

เมแทบอลิซึมไนโตรเจนและโปรตีนสะสมในพืช

ทั้งสามบทเชื่อมโยงกระบวนการตั้งแต่ การนำไนโตรเจนอนินทรีย์เข้าสู่พืช การเปลี่ยนไนโตรเจนเป็นกรดอะมิโน ไปจนถึง การสะสมไนโตรเจนในรูปโปรตีนสะสม เพื่อใช้ระหว่างการงอกและการเจริญเติบโต

บทที่ 10 การดูดกลืนและรีดิวซ์ไนเตรต

ไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญของโปรตีน กรดนิวคลีอิก คลอโรฟิลล์ และสารชีวโมเลกุลจำนวนมาก แหล่งไนโตรเจนหลักของพืชคือ ไนเตรต (NO_3^-) รองลงมาคือแอมโมเนียมและไนโตรเจนที่ได้จากการตรึง N_2

การดูดไนเตรต

รากดูด NO_3^- ผ่านโปรตีนขนส่งแบบ H^+/NO_3^- symport โดยอาศัยความชันของโปรตอนที่สร้างจาก H^+ -ATPase ไนเตรตที่ดูดเข้าไปอาจ

- สะสมชั่วคราวในแวคิวโอล
- ถูกรีดิวซ์ในเซลล์ราก
- ลำเลียงทางไซเลมไปยังใบ

พืชล้มลุกจำนวนมากรีดิวซ์ไนเตรตในใบเป็นหลัก ส่วนไม้ยืนต้นและพืชบางชนิด เช่น ถั่วเหลือง รีดิวซ์ไนเตรตในรากมากกว่า แผนภาพหน้า 256 แสดงการแบ่งตำแหน่งของกระบวนการระหว่างราก ไซเลม เซลล์ใบ แวกิวโอล และพลาสต์อย่างชัดเจน

การรีดิวซ์ไนเตรตเป็นแอมโมเนียม

เกิดสองขั้นตอนสำคัญ

1. Nitrate reductase ในไซโทซอล



เอนไซม์รีดิวซ์อิเล็กตรอนจาก NADH และมีองค์ประกอบถ่ายทอดอิเล็กตรอน ได้แก่ FAD, cytochrome b557 และ molybdenum cofactor หรือ MoCo

2. Nitrite reductase ในคลอโรพลาสต์หรือ leucoplast



เอนไซม์รับอิเล็กตรอนจาก reduced ferredoxin และมี 4Fe-4S cluster กับ siroheme เป็นองค์ประกอบสำคัญ
ความสามารถในการรีดิวซ์ไนโตรตสูงมาก จึงป้องกันการสะสมของ NO_2^- ซึ่งเป็นพิษและอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ
เบสในกรดนิวคลีอิก

ในใบ พลังรีดิวซ์ส่วนใหญ่มาจากการสังเคราะห์ด้วยแสง ส่วนในรากและเนื้อเยื่อที่ไม่มีสี NADPH ได้จาก **oxidative pentose phosphate pathway**

การนำ NH_4^+ ไปสร้างกรดอะมิโน

แอมโมเนียมจะถูกตรึงอย่างรวดเร็วผ่านระบบ GS/GOGAT

1. Glutamine synthetase: GS

$\text{Glutamate} + \text{NH}_4^+ + \text{ATP} \rightarrow \text{Glutamine} + \text{H}_2\text{O} + \text{ADP} + \text{P}_i$

2. Glutamate synthase: GOGAT

$\text{Glutamine} + \alpha\text{-ketoglutarate} \rightarrow 2 \text{ Glutamate}$

Glutamate และ glutamine จึงเป็นศูนย์กลางของเมแทบอลิซึมไนโตรเจน โดยทำหน้าที่เป็นผู้ให้หมู่อะมิโนหรือหมู่เอไมด์แก่
การสร้างกรดอะมิโนชนิดอื่น แผนภาพหน้า 262 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง nitrate assimilation, GS/GOGAT และ
photorespiration

การควบคุม nitrate reductase

การควบคุมเกิดขึ้นในระดับการสร้างโปรตีนและการปรับกิจกรรมอย่างรวดเร็ว

- ไนเตรต แสง กลูโคส และคาร์โบไฮเดรตกระตุ้นการสร้างเอนไซม์
- NH_4^+ , glutamine และกรดอะมิโนยับยั้งการสร้าง
- ในความมืด nitrate reductase ถูก phosphorylate แล้วจับกับโปรตีน 14-3-3 ทำให้เอนไซม์ไม่ทำงาน
- เมื่อได้รับแสง เอนไซม์ถูก dephosphorylate และกลับมาทำงาน

การควบคุมนี้ทำให้การรีดิวซ์ไนเตรตสัมพันธ์กับการสร้าง ATP พลังรีดิวซ์ และโครงสร้างคาร์บอนจากการสังเคราะห์ด้วยแสง

การสร้างกรดอะมิโน

โครงสร้างคาร์บอนมาจาก Calvin-Benson-Bassham cycle, glycolysis, TCA cycle, photorespiration และ pentose phosphate pathway

สารตั้งต้นคาร์บอน

กรดอะมิโนที่เกี่ยวข้อง

Pyruvate	Alanine, valine, leucine
α -Ketoglutarate	Glutamate, glutamine, proline, arginine
Oxaloacetate	Aspartate, asparagine, threonine, lysine, methionine, isoleucine
3-Phosphoglycerate	Serine, glycine, cysteine
PEP + erythrose 4-phosphate	Phenylalanine, tyrosine, tryptophan
Ribose 5-phosphate	Histidine

Proline ยังทำหน้าที่เป็น **compatible solute** ช่วยลดความเสียหายจากความแห้งแล้งและความเค็ม ส่วน glutamate เป็นสารตั้งต้นของ δ -aminolevulinate และโครงสร้าง tetrapyrrole ซึ่งนำไปสร้าง

- คลอโรฟิลล์ เมื่อใส่ Mg^{2+}
- heme และ cytochrome เมื่อใส่ Fe^{2+}

ดังนั้นการดูดกลืนไนเตรตจึงเกี่ยวข้องไม่เพียงกับโปรตีน แต่ยังเชื่อมโยงกับการสังเคราะห์ด้วยแสงและการถ่ายทอดอิเล็กตรอนด้วย

บทที่ 11 การตรึงไนโตรเจนจากอากาศ

แม้บรรยากาศจะมี N_2 ปริมาณมาก แต่พืชใช้ N_2 โดยตรงไม่ได้ เนื่องจากพันธะสาม $N \equiv N$ มีความเสถียรสูง พืชบางชนิดจึงอาศัยจุลินทรีย์ที่มีเอนไซม์ **nitrogenase** เปลี่ยน N_2 เป็น NH_3

การอยู่ร่วมกันระหว่างพืชตระกูลถั่วกับไรโซเบียม

แบคทีเรียที่สร้างปมราก ได้แก่ Rhizobium, Bradyrhizobium และ Azorhizobium พืชให้สารประกอบคาร์บอนแก่แบคทีเรีย ขณะที่แบคทีเรียตรึงไนโตรเจนให้พืช พืชตระกูลถั่วจึงช่วยเพิ่มไนโตรเจนในดินและมีประโยชน์ต่อการปลูกพืชหมุนเวียน

กระบวนการสร้างปมรากประกอบด้วย

1. รากหลั่ง flavonoids ดึงดูดแบคทีเรีย
2. แบคทีเรียสร้าง **Nod factors** ที่จำเพาะต่อพืชเจ้าบ้าน
3. ขนรากโค้งงอห่อหุ้มแบคทีเรีย
4. เกิด infection thread เข้าสู่เนื้อเยื่อราก
5. เซลล์คอร์เทกซ์แบ่งตัวและสร้างปมราก
6. แบคทีเรียเข้าสู่เซลล์และเปลี่ยนเป็น **bacteroid** ภายใน symbiosome

ยีนสำคัญของแบคทีเรียได้แก่

- **nod, nol และ noe** ควบคุม Nod factors และความจำเพาะต่อพืช
- **nif และ fix** เกี่ยวข้องกับการตรึงไนโตรเจน

โปรตีนที่พืชสร้างในปมรากเรียกว่า **nodulins** เช่น leghemoglobin และเอนไซม์สำหรับสร้าง glutamine, asparagine และ ureides

การแลกเปลี่ยนสารระหว่างพืชกับ bacteroid

พืชลำเลียงซูโครสมายังปมราก แล้วเปลี่ยนเป็น **malate** เพื่อส่งให้ bacteroid Malate ถูกออกซิไดซ์ใน TCA cycle เพื่อสร้าง NADH, ferredoxin รีดิวซ์ และ ATP

แอมโมเนียที่ได้จากการตรึงไนโตรเจนถูกส่งกลับมายังเซลล์พืชและเปลี่ยนเป็น

- glutamine
- asparagine
- alanine

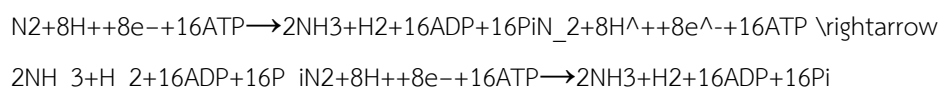
พืชบางชนิด เช่น ถั่วเหลือง ลำเลียงไนโตรเจนในรูป ureides ได้แก่ **allantoin และ allantonic acid** ซึ่งมีอัตราส่วนไนโตรเจนต่อคาร์บอนสูง

กลไกของ nitrogenase

Nitrogenase complex ประกอบด้วย

- **Dinitrogenase reductase** มี 4Fe-4S cluster ทำหน้าที่รับและส่งอิเล็กตรอน โดยใช้ ATP 2 โมเลกุลต่ออิเล็กตรอนหนึ่งตัว
- **Dinitrogenase** มี P cluster และ FeMo cofactor เป็นบริเวณที่รีดิวซ์ N_2

สมการโดยรวมคือ



จึงต้องใช้อย่างน้อย 16 ATP ต่อ N_2 หนึ่งโมเลกุล และเกิด H_2 เป็นผลพลิตร่วม การทดสอบกิจกรรม nitrogenase สามารถใช้ acetylene reduction assay ซึ่งตรวจวัดการเปลี่ยน acetylene เป็น ethylene

การควบคุมออกซิเจนในปมราก

Nitrogenase ไวต่อออกซิเจนมาก แต่ bacteroid จำเป็นต้องใช้ออกซิเจนในการหายใจเพื่อผลิต ATP ปมรากจึงรักษาสภาวะ microaerobic โดย

- ชั้นคอร์เท็กซ์จำกัดการแพร่ของ O₂
- การหายใจของ bacteroid ใช้ O₂ อย่างรวดเร็ว
- **Leghemoglobin** จับและสำรอง O₂ ไว้ในระดับต่ำ พร้อมส่งให้ระบบหายใจ

Leghemoglobin ทำให้ปมรากที่ทำงานมีสีชมพู

การตรึง N₂ ใช้พลังงานมากกว่าการดูดกลืนไนเตรต ดังนั้นพืชมักสร้างปมรากเมื่อดินมีไนโตรเจนที่ใช้ได้ต่ำ แต่ข้อได้เปรียบคือ ช่วยให้พืชดำรงชีวิตในดินที่ขาดไนโตรเจนได้

ไมคอร์ไรซา

บทนี้ยังกล่าวถึงการอยู่ร่วมกันระหว่างรากกับรา เพื่อเพิ่มการดูดฟอสเฟต แอมโมเนียม ธาตุอาหารรอง และน้ำ

- **Arbuscular mycorrhiza** สร้าง arbuscule ภายในเซลล์คอร์เท็กซ์ พบในพืชบกมากกว่า 80%
- **Ectomycorrhiza** สร้างเส้นใยรอบรากและระหว่างเซลล์เป็น Hartig net พบมากในไม้ยืนต้น เช่น สน โอ๊ก และบีช
- พืชให้คาร์โบไฮเดรตแก่รา ส่วนราเพิ่มพื้นที่สำรวจดินและส่งแร่ธาตุให้พืช

บทที่ 12 โปรตีนสะสมของพืช

กรดอะมิโนที่ได้จากการดูดกลืนไนเตรตและการตรึงไนโตรเจนสามารถนำไปสร้าง **storage proteins** ซึ่งไม่มีหน้าที่เป็นเอนไซม์ แต่ทำหน้าที่สำรองไนโตรเจน คาร์บอน และกำมะถันไว้ใช้ในระหว่างการออกหรือแตกใบใหม่

โปรตีนสะสมพบในเมล็ด หัวใต้ดิน ราก ลำต้น ใบ และแคมเปียมของไม้ยืนต้น โดยอยู่ใน **protein bodies** หรือแควีโอล

- เมล็ดธัญพืชมีโปรตีนประมาณ 10–15% ของน้ำหนักแห้ง
- เมล็ดถั่วบางชนิด เช่น ถั่วเหลือง มีโปรตีน 40–50%
- โปรตีนในเมล็ดถั่วประมาณ 85% เป็นโปรตีนสะสม

โปรตีนจากเมล็ดมีความสำคัญต่อโภชนาการของมนุษย์ แต่มีข้อจำกัดด้านกรดอะมิโนจำเป็น

- ธัญพืชมักมี lysine ต่ำ รวมทั้ง threonine และ tryptophan
- พืชตระกูลถั่วมักมี methionine ต่ำ

ดังนั้นการบริโภคธัญพืชร่วมกับถั่วช่วยเสริมองค์ประกอบกรดอะมิโนซึ่งกันและกันได้

ประเภทของโปรตีนสะสม

กลุ่ม	ตัวอย่างและแหล่ง
7S/11S globulins	Legumin, vicilin, phaseolin ในเมล็ดถั่ว
2S proteins	Napin ในเมล็ดเรพชืด
Prolamins	Gliadin และ glutenin ในข้าวสาลี, zein ในข้าวโพด
โปรตีนสะสมในหัว	Patatin ในมันฝรั่ง

Legumin เป็นโปรตีน hexamer ขนาดประมาณ 300–400 kDa แต่ละหน่วยผ่านการตัดเป็นสาย α และ β ซึ่งเชื่อมกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์

Vicilin คล้าย legumin แต่ไม่มี cysteine มากพอสำหรับสร้างพันธะ S–S และมักมีหมู่คาร์โบไฮเดรต

Napin เป็น 2S protein ที่มีพันธะไดซัลไฟด์หลายตำแหน่งและมี methionine สูง แต่อาจมีศักยภาพก่อภูมิแพ้

Prolamins พบเฉพาะในพืชวงศ์หญ้า มี proline และ glutamine สูง Glutenin โมเลกุลใหญ่สร้างโครงข่ายพันธะไดซัลไฟด์ทำให้แป้งข้าวสาลีมีความยืดหยุ่นและเหมาะต่อการทำขนมปัง

การสังเคราะห์และลำเลียงโปรตีนสะสม

โปรตีนสะสมสังเคราะห์ที่ไรโบโซมบน rough ER

1. signal peptide ของสายโปรตีนถูกจับโดย signal recognition particle
2. คอมเพล็กซ์เคลื่อนเข้าสู่ ER
3. สายโปรตีนถูกสังเคราะห์เข้าสู่ lumen ของ ER พร้อมกับตัด signal peptide
4. โปรตีนพับตัว สร้างพันธะ S–S และผ่านการตรวจสอบคุณภาพโดย chaperone
5. โปรตีนถูกลำเลียงไปยังแวคิวโอลหรือ protein bodies

เส้นทางสะสมมีสามแบบหลัก ดังแผนภาพหน้า 302

- Prolamins และ 2S proteins รวมตัวใน ER แล้ว protein body แตกหน่อออกมา
- Globulins ผ่าน Golgi ไปยังแวคิวโอล ซึ่งแตกเป็น protein bodies
- โปรตีนบางชนิดส่งจาก ER ไปแวคิวโอลโดยไม่ผ่าน Golgi

การระดมโปรตีนระหว่างการงอก

เมื่อเมล็ดดูดน้ำ protein bodies จะรวมกันเป็นแวคิวโอล โปรตีนเอสที่เก็บอยู่ในรูปไม่ทำงานหรือสังเคราะห์ขึ้นใหม่จะถูกกระตุ้น แล้วสลายโปรตีนสะสมเป็นกรดอะมิโน

- Endopeptidase ตัดภายในสายโปรตีน
- Exopeptidase ตัดกรดอะมิโนจากปลายสาย
- Thioredoxin ช่วยรีดิวซ์พันธะไดซัลไฟด์ในโปรตีนธัญพืช

กรดอะมิโนที่ปลดปล่อยถูกใช้สร้างเอนไซม์ โครงสร้างเซลล์ และเนื้อเยื่อของต้นอ่อน

โปรตีนที่ทำหน้าที่ป้องกันเมล็ด

เมล็ดบางชนิดสะสมโปรตีนที่ช่วยป้องกันสัตว์ เชื้อรา และแมลง เช่น

- Vicilin จับกับไคตินและรบกวนการพัฒนาของตัวอ่อนแมลง
- Lectins จับกับไกลโคโปรตีนในลำไส้และขัดขวางการดูดซึมอาหาร
- Ricin จากเมล็ดละหุ่งยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนและมีพิษรุนแรง
- Proteinase inhibitors ยับยั้งเอนไซม์ย่อยโปรตีน
- Amylase inhibitors ยับยั้งการย่อยแป้งของแมลง

การให้ความร้อนช่วยให้ lectins และ proteinase inhibitors ในถั่วหลายชนิดเสียสภาพ จึงไม่ควรบริโภคถั่วเหล่านี้แบบดิบ

ความสัมพันธ์ของทั้งสามบท

NO_3^- หรือ $\text{N}_2 \longrightarrow \text{NH}_4^+ \longrightarrow \text{Glutamine/Glutamate} \longrightarrow \text{กรดอะมิโน} \longrightarrow \text{โปรตีนสะสม}$
 NO_3^- หรือ $\text{N}_2 \longrightarrow \text{NH}_4^+ \longrightarrow \text{Glutamine/Glutamate} \longrightarrow \text{กรดอะมิโน} \longrightarrow \text{โปรตีนสะสม}$

- **บทที่ 10** อธิบายการเปลี่ยนไนเตรตเป็นแอมโมเนียมและกรดอะมิโน
- **บทที่ 11** อธิบายการได้แอมโมเนียมจากการตรึง N_2 โดยจุลินทรีย์ร่วมอาศัย
- **บทที่ 12** อธิบายการนำกรดอะมิโนไปสร้างและสะสมเป็นโปรตีน เพื่อใช้ในระหว่างการงอกและการเจริญเติบโต

หัวใจสำคัญคือ เมแทบอลิซึมคาร์บอนและไนโตรเจนต้องทำงานประสานกัน พืชต้องมีทั้งพลังงาน พลังรีดิวซ์ และโครงสร้างคาร์บอน จึงจะเปลี่ยนไนโตรเจนอนินทรีย์ให้เป็นองค์ประกอบของสิ่งมีชีวิตได้อย่างมีประสิทธิภาพ