

ความสัมพันธ์ของปริมาณโปรตีนกับการตรึงไนโตรเจนในพืชอาหารสัตว์



นางสาวสุนันทา เจิมทรธา

005825

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

แผนกวิชาข้าวเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2522

THE RELATION OF PROTEIN CONTENT AND NITROGEN FIXATION
IN FORAGE CROPS

Miss Sunanta Jermhansa

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of ~~Master~~ of Sciences

Department of Biochemistry

Graduate School

Chulalongkorn University

1979

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ความสัมพันธ์ของปริมาณโปรตีนกับการตรึงไนโตรเจนในพืชอาหารสัตว์

โดย

นางสาวสุนันทา เจริญธรรษา

แผนกวิชา

ชีวเคมี

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ทิพย์ทัศน์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

Susana Juma

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุประกิจฐ์ บุณนาค)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

Tom

..... ประธานกรรมการ
(ศาสตราจารย์ ไชยตรี อภรณ์รัตน์)

ไพเราะ ทิพย์ทัศน์

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ทิพย์ทัศน์)

สายัณห์ ทักศรี

..... กรรมการ
(อาจารย์ สายัณห์ ทักศรี)

สันต์ พณิชยกุล

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สันต์ พณิชยกุล)

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ความสัมพันธ์ของปริมาณโปรตีนกับการตรึงไนโตรเจนในพืชอาหารสัตว์
ชื่อนิสิต	นางสาวสุนันทา เจริญธรรมา
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ไพเราะ ทิพย์ทัศน์
แผนกวิชา	ชีวเคมี
ปีการศึกษา	2521



บทคัดย่อ

พืชอาหารสัตว์ที่ผสมระหว่างถั่วและหญ้าจะให้ปริมาณและคุณค่าทางอาหารแก่สัตว์เคี้ยวเอื้องสูงกว่าพืชเพียงชนิดเดียว การวิจัยนี้ได้ศึกษาถึงความสัมพันธ์ของปริมาณโปรตีนกับการตรึงไนโตรเจนของถั่ววี่ราโตร (Macroptilium atropurpureum) และหญ้าโรค (Chloris gayana) ที่ปลูกแยกกันและที่ปลูกรวมกันในอัตราส่วน 2 : 3 พบว่าค่าเปอร์เซ็นต์โปรตีนซึ่งหาโดยวิธีโบยเรทของถั่ววี่ราโตรที่ปลูกเดี่ยวมีค่าสูงทั้งที่เป็นต้นอ่อนและต้นแก่ และจะเพิ่มค่าสูงขึ้นเรื่อย ๆ เมื่อถั่วมีอายุเพิ่มขึ้น ส่วนเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนทั้งหมดจะมีค่าค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาการปลูก การตรึงไนโตรเจนจากปมรากของถั่ววี่ราโตรจะสูงขึ้นเรื่อย ๆ และคงที่หลังการออกดอก จากการทดลองพบว่าไนโตรเจนที่ถูกรุกเข้าไปแบ่งตัวอยู่ในปมรากของถั่ววี่ราโตรอยู่ในกลุ่มที่เจริญเติบโตเร็วเมื่อเทียบกับเชื้อโรแบียมมาตรฐาน เชื้อนี้สามารถใช้น้ำตาล แมนิทอล, กลูโคส, ฟรุกโตส, ซูโครส และซัคซิเนตเป็นสารต้นตอการบอนด์ ส่วนหญ้าโรคที่ปลูกเดี่ยวนั้นพบค่าเปอร์เซ็นต์โปรตีนในใบจะสูงเฉพาะในระยะที่เป็นต้นอ่อนเท่านั้น และมีค่าลดลงเรื่อย ๆ เมื่อหญ้าแก่ขึ้น แนวโน้มของเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนทั้งหมดกับการเจริญเติบโตก็เป็นเช่นเดียวกับของเปอร์เซ็นต์โปรตีน

การปลูกถั่ววี่ราโตรร่วมกับหญ้าโรคจะทำให้แนวโน้มของเปอร์เซ็นต์โปรตีนของถั่ววี่ราโตรมีค่าสูงกว่าถั่ววี่ราโตรที่ปลูกเดี่ยว แต่เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนทั้งหมดไม่แตกต่างกัน สำหรับหญ้าโรคแนวโน้มของเปอร์เซ็นต์โปรตีนตลอดช่วงอายุของการปลูกจะเหมือนกันไม่ว่าจะปลูกเดี่ยวหรือปลูกร่วมกับ

หมายเหตุ แดคาเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนทั้งหมดจะสูงกว่าที่ปลูกเดี่ยวอย่างมีนัยสำคัญ ผลจากการทดลอง
 นี้ให้ข้อสันนิษฐานว่าถั่วรีราโตรสามารถขึ้นเดี่ยวหรือรวมกับหญ้าโรคในดินที่มีทรายปนถึง 50 เปอร์เซ็นต์
 และการปลูกเดี่ยวรวมกับหญ้าในอัตราส่วน 2 : 3 จะทำให้ค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์โปรตีนภายหลัง
 สัปดาห์ที่ 5 ของการปลูกเท่ากับ 14 เปอร์เซ็นต์ซึ่งเป็นค่าที่สูงเหมาะสมสำหรับเป็นอาหารของสัตว์เคี้ยว
 เอื้อง อีกประการหนึ่งถั่วรีราโตรนี้อาจเกิดผลได้โดยเชื้อไรโซเบียมตามธรรมชาติ จากการหา
 แอ็คติวิตีของเอนไซม์ pyruvate , phosphate dikinase สรุปได้ว่าหญ้าโรคมีขบวนการ
 สร้างน้ำตาลเป็นแบบ Hatch Slack pathway ในขณะที่ถั่วรีราโตรเป็นแบบ Calvin - Benson -
 Bassham pathway

Thesis Title The Relation of Protein Content and Nitrogen
 Fixation in Forage Crops.
Name Miss Sunanta Jermhansa
Thesis Advisor Dr. Piror Thipayathasana
Department Biochemistry
Academic Year 1978

Abstract

Mixed grass - legume forage crops provide more nutritional value than each used alone. We have studied the relationship between protein contents and nitrogen fixation in Siratro (Macroptilium atropurpureum) and Rhodes grass (Chloris gayana). The study was done on each crop separately and on a mixture of them in a 2:3 ratio to discover the usefulness of combining these two plants. It was found that the protein content, as determined by the Biuret's method, of leaves of Siratro which were planted alone is high. The increment of this value varies proportionally with its age. In contrary to the percentage of the total nitrogen content, this value is rather constant throughout the period of planting. The value of nitrogen fixation of the root - nodule initially increased and remained constant after seed bearing. The rhizobium, a specie which invades the Siratro root, belongs to a fast growing group when compared with the standard strains. It can use manitol, glucose, fructose, sucrose and succinate as the sole carbon source. From the study of the Rhodes grass

alone, it was found that, the protein content is high only in the young plant and decreased in proportion to the plants' age. The profile of the total nitrogen content as it corresponds with the age of the grass is similar to that of the protein content.

The influence obtained when both plants were grown together is as follow : For siratro, a small increase in the percentage of protein content has been detected when grown in the crop mixture; whereas the value of the total nitrogen content remains the same. However, for Rhodes grass, both the percentage of protein and total nitrogen content have been found to increase when grown in the crop mixture.

Our results have suggested the following : the mixture of Siratro and Rhodes grass can grow well in soil consisting of 50 percent sand. The average value of the crop mixtures' protein content is 14 percent. This indicates that the crop mixture is highly nutritious for animal feeding. In addition to this the nodulation is caused by a rhizobium existing in the soil. Based on the activity of pyruvate, phosphate dikinase determined from thier leaves homogenate, the biosynthesis of Rhodes grass sugar is via the Hacth Slack pathway while that of Siratro is via the Calvin - Benson-Bassham pathway.

กิติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงไปได้ก็ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของผู้ช่วยศาสตราจารย์
ดร. ไพเราะ ทิพย์ทัศน์, อาจารย์สายัณห์ ทัดศรี ภาควิชาพืชไร่นา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สันต์ พิธิษกุล ซึ่งให้คำแนะนำ ส่งเสริมแนวความคิดและแก้ไขสิ่งต่าง ๆ
ที่บกพร่องในการทำวิจัยนี้โดยตลอด ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ และขอบคุณอาจารย์ทั้ง 3 ท่านที่
กล่าวนามข้างต้น ตลอดจนทุก ๆ ท่านที่มีส่วนเกี่ยวข้องในการทำวิจัยนี้



สารบัญ

บทคัดย่อภาษาไทย	หน้า
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	จ
รายการตารางประกอบ	ฉ
รายการรูปประกอบ	ช
บทที่	ญ
1 บทนำ	1
2 วิธีการทดลอง	8
1. วัสดุและเคมีภัณฑ์ที่ใช้ในการทดลอง	8
2. การเตรียมสารละลาย	9
3. การปลูกและเก็บพืชตัวอย่าง	11
4. การหาปริมาณโปรตีน	12
5. การหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด	13
6. การหาแอ็คติวิตี้ของเอนไซม์ pyruvate, phosphate dikinase จากใบของพืช	14
7. การหาการตรึงไนโตรเจนโดยวิธีอะเซตีลดีนรีดักชัน	15
8. การแยกเชื้อจากบมรากถั่ว	18
9. การทดสอบว่าเชื้อที่แยกได้จากบมรากถั่วเป็นไรโซเบียม	18



บทที่	หน้า
3 ผลการวิจัย	20
1. สภาพที่เหมาะสมสำหรับวิธีอะเซทที่สั้นรัคักชั้น	20
2. ลักษณะการเจริญเติบโตของถั่วเขียวโตรและหญ้าโรค	22
3. ปริมาณการตรึงไนโตรเจนของถั่วเขียวโตรและหญ้าโรค	29
4. ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนปมหรือนำหนักปมกับการตรึงไนโตรเจน	29
5. กรรพที่แสดงคุณภาพทางอาหารของถั่วเขียวโตรและหญ้าโรค	31
6. อิทธิพลของถั่วเขียวโตรที่มีต่อการเจริญเติบโตของหญ้าโรค	37
7. บทบาทของการตรึงไนโตรเจนต่อคุณภาพทางอาหารของถั่วเขียวโตร และหญ้าโรค	43
8. ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของดิน	46
9. การแยกเชื้อจากปมของรากถั่วเขียวโตรและลักษณะของเชื้อที่แยกได้	51
10. แอ็คติวิตี้ของเอนไซม์ Pyruvate, phosphate dikinase	55
4 วิจารณ์ผลการทดลองและสรุปผลการวิจัย	60
เอกสารอ้างอิง	71
ประวัติผู้เขียน	77

รายการตารางประกอบ

	หน้า	
ตารางที่ 1	ลักษณะการเจริญเติบโตของถั่วชั๊ราโตรที่ปลูกเดี่ยว	23
ตารางที่ 2	ลักษณะการเจริญเติบโตของถั่วชั๊ราโตรที่ปลูกร่วมกับหญ้าโรค	26
ตารางที่ 3	ลักษณะการเจริญเติบโตของหญ้าโรคที่ปลูกเดี่ยว	27
ตารางที่ 4	ลักษณะการเจริญเติบโตของหญ้าโรคที่ปลูกร่วมกับถั่วชั๊ราโตร	28
ตารางที่ 5	เปรียบเทียบแฉกคิวิต์ของการรีคิวชอะเซที่สิ้นของถั่วชั๊ราโตรกับหญ้าโรค	30
ตารางที่ 6	ความสัมพันธ์ทางสถิติของการกระจายตัวของจำนวนปม, น้ำหนักสดของปม และแฉกคิวิต์ของการรีคิวชอะเซที่สิ้น	32
ตารางที่ 7	เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์โปรตีนของใบโดยวิธีไนยูเรท และไนโตรเจนทั้งหมดในถั่วชั๊ราโตรที่ปลูกเดี่ยว และที่ปลูกร่วมกับหญ้าโรค	33
ตารางที่ 8	เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์โปรตีนโดยวิธีไนยูเรท และเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนทั้งหมดในหญ้าโรคที่ปลูกเดี่ยวและที่ปลูกร่วมกับถั่วชั๊ราโตร	35
ตารางที่ 9	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดกับน้ำหนักแห้งของหญ้าโรค	38
ตารางที่ 10	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดกับน้ำหนักแห้งของถั่วชั๊ราโตร	40
ตารางที่ 11	เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนทั้งหมดของถั่วชั๊ราโตรและหญ้าโรค	42
ตารางที่ 12	เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนที่หาโดยวิธีไนยูเรทของถั่วชั๊ราโตรและหญ้าโรคทั้งที่ปลูกเดี่ยวและที่ปลูกผสมกับหญ้าโรค	44
ตารางที่ 13	เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์โปรตีนและแฉกคิวิต์ของการรีคิวชอะเซที่สิ้นของถั่วชั๊ราโตรและหญ้าโรคที่ปลูกเดี่ยว	45
ตารางที่ 14	เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน และแฉกคิวิต์ของการรีคิวชอะเซที่สิ้นของถั่วชั๊ราโตรและหญ้าโรคที่ปลูกเดี่ยว	48

ตารางที่ 15	เปรียบเทียบปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของดินในกระถางที่ปลูกด้วย ซีราโตรและหญ้าโรตทั้งที่ปลูกเดี่ยวและที่ปลูกร่วมกัน	50
ตารางที่ 16	การใช้สารสกัดคาร์บอนชนิดต่าง ๆ ของเชื้อไรโซเบียม	54

รายการรูปประกอบ

		หน้า
รูปที่ 1	ขบวนการสังเคราะห์แสงแบบ Hatch Slack pathway	4
รูปที่ 2	ภาพอุปกรณ์ที่ใช้ในการหาประสิทธิภาพของการตรึงไนโตรเจน	17
รูปที่ 3	ประสิทธิภาพในการรีดิวซ์อะเซทิลีนของถั่วชิราโตร	21
รูปที่ 4	ลอการิทึมของจำนวนปม น้ำหนักสดของปม น้ำหนักแห้งของต้น และน้ำหนักแห้งของรากกับอายุของถั่วชิราโตรที่ปลูกเดี่ยว	24
รูปที่ 5	เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์โปรตีนและเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนของถั่วชิราโตร และหญ้าโรคที่ปลูกเดี่ยว	36
รูปที่ 6	ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และน้ำหนักแห้งของหญ้าโรคที่ปลูกเดี่ยว และที่ปลูก ร่วมกับถั่วชิราโตร	39
รูปที่ 7	ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดและน้ำหนักแห้งของถั่วชิราโตรที่ปลูกเดี่ยว และที่ ปลูกร่วมกับหญ้าโรค	41
รูปที่ 8	เปอร์เซ็นต์โปรตีนและแอคทิวิตีของการรีดิวซ์อะเซทิลีนในถั่วชิราโตรและ หญ้าโรคที่ปลูกร่วมกัน	47
รูปที่ 9	เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนและแอคทิวิตีของการรีดิวซ์อะเซทิลีนของถั่วชิราโตร และหญ้าโรคที่ปลูกร่วมกัน	49
รูปที่ 10	การเจริญเติบโตของเชื้อที่แยกได้จากปมถั่วชิราโตรและเชื้อไรโซเนียม บริสุทธิ์	52
รูปที่ 11	แสดงการเจริญเติบโตของถั่วชิราโตรที่ปลูกในทรายที่ปลอดเชื้อ	56
รูปที่ 12	แสดงลักษณะของรากและปมของถั่วชิราโตรที่ปลูกเมล็ดด้วยเชื้อไรโซเนียม ที่แยกได้ก่อนปลูกในทรายที่ปลอดเชื้อ	57

รูปที่ 13	แสดงลักษณะของรากของถั่วรีราโตรที่ไม่โคคลุกเมล็ดด้วยเชื้อไรโซเบียมที่แยกโคคลอกปลูกในทรายที่ปลอดเชื้อ	58
รูปที่ 14	ความสัมพันธ์ระหว่างแอกติวิตีของเอนไซม์ Pyruvate , phosphate dikinase กับปริมาณโปรตีนที่สกัดจากใบของหญ้าโรคและถั่วรีราโตร	59