

การตรวจเอกสาร

2.1 หญ้าซี (Ruzigrass)

หญ้าซีมีถิ่นกำเนิดในแอฟริกาตะวันออกและแอฟริกากลาง ในเขตที่มีความชุ่มชื้นแต่ไม่มีน้ำท่วมขัง (เจลิมพล, 2530 และ ฉายแสง, 2534) ได้มีการนำหญ้าซีพันธุ์ Kennedy (*Brachiaria ruziziensis* cv. Kennedy) เข้าไปปลูกทดสอบในประเทศไทย และต่อมาได้มีการผลิตเมล็ดพันธุ์หญ้าซีขายเป็นการค้า (Humphreys, 1980)

ในประเทศไทยมีการนำหญ้าซีเข้ามาปลูกที่ฟาร์มโคมนไทย-เคนมาร์ค ปัจจุบันคือ องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย อำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี และที่ศูนย์วิจัยอาหารสัตว์ปากช่อง ในปี 2511 (บุฤฎา, 2536) ต่อมาศูนย์ส่งเสริมการขยายพันธุ์สัตว์ของ ก.ร.ป. กลาง ได้นำเข้ามาอีกครั้งจากประเทศไอวอรีโคสต์ และนำไปปลูกที่อำเภอหนองสาหร่าย และบางห้องที่ในเขตจังหวัดกาญจนบุรี ปรากฏว่าหญ้าซีชนิดนี้เติบโตได้ดีมาก และให้ผลผลิตเมล็ดดี เป็นพันธุ์หญ้าที่ปลูกกันแพร่หลายในปัจจุบันนี้ (ชาตชัย, 2524 และ กอบแก้ว, 2535)

หญ้าซีมีอายุหลายปี เป็นหญ้าพวกพืช C4 มีลักษณะการเจริญเติบโตของลำต้นแบบกึ่งตั้งกึ่งเลื้อย (Semi-prostrate) สูงประมาณ 0.40-1.00 เมตร ลำต้นมีขนาดเล็ก กาบใบมีลักษณะสาก ตัวใบมีลักษณะคล้ายใบหอกยาว 10-25 เซนติเมตร กว้าง 10-15 มิลลิเมตร ใบมีสีทองอ่อน ขอบใบสีเขียวเข้มหยักเป็นคลื่น ขอบนอกสุดหยักเป็นฟันเลื่อยเล็กๆ กาบใบหุ้มปล้องไว้ไม่แน่นและยาวกว่าปล้อง เชือกกันน้ำฝน (ligule) บางเป็นแบบขนแข็ง ช่อดอกเป็นแบบ racemose panicle เมล็ดเมื่อแก่เต็มที่เปลือกหุ้มเป็นสีขาวอ่อนๆ (เจลิมพล, 2530; บุฤฎา, 2532 และ ศรีฤฎา และคณะ, 2533 อ้างโดย ฉายแสง, 2534) หญ้าซีเริ่มออกดอกปลายเดือนสิงหาคม การออกดอกในช่วงนี้เป็นการ

ออกเพียงประปรายเป็นบางกอ ข้อคอกที่บานในช่วงนี้จะถูกแมลงกัดกินหมด ทำให้ไม่ได้ผลผลิตเมล็ด จะมีการออกดอกอีกครั้งช่วงกลางเดือนตุลาคม ซึ่งเป็นการออกดอกพร้อมกันหมดทั้งแปลง และวันที่มีจำนวนข้อคอกบานพร้อมกันสูงสุดอยู่ประมาณสิ้นเดือนตุลาคม (ฉายแสง และคณะ, 2530) เมล็ดมีน้ำหนักแห้งสูงสุดเมื่อมีอายุ 21 วันหลังคอกบาน ซึ่งในช่วงนี้เมล็ดจะมีความชื้น 23% และมีการร่วงหล่นของเมล็ดไปแล้วถึง 61.3% การร่วงของเมล็ดเริ่มตั้งแต่วันที่ 7 หลังคอกบานร่วงเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจาก 5% จนถึง 71% ในวันที่ 24 หลังคอกบาน การร่วงของเมล็ดหยุดขึ้นเป็นมัญหาที่สำคัญสำหรับการผลิตเมล็ด และคุณภาพของเมล็ดที่ผลิตได้ (พิมพ์พร และคณะ, 2530)

หญ้าที่ขึ้นได้ดีในเขตร้อนที่มีปริมาณน้ำฝนมากกว่า 1,000 มิลลิเมตร ชอบดินเหนียว การระบายน้ำดี น้ำไม่ท่วมขัง (สายัณห์, 2530 และ บุญฤ, 2536) เป็นหญ้าที่ช่อาหารสัตว์ที่เกษตรกรในประเทศไทยใช้ปลูกกันแพร่หลายมากที่สุด เนื่องจากหญ้าที่ผลิตเมล็ดได้มากกว่าหญ้าชนิดอื่นๆ และเมล็ดมีราคาไม่แพง โดยทั่วไปแล้วหญ้าที่จะให้ผลผลิตน้ำหนักแห้งเฉลี่ยประมาณ 1,500-2,000 กิโลกรัมต่อไร่ต่อปี การศึกษาผลของการตัดที่ระยะต่างๆกันที่มีต่อผลผลิตน้ำหนักแห้งของหญ้าที่ พบว่าการตัดหญ้าที่อายุ 60, 90, 120 และ 60+60 วันหลังจากเริ่มงอก ได้ผลผลิตน้ำหนักแห้งเท่ากับ 984, 1,515, 2,008 และ 956+716 (1,672) กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (ฉายแสง และคณะ, 2528)

หญ้าที่มีลักษณะเด่นเหนือหญ้าเขตร้อนชนิดอื่นๆคือ คุณค่าทางโภชนาไม่เปลี่ยนแปลงมากเมื่อพืชมีอายุเพิ่มขึ้น มีค่าการย่อยได้สูง และมีความน่ากินมาก (กอบแก้ว, 2535) หญ้าที่มีคุณค่าทางโภชนาสูง มีโปรตีนแห้ง 10.83 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณเยื่อใย 23.13 เปอร์เซ็นต์ เปอร์เซ็นต์การย่อยได้ของวัตถุแห้งของหญ้าที่มีค่าสูงถึง 71, 71 และ 67 เปอร์เซ็นต์ จากการตัดทุก 45, 60 และ 75 วัน ตามลำดับ นอกจากนี้หญ้านี้มีความทนทานต่อการเหยียบย่ำ สามารถใช้ทำทุ่งหญ้าหะเล็มหรือตัดทำหญ้าแห้ง (ฉายแสง, 2534) กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ (2530) แนะนำว่า การปล่อยโคหะเล็มหรือตัดไปเลี้ยงสัตว์ ควรกระทำครั้งแรกเมื่ออายุ 70-90 วันหลังจากเริ่มงอก หลังจากนั้นอาจปล่อยสัตว์เข้าหะเล็มได้ทุก 40-50 วันในช่วงฤดูฝน

## 2.2 การคั่งคุดและขบวนการเมแทบอลิซึมของธาตุไนโตรเจน

ปุ๋ยไนโตรเจนมีอยู่หลายรูปแบบที่ใช้ในระบบการผลิทด้าพืชอาหารสัตว์ ได้แก่ ปุ๋ยยูเรีย ปุ๋ยแอมโมเนียม และปุ๋ยไนเตรทชนิดต่างๆ การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในรูปยูเรียให้แก่ดินนั้น จะเกิดการแยกสลายตัวน้ำให้เป็นแอมโมเนียหรือแอมโมเนียมไอออน โดยอาศัยเอนไซม์ urease ซึ่งผลิตจากจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในดิน (Alexander, 1977) ภายใต้อุณหภูมิที่เย็น แอมโมเนียมไอออนที่เกิดจากการเกิดการแยกสลายของปุ๋ยยูเรีย หรือจากปุ๋ยแอมโมเนียม พืชสามารถดูดมาใช้ได้โดยตรง ในสภาพที่มีออกซิเจน แอมโมเนียมไอออนจะถูกเปลี่ยนไปเป็นไนเตรทโดยขบวนการ nitrification ซึ่งเป็นการทำงานของจุลินทรีย์ในดินพวก Nitrosomonas และ Nitrobacter ภายใต้อุณหภูมิที่ไม่มีออกซิเจนในดิน บางส่วนจะสูญเสียไปจากดินในรูปของ  $\text{NO}$ ,  $\text{N}_2\text{O}$  และ  $\text{N}_2$  โดยขบวนการ denitrification จากการศึกษาพบว่าไนโตรเจนที่พืชดูดขึ้นมาใช้นั้น ส่วนมากอยู่ในรูปของไนเตรท การดูดซึมแอมโมเนียมไอออนโดยพืชนั้นจะเป็นขบวนการที่ไม่ต้องใช้พลังงาน (passive process) แต่เนื้อเยื่อของพืชจะไม่สามารถสะสมแอมโมเนียมไอออนไว้ในปริมาณมากเหมือนไอออนชนิดอื่นๆ เพราะแอมโมเนียมไอออนเป็นพิษต่อเนื้อเยื่อพืช การลดความเป็นพิษของไอออนนั้นในเนื้อเยื่อพืชเกิดขึ้นที่ราก โดยมีการนำเอาแอมโมเนียมไอออนไปสร้างเป็นสารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ ซึ่งได้แก่ amino acids หรือ amides สารเหล่านี้จะถูกลำเลียงไปที่ใบและยอดของพืช (Alexander, 1977 และ Haynes, 1986)

Haynes (1986) พบว่า การดูดซึมแอมโมเนียมไอออนโดยพืชนั้นสามารถแบ่งได้เป็น 2 ระยะ (phase) คือ ช่วงระยะแรกเป็นการดูดซึมแบบ passive absorption ขณะที่ระยะที่ 2 ของการดูดซึมจะเป็นแบบ active process ซึ่งกระบวนการหลังจะอ่อนแอต่ออุณหภูมิที่ต่ำ และพวกสารยับยั้งเมแทบอลิซึมชนิดต่างๆ (metabolic inhibitors) ในดินสะสมในเนื้อเยื่อต่างๆของพืชได้โดยไม่เป็นพิษ (Hageman, 1980) การสะสมของไนเตรทในใบที่มีความแปรปรวนตลอดเวลา ความเข้มข้นของไนเตรทที่พบสูงสุดอยู่ในช่วงเวลา 09.00 น. ขณะที่ระหว่างเวลา 15.00 น. ความเข้มข้นของไนเตรทมีค่าต่ำสุด (Gebeaur, 1990) ความเข้มข้นของไนเตรทในกาบใบ

หรือก้านใบและต้นจะมีค่าสูงสุด รองลงมาอยู่ในส่วนของรากและแผ่นใบตามลำดับ (Gebeaur, 1990 และ Stulen และคณะ, 1990)

ในเตรหจะถูกดูดซึมโดยรากพืช ซึ่งอาจจะไม่มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นก่อนที่จะมีการลำเลียงไปที่อื่นหรือมีการรีดิวซ์และถูกเปลี่ยนไปเป็นกรดอินทรีย์พวก amino acids และ amides ก่อนที่จะมีการลำเลียง ในทางตรงข้ามเมื่อรากพืชดูดซึมแอมโมเนียมไอออน จะมีการเปลี่ยนแปลงไอออนนี้ให้อยู่ในรูปสารอินทรีย์อย่างรวดเร็ว ซึ่งเป็นรูปไนโตรเจนที่ใช้ลำเลียงไปยังยอดของต้นพืช (Beever และ Hageman, 1983; Hocking และคณะ, 1984 และ Haynes, 1986) ส่วนในเตรหจะถูกรีดิวซ์ไปเป็นแอมโมเนีย และจะถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็นสารอินทรีย์ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้อาจเกิดขึ้นที่รากหรือใบของพืช

ในขั้นเริ่มแรกของกระบวนการเปลี่ยนแปลงในเตรหให้เป็นองค์ประกอบของสารอินทรีย์เกิดขึ้นใน cytosol เป็นขบวนการ reduction ทำให้ในเตรหเปลี่ยนไปเป็นไนไตรท์ โดยมีเอนไซม์ไนเตรทรีดักเตส (nitrate reductase) เป็นตัวกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยา มี NADH ที่เป็น reducing power ซึ่งเป็นตัวให้อิเลคตรอนและไฮโดรเจน และไนไตรท์จะถูกเคลื่อนย้ายเข้าไปในคลอโรพลาสต์(chloroplast) เมื่อมีการรีดิวซ์ไนเตรทที่ใบหรือลำเลียงเข้าไปใน plastids เมื่อไนเตรทถูกรีดิวซ์ที่ราก ซึ่งมีเอนไซม์ไนไตรท์รีดักเตส (nitrite reductase) เป็นตัวกระตุ้นปฏิกิริยาดังกล่าว โดยมีสาร Ferredoxin หรือ NAD(P)H เป็นตัวให้อิเลคตรอน และจะเปลี่ยนไนไตรท์ไปเป็นแอมโมเนีย (Taiz และ Zeiger, 1991)

ไนเตรทและไนไตรท์รีดักเตสเป็นเอนไซม์ที่มีอยู่ในเซลล์มีโซฟิลล์ (mesophyll cell) แต่ไม่มีในเซลล์บันเคิล (bundle sheath cell) ของพืช C<sub>4</sub> (Beever และ Hageman, 1983) แอมโมเนียหรือแอมโมเนียมไอออนจะถูกนำไปใช้ในการสังเคราะห์ให้เป็นสารอินทรีย์อย่างรวดเร็ว ซึ่งสามารถเกิดได้ 2 เส้นทาง (pathways) คือ เส้นทางแรกจะเกิด reductive-amination ของ  $\alpha$ -ketoglutarate ทำให้มีการผลิต glutamate ขึ้นมา และปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นโดยกิจกรรมของเอนไซม์ glutamate dehydrogenase สำหรับกระบวนการหลักในการเกิด ammonia assimilation ในพืชชั้นสูงนั้นจะมีปฏิกิริยา 2 ขั้นตอนเกิดขึ้นเป็นวงจร(cycle) โดยใช้เอนไซม์ glutamine synthetase และ glutamate synthase ขั้นตอนแรก glutamic acid รวมตัวกัน

กับ ammonia ได้ glutamine เป็นกระบวนการที่ต้องใช้พลังงาน ATP และมี  $Mg^{++}$  เป็นตัวช่วยกระตุ้นปฏิกิริยา ในกระบวนการต่อมา glutamine ที่สร้างขึ้นจะรวมตัวกับ  $\alpha$ -ketoglutaric acid โดยมีเอนไซม์ glutamate synthase เป็นตัวทำให้เกิดปฏิกิริยา และมี reducing power เป็นสาร ferredoxin ช่วยกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาทำให้เกิดสาร glutamic acid ขึ้นมา 2 โมเลกุล โดยที่ 1 โมเลกุลของ glutamic acid หรือ glutamate จะถูกนำไปรวมกันกับ ammonia เพื่อสร้าง glutamine ในกระบวนการแรก และอีก 1 โมเลกุลของ glutamate จะถูกนำไปสร้าง amino acids ตัวอื่นๆในกระบวนการ transamination โดยที่ amino group จะถูกส่งไปยังกลุ่ม carboxyl atom ของ  $\alpha$ -keto acids ซึ่งทำให้เกิดการสร้างสาร amino acids ตัวอื่นๆ (Hocking และคณะ, 1984; Haynes, 1986 และ Taiz และ Zeiger, 1991)

### 2.3 ปุ๋ยไนโตรเจนและการเจริญเติบโต ผลผลิต และคุณค่าทางโภชนาของหญ้าที่ช่อาหารสัตว์

ธาตุไนโตรเจนมีอิทธิพลต่อทุกช่วงการเจริญเติบโตของหญ้าที่ช่อาหารสัตว์ การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนมีวัตถุประสงค์เพื่อเร่งการเจริญเติบโตของหญ้า เมื่อเริ่มจะเข้าสู่ฤดูการเติบโตหรือในช่วงฤดูฝน เมื่อสภาพดินฟ้าอากาศเหมาะสม จะทำให้เพิ่มผลผลิตน้ำหนักแห้งของหญ้าที่ช่อาหารสัตว์ โดยมีการเพิ่มของพื้นที่ใบ ซึ่งเป็นผลมาจากการเพิ่มจำนวนเซลล์และขนาดของเซลล์ นอกจากนี้ยังทำให้เพิ่มอัตราการขยายตัวของใบ ความหนาของใบ (Lawlor และคณะ, 1989; Huber และคณะ, 1989 และ Rusland และคณะ, 1993)

การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนตลอดช่วงการเจริญเติบโต จะทำให้หญ้าที่ช่อาหารสัตว์ให้ผลผลิตสม่ำเสมอตลอดทั้งปีในเขตร้อนชื้น ซึ่งพบว่าผลผลิตน้ำหนักแห้งของหญ้าที่ช่อาหารสัตว์จะเพิ่มขึ้นเมื่อมีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนที่ระดับสูงถึง 71.68 กิโลกรัมต่อไร่ต่อปี โดยจะให้ผลผลิตน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 4.8 ตันต่อไร่ต่อปี (Vincete-Chandler, 1973 และ Hunt และคณะ, 1981)

Whitney และ Green (1969) พบว่า การเพิ่มปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟตตั้งแต่ระดับ 0 ถึง 102.4 กิโลกรัมต่อไร่ต่อปี ทำให้ผลผลิตน้ำหนักรากแห้งของหญ้าเพิ่มขึ้นจาก 604.8 เป็น 2,880 กิโลกรัมต่อไร่ อย่างไรก็ตามก็ตีผลผลิตน้ำหนักรากแห้งต่อหน่วยของปุ๋ยในโตรเจนที่ใส่ลดน้อยลงเมื่ออัตราการใช้ปุ๋ยเพิ่มขึ้น กล่าวคือ ถ้าเพิ่มปุ๋ยในระดับ 0 ถึง 25.6, 25.6, ถึง 51.2, 51.2 ถึง 76.8 และ 76.8 ถึง 102.4 กิโลกรัมต่อไร่ จะทำให้รากแห้งเพิ่มขึ้นเป็น 4.6, 4.3, 3.5 และ 1.6 กิโลกรัมต่อกิโลกรัมของปุ๋ยในโตรเจนที่ใส่ตามลำดับ

Smith (1979) ได้ศึกษาการใส่ปุ๋ยในโตรเจนให้กับหญ้า Switchgrass โดยใช้ปุ๋ยแอมโมเนียมไนเตรท ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) ที่ 5 ระดับ คือ 0, 8, 16, 32 และ 64 กิโลกรัมต่อไร่ ในสภาพเรือนกระจก พบว่าการใส่ปุ๋ยในระดับต่างๆจะทำให้ผลผลิตน้ำหนักรากแห้ง (กรัม/กระถาง) น้ำหนักต้นตอ เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนในหญ้าที่ใช้อาหารสัตว์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $P < 0.01$ ) และ บุญฤา และคณะ (2532) ได้ศึกษาอัตราปุ๋ยในโตรเจนกับหญ้าชิกแนลบนดินชุดโคราช โดยใช้ปุ๋ยยูเรียที่อัตรา 0, 20, 40, 80 และ 160 กิโลกรัมในโตรเจนต่อไร่ โดยแบ่งใส่ 4 ครั้ง พบว่าหญ้าชิกแนลให้ผลผลิตรวมตลอดปีต่ำเมื่อปลูกโดยไม่ใส่ปุ๋ยในโตรเจน และการตอบสนองของผลผลิตมีลักษณะเป็นแบบ quadratic ( $P < 0.05$ ) โดยที่ผลผลิตไม่เพิ่มขึ้นเมื่อระดับปุ๋ยสูงกว่า 20 กิโลกรัมในโตรเจนต่อไร่

สมพร และ วิโรจ (2528) ได้ศึกษาอิทธิพลปุ๋ยในโตรเจนต่อผลผลิตน้ำหนักรากแห้งของหญ้ามอร์ริส ซึ่งปุ๋ยในโตรเจนที่ใช้มี 3 ชนิด คือ แอมโมเนียมซัลเฟต แอมโมเนียมคลอไรด์ และยูเรีย ในอัตรา 0, 40, 80, 120 และ 160 กิโลกรัมในโตรเจนต่อไร่ ในดิน 4 ชนิด คือ ชุดดินนครปฐม ชุดดินกำแพงแสน ชุดดินหมวกเหล็ก และชุดดินชัยบาดาล พบว่าน้ำหนักรากแห้งของหญ้าเพิ่มขึ้นเมื่อใส่ปุ๋ยในโตรเจนในอัตราที่สูงขึ้น ผลผลิตน้ำหนักรากแห้งของหญ้ามอร์ริสที่ปลูกบนชุดดินต่างๆมีค่าสูงสุดเมื่อได้รับปุ๋ยในโตรเจนทุกชนิดในอัตรา 160 กิโลกรัมในโตรเจนต่อไร่ ผลผลิตน้ำหนักรากแห้งของหญ้ามอร์ริสต่อหน่วยของปุ๋ยในโตรเจนที่ใส่ในชุดดินต่างๆ มีค่าสูงสุดเมื่อใส่ปุ๋ยในอัตรา 40-80 กิโลกรัมในโตรเจนต่อไร่ อย่างไรก็ตามก็ตี วิโรจ และ ประเสริฐ (2532) พบว่า การใส่ปุ๋ยยูเรีย แอมโมเนียมซัลเฟตและแอมโมเนียมคลอไรด์ ให้กับหญ้ามอร์ริสที่ปลูกบนดินชุดกำแพงแสน จะทำให้ผลผลิตน้ำหนักรากแห้งเฉลี่ยของหญ้าแตกต่างกัน โดยผลผลิตหญ้าแห้งเฉลี่ยที่ได้รับการใส่ปุ๋ยแอมโมเนียมคลอไรด์ให้ผลผลิตสูง

ที่สุด (79.91 กรัม/กระถาง) ผลผลิตน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของหญ้าสูงขึ้นเมื่อได้รับอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่สูง และมีค่าสูงสุด 118.48 กรัมต่อกระถาง ที่ระดับปุ๋ย 75 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่

Tradit และ Leroux (1992) พบว่า หญ้า Quackgrass (*Elytrigia repens* (L.) Nevski) ตอบสนองต่อการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนที่ระดับ 40 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่ โดยให้ผลผลิตสูงเป็น 2 เท่าของผลผลิตที่ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน น้ำหนักแห้งของหญ้าเนเปียร์และหญ้านี้เพิ่มขึ้นเป็นอย่างมาก เมื่อมีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตรา 96 ถึง 128 กิโลกรัมต่อไร่ต่อปี แต่การตอบสนองของหญ้าต่อปุ๋ยไนโตรเจนจะลดลงเมื่อมีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตราตั้งแต่ 160 หรือ 192 กิโลกรัมต่อไร่ขึ้นไป หญ้า Molasses จะได้รับประโยชน์จากการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนไม่มากนัก ซึ่งความแตกต่างของหญ้าในการตอบสนองต่อการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน ขึ้นอยู่กับพันธุ์และอายุของหญ้า เวลาและปริมาณของปุ๋ยไนโตรเจน ความชื้นในดินและสภาพภูมิอากาศ ผลผลิตน้ำหนักแห้งของหญ้าจะเพิ่มขึ้นเป็นอย่างมาก เมื่อมีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในเขตที่ชุ่มชื้น หรือในสภาพที่มีการชลประทาน แต่จะเกิดการตอบสนองต่อปุ๋ยไนโตรเจนน้อย หรือไม่ตอบสนองเลยในเขตที่แห้งแล้งหรือกึ่งแห้งแล้ง (Crowder, 1971 อ้างโดย บุญญา, 2532 และ Hare และ Warantuwat, 1980)

การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนมีผลต่อความเข้มข้นของไนโตรเจนในเนื้อเยื่อพืช ทั้งในหญ้าเขตนาวและเขตอบอุ่น ซึ่งปริมาณไนโตรเจนในเนื้อเยื่อพืชจะเพิ่มขึ้นตามอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ใช้ (Whitney และ Green, 1969; Staley และคณะ, 1991) Jung และคณะ (1988) ได้ศึกษาการตอบสนองของหญ้า Switchgrass (*Panicum virgatum* L.) และ Bigbluestem (*Andropogon gerardii* Vitman) ต่อปุ๋ยไนโตรเจน 3 ระดับ คือ 0, 6.4, 12.8 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่ ในช่วงระยะเวลา 3 ปี พบว่าความเข้มข้นของโปรตีนหายาในหญ้า Switchgrass เป็น 62.3, 73.2 และ 68.0 กรัมต่อกิโลกรัมของผลผลิตแห้งตามลำดับ และในหญ้า Bigbluestem เป็น 71.9, 82.2 และ 92.6 กรัมต่อกิโลกรัมของผลผลิตแห้งตามลำดับ

การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในระดับสูง จะทำให้ปริมาณโปรตีนหายาเพิ่มขึ้นทั้งในส่วนใบและต้นของพืช และปริมาณของแคลเซียมและแมกนีเซียมจะเพิ่มขึ้นด้วย แต่ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสที่อยู่ในใบ ลำต้น และน้ำหนักแห้งทั้งหมด ลดลง (Davison และคณะ,

1987; Jung และคณะ, 1988) นอกจากระดับปุ๋ยไนโตรเจนยังมีอิทธิพลต่อโครงสร้างภายในใบและลำต้น ปริมาณของคาร์โบไฮเดรตที่อยู่ในรูปของโครงสร้าง (structural carbohydrate) เพคติน(pectin) เฮมิเซลลูโลส(hemicellulose) และลิกนิน(lignin) เปลี่ยนแปลงไปตามระดับปุ๋ยไนโตรเจนที่ได้รับ การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีภายในใบและลำต้นมีผลต่อคุณค่าทางโภชนาการของหญ้าที่ใช้อาหารสัตว์ ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุแห้งของหญ้า (*in vitro* dry matter disappearance; IVDMD) (Waite, 1970; Fribourg และคณะ, 1971 และ Jung และคณะ, 1988) และ Waite (1970) พบว่า การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนที่มีผลทำให้ปริมาณของโปรตีนเหยาบของหญ้าเพิ่มสูงขึ้น แต่สารคาร์โบไฮเดรตที่อยู่ในรูปโครงสร้าง เช่น เพคติน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส มีปริมาณลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าค่า IVDMD ของวัตถุแห้งของหญ้ามียังค่าเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม Niehaus (1971) พบว่า ถึงแม้การเพิ่มระดับปุ๋ยไนโตรเจนจะทำให้เพิ่มปริมาณโปรตีนเหยาบขึ้นอย่างมาก แต่ไม่มีผลต่อ IVDMD ของหญ้า reed canary grass

## 2.4 ปุ๋ยไนโตรเจนและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหญ้าที่ใช้อาหารสัตว์

Pearse และ Wilman (1984) ได้ศึกษาอิทธิพลของการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนที่มีต่อจุดเจริญที่จะเปลี่ยนไปเป็นใบ (leaf primordia) การเจริญเติบโตและการตายของใบในทุ่งหญ้าที่ใช้อาหารสัตว์ โดยใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 3 ระดับ คือ 0, 10.6 และ 19.7 กิโลกรัมต่อไร่ ในฤดูใบไม้ผลิและฤดูใบไม้ร่วง พบว่าการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนทำให้เกิดการเพิ่มจุดเจริญที่จะเปลี่ยนไปเป็นใบ จำนวนใบที่โผล่ (number of leaves emerging) อัตราการโผล่ของใบ จำนวนใบต่อต้นแขนง ความยาวใบ และเพิ่มสัดส่วนของเนื้อเยื่อสีเขียวในผลผลิต Wilman และ Mohamed (1980) พบว่า การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนทำให้เกิดจำนวนจุดเจริญที่จะเปลี่ยนไปเป็นใบ จำนวนใบที่โผล่ ความยาวใบ ความกว้างและน้ำหนักของใบ ความยาวของกาบใบ จำนวนใบต่อหน่วยพื้นที่ และการเพิ่มของความยาวของกาบใบมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของสัดส่วนของผลผลิตหญ้าที่ใช้อาหารสัตว์ที่ตัดในระดับความสูง

การใส่ปุ๋ยในโตรเจนที่ระดับสูงขึ้น มีผลทำให้ความยาวของใบและความกว้างของใบเพิ่มขึ้น และอัตราการขยายตัวของใบเพิ่มขึ้นด้วย (Wilson, 1975; Wilman และ Wright, 1983; Pearse และ Wilman, 1984 และ Huber และคณะ, 1989) และ Wilman (1980) ได้ทำการศึกษาการใส่ปุ๋ยในโตรเจน 4 ระดับ คือ 0, 6.7, 13.4 และ 20.2 กิโลกรัมต่อไร่ สำหรับทุ่งหญ้า 4 ชนิด ได้แก่ Aberystwyth S.23 Perennial ryegrass, S.24 perennial ryegrass, S.59 red fescue และ S.170 tall fescue พบว่า การใส่ปุ๋ยในโตรเจนทำให้หญ้าที่ใช้อาหารสัตว์ทั้ง 4 ชนิดมีจำนวนต้นแขนงเพิ่มขึ้น และทำให้อัตราส่วนของผลผลิตน้ำหนักรากแห้งเหนือพื้นดินสูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่ใส่ปุ๋ยในโตรเจน เช่นเดียวกัน Kalmbacher และคณะ (1993) พบว่า การใส่ปุ๋ยในโตรเจนที่อัตราเพิ่มขึ้นจาก 40 ถึง 120 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ จะทำให้หญ้าที่ใช้อาหารสัตว์สร้างต้นแขนงมากขึ้น และทำให้มีผลผลิตสูงขึ้นด้วย

## 2.5 ลักษณะโครงสร้างภายในใบและความสามารถในการย่อยได้ของหญ้าพืช C<sub>4</sub>

โครงสร้างภายในใบของพืช C<sub>4</sub> หลายชนิด มีลักษณะที่เรียกว่า กายวิภาค Kranz (Kranz anatomy) ซึ่งเป็นลักษณะของเซลล์มีไซฟิลล์ (mesophyll cell) เบียดกันแน่น มีช่องว่างภายในใบน้อยกว่าพืชธรมดา ห่อลำเลียงน้ำและอาหารล้อมรอบด้วยเซลล์บันเดิล (bundle sheath cells) ขนาดใหญ่ ในเซลล์บันเดิลนี้มีคลอโรพลาสต์ขนาดใหญ่เป็นจำนวนมาก (สุนทวิทย์, 2531; ภาวคล, 2534 และ Edwards และ Walker, 1983)

กายวิภาค Kranz (Kranz anatomy) ของหญ้าที่ใช้อาหารสัตว์ C<sub>4</sub> มีอิทธิพลอย่างมากต่อคุณค่าทางโภชนาการ เนื่องจากค่าความสามารถในการย่อยได้ต่ำของเซลล์บันเดิลสเคลอเรนคิมา (sclerenchyma), ผิวด้านนอกของเนื้อเยื่อผิว (outer cuticular epidermis) และเนื้อเยื่อลำเลียงที่ลิกนิน (lignified vascular tissue) ในขณะที่พวกเซลล์ที่ผนังเซลล์บาง มีค่าความสามารถในการย่อยได้สูงกว่า เช่น เซลล์มีไซฟิลล์, ฟลเอม (phloem), ผนังด้านในของเนื้อเยื่อผิว (Epidermis) และพืท (pith parenchyma) ของลำต้น (Wilson และคณะ, 1983 และ Wilson, 1991)

จากการศึกษาสัดส่วนของเนื้อเยื่อชนิดต่างๆในหน้าที่ตัดขวาง (cross section) ของแผ่นใบหญ้าพืช C<sub>4</sub> แสดงให้เห็นว่าค่าเฉลี่ยของพื้นที่เซลล์บันเคิล เนื้อเยื่อลำเลียง ที่มีผนังเซลล์หนา (thick-walled vascular tissue) และสเคลอเรนคิมา เป็น 20%, 8% และ 1.7% ของพื้นที่ตัดขวางทั้งหมดของใบตามลำดับ (Wilson และคณะ, 1983) พวก cynodon มีสัดส่วนของพื้นที่เซลล์บันเคิลและสเคลอเรนคิมา ประมาณ 26.5 ถึง 28.5% และ 9.8 ถึง 11.4% ตามลำดับ (Akin และ Burdick, 1975) ส่วนพวก *Panicum virgatum* มีสัดส่วนของพื้นที่ของเซลล์บันเคิลและเซลล์บันเคิลที่มีผนังเซลล์ภายในหนา (thick-walled inner bundle sheath) ในพื้นที่ตัดขวางใบ ประมาณ 24.6 ถึง 25.4% และ 4.3 ถึง 5.1% ตามลำดับ (Twidwell และคณะ, 1989 และ Twidwell และคณะ, 1990) กลุ่มเซลล์ที่มีผนังเซลล์หนาของเซลล์บันเคิล สเคลอเรนคิมา และเนื้อเยื่อลำเลียง จะถูกย่อยสลายอย่างช้าๆโดยกลุ่มของเอนไซม์ใน กระเพาะสัตว์เคี้ยวเอื้อง หลังจากนำเนื้อเยื่อเหล่านี้ไปย่อยโดยของเหลวในกระเพาะ รูเมน (rumen fluid) นาน 20 ชั่วโมง เซลล์บันเคิลของหญ้าพืช C<sub>4</sub> ของกลุ่ม *Panicum species* ถูกย่อยสลายไป 50% ในหญ้าพืช C<sub>4</sub> ทั้ง 3 ชนิดนี้ เปรูเซ็นซ์ของ *in vitro* digestion ของเซลล์บันเคิล หลังจากการนำไปแช่ในของเหลวใน กระเพาะรูเมน 28 ชั่วโมง มีค่าระหว่าง 70-75% (Akin และคณะ, 1983) ส่วนในหญ้าแพรง (coastal bermudagrass) พบว่า หลังจากแช่ในของเหลวใน กระเพาะรูเมนประมาณ 12 ชั่วโมง มีพื้นที่เซลล์บันเคิล 55.8% และพื้นที่ของสเคลอเรนคิมา 100% ไม่มีการย่อยสลาย (Akin และ Burdick, 1975)

ในหญ้า *Panicum virgatum* ที่นำไปแช่ในของเหลวในกระเพาะรูเมนนาน 24 ชั่วโมง พบว่า 94% ของเซลล์บันเคิล และ 100% ของผนังเซลล์ภายในเนื้อเยื่อ ลำเลียง ไม่มีการย่อยสลาย (Twidwell และคณะ, 1990) Akin และคณะ (1983) ได้พบว่า ค่าการย่อยสลายค่าของเซลล์บันเคิลเป็นปัจจัยหลักที่ทำให้มีค่าการย่อยได้ค่าของ ใบหญ้าพืช C<sub>4</sub> ซึ่งความสามารถในการย่อยได้ของผลผลิตต้นหญ้าแห้งของใบของหญ้าพืช C<sub>4</sub> จะมีความสัมพันธ์ทางตรงข้ามกับสัดส่วนของเซลล์บันเคิล (Wilson และคณะ, 1983) ในหญ้าพืช C<sub>4</sub> โครงสร้างภายในใบจะมีองค์ประกอบเยื่อใยของผลผลิตแห้งสูง โดยเฉพาะ

ปริมาณสารลิกนินในส่วนของกลุ่มเนื้อเยื่อลำเลียงภายในใบมีปริมาณมาก จึงทำให้ความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุแห้งของใบต่ำกว่าพืช *Ca* มาก (Wilson, 1991)

## 2.6 การพัฒนาการของผนังเซลล์

แหล่งพลังงานหลักของสัตว์เคี้ยวเอื้องคือ ผนังเซลล์ของพืชอาหารสัตว์ องค์ประกอบภายในเซลล์เป็นแหล่งของแร่ธาตุอาหาร ไวตามิน และโปรตีน ดังนั้นคุณค่าทางโภชนาการของพืชอาหารสัตว์ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของผนังเซลล์และองค์ประกอบภายในเซลล์ ผนังเซลล์พืชอาจประกอบไปด้วยเพียง primary wall หรือมี secondary wall เพิ่มขึ้นอีก ขึ้นอยู่กับชนิดของเซลล์ primary wall สร้างขึ้นมาในช่วงระยะหลังของ mitosis บริเวณเริ่มต้นสำหรับผนังเซลล์ใหม่ที่เกิดขึ้นระหว่างเซลล์ลูก (daughter cells) 2 เซลล์ เรียกว่า cell plate ซึ่งมีปริมาณเพคตินอยู่มาก ขั้นตอนสำหรับการสร้าง cell plate มี 2 ขั้นตอน ในขั้นตอนแรก vesicle ที่ได้จาก golgi bodies และ endoplasmic reticulum (ER) cisternae ไปรวมอยู่ตรงกลางระหว่างเซลล์ลูก ในขั้นตอนที่สองเมมเบรนของ vesicles เชื่อมรวมซึ่งกันและกัน และเชื่อมรวมกันกับพลาสมาเมมเบรนกลายเป็นพลาสมาเมมเบรนใหม่ ที่แยกเซลล์ลูกทั้งสองเซลล์ องค์ประกอบที่อยู่ภายใน vesicles เป็นสารเริ่มต้นสำหรับการสร้าง middle lamella และ primary wall สารเหล่านี้จะถูกนำมาใช้ในการประกอบกันสร้างเป็นผนังเซลล์ primary wall ซึ่งประกอบไปด้วย เซลลูโลส, เฮมิเซลลูโลส, เพคติน และโปรตีน ภายหลังจากเซลล์ลูกเจริญเติบโตเต็มที่ เซลล์บางชนิดจะมีการสร้าง secondary wall เพิ่มขึ้น ซึ่งผนังเซลล์นี้มีสัดส่วนของเซลลูโลสมากกว่า แต่มีเพคตินน้อยกว่า primary wall องค์ประกอบสำคัญอย่างหนึ่งของ secondary wall คือ ลิกนิน ซึ่งมีปริมาณ 15-30% ของน้ำหนักแห้งของไม้เนื้อแข็ง ผนังเซลล์มีลักษณะเป็นเส้นใยของผลึกแข็ง (crystalline microfibrils) พังคั่วอยู่ในสารที่ที่ไม่มีรูปร่างและไม่เป็นผลึก (amorphous non-crystalline matrix) เซลลูโลสคือส่วนที่เป็นเส้นใยหลัก ส่วนเพคตินและเฮมิเซลลูโลสเป็นบริเวณสารที่หุ้มเซลล์ลูโลสพังคั่วอยู่ภายใน ทั้งเพคตินและเฮมิเซลลูโลสสร้างมาจาก golgi bodies โปรตีนในผนังเซลล์สร้างจาก ER ส่วน

cellulose microfibrils สร้างจาก cellulose synthase ซึ่งเป็นกลุ่มโปรตีนที่ฝังขวางทะลุผ่านเยื่อเมมเบรน ลิกนินสร้างมาจากการคอะมิโน phenylalanine การคอะมิโนนี้สร้างขึ้นโดยเส้นทาง shikimic acid โดยมีสารตั้งต้นคือ erythrose 4-phosphate ซึ่งได้มาจาก pentose phosphate pathway และ phosphoenolpyruvate ซึ่งได้มาจาก glycolysis ซึ่ง phenylalanine จะถูกเปลี่ยนไปเป็น cinnamic acid โดยเอนไซม์ phenylalanine ammonia lyase และ cinnamic acid จะถูกเปลี่ยนไปเป็นสารอนุพันธ์หลายตัว รวมทั้ง sinapyl alcohol, coumaryl alcohol และ coniferyl alcohol พวกแอลกอฮอล์เหล่านี้จะถูกเปลี่ยนไปเป็น free radicals โดยเอนไซม์ peroxidase ซึ่ง free radicals นี้จะมีการรวมตัวกันแบบสุ่ม ทำให้เกิดเป็นโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่ขึ้น ในขั้นตอนนี้จะไม่มีเอนไซม์มาเกี่ยวข้อง โมเลกุลที่ได้จากการรวมตัวของ free radicals เหล่านี้คือลิกนินที่จะเป็นส่วน matrix ของผนังเซลล์พืช (Goodwin และ Mercer, 1983 และ Taiz และ Zeiger, 1991)