

FINALE VERSLAG

BIOLOGIESE STIKSTOFBINDING PROJEK 1994-1997

Annemarie Booysen & Michiel Smit, Instituut vir Graangewasse, LNR

BIOLOGIESE STIKSTOFBINDING

Sojabone se vermoë om atmosferiese stikstof (N_2) in te bind het 'n betekenisvolle invloed op die opbrengs en die proteïeninhoud van die saad. Volgens Coic (1975) kan die aantal lewenskragtige bakterie per saad, korreleer met opbrengs wat wissel van 1140 kg/ha tot 3513 kg/ha en met proteïen van 31% tot 42%. Aangesien simbiotiese stikstofbinding so 'n belangrike rol speel, is dit wenslik om effektiewe nodulering en stikstofbinding te kan meet. Die kwantifisering van N_2 binding van 'n kommersiële land op 'n goedkoop en effektiewe wyse, sal 'n waardevolle hulpmiddel bied vir monitering van entstofprestasie, vir verbeterde produksiebestuur en as hulpmiddel in die voorspelling van saadkwaliteit.

Die inspeksie van nodules kan 'n aanduiding gee van suksesvolle nodulering maar nie van kwantitatiewe stikstofbinding nie. 'n Metode word benodig wat kan onderskei tussen ingebinde stikstof en stikstof uit die grond opgeneem. By sojabone word ingebinde stikstof in die vorm van uriede (allantoïen en allantoïensuur) in die xileemsap vanaf die nodules aan die wortels na die res van die plant vervoer. Nitraat word uit die grond deur die wortels geabsorbeer en die verhouding tussen allantoïen en nitraat kan dui op die effektiwiteit van die stikstofbinding. 'n Tegniek om uriede op koste-effektiewe wyse te meet is dus nodig.

DOEL

Die doel van die projek was om 'n koste-effektiewe metode te vind om ingebinde stikstof te kan onderskei van residuele grondstikstof en om aktiewe stikstofbinding deur die loop van die groeiseisoen onder veldtoestande te kan monitor. Dit het behels die ontwikkeling van 'n uriede-ontledingstegniek onder plaaslike toestande en die toepassing van hierdie tegniek op veldproewe asook eksperimente in die glashuis.

METODE

'n Tegniek is bemeester om uriede te ekstra-eer vanuit sojaboonstammateriaal en die relatiewe persentasie daarvan te bepaal. Die prosedure is gekalibreer teen verrykte stikstofproewe (^{15}N), en relatiewe uriede is vir verskillende groeistadia ontleed. Daar is ook 'n prosedure ontwikkel om te onderskei tussen wortel-eksudaat en stamekstraksie as bron van die uriede.

MONSTERINSAMELING

Data versamel deur van verskillende monsternemings metodes gebruik te maak, het getoon dat die stamekstraksie metode meer doeltreffend was in beide die veld- en glashuisproewe. Die

worteleksudaatmetode het egter net in die glashuis sukses behaal.

Die plante is geoes op land en die stingels is gedroog in droogoonde by 80°C vir 48uur om ekstraksie van die xileemsap moontlik te maak.

EKSTRAKSIE VAN XILEEMSAP

Die metodes van Herridge (1982) en Israel is vergelyk. Uit die resultate is besluit om gebruik te maak van Israel se metode. Dit behels 'n maal en setrifugeringsproses wat baie vinniger is as die kookwaterekstraksie van Herridge.

CHEMIESE ANALISES:

1. Allantoïenbepaling

Verskillende metodes vir die bepaling van allantoïenkonsentrasie is vergelyk, n1 1) die aangepaste Rimini-Shryvermetode soos gemodifiseer deur JG Streeter (1979) is met 2) die verbeterde metode van Peoples *et al* (1989) vergelyk.

Na persoonlike kommunikasie met Herridge (1993) is die bepaling volgens die verbeterde metode van Peoples *et al* (1989) gedoen. Dit is 'n kolorometriese bepaling met 'n standaard reeks van 1-100nmol/ml allantoïen. Die bepaling van allantoïenkonsentrasie in die monsters word in mM uitgedruk. Die volumes van die oplossing vir die bepaling is sodanig verander tot 6,5ml vir praktiese laboratotiumpraktyk.

2. Nitraatbepaling

Die bepaling vir nitraat (NO₃) is ook teen 'n standaardreeks van KNO₃ (2,5-20nmol/ml) geyk. Vir die bepaling van nitraatkonsentrasie in die monster is 'n salisielsuurprosedure van Cataldo *et al* (1975) gebruik soos bespreek deur Peoples *et al* (1989). 'n Nitraatkonsentrasie van mM word verkry.

BEREKENING VAN RELATIEWE URIEDE % EN PROPORSIONELE STIKSTOF INGEBIND

Die formule vir die berekening van relatiewe uriede persentasie (RU%) word spesifiek aangepas afhangende van die metode van xileemsapversameling by worteleksudaat of stamekstraksie.

Die formule vir die berekening van RU% deur middel van stamekstraksies is:

$$RU\% = ((4 * \text{uriede}) / (4 * \text{uriede} + \text{NO}_3)) * 100$$

Vir die bepaling van die proporsie stikstof afkomstig vanaf stikstofbinding (P) word spesifieke formules gebruik afhangende van die groeistadium van die plante.

P = proporsie N afkomstig van stikstofbinding.