomass of dense stands of *M. denticulata* was about 22.2 t ha^{-1} and sparse stands of *M. denticulata* was about 9.4 t ha^{-1} . The grain yield of upland rice in plots after dense stands of *M. denticulata* was about three times higher than in plots after sparse stands of *M. denticulata*. They reported that the amount of N, P and K taken up by the rice crop much smaller fraction of the nutrients accumulated above ground in seven-year old-fallow in the sparse than in the dense stands of *M. denticulata*. Unclear Although much of the above-ground N in the fallow would have been lost with burning by Karen farmers, most of the P, K and some other nutrients could be assumed to remain in the ash. In this study, we found that root colonization and spore density of AM fungi in the rhizosphere of *M. denticulata* in dense and sparse stands of *M. denticulata* were not significantly different. However, regardless of stand density, the AM fungi in the rhizosphere of *M. denticulata* could improve growth and nutrient contents of the host plant. Therefore, dense stands of *M. denticulata* would accumulate more biomass and nutrient content per area than sparse stands of *M. denticulata*. The pot trial suggests that, even though *M.*

denticulata is a colonizer species, it is highly dependent on AM fungi for rapid growth on soils that are low in available P.

This study has shown that *M. denticulate*, in the shifting cultivation area of the village of Haui Tee Cha in Northern Thailand, had a high diversity and extensive root colonization of AM fungi. Further, the AM fungi in soil inoculum improved the growth and nutrient accumulation of *M. denticulata*. Since AM fungi may have a broad host range, some of the species that were associated with *M. denticulata* are likely to form effective associations with upland rice. Work is continuing to determine the contribution of these fungi to the sustainability of nutrient cycling in rotational shifting cultivation in the region.

Acknowledgements

The authors acknowledge financial support from Thailand Research Fund for part of this research and Chiang Mai University Graduate school for partial support to the first author's Ph.D. study. We thank Dr. Kanok Rerkasem for the use of facilities and field support at the United Nations University's Programme on People, Land Management and Environmental Change (UNU-PLEC) site at Haui Tee Cha village and Narit Yimyam for helping collect the samples. Thanks to the Multiple Cropping Centre, Sithichai Lordkaew, for soil and plant analysis and the Northern Meteorological Center for climatological data.

References

- Bagyaraj DJ and Varma A (1995) Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and plants: their importance in sustainable agriculture in arid and semiarid tropics. *Adv Microbiol Ecol* 14: 119-142
- Brundrett M, Bougher N, Dell B, Grove T and Malajczuk N (1996) Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. ACIAR Monograph, Canberra, Australia, 374 pp
- Chamber CS, Smith SE and Smith FA (1980) Effects of ammonium and nitrate ions on mycorrhizal infection, nodulation and growth of *Trifolium subterraneum*. *New Phytol* 85: 47-62
- Chen Y, Gong M, Wang F, Chen Y, Zhang M, Dell B and Malajczuk N (1998) Diversity of putative ectomycorrhizal fungi and arbuscular mycorrhizal fungi in *Eucalyptus* plantations in southern China. In: Gong M, Xu D, Chonglu Z, Chen Y, Dell B and Brundrett M (eds) *Mycorrhizal Fungi Biodiversity and Applications of Inoculation Technology*, pp 21-28. Proceedings of the Guangzhou ACIAR international workshop, Beijing, China
- Duponnois R, Plenchette C, Thioulouse J and Cadet P (2001) The mycorrhizal soil infectivity and arbuscular mycorrhizal fungal spore communities in soils of different aged fallows in Senegal. *Appl Soil Ecol* 17: 239-251
- Douds DD, and Millner PD (1999) Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems. *Agric Ecosyst Environ* 74: 119-142
- Jayarajne AHR and waideyanatha UPS (1982) Endomycorrhizas of rubber growing soils of Sri Lanka and their effect on water uptake. In: *Proceeding of Training Course on Mycorrhizal Research Techniques*, pp 328-359. Serdang, Malaysia
- Kerby J, Elliot S, Maxwell JF, Blakesley D Anusarnsunthorn V (2000) Tree Seeds and

- Seedlings for Restoring Forests in Northern Thailand. Biology Department,
Science Faculty, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand, 151 pp
- Khaliq A and Sanders FE (2000) Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizal inoculation
on the yield and phosphorus uptake of field-grown barley. *Soil Biol Biochem* 32:
1691-1696
- Kucey RMN and Paul EA (1983) Vesicular arbuscular mycorrhizal spore populations
in various Saskatchewan soils and the effect of inoculation with *Glomus mosseae*
on faba bean growth in greenhouse and field trials. *Can J Soil Sci* 63: 87-95
- Marschner, H and Dell, B (1994) Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant Soil*
159: 89-102
- McGonigle TP, Miller MH, Evans DG, Fairchild GL and Swan JA (1990) A new method
which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-
arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol* 115: 495-501
- Rerkasem K, Yimyam N, Kosamphan C, Thong-Ngam C and Rerkasem B (2002)
Agrodiversity lessons in mountain land management. *Mt Res Dev* 22: 4-9
- Schenck NC and Perez Y (1988) Manual for identification of VA mycorrhizal fungi 2nd
ed. INVAM Gainesville, Florida, USA, 241 pp
- Schenck NC and Smith GS (1982) Response of six species of vesicular-arbuscular
mycorrhizal fungi and their effects on soybean at four soil temperatures. *New*
Phytol 92: 193-201
- Siqueira JO, Carneiro MAC, Curi N, Rosado SCS and Davide C (1998) Mycorrhizal
colonization and mycotrophic growth of native woody species as related to
successional groups in Southeastern Brazil. *For Ecol Manage* 107: 241-252
- Sylvia DM and Neal LH (1990) Nitrogen affects the phosphorus response of VA
mycorrhiza. *New Phytol* 115: 303-310

- Taylor J and Harrier LA (2001) A comparison of development and mineral nutrition of micropropagated *Fragaria* x *ananassa* cv. Elvira (strawberry) when colonised by nine species of arbuscular mycorrhizal fungi. *Appl Soil Ecol* 18: 205-215
- Valentine AJ, Osborne BA and Mitchell DT (2001) Interaction between phosphorus supply and total nutrient availability on mycorrhizal colonization, growth and photosynthesis of cucumber. *Sci Hort* 88: 177-189
- Wu CG and Chen ZC (1986) The endogonaceae of Taiwan I, a preliminary investigation on *Endogonaceae* of bamboo vegetation at Chi-Tou areas, central Taiwan. *Taiwania* 31: 65-88
- Yimyan N, Rerkasem K and Rerkasem B Fallow enrichment with pada (*Macaranga denticulata* (Bl.) Muell. Arg.) trees in rotational shifting cultivation in Northern Thailand. *Agrofor Syst*. In press
- Zinke P, Sabhasri S and Kunstader P (1978) Soil fertility aspects of the Lua forest fallow system of shifting cultivation. In: Kunstader P, Chapman EC and Sabhasri S (eds) *Farmers in the Forest*, pp 134-159. University Press of Hawaii, Honolulu

Check spelling of all references

Figures not sent hence not seen

Table 1. Means of rainfall and maximum-minimum temperatures for the wet (June-October), cool (November-February) and hot seasons (March-May) in 2000 to 2002.

Seasons	Rainfall (mm)		Temperature (°C)	
	1 st year	2 nd year	1 st year	2 nd year
Wet	172.6	188.4	31.7-23.3	31.8-23.2
Cool	0.4	16.2	32.8-15.0	32.3-14.8
Hot	73.7	86.9	35.6-20.8	36.7-19.0

Data from Mae Sariang Station of the Northern Meteorological Center about 15 km from the study area

Table 2. Spore density of AM fungi associated with common tree species in the area of study at the end of the cool season.

Tree species	Family	Spore density (spores g ⁻¹ soil)
<i>Cratoxylum formosum</i> Dyer	<i>Hypericarpaceae</i>	2
<i>Dipterocarpus obtusifolius</i> Teijsm	<i>Dipterocarpaceae</i>	1
<i>Gluta usitata</i> (Wall.) Hou	<i>Anacardiaceae</i>	2
<i>Lithocarpus elegans</i> Hatus. Ex Soepadmo	<i>Fagaceae</i>	3
<i>Macaranga denticulata</i> Muell. Arg.	<i>Euphorbiaceae</i>	19
<i>Xylia xylocarpa</i> Taub.	<i>Leguminosae</i>	3

Table 3. AM fungi associated with *M. denticulata* in the area of study.

Genus	Number of species	Relative frequency of each genus found
<i>Acaulospora</i>	6	+++++
<i>Archaeospora</i>	1	+
<i>Gigaspora</i>	2	+++
<i>Glomus</i>	17	+++++
<i>Paraglomus</i>	1	+
<i>Scutellospora</i>	2	+++

+, rarely; + + +, moderately; and + + + + +, frequently found

Table 4. Effect of soil inoculation of the preliminary study on growth of *M. denticulata* and AM fungi.

Align the columns as a table

Treatment	Height (cm)	Plant dry wt (g)	AM colonization (%)	Spore density (spores g ⁻¹ soil)
Live soil inoculum	9.0 a	5.36 a	53.87 a	21.31 a
Pasteurized soil inoculum	4.2 b	0.12 b	1.59 b	0.45 b
Non-inoculated	3.2 b	0.12 b	2.78 b	0.3 b

Numbers in the same column followed by different letters are significantly different by Duncan's Multiple Range Test ($P < 0.05$).

Table 5. Effect of inoculation and fertilization on height, shoot and root dry weight of seven month-old *M. denticulata* seedlings.

Treatment	Height (cm)	Shoot dry weight (g)	Root dry weight (g)
M0N0P0	15.38d	3.93d	3.55c
M0N0P50	25.25cd	9.47cd	8.67c
M0N50P0	16.00d	5.37d	3.65c
M0N50P50	42.38b	26.96b	20.66b
M1N0P0	21.75cd	11.43cd	7.05c
M1N0P50	26.50c	16.52c	9.44c
M1N50P0	53.50a	46.26a	30.59a
M1N50P50	46.88ab	40.64a	27.57ab
Analysis of variance			
M	***	***	***
N	***	***	***
P	**	**	*
M x N	**	***	**
M x P	***	**	**
N x P	ns	ns	ns
M x N x P	**	**	*

M0, non-inoculated; M1, inoculated with soil containing AM fungi; N0, no added N; N50, 50 mg N kg⁻¹ soil; P0, no added P; P50, 50 mg P kg⁻¹ soil. Means in the same column followed by different letters are significantly different by Duncan's Multiple Range Test.

*, **, ***, significant at $P < 0.05$, 0.01, 0.001 respectively; ns, not significant.

Table 6. Effect of inoculation and fertilization on shoot N, P and K contents of seven month-old *M. denticulata* seedlings.

Treatment	Shoot content (mg plant ⁻¹)		
	N	P	K
M0N0P0	42.97e	6.87d	44.06d
M0N0P50	92.92de	19.60cd	110.46cd
M0N50P0	59.96e	8.86d	59.31d
M0N50P50	258.50b	35.90ab	244.66b
M1N0P0	114.33cd	18.84cd	107.22cd
M1N0P50	151.33c	31.98bc	161.00c
M1N50P0	375.47a	46.34ab	357.98a
M1N50P50	394.44a	49.65a	271.32b
Analysis of variance			
M	***	***	***
N	***	***	***
P	***	***	**
M x N	***	ns	**
M x P	**	ns	***
N x P	*	ns	ns
M x N x P	**	ns	*

M0, non-inoculated; M1, inoculated with soil containing AM fungi; N0, no added N; N50, 50 mg N kg⁻¹ soil; P0, no added P; P50, 50 mg P kg⁻¹ soil. Means in the same column followed by different letters are significantly different by Duncan's Multiple Range Test.

*, **, ***, significant at $P < 0.05$, 0.01, 0.001 respectively; ns, not significant.

Distribution and structure of protein and phytin bodies relating to mineral nutrient contents in seed of four rice genotypes

C. PROM-U-THAI¹, B. DELL², G. THOMSON², B. RERKASEM¹

¹Department of Agronomy Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand, ²School of Biological Sciences and Biotechnology, Murdoch University, Perth 6150, Australia

Received:

As the nutrient intake of many people is dependent on rice as their staple food, we investigated the histochemistry, ultrastructure and elemental composition of storage protein bodies in four rice genotypes, selected because of differences in their seed Fe content. Grain was harvested from paddy rice grown in a uniform environment in Chiang Mai, northern Thailand. In thin sections, endosperm cells of all genotypes had about a quarter of the number of protein bodies than cells in the embryo and aleurone layer. Protein bodies were spherical, rod-shaped or irregular in outline and diameters ranged from <1 to 4 μm . The relative distribution and density of protein bodies were similar for the four genotypes. Some of the protein bodies in the non-endospermic part of the seed contained crystalline inclusions. From their histochemistry and FEGTEM-EDX-analysis, showing enrichment in P, Mg, K, Mn, Fe, and Zn, it was concluded that the inclusions were phytin bodies. The phytin bodies ranged from <1 to 2 μm in diameter, and were round, oval or irregular in shape. Phytin bodies were more abundant in the embryo and aleurone layer of the high Fe (IR68144, CMU122) than the low Fe genotypes (KDML105, UBON2). Seed with more abundant phytin bodies also contained higher concentrations of Cu, Mn, Mg, K and P.

Keywords: *Oryza sativa*, rice, iron, tissue distribution, protein bodies, phytin

Abbreviation: FEGTEM-EDX?????

INTRODUCTION

Rice is the staple food of most people in Asia, providing organic and inorganic nutrients that are essential for the human diet. Protein bodies in rice are synthesized during seed development (Tanaka et al., 1973; Ogawa et al., 1975; Zakaria et al., 2000). At seed maturity, the cereal grain contains two main types of protein bodies, those with and those without crystalline inclusions. The distribution of protein bodies is generally not uniform across the whole grain. For example, protein bodies with crystalline inclusions are common in aleurone cells of rice (Harris and Juliano, 1977; Tanaka et al., 1980; Ogawa et al., 1987) and sorghum (Balz, 1966; Spichiger, 1969) but are usually absent from much of the endosperm of rice (Harris and Juliano, 1977; Bechtel and Pomeranz, 1978; Bechtel and Juliano, 1980). The crystalline inclusions are called phytin bodies by many researcher because they contain phytin, a salt of myo-inositol hexaphosphoric acid (Ashton and Williams, 1958; Ogawa et al., 1975). Phytin is usually associated with a wide range of minerals including Ca, Zn, Fe and Mg (Lolas and Markakis, 1975; Bassiri and Nahapetian, 1977). Most studies on protein and phytin bodies in rice have focussed on either the aleurone layer (Ogawa et al., 1975) or the endosperm (Harris and Juliano, 1977; Bechtel and Juliano, 1980; Tanaka et al., 1980). However, the embryo is an important source of protein and minerals for human nutrition and for the growth of rice seedlings. Furthermore, there is no comparative information on protein bodies across rice genotypes. Hence, this paper documents the type and distribution of storage protein bodies in seed from four rice genotypes which differ in their seed Fe content (Prom-u-thai and Rerkasem, 2001). As protein content may vary with environmental conditions during plant growth

(Prida and Mitra, 1989), the seeds used in this experiment were harvested from plants grown concurrently in one uniform field.

MATERIALS AND METHODS

Plant materials

Seed of rice (*Oryza sativa*); with high Fe (Table 1) content (IR68144, an improved genotype from IRRI in the Philippines; and CMU122, an upland Thai genotype) and low Fe content (KDML105, a popular Thai genotype; and Ubon2, a newly released Thai genotype) were harvested from paddy plants grown in the same season on a sandy loam (San Sai soil) at Chiang Mai University, Thailand (18° 48' N; 98° 59' E). Nitrogen concentration of brown rice, separated into embryo and endosperm segments, was determined colourimetrically after Kjeldahl digestion (Yoshida et al., 1976). Other elements were measured by ICP (VISTA Simultaneous ICP-AES Spectrometer, Varian) after microwave digestion (Huang et al., 2003) using nitric acid (Zarcinas et al, 1987).

Microscopy

For histochemistry, seeds were imbibed for 4-5 hours in distilled water, the embryo third removed with a teflon blade and fixed in 3% gluteraldehyde in 0.025 M phosphate buffer, pH 7, at 4 °C overnight. The samples were processed into glycol methacrylate (Pro Sci Tech, Australia) resin (Feder and O'Brien 1968), and sections (2 µm, Fig.1 – plane of sectioning) were stained for phytin (toluidine blue O - C.I. 52040), protein (amido black 10B - C.I. 20470), and starch and carbohydrate (Periodic Acid/Schiff's reaction) (Feder and O'Brien, 1968).

For ultrastructural studies, seeds were imbibed as for light microscopy, and tissues of the embryo/scutellum region were fixed in 3% gluteraldehyde in 0.1 M HEPES buffer,

pH 7, at 4 °C overnight. The specimens were dehydrated in acetone and embedded in Spurr's resin. Sections (90-150 nm) were stained with 0.1% aqueous lead citrate (Venable and Coggeshall, 1965) and saturated aqueous uranyl acetate (Millonig, 1976) and examined in a Philips CM100 transmission electron microscope at 80 kV. For EDX analysis, the specimens were processed as for normal TEM. Thick sections (150-190 nm) were placed on formvar-coated titanium grids (Polaron). Grids were mounted on a Gatan double-tilt low-background (Beryllium cup) specimen holder to minimise interference from the holder. EDX analysis was carried out by an Oxford Instruments INCA Energy 200 EDX system (ATW window, take-off angle 23°) on a JEOL-3000F Field Emission Gun Transmission Electron Microscope (FEGTEM) at 100 kV. In each case, the electron probe was defocussed to cover an area approximately half the size of the protein body (over the crystalline inclusions when present) in cells of the embryo. All spectra of macro and micro-elements were collected for 100 s live time at an acquisition rate of 2-4,000 cps. EDX data were also obtained from control areas without protein bodies in the resin, cell wall and cytoplasm.

RESULTS

Histochemistry

Protein bodies were abundant in the embryo (coleorhiza, coleoptile, embryonic axis, scutellum) and aleurone layer, but were scarce in the endosperm (Fig. 2 A, C, E). As for seed N concentration, the pattern of distribution of protein bodies and their relative abundance did not differ with rice genotype (Tables 1 & 2).

Toluidine blue-positive phytin bodies were observed in the embryo (mostly in the embryonic axis and scutellum) and aleurone layer but were absent from the endosperm

(Fig. 2 B, D, F). The low Fe genotypes, KDML105 and UBON2, had visibly less phytin bodies than the high Fe genotypes, IR68144 and CMU122 (Table 1, Fig. 3).

Comparison of the distribution of protein and phytin bodies in adjacent sections of the same cells showed that not all protein bodies contained phytin bodies as inclusions. Protein bodies without inclusions were present in the coleoptile and coleorrhiza but they also occurred at low frequency in other tissues including the endosperm.

Ultrastructure and EDX analysis

Under the transmission electron microscope, protein bodies varied in shape from amorphous to spheres and rods (Fig. 4). They occurred in small groups (1-3 units) or in larger clusters (Fig. 4A). The protein bodies ranged in diameter from < 1 to $4\ \mu\text{m}$ in diameter, depending on cell type. The larger protein bodies occurred in the embryo axis (Fig. 4A, B, C) and the smaller protein bodies were in the aleurone layer (Fig. 4E) and scutellum (Fig. 4D). Crystalline inclusions were present in some protein bodies (Fig. 4F). The crystalline inclusions ranged from <1 to $2\ \mu\text{m}$ in diameter and varied in shape (round, oval and irregular).

From EDX analysis, protein bodies with crystalline inclusions were rich in macronutrients, especially P, Mg and K, and some also contained Mn, Fe, and Zn (Fig. 5). There was considerable variation in the micronutrient composition of protein bodies within the same cell and across cell types. For example, some protein bodies had high levels of Mn whereas others had high levels of Fe (data not presented). Also, large protein bodies appeared to contain less macro- and micronutrient reserves than small protein bodies. Areas in the same cells, away from protein bodies, lacked signals for these elements as did the resin without cells.

DISCUSSION

The protein bodies of the four rice genotypes were more concentrated in the embryo and aleurone regions than in the endosperm. Although the density of protein bodies differed with seed part, it was not genotype dependent. Seed of the four genotypes had similar N contents and similar relative abundance of protein bodies in thin sections. Previous investigations on protein bodies in rice have emphasised the endosperm and aleurone layer (Harris and Juliano, 1977; Bechtel and Juliano, 1980; Tanaka et al., 1980; Ogawa et al., 1987). In the endosperm, differences in seed protein content were related to the number of protein bodies (del Rosario et al., 1968; Juliano et al., 1973), and protein bodies were more concentrated (del Rosario et al., 1968) and more diverse in their morphology (Harris and Juliano, 1977; Bechtel and Pomeranz, 1975) in the peripheral than the central endosperm cells. The protein bodies in our study were similar in size to the protein bodies in the endosperm of several other rice genotypes (Harris and Juliano, 1977).

For other cereals, protein bodies have been studied in greater detail. For example, Campbell et al. (1981) showed that protein bodies of wheat endosperm are largely spherical and occur in a wide range of sizes up to 30 μm in diameter, though small and numerous protein bodies may occur in the epithelial tissue (Fulcher et al., 1972). In other parts of the seed, protein bodies are uniform in size in the aleurone layer whereas in the scutellum they decrease in size towards the scutellar node (Swift and O'Brien, 1971).

Using histochemistry (toluidine blue O), most protein bodies in the embryo and aleurone layer contained phytin. Phytin was confirmed by EDX analysis of the associated macro and micronutrients in the crystalline inclusions. In polished rice (embryo removed), phytin particles have been isolated from the aleurone layer (Ogawa et al., 1975) with dextran-polyethylene glycol and observed by both scanning and transmission

electron microscopy (Tanaka et al., 1973). Over 90% of the isolated phytin particles consisted of phytic acid, K and Mg (Ogawa et al., 1975). Other minerals, including Ca, Mn, Fe and Cu, were present in rather small amounts. The same laboratory, using TEM and EDX-analysis, detected phytin in protein bodies in the scutellum and aleurone layer of rice seed (Tanaka et al., 1977). Phytin has been observed previously in some protein bodies in rice endosperm (Tanaka et al., 1980, Ogawa et al., 1987) but not in all studies (Tanaka et al., 1977). Phytin has been detected in the aleurone layer of barley (Jacobsen et al., 1971) and sorghum (Adams and Novellie, 1975), and is probably universally present in this tissue in all members of the food Gramineae (O' Dell et al., 1972). Furthermore, phytin has been reported in the scutellum of a number of cereals, including wheat (Swift and O'Brien, 1971).

The light microscope study showed that the relative distribution of phytin bodies differed with rice genotype. The high Fe genotypes (IR68144 and CMU122) had more phytin bodies than the low Fe genotypes (KDML105 and UBON2), especially in the embryo where the Fe is more concentrated. This suggests an association between Fe storage and the distribution of phytin bodies in the seed that is independent of the number of protein bodies. However, the high Fe genotypes also had higher concentrations of some other elements, notably Cu, Mn, Mg, K and P in the embryo portion (Table 1). This is to be expected if the majority of the Fe is associated with phytin and does not accumulate as a metalloprotein such as ferritin.

During polishing into white rice, most of the embryo and aleurone layer is lost. Hence much of the phytin and mineral nutrient content, including Fe, is lost in milling. From a human nutrition point of view, the association of minerals with phytin is unfortunate as phytin inhibits the bioavailability of some micronutrients in the digestive

tract (Lolas and Markakis, 1975; Bassiri and Nahapetian, 1977). Work is in progress to further localize the distribution of Fe and other minerals in these rice genotypes. We are particularly interested in those genotypes where mineral accumulation is not phytin dependent. This information is needed to enable breeders to select for traits that may help to increase the mineral intake of people who depend on rice as their staple food.

ACKNOWLEDGEMENTS

We acknowledge financial support from the Thailand Research Fund and McKnight Foundation. The first author is a recipient of a Royal Golden Jubilee PhD Scholarship. Seed for planting was provided by the Thailand Rice Research Institute (KDML105, UBON2), W. Boonma (CMU122) and IRRI (IR68144). The EDX was undertaken in the Electron Microscopy Centre of The University of Western Australia. We thank Professor John Kuo for constructive advice on microscopy and the MS, and Dr. Martin Saunders for EDX support.

LITERATURE CITED

- Adams CA, Novellie L. 1975. Composition and structure of protein bodies and spherosomes isolated from ungerminated seed *Sorghum bicolor* (Linn.) Moench. *Plant Physiology* 55: 1-6.
- Ashton WM, Williams PC. 1958. The phosphorus compounds of oats. I. The content of phytate phosphorus. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 9: 505-511.
- Balz HP. 1966. Intrazelluläre lokalisation und funktion von hydrolytischen enzyemen bei Tabak. *Planta* 70: 207-236.

- Bassiri A, Nahapetian A. 1977.** Differences in concentrations and interrelationships of phytate, phosphorus, magnesium, calcium, zinc, and iron in wheat varieties grown under dryland and irrigated conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 25:1118-1122.
- Bechtel DB, Juliano BO. 1980.** Formation of protein bodies in the starchy endosperm of rice (*Oryza sativa* L.): A reinvestigation. *Annals of Botany* 45: 503-509.
- Bechtel DB, Pomeranz Y. 1978.** Ultrastructure of the mature ungerminated rice (*Oryza sativa*) cariopsis. The starchy endosperm. *American Journal of Botany* 65: 684-691.
- Campbell WP, Lee JW, O'Brien TP and Smart MG. 1981.** Endosperm morphology and protein body formation in developing wheat grain. *Australian Journal of Plant Physiology* 8: 5-19.
- Del Rosario AR, Briones VP, Vidal AJ and Juliano BO. 1968.** Composition and endosperm structure of developing and mature rice kernel. *Cereal Chemistry* 45: 225-235.
- Feder N, O'Brien TP. 1968.** Plant microtechnique: some principles and new methods. *American Journal of Botany* 55: 123-142.
- Fulcher RG, O'Brien TP, Simonds DH. 1972.** Localization of arginine-rich proteins in mature seed of some members of the Gramineae. *Australian Journal of Biological Science* 25: 487-97.
- Harris N, Juliano BO. 1977.** Ultrastructure of endosperm protein bodies in developing rice grains differing in protein content. *Annals of Botany* 41:1-5.
- Huang, L, Bell RW, Dell B, Woodward J. 2003.** Rapid nitric acid digestion of plant material with an open-vessel microwave system. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* (in press, C2230).

- Jacobsen JV, Knox RB, Pyliotis NA. 1971. The structure and composition of aleurone grains in the barley aleurone layer. *Planta* 101: 189-209.
- Juliano BO, Antonio AA, Esmama BV. 1973. Effects of protein content on the distribution and properties of rice protein. *Journal of the Science of food and Agriculture* 24: 295-306.
- Lolas GM, Markakis P. 1975. Phytic acid and other phosphorus compounds of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 23:13-15.
- Millonig G. 1976. Laboratory Manual of Biological Electron Microscopy. Vercilli, Italy. 53.
- O'Dell LB, de Boland RA, Koirttyohann RS. 1972. Distribution of phytate and nutritionally important elements among the morphological components of cereal grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 20: 718-721.
- Ogawa M, Kumamaru T, Satoh H, Iwata N, Omura T, Kasai Z, Tanaka K. 1987. Purification of protein body-I of rice seed and its polypeptide composition. *Plant Cell Physiology* 28: 1517-1527.
- Ogawa M, Tanaka K, Kasai Z. 1975. Isolation of high phytin containing particles from rice grains using an aqueous polymer two phase system. *Agricultural and Biological Chemistry* 39: 695-700.
- Prida RC, Mitra GN. 1989. Effect of genotype and environment on grain quality in rice. *Orissa Journal of Agricultural Research* 2: 74-77.
- Prom-u-thai C, Rerkasem B. 2001. Grain iron concentration in Thai rice germplasm. *Development in plant and soil science* 92: 351-352.
- Spichiger JU. 1969. Isolation and charaktersierung sphare glyoxisomen aus tabakendosperm. *Planta* 89: 56-75.

- Swift JG, O'Brien TP. 1971. Vascular differentiation in the wheat embryo. *Australian Journal of Botany* 19: 63-71.
- Tanaka K, Ogawa M, Kasai Z. 1977. The rice scutellum. II. A composition of scutellar and aleurone electron-dense particles by transmission electron microscopy including energy-dispersive X-ray analysis. *Cereal Chemistry* 54: 684-689.
- Tanaka K, Sugimoto T, Ogawa M, Kasai Z. 1980. Isolation and characterization of two types of protein bodies in the rice endosperm. *Agricultural and Biological Chemistry* 44: 1633-1639.
- Tanaka K, Yoshida T, Asuda K, Kasai Z. 1973. Subcellular particles isolated from aleurone layer of rice seeds. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 155: 136-143.
- Venable JM, Coggeshall R. 1965. A simplified lead citrate for use in electron microscopy. *Journal of Cell Biology* 25: 407.
- Yoshida S, Forno D, Cock J, Gomez K. 1976. Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice, 3rd eds. The International Rice Research Institute. Los Banos, Philippines. 14-16.
- Zakaria S, Matsuda T, Nitta Y. 2000. Effects of nitrogen application on the development and accumulation of protein bodies in developing rice seed. *Plant Production Science* 3: 84-93.
- Zarcinas BA, Cartwright B, Spouncer LR. 1987. Nitric acid digestion and multi-element analysis of plant material by inductively coupled plasma spectrometry. *Communication in Soil Science and Plant Analysis* 18: 131-146.

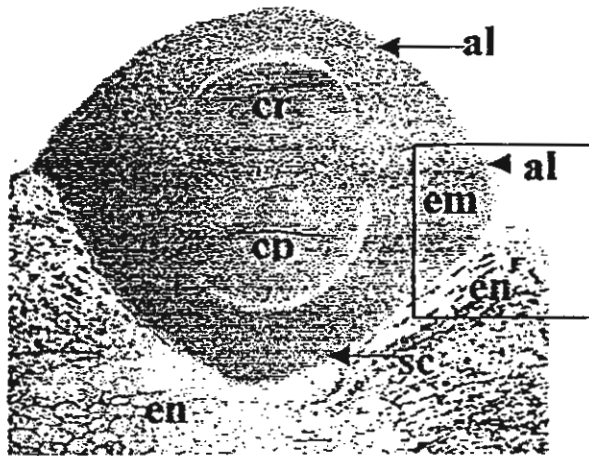


Fig. 1 Light micrograph of median longitudinal section of a rice seed showing location of tissue where the phytin and protein bodies were investigated, em; embryonic axis, sc; scutellum, cp; coleoptile, cr; coleorhiza, en; endosperm, al; aleurone layer.

Table 1 The iron and nitrogen concentration in embryo and endosperm in brown rice of four genotypes

Genotype	Embryo (including aleurone layer and scutellum)		Endosperm (including aleurone layer)	
	Fe (mg Fe/kg)	N (%)	Fe (μ Fe/kg)	N (%)
IR68144	42.2 $\pm$ 0.8	2.6 $\pm$ 0.05	17.6 $\pm$ 0.5	1.8 $\pm$ 0
CMU122	44.4 $\pm$ 3.6	3.0 $\pm$ 0.04	12.7 $\pm$ 0.7	1.4 $\pm$ 0.14
KDML105	21.7 $\pm$ 0.6	2.7 $\pm$ 0.05	8.3 $\pm$ 0.2	1.4 $\pm$ 0.06
UBON2	19.9 $\pm$ 1.8	2.9 $\pm$ 0.02	8.2 $\pm$ 0.6	1.5 $\pm$ 0.04

Mean % nitrogen and Fe concentration $\pm$ SE

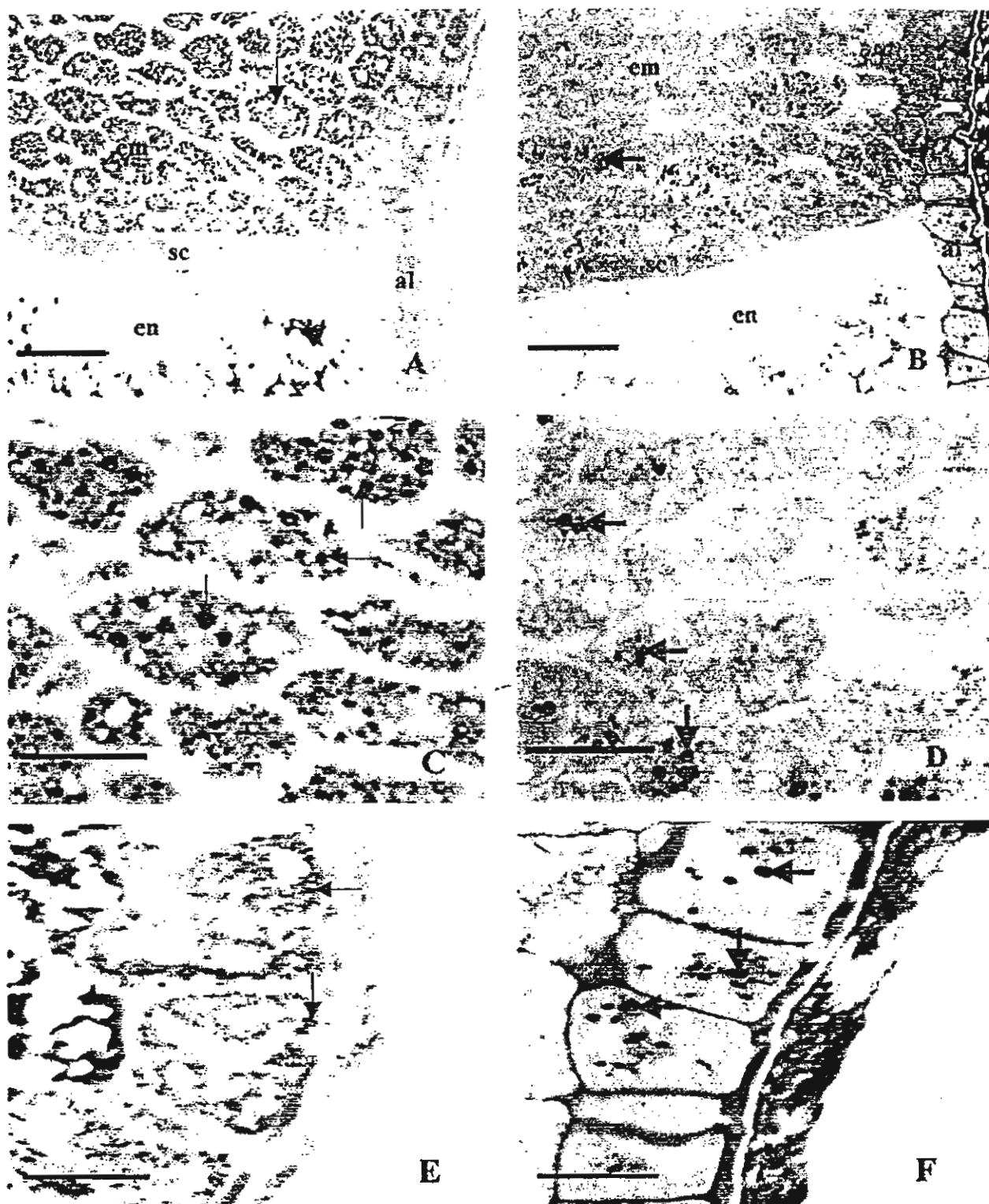


Fig. 2 Light micrograph of KDML105 seed, showing the distribution and abundance of storage protein (A, C, E – thin arrows) and phytin bodies (B, D, F – thick arrows). A, B region shown in Fig. 1; C, D – detail of embryonic cell; E, F – detail of aleurone layer. A, C, E stained with amido black 10B, B, D, F stained with toluidine blue. Scale bar A, B, = 50 μ m, C, D, E, F = 20 μ m.

Table 2 Relative distribution of storage protein and phytin bodies in three regions of the seed of four rice genotypes

Cultivar	Protein bodies			Phytin-like bodies		
	Endosperm	Embryo ²	Aleurone	Endosperm	Embryo	Aleurone
IR68144	+	++++	++++	0	+++	+++
CMU122	+	++++	++++	0	+++	+++
KDML105	+	++++	++++	0	++	++
UBON2	+	++++	++++	0	++	++

1) 0 = 0, + = 1 – 10, ++ = 11 – 20, +++ = 21 – 30, ++++ = > 30 bodies per section of the cells

2) Embryonic axis cells

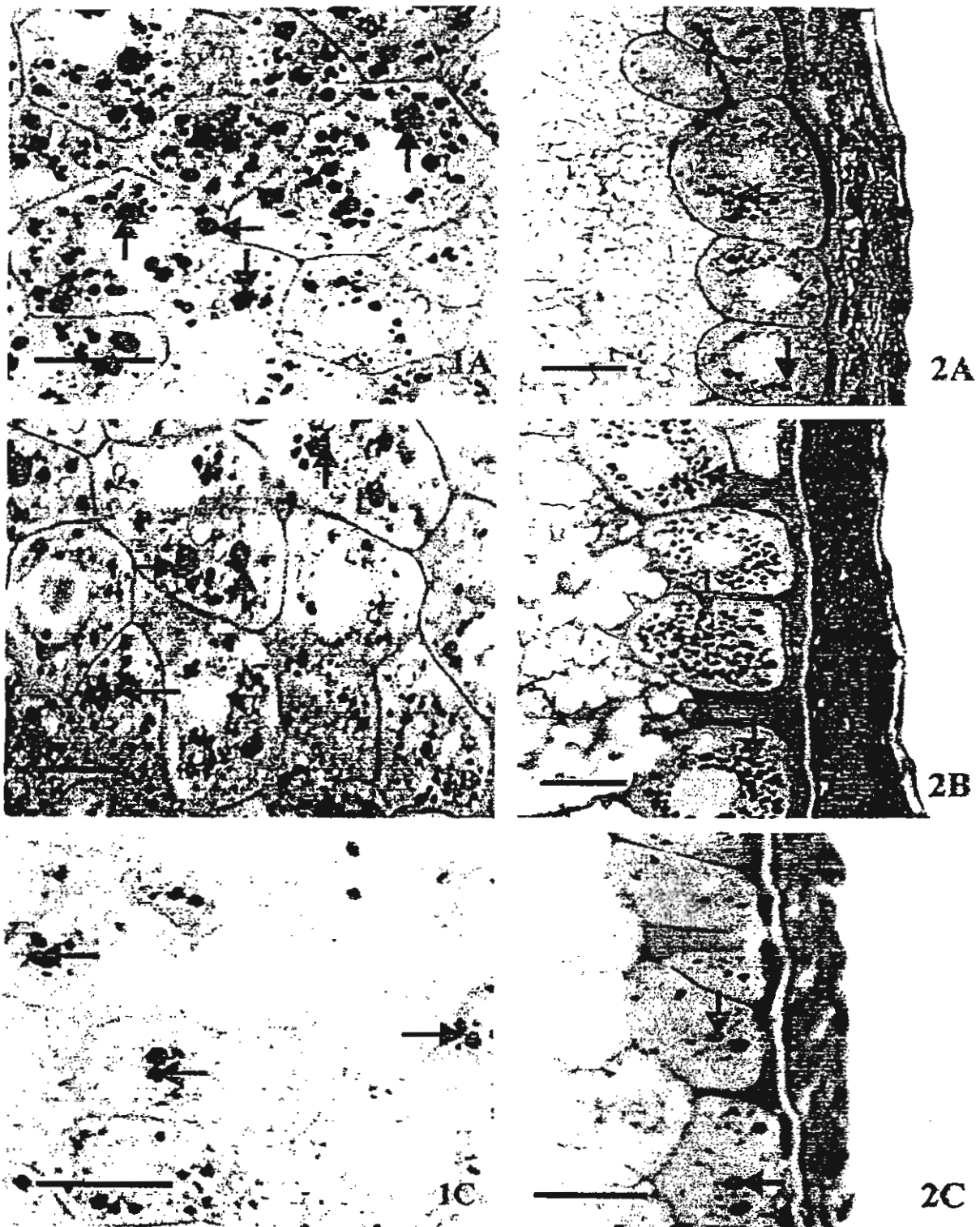


Fig. 3 Light micrographs of rice seed showing the distribution and density of phytin bodies (arrows) detected by toluidine blue in embryonic cells (1A, 1B, 1C) and aleurone cells (2A, 2B, 2C) of three genotypes; IR68144 (A), CMU122 (B): high distribution and UBON2 (C): the low density of phytin bodies.
Scale bar = 20 μ m.

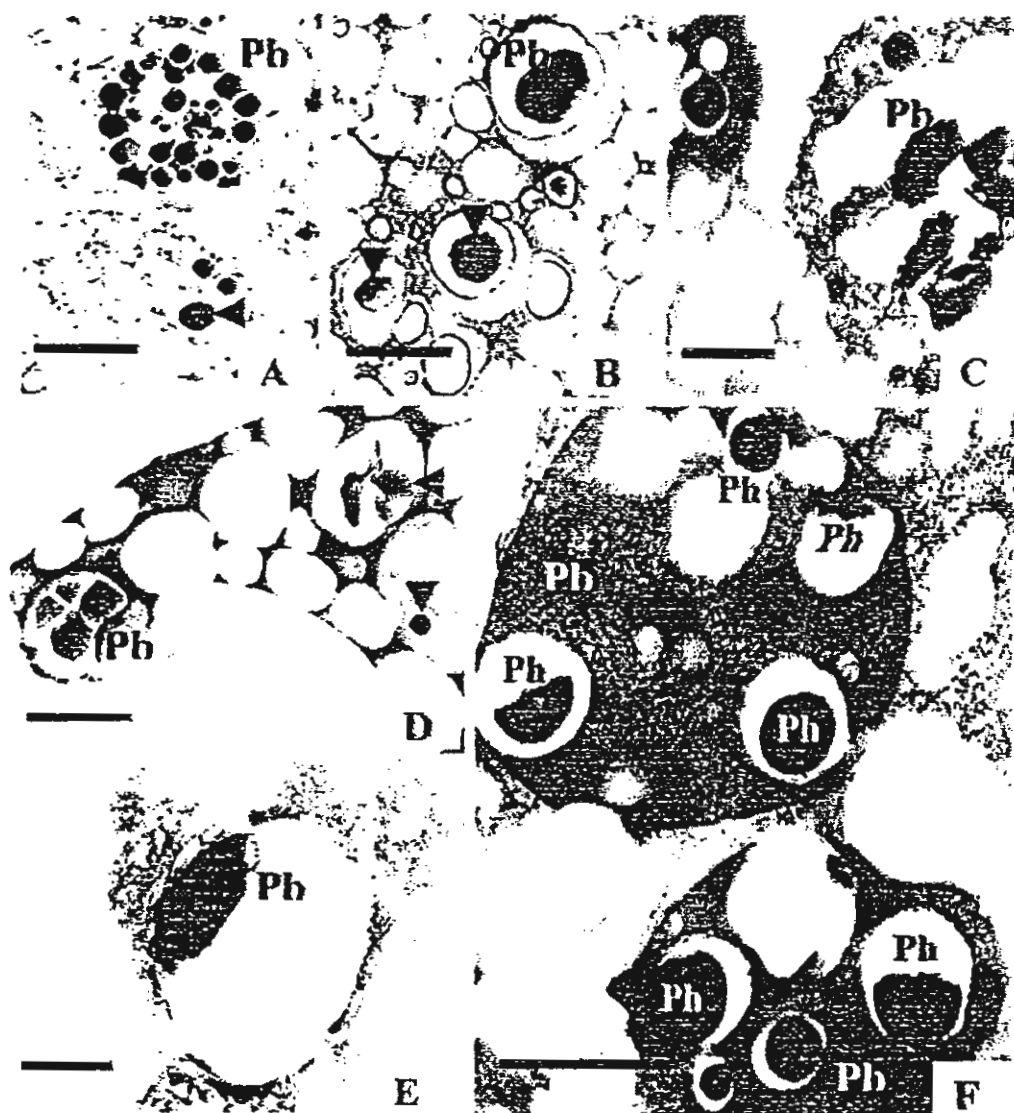


Fig 4. Electron micrographs of rice seed, showing the ultra structure of protein bodies (Pb; arrow) and phytin bodies (Ph). In embryonic cell, protein bodies without obvious inclusion (A – C) occur in larger or small cluster (A) and are spherical (A, B) or amorphous (C). Small protein bodies occur in the scutellum (D) and aleurone layer (E). Protein bodies with phytin-like inclusion in embryonic cell (F).

Genotype; A, C, F = IR68144, B = UBON2, D, E = CMU122

Scale bar, A= 5 μ m, B, C, D = 2 μ m, E= 200 nm, F = 1 μ m

