บทที่ 3

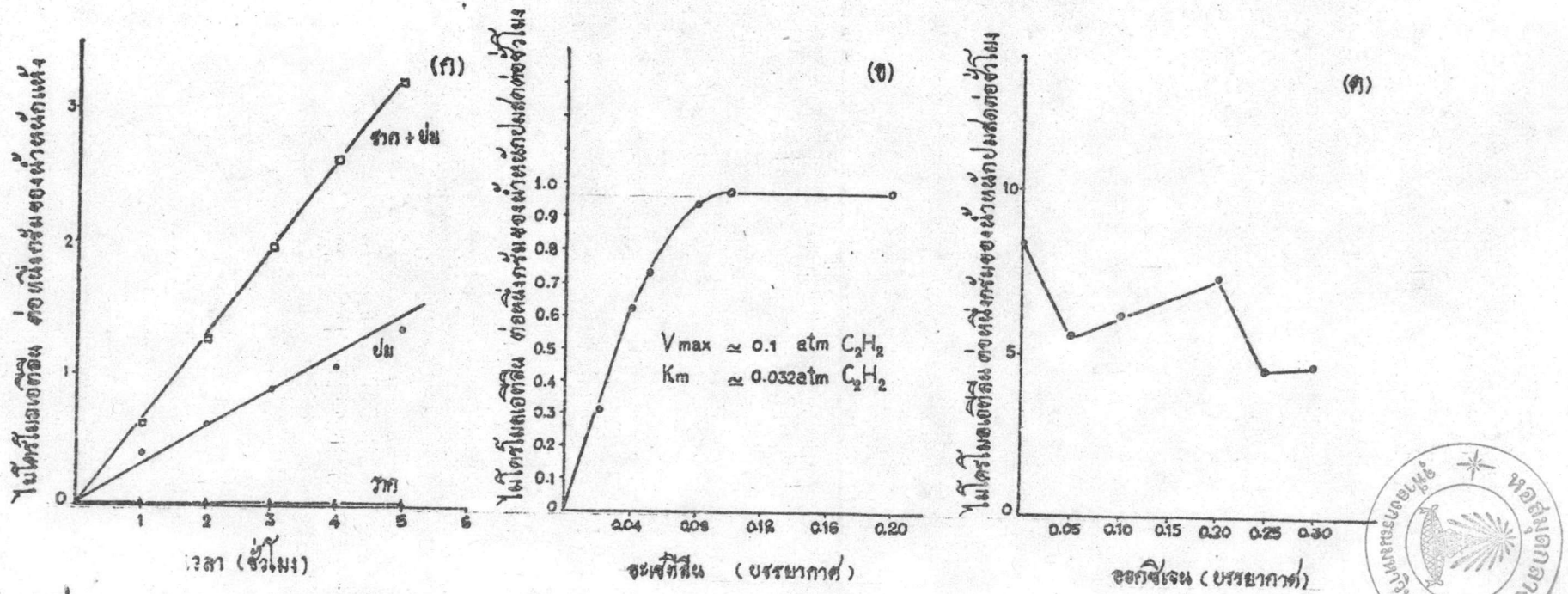
ผลการวิจัย

1. สภาวะที่เหมาะสมสำหรับวิธีอะเซทีลีนรีดักชั่น

การทดลองเพื่อหาสภาพที่เหมาะสมของการรีดิวซ์อะเซทีลีนจากปมรากของตัวอย่าง พบว่ารากของถั่วชีราโตรที่มีปมติดอยู่ให้ประสิทธิภาพของการรีดิวซ์อะเซทีลีนได้สูงกว่าปมอย่างเดียว ส่วนรากที่ไม่มีปมติดอยู่จะไม่มีการตรึงไนโตรเจนเลย แสดงในรูป 3 (ก) ค่าแอ็คติวิตี้ของการรีดิวซ์อะเซทีลีนนี้จะเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับระยะเวลาที่อินคิวเบทในช่วง 5 ชั่วโมงที่ทำการศึกษา

เมื่ออินคิวเบทรากของถั่วชีราโตรที่มีปมติดอยู่ในบรรยากาศของอะเซทีลีน 0 – 0.2 บรรยากาศ พบว่าแอ็คติวิตี้ของการรีดิวซ์อะเซทีลีนจะเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณอะเซทีลีนที่เพิ่มขึ้น และถึงค่าสูงสุดเมื่อมีอะเซทีลีนเท่ากับ 0.1 บรรยากาศ จากนั้นจะไม่เปลี่ยนแปลงดังแสดงในรูป 3 (ข) ความเร็วสูงสุดของปฏิกริยา (V_{max}) ประมาณ 0.1 บรรยากาศ และค่า Km ประมาณ 0.032 บรรยากาศ

ในทำนองเดียวกันการอินคิวเบทรากของถั่วชีราโตรในออกซิเจนจาก 0 – 0.3 บรรยากาศ ปรากฏว่า แอ็คติวิตี้ของการรีดิวซ์อะเซทีลีนมีค่าสูงสุดเมื่อไม่มีออกซิเจน ดังแสดงในรูปที่ 3 (ค) และลดลง 32, 26, 12, 47 และ 44 เปอร์เซนต์เมื่อมีออกซิเจน 0.05, 0.1, 0.2, 0.25 และ 0.3 บรรยากาศตามลำดับ ผลการทดลองดังข้างต้นทำให้ได้ข้อสรุปว่า รากพืชทั้งหมดจะเป็นตัวอย่างที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการทดลองหาการตรึงไนโตรเจนโดยบรรยากาศของก๊าซที่เหมาะสมในการอินคิวเบทคือ อาร์กอน : อะเซทีลีนเท่ากับ 90 : 10 เป็นเวลาไม่เกิน 5 ชั่วโมง ซึ่งในการทดลองนี้ใช้เวลาในการอินคิวเบท 1 ชั่วโมง



รูปที่ 3 ประสิทธิภาพในการรีดิวซ์อะเซทีลีนของถั่วซีราโตร

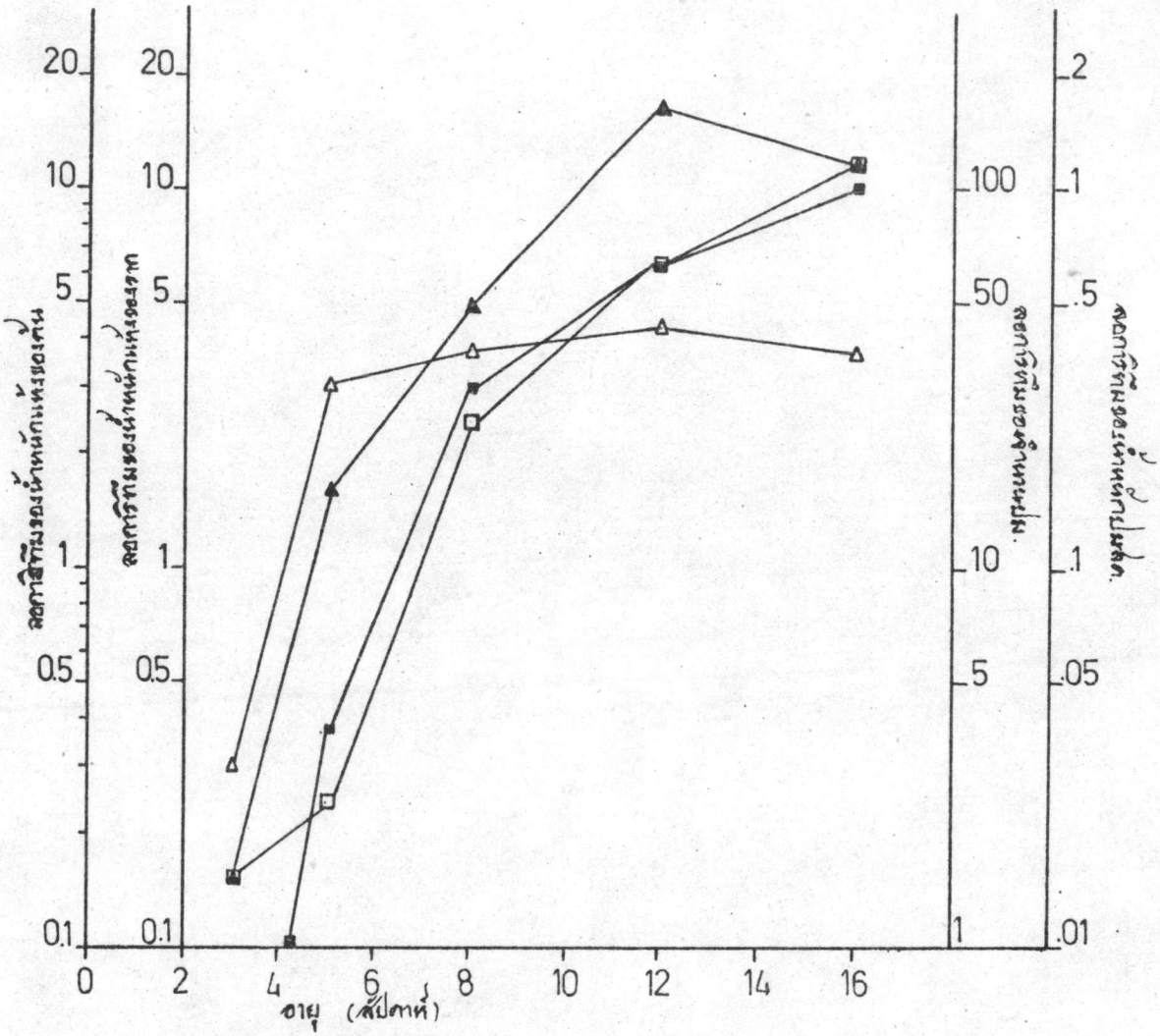
เก็บตัวอย่างถั่วซีราโตรอายุ 32 วัน ตัดเฉพาะส่วนรากล้างให้สะอาดซับน้ำให้แห้งแล้วนำมาทำการทดลองดังนี้ (ก) วัดปริมาณของเอทีลีนที่เกิดขึ้นเมื่ออินคิวเบทราก + ปม □—□, ปมอย่างเดียว ●—●, รากอย่างเดียว ▲—▲ ภายใต้บรรยากาศอาร์กอน:ออกซิเจน = 80:20 และอะเซทีลีน 0.1 บรรยากาศที่เวลา 1–5 ชั่วโมง (ข) วัดแอ็คติวิตี้จำเพาะของการรีดิวซ์อะเซทีลีนเมื่ออินคิวเบทรากที่มีปมติดอยู่ภายใต้บรรยากาศอาร์กอน:ออกซิเจน=80:20 และอะเซทีลีน 0.02–0.2 บรรยากาศ (ค) วัดแอ็คติวิตี้จำเพาะของการรีดิวซ์อะเซทีลีนเมื่ออินคิวเบทรากที่มีปมติดอยู่ภายใต้บรรยากาศอาร์กอน: อะเซทีลีน=90:10 และออกซิเจน 0–0.3 บรรยากาศ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 2 ครั้ง

2. ลักษณะการเจริญเติบโตของถั่วซีราโตรและหญ้าโรด

พืชอาหารสัตว์ที่เหมาะสมสำหรับนำมาใช้ทำทุ่งหญ้าสำหรับเลี้ยงสัตว์ควรเป็นพืชที่มีการเจริญเติบโตเร็วและให้ผลผลิตสูง ปรากฏว่าทั้งถั่วซีราโตรและหญ้าโรดให้คุณสมบัติตรงทั้งสองชนิด กล่าวคือ พืชจะโตเต็มที่ภายใน 16 สัปดาห์ สำหรับถั่วซีราโตรหลังจากเมล็ดงอกแล้วการเจริญเติบโตจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว การเติบโตในระยะแรกจนถึงสัปดาห์ที่ 5 จะให้ลำต้นตั้งตรง หลังจากนั้นจะเริ่มมีการทอดยอดเป็นเถาเลื้อยไปตามหลักไม้ที่ปักไว้ การแตกข้อของลำต้นจะเริ่มขึ้นเมื่อสัปดาห์ที่ 6 ข้อที่แตกจะทอดยอดเลื้อยออกไปเรื่อย ๆ ดอกจะปรากฏให้เห็นในราวสัปดาห์ที่ 7 ลักษณะของดอกมีสีแดงเข้ม ส่วนฝักจะเกิดภายหลังมีดอกราว 1 สัปดาห์ ลักษณะของฝักเรียวเล็กมีความยาวประมาณ 7.5 – 10.5 เซนติเมตร ภายในมี 12 – 13 เมล็ดต่อฝัก ฝักของถั่วซีราโตรจะแตกง่ายเมื่อแก่ การออกดอก การติดฝัก และการแตกของฝักนี้จะเกิดขึ้นตลอดเวลาในช่วงอายุ 7 – 16 สัปดาห์ พบว่าใบถั่วเริ่มเหลืองและเริ่มมีการร่วงของใบในปลายสัปดาห์ที่ 16 ตลอดช่วงการเจริญเติบโตของถั่วซีราโตรนี้ได้บันทึกน้ำหนักสด น้ำหนักแห้งของต้นและน้ำหนักแห้งของรากรวมทั้งจำนวนปมและน้ำหนักของปม ลักษณะดังกล่าวต่าง ๆ แสดงไว้ในตารางที่ 1 พบว่าน้ำหนักแห้งของต้นและน้ำหนักแห้งของรากจะเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนแบบทวีคูณกับอายุในระยะ 8 สัปดาห์แรกและเป็นสัดส่วนโดยตรงใน 8 สัปดาห์หลัง ซึ่งจะเห็นได้ชัดเจนโดยการพลอตลอการิทึมของน้ำหนักแห้งของต้นและน้ำหนักแห้งรากกับอายุของต้นถั่ว (รูปที่ 4) น้ำหนักแห้งของต้นโดยเฉลี่ยประมาณ 15.05 เปอร์เซนต์ของน้ำหนักสด ปมจะปรากฏให้เห็นประมาณ 3 – 4 ปมภายใน 3 – 4 สัปดาห์ ลักษณะของปมค่อนข้างกลม เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 มิลลิเมตร เกาะอยู่ที่บริเวณโคนรากแก้ว จำนวนปมจะเพิ่มขึ้นเมื่ออายุของถั่วเพิ่มขึ้น เมื่อถั่วอายุได้ 5 สัปดาห์พบว่าจำนวนปมเพิ่มขึ้น 10 – 15 เท่า ขนาดของปมมีทั้งใหญ่และเล็กปะปนกัน การกระจายของปมจะมีทั่วไปทั้งบริเวณที่เป็นรากแก้วและที่เป็นรากฝอย จำนวนปมต่อต้นจะสูงสุดประมาณ 42 ปมต่อต้นเมื่อพืชมีอายุ 12 สัปดาห์ หลังจากนั้นจำนวนปมโดยเฉลี่ยต่อต้นจะลดลง และในระยะหลังนี้ปมจะกระจายอยู่ในส่วนที่เป็นรากฝอยเท่านั้น เมื่อพิจารณาถึงด้านน้ำหนักของปมพบว่าปมจะมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นเมื่อถั่วมีอายุเพิ่มขึ้นจนถึงอายุ 12 สัปดาห์ ในทำนองเดียวกันเมื่อพลอ ตลอการิทึมของจำนวนปมและน้ำหนักปมควบคู่กับอายุของถั่ว (แสดงในรูปที่ 4 เช่นกัน)พบว่า ค่าทั้งสองไม่มีความสัมพันธ์กัน

ตารางที่ 1 ลักษณะการเจริญเติบโตของถั่วซีราโตรที่ปลูกเดี่ยว

เวลาที่เก็บตัวอย่าง (สัปดาห์)	น้ำหนักสดของต้น (กรัมต่อต้น)	น้ำหนักแห้งของต้น (กรัมต่อต้น)	น้ำหนักแห้งของราก (กรัมต่อกระถาง)	จำนวนปมต่อต้น	น้ำหนักสดของปม (กรัมต่อต้น)	ข้อสังเกต
3	1.003 ± 0.126	0.051 ± 0.019	0.009 ± 0.001	3 ± 1	0.015 ± 0.015	ขนาดของปมเล็ก กลมอยู่บริเวณโคนราก
5	1.575 ± 0.146	0.237 ± 0.022	0.377 ± 0.015	31 ± 6	0.159 ± 0.082	ขนาดของปมเล็กใหญ่คละกัน พบเพิ่มขึ้นบริเวณรากฝอยด้วย
8	15.814 ± 3.734	2.380 ± 0.562	2.982 ± 0.661	37 ± 15	0.500 ± 0.031	ลำต้นเลื้อย มีดอกสีแดงเข้ม และเริ่มมีฝักเกิดขึ้น
12	41.960 ± 3.734	6.315 ± 0.526	6.203 ± 1.609	42 ± 1	1.640 ± 0.080	มีฝักเกิดขึ้นมากคละกันทั้งอ่อนและแก่ พบปมที่รากฝอย
16	78.039 ± 6.884	11.745 ± 1.036	10.125 ± 1.920	37 ± 9	1.158 ± 0.462	ดอกยังมีบ้างประปราย มีฝักแก่มากขึ้น ปมขนาดใหญ่มาก



รูปที่ 4 ลอการิทึมของจำนวนปม น้ำหนักสดของปม น้ำหนักแห้งของต้น และน้ำหนักแห้งของรากกับอายุของถั่วซีราโตรที่ปลูกเดี่ยว

▲——▲——▲ ลอการิทึมของจำนวนปม

△——△——△ ลอการิทึมของน้ำหนักสดของปม

□——□——□ ลอการิทึมของน้ำหนักแห้งของต้น

■——■——■ ลอการิทึมของน้ำหนักแห้งของราก

แต่อย่างใด นอกจากนี้ยังไม่มีความสัมพันธ์กับน้ำหนักแห้งของต้นและน้ำหนักแห้งของรากอีกด้วย น้ำหนักแห้งทั้งหมดของต้นรวมกับของรากจะมีค่าสูงสุดเท่ากับ 21.87 กรัมเมื่อถั่วมีอายุ 16 สัปดาห์

สำหรับการเจริญเติบโตของถั่วซีราโตรที่ปลูกร่วมกับหญ้าโรดก็อยู่ในลักษณะเดียวกับถั่วซีราโตรที่ปลูกเดี่ยว ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2 กล่าวคือ ลำต้นที่งอกจากเมล็ดในช่วงแรกจะตั้งตรงและสูงขึ้นไปเรื่อย ๆ จนถึงสัปดาห์ที่ 5 จากนั้นจึงเริ่มทอดยอดเป็นเถาเลื้อยไปตามไม้ที่ปักไว้ การแตกขอของลำต้นจะเกิดขึ้นในราวสัปดาห์ที่ 6 ส่วนลักษณะอื่น ๆ เช่น การออกดอก การออกฝัก และระยะเวลาที่ออกดอก และติดฝัก เช่นเดียวกับในถั่วซีราโตรที่ปลูกเดี่ยว ใบจะเริ่มแก่ลงในราวสัปดาห์ที่ 16 เช่นกัน ดังตารางที่ 2 จะเห็นได้ว่า ลักษณะการเจริญเติบโตทั่ว ๆ ไปของถั่วซีราโตรที่ปลูกผสมกับหญ้าโรดก็เป็นเช่นเดียวกับของถั่วซีราโตรที่ปลูกเดี่ยว ยกเว้นแต่น้ำหนักแห้งของรากเท่านั้นที่ติดตามไม่ได้ เนื่องจากรากถั่วไดพันเข้ากับรากของหญ้าจนแยกจากกันไม่ได้ อย่างไรก็ตามน้ำหนักแห้งของรากถั่วรวมกับรากหญ้าเพิ่มขึ้นเมื่อถั่วอายุเพิ่มขึ้น ข้อที่น่าสังเกตก็คือ น้ำหนักแห้งของถั่วซีราโตรที่ปลูกเดี่ยวในช่วง 3 สัปดาห์แรกจะเพิ่มสูงกว่าถั่วซีราโตรที่ปลูกผสมกับหญ้าโรด และน้ำหนักแห้งในช่วงถัดไปก็มีแนวโน้มแบบเดียวกัน แม้ว่าจะเกิดมีความแตกต่างของการเจริญเติบโตในระยะแรก แต่ว่าการเกิดปม จำนวนปม น้ำหนักปม การกระจายของปม การหายไปของปม ก็เป็นอยู่ในลักษณะเดียวกับถั่วซีราโตรที่ปลูกเดี่ยวดังกล่าวมาแล้ว

สำหรับการเจริญเติบโตของหญ้าโรด จะเป็นดังนี้คือ ภายหลังจากที่ลำต้นงอกจากเมล็ดแล้วมันก็จะสูงขึ้นตามอายุของหญ้า และเริ่มมีการออกดอกในสัปดาห์ที่ 10 ดอกมีสีขาวเป็นแฉก (แบบdigitaria panicle) และออกดอกเพียงครั้งเดียวตลอดอายุการปลูก ได้ติดตามการเจริญเติบโตของหญ้าโรดโดยใช้ปริมาณน้ำหนักสด น้ำหนักแห้งของต้น และน้ำหนักแห้งของราก ดังแสดงไว้ในตารางที่ 3 พบว่าน้ำหนักสด น้ำหนักแห้งของต้น และน้ำหนักแห้งของรากเพิ่มขึ้นเมื่อหญ้ามีอายุเพิ่มขึ้น น้ำหนักแห้งของต้นโดยเฉลี่ยประมาณ 17.9 เปอร์เซนต์ของน้ำหนักสด และการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นเป็นปฏิภาคโดยตรงกับการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักแห้งของราก

สำหรับหญ้าโรดที่ปลูกร่วมกับถั่วซีราโตร ลักษณะการเจริญเติบโตของมันเช่นเดียวกับหญ้าโรดที่ปลูกเดี่ยว ไม่ว่าจะเป็นการเจริญเติบโตของลำต้นหรือการออกดอก ดังแสดงไว้ในตารางที่ 4 ข้อที่

ตารางที่ 2 ลักษณะการเจริญเติบโตของถั่วซีราโตรที่ปลูกร่วมกับหญ้าโรด

เวลาที่เก็บตัวอย่าง (สัปดาห์)	น้ำหนักสดของต้น (กรัมต่อต้น)	น้ำหนักแห้งของต้น (กรัมต่อต้น)	น้ำหนักแห้งของรากรวม (กรัมต่อกระถาง)	จำนวนปมต่อต้น	น้ำหนักสดของปม (กรัมต่อต้น)	ข้อสังเกต
3	0.598± 0.199	0.090± 0.030	1.285± 1.077	2± 0	0.014± 0.006	ขนาดของปมเล็ก กลม อยู่บริเวณโคนรากแก้ว
5	2.039± 0.870	0.307± 0.131	3.339± 0.049	30± 9	0.214± 0.100	ขนาดของปมเล็กใหญ่คละกัน พบเพิ่มขึ้นบริเวณรากฝอยด้วย
8	25.628± 7.435	2.857± 1.110	5.681± 0.711	42± 22	0.916± 0.566	ลำต้นเลื้อย มีดอกสีแดง และเริ่มมีฝักเกิดขึ้นด้วย
12	33.282 ±2.877	5.009 ±0.433	10.050 ±2.397	30 ±5	1.026 ±0.131	มีฝักเกิดขึ้นมากทั้งอ่อนและแก่คละกัน พบปมที่รากฝอย
16	65.136 ±13.369	9.803 ±2.012	13.278 ±2.253	51 ±2	1.234 ±0.197	ดอกยังมีบ้างประปราย มีฝักแก่มากขึ้น ปมขนาดใหญ่มาก

ตารางที่ 3 ลักษณะการเจริญเติบโตของหญ้าโรดที่ปลูกเดี่ยว

เวลาที่เก็บตัวอย่าง (สัปดาห์)	น้ำหนักสดของต้น (กรัมต่อต้น)	น้ำหนักแห้งของต้น (กรัมต่อต้น)	น้ำหนักแห้งของราก (กรัมต่อต้น)	ข้อสังเกต
3	0.665 ± 0.313	0.119 ± 0.056	0.176 ± 0.068	ลำต้นมีลักษณะเป็นกอ ใบลักษณะเล็กเรียวยาว
5	2.235 ± 0.609	0.416 ± 0.109	1.324 ± 0.200	จำนวนใบเพิ่มมากขึ้น ขนาดใหญ่และยาวขึ้น
8	7.334 ± 1.056	1.312 ± 0.189	4.188 ± 1.260	ลำต้นเป็นกอใหญ่ และสูงขึ้น
12	10.134 ± 1.006	1.813 ± 0.180	4.947 ± 0.494	ดอก, ก้านดอกยาว ดอกมีสีขาวเป็นแฉก
16	19.955 ± 2.795	3.570 ± 0.500	8.100 ± 2.061	เมล็ดร่วงไปแล้ว มีส่วนของใบที่หมดอายุเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 4 ลักษณะการเจริญเติบโตของหญ้าโรดที่ปลูกร่วมกับถั่วซีราโตร

เวลาที่เก็บตัวอย่าง (สัปดาห์)	น้ำหนักสดของต้น (กรัมต่อต้น)	น้ำหนักแห้งของต้น (กรัมต่อต้น)	ข้อสังเกต
3	0.173 ± 0.084	0.031 ± 0.015	ลำต้นมีลักษณะเป็นกอ มีใบเล็กเรียวยาว
5	2.079 ± 0.665	0.372 ± 0.119	จำนวนใบเพิ่มมากขึ้น มีขนาดใหญ่และยาวขึ้น
8	2.594 ± 0.425	0.464 ± 0.076	ลำต้นเป็นกอใหญ่ และสูงขึ้น
12	8.167 ± 2.040	1.461 ± 0.365	มีดอก, ก้านดอกยาว ดอกสีขาวเป็นแฉก
16	16.758 ± 1.867	2.998 ± 0.334	เมล็ดร่วงไปแล้ว มีส่วนของใบที่หมดอายุเพิ่มมากขึ้น

หมายเหตุ น้ำหนักแห้งของรากหญ้าที่ปลูกร่วมกับถั่วไม่สามารถหาได้ เนื่องจากรากหญ้าพันกับรากถั่วที่ปลูกร่วมด้วย จนแยกจากกันไม่ได้

น่าสังเกตก็คือ หญ้าโรคที่ปลูกเดี่ยวมีน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของต้นสูงกว่าหญ้าโรคที่ปลูกร่วมกับถั่วซีราโตรในช่วงอายุ 3 สัปดาห์แรก หลังจากนั้นจะมีค่าใกล้เคียงกันตลอดอายุการปลูก และเมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของหญ้าโรคทั้งที่ปลูกเดี่ยวและที่ปลูกร่วมกับถั่วซีราโตร กับ ถั่วซีราโตรที่ปลูกเดี่ยวและที่ปลูกร่วมกับหญ้าโรค จากน้ำหนักแห้งของต้น จะเห็นได้ว่าน้ำหนักแห้งของหญ้าโรคจะน้อยกว่าน้ำหนักแห้งของถั่วซีราโตรประมาณ 3 เท่า เมื่อสิ้นสุดอายุการปลูก

3. <u>ปริมาณการตรึงไนโตรเจนของถั่วซีราโตรและหญ้าโรค</u>

ในการเจริญเติบโตของพืช อนุมูลอัมโมเนียมจำเป็นสำหรับการสังเคราะห์โปรตีน ปริมาณของอนุมูลอัมโมเนียมที่ต้องการอาจได้มาจากดินในรูปของอนุมูลไนเตรท และหรือ อาจได้ในรูปของอัมโมเนียโดยตรงซึ่งขับออกมาจากแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ที่ปมรากของพืชโดยการตรึงไนโตรเจน ความสามารถในการตรึงไนโตรเจนนี้วัดได้จากแอ็คติวิตี้ของการเปลี่ยนอะเซทีลีน เป็น เอทีลีน หรือเรียกว่าการรีดิวซ์อะเซทีลีน พบว่า แอ็คติวิตี้ของการรีดิวซ์อะเซทีลีนของถั่วซีราโตรสามารถตรวจสอบได้เมื่อถั่วอายุได้ 3 สัปดาห์ ให้แอ็คติวิตี้ทั้งหมดของการรีดิวซ์อะเซทีลีนต่อต้นได้เท่ากับ 0.26 ± 0.18 ไมโครโมลต่อชั่วโมงต่อต้น แสดงในตารางที่ 5 และมีแอ็คติวิตี้เพิ่มขึ้นเป็น 4 เท่า คือเท่ากับ 0.87 ± 0.41 ไมโครโมลต่อชั่วโมงต่อต้น เมื่อถั่วมีอายุได้ 5 สัปดาห์ แอ็คติวิตี้นี้จะลดลงครึ่งหนึ่งเหลือเท่ากับ 0.43 ± 0.23 ไมโครโมลต่อชั่วโมงต่อต้น เมื่อถั่วอายุได้ 8 สัปดาห์ ช่วงเวลานี้ตรงกับระยะที่ถั่วกำลังออกดอกและติดฝัก จากนั้นแอ็คติวิตี้จะเพิ่มขึ้นอีกเป็น 1.33 ± 0.25 ไมโครโมลต่อชั่วโมงต่อต้น เมื่อถั่วอายุ 12 สัปดาห์ หลังจากนี้แล้วแอ็คติวิตี้เกือบไม่เปลี่ยนแปลงจนสิ้นสุดอายุของถั่วในราว 16 สัปดาห์สำหรับหญ้าโรคพบการตรึงไนโตรเจน เมื่อหญ้าอายุได้ 3 – 8 สัปดาห์ แต่ค่าแอ็คติวิตี้ทั้งหมดน้อยมากเมื่อเทียบกับของถั่วซีราโตร หลังจาก 8 สัปดาห์ไปแล้วไม่พบว่ามีแอ็คติวิตี้ของการรีดิวซ์อะเซทีลีนอีกเลยตลอดอายุการปลูก จะสังเกตได้ว่าน้ำหนักแห้งของหญ้าที่ได้ก็มีปริมาณน้อยกว่าน้ำหนักแห้งของถั่ว (ตารางที่ 1 และ 4)

4. <u>ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนปมหรือน้ำหนักปมกับการตรึงไนโตรเจน</u>

สำหรับถั่วซีราโตรค่าแอ็คติวิตี้ทั้งหมดของการรีดิวซ์อะเซทีลีนจะเพิ่มขึ้นเมื่อจำนวนปมเพิ่มขึ้นใน 5 สัปดาห์แรก (ตารางที่ 5) ขณะที่จำนวนปมแทบจะไม่มีการเปลี่ยนแปลงตลอดอายุ 5 – 16

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบแอ็คติวิตี้ของการรีดิวซ์อะเซทีลีนของถั่วซีราโตรและหญ้าโรด

เวลาที่เก็บตัวอย่าง (สัปดาห์)	ถั่วซีราโตร			หญ้าโรด	
	จำนวนปม (ต่อต้น)	น้ำหนักปม (กรัมต่อต้น)	แอ็คติวิตี้ของการรีดิวซ์อะเซทีลีน (ไมโครโมล ต่อ – ชั่วโมงต่อต้น)	น้ำแห้งของราก (กรัมต่อต้น)	แอ็คติวิตี้ของการรีดิวซ์อะเซทีลีน (ไมโครโมล ต่อ ชั่วโมงต่อต้น)
3	3 ± 1	0.015 ± 0.015	0.260 ± 0.180	0.088 ± 0.034	0.008 ± 0.003
5	31 ± 6	0.159 ± 0.082	0.870 ± 0.410	0.331 ± 0.050	0.017 ± 0.002
8	37 ± 15	0.500 ± 0.031	0.490 ± 0.230	1.396 ± 0.420	0.013 ± 0.001
12	42 ± 1	1.640 ± 0.080	1.330 ± 0.250	1.649 ± 0.198	0
16	37 ± 9	1.158 ± 0.462	1.320 ± 0.700	2.700 ± 0.687	0

วิธีหาจำนวนปม น้ำหนักปม และแอ็คติวิตี้ของการรีดิวซ์อะเซทีลีนแสดงไว้ในวิธีการทดลอง ค่าที่รายงานเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ครั้ง

สัปดาห์ ซึ่งจะเห็นได้ว่าการเปลี่ยนแปลงของค่าแอคติวิตี้ทั้งหมดของการรีดิวซ์อะเซทีลีนไม่มีความสัมพันธ์กับจำนวนปมตลอดช่วงอายุของถั่ว ให้ค่า χ^2= 6,000 (ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ χ^2 = 9.49) (ตารางที่ 6) แต่เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักสดของปมกับแอคติวิตี้ทั้งหมดของการรีดิวซ์อะเซทีลีน พบว่า ทั้งน้ำหนักปมและแอคติวิตี้ทั้งหมดของการรีดิวซ์อะเซทีลีนจะเพิ่มขึ้นเป็นปฏิภาคกัน เมื่อถั่วมีอายุ 3 – 5 สัปดาห์ และเมื่อถั่วอายุได้ 8 – 12 สัปดาห์น้ำหนักปมสดจะยังคงเพิ่มขึ้นต่อไป และปริมาณการตรึงไนโตรเจนก็เพิ่มขึ้นด้วย ระยะช่วงหลังจากนี้น้ำหนักปมและแอคติวิตี้ทั้งหมดของการรีดิวซ์อะเซทีลีนมีค่าเกือบคงที่ จะเห็นว่าน้ำหนักปมจะมีการกระจายกับอายุเช่นเดียวกับการตรึงไนโตรเจนของถั่วซีราโตรให้ค่า χ^2= 0.9 (ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ χ^2= 9.49)

5. <u>กรรชนีแสดงคุณค่าทางอาหารของถั่วซีราโตรและหญ้าโรด</u>

โปรตีนเป็นคุณลักษณะอันหนึ่งที่กำหนดคุณภาพของพืชอาหารสัตว์ การหาปริมาณโปรตีนอาจทำได้โดยตรงจากวิธีไบยูเรท หรือ โดยอ้อมจากการคำนวนจากปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่หาโดยวิธีเคลดาล์

5.1 <u>การกระจายของเปอร์เซนต์โปรตีนโดยวิธีไบยูเรทและเปอร์เซนต์ไนโตรเจนทั้งหมดกับอายุของถั่วซีราโตร</u>

เมื่อนำใบถั่วซีราโตรทั้งที่ปลูกเดี่ยว และที่ปลูกร่วมกับหญ้าโรดมาหาปริมาณโปรตีนโดยวิธีไบยูเรท พบว่าแนวโน้มของปริมาณโปรตีนจากถั่วที่ปลูกทั้งสองแบบเพิ่มขึ้นตลอดอายุถั่ว แสดงในตารางที่ 7 อัตราการเพิ่มขึ้นในช่วง 3 สัปดาห์แรกจะเร็วกว่าช่วงถัดมา แม้การปรวนแปรของเปอร์เซนต์โปรตีนกับอายุที่พบในถั่วซีราโตรที่ปลูกเดี่ยวและถั่วซีราโตรที่ปลูกร่วมกับหญ้าโรดจะผิดกันไปบ้าง แต่ความปรวนแปรนี้มีนัยสำคัญตรงกับน้ำหนักแห้ง (ดูตารางที่ 1 และ 2 ประกอบ) อย่างไรก็ตามความแตกต่างทางเปอร์เซนต์โปรตีนของใบถั่วต้นอ่อนซึ่งมีอายุประมาณ 3 สัปดาห์ และต้นแก่ซึ่งมีอายุประมาณ 16 สัปดาห์จะอยู่ในราว 2 เท่าเท่า ๆ กันซึ่งมีนัยสำคัญอย่างเด่นชัด

เมื่อนำต้นถั่วไปหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดโดยวิธีเคลดาล์ ผลการทดลอง พบว่าค่าเปอร์เซนต์ไนโตรเจนทั้งหมดจากถั่วซีราโตรทั้งที่ปลูกเดี่ยว และปลูกร่วมกับหญ้าโรดจะมีค่าเกือบคงที่

ตารางที่ 6 ความสัมพันธ์ทางสถิติของการกระจายตัวของจำนวนปม, น้ำหนักสดของปม และแอ็คติวิตี้ของการรีดิวซ์อะเซทีลีน ค่าที่แสดงเป็น Chi - Square

ความสัมพันธ์ของการกระจายตัวกับอายุของจำนวนปม น้ำหนักสดของปม และ การตรึงไนโตรเจน	Chi - Square (χ^2)	Goodness of fit
จำนวนปม กับ น้ำหนักสดของปม	86.91	-
จำนวนปม กับ แอ็คติวิตี้ของการรีดิวซ์อะเซทีลีน	6,000.00	-
น้ำหนักสดของปม กับ แอ็คติวิตี้ของการรีดิวซ์อะเซทีลีน	0.90	+

หมายเหตุ ค่า χ^2 คำนวณจากสูตร $\chi^2 = \sum_i \frac{(O_i - e_i)^2}{e_i}$ (Walpole 1974)

ในการทดลองนี้ทำการเก็บตัวอย่างทั้งหมด 5 ช่วงอายุ ดังนั้นค่า degree of freedom มีค่าเท่ากับ 4 ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ $\chi^2 df_4$ มีค่าเท่ากับ 9.488 ถ้า χ^2 ที่หาได้มีค่าตั้งแต่ 0 - 9.488 แสดงว่ามีลักษณะการกระจายของ parameter คู่ที่สนใจกับอายุเหมือนกัน และ Goodness of fit เป็น (+) ถ้ามีค่ามากกว่า 9.488 แสดงว่าลักษณะการกระจายของ parameter คู่นั้น และ Goodness of fit เป็น (-)

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบเปอร์เซนต์โปรตีนโดยวิธีไบยูเรทและไนโตรเจนทั้งหมด ในถั่วซีราโตรที่ปลูกเดี่ยวและที่ปลูกร่วมกับหญ้าโรด

เวลาที่เก็บตัวอย่าง (สัปดาห์)	เปอร์เซนต์โปรตีนในใบ		เปอร์เซนต์ไนโตรเจนทั้งหมด	
	ถั่วซีราโตรที่ปลูกเดี่ยว	ถั่วซีราโตรที่ปลูกร่วมกับหญ้าโรด	ถั่วซีราโตรที่ปลูกเดี่ยว	ถั่วซีราโตรที่ปลูกร่วมกับหญ้าโรด
3	14.83 ± 2.34	13.30 ± 2.50	4.65 ± 0.56	3.95 ± 2.30
5	8.70 ± 1.22	16.94 ± 3.03	3.69 ± 0.97	2.99 ± 1.10
8	16.10 ± 0.38	25.36 ± 1.81	3.89 ± 0.80	2.90 ± 0.95
12	17.41 ± 0.93	27.58 ± 2.13	3.36 ± 0.78	3.00 ± 1.36
16	21.64 ± 2.83	22.30 ± 5.98	3.67 ± 1.12	3.08 ± 0.02

การหาค่าเปอร์เซนต์โปรตีนและไนโตรเจนทั้งหมด ทำตามวิธีที่รายงานในวิธีการทดลอง ค่าที่รายงานเป็นค่าเฉลี่ยจากผลการทดลอง 3 ครั้ง

ตลอดอายุของถั่ว

5.2 การกระจายของเปอร์เซนต์โปรตีนโดยวิธีไบยูเรทและเปอร์เซนต์ไนโตรเจนทั้งหมดกับอายุของหญ้าโรด

เมื่อนำส่วนที่โผล่เหนือดิน 1 เซนติเมตรของหญ้าโรดมาหาปริมาณโปรตีนโดยวิธีไบยูเรทพบว่า เปอร์เซนต์โปรตีนในหญ้าต้นอ่อนจะสูง และปริมาณนี้จะลดลงเรื่อยๆกับอายุการปลูกของหญ้าโรด ดังแสดงในตารางที่ 8 ความแตกต่างของเปอร์เซนต์โปรตีนที่พบระหว่างต้นอ่อนและต้นแก่จะแปรอยู่ราว 10 เท่า การลดลงของเปอร์เซนต์โปรตีนในใบกับอายุของหญ้าโรดที่ปลูกร่วมกับซีราโตรก็เป็นไปโดยนัยเดียวกัน แม้ว่าจำนวนเท่าของการลดลงของเปอร์เซนต์โปรตีนจากต้นอ่อนและต้นแก่จะมีเพียง 8 เท่าก็ตาม สำหรับเปอร์เซนต์ไนโตรเจนทั้งหมดของหญ้าโรดทั้งที่ปลูกเดียวและที่ปลูกร่วมกับถั่วซีราโตร พบว่ามีค่าลดลงเมื่อหญ้าอายุเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน เพียงแต่ว่าแนวโน้มของเปอร์เซนต์ไนโตรเจนทั้งหมดในหญ้าโรดที่ปลูกร่วมกับถั่วซีราโตรจะมีปริมาณสูงกว่าหญ้าโรดที่ปลูกเดี่ยวอย่างเห็นได้ชัด การลดลงของเปอร์เซนต์ไนโตรเจนทั้งหมดของหญ้าในระยะต้นอ่อนในช่วงอายุ 3–5 สัปดาห์ จะเป็นไปอย่างรวดเร็วมากกว่าในระยะที่หญ้าแก่ขึ้นซึ่งประมาณอายุช่วงที่สูงกว่า 5 สัปดาห์ ในช่วงแรกนั้นการลดลงมากถึง 50 เปอร์เซนต์ ส่วนในช่วงอายุหลังๆการลดลงมีเพียงประมาณ 25 เปอร์เซนต์เท่านั้น

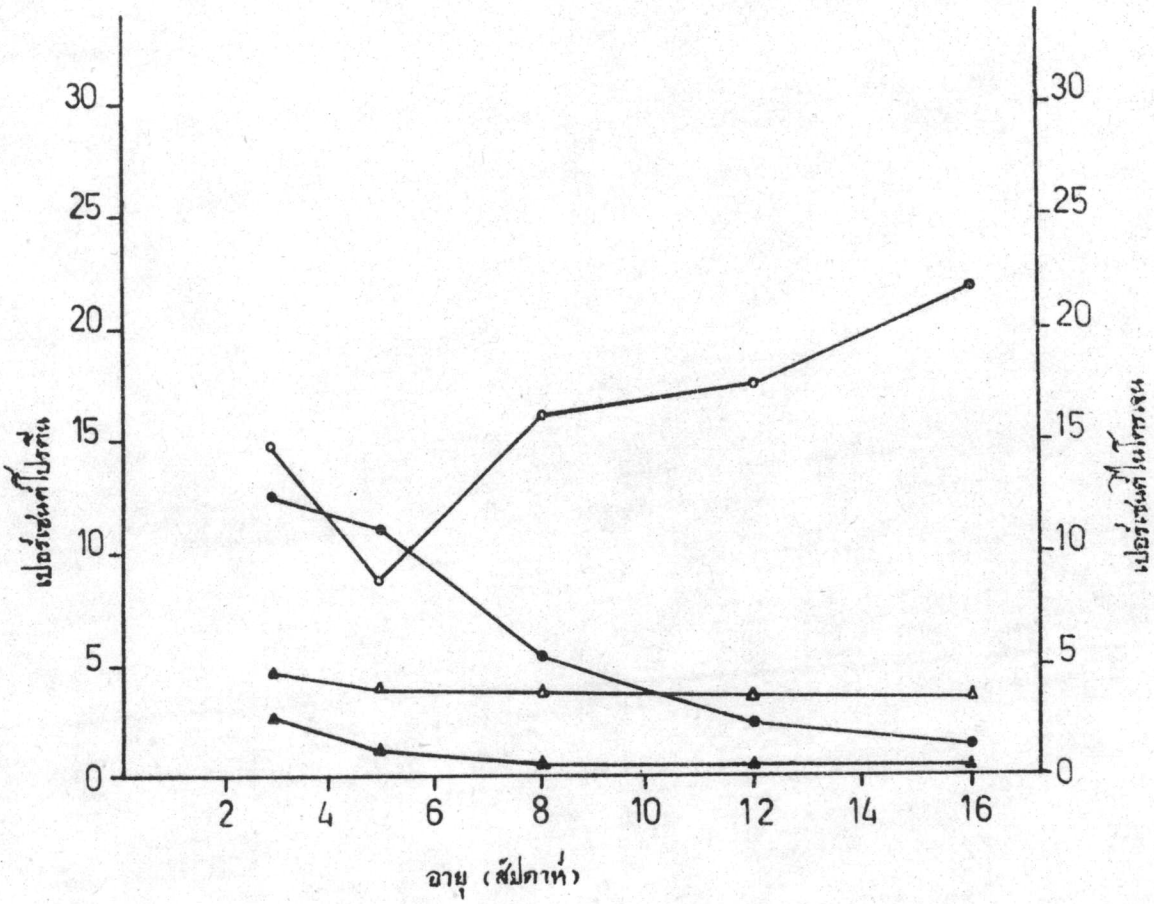
จากรูปที่ 5 แสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซนต์โปรตีนกับเปอร์เซนต์ไนโตรเจนของถั่วซีราโตรและหญ้าโรดควบคู่กัน จากรูปจะเห็นอย่างเด่นชัดว่าเปอร์เซนต์โปรตีนในใบหรือเปอร์เซนต์ไนโตรเจนทั้งหมดของถั่วจะสูงกว่าหญ้าอย่างมีนัยสำคัญ สังเกตได้ว่า การแปรปรวนของเปอร์เซนต์โปรตีนกับอายุของทั้งถั่วซีราโตรและหญ้าโรดมีแนวโน้มที่น่าสนใจ กล่าวคือ ในช่วงที่เป็นต้นอ่อนที่เปอร์เซนต์โปรตีนของถั่วซีราโตรลดลงนั้น เปอร์เซนต์โปรตีนในหญ้าโรดมีเป็นปริมาณสูงมาก แต่เมื่อพ้นช่วงนี้ไปแล้ว คือหลังจากสัปดาห์ที่ 5 เปอร์เซนต์โปรตีนของถั่วซีราโตรกลับเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว

หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบเปอร์เซนต์โปรตีนโดยวิธีไบยูเรท และเปอร์เซนต์ไนโตรเจนทั้งหมดในหญ้าโรดที่ปลูกเดี่ยวและที่ปลูกร่วมกับถั่วซีราโตร

เวลาที่เก็บตัวอย่าง (สัปดาห์)	เปอร์เซนต์โปรตีน		เปอร์เซนต์ไนโตรเจนทั้งหมด	
	หญ้าโรดที่ปลูกเดี่ยว	หญ้าโรดที่ปลูกร่วมกับถั่วซีราโตร	หญ้าโรดที่ปลูกเดี่ยว	หญ้าโรดที่ปลูกร่วมกับถั่วซีราโตร
3	12.35 ± 2.92	9.71 ± 2.49	2.68 ± 1.52	4.94 ± 0.89
5	11.03 ± 0.16	5.76 ± 0.99	1.29 ± 0.28	2.16 ± 0.29
8	7.07 ± 0.24	6.20 ± 0.46	0.81 ± 0.10	1.89 ± 0.84
12	2.48 ± 0.01	2.27 ± 0.19	0.59 ± 0.09	0.95 ± 0.34
16	1.52 ± 0.36	1.43 ± 0.09	0.51 ± 0.02	0.83 ± 0.00

การหาค่าเปอร์เซนต์โปรตีนและไนโตรเจนทั้งหมด ทำตามวิธีที่รายงานในวิธีทดลอง ค่าที่รายงานเป็นค่าเฉลี่ยจากผลของการทดลอง 3 ครั้ง



รูปที่ 5 เปรียบเทียบเปอร์เซนต์โปรตีนและเปอร์เซนต์ไนโตรเจนของถั่วซีราโตรและหญ้าโรดที่ปลูกเดี่ยว

เก็บตัวอย่างถั่วซีราโตรและหญ้าโรดตามวันที่กำหนด แล้วนำไปหาปริมาณโปรตีนโดยวิธีไบยูเรท และหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดตามวิธีการทดลอง ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ครั้ง

o——o——o เปอร์เซนต์โปรตีนในใบของถั่วซีราโตรที่ปลูกเดี่ยว

●——●——● เปอร์เซนต์โปรตีนในใบหญ้าโรดที่ปลูกเดี่ยว

△——△——△ เปอร์เซนต์ไนโตรเจนของถั่วซีราโตรที่ปลูกเดี่ยว

▲——▲——▲ เปอร์เซนต์ไนโตรเจนของหญ้าโรดที่ปลูกเดี่ยว

ตรงกันข้ามกับของหญ้าโรดที่ลดลงอย่างรวดเร็ว ผลรวมของการแปรปรวนของเปอร์เซนต์โปรตีนของถั่วซีราโตรและหญ้าโรดเมื่อนำมาเฉลี่ยกันแล้วจะมีค่าเฉลี่ยประมาณ 14% ค่านี้คงที่ในช่วงอายุของพืชระหว่าง 5 – 12 สัปดาห์

6. อิทธิพลของถั่วซีราโตรที่มีต่อการเจริญเติบโตของหญ้าโรด

จากการเปรียบเทียบน้ำหนักแห้งและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของหญ้าโรดที่ปลูกเดี่ยวและปลูกร่วมกับถั่วซีราโตร ดังแสดงในตารางที่ 9 พบว่า น้ำหนักแห้งของหญ้าโรดที่ปลูกเดี่ยวจะมีมากกว่าน้ำหนักแห้งของหญ้าโรดที่ปลูกร่วมกับถั่วซีราโตรตลอดอายุการปลูก แต่แนวโน้มของการกระจายของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของมันกลับสลับกัน กล่าวคือ ในหญ้าโรดที่ปลูกเดี่ยวจะมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในช่วงอายุ 12 – 16 สัปดาห์ของการปลูกน้อยกว่าของหญ้าโรดที่ปลูกร่วมกับถั่วซีราโตร สรุปได้ว่าการปลูกหญ้าโรดร่วมกับถั่วซีราโตรนั้น หญ้าได้รับอิทธิพลบางอย่างจากถั่วด้วย อิทธิพลนั้นสามารถจะเพิ่มปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดต่อต้นของหญ้าโรดได้อย่างมีนัยสำคัญ จะสังเกตเห็นว่าน้ำหนักแห้งของต้นของหญ้าโรดทั้งที่ปลูกเดี่ยว และที่ปลูกรวมกับถั่วซีราโตรจะเพิ่มขึ้นเป็นปฏิภาคโดยตรงกับปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ดังแสดงในรูปที่ 6

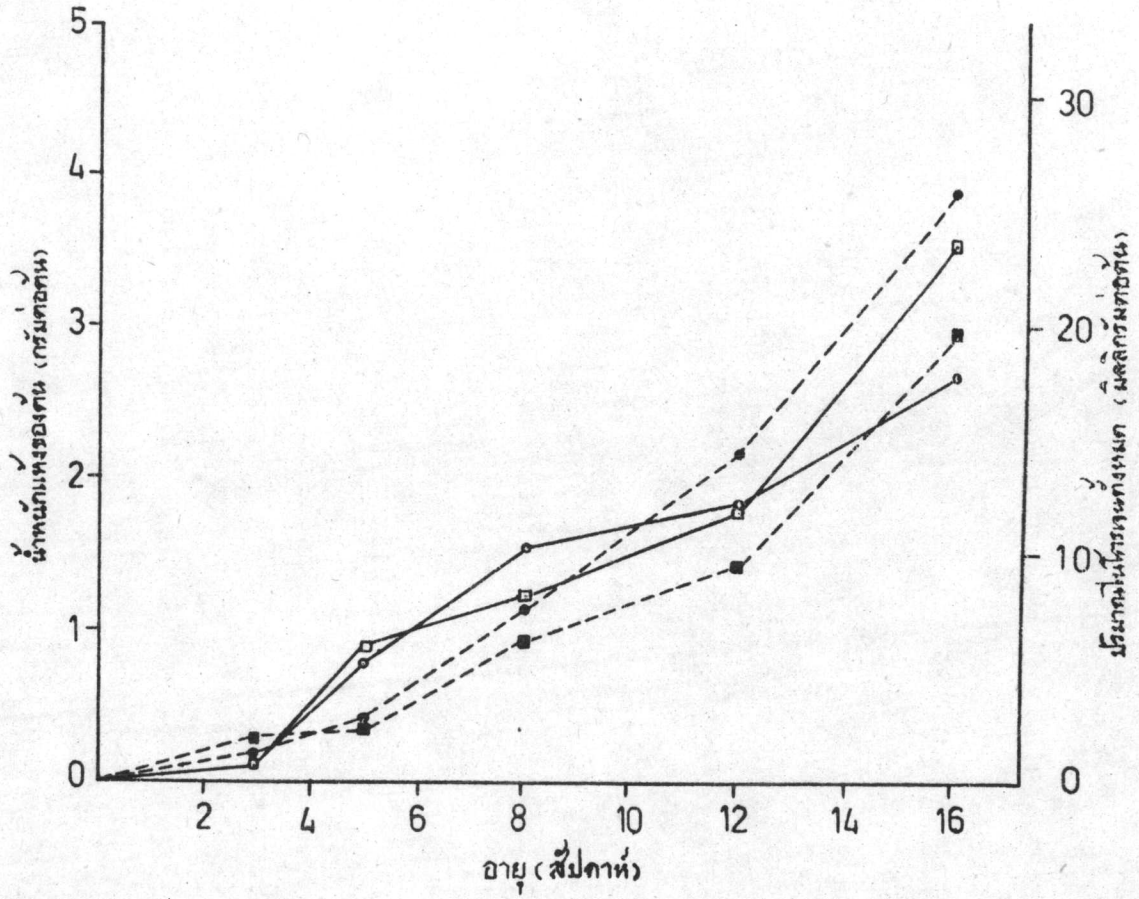
เมื่อพิจารณาผลกระทบของหญ้าโรดที่มีต่อถั่วซีราโตรที่ปลูกร่วม ดังแสดงในตารางที่ 10 พบว่าทั้งน้ำหนักแห้งของต้นและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของถั่วซีราโตรที่ปลูกเดี่ยว ตลอดอายุการปลูกจะสูงกว่าถั่วซีราโตรที่ปลูกร่วมกับหญ้าโรดบางเล็กน้อย ข้อที่น่าสังเกตก็คือ น้ำหนักแห้งของต้นจะเป็นปฏิภาคโดยตรงกับปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดไม่ว่าจะเป็นถั่วซีราโตรที่ปลูกเดี่ยวหรือที่ปลูกร่วมกับหญ้าโรดก็ตาม ดังแสดงในรูปที่ 7

เมื่อพิจารณาดูผลกระทบของถั่วซีราโตรและหญ้าโรดที่มีต่อกันโดยอาศัยการแปรปรวนของเปอร์เซนต์ไนโตรเจนทั้งหมดกับอายุของการปลูก ดังแสดงในตารางที่ 11 จะพบว่า การกระจายของเปอร์เซนต์ไนโตรเจนทั้งหมดกับอายุของหญ้าโรดที่ปลูกเดี่ยวนั้นต่ำกว่าของหญ้าโรดที่ปลูกร่วมกับถั่วซีราโตรอย่างมีนัยสำคัญ อีกครั้งหนึ่งที่กระทบของถั่วซีราโตรต่อหญ้าโรดที่ปลูกร่วมด้วยปรากฏอย่างชัดเจน

ตารางที่ 9 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดกับน้ำหนักแห้งของหญ้าโรด

เวลาที่เก็บตัวอย่าง (สัปดาห์)	หญ้าโรดที่ปลูกเดี่ยว		หญ้าโรดที่ปลูกร่วมกับถั่วซีราโตร	
	น้ำหนักต้นแห้ง (กรัม ต่อต้น)	ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อต้น)	น้ำหนักต้นแห้ง (กรัม ต่อต้น)	ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อต้น)
3	0.119± 0.056	0.68± 0.29	0.301± 0.015	1.47± 0.46
5	0.416± 0.109	5.48± 2.30	0.372± 0.119	3.83± 4.16
8	1.312± 0.189	10.55± 0.71	0.464± 0.076	7.78± 1.61
12	1.813± 0.180	10.67± 1.62	1.461± 0.365	14.79± 9.15
16	3.570± 0.500	18.04± 2.12	2.998± 0.344	26.03± 1.07

เก็บตัวอย่างหญ้าโรดที่ปลูกเดี่ยวและปลูกร่วมกับถั่วซีราโตรตามวันที่กำหนด นำไปอบให้แห้งที่ 60 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง แล้วนำไปหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดตามวิธีในวิธีการทดลอง ค่าที่รายงานเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ครั้ง



รูปที่ 6 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดและน้ำหนักแห้งของหญ้าโรดที่ปลูกเดี่ยวและที่ปลูกร่วมกับถั่วซีราโตร

เก็บตัวอย่างหญ้าโรดที่ปลูกเดี่ยวและที่ปลูกร่วมกับถั่วซีราโตรตามวันที่กำหนด นำส่วนยอดไปอบให้แห้ง ชั่งน้ำหนักและหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดตามวิธีในวิธีการทดลอง ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ครั้ง

o—o—o ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของหญ้าโรดที่ปลูกเดี่ยว

•- -•- -• ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของหญ้าโรดที่ปลูกร่วมกับถั่วซีราโตร

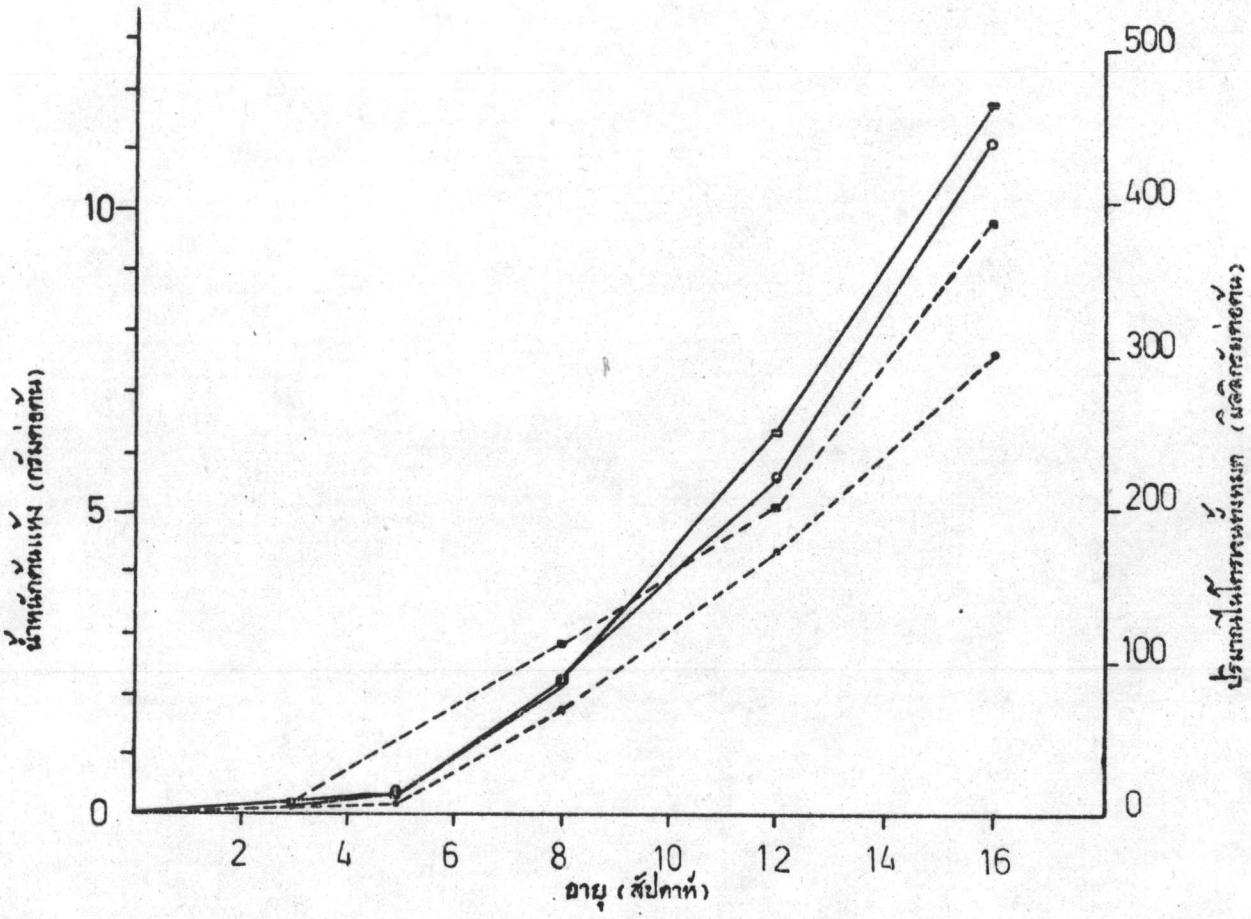
□—□—□ น้ำหนักแห้งของหญ้าโรดที่ปลูกเดี่ยว

■- -□- -□ น้ำหนักแห้งของหญ้าโรดที่ปลูกร่วมกับถั่วซีราโตร

ตารางที่ 10 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดกับน้ำหนักแห้งของถั่วซีราโตร

เวลาที่เก็บตัวอย่าง (สัปดาห์)	ถั่วซีราโตรที่ปลูกเดี่ยว		ถั่วซีราโตรที่ปลูกร่วมกับหญ้าโรด	
	น้ำหนักต้นแห้ง (กรัมต่อต้น)	ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อต้น)	น้ำหนักต้นแห้ง (กรัมต่อต้น)	ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อต้น)
3	0.151 ± 0.019	3.48 ± 0	0.090 ± 0.030	2.02 ± 0.65
5	0.237 ± 0.022	7.58 ± 0	0.307 ± 0.131	4.48 ± 5.09
8	2.380 ± 0.562	98.01 ± 4.00	3.857 ± 1.119	71.91 ± 14.88
12	6.351 ± 0.526	224.24 ± 62.50	5.009 ± 0.433	175.41 ± 24.22
16	11.745 ± 1.036	447.66 ± 179.68	9.803 ± 2.012	302.45 ± 65.18

เก็บตัวอย่างถั่วซราโตรที่ปลูกเดี่ยวและที่ปลูกร่วมกับหญ้าโรดตามวันที่กำหนด นำไปอบให้แห้งที่ 60 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง แล้วนำไปหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดตามวิธีในวิธีการทดลอง ค่าที่รายงานเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ครั้ง



รูปที่ 7 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดและน้ำหนักแห้งของถั่วซีราโตรที่ปลูกเดี่ยวและที่ปลูกร่วมกับหญ้าโรด

เก็บตัวอย่างถั่วซีราโตรที่ปลูกเดี่ยวและที่ปลูกร่วมกับหญ้าโรดตามวันที่กำหนด นำส่วนยอดไปอบให้แห้ง ชั่งน้ำหนักและหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดตามวิธีในวิธีการทดลอง ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ครั้ง

o—o—o ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของถั่วซีราโตรที่ปลูกเดี่ยว

•—•—• ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของถั่วซีราโตรที่ปลูกร่วมกับหญ้าโรด

□—□—□ น้ำหนักแห้งของถั่วซีราโตรที่ปลูกเดี่ยว

■—■—■ น้ำหนักแห้งของถั่วซีราโตรที่ปลูกร่วมกับหญ้าโรด

ตารางที่ 11 เปรียบเทียบเปอร์เซนต์ไนโตรเจนทั้งหมดของถั่วซีราโตรและหญ้าโรด ค่าที่แสดงเป็นเปอร์เซนต์ไนโตรเจนต่อน้ำหนักแห้ง

เวลาที่เก็บตัวอย่าง (สัปดาห์)	หญ้าโรดที่ปลูกเดี่ยว	หญ้าโรดที่ปลูกร่วมกับถั่วซีราโตร	ถั่วซีราโตรที่ปลูกเดี่ยว	ถั่วซีราโตรที่ปลูกร่วมกับหญ้าโรด
3	2.68 ± 1.52	4.94 ± 0.89	4.65 ± 0.56	3.95 ± 2.30
5	1.29 ± 0.28	2.16 ± 0.29	3.69 ± 0.97	2.99 ± 1.10
8	0.81 ± 0.10	1.89 ± 0.84	3.89 ± 0.80	2.90 ± 0.95
12	0.59 ± 0.09	0.95 ± 0.34	3.36 ± 0.78	3.00 ± 1.36
16	0.51 ± 0.02	0.83 ± 0.00	3.67 ± 1.12	3.08 ± 0.02

เก็บตัวอย่างถั่วซีราโตรและหญ้าโรดที่ปลูกเดี่ยวและที่ปลูกร่วมกันตามวันที่กำหนด นำไปอบให้แห้งที่ 60 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง แล้วไปหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดตามวิธีในวิธีทดลอง ค่าที่รายงานเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ครั้ง

โดยนัยของการเปรียบเทียบแบบเดียวกันกับที่กล่าวข้างต้น เมื่อนำมาประยุกต์กับแนวโน้มของการกระจายของเปอร์เซนต์ไนโตรเจนทั้งหมดกับอายุถั่วซีราโตรที่ปลูกเดี่ยวและที่ปลูกร่วมกับหญ้าโรด พบว่าการกระจายของเปอร์เซนต์ไนโตรเจนทั้งหมดกับอายุของถั่วซีราโตรที่ปลูกทั้งสองแบบเหมือนกัน ความแตกต่างที่พบไม่มีนัยสำคัญแต่อย่างใด

เนื่องจากปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดอาจรวมถึงปริมาณไนโตรเจนของโปรตีนทั้งที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำ หรือ สารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบอื่นๆด้วย จึงได้ลองนำเอาเปอร์เซนต์โปรตีนที่หาโดยวิธีไบยูเรทมาเปรียบเทียบทำนองเดียวกันกับที่กล่าวมาข้างต้น ดังแสดงในตารางที่ 12 ผลของการกระจายของเปอร์เซนต์โปรตีนกับอายุของหญ้าโรดทั้งที่ปลูกเดี่ยวและที่ปลูกร่วมกับถั่วซีราโตรกลับไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ กล่าวคือ ทั้งคู่มีแนวโน้มของการลดลงกับเวลาเป็นปริมาณขนานคู่กัน ข้อที่น่าสังเกตก็คือ การกระจายของเปอร์เซนต์โปรตีนกับอายุของถั่วซีราโตรที่ปลูกเดี่ยวและที่ปลูกร่วมกับหญ้าโรดกลับมีความแตกต่างกัน กล่าวคือถั่วซีราโตรที่ปลูกร่วมกับหญ้าโรดกลับมีแนวโน้มของการกระจายเปอร์เซนต์โปรตีนสูงกว่าเมื่อปลูกเดี่ยว

7. <u>บทบาทของการตรึงไนโตรเจนต่อคุณค่าทางอาหารของถั่วซีราโตรและหญ้าโรด</u>

เพื่อหาว่าการตรึงไนโตรเจนมีบทบาทต่อคุณค่าทางอาหารของถั่วซีราโตรและหญ้าโรดที่ปลูกเดี่ยวและที่ปลูกร่วมกันหรือไม่ ตารางที่ 13 แสดงถึงความสัมพันธ์ของแอ็คติวิตี้ของการรีดิวซ์อะเซทีลีน (ซึ่งแทนการตรึงไนโตรเจน) กับ เปอร์เซนต์โปรตีน (ซึ่งแทนคุณค่าทางอาหารของพืชอาหารสัตว์) จากตารางจะเห็นได้ว่าเฉพาะถั่วซีราโตรเท่านั้นที่มีการตรึงไนโตรเจนสูง ส่วนการตรึงไนโตรเจนในหญ้าโรดนั้นต่ำมากจนไม่มีนัยสำคัญแต่อย่างใดเมื่อเทียบกับของถั่วซีราโตร ตรงข้ามกับการตรึงไนโตรเจนของถั่วซีราโตรที่พบตลอดช่วงอายุของการปลูก สังเกตได้ว่า เปอร์เซนต์โปรตีนของถั่วซีราโตรต้นอ่อนที่อายุ 5 สัปดาห์ จะลดลงในช่วงเวลาที่แอ็คติวิตี้ของการรีดิวซ์อะเซทีลีนจะมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เปอร์เซนต์โปรตีนในใบของถั่วซีราโตรจะเพิ่มขึ้นตลอดช่วงของการทดลอง จึงเป็นไปได้ว่าการตรึงไนโตรเจนนี้เองที่กำหนดคุณค่าทางอาหารของถั่วซีราโตร

ตารางที่ 12 เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนที่หาโดยวิธีไบยูเรทของถั่วซีราโตรและหญ้าโรค ทั้งที่ปลูกเดี่ยวและที่ปลูกผสมกัน ค่าที่แสดงเป็นเปอร์เซนต์โปรตีนต่อน้ำหนักแห้ง

เวลาที่เก็บตัวอย่าง (สัปดาห์)	ถั่วซีราโตรที่ปลูกเดี่ยว	ถั่วซีราโตรที่ปลูกร่วมกับหญ้าโรค	หญ้าโรคที่ปลูกเดี่ยว	หญ้าโรคที่ปลูกร่วมกับถั่วซีราโตร
3	14.83 ± 2.34	13.30 ± 2.50	12.35 ± 2.92	9.31 ± 2.49
5	8.70 ± 1.22	16.94 ± 3.03	11.03 ± 0.16	5.76 ± 0.99
8	16.10 ± 0.38	25.36 ± 1.81	7.07 ± 0.24	6.20 ± 0.46
12	17.41 ± 0.93	27.58 ± 2.13	2.48 ± 0.01	2.27 ± 0.19
16	21.64 ± 2.83	22.30 ± 5.98	1.25 ± 0.36	1.43 ± 0.09

เก็บตัวอย่างถั่วซีราโตรและหญ้าโรคที่ปลูกเดี่ยวและที่ปลูกร่วมกันตามวันที่กำหนด นำไปหาปริมาณโปรตีนโดยวิธีไบยูเรท ตามวิธีในวิธีทดลอง ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ครั้ง

ตารางที่ 13 เปรียบเทียบเปอร์เซนต์โปรตีนและแอ็คติวิตี้ของการรีดิวซ์อะเซทีลีนของถั่วซีราโตร และหญ้าโรคที่ปลูกเดี่ยว

เวลาที่เก็บตัวอย่าง (สัปดาห์)	เปอร์เซนต์โปรตีนในใบ		แอ็คติวิตี้ของการรีดิวซ์อะเซทีลีน (ไมโครโมลต่อชั่วโมงต่อต้น)	
	ถั่วซีราโตร	หญ้าโรค	ถั่วซีราโตร	หญ้าโรค
3	14.83± 2.34	12.35± 2.92	0.26± 0.18	0.008 ± 0.003
5	8.70± 1.22	11.03± 0.16	0.87± 0.41	0.017± 0.002
8	16.10± 0.38	7.07± 0.24	0.49± 0.23	0.013± 0.001
12	17.41± 0.93	2.48± 0.01	1.33± 0.25	0
16	21.64± 2.83	1.52± 0.36	1.32± 0.70	0

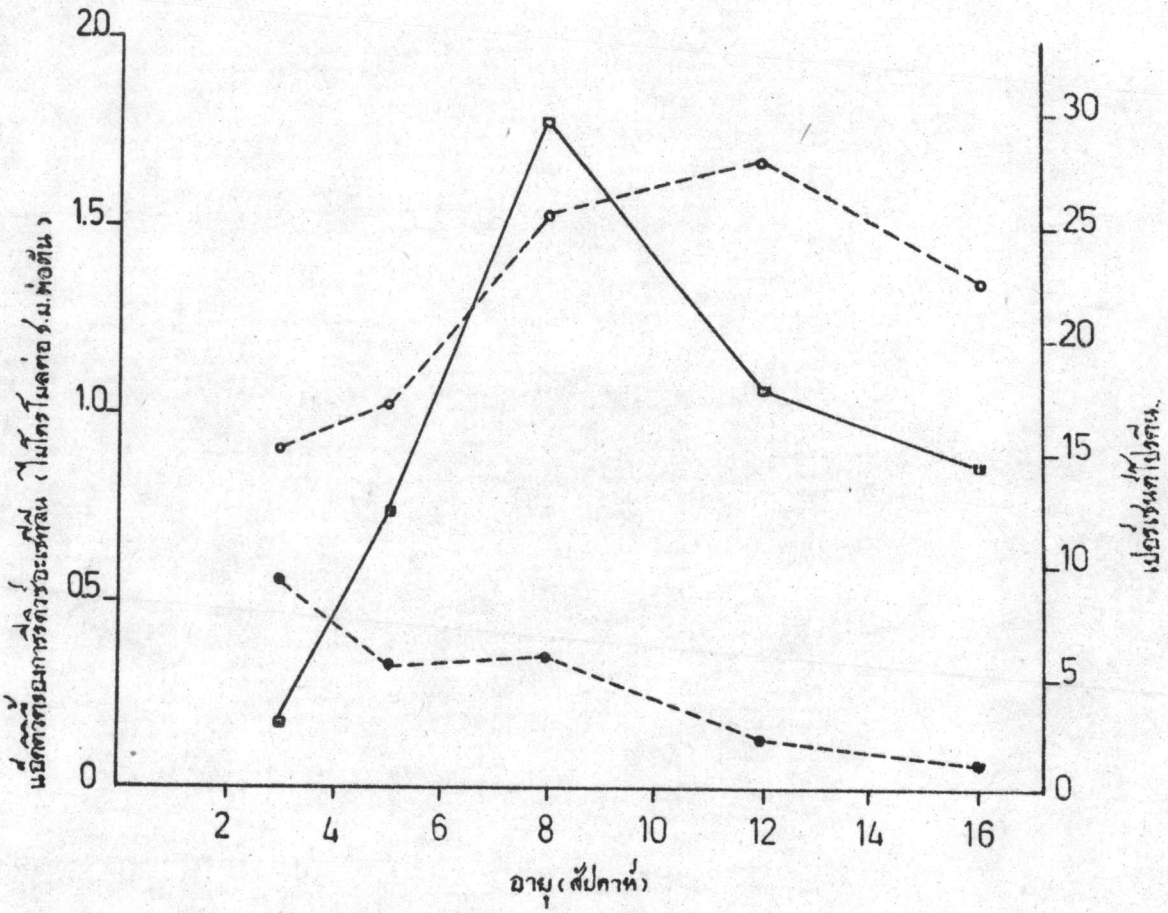
เก็บตัวอย่างถั่วซีราโตรและหญ้าโรคที่ปลูกเดี่ยวตามเวลาที่กำหนด นำไปหาปริมาณโปรตีนและแอ็คติวิตี้ของการรีดิวซ์อะเซทีลีนตามวิธีในวิธีการทดลอง ค่าที่รายงานเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ครั้ง

ในรูปที่ 8 แสดงความสัมพันธ์ของแอ็คติวิตี้ของการรีดิวซ์อะเซทีลีนกับเปอร์เซนต์โปรตีนในถั่วซีราโตรและหญ้าโรดที่ปลูกร่วมกัน ถึงแม้ว่าการรีดิวซ์อะเซทีลีนของรากถั่วจะไม่สามารถแยกออกจากของรากหญ้าได้ แต่ก็เชื่อว่า การตรึงไนโตรเจนที่ได้นั้นเนื่องมาจากของถั่วอย่างเดียว จากรูปการตรึงไนโตรเจนจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจากถั่วต้นอ่อนจนถึงถั่วอายุได้ 8 สัปดาห์ ซึ่งเป็นระยะที่กำลังออกดอกและเริ่มติดฝัก และเปอร์เซนต์โปรตีนของถั่วซีราโตรก็เพิ่มสูงขึ้นตลอดเวลาด้วย ข้อที่น่าสังเกตก็คือเปอร์เซนต์โปรตีนในหญ้าโรดที่ปลูกร่วมกับถั่วซีราโตรในช่วง 8 สัปดาห์แรกมิได้ลดลงรวดเร็ว เช่นเดียวกับที่เป็นพบในหญ้าโรดที่ปลูกเดี่ยว แต่ภายหลังสัปดาห์ที่ 8 เปอร์เซนต์โปรตีนของใบถั่วซีราโตรกลับทรงเท่าเดิมไม่เพิ่มขึ้นแต่อย่างใด ในขณะที่เปอร์เซนต์โปรตีนของหญ้าโรดที่ขึ้นร่วมด้วยกลับลดลงอย่างรวดเร็ว และในช่วงนี้แอ็คติวิตี้ของการรีดิวซ์อะเซทีลีนที่พบในรากก็ลดต่ำลงด้วย

ตารางที่ 14 เป็นการแสดงความสัมพันธ์ของแอ็คติวิตี้ของการรีดิวซ์อะเซทีลีนกับเปอร์เซนต์ไนโตรเจนทั้งหมดของถั่วซีราโตรและหญ้าโรดที่ปลูกเดี่ยว ถึงแม้ว่าเปอร์เซนต์ไนโตรเจนทั้งหมดในถั่วซีราโตรจะสูงกว่าหญ้าโรดตลอดอายุของพืชทั้งสองก็ตาม แต่อัตราการปรวนแปรของมันก็ไม่แสดงว่าความสัมพันธ์อย่างเด่นชัดกับค่าแอ็คติวิตี้ของการรีดิวซ์อะเซทีลีนแต่อย่างใด โดยนัยเดียวกันรูปที่ 9 ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ของแอ็คติวิตี้ของการรีดิวซ์อะเซทีลีนกับเปอร์เซนต์ไนโตรเจนทั้งหมดของถั่วซีราโตรและหญ้าโรดที่ปลูกร่วมกันก็ปราศจากนัยสำคัญใด ๆ ระหว่างกัน นอกจากจะเป็นดรรชนีชี้ให้เห็นถึงความอุดมสมบูรณ์ของคุณภาพทางอาหารของถั่วซีราโตรที่มีอยู่เหนือหญ้าเท่านั้น

8. <u>ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของดิน</u>

ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินจะเป็นตัวบ่งชี้ถึงปริมาณอาหารที่พืชสามารถดูดเอาไปใช้ได้ จากการทดลองหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดิน พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดกับเวลาที่มีนัยสำคัญแต่อย่างใด ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของดินก่อนปลูกเท่ากับ 2.22 ± 1.13 กรัมต่อกระถาง ดังตารางที่ 15 และ pH ที่พบเป็นกลาง ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในดินที่ปลูกถั่วซีราโตรอย่างเดียว มีปริมาณสูงกว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของดินในถั่วซีราโตร ที่ปลูกร่วมกับหญ้าโรดหรือดินที่ปลูกหญ้าโรดอย่างเดียวเพียงเล็กน้อย



รูปที่ 8 เปอร์เซนต์โปรตีนและแอ็คติวิตี้ของการรีดิวซ์อะเซทีลีนในถั่วซีราโตรและหญ้าโรดที่ปลูกร่วมกัน

เก็บตัวอย่างถั่วซีราโตรและหญ้าโรดที่ปลูกร่วมกันตามวันที่กำหนด ส่วนใบนำมาหาโปรตีนโดยวิธีไบยูเรท ส่วนรากนำมาหาแอ็คติวิตี้ของการรีดิวซ์อะเซทีลีนตามวิธี-การทดลองค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ครั้ง

o- -o- -o เปอร์เซนต์โปรตีนของถั่วซีราโตรที่ปลูกร่วมกับหญ้าโรด

●- -●- -● เปอร์เซนต์โปรตีนของหญ้าโรดที่ปลูกร่วมกับถั่วซีราโตร

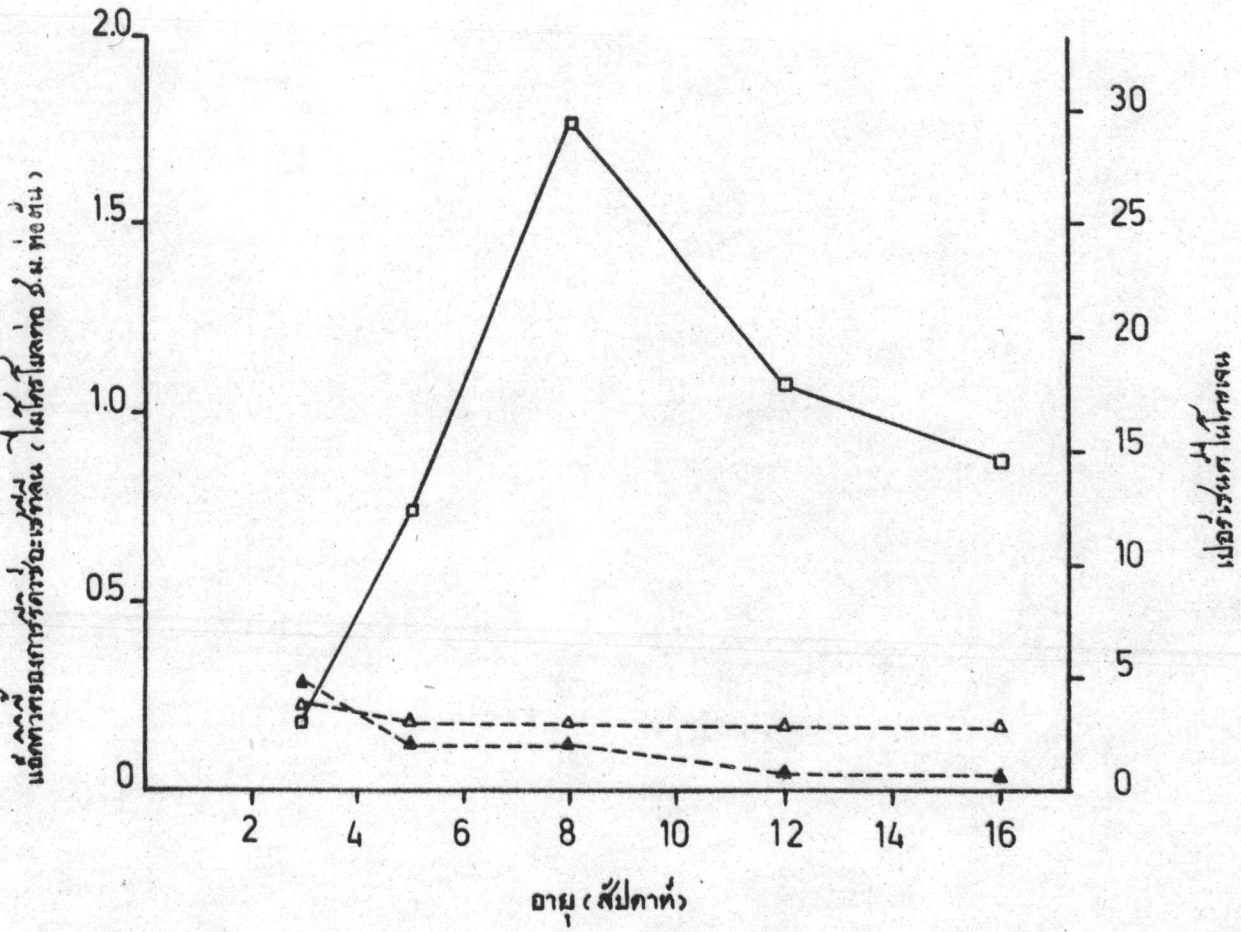
□—□—□ แอ็คติวิตี้ของการรีดิวซ์อะเซทีลีนของรากถั่วและหญ้าที่ปลูกร่วมกัน

หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย

ตารางที่ 14 เปรียบเทียบเปอร์เซนต์ไนโตรเจนและแอ็คติวิตี้ของการรีดิวซ์อะเซทีลีนของถั่วซีราโตรและหญ้าโรดที่ปลูกเดี่ยว

เวลาที่เก็บตัวอย่าง (สัปดาห์)	เปอร์เซนต์ไนโตรเจน		แอ็คติวิตี้ของการรีดิวซ์อะเซทีลีน (ไมโครโมลต่อชั่วโมงต่อต้น)	
	ถั่วซีราโตร	หญ้าโรด	ถั่วซีราโตร	หญ้าโรด
3	4.65 ± 0.56	2.68 ± 1.52	0.26 ± 0.18	0.008 ± 0.003
5	3.69 ± 0.97	1.29 ± 0.28	0.87 ± 0.41	0.017 ± 0.002
8	3.89 ± 0.80	0.81 ± 0.10	0.49 ± 0.23	0.013 ± 0.001
12	3.36 ± 0.78	0.59 ± 0.09	1.33 ± 0.25	0
16	3.67 ± 1.17	0.51 ± 0.02	1.32 ± 0.70	0

เก็บตัวอย่างถั่วซีราโตรและหญ้าโรดที่ปลูกเดี่ยวตามเวลาที่กำหนด นำไปหาปริมาณไนโตรเจนและแอ็คติวิตี้ของการรีดิวซ์อะเซทีลีนตามวิธีในวิธีการทดลอง ค่าที่รายงานเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ครั้ง



รูปที่ 9 เปอร์เซนต์ไนโตรเจนและแอ็คติวิตี้ของการรีดิวซ์อะเซทีลีนของถั่วซีราโตรและหญ้าโรดที่ปลูกร่วมกัน

เก็บตัวอย่างถั่วซีราโตรและหญ้าโรดที่ปลูกร่วมกันตามวันที่กำหนด ส่วนต้นนำไปอบให้แห้งแล้วนำไปหาปริมาณไนโตรเจนตามวิธีการทดลอง ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ครั้ง

□—□—□ แอ็คติวิตี้ของการรีดิวซ์อะเซทีลีนของถั่วซีราโตรที่ปลูกร่วมกับหญ้าโรด

△--△--△ เปอร์เซนต์ไนโตรเจนของถั่วซีราโตรที่ปลูกร่วมกับหญ้าโรด

▲--▲--▲ เปอร์เซนต์ไนโตรเจนของหญ้าโรดที่ปลูกร่วมกับถั่วซีราโตร

ตารางที่ 15 เปรียบเทียบปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของดินในกระถางที่ปลูกถั่วซีราโตร และหญ้าโรคทั้งที่ปลูกเดี่ยวและที่ปลูกร่วมกัน

เวลาที่เก็บตัวอย่าง (สัปดาห์)	ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของดิน (กรัมต่อกระถาง)		
	ถั่วซีราโตรที่ปลูกเดี่ยว	ถั่วซีราโตรที่ปลูกรวมกับหญ้าโรค	หญ้าโรคที่ปลูกเดี่ยว
3	3.08 ± 0.35	3.33 ± 0.82	2.77 ± 0.00
5	2.98 ± 0.42	3.13 ± 0.69	3.22 ± 1.37
8	3.34 ± 0.94	2.68 ± 0.35	3.21 ± 0.70
12	3.09 ± 0.93	2.64 ± 0.35	2.40 ± 0.14
16	4.77 ± 1.34	4.27 ± 2.35	4.23 ± 0.23

เก็บตัวอย่างดินในกระถางของพืชตามกำหนดเวลา นำมาอบให้แห้งที่ 60 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง แล้วนำมาหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดตามวิธีในวิธีการทดลอง ค่าที่รายงานเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ครั้ง

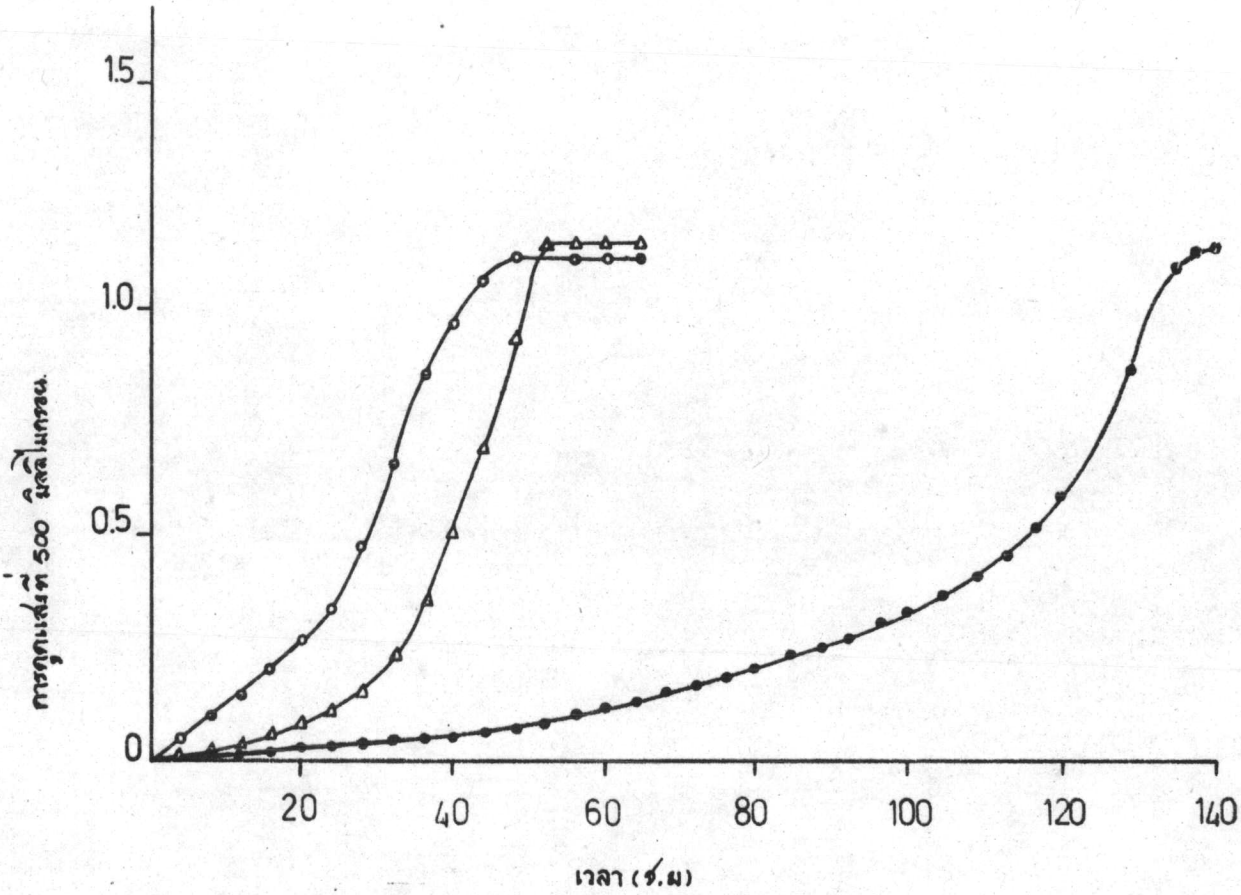
9. การแยกเชื้อจากปมของรากถั่วชีราโตรและลักษณะของเชื้อที่แยกได้

9.1 การแยกเชื้อจากปมของราก

เพื่อต้องการทราบว่าไรโซเบียมเป็นเชื้อที่มีอยู่จริงในปมของรากถั่ว และเพื่อศึกษาให้ทราบถึงลักษณะทั่วไปของเชื้อไรโซเบียมที่อาศัยอยู่ร่วมกับถั่วชีราโตรที่ทดลองนี้ จึงได้ใช้ปมรากถั่วชีราโตรที่ทดลองนำมาแยกเชื้อ ปมที่ใช้แยกมีลักษณะกลมเมื่อผ่ากลางปมออกจะเห็นน้ำภายในมีสีน้ำตาล ซึ่งเป็นส่วนที่นำมาแยกเชื้อโดยวิธีการของ Vincent (1970) โดยเลี้ยงเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง yeast manitol พบว่าเชื้อนี้สามารถขึ้นได้ดีบน yeast manitol agar ภายหลังอินคิวเบทที่ 28 – 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีลักษณะโคโลนีขุ่นขาว เป็นเหมือกเชื้อนี้สามารถเคลื่อนไหวได้เมื่อนำไปย้อมสี พบว่าเป็น gram negative rod อ้วนสั้น เพื่อทดสอบว่าเชื้อที่แยกได้เป็นไรโซเบียมบริสุทธิ์ จึงนำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง yeast manitol congo red และ peptone glucose เปรียบเทียบกับพบว่า เชื้อที่แยกได้สามารถเจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง yeast manitol congo red ให้โคโลนีติดสีชมพูอ่อน เป็นเหมือก ขณะที่ E. coli จะให้โคโลนีเป็นสีน้ำตาลเข้ม และเชื้อที่แยกได้สามารถเจริญได้เพียงเล็กน้อยบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง peptone glucose เห็นเป็นโคโลนีเล็กมาก แต่ E. coli จะเป็นโคโลนีใหญ่เห็นได้ชัดเจน

9.2 ลักษณะการเพิ่มตัวของเชื้อที่แยกได้

เนื่องจากเชื้อไรโซเบียมที่อยู่ร่วมกับต้นถั่วชีราโตรนี้อาจเป็นเชื้อที่เจริญเติบโตเร็วหรือเจริญเติบโตช้า การเจริญเติบโตของเชื้อนี้จะบ่งชี้ถึงคุณลักษณะการสะสมโปรตีนของต้นถั่วด้วย ดังนั้นจึงได้ทดลองศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อที่แยกได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี แมนิทอล เป็นสารต้นตอคาร์บอน โดยเปรียบเทียบอัตราการเพิ่มตัวของมันกับเชื้อไรโซเบียนบริสุทธิ์ 2 ตัว ได้แก่ R. Phaseoli (182) ซึ่งเป็นเชื้อที่เจริญเติบโตเร็ว และ R. cowpea (201) ซึ่งเจริญเติบโตช้า แสดงในรูปที่ 10 จะเห็นได้ว่า การเพิ่มตัวเป็นสองเท่าในระยะการเพิ่มตัวแบบทวีคูณ(Doubling Time in Exponenial Phase) ของเชื้อที่แยกได้มีค่าเท่ากับ 8.5 ชั่วโมงซึ่งเท่ากับ R.



รูปที่ 10 การเจริญเติบโตของเชื้อที่แยกได้จากปมของถั่วซีราโตร และเชื้อไรโซเบียมบริสุทธิ์เลี้ยงเชื้อที่แยกได้จากปมของถั่วซีราโตร, R. phaseoli (182), R. cowpea (201) ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ 28°ซ เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ในภาวะ aerobic จากนั้นดูดมา 0.2 มิลลิลิตรใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ไม่มีไนโตรเจน 25 มิลลิลิตร อินคิวเบทที่ 28–30°ซ วัดการดูดแสงของเชื้อที่ 500 มิลลิไมครอนทุกๆ 4 ชั่วโมง ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ครั้ง

△—△—△ เชื้อที่แยกได้จากปมของถั่วซีราโตร

○—○—○ R. phaseoli (182)

●—●—● R. cowpea (201)

Phaseoli (182) แต่แตกต่างจาก R. cowpea (201) ซึ่งให้ค่าระยะเวลาที่ใช้ในการเพิ่มตัวเป็นสองเท่าเท่ากับ 16 ชั่วโมง

9.3 ลักษณะการใช้สารต้นตอคาร์บอนของเชื้อไรโซเบียมที่แยกได้

เพื่อศึกษาถึงลักษณะการใช้สารต้นตอคาร์บอนของเชื้อที่แยกได้ จึงได้ทำการศึกษาการเจริญเติบโตของมันในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี กลูโคส, ฟรุคโตส, ซูโครส และซัคซิเนท เป็นสารต้นตอคาร์บอนเทียบกับแมนิทอล ซึ่งเป็นสารต้นตอคาร์บอนของเชื้อไรโซเบียมที่นิยมใช้กันทั่วไป จากการเปรียบเทียบอัตราการเพิ่มตัวของมันกับเชื้อไรโซเบียมบริสุทธิ์ 2 ตัวคือ R. Phaseoli (182) และ R. cowpea (201) พบว่าเชื้อที่แยกได้นี้สามารถเจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารต้นตอดังกล่าวทุกตัว ดังแสดงไว้ในตารางที่ 16 พบว่า การเจริญเติบโตของเชื้อที่แยกได้ใน กลูโคส, ฟรุคโตส, ซูโครส และซัคซิเนท จะคล้าย ๆ กับการเจริญเติบโตของR. phaseoli(182) ซึ่งเป็นเชื้อไรโซเบียมในกลุ่มที่เจริญเติบโตเร็ว แต่จะมีความแตกต่างอย่างเด่นชัดกับเชื้อ R. cowpea (201) ซึ่งเป็นเชื้อไรโซเบียมในกลุ่มที่เจริญเติบโตช้า ทั้งนี้สังเกตได้จากช่วงเวลาของการเพิ่มตัวเป็นสองเท่าในระยะการเพิ่มตัวแบบทวิคูณ ซึ่งพบว่าระยะเวลาที่ใช้ในการเพิ่มตัวเป็นสองเท่าของเชื้อที่แยกได้ในแมนิทอล กลูโคส, ฟรุคโตส, ซูโครส และซัคซิเนท เท่ากับ 8.5, 14, 9, 12 และ 20 ชั่วโมงตามลำดับ เทียบกับของ R. phaseoli(182) เท่ากับ 8.5, 11, 14, 14 และ 8 ชั่วโมงตามลำดับ ซึ่งจะแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับของ R. cowpea(201) ซึ่งเท่ากับ 16, 42, 29, 56 และ 65 ชั่วโมงตามลำดับ ทั้งนี้ภายในภาวะที่กำหนดไว้ในการทดลองนี้ตามวิธีการทดลองที่กล่าวไว้ข้างต้น

9.4 การสร้างปมของเชื้อที่แยกได้ในสภาวะควบคุม

เพื่อทดสอบให้แน่ชัดว่า เชื้อที่แยกได้และนำมาศึกษาคุณลักษณะต่าง ๆ นั้นยังคงเป็นเชื้อไรโซเบียมซึ่งอาจจะให้ปมกับถั่วชีราโตรได้เหมือนเดิม จึงได้นำเชื้อมาคลุกกับเมล็ดถั่วชีราโตรและปลูกในทรายที่ควบคุมสภาวะและปลอดจากเชื้อใด ๆ ตามวิธีที่กล่าวไว้ในวิธีการทดลอง จากการเปรียบเทียบระหว่างต้นถั่วชีราโตรในสภาวะควบคุมที่ได้จากการคลุก และไม่คลุกเชื้อ พบว่า หลัง

ตารางที่ 16 การใช้สารต้นตอคาร์บอนชนิดต่าง ๆ ของเชื้อไรโซเบียม ค่าที่แสดงเป็นค่าเพิ่มตัวเป็นสองเท่าของเชื้อในระยะการแบ่งตัวแบบทวีคูณ เป็นชั่วโมง

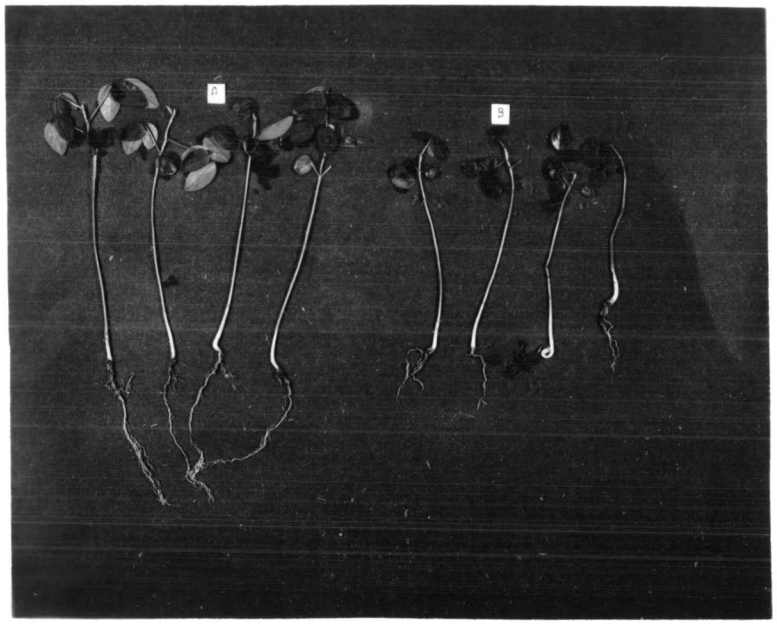
สารต้นตอคาร์บอน	เชื้อที่แยกได้จากปมของรากถั่วซีราโตร	R.phaseoli (182)	R.cowpea (201)
manitol	8.5	8.5	16
glucose	14.0	11.0	42
fructose	9.0	14.0	29
sucrose	12.0	14.0	56
succinate	20.0	18.0	65

จากที่ปล่อยให้ถั่วเจริญเติบโต 4 สัปดาห์ ใบของถั่วซีราโตรต้นที่คลุกเชื้อจะมีปริมาณของใบและขนาดของต้นมากกว่า และใหญ่กว่าของต้นถั่วซีราโตรที่ไม่ได้คลุกเชื้ออย่างมีนัยสำคัญ ดูรูปที่ 11 ประกอบ นอกจากนี้ตรงโคนรากของต้นถั่วซีราโตรที่คลุกเชื้อยังปรากฏปมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 – 2 มิลลิเมตร จำนวน 1 – 4 ปม ซึ่งปมนี้จะไม่ปรากฏที่รากของต้นถั่วซีราโตรที่ไม่ได้คลุกเชื้อ ดูรูปที่ 12 และ 13 ประกอบ จะสังเกตเห็นว่า ลักษณะการเกิดปมของถั่วที่ทดลองภายใต้ภาวะควบคุมนี้เป็นไปตามลักษณะการเกิดปมของถั่วที่ทดลองในกระถางทุกประการ

10. <u>แอ็คติวิตี้ของเอ็นไซม์ Pyruvate, phosphate dikinase</u>

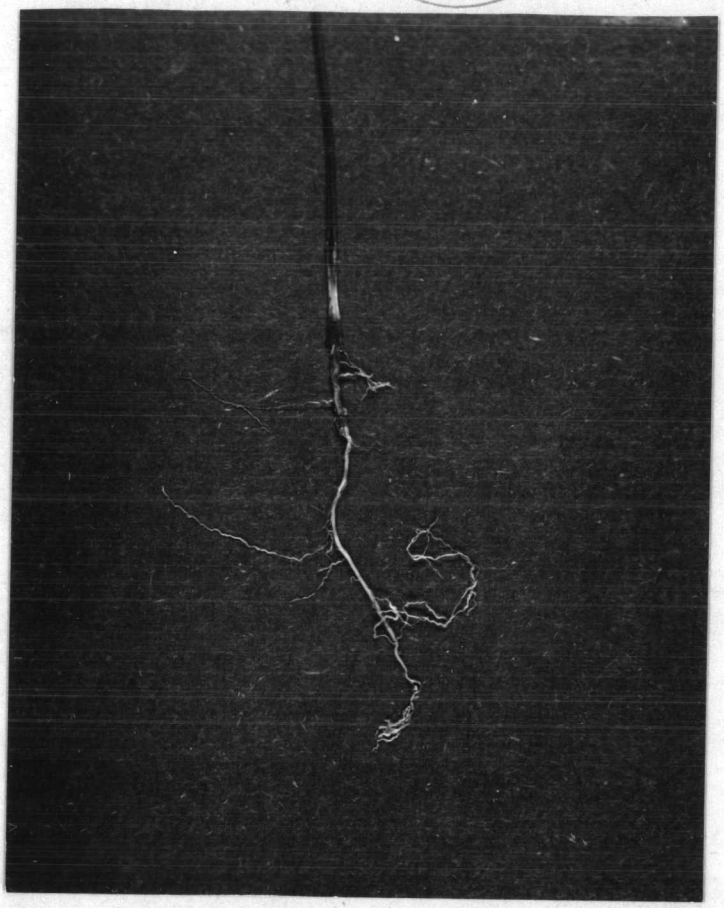
พบว่าหญ้าโรดเท่านั้นที่มีแอ็คติวิตี้ของเอ็นไซม์ pyruvate, phosphate dikinase และแอ็คติวิตี้นี้จะมีค่าเพิ่มขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 14 ให้ค่าแอ็คติวิตี้จำเพาะเท่ากับ 0.3 ไมโครโมลของ NADH ต่อโปรตีน 1 มิลลิกรัมต่อนาที ตรงกันข้ามกับของถั่วซีราโตรที่ไม่พบแอ็คติวิตี้ของเอ็นไซม์เลย และไม่พบแอ็คติวิตี้ในสารละลายสกัดหยาบของใบหญ้าโรดและถั่วซีราโตรที่ถูกทำให้เสื่อมแอ็คติวิตี้ด้วยความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส 30 นาที เช่นกัน เนื่องจากเอ็นไซม์ pyruvate , phosphate dikinase นี้เป็นเอ็นไซม์ที่พบเฉพาะในพวกพืชที่มีขบวนการสังเคราะห์แสงแบบ Hatch Slack pathway (C_4 pathway) เท่านั้น ผลจากการทดลองนี้จึงเป็นการบ่งชี้ว่าหญ้าโรดเป็นพืชที่มีขบวนการสังเคราะห์แสงเป็นแบบ Hatch Slack pathway (C_4 – pathway) และดังนั้นถั่วซีราโตรเป็นพืชที่มีขบวนการสังเคราะห์แสงเป็นแบบ Calvin Benson–Bassham pathway (C_3 pathway) โดยอัตโนมัติ

หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย

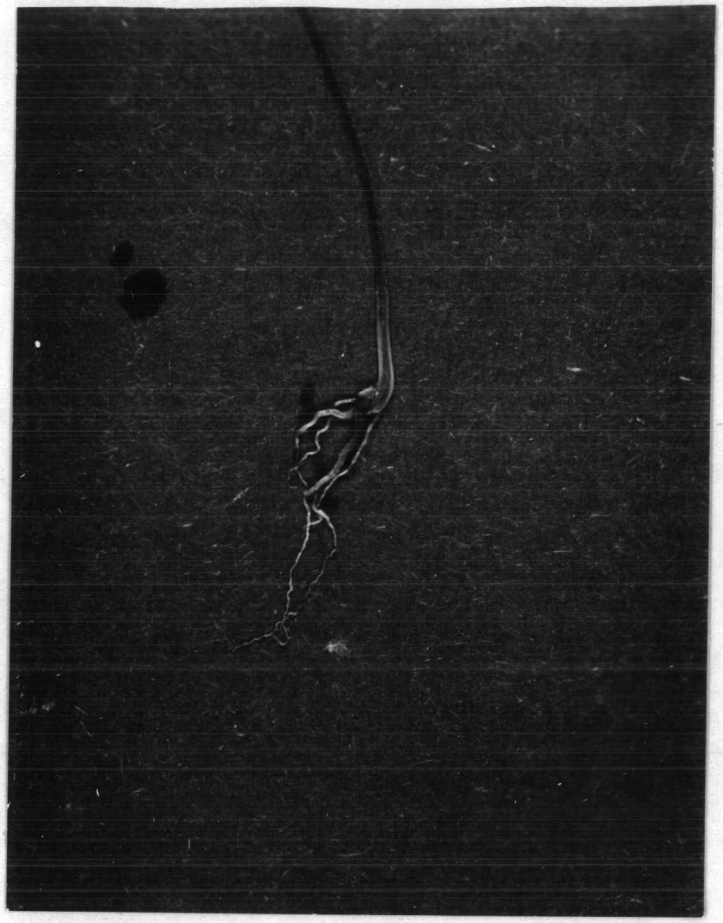


รูปที่ 11 แสดงการเจริญเติบโตของถั่วซีราโตรที่ปลูกในทรายที่ปลอดเชื้อ ตามวิธีในหัวข้อวิธีการทดลอง (A) ถั่วซีราโตรที่คลุกเมล็ดด้วยเชื้อไรโซเบียมที่แยกได้ก่อนปลูก, (B) ถั่วซีราโตรที่ไม่ได้คลุกเมล็ดด้วยเชื้อไรโซเบียมก่อนปลูก

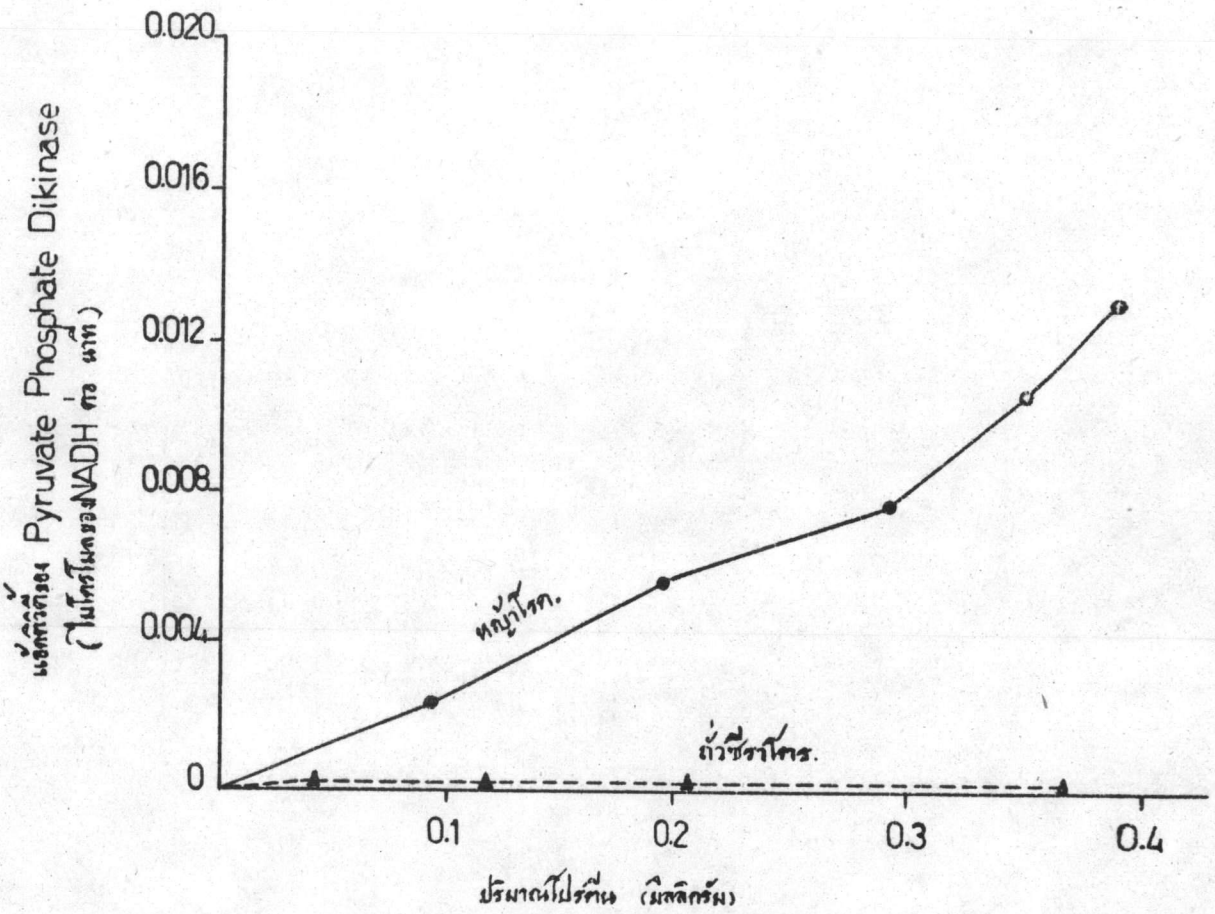
หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย



รูปที่ 12 แสดงลักษณะของรากและปมของถั่วชีราโตรที่คลุกเมล็ดด้วยเชื้อไรโซเบียมที่แยกได้ก่อนปลูกในทรายที่ปลอดเชื้อ ตามวิธีในหัวข้อวิธีการทดลอง



รูปที่ 13 แสดงลักษณะของรากของถั่วซีราโตรที่ไม่ได้กลุกเมล็ดด้วยเชื้อไรโซเบียมที่แยกได้ก่อนปลูกในทรายที่ปลอดเชื้อ ตามวิธีในหัวข้อวิธีการทดลอง



รูปที่ 14 ความสัมพันธ์ระหว่างแอ็คติวิตี้ของเอ็นไซม์ Pyruvate, Phosphate - Dikinase กับปริมาณโปรตีนที่สกัดจากใบของหญ้าโรคและถั่วซีราโตร

●—●—● แอ็คติวิตี้ของเอ็นไซม์ Pyruvate,Phosphate Dikinase ของหญ้าโรค

▲--▲--▲ แอ็คติวิตี้ของเอ็นไซม์ Pyruvate, Phosphate dikinase ของถั่วซีราโตร