หอสมุดกลาง
จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ในปัจจุบันการเลี้ยงสัตว์นับเป็นอุตสาหกรรมที่มีบทบาทสำคัญทางเศรษฐกิจได้อย่างหนึ่ง เพราะนอกจากจะใช้เนื้อสัตว์เป็นอาหารสำหรับบริโภคภายในประเทศแล้ว ยังได้ถูกส่งเป็นสินค้าออกที่นำรายได้เข้าสู่ประเทศอีกด้วย สัตว์เลี้ยงที่สำคัญคือ โคและกระบือ ซึ่งพวกพืชตระกูลหญ้า (Graminae)และพืชตระกูลถั่ว (Leguminosae) จะเป็นอาหารที่สำคัญของมัน ในปัจจุบัน 95 เปอร์เซนต์ของพืชอาหารสัตว์เป็นหญ้าที่ขึ้นอยู่ตามธรรมชาติที่ไม่ได้ปลูกหรือทำขึ้น (สายัณห์ 2520) หญ้าตามธรรมชาติเหล่านี้จะมีปริมาณของหญ้ามากเฉพาะในช่วงฤดูฝน และจะมีคุณภาพดีเฉพาะในระยะยังเป็นหญ้าอ่อนอยู่เท่านั้น คุณภาพทางอาหารของหญ้าจะลดลงเมื่อหญ้าแก่ขึ้น ด้วยเหตุนี้สัตว์ที่ถูกเลี้ยงโดยใช้หญ้าธรรมชาตินี้จึงมีการเจริญเติบโตไม่ดีเท่าที่ควร และยอมส่งผลกระทบทางลบต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ด้วย การปรับปรุงปริมาณและคุณภาพของพืชอาหารสัตว์ในทุ่งหญ้าเลี้ยงสัตว์ จึงมีความจำเป็นต่อการพัฒนาจำนวนสัตว์และปริมาณของเนื้อสัตว์ในอนาคต Herriott และ Wells (1960)พบว่าทุ่งหญ้าผสมจะให้คุณภาพของอาหารสัตว์สูง โดยทั่วไปแล้ว ทุ่งหญ้าผสมหมายถึง การปลูกพืชอาหารสัตว์สองชนิดร่วมกัน ส่วนมากจะเป็นพืชตระกูลหญ้าและพืชตระกูลถั่ว ประโยชน์ของทุ่งหญ้าผสมในแง่การเป็นอาหารสัตว์มีทั้งทางตรงและทางอ้อม ประโยชน์ทางตรง ได้แก่ การให้ผลผลิตทางคุณภาพอาหารสูงขึ้น เช่น ปริมาณโปรตีน แร่ธาตุ และความน่ากินของพืชผสม อีกทั้งยังสามารถให้ผลผลิตวัตถุแห้งสูงได้ตลอดปี จึงทำให้สัตว์มีอาหารกินตลอดปีด้วย ส่วนประโยชน์ทางอ้อมเชื่อกันว่า พืชตระกูลถั่วสามารถถ่ายเทไนโตรเจนให้เป็นประโยชน์ต่อหญ้าที่ขึ้นร่วมด้วย วิธีการถ่ายเทก็คือ การหลั่งสารประกอบพวกอินทรียไนโตรเจนจากรากลงสู่ดิน หรือ โดยการสูญสลายของรากหรือปมเมื่อถั่วมีอายุสูงขึ้น (Walker , Orchiston และ Adams 1954 ; Simpson 1965; Whiteman 1970) หรือจากการส่งกลับโดยผ่านทางมูลสัตว์ และปัสสาวะสัตว์ (Mc - Kee 1962)

การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนร่วมกับปุ๋ยชนิดอื่น ๆ ก็อาจใช้เป็นวิธีปรับปรุงปริมาณและคุณภาพของพืชอาหารสัตว์ในทุ่งหญ้าเลี้ยงสัตว์ได้ แต่วิธีนี้มีข้อเสียคือ ทำให้การลงทุนสูงขึ้น เพราะต้องเสียเงินค่าปุ๋ยที่ใส่ลงไปอีกทั้งแนวโน้มของราคาปุ๋ยในอนาคตมีแต่จะเพิ่มสูงขึ้นเรื่อย ๆ โดยเฉพาะปุ๋ยไนโตรเจน ทั้งนี้เพราะขบวนการผลิตปุ๋ยไนโตรเจนนั้นมีความสัมพันธ์โดยตรงกับราคาน้ำมันในตลาดโลก กล่าวคือ ผลิตโดยการอัดบรรยากาศไนโตรเจนเข้ากับไฮโดรเจน ตามขบวนการ Harber Bosch Process ซึ่งเป็นขบวนการที่ต้องใช้พลังงานสูงมาก ดังนั้นวิธีการปรับปรุงทุ่งหญ้าเลี้ยงสัตว์ประการแรกจึงเหมาะสมกว่าในแง่ของเศรษฐกิจ และเป็นความหวังต่อการพัฒนาอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ต่อไปในอนาคต

<u>ลักษณะของพืชอาหารสัตว์ที่มีคุณค่าทางอาหารสูง</u>

คุณภาพของพืชอาหารสัตว์จะดีเพียงใดนั้นขึ้นอยู่กับลักษณะบางประการ เช่น ปริมาณโปรตีน แร่ธาตุ และไวตามิน โดยทั่วไปแล้วถั่วและหญ้ามักจะมีปริมาณแร่ธาตุและไวตามินเพียงพอแก่ความต้องการของสัตว์อยู่แล้ว ถ้าหากเกิดการขาดแคลนแร่ธาตุในพืชอาหารสัตว์ขึ้นจริง ๆ ก็อาจแก้ไขได้โดยการใส่ปุ๋ย แร่ธาตุซึ่งมีราคาถูกเพียงเล็กน้อยลงในดิน ส่วนไวตามินนั้นแม้ว่าอาจจะไม่มีอยู่ในพืชอาหารสัตว์ แต่ก็ไม่ใช่ปัจจัยที่สำคัญแต่อย่างใดเพราะแบคทีเรียบางชนิดในลำไส้ของสัตว์เคี้ยวเอื้องสามารถผลิตขึ้นได้ในตัวสัตว์ ดังนั้นสิ่งที่จำเป็นที่สุดต่อการเจริญเติบโตของสัตว์จึงได้แก่ โปรตีน ซึ่งสัตว์ต้องการเป็นปริมาณมาก โดยทั่วไปพืชอาหารสัตว์ควรจะมีปริมาณโปรตีนหยาบไม่ต่ำกว่า 9 เปอร์เซนต์ หรือเทียบเป็นปริมาณไนโตรเจนแล้วไม่ต่ำกว่า 1.4 เปอร์เซนต์ (Technical Committee of the Agricultural Research Council, UK 1965)

<u>แหล่งกำเนิดของอนุมูลอัมโมเนียและคาร์โบไฮเดรทในพืช</u>

โปรตีนในพืชจะสังเคราะห์ได้ต้องอาศัยสารต้นตอสองชนิดคือ คาร์โบไฮเดรทและอนุมูลอัมโมเนีย สารต้นตอทั้งสองชนิดจะรวมกันโดยขบวนการทางชีวเคมี ได้เป็นกรดอะมิโนและอินทรีย์ไนโตรเจนชนิดต่าง ๆ กรดอะมิโนเหล่านี้จะรวมตัวกันอีกทีสร้างเป็นโปรตีนชนิดต่าง ๆ

สำหรับคาร์โบไฮเดรทพืชสามารถสังเคราะห์ได้จากขบวนการสังเคราะห์แสง ขบวนการนี้เป็นขบวนการที่พืชใช้พลังงานจากแสงอาทิตย์เพื่อนำไปขับเคลื่อนปฏิกิริยาของน้ำและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากธรรมชาติให้เกิดเป็นน้ำตาลกลูโคสดังสมการ :

$$H_2O + NADP^+ + Pi + ADP \xrightarrow{\text{แสงอาทิตย์}} \tfrac{1}{2}O_2 + NADPH + H^+ + ATP$$

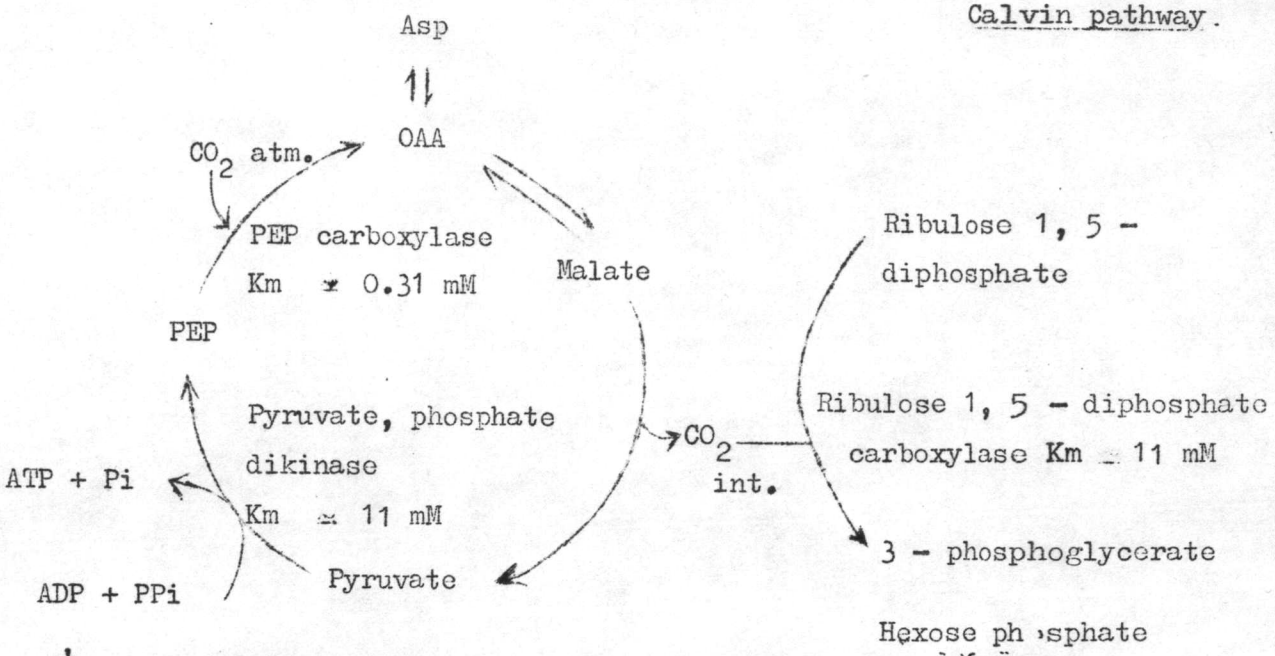
$$CO_2 + 2NADPH + 2H^+ + 3ATP \longrightarrow [CH_2O] + 2NADP^+ + 3ADP + 3Pi$$

ปัจจุบันทราบกันดีแล้วว่าพืชตระกูลถั่วจะตรึงคาร์บอนไดออกไซด์จากบรรยากาศ เปลี่ยนให้เป็นคาร์โบไฮเดรทตามขบวนการสังเคราะห์แสงที่เรียกว่า Calvin - Benson Bassham pathway (C_3 pathway)(Bassham และ Calvin 1957) ขบวนการนี้มีเอ็นไซม์ ribulose 1,5 diphosphate carboxylase เป็นกุญแจสำคัญ เอ็นไซม์ตัวนี้จะเร่งปฏิกิริยาการจับคาร์บอนไดออกไซด์ของ ribulose 1, 5 diphosphate ได้เป็น 3 - phosphoglyceric acid ซึ่งจะถูกเปลี่ยนต่อไปได้เป็น hexose น้ำตาล hexose ขบวนการนี้ต้องใช้พลังงานทั้งหมด 3 ATP และ 2 NADPH ในการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ 1 โมเลกุลตามสมการ :

$$CO_2 + 2\,NADPH + 2H^+ + 3ATP \longrightarrow [CH_2O] + 2\,NADP + 3\,ADP + 3Pi$$

เอ็นไซม์ ribulose1, 5 diphosphate carboxylase มีค่า Km เท่ากับ 11 มิลลิโมลาร์ของคาร์บอนไดออกไซด์ พืชที่มีขบวนการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์แบบนี้มีชื่อสามัญว่า C_3 plant

ส่วนใหญ่ของพืชตระกูลหญ้าจะตรึงคาร์บอนไดออกไซด์จากบรรยากาศแตกต่างจากพืชตระกูลถั่ว กล่าวคือ มันจะทำการสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรทโดยขบวนการสังเคราะห์แสงที่เรียกว่า Hatch Slack pathway (C_4 pathway)(Hatch และ Slack 1968) ดังแสดงในรูปที่ 1 ขบวนการนี้แตกต่างจากขบวนการของ Calvin ดังต่อไปนี้คือ pyruvate , phosphate dikinase เป็นเอ็นไซม์ที่เป็นกุญแจสำคัญ เอ็นไซม์ตัวนี้จะเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนไพรูเวทให้เป็นฟอสโฟอีนอลไพรูเวท ซึ่งจะเป็นตัวจับคาร์บอนไดออกไซด์จากบรรยากาศ โดยมีเอ็นไซม์ phosphoenolpyruvate carboxylaseเป็นตัวเร่งได้เป็นออกซาโลอะซีเตทซึ่งจะถูกเปลี่ยนต่อไปเป็นมาเลท แล้วมาเลทนี้จะถูก decar-



รูปที่ 1 ขบวนการสังเคราะห์แสงแบบ Hatch Slack pathway

CO_2atm. = คาร์บอนไดออกไซด์จากบรรยากาศ, CO_2int.=คาร์บอนไดออกไซด์จาก Hatch Slack pathway

boxylate ต่อไปให้คาร์บอนไดออกไซด์และไพรูเวทกลับมาอีก จากนั้นปฏิกิริยาจึงดำเนินต่อไปเช่นเดียวกับในขบวนการของ Calvin ขบวนการนี้ต้องใช้พลังงาน 5 ATP และ 2 NADPH ในการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ 1 โมเลกุล เอ็นไซม์ pyruvate, phosphate dikinase มี Km ประมาณ 0.11 มิลลิโมลาร์ของฟอสโฟอีนอลไพรูเวท พืชที่มีขบวนการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์แบบนี้มีชื่อสามัญว่า C_4 plant ดังนั้นศักยภาพของการสร้างน้ำตาลในพวก C_4 plant จึงสูงกว่าของพวก C_3 plant

สำหรับอนุมูลอัมโมเนียมพืชอาจได้มาจากแหล่งต่าง ๆ โดยทั่วไปแหล่งที่สำคัญคือ อินทรีย์ไนโตรเจนที่สะสมอยู่ในดิน ไม่ว่าจะเป็นโปรตีนหรืออินทรีย์ไนโตรเจนโมเลกุลเล็ก ๆ เช่นกรดอะมิโน อินทรีย์ไนโตรเจนดังกล่าวจะถูกออกซิไดซ์ให้เป็นอัมโมเนียและไนเตรทตามลำดับ เฉพาะในเตรทที่พืชดูดเอาไปใช้ได้ แต่โดยที่อัตราการสลายโมเลกุลของอินทรีย์สารเป็นไปอย่างเชื่องช้า ประมาณกันว่าการสลายตัวจากสารโมเลกุลใหญ่เป็นโมเลกุลเล็กอยู่ในอัตราส่วน 1 – 2 เปอร์เซนต์ต่อปี สำหรับพืช

ตระกูลถั่วนอกจากจะได้อนุมูลอัมโมเนียจากดินแล้วยังได้โดยตรงจากขบวนการตรึงไนโตรเจนโดยแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในปมรากของมันด้วย แบคทีเรียดังกล่าวเรียกว่าไรโซเบียม เมื่ออาศัยอยู่ในปมรากถั่วจะสามารถเปลี่ยนบรรยากาศไนโตรเจนให้เป็นอนุมูลอัมโมเนีย และส่งอนุมูลอัมโมเนีย ที่ตรึงได้นี้ให้กับถั่ว (Bergerson1965, Kennedy 1966, Bergerson และ Tunner 1967) ด้วยเหตุนี้เองสารต้นตออัมโมเนียมเพื่อผลิตโปรตีนของพืชตระกูลถั่วจึงมากกว่าพืชตระกูลหญ้า

ถึงแม้ว่าพืชตระกูลหญ้าจะมีประสิทธิภาพในการสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรทสูงก็ตาม แต่ก็มีขีดจำกัดของปริมาณอนุมูลอัมโมเนีย ทั้งนี้เพราะหญ้าได้มาจากในดินเท่านั้น จึงทำให้การสังเคราะห์โปรตีนของหญ้าถูกจำกัดตัวตามไปด้วย การจะเพิ่มปริมาณอาจจะทำได้โดยการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนเพิ่มลงในดิน แต่ถ้าเป็นพืชตระกูลถั่วแล้วถึงแม้ว่าประสิทธิภาพในการสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรทจะต่ำกว่าพืชตระกูลหญ้าก็ตาม แต่ปริมาณดังกล่าวก็เพียงพอที่จะรวมกับอนุมูลอัมโมเนียซึ่งมีเป็นจำนวนมาก เนื่องจากได้รับเพิ่มจากการตรึงไนโตรเจนด้วย ดังนั้นพืชตระกูลถั่วจึงสามารถสังเคราะห์โปรตีนได้สูงกว่าพืชตระกูลหญ้า โดยไม่จำเป็นต้องเพิ่มปุ๋ยไนโตรเจนลงในดิน ดังนั้นการนำเอาพืชตระกูลถั่วมาปลูกร่วมกับพืชตระกูลหญ้าจะช่วยปรับปรุงปริมาณ และคุณภาพของอาหารสัตว์ให้ดีขึ้น และอาจจะประหยัดค่าใช้จ่ายไปในตัวด้วย

<u>การตรึงไนโตรเจนในพืชอาหารสัตว์</u>

การตรึงไนโตรเจนเกิดขึ้นจาก การเปลี่ยนก๊าซไนโตรเจนจากบรรยากาศให้เป็นอัมโมเนีย โดยใช้พลังงานในรูปของ ATP และ reducing power และมีเอ็นไซม์ไนโตรจิเนสเป็นตัวเร่งปฏิกริยา ดังสมการ

$$x\ ATP + 6\ \bar{e} + N_2 \xrightarrow{\text{ไนโตรจิเนส}} NH_3 + x\ ADP + x\ Pi$$

แบคทีเรียและสาหร่ายหลายชนิดที่อยู่โดยอิสระของตัวมันเองสามารถตรึงไนโตรเจน ได้การตรึงไนโตรเจนนี้ไม่ปรากฏในพืชชั้นสูง คนหรือสัตว์ สำหรับพืชตระกูลถั่วตัวการสำคัญที่ดึงก๊าซไนโตรเจนจากบรรยากาศมาเปลี่ยนเป็นอัมโมเนียได้แก่ แบคทีเรียตระกูลไรโซเบียมที่อยู่ร่วมกับมันนั่นเอง แบคทีเรียเหล่านี้อาศัยอยู่ที่ปมรากถั่วแบบพึ่งพาอาศัยกันอย่างถาวร (obligatory symbiosis)กล่าวคือ พืช

ตระกูลถั่วจะให้สารต้นตอคาร์บอนกับแบคทีเรีย และแบคทีเรียก็จะให้อัมโมเนียกับพืช ส่วนพืชตระกูลหญ้าบางชนิดนั้นอาจพบการตรึงไนโตรเจนที่รากของมันเช่นกัน แต่การตรึงไนโตรเจนในหญ้านั้นต่ำมากเมื่อเทียบกับที่พบในถั่ว (Burns และ Hardy 1975) ตัวอย่างเช่น Doberiener, Day และ Dart (1972) พบว่าที่รากของหญ้า Paspalum notatatum มีแบคทีเรียชื่อ Azotobacter paspali มาอาศัยอยู่ที่ผิวรากแบบชั่วคราว (associative symbiosis) Doberiener และ Day (1974) พบว่ามีแบคทีเรียชื่อ Spirillum lipoferum อาศัยแบบชั่วคราวอยู่กับรากของหญ้า Digitaria decumbens นอกจากนี้ก็มีรายงานเกี่ยวกับการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียที่อาศัยแบบชั่วคราวอยู่บริเวณรากของ ข้าวโพด ข้าว อ้อย และพืชตระกูลหญ้าตัวอื่น ๆ อีก (Doberiener , Day และ Dart 1972; Dommergues และคนอื่น ๆ 1972; Rajor , Evans และ Seidler 1969; Nelson และคนอื่น ๆ 1976)

วิธีการศึกษาหาปริมาณการตรึงไนโตรเจน

การหาปริมาณการตรึงไนโตรเจนไม่ว่าจะในแบคทีเรียที่อยู่โดยอิสระหรือที่อยู่ร่วมกับพืชอาจทำได้หลายวิธี ตัวอย่างเช่น โดยการวัดปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดตามวิธีเคลดาห์, การวัด ^{15}N (Burris และ Wilson 1957), การวัดปริมาณอัมโมเนียที่เกิดขึ้น (Mortenson 1961), การวัดอัตราการออกซิเดชั่นของ $Na_2S_2O_4$ (Ljones และ Burris 1972) และโดยวิธีอะเซทีลีนรีดักชั่น (Koch และ Evans 1966)

วิธีการศึกษาขบวนการสังเคราะห์แสงของพืช

ประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสงของพืชอาจใช้เป็นดรรชนีชี้ความเหมาะสมในการใช้เป็นพืชอาหารสัตว์ ซึ่งหาได้โดยการทดสอบว่าพืชชนิดนั้นมีขบวนการสังเคราะห์แสงแบบ Calvin – Benson Bassham pathway (C_3 pathway) หรือแบบ Hatch Slack pathway(C_4 pathway) การศึกษาอาจทำได้โดยหาระดับแอ็คติวิตี้ของเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องในขบวนการสังเคราะห์แสง (Hatch, Slack และ Johnson 1967) หรือโดยการศึกษาหาแอ็คติวิตี้ของเอ็นไซม์ pyruvate , phosphate dikinase ซึ่งจะพบแอ็คติวิตี้ของเอ็นไซม์ตัวนี้เฉพาะในพืชที่มีการสังเคราะห์แสงแบบ C_4 pathway

เท่านั้น จะไม่พบแอ็คติวิตี้ของเอ็นไซม์ตัวนี้เลยในพืชพวกที่มีการสังเคราะห์แสงแบบ C_3 pathway (Hatch และ Slack 1968) วิธีการหาแอ็คติวิตี้ของเอ็นไซม์ pyruvate , phosphate dikinase มีหลายวิธีตัวอย่างเช่นโดยการติดตามรังสีของคาร์บอน -14 ในแอสปาเตท(Hatch, Slack และ Johnson 1967) หรือโดยการติดตามการเปลี่ยนแปลงการดูดแสงของ NADH (Andrews และ Hatch 1969)

<u>วิธีการศึกษาปริมาณโปรตีนในพืชอาหารสัตว์</u>

วิธีการหาปริมาณโปรตีนในพืชโดยทั่วไปอาจทำได้โดยการหาปริมาณโปรตีนในใบพืชโดยตรงโดยวิธีไบยูเรท (Gornall , Bardawill และ David 1949) หรือโดยการหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดโดยวิธีเคลดาล์ (Nelson และ Sommers 1975)

<u>วัตถุประสงค์ของการวิจัย</u>

ศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณโปรตีนกับการตรึงไนโตรเจนของพืชอาหารสัตว์ โดยการใช้ถั่วซีราโตร (<u>Macroptilium atropurpureum</u>) และหญ้าโรด (<u>Chloris gayana</u>) เป็นตัวแบบ พืชทั้งสองชนิดนี้เป็นพืชที่ทางภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตร-ศาสตร์ กำลังส่งเสริมให้เป็นพืชอาหารสัตว์ ข้อมูลที่ได้จากการวิจัยนี้ อาจนำไปประกอบการพิจารณาทำทุ่งหญ้าผสม หรือดูความเหมาะสมของการใช้ทุ่งหญ้าผสมนั้นเป็นพืชอาหารสัตว์